UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta Katedra analytické chemie

Analýza substituovaných fenolů a produktů jejich přeměn

Disertační práce

Autor: Studijní obor: Mgr. Eva Marková Analytická chemie

Vedoucí disertační práce: Konzultant:

doc. RNDr. Petr Barták, Ph. D. RNDr. Jana Skopalová, Ph.D.

Olomouc 2017

Prohlašuji, že jsem tuto disertační práci vypracovala samostatně pod vedením konzultantky, paní RNDr. Jany Skopalové, Ph.D. a vedoucího práce doc. RNDr. Petra Bartáka, Ph.D. Veškerá použitá literatura a informace, které jsem v práci použila, jsou uvedeny v seznamu literatury.

V Olomouci, dne

.....

Mgr. Eva Marková

Poděkování

Děkuji především své konzultantce RNDr. Janě Skopalové, Ph.D a svému školiteli doc. RNDr. Petru Bartákovi, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a vstřícnost při práci na tomto tématu. Děkuji také doc. RNDr. Petru Bednářovi, Ph.D. za pomoc při experimentech na přístroji UPLC-MS a všem, kteří se jakýmkoliv způsobem podíleli na vzniku této práce.

Souhrn

Disertační práce je zaměřena na studium elektrochemického chování vybraných bromovaných fenolů (2-bromfenol, 3-bromfenol, 4-bromfenol, 2,4,6-tribromfenol a pentabromfenol) a na identifikaci oxidačních produktů jejich elektrochemických přeměn vhodnými metodami.

Všechny studované bromfenoly poskytovaly v anodickém směru polarizace proudové signály v závislosti na experimentálních podmínkách (koncentrace bromfenolu, materiál elektrody, délka uhlíkového řetězce primárního alkoholu v roztoku). Pasivace elektrodového povrchu produkty elektrochemických reakcí byla nejsilnější u monobromfenolů a nejslabší u pentabromfenolu. Voltametrické experimenty s rotační diskovou elektrodou ukázaly, že první reakce přenosu náboje vede k tvorbě bromfenoxylových radikálů, které následně podléhají dimeraci. Další elektrochemickou oxidací vznikaly elektroaktivní oxidační produkty, které se v cyklické voltametrii projevily katodickými proudovými odezvami.

Pro identifikaci produktů elektrochemické oxidace bromovaných fenolů byly využity metody GC-MS, UPLC-MS a EC-MS, které pomohly odhalit několik monomerních a dimerních produktů. Na základě výsledků voltametrického studia a identifikovaných elektrolytických produktů byl navržen mechanismus elektrochemické oxidace vybraných bromovaných fenolů.

Summary

This thesis is focused on the study of electrochemical behaviour of selected brominated phenols (2-bromophenol, 3-bromophenol, 4-bromophenol, 2,4,6-tribromophenol and pentabromophenol) and on the identification of electrolytic oxidation products by suitable methods.

All studied bromophenols provided current signals at anodic potential scan. The anodic current signals were dependent on the experimental conditions (the concentration of bromophenols, electrode material and the carbon chain length of the primary alcohol in the solution). The passivation of electrode surface was the strongest in case of monobromophenols and the weakest in case of pentabromophenol. Voltammetric experiments with the rotating disk electrode have shown that the first reaction of charge transfer leads to the formation of bromophenoxy radicals which are subsequently subjected to dimerization. Electroactive oxidation products, which provided the cathodic current responses in cyclic voltammetry, were created by subsequent electrochemical oxidation.

The methods GC-MS, UPLC-MS and EC-MS were used for the identification of the electrochemical oxidation products. The mentioned techniques help to reveal several monomeric and dimeric oxidation products. Based on the results of voltammetric study and on the identified electrolytic products, mechanism of electrochemical oxidation of studied brominated phenols was proposed.

Obsah

1.	Úvod			
2.	Teoretická část		10	
	2.1 Cha	arakteristika a vlastnosti studovaných bromovaných fenolů	10	
	2.1.1	Charakteristika		
	2.1.2	Syntéza	12	
	2.1.3	Výskyt a využití	12	
	2.1.4	Toxicita	13	
2.2 Mechanismy oxidací halogenovaných fenolických sloučenin				
	2.2.1	Elektrochemická oxidace fenolických sloučenin	15	
	2.2.2	Elektrochemická oxidace halogenovaných fenolů		
	2.2.3	Fotochemická oxidace		
	2.2.4	Fentonova reakce		
	2.2.5	Oxidace chemickými činidly	27	
	2.2.6	Termální degradace		
	2.2.7	Biodegradace		
	2.3 Cha	arakteristika oxidačních produktů bromovaných fenolů		
	2.3.1	Polybromované difenylethery		
	2.3.2	Polybromované dibenzo-p-dioxiny/dibenzofurany		
	2.3.3	Polybromované bifenyly		
	2.4 Me	tody stanovení bromovaných fenolů a produktů jejich přeměn		
	2.4.1	Plynová chromatografie		
	2.4.2	Kapalinová chromatografie		
	2.4.3	Elektromigrační metody		
	2.4.4	Elektroanalytické metody		
3.	Cíl	e disertační práce	40	
4.	Experimentální část4			

	4.1 Pou	žité chemikálie	41
	4.2 Přís	trojové vybavení a pracovní postupy	42
	4.2.1	Voltametrická měření	42
	4.2.2	Elektrolýza za konstantního potenciálu	42
	4.2.3	Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí	43
	4.2.4	Ultraúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí	43
	4.2.5	Elektrochemická oxidace s on-line hmotnostní detekcí	44
5.	Výs	ledky a diskuse	46
	5.1 Elel	strochemické chování bromovaných fenolů	46
	5.1.1	Voltametrické chování monobromovaných fenolů a pentabromfenolu	46
	5.1.2	Elektrochemické chování 2,4,6-tribromfenolu	57
	5.2 Ana	lýza oxidačních produktů metodou GC-MS	59
	5.2.1	Produkty elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů analyzov metodou GC-MS	vané 60
	5.2.2	Produkty elektrochemické oxidace 2,4,6-tribromfenolu analyzované meto	odou
		GC-MS	62
	5.2.3	Mechanismus elektrochemické oxidace 2,4,6-tribromfenolu	70
	5.3 Ana	lýza oxidačních produktů metodou UPLC-MS	73
	5.3.1	Produkty elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů pentabromfenolu analyzované metodou UPLC-MS	a 73
	5.3.2	Produkty elektrochemické oxidace 2-bromfenolu	75
	5.3.3	Produkty elektrochemické oxidace 3-bromfenolu	77
	5.3.4	Produkty elektrochemické oxidace 4-bromfenolu	79
	5.3.5	Produkty elektrochemické oxidace pentabromfenolu	83
	5.4 Ana	lýza oxidačních produktů metodou EC-MS	86
	5.5 Mec	chanismus elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů abromfenolu	a 90
	5.6 Pore	ovnání nalezených oxidačních produktů s údaji dostupnými v literatuře	92

6.	Závěr	
Sezna	am zkratek	
Sezna	nam literatury	
Přílo	ohy	

1. Úvod

Bromované fenoly patří mezi chemické sloučeniny hojně se vyskytující jako polutanty v životním prostředí. Původ těchto látek je většinou antropogenního charakteru, ale nelze vyloučit ani jejich přírodní produkci. Jednoduché bromované fenoly nachází své uplatnění zejména v průmyslu. Používají se při výrobě tzv. zpomalovačů hoření a jsou přidávány do nejrůznějších materiálů. Prostřednictvím potravního řetězce, vzduchu, či vody mohou být bromovanými fenoly, či produkty jejich reakcí (polybromované difenylethery, dibenzodioxiny/furany, bifenyly) kontaminováni i samotní lidé, u nichž byly některé tyto látky detekovány v séru, plazmě, či mateřském mléce. Jelikož prokázaných informací o škodlivosti bromovaných fenolů, resp. jejich produktů na lidské zdraví není příliš mnoho, je více než vhodné se těmto kontaminantům dále podrobněji věnovat. Bromované deriváty fenolu se účastní celé řady degradačních procesů, ne u všech však je znám jejich mechanismus. Elektrochemické degradační procesy byly doposud studovány zejména u chlorovaných fenolů, informací, týkajících se elektrochemických přeměn bromovaných fenolů však existuje jen omezené množství.

Disertační práce je zaměřena na studium elektrochemického chování vybraných bromovaných fenolů (2-bromfenolu, 3-bromfenolu, 4-bromfenolu, 2,4,6-tribromfenolu a pentabromfenolu), na identifikaci produktů jejich elektrochemických přeměn a na navržení oxidačních mechanismů.

Při studiu elektrochemického chování bromovaných fenolů byly využity různé voltametrické techniky, jako je cyklická voltametrie se statickou i rotační diskovou elektrodou, či diferenčně pulsní voltametrie. Bromované fenoly byly podrobeny elektrolýze za konstantního potenciálu, vzniklé oxidační produkty byly separovány a následně identifikovány metodou plynové, resp. kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí.

Byly zkoumány různé faktory, které by mohly ovlivňovat degradační mechanismy vybraných bromfenolů. Studován byl vliv materiálu pracovní elektrody (skelný uhlík vs. platina), složení základního elektrolytu (směsi primárních alkoholů s vodnými pufry míchané v různých poměrech), doby elektrolýzy, či potenciálu oxidace.

Pro analýzu bromovaných fenolů bylo, kromě výše zmíněných technik, využito také on-line spojení elektrochemie s hmotnostní detekcí. Získaná data byla porovnána s výsledky off-line experimentů.

2. Teoretická část

2.1 Charakteristika a vlastnosti studovaných bromovaných fenolů

2.1.1 Charakteristika

Bromované fenoly (BP) patří mezi chemické sloučeniny, pro které je typický nepříjemný charakteristický zápach. Většina studovaných bromovaných fenolů se vyskytuje v pevném skupenství, nejčastěji ve formě prášku, resp. krystalů. Výjimku tvoří 2-bromfenol a 3-bromfenol, které mají charakter olejovité kapaliny. Barevnost bromovaných fenolů se pohybuje v rozmezí od bezbarvé, přes bílou, odstíny žluté až po hnědou barvu.

V tabulce I jsou shrnuty důležité fyzikálně-chemické vlastnosti studovaných bromovaných fenolů. Většina BP je dobře rozpustná v organických rozpouštědlech, jako je ethanol, diethylether, chloroform apod. Známá je špatná rozpustnost těchto látek ve vodě. Z tabulky vyplývá, že se zvyšujícím se počtem atomů bromu ve struktuře, tedy s rostoucí molekulovou hmotností, klesá rozpustnost BP a rovněž těkavost těchto látek.

Většina studovaných bromovaných fenolů jsou za normálních podmínek stabilní látky s teplotou varu v rozmezí 194,5-290 °C, výjimku tvoří pouze pentabromfenol, který sublimuje. Teplota tání a varu nabývá nejnižších hodnot v případě 2-bromfenolu. Větší těkavost 2-bromfenolu, v porovnání s ostatními BP je způsobena přítomností intramolekulární vodíkové vazby. Teplota tání BP se pohybuje v rozmezí 5-230 °C.

S rostoucím počtem bromů v molekule roste nejen teplota tání, ale také kyselost a lipofilita. Hodnoty záporných dekadických logaritmů disociačních konstant (pKa) vybraných BP se pohybují v rozsahu 4,4 až 9,34. Vyšší hodnoty přísluší monobromovaným fenolům, naopak nejnižší náleží pentabromfenolu.

Logaritmy rozdělovacích koeficientů v systému oktanol-voda (log K_{ow}) nabývají hodnot přibližně od 2 u monobromfenolů do 6 u pentabromfenolu. Látky, jejichž rozdělovací koeficienty vykazují vyšší hodnoty, jsou více lipofilní a mají vyšší tendenci k bioakumulaci.

Poslední důležitou vlastností bromovaných fenolů je jejich sorpce na organické složky půdy. Hodnoty logaritmu adsorpčního koeficientu K_{oc} se pohybují od 2,41 do 3,53. Nejvyšší hodnoty náleží pentabromfenolu, což naznačuje, že více bromované fenoly vykazují vyšší tendenci vázat se na organickou složku půdy či sedimentu.

$Log \; K_{oc}$	ı	ı	2,41 2,64 [1]	3,07 [1]	3,53 [1]
pK_{a}	8,45 [6]	9,0 [6, 7]	9,17 [1, 6] 9,34 [7]	6,08 [1] 6,8 [5, 6] 6,34 [7]	4,4 [1, 7] 4,62 [5]
${\rm Log}{ m K}_{{ m ow}}$	2,35 [1, 5] 2,44 [6]	2,63 [1] 2,47 [6] 2,23 [7]	2,62 [1] 2,48 [6] 2,58 [7]	4,2 [1, 6] 4,13 [5] 4,4 [7]	5,96 [1, 5] 5,22 [7]
Teplota varu [°C]	194,5 [2]	236,5 [2]	238 [2]	282-290 [2]	Sublimuje [1]
Teplota tání [°C]	5 [2]	32,5 [2]	66,4 [2]	95 [2]	230 [1]
Hustota [g.cm ⁻³]	1,4924 při 20°C [2]	1,662 [8]	1,840 při 15°C 1,5875 při 80°C [2]	2,545 při 20°C [2]	2,894 [11]
Index lomu n_D^{20}	1,5892 [2]	1,604 [8]	1,604 [9]	1,674 [10]	1,718 [11]
Rozpustnost*	S: voda - 21,799 g l ⁻¹ při 20 °C [3], chloroform R: ethanol, diethylether, alkalický hydroxid [4]	V: ethanol, diethylether R: chloroform a alkalický hydroxid S: tetrachlormethan [4]	V: ethanol, diethylether [4] R: methanol [2], glycerol [2], chloroform, voda - 17,4 g l ⁻¹ při 25 °C [1]	V: ethanol R: diethylether, chloroform, kys. octová, benzen, voda - 59, resp. 61 mg l ⁻¹ [1]	R: ethanol, benzen, kyselina octová S: diethylether N: voda [4]
Mr	173,009	173,009	173,009	330,801	488,59
Vzhled	Žlutá olejovitá kapalina [1]	Kapalina	Bezbarvé tetragonální krystaly [1, 2]	Bílý krystalický prášek [1]	Hnědý prášek
Struktura	H B B	H B	д Т	Br OH	Br Br Br Br

Tab. I: Tabulka fyzikálně-chemických vlastností studovaných bromovaných fenolů

11

2.1.2 Syntéza

Průmyslově nejvíce vyráběnými bromfenoly, u nichž je syntéza nejjednodušší, jsou *p*bromfenol a TBP. Metody přípravy *p*-bromfenolu vychází z reakce bromu s fenolem v prostředí sirouhlíku, v ledové kyselině octové, ve směsi kyseliny octové a sírové nebo diazotace *p*-bromanilínu a následné zahřívání s vodou [12].

2,4,6-Tribromfenol, který patří mezi nejvýznamnější bromované fenoly, vzniká rovněž bromací fenolu [12]. Syntéza probíhá v uzavřených reaktorech v nevodném prostředí, za vzniku taveniny, která se ochladí a poté je peletována pro snadnější manipulaci [1].

2,4,6-Tribromfenol lze využít také k výrobě dalších bromovaných fenolů. Např. pentabromfenol se vyrábí reakcí 2,4,6-tribromfenolu s bezvodým bromem v přítomnosti bromidu železitého jako katalyzátoru [1].

2.1.3 Výskyt a využití

Přírodní produkce

Bromované fenoly patří mezi chemické sloučeniny poměrně hojně se vyskytující v životním prostředí. Vedle bromfenolů antropogenního původu se v přírodě vyskytuje řada bromovaných organických sloučenin přirozeně produkovaných zejména mořskými organismy. Některé mono-, di- a tribromované fenoly jsou vylučovány červenými, zelenými a hnědými mořskými řasami [1, 13, 15], mnohoštětinatci a polostrunatci [1]. Nejvýznamnější z jednoduchých bromovaných fenolů, 2,4,6-tribromfenol, byl nalezen také v mechovcích či houbovcích [16], byl identifikován jako antiseptická složka chapadlovky (*Phoronopsis viridis*), podařilo se jej izolovat z žaludovce rodu *Balanoglossus carnosus* a z rodu *Glossobalanus sp.* a byl detekován metodou GC-MS v extraktu mnohoštětinatce *Lanice conchilega* [17]. Přírodní produkce bromovaných sloučenin mořskými živočichy bývá dávána do souvislosti s jejich obranou proti predátorům [18].

V mořském prostředí mohou být tyto látky biosyntetizovány v přítomnosti bromoperoxidasy, peroxidu vodíku a bromidu [15, 19]. Ve sladkovodních ekosystémech nebyla produkce bromovaných sloučenin pozorována [1].

Přestože některé bromované organické látky byly identifikovány také v pozemních ekosystémech, např. v některých rostlinách, houbách, lišejnících, hmyzu i v některých vyšších živočiších, informace o syntéze bromovaných fenolů těmito organismy nebyly dosud publikovány [1]. Je však známo, že bromované fenoly mohou vznikat biodegradací polutantů antropogenního původu jako je např. brombenzen a některé bromované difenylethery [1].

Antropogenní produkce

Jednoduché bromované fenoly se nejčastěji využívají při výrobě bromovaných zpomalovačů hoření, což jsou látky zvyšující odolnost materiálu vůči ohni. Nejčastěji se přidávají k materiálům, jako jsou plasty, dřevo, papír a textilie [20]. Nejvíce produkovaným bromovaným fenolem je 2,4,6-tribromfenol, jehož celosvětová výroba byla v roce 2001 odhadována na 9500 tun ročně [1]. Tato sloučenina není přímo využívána jako zpomalovač hoření, využívá se však jako reaktivní meziprodukt při jejich výrobě [1]. 2,4,6-Tribromfenol při reakci s vodným roztokem hydroxidu sodného poskytuje sůl, která se využívá jako biocidní přípravek k ochraně dřeva [1].

Mezi další využívané bromované fenoly patří také PBP, který se údajně používal jako chemický meziprodukt pro pentabromfenoxylové sloučeniny a své uplatnění našel jako moluskocid, tedy prostředek pro hubení měkkýšů [1].

V důsledku antropogenní produkce jsou bromované fenoly častými environmentálními polutanty. Do životního prostředí se dostávají tyto látky jednak jako vedlejší produkty, např. při zpracování potravin či úpravě vody a jednak masivním používáním bromovaných zpomalovačů hoření, bromovaných fungicidů, apod. BP mohou vznikat rovněž během chlorace přírodních a odpadních vod, obsahujících fenol a bromidové ionty [1]. Některé bromované fenoly (2-BP, TBP) byly identifikovány v emisích olovnatého benzínu [1]. TBP byl dále identifikován ve vodě, sedimentech [1] a odpadních kalech [21].

2.1.4 Toxicita

Informace o akutní toxicitě bromovaných fenolů, testované na savcích, jsou velmi omezené. Zkoumány byly zejména účinky 2-BP, TBP a PBP na krysách. Hodnoty LD₅₀ jsou shrnuty do tabulky II. Nejnižší hodnota LD₅₀ byla pozorována v případě PBP, zatímco u TBP byla hodnota nejvyšší. Otrava pentabromfenolem u krys se projevovala zrychleným dýcháním, třesem, občasnými křečemi a nakonec vedla ke smrti jedince. Nejvýraznější patologické změny byly pozorovány na plicích [1]. Příznaky toxicity v případě vysoké akutní orální expozice krys 2,4,6-tribromfenolem zahrnovaly např. hypoaktivitu, slinění, sníženou motoriku, slzení, křeče a smrt.

Sloučenina	LD ₅₀ (mg kg ⁻¹)
2-BP	652
TBP	1486 až >5000
PBP	250-300

Tab. II: Orální toxicita LD₅₀ testovaná na krysách pro 2-BP, TBP a PBP [1]

Jednoduché monobromované fenoly jsou považovány za významné metabolity brombenzenu, což je látka, u níž byla prokázána nefrotoxicita i hepatotoxicita. 2-Bromfenol může být považován také za mírně nefrotoxický, zejména při vysokých dávkách [1, 22]. V případě 4-BP nebyla prokázána nefrotoxicita [1] ani hepatotoxicita [23].

Některé bromované fenoly izolované z mořských řas mohou být považovány za potenciální anti-diabetická činidla, působící jednak jako inhibitory protein tyrosin fosfatasy nebo α -glukosidasy (enzym štěpící disacharidy a polysacharidy obsahující glukosu [24]). Např. TBP lze považovat za nový inhibitor α -glukosidasy. Hodnota inhibiční koncentrace IC₅₀ je 60,3 µmol l⁻¹ pro α -glukosidasu. Nicméně, ne všechny bromované fenoly mají pozitivní efekt na lidské zdraví [19].

Bylo zjištěno, že TBP inhibuje buněčnou proliferaci a vyvolává diferenciaci nervových buněk v lidském neuroblastomu. Narušuje buněčnou Ca²⁺ signalizaci v neuroendokrinních buňkách (PC12). Ve výsledcích testů *in vivo* se uvádí, že TBP ovlivňuje steroidogenní dráhy, reprodukci a vývoj embrya u dánia pruhovaného [19]. Kromě TBP jsou pro embrya dánia pruhovaného toxické rovněž další bromované fenoly (2-BP, 3-BP, 4-BP, 2,4-DBP a 2,6-DBP) a indoly (4-bromindol, 5-bromindol a 6-bromindol) [6, 19].

Lidé mohou být prostřednictvím potravního řetězce, vody a vzduchu často vystavováni velkému množství kontaminantů z životního prostředí, mezi které patří i bromované fenoly, a ty pak mohou být detekovány v lidském těle [25]. TBP a pentabromfenol byly detekovány v lidské plasmě [25] a mateřském mléce [26]. TBP byl dále nalezen v lidském séru [27] a tukové tkáni [28]. Přestože není k dispozici mnoho průkazných informací o škodlivém vlivu bromovaných fenolů na lidské zdraví, není na místě přítomnost těchto kontaminantů v lidském organismu zcela ignorovat.

2.2 Mechanismy oxidací halogenovaných fenolických sloučenin

2.2.1 Elektrochemická oxidace fenolických sloučenin

Elektrochemická oxidace fenolických sloučenin je velmi složitý proces (Schéma 1). Reakční cesta a výsledné produkty mohou být ovlivněny řadou faktorů, jako je pH prostředí, elektrodový potenciál, materiál elektrody, proudová hustota, použité rozpouštědlo, koncentrace reaktantů, počet atomů halogenu, jejich pozice na aromatickém kruhu, atd. [29-32]. Voltametrické studie vhodně substituovaných fenolátových iontů, měřených při vyšších hodnotách pH, ukazují na vratný jednoelektronovým proces vedoucí k tvorbě fenoxylových radikálů (V). Oxidace nedisociovaných fenolů, prováděná v dostatečně nízkém pH, kde je potlačena disociace kation-radikálu (II), vede k tvorbě fenoxoniových iontů (IV) [29].



Schéma 1: Elektrochemická oxidace fenolických sloučenin [29]

Elektrochemickou oxidací fenolických sloučenin vznikají prostřednictvím fenoxylových radikálů jednoduché *ortho-* nebo *para-*benzochinony, fenoxylové cyklohexadienony a bifenyly s vazbou C-C. Vytvořené dimery mohou snadno polymerovat za vzniku oligomerních, resp. polymerních aromatických sloučenin - mluvíme o tzv. elektropolymeraci [33-36].

Vhodně substituované fenoxylové radikály se stericky objemnými *ortho*-substituenty R a neobjemnými *para*-substituenty R' (methyl-, ethyl-, butyl-) existují v rovnováze s odpovídajícími *p*-fenoxycyklohexadienony (Schéma 2, VII). Výsledek je daleko komplikovanější v případě více objemných *para*-substituentů R' [29].



Schéma 2: Rovnováha mezi fenoxylovými radikály se stericky objemnými *ortho-* a neobjemnými *para-*substituenty a odpovídajícími *p*-fenoxycyklohexadienony [29]

Produkty odvozené od fenoxoniových iontů (IV) můžeme rozdělit do dvou skupin podle reakčního mechanismu (Schéma 3). Produkty mechanismu A vznikají ztrátou protonu z *ortho-* nebo *para-*substituentu na fenoxoniovém iontu. V případě substituentu -OH vznikají deriváty *ortho-*(VIII), resp. *para-*benzochinonu (IX). Je-li fenoxoniový ion substituovaný v *ortho-* nebo *para-* poloze alkylovou skupinou s alespoň jedním aktivním vodíkem, mohou vznikat vysoce reaktivní deriváty *ortho-* nebo *para-*alkylidencyklohexadienonu (X a XI) [29].

Mechanismus **B** vede ke vzniku substituovaných dienonů (XII a XIII), které vznikají reakcí fenoxoniového iontu s nukleofilem a následnou ztrátou protonu [29].



Schéma 3: Produkty odvozené od fenoxoniového iontu [29]

Řada studií, věnovaných elektrochemické oxidaci fenolických sloučenin, popisuje vznik polymerních produktů. Tyto produkty vytváří na povrchu pracovní elektrody kompaktní vrstvu, která způsobuje její pasivaci [30, 34, 35, 37-40]. Polymer vytvořený ze substituovaných fenolů vykazuje větší pasivaci než je tomu v případě nesubstituovaných fenolů [30].

Výraznější pasivace byla rovněž pozorována tehdy, byla-li elektrolýza provedena při nižší teplotě (25 a 40 °C). Na druhé straně, byla-li elektrolýza provedena při vyšší teplotě (60, 75 a 85 °C), byla pasivace elektrody redukována, resp. zcela potlačena [39].

Ke studiu elektrochemické oxidace fenolických sloučenin lze využít celou řadu pracovních elektrod vyrobených z různých materiálů, např. z platiny [30, 34, 37, 38], zlata [30, 38], borem dopovaného diamantu [36, 40], ze skelného uhlíku [39], z oxidů kovů IrO_2 , β -PbO₂, Ta/ β -PbO₂, Ti/ IrO_2 [37] nebo z titanu, kdy je elektroda navíc pokrytá vrstvou SnO₂-Sb, či RuO₂ [41]. Oxidace fenolu a jeho derivátů (*p*-nitrofenol, *p*-kresol, *p*-methoxyfenol) byla popsána v alkalickém [36, 37, 39] i kyselém prostředí [38, 40].

Kromě vodného prostředí byla oxidace prováděna v prostředí methanolu, který přispívá ke vzniku methoxylovaných monomerních i dimerních produktů [34, 42, 43]. Dále byla studována oxidace v prostředí ethanolu [34], 1-propanolu [34], či acetonitrilu [44].

Při elektrochemické oxidaci fenolu na Pt elektrodě, studované cyklickou voltametrií v 50% alkoholu (methanol, ethanol, 1-propanol) bylo pozorováno, že anodický oxidační pík nabývá nejvyšší hodnoty v prostředí methanolu a nejnižší v propanolu. Intenzita anodického píku se snižovala a potenciál posouval k pozitivnějším hodnotám s rostoucím počtem uhlíkových atomů alkoholu. Při opakovaných cyklech vzrůstala proudová odezva anodického píku fenolu v prostředí methanolu i ethanolu na rozdíl od 1-propanolu a čistě vodného prostředí, v nichž pík postupně klesal, až úplně vymizel. Toto chování ukázalo, že polymerní vrstva vytvořená elektropolymerací fenolu v prostředí 50% methanolu a ethanolu je elektroaktivní na rozdíl od pasivující polymerní vrstvy utvořené v čistě vodném prostředí nebo v prostředí 50% 1propanolu. Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu odhalily vznik velmi dobře uspořádané trojrozměrné struktury této elektroaktivní polymerní vrstvy v porovnání s téměř sférickými polymerními klastry elektrochemicky generovanými z fenolu ve vodném prostředí a pasivujícími elektrodový povrch. Byl navržen mechanismus, podle kterého se fenol před svou elektrooxidací v přítomnosti methanolu, resp. ethanolu deponuje na povrch Pt elektrody prostřednictvím reaktivní vrstvy s karbonylovými, karboxylovými a hydroxylovými skupinami, vytvořené konkurenční anodickou oxidací methanolu resp. ethanolu [34].

2.2.2 Elektrochemická oxidace halogenovaných fenolů

Velká většina článků o elektrochemické oxidaci halogenderivátů fenolu, resp. jejich elektropolymeraci, je věnována chlorfenolům. Při studiu elektrochemického chování těchto látek bylo voltametrickými technikami zjištěno, že obdobně, jako v případě fenolu, vytváří chlorfenoly během elektrochemické oxidace film na povrchu pracovní elektrody [45].

Při studiu voltametrických křivek bromovaných fenolů, měřených cyklickou voltametrií, byla úplná deaktivace elektrody pozorována již po prvním polarizačním cyklu v případě *para*-chlorovaných fenolů (4-chlorfenol, 3,4-dichlorfenol, 2,4-dichlorfenol a 2,4,5-trichlorfenol). Kdežto *ortho*-chlorovanané fenoly způsobovaly pouze částečnou deaktivaci. Částečná deaktivace byla tedy pozorována u 2-chlorfenolu, 3-chlorfenolu, 2,3-dichlorfenolu, 2,6-dichlorfenolu, 2,5-dichlorfenolu a také u 2,4,6-trichlorfenolu. Oproti tomu další *meta*-chlorované fenoly (3,5-dichlorfenol, 2,3,6-trichlorfenol a pentachlorfenol) vykazovaly nejmenší míru pasivace elektrodového povrchu [45]. Pasivace elektrody je tedy důsledkem vzniku filmu vysokomolekulárních látek, které vznikají anodickou oxidací fenolů [31, 45-49].

Impedanční měření však ukázalo, že polyfenolický film na povrchu pracovní elektrody je neporézní a nevodivý v případě 2-chlorfenolu a 2,4-dichlorfenolu, zatímco 2,4,6-trichlorfenol poskytuje porézní film umožňující další oxidaci 2,4,6-trichlorfenolu [48]. Míra deaktivace elektrodového povrchu závisí na struktuře a permeabilitě vytvořených polymerů, určené stupněm chlorace a isomerií monomerů, jejich reaktivitou a polymerační cestou [45, 50].

Při nízkých rychlostech scanu a/nebo vysoké koncentraci chlorovaných fenolů dochází k tvorbě oligomerního, resp. polymerního filmu na povrchu elektrody, který funguje jako izolátor. V opačném případě, při vysokých skenovacích rychlostech a/nebo nízkých koncentracích chlorovaných fenolů je film dostatečně pórovitý a tedy neblokuje zcela elektrodový povrch pro další přenos náboje [31].

Rychlost polymerace je také funkcí struktury chlorovaných fenolů a vzrůstá v pořadí pentachlorfenol < 2,4,6-trichlorfenol < 2,4-dichlorfenol < 4-chlorfenol < 2,6-dichlorfenol < 2-chlorfenol [31, 46, 51]. Adice substituentů je uskutečňována převážně do *ortho* a *para* pozice bez ohledu na povahu substituentů. Sterické bránění fenolické OH skupiny u *ortho* chlorfenolů upřednostňuje atak radikálu do *para* pozice. Na druhou stranu, delokalizace elektronů u fenoxylových radikálů vede k tvorbě polymerů prostřednictvím vazby na *ortho* a zejména *para* uhlíkovém atomu. Tyto efekty vysvětlují slabou reaktivitu všech chlorfenolů, které mají *para*-pozici blokovanou atomem chloru, např. pentachlorfenol, 2,4,6-trichlorfenol, 2,4-dichlorfenol [31, 51].

Menší reaktivita 2,6-dichlorfenolu ve srovnání s mono-substituovaným 2-chlorfenolem je pravděpodobně důsledkem větší stability a nižší reaktivity fenoxylového radikálu původní sloučeniny neboť zvýšení počtu *ortho* substituentů napomáhá delokalizaci elektronů a tím i zvýšení stability [31].

Bylo zjištěno, že také teplota má vliv na pasivaci elektrodového povrchu. V případě elektrochemické oxidace 4-chlorfenolu byla pasivace elektrody zpomalena, byla-li teplota vyšší než 45°C [52].

Elektrooxidace většiny fenolických sloučenin probíhá ve dvou krocích: tvorba radikálů z fenolátových aniontů s následným anion-radikálovým nebo radikál-radikálovým spojením za vzniku oligomerů, resp. polymerů [32, 47].

Chlorované oligomery (dimery a trimery) vznikají spojením chlorovaných fenolů prostřednictvím aktivní *ortho* a *para* pozice dvěma rozdílnými mechanismy: **A**) prostřednictvím vzniku fenoxycyklohexadienonu, kdy nedochází k eliminaci atomu Cl nebo **B**) nukleofilně-radikálovou substitucí ($S_{RN}1$) doprovázenou eliminací atomu chloru z *ortho* a/nebo *para* pozice obsazené Cl substituentem [32]. V případě *meta*-substituovaných fenolů, jako je 3-chlorfenol a 3,5-dichlorfenol, probíhá spojení bez eliminace atomu chloru.

Oproti tomu elektrooxidací/elektropolymerací 2,4,6-trichlorfenolu a pentachlorfenolu, které mají všechny *ortho* a *para* pozice obsazené atomy Cl, dochází k tvorbě dimerů a trimerů s eliminací Cl. *Para*-substituované chlorfenoly mají větší tendenci k reakcím S_{RN} 1 než *ortho*-substituované isomery [32, 51].

Elektrochemickou oxidací 2-chlorfenolu na borem dopované diamantové elektrodě ve vodném prostředí s NaCl, resp. Na₂SO₄ bylo zjištěno, že kromě chlorovaných intermediátů mohou vznikat také dechlorované meziprodukty (Schéma 4), kdy společně se ztrátou atomu Cl může docházet k hydroxylaci v *ortho* a/nebo *para* pozici [53].



Schéma 4: Navržené schéma tvorby meziproduktů a produktů získaných elektrochemickou oxidací 2chlorfenolu na borem dopované diamantové elektrodě ve vodném prostředí s NaCl, resp. Na₂SO₄[53] Povaha produktů elektropolymerace fenolů silně závisí na reakčním prostředí. Většina studií, které se věnují chlorovaným fenolickým sloučeninám, byla provedena v alkalickém prostředí [32, 45, 46, 48, 49, 51, 54, 55], kde převažuje tvorba oligomerů s vazbou C-O-C.

Přítomnost charakteristických vibrací etherové vazby a absence vibrací hydroxylových skupin byla zjištěna při studiu IČ spekter vytvořených polymerů [55].

Oxidace chlorfenolů v kyselém prostředí [47, 52] upřednostňuje tvorbu oligomerů spojených vazbou C-C [32]. Bylo zjištěno, že elektrochemická oxidace 4-chlorfenolu probíhala snadněji v alkalickém prostředí než v prostředí kyselém a neutrálním. Na druhé straně, deaktivace elektrodového povrchu byla snadněji indukována v neutrálním a kyselém prostředí než v prostředí alkalickém [52].

Ke studiu elektrochemického chování chlorovaných fenolů se využívá řada různých elektrodových materiálů. Nejčastěji je pro oxidaci využívaná platina [32, 45, 46, 51, 55], zlato [31] a různé formy uhlíku, např. skelný uhlík [47, 48, 52, 54]. Byly použity také různě modifikované elektrody, např. elektroda ze skelného uhlíku modifikovaná komplexy nikelnatých iontů s makrocyklickými fenylporfyrinovými a ftalocyaninovými ligandy [49], borem dopovaná diamantová elektroda [52, 56, 57], nebo platinová elektroda modifikovaná kompozitními polymery poly(3,4-ethylendioxy)thiofenu (PEDOT) a polystyrensulfonátu [50]. Přítomnost surfaktantu polystyrensulfonátu v polymerní struktuře PEDOT značně snížila zanášení elektrody produkty elektropolymerace chlorfenolů a zlepšila reprodukovatelnost jejich odezvy na modifikované elektrodě [50]. Elektrochemické chování chlorovaných fenolů bylo také studováno na anodě z PbO₂, SnO₂ a IrO₂ [58] nebo uhlíkové elektrodě modifikované suspenzí grafitového prášku a hlinitokřemičitanu pokrytého oxidy železa, které působí jako redoxní mediátory mezi chlorfenoly a uhlíkovou elektrodou [59].

Byla studována rovněž oxidace 2-chlorfenolu na elektrodě ze skelného uhlíku, jenž byl v jednom případě pokrytý vrstvou tvořenou směsí uhlíkových nanotrubiček a dicetylfosfátu [60], v jiném směsí acetylénových sazí a dihexadecylhydrogenfosfátu [61]. Bylo srovnáváno elektrochemické chování 2-chlorfenolu na modifikované a čisté elektrodě. Oba směsné modifikátory významně přispěly ke zvýšení oxidačního píku 2-chlorfenolu a snížení oxidačního přepětí v důsledku akumulačního a elektrokatalytického efektu. Toto zjištění naznačuje velký potenciál pro stanovení stopových množství 2-chlorfenolu [60, 61]. *Para*chlorované fenoly byly oxidovány na modifikovaných titanových elektrodách, např. na anodě Ti/IrO₂/SnO₂-Sb₂O₅, kdy IrO₂ v mezivrstvě významně prodlužoval životnost elektrody [62], na Ti elektrodě s využitím Sb dopantu Ti/Sb-SnO₂, menší množství dopantu vykazovalo vyšší účinnost v elektrolýze 4-chlorfenolu [63], nebo Ti/Ru_{0.3}M_{0.7}O₂ kde M = Ti neboSn [64]. Halogenované fenoly jsou počátečním materiálem pro syntézu polyoxyfenylenů oxidativním vytěsněním halogenu. Schopnost eliminovat halogenid z *ortho-* nebo *para-* pozice halogenovaného fenolu v průběhu elektropolymerizace klesá v pořadí I > Br > Cl > F [45]. Na rozdíl od chlorovaných fenolů existuje pouze omezené množství informací o elektrooxidaci a elektropolymerizaci bromovaných fenolů [65-68] (příloha č. 4-6).

Elektrolýzou 3-bromfenolu (0,1 mol l^{-1}) na platinové anodě v prostředí 0,1M NaClO₄ v acetonitrilu byl získán jako hlavní produkt dibromdibenzodioxin [65]. Studiu elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů, 2,4,6-tribromfenolu a pentabromfenolu ve vodně-alkoholových roztocích je věnována tato disertační práce.

2.2.3 Fotochemická oxidace

Fotochemickou oxidaci lze zařadit mezi tzv. pokročilé oxidační procesy, využívající generování hydroxylových radikálů (HO·), schopných degradovat organické sloučeniny. Pokročilé oxidační procesy nachází své uplatnění zejména při odbourávání různých nežádoucích polutantů z životního prostředí. Nejčastěji využívají reaktivní singletový kyslík, UV záření, ozon, peroxid vodíku, katalýzu kovy apod. Velmi často se při fotochemické oxidaci využívá kombinace UV/H₂O₂. Účinnost tohoto procesu je závislá na mnoha parametrech, např. pH, koncentraci H₂O₂, zářivém toku, geometrii reaktoru nebo struktuře studovaných polutantů. UV fotolýza byla využita např. při studiu různě substituovaných halogenovaných fenolů, jako je 2-fluorfenol, 2-chlorfenol, 2-bromfenol [69, 70], 2,4-dichlorfenol a 2,4,6-trichlorfenol [69].

Degradace mono-halogenovaných fenolů probíhala lépe ve slabě kyselém prostředí, zatímco v případě di- a tri-substituovaných fenolů byla degradace podporována ve více kyselém prostředí. Optimální koncentrace peroxidu vodíku klesala se zvyšujícím se počtem substituentů chlorfenolu. Typ a počet substituentů ovlivňoval také degradační rychlost, která klesala u monohalogenderivátů v pořadí 2-fluorfenol > 2-chlorfenol > 2-bromfenol a u chlorfenolů v pořadí 2-chlorfenol > 2,4-dichlorfenol > 2,4,6-trichlorfenol [69].

Různě substituované chlorované fenoly byly ve vodném prostředí podrobeny oxidaci prostřednictvím UV/H₂O₂ a O₃ metod. Analýza majoritních intermediátů ukázala na hydroxylaci chlorfenolů a také tvorbu dimerních produktů [71-73]. Např. při fotolýze halogenovaných fenolů ve vodně-alkalickém prostředí bylo zjištěno, že může docházet k různým reakcím, které závisí na pozici halogenového substituentu. Ve všech případech *p*-halogenovaných fenolů byl produkt XV (Schéma 5) majoritním produktem, ale produkt XIV byl izolován jenom v případě *p*-chlorfenolu.

Výtěžek oxidačního produktu XVIII vzrůstal v pořadí I < Br < Cl, zatímco výtěžky produktů XVI a XVII klesaly v pořadí I > Br > Cl. V případě *p*-chlorfenolů byl studován také vliv koncentrace hydroxidu a teploty.

Bylo zjištěno, že při vysoké koncentraci hydroxidu a vysoké teplotě dochází k urychlení reakce a je preferována tvorba XVI a XVIII [72].



Schéma 5: Reakční schéma fotolýzy halogenovaných fenolů ve vodném roztoku hydroxidu, resp. kyanidu [72]

Fotochemické reakce, kterým podléhá 4-chlorfenol v neutrálním vodném roztoku při laboratorní teplotě, závisí také na přítomnosti kyslíku, koncentraci chlorfenolu a pH. V kyselém a neutrálním prostředí, kde není 4-chlorfenol ionizován, a v přítomnosti kyslíku je hlavním fotolytickým produktem 1,4-benzochinon (XIX). 1,4-Hydrochinon (XX) a 2-hydroxy-1,4-benzochinon (XXI) byly pozorovány jako minoritní produkty. Mechanismus fotolýzy 4-chlorfenolu v prostředí vody zahrnuje tvorbu 4-oxocyklohexa-2,5-dienylidenu (XXII), následovanou vznikem 1,4-benzochinonu *O*-oxidu (XXIII) v případě, že je přítomen molekulární kyslík (Schéma 6A).

Mechanismus fotolytických reakcí 4-halogenfenolů ve vodném prostředí byl studován kontinuální fotolýzou a zábleskovou fotolýzou s nanosekundovým laserem. Produkt 4-oxocyklohexa-2,5-dienyliden je tvořen z halogenovaného fenolu ztrátou HX (Schéma 6**B**) a velmi ochotně reaguje s kyslíkem za vzniku 1,4-benzochinonu *O*-oxidu (XXIII), který poskytuje 1,4-benzochinon [74].



Schéma 6: Fotolytické produkty a mechanismus fotoreakce 4-chlorfenolu v neutrálním provzdušněném vodném roztoku při laboratorní teplotě (**A**) a mechanismus tvorby 4-oxocyklohexa-2,5-dienylidenu při fotoreakci 4-halogenfenolů (X = Cl, Br, I) v provzdušněném vodném roztoku při laboratorní teplotě (**B**) [74]

Při fotochemické oxidaci pentachlorfenolu UV zářením byly identifikovány oxidační produkty, kterými byly chlorované dibenzo-p-dioxiny, resp. monocyklické produkty, např. trichlorfenol, tetrachlorfenol apod. [75-76].

Hlavní produkt fotooxidace 2-bromfenolu byl identifikován jako 4-brom-2,5cyklohexadienon [77]. Intramolekulární vodíková vazba u 2-bromfenolu je slabší než u 2chlorfenolu, což má za následek, že atom bromu disociovaný z 2-bromfenolu jen stěží vytrhne atom vodíku ze skupiny OH a vytvoří HBr. Atom bromu atakuje pozici *para* současně s migrací atomu vodíku OH skupiny do polohy 2 za vzniku 4-brom-2,5-cyklohexadienonu (XXIV, Schéma 7) [77].



Schéma 7: Znázornění migrace atomu bromu a vodíku za vzniku 4-brom-2,5-cyklohexadienonu [77]

2.2.4 Fentonova reakce

Fentonova reakce je další technikou patřící do rozsáhlé skupiny pokročilých oxidačních procesů. Klasická Fentonova reakce popisuje aktivaci peroxidu vodíku železnatými ionty, kdy dochází ke vzniku hydroxylových radikálů. V přítomnosti organického substrátu (R-H) reaguje OH \cdot radikál s vodíkovým atomem a následně vzniká organický radikál (R \cdot), který podléhá řadě transformací vedoucích k tvorbě oxidačních produktů:

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + OH^-$$

RH + OH[·] → R[·] + H₂O
R[·] + Fe³⁺ → R⁺ + Fe²⁺
Fe²⁺ + OH[·] → Fe³⁺ + OH⁻

Fentonova reakce existuje v různých variacích jako klasická chemická Fentonova reakce, fotochemická Fentonova reakce, elektrochemická Fentonova reakce, apod. [78, 79].

Byla popsána Fentonova oxidace chlorovaných fenolů [80, 81] a s tím spojená tvorba chlorovaných bifenylů, difenyl etherů a benzofuranů [81]. Homogenní katalytická Fentonova oxidace 2-chlorfenolu v prostředí peroxidu vodíku a Fe²⁺ poskytuje chlorovaný dihydroxycyklohexadienylový radikál. Nepárový elektron tohoto radikálu rezonuje v různých polohách (Schéma 8**A**, XXV-XXVIII). Obrázek 8**B** popisuje příklady možných kombinací stabilizovaných radikálů (XXV-XXVIII) poskytujících intermediáty difenyletherového typu s vazbou C-O-C nebo bifenyly s vazbou C-C, jejichž vznik může být doprovázen eliminací chloru [81].



Schéma 8: Tvorba stabilních radikálů 2-chlorfenolu Fentonovou reakcí v přítomnosti peroxidu vodíku a Fe²⁺ (**A**), aromatické intermediáty vzniklé kombinací různých stabilních radikálů 2-chlorfenolu (**B**) [81]

2.2.5 Oxidace chemickými činidly

K oxidaci fenolických sloučenin můžou být využita také různá chemická činidla. Nejčastěji používanými činidly k oxidaci bromovaných fenolů jsou manganistan draselný [82] a oxid manganičitý [83]. Manganistan draselný byl použit k oxidaci monobromovaných, resp. dibromovaných fenolů vyskytujících se v životním prostředí. Výsledkem této oxidace byla tvorba hydroxylovaných polybromovaných difenyletherů (OH-PBDE) a hydroxylovaných polybromovaných bifenylů (OH-PBB). Schéma 9 znázorňuje vznik radikálů 4-bromfenolu s jejich následným spojením, za vzniku polymerních produktů v neutrálním pH [82, 44]. Spojení dvou radikálů *ortho-ortho* C-C vazbou poskytlo dibromovaný dihydroxylovaný bifenyl (XXIX). Tento produkt byl eluován při separaci metodou HPLC na reverzních fázích rychleji než tomu bylo u isomerního produktu dibromovaného fenoxyfenolu s *ortho* C-O-C vazbou (XXX) [82].



Schéma 9: Mezomerní struktury radikálu 4-bromfenolu a tvorba dimerních produktů při reakci 4-BP s manganistanem draselným v neutrálním pH [82]

Hydroxylované polybromované difenylethery vznikaly také při oxidaci bromovaných fenolů oxidem manganičitým (Schéma 10) [83]. Oxidace fenolických sloučenin oxidem manganičitým zahrnuje několik hlavních procesů: tvorbu komplexu mezi organickou sloučeninou a povrchem oxidu, přenos elektronů z organické sloučeniny na oxid a uvolnění fenoxylového radikálu a redukovaných Mn^{II}. Oxidace bromovaných fenolů začíná přenosem elektronů na MnO₂ za vzniku bromfenoxylových radikálů. Radikály se mohou následně spojovat a podléhat další oxidaci oxidem manganičitým. Spojování mesomerních forem radikálů bývá nejčastěji uskutečňováno vazbou C-C a C-O-C.

V případě 4-bromfenolu dochází ke spojení radikálů vazbou C-O-C následovanému vznikem dibromovaného hydroxylovaného difenyletheru (I-i, XXXI), tento produkt byl získán také oxidací 4-BP s manganistanem draselným (viz. Schéma 9). Radikál 4-BP může podléhat další oxidaci s MnO₂, vedoucí až na hydrochinon (I-ii, XXXII). Reakce radikálů 4-bromfenolu a hydrochinonu má za následek vznik bromovaného dihydroxylovaného difenyletheru (I-iii, XXXII).

Reakce radikálů TBP se může lišit v důsledku obsazení *ortho* a *para* pozice atomy bromu. Přítomnost těchto substituentů naznačuje upřednostnění tvorby produktů s vazbou C-O-C. Spojením radikálů TBP s následnou eliminací bromu dochází ke vzniku polybromovaného hydroxydifenyletheru (II-i, XXXIV). Kromě toho, obdobným způsobem jako u 4-BP, vzniká 2,5-dibromhydrochinon (II-ii, XXXV). Spojení radikálu TBP a 2,5-dibromhydrochinonu vedlo ke vzniku polybromovaného dihydroxydifenyletheru (II-iii, XXXVI) [83].

Reakce radikálů 4-bromfenolu:



Reakce radikálů 2,4,6-tribromfenolu:



Schéma 10: Vznik bromovaných hydroxydifenyletherů a hydrochinonů při reakcích 4-bromfenolu a 2,4,6-tribromfenolu s oxidem manganičitým [83]

2.2.6 Termální degradace

Přímé pyrolýze při vysoké teplotě byly podrobeny monobromované fenoly (*o*-, *m*- a *p*pozice). Mezi hlavní identifikované produkty pyrolýzy patří zejména dioxiny a furany. Poměr pyrolytických produktů závisí na pozici atomů bromu na fenolovém kruhu, vzhledem k symetrii a sterickému bránění. Dioxiny mohou vznikat spojením fenoxylových radikálů a eliminací atomu Br z *ortho*- pozice na fenolovém kruhu. Tvorba furanů může být zase vysvětlena C-C vazbou v nesubstituovaných *ortho*- pozicích fenoxylových radikálů vedoucí ke vzniku *o,o*'-dihydroxydifenylových intermediátů a následnou eliminací vody [84]. Teplota pyrolýzy má podstatný vliv na množství vytvořených dimerních produktů, ale má pouze malý vliv na typ pyrolytických produktů. Při 200 °C nebyla termální degradace bromfenolů pozorována. Při teplotě 300 °C byla degradace 2-bromfenolu rychlejší než tomu bylo v případě 3- a 4-bromfenolu, protože 2-bromfenol má poměrně nízký bod varu a vysokou reaktivitu *ortho*-bromu. Všechny bromované fenoly byly úplně degradovány a přeměněny v pyrolytické produkty při teplotách 400 °C a více [84].

Ortho-bromované fenoly produkovaly jako hlavní pyrolytické produkty zejména dioxiny (Schéma 11) [84, 85], zatímco *meta*- (Schéma 12) a *para*-bromfenoly (Schéma 13) produkovaly hlavně furany [84, 85]. Dioxiny nebyly v případě *m*-bromfenolů pozorovány, avšak *p*-bromfenoly produkovaly dioxiny jako minoritní produkty [84]. Trimerní produkty byly vytvářeny kondenzací dimerních produktů a bromfenolů, zejména během pyrolýzy *m*- a *p*-bromfenolů. V případě *ortho*-bromovaných fenolů nebyly trimerní produkty, např. deriváty benzobisbenzofuranu pozorovány.



Schéma 11: Reakční cesty pyrolytických produktů získaných pyrolýzou 2-bromfenolu [84]



Schéma 12: Reakční cesty pyrolytických produktů získaných pyrolýzou 3-bromfenolu [84]



Schéma 13: Reakční cesty pyrolytických produktů získaných pyrolýzou 4-bromfenolu [84]

Při pyrolýze 2,4,6-tribromfenolu při 600 °C po dobu 1 hodiny byly metodou GC-MS identifikovány zejména dioxiny, konkrétně di-, tri- a tetrabromdibenzodioxin [85]. Mechanismus vzniku majoritního pyrolytického produktu tetrabromdibenzodioxinu (XXXVII), jehož vznik je doprovázen ztrátou dvou jednotek HBr, je zobrazen ve Schématu 14 [85].



Schéma 14: Návrh reakční cesty tetrabromdibenzodioxinu [85]

V homogenní plynné fázi byly termálně degradovány bromované fenoly [86, 87], resp. směs 2-bromfenolu a 2-chlorfenolu v poměru 50:50 za vzniku chlorem [88] a/nebo bromem substituovaných dibenzo-*p*-dioxinů a dibenzofuranů [86-88].

2.2.7 Biodegradace

Biodegradace je proces, kdy jsou halogenované polutanty degradovány působením biologických činitelů. Biodegradace byla studována u 2,4,6-tribromfenolu prostřednictvím bakterie *Ochrobactrum sp.* kmene TB01. Jako metabolity TBP byly detekovány 2,4-dibromfenol a 2-bromfenol [89].

Ve Schématu 15A je navržený mechanismus degradace 2,4,6-tribromfenolu bakterií *Ochrobactrum* (kmen TB01). 2,4,6-TBP byl přeměněn sekvenční reduktivní debromací přes 2,4-dibromfenol a 2-bromfenol až na fenol, který je metabolizován aerobní degradační cestou. Schéma 15B znázorňuje mechanismus redukční debromace 2,4,6-tribromfenolu. Uvolnění protonu z 2,4,6-TBP poskytuje meziprodukt 1. Následně je bromidový ion nahrazen vodíkem z NAD(P)H, což vede ke vzniku meziproduktu 2 a uvolnění HBr. Z meziproduktu 2 poté vzniká 2,4-dibromfenol [89].



B



Schéma 15: Návrh redukční debromace 2,4,6-tribromfenolu prostřednictvím bakterie *Ochrobactrum*. [89]

Některé saprofytické houby jako jsou *Trametes versicolor* a *Agaricus augustus* izolované z chilských lesů jsou schopné snižovat koncentraci TBP. *Agaricus augustus* byl navíc schopný biotransformovat TBP na tribromanisol [90]. Biotransformace TBP na 2,4,6-tribromanisol byla pozorována také v rybách, konkrétně byl tento proces sledován u dánia pruhovaného [91]. Popsána byla rovněž tvorba hydroxylovaných PBDE z některých jednoduchých bromovaných fenolů (2,4-dibromfenol a 2,4,6-tribromfenol). Reakce probíhala v přítomnosti Br⁻ a H₂O₂ a byla katalyzována bromperoxidasou, izolovanou z červené mořské řasy *Corallina officinalis* [92].

2.3 Charakteristika oxidačních produktů bromovaných fenolů

2.3.1 Polybromované difenylethery



Obr. 1: Struktura PBDE

Polybromované difenylethery (PBDE, Obr. 1) jsou chemické sloučeniny, jejichž teplota varu se pohybuje mezi 310 až 425 °C a vykazují nízkou tenzi par při pokojové teplotě. Jsou lipofilní a jejich rozpustnost ve vodě je nízká, zejména u více bromovaných sloučenin [93]. PBDE jsou hojně využívány jako zpomalovače hoření. Přidávají se do plastů, elektronických zařízení, stavebních materiálů či textilií. Komerční produkty obsahují převážně penta-, okta- a dekabromované difenylethery a světová produkce PBDE tvoří okolo 40,000 tun ročně. PBDE byly jako kontaminanty detekovány v odpadních kalech, ve vodě a sedimentech [93]. Nalezeny byly rovněž v mořských plodech, zejména v rybách [94, 95].

Hydroxylované a methoxylované PBDE jsou metabolity průmyslově vyráběných PBDE, mohou se však vyskytovat rovněž jako přírodní produkty. Byly nalezeny např. v modrých mušlích z Baltického moře [96, 97], v červené řase (*Ceramium tenuicorne*) a cyanobakterii [97]. OH-PBDE a MeO-PBDE detekované v červené řase a cyanobakterii jsou pravděpodobně přírodního charakteru [97]. Polybromované difenylethery byly detekovány v mateřském mléce [98], lidské plasmě [99] a tkáních [100].

2.3.2 Polybromované dibenzo-p-dioxiny/dibenzofurany



Obr. 2: Struktura PBDD



Polybromované dibenzo-*p*-dioxiny (PBDD, Obr. 2) a polybromované dibenzofurany (PBDF, Obr. 3) jsou chemické látky, které se ve srovnání se svými chlorovanými homology vyznačují vyšší molekulovou hmotností, vyšší teplotou varu, nižší tenzí par a menší rozpustností ve vodě. Jsou vysoce lipofilní a nabývají vyšších hodnot log K_{ow} [101, 102].

PBDD/F nejsou průmyslově vyráběny, ale často vznikají jako vedlejší produkty při výrobě bromovaných zpomalovačů hoření nebo při hoření materiálů obsahujících tyto zpomalovače. PBDD/F byly detekovány v mořských rybách, mušlích [101], měkkýších [103], také v lidské tkáni [101, 104] a mateřském mléce [101]. Ačkoliv není známa přírodní produkce PBDD, některé deriváty PBDD byly identifikovány v řasách [101].

Počet dostupných studií, zaměřených na toxicitu PBDD, resp. PBDF je poměrně limitován, předpokládá se však podobný toxický profil jako u jejich chlorovaných homologů [102]. Bylo zjištěno, že toxické účinky (např. teratogeneze, efekt na reprodukci, immunotoxicita, pokles thyroidního hormonu thyroxinu (T₄) a vitamínu A, zvýšení jaterních porfyrinů apod.), které byly pozorovány u polychlorovaných dibenzo-*p*-dioxinů/dibenzofuranů, mají rovněž PBDD/PBDF [101].

2.3.3 Polybromované bifenyly



Obr. 4: Struktura PBB

Polybromované bifenyly (PBB, Obr. 4) vznikají Friedel-Craftsovou reakcí, kdy reaguje bifenyl s bromem v přítomnosti organického rozpouštědla. Jako katalyzátor se v reakci využívá chlorid hlinitý, bromid hlinitý nebo železo.

PBB vznikají náhradou vodíku za atom bromu v molekule bifenylu. PBB mají nízkou tenzi par, jsou téměř nerozpustné ve vodě a jejich rozpustnost klesá s rostoucím počtem atomů bromu v molekule. Většina PBB má log $K_{ow} > 7$ a jsou tedy považovány za lipofilní sloučeniny [105].

PBB byly průmyslově vyráběny pro komerční využití jako zpomalovače hoření přidávané např. do domácích elektrických spotřebičů, textilií, počítačových skříní. Zahrnovaly zejména hexa-, okta-, nona- a dekabrombifenyl [105].

Polybromované bifenyly byly detekovány ve vzorcích půdy, sedimentu [106], odpadních kalech [107]. Byly detekovány v lidské tukové tkáni [108, 109], krevní plasmě a mateřském mléce [109].

PBB a PBDE patří na seznam nebezpečných látek podléhajících omezenému používání v elektrických a elektronických zařízeních podle Směrnice Evropského parlamentu a Rady 2011/65/EU ze dne 8. června 2011. Legislativa stanovuje maximální hodnotu hmotnostní koncentrace těchto látek v konečných výrobcích na 0,1 %.
2.4 Metody stanovení bromovaných fenolů a produktů jejich přeměn

2.4.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je jedna z nejčastěji užívaných metod pro stanovení jednoduchých bromovaných fenolů [1, 15, 25-28, 110] a složitějších polybromovaných difenyletherů, bifenylů, dibenzo-*p*-dioxinů a dibenzofuranů [26-28, 83, 84, 95, 111-115]. Bromované fenolické sloučeniny byly stanovovány ve vodných vzorcích [1, 116], odpadních vodách [1], sedimentu [1], půdě [114], vínu [1] a různých potravinách [111]. Výjimku netvořily ani rostlinné vzorky [116], mořské organismy, např. mořské řasy [15], mořské ryby, měkkýši, korýši [110] a biologické vzorky, jako je lidské sérum, tkáně, mateřské mléko [25-28, 112, 113].

Plynová chromatografie se používá nejčastěji ve spojení s hmotnostní spektrometrií, resp. tandemovou hmotnostní spektrometrií MS/MS [83] nebo s detektorem elektronového záchytu [116].

Zpracování vzorků před samotnou analýzou spočívalo většinou v jejich homogenizaci [15, 26, 28, 110-112, 114-116], okyselení (např. kyselinou sírovou) [15, 110] a extrakci. Nejčastěji využívána byla extrakce pevnou fází [25-27, 83, 113], dále extrakce z pevné fáze do kapaliny (Soxhletův extraktor) [111, 112, 114], destilační extrakce směsí pentan:diethylether [15, 110], resp. kombinace disperzní mikroextrakce kapalina-kapalina a extrakce pevnou fází [116].

V některých případech byly vzorky podrobeny derivatizaci. Derivatizačním činidlem byl např. diazomethan [25-27] nebo *N*,*O*-bis-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid (BSTFA) [28].

Hmotnostní detektor ve většině případů využíval ionizaci elektronem s energií 70 eV [15, 83, 84, 111, 112, 114, 115], chemickou ionizaci [25-27] nebo elektronový záchyt [1, 25-27] a byl provozován v módu selektivního skenování iontů při určitém m/z (SIM) [1, 28, 112, 115] nebo "full-scan" módu [83]. V hmotnostním detektoru byl jako analyzátor využíván např. trojitý kvadrupól [83], či iontová past [114].

Popsána byla také detekce bromovaných fenolických sloučenin pomocí dvoudimenzionální plynové chromatografie (GCxGC) spojené s hmotnostní spektrometrií. Při měření byl použit průletový analyzátor TOF a stanovení bylo provedeno metodou isotopového zřeďování [113].

2.4.2 Kapalinová chromatografie

Další separační technikou, vhodnou ke stanovení bromovaných fenolických sloučenin [82, 117-120], resp. jejich hydroxylových a methoxylových derivátů [82, 121] je spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií, případně s tandemovou hmotnostní spektrometrií [121, 122]. Popsána byla i technika kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem [119]. Metody byly využívány např. pro identifikaci polybromovaných difenyletherů a bifenylů, které vznikají při oxidaci jednoduchých BP vyskytujících se ve vodném prostředí [82], pro stanovení zpomalovačů hoření v mořských sedimentech [122], ve vodných vzorcích [117, 120], v mořských organismech [118, 121], či polymerech [119].

Hmotnostní spektrometrie často využívá, pro stanovení bromovaných fenolů, ionizaci elektrosprejem [82, 122] nebo chemickou ionizaci za atmosférického tlaku - APCI [121, 122] a jako analyzátor se nejvíce uplatňuje trojitý kvadrupól [82, 122]. Kromě hmotnostní detekce lze využít detektor diodového pole (DAD) [117, 119], či UV-VIS detektor [118].

Vzorky mohou být před samotnou analýzou extrahovány např. tlakovou kapalinovou extrakcí s *n*-hexanem:dichlormethanem (1:4, v/v) [122], disperzní mikroextrakcí kapalina-kapalina [117, 120], destilační extrakcí směsí pentan:diethylether [118] nebo ultrazvukovou extrakcí toluenem [119]. Separace probíhá ve většině případů na reverzních fázích, jako mobilní fáze byla použita např. směs acetonitril:methanol [122], methanol:voda [120], methanol:fosfátový pufr (pH 7) [117], voda:acetonitril [118, 121], či směs methanol:acetonitril:voda [119].

2.4.3 Elektromigrační metody

Výjimkou při detekci bromovaných fenolických sloučenin nejsou ani elektromigrační metody. S využitím izotachoforézy a kapilární zónové elektroforézy lze stanovit bromované fenoly např. ve vzorcích vodovodní a říční vody. Vedoucí elektrolyt byl, v tomto případě, tvořen směsí HCl a ammediolu o pH 9,1, koncový elektrolyt tvořil β-alanin a hydroxid sodný o pH 10,05 [123].

Pro stanovení bromovaných fenolů v mořských plodech byla využita kapilární zónová elektroforéza s UV detektorem. Aplikované napětí činilo 30 kV. Vzorky byly před analýzou homogenizovány, okyseleny kyselinou sírovou a extrahovány diethyletherem [124].

2.4.4 Elektroanalytické metody

Byla navržena metoda pro stanovení bromovaných fenolů prostřednictvím vysokoúčinné kapalinové chromatografie a elektrochemické detekce. Použitá mobilní fáze obsahovala fosfátový pufr (pH 3,5), acetonitril a methanol. Elektrochemická detekce probíhala v amperometrické cele s uhlíkovým vláknem jako pracovní elektrodou a argentchloridovou referentní elektrodou (Ag/AgCl). Pracovní potenciál byl + 1450 mV [125]. Informací, které by se týkaly stanovení bromovaných fenolů s využitím elektrochemické detekce, je velmi málo. Daleko více prací týkajících se elektrochemické detekce halogenovaných fenolických sloučenin, je zaměřeno na stanovení chlorovaných fenolů. Chlorované fenolické sloučeniny byly stanovovány zejména ve vzorcích vody [126, 127, 57, 130]. Elektrochemická detekce bývá využívaná především ve spojení s kapalinovou [125-128], resp. iontovou chromatografií [129]. V amperometrických celách se běžně používá pracovní elektroda ze skelného uhlíku [125-130] a argentchloridová referentní elektroda (Ag/AgCl) [126, 129], případně kalomelová referentní elektroda [57, 130]. Aplikovaný potenciál nabýval nejčastěji +1100 mV [126, 127]. Mobilní fáze v kapalinové chromatografii byla tvořena např. směsí kyselina sírová: acetonitril [129], octanový pufr: acetonitril: methanol [126, 127], methanol:voda okyselená kyselinou fosforečnou [57], acetonitril:fosfátový pufr [128].

Vodné vzorky byly v některých případech podrobeny extrakci pevnou fází [126, 127], nebo extrakci využívající techniku zakotvené kapalinové membrány [128].

3. Cíle disertační práce

Cílem disertační práce bylo studovat oxidační produkty elektrochemických přeměn vybraných bromovaných fenolů a navrhnout jejich oxidační mechanismus. Práce na této disertaci zahrnovala následující úkoly:

- studovat elektrochemické chování vybraných bromovaných fenolů (2-bromfenol, 3bromfenol, 4-bromfenol, 2,4,6-tribromfenol a pentabromfenol) s využitím vhodných voltametrických technik a elektrod z různých materiálů
- provést elektrolýzu bromovaných fenolů za konstantního potenciálu v prostředí alkohol:voda na velkoplošné síťkové platinové elektrodě a pomocí vhodné analytické metody (GC-MS, HPLC-MS) separovat a identifikovat oxidační produkty
- sledovat vliv použitého rozpouštědla (řady nižších alkoholů od methanolu po butanol) na oxidační produkty
- vyzkoušet online spojení elektrochemické oxidace a hmotnostní spektrometrie (EC-MS) na bromovaných fenolech a porovnat získaná data s výsledky off-line experimentů
- studovat hmotnostní spektra oxidačních produktů a navrhnout jejich pravděpodobnou strukturu
- na základě získaných poznatků navrhnout mechanismus elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů, tribromfenolu a pentabromfenolu

4. Experimentální část

4.1 Použité chemikálie

Roztoky bromovaných fenolů (vše o $c = 2 \cdot 10^{-2} \text{ mol } 1^{-1}$) byly připraveny rozpuštěním příslušné navážky 2-bromfenolu (98%, Sigma-Aldrich), 3-bromfenolu (98%, Sigma-Aldrich), 4-bromfenolu (\geq 98%, Sigma-Aldrich), pentabromfenolu (96%, Sigma-Aldrich) a 2,3,5,6tetrabrom-1,4-benzochinonu (Sigma-Aldrich) v methanolu (LiChrosolv pro HPLC, Merck, Německo). Zásobní roztok 2,4,6-tribromfenolu (99%, Sigma-Aldrich) o koncentraci $2 \cdot 10^{-2}$ mol 1^{-1} byl připraven v methanolu (p.a., Penta, Česká republika). Dalšími použitými alkoholy byly ethanol (p.a., Sigma-Aldrich), 1-propanol (\geq 99.9%, Sigma-Aldrich) a 1-butanol (p.a., Lachema, Česká republika).

Brittonův-Robinsonův pufr (B.-R.) byl připraven z kyseliny trihydrogenfosforečné, octové a trihvdrogenborité (vše p.a., Lachema, Česká republika). Požadované pH B.-R. pufru bylo nastaveno roztokem hydroxidu sodného o koncentraci 0,2 mol l⁻¹ (p.a., Lach-Ner, Česká republika). Iontová síla pufru byla upravena chloristanem sodným (p.a., Sigma-Aldrich). Kyselina sírová (p.a., 96%, Penta, Česká republika) o koncentraci 0,5 mol l⁻¹ byla použita pro elektrochemickou aktivaci povrchu platinové elektrody. Mravenčanový pufr byl připraven z 0,1 mol l⁻¹ kyseliny mravenčí (89-91%, Merck, Česká republika) a na požadované pH upraven amoniakem o koncentraci 0,2 mol l⁻¹ (25 % p.a., Lach-Ner, Česká republika). Extrakce elektrolyzovaných roztoků pro následnou GC-MS analýzu byla provedena octanem ethylnatým (p.a., Penta, Česká republika). Deionizovaná voda získaná z deionizační stanice Millipore Direct Q UV (Millipore S.A.S., Molsheim, Francie) byla použita pro přípravu roztoků elektrolytů pro elektrochemické experimenty. Roztoky pufrů pro EC-MS a mobilní fáze pro UPLC-MS analýzu byly připraveny z ultračisté vody (Merck Millipore, Darmstadt, Německo). Pro přípravu mobilní fáze pro UPLC chromatografickou separaci byla dále použita kyselina mravenčí a acetonitril (HiPerSolv CHROMANORM, HPLC čistota, VWR, Česká republika).

4.2 Přístrojové vybavení a pracovní postupy

4.2.1 Voltametrická měření

Voltametrická měření byla prováděna na potenciostatu Autolab PGSTAT128N (Metrohm, Utrecht, Nizozemsko) ve tří-elektrodovém zapojení s pracovní elektrodou ze skelného uhlíku (2,0 mm průměr disku, Metrohm nebo 3,0 mm průměr disku, Bioanalytical Systems, West Lafayette, USA) ve statickém nebo rotačním módu, resp. z platiny (1,6 mm průměr disku, West LAfayette, USA), nasycenou kalomelovou referentní elektrodou (SCE) a platinovou pomocnou elektrodou.

Povrch pracovní elektrody ze skelného uhlíku byl před každým měřením čištěn na tkanině z mikrovlákna (Buehler, Lake Bluff, USA) s vodnou suspenzí Al₂O₃ (velikost částic < 50 nm, Sigma-Aldrich).

Povrch platinové diskové elektrody byl aktivován před každým měřením elektrochemicky v $0,5 \text{ mol } l^{-1} \text{ H}_2\text{SO}_4 \text{ v potenciálovém rozsahu od } -0,2 \text{ do } 1,2 \text{ V}.$

Pro měření pH roztoků byl použit pH-metr inoLab720 pH s kombinovanou skleněnou elektrodou SenTix41 (vše WTW, Weilheim, Německo). pH metr byl kalibrován vodnými kalibračními standardy Duracal, pH 4 a pH 7 (Hamilton, Bonaduz, Švýcarsko).

Měření cyklickou voltametrií byla prováděna v roztoku základního elektrolytu, který byl tvořen Brittonovým-Robinsonovým pufrem (pH = 6,0), resp. mravenčanovým pufrem (pH = 6,0) a příslušným alkoholem (1:9 nebo 1:1, v/v). Koncentrace bromovaných fenolů v roztoku byla $1 \cdot 10^{-4}$ mol l⁻¹, resp. $2 \cdot 10^{-3}$ mol l⁻¹. Měření byla prováděna při rychlosti scanu v rozsahu 5 až 500 mV s⁻¹. Úhlová rychlost rotační diskové elektrody se pohybovala od 52 do 314 rad s⁻¹. Data byla zpracována softwarem NOVA 1.10 (Metrohm Autolab, Nizozemsko).

4.2.2 Elektrolýza za konstantního potenciálu

Elektrolýza za konstantního potenciálu byla prováděna na potenciostatu OH-404 (Radelkis, Budapešť, Maďarsko) ve skleněné nádobce, v níž byl katodový a anodový prostor oddělen skleněnou fritou. Měření bylo uskutečněno ve tří-elektrodovém uspořádání s velkoplošnou síťkovou platinovou pracovní elektrodou, nasycenou kalomelovou referentní elektrodou (SCE) a platinovou pomocnou elektrodou. Elektrolýza bromovaných fenolů byla prováděna v míchaném roztoku při potenciálu v rozsahu 1,0 až 1,4 V po dobu 1 až 20 hodin.

4.2.3 Plynová chromatografie s hmotnostní detekcí

Základní elektrolyt při elektrolýze bromovaných fenolů byl tvořen Brittonovým-Robinsonovým pufrem (pH = 6,0) s 0,2 mol l^{-1} NaClO₄ a alkoholem (methanol, ethanol, 1propanol, 1-butanol) v poměru 1:9. Koncentrace bromovaných fenolů v nádobce o objemu 50 ml byla 2·10⁻³ mol l⁻¹. Roztoky po elektrolýze byly odpařeny s využitím vodní lázně téměř do sucha.

Zbytky elektrolyzátů byly rozpuštěny ve 2 ml vody a 2 ml octanu ethylnatého, třepány po dobu 5 min, následovala 5 minutová klidová doba a poté bylo roztoky opět 5 minut třepáno. Po oddělení fází byl 1 ml organické fáze odebrán do vialky k analýze. Kromě extraktů elektrolyzovaných roztoků bromfenolů byly analyzovány dva typy slepého pokusu: A) extrakt elektrolyzovaného základního elektrolytu bez přidání bromovaných fenolů, B) extrakt neelektrolyzovaného roztoku bromovaných fenolů v základním elektrolytu o stejném složení jako u roztoků podrobených elektrolýze.

Analýza vzorků byla prováděna na plynovém chromatografu HP 6890 Series s hmotnostním spektrometrem Agilent 5973 N (Agilent, Palo Alto, USA). Separace byla prováděna na kapilární koloně z taveného křemene ZB-5 MS ($30 \text{ m} \times 0,25 \text{ mm} \times 0,25 \text{ µm}$), s heliem jako nosným plynem (He 5.0 Siad, Itálie). Teplotní program byl nastaven na 50 °C - 2 min - 10 °C/min - 300 °C - 15 min.

4.2.4 Ultraúčinná kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí

Základní elektrolyt při elektrolýze bromovaných fenolů byl tvořen mravenčanovým pufrem (pH = 6,0) a methanolem v poměru 1:9. Koncentrace bromovaných fenolů v nádobce o objemu 50 ml byla $2 \cdot 10^{-4}$ mol l⁻¹. Pro analýzu oxidačních produktů byl použit UPLC systém Aquity (Waters, Milford, MA, USA) vybavený autosamplerem, směšovačem mobilních fází, termostatem chromatografických kolon a PDA detektorem. Chromatografická separace byla prováděna na koloně YMC-Triart C18 (100 × 2,0 mm vnitřní průměr, velikost částic 1,9 µm, velikost pórů 12 nm, YMC Europe, Dinslaken, Německo). Mobilní fáze obsahovala 0,1% vodný roztok kyseliny mravenčí (složka A) a acetonitril (složka B). Separace probíhala v gradientovém režimu (% v/v): 0-4 min (95-45% A), 4-5 min (45-0% A), 5-8 min (0% A), 8.1-10 min (95% A). Průtok mobilní fáze byl 0,25 ml min⁻¹, teplota autosampleru 10 °C a dávkovaný objem vzorku byl 10 µl.

Hmotnostní spektrometr Q-TOF Premier (Waters, Manchester, UK) spojený s UPLC systémem byl použit pro identifikaci separovaných oxidačních produktů na základě měření přesné hmoty a fragmentace vybraných iontů. Parametry elektrospreje byly nastaveny následovně: napětí sprejovací kapiláry 2,2 kV (negativní mód), teplota zdroje 110 °C, vzorkovací kónus 30 V, desolvatační teplota 180 °C, průtoková rychlost plynu v kónusu 30 l h⁻¹ a průtoková rychlost desolvatačního plynu 350 l h⁻¹. Dusík byl použit jako desolvatační plyn a argon jako kolizní plyn. Data byla získána simultánním skenováním při nižší kolizní energii (5 eV) a při vyšší energii za použití rampy kolizní energie v rozsahu od 10 do 30 eV (buď v MS nebo MS/MS scanu). Data byla zaznamenána a zpracována využitím softwaru MassLynx 4.1 (Waters).

4.2.5 Elektrochemická oxidace s on-line hmotnostní detekcí

Elektrochemická oxidace bromovaných fenolů s on-line hmotnostní detekcí (Obr. 5) jejich oxidačních produktů byla provedena na potenciostatu ADLC1 (Laboratorní přístroje, Praha, Česká republika) spojeném s analytickou celou Model 5040 (ESA, Chelmsford, MA, USA), která obsahovala platinovou pracovní elektrodu, α -hydrogenpalladiovou referentní elektrodu (Pd/H₂) a platinovou pomocnou elektrodu. Oxidace probíhala v rozsahu potenciálů od 0 do 1,2 V. Základní elektrolyt byl tvořen mravenčanovým pufrem ($c = 0,1 \text{ mol } l^{-1}$, pH = 6,0) a methanolem (1:9, v/v). Koncentrace bromovaných fenolů byla 2·10⁻⁴ mol l⁻¹.

Vzorky byly kontinuálně dávkovány do elektrochemické cely stříkačkovou pumpou NE-1002X (New ERA Pump Systems, Farmingdale, NY, USA). Průtoková rychlost byla nastavena na 7 μl min⁻¹.

Kovový výstup ESA cely byl spojen se vstupem do hmotnostního spektrometru prostřednictvím decoupleru (ESA) - tedy zařízení, oddělujícího elektrický obvod elektrochemické cely od obvodu iontového zdroje. K detekci byl využit hmotnostní spektrometr Agilent 1100 Series LC/MSD Trap (Agilent Technologies, Palo Alto, CA, USA) s ionizací elektrosprejem (ESI). Podmínky ESI-MS byly nastaveny následovně: negativní ionizační mód, jako sušící plyn byl použit dusík s průtokovou rychlostí 10 1 min⁻¹, sušící teplota byla 250 °C, tlak rozprašovače 15 psi a napětí kapiláry + 2500 V. Helium bylo využito jako kolizní plyn. Data byla zpracována užitím softwaru DataAnalysis 3.3 (Bruker Daltonik, Bremen, Německo).



Obr. 5: Schéma zapojení EC-MS

5. Výsledky a diskuse

5.1 Elektrochemické chování bromovaných fenolů

Kapitola je věnována studiu elektrochemického chování vybraných bromovaných fenolů (monobromovaných fenolů, 2,4,6-tribromfenolu a pentabromfenolu) s využitím různých voltametrických technik (CV, DPV). Elektrochemická oxidace probíhala za různých podmínek a byl zkoumán vliv např. použitého alkoholu, či materiálu pracovní elektrody na průběh oxidace a výsledné oxidační produkty. Z voltametrických dat lze získat lepší představu o mechanismu oxidace vybraných bromovaných fenolů na základě informací o elektrodovém potenciálu, při němž dochází k elektrodové reakci, rychlosti přenosu elektronů, jejímž měřítkem je velikost proudové odezvy, a také o případném vlivu adsorpce a chemických reakcí provázejících reakci elektrodovou. Cyklickou voltametrií lze také sledovat vznik elektroaktivních produktů elektrochemických reakcí.

5.1.1 Voltametrické chování monobromovaných fenolů a pentabromfenolu [68] (příloha č. 6)

Nejprve byly studovány cyklické voltamogramy monobromovaných fenolů a pentabromfenolu, měřené na elektrodě ze skelného uhlíku v základním elektrolytu obsahujícím methanol (50 nebo 90 %, v/v). Vyšší obsah methanolu byl použit jednak pro zajištění homogenity roztoků, jednak za účelem zvýšení rozpustnosti oxidačních produktů a tím alespoň částečného potlačení zanášení elektrodového povrchu. Cyklické voltamogramy BP (Obr. 6a-d) ukazují pík **Ia** v prvním anodickém scanu s potenciálem okolo 0,8 V (pro 2-BP, 4-BP a PBP) resp. 0,9 V pro 3-BP. Významný pokles proudu anodického píku v následných cyklech (Obr. 6) může být vysvětlen tvorbou polymerního filmu, který pasivuje povrch pracovní elektrody a brání další oxidaci bromovaných fenolů během opakovaných cyklů podobně, jak to bylo popsáno u chlorfenolů [31, 45, 46, 48].

Katodické signály, označené jako **IIc**, se objevily v reverzním scanu společně s novými anodickými píky **IIa** v následných anodických scanech. Redoxní páry skupiny **II** se objevily v případě, že byl směr polarizace pracovní elektrody přepnut při potenciálu, při kterém se začal vyvíjet pík **Ia** nebo při potenciálu vyšším (Obr. 7). Z toho lze usoudit, že redoxní pár IIc/IIa odpovídá produktům anodické oxidace příslušných bromovaných fenolů. Výška píků **IIc/IIa** vzrůstala v následujících cyklech, zatímco proud píku **Ia** klesal.

Toto chování je typické pro elektropolymerizační reakce, které byly popsány pro fenol a jeho deriváty [131], včetně chlorfenolů [45, 132]. Růst píků skupiny **II** byl nejvýraznější u 2-BP (Obr. 6a), zatímco nejméně zřetelný růst byl pozorován u 3-BP (Obr. 6b). Skupina **II** obsahuje nejméně dva proudové signály v každém směru polarizace, které jsou velmi dobře rozlišitelné, zejména v případě píků **IIc/IIa** 2-BP (Obr. 7) a píků **IIc** 4-BP (Obr. 6c).

Toto pozorování ukazuje na vznik více než jednoho elektroaktivního oxidačního produktu nebo meziproduktu při potenciálu anodického píku **Ia**. Pokud byl přepínací potenciál nastaven na hodnotu nejméně o 0,2 V vyšší než je potenciál píku **Ia**, objevil se v následných scanech nový katodický pík při potenciálu kolem 0,03 V (**IIIc**, Obr. 7) a jemu odpovídající anodický protějšek při 0,13 V (**IIIa**, Obr. 7).

Redoxní pár **III** pravděpodobně odpovídá příslušnému brombenzochinonu, jak vyplývá z porovnání s voltamogramem 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu (Obr. 6d), jenž poskytnul proudové odezvy při podobných potenciálech. Intenzita píků **IIIa/IIIc** byla velmi nízká u všech čtyř bromovaných fenolů, což může být v důsledku pokrytí elektrodového povrchu filmem oxidačních produktů (dimerů resp. polymerů) vytvořených při nižších potenciálech než je potenciál tvorby benzochinonů.



Obr. 6: Cyklické voltamogramy (**a**) 2-BP, (**b**) 3-BP, (**c**) 4-BP a (**d**) PBP v základním elektrolytu (···) methanol/mravenčanový pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,5 V s⁻¹. Ve všech voltamogramech jsou ukázány první (—) a páté cykly (---), na obrázku **a** je znázorněn rovněž druhý cyklus (-··-). Křivka 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu (-··-) o $c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol l⁻¹ je ukázána na obrázku **d**. Šipky vyznačují změnu výšky píku v po sobě jdoucích cyklech.



Obr. 7: Cyklický voltamogram 2-BP $(1 \cdot 10^{-4} \text{ mol } 1^{-1})$ v prostředí methanol/mravenčanový pufr o pH = 6 (1:1, v/v). Měření bylo provedeno s rychlostí scanu 0,5 V s⁻¹. Přepínací potenciály byly 0,7 V (---), 0,8 V (---), a 1,0 V (---).

Vznik elektroaktivních produktů a pasivaci elektrodového povrchu těmito produkty dokládají i záznamy z diferenčně pulsní voltametrie. Na voltamogramu 2-bromfenolu (Obr. 8) v katodickém směru polarizace po 30 s akumulace při potenciálu anodického píku (0,6 V) je zřetelný pík oxidačního produktu s potenciálem kolem 0,25 V (křivka 3), který nevznikal, pokud se akumulace prováděla při nižších potenciálech (křivky 1 a 2). Při vyšším potenciálu akumulace (0,8 V) se pík produktu 2-BP zmenšil (křivka 4), což může být způsobeno rychlou pasivací elektrodového povrchu. Ostatní bromované fenoly vykazovaly podobné elektrochemické chování jako 2-BP, ačkoliv pík jejich oxidačního produktu kolem 0,25 V byl méně intenzivní (Příloha 1).



Obr. 8: Diferenčně pulsní voltamogramy 2-BP o $c = 2 \cdot 10^{-4}$ mol l⁻¹ v základním elektrolytu methanol/B.-R. pufr pH = 6 (9:1, v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,02 V s⁻¹, šířka pulsu 50 ms, výška pulsu 25 mV. Potenciál akumulace (1) 0,2 V, (2) 0,4 V, (3) 0,6 V, (4) 0,7 V, doba akumulace 30 s.

Blokování elektrodového povrchu oxidačními produkty bylo zřetelné také na cyklických voltamogramech zaznamenaných s rotační diskovou elektrodou RDE (Obr. 9). Proud monobromovaných fenolů, měřený v pufrovaném prostředí obsahujícím 50% methanolu, dosáhl maxima při určitém potenciálu, poté se neustále snižoval, takže výsledná křivka měla tvar píku na místo obvyklé sigmoidy. Snižování proudové odezvy pokračovalo také během zpětného scanu. Ve druhém cyklu byl proud téměř stejný jako u základního elektrolytu (Obr. 9, vložený obrázek). Podobné chování bylo popsáno u pentachlorfenolu na grafitové rotační diskové elektrodě v prostředí neutrálního fosfátového pufru [133]. Blokování elektrodového povrchu bylo méně výrazné v roztoku obsahujícím 90% methanolu (Obr. 9). U monobromovaných fenolů nejrychleji pasivovaly elektrodový povrch produkty oxidace 3-BP. Naopak, nejmírnější a nejpomalejší pasivace elektrody byla pozorována při oxidaci PBP (Obr. 9). Toto zjištění je v souladu s nejnižší polymerizační rychlostí popsanou pro pentachlorfenol ve srovnání s méně chlorovanými fenoly [31].



Obr. 9: Cyklické voltamogramy $1 \cdot 10^{-4}$ mol 1^{-1} 2-BP (—), 3-BP (---), 4-BP (···-) a PBP (-··-) zaznamenané na RDE v prostředí methanolu/mravenčanového pufru o pH 6 (9:1, v/v). Úhlová rotační rychlost: 341 rad s⁻¹, rychlost scanu: 5 mV s⁻¹. Vložený obrázek: Cyklický voltamogram 4-BP (2 cykly, označeny čísly 1 a 2) získaný za stejných podmínek, ale v prostředí methanol/mravenčanový pufr pH 6 (1:1, v/v).

Závislosti půlvlnových potenciálů voltametrických vln BP měřených za ustáleného stavu s RDE na dekadickém logaritmu úhlové rychlosti rotace elektrody byly lineární se směrnicí přibližně 20 mV při desetinásobné změně úhlové rychlosti (Tab. III). Podobný průběh byl popsán pro elektrodový děj, ve kterém je přenos elektronů následován dimerizační reakcí [134]. Z toho lze vyvodit, že bromfenoly, podobně jako chlorfenoly [32, 45], tvoří v prvním oxidačním kroku bromfenoxylové radikály, které dále reagují za vzniku dimerních produktů.

Tab. III: Směrnice závislostí půlvlnových potenciálů bromovaných fenolů ($c = 1 \cdot 10^{-4} \text{ mol } l^{-1}$) na logaritmu rychlosti rotace diskové elektrody ze skelného uhlíku (rozsah úhlových rychlostí 52 až 341 rad s⁻¹) měřených v základním elektrolytu obsahujícím methanol.

Sloučenina	d <i>E</i> _{1/2} /dlogω (mV)	Rychlost scanu (mV s ⁻¹)	Obsah methanolu (%)
2-RP	18,1	5	90
	22,1	30	50
3-BP	19,6	100	50
4-BP	20,9	30	50
PBP	19,6	5	90

Pro odhalení nejpomalejšího procesu, který určuje celkovou rychlost elektrochemické reakce a je tedy procesem řídícím, byla sledována závislost proudu anodického píku bromovaných fenolů na polarizační rychlosti v rozsahu od 10 do 300 mV s⁻¹. Logaritmické závislosti proudu na logaritmu z rychlosti skenu jsou lineární se směrnicemi 0,17 (pro 2-BP), 0,38 (3-BP), 0,48 (4-BP) a 0,39 (PBP) (Obr. 10). Hodnoty směrnic menší než 0,5, což je teoretická hodnota pro děj řízený rychlostí difuze elektroaktivní látky k povrchu elektrody, ukazují na částečný vliv kinetiky reakce předcházející přenosu elektronu [135]. Lze tedy předpokládat, že zejména u 2-BP, méně pak u 3-BP a PBP je celková výška anodického píku ovlivněna jak difuzí, tak rychlostí chemické reakce, kterou může být např. deprotonizace hydroxylové skupiny, příp. dimerace fenoxylových radikálů.



Obr. 10: Logaritmická závislost proudu anodického píku bromovaných fenolů na logaritmu z rychlosti scanu. Bromované fenoly o $c = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol } 1^{-1} \text{ v}$ základním elektrolytu methanol/B.-R. pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v) byly měřeny na elektrodě ze skelného uhlíku metodou cyklické voltametrie, rychlost scanu byla 0,01; 0,05; 0,1; 0,2 a 0,3 V s⁻¹.

Koncentrační závislost proudové odezvy bromovaných fenolů byla měřena v rozmezí koncentrací $1 \cdot 10^{-4}$ mol l⁻¹až $2 \cdot 10^{-3}$ mol l⁻¹ v prostředí methanolu a B.-R. pufru (pH = 6) v poměru 9:1 na elektrodě ze skelného uhlíku. Na získaných voltamogramech (Obr. 11) je patrné rozdvojení píku (2-BP a 4-BP) při vyšších koncentracích.

Toto rozdělení je pravděpodobně způsobeno dimerizací meziproduktů elektrodových reakcí (fenoxylových radikálů), podobné rozdvojení voltamogramů v důsledku dimerizace bylo také popsáno v literatuře [136]. Na kalibračních závislostech $I_p = f(c)$ (Obr. 11) je u monobromovaných fenolů patrné hyberbolické zakřivení, které ukazuje na adsorpci (mezi)produktů elektrochemických reakcí na povrchu elektrody. V případě pentabromfenolu je závislost lineární, což je v souladu s výsledky voltametrie s RDE, kde byla pozorována jen mírná adsorpce produktů pasivujících elektrodový povrch.



Obr. 11: DC voltamogramy při různých koncentracích (a) 2-BP, (b) 3-BP, (c) 4-BP a (d) PBP v roztoku methanolu a Brittonova-Robinsonova pufru o pH = 6 (9:1, v/v). Vloženy jsou příslušné kalibrační závislosti. Měřeno na elektrodě ze skelného uhlíku s polarizační rychlostí $0,1 \text{ V s}^{-1}$.

Voltametrické chování bromovaných fenolů (2-BP, 3-BP, 4-BP a PBP) bylo sledováno v prostředí obsahujícím různé primární alkoholy (methanol, ethanol, 1-propanol a 1-butanol), a to v objemovém poměru 9:1 s Brittonovým-Robinsonovým pufrem o pH = 6. Použité pracovní elektrody byly ze skelného uhlíku a z platiny.

Během studia elektrochemického chování bromovaných fenolů na uhlíkové pracovní elektrodě byl sledován vliv použitého alkoholu na tvar anodického píku (Obr. 12, 13). Je zřejmé, že nejlépe definovaný anodický pík byl v prostředí obsahujícím methanol. S rostoucí délkou alkylového řetězce alkoholu se však zpomaluje přenos elektronů, což se projevilo zvýšením potenciálu anodického signálu a současně snížením jeho proudové odezvy.

Na rozdíl od anodického signálu, potenciál i proud katodického signálu zůstává v methanolu, ethanolu a 1-propanolu téměř stejný. V prostředí 1-butanolu proud katodické odezvy výrazně klesl, nicméně signál je stále zřetelný při stejném potenciálu (kolem 0,1 V u 2-BP), jako v případě nižších alkoholů. Pouze v případě PBP se katodický pík posouvá k negativnějším potenciálům v řadě MeOH – EtOH – PropOH (Obr. 13). Lze předpokládat, že katodický signál odpovídá redukci oxidačních produktů, které zůstávají adsorbovány na elektrodovém povrchu. Chování adsorbovaných produktů se tudíž liší od chování původní látky difundující k elektrodě. Prakticky stejné potenciály produktů oxidace monobromfenolů, nezávislé na použitém alkoholu, ukazují na stejnou chemickou strukturu adsorbovaných částic. V případě PBP je oxidační produkt méně adsorbován (viz Kap. 5.1.1, Obr. 9) a vliv difuze (posun potenciálu píku) se projevuje i v katodickém směru polarizace.

Celkově pozorované chování naznačuje, že délka alkylového řetězce alkoholů s jedním až čtyřmi uhlíky nemá zásadní vliv na strukturu (mezi)produktů oxidace bromfenolů na elektrodě ze skelného uhlíku, ale má znatelný vliv na kinetiku elektrodové reakce. Od methanolu k butanolu klesá strmost anodického proudu bromfenolů v důsledku poklesu rychlosti přenosu elektronu. Zároveň se zvyšuje hodnota potenciálu, při kterém se začínají BP oxidovat (roste jejich přepětí na elektrodě). S rostoucím počtem uhlíků v homologické řadě alkoholů vzrůstá jejich viskozita. Vyšší hodnoty viskozity alkoholů, a tedy i jejich roztoků, mají za následek snížení rychlosti difuze bromfenolů k elektrodovému povrchu, a tím i snížení proudové odezvy.



Obr. 12: Cyklické voltamogramy 2-BP (—) o $c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol } l^{-1} \text{ v základním elektrolytu } (\cdots) \text{ methanol}$ (A), ethanol (B), 1-propanol (C), 1-butanol (D)/B.-R. pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,1 V s⁻¹.



Obr. 13: Cyklické voltamogramy PBP (—) o $c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol } l^{-1} \text{ v základním elektrolytu } (\cdots) \text{ methanol}$ (A), ethanol (B), 1-propanol (C), 1-butanol (D)/B.-R. pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,1 V s⁻¹.

Cyklické voltamogramy získané měřením na platinové elektrodě poskytovaly horší průběhy, než tomu bylo v případě měření na elektrodě ze skelného uhlíku. Lépe definovaný anodický pík lze pozorovat pouze v případě 3-BP a PBP v prostředí methanolu (Obr. 14). Důvodem může být konkurenční oxidace alkoholu přítomného v roztoku.



Obr. 14: Cyklické voltamogramy bromovaných fenolů (—) o $c = 1 \cdot 10^{-3} \text{ mol } 1^{-1} \text{ v základním elektrolytu}$ (···) methanol /B.-R. pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v). Měření bylo provedeno na platinové elektrodě, rychlost scanu byla 0,1 V s⁻¹.

Pt je považována za dobrý elektrokatalyzátor pro oxidaci methanolu a byla předmětem mnoha studií. Povrch platinové elektrody je pokrytý stabilní vrstvou Pt oxidů/hydroxidů. V přítomnosti methanolu, se kromě oxidace fenolu uskutečňuje katalytická oxidace methanolu, kdy jsou formovány další intermediáty (CO, CH₂O a HCOOH), které jsou relativně stabilní a mohou být silně chemisorbovány na platinový povrch. Oxidovaný fenol je dále elektrodeponován na elektrodovém povrchu prostřednictvím reaktivní vrstvy, generované oxidací methanolu a ne přímo na Pt, jako je tomu v případě absence methanolu, kdy je velmi rychle znečištěna elektroda a žádný další oxidační proud není registrován. Předpokládá se, že přítomnost reaktivní vrstvy na elektrodovém povrchu brání přímé depozici reakčních produktů, které byly generovány během anodické oxidace fenolu [34].

5.1.2 Elektrochemické chování 2,4,6-tribromfenolu [66] (příloha č.4)

Cyklické voltamogamy TBP měřené v 90% methanolu a 90% ethanolu (Obr. 15A, B) na elektrodě ze skelného uhlíku poskytovaly jeden velmi dobře definovaný anodický pík při potenciálech 0,74 V (methanol) a 0,85 V (ethanol). Anodické píky TBP v prostředí 90% 1-propanolu a 90% 1-butanolu (Obr. 15C, D) byly plošší s maximy při potenciálu 1,04 V v 1-propanolu a 1,14 V v 1-butanolu. Podobně jako v případě monobromovaných fenolů a PBP bylo pozorováno zpomalení rychlosti elektrodové reakce 2,4,6-tribromfenolu, což naznačil plošší tvar píků, nižší proudová odezva a posun potenciálů v důsledku rostoucí délky alkoholového řetězce.

Katodický pík vytvořený ve zpětném scanu na cyklických voltamogramech, odpovídá redukci produktu, který vznikl při anodické oxidaci TBP. Tento pík byl nejvíce výrazný v prostředí methanolu a ethanolu (Obr. 15A, B). Potenciál katodického píku kolem -0,1 V je blízký potenciálu redukce 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu (Obr. 6d). Je tedy pravděpodobné, že oxidační produkt TBP poskytující tuto proudovou odezvu má chinoidní strukturu. Vzrůst katodické proudové odezvy oproti proudu základního elektrolytu v rozsahu potenciálů od 0,1 V do -0,2 V byl rovněž pozorován v případě 1-propanolu i 1-butanolu (Obr. 15C, D), z čehož lze usuzovat, že ke vzniku produktů s chinonovou strukturou docházelo ve všech zkoumaných prostředích. Tuto hypotézu podpořil i vznik žlutého zbarvení při elektrolýze TBP v primárních alkoholech za konstantního potenciálu na velkoplošných elektrodách. Intenzita zbarvení byla největší v prostředí methanolu, zatímco v prostředí 1-butanolu bylo žluté zbarvení daleko světlejší.

Pro srovnání voltametrického chování TBP byla použita pracovní elektroda z jiného materiálu. Cyklické voltamogramy, získané měřením TBP na platinové elektrodě, poskytly ve srovnání s uhlíkovou elektrodou jisté odlišnosti.

Na cyklických voltamogramech v prostředí methanolu a ethanolu lze pozorovat dva anodické píky (Obr. 16A,B) při potenciálech okolo 0,7 V a 1,1 V v methanolu, resp. 0,7 V a 1,0 V v ethanolu. Ve zbývajících dvou prostředích byl pozorován pouze jeden anodický pík, jenž nabýval ploššího tvaru a nižší proudové odezvy s maximem při potenciálu okolo 0,9 V.

Dva oddělené proudové signály pozorované v methanolu a ethanolu mohou být důsledkem pomalejšího průběhu chemické reakce meziproduktů z prvního stupně oxidace TBP na platině v porovnání se skelným uhlíkem. Toto zpomalení patrně souvisí s konkurenční oxidací methanolu resp. ethanolu na Pt, při níž vznikají povrchově vázané intermediáty, které modifikují elektrodu (viz závěr Kap. 5.1.1) a mění její chování při oxidaci bromfenolů.

Ve zpětném katodickém směru polarizace Pt elektrody v čistém elektrolytu v přítomnosti všech alkoholů je na voltamogramech výrazný pík redukce povrchových oxidů s maximem kolem 0,3 V. Tento pík je typický pro platinu [137], uhlíkové elektrody ho neposkytují.

V přítomnosti TBP se tento pík snížil a posunul k negativnějším potenciálům, pravděpodobně v důsledku kvalitativní změny povrchu elektrody jeho modifikací adsorbovanými produkty oxidace TBP. Redukce těchto (chinoidních) produktů je patrná při potenciálech kolem -0,1 V, podobně jako tomu bylo na elektrodě ze skelného uhlíku. Odlišnosti ve voltametrickém chování TBP na elektrodách z platiny a skelného uhlíku jsou tedy způsobené spíše rozdílnou reakční kinetikou na obou typech materiálu. Proto lze očekávat, že za stejných experimentálních podmínek bude TBP na uhlíkových a platinových elektrodách poskytovat obdobné oxidační produkty [66] (příloha č. 4).



Obr. 15: Cyklické voltamogramy 2,4,6-tribromfenolu (—) o $c = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol } l^{-1} \text{ v prostředí methanolu}$ (**A**), ethanolu (**B**), 1-propanolu (**C**) a 1-butanolu (**D**) a základního elektrolytu (……) obsahujícího příslušný alkohol/B.-R. pufr o pH = 6 (9:1, v/v), měřené na pracovní elektrodě ze skelného uhlíku s rychlostí scanu 100 mV s⁻¹.



Obr. 16: Cyklické voltamogramy 2,4,6-tribromfenolu (—) o $c = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol } l^{-1} \text{ v prostředí methanolu}$ (A), ethanolu (B), 1-propanolu (C) a 1-butanolu (D) a základního elektrolytu (……) obsahujícího příslušný alkohol/B.-R. pufr o pH = 6 (9:1, v/v), měřené na pracovní elektrodě z platiny s rychlostí scanu 100 mV s⁻¹.

5.2 Analýza oxidačních produktů metodou GC-MS

Vybrané bromované fenoly (2-BP, 3-BP, 4-BP, 2,4,6-TBP a PBP) byly podrobeny elektrolýze za konstantního potenciálu v prostředí tvořeném primárním alkoholem (methanolem, ethanolem, 1-propanolem a 1-butanolem) a Brittonovým-Robinsonovým pufrem (pH = 6) na velkoplošné platinové síťkové elektrodě. Pro zvýšení iontové síly byl do roztoku přidán chloristan sodný. Elektrolyzované roztoky byly následně podrobeny extrakci. Oxidační produkty byly poté separovány a analyzovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Pro snadnější rozlišení oxidačních produktů vybraných bromovaných fenolů od případných nečistot, jejich oxidačních produktů, produktů oxidace použitých alkoholů a produktů jejich vzájemných chemických reakcí, byl extrahován a analyzován také elektrolyzovaný základní elektrolyt a neelektrolyzovaný elektrolyt s přídavkem daného bromfenolu. Plynová chromatografie ve spojení s hmotnostní spektrometrií je nejčastěji využívanou metodou pro stanovení bromovaných fenolů v nejrůznějších matricích.

K výhodám ionizace elektronem, která se významně uplatňuje ve spojení GC-MS, patří možnost přímého porovnání naměřených spekter s rozsáhlou databázi spekter a dobře popsaná pravidla fragmentace. Zmíněnou ionizační techniku však nelze využít pro netěkavé látky.

5.2.1 Produkty elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů analyzované metodou GC-MS

GC-MS analýza ethylacetátového extraktu elektrolyzovaného roztoku 2-bromfenolu poskytla hlavní oxidační produkt s hodnotou m/z 341,8 (monoizotopický ion, Obr. 17). Tento produkt se vyskytoval ve dvou izomerních formách (píky s retenčními časy $t_R = 22,0$ min a t_R = 22,3 min poskytující stejná hmotnostní spektra). Pík s m/z 341,8 byl nalezen v methanolu, ethanolu a 1-propanolu, v prostředí 1-butanolu nebyl tento oxidační produkt nalezen.



Obr. 17: Hmotnostní spektrum dimerního oxidačního produktu 2-bromfenolu

Podobný oxidační produkt s m/z 341,8 (monoizotopický ion, Obr. 18) byl nalezen také v elektrolyzátu 4-bromfenolu. Metodou GC-MS byly identifikovány opět dva izomery s retenčními časy t_R = 22,3 min a t_R = 22,9 min. Stejně jako v případě 2-bromfenolu byl produkt 4-BP nalezen v methanolu, ethanolu a 1-propanolu.



Obr. 18: Hmotnostní spektrum dimerního oxidačního produktu 4-bromfenolu

Fragmentační ion *m/z* 184, který byl nalezen v hmotnostních spektrech dimerních produktů oxidace 2-BP a 4-BP zřejmě odpovídá ztrátě dvou atomů bromu z molekulárního iontu. V elektrolyzátech 3-bromfenolu nebyl oxidační produkt s *m/z* 341,8 touto metodou identifikován. Žádné další monomerní, resp. dimerní oxidační produkty nebyly v elektrolyzovaných roztocích monobromovaných fenolů, resp. pentabromfenolu metodou GC-MS nalezeny. Kombinace ultraúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní detekcí byla zvolena jako vhodnější separační technika, která pomohla identifikovat další oxidační produkty, které byly identifikované v případě 2-BP a 4-BP metodou GC-MS, byly nalezeny také v elektrolyzátech analyzovaných metodou UPLC-MS.

5.2.2 Produkty elektrochemické oxidace 2,4,6-tribromfenolu analyzované metodou GC-MS

TBP byl, stejně jako v případě monobromovaných fenolů a pentabromfenolu, podroben elektrolýze za konstantního potenciálu, během které byla pozorována změna zabarvení elektrolyzovaného roztoku z bezbarvé na žlutou.

GC-MS analýza odhalila dvě skupiny oxidačních produktů, které se výrazně lišily retenčními časy.

První skupinu tvořily těkavější produkty (t_R od 15,9 do 20,3 min), jejichž struktura odpovídala jednoduchým monomerním produktům odvozeným od TBP.

Druhá skupina obsahovala produkty, které byly detekovány při delších retenčních časech (t_R od 26,0 do 28,4 min) a měly vyšší molekulární hmotnosti. Ty byly identifikovány jako produkty dimerace oxidovaného TBP nebo monomerních intermediátů. Charakteristika a navržené struktury identifikovaných oxidačních produktů jsou shrnuty do tabulek IV a V.

	Název	Struktura	Molekulární hmotnost	Monoisotopická hmotnost	Retenční čas [min]	Teplota varu* [°C]
TBP	2,4,6-tribromfenol	OH Br Br Br	331	328	16,1	310,1
P1	2,6-dibrombenzen-1,4-diol	Br Br Br OH	268	266	17,2	315,0
Р2	2,6-dibromcyklohexa-2,5- dien-1,4-dion	Br, Br	266	264	13,.4	320,5
P3A	2,6-dibrom-4-methoxyfenol	-	282	280	15,9	301,4
P3B	2,6-dibrom-4-ethoxyfenol	Br	296	294	16,7	315,5
P3C	2,6-dibrom-4-propoxyfenol		310	308	17,7	328,8
P3D	2,6-dibrom-4-butoxyfenol	0 R	324	322	18,9	341,1
P4A	2,4,6-tribrom-6- methoxycyklohexa-2,4-dien- 1-on		361	358	18,2	341,2
P4B	2,4,6-tribrom-6- ethoxycyklohexa-2,4-dien- 1-on	Br Br	375	372	18,8	352,9
P4C	2,4,6-tribrom-6- propoxycyklohexa-2,4-dien- 1-on	O-R Br	389	386	19,9	364,5
P5A	2,6-dibrom-6- methoxycyklohex-2-en- 1,4-dion	O BrBr	298	296	17,4	335,6
P5B	2,6-dibrom-6- ethoxycyklohex-2-en- 1,4-dion		312	310	18,0	347,5
P5C	2,6-dibrom-6- propoxycyklohex-2-en- 1,4-dion	O-R	326	324	19,1	359,1
P5D	2,6-dibrom-6- butoxycyklohex-2-en- 1,4-dion		340	338	20,3	370,7

Tab. IV: Charakteristika a struktury TBP a jeho monomerních oxidačních produktů

	Název	Struktura	Molekulová hmotnost	Monoisotopická hmotnost	Retenční čas [min]	Teplota varu* [°C]
P6	3,3',5,5'-tetrabrom-1,1'- bi(cyklohexa-2,5-dien-1- yliden)-4,4'-dion	Br Br Br Br	500	496	26,0	476,2
P7	2,6-dibrom-4-(2,4,6- tribromfenoxy)fenol	Br Br Br	581	576	27,1	471,1
P8	2,6-dibrom-4-(2,6-dibrom-4- hydroxyfenoxy)fenol	HO Br	r 518	514	27,9	475,2
P9A	2,6-dibrom-4-(2,6-dibrom-4- methoxyfenoxy)fenol		532	528	26,6	464,0
P9B	2,6-dibrom-4-(2,6-dibrom-4- ethoxyfenoxy)fenol	Br Br	546	542	26,8	475,6
P9C	2,6-dibrom-4-(2,6-dibrom-4- propoxyfenoxy)fenol	o Br	560	556	27,4	487,2
P9D	2,6-dibrom-4-(2,6-dibrom-4- butoxyfenoxy)fenol	R	574	570	28,4	498,8

Tab V: Charakteristika a struktury dimerních oxidačních produktů TBP

-

* Teplota varu vypočtena pomocí programu Chem3D Ultra 7.0 (CambridgeSoft, USA)

Několik detekovaných sloučenin (monomery P1 a P2 a dimery P6-P8) bylo nalezeno ve všech zkoumaných prostředích a bylo zjištěno, že předpokládané struktury těchto produktů nezávisí na použitém alkoholu. Retenční časy dalších identifikovaných píků byly odlišné podle použitého alkoholu, jenž se projevil v navržené struktuře identifikovaných monomerních (P3A-D, P4A-C, P5A-D) a dimerních (P9A-D) produktů.



Obr. 19: Chromatogramy monomerních oxidačních produktů skupin P3 (A), P4 (B) a P5 (C) a dimerních oxidačních produktů skupiny P9 (D)

Produkt P1 (Tab. IV) s retenčním časem 17,2 min a m/z 268 byl nalezen v prostředí methanolu, ethanolu a 1-propanolu. Analýzou hmotnostního spektra bylo zjištěno, že produkt P1 ve své struktuře obsahuje pravděpodobně v *para-* pozici navázanou hydroxylovou skupinu místo původního atomu bromu. Produkt P2 (Tab. IV) s retenčním časem (t_R) 13,4 min a m/z 266 tvořil s produktem P1 redoxní pár a vznikl pravděpodobně hydroxylací TBP a následnou eliminací HBr (Schéma 16B). Tento chinon byl nalezen ve všech studovaných alkoholech a je jedním z produktů, který může být zodpovědný za žlutou barvu roztoků vznikajících v průběhu elektrolýzy (absorpční maximum 2,6-dibrombenzochinonu, popsané v literatuře, je 352 nm v prostředí n-hexanu a 362 nm v chloroformu [138]).

Skupina monomerních alkoxyfenolů odvozených od použitého alkoholu byla identifikována na základě hmotnostních spekter (Obr. 20) a rostoucích retenčních časů (Obr. 19A) jednotlivých homologů od P3A do P3D. Tyto alkoxy deriváty byly pravděpodobně vytvořeny z fenoxylových radikálů a alkoholu, který v reakci vystupuje jako nukleofilní činidlo, s následnou eliminací bromu (Schéma 16A).



Obr. 20: Hmotnostní spektra monomerních oxidačních produktů skupiny P3 (A – D) a jejich navržené strukturní vzorce

Monomerní produkty P4A-P4C (Obr. 21) mohly vzniknout přímým nukleofilním atakem alkoholu do *ortho-* nebo *para-* polohy oxidovaného fenolu spojeným se ztrátou protonu (Schéma 16B). Brom při těchto reakcích nebyl eliminován. Podobná reakce byla již popsána při oxidaci substituovaných fenolů v prostředí methanolu [43].

Produkty byly detekovány v prostředí methanolu, ethanolu a 1-propanolu. Retenční časy příslušných produktů se prodlužovaly se zvětšující se délkou alkoxylového řetězce, příslušný butoxy derivát však nebyl nalezen (Obr. 19B).



Obr. 21: Hmotnostní spektra monomerních oxidačních produktů skupiny P4 (A – C) a jejich navržené strukturní vzorce

Monomerní produkty P5A-P5D (Obr. 22) byly identifikovány ve všech alkoholech (Obr. 19C). Tyto produkty mohly být vytvořeny hydroxylací fenoxoniového iontu doprovázenou eliminací bromu a následnou reakcí s alkoholem (Schéma 16A).



Obr. 22: Hmotnostní spektra monomerních oxidačních produktů skupiny P5

Kromě monomerních derivátů byly ve všech prostředích nalezeny také dimerní oxidační produkty (Tab. V). Dva oxidační produkty P6 a P7 byly eluovány v retenčních časech (t_R) = 26,0 min s m/z 500 a t_R = 27,1 min s m/z 581. Na základě MS spekter a isotopového profilu lze usoudit, že produkt P6 obsahuje čtyři a produkt P7 pět atomů bromu. Produkt P6 byl identifikován jako 3,3',5,5'-tetrabrom-1,1'-bi(cyklohexa-2,5-dien-1-yliden)-4,4'-dion a produkt P7 jako 2,6-dibrom-4-(2,4,6-tribromfenoxy)-fenol. Stejné oxidační produkty byly také identifikovány při elektrolýze TBP v 50% methanolu [66] (příloha č. 4). Navíc oxidační produkt s obdobnou strukturou, jaká je navržena v případě produktu P7, byl identifikován při oxidači TBP oxidem manganičitým [83]. Barevný produkt P6 (literatura uvádí absorpční maximum při cca 450 nm [139]) byl zřejmě vytvořen rekombinací dvou fenoxylových radikálů TBP s následnou eliminací bromu (Schéma 16A).

Dimerní produkt P8 s retenčním časem $t_R = 27,9$ min a m/z 518 vznikl pravděpodobně reakcí fenoxylového radikálu s produktem P1 a následnou eliminací atomu bromu (Schéma 16A). Produkt P8 byl nalezen v prostředí methanolu, ethanolu a 1-propanolu, tj. ve stejných prostředích jako produkt P1, což je v souladu s navrhovaným způsobem jeho vzniku.

Další identifikované dimerní produkty P9A-P9D (Obr. 23) se od sebe odlišovaly délkou řetězce alkoxylové skupiny a byly nalezeny ve všech studovaných alkoholech.

Navržené struktury a navržený mechanismus vzniku těchto produktů je podobný jako v případě produktu P8. Se vzrůstajícím počtem atomů uhlíku v alkoholech vzrůstaly i retenční časy produktů P9A až P9D (Obr. 19D).



Obr. 23: Hmotnostní spektra monomerních oxidačních produktů skupiny P9

Výše zmíněné homology byly identifikovány na základě analýzy odpovídajících MS spekter. V hmotnostních spektrech se alkoxyderiváty obsahující methoxylovou skupinu vyznačovaly typickou ztrátou $\Delta m/z$ 15 (P3A, P4A, P5A a P9A). Podobně se ethoxy- (P3B, P4B, P5B a P9B), propoxy- (P3C, P4C, P5C a P9C) a butoxylová skupina (P3D, P5D a P9D) projevila charakteristickou ztrátou v řadě $\Delta m/z$ 28, $\Delta m/z$ 42 a $\Delta m/z$ 56.

Pro navržené struktury byly na základě příspěvků jednotlivých atomů a atomových skupin vypočteny teploty varu alkoxyderivátů pomocí programu Chem3D Ultra 7.0 (Tab. TBP produkty). Hodnoty byly vyneseny v závislosti na retenčním čase měřeném na nepolární stacionární fázi s lineárním teplotním programem (Obr. 24). Zřetelná korelace mezi teplotami varu vypočtenými pro jednotlivé struktury a experimentálními retenčními časy byla použita jako kriterium podporující identifikaci detekovaných produktů. Na obrázku 24 je zřetelné, že teploty varu identifikovaných dimerních produktů nabývají o cca 100 °C vyšších hodnot než tomu je v případě monomerních oxidačních produktů.



Obr. 24: Závislost vypočtené teploty varu na retenčním čase TBP a jeho oxidačních produktů

5.2.3 Mechanismus elektrochemické oxidace 2,4,6-tribromfenolu

Elektrochemická oxidace 2,4,6-tribromfenolu na velkoplošné platinové síťkové elektrodě poskytla řadu oxidačních produktů, které byly separovány a následně detekovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí. Na základě identifikovaných oxidačních produktů byl navržen pravděpodobný mechanismus oxidace 2,4,6-tribromfenolu (Schéma 16).

Schéma ukazuje dva možné reakční mechanismy vedoucí ke vzniku oxidačních produktů identifikovaných v elektrolyzovaných roztocích TBP. První oxidační krok zahrnuje vznik fenoxylového radikálu. Radikál může reagovat (i) s vodou nebo alkoholem z elektrolyzovaného roztoku za vzniku produktu P1 nebo P3A-P3D, (ii) s další molekulou TBP za vzniku produktu P7, (iii) s produktem P1 za vzniku produktu P8 nebo (iv) s produkty P3A-P3D za vzniku sloučenin P9A-P9D.

Produkty skupiny P5 by mohly být vytvářeny z fenoxylových radikálů, které jsou oxidovány na fenoxoniový ion [45, 36]. Tento ion může podléhat reakci s vodou, doprovázené eliminací bromu. Následná reakce s alkoholem může vést k tvorbě produktů skupiny P5.

Rekombinace dvou fenoxylových radikálů, doprovázená eliminací bromu vede ke vzniku dimerního produktu P6 [30, 45]. Reakční cesty navržené ve Schématu 16A jsou spojeny s eliminací molekuly bromu.

Přítomnost bromu v elektrolyzovaném roztoku byla prokázána reakcí s fluoresceinem, který poskytoval charakteristické růžové zbarvení eosinu.

Schéma 16B rovněž popisuje tvorbu fenoxylových radikálů z TBP, který může být dále oxidován na fenoxoniový ion [43]. Nukleofilní atak vody na fenoxoniový ion následovaný eliminací HBr [29, 36] vede k tvorbě dibrombenzochinonu P2.

Obdobně dochází k ataku alkoholu do *ortho-* nebo *para-* pozice fenoxoniového iontu bez eliminace bromu za vzniku produktů skupiny P4. Tento mechanismus je popsán jako hlavní cesta vedoucí ke vzniku methoxylovaných fenolů [43].

Kromě výše zmíněných oxidačních produktů zahrnutých ve Schématu 16, mohou během elektrolýzy vznikat další produkty související s oxidací TBP, či alkoholu použitého v základním elektrolytu.

Např. úplná oxidace methanolu na platinové elektrodě může vést až na CO₂ [34]. Rozsah a produkty anodické oxidace alkoholu závisí na počtu jeho uhlíkových atomů [34]. V elektrolyzovaných roztocích obsahujících vyšší alkoholy byla metodou SPME detekována stopová množství dalších těkavých sloučenin. Například píky s hmotnostními spektry odpovídajícími izomerům propenylpropyletheru byly detekovány po elektrolýze jak základních elektrolytů, tak ve vzorcích TBP obsahujících propanol.



Schéma 16: Navržený mechanismus elektrochemické oxidace 2,4,6-tribromfenolu
5.3 Analýza oxidačních produktů metodou UPLC-MS

Předchozí kapitola popisuje analýzu oxidačních produktů, získaných z elektrolyzovaných roztoků vybraných bromovaných fenolů, metodou plynové chromatografie s hmotnostní detekcí. Elektrolýza probíhala za konstantního potenciálu v prostředí tvořeném primárním alkoholem a Brittonovým-Robinsonovým pufrem (pH = 6). Na rozdíl od TBP, u něhož byla detekována a identifikována celá řada oxidačních produktů, v případě 2-BP a 4-BP odhalila GC-MS analýza pouze píky s hodnotou m/z 341,8 náležící izomerům jejich dimerních oxidačních produktů. Žádné další oxidační produkty nebyly v případě monobromovaných fenolů a pentabromfenolu metodou GC-MS nalezeny. Pro další výzkum v této oblasti byla zvolena kombinace ultraúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem. Jde o vysoce účinnou a šetrnou ionizační techniku s širokými aplikačními možnostmi, vhodnou zejména pro analýzu vysokomolekulárních látek. Technika však není tolerantní k detergentům a solím.

Monobromované fenoly a pentabromfenol byly elektrolyzovány na platinové síťkové elektrodě za konstantního potenciálu 1 V, resp. 1,2 V v prostředí tvořeném mravenčanovým pufrem a methanolem (1:9). Během elektrolýzy byla pouze v případě 2-bromfenolu a 4-bromfenolu pozorována změna zbarvení roztoku z bezbarvé na světle žlutou. Elektrolyzáty byly analyzovány metodou UPLC-PDA-MS v systému reverzních fází s ionizací elektrosprejem v negativním modu (ESI-).

5.3.1 Produkty elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu analyzované metodou UPLC-MS

Oxidační produkty, získané elektrolýzou vybraných bromovaných fenolů za konstantního potenciálu, byly identifikovány na základě i) měření přesné hmoty deprotonované molekuly [M-H]⁻ nebo molekulárního iontu, z níž bylo navrženo nejpravděpodobnější elementární složení; ii) analýzy fragmentačních spekter, získaných po izolaci vybraných iontů nebo bez izolace s využitím rampy vyšší kolizní energie; iii) charakteristického izotopického profilu bromovaných sloučenin.

Stupně přeměny bromovaných fenolů (Tab. VI) během dvouhodinové elektrolýzy při potenciálu 1,0 V byly určeny z ploch chromatografických píků zaznamenaných pomocí UPLC s detektorem diodového pole (PDA).

Nejnižší stupeň konverze na velkoplošné platinové síťkové elektrodě byl pozorován u 3bromfenolu, což je v souladu s nejrychlejší a nejsilnější pasivací elektrody oxidačními produkty 3-BP, rovněž pozorované při jeho oxidaci na rotační diskové elektrodě ze skelného uhlíku (viz Obr. 9).

Opačná situace nastala v případě pentabromfenolu, kdy byl pozorován nejvyšší stupeň konverze na platinové síťkové elektrodě, jenž odpovídá naopak nejpomalejší a nejmírnější adsorpci oxidačních produktů PBP u rotační diskové uhlíkové elektrody (Obr. 9).

Na základě těchto poznatků lze usuzovat, že adsorpce oxidačních produktů BP nezávisí příliš na materiálu použité elektrody.

Tab. VI: Plochy píků BP získaných pomocí UPLC-PDA a vypočtený stupeň konverze BP po dvouhodinové elektrolýze při potenciálu 1,0 V.

Sloučenina λ (nm)	λ	Plocha píku		Stupeň přeměny
	(nm)	Před elektrolýzou	Po elektrolýze	(%)
2-BP	220	12982	8433	35
3-BP	220	14982	11220	25
4-BP	226	19685	9776	50
PBP	224	56896	13599	76

5.3.2 Produkty elektrochemické oxidace 2-bromfenolu

Metodou UPLC-PDA-MS byly analyzovány oxidační produkty získané elektrochemickou oxidací 2-bromfenolu. Pík náležící samotnému 2-bromfenolu byl detekován v retenčním čase 5,22 min.



Obr. 25: Rekonstruovaný chromatogram dimerních produktů s m/z 340,88. Data byla získána analýzou elektrolyzovaných roztoků (**a**) 2-BP, (**b**) 3-BP a (**c**) 4-BP (**c** = $2 \cdot 10^{-4}$ mol l⁻¹) metodou UPLC-MS. Elektrolýza probíhala po dobu 3 hod při E = 1,2 V (**a**) a po dobu 2 hodin při E = 1,0 V (**b**, **c**).

V hmotnostním spektru byl identifikován dimerní produkt s hodnotou m/z 340,88. V rekonstruovaném iontovém chromatogramu (Obr. 25a) byly nalezeny dva píky s retenčními časy (t_R) 5,58 min a 5,90 min, u nichž přesná hodnota m/z odpovídá stejnému sumárnímu vzorci C₁₂H₂O₂Br (Tab. VII). Oba izomerní produkty byly nalezeny v roztocích, které byly elektrolyzovány při potenciálech 1,0 V a 1,2 V. Fragmentační spektrum prvního eluovaného dimeru (Obr. 26a) poskytlo fragmenty m/z 260,9572 (eliminace HBr, odchylka od teoretické hodnoty m/z 8,0 ppm), m/z 232,9619 (ztráta CO, odchylka od teoretické hodnoty 7,3 ppm) a m/z 78,9279 respektive 80,9277 (Br⁻). Ztráta HBr, následovaná eliminací CO by mohla naznačovat, že atom bromu je umístěn v sousední *ortho-* pozici k -OH skupině poskytující protony.

Toto uspořádaní je patrné u dimeru 2-BP, v němž jsou obě oxidované monomerní jednotky spojené vazbou C-C (navržené struktury jsou na obrázku 26a). Podobné bromované, resp. chlorované dimery obsahující ve své struktuře vazbu C-C jsou v literatuře popsány jako intermediáty [81, 84], které vznikají např. při pyrolytických reakcích a mohou dále reagovat až na dibenzofurany [84].



Obr. 26: Fragmentační hmotnostní spektra a navržené struktury dimerů nalezených v roztocích 2-BP (**a** - t_R = 5,58 min, **b** - t_R = 5,90 min) elektrolyzovaných po dobu 3 hod při potenciálu E = 1,2 V. Kolizní energie 10 - 30 eV, negativní ESI mód.

Fragmentační spektrum druhého eluovaného dimeru (Obr. 26b) poskytlo pouze slabý signál m/z 262,9545, jenž odpovídá buď druhému isotopickému píku fragmentu, vzniklého ztrátou HBr nebo prvnímu isotopickému píku anion-radikálu vytvořeného ztrátou Br·.

Absence odpovídajícího isotopického píku je způsobena příliš nízkým signálem, přesto byla pozorována dobrá shoda s teoretickou hmotností (rozdíl 13,8 ppm). Přítomnost píku náležícího Br⁻ (m/z 78,9284) je důkazem, že příslušný fragmentovaný ion je bromovaný. Získaná MS data však neumožňují určit způsob spojení obou jednotek 2-BP.

V roztoku 2-BP, který byl elektrolyzován při potenciálu E = 1,2 V po dobu 3 hodin, byly detekovány dva další dimerní produkty v nízké intenzitě. První produkt byl detekován v retenčním čase (t_R) 5,46 min a s hodnotou m/z 262,9722 (Tab. VII), jedná se pravděpodobně o dimer obsahující jen jeden atom bromu. Druhý produkt s m/z 418,7992 (Tab. VII) a retenčním časem 6,23 min byl identifikován jako dimer obsahující ve své struktuře tři atomy bromu. Nízký signál fragmentačních iontů nedovolil detailněji specifikovat jejich dimerní struktury.

Oba výše zmíněné produkty byly detekovány pouze v roztocích elektrolyzovaných při vyšším potenciálu a jsou s největší pravděpodobností produkty dalších redoxních přeměn již primárně vytvořených dimerních struktur.

Ve všech elektrolyzovaných roztocích byly kromě identifikovaných dimerních oxidačních produktů nalezeny také trimerní produkty (Tab. VII), z nichž nejhojněji byl zastoupen pík s retenčním časem (t_R) 6,00 min. Nicméně, nízké intenzity píků neumožnily detailnější určení struktur.

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
2-BP	340,8845	5,58	$C_{12}H_7O_2Br$	9,4
	340,8860	5,90	$C_{12}H_7O_2Br$	13,8
	262,9722	5,46	$C_{12}H_8O_2Br$	5,3
	418,7992	6,23	$C_{12}H_6O_2Br_3$	17,7
	510,8135	6,00	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	-8,8

Tab. VII: Přehled oxidačních produktů 2-BP identifikovaných metodou UPLC-MS

5.3.3 Produkty elektrochemické oxidace 3-bromfenolu

Pík náležící samotnému 3-bromfenolu byl eluován v retenčním čase 5,33 min. V chromatogramu bylo nalezeno nejméně pět píků izomerních oxidačních produktů s m/z **340,88** (Obr. 25b, Tab. VIII). V MS-MS spektru všech izomerů byl pozorován bromidový anion. Fragment odpovídající ztrátě HBr byl nalezen v MS-MS spektru čtyř dimerů s retenčními časy $t_R = 5,51; 5,72; 6,01$ a 6,20 min.

Fragmentační spektrum izomerního píku s nejdelším retenčním časem 6,20 min (Obr. 27) poskytlo intenzivní signál fragmentu m/z 185,9367, který pravděpodobně odpovídá anion-radikálu brombenzendiolu (odchylka od teoretické hodnoty 27,4 ppm).

Fragment náleží dimeru etherového typu s vazbou C-O-C. Slabý signál fragmentu m/z 132,8773 odpovídá postupné degradaci aromatického kruhu, resp. kruhů.

Žádný z elektrolyzovaných roztoků 3-BP neposkytl trimerní oxidační produkty ani ionty s hodnotou m/z 510,82 (předpokládaná monoizotopická hmotnost trimerního produktu), respektive 512,82 (předpokládaná hmotnost dominantního iontu trimerního produktu).



Obr. 27: Fragmentační hmotnostní spektrum a navržená struktura dimeru nalezeného v roztocích 3-BP ($t_R = 6,20$ min) elektrolyzovaných po dobu 2 hod při potenciálu E = 1,0 V. Kolizní energie 10 - 30 eV, negativní ESI mód.

Tab. VIII: Přehled oxidačních	produktů 3-BP identifikovar	vých metodou UPLC-MS
-------------------------------	-----------------------------	----------------------

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
	340,8904	5,42	$C_{12}H_7O_2Br_2$	26,7
3-BP	340,8870	5,51	$C_{12}H_7O_2Br_2$	16,7
	340,8886	5,72	$C_{12}H_7O_2Br_2$	21,4
	340,8761	6,01	$C_{12}H_7O_2Br_2$	-15,2
	340,8853	6,20	$C_{12}H_7O_2Br_2$	11,7

5.3.4 Produkty elektrochemické oxidace 4-bromfenolu

Pík 4-bromfenolu byl eluován v retenčním čase $t_R = 5,27$ min. Stejně jako v případě 2bromfenolu, poskytoval 4-BP dva izomerní píky dimerního produktu s *m/z* 340,88, kterým náleží retenční časy $t_R = 5,98$ min a $t_R = 6,30$ min (Obr. 25c, Tab. IX).

V retenčním čase 6,30 min byl eluován pík, který poskytoval intenzivní fragmentační ion m/z 185,9318 (Obr. 28b), jenž náleží anion-radikálu brombenzendiolu (C₆H₃BrO₂, odchylka od teoretické hodnoty -2,2 ppm).

Lze tedy předpokládat, že příslušný oxidační produkt zřejmě odpovídá dibromdifenyletheru, jenž byl pozorován rovněž u dimeru 3-BP s retenčním časem 6,20 min.

Naproti tomu MS-MS spektrum dimeru eluovaného v retenčním čase 5,98 min (Obr. 28a) poskytlo fragmentový pík s m/z 322,8764 (C₁₂H₃Br₂O, odchylka od teoretické hodnoty 15,8 ppm) odpovídající ztrátě molekuly H₂O ($\Delta m/z$ 18,0096). Tento fragment chyběl ve spektru dimeru s $t_R = 6,30$ min. Snadná eliminace vody může být spojena s vyšším počtem -OH skupin a tudíž s dimery bifenylového typu s vazbou C-C. Struktura vyplývající z fragmentačních spekter je v souladu s chromatografickým chováním obou dimerů. Dimer etherového typu s vazbou C-O-C (Obr. 28b) vykazoval delší retenční čas způsobený nižší polaritou v porovnání s dimerem obsahujícím vazbu C-C a dvě polární -OH skupiny (Obr. 28a). Literatura uvádí, že obdobné dimerní produkty byly popsány např. při oxidaci bromovaných fenolů chemickými činidly, jako je manganistan draselný a oxid manganičitý [82, 83]. Také během pyrolýzy bromovaných fenolů, lze pozorovat vznik bromovaných dimerních intermediátů, které jsou strukturně podobné oxidačním produktům nalezeným u 4-BP [84].



Obr. 28: Fragmentační hmotnostní spektra a navržené struktury dimerů nalezených v roztocích 4-BP (**a** - t_R = 5,98 min, **b** - t_R = 6,30 min) elektrolyzovaných po dobu 2 hod při potenciálu E = 1,0 V. Kolizní energie 10 - 30 eV, negativní ESI mód.

Dále byl detekován dimer obsahující ve své struktuře pouze jeden atom bromu. Tento oxidační produkt byl identifikován v retenčním čase $t_R = 5,49$ min a s m/z 262,9736 (C₁₂H₈O₂Br, odchylka od teoretické hodnoty 13,7 ppm, Tab. IX), jeho intenzita byla o řád nižší ve srovnání s dimery m/z 340,88.

Trimerní oxidační produkty s hodnotou m/z 510,82 (Tab. IX) byly detekovány metodou UPLC-MS jako čtyři chromatograficky separované izomery s retenčními časy $t_R = 6,38$ min, $t_R = 6,54$ min, $t_R = 6,63$ min, $t_R = 6,83$ min. První eluovaný, tedy nejvíce polární trimer ($t_R = 6,38$ min) by mohl ve své molekule obsahovat tři -OH skupiny a dvě C-C vazby (Obr. 29a). Lze očekávat, že tato struktura bude nejsnáze odštěpovat vodu, jejíž ztráta byla pozorována v kolizním spektru (Obr. 29e) jako intenzivní pík fragmentového iontu s m/z 492,8022 ($C_{18}H_8Br_3O_2$, odchylka od teoretické hodnoty -10,6 ppm). Struktura produktu neumožňuje tvorbu anion-radikálu brombenzendiolu, jehož odpovídající fragmentový ion (m/z 185,9) ve spektru chybí.

Další možná trimerní struktura by mohla obsahovat dvě -OH skupiny, jednu C-C vazbu a jednu C-O-C vazbu. Druhý eluovaný trimer s $t_R = 6,54$ min poskytoval intenzivní fragmentový ion s hodnotou m/z 186,9386 (Obr. 29f) patřící bromhydroxyfenolátu (C₆H₄BrO₂, odchylka od teoretické hodnoty -4,8 ppm). Tvorba tohoto fragmentu napovídá, že struktura trimeru obsahuje fenolickou -OH skupinu i vazbu C-O-C (Obr. 29b).

Třetí eluovaný trimer s $t_R = 6,63$ min poskytuje fragmentový ion při m/z 338,8800 (Obr. 29g) obsahující dvě jednotky 4-BP (C₁₂H₅Br₂O₂, odchylka od teoretické hodnoty 40,7 ppm) a fragmentový ion s m/z 170,9522 odpovídající aniontu 4-BP (C₆H₄BrO, odchylka od teoretické hodnoty 44,5 ppm). Tyto fragmentační procesy by mohly nastat v případě struktury obsahující jednu C-C a jednu C-O-C vazbu, v níž je aromatický kruh bez -OH skupiny spojený se zbytkem molekuly prostřednictvím C-O-C vazby (Obr. 29c). Navrženou strukturu podpořila absence anion-radikálu brombenzendiolu a bromhydroxyfenolátu, tj. fragmentů s m/z 185,9 nebo 186,9 v kolizním spektru.

Čtvrtý eluovaný trimer s $t_R = 6,83$ min poskytoval anion bromfenolu (Obr. 29h) s m/z 170,9467 (C₆H₄BrO, odchylka od teoretické hodnoty 12,3 ppm) ve vysokém výtěžku. Pravděpodobnost tohoto fragmentačního procesu je vyšší u trimerů obsahujících dvě vazby C-O-C (Obr. 29d), kde k odštěpení bromfenolátu může dojít na obou stranách symetrické molekuly.



Obr. 29: MS spektra trimerních produktů nalezených v roztocích 4-BP (c = $2 \cdot 10^{-4}$ mol 1^{-1}), elektrolyzovaných při potenciálu E = 1,0 V po dobu 2 h a jejich navržené struktury. MS spektra získaná při nižší kolizní energii 5eV (a-d) a vyšší kolizní energii, rampa 10-30 eV (e-h) u trimerů eluovaných v retenčním čase t_R = 6,38 min (a, e), t_R = 6,54 min (b, f), t_R = 6,63 min (c, g) a t_R = 6,83 min (d, h), negativní ESI mód.

Vedle čtyř zmíněných trimerních produktů byl v retenčním čase $t_R = 5,86$ min eluován ion s hodnotou *m/z* **446,8933** (Tab. IX). Přesná hmota a izotopový profil napovídají, že pravděpodobně patří trimeru, který má ve své struktuře dva atomy bromu a dvě oxo skupiny (chinon).

Posledním detekovaným oxidačním produktem 4-BP byl ion s m/z 680,75, který byl eluován v retenčním čase $t_R = 6,83$ min. Přestože pík tohoto iontu vykazuje velmi malou intenzitu lze očekávat, že pravděpodobně náleží tetramernímu produktu oxidace 4-BP.

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
	340,8843	5,98	$C_{12}H_7O_2Br_2$	8,8
4-BP	340,8878	6,30	$C_{12}H_7O_2Br_2$	19,1
	262,9736	5,49	$C_{12}H_8O_2Br$	13,7
	510,8124	6,38	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	-11,0
	510,8260	6,54	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	15,7
	510,8100	6,63	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	-15,7
	510,8200	6,83	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	3,9
	446,8933	5,86	$C_{18}H_9O_4Br_2$	14,8

Tab. IX: Přehled oxidačních produktů 4-BP detekovaných metodou UPLC-MS

5.3.5 Produkty elektrochemické oxidace pentabromfenolu

Pík patřící pentabromfenolu byl eluován v retenčním čase 6,61 min. Elektrolýzou PBP, která probíhala 2 hodiny při E = 1,0 V, byly získány tři oxidační produkty.

Chromatografický pík s retenčním časem 8,0 min poskytl hmotnostní spektrum s izotopovým profilem typickým pro sloučeninu obsahující ve své struktuře 9 atomů bromu (Obr. 30a, Tab. X). Signál prvního izotopu nebyl ve spektru nalezen. Nejvíce intenzivní izotopový pík byl pozorován při hodnotě m/z 896,2476, která je velmi blízká teoretické hodnotě pro pentabromfenoxy-tetrabromfenol (rozdíl 3,1 ppm), jenž může být považován za příslušný oxidační produkt.

Fragmentační spektrum izolovaného iontu (m/z 896,24, Obr. 30b) poskytlo nejvíce intenzivní fragmentový ion s m/z 470,5944, k němuž náležel monoizotopický pík s m/z 466,6071. Tento fragment odpovídal anion-radikálu pentabromfenylu (C₆Br₅, odchylka od teoretické hodnoty 14,5 ppm). Druhý charakteristický fragment byl vytvořen odštěpením pentabromfenylového radikálu a bromu (C₆Br₃O₂, monoizotopický ion s m/z 340,7581, nejvíce intenzivní ion s m/z 344,7451, odchylka od teoretické hodnoty 12,5 ppm). Struktura pozorovaného dimerního produktu, resp. produktů (Obr. 30a) tedy odpovídá navrhovaným difenyl etherům obsahujícím vazbu C-O-C. Literatura uvádí, že elektrochemická oxidace pentachlorfenolu v neutrálním vodném pufru poskytla 2,3,4,5,6-pentachlor-4-pentachlorfenoxy-2,5-cyklohexadienon, jako hlavní dimerní produkt této reakce [133]. Nicméně, obdobný dimer nebyl za použitých experimentálních podmínek (1,0 V a 1,4 V) v elektrolyzovaném roztoku PBP nalezen.



Obr. 30: MS a MS/MS spektrum dimerů PBP vytvořených v roztoku PBP ($c = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol } l^{-1}$) elektrolyzovaném 2 hod při potenciálu E = 1,0 V. MS spektrum při nízké kolizní energii 5 eV (**a**), MS-MS spektrum při vyšší kolizní energii (**b**) (rampa 10-30 eV, rozlišení kvadrupól LM: 2), negativní ESI mód.

Kromě dimerního oxidačního produktu, resp. produktů byl detekován ve stopovém množství monomerní produkt eluovaný v retenčním čase $t_R = 5,67$ min. Pík tohoto monomeru byl detekován v roztoku získaném elektrolýzou probíhající po dobu 2 hodin při potenciálu 1,0 V. Stejný pík s retenčním časem 5,67 min a *m/z* 420,6788 (Tab. X) byl pozorován tentokrát jako hlavní oxidační produkt v roztoku elektrolyzovaném 20 hodin při potenciálu 1,4 V. Pík se stejným retenčním časem a stejným hmotnostním spektrem byl rovněž získán analýzou roztoku standardu 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu, kde byly detekovány dva píky odpovídající redukované ($t_R = 5,67 \text{ min}, m/z 420,6757$, odchylka od teoretické hodnoty 11,2 ppm) a oxidované formě ($t_R = 5,98 \text{ min}, m/z 419,6656, \text{ odchylka od teoretické hodnoty 5,7}$ Tento fakt naznačuje, že jedna nebo obě formy redoxního ppm). páru (tetrabrombenzochinon/tetrabromhydrochinon) mohou být produkty elektrochemické oxidace PBP.

Na rozdíl od PBP, analogický tetrachlorchinon nebyl nalezen po elektrolýze pentachlorfenolu ve vodném, pufrovaném prostředí, pravděpodobně kvůli dosti vysokému oxidačnímu potenciálu příslušného pentachlorfenoxylového radikálu [133].

Další monomerní oxidační produkt s *m/z* 434,6867 (monoizotopický ion, Tab. X), získaný při intenzivnější elektrolýze (20 hod., E = 1,4 V) byl detekován v retenčním čase 6,25 min. Pravděpodobná struktura tohoto monomeru, identifikovaného v roztoku 90% methanolu, zřejmě odpovídá aniontu methoxy-tetrabromfenolu.

Minoritní oxidační produkt PBP byl detekován v retenčním čase $t_R = 6,08$ min (Tab. X) s hodnotou m/z 449,6643 v roztoku elektrolyzovaném za mírnějších podmínek (2 hod, E = 1,0 V). Určení elementárního složení tohoto produktu odhalilo přítomnost dusíku v molekule. Analýza produktů PBP elektrolyzovaných za stejných podmínek, ale v prostředí pufru obsahujícím sodné ionty místo amonných, obdobný produkt neodhalila. Z toho lze usoudit, že dusík obsažený v nalezeném produktu pravděpodobně pochází z oxidace amonných iontů, které jsou součástí použitého elektrolytu.

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
	896,2476*	8,00	$C_{12}O_2Br_9$	3,1
DDD	420,6788	5,67	$C_6HO_2Br_4$	18,5
I DI	434,6867	6,25	$C_7H_3O_2Br_4$	0,2
	449,6643	6,08	$C_6NO_3Br_4$	6,9
* /- l d+	X: X/1			

1 40, 11, 110000000000000000000000000000	Tab. X: Přehled oxidač	ních produktů PBP i	dentifikovaných m	netodou UPLC-MS
--	------------------------	---------------------	-------------------	-----------------

*m/z hodnota nejintenzivnějšího píku

5.4 Analýza oxidačních produktů metodou EC-MS

V předchozích kapitolách byla popsána elektrochemická oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu na velkoplošné platinové síťkové elektrodě za daných experimentálních podmínek a následná analýza oxidačních produktů metodami GC-MS a UPLC-MS. Zatímco metoda GC-MS umožnila identifikaci řady oxidačních produktů u 2,4,6tribromfenolu, v případě ostatních studovaných bromovaných fenolů musela byt zvolena metoda UPLC-MS, která odhalila daleko více oxidačních produktů, než tomu bylo při použití plynové chromatografie. Kromě zmíněných technik byla naše pozornost zaměřena i na využití přímého spojení elektrochemie s hmotnostní spektrometrií (EC-MS). K nevýhodám off-line metod, oproti přímému spojení EC-MS patří např. vyšší spotřeba chemikálií při extrakcích, či přípravě mobilních fází. Dále je potřeba elektrolyzáty upravit před samotnou analýzou vhodnými postupy, např. extrakcí, odpařováním, ředěním, apod. S tím je spojena určitá pracnost a časová náročnost, zvyšuje se riziko kontaminace vzorku a především ztrát méně stabilních (mezi)produktů. On-line spojení elektrochemie s hmotnostní spektrometrií může eliminovat výše zmíněné nevýhody. Má však také svá omezení. K nim patří nutnost pravidelně obnovovat povrch pracovní elektrody, či používat pouze těkavé elektrolyty (amonné soli organických kyselin, např. mravenčí nebo octové). Přítomnost iontů elektrolytu může snižovat účinnost ionizace v ESI [140, 141], tudíž je nutné používat velmi nízké koncentrace elektrolytu. Omezení se týká také volby pH, aby bylo vhodné jak pro účinný průběh elektrochemické reakce, tak pro ionizaci v ESI.

Elektrochemická oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu byla provedena v průtokové amperometrické cele s platinovou diskovou pracovní elektrodou v prostředí mravenčanového pufru a methanolu (1:9). Roztok BP v tomto elektrolytu byl rychlostí řádu jednotek µl min⁻¹ čerpán pomocí stříkačkového čerpadla přes průtokovou elektrochemickou celu, v níž probíhala elektrolýza, do iontového zdroje - elektrospreje v negativním ionizačním módu. Vzniklé záporné ionty pak byly analyzovány v hmotnostním spektrometru - iontové pasti.

Dimerní produkty 2-bromfenolu a 4-bromfenolu s m/z 340,8 (monoizotopický pík) byly pozorovány při potenciálu 1,0 V (proti referentní Pd/H₂ elektrodě). Kromě dimerního oxidačního produktu byl detekován ještě signál s hodnotou m/z 510,8 patřící trimernímu produktu. Tento pík však byl nalezen pouze ve spektru 2-bromfenolu. U 3-bromfenolu nebyly žádné oxidační produkty touto technikou pozorovány, stejně jako tomu bylo při analýze produktů 3-BP metodou GC-MS.

Elektrolýza pentabromfenolu poskytla pouze jeden oxidační produkt s hodnotou m/z 449,6. Stejný oxidační produkt byl nalezen rovněž při off-line experimentech se vzorky PBP, které byly oxidovány na velkoplošné platinové elektrodě a následně analyzovány UPLC-MS. Intenzita signálu produktu m/z 449,6 byla při off-line experimentech malá a v případě, že elektrolýza probíhala za intenzivnějších podmínek (20 hod, E = 1,4 V) nebyl již signál tohoto produktu pozorován vůbec, pravděpodobně v důsledku jeho nestability. Naproti tomu při online experimentech byl získán signál s dostatečnou intenzitou. Schopnost analyzovat málo stabilní produkty může být považována za hlavní výhodu on-line technik.

Na obrázku 31 je znázorněna závislost intenzity signálu oxidačních produktů *m/z* 342,8 a *m/z* 512,8 na potenciálu aplikovaném na pracovní elektrodu, tzv. hydrodynamický voltamogram. Z něho lze určit potenciál, při němž příslušný produkt vzniká. Tento potenciál a do značné míry i průběh voltamogramu odpovídají cyklickým voltamogramům získaným s rotační diskovou elektrodou (Obr. 9). Pro oxidaci 2-BP, 4-BP a PBP byly mezní potenciály, při nichž se začínaly objevovat signály produktů, 0,7; 0,8 a 1,0 V (proti referentní Pd/H₂ elektrodě). Z voltamogramů lze také určit potenciál, při němž vzniká cílový produkt v největší intenzitě, a za těchto podmínek pak provádět MS/MS experimenty pro získání strukturních informací o daném produktu.



Obr. 31: Závislost dekadického logaritmu intensity MS signálů dimerních oxidačních produktů s m/z 342,8 2-bromfenolu (1) a 4-bromfenolu (2) a trimerního produktu oxidace 2-bromfenolu s m/z 512,8 (3) měřených na Pt elektrodě v průtokové cele spojené s hmotnostním spektrometrem (EC-MS).

Vliv průtokové rychlosti na intenzitu signálu dimerního produktu generovaného při potenciálu 1,0 V byl testován u 2-bromfenolu. Průtoková rychlost byla měněna od 9 do 3 μl min⁻¹ a zpět a byl sledován signál nejvíce intenzivního iontu m/z 342,8 (monoizotopický pík m/z 340,8) dimerního produktu (Obr. 32). Z grafu je patrno, že intenzita píku klesá se snižující se průtokovou rychlostí a klesající trend pokračuje i při opětném zvyšování průtokové rychlosti. Jelikož během měnící se průtokové rychlosti nebyl obnovován povrch pracovní elektrody, bude pokles signálu pravděpodobně způsoben pasivací elektrodového povrchu vznikajícími oxidačními produkty. Z uvedených pozorování vyplývá, že pasivace hraje velmi důležitou roli při on-line experimentech s průtokovou celou obsahující platinovou elektrodu o malé ploše (0,07 cm²) ve srovnání s elektrolytickými experimenty s velkoplošnou platinovou elektrodou (4 cm²). Abychom zabránili zanášení pracovní elektrody vznikajícími oxidačními produkty, je potřeba elektrodový povrch pravidelně obnovovat. Čištění povrchu pracovní elektrody je možné provádět mechanicky, po demontáži elektrody z průtokové cely, nebo elektrochemicky např. potenciálovými pulsy se střídavou polaritou. První způsob je sice velmi účinný, avšak zdlouhavý a pracný. Elektrochemické čištění je mnohem rychlejší, avšak při velkém znečištění nemusí být dostačující pro úplné obnovení aktivity elektrodového povrchu.

V porovnání s off-line metodami UPLC-MS a GC-MS umožnila on-line EC-MS analýza detekovat v krátkém čase hlavní oxidační produkty 2-BP (dimer s m/z 340,8 a trimer s m/z 510,8), 4-BP (dimer s m/z 340,8) a PBP (produkt s m/z 449,6). Poslední zmíněný produkt poskytl intenzivnější signál v on-line systému, což je v souladu s jeho náchylností k dalším reakcím, která byla pozorována v off-line experimentech s UPLC-MS detekcí.

Nestabilita a větší polarita tohoto produktu mohly způsobit, že nebyl nalezen při GC-MS analýze ethylacetátových extraktů elektrolyzátů PBP. Výhodou off-line analýzy elektrolyzovaných roztoků BP metodou UPLC-MS resp. GC-MS byla separace a detekce některých izomerních produktů (dimerů a trimerů), které nelze vzájemně rozlišit v přímém spojení EC-MS.



Obr. 32: Závislost intensity iontu *m/z* 342,8 detekovaného metodou EC-MS v roztoku obsahujícím $2 \cdot 10^{-4}$ mol l⁻¹ 2-BP v prostředí methanol/mravenčanový pufr pH = 6 (9:1) na průtokové rychlosti. Potenciál Pt pracovní elektrody v amperometrické průtokové cele byl E = 1,0 V (vs. Pd/H₂). Šipky znázorňují směr změny průtokové rychlosti.

5.5 Mechanismus elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu

Na základě dat získaných analýzou elektrolyzátů monobromovaných fenolů a pentabromfenolu metodou UPLC-MS, GC-MS a online EC-MS byly navrženy možné mechanismy vzniku jejich oxidačních produktů.

První krok popsaný ve Schématech 17 a 18 znázorňuje vznik fenoxylových radikálů z monobromovaných fenolů, resp. pentabromfenolu. Spojením fenoxylových radikálů lze získat dimery s vazbou C-C nebo C-O-C (Schéma 17). Dimerizace není obecně doprovázena eliminací bromu, ale štěpení vazby C-Br může nastat jako boční reakce při dlouhodobě intenzivní elektrolýze.

V případě pentabromfenolu, vznikají spojením fenoxylových radikálů dimerní produkty etherového typu doprovázené eliminací bromu, podobně jak to bylo pozorováno u TBP. Na rozdíl od TBP, který v menší míře poskytoval dimerní produkt s vazbou C-C (produkt P6, Schéma 16), u PBP podobná sloučenina nebyla nalezena. Spojení pentabromfenoxylových radikálů vazbou C-C je pravděpodobně znemožněno sterickým bráněním příslušných *ortho* a *para* poloh fenolového kruhu. Vliv na sníženou reaktivitu pentabromfenoxylového radikálu může mít i přítomnost pěti atomů Br, které mohou přispívat k delokalizaci elektronů a tím ke stabilizaci radikálu, podobně jako to bylo popsáno u chlorofenolů [31].



Schéma 17: Dimerizační reakce monobromovaných fenolů



Schéma 18: Dimerizační reakce pentabromfenolu

5.6 Porovnání nalezených oxidačních produktů s údaji dostupnými v literatuře

Elektrochemická oxidace monobromovaných fenolů poskytla několik oligomerních produktů. Hlavní oxidační produkty s hodnotou m/z 340,8 byly identifikovány v elektrolyzátech 2-BP, 3-BP a 4-BP. Strukturou odpovídaly dimerům, vzniklým spojením dvou monomerních jednotek příslušného oxidovaného bromfenolu vazbou C-O-C nebo vazbou C-C. Tyto produkty obsahovaly ve své struktuře dva atomy bromu. Oxidační produkty s obdobnou strukturou byly již dříve popsány při oxidaci bromfenolů manganistanem draselným [82] nebo oxidem manganičitým [83]. Strukturně analogické produkty byly nalezeny také při elektrooxidaci chlorovaných fenolů [32], či při Fentonově oxidaci 2chlorfenolu [81]. Produkty s m/z 262,9, které ve své struktuře mají pouze jeden atom bromu, byly nalezeny v roztocích 2-BP a 4-BP elektrolyzovaných delší dobu při vyšších potenciálech. Obdobné dimerní produkty s jedním halogenem vznikaly také při pyrolytických reakcích monobromfenolů jako intermediáty, jež mohou dále reagovat až na bromované dibenzodioxiny, resp. furany, a také při elektrooxidaci [32], či fotolýze chlorfenolů [73]. Kromě zmíněných dimerních sloučenin byl pozorován i vznik trimerů s m/z 510,8, které byly nalezeny v elektrolyzátech 2-BP a 4-BP. Nicméně pro nízkou intenzitu signálu se podařilo blíže určit strukturu trimerů pouze u 4-BP. Obdobný trimer se dvěma vazbami C-O-C vznikal rovněž při elektropolymerizaci monochlorfenolů [32].

V literatuře jsou jako produkty různých oxidačních procesů monochlorovaných fenolů popsány také dehalogenované meziprodukty, kdy společně se ztrátou halogenu může v některých případech docházet k hydroxylaci [36, 53, 73, 81].

Našimi experimenty se nepodařila přítomnost obdobných debromovaných hydroxylovaných produktů, vznikajících oxidací monobromfenolů, prokázat.

Při oxidaci TBP bylo identifikováno několik monomerů a dimerů, které ve své struktuře obsahovaly alkoxy skupinu, podle použitého alkoholu. Anodická methoxylace byla v minulosti již popsána na jednoduchých fenolických sloučeninách [43]. Nicméně, reakce vedoucí ke vzniku ostatních identifikovaných produktů, obsahujících alkoxy skupinu, nebyly doposud v literatuře podrobněji popsány. Při oxidaci TBP byl metodou GC-MS nalezen dimerní produkt (m/z 576, monoizotopický ion) s vazbou C-O-C, obsahující pět atomů bromu (hydroxypentabromdifenylether, OH-penta-BDE). Stejný produkt lze získat i oxidací TBP oxidem manganičitým [83], také působením Br⁻ a H₂O₂ za účasti bromperoxidasy [92].

Analogický chlorderivát byl připraven elektrooxidací trichlorfenolu [32], kde vznikal kromě dimeru i trimer [32]. Při analýze elektrolyzátů TBP se nám však žádný trimerní produkt najít nepodařilo. V literatuře byla popsána elektrooxidace trichlorfenolu, která vede ke vzniku chlorovaného chinonu/hydrochinonu [54]. Analogický produkt se nám podařilo detekovat i v případě elektrooxidace TBP.

Elektrochemická oxidace pentabromfenolu poskytla produkt m/z 896,2 s vazbou C-O-C a devíti atomy bromu. Strukturně podobný dimer byl identifikován i při oxidaci pentachlorfenolu [32]. Literatura rovněž uvádí, že elektrochemická oxidace pentachlorfenolu v neutrálním prostředí vede k tvorbě 2,3,4,5,6-pentachlor-4-pentachlorfenoxy-2,5-cyklohexadien-1-onu, jako hlavnímu dimernímu produktu této reakce [133]. Při námi provedené elektrooxidaci PBP nebyl nalezen oxidační produkt s podobnou strukturou. Kromě nalezeného dimeru, byl detekován také pík s m/z 420,7. Porovnáním s hmotnostním spektrem standardu 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu, bylo zjištěno, že dalším oxidačním produktem PBP bude tetrabrombenzochinon/tetrabromhydrochinon. V případě elektrolýzy pentachlorfenolu nebyl analogický tetrachlorchinon nalezen [133].

Většina námi identifikovaných oxidačních produktů bromovaných fenolů, svou strukturou odpovídala hydroxylovaným bromovaným difenyletherům OH-PBDE, resp. bifenylům OH-PBB. Jedná se o deriváty polybromovaných difenyletherů a bifenylů, lze tedy předpokládat podobné vlastnosti těchto polutantů, např. vliv na endokrinní systém [142], neurotoxicitu [143], či potencionální karcinogenitu [144]. Byla rovněž vyslovena hypotéza, že některé PBDE a OH-PBDE způsobují poškození DNA [143]. PBDE a PBB jsou lipofilní a ukládají se v tukových tkáních [93, 108], často jsou dávány do souvislosti s bromovanými zpomalovači hoření [144]. OH-PBDE mohou mimo jiné vznikat transformací PBDE prostřednictvím biologické hydroxylace nebo abiotickou oxidací [145-147].

6. Závěr

Bylo studováno elektrochemické chování vybraných bromovaných fenolů (2bromfenolu, 3-bromfenolu, 4-bromfenolu, 2,4,6-tribromfenol a pentabromfenolu) s využitím různých voltametrických technik. Měření bylo prováděno na elektrodách ze skelného uhlíku a platiny. Základní elektrolyt byl tvořen alkoholem (methanol, ethanol, 1-propanol, 1-butanol) a vodným pufrem pH = 6 (9:1, resp. 1:1). Všechny studované látky poskytovaly v anodické oblasti difuzí řízenou proudovou odezvu, odpovídající oxidaci fenolového kruhu. Ve všech použitých prostředích a na obou vybraných elektrodových materiálech byla pozorována pasivace elektrodového povrchu produkty elektrochemických reakcí, která byla nejvýraznější u monobromovaných fenolů a s rostoucím počtem atomů bromu se její míra snižovala. Rychlost elektrodové reakce, s ní související tvar proudového signálu a také jeho velikost byly ovlivněny délkou alkylového řetězce primárního alkoholu v roztoku. S rostoucí délkou řetězce vzrůstá viskozita roztoku, klesá rychlost difuze bromfenolu k elektrodovému povrchu a tedy i velikost difuzního proudu.

Voltametrické experimenty s rotační diskovou elektrodou ukázaly, že první reakce přenosu náboje vede k tvorbě bromfenoxylových radikálů, které následně dimerizují. Další elektrochemickou oxidací vznikaly elektroaktivní oxidační produkty, které se v cyklické voltametrii projevily katodickými proudovými odezvami. Katodický pík při potenciálu okolo -0,1 V odpovídal příslušnému brombenzochinonu. Chinoidní strukturu tohoto produktu potvrdila shoda v potenciálech se standardem 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu. V prostředí všech alkoholů byla sledována pasivace elektrodového povrchu produkty elektrochemických reakcí. Pasivace byla nejvýraznější u monobromovaných fenolů a s rostoucím počtem atomů bromu se její míra snižovala. Pro další studium a identifikaci oxidačních produktů byly bromované fenoly elektrolyzovány za konstantního potenciálu v prostředí 90% alkoholu v tříelektrodovém článku s velkoplošnou platinovou elektrodou. Vysoký obsah alkoholu byl zvolen z důvodu potlačení adsorpce oxidačních produktů na pracovní elektrodě. Metoda GC-MS se na základě získaných chromatografických dat a informací z hmotnostních spekter ukázala jako vhodná technika pro identifikaci oxidačních produktů 2,4,6-tribromfenolu. Při studiu vlivu délky alkylového řetězce alkoholu na složení vzniklých produktů elektrolýzy bylo nalezeno několik monomerních a dimerních produktů, které ve své struktuře obsahovaly alkoxy- skupinu odvozenou od použitého alkoholu.

Vypočtené teploty varu detekovaných produktů v homologických řadách korelovaly s retenčními časy. Na základě získaných výsledků byl navržen mechanismus elektrochemické oxidace 2,4,6-tribromfenolu, zahrnující dvě možné reakční cesty vedoucí ke vzniku identifikovaných produktů.

První reakční cesta popisuje reakce fenoxylového radikálu s vodou, alkoholem, s další molekulou TBP, příp. s oxidačními produkty, doprovázené odštěpením bromu, vedoucí ke vzniku dibromalkoxyfenolů a dimerních produktů. V druhém případě dochází k reakci alkoholem fenoxoniového iontu S za tvorby příslušných alkoxy derivátů tribromcyklohexadienonů nebo s vodou za vzniku dibrombenzochinonu doprovázené odštěpením bromovodíku. Metoda GC-MS umožnila dále identifikovat dimerní produkty 4-bromfenolu. Žádné elektrochemické oxidace 2-bromfenolu a další produkty monobromovaných fenolů ani pentabromfenolu nebyly metodou GC-MS nalezeny. Tento fakt mohl být způsoben malou těkavostí, případně i špatnou rozpustností zejména oligomerních produktů, které zůstávají pevně adsorbovány na elektrodovém povrchu. Z toho důvodu byla zvolena pro analýzu oxidačních produktů bromfenolů metoda UPLC-MS, která umožňuje detekci i málo těkavých látek. Mezi produkty oxidace v prostředí 90% methanolu převažovaly dimery etherového typu s vazbou C-O-C (3-BP, 4-BP, PBP) a bifenylového typu s vazbou C-C (2-BP, 4-BP). Kromě dimerů byly detekovány v případě 2-BP a 4-BP i trimerní, resp. tetramerní produkty (u 4-BP). V případě pentabromfenolu byly identifikovány i monomerní produkty: tertabrombenzochinon, tetrabrommethoxyfenol a tetrabromnitrofenol.

Kromě zmíněných off-line technik bylo pro studium elektrochemické oxidace použito také přímé spojení elektrochemie s hmotnostní detekcí. V případě běžných off-line technik, je zapotřebí elektrolyzáty před samotnou separací vhodným způsobem zpracovat (extrahovat, odpařovat, ředit, apod.). On-line spojení EC-MS umožňuje tento krok zcela vynechat, tím klesne spotřeba některých chemikálií, sníží se riziko kontaminace vzorku, ztrát některých méně stabilních meziproduktů, apod. Právě možnost detekovat málo stabilní produkty je jednou z největších výhod přímého spojení elektrochemické cely s hmotnostním spektrometrem. Nevýhodou tohoto spojení pro generování a přímou detekci oxidačních produktů bromovaných fenolů je postupné zanášení pracovní elektrody reakčními produkty a s tím spojená nutnost pravidelného obnovování elektrodového povrchu. Metoda EC-MS umožnila detekovat dimerní oxidační produkty 2-BP a 4-BP, trimerní produkt 2-BP a monomerní produkt oxidativní nitrace PBP v prostředí obsahujícím amonné ionty.

Další výzkum v oblasti on-line oxidace bromovaných fenolů a detekce produktů by měl být zaměřen na hledání vhodných elektrodových materiálů, které by vykazovaly menší náchylnost k elektrodové pasivaci (např. borem dopovaný diamant), nebo použití jiných organických rozpouštědel, příp. solubilizačních činidel pro zvýšení rozpustnosti oxidačních produktů. Pozornost by mohla být věnována také technikám, které by umožnily detekovat a identifikovat oxidační produkty adsorbované na povrchu elektrod např. jejich vhodnou desorpcí a následnou analýzou pomocí hmotnostní spektrometrie.

Výsledky studia anodické oxidace vybraných bromfenolů ukázaly značnou podobnost chování těchto látek při oxidaci na elektrodách jako při chemické oxidaci manganistanem draselným nebo oxidem manganičitým [82, 83], kdy v obou případech vznikají dimerní produkty bifenylového a difenyletherového typu. Na rozdíl od chemické oxidace byly po elektrochemické oxidaci nalezeny i produkty monomerní – brombenzochinony a další produkty reakce se složkami roztoku (alkoxybromfenoly, tetrabromnitrofenol). Tvorba bromovaných benzofuranů a benzodioxinů, popisovaná při termickém rozkladu bromfenolů, nebyla při elektrochemické oxidaci pozorována.

Poznatky získané v této práci by mohly být využity v praxi např. pro účely syntézy některých derivátů bromovaných fenolů a také pro další studium procesů, které probíhají při tzv. pokročilých anodických oxidačních procesech používaných pro čištění odpadních vod od toxických organických polutantů. Z výsledků této práce vyplývá, že při odbourávání bromfenolů mohou vznikat látky, zejm. bromované hydroxybifenyly a hydroxydifenylethery (OH-PBDE, OH-PBB) s potenciálními negativními účinky na lidské zdraví, příp. toxické pro další organismy, podobně jako polybromované bifenyly a polybromované difenylethery. Je známo, že OH-PBDE a OH-PBB vznikají biologickou transformací v organismech. Elektrochemický článek by proto mohl být využitelný také pro modelování některých reakcí bromfenolů probíhajících enzymaticky v biologických systémech.

Seznam zkratek

APCI	chemická ionizace za atmosférického tlaku
BR. pufr	Brittonův-Robinsonův pufr
BP	bromovaný fenol
BSTFA	N,O-bis(trimethylsilyl)trifluoroacetamid
CV	cyklická voltametrie
DAD	detektor s diodovým polem
DPV	diferenčně pulsní voltametrie
EC-MS	elektrochemie s hmotnostní detekcí
ESI	elektrosprej
GC-MS	plynová chromatografie s hmotnostní detekcí
HPLC-MS	kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí
IC ₅₀	inhibiční koncentrace
LD ₅₀	letální dávka
MeO-PBDE	methoxylované- polybromované difenylethery
OH-PBB	hydroxylované- polybromované bifenyly
OH-PBDE	hydroxylované- polybromované difenylethery
PBB	polybromované bifenyly
PBDD	polybromované dibenzo-p-dioxiny
PBDE	polybromované difenylethery
PBDF	polybromované dibenzofurany
PBP	pentabromfenol
PDA	detekce fotodiodovým polem
PEDOT	poly(3,4-ethylendioxy)thiofen
RDE	rotační disková elektroda
SCE	kalomelova referentní elektroda
SIM	mód selektivního skenování iontů
TBP	tribromfenol
TOF	průletový analyzátor
UPLC	ultraúčinná kapalinová chromatografie

Seznam literatury

- Howe P., Dobson S., Malcolm H. M.: 2,4,6-Tribromophenol and Other Simple Brominated Phenols. Concise International Chemical Assessment Document 66. World Health Organization, Geneva 2005.
- Vohlídal J., Julák A., Štulík K.: Chemické a analytické tabulky, Grada Publishing, Praha 1999.
- 3. Korenman, Ya. I.; Sel'manchuk, N. N.: Extraction mechanism of halo-substituted aromatic-compounds. Russ. J. Phys. Chem. (1981), 55, 1229 1230.
- Haynes W. M.: CRC Handbook of Chemistry and Physics 93rd Edition 2012-2013, CRC Press, Taylor & Francis, p. 3-72, 3-518, 3-434.
- Quintana J. B., Rodil R. Muniategui-Lorenzo S., López-Mahía P., Prada-Rodríguez D.: Multiresidue analysis of acidic and polar organic contaminants in water samples by stir-bar sorptive extraction-liquid desorption-gas chromatogramy-mass spectrometry. J. Chromatogr. A (2007), 1174, 27-39.
- Kammann U., Vobach M., Wosniok W.: Toxic effects of brominated indoles and phenols on Zebrafish embryos. Arch. Environ. Contam. Toxicol. (2006), 51, 97-102.
- Cristale J., Quintana J., Chaler R., Ventura F., Lacorte S.: Gas chromatogramy/mass spectrometry comprehensive analysis of organophosphorus, brominated flame retardants, by-products and formulation intermediates in water. J. Chromatogr. A (2012), 1241, 1-12.
- <u>http://www.chemnet.com/cas/supplier.cgi?terms=3bromophenol&l=cz&exact=dic</u> <u>t&f=plist&mark=&submit.x=16&submit.y=12</u> (staženo 20. 11. 2015).
- 9. <u>http://www.chemnet.com/cas/supplier.cgi?terms=4bromophenol&l=cz&exact=dic</u> <u>t&f=plist&mark=&submit.x=19&submit.y=11</u> (staženo 20. 11. 2015).
- 10. <u>http://www.chemnet.com/cas/supplier.cgi?terms=2%2C4%2C6tribromophenol&l</u>
 <u>=cz&exact=dict&f=plist&mark=&submit.x=0&submit.y=0</u> (staženo 20. 11. 2015).
- 11. <u>http://www.chemnet.com/dict/dict--608-71-9--cz.html</u> (staženo 20. 11. 2015).
- 12. Adams R., Marvel C. S.: p-Bromophenol. Org. Synth., Coll. (1941), 1, 128.
- Budavari S., O'Neil M. J., Smith A. (Eds.): *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*, 12th edition, Chapman & Hall, New York 1996.

- 14. Flodin C., Whitfield F. B.: Brominated anisoles and cresols in the red alga *Polysiphonia sphaerocarpa*. Phytochemistry (2000), 53, 77-80.
- Whitfield F. B., Helidoniotis F., Shaw K. J., Svoronos D.: Distribution of bromophenols in species of marine algae from Eastern Australia. J. Agric. Food Chem. (1999), 47, 2367-2373.
- Taylor A. J., Mottram D. S.: Flavour Science: Recent Developments, The Royal Society of Chemistry, Cambridge 1996.
- Scheuer P. J.: Marine Natural Products. Chemical and Biological Perspectives, Volume IV, Academic Press 1981, Chapter 3, Phenolic Substances, 97.
- Kicklighter C. E., Kubanek J., Hay M. E.: Do brominated natural products defend marine worms from consumers? Some do, most don't. Limnol. Oceanogr. (2004), 49, 430-441.
- 19. Liu M., Hansen P. E., Lin X.: Bromophenols in marine algae and their bioactivities. Mar. Drugs (2011), 9, 1273-1292.
- Alaee M., Arias P., Sjödin A., Bergman A.: An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their used patterns in different contries/gegions and possible modes of release. Environ. Int. (2003), 29, 683-689.
- Öberg K., Warman K., Öberg T.: Distribution and levels of brominetd flame retardants in sewage sludge. Chemosphere (2002), 48, 805-809.
- 22. Bruchajzer E., Szymanska J. A., Piotrowski J. K.: Acute and subacute nephrotoxicity of 2-bromophenol in rats. Toxicol. Lett. (2002), 134, 245-252.
- Koen Y. M., Hajovsky H., Liu K., Williams T. D., Galeva N. A., Staudinger J. L., Hanzlik R. P.: Liver protein targets of hepatotoxic 4-bromophenol metabolites. Chem. Res. Toxicol. (2012), 25, 1777-1786.
- <u>http://lekarske.slovniky.cz/lexikon-pojem/alfa-glukosidaza-2</u> (staženo 20. 11. 2015).
- Thomsen C., Janák K., Lundanes E., Becher G.: Determination of phenolic flameretardants in human plasma using solid-phase extraction and gas chromatographyelectron-capture mass spectrometry. J. Chromatogr. B (2001), 750, 1-11.
- Thomsen C., Leknes H., Lundanes E., Becher G.: A new method for determination of halogenated flame retardants in human milk using solid-phase extraction. J. Anal. Toxicol. (2002), 26, 129-137.

- Thomsen C, Lundanes E., Becher G.: Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway: A study on temporal trends and the role of age. Environ. Sci. Technol. (2002), 36, 1414-1418.
- 28. Smeds A., Saukko P.: Brominated flame retardants and phenolic endocrine disruptors in Finnish human adipose tissue. Chemosphere (2003), 53, 1123-1130.
- 29. Morrow G. W., in Organic Electrochemistry (Eds. Lund H., Hammerich O.), Marcel Dekker, New York, 2001, 590.
- Ferreira M., Varela H., Torresi R. M., Tremiliosi-Filho G.: Electrode passivation caused by polymerization of different phenolic compounds. Electrochim. Acta (2006), 52, 434-442.
- Ureta-Zaňartu M. S., Bustos P., Diez M. C., Mora M. L., Gutiérrez C.: Electrooxidation of chlorophenols at a gold electrode. Electrochim. Acta (2001), 46, 2545-2551.
- Ežerskis Z., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution. Part IV: A gas chromatography mass spectrometry study. J. Appl. Electrochem. (2002), 32, 543-550.
- Gattrell M., Kirk D. W.: A Fourier transform infrared spectroscopy study of the passive film produced during aqueous acidic phenol electro-oxidation. J. Electrochem. Soc. (1992), 139, 2736-2744.
- Andreescu S., Andreescu D., Sadik O. A.: A new electrocatalytic mechanism for the oxidation of phenols at platinum electrodes. Electrochem. Commun. (2003), 5, 681-688.
- Bao L., Xiong R., Wei G.: Electrochemical polymerization of phenol on 304 stainless steel anodes and subsequent rating structure analysis. Electrochim. Acta (2010), 55, 4030-4038.
- Zhu X., Shi S., Wei J., Lv F., Zhao H., Kong J., He Q., Ni J.: Electrochemical oxidation characteristics of p-substituted phenols using a boron-doped diamond electrode. Environ. Sci. Technol. (2007), 41, 6541-6546.
- Tahar N. B., Savall A.: Electrochemical removal of phenol in alkaline solution. Contribution of the anodic polymerization on different electrode materials. Electrochim. Acta (2009), 54, 4809-4816.
- Iotov P. I., Kalcheva S. V.: Mechanistic approach to the oxidation of phenol at a platinum/gold electrode in an acid medium. J. Electroanal. Chem. (1998), 442, 19-26.

- Tahar N. B., Savall A.: Electropolymerization of phenol on a vitreous carbon electrode in alkaline aqueous solution at different temperatures. Electrochim. Acta (2009), 55, 465-469.
- Iniesta J., Michaud P. A., Panizza M., Cerisola G., Aldaz A., Comminellis Ch.: Electrochemical oxidation of phenol at boron-doped diamond electrode. Electrochim. Acta (2001), 46, 3573-3578.
- Li X., Cui Y., Feng Y., Xie Z., Gu J.: Reaction pathways and mechanisms of the electrochemical degradation of phenol on different electrodes. Water Res. (2005), 39, 1972-1981.
- Nilsson A., Palmquist U., Pettersson T., Ronlán A.: Anodic functionalisation in synthesis. Part 1. Methoxylation of methyl-substituted benzene and Anisole derivatives, and the synthesis of aromatic aldehydes by anodic oxidation. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 (1978), 708-715.
- Nilsson A., Palmquist U., Pettersson T., Ronlán A.: Anodic oxidation of phenolic compounds. Part 5. Anodic methoxylation of phenols. A simple synthesis of quinones, quinone acetals, and 4-methyl-α-methoxycyclohexa-2,5-dienones. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 (1978), 696-707.
- Ronlán A., Parker V. D.: Anodic oxidation of phenolic compounds. Part II. Products and mechanism of the anodic oxidation of hindered phenols. J. Chem. Soc. (1971), 3214-3218.
- Ežerskis Z., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution Part I: A cyclic voltammetry study. J. Appl. Electrochem. (2001), 31, 1117-1124.
- 46. Ežerskis Z, Jusys Z.: Oxidation of chlorophenols on Pt electrode in alkaline solution studied by cyclic voltammetry, galvanostatic electrolysis, and gas chromatography-mass spectrometry. Pure Appl. Chem. (2001), 73, 1929-1940.
- Ureta-Zaňartu M. S., Bustos P., Berríos C., Diez M. C., Mora M. L., Gutiérrez C.: Electrooxidation of 2,4-dichlorophenol and other polychlorinated phenols at a glassy carbon electrode. Electrochim. Acta (2002), 47, 2399-2406.
- Berríos C., Arce R., Rezende M. C., Ureta-Zaňartu M. S., Gutiérrez C.: Electrooxidation of chlorophenols at a glassy carbon electrode in a pH 11 buffer. Electrochim. Acta (2008), 53, 2768-2775.

- Berríos C., Marco J. F., Gutiérrez C., Ureta-Zaňartu M. S.: Electro-oxidation of chlorophenols at glassy carbon electrodes modified with polyNi(II)complexes. Electrochim. Acta (2009), 54, 6417-6425.
- Pigani L., Musiani M., Pirvu C., Terzi F., Zanardi C., Seeber R.: Electro-oxidation of chlorophenols on poly(3,4-ethylenedioxythiophene)-poly(styrene suphonate) composite electrode. Electrochim. Acta (2007), 52, 1910-1918.
- Ežerskis Z., Stalnionis G., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution. Part II: An electrochemical quartz crystal microbalance study. J. Appl. Electrochem. (2002), 32, 49-55.
- Duan X., Tian L., Liu W., Chang L.: Study on electrochemical oxidation of 4chlorophenol on a vitreous carbon electrode using cyclic voltammetry. Electrochim. Acta (2013), 94, 192-197.
- Vallejo M., Fresnedo M., Román S., Ortiz I.: Quantitative Assessment of the formation of polychlorinated derivatives, PCDD/Fs, in the electrochemical oxidation of 2-chlorophenol as function of the electrolyte type. Environ. Sci. Technol. (2013), 47, 12400-12408.
- Anandhakumar S., Chandrasekaran M.: Anodic oxidation of chlorophenols in micelles and microemulsions on glassy carbon electrode: the medium effect on electroanalysis and electrochemical detoxification. J. Appl. Electrochem. (2010), 40, 303-310.
- 55. Ežerskis Z., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution. Part III: A Fourier transformed infrared spectroscopy study. J. Appl. Electrochem. (2002), 32, 755-762.
- Codognoto L., Machado S. A. S., Avaca L. A.: Selective oxidation of pentachlorophenol on diamond electrodes. J. Appl. Electrochem. (2003), 33, 951-957.
- 57. Terashima C., Rao T. N. R., Sarada B. V., Tryk D. A., Fujishima A.: Electrochemical oxidation of chlorophenols at a boron-doped diamond electrode and their determination by high-performance liquid chromatography with amperometric detection. Anal. Chem. (2002), 74, 895-902.
- Rodgers J. D., Jedral W., Bunce N. J.: Electrochemical oxidation of chlorinated phenols. Environ. Sci. Technol. (1999), 33, 1453-1457.

- Ureta-Zaňartu M. S., Mora M. L., Diez M. C., Berríos C., Ojeda J., Gutiérrez C.: Chlorophenol electrooxidation on iron oxide-covered aluminosilicates deposited on glassy carbon. J. Appl. Electrochem. (2002), 32, 1211-1218.
- Li Ch.: Voltammetric determination of 2-chlorophenol using a glassy carbon electrode coated with multi-wall carbon nanotube-dicetyl phosphate film. Microchim. Acta (2007), 157, 21-26.
- Sun D., Zhang H.: Electrochemical determination of 2-chlorophenol using an acetylene black film modified glassy carbon electrode. Water Res. (2006), 40, 3069-3074.
- Zanta C. L.P.S., Michaud P.-A., Comninellis Ch., Andrade De A. R., Boodts J. F.
 C.: Electrochemical oxidation of *p*-chlorophenol on SnO₂-Sb₂O₅ based anodes for wastewater treatment. J. Appl. Electrochem. (2003), 33, 1211-1215.
- Kong J.-t., Shi S.-y., Zhu X.-p., Ni J.-r.: Effect of Sb dopant amount on the structure and electrocatalytic of Ti/Sb-SnO₂ electrodes in the oxidation of 4chlorophenol. J. Environ. Sci. (2007), 19, 1380-1386.
- Coteiro R. D., Andrade De A. R.: Electrochemical oxidation of 4-chlorophenol and its by-products using Ti/Ru_{0.3}M_{0.7}O₂ (M = Ti or Sn) anodes: preparation route versus degradation efficiency. J. Appl. Electrochem. (2007), 37, 691-698.
- Taj S., Ahmed M. F., Sankarapapavinasam S.: Electro-oxidative polymerization of *m*-chlorophenol and *m*-bromophenol. J. Electroanal. Chem. (1993), 356, 269-274.
- 66. Marková E., Smyslová P., Macíková P., Skopalová J., Barták P.: Studium anodické oxidace 2,4,6-tribromfenolu. Chem. Listy (2012), 106, 195-199.
- Marková E., Kučerová P., Skopalová J. Barták P.: Electrochemical oxidation of 2,4,6-tribromophenol in aqueous-alcoholic media. Electroanal. (2015), 27, 156-165.
- Marková E., Kučerová P., Bednář P., Barták P., Skopalová J: Electrochemical oxidative dimerization of monobrominated phenols and pentabromophenol in methanol-aqueous media. Monatsh Chem (2016), 147, 75-87.
- Juretic D., Puric J., Kusic H., Marin V., Bozic A. L.: Structural influence on photooxidative degradation of halogenated phenols. Water Air Soil Pollut (2014), 225, 2143.

- Devine A. L., Nix M. G. D., Cronin B., Ashfold M. N. R.: Near-UV photolysis of substituted phenols, I: 4-fluoro-, 4-chloro-, and 4-bromophenol. Phys. Chem. Chem. Phys. (2007), 9, 3749-3762.
- 71. Hirvonen A., Trapido M., Hentunen J., Tarhanen J.: Formation of hydroxylated and dimeric intermediates during oxidation of chlorinated phenols in aqueous solution. Chemosphere (2000), 41, 1211-1218.
- 72. Omura K., Matsuura T.: Photoinduced reactions Photolysis of halogenophenols in aqueous alkali and in aqueous cyanide. Tetrahedron (1971), 27, 3101-3109.
- Klánová J., Klán P., Nosek J., Holoubek I.: Environmental ice photochemistry: Monochlorophenols. Environ. Sci. Technol. (2003), 37, 1568-1574.
- Durand A.-P., Brown R. G., Worrall D., Wilkinson F.: Study of the aqueous photochemistry of 4-fluorophenol, 4-bromophenol and 4-iodophenol by steady state and nanosecond laser flash photolysis. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2 (1998), 365-370.
- Liu P.-Y., Zheng M.-H., Xu X.-B.: Phototransformation of polychlorinated dibenzo-p-dioxins from photolysis of pentachlorophenol on soils surface. Chemosphere (2002), 46, 1191-1193.
- 76. Piccinini P., Pichat P., Guillard Ch.: Phototransformations of solid pentachlorophenol. J. Photochem. Photobiol., A (1998), 119, 137-142.
- Akai N., Kudoh S., Takayanagi M., Nataka M.: Photoreaction mechanisms of 2bromophenols studied by low-temperature matrix-isolation infrared spectroscopy and density-functional-theory calculation. Chem. Phys. Lett. (2002), 363, 591-597.
- Bokare A. D., Choi W.: Review of iron-free Fenton-like systems for activating H₂O₂ in advanced oxidation processes. J. Hazard. Mater. (2014), 275, 121-135.
- 79. Kang Y. W., Hwang K.-Y.: Effects of reaction conditions on the oxidation efficiency in the Fenton process. Water Res. (2000), 34, 2786-2790.
- Baciocchi R., Boni M. R., D'Aprile L.: Hydrogen peroxide lifetime as an indicator of the efficiency of 3-chlorophenol Fenton's and Fenton-like oxidation in soils. J. Hazard. Mater. (2003), 96, 305-329.
- Poerschmann J., Trommler U., Górecki T., Kopinke F.-D.: Formation of chlorinated biphenyls, diphenyl ethers and benzofurans as a result of Fentondriven oxidation of 2-chlorophenol. Chemosphere (2009), 75, 772-780.

- Jiang J., Gao Y., Pang S.-Y., Wang Q., Huangfu X., Liu Y., Ma J.: Oxidation of bromophenols and formation of brominated polymeric products of concern during water treatment with potassium permanganate. Environ. Sci. Technol. (2014), 48, 10850-10858.
- Lin K., Yan Ch., Gan J.: Production of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers (OH-PBDEs) from bromophenols by manganese dioxide. Environ. Sci. Technol. (2014), 48, 263-271.
- Na Y., Seo J., Hong J.: Formation of pyro-products by the pyrolysis of monobromophenols. Bull. Korean Chem. Soc. (2003), 24, 1276-1280.
- Borojovich E. J. C., Aizenshtat Z.: Thermal behavior of brominated and polybrominated compounds II: Pyroproducts of brominated phenols as mechanistic tools. J. Anal. Appl. Pyrol. (2002), 63, 129-145.
- Evans C. S., Dellinger B.: Mechanisms of dioxin formation from the hightemperature pyrolysis of 2-bromophenol. Environ. Sci. Technol. (2003), 37, 5574-5580.
- Yu W., Hu J., Xu F., Sun X., Gao R., Zhang Q., Wang W.: Mechanism and direct kinetics study on the homogeneous gas-phase formation of PBDD/Fs from 2-BP, 2,4-DBP, and 2,4,6-TBP as precursors. Environ. Sci. Technol. (2011), 45, 1917-1925.
- Evans C. S., Dellinger B.: Formation of bromochlorodibenzo-p-dioxins and furans from the high-temperature pyrolysis of a 2-chlorophenol/2-bromophenol mixture. Environ. Sci. Technol. (2005), 39, 7940-7948.
- Yamada T., Takahama Y., Yamada Y.: Biodegradation of 2,4,6-tribromophenol by *Ochrobactrum sp.* Strain TB01. Biosci. Biotechnol. Biochem. (2008), 72, 1264-1271.
- Donoso C., Becerra J., Martínez M., Garrido N., Silva M.: Degradative ability of 2,4,6-tribromophenol by saprophytic fungi *Trames versicolor* and *Agaricus augustus* isolated from chilean forestry. World J. Microbiol. Biotechnol. (2008), 24, 961-968.
- Haldén A. N., Nyholm J. R., Andersson P. L., Holbech H., Norrgren L.: Oral exposure of adult zebrafish (Danio rerio) to 2,4,6-tribromophenol affects reproduction. Aquat. Toxicol. (2010), 100, 30-37.

- Lin K., Gan J., Liu W.: Production of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers from bromophenols by bromoperoxidase-catalyzed dimerization. Environ. Sci. Technol. (2014), 48, 11977-11983.
- 93. Darnerud P. O., Eriksen G. S., Jóhannesson T., Larsen P. B., Viluksela M.: Polybrominated diphenyl ethers: Occurrence, dietary exposure, and toxicology. Environ. Health Persp. (2001), 109, 49-68.
- Miyake Y., Jiang Q., Yuan W., Hanari N., Okazawa T., Wyrzykowska B., Ka So M., Lam P. K. S., Yamashita N.: Preliminary health risk assessment for polybrominated diphenyl ethers and polybrominated dibenzo-*p*-dioxins/furans in seafood from Guangzhou and Zhoshan, China. Mar. Pollut. Bull. (2008), 57, 357-364.
- Ashizuka Y., Nakagawa R., Tobiishi K., Hori T., Iida T.: Determination of polybrominated diphenyl ethers and polybrominated dibenzo-*p*dioxins/dibenzofurans in marine products. J. Agric. Food Chem. (2005), 53, 3807-3813.
- 96. Löfstrand K., Liu X., Lindqvist D., Jensen S., Asplund L.: Seasonal variations of hydroxylated and methoxylated brominated diphenyl ethers in blue mussels from the Baltic Sea. Chemosphere (2011), 84, 527-532.
- Malmvärn A., Zebühr Y., Kautsky L., Bergman A., Asplund L.: Hydroxylated and methoxylated polybrominated diphenyl ethers and polybrominated dibenzo-*p*dioxins in red alga and cyanobacteria living in the Baltic Sea. Chemosphere (2008), 72, 910-916.
- Schecter A., Pavuk M., Päpke O., Ryan J. J., Birnbaum L., Rosen R.: Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in U.S. mother's milk. Environ. Health Persp. (2003), 111, 1723-1729.
- Ho K.-L., Yau M.-S., Murphy M. B., Wan Y., Fong B. M.-W., Tam S., Giesy J. P., Leung K. S.-Y., Lam M. H.-W.: Urinary bromophenol glucuronide and sulfate conjugates: Potential human exposure molecular markers for polybrominated diphenyl ethers. Chemosphere (2015), 133, 6-12.
- 100. Gao S., Wan Y., Zheng G., Luo K., Kannan K., Giesy J. P., Lam M. H. W., Hu J.: Organobromine compound profiling in human adipose: Assessment of sources of bromophenol. Environ. Pollut. (2015), 204, 81-89.
- Malmvärn A.: Brominated natural products at different trophic levels in the Baltic Sea. Doctoral thesis, Stockholm University 2007.

- Birnbaum L. S., Staskal D. F., Diliberto J. J.: Health effects of polybrominated dibenzo-*p*-dioxins (PBDDs) and dibenzofurans (PBDFs): Environ. Int. (2003), 29, 855-860.
- 103. Haglund P., Malmvärn A., Bergek S., Bignert A., Kautsky L., Nakano T., Wiberg K., Asplund L.: Brominated dibenzo-*p*-dioxins: A new class of marine toxins? Environ. Sci. Technol. (2007), 41, 3069-3074.
- Choi J.-W., Fujimaki S., Kitamura K., Hashimoto S., Ito H., Suzuki N., Sakai S.-I., Morita M.: Polybrominated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, and diphenyl ethers in Japanese human adipose tissue. Environ. Sci. Technol. (2003), 37, 817-821.
- 105. Eljarrat E., Barceló D.: The handbook of environmental chemistry: *Brominated Flame Retardants*, Berlin, Springer 2011, 8-9.
- 106. Yun S. H., Addink R., McCabe J. M., Ostaszewski A., Mackenzie-Taylor D., Taylor A. B., Kannan K.: Polybrominated diphenyl ethers and polybrominated biphenyls in sediment and floodplain soils of the Saginaw river watershed, Michigan, USA. Arch. Environ. Con. Tox. (2008), 55, 1-10.
- 107. Clarke B., Porter N., Symons R., Marriott P., Ades P., Stevenson G., Blackbeard J.: Polybrominated diphenyl ethers and polybrominated biphenyls in Australian sewage sludge. Chemosphere (2008), 73, 980-989.
- Kimbrough R. D.: Human health effects of polychlorinated biphenyls (PCBs) and polybrominated biphenyls (PBBs). Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. (1987), 27, 87-111.
- 109. Cordle F., Corneliussen P., Jelinek C., Hackley B., Lehman R., McLaughlin J., Rhoden R., Shapiro R.: Human exposure to polychlorinated biphenyls and polybrominated biphenyls. Environ. Health Persp. (1978), 24, 157-172.
- Chung H. Y., Ma W. Ch. J., Kim J.-S.: Seasonal distribution of bromophenols in selected Hong Kong seafood. J. Agric. Food Chem. (2003), 51, 6752-6760.
- 111. Bocio A., Llobet J. M., Domingo J. L., Corbella J., Teixidó A., Casas C.: Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuffs: Human exposure through the diet. J. Agric. Food Chem. (2003), 51, 3191-3195.
- 112. Johnson-Restrepo B., Kannan K., Rapaport D. P., Rodan B. D.: Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue from New York. Environ. Sci. Technol. (2005), 39, 5177-5182.

- 113. Focant J.-F., Sjodin A., Turner W. E., Patterson D. G.: Measurement of selected polybrominated diphenyl ethers, polybrominated and polychlorinated biphenyls, and organochlorine pesticides in human serum and milk using comprehensive two-dimensional gas chromatography isotope dilution time-of-flight mass spectrometry. Anal. Chem. (2004), 76, 6313-6320.
- 114. Wang D., Cai Z., Jiang G., Leung A., Wong M. H., Wong W. K.: Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility. Chemosphere (2005), 60, 810-816.
- 115. Alaee M., Sergeant D. B., Ikonomou M. G., Luross J. M.: A gas chromatography/high-resolution mass spectrometry (GC/HRMS) method for determination of polybrominated diphenyl ethers in fish. Chemosphere (2001), 44, 1489-1495.
- 116. Liu X., Li J., Zhao Z., Zhang W., Lin K., Huang Ch., Wang X.: Solid-phase extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction for the determination for polybrominated diphenyl ethers in different environmental matrices. J. Chromatogr. A (2009), 1216, 2220-2226.
- 117. Li Y., Wei G., Hu J., Liu X., Zhao X., Zhao X., Wang X.: Dispersive liquid-liquid microextraction followed by reversed phase-high performance liquid chromatography for determination of polybrominated diphenyl ethers at trace levels in landfill leachate and environmental water samples. Anal. Chim. Acta (2008), 615, 96-103.
- 118. da Silva V. M., da Cunha Veloso M. C., de Oliveira A. S., Santos G. V., de P. Pereira P. A., de Andrade J. B.: Determination of simple bromophenols in marine fishes by reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). Talanta (2005), 68, 323-328.
- 119. Mingwu S., Chao W., Yongjuan J., Xinhua D., Xiang F.: Determination of selected polybrominated diphenylethers and polybrominated bifenyl in polymers by ultrasonic-assisted extraction and high-performance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. Anal. Chem. (2010), 82, 5154-5159.
- 120. Li Y., Hu J., Liu X., Fu L., Zhang X., Wang X.: Dispersive liquid-liquid microextraction followed by reversed phase HPLC for the determination of decabrominated diphenyl ether in natural water. J. Sep. Sci. (2008), 31, 2371-2376.
- 121. Kato Y., Okada S., Atobe K., Endo T., Matsubara F., Oguma T., Haraguchi K.: Simultaneous determination by APCI-LC/MS/MS of hydroxylated and methoxylated polybrominated diphenyl ethers found in marine biota. Anal. Chem. (2009), 81, 5942-5948.
- 122. Al-Odaini N. A., Yim U. H., Kim N. S., Shim W. J., Hong S. H.: Isotopic dilution determination of emerging flame retardants in marine sediments by HPLC-APCI-MS/MS. Anal. Methods (2013), 5, 1771-1778.
- 123. Knob R., Marák J., Staňková A., Maier V., Kanianský D., Ševčík J.: Determination of brominated phenols in water samples by on-line coupled isotachophoresis with capillary zone electrophoresis. J. Chromatogr. A (2010), 1217, 3446-3451.
- 124. Yue M.-E, Xu J., Li Q.-Q., Hou W.-G.: Separation and determination of bromophenols in *Trachypenaeus curvirostris* and *Lepidotrigla microptera* by capillary zone electrophoresis. J. Food Drug Anal. (2012), 20, 88-93.
- 125. Bartošová Z., Jirovský D., Riman D., Halouzka V., Švidrnoch M., Hrbáč J.: HPLC-ED of low-molecular weight brominated phenols and tetrabromobisphenol A using pretreated carbon fiber microelectrode. Talanta (2014), 122, 115-121.
- 126. Jáuregui O., Galceran M. T.: Determination of phenols in water by on-line solidphase disk extraction and liquid chromatography with electrochemical detection. Anal. Chim. Acta (1997), 340, 191-199.
- 127. Sarrión M. N., Santos F. J., Galceran M. T.: Determination of chlorophenols by solid-phase microextraction and liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. A (2002), 947, 155-165.
- 128. Knutsson M., Mathiasson L., Jönsson J. A.: Supported liquid membrane work-up in combination with liquid chromatography and electrochemical detection for the determination of chlorinated phenols in natural water samples. Chromatographia (1996), 42, 165-170.
- 129. Kubáň P., Flowers H.: On-line preconcentration for the ion chromatographic determination of chlorophenolic and phenolic compounds in environmental samples using electrochemical detection. Anal. Chim. Acta (2001), 437, 115-122.
- 130. Armentrout D. N., McLean J. D., Long M. W.: Trace determination of phenolic compounds in water by reversed phase liquid chromatography with electrochemical detection using a carbon-polyethylene tubular anode. Anal. Chem. (1979), 51, 1039-1045.

- 131. Samet Y., Kraiem D., Abdelhedi R.: Electropolymerization of phenol, *o*nitrophenol and *o*-methoxyphenol on gold and carbon steel materials and their corrosion protection effects. Prog. Org. Coat. (2010), 69, 335-343.
- Kawde A. N., Morsy M. A., Odewunmi N., Mahfouz W.: From electrode surface fouling to sensitive electroanalytical determination of phenols. Electroanal. (2013), 25, 1547-1555.
- Gattrell M., MacDougall B.: The anodic electrochemistry of pentachlorophenol. J. Electrochem. Soc. (1999), 146, 3335-3348.
- 134. Compton R. G., Mason D., Unwin P. R.: Rotating-disc electrode voltammetry. Waveshape analysis for DISP2 and EC₂ processes. J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1 (1988), 84, 473-482.
- 135. Trnková L.: Identification of current nature by elimination voltammetry with linear scan. J. Electroanal. Chem. (2005), 582, 258-266.
- 136. Heyrovský J., Kůta J.: Základy polarografie: Polarografické křivky při tvorbě semichinonů a dimerů, Československá Akademie Věd, Praha 1962, str. 139.
- Angerstein-Kozlowska H., Conway B.E., Sharp W.B.A.: The real condition of electrochemically oxidized platinum surfaces: Part I. Resolution of component processes. J. Electroanal. Chem. (1973), 43, 9-36.
- Braude E. A.: Studies in light absorption. Part I. p-Benzoquinones. J. Chem. Soc. (1945), 490.
- Lantratova O. B., Kuzmin V. A., Prokofev A. I., Khudyakov I. V., Pokrovskaya I.
 E.: Intermediate products of the photoreduction of diphenoquinones. Russ. Chem.
 Bull. (1981), 30, 1459-1465.
- 140. Jaklová Dytrtová J., Jakl M.: Spojení elektrochemicých metod s hmotnostní spektrometrií - potenciál pro analytickou a fyzikální chemii a biochemii, Chem. Listy (2016), 110, 31-39.
- Jirovský D., Bartošová Z., Skopalová J.: Electrochemistry on-line with mass spectrometry: Notes on current state of the technique. AUPO Chemica (2007), 47, 22-25.
- 142. Kitamura S., Shinohara S., Iwase E., Sugihara K., Uramaru N., Shigematsu H., Fujimoto N., Ohta S.: Affinity for thyroid hormone and estrogen receptors of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers, J. Health Sci. (2018), 54, 607-614.

- 143. Ji K., Choi K., Giesy J. P., Musarrat J., Takeda S.: Genotoxicity of several polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) and hydroxylated PBDEs and their mechanisms of toxicity, Environ. Sci. Technol. (2011), 45, 5003-5008.
- 144. <u>https://www.epa.gov/sites/production/files/201403/documents/ffrrofactsheet_cont</u> <u>aminant_perchlorate_january2014_final_0.pdf</u> (staženo 13. 2. 2017).
- 145. Ueno D., Darling C., Alaee M., Pacepavicius G., Teixeira C., Campbell L., Letcher R. J., Bergman A., Marsh G., Muir D.: Hydroxylated polybrominated diphenyl ethers (OH-PBDEs) in the abiotic environment: Surface water and precipitation from Ontario, Canada, Environ. Sci. Technol. (2008), 42, 1657-1664.
- 146. Sun J., Liu J., Yu M., Wang Ch., Sun Y., Zhang A., Wang T., Lei Z., Jiang G.: In vivo metabolism of 2,2',4,4'-tetrabromodiphenyl ether (BDE-47) in young whole pumpkin plant: Environ. Sci. Technol. (2013), 47, 3701-3707.
- 147. Malmberg T., Athanasiadou M., Marsh G., Brandt I., Bergman A.: Identification of hydroxylated polybrominated diphenyl ether metabolites in blood plasma from polybrominated diphenyl ether exposed rats, Environ. Sci. Technol. (2005), 39, 5342-5348.

Přílohy

Příloha č. 1

Diferenčně pulsní voltamogramy 3-BP o $c = 2 \cdot 10^{-4}$ mol 1⁻¹v základním elektrolytu methanol/B.-R. pufr pH = 6 (9:1, v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,02 V s⁻¹, šířka pulsu 50 ms, výška pulsu 25 mV. Potenciál akumulace (1) 0,2 V, (2) 0,4 V, (3) 0,6 V, (4) 0,7 V, doba akumulace 30 s.



Příloha č. 2

Cyklické voltamogramy 3-BP (--) o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol 1⁻¹v základním elektrolytu (\cdots) methanol (A), ethanol (B), 1-propanol (C), 1-butanol (D)/B.-R. pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,1 V s⁻¹



Příloha č. 3

Cyklické voltamogramy 4-BP (--) o $c = 1 \cdot 10^{-3}$ mol 1⁻¹v základním elektrolytu (\cdots) methanol (A), ethanol (B), 1-propanol (C), 1-butanol (D)/B.-R. pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,1 V s $^{-1}$.



Příloha č. 4	Marková E., Smyslová P., Macíková P., Skopalová J., Barták
	P.: Studium anodické oxidace 2,4,6-tribromfenolu. Chem. Listy
	(2012), 106, 195-199.

- Příloha č. 5Marková E., Kučerová P., Skopalová J. Barták P.:Electrochemical oxidation of 2,4,6-tribromophenol in aqueous-
alcoholic media. Electroanal. (2015), 27, 156-165.
- Příloha č. 6 Marková E., Kučerová P., Bednář P., Barták P., Skopalová J: Electrochemical oxidative dimerization of monobrominated phenols and pentabromophenol in methanol-aqueous media. Monatsh. Chem. (2016), 147, 75-87.

UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta Katedra analytické chemie

AUTOREFERÁT

K DISERTAČNÍ PRÁCI

Analýza substituovaných fenolů a produktů jejich přeměn

Autor:

Studijní obor:

Mgr. Eva Marková Analytická chemie

Vedoucí disertační práce: Konzultant: doc. RNDr. Petr Barták, Ph.D. RNDr. Jana Skopalová, Ph.D.

Olomouc 2017

Souhrn

Disertační práce je zaměřena na studium elektrochemického chování vybraných bromovaných fenolů (2-bromfenol, 3-bromfenol, 4-bromfenol, 2,4,6-tribromfenol a pentabromfenol) a na identifikaci oxidačních produktů jejich elektrochemických přeměn vhodnými metodami.

Všechny studované bromfenoly poskytovaly v anodickém směru polarizace proudové signály v závislosti na experimentálních podmínkách (koncentrace bromfenolu, materiál elektrody, délka uhlíkového řetězce primárního alkoholu v roztoku). Pasivace elektrodového povrchu produkty elektrochemických reakcí byla nejsilnější u monobromfenolů a nejslabší u pentabromfenolu. Voltametrické experimenty s rotační diskovou elektrodou ukázaly, že první reakce přenosu náboje vede k tvorbě bromfenoxylových radikálů, které následně podléhají dimeraci. Další elektrochemickou oxidací vznikaly elektroaktivní oxidační produkty, které se v cyklické voltametrii projevily katodickými proudovými odezvami.

Pro identifikaci produktů elektrochemické oxidace bromovaných fenolů byly využity metody GC-MS, UPLC-MS a EC-MS, které pomohly odhalit několik monomerních a dimerních produktů. Na základě výsledků voltametrického studia a identifikovaných elektrolytických produktů byl navržen mechanismus elektrochemické oxidace vybraných bromovaných fenolů.

Summary

This thesis is focused on the study of electrochemical behaviour of selected brominated phenols (2bromophenol, 3-bromophenol, 4-bromophenol, 2,4,6-tribromophenol and pentabromophenol) and on the identification of electrolytic oxidation products by suitable methods.

All studied bromophenols provided current signals at anodic potential scan. The anodic current signals were dependent on the experimental conditions (the concentration of bromophenols, electrode material and the carbon chain length of the primary alcohol in the solution). The passivation of electrode surface was the strongest in case of monobromophenols and the weakest in case of pentabromophenol. Voltammetric experiments with the rotating disk electrode have shown that the first reaction of charge transfer leads to the formation of bromophenoxy radicals which are subsequently subjected to dimerization. Electroactive oxidation products, which provided the cathodic current responses in cyclic voltammetry, were created by subsequent electrochemical oxidation.

The methods GC-MS, UPLC-MS and EC-MS were used for the identification of the electrochemical oxidation products. The mentioned techniques help to reveal several monomeric and dimeric oxidation products. Based on the results of voltammetric study and on the identified electrolytic products, mechanism of electrochemical oxidation of studied brominated phenols was proposed.

Obsah

Úvod	.4
Přehled aktuálního stavu problematiky	. 5
Cíle disertační práce	. 8
Výsledky a diskuse	.9
Elektrochemické chování bromovaných fenolů	.9
Analýza oxidačních produktů metodou GC-MS	12
Analýza oxidačních produktů metodou UPLC-MS	14
Analýza oxidačních produktů metodou EC-MS	20
Mechanismus elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu	20
Závěr	22
Seznam literatury	25

Úvod

Bromované fenoly patří mezi chemické sloučeniny hojně se vyskytující jako polutanty v životním prostředí. Původ těchto látek je většinou antropogenního charakteru, ale nelze vyloučit ani jejich přírodní produkci. Jednoduché bromované fenoly nachází své uplatnění zejména v průmyslu. Prostřednictvím potravního řetězce, vzduchu, či vody mohou být bromovanými fenoly, či produkty jejich reakcí (polybromované difenylethery, dibenzodioxiny/furany, bifenyly) kontaminováni i samotní lidé. Jelikož prokázaných informací o škodlivosti bromovaných fenolů, resp. jejich produktů na lidské zdraví není příliš mnoho, je více než vhodné se těmto kontaminantům dále podrobněji věnovat. Bromované deriváty fenolu se účastní celé řady degradačních procesů, ne u všech však je znám jejich mechanismus. Elektrochemické degradační procesy byly doposud studovány zejména u chlorovaných fenolů, informací, týkajících se elektrochemických přeměn bromovaných fenolů však existuje jen omezené množství.

Disertační práce je zaměřena na studium elektrochemického chování vybraných bromovaných fenolů (2-bromfenolu, 3-bromfenolu, 4-bromfenolu, 2,4,6-tribromfenolu a pentabromfenolu), na identifikaci produktů jejich elektrochemických přeměn a na navržení oxidačních mechanismů.

Při studiu elektrochemického chování bromovaných fenolů byly využity různé voltametrické techniky, jako je cyklická voltametrie se statickou i rotační diskovou elektrodou, či diferenčně pulsní voltametrie. Bromované fenoly byly podrobeny elektrolýze za konstantního potenciálu, vzniklé oxidační produkty byly separovány a následně identifikovány metodou plynové, resp. kapalinové chromatografie s hmotnostně spektrometrickou detekcí.

Byly zkoumány různé faktory, které by mohly ovlivňovat degradační mechanismy vybraných bromfenolů. Studován byl vliv materiálu pracovní elektrody (skelný uhlík vs. platina), složení základního elektrolytu (směsi primárních alkoholů s vodnými pufry míchané v různých poměrech), doby elektrolýzy, či potenciálu oxidace.

Pro analýzu bromovaných fenolů bylo, kromě výše zmíněných technik, využito také on-line spojení elektrochemie s hmotnostní detekcí. Získaná data byla porovnána s výsledky off-line experimentů.

Přehled aktuálního stavu problematiky

Bromované fenoly (BP) jsou chemické sloučeniny s charakteristickým zápachem. Většina studovaných BP se vyskytuje v pevném skupenství, výjimku tvoří 2-BP a 3-BP, což jsou olejovité kapaliny. Jsou špatně rozpustné ve vodě, ale dobře se rozpouští v organických rozpouštědlech. S rostoucím počtem bromů v molekule roste teplota tání, kyselost a lipofilita. Logaritmy rozdělovacích koeficientů v systému oktanol-voda (log K_{ow}) nabývají hodnot přibližně od 2 u monobromfenolů do 6 u pentabromfenolu. Látky s vyšším rozdělovacím koeficientem jsou více lipofilní a mají vyšší tendenci k bioakumulaci. Hodnoty logaritmu adsorpčního koeficientu K_{oc} se pohybují od 2,41 do 3,53. Nejvyšší hodnoty náleží pentabromfenolu, což naznačuje, že více bromované fenoly vykazují vyšší tendenci vázat se na organickou složku půdy či sedimentu. Další fyzikálně-chemické vlastnosti vybraných bromfenolů jsou uvedeny v disertační práci v tabulce I (str. 11).

Vedle bromfenolů antropogenního původu se v přírodě vyskytuje řada bromovaných organických sloučenin přirozeně produkovaných některými mořskými organismy [1, 2, 15].

Jednoduché bromované fenoly se nejčastěji využívají při výrobě bromovaných zpomalovačů hoření, což jsou látky zvyšující odolnost materiálu vůči ohni. Nejčastěji se přidávají k materiálům, jako jsou plasty, dřevo, papír a textilie, apod. [4]. Nejvíce produkovaný 2,4,6-tribromfenol není přímo využíván jako zpomalovač hoření, využívá se však jako reaktivní meziprodukt při jejich výrobě [1]. Byl identifikován ve vodě, sedimentech [1] a odpadních kalech [21].

Informace o akutní toxicitě bromovaných fenolů, testované na savcích jsou velmi omezené. Zkoumány byly zejména účinky 2-BP, TBP a PBP na krysách. Hodnoty LD₅₀ jsou shrnuty do tabulky II uvedené v disertační práci. Jednoduché monobromované fenoly jsou považovány za významné metabolity brombenzenu, což je látka, u níž byla prokázána nefrotoxicita i hepatotoxicita [1]. Lidé mohou být účinkům bromovaných fenolů vystaveni prostřednictvím potravního řetězce, vody, či vzduchu [25]. TBP a pentabromfenol byly detekovány v lidské plasmě [25] a mateřském mléce [26]. TBP byl dále nalezen v lidském séru [27] a tukové tkáni [28]. Přestože není k dispozici mnoho průkazných informací o škodlivém vlivu bromovaných fenolů na lidské zdraví, není na místě přítomnost těchto kontaminantů v lidském organismu zcela ignorovat.

Ke stanovení bromovaných fenolů v nejrůznějších matricích se využívá nejčastěji plynová chromatografie [1, 15, 25-28, 10] ve spojení s hmotnostní spektrometrií, resp. tandemovou hmotnostní spektrometrií MS/MS [11]. Hmotnostní detektor ve většině případů využívá ionizaci elektronem s energií 70 eV [15, 11, 12, 13-16] nebo chemickou ionizaci [25-27].

Pro stanovení bromovaných fenolických sloučenin lze dále využít spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií [17, 18-21], resp. s tandemovou hmotnostní spektrometrií [22, 23], s ionizací elektrosprejem [17, 23] nebo chemickou ionizací za atmosférického tlaku [22, 23]. Separace probíhá ve většině případů na reverzních fázích [18-23].

Popsáno bylo i spojení vysokoúčinné kapalinové chromatografie s elektrochemickou detekcí s uhlíkovým vláknem jako pracovní elektrodou [24]. Informací, které by se týkaly stanovení bromovaných fenolů s využitím elektrochemické detekce, však není mnoho. Daleko více prací týkajících se elektrochemické detekce halogenovaných fenolických sloučenin je zaměřeno na stanovení chlorovaných fenolů. Elektrochemická detekce chlorfenolů bývá využívaná především ve spojení s kapalinovou [24-27], resp. iontovou chromatografií [28]. V amperometrických celách se běžně používá pracovní elektroda ze skelného uhlíku [24-29].

Fenolické sloučeniny podléhají celé řadě oxidačních procesů. Elektrochemická oxidace fenolů je velmi složitý proces. Reakční cesta a výsledné produkty mohou být ovlivněny řadou faktorů, jako je pH prostředí, elektrodový potenciál, materiál elektrody, proudová hustota, použité rozpouštědlo, koncentrace reaktantů, počet atomů halogenu, jejich pozice na aromatickém kruhu, atd. [30-33]. Elektrochemická oxidace je doprovázena tvorbou fenoxylových radikálů, příp. fenoxoniových iontů [30]. Elektrochemickou oxidací fenolických sloučenin vznikají prostřednictvím fenoxylových radikálů dimery s vazbou C-C, které mohou snadno polymerovat za vzniku oligomerních, resp. polymerních aromatických sloučenin - mluvíme o tzv. elektropolymeraci [34-37]. Řada studií, věnovaných elektrochemické oxidaci fenolických sloučenin, popisuje vznik polymerních produktů, které vytváří na povrchu pracovní elektrody kompaktní vrstvu, způsobující její pasivaci [31, 35, 36, 38-41].

Většina článků o elektrochemické oxidaci halogenderivátů fenolu, resp. jejich elektropolymeraci, je věnována chlorfenolům, u nichž byla stejně jako v případě fenolu popsána tvorba filmu na elektrodovém povrchu [42]. Pasivace elektrody je tedy důsledkem vzniku filmu vysokomolekulárních látek, které vznikají anodickou oxidací fenolů [32, 42-46]. Míra deaktivace elektrodového povrchu závisí na struktuře a permeabilitě vytvořených polymerů, určené stupněm chlorace a isomerií monomerů, jejich reaktivitou a polymerační cestou [42, 47]. Elektrooxidace většiny fenolických sloučenin probíhá ve dvou krocích: tvorba radikálů z fenolátových aniontů s následným anion-radikálovým nebo radikál-radikálovým spojením za vzniku oligomerů, resp. polymerů [33, 44].

Chlorované oligomery (dimery a trimery) vznikají spojením chlorovaných fenolů prostřednictvím aktivní *ortho* a *para* pozice dvěma rozdílnými mechanismy: A) prostřednictvím vzniku fenoxycyklohexadienonu, kdy nedochází k eliminaci atomu Cl nebo B) nukleofilně-radikálovou substitucí (S_{RN} 1) doprovázenou eliminací atomu chloru z *ortho* a/nebo *para* pozice obsazené Cl substituentem [33]. Povaha produktů elektropolymerace fenolů silně závisí na reakčním prostředí. Většina studií, které se věnují chlorovaným fenolickým sloučeninám, byla provedena v alkalickém prostředí [33, 42, 43, 45, 46, 48-50], kde převažuje tvorba oligomerů s vazbou C-O-C. Oxidace chlorfenolů v kyselém prostředí [44, 51] upřednostňuje tvorbu oligomerů spojených vazbou C-C [33]. Halogenované fenoly jsou počátečním materiálem pro syntézu polyoxyfenylenů oxidativním vytěsněním halogenu. Schopnost eliminovat halogenid z *ortho*- nebo *para*- pozice halogenovaného fenolu v průběhu elektropolymerizace klesá v pořadí I > Br > Cl > F [42].

Na rozdíl od chlorovaných fenolů existuje pouze omezené množství informací o elektrooxidaci a elektropolymerizaci bromovaných fenolů [52-55]. Studiu elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů, 2,4,6-tribromfenolu a pentabromfenolu ve vodně-alkoholových roztocích je věnována tato disertační práce.

Cíle disertační práce

Cílem disertační práce bylo studovat oxidační produkty elektrochemických přeměn vybraných bromovaných fenolů a navrhnout jejich oxidační mechanismus. Práce na této disertaci zahrnovala následující úkoly:

- studovat elektrochemické chování vybraných bromovaných fenolů (2-bromfenol, 3bromfenol, 4-bromfenol, 2,4,6-tribromfenol a pentabromfenol) s využitím vhodných voltametrických technik a elektrod z různých materiálů
- provést elektrolýzu bromovaných fenolů za konstantního potenciálu v prostředí alkohol:voda na velkoplošné síťkové platinové elektrodě a pomocí vhodné analytické metody (GC-MS, HPLC-MS) separovat a identifikovat oxidační produkty
- sledovat vliv použitého rozpouštědla (řady nižších alkoholů od methanolu po butanol) na oxidační produkty
- vyzkoušet online spojení elektrochemické oxidace a hmotnostní spektrometrie (EC-MS) na bromovaných fenolech a porovnat získaná data s výsledky off-line experimentů
- studovat hmotnostní spektra oxidačních produktů a navrhnout jejich pravděpodobnou strukturu
- na základě získaných poznatků navrhnout mechanismus elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů, tribromfenolu a pentabromfenolu

Výsledky a diskuse

Elektrochemické chování bromovaných fenolů

Nejprve byly studovány cyklické voltamogramy monobromovaných fenolů a pentabromfenolu [55] (disertační práce, příloha č. 6) měřené na elektrodě ze skelného uhlíku v základním elektrolytu obsahujícím methanol (50 nebo 90 %, v/v).

Cyklické voltamogramy (Obr. 1a-d) ukazují pík **Ia** v prvním anodickém scanu s potenciálem okolo 0,8 V (pro 2-BP, 4-BP a PBP) resp. 0,9 V pro 3-BP. Významný pokles proudu anodického píku v následných cyklech může být vysvětlen tvorbou polymerního filmu, který pasivuje povrch pracovní elektrody a brání další oxidaci bromovaných fenolů během opakovaných cyklů podobně, jak to bylo popsáno u chlorfenolů [32, 42, 43, 45].



Obr. 1: Cyklické voltamogramy (**a**) 2-BP, (**b**) 3-BP, (**c**) 4-BP a (**d**) PBP v základním elektrolytu (…) methanol/mravenčanový pufr (pH = 6) v poměru 9:1 (v/v). Měření bylo provedeno na elektrodě ze skelného uhlíku, rychlost scanu byla 0,5 V s⁻¹. Ve všech voltamogramech jsou ukázány první (—) a páté cykly (---), na obrázku **a** je znázorněn rovněž druhý cyklus (---). Křivka 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu (----) o $c = 1 \cdot 10^{-4}$ mol Γ^1 je ukázána na obrázku **d**. Šipky vyznačují změnu výšky píku v po sobě jdoucích cyklech.

Katodické signály, označené jako **IIc**, se objevily v reverzním scanu společně s novými anodickými píky **IIa** v následných anodických scanech. Redoxní páry skupiny **II** se objevily v případě, že byl směr polarizace pracovní elektrody přepnut při potenciálu, při kterém se začal vyvíjet pík **Ia** nebo při potenciálu vyšším. Z toho lze usoudit, že redoxní pár IIc/IIa odpovídá produktům anodické oxidace příslušných bromovaných fenolů.

Výška píků **IIc/IIa** vzrůstala v následujících cyklech, zatímco proud píku **Ia** klesal. Růst píků skupiny **II** byl nejvýraznější u 2-BP, zatímco nejméně zřetelný růst byl pozorován u 3-BP. Skupina **II** obsahuje nejméně dva proudové signály v každém směru polarizace, které jsou velmi dobře rozlišitelné, zejména v případě píků **IIc/IIa** 2-BP a píků **IIc** 4-BP. Toto pozorování ukazuje na vznik více než jednoho elektroaktivního oxidačního produktu nebo meziproduktu při potenciálu anodického píku **Ia**. Redoxní pár **III** pravděpodobně odpovídá příslušnému brombenzochinonu, jak vyplývá z porovnání s voltamogramem 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu (Obr. 1d), jenž poskytnul proudové odezvy při podobných potenciálech. Intenzita píků **IIIa/IIIc** byla velmi nízká u všech čtyř bromovaných fenolů, což může být v důsledku pokrytí elektrodového povrchu filmem oxidačních produktů (dimerů resp. polymerů) vytvořených při nižších potenciálech než je potenciál tvorby benzochinonů.

Blokování elektrodového povrchu oxidačními produkty bylo zřetelné také na cyklických voltamogramech zaznamenaných s rotační diskovou elektrodou RDE (Obr. 2). Proud monobromovaných fenolů dosáhl maxima při určitém potenciálu, poté se neustále snižoval, takže výsledná křivka měla tvar píku na místo obvyklé sigmoidy.



Obr. 2: Cyklické voltamogramy $1 \cdot 10^{-4} \mod l^{-1} 2$ -BP (—), 3-BP (---), 4-BP (…) a PBP (---) zaznamenané na RDE v prostředí methanolu/mravenčanového pufru o pH 6 (9:1, v/v). Úhlová rotační rychlost: $341 \operatorname{rad} s^{-1}$, rychlost scanu: $5 \operatorname{mV} s^{-1}$. Vložený obrázek: Cyklický voltamogram 4-BP (2 cykly, označeny čísly 1 a 2) získaný za stejných podmínek, ale v prostředí methanol/mravenčanový pufr pH 6 (1:1, v/v).

Ve druhém cyklu byl proud téměř stejný jako u základního elektrolytu (Obr. 2, vložený obrázek). Podobné chování bylo popsáno u pentachlorfenolu na grafitové rotační diskové elektrodě v prostředí neutrálního fosfátového pufru [56]. Blokování elektrodového povrchu bylo méně výrazné v roztoku obsahujícím 90% methanolu (Obr. 2). U monobromovaných fenolů nejrychleji pasivovaly elektrodový povrch produkty oxidace 3-BP. Naopak, nejmírnější a nejpomalejší pasivace elektrody byla pozorována při oxidaci PBP (Obr. 2). Toto zjištění je v souladu s nejnižší polymerizační rychlostí popsanou pro pentachlorfenol ve srovnání s méně chlorovanými fenoly [32].

Závislosti půlvlnových potenciálů voltametrických vln BP měřených za ustáleného stavu s RDE na dekadickém logaritmu úhlové rychlosti rotace elektrody byly lineární se směrnicí přibližně 20 mV při desetinásobné změně úhlové rychlosti (disertační práce str. 51, Tab. III). Z toho lze vyvodit, že bromfenoly, podobně jako chlorfenoly [33, 42], tvoří v prvním oxidačním kroku bromfenoxylové radikály, které dále reagují za vzniku dimerních produktů.

Během studia elektrochemického chování bromovaných fenolů na uhlíkové pracovní elektrodě byl sledován vliv použitého primárního alkoholu (methanol, ethanol, 1-propanol, 1-butanol) na průběh reakce. Od methanolu k butanolu klesá strmost anodického proudu bromfenolů v důsledku poklesu rychlosti přenosu elektronu. Zároveň se zvyšuje hodnota potenciálu, při kterém se začínají BP oxidovat (roste jejich přepětí na elektrodě). S rostoucím počtem uhlíků v homologické řadě alkoholů vzrůstá jejich viskozita. Vyšší hodnoty viskozity alkoholů, a tedy i jejich roztoků, mají za následek snížení rychlosti difuze bromfenolů k elektrodovému povrchu, a tím i snížení proudové odezvy.

Celkově pozorované chování naznačuje, že délka alkylového řetězce alkoholů s jedním až čtyřmi uhlíky nemá zásadní vliv na strukturu (mezi)produktů oxidace bromfenolů na elektrodě ze skelného uhlíku, ale má znatelný vliv na kinetiku elektrodové reakce.

TBP poskytoval v cyklických voltamogramech dobře definovaný anodický pík v 90% methanolu (0,74 V) a ethanolu (0,85 V) a výrazně menší, plošší pík v 90% 1-propanolu (1,04 V) a 1-butanolu (1,14 V). Podobně jako v případě monobromovaných fenolů a PBP bylo pozorováno zpomalení rychlosti elektrodové reakce 2,4,6-tribromfenolu, což naznačil plošší tvar píků, nižší proudová odezva a posun potenciálů v důsledku rostoucí délky alkoholového řetězce. Katodický pík vytvořený ve zpětném scanu na cyklických voltamogramech, odpovídá redukci produktu, který vznikl při anodické oxidaci TBP. Tento pík byl nejvíce výrazný v prostředí methanolu a ethanolu. Potenciál katodického píku kolem -0,1 V je blízký potenciálu redukce 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu. Je tedy pravděpodobné, že oxidační produkt TBP poskytující tuto proudovou odezvu má chinoidní strukturu. Tuto hypotézu podpořil i vznik žlutého zbarvení při elektrolýze TBP v primárních alkoholech za konstantního potenciálu na velkoplošných elektrodách. Intenzita zbarvení byla největší v prostředí methanolu, zatímco v prostředí 1-butanolu bylo žluté zbarvení daleko světlejší.

Cyklické voltamogramy, získané měřením TBP na platinové elektrodě, poskytly ve srovnání s uhlíkovou elektrodou jisté odlišnosti. Na cyklických voltamogramech v prostředí methanolu a ethanolu lze pozorovat dva anodické píky při potenciálech okolo 0,7 V a 1,1 V v methanolu, resp. 0,7 V a 1,0 V v ethanolu. Ve zbývajících dvou prostředích byl pozorován pouze jeden anodický pík, jenž nabýval ploššího tvaru a nižší proudové odezvy s maximem při potenciálu okolo 0,9 V.

Dva oddělené proudové signály pozorované v methanolu a ethanolu mohou být důsledkem pomalejšího průběhu chemické reakce meziproduktů z prvního stupně oxidace TBP na platině v porovnání se skelným uhlíkem. Toto zpomalení patrně souvisí s konkurenční oxidací methanolu resp. ethanolu na Pt, při níž vznikají povrchově vázané intermediáty, které modifikují elektrodu a mění její chování při oxidaci bromfenolů.

Podobné chování na platinové elektrodě bylo pozorováno i v případě monobromovaných fenolů a pentabromfenolu.

Ve zpětném katodickém směru polarizace Pt elektrody v čistém elektrolytu v přítomnosti jednotlivých alkoholů je na voltamogramech výrazný pík redukce povrchových oxidů s maximem kolem 0,3 V. Tento pík je typický pro platinu [57], uhlíkové elektrody ho neposkytují.

V přítomnosti TBP se tento pík snížil a posunul k negativnějším potenciálům, pravděpodobně v důsledku kvalitativní změny povrchu elektrody jeho modifikací adsorbovanými produkty oxidace TBP. Redukce těchto (chinoidních) produktů je patrná při potenciálech kolem -0,1 V, podobně jako tomu bylo na elektrodě ze skelného uhlíku. Odlišnosti ve voltametrickém chování TBP na elektrodách z platiny a skelného uhlíku jsou tedy způsobené spíše rozdílnou reakční kinetikou na obou typech materiálu. Proto lze očekávat, že za stejných experimentálních podmínek bude TBP na uhlíkových a platinových elektrodách poskytovat obdobné oxidační produkty [53] (disertační práce, příloha č. 4).

Analýza oxidačních produktů metodou GC-MS

Vybrané bromované fenoly (2-BP, 3-BP, 4-BP, 2,4,6-TBP a PBP) byly podrobeny elektrolýze za konstantního potenciálu v prostředí tvořeném primárním alkoholem (methanolem, ethanolem, 1-propanolem a 1-butanolem) a B.-R. pufrem (pH = 6) na velkoplošné platinové síťkové elektrodě. Oxidační produkty byly extrahovány a analyzovány plynovou chromatografií s hmotnostní detekcí.

GC-MS analýza ethylacetátového extraktu elektrolyzovaného roztoku 2-bromfenolu poskytla hlavní oxidační produkt s hodnotou m/z 341,8 (monoizotopický ion). Tento produkt se vyskytoval ve dvou izomerních formách (píky s retenčními časy $t_R = 22,0$ min a $t_R = 22,3$ min poskytující stejná hmotnostní spektra). Pík s m/z 341,8 byl nalezen v methanolu, ethanolu a 1-propanolu, v prostředí 1-butanolu nebyl tento oxidační produkt nalezen.

Podobný oxidační produkt s m/z 341,8 (monoizotopický ion) byl nalezen také v elektrolyzátu 4bromfenolu. Metodou GC-MS byly identifikovány opět dva izomery s retenčními časy t_R = 22,3 min a t_R = 22,9 min. Stejně jako v případě 2-bromfenolu byl produkt 4-BP nalezen v methanolu, ethanolu a 1-propanolu. Fragmentový ion m/z 184, který byl nalezen v hmotnostních spektrech dimerních produktů oxidace 2-BP a 4-BP zřejmě odpovídá ztrátě dvou atomů bromu z molekulárního iontu. Žádné další monomerní, resp. dimerní oxidační produkty nebyly v elektrolyzovaných roztocích monobromovaných fenolů, resp. pentabromfenolu metodou GC-MS nalezeny.

V případě TBP GC-MS analýza odhalila dvě skupiny oxidačních produktů, které se výrazně lišily retenčními časy. První skupinu tvořily těkavější produkty (t_R od 15,9 do 20,3 min), jejichž struktura odpovídala jednoduchým monomerním produktům odvozeným od TBP. Druhá skupina obsahovala produkty, které byly detekovány při delších retenčních časech (t_R od 26,0 do 28,4 min) a měly vyšší molekulární hmotnosti. Ty byly identifikovány jako produkty dimerace oxidovaného TBP nebo monomerních intermediátů. Na základě identifikovaných oxidačních produktů byl navržen pravděpodobný mechanismus oxidace 2,4,6-tribromfenolu (Schéma I).



Schéma I: Navržený mechanismus elektrochemické oxidace 2,4,6-tribromfenolu

Schéma ukazuje dva možné reakční mechanismy vedoucí ke vzniku oxidačních produktů identifikovaných v elektrolyzovaných roztocích TBP. První oxidační krok zahrnuje vznik fenoxylového radikálu. Radikál může reagovat (i) s vodou nebo alkoholem z elektrolyzovaného roztoku za vzniku produktu P1 nebo P3A-P3D, (ii) s další molekulou TBP za vzniku produktu P7, (iii) s produktem P1 za vzniku produktu P8 nebo (iv) s produkty P3A-P3D za vzniku sloučenin P9A-P9D. Produkty skupiny P5 by mohly být vytvářeny z fenoxylových radikálů, které jsou oxidovány na fenoxoniový ion [42, 37]. Tento ion může podléhat reakci s vodou, doprovázené eliminací bromu. Následná reakce s alkoholem může vést k tvorbě produktů skupiny P5. Rekombinace dvou fenoxylových radikálů, doprovázená eliminací bromu vede ke vzniku dimerního produktu P6 [31, 42]. Reakční cesty navržené ve Schématu IA jsou spojeny s eliminací molekuly bromu. Přítomnost bromu v elektrolyzovaném roztoku byla prokázána reakcí s fluoresceinem, který poskytoval charakteristické růžové zbarvení eosinu.

Schéma IB rovněž popisuje tvorbu fenoxylových radikálů z TBP, který může být dále oxidován na fenoxoniový ion [58]. Nukleofilní atak vody na fenoxoniový ion následovaný eliminací HBr [30, 37] vede k tvorbě dibrombenzochinonu P2. Obdobně dochází k ataku alkoholu do *ortho-* nebo *para-*pozice fenoxoniového iontu bez eliminace bromu za vzniku produktů skupiny P4. Tento mechanismus je popsán jako hlavní cesta vedoucí ke vzniku methoxylovaných fenolů [58].

Analýza oxidačních produktů metodou UPLC-MS

Pro další výzkum v oblasti identifikace oxidačních produktů BP byla zvolena kombinace ultraúčinné kapalinové chromatografie s hmotnostní spektrometrií s ionizací elektrosprejem. Monobromované fenoly a pentabromfenol byly elektrolyzovány na platinové síťkové elektrodě za konstantního potenciálu 1 V, resp. 1,2 V v prostředí tvořeném mravenčanovým pufrem a methanolem (1:9). Během elektrolýzy byla pouze v případě 2-bromfenolu a 4-bromfenolu pozorována změna zbarvení roztoku z bezbarvé na světle žlutou. Elektrolyzáty byly analyzovány metodou UPLC-PDA-MS s ionizací elektrosprejem v negativním modu (ESI-). Oxidační produkty byly identifikovány na základě i) měření přesné hmoty deprotonované molekuly [M-H]⁻ nebo molekulárního iontu, z níž bylo navrženo nejpravděpodobnější elementární složení; ii) analýzy fragmentačních spekter, získaných po izolaci vybraných iontů nebo bez izolace s využitím rampy vyšší kolizní energie; iii) charakteristického izotopického profilu bromovaných sloučenin.

Stupně přeměny bromovaných fenolů během dvouhodinové elektrolýzy při potenciálu 1,0 V byly určeny z ploch chromatografických píků zaznamenaných pomocí UPLC s detektorem s diodovým polem (PDA). Nejnižší stupeň konverze na velkoplošné platinové síťkové elektrodě byl pozorován u 3-bromfenolu, což je v souladu s nejrychlejší a nejsilnější pasivací elektrody oxidačními produkty 3-BP, rovněž pozorované při jeho oxidaci na rotační diskové elektrodě ze skelného uhlíku (Obr. 2).

Opačná situace nastala v případě pentabromfenolu, kdy byl pozorován nejvyšší stupeň konverze na platinové síťkové elektrodě, jenž odpovídá naopak nejpomalejší a nejmírnější adsorpci oxidačních produktů PBP u rotační diskové uhlíkové elektrody (Obr. 2). Na základě těchto poznatků lze usuzovat, že adsorpce oxidačních produktu BP nezávisí příliš na materiálu použité elektrody.

Produkty elektrochemické oxidace 2-bromfenolu

V hmotnostním spektru byl identifikován dimerní produkt s hodnotou *m/z* **340,88**. V rekonstruovaném iontovém chromatogramu byly nalezeny dva píky s retenčními časy (t_R) 5,58 min a 5,90 min, u nichž přesná hodnota *m/z* odpovídá stejnému sumárnímu vzorci C₁₂H₂O₂Br (Tab. I).

Fragmentační spektrum prvního eluovaného dimeru poskytlo fragmenty m/z 260,9572 (eliminace HBr, odchylka od teoretické hodnoty m/z 8,0 ppm), m/z 232,9619 (ztráta CO, odchylka od teoretické hodnoty 7,3 ppm) a m/z 78,9279 respektive 80,9277 (Br⁻). Ztráta HBr, následovaná eliminací CO by mohla naznačovat, že atom bromu je umístěn v sousední *ortho-* pozici k -OH skupině poskytující protony. Toto uspořádaní je patrné u dimeru 2-BP, v němž jsou obě oxidované monomerní jednotky spojené vazbou C-C (navržené struktury jsou na obrázku 3a).



Obr. 3: Fragmentační hmotnostní spektra a navržené struktury dimerů nalezených v roztocích 2-BP ($\mathbf{a} - t_R = 5,58$ min, $\mathbf{b} - t_R = 5,90$ min) elektrolyzovaných po dobu 3 hod při potenciálu E = 1,2 V. Kolizní energie 10 - 30 eV, negativní ESI mód.

Fragmentační spektrum druhého eluovaného dimeru (Obr. 3b) poskytlo pouze slabý signál *m/z* 262,9545, jenž odpovídá buď druhému isotopickému píku fragmentu, vzniklého ztrátou HBr nebo prvnímu isotopickému píku anion-radikálu vytvořeného ztrátou Br·.

Absence odpovídajícího isotopického píku je způsobena příliš nízkým signálem, přesto byla pozorována dobrá shoda s teoretickou hmotností (rozdíl 13,8 ppm). Přítomnost píku náležícího Br⁻ (m/z 78,9284) je důkazem, že příslušný fragmentovaný ion je bromovaný. Získaná MS data však neumožňují určit způsob spojení obou jednotek 2-BP.

V roztoku 2-BP, který byl elektrolyzován při potenciálu E = 1,2 V po dobu 3 hodin, byly detekovány dva další dimerní produkty v nízké intenzitě (m/z 262,9722 a 418,7992, Tab. I). Ve všech elektrolyzovaných roztocích byly kromě identifikovaných dimerních oxidačních produktů nalezeny také trimerní produkty (m/z 510,8135, Tab. I), z nichž nejhojněji byl zastoupen pík s retenčním časem (t_R) 6,00 min. Nicméně, nízké intenzity píků neumožnily detailnější určení struktur.

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
2-BP	340,8845	5,58	$C_{12}H_7O_2Br$	9,4
	340,8860	5,90	$C_{12}H_7O_2Br$	13,8
	262,9722	5,46	$C_{12}H_8O_2Br$	5,3
	418,7992	6,23	$C_{12}H_6O_2Br_3$	17,7
	510,8135	6,00	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	-8,8

Tab. I: Přehled oxidačních produktů 2-BP identifikovaných metodou UPLC-MS

Produkty elektrochemické oxidace 3-bromfenolu

V chromatogramu bylo nalezeno nejméně pět píků izomerních oxidačních produktů s *m/z* 340,88, Tab. II (Obr. 25b, disertační práce str. 75). V MS-MS spektru všech izomerů byl pozorován bromidový anion. Fragment odpovídající ztrátě HBr byl nalezen v MS-MS spektru čtyř dimerů s retenčními časy $t_R = 5,51; 5,72; 6,01$ a 6,20 min.

Fragmentační spektrum izomerního píku s nejdelším retenčním časem 6,20 min poskytlo intenzivní signál fragmentu m/z 185,9367, který pravděpodobně odpovídá anion-radikálu brombenzendiolu (odchylka od teoretické hodnoty 27,4 ppm). Fragment náleží dimeru etherového typu s vazbou C-O-C. Žádný z elektrolyzovaných roztoků 3-BP neposkytl trimerní oxidační produkty ani ionty s hodnotou m/z 510,82 (předpokládaná monoizotopická hmotnost trimerního produktu), respektive 512,82 (předpokládaná hmotnost dominantního iontu trimerního produktu).

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
3-BP	340,8904	5,42	$C_{12}H_7O_2Br_2$	26,7
	340,8870	5,51	$C_{12}H_7O_2Br_2$	16,7
	340,8886	5,72	$C_{12}H_7O_2Br_2$	21,4
	340,8761	6,01	$C_{12}H_7O_2Br_2$	-15,2
	340,8853	6,20	$C_{12}H_7O_2Br_2$	11,7

Tab. II: Přehled oxidační produktů 3-BP identifikovaných metodou UPLC-MS

Produkty elektrochemické oxidace 4-bromfenolu

Stejně jako v případě 2-BP, poskytoval 4-BP dva izomerní píky dimerního produktu s m/z 340,88, kterým náleží retenční časy $t_R = 5,98$ min a $t_R = 6,30$ min (Tab. III).

V retenčním čase 6,30 min byl eluován pík, který poskytoval intenzivní fragmentační ion m/z 185,9318, jenž náleží anion-radikálu brombenzendiolu (C₆H₃BrO₂, odchylka od teoretické hodnoty - 2,2 ppm). Lze tedy předpokládat, že příslušný oxidační produkt zřejmě odpovídá dibromdifenyletheru, jenž byl pozorován rovněž u dimeru 3-BP s retenčním časem 6,20 min.

Naproti tomu MS-MS spektrum dimeru eluovaného v retenčním čase 5,98 min poskytlo fragmentový pík s m/z 322,8764 (C₁₂H₅Br₂O, odchylka od teoretické hodnoty 15,8 ppm) odpovídající ztrátě molekuly H₂O ($\Delta m/z$ 18,0096). Tento fragment chyběl ve spektru dimeru s t_R = 6,30 min. Snadná eliminace vody může být spojena s vyšším počtem -OH skupin a tudíž s dimery bifenylového typu s vazbou C-C. Dále byl detekován dimer obsahující ve své struktuře pouze jeden atom bromu. Tento oxidační produkt byl identifikován v retenčním čase t_R = 5,49 min a s m/z 262,9736 (C₁₂H₈O₂Br, odchylka od teoretické hodnoty 13,7 ppm, Tab. III), jeho intenzita byla o řád nižší ve srovnání s dimery m/z 340,88.

Trimerní oxidační produkty s hodnotou m/z 510,82 (Obr. 4, Tab. III) byly detekovány metodou UPLC-MS jako čtyři chromatograficky separované izomery s retenčními časy $t_R = 6,38$ min, $t_R = 6,54$ min, $t_R = 6,63$ min, $t_R = 6,83$ min.

První eluovaný, tedy nejvíce polární trimer ($t_R = 6,38$ min) by mohl ve své molekule obsahovat tři -OH skupiny a dvě C-C vazby (Obr. 4a). Lze očekávat, že tato struktura bude nejsnáze odštěpovat vodu, jejíž ztráta byla pozorována v kolizním spektru (Obr. 29e) jako intenzivní pík fragmentového iontu s m/z 492,8022 ($C_{18}H_8Br_3O_2$, odchylka od teoretické hodnoty -10,6 ppm). Struktura produktu neumožňuje tvorbu anion-radikálu brombenzendiolu, jehož odpovídající fragmentový ion (m/z 185,9) ve spektru chybí.

Další možná trimerní struktura by mohla obsahovat dvě -OH skupiny, jednu C-C vazbu a jednu C-O-C vazbu. Druhý eluovaný trimer s $t_R = 6,54$ min poskytoval intenzivní fragmentový ion s hodnotou m/z 186,9386 (Obr. 4f) patřící bromhydroxyfenolátu (C₆H₄BrO₂, odchylka od teoretické hodnoty -4,8 ppm). Tvorba tohoto fragmentu napovídá, že struktura trimeru obsahuje fenolickou -OH skupinu i vazbu C-O-C (Obr. 4b).

Třetí eluovaný trimer s t_R = 6,63 min poskytuje fragmentový ion při m/z 338,8800 (Obr. 4g) obsahující dvě jednotky 4-BP (C₁₂H₅Br₂O₂, odchylka od teoretické hodnoty 40,7 ppm) a fragmentový ion s m/z 170,9522 odpovídající aniontu 4-BP (C₆H₄BrO, odchylka od teoretické hodnoty 44,5 ppm).

Tyto fragmentační procesy by mohly nastat v případě struktury obsahující jednu C-C a jednu C-O-C vazbu, v níž je aromatický kruh bez -OH skupiny spojený se zbytkem molekuly prostřednictvím C-O-C vazby (Obr. 4c). Navrženou strukturu podpořila absence anion-radikálu brombenzendiolu a bromhydroxyfenolátu, tj. fragmentů s m/z 185,9 nebo 186,9 v kolizním spektru.

Čtvrtý eluovaný trimer s $t_R = 6,83$ min poskytoval anion bromfenolu (Obr. 4h) s m/z 170,9467 (C₆H₄BrO, odchylka od teoretické hodnoty 12,3 ppm) ve vysokém výtěžku. Pravděpodobnost tohoto fragmentačního procesu je vyšší u trimerů obsahujících dvě vazby C-O-C (Obr. 4d), kde k odštěpení bromfenolátu může dojít na obou stranách symetrické molekuly.



Obr. 4: MS spektra trimerních produktů nalezených v roztocích 4-BP ($c = 2 \cdot 10^{-4} \text{ mol } t^{-1}$), elektrolyzovaných při potenciálu E = 1,0 V po dobu 2 h a jejich navržené struktury. MS spektra získaná při nižší kolizní energii 5eV (a-d) a vyšší kolizní energii, rampa 10-30 eV (**e-h**) u trimerů eluovaných v retenčním čase $t_R = 6,38 \text{ min } (\mathbf{a}, \mathbf{e}), t_R = 6,54 \text{ min } (\mathbf{b}, \mathbf{f}), t_R = 6,63 \text{ min } (\mathbf{c}, \mathbf{g}) a$ $t_R = 6,83 \text{ min } (\mathbf{d}, \mathbf{h})$, negativní ESI mód.

Vedle čtyř zmíněných trimerních produktů byl v retenčním čase $t_R = 5,86$ min eluován ion s hodnotou m/z 446,8933 (Tab. III). Přesná hmota a izotopový profil napovídají, že pravděpodobně patří trimeru, který má ve své struktuře dva atomy bromu a dvě oxo skupiny (chinon).

Posledním detekovaným oxidačním produktem 4-BP byl ion s m/z 680,75, který byl eluován v retenčním čase $t_R = 6,83$ min. Přestože pík tohoto iontu vykazuje velmi malou intenzitu lze očekávat, že pravděpodobně náleží tetramernímu produktu oxidace 4-BP.

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
4-BP	340,8843	5,98	$C_{12}H_7O_2Br_2$	8,8
	340,8878	6,30	$C_{12}H_7O_2Br_2$	19,1
	262,9736	5,49	$C_{12}H_8O_2Br$	13,7
	510,8124	6,38	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	-11,0
	510,8260	6,54	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	15,7
	510,8100	6,63	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	-15,7
	510,8200	6,83	$C_{18}H_{10}O_{3}Br_{3}$	3,9
	446,8933	5,86	$C_{18}H_9O_4Br_2$	14,8

Tab. III: Přehled oxidačních produktů 4-BP detekovaných metodou UPLC-MS

Produkty elektrochemické oxidace pentabromfenolu

Elektrolýzou PBP, která probíhala 2 hodiny při E = 1,0 V, byly získány tři oxidační produkty. Chromatografický pík s retenčním časem 8,0 min poskytl hmotnostní spektrum s izotopovým profilem typickým pro sloučeninu obsahující ve své struktuře 9 atomů bromu (Tab. IV). Nejvíce intenzivní izotopový pík byl pozorován při hodnotě m/z 896,2476, která je velmi blízká teoretické hodnotě pro pentabromfenoxy-tetrabromfenol (rozdíl 3,1 ppm). Fragmentační spektrum izolovaného iontu (m/z896,24) poskytlo nejvíce intenzivní fragmentový ion s m/z 470,5944, k němuž náležel monoizotopický pík s m/z 466,6071. Tento fragment odpovídal anion-radikálu pentabromfenylu (C₆Br₅, odchylka od teoretické hodnoty 14,5 ppm). Druhý charakteristický fragment byl vytvořen odštěpením pentabromfenylového radikálu a bromu ($C_6Br_3O_2$, monoizotopický ion s m/z 340,7581, nejvíce intenzivní ion s m/z 344,7451, odchylka od teoretické hodnoty 12,5 ppm). Struktura pozorovaného dimerního produktu tedy odpovídá navrhovaným difenyl etherům obsahujícím vazbu C-O-C. Kromě dimerního oxidačního produktu, resp. produktů byl detekován pík s retenčním časem 5,67 min a m/z420,6788 (Tab. IV). Pík se stejným retenčním časem a stejným hmotnostním spektrem byl rovněž získán analýzou roztoku standardu 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu, kde byly detekovány dva píky odpovídající redukované ($t_R = 5,67 \text{ min}, m/z 420,6757$, odchylka od teoretické hodnoty 11,2 ppm) a oxidované formě ($t_R = 5,98 \text{ min}, m/z 419,6656, \text{ odchylka od teoretické hodnoty 5,7 ppm}$). Tento fakt naznačuje, že jedna nebo obě formy redoxního páru (tetrabrombenzochinon/tetrabromhydrochinon) mohou být produkty elektrochemické oxidace PBP. Na rozdíl od PBP, analogický tetrachlorchinon nebyl nalezen po elektrolýze pentachlorfenolu ve vodném, pufrovaném prostředí, pravděpodobně kvůli dosti vysokému oxidačnímu potenciálu příslušného pentachlorfenoxylového radikálu [56].

Další monomerní oxidační produkt s m/z 434,6867 (monoizotopický ion, Tab. IV), získaný při intenzivnější elektrolýze (20 hod., E = 1,4 V) byl detekován v retenčním čase 6,25 min. Pravděpodobná struktura tohoto monomeru, identifikovaného v roztoku 90% methanolu, zřejmě odpovídá aniontu methoxy-tetrabromfenolu.

Minoritní oxidační produkt PBP byl detekován v retenčním čase $t_R = 6,08$ min (Tab. IV) s hodnotou m/z 449,6643 v roztoku elektrolyzovaném za mírnějších podmínek (2 hod, E = 1,0 V).

Výchozí sloučenina	Oxidační produkt [M-H] ⁻ (<i>m/z</i>)	Retenční čas (min)	Navržené elementární složení	Odchylka od teoretické hodnoty (ppm)
РВР	896,2476*	8,00	$C_{12}O_2Br_9$	3,1
	420,6788	5,67	$C_6HO_2Br_4$	18,5
	434,6867	6,25	$C_7H_3O_2Br_4$	0,2
	449,6643	6,08	$C_6NO_3Br_4$	6,9

Tab. IV: Přehled oxidačních produktů PBP identifikovaných metodou UPLC-MS

*m/z hodnota nejintenzivnějšího píku

Analýza oxidačních produktů metodou EC-MS

V předchozích kapitolách byla popsána elektrochemická oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu na velkoplošné platinové síťkové elektrodě za daných experimentálních podmínek a následná analýza oxidačních produktů metodami GC-MS a UPLC-MS. Zatímco metoda GC-MS umožnila identifikaci řady oxidačních produktů u 2,4,6-tribromfenolu, v případě ostatních studovaných bromovaných fenolů musela byt zvolena metoda UPLC-MS, která odhalila daleko více oxidačních produktů, než tomu bylo při použití plynové chromatografie. Kromě zmíněných technik byla naše pozornost zaměřena i na využití přímého spojení elektrochemie s hmotnostní spektrometrií (EC-MS). K nevýhodám off-line metod, oproti přímému spojení EC-MS patří např. vyšší spotřeba chemikálií při extrakcích, či přípravě mobilních fází. Dále je potřeba elektrolyzáty upravit před samotnou analýzou vhodnými postupy, např. extrakcí, odpařováním, ředěním, apod. S tím je spojena určitá pracnost a časová náročnost, zvyšuje se riziko kontaminace vzorku a především ztrát méně stabilních (mezi)produktů. On-line spojení elektrochemie s hmotnostní spektrometrií může eliminovat výše zmíněné nevýhody. Má však také svá omezení. K nim patří nutnost pravidelně obnovovat povrch pracovní elektrody, či používat pouze těkavé elektrolyty.

Elektrochemická oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu byla provedena v průtokové amperometrické cele s platinovou diskovou pracovní elektrodou v prostředí mravenčanového pufru a methanolu (1:9).

V porovnání s off-line metodami UPLC-MS a GC-MS umožnila on-line EC-MS analýza detekovat v krátkém čase hlavní oxidační produkty 2-BP (dimer s m/z 340,8 a trimer s m/z 510,8), 4-BP (dimer s m/z 340,8) a PBP (produkt s m/z 449,6). Poslední zmíněný produkt poskytl intenzivnější signál v online systému, což je v souladu s jeho náchylností k dalším reakcím, která byla pozorována v off-line experimentech s UPLC-MS detekcí. Nestabilita a větší polarita tohoto produktu mohly způsobit, že nebyl nalezen při GC-MS analýze ethylacetátových extraktů elektrolyzátů PBP. Výhodou off-line analýzy elektrolyzovaných roztoků BP metodou UPLC-MS resp. GC-MS byla separace a detekce některých izomerních produktů (dimerů a trimerů), které nelze vzájemně rozlišit v přímém spojení EC-MS.

Mechanismus elektrochemické oxidace monobromovaných fenolů a pentabromfenolu

Na základě dat získaných analýzou elektrolyzátů monobromovaných fenolů a pentabromfenolu metodou UPLC-MS, GC-MS a online EC-MS byly navrženy možné mechanismy vzniku jejich oxidačních produktů.

První krok popsaný ve Schématech II a III znázorňuje vznik fenoxylových radikálů z monobromovaných fenolů, resp. pentabromfenolu. Spojením fenoxylových radikálů lze získat dimery s vazbou C-C nebo C-O-C (Schéma II). Dimerizace není obecně doprovázena eliminací bromu, ale štěpení vazby C-Br může nastat jako boční reakce při dlouhodobě intenzivní elektrolýze.



Schéma II: Dimerizační reakce monobromovaných fenolů

V případě pentabromfenolu, vznikají spojením fenoxylových radikálů dimerní produkty etherového typu doprovázené eliminací bromu, podobně jak to bylo pozorováno u TBP. Na rozdíl od TBP, který v menší míře poskytoval dimerní produkt s vazbou C-C (produkt P6, Schéma I), u PBP podobná sloučenina nebyla nalezena. Spojení pentabromfenoxylových radikálů vazbou C-C je pravděpodobně znemožněno sterickým bráněním příslušných *ortho* a *para* poloh fenolového kruhu. Vliv na sníženou reaktivitu pentabromfenoxylového radikálu může mít i přítomnost pěti atomů Br, které mohou přispívat k delokalizaci elektronů a tím ke stabilizaci radikálu, podobně jako to bylo popsáno u chlorofenolů [32].



Schéma III: Dimerizační reakce pentabromfenolu

Závěr

Bylo studováno elektrochemické chování vybraných bromovaných fenolů (2-bromfenolu, 3bromfenolu, 4-bromfenolu, 2,4,6-tribromfenol a pentabromfenolu) s využitím různých voltametrických technik. Měření bylo prováděno na elektrodách ze skelného uhlíku a platiny. Základní elektrolyt byl tvořen alkoholem (methanol, ethanol, 1-propanol, 1-butanol) a vodným pufrem pH = 6 (9:1, resp. 1:1). Všechny studované látky poskytovaly v anodické oblasti difuzí řízenou proudovou odezvu, odpovídající oxidaci fenolového kruhu. Ve všech použitých prostředích a na obou vybraných elektrodových materiálech byla pozorována pasivace elektrodového povrchu produkty elektrochemických reakcí, která byla nejvýraznější u monobromovaných fenolů a s rostoucím počtem atomů bromu se její míra snižovala. Rychlost elektrodové reakce, s ní související tvar proudového signálu a také jeho velikost byly ovlivněny délkou alkylového řetězce primárního alkoholu v roztoku. S rostoucí délkou řetězce vzrůstá viskozita roztoku, klesá rychlost difuze bromfenolu k elektrodovému povrchu a tedy i velikost difuzního proudu.

Voltametrické experimenty s rotační diskovou elektrodou ukázaly, že první reakce přenosu náboje vede k tvorbě bromfenoxylových radikálů, které následně dimerizují. Další elektrochemickou oxidací vznikaly elektroaktivní oxidační produkty, které se v cyklické voltametrii projevily katodickými proudovými odezvami. Katodický pík při potenciálu okolo -0,1 V odpovídal příslušnému brombenzochinonu. Chinoidní strukturu tohoto produktu potvrdila shoda v potenciálech se standardem 2,3,5,6-tetrabrom-1,4-benzochinonu. V prostředí všech alkoholů byla sledována pasivace elektrodového povrchu produkty elektrochemických reakcí. Pasivace byla nejvýraznější u monobromovaných fenolů a s rostoucím počtem atomů bromu se její míra snižovala. Pro další studium a identifikaci oxidačních produktů byly bromované fenoly elektrolyzovány za konstantního potenciálu v prostředí 90% alkoholu v tříelektrodovém článku s velkoplošnou platinovou elektrodou. Vysoký obsah alkoholu byl zvolen z důvodu potlačení adsorpce oxidačních produktů na pracovní elektrodě. Metoda GC-MS se na základě získaných chromatografických dat a informací z hmotnostních spekter ukázala jako vhodná technika pro identifikaci oxidačních produktů 2,4,6-tribromfenolu. Při studiu vlivu délky alkylového řetězce alkoholu na složení vzniklých produktů elektrolýzy bylo nalezeno několik monomerních a dimerních produktů, které ve své struktuře obsahovaly alkoxy- skupinu odvozenou od použitého alkoholu.

Vypočtené teploty varu detekovaných produktů v homologických řadách korelovaly s retenčními časy. Na základě získaných výsledků byl navržen mechanismus elektrochemické oxidace 2,4,6tribromfenolu, zahrnující dvě možné reakční cesty vedoucí ke vzniku identifikovaných produktů.

První reakční cesta popisuje reakce fenoxylového radikálu s vodou, alkoholem, s další molekulou TBP, příp. s oxidačními produkty, doprovázené odštěpením bromu, vedoucí ke vzniku dibromalkoxyfenolů a dimerních produktů.

V druhém případě dochází k reakci fenoxoniového iontu s alkoholem za tvorby příslušných alkoxy derivátů tribromcyklohexadienonů nebo s vodou za vzniku dibrombenzochinonu doprovázené odštěpením bromovodíku. Metoda GC-MS umožnila dále identifikovat dimerní produkty elektrochemické oxidace 2-bromfenolu a 4-bromfenolu. Žádné další produkty monobromovaných fenolů ani pentabromfenolu nebyly metodou GC-MS nalezeny. Tento fakt mohl být způsoben malou těkavostí, případně i špatnou rozpustností zejména oligomerních produktů, které zůstávají pevně adsorbovány na elektrodovém povrchu. Z toho důvodu byla zvolena pro analýzu oxidačních produktů bromfenolů metoda UPLC-MS, která umožňuje detekci i málo těkavých látek. Mezi produkty oxidace v prostředí 90% methanolu převažovaly dimery etherového typu s vazbou C-O-C (3-BP, 4-BP, PBP) a bifenylového typu s vazbou C-C (2-BP, 4-BP). Kromě dimerů byly detekovány v případě 2-BP a 4-BP i trimerní, resp. tetramerní produkty (u 4-BP). V případě pentabromfenolu byly identifikovány i monomerní produkty: tertabrombenzochinon, tetrabrommethoxyfenol a tetrabromnitrofenol.

Kromě zmíněných off-line technik bylo pro studium elektrochemické oxidace použito také přímé spojení elektrochemie s hmotnostní detekcí. V případě běžných off-line technik, je zapotřebí elektrolyzáty před samotnou separací vhodným způsobem zpracovat (extrahovat, odpařovat, ředit, apod.). On-line spojení EC-MS umožňuje tento krok zcela vynechat, tím klesne spotřeba některých chemikálií, sníží se riziko kontaminace vzorku, ztrát některých méně stabilních meziproduktů, apod. Právě možnost detekovat málo stabilní produkty je jednou z největších výhod přímého spojení elektrochemické cely s hmotnostním spektrometrem. Nevýhodou tohoto spojení pro generování a přímou detekci oxidačních produktů bromovaných fenolů je postupné zanášení pracovní elektrody reakčními produkty a s tím spojená nutnost pravidelného obnovování elektrodového povrchu. Metoda EC-MS umožnila detekovat dimerní oxidační produkty 2-BP a 4-BP, trimerní produkt 2-BP a monomerní produkt oxidativní nitrace PBP v prostředí obsahujícím amonné ionty.

Další výzkum v oblasti on-line oxidace bromovaných fenolů a detekce produktů by měl být zaměřen na hledání vhodných elektrodových materiálů, které by vykazovaly menší náchylnost k elektrodové pasivaci (např. borem dopovaný diamant), nebo použití jiných organických rozpouštědel, příp. solubilizačních činidel pro zvýšení rozpustnosti oxidačních produktů. Pozornost by mohla být věnována také technikám, které by umožnily detekovat a identifikovat oxidační produkty adsorbované na povrchu elektrod např. jejich vhodnou desorpcí a následnou analýzou pomocí hmotnostní spektrometrie.

Výsledky studia anodické oxidace vybraných bromfenolů ukázaly značnou podobnost chování těchto látek při oxidaci na elektrodách jako při chemické oxidaci manganistanem draselným nebo oxidem manganičitým [59, 17], kdy v obou případech vznikají dimerní produkty bifenylového a difenyletherového typu.

Na rozdíl od chemické oxidace byly po elektrochemické oxidaci nalezeny i produkty monomerní – brombenzochinony a další produkty reakce se složkami roztoku (alkoxybromfenoly, tetrabromnitrofenol). Tvorba bromovaných benzofuranů a benzodioxinů, popisovaná při termickém rozkladu bromfenolů, nebyla při elektrochemické oxidaci pozorována.

Poznatky získané v této práci by mohly být využity v praxi např. pro účely syntézy některých derivátů bromovaných fenolů a také pro další studium procesů, které probíhají při tzv. pokročilých anodických oxidačních procesech používaných pro čištění odpadních vod od toxických organických polutantů. Z výsledků této práce vyplývá, že při odbourávání bromfenolů mohou vznikat látky, zejm. bromované hydroxybifenyly a hydroxydifenylethery (OH-PBDE, OH-PBB) s potenciálními negativními účinky na lidské zdraví, příp. toxické pro další organismy, podobně jako polybromované bifenyly a polybromované difenylethery. Je známo, že OH-PBDE a OH-PBB vznikají biologickou transformací v organismech. Elektrochemický článek by proto mohl být využitelný také pro modelování některých reakcí bromfenolů probíhajících enzymaticky v biologických systémech.

Seznam literatury

- 1. Howe P., Dobson S., Malcolm H. M.: 2,4,6- 13. Bocio A., Llobet J. M., Domingo J. L., Corbella Tribromophenol and Other Simple Brominated Phenols. Concise International Chemical World Assessment Document 66. Health Organization, Geneva 2005.
- 2. Flodin C., Whitfield F. B.: Brominated anisoles 14. Johnson-Restrepo B., Kannan K., Rapaport D. and cresols in the red alga Polysiphonia sphaerocarpa. Phytochemistry (2000), 53, 77-80.
- 3. Whitfield F. B., Helidoniotis F., Shaw K. J., Svoronos D.: Distribution of bromophenols in species of marine algae from Eastern Australia. J. 15. Wang D., Cai Z., Jiang G., Leung A., Wong M. Agric. Food Chem. (1999), 47, 2367-2373.
- 4. Alaee M., Arias P., Sjödin A., Bergman A.: An overview of commercially used brominated flame retardants, their applications, their used patterns in different contries/gegions and possible modes of 16. Alaee M., Sergeant D. B., Ikonomou M. G., release. Environ. Int. (2003), 29, 683-689.
- 5. Öberg K., Warman K., Öberg T.: Distribution and levels of brominetd flame retardants in sewage sludge. Chemosphere (2002), 48, 805-809.
- Determination of phenolic flame-retardants in human plasma using solid-phase extraction and gas chromatography-electron-capture mass spectrometry. J. Chromatogr. B (2001), 750, 1-11.
- 7. Thomsen C., Leknes H., Lundanes E., Becher G.: A new method for determination of halogenated 18. Li Y., Wei G., Hu J., Liu X., Zhao X., Zhao X., flame retardants in human milk using solid-phase extraction. J. Anal. Toxicol. (2002), 26, 129-137.
- 8. Thomsen C, Lundanes E., Becher G.: Brominated flame retardants in archived serum samples from Norway: A study on temporal trends and the role of age. Environ. Sci. Technol. (2002), 36, 1414-1418.
- and phenolic endocrine disruptors in Finnish human adipose tissue. Chemosphere (2003), 53, 1123-1130.
- 10. Chung H. Y., Ma W. Ch. J., Kim J.-S.: Seasonal distribution of bromophenols in selected Hong Kong seafood. J. Agric. Food Chem. (2003), 51, 6752-6760.
- 11. Lin K., Yan Ch., Gan J.: Production of hydroxylated polybrominated diphenyl ethers (OH-PBDEs) from bromophenols by manganese dioxide. Environ. Sci. Technol. (2014), 48, 263-271.
- 12. Na Y., Seo J., Hong J.: Formation of pyro-products by the pyrolysis of monobromophenols. Bull. Korean Chem. Soc. (2003), 24, 1276-1280.

- J., Teixidó A., Casas C.: Polybrominated diphenyl ethers (PBDEs) in foodstuffs: Human exposure through the diet. J. Agric. Food Chem. (2003), 51, 3191-3195.
- P., Rodan B. D.: Polybrominated diphenyl ethers and polychlorinated biphenyls in human adipose tissue from New York. Environ. Sci. Technol. (2005), 39, 5177-5182.
- H., Wong W. K.: Determination of polybrominated diphenyl ethers in soil and sediment from an electronic waste recycling facility. Chemosphere (2005), 60, 810-816.
- Luross J. M.: A gas chromatography/highresolution mass spectrometry (GC/HRMS) method for determination of polybrominated diphenyl ethers in fish. Chemosphere (2001), 44, 1489-1495.
- 6. Thomsen C., Janák K., Lundanes E., Becher G.: 17. Jiang J., Gao Y., Pang S.-Y., Wang Q., Huangfu X., Liu Y., Ma J.: Oxidation of bromophenols and formation of brominated polymeric products of concern during water treatment with potassium permanganate. Environ. Sci. Technol. (2014), 48, 10850-10858.
 - Wang X.: Dispersive liquid-liquid microextraction followed by reversed phase-high performance liquid chromatography for determination of polybrominated diphenyl ethers at trace levels in landfill leachate and environmental water samples. Anal. Chim. Acta (2008), 615, 96-103.
- 9. Smeds A., Saukko P.: Brominated flame retardants 19. da Silva V. M., da Cunha Veloso M. C., de Oliveira A. S., Santos G. V., de P. Pereira P. A., de Andrade J. B.: Determination of simple bromophenols in marine fishes by reverse-phase high performance liquid chromatography (RP-HPLC). Talanta (2005), 68, 323-328.
 - 20. Mingwu S., Chao W., Yongjuan J., Xinhua D., **Xiang F.:** Determination of selected polybrominated diphenylethers and polybrominated bifenyl in polymers by ultrasonic-assisted extraction and highperformance liquid chromatography inductively coupled plasma mass spectrometry. Anal. Chem. (2010), 82, 5154-5159.

- Dispersive liquid-liquid microextraction followed by reversed phase HPLC for the determination of decabrominated diphenyl ether in natural water. J. Sep. Sci. (2008), 31, 2371-2376.
- 22. Kato Y., Okada S., Atobe K., Endo T., Matsubara F., Oguma T., Haraguchi K.: Simultaneous determination by APCI-LC/MS/MS of diphenyl ethers found in marine biota. Anal. Chem. (2009), 81, 5942-5948.
- 23. Al-Odaini N. A., Yim U. H., Kim N. S., Shim W. J., Hong S. H.: Isotopic dilution determination of HPLC-APCI-MS/MS. Anal. Methods (2013), 5, 1771-1778.
- 24. Bartošová Z., Jirovský D., Riman D., Halouzka V., Švidrnoch M., Hrbáč J.: HPLC-ED of lowmolecular weight brominated phenols tetrabromobisphenol A using pretreated carbon fiber microelectrode. Talanta (2014), 122, 115-121.
- 25. Jáuregui O., Galceran M. T.: Determination of phenols in water by on-line solid-phase disk 36. Bao L., Xiong R., Wei G.: Electrochemical *extraction and liquid chromatography* with electrochemical detection. Anal. Chim. Acta (1997), 340, 191-199.
- 26. Sarrión M. N., Santos F. J., Galceran M. T.: 37. Zhu X., Shi S., Wei J., Lv F., Zhao H., Kong J., Determination of chlorophenols by solid-phase microextraction and liquid chromatography with electrochemical detection. J. Chromatogr. A (2002), 947, 155-165.
- Supported liquid membrane work-up in combination with liquid chromatography and electrochemical detection for the determination of chlorinated (1996), 42, 165-170.
- 28. Kubáň P., Flowers H.: On-line preconcentration for chromatographic determination the ion of chlorophenolic and phenolic compounds in environmental samples using electrochemical detection. Anal. Chim. Acta (2001), 437, 115-122.
- 29. Armentrout D. N., McLean J. D., Long M. W.: by reversed phase liquid chromatography with electrochemical detection а carbonusing polyethylene tubular anode. Anal. Chem. (1979), 51, 1039-1045.
- 30. Morrow G. W., in Organic Electrochemistry (Eds. Lund H., Hammerich O.), Marcel Dekker, New York, 2001, 590.

- 21. Li Y., Hu J., Liu X., Fu L., Zhang X., Wang X.: 31. Ferreira M., Varela H., Torresi R. M., Tremiliosi-Filho G.: Electrode passivation caused by polymerization of different phenolic compounds. Electrochim. Acta (2006), 52, 434-442.
 - 32. Ureta-Zaňartu M. S., Bustos P., Diez M. C., Mora M. L., Gutiérrez C.: Electro-oxidation of chlorophenols at a gold electrode. Electrochim. Acta (2001), 46, 2545-2551.
 - hydroxvlated and methoxvlated polybrominated 33. Ežerskis Z., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution. Part IV: A gas chromatography mass spectrometry study. J. Appl. Electrochem. (2002), 32, 543-550.
 - emerging flame retardants in marine sediments by 34. Gattrell M., Kirk D. W.: A Fourier transform infrared spectroscopy study of the passive film produced during aqueous acidic phenol electrooxidation. J. Electrochem. Soc. (1992), 139, 2736-2744.
 - and 35. Andreescu S., Andreescu D., Sadik O. A.: A new electrocatalytic mechanism for the oxidation of phenols at platinum electrodes. Electrochem. Commun. (2003), 5, 681-688.
 - polymerization of phenol on 304 stainless steel anodes and subsequent rating structure analysis. Electrochim. Acta (2010), 55, 4030-4038.
 - He Q., Ni J.: Electrochemical oxidation characteristics of p-substituted phenols using a boron-doped diamond electrode. Environ. Sci. Technol. (2007), 41, 6541-6546.
- 27. Knutsson M., Mathiasson L., Jönsson J. A.: 38. Tahar N. B., Savall A.: Electrochemical removal of phenol in alkaline solution. Contribution of the anodic polymerization on different electrode materials. Electrochim. Acta (2009), 54, 4809-4816.
 - phenols in natural water samples. Chromatographia 39. Iotov P. I., Kalcheva S. V.: Mechanistic approach to the oxidation of phenol at a platinum/gold electrode in an acid medium. J. Electroanal. Chem. (1998), 442, 19-26.
 - 40. Tahar N. B., Savall A.: Electropolymerization of phenol on a vitreous carbon electrode in alkaline aqueous solution at different temperatures. Electrochim. Acta (2009), 55, 465-469.
 - Trace determination of phenolic compounds in water 41. Iniesta J., Michaud P. A., Panizza M., Cerisola G., Aldaz A., Comminellis Ch.: Electrochemical oxidation of phenol at boron-doped diamond electrode. Electrochim. Acta (2001), 46, 3573-3578.
 - 42. Ežerskis Z., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution Part I: A cyclic voltammetry study. J. Appl. Electrochem. (2001), 31, 1117-1124.

- on Pt electrode in alkaline solution studied by cyclic voltammetry, galvanostatic electrolysis, and gas chromatography-mass spectrometry. Pure Appl. Chem. (2001), 73, 1929-1940.
- 44. Ureta-Zaňartu M. S., Bustos P., Berríos C., Diez M. C., Mora M. L., Gutiérrez C.: Electrooxidation of 2,4-dichlorophenol and other polychlorinated phenols at a glassy carbon electrode. Electrochim. Acta (2002), 47, 2399-2406.
- 45. Berríos C., Arce R., Rezende M. C., Ureta-Zaňartu M. S., Gutiérrez C.: Electrooxidation of chlorophenols at a glassy carbon electrode in a pH 57. Angerstein-Kozlowska H., Conway B.E., Sharp 11 buffer. Electrochim. Acta (2008), 53, 2768-2775.
- 46. Berríos C., Marco J. F., Gutiérrez C., Ureta-Zaňartu M. S.: Electro-oxidation of chlorophenols at glassy carbon electrodes modified with 6417-6425.
- 47. Pigani L., Musiani M., Pirvu C., Terzi F., Zanardi C., Seeber R.: Electro-oxidation of chlorophenols on poly(3,4-ethylenedioxythiophene)*polv(stvrene suphonate) composite* electrode. Electrochim. Acta (2007), 52, 1910-1918.
- 48. Ežerskis Z., Stalnionis G., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution. Part II: An electrochemical quartz crystal microbalance study. J. Appl. Electrochem. (2002), 32, 49-55.
- 49. Anandhakumar S., Chandrasekaran M.: Anodic oxidation of chlorophenols in micelles and microemulsions on glassy carbon electrode: the medium effect on electroanalvsis and electrochemical detoxification. J. Appl. Electrochem. (2010), 40, 303-310.
- 50. Ežerskis Z., Jusys Z.: Electropolymerization of chlorinated phenols on a Pt electrode in alkaline solution. Part III: A Fourier transformed infrared spectroscopy study. J. Appl. Electrochem. (2002), 32, 755-762.
- 51. Duan X., Tian L., Liu W., Chang L.: Study on electrochemical oxidation of 4-chlorophenol on a vitreous carbon electrode using cyclic voltammetry. Electrochim. Acta (2013), 94, 192-197.
- 52. Taj S., Ahmed M. F., Sankarapapavinasam S.: Electro-oxidative polymerization of m-chlorophenol and m-bromophenol. J. Electroanal. Chem. (1993), 356, 269-274.
- 53. Marková E., Smyslová P., Macíková P., Skopalová J., Barták P.: Studium anodické oxidace 2,4,6-tribromfenolu. Chem. Listy (2012), 106, 195-199.

- 43. Ežerskis Z, Jusys Z.: Oxidation of chlorophenols 54. Marková E., Kučerová P., Skopalová J. Barták **P**.: Electrochemical oxidation of 2.4.6tribromophenol in aqueous-alcoholic media. Electroanal. (2015), 27, 156-165.
 - 55. Marková E., Kučerová P., Bednář P., Barták P., Skopalová Electrochemical J: oxidative dimerization of monobrominated phenols and pentabromophenol in methanol-aqueous media. Monatsh Chem (2016), 147, 75-87.
 - 56. Gattrell М., MacDougall B.: The anodic electrochemistry of pentachlorophenol. J Electrochem. Soc. (1999), 146, 3335-3348.
 - **W.B.A.:** The real condition of electrochemically oxidized platinum surfaces: Part I. Resolution of component processes. J. Electroanal. Chem. (1973), 43, 9-36.
 - polyNi(II)complexes. Electrochim. Acta (2009), 54, 58. Nilsson A., Palmquist U., Pettersson T., Ronlán A.: Anodic oxidation of phenolic compounds. Part 5. Anodic methoxylation of phenols. A simple synthesis of quinones, quinone acetals, and 4-methyl- α methoxycyclohexa-2,5-dienones. J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1 (1978), 696-707.
 - 59. Poerschmann J., Trommler U., Górecki T., Kopinke F.-D.: Formation of chlorinated biphenyls, diphenyl ethers and benzofurans as a result of Fenton-driven oxidation of 2-chlorophenol. Chemosphere (2009),75, 772-780.