

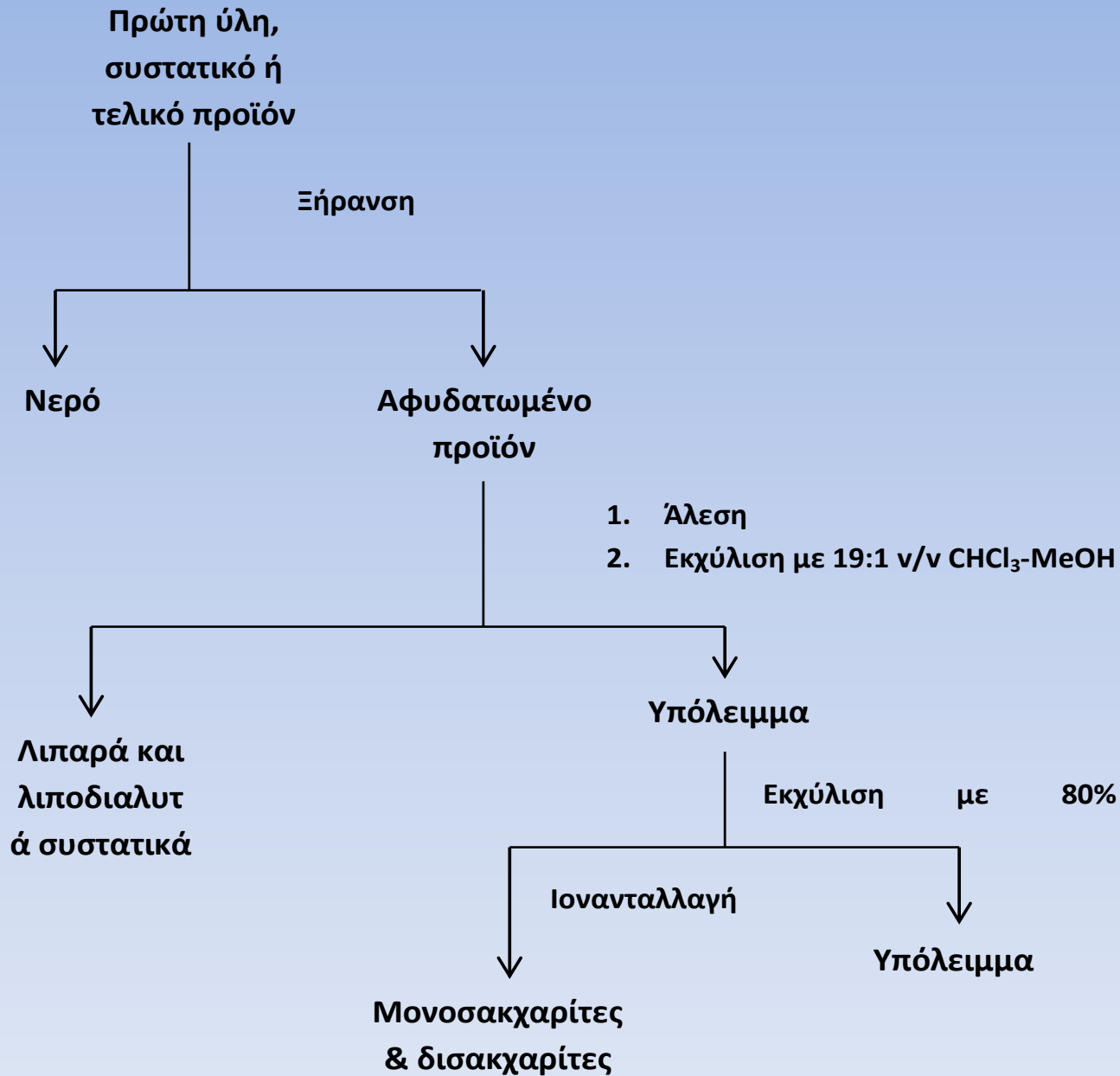
ΥΔΑΤΑΝΘΡΑΚΕΣ

Αναστασία Μπαδέκα
Αναπλ. Καθηγήτρια
Τμήμα Χημείας
Παν/μιο Ιωαννίνων

Εισαγωγή

- Οι υδατάνθρακες είναι πολυϋδροξυ-αλδεΐδες και κετόνες (σάκχαρα) ή ενώσεις οι οποίες υδρολύονται → πολυϋδροξυ-αλδεΐδες και κετόνες (π.χ. άμυλο).
- Μονοσακχαρίτες (γλυκόζη, φρουκτόζη, γαλακτόζη, ριβόζη κ.α.), δισακχαρίτες (σακχαρόζη, λακτόζη, μαλτόζη) και πολυσακχαρίτες (άμυλο, κυτταρίνη)

- Προετοιμασία του δείγματος ανάλογα με το τι πρόκειται να αναλυθεί (πρώτη ύλη, συστατικό, τελικό προϊόν) και ποιος υδατάνθρακας πρέπει να προσδιοριστεί.
- Τα τρόφιμα περιέχουν διάφορα συστατικά τα οποία μπορεί να αντιδράσουν με τα σάκχαρα (π.χ. αμινοξέα → αντίδραση Maillard) κυρίως όταν πρόκειται να χρησιμοποιηθούν φασματοφωτομετρικές μέθοδοι προσδιορισμού.



Μέτρηση ειδικού βάρους

- Είναι ο λόγος της πυκνότητας του δείγματος προς την πυκνότητα του δείγματος αναφοράς (συνήθως νερό) στην ίδια συγκεκριμένη θερμοκρασία. Κυρίως σε υγρά δείγματα (ικανοποιητική ποσότητα νερού).
- Δύο βασικοί προσδιορισμοί χρησιμοποιούνται. Υδρόμετρο, αραιόμετρο το οποίο έχει ρυθμιστεί είτε σε °Brix (αντιστοιχεί σε συγκεντρώσεις σουκρόζης κατά βάρος) είτε σε βαθμούς Baume (Be).
- Οι τιμές που λαμβάνονται μετατρέπονται σε συγκεντρώσεις βάσει πινάκων που έχουν δημιουργηθεί με βάση την ένωση στην καθαρή της μορφή π.χ. διαλύματα σουκρόζης ή γλυκόζης.

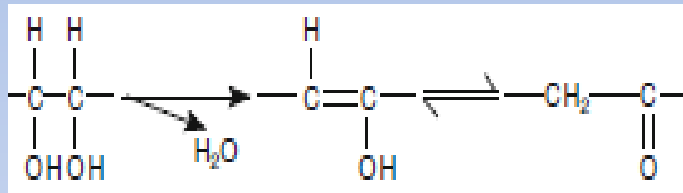


Δείκτης διάθλασης (RI)

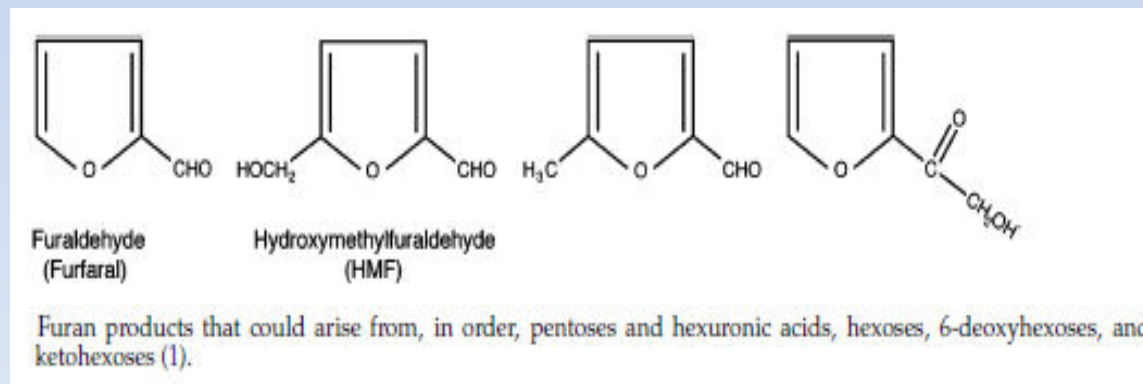
- Όταν η ηλεκτρομαγνητική ακτινοβολία περνά από ένα μέσο σε ένα άλλο αλλάζει η κατεύθυνσή της (ανακλάται ή εκτρέπεται).
- Ο RI είναι ο λόγος του ημιτόνου της γωνίας πρόσπτωσης προς το ημίτονο της γωνίας διάθλασης.
- Ο δείκτης διάθλασης επηρεάζεται από τη φύση της ένωσης, τη θερμοκρασία, το μήκος κύματος και τη συγκέντρωση της ένωσης. Εάν διατηρηθούν οι τρεις πρώτοι παράμετροι σταθεροί τότε η συγκέντρωση σακχάρων μπορεί να μετρηθεί με μέτρηση του δείκτη διάθλασης.



- Οι υδατάνθρακες καταστρέφονται με ισχυρά οξέα ή/και θέρμανση. Πραγματοποιείται μία σειρά πολύπλοκων αντιδράσεων με την πιο απλή την αφυδάτωση:



- Καθώς συνεχίζεται η θέρμανση παράγονται διάφορα παράγωγα φουρανίου.

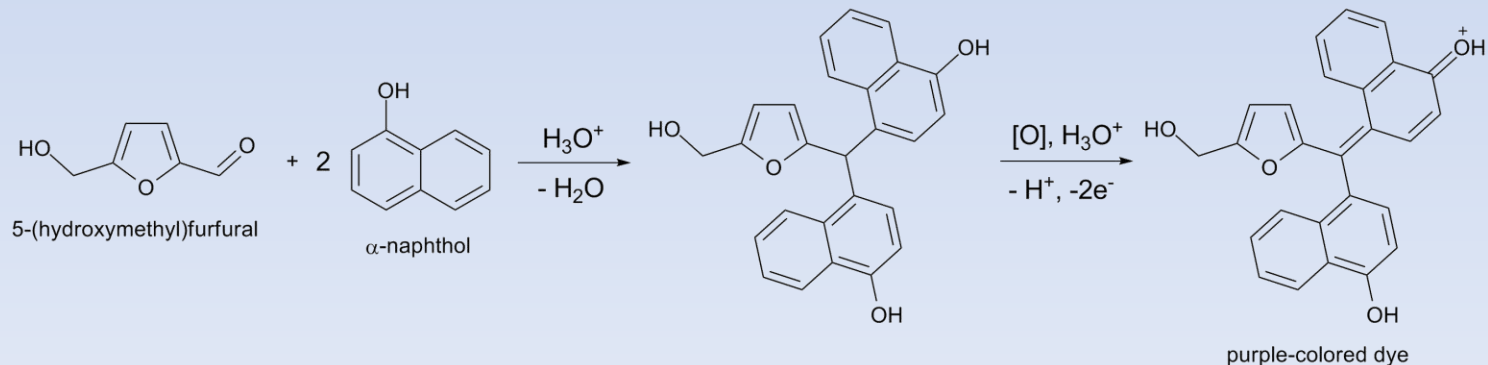
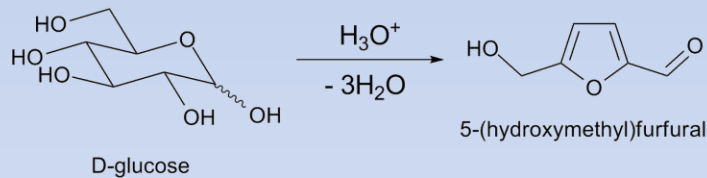


- Αυτά τα προϊόντα συμπυκνώνονται μεταξύ τους και με άλλα προϊόντα σχηματίζοντας ενώσεις χρώματος καφέ και μαύρου.
- Επίσης μπορούν να αντιδράσουν με διάφορες άλλες φαινολικές ενώσεις (π.χ. φαινόλη, ρεζορκινόλη (ρεζορκίνη), ορκινόλη, α-ναφθόλη, ναφθορεζορκινόλη, διάφορες αρωματικές αμίνες – ανιλίνη και ο-τολουιδίνη) σχηματίζοντας διάφορες έγχρωμες ενώσεις οι οποίες χρησιμοποιούνται για την ανάλυση υδατανθράκων.

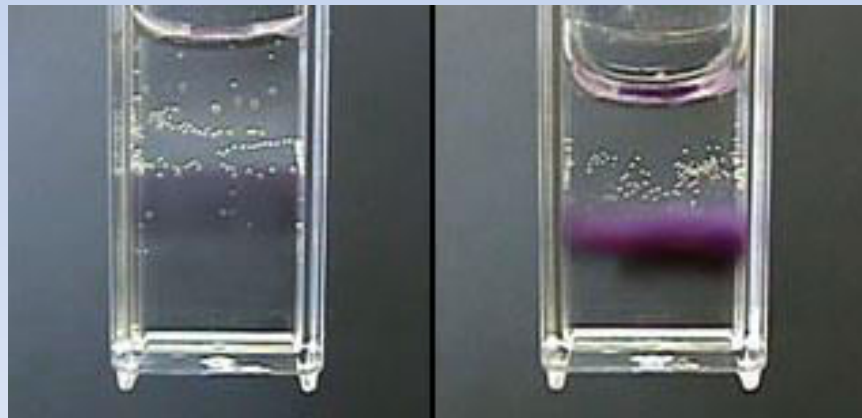
- Η μέθοδος **φαινόλης**-θειικού οξέος είναι μία ποιοτική μέθοδος για τον έλεγχο παρουσίας υδατανθράκων. Η σορβιτόλη και οι άλλες πολυόλες (πολυόλη, πολυϋδροξυλαλκοόλη) δεν δίνουν θετική αντίδραση.
- Καθαρό, υδατικό διάλυμα υδατανθράκων + υδατικό διάλυμα φαινόλης, ανάμιξη + πυκνό θειικό οξύ, γρήγορη ανάμιξη (προσοχή παράγεται θερμότητα) → Σχηματίζεται ένα **κίτρινο-πορτοκαλί** προϊόν και μετρείται η απορρόφηση στα 490nm.
- Η ποσότητα των σακχάρων προσδιορίζεται από την πρότυπη καμπύλη.

Molisch's Test

- Ανίχνευση υδατανθράκων από τετρόζες και άνω.
- Οι πεντόζες και εξόζες με πυκνό θειϊκό οξύ (αφυδάτωση) σχηματίζουν φουρφουράλη ή υδροξυμεθυλοφουρφουράλη, αντίστοιχα.
- Αυτές οι ενώσεις με την α -ναφθόλη \rightarrow προϊόν με **μώβ** χρώμα.

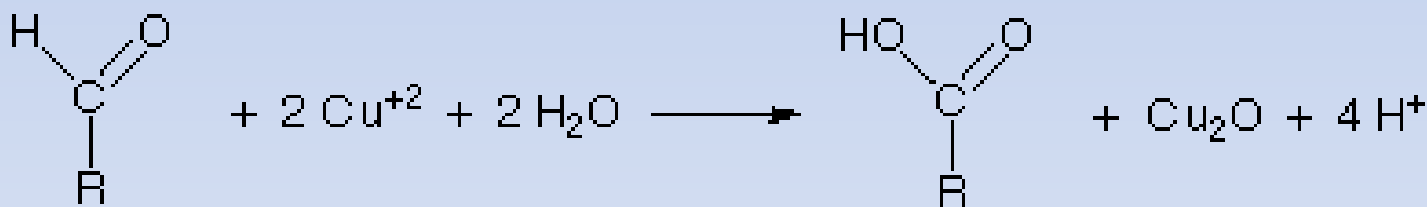


- Διάλυμα υδατανθράκων + σταγόνες του αντιδραστηρίου Molisch (αιθανολικό διάλυμα αναφθόλης).
- Το διάλυμα αποχύνεται προσεκτικά σε σωλήνα που περιέχει 2mL πυκνού θειικού οξέος → σχηματίζονται 2 στοιβάδες → σχηματισμός μωβ στοιβάδας μεταξύ των 2 στοιβάδων.

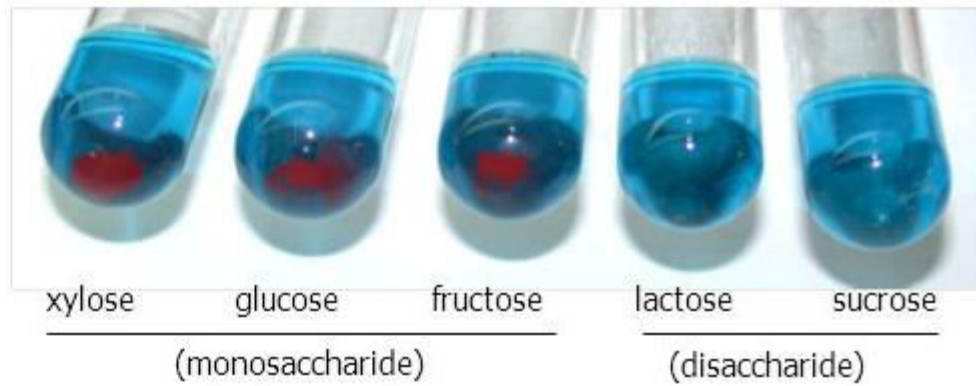


Barfoed's Test

- Το Barfoed's test για την ανίχνευση της παρουσίας των **μονοσακχαριτών** σε διάλυμα.
- Διάλυμα οξικού χαλκού (II) σε 1% οξικού οξέος (αντιδραστήριο Barfoed).
- Βρασμός \rightarrow οξειδίο χαλκού (I) **καστανέρυθρο** ίζημα.
- Αρνητική αντίδραση στην παρουσία δισακχαριτών.

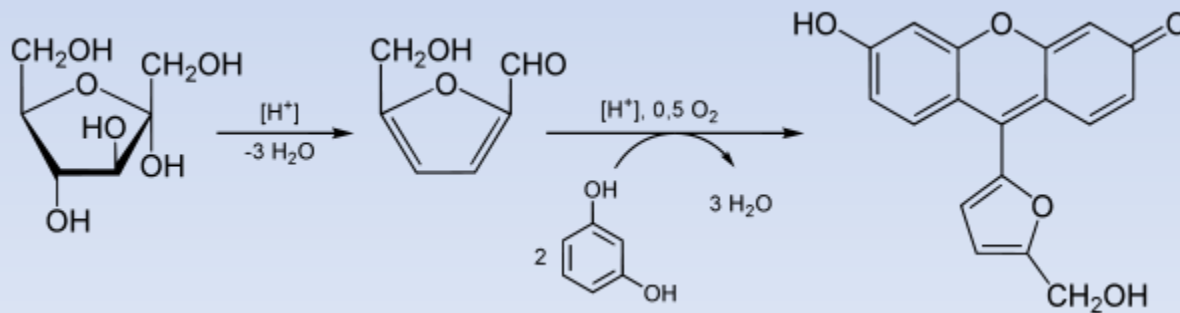


Barfoed's test
(test for
monosaccharides)



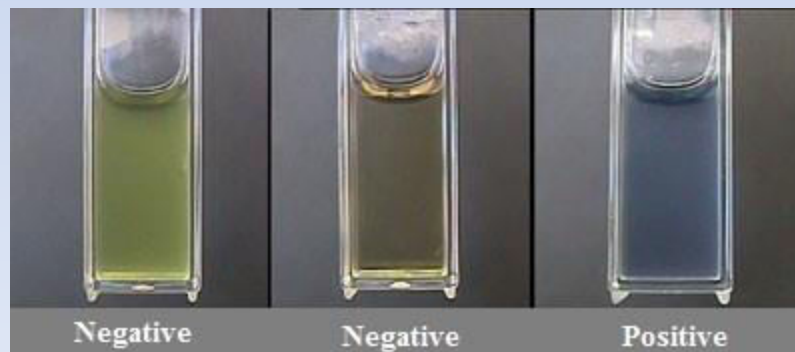
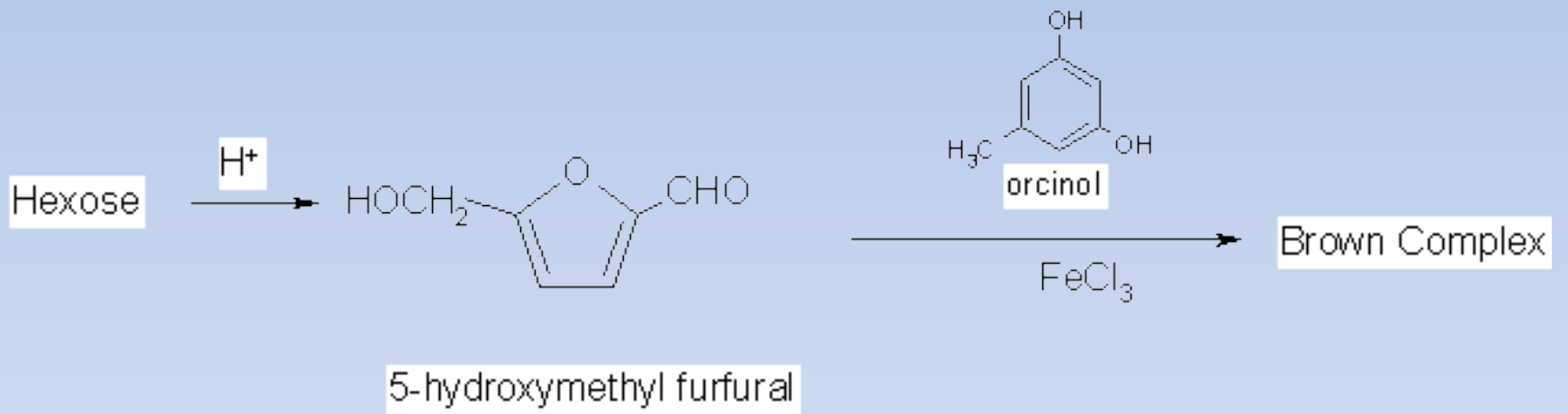
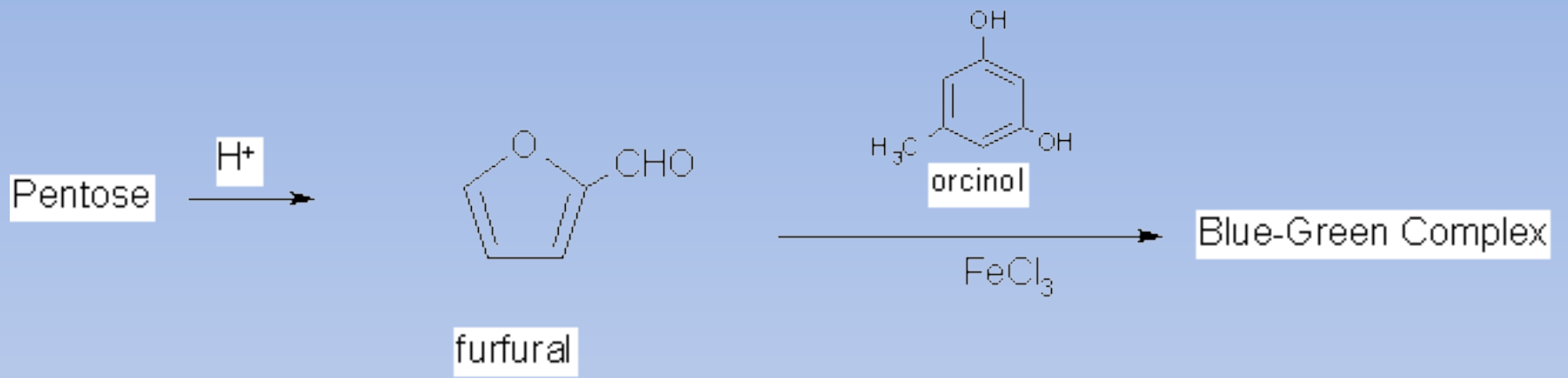
Seliwanoff's Test

- Χρωστική αντίδραση για **κετόζες** (φρουκτόζη, σουκρόζη). Αρνητική η γλυκόζη.
- Πυκνό HCl με τις κετόζες → παράγωγα φουρφουράλης πιο γρήγορα από τις αλδόζες.
- Σχηματίζεται 5-υδροξυμεθυλο φουρφουράλη.
- Στη συνέχεια σχηματίζουν σύμπλοκο με ρεσορκινόλη → **βαθύ κόκκινο** χρώμα (γρήγορη αντίδραση 2min).



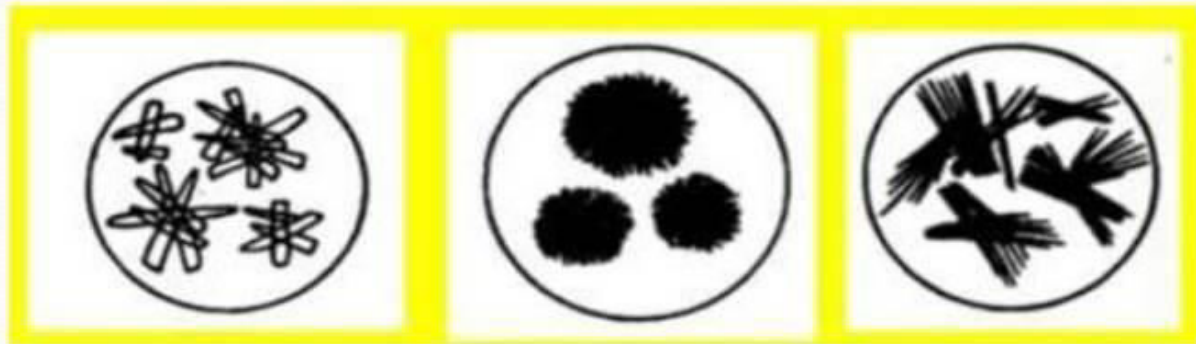
Bial's Test

- Ανίχνευση **πεντοζών** (ριβόζη).
- Με το αντιδραστήριο **Bial** σχηματίζουν φουρφουράλη.
- **Bial** διάλυμα περιέχει ορνικόλη, HCl & FeCl₃.
- Εμφάνιση **πράσινου** χρώματος ή ίζημα → κετόζες, ενώ **μουντό καφέ** → εξόζες
- Το ίζημα διαλύεται σε βουτανόλη.



Osazone Test

- Οι κετόζες και αλδόζες αντιδρούν με φαινυλο-υδραζίνη και παράγουν φαινυλο-υδραζόνη και στη συνέχεια αντιδρούν με άλλα 2 μόρια φαινυλο-υδραζίνης → οσαζόνη.
- Κρύσταλλοι **κίτρινοι βελονοειδείς** → από γλυκόζη, φρουκτόζη και μααννόζη.
- Κρύσταλλοι σχήματος μανιταριού → από γαλακτόζη.
- Κρύσταλλοι σχήματος λουλουδιού → από μαλτόζη.

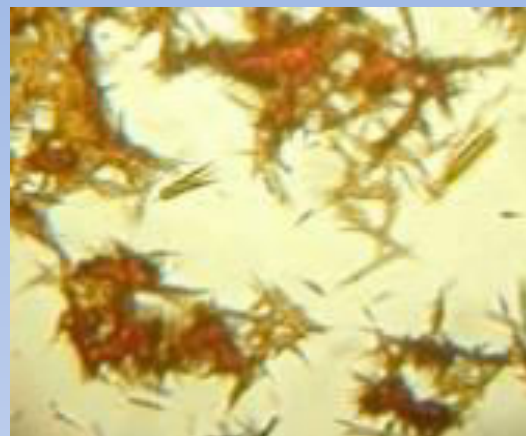


δισακχαρίτες

μονοσακχαρίτες



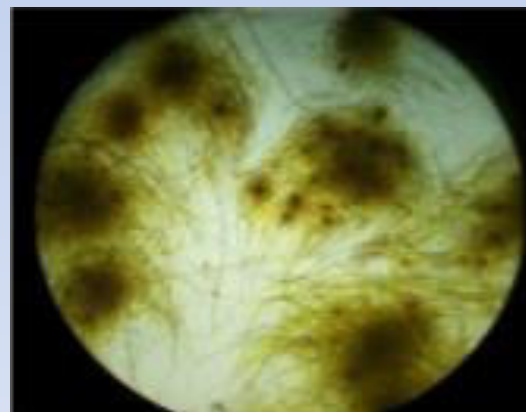
γλυκόζη



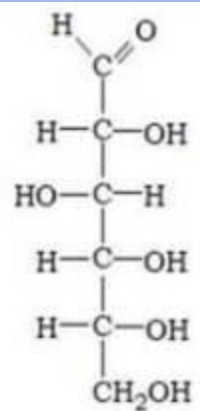
γαλακτόζη



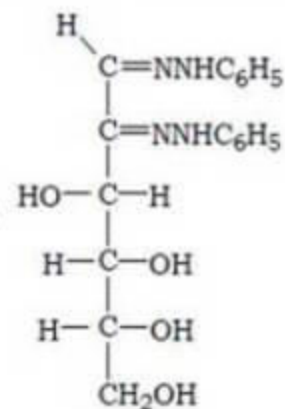
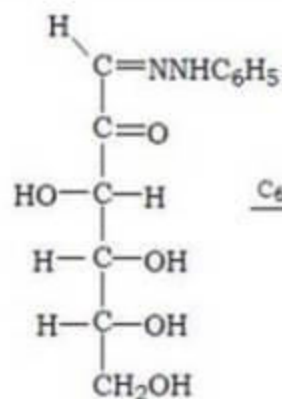
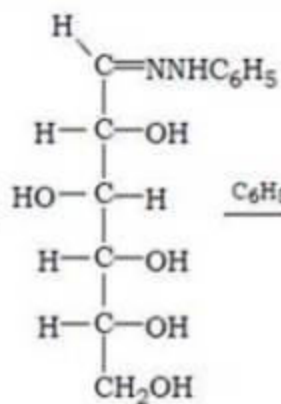
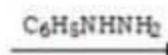
μαλτόζη



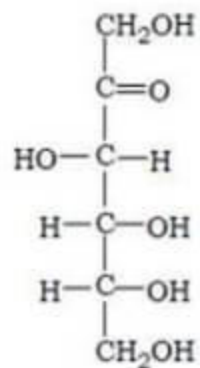
λακτόζη



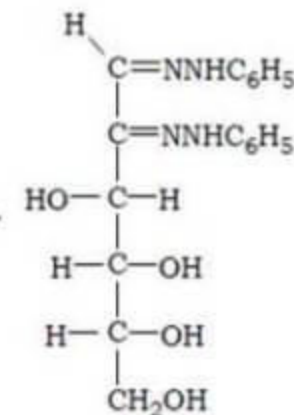
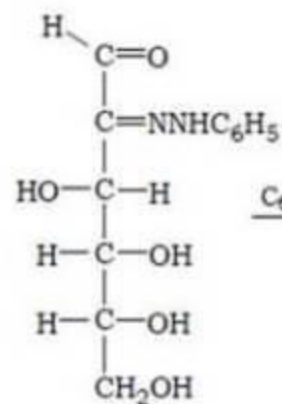
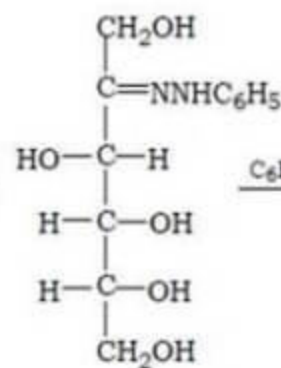
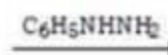
D-glucose



osazone



D-fructose



osazone

Ανάγοντα σάκχαρα

- Η οξείδωση είναι η απώλεια ηλεκτρονίων, η αναγωγή λήψη ηλεκτρονίων.
- Τα ανάγοντα σάκχαρα είναι εκείνα που έχουν αλδεϋδομάδα (αλδόζες) και προσφέρουν ηλεκτρόνια (δρουν ως αναγωγικά μέσα) σε ένα οξειδωτικό μέσο το οποίο ανάγεται. Οξείδωση των αλδεϋδομάδων → καρβοξυλομάδα.
- Σε αλκαλικές συνθήκες οι κετόζες δρουν ως ελαφρά αναγωγικά μέσα λόγω του μερικού ισομερισμού τους σε αλδόζες.

- Η πιο συχνά χρησιμοποιούμενη μέθοδος είναι η μέθοδος **Somogyi-Nelson**. Αυτή η μέθοδος όπως και διάφορες άλλες για τον προσδιορισμό αναγόντων σακχάρων χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με ενζυμικές μεθόδους για τον προσδιορισμό των ολιγο- και πολυσακχαριτών.
- Συγκεκριμένες υδρολάσες μετατρέπουν τους πολυσακχαρίτες στους μονοσακχαρίτες από τους οποίους έχουν σχηματιστεί και στη συνέχεια μετρούνται με τη μέθοδο αναγόντων σακχάρων.

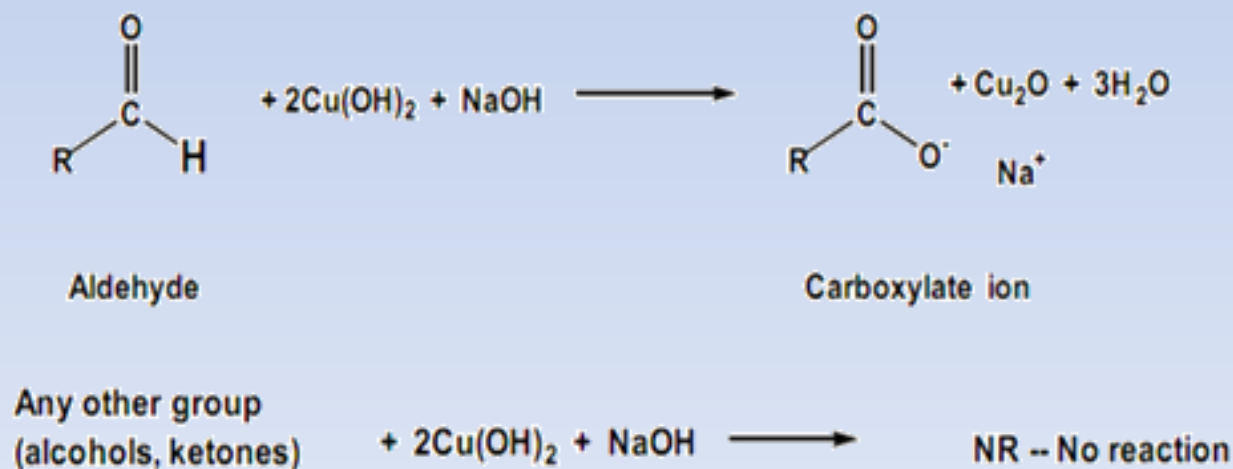
Μέθοδος Somogyi-Nelson

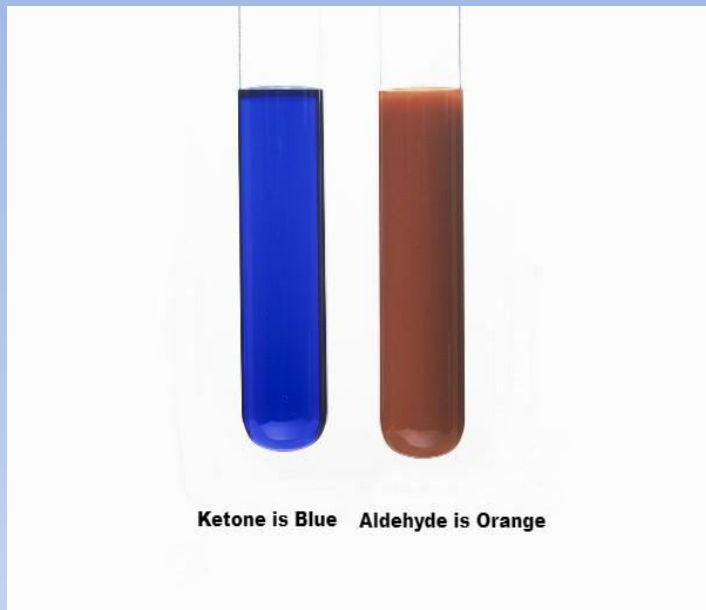
- Αυτή η μέθοδος βασίζεται στην αναγωγή του Cu^{2+} σε Cu^+ παρουσία αναγόντων σακχάρων.
- Τα ιόντα Cu^+ ανάγουν ένα σύμπλοκο αρσеноμολυβδαινικών (μολυβδαινικό αμμώνιο – $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}]$ & αρσενικό νάτριο – Na_2HAsO_7 σε θειικό οξύ).
- Η αναγωγή αυτού του συμπλόκου παράγει ένα έντονο σταθερό μπλε χρώμα και ακολουθεί μέτρηση φωτομετρικά στα 520nm.
- Η αντίδραση δεν είναι στοιχειομετρική και έτσι απαιτείται πρότυπη καμπύλη.



Fehling's Test

- Το διάλυμα του διαλύματος Fehling περιέχει αλκαλικό διάλυμα υδροξειδίου χαλκού.
- Όταν θερμανθεί παρουσία **αναγόντων σακχάρων** ανάγεται προς **οξειδίο του χαλκού** (κεραμέρυθρο) και καταβυθίζεται.

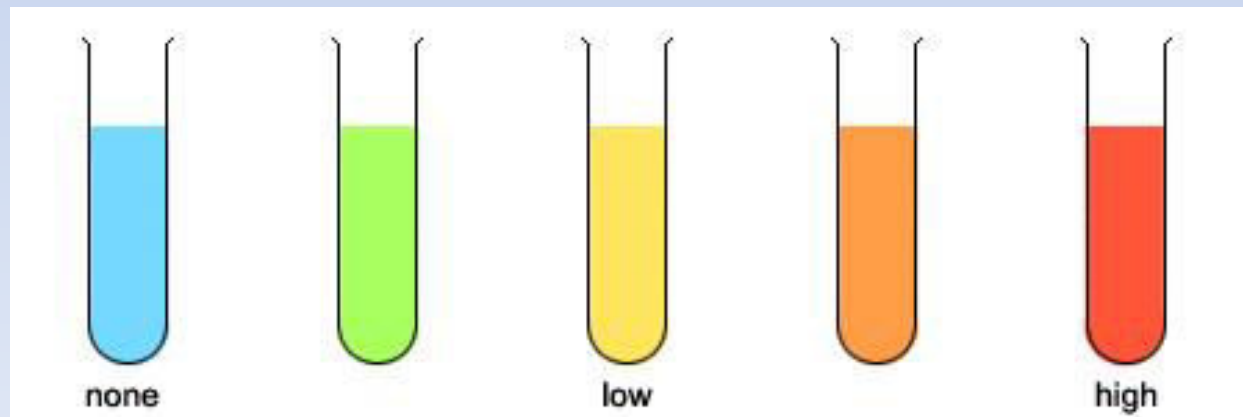




Δυστυχώς δεν είναι τόσο εκλεκτικό γιατί και η φρουκτόζη μπορεί να δώσει θετική αντίδραση.

Benedict's Test

- Έλεγχος για τα απλά σάκχαρα. Ελέγχει τα ανάγοντα σάκχαρα (μόνο- και μερικούς δισακχαρίτες). Αντίστοιχο με το φελίγγειο υγρό.
- Άνυδρο ανθρακικό νάτριο, κιτρικό νάτριο, θειικός χαλκός ($5\text{H}_2\text{O}$).
- Με θέρμανση (βρασμός) του διαλύματος σακχάρων + διάλυμα **Benedict** → αλλαγή χρώματος παρουσία αναγόντων σακχάρων.



*Tube 1:
Water &
Benedicts*

*Tube 2:
Glucose &
Benedicts*

*Tube 3:
Sucrose &
Benedicts*

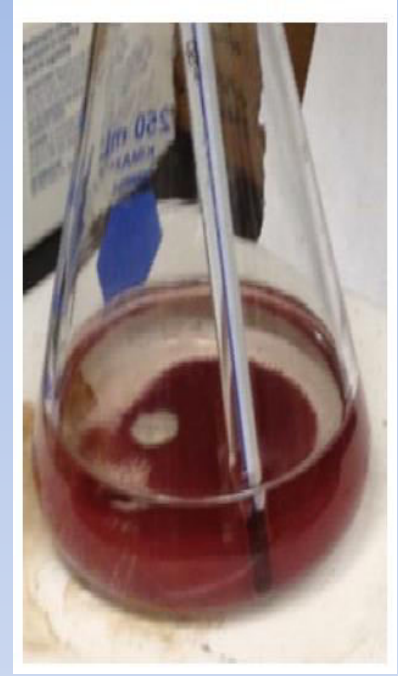
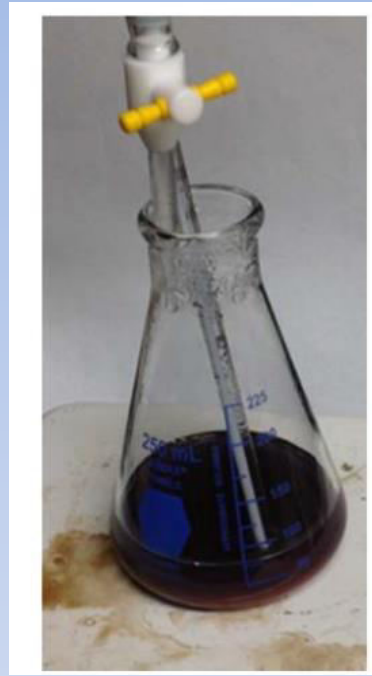
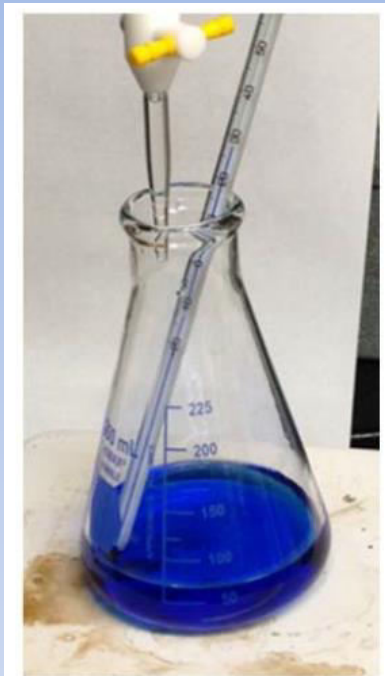
Non
reducing
sugar

Brick Red Precipitate

© U of M 2005 (J. France)

Προσδιορισμός Αναγόντων σακχάρων με τη μέθοδο Lane-Eynon

- Προετοιμασία φελίγγειων υγρών
- A \rightarrow $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- B \rightarrow τρυγικό καλιονάτριο + NaOH
- Προσδιορισμός του όγκου του διαλύματος σακχάρων που απαιτείται για την αναγωγή γνωστού όγκου αλκαλικού διαλύματος χαλκού (1:1 A/B φελίγγειο) υπό βρασμό με δείκτη κυανό του μεθυλενίου.



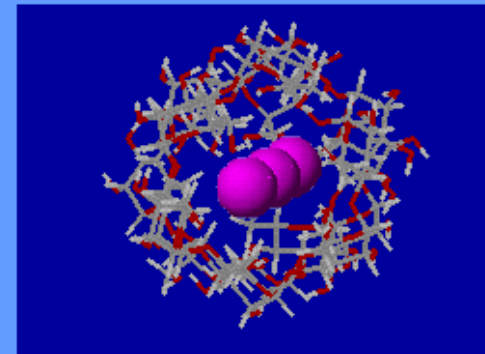
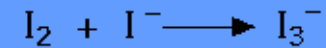
Πολυσακχαρίτες

Iodine Test

- Ανίχνευση αμύλου.
- Μπλέ-μαύρο χρώμα λόγω του σχηματισμού συμπλόκου άμυλο-ιώδιο.
- Διάλυμα Ιωδίου και KI.



Starch - Iodine Complex



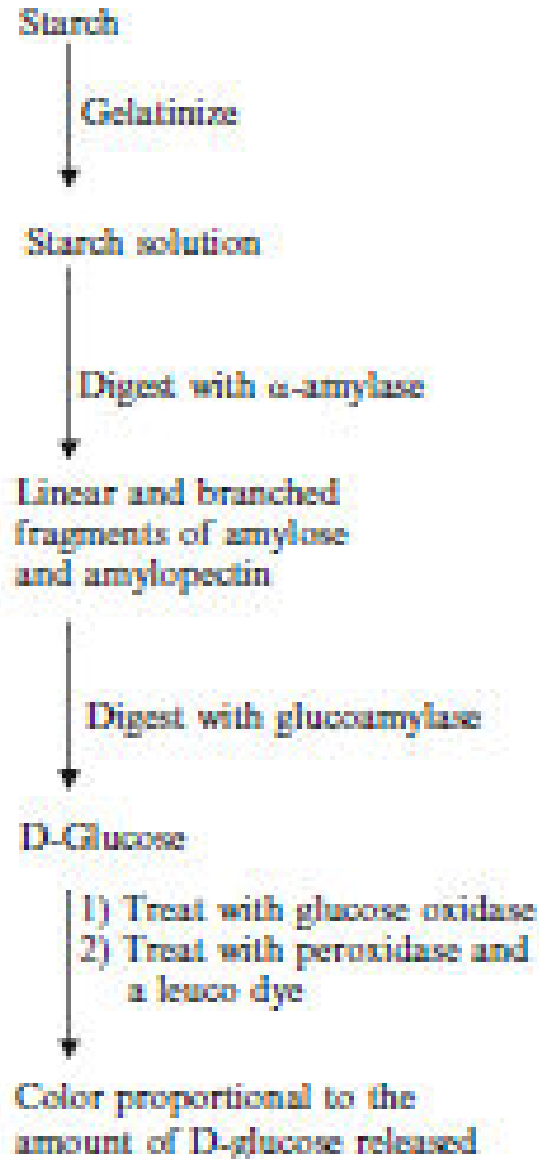
Iodine slides into starch coil
to give a blue-black color

Άμυλο

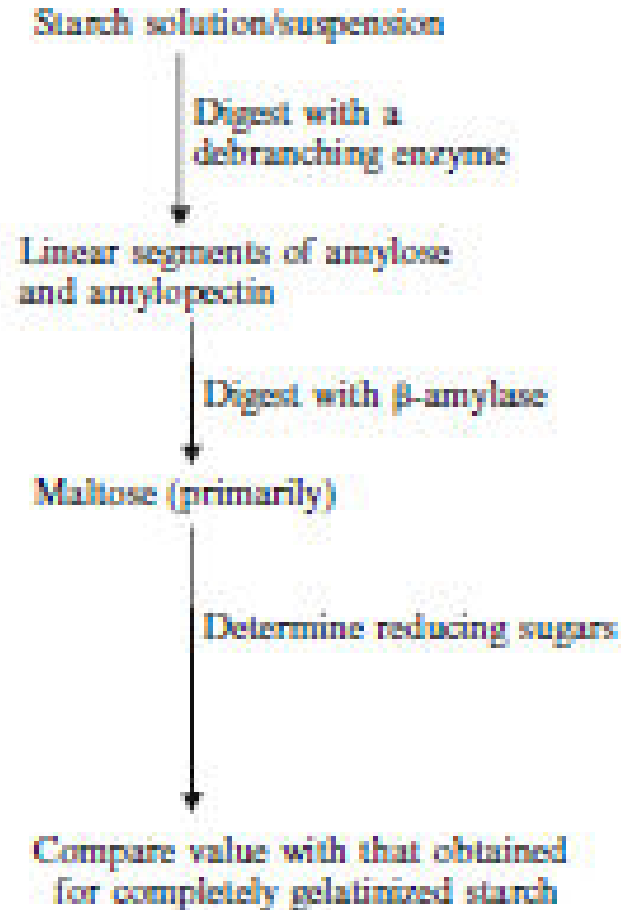
- Η μόνη αξιόπιστη μέθοδος βασίζεται στην πλήρη μετατροπή του αμύλου σε D-γλυκόζη με ένζυμα και προσδιορισμός της D-γλυκόζης.
- Προβλήματα: οι αμυλάσες πρέπει να είναι καθαρές έτσι ώστε να ελαχιστοποιηθεί η δράση άλλων ενζύμων που θα μπορούσαν να ελευθερώσουν γλυκόζη από άλλες ενώσεις (Π.χ. κυτταρινάσες, ιμπερτάση κ.α.) και η καταλάση η οποία μπορεί να καταστρέψει το H_2O_2 το οποίο κατά την ενζυμική μέθοδο απαιτείται.

- Υπάρχουν προβλήματα όσον αφορά άμυλο υψηλής περιεκτικότητας σε αμυλόζη και «ανθεκτικό» άμυλο τα οποία είναι ανθεκτικά στην ενζυμικά καταλυόμενη υδρόλυση.
- Άμυλο το οποίο φυσικώς δεν επηρεάζεται από τις αμυλάσες γιατί είναι παγιδευμένο στη τροφική μήτρα.
- Άμυλο που είναι ανθεκτικό στις αμυλάσες λόγω της φύσης του αμύλου (μη μαγειρεμένο άμυλο).
- Επαναβαθμισμένο άμυλο (π.χ. οι κρύες τηγανισμένες πατάτες περιέχουν επαναβαθμισμένο άμυλο)
- Τροποποιημένο άμυλο το οποίο έχει δομικά τροποποιηθεί με τέτοιο τρόπο ώστε να είναι ανθεκτικό στην υδρόλυση με αμυλάσες.

Total Starch



Starch: Degree of Gelatinization



Πολυσακχαρίτες

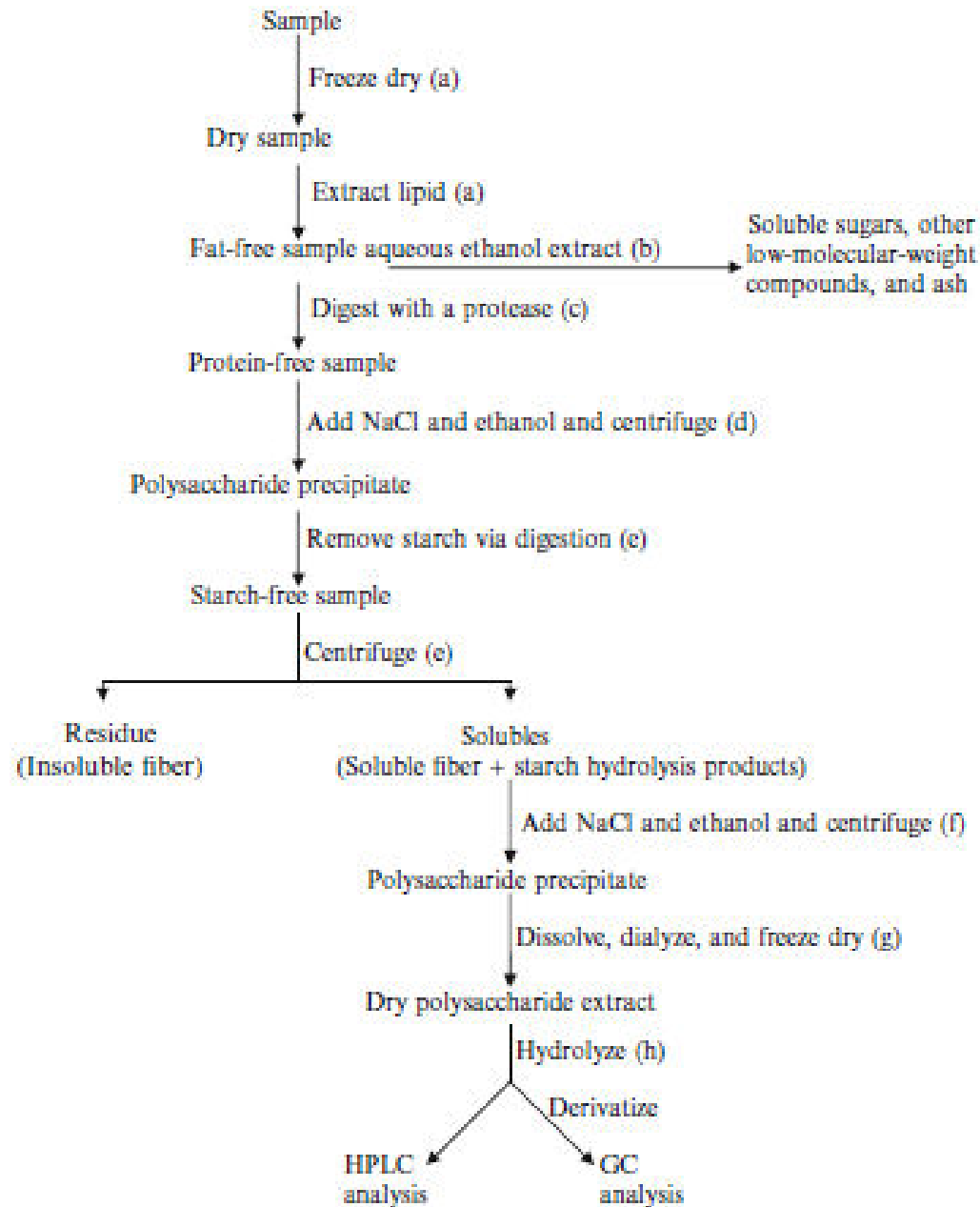
- Διάφοροι πολυσακχαρίτες προστίθενται στα τρόφιμα. Αυτοί, μαζί με τη ζελατίνη πρωτεΐνης, είναι μία ομάδα συστατικών τα οποία ονομάζονται υδροκολλοειδή ή κόμμεα.
- Χρησιμοποιούνται ευρέως για επεξεργασμένα προϊόντα κρέατος έως τη σοκολάτα, από το παγωτό έως τα dressings σαλάτας.
- Απαιτείται ο προσδιορισμός τους για τον έλεγχο της καθαρότητας αυτών, για να διασφαλιστεί ο ισχυρισμός της ετικέτας (ο κατασκευαστής τροφίμων εάν τα έχει καταγράψει σωστά) και για να ελεγχθεί εάν έχει προστεθεί χωρίς να επιτρέπεται.

- Πρέπει να είναι γνωστή η περιεκτικότητα διαφόρων πρώτων υλών για να επιλεχθεί η κατάλληλη διαδικασία επεξεργασίας και παραγωγής τροφίμων. Π.χ. περιεχόμενο της β-γλουκάνης στο αλεύρι βρώμης και κριθαριού ή σε δημητριακό προγεύματος ή της αραβινοξυλάνης στο αλεύρι σιταριού.
- Επίσης απαιτείται ο προσδιορισμός πολυσακχαριτών που προέρχονται από μικροοργανισμούς ζύμωσης (γιαούρτη και προϊόντα με βάση τη γιαούρτη).

- Υπάρχει μεγάλη δυσκολία στην ανάλυση γιατί δεν είναι ομοιόμορφοι οι πολυσακχαρίτες στη δομή και το μοριακό βάρος.
- Γραμμικοί, διακλαδισμένοι, κάποιοι ουδέτεροι, κάποιοι ανιονικοί, κάποιοι περιέχουν αιθερική, εστερική ομάδα κ.α.
- Κάποιοι διαλυτοί σε κρύο νερό, κάποιοι σε θερμό, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, κάποιοι απαιτούν όξινο ή αλκαλικό περιβάλλον κ.α.

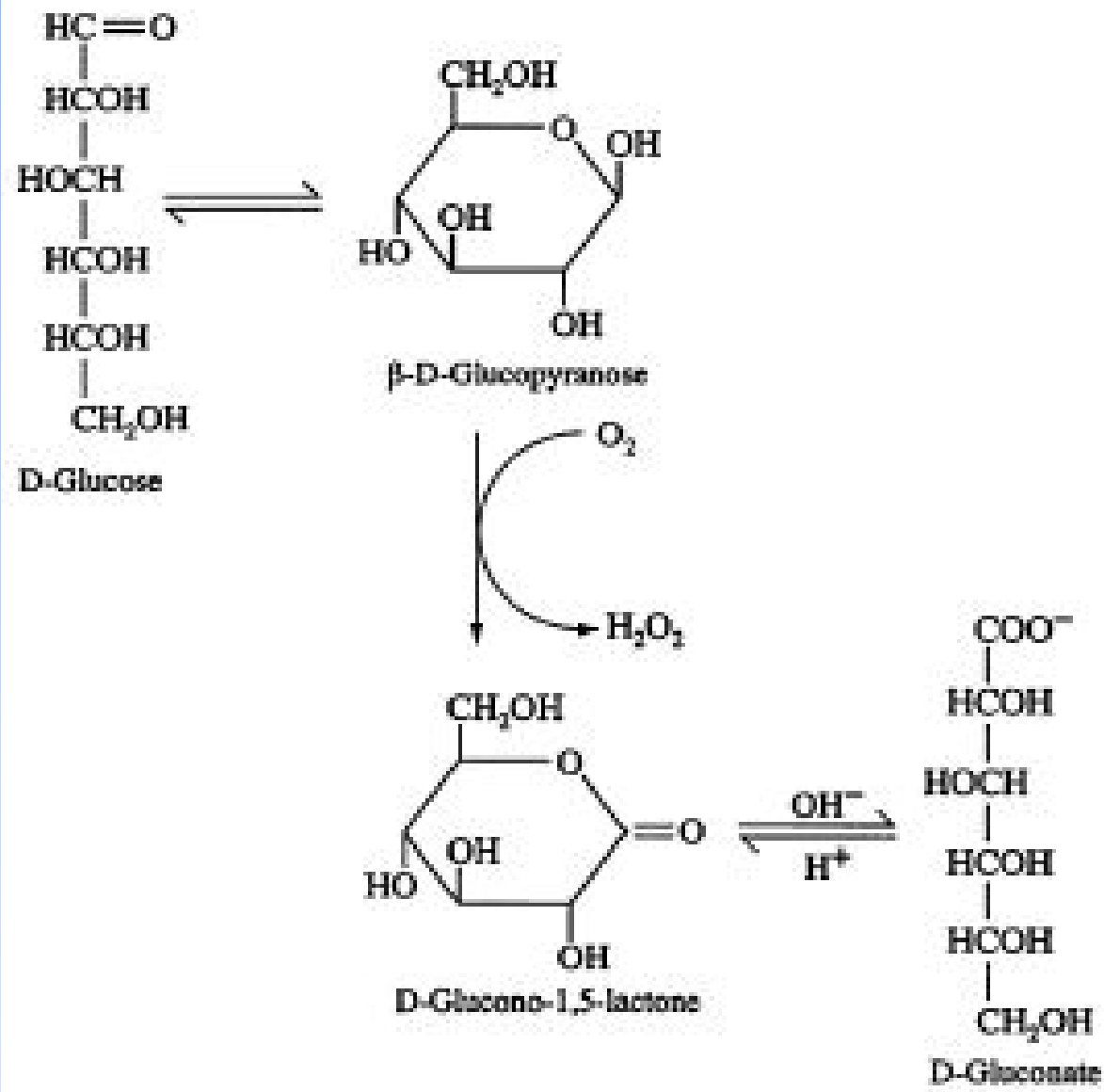
- Εκχύλιση των κόμμεων και κλασματοποίηση του εκχυλίσματος. Η απελευθέρωση των μονοσακχαριτών κατά την υδρόλυση ενός υδροκολλοειδούς έχουν διάφορους ρυθμούς, καταστρέφονται κατά τη θέρμανση με οξέα κι έτσι η ανάλυσή τους είναι αρκετά δύσκολη και απαιτητική.
- Συνήθως είναι στοχευμένη η ανάλυση.

Προετοιμασία δείγματος



Ενζυμικές μέθοδοι

- Θα πρέπει να γίνει προκατεργασία του δείγματος πριν την ανάλυση με ενζυμική μέθοδο.
- Διάσπαση γαλακτωμάτων, καταβύθιση πρωτεϊνών και απομάκρυνση χρωστικών.
- Ενζυμικός προσδιορισμός D-γλυκόζης.
- Το ένζυμο γλυκοξειδάση οξειδώνει τη γλυκόζη σε D-γλουκονο-1,5-λακτόνη και υπεροξειδίο του υδρογόνου. Προσθήκη υπεροξειδάσης μαζί με μία άχρωμη ένωση η οποία μπορεί να οξειδωθεί σε έγχρωμη ένωση. Επίσης χρησιμοποιείται μία λευκοένωση (λευκή βαφή) η οποία οξειδώνεται σε έγχρωμη ένωση → φωτομετρική μέτρηση.



Χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας

- Ταυτοποίηση και ποσοτικοποίηση των παρόντων σακχάρων σε μελάσσες από τεύτλα και σακχαροκάλαμο. Γρήγορη ταυτοποίηση και πολλά δείγματα ταυτόχρονα.

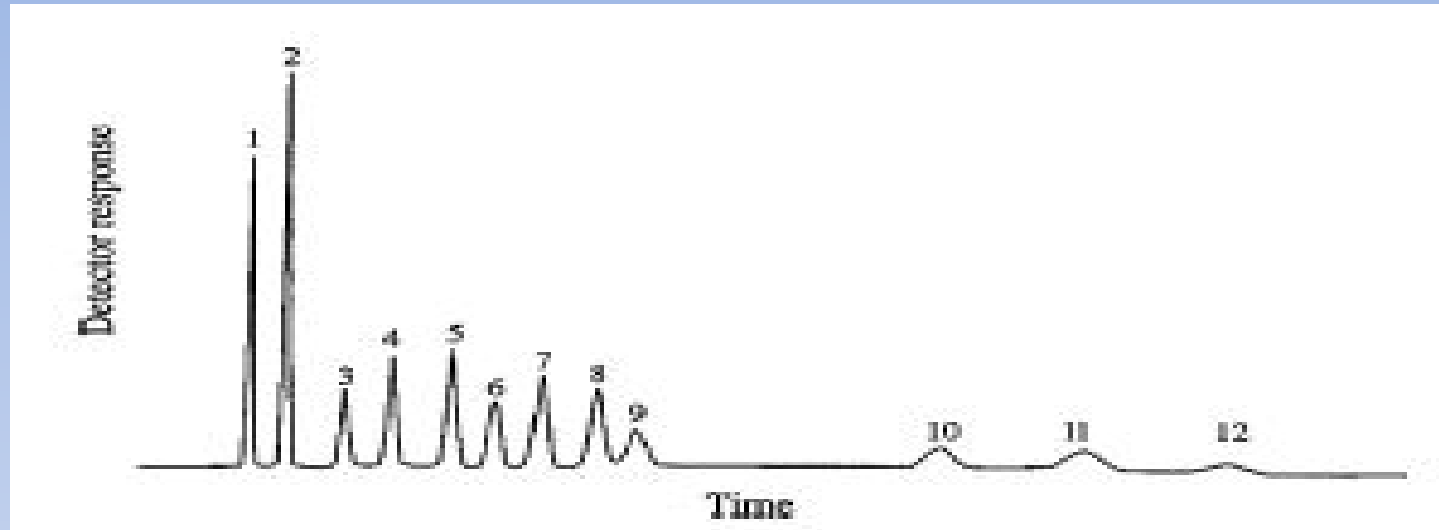
HPLC

- Με τη βοήθεια της υγρής χρωματογραφίας υψηλής απόδοσης και ανάλογα με τη φύση της στατικής φάση της στήλης, διαλύτη έκλουσης και ανιχνευτή μπορεί να γίνει προσδιορισμός πολυσακχαριτών και ολιγοσακχαριτών (κατόπιν υδρόλυσης). Η υγρή χρωματογραφία δεν απαιτεί παραγωγοποίηση των σακχάρων όπως στην αέρια χρωματογραφία.

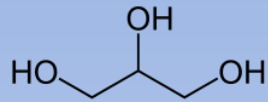
Στατική φάση

Ανιονανταλλαγή

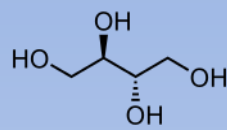
- Οι υδρογονάνθρακες είναι ασθενή οξέα. pH 12-14. Επομένως σε διαλύματα υψηλού pH κάποιες υδροξυλομάδες υδατανθράκων μπορούν να ιονιστούν και έτσι να διαχωριστούν με χρήση ρητινών ανιονανταλλαγής.
- Απαιτούνται ιδιαίτερες στήλες και η σειρά έκλουσης είναι ως εξής: πολυόλες, μονοσακχαρίτες, δισακχαρίτες, και ολιγοσακχαρίτες.
- Συνήθως χρησιμοποιούνται ηλεκτροχημικοί ανιχνευτές.



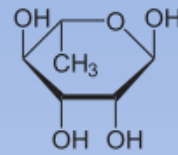
1 – γλυκερόλη, 2 – ερυθροτόλη, 3- L-ραμνόζη, 4 – σορβιτόλη, 5 – μανιτόλη,
6 – L-αραβινόζη, 7 – D-γλυκόζη, 8 – D-γαλακτόζη, 9 – λακτόζη, 10 – σουκρόζη,
11 – ραφινόζη, 12 – μαλτόζη



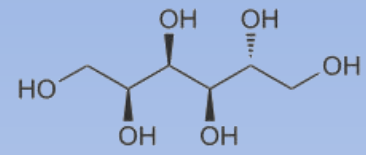
1 – γλυκερόλη



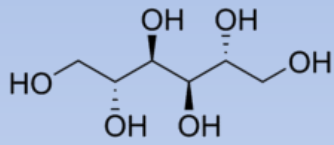
2 – ερυθρούλη



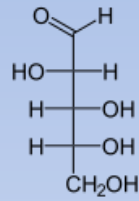
3- L-ραμνόςη



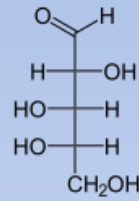
4 – σορβιτόςη



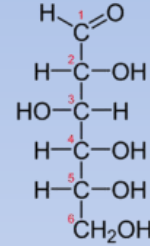
5 – μανιτόςη



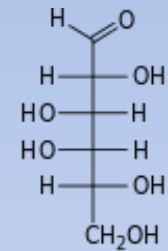
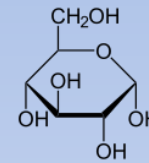
D-Arabinose



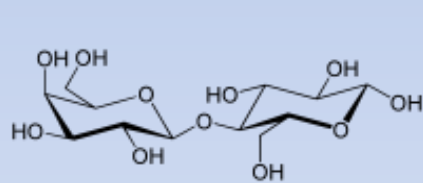
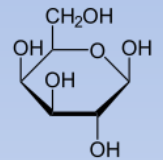
L-Arabinose



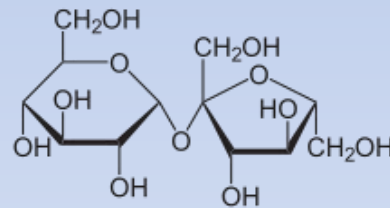
7 – D-γλυκόςη



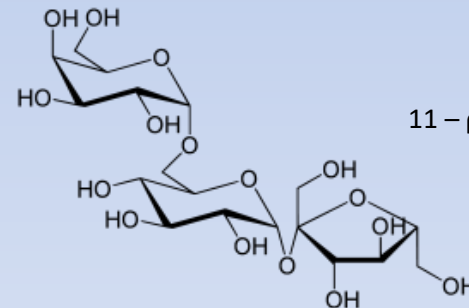
8 – D-γαλακτόςη



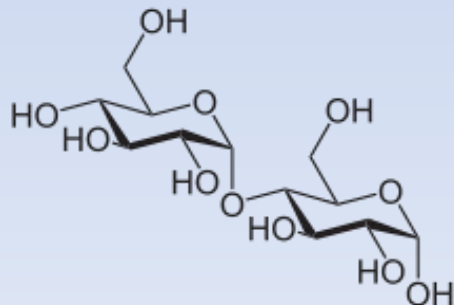
9 – λακτόςη



10 – σοκρόςη



11 – ραφινόςη



12 – μαλτόςη

Κανονικής φάσης

- Η στατική φάση είναι πολική (περιέχει αμινομάδες) και η κινητή ή κινούμενη φάση είναι αυξανόμενης πολικότητας (π.χ. ακετονιτρίλιο-νερό 50-85%).
- Η σειρά έκλυσης είναι: μονοσακχαρίτες, πολυόλες, δισακχαρίτες, ολιγοσακχαρίτες.
- Συνήθως για την ανάλυση ολιγοσακχαριτών μικρού μοριακού βάρους.
- Το κυριότερο μειονέκτημα αυτών των στατικών φάσεων είναι η τάση των αναγόντων σακχάρων να αντιδρούν με τα αμινοξέα της επίστρωσης της στατικής φάσης με αποτέλεσμα την καταστροφή της στήλης και έτσι την ικανότητα διαχωρισμού.

Κατιονανταλλαγής

- Μικροσκοπικά σφαιρίδια θειωμένης ρητίνης χρησιμοποιούνται για την παραγωγή αυτών των στηλών. Η ρητίνη περιέχει μία ποικιλία ιόντων μετάλλων ανάλογα με την ανάλυση που πρέπει να γίνει (Ca^{2+} , Pb^{2+} , Ag^+). Η κινητή φάση είναι συνήθως νερό με μικρά ποσοστά ενός οργανικού διαλύτη (<40% μεθανόλη, ακετονιτρίλιο).
- Απαιτείται υψηλή θερμοκρασία (>80°C) για να είναι αποτελεσματική η μεταφορά μεταξύ της στατικής και κινητής φάσης και έτσι βελτιώνεται η ανάλυση.
- Η έκλουση γίνεται με σειρά μειούμενου ΜΒ: ολιγοσακχαρίτες (>3), τρισακχαρίτες, δισακχαρίτες, μονοσακχαρίτες και πολυόλες.

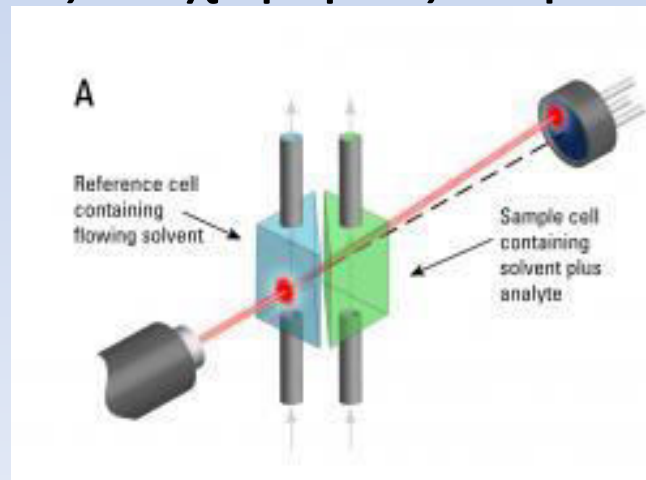
Ανάστροφης φάσης

- Η στατική φάση είναι υδρόφοβη και η κινητή φάση περιέχει περισσότερο νερό.
- Ο διαχωρισμός γίνεται για μονο- , δι- και τρισακχαρίτες.
- Το μειονέκτημα είναι ότι οι μονοσακχαρίτες έχουν μικρό χρόνο έκλουσης και δεν υπάρχει καλός διαχωρισμός (λαμβάνεται μία μεγάλη κορυφή χωρίς διαχωρισμό).
- Η προσθήκη αλάτων μπορεί να βελτιώσει την ανάλυση (αύξηση κατακράτησης μονοσακχαριτών στην στατική φάση).
- Επίσης λόγω παρουσίας των ανωμερικών μορφών των σακχάρων λαμβάνονται διπλές και πλατιές κορυφές. Με προσθήκη αμίνης στη στατική φάση (επιτάχυνση ανωμέρειας) αλλά αρνητική επίδραση λόγω της ελάττωσης του χρόνου έκλουσης.

Ανιχνευτές

Δείκτης διάθλασης

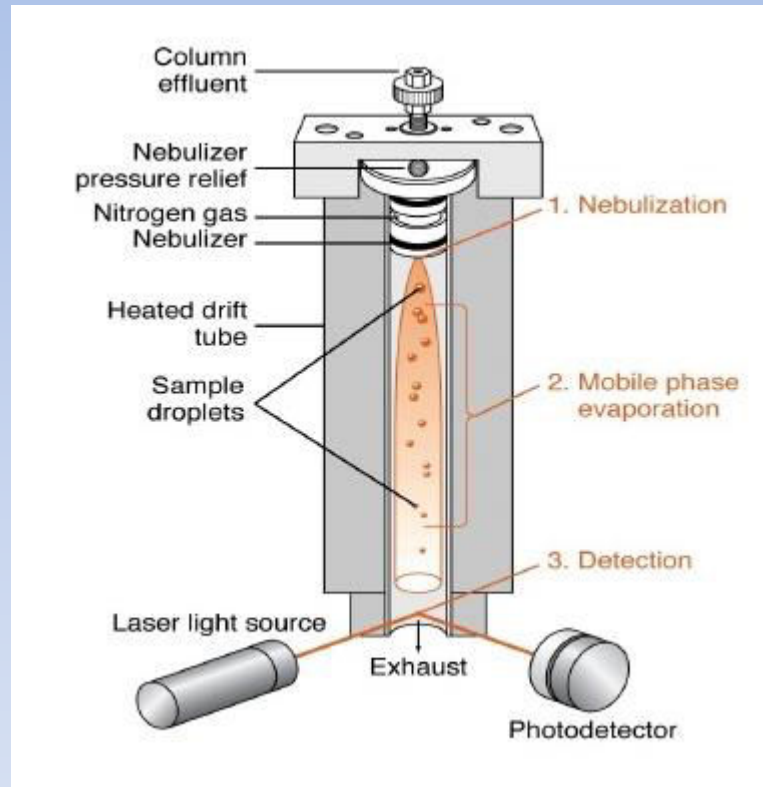
- Χρησιμοποιείται ευρέως για την ανάλυση των σακχάρων. Ο δείκτης διάθλασης είναι μία φυσική ιδιότητα και επηρεάζεται από τις αλλαγές στη ροή, πίεση και θερμοκρασία.
- Ο μόνος περιορισμός είναι ότι δεν μπορεί να χρησιμοποιηθεί βαθμωτή έκλυση διαλυτών και δεν είναι ευαίσθητος σε χαμηλές συγκεντρώσεις (μετρά μάζα).



Ηλεκτροχημικός ανιχνευτής

- Βασίζεται στην οξείδωση των υδροξυ- και αλδεϋδομάδων των σακχάρων και χρησιμοποιείται με τη χρωματογραφία ιονανταλλαγής.
- Απαιτεί υψηλό pH.
- Ισοκρατική και βαθμωτική έκλυση.
- Οι διαλύτες είναι κοινοί και οικονομικοί (διάλυμα καυστικού νατρίου).
- Είναι κατάλληλη και για ανάγοντα και μη σάκχαρα.
- Υπάρχει όριο ανίχνευσης 1,5ng για τους μονοσακχαρίτες και 5ng για τους δι-, τρι- και τετρασακχαρίτες.

Ανιχνευτής σκέδασης φωτός.



Παραγωγοποίηση προστήλης

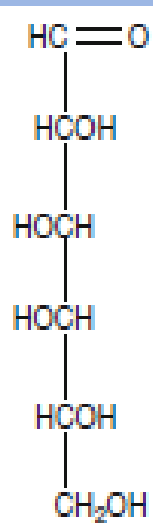
- Ο στόχος της προ- και μετα- παραγωγοποίησης είναι η αύξηση της ευαισθησίας με τη χρήση ενός αντιδραστηρίου που μπορεί να ανιχνευτεί με ανιχνευτή UV ή φθορισμού.
- Με την εξέλιξη ανάπτυξης νέων ανιχνευτών DAD δεν είναι απαραίτητη η παραγωγοποίηση.
- Η προ-στήλης παραγωγοποίηση περιλαμβάνει αντιδραστήρια τα οποία θα δώσουν ενώσεις των οποίων η συγκέντρωση μπορεί να μετρηθεί με UV ή FL.
- Απαιτεί 1 ή 2 αντλίες, ένα βρόγχο ανάμιξης, ένα θερμοστατούμενο λουτρό και η ευαισθησία είναι πολύ μεγαλύτερη από αυτή του RI ανιχνευτή.

Παραγωγοποίηση μετα-στήλης

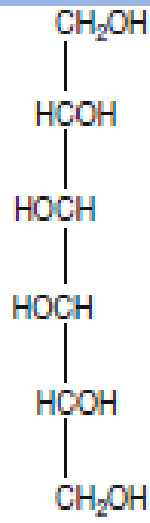
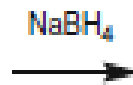
- Οι αντιδράσεις πρέπει να είναι στοιχειομετρικές.
- Οι ολιγοσακχαρίτες παραγωγοποιούνται με αρωματικές ομάδες και διαχωρίζονται με HPLC κανονικής φάσης.

Αέρια χρωματογραφία

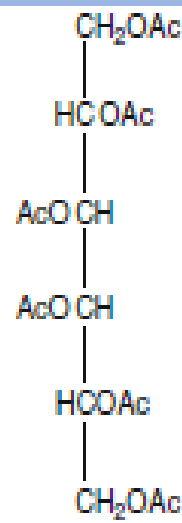
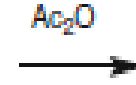
- Τα σάκχαρα πρέπει να μετατραπούν σε πτητικές ενώσεις.
- Τα σάκχαρα μετατρέπονται σε υπεροξικές αλδιτόλες (χρησιμοποιείται και αντιδραστήριο με πυρίτιο → σιλανοπαράγωγα) σχηματίζοντας εστέρες και αιθέρες αντίστοιχα και ανιχνεύονται με FID.
- Μειονέκτημα: απαιτούνται 2 στάδια. Αναγωγή των αλδεϋδομάδων σε αλκοολομάδες και μετατροπή των αναγόντων σακχάρων σε πτητικά προϊόντα. Πρέπει να υπάρχει 100% μετατροπή (στοιχειομετρικά).



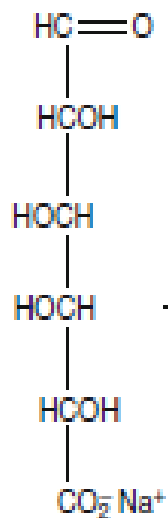
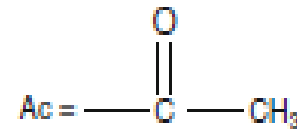
D-Galactose



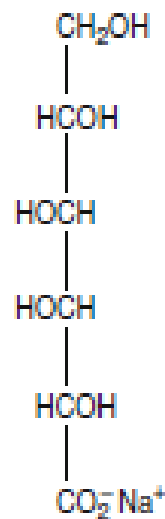
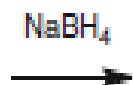
D-Galactitol



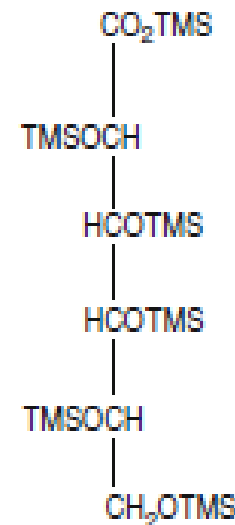
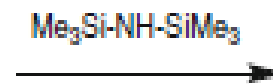
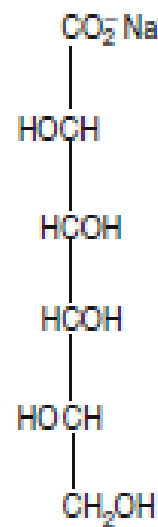
D-Galactitol
pentaacetate



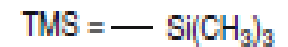
D-Galacturonic
Acid, Sodium salt



L-Galactonic
Acid, Sodium salt



Trimethylsilyl L-Galactonate
Penta(trimethylsilyl) Ether



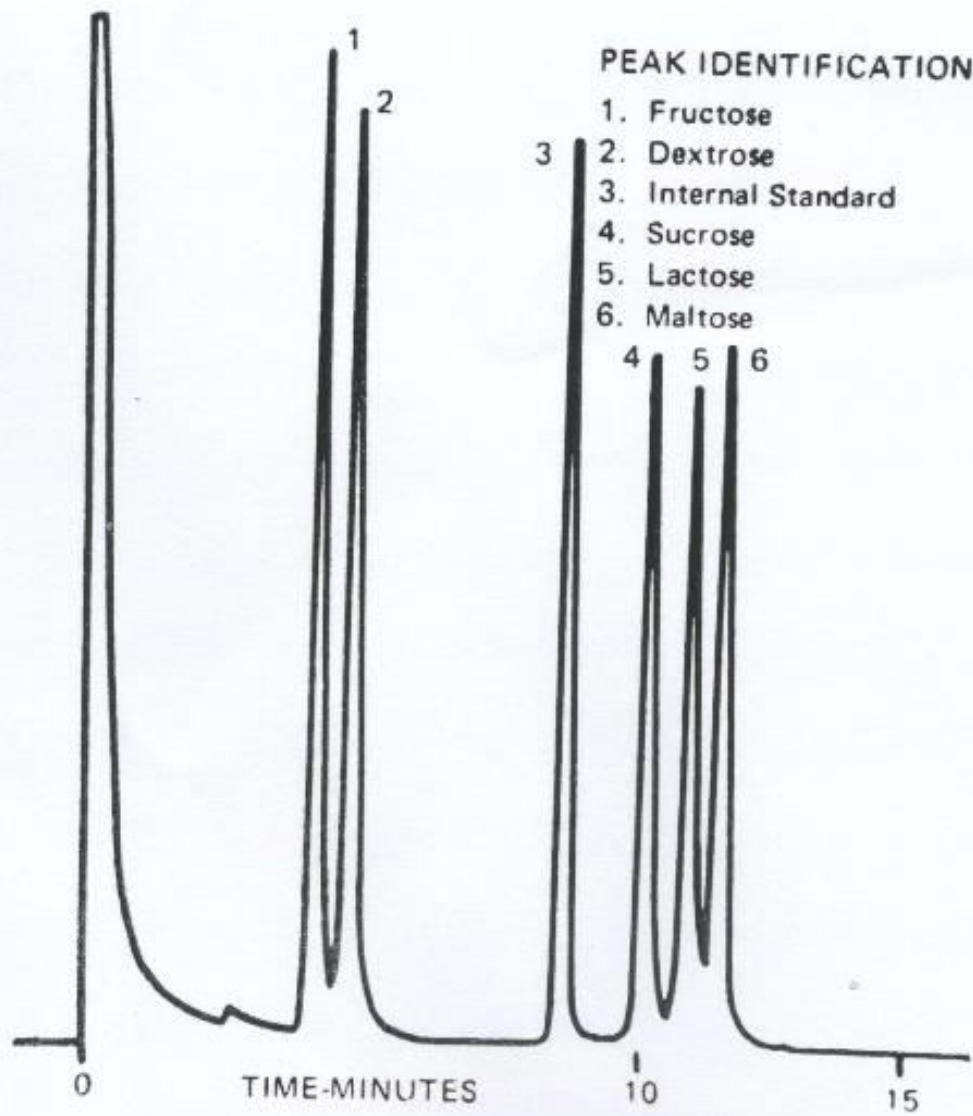


FIG. 3.1

GAS CHROMATOGRAPH OF SUGARS AND SUGAR STANDARD ON 2% OV-17