



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ  
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ ΚΑΙ ΠΡΟΝΟΙΑΣ  
ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΪΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**Πρόγραμμα Μεταπτυχιακών Σπουδών  
«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός  
Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων»**

**Μεταπτυχιακή Διπλωματική Εργασία  
ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ  
ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΜΕ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ  
ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ ΡΕΥΣΤΟΥ (SFC)**

**Του / Της**

**ΤΣΙΜΠΛΑΚΑΚΗ ΣΟΦΙΑ**

**A.M 212210**

Παρουσιάστηκε για τη μερική εκπλήρωση των υποχρεώσεων για την απονομή του  
Μεταπτυχιακού Τίτλου Σπουδών στο Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών  
του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής

**Επιβλέπων:** Παπαδόπουλος Απόστολος

ΑΘΗΝΑ, 2024



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA  
SCHOOL OF HEALTH AND CARE SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES**

**Master of Science in  
Advanced Aesthetics and Cosmetic Science: Development-Quality  
Control and Safety of new cosmetic products**

**Master Thesis  
QUALITY CONTROL OF BIOACTIVE COMPONENTS IN  
COSMETIC PRODUCTS USING SUPERCRITICAL FLUID  
CHROMATOGRAPHY (SFC)**

**By**

**SOFIA TSIMPLAKAKI**

**212210**

Presented for the partial fulfillment of the obligations for the award of the  
Master's Degree in the Department of Biomedical Sciences  
of the University of West Attica

**Supervisor:** Apostolos Papadopoulos

Athens, 2024

**ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ ΜΕ  
ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ ΡΕΥΣΤΟΥ (SFC)**

**Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής συμπεριλαμβανομένου και του Εισηγητή**

Η μεταπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

<b>A/α</b>	<b>ΟΝΟΜΑ ΕΠΩΝΥΜΟ</b>	<b>ΒΑΘΜΙΔΑ/ΙΔΙΟΤΗΤΑ</b>	<b>ΨΗΦΙΑΚΗ ΥΠΟΓΡΑΦΗ</b>
1	Παπαδόπουλος Απόστολος	Λέκτορας Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών/ ΠΑΔΑ	
2	Βαρβαρέσου Αθανασία	Καθηγήτρια Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών/ ΠΑΔΑ	
3	Πατίτσα Μαρία	Ακαδημαϊκή Υπότροφος Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών/ ΠΑΔΑ	

## ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ

Ο/η κάτωθι υπογεγραμμένος/η ΤΣΙΜΠΛΑΚΑΚΗ ΣΟΦΙΑ του ΓΕΩΡΓΙΟΥ, με αριθμό μητρώου 212210 φοιτητής/τρια του Προγράμματος Μεταπτυχιακών Σπουδών ροχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Αισθητικής και Κοσμητολογίας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της μεταπτυχιακής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της, είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

*\*Επιθυμώ την απαγόρευση πρόσβασης στο πλήρες κείμενο της εργασίας μου μέχρι ..... και έπειτα από αίτηση μου στη Βιβλιοθήκη και έγκριση του επιβλέποντα καθηγητή.*

Ο/Η Δηλών/ούσα

ΤΣΙΜΠΛΑΚΑΚΗ ΣΟΦΙΑ

**\* Ονοματεπώνυμο /Ιδιότητα**

**Ψηφιακή Υπογραφή Επιβλέποντα**  
(Υπογραφή)



Πνευματική ιδιοκτησία © 2024 Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής

Όλα τα δικαιώματα διατηρούνται

Copyright © 2024 University of West Attica

All rights reserved



## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

### ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΪΟΝΤΩΝ ΜΕ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ ΡΕΥΣΤΟΥ (SFC)

Σοφία Τσιμπλακάκη

Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών

Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, 2024

Η χρήση των καλλυντικών προϊόντων από τον άνθρωπο ξεκίνησε εκατοντάδες χρόνια πριν, με στόχο όχι μόνο τη βελτίωση της φυσικής εμφάνισης αλλά και την προστασία τμημάτων του φυσικού σώματος από ενδογενείς και εξωγενείς βλαπτικούς παράγοντες.

Στις μέρες μας, τα καλλυντικά προϊόντα αποτελούν τμήμα της καθημερινότητας του σύγχρονου ανθρώπου. Η Επιστήμη καλλυντικών, από την πλευρά της, αξιοποιώντας βιοδραστικά συστατικά φυσικής προέλευσης όπως, βιταμίνες, πρωτεΐνες, λιπίδια κ.ά. συμβάλλει στη βελτίωση της ποιότητας και της αποτελεσματικότητας των προϊόντων αυτών. Παράλληλα, αναζητεί διαρκώς καινοτόμες τεχνικές και μεθόδους ποιοτικού και ποσοτικού ελέγχου των βιοδραστικών συστατικών, στοχεύοντας όχι μόνο στην ικανοποίηση του καταναλωτή αλλά και στην προστασία του περιβάλλοντος.

Μια τέτοια τεχνική, η οποία βρίσκει εφαρμογές σε διάφορα επιστημονικά πεδία, είναι η Χρωματογραφία Υπερκρίσιμου Ρευστού (Supercritical Fluid Chromatography, SFC). Το κύριο χαρακτηριστικό της είναι η εκμετάλλευση των ιδιοτήτων των ρευστών σε υπερκρίσιμη κατάσταση για χρήση τους ως διαλύτες έκλουσης (κινητή φάση). Ο συνηθέστερος διαλύτης που χρησιμοποιείται είναι το Υπερκρίσιμο Διοξείδιο του Άνθρακα (Supercritical Carbon Dioxide,  $scCO_2$ ) το οποίο, εκτός από τις εξαιρετικές φυσικοχημικές του ιδιότητες, είναι φιλικό προς το περιβάλλον.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας βιβλιογραφικής ανασκόπησης διερευνάται ο ποιοτικός έλεγχος βιοδραστικών συστατικών καλλυντικών προϊόντων με την τεχνική SFC, ενώ παράλληλα εξετάζονται οι τρόποι ανίχνευσης του κάθε συστατικού.

Μέσα από αυτήν τη μελέτη εξήχθησαν ποικίλα και ενδιαφέροντα συμπεράσματα τα οποία σχετίζονται όχι μόνο με την αξιοποίηση των ήδη υπάρχοντων δυνατοτήτων της εν λόγω χρωματογραφικής τεχνικής στον τομέα των καλλυντικών, αλλά επίσης και με

τα σημεία εκείνα στα οποία επιδέχεται βελτιώσεις μελλοντικά, από πλευράς εφαρμογών και ανάπτυξης μεθόδων.

**Λέξεις κλειδιά:** Χρωματογραφία Υπερκρίσιμου Ρευστού, Ποιοτικός έλεγχος, Καλλυντικά, Βιοδραστικά συστατικά, Πράσινη Χημεία, Υπερκρίσιμο Διοξειδίο του Άνθρακα, Ανιχνευτές, Κινητή Φάση.

## ABSTRACT

### QUALITY CONTROL OF BIOACTIVE COMPONENTS IN COSMETIC PRODUCTS USING SUPERCRITICAL FLUID CHROMATOGRAPHY (SFC)

Sofia Tsimplakaki  
Department of Biomedical Sciences  
University of West Attica, 2024

The use of cosmetic products by people is dating back thousands of years, in order, not only to enhance physical appearance but also to protect certain parts of the body (skin, teeth etc) from endogenous and exogenous harmful factors.

Nowadays, cosmetics are part of contemporary people's everyday life. The Science of Cosmetics, by employing bioactive ingredients of natural origin such as, vitamins, proteins, lipids etc. contributes to the improvement of the quality and the effectiveness of these products. Simultaneously, cosmetics' scientists are continuously searching for modern methods of qualitative and quantitative determination of the active ingredients, aiming not only at the consumer's satisfaction but also at the environmental protection.

A method that fulfills the above criteria is Supercritical Fluid Chromatography (SFC). Its main characteristic is the employment of the properties that fluids attain upon reaching the supercritical state of matter, in order to use them as eluents (mobile phase). The solvent that is more often used is supercritical carbon dioxide (scCO<sub>2</sub>) which, apart from its excellent physicochemical properties, is friendly to the environment.

In this context, the present thesis deals with the qualitative determination of cosmetic products' bioactive ingredients by SFC, while certain methods for detecting each compound are detected.

Through this study, diverse and interesting conclusions are reached in relation not only to the employment of this chromatographic technique's properties on the cosmetics sector but also to the points that could be improved in the future, regarding method development and applications.

**Keywords:** Supercritical Fluid Chromatography, Quality Control, Cosmetics, Bioactive Compounds, Green Chemistry, Supercritical Carbon Dioxide, Detectors. Mobile phase.





## Ευχαριστίες

Αρχικά, εκφράζω την ειλικρινή μου ευγνωμοσύνη προς τον επιβλέποντα μου καθηγητή, κύριο Απόστολο Παπαδόπουλο , για την πολύτιμη καθοδήγηση και υποστήριξη που μου προσέφερε.

Θα ήθελα να απευθύνω μία ιδιαίτερη ευχαριστία προς την εταιρία SARANTIS, όπου έχω την τιμή να εργάζομαι επί 8 χρόνια. Η εταιρεία παρέχοντας οικονομική υποστήριξη αλλά και κατανόηση, έπαιξε καθοριστικό ρόλο ώστε να φέρω εις πέρας αυτή τη σημαντική επιστημονική προσπάθεια.

Επιπλέον θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την Ελένη Μπάγια και τη Γιώτα Δραγάνη , για την αδιάκοπη ενθάρρυνση και υποστήριξη τους κατά τη διάρκεια των τελευταίων ετών. Η αφοσίωση και το πάθος τους είναι συνεχής πηγή έμπνευσης και με κάνουν να επιδιώκω συνεχώς την εξέλιξη.

Τέλος , θα ήθελα να ευχαριστήσω το σύντροφο μου Δημήτρη για την υπομονή και την αμέριστη στήριξη του σε αυτό το ταξίδι.

Η συνεισφορά όλων σας ήταν καθοριστική για την ολοκλήρωση αυτής της προσπάθειας.

## Βιβλιογραφικό CV

Σοφία Τσιμπλακάκη

Μεταπτυχιακός Τίτλος Σπουδών  
«Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων»

Τίτλος: ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ  
ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΩΝ ΠΡΟΙΟΝΤΩΝ  
ΜΕ ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ  
ΡΕΥΣΤΟΥ (SFC)

Επιστημονικό Πεδίο: Θετικές επιστήμες

Βιογραφικά Στοιχεία: Intern QC, KORRES  
R&D Formulation Assistant, SARANTIS  
R&D Formulation Specialist, SARANTIS

Προσωπικά Στοιχεία: sofia-tsimplakaki@hotmail.gr

Εκπαίδευση: (προηγούμενα Απόφοιτη Τμήματος Χημείας Πανεπιστημίου  
πτυχία ή διπλώματα) Ιωαννίνων

Εκπλήρωσε τις απαιτήσεις για το Μεταπτυχιακό Τίτλο Σπουδών «Προχωρημένη Αισθητική και Κοσμητολογία: Ανάπτυξη, Ποιοτικός Έλεγχος και Ασφάλεια νέων καλλυντικών προϊόντων» στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών, το 02, 2024.

ΕΓΚΡΙΣΗ ΕΠΙΒΛΕΠΟΝΤΟΣ: Απόστολος Παπαδόπουλος

## Πίνακας περιεχομένων

ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ .....	0
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	2
ABSTRACT .....	3
Ευχαριστίες.....	5
Βιβλιογραφικό CV.....	6
Κατάλογος Πινάκων .....	10
Κατάλογος Σχημάτων .....	11
Κατάλογος Εικόνων .....	11
<b>ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b> .....	14
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1</b> .....	16
<b>Η ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....	16
1.1. Ορισμός – Βασικές αρχές .....	16
1.2. Ιστορική Αναδρομή .....	16
1.3. Η Πράσινη Χημεία .....	20
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2</b> .....	22
<b>ΤΟ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟ ΡΕΥΣΤΟ</b> .....	22
2.1. Εισαγωγή – Βασικές έννοιες .....	22
2.2. Ιδιότητες υπερκρίσιμου ρευστού .....	24
2.3. Το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα (Supercritical Carbon Dioxide, scCO <sub>2</sub> ) .....	25
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3</b> .....	27
<b>ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ ΡΕΥΣΤΟΥ – ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ</b> .....	27
3.1. Εισαγωγή.....	27
3.2. Εφαρμογές της SFC.....	27
3.2.1. <i>Φαρμακευτική – Διαχωρισμοί Χειραλικών Ενώσεων</i> .....	27
3.2.2. <i>Ιατροδικαστική</i> .....	28
3.2.3. <i>Κλινική Έρευνα</i> .....	28
3.2.4. <i>Επιστήμη Τροφίμων</i> .....	29
3.2.5. <i>Επιστήμη Καλλυντικών</i> .....	30
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4</b> .....	31
<b>ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ ΡΕΥΣΤΟΥ – ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ</b> .....	31
4.1. Αρχή Λειτουργίας .....	31
4.2. Οργανολογία - Εξοπλισμός.....	32

4.2.1.	<i>Σύστημα αντλιών</i> .....	33
4.2.2.	<i>Στατική φάση (Στήλη)</i> .....	34
4.2.3.	<i>Κλίβανος</i> .....	36
4.2.4.	<i>Ρυθμιστής αντίθλιψης</i> .....	36
4.2.5.	<i>Ανιχνευτές</i> .....	36
4.3.	Σύζευξη SFC – MS .....	38
4.4.	Ανάπτυξη μεθόδου.....	40
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5</b> .....		42
<b>ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ</b> .....		42
5.1.	Ορισμός .....	42
5.2.	Χρήση Βιοδραστικών Συστατικών στα Καλλυντικά .....	43
5.2.1.	<i>Βιοπολυμερή στα καλλυντικά</i> .....	43
5.2.2.	<i>Πρωτεΐνες – Πεπτίδια στα καλλυντικά</i> .....	45
5.2.3.	<i>Βιταμίνες στα καλλυντικά</i> .....	46
5.2.4.	<i>Αντιοξειδωτικά στα καλλυντικά</i> .....	49
5.2.5.	<i>Λιπίδια στα καλλυντικά</i> .....	50
5.2.6.	<i>Αντιηλιακά συστατικά στα καλλυντικά</i> .....	51
5.2.7.	<i>Κανναβινοειδή στα καλλυντικά</i> .....	53
5.2.8.	<i>Κουρκουμνοειδή στα καλλυντικά</i> .....	53
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6</b> .....		54
<b>ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΜΕ SFC</b> .....		54
6.1.	Εισαγωγή .....	54
6.2.	Προκατεργασία δειγμάτων .....	54
6.3.	Ποιοτικός έλεγχος βιοπολυμερών και πρωτεϊνών – πεπτιδίων .....	56
6.4.	Ποιοτικός έλεγχος βιταμινών .....	56
6.4.1.	<i>Βιταμίνη Α (LLE - SFC/PDA)</i> .....	56
6.4.2.	<i>β-καροτένιο (SFE – SFC/MS/MS)</i> .....	57
6.4.3.	<i>Βιταμίνη C (MD – SFC/MS/MS)</i> .....	58
6.4.4.	<i>Βιταμίνη E (LLE – SFC/MS)</i> .....	58
6.4.5.	<i>Βιταμίνη B<sub>3</sub> (MD – SFC/MS/MS)</i> .....	59
6.4.6.	<i>Προβιταμίνη B<sub>5</sub> (Δεξπανθενόλη) (LLE-SPE - SFC/PDA/MS)</i> .....	59
6.5.	Ποιοτικός έλεγχος αντιοξειδωτικών .....	60
6.5.1.	<i>Φλαβονοειδή (SFE – SFC/PDA)</i> .....	60
6.5.2.	<i>Συνένζυμο Q10 (LLE – UHPSFC/PDA)</i> .....	62

6.6.	Ποιοτικός έλεγχος λιπιδίων.....	62
6.6.1.	<i>Χοληστερόλη (MD – SFC/FID)</i> .....	62
6.6.2.	<i>Τριγλυκερίδια (MD – SFC/UV/ELSD)</i> .....	63
6.6.3.	<i>Κεραμίδια (LLE – UHPSFC/ESI/MS)</i> .....	63
6.7.	Ποιοτικός έλεγχος φίλτρων UV (LLE – UHPSFC/PDA) .....	64
6.8.	Ποιοτικός έλεγχος κανναβινοειδών .....	65
6.8.1.	<i>Κανναβιδιόλη (LLE – UHPSFC/PDA/MS)</i> .....	65
6.9.	Ποιοτικός έλεγχος Κουρκουμινωειδών .....	66
6.9.1.	<i>Κουρκουμίνη (LLE – UHPSFC/UV)</i> .....	66
<b>ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7</b> .....		69
<b>ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ</b> .....		69
<b>ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b> .....		72
<b>ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ</b> .....		80

## Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 2.1: Κρίσιμες τιμές θερμοκρασίας και πίεσης κάποιων υπερκρίσιμων ρευστών (23).  
233

Πίνακας 6.1: Συνοπτική παρουσίαση των διαδικασιών ποιοτικού ελέγχου βιοδραστικών συστατικών καλλυντικών προϊόντων με SFC. 677-68



## Κατάλογος Σχημάτων

<b>Σχήμα 2.1:</b> Χημική δομή του διοξειδίου του άνθρακα (CO <sub>2</sub> ). Τα βέλη αναπαριστούν τις αντίρροπες διπολικές ροπές των δεσμών C-O.....	25
<b>Σχήμα 4.1:</b> Εναντιομερικός διαχωρισμός ρακεμικού μίγματος. Οι δύο οπτικοί αντίποδες R, S καταγράφονται από τον ανιχνευτή σε διαφορετικό χρόνο. ....	35
<b>Σχήμα 5.1:</b> Η χημική δομή του Υαλουρονικού Οξέος (HA). ....	44
<b>Σχήμα 5.2:</b> Η χημική δομή της ρετινόλης.....	46
<b>Σχήμα 5.3:</b> Η χημική δομή του β-καροτενίου. ....	47
<b>Σχήμα 5.4:</b> Η χημική δομή του ασκορβικού οξέος. ....	47
<b>Σχήμα 5.5:</b> Η χημική δομή της δραστικότερης μορφής της Βιταμίνης E (α-τοκοφερόλη). ....	48
<b>Σχήμα 5.6:</b> Η χημική δομή της Βιταμίνης B <sub>3</sub> . ....	48
<b>Σχήμα 5.7:</b> Η χημική δομή της προβιταμίνης B5. ....	49
<b>Σχήμα 5.8:</b> Η χημική δομή του συνενζύμου Q10. ....	50
<b>Σχήμα 5.9:</b> Οι χημικές δομές του λινολεϊκού και του α-λινολενικού οξέος. ....	51
<b>Σχήμα 5.10:</b> Οργανικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως αντιηλιακά φίλτρα στα καλλυντικά. ....	52
<b>Σχήμα 5.11:</b> Η χημική δομή της κανναβιδιόλης.....	53
<b>Σχήμα 5.12:</b> Η χημική δομή της κουρκουμίνης.....	53

## Κατάλογος Εικόνων

Εικόνα 2.1: Τυπικό διάγραμμα φάσεων μιας καθαρής ουσίας. Πηγή: <a href="https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38694745">https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38694745</a>	23
Εικόνα 4.1: Σχηματική αναπαράσταση της αρχής λειτουργίας της SFC. Ανατύπωση από (41). <a href="http://195.134.76.37/chemicals/chem_carbondioxide.html">http://195.134.76.37/chemicals/chem_carbondioxide.html</a>	31
Εικόνα 4.2: Σχηματική αναπαράσταση του σχεδιασμού ενός τυπικού συστήματος SFC. Ανατύπωση από (25). <a href="http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-154911">http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-154911</a>	33

## Συντμήσεις και ακρωνύμια

AcOEt	: Ethyl Acetate
APCI	: Atmospheric Pressure Chemical Ionization
API	: Atmospheric Pressure Ionization
APPI	: Atmospheric Pressure Photoionization
BHT	: Butylated Hydroxytoluene
BPR	: Back Pressure Regulator
CAD	: Corona-charged Aerosol Detector
CBD	: Cannabidiol
CC	: Chiral Chromatography
CE	: Capillary Electrophoresis
CEC	: Capillary Electromatography
c HPLC	: capillary High Performance Liquid Chromatography
DAD	: Diode Array Detector
DL	: Dextrorotatory-Levorotatory
Δ9-THC	: Δ9-Tetrahydrocannabinol
EFAs	: Essential Fatty Acids
ELSD	: Evaporative Light Scattering Detector
ESI	: Electrospray Ionization
EtOH	: Ethanol
FFDCA	: Federal Food Drug and Cosmetic Act
FID	: Flame Ionization Detector
GC	: Gas Chromatography
HA	: Hyaluronic Acid
HPLC	: High Performance Liquid Chromatography
IC	: Ion Chromatography
iPrOH	: isopropanol
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
LicA	: Licochalcone A
LLE	: Liquid-Liquid Extraction
MD	: Microdilution
MeOH	: Methanol





MS	: Mass Spectrometry
NPSs	: New Psychoactive Substances
Pc	: critical Pressure
PDA	: Photo-diode Array
pSFC	: packed-column Supercritical Fluid Chromatography
RP	: Reversed Phase
RS	: Rectus-Sinister
scCO <sub>2</sub>	: supercritical CO <sub>2</sub>
SFC	: Supercritical Fluid Chromatography
SFC-MS	: Supercritical Fluid Chromatography – Mass Spectrometry
SFE	: Supercritical Fluid Extraction
SLE	: Solid-Liquid Extraction
SPE	: Solid Phase Extraction
Tc	: critical Temperature
THF	: Tetrahydrofuran
TLC	: Thin Layer Chromatography
UHPSFC	: Ultra-High Performance Supercritical Fluid Chromatography
UPC <sup>2</sup>	: Ultra Performance Convergence Chromatography
UV-Vis	: Ultraviolet-Visible

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βιομηχανία καλλυντικών αναπτύσσεται ταχύτατα και, αναμφισβήτητα, τα καλλυντικά προϊόντα παίζουν σημαντικό ρόλο στην καθημερινότητα του σύγχρονου ανθρώπου. Για τον λόγο αυτό, τόσο η επιλογή και προσθήκη των δραστικών συστατικών τους όσο και η απόδειξη της αποτελεσματικότητας και της ασφάλειάς τους θα πρέπει να στηρίζονται σε επιστημονικά δεδομένα (70).

Εξ' άλλου, στα αναλυτικά εργαστήρια αναζητούνται διαρκώς καινοτόμες μέθοδοι για τον διαχωρισμό, ποσοτικό και ποιοτικό προσδιορισμό βιοδραστικών συστατικών πολύπλοκων μιγμάτων, όπως είναι τα καλλυντικά.

Παράλληλα, με στόχο την ελαχιστοποίηση του περιβαλλοντικού αντικτύπου, η ανάπτυξη τεχνολογιών που ικανοποιούν τα θεμελιώδη κριτήρια της Πράσινης Χημείας κρίνεται απαραίτητη. Σε αυτήν την κατηγορία υπάγονται οι τεχνολογίες υψηλών πιέσεων, στις οποίες χρησιμοποιούνται υποκρίσιμα και υπερκρίσιμα ρευστά (23).

Μία από τις τεχνολογίες που ικανοποιούν τα παραπάνω είναι η χρωματογραφία υπερκρίσιμου ρευστού, SFC, η οποία, όπως έχει αποδειχθεί, είναι ιδιαίτερα αποτελεσματική. Το πεδίο των εφαρμογών της είναι αρκετά ευρύ και εκτείνεται από την ανάλυση τροφίμων και τον έλεγχο φαρμακευτικών σκευασμάτων μέχρι τους τομείς της κλινικής μεταβολομικής και της ιατροδικαστικής (31). Στην περίπτωση της Επιστήμης Καλλυντικών είναι εφικτός ο προσδιορισμός τόσο των δραστικών συστατικών όσο και των εκδόχων (39).

Σκοπός της παρούσας εργασίας βιβλιογραφικής ανασκόπησης είναι ο ποιοτικός έλεγχος βιοδραστικών συστατικών καλλυντικών προϊόντων, φυσικών πρώτων υλών και βιολογικών δειγμάτων με υπερκρίσιμη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (UHPSFC), η οποία αποτελεί υποκατηγορία της SFC.

Συγκεκριμένα, κατόπιν μιας ιστορικής αναδρομής στην τεχνική της Χρωματογραφίας, από τη γέννησή της μέχρι την ανακάλυψη της SFC, εξετάζεται το υπερκρίσιμο ρευστό τόσο από πλευράς φυσικοχημικών ιδιοτήτων όσο και από πλευράς συμβολής του στην προστασία του περιβάλλοντος. Ακολουθεί περιγραφή των εφαρμογών της εν λόγω χρωματογραφικής τεχνικής οι οποίες αποδίδονται στην αρχή λειτουργίας της και στην

κατάλληλη οργανολογία που έχει αναπτυχθεί. Τα τελευταία κεφάλαια της εργασίας πραγματεύονται κάποια βιοδραστικά συστατικά φυσικής προέλευσης που προστίθενται στα καλλυντικά και εξετάζεται ο ποιοτικός έλεγχος αυτών με SFC. Η παρούσα μελέτη κλείνει με κάποια ενδιαφέροντα συμπεράσματα που εξήχθησαν μέσα από τη βιβλιογραφική ανασκόπηση, όσον αφορά για την τεχνική SFC, τις εφαρμογές της και τα σημεία στα οποία επιδέχεται βελτιώσεις.



# ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1

## Η ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ

### 1.1. Ορισμός – Βασικές αρχές

Ο όρος «χρωματογραφία» περιλαμβάνει μία ομάδα τεχνικών φυσικού διαχωρισμού και προσδιορισμού των συστατικών μίγματος χημικών ή βιολογικών ουσιών (1-3). Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με κατανομή των συστατικών μεταξύ δύο φάσεων, μιας στατικής και μιας κινητής, διαδικασία κατά την οποία τα μόρια του μίγματος, αφού αλληλεπιδράσουν με την στατική φάση με μηχανισμό προσρόφησης, κατανομής ή ιοντανταλλαγής, διαχωρίζονται μεταξύ τους καθώς μετακινούνται με τη βοήθεια της κινητής φάσης (1-5). Οι διαφορές που υπάρχουν σε ορισμένες ιδιότητες των συστατικών – σημείο ζέσεως, πολικότητα, ηλεκτρικά φορτία, μέγεθος μορίων κ.ά. – διαφοροποιούν τη σχετική φυσικοχημική συγγένεια της κάθε ένωσης προς τις δύο φάσεις, ενώ αποτελούν την αρχή στην οποία στηρίζεται ο διαχωρισμός αυτός (1,2,4).

### 1.2. Ιστορική Αναδρομή

Η χρωματογραφία ανακαλύφθηκε και χρησιμοποιήθηκε για πρώτη φορά από τον Ρώσο βοτανολόγο Mikhail Tswett, το 1903. Στην προσπάθειά του να διαχωρίσει τις χρωστικές των φύλλων, ο Tswett διαβίβασε το εκχύλισμά τους μέσα από στήλη με κονιοποιημένο ανθρακικό ασβέστιο. Λόγω του ότι ο διαχωρισμός των συστατικών (χλωροφύλλες) εμφανίστηκε με τη μορφή ευδιάκριτων έγχρωμων ζωνών στη στήλη, ονόμασε την τεχνική «χρωματογραφία», από τις ελληνικές λέξεις *χρώμα* και *γράφω* (1,3,6). Μετά από μερικές δεκαετίες, η ανακάλυψη του Tswett αναθεωρήθηκε από κάποιους επιστήμονες με αποτέλεσμα να αναδυθούν διάφορες παραλλαγές της χρωματογραφίας (6).

Το 1941, οι A.J.P. Martin και R.L.M. Synge περιέγραψαν για πρώτη φορά την τεχνική της χρωματογραφίας κατανομής υγρού-υγρού (σε στήλες), η οποία αναπτύχθηκε μέσω της προσπάθειας διαχωρισμού μίγματος μονοάμινο-μονοκαρβοξυλικών οξέων στα

συστατικά του. Κατά την τεχνική αυτή, τόσο η στατική όσο και η κινητή φάση βρίσκονται σε υγρή μορφή. Με την εισαγωγή της θεωρίας κατανομής, ως τη βάση του διαχωρισμού, οι ερευνητές κατάφεραν να καταστήσουν τη χρωματογραφία μία γραμμική διαδικασία που μπορούσε να περιγραφεί με μαθηματικούς όρους (5). Γι' αυτήν την ανακάλυψή τους, οι δύο επιστήμονες τιμήθηκαν με το Βραβείο Νόμπελ Χημείας το 1952 (5,6).

Αξίζει να σημειωθεί ότι, παρά τον επαναστατικό χαρακτήρα της ανακάλυψης των Martin & Synge, η χρωματογραφία κατανομής υγρού-υγρού σε στήλες δεν έγινε αμέσως αποδεκτή από πολλούς επιστήμονες. Απεναντίας, η μέθοδος έγινε αρκετά δημοφιλής όταν, μετά από λίγα χρόνια (1944), αναπτύχθηκε η μικροαναλυτική τεχνική της χρωματογραφίας χάρτη, από τους Consden, Gordon και Martin (1,5).

Ουσιαστικά, η χρωματογραφία χάρτη αναδύθηκε από την επιθυμία επέκτασης των εφαρμογών της χρωματογραφίας κατανομής (σε στήλες), με σκοπό τον διαχωρισμό όξινων και βασικών αμινοξέων (5). Σύμφωνα με την αυτήν την τεχνική επίπεδης χρωματογραφίας, ως στερεό υλικό στήριξης της στατικής φάσης χρησιμοποιείται μία ταινία διηθητικού χαρτιού (κυτταρίνη). Κατά τον εμποτισμό της με νερό σε βαθμό κορεσμού, τα σταγονίδια ύδατος που εγκαθίστανται στο εσωτερικό των πόρων της αποτελούν την στατική υγρή φάση. Η κινητή φάση αποτελείται από το κατάλληλο μίγμα διαλυτών μέσα στον θάλαμο ανάπτυξης (2,4,7). Έτσι, ο κύριος μηχανισμός διαχωρισμού είναι η κατανομή μεταξύ των δύο υγρών, ενός καθηλωμένου στον χάρτη και αυτού που κινείται στον χάρτη (1,7). Τα ιδιαίτερα πλεονεκτήματα της εν λόγω παραλλαγής, συγκρινόμενη με τις προγενέστερες τεχνικές, είναι η απλότητα και η ταχύτητα (5,7).

Επέκταση των ήδη υπάρχοντων τεχνικών, χωρίς να αποτελεί καινούργια ανακάλυψη, είναι η χρωματογραφία λεπτής στοιβάδας (Thin Layer Chromatography, TLC). Πρόκειται για είδος επίπεδης χρωματογραφικής τεχνικής, όπως η χρωματογραφία χάρτη. Παρ' όλα αυτά, ενώ για την δεύτερη το μοναδικό υλικό στήριξης της στατικής υγρής φάσης είναι η κυτταρίνη, η TLC επιτρέπει ποικιλία στατικών φάσεων. Παράλληλα, η ταχύτητα ανάλυσης είναι μεγαλύτερη ενώ η τεχνική επιδέχεται αυτοματισμό (1,5,7).

Το 1952, οι A.T. James και A.J.P. Martin δημοσιεύουν για πρώτη φορά μία εργασία επάνω στην αέρια χρωματογραφία (Gas Chromatography, GC), τεχνική κατά την οποία

ο διαχωρισμός των συστατικών υπακούει στην θεωρία κατανομής (5,8). Συγκεκριμένα, η στατική φάση είναι ένα μη πτητικό υγρό προσροφημένο στην επιφάνεια στήλης αδρανούς στερεού, ενώ ως κινητή φάση χρησιμοποιείται ένα αδρανές αέριο το οποίο διαπερνάει τη στήλη υπό υψηλή πίεση. Πρόκειται για χρωματογραφία αερίου-υγρού. Το προς ανάλυση δείγμα εισέρχεται με τη μορφή ατμών στην αέρια, κινητή φάση και τα συστατικά του διασπείρονται μεταξύ της κινητής και της υγρής, στατικής φάσης (4).

Γύρω στα μέσα της δεκαετίας του 1960, το πεδίο ήταν αρκετά ώριμο για το επόμενο σημαντικό βήμα: την ανάπτυξη ενός ολοκληρωμένου συστήματος υγρής χρωματογραφίας, το οποίο θα βασίζεται στο μοντέλο του αερίου χρωματογράφου. Έτσι, αναπτύχθηκε η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) (5).

Πριν την ανακάλυψη του αναλυτικού οργάνου της HPLC, οι επιστήμονες στηρίζονταν στις παραδοσιακές μεθόδους υγρής χρωματογραφίας, όπου η ταχύτητα ροής των διαλυτών καθορίζονταν από τη βαρύτητα. Για τον λόγο αυτό, οι διατάξεις σε πολλές περιπτώσεις αποδεικνύονταν ανεπαρκείς, μιας και οι διαχωρισμοί απαιτούσαν ώρες ή ακόμα και ημέρες μέχρι να ολοκληρωθούν. Από την άλλη πλευρά, παρ' όλο που η αέρια χρωματογραφία της εποχής ήταν περισσότερο αποτελεσματική, δεν ήταν κατάλληλη για την ανάλυση εξαιρετικά πολικών βιοπολυμερών υψηλού μοριακού βάρους (9,10). Παράλληλα, ήταν αδύνατο να χρησιμοποιηθεί για τις ανάγκες της Οργανικής Χημείας, εξ' αιτίας της θερμικής αστάθειας των αντίστοιχων διαλυτών (10). Συνεπώς, αναπτύχθηκε η HPLC από τους C. Giddings, J. Huber και τους συνεργάτες τους. (9,10).

Με αυτήν την χρωματογραφική τεχνική, είναι εφικτή η δομική και λειτουργική ανάλυση καθώς και ο καθαρισμός πολλών ουσιών εντός μικρού χρονικού διαστήματος. Έχει αποδειχθεί αποτελεσματική για τον διαχωρισμό και την ταυτοποίηση αμινοξέων, υδατανθράκων, λιπιδίων, νουκλεϊνικών οξέων, πρωτεϊνών, στεροειδών και άλλων βιολογικά ενεργών μορίων. Στην HPLC, η κινητή φάση διαπερνάει τις στήλες υπό υψηλή πίεση (10-400 bar) και με μεγάλη ταχύτητα ροής (0,1-5,0 cm/sec), οπότε η ισχύς του διαχωρισμού αυξάνει και η ανάλυση ολοκληρώνεται σύντομα (4,10).

Το 1968 εισήχθη στην επιστημονική βιβλιογραφία ο όρος «χρωματογραφία συγγένειας», από τους Cuatrecasas, Anfinsen και Wilchek, με σκοπό την περιγραφή

μιας καινούργιας, για τα ως τότε δεδομένα, μεθόδου διαχωρισμού βιοχημικών μιγμάτων στα συστατικά τους (11,12). Πρόκειται για μία μορφή υγρής χρωματογραφίας η οποία χρησιμοποιείται όχι μόνο για την απομόνωση αλλά και για τον καθαρισμό συγκεκριμένων μορίων, ενώ στηρίζεται στην επιλεκτική και αντιστρεπτή σύνδεση που έχει παρατηρηθεί σε πολλές βιολογικές αλληλεπιδράσεις. Παραδείγματα τέτοιων αλληλεπιδράσεων είναι αυτές που συμβαίνουν μεταξύ αντιγόνου-αντισώματος, ενζύμου-υποστρώματος ή ορμόνης-υποδοχέα. Κατά την εφαρμογή της τεχνικής, πραγματοποιείται ακινητοποίηση της μιας ουσίας του ζεύγους επάνω σε χρωματογραφική στήλη (στατική φάση). Κατά το πέρασμα του προς ανάλυση μίγματος από τη στήλη (κινητή φάση), η δεύτερη ουσία του ζεύγους προσδένεται λόγω βιολογικής συγγένειας στην ακινητοποιημένη ουσία, αφήνοντας να απομακρυνθούν τα υπόλοιπα συστατικά (4,11,12).

Από ιστορικής άποψης, μεταξύ της αέριας και της υγρής χρωματογραφίας τοποθετείται η χρωματογραφία υπερκρίσιμου ρευστού (Supercritical Fluid Chromatography, SFC). Η πρώτη γραπτή αναφορά σε χρωματογραφική τεχνική όπου οι κινητή φάση θα βρίσκεται σε υπερκρίσιμη κατάσταση έγινε το 1958 από τον James E. Lovelock, ενώ οι ουσιαστικές έρευνες επάνω στη μεταφορά μη πτητικών ουσιών διαμέσου χρωματογραφικής στήλης με τη βοήθεια συμπυκνωμένων αερίων πραγματοποιήθηκαν το 1960 από τρεις ανεξάρτητες μεταξύ τους επιστημονικές ομάδες (5). Παρ' όλα αυτά, λόγω ανεπαρκούς οργανολογίας, οι έρευνες αυτές δεν αξιοποιήθηκαν (5,13). Το ενδιαφέρον για την SFC αναγεννήθηκε στις αρχές της δεκαετίας του 1980 (5,13), όταν, για πρώτη φορά, χρησιμοποιήθηκε CO<sub>2</sub> ή μίγμα CO<sub>2</sub> με μικρές ποσότητες πολικού οργανικού διαλύτη ως κινητή φάση (5). Κατά το δεύτερο μισό της δεκαετίας 1980-1990 η SFC σημείωσε ξαφνική ανάπτυξη, ενώ κατά τη δεκαετία του 1990 έγινε περιζήτητη και μπορούσε να υποκαταστήσει την HPLC ή ακόμα και να υπερισχύσει έναντι αυτής σε πολλές αναλύσεις (5,13).

Η ανάπτυξη της SFC αποδίδεται στα πλεονεκτήματά της ως προς τους εναντιομερικούς διαχωρισμούς χειραλικών ενώσεων, όπου συχνά χαρακτηρίζεται από υψηλή διαχωριστική ικανότητα σε υψηλότερες ταχύτητες, συγκρινόμενη με την HPLC (14). Ο διαχωρισμός μια μεγάλης σειράς συστατικών μέσα σε εύλογο χρονικό διάστημα ανάλυσης καθορίζεται από τρεις ανεξάρτητες μεταξύ τους και αυστηρά ελεγχόμενες παραμέτρους: πίεση, θερμοκρασία και χημική σύσταση της κινητής φάσης. Αναφορικά με την τελευταία παράμετρο, υπάρχει πληθώρα συνδιαλυτών που δύνανται να

διευκολύνουν την ανάπτυξη της μεθόδου και να επιταχύνουν τη διαδικασία. Η εξάτμιση του CO<sub>2</sub> μετά την ανάλυση έχει ως αποτέλεσμα την απομόνωση των συστατικών εντός του συνδιαλύτη. Μάλιστα, αξίζει να σημειωθεί ότι, συνήθως, τα συστατικά επιδεικνύουν μεγαλύτερη διαλυτότητα σε μίγματα αποτελούμενα από υπερκρίσιμα ρευστά και συνδιαλύτες, παρά σε καθαρούς οργανικούς διαλύτες (13).

Με το πέρασμα των χρόνων αναπτύχθηκαν κι άλλες τεχνικές, οι οποίες ουσιαστικά αποτελούσαν υβριδικές παραλλαγές των ήδη υπαρχόντων (6). Κάποιες από αυτές είναι η τριχοειδική ηλεκτροματογραφία (Capillary Electromatography, CEC) (6,15), η ιοντική χρωματογραφία (Ion Chromatography, IC) (16), η χειρόμορφη χρωματογραφία (Chiral Chromatography, CC) (17) και η πολυδιάστατη χρωματογραφία (18).

### 1.3. Η Πράσινη Χημεία

Στις αρχές της δεκαετίας του 1990 αναδύθηκε η έννοια της Πράσινης Χημείας, με σκοπό να μετριαστούν οι προερχόμενοι από τα χημικά προϊόντα κίνδυνοι τόσο για το περιβάλλον όσο και για την ανθρώπινη υγεία (19-22). Σύμφωνα με τον ορισμό που της αποδόθηκε από τη Διεθνή Ένωση Καθαρής και Εφαρμοσμένης Χημείας (International Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), Πράσινη Χημεία καλείται «Η ανακάλυψη, ο σχεδιασμός και η εφαρμογή χημικών προϊόντων και διεργασιών ώστε να ελαττωθεί ή να εξαλειφθεί η χρήση και η παραγωγή επικίνδυνων ουσιών» (21).

Η ιδέα της Πράσινης Χημείας στηρίζεται σε δώδεκα βασικές αρχές, οι οποίες αποτελούν οδηγούς που βοηθούν τους χημικούς να πραγματώσουν τον στόχο για διεθνή βιωσιμότητα, μέσω της προσεκτικής οργάνωσης των χημικών διεργασιών και του μοριακού σχεδιασμού (20,22). Οι αρχές αυτές, οι οποίες εισήχθησαν από τους Paul Anastas και John Warner το 1998, είναι (19-22):

1. Πρόληψη, για την αποφυγή παραγωγής τοξικών αποβλήτων.
2. Οικονομία Ατόμων, μέσω αποδοτικότερης χρήσης των συνθετικών μεθόδων.
3. Λιγότερο επιβλαβής χημική σύνθεση.
4. Σχεδιασμός ασφαλέστερων χημικών προϊόντων.
5. Ασφαλέστεροι διαλύτες και βοηθητικά μέσα.
6. Σχεδιασμός με στόχο την ενεργειακή αποτελεσματικότητα.



7. Χρήση ανανεώσιμων πρώτων υλών.
8. Ελάττωση ενδιάμεσων παραγώγων.
9. Κατάλυση
10. Σχεδιασμός προϊόντων που αποικοδομούνται εύκολα.
11. Ανάλυση σε πραγματικό χρόνο, για πρόληψη της ρύπανσης.
12. Πρακτικές ασφαλέστερης Χημείας για την πρόληψη ατυχημάτων.

Από τις προαναφερθείσες βασικές αρχές, η 5<sup>η</sup> είναι αυτή που εστιάζει στον ασφαλή τρόπο χρήσης διαλυτών και βοηθητικών ουσιών, όπως είναι οι διαχωριστικοί παράγοντες. Έτσι, για παράδειγμα, στις περιπτώσεις χρωματογραφικών διαχωρισμών όπου καταναλώνονται μεγάλες ποσότητες τοξικών, εύφλεκτων και διαβρωτικών οργανικών διαλυτών, η ανάπτυξη φιλικών για το περιβάλλον, εύχρηστων και ανακυκλώσιμων διαλυτών που θα υποκαταστήσουν τους αντίστοιχους οργανικούς, κρίθηκε αναγκαία (14,20,22).

Με οδηγό τις αρχές που διέπουν την Πράσινη Χημεία, οι χημικοί άρχισαν τη διερεύνηση εναλλακτικών, ασφαλέστερων λύσεων όπως τα συστήματα από τα οποία απουσιάζουν οι διαλύτες και η χρήση οικολογικών (πράσινων) διαλυτών. Στους τελευταίους συγκαταλέγονται το νερό, τα ιοντικά υγρά αλλά και τα υπερκρίσιμα ρευστά (supercritical fluids, SCF) (20,22).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2

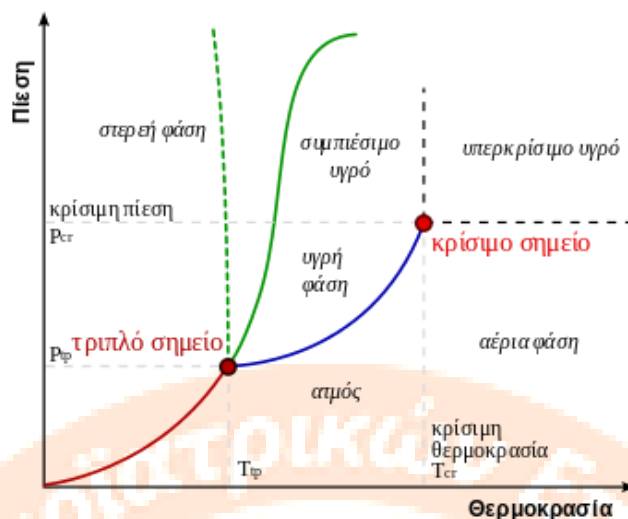
### ΤΟ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟ ΡΕΥΣΤΟ

#### 2.1. Εισαγωγή – Βασικές έννοιες

Με στόχο την ελαχιστοποίηση του περιβαλλοντικού αντικτύπου, η ανάπτυξη εναλλακτικών τεχνολογιών είναι απαραίτητη. Τεχνολογίες που ικανοποιούν θεμελιώδη κριτήρια της Πράσινης Χημείας όπως, μειωμένη ενεργειακή κατανάλωση, λιγότερο τοξικά απόβλητα, αποδοτική μετατροπή των αντιδρώντων σε ασφαλή, υψηλής ποιότητας προϊόντα και λιγότερα παραπροϊόντα από τις χημικές διεργασίες. Οι τεχνολογίες υψηλών πιέσεων, στις οποίες χρησιμοποιούνται υποκρίσιμα και υπερκρίσιμα ρευστά, ανήκουν σε αυτήν την κατηγορία (23).

Η πρώτη επιστημονική δημοσίευση επάνω στα υπερκρίσιμα ρευστά πραγματοποιήθηκε το 1822 από τον Charles Caignard de la Tour, ενώ το 1869 ο όρος «κρίσιμο σημείο ουσίας» αναφέρθηκε για πρώτη φορά από τον Thomas Andrews (23).

Σε ένα τυπικό διάγραμμα φάσεων (P-T) μιας καθαρής ουσίας (εικόνα 2.1), το τριπλό σημείο αντιστοιχεί στην θερμοδυναμική ισορροπία μεταξύ στερεής, υγρής και αέριας φάσης ενώ το κρίσιμο σημείο αντιστοιχεί στην κρίσιμη πίεση  $P_c$  και στην κρίσιμη θερμοκρασία  $T_c$ , μεταξύ αέριας και υγρής φάσης και οι οποίες έχουν τιμές χαρακτηριστικές για την κάθε ουσία (κρίσιμες σταθερές), όπως φαίνεται στον πίνακα 2.1 (23,24).



**Εικόνα 2.1:** Τυπικό διάγραμμα φάσεων μιας καθαρής ουσίας. Πηγή: <https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=38694745>

Όπως προκύπτει από το διάγραμμα (εικ. 2.1), κάθε φορά που η θερμοκρασία και η πίεση υπερβαίνουν τις κρίσιμες τιμές, σχηματίζεται το υπερκρίσιμο ρευστό της ουσίας. Στην κατάσταση αυτή, ούτε η περαιτέρω ανύψωση της πίεσης δύναται να το μετατρέψει σε υγρό αλλά ούτε και οι υψηλές θερμοκρασίες να το οδηγήσουν στην αέρια φάση (25). Στον πίνακα 2.1 παρουσιάζονται οι κρίσιμες σταθερές ( $T_c$ ,  $P_c$ ) κάποιων υπερκρίσιμων ρευστών (23).

**Πίνακας 2.1:** Κρίσιμες τιμές θερμοκρασίας και πίεσης κάποιων υπερκρίσιμων ρευστών (23).

<i>Χημική ουσία</i>	<i>Κρίσιμη θερμοκρασία, <math>T_c</math> (°C)</i>	<i>Κρίσιμη πίεση, <math>P_c</math> (bar)</i>
Αργό	-122,5	48,6
Διοξείδιο του άνθρακα	31,1	73,8
Νερό	374,0	220,6
Εξαφθοριούχο θείο	45,5	37,6
Ξένο	16,6	58,3
Φθοροφόρμιο	25,9	48,2
Διφθορομεθάνιο	78,1	57,8
Διμεθυλαιθέρας	126,9	54,0
Προπάνιο	96,7	42,5

## 2.2. Ιδιότητες υπερκρίσιμου ρευστού

Ένα ρευστό στην υπερκρίσιμη κατάσταση είναι μία ουσία η οποία συγχρόνως διαθέτει ιδιότητες αερίου και υγρού. Προσομοιάζει στα αέρια ως προς τη συμπιεστότητα, ενώ παράλληλα η πυκνότητα και η διαλυτική του ισχύς είναι συγκρίσιμες αυτών ενός υγρού (23,26). Με άλλα λόγια, τα υπερκρίσιμα ρευστά μπορεί να θεωρηθούν ως πολύ συμπιεσμένα αέρια με πυκνότητα που προσομοιάζει αυτήν του υγρού. Συνδυάζουν με ένα μοναδικό τρόπο τα χαρακτηριστικά και των δύο φυσικών καταστάσεων (25).

Αυτή η συμπεριφορά παρατηρείται μόνο όταν η ουσία βρίσκεται σε συνθήκες πίεσης και θερμοκρασίας επάνω από τις κρίσιμες τιμές. Παρ' όλα αυτά, το αντίστροφο δεν ισχύει πάντα. Δηλαδή, πιέσεις και θερμοκρασίες ανώτερες από τις κρίσιμες τιμές δεν οδηγούν πάντα στη δημιουργία υπερκρίσιμου ρευστού (26).

Παρ' όλο που, σε γενικές γραμμές, η διαλυτική ικανότητα των υγρών υπερτερεί αυτής των υπερκρίσιμων ρευστών, η χρήση των δεύτερων ως κινητές φάσεις στη χρωματογραφία παρέχει πολλά και σημαντικά πλεονεκτήματα (26):

1. *Εύκολος έλεγχος της διαλυτικής ικανότητας του ρευστού.* Η διαλυτική ικανότητα ενός υπερκρίσιμου ρευστού αποτελεί συνάρτηση της πυκνότητάς του, η οποία, με τη σειρά της, εξαρτάται από την πίεση και τη θερμοκρασία (14,23,26,27).
2. *Μεγάλη ταχύτητα διάχυσης.* Στη χρωματογραφία, οι υψηλότεροι ρυθμοί διάχυσης οδηγούν σε μεγαλύτερη αποτελεσματικότητα κατά τους διαχωρισμούς χημικών ενώσεων. Με αύξηση της πίεσης, όμως, οι συντελεστές διάχυσης ελαττώνονται με αποτέλεσμα τη λιγότερο ευνοϊκή ταχύτητα μεταφοράς μάζας (26).
3. *Χαμηλό ιξώδες.* Τα υπερκρίσιμα ρευστά παρουσιάζουν σημαντικά χαμηλότερα ιξώδη σε σύγκριση με τα υγρά. Αυτό το φαινόμενο έχει ως αποτέλεσμα τις ευνοϊκές ρεολογικές ιδιότητες, αφού τους επιτρέπει να διαπερνούν μήτρες μικρής διαπερατότητας ταχύτερα απ' ό,τι οι συμβατικοί διαλύτες (26).
4. *Άριστη ικανότητα μεταφοράς θερμότητας.* Η ιδιότητα αυτή επιτρέπει τη χρήση τους ως ρευστά μεταφοράς θερμότητας, με πρακτικά μηδενικό αντίκτυπο στο περιβάλλον, σε αντίθεση με τις τοξικές συμβατικές μεθόδους (23).

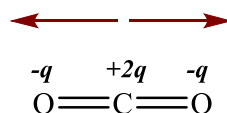
### 2.3. Το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα (Supercritical Carbon Dioxide, scCO<sub>2</sub>)

Κατόπιν ενός μεγάλου αριθμού πειραμάτων με ποικιλία υγρών, το διοξείδιο του άνθρακα (CO<sub>2</sub>) έχει επιλεγεί ως ο καλύτερος διαλύτης για υπερκρίσιμους διαχωρισμούς (14).

Πρόκειται για διαλύτη ασφαλή, χημικά αδρανή έναντι των περισσοτέρων ουσιών, μη-τοξικό, μη-εύφλεκτο, φιλικό προς το περιβάλλον, άμεσα διαθέσιμο, οικονομικό, 100% ανακτήσιμο και ανακυκλώσιμο. Επίσης, χαρακτηρίζεται από μέσες και διαχειρίσιμες τιμές κρίσιμης πίεσης ( $P_{crit} = 7,3 \text{ MPa}$ ) και θερμοκρασίας ( $T_{crit} = 31^\circ\text{C}$ ), χαμηλό ιξώδες και επιφανειακή τάση, ενώ παρέχει τη δυνατότητα ανάμειξης με μεγάλη γκάμα οργανικών διαλυτών (14,20,25,28,29).

Ένα από τα βασικά μειονεκτήματα του scCO<sub>2</sub> είναι η δυσκολία διαλυτοποίησης πολικών και ιοντικών ενώσεων. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στις φυσικοχημικές του ιδιότητες, καθ' ό,τι είναι μη-πρωτικός, άπολος διαλύτης με χαμηλή διηλεκτρική σταθερά.

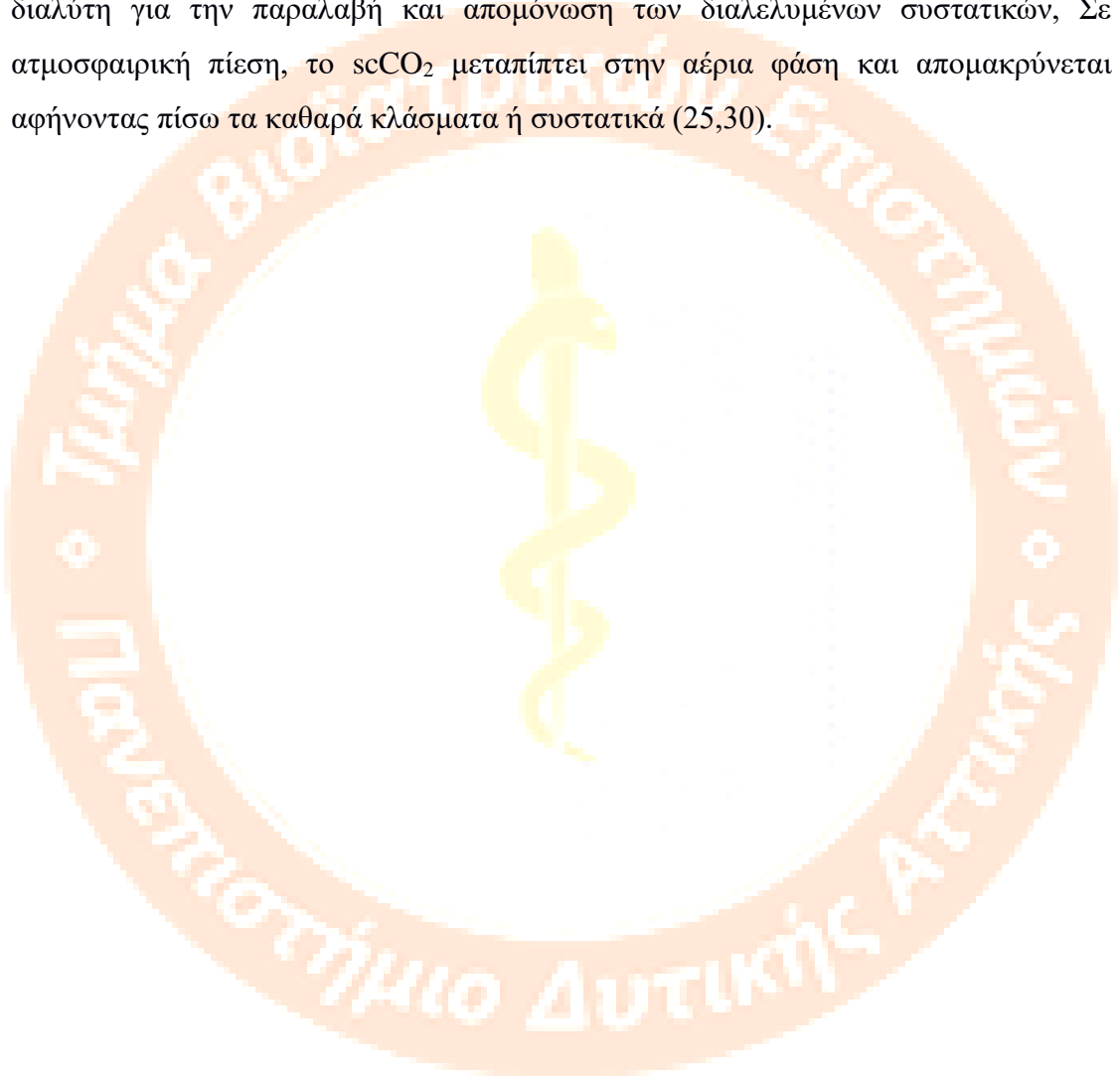
Η χημική δομή του CO<sub>2</sub> (Σχήμα 2.1) δείχνει ότι πρόκειται για γραμμικό μόριο με μηδενική διπολική ροπή και όξινο χαρακτήρα κατά Lewis (14,28). Αποτελείται από το κεντρικό άτομο άνθρακα και δύο πλευρικά άτομα οξυγόνου συνδεδεμένα με τον άνθρακα μέσω διπλών ομοιοπολικών δεσμών. Εξ' αιτίας της διαφοράς ηλεκτραρνητικότητας ανάμεσα στον άνθρακα και τα οξυγόνα, το μόριο παρουσιάζει υψηλό διαχωρισμό φορτίου. Η διαμόρφωση αυτή παράγει δύο δεσμούς C – O με αντίρροπες διπολικές ροπές. Συνεπώς, η συνολική διπολική ροπή του μορίου είναι μηδενική. Από την άλλη πλευρά, όμως, το μόριο διαθέτει τετραπολική ροπή ως αποτέλεσμα της ανομοιόμορφης κατανομής του φορτίου (29).



**Σχήμα 2.1:** Χημική δομή του διοξειδίου του άνθρακα (CO<sub>2</sub>). Τα βέλη αναπαριστούν τις αντίρροπες διπολικές ροπές των δεσμών C-O.

Η χαμηλή πολικότητα του CO<sub>2</sub>, η οποία είναι παραπλήσια με αυτήν του εξανίου, ρυθμίζεται με προσθήκη συνδιαλυτών όπως, μεθανόλη, αιθανόλη ή ακετονιτρίλιο, έτσι ώστε αυτή να αυξηθεί (14,25). Εξ' άλλου, η παρουσία τετραπολικής ροπής καθιστά εφικτή την διαλυτοποίηση κάποιων πολικών συστατικών σε αυτό υπό συνθήκες υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας (30).

Λόγω της χαμηλής κρίσιμης θερμοκρασίας του, δεν απαιτείται τελική εξάτμιση του διαλύτη για την παραλαβή και απομόνωση των διαλελυμένων συστατικών. Σε ατμοσφαιρική πίεση, το scCO<sub>2</sub> μεταπίπτει στην αέρια φάση και απομακρύνεται αφήνοντας πίσω τα καθαρά κλάσματα ή συστατικά (25,30).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3

### ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ ΡΕΥΣΤΟΥ – ΕΦΑΡΜΟΓΕΣ

#### 3.1. Εισαγωγή

Η SFC έχει αποδειχθεί να είναι μία ιδιαίτερα αποτελεσματική αναλυτική τεχνική διαχωρισμού που δύναται να συναγωνιστεί επάξια άλλες, καλά εδραιωμένες αναλυτικές μεθόδους, όπως η LC και η GC. Το πεδίο των εφαρμογών της είναι αρκετά ευρύ και εκτείνεται από την ανάλυση τροφίμων και τον έλεγχο φαρμακευτικών σκευασμάτων μέχρι τους τομείς της κλινικής μεταβολομικής και της ιατροδικαστικής (31). Πρόκειται για διαρκώς εξελισσόμενη αναλυτική τεχνική που χρησιμοποιείται για περισσότερο από 50 χρόνια με κύριο στόχο στον σεβασμό, στη διατήρηση του περιβάλλοντος και της ανθρώπινης υγείας. (32).

#### 3.2. Εφαρμογές της SFC

##### 3.2.1. Φαρμακευτική – Διαχωρισμοί Χειραλικών Ενώσεων

Μία από τις πιο επιτυχημένες εφαρμογές της SFC είναι οι διαχωρισμοί χειραλικών ενώσεων ή διαφορετικά «εναντιομερών ενώσεων». Το γεγονός αυτό αποδίδεται στην υψηλή ικανότητα διάχυσης σε συνδυασμό με το χαμηλό ιξώδες που χαρακτηρίζουν το υπερκρίσιμο διοξείδιο του άνθρακα το οποίο χρησιμοποιείται στην κινητή φάση. Η τεχνική εφαρμόζεται όχι μόνο σε αναλυτικής αλλά και σε προπαρασκευαστικής κλίμακας διαχωρισμούς εναντιομερών ενώσεων που συναντώνται κυρίως κατά τη διαδικασία ανάπτυξης φαρμακευτικών ουσιών (33).

Η πρώτη αναφορά σε διαχωρισμό χειραλικών ενώσεων με την εν λόγω τεχνική έγινε από τους Mourier et al., το 1985. Έκτοτε, η SFC έχει χρησιμοποιηθεί εκτενώς για τέτοιου τύπου διαχωρισμούς, αναλύσεις, αλλά και για τον καθαρισμό μικρών μορίων κατά την ανάπτυξη νέων σκευασμάτων (33).

Επιπλέον, έχει παρατηρηθεί η με διαρκώς αυξανόμενους ρυθμούς *in vivo* ανάλυση φαρμάκων και των μεταβολιτών τους. Ο ποσοτικός προσδιορισμός ιχνοποσοτήτων φαρμάκων σε βιολογικά υγρά αποτελεί ιδανική εφαρμογή της συζευγμένης με ανιχνευτή φασματομετρίας μάζας (Mass Spectrometry, MS) χρωματογραφίας υπερκρίσιμου ρευστού (SFC-MS). Έτσι, για παράδειγμα, οι διαχωρισμοί και οι ποσοτικοί προσδιορισμοί των εναντιομερών της βαρφαρίνης και της κετοπροφαίνης στο ανθρώπινο πλάσμα έχουν πραγματοποιηθεί με τη βοήθεια της τεχνικής SFC-MS/MS (33).

### 3.2.2. *Ιατροδικαστική*

Οι σύγχρονες μέθοδοι SFC-MS για την ανάλυση των παραδοσιακών ναρκωτικών καθώς και νέων ψυχοτρόπων ουσιών (New Psychoactive Substances, NPSs) επικεντρώνονται κυρίως στην ταυτοποίηση της ουσίας και στην επιβεβαίωση πρόσφατης χρήσης της (31).

Η τεχνική εφαρμόζεται στις περιπτώσεις που λαμβάνεται υπ' όψιν η χειρικότητα μιας ναρκωτικής ουσίας, δεδομένου ότι η διαφοροποίηση ανάμεσα στα εναντιομερή είναι σημαντική από νομικής άποψης (31,33). Βεβαίως, έχουν αναφερθεί έρευνες σε πραγματικό χρόνο καθώς και η ταυτοποίηση ναρκωτικών ουσιών σε βιολογική μήτρα, συνήθως ούρα (31).

Στην κατηγορία των παραδοσιακών ναρκωτικών που έχουν αναλυθεί με SFC-MS συγκαταλέγονται η Δ9-THC (ψυχοτρόπος ουσία της κάνναβης), τα κανναβινοειδή και οι αμφεταμίνες. Επιπλέον, η τεχνική βρίσκει εφαρμογή στις περιπτώσεις NPSs όπως, συνθετικά κανναβινοειδή, συνθετικές καθιόνες και φαιραιθυλαμίνες καθώς και παράγοντες ντόπινγκ (31).

### 3.2.3. *Κλινική Έρευνα*

Στα εργαστήρια κλινικών ερευνών, οι απαιτήσεις είναι πολύ αυστηρές, όταν πρόκειται για κάποια χρωματογραφική ή ηλεκτροφορητική μέθοδο, καθ' ό,τι τα αποτελέσματα της κάθε εξέτασης έχουν άμεση επίπτωση στην ανθρώπινη υγεία (34).



Ένας από τους στόχους των κλινικών εργαστηρίων είναι η αναγνώριση μοριακών οντοτήτων που θα υποδεικνύουν τοξικότητα, προδιάθεση για κάποια ασθένεια ή θεραπευτική δράση. Αυτά τα μόρια, οι βιοδείκτες όπως αποκαλούνται, ανευρίσκονται στο αίμα, στα ούρα, στους ιστούς κλπ. Σχεδόν κάθε βιομόριο, συμπεριλαμβανομένων των γονιδίων, των πρωτεϊνών και των μεταβολιτών δύναται να λειτουργήσει ως βιοδείκτης (34).

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται η εφαρμογή της χρωματογραφίας υπερκρίσιμου ρευστού με πληρωθείσα στήλη (packed-column supercritical fluid chromatography, pSFC) στον διαχωρισμό 15 οιστρογονικών μεταβολιτών, κατά τη διάρκεια ερευνών επάνω στον καρκίνο του μαστού, όπου η χρωματογραφική τεχνική συνέβαλλε αποτελεσματικά στον διαχωρισμό μεταβολιτών της ίδιας μάζας (34).

#### **3.2.4. Επιστήμη Τροφίμων**

Τα τελευταία χρόνια, η SFC εφαρμόζεται με επιτυχία και στον τομέα των τροφίμων και συγκεκριμένα στην ανάλυση ποιότητας και ασφάλειας αυτών (35).

Η ποιότητα ενός τροφίμου αποτελεί συνάρτηση τόσο της διατροφικής του αξίας όσο και του περιεχομένου του σε θρεπτικά συστατικά. Συνεπώς, η ανάλυση των συστατικών των τροφίμων είναι ύψιστης σημασίας. Στο πλαίσιο αυτό, με χρήση της SFC-MS επιτυγχάνεται ο ποιοτικός και ποσοτικός προσδιορισμός λιπιδίων, καροτενοειδών, βιταμινών, αμινοξέων, τριτερπενοειδών κ.ά. (25,35). Επιπλέον, στη βιβλιογραφία αναφέρεται ο προσδιορισμός πολικών βιοδραστικών συστατικών όπως, φαινολικές ενώσεις και φλαβονοειδή, σε λειτουργικά τρόφιμα (functional foods), κατηγορία προϊόντων η οποία περιλαμβάνει τόσο τρόφιμα φυσικής προέλευσης που περιέχουν ευεργετικά για την υγεία συστατικά όσο και τρόφιμα στα οποία έχουν προστεθεί βιοδραστικά συστατικά μέσω τεχνολογικών παρεμβάσεων (25,30,36).

Στην κατηγορία ασφάλειας των τροφίμων υπάγονται θέματα που σχετίζονται με συστατικά ικανά να επηρεάσουν την ποιότητα αυτών ή προκαλέσουν βλάβη στον ανθρώπινο οργανισμό, όπως για παράδειγμα η παρουσία παρασιτοκτόνων και άλλων επιβλαβών ουσιών (35).

### 3.2.5. Επιστήμη Καλλυντικών

Τα καλλυντικά προϊόντα αποτελούν πολύπλοκους σχηματισμούς μεγάλης σειράς δραστικών συστατικών (φίλτρα UV, βιταμίνες, πολυφαινόλες, λανολίνη) και εκδόχων (συντηρητικά, γαλακτοματοποιητές, επιφανειοδραστικές ουσίες) με μεγάλο εύρος πολικότητων (37,38).

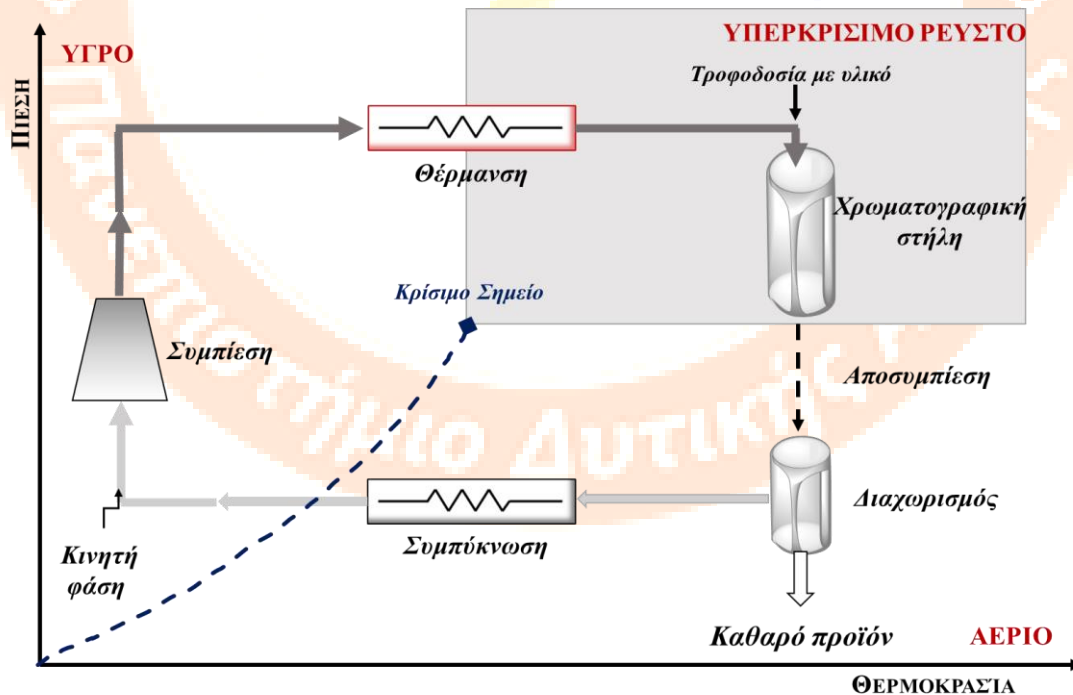
Με τη βοήθεια της SFC και κατόπιν προσεκτικού σχεδιασμού των οργανολογικών παραμέτρων (στατικές φάσεις, διαχωριστικοί παράγοντες, πίεση, θερμοκρασία, ταχύτητα ροής, διαστάσεις στήλης) είναι εφικτός ο προσδιορισμός τόσο των δραστικών συστατικών όσο και των εκδόχων (39,40). Επίσης, η SFC-MS εφαρμόζεται τόσο στον εναντιομερικό διαχωρισμό δεξπανθενόλης (προβιταμίνης B<sub>5</sub>) όσο και στον ποιοτικό και ποσοτικό προσδιορισμό της (39).

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4

### ΧΡΩΜΑΤΟΓΡΑΦΙΑ ΥΠΕΡΚΡΙΣΙΜΟΥ ΡΕΥΣΤΟΥ – ΟΡΓΑΝΟΛΟΓΙΑ

#### 4.1. Αρχή Λειτουργίας

Μία τυπική διαδικασία ανάλυσης με την μέθοδο SFC μπορεί να θεωρηθεί ως ένας κύκλος του υγρού έκλυσης (κινητή φάση) γύρω από το κρίσιμο σημείο του (Εικόνα 4.1). Αρχικά, ο διαλύτης έκλυσης (υγροποιημένο CO<sub>2</sub>) συμπιέζεται και ρυθμίζεται συναρτήσει της πυκνότητάς του με έλεγχο της πίεσης και της θερμοκρασίας, έτσι ώστε να επιτευχθεί το κρίσιμο σημείο. Το ρευστό εισέρχεται σε χρωματογραφική στήλη της οποίας η θερμοκρασία θα πρέπει να έχει τιμή κοντά στην T<sub>c</sub> του ρευστού. Η προσεκτική ρύθμιση των βέλτιστων τιμών πίεσης και θερμοκρασίας του ρευστού παίζει καθοριστικό ρόλο στη διαχωριστική ικανότητα της χρωματογραφικής διεργασίας (41).



Εικόνα 4.1: Σχηματική αναπαράσταση της αρχής λειτουργίας της SFC. Ανατύπωση από (41).  
[http://195.134.76.37/chemicals/chem\\_carbondioxide.html](http://195.134.76.37/chemicals/chem_carbondioxide.html)

Κατά την έξοδό του από τη στήλη, το ρευστό έκλουσης ( $scCO_2$ ) αποσυμπιέζεται μέσω ελάττωσης της πίεσης κάτω από την κρίσιμη τιμή αυτής και μεταπίπτει στην αέρια φάση. Έτσι, η διαλυτική του ικανότητα μειώνεται δραστικά με αποτέλεσμα τον διαχωρισμό του από την διαλυμένη ουσία. Με νέα αύξηση της πίεσης, το  $scCO_2$  είναι έτοιμο να επαναλάβει ένα νέο κύκλο (41).

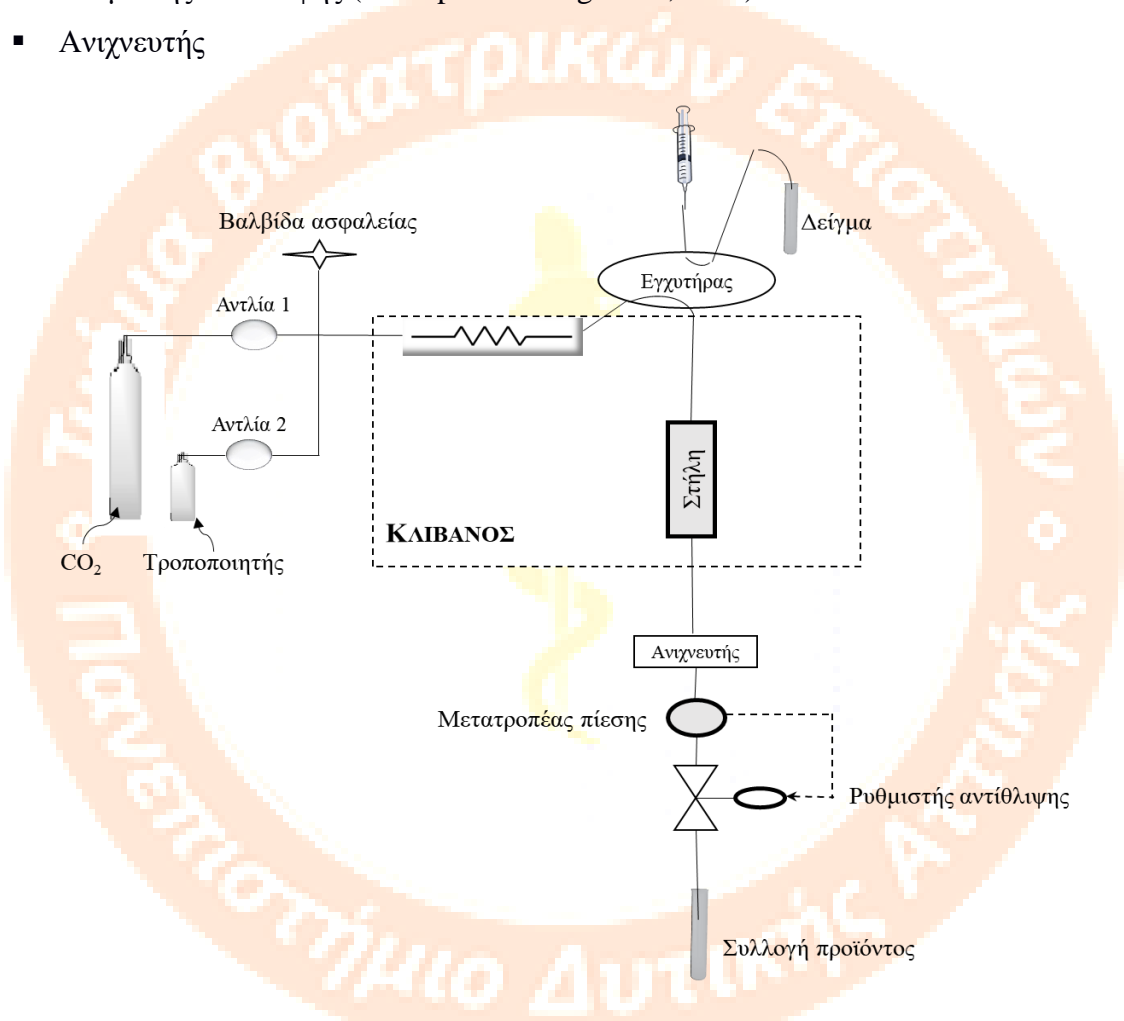
Εξ' ορισμού, οι διαχωρισμοί με την SFC θα έπρεπε να πραγματοποιούνται υπό υπερκρίσιμες συνθήκες, οι οποίες υφίστανται μόνο για τιμές θερμοκρασίας και πίεσης ανώτερες από τις  $T_c$ ,  $P_c$  (14,25). Οι τιμές αυτές ποικίλουν και εξαρτώνται από τη χημική σύσταση της κινητής φάσης και, σε γενικές γραμμές, αυξάνονται με την προσθήκη οργανικών συνδιαλυτών (cosolvents) (14,25) η οποία γίνεται με στόχο την αύξηση όχι μόνο της διαλυτικής ικανότητας του  $scCO_2$  αλλά και της εκλεκτικότητας των χρωματογραφικών διαχωρισμών (14,25,41). Γι' αυτό, η πλειοψηφία των διαχωρισμών με την εν λόγω μέθοδο πραγματοποιείται εντός της υποκρίσιμης περιοχής, σε τιμές θερμοκρασίας ή πίεσης κατώτερης των κρίσιμων (13,14,25), γεγονός που εγείρει συζητήσεις αναφορικά με την ονομασία της τεχνικής (14).

## 4.2. Οργανολογία - Εξοπλισμός

Παρ' όλο που, όπως έχει ήδη αναφερθεί (§1.2.), οι πρώτες ουσιαστικές έρευνες επάνω στη χρήση υπερκρίσιμων ρευστών για αναλυτικούς διαχωρισμούς χρονολογούνται στις αρχές της δεκαετίας του 1960, το πρώτο εμπορικά διαθέσιμο σύστημα pSFC κατασκευάστηκε το 1983 από την εταιρία Hewlett Packard. Ουσιαστικά, επρόκειτο για μια νέα διάταξη η οποία θα μπορούσε να θεωρηθεί ως η αναβαθμισμένη έκδοση ενός συστήματος HPLC, ενώ παράλληλα περιλάμβανε στήλη με πληρωτικό υλικό, όπως ακριβώς συμβαίνει και στην περίπτωση της LC (25,42,43). Μερικά χρόνια αργότερα, το 2012, μία καινούργια γενιά οργάνων χρωματογραφίας υπερκρίσιμου ρευστού κυκλοφόρησε στην αγορά. Η SFC αναβαθμίστηκε στην υπερκρίσιμη χρωματογραφία υψηλής απόδοσης (Ultra-High Performance Supercritical Fluid Chromatography, UHPSFC), όπου ο όρος «υψηλής απόδοσης» σχετίζεται με τη χρήση στηλών πληρωμένων με σωματίδια μεγέθους κάτω από  $2\mu m$  (14,46).

Μία τυπική διάταξη SFC, εκτός από την κινητή φάση, περιλαμβάνει επίσης τα εξής τμήματα (Εικόνα 4.2.) (14,25,41):

- Σύστημα αντλιών για την κινητή φάση (scCO<sub>2</sub> - Συνδιαλύτης).
- Στατική φάση (Στήλη)
- Κλίβανος για την δημιουργία και διατήρηση των υπερκρίσιμων/υποκρίσιμων συνθηκών στη στήλη.
- Ρυθμιστής αντίθλιψης (Back-pressure regulator, BPR)
- Ανιχνευτής



**Εικόνα 4.2:** Σχηματική αναπαράσταση του σχεδιασμού ενός τυπικού συστήματος SFC. Ανατύπωση από (25). <http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-154911>

#### 4.2.1. Σύστημα αντλιών

Το σύστημα αντλιών διαλύτη για SFC αποτελείται από την κύρια αντλία CO<sub>2</sub> και μία συμπληρωματική για τον συνδιαλύτη (41), ενώ ο σχεδιασμός του θα πρέπει να παρέχει τη δυνατότητα μεταφοράς κινητής φάσης βαθμιδωτής έκλουσης με ακρίβεια και επαναληψιμότητα (14).

Στην περίπτωση διαχωρισμών χειραλικών ενώσεων, η δυνατότητα ελέγχου των συστάσεων της κινητής φάσης κατά την προσθήκη διαφόρων συνδιαλυτών και προσθέτων κρίνεται επιθυμητή. Αλλά, ακόμα και στις περιπτώσεις διαχωρισμών μη χειραλικών ενώσεων, οι τροποποιήσεις στη σύσταση της κινητής φάσης είναι χρήσιμες, καθ' ό,τι εξυπηρετούν στην εκλεκτικότητα και βελτιώνουν το σχήμα των κορυφών κατά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων. Σε κάθε περίπτωση, οι αντλίες που διαθέτουν πολλαπλές θύρες διαλύτη ώστε να είναι εφικτή η ταχεία μετάβαση σε διαφορετικό συνδιαλύτη, είναι επιθυμητές (14).

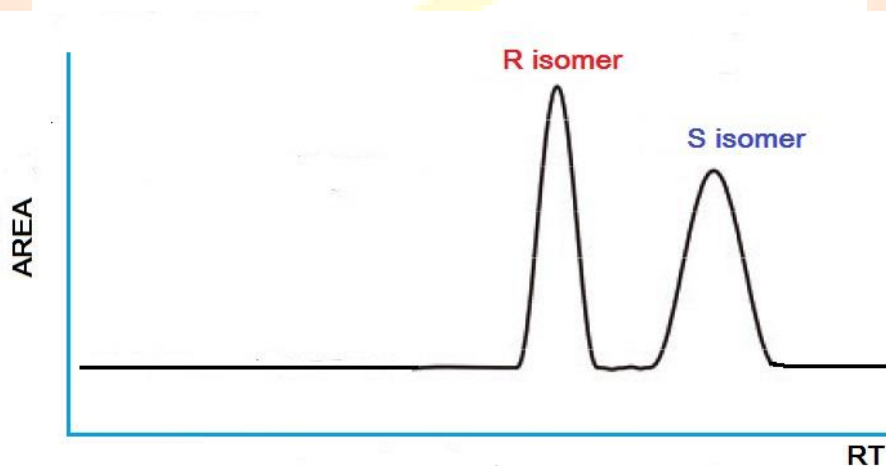
#### 4.2.2. Στατική φάση (Στήλη)

Ανάλογα με το είδος των ενώσεων που πρόκειται να διαχωριστούν, οι παράμετροι που εξετάζονται κατά την επιλογή της βέλτιστης στήλης είναι η Χημεία της, δηλαδή το υλικό από το οποίο είναι παρασκευασμένο το πληρωτικό υλικό στο εσωτερικό της, το μέγεθος αυτής, καθώς και το μέγεθος των σωματιδίων του πληρωτικού υλικού (14).

Λόγω του άπολου χαρακτήρα του  $scCO_2$ , η SFC συχνά θεωρείτο ως εναλλακτική της Υγρής Χρωματογραφίας. Στο πλαίσιο αυτό, οι πολικές στατικές φάσεις κατασκευασμένες από πυριτική γέλη, κυάνο- ή αμινοπρόπυλο- συνδεδεμένη σίλικα αποτελούν ικανοποιητικές επιλογές. Από τη στιγμή όμως που η εκλυτική ισχύς του  $scCO_2$  μπορεί να μεταβληθεί με την προσθήκη πολικών προσθέτων, υλικά ανεστραμμένης φάσης (Reversed Phase, RP) όπως σίλικα συνδεδεμένη με αλκύλια επίσης δύνανται να χρησιμοποιηθούν. Επομένως, όσον αφορά την τεχνολογία της στήλης, η SFC μοιάζει σε μεγάλο βαθμό με την LC. Οι ίδιες στατικές φάσεις με αυτές που χρησιμοποιούνται στην HPLC τόσο ως προς τη Χημεία (αρωματικές, αλογονωμένες, πορώδους γραφίτη, πολυμερικές) όσο και ως προς τις διαστάσεις δύνανται να εφαρμοστούν (25).

Συγκεκριμένα, στην περίπτωση διαχωρισμού μη χειραλικών ενώσεων, πρακτικά είναι δυνατή η επιλογή στήλης οποιασδήποτε χημικής σύστασης, δεδομένου ότι ο μοναδικός περιορισμός είναι η σταθερότητα αυτής υπό τις εφαρμοζόμενες συνθήκες. Με άλλα λόγια, η στήλη θα πρέπει να διατηρεί τη σταθερότητά της ως προς την εκάστοτε κινητή φάση και να είναι ανθεκτική σε υψηλές πιέσεις, μέχρι τα 600 bar (47).

Η επιλογή της στατικής φάσης, όταν πρόκειται για τον διαχωρισμό χειραλικών ενώσεων, στηρίζεται στην χειραλικότητα της στατικής φάσης, δηλαδή στην παρουσία πολυμερών τα οποία διαθέτουν στερεογονικά κέντρα (ασύμμετρα κέντρα άνθρακα) ή οργανικές δομές στις οποίες απουσιάζει ένα επίπεδο συμμετρίας ( $\sigma$ ) ή άξονας συμμετρίας ( $C_n$ ). Υπό αυτές τις συνθήκες περιβάλλοντος της στατικής φάσης, είναι δυνατή η διάσπαση ρακεμικών ή μερικώς ρακεμικών μιγμάτων (RS) ή (DL) μιας χημικής ένωσης και ο χρωματογραφικός διαχωρισμός τους. Κατά την έκλυση του ρακεμικού μίγματος μέσω της χειραλικής στατικής φάσης, τα δύο εναντιομερή R, S προσροφώνται με διαφορετικό τρόπο από την στατική φάση. Κατά την αλληλεπίδραση των οπτικών αντιπόδων R- και S- με την χειραλική στατική φάση, σχηματίζεται ζεύγος διαστερομερών ενώσεων, δηλαδή το [R-(στατική φάση)] διαστερομερές και το [S-(στατική φάση)] διαστερομερές. Τα δύο διαστερομερή χαρακτηρίζονται από διαφορετικές φυσικοχημικές ιδιότητες, όπως είναι ο χρόνος ανασχεσης  $R_t$ . Οι δύο οπτικοί αντίποδες (R-, S-) διαχωρίζονται και καταγράφονται από τον ανιχνευτή σε διαφορετικό χρόνο (Σχήμα 4.1) (48).



**Σχήμα 4.1:** Εναντιομερικός διαχωρισμός ρακεμικού μίγματος. Οι δύο οπτικοί αντίποδες R, S καταγράφονται από τον ανιχνευτή σε διαφορετικό χρόνο.

Οι περισσότερο διαδεδομένες χειραλικές στήλες είναι αυτές των πολυσακχαριτών ενώ ακολουθούν οι στήλες κυκλικών ολιγοσακχαριτών, ιοντανταλλαγής, μακροκυκλικών γλυκοπεπτιδίων, συνθετικών πολυμερών κ.ά. (13).

Ένα παράδειγμα εναντιομερικού διαχωρισμού με SFC είναι η διάσπαση στους επιμέρους οπτικούς αντίποδες της ρακεμικής R,S λυσίνης στην ελεύθερη μορφή της, όπως παρουσιάστηκε αναλυτικά από την West C. et al. το 2019. Το ρακεμικό μίγμα των δύο οπτικών αντιπόδων είναι σε αναλογία 1:1 και εμφάνισε κορυφές στα 21, 22 min στο χρωματογράφημα. Για τον διαχωρισμό τους χρησιμοποιήθηκε χειραλική στήλη και ως συνδιαλύτης επιλέχθηκε το μίγμα μεθανόλης-φορμικού αμμωνίου-νερού σε συνθήκες βαθμιδωτής έκλουσης (49,50).

#### **4.2.3. Κλίβανος**

Η πυκνότητα της κινητής φάσης στην SFC εξαρτάται σε μεγάλο βαθμό από τη θερμοκρασία και την πίεση. Με στόχο τον έλεγχο των θερμοκρασιακών συνθηκών, τα αντίστοιχα συστήματα περιλαμβάνουν ένα διαμέρισμα για την στήλη που λειτουργεί με θερμοστάτη, ενώ τα τυπικά θερμοκρασιακά εύρη κυμαίνονται μεταξύ 10 °C ή 20 °C και 80 °C ή 90 °C (44).

#### **4.2.4. Ρυθμιστής αντίθλιψης**

Με σκοπό τον επαρκή έλεγχο και τη διατήρηση της πίεσης, τοποθετείται ένας δυναμικής λειτουργίας ρυθμιστής αντίθλιψης στην έξοδο της στήλης, η ακριβής θέση του οποίου εξαρτάται από το είδος του χρησιμοποιούμενου ανιχνευτή (βλ. παρακάτω) (14,25). Με τον τρόπο αυτό καθίσταται βέβαιο ότι η πίεση εξόδου δεν επηρεάζεται από το ιζώδες ή την ταχύτητα ροής του ρευστού (14,44).

#### **4.2.5. Ανιχνευτές**

Στις περιπτώσεις μεικτών κινητών φάσεων, αποτελούμενες δηλαδή από scCO<sub>2</sub> στο οποίο έχει προστεθεί συνδιαλύτης, οι κυριότεροι ανιχνευτές που χρησιμοποιούνται είναι (14,25):

- Ανιχνευτής Υπεριώδους-Ορατού (Ultraviolet-Visible Detector, UV-Vis Detector)



- Ανιχνευτής Συστοιχίας Διόδων (Diode-Array Detector, DAD ή Photodiode Array, PDA)
- Εξατμιστικός Ανιχνευτής Σκέδασης Φωτός (Evaporative Light Scattering Detector ELSD)
- Ανιχνευτής Φορτισμένου Αερολύματος (Corona-charged Aerosol Detector, CAD)
- Φασματόμετρο Μάζας (Mass Spectrometer, MS)

Οι ανιχνευτές **UV-Vis** και **DAD** τοποθετούνται πριν από τον ρυθμιστή αντίθλιψης και θα πρέπει να συνοδεύονται από κυψελίδα ανθεκτική στις υψηλές πιέσεις που προέρχονται από την αντλία (14,25,44). Έχει παρατηρηθεί ότι τα όρια ανιχνευσιμότητας στην SFC-UV δεν είναι τόσο υψηλά όσο στην HPLC-UV. Το γεγονός αυτό αποδίδεται στον μεγαλύτερο θόρυβο βάσης για την περίπτωση της SFC-UV, δεδομένου ότι η ανιχνευσιμότητα καθορίζεται από τον λόγο σήματος προς θόρυβο. Εξ' άλλου, τα επίπεδα θορύβου επηρεάζονται τόσο από τις διακυμάνσεις στον δείκτη διάθλασης, όσο και από τις μεταβολές στην πυκνότητα του ρευστού στο εσωτερικό της κυψελίδας. Όσο πιο ασθενείς είναι οι διακυμάνσεις στην πυκνότητα εντός της κυψελίδας, τόσο λιγότερος ο θόρυβος. Διατηρώντας τη θερμοκρασία του ανιχνευτή σε τιμή κάτω από την  $T_c$  οι διακυμάνσεις στην πυκνότητα και στον δείκτη διάθλασης ελαττώνονται. Παράλληλα, εφαρμόζοντας αντίθλιψη υψηλότερη των 10 MPa και ποσοστό συνδιαλύτη άνω του 5% ο θόρυβος εξασθενεί, καθιστώντας εφικτή την ανάλυση συστατικών που βρίσκονται σε χαμηλές συγκεντρώσεις (14).

Ο ανιχνευτής **ELSD** χρησιμοποιείται, σε γενικές γραμμές, για τις περιπτώσεις μη πτητικών ενώσεων που δεν περιέχουν χρωμοφόρες ομάδες. Η λειτουργία του στηρίζεται στον ψεκασμό σταγονιδίων της κινητής φάσης εντός ενός νεφελώδους χώρου. Κατά την θέρμανση των σταγονιδίων αυτών σε κατάλληλο σωλήνα, τα πτητικά συστατικά της κινητής φάσης εξατμίζονται, ενώ τα μη πτητικά, κατόπιν σκέδασης του φωτός που εκπέμπεται από μία φωτοδίοδο, παρέχουν σήμα απόκρισης. (14).

Η άμεση σύζευξη του εν λόγω ανιχνευτή με το σύστημα SFC, μετά από τον ρυθμιστή αντίθλιψης, πραγματοποιείται με τη βοήθεια ενός τριχοειδούς (14,25). Επίσης, αξίζει να σημειωθεί ότι η διαδικασία νεφελοποίησης επηρεάζεται σε μεγάλο βαθμό τόσο από τη γεωμετρία του χώρου στον οποίο πραγματοποιείται όσο και από τη θερμοκρασία που επικρατεί στο εσωτερικό του (14).

Στην περίπτωση του ανιχνευτή **CAD**, αρχικά η κινητή φάση νεφελοποιείται ώστε να εξατμιστούν τα πτητικά συστατικά και οι διαλύτες. Αργότερα, τα εναπομείναντα συστατικά ιοντίζονται και ανιχνεύονται με τη βοήθεια ενός ηλεκτρομέτρου (14,45).

Λόγω του ότι η κινητή φάση νεφελοποιείται πριν τη διαδικασία ανίχνευσης, ο CAD υπάγεται στην κατηγορία των λεγόμενων «ανιχνευτών ανοιχτής κυψελίδας». Τα κύρια πλεονεκτήματα της μεθόδου είναι: ανίχνευση ενός ευρέως φάσματος μη πτητικών αναλυτών, απόκριση ανεξάρτητη από χημικές ιδιότητες, υψηλή ευαισθησία, ακρίβεια, απλή και αξιόπιστη λειτουργία. Από την άλλη πλευρά, το μειονέκτημα της μεθόδου είναι οι διακυμάνσεις στην απόκριση ανάλογα με τη σύσταση της κινητής φάσης (45).

Τέλος, η χρήση ενός φασματογράφου μάζας (**MS**) ως ανιχνευτή συζευγμένου με σύστημα χρωματογραφικών διαχωρισμών έχει σημειώσει εκπληκτική πρόοδο τα τελευταία χρόνια, γεγονός που αποδίδεται τόσο στην ευαισθησία του όσο και στη μεγάλη ποικιλία εφαρμογών (46). Ουσιαστικά, πρόκειται για όργανο μέσω του οποίου, κατόπιν ιοντισμού του δείγματος, είναι εφικτός ο υπολογισμός του λόγου μάζα/φορτίο των σχηματισθέντων ιόντων (51), ενώ ενδείκνυται όχι μόνο για την ποσοτική αλλά και για την ποιοτική ανάλυση (46,51).

### 4.3. Σύζευξη SFC – MS

Τα τελευταία χρόνια, η σύζευξη του συστήματος SFC με έναν ανιχνευτή MS αποτελεί υπόθεση ρουτίνας στα αναλυτικά εργαστήρια. Για τον σκοπό αυτό απαιτείται κάποια συσκευή διεπαφής (*interfacing device*) η οποία λειτουργεί ως σύνδεσμος και παρεμβάλλεται ανάμεσα στο χρωματογραφικό σύστημα και τον ανιχνευτή. Ο ρόλος της είναι η μεταφορά των μορίων του αναλύτη από την έξοδο της στήλης στην είσοδο του ανιχνευτή, διασφαλίζοντας παράλληλα ότι τα διαχωρισθέντα συστατικά δεν αναμιγνύονται εκ νέου (52).

Η SFC, από τη μια πλευρά, πραγματοποιείται υπό συνθήκες υψηλών πιέσεων ενώ, από την άλλη πλευρά, ο MS χαρακτηρίζεται ως ανιχνευτής χαμηλών πιέσεων. Γι' αυτό το λόγο, οι αναλύτες που εξέρχονται από την χρωματογραφική στήλη θα πρέπει να αποσυμπιέζονται πριν την είσοδό τους στον MS. Μάλιστα, αυτή η αποσυμπίεση πρέπει

να γίνεται κατά τρόπο ελεγχόμενο ώστε να αποφευχθεί η αλλοίωση του διαχωρισμού και η ποιότητα των σημάτων MS (52).

Ως εναλλακτική προσέγγιση της συσκευής διεπαφής χρησιμοποιείται μία πηγή ιοντισμού η οποία μετατρέπει την κινητή φάση που εξέρχεται της στήλης από υγρό σε αέριο. Τέτοιες είναι οι πηγές ιοντισμού σε ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure Ionization, API). Στην κατηγορία αυτών των πηγών υπάγονται ο ιοντισμός ηλεκτροψεκασμού (Electrospray Ionization, ESI), ο χημικός ιοντισμός σε ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI) και ο φωτοϊοντισμός σε ατμοσφαιρική πίεση (Atmospheric Pressure Photoionization, APPI) (14,46,53-56).

Η επιλογή της κατάλληλης μεθόδου ιοντισμού στηρίζεται κυρίως στο μοριακό βάρος και στον βαθμό πολικότητας των προς ανάλυση συστατικών. Επίσης, σημαντικό ρόλο παίζει η ικανότητα ιοντισμού τους όταν βρίσκονται στο διάλυμα καθώς και η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης (56). Έτσι, η **ESI** θεωρείται ως η ηπιότερη τεχνική ιοντισμού (56) και εφαρμόζεται στις περιπτώσεις μεγάλου μοριακού βάρους, πολικών ενώσεων όπως, πολικά λιπίδια, καρτενοειδή, οιστρογόνα, πεπτίδια (14,55). Η **APCI**, από την άλλη πλευρά, χρησιμοποιείται όταν η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης είναι μεγάλη και τα προς ανάλυση συστατικά χαρακτηρίζονται από χαμηλή έως μέτρια πολικότητα (14,56). Τέλος, η **APPI** παρέχει τη δυνατότητα ιοντισμού μη πολικών ενώσεων. Συγκρινόμενη με την APCI, επηρεάζεται σε μεγαλύτερο βαθμό από τις πειραματικές συνθήκες, ενώ οι χημικές ιδιότητες των διαλυτών ή των διαφόρων προσθέτων μπορεί πολύ εύκολα να αλλοιώσουν την εκλεκτικότητα και την ευαισθησία της διαδικασίας ιοντισμού. Για τους λόγους αυτούς, η APPI θεωρείται ως συμπληρωματική τεχνική στις ESI και APCI και είναι κατάλληλη για λίγες κατηγορίες ενώσεων όπως, φλαβονοειδή, στεροειδή, πολυαρωματικοί υδρογονάνθρακες, λιποδιαλυτές βιταμίνες καθώς και κάποια φάρμακα (56).

Μία άλλη παράμετρος που λαμβάνεται υπόψη κατά την σύζευξη SFC-MS είναι η ενδεχόμενη προσθήκη διορθωτικού διαλύτη. Πρόκειται, ουσιαστικά, για τον υγρό, οργανικό ή ανόργανο διαλύτη που προστίθεται στην κινητή φάση κατά την έξοδό της από την χρωματογραφική στήλη με στόχο την ενίσχυση της διαδικασίας ιοντισμού και τη βελτίωση της ποιότητας ανίχνευσης από το MS (14,46,52).

#### 4.4. Ανάπτυξη μεθόδου

Όταν πρόκειται για την ανάπτυξη της μεθόδου διαχωρισμού των συστατικών ενός μίγματος με SFC, το σημαντικότερο ζήτημα που λαμβάνεται υπόψη είναι η εκλεκτικότητα, η οποία εξαρτάται από παραμέτρους όπως: επιλογή της στατικής φάσης, χημική σύσταση της κινητής φάσης και πυκνότητα της κινητής φάσης ως συνάρτηση της πίεσης και της θερμοκρασίας (14,37).

Η επιλογή της κατάλληλης στατικής φάσης αποτελεί το πρώτο και ίσως το σημαντικότερο βήμα της διαδικασίας ανάπτυξης μεθόδου. Είναι πλέον γνωστό ότι στην SFC επιτρέπεται να χρησιμοποιηθεί στατική φάση οποιασδήποτε χημικής σύστασης και δομής, από την πλέον πολική, κατασκευασμένη από καθαρό διοξείδιο του πυριτίου (*silica*), μέχρι και την ελάχιστα πολική, κατασκευασμένη από πυριτική γέλη συνδεδεμένη με C-18 (*C-18 bonded silica*), διατηρώντας την ίδια κινητή φάση. Αυτό το μεγάλο εύρος επιλογών, από τη μια μεριά αυξάνει τις πιθανότητες να επιτευχθεί ικανοποιητικός διαχωρισμός αλλά, από την άλλη πλευρά, μπορεί να επιφέρει δυσκολίες ως προς την εύρεση της βέλτιστης λύσης (25,37).

Ακολουθως, ρυθμίζεται η χημική σύσταση της κινητής φάσης όσον αφορά για την φύση του συνδιαλύτη και την ποσοστιαία περιεκτικότητά του (37). Στις περιπτώσεις που κάποιο άγνωστο μίγμα το οποίο ενδεχομένως να περιέχει ενώσεις διαφόρων πολικότητων, συστήνεται η προσθήκη του συνδιαλύτη να γίνεται σταδιακά, από 5% έως 30%. Συνήθως, η πρώτη επιλογή συνδιαλύτη είναι η μεθανόλη. Παρ' όλα αυτά, μπορεί να προτιμηθεί η αιθανόλη η οποία εναρμονίζεται με τις αρχές της Πράσινης Χημείας (βλ. §1.3.) ενώ, παράλληλα, η επίδρασή της στην ανάκτηση και στην εκλεκτικότητα είναι αμελητέα. Εξ' άλλου, όταν υπάρχουν ενώσεις που ιοντίζονται εύκολα, προτιμάται η παρουσία ενός άλατος στον συνδιαλύτη, όπως το μυρμηκικό αμμώνιο (14).

Επιπλέον, καταρτίζεται πρόγραμμα τόσο για την θερμοκρασία του κλιβάνου όσο και για την πίεση, μέσω του ρυθμιστή αντίθλιψης, ώστε να ρυθμιστεί η ταχύτητα ροής της κινητής φάσης (14,37).

Αξίζει να σημειωθεί ότι, κατά τους διαχωρισμούς με SFC, λαμβάνουν χώρα κάποια φαινόμενα τα οποία σχετίζονται με τη συμπιεστότητα του ρευστού καθώς και με την προσρόφιση της κινητής φάσης επάνω στη στατική φάση, ενώ παρατηρούνται κυρίως

κατά τις μεταβολές στην ταχύτητα ροής και την προσθήκη του συνδιαλύτη. Συγκεκριμένα, μεταβάλλοντας την ταχύτητα ροής επέρχονται αλλαγές στην πίεση εντός της στήλης, γεγονός που επηρεάζει επίσης την πυκνότητα της κινητής φάσης και, συνεπώς, τη διαλυτική της ικανότητα και τον παράγοντα ανάκτησής της. Επίσης, παρ' όλο που η προσθήκη συνδιαλυτών βελτιώνει τη διαλυτότητα των συστατικών στην κινητή φάση και την ανάλυση των κορυφών, κατά την προσρόφησή τους στην στατική φάση η πολικότητα αυτής μεταβάλλεται, γεγονός που επιδρά στον βαθμό ανάκτησης των συστατικών (25).



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5

### ΚΑΛΛΥΝΤΙΚΑ

#### 5.1. Ορισμός

Η έννοια του όρου «καλλυντικό» (*cosmetic*) διαφέρει ελαφρώς μεταξύ των διαφορετικών γεωγραφικών περιοχών, ανάλογα με την εκάστοτε νομοθεσία (57). Συγκεκριμένα, σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία 1223/2009, ως καλλυντικό προϊόν ορίζεται οποιαδήποτε ουσία ή χημικό παρασκεύασμα που προορίζεται για εφαρμογή στα διάφορα εξωτερικά τμήματα του ανθρώπινου σώματος (επιδερμίδα, τριχωτό της κεφαλής, νύχια, χείλη και εξωτερικά γεννητικά όργανα) ή στα δόντια και τις μεμβράνες της στοματικής κοιλότητας, με αποκλειστικό ή κύριο σκοπό τον καθαρισμό ή αρωματισμό τους, την αλλαγή στην εμφάνισή τους και/ή τη διόρθωση των σωματικών οσμών και/ή την προστασία ή τη διατήρησή τους σε καλή κατάσταση (58,59). Ο ορισμός αυτός περιλαμβάνει τις ακόλουθες κατηγορίες προϊόντων (58):

- Σαπούνια, σαμπουάν, οδοντόκρεμες, κρέμες καθαρισμού και ενυδάτωσης για καθημερινή χρήση
- Προϊόντα μακιγιάζ όπως, σκιές ματιών, κραγιόν και βερνίκια νυχιών
- Βαφές και παράγοντες περιποίησης μαλλιών
- Αρώματα και αποσμητικά
- Σκευάσματα και συνθέσεις προστασίας από την ηλιακή ακτινοβολία

Από την άλλη πλευρά, σύμφωνα με τη δράση του 1938 της Ομοσπονδίας Τροφίμων, Φαρμάκων και Καλλυντικών (Federal Food Drug and Cosmetic Art, FFDC) των ΗΠΑ, ως καλλυντικό ορίζεται το προϊόν που προορίζεται για επάλειψη, έγχυση ή ψεκασμό με εισαγωγή ή εφαρμογή στο ανθρώπινο σώμα σκοπεύοντας στον καθαρισμό, τον καλλωπισμό ή την αλλαγή στην εμφάνισή του, χωρίς όμως να επηρεάζει τη δομή και τη λειτουργικότητα αυτού. (59).

Αξίζει επίσης να σημειωθεί ότι ο όρος «δερμοκαλλυντικό» (*cosmeceutical* = *cosmetic* + *pharmaceutical*) αναφέρεται σε καλλυντικό προϊόν που περιέχει βιοδραστικά συστατικά τα οποία παρέχουν προστασία από την υπεριώδη (ultraviolet, UV) ακτινοβολία, προάγουν τη λεύκανση, ενισχύουν το φυσικό μαύρισμα, έχουν αντιρυτιδική και αντιγηραντική δράση κλπ. (60). Τα προϊόντα αυτά προορίζονται για τη θεραπεία ή την αποτροπή ήπιων δερματικών δυσλειτουργιών. Σύμφωνα με την Ευρωπαϊκή Νομοθεσία αποτελούν υποκατηγορία καλλυντικών ενώ, κατά τη Νομοθεσία των ΗΠΑ, υπάγονται στην κατηγορία των φαρμάκων (59).

## 5.2. Χρήση Βιοδραστικών Συστατικών στα Καλλυντικά

Αναμφισβήτητα, τα καλλυντικά αποτελούν πλέον απαραίτητο κομμάτι της καθημερινότητάς μας. Στο πλαίσιο αυτό, η ανάπτυξη καινοτόμων καλλυντικών προϊόντων που περιέχουν βιοδραστικά συστατικά με υποβοηθητική δράση σε φαρμακευτικές θεραπείες και προστατευτική δράση εξαπλώνεται ταχύτατα (61).

### 5.2.1. Βιοπολυμερή στα καλλυντικά

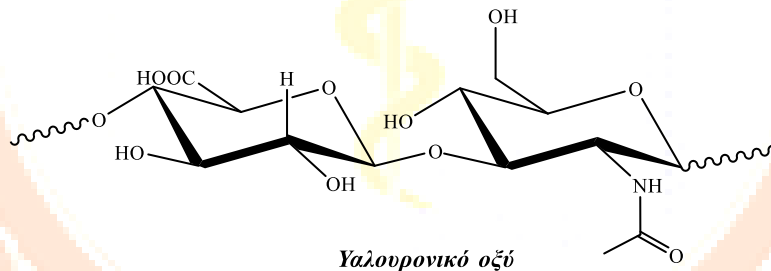
Τα πολυμερή παίζουν καθοριστικό ρόλο στην παρασκευή των καλλυντικών. Για τον λόγο αυτό, στα καλλυντικά προϊόντα προστίθενται διάφορα είδη πολυμερών, ανάλογα με τις ιδιότητες και λειτουργικότητες που πρόκειται να τους αποδοθούν. Συγκεκριμένα, οι εν λόγω χημικές ενώσεις δύνανται να ενεργήσουν ως ρεολογικοί τροποποιητές, γαλακτοματοποιητές, σταθεροποιητές αφρού, αντιμικροβιακοί παράγοντες κλπ. (62).

Στην επιστήμη καλλυντικών, εκτός από τα συνθετικά πολυμερή συναντώνται και τα φυσικά πολυμερή ή αλλιώς βιοπολυμερή, τα οποία παράγονται από ζωντανούς οργανισμούς. Αυτά διακρίνονται στους πολυσακχαρίτες και τις σιλικόνες (62,63). Στα πλαίσια τις παρούσας εργασίας εξετάζονται κάποια αντιπροσωπευτικά παραδείγματα πολυσακχαριτών.

### 5.2.1.1. Πολυσακχαρίτες

Οι πολυσακχαρίτες είναι πολύπλοκοι υδρογονάνθρακες που αλληλεπιδρούν ισχυρά με το νερό, εξαιτίας των υδροξυλικών ομάδων (-OH) που περιέχουν. Λόγω των εξαιρετικών μηχανικών και άλλων ιδιοτήτων τους, οι οποίες εξαρτώνται από το είδος των υποκαταστατών στο μόριό τους, χρησιμοποιούνται στα προϊόντα προσωπικής φροντίδας ως σταθεροποιητικοί παράγοντες, καθαριστικά της επιδερμίδας, αντιηλιακά και ως ενυδατικά συστατικά (62).

Ο πλέον διαδεδομένος πολυσακχαρίτης στον τομέα της Κοσμετολογίας είναι το **Υαλουρονικό Οξύ** (Hyaluronic acid, HA). Πρόκειται για υδρογονάνθρακα που υπάγεται στην οικογένεια των γλυκοζαμινογλυκανών, ενώ συνίσταται σε δισακχαριτικές μονάδες αποτελούμενες από N-ακετυλογλυκοζαμίνη και D-γλυκουρονικό οξύ (Σχήμα 5.1). Το HA αποτελεί συστατικό του συνδετικού, του επιθηλιακού και του νευρικού ιστού, καθώς επίσης ανευρίσκεται σε αξιοσημείωτες συγκεντρώσεις στην εξωκυτταρική μήτρα (64).



**Σχήμα 5.1:** Η χημική δομή του Υαλουρονικού Οξέος (HA).

Οι πολλαπλές εφαρμογές του HA αποδίδονται στις φυσικοχημικές του ιδιότητες. Είναι πολυσακχαρίτης αρκετά υγροσκοπικός, εξαιρετικής ιξωδοελαστικής φύσης και βιοσυμβατότητας, ενώ δεν προκαλεί ανοσοαπόκριση. (63,64).

Κατά την προσθήκη του σε καλλυντικές συνθέσεις, η λειτουργικότητά του εξαρτάται άμεσα από το μοριακό βάρος του. Έτσι, το HA χαμηλού μοριακού βάρους έχει την ικανότητα να ενισχύει τα επίπεδα υγρασίας του δέρματος, ανανεώνοντάς το. Από την άλλη πλευρά, το υψηλού μοριακού βάρους HA, όταν εφαρμοστεί στο δέρμα, σχηματίζει μια ελαστική μεμβράνη παρέχοντας ενυδατική δράση (64).



Στις ημέρες μας βρίσκει εφαρμογή όχι μόνο ως ενυδατικός και αντιγηραντικός παράγοντας του δέρματος αλλά και στα προϊόντα περιποίησης μαλλιών με στόχο την αναγέννηση των τριχοθυλακίων (65,66).

### 5.2.2. Πρωτεΐνες – Πεπτίδια στα καλλυντικά

Στον τομέα των καλλυντικών, οι πρωτεΐνες βρίσκουν εφαρμογή τόσο σε προϊόντα φροντίδας του δέρματος και του τριχωτού της κεφαλής όσο και σε προϊόντα καθαρισμού, καθιστώντας τα περισσότερο ήπια και ανεκτά από τα μάτια και το δέρμα (62).

Μια από τις πρωτεΐνες που ανευρίσκονται σε μεγαλύτερα ποσοστά στο ανθρώπινο σώμα είναι το **κολλαγόνο**. (67).

Έχει παρατηρηθεί ότι, με την πάροδο του χρόνου οι ίνες κολλαγόνου καταστρέφονται, δίνοντας στο δέρμα την ανεπιθύμητη κουρασμένη και γερασμένη όψη. Το γεγονός αυτό στάθηκε αφορμή για τη διενέργεια ανάλογων ερευνών, μέσω των οποίων απεδείχθη ότι η αποκατάσταση των ιστών είναι εφικτή με την προσθήκη αυτού του βιομορίου στα καλλυντικά σκευάσματα (67).

Το κολλαγόνο έχει τη δυνατότητα να σχηματίζει φιλμ και να ελαττώνει τη διαδερμική απώλεια υγρασίας κατά την εφαρμογή του στην επιδερμίδα. Για τον λόγο αυτό προστίθεται σε κρέμες ενυδάτωσης και αντιγήρανσης, ενώ το ενέσιμο διάλυμα αυτού εφαρμόζεται για την ελάττωση των ρυτίδων καθώς και την αποκατάσταση άλλων δερματολογικών παθήσεων (62,67).

Όπως ακριβώς συμβαίνει στην περίπτωση των πρωτεϊνών, τα πεπτίδια είναι αλυσίδες αποτελούμενες από αμινοξέα συνδεδεμένα μεταξύ τους μέσω πεπτιδικών δεσμών. Η διαφορά μεταξύ των δύο χημικών κατηγοριών έγκειται στο μέγεθος. Συγκεκριμένα, ενώ, όπως προαναφέρθηκε, οι πρωτεΐνες συνίστανται από χιλιάδες αμινοξέα, τα πεπτίδια είναι βραχείες αλυσίδες αποτελούμενες από δύο έως πενήντα αμινοξέα (61).

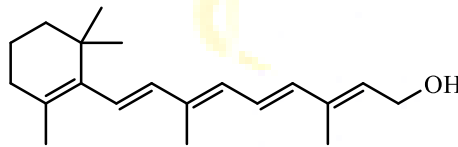
Όσον αφορά για την καλλυντική δράση των πεπτιδίων, ανάλογα με τις λειτουργίες που επιτελούν χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες: μεταφορικά πεπτίδια, πεπτίδια σήματος και πεπτίδια καταστολείς των νευροδιαβιβαστών. Ένα από τα πρώτα συνθετικά πεπτίδια που χρησιμοποιήθηκε για την αντιγηραντική και επουλωτική του δράση, μέσω της

διέγερσης σύνθεσης κολλαγόνου είναι το **παλμιτοϋλικό πενταπεπτίδιο-3**. Επιπλέον, το **ακετυλο εξαπεπτίδιο-3** είναι ένα ακόμη πεπτίδιο που κυκλοφορεί στο εμπόριο με την ονομασία Argireline®, γνωστό για τις αντιγηραντικές και ενυδατικές του ιδιότητες (61).

### 5.2.3. Βιταμίνες στα καλλυντικά

Οι βιταμίνες αποτελούν μια από τις περισσότερο χρησιμοποιούμενες κατηγορίες δραστικών συστατικών στα καλλυντικά. Πρόκειται για οργανικές χημικές ενώσεις οι οποίες χωρίζονται σε δύο ομάδες: τις υδατοδιαλυτές (υδρόφιλες) και τις λιποδιαλυτές (λιπόφιλες). Με την ευεργετική δράση τους στη συνολική κατάσταση του δέρματος και των μαλλιών, βελτιώνουν τόσο την υγεία όσο και την εμφάνισή τους (68).

Η **Βιταμίνη Α** είναι ουσιαστικά μια ομάδα ενώσεων στην οποία περιλαμβάνονται η ρετινόλη, η ρετινάλη και διάφορα καροτενοειδή προβιταμίνης Α (π.χ. β-καροτένιο). Από την ομάδα των ρετινοειδών, αυτό που χρησιμοποιείται συχνότερα στα καλλυντικά είναι η ρετινόλη (σχήμα 5.2). Προστίθεται σε σχετικά χαμηλές συγκεντρώσεις (0.01-0.08%) για την αποφυγή ερεθισμών. Η ρετινόλη επιφέρει λείανση και ελαστικότητα στο δέρμα, ελαχιστοποιεί τις ρυτίδες, αυξάνει την παραγωγή ινών κολλαγόνου. (68).

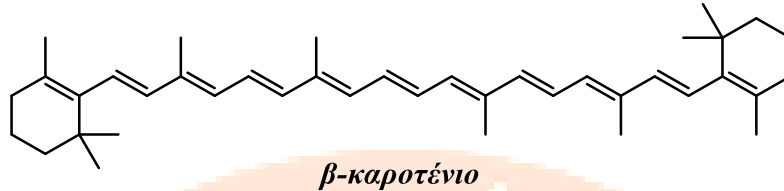


**Ρετινόλη**

Σχήμα 5.2: Η χημική δομή της ρετινόλης.

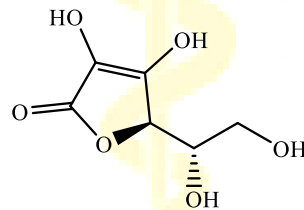
Το **β-καροτένιο** (σχήμα 5.3) είναι επίσης ένα διαδεδομένο δραστικό συστατικό στην Κοσμετολογία. Λόγω των αποδεδειγμένων αντιοξειδωτικών του ιδιοτήτων, προσφέρει προστασία από τη βλάβη που προκαλούν οι ελεύθερες ρίζες. Η προσθήκη του σε προϊόντα καθαρισμού και κρέμες χεριών αποτρέπει τους ερεθισμούς, ενώ παράλληλα η τραχύτητα του δέρματος ελαττώνεται. Επίσης χρησιμοποιείται ευρέως στα προϊόντα μακιγιάζ καθ' ό,τι πρόκειται για φυσική χρωστική. Τέλος, η ιδιότητά του να διεγείρει

τη διαδικασία μελανογένεσης το καθιστά βασικό συστατικό των προϊόντων αυτομαυρίσματος (69).



**Σχήμα 5.3:** Η χημική δομή του β-καροτενίου.

Εξ' άλλου, η υδατοδιαλυτή **βιταμίνη C** (ασκορβικό οξύ) (σχήμα 5.4) είναι ένα ισχυρό αντιοξειδωτικό με ταυτόχρονη κερατολυτική δράση (68,70).



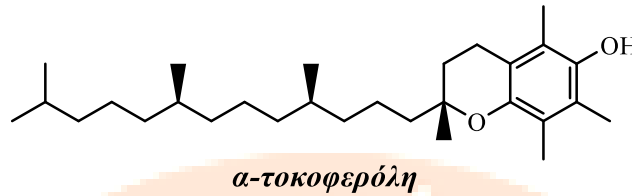
**Βιταμίνη C (Ασκορβικό οξύ)**

**Σχήμα 5.4:** Η χημική δομή του ασκορβικού οξέος.

Ενισχύει την επούλωση πληγών μειώνοντας τη φλεγμονή. Μπορεί να εφαρμοστεί στο δέρμα μετά από θεραπείες αλλά επίσης και σε καθημερινή βάση στις περιπτώσεις ώριμων επιδερμίδων, όπου ο ρυθμός σύνθεσης κολλαγόνου έχει μειωθεί λόγω ηλικίας. Βρίσκει εφαρμογή τόσο στα καλλυντικά που προστατεύουν από τις αρνητικές συνέπειες της ηλιακής ακτινοβολίας όσο και σε αυτά που προορίζονται για την απομάκρυνση των εγκατεστημένων ρυτίδων. Στην πλειοψηφία τους, οι κρέμες προσώπου περιέχουν ασκορβικό οξύ σε ποσοστό 8-20% ενώ οι κρέμες ματιών 3-5% (68,71).

Ένα ακόμη ισχυρά αντιοξειδωτικό συστατικό είναι η **βιταμίνη E**, γνωστή και ως «ελιξίριο της νεότητας». Πρόκειται για λιποδιαλυτή βιταμίνη η οποία συναντάται σε

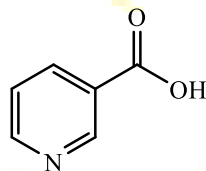
τέσσερις μορφές, α, β, γ, δ,- τοκοφερόλες. Από αυτές, η δραστικότερη μορφή είναι η α-τοκοφερόλη (Σχήμα 5.5) (68,70).



**Σχήμα 5.5:** Η χημική δομή της δραστικότερης μορφής της Βιταμίνης Ε (α-τοκοφερόλη).

Η βιταμίνη Ε, εκτός από την ικανότητά της να εξουδετερώνει τις ελεύθερες ρίζες, σταθεροποιεί τις κυτταρικές μεμβράνες, ενώ επίσης διαθέτει αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες και θεραπεύει το οίδημα. Οι καλλυντικές εφαρμογές της περιλαμβάνουν, μεταξύ άλλων, τα κραγιόν, τα αντιηλιακά προϊόντα, τα γαλακτώματα σώματος, τις αντιρυτιδικές κρέμες καθώς και τα προϊόντα περιποίησης νυχιών και μαλλιών (68).

Η **βιταμίνη Β<sub>3</sub>** (νιασιναμίδη, σχήμα 5.6) είναι μία άλλη βιταμίνη που έχει εισέλθει στον τομέα των καλλυντικών.



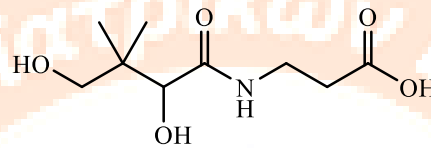
*Βιταμίνη Β<sub>3</sub>*

**Σχήμα 5.6:** Η χημική δομή της Βιταμίνης Β<sub>3</sub>.

Οι έρευνες επάνω σε αυτήν επικεντρώνονται στην αντιφλεγμονώδη και αντιγηραντική δράση της καθώς και στις ευεργετικές της ιδιότητες για τη θεραπεία της ακμής. Στα καλλυντικά σκευάσματα προστίθεται σε συγκεντρώσεις 3,5% έως 5% (68).

Τέλος, η **προβιταμίνη Β<sub>5</sub>** (σχήμα 5.7), γνωστή και ως δεξπανθενόλη, είναι το σταθερό ανάλογο του παντοθενικού οξέος. Είναι υπεύθυνη για τη ρύθμιση της έκκρισης

σμήγματος ενώ παράλληλα διαθέτει μαλακτικές, επανορθωτικές, ενυδατικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες. Βρίσκει εφαρμογή στα προϊόντα για χρήση κατά τη διάρκεια της ηλιοθεραπείας και κατόπιν αυτής. Επιπλέον, χρησιμοποιείται στην περιποίηση χεριών, ποδιών και νυχιών, ενώ επίσης είναι ιδανική για χρήση μετά την αποτρίχωση ή το ξύρισμα καθώς στις περιπτώσεις βρεφικού και ατοπικού δέρματος (68).



**Προβιταμίνη B<sub>5</sub>**

**Σχήμα 5.7:** Η χημική δομή της προβιταμίνης B<sub>5</sub>.

#### 5.2.4. Αντιοξειδωτικά στα καλλυντικά

Οι αντιοξειδωτικές ουσίες που προστίθενται στα καλλυντικά μπορεί να είναι είτε συνθετικής είτε φυσικής προέλευσης. Σε κάθε περίπτωση, έχουν την ικανότητα καταστολής του οξειδωτικού στρες στο δέρμα, ενώ παράλληλα προστατεύουν το προϊόν από την οξειδωτική αποικοδόμηση (70).

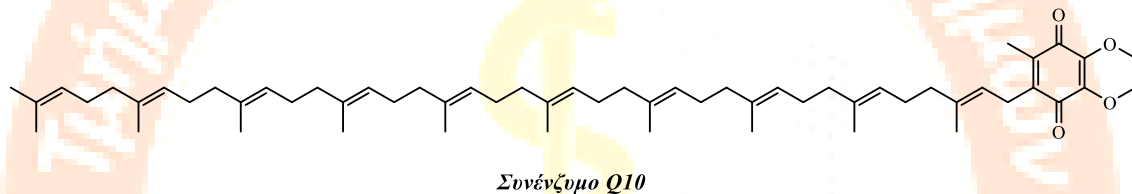
Μία κατηγορία φυσικών αντιοξειδωτικών συστατικών που βρίσκει εφαρμογή στον τομέα των καλλυντικών είναι οι **πολυφαινόλες**. Πρόκειται για πολύπλοκα μόρια, τα οποία παραλαμβάνονται από τα φυτά, με ποικίλες φυσιολογικές λειτουργίες. Χωρίζονται σε δύο επιμέρους ομάδες, τα φλαβονοειδή και τα μη-φλαβονοειδή (60).

Η ευρεία χρήση των φλαβονοειδών στην Κοσμητολογία οφείλεται στις αντιοξειδωτικές και αντιφλεγμονώδεις ιδιότητές τους. Οι τελευταίες, με τη σειρά τους, επιβραδύνουν τη διαδικασία φυσιολογικής γήρανσης του δέρματος καθώς και τη φωτογήρανση. Έτσι, οι πολυφαινόλες προστίθενται σε αντιρυτιδικές κρέμες προσώπου αλλά και σε αντιηλιακά προϊόντα, καθώς ενισχύουν τη δράση των φίλτρων UV (60).

Η **λικοχάλκονη Α**, ένα από τα κύρια φαινολικά συστατικά της γλυκόριζας, έχει αντιοξειδωτική, αντιφλεγμονώδη και αντιμικροβιακή δράση (71-73). Σύμφωνα με ανάλογες έρευνες, η τοπική εφαρμογή στο δέρμα καλλυντικών που την εμπεριέχουν

επιφέρει σημαντική μείωση στο ερύθημα και καταπράυνση του ευαίσθητου δέρματος (71,72).

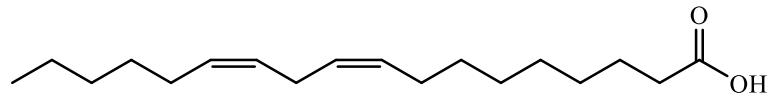
Ένα άλλο συστατικό με αποδεδειγμένη αντιοξειδωτική δράση είναι το **συνένζυμο Q10** (σχήμα 5.8) , γνωστό και ως ουμπικινόνη. Πρόκειται για λιποδιαλυτή ένωση που ανευρίσκεται σε κάθε κύτταρο του οργανισμού. Λειτουργεί ως συνένζυμο σε διάφορα στάδια παραγωγής ενέργειας στο εσωτερικό των κυττάρων. Τα επίπεδά του στον ανθρώπινο οργανισμό ελαττώνονται με την πάροδο του χρόνου. Ενεργεί σε συνέργεια με τη βιταμίνη E. Χρησιμοποιείται σε προϊόντα που προορίζονται για βελτίωση της υφής του δέρματος, προσδίδοντας απαλότητα, λείανση, αίσθηση ενυδάτωσης και σύσφιξη (74).



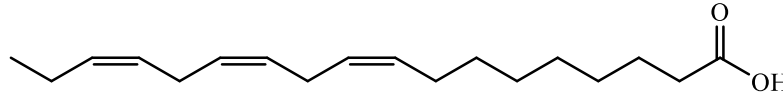
Σχήμα 5.8: Η χημική δομή του συνενζύμου Q10.

### 5.2.5. Λιπίδια στα καλλυντικά

Τα λιπίδια συνιστούν μια ξεχωριστή ομάδα οργανικών ενώσεων στην οποία περιλαμβάνονται τα λιπαρά οξέα και τα παράγωγά τους, ενώ παίζουν καθοριστικό ρόλο στη δομή και τον μεταβολισμό όλων των ζωντανών οργανισμών. Στην επιδερμίδα ανευρίσκονται τα σφιγκολιπίδια (*ceramides*) καθώς και κάποια απαραίτητα λιπαρά οξέα (Essential Fatty Acids, EFAs). Τα κύρια λιπαρά οξέα που προστίθενται στα καλλυντικά είναι κάποια ακόρεστα λιπαρά οξέα των τριγλυκεριδίων, όπως το **λινολεϊκό οξύ** ( $\omega 6$ ) και το  **$\alpha$ -λινολενικό οξύ** ( $\omega 3$ ) (σχήμα 5.9) (75).



Λινολεϊκό οξύ



α-λινολενικό οξύ

Σχήμα 5.9: Οι χημικές δομές του λινολεϊκού και του α-λινολενικού οξέος.

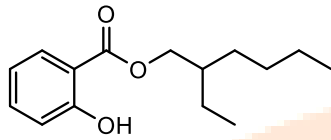
Τα λιπίδια προστίθενται στα καλλυντικά με στόχο τη βελτίωση της εμφάνισης του δέρματος, την προστασία του από εξωτερικούς δυσμενείς παράγοντες, την διατήρηση της ελαστικότητας και της απαλότητάς του. Συγκεκριμένα, τα **κεραμίδια**, το επίπεδο των οποίων μειώνεται με την ηλικία, συμβάλλουν στην άμυνα, ενυδάτωση και ενδυνάμωση της επιδερμίδας (75).

#### 5.2.6. Αντιηλιακά συστατικά στα καλλυντικά

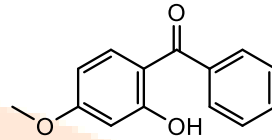
Ως αντιηλιακό καλλυντικό ορίζεται «οποιοδήποτε καλλυντικό προϊόν που περιέχει φίλτρα UV στη σύστασή του, με σκοπό την προστασία του δέρματος από την επιβλαβή ηλιακή UV ακτινοβολία, αποτρέποντας ή ελαχιστοποιώντας τη φθορά την οποία η ακτινοβολία ενδεχομένως να προκαλέσει στην ανθρώπινη υγεία» (40).

Η συνήθης συγκέντρωση των φίλτρων UV στα καλλυντικά είναι μεταξύ 0,1% και 10%. Η μέγιστη συγκέντρωση χρήσης των φίλτρων UV ορίζεται από την νομοθεσία και μπορεί να διαφέρει μεταξύ των χωρών, για παράδειγμα η Ευρώπη ακολουθεί τον κανονισμό 1223/2009 σε αντίθεση με τις ΗΠΑ ακολουθούν τους κανονισμούς του FDA, οι δύο κανονισμοί έχουν διαφορετικά όρια συγκέντρωσης. Οι χαμηλότερες συγκεντρώσεις συναντώνται σε σκευάσματα στα οποία τα φίλτρα ενεργούν με σκοπό την προστασία των υπολοίπων συστατικών του προϊόντος από την αποσύνθεση που μπορεί να προκληθεί σε αυτά από την έκθεση του προϊόντος στην ηλιακή ακτινοβολία. Οι υψηλότερες συγκεντρώσεις ανευρίσκονται σε αντιηλιακές κρέμες και γαλακτώματα όπου τα φίλτρα προορίζονται για την προστασία του δέρματος από την ηλιακή ακτινοβολία (40).

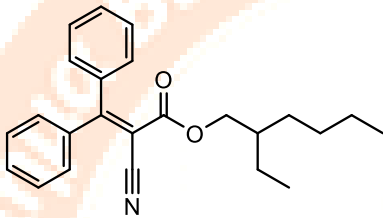
Τα αντηλιακά φίλτρα χωρίζονται σε UVA και UVB φίλτρα, ενώ υπάρχουν φίλτρα τα οποία προστατεύουν και από τα δύο είδη ακτινοβολίας, αυτά ονομάζονται και ευρέως φάσματος αντηλιακά φίλτρα (Broad spectrum filters) (76).



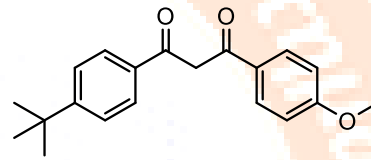
*2-αιθυλεξυλ-2-υδροξοβενζοϊκό*



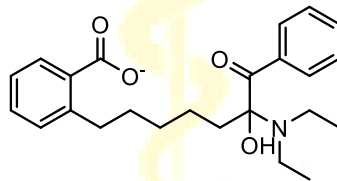
*Βενζοφαινόνη-3*



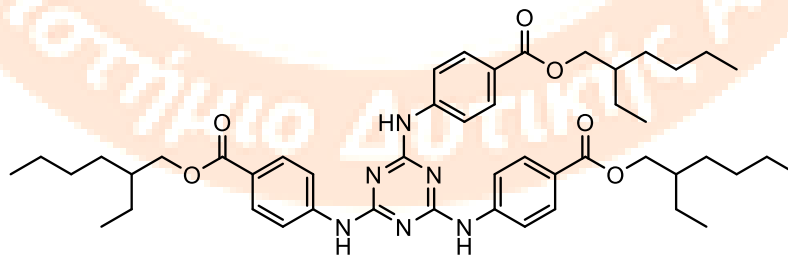
*Οκτοκρυλένιο*



*Βουτυλμεθοξυ-διβενζόλυομεθάνιο*



*Διαιθυλαμινο-υδροξοβενζόλυο-εξυλβενζοϊκό*



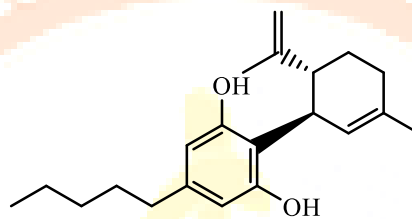
*Αιθυλεξυλ-τριαζόνη*

**Σχήμα 5.10:** Οργανικές ενώσεις που χρησιμοποιούνται ως αντηλιακά φίλτρα στα καλλυντικά.



### 5.2.7. Κανναβινοειδή στα καλλυντικά

Τα κανναβινοειδή που προορίζονται για καλλυντική χρήση και συγκεκριμένα η **κανναβιδιόλη** (cannabidiol, CBD) (σχήμα 5.11) εμπεριέχονται στο έλαιο της βιομηχανικής κάνναβης, το οποίο παραλαμβάνεται κατόπιν εκχύλισης των στελεχών, των φύλλων και των ανθών του φυτού. Κατά την προσθήκη της σε καλλυντικά προϊόντα, η CBD προσδίδει σε αυτά αντιφλεγμονώδεις, αντιγηραντικές και αντισμηγματοροϊκές ιδιότητες (77).

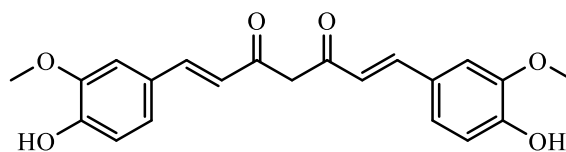


**Κανναβιδιόλη**

**Σχήμα 5.11:** Η χημική δομή της κανναβιδιόλης.

### 5.2.8. Κουρκουμοειδή στα καλλυντικά

Η **κουρκουμίνη** (σχήμα 5.12) είναι ένα από τα συστατικά που ανευρίσκονται στο μπαχαρικό κουρκουμάς. Λόγω των αποδεδειγμένων αντιφλεγμονωδών ιδιοτήτων της, βρίσκει εφαρμογή τόσο στον τομέα της Κοσμετολογίας όσο και σε αυτόν της Δερματολογίας. Συγκεκριμένα, χρησιμοποιείται για τοπική εφαρμογή στις περιπτώσεις δερματικών προβλημάτων όπως: οξεία δερματικά τραύματα, πληγές προερχόμενες από χειρουργικές επεμβάσεις, ψωρίαση, καψίματα από την ηλιακή ακτινοβολία καθώς και φωτοκατεστραμμένο δέρμα (78).



**Κουρκουμίνη**

**Σχήμα 5.12:** Η χημική δομή της κουρκουμίνης.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6

### ΠΟΙΟΤΙΚΟΣ ΕΛΕΓΧΟΣ ΒΙΟΔΡΑΣΤΙΚΩΝ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΜΕ SFC

#### 6.1. Εισαγωγή

Με τον όρο «ποιοτικός έλεγχος» εννοείται η χημική ανάλυση που εφαρμόζεται σε κάποιο δείγμα με στόχο την ταυτοποίηση των στοιχείων, ιόντων ή ενώσεων από τα οποία αυτό αποτελείται, ενώ παρέχονται και πληροφορίες αναφορικά με τις σχετικές αναλογίες των συστατικών (1).

Από τα στάδια της διαδικασίας του ποιοτικού ελέγχου ενός δείγματος, μεγάλη σημασία έχει η τεχνική προκατεργασία του που είναι απαραίτητη ώστε το ανιχνευόμενο συστατικό να διαχωριστεί από τα υπόλοιπα συστατικά τα οποία παρεμποδίζουν την πορεία της ανάλυσης (1). Ιδιαίτερος στην περίπτωση πολύπλοκων μιγμάτων, όπως είναι τα καλλυντικά, στην επιστημονική βιβλιογραφία αναφέρεται ποικιλία τέτοιων τεχνικών. Σε αυτές συγκαταλέγονται, εκτός από την απευθείας διαλυτοποίηση του δείγματος, κλασικές και σύγχρονες τεχνικές εκχύλισης, άλλες τεχνικές όπως διασποράς, φυγοκέντρωσης και χώνεψης. Ο καθοριστικός παράγοντας για την επιλογή της βέλτιστης διεργασίας είναι το είδος της μεθόδου που θα εφαρμοστεί κατά το κύριο στάδιο του ποιοτικού ελέγχου (79,80).

#### 6.2. Προκατεργασία δειγμάτων

Η απευθείας διαλυτοποίηση του δείγματος θεωρείται κατάλληλη επιλογή για απλές συνθέσεις όπως τα καλλυντικά σε υγρή μορφή, ενώ δεν είναι ικανοποιητική στην περίπτωση πολύπλοκων σχηματισμών στους οποίους υπάρχει πληθώρα συστατικών διαφορετικών συγκεντρώσεων. Οι συνηθέστερα χρησιμοποιούμενοι διαλύτες είναι η αιθανόλη, η μεθανόλη και ο οξικός αιθυλεστέρας (80).

Εξ' άλλου, τόσο η εκχύλιση υγρού-υγρού (Liquid-Liquid Extraction, LLE) όσο και η εκχύλιση στερεού-υγρού (Solid-Liquid Extraction, SLE) υπάγονται στις κλασικές τεχνικές εκχύλισης. Στην περίπτωση της πρώτης, με την επιλογή διαλύτη που δεν αναμειγνύεται με τη μήτρα του προς ανάλυση προϊόντος επιτυγχάνεται η μέγιστη δυνατή διαλυτοποίηση των αναλυτών. Αντίστοιχη αρχή εφαρμόζεται και στην SLE με τη διαφορά ότι πραγματοποιείται διασπορά των αναλυτών σε μήτρα στερεάς φάσης. Και στις δύο περιπτώσεις, η καθοριστική πειραματική παράμετρος είναι ο διαλύτης εκχύλισης, η επιλογή του οποίου εξαρτάται από τις φυσικοχημικές ιδιότητες του αναλύτη και την τεχνική προσδιορισμού που θα ακολουθήσει. Ένα από τα σημαντικότερα μειονεκτήματα των εν λόγω τεχνικών είναι ότι, μετά την εκχύλιση, ακολουθούν περαιτέρω διεργασίες όπως η φυγοκέντρωση ή συμπύκνωση και η απομάκρυνση του υπερκείμενου υγρού, πριν τον αναλυτικό προσδιορισμό (80).

Από την άλλη πλευρά, η διεργασία εκχύλισης με υπερκρίσιμο ρευστό (Supercritical Fluid Extraction, SFE) είναι η «πράσινη» διεργασία εκχύλισης που προσφέρει πληθώρα πλεονεκτημάτων έναντι των κλασικών αντίστοιχων διεργασιών. Κατά την εφαρμογή της χρησιμοποιούνται ρευστά στην υπερκρίσιμη κατάσταση ως διαλύτες, με συνηθέστερο το  $scCO_2$  (βλέπε κεφ. 2). Μάλιστα, δεδομένου ότι το  $scCO_2$  είναι αέριο σε θερμοκρασία δωματίου, όταν η εκχύλιση ολοκληρωθεί και το σύστημα αποσυμπιεστεί, ο διαλύτης εξατμίζεται και το εκχύλισμα παραλαμβάνεται καθαρό (81).

Μία άλλη διαδεδομένη τεχνική εκχύλισης οργανικών ενώσεων από οργανικές μήτρες είναι η εκχύλιση στερεάς φάσης (Solid Phase Extraction, SPE). Σύμφωνα με την τεχνική αυτή, οι προς προσδιορισμό αναλύτες απομονώνονται από το δείγμα προς μία στερεή φάση, όπου ανακτώνται. Για την εφαρμογή της στην ανάλυση καλλυντικών δειγμάτων απαιτείται προκατεργασία αυτών με στόχο την παραλαβή τους σε υγρή κατάσταση (79,80).

Είναι φανερό ότι δεν υπάρχει καθολική και συγκεκριμένη τεχνική προετοιμασίας καλλυντικών δειγμάτων προς ανάλυση, διότι πρόκειται για πολύπλοκα συστήματα όπου το κάθε δραστικό συστατικό επιδεικνύει μοναδική φυσικοχημική συμπεριφορά (79,80).

### 6.3. Ποιοτικός έλεγχος βιοπολυμερών και πρωτεϊνών – πεπτιδίων

Σύμφωνα με τα δεδομένα που παρέχονται από τη διεθνή βιβλιογραφία, για τον ποιοτικό έλεγχο μεγάλων και πολικών βιομορίων όπως τα βιοπολυμερή και οι πρωτεΐνες δεν ενδείκνυται η SFC. Αντιθέτως, εφαρμόζονται άλλες χρωματογραφικές μέθοδοι όπως η HPLC και η GC (54). Αυτό συμβαίνει διότι τα μόρια αυτά είναι αδιάλυτα σε κινητές φάσεις που έχουν ως βάση τους το scCO<sub>2</sub> (82).

### 6.4. Ποιοτικός έλεγχος βιταμινών

#### 6.4.1. Βιταμίνη Α (LLE - SFC/PDA)

Ο ποιοτικός έλεγχος της ρετινόλης (βλ. ¶ 5.2.3.) πραγματοποιείται σύμφωνα με τη μέθοδο που ανέπτυξαν οι Tyśkiewicz et al (2018) σε δείγμα ιχθυελαίου, το οποίο περιέχει μίγμα των λιποδιαλυτών βιταμινών α-τοκοφερόλη, γ-τοκοφερόλη, δ-τοκοφερόλη, ρετινόλη και μενακινόνη-4 (K<sub>2</sub>-MK4) (83).

#### Προκατεργασία δείγματος

Για την προετοιμασία του προς ανάλυση δείγματος γίνεται απομάκρυνση των προσμίξεων, ακολουθώντας τη μέθοδο σαπωνοποίησης των O'keefe & Ackman με κάποιες τροποποιήσεις. Αρχικά, στο έλαιο προστίθεται αιθανολικό διάλυμα 90%. Αργότερα παρασκευάζονται υδατικά διαλύματα KOH και NaOH. Κατόπιν προσθήκης ασκορβικού οξέος στο διάλυμα NaOH, το προκύπτον διάλυμα αναμιγνύεται με το διάλυμα KOH και προστίθεται ποσότητα του μετά νατρίου άλατος EDTA. Ακολουθεί ανάμειξη με το αιθανολικό διάλυμα του ελαίου και προσθήκη διαιθυλαιθέρα – νερού, οπότε σχηματίζεται σύστημα δύο φάσεων. Η οργανική φάση συλλέγεται, εκπλύνεται με νερό και ο διαλύτης εξατμίζεται. Το υπόλειμμα ξηραίνεται και διηθείται (83).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Ο διαχωρισμός της ρετινόλης από μίγμα λιποδιαλυτών βιταμινών γίνεται χρησιμοποιώντας ως στατική φάση την μη-πολική HSS C<sub>18</sub> SB (υψηλής αντοχής τροποποιημένη σίλικα), διαστάσεων 100mm x 3mm και μέγεθος σωματιδίων 1.8 μm, ενώ η κινητή φάση είναι scCO<sub>2</sub> στο οποίο προστίθεται σταδιακά MeOH (0.4%-3.0%).

Η θερμοκρασία της στήλης ρυθμίζεται στους 35°C, ενώ ο ρυθμιστής αντίθλιψης σε πίεση 12,41 MPa. Η βέλτιστη ταχύτητα ροής είναι 2.3 mL/min. Ο διαχωρισμός διαρκεί 13 λεπτά (83).

Για την ανίχνευση χρησιμοποιείται ο PDA, όπου η ρετινόλη ανιχνεύεται στα 320 nm (83).

#### **6.4.2. β-καροτένιο (SFE – SFC/MS/MS)**

Το β-καροτένιο υπάγεται στην οικογένεια των καροτενοειδών. Πρόκειται για υδρόφοβες ενώσεις που χαρακτηρίζονται από ένα συζυγιακό σύστημα διπλών δεσμών (πολυενική αλυσίδα), το οποίο, από τη μια μεριά τα καθιστά επιρρεπή στην αποδόμηση ενώ, από την άλλη μεριά, τους προσδίδει ευαισθησία στη θερμότητα και το φως. Επομένως, κατά τον προσδιορισμό τους απαιτείται υψηλή χρωματογραφική ανάλυση και εκλεκτικότητα. Η μέθοδος που ακολουθεί αναπτύχθηκε από τους Jumaah et al. (2016) σε εκχυλίσματα αγριοτριαντάφυλλου και μικροφυκών, τα οποία περιέχουν μίγματα καροτενοειδών (84).

##### Προκατεργασία δειγμάτων

Τα καροτενοειδή διαχωρίζονται από τα αρχικά δείγματα με τη μέθοδο SFE. Συγκεκριμένα, ποσότητα λυοφιλοποιημένων (freeze-dried) δειγμάτων εκχυλίζεται με scCO<sub>2</sub> σε πίεση 300 bar, θερμοκρασία 40°C και ταχύτητα ροής 2 mL/min. Τα εκχυλίσματα μεταφέρονται και συλλέγονται σε κατάλληλους περιέκτες με προσθήκη αιθανόλης, ενώ αποθηκεύονται σε σκιερό μέρος και χαμηλή θερμοκρασία (84).

##### Χρωματογραφική διαδικασία

Για τον ποιοτικό έλεγχο του β-καροτενίου χρησιμοποιείται σύστημα UHPSFC-MS. Συγκεκριμένα, επιλέγεται η στήλη 1-αμινοανθρακενίου UPC<sup>2</sup> 1AA (100 mm x 3.0 mm, 1.7 μm) ενώ η κινητή φάση αποτελείται από MeOH διαλελυμένη σταδιακά σε scCO<sub>2</sub> (0%-25%). Η θερμοκρασία της στήλης ρυθμίζεται στους 35°C και ο ρυθμιστής αντίθλιψης σε πίεση 160 bar. Η ανίχνευση πραγματοποιείται με MS (84).

Η μέθοδος επιδεικνύει ικανοποιητική ακρίβεια και επαναληψιμότητα, ενώ η όλη διαδικασία λαμβάνει χώρα σε λιγότερο από 6 λεπτά (84).

#### **6.4.3. Βιταμίνη C (MD – SFC/MS/MS)**

Η βιταμίνη C (ασκορβικό οξύ) ανήκει στην κατηγορία των υδατοδιαλυτών βιταμινών. Ο ποιοτικός προσδιορισμός της πραγματοποιείται σε πρότυπο διάλυμα (85).

##### Προκατεργασία δείγματος

Σε υδατικό διάλυμα ασκορβικού οξέος προστίθεται μεθανόλη. Ακολουθεί ο χρωματογραφικός προσδιορισμός (85).

##### Χρωματογραφική διαδικασία

Για τον προσδιορισμό της βιταμίνης C στο διάλυμα εφαρμόζεται η μέθοδος SFC/MS/MS όπου η στατική φάση είναι η Acquity UPC<sup>2</sup> C18SB (100mm x 3.0mm, 2.0μm) ενώ η κινητή φάση αποτελείται από μίγμα scCO<sub>2</sub>-MeOH με προσθήκη 0.1% (v/v) φορμικού οξέος. Οι πειραματικές συνθήκες έχουν ως εξής: Θερμοκρασία στους 40°C, πίεση 12.4 MPa και ταχύτητα ροής 1.0mL/min (85).

#### **6.4.4. Βιταμίνη E (LLE – SFC/MS)**

Για την απομόνωση και τον ποιοτικό έλεγχο της α-τοκοφερόλης από τις υπόλοιπες ισομερείς μορφές της, απαιτείται υψηλή ευαισθησία και εκλεκτικότητα. Αυτό συμβαίνει διότι μεταξύ των τοκοφερολών υπάρχουν ομοιότητες τόσο ως προς τη χημική δομή όσο και ως προς το μοριακό βάρος. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται η τεχνολογία SFC-MS, με τη βοήθεια της οποίας καθίσταται εφικτός ο προσδιορισμός αυτός σε δείγμα σογιελαίου, το οποίο περιέχει μίγμα τοκοφερολών και τοκοτριενολών (86).

##### Προκατεργασία δειγμάτων

Το δείγμα σογιελαίου διαλύεται σε κυκλοεξάνιο και αργότερα προστίθεται βουτυλιωμένο υδροξυτολουόλιο (Boutylated Hydroxytoluene, BHT). Η διαδικασία πραγματοποιείται υπό χαμηλό φωτισμό και θερμοκρασία δωματίου. Τα προς ανάλυση δείγματα φυλάσσονται σε σκοτεινές φιάλες στους 5°C πριν την ανάλυση (86).

##### Χρωματογραφική διαδικασία

Για τον διαχωρισμό χρησιμοποιείται η αναλυτική στήλη Amine Luna NH<sub>2</sub> (150 x 2 mm, 3 μm) και μίγμα scCO<sub>2</sub>-αιθανόλης με προσθήκη 0,1% φορμικού οξέος ως κινητή φάση. Η θερμοκρασία διαχωρισμού σταθεροποιείται στους 30°C ενώ η πίεση ρυθμίζεται στα 130 bar (86).

Η ανίχνευση πραγματοποιείται με MS (86).

#### **6.4.5. Βιταμίνη B<sub>3</sub> (MD – SFC/MS/MS)**

Η νιασιναμίδη είναι πολικό μόριο. Για τον προσδιορισμό της σε βιολογικά υγρά (πλάσμα αίματος – ούρα), τα οποία περιέχουν επίσης τους μεταβολίτες αυτής, έχει αναπτυχθεί η τεχνολογία SFC/MS/MS από τους Taguchi et al. (2014) (87).

##### Προκατεργασία δειγμάτων

Δείγματα από πλάσμα και ούρα κουνελιού διαλύονται σε μεθανόλη. Ακολουθεί φυγοκέντρηση και παραλαβή του υπερκείμενου υγρού (87).

##### Χρωματογραφική διαδικασία

Για τον χρωματογραφικό διαχωρισμό της νιασιναμίδης από τους μεταβολίτες της, επιλέγεται ως στατική φάση η στήλη ACQUITY UPLC HSS Cyano (50 x 3.0 mm, 1.8 μm) ενώ η κινητή φάση αποτελείται από scCO<sub>2</sub> και διάλυμα νερού σε μεθανόλη (95/5 v/v) στο οποίο έχουν προστεθεί φορμικό οξύ σε ποσοστό 0,15% (v/v) και φορμικό αμμώνιο σε ποσοστό 0,1% (w/v). Η ταχύτητα ροής ρυθμίζεται στα 1,6 mL/min, η θερμοκρασία στήλης στους 40°C και η πίεση στα 20,68 MPa (87).

#### **6.4.6. Προβιταμίνη B<sub>5</sub> (Δεξπανθενόλη) (LLE-SPE - SFC/PDA/MS)**

Η φαρμακολογική δράση της δεξπανθενόλης αποδίδεται στην D-(R)-πανθενόλη, ενώ το L-(S)-ισομερές είναι ανενεργό. Με σκοπό τον προσδιορισμό της εναντιομερικής καθαρότητας ενός προϊόντος έχουν αναφερθεί διάφορες αναλυτικές μέθοδοι. Μεταξύ αυτών, η pSFC προτιμάται εξ' αιτίας της ταχείας ανάλυσης, της υψηλής διαχωριστικής ικανότητας και της χαμηλής κατανάλωσης διαλύτη που την χαρακτηρίζουν (39).

##### Προκατεργασία δειγμάτων

Σύμφωνα με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε από τους Khater & West (2015), η προκατεργασία των δειγμάτων διαφόρων καλλυντικών συνθέσεων (κρέμα, λοσιόν, γαλάκτωμα) πραγματοποιείται με συνδυασμό τεχνικών εκχύλισης (LLE - SPE). Συγκεκριμένα, σε ποσότητα κρέμας προστίθενται διαδοχικά N-ακετυλ-L-αλανίνη και διάλυμα χλωροφορμίου σε νερό. Το μίγμα ομοιογενοποιείται και ακολουθεί εκχύλιση LLE για τον διαχωρισμό των υδρόφιλων συστατικών από τα υδρόφοβα συστατικά και τις επιφανειοδραστικές ουσίες. Κατόπιν, στην υδατική φάση προστίθενται διαλύματα οξικού ψευδαργύρου και σιδηροκυανιούχου καλίου. Ακολουθεί φυγοκέντρηση και εκχύλιση στερεάς φάσης με σκοπό την συλλογή των προς ανάλυση συστατικών (39).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Για την επιλογή της κατάλληλης στήλης (στατική φάση), ελέγχονται διάφορες εναντιοεκλεκτικές στήλες και επιλέγεται η χειραλική στατική φάση πολυσακχαρίτη τύπου 3μm-αμυλόξης (Chiralpak IA), διαστάσεων 150 x 4.6 mm και μεγέθους σωματιδίων 3μm (39).

Αναφορικά με τη χημική σύσταση της κινητής φάσης, χρησιμοποιείται το διάλυμα scCO<sub>2</sub>-MeOH με 20mM φορμικό οξύ 89:11 (v/v) το οποίο, από τη μια μεριά οδηγεί σε αποτελεσματικό διαχωρισμό ενώ, από την άλλη πλευρά, επιτρέπει την ανίχνευση μικρών ποσοτήτων ακαθαρσιών (39).

Άλλες φυσικές παράμετροι όπως, θερμοκρασία και πίεση εξόδου επίσης εξετάζονται. Συγκεκριμένα, επιλέγεται ταχύτητα ροής ίση προς 2,3 mL/min, T=25°C, και πίεση εξόδου 150 bar (39).

Η ανίχνευση των συστατικών πραγματοποιείται με PDA-MS, σε μήκος κύματος ίσο προς 210 nm (39).

## **6.5. Ποιοτικός έλεγχος αντιοξειδωτικών**

### **6.5.1. Φλαβονοειδή (SFE – SFC/PDA)**

Τα φλαβονοειδή είναι μόρια πολικά. Με σκοπό τον ποιοτικό προσδιορισμό τους, απαιτούνται συνθήκες υψηλής πίεσης και θερμοκρασίας. Στη βιβλιογραφία αναφέρεται



ο προσδιορισμός τους σε εκχύλισμα του φυτού αλφάλφα, το οποίο περιέχει πληθώρα βιοδραστικών συστατικών (30).

#### Προκατεργασία δειγμάτων

Μετά την αποξήρανση και την κονιορτοποίηση τμημάτων του φυτού, παραλαμβάνεται το εκχύλισμα με τη μέθοδο SFE χρησιμοποιώντας  $scCO_2$  ως διαλύτη και παράλληλα εφαρμόζοντας υψηλή πίεση (80 MPa) και θερμοκρασία (80°C).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Ο διαχωρισμός του εκχυλίσματος στα επιμέρους συστατικά πραγματοποιείται σύμφωνα με τη μέθοδο που αναπτύχθηκε από τους Wrona et al. (2019). Τα φλαβονοειδή είναι δυνατόν να διαχωριστούν από τα φαινολικά οξέα χρησιμοποιώντας ως στατική φάση την «bridged ethyl hybrid, BEH» και συνδιαλύτη μεθανόλη στην κινητή φάση, σε διάφορες περιεκτικότητες %. Η θερμοκρασία ρυθμίζεται στους 25°C, ο ρυθμιστής αντίθλιψης σε πίεση 13,7MPa, η ταχύτητα ροής σε 1,5mL/min και ο όγκος έγχυσης στα 4mL (30).

Για την ανίχνευση των συστατικών χρησιμοποιείται ο ανιχνευτής PDA σε μήκος κύματος 254 nm (30).

Για τον διαχωρισμό και ποιοτικό έλεγχο ενός φλαβονοειδούς με ευρεία χρήση στα καλλυντικά, της **λικοχαλκόνης Α**, δύναται να εφαρμοστεί και η UPC<sup>2</sup>, η οποία είναι υποκατηγορία της SFC (88).

#### Προκατεργασία δειγμάτων

Στην περίπτωση προσδιορισμού σε δείγματα γλυκόριζας, αυτά αποξηραίνονται και, αφού κονιορτοποιηθούν, υπόκεινται σε εκχύλιση με υπερήχους με διαλύτη αιθανόλη 95%. Τα εκχυλίσματα διηθούνται, συμπυκνώνονται και λυοφιλοποιούνται. Η σκόνη που παραλαμβάνεται διαλύεται σε μεθανόλη. Ακολουθεί διήθηση και λήψη του διηθήματος για περαιτέρω ανάλυση (88).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Η διαδικασία επιτελείται με στήλη ACQUITY UPC2™ Torus 2-PIC (100 x 2.1 mm, 1.7 μm) και κινητή φάση που περιέχει μίγμα  $scCO_2$  – μεθανόλης στο οποίο έχει

προσθεθεί φορμικό οξύ σε ποσοστό 0,2%. Η θερμοκρασία του κλιβάνου ρυθμίζεται στους 40°C και η πίεση στα 2,000 psi, ενώ η ταχύτητα ροής στα 0,8 mL/min (88).

Τέλος, η ανίχνευση πραγματοποιείται με τη βοήθεια ανιχνευτή PDA (88).

### **6.5.2. Συνένζυμο Q10 (LLE – UHPSFC/PDA)**

Για τον ποιοτικό έλεγχο του υδρόφοβου και ευαίσθητου στη θερμότητα συνενζύμου Q10, εφαρμόζεται η τεχνική UHPSFC, σύμφωνα με τη μεθοδολογία που αναπτύχθηκε από τους Guedes et al. σε δείγμα φοινικελαίου (89).

#### Προκατεργασία δειγμάτων

Η παραλαβή του προς ανάλυση δείγματος πραγματοποιείται κατόπιν εκχύλισης τμημάτων του φυτού με προπάνιο, σε θερμοκρασία 40°C και πίεση 15MPa (89).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Χρησιμοποιείται η χρωματογραφική στήλη Viridis HSS C<sub>18</sub> SB (150 x 3 mm, 3,5 μm) ενώ η κινητή φάση είναι μίγμα scCO<sub>2</sub>-αιθανόλης, όπου ο συνδιαλύτης προστίθεται σταδιακά (16-24 v/v). Η ταχύτητα ροής ρυθμίζεται στα 1,5 mL/min (89).

Για την ανίχνευση το σύστημα εφοδιάζεται με ανιχνευτή PDA ο οποίος περιλαμβάνει κύτταρο UV υψηλής πίεσης, όπου ο αναλύτης ανιχνεύεται στα 275 nm (89).

## **6.6. Ποιοτικός έλεγχος λιπιδίων**

### **6.6.1. Χοληστερόλη (MD – SFC/FID)**

Στη βιβλιογραφία αναφέρεται ο προσδιορισμός της χοληστερόλης σε καλλυντικά σκευάσματα, ως συστατικό της λανολίνης, με τη βοήθεια της cSFC (38).

#### Προκατεργασία δειγμάτων

Τα καλλυντικά σκευάσματα διαλυτοποιούνται απευθείας σε *n*-εξάνιο ή διχλωρομεθάνιο. Δεν απαιτούνται άλλες διεργασίες πριν τον χρωματογραφικό προσδιορισμό (38).

Χρωματογραφική διαδικασία

Λόγω του υδρόφοβου χαρακτήρα του αναλύτη, δύνανται, αντίστοιχα, να χρησιμοποιηθούν μη-πολικές στατικές φάσεις όπως, SB-methyl, SB-octyl, SB-biphenyl 30. Ως κινητή φάση επιλέγεται το scCO<sub>2</sub> και η θερμοκρασία κλιβάνου ρυθμίζεται στους 100°C (38).

Ο αναλύτης ανιχνεύεται με FID (38).

**6.6.2. Τριγλυκερίδια (MD – SFC/UV/ELSD)**

Λόγω της χαμηλής πτητικότητας των τριγλυκεριδίων, η SFC ενδείκνυται για τον διαχωρισμό και την ανάλυσή τους, ενώ οι πολικότητά τους τα καθιστά διαλυτά σε διαλύτες που έχουν ως βάση το scCO<sub>2</sub> (90).

Προκατεργασία δειγμάτων

Στην περίπτωση διαχωρισμού τριγλυκεριδίων σε αργκανέλαιο και κραμβέλαιο, τα δείγματα διαλυτοποιούνται σε μίγμα μεθανόλης-διχλωρομεθανίου 50:50 (v/v). Ακολουθεί ο χρωματογραφικός προσδιορισμός (90).

Χρωματογραφική διαδικασία

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός δύναται να πραγματοποιηθεί με χρήση οποιασδήποτε στήλης C18 (150mm x 4.6mm), υπερφυσικά πορωδών σωματιδίων. Ως κινητή φάση επιλέγεται μίγμα scCO<sub>2</sub>-ακετονιτριλίου-μεθανόλης, με το ποσοστό του τροποποιητή να ισούται προς 12% και αυτό της μεθανόλης 10%. Επίσης, η θερμοκρασία ρυθμίζεται στους 17°C και η πίεση στα 10 MPa (90).

Η ανίχνευση των συστατικών, λινολεϊκό οξύ και λινολενικό οξύ, πραγματοποιείται με UV – ELSD (90).

**6.6.3. Κεραμίδια (LLE – UHPSFC/ESI/MS)**

Μια από τις εφαρμογές της UHPSFC/ESI-MS που αναφέρεται στη βιβλιογραφία είναι η λιπιδομική ανάλυση, κατά την οποία ανιχνεύεται πλήθος λιπιδίων, μεταξύ των οποίων και τα κεραμίδια. Η μέθοδος που ανέπτυξαν οι Lisa & Holčapek (2015)

πραγματοποιήθηκε σε βιολογικό δείγμα (εγκέφαλος χοίρου), ενώ δύναται να εφαρμοστεί σε πλήθος κλινικών μελετών (91).

#### Προκατεργασία δειγμάτων

Με σκοπό την παρασκευή του προς ανάλυση εκχυλίσματος, 0.5 g του λιπώδους ιστού ομοιογενοποιούνται με 10 mL μίγματος χλωροφορμίου/μεθανόλης (2:1 v/v). Ακολουθεί διήθηση και προσθήκη 2 mL διαλύματος 1 mol/L χλωριούχου νατρίου. Το μίγμα φυγοκεντρείται σε θερμοκρασία δωματίου. Η φάση του χλωροφορμίου, η οποία περιέχει τα λιπίδια, υπόκειται σε εξάτμιση με ρεύμα αζώτου και επαναδιαλυτοποίηση σε μίγμα χλωροφορμίου-2-προπανόλης (1:1 v/v) (91).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Σύμφωνα με τη μέθοδο αυτή, χρησιμοποιείται η στήλη Acquity BEH UPC<sup>2</sup> (100 mm x 3.0 mm, 1.7 μm). Η κινητή φάση έχει ως βάση το scCO<sub>2</sub> ενώ, τον ρόλο του συνδιαλύτη κατέχει μίγμα μεθανόλης – νερού (99:1, v/v) στο οποίο έχει προστεθεί οξικό αμμώνιο (91)

Η ανίχνευση γίνεται με ανιχνευτή ESI-MS (91).

### **6.7. Ποιοτικός έλεγχος φίλτρων UV (LLE – UHPSFC/PDA)**

Σύμφωνα με τη μέθοδο που ανέπτυξαν οι Khalikova et al. (2018), είναι εφικτός ο ποιοτικός προσδιορισμός αντιηλιακών φίλτρων σε καλλυντικά προϊόντα, εφαρμόζοντας την τεχνική UHPSFC. Συγκεκριμένα, προσδιορίζονται οι εξής ενώσεις: 2-αιθυλ-εξυλ-2-υδροβενζοϊκό, αιθυλεξυλ-μεθοξυλοκινναμικό, βενζοφαινόνη-3, οκτοκρυλένιο, δισ-αιθυλεξυλοξυφαινόλη-μεθοξυφαινολοτριάζινη, βουτυλ-μεθοξυδιβενζοϋλομεθάνιο, διαίθυλάμινο-υδροξυβενζοϋλο-εξυλ-βενζοϊκό, αιθυλεξυλοτριάζινη και διαιθυλεξυλ-βουταμιδοτριάζινη (40).

#### Προκατεργασία δειγμάτων

Κατά την προκατεργασία των δειγμάτων, οι πρώτες ύλες αναμειγνύονται με καλλυντική κρέμα που δεν περιέχει αντιηλιακά φίλτρα. Ακολουθεί εκχύλιση με 4,5 mL

μίγματος διαλυτών THF:iPrOH (80:20, v/v), με τη βοήθεια υπερήχων. Κατόπιν, τα εκχυλίσματα διηθούνται (40).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Ο διαχωρισμός επιτυγχάνεται με στήλη Acquity UPC<sup>2</sup> Torus 2-PIC, διαστάσεων 100 x 3.0 mm και μεγέθους σωματιδίων 1.7 μm, ενώ ως κινητή φάση χρησιμοποιείται μίγμα scCO<sub>2</sub>-MeOH στο οποίο έχει προστεθεί νερό σε ποσοστό 2% καθώς και οξικό αμμώνιο ως πρόσθετο. Ο οργανικός τροποποιητής (συνδιαλύτης) προστίθεται σταδιακά. Ο ρυθμιστής αντίθλιψης ρυθμίζεται στα 150 bar, ενώ η θερμοκρασία στους 40°C. Ο όγκος δείγματος που εγχύθηκε ήταν 1 μL (40).

Τέλος, πραγματοποιείται ανίχνευση και προσδιορισμός των συστατικών με ανιχνευτή PDA στα 280 nm, 305 nm και 340 nm, ανάλογα με τη μέγιστη UV απορρόφηση του κάθε αντιηλιακού φίλτρου (40).

## **6.8. Ποιοτικός έλεγχος κανναβινοειδών**

### **6.8.1. Κανναβιδιόλη (LLE – UHPSFC/PDA/MS)**

Ο ποιοτικός έλεγχος κανναβιδιόλης σε εκχύλισμα του φυτού *Cannabis sativa* L. είναι εφικτός χάρη στην UHPSFC, χρησιμοποιώντας το σύστημα Acquity UPC<sup>2</sup> (92).

#### Προκατεργασία δειγμάτων

Για την παρασκευή των προς ανάλυση εκχυλισμάτων, 0.5 g από τμήματα του φυτού κονιοποιούνται και ομοιογενοποιούνται. Ακολουθεί προσθήκη μίγματος ακετονιτριλίου-μεθανόλης (80:20), φυγοκέντρηση και παραλαβή του υπερκείμενου υγρού (92).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Ο χρωματογραφικός διαχωρισμός επιτυγχάνεται με χρήση της στήλης BEH 2-EP διαστάσεων 150 x 3.0 mm και μέγεθος σωματιδίων 1.7 μm. Επίσης, η κινητή φάση είναι μίγμα scCO<sub>2</sub> και ισοπροπανόλης:ακετονιτριλίου (80:20) με προσθήκη 1% νερού. Η θερμοκρασία του κλιβάνου ρυθμίζεται στους 30°C, ενώ η ταχύτητα ροής στα 1.4 mL/min. Τέλος, η πίεση του ρυθμιστή αντίθλιψης είναι ίση προς 1500 psi (92).

Η ανίχνευση του συστατικού πραγματοποιείται με PDA/MS (92).

Εφαρμόζοντας τις παραπάνω πειραματικές συνθήκες εξασφαλίζεται η μέγιστη δυνατή ανάλυση και ευαισθησία της μεθόδου (92).

## 6.9. Ποιοτικός έλεγχος Κουρκουμοειδών

### 6.9.1. Κουρκουμίνη (LLE – UHPSFC/UV)

#### Προκατεργασία δείγματος

Παρασκευάζεται μεθανολικό εκχύλισμα κουρκουμά (93).

#### Χρωματογραφική διαδικασία

Για τον ποιοτικό έλεγχο της κουρκουμίνης σε μεθανολικό εκχύλισμα κουρκουμά, με τη βοήθεια της UHPSFC, έχει αναπτυχθεί μια μέθοδος η οποία περιλαμβάνει UPC<sup>2</sup> BEH στήλη με σωματίδια μεγέθους 1.7 μm, διαστάσεων 100 mm x 3.0 mm. Ως κινητή φάση επιλέγεται μίγμα scCO<sub>2</sub>-οξαλικού οξέος-μεθανόλης, όπου το οξαλικό οξύ έχει συγκέντρωση 10mM. Η θερμοκρασία του κλιβάνου ρυθμίζεται στους 40°C, ενώ ο συνδιαλύτης προστίθεται σταδιακά. Η ταχύτητα ροής ισούται προς 0.9 mL/min (93).

Η ανίχνευση πραγματοποιείται με ανιχνευτή UV, όπου το μήκος κύματος ρυθμίζεται στα 410 nm, σε αντιστοιχία με το μήκος κύματος μέγιστης απορρόφησης της κουρκουμίνης (93).

Στον πίνακα που ακολουθεί συνοψίζονται οι προαναφερθείσες διεργασίες ποιοτικού ελέγχου.

**Πίνακας 6.1:** Συνοπτική παρουσίαση των διαδικασιών ποιοτικού ελέγχου βιοδραστικών συστατικών καλλυντικών προϊόντων με SFC.

<i>Δείγμα</i>	<i>Βιοδραστικό συστατικό</i>	<i>Μέθοδος Προκατεργασίας Ανάλυση/Ανιχνευτής</i>	<i>Κινητή φάση</i>	<i>Στατική φάση</i>	<i>Συνθήκες SFC</i>
Ιχθυέλαιο	Βιταμίνη Α	LLE-SFC/PDA	scCO <sub>2</sub> / MeOH (0.4%-3.0%)	Μη-πολική HSS C18 SB (μη-χειραλική)	Tc: 35 °C Pc: 12.41 MPa Flow: 2.3 mL/min
Εκχυλίσματα αγριοτριαντάφυλλου & μικροφυκών	β-καροτένιο	SFE-SFC/MS/MS	scCO <sub>2</sub> / MeOH (0.0%-25.0%)	UPC <sup>2</sup> 1AA	Tc: 35 °C Pc: 160 bar Flow: 2 mL/min
Πρότυπο διάλυμα	Βιταμίνη C	MD-SFC/MS/MS	scCO <sub>2</sub> / MeOH/HCOOH	Acquity UPC <sup>2</sup> C18SB	Tc: 40 °C Pc: 12.4 MPa Flow: 1.0 mL/min
Σογιέλαιο	Βιταμίνη E	LLE-SFC/MS	scCO <sub>2</sub> / EtOH / 0.1% HCOOH	Amine Luna NH <sub>2</sub>	Tc: 30 °C Pc: 130 bar Flow: 1.5 mL/min
Πλάσμα-ούρα	Βιταμίνη B <sub>3</sub>	MD-SFC/MS/MS	scCO <sub>2</sub> / MeOH / H <sub>2</sub> O / HCOOH / HCOONH <sub>4</sub>	Acquity UPLC HSS Cyano	Tc: 40 °C Pc: 20.68 MPa Flow: 1.6 mL/min
Κρέμα / Λοσιόν / Γαλάκτωμα	Προβιταμίνη B <sub>5</sub>	LLE – SPE-SFC/PDA/MS	scCO <sub>2</sub> / MeOH / HCOOH	Χειραλική Chiralpac IA	Tc: 25 °C Pc: 150 bar Flow: 2.3 mL/min
Εκχύλισμα Αλφάλφα	Φλαβονοειδή	SFE-SFC/PDA	scCO <sub>2</sub> / MeOH	BEH	Tc: 25 °C Pc: 13.7 MPa Flow: 1.5 mL/min
Γλυκόριζα	Λικοχαικόνη Α	LLE-SFC/MS/MS/PDA	scCO <sub>2</sub> / MeOH / HCOOH	Acquity UPC <sup>2</sup> TM Torus 2 - PIC	Tc: 40 °C Pc: 2.000 psi Flow: 0.8 mL/min
Φοινικέλαιο	Συνένζυμο Q10	LLE-UHPSFC/PDA	scCO <sub>2</sub> / EtOH (16-24 v/v)	Viridis HSS C18 SB	Tc: 17 °C Pc: 13 MPa Flow: 1.5mL/min
Καλλυντικά	Χοληστερόλη	MD-SFC/FID	scCO <sub>2</sub>	Μη πολική SB-methyl / SB octyl	Tc: 100 °C

Αργκανέλαιο / Κραμβέλαιο	Τριγλυκερίδια	MD-SFC/UV/ELSD	scCO <sub>2</sub> / CH <sub>3</sub> CN / MeOH	Υπερφυσικά πορωδών σωματιδίων C18	Tc: 17 °C Pc: 10 MPa Flow: 1.6 mL/min
Βιολογικό δείγμα	Κεραμίδια	LLE-UHPSFC/ESI/MS	scCO <sub>2</sub> / MeOH / H <sub>2</sub> O / CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	Acquity BEH UPC <sup>2</sup>	Tc: 60 °C Pc: 1800 psi Flow: 1.9 mL/min
Καλλυντική κρέμα	Φίλτρα UV	LLE-UHPSFC/PDA	scCO <sub>2</sub> / MeOH / H <sub>2</sub> O / CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	UPC <sup>2</sup> Torus 2-PIC	Tc: 40 °C Pc: 150 bar Flow: 1.2 mL/min
Εκχύλισμα <i>Cannabis sativa</i> L.	Κανναβιδιόλη	LLE-UHPSFC/PDA/MS	scCO <sub>2</sub> / iPrOH / CH <sub>3</sub> CN / H <sub>2</sub> O	BEH 2-EP	Tc: 30 °C Pc: 1500 psi Flow: 1.4 mL/min
Κουρκουμάς	Κουρκουμίνη	LLE-UHPSFC/UV	scCO <sub>2</sub> / C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> / MeOH	UPC <sup>2</sup> BEH	Tc: 40 °C Pc: 1800 psi Flow: 0.9 mL/min



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

### ΣΥΖΗΤΗΣΗ – ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Ανατρέχοντας εκατοντάδες χρόνια πίσω, διαπιστώνουμε ότι η χρήση καλλυντικών προϊόντων έχει διαδραματίσει σημαντικό ρόλο στη ζωή του ανθρώπου. Εκτός από την ενίσχυση της φυσικής ομορφιάς, τα καλλυντικά συνέβαλλαν στην προστασία του δέρματος και των δοντιών, ενώ παράλληλα προσέδιδαν ευχάριστο άρωμα (94).

Αρχικά, όλα τα καλλυντικά προϊόντα παρασκευάζονταν από φυσικές πρώτες ύλες, φυτικής ή ακόμα και ζωικής προέλευσης. Ήταν στις αρχές του 20<sup>ου</sup> αιώνα τότε που τα συνθετικά και χημικώς τροποποιημένα συστατικά ξεκίνησαν να εισέρχονται στον τομέα των καλλυντικών, γεγονός στο οποίο συνέβαλλε σημαντικά ο ανταγωνισμός στην αγορά (94).

Στις μέρες μας, παράλληλα με την επιθυμία των καταναλωτών για βιώσιμα προϊόντα, η τάση για χρήση βιοδραστικών συστατικών φυσικής προέλευσης έχει επανέλθει. Αξίζει μάλιστα να σημειωθεί ότι οι απαιτήσεις του καταναλωτή από ένα καλλυντικό προϊόν έχουν αυξηθεί, καθώς πλέον τα παρασκευάσματα αυτά αποτελούν κομμάτι της καθημερινότητάς του. Έτσι, εκτός από την ασφάλεια και την αποτελεσματικότητα, τα καλλυντικά προϊόντα οφείλουν να έχουν συνθέσεις φιλικές προς το περιβάλλον (94).

Η Επιστήμη Καλλυντικών, από την πλευρά της, θα πρέπει όχι μόνο να ανακαλύπτει διαρκώς καινούργιες, όλο και πιο αποτελεσματικές φόρμουλες αλλά επίσης να αναζητεί καινοτόμες τεχνολογίες ποιοτικού και ποσοτικού ελέγχου των βιοδραστικών συστατικών, με απώτερο στόχο την ικανοποίηση του καταναλωτή. Παράλληλα, για την ελαχιστοποίηση του περιβαλλοντικού αντικτύπου, οι τεχνολογίες αυτές θα πρέπει να ικανοποιούν τις θεμελιώδεις αρχές της Πράσινης Χημείας (23,71)

Μια από τις τεχνολογίες που συμφωνούν με τα προαναφερθέντα είναι η Χρωματογραφία Υπερκρίσιμου Ρευστού. Εκμεταλλευόμενοι τις φυσικοχημικές ιδιότητες των ρευστών στην υπερκρίσιμη κατάσταση, οι επιστήμονες έχουν καταφέρει

να αναπτύξουν μια τεχνολογία για διαχωρισμούς μιγμάτων, καθώς και ποιοτικών και ποσοτικών προσδιορισμών, η οποία, από τη μια μεριά προσφέρει ταχύτητα στην ανάλυση ενώ, από την άλλη μεριά, σέβεται το περιβάλλον μέσω της ελαχιστοποίησης των ρύπων που προκαλεί.

Στα πλαίσια της παρούσας εργασίας βιβλιογραφικής ανασκόπησης διερευνήθηκαν οι δυνατότητες που παρέχει η εν λόγω μέθοδος αναφορικά με τον ποιοτικό έλεγχο των βιοδραστικών ενώσεων σε καλλυντικά προϊόντα, σε φυσικές πρώτες ύλες και σε βιολογικά δείγματα. Οι κατηγορίες συστατικών που μελετήθηκαν ήταν ποικίλες. Συγκεκριμένα, εξετάστηκαν βιοπολυμερή, πρωτεΐνες, αντιοξειδωτικές ενώσεις, βιταμίνες καθώς και κάποιες ενώσεις που έχουν εισαχθεί τα τελευταία χρόνια στα καλλυντικά, όπως η κανναβιδιόλη.

Κατά την βιβλιογραφική ανασκόπηση παρατηρήθηκε ότι, ενώ για όλα τα προς μελέτη συστατικά υπήρχε κάποια μέθοδος ποιοτικού ελέγχου η οποία να βασίζεται στην SFC, το ίδιο δεν συνέβη με τα βιομόρια υψηλού μοριακού βάρους όπως τα βιοπολυμερή και οι πρωτεΐνες για τα οποία εφαρμόζονται άλλες χρωματογραφικές μέθοδοι, όπως η HPLC. Το γεγονός αυτό αποδόθηκε στο μεγάλο μέγεθος των μορίων αυτών, το οποίο, μέχρι στιγμής τουλάχιστον αντενδείκνυται για ανάλυση με SFC (80).

Στην παρούσα διπλωματική εργασία αναφέρονται κάποιες βιοδραστικές ενώσεις που εισάγονται σε καλλυντικές συνθέσεις (βιταμίνη Α, β-καροτένιο, βιταμίνη Ε, βιταμίνη Β<sub>3</sub>, φλαβονοειδή, λικοχαλκόνη Α, συνένζυμο Q10, τριγλυκερίδια, κεραμίδια, κανναβιδιόλη, κουρκουμίνη) για τις οποίες, σύμφωνα με την διεθνή βιβλιογραφία, υπάρχουν μέθοδοι ανίχνευσης με SFC σε δείγματα διάφορα των καλλυντικών όπως, φυσικές πρώτες ύλες και βιολογικά δείγματα. Λαμβάνοντας υπ' όψη ότι η εν λόγω αναλυτική τεχνική επιτρέπει την ανίχνευσή τους, σε συνδυασμό με την ευρεία χρήση τους σε καλλυντικά προϊόντα, η ανάπτυξη μεθοδολογιών που θα περιλαμβάνουν, αφ' ενός την κατάλληλη προκατεργασία του καλλυντικού δείγματος και, αφ' ετέρου, πιθανές τροποποιήσεις στην χρωματογραφική διαδικασία, θα είναι πολύ χρήσιμη σε μελλοντική βάση.

Πράγματι, η SFC είναι μια σχετικά νέα τεχνική που ακόμα, σε πολλά σημεία, όπως η ανάπτυξη της μεθόδου, επιδέχεται και χρειάζεται βελτιώσεις καθώς οι παράμετροι πίεση και θερμοκρασία παίζουν καθοριστικό ρόλο στην αποτελεσματικότητά της. Επίσης, πρόκειται για τεχνική με υψηλό οικονομικό κόστος (33).

Από την άλλη πλευρά, συγκρινόμενη με συγγενείς μεθόδους, όπως η HPLC, η SFC παρέχει πληθώρα πλεονεκτημάτων, πέραν του «πράσινου» χαρακτήρα της. Κάποια από αυτά είναι η ταχύτητα στην ανάλυση, το γεγονός ότι είναι συμβατή με ποικιλία ανιχνευτών και το ότι μπορεί να εφαρμοστεί σε υψηλές ταχύτητες χωρίς να επηρεάζεται η αποτελεσματικότητά της (33).

Συμπερασματικά, μέσα από την διερεύνηση του ποιοτικού ελέγχου βιοδραστικών ενώσεων με SFC προέκυψαν τα ακόλουθα:

1. Οι συνθέσεις των καλλυντικών προϊόντων γίνονται ολοένα και περισσότερο αποτελεσματικές, ακολουθώντας τις τάσεις της σύγχρονης εποχής.
2. Η SFC είναι μια καινοτόμα τεχνική χρωματογραφικών διαχωρισμών, υπακούοντας στις αρχές της Πράσινης Χημείας.
3. Η SFC βρίσκει εφαρμογή σε μεγάλη σειρά επιστημονικών πεδίων.
4. Η SFC έχει πολλά πλεονεκτήματα έναντι άλλων χρωματογραφικών τεχνικών.
5. Η SFC είναι κατάλληλη για τον διαχωρισμό πολικών και μη πολικών ενώσεων, χειραλικών και μη χειραλικών ενώσεων.
6. Το υψηλό κόστος της SFC την καθιστά, σε πολλές περιπτώσεις, δύσκολα προσβάσιμη.
7. Η SFC, ως καινούργια τεχνική, επιδέχεται αρκετές βελτιώσεις όσον αφορά για το κομμάτι της ανάπτυξης μεθόδου.

## ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Χατζηϊωάννου ΘΠ. Χημική Ισορροπία και Ανόργανη Ποιοτική Ημικροανάλυση. Αθήνα: Δ. Μαυρομμάτη, 1996.
2. Geng W. The Significance of Chromatography-Principles and Working of Its Various Techniques. *Pharm Anal Acta*. **13**(4), 668-9, (2022). DOI:10.35248/2153-2435.22.13.668.
3. Mallik B, Chakravarti B, Chakravarti DN. Principles of Chromatography. *Curr. Protoc. Essential Lab Tech*. **13**:6.1.1-6.1.23, (2016). DOI:10.1002/cpet.7.
4. Coskun O. Separation techniques: Chromatography. *North Clin Istanbul*. **3**(2), 156-160 (2016). DOI:10.14744/nci.2016.32757.
5. Ettre LS. Chromatography: The Separation Technique of the 20<sup>th</sup> Century. *Chromatographia*. **51**(1/2), 7-17, (2000). DOI: <https://doi.org/10.1007/BF02490689>
6. Ali I, Aboul-Enein HY, Cazes J. A Journey from Mikhail Tswett to Nano-liquid Chromatography. *J. Liq. Chrom. Rel. Tech*. **33**, 645-653 (2010). DOI: 10.1080/10826071003608728.
7. Tiwari S, Talreja S. Thin Layer Chromatography (TLC) VS. Paper Chromatography: A Review. *Acta Sci Pharm Sci*. **6**(9), 5-9, (2022). DOI: 10.31080/ASPS.2022.06.0894.
8. Bartle KD, Myers P. History of gas chromatography. *Trends Anal. Chem*. **21**(9,10), 547-557 (2002). DOI: [https://doi.org/10.1016/S0165-9936\(02\)00806-3](https://doi.org/10.1016/S0165-9936(02)00806-3).
9. Pitigoi D. An Overview of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC). *J Formul Sci Bioavailab*. **6**(1), 117-118 (2022). DOI: 10.37421/2577-0543.22.6.117.
10. Murkute PS, Patil PH, Sananp GS, Kathar NP, Pimple AP. A Review on High Performance Liquid Chromatography (HPLC). *Int J Res Tre Inn*. **7**(2), 97-103. (2022).
11. Raut N, Mhasade S, Khade P, Veer V, Bhosale A. Review on Affinity Chromatography. *Int J Pharm Res App*. **6**(3), 878-893 (2021). DOI: 10.35629/7781-0603878893.
12. Rodriguez EL, Poddar S, Iftekhar S, Suh K, Woolfork AG, Ovbude S et al. Affinity Chromatography: A Review of Trends and Developments over the Past 50 years. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. **1157**, 122332, (2020). DOI: 10.1016/j.jchromb.2020.122332.

13. Kalíková K, Šlechtová T, Vozka J, Tesařová E. Supercritical fluid chromatography as a tool for enantioselective separation; A review. *Anal. Chim. Acta* **821**, 1-33 (2014) DOI: 10.1016/j.aca.2014.02.036.
14. Lesellier E, West C. The many faces of packed column supercritical fluid chromatography – A critical review. *J. Chrom. A.* 1-129 (2015). DOI: 10.1016/j.chroma.2014.12.083.
15. Yan C, Wang Y, Xue Y. Chapter 9 - Capillary Electromatography. In: *Handbooks in separation science, Capillary Electromigration Separation Methods*. Ed: Colin F. Poole, Elsevier (2018), pp.209-233, ISBN 9780128093757, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809375-7.00009-5>.
16. Moustafa Y, Morsi RE. Ion Exchange Chromatography – An Overview. <http://dx.doi.org/10.5772/55652>
17. Mudi SY, Muhammad A. Chiral Chromatography and Its Application to the Pharmaceutical Industry: A Review. *Chemsearch J* **2**(1), 9-11, (2011).
18. Amin R, Alam F, Dey BK, Manhadi JR, Emran TB, Khandaker MU et al. Multidimensional Chromatography and Its Applications in Food Products, Biological Samples and Toxin Products: A Comprehensive Review. *Separations* **9**(326), 1-13 (2022). <https://doi.org/10.3390/separations9110326>.
19. Sharma D, Kumar M, Sharma A, Arora D, Patial A, Rana M. An Overview on Green Chemistry. *World J. Pharm. Pharmac. Sci.* **8**(50), 202-208 (2019). DOI: 10.20959/wjpps20195-13602.
20. Devi BK, Naraparaju S, Soujanya C, Dutta Gupta S. Green Chemistry and Green Solvents: An Overview. *Curr. Gr. Chem.* **7**(3), 1-12 (2020). DOI: 10.2174/2213346107999200709132815.
21. Passerine BFG, Breitzkreitz MC. Recent Developments in Green Chromatography. *Braz. J. Anal. Chem.* **10**(40), 17-34, (2023). <http://dx.doi.org/10.30744/brjac.2179-3425.RV-126-2022>.
22. Abdussalam-Mohammed W, Ali AQ, Errayes AO. Green Chemistry: Principles, Applications and Disadvantages. *Chem. Method.* **4**, 408-423 (2020). DOI: 10.33945/SAMI/CHEMM.2020.4.4
23. Knez Ž, Pantic M, Cör D, Novak Z, Hrnčič MK. Are supercritical fluids solvents for the future? *Chem. Eng. Process. Proc. Intens.*, **141**, 107532 (2019). DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.107532>.
24. Atkins PW. Φυσικοχημεία, Τόμος 1. Ηράκλειο: Πανεπιστημιακές Εκδόσεις Κρήτης (Π.Ε.Κ.) (1998). ISBN: 960-7309-50-2.
25. Hartmann A, Ganzera M. Supercritical Fluid Chromatography – Theoretical Background and Applications on Natural Products. *Planta Med* **81**, 1570-1581 (2015). DOI: <http://dx.doi.org/10.1055/s-0035-1545911>.

26. Hitchen SM, Dean JR. Properties of supercritical fluids. In: Dean JR (ed), *Applications of Supercritical Fluids in Industrial Analysis*. Springer, Dordrecht (1993). DOI: [https://doi.org/10.1007/978-94-011-2146-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-94-011-2146-0_1)
27. Rad HB, Sabet JK, Varaminian F. Study of Solubility in Supercritical Fluids: Thermodynamic Concepts and Measurement Methods – A Review. *Braz. J. Chem. Eng.* **36**(4), 1367-1392, (2019) DOI: [dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20190364s20170493](https://doi.org/10.1590/0104-6632.20190364s20170493).
28. Peach J, Eastoe J. Supercritical carbon dioxide: a solvent like no other. *Beilstein J. Org. Chem.* **10**, 1878-1895, (2014) DOI: [10.3762/bjoc.10.196](https://doi.org/10.3762/bjoc.10.196).
29. Calcara M, Caricattera M. CO<sub>2</sub> Dipole Moment: A Simple Model and Its Implications for CO<sub>2</sub>-Rock Interactions. *Minerals* **13**(87), 1-18 (2023). <https://doi.org/10.3390/min13010087>.
30. Wrona O, Rafińska K, Walczak-Skierska J, Możeński C. Extraction and Determination of Polar Bioactive Compounds from Alfalfa (*Medicago sativa* L.) Using Supercritical Techniques. *Molecules* **24** 4608 (2019). DOI: [10.3390/molecules24244608](https://doi.org/10.3390/molecules24244608).
31. Pauk V, Lemr K. Forensic Applications of Supercritical Fluid Chromatography – Mass Spectrometry. *Chromb* (2017). DOI: [10.1016/j.jchromb.2018.04.015](https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2018.04.015).
32. Berger TA. Supercritical Fluid Chromatography: Applications. *Encyclopedia of Analytical Science*. 3<sup>rd</sup> edition. Academic Press, (2013). DOI: [10.1016/B978-0-12-409547-2.00513-8](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.00513-8).
33. Płotka JM, Biziuk M, Morrison C, Namieśnik J. Pharmaceutical and Forensic Drug Applications of Chiral Supercritical Fluid Chromatography. *Trends Anal. Chem.* **56**, 74-89, (2014) DOI: [10.1016/j.trac.2013.12.012](https://doi.org/10.1016/j.trac.2013.12.012).
34. Abbott E, Veenstra TD, Issaq HJ. Clinical and Pharmaceutical Applications of packed-column Supercritical Fluid Chromatography. *J. Sep. Sci.* **31**, 1223-1230 (2008). DOI: [10.1002/jssc.200700579](https://doi.org/10.1002/jssc.200700579).
35. Liu L.x, Zhang Y, Zhou Y, Li G-h, Yang G-j, Feng X-s. The Application of Supercritical Fluid Chromatography in Food Quality and Food Safety: An Overview. *Crit. Rev. Anal. Chem.* (2019). DOI: [10.1080/10408347.2019.1586520](https://doi.org/10.1080/10408347.2019.1586520).
36. Butnariu M, Sarac I. Functional Food. *Int. J. Nutr.* **3**(3), 7-16 (2019). DOI: [10.14302/issn.2379-7835.ijn-19-2615](https://doi.org/10.14302/issn.2379-7835.ijn-19-2615).
37. Lesellier E, Mith D, Dubrulle I. Method development approaches in supercritical fluid chromatography applied to the analysis of cosmetics. *J. Chrom.A.* **1423**, 158-168 (2015).
38. King JW. Capillary Supercritical Fluid Chromatography of Cosmetic Ingredients and Formulations. *J. Microcolumn Separations* **10**(1), 33-39 (1998).

39. Khater S, West C. Development and validation of a supercritical fluid chromatography method for the direct determination of enantiomeric purity of provitamin B<sub>5</sub> in cosmetic formulations with mass spectrometric detection. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **102**, 321-325 (2015). DOI: 10.1016/j.jpba.2014.09.036.
40. Khalikova M, Lesellier E, Chapuzet E, Satínský D, West C. Development and validation of ultra-high performance supercritical fluid chromatography method for quantitative determination of nine sunscreens in cosmetic samples. *Anal. Chim. Acta.* (2018). DOI: 10.1016/j.aca.2018.06.013.
41. Majewski W, Valery E, Ludemann-Hombourger O. Principle and Applications of Supercritical Fluid Chromatography. *J. Liq. Chromatogr. Rel. Tech.* **28**(7-8), 1233-1252 . (2005) DOI: 10.1081/JLC-200053039.
42. Desfontaine V, Guillarme D, Francotte E, Nováková L. Supercritical fluid chromatography in pharmaceutical analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* (2015). DOI: 10.1016/j.jpba.2015.03.007.
43. Saito M. History of supercritical fluid chromatography: Instrumental development. *J. Biosc. Bioengin.* **115**(6), 590-599 (2013). DOI: 10.1016/j.biosc.2012.12.008.
44. Berger TA. Instrumentation for analytical supercritical fluid chromatography. *J. Chromatogr. A.* 2015; DOI: 10.1016/j.chroma.2015.07.062.
45. Vehovec T, Obreza A. Review of operating principle and applications of the charged aerosol detector. *J. Chromatogr. A.* **1217**, 1549-1556 (2010). DOI: 10.1016/j.chroma.2010.01.007.
46. Luca Losacco G, Veuthey J-L, Guillarme D. Supercritical fluid chromatography-Mass spectrometry: Recent evolution and current trends. *Trend. Anal. Chem.*) **118**, 731-738 (2019). DOI: 10.1016/j.trac.2019.07.005.
47. Plachká K, Pilařová V, Horáček O, Gazárková T, Vlčková HK et al. Columns in analytical scale supercritical fluid chromatography: From traditional to unconventional chemistries. *J Sep Sci* **46**, 2300431 (2023). DOI: 10.1002/jssci.202300431.
48. Oi N, Kitahara H, Kira R. Elution orders in the separation of enantiomers by high-performance liquid chromatography with some chiral stationary phases. *Journal of Chromatography* **535**, 213-227 (1990).
49. West C. Recent trends in chiral supercritical fluid chromatography. *Trends in Anal. Chem.* **120**, 1-9 (2019). DOI: 10.1016/j.trac.2019.115648.
50. Raimbault A, Dorebska M, West C. A chiral unified chromatography – mass spectrometry method to analyze free amino acids. *Anal. Bioanal. Chem.* (2019). DOI: 10.1007/s00216-019-01783-5.
51. Finehout EJ, Lee KH. An Introduction to Mass Spectrometry Applications in Biological Research. *Biochem. Mol. Biol. Educ.* **32**(2), 93-100, (2004).

52. Tarafder A. Designs and methods for interfacing SFC with MS. *J. Chromatogr. B.* **1091**, 1-13 (2018). DOI: 10.1016/j.jchromb.2018.05.003.
53. Ventura MC. SFC: MS Detection from: Encyclopedia of Chromatography, Third Edition CRC Press, (2009). DOI: 10.1081/E-ECHR3-120040150.
54. Li F, Hsieh Y. Supercritical fluid chromatography-mass spectrometry for chemical analysis. *J. Sep. Sci.* **31**, 1231-1237, (2008).
55. Chen R. A Brief Review of Interfacing Supercritical Fluid Chromatography with Mass Spectrometry. *Chromatogr. Tod.* 11-13, (2009).
56. Desfontaine V, Veuthey J-L, Guillarme D. Chapter 8 - Hyphenated Detectors: Mass Spectrometry. In Poole CF (Ed) *Supercritical Fluid Chromatography*, Elsevier, 213-244, (2017). DOI: 10.1016/B978-0-12-809207-1.00008-2.
57. Mitsui T. New Cosmetic Science. Elsevier, (1998), ISBN: 0-444-82654 8.
58. White IR, de Groot AC. Chapter 32 - Cosmetics and Skin Care Products. In: Rycroft, R.J.G., Menné, T., Frosch, P.J., Lepoittevin, JP. (Eds) *Textbook of Contact Dermatitis*. Springer, Berlin, Heidelberg, (2001). [https://doi.org/10.1007/978-3-662-10302-9\\_32](https://doi.org/10.1007/978-3-662-10302-9_32)
59. Vermeer BJ. Chapter 2 – Definition. In: Elsner P, Maibach HI (Eds) *Cosmeceuticals. Drugs vs. Cosmetics*. Marcel Dekker, Inc., New York, Basel, (2000). ISBN: 0-8247-0305-7.
60. De Oliveira CA, Ferrera Dario M. Bioactive Cosmetics. In: Martinez LMT et al. (Eds), *Handbook of Ecomaterials*. Springer Int Pub. AG 1-23, (2018). DOI: 10.1007/978-3-319-48281-1\_157-1.
61. Nhu Ngoc LT, Moon J-Y, Lee Y-C. Insights into Bioactive Peptides in Cosmetics. *Cosmetics* **10**(111), 1-18, .(2023).
62. Gawade RP, Chinke SL, Alegaonkar PS. Chapter 17-Polymers in Cosmetics. *Polym. Sci. Inn. Applic.* 545-565, (2020). DOI: 10.1016/B978-0-12-816808-0.00017-2.
63. Mitura S, Sionkowska A, Jaiswai A. Biopolymers for Hydrogels in Cosmetics: review. *J. Material. Sci. Material. Med***31**, 50-64, .(2020). DOI: 10.1007/s10856-020-06390-w.
64. Juncan AM, Moisă DG, Santini A, Morgovan C, Rus L-L, Vonica-Tincu AL, Loghin F. Advantages of Hyaluronic Acid and Its Combination with Other Bioactive Ingredients in Cosmeceuticals. *Molecules* **26**, 4429-4472, (2021). DOI: 10.3390/molecules26154429.
65. Morganti P, Lohani A, Gagliardini A, Morganti G. Active Ingredients and Carriers in Nutritional Eco-Cosmetics. *Compounds* **3**, 122-141, (2023) . DOI: 10.3390/compounds3010011.



66. Al-Halaseh LK, Al-Jawabri NA, Tarawneh SK, Al-Qdah WK, Abu-Hajleh MN, Al-Samydai AM, Ahmed MA. A review of the cosmetic use and potentially therapeutic importance of hyaluronic acid. *J. Appl. Pharmac. Sci.* **12**(07) 034-041 (2022). DOI: 10.7324/JAPS.2022.120703.
67. Rodriguez MIA, Rodriguez Barroso LG, Sanchez ML. Collagen: A review on its sources and potential cosmetic applications. *J. Cosmet. Dermatol.* 1-7, (2017). DOI: 10.1111/jocd.123450.
68. Wargala E, Sławska M, Zalewska A, Toporowska M. Health Effects of Dyes, Minerals and Vitamins used in Cosmetics. *Women* **1**, 223-237, (2021). DOI: 10.3390/women1040020.
69. Arct J, Mieloch M.  $\beta$ -carotene in skin care. *Pol. J. Cosmetol.* **19**(3), 206-213, (2016)
70. Hoang HT, Moon J-Y, Lee Y-C. Natural Antioxidants from Plant Extracts in Skincare Cosmetics: Recent Applications, Challenges and Perspectives. *Cosmetics* **8**, 106-130, (2021) . DOI: 10.3390/cosmetics8040106.
71. Kolbe L, Immeyer J, Batzer J, Wensorra U, Dieck K, Mundt C et al. Anti-inflammatory efficacy of Licochalcone A: correlation of clinical potency and in vitro effects. *Arch. Dermatol. Res* **298**, 23-30, (2006). DOI: 10.1007/s00403-006-0654-4.
72. Broniarczyk-Dyła G, Prusińska-Bratoś M, Kmiec ML. Assessment of the influence of licochalcone on selected functional skin parameters in patients with impaired vasomotor disorders and rosacea. *Post Dermatol. Allergol.* **4**, 241-247, (2011).
73. Liang M, Li X, Ouyang X, Xie H, Chen D. Antioxidant mechanisms of Echinatin and Licochalcone A. *Molecules* **24**, 3-17, (2019).
74. O Monteiro E, Baumann LS. The science of cosmeceuticals. *Expert Rev. Dermatol.* **1**(3), 379-389, (2006) . DOI: 10.1586/17469872.1.3.379.
75. Ahmad A, Ahsan H. Lipid-based formulations in cosmeceuticals and biopharmaceuticals. *Biomed. Dermatol.* **4**(12), 1-10, (2020). DOI: 10.1186/s41702-020-00062-9.
76. Nhu Ngoc LT, Van Tran V, Moon J-Y, Chae M, Park D, Lee Y-C. Recent Trends of Sunscreen Cosmetic: An Update Review. *Cosmetics* **6**, 64 (2019). DOI: 10.3390/cosmetics6040064.
77. Παπαδόπουλος Α, Βαρβαρέσου Α, Παπαγεωργίου Σ, Μέλλου Φ. Κανναβιδοειδή στα καλλυντικά προϊόντα. *Επιθ. Κλιν. Φαρμακ. Φαρμακοκιν.* **38**(1), 45-51 (2020).
78. Heng MCY. Topical Curcumin: A Review of Mechanisms and uses in Dermatology. *Int J Dermatol Clin Res.* **3**(1), 010-017 (2017). DOI: 10.17352/2455.8605,000020.

79. Zhong Z, Li G. Current trends in sample preparation for cosmetic analysis. *J. Sep. Sci.* **40**, 152-169 (2017). DOI: 10.1002/jssc.201600367.
80. Celeiro M, Garcia-Jares C, Llompart M, Lores M. Recent Advances in Sample Preparation for Cosmetics and Personal Care Products Analysis. *Molecules* **26**, 4900 (2021). DOI: 10.3390/molecules26164900.
81. Silva R, Rocha-Santos TAP, Duarte AC. Supercritical fluid extraction of bioactive compounds. *Trends Anal. Chem.* **76**, 40-51, (2016). DOI: 10.1016/j.trac.2015.11.013.
82. Olesik S, West C, Guillarme D, Mangelings D, Novakova L. Analytical challenges encountered and the potential of supercritical fluid chromatography: A perspective of five experts. *Anal. Sci. Adv.* **2**, 76-80 (2021) . DOI: 10.1002/ansa.202000151.
83. Tyśkiewicz K, Gieysztor R, Maziarczyk I, Hodurek P, Rój E, Skalicka-Woźniak K. Supercritical Fluid Chromatography with Photodiode Array Detection in the Determination of Fat-Soluble Vitamins in Hemp Seed Oil and Waste Fish Oil. *Molecules* **23**,1131(2018) . DOI: 10.3390/molecules23051131.
84. Jumaah F, Plaza M, Abrahamsson V, Turner C, Sandahl M. A fast and sensitive method for the separation of carotenoids using ultra-high performance supercritical fluid chromatography-mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* (2016). DOI: 10.1007/s00216-016-9707-5.
85. Taguchi K, Fukusaki E, Bamba T. Simultaneous analysis of water and fat-soluble vitamins by a novel single chromatography technique unifying supercritical fluid chromatography and liquid chromatography. *J Chromatogr A* (2014). DOI: 10.1016/j.chroma.2014.08.003.
86. Méjean M, Brunelle A, Touboul D. Quantification of tocopherols and tocotrienols in soybean oil by supercritical-fluid chromatography coupled to high-resolution mass spectrometry. *Anal. Bioanal. Chem.* (2015). DOI: 10.1007/s00216-015-8604-7.
87. Taguchi K, Fukusaki E, Bamba T. Determination of Niacin and its Metabolites Using Supercritical Fluid Chromatography Coupled to Tandem Mass Spectrometry. *Mass Spectrom.* **3**:A0029 (2014). DOI: 10.5702/massspectrometry.A0029.
88. Li L, Zhu W, Yang J, Liu X, Dong Y. Rapid quantitative analysis of six flavonoids in licorice by ultra-performance convergence chromatography. *Food Sci. Technol.* 1-6 (2019) DOI: 10.1590/fst.09818.
89. Guedes L, Santana CC, Rutledge DN, Pinto L, Fontes Jardim ICS, Vilela de Melo L, Masumi Beppu M, Breitzkreitz MC. Quantification of palm oil bioactive compounds by ultra-high-performance supercritical fluid chromatography and chemometrics. DOI: 10.1002/cjce.23969.

90. Lesellier E, Latos A, Oliveira L. Ultra high efficiency/low pressure supercritical fluid chromatography with superficially porous particles for triglyceride separation. *J. Chromatogr. A.* **1327**, 141-148 (2014).
91. Lisa M, Holčapek M. High-Throughput and Comprehensive Lipidomic Analysis Using Ultrahigh Performance Supercritical Fluid Chromatography – Mass Spectrometry. *Anal. Chem.* (2015). DOI: 10.1021/acsanchem.5b01054.
92. Wang M, Wang Y-H, Avula B, Radwan MM, Wanas AS, Mehmedic Z et al. Quantitative Determination of Cannabinoids in Cannabis and Cannabis Products Using Ultra-High Performance Supercritical Fluid Chromatography and Diode Array/Mass Spectrometric Detection. *J. Forensic Sci* **62**(3) 602-611 (2017)
93. Song W, Qiao X, Liang W-f, Ji S, Yang L, Wang Y et al. Efficient separation of curcumin, demethoxycurcumin, and bisdemethoxycurcumin from turmeric using supercritical fluid chromatography: From analytical to preparative scale. *J. Sep. Sci.* **38**, 3450-3453 (2015). DOI: 10.1002/jssc.201500686.
94. McMullen RL, Dell'Acqua G. History of Natural Ingredients of Cosmetics. *Cosmetics* **10** (2023). DOI: 10.3390/cosmetics10030071.

## ΠΑΡΑΡΤΗΜΑ ΟΡΟΛΟΓΙΑΣ

**Βιοπολυμερές :** Το πολυμερές που παράγεται από ζωντανούς οργανισμούς.

**Διάχυση:** Η διαδικασία κατά την οποία αναμιγνύονται μεταξύ τους ως αποτέλεσμα των τυχαίων κινήσεων των σωματιδίων (ατόμων, μορίων, ιόντων) από τα οποία αποτελούνται.

**Διπολική ροπή δεσμού:** Το αποτέλεσμα του διαχωρισμού θετικών και αρνητικών φορτίων μέσα σ' ένα μόριο.

**Εναντιομερικός διαχωρισμός :** Ο διαχωρισμός εναντιομερών ενώσεων.

**Εναντιομερείς ενώσεις:** Ενώσεις με τον ίδιο μοριακό τύπο οι οποίες έχουν μεταξύ τους σχέση ειδώλου-αντικειμένου.

**Επιφανειακή τάση:** Η τάση που έχουν οι επιφάνειες των υγρών σε ηρεμία να συρρικνώνονται στη μικρότερη δυνατή επιφάνεια.

**Ηλεκτραρνητικότητα:** Η τάση ενός στοιχείου να προσλαμβάνει ηλεκτρόνια και να μετατρέπεται σε αρνητικό ιόν.

**Ιξώδες:** Μέτρο της αντίστασης ενός ρευστού απέναντι στη ροή, όταν εφαρμοστεί σε αυτό διατμηματική τάση.

**Ιοντισμός:** Η διαδικασία παραγωγής ιόντων.

**Λυοφιλοποίηση:** Αφυδάτωση ενός κατεψυγμένου υλικού σε συνθήκες κενού με τη διαδικασία της εξάχνωσης. Λέγεται και κρυοξήρανση.

**Πεπτιδικός δεσμός:** Ο χημικός δεσμός που συνδέει δύο αμινοξέα. Ομοιοπολικός δεσμός ανάμεσα στην καρβοξυλική ομάδα του ενός αμινοξέος με την αμινομάδα του άλλου αμινοξέος.

**Πολικότητα δεσμού:** Ο διαχωρισμός αρνητικών και θετικών φορτίων κατά μήκος ενός δεσμού, με αποτέλεσμα την παραγωγή διπολικής ροπής.

**Σκέδαση φωτός:** Η διαδικασία κατά την οποία το φως διασκορπίζεται από τα σωματίδια του υλικού το οποίο διαπερνάει.

**Συμπιεστότητα ρευστού:** Ιδιότητα ενός ρευστού να μειώνει τον όγκο του όταν ασκηθεί πίεση σε αυτό.

**Φωτοϊοντισμός:** Ο ιοντισμός ενός ατόμου ή μορίου ως αποτέλεσμα απορρόφησης ηλεκτρομαγνητικής ακτινοβολίας.

**Χειραλικές ενώσεις:** Ενώσεις οι οποίες δεν ταυτίζονται με το κατοπτρικό τους είδωλο.

**Χειραλικότητα:** Η ικανή και αναγκαία συνθήκη για την ύπαρξη εναντιομέρειας.

