



Γεωργικά Φάρμακα II

Ενότητα 12: Έλεγχος φυτοπροστατευτικών προϊόντων:

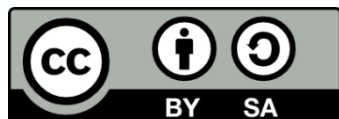
Διαχωριστικές τεχνικές:

Υγρή χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης

Άλλες μέθοδοι ανάλυσης γ.φ.

Ουρανία Μενκίσογλου-Σπυρούδη

Τμήμα Γεωπονίας



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Άδειες Χρήσης

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό υπόκειται σε άδειες χρήσης Creative Commons.
- Για εκπαιδευτικό υλικό, όπως εικόνες, που υπόκειται σε άλλου τύπου άδειας χρήσης, η άδεια χρήσης αναφέρεται ρητώς.



Χρηματοδότηση

- Το παρόν εκπαιδευτικό υλικό έχει αναπτυχθεί στα πλαίσια του εκπαιδευτικού έργου του διδάσκοντα.
- Το έργο «Ανοικτά Ακαδημαϊκά Μαθήματα στο Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης» έχει χρηματοδοτήσει μόνο τη αναδιαμόρφωση του εκπαιδευτικού υλικού.
- Το έργο υλοποιείται στο πλαίσιο του Επιχειρησιακού Προγράμματος «Εκπαίδευση και Δια Βίου Μάθηση» και συγχρηματοδοτείται από την Ευρωπαϊκή Ένωση (Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο) και από εθνικούς πόρους.





Έλεγχος φυτοπροστατευτικών προϊόντων: Διαχωριστικές τεχνικές: Υγρή χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης Άλλες μέθοδοι ανάλυσης γ.φ.



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

Περιεχόμενα ενότητας (1)

1. Αρχή χρωματογραφικού διαχωρισμού.
2. Είδη χρωματογραφίας ανάλογα με την αρχή διαχωρισμού.
3. Υγρή Χρωματογραφία / Liquid Chromatography, LC.
 - i. Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης ή Απόδοσης.
 - ii. Μηχανισμοί διαχωρισμού και είδη HPLC.
 - iii. Οργανολογία HPLC.
 - iv. Κινητή φάση – διαλύτες.
 - v. Κινητή φάση – έκλυση.



Περιεχόμενα ενότητας (2)

- vi. Κινητή φάση - αντλίες.
 - vii. Υλικά πληρώσεως στηλών HPLC.
 - viii. Ανιχνευτές στην HPLC.
 - ix. Πειραματικές παράμετροι που καθορίζουν το διαχωρισμό στην HPLC.
4. Υγρή χρωματογραφία με ανιχνευτή Φασματογράφο μάζας (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry LC/MS LC/MS-MS).
5. Υπερκρίσιμη Ρευστή Χρωματογραφία Supercritical Fluid Chromatography, SFC.



Περιεχόμενα ενότητας (3)

6. Ανοσοχημικές / Ανοσοαναλυτικές μέθοδοι, Immunoassays.
7. Ανοσοενζυμικές μέθοδοι *Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay*, ELISA.



Αρχή χρωματογραφικού διαχωρισμού

Διαφορετική ταχύτητα μετακίνησης των συστατικών ενός μίγματος καθώς κινούνται πάνω σε μία στατική φάση υπό την επίδραση μιάς κινητής φάσης.

- Διαφορετική ταχύτητα μετακίνησης εξαιτίας διαφορετικού συντελεστή κατανομής του κάθε συστατικού μεταξύ των δύο φάσεων.

- Η κατανομή καθορίζεται από:

διαλυτότητα

πτητικότητα

προσρόφηση

ιοανταλλαγή

μέγεθος & σχήμα μορίων



Είδη χρωματογραφίας ανάλογα με την αρχή διαχωρισμού (1)

➤ Χρωματογραφία προσροφήσεως:

Προσρόφηση των ουσιών στην επιφάνεια των σωματιδίων της στατικής φάσεως.

Στατική φάση: στερεό, προσροφητικό υλικό.

Κινητή φάση: υγρό ή αέριο.

➤ Χρωματογραφία κατανομής:

Κάθε συστατικό κατανέμεται και βρίσκεται σε ισορροπία μεταξύ υγρής στατικής φάσεως και υγρής ή αερίου κινητής φάσεως.

Στατική φάση: υγρό με τη μορφή υμενίου σε στερεό υπόστρωμα.

Κινητή φάση: υγρό ή αέριο.



Είδη χρωματογραφίας ανάλογα με την αρχή διαχωρισμού (2)

➤ Χρωματογραφία διάχυσης πηκτής ή μοριακών ηθμών:

Διαχωρισμός των ουσιών με βάση το μέγεθος των μορίων. Μικρά μόρια περνούν μέσα από τους πόρους της πηκτής, μεγάλα μόρια όχι και εκλύονται πρώτα.

Στατική φάση: πορώδης πηκτή.

Κινητή φάση: υγρό ή αέριο.

➤ Χρωματογραφία συγγενείας:

Εξειδικευμένη αλληλεπίδραση ενός μορίου γ.φ. με ένα άλλο, π.χ. αντίσωμα, ακινητοποιημένο στη στατική φάση.



Είδη χρωματογραφίας ανάλογα με την αρχή διαχωρισμού (3)

➤ Χρωματογραφία ιονταλλαγής:

Φορτισμένα ιόντα του δείγματος συγκρατούνται στην αντίθετα φορτισμένη στατική φάση με ομοιοπολικούς δεσμούς.

Στατική φάση: ιοντοανταλλακτική ρητίνη.

Κινητή φάση: υγρό.



Ανάλυση φυτοπροστατευτικών ουσιών

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης,
High Pressure Liquid Chromatography, HPLC.

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Απόδοσης,
High Performance Liquid Chromatography, HPLC.

Ευαίσθητη, ποιοτική και ποσοτική αναλυτική τεχνική κατάλληλη για αναλύσεις **φυτοπροστατευτικών ουσιών.**

Υγρή Χρωματογραφία / *Liquid Chromatography, LC*



Υγρή Χρωματογραφία / Liquid Chromatography, LC

Πρώτη χρωματογραφική μέθοδος που αναπτύχθηκε.

Δυνατότητα εφαρμογής για όλες τις ενώσεις.

Ανάπτυξη αντλιών υψηλής πίεσης και αντοχής:

- Ανθεκτικών μεταλλικών στηλών.
- Κατάλληλων ανιχνευτών και επεξεργαστών.

Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης,
High Pressure Liquid Chromatography, HPLC



Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης ή Απόδοσης (1)

High Performance Liquid Chromatography,
High Pressure Liquid Chromatography, HPLC
(Liquid Chromatography, LC).

Αρχή: Διαφορετική κατανομή κάθε συστατικού του δείγματος μεταξύ στατικής & κινούμενης φάσεως.

Στατική φάση: Προσροφητικά υλικά, παράγωγα πυριτίου, (*silica gel*, ή δεσμευμένο *silica gel*).

Κινητή φάση: Διαλύτες- μίγματα διαφορετικής πολικότητας.

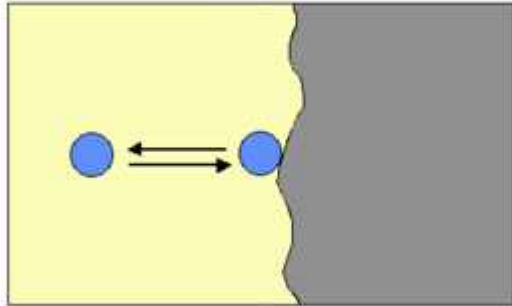


Υγρή Χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης ή Απόδοσης (2)

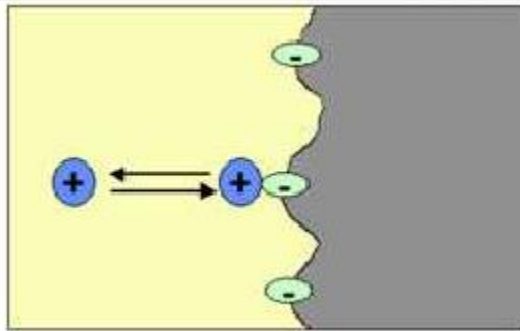
- Ανιχνευτές:**
- ◆ **Φασματοφωτόμετρο UV σταθερού (245 nm) ή μεταβλητού μήκους κύματος (200-850 nm) ανίχνευση $-C=C-$, $-C=O$, $-N=$, $-N=N-$**
 - **Παράταξης φωτοδιόδων (Photodiode Array).**
 - **Φθορισμόμετρο: Εκλεκτικός και ευαίσθητος.**
 - **Φασματογράφος μάζας, φάσμα μάζας, δομή.**



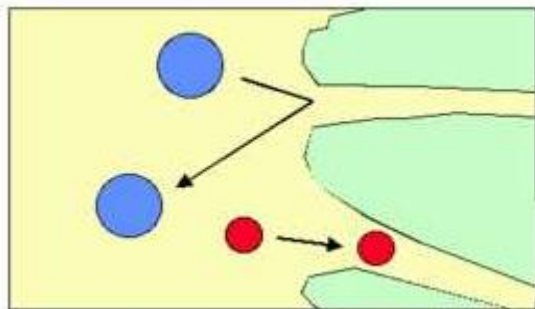
Μηχανισμοί διαχωρισμού και είδη ΗΡΛC (1)



Προσρόφηση.



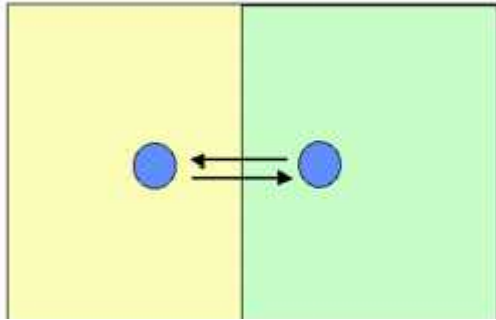
Ιοντοανταλλαγή.



Αποκλεισμός μεγέθους ή
διάχυση πηκτής.



Μηχανισμοί διαχωρισμού και είδη HPLC (2)



Κατανομή.

Χρωματογραφία κατανομής:

Συστατικά με μεγαλύτερη διαλυτότητα στη στατική φάση κατανέμονται και συγκρατούνται περισσότερο σε σχέση με την κινουμένη, διαχωρισμός λόγω διαφοράς στην κατανομή (διαλυτότητα).

- ☞ *Χρωματογραφία κανονικής φάσης.*
- ☞ *Χρωματογραφία ανάστροφης φάσης.*



Υλικά πληρώσεως στηλών HPLC

Υλικά για Στατική φάση: Προσροφητικά υλικά, αλουμίνα, παράγωγα πυριτίου, (πηκτή διοξειδίου του πυριτίου- *silica gel*, ή δεσμευμένο *silica gel*).

Χρωματογραφία κανονικής φάσης
(πολικά γ.φ. συγκρατούνται στη στατική φάση).

Χρωματογραφία ανάστροφης φάσης
(μη πολικά γ.φ. συγκρατούνται στη στατική φάση).



Στήλη HPLC



HPLC (1)

Μηχανισμός διαχωρισμού:

- Αλληλεπίδραση των μορίων των συστατικών του δείγματος με τις πολικές ομάδες των $-Si-OH$ που βρίσκονται στην επιφάνεια του silicagel.

👉 Χρωματογραφία κανονικής φάσης.

👉 Χρωματογραφία ανάστροφης φάσης.

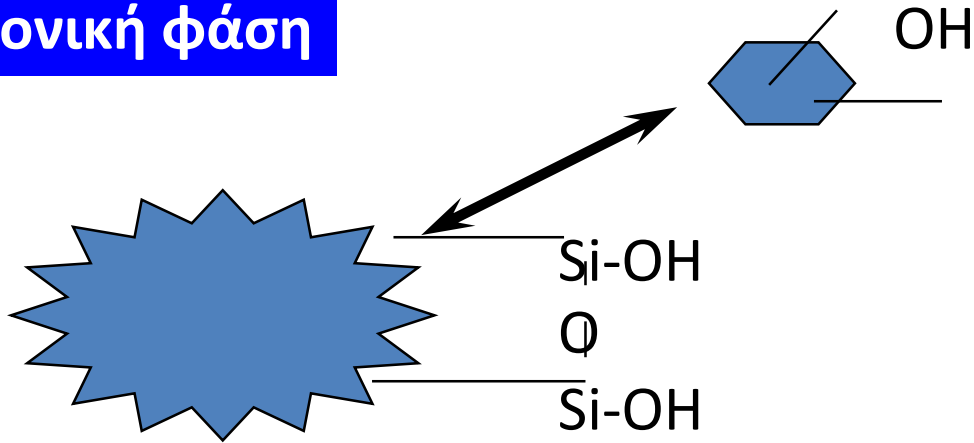


Στήλη HPLC



HPLC (2)

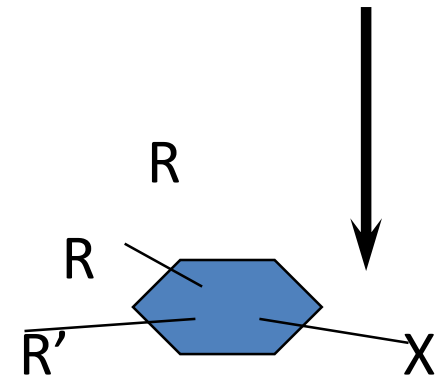
Κανονική φάση



**Άπολοι διαλύτες
π.χ. εξάνιο**

Πολική επιφάνεια

Πολικά μόρια συγκρατούνται.



Μη πολικά μόρια

Εκλούνται πρώτα.



HPLC (3)

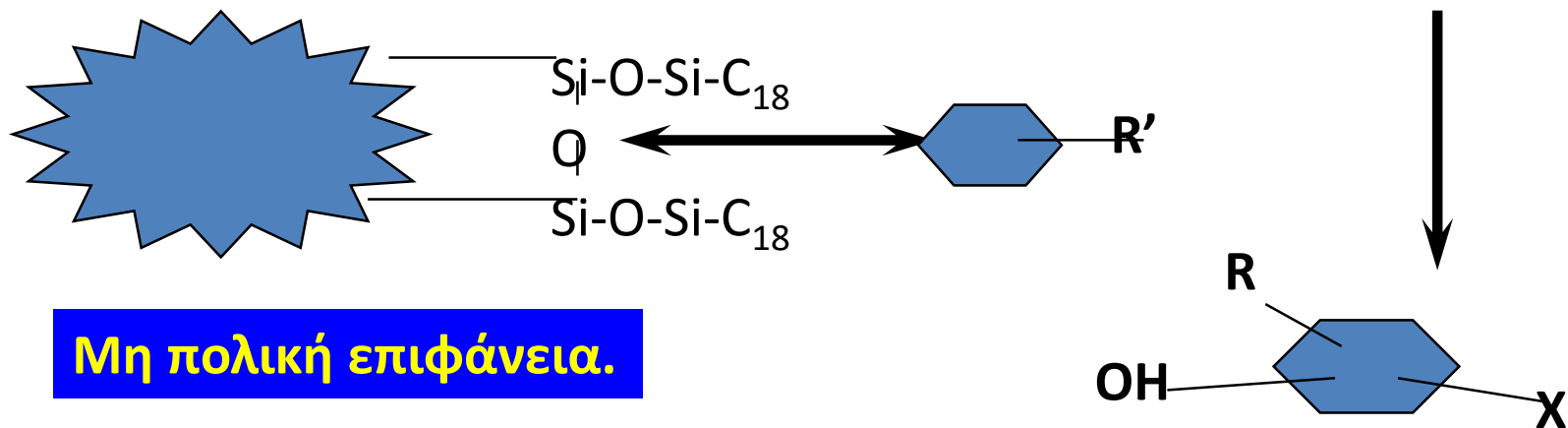
Χρωματογραφία ανάστροφης φάσης.

Δέσμευση διαφόρων ομάδων στην επιφάνεια του silica gel και μείωση της πολικότητας. Διαλύτες περισσότερο πολικοί (μεθανόλη, CH_3CN , H_2O)

Μη πολικά μόρια συγκρατούνται.

Πολικά μόρια εκλύονται πρώτα.

Πολικοί διαλύτες
π.χ. CH_3CN / H_2O

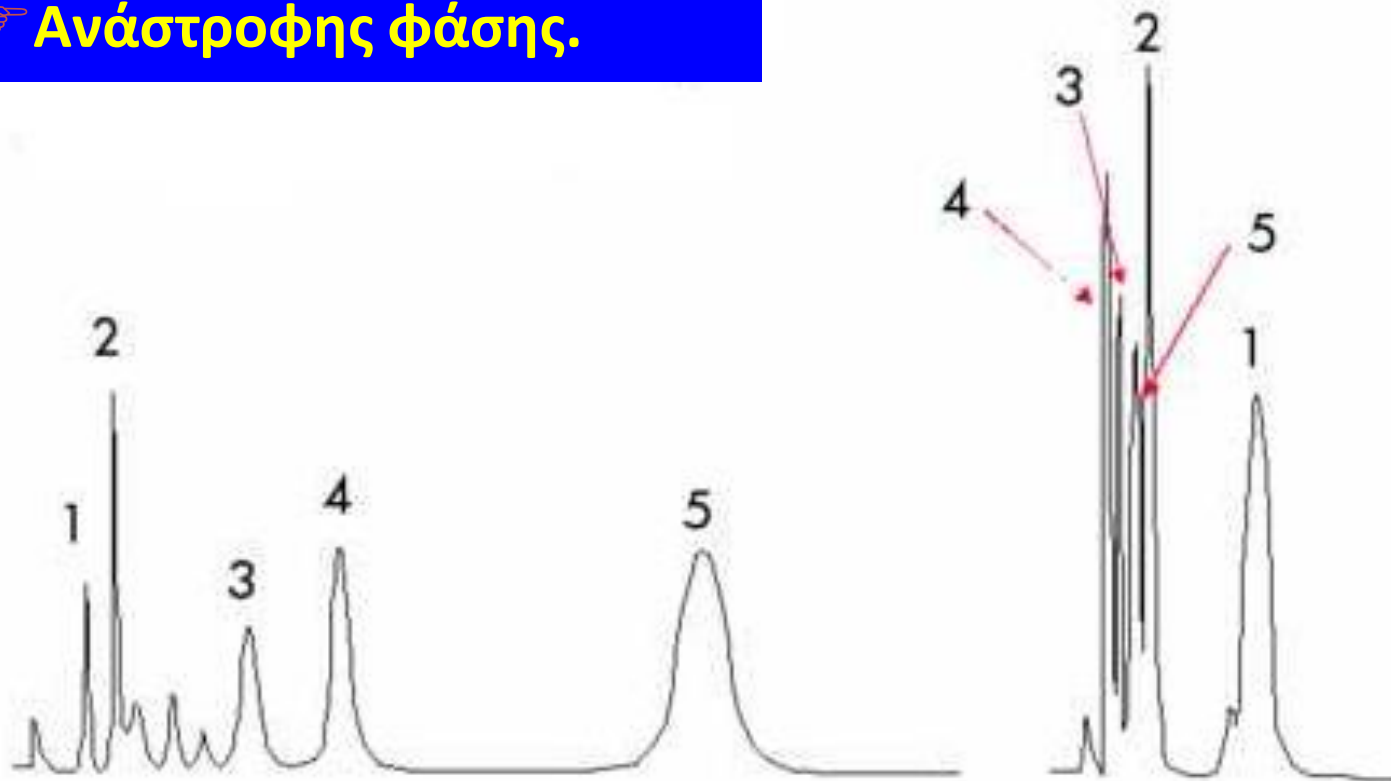


Χρωματογραφία κατανομής

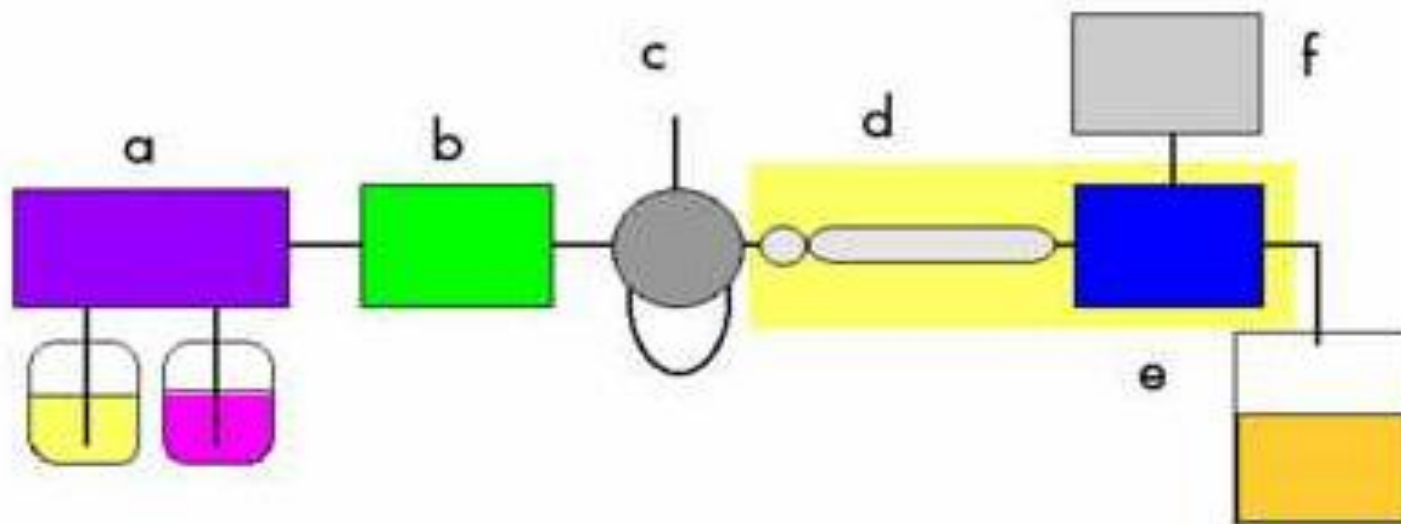
Χρωματογραφία κατανομής:

☞ Κανονικής φάσης.

☞ Ανάστροφης φάσης.



Οργανολογία ΗPLC (1)



α. σύστημα ανάμιξης διαλυτών

β. αντλία

γ. εισαγωγή δείγματος

δ. στήλη/ προστήλη

ε. ανιχνευτής

**φ. Η/Υ (καταγραφικό/
επεξεργαστής δεδομένων)**



Οργανολογία ΗPLC (2)



Οργανολογία ΗPLC (3)



Επιλογή μεθόδου

Χρωματογραφία κατανομής:

☞ Κανονικής φάσης.

☞ Ανάστροφης φάσης.

Δείγματα μη πολικά, αδιάλυτα στο νερό:

Κανονική φάση.

Δείγματα διαλυτά ή αδιάλυτα στο νερό, αλλά πολικά:

Ανάστροφη φάση.



Κινητή φάση - διαλύτες

Διαλύτες- μίγματα διαλυτών διαφορετικής πολικότητας

 Χρωματογραφία ανάστροφης φάσης:

Μίγματα οργανικών διαλυτών με νερό ή ρυθμιστικό διάλυμα.

 Κανονικής φάσης:

Μίγματα μη πολικών διαλυτών.

Οι διαλύτες πρέπει:

- Υψηλή καθαρότητα.
- Συμβατότητα με το δείγμα.
- Οικονομικός.

**μεθανόλη,
ακετονιτρίλιο**



Κινητή φάση - διαλύτες - Επιλογή

Η πλέον σημαντική παράμετρος για το διαχωρισμό.

- **Πολικότητα (P)** διαλύτη σε συνδυασμό με την πολικότητα των γεωργικών φαρμάκων καθορίζει το χρόνο συγκράτησης τους.

Πολικοί διαλύτες εκκλύουν γρήγορα πολικά γ.φ.

- **Ελουοτροπική ισχύς ϵ°** : σχετίζεται με την πολικότητα και καθορίζεται από τη στατική φάση που χρησιμοποιείται.

π.χ. H_2O >> πολικότητα, << ϵ° αντίστροφης φάσης

>> ϵ° κανονικής φάσης

πεντάνιο << πολικότητα, >> ϵ° αντίστροφης φάσης

<< ϵ° κανονικής φάσης



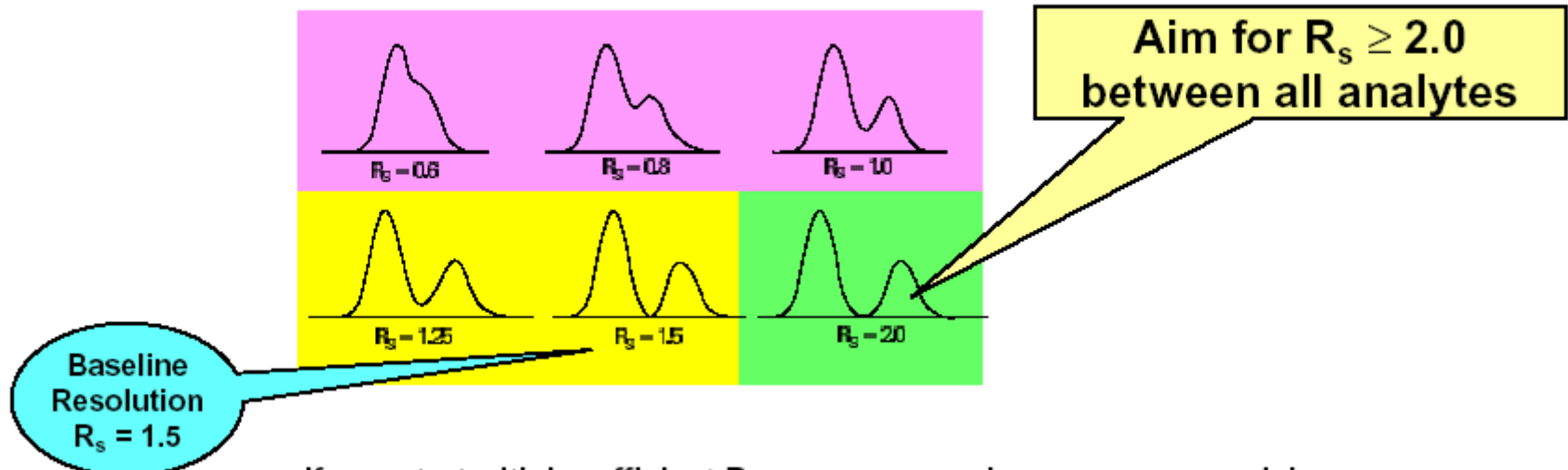
Ελουοτροπική ιςχύς (ϵ°) και πολικότητα (P) διαλυτών

Διαλύτης	ϵ°	P	viscosity	RI	UV cutoff
n-pentane	0.00	~0.0	0.23	1.36	210
CCl ₄	0.18	1.6	0.97	1.47	265
toluene	0.29	2.4	0.59	1.50	285
ethyl ether	0.38	2.8	0.32	1.35	220
THF	0.45	4.0		1.41	220
MEK	0.51	4.7		1.38	330
acetonitrile	0.65	5.8	0.37	1.34	210
methanol	0.95	5.1	0.60	1.33	210

ϵ° σε αλουμίνα



Διαχωριστική ικανότητα



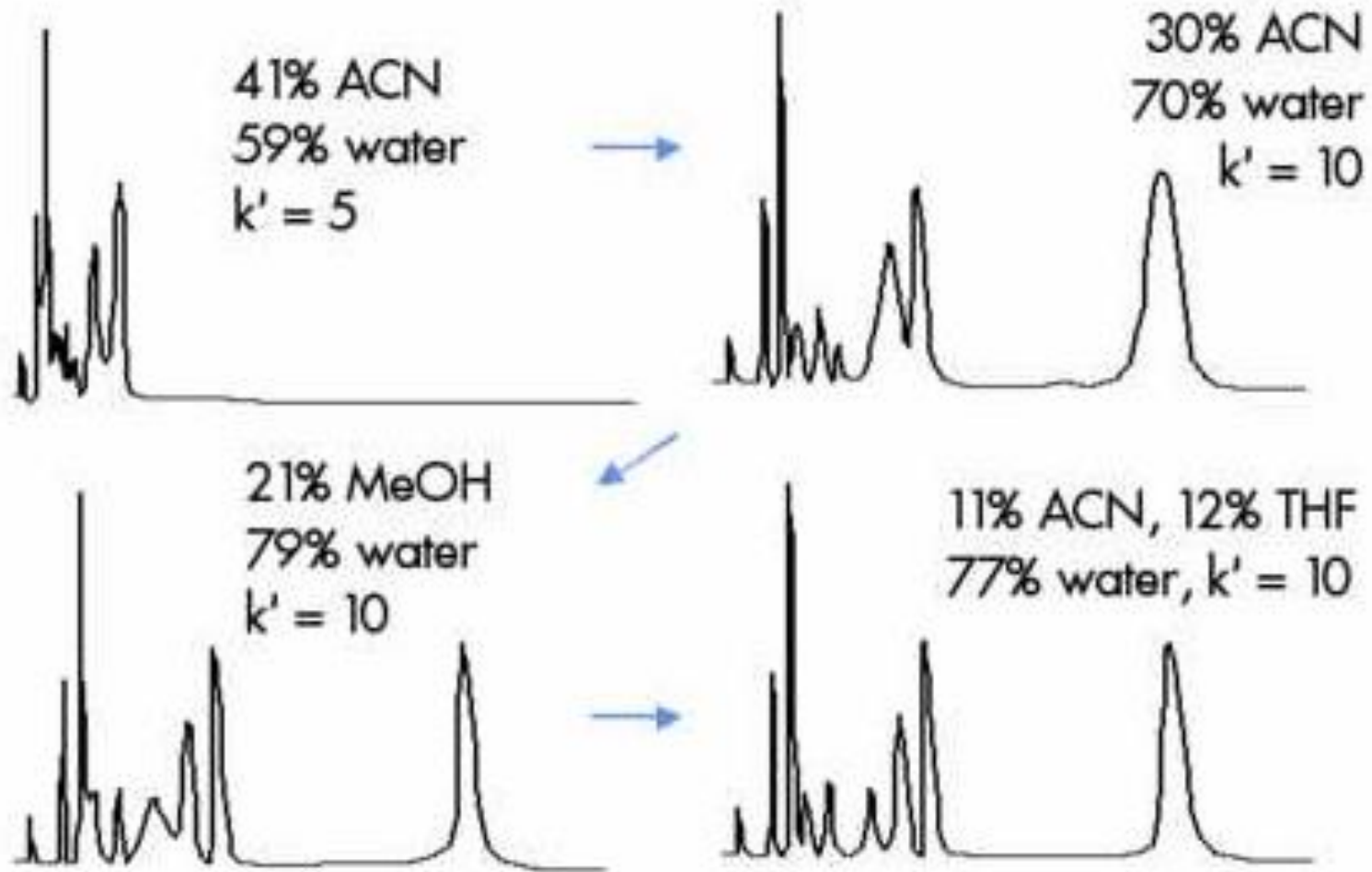
Κινητή φάση - έκλυση

Ισοκρατική έκλυση: σταθερή σύσταση κινητής φάσης.

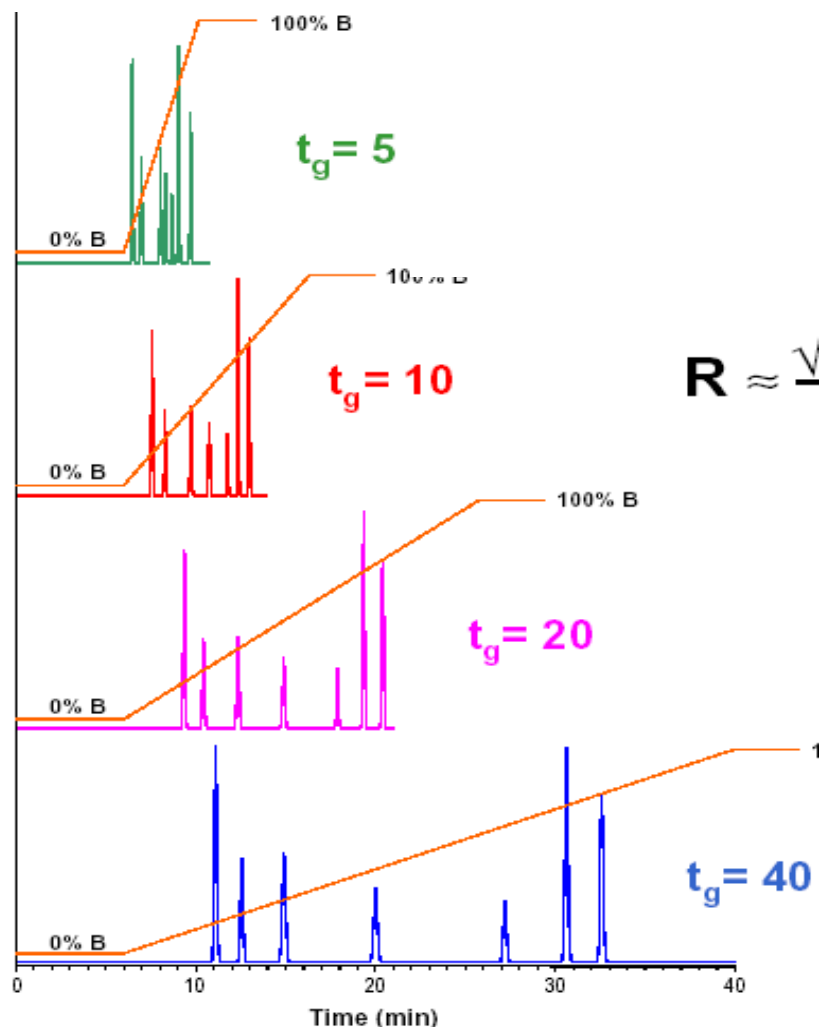
Βαθμωτή έκλυση: μεταβολή σύστασης κινητής φάσης με το χρόνο, διαχωρισμός μιγμάτων παρόμοιας δομής και ιδιοτήτων.



Διαφοροποίηση στο βαθμό έκλουσης με αλλαγή μίγματος διαλυτών



Επίδραση της βαθμωτής έκλουσης στο διαχωρισμό των συστατικών δείγματος



Κινητή φάση - αντλίες

Αντλίες σταθερής ροής

- Παλινδρόμησης.
- Τύπου σύριγγας.
- Διαφράγματος.

Αντλίες σταθερής πίεσης.

Αντλίες ισοκρατικής έκλυσης βαθμωτής έκλυσης.



**Ταχύτητες ροής 0.05-5ml/min
πιέσεις 5-40 MPa**

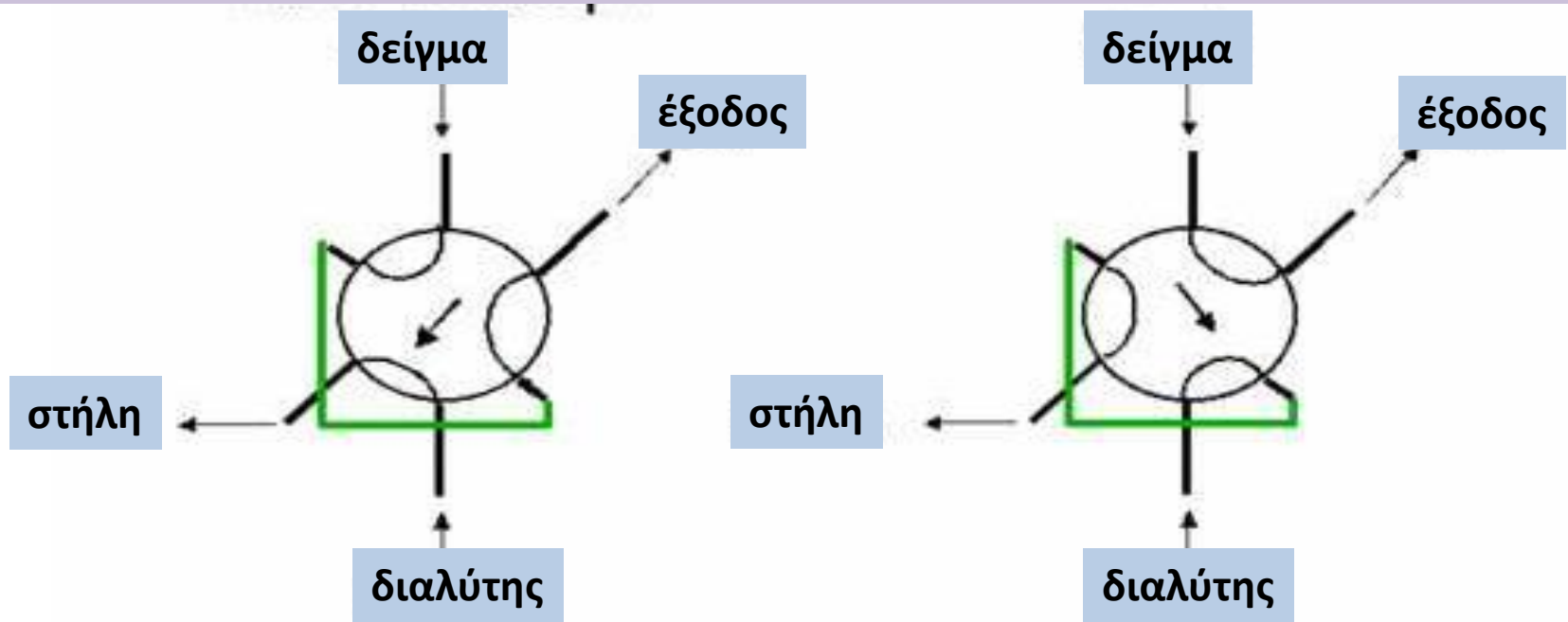


Εισαγωγή δείγματος (1)

Βαλβίδα εισαγωγής δείγματος.

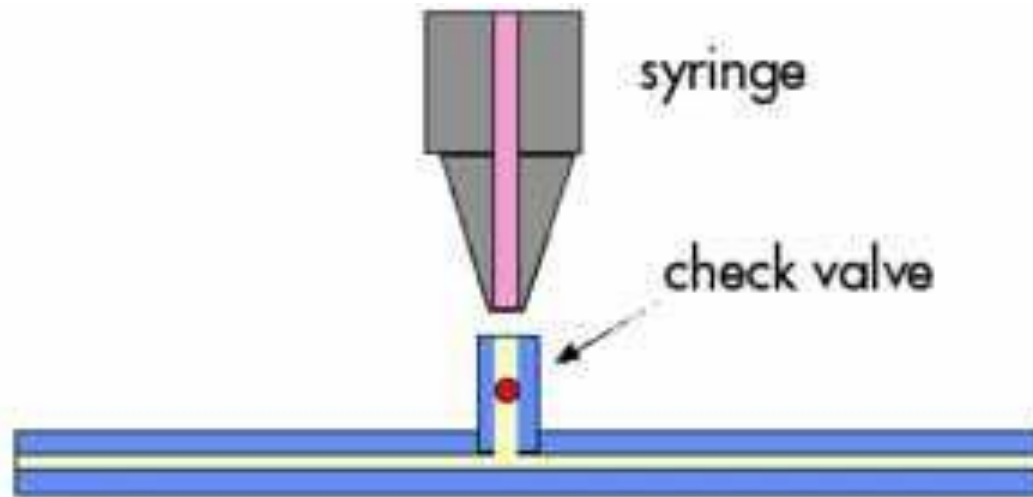
Όγκος δείγματος 10-25 μl – αναλυτική χρωματογραφία.

>200 μl – παρασκευαστική χρωματογραφία.



Εισαγωγή δείγματος (2)

Αυτόματες σύριγγες



Εισαγωγή δείγματος (3)

Αυτόματος δειγματολήπτης



Εισαγωγή δείγματος (4)

Με μικροσύριγγα.

Δυσκολίες εφαρμογής.



Στήλες στην HPLC (1)

Αναλυτικές στήλες



- Μεταλλικές 10-25 cm x 2-5 mm.
- Υλικό πληρώσεως: 3 - 5 μm ,
παράγωγα SiO_2 (silica gel)

Προστήλες

- Μεταλλικές 0.5-3 cm x 2-5 mm.



Στήλες στην HPLC (2)



Η διαχωριστική ικανότητα της στήλης εξαρτάται από:

- Διάμετρο κόκκων.
- Μήκος & διάμετρος στήλης.
- Ταχύτητα ροής εκλουστικού.



**Σε θερμοκρασία περιβάλλοντος ή θερμοστατούμενη
Μικρή επίδραση**



Υλικά πληρώσεως στηλών HPLC

Στατική φάση: Προσροφητικά υλικά, αλουμίνα, παράγωγα πυριτίου, (πηκτή διοξειδίου του πυριτίου- *silica gel*, ή δεσμευμένο *silica gel*).

Υλικά για: Χρωματογραφία κανονικής φάσης
(πολικά γ.φ. συγκρατούνται στη στατική φάση).
Χρωματογραφία ανάστροφης φάσης
(μη πολικά γ.φ. συγκρατούνται στη στατική φάση).



Ανιχνευτές στην HPLC

♦ **Φασματοφωτόμετρο UV/Vis σταθερού (254 nm) ή μεταβλητού μήκους κύματος(200-850 nm).**

ανίχνευση -C=C-, -C=O, -N=, -N=N-

♦ **Παράταξης φωτοδιόδων (Photodiode Array).**

♦ **Φθορισμόμετρο: Εκλεκτικός και ευαίσθητος.**

♦ **Φασματογράφος μάζας, φάσμα μάζης, δομή.**

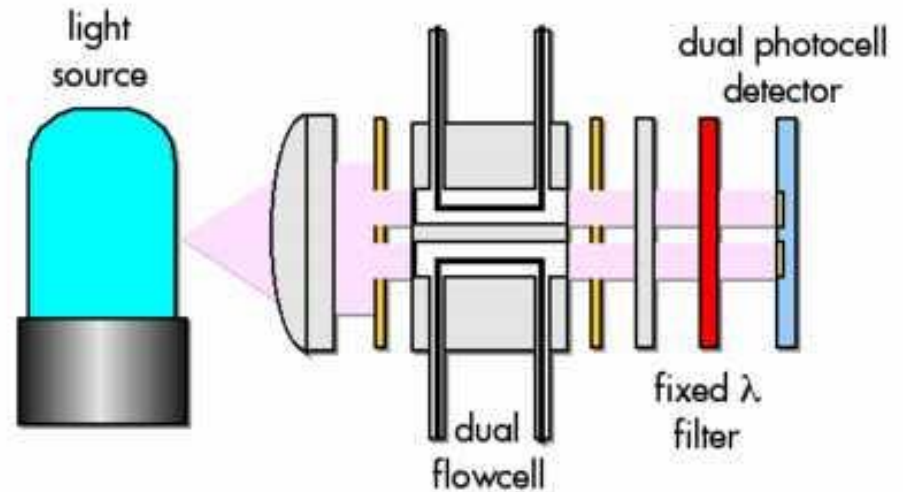


Φασματοφωτόμετρο UV σταθερού (254 nm)

Ανίχνευση $-C=C-$, $-C=O$, $-N=$, $-N=N-$

Χρόνος συγκρατήσεως

UV/Vis detector - filter type



If the filter is replaced by a monochromator, you end up with a variable wavelength UV/Vis system

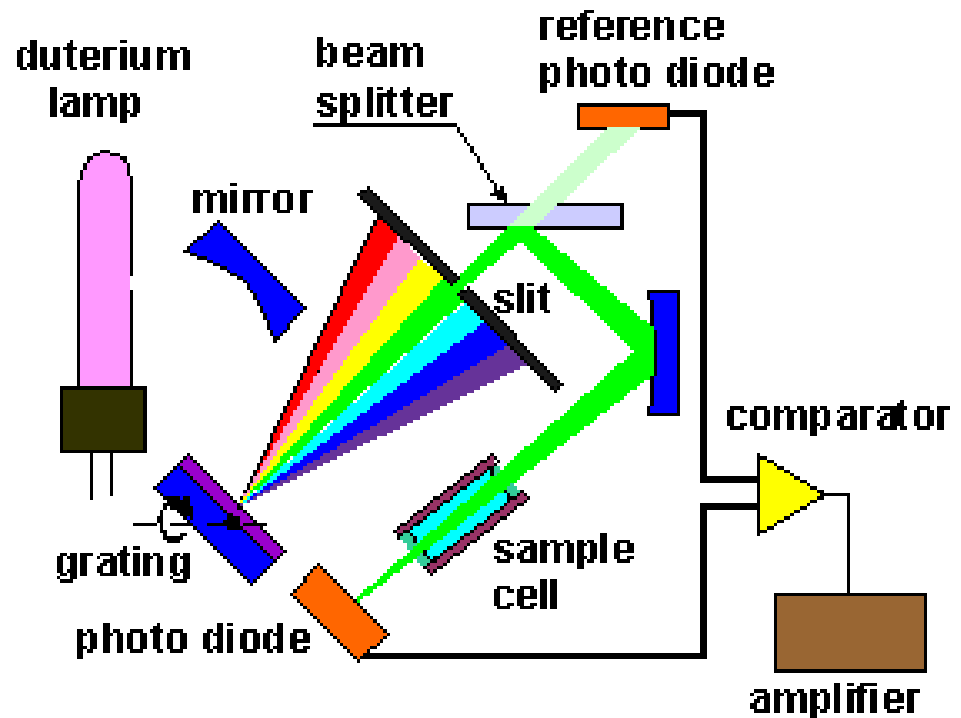


Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους/ορατού (UV/Vis) μεταβλητού μήκους κύματος (200-850 nm)

Ανίχνευση $-C=C-$, $-C=O$, $-N=$, $-N=N-$

Χρωμοφόρες ομάδες – Νόμος Beer

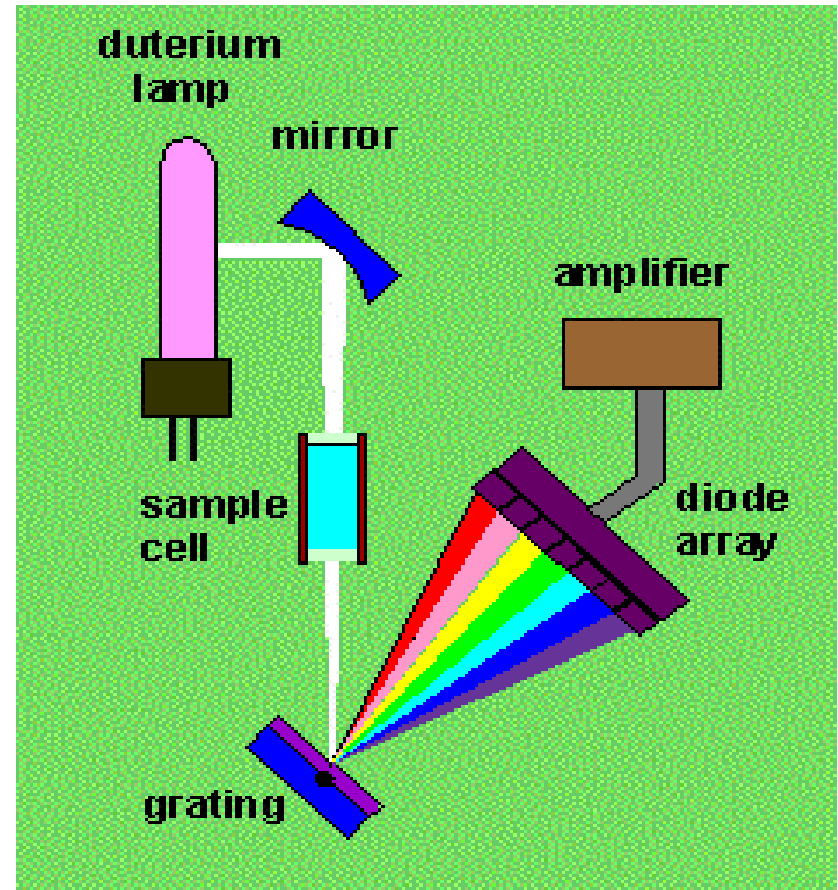
Χρόνος συγκρατήσεως



Παράταξης φωτοδιόδων (Photodiode Array)

Ολικό φάσμα-ποσοτική εκτίμηση σε διάφορα μήκη κύματος.

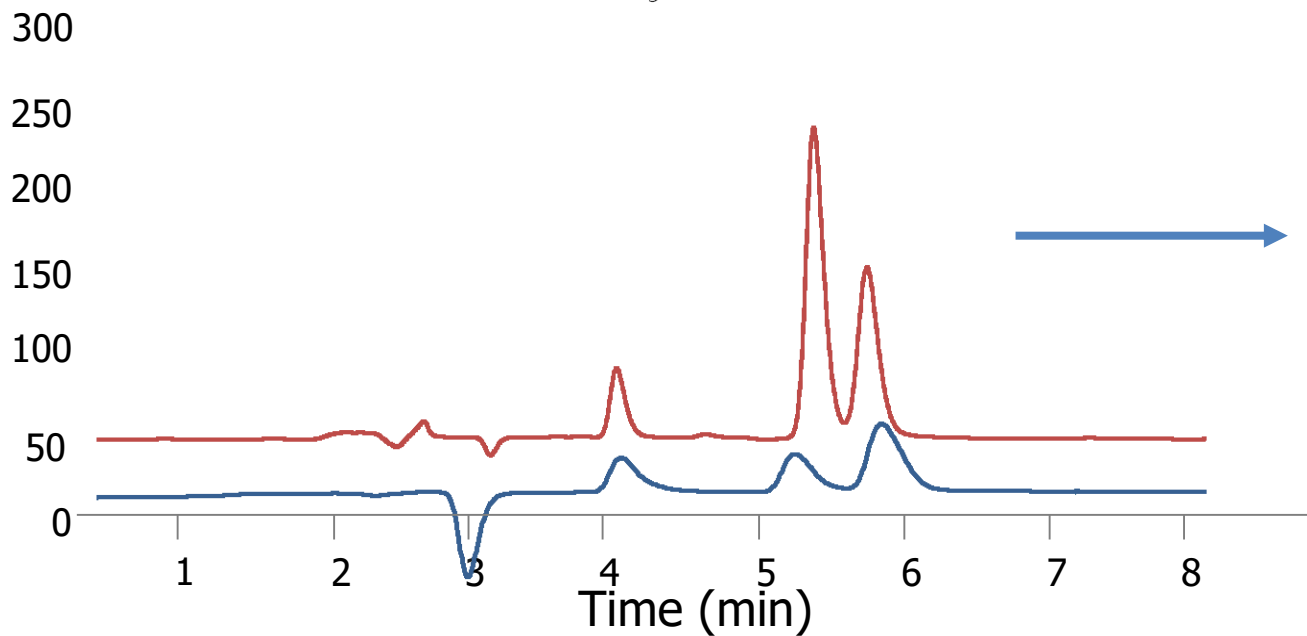
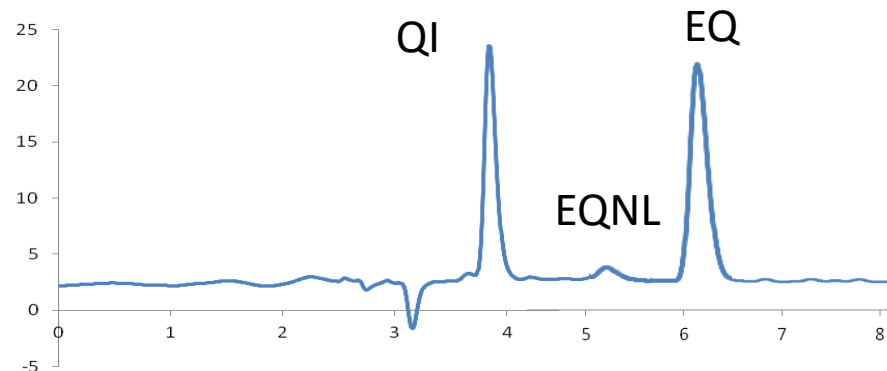
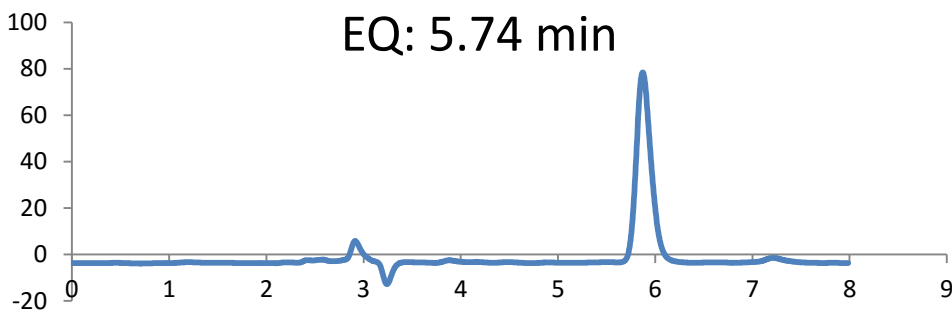
*Χρόνος συγκρατήσεως
Φάσμα*



Αποτελέσματα πληροφορίες παίρνουμε?

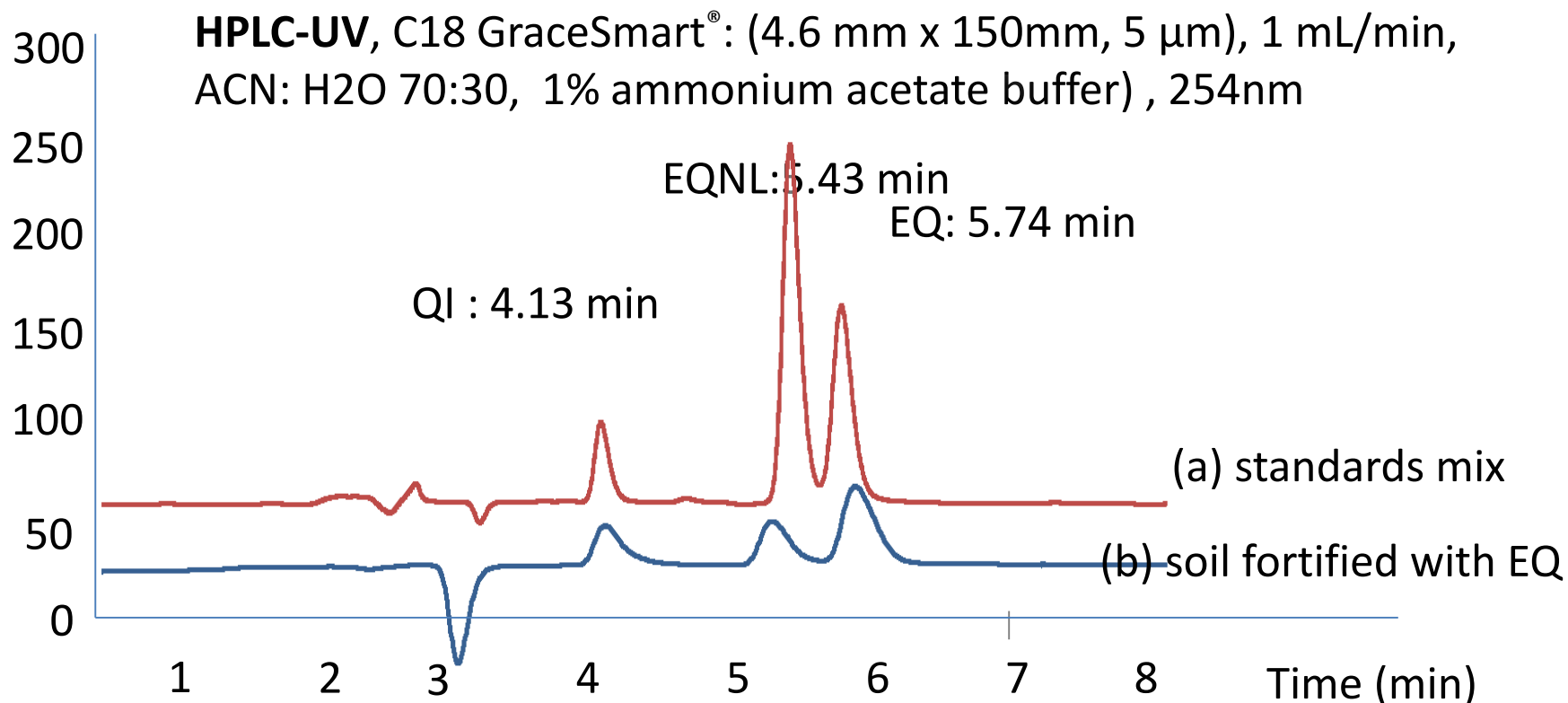
Παράδειγμα: προσδιορισμός ethoxyquin και παραγώγων του στο έδαφος

Only EQ peak was detected



Αποτελέσματα πληροφορίες παίρνουμε?

Παράδειγμα



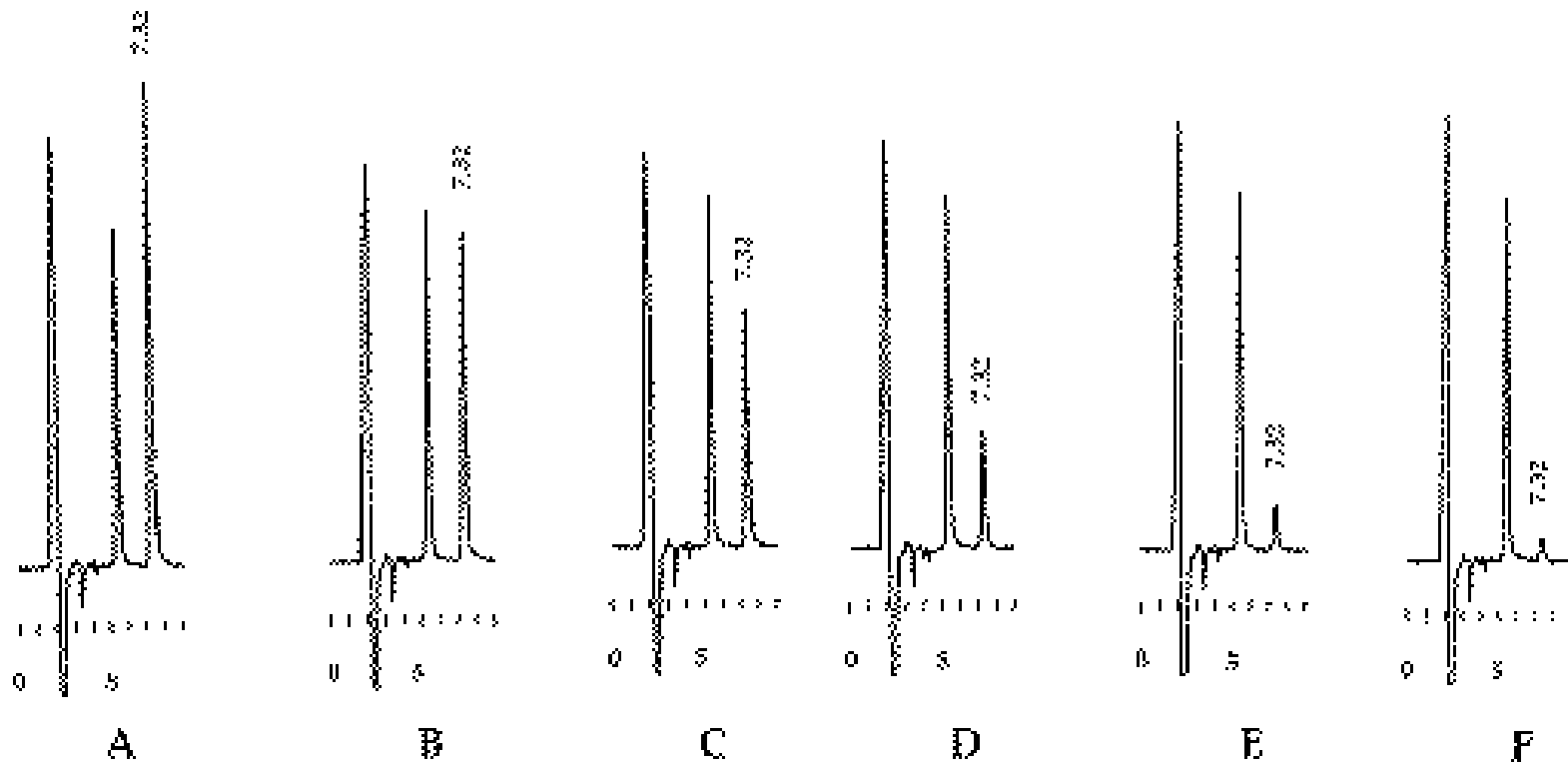
HPLC chromatogram of (a) ethoxyquin and its oxidation derivatives quinone imine and 2,4dimethyl-6-ethoxyquinoline standards mix (red line) and (b) extract of soil fortified with ethoxyquin (blue line):

The formation of ethoxyquin oxidation derivatives in soil is evident.



Αποτελέσματα πληροφορίες παίρνουμε?

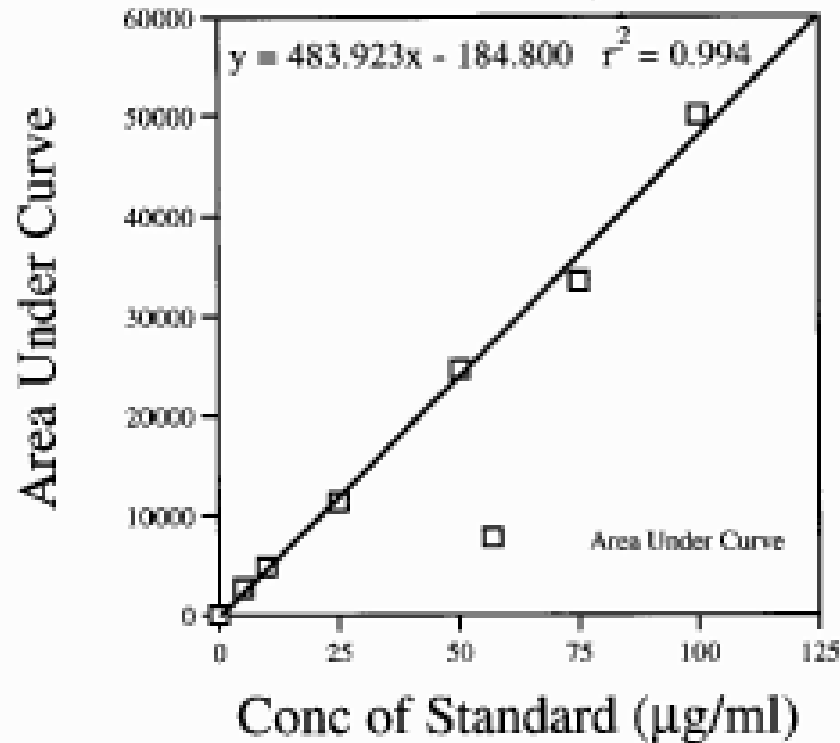
Παράδειγμα: ποσοτικός προσδιορισμός *imidacloprid* (1)



Χρωματογραφήματα προτύπων διαλυμάτων *imidacloprid* 5, 10, 25, 50, 75, 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$

Αποτελέσματα πληροφορίες παίρνουμε?

Παράδειγμα: ποσοτικός προσδιορισμός *imidacloprid* (2)



Πρότυπη καμπύλη *imidacloprid* με HPLC



Πειραματικές παράμετροι που καθορίζουν το διαχωρισμό στην HPLC

- στήλη
 - τύπος
- όργανο
 - θερμοκρασία στήλης
 - ανιχνευτής
- δείγμα
 - όγκος έγχυσης
 - διαλύτης
- κινητή φάση
 - ρυθμιστικό διάλυμα
pH buffer
 - συγκέντρωση
 - ιονική ισχύς
 - % οργανικός διαλύτης
- βαθμωτή έκλυση
- ανάμειξη διαλυτών*
 - ταχύτητα ανάμειξης



Εφαρμογές HPLC στην ανάλυση φυτοπροστατευτικών ουσιών

Διαχωρισμός & ποσοτικός προσδιορισμός φ.ο.

μη πτητικών

θερμικά ασταθών

φαίνοξυ-αλκανοϊκά, μεταβολίτες τριαζινών

καρβαμιδικά

Εμπλουτισμός (προσυμπύκνωση) δείγματος μεγάλου όγκου με ίχνη φ.ο. (π.χ. Νερά).

Δεν απαιτεί επίπονα στάδια προκατεργασίας/καθαρισμού.

Δεν καταστρέφεται η φ.ο. που αναλύεται (παρασκευαστική).

Κατάλληλη για αυτόματα συστήματα ανάλυσης σε σειρά.

Εύκολη, γρήγορη, εφαρμόσιμη για πολλές φ.ο.



Υγρή χρωματογραφία με ανιχνευτή Φασματογράφο μάζας (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry LC/MS LC/MS-MS)

Σήμερα η Υγρή χρωματογραφία με ανιχνευτή Φασματογράφο μάζας (Liquid Chromatography/Mass Spectrometry LC/MS LC/MS-MS) η πιο κατάλληλη τεχνική για την ανάλυση γ.φ.

Φασματογράφος μάζας (Mass spectrometers)

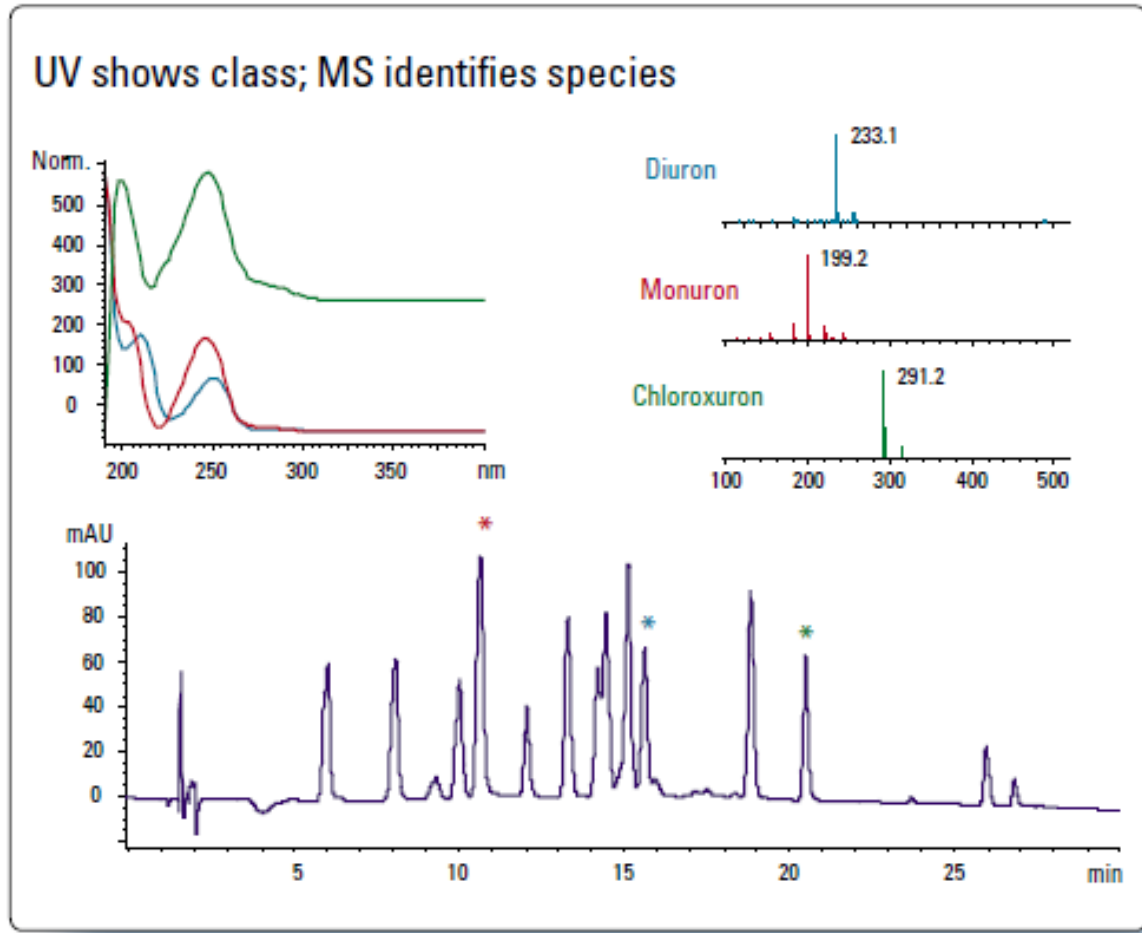
Δίνει το φάσμα μάζας (mass spectral data) του γ.φ. που αναλύεται που παρέχει πληροφορίες για:

- Το μοριακό βάρος (molecular weight).
- Τη δομή (structure).
- Την ταυτότητα (identity).
- Την ποσότητα (quantity).
- Την καθαρότητα (purity) του δείγματος.
 - Το φάσμα μάζας προσδίδει εξειδίκευση στην αναλυτική μέθοδο
 - Αυξάνει τη βεβαιότητα των ποιοτικών και ποσοτικών αποτελεσμάτων.



Γιατί η Liquid Chromatography/Mass Spectrometry πιο κατάλληλη τεχνική για την ανάλυση γ.φ.?

Ανάλυση ζιζανιοκτόνων
φαινυλουρίας με
HPLC/UV & LC/MS



Υπερκρίσιμη Ρευστή Χρωματογραφία

Supercritical Fluid Chromatography, SFC (1)

Αρχή: σύστημα ανάλογο του GC και του HPLC
διαχωρισμός σε χαμηλές θερμοκρασίες μη
πτητικών μορίων (πλεονέκτημα από GC),
αποτελεσματικότερα σε μικρότερο χρόνο (HPLC).

Κατάλληλη για προκατεργασία δειγμάτων –
παραλαβή συστατικών.



Υπερκρίσιμη Ρευστή Χρωματογραφία

Supercritical Fluid Chromatography, SFC (2)

Στατική φάση: Προσροφητικά υλικά, παράγωγα πυριτίου, ανάστροφης φάσεως (HPLC), στήλες πληρώσεως, ή τριχοειδείς (GC).

Κινητή φάση: Αέριο, στο υπερκρίσιμο σημείο του, έχει ιδιότητες μεταξύ υγρού και αερίου: CO_2 , προσθήκη διαλύτη (μεθανόλη), ρύθμιση πολικότητας.



Υπερκρίσιμη Ρευστή Χρωματογραφία

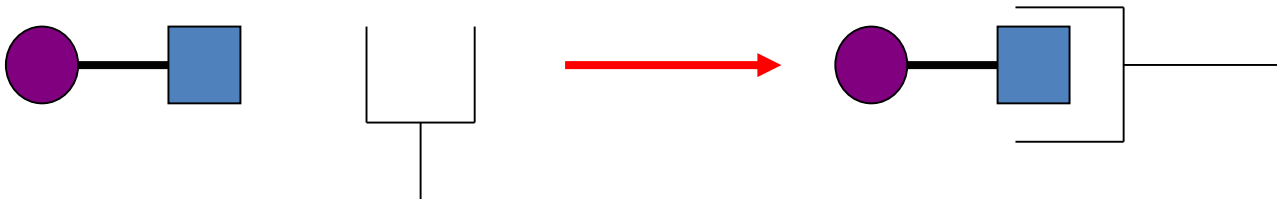
Supercritical Fluid Chromatography, SFC (3)

- Ανιχνευτές:** ♦ Φασματοφωτόμετρο UV σταθερού (254 nm) ή μεταβλητού μήκους κύματος (200-350 nm).
- Φθορισμόμετρο, όπως στην HPLC.
 - FID, NPD, FPD, όπως στην GC
 - Φασματογράφος μάζας.



Ανοσοχημικές / Ανοσοαναλυτικές μέθοδοι, Immunoassays (1)

Αρχή: Αντιστρεπτή σύζευξη (χωρίς δημιουργία χημικού δεσμού) ενός συστατικού του δείγματος στις ειδικές θέσεις σύζευξης που υπάρχουν σε ένα ειδικά παρασκευασμένο για το σκοπό αυτό αντίσωμα.



Ανοσοχημικές / Ανοσοαναλυτικές μέθοδοι, Immunoassays (2)

Παραγωγή αντισωμάτων:

✓ Πρόσδεση γεωργικού φαρμάκου σε πρωτεΐνη
και εισαγωγή σε πειραματόζωο

Πολυκλωνικά αντισώματα

Μονοκλωνικά αντισώματα

*Ειδικά στα γεωργικά φάρμακα εφαρμογή οι
ανοσοενζυμικές μέθοδοι.*



Ανοσοενζυμικές μέθοδοι (1)

Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay, ELISA

- ✓ Ύπαρξη εξειδικευμένου αντισώματος και ομάδας που μπορεί να ανιχνευθεί.
- ✓ Εξειδικευμένη μέθοδος επειδή για κάθε γεωργικό φάρμακο πρέπει να υπάρχει ειδικό αντίσωμα.
- ✓ Εξειδίκευση ως προς την τάξη, π.χ. triazines ή ως προς το γεωργικό φάρμακο π.χ. alachlor, atrazine.



Ανοσοενζυμικές μέθοδοι (2)

Enzyme Linked Immunoabsorbant Assay, ELISA

- ✓ Πλεονέκτημα: γρήγορη ανάλυση μεγάλου αριθμού δειγμάτων ταυτόχρονα, χωρίς επίπονη προκατεργασία & χωρίς εξειδικευμένα ακριβά όργανα.
- ✓ Μειονέκτημα: εξειδίκευση.
- ✓ Μέθοδοι για: τριαζίνες, alachlor, paraquat, benomyl, aldicarb, endosulfan, paraoxon.



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (1/6)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Εικόνες
- Εικόνα 1: Προσρόφηση στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).
<http://www.ebah.com.br/content/ABAAfgrMAE/aula9cromatografia-pps?part=3>
- Εικόνα 2: Ιοντοαλλαγή στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).
<http://www.ebah.com.br/content/ABAAfgrMAE/aula9cromatografia-pps?part=3>
- Εικόνα 3: Αποκλεισμός μεγέθους ή διάχυση πηκτής στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).
<http://www.ebah.com.br/content/ABAAfgrMAE/aula9cromatografia-pps?part=3>
- Εικόνα 4: Κατανομή στην υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (HPLC).
<http://www.ebah.com.br/content/ABAAfgrMAE/aula9cromatografia-pps?part=3>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (2/6)

- Εικόνα 5: Οργανολογία HPLC (1). <http://slideplayer.es/slide/148100/>
- Εικόνα 6: Οργανολογία HPLC (2). <http://californiauae.com/Products.html>
- Εικόνα 7: Οργανολογία HPLC (3). <http://www.spectralabsci.com/Waters-HPLC-System297.php>
- Εικόνα 8: Οργανολογία HPLC (4). <http://slideplayer.biz.tr/slide/3288092/>
- Εικόνα 9: Συσκευή χειροκίνητης έγχυσης.
<http://slideplayer.com/slide/6660739/>
- Εικόνα 10: Ελουοτροπική ισχύς (ϵ^0) και πολικότητα (P) διαλυτών.
<http://web.vscht.cz/~schulzov/HPLC/3%20HPLC%202013%20Mobilní%20fáze.pdf>
- Εικόνα 11: Διαχωριστική ικανότητα.
<http://web.vscht.cz/~schulzov/HPLC/3%20HPLC%202013%20Mobilní%20fáze.pdf>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (3/6)

- Εικόνα 12: Διαφοροποίηση στο βαθμό έκλυσης με αλλαγή μίγματος διαλυτών.
<http://web.vscht.cz/~schulzov/HPLC/3%20HPLC%202013%20Mobilní%20fáze.pdf>
- Εικόνα 13: Διαφοροποίηση Επίδραση της βαθμωτής έκλυσης στο διαχωρισμό των συστατικών δείγματος.
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ac00264a716?journalCode=anchem>
- Εικόνα 14: Κινητή φάση - αντλίες. Φωτογραφικό αρχείο Ο. Μενκίσογλου-Σπυρούδη.
- Εικόνα 15: Εισαγωγή δείγματος.
<http://slideplayer.hu/slide/2215334/>
- Εικόνα 16: Αυτόματες σύριγγες.
<http://slideplayer.hu/slide/2215334/>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (4/6)

- Εικόνα 17: Αυτόματος δειγματολήπτης.
<http://ro.medwow.com/used-Laboratory-medical-equipment/5.med>
- Εικόνα 18: Στήλες στην HPLC.
<http://www.higanalyt.com/basepage.htm>
- Εικόνα 19: Φασματοφωτόμετρο UV σταθερού (254 nm).
<http://slideplayer.it/slide/1011279/>
- Εικόνα 20: Φασματοφωτόμετρο υπεριώδους/ορατού (UV/Vis) μεταβλητού μήκους κύματος (200-850 nm).
<http://slideplayer.com/slide/8540586/>
- Εικόνα 21: Ολικό φάσμα-ποσοτική εκτίμηση σε διάφορα μήκη κύματος.
http://hplc.chem.shu.edu/NEW/HPLC_Book/Detectors/det_uvda.html



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (5/6)

- Το Έργο αυτό κάνει χρήση των ακόλουθων έργων:
- Διαγράμματα
- Διάγραμμα 1: Χρωματογραφία κατανομής. Αρχείο δεδομένων Ο. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.
- Διάγραμμα 2,3,4: Προσδιορισμός ethoxyquin και παραγώγων του στο έδαφος. Αρχείο δεδομένων Ο. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη.
- Διαγράμματα 5: HPLC chromatogram of ethoxyquin and its oxidation. Αρχείο δεδομένων Ο. Μεκνίσογλου-Σπυρούδη. MGPR Annual Meeting, October 11-13, 2012 , Belgrade, Serbia.
- Διάγραμμα 6: Χρωματογραφήματα προτύπων διαλυμάτων imidacloprid 5, 10, 25, 50, 75, 100 μg/ml.
<http://slideplayer.com.br/slide/388055/>



Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (6/6)

- Διάγραμμα 7: Πρότυπη καμπύλη imidacloprid με HPLC.
<http://slideplayer.com.br/slide/388055/>
- Διάγραμμα 8: Ανάλυση ζιζανιοκτόνων φαινυλουρίας με HPLC/UV & LC/MS. ???



Σημείωμα Αναφοράς

- Copyright Αριστοτέλειο Πανεπιστήμιο Θεσσαλονίκης, Ουρανία Μενκίσογλου-Σπυρούδη. «Γεωργικά Φάρμακα II. Έλεγχος φυτοπροστατευτικών προϊόντων: Διαχωριστικές τεχνικές: Υγρή χρωματογραφία Υψηλής Πίεσης. Άλλες μέθοδοι ανάλυσης γ.φ.». Έκδοση: 1.0. Θεσσαλονίκη 2014. Διαθέσιμο από τη δικτυακή διεύθυνση: <https://opencourses.auth.gr/courses/OCRS515/>.



Σημείωμα Αδειοδότησης

Το παρόν υλικό διατίθεται με τους όρους της άδειας χρήσης Creative Commons Αναφορά - Παρόμοια Διανομή [1] ή μεταγενέστερη, Διεθνής Έκδοση. Εξαιρούνται τα αυτοτελή έργα τρίτων π.χ. φωτογραφίες, διαγράμματα κ.λ.π., τα οποία εμπεριέχονται σε αυτό και τα οποία αναφέρονται μαζί με τους όρους χρήσης τους στο «Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων».



Ο δικαιούχος μπορεί να παρέχει στον αδειοδόχο ξεχωριστή άδεια να χρησιμοποιεί το έργο για εμπορική χρήση, εφόσον αυτό του ζητηθεί.

[1] <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/>





Τέλος ενότητας

Επεξεργασία: Χρυσάνθη Χαρατσάρη
Θεσσαλονίκη, Εαρινό εξάμηνο 2013-2014



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΣΠΑ
2007-2013
πρόγραμμα για την ανάπτυξη
ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ



ΑΡΙΣΤΟΤΕΛΕΙΟ
ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ
ΘΕΣΣΑΛΟΝΙΚΗΣ

Σημειώματα

Διατήρηση Σημειωμάτων

Οποιαδήποτε αναπαραγωγή ή διασκευή του υλικού θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει:

- το Σημείωμα Αναφοράς
- το Σημείωμα Αδειοδότησης
- τη δήλωση Διατήρησης Σημειωμάτων
- το Σημείωμα Χρήσης Έργων Τρίτων (εφόσον υπάρχει)

μαζί με τους συνοδευόμενους υπερσυνδέσμους.

