

Çevre Dostu Bir Analiz Tekniği Olarak Misellar Sıvı Kromatografisi ve Gıda Analizlerinde Kullanımı

Bülent Şık, Taner Erkaymaz, Gizem Yıldız

Akdeniz Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Gıda Mühendisliği Bölümü, Antalya

Geliş Tarihi (Received): 19.04.2012, Kabul Tarihi (Accepted): 21.07.2012

✉ Yazışmalardan Sorumlu Yazar (Corresponding author): bulents@akdeniz.edu.tr (B. Şık)

☎ 0 242 227 44 00 / 2570 📠 0 242 227 44 00

ÖZET

Misellar sıvı kromatografisi (MSK), taşıyıcı fazın kritik misel konsantrasyonunun üzerinde yüzey aktif madde içerdiği bir sıvı kromatografisi yöntemidir. Misellar sıvı kromatografisinde kullanılan yüzey aktif maddelerin konsantrasyonu kritik misel konsantrasyonunu aştığında taşıyıcı fazda miseller oluşmaya başlar. Kullanılan yüzey aktif madde ve taşıyıcı fazın özelliklerine (konsantrasyon, iyonik güç, sıcaklık, basınç) bağlı olarak oluşan miseller de farklıdır. En yaygın olarak kullanılan yüzey aktif madde sodyum dodesil sülfattır. Misellar taşıyıcı faz düşük toksisite, düşük maliyet, aynı analitik çalışmada iyonik ve iyonik olmayan analitlerin eşzamanlı belirlenmesini sağlama ve çevreye olan olumsuz etkilerin azaltılması gibi bazı avantajlara sahiptir. En önemli dezavantajlarından biri ise taşıyıcı fazın kromatografik sistemden sürekli akıtılmak zorunda olunmasıdır. Günlük kolon temizliği ve kolon şartlandırılması ters faz sıvı kromatografisine kıyasla daha çok zaman alır ve bazen kolon zarar görebilir. Misellar kromatografi gıda analizlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu derlemede MSK'nin gıda analizlerindeki uygulamaları hakkında bilgi verilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Misellar sıvı kromatografisi, Gıda analizleri, Çevre dostu yöntemler

Micellar Liquid Chromatography (MLC) as an Environmental Friendly Analysis Method and Its Applications on Food Analyses

ABSTRACT

Micellar liquid chromatography (MLC) is a liquid chromatographic mode with mobile phases containing a surfactant above its critical micelle concentration. In MLC, surfactant concentrations in excess of the critical micelle concentration are used so that micelles are formed in the mobile phase. Depending on the type of surfactant and properties of the mobile phase (concentration, ionic strength, temperature, and pressure), the shape of micelles is different. The most commonly used surfactant in MLC is sodium dodecyl sulfate (SDS). Micellar phase has some advantages over other phases, including low cost, low toxicity, the possibility of separation of ionic and non-ionic compounds on the same analytical run and the reduced environmental impact. One of the main disadvantages of the micellar chromatography, the mobile phase should be continuously flushed through the chromatographic system. Daily cleaning and re-equilibration of column takes more time compared to reverse-phase chromatography and sometimes, column may be damaged. Micellar chromatography is widely used in food analyses. This review presents micellar chromatographic applications on food analyses.

Key Words: Micellar liquid chromatography, Food analysis, Eco-friendly methods

GİRİŞ

Gıda maddelerinin üretimi, işlenmesi, depolanması ve dağıtımını süreçlerinin ulaştığı karmaşıklık ve çeşitlilik, çözümlenmesi zorunlu pek çok problemi de beraberinde getirmektedir. Bütün bu süreçler boyunca karşımıza çıkan en temel problemlerden biri gıda maddelerinin besleyici özelliklerini muhafaza eden, insan ve çevre sağlığına zarar vermeyen bir niteliğe sahip olup olmadığını belirlemektir. Bu belirleme işlemi için çok çeşitli test ve analizlerin yapılması gerekmektedir. Bu testlerde çeşitli enstrümental analiz cihazları kullanılmaktadır. Enstrümental analiz cihazları içinde en önemlilerinden biri Yüksek Performans Sıvı Kromatografisi (HPLC) cihazıdır. Gıda maddelerinin bileşimini, katkı ve kalıntı maddeleri içeriğini belirlemede HPLC cihazı geniş bir uygulama alanı bulmuş ve pek çok analiz yöntemi geliştirilmiştir.

HPLC cihazı ile yapılan analizlerde ters faz analiz tekniğinin çok geniş bir uygulama alanı elde ettiği bildirilmektedir [1-3]. Ters faz HPLC tekniğinde C_8 veya C_{18} gibi apolar karakterde bir kromatografi kolonundan, metanol veya asetonitril içeren polar karakterde bir taşıyıcı faz geçirilerek analitlerin ayırımı gerçekleştirilmekte ve uygun bir dedektör kullanılarak tespit yapılmaktadır.

Ters faz sıvı kromatografi tekniğinde taşıyıcı çözen olarak en çok kullanılan kimyasal maddeler metanol, asetonitril ve tetrahidrofurandır. Ancak, bu çözenlerin toksik karakterli olması açığa çıkan atıkların toplanmasını ve zararsız hale getirilmesini veya çevre için zararlı etkiler oluşturmayan çözenlerin kullanımını zorunlu kılmaktadır. Bu amaçla, yeşil veya çevre dostu yöntem ve proseslerin geliştirilmesine yönelik çalışmalar gün geçtikçe daha çok önem kazanmaktadır [4-6].

Metanol ve asetonitril ters faz HPLC uygulamalarında su ile iyi karışmaları ve viskozitelerinin düşük olması nedeniyle, taşıyıcı faz olarak kullanılmaya uygun çözenlerdir. Ayrıca UV geçirgenliklerinin düşük olması da bir tercih nedenidir [7]. Ancak her iki çözen de toksik özelliklidir; bu nedenle, taşıyıcı faz olarak kullanıldıktan sonra toplanmaları ve uygun işlemler ile yeniden kullanıma hazır hale getirilmeleri veya uygun yöntemler ile yok edilmeleri gerekmektedir. Aksi takdirde çevre kirlenmesine yol açmaları kaçınılmazdır. Gerek fen bilimleri ve gerekse sosyal bilimler ile ilgili alanlarda çevre kirliliğini önlemeye ve azaltmaya yönelik çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Bu çalışmalarda nihai amaç, doğaya bırakılan atıklardan kaynaklanan sosyal maliyetleri azaltmak suretiyle sürdürülebilir bir kalkınma sağlamaktır [8]. Konu bu bağlamda ele alındığında, laboratuvar çalışmalarında da daha az malzeme ve enerji kullanımına dayalı, olabildiğince az toksik kimyasal kullanımı gerektiren analiz yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik çalışmaların önem taşıdığı ortaya çıkmaktadır. Bu çalışmaların odak noktasında toksik karakterli atık açığa çıkarmayan ya da daha az açığa çıkaran analiz yöntemlerinin geliştirilmesi yer almaktadır [9,10]. Dolayısıyla, HPLC ile yapılan çalışmalarda da toksik karakterli taşıyıcı faz kullanımına alternatif olabilecek

analiz yöntemlerinin geliştirilmesi konusu giderek daha çok önem kazanmaktadır.

MİSELLAR SIVI KROMATOĞRAFİSİ

Taşıyıcı faz olarak toksik solventlerin kullanıldığı ters faz HPLC tekniği yerine, çok düşük bir toksisiteye sahip solventlerin taşıyıcı faz olarak kullanıldığı MSK tekniğinin kullanılabilmesi çeşitli yayınlarda bildirilmektedir [9-11]. MSK metodlarında hareketli faz belirli bir konsantrasyonda yüzey aktif madde içeren sudur. Ters faz HPLC çalışmalarında taşıyıcı faz olarak sadece su kullanıldığında, su kolondaki porların içine nüfuz edemediği için analitlerin ayırımı gerçekleşmemekte ve polar ve apolar bileşenlerin ayırımı taşıyıcı fazın belirli oranda metanol veya asetonitril gibi organik bir çözen içermesi halinde mümkün olmaktadır [12]. MSK'de ise taşıyıcı faza bir yüzey aktif madde ekleyerek taşıyıcı fazın ve kolonun polaritesini değiştirmek ve böylece organik bir çözen kullanmadan kromatografik ayırımı gerçekleştirmek olanaklıdır. Kullanılan yüzey aktif maddenin konsantrasyonunun, kritik misel konsantrasyonu olarak adlandırılan ve her yüzey aktif madde için farklı olan belirli bir konsantrasyon değerinin üzerinde olması gerekmektedir [13]. Bir yüzey aktif maddenin sulu çözeltideki konsantrasyonu kritik misel konsantrasyonunun üzerine çıkarıldığında; bu madde sulu çözelti içinde miseller halinde toplanmaya başlamaktadır. Çözelti, su ve misel yapı olmak üzere iki kısımdan oluşmuş gibidir. Kolon sabit fazı bu sistemin üçüncü unsurunu oluşturmakta ve hareketli fazda bulunan analitler, *su - misellar yapı - kolon sabit fazı* olmak üzere üçlü bir sistem içinde dağılıma göstermektedir. Böylece polar ve apolar karakterli pek çok bileşenin kromatografik ayırımının sağlanabileceği belirtilmektedir [14]. Yüzey aktif maddeler kolon polaritesini değiştirerek iyonik ve iyonik olmayan analitlerin eşzamanlı analizini de mümkün kılmaktadır. Aşağıda Tablo 1'de MSK'de kullanılan yüzey aktif maddeler ve kritik misel konsantrasyonları ile ilgili bilgiler sunulmuştur.

Tablo 1'de belirtilen yüzey aktif maddeler içinde, HPLC çalışmalarında en çok kullanılanların anyonik özellik taşıyan *sodyum dodesilsulfat*, katyonik özellikli *setiltrimetilamonyumbromit* veya *setiltrimetilamonyumklorit* ve nötral karakterli *Brij-35* olduğu bildirilmektedir [19].

GIDA ANALİZLERİNDE MİSELLAR SIVI KROMATOĞRAFİSİ UYGULAMALARI

Literatürde misellar kromatografi tekniği ile yapılan çeşitli çalışmalar bulunmaktadır. Tablo 2'de MSK ile yapılan çalışmalar ile ilgili çeşitli örnekler sunulmuştur. Tablo 2'de yer alan çalışmaların bazılarında önemli bir değerlendirme yer almaktadır. Araştırmacılar taşıyıcı fazda sadece misellar çözelti kullanılması durumunda bazı olumsuz sonuçlar açığa çıkacağını vurgulamaktadırlar [9, 10, 19, 20]. Hareketli fazın saf misellar çözeltiden oluşması durumunda analitlerin alıkonma zamanları uzatmakta, seçicilik ve piklerin simetrisi olumsuz etkilenmektedir. Yapılan çalışmalarda,

hareketli faza bir miktar alkol eklenmesi ile bu kusurların düzeltilebildiği bildirilmiştir [19, 21]. Bu amaçla en çok kullanılan alkol 1-propanol olmasına karşın, 1-butanol, 1-pentanol ve etil alkolün de aynı amaçla

kullanılabileceği belirtilmiştir. Misellar çözeltiye eklenen alkolün kromatografik ayırımı olumlu etkilemesinin yanı sıra misellar fazın stabilitesini arttırdığı da bildirilmektedir [14].

Tablo 1. Misellar sıvı kromatografide kullanılan yüzey aktif maddeler ve kritik misel konsantrasyonları [15-18]

Yüzey Aktif Maddeler		Kritik Misel Konsantrasyonu (CMC) (mmol/L)
Anyonik Yüzey Aktif Maddeler	Sodyum desilsulfat	33
	Sodyum dodesilsulfat	8.2
	Sodyum tetradesilsulfat	2.1
Safra Tuzları	Sodyumşokolat (SC)	13
Kasyonik Yüzey Aktif Maddeler	Setiltrimetilamonyumklorit	1
	Dodesiltrimetilamonyumbromit (DTAB)	14
	Hegzadesiltrimetilamonyumbromit (CTAB)	1.3
İyonik Olmayan Yüzey Aktif Maddeleri	Polioksietilen(23) dosesileter (Brij 35)	0.1
	Polioksietilen(10) laurileter (Brij 22)	0.09

Tablo 2. Gıdalarda misellar sıvı kromatografisi ile yapılan analizlere örnekler

Matriks	Analitler	Kromatografik koşullar	Belirleme (nm) (UV/Vis/ Floresans ¹)	Kaynak
Zeytinyağı	Bazı fenolik bileşikler ve fosfolipidler	Nucleosil 120 C18 (200 mm x 4.6 mm x 5 µm) 0.07 M SDS ve % 2.5' luk 2-propanol karışımı (v/v), pH 3'e ayarlı izokratik-akış hızı 0.8 mL/dakika	210	[9]
Bebek gıdaları	Bazı şekerler	Kromasil 100 (250 mm x 4.6 mm x10 µm) 17.3 mMSDS ve 0.01 M fosfat tampon, pH 6.69 ve 7.73% (v/v) etanol içeren sulu faz, izokratik-akış hızı 1 mL/dakika	307	[10]
B vitamini içeren ilaçlar	B vitaminleri	Kromasil C18 (120 mm x 4.6 mm x 5 µm) 0.1 M sodyum dodesil sülfat - %4 pentanol (v/v) pH 3 izokratik-akış hızı 1 mL/dakika	270 290 325	[20]
Çeşitli gıdalar	Tartrazin Brilliant Blue SunsetYellow	MicrosorbC18 (250 mm x 4.6 mm x 5 µm) %0,25 Triton X-100 ve 50 mmolfosfat tampon içeren pH 7'ye ayarlı sulu faz; izokratik-akış hızı 1 mL/dakika	430 630 480	[22]
Balık	Biyogen aminler	LiChrospher 100 RP-18 (244 mm x 4.4 mm x 5 µm) 0.02 M fosfat tampon içeren pH'sı 3'e ayarlı 0.40 M SDS ve Asetonitril, gradyen-akış hızı 1.1 mL/dakika	254	[23]
Su ve Süt	Bisfenol A	LiChrospher 100 RP-18 (250 mm x 4.6 mm x 5µm) 0.2 M sodyum dodesil sülfatve%10 2-propanol, izokratik-akış hızı 1 mL/dakika	260	[24]
Bitkisel ve hayvansal yağlar	Fenolik antioksidanlar	Spherisorb ODS-2 (5 mm x 125mm x 4 µm) 0.1M SDS ve 2.5% (v/v) n-propanolve 0.01M Sodyumdihidrojen fosfat; pH 3, izokratik -akış hızı 1 mL/dakika	290	[25]
Süt	Sülfonamidler	Kromasil 100 C18 (250 mm x 4.6 mm x 5 µm) 80 mM SDS - 8.5% propanolpH 7, izokratik-akış hızı 1 mL/dakika	490	[26]
Süt	Melamin	Kromasil C18 (150 mm x 4.6 mm x 5µm) 0.05 M SDS- %7.5 propanol, pH 3 izokratik-akış hızı 1 mL/dakika	210	[27]
Biyogen aminler	Balık	C18 (125 mm x 4.6 mm x 5µm), 0.15 M SDS-6% (v/v) butanol-pH 7, izokratik-akış hızı 1 mL/dakika	260	[28]
Ketçap, soya sosu	Benzoik asit ve esterleri	Lichrosorb(250 mm x 4.6 mm x 5µm), pH 3 'e ayarlı 2% Brij-35 içeren su - propanol (80 :20v/v), izokratik, 1 ml/ dakika	254	[29]
Et, süt, yumurta ve bal	Sülfonamidler	LiChrospher (250 mm x 4.6 mm x 5µm), 0.04 M pH'sı 4.6'ya ayarlı SDS ve %2 oranında propanol içeren 0.01 M fosfat tampon çözeltisi, izokratik, 1 ml/ dakika	190-600	[30]
-	Poli aromatik hidrokarbonlar	Waters C18 (150 mm x 3.9 mm x 4µm), 0.10 M SDS ve 15% 2-propanol, izokratik	254	[31]
Vitamin preparatları	Suda çözünen vitaminler	Particil ODS2 (250x4.6 x10 µm) 16 mM SDS, 0.02 M pH 3.6'ya ayarlı fosfat tampon, gradient of 3.5–10% (v/v) butanol., izokratik, 1 ml/ dakika	254 295 361	[32]
Pestisitler	Su	Kromasil C18 (250 mm x 4.0 mm x 5µm), pH'sı 3'e ayarlı 0.07M Brij-35,izokratik 1 ml/dakika	230	[33]
Antibiyotik	Süt	Lichrospher 100 RP18 kolon (125 mm x 4.0 mm x 5µm), 75 mM SDS-10 mM fosfat tampon–18 mMtetrabutylammoniumbromide karışımı ve pH'sı 3'e ayarlı %3 1-propanol, izokratik 0.9 ml/dakika.	Eksitasyon ¹ 300 nm/ emisyon 446 ve 500 nm	[34]
Sentetik antioksidanlar ve diyet katkıları	Süt	Spherisorp (125 mm x 4.0 mm x 5µm), 0.09 M SDS %6.6 propanol (v/v), izokratik, 1 ml/ dakika	284	[35]
Sülfonamidler	Süt ve bal	Hypersil ODS (100x4.6 x5 µm), 0.019 M SDS ve % 5.8 asetonitril pH3'e ayarlı (v/v), izokratik, 1 ml/ dakika	275	[36]

Misellar sıvı kromatografi tekniği ile B vitaminlerinin analizlerinin yapılmasına yönelik bir yöntem geliştirme çalışmasında, geliştirilen analiz yönteminin kesinlik ve tekrarlanabilirlik açısından yeterli olduğu belirlenmiş ve hareketli faza eklenen pentanol'un misellar yapının stabilitesini güçlendirdiği ve ayırımı olumlu etkilediği ifade edilmiştir [20].

Gıdalarda renklendirici olarak kullanılan katkı maddelerin çevre dostu bir analitik metotla belirlenmesini sağlamak için yüzey aktif madde olarak triton X kullanılan bir çalışmada; uygun misellar konsantrasyonunu belirlemek için hareketli faza %0.25–%1 aralığında olmak kaydıyla değişik konsantrasyonlarda triton X eklenmiş ve sonuç olarak ideal bir kromatografik ayırımı hareketli faza %0.25 triton X eklendiğinde elde edildiği bildirilmiştir [22].

Bebekler için hazırlanan gıda ürünlerinde bulunan glukoz, maltoz, laktoz, ksiloz ve arabinoz miktarlarının belirlenmesine yönelik bir çalışmada, analizin 10 dakika içinde bitirildiği, elde edilen analitik verilerin kesinlik değerinin bağıl standart sapma cinsinde %5.73, tespit edilebilirlik sınırının 35.47 ile 81.74 µg/mL aralığında ve geri kazanım değerinin de en az %91 olduğu belirtilmiştir. Araştırmacılar, yüzey aktif madde konsantrasyonu, pH ve sıcaklık parametrelerinin optimizasyonu ve etanol, propanol gibi organik modifiye edici kimyasalların taşıyıcı faza eklenmesi ile şekerlerin MSK tekniği ile analiz edilebileceği ve böylece toksik taşıyıcı faz kullanımının ortadan kalkacağını bildirmişlerdir [10].

Zeytinyağında bulunan fenolik bileşiklerin (tyrosol, kafeik asit, *p*-kumarik asit ve oleuropeina) ve fosfolipidlerin (fosfotidiletanolamin, fosfotidilkolin) MSK tekniği ile belirlenmesini sağlamak için geliştirilen bir analiz metodunda, 0.07 M sodyum dodesil sülfat ve %2.5'lük 2-propanol karışımı (v/v), pH'sı 3'e ayarlanarak taşıyıcı faz olarak kullanılmıştır. Çalışmada C₁₈ kolon kullanılmış ve akış hızı 0.8 mL/dakika olarak seçilmiştir. Analiz süresi 45 dakika olarak belirlenmiştir. Araştırmacılar, geliştirdikleri analiz metodunun, geleneksel olarak kullanılan ters faz HPLC tekniğine kıyasla; herhangi bir örnek hazırlama işlemi gerektirmediğini, analiz örneğinin doğrudan kolona enjekte edilebildiğini, analiz süresinin kısalığı ve toksik atıklar oluşmaması yönünden de çevre dostu bir metot olduğunu bildirmişlerdir [9].

Multivitamin şuruplarında bulunan E ve A vitaminlerinin miktarlarını belirlemek amacıyla geliştirilen misellar kromatografik bir analiz yönteminde ise, optimizasyonu yapılacak en önemli parametrelerin kullanılan organik solvent ile yüzey aktif maddenin konsantrasyonu ve pH olduğu bildirilmiştir. Araştırmacılar yaptıkları çalışmada uygun bir kromatografik ayırımı için taşıyıcı faz pH'sının 6.73'e ayarlanarak 6.9 mM SDS – 0.02M 1-butanol (%88.3-%11.7) kullanıldığını, kolon sıcaklığının 30°C, akış hızının ise 1.35 olarak belirlendiğini açıklamışlardır. Geliştirilen yöntemin validasyonu yapılmış ve kullanılabilir, pratik ve çevre dostu bir yöntem olduğu belirtilmiştir[37].

Farmakoloji ve biyokimya alanında da misellar kromatografik analiz yöntemlerinin geliştirilmesine yönelik çeşitli çalışmalar olduğu gözlenmektedir. Kozmetik ürünlerinde bulunan UV ışını koruyucularının belirlenmesini sağlamak üzere geliştirilen bir analiz yönteminde, taşıyıcı faz bileşimi, kolon sıcaklığı, izokratik veya gradient elüsyon modu ve pH'nın ayırma üzerine olan etkileri incelenmiştir. Sonuç olarak, UV koruyucuların ayırımı için, taşıyıcı faz olarak 0.5 mL/dakika akış hızında etanol ve %1'lik asetik asit ile gradient elüsyon modunda daha iyi ayırım sağlandığı; ayırma işleminin 45°C sıcaklıkta ve pH 4.75' de en uygun sonucu verdiği bildirilmiştir [11].

Misellar fazda kullanılan kritik misel konsantrasyonunun iyi ayarlanması gerektiği ve gereğinden fazla olması durumunda taşıyıcı fazın viskozitesinin artacağı bildirilmektedir. Ancak bunun kaçınılması gereken bir durum olduğu aksi takdirde sistem basıncında ve dedektör gürültüsünde artış olacağı da belirtilmektedir [38]. Kritik misel konsantrasyonu daha düşük olan yüzey aktif maddelerinin seçimi bu durumda avantajlı olmaktadır.

ÇEVRE DOSTU BİR ANALİZ TEKNİĞİ OLARAK MİSELLAR SIVI KROMATOĞRAFİSİ

Yukarıda belirtilen olumlu özelliklerine karşın, misellar kromatografinin bazı sakıncaları olduğu da bildirilmektedir. Bu konudaki en önemli sakınca, hareketli fazda kullanılan yüzey aktif maddenin kolon fazına güçlü bir şekilde bağlanması nedeniyle kolonun kimyasal özelliklerinin değişmesidir [14]. Bu durumda misellar kromatografik bir çalışmada kullanılan bir ayırma kolonunu başka bir hareketli faz ile kullanmak oldukça zor olmaktadır. Ortaya çıkan bir diğer sorun, özellikle sodyum dodesil sülfat ile hazırlanan bir misellar fazın HPLC cihazının akış hatlarında ve kromatografik kolonda çökelti oluşturma riskinin çok büyük olmasıdır. Bu hem HPLC cihazının pompasına ve hem de kolona zarar verebilecek bir sorundur. Bu nedenle, misellar hareketli faz ile yapılan çalışmalarda hareketli fazın sistemde asla hareketsiz kalmaması ve her çalışma sonrasında çok özenli kolon temizleme-bakım prosedürleri uygulanmasının gerekli olduğu bildirilmektedir [38, 39]. Sodyum dodesil sülfat misellar çalışmalarda en çok kullanılan kimyasal maddedir ve neden olduğu bu sorunu ortadan kaldırmak için iki yöntem önerilmektedir [13]. Önerilen yöntemlerden birincisi çalışma bittikten sonra kolonun sırasıyla su, metanol ve %50 metanol / %50 su karışımı içeren çözeltiler ile misellar faz giderilinceye kadar yıkanmasıdır. Ancak bu işlemde, 1 mL/dakika hareketli faz akış hızı ile çalışıldığında, 25 cm'lik bir C₁₈ kolondan (4,6 mm x 5 µm) sırasıyla yukarıda belirtilen çözenleri geçirmek için yaklaşık olarak 2 saatlik bir süre ve toplamda 140 mL civarında çözelti kullanmak gerekmektedir. Önerilen ikinci yöntem ise çalışma bittikten sonra sistemin kapatılmaması ve dakikada 0.1 mL gibi düşük bir hareketli faz akış hızında cihazın sürekli çalışır durumda bırakılmasıdır. Uygulanan her iki yöntemde önemli miktarda enerji ve sarf malzemesi tüketimine yol açmaktadır. Bütün bunlara rağmen, kullanılan yüzey aktif maddelerin kolondan

uzaklaştırılmasının mümkün olmadığı durumların olduğu da bildirilmektedir [13]. Bu durum misellar kromatografik çalışmaların çevre dostu olduğu iddialarını zayıflatmaktadır. Bunlara ek olarak, misellar kromatografi ile yapılacak çalışmalarda ayırım kolonundaki ve laboratuardaki sıcaklığın çok iyi kontrol edilmesi gerekmektedir; aksi takdirde cihaz akış hatlarında çökelti oluşması riskinin bulunduğu bildirilmektedir [39]. MSK tekniğinin en önemli sınırlılıklarından biri de yüzey aktif madde kullanımının sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi ile yapılan alışmalara uygun olmamasıdır [38].

SONUÇ

Misellar sıvı kromatografisi çeşitli amaçlarla yapılan gıda analizlerinde çevre dostu olduğu iddia edilen bir tekniktir. Misellar taşıyıcı faz geleneksel HPLC çalışmalarında kullanılan metanol ve asetonitril gibi toksik karakterli çözümlere kıyasla düşük toksisite, düşük maliyet, iyonik ve iyonik olmayan analitlerin eşzamanlı analizi ve daha az toksik atık açığa çıkarma gibi olumlu özelliklere sahiptir. Ancak kullanılan ayırma kolonunda temizleme ve bakım prosedürlerinin uzun süre alması, çoğu durumda sistemi hiç kapatmadan çalışma yapmayı gerektirmesi gibi olumsuzluklar çevre dostu bir teknik olduğu iddiasına da gölge düşürmektedir. Bu olumsuzluklara karşın literatür taraması yapıldığında misellar kromatografi ile yapılan ve çevre dostu olduğu belirtilen pek çok çalışma ile karşılaşılabileceği da belirtilmelidir.

KAYNAKLAR

- [1] Lough, W.J., Wainer, I.W., 1996. High Performance Liquid Chromatography, Fundamental Principles and Practice. 276 p. Blackie Academic & Professional London-New York.
- [2] Snyder, L., Kirkland, J., Glajch, J.L., 1997. HPLC Method Development. 767 p. Wiley-Interscience. New York, USA.
- [3] Dong, M. W., 2006. Modern HPLC for practicing scientists. 306 p. John Wiley&Sons, Inc., New Jersey USA.
- [4] Dalsgaard, H., Abbotts A. W., 2003. Improving Energy Efficiency. p. 16-30. Environmentally friendly food processing. 338 p., Published by Woodhead Publishing Limited England.
- [5] Richards, D.J., Frosch, R.A., 2003. The industrial green game: overview and perspectives. p.1-37. The Industrial Green Game. National Academy Press, USA.
- [6] Warner, J.C., Cannon, A.S., Dye, K.M., 2004. Green chemistry. *Environmental Impact Assessment Review* 24 (7-8): 775-799.
- [7] Meyer V.R., 2004. Practical High Performance Liquid Chromatography, Fourth Edition. 351 p. Wiley-VCH Verlag GmbH&Co, Federal Republic of Germany.
- [8] Cleveland, C.J., Stern, D.I., Costanza, R., 2001. The economics of nature and the nature of economics, International Society for Ecological

- Economies, Edward Elgar Publishing, 293 p. Great Britain.
- [9] Jimenez, M.S., Velarte, R., Castillo, J., 2005. Direct determination of phenolic compounds and phospholipids in virgin olive oil by micellar liquid chromatography. *Food Chemistry* 100 (1): 8-14.
 - [10] Momenbeik, F., Khorasani, J.H., 2006. Analysis of sugars by micellar liquid chromatography with UV detection. *Acta Chromatographica* 16: 58-69.
 - [11] Salvador, A., Chisvert, A., 2005. An environmentally friendly (green) reversed-phase liquid chromatography method for UV filters determination in cosmetics. *Analytica Chimica Acta* 537: 15-24.
 - [12] Nagae N., Enami T., Kobayashi H., 2002. The retention behavior of reversed-phase HPLC columns when used under 100% aqueous mobile phase conditions. *LCGC North America*, 20 (10):964-972.
 - [13] Berthod, A., Garcia-Alvarez-Coque, M.C., 2000. Micellar Liquid Chromatography. 622 p. Marcel Dekker Inc. Newyork.
 - [14] Ruiz-Angel, M.J., Caballero, R.D., Simo-Alfonso, E.F., Garcia-Alvarez-Coque, M.C., 2002. Micellar liquid chromatography: suitable technique for screening analysis. *Journal of Chromatography A* 947(1): 31-45.
 - [15] Pyell, U., 2001. Micellar electrokinetic chromatography-from theoretical concepts to real samples-review, *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* 371(6): 691-703.
 - [16] Berthod, A., 1997. Causes and remediation of reduced efficiency in micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 780 (1-2): 191-206.
 - [17] Thomas, D.P., 2009. Efficiency enhancements in micellar liquid chromatography through selection of stationary phase and mobile phase organic modifier. Ph. D Thesis, Drexel University, 209 pp.
 - [18] Jandera, P., Fischer, J., 1996. Chromatographic behaviour in reversed-phase high-performance liquid chromatography with micellar and submicellar mobile phases. *Journal of Chromatography A* 728 (1996): 279-298.
 - [19] Garcia, M.C., Torres-Lapasio, J.R., 2002. Hybrid Micellar Mobile Phases, *Encyclopedia of Chromatography*, p.736-742, Marcel Dekker Inc. Newyork.
 - [20] Monferrer-Pons, L., Capella-Peiro, M.E., Gil-Agusti, M., Esteve-Romero, J., 2003. Micellar liquid chromatography determination of B vitamins with direct injection and ultraviolet absorbance detection. *Journal of Chromatography A* 984(2): 223-231.
 - [21] Thomas, D.P., Foley, J.P., 2008. Improved efficiency in micellar liquid chromatography using triethylamine and 1-butanol as mobile phase additives to reduce surfactant adsorption. *Journal of Chromatography A* 1205:36-45.
 - [22] Vidotti C.E., Costa W.F., Oliveira, C.C., 2005. Development of a green chromatographic method for determination of colorants in food samples, *Talanta* 68 (3): 516-521.
 - [23] Paleologos, E.K., Chytiri, S.D., Savvaidis, I.N., Kontominas, M.G., 2003. Determination of biogenic amines as their benzoyl derivatives after cloudpoint

- extraction with micellar liquid chromatographic separation. *Journal of Chromatography A* 1010:217–224.
- [24] Szymański, A., Rykowska, I., Wasiak, W., 2006. Determination of bisphenol a in water and milk by micellar liquid chromatography. *Acta Chromatographica* 17:161-172.
- [25] Noguera-Orti, J.F., Villanueva-Camañas, R.M., Ramis-Ramos, G., 1999. Determination of phenolic antioxidants in vegetable and animal fats without previous extraction by dilution with *n*-propanol and micellar liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 402: 81–86.
- [26] Raviolo, M.A., Rambla-Alegre, M., Clausell-Tormos, J., Capella-Peiro, M.E., Carda-Broch, S., Esteve-Romero, J., 2003. Determination of sulfonamides in milk after precolumn derivatisation by micellar liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 593:152–156.
- [27] Rambla-Alegre, M., Peris-Vicente, J., Marco-Peiro, S., Beltran-Martinavarró B., Esteve-Romero, J., 2010. Development of an analytical methodology to quantify melamine in milk using micellar liquid chromatography and validation according to EU Regulation 2002/654/EC. *Talanta* 81: 894–900.
- [28] Chin-Chen, M., Bose, D., Esteve-Romero, J., Peris-Vicente, J., Rambla-Alegre, M., Carda-Broch, S., 2011. Determination of putrescine and tyramine in fish by micellar liquid chromatography with UV detection using direct injection, *The Open Analytical Chemistry Journal* 5:22-26.
- [29] Memon, N., Bhanger, M.I., Khuhawer, M.Y., 2005. Determination of preservatives in cosmetics and food samples by micellar liquid chromatography. *Journal of Separation Science* 28 (7):635-638.
- [30] Szymanski, A., 2008. Determination of sulfonamide residues in food by micellar liquid chromatography. *Toxicology Mechanisms and Methods* 18:473–481.
- [31] Delgado, M.A.R., Siinchez, M.J., Eonzilez, V., Montelongo, F.G., 1994. Influence of alcoholic modifiers on the selectivity of these paration of a group of polycyclic aromatic hydrocarbons by micellar liquid chromatography. *Analytica Chimica Acta* 298:423-430.
- [32] Ghorbani, A.R., Momenbeik, F., Khorasani, J.H., Amini, M.K., 2004. Simultaneous micellar liquid chromatographic analysis of seven water-soluble vitamins: optimization using super-modified simplex. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 379: 439-444.
- [33] Gil-Agusti, M., Alvarez-Rodríguez, L., Monferrer-Pons, L., Bose, D., Durgbanshi A., Esteve-Romero, J., 2002. Chromatographic determination of carbaryl and other carbamates in formulations and water using brij-35. *Analytical Letters* 35 (10): 1721-1734.
- [34] Vilchez, J.L., Navalón, A., Araujo, L., Prieto, A., 2007. Determination of danofloxacin and marbofloxacin in milk samples by micellar liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytical Letters* 40 (3): 601-613.
- [35] Noguera-Orti, J.F., Villanueva-Camañas, R.M., Ramis-Ramos, G., 2000. Determination of synthetic antioxidants in dairy products and dietetic supplements by micellar liquid chromatography with direct sample injection. *Chromatographia* 51 (1-2): 53-60.
- [36] Caballero, R.D., Torres-Lapasíó, J.R., Baeza-Baeza J.J., García-Alvarez-Coque, M.C., 2001. Micellar chromatographic procedure with direct injection for the determination of sulfonamides in milk and honey samples. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies* 24 (1): 117-131.
- [37] Momenbeik, F., Momeni, Z., Khorasani, J.H., 2005. Separation and determination of vitamins E and A in multivitamin syrup using micellar liquid chromatography and simplex optimization. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 37(2): 383-387.
- [38] Ruiz-Angel, M.J., Garcia-Alvarez-Coque, M.C., 2008. Micellar liquid chromatography: How to start. *LCGC Europa*, Volume 21, Issue 9. <http://www.chromatographyonline.com/lcgc/Micellar-Liquid-Chromatography-How-to-Start/ArticleStandard/Article/detail/549199>.
- [39] Gil-Agusti, M., Esteve-Romero, J., Carda-Broch, S., 2008. Anserine and carnosine determination in meat samples by pure micellar liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 1189 (1-2): 444-450.