

HPLC analýza

Roztok	Složení	Lineární gradient							Celková doba analýzy	Rychlost průtoku
		<i>počátek</i>	<i>konec</i>	<i>D</i>	<i>T</i>	<i>počátek</i>	<i>konec</i>	<i>D</i>		
A	Acetonitril:metanol:Tri s HCl pufr 0,1 M (72:8:3)	100%	0%	6,5 min	7 min	0%	100%	2 min	15 min	2 ml min ⁻¹
B	Metanol:hexan (4:1)	0%	100%			100%	0%			

Popis lineárního gradientu pro stanovení pigmentů na HPLC.

T = doba setrvání gradientu

D = doba změny

HPLC hardware : C₁₈ kolona, Separační modul 2690, Waters, USA, spektrální analýzy dat detektor fotodiodového pole (DAD 996, Waters, USA). Roztoky a jejich gradient v průběhu separace jsou uvedeny v tabulce. Detekce pigmentů probíhá při 440 nm. Identifikace látek pomocí standard. Analýza (výpočet plochy peaků) pomocí softwaru Millenium.

Pozn.: Před analýzou na HPLC se musí vzorky zbavit všech nečistot, které by mohly ucpat kapiláry v HPLC (zbytky písku, rostlinného materiálu...), proto centrifuguje 40 min, 14 tis. otáček/ min. při 4 °C.