Mogućnosti primjene HSS-GC-FID tehnike za analizu lakohlapljivih polarnih sastavnica u vlažnim maramicama

Tipurić, Tea

Master's thesis / Diplomski rad

2018

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Pharmacy and Biochemistry / Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:545629

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

zir.nsk.hr

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Tea Tipurić

Mogućnosti primjene HSS-GC-FID tehnike za analizu lakohlapljivih polarnih sastavnica u vlažnim maramicama

DIPLOMSKI RAD

Predan Sveučilištu u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskom fakultetu

Zagreb, 2018.

Ovaj rad je prijavljen na kolegiju Analitika lijekova Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta i izrađen na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova pod stručnim vodstvom doc. dr. sc. Mirande Sertić.

SADRŽAJ

1. UVOD 1
1.1. VLAŽNE MARAMICE 1
1.1.1. Kemijski sastav vlažnih maramica 1
1.1.2. Zakonska regulativa 2
1.2 PLINSKA KROMATOGRAFIJA 3
1.2.1. Plinska kromatografija s headspace injektiranjem 6
1.2.2 Prednosti i ograničenja plinske kromatografije 7
1.2.3. Headspace tehnika pripreme uzorka 8
2. OBRAZLOŽENJE TEME 9
3. MATERIJALI I METODE 10
3.1. MATERIJALI 10
3.1.1. Kemikalije i plinovi 10
3.1.2. Uzorci 10
3.1.3. Pribor 10
3.1.4. Instrumenti 11
3.1.5. Programski paketi 11
3.2. METODE 12
3.2.1. Priprema standardnih otopina 12
3.2.2. Priprema uzorka vlažnih maramica 12
3.2.3. Headspace uzorkovanje i GC-FID analiza 13
4. REZULTATI I RASPRAVA 14
4.1. ANALIZA UZORKA 14
4.2. RASPRAVA O REZULTATIMA I KRATKI PREGLED SPME 23
5. ZAKLJUČAK 26
6. LITERATURA 27
7. SAŽETAK / SUMMARY 29
8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD 31

1. UVOD

1.1. VLAŽNE MARAMICE

Vlažne maramice su navlaženi pravokutni komadi papira ili tkanine koji se najčešće rabe za čišćenje ili dezinfekciju. Njihova prednost i glavni razlog široke potrošnje je jednostavnost primjene koja je postala očita već pedesetih godina prošloga stoljeća kada su ljudi ljudi počeli više putovati i trebali su brzi način čišćenja, prvenstveno ruku. Danas su vlažne maramice sveprisutne na globalnom tržištu i mogu se grubo podijeliti u tri kategorije:

1.) Maramice za osobnu higijenu (dječje maramice, maramice za uklanjanje šminke, maramice za intimnu higijenu, maramice za uklanjanje laka za nokte, vlažni toalet papir itd.)
2.) Maramice za kućanstvo (maramice za čišćenje kuhinjskih površina, maramice za čišćenje kupaonice, maramice za čišćenje poda, maramice za brisanje stakla itd.)
3.) Industrijske maramice za čišćenje (maramice za odmašćivanje, dezinfekcijske maramice itd.)

1.1.1. Kemijski sastav vlažnih maramica

Osnova maramica su vlakna svile, pamuka, poliestera, vune (izbjegava se u dječjim maramicama zbog iritacijskog učinka) koja se ili isprepliću ili komprimiraju pod tlakom kako bi formirala tanki sloj. Glavni sastojak otopine za vlaženje je voda koja služi kao nosač i otapalo za sve ostale sastojke. U dezinfekcijskim maramicama i maramicama za čišćenje površina čest je i alkohol (etanol ili izopropanol), korišten zbog svojstava otapanja polarnih supstancija, bakteriostatskog i konzervirajućeg učinka. Kao sredstva za emulgiranje nečistoća koriste se razne površinski aktivne tvari (anionske koje imaju najjači učinak čišćenja ili neionske i amfoterne u maramicama namijenjenima dječjoj koži zbog manjeg iritacijskog potencijala). Glicerol, propilenglikol i butilenglikol najčešći su humektansi koji održavaju vlažnost maramice i sprječavaju isušivanje, a djeluju i kao ovlaživači kože nakon primjene.

Dodatno, neke maramice namijenjene primjeni na kožu sadrže biljna ili mineralna ulja kao što su lanolin, bademovo ulje, maslinovo ulje ili silikoni koji djeluju kao emolijensi - formiraju tanki, umjereno propustan sloj na koži koji ograničava gubitak vode iz kože i tako sprečavaju pretjerano uklanjanje lipida s površine kože i neugodan osjećaj nakon primjene. Velik udio vode u maramicama osigurava izvrsnu podlogu za rast mikroorganizama (bakterije, plijesan, kvasci) pa su za održavanje sigurnosti i kakvoće proizvoda nužni konzervansi (Lee i sur., 2014). Najčešće korišteni su alkil-parabeni, fenoksietanol, natrijev benzoat, benzilni alkohol ili metilizotiazolinon koji sprječavaju mikrobni rast. Često se za osiguravanje kakvoće dodaje i kelator – Na-EDTA koji veže metalne katione (Ca, Mg) i sprječava formiranje netopljivih soli te na taj način osigurava fizičku stabilnost proizvoda. Emocionalnu vrijednost maramicama daju mirisi i arome koji su, uz konzervanse, najčešći alergeni u maramicama koje se primjenjuju na kožu.

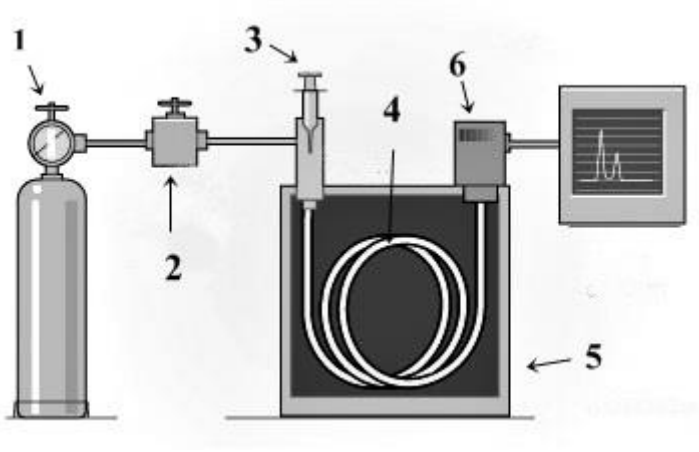
1.1.2. Zakonska regulativa

Vlažne maramice koje se ubrajaju u kozmetičke proizvode moraju ispunjavati zahtjeve Uredbe (EZ) br. 1223/2009 o kozmetičkim proizvodima uz naglasak na kontrolu sadržaja alergena metilizotiazolinona. Usklađenost s Uredbom temeljni je zahtjev za stavljanje sigurnog proizvoda na tržište. Također moraju ispunjavati zahtjeve pratećih propisa kao što su Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje (NN/125/2009), Pravilnik o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe (NN/82/2010), Pravilnik o ambalaži i ambalažnom otpadu (NN/97/2005).

1.2 PLINSKA KROMATOGRAFIJA

Plinska kromatografija (engl. *Gas Chromatography*, GC), osmišljena davne 1950. godine, je analitička separacijska tehnika koja se koristi za identifikaciju i kvantitativno određivanje hlapljivih supstancija u uzorku. Temelji se na razdiobi hlapljivih analita iz uzorka između pokretne plinovite i nepokretne tekuće ili čvrste faze. Razlika u kemijskim karakteristikama molekula u uzorku i njihovom relativnom afinitetu prema stacionarnoj fazi promovira separaciju tih molekula. Separacija se odvija u koloni u koju se uštrcava uzorak koji pri tome ispari. Kroz kolonu sa stacionarnom fazom prolazi plinovita faza (plin nosač) pod tlakom i eluira analite koji izlaze u različitim vremenima (vrijeme zadržavanja) ovisno o interakcijama sa stacionarnom fazom. Analit koji najviše vremena provede u stacionarnoj fazi eluirat će posljednji. (Nigović, 2014). Plinska kromatografija može se podijeliti u dvije kategorije s obzirom na prirodu stacionarne faze: plinsko - čvrstu i plinsko - tekućinsku kromatografiju. (Luterotti, 2002).

Instrument za provedbu analize metodom plinske kromatografije naziva se plinski kromatograf, a njegovi osnovni dijelovi su prikazani shematski na Slici 1.



Slika 1. Shematski prikaz plinskog kromatografa (www.guccishoesuk2014.com)

1. Plin nositelj
2. Uređaj za regulaciju tlaka i protoka plina
3. Injektor
4. Kromatografska kolona
5. Pećnica
6. Detektor

Kromatografski proces započinje injektiranjem male količine uzorka (0,5 - 2 µL) u kolonu korištenjem zagrijanog sustava za injektiranje pri čemu uzorak trenutno ispari. Injektor je najčešće mikrolitarska šprica s iglom koja probija gumenu membranu spremnika uzorka (Eiceman, 2006). Temperatura sustava za injektiranje prilagođava se ovisno o hlapljivosti ispitivanih analita u uzorku (najčešće od 150-250 ºC) i mora se pažljivo optimizirati – mora biti dovoljno visoka da trenutno upari uzorak, a da istovremeno ne dovede do razgradnje analita ili kontaminacije kolone. U ovom koraku je važno da volumen injektiranog uzorka bude izuzetno mali kako ne bi došlo do širenja zona prilikom analize te da isparavanje uzorka zaista bude trenutačno – svi analiti u isto vrijeme.

Osigurati mali volumen injektiranog uzorka prilikom korištenja kapilarnih kolona za analizu moguće je primjenom tzv. „*split*“ injektora pri čemu se uzorak ne nanosi u cjelosti na kolonu („*splitless*“), nego se podijeli na dva dijela – manji se nanosi na kolonu a veći odventilira. Omjeri mogu biti od 10:1 do 100:1. Tako se sprječava širenje pikova i njihova asimetrija zbog ekspanzije otapala u kojemu je otopljen uzorak (Nigović, 2014).

Pokretna faza, odnosno plin nositelj prenosi molekule iz uzorka kroz kolonu. Plin mora biti inertan i ne smije dolaziti u interakcije s analitom, što znači da se selektivnost GC separacije može pripisati isključivo stacionarnoj fazi. Kao plinovi nositelji upotrebljavaju se helij, dušik i vodik visoke čistoće, također uzimajući u obzir korištenu vrstu detektora (Piantanida i sur., 2014).

Optimizirana kromatografska separacija počinje s kolonom. Kolone se mogu podijeliti na punjene i kapilarne. Punjene su cijevi izrađene najčešće od nehrđajućeg čelika, stakla, ili ponekad teflona, unutarnjeg promjera 2-5 mm. Punjenje je inertni čvrsti nosač velike specifične površine (kalcijev silikat) impregniran tankim slojem tekuće nepokretne faze različite polarnosti (makrogol, polietilenglikol, polisiloksani). U svrhu smanjenja adsorpcije polarnih supstancija na čvrsti nosač, on se silanizira, čime mu se smanjuje polarnost. Druga

vrsta kolona su kapilarne. Građene su od izvučena kvarca, a unutrašnji promjer je između 0,15 mm i 0,5 mm. Trenutan izbor komercijalno dostupnih unutrašnjih promjera kapilarnih kolona na tržištu omogućava balans između dva faktora: učinkovitosti odjeljivanja i kapaciteta za uzorak (količina bilo koje komponente uzorka koja se može primijeniti na kolonu bez da se željeni pik preoptereti – engl. „*peak overload*“ što bi rezultiralo asimetričnim pikom na kromatogramu) (www.sigmaaldrich.com). Unutrašnju stijenku kolone prekriva tanki sloj nepokretne faze (0,1 - 5 μm), kemijski vezane na silanolne grupe stijenke. Kao nepokretna faza najčešće se koriste različito supstituirani siloksani.

Osnovni nedostaci punjenih kolona su manja sposobnost razlučivanja i osjetljivost na temperature veće od 280 ºC pri čemu dolazi do isparavanja tekuće faze (Nigović, 2014). Danas se najčešće rabe kapilarne kolone zbog veće djelotvornosti i podnošenja većih temperatura.

Prilikom odabira odgovarajuće kapilarne kolone za analizu, najvažnije je razmotriti koja bi bila najbolja moguća stacionarna faza. Vrlo korisne karakteristike stacionarne faze koje mogu pomoći pri izboru su selektivnost i polarnost, često korišteni kao sinonimi, iako to nisu. Selektivnost je određena fizikalno-kemijskim interakcijama molekula iz uzorka i stacionarne faze, dok je polarnost određena strukturom stacionarne faze. Iako polarnost ima utjecaj na separaciju, samo je jedna od mnogo svojstava stacionarne faze koji utječu na razdvajanje pikova. Selektivnošću se može smatrati sposobnost stacionarne faze da razlikuje dvije molekule na temelju njihovih kemijskih ili fizikalnih svojstava. Ako su ta svojstva drukčija, drukčije su i interakcije sa stacionarnom fazom zbog čega dolazi do separacije (Aglient Technologies, 2016).

Kolona za kromatografiju nalazi se u pećnici s ventilatorom koji osigurava ravnomjernu raspodjelu topline. Pećnica može termostatirati kolonu na dva načina – izotermalno (konstantna temperatura do kraja analize) ili promjenjivo (programirano povišenje temperature). Druga opcija se koristi za separaciju uzoraka šireg raspona vrelišta, ali i kako bi se omogućilo injektiranje uzorka pri nižoj temperaturi i onda naglo povišenje temperature za trenutno isparavanje na vrhu kolone (Watson, 2012).

Zadnji korak analize plinskom kromatografijom je detekcija eluiranih analita. Neki od najčešće korištenih detektora su:

- Plameno ionizacijski detektor (engl. *Flame Ionisation Detector*, FID)

U detektoru se nalazi elektroda koja bilježi pojačanje struje do kojeg dovode ionski međuprodukti i elektroni nastali sagorjevanjem organskih supstancija u plamenu (Nigović, 2014). Najbolju detekciju postiže za molekule s ugljikovim i vodikovim atomima, dok heteroatomi poput kisika smanjuju odgovor detektora.

- Detektor apsorpcije elektrona (engl. *Electron Capture Detector,* ECD)

Kod ovog tipa detektora radioaktivni izbor (beta emiter) ionizira plin nositelj pri čemu nastaju slobodni elektroni koji generiraju stabilnu, konstantnu struju. Ako uzorak koji se eluira sadrži organske molekule s elektronegativnim grupama (halogeni, fosfatne i nitro skupine), oni će vezati te elektrone i struja će se smanjiti. Smanjenje u toku elektrona proporcionalno je sadržaju elektrofilnih komponenata uzorka.

- Detektor toplinske vodljivosti (engl. *Thermal Conductivity Detector*, TCD)

Dolazi do promjene toplinske vodljivosti struje plina nositelja zbog prisutnosti analita. Najčešće se koristi za određivanje vode u uzorku. U odnosu na FID detektor relativno je neosjetljiv na organske komponente (Watson, 2012).

- Maseni detektor (engl. *Mass Spectrometer*, MS)

Nakon što analiti napuste GC kolonu, ioniziraju se u vakuumu ili prije ulaska u vakuum koristeći eletronske ili kemijske ionizacijske izvore. Ionizirane molekule ubrzavaju kroz analizator instrumenta i razdvajaju se na temelju različitih omjera mase i naboja.

1.2.1. Plinska kromatografija s headspace injektiranjem

Plinska kromatografija s headspace injektiranjem (engl. *Head Space Sampling*, HSS) je metoda pripreme uzoraka za određivanje ostatnih otapala i hlapljivih onečišćenja u krutim ili tekućim uzorcima. Najčešće se dijeli na statičnu i dinamičnu, iako je danas u upotrebi i varijanta dinamičnog uzorkovanja nazvana mikroekstrakcijom na čvrstoj fazi (engl. *Solid Phase Microextraction,* SPME). Kromatografija sa statičnim headspace injektiranjem klasični je i najjednostavniji oblik ovakve analize pri čemu se uzorak u staklenoj vijali s gumenim

čepom ostavlja na kontroliranoj temperaturi dok se ne uspostavi ravnoteža između plinovite i tekuće ili krute faze. Nakon toga, plin nositelj uvodi fiksan volumen plinovite faze u GC kolonu. Ako se koristi kapilarna kolona za analizu, primjenjuje se *split* injektiranje.

Drugi način ovakve analize je dinamična (*purge trap*) headspace analiza koja uključuje propuhivanje tekućeg uzorka pomoću plina nositelja i adsorpciju strujom plina nošenih hlapivih analita na polimerni adsorbens. Na taj način dolazi do „zarobljavanja“ i ukoncentriravanja analita na adsorbensu. Nakon adsorpcije slijedi desorpcija povišenjem temperature te prenošenje uzorka na kolonu plinskog kromatografa. Ova metoda je metoda izbora za analizu izuzetno niskih koncentracija (ppb i ppm) hlapljivih organskih supstancija u vodenim uzorcima (Watson, 2012).

1.2.2 Prednosti i ograničenja plinske kromatografije

Osnovna prednost plinske kromatografije kao metode odjeljivanja i kvantifikacije je velika točnost i preciznost, čemu posebno pridonosi uporaba unutarnjeg standarda pri analizi. Korištenjem kapilarnih kolona, moć odjeljivanja plinskom kromatografijom postaje veća od one tekućinske kromatografije visoke djelotvornosti. Nadalje, metoda je automatizirana i time relativno jednostavna za korištenje, a široki izbor detektora omogućuje odjeljivanje brojnih vrsta spojeva, uključujući one bez kromofora. Kao mobilna faza koriste se plinovi koji za razliku od organskih otapala ne zahtjevaju posebne načine odlaganja, a i puno su jeftiniji od organskih otapala, posebice helij.

S druge strane, metoda zahtjeva od analita da budu termostabilni i lakohlapljivi, što nije uvijek slučaj, zbog čega je ponekad potrebna i derivatizacija. Postupak derivatizacije analita povećava broj koraka analize, kao i opasnost od mogućih interferencija. Volumen uzorka za analizu, kao što je već spomenuto, mora biti izrazito mali (0,5 - 2 µL), što može predstavljati problem prilikom kvantitativne analize. Vodene otopine i soli nije moguće injektirati u instrument (Watson, 2012).

1.2.3. Headspace tehnika pripreme uzorka

Headspace plinska kromatografija nije nova tehnika; koristi se od ranih početaka plinske kromatografije, no interes za nju i dalje ne jenjava. Uzrok tome je vjerojatno potreba za minimalizacijom troškova u analitičkim laboratorijima, a što se može postići automatizacijom što većeg broja koraka u analitičkom postupku (Kolb i Ettre, 2006). Unatoč automatizaciji same analize, priprema uzorka u velikom broju slučajeva ostaje vremenski zahtjevan zadatak. Većina uzoraka mora biti modificirana kako bi udovoljila specifičnim zahtjevima određenih analitičkih tehnika. Mnoge od tih modifikacija uključuju nekakvu vrstu inicijalne ekstrakcije, poput tekućinsko – tekućinske ekstrakcije (engl. *Liquid–liquid extraction,* LLE), ekstrakcije čvrstom fazom (engl. *Solid phase extraction*, SPE) ili čak ekstrakcije superkritičnim fluidom (engl. *Supercritical fluid extraction*, SFE). Međutim, ako nas zanimaju hlapljivi analiti, u tu svrhu se može koristiti inertni plin kao idealno otapalo s kojim je relativno lako rukovati i koji je dostupan u puno većem stupnju čistoće od većine organskih otapala, što je vrlo važno za analite u vrlo malim koncentracijama, ili analite u tragovima.

2. OBRAZLOŽENJE TEME

Kozmetički proizvodi i proizvodi za osobnu higijenu su od velike važnosti za ljude svih dobnih skupina diljem svijeta. U posljednjih nekoliko desetljeća broj kozmetičkih proizvoda dostupnih na tržištu iznimno raste, a među njima i vlažne maramice različitih tipova i različitih namjena. Takvi proizvodi se primjenjuju izravno na kožu, a u svom sastavu mogu imati i nekoliko desetaka različitih tvari zbog čega njihove sigurnosne procjene moraju uključivati direktan utjecaj na kožu prilikom kontakta, kao i sistemsku izloženost za molekule koje penetriraju kroz kožu. Te stavke dolaze posebno do izražaja kod novorođenčadi i male djece kod kojih se proizvodi primjenjuju na velikoj površini kože, koja je ujedno veće propusnosti od kože odraslih osoba. Osim toga, važno je uzeti u obzir i malu masu novorođenčeta te posljedično veliku sistemsku koncentraciju potencijalno štetnih tvari ako dođe do njihove apsorpcije putem kože.

U ovom radu nastojalo se ispitati mogućnost primjene jednostavne i ekonomski isplative HSS-GC-FID analitičke metode za određivanje odabranih hlapljivih organskih otapala kao potencijalnih štetnih sastojaka u vlažnim maramicama, imajući na umu mogućnost izazivanja ili pojačavanja intenziteta kožnih reakcija, kao što su kontaktni dermatitis ili pelenski osip kod djece, kao i mogući sistemski utjecaj nakon apsorpcije.

3. MATERIJALI I METODE

3.1. MATERIJALI

3.1.1. Kemikalije i plinovi

2-propanol, čistoće za tekućinsku kromatografiju (Merck, Darmstadt, Njemačka)

Aceton (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

Acetonitril, čistoće za tekućinsku kromatografiju (Merck, Darmstadt, Njemačka)

Etanol, čistoće za tekućinsku kromatografiju (Merck, Darmstadt, Njemačka)

Etil-acetat (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

Metanol, čistoće za tekućinsku kromatografiju (Merck, Darmstadt, Njemačka)

Benzen (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

Propilenglikol (Kemika, Zagreb, Hrvatska)

Vodik 5,0 (Messer, Gumpoldskirchen, Austrija)

3.1.2. Uzorci

Becutan dječje vlažne maramice (Alkaloid, Makedonija, Skopje)

3.1.3. Pribor

Automatske pipete, (0,5 μL – 10 mL) (Rainin Instrument LLC, Oakland, CA, SAD)

Bočice za uzorkovanje headspace tehnikom s aluminijskim čepom, 20 mL (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)

Kolona za plinsku kromatografiju, DB-624, dimenzija 30 m x 0,53 mm, debljina filma 3 μm (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)

Otvarač bočica s aluminijskim čepom (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)

Zatvarač bočica s aluminijskim čepom (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)

3.1.4. Instrumenti

Analitička vaga, model AG245 (Mettler Toledo, Greifensee, Švicarska)

Kompresor zraka, model ZAO35A (PEAK Scientific, Renfrewshire, UK)

Plinski kromatograf, model 6850 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)

Sustav za pročišćavanje vode WaterPro (Labconco, Kansas City, MI, SAD)

Uređaj za headspace uzorkovanje, model G1888 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)

3.1.5. Programski paketi

GC ChemStation, Rev. A. 10 02 (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, SAD)

Microsoft Office Excel 2003 (Microsoft, Seattle, WA, SAD)

3.2. METODE

3.2.1. Priprema standardnih otopina

Standardna otopina pripremljena je razrjeđivanjem acetona, etanola, etil-acetata, 2-propanola i metanola s ultračistom, deioniziranom vodom do koncentracije 10 % (v/v). Dodavana su po 2 µL te otopine izravno na uzorak maramice neposredno nakon unošenja uzorka u bočicu za uzorkovanje. Kao unutarnji standard korišten je acetonitril, a dodavano je po 2 µL u svaki uzorak.

3.2.2. Priprema uzorka vlažnih maramica

Vlažne maramice su ispitivane bez prethodne obrade, rezanjem škarama na masu od otprilike 2 g (točna odvaga je zabilježena), nakon čega su stavljane u vijale od 20 mL. Važno je maramice ne gurati silom jer može doći do cijeđenja i curenja tekućine kojom su natopljene. Maramice se spuštaju na dno vijale, pri čemu volumen koji zauzimaju ne bi smio biti veći od 2/3 vijale. Neposredno nakon dodavanja 2 µL smjese standarda ispitivanih otapala i 2 µL unutrašnjeg standarda izravno na odvagani uzorak, bočice za uzorkovanje su hermetički zatvorene



Slika 2. Primjer vijale s uzorkom

3.2.3. Headspace uzorkovanje i GC-FID analiza

Nakon pripreme uzoraka, oni se prenose u instrument za HSS analizu. Za početne uvjete analize odabrana je metoda već prethodno razvijena na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu. Uzorak se zagrijava bez trešnje određeni broj minuta (temperatura i vrijeme varirani pri pokušaju optimizacije metode). Nakon toga se u periodu od 1 minute uzorak unosi u plinski kromatograf pri temperaturi od 115 ˚C, a temperatura injektora iznosi 230 ˚C. Kao plin nosač koristi se dušik, brzine protoka 5,0 mL/min. Kako bi se postiglo optimalno razlučivanje analita, kolona se termostatira programiranim povišenjem temperature uz početnu temperaturu kolone od 40 ˚C tijekom dvije minute. Temperatura se gradijentno povećava za 15 ˚C, dok ne dostigne maksimum od 180 ˚C. Za detekciju eluiranog analita koristi se plameno-ionizacijski detektor pri temperaturi od od 300 ˚C.

Za analizu je korišten plinski kromatograf Agilent 6850 te kromatografska kolona DB-624 (Agilent Technologies) za razdvajanje analita, dimenzija 30 m x 0,53 mm, debljina filma 3 μm.

4. REZULTATI I RASPRAVA

4.1. ANALIZA UZORKA

Plinska kromatografija odabrana je kao metoda analize hlapljivih analita u vlažnim maramicama s ciljem razvoja jednostavne i brze metode koja bi eliminirala potrebu za pripremom uzorka ili ekstrakcijom analita iz maramica. Nakon pretraživanja literature utvrđeno je da zaista postoje razvijene metode za analizu vlažnih maramica, međutim sve uključuju ekstrakciju analita iz uzorka, što nije samo vremenski, nego i ekonomski zahtjevnije. Takav nedostatak podataka u literaturi o direktnoj kvalitativnoj i kvantitativnoj analizi maramica jasno ukazuje na temeljni problem i izazov u razvoju metode za analizu sastava maramica: čvrsto stanje uzorka.

Pregledom literature pronađeno je da je u Koreji razvijena metoda za određivanje alkoksialkohola u vlažnim maramicama headspace plinskom kromatografijom u kojoj je uzorak pripremljen cijeđenjem paketa maramica u vijalu od 15mL (Lee i sur., 2014). Metoda se pokazala uspješnom, ali ima važan ograničavajući čimbenik – neke vrste maramica nemoguće je ocijediti tako da se dobije dovoljna količina uzorka za analizu, odnosno metoda nije univerzalna za sve vrste maramica. Nadalje, u jednom je radu analizirano 6 vrsta maramica pri čemu su identificirani alkoholi, esteri, ketoni, aldehidi, kiseline i dr. (Alimzhanova i sur., 2016). Analiza sastava vlažnih maramica provedena je korištenjem mikroekstrakcije na čvrstoj fazi spregnute s GC-MS tehnikom u kojoj su maramice rezane na masu od 1g i analizirane. Slična metoda, uz iznimku korištenja plinske umjesto tekućinske kromatografije, korištena je za karakterizaciju hlapljivih supstancija u jabukama (također čvrsti uzorak) u Portugalu (Ferreira i sur., 2009).

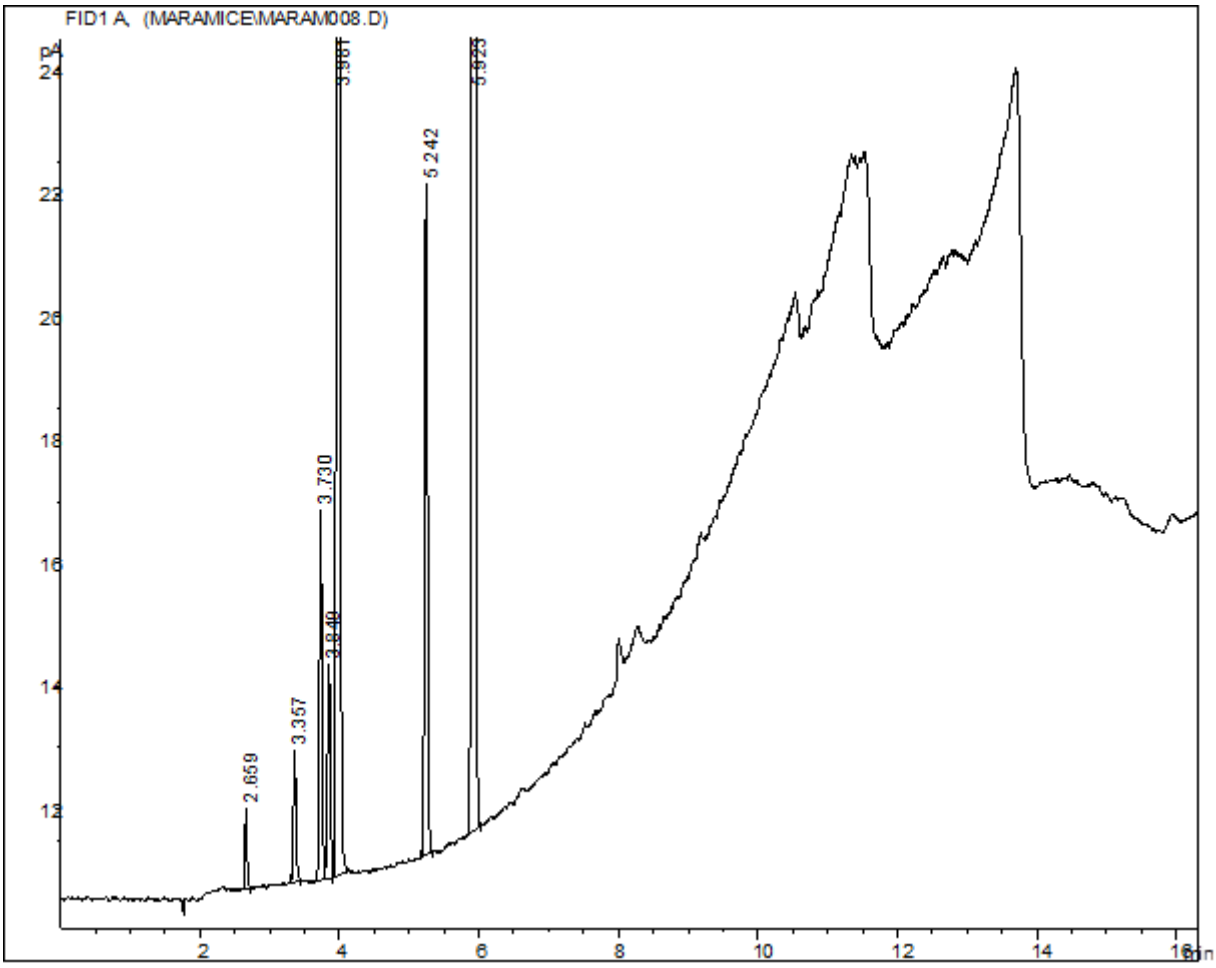
Prema podacima u literaturi, sve do sad razvijene metode analize uključuju komplicirane metode pripreme uzorka i ekstrakcije analita. Metode bazirane na HPLC-u spregnutom s masenom spektrometrijom su kompleksne i zahtjevaju velike volumene organskih otapala za mobilnu fazu, dok SPME uključuje posebnu aparaturu koja nije uvijek dostupna ili je financijski zahtjevna. Stoga je cilj ovoga rada bio ispitati mogućnost primjene jednostavne i

ekonomski isplative HSS-GC-FID analitičke metode za određivanje hlapljivih organskih tvari u vlažnim maramicama.

S obzirom na rastuću popularnost vlažnih maramica i njihovu neizostavnu ulogu u svakodnevnoj higijeni kože, pitanje sastava i sigurnosti se nameće kao nužno, pogotovo imajući na umu da sadrže velik broj supstancija koje imaju potencijal izazivanja iritacije kože i alergijskih reakcija, a s posebnim naglaskom na dječju kožu. U tu svrhu od posebnog interesa su svakako i različiti konzervansi i alergeni koji se mogu naći u ovim uzorcima, što će biti predmet nekih budućih istraživanja.

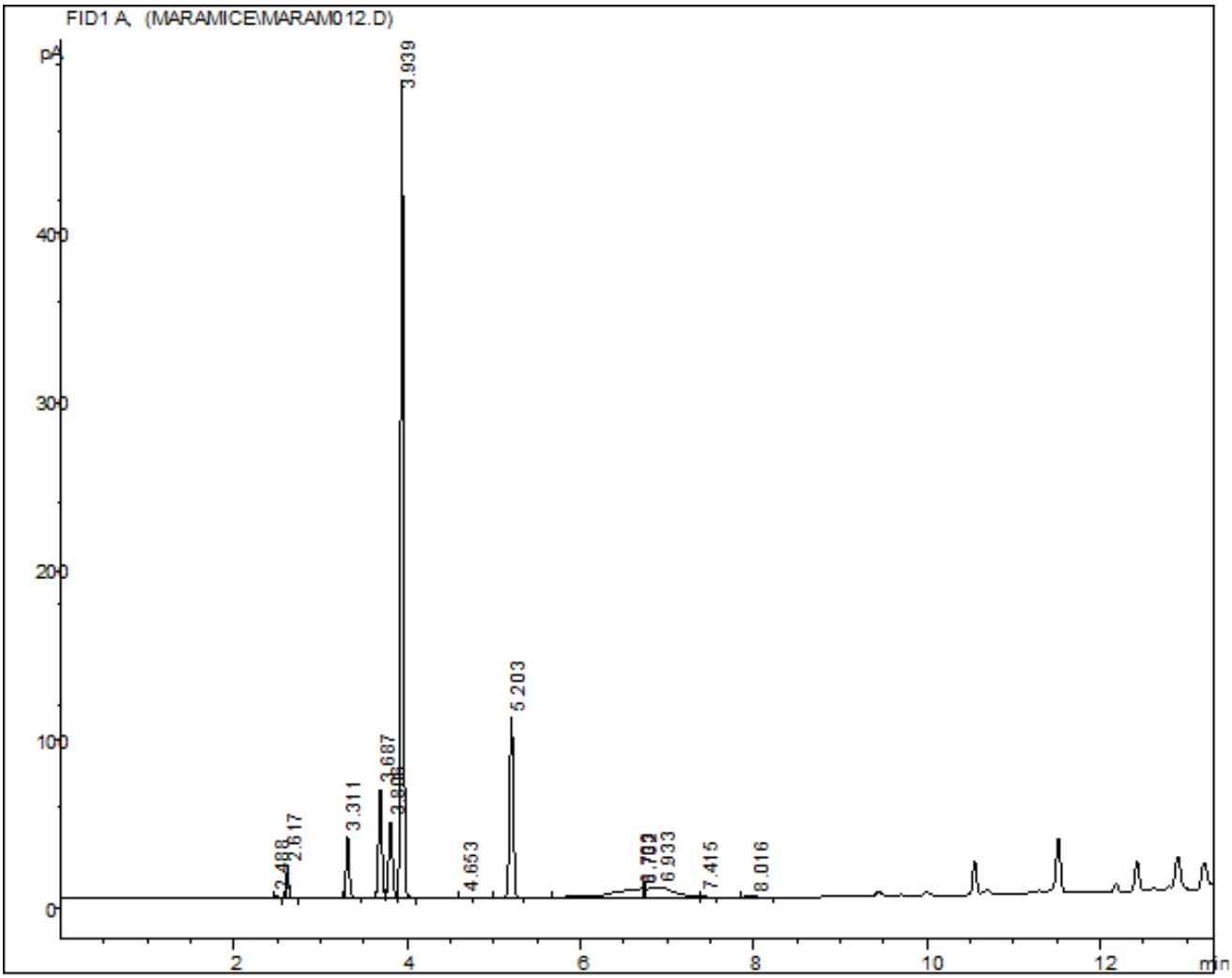
Analiti koji su odabrani za ovu analizu su etanol, metanol, etil-acetat, aceton i 2-propanol. U prvim pokušajima su bili dodani još i benzen i propilenglikol, no pri odabranim uvjetima i s ovom tehnikom nije bilo moguće dobiti simetrične pikove te ponovljivost rezultata za ta dva analita pa su u daljnjim analizama izostavljeni (Slika 3.). Već i prilikom pripreme otopine standarda bilo je upitno hoće li se benzen i propilenglikol moći analizirati ovom metodom. Uzrok tome je slabo miješanje benzena i vode i velika viskoznost propilenglikola zbog čega je bilo teško pripraviti homogenu standardnu otopinu te otpipetirati dio u bočicu s uzorkom.

S obzirom na fizikalno-kemijska svojstva ispitivanih spojeva, izabrana je DB-624 kolona za plinsku kromatografiju koja je svakako kolona izbora za organske zagađivače u okolišu i ostatna otapala.



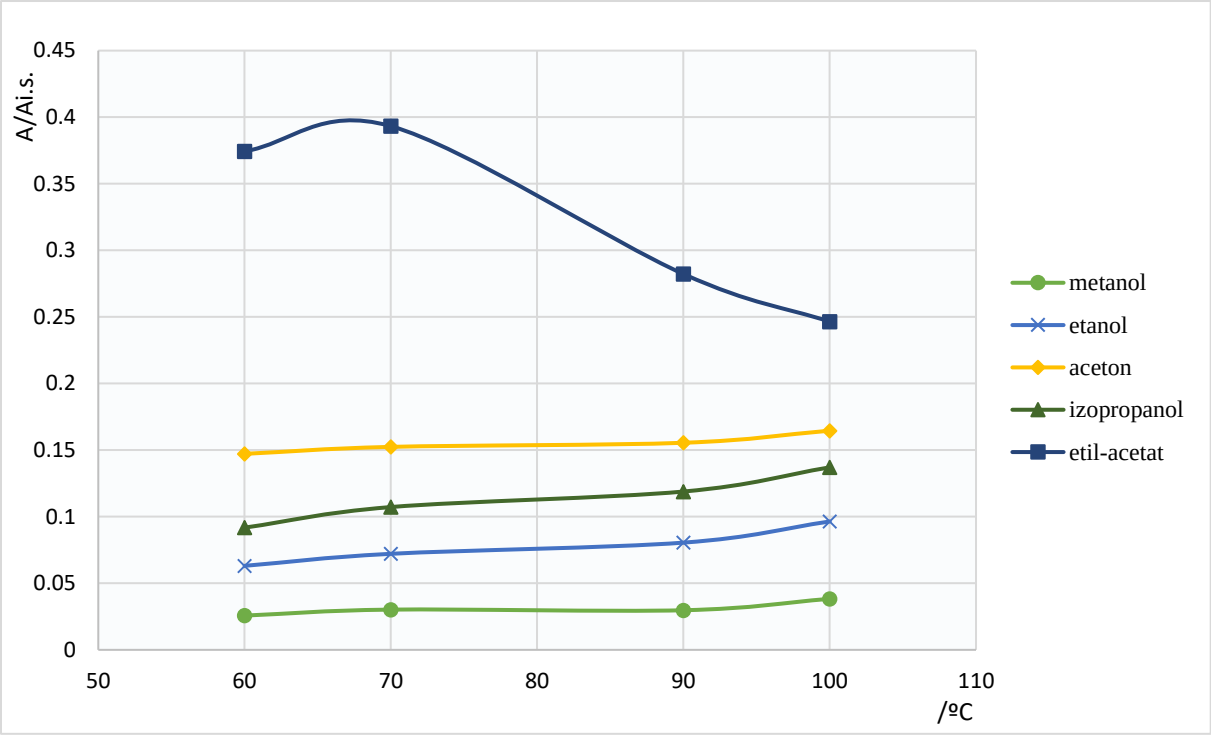
Slika 3. Kromatogram uzorka maramice uz dodatak 10% - tne standardne otopine koja uključuje benzen i propilenglikol, uz unutanji standard acetonitril

Analizom uzorka koji je sadržavao 1,9170 g Becutan vlažne maramice, 2 µL 10 %-tne standardne otopine pripremljene prema uputama iz poglavlja 3.2.1. i 2 µL unutarnjeg standarda acetonitrila, dobiven je kromatogram s jasno odjeljenim pikovima kojima se lako mogao pripisati pojedini analit usporedbom vremena zadržavanja uzorka i kontrole (otopina standarda s acetonitrilom, bez maramice). Iz kromatograma na Slici 4 se može očitati da prvi eluira metanol (vrijeme zadržavanja 2,617 min), zatim etanol (tr = 3,311 min), aceton (tr = 3,687 min), izopropanol (tr = 3,806 min) i etil-acetat (tr = 5,203 min). Unutarnji standard acetonitril eluira nakon 3,939 minuta. Kako je ključni korak osigurati potpunu ekstrakciju analita iz uzorka, posebna je pozornost posvećena optimizaciji ekstrakcijskih uvjeta na HSS uređaju. Ispitan je utjecaj temperature predinkubacije, a zatim i vremena uravnotežavanja.



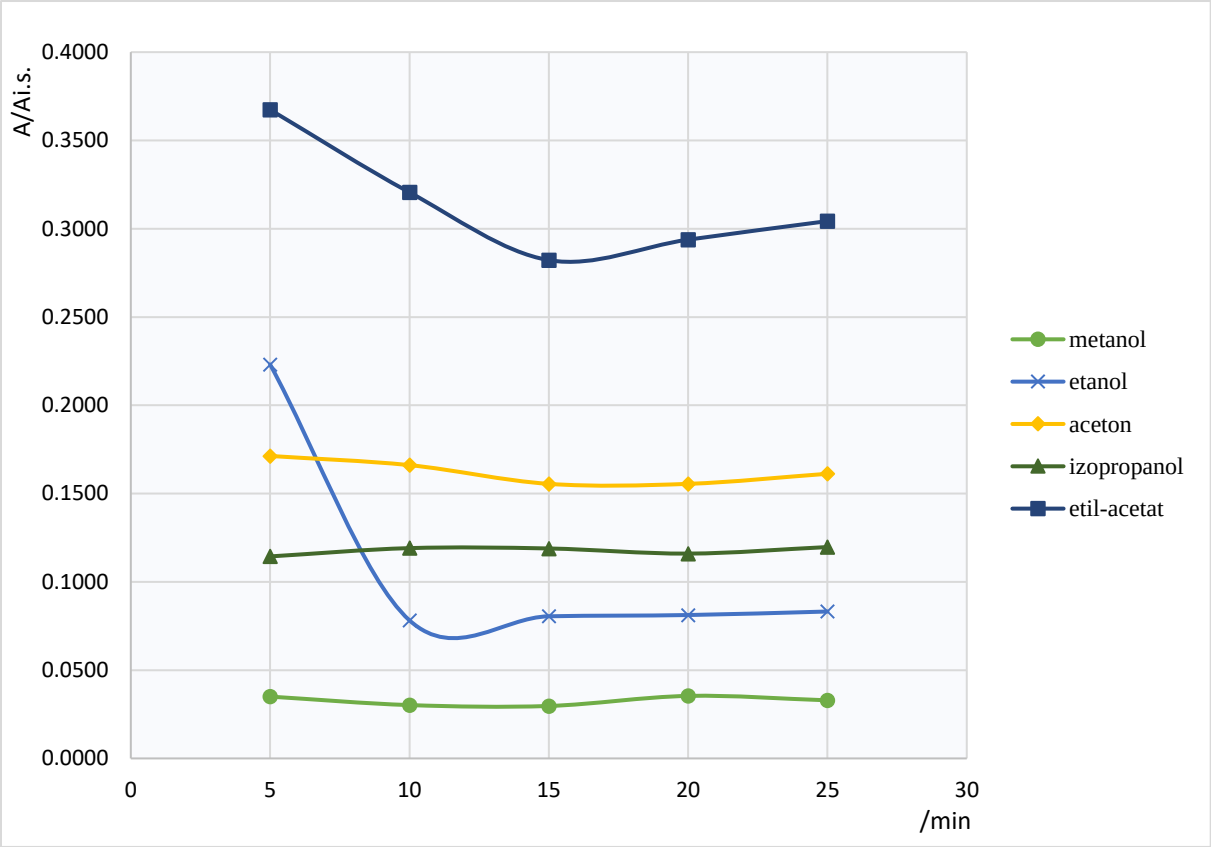
Slika 4. Kromatogram uzorka maramice uz dodatak 10% - tne standardne otopine i unutarnjeg standarda acetonitrila

Za prvi eksperiment pripremljena su 4 uzorka kao što je opisano u poglavlju METODE (3.2.1.) i provedene su 4 analize uz različite temperature predinkubacije uzorka: 60 ˚C, 70 ˚C, 90 ˚C i 100 ˚C. Podaci iz dobivenih kromatograma su statistički obrađeni u programu Microsoft Office Excel 2010. Na Slici 5 prikazana je ovisnost omjera površina ispod pikova analita i površine ispod pika unutarnjeg standarda o temperaturi predinkubacije. Za četiri analita: metanol, etanol, izopropanol i aceton, ovisnost je gotovo linearna, i povećanjem temperature vidimo da se površina pika povećava, što znači da je veća količina analita ekstrahirana. No, za etil-acetat omjer površine pika etil-acetata i površine pika unutrašnjeg standarda se smanjuje povećanjem temperature predinkubacije.



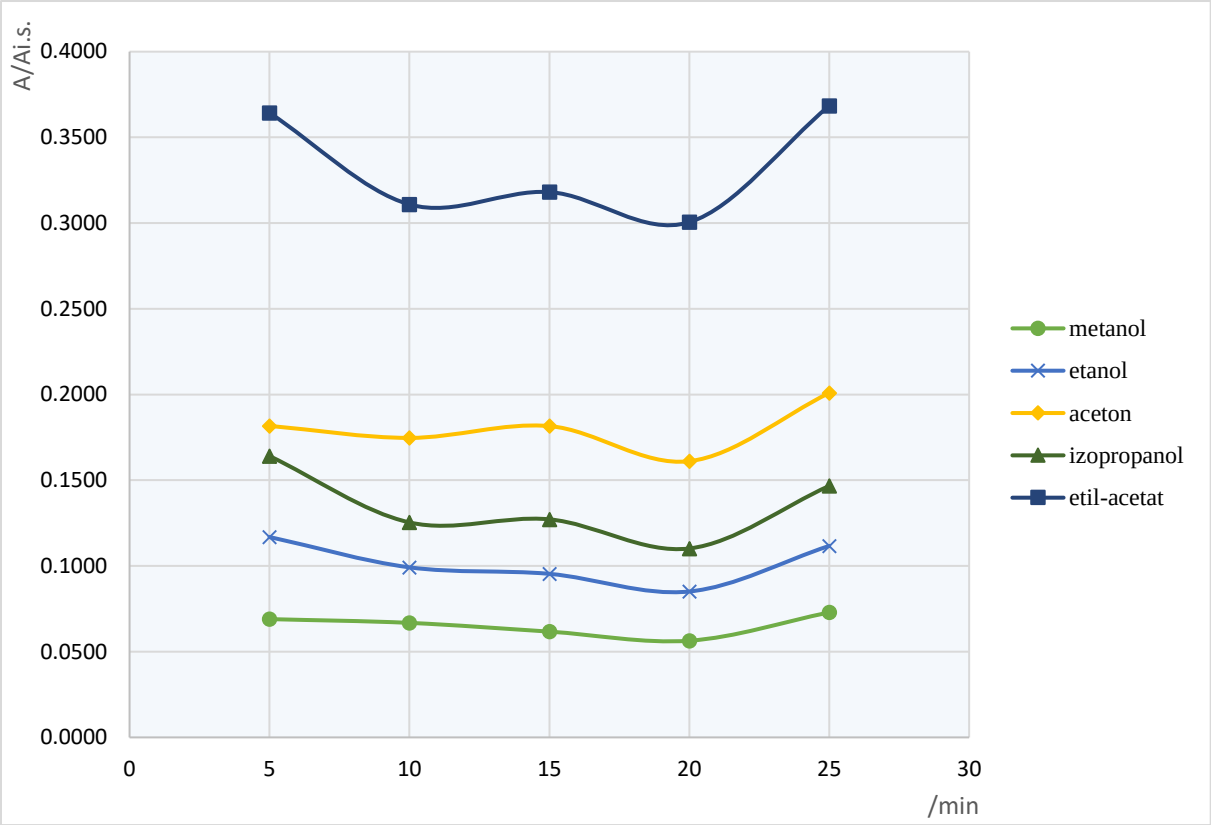
Slika 5. Krivulje ovisnosti omjera površine pika analita i površine pika unutarnjeg standarda o temperaturi predinkubacije

U drugom eksperimentu ispitan je utjecaj vremena uravnotežavanja u HSS-u na uspješnost ekstrakcije. Ovaj put je pripremljeno 5 uzoraka kao što je opisano u poglavlju 3.1.1., a uvjeti analize su podešeni kao u poglavlju 3.2.3., uz vremena uravnotežavanja od 5 min, 10 min, 15 min, 20 min i 25 min. Nakon statističke obrade podataka dobivenih analizama, konstruirana je ovisnost omjera površina pika analita i unutrašnjeg standarda o vremenu uravnotežavanja (Slika 6.)



Slika 6. Krivulje ovisnosti omjera površina ispod pikova analita i unutarnjeg standarda o vremena uravnotežavanja

Kako bi se ispitala ponovljivost metode, drugi eksperiment je ponovljen s novim uzorcima, pri jednakim uvjetima analize. Ponovnom obradom rezultata dobiven je graf sa Slike 7. Jasno je izražena razlika u konstruiranim grafovima (Slika 6. u odnosu na Sliku 7.), prvenstveno za krivulje koje odgovaraju etanolu i etil-acetatu.



Slika 7. Krivulje ovisnosti omjera površina ispod pikova analita i unutarnjeg standarda i vremena uravnotežavanja

Na temelju zadnje dvije analize moguće je zaključiti da ponovljivost ovih pokusa, unatoč primjeni unutarnjeg standarda, nije dobra. Statističkom obradom podataka dobivenih u navedena dva pokusa izračunate su RSD vrijednosti navedene u Tablici 1. (uzimajući u obzir korigirana vremena zadržavanja) i Tablici 2. (uzimajući u obzir korigirane površine ispod pikova analita). Iz dobivenih RSD vrijednosti može se zaključiti da je ponovljivost analize relativno dobra ako se RSD računa na temelju vremena zadržavanja, dok su RSD vrijednosti dobivene na temelju površina ispod pikova vrlo varijabilne, ponajviše za metanol, što dovodi u pitanje mogućnost uspješne kvantifikacije analita ovom metodom.

Potrebno je dalje ispitati da li je izazov u malim volumenima standardnih otopina ili unutarnjeg standarda koji se dodaju u uzorak, odnosno greški analitičara koji izvodi pokus, u neponovljivosti postupka headspace uzorkovanja, ili u samoj analizi plinskom kromatografijom.

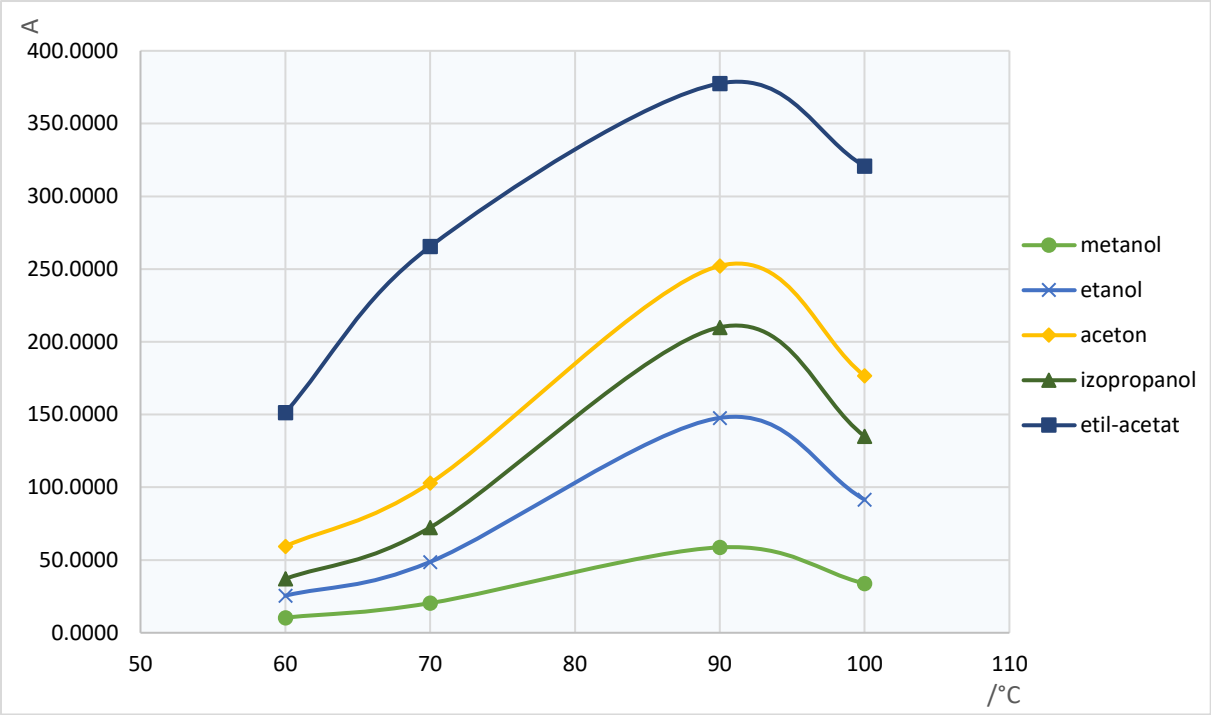
vrijeme uravnotežavanja (min)	Metanol	Etanol	Aceton	Izopropanol	Etil-acetat
5	11.54%	6.15%	1.83%	1.92%	13.25%
10	0.50%	0.22%	0.11%	0.02%	0.45%
15	0.44%	0.18%	0.08%	0.01%	0.40%
20	0.39%	0.14%	0,72%	0,36%	0.33%
25	0.57%	0.28%	0.09%	0.03%	0.46%

Tablica 1. RSD vrijednosti dobivene iz korigiranih vremena zadržavanja analita

vrijeme uravnotežavanja (min)	Metanol	Etanol	Aceton	Izopropanol	Etil-acetat
5	46.21%	44.20%	4.18%	25.22%	0.60%
10	53.36%	16.67%	3.56%	3.61%	2.19%
15	49.47%	11.93%	10.94%	4.75%	8.45%
20	32.49%	3.36%	2.50%	3.58%	1.59%
25	53.48%	20.65%	15.49%	14.33%	13.46%

Tablica 2. RSD vrijednosti dobivene iz korigiranih površina ispod pikova analita

Dodatno su još obrađeni rezultati analize iz prvog eksperimenta na način da je konstruiran graf ovisnosti površine pikova analita o temperaturi predinkubacije, ovaj put bez korekcije površina pikova analita s površinom pika unutarnjeg standarda. Graf je prikazan na Slici 8., a vidljivo je da se s povećanjem temperature povećava količina svih ekstrahiranih analita, s maksimumima na temperaturi od 90 ˚C, što potvrđuje da je to temperatura izbora za ovu metodu. Međutim, rezultati dobiveni ovom obradom, bez korekcije s unutarnjim standardom, ne poklapaju se s onima dobivenima nakon korekcije, što možda može ukazivati na problem s preciznošću u količini odpipetiranog unutarnjeg standarda.



Slika 8. Krivulje ovisnosti površine pikova analita o temperaturi predinkubacije

4.2. RASPRAVA O REZULTATIMA I KRATKI PREGLED SPME

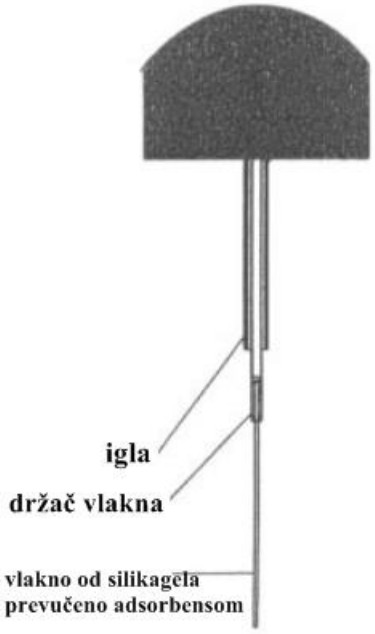
Razmatrajući dodatno moguće uzroke loše ponovljivosti rezultata dobivenih korištenom metodom, potrebno je ponovno istaknuti već navedeno čvrsto agregatno stanje uzorka, koje iako ne eliminira potpuno mogućnost identifikacije i kvantifikacije analita, smanjuje pouzdanost u ovu metodu zbog promjenjivih rezultata mjerenja. Takve rezultate nije u potpunosti moguće opravdati fizikalno-kemijskim svojstvima analita i neodgovarajućim uvjetima analize zato što je sličan postupak već proveden istom metodom, sa istim analitima i na istom instrumentu, na uzorcima maslinovog ulja u jednom diplomskom radu 2017. godine (Bošnjak, 2017).

Za početak se potrebno zapitati o strukturi vlažnih maramica i o tome do kojeg stupnja isprepletena vlakna maramica otežavaju uspostavljanje ravnoteže između čvrste faze (odnosno tekuće ako uzmemo u obzir da su analiti otopljeni u otopini za impregnaciju maramica, a ne vezani na sama vlakna) i plinovite faze. U pokušaju optimizacije temperatura predinkubacije i vremena uravnotežavanja pokazalo se da te varijacije nemaju toliki utjecaj na same površine ispod pikova analita – one su relativno konstantne, a tek kada se stave u omjer s površinom ispod pika unutarnjeg standarda vide se jasne nepravilnosti u odnosu na teorijska očekivanja, što dovodi u pitanje vjerodostojnost metode. Također, moguće je i da priprema uzorka, iako minimalna, utječe na rezultate. U ovoj metodi maramice su najprije rezane na otprilike 2 grama (rezanje pa vaganje), dodavan je unutarnji standard i standardna otopina i onda je tek vijala zatvarana. Kao prvi mogući problem u pripremi javlja se mogućnost gubitaka hlapljivih analita (velika površina tankih, poroznih maramica je izložena zraku) te različita vremena utrošena na pripremu uzoraka – ljudski faktor mora biti uračunat. Isto tako, maramice najčešće nisu pakirane pojedinačno - tako i u ovom slučaju, pa se dovodi u pitanje konzistentnost njihova sastava u paketu: ima li maramica na vrhu identičan sastav kao i ona na dnu i hoće li ponavljano otvaranje paketa dovesti do malog, ali zamjetnog gubitka analita koji je lako detektirati ovako osjetljivom metodom? Kao dodatni problem javlja se pakiranje maramica u vijale – masa od dva grama je izabrana zbog male koncentracije analita u uzorku: u manjoj količini bi ih bilo jako teško, gotovo nemoguće kvantificirati. Međutim, takva masa zahtjeva motanje i „gužvanje“ maramica prilikom stavljanja u vijalu, što je nije moguće izvesti identično za svaki uzorak, a i ponovno povlači pitanje uspostavljanja ravnoteža između

faza, odnosno hoće li molekule u sredini smotka jednako uspješno ispariti kao one na površini u zadanom vremenu predinkubacije i pri zadanoj temperaturi.

Ideja ovoga rada bila je optimirati univerzalnu metodu koja bi mogla detektirati i odrediti 5 izabranih analita u bilo kojim vlažnim maramicama. Kao što je navedeno u samom uvodu, na tržištu postoji izrazito velik broj različitih vrsta maramica (različiti materijali, sastav, debljina, volumen i vrsta otopine za impregnaciju, pakiranje i dr.) i upitno je bi li ovakva metoda uopće mogla biti primjenjiva za sve postojeće tipove. Prvi problem bi se mogao pojaviti već pri rezanju na masu od 2 g – neke maramice bi potencijalno imale preveliki volumen za opisano polaganje u dostupne vijale, a ako su jako natopljene, moguće je i curenje tekućeg dijela i gubitak analita prilikom pripreme uzorka.

Uzimajući u obzir sve čimbenike navedene u prethodna dva odlomka, slijedeći korak u slučaju daljnjeg razvoja opisane metode bila bi analiza nakon prethodne ekstakcije analita. Priprema uzorka koristeći tekućinsko - tekućinsku ekstrakciju (engl. *Liquid – liquid extraction,* LLE) bila bi dugotrajna i zahtjevna. Svaki korak, posebice ukoncentriravanje, može dovesti do grešaka i gubitaka, pogotovo hlapivih analita. Osim toga bilo bi potrebno razmotriti načine odlaganja velike količine korištenih tekućih otapala. Moguća je i ekstrakcija na čvrstoj fazi (engl. *Solid – phase extraction,* SPE), za koju je potrebna manja količina otapala, ali je jednako vremenski zahtjevna i uključuje veliki broj koraka. Najnoviji pristup u pripremi uzorka je mikroekstrakcija na čvrstoj fazi (SPME) koja je osmišljena 1989.g. u cilju prevladavanja ograničenja SPE i LLE. SPME skraćuje vrijeme pripreme uzorka i smanjuje gubitke otapala, a može i poboljšati granice detekcije. Instrument za SPME je jednostavan i izgleda kao modificirana šprica. Sastoji se od tankog vlakna silikagela prekrivenog tankim polimernim filmom (npr. polidimetilsiloksan) i držača vlakna. Prilikom uzorkovanja, igla štiti vlakno od zraka i služi za probijanje gumenog zatvarača vijale. Kada ga probije, igla se povlači i polimerni apsorbens postaje izložen unutrašnjosti vijale. Polimer djeluje kao spužva, koncentrira analite u kontinuiranom procesu apsorpcije i desorpcije. Nakon uzorkovanja, vlakno s asdorbiranim analitima se uvlači natrag u iglu i prenosi u kromatograf, najčešće plinski, gdje se igla ponovno povlači i vlakno s apsorbensom postaje izloženo. U vrućem GC injektoru dolazi do termalne desorpcije analita (Vas i Vekey, 2004).



Slika 9. Shematski prikaz uređaja za SPME (Vas i Vekey, 2004)

U prilog ovoj metodi kao metodi izbora za analizu hlapljivih analita u čvrstom uzorku ide i članak objavljen 2004. godine u kojemu je uspoređena osjetljivost statičke headspace plinske kromatografije, SPME i dinamičke headspace plinske kromatografije, koju autori članka nazivaju direktnom termalnom desorpcijom (engl. *Direct thermal desorption,* TDS) (Pfannkoch i Whitecavage, 2004). Nekoliko čvrstih uzoraka je odabrano za usporedbu metoda, primjerice suhi i svježi listovi bosiljka, iglice bora, zrna kave te polietilenski omot korišten za pakiranje tvrdog diska za računala. Sve analize provedene su na istom GC uređaju, s istim plameno-ionizacijskim detektorom. Uvjeti kolone i detektora su bili konstantni. Usporedbom rezultata mjerenja svih uzoraka, statička headspace GC se jasno istaknula kao najmanje osjetljiva tehnika, dok je SPME u prosjeku pokazala 10 - 50 puta veću osjetljivost za različite uzorke. Jedan primjer je analiza provedena na svježim listovima bosiljka, gdje je statička headspace GC pružila samo ograničene informacije o analitima prisutnima u listu, a SPME je pokazala čak 50 - 100 puta veću osjetljivost za jednaku veličinu uzorka. Na rezultate analize dobivene koristeći SPME nije utjecala niti prisutnost vode u uzorku, za razliku od analize koja je uključivala statičko headspace uzorkovanje, gdje je utjecaj vode iz listova na dobiveni kromatogram jasno vidljiv.

5. ZAKLJUČAK

Provedno istraživanje ispituje primjenu plinske kromatografije u kombinaciji s HSS tehnikom uzorkovanja kao metode izbora za analizu lakohapljivih sastavnica vlažnih maramica. U ispitanim maramicama primjenom navedene metode identificirane su ciljane lakohlapljive polarne sastavnice: metanol, etanol, aceton, 2-propanol i etil-acetat, no ponovljivost rezultata mjerenja se pokazala upitnom. Nakon opsežnog pregleda literature i razmatranja nedostataka primjene odabrane metode na čvrsti uzorak, identificirani su mogući uzroci loše ponovljivosti rezultata i predložene su alternativne metode mjerenja, s naglaskom na pripremu uzorka suvremenom tehnikom mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME).

Zbog iznimne važnosti poznavanja sastava lako dostupnih kozmetičkih proizvoda koji su često u upotrebi, poput vlažnih maramica, nameće se potreba za ponavljanjem svih mjerenja i daljnjim pokušajima optimizacije uvjeta ove metode, ili razvojem potpuno nove metode analize u budućim istraživanjima.

6. LITERATURA

1. Agilent Technologies, Inc. GC and GC/MS. U: Agilent J&W GC Columns, Santa Clara, California, 2016, str. 248-251.

2. Alimzhanova M, Muratova S, Sagandykova G, Ashimuly K, Nauryzbayev M. Screening organic compounds in wet wipes by solid-phase microextraction. Proceedings of the International Multidisciplinary Scientific Ge, Kazakhstan, 2016, 2, 719-726

3. Bošnjak I. Lakohlapljive polarne sastavnice maslinovog ulja kao biomarker kvalitete maslinovog ulja - primjena HSS-GC-FID tehnike, diplomski rad, 2017.

4. Eiceman GA. Instrumentation of Gas Chromatography. Encyclopedia of Analytical Chemistry, Las Cruces, SAD, 2006, str. 1-5.

5. Ferreira L, Perestrelo R, Caldeira M, Câmara JS. Characterization of volatile substances in apples from Rosaceae family by headspace solid-phase microextraction followed by GC-qMS. *J Sep Sci*, 2009, 32(11), 1875-1888.

6. Gas Chromatography An Overview of A Course For Gas Analysis, 2017. http://www.guccishoesuk2014.com, pristupljeno 17. 01. 2018.

7. How to Choose a Capillary GC Column, 2018., www.sigmaaldrich.com, pristupljeno 21. 02. 2018.

8. Kolb B, Ettre LS. Static Headspace-Gas Chromatography: Theory and Practice. New Jersey, John Wiley & Sons, 2006, str. 15.

9. Lee S, Pyo H, Chung BC, Kim H, Lee J. Simultaneous Determination of Alkoxyalcohols in Wet Wipes Using Static Headspace Gas Chromatography and Mass Spectrometry. *B Korean Chem Soc*, 2014, 35(11), 3280-3288.

10. Luterotti S. Uvod u kemijsku analizu. Zagreb, Sveučilište u Zagrebu, 2002

11. Nigović B. Analitika lijekova, Predavanja iz analitike lijekova. Zagreb, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, 2014.

12. Piantanida AG, Barron AR. Principles of Gas Chromatography. OpenStax CNX, 2014, str. 2

13. Pfannkoch E, Whitecavage J. Comparison of the Sensitivity of Static Headspace GC, Solid Phase Microextraction, and Direct Ther mal Extraction for Analysis of Volatiles in Solid Matrices. *Lc Gc North America*, 2004, 4-11.

14. Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje, 2009, Zagreb, Narodne novine, broj 125 (NN/125/2009)

15. Pravilnik o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe, 2010, Zagreb, Narodne novine, broj 82 (NN/82/2010)

16. Pravilnik o ambalaži i ambalažnom otapadu, 2005, Zagreb, Narodne novine, broj 97 (NN/97/2005)

17. Scognamiglio J, Jones L, Letizia CS, Api AM. Fragnance material review on 2-phenoxyethanol. *Food Chem Toxicol*, 2012, 2, 244-255

18. Uredba (EZ) br. 1223/2009 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. studenoga 2009. o kozmetičkim proizvodima. 2009, OJ L, 342, 22.12.2009, 59-209.

19. Vas G, Vekey K. Solid-phase microextraction: a powerful sample preparation tool prior to mass spectrometric analysis. *J. Mass Spectrom*, 2004, 39, 233-254.

20. Watson DG. Pharmaceutical Analysis. Edingburgh, Elesevier Limited, 2012, str. 208-235.

7. SAŽETAK

Brojni kozmetički oblici danas su dostupni u obliku vlažnih maramica pakiranih u plastične omote. Vlažne maramice za jednokratnu uporabu koriste se za njegu dječje kože, pranje ruku, intimnu higijenu, uklanjanje šminke, čišćenje u kućanstvu i dr., a većina se ubraja u kozmetičke proizvode. Samim time, zakonom su regulirane samo neke od sastavnica, dok za ostale većinom nema informacija o količini i potencijalnoj štetnosti na zdravlje.

U ovom radu istražuje se mogućnost primjene metode headspace plinske kromatografije s plamenoionizacijskim detektorom za identifikaciju i kvantitativno određivanje pet odabranih lakohlapljivih sastavnica u maramicama: metanol, etanol, aceton, izopropanol i etil-acetat. Njihova prisutnost u maramicama je dokazana usporedbom vremena zadržavanja analita u uzorku i u standardnoj otopini. Zbog slabe ponovljivosti rezultata mjerenja metoda se nije pokazala pouzdanom za određivanje sadržaja, i daljnja istraživanja treba usmjeriti ka otkrivanju potencijalnih grešaka u analizi, dodatnoj optimizaciji uvjeta ili razvoju sasvim nove metode.

Mjerenja provedena u sklopu ovoga rada otvaraju raspravu o problematici analize sastava čvrstog uzorka bez prethodne ekstrakcije analita i nameću razmatranje uvođenja dodatnih koraka u analizu, što bi mogao biti predmet nekih budućih istraživanja. Kao jedan od navedenih dodatnih koraka posebno se ističe moguća priprema uzorka metodom mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME), što svakako ostavlja prostora za istraživanja koja slijede.

SUMMARY

Numerous cosmetic products are available today in the form of wet wipes packed in plastic wraps. Single-use wet wipes are used for baby skin care, hand washing, intimate hygiene, makeup remover, household cleaning, and most of which are listed as cosmetic products. Consequently, only some of the constituents are regulated by law, while for the rest, there is no information on quantity and potential health hazard.

This paper investigats the possibility of using a previously developed HSS-GC-FID method to determine the presence and content of five selected analytes in wipes: methanol, ethanol, acetone, isopropanol and ethyl acetate. Their presence in wipes was demonstrated by comparing retention times of analytes in the sample and in the standard solution. Due to the poor reproducibility of measurement results, the method did not show any reliability for the determination of content, and further research should focus on detecting potential errors in analysis, additional optimization of conditions, or development of a completely new method.

Measurements carried out within this paper open the discussion on the problem of solid sample composition analysis without previous analytical extraction and require consideration of the introduction of additional steps in the analysis, which could be the subject of some future research. As one of the above mentioned steps, the possible preparation of the sample by the solid phase microextraction method (SPME) is particularly emphasized, which leaves space for further research.

8. TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA / BASIC DOCUMENTATION CARD

Temeljna dokumentacijska kartica

Sveučilište u Zagrebu
Farmaceutsko-biokemijski fakultet
Studij: farmacija
Zavod za analitiku i kontrolu lijekova
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Hrvatska

Diplomski rad

MOGUĆNOSTI PRIMJENE HSS-GC-FID TEHNIKE ZA ANALIZU LAKOHLAPLJIVIH POLARNIH SASTAVNICA U VLAŽNIM MARAMICAMA

Tea Tipurić

SAŽETAK

Brojni kozmetički oblici danas su dostupni u obliku vlažnih maramica pakiranih u plastične omote. Vlažne maramice za jednokratnu uporabu koriste se za njegu dječje kože, pranje ruku, intimnu higijenu, uklanjanje šminke, čišćenje u kućanstvu i dr., a većina se ubraja u kozmetičke proizvode. Samim time, zakonom su regulirane samo neke od sastavnica, dok za ostale većinom nema informacija o količini i potencijalnoj štetnosti na zdravlje.

U ovom radu istražuje se mogućnost primjene metode headspace plinske kromatografije s plamenoionizacijskim detektorom za identifikaciju i kvantitativno određivanje pet odabranih lakohlapljivih sastavnica u maramicama: metanol, etanol, aceton, izopropanol i etil-acetat. Njihova prisutnost u maramicama je dokazana usporedbom vremena zadržavanja analita u uzorku i u standardnoj otopini. Zbog slabe ponovljivosti rezultata mjerenja metoda se nije pokazala pouzdanom za određivanje sadržaja, i daljnja istraživanja treba usmjeriti ka otkrivanju potencijalnih grešaka u analizi, dodatnoj optimizaciji uvjeta ili razvoju sasvim nove metode.

Mjerenja provedena u sklopu ovoga rada otvaraju raspravu o problematici analize sastava čvrstog uzorka bez prethodne ekstrakcije analita i nameću razmatranje uvođenja dodatnih koraka u analizu, što bi mogao biti predmet nekih budućih istraživanja. Kao jedan od navedenih dodatnih koraka posebno se ističe moguća priprema uzorka metodom mikroekstrakcije na čvrstoj fazi (SPME), što svakako ostavlja prostora za istraživanja koja slijede.

Rad je pohranjen u Središnjoj knjižnici Sveučilišta u Zagrebu Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta.

Rad sadrži: 30 stranica, 9 grafičkih prikaza, 2 tablice i 20 literaturnih navoda. Izvornik je na hrvatskom jeziku.

Ključne riječi: vlažne maramice, HSS-GC-FID, čvrsti uzorak, sigurnost za zdravlje

Mentor: **dr. sc. Miranda Sertić**, *viša asistentica-znanstvena novakinja na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*

Ocjenjivači: **prof. dr. sc. Biljana Nigović**, *redovita profesorica u trajnom zvanju na Zavodu za analitiku i kontrolu lijekova Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*
doc. dr. sc. Ivana Perković, *docentica na Zavodu za farmaceutsku kemiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu*

Rad prihvaćen: svibanj 2018.

Basic documentation card

University of Zagreb
Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Study: Pharmacy
Department of Analitics and Control of Medicines
A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia

Diploma thesis

POSSIBLE APPLICATION OF THE HSS-GC-FID TECHNIQUE FOR THE ANALYSIS OF POLAR VOLATILE COMPOUNDS IN WET WIPES

Tea Tipurić

SUMMARY

Numerous cosmetic products are available today in the form of wet wipes packed in plastic wraps. Single-use wet wipes are used for baby skin care, hand washing, intimate hygiene, makeup remover, household cleaning, and most of which are listed as cosmetic products. Consequently, only some of the constituents are regulated by law, while for the rest, there is no information on quantity and potential health hazard.

This paper investigats the possibility of using a previously developed HSS-GC-FID method to determine the presence and content of five selected analytes in wipes: methanol, ethanol, acetone, isopropanol and ethyl acetate. Their presence in wipes was demonstrated by comparing retention times of analytes in the sample and in the standard solution. Due to the poor reproducibility of measurement results, the method did not show any reliability for the determination of content, and further research should focus on detecting potential errors in analysis, additional optimization of conditions, or development of a completely new method.

Measurements carried out within this paper open the discussion on the problem of solid sample composition analysis without previous analytical extraction and require consideration of the introduction of additional steps in the analysis, which could be the subject of some future research. As one of the above mentioned steps, the possible preparation of the sample by the solid phase microextraction method (SPME) is particularly emphasized, which leaves space for further research.

The thesis is deposited in the Central Library of the University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry.

Thesis includes: 30 pages, 9 figures, 2 tables and 20 references. Original is in Croatian language.

Keywords: wet wipes, HSS-GC-FID, solid sample, health safety

Mentor: **Miranda Sertić, Ph.D.** *Senior Assistant,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

Reviewers: **Biljana Nigović**, **Ph.D.** *Full Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry
Ivana Perković, **Ph.D.** *Assistant Professor,* University of Zagreb Faculty of Pharmacy and Biochemistry

The thesis was accepted: May 2018.