



**T.C
SIVAS CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KOZMETİK ÜRÜNLERİNDE PARABEN TAYİNİ İÇİN
KEMOMETRİK OPTİMİZASYONA DAYALI YENİ ANALİTİK
YÖNTEM**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**Ayşenur ÖZTÜRK ALTUNAY
(20209209003)**

Kimya Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Adil ELİK

**SIVAS
HAZİRAN 2022**

Ayşenur ÖZTÜRK ALTUNAY'ın hazırladığı ve “Kozmetik ürünlerinde paraben tayini için kemometrik optimizasyona dayalı yeni analitik yöntem” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **KİMYA ANA BİLİM DALI**'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı : **Doç. Dr. Adil ELİK**

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Mustafa TÜZEN**

Tokat Gaziosmanpaşa Üniversitesi

Doç. Dr. Nüket KARTAL TEMEL

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi

Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Özlem Pelin CAN
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.



Bu tez, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (CÜBAP) Komisyonu tarafından F-2021-644 Nolu proje kapsamında desteklenmiştir.



Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Ayşenur ÖZTÜRK ALTUNAY, 2022

Çalışma sırasında bana destek olan eşime, aileme ve tüm arkadaşlarıma...

ETİK

Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- ✓ Bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- ✓ Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- ✓ Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere, bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Sivas Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

23.06.2022

Ayşenur ÖZTÜRK ALTUNAY

KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR

Bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım, tezin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen danışman hocam Doç. Dr. Adil ELİK'e çok teşekkür ederim.

Bu süreçte hiçbir emeğini esirgmeden yanımda olan, her zaman desteği ve bilgisi ile bana yol gösteren sevgili eşim Doç.Dr. Nail ALTUNAY'a sonsuz teşekkür ederim.

Bu tezin örnek toplamasında yardımcı olan ve her zaman yol göstericimiz olan EZEL KOZMETİK Yönetim Kurulu Başkanı Sayın Ünal KARACA'ya ve İşletme Müdürü Sayın Zeynel KARACA'ya çok teşekkür ederim.

Hayatımın her anında beni daima destekleyen, bugünlere gelmemde çok büyük emekleri olan, her konuda varlığını ve desteğini hissettiğim aileme teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım süresince her konuda bana destek olan arkadaşlarım Bünyamin DOĞAN'a ve Hatice TAŞPINAR'a sonsuz teşekkür ederim.

ÖZET

KOZMETİK ÜRÜNLERİNDE PARABEN TAYİNİ İÇİN KEMOMETRİK OPTİMİZASYONA DAYALI YENİ ANALİTİK YÖNTEM

Ayşenur ÖZTÜRK ALTUNAY

Yüksek Lisans Tezi

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Adil ELİK

2022, 59+xv sayfa

Tez çalışmasında kozmetik örneklerden metilparaben (MP) ve bütülpabenin (BP) ayrılması ve önderiştirilmesini içeren iki ayrı analitik yöntem geliştirildi. İlk yöntem, kozmetik örneklerde MP ekstraksiyonu ve belirlenmesi için UV-Vis spektrofotometrisi ile birleştirilmiş derin ötektik solvent bazlı sonikasyon destekli dağılımlı sıvı-sıvı mikro ekstraksiyonuna (DES-SA-DLLME) dayanan basit, yeşil ve hassas bir analitik metodoloji merkezi kompozit tasarım (CCD) kullanılarak optimize edildi. Burada, MP'nin seçici ekstraksiyonu için altı DES (ekstraksiyon solventi olarak) hazırlandı ve test edildi. DES-SA-DLLME yöntemi için 525 µL DES-3 (sırasıyla 1:2:3 molar oranlı prolin, malik asit ve su karışımından oluşan) ve 390 µL tetrahidrofur (THF, aprotik çözücü) karışımı kullanıldı. CCD'ye dayalı optimum koşullar altında, MP için doğrusal aralık 15-650 µg L⁻¹ bulundu. Seçme sınırı ve zenginleştirme faktörü sınırı sırasıyla 4.5 µg L⁻¹ ve 148 olarak hesaplandı. Seçilen kozmetik örneklerde MP'nin ekstraksiyonu ve tayini için DES-SA-DLLME yönteminin uygulanması araştırıldı ve nicel analitik veriler elde edildi (bağıl standart sapma < %3.8).

İkinci çalışmada, düşük viskoziteli yağ asidi bazlı derin ötektik çözücüler (LW-DES'ler) hazırlandı ve kozmetik örneklerden hava destekli sıvı sıvı mikroekstraksiyon (AA-DLLME) ile BP'nin ekstraksiyonu için araştırıldı. BP miktarı UV-Vis spektrofotometrisi ile belirlendi. Box-Behnken tasarımına dayalı çok değişkenli yaklaşım, LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünü etkileyen temel ekstraksiyon parametrelerini optimize etmek için kullanıldı. Optimize edilmiş koşullar altında, yüksek zenginleştirme faktörü (205) ile geniş bir çalışma aralığı (5-800 µg L⁻¹) elde edildi. BP'nin 10 µg L⁻¹ (düşük), 300 µg L⁻¹ (orta) ve 600 µg L⁻¹ (yüksek) miktarları için, geri kazanım yüzdesi ve bağıl standart sapma sırasıyla %92±4-98±2 ve

%1.8-2.6 aralığında bulundu. Seçme sınırı ve tayin limiti sırasıyla $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $5 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplandı. Seçicilik çalışması, önerilen yöntemin kozmetik örneklerde BP'nin ölçümü için yüksek seçiciliğe sahip olduğunu gösterdi.

Anahtar kelimeler: Parabenler, Kemometri, Derin ötektik çözücüler, Kozmetikler



ABSTRACT

NEW ANALYTICAL METHOD FOR THE DETERMINATION OF PARABEN IN COSMETIC PRODUCTS BASED ON CHEMOMETRIC OPTIMIZATION

Ayşenur ÖZTÜRK ALTUNAY

Master Thesis

Department of Chemistry

Supervisor: Assoc. Prof. Adil ELİK

2022, 59+xv pages

In the thesis study, two different analytical methods were developed, including the separation and preconcentration of methylparaben and butylparaben from cosmetic samples. The first study, a simple, green and sensitive analytical methodology for extraction and determination of methyl paraben in cosmetic samples, based on deep eutectic solvent-based sonication assisted dispersive liquid-liquid microextraction (DES-SA-DLLME) combined with UV-Vis spectrophotometry was optimized by using a central composite design (CCD). Herein, we prepared and tested six DES (as extraction solvent) for the selective extraction of MP. A mixture of 525 μL of DES-3 (consisting of a 1:2:3 molar ratio mixture of proline, malic acid and water, respectively) and 390 μL THF (aprotic solvent) was used for the DES-SA-DLLME process. Under optimum conditions based on the CCD, the calibration graph showed high level of coefficient determination for the MP in the range of 15-650 $\mu\text{g L}^{-1}$. The limit of detection and enrichment factor were 4.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 148, respectively. The application of the DES-SA-DLLME method was investigated for the extraction and quantification of MP in selected cosmetic samples and quantitative analytical data were obtained (RSDs < 3.8%). In the second study, low viscous fatty acid-based deep eutectic solvents (LW-DESs) were prepared and investigated for the extraction of butylparaben from personal care by air assisted liquid liquid microextraction (AA-DLLME). The amounts of butylparaben were determined by UV-Vis spectrophotometry. By combining single factor optimization and Box-Behnken design based multivariate approach, key extraction parameters affecting the LW fatty acid based-DES AA-LLME procedure were systematically optimized. Under the optimized

conditions, wide working range (5-800 $\mu\text{g L}^{-1}$) was obtained with high enrichment factor (205). For three replications run of 10 $\mu\text{g L}^{-1}$ (low), 300 $\mu\text{g L}^{-1}$ (medium) and 600 $\mu\text{g L}^{-1}$ (high) of butylparaben, the percent extraction recovery and relative standard deviation were in the range of 92 \pm 4%-98 \pm 2% and 1.8-2.6%, respectively. Limits of detection and quantification were calculated as 1.5 $\mu\text{g L}^{-1}$ and 5 $\mu\text{g L}^{-1}$, respectively. The study of the matrix effect showed that the proposed method has high selectivity for measuring butylparaben in the selected samples.

Key words: Parabens, Chemometry, Deep eutectic solvents, Cosmetic



İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	vii
ABSTRACT	ix
KATKI BELİRTME VE TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
KISALTMALAR DİZİNİ	xv
1. GİRİŞ	1
1.1 Parabenler.....	1
1.1.2 Parabenin elde edilişi.....	3
1.1.3 Kozmetik kullanımları.....	3
1.1.4 Biyokimyasal yönleri.....	4
1.1.5 Emilim, dağılım, metabolizma ve atılımları.....	4
1.1.6 Enzimler ve diğer biyokimyasal parametreler üzerindeki etkileri.....	4
1.2. Numune Hazırlama.....	5
1.2.1 Derin ötektik çözücülerin sentezi.....	6
1.2.2 Derin ötektik çözücülerin özellikleri.....	8
1.2.3 Analitik kimyada DES'ler.....	8
1.2.4 DES'lerin katı ve sıvı numuneler için uygulamaları.....	9
1.3. Deneysel Tasarım.....	12
2. MATERYAL VE METOD	15
2.1 Cihazlar.....	15
2.2 Kimyasallar.....	15
2.3 Örnek Toplama ve Hazırlama.....	16
3. BULGULAR	17
3.1. DES-SA-DLLME Yöntemi.....	17
3.1.1 DES hazırlama.....	19
3.1.2 Deneysel modelleme.....	19
3.1.3 Geri kazanım ve analitik parametrelerinin hesaplanması.....	20
3.1.4 Ön çalışmalar.....	20
3.1.5 Kemometrik analiz.....	22
3.1.6 Faktörlerin etkisi.....	25
3.1.7 Optimum koşullar.....	28
3.1.8 Validasyon çalışmaları.....	29
3.1.9 Kozmetik numune analizi.....	30
3.2. LW yağ asid bazlı-DES AA-LLME yöntemi.....	33
3.2.1 Düşük viskoziteli yağ asidi bazlı DES'lerin hazırlanması.....	34
3.2.2 Optimizasyon stratejisi.....	35
3.2.3 Deneysel tasarım parametrelerinin seçimi.....	36
3.2.3.1 Uygun LW yağ asidi bazlı DES seçimi.....	36
3.2.3.2 Seçilen DES bileşenlerinin molar oranının etkisi.....	37
3.2.4.Box-Behnken tasarımı ile önemli değişkenlerin optimizasyonu.....	38
3.2.4.1 İstatiksel analiz ve model uydurma.....	38
3.2.4.2 Ekstraksiyon değişkenleri arasındaki etkileşim.....	40
3.2.4.3 Değişken optimizasyonu.....	43
3.2.5 Kozmetik ürünlerinin analizi için metot doğrulaması ve uygulama.....	43
3.2.5.1 Önerilen yöntemin analitik özellikleri.....	43
3.2.5.2 Seçicilik çalışması.....	44
3.2.5.3 Doğruluk ve kesinlik çalışmaları.....	45

3.2.5.4 Kozmetik ürünlerinin analizi	46
3.2.5.5 Diğer analitik yöntemlerle karşılaştırma.....	46
4. SONUÇLAR	50
KAYNAKLAR	52



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1 Bazı parabenlerin açık kimyasal yapıları.....	2
Şekil 1.2 DES oluşumunda kullanılan bazı HBA ve HBD yapıları.....	7
Şekil 3.1 DES-SA-DLLME yöntemin deneysel basamakları.....	18
Şekil 3.2 Optimum koşullarda elde edilen MP spektrumlar	18
Şekil 3.3 Molar oranın MP geri kazanımına etkisi	21
Şekil 3.4 İyonik şiddetin MP geri kazanımına etkisi	22
Şekil 3.5 Tahmini ve gerçek değerler arasındaki regresyon	23
Şekil 3.6 (a-d) MP'nin merkezi kompozit tasarımı için tepki yüzey grafikleri.....	28
Şekil 3.7 LW yağ asid bazlı-DES AA-LLME yöntemin deneysel basamakları.....	33
Şekil 3.8 Optimum koşullarda elde edilen BP spektrumlar	34
Şekil 3.9 DES bazlı LW yağ asidi tipinin etkisi	37
Şekil 3.10 LW yağ asidi bazlı DES-1'in molar oranının etkisi	38
Şekil 3.11 Ön görülen yanıt ve gözlemlenen yanıt	39
Şekil 3.12 (a-c) BP'nin BBD için tepki yüzey grafikleri.....	42

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 1.1 Dört tip derin ötektik çözücü	7
Çizelge 1.2 Sıvı numunelerin kimyasal analizi için DES'lerin uygulanması	9
Çizelge 1.3 Katı numunelerin kimyasal analizi için DES'lerin uygulanması	11
Çizelge 3.1 Hazırlanan DES'lerin molar oranları, bileşimi ve sembolü	19
Çizelge 3.2 Optimizasyon için CCD'deki değişkenler ve seviyeleri	20
Çizelge 3.3 Kurulan modelin deneysel tasarımı ve elde edilen deneysel sonuçlar ...	24
Çizelge 3.4 Optimizasyon sürecinin ANOVA sonuçları	25
Çizelge 3.5 İkinci dereceden modelin kalite parametreleri	25
Çizelge 3.6 Önerilen DES-SA-DLLME yönteminin analitik performansı.....	29
Çizelge 3.7 Matris iyonlarının varlığında yöntemin seçiciliği (N=5).....	30
Çizelge 3.8 Kozmetik numunelerde MP tayin sonuçları	31
Çizelge 3.9 Önerilen yöntemin analitik özelliklerinin karşılaştırması.....	32
Çizelge 3.10 LW yağ asidi bazlı bileşenlerin, molar oranları ve erime sıcaklıkları ..	34
Çizelge 3.11 BBD için Faktörler, semboller ve seviyeler	35
Çizelge 3.12 BBD için tasarım matrisi ve yanıtları	36
Çizelge 3.13 BBD için varyans analizi (ANOVA).....	40
Çizelge 3.14 Kurulan modelin istatistiksel parametrelerine uyum.....	40
Çizelge 3.15 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün nicel özellikleri ...	44
Çizelge 3.16 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME seçicilik sonuçları (N=3)	45
Çizelge 3.17 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME uygulama sonuçları.....	47
Çizelge 3.18 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün karşılaştırılması...	49

KISALTMALAR DİZİNİ

BBD	Box- Behnken Tasarım
BP	Butil Paraben
BSS	Bağıl Standart Sapma
CCD	Merkezi Kompozit Tasarım
ChCl	Kolin Klorür
DES	Derin Ötektik Çözücü
DLLME	Dispersif Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon
DoE	Deneysel Tasarım
EF	Zenginleştirme Faktörü
EP	Etil Paraben
ER	Ekstraksiyon Gerikazanım
FAAS	Alevli Atomik Absorpsiyon Spektrometrisi
FDA	Amerikan Gıda Ajansı ve İlaç Dairesi
GC-FID	Gaz Kromatografi Alev İyonlaşmalı Dedektör
GC-MS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
GS	Gözelnebilme Sınırı
HBA	Hidrojen Bağı Vericisi
HBD	Hidrojen Bağı Donörü
HLLE	Homojen Sıvı Sıvı ekstraksiyon
HNO₃	Nitrik Asit
HPLC-MS	Yüksek Performanslı Sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi
HPLC-UV	Yüksek Performanslı Sıvı kromatografi-UV dedektör
ICP-OES	İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi
IL	İyonik Sıvı
LLME	Sıvı Sıvı Mikroekstraksiyon
LPME	Sıvı Faz Mikroekstraksiyon
MP	Metil Paraben
PHBA	Parahidroksibenzoik Asit
PP	Propil Paraben
SPME	Katı Faz Mikroekstraksiyon
THF	Tetrahidrofur
TS	Tayin Sınırı

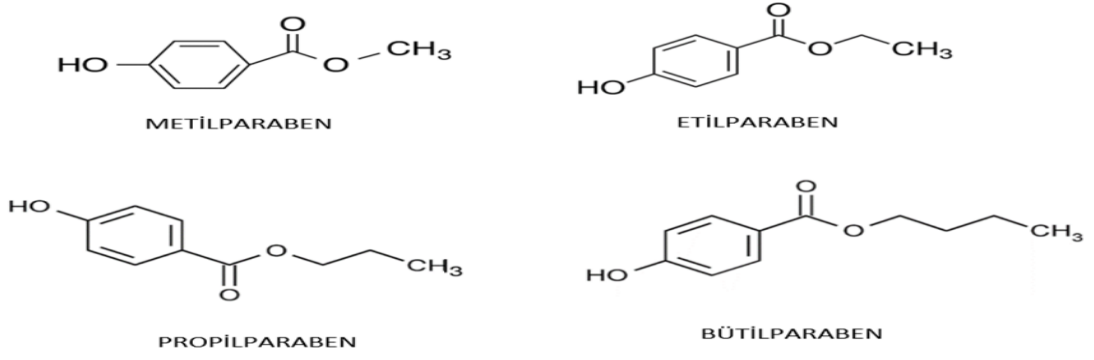
1. GİRİŞ

1.1. Parabenler

Parabenler, farklı meyve ve sebzelerde doğal olarak oluşan parahidroksibenzoik asidin (PHBA) alkil esterleridir [1]. PHBA, çeşitli kimyasal ikamelerle benzen halkasının para pozisyonunda farklılık gösterir. Yaygın olarak kullanılan beş para hidroksil benzoik asit esteri vardır. Bunlar, metil paraben (MP), etil paraben (EP), propil paraben (PP), butil paraben (BP), izobütil paraben, izopropil paraben, benzilparaben ve bunların sodyum tuzlarını içerir [2]. Farklı kimyasal ikameler, her paraben estere farklı bir çözünürlük ve antimikrobiyal aktivite spektrumu sağlar. Parabenlerin alkil zincirinin karbon sayısı arttıkça antimikrobiyal aktivite artar, ancak suda çözünürlüğü azalır ve yağda çözünürlüğü artar [3]. Mikrobiyal replikasyon genellikle yağ/su fazlarının su fazında meydana geldiğinden, su fazında çözünen paraben miktarı genellikle koruyucu etkinliğini belirler [4].

Parabenler, kozmetik ürünlerin rengini bozmayan ve üretimi ucuz olan beyaz, kokusuz, ince kristalli maddelerdir [1]. Geniş aktivite yelpazesine, dünya çapında yasal kabule ve biyolojik olarak parçalanabilirliğe sahiptirler. Parabenler, saklama ve kullanım sırasında mikrobiyal kirlenmeye karşı koruma sağlamak ve ürün bütünlüğünü iyileştirmek için farklı kozmetik ve kişisel bakım ürünlerinde en çok kullanılan koruyuculardan biridir [5]. Mantar, bakteri ve diğer potansiyel olarak zararlı mikropların büyümesini durdurmak için şampuanlar, ticari nemlendiriciler, tıraş jelleri, kişisel bakım ürünleri, topikal/parenteral ilaçlar, sprey tabaklama solisyonları ve diş macununda kullanılmaktadır [6].

Parabenler, su ve kloroformda çözünebilir bir yapıya sahiptir. Fakat alkol, eter ve asetonda çok yüksek çözünürlük göstermektedir. Bazı parabenlerin kimyasal yapısı Şekil 1.1'de gösterilmiştir.



Şekil 1.1. Bazı parabenlerin açık kimyasal yapıları

Kozmetik üründe bir veya daha fazla paraben bulunur. Tek bir ajan olarak en az %0.4 (a/h) ve tüm parabenlerin toplamında en fazla %0.8(a/h) mevcuttur [7]. %0.8(a/h)'in üzerindeki konsantrasyonlarda güçlü, metalik bir tat oluşur. Parabenler, pH:4.5-7.5 aralığında etkili koruyuculardır. Hidrolize karşı dirençlidirler ve kozmetik üretimi için gerekli sıcaklık aralıklarında stabildirler. Oldukça düşük üretim maliyetleri ile birlikte dış koşullara karşı iyi stabilite, kullanımlarının artmasına katkıda bulunur [8].

Tüm parabenler yağ fazına ayrılır, ancak daha uzun zincirli olanlar yağda, daha kısa zincirli olanlar suda daha fazla çözünür. Bu nedenle, yağ bazlı formülasyonlarda MP, etkinliği sürdürmek için daha yüksek bir konsantrasyon gerektirir. MP ve BP, esas olarak sinerjik etkilerinden dolayı kombinasyon halinde kullanılan en yaygın parabenlerdir. Hem MP hem de BP, 50 yılı aşkın bir süredir gıdalarda, ilaçlarda ve kozmetiklerde antimikrobiyal koruyucu olarak kullanılan stabil, uçucu olmayan bileşiklerdir [9]. Deriden ve gastrointestinal sistemden kolayca ve tamamen emilirler. MP ve BP, p-hidroksi benzoik aside hidrolize edilir, konjuge edilir ve konjugatlar hızla idrarla atılır [10].

Son zamanlarda yapılan bazı araştırmalar, kozmetik ürünlerde bu koruyucuların kötüye kullanılmasının insan sağlığına zararlı olduğunu alerjik kontakt dermatite, meme kanseri, düşük ve kısırlık gibi bazı hastalıklara yol açabileceğini ortaya koymuştur [11]. Bu endişe verici durumla mücadele etmek için kozmetik ürünlerde ve tüketicilerin kanında ve meme kanseri hastalarının kanında bulunan parabenin kalitatif ve kantitatif analiz yöntemlerinin geliştirilmesine önem verilmiştir [12].

1.1.2 Parabenin elde ediliŖi

Saf MP ve BP, renksiz, kokusuz ve hafif yanık bir tada sahiptir. MP ve BP, sıcak ve soğuk suda hidrolize karŖı dirençlidir ancak alkali çözeltilerde hidrolize olur. pH:3 ve 6'da tamponlanan MP ve BP'in sulu çözeltileri, 100 °C'de 2 saat veya 120 °C'de 30 dakika ısıtıldığında hiçbir bozunma oluşmamaktadır [13]. MP, sülfürik asit varlığında p-hidroksibenzoik asidin metanol esterleştirilmesiyle elde edilir [14].

1.1.3 Kozmetik kullanımları

MP ve BP kozmetikte en yaygın olarak kullanılan koruyuculardır Bu bağlamda, bu parabenler, göz makyajı ürünleri, fondöten, losyonlar, temizlik ürünleri, saç kremi, köpük banyoları, şampuanlar, çamur paketleri, koltuk altı deodorantları ve cilt aydınlatıcılar dahil olmak üzere çok çeşitli ürünlerde yaygın olarak kullanılan kozmetik koruyuculardır [16,17].

Parabenler her tür formülasyonda bulunur ve 13.200'den fazla formülasyonda kullanıma sahiptir [18]. Parabenlerin konsantrasyonları genellikle %0.3'ten azdır ve en yaygın koruyucu sistem %0.3 MP ve %0.1 BP içerir ancak %1'e kadar çıkabilir. Parabenler iyi formüle edilir çünkü algılanabilir bir koku veya tada sahip değildirler. Pratik olarak nötrdürler, renk bozulmasına neden olmazlar ve sertleşmeye veya “çamurlaşmaya” neden olmazlar [19]. Parabenleri içeren ürünler cilt, saç ve saç derisi, dudaklar, mukozalar (oral, oküler ve vajinal), koltuk altı ve tırnaklarla temas edebilir. Paraben içeren ürünler, ara sıra veya günlük olarak kullanılabilir ve kullanımları uzun yıllara yayılabilir. Buna bağlı olarak, uygulama sıklığı ve maruz kalma süresi sürekli olabilir [20].

Rastogi ve ark. [21], Amerikan Gıda Ajansı ve İlaç Dairesine göre (FDA) ürünlerde parabenlerin uygun olup olmadığını izlemek için farklı parabenlerin konsantrasyonunu ve kullanım sıklığını aydınlatmak için kozmetik ürünlerdeki parabenlerin içeriğini araştırmıştır. 215 kozmetik ürün üzerinde yapılan bir araştırmada, paraben pozitif kozmetiklerde maksimum %0.32 MP bulunmuştur. Test edilen tüm paraben içeren kozmetiklerin %98'i MP içeriyordu. Çeşitli kozmetik ürün gruplarında metil→etil→propil→butil→benzil parabenin tercihli bir kullanımı rapor edilmiştir.

1.1.4 Biyokimyasal yönleri

Sıçanlarda, tavşanlarda, köpeklerde ve kedilerde yapılan çalışmalar, parabenin gastrointestinal sistemden kolayca ve tamamen emildiğini, metabolize edildiğini ve atıldığını göstermiştir [22]. Ne ana bileşik ne de metabolitleri vücutta birikmez. İdrarda azalan konsantrasyonlardaki ana metabolitler, p-hidroksibenzoik asit ve p-hidroksibenzoik asidin glisin, glukuronik asit ve sülfürik asit konjugatlarıdır [23]. Yutulan bileşiğin çoğu, karaciğer ve böbreklerdeki normal yollarla metabolize edilir. Kronik uygulama çalışmaları ayrıca parabenin vücutta birikmediğini de göstermektedir.

1.1.5 Emilim, dağılım, metabolizma ve atılımları

Oral yoldan verilen paraben, gastrointestinal sistemden kolayca ve tamamen emilir. Matthews ve ark. [24], sodyum tuzu için öldürücü doz serbest esterden önemli ölçüde daha düşük olduğundan, parabenin sodyum tuzunun kullanımının gastrointestinal sistemden emilimini arttırdığını bildirmiştir. Nogami et al. [25], parabenin m-hidroksi türevinin bağırsaktan p-hidroksi türevinden daha hızlı emildiğini bildirmiştir. Derache ve Gourdon [26], fareleri ağızdan 100 mg paraben ile tedavi ederek diğer parabenlerle birlikte MP farmakolojisini incelemişlerdir. Kan ve idrar düzenli olarak toplanmış ve kağıt kromatografisi ile analiz edilmiştir. Sıçanlara oral uygulamadan sonra, parabenler gastrointestinal sistemden hızla emilir ve esterazlar tarafından kolayca p-hidroksibenzoik aside hidrolize edilir. Paraben metabolitleri, alımdan 30 dakika sonra ortaya çıkmıştır. Tanımlanan metabolitler, p-hidroksibenzoik, p-hidroksihippurik asit ve ester ve eter glukuronid ve bir eterli sülfattır.

MP dahil olmak üzere parabenlerin farmakolojisi Jones ve arkadaşları tarafından incelenmiştir [27]. MP ve diğer parabenlerin köpeklerde intravenöz (50 mg kg^{-1}) ve oral yoldan (1 g kg^{-1}) etkileri araştırılmış. Ana bileşiğin ve metabolitlerinin kan ve idrar içeriği farklı zaman noktalarında analiz edilmiş. Kan ve idrardaki p-hidroksibenzoik asit seviyeleri, ester bağının hazır hidrolizini önermişlerdir.

1.1.6 Enzimler ve diğer biyokimyasal parametreler üzerindeki etkileri

Parabenin dihidrofolat redüktaz enziminin aktivitesini ve bu enzimin metotreksat inhibisyonunu arttırdığı bildirilmiştir. Parabenin etkisinin, enzimde dihidrofolata olan afinitesini artıran konformasyonel değişikliklerin indüklenmesine bağlı olabileceği

öne sürülmüştür [28]. MP ve BP dahil olmak üzere alkil parabenlerin sığır serum albüminini bağladığı rapor edilmiştir. Ester zincir uzunluğundaki artışla bağlanma artar. Bağlanma süreci endotermik ve hidrofilitir. Proteine bağlı paraben, mantar önleyici aktivitesinden yoksundur [29].

MP ve BP'nin çeşitli enzimler ve amilolitik aktivite üzerinde herhangi bir etkisi gözlemlenmemiştir [30]. Peptik proteoliz ve lipolizin inhibisyonu, her iki paraben tarafından da gözlemlenmiştir. BP'nin MP'den daha güçlü olduğu bildirilmiştir. Tripsin, dehidrojenaz ve peroksidaz, parabenlerin eklenmesiyle aktivesinin artığı gözlemlenmiştir [30].

1.2 Numune Hazırlama

Numune hazırlama, numuneyi modifiye etmek, analize uygun hale getirmek veya kesinlik ve doğruluk gibi analitik parametreleri geliştirmek için gerekli olan çok sayıda işlemi kapsadığından, tüm analitik sürecin darboğazı olarak kabul edilir [31,32]. Ayrıca, olası girişimler ve düşük hassasiyet gibi tipik sorunları ortadan kaldırır. Numuneler, ilgili analitler ve matriks olmak üzere iki ayrı kısım olarak düşünülebilir. İlgilenilen analitler, belirlenecek bileşiklerdir, matriks ise yalnızca analiz gerektirmeyen, aynı zamanda girişim yapan maddeler de içerebilen numunenin geri kalanıdır. Numune hazırlama, daha iyi analitik sonuçlar elde etmek için numunede çözünme, temizleme, ön konsantrasyon veya kimyasal modifikasyonlar elde etmek için analitlerin ekstraksiyonuna, matriks dönüşümüne veya her ikisine odaklanabilir [33].

Son yıllarda, geleneksel ekstraksiyon tekniklerinin “yeşil” ekstraksiyon teknikleriyle değiştirilmesi giderek önem kazanmaktadır. Bu, yeşil analitik kimyanın tanıtılmasıyla ve 1998 yılında P. Anastas tarafından formüle edilen ve ana kaygısı çevre dostu analitik teknikler, özellikle ekstraksiyon teknikleri oluşturmak olan 12 ilke ile başlamıştır [34] Ekstraksiyon tekniklerine yönelik daha çevreci yaklaşımlar, çevresel, klinik ve gıda analizlerinde daha ucuz, daha hızlı ve çevresel açıdan güvenli uygulamaları içerir [35]. Analitik prosedürlerin olumsuz çevresel etkisi üç farklı şekilde azaltılmıştır: (I) numune hazırlamada gereken çözücü hacminin azaltılması; (II) özellikle otomasyon ve minyatürleştirme ile ölçüm adımında kullanılan solventlerin ve reaktiflerin miktarında ve toksisitesinde azalma; ve (III) çözücüler veya reaktifler gerektirmeyen farklı doğrudan analitik tekniklerin geliştirilmesidir [36]. Bu

nedenle, daha yeşil bir yaklaşıma sahip yeni geliştirilen ekstraksiyon teknikleri son yıllarda ilgi odağı olmuştur. Ayrıca, katı faz mikroekstraksiyon (SPME) ve sıvı faz mikroekstraksiyon (LPME) gibi mikroekstraksiyon teknikleri, ekstraksiyon fazının çözücülerinin çok küçük miktarlarda kullanılması nedeniyle yeşil ekstraksiyon teknikleri olarak kabul edilir.

Sürdürülebilir solventlerin geliştirilmesi ve uygulanması, farklı bilimsel ve teknolojik alanlarda ilgi çeken bir konu olmuştur [37]. Bu bağlamda, genellikle iyonik sıvılar (IL'ler) olarak adlandırılan, erime noktaları 100 °C' nin altında olan bir grup organik tuz ile uçucu organik çözücülerin değiştirilmesine yönelik kayda değer ilerlemeler elde edilmiştir [38]. Bununla birlikte, biyolojik olarak parçalanabilirlikleri, toksisiteleri, stabiliteleri ve pahalı sentezleri ile ilgili problemler onları mükemmel çözücülerden uzaklaştırmaktadır [39]. Bu nedenle, 2001 yılında IL'lere alternatif olarak derin ötektik çözücüler (DES'ler) tanımlanmıştır. Bunlar, benzer özelliklere sahipken daha kolay ve daha ucuz üretim ile daha güçlü bir çevre dostu profil sergiler [40]. DES'ler, düşük örgü enerjisine ve dolayısıyla düşük erime noktalarına sahip büyük, asimetrik iyonlar içerir. Genellikle bir kuarterner amonyum tuzunun bir metal tuzu veya hidrojen bağı donörü (HBD) ile kompleksleştirilmesiyle elde edilirler. Örneğin; bir halojenür iyonu ile hidrojen donör kısmı arasındaki hidrojen bağı yoluyla meydana gelen yük delokalizasyonu, tek tek bileşenlerin erime noktalarına göre karışımın erime noktasındaki azalmadan sorumludur [41]. 2001 yılından bu yana, dünya çapında birçok bilim insanı DES'lerin kullanımını artırmış ve çeşitli çalışmalar yayınlamıştır [42].

1.2.1 Derin ötektik çözücülerin sentezi

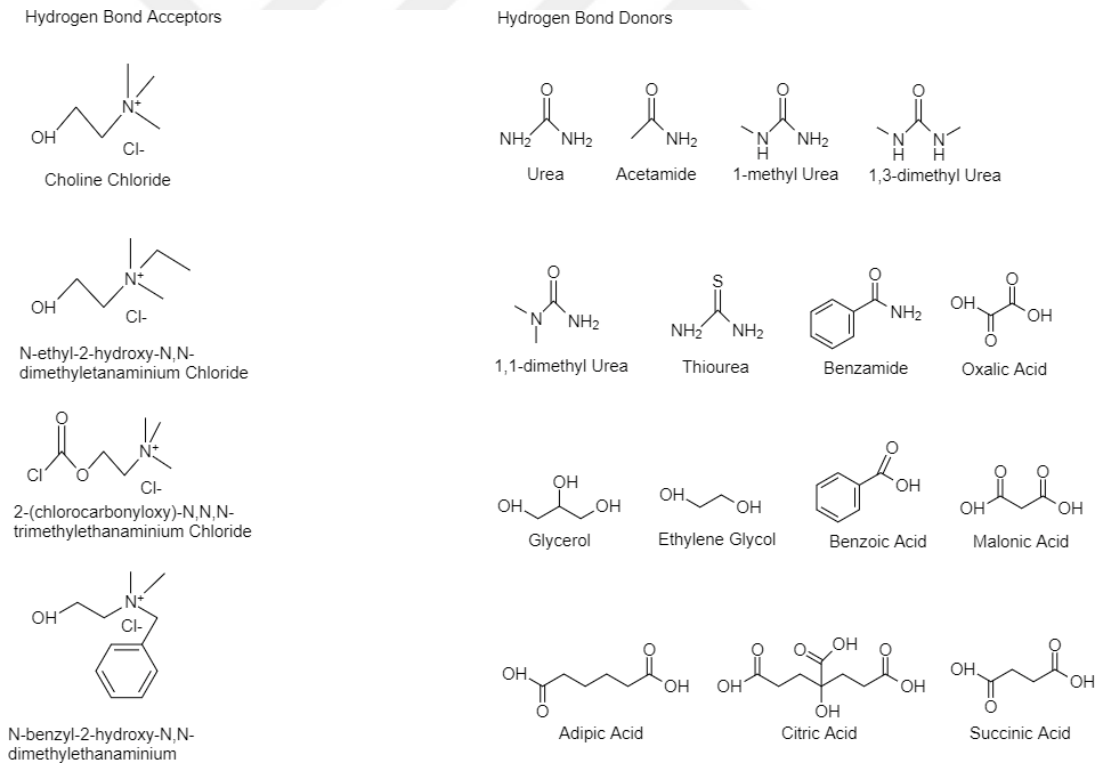
DES'leri sentezlemek için kullanılan yaklaşımlardan biri, homojen bir çözelti oluşturmak için iki veya daha fazla tuzu karıştırıp ısıtmaktır. Tipik olarak, ortam sıcaklığında erimiş tuzlar, bir hidrojen bağı alıcısı (HBA) olan kuarterner amonyum tuzlarının metal tuzları ile karıştırılmasıyla oluşturulmuştur [43]. Bu nedenle, dört farklı DES türü oluşur. Bunlar, (I) metal klorürlü kuarterner tuz, (II) hidratlı metal klorürlü kuarterner tuz, (III) bir HBD bileşiği ile dördüncül tuz (HBA) ve (IV) HBD ile metal klorür. Dört tipin ilgili genel formülleri Çizelge 1.1'de sunulmuştur.

Çizelge 1.1 Dört tip derin ötektik çözücü

Tipi	Formül	Şartlar
I	$Cat^+X^- + zMCl_x$	M = Zn, Sn, Al, Ga, Fe, In
II	$Cat^+X^- + zMCl_x \cdot yH_2O$	M = Co, Cu, Ni, Fe, Cr
III	$Cat^+X^- + zRZ$	Z = OH, COOH
IV	$MCl_x + RZ = MCl_{x-1}^+ \cdot RZ^-$ MCl_{x-1}^+	M = Zn, Al and Z = OH, CONH ₂

Cat^+ = herhangi bir fosfonyum, amonyum veya sülfonyum katyonu, X^- = bir Lewis bazı, genellikle bir halojenür anyonu, MCl_x = metal klorür, RZ = organik bileşik.

İlk iki tip hidrofilik DES'leri sentezlemek için kullanılırken, diğer ikisi hidrofobik DES sentezlemek için kullanılır [44,45]. Tip III ve IV'ün sağladığı sucul çözeltilerdeki stabilite nedeniyle, çoğu çalışmada sıklıkla kullanılırlar ve en çok kullanılan HBA kolin klorürdür (ChCl). Şekil 1.2'de bazı yaygın HBA ve HBD gösterilmektedir.



Şekil 1.2 DES oluşumunda kullanılan bazı HBA ve HBD yapıları

1.2.2 Derin ötektik çözücülerin özellikleri

DES oluşumunda bazı fizikokimyasal özelliklere katkıda bulunan çeşitli kombinasyonlarda ve molar oranlarda bir HBD ve bir HBA arasında çeşitli etkileşimler (anyon değişimi, zayıf kovalent olmayan etkileşimler, π - π ve hidrojen bağı gibi) gerçekleşir [46]. Bu fizikokimyasal özellikler viskozite, yoğunluk, iletkenlik, asitlik, yüzey gerilimi, uçuculuk ve erime veya donma noktasıdır. Hidrojen bağı proton transfer mekanizmasının fiziksel ve kimyasal özellikler üzerindeki etkisini açıklayan yoğun bir çalışma da bulunmaktadır [47]. Uygun DES'i seçmeden önce dikkate alınan diğer özellikler, biyolojik olarak parçalanabilirlik, toksisite ve termal kararlılıktır [48]. Ayrıca, hem IL'ler hem de DES'ler, su veya organik çözücüler gibi seçilen yardımcı çözücüye bağlı olarak ikili karışımlar olarak farklı fizikokimyasal özellikler sergileyebilir [49].

1.2.3 Analitik kimyada DES'ler

DES'lerin analitik kimyada kullanımı birkaç gruba ayrılabilir [50,51]:

- (a) karmaşık matrislerden hedef analitlerin (mikro) ekstraksiyonu için uygulama, ardından analitik cihazlar kullanılarak nicelleştirme;
- (b) ekstraksiyon verimliliğini artırmak için nanoparçacıkların, silika, sorbentlerin vb. modifikasyonu için uygulama;
- (c) katı numunelerin çözülmesi veya parçalanması için uygulama;
- (d) dağıtıcı katı fazlı ekstraksiyon (DSPE) prosedüründen sonra eluent olarak uygulama;
- (e) bir mobil faz katkı maddesi/değiştirici olarak kromatografide uygulamalarıdır.

Analitik kimya bakış açısından, DES tabanlı (mikro) ekstraksiyon prosedürleri, yeni bir tür homojen sıvı sıvı ekstraksiyonu (HLL) olarak düşünülebilir [52]. Genel olarak DES tabanlı HLL işlemlerinde su ile karışabilen DES ilave edildikten sonra homojen bir çözelti oluşur. Bu nedenle, bulanık bir çözelti elde etmek için bir emülgatör çözücünün (genellikle tetrahidrofuran) eklenmesi gereklidir. Ardından, agregat olmuş DES damlacıklarını sulu numuneye dağıtmak için sıklıkla ultrasonik bir banyoda sonikasyon kullanılır. Faz ayrımı genellikle santrifüjleme ile sağlanır [53].

1.2.4 DES'lerin katı ve sıvı numuneler için uygulamaları

DES'lerin sıvı numuneler (Çizelge 1.2) ve katı numuneler (Çizelge 1.3) için uygulamaları araştırılmıştır. İlgili çizelgeler ayrıca numune matriksi, kullanılan DES, tespit limiti ve analitik cihazlar ilgili ayrıntılar verilmiştir. Numunenin kümelene durumundan ve analit türünden bağımsız olarak, DES sentezi için, kolin klorür (ChCl), bildirilen prosedürlerin çoğunda DES oluşumu için bir hidrojen bağı alıcısı olarak işlev görmüştür. Öte yandan, organik asitler [54,55], fenol [56] ve türevleri gliserol [59] ve üre [60], bir hidrojen vericisi olarak kullanılmaktadır. Ekstraksiyondan sonra, hedef analitleri içeren DES fazı, ekstrakt olmadan doğrudan HPLC-UV [61], HPLC-MS [62], GC-FID [63], ve GC-MS [64] sistemlerine dahil edilmiştir. FAAS [65] ve ICP-OES [66] kullanılarak metallerin belirlenmesinde, DES faz viskozitesini azaltmak ve nebulizasyon için mevcut hacmi artırmak için su veya alkol ile ekstrakt ön seyreltmesini içerir.

Çizelge 1.2 Sıvı numunelerin kimyasal analizi için DES'lerin uygulanması

Analit	Örnek	Örnek hacmi (mL)	DES bileşimi	DES hacmi (uL)	Tayin tekniği	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DES yöntemi	Kaynak
Cd	Su	15	ZnCl ₂ :asetamid (1:2)	350	FAAS	0.504	DES-ME	[49]
Cr(III/VI)	Su	10	ChCl:fenol (1:3)	450	FAAS	550	UA-DES-ELPME	[50]
Co	İlaçlar	10	ChCl:fenol (1:4)	500	FAAS	1.1	DES-UALPME	[51]
Cu ve Ni	Su, üre	50	ChCl:üre (1:2)	–	FAAS	0.05–0.60	Online SPE (DES)	[52]
Pb ve Cd	Su, katı örnekler ve saç	60	ChCl:üre (1:2.5)	200	FAAS	0.4 and 0.1	DES-MNP	[53]
Pb ve Cd	Yağlar	28	ChCl:üre (1:2)	200	ETAAS	0.08 ve 0.002	DES-LPME	[54]
BTE ve PAHs	Su	1.5	ChCl:fenol (1:2)	100	HPLC-UV	0.02–6.8	ELLME-DES	[55]
Dopamin, epinefrin	Üre ve serum	10	ChCl:üre (1:2)	–	HPLC-UV	0.22–0.36	DSPE-DES (DES as)	[56]
Malahit yeşili	Su	10	ChCl:fenol (1:4)	500	UV-VIS	3.6	DES-UA-ELPME	[57]
Metadon	Su, üre ve plazma	10	ChCl:TNO (1:2)	100	GC-FID	0.7	DES-AAELLME	[58]
Organoklor	Su	50	ChCl:üre (1:2)	50	GC- μ ECD	0.0004–0.0027	DES-MBG-dSPE	[59]
Pestisit	Meyve suyu	5	ChCl:p-klorofenol (1:2)	122	GC-FID	0.46–3.1	DES-DLLME	[60]
Bitki büyüme düzenleyicileri	Yağlar	1	Tetrametilamonyumklorür	30	HPLC-UV	5–7.5	DES-LPME	[61]
Fenolik bileşikler	Yağlar	14	ChCl: ksilitol (2:1)	14,000	HPLC-UV	–	DES-LLE	[62]
Toplam fenolik içerik	Yağlar	1	Laktik asit:glikoz:su	5000	UV-Vis	–	DES-LLE	[63]

DES – derin ötektik çözücü, ChCl – kolin klorür, PAH'lar – polisiklik aromatik hidrokarbonlar, BTE – benzen, toluen, etilbenzen, TNO ve ttrahidro-5,5,8,8-tetrametilnaftalin-2-ol, GC-FID – gaz kromatografisi alevi iyonizasyon dedektörü, HPLC-UV – yüksek performanslı sıvı kromatografisi ultraviyole algılama, FAAS – alev atomik absorpsiyon spektroskopisi, UV-Vis – ultraviyole-görünür spektroskopisi, GC- μ ECD – gaz kromatografisi mikro elektron yakalama dedektörü, ETAAS – elektrotermal atomik absorpsiyon spektrometrisi. ME – mikro ekstraksiyon, UA-DES-ELPME – emülsifikasyon sıvı faz mikro ekstraksiyonuna dayalı ultrason destekli derin ötektik solvent, DES-UALPME – derin ötektik solvent ultrason destekli sıvı faz mikro ekstraksiyon, SPE – katı faz ekstraksiyonu, MNP – manyetik nanopartiküller, LPME – sıvı fazlı mikro ekstraksiyon, ELLME – emülsifikasyon sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon, DSPE – dispersif katı faz ekstraksiyon, AAELLME – hava destekli emülsifikasyon sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon, MBG-dSPE – manyetik bucky jeller dağıtıcı katı faz ekstraksiyonu, LLME – sıvı-sıvı mikro özütleme, DLLME – dağıtıcı sıvı-sıvı mikro özütleme, DI-LPME – doğrudan daldırma sıvı fazı mikro özütleme, LLE – sıvı-sıvı ekstraksiyonu

Çizelge 1.2 Katı numunelerin kimyasal analizi için DES'lerin uygulanması

Analit	Örnek	Örnek hacmi (mL)	DES bileşimi	DES hacmi (uL)	Tayin tekniği	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	DES yöntemi	Kaynak
As, Cr, Mo, Sb, Se ve V	Tarımsal örnekler	0.1	ChCl:okzalik asit (1:2)	10	ICP-OES	0.009–0.1	UAE ve ısıtılmış DES	[64]
Cu, Fe ve Zn	Balık	0.1	ChCl: okzalik asit (1:2)	2.5	FAAS	0.006–0.053	DES bozundurma	[65]
Cu, Fe, Ni ve Zn	Deniz ürünleri	0.1	ChCl: okzalik asit (1:2)	2	ICP-OES	0.04–0.56	MAD-DES	[66]
Fe	Koyun, sığır	0.050	ChCl:laktik asit (1:1)	8	FAAS	0.026	UA-DES-E	[67]
Mn	Sebze örnekleri	–	ChCl:tartarik, okzalik, sitrik asitler (1:1)	–	ICP-OES	0.0034–0.0123	DES	[68]
Organik analitler	<i>Chamaecyparis</i>	–	ChCl:etilen glikol (1:4)	0.002	GC-FID	0.02–0.03	DES-HS-SME	[69]
PAH	Deniz ürünleri	0.1	ChCl:okzalik asit (1:2)	2.5	HPLC-FLD	0.005–0.03	DES	[70]
Fenoller	<i>Cajanus cajan</i>	2	ChCl:maltoz (1:2), 20% (v/v) su	60	UPLC-UV	0.06–0.13	NADES-MAE	[71]
Fenoller	<i>Pyrola</i> yaprakları	1	ChCl:1,4-büteldiol(1:4), 30% su	10	HPLC-UV	0.04–0.14	PDES-MAE	[72]
Fenoller	Üzüm kabuğu	–	ChCl: okzalik asit (1:2), 25% water	–	HPLC-UV	0.0005–0.0037	UAE-DES	[73]
Okratoksin A	Beyaz un	4	ChCl:üre (1:2), 40% su	4	HPLC-FLD	0.0009	DES	[74]

DES – derin ötektik çözücü, ChCl – kolin klorür, PAH – polisiklik aromatik hidrokarbonlar, ICP-OES – endüktif olarak eşleştirilmiş plazma optik emisyon spektrometrisi, FAAS – alev atomik absorpsiyon spektroskopisi, GC-FID – gaz kromatografisi alev iyonizasyon dedektörü, HPLC-UV – yüksek performans sıvı kromatografisi ultraviyole tespiti, HPLC-FLD – yüksek performanslı sıvı kromatografisi floresan tespiti, GC-MS – gaz kromatografisi kütle spektrofotometresi. BAE – ultrason destekli ekstraksiyon, MAD – mikrodalga destekli sindirim, UA-DES-E – ultrason destekli derin ötektik solvent ekstraksiyonu, HS-SME – headspace-solvent mikro ekstraksiyon, MAE – mikrodalga destekli ekstraksiyon, PDES-MAE – poliol bazlı derin ötektik çözücüler mikrodalga destekli ekstraksiyon, NADES-MAE – doğal derin ötektik çözücüler mikrodalga destekli ekstraksiyon, MADESE-SPME – üst boşluk katı fazlı mikro ekstraksiyon ile birleştirilmiş mikrodalga destekli derin ötektik solvent ekstraksiyonu.

Kolin klorür bazlı DES'nin suda çözünür olması nedeniyle, analit içeren DES fazının ayrılması, aprotik bir organik çözücünün eklenmesi kullanılarak homojen bir sulu numune çözeltilisinden gerçekleşir. Kendi kendine kümelenme olgusu, su ve DES arasındaki etkileşimlere kıyasla aprotik çözücü ve su arasındaki daha güçlü etkileşimlerle açıklanabilir [67]. Genel olarak, aprotik organik çözücü ilavesinden sonra, bulanık bir durumun oluşumu gözlemlenir ve DES fazını ayırmak için bir santrifüjleme aşaması gereklidir. Su numuneleri ile ilgili olarak, poliaromatik hidrokarbonlar [68], pestisitler [69] ve metaller [70] en çok belirlenen analitler olup, ekstraksiyon prosedürleri ChCl:fenol, ChCl:gliserol, ChCl:üre, ChCl:glukoz ve ChCl:pklorofenol bileşimleri kullanımına dayanmaktadır.

Organik sıvı numunelerden (esas olarak bitkisel yağlar) veya organik çözücülerden [71] ve katı numunelerden (bitkiler, toprak ve gıdalar) analitlerin ekstraksiyon prosedürü biraz farklıdır. ChCl bazlı DES'ler organik sıvı numunelerde çözünmezler. Bir DES ve organik sıvı numune karışımının ultrason veya vorteks kullanılarak karıştırılması, bulutlu bir durumun oluşumunu destekler. Bitkisel yağlarda hidroksisinamik asitlerin, fenolik bileşiklerin ve metallerin belirlenmesi için DES'lerden yararlanılmıştır. DES viskozitesini azaltmak için, özellikle katı faz numune analizi için, karışıma su eklenir veya ısıtma da kullanılır. Katı numunelerin ekstraksiyonundan sonra, santrifüjleme ile elde edilen süspansiyonların filtrasyonu genellikle aletli analizden önce yapılır. DES-numune oranı, yüksek ekstraksiyon verimliliği elde etmede önemli bir rol oynar. Tekrarlanabilir ekstraksiyon sağlamak için katı numune analizi için nispeten büyük bir DES hacminin gerekli olduğu belirtilmelidir. Ekstraksiyon için kullanılmalarının yanı sıra, DES'ler moleküler olarak baskılanmış polimerlerin sentezinde [72], ekstraksiyon verimliliğini artırmak için sorbent modifikasyonunda [73], kromatografide mobil faz katkı maddesi/değiştirici olarak [74] ve bir eluent olarak uygulama bulmuştur.

1.3 Deneysel Tasarım

Günümüzde, numune hazırlama yöntemlerini basitleştirme ve minyatürleştirme eğilimi, özütleme fazının çok küçük bir hacmini kullanan etkili ve düşük maliyetli mikro özütleme tekniklerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Bunların arasında, sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (LLME) yöntemi, çok sayıda analitik yöntem uygulanabilen basit ve etkili bir numune ön işleme tekniğidir. İlgili bir minyatürleştirilmiş ve çevre dostu ekstraksiyon tekniği, dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DLLME), son yıllarda

geliştirildi ve diğer sıvı veya hatta katı faz ekstraksiyon yöntemlerine kıyasla çok yüksek bir zenginleştirme faktörü ve çok düşük solvent tüketimi göstermektedir. DLLME ve türevlerine birkaç etkili parametrenin dahil edilmesi, mümkün olan en iyi ekstraksiyon sonuçlarını elde etmek için optimizasyon ihtiyacını artırmıştır. Aslında, deneysel tasarım ve performans koşullarının optimizasyonu, analitik kimyada kemometriklerin en önemli uygulamalarıdır. Böylece, deney tasarımı (DoE), değişkenler arasındaki ilişkinin en iyi modelini ve ayrıca optimal deneysel koşulları belirlememize yardımcı olur. Burada, DLLME uygulamalarını optimize etmek için tam faktöriyel, kesirli faktöriyel, Plackett-Burman, ortogonal dizi, merkezi bileşik, Box-Behnken, Doehlert ve D-optimal tasarımları yaygın olarak kullanılmaktadır [75]. Deney tasarımı (DoE), süreç optimizasyonunda etkili faktörleri belirlemek ve kontrol etmek için en yaygın tekniklerden biridir. İstatistiksel yöntemlerin kullanıldığı (problemin türüne göre) bu teknikte önemli faktörler belirlenir ve kontrol edilemeyen değişkenler azaltılır. DoE ilk olarak 1920'de Fisher ve Yates tarafından geliştirilmiş [76] ve yanıt üzerindeki farklı faktörlerin etkisini araştırmak için kontrollü koşullara sahip bir DoE versiyonunu içermektedir. Aslında tasarımın, etkili faktörlerin belirlenmesi, faktörlerin belirlenen yanıt(lar) üzerindeki etkisinin tahmin edilmesi, faktörler arasındaki etkileşimlerin belirlenmesi ve faktörler ile tepki(ler) arasında matematiksel ilişki oluşturmak için optimizasyon ve modelleme gibi farklı amaçları vardır. Deney tasarımı, tüm değişkenlerin bir deneyden diğerine değiştirilmesini içerir, çünkü değişkenler birbirini de etkileyebilir ve bir değişken için ideal değer diğer değişkenlerle ilişkili olabilir [77]. DoE'deki faktörler niteliksel veya niceliksel olabilir. DoE'de önce süreci etkileyen faktörler seçilir. Daha sonra önceki araştırmalar ve genel bilgiler dikkate alınarak bu faktörlerden bir dizi değerlendirilir. DoE'nin en önemli hedeflerinden biri, en iyi deneysel yanıtı oluşturan faktörlerin seviyelerini bulmaktır. Faktör seviyeleri olarak adlandırılan faktörlere farklı değerler atanır. Tipik olarak, bu seviyeler -1, 0 ve +1 sayılarıyla veya kullanılan yazılıma bağlı diğer işaretlerle belirtilir. Faktörlerin etkilerine yanıtı ilişkilendiren modele yanıt fonksiyonu veya çok değişkenli doğası nedeniyle yanıt yüzeyi denir.

DoE'nin bir diğer amacı, faktörlerin etkilerini anlamak ve minimum deney sayısını kullanarak faktörler ve analitik sonuçlar arasındaki ilişkiyi modellemektir. Bu, test alanının (test koşulları) doğru ve verimli bir tasarımını gerektirir. Böylece deney koşullarının tasarımı iyi ise zamandan ve maliyetten tasarruf edilir. Bu adımda

modelleme yapılarak deneysel koşullarının optimizasyonu mümkündür. Bu konunun önemi ve analitik kimyadaki uygulamaları nedeniyle, gösterildiği gibi birkaç derleme makalesi yayınlanmıştır [78-81]. Tüm bu makaleler, kimyanın tüm dallarında yüksek kaliteli ölçümler için parametre optimizasyonu kavramının anlaşılması gerektiğini belirtmektedir. Bu, modern analitik kimya yöntemlerini kullanarak kabul edilebilir ve arzu edilen sonuçlara ulaşmak isteyen bilim adamları için özellikle önemlidir. Ek olarak, birçok deney, birden çok yanıtın eşzamanlı optimizasyonunu gerektirir. Faktörlerin ve yanıt değişkenlerinin sayısı arttıkça problemin boyutlarının sayısı arttığında, geleneksel yaklaşımlar optimal çözümleri bulamayacaktır.

Sonuç olarak, DoE, yüksek verimliliğe sahip üstün bir stratejidir ve analitik kimyanın tüm dallarında geniş uygulama kazanmıştır. Ekstraksiyon süreçlerinin girdileri, çıktıları ve çeşitli kontrol edilebilir ve kontrol edilemez faktörleri vardır. Bu nedenle, girdilerin çıktılara dönüştürülmesi sürecinde faktör etkilerinin oranı ve şekli açıkça biliniyorsa süreç kontrol edilebilir. Geleneksel bir yöntemde, faktörlerin ilk araştırılması çok zaman alan ve maliyetli olan en önemli aşamadır. Son yıllarda, istatistiksel yöntemlerin (özellikle deneysel tasarım) kullanılması, bir çalışmada gerekli olan çalışma sayısında önemli bir azalmaya yol açarak zaman ve maliyet tasarrufu sağlamıştır. Ekstraksiyon yöntemlerini birden çok faktörün etkilediği düşünüldüğünde, DoE kullanımı sistematik olarak yüksek verim elde edilmesini sağlar [82]. Birçok DLLME çalışmasında, önemli faktörleri belirlemek ve değerlendirmek için adım adım bir yaklaşım kullanılır. Ancak faktör sayısı fazla olduğunda adım adım yaklaşım uygun değildir ve faktörler arasındaki etkileşimleri gösteremez. Deneyde farklı seviyelerde birkaç faktör söz konusu olduğunda, optimal sonuçlara ulaşmak için etkili ve verimli bir deney tasarımının oluşturulması çok önemlidir. DLLME sürecini etkileyen faktörleri değerlendirmek için DoE'nin kullanılması, süreç optimizasyonu için gereken deney sayısını azaltır, böylece zaman, maliyet ve çevre kirliliğini en aza indirir. Bu nedenle, işlem parametrelerinin taranması ve optimizasyonu için DoE kullanılır.

2. MATERYAL VE METOD

Tez çalışmasında, kozmetik örneklerden metil paraben (MP) ve bütülpabenin (BP) ayrılması, önderiştirilmesi ve tayini için kemometrik optimizasyona dayalı ve derin ötektik çözücülerin kullanıldığı iki farklı analitik yöntem geliştirildi. Her iki çalışmada ortak kullanılan cihazlar, kimyasallar, örnek toplama ve hazırlama basamakları aşağıda detaylandırılmıştır.

2.1 Cihazlar

MP ve BP'nin tayinleri Shimadzu marka 1800 model UV-Vis spektrofotometre kullanıldı. Tez çalışması boyunca, tüm çözeltiler Milli-Q su arıtma sisteminden (Millipore, ABD) elde edilen ultra saf su kullanılarak hazırlandı. Ekstraksiyon ve örnek hazırlama adımlarında ultrasonik banyo (A SK5210LHC Kudos, Şanghay, Çin) ve dijital pH metre (Mettler Toledo FE28, Zürih, İsviçre) kullanıldı. Kemometri analizi, deneysel tasarım ve optimizasyon adımı için Design-Expert® yazılımı sürüm 13 (Stat-Ease Inc., Minneapolis) kullanıldı. Çözeltiler buzdolabında yaklaşık 4 °C de saklandı.

2.2 Kimyasallar

Deneyselerde kullanılan tüm kimyasallar analitik saflıktaydı. MP ve BP (saflık > %99), Sigma-Aldrich'ten (Steinheim, Almanya) satın alındı ve stok çözeltileri (1000 mg L⁻¹) uygun miktarlarının metanolde çözülerek hazırlandı. Çalışma çözeltileri ve kalibrasyon çözeltileri stok çözeltilerin günlük sıralı seyreltmeleri ile hazırlandı. Metanol (saflık ≥ 98) Merck'ten (Almanya) satın alındı. Fosfat tampon çözeltisi (0.2 mol L⁻¹ pH=6.6), 18.75 mL 0.2 mol L⁻¹ dibazik sodyum fosfat ile 31.25 mL monobazik sodyum fosfatın 50 mL su içinde karıştırılmasıyla hazırlandı. Farklı derişimlerde NaCl çözeltileri onun stok katısından (saflık ≥ %99, Merck) uygun miktarlarının su içerisinde çözünmesiyle hazırlandı. n-oktanoik asit (C8, saflık ≥ 98, Merck), nonanoik asit (C9, saflık ≥ 96, Sigma), dekanooik asit (C10, saflık ≥ 98, Sigma), undekanoik asit (C11, saflık ≥ %99, Merck) ve dodekanoik asit (C12, saflık ≥ 96, Merck), düşük viskoziteli yağ asidi bazlı derin ötektik çözücülerin hazırlanmasında kullanıldı. N,N-dietiletanolamonyum klorür, etilen glikol, kolin klorür, gliserol ve prolin Merck'ten (Darmstadt, Almanya) satın alındı. Malik asit, sakaroz ve 1,2-Propandiol, Sigma-Aldrich'ten (Steinheim, Almanya) satın alındı. Laktik asit, tetrahidrofuran (THF) ve

glikoz, Across Organics'ten (Geel, Belçika) satın alındı. Asetat tampon çözeltisi (100 mM, pH 4.5), 2.93 g sodyum asetat trihidrat ve 1.62 mL buzlu asetik asit karıştırılarak hazırlandı.

Erlen, beher, balon joje, cam ve plastik saklama kapları, santrifüj tüpleri, cam tüpler, baget gibi deneysel çalışmalarda kullanılan malzemelerden gelebilecek kimyasal kirlenmeleri ve analit kayıplarını önlemek amacıyla deneylerden önce temizlik işlemi yapıldı. Temizlik işleminde, malzemeler deterjanlı su ile iyice yıkanıp bol su ile durulandıktan sonra %10 'luk HNO₃ çözeltisinde 5 dakika bekletilmesinin akabinde saf su ile iyice durulanıp kurutulularak kullanıldı.

2.3 Örnek Toplama ve Hazırlama

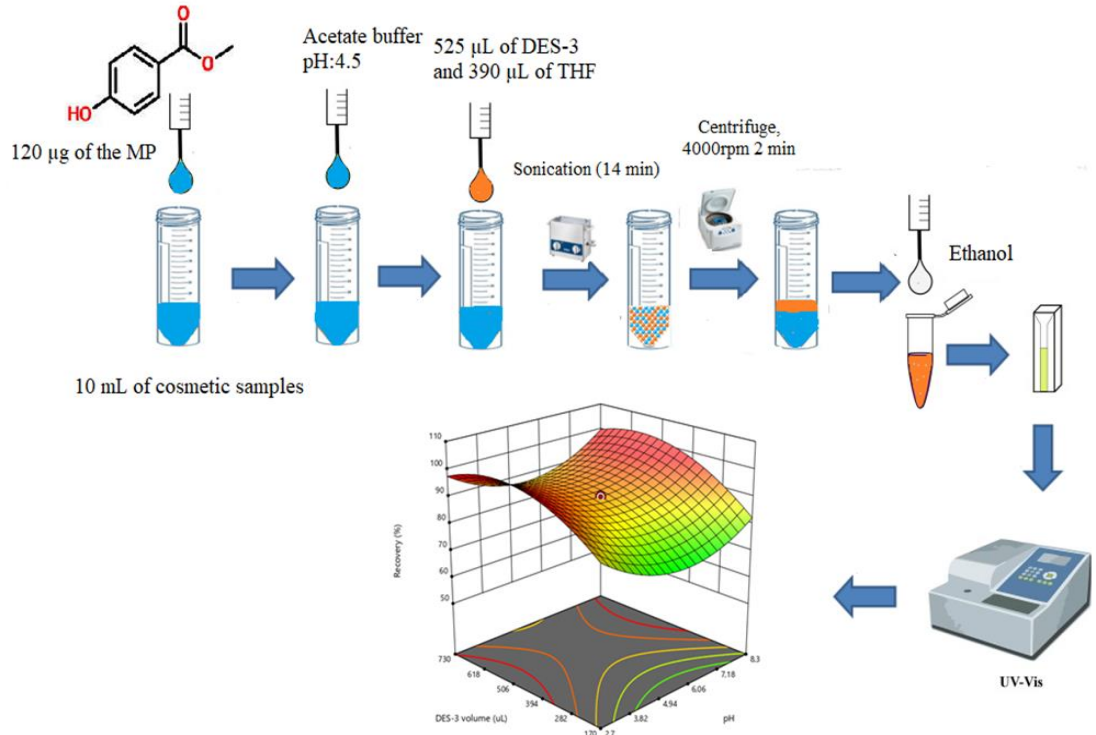
Şampuan, duş jeli, saç kremi, nemlendirici krem, güneş kremi, el kremi, sivilce önleyici krem, yüz bakım jeli, sıvı sabun, yüz nemlendirici jel, jel sabun, diş macunu, göz çevresi bakım kremi, argan özlü saç maskesi, yüz kil maskesi, kenevir yağı ayak maskesi, yüz temizleme jeli, sıkılaştırıcı vücut losyonu, antibakteriyel sıvı sabun, saç bakım maskesi, katı sabun ve kil el maskesi Sivas'ta bulunan EZEL kozmetik firmasından temin edildi. Bu ürünlerin örnek hazırlama adımları literatürde daha önce bildirilen yöntemlere göre gerçekleştirildi [83]. Buna göre, ilk olarak, katı (1 g) ve sıvı numuneler (5 mL), 50 mL santrifüj tüplerine eklendi. Daha sonra, tüplere 10 mL etanol ilave edildi. Ardından, tüpler ultrasonik banyoya yerleştirildi ve oda sıcaklığında 52 kHz'de 10 dakika sonike edildi. Elde edilen karışım, 0.22 µm'lik bir millipore membran filtre kullanılarak süzüldü. Son olarak, elde edilen süpernatantın 10 mL'sine geliştirilen yöntemler uygulanarak MP ve BP içerikleri analiz edildi.

3. BULGULAR

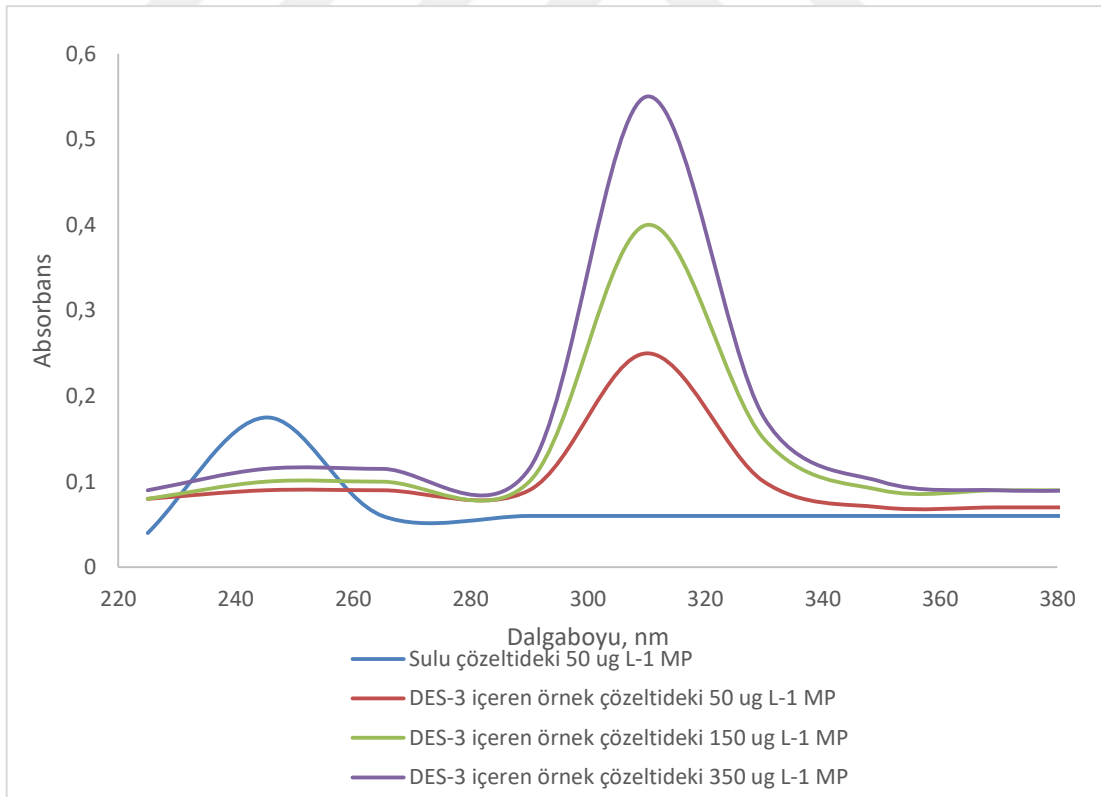
Tez çalışmasında, kozmetik örneklerden MP ve BP'nin UV-Vis spektrofotometrik tayinleri öncesi iki ayrı mikroekstraksiyon yöntemi geliştirilmiştir. MP için geliştirilen yöntemin kısaltması DES-SA-DLLME iken, BP için geliştirilen yöntemin kısaltması ise LW yağ asid bazlı-DES AA-LLME dir.

3.1 DES-SA-DLLME Yöntemi

DES-SA-DLLME yönteminin deneysel aşamaları şöyledir. İlk olarak, bölüm 2.3'te açıklandığı gibi hazırlanan 10 mL kozmetik numune, 120 µg MP içeren 15 mL'lik falcon tüplere ilave edildi. Daha sonra, numune çözeltilerinin pH'ı, asetat tampon çözeltisi kullanılarak pH 4.5'e ayarlandı. 525 µL DES-3 (sırasıyla 1:2:3 molar oranlı prolin, malik asit ve su karışımından oluşur) ve 390 µL THF, elde edilen karışımdan MP'yi ekstrakte için numune çözeltisine ilave edildi ve tüpler ultrasonik banyoya yerleştirildi. Ardından, hazırlanan DES-3'ün (ekstraksiyon solventi olarak) numune çözeltisine etkin dağılımını ve MP ile etkileşimini arttırmak için tüpler oda sıcaklığında 14 dakika sonikasyona tabi tutuldu. Sonikasyondan sonra tüpler 4000 rpm'de 2 dakika santrifüjlendi ve MP'yi içeren DES-3 fazı sulu çözeltinin üzerinde toplandı. Sulu kısım boşaltıldı, kalan fazın son hacmi etanol ile 500 µL'ye tamamlandı. Ardından elde edilen çözelti mikro kuvars küvetlere aktarıldı. Son olarak, UV-Vis spektrofotometresi kullanılarak 315 nm'de absorbans ölçümleri yapıldı. Ekstraksiyon ve analiz adımları, numune körüne paralel olarak üç tekrar halinde gerçekleştirildi. DES-SA-DLLME yöntemin deneysel basamakları Şekil 3.1'de sunulmuştur. Ayrıca optimum koşullarda MP için elde edilen spektrumlar Şelil 3.2'de vermiştir.



Şekil 3.1 DES-SA-DLLME yöntemin deneysel basamakları



Şekil 3.2 Optimum koşullarda elde edilen MP spektrumlar

3.1.1 DES hazırlama

DES'ler, HBA ve HBD grupları içeren en az iki kimyasal türün belirli bir molar oranda karıştırılmasıyla pratik olarak hazırlanır. Bu çalışmada, literatürde bildirilen yöntemlere göre altı DES hazırlandı [84]. HBA olarak etilen glikol, gliserol, malik asit, sukroz, 1,2-propandiol ve glukoz, HBD olarak N,N-dietil etanolamonyum klorür, kolin klorür, prolin ve laktik asit kullanıldı. İlk olarak, HBA ve HBD türleri beherlere belirli molar oranda eklendi. Daha sonra beherler magnetik ısıtıcı tablaya yerleştirildi ve homojen bir sıvı elde edilene kadar karıştırılarak ısıtıldı. Homojen sıvı oluşumu, DES'lerin hazırlandığını gösterdi. Hazırlanan DES'ler, oda sıcaklığına soğutulduktan sonra mikroekstraksiyon çalışmaları için test edildi. Hazırlanan DES'lerin kombinasyonları, molar oranları ve sembolleri Çizelge 3.1'de sunulmuştur.

Çizelge 3.1 Hazırlanan DES'lerin molar oranları, bileşimi ve sembolü

Sembol	HBD	HBA	Molar oran	Geri kazanım (%)
DES-1	N,N- dietil etanol amonyum klorür	Etilen glikol	1:1	45.1
DES-2	Kolin klorür	Gliserol	1:2	60.9
DES-3	Prolin	Malik asit:su	1:1:3	88.3
DES-4	Kolin klorür	Sakaroz	4:1	54.7
DES-5	Kolin klorür	1,2-Propandiol:su	1:1:1	78.5
DES-6	Laktik asit	Glikoz: su	5:1:3	74.2

3.1.2 Deneysel modelleme

DES-SA-DLLME yönteminin temel mikro ekstraksiyon faktörlerinin optimizasyonu için kemometrik yaklaşıma dayalı merkezi kompozit tasarımı (CCD) uygulandı. Ön deneylerin sonucuna dayanarak, CCD tarafından optimizasyon için pH (A), DES-3 hacmi (B), sonikasyon süresi (C) ve THF hacmi (D) temel mikroekstraksiyon faktörleri olarak seçildi. Bu kapsamda dört değişkenli beş seviyeli bir tam CCD oluşturuldu. Altısı merkezi çalışma olmak üzere toplam 30 deney yapıldı. CCD'nin faktörleri, seviyeleri, birimleri ve sembolleri Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2 Optimizasyon için CCD'deki değişkenler ve seviyeleri

Sembol	Faktör	Birim	Seviyeler				
			Düşük	Orta	Yüksek	-alpha	+alpha
A	pH		3	5.5	8	2.7	8.3
B	DES-3 hacmi	µL	200	450	700	170	730
C	Sonikasyon süresi	min	3	11.5	20	1.98	21.02
D	THF hacmi	µL	100	250	400	82	418

3.1.3 Geri kazanım ve analitik parametrelerinin hesaplanması

Yüzde geri kazanım, DES-SA-DLLME yönteminin mikroekstraksiyon parametrelerinin uygun değerlerini belirlemek için referans olarak değerlendirildi.

Geri kazanım yüzdesi aşağıdaki formüle göre hesaplandı;

$$\text{Geri kazanım (\%)} = 100 \times C_{\text{final}} V_{\text{final}} / C_o V_o \quad (1)$$

Burada, V_{final} , V_o , C_{final} ve C_o sırasıyla ölçülen fazın hacmini, başlangıç çözeltinin hacmini, ölçülen fazdaki MP derişimi ve başlangıç çözeltiye eklenen MP derişimini ifade eder. Gözlenebilme sınırı (GS) ve tayin sınırı (TS) aşağıdaki formüller kullanılarak hesaplandı.

$$GS = 3S_{\text{boş}}/m \quad (2)$$

$$TS = 10S_{\text{boş}}/m \quad (3)$$

Burada, $S_{\text{boş}}$, kör numunelerin standart sapması iken, m , kalibrasyon grafiğinin eğimidir. Zenginleştirme faktörü (EF) aşağıdaki formül kullanılarak hesaplandı.

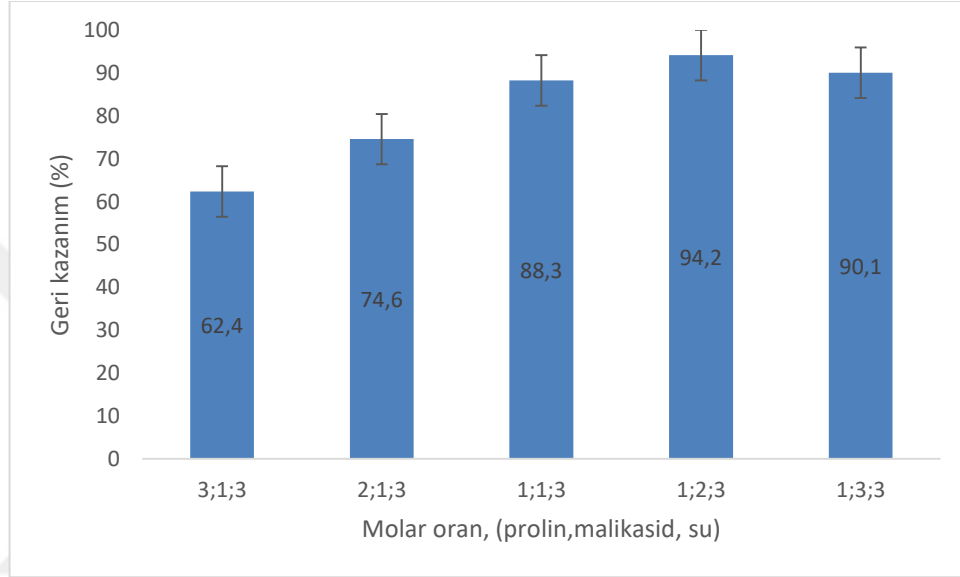
$$EF = m_1/m_2 \quad (4)$$

Burada m_1 , DES-SA-DLLME yöntemi kullanılmadan elde edilen kalibrasyon grafiğinin eğimi iken m_2 , DES-SA-DLLME yöntemi uygulandıktan sonra elde edilen kalibrasyon grafiğinin eğimidir.

3.1.4 Ön çalışmalar

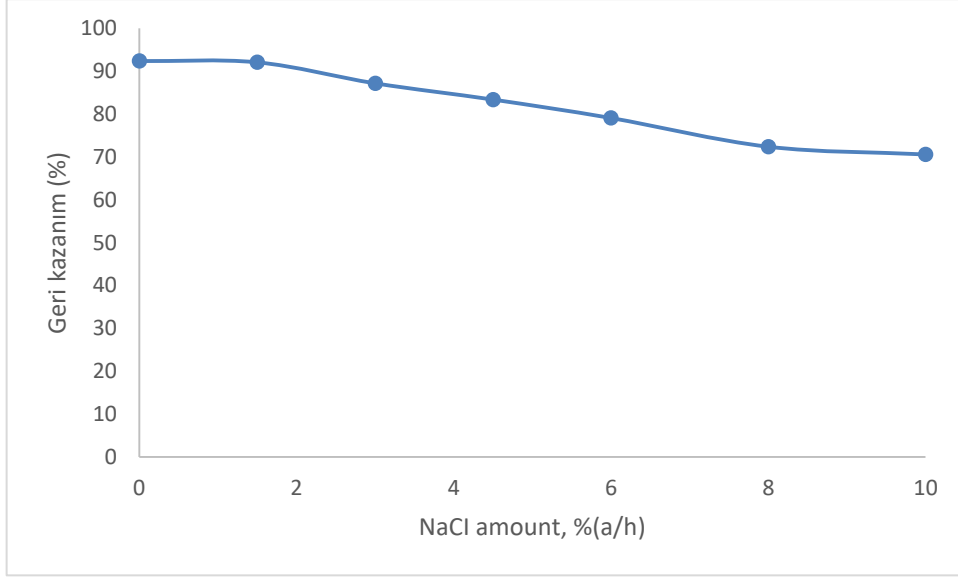
Kemometrik optimizasyonu uygulamadan önce, hızlı ekstraksiyon ve nicel geri kazanımları sağlamak için uygun DES tipi ve molar oranın seçimi önemlidir. Bu kapsamda, Bölüm 3.1.1'de hazırlanan altı farklı DES, MP'nin ekstraksiyonu için test edildi. Bu çalışmada tüm DES'lerin eşit hacimleri kullanıldı. Uygulama sonucunda elde edilen geri kazanım değerleri Çizelge 3.1'de sunulmuştur. İlgili çizelgeden görüleceği üzere MP için elde edilen geri kazanım değerleri sırasıyla DES-3 (%88.3) > DES-5 (%78.5) > DES-6 (%74.2) > DES-2 (%60.9) > DES -4 (%54.7) > DES-1

(%45.1) dir. Elde edilen sonuçlara göre uygun ekstraksiyon solventi olarak prolin, malik asit ve su karışımından oluşan DES-3 seçildi. DES'in etkinliğini etkileyen diğer bir parametre, onu oluşturan bileşenlerin molar oranıdır. Bu kapsamda DES-3'ü oluşturan bileşenlerin molar oranları değiştirilerek en etkin molar oran belirlenmeye çalışıldı. Prolin, malik asit ve su karışımından oluşan DES-3 için optimum mol oranı 1:2:3 olarak belirlendi ve bu koşullar altında en iyi faz ayrımı ve dolayısıyla MP'den en yüksek geri kazanım elde edilmiştir. Kapsamlı sonuçlar Şekil 3.3'de verilmiştir.



Şekil 3.3 Molar oranın MP geri kazanımına etkisi

DES'e dayalı DLLME çalışmalarında, numune çözeltisinin iyonik gücü ayırma verimini değiştirebilir. Bu bağlamda, iyonik gücün faz ayrılması ve MP'nin geri kazanılması üzerindeki etkisi, farklı NaCl konsantrasyonları (%0 ila %10 (a/h)) için test edildi. Sonuçlar Şekil 3.4'de verilmiştir. MP'nin geri kazanımı, artan NaCl konsantrasyonu ile sürekli olarak azaldı. Burada MP'nin geri kazanımındaki azalmanın nedeni, hidrojen bağı alıcısı olarak klorür iyonunun, DES-3'teki hidrojen bağı verici türü olan malik asit ile kolayca hidrojen bağı oluşturabilmesidir. Buna göre DES-3 oluşumu gerçekleşmez ve daha düşük geri kazanım sağlanır. Bu nedenle, daha sonraki çalışmalar için numune çözeltisinin iyonik gücünü ayarlamak için tuz eklenmedi.



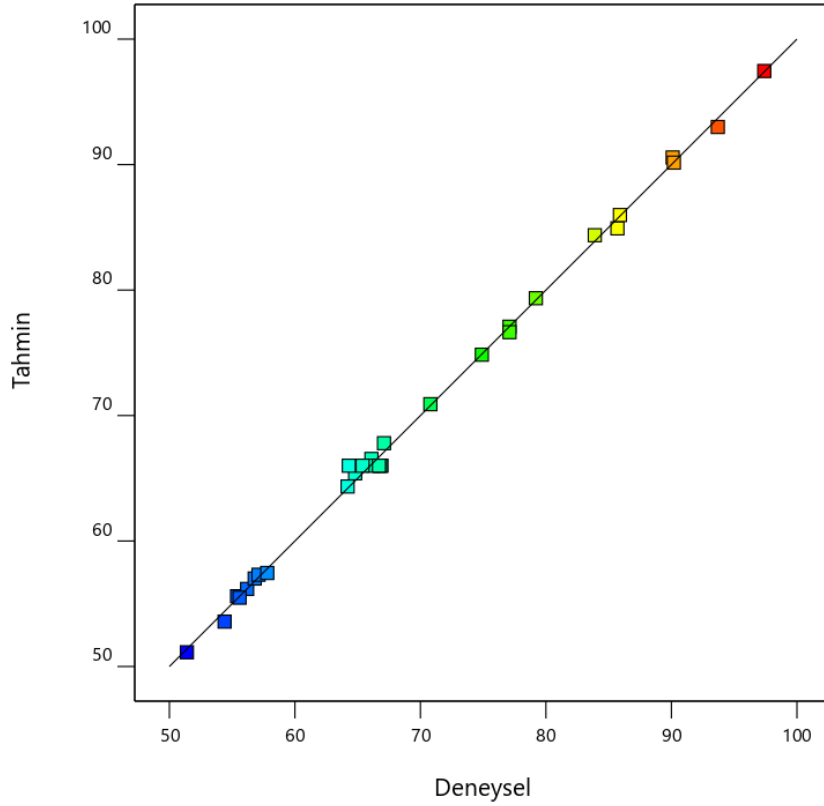
Şekil 3.4 İyonik şiddetin MP geri kazanımına etkisi

3.1.5 Kemometrik analiz

Kemometri analizi, Design-Expert® yazılımı ile Çizelge 3.3'deki veriler işlenerek yapıldı. Bu kapsamda optimizasyon çalışmalarından elde edilen ANOVA verileri Çizelge 3.4'de sunulmuştur. ANOVA analizinde faktörlerin etkinliği için değerlendirilen ilk parametre p değeridir. Burada, MP'nin ekstraksiyonunun anlamlı olması için kurulan CCD modeli için p-değerinin 0.05'ten küçük olması gerekir. Çizelge 3.4'deki veriler kurulan CCD modelinin p-değerinin 0.05'ten çok daha küçük olduğunu göstermekte ve buna göre kurulan CCD'nin anlamlı olduğu sonucuna varılır. Ek olarak, tüm doğrusal, ikili ve ikinci dereceden etkileşimlerin p değerleri de 0.05'ten küçük olduğundan, CCD için tüm faktörler anlamlıydı. CCD modeline en fazla katkıda bulunan faktörü belirlemek için F değerleri değerlendirilir. F değeri sayısal olarak ne kadar büyük olursa, kurulan CCD modeline katkısı o kadar büyük olur. Bu açıklamaya dayanarak, Çizelge 3.4'den THF hacminin (F değeri: 4048.77) CCD modeline en fazla katkıda bulunan faktör olduğu görülebilir. Ayrıca, Lack of Fit p değeri, CCD modelinin tekrarlanabilirliğini açıklamak için kullanılır. Bu değerin %95 güven düzeyinde 0.05'ten büyük olması tercih edilir. Çizelge 3.4'deki veriler, Lack of Fit p-değeri (0.9132) bu açıklamayı desteklemektedir. Bu açıklamalara dayanarak, tüm değişkenler CCD modeline önemli ölçüde katkıda bulunduğundan, MP'nin geri kazanımı aşağıdaki ikinci dereceden denklem ile ifade edilir.

$$\text{Geri Kazanım}(\%) = +66.00 - 2.01A + 0.8147B + 4.06C + 11.53D + 1.33AB - 5.02AC + 1.40AD - 3.16BC + 4.89BD - 2.41CD + 8.85A^2 - 7.65B^2 - 3.19C^2 + 8.97D^2$$

İkinci dereceden modelin kalite parametreleri Çizelge 3.5'de sunulmuştur. Kurulan CCD modelinden elde edilen analitik verilerin güvenilirliği için 1.0'a yakın R^2 değerleri tercih edilir. Ayrıca ayarlanan- R^2 ile tahmin edilen- R^2 değerleri arasındaki fark 0.2'den az olmalıdır. Çizelge 3.5'deki R^2 değerleri (R^2 : 0.9981, düzeltilmiş- R^2 : 0.9964 ve tahmin edilen- R^2 :0.9925) bu açıklamaları desteklemektedir. İstatistiksel değerlendirmede, doğru ve istenen sonuçların elde edilebilmesi için yeterli-kesinlik 20'den büyük olmalıdır. Çalışmamızda elde edilen yeterli-kesinlik değerinin 84.0793 olması istatistiksel olarak anlamlıdır. Çalışmadan elde edilen sonuçların güvenilirliği, gerçek ve tahmini değerler arasındaki uyumdan da anlaşılmaktadır (bkz. Şekil 3.5).



Şekil 3.5 Tahmini ve gerçek değerler arasındaki regresyon

Çizelge 3.3 Kurulan modelin deneysel tasarımı ve elde edilen deneysel sonuçlar

Deneysel	A:pH	B:DES-3 hacim	C:Sonikasyon süresi	D:THF hacim	Geri kazanım (%)	
					Deneysel	Tahmin
1	5.5	450	1.98	250	57.8	57.46
2	5.5	450	11.5	418	90.2	90.16
3	5.5	450	11.5	250	65.4	66.00
4	5.5	450	11.5	250	66.7	66.00
5	8	200	20	400	77.1	76.65
6	8	700	3	100	56.8	57.01
7	3	200	20	100	85.7	84.92
8	3	200	20	400	90.1	90.57
9	5.5	450	11.5	250	64.3	66.00
10	8	200	3	100	56.2	56.18
11	5.5	450	11.5	250	66.8	66.00
12	5.5	730	11.5	250	57.1	57.32
13	3	700	3	400	85.9	85.99
14	5.5	450	11.5	82	64.2	64.34
15	8	700	20	100	54.4	53.58
16	5.5	450	11.5	250	66.9	66.00
17	8	200	3	400	77.1	77.08
18	3	700	20	400	93.7	93.00
19	5.5	170	11.5	250	55.6	55.49
20	5.5	450	11.5	250	66.2	66.00
21	8	700	3	400	97.4	97.46
22	5.5	450	21.02	250	66.1	66.55
23	3	200	3	100	55.4	55.61
24	8	200	20	100	64.8	65.40
25	3	700	20	100	67.1	67.80
26	2.7	450	11.5	250	79.2	79.35
27	8	700	20	400	83.9	84.38
28	3	700	3	100	51.4	51.13
29	3	200	3	400	70.8	70.91
30	8.3	450	11.5	250	74.9	74.85

Çizelge 3.4 Optimizasyon sürecinin ANOVA sonuçları

Kaynak	Karelerin Toplamı	df	Ortalama Kare	F-değeri	p-değeri
Model	4888.09	14	349.15	574.98	< 0.0001 anlamlı
A	74.83	1	74.83	123.23	< 0.0001
B	12.29	1	12.29	20.23	0.0004
C	304.69	1	304.69	501.76	< 0.0001
D	2458.58	1	2458.58	4048.77	< 0.0001
AB	28.09	1	28.09	46.26	< 0.0001
AC	404.01	1	404.01	665.32	< 0.0001
AD	31.36	1	31.36	51.64	< 0.0001
BC	160.02	1	160.02	263.52	< 0.0001
BD	382.20	1	382.20	629.41	< 0.0001
CD	93.12	1	93.12	153.35	< 0.0001
A ²	313.29	1	313.29	515.92	< 0.0001
B ²	234.28	1	234.28	385.81	< 0.0001
C ²	40.67	1	40.67	66.97	< 0.0001
D ²	321.81	1	321.81	529.96	< 0.0001
Kalıntı	9.11	15	0.6072		
Lack of Fit	3.89	10	0.3894	0.3733	0.9132 anlamsız
Saf hata	5.22	5	1.04		
Kör Toplam	4897.20	29			

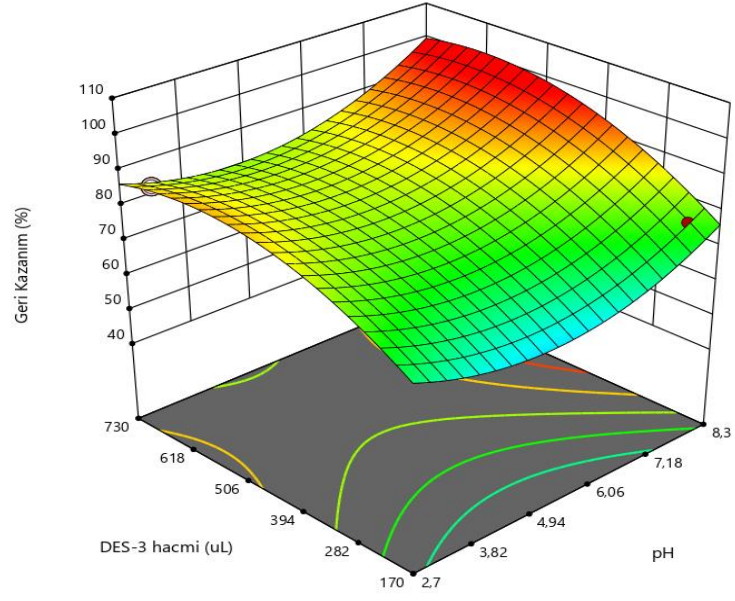
Çizelge 3.5 İkinci dereceden modelin kalite parametreleri

Parametreler	Bulunan değer
Standart sapma	0.7793
Ortalama	70.31
Değişim katsayısı (C.V. %)	1.11
R ²	0.9981
Düzeltilmiş R ²	0.9964
Tahmin R ²	0.9925
Adeq kesinlik	84.0793

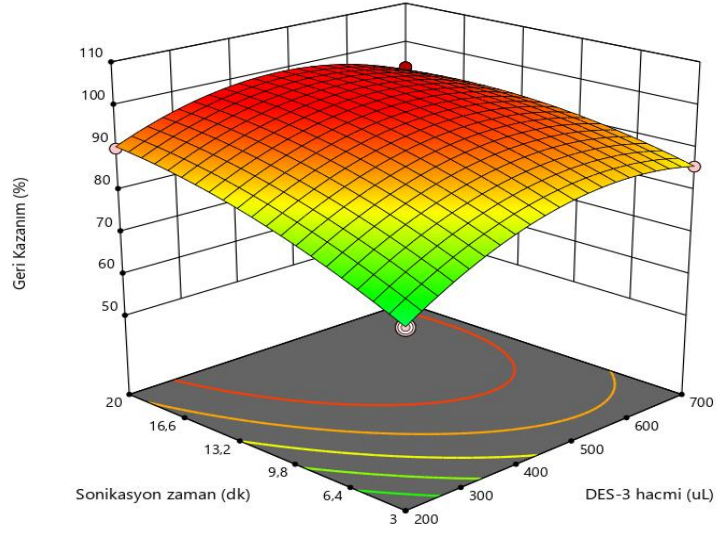
3.1.6 Faktörlerin etkisi

Optimize edilmiş faktörlerin ikili etkileşimlerinin MP'nin geri kazanılması üzerindeki etkileri, 3D yüzey tepki grafikleri çizilerek tartışıldı. DES-3 hacmi ve pH etkileşiminin MP'nin geri kazanımı üzerindeki etkisi Şekil 3.6(a)'de sunulmuştur. Sonuçlardan da anlaşılacağı gibi, MP'nin geri kazanımı pH 4.8-7.5 aralığında düşüktür. Özellikle 4.8'den düşük pH'da ve neredeyse tüm DES-3 hacimlerinde nicel geri kazanımlar elde edildi. Bu da hazırlanan DES-3'ün asidik koşullarda daha etkili olduğunu gösterdi.

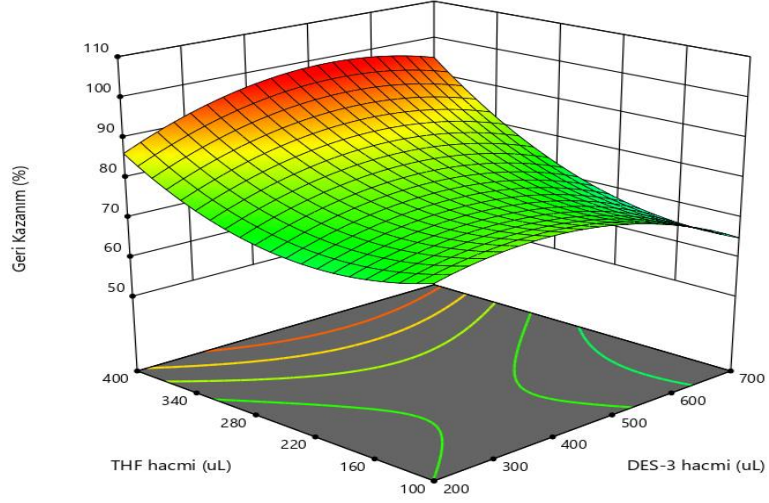
Sonikasyon süresinin ve DES-3 hacminin MP'nin geri kazanılması üzerindeki etkisi Şekil 3.6(b)'de sunulmuştur. Burada, sonikasyon, DES-3 moleküllerinin numune çözeltilisine hızlı bir şekilde dağılmasını ve buna bağlı olarak etkin faz ayrımının sağlanmasında kilit bir role sahiptir. Sonuçlar, 9 dakikalık sonikasyon uygulamalarının üzerinde nicel geri kazanımın elde edildiğini gösterdi. Bunun nedeni, DES-3 molekülünün örnek çözelti içinde etkin bir şekilde dağılması ve ekstraksiyonu sağlayacak DES-3 mikrokürelerinin oluşumunun artmasıdır. THF ve DES-3 etkileşiminin MP'nin geri kazanılması üzerindeki etkisi Şekil 3.6(c)'de sunulmuştur. Burada THF (aprotik çözücü olarak), DES-3 ile su molekülü arasındaki etkileşimi azaltarak faz ayrılmasını kolaylaştırır. DES-3 hacmi 250-600 µL aralığında ve THF hacmi 300 µL üzerinde olduğunda MP'nin nicel geri kazanımlarının elde edildi. THF hacminin ve sonikasyon süresinin MP'nin geri kazanılması üzerindeki etkisi Şekil 3.6(d)'de gösterilmiştir. Burada, sonikasyonun amacı, hem THF solventini örnek çözeltilide etkili bir şekilde dağıtmak hem de DES-3 molekülleri ile etkileşimini ayırmaktır. Bu sayede hem faz ayrımı kolaylaşır hem de ekstraksiyon süresi kısalmıştır. THF hacmi 350 µL'den büyük olduğunda ve sonikasyon süresi 12 dakikayı aştığında nicel geri kazanımlar elde edildi.



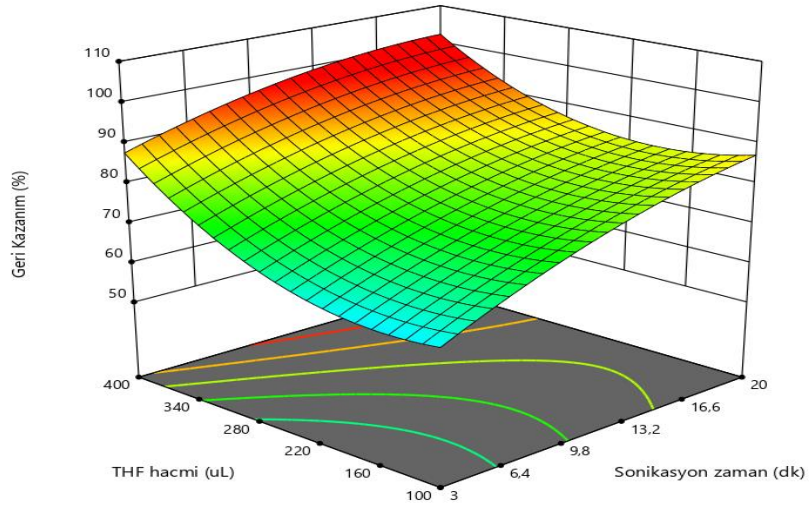
(a)



(b)



(c)



(d)

Şekil 3. 6 (a-d) MP'nin merkezi kompozit tasarımı için tepki yüzey grafikleri: (a) pH–DES-3 hacmi (μL); (b) DES-3 hacmi (μL) – sonikasyon süresi (min); (c) THF hacmi (μL) – DES-3 hacmi (μL); (d) THF hacmi (μL) – sonikasyon süresi (min).

3.1.7 Optimum koşullar

ANOVA analizinin ve faktör etkileşimlerinin dikkatli analizinden sonra, çalışılan dört faktör için CCD'ye göre optimal değerler pH:4.5, 525 μL DES-3 özütleme çözücüsü, 390 μL THF çözücüsü ve 14 dakikalık sonikasyon süresidir. 1.0 arzu edilebilirlik katsayısı için bu optimal koşullarda CCD tarafından tahmin edilen geri kazanım %91.4 idi. Deneysel çalışmanın üç tekrarından ortalama geri kazanım %90.7 olarak belirlendi. CCD'nin tahmini ile deneysel sonuçlar arasındaki bu uyum, bu ekstraksiyon koşullarının optimal olduğunu destekledi. Bu nedenle, doğrulama çalışmaları ve kozmetik numunelere uygulama için bu koşullar kullanıldı.

3.1.8 Validasyon çalışmaları

Optimizasyon adımı tamamlandıktan sonra, DES-SA-DLLME yönteminin analitik parametreleri matris uyumlu kalibrasyon çözeltiler üzerinde yapılan çalışmalarla belirlendi. Öncelikle bu kalibrasyon çözeltileri, seçilen numuneler üzerine farklı miktarlarda standart MP derişimleri eklenerek hazırlandı. Bu şekilde ortam özdeşleştirilmesi yapılarak olası matris etkisi sonuçlara yansıtıldı. Deneysel çalışmalar sonucunda DES-SA-DLLME yöntemi için dinamik lineer aralık 0.9978 belirleme katsayısı ile 15-650 $\mu\text{g L}^{-1}$ aralığında belirlendi. GD, TS ve EF sırasıyla 4.5 $\mu\text{g L}^{-1}$, 15 $\mu\text{g L}^{-1}$ ve 148 olarak hesaplandı. DES-SA-DLLME yönteminin kesinliği, numune çözeltilerine eklenen üç farklı MP konsantrasyonu için gün içi ve günler arası çalışmalarla test edildi. Gün içi çalışmalarda, eklenen MP konsantrasyonlarının ekstraksiyonu ve analizi bir gün içinde üç tekrar halinde gerçekleştirildi. Günler arası çalışmada, aynı konsantrasyonların ekstraksiyonu ve analizi birbirini takip eden üç gün içinde üç tekrar halinde yapıldı. Eklenen her MP konsantrasyonu için hem bağıl standart sapma (BSS) hem de geri kazanım değerleri hesaplandı. BSS, gün içi ve gün arası çalışmalarda sırasıyla %2,8-3,9 ve %3,2-4,2 arasında bulundu. Ayrıca, geri kazanım değerleri %92,1-97,8 aralığında hesaplandı. Elde edilen bu BSS değerleri, DES-SA-DLLME yönteminin iyi bir kesinlik sergilediğini gösterdi. Kapsamlı veriler Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3.6 Önerilen DES-SA-DLLME yönteminin analitik performansı

LRD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	TS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EF	Gün içi çalışmalar (N=3)			Günlerarası çalışmalar (N=3x3)		
				BSS (%), Gerikazanım (%)			BSS (%), Gerikazanım (%)		
				25 $\mu\text{g L}^{-1}$	75 $\mu\text{g L}^{-1}$	150 $\mu\text{g L}^{-1}$	25 $\mu\text{g L}^{-1}$	75 $\mu\text{g L}^{-1}$	150 $\mu\text{g L}^{-1}$
15- 650	4.5	15	148	2.8 ve 94.7	3.4 ve 96.3	3.9 ve 97.8	3.2 ve 92.1	3.9 ve 95.4	4.2 ve 96.9

Sağlamlık, mikroekstraksiyon parametrelerindeki küçük değişikliklerin MP'nin geri kazanılması üzerindeki etkisi ölçülerek araştırıldı. Diğer tüm mikroekstraksiyon parametreleri sabit tutulurken pH, DES-3 hacmi, sonikasyon süresi ve THF hacmi test edildi. Geri kazanım yüzdesinin BBS'si her parametre için hesaplandı. pH, DES-3 hacmi, sonikasyon süresi ve THF hacmi için BSS sırasıyla %2.3, %1.9, %2.0 ve %2.5 idi. Düşük bir BSS, DES-SA-DLLME yönteminin sağlamliğını gösterdi.

MP için optimize edilmiş koşulların seçiciliğinin araştırılması, sonuçların güvenilirliği için çok önemlidir. Bu kapsamda model çözeltilere Çizelge 3.7'deki matris türleri eklendi ve daha sonra bu karışıma DES-SA-DLLME yöntemi uygulandı. Elde edilen sonuçlar kullanılarak her tür için tolere edilebilir limit, BSS ve geri kazanım değerleri hesaplandı. Tolere edilebilir sınır, MP'nin absorbansında $\pm\%5$ 'lik bir değişikliğe neden olan iyon miktarının, eklenen MP miktarına oranından hesaplandı. Çizelge 3.7'deki sonuçlar, DES-SA-DLLME yönteminin benzer kimyasal türlerin varlığında bile yüksek tolere edilebilir limitler sergilediğini gösterdi. Ayrıca elde edilen sonuçlar, geri kazanımın (%93-98) nicel olduğunu ve BSS'lerin (%2.3-3.7) istenen sınırdan (%5) altında olduğunu gösterdi.

Çizelge 3.7 Matris iyonlarının varlığında yöntemin seçiciliği (N=5)

Matriks iyon	Tolerans limiti*	Geri kazanım (%)	BSS (%)
K ⁺	2000	97±3	2.3
PO ₄ ³⁻	2000	97±4	2.5
HPO ₄ ²⁻	1500	98±2	2.8
Na ⁺	1500	96±3	2.9
Sn ²⁺	1000	97±3	3.2
Mn ²⁺	1000	97±2	3.3
SO ₄ ²⁻	1000	98±4	3.0
Co ²⁺	750	97±3	3.5
Pb ²⁺	750	97±4	3.1
Cr ³⁺	750	97±3	3.6
Cd ²⁺	250	95±3	3.4
Zn ²⁺	250	95±3	3.6
Fe ³⁺	250	96±3	3.5
Hidrokinon	250	97±4	3.2
Trikozan	250	97±3	3.6
Benzil paraben	100	96±4	3.2
Butil paraben	100	95±3	3.6
Propil paraben	50	94±2	3.5
Etil paraben	50	93±6	3.7

*[Matriks iyon miktarı, $\mu\text{g L}^{-1}$ / Eklenen MP miktarı, $\mu\text{g L}^{-1}$]

3.1.9 Kozmetik numune analizi

Validasyon çalışmalarından sonra DES-SA-DLLME yönteminin bazı kozmetik numunelere uygulanabilirliği standart ekleme yaklaşımı kullanılarak araştırıldı. Önerilen DES-SA-DLLME yönteminin uygulanabilirliği toplam 22 farklı kozmetik numunede test edildi. Bu çalışmada, bölüm 2.3'te hazırlanan kozmetik numunelere iki seviyeli standart (25 ve 150 $\mu\text{g L}^{-1}$) MP ilavesi yapıldı ve daha sonra bu numunelere önerilen DES-SA-DLLME yöntemi uygulandı. MP, incelenen tüm kozmetik ürünlerde tespit edilemedi. Deneysel çalışma sonucunda her numune için geri kazanım ve BSS

hesaplandı. Çizelge 3.8'deki sonuçlar, kozmetik numunelerden nicel geri kazanımların (%91,2-98,8) elde edildiğini gösterdi.

Çizelge 3.8 Kozmetik numunelerde MP tayin sonuçları

Örnekler	Eklene ($\mu\text{g L}^{-1}$)	Bulunan miktar ($\mu\text{g L}^{-1}$)	BSS (%)	Gerikazanım (%)
Şampuan	25	23.5	2.4	94.0
	150	145.1	2.6	96.7
Duş jeli	25	23.4	3.1	93.6
	150	142.6	3.5	95.1
Saç kremi	25	24.1	1.8	96.4
	150	147.3	1.9	98.2
Nemlendirici krem	25	23.4	3.2	93.6
	150	143.6	3.6	95.7
Güneş kremi	25	23.5	1.5	94.0
	150	146.2	1.8	97.5
El kremi	25	24.3	2.2	97.2
	150	146.8	2.6	97.9
Akne önleyici krem	25	24.1	2.7	96.4
	150	148.2	2.9	98.8
Yüz bakım jeli	25	23.6	3.5	94.4
	150	147.2	3.8	98.1
Sıvı sabun	25	22.7	1.4	90.8
	150	143.8	1.7	95.9
Yüz nemlendirici jel	25	23.3	1.9	93.2
	150	144.6	2.5	96.4
Jel sabun	25	23.5	3.1	94.0
	150	144.2	3.4	96.1
Diş macunu	25	23.1	1.8	92.4
	150	143.4	2.4	95.6
Göz çevresi bakım kremi	25	23.4	1.9	93.6
	150	144.2	2.3	96.1
Argan özü saç maskesi	25	23.8	3.6	95.2
	150	145.5	3.8	97.0
Yüz kil maskesi	25	23.5	2.7	94.0
	150	147.5	2.9	98.3
Kil ve kenevir yağı ayak maskesi	25	24.1	2.4	96.4
	150	147.9	2.8	98.6
Yüz temizleme jeli	25	23.3	2.1	93.2
	150	143.7	2.5	95.8
Sıkılaştırıcı vücut losyonu	25	22.8	1.8	91.2
	150	143.4	2.3	95.6
Antibakteriyel sıvı sabun	25	22.9	2.7	91.6
	150	144.1	3.1	96.1
Saç bakım maskesi	25	23.6	2.6	94.4
	150	147.9	3.0	98.6
Katı sabun	25	23.7	1.7	94.8
	150	146.8	1.9	97.9
El maskesi	25	24.0	1.3	96.0
	150	147.7	1.6	98.5

Önerilen DES-SA-DLLME yöntemi, literatürde daha önce rapor edilmiş analitik yöntemlerle karşılaştırıldı. Karşılaştırılan yöntemler [85-88] daha fazla toksik kimyasal kullanmak, daha fazla zaman alıcı, ve bazen daha karmaşık adımlar içerir. Önerilen DES-SA-DLLME yöntemi, yeşil bir çözücünün kullanılması nedeniyle karşılaştırılan yönteme göre tercih edilir. Önerilen DES-SA-DLLME yönteminde herhangi bir ısıtma adımına gerek yoktur. DES-SA-DLLME yönteminin doğrusal dinamik aralığı ve GS değerleri, literatürde yöntemlerle karşılaştırılabilir seviyededir [89,90]. Ayrıca DES-SA-DLLME yönteminin EF'si, karşılaştırılan diğer yöntemlerden daha yüksek ve BSS değeri daha düşüktür. Yukarıda bahsedilen avantajlara ek olarak, DES-SA-DLLME yöntemi oldukça seçici ve daha hızlıdır. Detaylı sonuçlar Çizelge 3.9'da verilmiştir.

Çizelge 3.9 Önerilen yöntemin analitik özelliklerinin karşılaştırması

Yöntem	LDR ($\mu\text{g L}^{-1}$)	LOD ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EF	BSS (%)	Zaman (dk)	Kaynak
FPSE	5-500	0.322	-	<5.0	40	[85]
SA-LLME	2-500	0.5	128	<9.4	1.5	[86]
SFVCDME	1.0-100	0.5	81	<8.5	33	[87]
SS-DMNF-ME	5-700	1.3	79.5	≤ 5.52	5	[90]
DES-SA-DLLME	15-650	4.5	148	≤ 4.8	14	Mevcut çalışma

FPSE: kumaş fazlı emici ekstraksiyon;

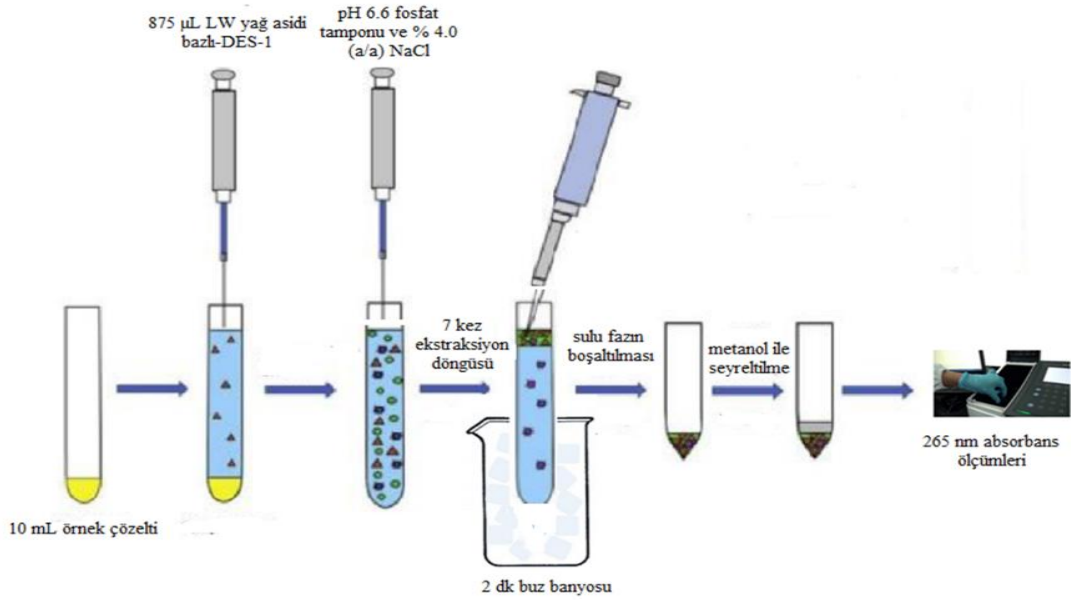
SA-LLME: Şırınga destekli sıvı-sıvı mikro özütleme

SFVCDME: Katılaştırılmış yüzen veziküler koaservatif damla mikroekstraksiyon

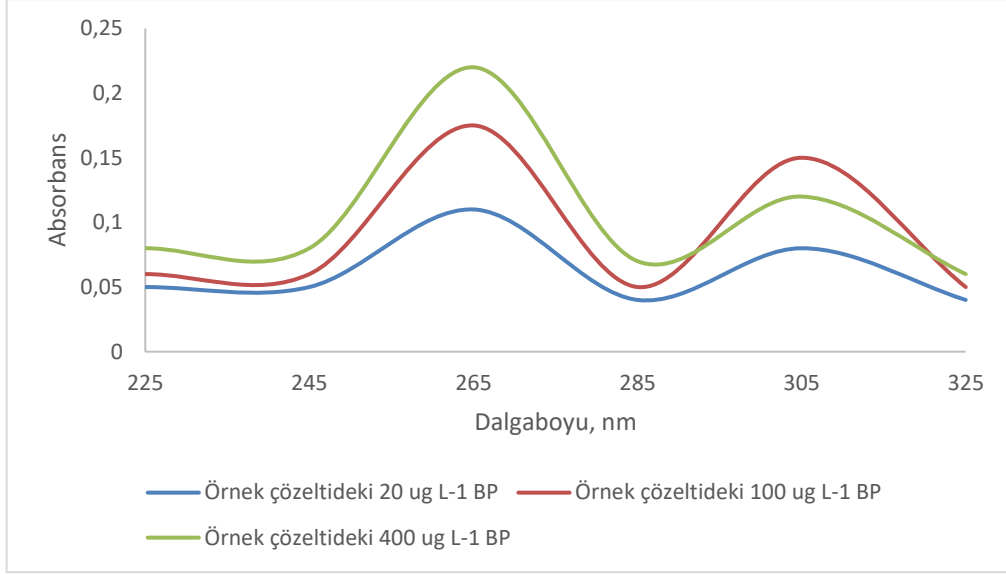
SS-DMNF-ME: Şırıngadan şırıngaya dağıtıcı manyetik nanoakışkan mikroekstraksiyon

3.2 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME yöntemi

LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün deneysel adımları sırasıyla şöyledir. İlk olarak, 875 µL LW yağ asidi bazlı-DES-1 (1:2'de molar oran) 10 mL numune solüsyonu (100 µg L⁻¹'de BP eklenmiş) içeren bir santrifüj tüpüne ilave edildi. Çözeltinin pH'ı, fosfat tampon çözeltisi kullanılarak pH 6.6'ya ayarlandıktan sonra, elde edilen karışıma % 4.0 (a/a) NaCl çözeltisi ilave edildi. Daha sonra, 10 mL'lik şırınga karışıma yerleştirildi ve dispersiyon için tüpe yedi ekstraksiyon döngüsü (emme ve enjeksiyon) yapıldı. Yedi ekstraksiyon döngüsünden sonra bulanık bir çözelti elde edildi. Bunu takiben, yüzen LW yağ asidi bazlı-DES-1'i katılaştırmak için tüp 2 dakika boyunca bir buz-su banyosunda tutuldu. Tüpün altındaki sulu faz, bir şırınga kullanılarak çıkartıldı. Son olarak, katılaştırmış DES fazı oda sıcaklığında eridi. Ortaya çıkan ölçüm fazının son hacmi, metanol ile 250 µL seyreltildi ve spektrofotometrik analiz (265 nm) için miko-kuvars küvete aktarıldı. Tüm çalışmalar, numune körü ile üç tekrar halinde gerçekleştirildi. LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME yöntemin deneysel basamakları Şekil 3.7'de sunulmuştur. Ayrıca, optimum koşullar kullanarak elde edilen spektrumlar Şekil 3.8'da verilmiştir.



Şekil 3.7 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME yöntemin deneysel basamakları



Şekil 3.8 Optimum koşullarda elde edilen spektrumlar

3.2.1 Düşük viskoziteli yağ asidi bazlı DES'lerin hazırlanması

Bu çalışmada, C8:C12, C9:C12, C10:C12, C11:C12, C8:C10:C12, C8:C11:C12 ve C9:C10:C12 olmak üzere yedi düşük viskoziteli yağ asidi bazlı DES hazırlandı ve butilparaben ekstraksiyonu için araştırıldı. Bu düşük viskoz yağ asidi bazlı DES'ler daha önce bildirilen yöntemle göre hazırlandı [91]. Buna göre, ilk olarak düşük viskoziteli yağ asidi bazlı DES'ler, homojen berrak çözeltiler oluşana kadar 60 °C'de beherlerde çeşitli molar oranlarda HBD ve HBA karıştırılarak hazırlandı. Burada daha kısa alkil zincirli yağ asitleri HBA görevi görürken en uzun yağ asitleri HBD görevi görür. Su ile temas halinde DES'in (asitlerin suya sızması) kimyasal kararsızlığı nedeniyle bu çalışmada C8'den küçük asitlerin (hidrofilik asitler) kullanılmadı. Sonuç olarak, LW yağ asidi bazlı DES'ler Çizelge 3.10'da gösterildiği gibi hazırlandı.

Çizelge 3.10 Hazırlanan LW yağ asidi bazlı bileşenlerin, molar oranlarının ve erime sıcaklıklarının özeti

Kısaltmalar	HBA	HBD	Molar oran	Donma noktası (°C)
LW yağ asidi bazlı DES-1	C9	C12	2:1	7.8
LW yağ asidi bazlı DES-2	C8	C12	2:1	19.5
LW yağ asidi bazlı DES-3	C10	C12	2:1	21.9
LW yağ asidi bazlı DES-4	C11	C12	2:1	23.4
LW yağ asidi bazlı DES-5	C8: C10	C12	1:1:1	13.5
LW yağ asidi bazlı DES-6	C8: C11	C12	1:1:1	13.4
LW yağ asidi bazlı DES-7	C9: C10	C12	1:1:1	13.4

C8: n-oktanoik asit; C9: nonanoik asit; C10: dekanolik asit; C11: undekanoik asit; C12: dodekanoik asit

3.2.2 Optimizasyon stratejisi

Kontrolsüz değişkenlerin etkilerini en aza indirmek için optimizasyon çalışmaları rastgele yapıldı. Tüm çalışmaların tek bir iş gününde tamamlanması mümkün olmadığından, olası varyasyonlardan kaçınmak için çalışmalar iki bloğa bölündü ve ardışık iki gün içinde gerçekleştirildi. Yapılan ön deneylerin sonuçlarına dayanarak, optimizasyon için LW yağ asidi bazlı DES-1 hacmi (A), pH (B), ekstraksiyon döngüleri (C) ve NaCl miktarı (D) olmak üzere dört ana değişken seçildi. Her değişken için, Box-Behnken tasarımı (BBD) kullanılarak yüksek ve düşük noktalar seçildi (bkz. Çizelge 3.11). BBD, geri kazanıma dayalı olarak her değişken için değerleri optimize etmek için kullanıldı. BBD, dört değişken için üç düzeyde (-1, 0, +1) 29 denemeden oluşturuldu (bkz. Çizelge 3.12).

Çizelge 3.11 BBD için Faktörler, semboller ve seviyeler

Değişkenler	Sembol	Seviye		
		-1	0	+1
LW yağ asidi bazlı DES-1 hacmi (μL)	A	200	700	1200
pH	B	3	6.5	10
Ekstraksiyon döngüleri	C	1	8	15
NaCl miktarı	D	0	5	100

Çizelge 3.62 BBD için tasarım matrisi ve yanıtları

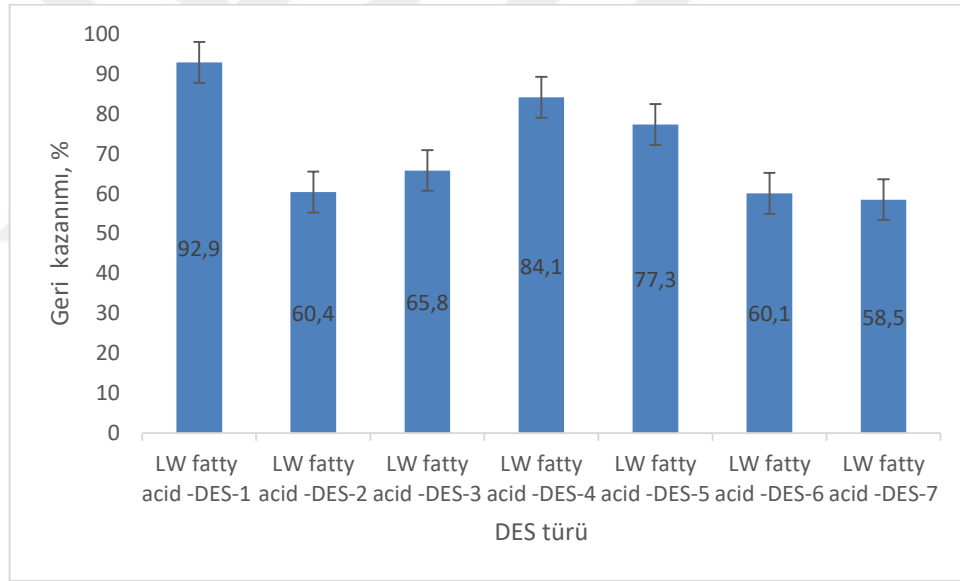
Çalışma	A	B	C	D	%Geri kazanım (Deneysel)	% Geri kazanım (Tahmin)
1	700	6.5	1	0	59.33	59.40
2	700	6.5	1	10	58.1	58.03
3	700	6.5	8	5	94.4	94.56
4	200	6.5	15	5	76.8	76.72
5	700	6.5	8	5	95.1	94.56
6	1200	6.5	8	0	66.8	66.65
7	1200	10	8	5	64.6	64.44
8	200	3	8	5	57.3	57.33
9	200	6.5	8	0	59.2	59.20
10	200	6.5	8	10	64.1	64.05
11	700	3	8	0	58.9	59.01
12	700	6.5	8	5	94.1	94.56
13	700	6.5	8	5	94.3	94.56
14	1200	6.5	8	10	77.9	77.70
15	700	10	1	5	67.3	67.10
16	200	10	8	5	69.1	69.24
17	700	3	1	5	53.8	53.64
18	1200	6.5	15	5	73.4	73.77
19	700	3	15	5	82.1	82.10
20	1200	6.5	1	5	75.3	75.71
21	700	10	8	0	60.2	60.22
22	700	6.5	8	5	94.9	94.56
23	200	6.5	1	5	51.7	51.66
24	700	6.5	15	10	79.1	78.90
25	700	10	15	5	61.8	61.77
26	1200	3	8	5	83.5	83.23
27	700	10	8	10	63.3	63.52
28	700	6.5	15	0	61.7	61.64
29	700	3	8	10	71.3	71.60

3.2.3 Deneysel tasarım parametrelerinin seçimi

3.2.3.1 Uygun LW yağ asidi bazlı DES seçimi

Ekstraksiyon çalışmalarında optimize edilecek en önemli parametre ekstraksiyon solventinin seçimidir. Ekstraksiyon çözücüsü, araştırılan analitin numune solüsyonundan verimli, hızlı ve seçici ekstraksiyonunu sağlamalıdır. Ayrıca organik

solventlerin toksik özelliklerinden dolayı ekstraksiyon solventlerinin çevre dostu olması tercih edilir. Son yıllarda, çevre dostu, ucuz ve kolay hazırlanmaları nedeniyle ekstraksiyon çözücülerini olarak derin ötektik çözücüler kullanılmaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada butilparaben ekstraksiyonu için yedi LW yağ asidi bazlı DES hazırlandı ve test edildi. LW yağ asidi bazlı-DES'in kompozisyonu ve molar oranları Çizelge 3.10'de verilmiştir. Hazırlanan bu LW yağ asidi bazlı-DES'ler butilparaben ekstraksiyonu için araştırıldı. LW yağ asidi bazlı-DES eşit hacimlerde (500 uL) kullanıldı. Şekil 3.9'daki sonuçlar, BP için en iyi geri kazanım yüzdesinin LW yağ asidi bazlı-DES-1 (%92.9) > LW yağ asidi bazlı-DES-4 (%84.1) > LW yağ asidi bazlı-DES-5 (%77.3) > LW yağ asidi bazlı-DES-3 (%65.8) > LW yağ asidi bazlı-DES-2 (%60.4) > LW yağ asidi bazlı-DES-6 (%60.1) > LW yağ asidi bazlı-DES-7 (%58.5) olduğunu gösterdi. Elde edilen sonuçlara dayanarak, BP ekstraksiyonu için uygun ekstraksiyon solventi olarak LW yağ asidi bazlı-DES-1 seçildi.

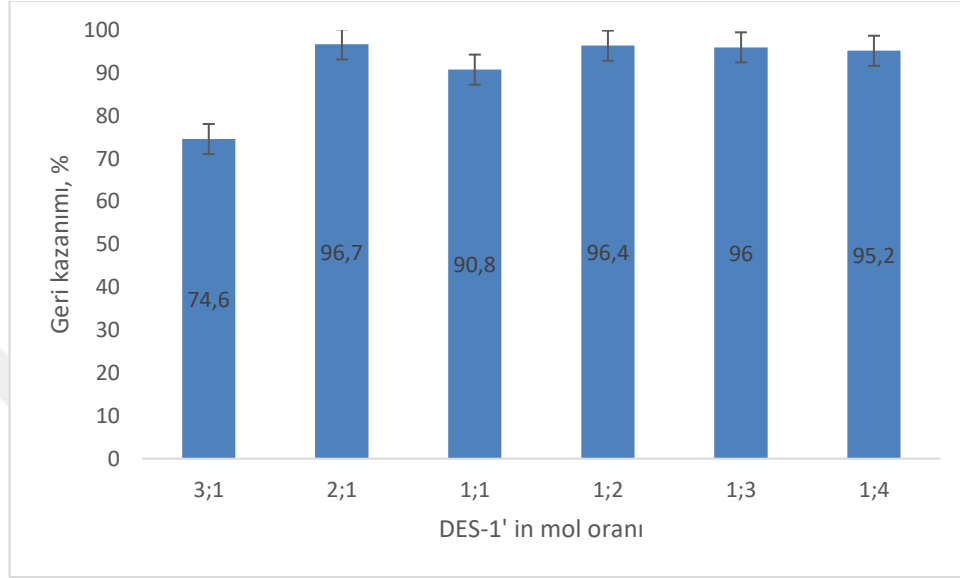


Şekil 3.9 DES bazlı LW yağ asidi tipinin etkisi

3.2.3.2 Seçilen DES bileşenlerinin molar oranının etkisi

LW yağ asidi bazlı-DES, H bağı sağladığından, bu bağı etkinliği, sulu çözeltideki bileşenlerin molar oranına bağlıdır. Bu nedenle, incelenen analitin verimli ve kolay faz ayrılmasını sağlamak için LW yağ asidi bazlı-DES'nin ana bileşenlerinin uygun molar oranları araştırılmalıdır. Bu nedenle, C9:C12 bromür oluşturan LW yağ asidi bazlı-DES-1'in farklı molar oranları karıştırıldı ve BP'nin ekstraksiyonu için uygulandı. Elde edilen sonuçlar (bakınız Şekil 3.10), molar oran 3:1'den 1:2'ye yükseldikçe BP'nin geri

kazanım %'sinin hızla arttığını ve ardından sabit kaldığını gösterdi. Bunun olası nedeni, bileşimdeki artan C12 konsantrasyonuna bağlı olarak elektron alışverişini artırarak hidrojen bağının daha kolay ve etkili bir şekilde gerçekleşmesi olabilir. Bu nedenle, daha sonraki ekstraksiyon adımları için LW yağ asidi bazlı-DES-1'in uygun molar oranı 1:2 olarak seçildi.



Şekil 3.10 LW yağ asidi bazlı DES-1'in molar oranının etkisi

3.2.4 Box-Behnken tasarımı kullanılarak önemli değişkenlerin optimizasyonu

3.2.4.1 İstatistiksel analiz ve model uydurma

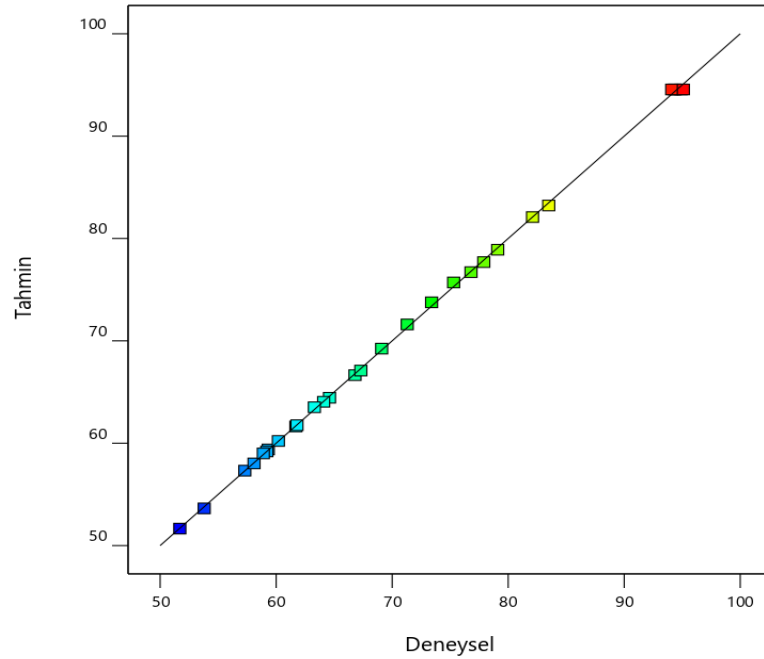
Kodlanmış ekstraksiyon değişkenlerinin seviyeleri ve BBD'nin karşılık gelen yanıt değerleri, Çizelge 3.12'de verilmiştir. Design-Expert® yazılımı kullanılarak, bu değişkenler ve değerler, BBD'nin 3D yanıt yüzeyini ve varyans analizini (ANOVA) hesaplamak ve çizmek için ikinci dereceden regresyon modeli aracılığıyla işlendi. ANOVA (bkz. Çizelge 3.13) modeli değerlendirmek ve ekstraksiyon değişkenlerinin optimizasyonu için yanıt yüzeyleri elde etmek için uygulandı. ANOVA sonuçlarında p değeri (en küçük anlamlılık düzeyi) 0.05'ten düşükse, kurulan modelin istatistiksel olarak anlamlı olduğunu gösterir. Çizelge 3.13'deki sonuçlar incelendiğinde, tüm etkileşimlerin (doğrusal, ikili ve ikinci dereceden) p değerlerinin 0.05'ten küçük olduğunu, dolayısıyla tüm değişkenlerin kurulan model için anlamlı olduğunu gösterir. Ek olarak, "uyum eksikliği", modelin ANOVA analizine dahil edilmeyen noktada çıkarma sonuçlarını temsil etmedeki başarısızlığını açıklar. "Uygunluk eksikliği"nin (0,8724) p-değeri, yanıt değişkenlerine uymak için kullanılan yerleşik modelin anlamlı

ve %gerikazanım ile bağımsız değişkenler arasındaki ilişkiyi temsil etmek için yeterli olduğunu gösterdi.

Kurulan model için uyumun iyiliği, belirleme katsayıları ile açıklanır (R^2 , düzeltilmiş- R^2 , tahmin edilen $-R^2$). R^2 (0.9997), kurulan model tarafından açıklanan ortalama sonuçlar etrafındaki varyans miktarını açıklamaya yardımcı olur. Kurulan modeldeki terim sayısı için düzeltilmiş- R^2 (0.9994) kullanılır. Burada modele katkısı olmayan değişken sayısı arttıkça düzeltilmiş- R^2 değeri azalır. Ayrıca, tahmin edilen $-R^2$ değeri (0.9989) yalnızca kurulan modele katkıda bulunan değişkenler için kullanılır. Yüksek R^2 değerleri (bkz. Çizelge 3.14), yerleşik modelin, ekstraksiyon değişkenlerinin BP geri kazanım %'si üzerindeki etkilerini açıklamak ve optimize etmek için güvenilir bir şekilde kullanılabileceğini gösterir. Sonuçlara dayalı olarak, yanıt ve çıkarım değişkenleri arasındaki ilişki aşağıdaki denklem ile ifade edilir:

$$\text{Geri Kazanım (\%)} = 94.56 + 5.27A - 1.72B + 5.78C + 3.97D - 7.67AB - 6.75AC + 1.55AD - 8.45BC - 2.33BD + 4.66CD - 11.34A^2 - 14.66B^2 - 13.75C^2 - 16.32D^2 \quad (5)$$

Şekil 3.11'deki sonuçlar, veri noktalarının çoğunun regresyon çizgisine yakın dağıldığını göstermektedir. Bu, tahmin edilen %gerikazanım ve gerçek %gerikazanım arasında iyi bir korelasyon ve ikinci dereceden model için iyi bir uyum gösterdi.



Şekil 3.11 Ön görülen yanıt ve gözlemlenen yanıt

Çizelge 3.13 BBD için varyans analizi (ANOVA)

Kaynak	Kareler toplamı	df	Ortalama kare	F değeri	P değeri	
Model	5136.35	14	366.88	3474.13	< 0.0001	anlamlı
A	333.91	1	333.91	3161.88	< 0.0001	
B	35.36	1	35.36	334.87	< 0.0001	
C	401.02	1	401.02	3797.35	< 0.0001	
D	189.37	1	189.37	1793.20	< 0.0001	
AB	235.62	1	235.62	2231.19	< 0.0001	
AC	182.25	1	182.25	1725.78	< 0.0001	
AD	9.61	1	9.61	91.00	< 0.0001	
BC	285.61	1	285.61	2704.53	< 0.0001	
BD	21.62	1	21.62	204.75	< 0.0001	
CD	86.77	1	86.77	821.65	< 0.0001	
A ²	834.69	1	834.69	7903.91	< 0.0001	
B ²	1393.33	1	1393.33	13193.93	< 0.0001	
C ²	1226.80	1	1226.80	11616.94	< 0.0001	
D ²	1726.57	1	1726.57	16349.43	< 0.0001	
Artık	1.48	14	0.1056			
Lack of Fit	0.7665	10	0.0766	0.4306	0.8724	anlamsız
Saf hata	0.7120	4	0.1780			
Kör toplam	5137.83	28				

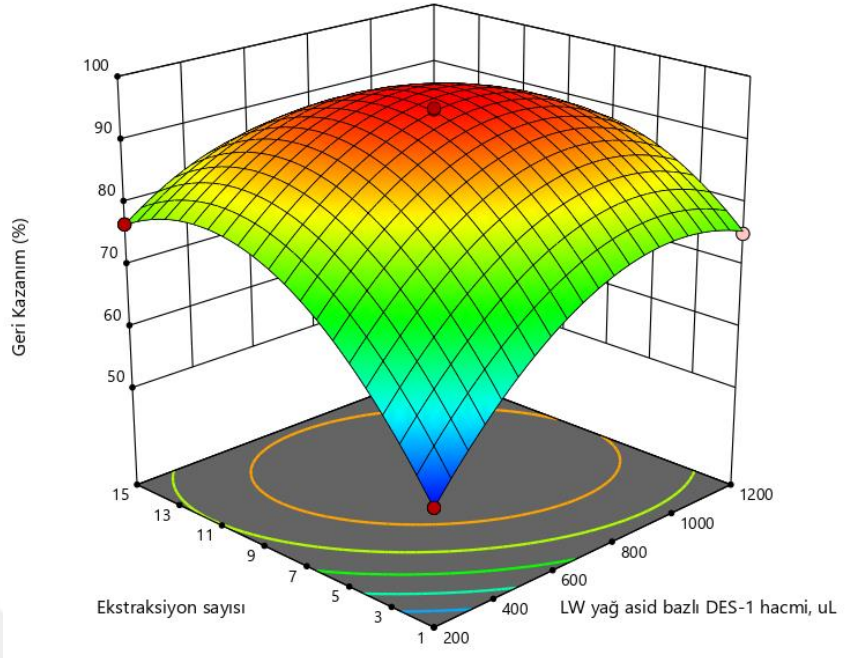
Çizelge 3.14 Kurulan modelin istatistiksel parametrelerine uyum

Standart sapma	0.3250	R ²	0.9997
Ortalama	71.36	Ayarlanmış R ²	0.9994
Değişim katsayısı %	0.4554	Tahmin edilen R ²	0.9989

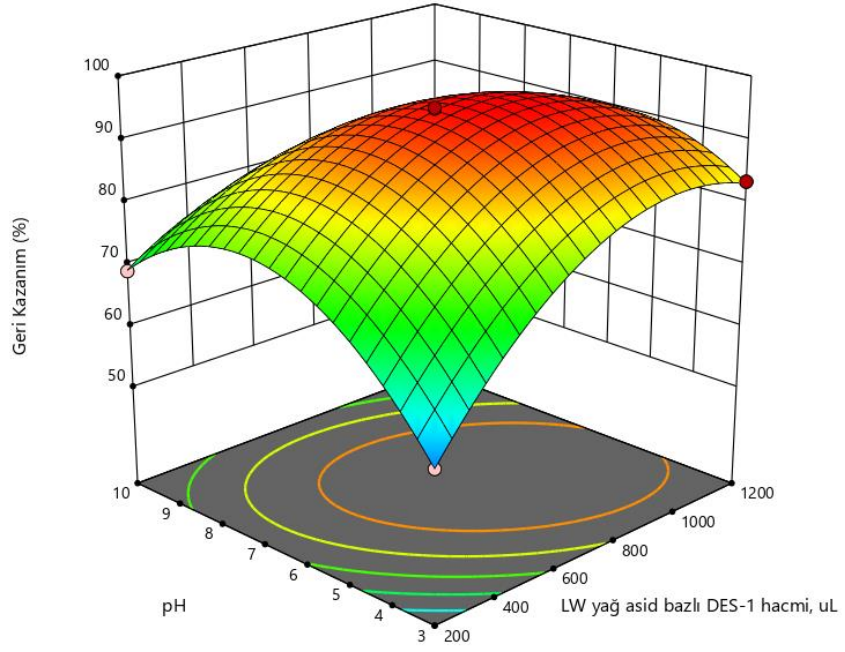
3.2.4.2 Ekstraksiyon değişkenleri arasındaki etkileşim

BP'nin geri kazanım %'si ile ilişkili ekstraksiyon değişkenlerinin daha fazla ayrıntısını elde etmek için 3D yanıt yüzeyleri grafikleri çizildi. Bu grafikler, diğer değişkenleri merkezi düzeyde sabit tutarken, iki değişkenin %geri kazanım'si arasındaki ilişkiyi eş zamanlı olarak açıklamaya yardımcı olur. 3D yanıt yüzey çizimleri (bkz. Şekil 3.12(a-c)), BP'nin geri kazanım %'si ile dört ekstraksiyon değişkeni (LW yağ asidi bazlı DES-1 hacmi, pH, ekstraksiyon döngüleri ve NaCl miktarı) arasındaki ilişkiyi temsil eder. Şekil 3.12a, sabit ekstraksiyon koşulları altında LW yağ asidi bazlı DES-1 hacminin ve ekstraksiyon döngülerinin butilparabenin geri kazanım%'si üzerindeki etkisini

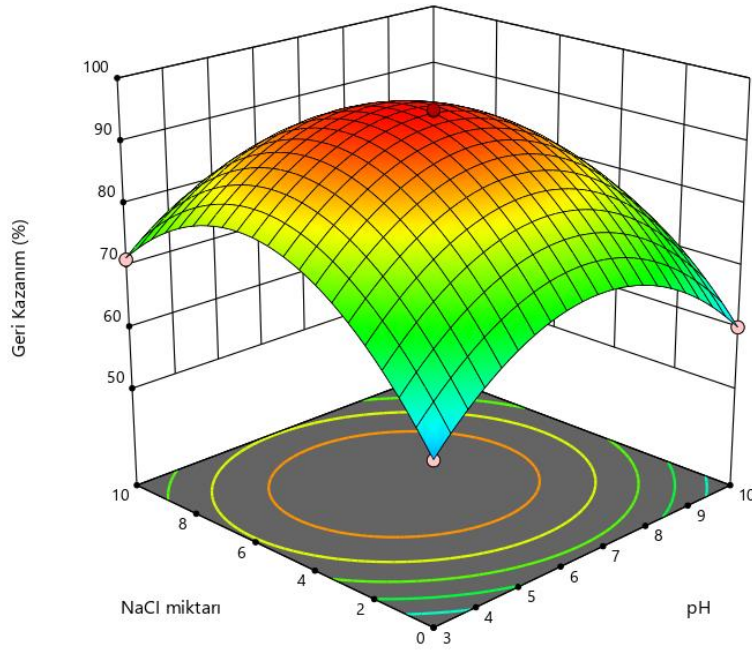
açıklar. Ekstraksiyon döngülerinin 1'den 7'ye çıkarılmasıyla ve LW yağ asidi bazlı DES-1 hacminin 200 µL'den 900 µL'ye çıkarılmasıyla BP'nin geri kazanım%'si arttı. Ek olarak, LW yağ asidi bazlı DES-1 hacminin 900 µL'den 1100 µL'ye daha da artmasıyla, BP'nin geri kazanımı kısmen azaldı. Bu sonuçlar, LW yağ asidi bazlı DES-1'in faz ayrımı sağlayacak mikro küreler oluşturması için yaklaşık 7 ekstraksiyon döngüsünün yeterli olduğunu gösterdi. pH ve LW yağ asidi bazlı DES-1 hacmi arasındaki etkileşimin butilparabenin ER %'si üzerindeki etkisi Şekil 3.12b'de sunulmaktadır. Burada pH 3'ten 7'ye çıkarıldığında butilparabenin geri kazanım%'i arttığı ve LW yağ asidi bazlı DES-1 hacmindeki artışın 900 µL'nin altına düştüğü ve % geri kazanımında ciddi bir düşüş olduğu görüldü. Özellikle DES oluşumunun ana faktörü olan H bağı oluşumu, pH değerinin artması nedeniyle ortamdaki OH- iyonlarının artması nedeniyle azalmış ve buna bağlı olarak butilparabenin gerikazanım%'si azaldı. Ekstraksiyon döngüleri ve NaCl miktarı arasındaki etkileşimin BP'nin gerikazanım %'si üzerindeki etkisi Şekil 3.12c'de sunulmaktadır. DES (ekstraksiyon çözücüsü olarak) kullanılan mikroekstraksiyon çalışmalarında, numune çözeltisinin iyonik gücündeki artış hem DES'in mikroküre oluşumunu hızlandırır hem de faz ayrılmasını kolaylaştırır. Şekil 3.12c'ye bakıldığında, yaklaşık 7 ekstraksiyon döngüsü ve %4(a/a) NaCl çözeltisinde kantitatif geri kazanımların elde edildiği görüldü. Ayrıca, daha yüksek NaCl miktarlarında ve daha yüksek ekstraksiyon döngülerinde geri kazanımda önemli bir değişiklik olmadı.



(a)



(b)



(c)

Şekil 3.12 (a) LW yağ asidi bazlı DES-1 ve ekstraksiyon döngülerinin butilparabenin gerikazanım %'si üzerindeki 3D yanıt yüzeyi, (b) LW yağ asidi bazlı DES-1 ve pH butilparabenin gerikazanım %'si üzerindeki 3D yanıt yüzeyi, (c) Ekstraksiyon döngüleri ve NaCl miktarının butilparabenin geri kazanım %'si üzerindeki 3D yanıt yüzeyi

3.2.4.3 Değişken optimizasyonu

BBD sonucuna göre, LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün optimize edilmiş ekstraksiyon değişkenleri şöyledi: LW yağ asidi bazlı DES-1 hacmi 875 μ L, pH 6.5, ekstraksiyon döngüleri 7 ve NaCl miktarı %4 (a/a) dir. Optimum ekstraksiyon koşulları altında, BP'nin tahmini maksimum gerikazanım %'si %92.7 idi. Modelin uygunluğunu test etmek için, seçilen bu optimal ekstraksiyon koşulları altında üçlü tekrarlı çalışmaları yapıldı. BP'nin ortalama gerikazanım%'si %93.5 \pm 2.1 olarak hesaplandı. Elde edilen analitik veriler, modelin ve ikinci dereceden denkleminin güvenilir olduğunu gösterdi.

3.2.5 Kozmetik ürünlerinin analizi için metot doğrulama ve uygulama

3.2.5.1 Önerilen yöntemin analitik özellikleri

Optimal ekstraksiyon koşulları altında LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün performans kalitesini araştırmak için yöntemin nicel özellikleri belirlendi. Bunun için çalışma aralığı, regresyon denklemi, belirleme katsayısı (r^2),

GS, TS, ZF, geri kazanımı ve BSS gibi analitik parametreler kişisel bakım ürünlerinde incelendi ve hesaplandı. Analitik sonuçlar Çizelge 3.15'te sunulmuştur. Yöntemin çalışma aralığını ve doğrusallığını araştırmak için on beş farklı BP konsantrasyonu içeren numune çözeltileri hazırlandı ve LW yağ asidi bazlı DES AA-LLME prosedüründen sonra kalibrasyon eğrisi çizildi. BP için, iyi bir r^2 :0.9972 ve yüksek EF (205) ile geniş bir çalışma aralığı ($5-800 \mu\text{g L}^{-1}$) elde edildi. $10 \mu\text{g L}^{-1}$ (düşük), $300 \mu\text{g L}^{-1}$ (orta) ve $600 \mu\text{g L}^{-1}$ (yüksek) BP'nin üç tekrarlı çalışması için, %gerikazanım ve BSS sırasıyla ve $\%1.8-2.6$ ve $\%92\pm4-98\pm2$ aralığındaydı. GS ve TS sırasıyla $1.5 \mu\text{g L}^{-1}$ ve $5 \mu\text{g L}^{-1}$ olarak hesaplandı.

Çizelge 3.15 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün nicel özellikleri

Analitik parametreler	LW yağ asid bazlı-DES AA-LLME
Regrasyon eşitliği $A=(a \pm SD_a) c + (b \pm SD_b)$	$A=(0.8628 \pm 0.0197)C-(0.0962 \pm 0.0088)$
r^2	0.9972
Çalışma aralığı range. $\mu\text{g L}^{-1}$	5-800
GS. $\mu\text{g L}^{-1}$	1.5
TS. $\mu\text{g L}^{-1}$	5.0
BSS	1.8-2.6
ER	$92\pm4-98\pm2$
EF	205

a. eğim; b. kesim; SD_a and SD_b . sırasıyla eğim ve kesimin standart sapması.

3.2.5.2 Seçicilik çalışması

Kişisel bakım ürünlerinde BP içeren farklı kimyasal türleri, ekstraksiyon çözücüsünde potansiyel olarak birlikte ekstrakte edilebilir. Buna göre, BP için LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün ekstraksiyon verimliliğini azaltır. Uygun miktarlarda farklı kimyasal türlerin eklendiği $50 \mu\text{g L}^{-1}$ BP'nin standart çözeltileri kullanılarak bir dizi deney tasarlandı. LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürü, BP ekstraksiyonu için hâlihazırda oluşturulmuş olan optimize edilmiş koşullar altında bu çözeltilere uygulandı. Daha sonra her kimyasal tür için tolere edilebilir sınır belirlendi. Kimyasal türlerin tolerans limiti, BP absorbansında $\pm \%5$ 'ten fazla sapmaya neden olmaz. Ayrıca, kimyasal türler için BSS ve geri kazanımı içeren analitik sonuçlar Çizelge 3.16'da verilmiştir. Sonuçlardan, çalışılan kimyasal türler, önerilen yöntemle BP'nin ekstraksiyonuna ve belirlenmesine müdahale etmediğini gösterdi. Sonuç olarak, LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürü, kişisel bakım ürünlerinde butilparaben ölçümü için iyi bir seçiciliğe sahiptir.

Çizelge 3.16 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME seçicilik sonuçları (N=3)

Matris iyonları	Tolere edilebilir sınır *	BSS (%)	Geri kazanım (%)
K ⁺	2000	1.8	99±4
Na ²⁺	2000	1.8	98±3
Mg ²⁺	2000	1.9	98±1
HPO ₄ ²⁻	2000	1.5	99±2
Cu ²⁺	1500	1.5	98±4
K ⁺	1500	1.6	97±3
PO ₄ ³⁻	1500	1.8	99±2
Ca ²⁺	1000	1.9	97±4
Sn ²⁺	1000	1.6	98±3
Mn ²⁺	1000	1.6	97±3
SO ₄ ²⁻	750	2.1	98±4
Co ²⁺	750	2.0	98±3
Pb ²⁺	500	1.9	96±4
Cr ³⁺	500	2.1	97±3
Cd ²⁺	500	2.3	97±2
Fe ³⁺	500	2.3	96±3
Trikozan	250	2.0	95±3
Zn ²⁺	250	1.9	95±2
İzopropilparaben	150	2.2	96±3
Benzil paraben	150	2.3	96±4
Etil paraben	75	2.5	94±3
Metilparaben	75	2.7	94±5

*[Matris iyon konsantrasyonu. µg L⁻¹/ BP konsantrasyonu. µg L⁻¹]

3.2.5.3 Doğruluk ve kesinlik çalışmaları

LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün kesinliği ve doğruluğu, sırasıyla BSS'lara ve geri kazanımlara dayalı olarak değerlendirildi. Bu bağlamda, tekrarlanabilirlik/tekrar edilebilirlik BSS'leri ve geri kazanımlar, kişisel bakım ürünlerine altı paralel çalışma ile üç takviye konsantrasyonunda (10, 300 ve 600 µg L⁻¹) BP eklenmesiyle test edildi. Sonuç olarak, tekrarlanabilirlik çalışmaları için BSS'ler %1.8 ile %2.5 arasında ve tekrarlanabilirlik çalışmaları için %2.1 ile %2.9 arasında hesaplandı. Ayrıca, tekrarlanabilirlik çalışmaları için geri kazanım %94.5 ile %98.1 arasında ve tekrarlanabilirlik çalışmaları için %92.3 ile %96.9 arasında değişti. Elde edilen analitik veriler, LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün iyi doğruluk ve kesinlik sergilediğini gösterdi.

3.2.5.4 Kozmetik ürünlerinin analizi

LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün uygulanabilirliği, toplam 22 kişisel bakım ürünüde eser miktarda butilparaben tayini ve ekstraksiyonu ile değerlendirildi. Çizelge 3.17, standart solüsyonun (100 ve 600 µg L⁻¹ BP konsantrasyonunda), kişisel bakım ürünlerinin (100 ve 600 µg L⁻¹ BP konsantrasyonunda) ve eklenmemiş BP'in analitik değerini gösterir. Bu çözeltilere LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürü uygulandıktan sonra, standart çözelti doğrudan enjekte edildikten sonra, eklenmiş ve eklenmemiş BP analiz edildi. BP, analiz edilen kişisel bakım ürünlerinin hiçbirinde bulunamadı. BP'nin geri kazanımları, her numunede bulunan konsantrasyon ile aynı seviyede eklenmiş deiyonize suda bulunan konsantrasyon arasındaki oranın 100 ile çarpılmasıyla hesaplandı. Özetle, bu sonuçlar, LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün, kişisel bakım ürünlerinde eser miktarda BP düzeylerini iyi geri kazanımlar (%90±2-106±3) ve kabul edilebilir şekilde bağlı standart sapmalar (%3.3≤) analiz etmek için etkili bir şekilde kullanılabilceğini gösterdi. Ayrıca bu sonuçlar, LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün matris etkisini göstermediğini ifade eder.

3.2.5.5 Diğer analitik yöntemlerle karşılaştırma

LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün temel analitik parametreleri (çalışma aralığı, GS, EF, geri kazanım, BSS ve ekstraksiyon süresi) bazı tekniklerle karşılaştırıldı. Analitik veriler Çizelge 3.18'de özetlenmiştir. LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün çalışma aralığının, rapor edilen analitik tekniklerden daha geniş bir aralığa sahipti. EF, rapor edilen analitik tekniklerden daha iyiydi ve yöntemimizin ekstraksiyon süresi, rapor edilen tüm analitik tekniklerden daha kısaydı. Elde edilen GS ve gerikazanım tatmin ediciydi ve rapor edilen analitik tekniklerle karşılaştırılabilirdi. Yöntemin BSS değerleri, rapor edilen analitik tekniklerinkilerle karşılaştırılabilirdi.

Çizelge 3.17 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME uygulama sonuçları

Örnekler	Güniçi (N = 3)				Günlerarası (N = 3×3)		
	Eklenen (µg L ⁻¹)	Bulunan (µg L ⁻¹)	Gerikazanım ± SD (%)	BSS (%)	Bulunan (µg L ⁻¹)	Gerikazanım ± SD (%)	BSS (%)
Şampuan	100	96	96±2	2.2	95	95±3	2.9
	600	588	98±3	2.6	582	97±2	3.2
Duş jeli	100	94	94±3	2.3	92	92±4	2.7
	600	576	96±2	2.5	570	95±4	3.0
Saç kremi	100	93	93±4	1.9	91	91±5	2.2
	600	570	95±3	2.2	564	94±3	2.5
Nemlendirici krem	100	91	91±2	2.0	90	90±5	2.4
	600	564	94±4	2.3	576	93±3	2.7
Güneş kremi	100	96	96±3	2.2	93	93±2	2.6
	600	588	98±2	2.8	582	97±2	3.0
El kremi	100	103	103±1	2.4	96	96±3	2.8
	600	606	101±2	2.9	588	98±3	3.1
Akne önleyici krem	100	95	95±4	2.3	106	106±2	2.9
	600	582	97±4	2.7	612	102±3	3.3
Yüz bakım jeli	100	103	103±3	2.3	95	95±4	2.6
	600	612	102±3	2.5	576	96±4	2.9
Sıvı sabun	100	94	94±2	1.9	92	92±3	2.0
	600	582	97±3	2.2	570	95±3	2.5
Yüz nemlendirici jel	100	96	96±2	2.0	104	104±2	2.3
	600	588	98±3	2.4	612	102±2	2.8
Jel sabun	100	97	97±3	2.1	103	103±3	2.4
	600	594	99±1	2.5	624	104±2	2.7
Diş macunu	100	102	102±1	2.3	96	96±3	2.8
	600	606	101±2	2.8	588	98±4	3.1
Göz çevresi bakım kremi	100	95	95±4	1.8	94	94±4	2.2
	600	588	98±2	2.1	582	97±2	2.5
	100	97	97±3	2.4	95	95±3	2.8

Argan özü saç maskesi	600	594	99±3	2.9	588	98±2	3.1
Yüz kil maskesi	100	94	94±4	2.5	92	92±4	3.0
	600	582	97±2	2.8	564	94±3	3.3
Kil ve kenevir yağı ayak maskesi	100	96	96±2	2.4	94	94±4	2.7
	600	582	97±3	2.6	570	95±5	2.9
Yüz temizleme jeli	100	93	93±3	1.9	92	92±5	2.1
	600	588	98±2	2.2	576	96±3	2.6
Sıkılaştırıcı vücut losyonu	100	98	98±4	2.0	95	95±3	2.4
	600	594	99±3	2.4	582	97±2	2.8
Antibakteriyel sıvı sabun	100	96	96±2	1.8	104	104±4	2.2
	600	588	98±1	2.1	612	102±3	2.5
Saç bakım maskesi	100	94	94±3	2.3	91	91±4	2.8
	600	588	98±2	2.7	570	95±3	3.1
Katı sabun	100	95	95±3	2.1	93	93±3	2.9
	600	582	97±3	2.4	576	96±3	3.2
El maskesi	100	96	96±4	2.2	94	94±3	2.6
	600	588	98±2	2.6	582	97±3	2.9

Çizelge 3.18 LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünün karşılaştırılması

Analitik yöntem	Çalışma aralığı ($\mu\text{g L}^{-1}$)	GS ($\mu\text{g L}^{-1}$)	EF	Geri kazanım (%)	BSS (%)	Zaman (dk)	Kaynak
SS-DMNF-ME HPLC-UV	5-100	0.8	85.9	89-99	≤ 5.2	5	[91]
DLLME GC-MS	1-100	0.46	240	73.6-106.3	≤ 10.8	5	[92]
FPSE-HPLC/UV	5-500	0.58	-	91.6-98.8	≤ 2.6	40	[93]
SPE-UHPLC-DAD	5-20000	1.0	-	92-101	≤ 6.0	24.7	[94]
DES-VALLME HPLC-UV	-	5.2	-	90-97	≤ 1.27	10	[95]
DF- μ LPME HPLC-UV	-	2.6	8.8	84-100	≤ 5.74	5	[96]
LW yağ asid bazlı -DES AA-LLME- UV/Vis sepktofotometre	5-800	1.5	205	92-98	≤ 2.6	2	Mevcut çalışma

LOD: Seçme sınırı; BSS: Bağlı standart sapma; ER: Ekstraksiyon geri kazanımı; EF: Zenginleştirme faktörü

LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME: Düşük viskoz yağ asidi bazlı derin ötektik solvent bazlı hava destekli sıvı sıvı mikro ekstraksiyon

DLLME GC-MS: Gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi ile birlikte dispersif sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon

SS-DMNF-ME HPLC-UV: Şırıngadan şırıngaya manyetik sıvı fazı mikro ekstraksiyon yüksek performanslı sıvı kromatografisi-UV dedektörü.

FPSE-HPLC/UV: UV algılamalı kumaş fazlı emici ekstraksiyon ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi

SPE-UHPLC-DAD: Katı Faz Ekstraksiyonu ve Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi/Diyot Dizisi Dedektörü

DES-VALLME: Derin ötektik solvent bazlı vorteks destekli sıvı-sıvı mikro ekstraksiyon

VA-DLLE: girdap destekli dağıtıcı sıvı-sıvı ekstraksiyonu

4. SONUÇLAR

Tez kapsamında yapılan çalışmalarda, çeşitli kozmetik örneklerinde bulunabilecek MP ve BP'nin zenginleştirilmesi ve belirlenmesi için iki farklı analitik yöntem geliştirildi. İlk çalışmada, derin ötektik solvent bazlı sonikasyon destekli dispersif sıvı-sıvı mikroekstraksiyon (DES-SA-DLLME) ve UV-vis spektrofotometrisi ile bazı kozmetik numunelerde MP ekstraksiyonu ve analizi için yeni bir analitik yöntem geliştirildi. DES-SA-DLLME'nin önemli parametreleri, kemometrik tabanlı CCD yaklaşımı kullanılarak optimize edildi. CCD, az kimyasal tüketim ve birkaç deneysel çalışma ile optimizasyon adımlarını gerçekleştirmeye izin verdi. MP'nin verimli faz ayrımı ve seçici ekstraksiyonunu sağlamak için altı DES hazırlandı ve test edildi. İlk olarak, MP, herhangi bir ısıtma aşaması olmaksızın prolin, malik asit ve su ayarlanarak özütlendi; MP'nin geri kazanımı yaklaşık %96,8'e ulaşıldı. Önerilen DES-SA-DLLME yöntemi, organik solvent tüketimine gerek olmadığı için çevre dostudur. Önerilen DES-SA-DLLME yöntemi, bazı kozmetik numunelerde MP'nin ekstraksiyonu ve nicel tayini için tatmin edici sonuçlar verdi. Bu yöntem, basitliği, yüksek duyarlılığı, düşük maliyeti ve kısa ekstraksiyon süresi nedeniyle MP analizi için geleneksel analitik yöntemlere iyi bir alternatif olabilir. Sonuç olarak, elde edilen analitik sonuçlara dayanarak, önerilen DES-SA-DLLME yönteminin, karmaşık matrislerde MP'nin çıkarılması ve ölçülmesi için verimli bir yöntem olarak potansiyel olarak uygulanabilir olduğu sonucuna varılabilir.

İkinci çalışmada, kozmetik numunelerden BP'nin hızlı tespiti ve ekstraksiyonu için UV-Vis spektrofotometrisi ile birleştirilmiş basit ve çevre dostu düşük viskoz yağ asidi bazlı derin ötektik solvent bazlı hava destekli sıvı sıvı mikroekstraksiyon (LW yağ asidi bazlı DES AA-LLME) geliştirdi. Düşük viskoz yağ asidi bazlı derin ötektik solventler hazırlandı ve BP'nin ekstraksiyonu için ekstraksiyon solventleri olarak ilk kez test edildi. Kemometrik temelli BBD yaklaşımı ile LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürünü etkileyen önemli ekstraksiyon parametreleri sistematik olarak optimize edildi. Optimize edilmiş ekstraksiyon koşulu altında, $1.4 \mu\text{g L}^{-1}$ 'lük düşük GS değeri, $8-950 \mu\text{g L}^{-1}$ 'lik geniş bir çalışma aralığı ve 2 dakika gibi kısa bir ekstraksiyon süresi elde edildi. Ek olarak, LW yağ asidi bazlı-DES AA-LLME prosedürü aşağıdaki avantajlara sahiptir: yüksek ekstraksiyon verimliliği, yüksek EF ve organik solventler ve pahalı reaktiflere gerek olmamasıdır. LW yağ asidi bazlı-DES

AA-LLME prosedürü, kozmetik numunelerde BP'nin analizinde iyi bir doğruluğa sahiptir. Matriks etkisi çalışması, önerilen yöntemin seçilen örneklerde BP'nin ölçümü için yüksek seçiciliğe sahip olduğunu gösterdi. Bu nedenle, kozmetik numunelerde eser BP'nin ekstraksiyonu ve tayini için verimli bir yöntem olarak uygulanabilir.



KAYNAKLAR

- [1] **Ocaña-González, J. A., Villar-Navarro, M., Ramos-Payán, M., Fernández-Torres, R., Bello-López, M. A.** (2015). New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review. *Analytica Chimica Acta*, 858, 1-15.
- [2] **Matwiejczuk, N., Galicka, A., Brzóška, M. M.** (2020). Review of the safety of application of cosmetic products containing parabens. *Journal of Applied Toxicology*, 40(1), 176-210.
- [3] **Fransway, A. F., Fransway, P. J., Belsito, D. V., Warshaw, E. M., Sasseville, D., Fowler Jr, J. F., Reeder, M. J.** (2019). Parabens. *Dermatitis*, 30(1), 3-31.
- [4] **Márquez-Sillero, I., Aguilera-Herrador, E., Cárdenas, S., Valcárcel, M.** (2010). Determination of parabens in cosmetic products using multi-walled carbon nanotubes as solid phase extraction sorbent and corona-charged aerosol detection system. *Journal of Chromatography A*, 1217(1), 1-6.
- [5] **Fransway, A. F., Fransway, P. J., Belsito, D. V., Warshaw, E. M., Sasseville, D., Fowler Jr, J. F., Reeder, M. J.** (2019). Parabens. *Dermatitis*, 30(1), 3-31.
- [6] **Kirchhof, M. G., Gannes, G. C.** (2013). The health controversies of parabens. *Skin Therapy Lett*, 18(2), 5-7.
- [7] **Darbre, P. D., Aljarrah, A., Miller, W. R., Coldham, N. G., Sauer, M. J., Pope, G. S.** (2004). Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*, 24(1), 5-13.
- [8] **Kolatorova, L., Sramkova, M., Vitku, J., Vcelak, J., Lischkova, O., Starka, L., Duskova, M.** (2018). Parabens and their relation to obesity. *Physiological research*, 67, S465-S472.
- [9] **Crinnion, W. J.** (2010). Toxic effects of the easily avoidable phthalates and parabens. *Alternative Medicine Review*, 15(3).
- [10] **Golden, R., Gandy, J., Vollmer, G.** (2005). A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Critical reviews in toxicology*, 35(5), 435-458.
- [11] **Błędzka, D., Gromadzińska, J., Wąsowicz, W.** (2014). Parabens. From environmental studies to human health. *Environment international*, 67, 27-42.
- [12] **Ocaña-González, J. A., Villar-Navarro, M., Ramos-Payán, M., Fernández-Torres, R., Bello-López, M. A.** (2015). New developments in the extraction and determination of parabens in cosmetics and environmental samples. A review. *Analytica Chimica Acta*, 858, 1-15.
- [13] **Soni, M. G., Carabin, I. G., Burdock, G. A.** (2005). Safety assessment of esters of p-hydroxybenzoic acid (parabens). *Food and chemical toxicology*, 43(7), 985-1015.
- [14] **Soni, M. G., Taylor, S. L., Greenberg, N. A., Burdock, G. A.** (2002). Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature. *Food and chemical Toxicology*, 40(10), 1335-1373.
- [15] **Kirchhof, M. G., Gannes, G. C.** (2013). The health controversies of parabens. *Skin Therapy Lett*, 18(2), 5-7.
- [16] **Błędzka, D., Gromadzińska, J., Wąsowicz, W.** (2014). Parabens. From environmental studies to human health. *Environment international*, 67, 27-42.

- [17] **Golden, R., Gandy, J., Vollmer, G.** (2005). A review of the endocrine activity of parabens and implications for potential risks to human health. *Critical reviews in toxicology*, 35(5), 435-458.
- [18] **Hu, P., Overby, H., Heal, E., Wang, S., Chen, J., Shen, C. L., Zhao, L.** (2017). Methylparaben and butylparaben alter multipotent mesenchymal stem cell fates towards adipocyte lineage. *Toxicology and applied pharmacology*, 329, 48-57.
- [19] **Nowak, K., Jabłońska, E., Ratajczak-Wrona, W.** (2021). Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environmental research*, 198, 110488.
- [20] **Kim, J., Chevrier, J.** (2020). Exposure to parabens and prevalence of obesity and metabolic syndrome: An analysis of the Canadian Health Measures Survey. *Science of the Total Environment*, 713, 135116.
- [21] **Lu, S., Wang, N., Ma, S., Hu, X., Kang, L., Yu, Y.** (2019). Parabens and triclosan in shellfish from Shenzhen coastal waters: bioindication of pollution and human health risks. *Environmental pollution*, 246, 257-263.
- [22] **Ye, X., Bishop, A. M., Reidy, J. A., Needham, L. L., Calafat, A. M.** (2006). Parabens as urinary biomarkers of exposure in humans. *Environmental health perspectives*, 114(12), 1843-1846.
- [23] **Honda, M., Robinson, M., Kannan, K.** (2018). Parabens in human urine from several Asian countries, Greece, and the United States. *Chemosphere*, 201, 13-19.
- [24] **Quirós-Alcalá, L., Buckley, J. P., Boyle, M.** (2018). Parabens and measures of adiposity among adults and children from the US general population: NHANES 2007–2014. *International journal of hygiene and environmental health*, 221(4), 652-660.
- [25] **Petric, Z., Ružić, J., Žuntar, I.** (2021). The controversies of parabens—an overview nowadays. *Acta Pharmaceutica*, 71(1), 17-32.
- [26] **Cabaleiro, N., De La Calle, I., Bendicho, C., Lavilla, I.** (2014). An overview of sample preparation for the determination of parabens in cosmetics. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 57, 34-46.
- [27] **Alampanos, V., Samanidou, V.** (2021). An overview of sample preparation approaches prior to liquid chromatography methods for the determination of parabens in biological matrices. *Microchemical Journal*, 164, 105995.
- [28] **Sosvorova, L. K., Chlupacova, T., Vitku, J., Vlk, M., Heracek, J., Starka, L., Hampl, R.** (2017). Determination of selected bisphenols, parabens and estrogens in human plasma using LC-MS/MS. *Talanta*, 174, 21-28.
- [29] **González-Mariño, I., Quintana, J. B., Rodríguez, I., Cela, R.** (2009). Simultaneous determination of parabens, triclosan and triclocarban in water by liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry: An International Journal Devoted to the Rapid Dissemination of Up-to-the-Minute Research in Mass Spectrometry*, 23(12), 1756-1766.
- [30] **Moos, R. K., Angerer, J., Wittsiepe, J., Wilhelm, M., Brüning, T., Koch, H. M.** (2014). Rapid determination of nine parabens and seven other environmental phenols in urine samples of German children and adults. *International journal of hygiene and environmental health*, 217(8), 845-853.
- [31] **Moldoveanu, S. C., David, V.** (2021). *Modern sample preparation for chromatography*. Elsevier.

- [32] **Wen, Y.** (2020). Recent advances in solid-phase extraction techniques with nanomaterials. *Handbook of Nanomaterials in Analytical Chemistry*, 57-73.
- [33] **Plastiras, O. E., Andreasidou, E., Samanidou, V.** (2020). Microextraction techniques with deep eutectic solvents. *Molecules*, 25(24), 6026.
- [34] **Armenta, S., Garrigues, S., Esteve-Turrillas, F. A., de la Guardia, M.** (2019). Green extraction techniques in green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 116, 248-253.
- [35] **Armenta, S., Garrigues, S., de la Guardia, M.** (2015). The role of green extraction techniques in Green Analytical Chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 71, 2-8.
- [36] **Armenta, S., Garrigues, S., de la Guardia, M.** (2008). Green analytical chemistry. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 27(6), 497-511.
- [37] **Ranke, J., Stolte, S., Störmann, R., Arning, J., Jastorff, B.** (2007). Design of sustainable chemical products the example of ionic liquids. *Chemical Reviews*, 107(6), 2183-2206.
- [38] **Pena-Pereira, F., Namieśnik, J.** (2014). Ionic liquids and deep eutectic mixtures: sustainable solvents for extraction processes. *ChemSusChem*, 7(7), 1784-1800.
- [39] **Romero, A., Santos, A., Tojo, J., Rodríguez, A. J. J. O. H. M.** (2008). Toxicity and biodegradability of imidazolium ionic liquids. *Journal of hazardous materials*, 151(1), 268-273.
- [40] **Kissoudi, M., Samanidou, V.** (2018). Recent advances in applications of ionic liquids in miniaturized microextraction techniques. *Molecules*, 23(6), 1437.
- [41] **Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Munro, H. L., Rasheed, R. K., Tambyrajah, V.** (2001). Preparation of novel, moisture-stable, Lewis-acidic ionic liquids containing quaternary ammonium salts with functional side chains. Electronic supplementary information (ESI) available: *Chemical Communications*, (19), 2010-2011.
- [42] **Xu, K., Wang, Y., Huang, Y., Li, N., Wen, Q.** (2015). A green deep eutectic solvent-based aqueous two-phase system for protein extracting. *Analytica Chimica Acta*, 864, 9-20.
- [43] **Werner, J., Grześkowiak, T., Zgola-Grześkowiak, A., Stanisiz, E.** (2018). Recent trends in microextraction techniques used in determination of arsenic species. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 105, 121-136.
- [44] **Smith, E. L., Abbott, A. P., Ryder, K. S.** (2014). Deep eutectic solvents (DESs) and their applications. *Chemical reviews*, 114(21), 11060-11082.
- [45] **Abbott, A. P., Capper, G., Davies, D. L., Rasheed, R. K., Tambyrajah, V.** (2003). Novel solvent properties of choline chloride/urea mixtures. *Chemical communications*, (1), 70-71.
- [46] **Chen, J., Liu, M., Wang, Q., Du, H., Zhang, L.** (2016). Deep eutectic solvent-based microwave-assisted method for extraction of hydrophilic and hydrophobic components from radix salviae miltiorrhizae. *Molecules*, 21(10), 1383.
- [47] **Aryafard, M., Karimi, A., Harifi-Mood, A. R., Minofar, B.** (2020). Molecular dynamics simulations, solvatochromic parameters, and preferential solvation in aqueous solutions of ethaline, ethylene glycol, and choline chloride. *Journal of Chemical & Engineering Data*, 65(9), 4556-4566.
- [48] **Aryafard, M., Abbasi, M., Řeha, D., Harifi-Mood, A. R., Minofar, B.** (2019). Experimental and theoretical investigation of solvatochromic properties and

- ion solvation structure in DESs of reline, glyceline, ethaline and their mixtures with PEG 400. *Journal of Molecular Liquids*, 284, 59-67.
- [49] **Florindo, C., Oliveira, F. S., Rebelo, L. P. N., Fernandes, A. M., Marrucho, I. M.** (2014). Insights into the synthesis and properties of deep eutectic solvents based on cholinium chloride and carboxylic acids. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(10), 2416-2425.
- [50] **Liška, I.** (2000). Fifty years of solid-phase extraction in water analysis—historical development and overview. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 3-16.
- [51] **Makoś, P., Słupek, E., Gębicki, J.** (2020). Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques—A review. *Microchemical journal*, 152, 104384.
- [52] **Mirzaee, M. T., Seidi, S., Alizadeh, R.** (2021). Pipette-tip SPE based on Graphene/ZnCr LDH for Pb (II) analysis in hair samples followed by GFAAS. *Analytical Biochemistry*, 612, 113949.
- [53] **Li, X., Choi, J., Ahn, W. S., Row, K. H.** (2018). Preparation and application of porous materials based on deep eutectic solvents. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 48(1), 73-85.
- [54] **Li, G., Row, K. H.** (2018). Ternary deep eutectic solvent magnetic molecularly imprinted polymers for the dispersive magnetic solid-phase microextraction of green tea. *Journal of separation science*, 41(17), 3424-3431.
- [55] **Li, G., Row, K. H.** (2019). Hydrophilic molecularly imprinted chitosan based on deep eutectic solvents for the enrichment of gallic acid in red ginseng tea. *Polymers*, 11(9), 1434.
- [56] **Chen, J., Wang, Y., Wei, X., Xu, P., Xu, W., Ni, R., Meng, J.** (2018). Magnetic solid-phase extraction for the removal of mercury from water with ternary hydrosulphonyl-based deep eutectic solvent modified magnetic graphene oxide. *Talanta*, 188, 454-462.
- [57] **Fu, N., Lv, R., Guo, Z., Guo, Y., You, X., Tang, B., Row, K. H.** (2017). Environmentally friendly and non-polluting solvent pretreatment of palm samples for polyphenol analysis using choline chloride deep eutectic solvents. *Journal of Chromatography A*, 1492, 1-11.
- [58] **Sun, L., Deng, Q., Zhu, T.** (2019). Optimization of heteroatom doped graphene oxide by deep eutectic solvents and the application for pipette-tip solid-phase extraction of flavonoids. *Journal of separation science*, 42(14), 2371-2378.
- [59] **Ma, W., Dai, Y., Row, K. H.** (2018). Molecular imprinted polymers based on magnetic chitosan with different deep eutectic solvent monomers for the selective separation of catechins in black tea. *Electrophoresis*, 39(15), 2039-2046.
- [60] **Makoś, P., Słupek, E., Gębicki, J.** (2020). Hydrophobic deep eutectic solvents in microextraction techniques—A review. *Microchemical journal*, 152, 104384.
- [61] **Keçili, R., Büyüktiryaki, S., Dolak, İ., Hussain, C. M.** (2020). The use of magnetic nanoparticles in sample preparation devices and tools. In *Handbook of Nanomaterials in Analytical Chemistry* (pp. 75-95). Elsevier.
- [62] **Sarafraz-Yazdi, A., Amiri, A.** (2010). Liquid-phase microextraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 29(1), 1-14.
- [63] **Li, G., Wang, W., Wang, Q., Zhu, T.** (2016). Deep eutectic solvents modified molecular imprinted polymers for optimized purification of chlorogenic acid from honeysuckle. *Journal of chromatographic science*, 54(2), 271-279.

- [64] **Wang, X., Li, G., Row, K. H.** (2017). Graphene and graphene oxide modified by deep eutectic solvents and ionic liquids supported on silica as adsorbents for solid-phase extraction. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 38(2), 251-257.
- [65] **Li, X., Row, K. H.** (2017). Application of novel ternary deep eutectic solvents as a functional monomer in molecularly imprinted polymers for purification of levofloxacin. *Journal of Chromatography B*, 1068, 56-63.
- [66] **Li, G., Row, K. H.** (2018). Ternary deep eutectic solvent magnetic molecularly imprinted polymers for the dispersive magnetic solid-phase microextraction of green tea. *Journal of separation science*, 41(17), 3424-3431.
- [67] **Sun, L., Deng, Q., Zhu, T.** (2019). Optimization of heteroatom doped graphene oxide by deep eutectic solvents and the application for pipette-tip solid-phase extraction of flavonoids. *Journal of separation science*, 42(14), 2371-2378.
- [68] **Ma, W., Row, K. H.** (2020). Solid-phase extraction of catechins from green tea with deep eutectic solvent immobilized magnetic molybdenum disulfide molecularly imprinted polymer. *Molecules*, 25(2), 280.
- [69] **Aryafard, M., Abbasi, M., Řeha, D., Harifi-Mood, A. R., Minofar, B.** (2019). Experimental and theoretical investigation of solvatochromic properties and ion solvation structure in DESs of reline, glyceline, ethaline and their mixtures with PEG 400. *Journal of Molecular Liquids*, 284, 59-67.
- [70] **Li, G., Wang, X., Row, K. H.** (2017). Magnetic solid-phase extraction with Fe₃O₄/molecularly imprinted polymers modified by deep eutectic solvents and ionic liquids for the rapid purification of alkaloid isomers (theobromine and theophylline) from green tea. *Molecules*, 22(7), 1061.
- [71] **Pedersen-Bjergaard, S., Rasmussen, K. E.** (1999). Liquid- liquid- liquid microextraction for sample preparation of biological fluids prior to capillary electrophoresis. *Analytical chemistry*, 71(14), 2650-2656.
- [72] **Zounr, R. A., Tuzen, M., Deligonul, N., Khuhawar, M. Y.** (2018). A highly selective and sensitive ultrasonic assisted dispersive liquid phase microextraction based on deep eutectic solvent for determination of cadmium in food and water samples prior to electrothermal atomic absorption spectrometry. *Food chemistry*, 253, 277-283.
- [73] **Florindo, C., Oliveira, F. S., Rebelo, L. P. N., Fernandes, A. M., Marrucho, I. M.** (2014). Insights into the synthesis and properties of deep eutectic solvents based on cholinium chloride and carboxylic acids. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 2(10), 2416-2425.
- [74] **Wierucka, M., Biziuk, M.** (2014). Application of magnetic nanoparticles for magnetic solid-phase extraction in preparing biological, environmental and food samples. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 59, 50-58.
- [75] **Lundstedt, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, Å., Pettersen, J., Bergman, R.** (1998). Experimental design and optimization. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*, 42(1-2), 3-40.
- [76] **Hanrahan, G., Lu, K.** (2006). Application of factorial and response surface methodology in modern experimental design and optimization. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 36(3-4), 141-151.
- [77] **Mousavi, L., Tamiji, Z., Khoshayand, M. R.** (2018). Applications and opportunities of experimental design for the dispersive liquid-liquid microextraction method-A review. *Talanta*, 190, 335-356.
- [78] **Cárdenes, L., Martín-Calero, A., Ayala, J. H., González, V., Afonso, A. M.** (2006). Experimental design optimization of solid-phase microextraction

- conditions for the determination of heterocyclic aromatic amines by high-performance liquid chromatography. *Analytical letters*, 39(2), 405-423.
- [79] **Sereshti, H., Khojeh, V., Samadi, S.** (2011). Optimization of dispersive liquid-liquid microextraction coupled with inductively coupled plasma-optical emission spectrometry with the aid of experimental design for simultaneous determination of heavy metals in natural waters. *Talanta*, 83(3), 885-890.
- [80] **Altunay, N., Elik, A., Unal, Y., Kaya, S.** (2021). Optimization of an ultrasound-assisted alcohol-based deep eutectic solvent dispersive liquid-phase microextraction for separation and preconcentration of quercetin in wine and food samples with response surface methodology. *Journal of Separation Science*, 44(9), 1998-2005.
- [81] **Tuzen, M., Elik, A., Altunay, N.** (2021). Ultrasound-assisted supramolecular solvent dispersive liquid-liquid microextraction for preconcentration and determination of Cr (VI) in waters and total chromium in beverages and vegetables. *Journal of Molecular Liquids*, 329, 115556.
- [82] **Taşpınar, H., Elik, A., Kaya, S., Altunay, N.** (2021). Optimization of green and rapid analytical procedure for the extraction of patulin in fruit juice and dried fruit samples by air-assisted natural deep eutectic solvent-based solidified homogeneous liquid phase microextraction using experimental design and computational chemistry approach. *Food Chemistry*, 358, 129817.
- [83] **Mincea, M. M., Lupşa, I. R., Cinghiţă, D. F., Radovan, C. V., Talpos, I.** (2009). Determination of methylparaben from cosmetic products by ultra performance liquid chromatography. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74(6), 669-676.
- [84] **Li, G., Row, K. H.** (2019). Utilization of deep eutectic solvents in dispersive liquid-liquid micro-extraction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 120, 115651.
- [85] **Dongala, T., Palakurthi, A. K.** (2020). Stability-indicating LC method for the simultaneous determination of methyl paraben, propyl paraben, butylated hydroxytoluene and alpha-tocopherol contents in marijuana capsules. *Journal of the Iranian Chemical Society*, 17(3), 631-638.
- [86] **Zgola-Grześkowiak, A., Werner, J., Jeszka-Skowron, M., Czarczyńska-Goślińska, B.** (2016). Determination of parabens in cosmetic products using high performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Analytical Methods*, 8(19), 3903-3909.
- [87] **Kaur, R., Kaur, R., Grover, A., Rani, S., Malik, A. K., Kabir, A., Furton, K. G.** (2020). Trace determination of parabens in cosmetics and personal care products using fabric-phase sorptive extraction and high-performance liquid chromatography with UV detection. *Journal of Separation Science*, 43(13), 2626-2635.
- [88] **Rajabi, M., Sarhadi, A., Bazregar, M., Asghari, A., Mirparizi, E.** (2017). Rapid derivatization and extraction of paraben preservatives by fast syringe-assisted liquid-liquid microextraction and their determination in cosmetic and aqueous sample solutions by gas chromatography. *Analytical Methods*, 9(41), 5963-5969.
- [89] **Dil, E. A., Ghaedi, M., Asfaram, A., Tayebi, L.** (2021). Simultaneous selective enrichment of methylparaben, propylparaben, and butylparaben from cosmetics samples based on syringe-to-syringe magnetic fluid phase microextraction. *Talanta*, 221, 121547.

- [90] **Farag Ambarak, M.** (2021). Determination of methylparaben in some cosmetics and pharmaceuticals using liquid-liquid extraction and spectrophotometric technique. *Asian Journal of Green Chemistry*, 4(2), 192-201.
- [91] **El-Deen, A. K., Shimizu, K.** (2020). A green air assisted-dispersive liquid-liquid microextraction based on solidification of a novel low viscous ternary deep eutectic solvent for the enrichment of endocrine disrupting compounds from water. *Journal of Chromatography A*, 1629, 461498.
- [92] **Dil, E. A., Ghaedi, M., Asfaram, A., Tayebi, L.** (2021). Simultaneous selective enrichment of methylparaben, propylparaben, and butylparaben from cosmetics samples based on syringe-to-syringe magnetic fluid phase microextraction. *Talanta*, 221, 121547.
- [93] **Kaur, R., Kaur, R., Grover, A., Rani, S., Malik, A. K., Kabir, A., Furton, K. G.** (2020). Trace determination of parabens in cosmetics and personal care products using fabric-phase sorptive extraction and high-performance liquid chromatography with UV detection. *Journal of Separation Science*, 43(13), 2626-2635.
- [94] **Ali, H. M., Alsohaimi, I. H., Khan, M. R., Azam, M.** (2020). Simultaneous Determination of Isothiazolinones and Parabens in Cosmetic Products Using Solid-Phase Extraction and Ultra-High Performance Liquid Chromatography/Diode Array Detector. *Pharmaceuticals*, 13(11), 412.
- [95] **Dalmaz, A., Özak, S. S.** (2022). DES-based vortex-assisted liquid-liquid microextraction procedure developed for the determination of paraben preservatives in mouthwashes. *Microchemical Journal*, 179, 107445.
- [96] **Ramos-Payan, M., Maspoch, S., Llobera, A.** (2017). A simple and fast Double-Flow microfluidic device based liquid-phase microextraction (DF- μ LPME) for the determination of parabens in water samples. *Talanta*, 165, 496-501.