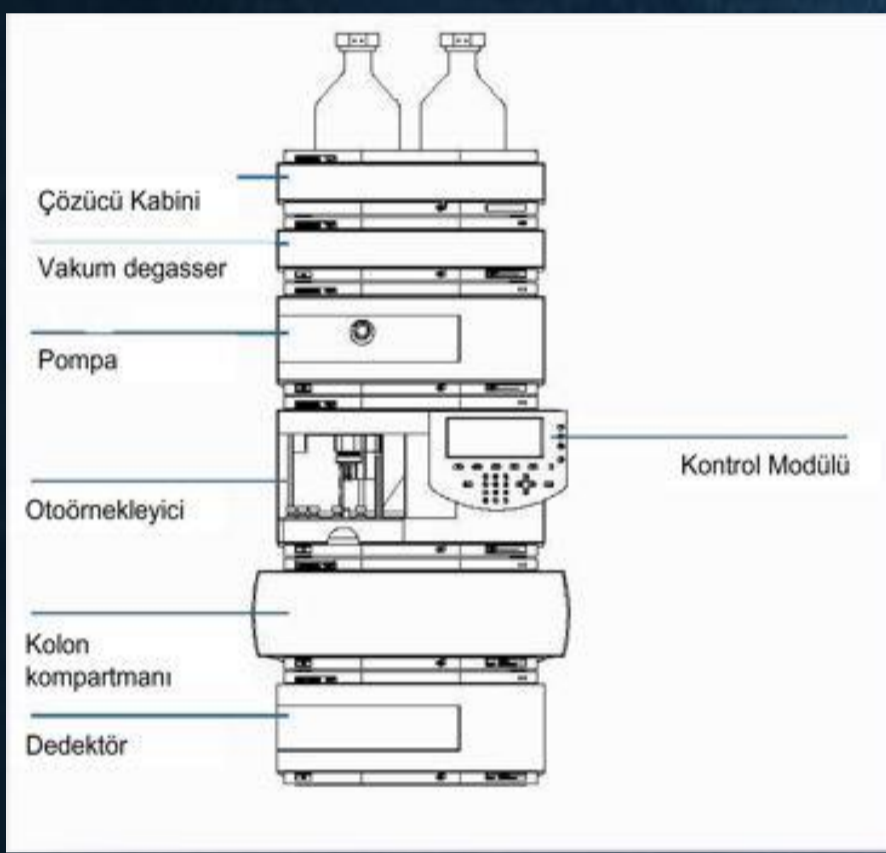


[1]



[5]



[6]

Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi kısaca HPLC olarak adlandırılır. Mobil fazın yüksek basınçla ilerlemesi sağlandığı için de Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi (HPLC) olarak da adlandırılır. HPLC uçucu olmayan kimyasal ve biyolojik bileşenlerin ayrımı için kullanılır. HPLC bir sıvıda çözülmüş bileşenlerin, bir kolon içerisinde bulunan genellikle katı bir destek üzerindeki sabit faz ile değişik etkileşimlere girmesi, kolon içinde değişik hızlarla hareket etmeleri sonucu, farklı zamanlarda bileşenlerin kolonu terk ederek birbirlerinden ayrılması temeline dayanır [2].

HPLC'İN PARÇALARI:

Mobil faz (çözücü) şişeleri: Genel olarak bir HPLC cihazında bir veya daha çok cam veya paslanmaz çelik kaplar bulunabilir. Çalışmada sulu tamponlardan hidrokarbonlara kadar farklı polaritede çözücüler kullanılabildiği için bu kapların kalitesi önemlidir.

Degasser: Mobil faz içerisinde bulunan çözülmüş gazların giderilmesi için kullanılan bir sistemdir.

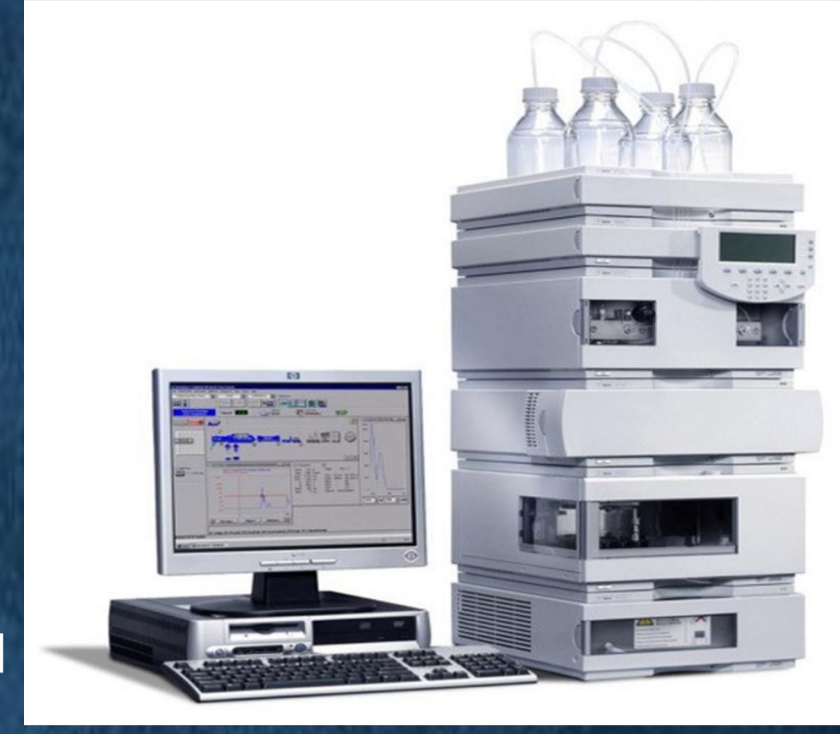
Pompa: Sistemde; numune ve hareketli fazın enjektör, kolon ve dedektör boyunca sürekli sabit akışını sağlayan kısımdır.

Enjektör: Numunenin sabit faz (kolon) öncesinde mobil faza enjekte edilmesi için kullanılır.

Kolon Fırını: Çalışmanın kalitesi açısından kolonun tutulduğu ortamın sabit bir ısıda olması gerekmektedir. Bunun için kolon fırını HPLC cihazlarında önem arz eder.

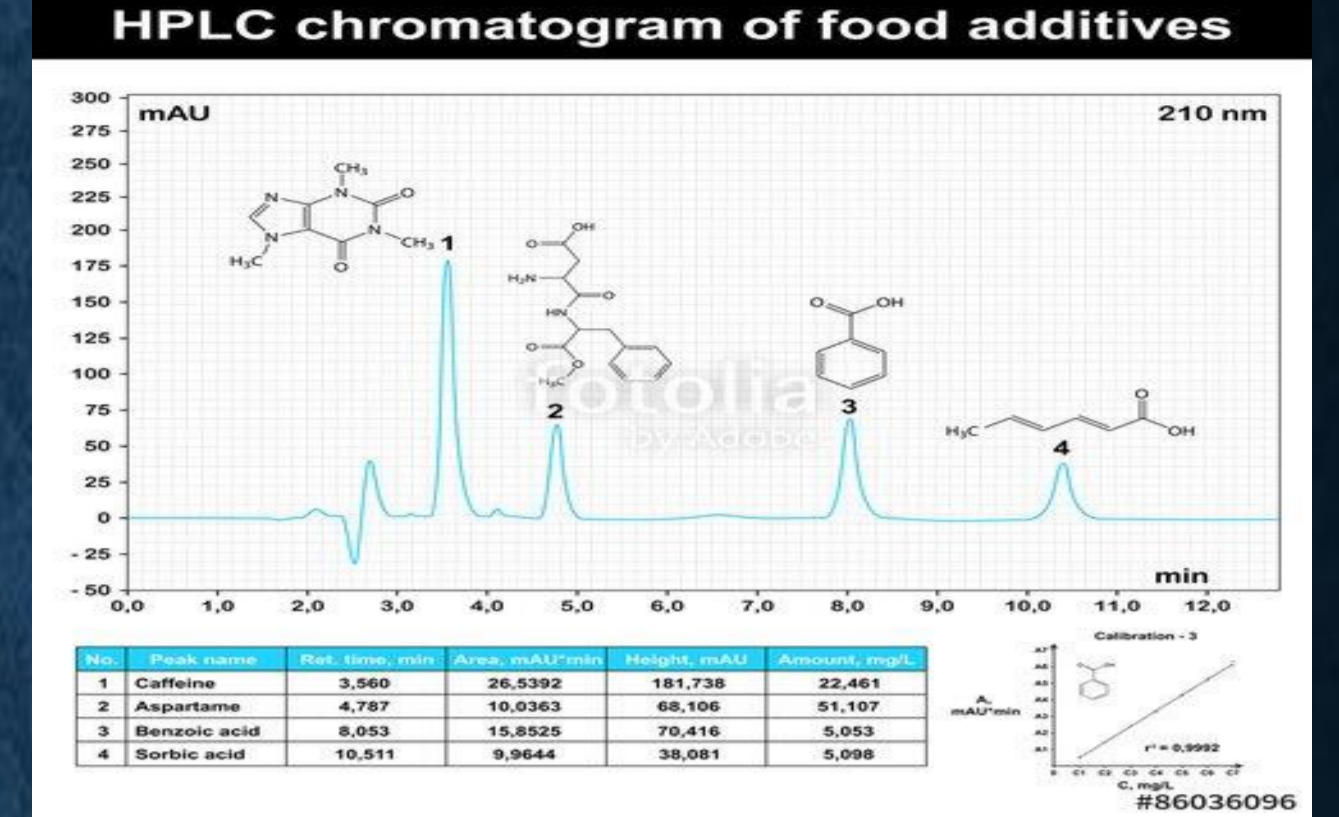
Kolon: Karmaşık örneklerde bileşenlerin birbirinden iyi çözünürlükle ayrımından sorumlu sabit fazdır.

Dedektör: Kolondan çıkan bileşenleri görebilmemizi, bunların ayrımını ve miktarlarını belirlememizi sağlar. Dedektörden geçen maddeler bir kaydedici yardımıyla kaydedilerek zamana karşı dedektör cevabına ait bir grafik oluştururlar ve buna da kromatogram denir [7].



[3]

Kromatografik ayırmada maddeler birbiriyle karışmayan iki faz arasında dağılırlar. Fazlardan birine hareketli (mobil) faz diğeri ise durgun faz (sabit faz) denir. Karışımındaki her maddenin hareket hızı, maddenin hareketli veya mobil faza olan ilgisiyle belirlenir. Hareketli faza daha çok ilgisi olan maddeler daha hızlı hareket ederler. Kolondan çıkan her maddenin konsantrasyon profili, pik olarak adlandırılır [4].



[8]

HPLC'İN BAŞLICA KULLANIM ALANLARI :

1. İlaçlar (Antibiyotikler, sedatifler, steroitler, analjezikler)
2. Biyokimyasallar (Amino asitler, proteinler, karbohidratlar, lipidler)
3. Gıda maddeleri (Suni tatlandırıcılar, antioksidanlar, aflatoxinler, katkı maddeleri)
4. Endüstriyel kimyasallar (Çok halkalı aromatikler, yüzey aktif maddeleri, iticiler, boyalar)
5. Kirlenmeler (Pestisitler, herbisitler, fenoller, PCB'ler)
6. Klinik tıp (Safra asitleri, ilaç metabolitleri, üre özütleri, östrojenler)
7. Uyuşturucular (Uyuşturucu ilaçlar, zehirler, kan alkolü, narkotikler)'dir [2].

HPLC İLE YAPILMIŞ ÇALIŞMALAR DÖRNEKLER

HPLC İLE ENOKSOLON-BENZOKAİN-KLORHEKSİDİN'İN AYRILMASI VE TAYİNİ

Ökçelik, tez çalışmasında antiseptik etkili klorheksidini, antienflamatuar etkili enoksolonu ve lokal etkili benzokaini bir arada içeren ve bu içeriğiyle ağız-boğaz bölgesindeki lokal irritasyonlara bağlı rahatsızlıkları ortadan kaldırmaya yardımcı olarak kullanılan Anzibel pastillerin maliyet, iş yükü ve zaman açısından daha ekonomik olması nedeniyle miktar tayini analizini tek bir HPLC yöntemi geliştirilerek, gerekli validasyon çalışmasını tamamlamıştır. Analizlerde 25°C 'de ACE 5 C18 4.6 x 150 mm, 5 mm kolon, 250 nm'de dalga boyunda 0.01 M KH₂PO₄'ın fosforik asit ile pH 3.0±0.05'e ayarlanmış tampon çözeltisi ve asetonitril kullanmıştır. Yapılan çalışmalarda test ve standart çözeltisinin 48 saat boyunca stabil olduğu gözlemlenmiştir [9].

FENİRAMİDOL HCl'in FARMASÖTİK PREPERATLARDA HPLC İLE TAYİNİ

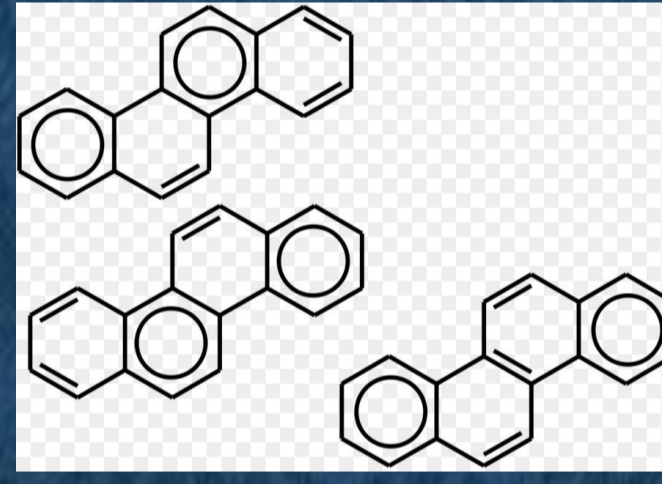
Barut, tez çalışması kapsamında feniramidol hidroklorürün farmasötik preparatlarda tayini için HPLC kullanarak bir miktar tayini metodu geliştirmiş ve geliştirilen metodun validasyonu başarı ile tamamlanmıştır. Kromatografik ayırmalar, C18 kolonda hareketli faz olarak metanol: su (% 0,1 Trifloroasetik asit) (40:60, h/h) kullanımıyla, 1.0 mL/dak. akış hızında, 310 nm dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Doğrusal aralık 80–120 µg/mL arasında bulunmuş, tayin edebilme sınırı ve gözlemlenebilir sınırı sırasıyla 1.65 µg/mL ve 5.50 µg/mL elde edilmiştir. Geliştirilen bu metod ilaç etken maddesinin farmasötik preparatlardaki tayinine başarıyla uygulanmış ve ilaç sanayinde rutin analizlere kolaylıkla uygulanabilir niteliktedir [12].

HAZIR ÇORBALARDA HPLC YÖNTEMİ İLE MONOSODYUM GLUTAMAT(MSG) MİKTARLARININ ARAŞTIRILMASI

Barut çalışmasını, Ankara piyasasında tüketime sunulan hazır çorba örneklerindeki monosodyum glutamat (MSG) miktarlarının saptanması ve bu miktarların Türk Gıda Kodeksi'ne uygunluğunun değerlendirilmesi amacı ile yapmıştır. Hazır çorba örneklerindeki MSG miktarlarının saptanmasında yüksek basınçlı sıvı kromatografisi yöntemi kullanılmıştır. Hazır çorba örneklerinin ortalama MSG miktarları sırasıyla 22,72±4,51 g/kg, 4,17±1,23 g/kg, 1,14±0,49 g/kg, 6,63±2,03 g/kg ve 35,97±2,29 g/kg olarak saptanmıştır. Çalışmada elde edilen sonuçlara göre; B, C ve D firmalarına ait MSG değerlerinin kodeks sınır değeri olan 10 g/kg'ın altında olduğu ancak A ve E firmalarında tespit edilen miktarların kodeks limit değerinin üzerinde olduğu saptanmıştır [15].

LİMON SOSU VE LİMON SULARINDA SORBİK ASİT VE BENZOİK ASİT MİKTARININ HPLC İLE BELİRLENMESİ

Barlak, çalışmasında Bursa piyasasında bulunan ve değişik yerlerden temin edilen limon suyu ve limon sosu örneklerinin içeriğinde sorbik asit ve benzoik asit miktarlarının HPLC analiz yöntemi ile belirlenmesini amaçlamıştır. Çalışmada 10 adet limon suyu ve 10 adet limon sosu örneği incelenmiştir. Limon suyu örneklerinde sorbik asit miktarı 94,46-552,07 ppm arasında ve benzoik asit miktarı ise 102,63-205,08 ppm arasında belirlenmiştir. İncelenen 10 adet limon sosu örneğinin 1 tanesinde sorbik asit ve benzoik asit tespit edilememiş olup 5 tanesinde yalnızca sorbik asit, 2 tanesinde yalnızca benzoik asit ve 2 tanesinde sorbik asit ve benzoik asit birlikte kullanıldığı tespit edilmiştir. Limon sosu örneklerinde sorbik asit miktarı ortalama 221,62±9,94 ppm ve benzoik asit miktarı ortalama 54,87±4,05 olarak bulunmuştur. Limon suyu ve limon sosu örneklerindeki sorbik asit, benzoik asit ve sorbik asit+benzoik asit miktarlarının örnekler arasındaki farklılık p<0,01 düzeyinde önemli bulunmuştur [17].



[10]

POLİSİKLIK AROMATİK HİDROKARBONLARIN (PAH'LARIN) EKSTRAKSİYONU VE HPLC İLE TAYİNİ

Güler yapmış olduğu çalışmada su ve sıvı yağlarda kanserojenik etkiye sahip PAH'ların ekstraksiyonu ve sonrasında HPLC-UV yöntemi ile tayinlerini amaçlamıştır. Çalışma kapsamında seçilen 16 PAH 15 dakika gibi bir alıkonma zamanı içerisinde birbirlerinden ayrılmış ve her bir PAH için keskin ve dar pikler elde edilmiştir. Yöntemin doğruluğu % 0.47-6.10 bağıl hata aralığında değişmektedir. Yöntemin tayin sınırı (LOQ) değerlerinin standart çözeltiler ile yapılan çalışmalara göre deneysel olarak 1-25 µg/L arasında olduğu bulunmuştur. Optimizasyon çalışmalarından sonra yöntem su örneklerine başarılı bir şekilde uygulanmıştır. Ancak yağ örneklerinde ekstraksiyon basamağında birlikte ekstrakt edilen türlerden dolayı PAH'ların tanımlanmasında problemler ortaya çıkmıştır [11].

BAZI AMİNOASİTLERİN SCHIFF BAZI İLE TÜREVLENDİRİLEREK HPLC İLE TAYİNİ

Kuandykova çalışmasında, esansiyel amino asitlerden olan valin, izolösin ve triptofan'ın tayini için HPLC yöntemi geliştirmeye çalışmıştır. Çalışmada türevlendirme reaktifleri olarak 2-metoksi benzaldehit kullanılmış ve amino asitlerin Schiff bazı yapısında bileşikler sentezlenmiştir. Derişimi 1,0x10⁻⁵ ile 5,0x10⁻³ mol/L aralığında değişen bir seri Schiff bazı çözeltileri hazırlanmış ve bu çözeltilerin 315 nm dalga boyunda kromatogramları alınmış ve ölçülen pik alanlarına karşı derişim grafikleri elde edilmiştir. Çalışmada, 2-metoksi-N-benziliden-L-triptofan metilester, 2-metoksi-N-benziliden-L-izolösin metilester ve 2-metoksi-N-benziliden-t-butilester için gözlemlenebilir sınırı (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) sırasıyla 6,16x10⁻⁵ ve 2,05x10⁻⁴; 5,94x10⁻⁵ ve 1,98x10⁻⁴; 1,41x10⁻⁴ ve 4,71x10⁻⁴ M olarak bulunmuştur [14].

KAYNAKLAR:

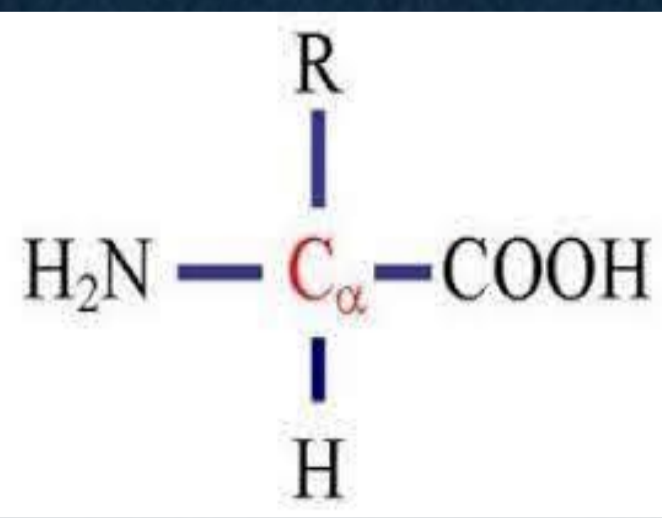
- [1] <https://slideplayer.biz.tr/slide/9170477/>
- [2] https://acikders.ankara.edu.tr/pluginfile.php/78812/mod_resource/content/0/HPLC.pdf
- [3] <https://gidalab.tarimorman.gov.tr/edirne/Haber/24/Yeni-Analizler-Melamin-Ve-Deoksinivalenol-Analizlerinde-Numune-Kabulune-Baslanmistir>
- [4] <https://www.agri.edu.tr/detail.aspx?id=1451&bid=262&tid=6&dil=tr-TR>
- [5] <https://www.spektrotek.com/urun/hplc-kolonlari/>
- [6] Özcan, Süreyya. HPLC Sistemleri. Ankara: Hacettepe Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi.
- [7] <https://dergipark.org.tr/tr/download/article-file/666394>
- [8] <https://www.bescamo.com/hplc/>
- [9] Ökçelik, C. M. HPLC İle Enoksolon-Benzokain-Klorheksidin'in Ayrılması Ve Tayini. Düzce: Düzce Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2018.
- [10] <https://www.pngindir.com/png-ev7063/>
- [11] Güler, Nergiz. Polisiklik Aromatik Hidrokarbonların (PAH) Ekstraksiyonu ve HPLC ile Tayinleri. Manisa: Celal Bayar Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, 2020.
- [12] Barut, Gökhan. Feniramidol HCl'in Farmasötik Preparatlarda HPLC İle Tayini. İstanbul: İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2019.
- [13] <https://www.sabah.com.tr/saglik/2019/07/18/ilac-alkirten-nelere-dikkat-etmek-gerekir>
- [14] Kuandykova, Khanzada Galymkyzy. Bazı Aminoasitlerin Schiff Bazı İle Türevlendirilerek HPLC İle Tayin. Ankara: Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2020.
- [15] Barut, İnci. Ankara'da Tüketime Sunulan Hazır Çorbalarda Hplc Yöntemi İle Monosodyum Glutamat Miktarlarının Araştırılması. Ankara: Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Besin Analizleri ve Beslenme Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2015.
- [16] <https://www.cagri.com/doganay-limon-suyu-250ml-100>
- [17] Barlak, Nihal. Bursa Piyasasında Bulunan Limon Sosu Ve Limon Sularında Sorbik Asit Ve Benzoik Asit Miktarının HPLC İle Belirlenmesi. Bursa: Uludağ Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, 2019.
- [18] http://80.251.40.59/veterinary.ankara.edu.tr/fidanci/Ders_Notlari/Ders_Notlari/Aminoasitler.html
- [19] <https://evrimagaci.org/monosodyum-glutamat-msg-veya-cin-tuzu-zehir-kadar-tehlikeli-mi-1055>



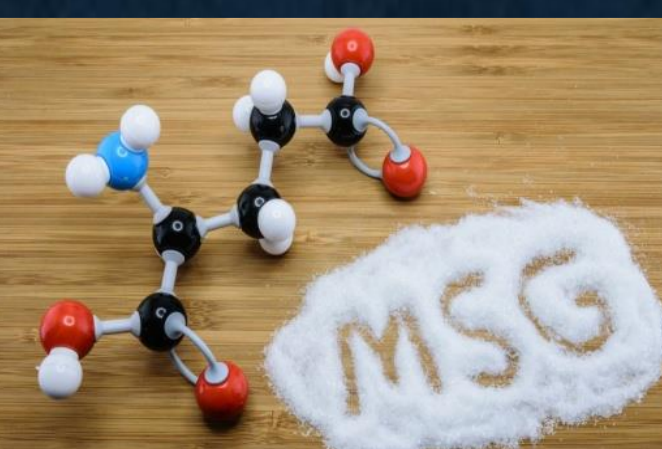
[13]



[16]



[18]



[19]