

ANALYTIKH XHMEIA



ΥΓΡΗ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

- **ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ**
- **ΣΤΗΛΕΣ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ**
- **ΑΝΙΧΝΕΥΤΕΣ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ**
- **ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ**

Καθηγητές

Βασίλης Σταθόπουλος Όλγα Αρβανίτη

Ποιοτική και Ποσοτική Ανάλυση

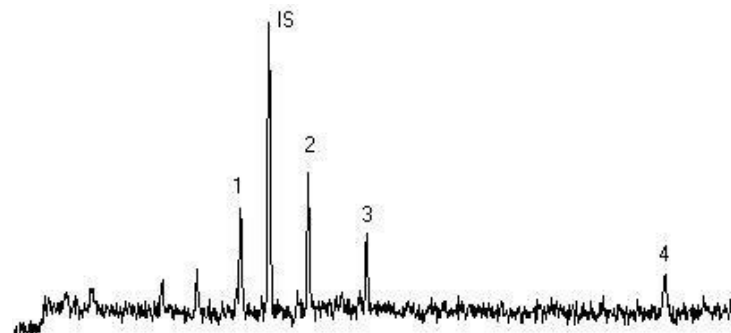
Ποιοτική Ανάλυση:

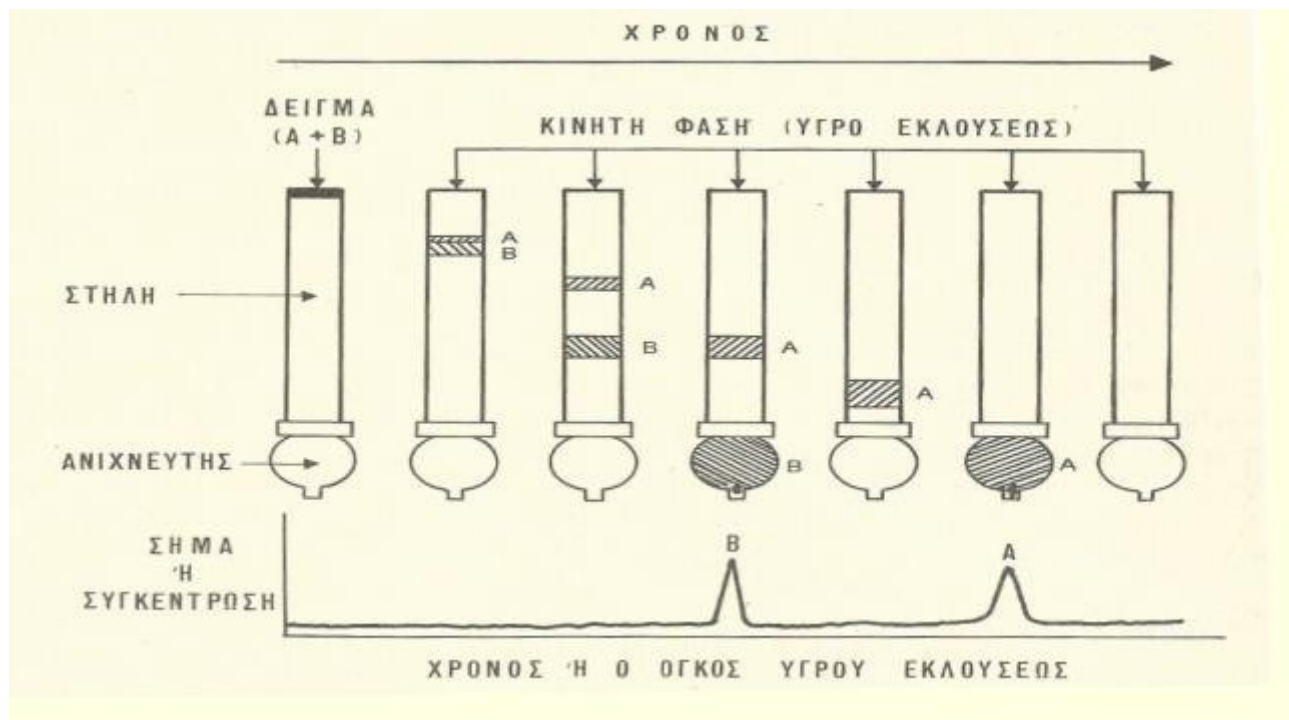
- Χρόνος Ανάσχεσης (t_R)
- Φασματοσκοπικές τεχνικές (MS, IR, UV/Vis,...)

Ποσοτική Ανάλυση:

Γραμμική σχέση μεταξύ σήματος και συγκέντρωσης

- **Ύψος κορυφής:** επηρεάζεται από μεταβολή εύρους, θερμοκρασία, ροή, ταχύτητα έγχυσης
- **Εμβαδόν κορυφής:** δεν επηρεάζεται από τα παραπάνω. Αυτοματισμός: Ολοκληρωτές – λογισμικά
- **Βαθμονόμηση και πρότυπα**
- **Μέθοδος εσωτερικού προτύπου**





Κατά την έξοδο από τη στήλη υπάρχει σύστημα ανίχνευσης

Προσδιορισμός

Ποιοτικός προσδιορισμός (ταυτοποίηση)

Επιτυγχάνεται με κριτήριο το **χρόνο ανάσχεσης ή συγκράτησης**.

Ποσοτικός προσδιορισμός

Επιτυγχάνεται με κριτήριο το ύψος ή **το εμβαδόν των κορυφών** που καταγράφεται στον χρωματογράφο με τη βοήθεια του καταγραφικού οργάνου.

Υγροχρωματογραφία

- ❑ Ανήκει στις χρωματογραφικές τεχνικές. Ο διαχωρισμός είναι αποτέλεσμα της συνδυαστικής δράσης μιας στατικής και μιας κινητής φάσης. Το δείγμα εισάγεται στη κορυφή της στήλης και με τη βοήθεια της κινητής φάσης τα συστατικά του μετακινούνται με τη μορφή ζωνών και τελικά εκχυλίζονται το ένα μετά το άλλο.
- ❑ Οι ουσίες προς ανάλυση κατανέμονται μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης, με αποτέλεσμα να μετακινούνται με διαφορετικές ταχύτητες κατά μήκος της στήλης.

Υγροχρωματογραφία

ΧΡΗΣΙΜΟΠΟΙΕΙΤΑΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΟΙΟΤΙΚΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ
ΜΗ ΠΤΗΤΙΚΩΝ ΕΝΩΣΕΩΝ

ΚΙΝΗΤΗ ΦΑΣΗ: Υγρό

ΣΤΑΤΙΚΗ ΦΑΣΗ:

1. **Στερεά σωματίδια** → Χρωματογραφία υγρού-στερεού
(Χρωματογραφία Προσρόφησης)
2. **Υγρό** που συγκρατείται πάνω σε μια αδρανή στερεά επιφάνεια
→ Χρωματογραφία υγρού-υγρού (Χρωματογραφία
κατανομής)

Υγροχρωματογραφία

Με εφαρμογή υψηλής πίεσης η κινητή φάση διέρχεται μέσα από τη στατική $\Rightarrow$ **ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΨΗΛΗΣ ΑΠΟΔΟΣΕΩΣ (HPLC)**

ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΙ ΔΙΑΧΩΡΙΣΜΩΝ:

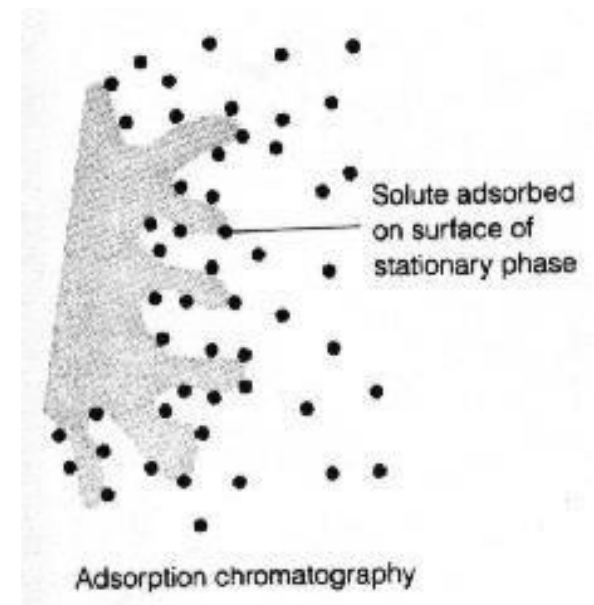
1. Προσρόφηση
2. Κατανομή
3. Ιονανταλλαγή
4. Μοριακός αποκλεισμός (στεreo-παρεμπόδιση)

Χρωματογραφία Προσρόφησης

Χρωματογραφία προσροφήσεως (Adsorption chromatography): Είναι ο διαχωρισμός των διαφόρων ουσιών που βασίζεται στο διαφορετικό βαθμό προσρόφησης στη στατική φάση. Λαμβάνουν χώρα αλληλεπιδράσεις ηλεκτροστατικής φύσης. Η τεχνική βρίσκει εφαρμογή στο διαχωρισμό ουσιών με παρόμοια δομή, αλλά και με διαφορετική πολικότητα.

Ανάλογα με τη σχέση πολικότητας μεταξύ της στατικής και της κινητής φάσης έχουμε δύο είδη χρωματογραφίας προσρόφησης:

1. **Χρωματογραφία Κανονικής Φάσης.**
2. **Χρωματογραφία Αντίστροφης Φάσης.**



Χρωματογραφία Προσρόφησης

Χρωματογραφία Κανονικής Φάσης

- ✓ Η στατική φάση (συνήθως SiO_2 ή Al_2O_3) είναι πολικότερη από την κινητή

Χρωματογραφία Προσρόφησης

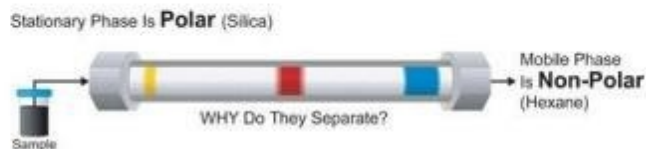
Χρωματογραφία Αντίστροφης Φάσης

- ✓ Η στατική φάση, η οποία είναι λιγότερο πολική της κινητής, αποτελείται από οξείδιο πυριτίου συζευγμένο με διάφορες ομάδες όπως αλκύλια (ακετύλιο, δεκαοκτύλιο), φαινύλιο, διόλες, αμινομάδες, κυανομάδες κ.α.

Χρωματογραφία Προσρόφησης

Χρωματογραφία Κανονικής & Αντίστροφης Φάσης

- Αν η στατική φάση είναι πιο πολική από τη κινητή, τότε η HPLC χαρακτηρίζεται ως **κανονικής φάσης**.



- Αν η στατική φάση είναι λιγότερο πολική από τη κινητή, τότε η HPLC χαρακτηρίζεται ως **αντίστροφης φάσης**.



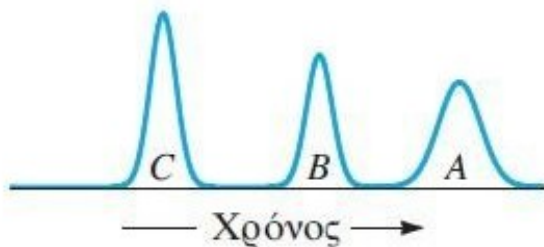
Χρωματογραφία Προσρόφησης

Χρωματογραφία Κανονικής & Αντίστροφης Φάσης

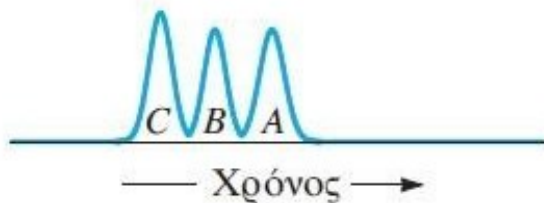
(α)

Χρωματογραφία **κανονικής** φάσης
Στατική φάση: πολική

Κινητή φάση: χαμηλής πολικότητας



Κινητή φάση μέσης πολικότητας

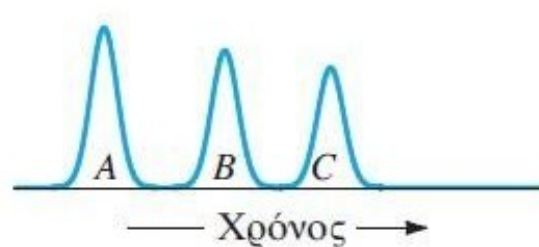


Πολικότητα διαχωριζόμενων ουσιών: $A > B > C$

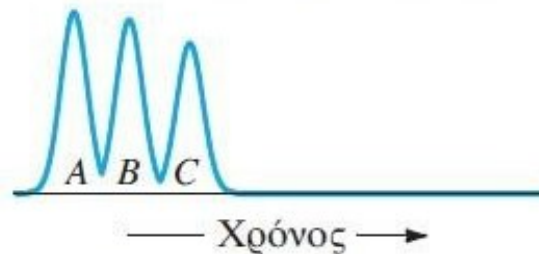
(β)

Χρωματογραφία **αντίστροφης** φάσης
Στατική φάση: μη πολική

Κινητή φάση: υψηλής πολικότητας



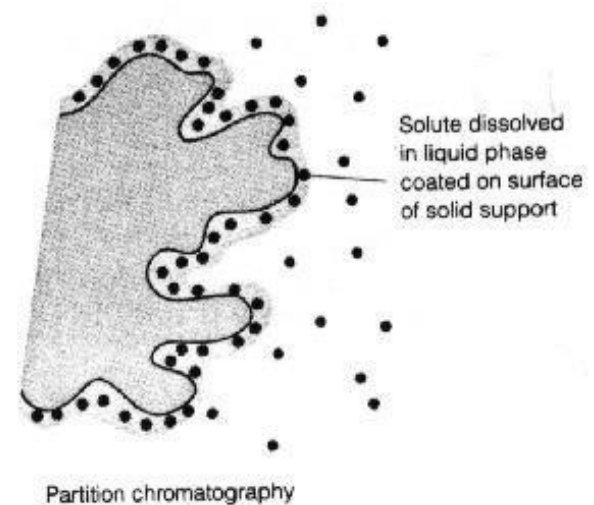
Κινητή φάση μέσης πολικότητας



Χρωματογραφία Κατανομής

Χρωματογραφία κατανομής (Partition chromatography):

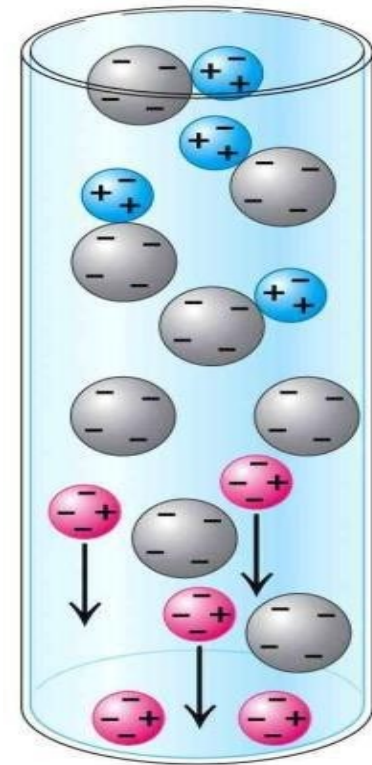
Τα συστατικά του μίγματος κατανέμονται μέσω ισορροπίας μεταξύ λεπτής στιβάδας υγρής στατικής φάσης που συγκρατείται στην επιφάνεια στερεού υποστρώματος και μιας υγρής κινητής φάσης με βάση τη διαφορά στη διαλυτότητα.



Χρωματογραφία Ιονανταλλαγής

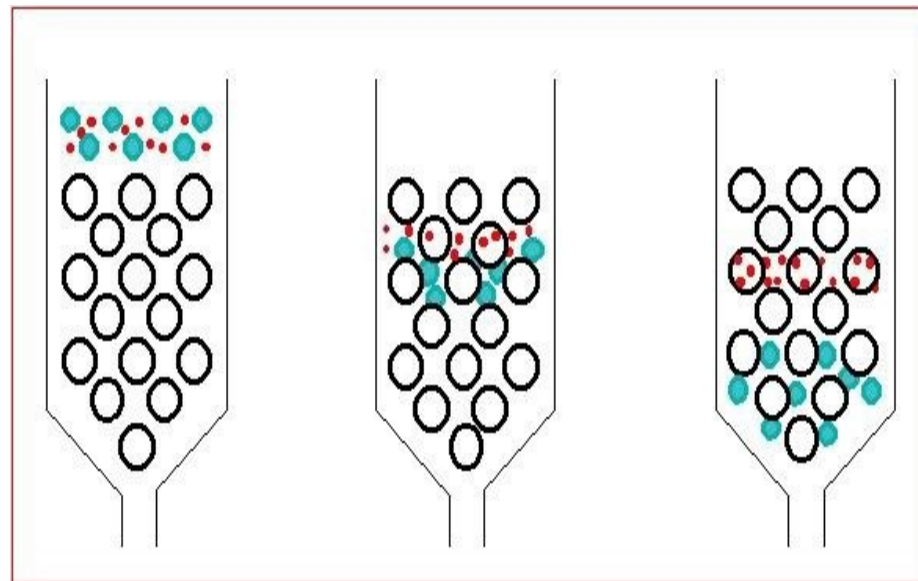
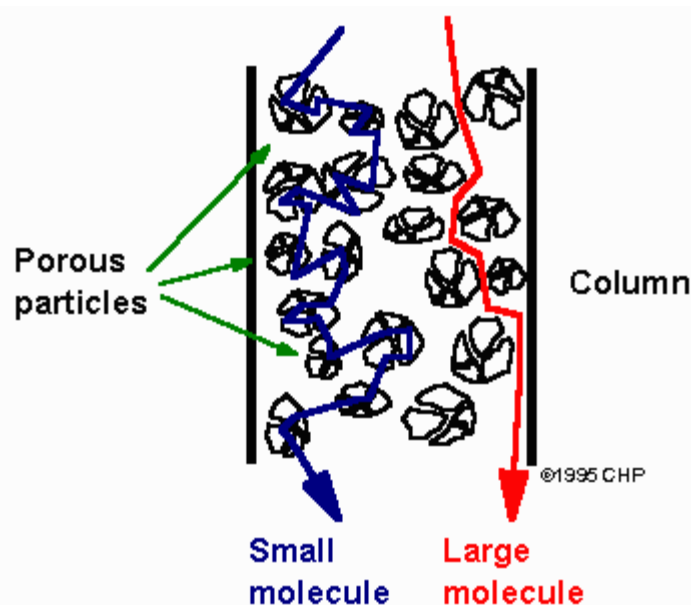
Χρωματογραφία ιονανταλλαγής (ion-exchange chromatography):

Χρησιμοποιούνται ιονανταλλακτικές ρητίνες ή πηκτές ως στερεά στατική φάση.



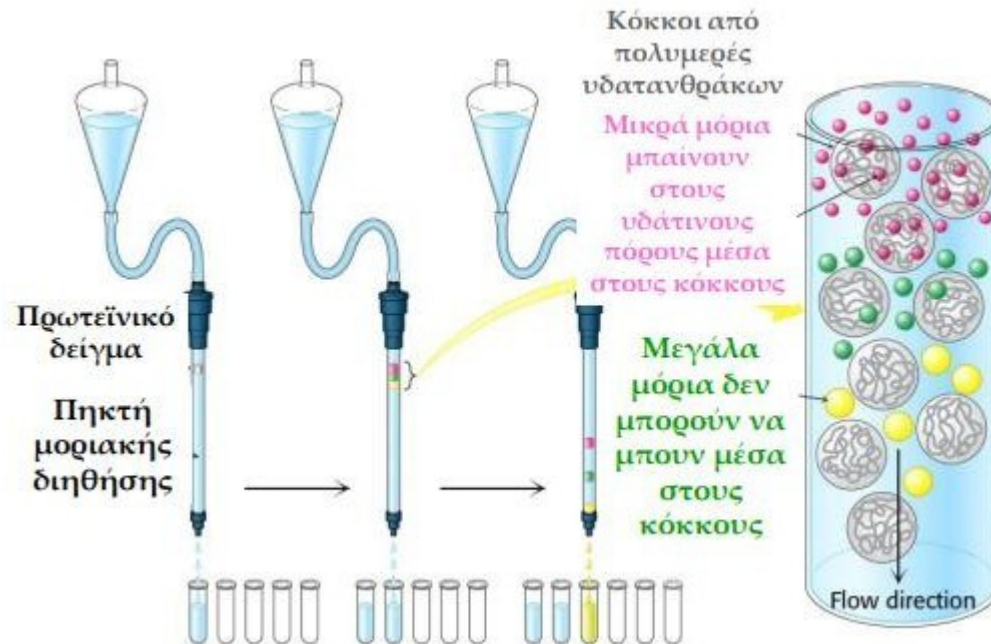
Χρωματογραφία Μοριακού Αποκλεισμού

Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού (size exclusion chromatography): Τα συστατικά διαχωρίζονται σύμφωνα με το μέγεθός τους

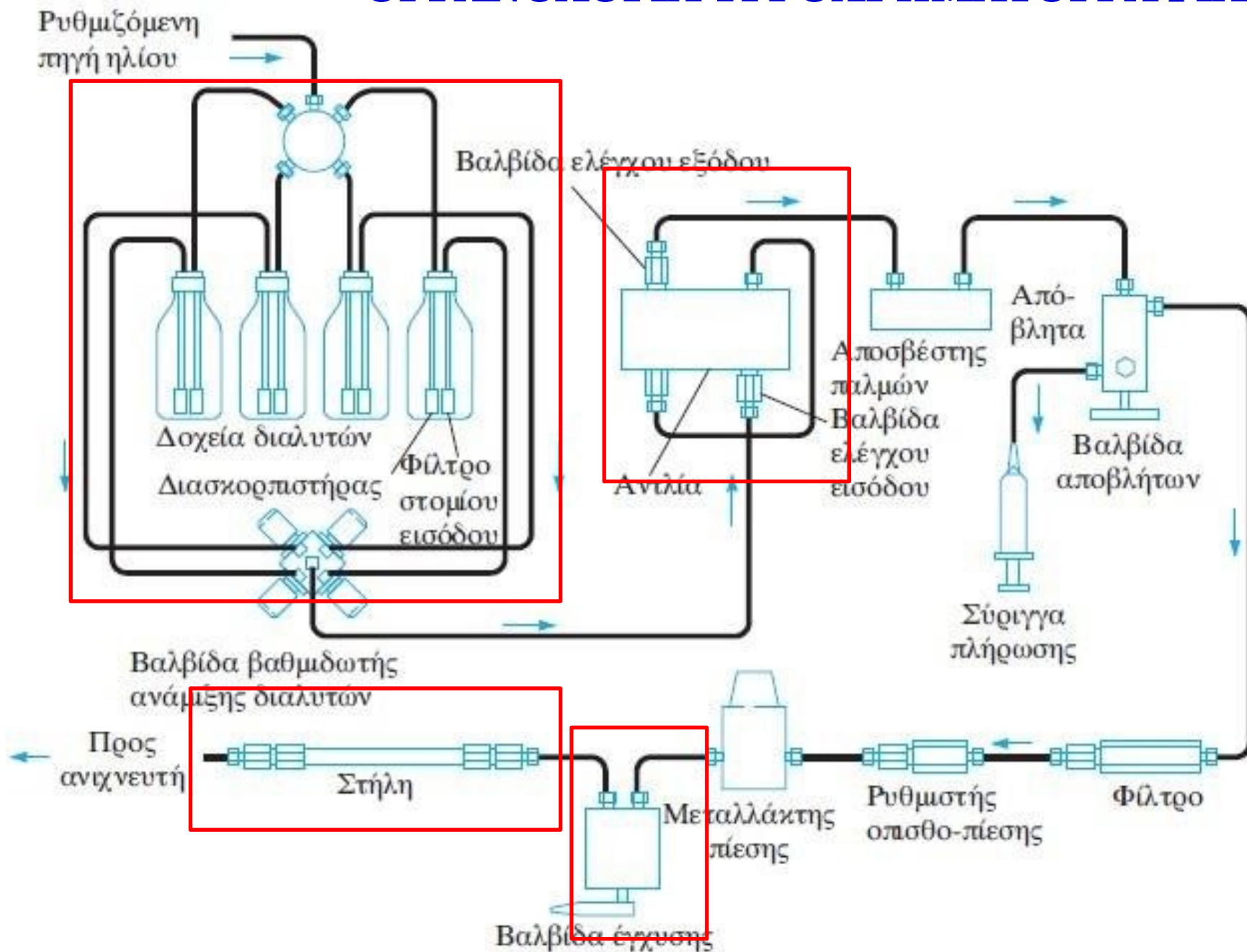


Χρωματογραφία Μοριακού Αποκλεισμού

Χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού (size exclusion chromatography): Τα συστατικά διαχωρίζονται σύμφωνα με το μέγεθός τους



ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ ΥΓΡΟΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑΣ



➤ Ένα σύστημα HPLC περιλαμβάνει:

- ✓ Φιάλες αποθήκευσης διαλυτών
- ✓ Αντλία (σταθερής ροής, σταθερής πίεσης)
- ✓ Μονάδα εισαγωγής δείγματος (βαλβίδα εισαγωγής δείγματος, αυτόματος δειγματολήπτης)
- ✓ Χρωματογραφική στήλη
- ✓ Ανιχνευτή
- ✓ Καταγραφικό

Υγροχρωματογραφία

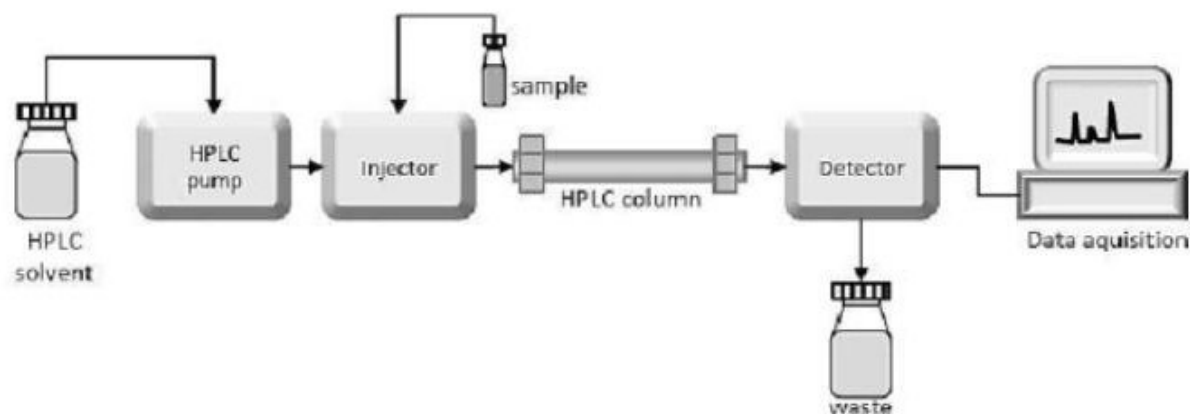
Κινητή φάση: υγρό

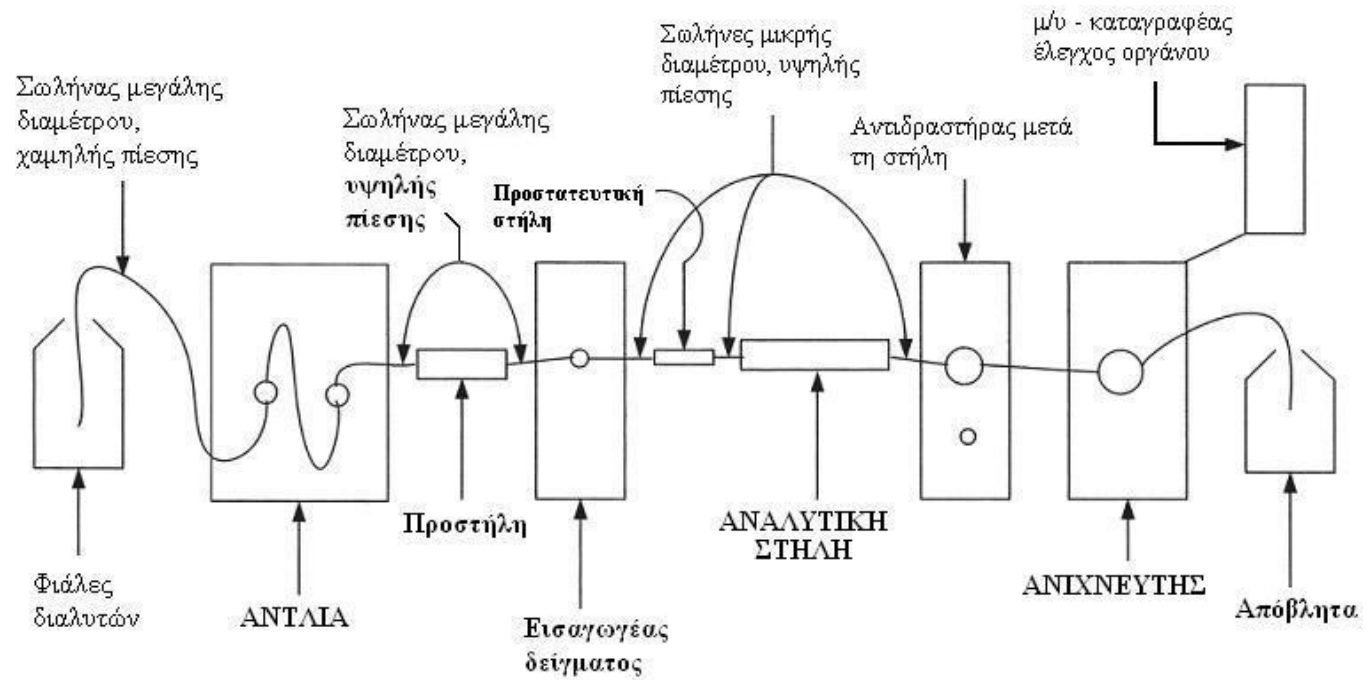
Στατική φάση: υγρό ή στερεό

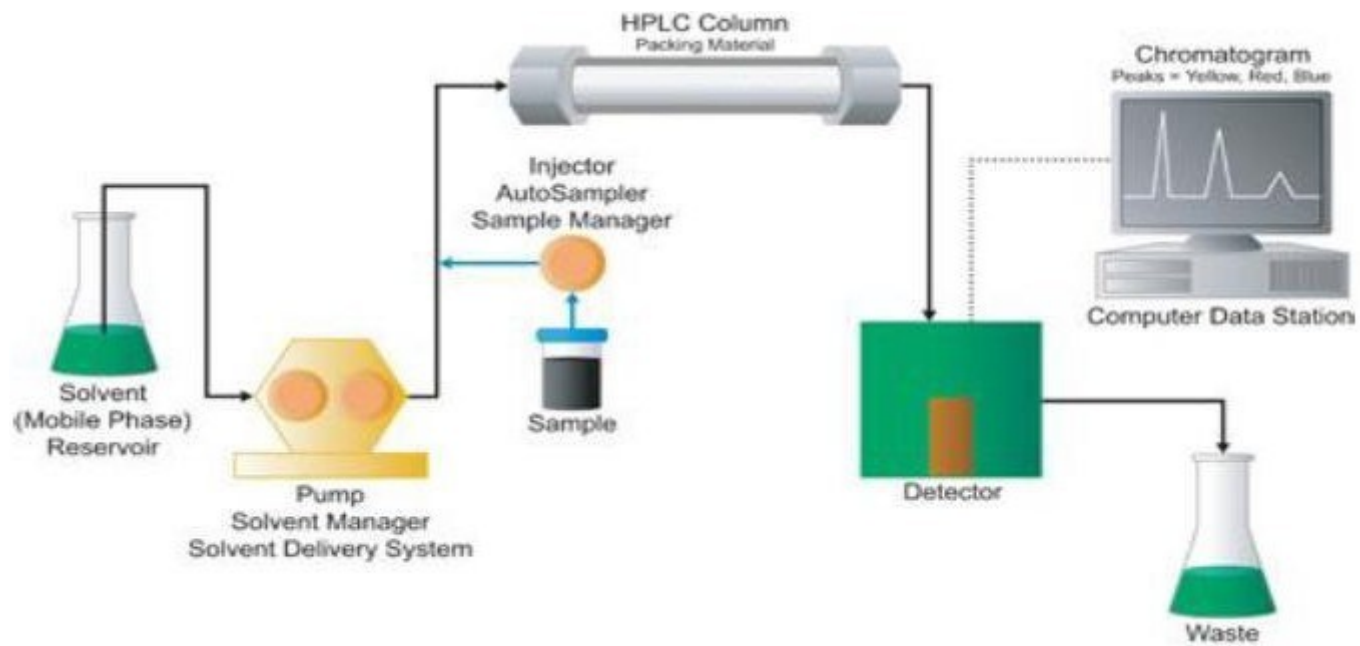
Αναλύτης: υγρό

Υγροχρωματογραφία υψηλής απόδοσης
(**H**igh **P**erformance **L**iquid **C**hromatography, **HPLC**)

Μέσω αντλιών εφαρμόζεται υψηλή πίεση στην κινητή φάση ώστε να διέλθει μέσα από μια πληρωμένη στήλη με τη στατική φάση







Σύστημα παροχής κινητής φάσης

ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΑΡΟΧΗΣ ΚΙΝΗΤΗΣ ΦΑΣΗΣ

Απαέρωση διαλυτών:

- Διήθηση υπό κενό
- Χρήση ειδικών μεμβρανών

Οι διαλύτες αναμιγνύονται στο **θάλαμο αναμίξεως** πριν την προώθηση προς την αντλία

Ισοκρατική έκλουση (isocratic elution)

Για το διαχωρισμό χρησιμοποιείται διαλύτης σταθερής σύστασης

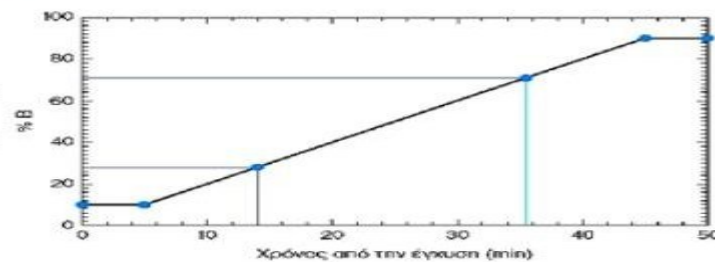
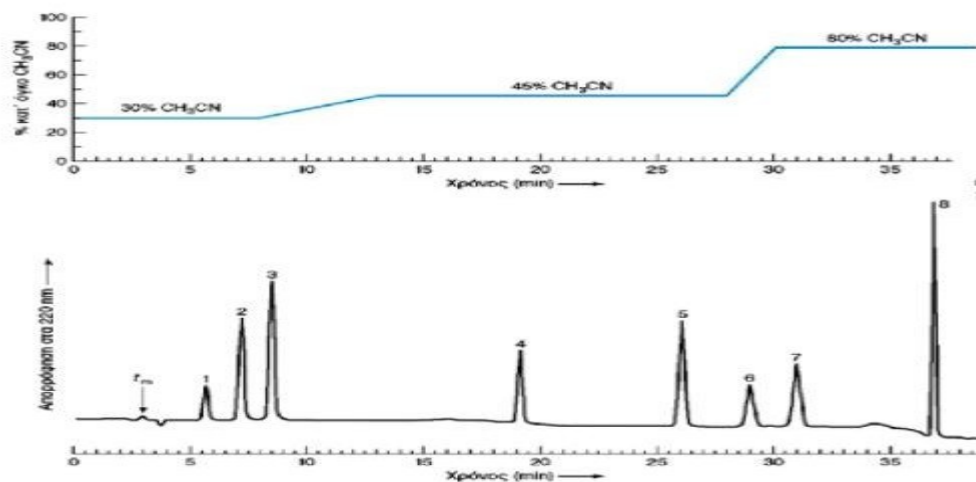
Βαθμιδωτή έκλουση (gradient elution)

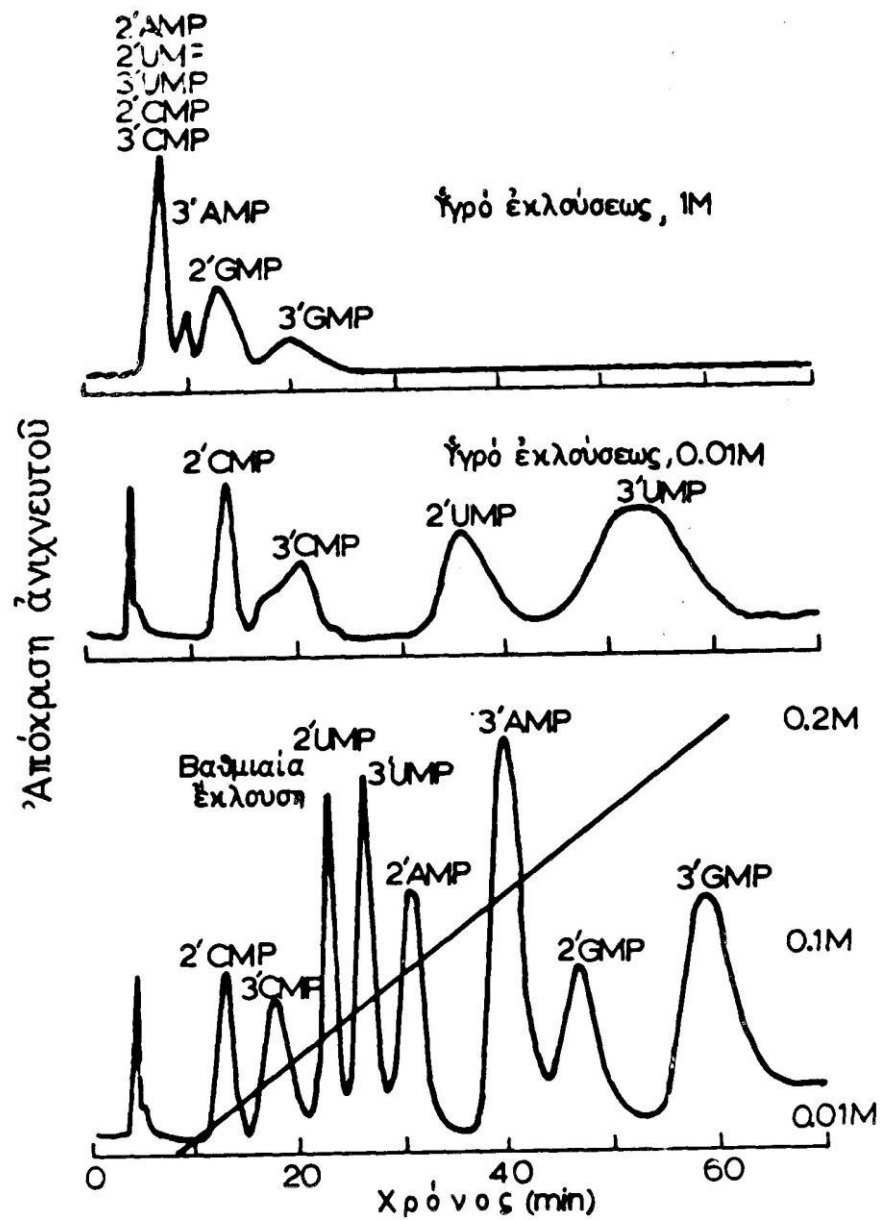
Ο λόγος των διαλυτών μεταβάλλεται κατά το διαχωρισμό με προγραμματισμένο τρόπο (συνεχώς ή με σειρά βημάτων)

- Προκαλεί μεταβολή του παράγοντα κατακράτησης, k'
- Βελτιώνει το χρόνο διαχωρισμού χωρίς μείωση της R_s

Ισοκρατική έκλουση: η σύσταση της κινητής φάσης δεν μεταβάλλεται

Βαθμιδωτή έκλουση: η σύσταση της κινητής φάσης μεταβάλλεται είτε ομαλά είτε απότομα





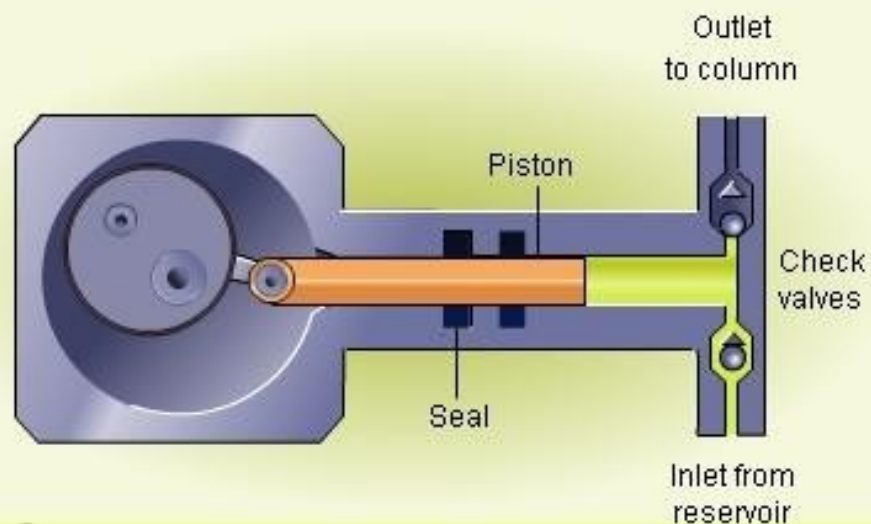
Αντλία

ΑΝΤΛΙΑ

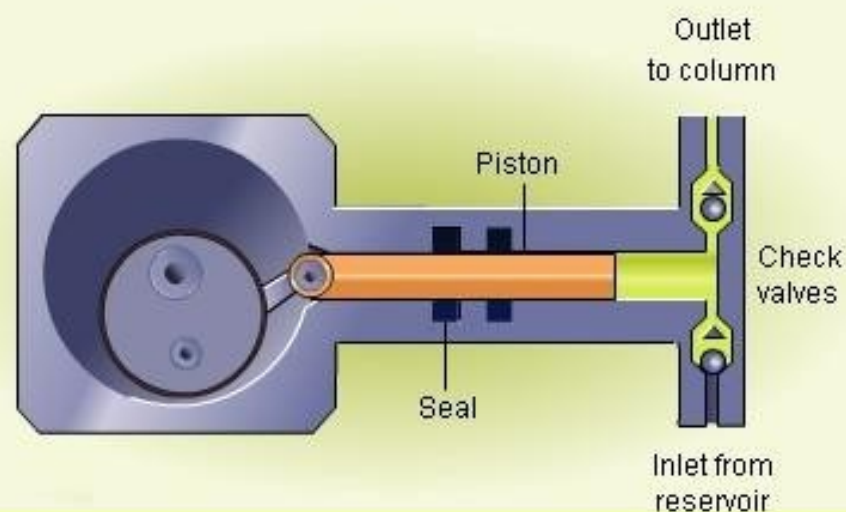
Πρέπει να:

- Επιτυγχάνει υψηλή πίεση (1000 – 6000 psi ή 70 – 400 Atm)
- Είναι απαλλαγμένη από παλμούς ροής
- Επιτυγχάνει ταχύτητες ροής 0,1 – 5 mL/min με επαναληψιμότητα 0,5% ή καλύτερη
- Αποτελείται από τμήματα ανθεκτικά στη διάβρωση

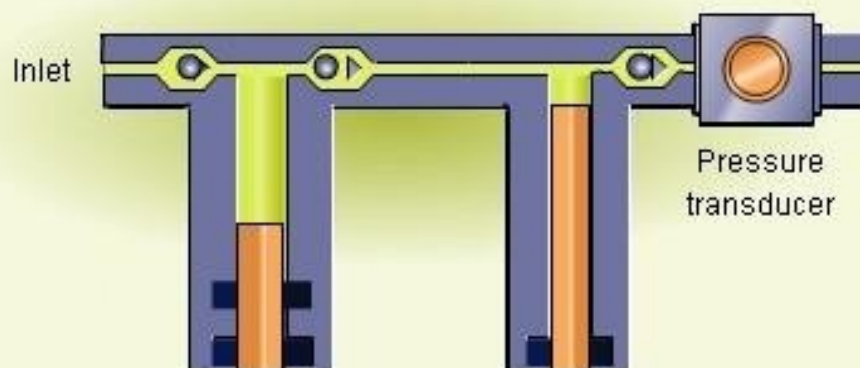
Αντίστροφη αντλία σταθερής ροής



Αντίστροφη αντλία σταθερής ροής



Διπίστονη σειριακή αντλία



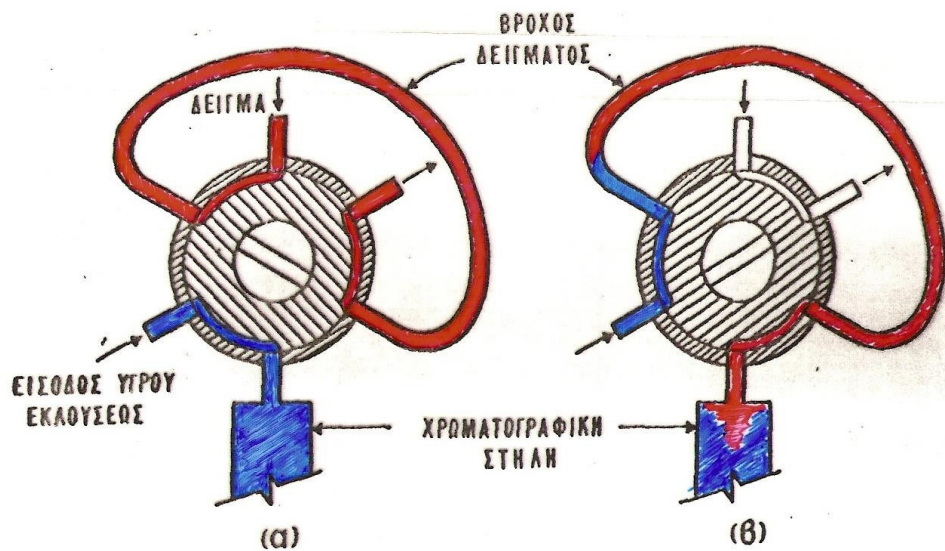
Διπίστονη σειριακή αντλία



Σύστημα εισαγωγής δείγματος

Συστήματα έγχυσης δείγματος

Ο περιοριστικός παράγοντας στην επαναληψιμότητα των μετρήσεων στην υγροχρωματογραφία είναι ο τρόπος εισαγωγής των δειγμάτων στη στήλη.



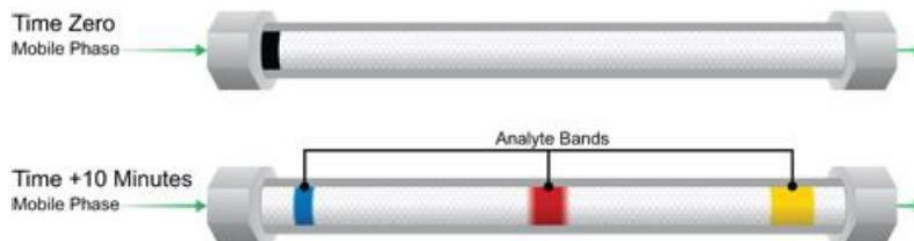
Σχήμα 20-4. Σύστημα εισαγωγής δείγματος. α) Θέση "φορτώσεως", β) θέση εισαγωγής.



Στήλες

Αναλυτικές στήλες

Ευθύγραμμοι σωλήνες από ανοξείδωτο χάλυβα μήκους 10 – 30 cm και διαμέτρου 1 – 5 mm (4,6 mm)



Υλικά στηρίξεως ή πληρώσεως της στήλης:

- Μικροπορώδη σωματίδια διαμέτρου 3-10 μm (5 μm):

Αποτελούνται από SiO_2 , αλουμίνα, πολυμερή στυρενίου-διβινυλοβενζολίου ή ιονανταλλακτικές ρητίνες

Επικαλύπτονται με λεπτό οργανικό στρώμα, συνδεδεμένο με φυσικό ή χημικό τρόπο

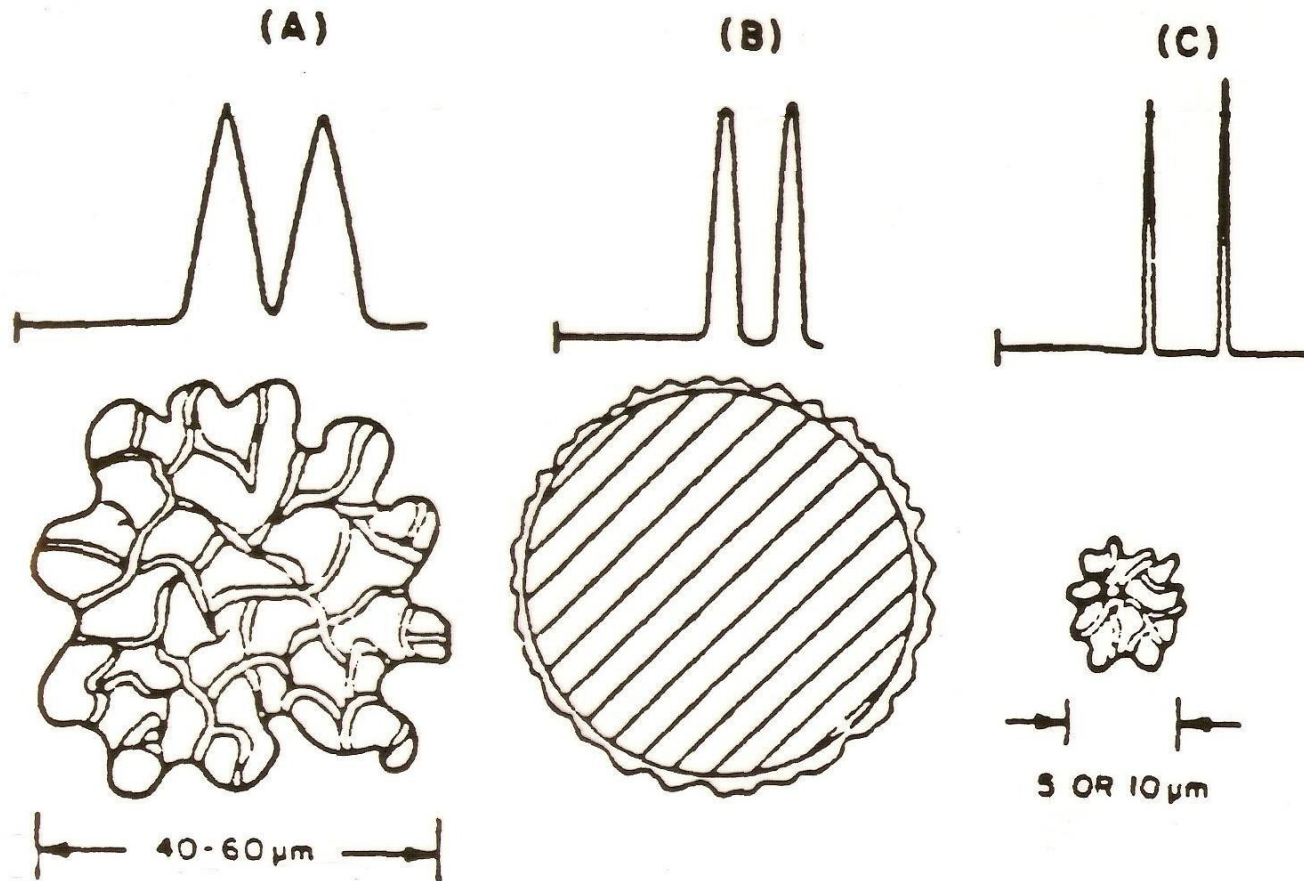
- Μακροπορώδη σωματίδια διαμέτρου 60 μm : SiO_2 , αλουμίνα ή εμπορικά υλικά, χωρίς υγρό φορέα

- Υμενοειδή σφαιροειδή σωματίδια διαμέτρου 30-40 μm :

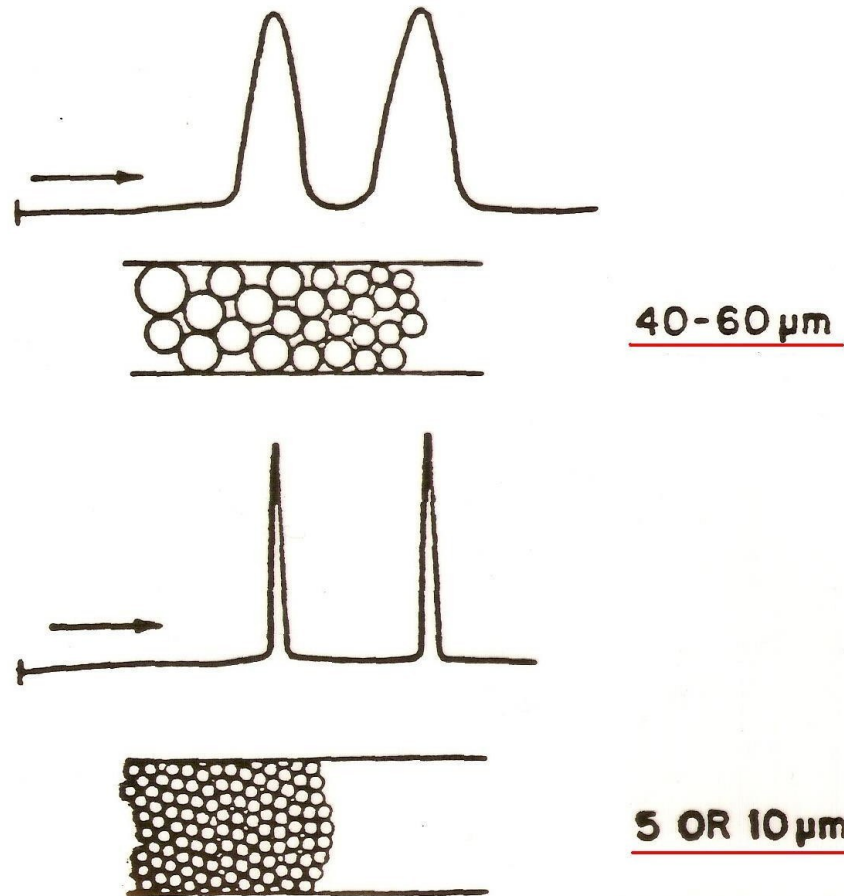
Σφαιρικά, μη πορώδη σωματίδια από πολυμερές ή γυαλί, στα οποία αποτίθεται λεπτό πορώδες στρώμα και λεπτή υγρή στατική φάση. Για

προστήλες

Επίδραση της διαμέτρου και των ειδών σωματιδίων στο διαχωρισμό και στην πλήρωση στήλης

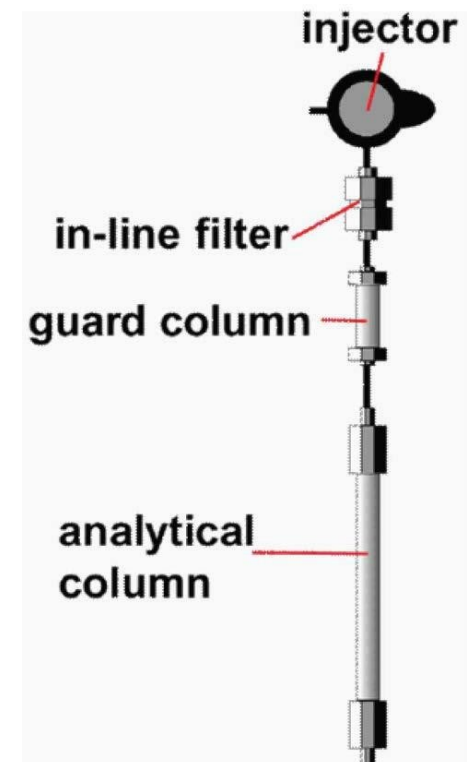


Επίδραση της διαμέτρου και των ειδών σωματιδίων στο διαχωρισμό και στην πλήρωση στήλης



► Προστήλες (προστατευτικές στήλες)

- Προστασία της αναλυτικής στήλης :
- Απομακρύνονται τα συστατικά του δείγματος που συνδέονται **μη αντιστρεπτά** με τη στατική φάση
- Αντικαθίσταται συχνά



► Θερμοστάτες στήλης

- Θερμοκρασίες μέχρι 100°C :
- Αύξηση της θ μειώνει το χρόνο ανάσχεσης και αυξάνει τον αριθμό των θεωρητικών πλακών

Στατική Φάση

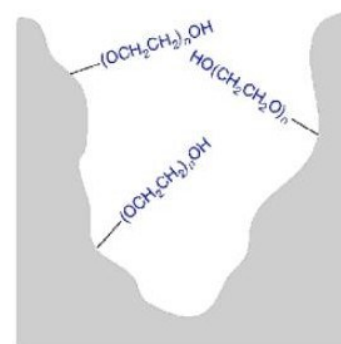
ΥΓΡΕΣ ΣΤΑΤΙΚΕΣ ΦΑΣΕΙΣ		
R: $(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$,	$(\text{CH}_2)_3\text{CN}$,	ΠΟΛΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ
R: $(\text{CH}_2)_{17}\text{CH}_3$,	$(\text{CH}_2)_2\text{-C}_6\text{H}_5$,	ΜΗ ΠΟΛΙΚΕΣ ΟΜΑΔΕΣ

Στατικές φάσεις

Στατικές φάσεις για χρωματογραφία υδρόφοβων αλληλεπιδράσεων

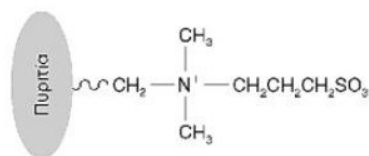


Σωματίδιο στατικής φάσης

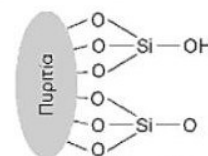


Σωματίδιο στατικής φάσης

Στατικές φάσεις για χρωματογραφία υδρόφιλων αλληλεπιδράσεων



Διοκτική συνδεδεμένη φάση



Ακάλυπτη πυρίτιο

Στατική Φάση

ΚΑΝΟΝΙΚΗΣ ΦΑΣΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ (Normal Phase HPLC)

Υγρή Κινητή Φάση: ΜΗ ΠΟΛΙΚΗ

Υγρή Στατική Φάση: ΠΟΛΙΚΗ

Τ ο πιο πολικό συστατικό εκλύεται ΤΕΛΕΥΤΑΙΟ

Στατική Φάση

ΑΝΤΙΣΤΡΟΦΟΥ ΦΑΣΗΣ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ HPLC

(Reversed Phase HPLC)

Υγρή Κινητή Φάση: ΠΟΛΙΚΗ

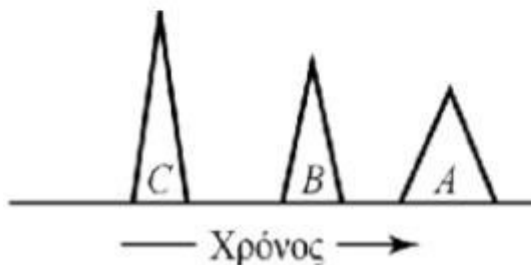
Υγρή Στατική Φάση: ΜΗ ΠΟΛΙΚΗ (π.χ. C₁₈)

Το πιο πολικό συστατικό εκλούεται ΠΡΩΤΟ

Στατική Φάση

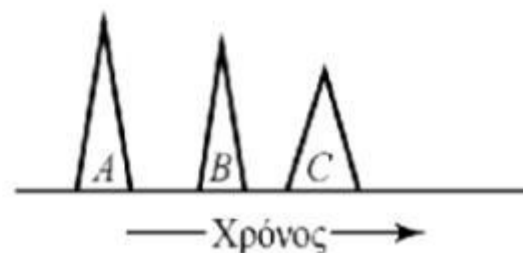
ΠΟΛΙΚΗ στατική φάση

(α)
Χρωματογραφία κανονικής φάσης



ΜΗ ΠΟΛΙΚΗ στατική φάση

(β)
Χρωματογραφία αντίστροφης φάσης



Πολικότητα διαχωριζόμενων ουσιών: $A > B > C$

Προετοιμασία δείγματος

- ❑ Η προετοιμασία του δείγματος είναι βασικό τμήμα της ανάλυσης με HPLC, που αποσκοπεί στην παραλαβή ενός ομογενούς και αναπαραγώγιμου διαλύματος, το οποίο είναι κατάλληλο για έγχυση στη χρωματογραφική στήλη.
- ❑ Ο στόχος της προετοιμασίας του δείγματος είναι η λήψη ενός κλάσματος του δείγματος, το οποίο είναι:
 - 1) Σχετικά απαλλαγμένο από παρεμποδίζουσες ουσίες.
 - 2) Ακίνδυνο για τη στήλη.
 - 3) Συμβατό με τη μέθοδο HPLC (π.χ. ο διαλύτης να αναμιγνύεται με την κινητή φάση χωρίς να επηρεάζει την κατακράτηση ή τη διαχωριστικότητα των συστατικών του δείγματος).

- ❑ Μερικές φορές είναι επιθυμητή η προσυγκέντρωση των προσδιοριζόμενων ουσιών ή η παραγωγοποίησή τους για βελτιωμένη ανίχνευση ή καλύτερο διαχωρισμό.

Αν και η HPLC είναι κατεξοχήν αυτοματοποιημένη διαδικασία, συνήθως η προετοιμασία του δείγματος γίνεται με το χέρι.

- ❑ Η προετοιμασία του δείγματος ξεκινάει με τη συλλογή του δείγματος και επεκτείνεται μέχρι την έγχυσή του στο χρωματογραφικό σύστημα.

Περιλαμβάνει τα στάδια της μεταφοράς, συντήρησης, προκαταρκτικής προκατεργασίας, εργαστηριακής δειγματοληψίας και αλληλοδιάδοχες ζυγίσεις και αραιώσεις.

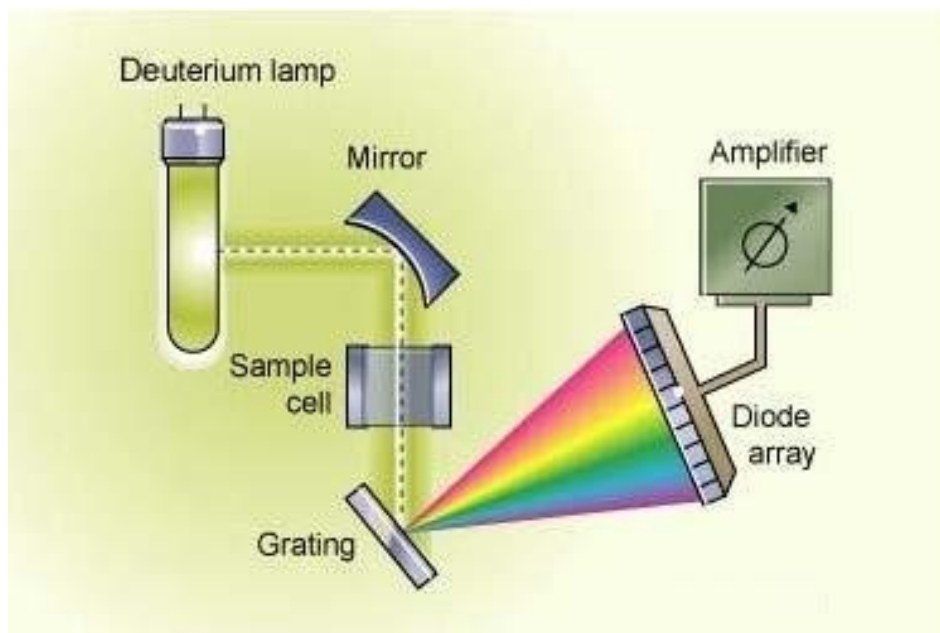
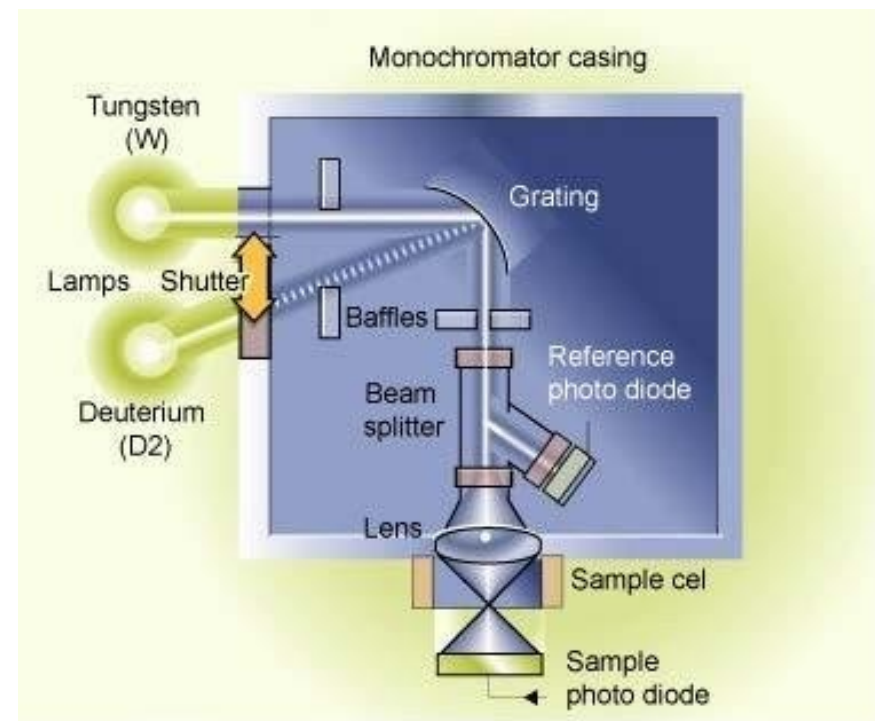
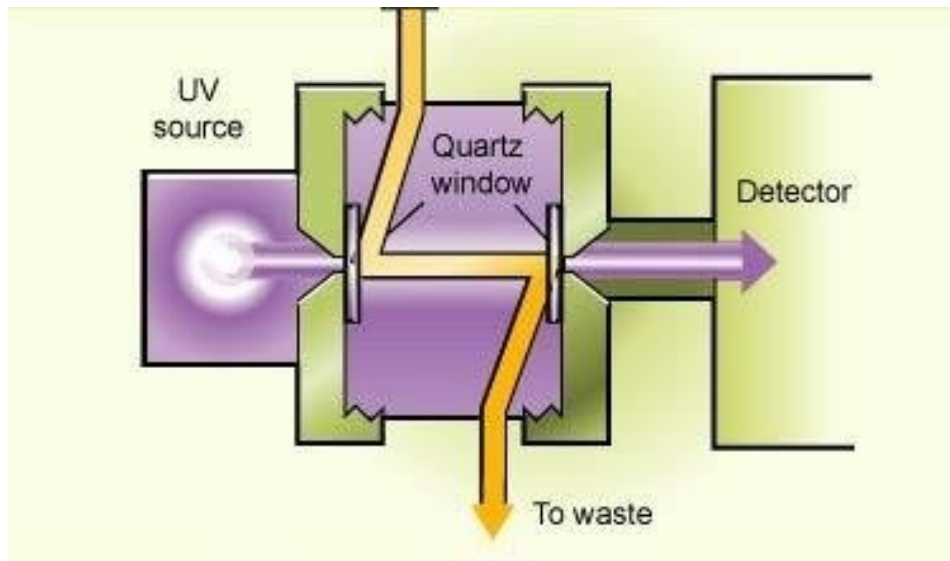
Συστήματα ανίχνευσης

Ιδανικά χαρακτηριστικά

1. Ικανοποιητική ευαισθησία, χαμηλά όρια ανίχνευσης (ng – μg) και χαμηλό θόρυβο
2. Σταθερότητα και αναπαραγωγιμότητα
3. Γραμμική απόκριση για μεγάλη περιοχή συγκεντρώσεων
4. Να μην επηρεάζεται από μεταβολές θερμοκρασίας και ταχύτητας ροής της κινητής φάσης
5. Μικρό χρόνο απόκρισης, ανεξαρτήτως από την ταχύτητα ροής
6. Να μην αποκρίνεται στην κινητή φάση
7. Να έχει ομοιόμορφη απόκριση για όλες της ουσίες (γενικός ανιχνευτής) ή να έχει γνωστή εκλεκτικότητα απόκρισης (ειδικός ανιχνευτής)
8. Να έχει αμελητέο νεκρό όγκο ώστε να μη συμμετέχει στη διεύρυνση της ζώνης (κορυφής) κάθε συστατικού

Τύποι ανιχνευτών

- ✓ Ανιχνευτής απορρόφησης (UVD)
- ✓ Ανιχνευτής με συστοιχία διόδων (DAD)
- ✓ Ανιχνευτής φθορισμού (FLD)
- ✓ Ανιχνευτής δείκτη διάθλασης
- ✓ Ανιχνευτής σκέδασης φωτός μετά από εξάτμιση
- ✓ Ηλεκτροχημικός ανιχνευτής
- ✓ Ανιχνευτές φασματομετρίας μαζών



Ανιχνευτής Ορατού – Υπεριώδους:
Επιλέγεται ένα κατάλληλο μήκος κύματος με βάση τον τύπο του δείγματος.

Ανιχνευτής Συστοιχίας Φωτοδιόδων (Diode array-DAD): Επιλέγονται κατάλληλα μήκη κύματος με βάση τον τύπο του δείγματος.

Βήματα Ανάλυσης HPLC

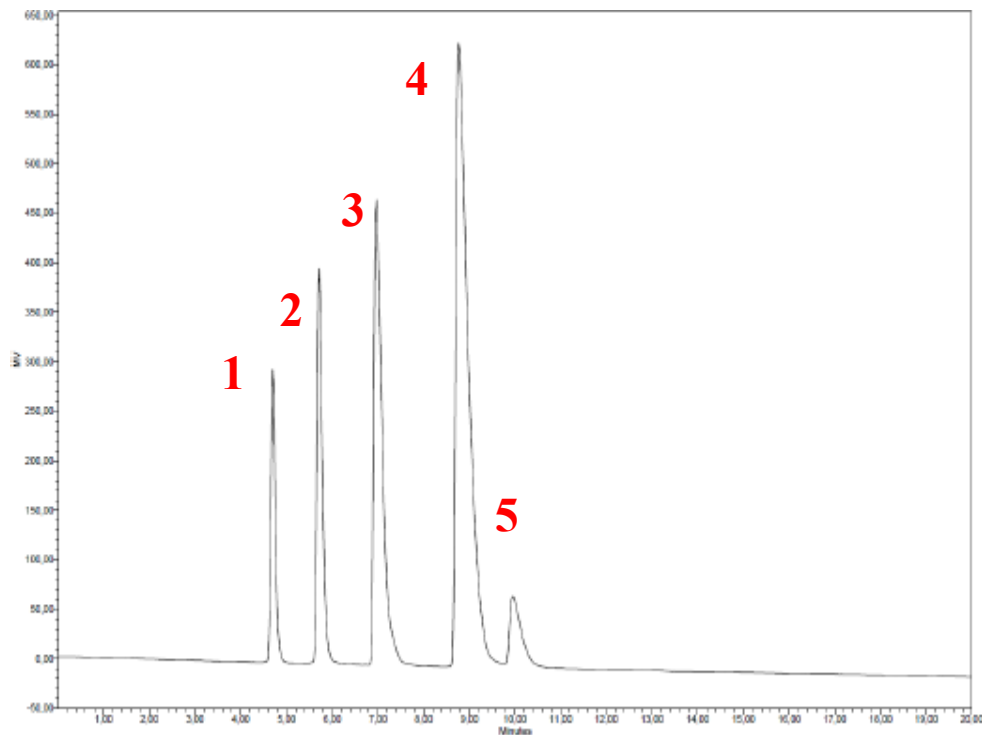
- Επιλογή ανιχνευτή
- Επιλογή στήλης
- Επιλογή συστήματος διαλυτών
- Επιλογή προγράμματος έκλουσης
- Σταθεροποίηση στήλης
- Προεπεξεργασία δειγμάτων (διάλυση, φίλτρο καθαρισμού)
- Επιλογή εισερχόμενου όγκου
- Βελτιστοποίηση συνθηκών με βάση το χρωματογράφημα

Εφαρμογή HPLC – Παράδειγμα 1

- Αναλυτική Στήλη: Lichrosorb C18
- Σύστημα Έκλουσης: (Α) Μεθανόλη & (Β) H₂O
- Πρόγραμμα έκλουσης: Βαθμιδωτό

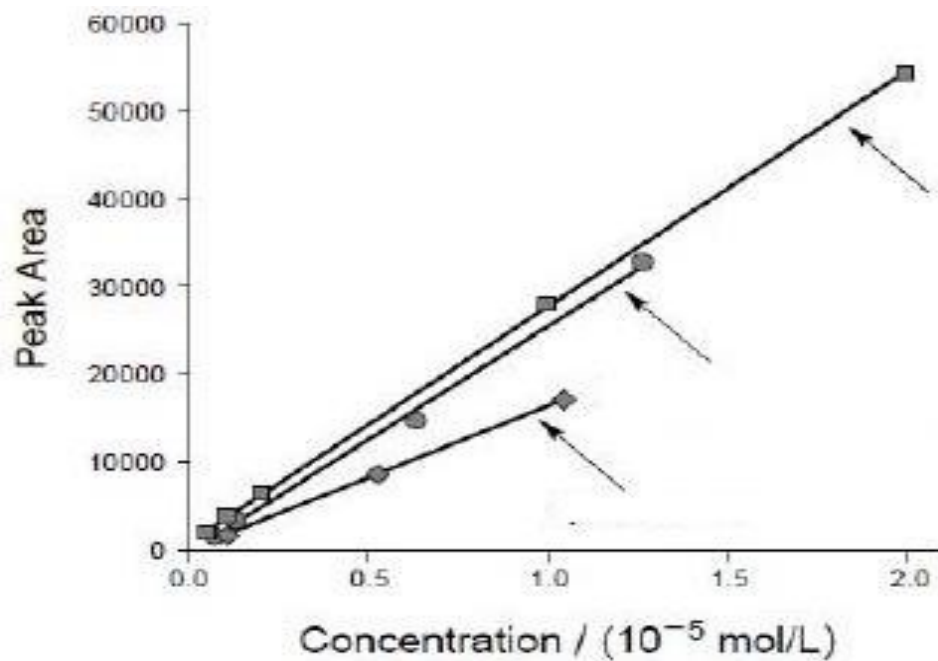
Time (min)	(Α) % Μεθανόλη	(Β) % H ₂ O
0	0	100
5	15	85
25	70	30
30	70	30
40	100	0
45	0	100
55	0	100

- Ταχύτητα ροής: 1 mL/ min
- Ανιχνευτής: 280, 320 nm



Εικόνα 16 Χρωματογράφημα καθαρών συστατικών σε ανιχνευτή RI

- 1: Γαλλικό Οξύ (4,89 min)
- 2: Τυροσόλη (5,97 min)
- 3. Κατεχίνη (7,20 min)
- 4. Ρεσβερατρόλη (9,00 min)
- 5. Κερσετίνη (10,20 min)



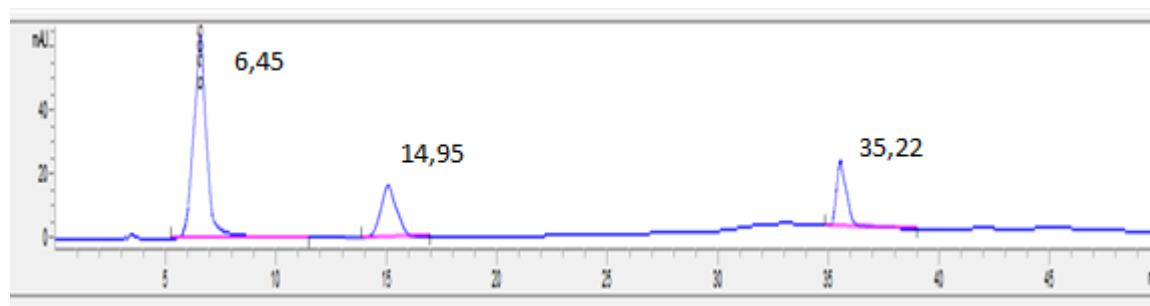
- 1: Γαλλικό Οξύ $y = 1,2x + 0,25$
2: Τυροσόλη $y = 0,1x + 0,60$
3. Κατεχίνη $y = 0,9x + 1,0$
4. Ρεσβερατρόλη $y = 0,5x + 0,3$
5. Κερσετίνη $y = 2,1x + 0,41$

- 1: 4,87 min - Area: 475
- 2: 9,05 min - Area: 75
- 3. 10,30 min - Area: 1250
- 4. 12,50 min - Area: 126
- 5. 15,75 min - Area: 96

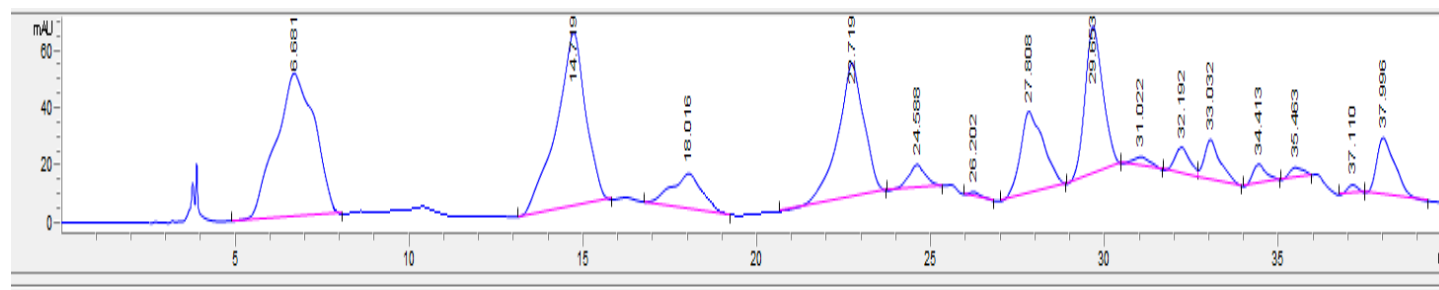
Ταυτοποίησε και ποσοτικοποίησε τις κορυφές του άγνωστου δείγματος όπου γνωρίζεις.

Εφαρμογή HPLC - Παράδειγμα 2

Πρότυπο Διάλυμα



Άγνωστο Δείγμα



Ταυτοποίησε τις κορυφές του άγνωστου δείγματος όπου γνωρίζεις.

Εφαρμογή HPLC – Παράδειγμα 3

Πριν την έναρξη της ανάλυσης προηγείται έκπλυση των καναλιών (purge)

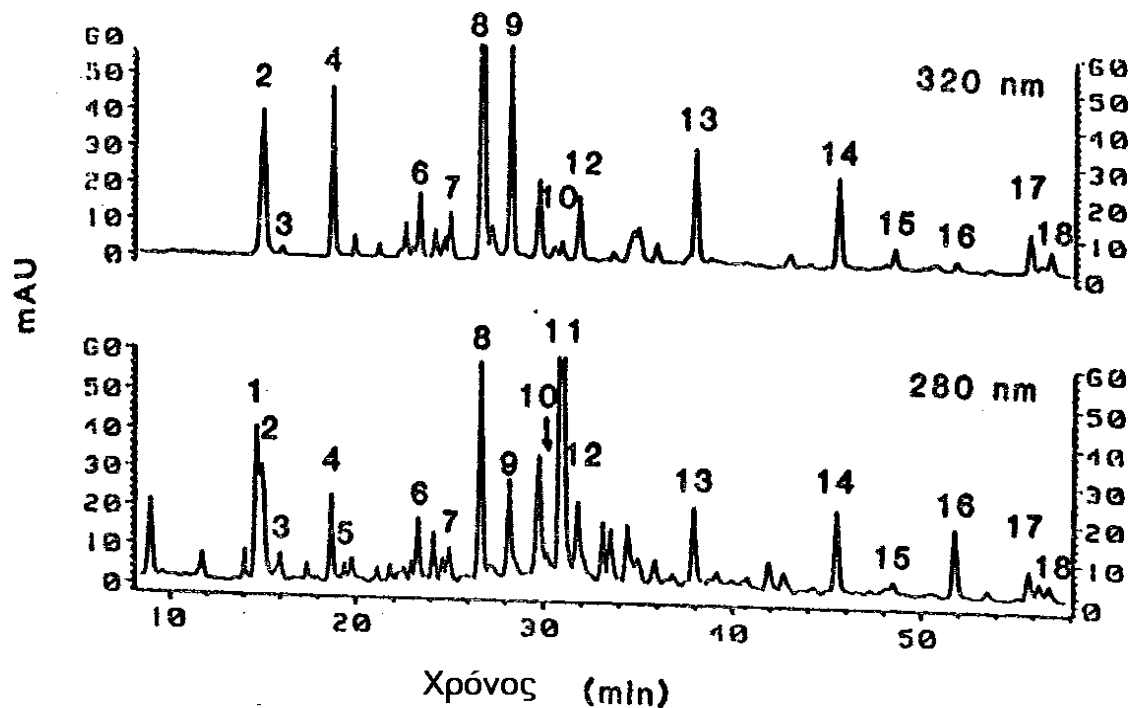
Χρόνος (min)	Διαλύτης A(%)	Διαλύτης B(%)	Ροή ml/min
0	95	5	1,0
45	85	15	1,0
60	65	35	1,0
65	50	50	1,0
70	0	100	1,0

- ✓ Η απορρόφηση των συστατικών παρακολουθείται σε τρία μήκη κύματος ταυτόχρονα (280 nm, 320 nm και 360 nm).

Χρωματογράφημα προτύπων ουσιών:

1. Γαλλικό οξύ,
2. (+) Κατεχίνη,
3. Προκυανιδίνη B2,
4. () Επικατεχίνη,
5. Γαλλικός εστέρας της επικατεχίνης
6. 3-D-γαλακτοσίδης της κερκετίνης,
7. 3-β-D- γλυκοσίδης της κερκετίνης,
8. 3-ραμνοσίδης της κερκετίνης,
9. trans-ρεσβερατρόλη,
10. Κερκετίνη,
11. Καμφερόλη.

- HPLC φαινολικών οξέων και φλαβονονών



HPLC Χρωματόγραμμα σε σταφύλια
φαινολικών οξέων και φλαβονολών
1=τυροσίνη, 2=κινναμωνικά, 3=γαλλικό, 5=
HMF, 6=κινναμωνικά, 7=cis-καφταρικό, 8=κα
φταρικό, 9=γλουταθειονύλο καφταρικό
10=cis-κουταρικό, 11=τρυπτοφάνη,

12=14=p-κουμαρικό, 13=καφεϊκό
, 15=φερουλικό, 16=υδροξυβανζο
ϊκοί εστέρες, 17=ρουτίνη,
18=γλυκοσίδης κερκετίνης.

Βάσει του χρόνου κατακράτησης (Retention time) και του φάσματος απορρόφησης των προτύπων ουσιών γίνεται ο ποιοτικός προσδιορισμός των φαινολικών ουσιών.

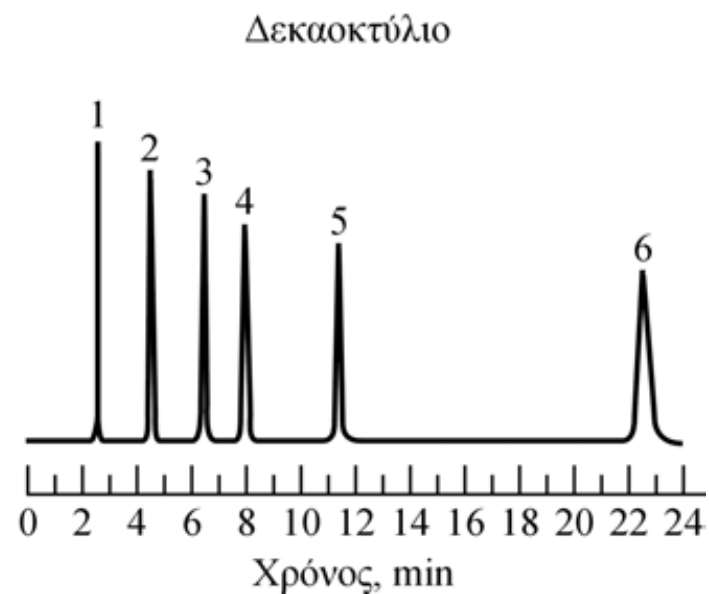
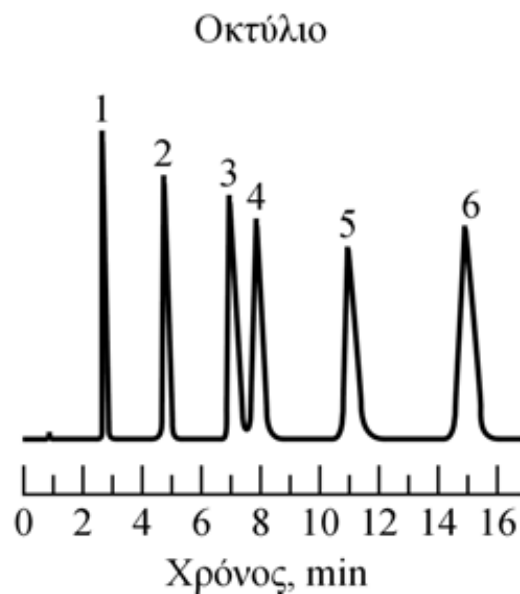
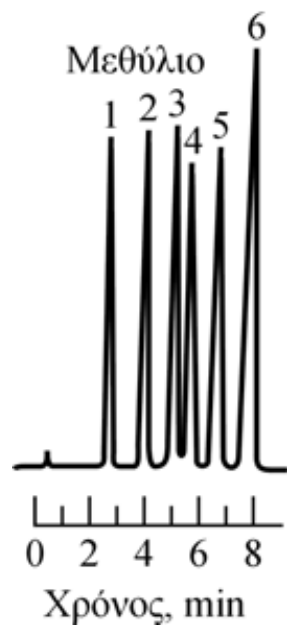
Η ανάλυση γίνεται σε τρία διαφορετικά μήκη κύματος εξ αιτίας του χαρακτηριστικού φάσματος απορρόφησης στο UV-Vis που παρουσιάζουν οι φαινολικές ουσίες, ανάλογα με τη δομή τους.

Συγκεκριμένα τα υδροξυβενζοϊκά οξέα, οι φλαβονόλες και οι προκυανιδίνες ανιχνεύονται στα 280 nm, τα στιλβένια, τα υδρόξυ κινναμωμικά οξέα και οι εστέρες τους, αναλύονται στα 320 nm, ενώ οι φλαβονόλες και οι γλυκοζίτες τους στα 360 nm.

1. Για το ποσοτικό προσδιορισμό κατασκευάστηκαν καμπύλες αναφοράς των προτύπων ουσιών για χαμηλές και για υψηλές συγκεντρώσεις, μέσω των οποίων προσδιορίζεται η συγκέντρωσή τους στα δείγματα.

Εφαρμογή HPLC - Παράδειγμα 4

Ταυτοποίηση κορυφών : 1. Ουρακίλιο 2. Φαινόλη 3. Ακετοφαινόνη
4. Νιτροβενζόλιο 5. Βενζοϊκό μεθύλιο 6. Τολουόλιο



Βιβλιογραφία

- ✓ D.A. Skoog, D.M. West, F.J. Holler, S.R. Crouch, Θεμελιώδεις Αρχές Αναλυτικής Χημείας, 8η Έκδοση, Εκδ. Κωσταράκη, 2018
- ✓ H.C. Daniel, L.A. Charles, Αναλυτική Χημεία, Εκδ. BROKEN, 2021
- ✓ Gary D. Christian, Purnendu K. Dasgupta, Kevin A. Schug, Αναλυτική Χημεία, Odysseus Publishing Ltd, 2019
- ✓ Αλυγιζάκης, Ν., (2021) Αναλυτική Χημεία, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Εθνικό και Καποδιστριακό Πανεπιστήμιο Αθηνών
- ✓ Αρβανίτη, Ο., (2018) Ενόργανη Ανάλυση Τροφίμων, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Ιόνιο Πανεπιστήμιο
- ✓ Σταλίκας Κ., (2018) Αναλυτική Χημεία ΙΙΙ, Ακαδημαϊκά Μαθήματα, Πανεπιστήμιο Ιωαννίνων