UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2020 Bc. Kamila Prouzová

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Stanovení primárních aromatických aminů ve vybraných vzorcích barviv a textilií

Diplomová práce

2020 Bc. Kamila Prouzová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE
(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení:	**Bc. Kamila Prouzová**
Osobní číslo:	**C18440**
Studijní program:	**N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce:	**Stanovení primárních aromatických aminů ve vybraných vzorcích barviv a textilií**
Zadávající katedra:	**Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Vypracujte literární rešerši se zaměřením na charakterizaci, klasifikaci a legislativu barviv.

2. Vypracujte a optimalizujte metodu pro rychlou chromatografickou separaci strukturálních primárních aromatických aminů ve vybraných organických barvivech.

3. Zabývejte se stanovením sledovaných aminů ve vzorcích barviv, textilií a barvících lázní. Následně se zaměřte na účinnost extrakce, vliv navážky, stabilitu aminů, včetně vodného roztoku dithioničitanu sodného. Pro stanovení primárních aromatických aminů odvozených od azobarviv vycházejte z postupu podle ČSN EN ISO 14362-1/3.

4. Dosažené výsledky vyhodnoťte, diskutujte a sepište formou řádné diplomové práce.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Jan Fischer, CSc.**
Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce: **Ing. Barbora Řeháková**
Synthesia, a.s.

Datum zadání diplomové práce: **5. února 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2020**

[redacted]

L.S.

[redacted]

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2020

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.
Byla jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 7. 5. 2020

Kamila Prouzová

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucímu své diplomové práce doc. Ing. Janu Fischerovi, CSc. za vstřícnost a za cenné rady při vypracování teoretické části, dále Ing. Janu Vyňuchalovi, PhD. a konzultantce Ing. Barboře Řehákové (oba ze společnosti Synthesia, a.s.) za jejich odborné vedení a praktické připomínky při zpracování experimentální části této diplomové práce.

ANOTACE

Tato diplomová práce se zabývá stanovením primárních aromatických aminů (PAA) ve vybraných azobarvivech a v textilních materiálech pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC) se spektrofotometrickou detekcí v UV/VIS oblasti. Práce poskytuje základní informace o společnosti Synthesia a.s., kde byly uskutečněny samotné analýzy. Součástí teoretické části je stručný popis výroby azobarviv (diazotace a kopulace). Dále byla prostudována dostupná literatura týkající se základního rozdělení barviv, přičemž největší pozornost byla věnována skupinám přímých a kyselých azobarviv, a to konkrétně jejich vlastnostem, chemické struktuře, využití a způsobům barvení. Zmíněny jsou i způsoby barvení textilních materiálů, charakteristika a legislativa PAA. V neposlední řadě je popsána použitá instrumentace pro HPLC analýzu a alternativy stanovení PAA. Experimentální část je založena na stanovení obsahu jednotlivých PAA ve vybraných azobarvivech a textilu obarveném azobarvivy pomocí HPLC s UV/VIS detekcí za využití gradientové eluce. Získané výsledky jsou diskutovány a porovnány s příslušnou legislativou.

KLÍČOVÁ SLOVA

organická barviva, azobarviva, diazotace, kopulace, primární aromatické aminy, barvení textilu, vysokoúčinná kapalinová chromatografie

TITLE

Determination of Primary Aromatic Amines in Selected Samples of Dyes and Fabric

ANNOTATION

This master thesis deals with determination of primary aromatic amines (PAA) in selected azo dyes and in textile materials by high performance liquid chromatography (HPLC) with spectrophotometric detection in UV/VIS region. The thesis provides basic information about the company Synthesia a.s., where the analyzes were realized. The theoretical part includes a brief description of the production of azo dyes (diazotation and copulation). The available literature on the basic dye distribution has also been studied and the greatest attention was focused on the groups of direct and acidic azo dyes, especially their properties, chemical structure, use and methods of dyeing. Methods of dyeing textile materials, characteristics and PAA legislation are also mentioned. Last but not least, there is a description of the used instrumentation for HPLC analysis and alternatives of PAA determination. The experimental part is based on the determination of the content of individual PAAs in selected azo dyes and textiles dyed with azo dyes by HPLC with UV/VIS detection using gradient elution. The acquired results are discussed and compared with the relevant legislation.

KEYWORDS

organic dyes, azo dyes, diazotation, copulation, primary aromatic amines, textile dyeing, high performance liquid chromatography

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ **10**
SEZNAM TABULEK **12**
SEZNAM ZKRATEK **14**
ÚVOD **16**
1. TEORETICKÁ ČÁST **17**
1.1. Historie barviv a barvení 17
1.2. Společnost Synthesia, a.s. 19
1.3. Koloranty 19
1.3.1. Pigmenty 20
1.3.2. Barviva 21
1.4. Syntetická barviva 22
1.4.1. Členění podle chemického systému 22
1.4.2. Členění podle technického systému 23
1.4.3. Azobarviva 23
1.4.3.1. Diazotace a kopulace 24
1.5. Barvení textilních materiálů 26
1.5.1. Zvolené textilní materiály k barvení 27
1.5.1.1. Bavlna 27
1.5.1.2. Vlna 28
1.5.2. Analyzovaná azobarviva 29
1.5.2.1. Přímá barviva 30
1.5.2.2. Kyselá barviva 31
1.5.3. Proces barvení 33
1.5.3.1. Diskontinuální způsob barvení 33
1.5.3.2. Kontinuální a polokontinuální způsob barvení 35
1.6. Primární aromatické aminy 37
1.6.1. Vznik a toxikologie PAA 37
1.6.2. Legislativa PAA 39
1.6.3. Stanovení PAA 41
1.6.3.1. Stanovení PAA v textilních materiálech 42
1.6.3.1.1. ČSN EN ISO 14362-1 42
1.6.3.1.2. ČSN EN ISO 14362-3 43
1.7. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie 44
1.7.1. Instrumentace HPLC 44
2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST **47**
2.1. Přístroje a pomocná zařízení 47
2.2. Chemikálie 48
2.3. Analyzované vzorky 49
2.4. Pracovní postupy 52
2.4.1. Příprava kalibračních řad standardů PAA 52

2.4.2. Příprava vzorků k analýze 52
2.4.2.1. Norma ČSN EN ISO 14362-1 52
2.4.2.1.1. Účinnost extrakčního procesu normy ČSN EN ISO 14362-1 53
2.4.2.2. Norma ČSN EN ISO 14362-3 54
2.4.2.2.1. Účinnost extrakčního procesu normy ČSN EN ISO 14362-3 54
2.4.2.3. Stanovení volných PAA 55
2.4.2.4. Barvicí a zbytkové lázně 55
2.4.2.4.1. Vytažlivost azobarviv na textil 55
2.4.2.4.2. Zakoncentrování 55
2.4.3. Stabilita PAA 56
2.4.4. Stabilita redukčního činidla 56
2.4.5. Vliv navážky 57
2.4.6. Příprava vodné složky mobilní fáze 57
2.5. Software k vyhodnocení dat 57
3. VÝSLEDKYA DISKUZE 58
3.1. Zjištění vlnových délek absorpčních maxim standardů PAA 58
3.2. Optimalizace separačních podmínek 59
3.3. Kalibrační měření 64
3.4. Účinnost extrakce normy ČSN EN ISO 14362-1/3 64
3.5. Volba způsobu zakoncentrování lázní 65
3.6. Stabilita PAA 65
3.7. Stabilita redukčního činidla 67
3.8. Vliv navážky 67
3.9. Vytažlivost azobarviv na textil 69
3.10. Volné PAA 70
3.11. Vyhodnocení obsahů PAA po redukci 70
3.11.1. Barvivo č. 1 71
3.11.2. Barvivo č. 2 74
3.11.3. Barvivo č. 3 76
3.11.4. Barvivo č. 4 78
3.11.5. Barvivo č. 5 79
3.11.6. Zakoupený textilní výrobek 81
3.11.7. Textilní materiály poskytnuté firmou CityZen s.r.o. 82
4. ZÁVĚR 84
5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY 87
6. PŘÍLOHY 94

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Struktura kurkuminu 17
Obrázek 2: Kurkumin 17
Obrázek 3: Struktura mauveinu 18
Obrázek 4: Proces diazotace a kopulace 24
Obrázek 5: Dílčí kroky diazotační reakce 25
Obrázek 6: Bavlníková pole 27
Obrázek 7: Strukturní vzorec celulózy 27
Obrázek 8: Chemická struktura C.I. Direct Blue 78 31
Obrázek 9: Chemická struktura C.I. Acid Red 1 33
Obrázek 10: Schéma kapalinového chromatografu 45
Obrázek 11: LC Shimadzu/Ecom 47
Obrázek 12: HPLC Agilent Infinity II 47
Obrázek 13: Analyzovaná azobarviva 50
Obrázek 14: Analyzovanými azobarvivy obarvené textilie 50
Obrázek 15: Barvivo č. 1 (C.I. Direct Orange 39) 50
Obrázek 16: Barvivo č. 2 (C.I. Direct Red 89) 51
Obrázek 17: Barvivo č. 3 (C.I. Direct Green 28) 51
Obrázek 18: Barvivo č. 4 (C.I. Acid Yellow 25) 51
Obrázek 19: Barvivo č. 5 (C.I. Acid Black 26) 51
Obrázek 20: Kuderna-Danish aparatura 53
Obrázek 21: UV spektra standardů PAA 59
Obrázek 22: Chromatografický záznam separace standardů PAA 61
Obrázek 23: Chromatografický záznam separace izomerů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu ... 63
Obrázek 24: Stabilní PAA 66
Obrázek 25: Nestabilní PAA 66
Obrázek 26: Stabilita redukčního činidla 67
Obrázek 27: Barvicí (vlevo) a zbytková lázeň barviva č. 2 69
Obrázek 28: Chromatografický záznam analýzy volných PAA v barvivu č. 1 70
Obrázek 29: Chromatografický záznam analýzy sypkého barviva č. 1 po redukci dle normy ČSN EN ISO 14362-1 72

Obrázek 30: Změna zbarvení textilu obarveného barvivem č. 1 vlivem redukce 74
Obrázek 31: Bavlněná tkanina obarvená barvivem č. 3 před redukcí a po redukci normou ČSN EN ISO 14362-1 77
Obrázek 32: Vzorky sypkého barviva č. 3 připravené k analýze 78
Obrázek 33: Zakoupený textilní výrobek 82
Obrázek 34: Chromatografický záznam zakoupeného textilního výrobku 82
Obrázek 35: Vzorky textilního materiálu A – textilního materiálu C 83
Obrázek 36: Chromatografický záznam textilního materiálu A 83

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Aromatické aminy regulované nařízením REACh 1907/2006/příloha XVII 40
Tabulka 2: Koncentrační rozsahy standardů PAA 52
Tabulka 3: Seznam sledovaných PAA 58
Tabulka 4: Časový průběh gradientové eluce pro separaci PAA 60
Tabulka 5: Retenční časy analyzovaných standardů PAA 61
Tabulka 6: Časový průběh gradientové eluce pro separaci 2-naftylaminu a 1-naftylaminu .. 62
Tabulka 7: Retenční časy standardů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu 63
Tabulka 8: Parametry kalibračních křivek, R^2, LOD a LOQ standardů PAA 64
Tabulka 9: Účinnost extrakce 64
Tabulka 10: Účinnost zakoncentrování lázní vztažená na obsah anilinu 65
Tabulka 11: Nalezené obsahy PAA vztažené na navážku vzorku 68
Tabulka 12: Vytažlivost analyzovaných azobarviv na textilní materiály 69
Tabulka 13: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 1 po redukci korigované na účinnost extrakce 73
Tabulka 14: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 1 po redukci korigované na účinnost extrakce 73
Tabulka 15: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 2 po redukci korigované na účinnost extrakce 75
Tabulka 16: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 2 po redukci korigované na účinnost extrakce 75
Tabulka 17: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 3 po redukci korigované na účinnost extrakce 77
Tabulka 18: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 3 po redukci korigované na účinnost extrakce 77
Tabulka 19: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 4 po redukci korigované na účinnost extrakce 79
Tabulka 20: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 4 po redukci korigované na účinnost extrakce 79
Tabulka 21: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 5 po redukci korigované na účinnost extrakce 80

Tabulka 22: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 5 po redukci korigované na účinnost extrakce 81

SEZNAM ZKRATEK

4-AAB	4-aminoazobenzen
4-AB	4-aminobifenyl
ACN	acetonitril
CAS	registrační číslo látky (Chemical Abstract Service)
CE	kapilární elektroforéza (Capillary Electrophoresis)
C.I.	Colour Index
DAD	detektor s diodovým polem (Diode Array Detector)
DNA	deoxyribonukleová kyselina
ETAD	ekologické a toxikologické sdružení výrobců barviv a organických pigmentů (Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigments Manufacturers)
GC	plynová chromatografie (Gas Chromatography)
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie (High Performance Liquid Chromatography)
IARC	mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer)
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
MeOH	methanol
MF	mobilní fáze
NP	separační systém s normálními fázemi
PAA	primární aromatické aminy
PAD	polyamid
PES	polyester
p-FDA	p-fenylendiamin
REACh	registrace, hodnocení, povolování a omezování chemických látek (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals)
RP	separační systém s obrácenými fázemi
R^2	koeficient determinace
SBU	strategická obchodní jednotka (Strategic Business Unit)

SF	stacionární fáze
TBME	terc-butylmethylether
TLC	chromatografie na tenké vrstvě (Thin Layer Chromatography)
UV/VIS	ultrafialová/viditelná oblast světla
VUOS	Výzkumný ústav organických syntéz

ÚVOD

Používání barviv k nejrůznějším účelům je nepochybně spjaté s kulturní historií lidské společnosti už od pradávna. Díky technologickému pokroku a vývoji barviv od počátečního využití pouze barviv přírodního původu až po syntézu nepřeberného množství skupin barviv syntetických lze v dnešní době barviva využít takřka ve všech průmyslových odvětvích. Jejich aplikace však vždy byla a je nejvíce spojována právě s průmyslem textilním.

Předkládaná diplomová práce pojednává o základním rozdělení syntetických barviv se zaměřením na skupinu azobarviv. Věnuje se chemické struktuře azobarviv, jejich vlastnostem, využití a obecně popisuje jejich proces výroby. Z pohledu textilního barvířství se zaměřuje na skupinu přímých a kyselých azobarviv a jejich afinitu k určitým typům textilních materiálů. Rozebírány jsou i dva způsoby barvení textilních materiálů lišící se v průběhu barvicího procesu. Z analytického hlediska je pozornost věnována problematice primárních aromatických aminů (PAA), jejich výskytu, toxikologii a legislativním opatřením.

Praktická část diplomové práce je zaměřena na 5 vybraných azobarviv a jimi obarvený textilní materiál, v nichž byly stanovovány obsahy vybraných PAA pomocí HPLC analýzy. PAA vznikají působením redukčního činidla při redukčním štěpení azovazeb přítomných v azobarvivech a řada z nich je považována za podezřelé nebo prokázané karcinogeny, teratogeny či mutageny. Jejich obsahy v konečných výrobcích jsou legislativně regulovány podle nařízení REACh. Limity PAA v sypkých azobarvivech mohou být sledovány například v rámci dodržování etického kodexu mezinárodní organizace ETAD. Stanovení PAA je prováděno v sypkých barvivech, obarveném textilu, barvicích a zbytkových lázních, a to vždy dle normy ČSN EN ISO 14362-1/3. Analyzován byl rovněž komerčně dostupný textilní výrobek a 3 vzorky obarvených textilních materiálů poskytnutých firmou CityZen s.r.o.

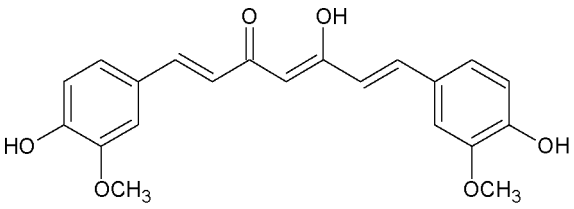
Cílem této práce je také stanovení účinnosti extrakčního procesu normy ČSN EN ISO 14362-1/3, stanovení volných PAA v barvivech, určení stability sledovaných PAA a stability redukčního činidla. Součástí je i nalezení nejvhodnějšího způsobu zakoncentrování vodných lázní a samozřejmě optimalizace metody pro chromatografickou separaci PAA v organických barvivech.

1. TEORETICKÁ ČÁST

1.1. Historie barviv a barvení

Používání barviv a pigmentů k rozmanitým účelům bezpochyby není novodobou záležitostí. Důkazem jsou již civilizace ve starověkém Egyptě, které využívaly nejrůznější části rostlin, hmyzu, půdy či minerály k barvení. Ať už se jednalo o barvení obrazových výjevů v rámci jeskynních maleb, užitkových předmětů, oděvů nebo samotných lidských těl ve vztahu s etnickými obřady či náboženskými rituály. Barvy se od té doby staly nedílnou součástí každodenní existence člověka a jejich vnímání z bezprostředního okolí jedinci přináší jakousi pozitivní emoci a kulturní obohacení [1].

Z počátku sloužily k barvení výhradně barevné přírodní látky – organické i anorganické. Anorganické pigmenty, konkrétně minerální okry a černě, grafit či rozemletý vápenec, byly snadno dostupné a člověk je využíval k uskutečnění kreseb. Až do poloviny 19. století v období před syntézou prvních syntetických barviv se organická barviva získávala především z rostlin a živočichů. Za přírodní barviva rostlinného původu můžeme z nepřeberného množství zmínit např. šafránovou žluť, kurkumin (obrázek 1 a 2), či modré barvivo indigo. Nejvýznamnější post ze zástupců barviv živočišného původu zaujímá červené barvivo košenila [2−4].



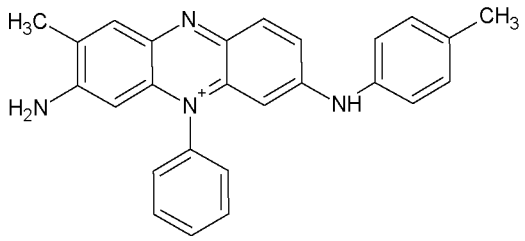
Obrázek 1: Struktura kurkuminu

Obrázek 2: Kurkumin [5]

Za předzvěst počínající éry produkce syntetických organických barviv se považuje historicky první příprava kyseliny pikrové roku 1771. Touto toxickou a v sypkém stavu výbušnou sloučeninou se barvilo hedvábí do žlutonazelenalého odstínu. Ovšem díky faktu, že

se jednalo o velice nestálou sloučeninu, bylo z ekonomických důvodů od jejího užívání zanedlouho upuštěno [6].

Za průlomový počin na poli syntézy organických barviv se zasloužil v roce 1856 Angličan William Henry Perkin, který náhodou při neúspěšném pokusu výroby chininu namísto toho připravil první syntetické organické barvivo, které pojmenoval mauvein (obrázek 3). Jednalo se o purpurově zbarvené anilinové barvivo syntetizované z černouhelného dehtu, jehož objev si jeho autor nechal patentovat. Tento zmíněný a tehdejší velkolepý objev na poli syntézy barviv se stal podnětem k přípravě dalších barviv odvozených nejenom od anilinu, ale i od jiných organických sloučenin pocházejících z uhelného dehtu. Následovala první příprava fuchsinu, methylvioleti, anilinové černě a mnohých dalších. Tzv. anilinová barviva se vyznačovala značnou pestrostí a jasností vybarvení, naopak jejich velká nevýhoda spočívala ve velmi nízké stálosti vybarvení na světle [1,6,7].



Obrázek 3: Struktura mauveinu

S řešením nevýhody fotocitlivosti anilinových barviv přišel roku 1862 německý chemik Johann Peter Griess, kterému se povedlo syntetizovat první červené azobarvivo velmi stálých vlastností na základě nedávno úspěšného provedení diazotačních a kopulačních reakcí jakožto klíčových procesů k přípravě azobarviv [1].

Chemicky syntetizovaná barviva vzhledem ke svým značným přínosům (jak bude podrobněji rozebráno dále) oproti barvivům přírodního původu zapříčinila prudký vzestup v počtu prováděných příprav. Tento druh barviv téměř nahradil barviva přírodní, ve všech odvětvích průmyslu – nejvýrazněji v textilním, ale také potravinářském, farmaceutickém, kosmetickém průmyslu a při barvení plastových hmot. Většina ze syntetických barviv se používá dodnes, pouze se případně změnily výchozí suroviny pro jejich syntézu (uhelný dehet byl nahrazen vysoce přečištěnými ropnými produkty). Z důvodu nepříznivých toxikologických dat či kvůli negativním dopadům na životní prostředí byla však některá syntetická barviva zcela

zakázána pro použití k barvení určité komodity či legislativně omezen jejich povolený obsah [8,9].

1.2. Společnost Synthesia, a.s.

Společnost Synthesia, a.s. působící na celosvětovém trhu v různých oblastech chemické produkce byla založena v roce 1920 v Pardubicích jako československá továrna na výbušné látky. Roku 1994 se transformovala v akciovou společnost a v roce 2003 byla rozdělena na strategické obchodní jednotky SBU. V současnosti se tento významný chemický závod skládá ze 4 částí – SBU Pigmenty a barviva, SBU Nitrocelulóza, SBU Organická chemie a SBU Energetika. V roce 2009 se jako jediným vlastníkem společnosti stal Agrofert Holding, a.s. Klíčovou oblastí pro budoucí rozvoj společnosti je oblast výzkumu a vývoje, která je zprostředkována vlastním výzkumným ústavem VUOS. Výzkumný ústav organických syntéz provádí testování chemických produktů v rámci legislativy REACh, což je nařízení dané Evropskou unií. Společnost Synthesia, a.s. se stala certifikovaným členem mezinárodní organizace ETAD [10,11].

SBU Pigmenty a barviva zaujímá pozici jediného současného tuzemského producenta a předního světového výrobce organických pigmentů a barviv. Co se týče pigmentů, produkce je zaměřena jak na klasické azopigmenty, tak i na vysoce jakostní HP pigmenty. Jejich využití se nachází při barvení plastových hmot a textilních vláken, dále se používají ve výrobě nátěrových hmot a tiskových barev. Organická barviva nacházejí uplatnění při barvení nejrůznějších přírodních a syntetických textilních materiálů (vlna, bavlna, len, hedvábí, viskóza, PAD, PES). Kromě barviv tohoto majoritního uplatnění společnost nabízí i produkty pro barvení kůží, kožešin, papíru, dřeva a dalších netextilních materiálů [10].

1.3. Koloranty

Kolorantem je barevná látka, která je charakterizována svojí schopností absorpce elektromagnetického záření z viditelné oblasti spektra v rozsahu vlnových délek 380–780 nm. Aby kolorant dosáhl intenzivního vybarvení v substrátu, musí mít dobrou přilnavost a dostatečně vysoký molární absorpční koeficient (ε = 10000–40000 $dm^3 \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$), který

vyjadřuje schopnost látky absorbovat světlo. Do kolorantů se řadí dvě skupiny látek, a to barviva a pigmenty, jež se odlišují na základě rozpustnosti. **Barviva** jsou rozpustná ve vodě nebo v organických rozpouštědlech a používají se tedy ve formě roztoků. Oproti tomu **pigmenty** jsou nerozpustné ve vodě, ale i v mnoha organických rozpouštědlech a využívají se ve formě jemných disperzních suspenzí [12,13].

Colour Index (C.I.) je celosvětově využívanou systematickou databází všech kolorantů. Koloranty jsou klasifikovány podle koloristických vlastností včetně chemických struktur a jednoduché identifikační charakteristiky již ve čtyřech vydáních, kdy neustále dochází k rozšiřování systému klasifikace. Colour indexové číslo bylo přiděleno každému barvivu, díky čemuž se C.I. stal prospěšnou pomůckou pro pracovníky výzkumu, výroby, aplikace i obchodu. V současné době funguje jako dvojí klasifikační systém, je složen z tzv. Colour Index Generic Name (CIGN) vztaženého k procesu aplikace (např. C.I. Direct Orange 39 představuje Saturnovou oranž L7G 180) a Colour Index Constitution Number (CICN) složeného z pětičíselného kódu a charakterizujícího přesnou chemickou strukturu (např. Saturnové oranži L7G 180 náleží C.I. 40215) [14,15].

1.3.1. Pigmenty

Jedná se o barevné látky nerozpustné ve vodě vyznačující se svojí stálostí na světle, v organických rozpouštědlech a při vyšších teplotách. Mohou být organické nebo anorganické struktury. Organické pigmenty jsou téměř všechny látkami synteticky připravenými, kdežto anorganické pigmenty mohou být původu přírodního, syntetického nebo kovového. Mezi anorganické pigmenty přírodního původu by se daly zařadit např. grafit, vápenec, kaolin či titanová běloba. Všeobecně je možno říci, že anorganické pigmenty vykazují vyšší tepelnou stabilitu než pigmenty organické. Pigmenty se v praxi užívají při výrobě tiskových barev, nátěrových hmot, syntetických vláken a plastů. Mohou se vyrábět ve formě prášků, past nebo jako barevné koncentráty [1,12].

1.3.2. Barviva

Vzhledem ke značnému počtu barviv a různých způsobů jejich aplikací je na místě barviva nejprve klasifikovat, což lze hned z několika hledisek. Úplně nejzákladnější rozdělení barviv vychází z pohledu potravinářského průmyslu:

- přírodní barviva
- syntetická barviva
- syntetická barviva identická s přírodními

Přírodní barviva bývají často přirozenou součástí potravin rostlinného nebo živočišného původu. Avšak jejich používání v potravinářském průmyslu za účelem dobarvování potravin s sebou nese řadu omezení. Jedná se o látky chemicky nestabilní z hlediska zahřátí a rozkládající se na světle. Jejich izolace z přírodních materiálů jsou velmi nákladné a proměnlivost barevných odstínů, a tedy i odlišnost u hotových výrobků je velká. Oproti barvivům synteticky připraveným mají nižší barvicí schopnost, tudíž je potřeba využít vyšší koncentrace pro stejné vybarvení. Barviva přírodního původu tvoří početnou třídu, kterou lze dále klasifikovat dle mnoha parametrů (výskyt, rozpustnost a mnohé další) [16].

Syntetická barviva jsou průmyslově vyráběné organické látky z přečištěných ropných produktů, které musí obsahovat minimálně 85 % čistého barviva (zbytek tvoří nečistoty v různých podobách). V porovnání s barvivy přírodními poskytují intenzivnější zbarvení, vyšší barevnou stálost, stálost při změně pH a působení světla, nižší náklady, možnost kombinace více barviv najednou, a tudíž i vytvoření širší palety odstínů. Převažující uplatnění syntetických barviv nad barvivy přírodního původu v potravinářském průmyslu je přisuzováno na prvním místě ekonomickému hledisku. Na druhou stranu jsou některým z nich připisovány nežádoucí účinky (nejčastěji alergické reakce) u citlivějších jedinců při požití nadměrné dávky konkrétní obarvené poživatiny nebo při nadměrném obsahu barviva v poživatině. Podle rozpustnosti se syntetická barviva rozdělují na barviva hydrofilní (rozpustná ve vodě) a lipofilní (rozpustná v tucích), dalším dělením může být rozdělení na barviva kyselá, neutrální a zásaditá [16].

Syntetická barviva identická s přírodními jsou nejméně početnou skupinou barviv vyznačující se tím, že její zástupci jsou strukturně shodní s barvivy přírodními, ale získávají se uměle prostřednictvím chemických reakcí. Příkladem je β-karoten nebo riboflavin [16].

1.4. Syntetická barviva

Jsou barevné organické sloučeniny, které mají schopnost na základě své struktury absorbovat světlo ve viditelné oblasti spektra a zajišťují chemickou vazbu s vybarvovaným substrátem. Chemická struktura barviva má vliv na jeho zbarvení, přičemž závisí na přítomnosti chromoforů v molekule. Chromoforem je nenasycená skupina (např. karbonylová skupina −C=O, azoskupina −N=N−, nitroskupina $-NO_2$ a další), díky níž jinak bezbarvá organická sloučenina získá své zbarvení a stává se chromogenem. Zavedením elektron-donorových skupin do molekuly (tzv. auxochromů) se docílí zvýšení intenzity zbarvení a zvýšení afinity k substrátu skrze posun vlnových délek absorpčních maxim a jejich intenzit. Auxochromy mohou být např. hydoxyskupina −OH, aminoskupina $-NH_2$ nebo thioskupina −SH [15].

Vzhledem ke značnému počtu organických barviv a jejich různým způsobům aplikací je jejich klasifikace velice různorodá. Nejčastěji se však člení podle dvou systémů – chemického a technického [13].

1.4.1. Členění podle chemického systému

Je postaveno na analogii chemické struktury, chemických vlastností, přítomnosti totožných funkčních skupin nebo na identickém způsobu přípravy barviva. Klasifikovány jsou:

- antrachinonová barviva
- arylmethanová barviva
- azobarviva
- azomethinová barviva
- ftalocyaninová barviva
- chinoniminová barviva
- indigoidní a thioindigoidní barviva
- nitrobarviva a nitrosobarviva
- polyenová barviva
- polymethinová barviva
- polycyklická barviva
- sirná barviva [14,15].

1.4.2. Členění podle technického systému

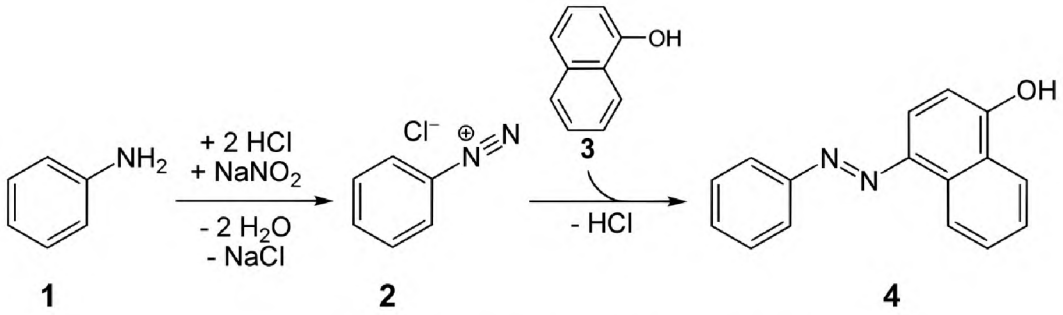
Je založeno na klasifikaci barviv podle jejich použití a užívá se ve vztahu s textilními aplikacemi. Nezařazuje však barviva s totožnou chemickou strukturou, tudíž se jedná o skupiny organických barviv s různorodou konstitucí. Barviva se podle technického systému rozdělují na tyto koloristické třídy:

- barviva rozpustná v tucích
- barviva syntetizovaná ve vláknech
- bazická (kationtová) barviva
- disperzní barviva
- indigosolová barviva
- kypová barviva
- kyselá (aniontová) barviva
- metalokomplexní barviva
- mořidlová barviva
- pigmenty
- přímá (substantivní) barviva
- reaktivní barviva
- sirná barviva [17,18].

1.4.3. Azobarviva

Azobarviva se nevyskytují v přírodě a získávají se výhradně synteticky. Řadí se mezi nejvýznamnější a nejpočetnější skupinu organických barviv ať už z pohledu šířky sortimentu, tak i rozsahem produkce. Uvádí se, že na celosvětovém trhu s koloranty tvoří azobarviva až jednu třetinu veškeré produkce syntetických barviv. Jejich prosperita související se schopností uspokojit nemalé nároky většiny spotřebitelů je založena především na skutečnosti, že disponují širokou paletou zbarvení od světlých žlutých až po tmavé černé odstíny. Jejich chromoforem, tedy nenasycenou funkční skupinou, která zajišťuje zbarvení jinak bezbarvé molekuly, je tzv. azoskupina −N=N−, kterou představují dva dusíky vzájemně spojené dvojnou vazbou. Podle toho, kolik daná sloučenina obsahuje azoskupin, se rozdělují na monoazobarviva až

polyazobarviva. Na počtu azoskupin v molekule barviva a na druhu arylového zbytku je závislý výsledný odstín a další vlastnosti daného barviva. Intenzivního zbarvení a významných barvířských schopností však azobarviva dosahují až tehdy, když je do jejich molekuly začleněna auxochromní skupina (např. −OH, $-NH_2$, −OR), která je obvykle vnášena při procesu kopulace jako pasivní komponenta. Co se týče vlastností azobarviv, jejich stálosti jsou velmi různé a závisí na charakteru a struktuře barviva. Ve většině případů jsou tyto stálosti dostačující, avšak zástupci azobarviv nedosahují maximálních stálostí jako např. barviva kypová antrachinonová. Azobarviva navíc disponují dobrou stálostí v praní a vybarvují různé textilní materiály (vlna, bavlna, hedvábí i syntetické materiály), což je významným přínosem pro jejich využití v textilním průmyslu. Technologie jejich výroby není nijak zvlášť obtížná, od čehož se odvíjí i relativně levná cena syntéz. Více než 50 % všech existujících C.I. náleží právě azobarvivům, jejichž produkce se ve většině případů využívá k barvení nejrůznějších textilních materiálů, zbylá část slouží k barvení plastů či potravinářských a kosmetických výrobků. Pro průmyslovou výrobu velké většiny azolátek se využívají dvě po sobě jdoucí reakce – tzv. diazotace PAA následovaná kopulací získané diazoniové soli s aromatickými nebo heteroaromatickými sloučeninami [1,12,19].

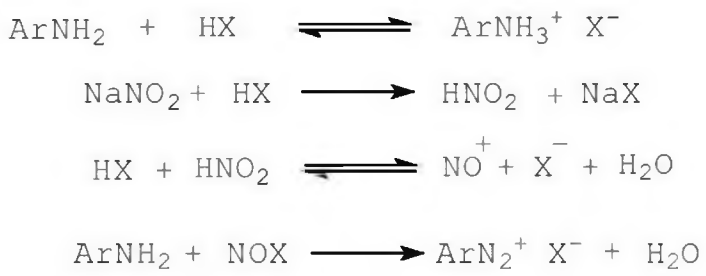


Obrázek 4: Proces diazotace a kopulace [20]

1.4.3.1. Diazotace a kopulace

Prvním krokem syntézy azobarviv je diazotační reakce, při které PAA **1** (obrázek 4) reaguje ve vodném prostředí s dusitanem sodným za přítomnosti minerální kyseliny v nadbytku (nejčastěji kyselina chlorovodíková nebo kyselina sírová) při nízké teplotě 0−5 °C a při pH < 2 za vzniku diazoniové soli **2** (obrázek 4). Diazotovaný PAA je v tomto procesu aktivní komponentou. Rychlost popisované reakce závisí na struktuře diazotovaného aminu,

na koncentraci reagujících složek, na solubilitě aminu, reakční teplotě a dalších faktorech. Diazotační reakce je potřeba uskutečnit při nízkých teplotách hned ze dvou důvodů. Prvním z nich je vyšší stabilita vznikajících diazoniových sloučenin při nižších teplotách, druhým důvodem je skutečnost, že rozpustnost plynu ve vodě při nižší teplotě stoupá, tudíž je menší riziko uvolňování nitrosních plynů z reakční směsi. Chlazení reakční směsi se nejčastěji provádí přídavky ledu. Z hlediska mechanismu lze diazotační proces rozepsat do dílčích kroků (obrázek 5). Nejprve je PAA rozpuštěn ve vodném roztoku minerální kyseliny za vzniku příslušné amoniové soli. Tento proces se nazývá přímá diazotace a probíhá v okamžiku, kdy ještě v roztoku není přítomen dusitan. V druhém kroku se tvoří kyselina dusitá reakcí dusitanu s minerální kyselinou. Takto vzniklá kyselina dusitá reaguje s minerální kyselinou za tvorby nitrosylačního činidla NO_X, které následně reaguje s PAA za vzniku žádoucí diazoniové soli. Nežádoucí přebytek kyseliny dusité, který by způsoboval vznik vedlejších produktů, je po skončení diazotace odstraněn přídavkem vhodného alifatického aminu (nejčastěji kyselina sulfamidová nebo močovina) [7,15].



Obrázek 5: Dílčí kroky diazotační reakce [15]

Druhým krokem syntézy azobarviv je kopulace získané diazoniové soli **2**, tzv. aktivní komponenty (obrázek 4) s pasivní komponentou **3** (obrázek 4) za vzniku azosloučeniny **4** charakterizované azoskupinou. Pasivní komponentou mohou být látky fenolického typu v zásaditém prostředí nebo aromatické aminy v neutrálním či slabě kyselém prostředí. Kopulační reakce probíhá nejčastěji za pokojové teploty, tedy při 20−25 °C. K této zmiňované elektrofilní aromatické substituci zpravidla dochází v para- poloze aromatického systému pasivní komponenty z důvodu působení kladného mezomerního efektu, který způsobuje zvýšenou elektronovou hustotu v poloze ortho- a para-. Ze sterického hlediska získaného azobarviva je však výhodnější poloha para- [15].

1.5. Barvení textilních materiálů

Do dnešní doby se lidstvo naučilo díky technologickému pokroku barvit téměř vše a ve všech průmyslových odvětvích. Co se však od počátku vývoje barvení nezměnilo, jsou stále převažující aplikace barviv právě na poli textilního průmyslu. S rostoucím sortimentem textilních materiálů byly vyvinuty zcela nové principy barvení. Dříve používané textilie vyrobené pouze z přírodních zdrojů se časem rozrostly o řadu syntetických vláken. S přibývajícím počtem moderních syntetických vláken došlo samozřejmě i k vývoji zcela nových typů barviv [1].

Při barvení je důležitá nejen struktura použitého barviva, ale i fyzikální a chemické vlastnosti barveného textilního materiálu. Hlavní odlišnost přírodních a syntetických vláken spočívá v interakci s vodou. Přírodní a viskózová vlákna mají hydrofilní charakter, díky čemuž jsou přírodní materiály schopné nasát značné množství vody. Oproti tomu syntetická vlákna a acetátové hedvábí disponují hydrofobním charakterem, tudíž je jejich obarvení značně náročnější. Mezi molekulami barviv a vláken se vyskytují nejrůznější silové interakce (chemické i fyzikální) v závislosti na chemické struktuře těchto dvou reagujících složek. Může se jednat o vazby kovalentní, komplexotvorné, iontové, vodíkové či slabé nevazebné interakce (disperzní, indukční a coulombické van der Waalsovy síly) [1,21].

Barvení textilních materiálů na požadovaný odstín probíhá v barvicích lázních a představuje proces, při kterém na sebe za vhodných technologických podmínek vzájemně působí vybrané barvivo a textilní materiál. Tento vzájemný vztah vystihuje pojem afinita, která vyjadřuje schopnost barviv vybarvovat textilní materiál, současně ale i schopnost textilních vláken přijmout a navázat barvivo. Přechod barviva z barvicí lázně na textilní substrát popisují tzv. vytahovací křivky, na které působí nejrůznější vlivy – teplota barvicího procesu, hodnota pH, přítomnost elektrolytů a textilních pomocných prostředků (prostředky smáčecí, egalizační, retardační, emulgační, ochranné, odpěňovací) či struktura vláken. Vybarvenost textilního materiálu je ovlivněna i samotnými kritérii vláken jako např. jemností, tvarem průřezu, disperzitou, indexem lomu světla na rozhraní vlákna a okolí, stupněm probarvení textilie atd. Na výsledný produkt jsou kladeny vysoké nároky související s odolností vůči mechanickým, chemickým a fyzikálním vlivům. Jsou požadovány co největší stálosti vybarvení, konkrétně stálost vybarvení na světle, v povětrnosti, v otěru, ve vodě, v praní, v potu, při žehlení a

v mnoha dalších aspektech [21−23].

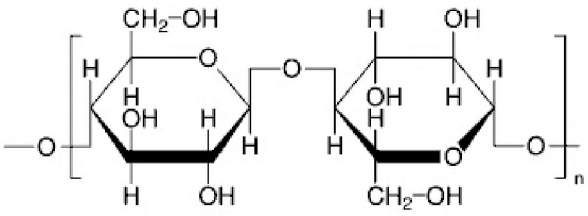
1.5.1. Zvolené textilní materiály k barvení

Jak již bylo řečeno, v textilním průmyslu se v dnešní době barví přírodní i syntetická vlákna. Pro účely diplomové práce budou následující podkapitoly zaměřeny pouze na vlákna přírodního původu, a to konkrétně na vlákna bavlněná a vlněná, která byla použita jako barvený textilní materiál pro vybraná analyzovaná azobarviva poskytnutá společností Synthesia, a. s. v rámci experimentální části diplomové práce.

1.5.1.1. Bavlna

Bavlna spolu se lnem, konopím a jutou patří mezi celulózová vlákna přírodního původu. Základním stavebním kamenem bavlny je polysacharid celulóza, jejíž základní stavební jednotkou je β-glukopyranóza spojená do polymeru 1,4-glykosidickými vazbami. Z chemického hlediska je bavlna složena z 92 % z celulózy, zbytek tvoří bílkoviny, pektiny, minerální látky, tuky a vosky. Bavlna je považována za nejvýznamnější rostlinné vlákno a nejrozšířenější textilní materiál vůbec. Její vlákna se získávají z tobolek bavlníku (obrázek 6) [1,23].

Obrázek 6: Bavlníkové pole [24]



Obrázek 7: Strukturní vzorec celulózy [25]

Celulóza, jakožto stavební kámen bavlny, je stálá a dobře se vybarvuje v alkalickém prostředí (zprostředkováno nejčastěji hydroxidem sodným nebo uhličitanem sodným). Reaktivnost bavlny je způsobena přítomností volných hydroxylových skupin (obrázek 7). Daná

schopnost je využívána při barvení reaktivními barvivy. Mezi −OH skupinami vznikají vodíkové můstky způsobující tuhost makromolekul a nerozpustnost celulózy ve vodě, ve které bobtná. Kromě barviv reaktivních se v dnešní době k barvení textilií celulózového základu s dosažením uspokojivých stálostí používá barviv přímých, kypových, sirných, barviv vyvíjených na vlákně nebo také barviv indigosolových. Absolutně nejlepších stálostí vybarvení se dosáhne při barvení celulózových vláken barvivy kypovými. Barvitelnost bavlny je ovlivněna jednak její mikro a makrostrukturou, ale také původem, zralostí a ve velké míře i její předúpravou a zušlechťováním, při nichž dochází ke krácení řetězce celulózových vláken, čímž se mohou negativně ovlivnit její vlastnosti (snížení pevnosti celulózových vláken, hydrolytické štěpení, oxidace). Co se týká vlastností z pohledu uživatelského, těmi kladnými jsou např. pružnost, měkkost, hřejivost a dobrá savost vody [1,19,22,23].

1.5.1.2. Vlna

Vlna se řadí mezi vlákna živočišného původu a zaujímá pozici nejvýznamnějšího představitele proteinových vláken. Kromě ovčí vlny a dalších zvířecích srstí jsou zástupci proteinových vláken i pravé hedvábí a vlákna z regenerovaných bílkovin (bílkovinná vlákna živočišného a rostlinného původu) [22].

Všechna proteinová vlákna se skládají z α-aminokyselin tvořících polypeptidový řetězec. V polymeru proteinu jsou aminokyseliny navzájem spojeny polypeptidovou vazbou. V srsti živočichů jsou vlákna tvořena keratinem, ve kterém se pravidelně vyskytuje sirná aminokyselina cystein. Cystein dokáže tvořit disulfidické vazby a díky tomu dochází ke vzájemnému zesítění sousedních polypeptidických řetězců. Tím je zajištěna tvarová stálost vlny, současně i nemačkavost a elasticita. K propojení jednotlivých polypeptidových řetězců dochází kromě disulfidických můstků i prostřednictvím tzv. solných můstků, které představují interakci vzniklou kombinací vodíkové vazby a elektrostatické vazby mezi karboxylovými skupinami a aminoskupinami, a samozřejmě také prostřednictvím nejčastěji vznikajících vodíkových můstků [21,23].

Barvicí a textilně chemické vlastnosti vlny závisejí na počtu volných karboxylových skupin a aminoskupin, v kyselinách stabilních disulfidických můstků, na přítomnosti

hydroxylových skupin a na povaze alkylových zbytků tvořících hydrofobní interakce s alkylovými zbytky ve struktuře barviv. Důležité je i zvolené pH barvicí lázně. Jelikož vlna vzhledem ke svému aminokyselinovému složení má amfoterní charakter, je nejvhodnější ji barvit v rozmezí pH jejího izoelektrického bodu, tedy pH 3,4–4,5, kdy se mezi proteinem a barvicí lázni neprojevuje žádný potenciálový rozdíl. Vlna je při tomto pH nejpevnější s nejnižším rizikem poškození vláken. V důsledku chemické rozmanitosti případně vzniklé vazby barviva a vlněného vlákna je možné vlnu obarvit širokou škálou různých skupin barviv. Pro zajištění dostatečné stálosti vybarvení a z ekonomických důvodů se vlna nejčastěji barví barvivy kyselými, kyselými mořidlovými, kyselými metalokomplexními a reaktivními. Co se týká vlastností, vlněná vlákna jsou odolná vůči kyselinám, ale již slabě alkalické prostředí a zvýšená teplota zapříčiňují jejich poškození z důvodu štěpení disulfidických můstků. Díky hydrofilnímu charakteru se vlněné vlákno snadno barví a obloučkovitost vláken zajišťuje dostatečnou tepelnou izolaci. Vlna je navíc pružná, má dobrou zotavovací schopnost a schopnost odvádět pot [22,26,27].

1.5.2. Analyzovaná azobarviva

Pro účely diplomové práce bylo společností Synthesia, a.s. vybráno a k analýzám poskytnuto 5 azobarviv, která nebyla určena pro komerční využití. Tato barviva byla nadále v diplomové práci pojmenována jako *barvivo č.1 – barvivo č. 5* a byla podrobena stanovení PAA jednak v samotných sypkých barvivech, ale také v textilním materiálu obarveném těmito barvivy.

Analyzovaná barviva se řadí do 2 koloristických tříd podle způsobu vazby na vlákna, principu rozpouštění a barvení. Jedná se o skupiny barviv přímých a barviv kyselých, a proto budou následující kapitoly zaměřeny na základní charakteristiku a obecný postup při barvení textilních materiálů pouze těmito skupinami barviv.

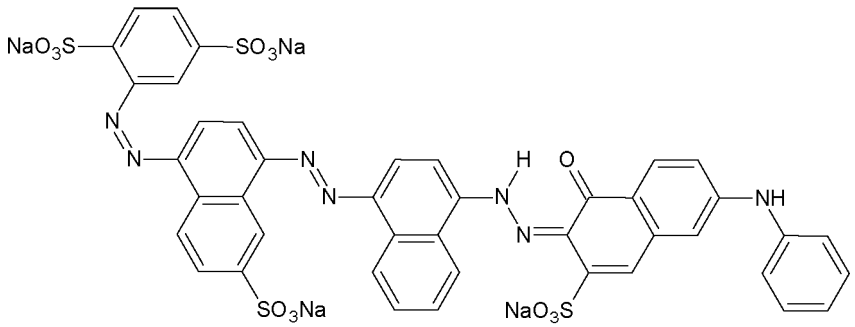
Za účelem stanovení PAA v komerčně dostupných textiliích byl analyzován zakoupený textilní výrobek, který byl s největší pravděpodobností taktéž obarven barvivem ze skupiny přímých barviv. Pro srovnání byly analyzovány reaktivními barvivy obarvené vzorky textilního materiálu, které dodala firma CityZen s.r.o. (*textilní materiál A – textilní materiál C*). Skupině reaktivních barviv není v teoretické části diplomové práce věnována pozornost.

1.5.2.1. Přímá barviva

Skupina přímých, taktéž nazývaných substantivních barviv je zastoupena převážně azobarvivy s dostatečně dlouhým řetězcem konjugovaných dvojných vazeb, které mají vlivem planární konfigurace silnou afinitu k celulózovým vláknům. Jedná se o ve vodě rozpustná mono až polyazobarviva, většinou sodné soli sulfokyselin, kterými se barví především přírodní i syntetická celulózová vlákna, polyamidová a v malé míře i proteinová vlákna. Některými přímými barvivy se barví rovněž papír nebo slouží k přípravě laků pro tiskařské barvy. Schopnost přímých barviv vybarvovat celulózová vlákna je podmíněna jejich afinitou k vláknům. Mají schopnost vybarvovat materiál pouhým ponořením do barvicí lázně, což je jejich značnou výhodou. Právě díky tomu téměř zcela nahradily do té doby používaná barviva mořidlová, jelikož se jednalo o první barviva, která měla k vybarvovanému materiálu dostatečnou afinitu i bez použití pojiva, tzv. mořidla [7,28,29].

Přímá barviva vybarvují celulózová vlákna z neutrální nebo ze slabě alkalické lázně obsahující elektrolyt, nejčastěji chlorid nebo síran sodný, prostřednictvím vodíkových můstků a van der Waalsových sil. Působení van der Waalsových sil je u přímých barviv hlavní podstatou barvení. Molekuly barviva kromě sulfoskupin obsahují i polární hydroxylové skupiny a aminoskupiny, které s hydroxylovými skupina textilních vláken tvoří vodíkové můstky. Chromoforem přímých azobarviv je azoskupina, u ostatních přímých barviv to může být např. ftalocyanin, stilben, oxazin a mnoho dalších chromoforních skupin. Používání přímých barviv k barvení je vcelku běžné, neboť disponují výhodami snadných aplikací, širokou škálou barev a odstínů a relativně nízkými náklady. Nevýhodami jsou nedostatečná stálost za mokra (při praní) a nepříliš vysoká stálost na světle. Stálosti barviv lze zvýšit přídavkem vhodného ustalovače, kdy barviva mohou tvořit komplex s mědí nebo reagovat na vlákně s kationaktivním ustalovacím prostředkem (např. kationaktivní pryskyřice), čímž dochází ke zlepšení jejich stálostí [22,28,30,31].

Přímá barviva se řadí do 4 podskupin − tzv. obyčejná přímá barviva, rybantinová barviva, azogenová barviva a barviva přímá na světle stálá (obchodně nazývaná saturnová barviva). Nejpočetnější a nejdůležitější skupinou přímých barviv jsou barviva přímá na světle stálá (obrázek 8) [1,17].



Obrázek 8: Chemická struktura C.I. Direct Blue 78

1.5.2.2. Kyselá barviva

Kyselá neboli aniontová barviva se vyskytují v podobě sodných solí sulfokyselin a vybarvují živočišná proteinová vlákna, polyamidová vlákna a přírodní hedvábí z různě kyselých nebo neutrálních barvicích lázní. Naopak nízkou afinitou disponují k vláknům celulózovým a polyesterovým. Díky obsahu sulfoskupin mají charakter silných organických kyselin a ve vodných roztocích dochází k jejich disociaci. Obecně platí, že čím je v molekule vyšší počet sulfoskupin a relativní hmotnost molekuly je menší, tím je barvivo rozpustnější ve vodě. K rozpustnosti přispívá i přítomnost karboxylových a hydroxylových skupin, jejichž kyselost může být ještě zvyšována přítomností nitroskupin v molekule kyselých barviv [14,19].

Fixace kyselých barviv na vlněná vlákna je založena na chemické reakci aniontových sulfoskupin na kationtové skupiny keratinu. Okyselením barvicí lázně se uvolní v molekule barviva kyselé sulfonové skupiny, které jsou polárně poutány k zásaditým aminoskupinám textilního vlákna důsledkem čehož se barvivo z barvicí lázně vytáhne na vlákno. Z principu tedy kyselými barvivy lze barvit všechna textilní vlákna s bazickými skupinami za tvorby příslušných solí. Nejčastěji se jako kyselá barviva používají monoazobarviva a disazobarviva poskytující širokou škálu jasných odstínů. Kyselá barviva obecně mohou mít různé chromoforní systémy založené na struktuře azosloučenin, trifenylmethanu, antrachinonu, chinolinu a mnoha dalších chromoforů. V případě kyselých azobarviv se však vždy jedná o azoskupinu [14,30,32].

Kyselá barviva se podle své chemické struktury liší afinitou a stálostmi vybarvení. Značnou důležitost u nich získává tzv. egalizační schopnost. Egálnost vybarvení či egalizace znamená rovnoměrnost vybarvení vláken barvivem a zaujímá roli jednoho z rozhodujících

kritérií kvality vybarvení. Čím je barvivo více rozpustné ve vodě, tím rovnoměrněji vybarvuje vlákna, ale zároveň má nižší mokré stálosti (stálost v praní). Naopak barviva s velkou afinitou k barvenému textilu se na vlákno váží rychle a nerovnoměrně a disponují vyššími stálostmi v praní. Takovými barvivy se barví za přítomnosti egalizačních přípravků, které optimalizují sorpci barviva a jeho migraci. Egalizaci je možné zvýšit i přídavkem správně zvolené a nadávkované kyseliny, přídavkem soli nebo regulací teploty. U kyselých barviv se kromě běžně žádaných stálostí požaduje i tzv. vysoká stálost ve valše. Přičemž valchování je specifický technologický postup při úpravě vlněných vláken, kdy dochází k povrchovému zplstění a zhutnění vláken, důsledkem čehož se tkanina zesiluje. Vysoká stálost ve valše je požadována z důvodu, že valchování probíhá v alkalickém prostředí a kyselá barviva používaná k barvení vlny musí být v tomto prostředí stálá [14,19,22].

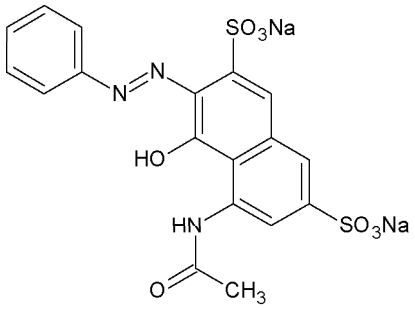
Skupina kyselých barviv se rozděluje na tzv. obyčejná kyselá barviva, na kyselá azobarviva vytvářející komplexy obsahující chrom (někdy nazývaná kyselá mořidlová, chromová barviva) a kyselá metalizovaná barviva (taktéž kyselá metalokomplexní barviva) [14].

Podle afinity, egalizačních schopností a pH barvicí lázně při barvení vlny se skupina tzv. obyčejných kyselých barviv rozděluje na následující 3 podskupiny, přičemž se jedná o barviva s malými molekulami, kdy se mezi barvivem a vláknem tvoří ion-iontové elektrostatické síly:

Silně kyselá barviva (obchodně nazývaná egacidová, obrázek 9) mají dobré stálosti na světle, dobře egalizují a vybarvují se ze silně kyselých lázní. Při barvení bavlny těmito barvivy je potřebné pH 2–3,5 vytvořené přídavkem koncentrované kyseliny sírové nebo kyseliny mravenčí, často jako přídavek figuruje i síran sodný. Silná kyselost lázně vyrovnává nižší afinitu a průměrnou nebo nižší stálost za mokra.

Slabě kyselá barviva používaná v barvicích lázních o pH 4–5,5 nastavené koncentrovanou kyselinou octovou se vyznačují delšími molekulami s dobrou afinitou a horší egalizací.

Neutrálně táhnoucí barviva (pH 5,5–7 v lázni síranu nebo octanu amonného) jsou špatně egalizující barviva výborných stálostí. Jsou tvořena delšími lineárními molekulami se skupinami schopnými tvořit polární interakce s polárními částmi proteinových vláken i nepolární interakce s hydrofobními skupinami proteinových vláken [17,22,33].



Obrázek 9: Chemická struktura C.I. Acid Red 1

1.5.3. Proces barvení

Textilní materiál se v podstatě může barvit ve všech stádiích výrobního zpracování, ať už ve formě nespředených vláken (volný materiál), česanců, nití, metráže nebo hotových kusových výrobků. Existuje strojní zařízení dvojího typu barvení, přičemž v prvním případě je barvený materiál v klidu a pohybuje se barvicí lázeň, v druhém případě je tomu naopak. Použité barvicí zařízení se vybírá i na základě stádia zpracování, ve kterém se barvený materiál nachází. Podle průběhu barvicího procesu se barvení rozlišuje na tzv. diskontinuální způsoby barvení (nazývané též lázňové barvení, barvení vytahovacím způsobem) a na kontinuální a polokontinuální způsoby barvení (klocovací způsoby). S vývojem technologie barvení se v dnešní době již využívají vysoce výkonné, moderní a automatizované barvicí soustavy, které obsahují kromě vlastního barvicího přístroje i další pomocná zařízení jako zásobníky barvicích lázní a chemikálií, zařízení pro rozpouštění barviv, zařízení pro odstranění přebytku barvicí lázně nebo sušící zařízení [17,22].

1.5.3.1. Diskontinuální způsob barvení

Diskontinuální lázňový způsob barvení je nejčastěji využívaným principem barvení, kdy se barvivo vytahuje z lázně a fixuje se na barvený materiál vlivem afinity, podle čehož se také nazývá jako vytahovací způsob barvení. Tímto principem se obvykle barví objemově menší položky při různém poměru lázně. Vodné lázně zpravidla obsahují řadu přísad – uhličitan sodný pro změkčení vody, nejrůznější soli např. chlorid sodný nebo síran sodný a další přísady pro tvorbu vhodného pH barvicí lázně. Přítomností přísad a regulací teploty je

docílena optimalizace vytahování a fixace barviva na vlákno. Za účelem dosažení co nejvyšší egálnosti vybarvení vzrůstá teplotní program při barvení pozvolna, aby se zamezilo nadměrné rychlosti sorpce barviva. Barvený materiál se nejprve smáčí v lázni o teplotě 40−60 °C, poté se v průběhu 30 až 60 minut barvicí lázeň ohřívá na maximální barvicí teplotu (cca 98 °C), při které se barví zhruba 30 až 90 minut. V případě použití tlakových aparatur (barvicí teplota nad 100 °C) se doba barvení zkracuje. Po docílení žádaného odstínu se barvicí lázeň vypustí a z obarveného textilního materiálu se praním oddělí nezafixovaná forma barviva a zbylé přísady [17,23].

Zařízení pro diskontinuální barvení představuje barvicí stroj, který může být zkonstruován tak, že v něm kromě samotného barvení lze uskutečnit i přípravu materiálu (praní, vyvářeni, bělení) a postbarvicí činnosti (praní, ustalování atd.). Strojní zařízení pro lázňové barvení existuje v několika variantách [22].

Tlakové cirkulační aparáty umožňují barvení většiny forem textilních materiálů a vyznačují se tím, že barvicí lázeň cirkuluje skrze barvený textilní materiál v uzavřeném systému vystaveném statickému tlaku při dosažení teplot až 140 °C [17].

Velmi běžným a dosud nenahraditelným zařízením pro diskontinuální barvení je stroj nazývaný **džigr**, který slouží pro barvení bavlněného a hedvábného textilního materiálu v plné šíři či takzvaně za široka. Barvená tkanina je periodicky převíjena mezi dvěma nerezovými válci, a přitom prochází skrze barvicí lázeň ve vaně. Ponoření tkaniny v lázni je pouze krátké a k probarvení dochází až v tkanině natočené na válcích. Po přetočení tkaniny z jednoho válce na druhý se chod tkaniny otáčí a opakuje se v tolika cyklech, dokud není vybarvení dostatečné. Důležitou součástí džigrů jsou vodící válečky, které snímají tah tkaniny a snaží se ji udržovat bez lomu a záhybu. V případě uzavřené konstrukce džigru je možno při zvýšeném tlaku obarvit při teplotách kolem 130 °C i nejobtížněji barvitelná polyesterová vlákna [1,17].

Další zařízení pro diskontinuální barvení se nazývá **hašple** neboli vana s vijákem a slouží pro barvení tkanin nebo pletenin se sešitými konci do provazce. Hašple je zkonstruována z velké vany se zadní zešikmenou stranou, nad kterou je umístěn viják s navinutým provazcem tkaniny. Provazec tkaniny je vijákem přetahován do zadní části vany, kde se tvoří skluz. Spadaný provazec se vrství na sebe a je skrze barvicí lázeň vijákem posouván do přední části vany k parní překážce, kde se barvicí lázeň ohřívá vodní parou. Zde je provazec vijákem vytažen z barvicí lázně a cyklus se opakuje. Z důvodů vysokých nákladů na ohřev, nedostatečné

cirkulace lázně a značné spotřeby barviv se toto zařízení prakticky téměř nevyužívá [1,17].

Účelnější náhradou strojní koncepce hašplí pro barvení v provazcích se staly **tryskové barvicí aparáty** (z anglického jazyka zvané JET aparáty), které v porovnání s hašplemi dosahují podstatně rychlejšího oběhu provazce v uzavřených tlakových nádobách. V těchto hydrodynamických vysokoteplotních strojích s tryskovým principem barvení dochází k pohybu provazce prostřednictvím cirkulace barvicí lázně. Značnou výhodou je, že nedochází u provazce k tvorbě lomů a pouhým unášením v lázni je omezeno pnutí provazce. Tento typ aparátu se s výhodou používá také pro barvení polyesterových vláken [1,17].

K barvení kusových výrobků se používají bubnové stroje, lopatkové stroje nebo tryskové barvicí stroje uzpůsobené pro kusový materiál [17].

1.5.3.2. Kontinuální a polokontinuální způsob barvení

Základem kontinuálního a polokontinuálního barvení je tzv. klocování (napouštění) délkové textilie koncentrovanou barvicí lázní na fuláru a následné zafixování barviva pomocí vhodných podmínek (odležení za studena/tepla, působení suchého/vlhkého tepla, chemická reakce). U klocovacího způsobu barvení se na rozdíl od vytahovacího způsobu nevyužívá afinita barviva k barveným vláknům. Klocovacích způsobů se využívá k barvení bavlněného textilu ve větších plochách nejčastěji barvivy reaktivními, kypovými a sirnými. Umožňují vysoké využití barviva a jejich ekonomická výhodnost spočívá v tom, že nanášení barviva probíhá za výhodného poměru barvicí lázně. Klocovací lázně obsahují kromě příslušných barviv případně i smáčecí či dispergační přípravky a chemikálie potřebné pro eventuální pozdější reakce (např. zkypování u kypových barviv). Po dokončení samotného barvení jsou zařazeny operace zajišťující odstranění nezafixovaného barviva a barvicích přísad (proplachování, mydlení, praní). Posledním krokem je sušení obarveného textilního materiálu [22,23].

Základním zařízením pro první fázi kontinuálního a polokontinuálního barvení je **barvicí fulár**, ve kterém dochází k nanášení barvicí lázně na textilní materiál. Existují různé konstrukce fulárů podle jejich použití v kontinuálním, polokontinuálním barvení či při zušlechťovacích technologiích. Liší se počtem a umístěním válců, tvrdostí potahů válců (vrstva chemicky a teplotně odolné pryže), dosažených přítlaků válců nebo tvarem a objemem

vany. Všechny fuláry jsou však založené na jednoduchém principu krátkého průchodu barvené textilie vanou naplněnou barvicí lázní a následném prostupu obarvené textilie přes dvojici či více odmačkávacích válců umístěných nad vanou. Válce zajišťují vyždímání přebytku barvicí lázně, který steče zpět do vany [17,22].

Při druhé fázi dochází k fixaci naklocovaného barviva především difúzí barviva dovnitř vláken provázená adsorpcí molekul barviva na polymer vlákna. Cílem fixace je dosažení co největšího probarvení vláken [17].

U polokontinuálního barvení se fixace uskutečňuje technologií **Pad-Roll** (fixace za tepla v nábalu), kdy se tkanina po naklocování zahřeje při průchodu zónou infračerveného záření a nabalí se do nábalu ve vyhřívané komoře v prostředí syté páry o teplotě 100 °C. V případě **Pad-Batch** (fixace odležením) se tkanina obarvená reaktivními nebo kypovými barvivy zafixuje tím, že se nechá odležet určitý čas v závislosti na typu použitého barviva. Technologie **Pad-Jig** kombinuje zařízení fuláru s džigrem, kdy fixace i následná doúprava probíhá na džigru. Jedná se o velmi běžné uspořádání pro textilie barvené indigosoly, reaktivními a kypovými barvivy [17].

Kontinuální barvení probíhá na kontinuální barvicí lince skládající se ze strojů, které zajišťují nános barviva, jeho fixaci a dokončující práce (praní a usušení textilie). Nejpoužívanější možností zajištění fixace je technologie **Pad-Steam** (fixace pařením), kdy se barvivo v prvním fuláru naklocuje na celulózové vlákno, následně se textilie předsuší a v dalším fuláru se naklocují chemikálie pro fixaci barviva na vlákně. Fixace je zprostředkována pařením parou (sytou nebo předehřátou) v pařáku. Fixace barviva suchým teplem se využívá v technologii **Pad-Termofix** (celulózová vlákna) a **Termosol** (syntetická vlákna), kdy se naklocovaná a usušená tkanina vede do termokomory, kde je vystavena horkému vzduchu o teplotě 180−220 °C po dobu zhruba 30−90 sekund. Nejméně využívaným způsobem je fixace barviva na vanách, kterou využívá technologie **Pad-Salt**. Jedná se o fixaci v solných lázních, ke které dochází na lince několika válečkových van s lázněmi obsahujícími přísady zvyšující afinitu barviv k barvenému vláknu [17,22,23].

1.6. Primární aromatické aminy

Primární aromatické aminy jsou deriváty uhlovodíků obsahující ve své molekule skupinu $-NH_2$ navázanou na jednom nebo více aromatických jader. Jejich chemické vlastnosti ovlivňuje volný elektronový pár na dusíku. Aminy obecně mají bazický charakter a jsou schopné protonizace za vzniku amoniových solí. Aromatické aminy jsou v porovnání s alifatickými aminy méně bazické z důvodu konjugace volného elektronového páru dusíku s π-elektrony aromatického jádra. Polarita dusíku umožňuje rozpustnost alifatických aminů ve vodě, která klesá s jejich rostoucí molekulovou hmotností. Aromatické aminy jsou oproti tomu ve vodě nerozpustné, ale rozpustné v alkoholech a dalších polárních organických rozpouštědlech. Molární hmotnost aromatických aminů má vliv na jejich skupenství, nižší z nich se vyskytují jako kapaliny (např. anilin), vyšší pak jako pevné látky [34,35].

PAA se široce používají jako vstupní suroviny při výrobě léčiv, pesticidů, výbušnin, epoxidových polymerů, kaučuků, aromatických polyuretanových produktů a při výrobě azobarviv. Azobarviva se dále používají k barvení přírodních a syntetických textilních materiálů, plastu, papíru, v tiskařských barvách, lacích a lepidlech, farmaceutických a kosmetických výrobcích, potravinách a obalových materiálech. V těchto produktech obarvených azobarvivy může být nežádoucí výskyt PAA způsoben neúplnými reakcemi, nečistotami, vedlejšími produkty nebo se PAA vyskytují jako redukční produkty degradace. PAA se v životním prostředí objevují důsledkem spalování rostlinné hmoty bohaté na bílkoviny či kouřením tabáku [36,37].

1.6.1. Vznik a toxikologie PAA

Při určitých redukčních podmínkách dochází ke štěpení azoskupin v azobarvivech a k vzniku potenciálně nebezpečných PAA. Redukční pochody nastávají za přítomnosti různých redukčních činidel – lze redukovat železem v přítomnosti kyseliny (kyselina sírová či kyselina chlorovodíková), monosodnými nebo disodnými solemi sulfanu (např. sulfid sodný), zinkem v přítomnosti kyselin/zásad či dithioničitanem sodným (hydrogensiřičitanem sodným) [38].

Mezi PAA lze zařadit jednak strukturně jednoduché sloučeniny (anilin), tak i komplexní molekuly s konjugovanou aromatickou konstrukcí a vícenásobnými substituenty. Se strukturní

rozmanitostí se liší i jejich chemické a biologické vlastnosti, toxicita a biologická rozložitelnost. Některé PAA jsou klasifikovány jako prokázané nebo podezřelé karcinogeny, teratogeny či mutageny. Jako jedna z hlavních cest genotoxicity PAA se uvádí jejich biochemická aktivace prostřednictvím N-hydroxylace, následovaná sulfatací, esterifikací nebo acetylační reakcí. Zmíněné procesy vedou ke vzniku reaktivních meziproduktů schopných vázat se na molekuly DNA. Bylo také zjištěno, že nitrosoarylové a N-hydroxyarylové meziprodukty PAA působí určitým mechanismem toxicky i prostřednictvím interakce s hemoglobinem, což by mohlo vést k methemoglobinemii. Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (IARC) uvedla, že PAA nesoucí methylové nebo methoxyskupiny v poloze ortho- často představují karcinogenní riziko pro člověka [36–38].

Celá řada možných zdravotních rizik spojená s působením PAA na lidský organismus vedla k regulačním opatřením nejen v rámci EU, ale i celosvětově. Jedná se o regulaci množství těchto látek v textilních a kožených produktech, které mají potenciál ovlivnit zdraví člověka. PAA mohou do organismu vstoupit pokožkou, dýchacím nebo trávicím ústrojím. Při styku pokožky s obarveným textilem může docházet k biotransformaci azobarviv kožními bakteriemi či z důvodu působení jiných vlivů za vzniku PAA, které jsou do jisté míry dermálně absorbovány a výjimečně mohou vyvolávat i alergické kožní reakce. Akutní otrava PAA se projevuje nejčastěji nevolnostmi spojenými s bolestmi hlavy, při dlouhodobém vystavení lidského těla těmto látkám může dojít k výskytu chronických onemocnění. PAA jsou v lepším případě z lidského organismu vylučovány v nezměněné podobě nebo jsou naopak odbourávány metabolickými procesy za možného vzniku mnohem více karcinogenních látek [39–41].

Znalosti o karcinogenezi PAA jsou však stále neúplné. Získané informace byly nejčastěji založeny na studiích na zvířatech a nelze odhadnout, do jaké míry dochází k implementaci u lidského organismu. Vedle sledované skupiny „regulovaných“ PAA navíc vystupují i dosud „neregulované“ PAA, jejichž databáze toxicity zatím nejsou dostatečné nebo o nich toxikologická data vůbec neexistují. Je uváděno, že z 896 azobarviv se známou chemickou strukturou se pouze 48 % redukčně štěpí na jeden nebo více z 22 regulovaných PAA (v rámci nařízení REACh). Zbylých 52 % azobarviv může být redukčně štěpeno na dosud neregulované PAA o stále neznámé toxicitě [42].

1.6.2. Legislativa PAA

Původně byla problematika PAA regulována ve Směrnici Evropského parlamentu a Rady č. 2002/61/ES o omezeních při uvádění některých nebezpečných látek a přípravků na trh a jejich používání (azobarviva). Tato směrnice byla nahrazena Nařízením Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1907/2006 (REACh – nařízení o registraci, hodnocení, povolování a omezování chemických látek), ve kterém jsou PAA regulovány v příloze č. XVII: omezení výroby, uvádění na trh a používání některých nebezpečných látek, směsí a předmětů, v bodě č. 43: *„Azobarviva, která mohou redukčním štěpením jedné nebo více azoskupin uvolnit jeden nebo více aromatických aminů uvedených v dodatku 8 ve zjistitelných koncentracích, tj. v koncentracích vyšších než 30 mg/kg (0,003 % hmotnostních), v předmětech nebo v jejich obarvených částech, podle metod zkoušení uvedených v dodatku 10, se nesmí používat v textilních a kožených výrobcích, které mohou přicházet do přímého a dlouhodobého styku s lidskou kůží nebo ústní dutinou, jako jsou:*

- *oděvy, lůžkoviny, ručníky, vlásenky, paruky, klobouky, pleny a jiné hygienické prostředky, spací pytle,*
- *obuv, rukavice, řemínky, kabelky, náprsní tašky, peněženky, aktovky, potahy sedadel, váčky na peníze na krk,*
- *hračky z textilu nebo kůže a hračky, jejichž součástí jsou textilní nebo kožené oděvy,*
- *příze a textilie určené pro konečného spotřebitele.“* [43].

Ve všech zmíněných konečných výrobcích musí být dodržován limit pro celkový obsah PAA do 30 mg/kg (30 ppm). Limit platí pro 22 „regulovaných“ PAA z dodatku 8 (tabulka 1), které jsou klasifikovány jako prokázané nebo podezřelé lidské karcinogeny.

Tabulka 1: Aromatické aminy regulované nařízením REACh 1907/2006/příloha XVII [44]

	Číslo CAS	Indexové číslo	Číslo ES	Sloučeniny
1.	92-67-1	612-072-00-6	202-177-1	bifenyl-4-ylamin 4-aminobifenyl xenylamin
2.	92-87-5	612-042-00-2	202-199-1	benzidin
3.	95-69-2		202-441-6	4-chlor-*o*-toluidin
4.	91-59-8	612-022-00-3	202-080-4	2-naftylamin
5.	97-56-3	611-006-00-3	202-591-2	2-methyl-4-(2- methylfenylazo) anilin *o*-aminoazotoluen 4-amino-3,2'-dimethylazobenzen 4-*o*-tolylazo-*o*-toluidin
6.	99-55-8		202-765-8	5-nitro-o-toluidin
7.	106-47-8	612-137-00-9	203-401-0	4-chloranilin
8.	615-05-4		210-406-1	4-methoxy-*m*-fenylendiamin
9.	101-77-9	612-051-00-1	202-974-4	4,4'-methylendianilin 4,4'-diaminodifenylmethan
10.	91-94-1	612-068-00-4	202-109-0	3,3'-dichlorbenzidin 3,3'-dichlorbifenyl-4,4'-ylendiamin
11.	119-90-4	612-036-00-X	204-355-4	3,3'-dimethoxybenzidin *o*-dianisidin
12.	119-93-7	612-041-00-7	204-358-0	3,3'-dimethylbenzidin 4,4'-bi-*o*-toluidin
13.	838-88-0	612-085-00-7	212-658-8	4,4'-methylendi-*o*-toluidin
14.	120-71-8		204-419-1	6-methoxy-*m*-toluidin *p*-kresidin
15.	101-14-4	612-078-00-9	202-918-9	4,4'-methylen-bis-(2-chloranilin) 2,2'-dichlor-4,4'-methylendianilin
16.	101-80-4		202-977-0	4,4'-oxydianilin
17.	139-65-1		205-370-9	4,4'-thiodianilin
18.	95-53-4	612-091-00-X	202-429-0	*o*-toluidin 2-methylanilin
19.	95-80-7	612-099-00-3	202-453-1	4-methylbenzen-*m*-fenylendiamin
20.	137-17-7		205-282-0	2,4,5-trimethylanilin
21.	90-04-0	612-035-00-4	201-963-1	*o*-anisidin 2-methoxyanilin
22.	60-09-3	611-008-00-4	200-453-6	4-amino azobenzen

Stanovení PAA po redukci je vyžadováno také pro textilní certifikace barviv (např. certifikáty GOTS a ECO Passport by OEKO-TEX®) a pro certifikace konečných textilních výrobků (certifikáty OEKO-TEX®, bluesign®, Inditex a další).

1.6.3. Stanovení PAA

Problematika stanovení PAA v různých matricích je v současnosti často zmiňované téma v souvislosti s prokázanou, resp. podezřelou karcinogenitou. Jednou z oblastí, kde jsou PAA sledovány, jsou i pigmenty a barviva, kde se tyto látky mohou vyskytovat jako rezidua z výroby nebo jako degradační produkty. Možné alternativní metody stanovení PAA, včetně vlivu matrice, mohou být následující.

Abe et al. se zabýval stanovením reziduálních a migračních obsahů PAA v polyuretanových a nylonových hračkách pomocí LC-MS/MS a v textilních hračkách pomocí LC-TOF/MS [45].

Dall'anese et al. kvantitativně stanovil 26 PAA odvozených od azobarviv v textilním materiálu pomocí LC-MS/MS. Díky tandemovému uspořádání hmotnostních detektorů zajistil minimalizaci vlivu matrice a mohly tak být separovány a rozlišeny i některé strukturní izomery PAA, díky čemuž se snížila spotřeba reagencií potřebných pro doplňkovou analýzu [42,46].

Kolado et al. zkoušel migraci PAA z plastových obalových materiálů do potravin. Detekce PAA byla založena na spektrofotometrické metodě zahrnující diazotaci PAA a následné kopulaci získané diazoniové soli s N-(1-naftyl)ethylendiaminem za vzniku azobarviva spektrofotometricky měřeného při vlnové délce 550 nm, což je vlnová délka odpovídající absorpčnímu maximu azobarviva jako produktu diazotačních a kopulačních reakcí anilinu. Tato metoda umožňuje rychlý screening součtu PAA vyjádřených jako obsah anilinu [47].

Asthana et al. provedl stanovení PAA prostřednictvím elektromigračních separačních metod, a to konkrétně pomocí kapilární elektroforézy ve vzorcích vod. Amperometrická detekce byla dostatečně citlivá pro anilin a většinu jeho derivátů, nikoliv však pro chlorované sloučeniny (např. 4-chloranilin). Mnohem úspěšnější byla alternativní fluorescenční detekce, která zahrnovala derivatizaci analytů s fluoreskaminem a detekci derivátů pomocí micelární elektrokinetické chromatografie [48].

Pielesz se dokázal oprostit od myšlenky nutnosti identifikace PAA pomocí

chromatografických metod a představil identifikaci PAA pomocí infračervené spektroskopie s Fourierovou transformací [49].

1.6.3.1. Stanovení PAA v textilních materiálech

Stanovení se provádí dle normy ČSN EN ISO 14362 Textilie – Metody pro zjišťování určitých aromatických aminů odvozených od azobarviv. Norma se dělí na dvě části:

- ČSN EN ISO 14362-1: Zjišťování použití určitých azobarviv stanovitelných extrakcí a bez extrakce vláken [50].
- ČSN EN ISO 14362-3: Zjišťování použití určitých azobarviv, které mohou uvolňovat 4-aminoazobenzen [51].

Norma ČSN EN ISO 14362-1/3 umožňuje použití různých chromatografických metod pro stanovení PAA vzniklých redukčním štěpením z azobarviv. Mezi možné způsoby stanovení patří chromatografie na tenké vrstvě (TLC) s fluorescenční detekcí, vysokoúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostním detektorem (HPLC/MS) nebo detektorem s diodovým polem (HPLC/DAD), plynová chromatografie s hmotnostním detektorem (GC/MS) či kapilární elektroforéza (CE). V případě pozitivního nálezu PAA zvolenou separační metodou musí být výsledek potvrzen pomocí alternativní metody. Toto opatření je zavedeno z důvodu zabránění nesprávné identifikace interferencí matrice nebo strukturních izomerů (např. 4-chloranilin/ 3-chloranilin, 1-naftylamin/2-naftylamin nebo o-toluidin/m-toluidin/p-toluidin) [50,51].

1.6.3.1.1. ČSN EN ISO 14362-1

V této evropské normě je popsán pracovní postup určený ke zjištění azobarviv, jejichž použití není povoleno při výrobě nebo úpravě produktů zmiňovaných v bodě č. 43 příloze č. XVII nařízení REACh. Azobarviva přímo redukovatelná bez extrakce (všechny typy azobarviv kromě disperzních) se používají k barvení celulózových, proteinových i syntetických vláken. V případě použití disperzních barviv, kterými se barví pouze vlákna syntetická, je nejprve nutná extrakce chlorbenzenem.

Tato část normy popisuje pracovní postup pro stanovení PAA uvolněných redukčním štěpením z azobarviv jednak v barevných textiliích (obarvené, potištěné i povrstvené textilie), ale i přímo v samotných azobarvivech (norma ČSN EN ISO 14362-1 příloha F). V případě stanovení PAA v textiliích je zkušební vzorek v podobě 1 g textilie nastříhané na malé kousky. Pokud není analyzovaný textilní výrobek jednotný, je nutné odebrat zkušební vzorky ze všech částí výrobku (plošná textilie, podšívky, výšivky, štítky, šicí nitě atd.). Při analýze PAA ve formě samotného azobarviva se danému postupu podrobuje zkušební vzorek o hmotnosti 200 mg [50].

Azobarviva štěpící se na 4-aminoazobenzen (4-AAB) by se měla podrobit normě ČSN EN ISO 14362-3.

1.6.3.1.2. ČSN EN ISO 14362-3

U azobarviv poskytujících redukcí 4-AAB dochází při podmínkách metody normy ČSN EN ISO 14362-1 k redukčnímu štěpení 4-AAB dále na anilin a 1,4-fenylendiamin (p-FDA). Norma uvádí, že z důvodu hranice citlivosti je možné kvantifikovat pouze vzniklý anilin (pokud je jeho množství minimálně 5 mg/kg), nikoliv p-FDA. Anilin a p-FDA nejsou zahrnuty v rámci nařízení REACh mezi „regulovanými" PAA, ale jejich přítomnost se sleduje vzhledem k jejich případné toxicitě a signalizaci možného výskytu 4-AAB [50].

Norma ČSN EN ISO 14362-3 popisuje speciální postup pro detekci 4-AAB uvolněného z azobarviv, která jsou přístupná redukčnímu činidlu bez extrakce (kromě disperzních všechny typy azobarviv použitelných pro bavlněná a vlněná vlákna) i těm, která jsou přístupná redukčnímu činidlu až po extrakci vláken (disperzní barviva). Přítomnost 4-AAB může být potvrzena až na základě doplňujících informací, které souvisí se znalostí chemické struktury barviva (potvrzení uvolnění 4-AAB ze struktury barviva) či na základě případných dalších postupů. V případě zjistitelné hladiny 4-AAB se pozitivní výsledek musí potvrdit minimálně jednou alternativní metodou [51].

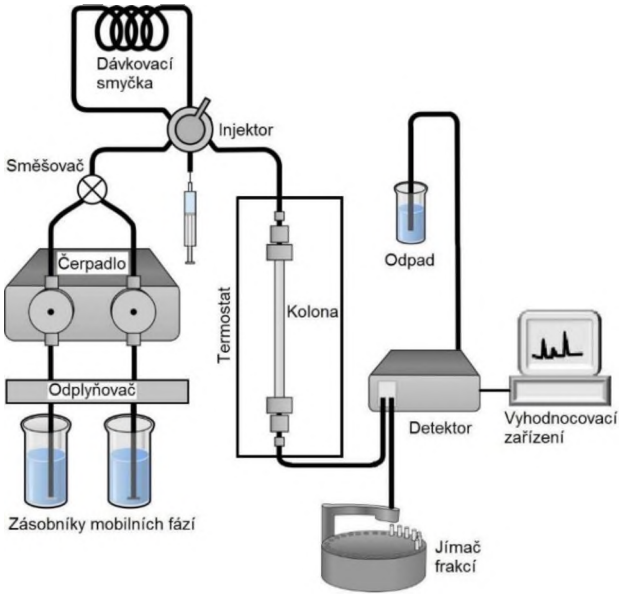
1.7. Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC) představuje moderní separační metodu, která je založena na distribuci složek mezi dvěma nemísitelnými fázemi. V HPLC se mohou uplatňovat různé mechanismy separace – adsorpce, rozdělovací rovnováha, iontová výměna, molekulově sítový efekt nebo afinitní interakce. V současnosti se jedná o široce rozšířenou analytickou techniku, která se využívá napříč mnoha odvětvími (průmysl, věda, farmaceutika, analýza životního prostředí a mnoho dalších). Daná separační metoda je vhodná pro početnou škálu analytů od jednoduchých organických molekul až po složité polymerní látky [52−54].

Principem je využívání stále opakované distribuce analyzovaných látek mezi dvě nemísitelné fáze, a to mezi stacionární fází (SF) a mobilní fází (MF). Kapalná pohyblivá fáze (MF) s nadávkovaným vzorkem obsahujícím analyzované látky protéká za vysokého tlaku skrze chromatografickou kolonu, která je naplněna fází nepohyblivou (SF). Základem separace analyzovaných látek je jejich různá afinita k MF a SF. Výsledkem rozdílné retence jednotlivých složek vzorku dochází k tomu, že eluát vycházející z kolony obsahuje rozseparované složky, které jsou dále detekovány příslušným detektorem na základě odlišnosti jejich fyzikálně-chemických vlastností [53,55,56].

1.7.1. Instrumentace HPLC

Přístrojová instrumentace pro uskutečnění HPLC analýzy se nazývá kapalinový chromatograf a jeho obecné schéma je znázorněno na obrázku 10, kde jsou pojmenovány i jeho základní části. Funkčnost kapalinového chromatografu souvisí se zajištěním spolehlivého transportu MF skrze celý chromatografický systém, separací složek vzorku na chromatografické koloně, detekcí těchto složek prostřednictvím vhodného detektoru a následném záznamu dat a jejich správné interpretace. Mezi nezbytné části kapalinového chromatografu patří jedno nebo více čerpadel, dávkovací zařízení, kolona umístěná v termostatu, detektor a vyhodnocovací zařízení. Součástí instrumentace však mohou být i další části, například prekoncentrační kolony, derivatizační reaktory v případě nutnosti uskutečnění derivatizačních reakcí či přítomnost více sériově zapojených detektorů za účelem zlepšení citlivosti a selektivity detekce [53].



Obrázek 10: Schéma kapalinového chromatografu [57]

Čerpadla jsou konstruována z odolných materiálů vůči korozi a vysokým tlakům (až 130 MPa) a musí být schopna zabezpečit stabilní průtok MF v celé škále pracovních tlaků. Využívá se dvou módů čerpání − podle časového složení MF se eluce dělí na izokratickou, kterou představuje konstantní složení MF po celé trvání analýzy (voleno v případech jednoduché separace a bezproblémové eluce analytů), a gradientovou, kdy se složení MF mění v čase. Při gradientové eluci se změnou složení i průtoku MF dochází v průběhu separace ke zvyšování eluční síly MF a s výhodou se využívá pro vzorky s odlišnou retencí. Umožňuje zrychlení analýz složitých směsí, lepší rozlišení píků a zlepšuje citlivost [58,59].

Zvolení typu a složení **mobilní fáze** má zásadní vliv na eluční charakteristiky. Podle polarity zvolené MF a SF se HPLC dělí na separační systém s obrácenými fázemi (RP) a separační systém s normálními fázemi (NP). V dnešní době nejrozšířenějším systémem je RP, kdy je MF polárnější než SF. V takovém případě je MF nejčastěji tvořena směsí organických rozpouštědel (methanol, acetonitril) a vody s možným přídavkem kyseliny, alkálie nebo pufru pro udržení stálého pH. Jako SF pro RP mód jsou voleny nepolární fáze typu uhlovodíkových řetězců (C_8, C_{18}) chemicky vázaných na nosiči (silikagel), kopolymery styrenu nebo sorbenty na bázi grafitizovaného uhlíku [53,60].

Při **dávkování vzorku** je prvořadé zajistit zavedení přesného a reprodukovatelného

množství analyzovaného vzorku do toku MF. Dávkování může být uskutečněno manuálně pomocí vícecestného dávkovacího ventilu se smyčkou o různém objemu nebo automatickými dávkovači (autosamplery), které umožňují automatické dávkování vzorků s eliminací lidského faktoru a zefektivnění analýz [59,61].

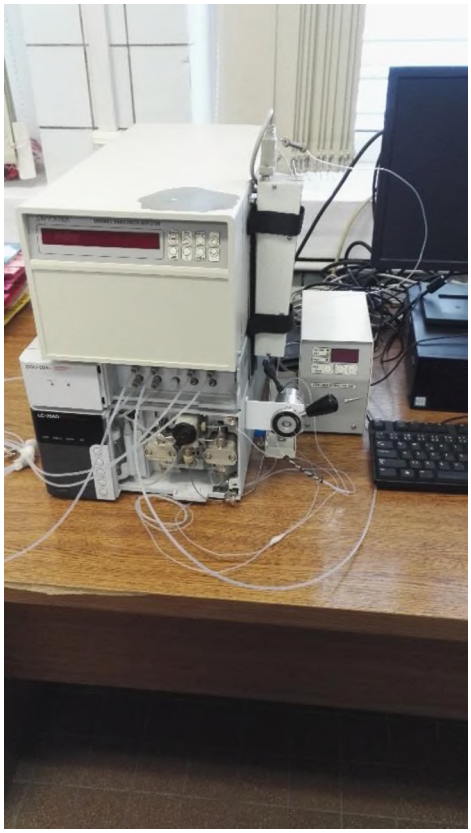
Kolonu představuje nejčastěji trubice vyhotovená z kovu (nejčastěji nerezová ocel). Plášť kolony musí být odolný vůči vysokým tlakům, vyrobený z chemicky inertního materiálu a jeho vnitřní povrch musí být dostatečně hladký. Běžná analytická kolona je obvykle 5 až 30 cm dlouhá, o vnitřním průměru 2 až 5 mm a je naplněna sorbentem (pórovitá náplň s částečkami o průměru 1,6 až 5 μm). Na výslednou separační účinnost má vliv typ zakotvené SF na nosiči, dále také velikost, tvar, porozita, struktura a homogenita částic SF. Před kolonou bývá často zařazen jako ochranný prvek tzv. předkolona se stejnou SF, která zachytává mechanické nečistoty. Kolona i s předkolonou jsou umístěny ve vyhřívaném termostatu o konstantní teplotě, jelikož teplota ovlivňuje retenci látek [58,59].

Poslední částí chromatografu jsou **detektory**, jejichž hlavním úkolem je generovat signál přímo úměrný množství analytu ve vzorku na výstupu z kolony, a tím zajistit kvantitativní a současně i kvalitativní analýzu měřeného vzorku. Pokud je analyzovaná směs látek na koloně dobře rozdělena, přísluší každé složce ze směsi právě jeden pík na záznamu analýzy − chromatogramu. Konkrétní typy na trhu běžně dostupných detektorů se odlišují principem fungování, konstrukcí, selektivitou, citlivostí, mezí detekce a lineárním dynamickým rozsahem. V HPLC analýzách jsou používány spektrofotometrické detektory pracující v UV/VIS oblasti spektra (s nastavitelnou vlnovou délkou nebo detektory s diodovým polem DAD, které snímají celé spektrum v reálném čase) a fluorimetrické detektory. Využívají se taktéž detektory elektrochemické (amperometrický a coulometrický), refraktometrický, vodivostní a velice výhodné je online spojení HPLC s hmotnostním spektrometrem jako detektorem, který vedle detekce umožňuje i identifikaci a strukturní analýzu látek ve velmi složitých směsích [58,59,61].

2. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1. Přístroje a pomocná zařízení

- modulární kapalinový chromatograf složený z čerpadla LC-20AD, degaseru DGU-20A$_5$ (Shimadzu, Japonsko), UV/VIS detektoru Sapphire 600, dávkovacího ventilu s vnější smyčkou o objemu 5 µl a termostatu kolony LCD 102 Single (vše Ecom, Česká republika) (obrázek 11)
- mikrostříkačka 100 µl (Hamilton, USA)
- modulární kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies, USA) složený z kvarterního čerpadla s maximálním tlakem 800 bar a nastavitelným průtokem 0,1−10 ml/min, autosampleru s dávkovaným objemem 0,1−100 µl, kolonového termostatu (10−80 °C), detektoru s diodovým polem (rozsah vlnových délek 190−950 nm, záznam analýzy až při 8 vlnových délkách současně) (obrázek 12)



Obrázek 11: LC Shimadzu/Ecom

Obrázek 12: HPLC Agilent Infinity II

- kolona Poroshell 120 EC C18; 3,0 x 150 mm; 4 μm (Agilent Technologies, USA)
- předkolona Poroshell 120 EC C18; 3,0 x 5 mm; 2,7 μm (Agilent Technologies, USA)
- analytické váhy AE 200 (Mettler Toledo, USA)
- automatické pipety o různém objemu (Fisherbrand, Finsko)
- ultrazvuková lázeň SONOREX (Bandelin, Německo)
- odstředivka EBA 200 (Hettich, Německo)
- centrifugační zkumavky 15 ml (VWR Chemicals, USA)
- třepačka LT2 (Kavalier, ČR)
- Kuderna-Danish aparatura
- koncentrátor MINI-100N MINI Sample Concentrator (MIULAB, Čína)
- křemelinové patrony EXtrelut NT 20 (Merck, Německo)
- magnetické míchadlo s ohřevem (Heidolph, Německo)
- plotýnkový elektrický vařič (Eta, ČR)
- injekční stříkačky Norm–Ject 3 ml (VWR Chemicals, USA)
- membránové stříkačkové filtry PTFE 0,2 μm (VWR, USA)
- vialky (Agilent Technologies, USA)
- vakuový separátor Dorcus (Tessek, ČR)
- plastové SPE kolonky SILICA-cart (Tessek, ČR)
- rotační vakuová odparka (Heidolph, Německo)
- spektrofotometr SPECORD 50 PLUS (Analytik Jena, Německo), kyvety (1 cm)
- odměrné a běžné laboratorní sklo
- sušárna Memmert UN (Memmert, Německo)

2.2. Chemikálie

- methanol pro HPLC (Fisher Chemical, UK)
- acetonitril pro HPLC (Fisher Chemical, UK)
- deionizovaná voda upravená přes zařízení na úpravu vody Demiwa 10 ROSA + IWA 20 iol (Watek, ČR)
- terc-butylmethylether 98% (PENTA, ČR)

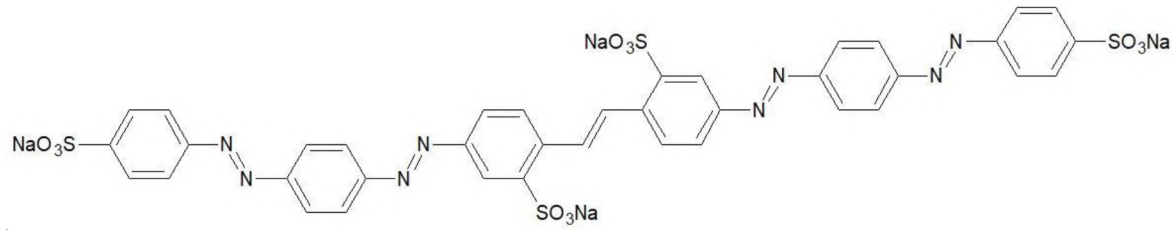
- hydroxid sodný (Lach-Ner, ČR)
- chlorid sodný (Lach-Ner, ČR)
- kyselina citronová (PENTA, ČR)
- dodekahydrát hydrogenfosforečnanu sodného (Lachema, ČR)
- dithioničitan sodný (PENTA, ČR)
- octan amonný (Lach-Ner, ČR)
- kyselina mravenčí 98% (Lach-Ner, ČR)
- dichlormethan (Lach-Ner, ČR)
- 4-aminoazobenzen 98% (TCI, Japonsko)
- anilin 98% (TCI, Japonsko)
- p-fenylendiamin 97% (Lach-Ner, ČR)
- benzidin 99,6% (Pharmaffiliates, Indie)
- o-toluidin 99% (TCI, Japonsko)
- 4-chloranilin 99% (TCI, Japonsko)
- p-kresidin 98% (TCI, Japonsko)
- 2-naftylamin 99% (Sigma-Aldrich, USA)
- 1-naftylamin 98% (Sigma-Aldrich, USA)
- 4-aminobifenyl 98% (Alfa Aesar, USA)

2.3. Analyzované vzorky

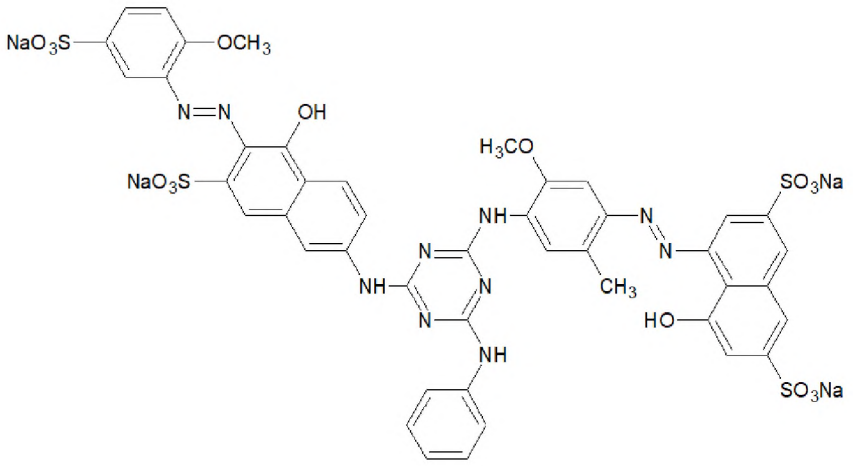
Pro potřeby diplomové práce bylo společností Synthesia, a.s. poskytnuto 5 vzorků sypkých barviv neurčených pro komerční účely (obrázek 13), vodné lázně (barvicí lázně o známé koncentraci barviva a zbytkové lázně) a dále obarvené textilní materiály (ustálená a neustálená bavlněná tkanina, vlněná tkanina; obrázek 14). Chemické struktury analyzovaných azobarviv a jejich C.I. jsou znázorněny na následujících obrázcích (obrázek 15−19). Analyzován byl také jeden zakoupený komerční textilní výrobek a 3 obarvené textilní materiály poskytnuté firmou CityZen s.r.o.

Obrázek 13: Analyzovaná azobarviva

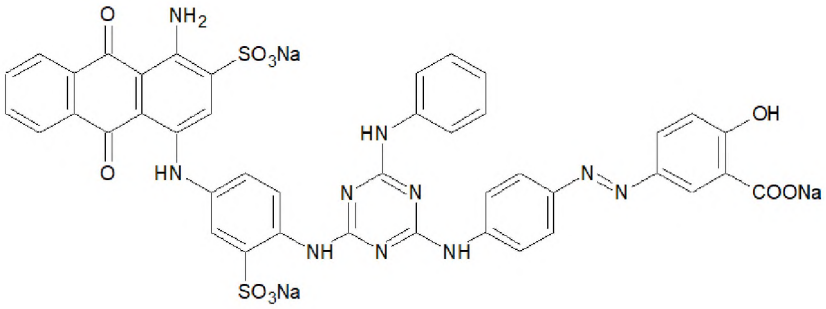
Obrázek 14: Analyzovanými azobarvivy obarvené textilie



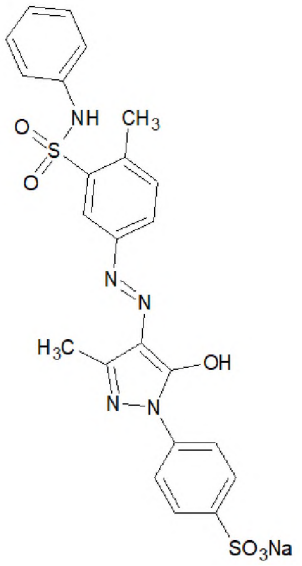
Obrázek 15: Barvivo č. 1 (C.I. Direct Orange 39)



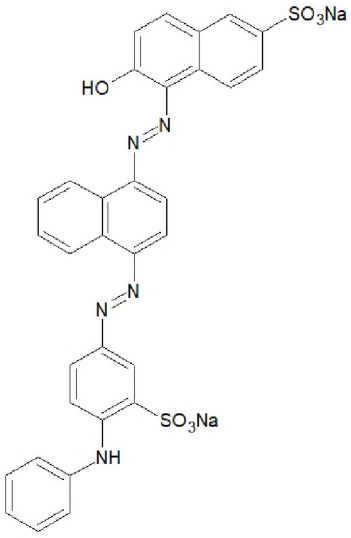
Obrázek 16: Barvivo č. 2 (C.I. Direct Red 89)



Obrázek 17: Barvivo č. 3 (C.I. Direct Green 28)



Obrázek 18: Barvivo č. 4 (C.I. Acid Yellow 25)



Obrázek 19: Barvivo č. 5 (C.I. Acid Black 26)

2.4. Pracovní postupy

2.4.1. Příprava kalibračních řad standardů PAA

Zásobní roztoky byly připraveny navážkou 50 mg standardů do 100ml odměrných baněk a doplněny 50% vodným MeOH po rysku. V případě p-kresidinu bylo naváženo 50 mg standardu do 50ml odměrné baňky. Z uvedených zásobních roztoků byly připraveny kalibrační roztoky v rozmezích, která jsou uvedena v tabulce 2. Kalibrační řady byly připraveny pouze pro PAA, které byly nalezeny v analyzovaných vzorcích barviv.

Tabulka 2: Koncentrační rozsahy standardů PAA

standard	koncentrační rozsah [mg/ml]
p-FDA	0,00005 – 0,125
anilin	0,00005 – 0,125
p-kresidin	0,00010 – 0,050
4-AAB	0,00005 – 0,125
2-naftylamin	0,00005 – 0,125
1-naftylamin	0,00005 – 0,125

2.4.2. Příprava vzorků k analýze

2.4.2.1. Norma ČSN EN ISO 14362-1

Všechny vzorky byly zpracovány stejným způsobem tak, že na analytických vahách byl navážen 1 g na kousky nastříhaného textilního materiálu resp. 0,2 g sypkého azobarviva.

K naváženému vzorku byly odpipetovány 2 ml MeOH a obsah byl smočen 15 ml 0,06 M citrátového pufru o pH = 6 vyhřátého ve vodní lázni na 70 °C. Baňka byla uzavřena, protřepána a temperována (30 minut; 70 °C). Po této době se do baňky přidaly 3 ml vodného roztoku dithioničitanu sodného o koncentraci 200 g/l připraveného bezprostředně před použitím, baňka se opět uzavřela, protřepala a nechala se temperovat (30 minut; 70 °C). Následovalo zchlazení na laboratorní teplotu.

Do zchlazené směsi bylo přidáno 0,2 ml 10% roztoku hydroxidu sodného, obsah byl promíchán a přelit do křemelinové patrony s vyústěním do srdčité baňky, kde se vzorek nechal absorbovat. Pro kvantitativní převedení byla reakční baňka propláchnuta 10 ml terc-

butylmethyletheru (TBME) a po 15 minutách přelita do křemelinové patrony. Baňka byla opakovaně propláchnuta (10 ml TBME; 15 minut). Eluce veškerých PAA z křemelinového sorbentu byla zprostředkována prolitím 60 ml TBME.

Vzniklý TBME extrakt v srdčité baňce byl zakoncentrován zhruba na 1 ml pomocí Kuderna-Danish aparatury (obrázek 20) a zbytek organického rozpouštědla byl odstraněn mírným proudem inertního plynu (dusík). K extraktu byl přidán 1 ml 50% vodného MeOH a obsah byl zhomogenizován. Vzorek byl zfiltrován přes PTFE filtr do vialky a neprodleně analyzován na kapalinovém chromatografu.

Obrázek 20: Kuderna-Danish aparatura

2.4.2.1.1. Účinnost extrakčního procesu normy ČSN EN ISO 14362-1

Účinnost extrakce byla stanovena bez přítomnosti vzorku azobarviva (bez vlivu matrice) užitím vnitřního standardu anilinu o koncentraci 0,0375 mg/ml. Standard byl připraven navážením 50 mg anilinu do 100ml odměrné baňky a doplněn 50% vodným roztokem MeOH po rysku. Z tohoto roztoku bylo odpipetováno 750 µl do 10ml odměrné baňky, opět doplněno po rysku a k analýze použit 1 ml takto připraveného roztoku. Následoval pracovní postup uvedený v kapitole 2.4.2.1.

2.4.2.2. Norma ČSN EN ISO 14362-3

Na analytických vahách byl navážen 1 g na kousky nastříhané textilie (0,2 g sypkého barviva). Ke vzorku bylo přidáno 9 ml 2% roztoku NaOH, baňka byla uzavřena a silně protřepána. K obsahu v reakční baňce byl přidán 1 ml vodného roztoku dithioničitanu sodného o koncentraci 200 g/l. Čerstvě připravený roztok dithioničitanu sodného bylo nutné ponechat 55 minut v uzavřené nádobě a následně ho do 10 minut spotřebovat.

Promíchaný obsah baňky byl vložen do temperované vodní lázně (30 minut; 40 °C) a poté byl zchlazen na laboratorní teplotu. K roztoku bylo přidáno 5 ml TBME, 7 g chloridu sodného, baňka byla opět protřepána a vložena na 45 minut na laboratorní třepačku.

Protřepaný obsah reakční nádobky byl přelit do centrifugační zkumavky, která byla odstředěna při 5000 otáčkách/minutu po dobu 10 minut. Za účelem kvantitativního převedení analytů se po odpipetování odstředěné organické vrstvy s analyty do skleněné zkumavky proces odstředění opakoval s dalším přídavkem TBME do centrifugační zkumavky a ta byla znovu odstředěna.

TBME extrakt byl odpařen do sucha pomocí mírného proudu inertního plynu (dusík). Ke zbytku byl přidán 1 ml 50% vodného MeOH a obsah byl promíchán krátkým umístěním do ultrazvukové lázně. Nakonec byl vzorek přefiltrován přes PTFE filtr do vialky a připraven k HPLC analýze.

2.4.2.2.1. Účinnost extrakčního procesu normy ČSN EN ISO 14362-3

Účinnost extrakce byla stanovena bez přítomnosti vzorku azobarviva (bez vlivu matrice) užitím vnitřního standardu 4-AAB o koncentraci 0,02 mg/ml. Standard byl připraven navážením 20 mg 4-AAB do 50ml odměrné baňky a doplněn 50% vodným roztokem MeOH po rysku. Z takto připraveného roztoku bylo odpipetováno k analýze 50 µl a podrobeno pracovnímu postupu uvedeného v kapitole 2.4.2.2. bez použití redukčního činidla. Přítomnost redukčního činidla je v tomto případě nežádoucí, neboť způsobí štěpení azovazby v molekule 4-AAB za vzniku anilinu a p-FDA.

2.4.2.3. Stanovení volných PAA

Pro stanovení volných PAA v azobarvivech bylo do 100ml Erlenmayerovy baňky naváženo 0,04 g sypkého barviva, přidáno 20 ml MeOH, směs byla protřepána a vložena do ultrazvukové lázně na 30 minut. Následně byl vzorek přefiltrován přes PTFE filtr do vialky a připraven k HPLC analýze. Popsaný postup je modifikací pracovního postupu článku [62].

2.4.2.4. Barvicí a zbytkové lázně

2.4.2.4.1. Vytažlivost azobarviv na textil

U vhodně naředěných barvicích a zbytkových lázní (10x−100x zředěno destilovanou vodou) byla proměřena UV/VIS spektra a odečtena hodnota absorbance v absorpčních maximech těchto lázní. Z poklesu absorbancí barvicí a zbytkové lázně bylo možné vyjádřit vytažlivost příslušného azobarviva na textilní materiál.

2.4.2.4.2. Zakoncentrování

Pro účely následné analýzy barvicích a zbytkových lázní bylo nutné veškeré vodné lázně vhodným způsobem zakoncentrovat. Byly vyzkoušeny 4 způsoby zakoncentrování. V úvahu přicházelo odpaření lázní na elektrickém vařiči, v rotační vakuové odparce, destilační aparatuře vyhřívané silikonovým olejem a zakoncentrování na SPE kolonce. Pro srovnání výsledků každého experimentu zakoncentrování byly připraveny barvicí lázně z barviva č. 3 rozpuštěním stejné navážky ve stejném objemu destilované vody, konkrétně 65 mg sypkého barviva č. 3 rozpuštěním ve 100 ml destilované vody.

Při off-line metodě obohacování na **SPE kolonce** (extrakce tuhou fází) došlo nejprve k prosátí celého objemu lázně přes plastovou kolonku plněnou silikagelem. Následně se kolonka promyla malým objemem destilované vody a zachycené látky se eluovaly MeOH.

Odpaření rozpouštědla na **rotační vakuové odparce** ve vodní lázni se použilo z důvodu urychlení odpařování vlivem sníženého bodu varu rozpouštědla (vody) způsobeného sníženým tlakem v destilační baňce. Konkrétní podmínky (tlak, teplota) byly zvoleny a měněny podle aktuálního chování lázně při procesu odpařování.

V případě odpaření barvicí lázně v **destilační aparatuře vyhřívané silikonovým olejem** spočíval přínos v použití tepelného média, které je možno vyhřívat na teploty vyšší než 100 °C.

Barvicí lázně byly taktéž odpařeny s varnými kuličkami ve varné baňce s plochým dnem na **elektrickém vařiči** téměř do sucha. Odpařovanou lázeň bylo nutné míchat a podle potřeby odnímat z varné plochy, aby nedošlo k překypění obsahu z varné baňky.

Zakoncentrované vodné lázně byly podrobeny postupu normy ČSN EN ISO 14362-1/3.

2.4.3. Stabilita PAA

Z důvodu nestability (oxidace) některých PAA byla připravena směs všech 9 standardů o koncentraci 0,01 mg/ml. Zásobní roztok byl připraven navážením 50 mg všech sledovaných standardů do 50ml odměrné baňky, doplnění této baňky po rysku 50% MeOH. Následně bylo odpipetováno 100 µl do 10ml odměrné baňky, doplněno po rysku a tato směs standardů PAA analyzována za stejných chromatografických podmínek v řádech dnů, a byl sledován pokles ploch píků jednotlivých PAA. Připravená směs byla skladována v autosampleru bez přístupu světla za laboratorní teploty.

2.4.4. Stabilita redukčního činidla

Z důvodu rozdílného použití redukčního činidla v části 1 a části 3 příslušné normy byla experimentálně vyzkoušena v hodinových intervalech redukční schopnost dithioničitanu sodného na reálném vzorku barviva č. 1. Experiment byl proveden podle normy ČSN EN ISO 14362-3. Redukční činidlo bylo přidáno bezprostředně po přípravě, dále po 1hodinové aktivaci (dle správného postupu normy) a poté vždy s 1hodinovým narůstajícím odkladem, přičemž redukční činidlo bylo uchováváno za laboratorní teploty v uzavřené odměrné baňce za přístupu světla.

2.4.5. Vliv navážky

Z důvodu nízké koncentrace barviva v textilním materiálu (6–12 mg barviva/1 g bavlněné tkaniny) bylo provedeno stanovení, kdy pro srovnatelný výsledek analyzovaných PAA v sypkém barvivu (200 mg) bylo místo 1 g na kousky nastříhané textilie naváženo množství textilu, které obsahovalo 200 mg navázaného barviva. Konkrétní stanovení bylo provedeno u bavlněné tkaniny obarvené barvivem č. 1, kdy bylo naváženo 27,7 g textilie a daná navážka byla podrobena normě ČSN EN ISO 14362 části 1 i 3, přičemž byla v odpovídajícím poměru navýšena i množství vstupujících chemikálií.

2.4.6. Příprava vodné složky mobilní fáze

Pro HPLC analýzu byla jako mobilní fáze A využívána pufrovaná vodná fáze. Ve většině případů byl při analýzách používán čerstvý **octanový pufr**, kdy se navážka 1 g octanu amonného rozpustila v destilované vodě o čistotě pro HPLC a doplnila po rysku v odměrné baňce o objemu 1 litr. Získaný roztok byl přefiltrován přes nylonový filtr o velikosti pórů 0,2 μm a přelit do skleněného zásobníku mobilní fáze. pH octanového pufru je 6,5.

V případě gradientové eluce analýzy barviva č. 5 byla jako vodná mobilní fáze používána **kyselina mravenčí** (0,01% roztok). Do 1 l destilované vody o čistotě pro HPLC ve skleněném zásobníku mobilní fáze bylo pomocí automatické pipety přidáno 100 μl kyseliny mravenčí a obsah řádně promíchán. pH tímto způsobem připraveného pufru je 3,3.

2.5. Software k vyhodnocení dat

Vyhodnocení získaných chromatogramů bylo zprostředkováno softwarem OpenLab CDS od společnosti Agilent Technologies.

Identifikace látek byla založena na porovnání retenčního času a shodnosti UV/VIS spekter vzorků se záznamy standardů PAA. Kvantifikace látek byla zprostředkována odečtením velikosti plochy pod píkem.

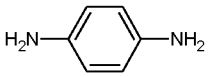
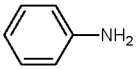
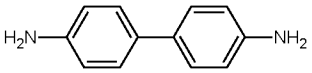
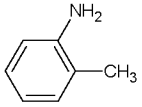
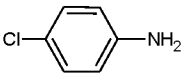
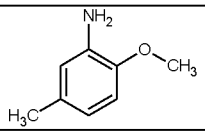
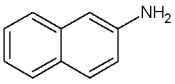
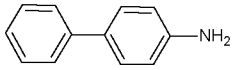
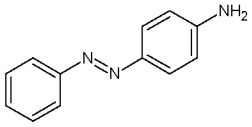
Chemické vzorce sloučenin uvedené v diplomové práci byly vytvořeny, pokud není uvedeno jinak, ve volně stažitelné verzi programu ACD/ChemSketch.

3. VÝSLEDKYA DISKUZE

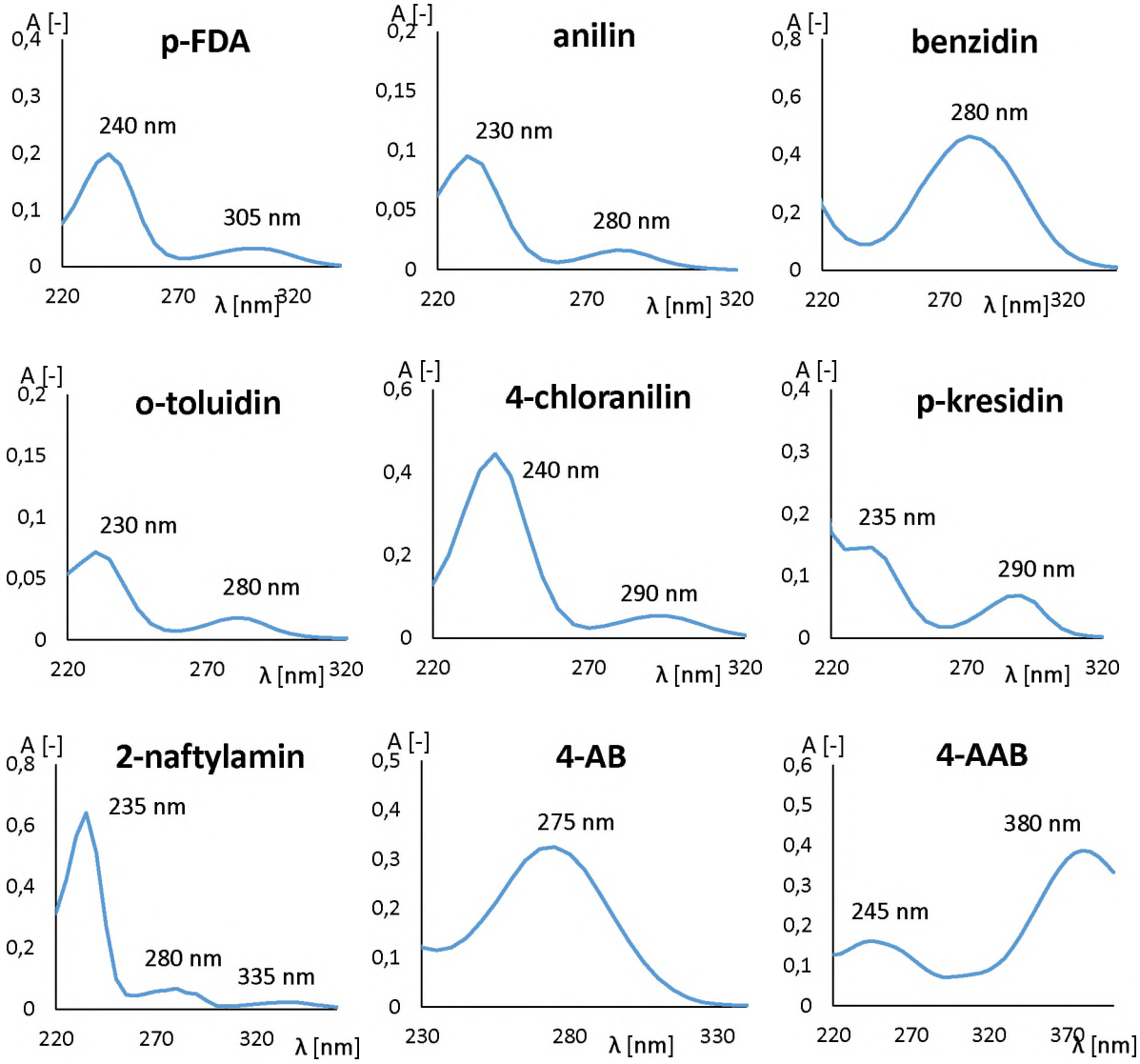
3.1. Zjištění vlnových délek absorpčních maxim standardů PAA

V tabulce 3 je zobrazen seznam sledovaných PAA včetně jejich chemických vzorců.

Tabulka 3: Seznam sledovaných PAA

PAA	chemický vzorec
p-fenylendiamin (p-FDA)	
anilin	
benzidin	
o-toluidin	
4-chloranilin	
p-kresidin	
2-naftylamin	
4-aminobifenyl (4-AB)	
4-aminoazobenzen (4-AAB)	

Změřená UV absorpční spektra jednotlivých standardů jsou uvedena na obrázku 21. Absorpční maxima p-fenylendiaminu, anilinu, o-toluidinu, 4-chloranilinu, p-kresidinu, 2-naftylaminu a 4-aminoazobenzenu byla nalezena v blízkosti 240 nm. Absorpční maxima benzidinu a 4-aminobifenylu byla identifikována při 280 nm. Z tohoto důvodu byly PAA při chromatografických analýzách detekovány při dvou vlnových délkách (240 a 280 nm).



Obrázek 21: UV spektra standardů PAA

3.2. Optimalizace separačních podmínek

Optimalizace separace byla provedena na směsi standardů nejprve pomocí kapalinového chromatografu Shimadzu/Ecom s užitím kolony Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm) a předkolonky se stejnou stacionární fází. Postupně byly zkoušeny gradientové eluce s použitím mobilní fáze, kde vodná složka obsahovala směs vody a octanu amonného a organickou složkou byl acetonitril nebo methanol. Z výsledků optimalizačních pokusů (příloha 1,2) vyplývá, že s použitím acetonitrilu jako mobilní fáze nebylo dosaženo potřebné separace všech

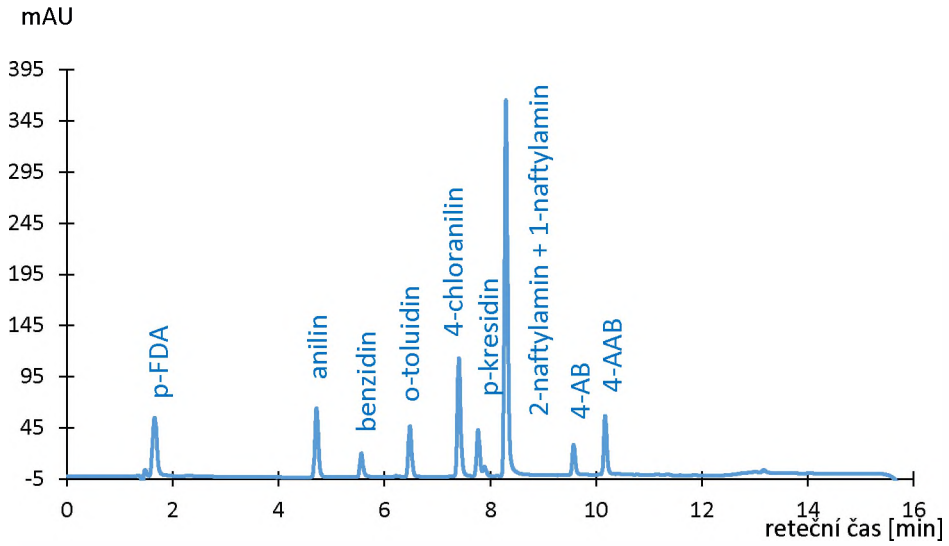
sledovaných PAA. Proto byl dále jako organická složka mobilní fáze testován methanol; v tomto případě se podařilo optimalizovat gradientovou eluci pro úspěšnou separaci všech sledovaných PAA, avšak absence autosampleru v tomto chromatografickém systému a nemožnost akvizice UV spekter během analýzy značně snižovala efektivitu práce a možnost identifikace jednotlivých PAA.

Proto z důvodu urychlení analýz, vyšší citlivosti detektoru, možnosti snímání UV spekter a rozsahu vlnových délek byly finální separace PAA prováděny na kapalinovém chromatografu Agilent 1260 Infinity II při následujících podmínkách analýzy: kolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm) s předkolonou Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm), teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: MeOH/voda + octan amonný (1 g/l), gradientová eluce podle tabulky 4, detekce: 240, 280 nm (benzidin, 4-AB)

Tabulka 4: Časový průběh gradientové eluce pro separaci PAA

čas [min]	voda + octan amonný [%]	MeOH [%]
0	80	20
8	20	80
10	20	80
10,5	10	90
13	10	90
13,5	80	20
16	80	20

Ukázka separace standardů PAA za optimalizovaných podmínek je na obrázku 22.



Obrázek 22: Chromatografický záznam separace standardů PAA

kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II, kolona: Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm), předkolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm); teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: MeOH/voda + octan amonný (1 g/l), gradientová eluce podle tabulky 4, detekce: 240, 280 nm (benzidin, 4-AB)

Retenční časy jednotlivých PAA jsou uvedeny v tabulce 5.

Tabulka 5: Retenční časy analyzovaných standardů PAA

separované PAA	retenční čas [min]
p-FDA	1,7
anilin	4,7
benzidin	5,6
o-toluidin	6,5
4-chloranilin	7,4
p-kresidin	7,8
2-naftylamin + 1-naftylamin	8,3
4-AB	9,6
4-AAB	10,2

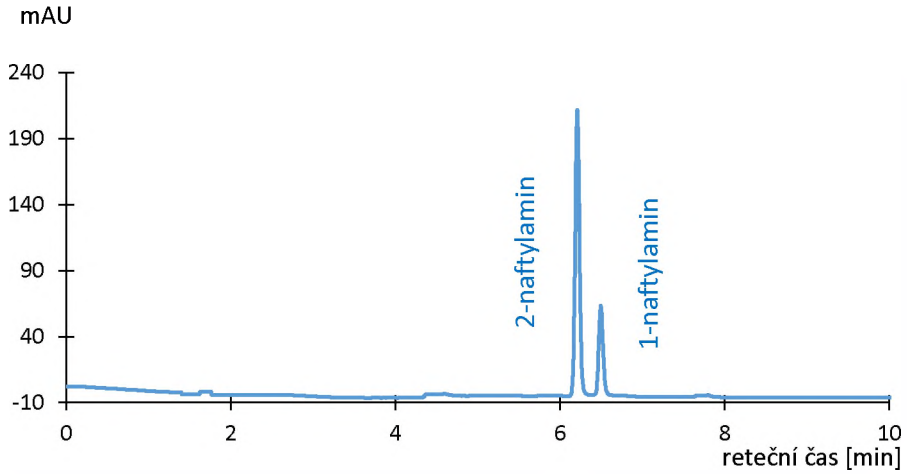
Ze záznamu separace (obrázek 22) je patrné, že izomery 2-naftylaminu a 1-naftylaminu nejsou za výše uvedených podmínek rozseparovány. Z tohoto důvodu byly dále hledány nové podmínky separace pro tyto izomery. Záznamy optimalizace separací standardů izomerů za vyzkoušení obou organických složek mobilních fází (ACN, MeOH) jsou znázorněny v přílohách 3,4.

Finální separace izomerů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu (obrázek 23) byla provedena při následujících podmínkách analýzy: kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II, kolona: Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm), předkolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm); teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: ACN/0,01% kyselina mravenčí ve vodě, gradientová eluce podle tabulky 6, detekce: 240 nm

Tabulka 6: Časový průběh gradientové eluce pro separaci 2-naftylaminu a 1-naftylaminu

čas [min]	voda + HCOOH [%]	ACN [%]
0	90	10
4	40	60
10	30	70
11	10	90
13	10	90
13,5	90	10
16	90	10

Ukázka separace izomerů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu za optimalizovaných podmínek je na obrázku 23.



Obrázek 23: Chromatografický záznam separace izomerů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II, kolona: Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm), předkolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm); teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: ACN/0,01% kyselina mravenčí ve vodě, gradientová eluce podle tabulky 6, detekce: 240 nm

Retenční časy izomerů naftylaminu jsou uvedeny v tabulce 7.

Tabulka 7: Retenční časy standardů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu

separované PAA	retenční čas [min]
2-naftylamin	6,2
1-naftylamin	6,5

3.3. Kalibrační měření

Podle postupu uvedeného v kapitole 2.4.1. byly připraveny kalibrační řady standardů PAA. U každého ve vzorcích analyzovaného PAA byla zkonstruována kalibrační závislost plochy píku na koncentraci a tato závislost proložena lineární regresní křivkou. Z důvodu velkého rozpětí obsahů PAA v analyzovaných vzorcích byly pro každý standard vytvořeny dvě kalibrační závislosti (tabulka 8). První kalibrační závislost je zkonstruována z kalibračních bodů o nižší koncentraci než 1 µg/ml, k regresní rovnici pro každý PAA je vždy uveden koeficient determinace (R^2), mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ). Druhá kalibrační závislost je naopak zkonstruována pro koncentrace vyšší než 1 µg/ml. Získané plochy jednotlivých kalibračních bodů standardů PAA (přílohy 5−10) byly vždy zprůměrovány ze dvou měření.

Tabulka 8: Parametry kalibračních křivek, R^2, LOD a LOQ standardů PAA

standard PAA	rovnice regrese (pro c < 1 µg/ml)	R^2	LOD [ppm]	LOQ [ppm]	rovnice regrese (pro c > 1 µg/ml)
p-FDA	y = 37440x - 2,5611	0,9931	0,15	0,34	y = 49332x - 24,492
anilin	y = 30860x + 0,3809	0,9996	0,01	0,05	y = 31992x + 7,0444
p-kresidin	y = 23942x - 0,5146	0,9997	0,04	0,08	y = 24481x + 1,81
4-AAB	y = 23989x - 0,3296	0,9998	0,03	0,06	y = 25090x - 3,3316
2-naftylamin	y = 112511x + 0,7404	0,9993	0,02	0,07	y = 117178x + 62,632
1-naftylamin	y = 70533x - 0,2885	0,9991	0,03	0,09	y = 75034x - 0,284

3.4. Účinnost extrakce normy ČSN EN ISO 14362-1/3

Experimentálně zjištěné hodnoty účinnosti extrakčního procesu (pracovní postup v kapitolách 2.4.2.1.1. a 2.4.2.2.1.) byly pro obě části normy zprůměrovány ze tří paralelních měření (příloha 11). Výsledné hodnoty účinnosti extrakce jsou uvedeny v tabulce 9.

Tabulka 9: Účinnost extrakce

účinnost extrakce	14362-1 [%]	14362-3 [%]
	54	63

3.5. Volba způsobu zakoncentrování lázní

Pro účely následné analýzy barvicích a zbytkových lázní bylo nutné veškeré vodné lázně vhodným způsobem zakoncentrovat. Byly vyzkoušeny 4 způsoby zakoncentrování, kdy nejvhodnější způsob byl vybrán na základě porovnání výtěžnosti, časové náročnosti a praktické proveditelnosti pracovního postupu.

Zakoncentrovaná barvicí lázeň na SPE kolonce poskytovala zhruba 9 % z nejvyššího naměřeného obsahu anilinu (tabulka 10). Tyto ztráty mohou být způsobeny nedokonalou sorpcí analytu na sorbent v kolonce (oktadecylsilikagel) nebo neúplnou elucí zachyceného analytu z SPE kolonky při použití MeOH jako eluentu, do kterého se analyty zakoncentrovávaly. ACN pro eluci zkoušen nebyl.

Při odpaření barvicí lázně na rotační vakuové odparce činilo potíže nalezení vhodného podtlaku a teploty. Opakovaně docházelo k překypění obsahu z destilační baňky do části aparatury s chladičem a následně až do kondenzační baňky. Z důvodu vzniklých ztrát nebyl vzorek podroben analýze a vyhodnocen.

Zbylé dva způsoby zakoncentrování poskytovaly v rámci chyby měření srovnatelné výsledky (tabulka 10). Z důvodu menší časové náročnosti a jednoduššího provedení byl pro zakoncentrování poskytnutých barvicích a zbytkových lázní zvolen způsob odpařování na elektrickém vařiči.

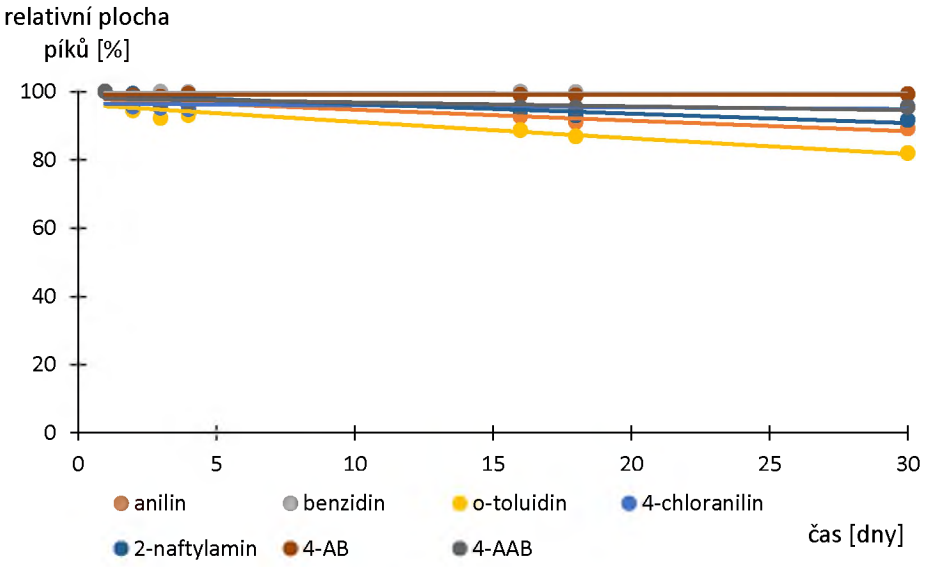
Tabulka 10: Účinnost zakoncentrování lázní vztažená na obsah anilinu

způsob zakoncentrování	anilin [ppm]
SPE kolonka	25
vakuová odparka	–
silikonová lázeň	255
elektrický vařič	286

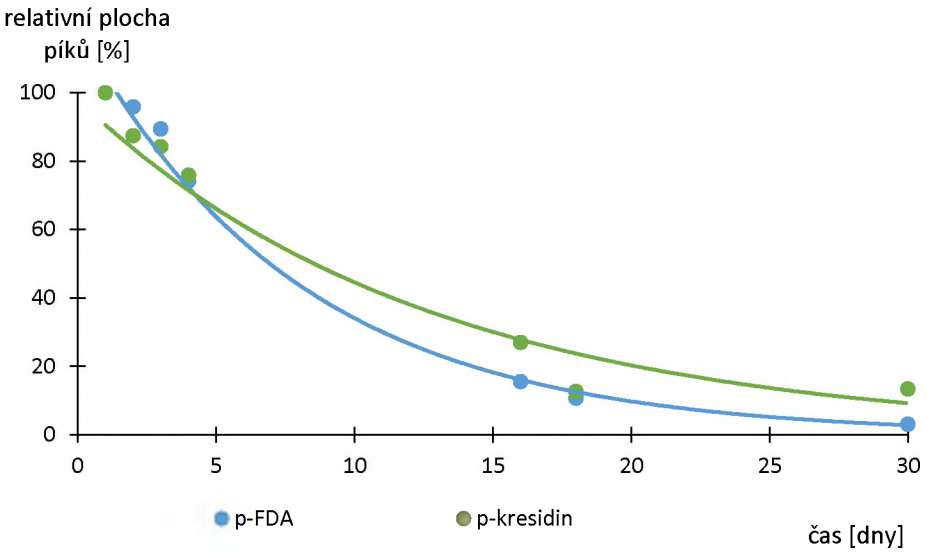
3.6. Stabilita PAA

Na obrázku 24 a 25 jsou u sledovaných standardů PAA vyjádřeny procentuální poklesy naměřených ploch v závislosti na čase. Na obrázku 24 jsou znázorněny PAA, u kterých nedochází k výraznému poklesu ploch v závislosti na čase, jelikož úbytek ploch v řádu 30 dní

dosahuje maximálně 20 %, a tudíž jsou tyto PAA považovány za stabilní. Naopak obrázek 25 znázorňuje p-FDA a p-kresidin, které neprokazují stabilitu v čase, jelikož úbytek ploch v řádu 30 dní převyšuje 80 %, a proto jsou uvedeny jako nestabilní PAA. Průměrné hodnoty odečítaných ploch jednotlivých standardů PAA a relativní pokles ploch píků vypočítané ze dvou měření jsou uvedeny v příloze 12. Při skladování směsi standardů v řádu 30 dní za laboratorní teploty a bez přístupu světla došlo ke změně zbarvení směsi z původně slabě žlutého odstínu (vlivem 4-AAB) na světle hnědé zbarvení způsobené oxidací p-FDA.



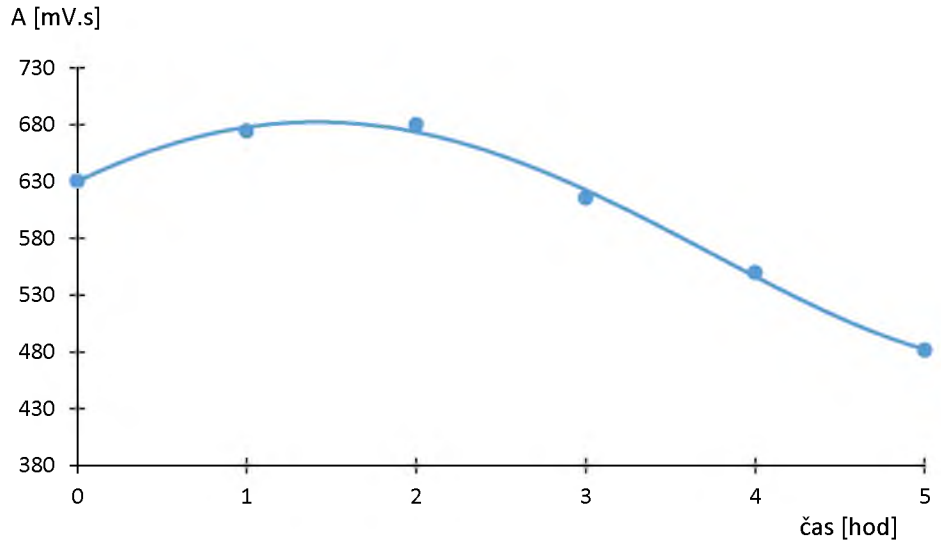
Obrázek 24: Stabilní PAA



Obrázek 25: Nestabilní PAA

3.7. Stabilita redukčního činidla

Dle pracovního postupu uvedeného v kapitole 2.4.4. byla sledována časová závislost redukčních účinků vodného roztoku dithioničitanu sodného vyjádřená na plochu píku 4-AAB. Z obrázku 26 vyplývá, že po hodinové aktivaci dithioničitanu sodného, jak uvádí norma ČSN EN ISO 14362-3, jsou jeho redukční vlastnosti největší, jelikož zprostředkovává v největší míře štěpení azovazeb za vzniku PAA. Zároveň zjištěné výsledky popírají nutnost spotřebování redukčního činidla do 10 minut a jeho následnou likvidaci. Z obrázku je totiž patrná dostatečná redukční schopnost trvající po dobu ještě 1 hodiny. Až po této době se činidlo rozkládá a jeho schopnost redukovat výrazně klesá. Příslušné navážky barviva č. 1 a získané plochy píku 4-AAB jsou uvedeny v příloze 13.



Obrázek 26: Stabilita redukčního činidla

3.8. Vliv navážky

Cílem tohoto experimentu bylo poukázat na to, že z analytického hlediska norma ČSN EN ISO 14362-1,3 nevhodně porovnává obsah PAA v 200 mg sypkého barviva s obsahem PAA v 1 g textilního materiálu, na který je však zachyceno průměrně pouze 6−12 mg barviva v případě 1 g bavlněné tkaniny, jak vyplývá z přílohy 15. Proto bylo analyzováno 27,7 g textilu obarveného barvivem č. 1, na kterém by mělo být zachyceno právě 200 mg barviva. Protože bylo zpracováváno velké množství textilu, nemohly být důsledně dodrženy všechny pracovní

kroky normy ČSN EN ISO 14362-1 pro stanovení anilinu po redukci a normy ČSN EN ISO 14362-3 pro stanovení 4-AAB.

Při stanovení podle první části normy vzorek nebyl přelit přes křemelinovou patronu zachycující barvivo, jelikož při přelití patrony velkým objemem (cca 650 ml) docházelo k jejímu přesycení. Pro dodržení identických podmínek s normou by bylo nutné použít křemelinovou patronu s množstvím sorbentu zvětšeným v odpovídajícím poměru. Takové množství sorbentu však nebylo k dispozici. Místo toho bylo provedeno oddělení vodné a organické fáze prostřednictvím opakovaného vytřepání s TBME v děličce, kde nejspíše vznikly velké ztráty analytu. Ve 27,7 g textilního materiálu bylo analyzováno 16 ppm anilinu, což odpovídá zhruba 11 % z hodnoty 152 ppm anilinu nalezeného ve vzorku 200 mg sypkého barviva (tabulka 11).

Stanovení PAA dle normy ČSN EN ISO 14362-3 vyžadovalo taktéž změnu v pracovním postupu. Konkrétně se jednalo o odstředění v centrifugační zkumavce, které bylo nahrazeno opakovaným vytřepáním s TBME v děličce. Vzniklé ztráty jsou opět přisuzovány tomuto kroku, jelikož při ostatních krocích byl striktně dodržen pracovní postup normy. Ve 27,7 g textilie tak bylo stanoveno 82 ppm 4-AAB, což představuje zhruba 28 % obsahu 4-AAB ve vzorku 200 mg sypkého barviva (tabulka 11).

Tabulka 11: Nalezené obsahy PAA vztažené na navážku vzorku

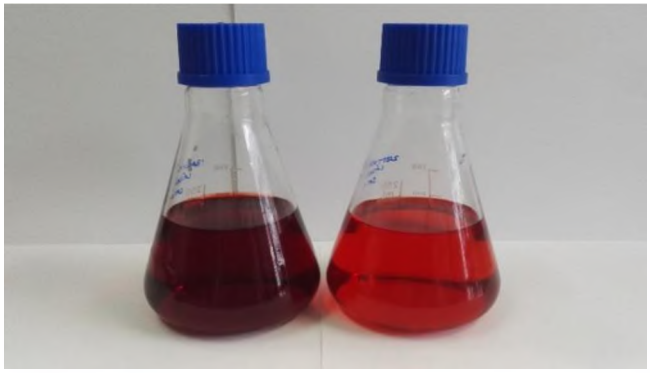
navážka	14362-1	14362-3
	anilin [ppm]	4-AAB [ppm]
200 mg sypkého barviva	152	295
27,7 g textilie	16	82

Neshoda ve výsledcích může být způsobena buď nedodržením přesného pracovního postupu podle normy při zpracování velké navážky textilu, nebo se může uplatňovat vliv textilní matrice při redukčním štěpení, kdy veškeré barvivo navázané na textil nemusí kvantitativně podléhat redukčnímu štěpení jako v případě barviva sypkého. Z uvedených experimentů vyplývá, že z analytického hlediska norma nevhodně porovnává množství PAA vzniklých redukčním štěpením z 200 mg sypkého barviva a řádově jednotek maximálně desítek mg barviva obsaženého v 1 g obarveného textilu.

3.9. Vytažlivost azobarviv na textil

Z rozdílu absorbancí vhodně naředěných barvicích a zbytkových lázní (příloha 14, obrázek 27) byla vypočítána vytažlivost konkrétního azobarviva na textilní materiál, jak je znázorněno v tabulce 12. Tento výpočet lze uskutečnit za předpokladu, že barvivo neobsahuje žádné nečistoty. Reálně je však barvivo směsí účinné látky a dalších nečistot, avšak tato skutečnost byla pro účely diplomové práce zanedbána.

Z hodnot uvedených v tabulce vyplývá, že vlněná tkanina má schopnost navázat téměř veškeré množství barviva (barvivo č. 4 a barvivo č. 5) z barvicí lázně do své struktury. Tento fakt je dán opravdu vysokou afinitou kyselých barviv právě k proteinovým vláknům (vlna). Přímá barviva (barvivo č. 1 – barvivo č. 3) mají zase výraznou afinitu k vláknům celulózovým (bavlna), nikoliv však tak vysokou, aby se vyrovnala vytažlivosti kyselých barviv na vlněný materiál. Vytažlivost přímých azobarviv na bavlněnou tkaninu se pohybuje zhruba mezi 83−90 %. Se znalostí vytažlivosti barviva na daný textilní materiál a koncentrace barvicí lázně souvisí i výpočet množství barviva, které se reálně zachytí na 1 g textilu. Příslušné hodnoty jsou uvedeny v příloze 15.



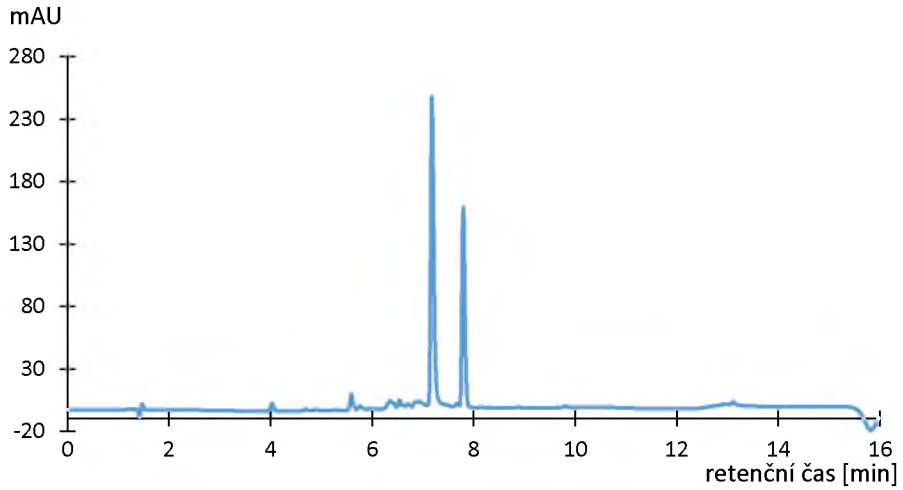
Obrázek 27: Barvicí (vlevo) a zbytková lázeň barviva č. 2

Tabulka 12: Vytažlivost analyzovaných azobarviv na textilní materiály

barviva	vytažlivost na textil [%]
barvivo č. 1	90 (bavlna)
barvivo č. 2	83 (bavlna)
barvivo č. 3	86 (bavlna)
barvivo č. 4	99 (vlna)
barvivo č. 5	98 (vlna)

3.10. Volné PAA

Při stanovení volných PAA pocházejících z výrobního procesu nebyl v analyzovaných vzorcích barviv nalezen žádný z hledaných PAA, který by se ve stejném retenčním čase shodoval se standardem podle UV spektra. V chromatografických záznamech (pro ukázku obrázek 28) však byly patrné jiné píky, které pravděpodobně mohou odpovídat barvivu nebo neidentifikovaným látkám.



Obrázek 28: Chromatografický záznam analýzy volných PAA v barvivu č. 1
Experimentální podmínky viz obrázek 22 str. 61.

3.11. Vyhodnocení obsahů PAA po redukci

U analyzovaných azobarviv byly identifikovány a kvantifikovány vybrané primární aromatické aminy z 22 „regulovaných" PAA uvedených v dodatku 8 nařízení REACh. Navíc byl z důvodu případné toxicity sledován i obsah anilinu a p-FDA, které by mohly být do seznamu „regulovaných" PAA v budoucnu taktéž zařazeny.

U každého analyzovaného vzorku barviva bylo stanovováno množství PAA po redukci v sypkém barvivu, v barvicích a zbytkových lázních a v obarveném textilu (bavlna a vlna). V případě bavlněné tkaniny byly analyzovány obarvené ustálené a neustálené formy, naopak vlněná tkanina byla analyzována pouze v jedné formě, jelikož síla vytažlivosti kyselých barviv

na vlněné vlákno je téměř stoprocentní. U bavlněné tkaniny lze předpokládat, že obsahy PAA v neustálených formách jsou vždy vyšší, což je viditelné z tabulek č. 13, 15 a 17.

Množství PAA v textilu po redukci je vždy vztaženo na reálné množství zachyceného barviva v 1 g textilního materiálu, ale také je přepočteno právě na 1 g barviva. Tento přepočet slouží k sestavení kontrolní bilanční rovnice přítomných PAA vzniklých redukcí. Platí, že množství všech PAA přítomných v barvicí lázni po redukci (současně i množství PAA v sypkém barvivu po redukci) by mělo odpovídat součtu PAA v textilu po redukci přepočítaného na 1 g barviva a PAA zbylých ve zbytkové lázni po redukci. Neúplná shoda v bilanční rovnici může být způsobena různými faktory, např. přípravou vzorku, nečistotami přítomnými v sypkém barvivu, jež se nezachytí na textilní materiál, či chybou měření. Množství nečistot v analyzovaných sypkých barvivech nebylo známé, a proto na tento vliv nebyl komplexně brán žádný ohled.

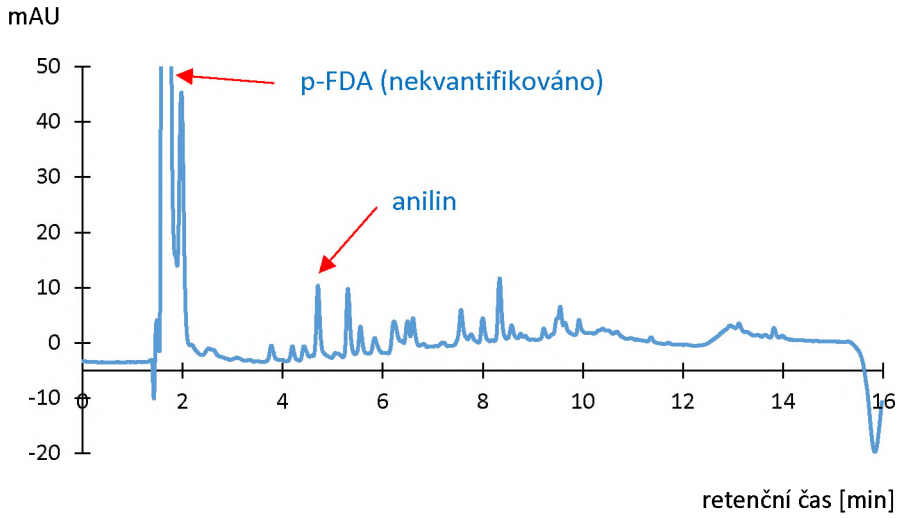
U každé vodné lázně je porovnáván přechod barviva z barvicí do zbytkové lázně s obsahem redukcí vzniklých PAA v těchto lázních.

Průměrná hodnota účinnosti extrakce pro normu ČSN EN ISO 14362-1 byla stanovena na 54 % a pro ČSN EN ISO 14362-3 63 % podle tabulky 9 v kapitole 3.4. Veškeré hodnoty obsahů PAA uvedené v následujících tabulkách jsou již korigovány na účinnost extrakce.

3.11.1. Barvivo č. 1

Ze strukturního vzorce barviva č. 1 uvedeného v kapitole 2.3. vyplývá možná přítomnost 4-AAB, anilinu a p-FDA vzniklých redukčním štěpením příslušných azovazeb. Při výskytu 4-AAB nelze kvantifikovat p-FDA, neboť může vznikat štěpením 4-AAB, a tím dochází k falešně pozitivním výsledkům.

Pro ukázku je na obrázku 29 uveden záznam z chromatografické analýzy sypkého barviva č. 1 připraveného podle postupu normy ČSN EN ISO 14362-1.



Obrázek 29: Chromatografický záznam analýzy sypkého barviva č. 1 po redukci dle normy ČSN EN ISO 14362-1

Experimentální podmínky viz obrázek 22 str. 61.

V tabulce č. 13 jsou experimentálně stanoveny průměrné obsahy PAA po redukci v barvivu č. 1 získané ze 2 paralelních měření, v případě vodných lázní bylo provedeno vždy pouze jedno stanovení. Z tabulky č. 13 vyplývá, že největší obsah sledovaných PAA se nachází v sypkém barvivu a jeho příslušné barvicí lázni, přičemž by tyto hodnoty měly být srovnatelné.

Z tabulky č. 12 vyplývá, že se vytažlivost barviva č. 1 z barvicí lázně na bavlněnou tkaninu pohybovala okolo 90 % tzn., že ve zbytkové lázni bylo obsaženo zhruba 10 % barviva. Podobně tak ve zbytkové lázni po redukci bylo nalezeno zhruba 16 % anilinu a 1 % 4-AAB z jejich původního množství, které odpovídá jejich obsahu po redukci v barvicí lázni. Nalezené množství anilinu a 4-AAB ve zbytkové lázni po redukci se tedy přibližně shoduje s přechodem barviva z barvicí do zbytkové lázně.

V tabulce č. 13 jsou taktéž uvedeny hodnoty PAA v ustálené a neustálené formě vztaženy na reálné množství barviva zachyceného v 1 g konečného výrobku, konkrétně se jednalo o 7,22 mg barviva zachyceného v 1 g textilu. V tabulce č. 14 jsou obsahy PAA v textilu přepočteny právě na 1 g barviva. Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 1 jsou uvedeny v příloze 16.

Tabulka 13: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 1 po redukci korigované na účinnost extrakce

BARVIVO Č. 1	ČSN EN ISO 14362-1	ČSN EN ISO 14362-3
	anilin [ppm]	4-AAB [ppm]
sypké barvivo	152	295
barvicí lázeň	193	329
zbytková lázeň	31	4,1
textil		
- ustálený	0,8	0,3
- neustálený	1,4	0,6

Tabulka 14: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 1 po redukci korigované na účinnost extrakce

TEXTIL	vztaženo na:	anilin [ppm]	4-AAB [ppm]
ustálený	7,22 mg barviva/1 g textilu	0,8	0,3
	1 g barviva	107	43
neustálený	7,22 mg barviva/1 g textilu	1,4	0,6
	1 g barviva	199	90

V případě barviva č. 1 tedy hodnotou 295 ppm 4-AAB došlo k překročení maximálního limitu v rámci ETAD pro sumu PAA v sypkém barvivu (150 ppm). Limit pro sumu PAA v konečných výrobcích daný nařízením REACh překročen nebyl. Z analytického pohledu je norma ČSN EN ISO 14362 postavena tak, že nevhodně porovnává obsah PAA v 200 mg sypkého barviva s obsahem PAA v 1 g textilního materiálu, na který je však zachyceno v případě barviva č. 1 pouze 7,22 mg barviva. To je důvod, proč jsou normou požadovaným způsobem nalezeny v textilním materiálu tak nízké obsahy PAA, které se mnohdy pohybují až na spodní hranici stanovitelnosti.

Z výsledků uvedených v tabulkách č. 13 a č. 14 vyplývá relativně dostatečná shoda v obsahu anilinu nalezeného po redukci v barvicí lázni a sypkém barvivu (193 ppm vs. 152 ppm) a také v případě 4-AAB (295 ppm v sypkém barvivu vs. 329 ppm v barvicí lázni). Přijatelná shoda je též v bilanční rovnici, kdy součet obsahu anilinu ve zbytkové lázni a obsahu anilinu v textilu přepočteném na 1 g barviva by měl být shodný s nalezeným obsahem anilinu v barvicí lázni (31 ppm + 199 ppm vs. 193 ppm). V případě 4-AAB patrně v důsledku nedokonalé redukce barviva zachyceného na textilním materiálu nebo další postupné degradace

4-AAB na p-FDA a anilin nedošlo ke shodě v bilanční rovnici podle uvedeného postupu (4,1 ppm + 90 ppm vs. 329 ppm).

U textilu obarveného barvivem č. 1 byl také porovnáván vliv množství redukčního činidla při podmínkách normy ČSN EN ISO 14362-3. Přebytek redukčního činidla zapříčinil, že došlo k rozštěpení veškerého množství přítomného 4-AAB na anilin a p-FDA. Tento fakt dokazuje absence píku 4-AAB v chromatografickém záznamu sypkého barviva č. 1 a naopak navýšení množství anilinu a p-FDA. Z tohoto pokusu taktéž vyplývá, že podle normy ČSN EN ISO 14362-3 vlivem přidávaného redukčního činidla o objemu 1 ml dochází pouze k částečné redukci barviva, naopak podle normy ČSN EN ISO 14362-1 dochází k úplné redukci barviva vlivem 3 ml přidávaného redukčního činidla. Jak je patrné z obrázku 30, s mírou redukce souvisí i míra odbarvení analyzovaného textilního materiálu, přičemž je znatelný rozdíl oproti původnímu vzhledu textilu před redukcí (obrázek 30, vlevo), po částečné redukci při podmínkách normy ČSN EN ISO 14362-3 (obrázek 30, uprostřed) a po úplné redukci při podmínkách normy ČSN EN ISO 14362-1 (obrázek 30, vpravo).

Obrázek 30: Změna zbarvení textilu obarveného barvivem č. 1 vlivem redukce

3.11.2. Barvivo č. 2

Ze strukturního vzorce barviva č. 2 uvedeného v kapitole 2.3. vyplývá možná přítomnost anilinu a p-kresidinu vzniklých redukčním štěpením příslušných azovazeb.

V tabulce č. 15 jsou experimentálně stanoveny průměrné obsahy PAA po redukci v barvivu č. 2 získané ze 2 paralelních měření, v případě vodných lázní bylo provedeno vždy

pouze jedno stanovení. Z tabulky č. 15 vyplývá, že největší obsah sledovaných PAA se nachází v sypkém barvivu a jeho příslušné barvicí lázni, přičemž by tyto hodnoty měly být srovnatelné.

Z tabulky č. 12 vyplývá, že se vytažlivost barviva č. 2 z barvicí lázně na bavlněnou tkaninu pohybovala okolo 83 % tzn., že ve zbytkové lázni bylo obsaženo zhruba 17 % barviva. Ve zbytkové lázni po redukci bylo nalezeno zhruba 22 % anilinu a 98 % p-kresidinu z jejich původního množství, které odpovídá jejich obsahu po redukci v barvicí lázni. Nalezené množství anilinu po redukci se shoduje s přechodem barviva z barvicí do zbytkové lázně, zatímco vysoký obsah p-kresidinu ve zbytkové lázni po redukci naznačuje, že patrně mohlo dojít k jeho uvolňování ze struktur vedlejších látek (nečistot) vlivem termických rozkladů během barvicího procesu.

V tabulce č. 15 jsou taktéž uvedeny hodnoty PAA v ustálené a neustálené formě vztaženy na reálné množství barviva zachyceného v 1 g konečného výrobku, konkrétně se jednalo o 6,26 mg barviva zachyceného na 1 g textilu. V tabulce č. 16 jsou obsahy PAA v textilu přepočteny na 1 g barviva. Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 2 jsou uvedeny v příloze 17.

Tabulka 15: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 2 po redukci korigované na účinnost extrakce

BARVIVO Č. 2	ČSN EN ISO 14362-1	
	anilin [ppm]	p-kresidin [ppm]
sypké barvivo	357	13,3
barvicí lázeň	267	15,7
zbytková lázeň	59	15,4
textil		
- ustálený	0,6	0,1
- neustálený	1,6	0,2

Tabulka 16: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 2 po redukci korigované na účinnost extrakce

TEXTIL	vztaženo na:	anilin [ppm]	p-kresidin [ppm]
ustálený	6,26 mg barviva/1 g textilu	0,6	0,1
	1 g barviva	91	14
neustálený	6,26 mg barviva/1 g textilu	1,6	0,2
	1 g barviva	256	31

Z výsledků uvedených v tabulkách č. 15 a č. 16 vyplývá relativně dostatečná shoda v obsahu anilinu i p-kresidinu nalezených po redukci v barvicí lázni a v sypkém barvivu. Přijatelná shoda je též v bilanční rovnici obou analyzovaných PAA. Vyšší hodnota obsahu p-kresidinu v textilu po redukci přepočteném na 1 g barviva v porovnání s hodnotou obsahu p-kresidinu po redukci v sypkém barvivu a zároveň v barvicí lázni může být způsobena tím, že nalezené množství p-kresidinu v 6,26 mg barviva zachyceného na 1 g textilu se pohybovalo v těsné blízkosti LOQ, a tudíž mohlo dojít k nepřesnému odečtení ploch píků nebo k chybě při výpočtu z kalibrační závislosti, což může po přepočtu na 1 g barviva způsobit velkou absolutní chybu.

3.11.3. Barvivo č. 3

Ze strukturního vzorce barviva č. 3 uvedeného v kapitole 2.3. vyplývá možná přítomnost p-FDA a anilinu vzniklých redukčním štěpením příslušných azovazeb.

V tabulce č. 17 jsou experimentálně stanoveny průměrné obsahy PAA po redukci v barvivu č. 3 získané ze 2 paralelních měření, v případě vodných lázní bylo provedeno vždy pouze jedno stanovení. Z tabulky č. 17 vyplývá, že největší obsah sledovaných PAA se nachází v sypkém barvivu a jeho příslušné barvicí lázni, přičemž by tyto hodnoty měly být srovnatelné.

Z tabulky č. 12 vyplývá, že se vytažlivost barviva č. 3 z barvicí lázně na bavlněnou tkaninu pohybovala okolo 86 % tzn., že ve zbytkové lázni bylo obsaženo zhruba 14 % barviva. Ve zbytkové lázni po redukci bylo nalezeno zhruba 90 % p-FDA a 63 % anilinu z jejich původního množství, které odpovídá jejich obsahu po redukci v barvicí lázni. Vysoký obsah p-FDA a anilinu ve zbytkové lázni po redukci naznačuje, že patrně mohlo dojít k jejich uvolňování ze struktur vedlejších látek (nečistot) vlivem termických rozkladů během barvicího procesu.

V tabulce č. 17 jsou taktéž uvedeny hodnoty PAA v ustálené a neustálené formě vztaženy na reálné množství barviva zachyceného v 1 g konečného výrobku, konkrétně se jednalo o 11,19 mg barviva zachyceného na 1 g textilu. V tabulce č. 18 jsou obsahy PAA v textilu přepočteny na 1 g barviva. Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 3 jsou uvedeny v příloze 18.

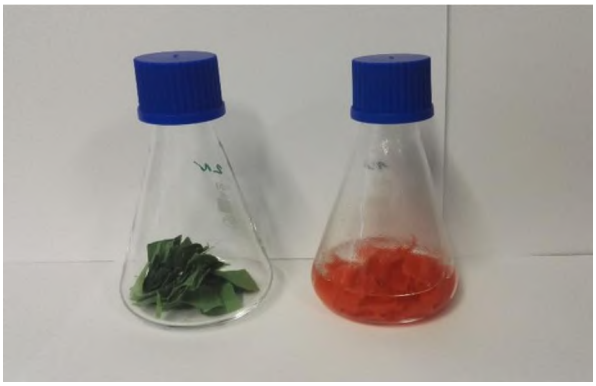
Tabulka 17: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 3 po redukci korigované na účinnost extrakce

BARVIVO Č. 3	ČSN EN ISO 14362-1	
	p-FDA [ppm]	anilin [ppm]
sypké barvivo	71	241
barvicí lázeň	91	279
zbytková lázeň	82	176
textil		
- ustálený	0,2	0,6
- neustálený	0,3	1,1

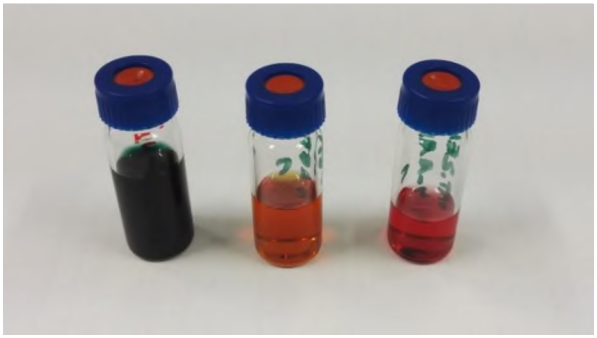
Tabulka 18: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 3 po redukci korigované na účinnost extrakce

TEXTIL	vztaženo na:	p-FDA [ppm]	anilin [ppm]
ustálený	11,19 mg barviva/1 g textilu	0,2	0,6
	1 g barviva	20	52
neustálený	11,19 mg barviva/1 g textilu	0,3	1,1
	1 g barviva	30	99

Z obrázku 31 je patrná změna zbarvení textilu obarveného barvivem č. 3 vlivem úplné redukce prostřednictvím normy ČSN EN ISO 14362-1, na obrázku 32 je zachycena barevná odlišnost identického vzorku připraveného k analýze různými pracovními postupy.



Obrázek 31: Bavlněná tkanina obarvená barvivem č. 3 před redukcí a po redukci normou ČSN EN ISO 14362-1



Obrázek 32: Vzorky sypkého barviva č. 3 připravené k analýze: volné PAA (vlevo), po redukci normou ČSN EN ISO 14362-1 (uprostřed), po redukci normou ČSN EN ISO 14362-3 (vpravo)

Z výsledků uvedených v tabulkách č. 17 a č. 18 vyplývá relativně dostatečná shoda v případě obsahu p-FDA i obsahu anilinu nalezených po redukci v barvicí lázni a v sypkém barvivu. Přijatelná shoda je též v bilanční rovnici obou analyzovaných PAA.

3.11.4. Barvivo č. 4

Ze strukturního vzorce barviva č. 4 uvedeného v kapitole 2.3. vyplývá možná přítomnost anilinu vzniklého redukčním štěpením příslušných azovazeb.

V tabulce č. 19 jsou experimentálně stanoveny průměrné obsahy PAA po redukci v barvivu č. 4 získané ze 2 paralelních měření, v případě vodných lázní bylo provedeno vždy pouze jedno stanovení. Z tabulky č. 19 vyplývá, že největší obsah sledovaných PAA se nachází v sypkém barvivu a jeho příslušné barvicí lázni, přičemž by tyto hodnoty měly být srovnatelné.

Z tabulky č. 12 vyplývá, že vytažlivost barviva č. 4 z barvicí lázně na vlněnou tkaninu byla téměř stoprocentní, jelikož se pohybovala okolo 99 %, tudíž ve zbytkové lázni bylo obsaženo pouze 1 % barviva. Podobně tak ve zbytkové lázni po redukci byly nalezeny zhruba 3 % anilinu z jeho původního množství, které odpovídá jeho obsahu po redukci v barvicí lázni.

Z důvodu téměř stoprocentní vytažlivosti kyselého barviva č. 4 na vlněné vlákno byla vlněná tkanina analyzována pouze v jedné formě. Odpovídající hodnota obsahu PAA vztažená na reálné množství barviva zachyceného v 1 g konečného výrobku, konkrétně se jednalo o 4,97 mg barviva zachyceného na 1 g textilu, je uvedena v tabulce č. 19. V tabulce č. 20 je obsah anilinu v textilu přepočten na 1 g barviva. Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 4 jsou uvedeny v příloze 19.

Tabulka 19: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 4 po redukci korigované na účinnost extrakce

BARVIVO Č. 4	ČSN EN ISO 14362-1
	anilin [ppm]
sypké barvivo	252
barvicí lázeň	244
zbytková lázeň	7,9
textil	1,5

Tabulka 20: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 4 po redukci korigované na účinnost extrakce

TEXTIL	vztaženo na:	anilin [ppm]
	4,97 mg barviva/1 g textilu	1,5
	1 g barviva	298

Z výsledků uvedených v tabulkách č. 19 a č. 20 vyplývá dostatečná shoda v obsahu anilinu po redukci v barvicí lázni a v sypkém barvivu. Přijatelná shoda je též v bilanční rovnici. Vyšší hodnota obsahu anilinu v textilu po redukci přepočteném na 1 g barviva v porovnání s obsahem anilinu po redukci v sypkém barvivu a zároveň v barvicí lázni může být způsobena tím, že nalezené množství anilinu v 4,97 mg barviva zachyceného na 1 g textilu se pohybovalo v blízkosti LOQ, a tudíž mohlo dojít k nepřesnému odečtení ploch píků nebo k chybě při výpočtu z kalibrační závislosti, což může po přepočtu na 1 g barviva způsobit výraznou absolutní chybu.

3.11.5. Barvivo č. 5

Ze strukturního vzorce barviva č. 5 uvedeného v kapitole 2.3. vyplývá možná přítomnost anilinu a 1-naftylaminu vzniklých redukčním štěpením příslušných azovazeb. 1-naftylamin se používá jako vstupní surovina pro výrobu tohoto barviva a není zařazen mezi „regulované“ PAA v rámci nařízení REACh. Zároveň v procesu výroby může při kopulaci do ortho- polohy a při následném redukčním štěpení vznikat 2-naftylamin, který je dle nařízení REACh regulován. Kopulace do ortho- polohy probíhá ve srovnání s převažující kopulací do polohy para- řádově pouze v jednotkách procent. Tato skutečnost byla potvrzena identifikací

redukčním štěpením vzniklého 2-naftylaminu již v odebraném meziproduktu syntézy barviva, ve formě první kopulací vzniklého monoazobarviva. Zároveň přítomnost 2-naftylaminu nebyla potvrzena ve vstupních surovinách.

V tabulce č. 21 jsou experimentálně stanoveny průměrné obsahy PAA po redukci v barvivu č. 5 získané ze 2 paralelních měření, v případě vodných lázní bylo provedeno vždy pouze jedno stanovení. Z důvodu nenalezení vhodné gradientové eluce, ve které by anilin nebyl v koeluci s některou ze složek vzorku, nebyl jeho obsah vyhodnocován. Z tabulky č. 21 vyplývá, že největší obsah sledovaných PAA se nachází v sypkém barvivu a jeho příslušné barvicí lázni, přičemž by tyto hodnoty měly být srovnatelné.

Z tabulky č. 12 vyplývá, že vytažlivost barviva č. 5 z barvicí lázně na vlněnou tkaninu byla téměř stoprocentní, jelikož se pohybovala okolo 98 %, tudíž ve zbytkové lázni byly obsaženy pouze 2 % barviva. Podobně tak ve zbytkové lázni po redukci bylo nalezeno zhruba 1 % 2-naftylaminu a 1 % 1-naftylaminu z jejich původního množství, které odpovídá jejich obsahu po redukci v barvicí lázni. Nalezené množství 2-naftylaminu a 1-naftylaminu ve zbytkové lázni po redukci se shoduje s přechodem barviva z barvicí do zbytkové lázně.

Z důvodu téměř stoprocentní vytažlivosti kyselého barviva č. 5 na vlněné vlákno byla vlněná tkanina analyzována pouze v jedné formě. Odpovídající hodnota obsahu PAA vztažená na reálné množství barviva zachyceného na 1 g konečného výrobku, konkrétně se jednalo o 122,83 mg barviva zachyceného na 1 g textilu, je uvedena v tabulce č. 21. V tabulce č. 22 je obsah 2-naftylaminu a 1-naftylaminu v textilu přepočten na 1 g barviva. Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 5 jsou uvedeny v příloze 20.

Tabulka 21: Nalezené obsahy PAA v barvivu č. 5 po redukci korigované na účinnost extrakce

BARVIVO Č. 5	ČSN EN ISO 14362-1	
	2-naftylamin [ppm]	1-naftylamin [ppm]
sypké barvivo	101	1214
barvicí lázeň	86	1173
zbytková lázeň	0,7	14
textil	5,6	59

Tabulka 22: Nalezené obsahy PAA v textilu obarveném barvivem č. 5 po redukci korigované na účinnost extrakce

TEXTIL	vztaženo na:	2-naftylamin [ppm]	1-naftylamin [ppm]
	122,83 mg barviva/1 g textilu	5,6	59
	1 g barviva	47	490

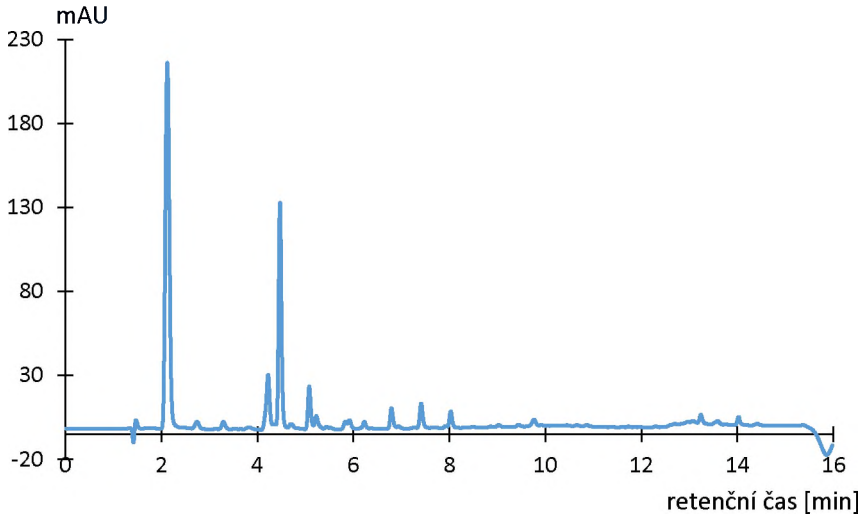
Z výsledků uvedených v tabulkách č. 21 a č. 22 vyplývá relativně dostatečná shoda obsahu 2-naftylaminu i 1-naftylminu nalezených po redukci v barvicí lázni a sypkém barvivu. Zhruba poloviční nalezené obsahy 2-naftylaminu i 1-naftylaminu v textilu po redukci přepočteném na 1 g barviva ve srovnání s obsahem PAA v sypkém barvivu a zároveň barvicí lázni mohou být způsobeny tím, že redukcí vzniklé aminy mohou být buď pevně vázány ve struktuře textilního materiálu, nebo jsou hůře redukovány v barvivu navázaném na textil než ve volném sypkém barvivu.

3.11.6. Zakoupený textilní výrobek

Za účelem analýzy komerčně dostupného textilního výrobku bylo zakoupeno spodní prádlo černého zbarvení o složení 95 % bavlny a 5 % elastanu (obrázek 33). Na základě znalosti složení a nízké ceně produktu by se dalo předpokládat, že byl výrobek obarven některým z barviv spadajících do skupiny barviv přímých.

Výrobek byl stejně jako ostatní analyzované textilní materiály podroben stanovení PAA dle normy ČSN EN ISO 14362 části 1 a části 3. Vzhledem k tomu, že se jednalo o komerční výrobek, nebyl předpokládán výskyt žádného z hledaných PAA. Tento předpoklad byl také potvrzen. V chromatografickém záznamu (obrázek 34) je však patrno několik píků, které mohou představovat složky barviva či další neznámé látky.

Obrázek 33: Zakoupený textilní výrobek

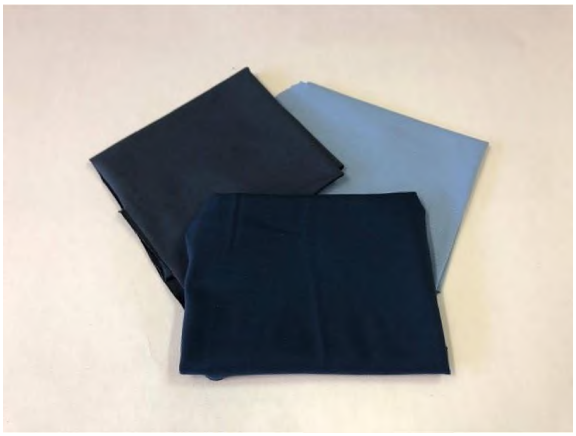


Obrázek 34: Chromatografický záznam zakoupeného textilního výrobku
Experimentální podmínky viz obrázek 22 str. 61.

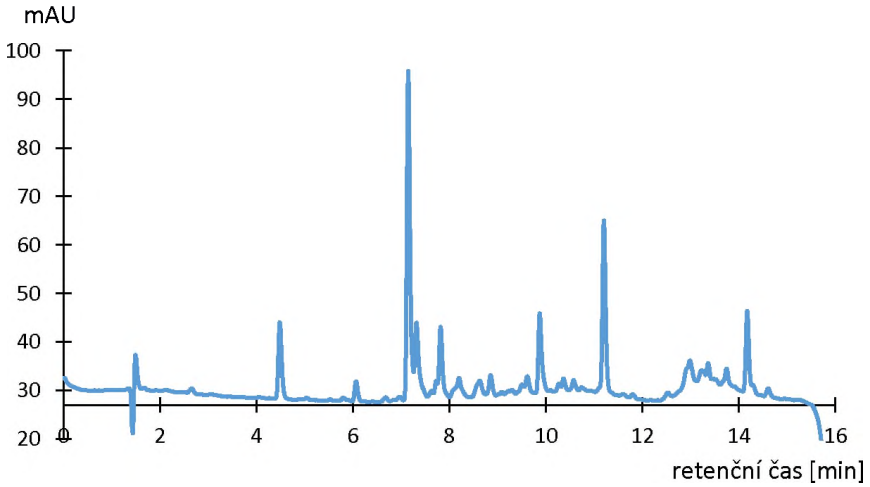
3.11.7. Textilní materiály poskytnuté firmou CityZen s.r.o.

V rámci spolupráce s chrudimskou firmou CityZen s.r.o., která vyrábí bavlněná chytrá trička se schopností absorbovat vlhkost (materiál zabraňuje vzniku viditelných skvrn vlivem pocení), byly pro účely diplomové práce poskytnuty 3 textilní materiály obarvené reaktivními barvivy. Textilní materiály *A* a *B* byly složeny z 95 % bavlny a z 5 % lycry (elastanu), v případě textilního materiálu *C* se jednalo o 100% bavlnu.

Textilní materiály (obrázek 35) byly podrobeny stanovení PAA dle normy ČSN EN ISO 14362 části 1 a části 3. V žádném z analyzovaných vzorků textilních materiálů nebyla potvrzena přítomnost žádného z hledaných PAA, ukázkový chromatogram je zobrazen na obrázku 36.



Obrázek 35: Vzorky textilního materiálu A – textilního materiálu C



Obrázek 36: Chromatografický záznam textilního materiálu A
Experimentální podmínky viz obrázek 22 str. 61.

4. ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu strukturálních PAA po redukci ve vybraných vzorcích azobarviv a jimi obarvených textilních materiálech pomocí HPLC se spektrofotometrickou detekcí v UV/VIS oblasti za využití gradientové eluce. Konkrétně se jednalo o tři zástupce ze skupiny přímých azobarviv a jimi obarvené bavlněné tkaniny a dva zástupce ze skupiny barviv kyselých a jimi obarvené vlněné tkaniny. Poskytnutá barviva z produkce společnosti Synthesia, a.s. nebyla určena ke komerčním účelům. Dále byl analyzován v obchodě zakoupený textilní výrobek a 3 vzorky obarveného textilu poskytnuté firmou CityZen s.r.o.

Pomocí úspěšně zoptimalizovaných metod pro chromatografickou separaci strukturálních PAA byl vyhodnocován obsah jednotlivých PAA ve vzorcích azobarviv, ve kterých vznikají převážně redukčním štěpením azovazeb nebo kontaminací ze vstupních surovin užívaných při výrobě azobarviv. Jednotlivé obsahy PAA byly porovnávány s příslušnou legislativou, kdy pro sumu PAA v konečných výrobcích (textilních materiálech) je stanoven maximální limit 30 ppm dle nařízení REACh, u sypkých azobarviv byl obsah PAA sledován v rámci dodržování etického kodexu mezinárodní organizace ETAD, která povoluje maximální sumu PAA 150 ppm. Sumou PAA se v tomto případě rozumí součet obsahů analyzovaných PAA kromě příspěvku anilinu a p-FDA, které nejsou zahrnuty mezi „regulovanými“ PAA v rámci nařízení REACh a byly sledovány pouze z důvodu jejich případné toxicity. Stanovení PAA bylo vždy prováděno v souladu s normou ČSN EN ISO 14362 Textilie – Metody pro zjišťování určitých aromatických aminů odvozených od azobarviv. Průměrná hodnota účinnosti extrakčního procesu pro normu ČSN EN ISO 14362-1 byla stanovena na 54 % a pro normu ČSN EN ISO 14362-3 na 63 %.

Barvivo č. 1 bylo jediné z analyzovaných azobarviv, u kterého byla nalezena přítomnost 4-AAB dle normy ČSN EN ISO 14362-3 a současně hodnotou 295 ppm 4-AAB došlo k překročení povoleného limitu 150 ppm v sypkém barvivu. V textilním materiálu obarveném barvivem č. 1 však maximální povolený limit PAA překročen nebyl. U všech ostatních analyzovaných azobarviv (barvivo č. 2 – barvivo č. 5) nedošlo k překročení maximálního povoleného limitu pro sumu PAA jak u sypkých barviv, tak ani u konečných výrobků. Ze zjištěných výsledků 5 vzorků azobarviv tedy vyplývá, že i když v sypkých barvivech byly

nalezeny různorodé obsahy PAA, ve všech konečných produktech se hodnoty těchto PAA dostávají až k hranici stanovitelnosti, a tudíž mohou být tyto konečné výrobky považovány za čisté z pohledu obsahu PAA. U komerčně dostupného textilního výrobku, stejně tak jako u textilních materiálů poskytnutých firmou CityZen s.r.o. nebyl nalezen výskyt žádného z hledaných PAA.

U vzorků barviva č. 1 – č. 5 byl současně porovnáván přechod barviva z barvicí do zbytkové lázně s obsahem PAA vzniklých redukcí v těchto lázních. U barviv č. 1, č. 4 a č. 5 nalezené množství PAA ve zbytkových lázních po redukci odpovídá přechodu barviva z barvicích do zbytkových lázní, v ostatních případech může být odlišnost patrně způsobena uvolněním PAA ze struktur vedlejších látek (nečistot) vlivem termických rozkladů během barvicího procesu.

Nedílnou součástí praktické části diplomové práce bylo zjištění vytažlivosti jednotlivých azobarviv na textilní materiály na základě spektrofotometricky získaných hodnot absorbancí barvicích a zbytkových lázní. U kyselých barviv č. 4 a č. 5 byla zjištěna vytažlivost z barvicí lázně na vlněnou tkaninu o síle 98–99 %, u přímých barviv se jednalo o vytažlivost na bavlněné tkaniny v rozmezí 83–90 %.

Pro potřebu zakoncentrování barvicích a zbytkových lázní k následné analýze bylo jako nejvhodnější způsob zvoleno odpaření lázní na elektrickém vařiči z důvodů časové nenáročnosti a jednoduchosti provedení.

V žádném ze vzorků analyzovaných barviv nebyl nalezen žádný volný PAA z hledaných strukturálních PAA.

Z hlediska dlouhodobé stability bylo shledáno, že p-FDA a p-kresidin jsou nestabilní, jelikož u nich docházelo k poklesu koncentrací o více než 80 % během 30 dnů, zatímco u ostatních sledovaných PAA byl pokles minimální, a tudíž jsou považovány za stabilní.

Z experimentu zabývajícím se zjištěním stability vodného roztoku dithioničitanu sodného jako redukčního činidla vyplývá, že jeho redukční schopnosti přetrvávají po dobu 2 hodin od přípravy. Až po uplynutí této doby se činidlo rozkládá a jeho redukční schopnosti výrazně klesají.

Dále byly porovnávány výsledky analýz obsahu PAA vzniklých redukčním štěpení podle normy ČSN EN ISO 14362-1,3 v 200 mg sypkého barviva a v 1 g textilního materiálu, na který jsou však zachyceny řádově pouze jednotky až desítky mg barviva. Výrazné rozdíly

ve výsledcích při stanovení PAA po redukci ve 27,7 g obarveného textilu (s předpokládaným obsahem cca 200 mg barviva) oproti 200 mg sypkého barviva mohou být způsobeny buď nedodržením přesného pracovního postupu normy při zpracování velké navážky textilu, nebo může být brán v potaz vliv textilní matrice při redukčním štěpení, kdy veškeré barvivo navázané na textil nemusí kvantitativně podléhat redukčnímu štěpení jako v případě barviva sypkého. Je velice pravděpodobné, že na redukční štěpení může mít vliv typ redukovaného barviva, a především typ textilního materiálu, na kterém je barvivo zachyceno. Ať je skutečný důvod neshody výsledků experimentu jakýkoliv, především z něj vyplývá, že z analytického hlediska daná norma nevhodně porovnává množství PAA vzniklých redukčním štěpením z 200 mg sypkého barviva a řádově jednotek či maximálně desítek mg barviva obsaženého v 1 g obarveného textilu.

Vedle již diskutovaných možností v neshodách mezi nalezenými výsledky analýz při skládání bilančních rovnic je nutno vzít v úvahu především fakt, že obsahy PAA po redukci nalezené v textilním materiálu jsou vztaženy na skutečné množství navázaného barviva pohybující se většinou řádově v jednotkách až desítkách miligramů, kdy i velmi malá chyba při stanovení může způsobit po přepočtu na 1 g barviva velkou absolutní odchylku. Z tohoto důvodu by bylo výhodnější pro detekci a stanovení nízkých koncentrací PAA po redukci v textilním materiálu použít citlivější detektor (např. hmotnostní spektrometr).

5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. ZAHRADNÍK, Miloš. *Barviva používaná v technické praxi*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1986.
2. SIMON, James E, Eric A. DECKER, Mario G. FERRUZZI, Monica M. GIUSTI, Carla D. MEJIA, Mark GOLDSCHMIDDT a Stephen T. TALCOTT. *Establishing Standards on Colors from Natural Sources*. Journal of Food Science [online]. 2017, vol. 82, iss. 11, s. 2540-2541 [cit. 2019-11-19]. DOI: 10.1111/1750-3841.13927. ISSN 0022-1147. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/1750-3841.13927.
3. BECHTOLD, Thomas a Rita MUSSAK. *Handbook of Natural Colorants*. Chichester: John Wiley & Sons, 2009. ISBN 978-0-470-51199-2.
4. ČOPÍKOVÁ, Jana, Michal UHER, Oldřich LAPČÍK, Jitka MORAVCOVÁ, Pavel DRAŠAR. *Přírodní barevné látky*. Chem. listy 99 [online]. 2005, s. 802-816 [cit. 2019-11-19]. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2005_11_802-816.pdf.
5. [online]. [cit. 2019-11-19]. Dostupné z: https://www.swansonvitamins.com/blog/lindsey/turmeric-vs-curcumin-what-is-the-difference.
6. KANETKAR, Vinod R. *Colour: History and Advancements*. Resonance [online]. 2010, vol. 15, iss. 9, s. 794-803 [cit. 2019-11-20]. DOI: 10.1007/s12045-010-0089-2. ISSN 09718044. Dostupné z: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs12045-010-0089-2.pdf.
7. KOGAN, I. M. *Chemie barviv*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1960.
8. MARMION, Daniel. *Colorants for Foods, Drugs, and Cosmetics*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology [online]. 2009 [cit. 2019-11-20]. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/0471238961.0315121513011813.a01.pub3
9. PROUZOVÁ, Kamila. *Barvení potravin v průběhu času* [online]. Pardubice, 2018 [cit. 2019-11-20]. 56 s. https://hdl.handle.net/10195/71672. Dostupné z: https://dk.upce.cz/bitstream/handle/10195/71672/ProuzovaK_Barveni_potravin_JF_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y. Bakalářská práce. Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická. Vedoucí práce doc. Ing. Jan Fischer, CSc.

10. *Profil společnosti Synthesia, a.s* [online]. [cit. 2019-12-13]. Dostupné z: https://www.synthesia.eu/cze/o-spolecnosti/profil-spolecnosti.
11. *Historie společnosti Synthesia, a.s* [online]. [cit. 2019-12-13]. Dostupné z: https://www.synthesia.eu/cze/o-spolecnosti/historie.
12. DUŠEK, Libor. *Organické pigmenty*. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2004. ISBN 80-7194-635-4.
13. *Přírodní a syntetická potravinářská barviva a pigmenty* [online]. [cit. 2019-11-20]. Dostupné z: https://web.natur.cuni.cz/~kudch/main/JPD3/navody2007/5prezentacepigmenty.pdf.
14. BORODKIN, V. F. *Chemie organických barviv*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987.
15. přednáškové materiály prof. Ing. Radima Hrdiny, CSc.
16. VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin 2*. 3 vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-16-9.
17. KRYŠTŮFEK, Jiří, Jakub WIENER a Dagmar MACHAŇOVÁ. *Barvení textilií II*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2011. ISBN 978-80-7372-796-3.
18. HLADÍK, Vladimír. *Základy teorie barvení*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1968.
19. ARIENT, Josef. *Přehled barviv*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1968.
20. [online]. [cit. 2019-12-07]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Kopulace_(chemie)#/media/Soubor:Synthesis_of_Organol_Brown_N.svg.
21. KRYŠTŮFEK, Jiří a Jakub WIENER. *Barvení textilií I*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2008. ISBN 978-80-7372-328-6.
22. HLADÍK, Vladimír. *Textilní barvířství*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1992.
23. DEMBICKÝ, Josef, Jiří KRYŠTŮFEK, Dagmar MACHAŇOVÁ, Jaroslav ODVÁRKA, Miroslav PRÁŠIL a Jakub WIENER. *Zušlechťování textilií*. Liberec: Technická univerzita v Liberci, 2008. ISBN 978-80-7372-321-7.
24. [online]. [cit. 2020-01-12]. Dostupné z: https://www.icat.sk/blog/vlastnosti-bavlny.
25. [online]. [cit. 2020-01-12]. Dostupné z: https://leporelo.info/celulosa.

26. *Vlákna z keratinu: vlna ovčí* [online]. [cit. 2020-01-18]. Dostupné z: http://www.skolatextilu.cz/elearning/462/textilni-terminologie-zboziznalstvi/vlakna-prize-a-nite/Vlakna-zkeratinu-vlna-ovci.html.
27. RICHARDS, P.R. *Dye types and application methods*. Colour design: Theories and Applications [online]. 2012, vol. 3, s. 471-496 [cit. 2020-01-18]. DOI: 10.1533/9780857095534.3.471. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845699727500175.
28. SEKAR, N. *Direct dyes*. Handbook of Textile and Industrial Dyeing [online]. 2011, vol. 2, s. 425-445 [cit. 2020-01-18]. DOI: 10.1533/9780857093974.2.425. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/285404698_Direct_dyes.
29. *General introduction to the chemistry of dyes*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans: Some Aromatic Amines, Organic Dyes, and Related Exposures [online]. 2010, vol. 99, s. 55-67 [cit. 2020-01-18]. ISBN: 978-92-832-1599-8. Dostupné z: https://docplayer.net/21010688-General-introduction-to-the-chemistry-of-dyes-1-principles-of-colour-chemistry.html.
30. CHATTOPADHYAY, D. P. *Chemistry of dyeing*. Handbook of Textile and Industrial Dyeing [online]. 2011, vol. 1, s. 150-183 [cit. 2020-01-18]. DOI: 10.1533/9780857093974.21.150. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845696955500040.
31. GREGORY, Peter. *Dyes and Dye Intermediates*. Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology [online]. 2009 [cit. 2020-01-18]. Dostupné z: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/0471238961.0425051907180507.a01.pub2
32. SEKAR, N. *Acid dyes*. Handbook of Textile and Industrial Dyeing [online]. 2011, vol. 2, s. 486-514 [cit. 2020-01-20]. DOI: 10.1533/9780857093974.2.486. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845696955500155.
33. CHAKRABORTY, J. N. *Dyeing with acid dye*. Fundamentals and Practices in Colouration of Textiles [online]. 2010, s. 166-174 [cit. 2020-01-20]. DOI: 10.1533/9780857092823.166. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9781845697884500157.
34. MCMURRY, J. a J. JONAS. *Organická chemie*. Brno: VUTIUM, 2007. ISBN 978-80-214-3291-8.

35. *Organická chemie: Dusíkaté deriváty a heterocykly* [online]. [cit. 2020-02-01]. Dostupné z: https://www.mojechemie.cz/Organick%C3%A1_Chemie:Dus%C3%ADkat%C3%A9_deriv%C3%A1ty_a_heterocykly.
36. COOPER, Jane. *Analysis of Primary Aromatic Amines in Cosmetics and Personal Care Products*. Waters Corporation [online]. 2015, [cit. 2020-02-02]. Dostupné z: https://www.waters.com/nextgen/nz/en/library/application-notes/2015/analysis-of-primary-aromatic-amines-in-cosmetics-and-personal-care-products.html?locale=en_US&fbclid=IwAR3K9Wov_JkFrcs6-RS0gS1wHnnq7VWZQeJAkF61KPVchyUEtOlKG-stbzs.
37. PINHEIRO, H. M., E. TOURAUD a O. THOMAS. *Aromatic amines from azo dye reduction: status review with emphasis on direct UV spectrophotometric detection in textile industry wastewaters*. Dyes and Pigments [online]. 2004, vol. 61, s. 121-139 [cit. 2020-02-02]. DOI: 10.1016/j.dyepig.2003.10.009. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0143720803002092.
38. FREEMAN, Harold S. *Aromatic amines: Use in azo dye chemistry*. Frontiers in Bioscience [online]. 2013, vol. 18, s. 145-164 [cit. 2020-02-02]. DOI: 10.2741/4093. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/234019311_Aromatic_amines_Use_in_azo_dye_chemistry.
39. *DETOX Program Hazardous Substances Fact Sheet: Amines from azo dyes and carcinogenic dyes* [online]. [cit. 2020-02-02]. https://www.rewe-group.com/dam/jcr:2b53e4f4-6f5d-471c-9eaf-7d7ada3785be/FS%20Amines%20and%20Carcinogenic%20Dyes.pdf.
40. ABOTT, P. J., A. MATTIA, A. J. RENWICK a M. DINOVI. *Aliphatic and aromatic amines and amides* [online]. 2006, s. 327-403 [cit. 2020-02-02]. Dostupné z: http://www.inchem.org/documents/jecfa/jecmono/v56je13.pdf.
41. SHUANG, W., D. HANNA, K. S. SUGAMORI a D. M. GRANT. *Primary aromatic amines and cancer: Novel mechanistic insights using 4-aminobiphenyl as a model carcinogen*. Pharmacology & Therapeutics [online]. 2019, vol. 200, s. 179-189 [cit. 2020-

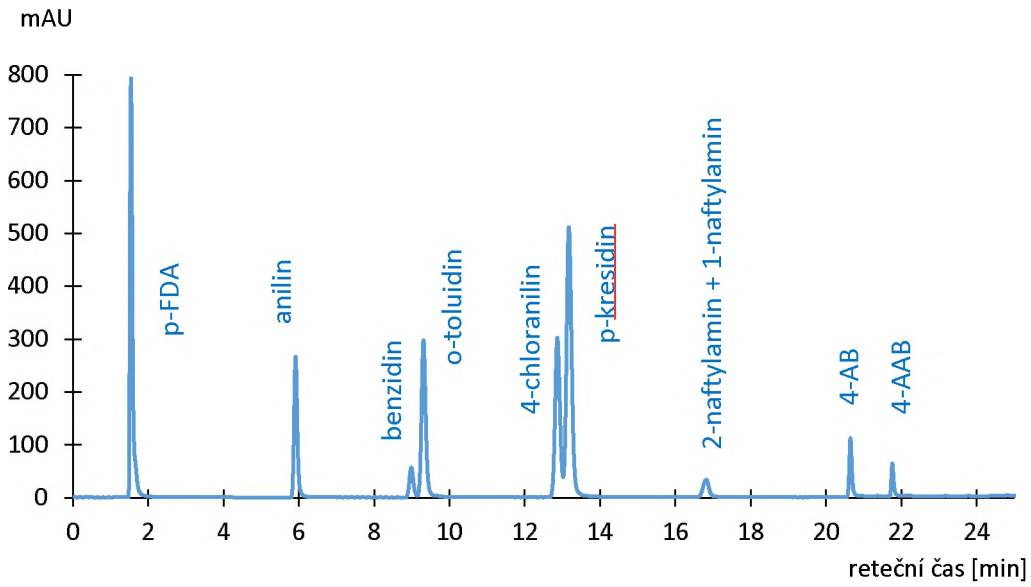
02-07]. DOI: https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2019.05.004. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0163725819300786.

42. BRÜSCHWEILER, B. J., S. KÜNG, D. BÜRGI, L. MURALT a E. NYFELER. *Identification of non-regulated aromatic amines of toxicological concern which can be cleaved from azo dyes used in clothing textiles*. Regulatory Toxicology and Pharmacology [online]. 2014, vol. 69, s. 263-272 [cit. 2020-02-08]. DOI: 10.1016/j.yrtph.2014.04.011. Dostupné z: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24793261.
43. REACH ONLINE. *Příloha XVII: omezení výroby, uvádění na trh a používání některých nebezpečných látek, směsí a předmětů* [online]. [cit. 2020-02-07]. Dostupné z: https://reachonline.eu/reach/cs/priloha-xvii.html.
44. REACH ONLINE. *Dodatek 8: Záznam 43 – Azobarviva – Seznam aromatických aminů* [online]. [cit. 2020-02-07]. Dostupné z: https://reachonline.eu/reach/cs/dodatek-8.html.
45. ABE, Y., M. YAMAGUCHI, M. MUTSUGA, H. AKIYAMA a Y. KAWAMURA. *Survey of Primary Aromatic Amines and Colorants in Polyurethane, Nylon and Textile Toys*. Journal of the Food Hygienic Society of Japan [online]. 2016, vol. 57, s. 23-31 [cit. 2020-02-08]. DOI: 10.3358/shokueishi.57.23. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/303393418_Survey_of_Primary_Aromatic_Amines_and_Colorants_in_Polyurethane_Nylon_and_Textile_Toys.
46. DALL'ANESE, R. G., G. BARTOLINI a A. FRANCHI. *Quantitative determination of 26 aromatic amines derived from banned azo dyes in textiles through the use of LC, tandem MS and identification of some structural isomers*. Agilent Technologies [online]. 2014 [cit. 2020-02-08]. Dostupné z: https://www.agilent.com/cs/library/applications/5991-5169EN.pdf.
47. KOLADO, W. a M. BALCERZAK. *The examination of migration of primary aromatic amines from laminated plastic food packaging materials into food simulants by spectrophotometry method*. Acta Alimentaria [online]. 2008, vol. 38, s. 45-54 [cit. 2020-02-08]. DOI: 0.1556/AAlim.2008.0020. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/250007285_The_examination_of_migration_of_primary_aromatic_amines_from_laminated_plastic_food_packaging_materials_into_food_simulants_by_spectrophotometry_method.

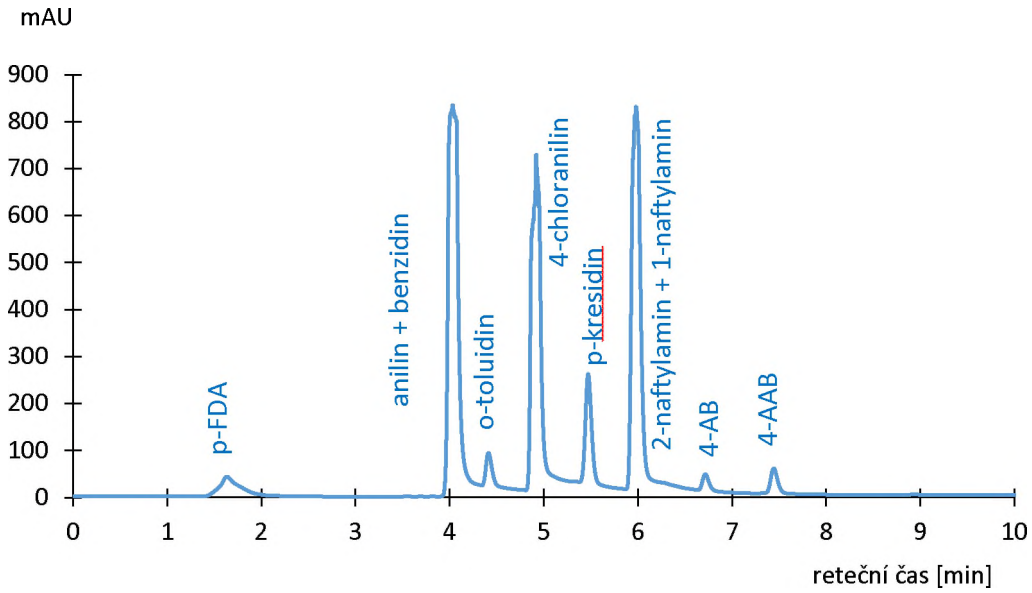
48. ASTHANA, A., D. BOSE, A. DURGBANSHI, S. K. SANGHI a W. T. KOK. *Determination of aromatic amines in water samples by capillary electrophoresis with electrochemical and fluorescence detection*. Journal of Chromatography A [online]. 2000, vol. 895, s. 197-203 [cit. 2020-02-09]. DOI: 10.1016/s0021-9673(00)00522-7. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021967300005227?via%3Dihub.
49. PIELESZ, A. *The process of the reduction of azo dyes used in dyeing textiles on the basis of infrared spectroscopy analysis*. Journal of Molecular Structure [online]. 1999, s. 337-344 [cit. 2020-02-09]. Dostupné z: https://vdocuments.site/the-process-of-the-reduction-of-azo-dyes-used-in-dyeing-textiles-on-the-basis.html.
50. ČSN EN ISO 14362-1. *Zjišťování použití určitých azobarviv stanovitelných extrakcí a bez extrakce vláken.* Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017. 32 s. Třídící znak 80 0874.
51. ČSN EN ISO 14362-3. *Zjišťování použití určitých azobarviv, které mohou uvolňovat 4-aminoazobenzen.* Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2017. 32 s. Třídící znak 80 0874.
52. BRAITHWAITE, A. a F. J. SMITH. *Chromatographic Methods*. 4th ed. London: Chapman & Hall, 1985.
53. *High Performance Liquid Chromatography, HPLC* [online]. [cit. 2020-01-10]. Dostupné z: https://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/hplc.html.
54. *Waters, the Science of what's possible* [online]. [cit. 2020-01-10]. Dostupné z: https://www.waters.com/waters/en_CZ/HPLC---High-Performance-Liquid-Chromatography-Beginner%27s-Guide/nav.htm?cid=10048919&locale=en_CZ.
55. CHURÁČEK, Jaroslav. *Analytická separace látek*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. ISBN 80-03-00569-8.
56. YASHIN, Y.I. *Liquid Chromatography*. Chemical Analysis of Food: Techniques and Applications [online]. 2012, vol. 10, s. 285-310 [cit. 2020-01-10]. DOI: 10.1016/B978-0-12-384862-8.00010-8. ISBN 978-012384862-8. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123848628000108?via%3Dihub.
57. [online]. [cit. 2020-01-10]. Dostupné z: https://docplayer.cz/44574036-Stanoveni-vybranych-perfluoroalkylovych-sloucenin-v-komplexnich-matricich.html.
58. *Teorie HPLC/Základy HPLC* [online]. [cit. 2020-01-10]. Dostupné z: http://hplc.cz/.

59. CHURÁČEK, Jaroslav. *Nové trendy v teorii a instrumentaci vybraných analytických metod.* Praha: Academia, 1993. ISBN 80-200-0010-0.
60. *High Performance Liquid Chromatography: Principle, Types, Instrumentation and Applications* [online]. [cit. 2020-01-10]. Dostupné z: https://laboratoryinfo.com/hplc/.
61. SHACKMAN, J. G. *General Instrumentation.* Liquid Chromatography: Fundamentals and Instrumentation [online]. 2013, vol. 13, s. 283-306 [cit. 2020-01-10]. DOI: 10.1016/B978-0-12-415807-8.00013-4. ISBN 978-0-12-415807-8. Dostupné z: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124158078000134?via%3Dihub.
62. HAURI, Urs, Beat LÜTOLF, Urs SCHLEGEL a Christopher HOHL. *Determination of carcinogenic aromatic amines in dyes, cosmetics, finger paints and inks for pens and tattoos with LC/MS.* Mitteilungen aus Lebensmitteluntersuchung und Hygiene [online]. 2005, vol. 96, s. 321-335 [cit. 2020-02-21]. ISSN 1424-1307. Dostupné z: https://issuu.com/fs_qde/docs/2005_hauri__lutolf__schlegel__hohl.

6. PŘÍLOHY

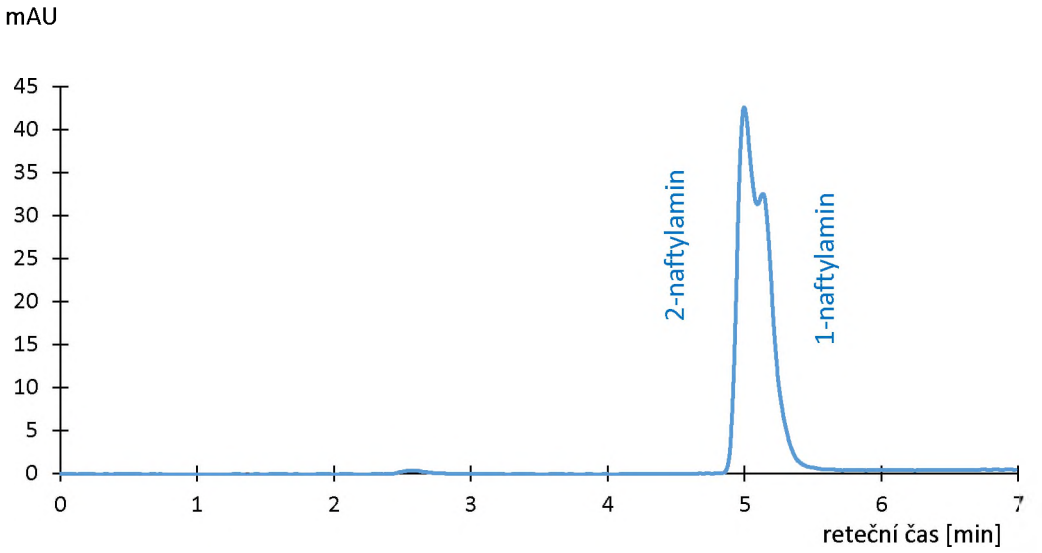


Příloha 1: Chromatografický záznam separace standardů PAA (A)
kapalinový chromatograf Shimadzu, kolona: Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm), předkolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm); teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: ACN/voda + octan amonný (1 g/l), gradientová eluce: 0 min – 15 %, 2 min – 15 %, 2,5 min – 20 %, 11 min – 30 %, 17 min – 40 %, 23 min – 90 %, 25 min – 90 %, detekce: 240 nm



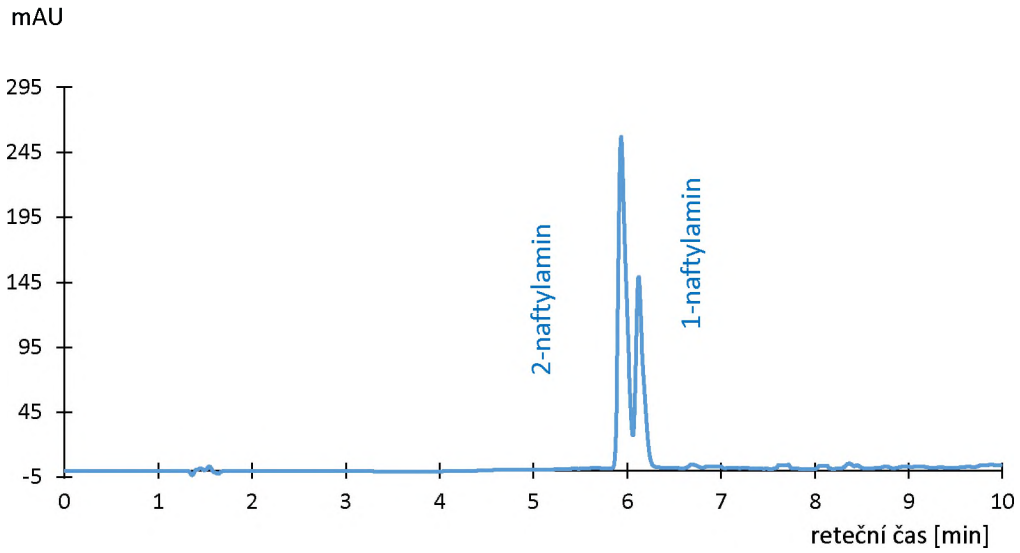
Příloha 2: Chromatografický záznam separace standardů PAA (B)

kapalinový chromatograf Shimadzu, kolona: Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm), předkolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm); teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: ACN/voda + octan amonný (1 g/l), gradientová eluce: 0 min – 20 %, 4 min – 60 %, 10 min – 80 %, 10,5 min – 90 %, 13 min – 90 %, detekce: 240 nm



Příloha 3: Chromatografický záznam separace standardů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu (A)

kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II, kolona: Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm), předkolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm); teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: MeOH/voda + octan amonný (1 g/l), gradientová eluce: 0 min – 50 %, 1,5 min – 50 %, 7 min – 65 %, 7,5 min – 90 %, 9,5 min – 90 %, detekce: 240 nm



Příloha 4: Chromatografický záznam separace standardů 2-naftylaminu a 1-naftylaminu (B) kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II, kolona: Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 150 mm; 4 µm), předkolona Poroshell 120 EC C18 (3,0 x 5 mm; 2,7 µm); teplota kolony: 35 °C, nástřik: 5 µl, konstantní průtok: 0,5 ml/min, MF: ACN/0,01% kyselina mravenčí ve vodě, gradientová eluce: 0 min – 25 %, 0,5 min – 25 %, 5 min – 70 %, 8 min – 90 %, 10 min – 90 %, detekce: 240 nm

c [µg/ml]	Ø plocha píku [mV.s]
0,056	0,5660
0,111	2,588
0,278	6,144
0,556	17,03
1,11	39,94
2,78	116,8
5,56	248,6
13,9	645,6
27,8	1352
41,7	2017
55,6	2715
83,4	4106
111	5517
139	6779

Příloha 5: Kalibrační data pro závislost p-FDA

c [µg/ml]	Ø plocha píku [mV.s]
0,052	2,015
0,105	3,578
0,262	8,742
0,524	16,19
1,05	32,86
2,62	82,37
5,24	168,0
13,1	415,7
26,2	855,5
39,3	1259
52,4	1702
78,7	2541
105	3378
131	4172

Příloha 6: Kalibrační data pro závislost anilinu

c [µg/ml]	Ø plocha píku [mV.s]
0,097	1,601
0,242	5,520
0,484	11,12
0,726	16,91
0,968	22,64
9,68	238,6
19,4	472,5
29,1	717,8
38,7	951,2
48,4	1184

Příloha 7: Kalibrační data pro závislost p-kresidinu

c [µg/ml]	Ø plocha píku [mV.s]
0,049	0,6652
0,099	2,174
0,246	5,708
0,493	11,42
0,986	23,33
2,46	59,10
4,93	119,2
12,3	299,7
24,7	624,3
37,0	915,6
49,2	1242
73,9	1860
98,6	2451
123	3097

Příloha 8: Kalibrační data pro závislost 4-AAB

c [µg/ml]	Ø plocha píku [mV.s]
0,049	8,015
0,098	10,81
0,246	27,58
0,491	55,61
0,982	111,6
2,46	269,9
4,91	579,9
12,3	1451
24,6	2941
36,8	4446
49,1	5888
73,7	88720
98,2	11660
123	14230

Příloha 9: Kalibrační data pro závislost 2-naftylaminu

c [µg/ml]	Ø plocha píku [mV.s]
0,048	4,191
0,096	6,261
0,240	16,02
0,480	32,85
0,960	67,94
2,40	164,3
4,80	355,3
12,0	882,1
24,0	1802
36,0	2726
48,0	3596
72,0	5447
96,0	7237
120	8955

Příloha 10: Kalibrační data pro závislost 1-naftylaminu

	c standard PAA [µg/ml]	Ø plocha píku standardu PAA [mV.s]	c kal. členu [µg/ml]	Ø plocha píku kal. členu [mV.s]
anilin	35,57	618,3	39,32	1259,1
4-AAB	19,7	315,1	24,65	624,3

Výpočet účinnosti normy ČSN EN ISO 14362-1 pomocí standardu anilinu:

39,32 µg/ml …… 1259,1 mV.s

35,57 µg/ml …… x mV.s

x = 1139,0 mV.s

1139,0 mV.s …….. 100 %

618,3 mV.s …….. y %

y ~ 54 %

Příloha 11: Průměrné plochy píků standardů PAA a odpovídajících členů kalibrace pro zjištění účinnosti extrakce + ukázkový výpočet

čas [dny]	Ø plochy píků [mV.s]								
	p-FDA	anilin	benzidin	o-toluidin	4-chlor-anilin	p-kresidin	2-naftylamin	4-AB	4-AAB
1	431,3	313,4	595,3	224,2	482,9	214,5	1583,1	522,4	218,8
2	413,3	307,1	593,7	212,1	462,2	187,6	1573,5	516,8	215
3	385,5	301,4	595,2	207,2	460,6	180,7	1554,8	514,7	211,9
4	319,8	299	594,3	209,2	458,6	162,7	1543	519,1	211,6
16	66,9	291,3	594,7	199,5	461,4	57,8	1496,1	517,8	209,1
18	45,7	286,2	594,2	195,5	460	27,1	1474,8	516,5	208,9
30	13,3	280,4	590,8	184,8	462,1	28,6	1454,8	518,7	209,1
čas [dny]	**relativní plocha píků [%]**								
	p-FDA	anilin	benzidin	o-toluidin	4-chlor-anilin	p-kresidin	2-naftylamin	4-AB	4-AAB
1	100	100	100	100	100	100	100	100	100
2	96	98	100	95	96	88	99	99	98
3	89	96	100	92	95	84	98	99	97
4	74	95	100	92	95	76	98	99	96
16	16	93	100	89	95	27	95	99	96
18	11	91	100	87	95	13	93	99	96
30	3	90	99	82	95	13	92	99	96

Příloha 12: Průměrné hodnoty odečtených ploch jednotlivých standardů PAA a jejich relativní pokles vztažený ke dni 1 v závislosti na čase

čas použití redukčního činidla od přípravy [hod]	navážka barviva č. 1 [g]	plocha píku 4-AAB
0	0,201	630,6
1	0,202	674,5
2	0,199	680,4
3	0,202	615,7
4	0,201	549,8
5	0,200	481,8

Příloha 13: Příslušné navážky barviva č. 1 a získané plochy píku 4-AAB pro zjištění stability redukčního činidla

barvivo	$c_{\text{barvicí lázeň}}$ [mg/ml]	$Abs_{\text{barvicí lázeň}}$ [-]	$Abs_{\text{zbytková lázeň}}$ [-]
č. 1 (bavlna)	0,40	0,5764 (20x zř.)	0,0562 (20x zř.)
č. 2 (bavlna)	0,38	0,7592 (10x zř.)	0,1261 (10x zř.)
č. 3 (bavlna)	0,65	0,1813 (20x zř.)	0,0252 (20x zř.)
č. 4 (vlna)	0,25	0,3029 (20x zř.)	0,0359 (nezř.)
č. 5 (vlna)	1,25	0,4815 (100x zř.)	0,0836 (10x zř.)

Příloha 14: Hodnoty absorbancí vhodně naředěných barvicích a zbytkových lázní

	$c_{\text{barvicí lázeň}}$ pro obarvení 10 g textilu	$c_{\text{barvicí lázeň}}$ pro obarvení 1 g textilu	vytažlivost na textil [%]	množství barviva v 1 g textilu [mg]
barvivo č. 1 (bavlna)	80 mg/200 ml	8 mg/200 ml	90	7,22
barvivo č. 2 (bavlna)	75 mg/200 ml	7,5 mg/200 ml	83	6,23
barvivo č. 3 (bavlna)	130 mg/200 ml	13 mg/200 ml	86	11,19
barvivo č. 4 (vlna)	50 mg/200 ml	5 mg/200 ml	99	4,97
barvivo č. 5 (vlna)	1250 mg/l	125 mg/l	98	122,83

Příloha 15: Údaje potřebné pro výpočet množství barviva, které se reálně zachytí na 1 g textilního materiálu

BARVIVO Č. 1	Ø plochy píků [mV.s]	
	ČSN EN ISO 14362-1	ČSN EN ISO 14362-3
	anilin	4-AAB
sypké barvivo (200 mg)	532,3	938,0
barvicí lázeň (0,4 mg/ml)	140,3	416,9
zbytková lázeň	21,3	4,7
textil (1 g)		
- ustálený	13,3	4,4
- neustálený	24,3	9,5

Příloha 16: Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 1 po redukci

BARVIVO Č. 2	Ø plochy píků [mV.s] ČSN EN ISO 14362-1	
	anilin	p-kresidin
sypké barvivo (200 mg)	1255,5	37,3
barvicí lázeň (0,375 mg/ml)	173,1	7,1
zbytková lázeň	37,9	7,0
textil (1 g)		
- ustálený	9,8	0,6
- neustálený	27,1	2,0

Příloha 17: Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 2 po redukci

BARVIVO Č. 3	Ø plochy píků [mV.s] ČSN EN ISO 14362-1	
	p-FDA	anilin
sypké barvivo (200 mg)	351,8	839,6
barvicí lázeň (0,65 mg/ml)	133,4	321,0
zbytková lázeň	117,3	204,5
textil (1 g)		
- ustálený	2,0	10,1
- neustálený	4,1	18,9

Příloha 18: Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 3 po redukci

BARVIVO Č. 4	Ø plochy píků [mV.s] ČSN EN ISO 14362-1 anilin
sypké barvivo (200 mg)	879,8
barvicí lázeň (0,25 mg/ml)	105,3
zbytková lázeň	3,7
textil (1 g)	25,0

Příloha 19: Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 4 po redukci

BARVIVO Č. 5	Ø plochy píků [mV.s] ČSN EN ISO 14362-1	
	2-naftylamin	1-naftylamin
sypké barvivo (200 mg)	1348,8	9863,9
barvicí lázeň (1,25 mg/ml)	677,6	5942,7
zbytková lázeň	5,7	65,7
textil (1 g)	367,6	2436,9

Příloha 20: Průměrné plochy píků všech analyzovaných forem vzorků barviva č. 5 po redukci