

KOZMETIKAI KRÉMEK

Parabének azonosítása és mennyiségi meghatározása

(Eredeti cím: COSMETIC CREAMS
Identification and determination of parabens)



Szerzők

Móricz M. Ágnes és Horváthné Otta Klára

Petrik Lajos Szakközépiskola, 1116 Budapest, Thököly út 48-54;

moricz_am@yahoo.com

Elérhető a következő nyelveken

Angol, magyar

Összefoglalás

Élelmiszerek, gyógyszerek és kozmetikumok minőségének megőrzésére különböző tartósítószerket alkalmaznak. Ilyenek a parabének (4-hidroxibenzoesav észterek) is - az utóbbi időben ösztrogén hatásukat tekintve sokat vizsgált vegyületek - melyek védelmet nyújtanak a mikroorganizmusok (baktériumok, gombák) ellen. A feladat azonosítani és mennyiségileg meghatározni a gyakran alkalmazott metil-, etil-, propil-, butil-parabének, 2-fenoxietanol és 1-fenoxipropán-2-ol tartósítószereket a kozmetikai krémekben (pl. Sanex).

A diákok csoportban dolgoznak. Kivonják a parabéneket a krémből, vékonyréteg-kromatográfia (TLC) segítségével azonosítják, valamint nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás (HPLC) elválasztást követő UV detektálással meghatározzák mennyiségüket. Az elvégzendő feladatok: a kapott eredmények kiértékelése, a módszerek költségvetésének elkészítése és kommunikáció kezdeményezése a laboratórium munkatársaival vagy kívülállókkal (pl. iskolatársak, közéleti emberek, sajtó)

Feladatcsoport típusa A

Kooperatív munkával a feladat megértése és megoldása
Beszerzés tervezése, költségvetés elkészítése
Helyes szóbeli és írásbeli kommunikáció

Mérési technikák

Szilárd-folyadék és folyadék-folyadék extrakció
Vékonyréteg-kromatográfia
Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia

Alkalmazási terület

Analitika, tartósítószer

Idő

Gyakorlati munka: 300 perc
Elméleti felkészülés: 90 perc
Osztálytermi munka: 90 perc
Iskolán kívüli időigény: 60 perc

StandardBase szabványvizsgálatok

Identification of parabenes in Sanex cream using TLC
Determination of methylparabene in Sanex cream using HPLC

StandardBase mérési technikák

Vékonyréteg-kromatográfia
Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfia

Más források

TechnoMatch, Drachten, The Netherlands: www.technomatch.nl
Agilent, the Netherlands: www.agilent.com
Megtalálhatóak a feladat leírásában

Diák feladatleírás

Cím: KOZMETIKAI KRÉMEK: Parabének azonosítása és mennyiségi meghatározása

(COSMETIC CREAMS: Identification and determination of parabens)

Kozmetikai, élelmiszeripari és gyógyszerészeti termékek ezrei mennének tönkre rövid időn belül, elvesztenék ízüket és minőségüket tartósítószeres használata nélkül. A parabének szintetikus, széles körben alkalmazott tartósítók, melyek nagy koncentrációban allergiás tüneteket okozhatnak, s megzavarhatják a hormonháztartást ösztrogén hatásukon keresztül (Darbre PD. (2006): Environmental oestrogens, cosmetics and breast cancer. Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab. 20, 121-143.). Ezért a parabének csak veszélyt nem jelentő, kicsi koncentrációban találhatók meg pl. a kozmetikai krémekben, mint a Sanexben.

A különböző vegyületek mérése, a munka igényének megfelelő legjobb (árban, időben, energiában és véghezvitelben) extrakciós, elválasztási és detektálási módszer kiválasztása, kihívás az analitikusok számára. Egy ilyen munkába nyújtunk bepillantást.

Rövid összefoglaló

Tagja vagy egy analitikus munkacsoportnak, melynek feladata néhány parabén (tartósítószeres) azonosítása és mennyiségi meghatározása a Sanex krémekben. Ismerned kell a folyadék extrakciós, a vékonyréteg-kromatográfiás és a nagyfelbontású folyadék-kromatográfiás elválasztási módszerek alapjait. Becsüld meg a feladatban leírt kétféle kromatográfiás módszer költségvetését, az anyagigényük alapján (vegyszerek, mozgó és álló fázis), és kezdeményezz kommunikációt az iskolatársakkal, más kívülálló fogyasztóval vagy mással az eredményekről.

Elvégzendő vizsgálatok

Négy fős csoportban dolgoztok. Két személy a parabéneket TLC módszerrel azonosítja, míg a másik kettő HPLC-vel méri meg őket. A következő segítő eszközök állnak rendelkezésetekre:

- Hasznos weblapok
- Mérés leírása
- Adatlapok a rétegekromatográfiás azonosítás és a nagyhatékonyságú folyadék-kromatográfiás meghatározás eredményeinek kiértékeléséhez

Ez a feladat a kommunikációra, a beszerzés tervezésére, valamint a költségvetés elkészítésére helyezi a hangsúlyt. Tanárotok segíteni fog az idő- és a munkabeosztás megszervezésében. Dolgozzatok csapatként és kövessétek ezt az utat:

- Gyűjtsetek információkat a parabénekről, azok használatáról, szerepéről a különböző élelmiszerekben és kozmetikai cikkekben, különösképpen a Sanex krémekben.

Találsz adatokat a <http://www.sanex.net/> című honlapon, valamint a következő publikációkban:

- N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi and A. Schouten (1987): Determination of preservatives in cosmetic products I: Thin-layer chromatographic procedure for the identification of preservatives in cosmetic products (*J. Chromatography* 410, 395-411).
- N. de Kruijf, M. A. H. Rijk, L. A. Pranato-Soetardhi and A. Schouten, (1989). Determination of preservatives in cosmetic products II. High-performance liquid chromatographic identification (*J. Chromatography* 469, 317-398).

- A gyakorlati munka során szilárd-folyadék és folyadék-folyadék extrakciót, vékonyréteg-kromatográfiát valamint nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiát fogsz alkalmazni. Nézd át ezen elválasztási technikák alapelveit. Néhány hasznos link:

<http://www.chem.wisc.edu/courses/342/Fall2004/TLC.pdf>

<http://www.lipidlibrary.co.uk/topics/tlc/file.pdf>

<http://siggy.chem.ucla.edu/VOH/136/TLC.pdf>

<http://www.chromatography-online.org/Principles/TLC/Sample-Application/rs68.html>

Megjegyzés: töltsd le a "Principles and Practice of Chromatography"-t (ingyenes, de regisztrálnod kell). Különösen a 48-67. oldalig ajánlott.

<http://www.ionsource.com/tutorial/chromatography/rphplc.htm>

<http://www.waters.com/WatersDivision/ContentD.asp?watersit=JDRS-6VRHBW&WT.svl=1>

- Olvasd át alaposan a kísérleti leírás részt! Vedd a szükséges felszerelések és anyagok listáját és keresd ki az árukat katalógusokból. Használj könyvkatalógusokat vagy weblapokat, mint pl. a következőket:

<http://www.merck.de/servlet/PB/menu/1001723/index.html>

Használd a ChemDat online-t!

http://www.sigmaaldrich.com/Local/SA_Splash.html

A gyakorlati munka előtt nézz utána, milyen veszélyforrásokat jelentenek az általad használt anyagok.

- Miután kiosztottátok magatok közt az elvégzendő munkát, és átgondoltátok, milyen adatokat kell lejegyeznetek (pl. ne felejtsetek a Sanex krém tömegét leírni), elkezdhetitek a gyakorlati munkát.
- Az eredmények kiértékeléséhez használjátok segítségül az **„Adatlap: Rétegkromatográfiás azonosítás”** és az **„Adatlap: nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás meghatározás”** lapokat.
- Végül osszátok meg egymással a két módszerrel kapott eredményeket, és vitassátok meg őket kívülállókkal (pl. fogyasztó, sajtó, iskolatárs stb.)

Mérési eredményeid

Kezdeményeztetek kommunikációt a témákban jártas iskolatársaitokkal vagy kívülállókkal, a következőket használva:

Foglaljátok össze a vizsgált parabének szerepét a kozmetikai krémekben!

Próbáld meg összegezni a TLC és a HPLC közötti különbséget! Használd a szakkifejezéseket! Gondolj pl. a rendszerek zártságára, a mintafelvitelre, a mobil fázist áramoltató erőre, a mobil fázis sebességére, a használható detektálási eljárásokra.

Egy HPLC módszer kifejlesztése hosszú laboratóriumi gyakorlatot igényel. Tudnál említeni módszereket, melyekkel ki lehet mutatni az interferenciát? Mit csinálnál interferencia esetében?

Összegezzétek a két módszerrel kapott eredményeket és azok költségigényét. A költségek kiszámításánál gondoljatok arra, hogy a költség függ az anyagok tisztaságától (pl. a TLC módszerhez nem szükséges kromatográfiás tisztaságú mozgó fázis, valamint nagy tisztaságú parabén) és mennyiségétől (pl. a HPLC nagyobb térfogatú mobil fázist igényel, mint a TLC).

Beszélgétek meg, hogy melyik módszert milyen esetben használnátok? Gondoljatok költség-, és időigényükre valamint pontosságukra.

Önellenőrző feladatok diákoknak

A feladat a következő képességek fejlesztésére szolgált: a szakmai tudás alkalmazása, a problémamegoldás felismerése, a csapatmunka, a kommunikáció és a beszerzés, valamint költségvetés megtervezése.

Válaszolj 50-100 szóban az alábbi kérdésekre!

Milyen szakmai készségekre és tudásra tettél szert, és milyen eredményesen használtad azokat?

Mennyire eredményesen használtátok ki a csapatmunkát? Írd le a csapatmunka előnyeit példákon keresztül!

Hogyan kommunikáltatok egymással és az mennyire volt hatásos?

Hogyan sikerült a beszerzést és a költségvetés megtervezni?

KOZMETIKAI KRÉMEK: A parabének azonosítása a kozmetikai krémekben (a StandardBase eljárás alapján)

EXTRAKCIÓ A TLC AZONOSÍTÁSHOZ

Anyagok és felszerelések

- Aceton
- Kalcium-klorid, vízmentes
- Dietil-éter
- Sósav (4 mol/l)
- Kálium-hidroxid oldat (4 mol/l)
- Analitikai mérleg
- 50 ml-es menetes Erlenmeyer-lombik
- 60 °C-os vízfürdő
- pH indikátor papír
- Szűrőpapír
- Erlenmeyer-lombik
- Választótölcsér
- Mintatartó (5 ml)

Módszer

Mérj le 1,0 g Sanex krémet egy 50 ml-es menetes Erlenmeyer-lombik. Adj 4 csepp sósavat és 40 ml acetont hozzá. A zárt Erlenmeyer-lombikot rakd 5 percre a 60 °C-os vízfürdőbe. Rázd erősen 1 percig, hogy a parabének extrahálódjanak a folyadék fázisba.

Állítsd be az oldat pH-ját ≤ 3 -ra sósavat hozzácsepegtetve, pH indikátor papírral mérve. Ismét rázd erősen egy percig. Hútsd le az oldatot szobahőmérsékletre áramló csapvíz segítségével, majd azután szűrd le. 20 ml szűrletet és 60 ml vizet rakj egy 200 ml-es Erlenmeyer-lombikba és keverd őket össze. Kálium-hidroxid oldattal állítsd be a keverék pH-ját körülbelül 10-re. Használd pH indikátor papírt az ellenőrzésre.

Adjál 1 g kalcium-kloridot hozzá, és rázd erősen. Szűrd le az oldatot egy 75 ml dietil-étert tartalmazó 250 ml-es választótölcsérbe, és rázd 1 percig. Amikor a rétegek elválnak, gyűjtsd a vizes fázist egy 200 ml-es Erlenmeyer-lombikba, sósavval állítsd be a pH-ját körülbelül 2-re. Ezután adj hozzá 10 ml dietilétert és rázd erősen 1 percig. A rétegek elválása után a második éteres fázisból vegyél 2 ml-t a mintatartóba.

TLC VIZSGÁLAT

Anyagok és felszerelés

- Jégecet
- n-Pentán
- Metil 4-hidroxibenzoát (metilparabén) 0,1 g/100 ml metanolos oldata
- Etil 4-hidroxibenzoát (etilparabén) 0,1 g/100 ml metanolos oldata
- n-Propil 4-hidroxibenzoát (propilparabén) 0,1 g/100 ml metanolos oldata
- n-Butil 4-hidroxibenzoát (butilparabén) 0,1 g/100 ml metanolos oldata
- 2-fenoxietanol 0,2 g/100 ml metanolos oldata
- 1-fenoxipropán-2-ol 0,2 g/100 ml metanolos oldata

- TLC réteg, 20 cm x 20 cm alumínium lemezre felvitt (0,25 mm) fluoreszcens adalékanyagot tartalmazó szilikagél, ha lehetséges, akkor koncentrációs zónával
- Szárítószekrény, mely 120 °C-ig működik
- Mikrofecskendő
- Kifejlesztő kád (telítetlen)
- Levegőáram forrás (pl. hajszárító)
- UV-lámpa ($\lambda=254$ nm)

Módszer

Mikrofecskendő segítségével vigyél fel a rétegre 10-10 μl -t a referenciaoldatokból és 100 μl -t a mintaoldatból az előzetesen kiszárított (3 óra, 120 °C) TLC rétegre (a koncentrációs zónába). A mintafelvitelt hideg levegőárammal gyorsítsd.

Készítsd el a mobil fázist [n-pentán-jégecet (88:12 v/v; pl. 88 ml n-pentán és 12 ml jegécezt elegyítésével készítheted el)] és önts 100 ml-t a kifejlesztő kádba. Közvetlen ezután tedd bele a tesztanyagokat és a mintát is tartalmazó réteget. A kifejlesztést szobahőmérsékleten végezd, míg az oldószerfront nem ér el körülbelül 15 cm távolságra a mintafelvitel vonalától (előzetesen érdemes bejelölni) (a kifejlesztési távolság fontos a 6 parabén megfelelő elválasztásához). A megfuttatott réteget szárítsd meg meleg levegő áramban, és értékeld UV fény alatt. Jelöld be az oldószerfrontot és a kromatográfiás foltok helyét is.

KOZMETIKAI KRÉMEK: Parabének meghatározása kozmetikai krémekben (a StandardBase eljárás alapján)

EXTRAKCIÓ A HPLC MEGHATÁROZÁSHOZ

Anyagok és felszerelés

- Etanol, abszolút
- Kénsav (2 mol/l)
- 100 ml-es menetes Erlenmeyer-lombik
- Analitikai mérleg
- 60 °C-os vízfürdő
- Szűrőpapír
- Mintatartó (5 ml)

Módszer

Mérj be 1,0 g Sanex krémet egy 100 ml-es menetes Erlenmeyer-lombikba. Adjál hozzá 1 ml kénsavat, 50 ml etanol-víz (9:1 v/v; pl. alkalmazhatod 90 ml abszolút etanol és 10 ml víz elegyét) keveréket. Rázd erősen legalább egy percig a lezárt Erlenmeyer-lombikot, hogy a minta szuszpendáljon az oldószerben. Helyezd a lombikot 5 percre a 60 °C-os vízfürdőbe, hogy a parabének extrahálódjanak az oldatfázisba. Ezután gyorsan hűtsd le hideg csapvízzel, és tedd az Erlenmeyer-lombikot hűtőbe. 1 óra múlva szűrd le, és vegyél belőle körülbelül 2 ml-t a mintatartóba. Az extraktumot tartsd hűtőben, és használd fel 24 órán belül HPLC-s meghatározásra.

HPLC VIZSGÁLAT

Anyagok és felszerelés

- Acetonitril
- Etanol, abszolút
- Metanol
- Kénsav
- Tetrahidrofurán
- Törzsoldat, mely a következő tartósítószeret tartalmazza (etanol/víz 9:1 v/v oldószerben; pl. 90 ml abszolút etanol és 10 ml víz elegyítésével készítheted el) (hűtőben tárolva 1 hétig stabil):
 - 0,05 g/100 ml Metil 4-hidroxibenzoát (metilparabén)
 - 0,05 g/100 ml Etil 4-hidroxibenzoát (etilparabén)
 - 0,05 g/100 ml n-Propil 4-hidroxibenzoát (propilparabén)
 - 0,05 g/100 ml n-Butil 4-hidroxibenzoát (butilparabén)
 - 0,2 g/100 ml 2-fenoxietanol
 - 0,2 g/100 ml 1-fenoxipropán-2-ol
- 50 ml-es mérőlombikok
- Szűrő (nylon, PVDF, 0,45 µm porozitás)
- HPLC UV-detektorral ($\lambda = 280$ nm) és fordított fázisú analitikai oszlop (Nucleosil 5C18 vagy azzal ekvivalens, rozsdamentes, 25 cm x 4.6 mm), 20 µl-es mintahurokkal
- Mikrofecskendő

Módszer

Készítsd el a parabének standardoldatait. Rakjál 0,5, 1, 2, 5, 10 és 20 ml törzsoldatot 50 ml-es mérőlombikokba. Mindegyikhez adjál 1 ml kénsavat és töltsd fel őket jelig etanol-víz (9:1 v/v; pl. 270 ml abszolút etanol és 30 ml víz elegyítésével készítheted el) eleggyel. Ezeket az oldatokat frissen készítsd el.

HPLC elválasztáshoz készítsd el és szűrd le a mobil fázist [tetrahydrofuran-víz-metanol-acetonitril (5:60:10:25 v/v/v/v); pl. elkészítheted 5 ml tetrahydrofuran, 60 ml víz, 10 ml metanol és 25 ml acetonitril elegyítésével], állítsd be az áramlási sebességet (1,5 ml·min⁻¹) és az UV-detektort (λ =280 nm). 20-20 μ l-t injektálj minden oldatból (a standard- és a mintaoldatokból is). Minden esetben vedd fel a kromatogramokat a csúcsok területével és magasságával.

Ha a kapott legrosszabb R_s nem éri el a 0,9-et, akkor változtatni kell a mobil fázis összetételén, vagy hatékonyabb oszlopot kell használni.

Űrlap: Rétegekromatográfiás azonosítás

A TLC elválasztás dokumentációja:

Rajzold a parabének kromatográfiás foltjait a megfelelő helyre, ahol a kifejlesztett rétegen elhelyezkednek. Ügyelj a helyes középpontra és a foltok méretére.

Ne felejtse el az oldószerfront meghúzását.

A következő távolságokat mérd le (jelöld őket a rajzon is):

A felviteli pont és az oldószerfront távolsága (mm)

$$h_o = \quad \text{mm}$$

A felviteli pont és a parabénfoltok közepe közötti távolság (mm) [h]

[illegible]

Töltsd ki a következő táblázatot. Számítsd ki minden parabén R_f értékét. Hasonlítsd össze a mintában észlelhető foltokat a referenciaanyagok foltjaival, figyelembe véve az R_f értékeiket és az UV fényben tapasztalható viselkedésüket.

	h [mm] vándorlási távolság	$R_f=h/h_o$ Retenciós faktor	Megtalálható a krémekben? (Igen/Nem)
metilparabén			
etilparabén			
propilparabén			
butilparabén			
2-fenoxietanol			
1-fenoxipropán-2-ol			

Űrlap: Nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás meghatározás

Illeszd ide az egyik referenciaoldat (minden tesztanyagot tartalmaz) és a mintaoldat kromatogramját.

A standardoldat kromatogramja:

A mintaoldat kromatogramja:

Mi a holtidő (t_0) a HPLC-ben? Jelöld be a standardoldat kromatogramján!

t_0 = _____ perc

Szükséged lesz a vizsgált parabének csúcsainak retenciós idejére (t_R) és alapvonalszélességére (w). Gyűjtsd össze ezen paramétereket a standardoldat kromatogramjáról a következő táblázatba, és számítsd ki a relatív retenciós időket (t_R'), a felbontásokat (R_s), a szelektivitásokat (α), az elméleti tányérszámokat (n) és az elméleti tányérmagasságokat ($HETP$) a következő formulák felhasználásával:

$$t_R' = t_R - t_0$$

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{w_1 + w_2}{2}} \quad (\text{ha } t_{R2} > t_{R1})$$

$$\alpha = \frac{t_{R2}'}{t_{R1}'}$$

$$n = 16 \left(\frac{t_R}{w} \right)^2$$

$$HETP = \frac{L}{n}$$

	t_R	t_R'	R_s	$\square$	n	HETP
metilparabén						
etilparabén						
propilparabén						
butilparabén						
2-fenoxietanol						
1-fenoxipropán-2-ol						

Írd be a parabének standardadatainak kromatografálásával kapott csúcsok átlagos területeit a következő táblázatba. Számítsd ki a parabének koncentrációját is az egyes oldatokban.

	A csúcs alatti területek átlaga					
A parabének koncentrációja a standardoldatokban [mgxl ⁻¹]						
metilparabén						
etilparabén						
propilparabén						
butilparabén						
A parabének koncentrációja a standardoldatokban [mgxl ⁻¹]						

2-fenoxietanol						
1-fenoxipropán-2-ol						

Töltsd ki a következő táblázatot. Microsoft Excell-ben ábrázold a parabének átlagos csúcsterületeit (T) a standardoldat koncentrációjának (c ; mgxl^{-1}) függvényében. Lineáris regresszió segítségével illessz a pontokra egyenest. Írd le az egyenes egyenletét és a korrelációs koefficiensét. A mintaoldatban található parabének koncentrációjának kiszámolásához, csak be kell helyettesíteni ezekbe a függvényekbe a mintaoldat kromatogramjából nyert átlagos csúcsterületeket.

Számold ki a metil-, etil-, propil-, butil-parabének, a 2-fenoxietanol, és az 1-fenoxipropán-2-ol a krémekben található mennyiségét mgxg^{-1} mértékegységben. Használd a következő formulát:

$$w = \frac{c \cdot V}{10^3 \cdot m_0}$$

ahol m_0 = a minta tömege (a krém) grammban

V = az oldat térfogata (51 ml)

	T és c közötti egyenlet R -rel	A mintaoldatba n az átlagos T	mintaoldatba n a c [mgxl^{-1}]	A krémbeli mennyiség [mgxg^{-1}]
metilparabén				
etilparabén				
propilparabén				
butilparabén				
2-fenoxietanol				
1-fenoxipropán-2-ol				

Tanári útmutató

Rövid áttekintés a mérési feladat céljairól

A feladat során betekintést nyernek a diákok az analitikusok munkájába, mint a laborfelszerelés és a szükséges anyagok beszerzése, a minta előkészítése, valamint a kromatográfiás azonosítás és meghatározás. A hangsúlyt a szóbeli és írásbeli kommunikációra, valamint a költségvetés elkészítésére helyezzük.

Készségfejlesztés

A laboratóriumi munka alkalmat ad több készség fejlesztésére, mint:

- Információ gyűjtése, analízisa és csoportosítása
- Kritikai gondolkodás adatok és hibák analízisére
- Problémamegoldó képesség
- Műszerek és technikák alkalmazása, kezelése
- Írásbeli és szóbeli kommunikáció ötletekről, információról
- Feladatok tervezése, szervezése
- Egyedül és csapatban hatásosan dolgozni
- A munkaidő teljes kihasználása
- A munkaterület tisztán tartása
- Matematikai összefüggések alkalmazása
- Számítógép használata

Szervezés

Figyelembe véve a nagy mennyiségű gyakorlati munkát, annak megfelelő elvégzése érdekében, a diákoknak szükség szerint segíteni kell az idő- és munkabeosztás megtervezésében.

Igény szerint segíteni és irányítani kell a költségvetés tervezését, különösen, ha korábban még nem készítették. A diákoknak meg kell mutatni, hogy hol szerezhetik be az anyagokat és a felszereléseket, s hogy tudhatják meg áraikat. A felszerelések és a kemikáliák katalógusait (könyvek, internet) elérhetővé kell tenni a diákok számára. Fel kell hívni figyelmüket, hogy a helyes nomenklatúrát használják, és hogy az ár változik az anyagok mennyiségétől, valamint a gyártójától függően.

A veszélyek és a hibák forrásait meg kell beszélni a gyakorlati munka elkezdése előtt. A diákok tudásától, korábbi gyakorlati tapasztalataitól függően különböző mértékű segítséget, irányítást igényelnek. Segítsük a felszerelések helyes használatát, mint pl. az analitikai mérleg, a rázótolcsér és a HPLC alkalmazását, s a HPLC beállítását is.

Óraterv a tanároknak

Bevezetés és a szükséges tudás ellenőrzése	30 perc
A diákok csoportokba való osztása, a munka megtervezése	30 perc
Költségvetés elkészítése	60 perc
A gyakorlati munka elvégzése	300 perc
Az eredmények kiértékelése, megvitatása és bemutatása	120 perc

Gyakorlati tanácsok

▪ Előkészítés

A HPLC módszert előzetesen ellenőrizni kell. Ha az elválasztás az adott rendszerben nem megfelelő, akkor hatékonyabb oszlopot kell használni, vagy a mozgófázis összetételét kell beállítani. A maximális detektorjel eléréséhez fel kell venni az anyagok spektrumát és a legmegfelelőbb hullámhosszt kiválasztani. A megváltoztatott kísérleti körülményeket osszuk meg a diákokkal, és hívjuk fel a figyelmüket arra, hogy a HPLC-vel való munka hosszú idejű laboratóriumi gyakorlatot igényel, és a HPLC előkészítése a diákok számára a tanár vagy a technikus feladata.

A következő tesztoldatokat kell előre elkészíteni:

- metilparabén, etilparabén, propilparabén és butilparabén 0,1 g/100 ml metanolos oldatai
- 2-fenoxietanol és 1-fenoxipropán-2-ol 0,2 g/100 ml metanolos oldatai
- Törzsoldat, mely a következő tartósítószereket tartalmazza etanol/víz (9:1 v/v, pl. 90 ml abszolút etanol és 10 ml víz elegyítésével készítheted el) elegyben (1 hétig stabil hűtőben tartva): 0,05 g/100 ml metilparabén, 0,05 g/100 ml etilparabén, 0,05 g/100 ml propilparabén, 0,05 g/100 ml butilparabén, 0,2 g/100 ml 2-fenoxietanol és 0,2 g/100 ml 1-fenoxipropán-2-ol

▪ Felszerelés és vegyszerek

Anyagok és CAS számaik

Név	CAS szám
Jégecet	64-19-7
Aceton	67-64-1
Acetonitril	75-05-8
Kalcium-klorid, vízmentes	10035-04-8
Dietil-éter	60-29-7
Etanol, abszolút	64-17-5
Sósav	7647-01-0
Metanol	67-56-1
n-Pentán	109-66-0
Kálium-hidroxid	1310-58-3
Kénsav	7664-93-9
Tetrahidrofurán	109-99-9
Metil 4-hidroxibenzoát (metilparabén)	99-76-3
Etil 4-hidroxibenzoát (etilparabén)	120-47-8
n-Propil 4-hidroxibenzoát (propilparabén)	94-13-3
n-Butil 4-hidroxibenzoát (butilparabén)	94-26-8
2-Fenoxietanol	122-99-6
1-Fenoxipropán-2-ol	770-35-4

Eszközök

- A szokásos laborfelszerelések, mint pl. desztillált víz, pH indikátor papír, analitikai mérleg és mérőlombik

Extrakciók

- 50 és 100 ml-es menetes Erlenmeyer-lombik
- Választótölcsér
- 60 °C-os vízfürdő
- Szűrőpapír

Azonosítás TLC-vel

- TLC réteg, 20 cm x 20 cm alumínium lemezre felvitt (0,25 mm) fluoreszcens adalékot tartalmazó szilikagél (pl. Merck silica gel 60F₂₅₄ No 1.05554)
- Szárítószekrény, mely 120 °C-ig működik
- Microfecskendő (10 és 100 µl)
- Kifejlesztő kád (telítetlen)
- Levegőáram (pl. hajszáritó)
- UV-lámpa ($\lambda=254$ nm)

Meghatározás HPLC-vel

- Szűrőpapír (nylon, PVDF, 0,45 µm pórusméret)
- HPLC UV-detektorral ($\lambda=280$ nm) és fordított fázisú analitikai oszlop (Nucleosil 5C18 vagy ekvivalens, rozsdamentes acél, 25 cm x 4.6 mm)
- Microfecskendő (50 vagy 100 µl)

TESZTFELADATOK

A válaszokat pirossal írtuk a szövegbe.

1. Mi a parabének szerepe a kozmetikai cikkekben?

Válasz: tartósítószer, a mikroorganizmusok ellen védenek

2. Mi az elválasztási alapja a folyadékkromatográfiában?

Válasz: A mobil fázis, az álló fázis és az elválasztandó anyagok kölcsönhatása

3. Hogyan tudod hatékonyabbá tenni a folyadék-folyadék extrakciót?

Válasz: extrahálószer megváltoztatása; az extrahálószer térfogatának növelése; többszöri extrakció

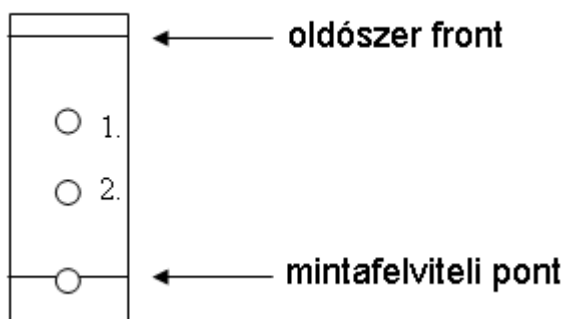
4. Milyen erő mozgatja a mobil fázist a TLC-ben?

Válasz: kapilláris erők

5. Mi deaktiválja legjobban a szilikagél réteget? Gondolj arra, miért hevítjük ki használat előtt!

Válasz: H_2O

6. Határozd meg a retenciós faktorokat és a felbontást az alábbi kifejlesztett szilikagél TLC rétegen.



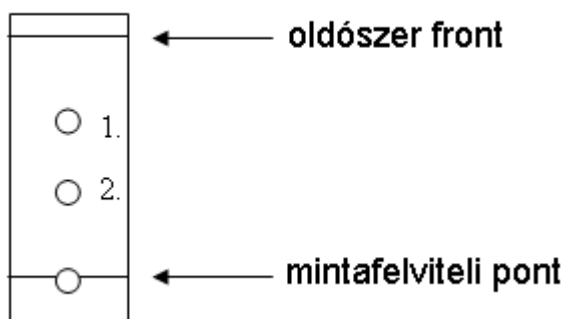
Válasz: $R_{f1} \approx 0.65$; $R_{f2} \approx 0.35$; $R_s \approx 3,1$

7. Vázold a HPLC fő részeit, és írd le a kromatográfia működési elvét!

Válasz: mozgó fázis, pumpa (oldószer-áramoltató rendszer), minta injektor, előtétoszlop, oszlop, detektor, rekorder, a frakciók vagy a hulladék gyűjtése

TESZTFELADATOK

1. Mi a parabének szerepe a kozmetikai cikkekben?
2. Mi az elválasztási alapja a folyadékkromatográfiában?
3. Hogyan tudod hatékonyabbá tenni a folyadék-folyadék extrakciót?
4. Milyen erő mozgatja a mobil fázist a TLC-ben?
5. Mi deaktiválja legjobban a szilikagél réteget? Gondolj arra, miért hevítjük ki használat előtt!
6. Határozd meg a retenciós faktorokat és a felbontást az alábbi kifejlesztett szilikagél TLC rétegen.



7. Vázold a HPLC fő részeit, és írd le a kromatográfia működési elvét!

This document was created with Win2PDF available at <http://www.daneprairie.com>.
The unregistered version of Win2PDF is for evaluation or non-commercial use only.