

Univerzita Pardubice

Fakulta chemicko-technologická

Stanovení 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly (kongener 52) v organických
kolorantech

Bc. Tereza Frenclová

Diplomová práce

2021

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

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

Jméno a příjmení: **Bc. Tereza Frenclová**
Osobní číslo: **C19477**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Hodnocení a analýza potravin**
Téma práce: **Stanovení 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly (kongener 52) v organických kolorantech**
Zadávající katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

1. Formou literární rešerše zpracujte problematiku nečistot typu polychlorovaných bifenyly ve vybraných organických kolorantech. Zaměřte se na jejich tvorbu během syntézy a na možnosti jejich stanovení separačními technikami.
2. V experimentální části aplikujte HPLC/DAD metodu a GC/HRMS metodu na stanovení 2,2', 5,5'-tetrachlorbifenyly v předložených vzorcích pigmentů a barviv.
3. Získané výsledky vyhodnoťte, diskutujte a porovnejte obě aplikované metody.

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
Ing. Jan Vyňuchal, Ph.D.
Synthesia a.s. Pardubice

Datum zadání diplomové práce: **5. února 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **7. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

prof. Ing. Karel Ventura, CSc.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Stanovení 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly (kongener 52) v organických kolorantech jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena 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 2. července 2021

Bc. Tereza Frenclová

Poděkování:

Ráda bych poděkovala vedoucímu diplomové práce doc. Ing. Janu Fischerovi, CSc., Ing. Janu Vyňuchalovi, Ph.D. a Ing. Barboře Řehákové, konzultantům ze společnosti Synthesia, a.s., za jejich odborné vedení a rady při tvorbě této diplomové práce. Děkuji Ing. Miloslavu Sebránkovi a Ing. Štěpánu Hainišovi z akreditované laboratoře ALS za spolupráci a odborné konzultace. Dále děkuji Ing. Jiřímu Čermákovi, CSc. z laboratoře VUOS.

ANOTACE

Tato diplomová práce je zaměřena na stanovení obsahu 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly v organických kolorantech pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografii se spektrofotometrickou detekcí a plynové chromatografie spojené s vysokorozlišovací hmotnostní spektrometrií. V teoretické části jsou základní informace o společnosti Synthesia, a.s. a organických kolorantech. Zmíněné jsou syntézy konkrétních kolorantů, jako je Pigment Red 2, Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s příslušnými meziprodukty a syntéza barviva Acid Black 210 (Korostanová čern AN). Dále je pozornost věnovaná polychlorovaným bifenyly, jejich charakteristickým vlastnostem, jejich vzniku během syntézy, legislativě regulující jejich obsah ve výrobcích a možnostem stanovením jejich obsahu dle normované i nenormované metody. Na závěr teoretické části je stručně popsána použitá instrumentace vysokoúčinné kapalinové a plynové chromatografie. Experimentální část je zaměřena na stanovení obsahu polychlorovaného bifenyly 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly (kongener 52) ve vybraných červených pigmentech a černém barvivu za pomoci HPLC s UV/VIS detekcí a GC/HRMS. Získané výsledné hodnoty z obou metod jsou porovnány mezi sebou a s příslušnou legislativou.

KLÍČOVÁ SLOVA

Organické pigmenty, azopigmenty, diazotace, kopulace, Pigment Red 2, polychlorované bifenyly, kongener 52, HPLC, GC/HRMS.

TITLE

Determination of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl (congener 52) in organic colorants

ANNOTATION

This master thesis deals with determination of 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl in organic colorants by High Performance Liquid Chromatography with spectrophotometric detection and Gas Chromatography with High-Resolution Mass Spectrometry. In the theoretical part are basic information about Synthesia, a.s. company and organic colorants. Syntheses of specific colorants are mentioned, such as Pigment Red 2, Pigment Red 166 and Pigment Red 214 with respective intermediate and syntheses of dye Acid Black 210 (Korostan black AN). Then attention is paid to polychlorinated biphenyls, their characteristic properties, inadvertent creation, legislative setting of maximum limits in products and determination its content according to the standardized and non-standardized methods. At the end of theoretical part is a description of the used instrumentation for HPLC analysis and GC/MS analysis. The experimental part is based on the determination of the content polychlorinated biphenyls 2,2',5,5'-tetrachlorobiphenyl in organic colorants in selected red pigments and black dye by HPLC with UV/VIS detection and GC/HRMS. The obtained results from both methods are compared with each other and with relevant legislation.

KEYWORDS

Organic pigments, azopigments, diazotation, azo-coupling, Pigment Red 2, polychlorinated biphenyls, congener 52, HPLC, GC/HRMS.

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ.....	11
SEZNAM TABULEK.....	13
SEZNAM ZKRATEK	15
1 Teoretická část.....	18
1.1 Společnost Synthesia, a. s.	18
1.2 Koloranty	18
1.2.1 Barviva.....	19
1.2.2 Pigmenty	20
1.3 Syntetické organické pigmenty.....	20
1.3.1 Vlastnosti organických pigmentů	22
1.3.2 Azopigmenty.....	23
1.3.2.1 Syntéza azopigmentů	23
1.3.2.2 Pigmenty odvozené od Naftol-AS	25
1.4 Pigment Red 2.....	26
1.4.1 Syntéza Pigment Red 2	26
1.4.1.1 Podmínky pro vznik polychlorovaných bifenyků při syntéze Pigment Red 2.....	27
1.4.2 Využití Pigment Red 2.....	28
1.5 Pigment Red 166 a Pigment Red 214	29
1.5.1 Syntéza Pigment Red 166 a Pigment Red 214	30
1.6 Acid Black 210	33
1.6.1 Syntéza Acid Black 210.....	34
1.7 Polychlorované bifenyly	36
1.7.1 Polychlorované bifenyly v syntetických organických pigmentech	38
1.7.1.1 Vznik polychlorovaných bifenyků při syntéze pigmentů.....	39
1.7.1.2 Stanovení polychlorovaných bifenyků v pigmentech	42

1.7.2	Stanovené limity pro obsah polychlorovaných bifenylyů	43
1.8	Příklady stanovení polychlorovaných bifenylyů v kolorantech.....	44
1.9	Pigmenty a polychlorované bifenyly v potravinářských obalech	45
1.10	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie.....	46
1.10.1	Instrumentace HPLC.....	47
1.11	Plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí.....	49
1.11.1	Instrumentace GC	49
1.11.2	Spojení GC/MS.....	50
2	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	51
2.1	Přístroje a zařízení	51
2.2	Chemikálie	53
2.3	Analyzované vzorky	53
2.4	Pracovní postup.....	54
2.4.1	Příprava kalibračních řad standardu PCB kongeneru 52	54
2.4.2	Příprava vzorku Pigment Red 2 pro analýzu polychlorovaných bifenylyů	55
2.4.2.1	Příprava vzorků dle Synthesia, a.s.	55
2.4.2.2	Příprava vzorků dle akreditované laboratoře ALS	56
2.4.3	Podmínky analýzy PCB metodou GC/HRMS	57
2.5	Software k vyhodnocování dat	58
3	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	59
3.1	Optimalizace separačních podmínek pro HPLC/DAD	59
3.2	Kalibrační měření pro HPLC/DAD	61
3.3	Opakovatelnost měření	62
3.4	Účinnost extrakce	63
3.4.1	Vícenásobná extrakce	64
3.5	Analýza obsahu kongeneru 52 v Pigment Red 2	66

3.5.1	Synthesia vzorky	66
3.5.1.1	Analýza pomocí HPLC/DAD	66
3.5.1.2	Analýza pomocí GC/MS a GC/HRMS	68
3.5.1.3	Porovnání výsledných hodnot a separačních metod	71
3.5.2	Konkurenční vzorky	72
3.5.2.1	Analýza pomocí GC/HRMS	74
3.5.2.2	Stanovení pomocí HPLC/DAD	75
3.5.2.3	Porovnání výsledných hodnot a separačních metod	76
3.6	Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s meziprodukty	78
3.6.1	Analýza pomocí HPLC/DAD	78
3.6.2	Analýza pomocí GC/HRMS	79
3.6.3	Porovnání výsledných hodnot a separačních metod	80
3.7	Acid Black 210	81
3.7.1	Analýza pomocí HPLC/DAD	81
3.7.2	Analýza pomocí GC/HRMS	83
3.7.1	Porovnání výsledných hodnot a separačních metod	83
ZÁVĚR	84
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	86
PŘÍLOHY	91

SEZNAM ILUSTRACÍ

Obrázek 1: Formy uspořádání částic pigmentů [11]	22
Obrázek 2: Mechanismus diazotační reakce [6].....	24
Obrázek 3: Chemická rovnice diazotace a kopulace [13]	25
Obrázek 4: Naftol-AS.....	26
Obrázek 5: Pigment Red 2.....	26
Obrázek 6: Diazotace 2,5-dichloranilinu.....	27
Obrázek 7: Kopulace a vznik Pigment Red 2.....	27
Obrázek 8: Pigment Red 166.....	30
Obrázek 9: Pigment Red 214.....	30
Obrázek 10: Syntéza meziprojektu pro disazové pigmenty	31
Obrázek 11: Syntéza monoazoacylchloridu pro disazové pigmenty.....	31
Obrázek 12: Vznik Pigment Red 166	32
Obrázek 13: Vznik Pigment Red 214.....	33
Obrázek 14: Strukturní vzorec Acid Black 210.....	34
Obrázek 15: Diazotace 4-nitroanilinu.....	34
Obrázek 16: Kopulace diazoniové soli 4-nitroanilinu s H-kyselinou.....	35
Obrázek 17: Kopulace monoazobarviva s diazoniovou solí 2,5-dichloranilinu.....	35
Obrázek 18: Redukce disazobarviva na mezibarvivo.....	35
Obrázek 19: Diazotace mezibarviva Acid Black 210.....	36
Obrázek 20: Vznik barviva Acid Black 210.....	36
Obrázek 21: Obecná chemická struktura polychlorovaných bifenyľů [2].....	37
Obrázek 22: Chemická struktura PCB kongeneru 11 a kongeneru 52	39
Obrázek 23: Mechanismy pro vznik vedlejších produktů při syntéze organických pigmentů [2]	40
Obrázek 24: Vznik kongeneru 52 z diazoniové soli 2,5-dichloranilinu	41
Obrázek 25: Schéma kapalinového chromatografu [46]	47
Obrázek 26: HPLC Agilent 1260 Infinity II	51
Obrázek 27: Kolona Kinetex C18 s předkolonou Kinetex C18	51
Obrázek 28: GC-HRMS s DFS magnetickým sektorem.....	52
Obrázek 29: Kuderna-Danish aparatura (KD aparatura).....	52
Obrázek 30: Vzorky Pigment Red 2	54
Obrázek 31: Vzorky Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s příslušnými meziprojekty ..	54

Obrázek 32: Vzorek Acid Black 210.....	54
Obrázek 33: Chromatografický záznam separace standardu PCB kongener 52 a 101 původní metodou.....	59
Obrázek 34: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku S3 optimalizovanou metodou	61
Obrázek 35: Kalibrační křivky v závislosti plochy píku na koncentraci standardu kongeneru 52	62
Obrázek 36: Grafické znázornění opakovatelnost metody pro vzorek S1 s koncentrací 6,9 ppm.....	63
Obrázek 37: Chemická struktura vnitřního standardu kongeneru 101	64
Obrázek 38: Kumulovaný výtěžek vícenásobné extrakce vzorků S9 a K10.....	66
Obrázek 39: Nalezený obsah kongeneru 52 a celková suma PCB v Synthesia vzorcích zjištěna pomocí HPLC/DAD.....	67
Obrázek 40: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku S3 přečištěného přes sloupcovou chromatografií	70
Obrázek 41: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku S3 nepřečištěného sloupcovou chromatografií	71
Obrázek 42: Porovnání naměřených koncentrací kongeneru 52 ve vzorcích S1 – S3 jednotlivými metodami	72
Obrázek 43: Porovnání celkové sumy PCB ve vzorcích S1 – S3 jednotlivými metodami .	72
Obrázek 44: Porovnání zbarvení připravených vzorků K7 (vlevo) a S4 (vpravo).....	73
Obrázek 45: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku K2.....	73
Obrázek 46: Analýza PCB kongeneru 52 v konkurenčních vzorcích pomocí HPLC/DAD	76
Obrázek 47: Porovnání naměřených koncentrací kongeneru 52 ve vzorcích K1 – K3 jednotlivými metodami.....	77
Obrázek 48: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 v meziprojektu PR 166 bez vnitřního interního standardu původní metodou	79
Obrázek 49: Chromatografický záznam analýzy PCB kongeneru 52 v Acid Black 210 a samotného interního standardu kongeneru 101	82

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Teplotní gradient pro analýzu PCB pomocí GC/HRMS	57
Tabulka 2: Původní podmínky pro analýzu kongeneru 52.....	59
Tabulka 3: Podmínky optimalizované metody pro analýzu kongeneru 52	60
Tabulka 4: Retenční časy analyzovaných PCB	60
Tabulka 5: Parametry kalibračních křivek	62
Tabulka 6: Opakovatelnost metody pro vzorek S1 s koncentrací 6,9 ppm kongeneru 52 ..	63
Tabulka 7: Naměřené hodnoty účinnosti extrakce ze vzorku S9	65
Tabulka 8: Naměřené hodnoty účinnosti extrakce ze vzorku K10.....	65
Tabulka 9: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v Synthesia vzorcích naměřené pomocí HPLC/DAD a odhad celkové sumy PCB	67
Tabulka 10: Naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 ve vzorku S1 s využitím různých postupů pro přípravu vzorku.....	68
Tabulka 11: Naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 ve vzorku S2 s využitím různých postupů pro přípravu vzorku.....	68
Tabulka 12: Nalezené hodnoty obsahu kongeneru 52 naměřené pomocí GC/MS v laboratoři VUOS	69
Tabulka 13: Naměřené hodnoty ve vzorku S3 pro porovnání využití sloupcové kolony ...	70
Tabulka 14: Porovnání výsledných hodnot PCB v Synthesia vzorcích	71
Tabulka 15: Naměřené hodnoty obsahu kongenerů PCB ve vzorku K1 pomocí GC/HRMS	74
Tabulka 16: Naměřené hodnoty obsahu kongenerů PCB ve vzorku K2 pomocí GC/HRMS	74
Tabulka 17: Naměřené hodnoty obsahu kongenerů PCB ve vzorku K3 pomocí GC/HRMS	74
Tabulka 18: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v konkurenčních vzorcích naměřené pomocí HPLC/DAD	76
Tabulka 19: Porovnání nalezených obsahů kongeneru 52 v konkurenčních vzorcích.....	77
Tabulka 20: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v meziproduktech PR 166 a PR 214 naměřené pomocí HPLC/DAD metody	79
Tabulka 21: Naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 v PR 166 a PR 214 a jejich meziproduktech naměřené pomocí GC/HRMS	80

Tabulka 22: Porovnání naměřených hodnot v meziproduktech Pigment Red 166 a Pigment Red 214	81
Tabulka 23: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v barvívu Acid Black 210 naměřené pomocí HPLC/DAD	82
Tabulka 24: Hodnoty obsahů PCB v Acid Black 210 naměřené pomocí GC/HRMS	83
Tabulka 25: Porovnání naměřených hodnot obsahu kongeneru 52 v Acid Black 210	83

SEZNAM ZKRATEK

C.I.	Colour Index
DAD	detektor diodového pole
ETAD	The Ecological and Toxicological Association of Dyes and Organic Pigments Manufacturers
ECD	detektor elektronového záchytu
FID	plamenově ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
GLC	plynová rozdělovací chromatografie
GSC	plynová adsorpční chromatografie
GOTS	Global Organic Textile Standard
HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
HRGC	vysokorozlišovací plynová chromatografie
HRMS	vysoko rozlišující hmotnostní spektrometrie
IARC	Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny (International Agency for Research on Cancer)
LOD	mez detekce
LOQ	mez stanovitelnosti
MF	mobilní fáze
MS	hmotnostní spektrometrie
PAA	primární aromatický amin
PAD	polyamid
PES	polyester
PCB	polychlorovaný bifenyl
PP	polypropylen
PR	Pigment Red
PVC	polyvinylchlorid
REACH	Nářízení Evropského parlamentu a Rady (ES č. 1907/2006 o registraci, hodnocení, povolání a omezování chemických látek (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals))
SBU	Strategické obchodní jednotky (Strategic Business Unit)
SF	stacionární fáze
SIM	selektivní monitorování iontů (Selective Ion Monitoring)

TCD	tepelně vodivostní detektor
TSCA	zákon o kontrole toxických látek (Toxic Substances Control Act)
UHPLC	ultra vysokoúčinná kapalinová chromatografie
UV/VIS	ultrafialová/viditelná oblast světla
VUOS	Výzkumný ústav organických syntéz

Úvod

Barevné substance (koloranty) jsou důležitou a všudypřítomnou součástí našeho každodenního života a už od prehistorických dob mají hluboký dopad na společnost, ať už estetický nebo ekonomický. Koloranty mohou být ve formě barviv nebo pigmentů a tyto formy se liší především v rozpustnosti. Pigmenty jsou jemné barevné pevné částice, které se používají k barvení jiných látek. Dnes je na trhu velké množství pigmentů, ať už organických nebo anorganických. Organické pigmenty se nejčastěji využívají pro výrobu průmyslových nátěrů, plastů, barev, inkoustů, v automobilovém nebo strojírenském průmyslu a mnoho další. Během výroby pigmentů vznikají vedlejší produkty, které tak mohou snižovat čistotu a užité vlastnosti pigmentů. Při syntéze halogenovaných pigmentů mohou takto vznikat nechtěné polychlorované bifenyle (PCB). V přírodě se přirozeně nevyskytují a jsou pouze syntetizovány člověkem [1,2].

Kvůli nepříznivým vlastnostem PCB na životní prostředí i na člověka se v současné době nevyrábějí a jejich použití, likvidace a obsahy jsou striktně sledovány a regulovány. Stanovení celkového obsahu všech PCB v pigmentech je řízeno normou ISO 787-28:2019 (E), která využívá metodu plynové chromatografie s hmotnostní detekcí (GC/MS). Stanovení PCB (konkrétně 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly) v pigmentech lze i alternativní metodou HPLC/DAD, která je dostupnější a postačí pro rutinní analýzy [2].

Cílem této diplomové práce je kvantifikace 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly (kongeneru 52) ve vybraných organických kolorantech a to Pigment Red 2, Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s příslušnými meziprodukty a černém barvivo Acid Black 210 (Korostanová čern AN). Všechny tyto vzorky byly analyzovány pomocí HPLC/DAD metody. Ve spolupráci s akreditovanou laboratoří ALS Czech Republic s.r.o., pobočka Pardubice (ALS) byly některé z těchto vzorků analyzovány metodou GC/HRMS. Dále byly dva vzorky zanalyzovány metodou GC/MS ve spolupráci se společností VUOS, a.s.. Výsledné hodnoty obsahu PCB kongeneru 52 v kolorantech byly porovnány s legislativním opatřením, které určuje možný maximální obsah těchto látek. Celková suma PCB v pigmentech byla stanovena pouze pomocí GC/HRMS. Metodou HPLC/DAD byla celková suma všech PCB pouze kvalifikovaně odhadnuta. Vzorky Pigment Red 2 byly připraveny dvěma různými postupy – postupem dle Synthesia a dle akreditované laboratoře ALS. Výsledky jednotlivých metod byly porovnány.

1 Teoretická část

1.1 Společnost Synthestia, a. s.

Před 101 lety (v roce 1920) vznikla v Pardubicích Československá akciová továrna na výbušné látky a tím započala existence dnešní společnosti Synthestia, a.s.. Tato společnost působí v různých oblastech chemické produkce nejen v tuzemsku, ale i na celosvětovém trhu. Roku 2003 proběhlo rozdělení společnosti na strategické obchodní jednotky (SBU) a dnes je Synthestia rozdělena do čtyř částí – SBU Pigmenty a barviva, SBU Nitrocelulóza, SBU Organická chemie a SBU Energetika. V roce 2009 se stal jediným majoritním vlastníkem společnosti Agrofert Holding, a.s.. Dceřiný podnik společnosti Výzkumný ústav organických syntéz (VUOS) zprostředkovává vývoj a výzkum, které jsou klíčovými oblastmi pro budoucí rozvoj mateřské společnosti. VUOS mimo jiné testuje chemické produkty v rámci legislativy REACH. V roce 2002 se společnost Synthestia, a.s. stala certifikovaným členem mezinárodní organizace ETAD, která zastupuje průmysl barviv a pigmentů s cílem minimalizovat nepříznivý dopad organických kolorantů na životní prostředí [3,4].

SBU Pigmenty a barviva je jediný současný tuzemský a i přední světový výrobce vysoce jakostních organických pigmentů a barviv. Výroba pigmentů je zaměřena jak na klasické pigmenty, tak i na vysoce jakostní HP (High Performance) pigmenty. Jsou dodávány především pro barvení plastů, vláken, pro výrobu nátěrových hmot nebo tiskových barev. Vyráběná organická barviva jsou určena pro přírodní a syntetické materiály (bavlna, vlna, viskóza, hedvábí, polyamid (PAD), polyester (PES)). Dále jsou nabízeny i produkty pro barvení dřeva, kůží, kožešin, papíru a dalších netextilních materiálů [3,5].

1.2 Koloranty

Pojem koloranty je převzato z anglického názvu *Colorants*, který je možné přeložit i jako barvidla. Jsou schopné absorbovat elektromagnetické záření z viditelné oblasti spektra ve vlnovém rozsahu 380–780 nm. Aby substrát byl intenzivně vybarven, musí mít dostatečně vysoký molární absorpční koeficient ($10\,000\text{--}40\,000\text{ l}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$). Koloranty se dělí na dvě základní skupiny a to na barviva (*dyes*) a pigmenty (*pigments*). Základním rozdílem je rozpustnost těchto látek. Pigmenty jsou nerozpustné nejen ve vodě, ale i ve většině organických rozpouštědlech. Používají se ve formě jemného prášku. Barviva jsou na rozdíl od pigmentů zcela rozpustná ve vodě, organických rozpouštědlech, pojivech, olejích

apod. Z toho důvodu jsou používána ve formě roztoků. Existují barviva, která jsou částečně rozpustná (disperzní). Barviva a pigmenty se liší především ve fyzikálních vlastnostech, avšak v mnoha případech mají stejnou chemickou strukturu [6,7].

Koloranty jsou označovány nejčastěji podle Colour IndexuTM (C.I.). Jedná se o systematickou databázi pigmentů a barviv pro komerční a technické účely. Tento přehled vytvořila Americká asociace barvářů a barvířů (The Society of Dyers and Colourists) v technické spolupráci s Americkou asociací textilních chemiků a koloristů (American Association of Textile Chemists and Colourists). V této databázi jsou koloranty klasifikovány podle koloristických vlastností včetně chemických struktur a jednoduchých identifikačních charakteristik [6]. Je možné klasifikovat koloranty dvěma způsoby. První obecný název C.I. (Colour Index Generic Name = CIGN) popisuje produkt podle uznávané třídy použití (pigment, barvivo), jeho odstínu a sériového čísla. Sériové číslo je udáváno podle chronologického pořadí, ve kterém byly související typy kolorantů zaregistrovány v Colour Indexu. Například C.I. Pigment Yellow 176 nebo C.I. Acid Yellow 116 jsou obecné názvy daných kolorantů. Pokud v názvu pigmentu u sériového čísla je obsažená dvojtečka, znamená to, že se mírně liší od těch pigmentů, které jsou uvedeny pod nadřazeným číslem C.I. obecného názvu. Nepatrný rozdíl je obvykle chemický, ale může být způsobený různými modifikacemi krystalů pigmentu. Druhá možná klasifikace kolorantů je podle konstitučního čísla C.I. (Colour Index Constitution Number). Toto číslo charakterizuje přesnou chemickou strukturu kolorantů a skládá se z pětimístného kódu [6,8].

1.2.1 Barviva

Barviva jsou používána pro nejrůznější účely již od dob prehistorického člověka. Hlavní charakteristikou barviv je rozpustnost nejen ve vodě, ale i v organických rozpouštědlech, olejích apod. Mají schopnost absorbovat viditelné elektromagnetické záření ve vlnovém rozsahu 380–780 nm. Barvivo by mělo mít takovou konstituci, která zajistí přílnavost (afinitu) k substrátu, dobrou stabilitu (praní, otěr) a světlostálost. Nejčastěji se barviva používají pro barvení textilních vláken rostlinného (bavlna, len) i živočišného původu (vlna, hedvábí). Dále jsou využívána pro barvení papírů, regenerované celulózy, kaučuku, plastických hmot, usní apod. Dnes existuje již několik tisíc barviv, které jsou klasifikovány. Mohou být klasifikovány buď podle technického a chemického systému. Technický systém rozděluje barviva především dle jejich použití (např. barviva rozpustná v tucích, kyselá barviva apod.) [1,6].

1.2.2 Pigmenty

Pigmenty jsou barevné, černé, bílé nebo fluoreskující látky, které jsou obvykle nerozpustné ve vodě a většinou organických rozpouštědlech. Pigmenty jsou nerozpustné díky nadmolekulárním strukturám (např. vodíkové vazby). Mezi pigmenty řadíme i nerozpustné sole (tzv. laky), které se vytváří srážením látek majících karboxylové nebo sulfonové skupiny (látky rozpustné) kovem. Pigmenty se používají k výrobě tiskových a olejových barev, k barvení plastických hmot a umělých vláken ve hmotě. Do jisté míry se používají i v textiliích, gumách, sklu nebo keramice. Primárně se pigmenty rozdělují na organické a anorganické [1,6,9].

Anorganické pigmenty mohou být přírodního původu, kdežto téměř všechny organické pigmenty jsou synteticky vyráběny. Mezi nejvýznamnější anorganické pigmenty patří titanová běloba (TiO_2), oxidy železa, ultramarín a mnoho další. Barevný rozsah anorganických pigmentů je velmi omezený a proto celá řada odstínů nemůže být zastoupena touto skupinou pigmentů [6].

Organické pigmenty jsou obecně čistší a barevně jasnější. Mohou být dále klasifikovány podle koloristických vlastností nebo podle chemické konstituce. Dle chemické konstituce se dělí na azové pigmenty a neazové pigmenty označované jako polycyklické pigmenty. Oproti anorganickým mají organické menší hustotu, větší povrch, větší barvicí sílu (mají vyšší absorpční koeficient), čistší odstíny (jsou brilantní), ale také jsou dražší [1,6,9].

Obecně pigmenty musí mít určité chemické a fyzikální vlastnosti, které jsou důležité pro aplikační použití. Mezi tyto vlastnosti se řadí odstín, barvicí síla, krycí schopnost, dispergační schopnosti, migrace, termostabilita, světlostálost a celkovou stabilitu vůči vlivům okolí (otěr, vítr, praní atd.). Zahrnuje se zde i zmíněná rozpustnost pigmentů, která musí být co nejmenší a to i za vyšších teplot. Pokud by pigment začínal být částečně rozpustný v aplikačním vybarveném médiu, vedlo by to k rekrystalizaci daného pigmentu a změně a tím i ke změně jeho fyzikálních vlastností [1,10].

1.3 Syntetické organické pigmenty

Označení „syntetické organické pigmenty“ se vztahuje na průmyslově vyráběné organické pigmenty, které jsou produkovány za účelem dosažení určité barevnosti nebo pro určité aplikace. Barevnost nejen pigmentů, ale všech kolorantů je závislá na chemické struktuře a to konkrétně na přítomnosti chromoforu. Chromofor je systém konjugovaných

dvojných vazeb, který je zodpovědný za absorpci viditelného světla a tím udává barevnost dané organické látky, která se tak stává chromogenem. Typickými chromofory jsou azoskupiny $-N=N-$, karbonylové skupiny $>C=O$, nitroskupiny $-NO_2$ nebo nitrososkupiny $-N=O$. Dále mohou být do molekuly kolorantů zavedeny další skupiny, tzv. auxochromy, které mění schopnost chromoforu absorbovat světlo. To se projeví ve změně barevného odstínu daných pigmentů. Dnes se místo termínu auxochrom používá elektron-donorní skupina a mezi tyto funkční skupiny patří např. aminoskupiny $-NH_2$, hydroxyskupiny $-OH$ nebo thioskupiny $-SH$ [6,9].

První syntetické organické pigmenty byly vyráběny už ve druhé polovině 19. století. V roce 1856 proběhla první syntéza organického kolorantu, reakcí směsi anilinu, toluidinu, dichromanu draselného a kyseliny sírové. Vzniklo rozpustné fialové barvivo, které odstartovalo rychlý vývoj dalších anilinových kolorantů. Tyto koloranty se někdy nazývaly uhelno-dehtové, při jejich výrobě se používaly sloučeniny z černouhelného dehtu, jako je právě anilin. Organické pigmenty se začaly vyrábět jako vedlejší produkty při výrobě barviv, obvykle srážením barviva kovovými solemi. Tyto první syntetické organické pigmenty se dnes již kvůli špatné světlostálosti nevyrábějí. V současnosti je na trhu velké množství pigmentů, které se běžně dodávají v různých finálních formách pro komerční účely, např. barevné koncentráty ve formě masterbatch, pigmentové disperze nebo práškové pigmenty. Používají se v nejrůznějších aplikacích, včetně tiskařských, inkoustových, průmyslových, automobilových a uměleckých barev, dále se využívají i pro barvení plastických hmot nebo syntetických vláken. Pokrývají celou barevnou škálu od fialové přes modrou, zelenou, žlutou, oranžovou do červené [6,9].

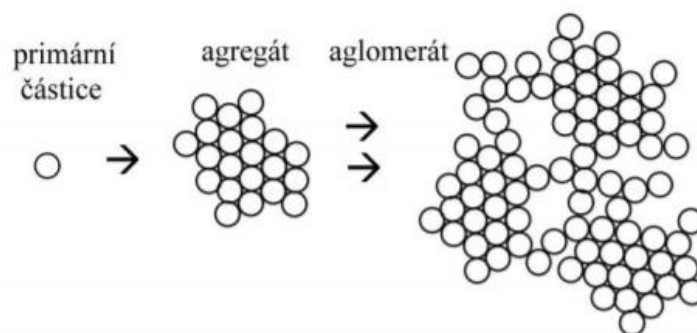
Z důvodu velkého počtu organických pigmentů byla vytvořena klasifikace do chemických tříd. Chemické třídy zahrnují pigmenty:

- Ftalocyaninové pigmenty
- Kypové antrachinonové pigmenty
- Kypové thioindigoidní pigmenty
- Kypové perylenové a perynonové pigmenty
- Azopigmenty
- Isoindolinové pigmenty
- Chinakridonové pigmenty
- Dioxazinové pigmenty
- Diketopyrrolopyrrolové pigmenty

Z těchto tříd pigmentů jsou nejrozšířenější azopigmenty, které jsou obvykle žluté, oranžové nebo červené [6,9].

1.3.1 Vlastnosti organických pigmentů

Syntetické organické pigmenty vykazují širokou škálu fyzikálních a chemických vlastností, které jsou rozhodující pro různé cílové aplikace. Každá aplikace vyžaduje specifické vlastnosti pigmentu, jako je například velikost částic, krystalinita, specifický povrch nebo povrchová struktura. Jedna z hlavních vlastností pro cílové využití pigmentů je dispergace, při které dochází k začlenění pigmentu do aplikačního média (tiskařské barvy, nátěry, plasty). Při dispergaci dochází do jisté míry k rozbití aglomerátů. Aglomerát je jedna ze tří forem, ve které se mohou částice pigmentu vyskytovat. Celkově se pigmenty mohou vyskytovat ve formě jednoduchých (primárních) částic, agregátů nebo aglomerátů (obrázek 1). Primární krystaly mají nepravidelné tvary a tvoří je nezpracované surové pigmenty. Agregát vytváří těsné shluky krystalů, které nelze dispergací rozbít. Vzniká, pokud současně vznikne větší počet krystalizačních zárodků a jejich povrch je společný. Aglomerát je skupina primárních krystalů nebo agregátů, které jsou spojené přes jejich rohy nebo hrany. Na rozdíl od agregátů nerostou společně a mohou být rozděleny dispergací [1,6].



Obrázek 1: Formy uspořádání částic pigmentů [11]

Specifický povrch pigmentů je povrch v m^2 na jeden gram pigmentu a je důležitý hlavně při aplikaci různých aditiv do pigmentu, jako je například pryskyřice nebo emulzifikátor. Určuje se experimentálně pomocí látky (plynu), která se absorbuje na povrch. Hodnoty specifického povrchu pro organické pigmenty se pohybují od 10 až do 130 m^2/g . Mezi další významné vlastnosti pigmentů se řadí světlostálost, tepelná stabilita, rheologické vlastnosti (tokové vlastnosti), migrace nebo barvicí síla [1].

1.3.2 Azopigmenty

Azopigmenty se v přírodě nevyskytují a jsou vyráběny pouze průmyslově. Jsou to chemické látky, které ve své chemické struktuře obsahují jednu nebo více azoskupin (-N=N-). Azoskupina je obvykle napojena na benzenový či naftalenový kruh nebo na heterocyklus. Tato skupina pigmentů má dominující odstíny ve žlutých, oranžových, červených, bordó, karmínových a hnědých barvách. Uvádí se, že více než 80 % žlutých a 65 % červených syntetických organických pigmentů obsahuje alespoň jednu azoskupinu. Tím se jedná o nejčastější a nejvýznamnější skupinu syntetických pigmentů. Azopigmenty poskytují vysokou intenzitu a jas barvy a jsou schopné poskytovat velmi dobré aplikační vlastnosti [2,12]. Podle počtu azoskupin se pigmenty dělí na monoazopigmenty, disazopigmenty, trisazopigmenty atd. Nejčastěji se produkují monoazové a diazové pigmenty. Azopigmenty mohou být roztríděny do dalších klasifikačních skupin, které se odvíjejí nejen podle počtu azoskupin, ale i podle výchozích látek syntézy (přesněji kopulace). Jsou to

- β -naftolové pigmenty
- pigmenty odvozené od Naftol-AS
- kovokomplexní pigmenty
- disazové kondenzační pigmenty
- žluté a oranžové monoazopigmenty
- benzimidazolované pigmenty

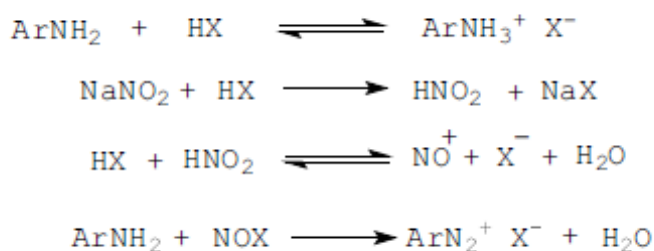
Většina azopigmentů je synteticky připravována azokopulací diazoniových sloučenin (aktivní komponenta) s tzv. pasivní komponentou [1,6].

1.3.2.1 Syntéza azopigmentů

Na trhu organických pigmentů mají azopigmenty významný podíl díky ekonomicky výrobním metodám. Výchozí suroviny jsou snadno dostupné a kopulační reakce je v průmyslovém měřítku snadno proveditelná. Syntéza azopigmentů se skládá ze dvou hlavních reakcí – diazotace a kopulace [1].

Diazotovány jsou primární aromatické aminy (PAA) různé struktury, pro syntézu azopigmentů patří konkrétně anilin a jeho deriváty, deriváty diaminobifenyly a aromatické aminosulfonové kyseliny. Diazotace je reakcí již zmíněných PAA s dusitanem sodným za přítomnosti minerální kyseliny (kyselina chlorovodíková nebo kyselina sírová). Někdy může být toto činidlo zaměněno za nitrosní plyny, kyselinu nitrosylsírovou nebo organické dusitany [1]. Mechanismus diazotace má několik kroků, který jsou znázorněny

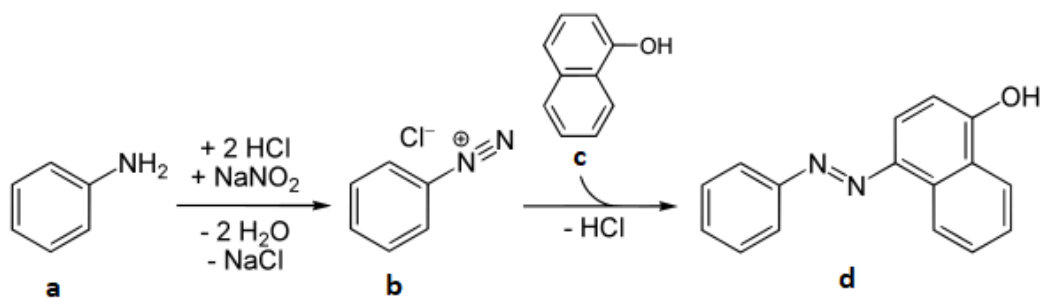
na obrázku 2. V prvním kroku je PAA rozpuštěn ve vodném roztoku minerální kyseliny a vznikne amoniová sůl. V dalším kroku vzniká kyselina dusitá z dusitanu sodného a nadbytku minerální kyseliny. Ve třetím kroku reaguje kyselina dusitá za vzniku nitrosokationtu, který je označován jako nitrosylační činidlo (NOX). Posledním čtvrtým krokem je vznik diazoniové sloučeniny nitrosací aminu. Celá reakce musí probíhat při nízkém pH, které nesmí být vyšší jak 2 a při nízké teplotě 0–5 °C, neboť se jedná o exotermickou reakci a stabilita vznikajících diazoniových solí je mnohem vyšší při nižších teplotách. Navíc při nižších teplotách je menší nebezpečí uvolnění nitrosných plynů, z důvodu jejich vyšší rozpustnosti plynů ve vodě. Pokud by pH bylo vyšší jak 2, tak by nízká koncentrace vodíkových iontů způsobila i vyšší koncentraci volného aminu a tím vznik nežádoucího triazenu během diazotace. Dále při vyšším pH by v roztoku byl větší obsah neionizované volné báze ArNH₂ a to by u aminů bez solubilizační skupiny mohlo vést k jejich nekompletnímu rozpuštění v roztoku [6].



Obrázek 2: Mechanismus diazotační reakce [6]

Vzniklé diazoniové sloučeniny jsou Lewisovy kyseliny, na které mohou být adovány nukleofily mající volný elektronový pár. Tato reakce je nazývána kopulace a můžeme ji rozdělit podle různých reagujících nukleofilů (S-, O-, Se-, N-, P- nebo C- kopulace). C-kopulace (obrázek 3) je průmyslově nejdůležitější a je to druhá zásadní reakce při syntéze azosloučenin. Vzniklý diazoniový kation (obrázek 3b), označovaný jako tzv. aktivní komponenta, reaguje s pasivní komponentou, nazývanou také coupling component nebo secondary component (obrázek 3c). Mezi nejčastější pasivní komponenty patří fenoly, naftoly, pyrazolony, acetoacetanilidy nebo aromatické aminy. Jedná se o elektrofilní aromatickou substituci. K substituci dochází zpravidla v *ortho*- a *para*- poloze aromatického skeletu pasivní komponenty díky působení kladného mezomerního efektu. Tento kladný mezomerní efekt způsobuje nejvyšší elektronovou hustotu v těchto polohách. Celá reakce

probíhá za laboratorní teploty. Azopigmenty, které mají červené až hnědé odstíny, vznikají z pasivních komponent na bázi 2-naftolu a jeho derivátů. Žluté až oranžové azopigmenty se syntetizují nejčastěji z derivátů acetoacetanilidu. Výsledné azopigmenty (obrázek 3d) vychází ze syntézy ve formě extrémně malých, nerozpustných částic, které vyžadují povrchovou nebo jinou konečnou úpravu (změna fyzikálních vlastností, tvaru krystalů, jejich velikosti atd.) [1,6].

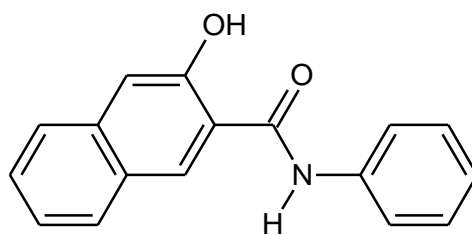


Obrázek 3: Chemická rovnice diazotace a kopulace [13]

1.3.2.2 Pigmenty odvozené od Naftol-AS

Do skupiny pigmentů odvozených od Naftol-AS patří především pigmenty v červených odstínech, ovšem některé komerčně vyráběné mají i žluté a oranžové odstíny. Oproti jiným azopigmentům mají výhodné koloristické vlastnosti. Naftol-AS je komerční zkratka pro anilid 2-hydroxy-3-naftoové kyseliny a jeho strukturní vzorec je na obrázku 4. Tato látka byla poprvé syntetizována při přípravě kyseliny 3-fenylamino-2-naftolové, kdy do roztavené reakční směsi anilinu a kyseliny 3-hydroxy-2naftolové (BON kyselina) byl přidán chlorid fosforitý. Moderní procesy se liší od tohoto principu pouze z hlediska řízení reakce, kdy celá reakce probíhá v organických nepolárních rozpouštědlech [10].

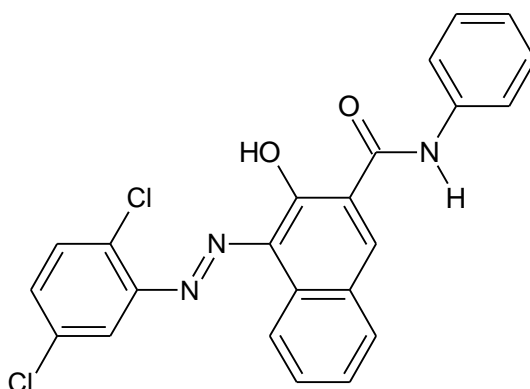
Jedná se o velmi důležitou třídu syntetických organických pigmentů, které lze dělit podle substituce diazokomponenty do dvou tříd. První třída obsahuje jednoduché substituenty jako je chlor, nitroskupina nebo metyl skupina a při jejich výrobě se nejčastěji používají diazoniové komponenty na bázi chloranilinů, chlortoluidinů nebo nitrotoluidinů. Substituenty ve druhé třídě pigmentů jsou ve formě sulfonamidových (SO₃NH-) nebo karbonylamidových skupin (CONH-) [10].



Obrázek 4: Naftol-AS

1.4 Pigment Red 2

Pigment Red 2 (zkráceně PR 2) se řadí mezi monoazové pigmenty odvozené od Naftol-AS a jeho chemická struktura je znázorněna na obrázku 5. Jak je patrné už z označení, tento pigment poskytuje červený odstín. Ze sériového čísla (2) vyplývá, že se jedná o druhý nejstarší červený syntetický pigment. Komerčně je dodáván pod různými obchodními názvy. Pigment Red 2 syntetizovaný společností Synthesia a.s. nese obchodní název Versalová červeň F2RA/F2RF [10,14].

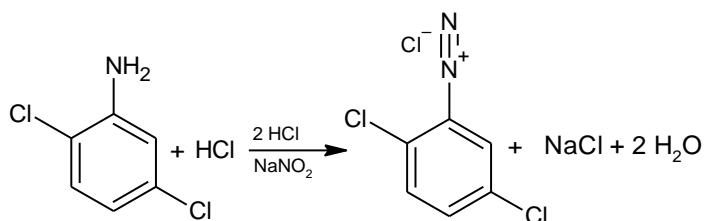


Obrázek 5: Pigment Red 2

1.4.1 Syntéza Pigment Red 2

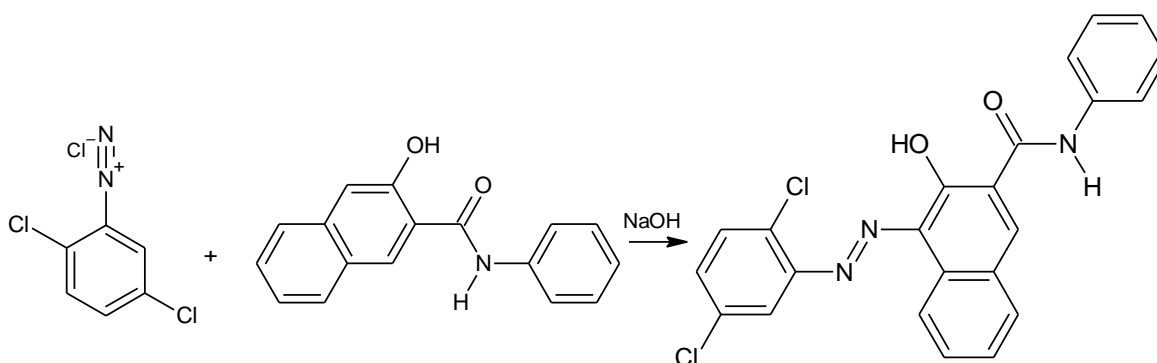
Syntéza Pigment Red 2 se skládá ze dvou hlavních reakcí – diazotace a kopulace. Hlavní vstupní surovinou diazotace je 2,5-dichloranilin (aktivní komponenta), který neobsahuje solubilizační skupinu (jedná se tedy o přímou diazotaci, obrázek 6). Tento primární aromatický amin se rozpustí v ledové kyselině octové za zvýšené teploty. Připravený roztok se přepustí do zředěné kyseliny chlorovodíkové a vzniklý hydrochlorid 2,5-dichloranilinu se rychle diazotuje pomocí kyseliny dusité. Přebytečná kyselina se případně odstraňuje přidávkem močoviny nebo lépe kyseliny amidosírové, která reaguje rychleji. Vzniklá diazoniová sůl 2,5-dichloranilinu ve formě diazoniového kationtu se neizoluje, neboť v suchém stavu je nestabilní a snadno může explodovat. Před samotnou

kopulací se diazoniová sůl ještě kleruje (přečišťuje) přidavkem aktivního uhlí v kleračních kalolisech [6,15].



Obrázek 6: Diazotace 2,5-dichloranilinu

Následuje kopulace, kdy jako pasivní komponenta se používá Naftol-AS (obrázek 7). Tato pasivní komponenta se rozpouští v roztoku hydroxidu sodného za zvýšené teploty. Před kopulací se Naftol-AS naředí a zároveň zchladí vodou. Kopulace diazoniové soli 2,5-dichloranilinu a Naftol-AS probíhá v alkalickém prostředí. Na konci kopulace je poměr obou komponent vyrovnaný nebo je možný nepatrný přebytek pasivní komponenty. Po kopulaci se dávkuje chlorid vápenatý spolu s hydrogenuhličitanem sodným a vzniklá suspenze se vyhřeje. Následně se odfiltruje na filtračních kalolisech a promyje vodou pro odstranění chloridových iontů. Pasta pigmentu se suší v pásové nebo fluidní sušárně. Po semletí se pigment namísí, zhomogenizuje na obchodní zboží a balí se do obalů požadovaných odběratelem [6,15].



Obrázek 7: Kopulace a vznik Pigment Red 2

1.4.1.1 Podmínky pro vznik polychlorovaných bifenyků při syntéze Pigment Red 2

Během syntézy Pigment Red 2 mohou vznikat nechtěné vedlejší produkty, jako jsou polychlorované bifenyly (PCB). Nejrizikovější část syntézy z hlediska tvorby PCB je

kopulační reakce diazoniové soli 2,5-dichloranilinu a Naftol-AS. Proto je důležité vést podmínky kopulace tak, aby co nejvíce probíhala hlavní reakce a docházelo minimálně k reakci rozkladné (vedlejší reakce). Obecně jsou diazo látky velmi nestabilní a v případě výroby PR 2 se diazoniová sůl 2,5-dichloranilinu může rozkládat například při vyšší teplotě kopulace. Hlavní reakci i vedlejší reakci ovlivňují nejvíce způsoby vedení reakce, např. teplota a pH při kopulaci a koncentrace obou komponent. Při vedení reakce záleží na předloženém roztoku – zda předložený roztok je aktivní či pasivní komponenta a v jakém poměru jsou jednotlivé složky přidávány do reakce. Během kopulační reakce je důležité udržovat teplotu v určitém optimálním rozmezí. Při velmi nízkých teplotách je pomalá kinetika hlavní reakce a naopak při velmi vysokých teplotách dochází k rychlým rozkladným reakcím. Jak již bylo zmíněno, ideální pro kopulaci je alkalické pH v určitém rozmezí, nedodržení optimálních hodnot pH (příliš alkalické nebo kyselé pH) vede k velmi pomalé kinetice hlavní kopulační reakce. Například pokud je pH vyšší než 12, kopulační reakce se zpomaluje díky vzniku diazohydroxidu a diazotátu [6,15].

Konečný obsah PCB v pigmentu významným způsobem ovlivňuje i chemická čistota vstupního 2,5-dichloranilinu. Jedná se především o monochlorodriváty anilinu, z nich pak velice snadno dochází ke tvorbě dichlorbifenyly a především trichlorbifenyly, které jsou klasifikovány jako více škodlivé, což je zároveň zohledněno v současné klasifikaci PCB dle platné evropské normy. Jiný izomer dichloranilinu obsažený ve vstupním 2,5-dichloranilinu nemá zásadnější vliv na konečný obsah PCB ve finálním pigmentu. Syntéza Pigment Red 2 probíhá zcela ve vodném prostředí, tudíž pokud vznikne jistý podíl PCB při syntéze pigmentu, tak už zůstává zcela v tomto produktu i po jeho usušení. K částečnému snížení obsahu PCB by mohlo například dojít v dodatečné kondicionaci pigmentu ve vhodném rozpouštědle. Kondicionace je konečné úprava produktu, při které se odstraní organické a anorganické nečistoty, upraví se velikost částic, tvar krystalů, odstín, transparentnost a jiné vlastnosti. Aplikace tohoto kroku se významným způsobem projeví ve zvýšení výrobních nákladů, čímž by se pigment stal neprodejný [15,16].

1.4.2 Využití Pigment Red 2

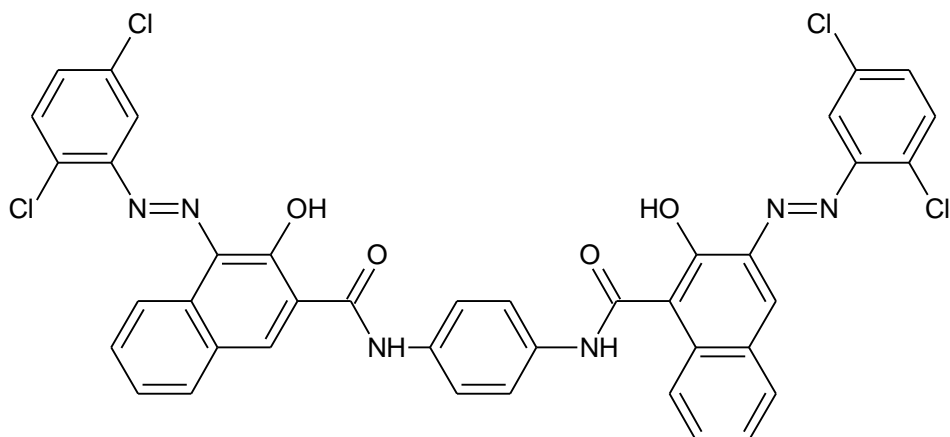
Hlavní oblast využití Pigment Red 2 je ve výrobě tiskařských barviv, ale obecně může být aplikován i v jiných odvětvích – např. výroba nátěrových hmot, inkoustů, barvení plastických hmot, které se používají na výrobu dětských hraček nebo i na potravinářské obaly. Tento pigment má velmi dobré kryvé vlastnosti, a proto se nejvíce používá na výrobu vysoce pigmentovaných tiskových barev. Primárně se PR 2 aplikuje pro produkci

ofsetových, flexotiskových a hlubotiskových barev, kdy jednotlivé barvy se liší v použití tiskové techniky. Flexotiskové barvy se dodávají ve formě koncentrátů, které se pomocí ředidel upravují na požadovanou viskozitu a barevnou sytost [17,18]. Hlubotiskové barvy jsou nízkoviskózní (vysoce tekuté) a rychleschnoucí, které se opět dodávají ve formě koncentrátů. Koncentráty se doplňují vhodným rozpouštědlem a barevnou bází (tzv. zářez). Jako rozpouštědlo se nejčastěji používá toluen, který snižuje viskozitu barvy a zářez se přidává za účelem snížení sytosti barvy beze změny viskozity. Pro některé tiskové aplikace používají flexotisk i hlubotisk stejné tiskové barvy [17,19].

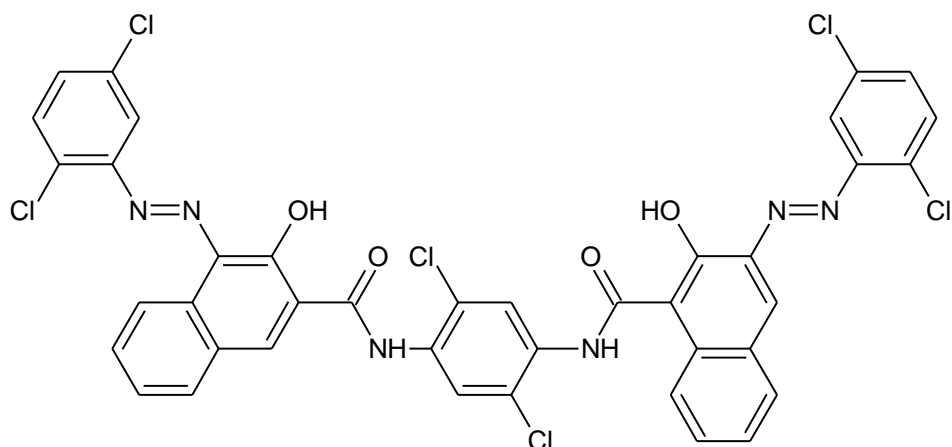
Nejrozšířenější tisková technika z plochy je ofsetový tisk, který je využíván pro tisk většiny knih, novin a časopisů. Ofsetová barva není nanášena na potiskový materiál přímo z tiskové formy, ale prostřednictvím ocelových válců potažených gumovým povlakem. Díky tomu tiskne ofset nejmenší množství tiskové barvy a tvoří nejtenčí barevné filmy (0,7 – 1,2 μm) oproti ostatním technikám. I přes takto tenký barevný film musí být dosaženo dokonalého vybarvení, a proto mají ofsetové barvy vyšší obsah pigmentů, které musí mít co nejmenší částice [10,17,20].

1.5 Pigment Red 166 a Pigment Red 214

Pigment Red 166 a Pigment Red 214 patří mezi disazové kondenzované pigmenty. Tato skupina pigmentů dosahuje žlutých, oranžových, červených a hnědých odstínů. Pigment Red 166 a Pigment Red 214 se řadí mezi červené disazokondenzační pigmenty, které mají namodrale červené odstíny. Strukturu těchto pigmentů si lze představit jako dva monoazové pigmenty odvozené od Naftol-AS, které jsou navzájem spojeny přes amidický můstek (-NHCO-) aromatického diaminu. Tyto pigmenty ovšem nelze připravit klasickým postupem. Vyrábějí se mnohem obtížněji než například pigmenty odvozené od Naftol-AS a tomu také odpovídá jejich cena. Proto se používají pro barvení jakostních materiálů, respektive kvalitních a drahých výrobků. Protože jejich výroba probíhá v prostředí organického rozpouštědla, jsou snadno dispergovatelné v rozmanitých materiálech, zvláště v plastech a tiskařských barvách. Nejvíce se uplatňují v plastikářském průmyslu, kde slouží pro barvení PVC (polyvinylchlorid) a PP (polypropylen). Celkovou výhodou těchto pigmentů je jejich velká molekula bránící jejich migraci v materiálech a dobrá odolnost v rozpouštědlech [1,21].



Obrázek 8: Pigment Red 166

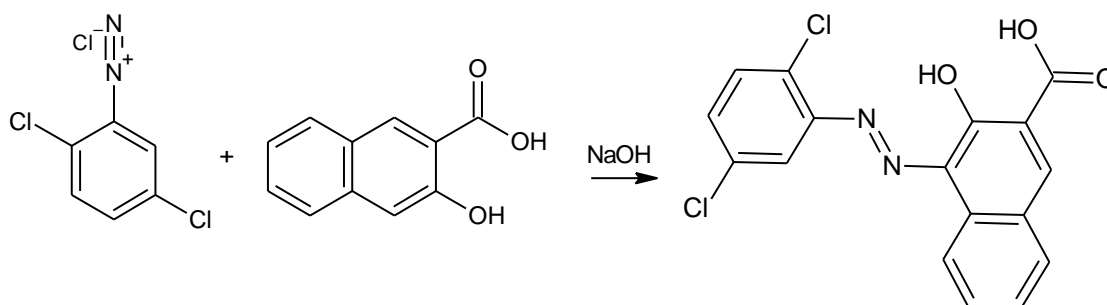


Obrázek 9: Pigment Red 214

1.5.1 Syntéza Pigment Red 166 a Pigment Red 214

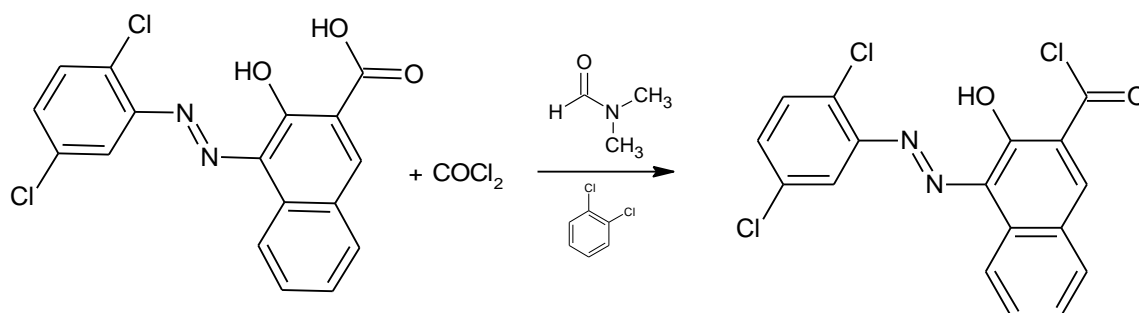
Výhodnou syntézu disazokondenzovaných pigmentů objevil M. Schmid, který ji převedl do průmyslového měřítka. V první fázi se syntetizuje tzv. mezibarvivo, které slouží jako meziprodukt pro syntézu konečných pigmentů. Syntéza červeného mezibarviva pro disazo červeně se připravuje kopulací diazoniové soli 2,5-dichloranilinu se sodnou solí kyseliny 3-hydroxy-2-naftoové (BON kyselina) (obrázek 10). Vstupní surovina v podobě 2,5-dichloranilinu se rozpustí a přesráží v kyselině chlorovodíkové, popřípadě ve směsi kyseliny chlorovodíkové a octové. Jemně krystalická suspenze hydrochloridu 2,5-dichloranilinu se diazotuje roztokem dusitanu sodného. Vzniklá diazoniová sůl se před další reakcí kleruje (přečišťuje). Pasivní komponenta se připraví rozpuštěním BON kyseliny v hydroxidu sodném a roztok se překleruje. Následná kopulace se provádí řízeným připuštěním zklerované diazoniové soli 2,5-dichloranilinu do roztoku BON kyseliny

za definované teploty a hodnoty pH. Po ukončení kopulace se upraví pH na požadovanou hodnotu, reakční směs se vyhřeje a odfiltruje na kalolis, kde se ještě promyje upravenou vodou. Vzniklá vodná pasta z kalolisu se usuší, zhomogenizuje a zabalí se do obalů. Takto připravený meziprodukt se následně použije pro výrobu disazočervení PR 166 a PR 214 [1,22].



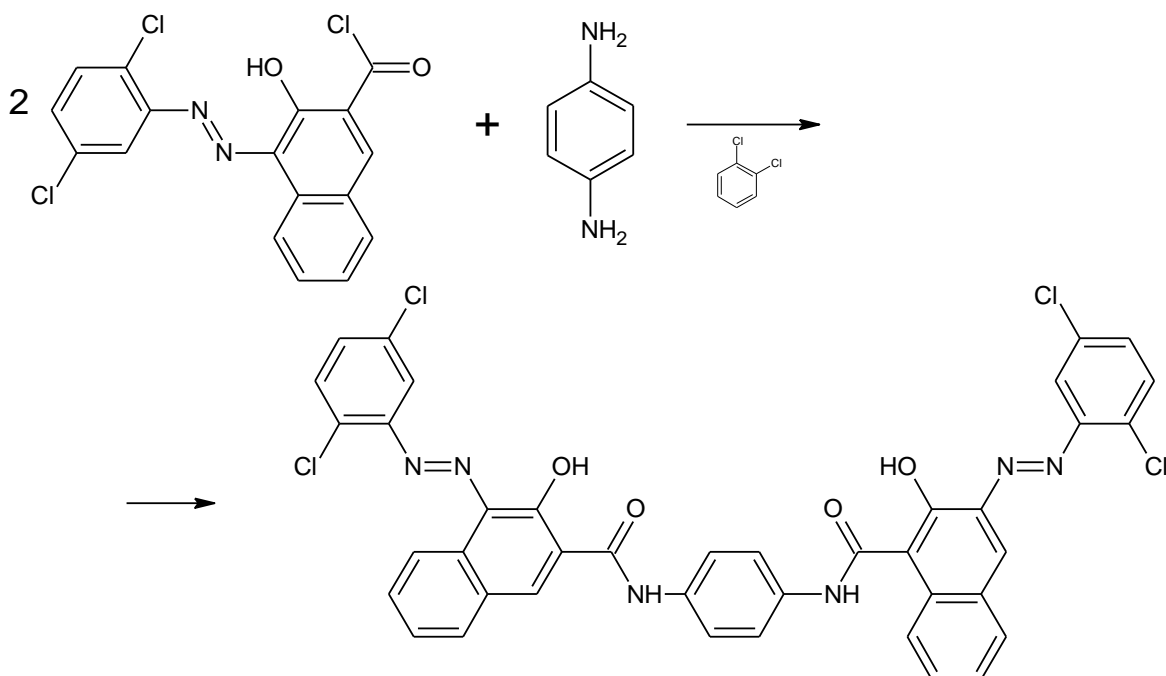
Obrázek 10: Syntéza meziproduktu pro disazové pigmenty

Ve druhé fázi syntézy se nejdříve z připraveného meziproduktu připraví acylchlorid, který se následně kondenzuje s příslušným diaminem. V reaktoru se meziprodukt převádí na chlorid kyseliny působením fosgenu v prostředí ortodichlorbenzenu za katalýzy *N,N*-dimetylformamidu (obrázek 11). Do odvodněné suspenze meziproduktu se dávkuje dichlorbenzenový roztok fosgenu, zbytek fosgenu a chlorovodíku se po skončení reakce odstraní jejich oddestilováním s částí rozpouštědla. Po ochlazení se produkt izoluje filtrací na tlakové nuči (k urychlení filtrace), kde se případně promývá ortodichlorbenzenem. Plyny z reakce obsahující fosgen, chlorovodík a oxid uhličitý se likvidují alkalickou absorpcí, kde se zachycují do roztoku hydroxidu sodného. Matečné filtráty a promývací rozpouštědlo se recyklují jako násada pro chloraci následné operace [22,23].

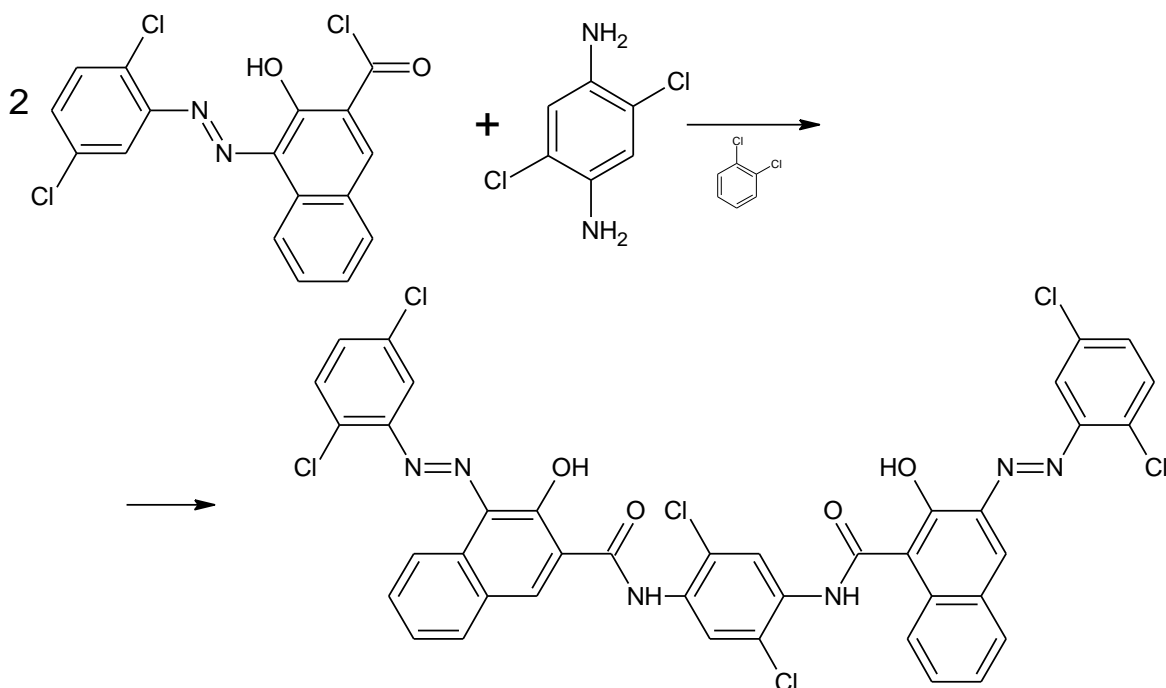


Obrázek 11: Syntéza monoazoacylchloridu pro disazové pigmenty

Připravený chlorid (monoazoacylchlorid) reaguje s příslušným diaminem za vzniku pigmentu (obrázek 12 a 13). V případě syntézy Pigment Red 166 reaguje monoazoacylchlorid s *p*-fenylendiaminem a při syntéze Pigment Red 214 se jako diamin využívá 2,5-dichlor-*p*-fenylendiamin. Kondenzace probíhá v ortodichlorbenzenu při optimální teplotě za průběžné analytické kontroly do jejího ukončení. Po dokončení reakce se pigment izoluje na rozpouštědlovém kalolise, kde se následně promyje. Zbytková rozpouštědla se z pasty pigmentu odstraní pomocí destilace s vodní parou. Pigment se izoluje na vodném kalolisu a vodná pasta se usuší. Po vyhodnocení koloristických a fyzikálních parametrů se pigment homogenizuje a balí do expedičních obalů, popřípadě se upravují vybrané vlastnosti pro cílového zákazníka vhodnými procesy [22].



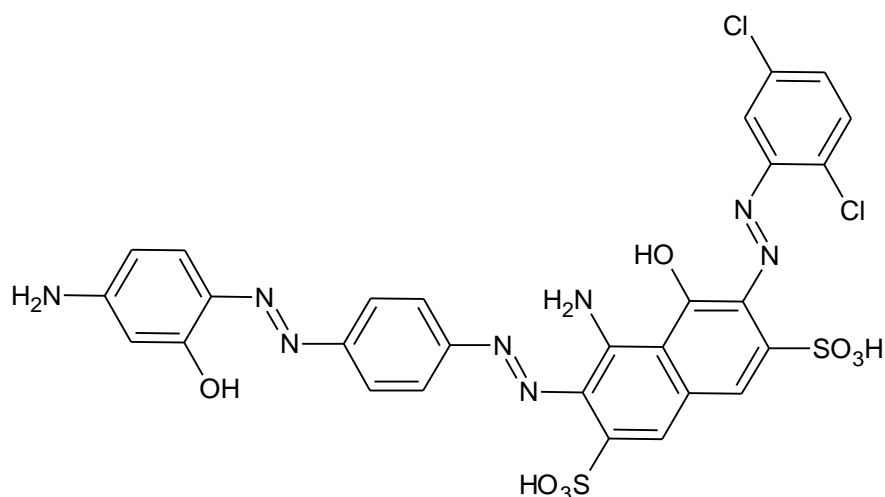
Obrázek 12: Vznik Pigment Red 166



Obrázek 13: Vznik Pigment Red 214

1.6 Acid Black 210

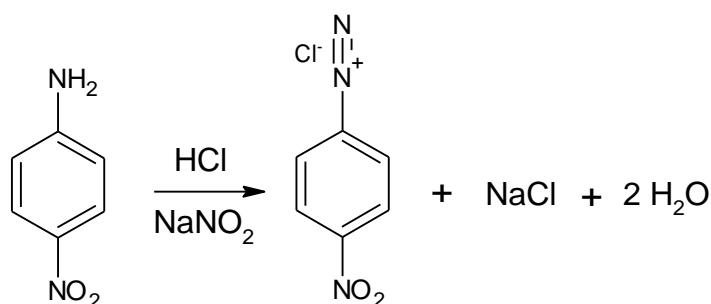
Korostanová čern AN, dle Colour Indexu jako Acid Black 210 (ABk 210), nepatří mezi pigmenty, neboť se jedná o ve vodě rozpustné barvivo. Produkt syntetizovaný společností Synthestia a.s. nese obchodní název Korostanová čern AN. Spadá mezi kyselá barviva, která jsou schopna vytvářet komplexní sloučeniny s ionty kovů. Obecně kovokomplexní azobarviva, kam spadá Acid Black 210, poskytují velmi dobré vybarvení materiálu a jsou stále nejen v praní, ale i na světle. Chemická struktura ABk 210 je znázorněna na obrázku 14. Jednalo se o jedno z nejpoužívanějších černých barviv v kožedělném průmyslu. Bylo také používáno pro barvení nylonových vláken, hedvábí, bavlny nebo papíru. Toto černé barvivo obsahuje ve své chemické struktuře tři azoskupiny a je uváděno jako barvivo mohoucí generovat nejen karcinogenní aromatické aminy, ale i polychlorované bifenyly. Z důvodu velkého obsahu polychlorovaných bifenyly se již toto barvivo nevyrábí [6,24,25].



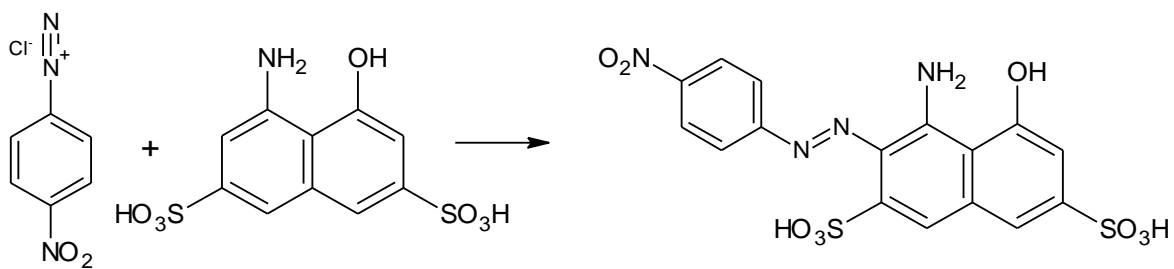
Obrázek 14: Strukturní vzorec Acid Black 210

1.6.1 Syntéza Acid Black 210

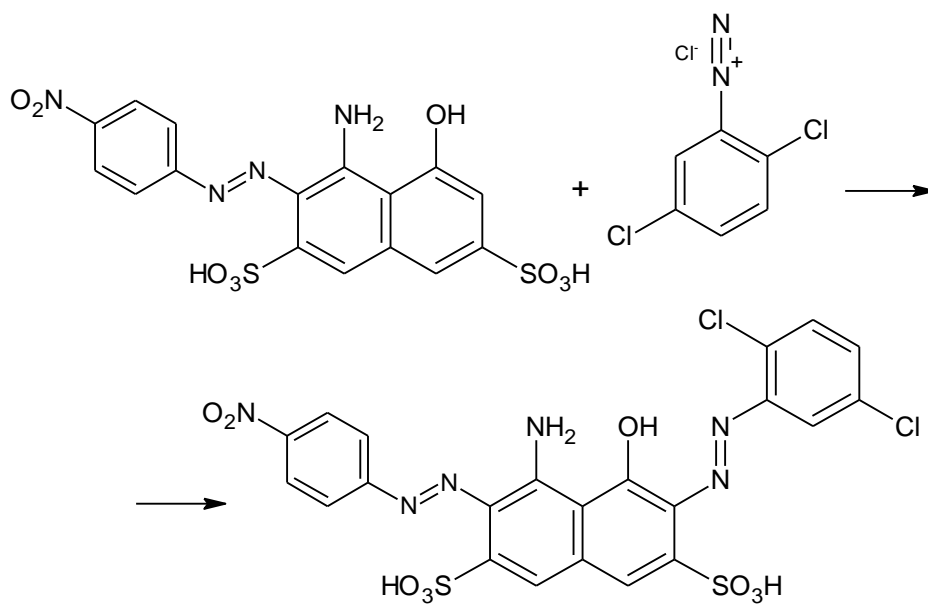
Syntéza tohoto barviva probíhá v několika krocích. V první fázi probíhá diazotace 4-nitroanilinu za vzniku diazoniové soli (obrázek 15), která následně kopuluje s pasivní komponentou v podobě H-kyseliny (1-amino-8-hydroxy-3,6-naftalensulfonová kyselina) a vzniká monoazové barvivo (obrázek 16). Následně probíhá diazotace 2,5-dichlornilinu a vzniklá diazoniová sůl 2,5-dichloranilinu kopuluje s monoazobarvivem jako pasivní komponentou (obrázek 17). Touto reakcí vzniká disazobarvivo, které se redukuje za pomoci sulfidu sodného, čímž skupina NO_2^- přechází na skupinu NH_2^- (obrázek 18). Výsledný produkt této redukce je mezibarvivo Acid Black, které se dále diazotuje na diazoniovou sůl (obrázek 19). V posledním kroku celé syntézy reaguje připravená diazoniová sůl mezibarviva s 3-hydroxyanilinem a vzniká výsledný produkt v podobě Acid Black 210 (obrázek 20). [26]



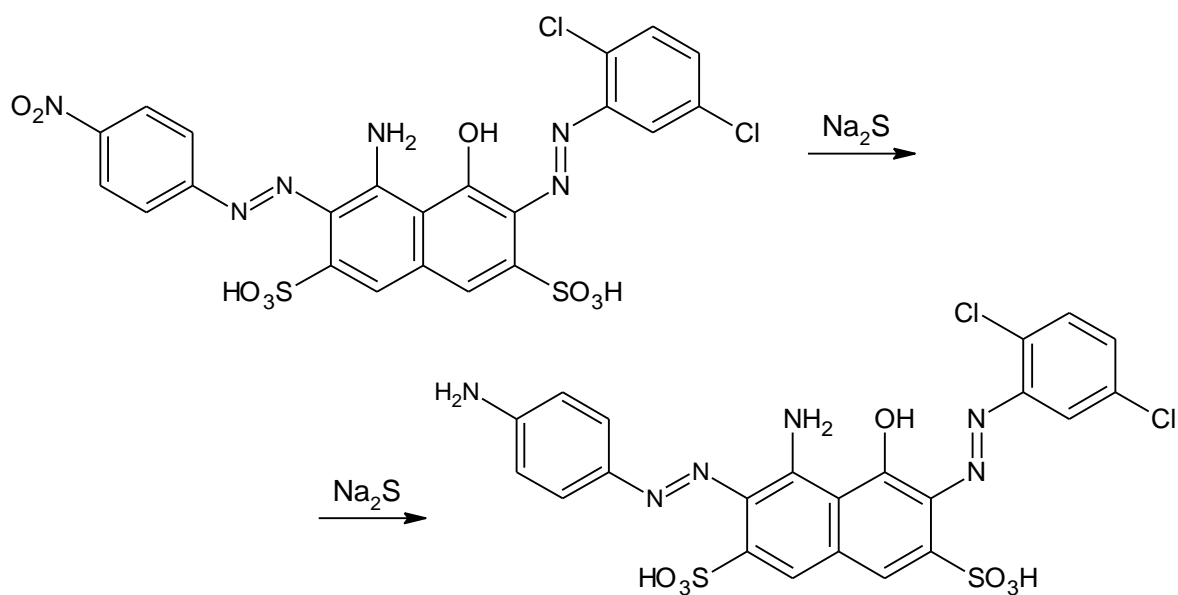
Obrázek 15: Diazotace 4-nitroanilinu



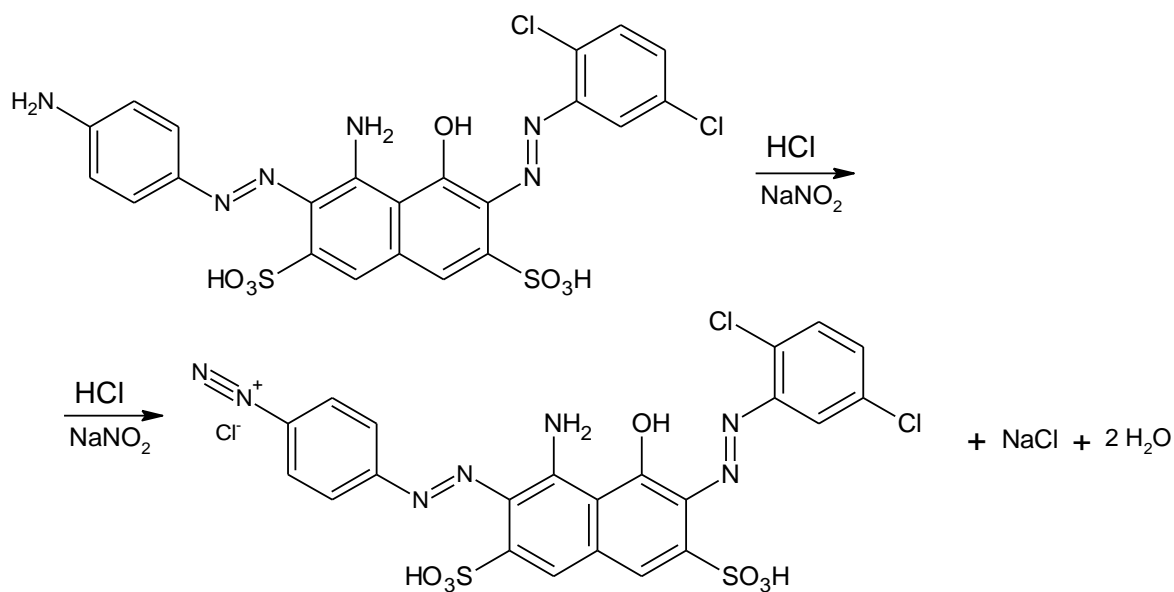
Obrázek 16: Kopulace diazoniové soli 4-nitroanilinu s H-kyselinou



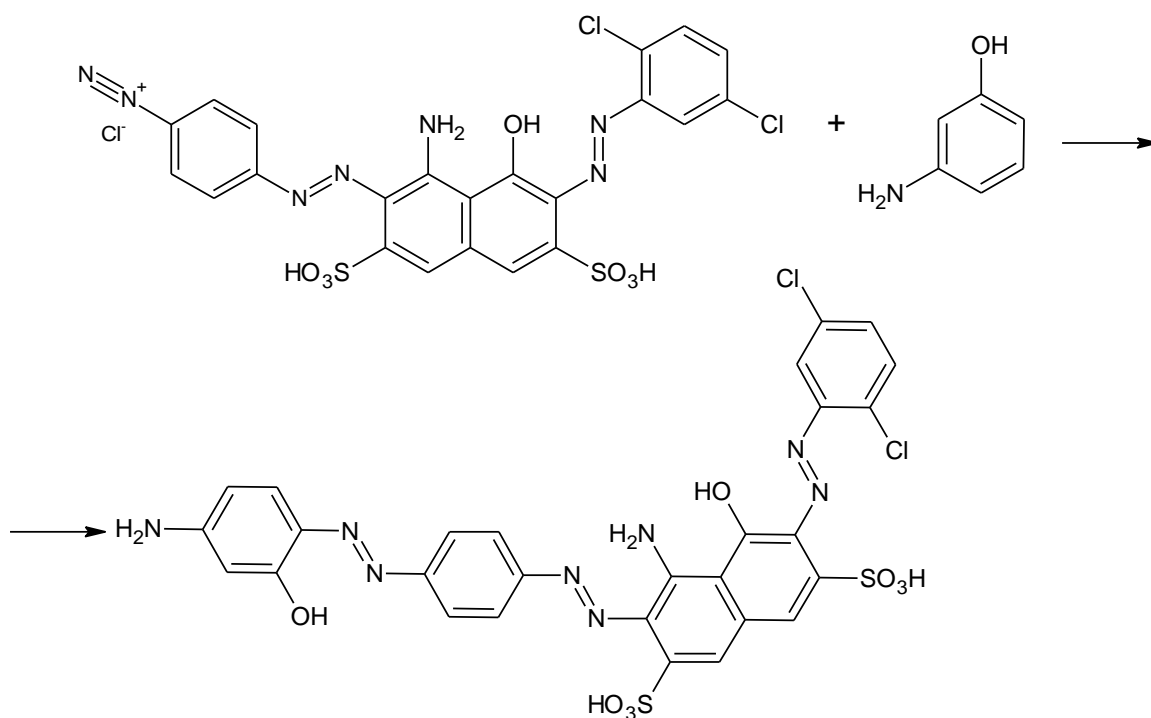
Obrázek 17: Kopulace monoazobarviva s diazoniovou solí 2,5-dichloranilinu



Obrázek 18: Redukce disazobarviva na mezibarvivo



Obrázek 19: Diazotace mezibarviva Acid Black 210

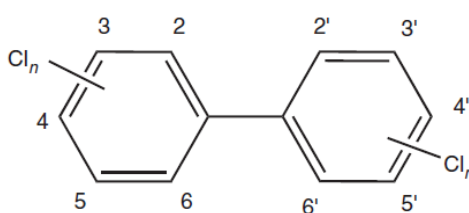


Obrázek 20: Vznik barviva Acid Black 210

1.7 Polychlorované bifenyly

Polychlorované bifenyly (PCB) jsou strukturně odvozeny od bifenylového skeletu, kde atomy vodíku jsou nahrazeny atomy chloru. Mohou obsahovat 1 až 10 atomů chloru a díky různým konfiguracím těchto atomů může teoreticky vzniknout až 209 možných

kongenerů (izomerů) PCB. Sumární vzorec PCB je $C_{12}H_{10-x}Cl_x$ a obecná struktura je zobrazena na obrázku 21. Kongenery, které mají stejný počet atomů chloru, patří do homologní skupiny a mají podobné fyzikálně-chemické vlastnosti. PCB jsou antropogenní syntetické organické kapaliny s vysokým bodem varu a přirozeně se nevyskytují v přírodě. V minulém století byly průmyslově vyráběny a široce se používaly jako izolační materiály v elektrických transformátorech a kondenzátorech, v hydraulických systémech, u teplotnosných médiích nebo v nátěrových hmotách. Celkově se od 20. do 90. let vyrobilo přibližně 1,3 milionu tun technických směsí PCB v jedenácti zemích, mezi které patřila i Česká republika. Kromě toho mohou být PCB generovány jako vedlejší produkt v důsledku použití chlorových látek v celé řadě chemických procesů (spalování odpadů, výroba cementu, metalurgie). Mezi tyto chemické procesy se řadí i výroba pigmentů a barviv [2,27,28].



Obrázek 21: Obecná chemická struktura polychlorovaných bifenylnů [2]

PCB jsou vysoce stabilní, toxické a bioakumulativní látky, které jsou vysoce perzistentní v prostředí. Tyto vlastnosti vedly k tomu, že se od 70. let minulého století postupně zastavovala celková jejich produkce. I přesto mohou být stále detekovány ve vzduchu, půdě, vodě nebo sedimentech. Tím se dostávají do koloběhu potravního řetězce a mohou být obsaženy v potravinách, nejčastěji v živočišných produktech (maso, ryby). Bioakumulační potenciál PCB se liší mezi různými kongenery. Obecně kongenery s více atomy chloru mají nižší rozpustnost ve vodě a vyšší rozdělovací koeficient *n*-oktanol-voda, tudíž mají tendenci se rozdělit do organické fáze a tím i do tukových tkání živých organismů. Naopak kongenery, které mají menší počet atomů chloru, mají vyšší rozpustnost ve vodě a nižší rozdělovací koeficient *n*-oktanol-voda. Tím jsou mobilnější (snáze se odplavují vodou) a je méně pravděpodobné, že se bioakumulují. PCB jsou klasifikovány jako lidské karcinogeny první skupiny (prokázaný karcinogen pro člověka) od roku 2013 podle IARC (International Agency of Research on Cancer) a jsou považovány za neurotoxiny

a endokrinní disruptory (hormonálně aktivní látky narušující normální funkci endokrinního systému) [2,27].

Je známo, že některé kongenery jsou toxičtější než jiné. Kongenery PCB, které mají alespoň čtyři atomy chloru a zároveň je jeden nebo žádný atom chloru v poloze *ortho* (2,2',6,6'), jsou obzvláště důležité. Jsou klasifikovány jako „PCB s dioxinovým efektem“, což znamená, že vykazují podobnou aktivitu jako dioxiny a spadá sem až 12 kongenerů. PCB s tímto dioxinovým efektem jsou také obsaženy v některých pigmentech. Proto je nezbytné stanovit přesné koncentrace přítomných kongenerů v pigmentech [2,27].

1.7.1 Polychlorované bifenylly v syntetických organických pigmentech

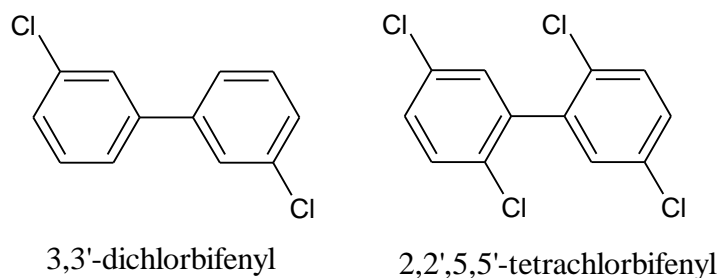
Již nějakou dobu je známo, že syntetické organické pigmenty mohou obsahovat stopová množství PCB jako nečistoty, pokud ve výchozích složkách existují určité strukturální motivy a kvůli vedlejším možným reakcím, to vše v závislosti na zvoleném typu procesu. Producenti pigmentů musí zajistit jejich výrobu tak, aby nově produkováné pigmenty byly v souladu s legislativou a předpisy, které stanovují jejich maximální přípustné limity. Bezpečností pigmentů (i barviv) se zabývá asociace ETAD (Ekologická a toxikologická asociace výrobců barviv a organických pigmentů). Spolehliví výrobci barviv a organických pigmentů jsou většinou členy asociace ETAD a používají nejlepší dostupné techniky pro výrobu pigmentů, aby dodrželi produkci PCB na minimálních hladinách. Konkrétní postupy však nejsou veřejně dostupné, neboť přesné procesy pro syntézu pigmentů jsou považovány za obchodní tajemství [2,29,30].

Asociace ETAD uvádí, že i když v některých pigmentech jsou stopová množství po neúmyslně generovaných PCB, není prokázáno, že tyto pigmenty představují riziko pro lidské zdraví nebo životní prostředí. PCB jsou přítomny jak na povrchu částic pigmentů, tak i uvnitř těchto částic. Je velmi málo pravděpodobné, že by takto zabudované PCB vedly k expozici člověka nebo životního prostředí. Zároveň se pigmenty inkorporují do dalších matric (aplikačních médiích) a pokud nedojde k degradaci těchto polymerních matric nebo pigmentů, je pravděpodobnost uvolňování PCB velmi malá. Potenciální zdroj expozice PCB je nutno spíše hledat v jejich přítomnosti v odpadních vodách výrobních závodů [31].

Klíčovými parametry, které ovlivňují přítomnost stopových množství PCB ve finálních produktech, jsou kvalita použitých surovin a meziproductů při výrobě pigmentů, ale také i podmínky při tomto procesu. Pigmenty, u nichž je nejpravděpodobnější stopová kontaminace PCB, jsou ty, které obsahují chlór jako součást své molekulární struktury,

u kterých se používají suroviny obsahující chlór nebo u takových pigmentů, při jejichž syntéze se používají aromatická rozpouštědla obsahující chlór. Celkové množství a struktura kongenerů PCB v pigmentech závisí na výrobním procesu. V řadě komerčních azopigmentů, pocházejících převážně z Číny a Indie, byly detekovány PCB překračující mezinárodně uznávané maximální limity. Všechny tyto pigmenty patří do dvou skupin – monoazové pigmenty odvozené od di- nebo trichloranilinu jako diazo složky a diarylidové pigmenty odvozené od 3,3'-dichlorbenzidinu (nebo 3,3',5,5'-tetrachlorbenzidinu jako bis-diazo složky). Do první jmenované skupiny pigmentů mezi důležité patří Pigment Red 2 a do druhé skupiny patří např. Pigment Yellow 13 [2,31].

Mezi nejčastější detekované PCB v azopigmentech patří dva kongenery a to kongener 11 (3,3'-dichlorbifenyl) a 52 (2,2',5,5'-tetrachlorbifenyl) (obrázek 22), kdy kongener 11 vzniká nejvíce při syntéze diarylidových pigmentů. Naproti tomu při syntéze PR 2 vzniká především kongener 52 [2,31].



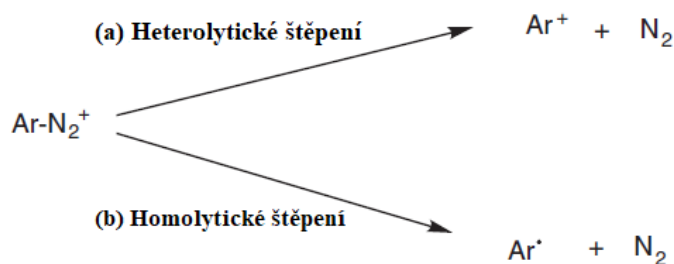
Obrázek 22: Chemická struktura PCB kongeneru 11 a kongeneru 52

1.7.1.1 Vznik polychlorovaných bifenylů při syntéze pigmentů

K objasnění tvorby PCB v pigmentech byly navrženy mechanismy jejich vzniku pro některé typické skupiny organických pigmentů, jako jsou azopigmenty, polycyklické a dioxazinové pigmenty. Tyto mechanismy byly obecně založeny na strukturní podobnosti mezi hlavními detekovanými PCB a produkty nebo výchozími materiály pro syntézu pigmentů. PCB vznikají současně s pigmenty ve stejném reakčním médiu obsahujícím chlorované meziprodukty a rozpouštědla. Obsah PCB v azopigmentech se odvíjí od jejich syntézy zahrnující diazotaci a kopulaci (postup je popsán v kapitole 1.3.2.1), které se provádějí ve vodě. Je velmi důležité pečlivě kontrolovat podmínky syntézy, aby se maximalizovaly výtěžky pigmentů a minimalizovaly se vedlejší reakce, které právě mohou vést ke vzniku diskutovaných PCB. Nečistoty mohou nepříznivě ovlivnit nejen kvalitu produktu, ale také bezpečnost pro životní prostředí nebo člověka. Diazoniové

sloučeniny jsou velice nestabilní a nikdy by nemělo docházet k jejich přebytku v reakční směsi. Při kopulaci je obvykle stanoven rozsah optimálního pH, a pokud je pH vyšší, mohou kopulaci zpomalovat vzniklé diazohydroxidy a diazotáty. V případě, že pH je velice nízké, rychlost reakce prudce klesá a může se i zastavit [2,6,28].

K tvorbě vedlejších produktů při syntéze organických pigmentů může dojít heterolytickým nebo homolytickým štěpením (obrázek 23). Během heterolytického štěpení (obrázek 23a) se tvoří arylový kationt (Ar^+), který běžně podléhá reakci s nukleofily přítomnými v reakčním systému, např. s vodou za vzniku fenolů a s chloridovými ionty za vzniku aromatických chlorderivátů. Pro tvorbu PCB je pravděpodobnější mechanismus homolytického štěpení (obrázek 23b), při kterém se tvoří volné radikály. PCB mohou vznikat reakcí dvou samostatných volných arylových radikálů nebo reakcí jednoho arylového radikálu s vhodným donorem vodíku. Ve druhém případě se tvoří především kongener 11 při syntéze diarylových pigmentů v důsledku dediazonace bis-diazoniové soli [2].

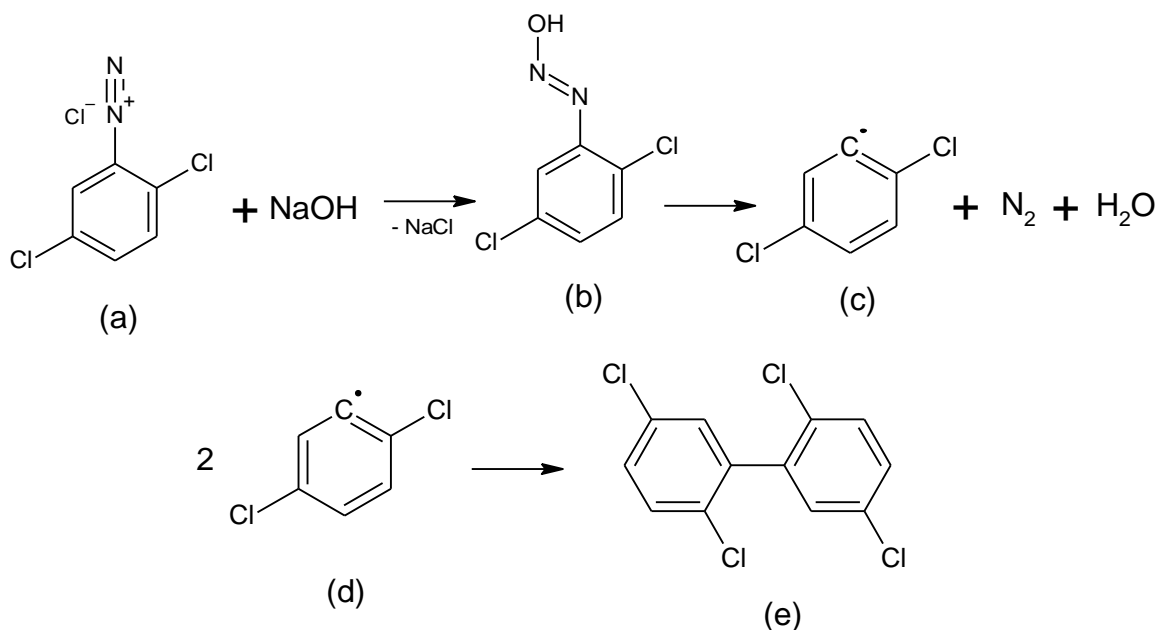


Obrázek 23: Mechanismy pro vznik vedlejších produktů při syntéze organických pigmentů [2]

Kombinace volných radikálů je nejčastějším mechanismem vzniku PCB při syntéze pigmentu PR 2, který je odvozen od diazotovaného dichloranilinů. Tato reakce vede převážně ke tvorbě kongeneru 52, tedy 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly v PR 2. Vznik tohoto kongeneru lze vysvětlit tzv. *Gombergovou-Bachmannovou* reakcí (obrázek 24). V případě, že na roztok diazoniové soli (diazoniová sůl 2,5-dichloranilinu, obrázek 24a) působí vodný roztok hydroxidu sodného nebo octanu sodného, aduje se nukleofil v poloze OH skupiny na trojnou vazbu diazoskupiny a vznikají tak diazohydroxidy (obrázek 24b). Ty se následně rozkládají na volné arylové radikály, elementární dusík a vodu (obrázek 24c). Arylové radikály v podobě 1,4-dichlorbenzenu reagují společně za vzniku 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly (obrázek 24e), který vzniká v největší míře (v PR 2 zastupuje více jak 70 % celkového obsahu PCB). Ostatní kongenery vznikají, pokud použitý PAA nemá dostatečnou čistotu

(2,5-dichloranilin obsahuje nečistoty převážně v podobě 3- a 4-chloranilinu nebo 3,4-dichloranilinu). Vznikající diazohydroxidy mohou způsobit, že vedle kongenerů PCB se mohou také vyskytnout jako vedlejší produkty chlorované bifenylly obsahující hydroxyskupinu na jednom z benzenových jader [2,32].

Zásadním krokem k řešení problému nežádoucí tvorby PCB v pigmentech je přísné dodržování technologických postupů, což mimo jiné vyžaduje i rutinní testování pigmentů na obsah PCB [2,32].



Obrázek 24: Vznik kongeneru 52 z diazoniové soli 2,5-dichloranilinu

V současnosti jsou publikovány některé patenty a postupy, kterými lze potlačit tvorbu PCB během syntézy pigmentů. Surové organické pigmenty různých chemických kategorií lze převést na produkty vysoké čistoty zpracováním směsí hydrofilního a hydrofobního organického rozpouštědla při 50–180 °C, přičemž tato rozpouštědla jsou navzájem jen omezeně mísitelná. Pomocí této techniky se nečistoty koncentrují v jedné z organických fází. Množství přítomných PCB je však těmito a jinými podobnými metodami čištění často ovlivněno pouze částečně, protože PCB jsou převážně pevně zabudovány uvnitř aglomerátů pigmentu. Zpracování pigmentu rozpouštědlem může mít dále vliv na změnu požadovaných koloristických vlastností. V případě pigmentů s nízkou stabilitou čištění rozpouštědlem není možné [29].

1.7.1.2 Stanovení polychlorovaných bifenyků v pigmentech

Stanovení obsahu PCB v organických pigmentech se obvykle provádí po převedení pigmentu do roztoku (např. rozpuštění v kyselině sírové) a následnou extrakcí do organického rozpouštědla. Po zpracování vzorku (pigmentu) následuje separace PCB, která se nejčastěji provádí pomocí kapilární plynové chromatografie na nepolárních imobilizovaných stacionárních fázích – 100% polydimethylsiloxan (např. HP-1, DB-1 apod.) nebo 5% fenyl-polydimethylsiloxan (např. HP-5, DB-5 apod.). Detekce může být detektorem elektronového záhytu (ECD), který se používá pro rutinní analýzy s malým obsahem interferujících látek nebo pomocí hmotnostní spektrometrie (MS). MS detektorem se zaznamenávají píky molekulových iontů M^+ a $(M+2)^+$, které jsou charakteristické pro ionty chloru [31].

Mezinárodní organizace pro normalizaci (ISO) zavedla normovanou metodu, pro stanovení těchto látek. Jedná se o normu ISO 787-28:2019, která zahrnuje stanovení celkového obsahu PCB v pigmentech pomocí plynové chromatografie s hmotnostní spektrometrickou detekcí (GC/MS). Je použitelná pro pracovní rozsah 1–150 mg/kg (ppm) PCB. Zhomogenizovaná navážka vzorku se standardem se rozpustí za pomoci ultrazvuku v koncentrované kyselině sírové (92%–95%). Po důkladném rozpuštění vznikne homogenní tmavý roztok, který musí mít teplotu vždy nižší než 50 °C. Molekuly pigmentu v koncentrované kyselině podléhají protonaci a proto se pevné částice pigmentu rozpustí. Přítomné jiné interferující látky ve vzorku kromě PCB musí být eliminovány čištěním, prováděným chromatografií na sloupci adsorbentu. Mezi nejčastější interferující látky patří karboxylové kyseliny, estery, polymerní povrchově aktivní látky a heterocyklické sloučeniny. Pro detekci a kvantifikaci se používá hmotnostní detektor pracující v režimu SIM (selektivní monitorování iontů), který je nejvhodnější pro kvantitativní analýzu. Tato metoda umožňuje kvantifikovat všech 209 kongenerů PCB, zatímco ostatní metody mohou kvantifikovat jen část kongenerů [33,34].

Pro komerční účely však není potřeba stanovení všech 209 kongenerů. V reálných podmínkách se většinou stanovují určité typické kongenery, které se ve vyráběných pigmentech vyskytují nejčastěji, a jejichž obsah v nich nesmí být překročen. K tomuto lze použít i jiné analytické metody než GC/MS. Společnost Synthesia, a.s. pro kvantifikaci konkrétních kongenerů ve vyráběných pigmentech využívá metodu vysokoúčinné kapalinové chromatografie s UV/VIS detekcí diodovým polem (HPLC/DAD). Při použití HPLC/DAD se vzorek zpracovává obdobným způsobem jako dle

normy ISO 787-28:2019 – pigment je převeden do kyseliny sírové a extrahuje se organickým rozpouštědlem. Není pouze použita přečišťující sloupcová kolona.

1.7.2 Stanovené limity pro obsah polychlorovaných bifenyly

Díky svým vlastnostem jsou PCB klasifikovány jako perzistentní organické znečišťující látky (POP). Jejich obsah je v mnoha zemích omezen legislativními opatřeními a jejich přítomnost je v různých materiálech a životním prostředí přísně sledována.

V současné době jsou nařízené maximální limity PCB legislativou TSCA (Toxic Substances Control Act, USA), normami Evropské unie, Stockholmskou úmluvou nebo jinými nařízeními, kdy celkové obsahy PCB se v jednotlivých zemích liší. TSCA zakazuje úmyslnou výrobu a dovoz záměrně přidaných PCB a omezuje obsah neúmyslně vyrobených PCB v pigmentech na průměrné hodnoty 25 ppm (max. 50 ppm) s výjimkou pro mono- a dichlor-PCB, kde tyto limity jsou 50, respektive 5 násobek. Tyto limity zohledňují ekonomickou a technickou proveditelnost i ochranu lidského zdraví a životního prostředí [27,30]. Kanada má stanovený maximální limit 50 ppm všech PCB (úmyslně i neúmyslně vytvořené) a průměrný limit 25 ppm pouze pro neúmyslně vyrobené PCB [2,30].

Stockholmská úmluva nestanovuje konkrétní omezení pro PCB v pigmentech, ale vztahuje se na všechny materiály, které mohou obsahovat maximálně 50 ppm PCB. Tento limit platí pro celkový obsah všech kongenerů PCB. Na Stockholmskou úmluvu navazuje nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 850/2004 o perzistentních organických znečišťujících látkách. Stanovuje se zde také limit 50 ppm pro součet všech kongenerů PCB v pigmentech. Toto nařízení se vztahuje nejen na výrobu, ale také na zpracování a komerční distribuci produktů obsahující PCB [2,30].

Bioakumulační účinky PCB mohou způsobit kontaminaci živočišných a rostlinných produktů s vysokým obsahem tuku. Z tohoto důvodu komise Evropské unie vydala nařízení č. 1259/2011, které udává maximální limity pro dioxiny, PCB s dioxinovým efektem a PCB bez dioxinového efektu v potravinách. Suma šesti PCB, konkrétně kongenerů 28, 52, 101, 138, 153 a 180, zahrnuje přibližně polovinu celkového množství PCB bez dioxinového efektu přítomných v potravinách. A proto jsou pro tuto skupinu PCB speciálně stanoveny maximální limity. Dále jsou limity stanoveny pro sumu dioxinů a pro skupinu zahrnující jak sumu dioxinů, tak i PCB s dioxinovým efektem. Rozmezí limitů se pohybuje od 1 pg/g tuku až do 300 ng/g tuku v závislosti na potravině (maso a masné výrobky, mléko, vejce, rostlinné a živočišné tuky) [35].

PCB a jejich maximální obsahy jsou regulovány i v obalových potravinářských materiálech. V Evropě je zásadní rezoluce Evropské rady AP (89) 1, která pojednává o použití kolorantů v plastových materiálech přicházející do styku s potravinami (tzv. food contact). Je stanoveno, že obsah extrahovatelných PCB by neměl překročit 25 ppm. Mimo obsahu PCB je zde zahrnut i obsah PAA, kovů a polokovů nebo sulfonových aromatických aminů [36].

1.8 Příklady stanovení polychlorovaných bifenyků v kolorantech

Polychlorované bifenyky mohou vznikat vedlejšími chemickými reakcemi při syntézách různých kolorantů. Z důvodu nebezpečných vlastností pro životní prostředí a člověka jsou PCB přísně sledovány. Většina publikací se věnuje PCB v životním prostředí, potravinách a biologických vzorcích, avšak prací zabývajících se analýzou PCB v koloratech a tiskových materiálech je relativně málo.

V německé studii z roku 1990 byl analyzován obsah PCB v azopigmentech odvozených od di- a trichloranilinu, respektive di- a tetrachlorbenzidinu. Autoři stanovovali přítomnost určitých kongenerů v daných vzorcích pigmentů a pro jejich identifikaci byla použita metoda GC/MS. Kongener 52 byl nalezen v červeném azopigmentu odvozeného od dichloranilinu a žlutém pigmentu odvozeným od tetrachlorbenzidinu. Dále byly identifikovány kongener 11, sumy dichlorbifenyků, pentachlorbifenyků a hexachlorbifenyků [39].

Anezaki a Nakano stanovovali obsah PCB v organických azopigmentech (29 vzorků), ftalocyaninových pigmentech (13 vzorků) a polycyklických pigmentech (4 vzorky). K analýze byla použita vysokorozlišující plynová chromatografie ve spojení s vysokorozlišovacím hmotnostním spektrometrem (HRGC/HRMS). Kongenery PCB se podařilo rozseparovat do 193 píků. Z 29 azopigmentů byly PCB nalezeny ve 24 vzorcích, z čehož ve dvou vzorcích (oba Pigment Yellow 81) obsah PCB přesáhl 50 ppm a v jednom z těchto vzorků bylo dokonce nalezeno 740 ppm sumy PCB. Jako nejvíce zastoupeným kongenerem ze všech PCB byl kongener 52 reprezentující až 98 % celkové sumy PCB. Ve ftalocyaninových pigmentech byly nalezeny PCB v devíti vzorcích, kdy koncentrace se pohybovala v rozmezí 0,011–2,5 ppm PCB. V pigmentech polycyklického typu byly PCB detekovány ve dvou ze čtyř vzorků v rozsahu koncentrací 1,5– 2,3 ppm [40].

Stejní autoři identifikovali a kvantifikovali PCB v komerčně dostupných malířských barvách obsahující organické pigmenty včetně azopigmentů odvozených od Naftol-AS.

Všechny vzorky barev byly zpracovány rozpuštěním v kyselině sírové s následnou extrakcí do hexanu a přečištěním extraktu na silikagelové koloně. Zakoncetrovaný eluát z této kolony byl analyzován pomocí metody GC/HRMS. Bylo zjištěno, že v žádné z analyzovaných barev nebyla suma PCB větší než 50 ppm. Avšak byla veliká pravděpodobnost, že v pigmentech používaných jako suroviny pro výrobu analyzovaných barev mohl obsah PCB přesáhnout limit 50 ppm. Z tohoto důvodu je nutné monitorovat kontaminaci PCB v komerčně dostupných pigmentech [27].

V roce 2013 vyvolal v Číně velké obavy PCB kongener 11 (3,3'-dichlorbifenylyl) z důvodu své všudypřítomnosti v prostředí. Potenciálním zdrojem byla syntéza žlutých pigmentů. Bylo odebráno 24 vzorků žlutých pigmentů z různých výrobních závodů, které byly analyzovány pomocí HRGC/HRMS. Nalezené koncentrace kongeneru 11 byly v rozmezí 41,7 ppb až 918 ppm. Kongener 11 reprezentoval až 90 % celkové sumy PCB [41].

1.9 Pigmenty a polychlorované bifenyly v potravinářských obalech

Dnes je zhruba až 90 % potravin baleno do ochranných materiálů, které mají nejen ochranou, ale i designovou funkci, která zajišťuje vizuální komunikaci se spotřebitelem. Tyto materiály přicházející do styku s potravinami musí být bezpečné pro spotřebitele, což je zakotveno v příslušné legislativě. Základní zásadou z toho vyplývající je, že obal by neměl ohrožovat lidské zdraví, neměl měnit složení potravin a jejich organoleptické vlastnosti. Některé z těchto předpisů a pokynů se týkají také tiskových inkoustů užívaných k výrobě obalů určených pro nepřímý styk s potravinami. V současnosti vzrůstají obavy ohledně vlastností tiskových inkoustů použitých na obalové materiály včetně jejich primárních složek, jako jsou pigmenty, pryskyřice a další složky, které musí splňovat požadavky týkající se toxikologického profilu a migračního chování. V případě pigmentů jsou definovány maximální limity nečistot v potravinářských obalech, jako jsou stopy těžkých kovů, primárních aromatických aminů, dioxinů nebo právě polychlorovaných bifenyly [37].

Hlavním problémem potištěných potravinářských obalů, pokud jde o bezpečnost potravin a zdraví spotřebitelů, je migrace tiskového inkoustu. Všechny tiskové barvy mají potenciál migrovat z potištěné strany obalu na stranu přicházející do styku s potravinami a kontaminovat danou potravinu. Migrace inkoustu nezávisí pouze na něm samém, ale do značné míry závisí i na ostatních složkách obalu (tiskový substrát), podmínkách tisku

nebo na zpracování a povaze balené potraviny (např. tučné potraviny jsou náchylnější k absorpci). Inkousty by měly být dostatečně integrovány do materiálu obalu, aby se zabránilo jejich viditelné migraci do potravin [36,37].

K migraci inkoustu a tím i ke kontaminaci potravin může dojít několika způsoby. V prvním případě může docházet k přímé migraci, kdy je natištěný inkoust v přímém kontaktu s potravinou. Dále může docházet k migraci skrz celý obal, kdy komponenty tiskové barvy projdou z vnější tištěné strany skrz celý obal až na jeho vnitřní stranu, která je v kontaktu s potravinou. Tuto migraci lze snížit pečlivým výběrem obalového materiálu nebo štítku, které mohou sloužit jako bariéra proti migraci. Tato forma migrace je významným problémem pro digitální tisk. K tzv. set-off migraci dochází, když jsou potištěné obaly ve stohu nebo jsou pevně srolovány na kotouč a pod tlakem mohou komponenty z potištěného povrchu migrovat na nepotištěnou zadní stranu přicházející právě do styku s potravinami. Pokud se jako tištěný materiál používají samolepící štítky, je tato forma migrace méně významná, protože štítek má obvykle podložku, která je odstraněna při jeho aplikaci na obal. U fólií a podobných jednovrstvých materiálů je nutno tuto formu migrace vzít v úvahu při volbě inkoustů [37].

V EU musí všechny materiály a předměty přicházející do styku s potravinami být v souladu s rámcovým nařízením (ES) č. 1935/2004. Tyto materiály musí být vyráběny se správnou výrobní praxí, aby za běžných nebo předvídatelných podmínek použití nepřenesly své složky do potravin. V rámci EU neexistují žádné harmonizované předpisy týkající se potištěných materiálů pro styk s potravinami. Kromě požadavků rámcového nařízení se většinou odkazuje na švýcarskou vyhlášku o materiálech a předmětech s více než 4 500 látkami, které pokrývají přibližně 85 % látek používaných v tiskových barvách [38].

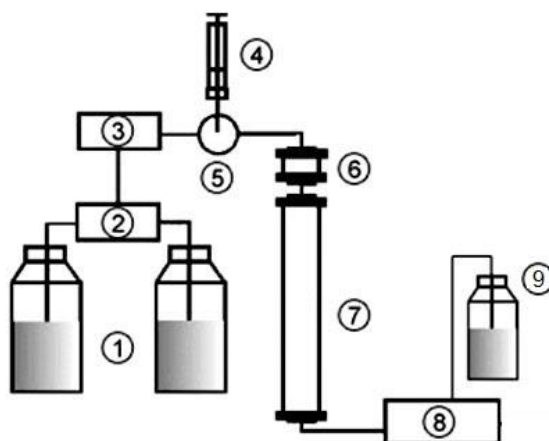
1.10 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC – High Performance Liquid Chromatography) je významná analytická technika, která separuje látky na základě jejich rozdílné distribuce mezi dvě nemísitelné fáze, stacionární fází (SF) a kapalnou mobilní fází (MF). Jedná se o často používanou techniku a lze ji využít pro kvalitativní i kvantitativní analýzy v různých odvětvích. Až 80 % látek lze analyzovat pomocí HPLC od jednoduchých organických až po složité polymerní látky [42,43].

Separace analyzovaných látek je založena na jejich opakované distribuci mezi pohyblivou mobilní a nepohyblivou stacionární fází, přičemž vhodnou kombinací obou fází lze dosáhnout jejich rozdílné retence (zadržování) a tím i jejich separace. Analyzovaný vzorek se dávkuje do proudu mobilní fáze a společně pak protékají skrz chromatografickou kolonu, kde se nachází stacionární fáze. Rozdílná retence způsobuje, že vycházející eluát z kolony obsahuje rozseparované látky ve formě píků, které jsou vedeny do detektoru. Zde jsou detekovány s využitím různých fyzikálně-chemických principů [44,45].

1.10.1 Instrumentace HPLC

Základní schéma instrumentace HPLC je znázorněno na obrázku 25. Přístroj se skládá z několika základních částí – zásobníku mobilní fáze (1), vysokotlakého čerpadla (3), dávkovače vzorků (5), chromatografické kolony (7) a detektoru (8). Kapalinový chromatograf může obsahovat i další části, např. předkolonu (6), derivatizační reaktor pro postkolonovou derivatizační reakci nebo více detektorů zapojených do série pro zvýšení selektivity detekce [44].



Obrázek 25: Schéma kapalinového chromatografu [46]

1 – zásobníky mobilní fáze, 2 – směšovací komora, 3 – čerpadlo, 4 – hamiltonova stříkačka se vzorkem, 5 – dávkovací ventil, 6 – předkolona, 7 – kolona, 8 – detektor, 9 – odpad

Dle polarity MF a SF se rozlišují dva systémy – systém s normálními fázemi (NP) a systém s obrácenými fázemi (RP). V prvním systému s normálními fázemi je SF polárnější než MF. Nejčastějším separačním systémem v HPLC je systém s obrácenými fázemi, kdy SF je méně polární než MF. V RP systému se jako MF využívá především voda ve směsi s organickými rozpouštědly (acetonitril, metanol, etanol). Nepolární SF jsou chemicky

vázané uhlovodíkové řetězce na vhodném nosiči (nejčastěji silikagel). Nejvíce využívaný je uhlovodíkový lineární řetězec C18 (oktadecylsilikagelová SF), ale mohou se používat i C4, C8, fenylové fáze a další fáze [45,47].

Čerpadlo zajišťuje stabilní a konstantní průtok MF v celém HPLC systému v rozsahu průtoků cca 0,1–5 ml/min a tlaků do 60 MPa (HPLC), respektive 100–120 MPa (UHPLC). Potřebný tlak k zajištění průtoku závisí na celé řadě faktorů, jako je velikost částic stacionární fáze, rozměry kolony, velikost průtoku nebo složení mobilní fáze. Čerpadlo musí být vyrobeno z odolných materiálů vůči vysokému tlaku a korozi. Umožňuje většinou čerpat MF ve dvou elučních módech – izokratickém a gradientovém. Při izokratické eluci se složení MF (a její eluční síla) během celé analýzy nemění a využívá se pro jednoduché separace. U gradientové eluce se složení MF mění v čase a jeho eluční síla roste během analýzy. Tato eluce zvyšuje citlivost, píky jsou lépe rozlišené a je vhodná pro komplexní vzorky s velkým počtem analytů [48–50].

Do chromatografického systému je možné dávkovat vzorek ručně manuálním vícecestným ventilem nebo pomocí automatického dávkovače (autosampler). Nejpoužívanější manuální dávkovací systém je tzv. šesticestný ventil. Dávkovaný objem vzorku se pohybuje od jednotek až po desítky μl . Automatické dávkovače nabírají vzorky ze vzorkovnic za pomoci jednoduchého robotického systému. Díky tomu zvyšují přesnost a preciznost analýz a celkově zefektivňují měření [48].

Kolony pro HPLC jsou obvykle trubice zhotovené z inertního materiálu (např. nerezové oceli) naplněné nejčastěji SF v podobě malých částic o velikosti 2,7–7 μm zcela pórovitých nebo povrchově porézních s neporézním jádrem. Běžné rozměry kolon jsou délky mezi 3 až 30 cm a vnitřní průměr je 1 až 5 mm. SF v koloně má vliv na separaci svojí velikostí, polaritou, tvarem, strukturou, porézností a průměrem pórů. Kolona se nachází ve vyhřívaném termostatu, kde je udržovaná konstantní teplota. Pro prodloužení životnosti kolony bývá často v zařízení předkolona, která obsahuje stejnou stacionární náplň jako vlastní analytická kolona. Jejím účelem je hlavně záchyt mechanických nečistot obsažených ve vzorku a tím prodloužení životnosti podstatně dražší separační kolony [51,52].

V detektoru se vhodné chemické či fyzikální vlastnosti rozseparovaných látek převádějí na elektrický signál, jehož velikost odpovídá jejich množství v eluátu. V kapalinové chromatografii se nejčastěji používají spektrofotometrické detektory v UV/VIS oblasti spektra měřící absorpci záření eluátem při vybrané vlnové délce nebo v případě DAD detektoru se snímá celé spektrum v reálném čase. Fluorimetrické detektory měřící emitované záření jsou velice citlivé, ale většinou je nutná derivatizace vzorku.

Hmotnostní spektrometr použitý jako detektor umožňuje vedle detekce látek i jejich identifikaci na základě interpretace jejich hmotnostního spektra. Další detektory (refraktometrický, rozptylu světla, elektrochemické) mají využití ve speciálních případech [52].

1.11 Plynová chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí

Plynová chromatografie je separační technika, která je založená na rozdílné distribuci složek mezi dvě nemísitelné fáze – stacionární fází a mobilní plynnou fází (nosný plyn). Dle používané stacionární fáze lze rozdělit plynovou chromatografii na plynovou adsorpční chromatografii (GSC) a plynovou rozdělovací chromatografii (GLC). Separace analytů pomocí GSC je založena na jejich opakované adsorpci z plynné fáze na povrch pevného stacionární sorbentu, kdežto u GLC se analyt separuje na základě distribuce mezi opakované distribuce mezi plynnou fází a kapalnou stacionární fází. Základní podmínka pro analýzu látek pomocí plynové chromatografie je jejich dostatečná těkavost, aby mohly ihned přejít ve vyhřívaném injektoru do plynného skupenství [53,54].

Hmotnostní spektrometrie (MS) je metoda sloužící ke kvalitativní a kvantitativní analýze látek na základě interpretace jejich hmotnostního spektra (záznam intenzity signálu na efektivní hmotnosti m/z fragmentů analyzované látky) po její ionizaci a rozštěpení. Hlavní výhodou je vysoká citlivost této metody, minimální spotřeba vzorku a obvykle i určení molekulové hmotnosti látky, respektive její struktury. Spojením plynové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí (GC/MS) lze identifikovat a kvantifikovat těkavé látky ve složitých směsích, určovat molekulové hmotnosti a jejich prvkové složení [55,56].

1.11.1 Instrumentace GC

Plynový chromatograf se skládá ze zdroje nosného plynu (tlakové láhve), regulátoru průtoku (mechanický nebo elektronický), injektoru, termostatu, kolony, detektoru a vyhodnocovacího zařízení. Nosný plyn se používá podle zvoleného způsobu detekce a nejčastěji se jedná o dusík, helium či vodík. Nástřik vzorku se provádí pomocí injektoru, kde je analyzovaný vzorek zplyněn a vnesen do proudu nosného plynu. K separaci látek dochází v koloně nacházející se v termostatu. Používají se dva hlavní typy kolon – náplňové a kapilární, přičemž používání náplňových kolon v současnosti je už spíše okrajové. Kapilární kolony mají průměr 0,1–0,6 mm a jsou nejčastěji 5–50 m dlouhé. Obvykle jsou

zhotoveny z taveného křemene. Jako stacionární fáze se nejvíce využívá polyethylenglykol, dimethylpolysiloxan nebo (5% difenyl)-(95% dimethyl)polysiloxan. Ve formě tenkého filmu (desetiny μm) imobilizovaného na vnitřním povrchu kapiláry. Základním typem detektoru je plamenoionizační detektor (FID). V současnosti je hodně využíván hmotnostně spektrometrický detektor (MS). Další typy detektorů jako je tepelně vodivostní detektor (TCD), detektor elektronového záchytu (ECD) se používají ve speciálních případech [54].

1.11.2 Spojení GC/MS

Hmotnostní spektrometr je složen ze tří základních částí – iontový zdroj, hmotnostní analyzátor a detektor. Iontový zdroj slouží k tzv. ionizaci, při které dochází k převedení neutrálních molekul analytu na nabitě částice. Hmotnostní analyzátor rozděljuje ionty v plynné fázi za vysokého vakua (cca 10^{-3} – 10^{-11} Pa) dle poměru hmotnosti a náboje (m/z) a po rozdělení jsou vedeny do detektoru. Ionizace molekul může probíhat tvrdou ionizační technikou nebo měkkou (šetrnou) ionizační technikou a zároveň může probíhat za sníženého tlaku (EI ionizace pro spojení GC/MS) nebo za atmosférického tlaku (API techniky pro spojení HPLC/MS). Při tvrdé ionizaci získává ionizovaná molekula nadbytek vnitřní energie, která se projeví fragmentací molekulového iontu na menší části (na tzv. fragmentové ionty). Oproti tomu molekula při měkké ionizaci získává mnohem menší množství energie oproti tvrdé ionizaci. Díky tomu ve spektrech pozorujeme zejména (de)protonované molekuly a fragmentové ionty vznikají minimálně. Spojení plynového chromatografu s hmotnostním detektorem (GC/MS) je v současnosti při využití kapilárních kolon zcela rutinní záležitostí a dovoluje s použitím EI ionizace identifikaci a kvantifikaci i neznámých látek na základě interpretace získaných MS spekter nebo jejich porovnání s databázemi [55].

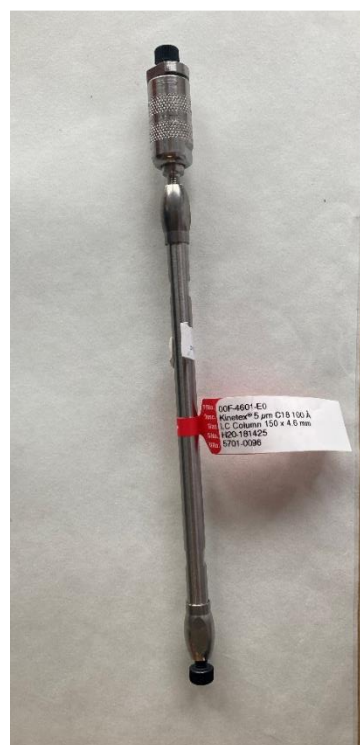
2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Přístroje a zařízení

- modulární kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II (Agilent Technologies, USA) složený z kvarterního čerpadla s maximálním tlakem 600 bar a nastavitelným průtokem 0,1–5 ml/min, autosampleru s dávkovaným objemem 0,1–100 μ l, kolonového termostatu (10–80 °C), detektoru diodového pole (rozsah vlnových délek 190–950 nm, záznam analýzy až při 8 vlnových délkách současně) (obrázek 26)



Obrázek 26: HPLC Agilent 1260 Infinity II



Obrázek 27: Kolona Kinetex C18 s předkolonou Kinetex C18

- kolona Kinetex C18, 150 x 4,6 mm; 5 μ m (Phenomenex, USA) (obrázek 27)
- předkolona Kinetex C18, 4 x 3 mm; 5 μ m (Phenomenex, USA)
- plynový chromatograf s vysoko rozlišujícím hmotnostním spektrometrem DFS Magnetic Sector GC/HRMS (Thermo Fischer ScientificTM, USA) (obrázek 28)
- kapilární kolona Rxi-5Sil MS pro GC/MS, 60 m, 0,25 mm, 0,25 μ m tloušťka filmu (Restek, Francie)
- analytické váhy AE 200 (Mettler Toledo, USA)
- ultrazvuková lázeň SONOREX (Bandelin, Německo)



Obrázek 28: GC/HRMS s DFS magnetickým sektorem

- automatické pipety o různém objemu (Fisherbrand, Finsko)
- Kuderna-Danish aparatura (obrázek 29)



Obrázek 29: Kuderna-Danish aparatura (KD aparatura)

- koncentrátor MINI-100N MINI Sample Concentrator (MIULAB, Čína)
- plotýnkový elektrický vařič (Eta, ČR)
- injekční stříkačky Norm-Ject 3 ml (VWR Chemicals, USA)
- membránové stříkačkové filtry PTFE 0,2 µm (VWR Chemicals, USA)
- vialky (Agilent Technologies, USA)
- běžné laboratorní sklo
- sušárna Memmert UN (Memmert, Německo)

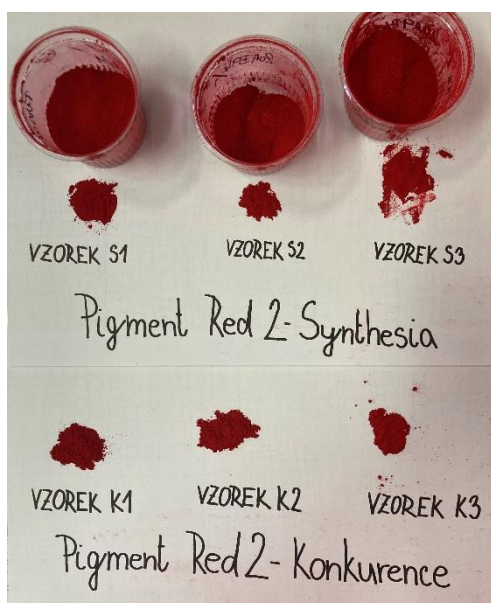
2.2 Chemikálie

- acetonitril gradient grade (Sigma-Aldrich, USA)
- 2,2',5,5'-tetrachlorbifenylyl (Univerzita Pardubice)
- 2,2',4,5,5'-pentachlorbifenylyl (Synthesia, a.s.)
- hexan pro HPLC (PENTA, ČR)
- metanol pro HPLC (Sigma-Aldrich, USA)
- deionizovaná voda upravená přes přístroj na úpravu vody Demiwa 10 ROSA + IWA 20 iol (Watek, ČR)
- kyselina sírová 96%, p.a. (Lach-Ner, ČR)
- dichlormethan, p.a. (Lach-Ner, ČR)
- silikagel 60 Å, 60–200 µm (Sigma-Aldrich, USA)
- dusičnan stříbrný, p.a. (Lach-Ner, ČR)
- hydroxid sodný, p.a. (Lach-Ner, ČR)
- síran sodný bezvodý, p.a. (Lach-Ner, ČR)

2.3 Analyzované vzorky

Společnost Synthesia a.s. poskytla pro potřebu diplomové práce celkem 22 vzorků Pigment Red 2. Z toho 11 vzorků bylo syntetizováno samotnou společností a dalších 11 vzorků pocházelo od konkurenčních firem. Synthesia vzorky jsou značené symboly S1–S11 a konkurenční vzorky K1–K11. Dále byly poskytnuty vzorky Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s příslušnými meziprodukty. Všechny tyto vzorky byly k dispozici ve formě suchého červeného prášku (obrázek 30 a 31). Dalším analyzovaným vzorkem bylo barvivo Acid Black 210 (Korostanová čern AN) dodaná v podobě suchého černého prášku

(obrázek 32). Všechny tyto vzorky pocházejí z procesu výroby a nejsou určené pro komerční účely.



Obrázek 30: Vzorky Pigment Red 2



Obrázek 31: Vzorky Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s příslušnými meziprodukty



Obrázek 32: Vzorek Acid Black 210

2.4 Pracovní postup

2.4.1 Příprava kalibračních řad standardu PCB kongeneru 52

Byl připraven 1. zásobní roztok PCB kongeneru 52 navázkou 50 mg do 50ml odměrné baňky a následně doplněn acetonitrilem po rysku. Čistota standardu byla 97 %. Z tohoto zásobního roztoku bylo odpipetováno 100 μ l do 10ml odměrné baňky a baňka byla doplněna po rysku acetonitrilem (2. zásobní roztok). Z 2. zásobního roztoku byla vytvořena kalibrační řada odpipetováním 250 μ l, 500 μ l, 1 ml, 1,5 ml, 2 ml a 2,5 ml do 10ml baněk. Přesné koncentrace jsou uvedeny v příloze 1.

2.4.2 Příprava vzorku Pigment Red 2 pro analýzu polychlorovaných bifenyků

Pro přípravu vzorků Pigment Red 2 byly použity dva postupy odvozené od normy ISO 787-28:2019. První postup je vypracován společností Synthesia, a.s. a druhý pracovní postup je používán v akreditované laboratoři ALS. Oba postupy jsou velmi podobné, avšak hlavní rozdíl je v době aplikace ultrazvuku při zpracování vzorku. Podle použité měřicí metody se postupy liší v použití interního standardu, který je pro kvantitativní analýzu nezbytný.

V případě HPLC/DAD se používá interní standard 2,2',4,5,5'-pentachlorbifenyl (kongener 101) syntetizovaný v laboratoři Synthesia podle následujícího postupu: Do 0,025 mol 2,4,5-trichloranilinu bylo přidáno 0,25 mol 1,4-dichlorbenzenu. Taková to směs byla zahřívána za stálého míchání 120–130 °C po dobu jedné hodiny. Následně ke směsi byl po kapkách přidáván 0,05M isoamylnitrit. Takto připravená směs byla zahřívána na 130 °C 15–18 hodin za stálého míchání. Přbytek 1,4-dichlorbenzenu byl ze směsi oddestilován a zbytek byl rozpuštěn v hexanu. Připravený roztok se přefiltroval 2x až 3x přes vrstvu oxidu hlinitého. Ve vzniklém kongeneru 101 bylo pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS ověřováno, zda neobsahuje stanovovaný kongener 52.

2.4.2.1 Příprava vzorků dle Synthesia, a.s.

Do 100ml Erlenmeyrovky baňky bylo naváženo 100 mg vzorku pigmentu s přesností $\pm 0,1$ mg. V případě HPLC/DAD bylo ke vzorku přidáno 100 μ l interního standardu kongeneru 101 (koncentrace 0,15 mg/ml) připraveného podle postupu uvedeného výše. Následně bylo přidáno 15 ml hexanu a směs byla 30 sekund ultrazvukována. Dále bylo přidáno 10 ml 96% kyseliny sírové, baňka byla zazátkována a protřepána v ruce cca 1 minutu, odzátkována a dalších 5 minut byla směs opět ultrazvukována. Teplota lázně v ultrazvuku nesměla 30 °C (udržováno ledem). Po vyjmutí z ultrazvuku byl roztok v baňce ponechán 5 minut v klidu, aby došlo k úplnému oddělení vrstev.

Poté byla Pasteurovou pipetou opatrně převedena hexanová vrstva z Erlenmeyrovky baňky do 100ml děličky, kde bylo zprvu přidáno 10 ml 96% kyseliny sírové. Dělička byla zazátkována, řádně protřepána a po odzátkování byla ponechána 5–10 minut stát pro důkladné oddělení vrstev. Mezi vrstvami nesměly být bublinky. Dále byla odpuštěna vrstva kyseliny sírové tak, aby v děličce zbyla vrstva o tloušťce cca 1 cm. Následně byla opatrně pipetou převedena hexanová vrstva do odpařovací baňky Kuderna-Danish (KD)

aparatury tak, aby nebyla nasáta vrstva kyseliny. V děličce byla ponechána 0,5cm hexanová vrstva.

Pro HPLC/DAD byl hexanový extrakt zakoncentrován na Kuderna-Danish aparatuře (obrázek 29) na zhruba 2 ml a zbytek byl vysušen na minikoncentrátoru proudem inertního plynu (dusík) do sucha. Následně byl do baňky KD aparatury přidán 1 ml metanolu a baňka byla krátce vložena do ultrazvukové lázně. Vzorek byl převeden pomocí Pasteurovy pipety do injekční stříkačky s PTFE filtrem a vše bylo přefiltrováno do vialky. Při opakované extrakci za účelem zjištění její výtěžnosti bylo po převedení hexanové vrstvy z Erlenmeyrovy baňky přidáno ke zbytku kyseliny sírové se vzorkem dalších 15 ml hexanu a celý postup byl vícekrát opakován. Jednotlivé extrakční kroky byly vyhodnocovány (analyzovány) zvlášť.

2.4.2.2 Příprava vzorků dle akreditované laboratoře ALS

V GC/HMRS byly používány dva standardy – extrakční a nástříkový. V obou případech se jedná o ^{13}C izotopicky značené standardy. Jako nástříkový standard byl použit izotopově značený ^{13}C kongener 70, 111 a 170, a jako extrakční standard izotopově značený ^{13}C kongener 52, 77, 81, 101, 105, 114, 118, 123 a 126. Extrakční standard byl přidán ke vzorku před samotným zpracováním. Nástříkový standard byl dodán až po zpracování vzorku a celá směs byla následně zakoncentrována.

Do 100ml Erlenmeyrovy baňky bylo naváženo 100 mg vzorku pigmentu, ke kterému byl přidán izotopově značený ^{13}C extrakční standard pro GC/MS. Poté bylo přidáno 15 ml hexanu, 10 ml 96% kyseliny sírové a vše bylo vloženo do ultrazvukové lázně, kde byla směs 15 minut ultrazvukována. Mezitím byla připravena dělicí nálevka, do které bylo předloženo 10 ml 96% kyseliny sírové. Po 15 minutách byla Erlenmeyrova baňka vyjmuta z ultrazvukové lázně a směs byla ponechána stát pro vyčeření. Následně byla hexanová vrstva odebrána do připravené dělicí nálevky s koncentrovanou kyselinou sírovou. Ke zbytku kyseliny sírové v Erlenmeyrovy baňce bylo přidáno dalších 15 ml hexanu a celý extrakční krok byl opakován. Získaný hexanový podíl byl přidán do děličky k prvnímu podílu.

Dělicí nálevka byla zazátkována, důkladně protřepána, aby se jednotlivé vrstvy promíchaly a směs byla opět ponechána v klidu pro důkladné vyčeření. Následně byla spodní vrstva kyseliny sírové odpuštěna tak, aby zbyla půl centimetrová vrstva, a bylo přidáno dalších 10 ml 96% kyseliny sírové. Tento krok byl opakován, dokud se vrstva kyseliny

nebarvila. V případě samovolného zahřívání bylo potřeba dělicí nálevku intenzivně chladit pod tekoucí vodou.

Hexanová vrstva byla odebrána a přečištěna přes sloupcovou kolonu složenou z vrstev vaty, silikagelu, silikagelu impregnovaného 10% dusičnanem stříbrným, silikagelu impregnovaného 33% hydroxidem sodným, další vrstvy silikagelu, silikagelu impregnovaného 44% kyselinou sírovou, silikagelu a vrstvy bezvodého síranu sodného. Organická vrstva byla jímána do 50ml KD baňky se špičkou, na které byla nasazena vialka. V této vialce byl předložen nástříkový izotopově značený standard pro měření pomocí GC/HRMS. Pro důkladné vyplavení sledovaných analytů byla sloupcová kolona promyta dalšími 20 ml hexanu. Po eluci byla KD baňka upevněna na KD aparaturu a roztok byl zakonzentrován na takové množství, které se vešlo do samotné vialky. Vialka byla ochlazená, vysušena a vyjmuta z KD aparatury a opatrně byla odebrána se zakonzentrovaným extraktem z KD baňky. Následně byla přesunuta na minikoncentrátor, kde proudem inertního plynu (dusíku) byl obsah zakonzentrován na zhruba 1 ml pro GC/HRMS.

2.4.3 Podmínky analýzy PCB metodou GC/HRMS

Všechny analýzy realizované v akreditované laboratoři ALS byly uskutečněny na GC/HRMS Thermo Scientific s kapilární kolonou Rxi-5Sil MS. Jako nosný plyn bylo použito helium. Analýzy probíhaly při následujících podmínkách: kolona: Rxi-5Sil MS 60 m x 0,25 mm x 0,25 μ l, nástřík: 4 μ l, teplota nástříku: 280°C, průtok nosného plynu: 1 ml/min, teplotní gradient dle tabulky 1, detekce: 289,5–290,5 m/z, 301,5–302,5 m/z.

Tabulka 1: Teplotní gradient pro analýzu PCB pomocí GC/HRMS

Čas [min]	Teplota kolony [°C]	Teplotní gradient [°C/min]
0	120	•
2–3,25	120–195	60
3,25–8,25	195–210	3
8,25–13,25	210	
13,25–20,75	210–255	6
20,75–23,75	255	-
23,75–30,25	255–320	10
30,25–32,25	320	-

2.5 Software k vyhodnocování dat

Pro vyhodnocování záznamů z HPLC byl využíván software OpenLab CDS od společnosti Agilent Technologies. Software Xcalibur™ od firmy Thermo Fisher Scientific byl použit pro vyhodnocování chromatografických záznamů z GC/HRMS.

Chemické strukturní vzorce a rovnice uvedené v této diplomové práci byly vytvořeny pomocí programu ACD/ChemSketch, který je k dispozici ve freeware verzi.

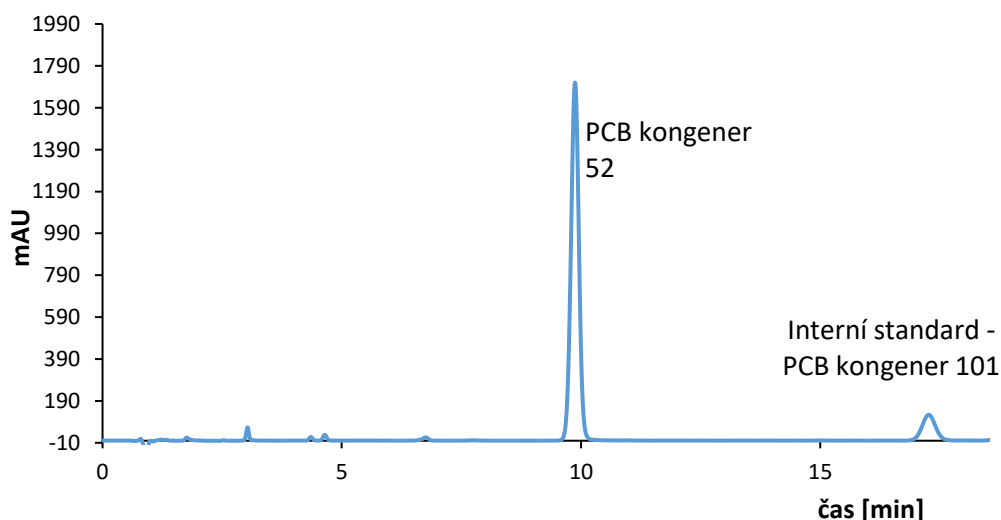
3 VÝSLEDKY A DISKUZE

3.1 Optimalizace separačních podmínek pro HPLC/DAD

Při optimalizaci HPLC/DAD metody pro stanovení kongeneru 52 v kolorantech se vycházelo z původní metody používané ve společnosti Synthesia, a.s.. Podmínky analýzy jsou uvedeny v tabulce 2. K separaci byla používána kolona Kinetex C18, 5 μm , 150 x 4,6 mm s předkolonkou se stejnou stacionární fází. Průtok mobilní fáze byl 1,1 ml/min, teplota 40 °C a detekce UV při 210 nm. Na obrázku 33 je záznam analýzy s původními podmínkami, kde sledovaný kongener 52 má eluční čas 9,6 minut a interní standard kongener 101 17,2 min.

Tabulka 2: Původní podmínky pro analýzu kongeneru 52

Čas [min]	Metanol [%]	Voda [%]
0	78	22
16	78	22
17	100	0
22	100	0
23	78	22
28	78	22



Obrázek 33: Chromatografický záznam separace standardu PCB kongener 52 a 101 původní metodou

Kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II, kolona: Kinetex C18 (5 μm , 150 x 4,6 mm), předkolona Kinetex C18 (5 μm , 4 x 3 mm); teplota kolony: 40 °C, nástřik: 5 μl , konstantní průtok: 1,1 ml/min, MF: MetOH/voda, izokratická eluce dle tabulky 1; detekce: 210 nm.

Cílem optimalizace původní metody bylo zkrácení času potřebného pro analýzu za účelem zefektivnění metody pro kontrolu produkce uvedených kolorantů při současném zachování dobré separace kongeneru 52 od neznámé nečistoty eluující se v jeho těsném sousedství. Byla zkoušena metoda s gradientovou elucí, kdy složení mobilní fáze začínalo na 81 % metanolu a 19 % vody a organická fáze byla lineárně navyšována až do 100 % za 10 minut. Stejným způsobem byl testován i gradient začínající na 78 % metanolu s postupným navyšováním na 100 % za 15 minut. Ani u jedné metody nebyly sledované píky řádně rozlišeny.

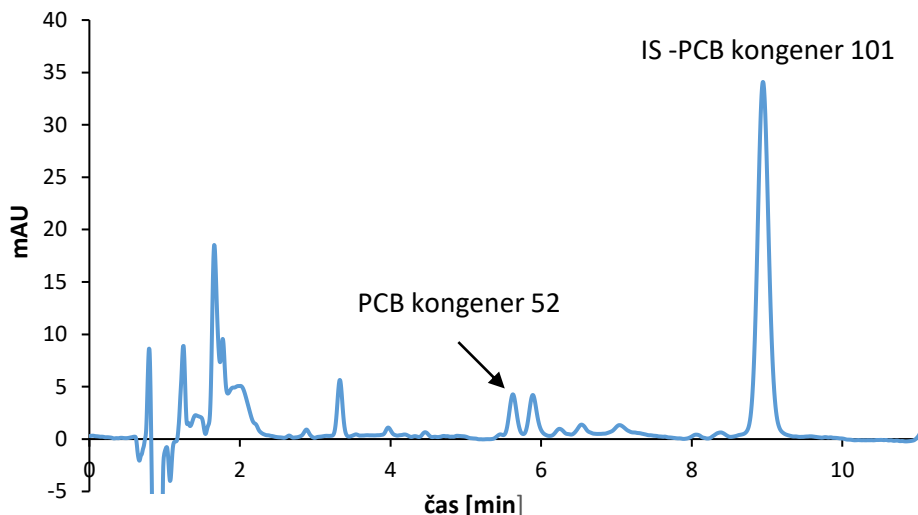
Následně byla optimalizována izokratická eluce s různým obsahem metanolu v mobilní fázi (testovaný rozsah koncentrací 81–83 % metanolu). Bylo zjištěno, že separace je velice citlivá i na minimální změnu ve složení mobilní fáze v řádu jednotek % metanolu. Jako optimální složení mobilní fáze bylo zvoleno 83 % metanolu a 17 % vody. Celý program analýzy včetně kroků potřebných k vypláchnutí potenciálních vysoce zadržovaných látek z kolony a její zpětné reekvilibrace je uveden v tabulce 3. Ostatní podmínky (kolona, teplota, průtok mobilní fáze, nastřikovaný objem) jsou stejné jako v původní metodě a jsou uvedeny v legendě u obrázku 33. Porovnání retenčních časů kongeneru 52 a 101 podle původních a optimalizovaných podmínek je uvedeno v tabulce 4. Záznam separace reálného vzorku obsahujícího kongener 52 je na obrázku 34, kde je jasně patrná dobrá separace sledovaného kongeneru od neznámé nečistoty. Optimalizací složení mobilní fáze bylo dosaženo zkrácení celkové doby analýzy z 28 minut na 21 minut.

Tabulka 3: Podmínky optimalizované metody pro analýzu kongeneru 52

Čas [min]	Metanol [%]	Voda [%]
0	83	17
9	83	17
10	100	0
15	100	0
16	83	17
21	83	17

Tabulka 4: Retenční časy analyzovaných PCB

Separovaný PCB	Retenční čas původní metody [min]	Retenční čas optimalizované metody [min]
Kongener 52	9,6	5,5
Kongener 101	15,9	8,9



Obrázek 34: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku S3 optimalizovanou metodou

Kapalinový chromatograf Agilent 1260 Infinity II, kolona: Kinetex C18 (5 μm , 150 x 4,6 mm), předkolona Kinetex C18 (5 μm , 4 x 3 mm); teplota kolony: 40 $^{\circ}\text{C}$, nástřik: 5 μl , konstantní průtok: 1,1 ml/min, MF: MetOH/voda, izokratická eluce dle tabulky 3; detekce: 210 nm.

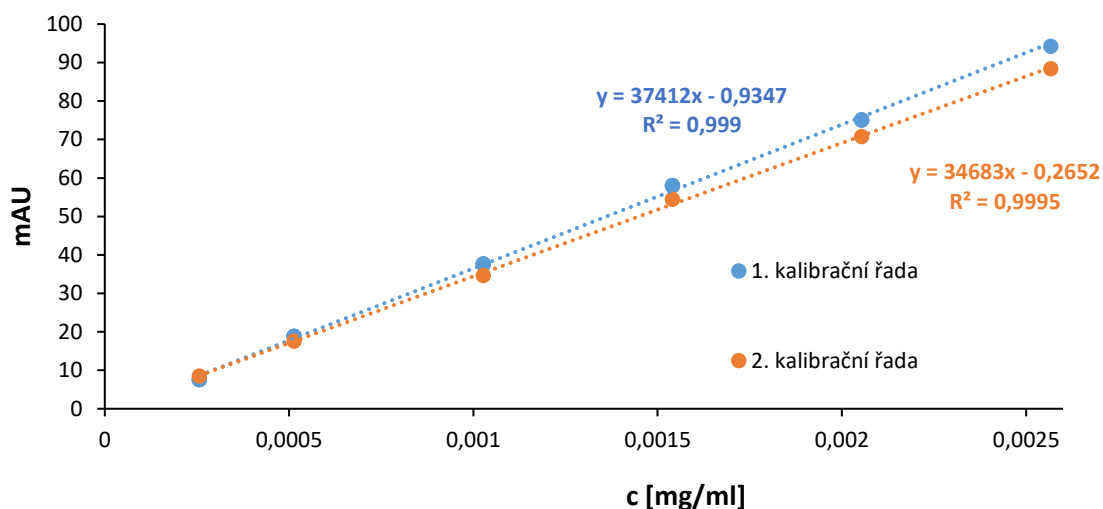
3.2 Kalibrační měření pro HPLC/DAD

Kalibrační řada standardu PCB kongeneru 52 byla připravena pro HPLC/DAD dle postupu uvedeném v kapitole 2.4.1. Pro kalibraci bylo připraveno šest kalibračních roztoků, každý roztok byl proměřen třikrát a z naměřených dat byla sestrojena kalibrační závislost plochy píku na koncentraci. Tato závislost byla proložena kalibrační přímkou s využitím lineární regrese. V průběhu měření diplomové práce došlo k výměně deuteriové lampy v detektoru a zároveň k jeho recalibraci. Z tohoto důvodu byla stejným způsobem připravena a proměřena analogická kalibrační řada. Výsledky obou kalibračních závislostí jsou uvedeny na obrázku 35. Kontrolním měřením bylo zjištěno, že výsledky získané před recalibrací a po recalibraci detektoru s použitím tomu odpovídajících kalibračních závislostí byly totožné.

Naměřená data obou kalibračních závislostí jsou uvedené v příloze 1 a 2. Rovnice regrese a korelační koeficienty (R^2) obou závislostí jsou uvedené v tabulce 5. Hodnoty korelačního koeficientu (0,999 a 0,9995) jsou vyhovující.

Dále byly zhotoveny dvě kalibrační závislosti výšky píku na koncentraci, pomocí kterých se stanovily validační parametry, jako je mez detekce (LOD) a mez stanovitelnosti (LOQ). Uvedené parametry byly vyhodnoceny jako trojnásobek (LOD) a desetinásobek

(LOQ) poměru signálu k šumu. Jednotlivé hodnoty LOD a LOQ pro obě kalibrační řady jsou uvedené v tabulce 5.



Obrázek 35: Kalibrační křivky v závislosti plochy píku na koncentraci standardu kongeneru 52

Tabulka 5: Parametry kalibračních křivek

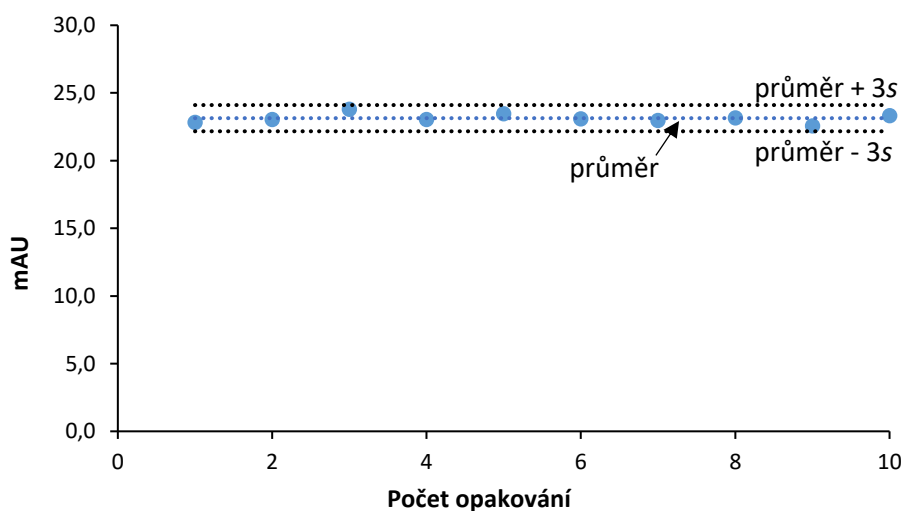
	Rovnice regrese	R ²	LOD [ppm]	LOQ [ppm]
1. kalibrace	$y = 37412x - 0,9347$	0,9990	0,626	2,09
2. kalibrace	$y = 34683x - 0,2652$	0,9995	0,696	2,32

3.3 Opakovatelnost měření

Pro validaci metody byla dále stanovena opakovatelnost měření s využitím vzorku Synthesia Pigment Red 2 – S1 s obsahem kongeneru 52 6,9 ppm, což je hladina koncentrace běžně se vyskytující v těchto vzorcích. Opakovatelnost metody byla stanovena na základě deseti měření a grafické znázornění je na obrázku 36. Z naměřených ploch píků byl vypočten aritmetický průměr (\bar{x}), směrodatná odchylka (s) a relativní směrodatná odchylka (RSD). Všechny hodnoty jsou uvedené v tabulce 6. Hodnota relativní směrodatné odchylky činí 1,396 %, což je akceptovatelná hodnota. Všechna měření leží v intervalu průměr $\pm 3s$, což zahrnuje statisticky 99,6 % všech výsledků.

Tabulka 6: Opakovatelnost metody pro vzorek S1 s koncentrací 6,9 ppm kongeneru 52

Měření	Plocha píku 52 [mAU]
1	22,836
2	23,053
3	23,801
4	23,051
5	23,477
6	23,096
7	22,968
8	23,176
9	22,580
10	23,335
\bar{x} [mAU]	23,137
s [mAU]	0,323
RSD [%]	1,396

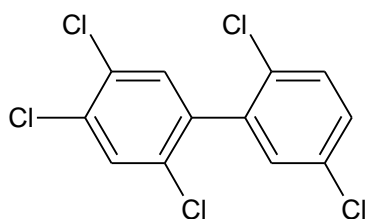


Obrázek 36: Grafické znázornění opakovatelnost metody pro vzorek S1 s koncentrací 6,9 ppm

3.4 Účinnost extrakce

Kvantitativní analýza PCB kongeneru 52 byla provedena metodou vnitřního standardu. Jako vnitřní standard pro měření pomocí HPLC/DAD byl použit 2,2',4,5,5'-pentachlorbifenyl (kongener 101 – obrázek 37), který byl syntetizován postupem uvedeným v kapitole 2.4.2. Obsah kongeneru 101 v reakční směsi byl zjištěn pomocí

GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS. Tímto způsobem bylo zjištěno, že čistota kongeneru 101 je 93,33 %. Současně byla v reakční směsi nalezena nízká koncentrace kongeneru 52 (30 ng/15 mg směsi, tj. 0,0002 %). Jedná se o velmi malé množství, které však v některých případech mohlo mít negativní vliv pro kvantifikaci velmi malých koncentrací kongeneru 52 ve vzorcích. Celkový obsah všech kongenerů v reakční směsi kongeneru 101 byl zjištěn pomocí GC/HRMS a je uveden v přílohách 3. Chromatogramy z analýzy interního standardu získané pomocí GC/HRMS jsou v příloze 4 a 5.



Obrázek 37: Chemická struktura vnitřního standardu kongeneru 101

Účinnost extrakce byla periodicky ověřována porovnáním analýzy samotného vzorku interního standardu kongeneru 101 (15 mg/100 ml metanolu) a vzorku ke kterému bylo přidáno 100 μ l interního standardu, a který byl následně zpracován dle postupu uvedeném v kapitole 2.4.1. HPLC/DAD analýzy byly prováděny optimalizovanou metodou podle kapitoly 3.1. Z odečtených ploch píku v retenčním čase 8,8 min (u samotného interního standardu vynásobena korekčním faktorem 0,1) byla vypočtena účinnost extrakce podle následujícího vztahu:

$$\text{Účinnost extrakce [\%]} = \frac{\text{plocha píku kongeneru 101 ve vzorku}}{\text{plocha píku kongeneru 101 v samotném standardu} \cdot 0,1} * 100.$$

Takto zjištěná účinnost byla použita pro přepočítání koncentrace PCB kongeneru 52 na účinnost extrakce 100 %. Hodnoty účinnosti extrakce změřené pomocí HPLC/DAD jsou uvedené u jednotlivých naměřených dat v příloze 6.

3.4.1 Vícenásobná extrakce

Vedle zakoncentrování extraktu pomocí KD aparatury, které bylo použito pro všechny analyzované vzorky a jehož výsledky jsou diskutovány v minulé kapitole, byla

pro dva vybrané vzorky (S9 a K10) pigmentu PR 2 zjišťována výtěžnost vícenásobné extrakce s využitím minikoncentrátoru s redukcí objemu vzorku odfoukáním inertním plynem. V tomto případě probíhá redukce objemu za nižší teploty než v případě použití KD aparatury a lze očekávat také vyšší výtěžnost postupu zpracováním vzorku. Pracovní postup při vícenásobné extrakci hexanem je uveden v kapitole 2.4.2.1. Každý vzorek pro opakovanou extrakci byl připraven jednou a následně byly zpracované extrakty 3x změřeny pomocí HPLC/DAD za optimalizovaných podmínek.

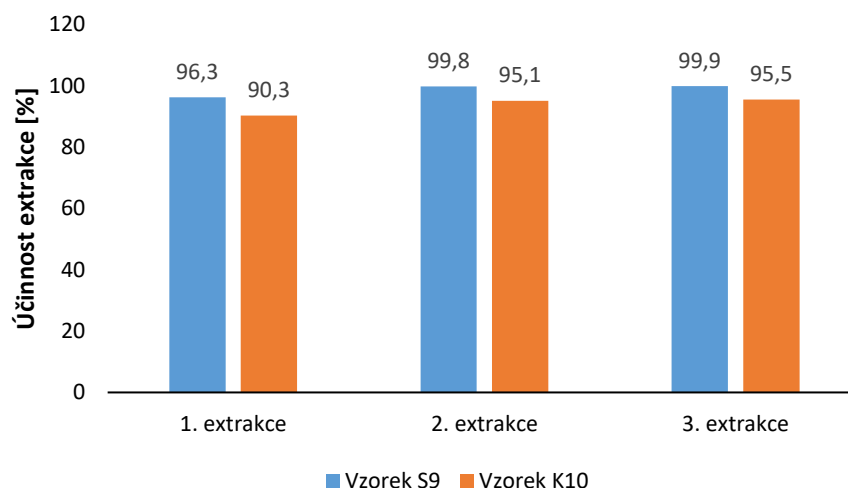
Tabulka 7: Naměřené hodnoty účinnosti extrakce ze vzorku S9

Opakovaná extrakce vzorku S9		
Extrakce	Ø Účinnost extrakce [%]	Suma [%]
1. extrakce	96,3	99,9
2. extrakce	3,5	
3. extrakce	0,2	

Tabulka 8: Naměřené hodnoty účinnosti extrakce ze vzorku K10

Opakovaná extrakce vzorku K10		
Extrakce	Ø Účinnost extrakce [%]	Suma [%]
1. extrakce	90,3	95,5
2. extrakce	4,8	
3. extrakce	0,4	

V tabulce 7 a 8 jsou uvedeny průměrné hodnoty účinnosti jednotlivých extrakčních kroků. Z nichž vyplývá, že již po první extrakci byla výtěžnost větší jak 90 % a lze ji považovat pro podmínky analýz prakticky za kvantitativní a po třetí opakované extrakci je výtěžnost u vzorku S9 prakticky 100 % a u vzorku K10 přesahuje 95 % (obrázek 38).



Obrázek 38: Kumulovaný výtěžek vícenásobné extrakce vzorků S9 a K10

3.5 Analýza obsahu kongeneru 52 v Pigment Red 2

Celkem bylo analyzováno 22 vzorků Pigment Red 2 pomocí metody HPLC/DAD. Z tohoto celkového počtu bylo 11 vzorků syntetizováno v Synthesia, a.s. (S1 – S11) a dalších 11 vzorků pocházelo od konkurenčních firem (K1 – K11). Každý vzorek byl připraven minimálně 2x dle postupu, který je uveden v kapitole 2.4.2.1. a následně byl každý takto zpracovaný vzorek 3x analyzován. Pro porovnání výsledků byly vzorky S1 – S3 a K1 – K3 zpracovány a analyzovány akreditovanou laboratoří ALS s využitím GC/HRMS. Tyto vzorky byly připraveny dle postupu v kapitole 2.4.2.2. Vzorky S1 a S2 byly dále změřeny v laboratoři VUOS pomocí GC/MS. Výsledky analýz jsou porovnány a diskutovány dále.

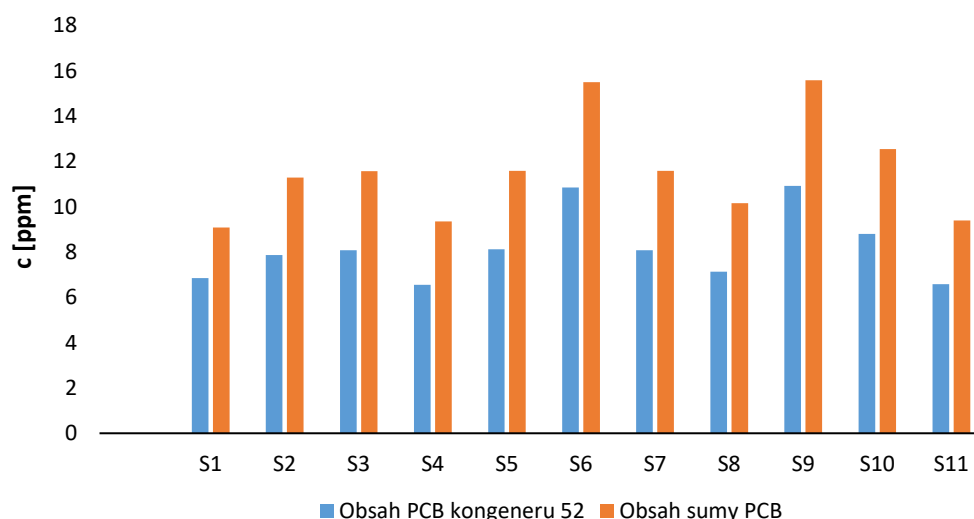
3.5.1 Synthesia vzorky

3.5.1.1 Analýza pomocí HPLC/DAD

V 11 Synthesia vzorcích analyzovaných pomocí HPLC/DAD byly zjištěny průměrné koncentrace kongeneru 52 v rozmezí 6,6–10,9 ppm (obrázek 39 a tabulka 9). Nejvyšší hodnota 10,9 ppm byla nalezena ve vzorcích S6 a S9. Jedná se o koncentraci na hranici tolerovaného obsahu kongeneru 52. Naopak nejnižší nalezená koncentrace byla zjištěna ve vzorku S4. Naměřená data jednotlivých měření jsou v příloze 6.

Tabulka 9: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v Synthesia vzorcích naměřené pomocí HPLC/DAD a odhad celkové sumy PCB

	Ø PCB 52 [ppm]	Směrodatná odchylka [ppm]	Ø Suma PCB [ppm]
S1	6,9	1,4	9,1
S2	7,9	1,3	11,3
S3	8,1	1,3	11,6
S4	6,6	1,2	9,4
S5	8,1	1,3	11,6
S6	10,9	3,2	15,5
S7	8,1	3,2	11,6
S8	7,1	3,1	10,2
S9	10,9	2,9	15,6
S10	8,8	2,6	12,5
S11	6,6	2,5	9,4



Obrázek 39: Nalezený obsah kongeneru 52 a celková suma PCB v Synthesia vzorcích zjištěna pomocí HPLC/DAD

Celkovou sumu PCB není možné zjistit pomocí použité HPLC/DAD metody, proto byla tato hodnota pouze odhadnuta. Při tomto odhadu se vycházelo z dlouhodobých výsledků měření v laboratořích ALS a VUOS, kdy bylo zjištěno, že kongener 52 se podílí 70 % na celkovém obsahu PCB v pigmentu PR 2 syntetizovaném v Synthesii. Podle evropské legislativy by celková suma PCB neměla přesáhnout 50 ppm. V případě pigmentů, které jsou určeny pro tzv. food contact je limit 25 ppm. Tyto limity splňují všechny Synthesia vzorky.

3.5.1.2 Analýza pomocí GC/MS a GC/HRMS

Vzorky S1, S2 a S3 byly pro porovnání zanalyzovány pomocí normované metody GC/HRMS ve spolupráci s akreditovanou laboratoří ALS.

V první řadě byly porovnávány rozdílné postupy přípravy vzorku, které jsou uvedeny v kapitolách 2.4.2.1 a 2.4.2.2. Pro toto porovnání byl použit vzorek S1 a S2. Během každé přípravy byly přidány dva různé interní standardy (IS) dle použité analytické metody (HPLC/DAD nebo GC/HRMS). Tímto způsobem byly vzorky S1 a S2 připraveny čtyřmi způsoby kdy byly kombinovány různé postupy přípravy a různé interní standardy. Konkrétní způsoby zpracování vzorku jsou uvedeny v tabulkách 10 a 11.

Tabulka 10: Naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 ve vzorku S1 s využitím různých postupů pro přípravu vzorku

Vzorek S1	PCB 52 [ppm]	Zastoupení PCB kongeneru 52 [%]
Synthesia příprava + IS PCB 101	6,9	
Synthesia příprava + IS ¹³ C	8,1	73,5
ALS příprava + IS PCB 101	6,4	
ALS příprava + IS ¹³ C	6,3	73,0

Tabulka 11: Naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 ve vzorku S2 s využitím různých postupů pro přípravu vzorku

Vzorek S2	PCB 52 [ppm]	Zastoupení PCB kongeneru 52 [%]
Synthesia příprava + IS PCB 101	7,9	
Synthesia příprava + IS ¹³ C	7,7	73,0
ALS příprava + IS PCB 101	6,1	
ALS příprava + IS ¹³ C	6,9	72,6

V těchto tabulkách jsou uvedeny zjištěné koncentrace kongeneru 52 v analyzovaných vzorcích zpracovaných jednotlivými postupy. Vzorky analyzované pomocí HPLC/DAD byly změřeny 3x a hodnoty uvedené v tabulkách jsou průměrné ze všech naměřených hodnot. U vzorku S1 je patrné, že dle postupu akreditované laboratoře ALS byly naměřené koncentrace kongeneru 52 menší než ve vzorku připraveném postupem Synthesia. Z tohoto důvodu byl pro ověření zpracován i vzorek S2. Dle tabulky 11 je zřejmé, že podle postupu firmy ALS jsou nalezené koncentrace kongeneru 52 nižší. Jedná se však o velmi nízké koncentrace a rozdíl mezi nalezenými výsledky není větší než 15 %. Z toho lze usoudit, že způsoby příprav vzorků nemají podstatný vliv na výslednou koncentraci PCB kongeneru 52. Tudíž bylo rozhodnuto, že pro spolupráci s laboratoří ALS bude nadále

používán způsob přípravy dle kapitoly 2.4.2.2 Příprava vzorků dle akreditované laboratoře ALS.

Zároveň při porovnání jednotlivých postupů bylo ověřeno pomocí GC/HRMS, že se obsah kongeneru 52 podílí zhruba 73 % na celkové sumě PCB v pigmentu PR 2. Toto potvrzuje dříve uvedený předpoklad z dlouhodobých měření v ALS a VUOS, kde vychází odhad obsahu kongeneru 52 na 70 % z celkové sumy PCB a který je použit při přepočtu výsledků analýz.

Pro porovnání nalezeného obsahu kongeneru 52 a celkové sumy PCB byly vzorky S1 a S2 zaslány k proměření pomocí GC/MS do laboratoře VUOS. V tabulce 12 jsou uvedeny naměřené hodnoty. Opět bylo potvrzeno, že obsah kongeneru 52 v Synthesia vzorcích je zhruba 70 % z celkového obsahu PCB v analyzovaných pigmentech. Záznam analýzy z laboratoře VUOS je v příloze 7 a 8.

Tabulka 12: Nalezené hodnoty obsahu kongeneru 52 naměřené pomocí GC/MS v laboratoři VUOS

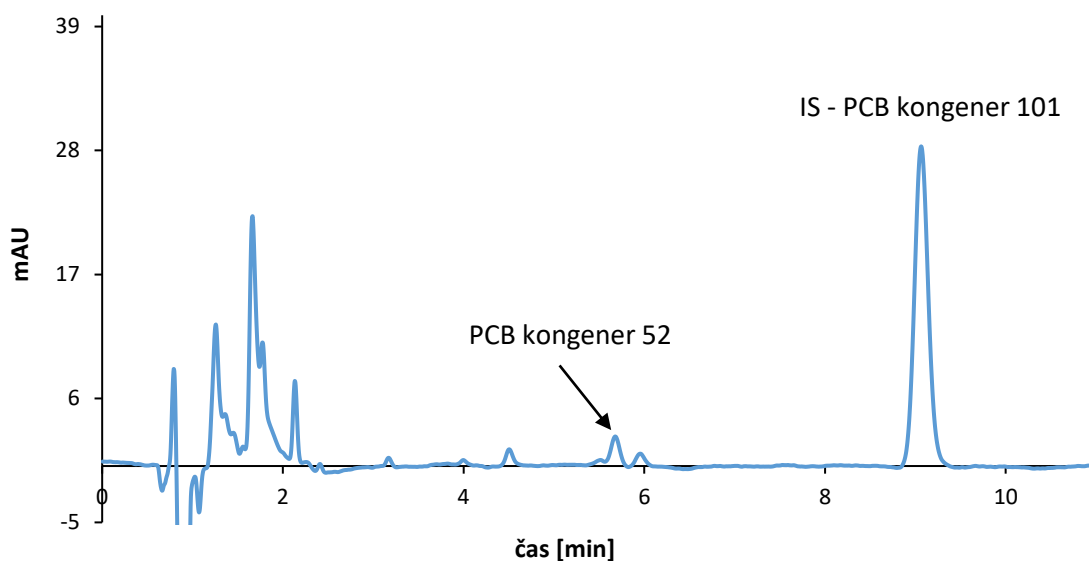
	PCB 52 [ppm]	Procentuální zastoupení kongeneru 52 [%]	Suma PCB [ppm]
Vzorek S1	7,5	71,4	10,5
Vzorek S2	8,4	72,8	11,6

Dále bylo zjišťováno, zda čištění vzorku sloupcovou chromatografií přes kolonu naplněnou různě upraveným silikagelem (viz kapitola 2.4.2.2) má vliv na výsledky analýzy. Přечиštění přes tuto kolonu se běžně používá při zpracování vzorků v laboratořích ALS. Tento krok je důležitý především u silně znečištěných vzorků. Vzorek S3 byl pro analýzu pomocí GC/HRMS připraven vícekrát kombinací postupů podle metody ALS a metody Synthesia s a bez využití přечиštění sloupcovou chromatografií. Uvedenými způsoby byly zpracovány čtyři podíly vzorku S3 pigmentu a výsledky jednotlivých analýz jsou uvedeny v tabulce 13.

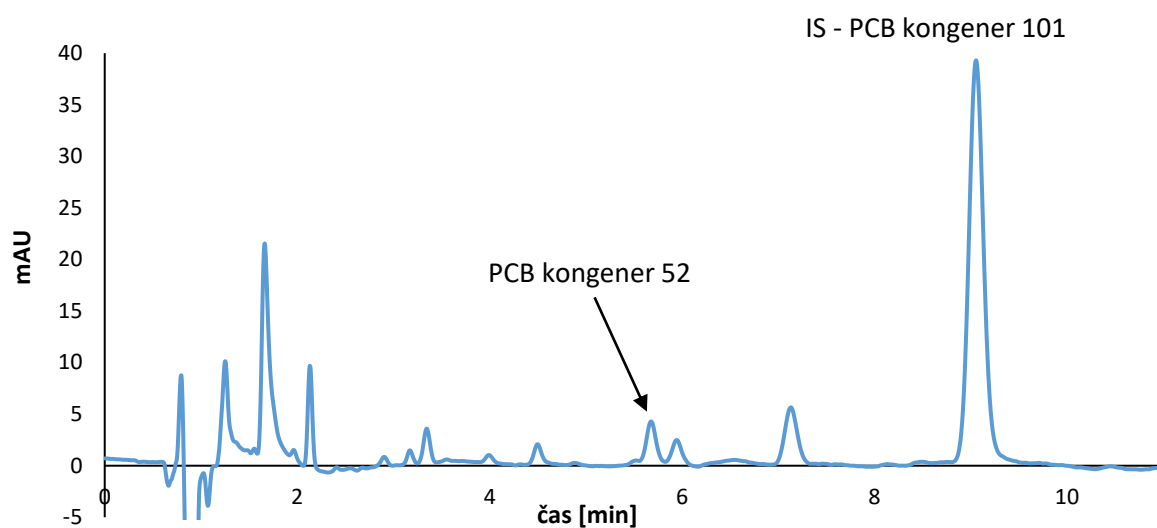
Tabulka 13: Naměřené hodnoty ve vzorku S3 pro porovnání využití sloupcové kolony

Vzorek S3	PCB 52 [ppm]	Procentuální zastoupení kongeneru 52 [%]
ALS příprava s kolonou	6,6	70,2
ALS příprava bez kolony	7,2	65,5
Synthesia příprava s kolonou	8,0	
Synthesia příprava bez kolony	8,1	

Podle výsledků uvedených v tabulce lze konstatovat, že aplikace nemá podstatný vliv na zjištěný obsah kongeneru 52 ve vzorcích. Avšak jak vyplývá z porovnání záznamů HPLC/DAD analýz uvedených na obrázcích 40 a 41 došlo v případě analýzy vzorku přečištěného přes silikagelovou kolonu ke snížení obsahu dalších nečistot, viz pokles odezvy v retenčním čase 2,5 až 4 minuty a absence píku s retenčním časem 7,1 minuty na obrázku 41.



Obrázek 40: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku S3 přečištěného přes sloupcovou chromatografií
Experimentální podmínky viz obrázek 34



Obrázek 41: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku S3 nepřechišťeného sloupcovou chromatografií
Experimentální podmínky viz obrázek 34

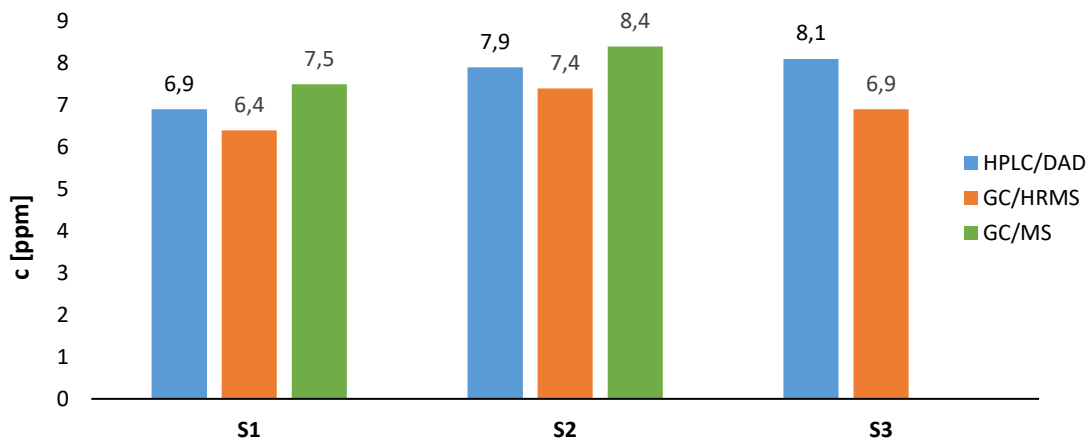
3.5.1.3 Porovnání výsledných hodnot a separačních metod

Vzorky S1 a S2 byly změřeny celkem ve třech laboratořích: Synthesia, ALS a VUOS. Vzorek S3 byl změřen pouze v laboratoři ALS a Synthesia, a.s.. Ve společnosti Synthesia, a.s. byly všechny vzorky proměřeny pomocí HPLC/DAD, v akreditované laboratoři ALS pomocí GC/HRMS a laboratoři VUOS pomocí GC/MS. V tabulce 14 a na obrázcích 42 a 44 jsou přehledně uvedeny výsledné hodnoty zjištěné pro jednotlivé vzorky pigmentů.

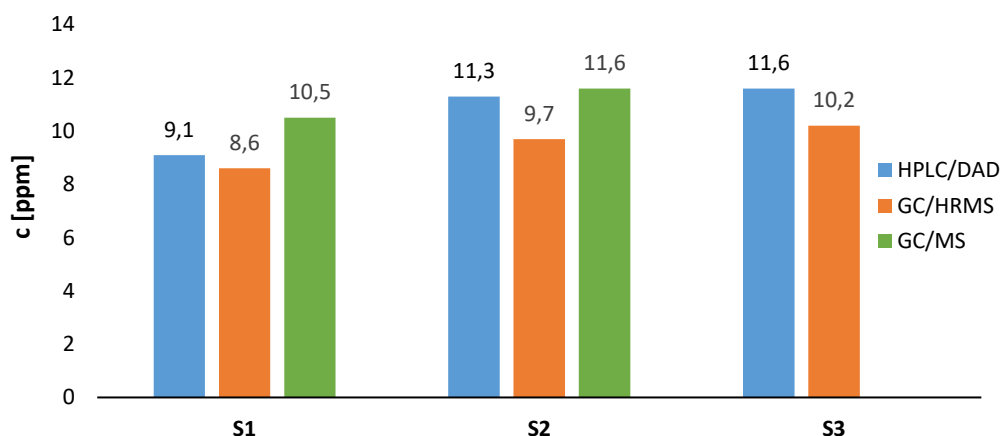
Tabulka 14: Porovnání výsledných hodnot PCB v Synthesia vzorcích

	HPLC/DAD - Synthesia		GC/HRMS - ALS		GC/MS - VUOS	
	Ø PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]	Ø PCB 52 [ppm]	Ø Suma PCB [ppm]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
S1	6,9	9,1	6,4	8,6	7,5	10,5
S2	7,9	11,3	7,4	9,7	8,4	11,6
S3	8,1	11,6	6,9	10,2		

Nejvyšší koncentrace kongeneru 52 byly nalezeny v laboratoři VUOS ve vzorku S1 a S2. Naopak nejnižší koncentrace byly naměřeny v laboratoři ALS. Rozdíly mezi jednotlivými ve výsledcích mezi jednotlivými pracovišti nepřesahují 15 %, což lze při nalezeném obsahu a komplexnosti analýzy těchto vzorků považovat za velmi dobré.



Obrázek 42: Porovnání naměřených koncentrací kongeneru 52 ve vzorcích S1 – S3 jednotlivými metodami



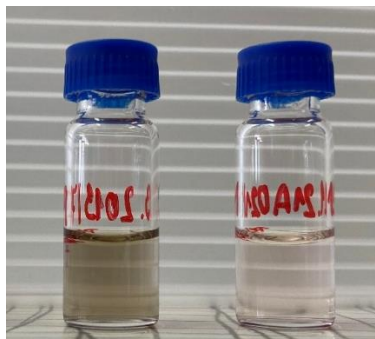
Obrázek 43: Porovnání celkové sumy PCB ve vzorcích S1 – S3 jednotlivými metodami

Na základě těchto výsledků lze usoudit, že ke stanovení PCB kongeneru 52 v Pigment Red 2 syntetizovaných ve společnosti Synthesia, a.s. je možné použít nejen normovanou separační metodu GC/HRMS a GC/MS, ale i alternativní a méně náročnou metodu HPLC/DAD. Zároveň lze ze zjištěné koncentrace kongeneru 52 odhadnout celkovou sumu PCB v těchto vzorcích.

3.5.2 Konkurenční vzorky

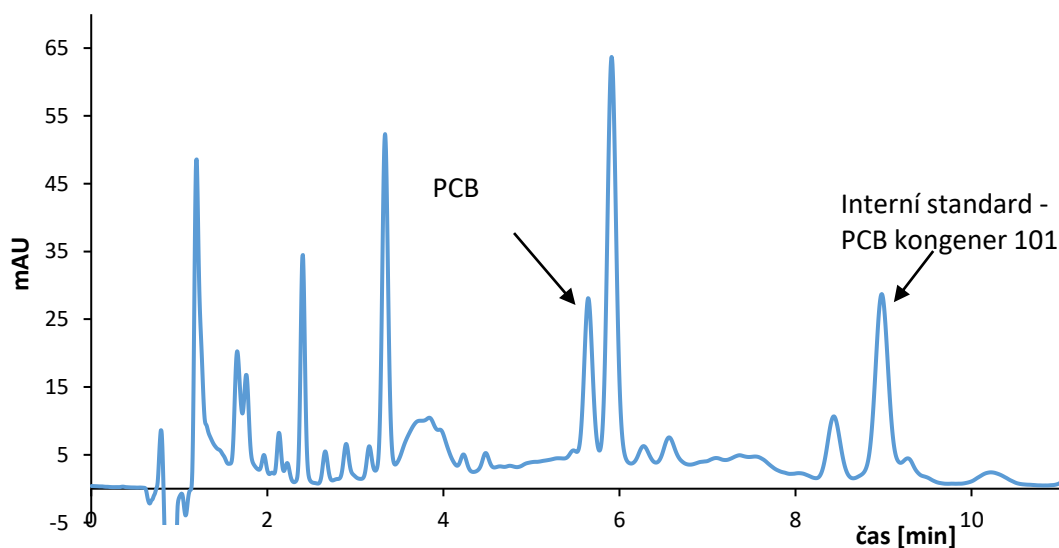
U konkurenčních vzorků byl předpoklad většího znečištění. Již při porovnání zbarvení vzorků připravených podle kapitoly 2.4.2.1 bylo patrné, že se bude jednat o vzorky s vyšším obsahem nečistot (obrázek 44). Na záznamu chromatografické analýzy vzorku K2

(obrázek 45) získaného prostřednictvím HPLC/DAD jsou patrné ve srovnání se vzorky Synthesia další píky patřící neidentifikovaným látkám. Bylo tak potvrzeno, že tyto vzorky jsou podstatně více znečištěné než Synthesia vzorky.



Obrázek 44: Porovnání zbarvení připravených vzorků K7 (vlevo) a S4 (vpravo)

Dále byl předpoklad, že některé konkurenční vzorky mohou obsahovat nejen tetrachlorbifenyly (především kongener 52), ale i trichlorbifenyly a pentachlorbifenyly. Z pentachlorbifenyly mohly obsahovat i kongener 101, který byl používán jako interní standard pro metodu HPLC/DAD, což by zkreslovalo jeho nalezené obsahy. Na základě této domněnky byly první tři vzorky (K1, K2 a K3) zanalyzovány metodou GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS pro zjištění obsahu ostatních sledovaných kongenerů.



Obrázek 45: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 ve vzorku K2
Experimentální podmínky viz obrázek 34

3.5.2.1 Analýza pomocí GC/HRMS

Metodou GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS byly analyzovány vzorky K1, K2 a K3. Pomocí této metody nebyl sledován pouze kongener 52, ale i obsah dalších 18 kongenerů, které jsou dle legislativy sledovány. Mezi ně patří i kongener 101, jehož obsah zjištěný pomocí HPLC/DAD metody může být ovlivněn touto metodikou (kongener 101 je použit jako interní standard). Každý vzorek byl zpracován dvakrát, kdy jednou během přípravy byl vzorek přečištěn sloupcovou chromatografií a po druhé nikoliv. Naměřené průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52, jeho procentuální zastoupení a koncentrace kongeneru 101 jsou uvedené v tabulkách 15–17.

Tabulka 15: Naměřené hodnoty obsahu kongenerů PCB ve vzorku K1 pomocí GC/HRMS

Vzorek K1	PCB 52 [ppm]	Procentuální zastoupení kongeneru 52 [%]	PCB 101 [ppm]	Suma PCB [ppm]
ALS příprava s kolonou	34	79	0,64	43
ALS příprava bez kolony	33	79	0,65	41

Tabulka 16: Naměřené hodnoty obsahu kongenerů PCB ve vzorku K2 pomocí GC/HRMS

Vzorek K2	PCB 52 [ppm]	Procentuální zastoupení kongeneru 52 [%]	PCB 101 [ppm]	Suma PCB [ppm]
ALS příprava s kolonou	73	81	0,096	89
ALS příprava bez kolony	95	86	0,099	110

Tabulka 17: Naměřené hodnoty obsahu kongenerů PCB ve vzorku K3 pomocí GC/HRMS

Vzorek K3	PCB 52 [ppm]	Procentuální zastoupení kongeneru 52 [%]	PCB 101 [ppm]	Suma PCB [ppm]
ALS příprava s kolonou	13	72	0,1	19
ALS příprava bez kolony	15	79	0,094	19

Z naměřených výsledků vyplývá, že ani jeden vzorek pigmentu neobsahoval významné množství kongeneru 101, které by mohlo negativně ovlivnit kvantifikaci kongeneru 52 prostřednictvím HPLC/DAD. Naopak bylo zjištěno, že čím více obsahoval vzorek kongeneru 52, tím bylo větší i jeho zastoupení v celkové sumě PCB. Z tohoto důvodu nelze v konkurenčních vzorcích odhadnout celkovou sumu PCB podle obsahu kongeneru 52 obdobným způsobem jako v případě vzorků Synthesia.

Nalezené koncentrace kongeneru 52 ve vzorcích K1 a K3 zpracovaných s a bez přečištění přes silikagelovou kolonu jsou totožné, zatímco výsledky získané oběma postupy pro vzorek K2 se liší o 22 ppm. Obě tyto hodnoty představují nejvyšší nalezený obsah kongeneru 52 ze všech analyzovaných vzorků pigmentu PR 2. Zjištěné obsahy všech kongenerů PCB ve vzorku K2 metodou GC/HRMS jsou uvedeny v příloze 9 a 10.

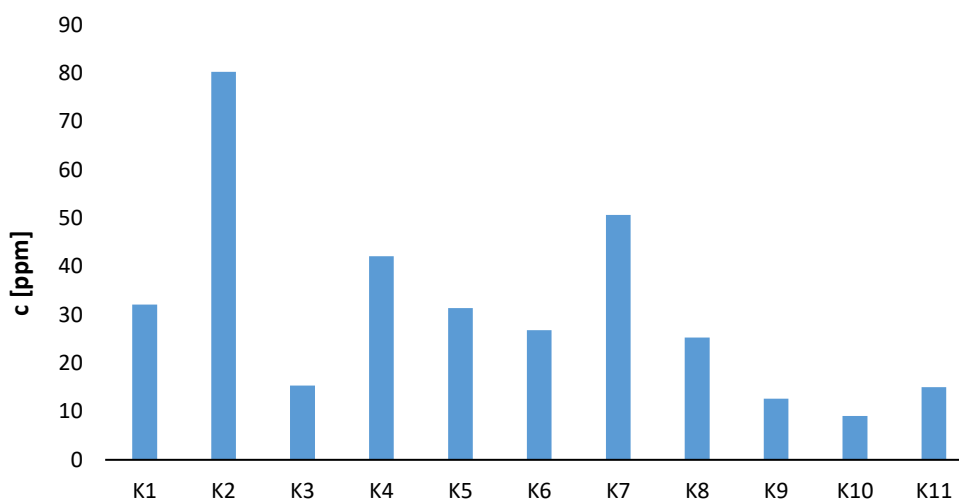
3.5.2.2 Stanovení pomocí HPLC/DAD

Na základě GC/HRMS analýz vzorků K1 – K3 kde bylo zjištěno, že nalezený obsah kongeneru 101 (pod 1 ppm) v analyzovaných vzorcích pigmentů nemá vliv na použití tohoto kongeneru jako interního standardu pro HPLC/DAD metodu, bylo všech 11 konkurenčních vzorků zpracováno a analyzováno metodou HPLC/DAD. Tento předpoklad je plně akceptovatelný pouze u uvedených vzorků K1 – K3.

Koncentrace v těchto 11 konkurenčních vzorcích se pohybovala v širokém rozmezí 9,1–80,3 ppm. Průměrné naměřené koncentrace a jejich směrodatné odchylky jsou uvedeny v tabulce 18. Nejvyšší koncentrace byla nalezena ve vzorku K2, který obsahoval 80,3 ppm kongeneru 52 a zároveň podle chromatografického záznamu (viz obrázek 45) obsahoval více neidentifikovatelných látek. V porovnání se Synthesia vzorky se jedná o více znečištěné pigmenty s výjimkou vzorku K3, K9, K10 a K11. Jednotlivé naměřené hodnoty jsou uvedené v příloze 11.

Tabulka 18: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v konkurenčních vzorcích naměřené pomocí HPLC/DAD

	Ø PCB 52 [ppm]	Směrodatná odchylka [ppm]
K1	32,1	1,1
K2	80,3	0,5
K3	15,4	0,8
K4	42,1	1,2
K5	31,4	0,3
K6	26,8	0,3
K7	50,7	2,1
K8	25,3	0,6
K9	12,6	0,4
K10	9,1	0,4
K11	15,0	0,6



Obrázek 46: Analyza PCB kongeneru 52 v konkurenčních vzorcích pomocí HPLC/DAD

Vzhledem k výsledkům z analýzy vzorků K1 – K3 pomocí GC/HRMS kde byl zjištěn různý podíl kongeneru 52 na celkovém obsahu PCB, nelze celkovou sumu PCB v jednotlivých vzorcích odhadnout na základě naměřeného obsahu kongeneru 52 pomocí HPLC/DAD metody, jak to bylo možné pro vzorky Synthesia.

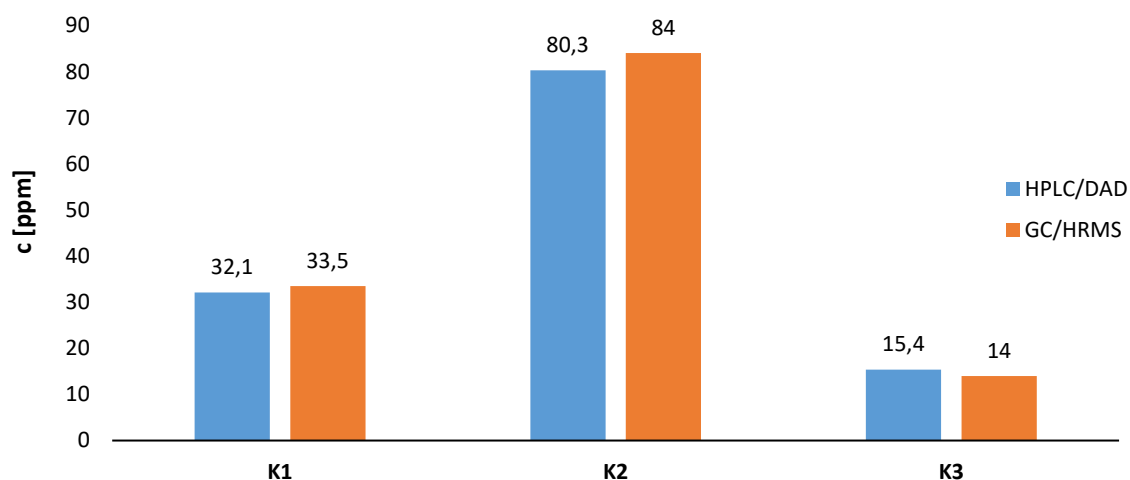
3.5.2.3 Porovnání výsledných hodnot a separačních metod

Vzorky K1 – K3 byly změřeny pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS a současně v laboratoři Synthesia, a.s. metodou HPLC/DAD. U těchto analyzovaných

vzorků lze porovnat pouze koncentrace kongeneru 52. Celkové sumy byly zjištěny pouze pomocí GC/HRMS (viz tabulky 15 – 17), v případě HPLC/DAD nelze aplikovat odhad celkového obsahu PCB podle nalezeného obsahu kongeneru 52. Nalezené obsahy kongeneru 52 oběma metodami jsou uvedeny v tabulce 19 a na obrázku 47.

Tabulka 19: Porovnání nalezených obsahů kongeneru 52 v konkurenčních vzorcích

	HPLC/DAD - Synthesia	GC/HRMS - ALS
	Ø PCB 52 [ppm]	Ø PCB 52 [ppm]
K1	32,1	33,5
K2	80,3	84,0
K3	15,4	14,0



Obrázek 47: Porovnání naměřených koncentrací kongeneru 52 ve vzorcích K1 – K3 jednotlivými metodami

Jak je vidět z těchto dat, naměřené koncentrace kongeneru 52 v těchto analyzovaných vzorcích vykazují velmi dobrou shodu a lze konstatovat, že obsah tohoto kongeneru lze stanovit nejen normovanou metodou, ale i pomocí alternativní metody HPLC/DAD. Je však nutné upozornit na určitá omezení této metody.

Pro přesné stanovení obsahu kongeneru 52 ve vzorku nesmí tento vzorek obsahovat vyšší podíl kongeneru 101, který je používán jako interní standard v metodě HPLC/DAD. Pokud by vzorek pigmentu obsahoval větší koncentrace kongeneru 101, musel by být pro kvantifikaci použit jiný interní standard s odlišným retenčním časem od kongeneru 101 a zároveň by neměl být obsažen v daném vzorku.

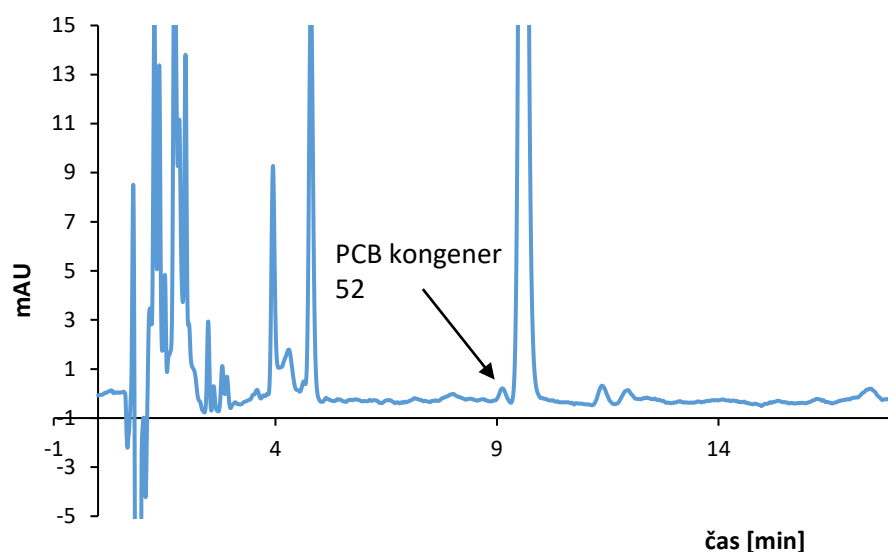
Další nevýhodou aplikace HPLC/DAD metody na vzorky syntetizované neznámou technologií je nemožnost odhadu celkové sumy PCB na základě znalosti obsahu kongeneru 52. Zatímco při výrobním postupu ve společnosti Synthesia, a.s. se kongener 52 podílí na celkovém obsahu PCB zhruba 70 %, u konkurenčních vzorků s neznámou technologií je tento poměr neznámý a nelze tedy tímto způsobem odhadnout celkový obsah PCB.

3.6 Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s meziprodukty

Vedle stanovení obsahu kongeneru 52 v Pigment Red 2 byl tento kongener analyzován ve vzorcích pigmentů Pigment Red 166 a Pigment Red 214 a jejich meziproduktech. Podle výrobního postupu uvedeného v kapitole 1.5.1 bylo možné usuzovat, že během výrobního procesu mohou vznikat PCB, především kongener 52. Meziprodukty vznikající během syntézy těchto pigmentů jsou promývány *o*-dichlorbenzenem, který vzniklé PCB vymývá. V rámci kvantifikace kongeneru 52 bylo zjišťováno, jak moc se liší koncentrace tohoto kongeneru v meziproduktech a výsledných pigmentech PR 166 s PR 214 a zda promývání *o*-dichlorbenzenem má vliv na změnu koncentrace kongeneru 52.

3.6.1 Analýza pomocí HPLC/DAD

Kvůli rozdílné chemické struktuře těchto pigmentů ve srovnání s PR 2 bylo předpokládáno, že gradient optimalizovaný pro analýzu PR 2 nemusí být pro analýzu PR 166 a PR 214 vhodný. Tento předpoklad se potvrdil porovnáním analýz zpracovaného vzorku PR 214 a jeho meziprojektu a meziprojektu PR 166 oběma metodami s využitím původních podmínek separace a optimalizovaných podmínek separace. Zatímco při použití separačních podmínek optimalizovaných pro analýzu kongeneru 52 v PR 2 bylo na chromatogramu v oblasti předpokládané eluce kongeneru 52 pozorováno několik nedostatečně rozseparovaných píků, při použití původních separačních podmínek došlo k dokonalé separaci kongeneru 52 od dalších nečistot (viz obrázek 48). Proto pro analýzu těchto pigmentů a jejich meziprojektů byla nadále použita původní metoda. Každý vzorek PR 166 a PR 214 a jejich meziprojektů byl zpracován postupem dle kapitoly 2.4.2.1 alespoň 2x a získané extrakty byly analyzovány 3x pomocí HPLC/DAD metody s původními podmínkami separace uvedenými v tabulce 2.



Obrázek 48: Chromatografický záznam analýzy kongeneru 52 v meziprojektu PR 166 bez vnitřního interního standardu původní metodou
 Experimentální podmínky viz obrázek 33

Kongener 52 byl identifikován a kvantifikován pouze v meziprojektch těchto pigmentů. Ve finálních pigmentech nebylo možné touto metodou jejich obsah stanovit (nalezené odezvy hluboko pod limitem detekce).

Naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 v meziprojektch jsou uvedeny v příloze 12. Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v meziprojektch přepočtené na extrakční účinnost jsou uvedeny v tabulce 20. V meziprojektu PR 166 bylo nalezeno 3,7 ppm kongeneru 52 a v meziprojektu PR 214 bylo nalezeno méně než 2 ppm, tato hodnota je pod hranicí LOQ a zároveň pík byl na pomezí linie šumu. Z těchto důvodů může být zjištěná tato koncentrace zatížena chybou.

Tabulka 20: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v meziprojektch PR 166 a PR 214 naměřené pomocí HPLC/DAD metody

	Ø PCB 52 (ppm)	Směrodatná odchylka
PR 166 meziprojekt	3,7	0,2
PR 214 meziprojekt	2,0	•

3.6.2 Analýza pomocí GC/HRMS

Pro srovnání byly vzorky pigmentů PR 166 a PR 214 a jejich meziprojektly proměřeny také metodou GC/HRMS. Byly zpracovány postupem uvedeným v kapitole 2.4.2.2 s vynecháním přečištění extraktu přes sloupec silikagelu.

V tabulce 21 jsou uvedeny naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 a jeho procentuální podíl na celkovém obsahu PCB. Procentuální zastoupení kongeneru 52 ze všech PCB je 91 % u meziprojektu PR 166 a 76 % u meziprojektu PR 214. Ve srovnání s meziprojekty pigmentů byl zjištěn podstatný pokles obsahu kongeneru 52 ve výsledných pigmentech (méně než 1 % u PR 166 ve srovnání s jeho meziprojektem, méně než 2 % u PR 214 ve srovnání s jeho meziprojektem). Z výsledků vyplývá, že při syntéze těchto pigmentů je promývání *o*-dichlorbenzenem účinný při odstraňování PCB z meziprojektů.

Tabulka 21: Naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 v PR 166 a PR 214 a jejich meziprojektech naměřené pomocí GC/HRMS

	PCB 52 [ppm]	Zastoupení kongeneru 52 [%]	Suma PCB [ppm]
Meziprojekt PR 166	3,5	91,0	3,9
PR 166	0,024	6,7	0,36
Meziprojekt PR 214	1,3	76,0	1,6
PR 214	0,025	5,3	0,47

Celkové zastoupení PCB kongeneru 52 je cca 7 % v PR 166 a 5 % v PR 214. Jak vyplývá z detailního rozboru výsledků analýzy kongeneru 52 pomocí GC/HRMS, které jsou uvedeny v příloze 13–16, tak velmi malé zastoupení tohoto kongeneru je zapříčiněno vyšším obsahem jiných tetrachlorbifenylů. Zatímco ve vzorcích Pigment Red 2 má kongener 52 dominantní podíl v sumě tetrachlorbifenylů, je jeho podíl na celkové sumě tetrachlorbifenylů v PR 166 a PR 214 řádově v jednotkách procent (tabulka 21).

3.6.3 Porovnání výsledných hodnot a separačních metod

Při porovnání koncentrací kongeneru 52 v meziprojektu PR 166 naměřených pomocí HPLC/DAD a GC/HRMS lze konstatovat velmi dobrou shodu mezi oběma metodami (tabulka 22) a lze konstatovat, že malé množství kongeneru 52 obsažené v interním standardu nemá vliv na kvantifikaci tohoto kongeneru metodou HPLC/DAD. Obsah kongeneru 52 nalezený v meziprojektu PR 214 metodou HPLC/DAD je pod limitem kvantifikace a nelze jej tedy přímo porovnat s naměřenou hodnotou pomocí metody GC/HRMS. Totéž lze konstatovat pro stanovení obsahu kongeneru 52 ve finálních pigmentech, kdy zjištěné hodnoty obsahu metodou HPLC/DAD se pohybovaly pod limitem detekce.

Tabulka 22: Porovnání naměřených hodnot v meziproduktech Pigment Red 166 a Pigment Red 214

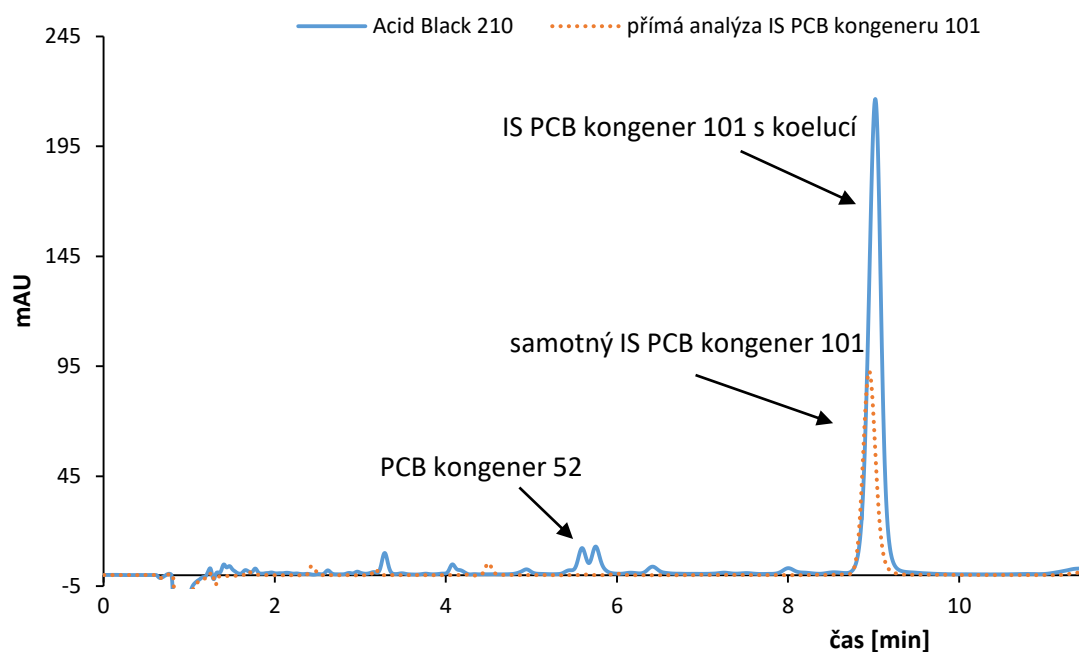
	HPLC/DAD - Synthesia	GC/HRMS - ALS
	Ø PCB 52 [ppm]	PCB 52 [ppm]
Meziprodukt PR 166	3,7	3,5
Meziprodukt PR 214	2,0	1,3

3.7 Acid Black 210

Barvivo Acid Black 210 se syntetizuje vícestupňovým postupem uvedeným v kapitole 1.6.1. Při těchto reakcích se může vznikat řada nečistot včetně polychlorovaných bifenylyů. Podle použitých vstupních surovin (např. diazoniová sůl 2,5-dichloranilinu) byl předpoklad, že toto barvivo může obsahovat vysoké koncentrace PCB kongeneru 52.

3.7.1 Analýza pomocí HPLC/DAD

Vzorek barviva k analýze byl zpracován stejným postupem jako v případě pigmentů podle kapitoly 2.4.2.1 dvakrát a získané extrakty následně 3x analyzovány pomocí HPLC/DAD s optimalizovanými podmínkami separace. Na obrázku 49 je chromatogram analýzy zpracovaného vzorku Acid Black 210. Jak je vidět z chromatogramu v retenčním čase 8,9 min, kde se eluuje interní standard (kongener 101) byl pík, jehož plocha přesahovala plochu odpovídající samotnému kongeneru 101. Z tohoto důvodu nemohl být k výpočtu použit postup využitý při analýze ostatních pigmentů, ale pro odhad obsahu kongeneru 52 v tomto barvivu byla použita aktuální velikost odezvy interního standardu při jeho přímé analýze a průměrná hodnota účinnosti extrakce z dosavadních experimentů, která činí 64,6 %



Obrázek 49: Chromatografický záznam analýzy PCB kongeneru 52 v Acid Black 210 a samotného interního standardu kongeneru 101
 Experimentální podmínky viz obrázek 34

Pík sledovaného kongeneru 52 podle obrázku 49 byl nedokonale odseparován od další nečistoty a pro kvantifikaci byla odečtena jeho plocha s využitím rozdělení obou píků v sedle. Z naměřených experimentálních dat metodou HPLC/DAD byl s využitím postupu uvedeného výše odhadnut průměrný obsah kongeneru 52 v Acid Black 210 152,3 ppm (tabulka 23). Jednotlivě naměřené hodnoty jsou uvedené v příloze 17. Dle legislativních nařízení by toto barvivo nemělo přesáhnout koncentraci 50 ppm celkové sumy PCB. Již samotný obsah kongeneru 52 v barvivu přesahuje 3x povolený limit sumy PCB, což je jedním z důvodů, proč toto barvivo se již nevyrábí.

Tabulka 23: Průměrné hodnoty obsahu kongeneru 52 v barvivu Acid Black 210 naměřené pomocí HPLC/DAD

	Ø PCB 52 [ppm]	Směrodatná odchylka [ppm]
Acid Black 210	152,3	6,3

3.7.2 Analýza pomocí GC/HRMS

Pro analýzu pomocí GC/HRMS byl vzorek barviva zpracován postupem podle kapitoly 2.4.2.2 s finálním přečištěním přes silikagelovou kolonu. Analýzou GC/HRMS byla zjištěna obsah 150 ppm kongeneru 52, který představuje více než 93 % celkové sumy PCB v barvivu (tabulka 24). Zároveň bylo zjištěno, že tento vzorek obsahuje 2,8 ppm (1,7 %) kongeneru 101, který může ovlivnit kvantifikaci kongeneru 52 pomocí HPLC/DAD. Jednotlivě naměřené hodnoty jsou uvedeny v příloze 18 a 19. Chromatografické záznamy Acid Black 210 se nachází v příloze 20 – 21.

Tabulka 24: Hodnoty obsahů PCB v Acid Black 210 naměřené pomocí GC/HRMS

	PCB 52 [ppm]	Zastoupení kongeneru 52 [%]	PCB 101 [ppm]	Suma PCB [ppm]
Acid Black 210	150	93,75	2,8	160

3.7.1 Porovnání výsledných hodnot a separačních metod

Výsledné koncentrace naměřené jak metodou HPLC/DAD, tak GC/HRMS jsou uvedeny v tabulce 25. Hodnoty se velmi dobře shodují, avšak v případě metody HPLC/DAD se jedná pouze o odhad na základě průměrných hodnot účinnosti extrakce pro jiné analyzované koloranty. Jak bylo zjištěno metodou GC/HRMS vzorek barviva obsahoval kongeneru 101 v koncentraci, která může pozitivně ovlivňovat velikost píku interního standardu kongeneru 101 při HPLC/DAD metodě, avšak nikoliv v takové výši, kterou reprezentuje záznam analýzy extraktu barviva na obrázku 49. Z toho vyplývá, že v retenčním čase odpovídajícím internímu standardu se eluuje další nečistota, kterou nelze použitou HPLC/DAD metodou odseparovat.

Tabulka 25: Porovnání naměřených hodnot obsahu kongeneru 52 v Acid Black 210

	HPLC/DAD - Synthesia	GC/HRMS - ALS
	Ø PCB 52 [ppm]	PCB 52 [ppm]
Acid Black 210	152,3	150

Pro přesnou kvantifikaci kongeneru 52 v analyzovaném barvivu by bylo nutné najít jiný vhodný dostupný interní standard PCB, který by se eluoval v jiném retenčním čase než kongener 101 a zároveň by nebyl obsažen v analyzovaném barvivu.

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo stanovení obsahu 2,2',5,5'-tetrachlorbifenyly (kongener 52) ve vybraných organických kolorantech pomocí metody HPLC/DAD používané v laboratoři Synthesia, a.s. a tyto výsledky porovnat s normovanou metodou GC/HRMS používanou v akreditované laboratoři ALS. Analyzovány byly pigmenty Pigment Red 2, Pigment Red 166 a Pigment Red 214 s příslušnými meziprodukty a dále organické barvivo Acid Black 210 (Korostanová čern AN). Všechny vzorky poskytnuté společností Synthesia, a.s. nebyly určeny pro komerční účely.

Původní metoda HPLC/DAD pro analýzu kongeneru 52 v těchto kolorantech byla optimalizována za účelem zkrácení doby HPLC separace a tím celkového zefektivnění analýzy. Optimalizovaná metoda byla aplikována na analýzu vzorků PR 2 syntetizovaných ve společnosti Synthesia, a.s. i ve vzorcích pocházejících od konkurenčních výrobců. Ve vzorcích Synthesia bylo možné vedle stanovení obsahu samotného kongeneru 52 též odhadnout celkový obsah PCB v těchto vzorcích z dlouhodobých výsledků měření v laboratořích ALS a VUOS, kdy zjištěný podíl tohoto kongeneru na celkovém obsahu PCB činí 70 %. Vybrané vzorky tohoto pigmentu byly současně analyzovány v laboratoři ALS s využitím normované metody GC/HRMS pro analýzu PCB a zaslány ke kontrolní analýze metodou GC/MS do společnosti VUOS. Výsledky těchto analýz vykazují dobrou shodu, což potvrzuje, že relativně jednoduchá HPLC/DAD metoda je v tomto případě dostatečná pro kvantifikaci obsahu kongeneru 52 v analyzovaném pigmentu. Nalezené celkové obsahy PCB ve vzorcích Synthesia splňovali nařízení legislativy EU stanovující maximální limit PCB 50 ppm. U konkurenčních vzorků nebylo z důvodu neznámého podílu kongeneru 52 na celkovém obsahu PCB možno celkový obsah PCB odhadnout.

Dále byly metodami HPLC/DAD a GC/HRMS analyzovány Pigment Red 166 a Pigment Red 214 spolu s jejich meziprodukty. Pomocí GC/HRMS metody byl kvantifikován kongener 52 jak v meziproduktech, tak ve finálních produktech. HPLC/DAD metoda umožnila stanovení tohoto kongeneru pouze v meziproduktech pigmentů, ve finálních produktech se obsahy pohybovaly pod limitem detekce a tato metoda není vhodná pro stanovení takto nízkých koncentrací kongeneru 52. Z výsledků analýz vyplývá, že *o*-dichlorbenzen použitý jako reakční prostředí při finální syntéze pigmentu se zásadním způsobem podílí na poklesu obsahu PCB v pigmentu (přechod PCB z meziprojektu do roztoku).

Poslední z analyzovaných kolorantů bylo barvivo Acid Black 210. V tomto barvivo byl nalezen obsah PCB kongeneru 52 150 ppm, což je trojnásobek maximálního limitu celkové sumy PCB. Hodnoty získané metodou HPLC/DAD i GC/HRMS byly shodné. Z důvodu vysokého obsahu PCB toto barvivo se již ve společnosti Synthesia, a.s. nevyrábí.

Porovnáním normované metody GC/HRMS a HPLC/DAD lze učinit následující závěry:

- HPLC/DAD metoda je méně náročná na instrumentaci než GC/HRMS
- HPLC/DAD je vhodná spíše pro rutinní analýzy stejného typu pigmentů, zvláště jeli nutno ze znalosti obsahu kongeneru 52 stanovit celkový obsah PCB v pigmentu
- limit stanovitelnosti HPLC/DAD metody je nad 2 ppm
- nalezené obsahy kongeneru 52 oběma metodami jsou shodné v rámci experimentálních chyb
- pomocí GC/HRMS metody lze vedle kongeneru 52 stanovit i další kongenery, sumy kongenerů s různými stupni chlorace.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Dušek L.: *Organické pigmenty*. Univerzita Pardubice, Pardubice, 2004. ISBN 807194-635-4.
2. Rodenburg L., Guo J., Christie R.: Polychlorinated biphenyls in pigments: inadvertent production and environmental significance. *Coloration Technology* 131 (2015) 353–369.
3. *Profil společnosti Synthesia, a.s* [online]. [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: <https://www.synthesia.eu/cze/o-spolecnosti/profil-spolecnosti>.
4. *Historie společnosti Synthesia, a.s* [online]. [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: <https://www.synthesia.eu/cze/o-spolecnosti/historie>.
5. *Organické pigmenty společnosti Synthesia, a.s*. [online]. [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: <https://pigments.synthesia.eu/cze/organicke-pigmenty>.
6. Hrdina R., Machalický O.: *Organická barviva: studijní materiály*. Univerzita Pardubice, Pardubice 2018.
7. Stýblová M.: *Analýza přírodních organických barviv a pigmentů pomocí hmotnostní spektrometrie*: Diplomová práce. Praha: PedF UK, 2012.
8. *Colour Index™ Generic Name (CIGN): Definition of a Colour Index™ Generic Name* [online]. [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: <https://colour-index.com/colour-index-generic-name>.
9. Lomax A. Q., Learner T.: A Review of the Classes, Structures, and Methods of Analysis of Synthetic Organic Pigments. *Journal of the American Institute for Conservation* 45 (2006) 107–125.
10. Herbs W., Hunger K.: *Industrial Organic Pigments: Production, Properties, Applications*. VCH, Weinheim, 2nd ed, 1997. ISBN 3-527-28836-8.
11. Chvila M.: *Vysokorychlostní slinování keramických materiálů*: Bakalářská práce. Brno: FSI – VUT, 2019.
12. Lomax S. Q., Lomax J. F., Graham T. K., Moore T. J. T., Knapp C. G.: Historical azopigments: Synthesis and characterization. *Journal of Cultural Heritage* 35 (2019) 218–224.
13. *Synthesis of Organol Brown N (4) from aniline (1) and 1-naphthol (3) (azo coupling)* [online]. [cit. 2020-11-10]. Dostupné z: [https://cs.wikipedia.org/wiki/Kopulace_\(chemie\)#/media/Soubor:Synthesis_of_Organol_Brown_N.svg](https://cs.wikipedia.org/wiki/Kopulace_(chemie)#/media/Soubor:Synthesis_of_Organol_Brown_N.svg).

14. *Pigment Red 2* [online]. [cit. 2020-11-30]. Dostupné z: <http://www.dyestuffintermediates.com/wp-content/uploads/2012/11/Pigment-Red-2.gif>.
15. Večeře F., Synthesia, a.s.: osobní sdělení ohledně syntézy PR 2.
16. Pauk K.: *Syntéza a kondicionace Pigment Red 188*: Diplomová práce. Pardubice: UPCE – FCHT, 2009.
17. *Rozdělení tiskových barev: Tiskové barvy pro jednotlivé tiskové techniky* [online]. [cit. 2020-11-27]. Dostupné z: <https://eluc.kr-olomoucky.cz/verejne/lekce/1781>.
18. *Flexotisk*. Machine Europe [online]. [cit. 2020-11-27]. Dostupné z: <https://www.machineryeurope.com/flexotisk>.
19. *Hlubotisk*. Machine Europe [online]. [cit. 2020-11-27]. Dostupné z: <https://www.machineryeurope.com/hlubotisk>.
20. *Ofsetový tisk – ofset tisk*. Machine Europe [online]. [cit. 2020-11-27]. Dostupné z: <https://www.machineryeurope.com/ofsetovy-tisk>.
21. *Synthetic organic pigments* [online]. [cit. 2021-05-01]. Dostupné z: <https://www.handprint.com/HP/WCL/pigmt1d.html>.
22. Koplík M.: Synthesia, a.s.: osobní sdělení ohledně syntézy PR 166 a 214.
23. *Filtrace* [online]. [cit. 2021-05-01]. Dostupné z: http://fzp.ujep.cz/ktv/uc_texty/pt3/14%20Filtrace.pdf.
24. Pelegrino Rocha O., Aparecida Cesila C., Christovam E. M., Berlanga de Moraes Barros S., Valnice Boldrin Zanoni M., Palma de Oliveira D.: Ecotoxicological risk assessment of the “Acid Black 210” dye. *Toxicology 376* (2017) 113–119.
25. Shah K.: Biodegradation of azo dye compounds. *International Research Journal of Biochemistry and Biotechnology 2* (2014) 5–13.
26. Juračková J., Synthesia, a.s.: osobní sdělení ohledně syntézy Acid Black 210.
27. Anezaki K., Kannan N., Nakano T.: Polychlorinated biphenyl contamination of paints containing polycyclic - and Naphthol AS-type pigments. *Environmental Science and Pollution Research 22* (2015) 14478–14488.
28. Anh H. Q., Watanabe I., Minh T. B., Takahashi S.: Unintentionally produced polychlorinated biphenyls in pigments: An updated review on their formation, emission sources, contamination status, and toxic effects. *Science of the Total Environment 755* (2020) 142504.
29. Rieper W.: Preparation of azo pigments with low PCB content by coupling in the presence of olefins. United States Patent. US005243032A. 7. 9. 1993.

30. Nestler A., Heine L., Montgomery A.: Pigments and inadvertent polychlorinated biphenyls (iPCBs): Advancing no and low iPCB pigments for newsprint, and paper and paperboard packaging, Northwest Green Chemistry 2019 [online]. [cit. 2020-11-27]. Dostupné z: http://srtrtf.org/wp-content/uploads/2019/07/Final20190628_iPCBs-and-Pigments.pdf.
31. *ETAD position on the presence of traces of PCBs in some organic pigments*, 2011 [online]. [cit. 2020-11-30]. Dostupné z: https://etad.com/en/component/attachments/?task=download&id=78:2011_etad-position-on-the-presence-of-pcbs-in-pigments.
32. Svoboda J.: *Organická syntéza I*. 1st ed. Praha, 2000. ISBN 80-7080-385-1. Diazotace, p. 227–238.
33. *ISO 787-28:2019. Determination of total content of polychlorinated biphenyls (PCB) by dissolution, cleanup and GC-MS*. Švýcarsko: Mezinárodní organizace pro normalizaci, 2019. 21 p.
34. *Kapalinová chromatografie s tandemovou hmotnostní detekcí* [online]. [cit. 2020-05-17]. http://web.natur.cuni.cz/~kozlik/Prednasky/HPLC_MS_MS.pdf.
35. *Nariadení komise (EU) č. 1259/2011 ze dne 2. prosince 2011, kterým se mění nařízení (ES) č. 1881/2006, pokud jde o maximální limity pro dioxiny, PCB s dioxinovým efektem a PCB bez dioxinového efektu v potravinách*. Brusel, 2011. číslo 1259/2011. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2011:320:0018:0023:CS:PDF>.
36. *Council of Europe Resolution AP (89) 1 on the use of colourants in plastic materials coming into contact with food*. 1989. Dostupné z: <https://rm.coe.int/16804f8648>.
37. *Highest purity for sensitive applications. Compliant pigments for food packaging* [online]. [cit. 2020-12-06]. Dostupné z: <https://www.convertmagazine.it/highest-purity-for-sensitive-applications-compliant-pigments-for-food-packaging/>.
38. Hill D. W., O’Keeffe H.: *The Regulation of Colorants Intended for Food Contact Applications in the European Union*. 2017 [online]. [cit. 2020-11-12]. Dostupné z: <https://www.packaginglaw.com/special-focus/regulation-colorants-intended-food-contact-applications-european-union>
39. Sistovaris N., Donges U., Dudek B.: *Determination of traces of Polychlorinated Bipheyls in Pigments*. *Journal of High Resolution Chromatography* 13 (1990) 547–549.

40. Anezaki K., Nakano T.: Concentration levels and congener profiles of polychlorinated biphenyls, pentachlorobenzene, and hexachlorobenzene in commercial pigment. *Environmental Science and Pollution Research* 21 (2014) 998–1009.
41. Shang H., Li Y., Wang T., Wang P., Zhang H., Zhang Q., Jiang G.: The presence of polychlorinated biphenyls in yellow pigments products in China with emphasis on 3,3'-dichlorobiphenyl (PCB 11). *Chemosphere* 98 (2014) 44–50.
42. *Waters, the Science of what's possible* [online]. [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: https://www.waters.com/waters/en_CZ/HPLC%E2%80%94High-Performance-Liquid-Chromatography-Beginner%27s-Guide/nav.htm?cid=10048919&locale=en_CZ.
43. Schulova V.: HPLC v analýze potravin a přírodních produktů [online]. [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://web.vscht.cz/~schulzov/HPLC/1%20HPLC%202019%20teorie.pdf>.
44. *High Performance Liquid Chromatography, HPLC* [online]. [cit. 2020-11-20]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~pcoufal/hplc.html>.
45. Lacourse M. E., Lacourse W. R.: *Liquid Chromatography*. 2nd ed. 2017. ISBN 978-0-12-805393-5. kapitola 17 *General instrumentation in HPLC*, pp. 417–429.
46. *Vysokoúčinná kvapalinová chromatografie (HPLC)* [online]. [cit. 2020-05-22]. Dostupné z: <https://biopedia.sk/molekularna-biologia/hplc>.
47. *Chromatografie v analýze paliv* [online]. [cit. 2020-11-22]. Dostupné z: https://utrap.vscht.cz/files/uzel/0014822/0005~~M9YzVvBOLEjMyczLLzu8UCE5oyg_N7EkP70oMS0zFQA.pdf?redirected.
48. Cvačka J.: *Vysokoúčinná kapalinová chromatografie*. 2011 [online]. [cit. 2020-11-22]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc1.pdf>.
49. Cvačka J.: *Instrumentace pro vysokoúčinnou kapalinovou chromatografii*. 2010 [online]. [cit. 2020-11-22]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc2.pdf>.
50. Řeháková B.: *Analýza fenolických látek s antioxidačními vlastnostmi v bezkofeinové kávě*: Diplomová práce. Pardubice: FChT UPCE, 2018.
51. Cvačka J.: *Praxe HPLC*. 2010 [online]. [cit. 2020-11-22]. Dostupné z: <https://web.natur.cuni.cz/~analchem/bosakova/hplc4.pdf>.
52. *Typy detektorů v HPLC* [online]. [cit. 2020-11-22]. Dostupné z: <http://www.hplc.cz/Teorie/detectors.html>.

53. Churáček J. *Analytická separace látek*. 1st ed. Praha: SNTL, 1990. ISBN 80-030-0569-8.
54. Vašíčková P. *Stanovení reziduí léčiv pomocí separačních metod*: Diplomová práce. Brno: FCh VUT, 2010.
55. Holčapek, M.: Spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie (HPLC/MS): sborník přednášek kurzu HPLC/MS pořádaného 5. – 7. 11. 2001 v Kongresové hale Univerzity Pardubice. Pardubice: Univerzita Pardubice, 2001. ISBN 80-7194-390-8.
56. *Analytická chemie: Kombinované techniky* [online]. [cit. 2020-05-25]. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/anl/matejka/ACH2-04-kombinace1.pdf>.

PŘÍLOHY

Příloha 1: Kalibrační data pro první kalibrační závislost PCB kongeneru 52

Kalibrační člen	c [mg/ml]	Ø plocha píku [mAU·s]
1	0,0002567	7,607
2	0,0005134	18,827
3	0,0010268	37,682
4	0,0015402	58,055
5	0,0020536	75,116
6	0,0025670	94,25

Příloha 2: Kalibrační data pro druhou kalibrační závislost PCB kongeneru 52

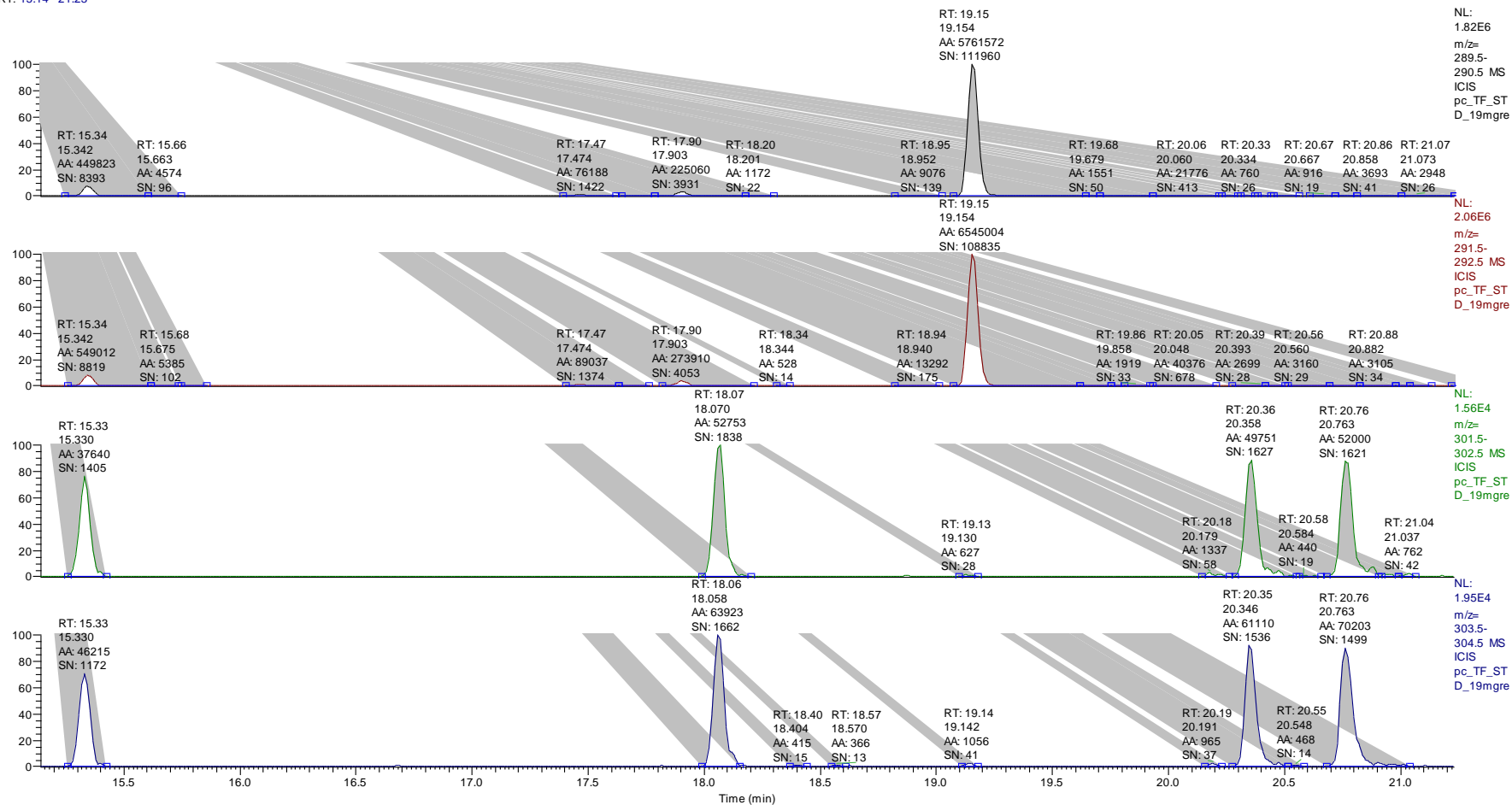
Kalibrační člen	c [mg/ml]	Ø plocha píku [mAU·s]
1	0,0002567	8,512
2	0,0005134	17,601
3	0,0010268	34,618
4	0,0015402	54,497
5	0,0020536	70,787
6	0,0025670	88,391

Příloha 3: Naměřené hodnoty obsahu sledovaných kongenerů PCB v 15 mg vzorku interního standardu pro HPLC/DAD zjištěné pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS

Vzorek:	Interní standard - PCB kongener 101		
PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
PCB #77	< 0,017	0,017	0,056
PCB #81	< 0,018	0,018	0,061
PCB #126	< 0,018	0,018	0,06
PCB #169	< 0,027	0,027	0,088
PCB #105	< 0,019	0,019	0,065
PCB #114	< 0,018	0,018	0,06
PCB #118	9,6	0,018	2,4
PCB #123	< 0,018	0,018	0,061
PCB #156	< 0,025	0,025	0,084
PCB #157	< 0,026	0,026	0,087
PCB #167	21	0,026	0,17
PCB #170	< 0,046	0,046	0,15
PCB #180	< 2,4	0,039	2,4
PCB #189	< 0,035	0,035	0,12
PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
PCB #28	< 4,9	0,016	4,9
PCB #52	30	0,023	4,9
PCB #101	14000	0,028	5,2
PCB #118	9,6	0,018	2,4
PCB #138	< 0,03	0,03	0,098
PCB #153	38	0,024	6,3
PCB #180	< 2,4	0,039	2,4

Příloha 4: Chromatografický záznam analýzy interního standardu PCB kongeneru 101 pomocí GC/HRMS (0–21 min)

RT: 15.14 - 21.23



Extrakční standard (EX) PCB 52

Nástříkový standard (NS) PCB 70

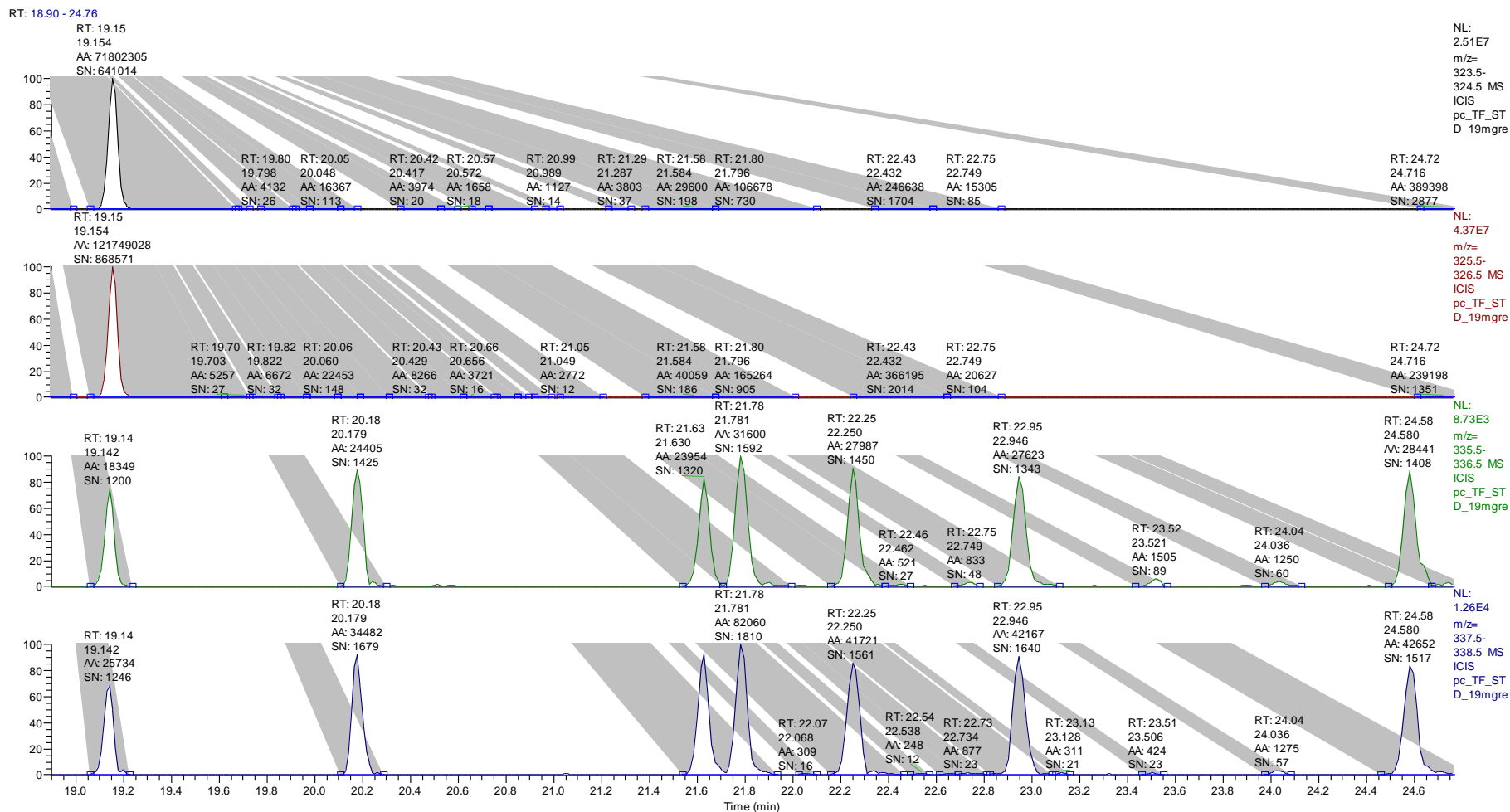
EX PCB 81

EX PCB 77

Příloha 5: Chromatografický záznam analýzy interního standardu PCB kongeneru 101 pomocí GC/HRMS (19–24,6 min)

C:\xcalibur\...DFS5\TFpc_TF_STD_19mgre

05.05.2021 11:21:04



EX PCB 101

NS PCB 111

EX PCB 123 a 118 EX PCB 114 EX PCB 105

EX PCB 126

Příloha 6: Hodnoty účinnosti extrakce a nalezené obsahy PCB při opakovaných analýzách v jednotlivých Synthesia vzorcích pomocí HPLC/DAD

Vzorek S1		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
53,96	5,8	8,3
53,50	5,8	8,3
51,75	6,0	8,6
56,35	6,9	9,9
57,34	9,7	9,5
56,95	6,9	9,9
Průměr	6,9	9,1

Vzorek S2		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
73,29	8,0	11,5
73,35	8,1	11,5
73,25	7,9	11,4
62,17	7,8	11,2
62,13	7,7	11,1
62,14	7,7	11,0
Průměr	7,9	11,3

Vzorek S3		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
57,70	8,0	11,4
57,66	7,9	11,3
57,71	8,1	11,6
67,00	8,2	11,8
66,89	8,2	11,7
66,78	8,1	11,6
Průměr	8,1	11,6

Vzorek S4		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
67,89	6,6	9,4
67,74	6,6	9,4
67,95	6,7	9,6
71,71	6,5	9,3
71,65	6,5	9,3
71,69	6,4	9,1
Průměr	6,6	9,4

Vzorek S5		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
69,55	8,2	11,7
69,43	8,2	11,7
69,28	8,1	11,6
67,24	8,0	11,4
67,84	8,1	11,5
67,87	8,1	11,6
Průměr	8,1	11,6

Vzorek S6		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
55,44	10,6	15,2
55,23	10,7	15,3
55,81	10,6	15,2
70,18	11,1	15,8
70,26	11,1	15,8
72,34	11,0	15,7
Průměr	10,9	15,5

Vzorek S7		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
71,02	8,2	11,7
70,64	8,0	11,5
69,46	8,1	11,6
58,90	8,1	11,6
58,69	8,0	11,5
58,68	8,1	11,6
Průměr	8,1	11,6

Vzorek S8		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
76,82	7,6	10,8
76,41	7,5	10,7
76,78	7,4	10,6
60,10	6,9	9,8
62,03	6,7	9,5
62,05	6,7	9,5
Průměr	7,1	10,2

Vzorek S9		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
81,51	10,5	14,9
82,12	10,6	15,1
82,05	10,7	15,2
76,83	11,1	15,9
76,36	11,3	16,2
75,80	11,3	16,2
Průměr	10,9	15,6

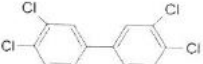
Vzorek S10		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
61,23	8,8	12,5
61,49	8,6	12,3
62,86	8,8	12,5
58,25	8,9	12,7
58,10	8,9	12,7
55,61	9,3	13,3
Průměr	8,8	12,5

Vzorek S11		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
66,86	5,8	8,3
66,56	5,8	8,3
67,33	6,0	8,6
47,84	6,9	9,9
47,46	9,7	9,5
47,57	6,9	9,9
Průměr	6,9	9,1

Příloha 7: Protokol analýzy vzorku S1 z laboratoře VUOS

Vzorek S1

Vzorek Versal červen F2R-A/BB				
navážka v gramech:	0,1056			
koncentrace ISTD [ppm]	5			
ISTD v µl:	10			
	A [ISTD]	A [vzorek]	PCB [µg/kg]	d-CB ekv. [ppm]
mono-CB	20942	0	0,0	0,00
di-CB	20942	8504	183,4	0,41
tri-CB	20942	125778	2 712,9	5,25
z toho #28	20942	43523	938,8	
tetra-CB	12771	214960	7 491,5	12,78
z toho #52	12771	214504	7 475,6	
penta-CB	9351	1606	81,2	0,12
z toho #101	9351	900	45,5	xxx
hexa-CB		0	0,0	0,00
z toho #153	5490	0	0,0	
z toho #138	4883	0	0,0	xxx
hepta-CB	2495	0	0,0	0,00
z toho #180	2495	0	0,0	
okta-CB	540	0	0,0	0,00
nona-CB	540	0	0,0	0,00
deka-CB	540	0	0,0	0,00
celkem			10 469,0	18,56

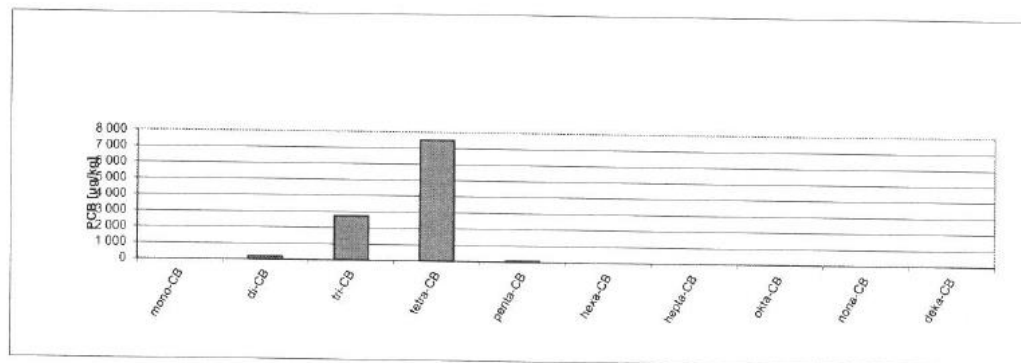
Sample Versal červen F2R-A/BB		
GC/MS: Shimadzu GC/MS-QP2010Plus GC column: HP - 5 MS UI		
PCB	[µg/kg]	LoD [µg/kg]
mono-CB	00	2
di-CB	183	2
tri-CB	2 713	2
tetra-CB	PCB #28 (*)	2
	939	
	PCB #52 (*)	7
	7 491	
	PCB #101 (*)	7
	7 476	
	81	5
	45	5
	00	13
	00	13
	00	13
	00	35
	00	35
	00	35
	00	35
	00	35
	00	26
Total content of PCBs		10 469
Total content of PCBs according ETAD**		6 281

Konc. faktory std. 13C PCB		
PCB	faktor -ampule	
28	0,954	triCB
52	0,940	tetraCB
101	0,998	pentaCB
138	0,936	hexaCB
153	1,032	hexaCB
180	0,930	heptaCB
209	0,930	dekaCB

Detekční limity		
PCB	A (det.l.)	det.l. [µg/kg]
mono	100	2
di	100	2
tri	100	2
tetra	200	7
penta	100	5
hexa	150	13
hepta	200	35
okta	200	35
nona	200	35
deka	150	26

00 - analyt nebyl za daných podmínek detekován
 (+) - hodnoty se nacházejí v oblasti méně spolehlivé kvantifikace s nejistotou měření ± 45 % na 95% hladině spolehlivosti
 Pro ostatní hodnoty platí nejistota měření ± 15 % na hladině spolehlivosti 95%

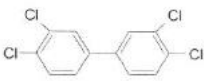
(*) - *volitelné, v tomto případě stanoveno*
 (**) - dekachlorbifenylový ekvivalent vyjádřen podle normy ETAD A 4003-218-1/1986



Příloha 8: Protokol analýzy vzorku S2 z laboratoře VUOS

Vzorek S2

vzorek Versal červen F2R-F/BB				
navážka v gramech:	0,1025			
koncentrace ISTD [ppm]	5			
ISTD v µl:	10			
	A [ISTD]	A [vzorek]	PCB [µg/kg]	d-CB ekv. [ppm]
mono-CB	28451	0	0,0	0,00
di-CB	28451	9760	159,6	0,36
tri-CB	28451	177400	2 901,7	5,61
z toho #28	28451	61752	1 010,1	
tetra-CB	19280	355709	8 459,8	14,43
z toho #52	19280	354916	8 441,0	xxx
penta-CB	19370	2909	73,1	0,11
z toho #101	19370	1870	47,0	xxx
hexa-CB		0	0,0	0,00
z toho #153	19155	0	0,0	
z toho #138	17527	0	0,0	xxx
hepta-CB		0	0,0	0,00
z toho #180	15200	0	0,0	
okta-CB	5972	0	0,0	0,00
nona-CB	5972	0	0,0	0,00
deka-CB	5972	0	0,0	0,00
celkem			11 594,3	20,51

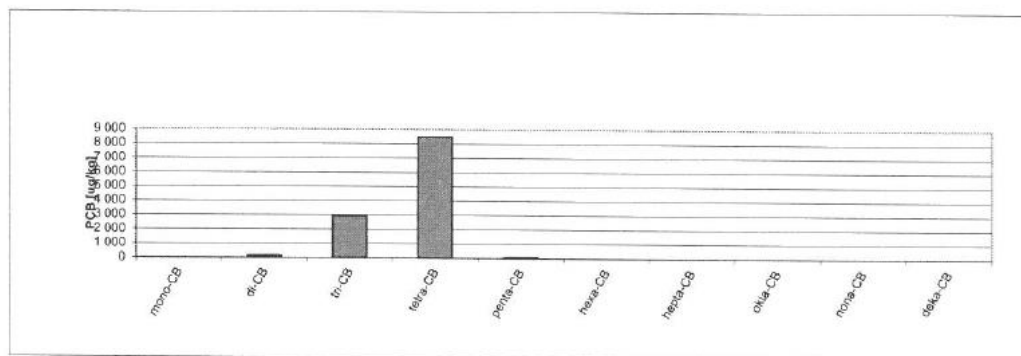
Sample Versal červen F2R-F/BB				
GC/MS: Shimadzu GC/MS-QP2010Plus GC column: HP - 5 MS UI			LoD	[µg/kg]
PCB				
mono-CB		[µg/kg]		
di-CB		160		2
tri-CB		2 902		2
	PCB #28 (*)	1 010		2
tetra-CB		8 460		5
	PCB #52 (*)	8 441		5
penta-CB		73		3
	PCB #101 (*)	47		3
hexa-CB		00		4
	PCB #153 (*)	00		4
	PCB #138 (*)	00		4
hepta-CB		00		6
	PCB #180 (*)	00		6
okta-CB		00		6
nona-CB		00		6
deka-CB		00		4
Total content of PCBs			11 594	
Total content of PCBs according ETAD**			6 957	

Konc. faktory std. 13C PCB		
PCB	faktor -ampule	
28	0,954	triCB
52	0,940	tetraCB
101	0,998	pentaCB
138	0,936	hexaCB
153	1,032	hexaCB
180	0,930	heptaCB
209	0,930	dekaCB

Detekční limity		
PCB	A (det.l.)	det.l.[µg/kg]
mono	100	2
di	100	2
tri	100	2
tetra	200	5
penta	100	3
hexa	150	4
hepta	200	6
okta	200	6
nona	200	6
deka	150	4

00 - analyt nebyl za daných podmínek detekován
 (+) - hodnoty se nacházejí v oblasti méně spolehlivě kvantifikace s nejistotou měření ± 45 % na 95% hladině spolehlivosti
 Pro ostatní hodnoty platí nejistota měření ±15 % na hladině spolehlivosti 95%

(*) - volitelné, v tomto případě stanoveno
 (**) - dekachlorbifenylový ekvivalent vyjádřen podle normy ETAD A 4003-218-1/1986



Příloha 9: Naměřené hodnoty obsahu sledovaných kongenerů PCB ve vzorku K2 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS, vzorek zpracován bez sloupcové chromatografie

Vzorek:	K2 bez sloupcové kolony		
PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
PCB #77	< 6,7	0,12	6,7
PCB #81	< 0,13	0,13	0,44
PCB #126	< 0,14	0,14	0,47
PCB #169	< 0,22	0,22	0,75
PCB #105	< 0,15	0,15	0,49
PCB #114	< 0,14	0,14	0,46
PCB #118	8,9	0,14	8,9
PCB #123	< 0,14	0,14	0,47
PCB #156	< 0,22	0,22	0,73
PCB #157	< 0,22	0,22	0,74
PCB #167	0,23	0,23	0,78
PCB #170	< 0,45	0,45	1,5
PCB #180	< 0,91	0,38	0,91
PCB #189	< 0,34	0,34	1,1
PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
PCB #28	< 0,081	0,081	0,27
PCB #52	95000	0,14	47
PCB #101	950	0,2	50
PCB #118	< 8,9	0,14	8,9
PCB #138	< 1,3	0,26	1,3
PCB #153	< 8,1	0,22	8,1
PCB #180	< 0,91	0,38	0,91

Příloha 10: Naměřené hodnoty obsahu sumy PCB ve vzorku K2 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS, vzorek zpracován bez sloupcové chromatografie

Vzorek:	K2 bez sloupcové kolony		
skupiny PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
mono-PCB	360	0,13	1,3
di-PCB	4400	0,087	3,5
tri-PCB	11000	0,081	82
tetra-PCB	98000	0,14	72
penta-PCB	1200	0,14	100
hexa-PCB	< 140	0,22	140
hepta-PCB	< 61	0,38	61
okta-PCB	< 22	0,54	22
nona-PCB	< 2	0,2	2
deka-PCB	< 0,17	0,17	0,58

Příloha 11: Hodnoty účinnosti extrakce a nalezené obsahy PCB při opakovaných analýzách v jednotlivých konkurenčních vzorcích pomocí HPLC/DAD

Vzorek K1		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
79,01	30,3	43,3
75,87	31,6	45,2
75,13	31,6	45,2
76,94	33,4	47,7
78,33	32,7	46,7
78,41	33,1	47,3
Průměr	32,1	45,9

Vzorek K2		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
76,70	81,6	166,6
78,88	79,7	113,9
78,44	79,6	113,8
88,33	80,5	115,0
87,77	80,6	115,1
87,47	80,9	115,6
Průměr	80,3	114,7

Vzorek K3		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
62,50	14,3	20,5
61,51	14,9	21,3
62,51	14,4	20,6
66,80	16,1	23,0
66,63	16,0	22,9
64,78	16,4	23,4
Průměr	15,4	22,0

Vzorek K4		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
85,43	40,2	57,4
83,42	41,4	59,2
81,77	41,1	58,7
81,95	43,4	62,0
82,56	43,3	61,8
83,43	43,1	61,6
Průměr	42,1	60,1

Vzorek K5		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
83,19	31,8	45,4
82,76	31,8	45,5
79,11	33,6	48,0
61,26	31,2	44,6
59,32	31,2	44,6
60,68	31,0	44,3
Průměr	31,4	44,9

Vzorek K6		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
56,02	26,4	37,7
56,16	26,6	37,9
56,11	26,4	37,8
52,40	27,2	38,8
52,38	27,1	38,7
52,42	27,1	38,6
Průměr	26,8	38,3

Vzorek K7		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
68,95	52,7	75,3
71,20	52,9	75,6
71,62	52,7	75,3
81,64	48,4	69,2
80,93	49,0	70,0
81,30	48,3	69,1
Průměr	50,7	72,4

Vzorek K8		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
81,34	25,9	37,0
81,52	25,9	37,0
81,00	26,0	37,2
59,36	24,8	35,4
59,09	24,7	35,3
58,71	24,6	35,1
Průměr	25,3	36,2

Vzorek K9		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
56,45	12,3	37,7
56,23	12,2	37,9
56,53	12,3	37,8
78,31	13,0	38,8
78,28	12,9	38,7
78,37	13,0	38,6
Průměr	12,6	38,3

Vzorek K10		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
83,19	8,6	12,2
82,74	8,8	12,5
82,71	8,8	12,5
71,47	9,3	13,2
69,69	9,5	13,6
70,51	9,5	13,6
Průměr	9,1	12,9

Vzorek K11		
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]	Suma PCB [ppm]
46,97	14,6	20,8
44,51	17,1	24,4
44,88	15,4	22,0
34,50	14,5	20,7
32,07	15,4	22,0
32,27	15,3	21,9
Průměr	15,0	21,5

Příloha 12: Účinnosti extrakce a naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 v meziproduktech Pigment Red 166 a Pigment Red 214 pomocí HPLC/DAD

PR 166 meziprodukt	
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]
84,48	3,8
84,16	3,8
85,02	4,0
87,70	3,6
90,95	3,5
89,19	3,6
Průměr	3,7

PR 214 meziprodukt	
Účinnost extrakce [%]	PCB 52 [ppm]
91,72	2,1
92,15	2,1
91,98	1,7
92,76	2,0
92,71	1,9
94,18	2,1
Průměr	2,0

Příloha 13: Naměřené hodnoty obsahu sumy PCB v meziproduktu PR 166 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS

Vzorek:	Meziprodukt PR 166		
skupiny PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
mono-PCB	< 0,52	0,052	0,52
di-PCB	< 1,3	0,031	1,3
tri-PCB	240	0,028	64
tetra-PCB	3500	0,039	47
penta-PCB	110	0,039	74
hexa-PCB	< 100	0,084	100
hepta-PCB	< 36	0,13	36
okta-PCB	< 8,2	0,21	8,2
nona-PCB	< 1,7	0,17	1,7
deka-PCB	< 0,15	0,15	0,49

Příloha 14: Naměřené hodnoty obsahu sumy PCB v pigmentu PR 166 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS

Vzorek:	PR 166		
skupiny PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
mono-PCB	< 0,5	0,05	0,5
di-PCB	< 0,45	0,011	0,45
tri-PCB	< 53	0,013	53
tetra-PCB	360	0,016	18
penta-PCB	< 29	0,016	29
hexa-PCB	< 81	0,035	81
hepta-PCB	< 26	0,053	26
okta-PCB	< 3,3	0,082	3,3
nona-PCB	< 0,72	0,072	0,72
deka-PCB	< 0,061	0,061	0,2

Příloha 15: Naměřené hodnoty obsahu sumy PCB v meziprojektu PR 166 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS

Vzorek:	Meziprodukt PR 214		
skupiny PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
mono-PCB	< 0,45	0,045	0,45
di-PCB	< 1,3	0,033	1,3
tri-PCB	160	0,032	2,6
tetra-PCB	1300	0,051	7,1
penta-PCB	85	0,049	7,6
hexa-PCB	< 11	0,082	11
hepta-PCB	< 11	0,14	11
okta-PCB	< 7,2	0,18	7,2
nona-PCB	< 9,6	0,96	9,6
deka-PCB	< 0,78	0,78	2,6

Příloha 16: Naměřené hodnoty obsahu sumy PCB v pigmentu PR 166 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS

Vzorek:	PR 214		
skupiny PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
mono-PCB	< 0,8	0,08	0,8
di-PCB	< 2	0,049	2
tri-PCB	< 82	0,053	82
tetra-PCB	470	0,08	35
penta-PCB	< 98	0,077	98
hexa-PCB	< 130	0,15	130
hepta-PCB	< 49	0,2	49
okta-PCB	< 12	0,3	12
nona-PCB	< 79	7,9	79
deka-PCB	< 1,1	1,1	3,5

Příloha 17: Účinnosti extrakce a naměřené hodnoty obsahu kongeneru 52 v Acid Black 210 pomocí HPLC/DAD

Acid Black 210
PCB 52 [ppm]
145,5
145,9
146,7
158,7
158,6
158,3
152,3

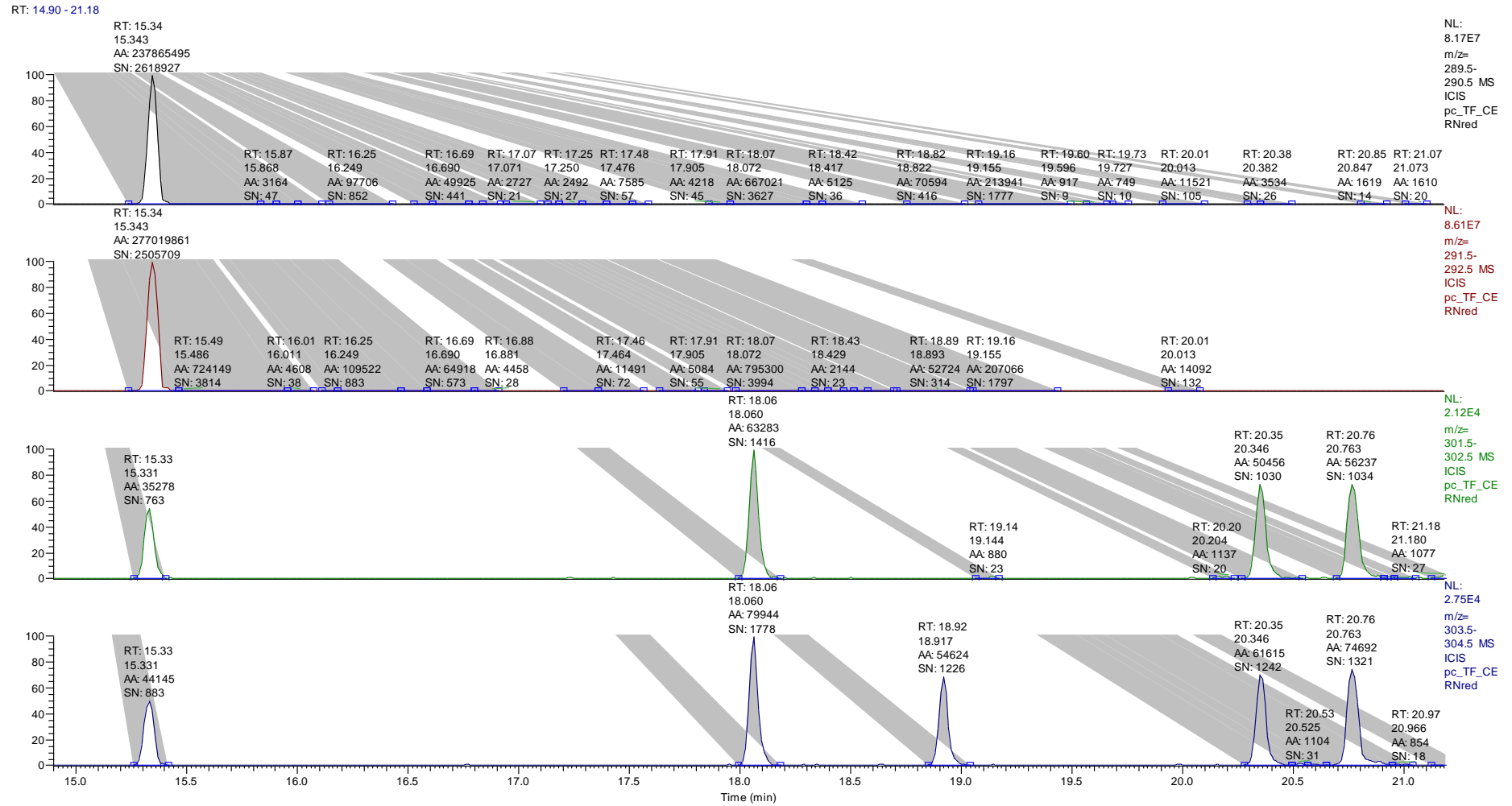
Příloha 18: Naměřené hodnoty obsahu sledovaných kongenerů PCB v Acid Black 210 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS

Vzorek:	Acid Black 210		
PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
PCB #77	< 6,7	0,12	6,7
PCB #81	< 0,13	0,13	0,44
PCB #126	< 0,14	0,14	0,47
PCB #169	< 0,22	0,22	0,75
PCB #105	< 0,15	0,15	0,49
PCB #114	< 0,14	0,14	0,46
PCB #118	8,9	0,14	8,9
PCB #123	< 0,14	0,14	0,47
PCB #156	< 0,22	0,22	0,73
PCB #157	< 0,22	0,22	0,74
PCB #167	0,23	0,23	0,78
PCB #170	< 0,45	0,45	1,5
PCB #180	< 0,91	0,38	0,91
PCB #189	< 0,34	0,34	1,1
PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
PCB #28	< 0,081	0,081	0,27
PCB #52	95000	0,14	47
PCB #101	950	0,2	50
PCB #118	< 8,9	0,14	8,9
PCB #138	< 1,3	0,26	1,3
PCB #153	< 8,1	0,22	8,1
PCB #180	< 0,91	0,38	0,91

Příloha 19: Naměřené hodnoty obsahu sumy PCB v Acid Black 210 pomocí GC/HRMS v akreditované laboratoři ALS

Vzorek:	Acid Black 210		
skupiny PCB	Výsledek [ng/vzorek]	Mez detekce [ng/vzorek]	Mez stanovitelnosti [ng/vzorek]
mono-PCB	360	0,13	1,3
di-PCB	4400	0,087	3,5
tri-PCB	11000	0,081	82
tetra-PCB	98000	0,14	72
penta-PCB	1200	0,14	100
hexa-PCB	< 140	0,22	140
hepta-PCB	< 61	0,38	61
okta-PCB	< 22	0,54	22
nona-PCB	< 2	0,2	2
deka-PCB	< 0,17	0,17	0,58

Příloha 20: Chromatografický záznam analýzy Acid Black 210 pomocí GC/HRMS (a)



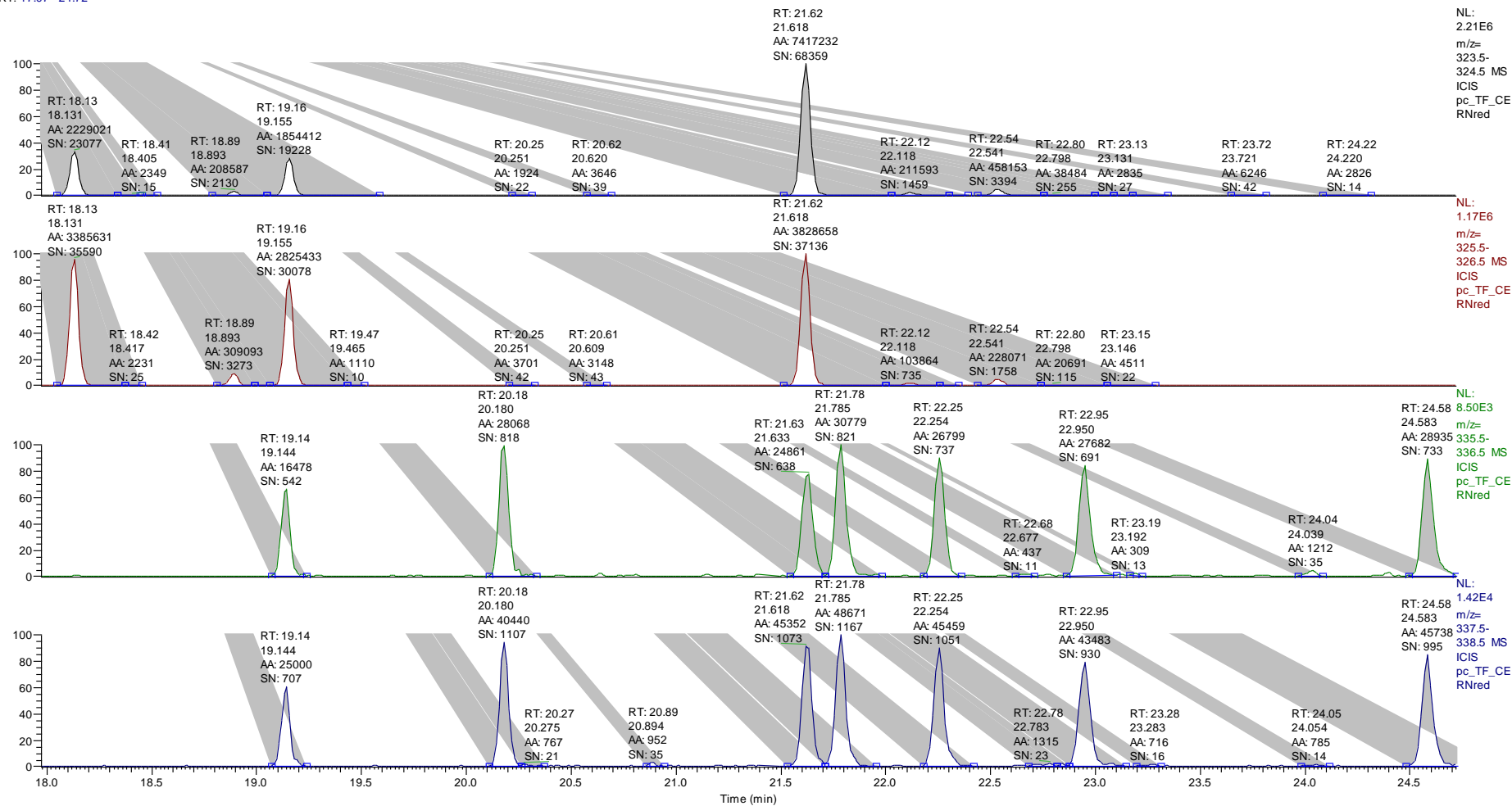
Extrakční standard (EX) PCB 52

Nástřikový standard (NS) PCB 70

EX PCB 81 EX PCB 77

Příloha 21: Chromatografický záznam analýzy Acid Black 210 pomocí GC/HRMS (b)

RT: 17.97 - 24.72



EX PCB 101

NS PCB 111

EX PCB 123 a 118

EX PCB 114

EX PCB 105

EX PCB 126