

**T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İLAÇ PREPARATLARINDA ETKEN MADDE VE KATKI
MADDELERİNİN HPLC İLE BİR ARADA TAYİNİ**

AYŞE ASLAN ÇAKIR

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI
ANALİTİK KİMYA PROGRAMI**

**DANIŞMAN
DOÇ. DR. ÖZLEM AKSU DÖNMEZ**

İSTANBUL, 2015

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

İLAÇ PREPARATLARINDA ETKEN MADDE VE KATKI
MADDELERİNİN HPLC İLE BİRARADA TAYİNİ

Ayşe ASLAN ÇAKIR tarafından hazırlanan tez çalışması 26/11/2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Analitik Kimya Anabilim Dalı'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı

Doç. Dr. Özlem Aksu Dönmez
Yıldız Teknik Üniversitesi

Jüri Üyeleri

Doç. Dr. Özlem Aksu Dönmez
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Sıdıka Sungur
Yeni Yüzyıl Üniversitesi

Doç. Dr. Bürge Aşçı
Yıldız Teknik Üniversitesi

Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2015-01-02-YL03 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

ÖNSÖZ

Bitirme tezimin her aşamasında bilgi ve deneyimleriyle bana ve tezime çok büyük katkılarda bulunan değerli tez danışmanım Doç. Dr. Özlem AKSU DÖNMEZ'e, yine bu süreç boyunca benden katkı ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Bürge AŞÇI ve Dr. Şule DİNÇ ZOR'a teşekkürü bir borç bilirim. Tüm eğitim hayatım ve çalışmalarım boyunca beni maddi ve manevi olarak destekleyen anneciğim ve babacığma; her konuda destekçim biricik eşim Muharrem ÇAKIR'a teşekkür eder, saygılarımı sunarım.

Ekim, 2015

Ayşe ASLAN ÇAKIR

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
SİMGE LİSTESİ.....	Viii
KISALTMA LİSTESİ	IX
ŞEKİL LİSTESİ.....	XII
ÇİZELGE LİSTESİ	XIII
ÖZET	XV
ABSTRACT.....	XVII
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1 Literatür özeti.....	1
1.2 Tezin Amacı.....	3
1.3 Hipotez.....	3
BÖLÜM 2	
GENEL BİLGİLER	4
2.1. İlaç Etken Maddeleri.....	4
2.1.1. Efedrin Hidroklorür.....	4
2.1.1.1 Özellikleri	4
2.1.1.2 Farmakolojik Etkisi	5
2.1.1.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	5
2.1.2 Guaifenesin	13
2.1.2.1 Özellikleri	13
2.1.2.2 Farmakolojik Etkisi	13
2.1.2.3 Miktar Tayin Yöntemleri.....	14
2.2 İlaç Katkı Maddeleri	17
2.3 Çalışılan Katkı Maddeleri	17
2.3.1 Metil paraben	17
2.3.1.1 Özellikleri	17
2.3.1.2 Farmakolojik özellikleri	18
2.3.2 Propil paraben	18
2.3.2.1 Özellikleri	18

2.3.2.2 Farmakolojik özellikleri:	18
2.3.3 Parabenlerin İlaçta Kullanımı	19
2.3.4 Parabenlerin Zararları	19
2.3.5 Paraben Kullanımı İle İlgili Yasaklamalar	19
2.3.6 Parabenlerin Miktar Tayin Yöntemleri	20
2.3.7 Ponso 4R	28
2.3.7.1 Özellikleri	28
2.3.7.2 Farmakolojik Etkisi	28
2.3.7.3 Miktar Tayin Yöntemleri	29
2.3.8 Sakarin	33
2.3.8.1 Özellikleri	33
2.3.8.2 Farmakolojik Etkisi	33
2.3.8.3 Miktar Tayin Yöntemleri	33
2. 4 Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin çeşitli kombinasyonlar halinde tayin yöntemleri	39
2.5 Deneysel Tasarım [390- 393]	42
2.5.1 Tanımı ve Önemi	42
2.5.2 Tarama Tasarımları	45
2.5.2.1 Tam Faktöriyel Tasarım	46
2.5.2.2 Azaltılmış Faktöriyel Tasarım	47
2.5.2.2.1 Fraksiyonel Faktöriyel Tasarım	48
2.5.2.2.2 Plackett-Burman Tasarımı	49
2.5.3 Optimizasyon Tasarımları	51
2.5.3.1 Merkezi Kompozit Tasarım	52
2.5.3.2 Box-Behnken Tasarımı	53
2.5.3.3 Doehlert Tasarımı	54
2.5.3.4 D-optimal Tasarım	55
2.5.3.5 Karışım Tasarımları	55
2.5.4 Varyans Analizi (ANOVA)	55
2.5.5 Deneysel Tasarımın Analitik Kimyada Uygulamaları	56

BÖLÜM 3

DENEYSEL BÖLÜM	74
3.1 Kullanılan Kimyasallar	74
3.2 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması	74
3.3 Kullanılan Cihazlar	75
3.4 Yöntem	75
3.5. Validasyon	76
3.5.1 Doğrusallık	76
3.5.2 Gün İçi ve Günler Arası Tekrarlanabilirlik	77
3.5.3 Doğruluk	77
3.5.4 Tanıma ve Tayin Sınırı (LOD, LOQ)	78
3.5.6 Çözelti Dayanıklılığı	78
3.5.7 Örnek Analizi	78

BÖLÜM 4

SONUÇLAR VE ÖNERİLER	79
4.1 Method Geliştirme ve Optimizasyon	79

4.1.1 Box-Behnken Tasarımı	79
4.1.2 Veri Değerlendirme.....	80
4.2 Validasyon	87
4.2.1 Doğrusallık.....	87
4.2.2 Gün İçi ve Günler Arası Tekrarlanabilirlik.....	88
4.2.3 Doğruluk	88
4.2.4 Tanıma ve Tayin Sınırı (LOD-LOQ)	88
4.2.5 Çözelti Dayanıklılığı	98
4.3 Örnek Analizi.....	98
4.4 Tartışma	100
KAYNAKLAR	102
ÖZGEÇMİŞ	160

SİMGE LİSTESİ

α	Farklı tasarımlardaki seviye
k	Faktör sayısı
N	Deney sayısı
T	Transpoze
X	Tasarım noktalarının matrisi
x	Faktör

KISALTMA LİSTESİ

AA-DLLME	Alkol Destekli Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu
APCI	Atmosferik Basıncıta Kimyasal İyonizasyon
AAS	Atomik Absorbiyon Spektrometresi
CD-CE	Siklodekstrin Destekli Kapiler Elektroforez
CD-MEKC-UV	Dedektörlü Siklodekstrin Destekli Misel Elektrokinetik Kromatografisi
CE	Kapiler Elektroforez
CE-LIF	Lazer İyonizasyon Dedektörlü Kapiler Elektroforez
CL	Kemilüminesans
CZE	Kapiler Zon Elektroforez
DAD	Fotodiyot Dizili Dedektör
DPP	Diferansiyel Puls Polarografisi
DSC-FTIR	Diferansiyel Tarama Kalorimetrisi-Fourier Dönüşümlü Infrared
ECL	Elektrokemilüminesans
EI	Elektron Impact İyonlaştırma
ELSD	Evaporatif Işık Saçılması Dedektörü
ESI	Elektrosprey İyonizasyon
ESI-MS	Elektrosprey İyonlaştırmalı Kütle Spektrometresi
ETA-AAS	Elektrotermal Atomlaştırmalı Atomik Absorpsiyon Spektrofotometrisi
FIA	Akış Enjeksiyon Analizi
FI-CE	Akış Enjeksiyonlu Kapiler Elektroforez
FID	Akış Enjeksiyon Online Diyaliz
FI-ES-MS	Akış Enjeksiyonlu Elektrosprey İyonlaştırmalı Kütle Spektrometresi
FLD	Floresans Dedektör
FTIR	Fourier Dönüşümü Kızılötesi Spektroskopisi
GC	Gaz Kromatografisi
GC-AED	Atomik Emisyon Dedektörlü Gaz Kromatografisi
GC-ECD	Elektrokimyasal Dedeksiyonlu Gaz Kromatografisi
GC-FIA	Gaz Kromatografisi-Akış Enjeksiyon Analizi
GC-FID	Alev İyonizasyon Dedektörlü Gaz Kromatografisi
GC-HPLC	Gaz Kromatografisi- Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
GC-MS	Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi

GC-MS/MS	Gaz Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi
GC-SIM-MS	Gaz Kromatografisi-Seçici İyon Görüntüleme-Kütle Spektroskopisi
HILIC	Hidrofilik İnteraksiyon Sıvı Kromatografisi
HPLC	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPTLC	Yüksek Performanslı İnce Tabaka Kromatografisi
HPLC-DAD	Fotodiyot Dizili Dedektörlü Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HPLC-UV	UV Dedektörlü Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
HS-SPME	Gaz Halinde Katı Faz Ekstraksiyonu
IC	İyon Kromatografisi
IIC	İyon İnteraksiyon Kromatografisi
IMS	İyon Mobilite Spektrometri
IPC	İyon Çifti Kromatografisi
LC	Sıvı Kromatografisi
LC-FLD	Floresans Dedektörlü Sıvı Kromatografisi
LE	Sıvı Ekstraksiyonu
LLE	Sıvı-Sıvı Ekstraksiyonu
LLME	Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu
MA-DE	Mikrodalga Destekli Türevleme-Ekstraksiyon
MEEKC	Mikroemülsiyon Elektrokinetik Kromatografisi
MEKC	Misel Elektrokinetik Kromatografisi
MLC	Misel Sıvı Kromatografisi
MS	Kütle Spektrometrisi
MS/MS	Tandem Kütle Spektrometrisi
MSC	Çoklu Enjektör Kromatografisi
NQR	Çekirdek Kuadropol Rezonans
ODS	Oktadesilsiloksan
PHBA-Bu	p-hidroksibenzoik asit butil
PHBA-Et	p-hidroksibenzoik asit etil
PHBA-iBu	p-hidroksibenzoik asit izobutil
PHBA-iPr	p-hidroksibenzoik asit izopropil
PHBA-Me	p-hidroksibenzoik asit metil
PHBA-Pr	p-hidroksibenzoik asit propil
RR-RP-HPLC	Hızlı Rezolüsyonlu Ters Faz Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
SBSE	Stir-Bar Sorptif Ekstraksiyonu
SFE	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
SFE-DLLME	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu- Dispersif Sıvı-Sıvı Mikroekstraksiyonu
SFE-MAE	Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu- Mikrodalga Destekli Ekstraksiyon
SFODME	Yüzen Katı Organik Damla Mikroekstraksiyonu
SPE	Katı Faz Ekstraksiyonu
SPE-SFE	Katı Faz Ekstraksiyonu- Süperkritik Akışkan Ekstraksiyonu
SPME	Katı Faz Mikroekstraksiyonu
TLC	İnce Tabaka Kromatografisi
TNIR	Transmisyon Yakın Kızılötesi Spektroskopisi
UHPLC	Ultra Hızlı Sıvı Kromatografisi
UV	Ultraviyole

UV-DAD
XRF

Ultraviyole- Fotodiyot Dizili Dedektör
X-ışınları Floresans Spektroskopisi

ŞEKİL LİSTESİ

	Sayfa
Şekil 2. 1 pH ve katalizör konsantrasyonuna bağlı olarak reaksiyon verimindeki değişme.....	43
Şekil 2. 2 Katalizör konsantrasyonu 2.0 mM’da sabit tutularak bulunan optimum pH.....	44
Şekil 2. 3 pH 3.4’te sabit tutularak bulunan optimum konsantrasyon.....	44
Şekil 4. 1 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen Pareto grafiği.....	81
Şekil 4. 2 Faktörlerin ayırma gücüne etkileri	82
Şekil 4. 3 Deneysel ayırma gücü değerleri ile teorik ayırma gücü değerleri arasındaki doğrusallığın grafiği.....	84
Şekil 4. 4 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen A ve B faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (C ve D faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).....	84
Şekil 4. 5 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen C ve D faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (A ve B faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).....	85
Şekil 4. 6 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen A ve C faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (B ve D faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).....	85
Şekil 4. 7 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen B ve D faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (A ve C faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).....	86
Şekil 4. 8 Optimum koşullarda 3 µg mL ⁻¹ ponso 4R (PO), 120 µg mL ⁻¹ sakarin (SAC), 30 µg mL ⁻¹ efedrin hidroklorür (EP), 600 µg mL ⁻¹ guaifenesin (GU), 30 µg mL ⁻¹ metil paraben (MP) ve 3 µg mL ⁻¹ propil paraben (PP)’nin kromatogramı.....	87
Şekil 4. 9 Efedrin hidroklorürün doğrusallık grafiği.....	89
Şekil 4. 10 Guaifenesin doğrusallık grafiği.....	90
Şekil 4. 11 Metil paraben doğrusallık grafiği.....	91
Şekil 4. 12 Propil paraben doğrusallık grafiği.....	92
Şekil 4. 13 Ponzo doğrusallık grafiği.....	93
Şekil 4. 14 Sakarin doğrusallık grafiği.....	94

ÇİZELGE LİSTESİ

	Sayfa
Çizelge 2. 1 Efedrin hidroklorürün HPLC ile analizleri.....	5
Çizelge 2. 2 Efedrin hidroklorürün diğer yöntemlerle analizleri.....	10
Çizelge 2. 3 Guaifenesin HPLC ile analizleri.....	14
Çizelge 2. 4 Guaifenesin diğer yöntemlerle analizleri.....	16
Çizelge 2. 5 Metil parabenin HPLC ile analizleri.....	20
Çizelge 2. 6 Propil parabenin HPLC ile analizleri.....	23
Çizelge 2. 7 Metil paraben ve Propil parabenin diğer yöntemlerle analizleri.....	25
Çizelge 2. 8 Ponsonun HPLC ile analizleri.....	29
Çizelge 2. 9 Ponsonun diğer yöntemlerle ile analizleri.....	31
Çizelge 2. 10 Sakarinin HPLC ile analizleri.....	34
Çizelge 2. 11 Sakarinin diğer yöntemlerle analizleri.....	38
Çizelge 2. 12 Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin çeşitli kombinasyonlar halinde tayin yöntemleri.....	40
Çizelge 2. 13 3 Faktör için tam faktöriyel tasarım.....	46
Çizelge 2. 14 2(6-2) 16 deney için fraksiyonlu faktöriyel tasarım.....	48
Çizelge 2. 15 Plackett-Burman tasarımı için üreticiler.....	50
Çizelge 2.16 11 Faktör için Plackett-Burman tasarımı.....	50
Çizelge 2. 17 3 Faktör için merkezi kompozit tasarım.....	52
Çizelge 2. 18 3 Faktör için Box-Behnken tasarımı.....	53
Çizelge 2. 19 3 Faktör için Doehlert tasarımı.....	54
Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri.....	57
Çizelge 3.1.Faktörler ve seviyeleri.....	76
Çizelge 4. 1 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen ayırma gücü değerleri.....	80
Çizelge 4. 2 Regresyon analizi sonuçları	81
Çizelge 4. 3 ANOVA sonuçları	83
Çizelge 4. 4 Faktörlerin optimum değerleri	86
Çizelge 4. 5 Efedrinhidroklorür ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri.....	89
Çizelge 4. 6 Efedrin hidroklorürün regresyon analizine ait parametreler.....	89
Çizelge 4. 7 Guaifenesinin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri.....	90
Çizelge 4. 8 Guaifenesinin regresyon analizine ait parametreler.....	90
Çizelge 4. 9 Metil parabenin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri.....	91
Çizelge 4.10 Metil parabenin regresyon analizine ait parametreler.....	91
Çizelge 4. 11 Propil parabenin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri.....	92
Çizelge 4. 12 Propil parabenin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri.....	92
Çizelge 4. 13 Ponzonun ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri.....	93
Çizelge 4. 14 Ponso 4R'nin regresyon analizine ait parametreler.....	93

Çizelge 4. 15 Sakarinin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri.....	94
Çizelge 4. 16 Sakarinin regresyon analizine ait parametreler.....	94
Çizelge 4. 17 Gün içi tekrarlanabilirlik.....	95
Çizelge 4. 18 Günler arası tekrarlanabilirlik.....	96
Çizelge 4. 19 Doğruluk testi sonuçları.....	97
Çizelge 4. 20 LOD-LOQ değerler	98
Çizelge 4. 21 Örnek Analiz Sonuçları.....	99
Çizelge 4. 22 Analiz sonuçlarının etiket değerleri ile karşılaştırması.....	100

İLAÇ PREPARATLARINDA ETKEN MADDE VE KATKI MADDELERİNİN HPLC İLE BİR ARADA TAYİNİ

Ayşe ASLAN ÇAKIR

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Özlem AKSU DÖNMEZ

Bu çalışmada çeşitli şurup preparatlarında etken madde olarak kullanılan efedrin hidroklorür ve guaifenesin ile katkı maddeleri olarak kullanılan metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada tayini için gradient HPLC yöntemi geliştirildi. Yöntemin optimizasyonu 4 faktörlü, 3 seviyeli Box-Behnken tasarımı kullanılarak yapıldı. Faktör olarak pH, akış hızı, hareketli faz oranı (tetrabütil amonyum hidroksit(TBAH) içeren fosfat (H_2PO_4/HPO_4^{2-}) tamponu ve metanol çözücü sisteminde % fosfat tamponu) ve %TBAH miktarları seçildi. Seviyeler pH için 6,5-7,0-7,5; akış hızı için 0,6-0,8-1,0, %fosfat tamponu için 45-50-55 ve %TBAH için ise 0,1-0,2-0,3 olarak belirlendi. Faktörlerin düşük seviyeleri için (-1), orta seviyeleri için (0) ve yüksek seviyeleri için (+1) kodları kullanıldı. Sırası rastgele belirlenen toplam 27 deney yapıldı. HPLC kromatogramındaki piklerin ayırma gücü üzerine bu faktörlerin hem kendi başlarına hem de birbirleri ile olan etkileşimlerinin etkileri incelendi. Optimizasyon tasarımı ile elde edilen verilere regresyon analizi yapıldı. ANOVA yapılarak sonuçların doğruluğu test edildi. Yapılan çalışmalarda pH , akış hızı ve hareketli faz oranı ile hareketli faz oranı ve pH'nın ikinci dereceden etkilerinin ayırma gücü üzerinde etkili olduğu görüldü. Regresyon sonuçları kullanılarak ayırma gücüne ait matematiksel bir model elde edildi. Elde edilen modelden teorik ayırma gücü değerleri bulundu. Modelin uygunluğunu test etmek için teorik ayırma gücü değerleri ile deneysel ayırma gücü değerleri arasındaki ilişki incelendi. Regresyon katsayısı 0,9195 olarak bulundu ve modelin uygun olduğuna karar verildi.

Modele göre kromatografik şartlar; hareketli fazın pH'sı 6,5; oranı ve bileşimi % 0,15 TBAH içeren fosfat tamponu/metanol (52:48); akış hızı 0,6 mL/dak olarak belirlendi.

Gradient program 0-8,5 dak. %52 fosfat tamponu, 8,5-25 dak. %40 fosfat tamponu olacak şekilde uygulandı. Belirlenen bu şartlarda maddelerin kromatogramları 210 nm’de spektrofotometrik dedektör kullanılarak kaydedildi.

Geliştirilen yöntemin validasyonu doğrusallık, tekrarlanabilirlik, doğruluk (% geri kazanım), tanıma- tayin sınırı (LOD-LOQ) ve dayanıklılık parametreleri incelenerek yapıldı. Doğrusallık için yapılan çalışmalarda regresyon katsayıları (R^2) efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarin için sırasıyla 0,9981; 0,9995; 0,9994; 0,9970; 0,9993; 0,9999 olarak bulundu. Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarin için gün içi tekrarlanabilirlik testlerinde %RSD değerleri sırasıyla; 0,56-1,62; 0,09-0,89; 1,20-1,60; 0,40-0,99; 0,59-1,02; 0,77-1,60, günler arası tekrarlanabilirlik testlerinde ise %RSD değerleri yine sırasıyla 0,78-1,89; 1,02-1,9; 1,44-1,88; 0,80-1,34; 0,98-1,20 1,32-1,85 aralığında bulundu. Doğruluk için, incelenen maddeleri içeren örnek çözeltisi, içine 3 farklı konsantrasyonda efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarin ilave edilerek analiz yapıldı. Sırasıyla %100,86-%102,50; %96,47-%101,22; %99,00-%101,20; %99,67-%101,80; %95,00-%99,80; %100,70-%102,58 aralığında geri kazanım değerleri elde edildi. Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarin için sırası ile tanıma sınırı; 0,25; 0,02; 0,18; 0,12; 0,11; 0,008 µg/ mL, tayin sınırı; 0,83; 0,07; 0,60; 0,40; 0,38; 0,03 µg/ mL olarak hesaplandı. Çözeltilerin stabilitelerini incelemek amacıyla çalışılan maddeler su ve hareketli faz içerisinde, oda sıcaklığında ve 4C°’de belli sürelerde bekletilerek analiz edildi.

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilen HPLC yöntemi Brodil ve Broksin adlı şurup preparatlarına başarıyla uygulandı. Bu preparatların 1,044 - 1,320 mg/mL metil paraben, 0,139 mg /mL propil paraben, 0,153-0,154 mg/mL ponzo 4R ve 3,223-5,095 mg /mL sakarin içerdiği saptandı. Etken maddeler için 99,39-103,82 aralığında % geri kazanım değerleri bulundu.

Anahtar Kelimeler: Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R, sakarin, deneysel tasarım, HPLC

ABSTRACT

SIMULTANEOUS DETERMINATION OF ACTIVE COMPONENTS AND ADDITIVE COMPONENTS IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS BY HPLC

Ayşe Aslan ÇAKIR

Department of Analytical Chemistry

MSc. Thesis

Adviser: Assoc. Prof. Dr. Özlem Aksu DÖNMEZ

In this study, a gradient HPLC method was developed for simultaneous analysis of ephedrine hydrochloride, guaiphenesin used as active ingredients and methylparaben, propylparaben, ponceau 4R, saccharin used as additives in various syrup preparations. The optimization process was carried out using 3 levels 4 factors Box-Behnken design. pH, flow rate, mobile phase ratio (ratio of phosphate buffer ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$) in mobile phase system consisted of phosphate buffer containing tetrabutylammoniumhydroxid(TBAH) and methanol) and TBAH% were selected as factors. The levels were determined as pH 6.5-7.0-7.5, flow rate 0.6-0.8-1.0, phosphate buffer % 45-50-55 and TBAH% 0.1-0.2-0.3. The codes; -1, for low, 0, for middle, and +1, for high levels of the factors were used. 27 experimental runs were randomly carried out. Effects of these factors and the interactions between them on resolution between peaks in HPLC chromatogram were analyzed. Regression analysis was performed on data obtained by the optimization design. ANOVA was performed to test reliability of the results. In studies, it was determined that pH (A), flow rate (B), mobile phase ratio (C) and quadratic contribution of mobile phase ratio and pH (AA and CC) can influence the resolution significantly. A mathematical model related to resolution was obtained using regression results. According to the data obtained a model was created with respect to the resolution. Theoretical resolution values were obtained from the model. The relationship between these values and the experimental values has been examined to test the suitability

of the model. Regression coefficient was found 0,9195 and it was decided that the model is appropriate.

According the model chromatographic conditions were found as pH 6.5; flow rate 0.6 mL min⁻¹ and the mobile phase system phosphate buffer (pH = 6.5) containing 0.15 TBAH% /methanol (52:48). Gradient programme was applied that 0-8.5 min. 52% phosphate buffer; 8.5-25 min. 40% phosphate buffer.

Chromatograms of the substances at the determined conditions were recorded by using spectrophotometric detector at 210 nm.

Analytical method validation was made by the examination of linearity, repeatability, accuracy(Recovery %), limit of quantification-limit of detection and stability parameters. In studies for linearity, the regression coefficients (R²) for ephedrine hydrochloride, guaiphenesin, methylparaben, propylparaben, ponceau 4R and saccharin were found 0.9981; 0.9995; 0.9994; 0.9970; 0.9993; 0.9999 respectively. The RSD% values of the intra-day repeatability analysis for ephedrine hydrochloride, guaiphenesin, methylparaben, propylparaben, ponceau 4R, saccharin were found 0.56-1.62; 0.09-0.89; 1.20-1.60; 0.40-0.99; 0.59-1.02; 0.77-1.60 and inter-day repeatability analysis were found 0.78-1.89; 1.02-1.90; 1.44-1.88; 0.80-1.34; 0.98-1.20 1.32-1.85 respectively. In order to calculate accuracy, analyses were performed by the addition of 3 different concentrations of ephedrine hydrochloride, guaiphenesin, methylparaben, propylparaben, ponceau 4R and saccharin, into the examined samples which contain the substances. The recovery percentage values were obtained respectively, 100.86%-102.50%; 96.47%-101.22%; 99.00%-101.20%; 99.67%-101.80%; 95.00%-99.80%; 100.70%-102.58%. The limit of detection values were calculated as 0.25; 0.02; 0.18; 0.12; 0.11; 0.008 µg/ mL, and the limit of quantification values were calculated as ; 0.83; 0.07; 0.60; 0.40; 0.38; 0,03 µg/ mL for ephedrine hydrochloride, guaiphenesin, methylparaben, propylparaben, ponceau 4R and saccharin. In order to determine stabilities of the solutions of substances, they were analyzed both in water and the mobile phase and both at 4⁰C and room temperature.

The developed HPLC method for the simultaneous determination of ephedrine hydrochloride, guaiphenesin, methylparaben, propylparaben, ponceau 4R and saccharin was applied to Brodil and Broksin syrup preparations, successfully. It was determined that these samples contain 1.044 -1.320 mg/ mL methylparaben, 0.139 mg/ mL propylparaben, 0.153-0.154 mg/ mL ponceau 4R, 3.223-5.095 mg /mL saccharin. The RSD% values for the active componenets were found between 99.39-103.82 from the sample analysis.

Keywords: Ephedrine hydrochloride, guaiphenesin, methylparaben, propylparaben, ponceau 4R, saccharin, experimental design, HPLC

BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1 Literatür özeti

Gıda, kozmetik ve ilaç endüstrisinde dayanıklılık, koruma, koku ve renk verme, görünüş iyileştirme gibi amaçlarla çeşitli kimyasal maddeler kullanılmaktadır. Ancak katkı maddeleri olarak adlandırılan kimyasalların alınan miktarına bağlı olarak insan sağlığına zararlı etki gösterdiği bilinmektedir. Bu nedenle özellikle ilaç analizlerinde, etken madde yanında katkı maddelerinin bir arada analizi oldukça önem taşımakta hem insan sağlığı açısından hem de ilaç kalite kontrol işlemlerinin doğru ve pratik olarak uygulanabilirliği açısından hızlı, performansı yüksek tekniklerin geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Günümüzde, özellikle şurup gibi birden fazla etken maddenin ve çeşitli katkı maddelerinin (boya, tatlandırıcı, koruyucu vb) bulunduğu ilaç preparatlarının analizinde HPLC yöntemi tercih edilmektedir. Bu yöntemin yüksek performansı, karışımları ön işleme tabi tutmadan ayırma ve tayin edebilme gücü, hızı ve oldukça iyi duyarlılığa sahip olması ilaç rutin analizlerinde en çok kullanılan metot olmasına neden olmuştur.

Bu çalışmada, soğuk algınlığı tedavisinde kullanılan “Brodil” ve “Broksin” adlı şurup preparatları, etken madde olarak efedrin hidroklorür ve guaifenesin, katkı maddesi olarak metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarin içermektedir. İlaç içeriğini oluşturan bu etken maddelerin ve katkı maddelerinin ayrı ayrı tek başlarına ya da diğer maddelerle birlikte analizine yönelik HPLC başta olmak üzere birçok yöntem literatürde bulunmaktadır. Efedrin hidroklorür, sempatik sinir sistemini uyarıcı etki gösteren bir ilaç maddesidir. İlaç preparatları ve biyolojik örneklerde yapılan efedrin hidroklorür

analizlerinde HPLC [8] , [10], [12-16] başta olmak üzere spektrofotometrik [41-43] elektroanalitik [43], [44], elektroforez [53-55] ve kemometrik [87] pek çok yöntem kullanılmıştır. Balgam söktürücü olarak kullanılan guaifenesin tayini için ağırlıklı olarak HPLC ve spektrofotometrenin kullanıldığı çeşitli yayınlara rastlanmıştır [111-133] . Metil paraben ve propil paraben kozmetik, gıda ve ilaç endüstrisinde koruyucu amaçla sıklıkla kullanılan katkı maddelerindendir. Ancak son yıllarda parabenlerin kanser etkisi ile ilgili araştırmalar [162] bazı ülkelerde yasaklanmalarına neden olmuştur. Metil ve propil paraben HPLC [163-180] , [196-215] , GC [227-229] yöntemlerinin yanında spektrofotometrik [239], [246], elektroforez [223] ve elektroanalitik [236], [243] birçok yöntemle çalışılmıştır. Genellikle gıda maddelerine renk vermek amacıyla katılan ponso 4R [257-279] ve yapay tatlandırıcı olarak kullanılan sakarinin [326-332] HPLC analizlerine yönelik pek çok çalışma mevcuttur. HPLC dışında diğer yöntemler ile de ponso 4R [285-314] ve sakarin [354-386] tayin edilmiştir. Ayrıca bu 6 maddenin çeşitli kombinasyonlar halinde ve başka ilaç etken maddeleri ile bir arada, HPLC başta olmak üzere çeşitli yöntemlerle miktar tayinleri yapılmıştır [24],[125],[183], [387-389]. Ancak 6 maddenin bir arada tayin edildiği bir çalışmaya rastlanmamıştır.

Son yıllarda yöntem geliştirme ve optimizasyonunda deneysel tasarım yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır. Bir deneysel çalışmada o deneyin performansını etkileyecek parametrelerin belirlenmesi ve kontrolü, doğru ve güvenilir sonuçların eldesinde oldukça önemlidir. Deney sonuçlarını etkileyebilecek herhangi bir deneysel parametre faktör olarak isimlendirilir. Faktörlerin en uygun değerleri ile yapılan bir çalışma ise cevap sinyalini büyütürken maddelerin çok küçük miktarlarının bile analizine imkan vermektedir. Klasik yöntemlerle faktörlerin optimum değerleri, bir faktörün değerini değiştirme, diğerlerini ise sabit tutma yöntemi ile belirlenmektedir. Çok sayıda faktör incelendiğinde çok fazla deney yapılması gerekmekte bu nedenle de zaman alıcı ve maliyetli olmaktadır. Deneysel tasarım yöntemleri kullanılarak optimizasyonda ise deney sayısı ve buna bağlı olarak harcanan süre ve maliyet azalmaktadır. Ayrıca bu tasarımlarla faktörlerin birbirlerinden bağımsız etkilerinin dışında, birbirleri ile olan etkileşimleri ve bu etkileşimlerin deney sonuçlarına olan etkisi de incelenmektedir. Dolayısıyla klasik yöntemlerle optimizasyona göre daha güvenilir sonuçlar elde edilmektedir [390-393]. Biyolojik örneklerin analizinde deneysel tasarıma en çok başvuru yöntemler kromatografi [410-414], [418-425] ve elektroforezdir [432] ,[437]. Ayrıca literatür araştırmalarında UV-VIS spektroskopisi [507], yakın IR [486], floresans spektroskopisi

[441] ve elektroanalitik yöntemlerle [531] yapılmış analizlerde de deneysel tasarım uygulamasına rastlanmıştır.

1.2 Tezin Amacı

Bu tezde şurup preparatlarında etken madde olarak kullanılan efedrin hidroklorür ve guaifenesin ile katkı maddesi olarak kullanılan metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizine yönelik HPLC yönteminin geliştirilmesi ve bunun için optimum ayırma koşullarının deneysel tasarım kullanılarak saptanması, geliştirilen yöntemin validasyonu ve piyasada bulunan ilaç preparatlarına uygulanması amaçlanmıştır.

1.3 Hipotez

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilecek HPLC yönteminin, analizi yapılan maddeleri içeren preparatlara rahatlıkla uygulanabileceği, benzer etki gösteren preparatlar için fikir vereceği düşünülmektedir. Ayrıca yöntemin optimum koşullarının deneysel tasarım kullanılarak belirlenmesinin, daha az sayıda enjeksiyon, daha az çözücü sarfiyatı ile klasik yöntemlere göre daha çevreci, daha kısa ve daha ucuz olması beklenmektedir. Bunların yanında deneysel tasarım, deneyi etkileyen bütün faktörlerin bireysel ve birbirleriyle etkileşimini ve bunların deney sonucuna etkisini incelediğinden klasik optimizasyona göre daha güvenilir sonuçlar elde edilmesi düşünülmektedir

Bu tez çalışmasında geliştirilmesi ve validasyonu planlanan HPLC yönteminin ilaç kalite kontrol rutin analizlerinde güvenilir bir yöntem olarak kullanılabileceği ve böylelikle ilaç endüstrisine ve bilime katkı sağlayabileceği öngörülmektedir.

BÖLÜM 2

GENEL BİLGİLER

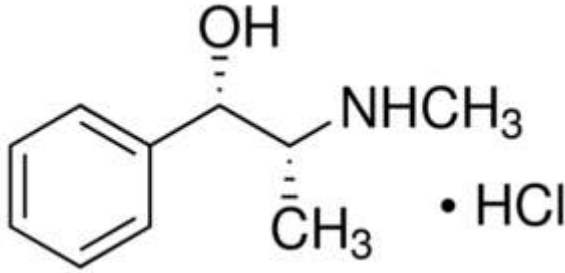
2.1. İlaç Etken Maddeleri

2.1.1. Efedrin Hidroklorür

2.1.1.1 Özellikleri

Kapalı formülü: $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$

Yapısal formülü:



Kimyasal Adı:

1. Benzenmetanol, -[1-(metilamino)etil]-, hidroklorür [R-(R*,S*)], tuzu.
2. (1R,2S)-2-Metilamino-1-fenil propan-1-ol hidroklorür.

Molekül ağırlığı: 201,6 g/mol.

Renk ve görünüş: Renksiz kristal ya da beyaz kristal tozu.

Erime noktası: 217-220 °C.

Çözünürlüğü: Suda ve alkolde iyi çözünür.

2.1.1.2 Farmakolojik Etkisi

Yaygın bir uyarıcı olarak kullanılır. Dekonjestan ve tansiyon düşürücü etkisi vardır. Efedrin sentetik türevleri amfetamin ve metamfetamin ile yapısal olarak benzerlik gösterir. Kimyasal olarak çeşitli bitkilerden elde edilen bir alkaloiddir [1]. Efedrin kronik astım, bronşit, amfizem gibi solunum rahatsızlıklarıyla birlikte oluşan, tersinir olarak solunum sıkıntısına yol açan kasılmaların semptomatik tedavisinde kullanılır. Efedrin, bronş düz adalesini gevşeterek hastaların daha rahat nefes almalarını sağlar. Ayrıca burun mukozası damarlarında özellikle de nezle/grip olduğunda meydana gelen rahatsızlığı giderir. Yüksek dozda alındığında sinirlilik, uykusuzluk, tremor, iştah kaybı, taşikardi, hipertansiyon gibi yan etkiler görülebilir [2].

2.1.1.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Efedrin hidroklorür, birçok farmasötik formülasyonda yaygın olarak kullanılan bir etken maddedir. Bu sebeple gerek tek başına, gerekse çoklu etken maddelerle bir arada birçok tayini yapılmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde ise HPLC başta olmak üzere diğer kromatografik teknikler, elektroforez, elektroanalitik ve spektrofotometrik metotların öne çıktığı gözlenmektedir. Efedrin HCl'nin, HPLC ile analizleri Çizelge 2. 1'de, diğer yöntemlerle analizleri Çizelge 2. 2'de verilmiştir.

Çizelge 2. 1 Efedrin hidroklorürün HPLC ile analizleri

Örnek	Diğer madde	Kolon	Yöntem	Hareketli Faz	Dedektör	Kaynak
İlaç preparatları	Psödoefedrin, fenilefrin, sinefrin	—	HILIC	Asetonitril amonyum asetat	UV	[3]
Plazma	Metilefedrin, amigdalın, glisirizik asit	C18	UPLC	Formik asit, su	MS	[4]
İlaç preparatları	Norefedrin, psödoefedrin, metilefedrin, akonitin, benzoil hipakonin, mesakonitin, norpsödoefedrin	C18	UPLC	Asetonitrilformik asit	MS	[5]

Çizelge 2. 1 Efedrin hidroklorürün HPLC ile analizleri (devamı)

Kan ve idrar numuneleri	Amfetamin, metamfetamin, metilefedrin, 3,4-metilen-dioksiamfetamin, ketamin, metkatonin, katonin	Fenil	UPLC	Asetonitril formik asit	ESI-MS	[6]
Fare plazma ve beyin dokusu homojenatı	Morfin, psödoefedrin	—	LC	—	MS	[7]
Şurup	Guaifenesin	C18	HPLC	Fosfat tamponu, metanol (60:40)	DAD	[8]
Kan serumu ve mide sıvısı	Atropin, brusin, skopolamin, striknin, akonitin, pilokarpin, lobelin, ergometrin, anabasine, teofilin, kolşisin, tetrahidropalmatin	C18	LC	Formik asit, metanol	ESI-MS	[9]
İlaç preparatları	Fenobarbiton	Siyano	HPLC	Asetonitril monyum asetat	UV	[10]
Fare plazması	—	C18	UPLC	—	MS	[11]
Bitkisel ilaç preparatları	Formononetin, benzoik-gliserizik asit, liquiritin, amigdalin, isoliquiritin	C18	HPLC	Asetonitril potasyum dihidrojen fosfat ve fosforik asit tamponu	DAD	[12]
Bitkisel ilaç preparatları	Nöroefedrin, norpsödoefedrin, psödoefedrin, metil efedrin	Fenil	HPLC	Potasyum dihidrojen fosfat, asetonitril (96:4, v/v)	UV	[13]
Bitkisel ilaç preparatları	Hesperidin, ferulik asit, gingerol, glisirizin, imperatorin	C18	HPLC	Su, trifloro asetik asit, metanol	DAD	[14]

Çizelge 2. 1 Efedrin hidroklorürün HPLC ile analizleri (devamı)

İlaç	Psödoefedrin	C18	HPLC	Potasyum dihidrojen fosfat, Asetonitril (94:6, v/v)	UV	[15]
Bitkisel ilaç preparatları	Sinamik asit, sinamaldehit, glisirizin, gingero paeoniflorin, schisandrin, gomisin A- N, metil engenol	C18	HPLC	Trifloro asetik asit,su, asetonitril	DAD	[16]
İdrar numunesi	Metilefedrin, psödoefedrin, salbutamol, morfin, epitestosteron, katin	—	LC	—	MS	[17]
Kan serumu örnekleri (insanda)	Katinon, metkatinon, etkatinon, amfepramon, mefedron,flefedron, metedrokatin, nor-psödo-etilefedrin	Fenil	LC	—	ESI-MS	[18]
Kan ve idrar numunesi	Akonitin,brusin, gelsemine,striknin hipakonit, raceanisodamin	—	HILIC	—	MS	[19]
Kan numunesi	Pilokarpin, striknin, brusinotropin, akonitin, kamptotesin, koumine	—	LC	—	ESI-MS	[20]
Bitkisel ilaç preparatları	Efedrin türevleri	HS F5	HPLC	Amonyum asetat, asetonitril (90:10)	UV	[21]

Çizelge 2. 1 Efedrin hidroklorürün HPLC ile analizleri (devamı)

İlaç preparatları, kan numunesi	Amfetamin, metamfetamin, psödoefedrin, fentermin, ketamin, 3,4-metilen dioksiamfetamin-metamfetamin	C18	UPLC	Metanol, pirolidin	MS	[22]
İdrar numunesi	Salbutamol, morfin	C8	LC	Asetonitril asetik asit,su	ESI-MS	[23]
Şurup	Teofilin, guaifenesin, difenhidramin hidroklorür, metil paraben, propil paraben, sodyum benzoat	C18	HPLC	Potasyum dihidrojen fosfat, asetonitril (60:40 v/v)	UV	[24]
İlaç preparatları	Karbinoksamin maleat, Folkodin	C18	HPLC	Oktan sülfonik asit, asetonitril asetik asit (75:25:0.5)	UV	[25]
Doğal sağlık ürünleri	—	Fenil	LC	Metanol, potasyum fosfat	UV,MS	[26]
İlaç preparatları	Dekstrometorfan hidrojen bromür, fenilefrin klorfeniramin maleat, metil-propil paraben	ODS	LC-Kemometri-Spektrofotometri	Asetonitril fosfat tamponu (40:60)	UV	[27]
İdrar numunesi	Norefedrin, norpsödoefedrin, psödoefedrin, metilefedrinmetil psödoefedrin	Fenil	LC	—	MS	[28]
Besin takviyesi	—	—	LC	—	MS	[29]
İdrar numunesi	Amfetamin metoksifenamin, fenilefrin, fenilpropanolamin	C18	LC	Sodyum dodesil sülfat, pentanol	UV	[30]
Farmasötik tablet	Teofilin	C18	HPLC	Metanol,su (40:60)	UV	[31]
Besin takviyesi	—	—	LC	—	MS	[32]
İdrar numunesi	Norefedrin	C18	LC	Asetonitrilsu (52:48)	UV	[33]

Çizelge 2. 1 Efedrin hidroklorürün HPLC ile analizleri (devamı)

Şurup	Bromheksin hidroklorür, klorfeniramin maleat, Kodein fosfat, dekstrometorfan hidrobromür, difenhidramin papaverin hidroklorür fenilefrin hidroklorür	Siyano	HPLC	Su, asetonitril etanol (38:60:2)	İletkenlik	[34]
İlaç preparatları	Nafazolin, oksimetazolin, ksilometazolin	Polimer	HPLC	Asetonitrilso dyum hidroksit (10:90)	UV	[35]
İnsan Plazması	Guaifenesin	C8	HPLC	Sodyum heptan sülfonat, asetonitril (70:30)	UV	[36]

Çizelge 2. 2 Efedrin hidroklorürün diğer yöntemlerle analizleri

Örnek	Diğer Maddeler	Analiz Yöntemi	Kaynak
Biyolojik numune	Metamfetamin metadon	CE	[37]
İdrar numunesi	Metamfetamin	GC-MS	[38]
Tampon çözelti	Psödoefedrin	CE	[39]
İdrar numunesi	Ketamin	LLE- CE	[40]
İlaç preparatları	Fenilefrin	Spektrofotometri	[41]
İlaç preparatları, İdrar numunesi	Bromheksin hidroklorür	Spektrofotometri	[42]
İlaç preparatları	—	Spektrofotometri Voltametri	[43]
İlaç preparatları ve biyolojik sıvı	—	Potansiyometri	[44]
Gıda numunleri	Fenfluramin, sibutraminor psödoefedrin psödoefedrin, ampefemon	GC-EI-MS-MS	[45]
İdrar numunesi	Psödoefedrin, norpsödoefedrin	CE	[46]
İlaç preparatları	—	Voltametri	[47]
İlaç preparatları	Tripolidin hidroklorür , difenhidramin hidroklorür , psödoefedrin hidroklorür , klorfeniramin maleatskopolaminin	Spektrofotometri (XRF)	[48]
İdrar numunesi	Psödoefedrin	Voltametri	[49]
İlaç preparatları, idrar numunesi	Metilefedrin, psödoefedrin	CE-ECL	[50]
Biyolojik numune	Psödoefedrin	CE-SPME	[51]
İlaç preparatları, idrar numunesi	Psödoefedrin hidroklorür , fenilpropanolamin	Spektrofotometri	[52]
İdrar numunesi	—	CE-ECL	[53]
İlaç preparatları, idrar numunesi	Psödoefedrin	CE-ECL	[54]
İdrar numunesi	Amfetamin, metadon, petidin, tetrakain, kodein, eroin	CE-ESI-MS	[55]
İdrar numunesi	Psödoefedrin	FI-CE	[56]
Kan numunesi	Amfetamin, metamfetamin, psödoefedrin, metilendioksiamfetamin, metilendioksietilamfetamin, mefentermi	GC-MS	[57]
İdrar numunesi	Kodein	MEKC	[58]
Kiral numuneler	Triptofan, propranolol, metil-beta-siklodekstrin	Spektrofotometri	[59]
İlaç preparatları	Norefedrin, psödoefedrin	GC	[60]
Bitkisel numune	Psödoefedrin	MEKC	[61]

Çizelge 2. 2 Efedrin hidroklorürün diğer yöntemlerle analizleri (devamı)

İlaç preparatları	Difenhidramin	ECL	[62]
İlaç, gıda takviyeleri	Psödoefedrin	GC-MS	[63]
İlaç preparatları	Penisilamin	CL	[64]
Efedra bitki numunesi	Psödoefedrin	CE	[65]
Saç numunesi	Amfetamin, metamfetamin, kodein, kokain, morfin	CZE-MS	[66]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, metoprolol, N-metilefedrin, sinefrin, atenolol	MEEKC	[67]
Efedra bitki numunesi	Psödoefedrin	MEEKC	[68]
Bitki numunesi	Glisirizin	LE	[69]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, N-metilefedrin, norefedrin	CZE	[70]
İdrar numunesi	Psödoefedrin	CE	[71]
İdrar numunesi	Amfetamin, metamfetamin, norefedrin	GC-MS	[72]
İlaç preparatları	–	Spektroflorimetri	[73]
Gıda takviyeleri	Psödoefedrin, norpsödoefedrin, norefedrin, metilpsödoefedrin	GC-MS	[74]
Saf otlar ve ticari bitki numunesi	–	GC	[75]
Besin takviyesi	Psödoefedrin, kafein	CE	[76]
Besin takviyesi	Sinefrin	MS-ESI-APCI	[77]
İdrar numunesi	–	SPME- CE	[78]
Efedra bitki numunesi	Psödoefedrin	MEKC	[79]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, katin norefedrin, katinon norpsödoefedrin,	GC-MS	[80]
İdrar numunesi	Fenilpropanolamin, heptaminol	CZE	[81]
İlaç preparatları	Dekstrometorfan, klorfeniramindifenhidramin	CE	[82]
Besin takviyesi	–	SPE-MS	[83]
Besin takviyesi	Psödoefedrin	CE	[84]
Efedra bitki numunesi	Sinefrin, psödoefedrin, tiramin, norefedrin, oktopamin	IPC	[85]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, norefedrin	IC	[86]
İlaç preparatları	Norefedrin, norepinefrin-L-bitartrat, triptofan metil ester	Kemometri Spektrofotometri	[87]
İlaç preparatları	Psödoefedrin	IR	[88]
Bitki numunesi	Psödoefedrin	MEKC	[89]
İlaç preparatları	Psödoefedrin	GC	[90]
İlaç preparatları	Psödoefedrin	CE	[91]
İlaç preparatları	–	CE	[92]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, norefedrin, metilefedrin	CE	[93]

Çizelge 2. 2 Efedrin hidroklorürün diğer yöntemlerle analizleri (devamı)

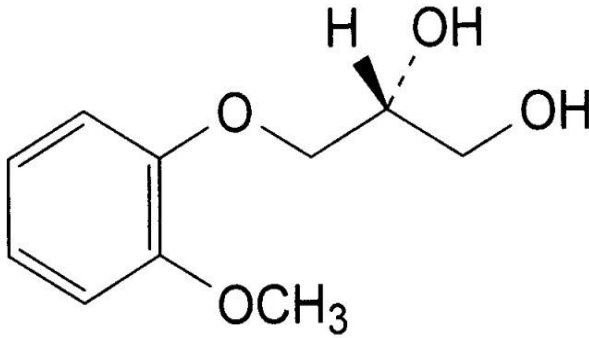
Besin takviyesi	Psödoefedrin, norefedrin, norpsödoefedrin, N-metilefedrin, N-metilpsödoefedrin	CE	[94]
Bitki numunesi	Psödoefedrin	MEEKC	[95]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, metil efedrin-psödoefedrin	NMR	[96]
İlaç preparatları	Prometazin hidroklorür, kodein fosfat	CZE	[97]
İdrar numunesi	Psödoefedrin, norefedrin, norpsödoefedrin	CZE	[98]
Besin takviyesi	Norefedrin, norpsödoefedrin, psödoefedrin, metilefedrin, metilpsödoefedrin	FI-ESI-MS	[99]
Bitki numunesi	—	CE	[100]
İlaç preparatları	Teofilin, amobarbital	Spektrofotometri	[101]
İlaç preparatları	Asetaminofen, kafein parabenler, guaiakol asetil-salisilik asit	Voltametri	[102]
Efedra bitki numunesi	—	GC-MS	[103]
Beyin doku numunesi	Serotonin, fenilalanin, dopamin, adrenalin, propranolol, 3,4-di hidroksi - L-fenilalanin	CE	[104]
İdrar numunesi	Psödoefedrin, norefedrin norpsödoefedrin, metilefedrin	GC-MS	[105]
İlaç preparatları	3,4-dihidroksi-L-fenilalanin, psödoefedrin, atenolol, norepinefrin, propranolol, izoproterenol	MS	[106]
Fare plazması	Gastrodin, ligustrazin	MEKC	[107]
İlaç preparatları	Teofilin	Spektrofotometri	[108]
Kan serumu örnekleri (insanda)	Psödoefedrin	GC-MS	[109]
İlaç preparatları	—	Amperometri	[110]

2.1.2 Guaifenesin

2.1.2.1 Özellikleri

Kapalı formülü: $C_{10}H_{14}O_4$

Yapısal formülü:



Kimyasal Adı: (RS)-3-(2-Metoksi fenoksi) propan-1,2-diol.

Molekül ağırlığı: 198,2 g/mol.

Renk ve görünüş: Beyaz, kristalize toz.

Erime noktası: 79 °C - 83 °C.

Çözünürlüğü: Suda az, alkolde iyi çözünür.

2.1.2.2 Farmakolojik Etkisi

Guaifenesin öksürük, kronik bronşit, bronşektazi ve diğer hastalıklar için kullanılan bir balgam söktürücüdür. Solunum yollarındaki mukoza salgısını arttırarak birikmiş balgamı sulandırıp yapışkanlığını azaltarak dışarıya atılmasını kolaylaştırır. Böylece kuru ve nonproduktif bir öksürük yerini daha nadir ve daha produktif bir öksürüğe bırakmakta, göğüsteki rahatsızlık hissi kaybolmaktadır. Yüksek dozda alındığında kusma, bulantı, diyare, baş ağrısı, sancılı idrara çıkma, sinirlilik, uyuyamama, deri döküntüsü görülebilir [2].

2.1.2.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Guaifenesin ile yapılan çalışmalar arasında ağırlıklı olarak kromatografik ve spektrofotometrik yöntemler bulunmaktadır. Guaifenesinin HPLC ile analizleri Çizelge 2. 3'te, diğer yöntemlerle analizleri ise Çizelge 2. 4'te verilmiştir.

Çizelge 2. 3 Guaifenesin HPLC ile analizleri

Örnek	Diğer madde	Kolon	Yöntem	Hareketli Faz	Dedektör	Kaynak
Şurup	Efedrin hidroklorür	C18	HPLC	Fosfat tamponu, metanol (60:40)	DAD	[111]
İnsan plazması	—	C18	HPLC	Metanol, su (60:40)	UV	[112]
İlaç preparatları	Benzonat, difenhidramin hidroklorür, feniefrin hidroklorür	C18	HPLC	Fosfat tamponu, asetonitril, trietilamin (49,50,1)	UV	[113]
İlaç preparatları	Terbutalin sülfat, ambroksol hidroklorür	C18	HPLC	Fosfat tamponu, asetonitril, metanol	UV	[114]
Şurup	Ambroksol hidroklorür, teofilin	C18	HPLC	Fosfat tamponu, metanol, asetonitril trietilamin (63.5,27.5,9,0.25)	UV	[115]
İnsan serumu	—	C18	HPLC	Metanol, fosfat tamponu	UV	[116]
İlaç preparatları	Ambroksol, salbutamol	C8	HPLC	Disodyum hidrojen ortofosfat, metanol	UV	[117]
İlaç preparatları	Metokarbamol, diklofenak potasyum, ibuprofen	C18	HPLC	Monopotasyum fosfat, asetonitril, metanol (90:25:15)	UV	[118]
İlaç preparatları	Metokarbamol	Fenil	HPLC	Ortofosforik asit, asetonitril (80:20)	Floresans	[119]
İlaç preparatları	Ambroksol hidroklorür, salbutamol sülfat	C8	HPLC	Potasyum dihidrojen fosfat, metanol (58:42)	UV	[120]
Şurup	Sodyum benzoat	CN	HPLC	Asetonitril, su (20:80)	UV	[121]
Şurup	Bromheksin hidroklorür, terbutalin sülfat	C18	HPLC	Fosfat tamponu, asetonitril (80:20) ve (60:40)	UV	[122]

Çizelge 2. 3 Guaifenesin HPLC ile analizleri (devamı)

Şurup	Fenilefrin hidroklorür, ambroksol hidroklorür, levosetirizin	C8	HPLC	Fosfat tamponu, Metanol, asetonyitril	UV	[123]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, feniramin, pirilamin, dekstrometorfan, klorfeniramin	C18	HPLC	Metanol,dihidrojen fosfat (45:55)	UV	[124]
Şurup	Metil paraben, propil paraben	Fenil	HPLC	Tampon, asetonyitril metanol (25:75)	DAD	[125]
Şurup	Dekstrometorfan	C18	HPLC	Fosfat tamponu, asetonyitril, metil alkol (62:23:15)	Floresans	[126]
Şurup	Psödoefedrin, dekstrometorfan, kodein	Silika	HPLC	Fosfat tamponu, asetonyitril (60:40)	UV	[127]
İlaç preparatları	Asetaminofen, romisoval, bucetin, kafein, dekstrometorfan hidrojen bromür, klorfeniramin maleat, etoksibenzamid, metilefedrin - noskapin HCl	ODS	HPLC	H ₃ PO ₄ :CH ₃ CN (85:15)	UV	[128]
Şurup	Psödoefedrin hidrojen klorür, dekstrometorfan hidrojen bromür	ODS	HPLC	Metanol, amonyum fosfat tamponu (45: 55)	—	[129]
İlaç preparatları	Fenilpropanol hidrojen klorür, dekstrometorfan hidrojen bromür, sodyum benzoat	C18	HPLC	—	UV	[130]
İnsan Plazması	Psödoefedrin	C8	HPLC	Sodyum heptan sülfonat, asetonyitril	UV	[131]
Sentetik örnekler ve ilaç preparatları	Teofilin	—	HPLC	Sodyum dihidrojen fosfat-metanol- asetonyitril (8+2+1)	UV	[132]
Kan plazması örneği (köpeklerde)	—	ODS	HPLC	Metanol, asetonyitril, fosfat tamponu (11:11:78)	UV	[133]

Çizelge 2. 4 Guaifenesin diğer yöntemlerle analizleri

Örnek	Diğer Maddeler	Analiz Yöntemi	Kaynak
İlaç preparatları	Fenilefrin hidroklorür	Spektroflorometri	[134]
İlaç preparatları	Teofilin	Spektrofotometri Voltametri	[135]
İlaç preparatları	Teofilin, ambroksol hidroklorür	Spektrofotometri	[136]
İlaç, idrar numunesi	-	Voltametri	[137]
İlaç preparatları	Difenhidramin hidroklorür, benzonatat, fenilefrin hidroklorür,	Spektrofotometri	[138]
İlaç preparatları	Difenhidramin, psödoefedrin, parasetamol	Spektrofotometri	[139]
İlaç preparatları	Difenhidramin hidroklorür, benzonatat, fenilefrin hidroklorür	Kemometri Spektrofotometri	[140]
İlaç preparatları	İbuprofen, metokarbamol, parasetamol, diklofenak	Kemometri	[141]
Gerçek numuler	Teofilin	Voltametri	[142]
İlaç preparatları	Psödoefedrin hidroklorür, guaiakol	TLC	[143]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, klorfeniramin maleat	Kemometri Spektrofotometri	[144]
İlaç preparatları	Ambroksol, levosalbutamol sülfat	Spektrofotometri	[145]
İlaç preparatları	Teofilin	Spektrofotometri	[146]
Sentetik ve gerçek ilaç preparatları	Psödoefedrin	Kemometri Spektrofotometri	[147]
Kan serumu örnekleri (insanda)	-	Voltametri	[148]
İlaç preparatları	Teofilin	Kemometri	[149]
İlaç preparatları	Diprofilin, metil paraben, propil paraben	Kemometri Spektrofotometri	[150]
Sentetik ve gerçek ilaç preparatları	Salbutamol	Spektroflorimetri	[151]
İlaç preparatları	Salbutamol sülfat, metil paraben, propil paraben	Spektrofotometri Kemometri	[152]
İlaç preparatları	-	Voltametri	[153]
Kan serumu örnekleri (insanda)	-	GC-ECD	[154]
İlaç preparatları	Klorfeniramin maleat, noskapin hidroklorür, klorfeniramin maleat	Spektrofotometri	[155]
İlaç preparatları	Dekstrametorfan	Spektrofotometri	[156]

2.2 İlaç Katkı Maddeleri

İlaç katkı maddeleri; ilaçların verilmesinde ya da uygulanmasında kullanılan, ilaçlara biçim ve daha fazla dayanıklılık vermeye yarayan maddelerdir. Kendi başlarına farmakolojik açıdan etkisiz olmakla birlikte tedavide büyük önem taşırlar. Çünkü ilaçların emilimini ve etki göstermesini sağlayan uygun bir ortam yaratırlar. Etkili maddeler her zaman belirli ekspiyanlarla birlikte verilirler. Bunlar fiziksel özelliklerine ve ilaçların kimyasal-fiziksel özelliklerine göre seçilirler [157].

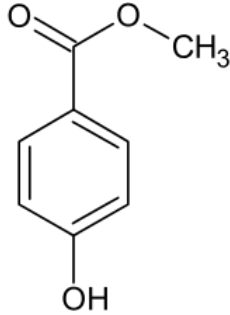
2.3 Çalışılan Katkı Maddeleri

2.3.1 Metil paraben

2.3.1.1 Özellikleri

Kapalı formülü: $C_8H_8O_3$

Yapısal formülü:



Kimyasal adı: Metil 4-hidroksi benzoat.

Molekül ağırlığı: 152,1 g/mol

E numarası: 218.

Renk ve görünüş: Şeffaf kristalize veya beyaz kristal toz.

Erime Noktası: 131°C.

Çözünürlüğü: Suda çözünmez. Alkol, eter, aseton, benzen içinde az çözünür, karbon tetraklorür içinde çözünür.

2.3.1.2 Farmakolojik özellikleri

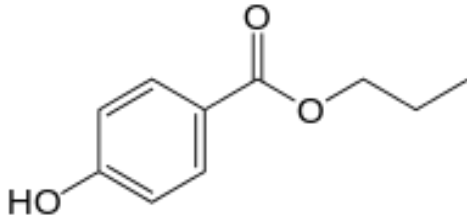
Metil paraben genellikle antimikrobiyal koruyucu olarak kozmetikte, yiyecek imalatında ve farmasötik formülasyonlarda kullanılır. Yalnız olarak veya diğer parabenlerle ortak olarak kullanılabilir [158]. Bununla beraber geniş antimikrobiyal özelliği ve son üründe koku bırakmaması gibi özellikleri sebebiyle en fazla kullanılan koruyucudur [159].

2.3.2 Propil paraben

2.3.2.1 Özellikleri

Kapalı formülü: $C_{10}H_{12}O_3$

Yapısal formülü:



Kimyasal adı: Propil 4-hidroksibenzoat.

Molekül ağırlığı: 180,2 g/mol

E numarası: 216.

Renk ve görünüş: Beyaz kristal.

Erime Noktası: 95-98 °C.

Çözünürlüğü: Su içinde az çözünür, alkol ve eterde çözünür.

2.3.2.2 Farmakolojik özellikleri:

Propil paraben, p-hidroksibenzoik asit n-propil esteridir. Propil paraben; kozmetik, eczacılık ve yiyeceklerde sentetik olarak üretilerek kullanılır. Birçok bitki ve böceklerde bulunan doğal bir madde olarak ortaya çıkar. Bu madde tipik olarak, kremler, losyonlar, şampuanlar ve banyo ürünleri gibi su bazlı kozmetik ürünleri içinde bulunan bir koruyucudur. Optimum pH aralığı 3-7' dir [160].

2.3.3 Parabenlerin İlaçta Kullanımı

İlaçta kullanılan paraben türleri; metil, etil, propil ve butil parabendir. Metil paraben ve propil paraben beraber kullanımı yarattıkları sinerjik etki sebebiyle yaygındır. Maksimum sinerjik etkiyi elde etmek için genellikle mol başına 7.5:1 ve 9:1 oranı kullanılır. Bu parabenler pH 4-8 arasında antimikrobiyal aktiviteye sahiptirler. Bu aralık dışında hidroliz olurlar [161].

Ülkemizde ilaçlar, klinik kullanıma sunulmadan önce, içeriklerinin ve katkı maddelerinin (parabenler dahil) mevzuatımız sınırları içerisinde olması kaydıyla ruhsatlandırılmaktadır. İlaç ruhsatlandırmayla ilgili mevzuatımızdaki sınırlar da Avrupa Birliği ve ABD ile uyumludur. Avrupa Birliği'ne göre, parabenlerin ilaçlarda kullanım sınırı % 0,25 (genellikle kullanılan miktar metil paraben için %0,18, propil paraben için %0,02) olmalıdır.

2.3.4 Parabenlerin Zararları

Parabenlerin en çok korkulan etkisi meme kanserine yol açma riskidir. Çünkü parabenler insan vücudunda östrojen hormonuna benzer etkiler göstermektedir. Parabenlerin östrojenik aktivitesi ile ilgili yapılan in vitro çalışmalar sonucunda parabenlerin östrojen reseptörlerine bağlandığı ve bu reseptörle kontrol edilen genleri aktive ettiği bildirilmiştir. Östrojenik aktivitenin ester yan zincirinin büyüklüğü ile paralel olarak arttığı sonucuna varılmıştır.

Yapılan çalışmalar parabenlerin sadece kadınları etkilemediği, ayrıca erkeklerde de üreme problemlerine yol açabileceğini, sperm sayısını ve testosteron salgısını azaltabileceğini göstermiştir. Parabenlerin hormonları taklit edebilme özelliği, erkek üreme fonksiyonlarını negatif şekilde etkilemekte, Avrupa Birliği kanunları tarafından günlük kabul edilebilir dozlarda dahi sperm üretimini azaltabilmektedir [162].

2.3.5 Paraben Kullanımı İle İlgili Yasaklamalar

2009 yılında Danimarka Çevre Koruma Ajansı, 2 yaşındaki çocukların endokrin sistemini bozucu maddelere maruz kalması hakkında yaptıkları detaylı çalışmada losyon ve güneş

koruyucu ürünlerin içinde bulunan propil ve butil parabenlerin küçük çocukların gelişimini tehdit edebileceği sonucuna vardı. Bu nedenle Danimarka, özellikle propil paraben ve butil parabenin bebek ve 3 yaş altı çocuklar için üretilen kozmetik ürünlerinde kullanılmasını 15 Mart 2011 tarihinden itibaren yasaklamıştır. Fransa ve İsveç paraben içeren ilaç ve kozmetikler ile ilgili yasaklamalar getirmiş, Norveç ise bu konuda yasal mücadeleyi başlatmıştır.

Son yıllarda ise tüketiciler ve sivil toplum kuruluşlarından gelen baskı nedeniyle firmalar, paraben kullanılmayan ürünler üretmek üzere çözümler aramaya başlamıştır [162].

2.3.6 Parabenlerin Miktar Tayin Yöntemleri

Metil ve propil parabenin kozmetik, gıda, ilaç ve çevresel birçok örnekte analizleri yapılmıştır. Uygulanan yöntemler ağırlıklı olarak HPLC olup, GC ve elektroforez de sık kullanılan metotlar arasındadır. Metil paraben ve propil parabenin HPLC ile analizleri sırasıyla Çizelge 2. 5 ve Çizelge 2. 6'da, diğer yöntemlerle analizleri Çizelge 2. 7'de verilmiştir.

Çizelge 2. 5 Metil parabenin HPLC ile analizleri

Örnek	Diğer madde	Kolon	Yöntem	Hareketli Faz	Dedektör	Kaynak
Şurup	Pizotifen, propil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, tetrahidrofuran, potasyum dihidrojenfosfat (38:1.5:62)	UV	[163]
Gıda	Propil-etil-butil-izobutil- izopropil paraben	ODS SP	HPLC	Metanol-su (70/30)	UV	[164]
İlaç preparatları	Propil paraben, etilparaben, butil paraben, benzilalkol	ODS3	HPLC	Asetonitril tamponu (pH=3,5,7)	—	[165]
Kozmetik	P-anisik asit	C18	HPLC	—	UV	[166]

Çizelge 2. 5 Metil parabenin HPLC ile analizleri (devamı)

Akdeniz nehirlerde ki balıklar	Benzilparaben, kafein, tris (2- butoksietil) fosfat	C18	UHPLC	Metanol, su	MS	[167]
İnsan serumu	Etil-propil- butil paraben	C18	UHPLC	Asetat tamponu	MS	[168]
Şurup	8 Katkı maddesi	C18	HPLC	Sodyum dihidrojenfosfat, asetonitril (90:10), (60:40)	UV	[169]
İlaç preparatla rı	Propil paraben sodyum, metil paraben	C18	HPLC	Asetat tamponu, asetonitril (20:80) asetat tamponu, metanol (18:82)	UV	[170]
Çevre matrisler (atık su, tortu, çamur ve toprakta n)	Etil-propil-butil paraben klotrimazol, mikonazol, triklorokarban triklosan	C18	UHPLC	Formik asit, metanol, amonyum asetat	MS	[171]
Islak mendil	Etil paraben, propil paraben	C18	UHPLC	Asetonitril, asetik asit (20:80)	UV	[172]
Şurup	Sodyum benzoat, Etil- Propil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, asetat tampon (35:65)	—	[173]
Manila körfezinde eki balık örnekleri	Etil-propil-bütül paraben triklosan, triklokarban	C18	UHPLC	n-heksan ve aseton karışımı	MS	[174]
İlaç preparatla rı	Propil paraben, sodyum benzoat, granisetron hidroklorür, 4- hidroksi benzoik asit	C18	HPLC	Asetonitril, potasyum dihidrojen fosfat	DAD	[175]
Kozmetik ürünleri	p-hidroksibenzoik asit ve fenol	C18	UHPLC	metanol, su, fosforik asit	PDA	[176]
İlaç preparatla rı	2-fenoksietanol, etil- Propil paraben	C8	HPLC	Asetonitril, tetrahidrofuran, su (21:13:66)	UV	[177]

Çizelge 2. 5 Metil parabenin HPLC ile analizleri (devamı)

Nistatin süspansiyon	Sodyum benzoat, propil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, asetat tamponu (35:65)	DAD	[178]
Kozmetik ürünleri	Etil-propil-butil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, su	DAD	[179]
Kozmetik ürünleri	—		UHPLC	Metanol, su (60:40)	MS	[180]
İlaç preparatları	Psödoefedrin, feniramin, guaifenesin, pirilamin, klorfeniramin, dekstrometorfan	C18	HPLC	Metanol, dihidrojen fosfat tamponu (45: 55)	UV	[181]
Şurup	Pantenol, askorbik asit, tiamin hidroklorür, riboflavin-5-fosfat sodyum, piridoksin hidroklorür, nikotinamid, sodyum benzoat	C18	HPLC	O-fosforik asit, asetonitril (85:15),(70:30)	DAD	[182]
Şurup	Guaifenesin, salbutamol, sülfat, propil paraben, asefilin piperazin, bromheksin hidroklorür	C18	HPLC	Asetonitril, potasyum dihidrojen fosfat (60:40),(50:50)	UV	[183]
İlaç preparatları	Artemether, propil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, potasyum fosfat tamponu (30:70)	UV	[184]
İlaç preparatları	Domperidon, propil paraben	C8	HPLC	Amonyum asetat tamponu, metanol (40:60)	UV	[185]
Şurup	Guaifenesin, teofilin, propil paraben, sodyumbenzoat, difenhidramin hidroklorür	C18	HPLC	Potasyum dihidrojen fosfat, asetonitril (60:40)	UV	[186]
İlaç preparatları	Ranitidin, propil paraben	C18	HPLC	Amonyum asetat, asetonitril, metanol	UV	[187]
İlaç preparatları	Ketoprofen, propil paraben, ketoprofen-3-asetil benzofenon, 2-(3-karboksi-fenil) propiyonik asit	C18	HPLC	Asetonitril, su, fosfat tamponu (40:58:2)	UV	[188]

Çizelge 2. 5 Metil parabenin HPLC ile analizleri (devamı)

Şurup	S-karboksimetil-L-sistein	ODS	HPLC	Asetonitril, metanol, su (120:280:600)	UV	[189]
İlaç preparatları	P-hidroksi benzoik asit, etil paraben, propil paraben	C18	HPLC	Potasyum fosfat tampon, metanol (47.5:52.5)	UV	[190]
İlaç preparatları	İndinavir, potasyum sorbat, propil paraben	C8	HPLC	Asetonitril, sitrat tamponu(20:80)	UV	[191]
İlaç preparatları	Metronidazol benzoat, propil paraben	C18	HPLC	Metanol, su (50:50)	UV	[192]
İlaç preparatları	Propil paraben, sinkokain hidroklorür	C18	HPLC	Asetonitril, sodyum asetat trihidrat(45:55)	UV	[193]
İlaç preparatları	Timerosal, propil paraben	C18	HPLC	Metanol, fosforik asit(59:41)	Amperometri	[194]
İlaç preparatları	Parabenler, ketoprofen	C18	HPLC	–	UV	[195]

Çizelge 2. 6 Propil parabenin HPLC ile analizleri

Örnek	Diğer madde	Kolon	Yöntem	Hareketli Faz	Dedektör	Kaynak
Şurup	Pizotifen, metil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, tetrahidrofuran, potasyum dihidrojenfosfat (38:1.5:62)	UV	[196]
İlaç preparatları	Sodyum metil paraben, ketorolak trometamin	C18	HPLC	Trietilamin tamponu, tetrahidrofuran, metanol (665:35:300)	UV	[297]
Şurup	Parasetamol psödoefedrin, triprolidin, metil paraben, sodyumbenzoat p-aminofenol, triprolidin z-izomer, 4-hidroksibenzoik asit	C18	HPLC	Sodyum dihidrojen fosfat, asetonitril (90:10),(60:40)	UV	[198]

Çizelge 2. 6 Propil parabenin HPLC ile analizleri (devamı)

İlaç preparatları	Metil paraben, metil paraben sodyum, propil paraben sodyum	C18	HPLC	Asetat tamponu, asetonitril (20:80) asetat tamponu, metanol(18:82)	UV	[199]
Şurup	Sodyum benzoat, etil paraben, metil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, asetat tamponu (35:65)	–	[200]
İlaç preparatları	Metil paraben, sodyum benzoat, granisetron hidroklorür, 4-hidroksi benzoik asit	C18	HPLC	Asetonitril, potasyum dihidrojen fosfat	DAD	[201]
İlaç preparatları	2-fenoksietanol, etil paraben, metil paraben	C8	HPLC	Asetonitril, tetrahidrofuran, su(21:13:66)	UV	[202]
Nistatin Süspanسیون	Sodyum benzoat, metil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, asetat tamponu (35:65)	DAD	[203]
İlaç preparatları	Domperidon, sorbik asit,	C8	HPLC	Fosfat tamponu, metanol (40:60)	UV	[204]
İlaç preparatları	Triamsinolon asetonid, metil paraben	F5	HPLC	Asetonitril, su (45:55)	UV	[205]
Şurup	Guaifenesin, salbutamol sülfat, metil paraben, asefilin piperazin, bromheksin hidroklorür	C18	HPLC	Asetonitril, potasyum dihidrojen fosfat (60:40),(50:50)	UV	[206]
İlaç preparatları	Artemether, metil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, potasyum fosfat tamponu(30:70)	UV	[207]
İlaç preparatları	Domperidon, metil paraben	C8	HPLC	Amonyum asetat tamponu, metanol (40:60)	UV	[208]
Şurup	Guaifenesin, teofilin, metil paraben, sodyumbenzoat, difenhidramin hidroklorür	C18	HPLC	Potasyum dihidrojen fosfat, asetonitril (60:40)	UV	[209]
İlaç preparatları	Ranitidin, metil paraben	C18	HPLC	Amonyum asetat, asetonitril, metanol	UV	[210]
İlaç preparatları	P-hidroksi benzoik asit, etil paraben, metil paraben	C18	HPLC	Potasyum fosfat tamponu, metanol (47.5:52.5)	UV	[211]
İlaç preparatları	Estradiol, estron, metil paraben	C18	HPLC	Asetonitril, metanol, su (23:24:53)	UV	[212]

Çizelge 2. 6 Propil parabenin HPLC ile analizleri (devamı)

İlaç preparatları	Metronidazol benzoat, metil paraben	C18	HPLC	Metanol, su (50:50)	UV	[213]
İlaç preparatları	İndinavir, potasyum sorbat, metil paraben	C8	HPLC	Asetonitril, asetonitril: sitrat tamponu (20:80)	UV	[214]
İlaç preparatları	Timerosal, metil paraben	C18	HPLC	Metanol, fosforik asit (59:41)	Elektro	[215]

Çizelge 2. 7 Metil paraben ve Propil parabenin diğer yöntemlerle analizleri

Örnek	Maddeler	Analiz yöntemi	Kaynak
Yapıştırıcı	Parabenler	GC-MS	[216]
Kozmetik numuneleri	Metil parabenj	Voltametri	[217]
Su numuneleri ve bitkisel içecekler	12 katkı maddesi	GC-MS	[218]
İçecek	Metil-etil-butil- propil paraben	LLME	[219]
Kozmetik	Parabenler	LLME-GC	[220]
İlaç preparatları, idrar numunesi	Metil paraben	Voltametri	[221]
Kozmetik numuneleri	Propil paraben	Voltametri	[222]
Kozmetik Ürünleri	Metil-,etil-, propil-, butil -paraben	CE	[223]
Kozmetik Ürünleri	Metil paraben, etil paraben, propil paraben butil paraben, fenol, fenoksietanol,	Misel elektrokinetik	[224]
Gıda, kozmetik	Metil-, etil-, propil paraben ve butil paraben	GC	[225]
Kozmetik ürünleri	Metil-etil-butil-isobutil paraben, dehidroasetik-sorbik- salisilik- benzoik- p- hidroksibenzoik asit	CE	[226]
Ev tozu örneği	Metil-, propil-paraben	GC	[227]
Kanalizasyon suyu	Altı paraben	GC	[228]
Yüz tonikleri	Metil-, etil-, propil- ve butil-paraben	GC	[229]
Tatlandırıcılar	Paraben çeşitleri	CE	[230]
Gıda örnekleri	Metil-, etil-, propil- butil- paraben	LLME	[231]

Çizelge 2. 7 Metil paraben ve Propil parabenin diğer yöntemlerle analizleri (devamı)

İnsan göğüs kanser dokusu	Metil-, etil-, propil- ve butil-paraben	GC	[232]
Kozmetik	Metil-, etil-, propil- paraben	GC	[233]
Kozmetik	Parabenler	GC	[234]
Soya sosları	Metil-,etil-, propil-, butil -paraben	CE	[235]
Kozmetik	Metil-, etil-, propil- paraben	Elektroanalitik	[236]
Kozmetik ürünleri	Metil- etil-izopropil- propil- n- bütıl paraben	GC	[237]
Farmasötik formülasyonlarda	Metil- etil-propil-butıl paraben	IMS, SPME	[238]
İlaç preparatları	Metil paraben, propil paraben, diprofilin	Kemometri- UV Spektrofotometri	[239]
İlaç preparatları	Metil paraben, propil paraben, salbutamol sülfat	Spektrofotometri -Kemometri	[240]
Su örnekleri	Metil-, etil-, propil-, bütıl- ,benzil- paraben	GC	[241]
Çocuk şurupları	Parabenler, benzoik asit	UV spektrofotometri	[242]
Çevre ya da su sistemlerinde	Metil-etil- propil paraben	Elektrokimyasal, voltametri, kronoamparemetri	[243]
Gıda örnekleri	Metil-etil- propil paraben	Akış enjeksiyon-kemilüminesans	[244]
İnsan parmak deri yüzeyinde	Metil-,etil-propil paraben	GC	[245]
Nazal solüsyonlar	Metil paraben, difenhidramin, nafazolin	Spektrofotometri -Kemometri	[246]
Ev tipi kullanım için kağıt ekstreleri	Propil paraben, 4-tert-oktilfenol, 4-nonilfenoller, di-n-bütıl	GC	[247]

Çizelge 2. 7 Metil paraben ve Propil parabenin diğer yöntemlerle analizleri (devamı)

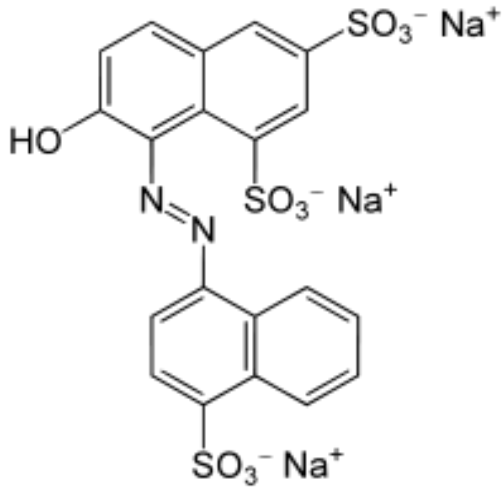
Oftalmik solüsyonlar	Metil paraben, kloramfenikol, antipirin, timerosal	Spektrofotometri -Kemometri	[248]
Farmasötik preparatlarda	Metil paraben	Spektroflorimetri	[249]
Sıvı gıdalarda; sirke, soya sosu, turşu baharat vb	Metil-etil paraben, sorbik-dehidroasetik- benzoik asit	GC	[250]
Kozmetik ürünlerde	Parabenler, imidazolidinil, üre	CE	[251]
Gıda ve farmasötik formülasyonların	Metil-propil paraben benzoik-sorbik asit	TLC	[252]
Gıda, alkolsüz içecekler	Metil paraben	Fluoresans spektroskopisi	[253]
Sıvı ürünler	Parabenler	TLC	[254]

2.3.7 Ponso 4R

2.3.7.1 Özellikleri

Kapalı formülü: $C_{20}H_{11}N_2Na_3O_{10}S_3$

Yapısal formülü:



Kimyasal adı: 3 sodyum (8Z)-7-okso-8-[(4-sulfonato naftalin-1-yl)hidrazin yilid] naftalen-1,3-disülfanato.

Renk ve görünüş: Kırmızı toz.

Molekül ağırlığı: 604,4 g/mol.

E kodu: 124.

Çözünürlüğü: Su içinde çözünür [255].

2.3.7.2 Farmakolojik Etkisi

Ponso 4R çeşitli gıdalarda kullanılabilir kırmızı bir azo boyadır ve genellikle petroldeki aromatik hidrokarbonlardan sentezlenir. Gıda, ilaç, kozmetik, temizlik ürünleri, renkli taş, oyun hamuru vb insanla temas eden birçok ürünün renklendirilmesinde kullanılır. Kabul edilebilir günlük alım miktarı vücut ağırlığı üzerinden 4 mg/kg'dır. Hayvanlarda kanserojen etkili, insanlarda ise astım ve aspirin alerjisi olanlarda kötü reaksiyon yapabilir. Amerika ve Norveç'te yasaklanmıştır. Ayrıca küçük çocuklarda hiperaktiviteye sebep verdiği ortaya çıkmıştır [256].

2.3.7.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Ponso 4R en çok gıda örneklerinde analiz edilmiştir. HPLC yanında spektrofotometrik ve elektroanalitik tekniklerde tercih edilmiştir. Ponso 4R'nin HPLC ile analizleri Çizelge 2. 8, diğer yöntemlerle analizleri Çizelge 2. 9'da verilmiştir.

Çizelge 2. 8 Ponso 4R'nin HPLC ile analizleri

Örnek	Diğer madde	Kolon	Yöntem	Hareketli Faz	Dedektör	Kaynak
Gıda numunesi	Amaranti, sunset allura kırmızı, eritrosin, kırmızı 2G, karmosin	C18	HPLC	Asetat tamponu, asetonitril (40: 60)	DAD	[257]
Gıda numunesi	Amaranti, sunset sarı, allura kırmızı, eritrosin, parlak mavi, indigotin, tartrazin, kuinolin sarı, azorubin	C18	HPLC	Amonyum asetat, metanol	DAD MS	[258]
Gıda numunesi	Tartrazin, sunset sarı, parlak mavi, amaranti	C18	HPLC	Asetat tamponu, metanol (15:85-50:50)	UV	[259]
Kırmızı şarap	Asesülfam K sodyum siklamat, sodyum sakarin, tartrazin, amarant, sunset sarısı, parlak mavi	C18	UPLC	Amonyum asetat, metanol, asetonitril	MS	[260]
Jöle, sakızlı şeker	Tartrazin, amaran, sunset parlak mavi, eritrosin, patent mavisi, indigo, karmin	C18	UPLC	Amonyum asetat, metanol, asetonitril	DAD	[261]
Alkolsüz içecek	Allura kırmızı	-	HPLC	-	-	[262]
Alkolsüz içecek	Karmosin	C18	HPLC	Tetrabutylamonyum hidrojen sülfat-fosfat tamponu-metanol (50:50)	DAD	[263]

Çizelge 2. 8 Ponso 4R'nin HPLC ile analizleri (devamı)

Gıda numunesi	Azorubin, amaran, allura kırmızısı, azokarmin, kırmızı 2G, sunset, tartrazin, kuinolin sarı, turuncu II, indigo	C8	HPLC	Asetonitril, sodyum asetat tamponu	DAD	[264]
İçecek	Allura kırmızı	C18	HPLC	-	DAD	[265]
Alkolsüz içecek	Tartrazin, amarant, sunset sarısı, allura kırmızısı, eritrosin	C18	HPLC	Amonyum asetat, metanol, asetonitril	UV	[266]
Kozmetik ürünleri	Tartrazin, amarant, sunset sarısı, allura kırmızısı, parlak mavi, turuncu I	T3	UPLC	Asetonitril, su	MS	[267]
Hayvan yemleri	Sunset sarı, allura kırmızı, eritrosin, kırmızı 2G, ponzo ksilidin, turuncu II	T3	HPLC	Etanol, amonyak, su (80:1:19)	DAD MS	[268]
Gıda numunesi	Tartrazin, indigotin, sunset, allura kırmızı, karmosin, kuinolin sarı, parlak mavi	C8	HPLC	TritonX100-fosfat tamponu	UV	[269]
Gıda numunesi	17 katkı maddesi	C18	HPLC	Asetonitril, metanol (10:90)	DAD	[270]
Gıda numunesi	Tartrazin, sunset sarısı, kuinolin sarı, parlak mavi, allura kırmızısı, indigo karmin, karmosin	C8	HPLC	Fosfat tamponu	UV	[271]
Gıda numunesi	Tartrazin, sunset, allura kırmızı, parlak mavi	C18	HPLC	Amonyum asetat, asetonitril (95:5-35:65)	DAD	[272]
Gıda numunesi	Tartrazin, sunset, amaranti, parlak mavi	C18	HPLC	Metanol, su, asetat tamponu	-	[273]
İçecek, şekerleme	40 katkı maddesi	C18	HPLC	Amonyum asetat, metanol, asetonitril	DAD	[274]
Gıda numunesi	13 katkı maddesi	C18	HPLC	Asetonitril, metanol (20:80)	DAD	[275]

Çizelge 2. 8 Ponso 4R'nin HPLC ile analizleri (devamı)

Gıda numunesi	Tartrazin, allura kırmızı	C18	HPLC	Asetonitril, metanol distile su (55:20:10)	DAD	[276]
Alkolsüz içecek	Yapay tatlandırıcı, koruyucu	C18	HPLC	Fosfat tamponu, metanol	UV	[277]
Gıda numunesi	Tartrazin, amarant kırmızısı, sunset	C18	HPLC	Asetat tamponu, metanol	DAD MS	[278]
Alkolsüz içecek	Tartrazin, kuinolin sarı, azoburin,	C18	HPLC	Metanol, amonyum asetat	UV	[279]
Alkolsüz içecek	Tartrazin, sunset, parlak mavi, amaranti, kokain, patent mavi, eflatun	C18	IP-RP-HPLC-Spektrofotometri	—	UV	[280]
Gıda numunesi	14 katkı maddesi	C18	HPLC	Asetat tamponu, asetonitril	DAD	[281]
Gıda numunesi	Tartrazin, sunset, parlak mavi, amaranti, kokain, allura kırmızısı, turuncu I, II	C18	IPC	Trietilamin, metanol	DAD MS	[282]
Meyve suyu	Tartrazin, amarant kırmızısı, sakarin, benzoik -sorbik asit, sunset sarı, parlak mavi	C18	HPLC	Metanol, amonyum asetat	DAD	[283]
Gıda numunesi	Sunset, karminik asit, karmosin, amaranti, eritrosin	C18	HPLC	Metanol, fosfat tamponu	UV	[284]

Çizelge 2. 9 Ponso 4R'nin diğer yöntemlerle ile analizleri

Örnek	Maddeler	Analiz yöntemi	Kaynak
Gıda numunesi	Amarant, tartrazin, sunset sarısı, parlak mavi	TLC	[285]
Gıda numunesi	Sunset sarısı	Florometri	[286]
Gıda numunesi	—	Voltametri	[287]
Alkolsüz içecek	Tartrazin	Elektrokimyasal	[288]
Alkolsüz içecek	Karmosin	Spektrofotometri	[289]
Alkolsüz içecek	Allura kırmızısı	Spektrofotometri	[290]

Çizelge 2. 9 Ponso 4R'nin diğer yöntemlerle ile analizleri (devamı)

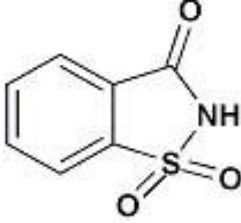
Alkolsüz içecek, gıda numunesi	Allura kırmızısı	Elektrokimyasal	[291]
Alkolsüz içecek	—	Elektrokimyasal	[292]
Alkolsüz içecek	Azorubin	Polarografi-IIC	[293]
Alkolsüz içecek	Allura kırmızısı	Elektrokimyasal	[294]
Gıda numunesi	Amaranth	Florometri	[295]
Gıda numunesi	Amarant,tartrazin, sunset sarısı, parlak mavi	Spektrofotometri Kemometri	[296]
Gıda numunesi	Karmosin	Spektrofotometri	[297]
Gıda numunesi	Karmosin, azorubin, amaranti, allura kırmızısı,kokain	Elektrokimyasal	[298]
Gıda numunesi	Karmosin, amarant, kırmızı 2G	CE	[299]
Toz içecek	Karmosin, sunset sarısı, patent mavis	Spektrofotometri	[300]
Gıda numunesi, kozmetik ürünleri	Allura kırmızısı, tartrazin, turuncu II	ESI-MS	[301]
Alkolsüz içecek	Karmosin, allura kırmızısı	Polarografi	[302]
İçecek	Sunset sarısı, tartrazin	Spektrofotometri	[303]
Gıda numunesi	İndigotin	Spektrofotometri	[304]
Dondurma	Sunset sarısı, karmosin	CE	[305]
Gıda numunesi	Sunset sarısı	Spektrofotometri	[306]
Gıda numunesi	Tartrazin	Spektrofotometri	[307]
Alkolsüz içecek	Azorubin,allura kırmızı	Polarografi	[308]
Gıda numunesi, kozmetik ürünleri	—	Spektrofotometri	[309]
Toz içecek	Antosiyanin	Spektrofotometri	[310]
Gıda numunesi	Tartrazin,sunset sarısı	Spektrofotometri	[311]
Gıda numunesi	Azorubin,parlak mavi, sunset sarısı, tartrazin	TLC	[312]
İçecek	Tartrazin,sunset sarısı	Spektrofotometri	[313]
Jelatin tozu	Sunset sarısı	Spektrofotometri	[314]

2.3.8 Sakarin

2.3.8.1 Özellikleri

Kapalı formülü: $C_7H_5NO_3S$

Yapısal formülü:



Kimyasal adı: 1,1-Diokso-1,2-benzotiyazol-3-on.

Diğer adı: Benzoik sülfinit

Molekül ağırlığı: 183,1 g/mol.

Erime Noktası: 228-229 °C.

Renk ve Görünüş: Beyaz kristal katı.

Çözünürlüğü: Su, etanol, aseton içinde çözünür, kloroform ve eter içinde az çözünür.

2.3.8.2 Farmakolojik Etkisi

Temel maddesi benzoik sülfinit olan sakarin, sakarozdan daha tatlı olup, izne bağlı olarak içki, şekerleme, ilaç ve diğ macunu gibi ürünlerde tat vermek için kullanılır. Raf ömrü gıda maddelerinde 6 ay gibi kısıyken, ilaçlarda 2 yıl kadardır. Kullananlarda ender olarak ışığa karşı duyarlılık artışı ve alerjik reaksiyonlar görülebilir. Yüksek dozda sakarin alımının hayvanlarda üriner sistem tümörlerine neden olduğu ortaya çıkınca insanlarda sakarin kullanımının kanser ile ilişkisi olabileceği riski nedeniyle kullanımı kısıtlanmıştır. Günlük maksimum alınabilecek miktar kg başına günde 2, 5 mg' dır [315].

2.3.8.3 Miktar Tayin Yöntemleri

Sakarin içecek başta olmak üzere birçok gıda örneğinde çok çeşitli yöntemlerle tayin edilmiştir. Bu yöntemler arasında HPLC yanında elektroforez, akışa enjeksiyon,

kemometri gibi teknikler yer almaktadır. Sakarinin HPLC ile analizleri Çizelge 2. 10'da, diğer yöntemlerle analizleri Çizelge 2.11'de verilmiştir.

Çizelge 2. 10 Sakarinin HPLC ile analizleri

Örnek	Diğer madde	Kolon	Yöntem	Hareketli Faz	Dedektör	Kaynak
Yoğurt	Aspartam, benzoik –sorbik asit natamisin	C18	LC	Amonyum asetat tamponu, asetonitril	UV	[316]
Gıda numunesi	Asesülfam K aspartam, dulcin, siklamat, neotam, glisirizik asit, neohesperidin dihidrokalkon, sukraloz, steviosit	Fenil	LC	Amonyum asetat, metanol, su	MS	[317]
İçecek	–	C18	HPLC	Metanol, H ₃ PO ₄	FLD	[318]
Süt tozu	Benzoik -sorbik asit, aspartam natamisin, lizozim,	C18	HPLC	Amonyum sülfat, asetonitril	DAD	[319]
Diyet ürünleri, içecek	Aspartam, sitrik asit, sodyum benzoat asesülfamK	C18	HPLC	Metanol, su	DAD-UV	[320]
Atık	Asesülfam, neohesperidin dihidrokalkon, sukraloz, siklamat	C18	SPE-LC	Metanol, su, amonyum asetat	MS	[321]
Atık su numunesi	Aspartam, alitam neotam, siklamat, asesülfam, neohesperidin dihidrokalkon,	Silika	HILIC	Amonyum format, metanol, asetonitril (15:10:75)	MS	[322]
İçecek	Aspartam, asesülfam K, benzoik asit, tartrazin, sunset	C18	HPLC	Metanol, amonyum asetat (30:70)	DAD	[323]
Gıda numunesi	Asesülfam, alitam, aspartam, siklamik asit, neotam, PHBA-Me-Et, PHBA-iPr -Pr -iBu, -Bu	Fenil	SPE-LC	Asetat tamponu, asetonitril	MS	[324]

Çizelge 2. 10 Sakarinin HPLC ile analizleri (devamı)

Şarap	Asesülfam, kafein, aspartam, neotam benzoik- sorbik- steviosit dehidroasetik asit,	C18	SPE-HPLC	Trifloroasetik asit, asetonitril	UV	[325]
İçecek	Asesülfam K, aspartam, sorbik - benzoik asit	C18	HPLC	Fosfat tamponu, asetonitril	DAD	[326]
Gıda numunesi	Asesülfam K, siklamat, alitam, aspartam, neotam, sukraloz, dulcin, neoheperidin dihidrokalkon	C18	HPLC	Metanol, aseton	MS	[327]
İçecek	AsesülfamK aspartam, kafein	C18	HPLC	Etanol, fosfat tamponu	UV	[328]
İçecek	14 katkı maddesi	C18	HPLC	Asetonitril, metanol	DAD	[329]
Şarap	Asesülfam, kafein, neotam, aspartam, steviosit benzoik – sorbik dehidroasetik asit	—	HPLC	Asetonitril, trifloroasetik asit	—	[330]
Sos	Asesülfam K, benzoik-sorbik dehidroasetik asit, aspartam, metil-, propil-etil paraben	—	HPLC	—	DAD	[331]
Gıda numunesi	Asesülfam K, sodyum benzoat, potasyum sorbat	C18	HPLC	Metanol, amonyum asetat (30:70)	DAD	[332]
Kırmızı şarap	Asesülfam, neotam, sodyum siklamat, steviosit aspartam, benzoik –sorbik dehidroasetik asit	CTO-20AC	SPE-UFLC	Asetonitril, trifloroasetik asit, su	MS	[333]
Su numunesi	Aspartam, asesülfam, sukraloz, siklamat, alitam, neotam, neoheperidin dihidrokalkon	C18	LC	—	MS	[334]

Çizelge 2. 10 Sakarinin HPLC ile analizleri (devamı)

Su numunesi	Asesülfam, siklamatsukraloz	C18	SPE-LC	Amonyum asetat, su, metanol	MS	[335]
Su numunesi	Asesülfam, siklamat, neotam, neoheperidin dihidrokalkon, sukraloz	C18	LC	—	MS	[336]
Gıda numunesi, içecek	Asesülfam K, kafein, benzoik-sorbik asit	C18	FID-HPLC	Asetonitril, metanol	UV	[337]
Gıda numunesi, içecek	Asesülfam, aspartam, sodyum siklamat	C18	HPLC	Metanol, su	DAD	[338]
Gıda numunesi	Asesülfam K, aspartam, alitam, siklamat, dulcin, neotam, neoheperidin dihidrokalkon	C18	SPE-HPLC	Metanol tamponu, aseton	MS	[339]
Şarap	Benzoik-sorbik asit	C18	HPLC	Metanol, amonyum asetat	UV	[340]
İçecek	Benzoik-sorbik asit, kafein	C18	HPLC	KH ₂ PO ₄ , H ₃ PO ₄	UV	[341]
Su numunesi	Asesülfam, siklamat, sukraloz	C8	LC-ESI	Metanol, amonyum asetat, su	MS	[342]
Gıda numunesi	Asesülfam K, alitam, aspartam, siklamik asit, dulcin, neotam, sukraloz, neoheperidin	—	HPLC	—	—	[343]
Gıda numunesi	Aspartam, alitam asesülfam neotamsukraloz, siklamat, steviosit	C18	HPLC	Metanol tamponu, aseton	ESI-MS	[344]
Gıda numunesi	Aspartam, asesülfam K, neotam siklamik asit, alitam, dulcin, neoheperidin dihidrokalkon,	—	HPLC	—	ELSD	[345]

Çizelge 2. 10 Sakarinin HPLC ile analizleri (devamı)

İlaç preparatları	Sodyum benzoat, orsiprenalin, klobutinol	C18	LC	Potasyum dihidrojen fosfat, asetonitril(55:45)	UV	[346]
Gıda numunesi	Sorbik-benzoik asit, PHBA-Et,Pr,isoBu,Bu, isoPr	ODS-80Ts	HPLC- LC-ESI	Amonyum asetat, asetonitril (8:2),(6:4)	MS	[347]
Gıda numunesi	Asesülfam, alitam, neotam aspartam, dulcin, siklamik asit, neohesperidin dihidrokalkon,	C18	HPLC	Metanol, tamponu, aseton	ELSD	[348]
Gıda numunesi	—	C18	HPLC	K ₂ HPO ₄ tamponu, asetonitril	UV	[349]
İçecek	Asesülfam K, alfa-aspartam, vanilin, sorbik asit, benzoik asit	C18	HPLC	Amonyum asetat, asetonitril	UV	[350]
Gıda numunesi	Asesülfam K, sukraloz, siklamat, aspartam, glisirizik asit, steviosit, rebaudiosit	C18	LC	Dibutil amonyum asetat, asetonitril, su	MS	[351]
Gıda numunesi	Kafein,furfural, sodyum benzoat (5-hidroksimetil) furfural,glikoz fruktoz,sitrik - askorbik asit	—	HPLC	—	—	[352]
Meyve suyu	Tartrazin,amarant, benzoik asit ponzon 4R,sunset sarısı,parlak mavi	C18	HPLC	Metanol, amonyum asetat	DAD	[353]

Çizelge 2. 11 Sakarinin diğer yöntemlerle analizleri

Örnek	Diğer madde	Analiz yöntemi	Kaynak
İlaç preparatları	Sitrik asit, manitol, siklamat, butil hidroksi tolüen	NMR	[354]
Gıda numunesi	Aspartam, siklamat, asesülfam potasyum	CE	[355]
İlaç preparatları	Karbamazepin	FTIR	[356]
Limon çayı numunesi	Aspartam, siklamat, asesülfam K	CZE	[357]
İlaç preparatları ve gıda numunesi	Aspartam, asesülfam sodyum siklamat	FTIR-EI-MS	[358]
Gıda numunesi	—	IC	[359]
Alkolsüz içecek	Aspartam, asesülfam, siklamat	CE	[360]
Gıda numunesi	—	Potansiyometri	[361]
Tatlandırıcılar	Sodyum siklamat, metil paraben aspartam, benzoik ve sitrik asit	Kemometri-spektrofotometri	[362]
Gıda numunesi	Asesülfam K, sodyum siklamat	Kemometri-spektrofotometri	[363]
Gıda numunesi	Aspartam, asesülfamK	Spektrofotometri	[364]
Gıda numunesi	Aspartam, asesülfamK	Akış enjeksiyon	[365]
Gıda numunesi	—	Potansiyometri	[366]
Tatlandırıcılar	Aspartam	Spektrofotometri -CZE	[367]
Tatlandırıcılar, meyve suyu tozları	Asesülfam K	Spektrofotometri	[368]
Diyet ürünleri	—	Amperometri	[369]
Gıda numuneleri, kozmetik ürünleri	Asesülfam, metil-etil-butil-propil paraben, propil galat, butil hidroksi anisol	Akış enjeksiyon	[370]
Gargara	Florür, klorür, sorbik asit, sülfat, fosfat, monoflorofosfat, gliserofosfat	İyon kromatografi	[371]
Tatlandırıcılar	Siklamat, steviosit	Spektrometri	[372]
Tatlandırıcılar, içecekler	Aspartam	Spektrometri	[373]
İlaç preparatları	—	HPTLC	[374]
Tatlandırıcılar	—	Potansiyometri	[375]
Gıda numuneleri, içecekler	Aspartam, sodyum siklamat, asesülfam K	IC	[376]
İçecek	Diazepam, fenobarbiton	TLC	[377]
Tatlandırıcılar	—	Spektrometri	[378]
Tatlandırıcılar	Sodyum siklamat	Kemometri-spektrofotometri	[379]
İçecek	—	Voltametri	[380]
Diyet ürünleri	—	Spektrofotometri	[381]
Tatlandırıcılar	—	Potansiyometri	[382]
İlaç preparatları, Gıda numuneleri	Aspartam, asesülfam, benzoik asit, sorbik asit, kafein, teobromin, teofilin	IC	[383]
Meyve	—	MEKC	[384]
Tatlandırıcılar	Asesülfam K, siklamat	Elektrokimyasal	[385]
Tatlandırıcılar	—	Potansiyometri	[386]

2. 4 Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin çeşitli kombinasyonlar halinde tayin yöntemleri

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarin bir arada çeşitli kombinasyonlar halinde kromatografik ve spektrofotometrik yöntemlerle tayin edilmiştir. Yapılan araştırmalar sonucunda hiçbir altılı bir arada tayin yöntemine rastlanmamıştır. İlgili çalışmalar Çizelge 2.12’de verilmiştir.

Çizelge 2. 12 Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin çeşitli kombinasyonlar halinde tayin yöntemleri

Örnek	Analitler	Analiz Yöntemi	Kolon	Mobil Faz	Dedektör	Kaynak
İlaç preparatları	Guaifenesin, efedrin hidroklorür, difenhidramin hidroklorür, dekstrometamoren hidrobrom, sodyumbenzoat, fenilpirin hidroklorür, klorfenilaminamat, butil paraben	HPLC kemomerik metod	C18	Asetonitril -10 mM potasyum dihidrojen fosfat, pH 2,7 (40 : 60)	UV	[389]
Köpek plazması	Efedrin hidroklorür, guaifenesin, klorfenamin kodein	HPLC-MS/MS	C18	Formik asit:10 mM amonyum asetat: metanol(0.2:62:38)tampun çözeltisi	MS	[388]
İlaç preparatları	Guaifenesin, metil paraben, propil paraben, parasetamol, kafein, benzoik asit	LC	Kromasil C18	1-Butanol:su (1:99), sodyum dodesil sülfat, trikloroasetik asit (%0,1)	UV	[387]
Gıda numuneleri, kozmetik ürünleri	Sakarin, metil paraben, propil paraben, asesülfam, etil-butil paraben, propil galat, butil hidroksi anisol	HPLC	C18	Asetonitril, fosfat tamponu pH 6,0	Akış enjeksiyon	[370]
Tatlandırıcılar	Sakarin, metil paraben, aspartam, benzoik ve sitrik asit, sodyum siklamat	HPLC Kemometri spektrofotometri	C18	Ag (I) iyonlu ortam, pH 3,0	Akış enjeksiyon	[362]
Sos	Metil paraben, propil paraben, sakarin, butil paraben, asesülfam K, benzoik asit, sorbik asit, dihidroasetik asit, aspartam	HPLC	C18	Fosfat tamponu	DAD	[331]
Meyve suyu	Ponzo 4R, sakarin, tartarazin, amarant kırmızısı, benzoik -sorbik asit, sunset sarı, parlak mavi	HPLC	C18	Metanol, amonyum asetat	DAD	[283]

Çizelge 2. 12 Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin çeşitli kombinasyonlar halinde tayin yöntemleri (devamı)

İlaç preparatları	Guaifenesin, sodyum sakarin metil paraben, propil paraben Sodyum benzoat, dipropilen	LC	C18	pH 3.3-potasyum dihidrojen fosfat, UV asetonitril tamponu (55: 45)	[239]
İlaç preparatları	Guaifenesin, metil paraben, propil paraben salbutamol sülfat; asetilen piperazin, bromheksin hidroklorür	HPLC	C 18	Asetonitril, potasyum dihidrojen fosfat (60:40),(50:50)	[183]
İlaç preparatları	Guaifenesin, metil paraben, propil paraben , salbutamol sülfat	Spektrofotometri-kemometri	C18	Asetonitril, Potasyum Dihidrojen fosfat (50:50)	[152]
İlaç preparatları	Guaifenesin, metil paraben, propil paraben , diprofilin,	Kemometri-spektrofotometri-LC-UV	C 18	Potasyum dihidrojen fosfat, Asetonitril (55 :45), pH 3. 3	[150]
İlaç preparatları	Guaifenesin, Metil paraben, propil paraben	HPLC	150 mm, etil bağli fenil fazlı kolon	Elüent A: Fosfat tamponu (pH 3,0):asetonitril (25:75) Elüent B: metanol: elüent A (85:15)	[125]
İlaç preparatları	Guaifenesin; metil paraben; propil paraben , sodyum benzoat tiyofilindifenhidramin;	LC Kemometrik Destekli Spektrofotometri	C18	pH 3.2- Potasyum dihidrojen fosfat, Asetonitril (60: 40)	[24]

2.5 Deneyisel Tasarım [390- 393]

2.5.1 Tanımı ve Önemi

Analitik kimyacı sürekli olarak çeşitli nedenlerle birçok deney gerçekleştirir. Son yıllarda analistler yaptıkları deneylerden başarılı sonuçlar elde edebilmek için deneyleri sistematik olarak tasarlama ihtiyacı duymuşlar ve bunun içinde istatistiksel ve kemometrik yöntemlerden yararlanmışlardır.

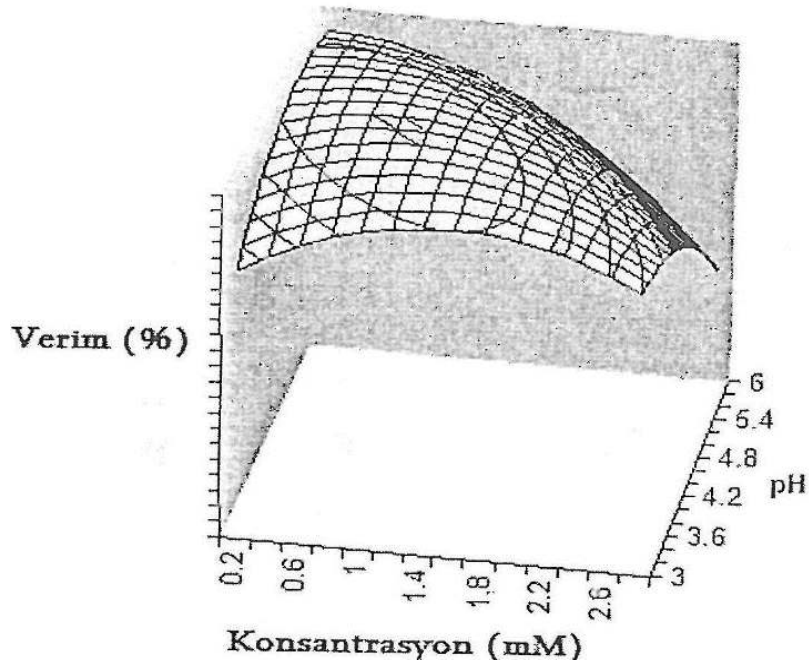
Deneyisel tasarım, deney koşullarını etkileyecek faktörlerin seviyelerinin sistematik bir şekilde değiştirilmesi ile ölçülen cevaptaki değişimin gözlenmesi ve yorumlanması amacıyla kullanılan istatistiksel bir tekniktir. Burada, bir deneyden elde edilen sonuçları etkileyen herhangi bir deneyisel koşul, faktör olarak adlandırılır. Faktörler, araştırmacı tarafından kontrol edilebilen ve kontrol edilemeyen olmak üzere ikiye ayrılır. Örneğin; bir çözeltinin saklama koşulları araştırmacı tarafından değiştirilebildiği için bu tür bir faktör kontrol edilebilirken, rastgele örnekleme içeren bir faktör, araştırmacı tarafından kontrol edilemeyen bir faktördür. Sayısal bir değer verilmediğinden bu faktörlerin her ikisine de nitel faktörler denir. Sayısal olarak düzenlenebilen sıcaklık, pH ve derişim gibi faktörler nicel faktörler olarak adlandırılırlar. Bir faktörün aldığı farklı değerler ise seviye olarak ifade edilir.

Bir deneyden doğru sonuçlar elde edebilmek için sonuçları etkileyecek faktörlerin belirlenmesi ve mümkünse kontrol edilmesi gerekir. Analitik teknikler çoğu zaman maddelerin çok küçük miktarlarının analizi ile ilgilendiğinden, cevabın bağlı olduğu faktörlerin sayısal değerleri, elde edilecek cevabın en üst değerde olmasını sağlayacak şekilde seçilmelidir. Bu değerlere de optimum değerler denir.

Deneyisel tasarım, özellikle üretim amaçlı olarak proses girdileri ile çıktıları arasındaki ilişkileri matematiksel modeller ile ortaya koymaktadır. Bu sayede üretim prosesinin çıktısı olan kriterleri en iyi seviyelere ayarlamak için deneme yanılma veya her seferinde bir faktörü incelemek yerine bilimsel bir yöntem kullanmamıza olanak sağlamaktadır. Bu sayede prosesin kritik parametrelerini olması gereken en optimum seviyeye ayarlama olanağına kavuşulabilmektedir.

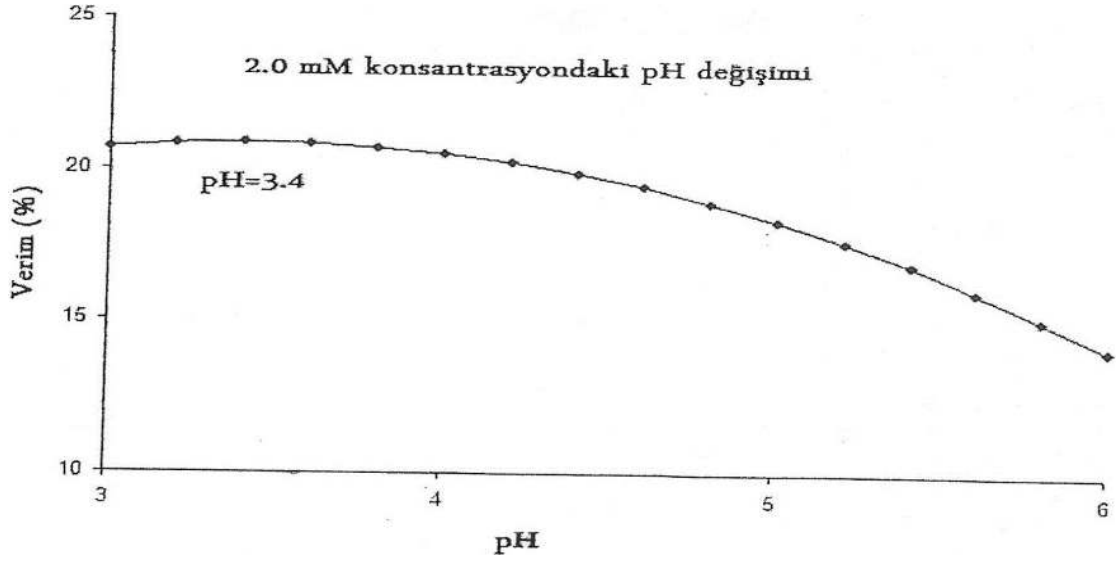
Klasik yöntemlerle faktörlerin optimum değerleri, diğer faktörlerin değerleri sabit tutulurken incelenmek istenen faktörün değerinin değiştirilmesi yoluyla belirlenmektedir.

Bu durumda, çok sayıda faktörün incelenmesi için çok fazla deney yapılması gerekmekte, dolayısıyla da tüm bu işlemler zaman almakta ve maliyetli olmaktadır. Deneysel tasarımda ise klasik yöntemle göre daha az sayıda deney yapılarak daha kısa sürede sonuca ulaşabilmek mümkün olmakta ve dolayısıyla maliyet de azalmaktadır. Deneysel tasarımın en önemli avantajı ise klasik yöntemlerde faktörlerin yalnızca tek başlarına yarattıkları etki incelenebilirken; deneysel tasarımda faktörlerin hem kendi başlarına yarattıkları etkinin hem de bu faktörlerin birbirleri ile etkileşimlerinin ve bu etkileşimlerin deney sonuçlarına olan etkisinin incelenebilmesidir. Bu sayede daha güvenilir sonuçlar elde edilmektedir. Deneysel tasarımın önemi bir örnekle de açıklanabilir. Örnek çalışmada pH ve katalizör konsantrasyonunun optimum değerlerinin bulunması için önce deneysel tasarım ve optimizasyon yöntemi kullanılmış, işlem sonunda optimum pH 4.4 ve optimum katalizör konsantrasyonu 1.0 mM olarak bulunmuştur (Şekil 2.1).



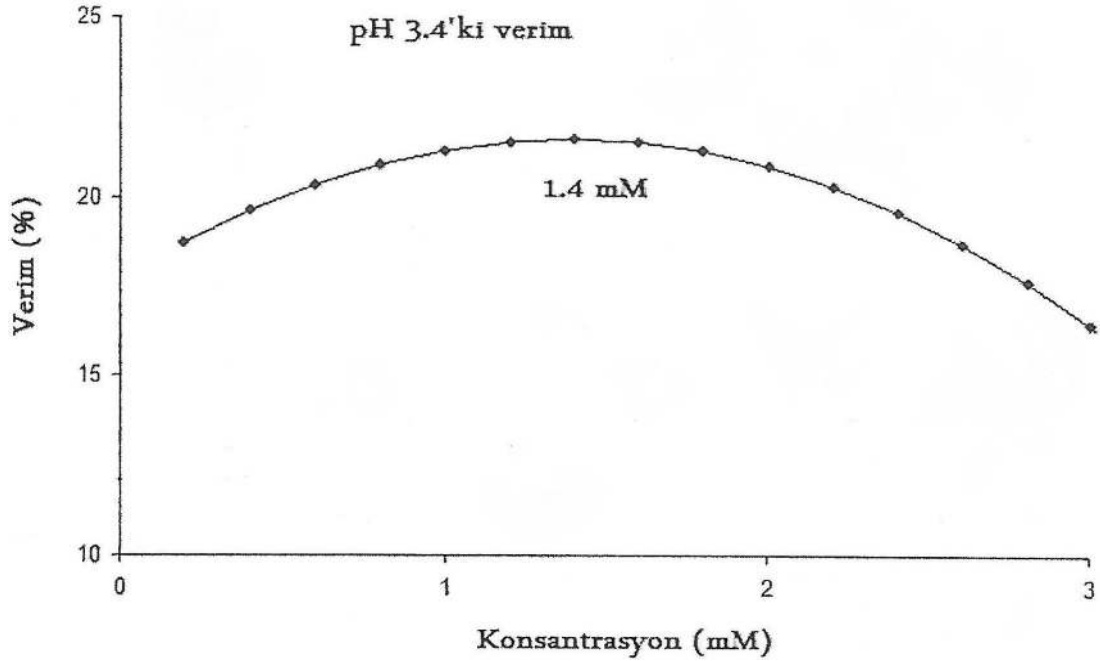
Şekil 2.1 pH ve katalizör konsantrasyonuna bağlı olarak reaksiyon verimindeki değişme

Katalizör konsantrasyonu ve pH klasik yöntem ile optimize edilmek istendiğinde ise katalizör konsantrasyonu 2.0 mM’da sabit tutularak pH değiştirilmiş ve optimum pH 3.4 olarak bulunmuştur (Şekil 2.2).



şekil 2.2 Katalizör konsantrasyonu 2.0 mM’da sabit tutularak bulunan optimum pH

pH= 3.4 optimum olarak bulunduktan sonra pH bu değerde sabit tutularak konsantrasyon değiştirilmiştir. Optimum konsantrasyon 1.4 mM olarak bulunmuştur (şekil 2.3).



şekil 2.3 pH 3.4’te sabit tutularak bulunan optimum konsantrasyon

Örnek çalışmada deneysel tasarım ve optimizasyon yöntemi ile optimum pH 4.4 ve optimum katalizör konsantrasyonu 1.0 mM olarak bulunurken klasik yöntem ile yapılan

çalışmalarda optimum pH 3.4 ve optimum konsantrasyon 2.0 mM olarak bulunmuştur. Görüldüğü gibi değerler birbirinden oldukça farklıdır. Bu fark, deneysel tasarım yönteminde optimum değerlerin bulunması sırasında pH ve konsantrasyon arasındaki etkileşim göz önünde bulundurulurken, klasik yöntemde bu etkileşimin göz ardı edilmesinden kaynaklanır.

Deneysel tasarım; tarama, optimizasyon ve modelleme olmak üzere 3 aşamadan oluşur:

1.Tarama (Screening): Deneysel çalışmalarda sonucu etkileyen önemli faktörleri belirlemek amacı ile yapılır.

2.Optimizasyon: Tarama tasarımları ile belirlenen önemli faktörlerin optimum değerlerinin bulunması amacıyla yapılır.

3.Modelleme: Tarama tasarımı ve optimizasyon sonucu belirlenen faktörlerin etkisi matematiksel bir modelle ifade edilir. Böylece deneysel olarak bulunan sonuçların yanında, teorik hesaplamalar yoluyla da tahmini sonuçlar elde edilmiş olur. Deneysel olarak elde edilen sonuçların, hesaplamalar sonucu elde edilen bu tahmini sonuçlarla uyumlu olması beklenir.

2.5.2 Tarama Tasarımları

Tarama, deneysel tasarımın en önemli basamaklarından biridir. Özellikle HPLC, AAS gibi analitik metotların optimizasyonu çok çeşitli faktörlerden etkilenir. Bu nedenle hangi faktörlerin etkili olduğunu anlamak ve son optimizasyon için bunları üç ya da dörde indirerek faktör sayısını daraltmak oldukça önemlidir.

Tarama tasarımlarında istatistiksel bir yaklaşımla öncelikle az sayıda seviye ile bütün faktörler sistematik olarak aynı anda değiştirilir. Bu değişimlerin deney sonuçlarına etkisi incelenir. Her bir faktörün etkisi için sayısal değerler elde edilir. Bu değerler doğrultusunda deney sonuçlarına gerçekten etki eden faktörler bulunur.

Tarama aşamasında en çok Faktöriyel Tasarım ve Plackett-Burman tasarımları kullanılır.

2.5.2.1 Tam Faktöriyel Tasarım

Faktör sayısının sınırlı olduğu durumlarda oldukça kullanışlı bir yöntemdir. Tipik bir deneysel tasarım çalışmasında kaç tane ilgili faktör olduğuna ve her faktör için kaç seviyede çalışılacağına karar vermek önemlidir. Bu tasarımda N faktörü, K ise seviyeyi temsil ve deney sayısı K^N formülü ile hesaplanır

İlk adım olarak her faktör için çalışma aralığı belirlenir. Örneğin, alevli AAS ile cam seramikte Ti tayininde, Ti sinyali üzerine Na, Al, Mg ve Si sinyallerinin etkisi incelendiğinde her element için ppm düzeyinde kabul edilebilir düşük ve yüksek seviyeler belirlenir. Ya da bir kimyasal reaksiyon pH ve sıcaklığa bağlı olarak değişiyorsa pH için 4 ve 6, sıcaklık için 30 °C ve 60 °C gibi seviyeler seçilebilir.

İkinci adım olarak dizayn seçilir. 3 faktörlü 2 seviyeli tasarım Çizelge 2.13' de gösterilmiştir. Burada 2 seviye sayısı (-1 ve +1 olarak kodlanır) 3 ise faktör sayısıdır. 3 faktör için deney sayısı K^N formülünden deney sayısı 8'dir.

Çizelge 2.13 3 Faktör için tam faktöriyel tasarım

Deney sayısı	Faktörler			Cevap
	X1	X2	X3	
1	-	-	-	y ₁
2	+	-	-	y ₂
3	-	+	-	y ₃
4	+	+	-	y ₄
5	-	-	+	y ₅
6	+	-	+	y ₆
7	-	+	+	y ₇
8	+	+	+	y ₈

Üçüncü adım olarak ölçülen cevap seçilir. Bu aşamada ekstraksiyon verimi, pik alanı, sinyal yüksekliği gibi kolaylıkla ölçülebilen cevap elde etmek önemlidir.

Dördüncü adım olarak kodlanmış değerler yerine faktörlerin gerçek değerleri yerleştirilerek deneysel çalışma gerçekleştirilir. Faktörlerin etkisini belirlemek için aşağıda verilen doğrusal denklemdeki b katsayıları hesaplanır.

$$y=bX$$

Burada b katsayısı;

$$b=(X'X)^{-1}X'y$$

Elde edilen cevap ve faktörlerin etkileşimini içeren matematiksel bir model oluşturulur. Genellikle kullanılan lineer model aşağıdaki gibidir.

$$\hat{y}= b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + + b_{N-1}x_{N-1} + b_Nx_N + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + + b_{(N-1)N}x_{N-1}x_N$$

Burada $\hat{y}$, tahmini cevap, b_0 , ortalama deneysel cevap, $b_1 - b_N$, metodun performansını etkileyen ve ana etken olarak adlandırılan, göz önünde tutulan faktörlerin tahmini etkilerini ifade eden katsayılar olarak sembolize edilir. b_{12} den $b_{(N-1)N}$ ' e kadar olan katsayılar ise faktörlerin birbirleriyle etkileşimlerini ifade eder. Böylelikle deneysel tasarım faktörlerin birbirleriyle olan etkileşimi ve bu etkileşimlerden hangisinin önemli olduğu hakkında bilgi verir.

2.5.2.2 Azaltılmış Faktöriyel Tasarım

Faktör sayısının çok fazla olduğu deneysel çalışmalarda azaltılmış faktöriyel tasarımlardan yararlanılır. Örneğin bir kromatografi çalışması örnek hazırlama aşamasından (örnek tartımı, çalkalama süresi, sıcaklık, yıkama hacmi, ekstraksiyon hacmi, santrifüj zamanı vb.) kromatografik ayırma aşamasına (pH, sıcaklık, çözücü

bileşimi, akış hızı, tampon konsantrasyonu, katkı konsantrasyonu, analiz süresi, dalga boyu vb.) yaklaşık 50 faktörden etkilenebilir.

Faktör sayısı arttıkça deney sayısı da çok fazla arttığı için birçok durumda faktörler arasındaki ikili üçlü ve daha yüksek etkileşimler çok önemli olmayabilir. Bu durumda örneğin 6 faktör için 64'den daha az deney yaparak faktörlerin etkileri incelenebilir. Gereğinden fazla olan bu deney sayısı tam faktöriyel tasarımın $1/2$ 'si 32 deney $1/4$ 'ü 16 deney $1/8$ 'i 8 deney olacak şekilde alınarak azaltılabilir. En çok kullanılan azaltılmış faktöriyel tasarım şekli fraksiyonel faktöriyel ve Plackett-Burman tasarımıdır.

2.5.2.2.1 Fraksiyonel Faktöriyel Tasarım

Bu tasarımda deney sayısı K^{N-P} formülünden hesaplanır. Deney sayısı P sayısı kadar bir azalma gösterir ve P sayısı her zaman faktör sayısı olan N'den daha küçük olmalıdır. Örneğin P=1 için tasarım yarı fraksiyonlu tasarım adını alır.

Deneysel tasarımda genellikle 2 seviye kullanılır ($K=2$). Deney sayısı (2^{N-P}) faktör sayısından (N) büyük olmalıdır. Örneğin 6 faktör için, P=2 alındığında $2^{(6-2)}$ formülüne göre 16 adet deney yapılması gerekmektedir. $2^{(6-2)}$ fraksiyonel faktöriyel tasarım Çizelge 2.14'de gösterilmiştir. Burada ilk 4 kolon x_1, x_2, x_3 ve x_4 faktörleridir. Eklenen diğer iki kolon ($p=2$) x_2, x_3, x_4 ve x_1, x_3, x_4 faktörlerinin birleştirilmesiyle oluşturulan x_5 ve x_6 faktörleridir.

Çizelge 2.14 $2^{(6-2)}$ 16 deney için fraksiyonlu faktöriyel tasarım

No	X_1	X_2	X_3	X_4	$X_5 (X_2 X_3)$	$X_6 (X_1 X_3 X_4)$
1	-	-	-	-	-	-
2	-	-	-	+	+	+
3	-	-	+	-	+	+
4	-	-	+	+	-	-
5	-	+	-	-	+	-
6	-	+	-	+	-	+
7	-	+	+	-	-	+
8	-	+	+	+	+	-
9	+	-	-	-	-	+
10	+	-	-	+	+	-
11	+	-	+	-	+	-

Çizelge 2.14 $2^{(6-2)}$ 16 deney için fraksiyonlu faktöriyel tasarım (devamı)

12	+	-	+	+	-	+
13	+	+	-	-	+	+
14	+	+	-	+	-	-
15	+	+	+	-	-	-
16	+	+	+	+	+	+

Fraksiyonel faktöriyel tasarımda deney sayısı azaltılırken bazı faktörler arası etkileşimler incelenemez. Belirlenen amaca göre tam faktöriyel veya fraksiyonel faktöriyel tasarım kullanılmalıdır. Fraksiyonel faktöriyel tasarımın birçok avantajı olmakla beraber bazı eksiklikleri de bulunmaktadır:

1. Deneysel tasarım sadece iki seviyeli olduğu için parabolik terimler incelenememektedir.
2. Tekrar edilen deneyler olmadığı için hata hesabı yapılamamaktadır.
3. Deneysel tasarım sadece ikinin katları şeklindedir.

2.5.2.2.2 Plackett-Burman Tasarımı

Çok sayıda faktörün etkisi incelenmek istendiğinde tam faktöriyel ve fraksiyonel faktöriyel tasarım yöntemlerinin pratik olarak uygulanması zorlaşmaktadır. Sadece faktörlerin birbirlerinden bağımsız etkileri incelendiğinde, yani faktörler arasındaki etkileşimlerin önemli olmadığı durumlarda Plackett-Burman tasarımı pratik olarak uygulanabilir. Bu tasarımda geçerli olan deney sayısı, faktör sayısı ve üretici Çizelge 2.15’de gösterilmiştir.

Çizelge 2.15 Plackett-Burman tasarımı için üreticiler

Deney sayısı	Faktörler	Üretici
8	7	+ + + - + - -
12	11	+ + - + + + - - - + -
16	15	+ + + + - + - + + - - + - - -
20	19	+ + - + + + + - + - + - - - - + + -
24	23	+ + + + + - + - + + - - + + - - + - - - -

11 faktör ve 12 deneyi içeren Plackett-Burman tasarımı Çizelge 2.16’da gösterilmektedir.

Çizelge 2.16 11 Faktör için Plackett-Burman tasarımı

		FAKTÖRLER										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
DENEYLER	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	2	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+
	3	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-
	4	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+
	5	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+
	6	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+
	7	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-	-
	8	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-	-
	9	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+	-
	10	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	+
	11	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-
	12	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+	+

Bu tasarımın bazı özellikleri vardır:

- Birinci satır aynı seviyeye sahiptir (-1 veya +1).
- İkinci satır üretici satırdır. Çizelge 2.15’deki üreticilerden birisi kullanılır. Faktör sayısı her zaman tek sayı ve deney sayısı faktör sayısından bir fazladır.
- Üçüncü satır, ikinci satırın bir yana kaydırılması ile elde edilir (Çizelge 2.16).

- Bütün faktörler için yüksek ve düşük seviye sayısı eşittir. Bu da kolonların birbiri ile ortogonal (kolonların birbirinden bağımsız) olduğunu gösterir.
- Plackett-Burman tasarımı faktör sayısı deney sayısından bir düşüktür, 11 faktör için 12 deney yapmak gerekir. Ancak gerçekte 10 faktör var ise 11.faktör sonuç üzerinde herhangi bir etkisi olmayan, rastgele bir faktör seçilir. Bu faktöre “dummy faktör” denir. Tasarım tablosuna kesim noktası (b_0) ilave edildiğinde kare matris elde edilir. Bu durumda b katsayıları aşağıdaki gibi hesaplanabilir:

$$b = D^{-1}y$$

Tasarım tablosunda kodlanmış değerler kullanıldığında b katsayıları her bir kolon ölçülen değerlerle (y) çarpıldıktan sonra deney sayısına bölünerek de hesaplanabilir.

$$b_j = \sum_{i=1}^N x_{ij} y_i \frac{1}{N}$$

2.5.3 Optimizasyon Tasarımları

Tarama tasarımları, iki seviye ile her bir faktörün etkilerini genel olarak inceleyen yöntemlerdir. Tekrarlanan deney sayısı ve parabolik etkileri incelemeyiz. Bazı durumlarda faktörler arasındaki etkileşimleri incelemek mümkün değildir. Bu nedenle bu tasarımlar ile önemli faktörler belirlendikten sonra detaylı inceleme, yani optimizasyon yapılır. Optimizasyonun iki amacı vardır. Birincisi, deneysel sonucu etkileyen faktörlerin optimum değerlerini bulmaktır. Örneğin, organik bir sentezde maksimum verimi etkileyen faktörlerin veya kromatografik bir ayırmada ayırma gücünü etkileyen faktörlerin optimizasyonu gibi. İkincisi ise, her bir faktörün sonuca etkisini gösteren matematiksel modelin oluşturulmasıdır. Örneğin, bir ürünün FTIR spektrumu ile ürünün özelliği ve üretim prosesi arasında ilişki kurulmasına ihtiyaç duyulabilir. Optimizasyon tasarımlarında sadece, tarama tasarımı ile bulunan etkili faktörlerin deney sonuçlarına olan etkisi incelenir. Bu aşamada daha fazla seviye ile çalışılır. Tekrarlanan deney sayısı, parabolik etkiler ve faktörler arasındaki etkileşimler hesaplanır.

En yaygın kullanılan optimizasyon tasarımları; merkezi kompozit tasarım, Box-Behnken tasarımı, Doehlert tasarımı ve D-optimal tasarımıdır.

2.5.3.1 Merkezi Kompozit Tasarım

Merkezi kompozit tasarımı deney sayısı aşağıdaki formüle göre belirlenir:

$$\text{Deney sayısı} = 2^k + 2k + 1 \quad (k: \text{faktör sayısı})$$

Formüldeki 2^k tam faktöriyel veya fraksiyonlu faktöriyel tasarımdaki deney sayılarını, $2k$ star tasarım deney sayısını ve 1 ise orta seviyedeki deney sayısını gösterir. 2^k 'daki seviyeler (-1) ve (+1), $2k$ 'dakiler $\pm\alpha$, 1'deki ise (0) dır. α değeri dairesel ve ortogonal tasarıma göre farklı seviyeler alır. α ; dairesel tasarımda $\pm\sqrt[4]{2^k}$, ortogonal tasarımda ise $\pm\sqrt{k}$ formülüne göre hesaplanır. 3 faktör için merkezi kompozit tasarım örneği Çizelge 2.17'de verilmiştir.

Çizelge 2.17 3 Faktör için merkezi kompozit tasarım

Deney sayısı	Faktörler		
	X1	X2	X3
1	0	0	0
2	-1	0	0
3	+1	0	0
4	0	-1	0
5	0	+1	-1
6	0	0	+1
7	0	0	-0.5
8	-0.5	-0.5	-0.5
9	-0.5	+0.5	-0.5
10	0.5	+0.5	-0.5
11	0.5	-0.5	0.5
12	-0.5	-0.5	0.5
13	-0.5	+0.5	0.5
14	0.5	+0.5	0.5
15	0.5	-0.5	0.5

2.5.3.2 Box-Behnken Tasarımı

Box-Behnken tasarımı üç ya da daha fazla seviyeye sahiptir ve üç ya da daha fazla faktöre sahip problemlere uygulanabilir. Faktöriyel veya ekstremum noktaları yoktur ve bu tasarım $[2k(k-1) + nc]$ sayıda noktadan oluşur. Bu sayı merkezi kompozit tasarıma göre daha az, üç faktör için ise Doehlert tasarım ile aynıdır. Box-Behnken tasarımı, optimum değer in faktör aralığı ortasında olduğu bilinen, ikiden daha fazla faktörün bulunduğu sistemlerde önerilir. 3 faktör için Box-Behnken tasarımı örneği Çizelge 2.18’te verilmiştir.

Çizelge 2.18 3 Faktör için Box-Behnken tasarımı

Deney sayısı	Faktörler		
	X1	X2	X3
1	-1	-1	0
2	+1	-1	0
3	-1	+1	0
4	+1	+1	0
5	-1	0	-1
6	+1	0	-1
7	-1	0	+1
8	+1	0	+1
9	0	-1	-1
10	0	+1	-1
11	0	-1	+1
12	0	+1	+1
13	0	0	0
14	0	0	0
15	0	0	0

2.5.3.3 Doehlert Tasarımı

Doehlert tasarımları, merkez kompozit ve Box-Behnken tasarımları gibi döndürülebilir değildir. Örneğin farklı faktörler için farklı tahmin değerleri verebilir. Ancak çok kullanışlı olup farklı faktörler için farklı seviye sayıları vardır. Böylece, önemli faktörler daha fazla seviyelerde ölçülebilir. Bu tasarım verilen faktör boşluğunu mümkün olduğunca düzgün olarak doldurmaya çalışır. Bir Doehlert tasarımı $k^2 + k + nc$ noktadan oluşur. 3 faktör için Doehlert tasarımı örneği Çizelge 2.19’de verilmiştir.

Çizelge 2.19 3 Faktör için Doehlert tasarımı

Deney sayısı	Faktörler		
	X1	X2	X3
1	0	0	0
2	1	0	0
3	0.5	0.866	0
4	0.5	0.289	0.817
5	-1	0	0
6	-0.5	-0.866	0
7	-0.5	-0.289	-0.817
8	0.5	0.866	0
9	0.5	0.289	-0.817
10	-0.5	0.866	0
11	0	0.577	-0.817
12	-0.5	0.289	0.817
13	0	-0.577	0.817

2.5.3.4 D-optimal Tasarım

D-optimal tasarımlar, çözücü bileşimi ve çözünen konsantrasyonlarının kombinasyonlarının uygun olmaması gibi faktör alanı düzgün bir şekilde elde edilebilir olmadığında tercih edilir. Bu tasarımın bir başka kullanışlı yanı ise deney sayısının araştırmacı tarafından belirlenebilir olmasıdır. Bu sayı modeldeki etkilerin katsayılarını hesaplamak için minimum olmalıdır (etkilerin sayısı + terim sabiti). D-optimal çözüm, toplam sayıdan tasarım noktalarını seçerek, “Noktaların optimal dağılımı nedir?” sorusunu cevaplar. Bu, $X^T X$ determinantının maksimize edilmesiyle gösterilebilir (X , tasarım noktalarının matrisi, T , transpoze). Minimum bir tasarım analiz edildiğinde, sistem hakkındaki bilgiyi belirginleştirmek için aynı prensiple daha fazla nokta eklenebilir.

2.5.3.5 Karışım Tasarımları

Özel bir tür olan bu tasarım, faktörlerin toplamı sabit bir sayı ile sınırlandırıldığında kullanılır. Örneğin kromatografide mobil fazın bileşenlerinin toplamının %100 olması gerekir. Yani mobil fazın metanol, su ve asetonitril gibi üç organik çözücünden oluştuğu bir durumda, bunların ağırlıkça ya da hacimce oranlarının toplamı 100’e eşit olmalıdır. Karışım tasarımları bu tür durumlarda kullanılır ve bu tasarımlarda bir bileşen sabit tutulurken diğer ikisi seçilir.

2.5.4 Varyans Analizi (ANOVA)

Varyans analizi, ikiden fazla popülasyonun ortalamaları arasında anlamlı bir fark olup olmadığını, eğer anlamlı bir fark varsa hangi spesifik popülasyon ortalamasının diğerlerinden farklı olduğunu bulmak için kullanılan istatistiksel bir işlemdir. Kısaca ANOVA olarak bilinir. Deneysel tasarım yöntemleri de ANOVA’nın avantajlarından yararlanır. ANOVA tarama tasarımlarında ve optimizasyonda farklı amaçla kullanılır. Tarama tasarımlarında, faktörlerin etkileri sayısal olarak hesaplanır. Bu sayısal değerler ANOVA ile incelenerek değerlerin anlamlı olup olmadığı yani faktörün deney sonucunda etkili olup olmadığına karar verilir. Optimizasyonda ise ANOVA ile, modelleme sonucu elde edilen teorik sonuçlarla, deneysel sonuçlar arasında anlamlı bir fark olup olmadığı belirlenir. Böylelikle oluşturulan modelin güvenilirliği test edilir.

2.5.5 Deneysel Tasarımın Analitik Kimyada Uygulamaları

Analitik kimyada çeşitli yöntemlerle yapılan analizlerde analiz sonuçlarını etkileyen faktörlerin belirlenmesi ve optimum değerlerinin bulunması amacı ile deneysel tasarımdan yararlanılmaktadır. İlaç endüstrisinde deneysel tasarıma en çok başvurulanan yöntemler kromatografi ve elektroforezdir. Çizelge 2.20’de deneysel tasarımın ilaç örnekleri ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde uygulamaları ve kullanılan deneysel tasarım yöntemleri verilmiştir. Ayrıca literatür araştırmalarında UV-VIS spektroskopisi [507], yakın IR [486], floresans spektroskopisi [441] ve elektroanalitik yöntemlerle [531] yapılmış analizlerde de deneysel tasarım uygulanmasına rastlanmıştır.

Ayrıca deneysel tasarım, geliştirilen analitik yöntemlerin geçerliliğini kontrol etmek amacı ile yapılan validasyon çalışmalarında tutarlılık parametresinin incelenmesinde de kullanılmaktadır.

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri

Örnek	Analitler	Analiz Yöntemi	Deneysel Tasarım	Faktörler	Kaynak
Çeşitli örnekler	Maloni-koenzim-A	HPLC	Plackett-Burman, merkezi kompozit	pH, Mg ve tampon konsantrasyonu, reaksiyon sıcaklığı, zaman	[394]
Çeşitli örnekler	Arijinin, histidin, lösin, treonin, triptofan	Kağıt kromatografisi	3 Faktörlü merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[395]
Atık sular ve yüzey suları	Nitrit, nitrat ve fenilendiamin izomerleri	İyon etkileşimi sıvı kromatografisi	Merkezi kompozit- PL S	Amonyum tuzunun alkil zinciri uzunluğu, konsantrasyonu ve akış hızı	[396]
Çeşitli örnekler	Polisiten ivinilbenzen) üzerindeki tetrasiklin	LC	Yarı fraksiyonel faktöriyel	Çeşitli parametreler	[397]
Yüzey toprak örneği	Organotin	GC-AED	2 ³ Faktöriyel	Basınç, sıcaklık, ekstraksiyon süresi	[398]
Çeşitli örnekler	Sulfametoksazol, trimetoprim	Spektrofotometrik	Merkezi kompozit	Dalgaboyu aralığı, türev sırası, çözücü	[399]
Çeşitli örnekler	Kollajen, kroda yapışkan, VM jelatin	Jel filtrasyon kromatografisi	2 ³ Faktöriyel	Çeşitli parametreler	[400]
Tarımsal atık su	Metibuzin, atrazin, metolaktör,	SPE	2 ³ Faktöriyel	Örnek pH'sı, elüsyon çözücüsünün gücü, örneğin iyonik gücü, örneğe organik çözücü eklenmesi, vakum etkisiyle elüsyon gücü	[401]
Sediment	Tribütülin	SFE	Faktöriyel fraksiyonel	Sıcaklık, basınç, çözücü konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi	[402]
İlaç örnekleri	İlaç bazı safsızlıklar	Kapiler elektroforez	Plackett-Burman, merkezi kompozit	pH, voltaj	[403]
İlaç preparatları	Metil ve propil p-hidroksi benzoat, fenilefrin hidroklorür, klorfeniramin maleat	İyon çifti sıvı kromatografisi	Merkezi kompozit	Metanol konsantrasyonu, sodyum dioktilsülfosülsinat ve dimetiltoltilamin konsantrasyonu, pH	[404]
Titan atmosferi	Kalıcı gazlar (hidrokarbon varken)	GC	Doehlert	Çeşitli parametreler	[405]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Memeli iktini	İnsan surfaktan Protein-A	İmmünoanalitik yöntem	Tam faktöriyel	Kalsiyuma bağlı olarak bağlanma, pH	[406]
Hayvan yemi	Flukonazol	SPE-SFE, GC-FLA, GC-MS	Faktöriyel fraksiyonel	Çeşitli parametreler	[407]
Çeşitli örnekler	Tetrasiklin hidroklorür	HPLC	Plackett-Burman, fraksiyonel faktöriyel	Çeşitli parametreler	[408]
Çeşitli örnekler	Simazin, atrazin	GC-HPLC	Simplex metodu	Elüent karışımının polarlığı, enjeksiyon miktarı	[409]
Kazein	Riboflavin	HPLC	Faktöriyel	Çeşitli parametreler	[410]
Çeşitli örnekler	Simazin, atrazin	İyon etkileşimi sıvı kromatografisi	Fraksiyonel	İyon-etkileşim ajanının zincir uzunluğu ve konsantrasyonu, mobil fazın pH'sı, akış hızı, organik değiştirici konsantrasyonu	[411]
İlaç preparatları	Stereoizomerik safsızlıklar	HPLC	Fraksiyonel faktöriyel	β-CD konsantrasyonu, sabit faz, tampon pH'sı, tampon/organik değiştirici oranı, akış hızı, kolon sıcaklığı	[412]
Bitki örnekleri	Karboksilik asitler	HPLC	Faktöriyel	İyon değiştirici, pH, organik çözütücü varlığı ya da yokluğu, tampon konsantrasyonu	[413]
Deniz suyu	Nitrat, fosfat	İyon kromatografisi	Fraksiyonel faktöriyel	Çeşitli parametreler	[414]
Toprak ve sediment örnekleri	Polinükleer aromatik hidrokarbonlar	GC-FID, GC-MS	2 ³ faktöriyel	Basınç, sıcaklık, ekstraksiyon sıvısı hacmi, metanol konsantrasyonu	[415]
Çeşitli örnekler	Penisilin	Potansiyometrik FLA	2 ³ faktöriyel	Reaktör uzunluğu, taşıyıcı akış hızı, örnek hacmi	[416]
İlaç preparatları	B-1, B-2-fosfat, B-3, B-6, C vitaminleri (sakarin ve E110 varlığında)	İyon çifti sıvı kromatografisi	Draper-Lin kompozit	Metanol yüzdesi, heksansülfonat ve trietanolanın konsantrasyonu, pH	[417]
Kontamine toprak örneği	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	Hızlandırılmış çözütücü ekstraksiyonu	Merkezi kompozit	Basınç, sıcaklık, ekstraksiyon süresi	[418]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

İdrar örnekleri	İndometasin, semetasin	Volametri	Faktöriyel, merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[419]
Su	23 Pestisit	GC-MS	2 ³ Merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[420]
Sırke	Organik asitler	İyon değişim kromatografisi	Faktöriyel	Elüent pH'sı, kolon sıcaklığı, mobil faz akış hızı	[421]
İdrar örnekleri	Kinolinik asit	Volametri	Doehlert	Tarama hızı, damla büyüklüğü	[422]
Kırdı toprak	Klorofenoller	SFE, LC-ECS	Tam faktöriyel	Basınc, ekstraksiyon hücresi sıcaklığı, çözücü yüzdesi	[423]
Çeşitli örnekler	Pestisitler	İyon etkileşimi sıvı kromatografisi	ANN	Mobil faz pH'sı, iyon etkileşim ajanının alkil zinciri uzunluğu, organik faz konsantrasyonu, iyon etkileşim ajanı konsantrasyonu, akış hızı	[424]
İçme suları	Kloroasetik asit, fenoksialkanolik asitler	GC-MS	2 ³ Faktöriyel	Reaktif veya katalizör konsantrasyonu, sıcaklık, reaksiyon süresi	[425]
Kan serumu örnekleri (insanlarda)	C-21 Ketosteroidler	Kemilüminesans	Tam faktöriyel	Hidrojen peroksit konsantrasyonu ve akış hızı, kemilüminesans reaktif akış hızı	[426]
Kan plazması ve idrar örnekleri (insanlarda)	Benzodiazepinler	SPME, GC	Fraksiyonel faktöriyel	Çeşitli parametreler	[427]
Çeşitli örnekler	Glisin	FLA	Yarı-fraksiyonel faktöriyel, çeyrek-fraksiyonel faktöriyel	Çeşitli parametreler	[428]
Yeni ve geri kazanılmış poliolefin örnekleri	İrganox 1076,	SFE, HPLC	Tam faktöriyel	Basınc, sıcaklık, süre, organik çözücü yüzdesi	[429]
Lipit farmasötik ürünler	Hidroperoksit, peroksit	FLA	Yarı-fraksiyonel, merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[430]
Atık su örnekleri	27 Pestisit	GC-HAP-MIP-AES	2 ³ Faktöriyel	Örnek hacmi, diklorometanın elüent içerisindeki hacmi ve yüzdesi	[431]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

İlaç preparatları ve biyolojik sıvılar	Galantamin	Kapiler elektroforez	ANN	pH, enjeksiyon süresi, ayırma voltajı	[432]
Biyolojik örnekler	Amfetamin ve türevleri	Kapiler elektroforez-DAD	Tam faktöriyel, merkezi kompozit	Konsantrasyon, pH, voltaj, sıcaklık	[433]
Toprak örnekleri	Poliklorlanmış bifenil bileşikleri	Mikrodalga destekli ekstraksiyon, soklet ekstraksiyonu, GC-MS	Deneysel tasarım	Aseton yüzdesi(V/V), gözücü miktarı, ekstraksiyon süresi, mikrodalga gücü ve basıncı	[434]
Çeşitli örnekler	Fosforik asit, amino grubu içeren pestisitler	GC-MS	Merkezi kompozit	Reaktif miktarları, sıcaklık, reaksiyon süresi	[435]
İlaç preparatları	Nimesulid	Voltametri	Plackett-Burmann, Doehlert, tam faktöriyel	Çeşitli parametreler	[436]
Çeşitli örnekler	Non-steroidal antiinflamatuar ilaçlar	Kapiler elektroforez	Yarı-fraksiyonel faktöriyel	Çeşitli parametreler	[437]
Çeşitli örnekler	Trimetiltin klorür	Gaz fazı moleküler absorpsiyon spek.	Plackett-Burmann, merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[438]
İlaç preparatları	Kodein fosfat, psödoefedrin hidroklorür, klorfeniramin maleat	HPLC	Tam ve faktöriyel	Dalga boyu, mobil faz pH'sı, iyon çifti ajan konsantrasyonu	[439]
Çeşitli örnekler	Fenolik yan ürünler	HPLC	Merkezi kompozit	Başlangıç izokratik elüsyonu, gradient çalışma süresi ve gradient eğriliği	[440]
İdrar örnekleri(İnsan)	Losartan, valsartan	Spektroflorimetri	Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	pH, sıcaklık, emisyon yarı genişliği	[441]
İlaç preparatları	Kaptopril	HPLC	Box-Behnken	Çeşitli parametreler	[442]
Çeşitli örnekler	Troleandomisin	LC	Tam faktöriyel	Mobil faz pH'sı, kolon sıcaklığı, organik çözücü konsantrasyonu	[443]
Soya fasulyesi	Izoflavonoidler	HPLC	Merkezi kompozit	Hidroklorür konsantrasyonu, sıcaklık, hidroliz süresi	[444]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Sediment	Organik konserve bileşikleri	ETA-AAS	Plackett-Burman, merkezi kompozit	Sediment kütlesi, asit türü, asit sevelmesi vd birçok değişken	[445]
Çeşitli örnekler	H 314/27, H 314/26, H 314/21, H 299/87, DKP	HPLC-UV	Faktöriyel, merkezi kompozit	Mobil fazdaki asetoniitril miktarı, fosfat	[446]
Üzüm ve şarap yapımı sonucu oluşan yan ürünler	Tartarik asit, malik asit	UAE	Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Ekstraksiyon sıvısı bileşimi, sıcaklık	[447]
İlaç preparatları	Sildenafil sitrat	GC	Plackett-Burman, tam faktöriyel	7 parametre (validasyon)	[448]
Su örnekleri	Metil ter-butil eter	GC-FID	Fraksiyonel faktöriyel	Ekstraksiyon sıcaklığı, NaCl konsantrasyonu	[449]
Çeşitli örnekler	Birkaç inhibitör	Kapiler elektroforez	Tam faktöriyel	İyon değiştirici ajanın konsantrasyonu ve pH'sı	[450]
Çeşitli örnekler	Altı angiotensin-II-reseptör antagonist	Kapiler elektroforez	Tam faktöriyel	İyon değiştirici ajanın konsantrasyonu ve pH'sı	[451]
Şarap örnekleri	Biyojenik aminler	LC	Doehlert	Çeşitli parametreler	[452]
Geleneksel çin ilaçları	İmperatorin, izoimperatorin	Kapiler elektroforez	Ortogonal	Borat ve SDS konsantrasyonu, organik çözücü içeriği, tampon pH'sı	[453]
İlaç preparatları	Etiambutol hidroklorür	Kapiler elektroforez	Box-Behnken	Tampon pH'sı, tampon konsantrasyonu, uygulanan elektrik alan	[454]
İlaç preparatları	Benzoik Asit, vanilin	DSC	Faktöriyel, matris Analizi	Örnek büyüklüğü, ısıtma hızı, atmosfer, kroze tipi, bağül nem	[455]
İlaç preparatları	Nimesulid	Kapiler elektroforez, HPLC, ASV, DPP	Taguchi, Box-Behnken, D-optimal	Tarama hızı, karıştırma hızı, birikim potansiyeli	[456]
Nehir suyu örneği	Toluen, dibenzofuran	SPME, GC-MS	Tam faktöriyel	Örnekleme süresi, sorpsiyon sıcaklığı, desorpsiyon sıcaklığı, tuz konsantrasyonu, iyon gücü	[457]
Çeşitli örnekler	Serotonin	CE-LIF	Tam faktöriyel	Çeşitli parametreler	[458]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Antifungal ilaç preparatı	Pneumocandin B0	HPLC	Plackett-Burman	Kolon sıcaklığı, akış hızı, dalga boyu, enjeksiyon hacmi, mobil faz bileşimi, kolon geçiriliği	[459]
Bergamot Portakalı Suyu	Flavonoidler	HPLC	D-optimal	Ekstraksiyon süresi, sıcaklık, gözünümler	[460]
İlaç preparatları	İmatinib mesilat ve safsızlıkları	HPLC	2 ⁴ Faktöriyel	Mobil fazdaki metanol ve trietilamin içeriği, mobil fazın pH'sı, kolon sıcaklığı	[461]
Sıklamat örnekleri	Amin Kotaminantlar	FIA	Faktöriyel	Çeşitli parametreler	[462]
Kül örnekleri	Klorofenoller	MA-DE	Faktöriyel	Trietilamin, n-heksan aseton ve asetik anhidrid hacmi, ekstraksiyon süresi ve sıcaklık	[463]
İdrar örnekleri(İnsan)	Paroksetin	Kapiler elektroforez	Plackett-Burman	Voltaj, enjeksiyon süresi, NH ₄ OAc konsantrasyonu, ayırma sıcaklığı, asetonitril ve asetik asit yüzdesi, elektrolitle yıkama süresi	[464]
İlaç preparatları	Fluoksetin, fluvoksamini, sitalopram, sertralini, paroksetin	Kapiler elektroforez-FID	Plackett-Burman	Kolon basıncı, enjektör ve dedektör sıcaklıkları, ayrılmanın olmadığı aşama süresi ve sıcaklığı, enjeksiyon hacmi, fırın sıcaklık programı	[465]
Şarap örnekleri	Total polifenol miktarı	SIA	Fraksiyonel faktöriyel	Sodyum hidroksit ve FCR konsantrasyonu, reaktör uzunluğu	[466]
İlaç preparatları	Dört atipikal antipsikotik	Kapiler elektroforez	Tam faktöriyel	Tampunun pH'sı ve konsantrasyonu	[467]
İlaç preparatları	Transdermal ilaç taşıma sistemleri	Ekstraksiyon	Plackett-Burman, tam faktöriyel	Ekstraksiyon çözücü gücü ve hacmi, karıştırma hızı, karıştırma süresi	[468]
İlaç preparatları	Zidovudin	Termal bozunma-termogravimetri	Faktöriyel	Örnek kütlesi, fırın ortamı, fırın atmosferi, örnek kabı bileşimi	[469]
İlaç preparatları	Sitalopram	Kapiler elektroforez	Plackett-Burman	Siklodekstrin ve tampon konsantrasyonu, tampon pH'sı, voltaj, enjeksiyon basıncı	[470]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Deri	Azo boyalar	SFE, MAE	Faktöriyel	Reaksiyon süresi, sıcaklık, indirgen reaktifin konsantrasyonu	[471]
Kozmetik kremler ve benzer emülsiyonlar	Fenolik bileşikler	U/A-SLE	Faktöriyel	Sıcaklık, ekstraksiyon hacmi, ultrason gücü	[472]
Kan plazması (insan)	5 Tane 1,4-Dihidropiridin	LLE, HPLC-DAD	Faktöriyel, merkezi kompozit	NaOH konsantrasyonu, organik çözücü hacmi, karıştırma süresi	[473]
Kahve, çay ve idrar örnekleri	Metilksantinler	HPLC-UV	Tam faktöriyel	Akış hızı, mobil faz bileşimi	[474]
Yiyecek matrisleri	Sukraloz	Kapiler elektroforez	Merkezi kompozit	Elektrolit pH'sı, elektrolit konsantrasyonu, enjeksiyon süresi, uygulanan potansiyel, kapiler sıcaklık	[475]
İlaç preparatları ve biyolojik sıvılar	Huperzin A	Kapiler elektroforez-UV	ANN	Tampon konsantrasyonu, pH, ayırma voltajı, hidrodinamik enjeksiyon süresi, sıcaklık	[476]
Avusturalya şarapları	Resveratrol	Kapiler elektroforez	Merkezi kompozit	Örnek hacmi, akış hızı, elüent hacmi	[477]
Humanın türevleri	Nörokoruyucu peptitler	İyon çifti kromatografisi	Tam faktöriyel, fraksiyonel faktöriyel, ANN	Mobil fazın bileşimi, mobil fazın pH'sı, kolon sıcaklığı	[478]
İlaç preparatları	Tetrasiklin, klortetrasiklin, oksitetrasiklin, doksisiklin	Kapiler elektroforez	Faktöriyel, merkezi kompozit	Elektrolit bileşimi, pH'ı ve konsantrasyonu, sıcaklık, uygulanan voltaj	[479]
Kan plazması örneği (insanlarda)	Prostaglandin E-2	LC-MS	Merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[480]
Çeşitli örnekler	Heterosiklik aromatik aminler	SPE, HPLC-UV/DAD	Faktöriyel- Doehlert	Absorpsiyon süresi, ısıtılma süresi, desorpsiyon süresi	[481]
Deniz kaynaklı örnekler	Yağ asitleri ve kolesterol	Ekstraksiyon-metilleme	2 ³ Tam faktöriyel	Reaksiyon süresi, sıcaklık, non-polar çözücü varlığı	[482]
İç mekan havası	Piretiroidler	UAE, GC-MS	Deneysel tasarım	Çözücü ve absorbent tipi, çözücü hacmi, ekstraksiyon süresi	[483]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

İlaç preparatları, kan ve serum örnekleri	Antihistaminler	Kapiler elektroforez	3 ³ Tam faktöriyel	Tampon pH'sı, voltaj, basınç	[484]
İlaç preparatları	Pramipexsol	HPLC-UV	Merkezi kompozit, 2 ³ Faktöriyel	Asetonitril yüzdesi, akış hızı, pH	[485]
Tarimsal formülasyonlar	İprodion	TNIR	Tam faktöriyel, merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[486]
Bitki örnekleri	Tanın	FIA	Tam faktöriyel, merkezi kompozit	Potasyum iyodat çözeltisi akış hızı, örnek hacmi, taşıyıcı akış hızı, reaksiyon bobini uzunluğu	[487]
Kan plazması örneği (insan)	Valsartan	SPE, HPLC-UV, Floresans	Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Akış hızı, kolon sıcaklığı, mobil faz pH'sı, mobil fazdaki TFA yüzdesi, mobil fazın başlangıç bileşimi, gradient elüsyondaki ACN basamakları	[488]
Şarap örnekleri	Biyojenik aminler	İyon çifti sıvı kromatografisi	Faktöriyel	Asetonitril ve SHS konsantrasyonu	[489]
Çeşitli örnekler	Kondroitin sülfat (azure B varlığında)	FIA	Faktöriyel	pH, azure B konsantrasyonu, akış hızı, enjeksiyon hacmi, reaksiyon bobini uzunluğu	[490]
İlaç preparatları	Promazin	SIA	3 ³ Tam faktöriyel	Sülfürik asit konsantrasyonu, Ce(IV) konsantrasyonu, akış hızı	[491]
İlaç preparatları	Norfloksasin, tinidazol	Kapiler elektroforez	Faktöriyel, yanıt yüzey metodu	Elektrolit konsantrasyonu, pH	[492]
Süt örneği	Sülfadiazin	Türev-floresans	Faktöriyel	Türev reaksiyonunun sıcaklığı, türev reaktifinin miktarı, enstrümental sinyalde türev süresi	[493]
Yerel toz	Difenil eterler	GC-ECD	Multi-faktöriyel	Enjektör sıcaklığı, ayrılma olmadan geçen süre, enjeksiyon hacmi	[494]
İlaç preparatları	Valdekoksisib ve bozunma ürünleri	HPLC	2 ³ Tam faktöriyel (validasyon)	Çeşitli parametreler	[495]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

İlaç preparatları	İzoniyazid, piridoksin hidroklorür	MECK	Tam faktöriyel	Tampon pH'sı, tampon ve SDS konsantrasyonu	[496]
İlaç preparatları	Liklorkain, proparakain, bupivakain, oksipropokain	HPLC-UV	Tam faktöriyel, merkezi kompozit	Mobil faz bileşimi, pH akış hızı	[497]
Standart çözeltiler ve kan serum örnekleri	Estradiol	Elektrokatalitik dedeksiyon	Faktöriyel	Karbon nanotüp miktarı, nasyon konsantrasyonu, Ni(cyclam)'ın yüzey kaplaması	[498]
Su örnekleri	Nitro misk esansları	SPME, GC	Faktöriyel	Ekstraksiyon sıcaklığı, fiber kaplama, ekstraksiyon modu, örneklerin karıştırılması, tuz oluşumu	[499]
Tarımsal toprak	1,3-Dikloropropen	HS-SPME, GC-ECD	2 ⁽⁶⁻²⁾ Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	NaCl konsantrasyonu, ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, desorpsiyon zamanı	[500]
İlaç preparatları	Norfloksasin ve inaktif dekarboksile bozunma ürünü	Kapiler elektroforez	Faktöriyel	Elektrolit konsantrasyonu, pH	[501]
Su örnekleri	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	SPME, GC-FID	2 ⁽⁶⁻²⁾ Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Ekstraksiyon sıcaklığı ekstraksiyon süresi vb. parametreler	[502]
Tarımsal kullanılan bakterisidal ürünler	Streptomisin, oksitetrasiklin	Kapiler elektroforez	Merkezi kompozit	Elektrolit bileşimi, pH'sı ve konsantrasyonu, sıcaklık, uygulanan voltaj	[503]
Çeşitli örnekler	Atrazin	Fenton reaktifi	Merkezi kompozit, fraksiyonel faktöriyel	Ekstraksiyonda kullanılan metanolün etkisi vb.	[504]
Kan plazması örnekleri	Fluoksetin, norfluoksetin	Kapiler elektroforez	Merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[505]
Yüzey ve musluk suları	Ibuprofen, salisilik asit vb etken maddeler ve endokrin bozucu madde	SPE, GC-MS	Faktöriyel, Merkezi kompozit	Çözücü oranları, elüsyon hacimleri	[506]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

İlaç preparatları	Entakapon	UV	Plackett-Burman	Karıştırma süresi (mekanik), karıştırma süresi (ultrasonik banyo), dalgaboyu	[507]
İlaç preparatları	Atorvastatin ve safsızlıkları	RR-RP-HPLC	Tam faktöriyel, merkezi kompozit	Gradient elüsyon sırasında organik faz miktarı, organik fazdaki THF içeriği, gradient süresi (dayanıklılık testi için)	[508]
İnsan idrar örnekleri	Letrozol ve metabolitleri	MEKC	Plackett-Burman	Sıcaklık, dalgaboyu, enjeksiyon süresi, yıkama tamponu hacmi, voltaj, tampon ve SDS konsantrasyonu, pH	[509]
Doğal kontamine sular	EPA-polisiklik aromatik hidrokarbonlar	HPLC-Floresans	Doehlert	Toplam heksan hacmi, ekstraksiyon basamaklarının sayısı ve süresi	[510]
Atık su örnekleri	Benzen, toluen, etilbenzen, ksilenler	SPME, GC-FID	Faksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Salin konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi, desorpsiyon süresi, karıştırma hızı	[511]
Su örnekleri	Bromlu alev geciktiriciler	SBSE, GC-MS	Plackett-Burman, Merkezi kompozit	Desorpsiyon süresi, desorpsiyon sıcaklığı, desorpsiyon akış hızı, soğutucu tuzak sıcaklığı, basınç	[512]
İlaç preparatları	Le kanidipin	LC-UV	Faktöriyel	Asetonitril miktarı, mobil faz pH'sı	[513]
Su örnekleri	Metakrat	HPLC	Ortogonal, merkezi kompozit	Ekstraksiyon çözünücü ve disperse edici çözünücü hacmi, tuz etkisi, örnek hacmi, ekstraksiyon süresi	[514]
İlaç preparatları	Kloramfenikol, danofloksasin, siprofloksasin, enrofloksasin, sülfametazin, sülfakınoksalin, sülfametoksazol	Kapiler elektroforez	Merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[515]
Caropa guianensis ağacı tohumu yağı	Terranortiterpenoidler	HPLC	Merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[516]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Çeşitli örnekler	Yunakontinin	HPLC	Box-Behnken	Asetonitril, perklorik asit, trietilamin içeriği, kolon sıcaklığı	[517]
İdrar ve kan plazması örnekleri (insan)	Mikrofenolik asit, mikofenolik asit gluturonit	SPE, HPLC	Fraksiyonel Faktöriyel, merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[518]
İçme suyu örnekleri	İbuprofen, diklofenak	CD-MEKC-UV	Merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[519]
İlaç preparatları	7 tane 2-arilimidazolin türevi	HPLC	Tam faktöriyel	Sıcaklık, pH, mobil faz bileşimi	[520]
İlaç preparatları	İbuprofen, psödoefedrin hidroklorür, klorfeniramin maleat, nipajen	HPLC	Fraksiyonel faktöriyel	pH, akış hızı, 3 basamaklı gradient elüsyon için çözücü oranı	[521]
Yapraklı sebzeler	Organik kontaminantlar	GC-MS	Tam faktöriyel, merkezi kompozit	Ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı	[522]
Bitkisel ilaçlar	Glisirizin	MAE	Tam faktöriyel- Box-Behnken	Ekstraksiyon sıcaklığı ve süresi, çözücü hacmi	[523]
Bal	Flavonoid belirteçleri	SPE, LC	Merkezi kompozit	Maksimum yüklenme kapasitesi, taşıyıcı gaz hacmi	[524]
Geleneksel çin ilaçları	İki etken madde	Kapiler elektroforez	Ortogonal	Fosfat oranı, uygulanan voltaj, organik çözücü miktarı, tampon pH'sı	[525]
Su örnekleri	Poliklorize bifeniller	USAEME, GC-MS	2 ³ Faktöriyel	En uygun çözücü, ekstraksiyon süresi, çözücü hacmi, santrifüj süresi, örneğin iyonik güçü	[526]
Su örnekleri	Fenolik koruyucular	USAEME, GC-MS/MS	Multifaktöriyel	Ekstraksiyon çözücü, faz oranı, NaCl konsantrasyonu, ekstraksiyon süresi, asetik anhidrit hacmi	[527]
İlaç preparatları	Karbamazepin ve safsızlıkları	LC	Merkezi kompozit, fraksiyonel faktöriyel	Kolon sıcaklığı, organik çözücü yüzdesi, asetat tamponu konsantrasyonu, su fazının pH'sı	[528]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

İlaç preparatları	Nimopidin ve safsızlıkları	HPLC	Tam faktöriyel	Organik çözücü türü ve konsantrasyonu, kolon sıcaklığı, akış hızı, pH	[529]
İdrar ve kan plazması örnekleri	Mikrofenolik asit, glukuronit	HPLC	Fraksiyonel faktöriyel	Sulu fazının pH'sı, asetonitril yüzdesi, kolon sıcaklığı, akış hızı	[530]
Çeşitli örnekler	Iribenuron metil	Diferansiyel puls polarografisi	2 ⁽⁷⁻²⁾ Fraksiyonel faktöriyel	Voltaj basamağı, voltaj basamağı süresi, puls genişliği, puls zamanı, örnek pH'sı, yardımcı elektrolitin konsantrasyonu, cıva damla büyüklüğü	[531]
Çocuk mamaları	Florokinolon kalıntıları	LC-FLD	Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Çözücü bileşimi, sıcaklık, basınç, aşama sayısı	[532]
İç mekan havası	Esans alerjenleri	UAE, GC-MS	Deneysel tasarım	Çözücü ve adsorbent türü, çözücü hacmi ve ekstraksiyon süresi	[533]
Kompleks karışımlar	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	HPLC	Tam faktöriyel	Akış hızı, kolon sıcaklığı, mobil faz gradienti	[534]
Bal	Kuersetin, hesperetin, krisin	MLC	Tam faktöriyel	SDS konsantrasyonu, organik çözücü olarak kullanılan alkolün alkol zinciri uzunluğu, organik çözücü yüzde hacmi, mobil fazda kullanılan asetik asit hacmi	[535]
İlaç preparatları	Sertralın ve kiral olmayan safsızlıkları	HPLC	Faktöriyel	Kolon sıcaklığı, tampon pH'sı, tampon konsantrasyonu	[536]
Beyaz şarap örnekleri	Sülfür bileşikleri	UAE-DILME, GC-MS	2 ⁽⁶⁻¹⁾ Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Ekstraksiyon ve dispersiyon çözücüler, örnek hacmi, iyon gücü, santrifüj süresi	[537]
Su örnekleri	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	USAEME, GC-MS	2 ³ Faktöriyel	Ekstraksiyon süresi, santrifüj süresi, örneğin iyonik gücü	[538]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Çeşitli örnekler	Azo boyalar	MSC	2 ³ Faktöriyel	Organik fazdaki asetonitril ve su yüzdesi, iyon çifti ajanının türü	[539]
Kompleks biyolojik örnekler	Kolesteril esterler	HPLC	Fraksiyonel faktöriyel, ANN-GA	Mobil fazdaki organik bileşen, kolon sıcaklığı, akış hızı	[540]
Fenonitiazin boyaları	Değişik surfaktanlar	Spektrofotometri	Merkezi kompozit	Çeşitli parametreler	[541]
İlaç preparatları	Rivastigmin hidroklorür	LC	Deneysel tasarım	Asetonitril yüzdesi, akış hızı, Sıcaklık	[542]
İlaç preparatları	Non-steroidal antiinflamatuar ilaçlar	HPLC	Fraksiyonel, MRA	Çeşitli parametreler	[543]
İlaç preparatları	İbuprofen, psödoefedrin hidroklorür, klorfeniramin maleat, nifedipin	HPLC	2 ⁽³⁻¹⁾ Fraksiyonel faktöriyel	pH, akış hızı, çözücü oranları	[544]
İlaç preparatları	Matrin, oksimetrin	Kapiler elektroforez	Ortogonal	Fosfat konsantrasyonu, uygulanan potansiyel, organik çözücü bileşimi, tampon pH'sı	[545]
İlaç preparatları	Aliskiren, hidroklorotiazid	HPLC-DAD	Plackett-Burman, 2 ³ tam faktöriyel	Akış hızı, tampon konsantrasyonu, pH, organik çözücüdeki asetonitril yüzdesi, sıcaklık	[546]
İlaç preparatları	Kaptopril	HPLC-ECD	Merkezi kompozit	Mobil faz pH'sı, mobil faz konsantrasyonu, asetonitril konsantrasyonu	[547]
Kan serumu örnekleri	Klorpromazin, trifluoperazin	SBSE, HPLC-UV	2 ³ Yarı fraksiyonel faktöriyel, Box-Behnken	Örnek hacmi, ekstraksiyon süresi, sıcaklık, karıştırma hızı, ekstraksiyon basamağındaki pH	[548]
Su örnekleri	Poliklorize bifeniller	GC-MS	2 ³ Faktöriyel	Ekstraksiyon süresi, vorteks hızı, örneğin iyonik kuvveti	[549]
Çeşitli örnekler	RS86017	Kapiler elektroforez	Ortogonal	Kiral seçici ve organik faz konsantrasyonu, pH, kapiler sıcaklık, uygulanan voltaj	[550]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Sıvı ve atık su örnekleri	Benzen, toluen, etilbenzen, ksilen	SPME, GC	Ortogonal	Karıştırma hızı, organik çözücü adsorpsiyon hacmi, örneğin ekstraksiyon ve desorpsiyon süresi	[551]
Su örnekleri	Sülfonamidler	Kapiler elektroforez	Ortogonal, Box-Behnken	Ekstraksiyon ve dispersiyon çözücülerinin hacmi, iyonik güç, ekstraksiyon süresi, santrifüj süresi	[552]
Su örnekleri	N-metilkarbamat	LLME, HPLC	Plackett-Burman, merkezi kompozit	Ekstraksiyon ve dispersiyon çözücülerinin hacmi, iyonik güç, ekstraksiyon süresi, santrifüj süresi	[553]
Toprak örnekleri	Arioksifenoksi propiyonik herbisitler	LC-UV	Faktöriyel	2-propanol yüzdesi, tampon pH'sı, kolon sıcaklığı	[554]
Bitki örneği	Esansiyel yağ	UAE-DLLME, GC-MS	Tam faktöriyel	Sıcaklık, ultrasonlama süresi, disperse edici madde ve ekstraksiyon çözücüsü hacmi	[555]
Biyolojik örnekler	Propil tiyourasil	HPLC-UV	Yarı faktöriyel fraksiyonel, merkezi kompozit	pH, sıcaklık, ekstraksiyon süresi, karıştırıcı konsantrasyonu, organik çözücü yüzdesi	[556]
Kozmetik ürünler ve çevresel su örnekleri	Ftalat esterleri	USAEME-SFO, HPLC-DAD	Faktöriyel, Box-Behnken	Ekstraksiyon çözücü hacmi, tuz etkisi, ekstraksiyon ve santrifüj süresi	[557]
İlaç preparatları	Sitalopram enantiyomerleri	HPLC-UV	2 ³ Tam faktöriyel, Box-Behnken	Organik çözücü yüzdesi, akış hızı, sıcaklık	[558]
Kan plazma örnekleri (insanlarda)	İmanitib ve metaboliti	HPLC	D-optimal	Mobil faz bileşimi, tampon pH'sı	[559]
Sebzeler	İyonoforik ve sentetik bakterisidalalar	UPLC-MS/MS	Tam faktöriyel, fraksiyonel faktöriyel, Plackett-Burman	Ekstraksiyon, elüsyon ve enjeksiyon çözücülerini, santrifüj süresi, farklı heksan hacimleriyle yapılan sıvı-sıvı ekstraksiyonlar, farklı oranlardaki yıkama gözeltileri, santrifüjleme hacimleri, dondurarak kurutma etkisi	[560]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Kompleks biyolojik örnekler ve yiyecek örnekleri	20 Amino asit	SPME, GC-MS	Plackett-Burmann	Çeşitli parametreler	[561]
Su örnekleri	Nitrotoluen bileşikleri	SFODME, GC-FID	Fraksiyonel faktöriyel-merkezi kompozit	Organik çözücü hacmi, örnek çözeltisi sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, karıştırma hızı, iyonik güç	[562]
Çevresel su örnekleri	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	AA-DLME, HPLC	Faktöriyel, merkezi kompozit	Ekstraksiyon da ve dispersiyonda kullanılan çözücülerin türü ve hacmi, tuz miktarı, karıştırma süresi	[563]
Alkollü içki örneği	Etil karbamat	SPME, GC-MS	Faktöriyel	Ekstraksiyon süresi ve sıcaklığı, tuz konsantrasyonu, desorpsiyon süresi, pH, ekstraksiyon metodu	[564]
İlaç preparatları ve kan plazması örnekleri (varlığında)	Betaksolol (parasetamol)	DPV	Merkezi kompozit	Tarama hızı, basamak potansiyeli, modülasyon genişliği, altın nanoparçacık içeriği, pH	[565]
Kompleks matris	3-nitrotoluen, 4-nitrotoluen	SFE-DLME, GC-FID	2 ⁽ⁿ⁻¹⁾ fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Basınç, sıcaklık, çözücü hacmi, dinamik ekstraksiyon süresi	[566]
Toprak ve idrar örnekleri	Endosülfan ve metabolitleri	UA-DLME, GC-MS	Plackett-Burmann, merkezi kompozit	Ekstraksiyon ve dispersiyon çözücülerinin hacmi, iyonik güç	[567]
Ev tozu	Polisiklik aromatik hidrokarbonlar	HPLC-UV-DAD	Deneysel tasarım ve yanıt yüzey metodolojisi	Ekstraksiyon, eluent ve dispersiyon çözücülerinin hacmi	[568]
Deri örnekleri	Klorofenoller	HS-SPME, GC-SIM-MS	Fraksiyonel faktöriyel	Ekstraksiyon sıcaklığı, ekstraksiyon süresi, asetik asit miktarı, NaCl miktarı, yardımcı çözücü olarak aseton hacmi	[569]
Bitki örneği	Oksindol alkaloidler	HPLC	2 ³ Tam faktöriyel, merkezi kompozit	Tampon, pH, kolon sıcaklığı	[570]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

Bitki örneği	Aporfin alkaloidler	HPLC-UV	Tam faktöriyel	Mobil faz pH'sı, metanolün başlangıç oranı, gradient eğimi	[571]
Kozmetik ürünler	Yaygın koruyucular	Kapiler elektroforez	Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Ayrılma voltajı, metanol yüzdesi, SDS konsantrasyonu, pH, fosfat konsantrasyonu,	[572]
Su örnekleri	Esans alerjenler	DLIME	Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	konsantrasyonu, Ekstraksiyon ve dispersiyon çözücü hacimleri, pH, iyonik güç, ekstraksiyon süresi, örnek hacmi, santrifüj süresi	[573]
Termal yazıcı kağıdı, oyuncaklar ve bebek malzemeleri	4 Bisfenol bileşiği	UAE-ME, GC-MS	Taguchi metodu, ortogonal	Asetik anhidrit hacmi, sodyum fosfat konsantrasyonu, CCl ₄ hacmi, sulu örnek hacmi, NaCl konsantrasyonu, ultrason gücü, uygulama süresi	[574]
Kozmetik ürünler	Hidroksi asitler	CD-CE	Fraksiyonel faktöriyel, merkezi kompozit	Fosfat konsantrasyonu, surfaktan konsantrasyonu, metanol yüzdesi	[575]
İdrar örnekleri	Organik UV filtreleri	DLIME, HPLC-DAD	2 ⁽⁶⁻²⁾ Fraksiyonel faktöriyel	Dispersiyon ve ekstraksiyon çözücülerinin türü ve hacmi, örnek pH'sı, tuz konsantrasyonu	[576]
İlaç preparatları	Amoksisilin trihidrat	HPLC	Box-Behnken	Mobil faz bileşimi, akış hızı, pH	[577]
İlaç preparatları	Sitalopram ve safsızlıkları	HPLC	PSLR-MLP-ANN	Tampon pH'sı, akış hızı, kolon sıcaklığı	[578]
Kan plazması örneği	Lenalidomit	LC-MS/MS	3 ¹ faktöriyel, Box-Behnken	Mobil faz bileşimi, akış hızı, pH	[579]
Biyolojik matrisler	Glutasyon	LC-ESI-MS	Doehlert	Mobil faz akış hızı, sulu çözeltide asetonitrilün yüzde hacmi	[580]
İlaç preparatları	Klorpromazin	SIA-UV	2 ⁴ Tam faktöriyel	Asit hacmi ve konsantrasyonu, permanganat hacmi ve konsantrasyonu	[581]
İlaç preparatları	Levulinik asid (LEA)	HPLC	Box-Behnken	Mobil faz oranı, pH	[582]
İlaç preparatı	Glipizid	HPLC	Merkezi kompozit	Sıcaklık, mobil faz	[583]

Çizelge 2. 20 İlaç örneklerinin ve çeşitli biyolojik örneklerin analizinde kullanılan deneysel tasarım yöntemleri (devamı)

İlaç preparatı	Embelin	FTIR DSC	Box-Behnken	Sıcaklık, çözünürlük	[584]
Guadua amplexifolia	Aktif karbon	RSM	Fraksiyonel faktöriyel tasarım	Aktivasyon sıcaklığı, zaman, karbonlaşma sıcaklığı	[585]
Bambu türü	Nistatin	HPLC	Box-Behnken	Mobil Faz, pH	[586]
İlaç preparatı	Ginerol	RSM	Merkezi kompozit tasarım	Ekstraksiyon zamanı, sıcaklığı	[587]
Bitki zingiber	Fenolik bileşikler	MAE LC	Box-Behnken Tasarımı	Çözücü, zaman	[588]
Okaliptüs	Floksetin (prozac)	RSM	Merkezi kompozit tasarım	Reaksiyon zamanı	[589]
İlaç preparatı	Karoten	UAE, MAE, RSM	Box-Behnken	Ekstraksiyon zamanı, sıcaklığı, çözücü	[590]
Çevresel örnekler	Ezetimib	HPLC	Box-Behnken	Mobil faz oranı, atık faktörü	[591]
İnsan Plazması	Ofloksin, niflorazol	RP-HPLC	Merkezi kompozit tasarım	Mobil fazdaki tetrahidrofur oranı, akış hızı, tampon çözelti	[592]
İlaç preparatı	İlaç etken maddesi	GC/MS, SPME	Merkezi kompozit tasarım	İyonik kuvvet, ekstraksiyon zamanı, sıcaklığı, çözücü	[593]
İlaç preparatı	Beta blokerler	RP-HPLC	Merkezi kompozit tasarım	Dalga boyu	[594]
İlaç preparatı	Metoprolol (β 1-bloker)	LC-MS/MS;	Faktöriyel tasarım	UV yoğunluk, çözünmüş organik madde	[595]

BÖLÜM 3

DENEYSEL BÖLÜM

3.1 Kullanılan Kimyasallar

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R, sakarin standartları çeşitli ilaç firmalarından temin edilmiştir. Dipotasyum hidrojen fosfat, dihidrojen potasyum fosfat (merck), fosforik asit, asetik asit, amonyum asetat (merck) ve metanol HPLC saflıktadır. Çalışmalar süresince ultra saf su kullanılmıştır.

3.2 Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

Efedrin hidroklorür çözeltisi (1000 µg/mL): 0,1 gram Efedrin hidroklorür tartılarak bir miktar su ile çözüldü. 100ml’lik balon jodede hacmine tamamlandı.

Guaifenesin çözeltisi (20000 µg/mL): 2 gram Guaifenesin tartılıp, bir miktar su ile çözüldü. 100ml’lik balon jodede hacmine tamamlandı.

Metil paraben çözeltisi (1000 µg/mL): 0,1 gram Metil paraben bir miktar metanolde çözülerek 100 mL’lik balon jodede hacmine tamamlandı.

Propil paraben çözeltisi (100 µg/mL): 0,01 gram Propil paraben bir miktar metanolde çözülerek 100 mL’lik balon jodede hacmine tamamlandı.

Ponso 4R çözeltisi (100 µg/mL): 0,01 gram Ponzo 4R bir miktar suda çözülerek 100 mL’lik balon jodede hacmine tamamlandı.

Sakarin çözeltisi (4000 µg/mL): 0,4 gram Sakarin bir miktar suda çözülerek 100 mL’lik balon jodede hacmine tamamlandı.

Dipotasyum hidrojen fosfat (0,025 M): 4,35 gram dipotasyum hidrojen fosfat tartılıp bir miktar su ile çözüldü. 1000 mL'lik balon jojede hacmine tamamlandı.

Dihidrojen potasyum fosfat (0,025 M): 3,4 gram dihidrojen potasyum fosfat tartılıp bir miktar su ile çözüldü. 1000 mL'lik balon jojede hacmine tamamlandı.

Fosforik asit (0,025 M) : %85'lik 1,32 mL fosforik asit 1000 mL'lik balon jojeye konuldu ve hacmine su ile tamamlandı.

Asetik Asit (0,025 M): %100'lük 1,4 mL asetik asit 1000 mL'lik balon jojeye konuldu ve hacmine su ile tamamlandı.

Amonyum Asetat (0,025 M): 1,92 gram amonyum asetat tartılıp bir miktar su ile çözüldü. 1000 mL'lik balon jojede hacmine tamamlandı.

Fosfat tamponu (pH: 4): 0,025 M fosforik asit üzerine 0,025 M dihidrojen potasyum fosfat eklenerek pH metre ile ilgili pH' a ayarlandı.

Fosfat tamponu (pH:6,5 - pH:7 - pH: 7,5): 0,025 M dipotasyum hidrojen fosfat üzerine 0,025 M dihidrojen potasyum fosfat eklenerek pH metre ile ilgili pH' a ayarlandı.

Amonyum asetat tamponu (pH: 5): 0,025 M Amonyum asetat üzerine 0,025 M asetik asit eklenerek pH metre ile ilgili pH' a ayarlandı.

3.3 Kullanılan Cihazlar

620 InoLab pH metre ve cam elektrodu, Chiltern magnetik karıştırıcı, Sartorius analitik terazi (0.1 mg'a kadar duyarlı), Anzak ultrasonik banyo, hamilton enjektör, 4.6mmx 150mmx5 µm intersil ODS-3V C₁₈ kolon, LC-20 AT pompa, SPD-20A UV-VIS dedektör, 7725 (20 µL) enjeksiyon ve bilgisayar sisteminden oluşan Shimadzu HPLC.

3.4 Yöntem

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, sakarin ve ponso 4R'nin HPLC ile bir arada analizinde optimum koşulların bulunması için faktörlerin ve bu faktörlerin birbirleri ile olan etkileşimlerinin ayırma gücüne etkisi incelendi. İncelemede 4 faktörlü 3 seviyeli Box-Behnken tasarımı kullanıldı. Tasarım için seçilen faktörler ve seviyeleri Çizelge 3.1'de verilmiştir. Optimizasyon için öncelikle 10 mL'lik balonjoje içerisine 20000 µg/ mL guaifenesin, 1000 µg/ mL efedrin hidroklorür ,1000 µg/ mL metil paraben,100 µg/ mL propil paraben,100 µg/ mL ponso 4R, 4000 µg/ mL sakarin

çözeltilerinden 0,3'er mL konulduktan sonra hacmine su ile tamamlandı. Bu karışım hazırlanırken Brodil ve Broksin adlı şurup preparatları içindeki yaklaşık ilaç oranları göz önünde tutuldu. Elde edilen sentetik karışımın hazırlanan tasarıma göre 210 nm'de 27 kez kromatogramı alındı. Ve her bir kromatogramdaki, tüm ardışık piklere ait ayırma gücü değerleri tek tek hesaplandı. Hesaplanan değerlere regresyon analizi yapıldı. Modelin güvenilirliğini test etmek için ANOVA yapıldı. Sonuçlar doğrultusunda model oluşturuldu. Oluşturulan model kullanılarak faktörlerin optimum değerleri hesaplandı. Sonuçlar Bölüm 4.1.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1 Faktörler ve seviyeleri

Faktör	Kodlu Değerler		
	Düşük (-1)	Orta (0)	Yüksek (+1)
pH (A)	6,5	7,0	7,5
Akış Hızı (B) (mL/dak)	0,6	0,8	1
Hareketli Faz Oranı (%) (C) (Fosfat tamponu bileşeni)	45	50	55
TBAH Miktarı (%) (D)	0,1	0,2	0,3

3.5. Validasyon

3.5.1 Doğrusallık

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin doğrusallığını incelemek amacı ile 10 mL'lik balonjoje içersine 20000 µg/ mL guaifenesin, 1000 µg/ mL metil paraben, 4000 µg/ mL sakarin çözeltilerinden 0,1-0,5mL, 1000 µg mL⁻¹ efedrin çözeltisinden 0,2-0,6 ml,100 µg/ mL propil paraben ve 100 µg/ mL ponso 4R çözeltilerinden, 0,1-0,9 mL alındıktan sonra su ile hacmine tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin C18 kolonda, 0,6 mL/dk akış hızında, %0,15 TBAH içeren fosfat tamponu/metanol hareketli faz sisteminde, 0-8,5 dak. (52:48), 8,5-25 dak. (40:60) gradienti kullanılarak kromatogramları alındı. Kromatogramlar, spektrofotometrik dedektörle 210 nm de izlendi ve pik alanları hesaplandı. Pik alanları ile

konsantrasyon arasında ölçü eğrileri çizilerek regresyon analizi yapıldı. İşlem 3 kez tekrarlandı. Sonuçlar Bölüm 4.2.1’de verilmiştir.

3.5.2 Gün İçi ve Günler Arası Tekrarlanabilirlik

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin, gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliğini incelemek amacı ile doğrusal alan içinde olacak şekilde 3 ayrı konsantrasyon seçildi. Seçilen konsantrasyondaki çözeltileri hazırlamak amacı ile 10 mL’lik balon jöjeye 20000 µg/ mL guaifenesin, 1000 µg/ mL metil paraben, 4000 µg/ mL sakarin çözeltilerinden I. seviye için 0,2 mL; II. seviye için 0,3 mL; III. seviye için 0,4 mL, 1000 µg/ mL efedrin hidroklorür çözeltisinden I. seviye için 0,3 mL; II. seviye için 0,4 mL; III. seviye için 0,5 mL, 100 µg/ mL propil paraben ve 100 µg/ mL ponso 4R çözeltilerinden I. seviye için 0,3 mL; II. seviye için 0,5 mL; III. seviye için 0,7 mL konularak hacmine su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin, gün içi tekrarlanabilirlik için aynı gün içerisinde 3 kez, günler arası tekrarlanabilirlik için 4 farklı günde bir kez C18 kolonda, 0,6 mL/dk akış hızında, % 0,15 TBAH içeren fosfat tamponu/metanol hareketli faz sisteminde, 0-8,5 dak. (52:48), 8,5-25 dak. (40:60) gradienti kullanılarak 210 nm’de kromatogramları alındı ve pik alanları belirlendi. İlgili ölçü eğrileri yardımı ile maddelerin konsantrasyonları bulundu. Geri kazanım yüzdeleri ve bağıl standart sapmaları hesaplandı. Sonuçlar Bölüm 4.2.2’de verilmiştir.

3.5.3 Doğruluk

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin doğruluğunu incelemek amacı ile öncelikle bu maddeleri içeren Brodil adlı şuruptan 0,2 mL, 10 mL’lik balon jöjeye konuldu. Üzerine 20000 µg mL⁻¹guaifenesin çözeltisinden I. seviye için 0,05 mL, II. seviye için 0,1 mL; III. seviye için 0,15 mL, 1000 µg mL⁻¹ efedrin hidroklorür çözeltisinden I. seviye için 0,1 mL, II. seviye için 0,2 mL; III. seviye için 0,3 mL, 1000 µg/ mL metil paraben çözeltisinden I. seviye için 0,1 mL, II. seviye için 0,15 mL; III. seviye için 0,2 mL, 100 µg/ mL propil paraben ve 100 µg/ mL ponso 4R çözeltisinden I. seviye için 0,1 mL; II. seviye için 0,3 mL; III. seviye için 0,5 mL, 4000 µg/ mL sakarin çözeltisinden I. seviye için 0,05 mL; II. seviye için 0,15 mL; III. seviye için 0,25 mL eklenip hacmine tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin kromatogramları, C18 kolonda, 0,6 mL/dk akış hızında, %0,15 TBAH içeren

fosfat tamponu/metanol hareketli faz sisteminde, 0-8,5 dak. (52:48), 8,5-25 dak. (40:60) gradienti kullanılarak 210 nm’de alındı ve pik alanları belirlendi. İşlem 3 kez tekrarlandı. İlgili ölçü eğrisi yardımı ile maddelerin konsantrasyonları bulundu. Yüzde geri kazanımları ve bağıl standart sapmaları hesaplandı. Sonuçlar Bölüm 4.2.3’de verilmiştir.

3.5.4 Tanıma ve Tayin Sınırı (LOD, LOQ)

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin tanıma ve tayin sınırının hesaplanması için boş deneme çözeltisinin, C18 kolonda, 0,6 mL/dk akış hızında, %0,15 TBAH içeren fosfat tamponu/metanol hareketli faz sisteminde, 0-8,5 dak. (52:48), 8,5-25 dak. (40:60) gradienti kullanılarak 210 nm’de kromatogramı alındı ve pik alanları belirlendi. Boş deneme çözeltisinin, her bir maddeye ait pikin alıkonma zamanındaki pik alanı ölçüldü. Bu işlem 10 kez tekrar edildikten sonra standart sapma hesaplandı. Standart sapmasının tanınma sınırı için 3 katı, tayin sınırı için 10 katı pik alanı kabul edilerek bunlara karşılık gelen madde konsantrasyonları ilgili ölçü eğrileri yardımıyla bulundu. Sonuçlar Bölüm 4.2.4’de verilmiştir.

3.5.6 Çözelti Dayanıklılığı

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin çözücü içerisindeki dayanıklılığını saptamak amacı ile su ve hareketli faz içerisinde 10 µg/mL’lik çözeltileri hazırlandı. Hazırlanan çözeltilerin oda sıcaklığında ve 4C°’de belli aralıklarla, C18 kolonda, 0,6 mL/dk akış hızında, %0,15 TBAH içeren fosfat tamponu/metanol hareketli faz sisteminde, 0-8,5 dak. (52:48), 8,5-25 dak. (40:60) gradienti kullanılarak 210 nm’de kromatogramları alındı. Sonuçlar Bölüm 4.2.5’de verilmiştir.

3.5.7 Örnek Analizi

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin ilaç örneklerindeki miktarını belirlemek amacı ile 10 mL’ lik balon jöjeye 0,3 mL şurup aktarıldı ve hacmine distile su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltilerin , C18 kolonda, 0,6 mL/dk akış hızında, %0,15 TBAH içeren fosfat tamponu/metanol hareketli faz sisteminde, 0-8,5 dak. (52:48), 8,5-25 dak. (40:60) gradienti kullanılarak 210 nm’de kromatogramları alındı. Pik alanları hesaplandı. İlgili ölçü eğrileri yardımı ile şurup örnekleri içerisindeki miktarları bulundu. Sonuçlar Bölüm 4.3’de verilmiştir.

BÖLÜM 4

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

4.1 Method Geliştirme ve Optimizasyon

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin HPLC ile bir arada analizi için literatür çalışmaları göz önünde tutularak çeşitli hareketli faz sistemleri incelendi. Çalışılan hareketli faz sistemleri;

pH 4 ($\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{PO}_4^-$) tamponu ile metanol ve asetonitril çeşitli oranlarda.

pH 5 ($\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONH}_4$) tamponu ile metanol ve asetonitril çeşitli oranlarda.

pH 6 ($\text{H}_2\text{PO}_4^-/\text{HPO}_4^{2-}$) tamponu ile metanol ve asetonitril çeşitli oranlarda.

Yapılan çalışmalar sonunda yaklaşık pH 6 fosfat tamponu:metanol hareketli faz sisteminde 210 nm’de 6 maddeye ait pikin ayrılabilceği sonucuna varıldı. Keskin pikler elde etmek için TBAH belirtecini katılabileceği düşünöldü. Toplam analiz süresinin kısılması için gradient program uygulanmaya karar verildi. Yapılan ön çalışmalar doğrultusunda uygun kromatografik şartların belirlenmesi amacıyla Box-Behnken tasarımı uygulandı.

4.1.1 Box-Behnken Tasarımı

Faktörlerin optimum değerlerini belirlemek, faktör ve etkileşimlerinin etkilerini incelemek amacıyla Bölüm 3.4 de anlatıldığı şekilde çalışıldı. 4 faktörlü 3 seviyeli Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen deneysel ayırma güçleri (rezolüsyon) değerleri Çizelge 4.1’de görölmektedir.

Çizelge 4.1. Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen ayırma gücü (R)değerleri

Deney No	A	B	C	D	R*
1	0	1	1	0	105,58
2	1	1	0	0	121,43
3	0	0	1	1	107,03
4	0	0	-1	1	60,62
5	1	0	1	0	193,59
6	0	1	0	1	127,72
7	1	0	0	-1	187,58
8	-1	0	-1	0	96,20
9	-1	0	0	1	231,12
10	0	0	-1	-1	59,30
11	1	-1	0	0	212,96
12	0	1	-1	0	43,14
13	0	1	0	-1	113,29
14	0	-1	-1	0	75,93
15	-1	-1	0	0	274,26
16	1	0	-1	0	54,92
17	1	0	0	1	190,00
18	-1	0	1	0	200,00
19	0	-1	0	1	208,73
20	0	0	1	-1	137,25
21	-1	1	0	0	135,04
22	0	-1	0	-1	196,14
23	0	-1	1	0	177,31
24	-1	0	0	-1	231,12
25	0	0	0	0	188,28
26	0	0	0	0	170,35
27	0	0	0	0	163,18

* Ayırma gücü(R); $R_{12}, R_{23}, R_{34}, R_{45}$ ’ in çarpım değeridir. R_{12} ponzo 4R ve sakarin; R_{23} sakarin ve efedrin hidroklorür; R_{34} efedrin hidroklorür ve guaifenesin; R_{45} guaifenesin ve metil paraben pikleri arasındaki ayırma gücü değerleridir.

4.1.2 Veri Değerlendirme

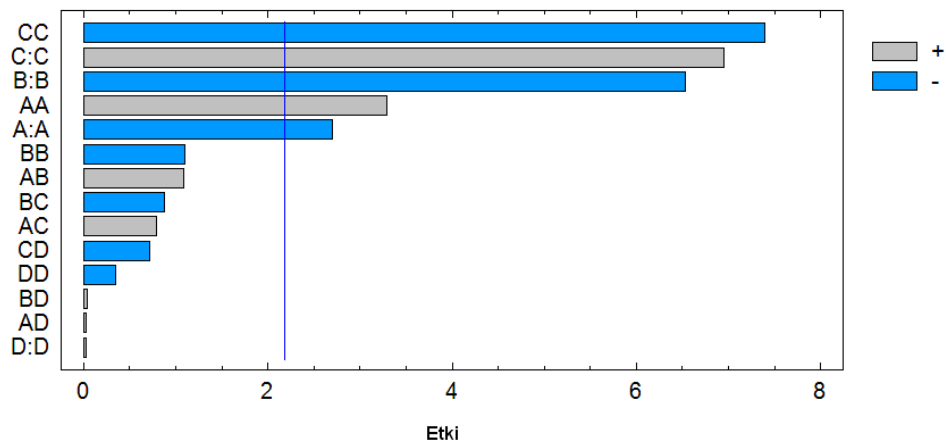
Box-Behnken Tasarımı uygulanarak elde edilen ayırma gücü değerlerine regresyon analizi yapıldı. Her bir faktörün tek ve birbirleri ile etkileşimine ait etki değerleri hesaplandı ve Pareto grafiği çizildi. Regresyon analizi sonuçları Çizelge 4.2’ de, bu sonuçlar doğrultusunda elde edilen Pareto grafiği Şekil 4.1’de verilmiştir.

Regresyon analizi sonuçları ve Pareto grafiğinden faktörlerden pH (A), akış hızı (B) ve hareketli fazın oranı (C) ile hareketli fazın oranının ve pH' nın ikinci dereceden etkilerinin (AA ve CC) ayırma gücü üzerinde etkili olduğu anlaşılmaktadır. p değerleri 0.05 in altında olan bu faktörlerden ayırma gücü üzerinde en büyük etkiye sahip olan mobil faz oranıdır. Daha sonra sırasıyla akış hızı ve pH faktörleri etkili faktörlerdir.

Çizelge 4.2 Regresyon analizi sonuçları

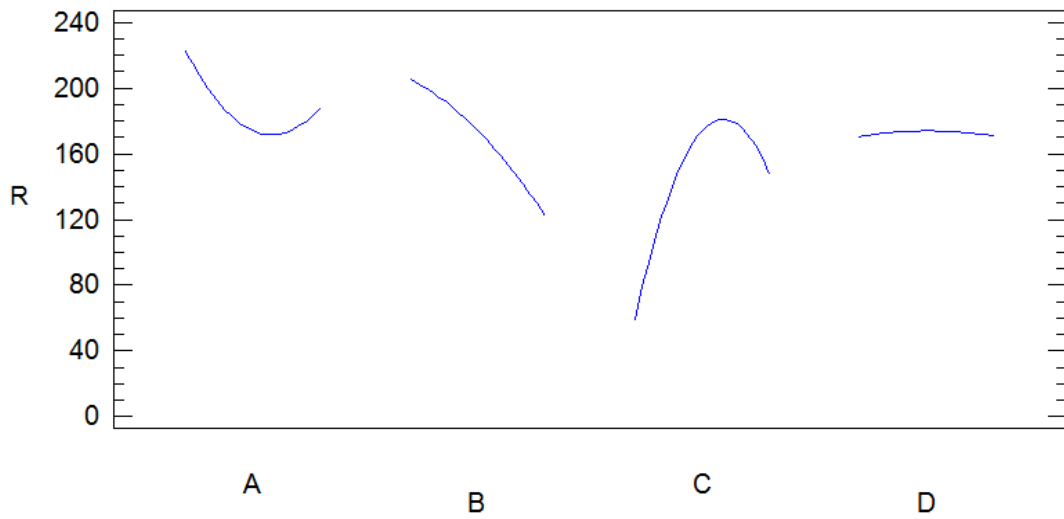
Faktörler	Etki	p değeri
Kesim noktası	173,937	
A	-34,3567	0,0193*
B	-83,1883	0,0000*
C	88,4417	0,0000*
D	0,276667	0,9830
AA	62,91	0,0064*
AB	23,845	0,3006
AC	17,435	0,4443
AD	0,65	0,9770
BB	-20,9825	0,2932
BC	-19,47	0,3944
BD	0,92	0,9674
CC	-141,147	0,0000*
CD	-15,77	0,4880
DD	-6,67	0,7328

*Etkili faktörler ve etkileşimler(p değeri<0.05)



Şekil 4.1. Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen Pareto grafiği

Ana faktörlerin ayırma gücüne etkisi ayrıca Şekil 4. 2’de de verilmiştir. Şekil 4. 2’ den pH’ nın ve akış hızının düşük değerlerinde rezolüsyon değerinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Mobil faz bileşiminin düşük değerlerinde ise önce rezolüsyon yavaş yavaş artarken belli bir değerden sonra mobil faz bileşiminin değeri artsa bile R değeri azalmaktadır. Eklenen TBAH miktarının ise rezolüsyon üzerinde etkili olmadığı da şekilden görülmektedir.



Şekil 4.2 Faktörlerin ayırma gücüne etkileri

Regresyon analizi sonuçlarının güvenilirliğini kontrol etmek amacı ile ANOVA yapıldı. ANOVA sonuçları Çizelge 4.3'de verilmiştir. ANOVA sonuçlarından $^{0,05}F_{1,14} = 4,6$ tablo değerinden büyük A, B ve C faktörleri ile A' nın ve C' nin ikinci derceden etkileşimlerinin ayırma gücü üzerinde etkili olduğu anlaşılmaktadır.

Çizelge 4.3 ANOVA sonuçları

Değişim Kaynağı	Serbestlik Derecesi	Kareler Toplamı	Kareler Ortalaması	F
A	1	3541,14	3541,14	7,29
B	1	20760,9	20760,9	42,74
C	1	23465,8	23465,8	48,31
D	1	0,229633	0,229633	0,00
AA	1	5276,89	5276,89	10,86
AB	1	568,584	568,584	1,17
AC	1	303,979	303,979	0,63
AD	1	0,4225	0,4225	0,00
BB	1	587,02	587,02	1,21
BC	1	379,081	379,081	0,78
BD	1	0,8464	0,8464	0,00
CC	1	26563,5	26563,5	54,68
CD	1	248,693	248,693	0,51
DD	1	59,3185	59,3185	0,12
Hata	12	5829,37	485,781	
Toplam	26	100092		

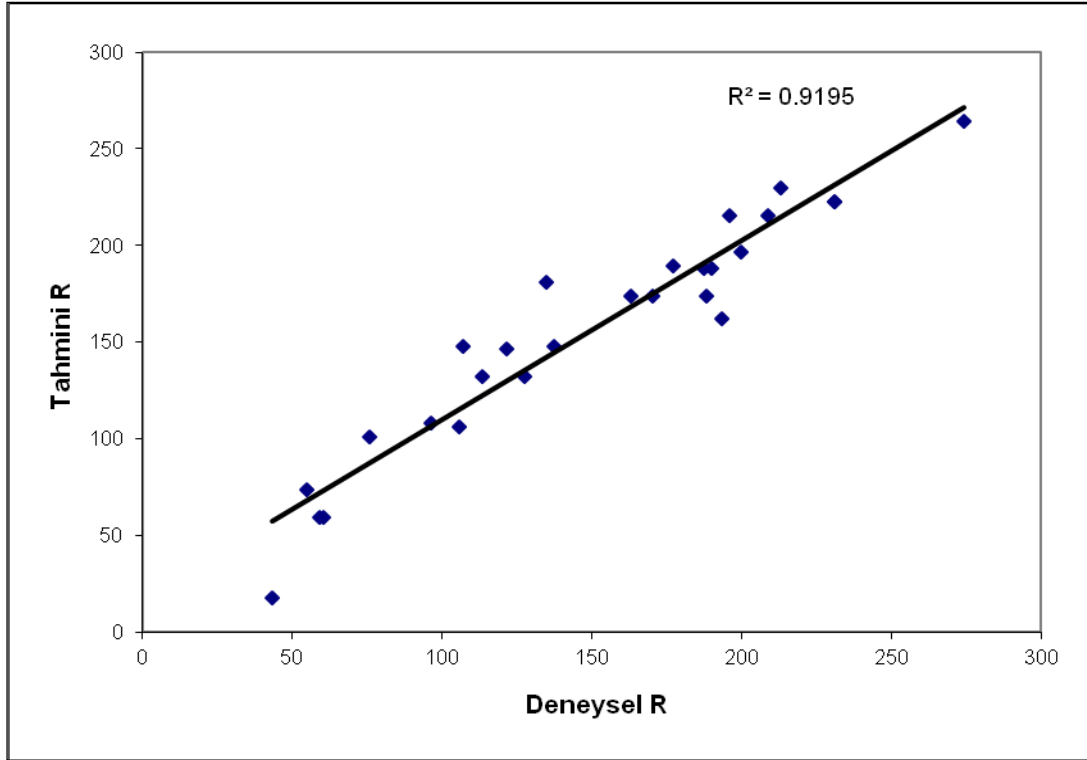
$$R^2 = 0,9418$$

4.1.3 Modelleme

Regresyon analizi ve ANOVA sonuçlarına göre ana faktörler ve etkili etkileşimlerin katsayılarından oluşturulan model aşağıdadır.

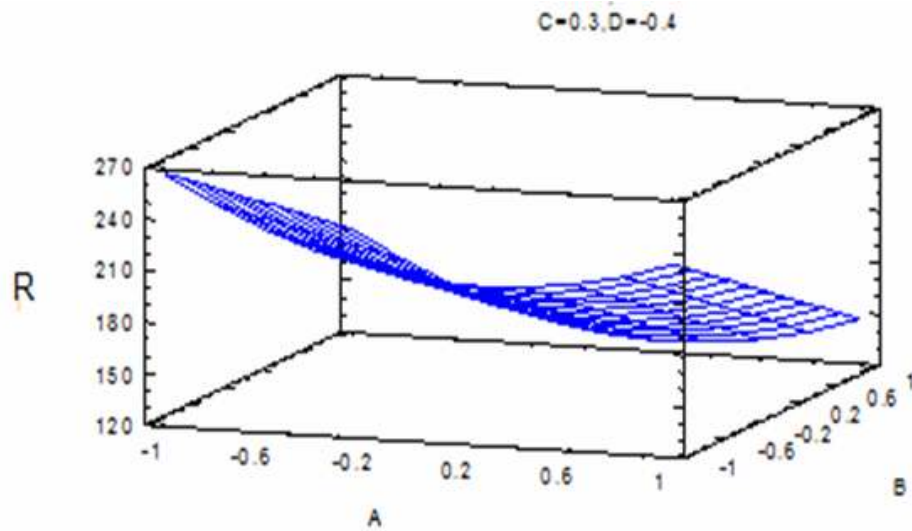
$$R = 173,94 - 17,27A - 41,59B + 44,22C + 31,55A^2 - 70,62C^2$$

Oluşturulan model kullanılarak elde edilen tahmini ayırma gücü değeri ile deneysel olarak bulunan ayırma gücü değerleri arasındaki ilişkiyi incelemek amacıyla regresyon analizi yapıldığında R^2 : 0,9195 olarak bulunmuştur. Regresyon analizi sonucunda elde edilen grafik Şekil 4.3' de verilmiştir.

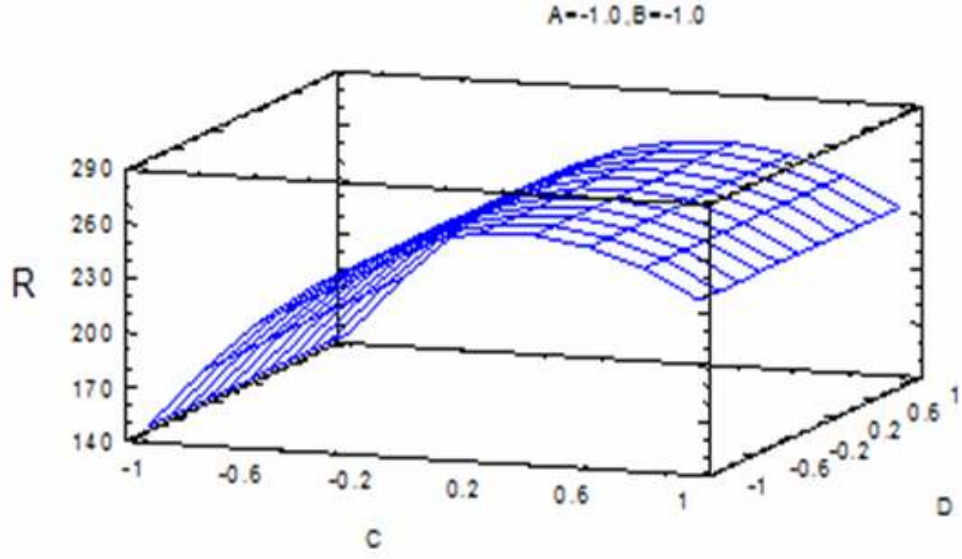


Şekil 4. 3 Deneysel ayırma gücü değerleri ile teorik ayırma gücü değerleri arasındaki doğrusallığın grafiği.

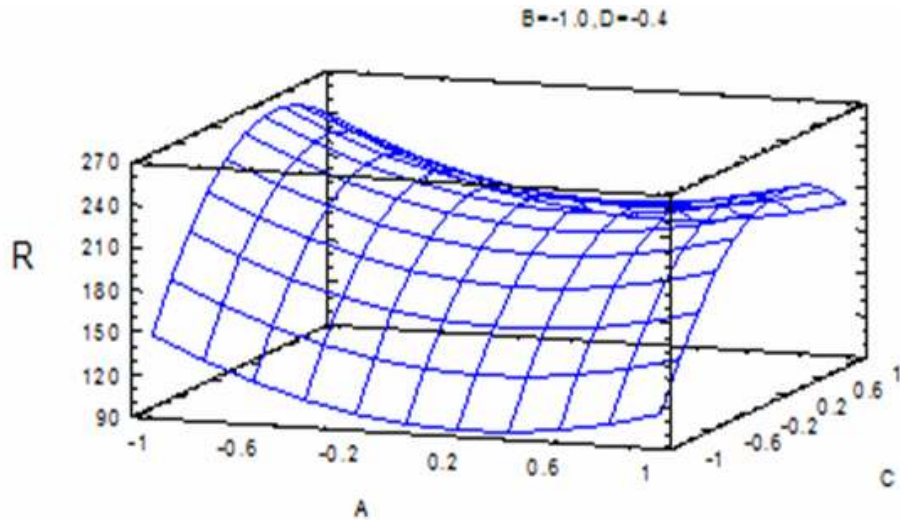
Elde edilen regresyon modelinden her bir değişken için çizilen yüzey cevapları Şekil 4. 4 - 4. 7'de verilmiştir. Şekillerden yine eklenen TBAH miktarı dışındaki faktörlerin ayırma gücü üzerinde etkili olduğu, A ve B'nin artan değerlerine karşılık ayırma gücünün azaldığı, C'nin ise önce artan değerlerine karşı ayırma gücünün arttığı, belli bir değerden sonra ise ayırma gücünü düşürdüğü görülmektedir.



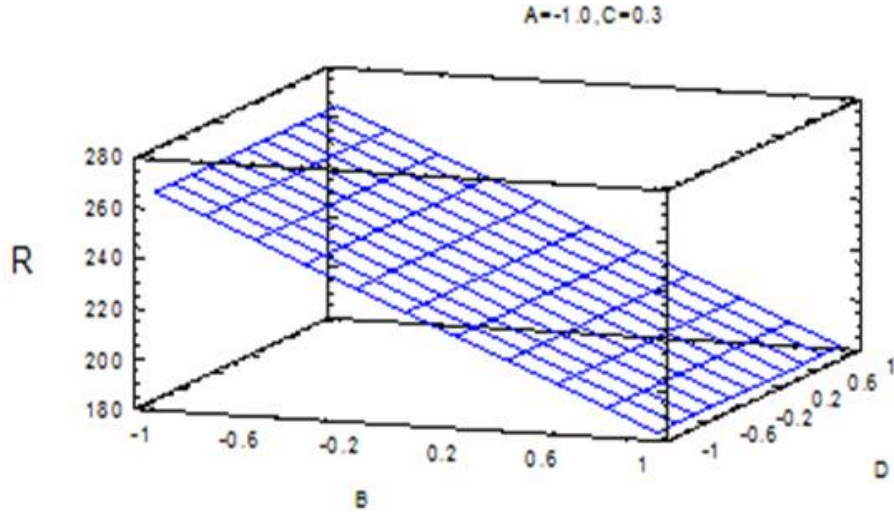
Şekil 4. 4 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen A ve B faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (C ve D faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).



Şekil 4. 5 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen C ve D faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (A ve B faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).



Şekil 4. 6 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen A ve C faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (B ve D faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).



Şekil 4. 7 Box-Behnken Tasarımı ile elde edilen B ve D faktörleri arasındaki tahmini cevap yüzeyleri (A ve C faktörleri belirtilen kodlu değerlerde sabit tutulmuştur).

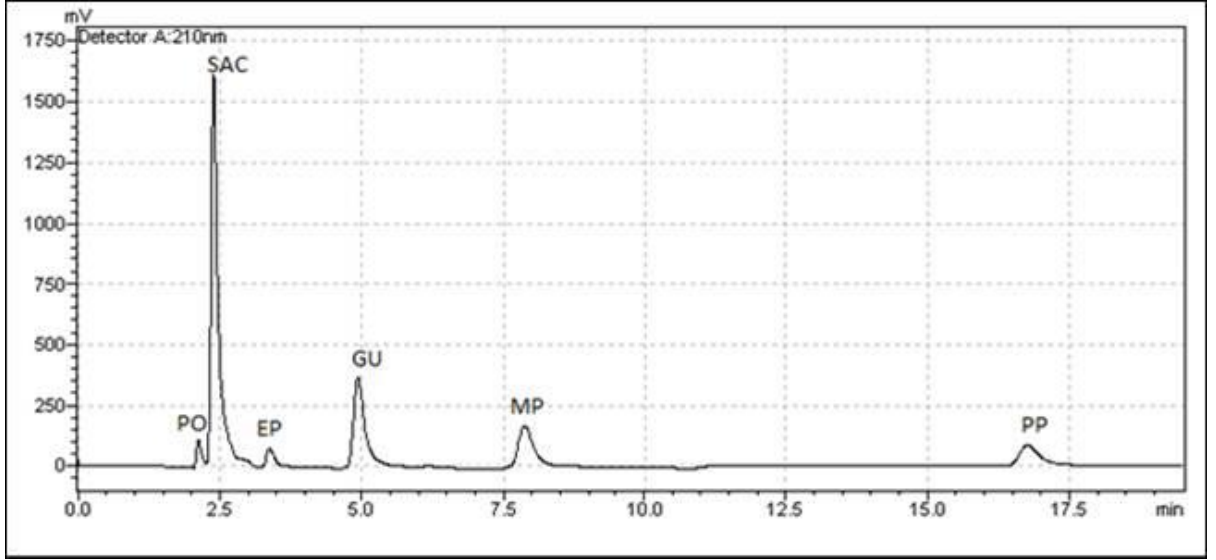
Oluşturulan model kullanılarak ayırma gücünün en yüksek olmasını sağlayan kodlu ve gerçek faktör seviyeleri hesaplandı. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.4’de verilmiştir. Bu şartlarda ayırma gücü değeri 271,18 olmaktadır.

Çizelge 4. 4 Faktörlerin optimum değerleri

Faktör	Düşük	Yüksek	Optimum değer (kodlu)	Optimum değer (gerçek)
pH (A)	-1	1	-1	6,5
Akış Hızı (B) (mL dak ⁻¹)	-1	1	-1	0,6
Mobil Faz Oranı (%) (C) (Fosfat tamponu bileşeni)	-1	1	0,35	52
TBAH miktarı (%) (D)	-1	1	-0,45	0,15

Bu sonuçlar doğrultusunda kromatografik şartlar; hareketli fazın pH’sı 6,5; oranı ve bileşimi 52/ 48 fosfat tamponu/metanol; akış hızı 0,6 mL/dak ve TBAH miktarı ise % 0,15 olarak belirlenmiştir. Gradient program 0-8,5 dak. %52 fosfat tamponu, 8,5-25 dak. %40 fosfat tamponu olacak şekilde uygulandı Bu koşullarda 210 nm’de spektrofotometrik dedektör ile elde edilen kromatogram Şekil 4.8’de verilmiştir.

Alıkonma zamanları dakika cinsinden ponso 4R için 2,2; sakarin için 2,4; efedrin hidroklorür için 3,4, guaifenesin için 5; metil paraben için 7,9 ve propil paraben için 16,8 olarak bulunmuştur.



Şekil 4. 8 Optimum koşullarda 3 µg/ mL ponso 4R (PO), 120 µg/ mL sakarin (SAC), 30 µg/ mL efedrin hidroklorür (EP), 600 µg/ mL guaifenesin (GU), 30 µg/ mL metil paraben (MP) ve 3 µg/ mL propil paraben (PP)'nin kromatogramı

4.2 Validasyon

4.2.1 Doğrusallık

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R, sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin doğrusallığını incelemek amacıyla Bölüm 3.4.2.1'de anlatıldığı şekilde çalışıldı. Çalışmalar sonucunda hesaplanan pik alanları ortalaması, standard sapma ve bağıl standard sapma değerleri efedrin hidroklorür için Çizelge 4. 5'de guaifensin için Çizelge 4. 7'de, metil paraben için Çizelge 4. 9'da, propil paraben için Çizelge 4.11'de, ponso için Çizelge 4.13' de, sakarin için Çizelge 4.15'da verilmiştir. Çizelge 4. 6'de efedrin hidroklorür, Çizelge 4. 8'de guaifensin, Çizelge 4.

10'da metil paraben, Çizelge 4.12'de propil paraben , Çizelge 4.14'de ponso , Çizelge 4.16'da sakarin için herbir ölçü eğrisinin regresyon analizine ait parametreler yeralmaktadır. Regresyon analizlerinin ortalama değerleri kullanılarak elde edilen doğru denklemi ve oluşturulan ölçü eğrileri efedrin hidroklorür için Şekil 4. 9 'de, guaifenesin için Şekil 4.10'de, metil paraben için Şekil 4.11'de, propil paraben için Şekil 4.12'de, ponso 4R için Şekil 4.13'de, sakarin için Şekil 4.14'de verilmiştir.

4.2.2 Gün İçi ve Günler Arası Tekrarlanabilirlik

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin, gün içi ve günler arası tekrarlanabilirliği incelemek amacı ile Bölüm 3.4.2.2'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucu elde edilen değerler gün içi tekrarlanabilirlik için Çizelge 4.17'de, günler arası tekrarlanabilirlik için Çizelge 4. 18'de verilmiştir.

4.2.3 Doğruluk

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R ve sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin doğruluğunu incelemek amacı ile Bölüm 3.4.2.3'de anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen değerler Çizelge 4.19' da verilmiştir.

4.2.4 Tanıma ve Tayin Sınırı (LOD-LOQ)

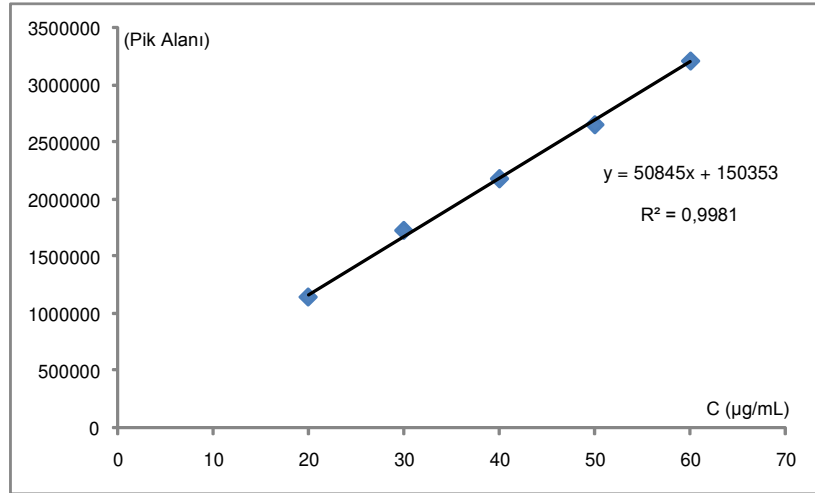
Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R, sakarinin bir arada analizi için geliştirilen yöntemin tanıma ve tayin sınırlarının belirlenmesi için Bölüm 3.4.2.4'de anlatıldığı gibi yapılan çalışmalar sonucunda Çizelge 4.20'deki değerler elde edilmiştir.

Çizelge 4. 5 Efedrin hidroklorür ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri

NO	C (µg/mL)	A1	A2	A3	ORT	STD	RSD
1	20	1124768	1151756	1142234	1139586	13687,474	1,201
2	30	1709860	1719333	1750082	1726425	21027,949	1,218
3	40	2211074	2187446	2146146	2181555	32862,383	1,506
4	50	2646929	2630405	2691361	2656232	31524,802	1,186
5	60	3172719	3229190	3248857	3216922	39523,747	1,228

Çizelge 4. 6 Efedrin hidroklorürün regresyon analizine ait parametreler

A	B	R ²	Sa	Sb
150353	50845	0,9981	159524,94	53288,6320



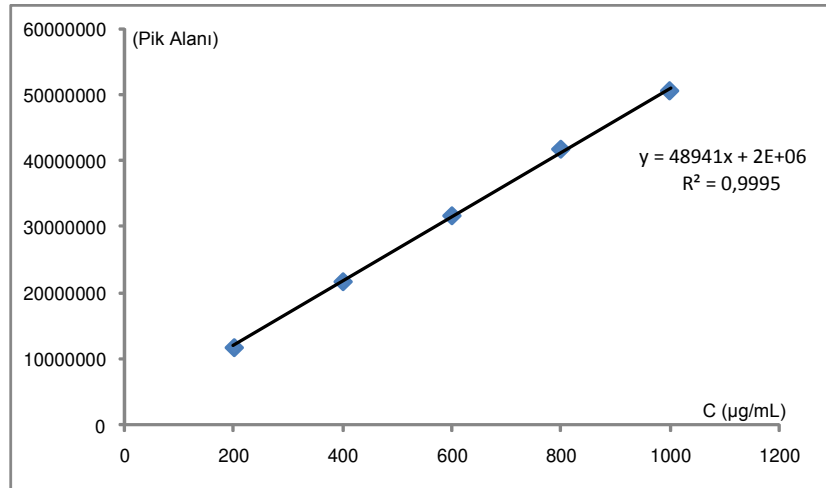
Şekil 4. 9 Efedrin hidroklorürün doğrusallık grafiği

Çizelge 4. 7 Guaifenesinin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri

NO	C(µg/mL)	A1	A2	A3	ORT	STD	RSD
1	200	11462131	12221538	11772382	11818684	381814,917	3,230
2	400	21079960	21973147	22428137	21827081	685854,715	3,142
3	600	31855346	31709126	31858075	31807516	85218,875	0,267
4	800	40754649	42534571	42324294	41871171	972635,951	2,322
5	1000	49953377	51170277	51090592	50738082	680741,417	1,341

Çizelge 4. 8 Guaifenesinin regresyon analizine ait parametreler

A	B	R ²	Sa	Sb
2,00E+06	48941	0,9995	577559,68	3,04E+11



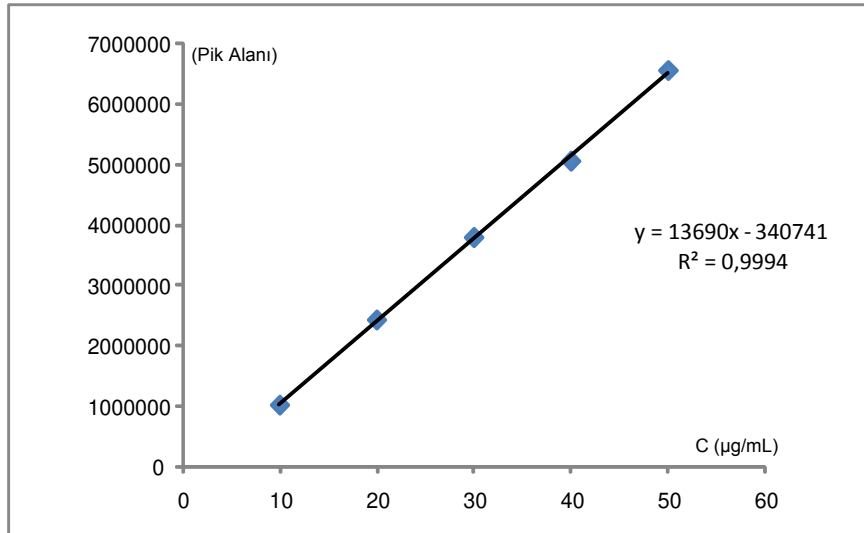
Şekil 4. 10 Guaifenesin doğrusallık grafiği

Çizelge 4. 9 Metil parabenin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri

NO	C (µg/mL)	A1	A2	A3	ORT	STD	RSD
1	10	1006760	1060216	984468	1017148	38927,789	3,827
2	20	2403462	2475594	2400853	2426636	42418,646	1,748
3	30	3730182	3847965	3783447	3787198	58981,024	1,557
4	40	4927715	5287665	4934287	5049889	205946,273	4,078
5	50	6526729	6640258	6484725	6550571	80460,843	1,228

Çizelge 4.10 Metil parabenin regresyon analizine ait parametreler

A	B	R ²	Sa	Sb
340741	136901	0,9994	145844,19	1,94E+10



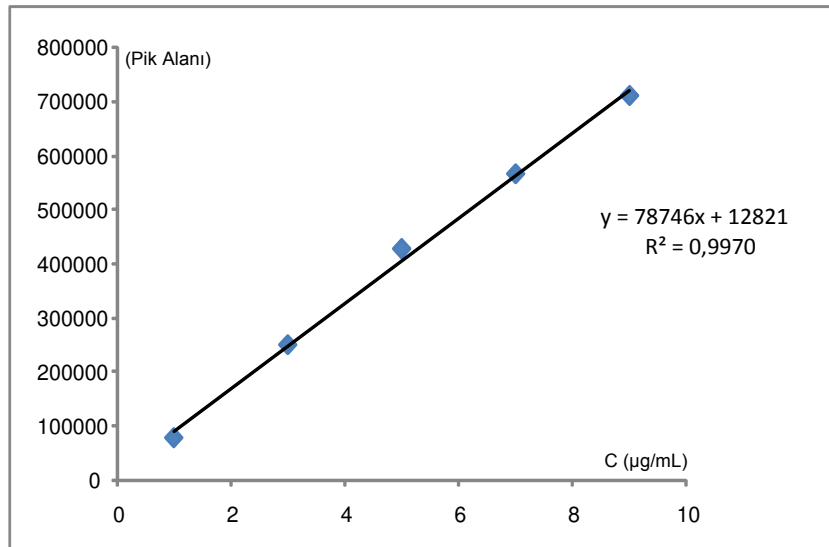
Şekil 4. 11 Metil paraben doğrusallık grafiği

Çizelge 4. 11 Propil parabenin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri

NO	C (µg/mL)	A1	A2	A3	ORT	STD	RSD
1	1	81197	78956	78188	79447	1563,435	1,967
2	3	251171	247469	253624	250755	3098,549	1,235
3	5	426278	430446	425808	427511	2552,912	0,597
4	7	560249	565568	570760	565526	5255,627	0,929
5	9	705667	709605	713301	709524	3817,639	0,538

Çizelge 4. 12 Propil parabenin regresyon analizine ait parametreler

A	B	R ²	Sa	Sb
12821	78746	0,9970	14196,46	245899787



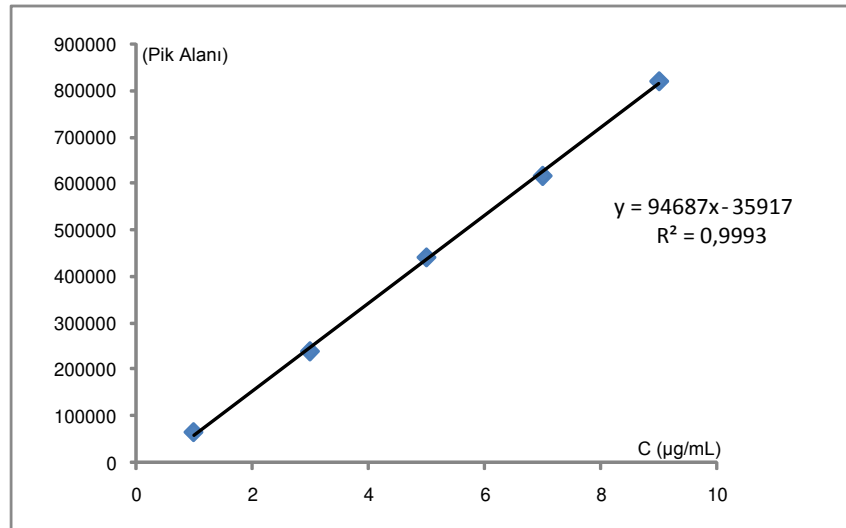
Şekil 4. 12 Propil paraben doğrusallık grafiği

Çizelge 4. 13 Ponso 4R'nin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri

NO	C (µg/mL)	A1	A2	A3	ORT	STD	RSD
1	40	5830407	6062221	5876402	5923010	122734,110	2,072
2	80	10647798	11358722	11479691	11162070	449461,232	4,026
3	120	16043427	16188056	16328917	16186800	142749,144	0,881
4	160	21290938	21336426	21310490	21312618	22818,541	0,107
5	200	25934293	26933811	26934086	26600730	577151,388	2,16

Çizelge 4. 14 Ponso 4R'nin regresyon analizine ait parametreler

A	B	R ²	Sa	Sb
35917	94687	0,9993	11724,18	1767,48



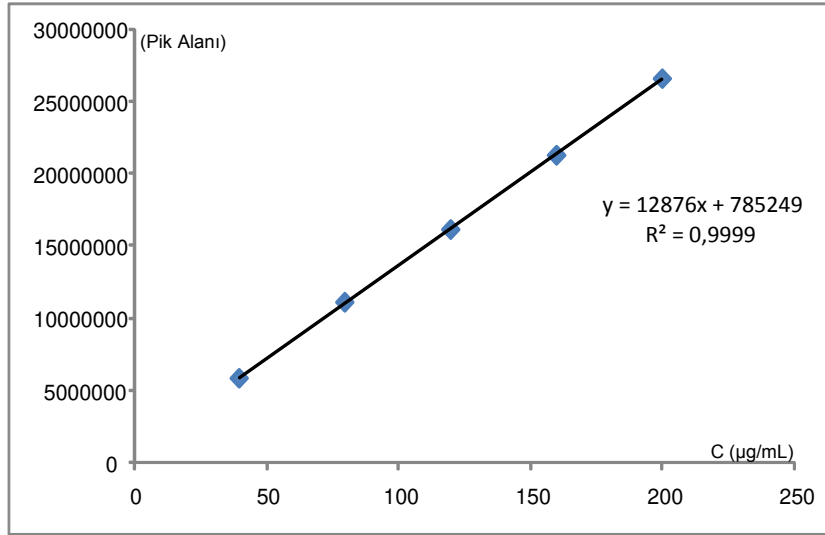
Şekil 4. 13 Ponso 4R doğrusallık grafiği

Çizelge 4. 15 Sakarinin ölçü eğrisine ait pik alanları değerleri

NO	C (µg/mL)	A1	A2	A3	ORT	STD	RSD
1	1	65187	66502	63405	65031	1554,357	2,390
2	3	242197	236002	240255	239485	3168,527	1,323
3	5	440551	439574	446720	442282	3874,626	0,876
4	7	618215	616874	619818	618302	1473,941	0,238
5	9	815270	825610	826598	822493	6274,489	0,762

Çizelge 4. 16 Sakarinin regresyon analizine ait parametreler

A	B	R ²	Sa	Sb
785249	128765	0,9999	9848311813	74288289



Şekil 4. 14 Sakarin doğrusallık grafiği

Çizelge 4. 17 Gün içi tekrarlanabilirlik

Madde	Efedrin hidroklorür (µg/mL)				Guafenesin (µg/mL)				Metil paraben (µg/mL)				Propil paraben (µg/mL)				Ponso 4R (µg/mL)				Sakarin (µg/mL)			
	30	40	50	400	600	800	20	30	40	3	5	7	3	5	7	80	120	160						
Seviye	30	40	50	400	600	800	20	30	40	3	5	7	3	5	7	80	120	160						
1	30,70	40,31	50,05	394,02	623,88	814,66	20,02	29,26	39,40	3,02	5,01	7,01	3,10	5,06	6,94	81,07	123,13	164,07						
2	30,43	39,29	49,55	393,35	614,98	801,16	19,65	28,70	38,52	3,08	5,03	6,95	3,07	5,12	6,83	80,50	119,56	159,91						
3	30,75	39,11	49,20	393,51	615,45	803,55	20,29	29,33	39,74	3,02	4,99	6,98	3,07	5,09	6,81	79,83	120,08	160,42						
Xort	30,63	39,57	49,60	393,63	618,10	806,46	19,99	29,13	39,22	3,04	5,01	6,98	3,08	5,09	6,86	80,47	120,92	161,47						
S	0,17	0,64	0,43	0,35	5,01	7,20	0,32	0,35	0,63	0,03	0,02	0,03	0,02	0,03	0,07	0,62	1,93	2,27						
%RSD	0,56	1,62	0,87	0,09	0,81	0,89	1,60	1,20	1,60	0,99	0,40	0,43	0,65	0,59	1,02	0,77	1,60	1,41						
%Geri Kazanım	102,10	98,92	99,20	98,4	103,01	100,8	99,95	97,10	98,05	101,33	100,20	99,71	102,66	101,80	98,00	100,58	100,77	100,92						

Çizelge 4. 18 Günler arası tekrarlanabilirlik

	Efedrin hidroklorür (µg/mL)			Guaifenesin (µg/mL)			Metil paraben (µg/mL)			Propil paraben (µg/mL)			Ponso (µg/mL)			Sakarın (µg/mL)		
	30	40	50	400	600	800	20	30	40	3	5	7	3	5	7	80	120	160
1	30,47	41,16	51,62	392,36	601,57	805,78	19,21	29,13	39,22	3,04	5,01	6,98	3,05	4,96	6,70	83,79	126,06	163,34
2	30,53	41,24	51,26	394,75	603,88	800,55	19,32	29,96	40,57	3,01	4,92	6,87	3,01	4,98	6,72	83,25	122,63	166,05
3	31,01	40,73	51,57	384,41	597,33	788,72	19,35	29,98	40,99	2,98	4,99	6,85	3,06	5,01	6,85	83,11	124,88	161,50
4	30,63	39,57	49,6	393,63	618,10	806,46	19,99	30,03	40,41	2,95	4,94	6,92	3,08	5,09	6,86	80,8	120,92	161,47
Xort	30,66	40,67	51,01	391,29	605,22	800,38	19,47	29,77	40,30	2,99	4,97	6,91	3,05	5,01	6,78	82,74	123,62	163,09
S	0,24	0,77	0,96	4,69	9,00	8,21	0,35	0,43	0,76	0,04	0,04	0,06	0,03	0,06	0,08	1,32	2,29	2,16
%RSD	0,78	1,89	1,88	1,20	1,49	1,02	1,80	1,44	1,88	1,34	0,80	0,87	0,98	1,20	1,18	1,59	1,85	1,32
%Geri Kazanım	102,20	101,67	102,02	97,82	100,87	100,04	97,35	99,23	100,75	99,67	99,40	98,71	101,66	100,20	96,85	103,42	103,01	101,93

Çizelge 4. 19 Doğruluk testi sonuçları

	Örnekten gelen (µg/ml)	Konulan (µg/ml)	Bulunan (µg/ml)				%Ceri kazanım	Standart sapma	% Bağıl standart sapma
			1	2	3	Xort			
Efedin hidroklorür	26,60	10	36,69	37,01	36,84	36,85	102,50	0,16	0,43
		20	47,05	46,84	47,12	47,00	102,00	0,15	0,32
		30	56,79	57,12	56,66	56,86	100,86	0,24	0,42
		100	504,80	513,24	517,32	511,75	96,47	6,33	1,23
Guaifenesin	415,28	200	617,24	618,02	617,86	617,71	101,22	0,41	0,07
		300	716,05	712,80	718,24	715,70	100,14	2,73	0,38
		10	36,65	36,98	35,94	36,52	101,20	0,53	1,45
		15	41,26	41,02	41,47	41,25	99,00	0,22	0,53
Metil paraben	26,40	20	46,29	46,27	46,39	46,32	99,60	0,06	0,12
		1	3,78	3,76	3,85	3,80	100,01	0,04	1,05
		3	5,74	5,83	5,81	5,79	99,67	0,04	0,69
		5	7,74	8,03	7,90	7,89	101,80	0,14	1,77
Propil paraben	2,80	1	4,04	3,98	4,02	4,01	95,00	0,03	0,75
		3	6,05	5,97	6,06	6,03	99,00	0,05	0,83
		5	8,11	7,98	8,07	8,05	99,80	0,07	0,87
		20	84,56	85,65	83,40	84,54	100,70	1,12	1,32
Ponso 4R	3,06	60	125,65	126,13	126,06	125,95	102,58	0,26	0,2
		100	165,11	166,28	167,84	166,41	102,01	1,37	0,82
Sakarın	64,40	100	165,11	166,28	167,84	166,41	102,01	1,37	0,82

Çizelge 4.20 LOD-LOQ değerleri

	Efedrin hidroklorür	Guaifenesin	Metil paraben	Propil paraben	Ponso 4R	Sakarın
LOD (µg/ mL)	0,25	0,02	0,18	0,12	0,11	0,008
LOQ (µg/ mL)	0,83	0,07	0,60	0,40	0,38	0,03

4.2.5 Çözelti Dayanıklılığı

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, , metil paraben, propil paraben, ponso 4R, sakarının çözücü içerisindeki dayanıklılığını incelemek için Bölüm 3.4.2.5’de anlatıldığı şekilde çalışıldığında guaifenesin, propil paraben, ponzo 4R çözeltilerinin her şartta, metil parabenin mobil fazdaki tüm çözeltileri ile 4C°’de saklanan sulu çözeltisinin en az 1 ay boyunca, sakarının hazırlanan tüm çözeltilerinin ve metil parabenin oda sıcaklığında saklanan sulu çözeltisinin 2 hafta, efedrin hidroklorürün ise hazırlanan tüm çözeltilerinin 1 hafta dayanıklı olduğu görüldü.

4.3 Örnek Analizi

Efedrin hidroklorür, guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponso 4R, sakarın içeren şurup örneklerinin analizi için bölüm 3.4.2.6’ da anlatıldığı şekilde yapılan çalışmalar sonucunda Çizelge 4.21’ deki değerler elde edilmiştir. Efedrin hidroklorür ve guaifenesin için elde edilen sonuçların ilaç etiket değerleriyle karşılaştırılması Çizelge 4.22 ’de verilmiştir.

Çizelge 4.21 Örnek Analiz Sonuçları

Örnek	Deneme sayısı	Efedrin hidroklorür (mg/mL)	Guaifenesin (mg/mL)	Metil paraben (mg/mL)	Propil paraben (mg/mL)	Ponso 4R (mg/mL)	Sakarin (mg/mL)
Brodil	1	1,362	20,776	1,283	0,143	0,150	3,222
	2	1,318	20,843	1,326	0,138	0,154	3,221
	3	1,315	20,885	1,355	0,139	0,152	3,315
	4	1,323	20,915	1,333	0,135	0,155	3,222
	5	1,311	20,589	1,327	0,138	0,149	3,146
	6	1,333	20,990	1,322	0,140	0,153	3,245
	7	1,347	20,547	1,300	0,141	0,151	3,131
	8	1,340	20,572	1,311	0,141	0,157	3,280
	Ortalama	1,331	20,764	1,320	0,139	0,153	3,223
	Standard sapma	0,0177	0,1730	0,0218	0,0024	0,0026	0,0616
Broksil	% RSD	1,330	0,833	1,651	1,726	1,699	1,911
	1	1,340	20,276	1,028	-	0,160	5,088
	2	1,333	20,534	1,071	-	0,153	5,028
	3	1,311	20,622	1,021	-	0,153	5,038
	4	1,317	20,582	1,061	-	0,153	5,026
	5	1,345	20,520	1,045	-	0,154	5,259
	6	1,306	20,768	1,023	-	0,154	5,037
	7	1,312	20,636	1,041	-	0,155	5,155
	8	1,338	20,950	1,061	-	0,153	5,128
	Ortalama	1,325	20,611	1,044	-	0,154	5,095
	Standard sapma	0,0153	0,1955	0,0190	-	0,00238	0,0824
	% RSD	1,154	0,948	1,820	-	1,558	1,617

Çizelge 4.22 Analiz sonuçlarının etiket değerleri ile karşılaştırması

	BRODİL			BROKSİL		
	Etiket (mg/mL)	Bulunan (mg/mL)	% Geri Kazanım	Etiket (mg/mL)	Bulunan (mg/mL)	% Geri Kazanım
Efedrin	1,333	1,331	99,85	1,333	1,325	99,39
Guaifenesin	20,000	20,764	103,82	20,000	20,611	103,06

4.4 Tartışma

Birden fazla etken maddenin bir arada bulunduğu ilaç karışımlarının analizi için doğru, hızlı ve seçici yöntemler geliştirmek ilaç AR-GE merkezlerinin vazgeçilmez görevi haline gelmiştir. Ayrıca preparatlara katılan yardımcı maddelerin insan sağlığına olan zararları ortaya çıktıkça etken maddelerin yanında katkı maddelerinin de analizi önemli hale gelmiş dolayısıyla şurup gibi çoklu etken madde ve katkı içeren preparatların analizi için yöntem geliştirme ihtiyacı doğmuştur. Uluslararası kalite standartlarına uygunluk ve bu amaçla yapılan sıkı denetimler de özellikle katkı maddelerinin analizini kaçınılmaz hale getirmiştir.

Bu çalışmada efedrin hidroklorür , guaifenesin, metil paraben, propil paraben, ponzo 4R ve sakarin içeren iki şurup preparatının analizi için HPLC yöntemi geliştirilmiştir. Geliştirilen yöntemde öncelikle çeşitli hareketli faz sistemleri denenmiş, (TBAH) içeren fosfat (H_2PO_4/HPO_4^{2-}) tamponu ve metanol çözücü sisteminin uygun olduğuna karar verilmiştir. Kromatografik ayırma üzerine, hareketli faz oranı, pH, akış hızı ve %TBAH miktarının etkisi ve optimum koşullar deneysel tasarım kullanılarak belirlenmiştir. Çalışılan maddelerin bir arada analizi 210 nm’de gradient elüsyon tekniğiyle 20 dakikada gerçekleştirilmiştir.

Geliştirilen yöntemin uygunluğunun test edilmesi amacıyla yapılan validasyon çalışmalarında doğrusallık, tekrarlanabilirlik, doğruluk, tanıma- tayin sınırı (LOD-LOQ) ve dayanıklılık parametreleri incelenmiştir.

Doğrusallık parametresi için hazırlanan her bir maddenin ölçü eğrilerinin konsantrasyon aralığı, maddelerin preparat içindeki yaklaşık miktarları gözönünde tutularak hazırlanmıştır. İlgili ölçü eğrilerine ait regresyon katsayıları 0,9970-0,9999 aralığında olup kabul edilebilir değerlerdedir.

Geliştirilen yöntemin tekrarlanabilirlik çalışmalarında her bir maddenin 3 farklı konsantrasyonunu içeren sentetik örnekler aynı gün içinde ve farklı günlerde belirlenen optimum kromatografik koşullarda analiz edilmiştir. Elde edilen %RSD değerleri %2'nin altında bulunmuştur.

Doğruluk için yapılan çalışmalarda, şurup preparatları üzerine 3 farklı konsantrasyonda maddelerin bilinen miktarları ilave edilmiş, yapılan analizlerde elde edilen % geri kazanım değerleri kabul edilir sınırlar içinde (%95-%105) bulunmuştur.

Geliştirilen yöntem piyasada bulunan “Brodil” ve “Broksin” adlı iki şurup preparatına uygulanmıştır. Tekrarlanan örnek analizlerinde 0,833-1,911 aralığında % RSD değerleri elde edilmiştir. Bulunan efedrin hidroklorür ve guifenesin miktarları etiket değerleriyle karşılaştırılmış %99,39-%103,82 aralığında % geri kazanım değerleri bulunmuştur.

Şurup içinde analizi yapılan katkı madde miktarlarının belirlenen sınırlara uygun olduğu görülmüştür. (Metil paraben < %0,18; propil paraben < %0,02;ponso 4R < 4mg/kg ADI; sakarin < 2,5 mg/kg ADI)

Sonuç olarak, yapılan çalışmalar ışığında geliştirilen HPLC yönteminin geçerliliği kanıtlanmış olup kontrol laboratuvarlarındaki rutin analizlerde güvenilir bir yöntem olarak kullanılacağı ve benzer içerikteki farklı örnek analizlerinde de kaynak oluşturacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

- [1] Tajapi, Ephedrine, [http://tajapi.com/pdf2011/Ephedrine%20\(EPH\).pdf](http://tajapi.com/pdf2011/Ephedrine%20(EPH).pdf), 1 Ekim 2015.
- [2] Bat, M., (2015). İlaç Etken Madde ve Katkı Maddelerinin Bir Arada HPLC ile Analizi ve Validasyonu, Lisans Bitirme Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi.
- [3] Jovanovic, M., Rakic, T., Ivanovic, D. ve Jancic-Stojanovic, B., (2015). “Optimization of the Separation of Ephedrine, Pseudoephedrine, Phenylephrine, and Synephrine by Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography Employing Experimental Design Methodology”, *Instrumentation Science & Technology*, 43:156-169.
- [4] Yan, TH., Fu, Q., Wang, J. ve Ma, SP., (2015). “UPLC-MS/MS determination of ephedrine, methylephedrine, amygdalin and glycyrrhizic acid in Beagle plasma and its application to a pharmacokinetic study after oral administration of Ma Huang Tang”, *Drug Testing and Analysis*, 7:158-163.
- [5] Song, S., Tang, QF., Huo, HL., Li, HC., Xing, XF. ve Luo, JB., (2015). “Simultaneous Quantification and Pharmacokinetics of Alkaloids in Herba Ephedrae-Radix Aconiti Lateralis Extracts”, *Journal of Analytical Toxicology*, 39:58-68.
- [6] Zhang, L., Wang, ZH., Li, H., Liu, Y., Zhao, M., Jiang, Y. ve Zhao, WS., (2014). “Simultaneous determination of 12 illicit drugs in whole blood and urine by solid phase extraction and UPLC-MS/MS”, *Journal of Chromatography B- Analytical Technologies In The Biomedical and Life Science*, 955:10-19.
- [7] Song, YG., Su, D., Lu, TL., Mao, CQ., Ji, D., Liu, YL., Wei, BB. ve Fan, RH., (2014). “Differential pharmacokinetics and the brain distribution of morphine and ephedrine constitutional isomers in rats after oral

administration with Keke capsule using rapid-resolution LC-MS/MS”, *Journal of Separation Science*, 37:352-359.

- [8] Imamoglu, E. ve Tunca, AK., (2014). “Simultaneous Determination of Guaifenesin and Ephedrine HCl Binary Mixture in Syrup Dosage Forms and Human Plasma By Using RP-HPLC-DAD”, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 37:1039-1051.
- [9] Wu, HQ., Xiong, XT.,Huang, XL., Zhu, ZX., Huang, F. ve Lin, XS., (2013). “Simultaneous Determination of 17 Toxic Alkaloids in Human Fluids By Liquid Chromatography Coupled With Electrosprey Ionization Tandem Mass Spectrometry”, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36:1149-1162.
- [10] Abdel Salam, RA., Hadad, GM. ve Abdel Hameed, EA., (2013). “Simultaneous Determination Of Two Multicomponent Mixtures Containing Phenobarbitone And Ephedrine Hydrochloride Using HPLC And Chemometric Assisted Spectrophotometric Method”, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 36:384-405.
- [11] Zheng, ZJ.,Yan, TM., Chen, WY., Ye, L., Tang, L. ve Liu, ZQ., (2012). “Pharmacokinetic determination of ephedrine in Herba Ephedrae and Wu Tou Tang decoctions in rats using ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry”, *Xenobiotica*, 42:775-783.
- [12] Shu, XY.,Tang, YP., Jiang, CX.,Shang, EX.,Fan, XS. ve Ding, AW., (2012). “Comparative Analysis of the Main Bioactive Components of San-ao Decoction and Its Series of Formulations”, *Molecules*, 17:12925-12937.
- [13] Chen, Y., Li, X., Chen, F., Zhu, Q. ve Luo, J., (2012). “Simultaneous Determination of Ephedra Alkaloids in Traditional Chinese Medicines by High-Performance Liquid Chromatography”, *Acta Chromatographica*, 24:475-487.
- [14] Weon, JB., Yang, HJ.,Ma, JY. ve Ma, CJ., (2012). “Simultaneous determination of six active components in traditional herbal medicine 'Oyaksungisan' by HPLC-DAD”, *Journal Of Natural Medicine*, 66:510-515.
- [15] Makino, Y., (2012). “Simple HPLC method for detection of trace ephedrine and pseudoephedrine in high-purity methamphetamine”, *Biomedical Chromatography*, 26:327-330.
- [16] Weon, JB., Yang, HJ., Lee, B., Ma, JY. ve Ma, CJ., (2012). “Simultaneous Quantification of Eleven Chemical Components in Traditional Herbal Medicinal Formula Socheongryongtang by HPLC-DAD and LC-MS”, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35:2243-2254.
- [17] Lee, KM., Kim, HJ., Jeong, ES., Yoo, HH., Kwon, OS., Jin, C., Kim, DH. ve Lee, J., (2011). “Simple and accurate quantitative analysis of seven prohibited threshold substances in human urine by liquid

chromatography/tandem mass spectrometry in doping control”, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25:2261-2267.

- [18] Sorensen, LK., (2011). “Determination of cathinones and related ephedrine in forensic whole-blood samples by liquid-chromatography-electrospray tandem mass spectrometry”, *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in Biomedical and Life Sciences*, 879:727-736.
- [19] Wu, XM., Huang, WX., Lu, L., Lin, L. ve Yang, XF., (2010). “Simultaneous determination of six alkaloids in blood and urine using a hydrophilic interaction liquid chromatography method coupled with electrospray ionization tandem mass spectrometry”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 393:1319-1327.
- [20] Xiong, XT., Wu, HQ. ve Huang, XL., (2009). “Simultaneous Determination of 8 Poisonous Alkaloids in Human Blood by Liquid Chromatography-Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry”, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 37:1433-1438.
- [21] Pellati, F., ve Benvenuti, S., (2008). “Determination of ephedrine alkaloids in Ephedra natural products using HPLC on a pentafluorophenylpropyl stationary phase”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48:254-263.
- [22] Apollonio, LG., Pianca, DJ., Whittall, IR., Maher, WA. ve Kyd, JM., (2006). “A demonstration of the use of ultra-performance liquid chromatography-mass spectrometry [UPLC/MS] in the determination of amphetamine-type substances and ketamine for forensic and toxicological analysis”, *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in Biomedical and Life Sciences*, 836:111-115.
- [23] Spyridaki, MH., Kiouisi, P., Vonaparti, A., Valavani, P., Zonaras, V., Zahariou, M., Sianos, E., Tsoupras, G. ve Georgakopoulos, C., (2006). “Doping control analysis in human urine by liquid chromatography-electrospray ionization ion trap mass spectrometry for the Olympic Games Athens, Determination of corticosteroids and quantification of ephedrine, salbutamol and morphine”, *Analytica Chimica Acta*, 573:242-249.
- [24] El-Gindy, A., Emara, S. ve Mostafa, A., (2006). “Application and validation of chemometrics-assisted spectrophotometry and liquid chromatography for the simultaneous determination of six-component pharmaceuticals”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:421-430.
- [25] Abdallah, Rokia M., (2006). “HPLC Chromatographic Methods for Simultaneous Determination of Pholcodine and EphedrineHCl with Other Active Ingredients in Antitussive-Antihistamine Oral Liquid Formulations”, *Natural Product Science*, 12:55-61.
- [26] Lam, JWH., Gardner, GJ., McCooeye, M., Fraser, CA. ve Sturgeon, RE., (2005). “A systematic approach to quantitation of ephedra alkaloids in

natural health products”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 383:268-281.

- [27] El-Gindy, A., Emara, S., Mesbah, MK. ve Hadad, GM., (2005). “Liquid chromatography and chemometric-assisted spectrophotometric methods for the analysis of two multicomponent mixtures containing cough suppressant drugs”, *Journal of Aoac International*, 88:1069-1080.
- [28] Trujillo, WA. ve Sorenson, WR., (2003). “Determination of ephedrine alkaloids in human urine and plasma by liquid chromatography/tandem mass spectrometry: Collaborative study”, *Journal of Aoac International*, 86:643-656.
- [29] Sullivan, D., Wehrmann, J., Schmitz., Crowley, R. ve Eberhard, J., (2003). “Determination of ephedra alkaloids by liquid chromatography/tandem mass spectrometry”, *Journal of Aoac International*, 86:471-475.
- [30] Gil-Agusti, M., Capella-Peiro, ME., Martinaavarro-Dominguez, A. ve Esteve-Romero, J., (2003). “Determination of some banned stimulants in sports by micellar liquid chromatography”, *Chromatographia*, 57:51-57.
- [31] Senturk, Z., Erk, N., Ozkan, SA., Akay, C. ve Cevheroglu, S., (2002). “Determination of theophylline and ephedrine HCL in tablets by ratio-spectra derivative spectrophotometry and LC”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 29:291-298.
- [32] Gay, ML., White, KD., Obermeyer, WR., Betz, JM. ve Musser, SM., (2001). “Determination of ephedrine-type alkaloids in dietary supplements by LC/MS using a stable-isotope labeled internal standard”, *Journal of Aoac International*, 84: 761-769.
- [33] Aymard, G., Labarthe, B., Warot, D., Berlin, I. ve Diquet, B., (2000). “Sensitive determination of ephedrine and norephedrine in human plasma samples using derivatization with 9-fluorenylmethyl chloroformate and liquid chromatography”, *Journal of Chromatography B*, 744:25-31.
- [34] Lau, OW. ve Mok, CS., (1995). “High Performance Liquid Chromatographic Determination of Active Ingredients In Cough Cold Syrups With Indirect Conductometric Detection”, *Journal Of Chromatography A*, 693:45-54.
- [35] Deorsi, D., Gagliardi, L., Cavazzutti, G., Mediati, MG. ve Tonelli, D., (1995). “Simultaneous Determination Of Ephedrine and 2-Imidazolines In Pharmaceutical Formulations By Reversed-phase HPLC”, *Journal of Liquid Chromatography*, 18:3233-3242.
- [36] Pade, V. ve Stavchansky, S., (1993). “High Performance Liquid Chromatographic Determination of Pseudoephedrine In Plasma In The Presence of Guaifenesin”, *Analytical Letters*, 26:867-873.
- [37] Hasheminasab, KS. ve Fakhari, AR, (2015). “Application of Nonionic Surfactant as a New Method for the Enhancement of Electromembrane

Extraction Performance for Determination of Basic Drugs in Biological Sample”, *Journal of Chromatography*, 1378:1-7.

- [38] Narimani,O, Dalali,N. ve Rostamizadeh,K., (2014). “Functionalized Carbon Nanotube/Ionic Liquid-Coated Wire as a New Fiber Assembly for Determination of Methamphetamine and Ephedrine by Gas Chromatography-Mass Spectrometry”, *Analytical Methods*, 6:8645-8653.
- [39] Deng, DL., Deng, H., Zhang, LC. ve Su, YY, (2014). “Determination of Ephedrine and Pseudoephedrine by Field-Amplified Sample Injection Capillary Electrophoresis”, *Journal of Chromatographic Science*, 52:357-362.
- [40] Liu, X., Fu, R., Li, M., Guo, LP. ve Yang, L., (2013). “Ionic Liquid-Based Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Coupled with Capillary Electrophoresis to Determine Drugs of Abuse in Urine”, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 41:1919-1922.
- [41] Alanazi, AM., Hefnawy, MM., Abounassif, MA., Hassanien, MM. ve Mostafa, GA., (2013). “Individual and Simultaneous Determination of Ephedrine and Phenylephrine using Zero and First order Derivative Spectrophotometry”, *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 8:1243-1251.
- [42] Abdel-Ghani, NT., Rizk, MS. ve Mostafa, M., (2013). “Extractive Determination of Ephedrine Hydrochloride and Bromhexine Hydrochloride in Pure Solutions, pharmaceutical dosage form and urine samples”, *Spectrochimica acta part a molecular and biomolecular spectroscopy*, 111:131-141.
- [43] Ma, LF., Wang, L., Liu, LJ., Kang, LL., (2013). “Electrogenerated Chemiluminescence Biosensor with Gold Nanoparticles/ Ru (bpy)(3)(2+) Multilayer Films on Gold Electrodes for the Determination of Ephedrine Hydrochloride”, *Asian Journal of Chemistry*, 25:2527-2532.
- [44] Hassan, SSM., Kamel, AH. ve Abd El-Naby, H., (2013). “New Potentiometric Sensors Based on Selective Recognition Sites for Determination of Ephedrine in Some Pharmaceuticals and Biological Fluids”, *Talanta*, 103:330-336.
- [45] Li,Y., Zhang, H., Hu, JT., Xue, F., Li,YX. ve Sun, CJ., (2012). “A GC-EI-MS-MS Method for Simultaneous Determination of seven Adulterants in Slimming Functional Foods”, *Journal of Chromatographic Science*, 50:928-933.
- [46] Alshana, U., Goger, NG. ve Ertas, N., (2012). “Ultrasound-Assisted Emulsification Microextraction for the Determination of Ephedrine in Human Urine by Capillary electrophoresis with direct injection comparison with dispersive liquid-liquid microextraction”, *Journal of separation science*, 35:2114-2121.

- [47] Mersal, GAM., (2012). "Electrochemical Application and Computational Studies on ephedrine drug", *Journal of Solid State Electrochemistry*, 16:2031-2039.
- [48] Shaw, BJ., Semin, DJ., Rider, ME. ve Beebe, MR.,(2012). "Applicability of Total Reflection X-ray Fluorescence as a Screening Platform for Pharmaceutical Inorganic impurity analysis", *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 63:151-159.
- [49] Ahmar, H. ve Fakhari,AR., (2012). "Electro-oxidation and Adsorptive Stripping Voltammetric Determination of Ephedrine and Pseudoephedrine at Carboxylated Multi-Walled Carbon Nanotube-Modified Electrode", *Analytical Methods*, 4:812-818.
- [50] Liu, YM., Li, J., Yang,Y., Du, JJ. ve Mei, L., (2012). "Separation and Determination of Ephedra Alkaloids in Traditional Chinese Medicine and Human Urines by Capillary electrophoresis coupled with electrochemiluminescence detection", *Canadian journal of chemistry*, 90:180-185.
- [51] Deng, DL., Zhang, JY., Chen, C., Hou, XL., Su, YY. ve Wu, L., (2012). "Monolithic Molecular Imprinted Polymer Fiber for Recognition and Solid Phase Microextraction of Ephedrine and Pseudoephedrine in Biological Samples Prior to Capillary Electrophoresis Analysis", *Journal of Chromatography*, 1219:195-200.
- [52] Walash, MI., El- Enany, NM. ve Saad, S., (2011). "Spectrophotometric Determination of Certain CNS Stimulants in Dosage Forms and Spiked Human Urine Via Derivatization with 2,4- Dinitrofluorobenzene", *Chemistry Central Journal*, 5:65.
- [53] Yang, R., Zeng, HJ., Li, JJ., Zhang, Y., Li, SJ. ve Qu, LB., (2011). "Capillary Electrophoresis Coupled with End-column Electrochemiluminescence for the Determination of Ephedrine in Human Urine, and a Study of its Interactions with Three Proteins", *Luminescence*, 26:374-379.
- [54] Liu, YM., Pheng, ZF., Mei, L. ve Liu, LJ., (2011). "Determination of Diastereoisomeric Alkaloids in Urine by Capillary Electrophoresis with Electrochemiluminescence Detection", *Chinese Chemical Letters*, 22:197-200.
- [55] Lu, MH., Li, Q., Lai, YQ., Zhang, L., Qiu, B., Chen, GN. ve Cai, ZW., (2011). "Determination of Stimulants and Narcotics as well as Their in Vitro Metabolites by Online CE-ESI-MS", *Electrophoresis*, 32:472-478.
- [56] Zhu, HD., Lu, WJ., Li, HH., Ma, YH., Hu, SQ., Chen, HL. ve Chen, XG., (2011). "A Novel Cross-H-Channel Interface for Flow Injection Capillary Electrophoresis to Reduce Sample Requirement and Improve Sensitivity", *Analyst*, 136:1322-1328.
- [57] Moawad, M., Khoo, CS., Lee, S. ve Hennell, JR., (2010). "Simultaneous Determination of Eight Sympathomimetic Amines in Urine by Gas

Chromatography/ Mass Spectrometry”, Journal of AOAC International, 93:116-122.

- [58] Li, SG., Li, HY., Cai, Z., Cheng, H. ve Li, LJ., (2009). “Determination of Ephedrine and Codeine in Human Urine by Cation-Selective Exhaustive Injection and Sweeping Micellar Electrokinetic Chromatography”, Chinese Journal of Analytical Chemistry, 37:1137-1141.
- [59] Fakayode, SO., Brady, PN., Pollard, DA., Mohammed, AK. ve Warner, IM., (2009). “Multicomponent Analyses of Chiral Samples by Use of Regression Analysis of UV-Visible Spectra of Cyclodextrin Guest-Host Complexes”, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 394:1645-1653.
- [60] Abbasi, K., Bhangar, MI. ve Khuhawar, MY., (2009). “Ethyl Chloroformate as Derivatizing Reagent for Gas Chromatographic Determination of Norephedrine, Ephedrine and Pseudoephedrine in Pharmaceutical Preparation”, Asian Journal of Chemistry, 21:1145-1154.
- [61] Zhou, L., Zhou, XM., Luo, Z., Wang, WP., Yan, N. ve Hu, ZD., (2008). “In capillary Derivatization and Analysis of Ephedrine and Pseudoephedrine by Micellar Electrokinetic Chromatography with Laser-Induced Fluorescence Detection”, Journal of Chromatography, 1190:383-389.
- [62] Zhao, CZ., Chai, XL., Tao, SC., Li, MH. ve Jiao, K., (2008). “Selective Determination of Diphenhydramine in Compound Pharmaceutical Containing Ephedrine by Flow-Injection Electrochemiluminescence”, Analytical Science, 24:535-538.
- [63] Ranieri, TL. ve Ciolino, LA., (2008). “Rapid Selective Screening and Determination of Ephedrine Alkaloids Using GC-MS Footnote Mark”, Photochemical Analysis, 19:127-135.
- [64] Suliman, FEO., Al-Hinai, MM., Al-Kindy, SMZ. ve Salama, SB., (2008). “Enhancement of the Chemiluminescence of Penicillamine and Ephedrine after Derivatization with Aldehydes Using Tris(bipyridyl) Ruthenium (II) Peroxydisulfate System and its Analytical Application”, Talanta, 74:1256-1264.
- [65] Li, F., Ding, ZT. ve Cao, QE., (2008). “Separation and Determination of Ephedrine and Pseudoephedrine in Ephedrae Herba by CZE Modified with a CUOO-L-lysine Complex”, Electrophoresis, 29:658-664.
- [66] Gottardo, R., Fanigliulo, A., Bortolotti, F., De Paoli, G., Pascali, JP. ve Tagliaro, F., (2007). “Broad Spectrum Toxicological Analysis of Hair Based on Capillary Zone Electrophoresis Time of Flight Mass Spectrometry”, Journal of Chromatography, 1159:190-197.
- [67] Kahle, KA. ve Foley, JP., (2007). “Two Chiral Component Microemulsion Electrokinetic Chromatography Chiral Surfactant and Chiral Oil: Part 1. Dibuty tartrate”, Electrophoresis, 28:1723-1734.

- [68] Wang, WP., Wang, SM., Luo, Z. ve Hu, ZD., (2007). "Microemulsion Electrokinetic Chromatography with Laser Induced Fluorescence Detection for Rapid Separation and Determination of Ephedrine and Pseudoephedrine", *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 35:382-385.
- [69] Eng, ATW., Heng, MY. ve Ong, ES., (2007). "Evaluation of Surfactant Assisted Pressurized Liquid Extraction for the Determination of Glycyrrhizin and Ephedrine in medicinal plants", *Analytica Chimica Acta*, 583:289-295.
- [70] Jiang, TF., Lv, ZH. ve Wang, YH., (2007). "Chiral Separation of Ephedrine Alkaloids from Ephedra Sinica Extract and its Medicinal Preparation Using Cyclodextrin modified capillary zone electrophoresis", *Journal of Analytical Chemistry*, 62:85-89.
- [71] Yuan, GX., He, QH., Chen, HW., Fang, Q. ve Zhang, YB., (2006). "Rapid separation and determination of ephedrine dopes by chip based capillary electrophoresis and laser induced fluorescence detection", *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 34:1693-1696.
- [72] Maresova, V., Chadt, J. ve Prikryl, L., (2006). "Simultaneous determination of amphetamines and amphetamine derived designer drugs in human urine by GC-MS", *Neuroendocrinology Letters*, 27:121-124.
- [73] Ulu, ST., (2006). "Highly sensitive spectrofluorimetric determination of ephedrine hydrochloride in pharmaceutical preparations", *Journal of Aoac International*, 89:1263-1267.
- [74] Marchei, E., Pellegrini, M., Pacifici, R., Zuccaro, P. ve Pichini, S., (2006). "A rapid and simple procedure for the determination of ephedrine alkaloids in dietary supplements by gas chromatography- mass spectrometry", *Journal of Pharmaceutical and biomedical analysis*, 41:1633-1641.
- [75] Wang, M., Marriott, PJ, Chan, WH., Lee, AWM. ve Huie, CW., (2006). "Enantiomeric separation and quantification of ephedrine type alkaloids in herbal materials by comprehensive two dimensional gas chromatography", *Journal of Chromatography*, 1112:361-368.
- [76] Amini, A., Barclay, V., Rundlof, T., Jonsson, S., Karlsson, A. ve Arvidsson, T., (2006). "Determination of ephedrine, pseudoephedrine and caffeine in a dietary product by capillary electrophoresis", *Chromatographia*, 63:143-148.
- [77] Gay, ML., Niemann, RA. ve Musser, SA., (2006). "An isotopically labeled internal Standard liquid chromatography tandem mass spectrometry method for determination of ephedrine alkaloids and synephrine in dietary supplements", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54:285- 291.
- [78] Fang, HF., Liu, MM. ve Zeng, ZR., (2006). "Solid phase microextraction coupled with capillary electrophoresis to determine ephedrine derivatives in water and urine using a sol-gel derived butyl methacrylate/silicone fiber", *Talanta*, 68:979- 986.

- [79] Wang, WP., Li, CH., Li, Y., Hu, ZD. ve Chen, XG., (2006). "Rapid and ultrasensitive determination of ephedrine and pseudoephedrine derivatized with 5-(4,6-dichloro-s-triazin-2-ylamino) fluorescein by micellar electrokinetic chromatography with laser induced fluorescence detection", *Journal of Chromatography A*, 1102:273-279.
- [80] Wang, SM., Lewis, RJ., Canfield, D., Li, TL., Chen, CY. ve Liu, RH., (2005). "Enantiomeric determination of ephedrine and norephedrine by chiral derivatization gas chromatography mass spectrometry approaches", *Journal of Chromatography b-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 825:88-95.
- [81] Yang, XH., Wang, XC. ve Zhang, XM, (2005). "Capillary zone electrophoresis separation of low concentration stimulants in human urine with laser-induced fluorescence detection", *Analytica Chimica Acta*, 549:81-87.
- [82] Dong, YM., Chen, XF., Chen, YL., Chen, XG. ve Hu, ZD., (2005). "Seperation and determination of pseudoephedrine, dextromethorphan, diphenhydramine and chlorpheniramine in cold medicines by nonaqueous capillary electrophoresis", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 39:285-289.
- [83] Trujillo, WA., Sorenson, WR., Laluzerne, PS. ve Scheuerell, CR., (2005). "Comparison of various dilutions and solid phase extraction clean up on the determination of ephedrine type alkaloids and internal standart recovery in ephedra botanical raw material and powdered extract", *Journal of Aoac International*, 88:1028-1047.
- [84] Phinney, KW., Ihara, T. ve Sander, LC., (2005). "Determination of ephedrine alkaloid stereoisomers in dietary supplements by capillary electrophoresis", *Journal of Chromatography A*, 1077:90-97.
- [85] Ganzera, M., Lanser, C. ve Struppner, H., (2005). "Simultaneous determination of Ephedra sinica and citrus aurantium amara alkaloids by ion pair chromatography", *Talanta*, 66:889-894.
- [86] An, OY., Gao, XY., Baeyens, WRG. ve Delenghe, JR., (2005). "Determination of ephedrine and related copmounds in pharmaceutical preparations by ion chromatography with direct conductivity detection", *Biomedical Chromatography*, 19:266- 271.
- [87] Fakayode, SO., Swamidoss, IM., Busch, MA. ve Busch, KW., (2005). "Determination of the enantiomeric composition of some molecules of pharmaceutical interest by chemometric analysis of the UV spectra guesthost complexes formed with modified cyclodextrins", *Talanta*, 65:838-845.
- [88] Dijiba, YK., Zhang, AD. ve Niemczyk, TM., (2005). "Determinations of ephedrine in mixtures of ephedrine and pseudoephedrine using diffuse

reflectance infrared spectroscopy”, *International Journal of Pharmaceuticals*, 289:39-49.

- [89] Xie, JP., Zhang, JY., Liu, JP., Tian, JN., Chen, XG. ve Hu, ZD., (2005). “Rapid and sensitive determination of ephedrine and pseudoephedrine by micellar electrokinetic chromatography with on-line regenerating covalent coating”, *Biomedical Chromatography*, 19:9-14.
- [90] Vasiliades, J. ve Colonna, K., (2005). “Determination of ephedrine pseudoephedrine in over the counter medications by gas chromatography”, *Clinical Chemistry*, 51:A148.
- [91] Pan, ZW., Chen, XG. ve Hu, ZD., (2004). “Continuous capillary electrophoresis with flow injection and its application for determination of ephedrine and pseudoephedrine in chinese medicinal preparations”, *Biomedical Chromatography*, 18:581-588.
- [92] Xie, TY., Liu, QW, Li, FP., Tang, YJ. ve Mo, JY., (2004). “Determination of ephedrine in collunarium by capillary electrophoresis with square wave amperometric detection”, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 32:943-945.
- [93] Miyatake, N., Miyake, H., Nagashima, M., Takahashi, M. ve Yasuda, K., (2004). “Enantiomeric determination of ephedrine derivatives in unregulated drugs using capillary electrophoresis”, *Yakugaku Zasshi-Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 124:333- 339.
- [94] Avula, B. ve Khan, IA., (2004). “Seperation and determination of ephedrine enantiomers and synephrine by high performance capillary electrophoresis in dietary supplements”, *Chromatographia*, 59:71-77.
- [95] Zhang, JY., Xie, JP., Liu, JQ., Tian, JN., Chen, XG. ve Hu, ZD., (2004). “Microemulsion electrokinetic chromatography with laser induced fluorescence detection for sensitive determination of ephedrine and pseudoephedrine”, *Electrophoresis*, 25:74-79.
- [96] Kim, HK., Choi, YH., Chang, WT. ve Verpoorte, R., (2003). “Quantitative analysis of ephedrine analogues from *Ephedra* species using H-1-NMR”, *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 51:1382-1385.
- [97] Zhou, TS., Wang, AF., Wu, F., Shi, GY. ve Fang, YZ., (2003). “Studies of active ingredients in cough syrup by capillary zone electrophoresis with amperometric detection”, *Chemical Research in Chinese Universities*, 19:386-389.
- [98] Mateus-Avois, L., Mangin, P. ve Saugy, M., (2003). “Development and validation of a capillary zone electrophoresis method for the determination of ephedrine and related compounds in urine without extraction”, *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 791:203-216.

- [99] McCooeye, M., Ding L., Gardner, GJ., Fraser, CA., Lam, J., Sturgeon, RE. ve Mester, Z., (2003). "Separation and quantitation of the stereoisomers of ephedra alkaloids in natural health products using flow injection-electrospray ionization-high field asymmetric waveform ion mobility spectrometry-mass spectrometry", *Analytical Chemistry*, 75:2538-2542.
- [100] Ye, NS., Gu, XX., Zou, H. ve Zhu, RH., (2002). "Separation and determination of ephedrine enantiomers by capillary electrophoresis using l-leucine as chiral selector", *Chromatographia*, 56:637-639.
- [101] Yu, YM., Li, SJ. ve Li, R., (2002). "Simultaneous determination of three components in Xichuanling tablets by target factor analysis", *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 22:281-283.
- [102] Garrido, JMPJ., Delerue-Matos, C., Borges, F., Macedo, TRA. ve Oliveira-Brett, AM., (2002). "Electroanalytical determination of codeine in pharmaceutical preparations", *Analytical Letters*, 35:2487-2498.
- [103] Li, HX., Ding, MY., Lv, K. ve Yu, JY., (2001). "Separation and determination of ephedrine alkaloids and tetramethylpyrazine in *Ephedra sinica* Stapf by gas chromatography-mass spectrometry", *Journal of Chromatographic Science*, 39:370-374.
- [104] Maruszak, W., Trojanowicz, M., Margasinska, M. ve Engelhardt, H., (2001). "Application of carboxymethyl-beta-cyclodextrin as a chiral selector in capillary electrophoresis for enantiomer separation of selected neurotransmitters", *Journal of Chromatography A*, 926:327- 336.
- [105] Spyridaki, MHE., Tsitsimpikou, CJ., Siskos, PA. ve Georgakopoulos, CG., (2001). "Determination of ephedrine in urine by gas chromatography-mass spectrometry", *Journal of Chromatography B*, 758:311-314.
- [106] Tao, WA., Gozzo, FC. ve Cooks, RG., (2001). "Mass spectrometric quantitation of chiral drugs by the kinetic method", *Analytical Chemistry*, 73:1692-1698.
- [107] Wang, RY., Ma, WY. ve Chen, DY., (2001). "Determination of ephedrine, gastrodin, and ligustrazin in spiked rat plasma by capillary micellar electrokinetic chromatography", *Analytical Letters*, 34:1889-1900.
- [108] Erk, N., (2000). "Assay of ephedrine hydrochloride and theophylline in pharmaceutical formulations by differential-derivative spectroscopy", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23:255- 261.
- [109] Nakano, M., Morimoto, Y., Tajima, S. ve Kosaka, N., (2000). "GC-MS determination of l-ephedrine and d-pseudoephedrine in human plasma", *Yakugaku Zasshi- Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 120:583-586.
- [110] Cookeas, EG. ve Efsthathiou, CE., (2000). "Flow injection-pulse amperometric detection of ephedrine at a cobalt phthalocyanine modified carbon paste electrode", *Analyst*, 125:1147- 1150.

- [111] Imamoglu, E. ve Tunca, AK., (2014). "Simultaneous Determination of Guaifenesin and Ephedrine HCl Binary Mixture in Syrup Dosage Forms and Human Plasma by Using RP-HPLC-DAD", *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 37:1039-1051.
- [112] Patil, H., Sonawane, S. ve Gide, P., (2014). "Determination of Guaifenesin from Spiked Human Plasma Using RP-HPLC with UV Detection", *Journal of Analytical Chemistry*, 69:390-394.
- [113] Kishk, SM., Salama, I., Mostafa, S. ve El-Sadek, M.,(2014). "Stability Indicating Chromatographic Method For The Determination of Benzonatate Diphenhydramine, Guaifenesin and Phenylephrine", *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 37:726-747.
- [114] Rao, KLN., Krishnaiah, C., Babu, KS. ve Reddy, KP., (2014). "Development and validation of a stability-indicating LC method for simultaneous determination of related compounds of guaifenesin, terbutaline sulfate and ambroxol HCl in cough syrup formulation", *Journal of Saudi Chemical Society*, 18:593-600.
- [115] Abdelwahab, NS., (2012). "Determination of Ambroxol Hydrochloride, Guaifenesin, and Theophylline in Ternary Mixtures and in the Presence of Excipients in Different Pharmaceutical Dosage Forms", *Journal of Aoac International*, 95:1629-1638.
- [116] Emara, S., Kamal, M., Hadad, G., Zaa, H. ve Kawi, MA.,(2012). "Back-flush Column Switching Technique For On-line Sample Cleanup and Enrichment to Determine Guaiphenesin in Human Serum", *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 35:15-27.
- [117] Dubey, N., Sahu, S. ve Singh, GN., (2012). "Development of HPLC method for simultaneous estimation of ambroxol, guaifenesin and salbutamol in single dose form", *Indian Journal of Chemistry Section B-Organic Chemistry Including Medicinal Chemistry*, 51:1633-1636.
- [118] Ali, NW., Hegazy, MA., Abdelkawy, M. ve Abdelaleem, EA., (2012). "Simultaneous Determination of Methocarbamol and Its Related Substance (Guaifenesin) in Two Ternary Mixtures with Ibuprofen and Diclofenac Potassium by HPTLC Spectrodensitometric Method", *Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 25:150-155.
- [119] Walash, MI.,Belal, F., El-Enany, N., Eid, M. ve El-Shaheny, RN., (2012). "Stability Indicating HPLC Method With Fluorescence Detection For Determination of Methocarbamol in Tablets Application to Therapeutic Drug Monitoring", *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 35:2021-2041.
- [120] Maithani, M., Sahu, S., Chaudhary, AK. ve Singh, R., (2012). "Development and Validation of a Novel RP-HPLC Method For Simultaneous Determination of Salbutamol Sulfate, Guaifenesin and

Ambroxol Hydrochloride in Tablet Formulation”, *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 35:1156-1170.

- [121] Shabir, GA., (2011). “Determination of Guaiphenesin and Sodium Benzoate in Liqufruta Garlic Cough Medicine by High Performance Liquid Chromatography”, *Journal of Analytical Chemistry*, 66:963-968.
- [122] Porel, A., Haty, S . ve Kundu, A., (2011). “Stability-indicating HPLC Method for SimultaneousDetermination of Terbutaline Sulphate, Bromhexine Hydrochloride and Guaifenesin”, *Indian Journal of Pharmaceutical Science*, 73:46-56.
- [123] Joshi, S., Bhatia, C., Bal, CS. ve Rawat, MSM., (2010). “A validated HPLC method for simultaneous determination of four active components in counter cough formulation”, *Journal of the Indian Chemical Society*, 87:1425-1429.
- [124] Louhaichi, MR., Jebali, S.,Loueslati, MH., Adhoum, N. ve Monser, L., (2009). “Simultaneous determination of pseudoephdrine, pheniramine, guaifenisin, pyrillamine, chlorpheniramine and dextromethorphan in cough and cold medicines by high performance liquid chromatography”, *Talanta*, 78:991-997.
- [125] Grosa, G., Del Grosso, E., Russo, R. ve Allegrone, G., (2006). “Simultaneous, stability indicating, HPLC-DAD determination ofguaifenesin and methyl and propyl-parabens in cough syrup”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:798-803.
- [126] Ozdemir, A., Aksoy, H., Dinc, E., Baleanu, D. ve Dermis, S., (2006). “Determination of guaifenesin and dextromethorphan in a cough syrup by HPLC with fluorometric detection”, *Revue Roumaine De Chimie*, 51:117-122.
- [127] Wilcox, ML. ve Stewart, JT., (2000). “HPLC determination of guaifenesin with selected medications on underivatized silica with an aqueous-organic mobile phase”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 23:909-916.
- [128] Chen, YP ., Wang, P.,Shaw, CY. ve Chang, BL., (1999). “Simultaneous determination of complex cold medicine formulations by HPLC”, *Journal of Food and Drug Analysis*, 7:13-22.
- [129] Shervington, LA., (1997). “A quantitative simultaneous high performance liquid chromatographic determination of pseudoephedrine HCl,guaifenesin and dextromethorphan Hbr”, *Analytical Letters*, 30:927-944.
- [130] Wilson, TD., Jump, WG., Neumann, WC. ve Sanmartin, T., (1993). “Validation of Improved Methods for HPLC Determination of Phenylpropanolamine, Dextromethorphan, Guaifenesin and Sodium benzoate in a Cough-Cold Formulations”, *Journal of Chromatography*, 641:241-248.

- [131] Pade, V. ve Stavchansky, S., (1993). "HPLC Determination of Pseudoephedrine in Plasma in the Presence of Guifenesin", *Analytical Letters*, 26:867-873.
- [132] Abdelhay, MH., Eldin, MS., Abuirjeie, MA., (1992). "Simultaneous Determination of Theophylline and Guaiphenesin by 3RD-Derivative Ultraviolet Spectrophotometry and High-Performance Liquid-Chromatography", *Analyst*, 117:157-160.
- [133] Gudipati, RM., Wallace, JE. ve Stavchansky, SA., (1991). "High-Performance Liquid-Chromatography Determination of Guaifenesin in Dog Plasma", *Analytical Letters*, 24:265-274.
- [134] Maher, HM., Alshehri, MM. ve Al – Taweel, SM., (2015). "Derivative Emission Spectrofluorimetry for the Simultaneous Determination of Guaifenesin and Phenylephrine hydrochloride in pharmaceutical tablets", *Luminescence*, 30:330- 336.
- [135] Guney, S. ve Cebeci, FC., (2015). "Selective Electrochemical Sensor for Theophylline Based on an Electrode Modified with Imprinted Sol-gel Film Immobilized on Carbon Nanoparticle Layer", *Sensors and Actuators B-chemical*, 208:307-314.
- [136] Abdelrahman, MM. ve Abdelwahab, NS., (2014). "Superior Spectrophotometric Method for Determination of a Ternary Mixture with Overlapping Spectra", *Analytical Methods*, 6:509-514.
- [137] Jos, T., Lonappan, L., Rasheed, Z., Vikraman, AE. ve Kumarz, KG., (2014). "Voltammetric Determination of Guaifenesin on a MWCNT Modified Pt Electrode", *Ecs Electrochemistry Letters*, 3:B23-B25.
- [138] Darwish, HW., Metwally, FH. ve Bayoumi, AE., (2014). "Simultaneous Spectrophotometric Determination of Diphenhydramine, Benzonatate, Guaifenesin and Phenylephrine in Their Quaternary Mixture Using Partial Least Squares with and without Genetic Algorithm as a Powerful Variable Selection Procedure", *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 9:1359-1372.
- [139] Hajian, R., Kamaei, ES., (2014). "Simultaneous Determination of Paracetamol, Pseudoephedrine and Diphenhydramine in Cold Medicines Using Net Analyte Signal Concept", *Journal Of The Indian Chemical Society*, 91:2133-2141.
- [140] Darwish, HW., Metwally, FH., El Bayoumi, A. ve Ashour, AA., (2014). "Artificial Neural Networks and Concentration Residual Augmented Classical Least Squares for the Simultaneous Determination of Diphenhydramine, Benzonatate, Guaifenesin and Phenylephrine in their Quaternary Mixture", *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13:2083-2090.
- [141] Ragab, MAA., Korany, MA., Michail, K., Issa, AE., Daabees, HM. ve Elkafrawy, DS., (2014). "Discrete Fourier Transform Convolved

Densitometric Peak Responses for the Determination of Methacarbamol in Different Pharmaceutical Mixtures in the Presence of its Degradation Product”, *Journal of Liquid Chromatography Related Technologies*, 37:1999-2020.

- [142] Gholivand, MB. ve Khodadadian, M., (2014). “Simultaneous Voltammetric Determination of Theophylline and Guaifenesin Using a Multiwalled Carbon Nanotube Ionic Liquid Modified Glassy Carbon Electrode”, *Electroanalysis*, 26:1975-1983.
- [143] Abdelwahab, NS., Abdelaleem, EA., (2013). “TLC-Densitometric Determination of Guaifenesin, Pseudoephedrine Hydrochloride and Guaifenesin Related Substance (Guaicol)”, *Journal of Planar Chromatography- modern TLC*, 26:73-77.
- [144] Hajian, R. ve Karamian, A., (2012). “The Use of Net Analyte Signal Aspect in Univariate Calibration for Simultaneous determination of Guaifenesin, Pseudoephedrine and Chlorpheniramine in Cough Syrup Formulations”, *Current Pharmaceutical Analysis*, 8:93-100.
- [145] Gagandeep, Gill, NK., Karan, Sarma, GS. ve Thakkar, A., (2012). *Journal of the Chilean Chemical Society* , 57:1436-1441.
- [146] Hajian, R., Shams, N. ve Davarpanah, Z., (2011). “Combination of First Derivative Spectrophotometry and H-Point Standard Addition Method for Simultaneous Determination of Guaifenesin and Theophylline in Cough Syrup”, *E-Journal of Chemistry*, 8:966-976.
- [147] Riahi, S., Hadiloo, F., Milani, SMR. , Davarkhah, N., Ganjali, MR., Norouzi, P. ve Seyfi, P, (2011). “A New Technique for Spectrophotometric Determination of Pseudoephedrine and Guaifenesin in Syrup and Synthetic Mixture”, *Drug Testing and Analysis*, 3:319-324.
- [148] Gholivand, MB., Azadbakht, A. ve Pashabadi, A., (2011). “An Electrochemical Sensor Based on Carbon Nanotube Bimetallic Au-Pt Inorganic-Organic Nanofiber Hybrid Nanocomposite Electrode Applied for Detection of Guaifenesin”, *Electroanalysis*, 23:2771-2779.
- [149] Zare-Shahabadi, V., Shamsipur, M., Hemmatenejad, B. ve Akhond, M., (2010). “Simultaneous Determination of Guaifenesin and Theophylline by Chemometrics Methods”, *Analytical Letters* 43:687-700.
- [150] Hadad, GM., El-Gindy, A. ve Mahmoud, WMM., (2008). “New Validated Liquid Chromatographic and Chemometrics-Assisted UV Spectroscopic Methods for the Determination of Two Multicomponent Cough Mixtures in Syrup”, *Journal of AOAC International*, 91:39-51.
- [151] Emara, KM., Abdel-Wadood, HM. ve Bakr, MF., (2008). “Utility of Certain Spectrofluorimetric Methods for Analysis of Two Pharmaceutical Binary Mixtures”, *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 31:183-195.

- [152] El-Gindy, A., Emara, S. ve Shaaban, H., (2007). “ Development and validation of chemometrics-assisted spectrophotometric and liquid chromatographic methods for the simultaneous determination of two multicomponent mixtures containing bronchodilator drugs”, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 43:973-982.
- [153] Tapsoba, I., Belgaied, JE. ve Boujlel, K.,(2005). “Voltammetric Assay of Guaifenesin in Pharmaceutical Formulation”, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 38:162-165.
- [154] Sharaf, MHM. ve Stiff, DD.,(2004). “Determination of Guaifenesin in Human Serum by Capillary Gas Chromatography and Electron Capture Detection”, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 35:801-806.
- [155] Pappano, NB., DeMicalizzi, YC., Debattista, NB. ve Ferretti, FH., (1997). Talanta, 44:633-639.
- [156] Lee, AR. ve Hu, TM., (1994). “Determination of Guaifenesin in Anti-Tussive Pharmaceutical Preparation Containing Dextromethorphan by First Derivative and 2nd-Derivative Ultraviolet Spectrophotometry”, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 12:747-752.
- [157] Doktor TV, Eksipiyani, [http://www.dokortv.com/tip-sozlugu/E/eksipiyani-\(ilac-katki-maddesi\)](http://www.dokortv.com/tip-sozlugu/E/eksipiyani-(ilac-katki-maddesi)), 29 Eylül 2015.
- [158] Vikipedi Özgür Ansiklopedi, Metil Paraben, <https://tr.wikipedia.org/wiki/Metilparaben>, 29 Eylül 2015.
- [159] Baranowska, I., Wojciechowska, I., Solarz, N. ve Krutysza, E., (2014). “Determination of Preservatives in Cosmetics, Cleaning Agents and Pharmaceuticals Using Fast Liquid Chromatography”, Journal of chromatographic science 52:88-94.
- [160] Wikipedia The Free Encyclopedia, Propylparaben, [Propylparaben,https://en.wikipedia.org/wiki/Propylparaben](https://en.wikipedia.org/wiki/Propylparaben), 29 Eylül 2015.
- [161] Behpour, M., Masoum, S., Lalifar, A. ve Khoobi, A., (2015). “A Novel method base on electrochemical approaches and multivariate calibration for studyand determination of methylparaben in the presence of unexpected interference in cosmetics”, Sensor and Actuator B 214 :10-19.
- [162] Aydın, F.,(2014). Parabenlerin Kullanım Alanları Zararları ve Tayin Yöntemleri, Lisans Bitirme Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi.
- [163] Louhaichi, MR., Jebali, S., Kallel, M., Adhoum, N., Benhamida, N. ve Monser, L.,(2014). “Development and Validation of a Stability-Indicating HPLC Method for The Determination of Pizotifen, Methlparaben, and Propylparaben in Syrup”, Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies, 37:988-1003.

- [164] Yang, JL., Li, YX., Gong, WL., Wang, CQ., Liu, BC., Sun, CJ., (2014). “Simultaneous Determination Of Six Parabens in Foods By Matrix Liquid Phase Dispersion Extraction Combined With High Performance Liquid Chromatography”, *Food Analytical Methods*, 7:1693-1702.
- [165] Zabrzewska, B., Chyln, A. ve Bogdan, A., (2014). “Development Studies On Determination Of Preservatives Decomposition Products”, *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 71:563-573.
- [166] Hyun, Kim., (2014). “Determination of p-Anisic Acid and Methylparaben by Using High Performance Liquid Chromatography”, *Journal of the Society of Cosmetics Scientists of Korea*, 40:359-364.
- [167] Jakimska A., Huerta B., Barganska Z., Kot-Wasik A., Rodriguez-Mozaz S. ve Barcelo D., (2013). “Development of a liquid chromatography-tandem massspectrometry procedure for determination of endocrine disrupting compounds in fish from Mediterranean rivers”, *Journal Of Chromatography A*, 1306: 44-58.
- [168] Vela-Soria, F, Ballesteros, O, Rodriguez, I, Zafra-Gomez, A, Ballesteros, L,Cela, R ve Navalon, A, (2013). “A new treatment by dispersive liquid-liquidmicroextraction for the determination of parabens in human serum samples”,*Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 405 (23): 7259-7267.
- [169] El-Gindy, A., Attia, KAS., Nassar, MW., Abu Seada, HH. ve Shoeib, MA.,(2013). “HPLC Method For Determination Of Paracetamol, Pseudoephedrine, Triprolidine, Methylparaben, Propylparaben, Sodium Benzoate, and Their Related Substances in Pharmaceutical Syrup”, *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 36:1251-1263.
- [170] Antakli, S.,Kabani, R. ve Shawa, D., (2013). “Determination of Preservative Parabens in Oral and Injection Formulations by HPLC”, *Asian Journal of Chemistry*, 25:1123-1128.
- [171] Chen, ZF., Ying, GG., Lai, HJ., Chen, F., Su, HC., Liu, YS., Peng, FQ. ve Zhao, JL, (2012). “Determination of biocides in different environmental matrices by use of ultra- high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry”, *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 404(10): 3175-3188.
- [172] Tzanavaras, PD, Karakosta, TD, Rigas, PG, Themelis, DG ve Zotou, A, (2012). “Isocratic liquid chromatographic determination of three paraben preservatives in hygiene wipes using a reversed phase core-shell narrow-bore column”, *Central European Journal Of Chemistry*, 10(5):1459-1463.
- [173] Khan, JA, Muhammad, S, Iqbal, Z, Khan, A, Nasir, F, Khan, IU, Khan, MI, Khan, A ve Zakir, S, (2012). “Evaluation Of Commonly Used Preservatives In Various Analgesic Suspensions Through Hplc And Microbial Assay”, *Journal Of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35(13):1853-1870.

- [174] Ramaswamy, BR, Kim, JW, Isobe, T, Chang, KH, Amano, A, Miller, TW, Siringan, FP ve Tanabe, S, (2011). "Determination of preservative and antimicrobial compounds in fish from Manila Bay, Philippines using ultra high performance liquid chromatography tandem mass spectrometry, and assessment of human dietary exposure", *Journal Of Hazardous Materials*, 192(3):1739-1745.
- [175] Hewala, I., El-Fataty, H., Emam, E. ve Mabrouk, M., (2011). "Development and Application of a Validated Stability-Indicating High-Performance Liquid Chromatographic Method Using Photodiode Array Detection for Simultaneous Determination of Granisetron, Methylparaben, Propylparaben, Sodium Benzoate, and Their Main Degradation Products in Oral Pharmaceutical Preparations", *Journal Of Aoac International*, 94:1447-1460.
- [176] Mincea, M., Serban, S., Rusu, I., Talpos, I. ve Ostafe, V., (2010). "Development and Application of Ultra Performance Liquid Chromatography Method to the Quantification of the Biotransformation of Methyl Paraben in *Eisenia foetida*", *Chinese Journal Of Chemistry*, 28(2): 320-324.
- [177] Shabir, GA.,(2010). "A New Validated HPLC Method for the Simultaneous Determination of 2-phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben and Propylparaben in a Pharmaceutical Gel", *Indian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 72:421-425.
- [178] Abdollahpour, A., Forouhi, M., Shamsipur, M. ve Yamini, Y., (2010). "High Performance Liquid Chromatographic Determination of Sodium Benzoate, Methylparaben and Propylparaben as Preservative Components in Nystatin Suspensions", *Journal Of The Iranian Chemical Society*, 7:516-520.
- [179] Jimenez, JFG., Valencia, MC. ve Capitan-Vallvey, LF., (2010). "Parabens Determination with a Hybrid FIA/HPLC System with Ultra-Short Monolithic Column", *Journal Of Analytical Chemistry*, 65:188-194.
- [180] Mincea, MM., Lupa, IR., Cinghita, DF., Radovan, CV., Talpos, I. ve Ostafe, V., (2009). "Determination of methylparaben from cosmetic products by ultra performance liquid chromatography", *Journal Of The Serbian Chemical Society*, 74(6):669-676.
- [181] Louhaichi, MR., Jebali, S., Loueslati, MH., Adhoum, N. ve Monser, L.,(2009). "Simultaneous determination of pseudoephedrine, pheniramine, guaifenesin, pyrilamine, chlorpheniramine and dextromethorphan in cough and cold medicines by high performance liquid chromatography", *Talanta*, 78:991-997.
- [182] Vidovic, S., Stojanovic, B., Veljkovic, J., Prazic-Arsic, L., Roglic, G. ve Manojlovic, D., (2008). "Simultaneous determination of some water-soluble vitamins and preservatives in multivitamin syrup by validated

stability-indicating high-performance liquid chromatography method”, *Journal of Chromatography A*, 1202:155-162.

- [183] El-Gindy, A., Emara, S. ve Shaaban, H., (2007). “Development and validation of chemometrics-assisted spectrophotometric and liquid chromatographic methods for the simultaneous determination of two multicomponent mixtures containing bronchodilator drugs”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43:973-982.
- [184] Atemnkeng, MA., Marchand, E. ve Plaizier-Vercammen, J.,(2007). “Assay of artemether, methylparaben and propylparaben in a formulated paediatric antimalarial dry suspension”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43:727-732.
- [185] Ali, MS., Ghori, M. ve Khatri, AR., (2006). “Stability indicating simultaneous determination of domperidone (DP), methylparaben (MP) and propylparaben by high performance liquid chromatography (HPLC)”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:358-365.
- [186] El-Gindy, A.,Emara, S. ve Mostafa, A., (2006). “Application and validation of chemometrics-assisted spectrophotometry and liquid chromatography for the simultaneous determination of six-component pharmaceuticals”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:421-430.
- [187] Kokoletsi, MX., Kafkala, S. ve Tsiaganis, M., (2005). “A novel gradient HPLC method for simultaneous determination of ranitidine, methylparaben and propylparaben in oral liquid pharmaceutical formulation”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38:763-767.
- [188] Dvorak, J., Hajkova, R., Matysova, L., Novakova, L., Koupparis, MA. ve Solich, P., (2004). “Simultaneous HPLC determination of ketoprofen and its degradation products in the presence of preservatives in pharmaceuticals”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 36:625-629.
- [189] Orlovic, D., Radulovic, D. ve Vujic, Z., (2004). “Determination of S-carboxymethyl-L-cysteine, methylparaben and their degradation products in syrup preparations”, *Chromatographia*, 60:329-333.
- [190] Shabir, GA., (2004). “Determination of combined p-hydroxy benzoic acid preservatives in a liquid pharmaceutical formulation by HPLC”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34:207-213.
- [191] Kreuz, DM. ve Howard, AL., (1999). “Determination of indinavir, potassium sorbate, methylparaben, and propylparaben in aqueous pediatric suspensions”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 19:725-735.
- [192] Ali, MS., Chaudhary, RS. ve Takieddin, MA., (1999). “Simultaneous determination of metronidazole benzoate, methylparaben, and propylparaben by high-performance liquid chromatography”, *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 25:1143-1147.

- [193] El-Gindy, A., Korany, MA. ve Bedair, MF., (1998). "First derivative spectrophotometric and high-performance liquid chromatographic determination of cinchocaine hydrochloride in presence of its acid degradation product", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 17:1357-1370.
- [194] Kang, SH. ve Kim, H.,(1997). "Simultaneous determination of methylparaben, propylparaben and thimerosal by high-performance liquid chromatography and electrochemical detection", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 15:1359-1364.
- [195] Blanco, M., Coello, J., Iturriaga, H., Maspoch, S. ve AlaouiIsmaili, S., (1997). "UV-spectrophotometric determination of ketoprofen and paraben in a gel preparation by partial least-squares calibration", *Fresenius Journal Of Analytical Chemistry*, 357(7):967-972.
- [196] Louhaichi, MR.,Jebali, S., Kallel, M., Adhoum, N.,Benhamida, N. ve Monser, L.,(2014). "Development and Validation of a Stability-Indicating HPLC Method for The Determination of Pizotifen, Methlparaben, and Propylparaben in Syrup", *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 37:988-1003.
- [197] Roy, C., Chakrabarty, J. ve Modi, PB.,(2013). "Validated Stability-indicating Reverse-phase Ultra-performance Liquid Chromatography Method for Simultaneous Determination of Sodium Methylparaben, Sodium Propylparaben and Ketorolac Tromethamine in Topical Dosage Forms", *Indian Journal Of Pharmaceutical Science*, 75:197-204.
- [198] El-Gindy, A., Attia, KAS., Nassar, MW., Abu Seada, HH. ve Shoeib, MA., (2013). "HPLC Method For Determination Of Paracetamol, Pseudoephedrine, Triprolidine, Methylparaben, Propylparaben, Sodium Benzoate, and Their Related Substances in Pharmaceutical Syrup", *Journal of Liquid Chromatography& Related Technologies*, 36:1251-1263.
- [199] Antakli, S., Kabani, R. ve Shawa, D., (2013). "Determination of Preservative Parabens in Oral and Injection Formulations by HPLC", *Asian Journal of Chemistry*, 25:1123-1128.
- [200] Khan, JA., Muhammad, S., Iqbal, Z., Khan, A., Nasir, F., Khan, IU., Khan, MI, Khan, A. ve Zakir, S., (2012). "Evaluation Of Commonly Used Preservatives InVarious Analgesic Suspensions Through Hplc And Microbial Assay", *Journal Of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35(13):1853-1870.
- [201] Hewala, I., El-Fatetry, H., Emam, E. ve Mabrouk, M., (2011). "Development and Application of a Validated Stability-Indicating High-Performance Liquid Chromatographic Method Using Photodiode Array Detection for Simultaneous Determination of Granisetron, Methylparaben, Propylparaben, Sodium Benzoate, and Their Main Degradation Products in Oral Pharmaceutical Preparations", *Journal Of Aoac International*, 94: 1447-1460.

- [202] Shabir, GA., (2010). "A New Validated HPLC Method for the Simultaneous Determination of 2-phenoxyethanol, Methylparaben, Ethylparaben and Propylparaben in a Pharmaceutical Gel", *Indian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 72:421-425.
- [203] Abdollahpour, A., Forouhi, M., Shamsipur, M., Yamini, Y., (2010). "High Performance Liquid Chromatographic Determination of Sodium Benzoate, Methylparaben and Propylparaben as Preservative Components in Nystatin Suspensions", *Journal Of The Iranian Chemical Society*, 7:516-520.
- [204] Shabir, GA., (2010). "Development and Validation Of a Stability Indicating LC Method For The Determination Of Domperidone, Sorbic Acid and Propylparaben In Pharmaceutical Formulations", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 33:1802-1813.
- [205] Havlikova, L., Matysova, L., Hajkova, R., Satinsky, D. ve Solich, P., (2008). "Advantages of pentafluorophenylpropyl stationary phase over conventional C18 stationary phase - Application to analysis of triamcinolone acetonide", *Talanta*, 76:597-601.
- [206] El-Gindy, A., Emara, S. ve Shaaban, H., (2007). "Development and validation of chemometrics-assisted spectrophotometric and liquid chromatographic methods for the simultaneous determination of two multicomponent mixtures containing bronchodilator drugs", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43:973-982.
- [207] Atemnkeng, MA., Marchand, E. ve Plaizier-Vercammen, J., (2007). "Assay of artemether, methylparaben and propylparaben in a formulated paediatric antimalarial dry suspension", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43:727-732.
- [208] Ali, MS., Ghori, M. ve Khatri, AR., (2006). "Stability indicating simultaneous determination of domperidone (DP), methylparaben (MP) and propylparaben by high performance liquid chromatography (HPLC)", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:358-365.
- [209] El-Gindy, A., Emara, S. ve Mostafa, A., (2006). "Application and validation of chemometrics-assisted spectrophotometry and liquid chromatography for the simultaneous determination of six-component pharmaceuticals", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41:421-430.
- [210] Kokoletsi, MX., Kafkala, S. ve Tsiaganis, M., (2005). "A novel gradient HPLC method for simultaneous determination of ranitidine, methylparaben and propylparaben in oral liquid pharmaceutical formulation", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 38:763-767.
- [211] Shabir, GA., (2004). "Determination of combined p-hydroxy benzoic acid preservatives in a liquid pharmaceutical formulation by HPLC", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 34:207-213.
- [212] Novakova, L., Solich, P., Matysova, L., Sicha, J., (2003). "HPLC determination of estradiol, its degradation product, and preservatives in new

topical formulation Estrogel HBF”, Analytical and Bioanalytical Chemistry, 379:781-787.

- [213] Ali, MS., Chaudhary, RS. ve Takieddin, MA., (1999).”Simultaneous determination of metronidazole benzoate, methylparaben, and propylparaben by high-performance liquid chromatography”, Drug Development and Industrial Pharmacy, 25:1143-1147.
- [214] Kreuz, DM., Howard, AL. ve Ip, D.,(1999). “Determination of indinavir, potassium sorbate, methylparaben, and propylparaben in aqueous pediatric suspensions”, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 19:725-735.
- [215] Kang, SH. ve Kim, H.,(1997). “Simultaneous determination of methylparaben, propylparaben and thimerosal by high-performance liquid chromatography and electrochemical detection”, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 15:1359-1364.
- [216] Zhu, KX., Gong, SG., Dai, YH., Tuo, SX., Liu, ZH .,Qian, LY.,Peng, J. ve Zhou, FQ., (2015). “Determination of Preservatives in Water-Based Adhesives by Gas Chromatography-Mass Spectrometry”, Analytical Letters, 48:1396-1410.
- [217] Wang, L ., Li, YF., Li, GP. ve Ye, BX., (2015). “A new strategy for enhancing electrochemical sensing from MWCNTs modified electrode with Langmuir-Blodgett film and used indetermination of methylparaben”, Sensors and Actuators B- chemical, 211:332-338.
- [218] Albero, B., Sanchez-Brunete, C., Miguel, E. ve Tadeo, JL., (2015). “Rapid determination of emerging contaminants in water and herbal infusions by in situ derivatization and gas chromatography-tandem mass spectrometry”, Analytical Methods, 7:3006-3014.
- [219] Hou, F., Deng, XY., Jiang, XY., Yu, JG., (2014). “Determination of Parabens in Beverage Samples by Dispersive Liquid-Liquid Microextraction Based on Solidification of Floating Organic Droplet”, Journal of Chromatographic Science, 52:1332-1338.
- [220] Wei, HM., Yang, JJ., Zhang, HQ. ve Shi, YH., (2014). “Dispersive Liquid-liquid Microextraction for Simultaneous Determination of Six Parabens in Aqueous Cosmetics”, Chemical Research in Chinese Universities, 30:368-373.
- [221] Naik, KM. ve Nandibewoor, ST.,(2014). “Electroanalytical method for the determination of methylparaben”, Sensors and actuators a-physical, 212:127-132.
- [222] Gholivand, MB., Shamsipur, M., Dehdashtian, S. ve Rajabi, HR., (2014). “Development of a selective and sensitive voltammetric sensor for propylparaben based on a nanosized molecularly imprinted polymer-carbon paste electrode”, Materials science & engineering c-materials for biological applications, 36:102-107.

- [223] Ye, NS., Shi, PZ., Li, J. ve Wang, Q., (2013). "Application of Graphene as Solid Phase Extraction Absorbent for the Determination of Parabens in Cosmetic Products by Capillary Electrophoresis", *Analytical Letters*, 46:1991-2000.
- [224] Huang, JQ., Hu, CC. ve Chiu, TC., (2013). "Determination of seven preservatives in cosmetic products by micellar electrokinetic chromatography", *International Journal Of Cosmetic Science*, 35(4):346-353.
- [225] Jain, R., Mudiam, MKR., Chauhan, A., Ch, R., Murthy, RC. ve Khan, HA., (2013). "Simultaneous derivatisation and preconcentration of parabens in food and other matrices by isobutyl chloroformate and dispersive liquid-liquid microextraction followed by gas chromatographic analysis", *Food Chemistry*, 141(1):436-443.
- [226] Cheng, YC., Wang, CC., Chen, YL. ve Wu, SM., (2012). "Large volume sample stacking with EOF and sweeping in CE for determination of common preservatives in cosmetic products by chemometric experimental design", *Electrophoresis*, 33(9-10):1443-1448.
- [227] Ramirez, N., Marce, RM. ve Borrull, F., (2011). "Determination of parabens in house dust by pressurised hot water extraction followed by stir bar sorptive extraction and thermal desorption-gas chromatography-mass spectrometry", *Journal Of Chromatography A*, 1218(37):6226-6231.
- [228] Gonzalez-Marino, I, Quintana, JB, Rodriguez, I, Schrader, S ve Moeder, M, (2011). "Fully automated determination of parabens, triclosan and methyl triclosan in wastewater by microextraction by packed sorbents and gas chromatography-mass spectrometry", *Analytica Chimica Acta*, 684(1-2): 59-66.
- [229] Prichodko, A., Mockunaite, M., Smitiene, V. ve Vickackaite, V, (2011). "Hollow fibre liquid phase microextraction of derivatized parabens", *Chemija*, 22(3):155-161.
- [230] Bottoli, CBG., Gutierrez-Ponce, MDS., Aguiar, VS. ve de Aquino, WM., (2011). "Determination of parabens in sweeteners by capillary electrochromatography", *Brazilian Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 47 (4):779-785.
- [231] Yang, P, Ren, HX, Qiu, HD, Liu, X ve Jiang, SX, (2011). "Determination of four trace preservatives in street food by ionic liquid-based dispersive liquid-liquid micro-extraction", *Chemical Papers*, 65(6):747-753.
- [232] Shanmugam, G, Ramaswamy, BR, Radhakrishnan, V ve Tao, H, (2010). "GC-MS method for the determination of paraben preservatives in the human breast cancerous tissue", *Microchemical Journal*, 96(2):391-396.
- [233] Farajzadeh, MA., Djozan, D. ve Bakhtiyari, RF., (2010). "Use of a capillary tube for collecting an extraction solvent lighter than water after dispersive liquid-liquid microextraction and its application in the determination of

parabens in different samples by gas chromatography-Flame ionization detection”, *Talanta*, 81(4-5):1360-1367.

- [234] Yang, TJ., Tsai, FJ., Chen, CY., Yang, TCC. ve Lee, MR., (2010). “Determination of additives in cosmetics by supercritical fluid extraction on-line headspace solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry”, *Analytica Chimica Acta*, 668(2): 188-194.
- [235] Chu, QC., Wang, JY., Zhang, DL. ve Ye, JN., (2010). “Sensitive determination of parabens in soy sauces by capillary zone electrophoresis with amperometric detection”, *European Food Research And Technology*, 231(6):891-897.
- [236] Wang, Y., Cao, YH., Fang, C. ve Gong, QQ., (2010). “Electrochemical sensor for parabens based on molecular imprinting polymers with dual-templates”, *Analytica Chimica Acta*, 673(2):145-150.
- [237] Saraji, M. ve Mirmahdieh, S., (2009). “Single-drop microextraction followed by in-syringe derivatization and GC-MS detection for the determination of parabens in water and cosmetic products”, *Journal Of Separation Science*, 32(7):988-995.
- [238] Radovan, C., Cinghita, D., Manea, F, Mincea, M., Cofan, C. ve Ostafe, V., (2008). “Electrochemical sensing and assessment of parabens in hydro-alcoholic solutions and water using a boron-doped diamond electrode”, *Sensors*, 8(7):4330-4349.
- [239] Hadad, GM., El-Gindy, A. ve Mahmoud, WMM., (2008). “New validated liquid chromatographic and chemometrics-assisted UV spectroscopic methods for the determination of two multicomponent cough mixtures in syrup”, *Journal of AOAC International*, 91(1):39-51.
- [240] El-Gindy, A, Emara, S. ve Shaaban, H., (2007). “Development and validation of chemometrics-assisted spectrophotometric and liquid chromatographic methods for the simultaneous determination of two multicomponent mixtures containing bronchodilator drugs”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(3): 973-982.
- [241] Canosa, P., Rodriguez, I., Rubi, E., Bollain, MH. ve Cela, R., (2006). “Optimisation of a solid-phase microextraction method for the determination of parabens in water samples at the low ng per litre level”, *Journal Of Chromatography A*, 1124(1-2): 3-10.
- [242] Basan, H., Dincer, Z. ve Goger, NG., (2005). “Derivative UV spectrophotometric method for the simultaneous determination of ambroxol and preservatives in syrups”, *Chemia Analityczna*, 50(2):465-473.
- [243] Lokhnauth, JK. ve Snow, NH., (2005). “Determination of parabens in pharmaceutical formulations by solid-phase microextraction-ion mobility spectrometry”, *Analytical Chemistry*, 77(18):5938-5946.

- [244] Myint, A., Zhang, QLO., Liu, LJ. ve Cui, H., (2004). "Flow injection-chemiluminescence determination of paraben preservative in food safety", *Analytica Chimica Acta*, 517(1-2):119-124.
- [245] Shibata, H. ve Tsuda, T., (2002). "Determination of paraben found on skin surface of human finger", *Bunseki Kagaku*, 51(6): 397-401.
- [246] Goicoechea, HC. ve Olivieri, AC., (2002). "Chemometric assisted simultaneous spectrophotometric determination of four-component nasal solutions with a reduced number of calibration samples", *Analytica Chimica ACTA*, 453(2):289-300.
- [247] Vinggaard, AM., Korner, W., Lund, KH., Bolz, U. ve Petersen, JH., (2000). "Identification and quantification of estrogenic compounds in recycled and virgin paper for household use as determined by an in vitro yeast estrogen screen and chemical analysis", *Chemical Research In Toxicology*, 13(12): 1214-1222.
- [248] Collado, MS., Mantovani, Goicoechea, HC. ve Olivieri, AC., (2000). "Simultaneous spectrophotometric-multivariate calibration determination of several components of ophthalmic solutions: phenylephrine, chloramphenicol, antipyrine, methylparaben and thimerosal", *Talanta*, 5(2):909-920.
- [249] Cruces-Blanco, C., Carretero, AS., Peinado, SF. ve Gutierrez, AF., (2000). "Spectrofluorimetric determination of methyl paraben in pharmaceutical preparations by means of its dansyl chloride derivative", *Mikrochimica Acta*, 134(1-2):107-111.
- [250] Lin, HJ. ve Choong, YM., (1999). "A simple method for the simultaneous determination of various preservatives in liquid foods", *Journal Of Food And Drug Analysis*, 7(4):291-304.
- [251] Blanco, M., Coello, J., Iturriaga, H., Maspoch, S. ve AlaouiIsmaili, S., (1997). "UV-spectrophotometric determination of ketoprofen and paraben in a gel preparation by partial least-squares calibration", *Fresenius Journal Of Analytical Chemistry*, 357(7):967-972.
- [252] ElBayoumi, A., Tawakkol, MS. ve Diab, JM., (1997). "In situ spectrodensitometric determination of methyl and propyl parabens, benzoic and sorbic acids in bulk powder, foods, and pharmaceutical formulations", *Spectroscopy Letters*, 30(2):355-366.
- [253] Sanchez, FG., Diaz, AN. ve Faria, LS., (1994). "Alpha-Cyclodextrin As A Restricted Access Mobile Phase For Reversed-Phase Liquid Chromatography With Fluorimetric Detection Of Phenolic Compounds", *Analytical Letters*, 27(11):2171-2180.
- [254] Sherma, J. ve Zorn, S., (1982). "Determination Of Paraben Preservatives In Liquid Products - By Quantitative Pre-Adsorbent Tlc With Direct Sample Application", *American Laboratory*, 14(7): 26-&.

- [255] Food Additives Ameliorating The Flavors, Enriching The Food, Lake Ponceau 4R, <http://www.foodadditivesworld.com/lake-ponceau-4r.html>, 29 Eylül 2015.
- [256] Katkı Maddeleri Blog Spot, E124 Ponceau 4R, Katkı Maddeleri, http://katkimaddeleri.blogspot.com.tr/2009/09/gida-katki-maddeleri_24.html, 29 Eylül 2015.
- [257] Pagacikova, D. ve Lehotay, J.,(2015). “Determination of Synthetic Colors in Meat Products Using High-Performance Liquid Chromatography with Photodiode Array Detector”, Journal of Liquid Chromatography&Related Technologies, 38:579-583.
- [258] Qi, P., Lin, ZH., Chen, GY., Xiao, J., Liang, ZA., Luo, LN ., Zhou, J., Zhang, XW., (2015). “Fast and simultaneous determination of eleven synthetic color additives in flour and meat products by liquid chromatography coupled with diode-array detector and tandem mass spectrometry”, Food Chemistry, 181:101-110.
- [259] Sha, O., Zhu, XS ., Feng, YL . ve Ma, WX., (2015). “Aqueous two-phase based on ionic liquid liquid-liquid microextraction for simultaneousdetermination of five synthetic food colourants in different food samples by high-performance liquid chromatography”, Food Chemistry, 174:380-386.
- [260] Ma, K., Li, XJ., Wang, HF., Zhao, M.,(2015). “Rapid and Sensitive Method for the Determination of Eight Food Additives in Red Wine by Ultra-performance Liquid Chromatography Tandem Mass Spectrometry”, Food Analytical Methods, 8:203-212.
- [261] Yang, Y., Zhang, J., Shao, B., (2014). “Quantitative analysis of fourteen synthetic dyes in jelly and gummy candy by ultra performance liquid chromatography”, Analytical Methods, 6:5872-5878.
- [262] Jurcovan, MV.,Diacu, E.,(2014). “Development of a Reversed-phase High Performance Liquid Chromatographic Method for Simultaneous Determination of Allura Red AC and Ponceau 4R in Soft Drinks”, Revista De Chimie, 65:137-141.
- [263] Turak, F., Dinc, M., Dulger, O., Ozgur, MU., (2014). “Four Derivative Spectrophotometric Methods for the Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R in Drinks and Comparison with High Performance Liquid Chromatography”, International Journal Of Analytical Chemistry.
- [264] Bonan, S., Fedrizzi, G., Menotta, S. ve Elisabetta, C.,(2013). “Simultaneous determination of synthetic dyes in foodstuffs and beverages by high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector”, Dyes and Pigments, 99:36-40.
- [265] Turak, F. ve Ozgur, MU.,(2013). “Simultaneous Determination of Allura Red and Ponceau 4R in Drinks with the Use of Four Derivative

Spectrophotometric Methods and Comparison with High-Performance Liquid Chromatography”, *Journal of Aoac International*, 96:1377-1386.

- [266] Wu, H., Guo, JB., Du, LM., Tian, H., Hao, CX., Wang, ZF. ve Wang, JY., (2013). “A rapid shaking-based ionic liquid dispersive liquid phase microextraction for the simultaneous determination of six synthetic food colourants in soft drinks, sugar- and gelatin-based confectionery by high-performance liquid chromatography”, *Food Chemistry*, 141:182-195.
- [267] Xian, YP., Wu, YL., Guo, XD., Lu, YJ., Luo, HY., Luo, DH. ve Chen, YG., (2013). “Simultaneous determination of 11 restricted dyes in cosmetics by ultra high-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry”, *Analytical Methods*, 5:1965-1974.
- [268] Zou, TT., He, PL., Yaseen, A. ve Li, Z., (2013). “Determination of seven synthetic dyes in animal feeds and meat by high performance liquid chromatography with diode array and tandem mass detectors”, *Food Chemistry*, 138:1742-1748.
- [269] Hajimahmoodi, M., Afsharimanesh, M., Moghaddam, G., Sadeghi, N., Oveisi, MR., Jannat, B., Pirhadi, E., Mazdeh, FZ. ve Kanan, H., (2013). “Determination of eight synthetic dyes in foodstuffs by green liquid chromatography”, *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 30:780-785.
- [270] Ma, K., Jiang, XX., Zhao, M. ve Cai, YQ., (2012). “Simultaneous Determination of 20 Food Additives in Drinks by High Performance Liquid Chromatography Coupled with Photo-diode Array Detector”, *Chinese Journal Of Analytical Chemistry*, 40:1661-1667.
- [271] Khanavi, M., Hajimahmoodi, M., Ranjbar, AM., Oveisi, MR., Ardekani, MRS. ve Mogaddam, G., (2012). “Development of a Green Chromatographic Method for Simultaneous Determination of Food Colorants”, *Food Analytical Methods*, 5:408-415.
- [272] Yang, Y., Yin, J. ve Shao, B., (2011). “Simultaneous determination of five aluminum lake dyes in chewing gum by HPLC with photodiode array detection”, *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assessment*, 28:1157-1167.
- [273] Vachirapatama, N., Mahajaroensiri, J. ve Visessanguan, W., (2008). “Identification and Determination of Seven Synthetic Dyes in Foodstuffs and Soft Drinks on Monolithic C18 Column by High Performance Liquid Chromatography”, *Journal of Food and Drug Analysis*, 16:77-82.
- [274] Yoshioka, N. ve Ichihashi, K., (2008). “Determination of 40 synthetic food colors in drinks and candies by high-performance liquid chromatography using a short column with photodiode array detection”, *Talanta*, 74:1408-1413.
- [275] Miniotti, KS., Sakellariou, CF. ve Thomaidis, NS., (2007). “Determination of 13 synthetic food colorants in water-soluble foods by reversed-phase

high-performance liquid chromatography coupled with diode-array detector”, *Analytica Chimica Acta*, 583:103-110.

- [276] Dinc, E., Aktas, AH., Baleanu, D. ve Ustundag, O., (2006). “Simultaneous determination of tartrazine and allura red in commercial preparation by chemometric HPLC method”, *Journal of Food and Drug Analysis*, 14:284-291.
- [277] Dossi, N., Toniolo, R., Susmel, S., Pizzariello, A. ve Bontempelli, G., (2006). “Simultaneous RP-LC determination of additives in soft drinks”, *Chromatographia*, 63:557-562.
- [278] Ma, M., Luo, XB., Chen, B., Sub, SP. ve Yao, SZ.,(2006). “Simultaneous determination of water-soluble and fat-soluble synthetic colorants in foodstuff by high-performance liquid chromatography-diode array detection-electrospray mass spectrometry”, *Journal of Chromatography A*, 1103:170-176.
- [279] Garcia-Falcon, MS. ve Simal-Gandara, J.,(2005). “Determination of food dyes in soft drinks containing natural pigments by liquid chromatography with minimal clean-up”, *Food Control*, 16:293-297.
- [280] Gianotti, V ., Angioi, S., Gosetti, F., Marengo, E. ve Gennaro, MC., (2005). “Chemometrically assisted development of IP-RP-HPLC and spectrophotometric methods for the identification and determination of synthetic dyes in commercial soft drinks”, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 28:923-937.
- [281] Kirschbaum, J., Krause, C., Pfalzgraf, S. ve Bruckner, H., (2003). “Development and evaluation of an HPLC-DAD method for determination of synthetic food colorants”, *Chromatographia*, 57:S115-S119.
- [282] Fuh, MR. ve Chia, KJ.,(2002). “Determination of sulphonated azo dyes in food by ion-pair liquid chromatography with photodiode array and electrospray mass spectrometry detection”, *Talanta*, 56:663-671.
- [283] Zou, JH., Chen, WD., Shao, JD., (2001). “Simultaneous determination of 8 food additives in fruit juices by reversed phase high performance liquid chromatography”, *Chinese Journal Of Analytical Chemistry*, 29:1192-1195.
- [284] Berzas-Nevado, JJ., Guiberteau-Cabanillas, C., Contento-Salcedo, AM., (1998). “A reverse phase HPLC method to determine six food dyes using buffered mobile phase”, *Analytical Letters*, 31:2513-2535.
- [285] Tang, TX., Xu, XJ., Wang, DM., Zhao, ZM., Zhu, LP. ve Yang, DP., (2015). “A Rapid and Green Limit Test Method for Five Synthetic Colorants in Foods Using Polyamide Thin-layer Chromatography”, *Food Analytical Methods*, 8:459-466.
- [286] Xie, ZH., Wang, LY.,Liu, Y., Cai, Q .,Wang, HL. ve Yan, HT., (2014). “Derivative Synchronous Fluorimetry for Determination of Synthetic Food Dyes in Food”, *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 34:1293-1296.

- [287] Wang, ML., Zhang, J., Ding, NN. ve Chen, ZD.,(2014). "Detection of Ponceau 4R in foods based on an expanded graphite paste electrode", *International Journal of Environment Analytical Chemistry*, 94:223-232.
- [288] Zhang, J., Wang, X., Zhang, SB., Wang, WC.,Hojo, M. ve Chen, ZD., (2014). "Based on an Ionic Liquid Modified Expanded Graphite Paste Electrode", *Journal of the Electrochemical Society*, 161:H453-H457.
- [289] Turak, F., Dinc, M., Dulger, O., Ozgur, MU., (2014). "Four Derivative Spectrophotometric Methods for the Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R in Drinks and Comparison with High Performance Liquid Chromatography", *International Journal of Analytical Chemistry*.
- [290] Turak, F., Ozgur, MU., (2013). "Simultaneous Determination of Allura Red and Ponceau 4R in Drinks with the Use of Four Derivative Spectrophotometric Methods and Comparison with High-Performance Liquid Chromatography", *Journal of Aoac International*, 96:1377-1386.
- [291] Gan, T., Sun, JY., Zhu, HJ.,Zhu, JJ. ve Liu, DG.,(2013). "Synthesis and characterization of graphene and ordered mesoporous TiO₂ as electrocatalyst for the determination of azo colorants", *Journal of Solid State Electrochemistry*, 17:2193-2201.
- [292] Wang, XF.,Tang, QZ., Ma, HM., (2013). "Rapid Determination of Food Colorant Ponceau 4R Using Montmorillonite Calcium-Modified Electrode", *Nanoscience and Nanotechnologies Letters*, 5:648-653.
- [293] Dosek, M., Triskova, D. ve Fikarova, J., (2013). "Determination of Synthetic Dyes(Azorubin) and (Ponceau4R) in Soft Drinks by Ion Interaction Chromatography and Differantial Pulse Polarography", *Chemicke Listy*, 107:S233-S235.
- [294] Zhang, Y., Zhang, XJ., Lu, XH., Yang, JQ. ve Wu, KB., (2010). "Multi-wall carbon nanotube film-based electrochemical sensor for rapid detection of Ponceau4R and Allura Red", *Food Chemistry*, 122:909-913.
- [295] Chen, GQ., Wu, YM., Liu, HJ.,Gao, SM., Kong, Y., Wei, BL., Zhu, T.,(2010). "Determination and Identification of Synthetic Food Colors Based on Fluorescence Spectroscopy and Radial Basis Function Neural Networks", *Spectroscopy and Spektral Analysis*, 30:706-709.
- [296] Ni, YN., Wang, Y. ve Kokot, S., (2009). "Simultaneous kinetic spectrophotometric analysis of five synthetic food colorants with the aid of chemometrics", *Talanta*, 78:432-441.
- [297] Hajimahmoodi, M., Oveisi, MR., Sadeghi, N., Jannat, B. ve Nilfroush, E.,(2008). "Simultaneous Determination of Carmoisine and Ponceau 4R", *Food Analytical Methods*, 1:214-219.

- [298] Claux, B. ve Vittori, O., (2007). "Bismuth film electrode as an alternative for mercury electrodes: determination of azo dyes and application for detection in food stuffs", *Electroanalysis*, 19:2243-2246.
- [299] Ryvolova, M., Taborsky, P., Vrabel, P., Krasensky, P. ve Preisler, J., (2007). "Sensitive determination of erythrosine and other red food colorants using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection", *Journal of Chromatography A*, 1141:206-211.
- [300] Karaoglan, GK., Gumrukcu, G., Ozgur, MU., Bozdogan, A. ve Asci, B., (2007). "Abilities of partial least-squares (PLS-2) multivariate calibration in the analysis of quaternary mixture of food Colors (E-110, E-122, E-124, E-131)", *Analytical Letters*, 40:1893-1903.
- [301] Zhang, HR., Chen, G., Wang, L., Ding, L., Tian, Y., Jin, WQ. ve Zhang, HQ., (2006). "Study on the inclusion complexes of cyclodextrin and sulphonated azo dyes by electrospray ionization mass spectrometry", *International Journal of Mass Spectrometry*, 252:1-10.
- [302] Chanlon, S., Joly-Pottuz, L., Chatelut, M., Vittori, O., Cretier, JL., (2005). "Determination of Carmoisine, Allura red and Ponceau 4R in sweets and soft drinks by Differential Pulse Polarography", *Journal of Food Composition and Analysis*, 18:503-515.
- [303] Ozgur, MU., Koyuncu, I., Bozdogan, A., (2005). "The resolution of ternary mixtures of dyes by partial least-squares multivariate spectrophotometric calibration and derivative spectrophotometry", *Chemia Analityczna*, 50:605-614.
- [304] Altinoz, S. ve Toptan, S., (2003). "Simultaneous determination of Indigotin and Ponceau-4R in food samples by using Vierordt's method, ratio spectra first order derivative and derivative UV spectrophotometry", *Journal of Food Composition and Analysis*, 16:517-530.
- [305] Del Giovine, L. ve Bocca, AP., (2003). "Determination of synthetic dyes in ice-cream by capillary electrophoresis", *Food Control*, 14:131-135.
- [306] Karl, H. ve Koch, R., (2003). "Simple photometric method for the determination of the food colours E 110 and E 124 in salmon substitute products", *Archiv Fur Lebensmittelhygiene*, 54:8-12.
- [307] Altinoz, S. ve Toptan, S., (2002). "Determination of Tartrazine and Ponceau-4R in various food samples by Vierordt's method and ratio spectra first-order derivative UV spectrophotometry", *Journal of Food Composition and Analysis*, 15:667-683.
- [308] Combeau, S., Chatelut, M. ve Vittori, O., (2002). "Identification and simultaneous determination of Azorubin, Allura red and Ponceau 4R by differential pulse polarography: application to soft drinks", *Talanta*, 56:115-122.

- [309] Capitan-Vallvey, LF., Valencia, MC., Nicolas, EA., (2002). "Flow injection analysis with on-line solid phase extraction for spectrophotometric determination of ponceau 4R and its subsidiary unsulfonated dye in sweets and cosmetic products", *Mikrochimica Acta*, 138:69-76.
- [310] Ozgur, MU., Bozdogan, A., Ercag, A., Koyuncu, I., (2001). "Simultaneous determination of anthocyanin and ponceau 4R in drink powders by derivative spectrophotometry and partial least-squares multivariate spectrophotometric calibration", *Monatshefte Fur Chemie*, 132:669-673.
- [311] Ni, YN., Qi, M. ve Kokot, S., (2001). "Simultaneous spectrophotometric determination of ternary mixtures of Tartrazine, Sunset Yellow, and Ponceau 4R by H-point standard addition method", *Analytical Letters*, 34:2585-2596.
- [312] Gerasimov, AV., (2000). "Qualitative and quantitative treatment of thin-layer chromatograms of incompletely separated synthetic food colors", *Journal of Analytical Chemistry*, 55:1161-1165.
- [313] Zhang, ZY., Zhu, ZL., Cong, PS., Huang, ZH. ve Li, TH., (2000). "Quantitative analysis of pigments in a gray system by pH distribution-absorption spectra", *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 28:147-151.
- [314] Bozdogan, A., Ozgur, MU., Koyuncu, I., (2000). "Simultaneous determination of sunset yellow and Ponceau 4R in gelatin powder by derivative spectrophotometry and partial least-squares multivariate spectrophotometric calibration", *Analytical Letters*, 33:2975-2982.
- [315] Vikipedi Öğür Ansiklopedi, Sakarin, <https://tr.wikipedia.org/wiki/Sakarin>, 29 Eylül 2015.
- [316] Hou, XF., He, XS., Chen, L., Wang, SC. ve He, LC., (2015). "A stop-flow two-dimensional liquid chromatography method for determination of food additives in yogurt", *Analytical Methods*, 7:2141-2148.
- [317] Chang, CS., Yeh, TS., (2014). "Detection of 10 sweeteners in various foods by liquid chromatography/tandem mass spectrometry", *Journal Of Food and Drug Analysis*, 22:318-328.
- [318] Bruno, SNF., Cardoso, CR., Maciel, MMA., Vokac, L. ve da Silva, AI., (2014). "Selective identification and quantification of saccharin by liquid chromatography and fluorescence detection", *Food Chemistry*, 159:309-315.
- [319] Ma, J., Zhang, B., Wang, YN. ve Hou, XF., (2014). "Comparison of Six Sample Preparation Methods for Analysis of Food Additives in Milk Powder", *Food Analytical Methods*, 7:1345-1352.
- [320] Grembecka, M., Baran, P., Blazewicz, A., Fijalek, Z. ve Szefer, P., (2014). "Simultaneous determination of aspartame, acesulfame-K, saccharin, citric acid and sodium benzoate in various food products using HPLC-CAD-UV/DAD", *European Food Research And Technology*, 3:357-365.

- [321] Ordonez, EY., Quintana, JB., Rodil, R. ve Cela, R., (2013). "Determination of artificial sweeteners in sewage sludge samples using pressurised liquid extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, 1320:10-16.
- [322] Kokotou, MG. ve Thomaidis, NS .,(2013). "Determination of eight artificial sweeteners in wastewater by hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Analytical Methods*, 5:3825-3833.
- [323] Yan, QH., Yang, L., Ma, XQ. ve Feng, HG., (2013). "Simultaneous Determination of Six Food Additives in Drinks by High Performance Liquid Chromatography Coupled to Diode Array Detector Detection", *Journal Of The Chemical Society Of Pakistan*, 35:1060-1065.
- [324] Tsuruda, S., Sakamoto, T. ve Akaki, K., (2013). "Simultaneous Determination of Twelve Sweeteners and Nine Preservatives in Foods by Solid-Phase Extraction and LC-MS/MS", *Food Hygiene and Safety Science*, 54:204-212.
- [325] Zhao, YG., Cai, MQ.,Chen, XH., Pan, SD.,Yao, SS. ve Jin, MC., (2013). "Analysis of nine food additives in wine by dispersive solid-phase extraction and reversed-phase high performance liquid chromatography", *Food Research International*, 52:350-358.
- [326] Ozer, H., Psimouli, V., Ozcan, N., Ozer, B., Papadaki, I. ve Oreopoulou, V.,(2013). "Ring trial for the simultaneous analysis of sweeteners and preservatives in soft drinks", *Quality Assurance and Safety of Crops&Foods*, 5:71-77.
- [327] Lim, HS .,Park, SK., Kwak, IS.,Kim, HI., Sung, JH.,Jang, SJ.,Byun, MY. ve Kim, SH., (2013). "HPLC-MS/MS analysis of 9 artificial sweeteners in imported foods", *Food Science and Biotechnology*, 22:233-240.
- [328] Sik, B., (2012). "Development and Validation of a Green High Performance Liquid Chromatographic Method for the Determination of Some Artificial Sweeteners and Caffeine in Soft Drinks", *Food Analytical Methods*, 5:1443-1452.
- [329] Ma, K., Jiang, XX., Zhao, M. ve Cai, YQ., (2012). "Simultaneous Determination of 20 Food Additives in Drinks by High Performance Liquid Chromatography Coupled with Photo-diode Array Detector", *Chinese Journal Of Analytical Chemistry*, 40:1661-1667.
- [330] Zhao, YG .,Chen, XH., Yao, SS.,Pan, SD.,Li, XP. ve Jin, MC., (2012). "Analysis of Nine Food Additives in Red Wine by Ion-Suppression Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography Using Trifluoroacetic Acid and Ammonium Acetate as Ion-Suppressors", *Analytical Science*, 28:967-971.
- [331] Wu, ZL., He, ZQ. ve Guo, MZ.,(2012). "Determination of Nine Food Additives in Condiment by High Performance Liquid Chromatography", *Medical Materials and Engineering*, 140:302-308.

- [332] Yan, QH., Yang, L., Zhang, HR. ve Niu, LY., (2012). "A Sensitive and Validated Method For Determination Of Four Additives In Ham Sausage By HPLC-DAD Method", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35:268-279.
- [333] Chen, XH., Zhao, YG., Shen, HY. ve Jin, MC., (2012). "Application of dispersive solid-phase extraction and ultra-fast liquid chromatography-tandem quadrupole mass spectrometry in food additive residue analysis of red wine", *Journal of Chromatography A*, 1263:34-42.
- [334] Kokotou, MG., Asimakopoulos, AG ve Thomaidis, NS., (2012). "Artificial sweeteners as emerging pollutants in the environment: analytical methodologies and environmental impact", *Analytical Methods*, 4:3057-3070.
- [335] Ordonez, EY., Quintana, JB., Rodil, R. ve Cela, R., (2012). "Determination of artificial sweeteners in water samples by solid-phase extraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry", *Journal of Chromatography A*, 1256:197-205.
- [336] Lange, FT., Scheurer, M. ve Brauch, HJ., (2012). "Artificial sweeteners-a recently recognized class of emerging environmental contaminants: a review", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403:2503-2518.
- [337] Kritsunankul, O. ve Jakmunee, J., (2011). "Simultaneous determination of some food additives in soft drinks and other liquid foods by flow injection on-line dialysis coupled to high performance liquid chromatography", *Talanta*, 84:1342-1349.
- [338] Serdar, M. ve Knezevic, Z ., (2011). "Determination Of Artificial Sweeteners In Beverages and Special Nutritional Products Using High Performance Liquid Chromatography", *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 62:169-173.
- [339] Zyglis, A., Wasik, A., Kot-Wasik, A. ve Namiesnik, J., (2011). "Determination of nine high-intensity sweeteners in various foods by high-performance liquid chromatography with mass spectrometric detection", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400:2159-2172.
- [340] Zhang, YL., Gao, JS. ve Wang, H., (2011). "Research on High Pressure Liquid Chromatography Method of Benzoic Acid, Sorbic Acid, Saccharin Sodium in Wine", *Proceeding of the Seventh International Symposium on Viticulture and Enology*, 260-267.
- [341] Lino, CM. ve Pena, A., (2010). "Occurrence of caffeine, saccharin, benzoic acid and sorbic acid in soft drinks and nectars in Portugal and subsequent exposure assessment", *Food Chemistry*, 121:503-508.
- [342] Scheurer, M., Brauch, HJ. Ve Lange, FT., (2009). "Analysis and occurrence of seven artificial sweeteners in German waste water and surface water and in soil aquifer treatment (SAT)", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394:1585-1594.

- [343] Wasik, A. ve Ulberth-Buchgraber, M.,(2009). "Analysis of sweeteners in foodstuff", *Agro Food Industry Hi-Tech*, 20:27-30.
- [344] Yang, DJ. ve Chen, B., (2009). "Simultaneous Determination of Nonnutritive Sweeteners in Foods by HPLC/ESI-MS", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57:3022-3027.
- [345] Buchgraber, M. ve Wasik, A., (2009). "Determination of Nine Intense Sweeteners in Foodstuffs by High-Performance Liquid Chromatography and Evaporative Light-Scattering Detection: Interlaboratory Study", *Journal of Aoac International*, 92:208-222.
- [346] Hadad, GM., El-Gindy, A. ve Mahmoud, WMM., (2008). "New validated liquid chromatographic and chemometrics-assisted UV spectroscopic methods for the determination of two multicomponent cough mixtures in syrup", *Journal of Aoac International*, 91:39-51.
- [347] Ujiie, A., Hasebe, H., Chiba, Y. ve Yanagita, N., (2007). "Simultaneous determination of 7 kinds of preservatives and saccharin in foods with HPLC, and identification with LC/MS/MS", *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 48:163-169.
- [348] Wasik, A., McCourt, J. ve Buchgraber, M., (2007). "Simultaneous determination of nine intense sweeteners in foodstuffs by high performance liquid chromatography and evaporative light scattering detection-Development and single-laboratory validation", *Journal of Chromatography A*, 1157:187-196.
- [349] Tripathi, M., Khanna, SK. ve Das, M., (2006). "Usage of saccharin in food products and its intake by the population of Lucknow, India", *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure & Risk Assesment*, 23:1265-1275.
- [350] Demiralay, EC., Ozkan, G. ve Guzel-Seydim, Z., (2006). "Isocratic separation of some food additives by reversed phase liquid chromatography", *Chromatographia*, 63:91-96.
- [351] Koyama, M., Yoshida, K., Uchibori, N., Wada, I., Akiyama, K., Sasaki, T., (2005). "Analysis of nine kinds of sweeteners in foods by LC/MS", *Journal of the Food Hygienic Society of Japan*, 46:72-78.
- [352] Aquino, Francisco Wendel Batista de., Amorim, Adriany G. Nascimento., Prata, Laércio Favilla., Nascimento ve Ronaldo Ferreira do., (2004). "Determination of additives, furanic aldehydes, sugars and caffeine in beverages by high performance liquid chromatographic: validation of methodologies", *Food Science and Technology*, 24:32-38.
- [353] Zou, JH., Chen, WD. ve Shao, JD., (2001). "Simultaneous determination of 8 food additives in fruit juices by reversed phase high performance liquid chromatography", *Chinese Journal Of Analytical Chemistry*, 29:1192-1195.

- [354] Eiff, J., Monakhova, YB. ve Diehl, BWK., (2015). "Multicomponent Analysis of Fat- and Water-Soluble Vitamins and Auxiliary Substances in Multivitamin Preparations by qNMR", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63:3135-3143.
- [355] Stojkovic, M., Mai, TD. ve Hauser, PC., (2013). "Determination of artificial sweeteners by capillary electrophoresis with contactless conductivity detection optimized by hydrodynamic pumping", *Analytica Chimica Acta*, 787:254-259.
- [356] Caliendo, R., Di Profio, G. ve Nicolotti, O., (2013). "Multivariate analysis of quaternary carbamazepine-saccharin mixtures by X-ray diffraction and infrared spectroscopy", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 78-79:269-279.
- [357] Fernandes, VNO., Fernandes, LB., Vasconcellos, JP., Jager, AV., Tonin, FG. ve de Oliveira, MAL., (2013). "Simultaneous analysis of aspartame, cyclamate, saccharin and acesulfame-K by CZE under UV detection", *Analytical Methods*, 5:1524-1532.
- [358] Tosa, N., Moldovan, Z. ve Bratu, I., (2012). "Simultaneous Determination Of Some Artificial Sweeteners In Ternary Formulations By FT-IR And EI-MS", *Processes in Isotopes and Molecules*, 1425:98-101.
- [359] Nakashima, Y., Suzuki, S., Yamazaki, M., Inoue, Y., Fukatsu, Y. ve Yamamoto, A., (2011). "Simultaneous Determination of Ionic and Neutral Preservatives by Inline Dialysis-ion Chromatography Coupled with a Hydrophobic-ion Exchange Mixed Mode Column", *Analytical Science*, 27: 889-892.
- [360] Bergamo, AB., da Silva, JAF. ve de Jesus, DP., (2011). "Simultaneous determination of aspartame, cyclamate, saccharin and acesulfame-K in soft drinks and tabletop sweetener formulations by capillary electrophoresis with capacitively coupled contactless conductivity detection", *Food Chemistry*, 124:1714-1717.
- [361] Alvarez-Romero, GA., Lozada-Ascencio, SM., Rodriguez-Avila, JA., Galan-Vidal, CA. ve Paez-Hernandez, ME., (2010). "Potentiometric quantification of saccharin by using a selective membrane formed by pyrrole electropolymerization", *Food Chemistry*, 120:1250-1254.
- [362] Mendes, CB., Laignier, EP., Brigagao, MRPL., Luccas, PO. ve Tarley, CRT., (2010). "A simple turbidimetric flow injection system for saccharin determination in sweetener products", *Chemical Papers*, 64:285-293.
- [363] Ni, YN., Xiao, WQ. ve Kokot, S., (2009). "A differential kinetic spectrophotometric method for determination of three sulphanilamide artificial sweeteners with the aid of chemometrics", *Food Chemistry*, 113:1339-1345.
- [364] Turak, F., Ozgur, MU. ve Bozdogan, A., (2009). "PLS-UV Spectrophotometric Method for the Simultaneous Determination of Ternary

Mixture of Sweeteners (Aspartame, Acesulfame-K and Saccharin) in Commercial Products”, *Innovations in Chemical Biology*, 305-311.

- [365] Jimenez, JFG., Valencia, MC. ve Capitan-Vallvey, LF., (2009). “Intense Sweetener Mixture Resolution by Flow Injection Method with On-Line Monolithic Element”, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 32:1152-1168.
- [366] Santini, AO., Lemos, SC., Pezza, HR., Carloni-Filho, J. ve Pezza, L., (2008). “Development of a potentiometric sensor for the determination of saccharin in instant tea powders, diet soft drinks and strawberry dietetic jam”, *Microchemical Journal*, 90:124-128.
- [367] Cantarelli, MA., Pellerano, RG., Marchevsky, EJ. ve Camina, JM., (2008). “Simultaneous Determination of Saccharin and Aspartame in Commercial Noncaloric Sweeteners Using the PLS-2 Multivariate Calibration Method and Validation by Capillary Electrophoresis”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56:9345-9349.
- [368] Llamas, NE., Di Nezio, MS., Palomeque, ME. ve Band, BSF., (2008). “Direct Determination of Saccharin and Acesulfame-K in Sweeteners and Fruit Juices Powders”, *Food Analytical Methods*, 1:43-48.
- [369] Assumpcao, MHMT., Medeiros, RA., Madi, A. ve Fatibello, O., (2008). “Development of a Biamperometric Procedure for the Determination of Saccharin in Dietary Products”, *Quimica Nova*, 31:1743-1746.
- [370] Garcia-Jimenez, JF., Valencia, MC. ve Capitan-Vallvey, LF., (2007). “Simultaneous determination of antioxidants, preservatives and sweetener additives in food and cosmetics by flow injection analysis coupled to a monolithic column”, *Analytica Chimica Acta*, 594:226-233.
- [371] Zhang, YZ., Jiao, X., Liu, L., Zhou, YC. ve Zhu, Y., (2007). “Determination of multi-species in gargles by ion chromatography”, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 35:1032-1034.
- [372] de Sousa, RA., Baccan, N., ve Cadore, S., (2006). “Analysis of liquid stevioside and cyclamate-saccharin dietetic sweeteners by inductively coupled plasma optical emission spectrometry without sample treatment”, *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 17:1393-1399.
- [373] Capitan-Vallvey, LF., Valencia, MC., Nicolas, EA., Garcia-Jimenez, JF., (2006). “Resolution of an intense sweetener mixture by use of a flow injection sensor with on-line solid-phase extraction”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 385:385-391.
- [374] Cakar, M., Popovic ve G., (2006). “Determination of saccharin in pharmaceuticals by high performance thin layer chromatography”, *Journal of the Serbian Chemical Society*, 71:669-676.

- [375] Elmosallamy, MAF., Ghoneim, MM., Killa, HMA. ve Saber, AL., (2005). "Potentiometric membrane sensor for determination of saccharin", *Microchimica Acta*, 151:109-113.
- [376] Zhu, Y., Guo, YY., Ye, ML. ve James, FS., (2005). "Separation and simultaneous determination of four artificial sweeteners in food and beverages by ion chromatography", *Journal of Chromatography A*, 1085: 143-146.
- [377] Mail, BD., Rathod, DS. ve Garad, MV., (2005). "Thin-layer chromatographic determination of diazepam, phenobarbitone, and saccharin in toddy samples". *JPC-Journal of Planar Chromatography-Modern TLC*, 18:330-332.
- [378] Los Weinert, P., Pezza, HR., de Oliveira, JE. ve Pezza, L., (2004). "A simplified spectrophotometric method for routine analysis of saccharin in commercial noncaloric sweeteners", *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52:7788-7792.
- [379] Armenta, S., Garrigues, S. ve de la Guardia, M., (2004). "Sweeteners determination in table top formulations using FT-Raman spectrometry and chemometric analysis", *Analytica Chimica Acta*, 521:149-155.
- [380] Song, YZ., Lu, GH., Zhou, X., Yang, YL. ve Chen, H., (2004). "Voltammetric behavior of sodium saccharin in solid solution on glassy carbon electrode and its application", *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, 32:209-212.
- [381] Capitan-Vallvey, LF., Valencia, MC. ve Nicolas, EA., (2004). "Flow-through spectrophotometric sensor for the determination of saccharin in low-calorie products", *Food additives and contaminants*, 21:32-41.
- [382] Carloni, J., Santini, AO., Nasser, ALM; Pezza, HR., de Oliveira, JE., Melios, CB. ve Pezza, L., (2003). "Potentiometric determination of saccharin in commercial artificial sweeteners using a silver electrode, *Food Chemistry*, 83:297-301.
- [383] Chen, QC. ve Wang, J., (2001). "Simultaneous determination of artificial sweeteners, preservatives, caffeine, theobromine and theophylline in food and pharmaceutical preparations by ion chromatography", *Journal of Chromatography A*, 937:57-64.
- [384] Lin, YH., Chou, SS., Sheu, F. ve Shyu, YT., (2000). "Simultaneous determination of sweeteners and preservatives in preserved fruits by micellar electrokinetic capillary chromatography", *Journal of Chromatographic Science*, 38:345-352.
- [385] Nikolelis, DP. ve Pantoulis, S., (2000). "A minisensor for the rapid screening of acesulfame-K, cyclamate, and saccharin based on surface-stabilized bilayer lipid membranes", *Electroanalysis*, 12:786-790.

- [386] Alfaya, RVS., Alfaya, AAS., Gushikem, Y. ve Rath, S., (2000). "Ion selective electrode for potentiometric determination of saccharin using a thin film of silsesquioxane 3-n-propylpyridinium chloride polymer coated-graphite rod", *Analytical letters*, 33:2859-2871.
- [387] Kulikov, AU. ve Verushkin, AG., (2008). "Simultaneous determination of paracetamol, caffeine, guaifenesin and preservatives in syrups by micellar LC", *Chromatographia*, 67(5-6):347-355.
- [388] Ziyen, H. ve Og Z., (2011). "Simultaneous determination of codeine, ephedrine, guaifenesin and chlorpheniramine in beagle dog plasma using high performance liquid chromatography coupled with tandem mass spectrometric detection", *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and life sciences* 879:3937-3942
- [389] El-Gindy , A., Emara, S. ve Mesbah, M., (2006). "New validated methods for the simultaneous determination of two multicomponent mixtures containing guaifenesin in syrup by HPLC and chemometrics-assisted UV-spectroscopy", 39:2699-2723
- [390] Demir C. (2009). II. Kemometri yaz okulu ders notları, İzmir İleri Teknoloji Enstitüsü, Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, İzmir.
- [391] Dinç E., Băleanu D., Ioele G., De Luca M. ve Ragno G., (2008). "Multivariate analysis of paracetamol, propiphenazone, caffeine and thiamine in quaternary mixtures by PCR, PLS and ANN calibrations applied on wavelet transform data", *Journal Pharm Biomed Analytical* 48(5):1471-5.
- [392] Hibbert, B., (2012). "Experimental design in chromatography: a tutorial review", *Journal of Chromatography B*, 910:2-13.
- [393] Araujo P. ve Brereton, R., (1996). "Experimental design I. Screening", *Trends In Analytical Chemistry*, 15:1
- [394] De Spiegeleer, BMJ., Sintobin K. ve Desmet J., (1989). "High performance liquid chromatography stability study of malonyl-coenzyme A, using statistical experimental design", *Biomed Chromatography*, 3(5):213-6.
- [395] Walters, FH., (1992). "The application of a 3-factor central composite experimental-design to the paper chromatographic-separation of several amino-acids", *Analytical Letters* 25(2):353-362.
- [396] Marengo, E., Gennaro, MC. ve Abrigo, C., (1992). "Experimental-design and partial least-squares for optimization of reversed-phase ion-interaction liquid-chromatographic separation of nitrite, nitrate, and phenylenediamine isomers", *Analytical Chemistry*, 64(17):1885-1893.
- [397] Debeer, JO. ve Hoogmartens, J., (1993). "Experimental-design on liquid-chromatographic parameters in the analysis of tetracycline on poly(styrene divinylbenzene)", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 11(11-12):1239-1250.

- [398] Liu, Y., Lopezavila, V., Alcaraz, M. ve Beckert, W., (1993). "Determination of organotin compounds in environmental-samples by supercritical fluid extraction and gas-chromatography with atomic emission detection", *HRC-Journal of High Resolution Chromatography*, 16(2):106-112.
- [399] Altesor, C., Corbi, P., Dol, I. ve Knochen, M., (1993). "Application of experimental-design to the development of a multicomponent derivative spectrophotometric method - simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim", *Analyst* 118(12):1549-1553.
- [400] Weatherell, C.J. ve Lai, E.P.C., (1994). "Factorial experimental-design and principal component analysis of the interaction of animal glues with polymeric and silica-based stationary phases in size-exclusion chromatography", *Journal of Chromatography A*, 669(1-2):31-44.
- [401] Wells, M.J.M., Riemer, D.D. ve Wells-knecht, M.C., (1994). "Development and optimization of a solid-phase extraction scheme for determination of the pesticides metribuzin, atrazine, metolachlor and esfenvalerate in agricultural runoff water", *Journal of Chromatography A*, 659(2):337-348.
- [402] Dachs, J., Alzaga, R., Bayona, J.M. ve Quevauviller, P., (1994). "Development of a supercritical-fluid extraction procedure for tributyltin determination in sediments", *Analytica Chimica ACTA*, 286(3):319-327.
- [403] Altria, K.D. ve Filbey, S.D., (1994). "The application of experimental-design to the robustness testing of a method for the determination of drug-related impurities by capillary electrophoresis", *Chromatographia*, 39(5-6):306-310.
- [404] Debeer, J.O., Vandenbroucke, C.V. ve Massart, D., (1994). "Experimental-design for the rapid selection of separation conditions for methyl and propyl parahydroxybenzoate, phenylephrine hydrochloride and chlorphenamine maleate by ion-pair liquid-chromatography", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 12(11):1379-1396.
- [405] Devanssay, E., Zubrzycki, S., Sternberg, R., Raulin, F., Sergent, M. ve Phantanluu, R., (1994). "Gas-chromatography of titans atmosphere .5. determination of permanent gases in the presence of hydrocarbons and nitriles with a molecular-sieve micropacked column and optimization of the gc parameters using a doehlert experimental-design", *Journal of Chromatography A*, 688(1-2):161-170.
- [406] Hynsjo, L., Granberg, L., Haurum, J., Thiel, S. ve Larson, G., (1995). "Strong calcium-dependent and ph-dependent changes in binding of human surfactant protein-a to neutral glycosphingolipids - a model for studies of protein carbohydrate interactions", *Analytical Biochemistry*, 225(2):305-314.

- [407] Khundker, S., Dean, JR. ve Jones, P., (1995). "A comparison between solid phase extraction and supercritical fluid extraction for the determination of fluconazole from animal feed", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 13(12):1441-1447.
- [408] Vanderheyden, Y., Luypaert, K., Hartmann, C., Massart, DL., Hoogmartens, J. ve Debeer, J., (1995). "Ruggedness tests on the high-performance liquid-chromatography assay of the united-states-pharmacopeia-xxii for tetracycline hydrochloride - a comparison of experimental-designs and statistical interpretations", *Analytica Chimica ACTA*, 312(3):245-262.
- [409] Rouberty, F. ve Fournier, J., (1995). "Modeling of gc and hplc separations of simazin and atrazin by experimental-design methodology", *Chromatographia*, 41(9-10):553-560.
- [410] Hewavitharana, AK., (1996). "Method for the extraction of riboflavin for high-performance liquid chromatography and application to casein", *Analyst*, (121)11:1671-1676.
- [411] Marengo, E., Gennaro, MC. ve Abrigo, C., (1996). "Investigation by experimental design and regression models of the effect of five experimental factors on ion-interaction high-performance liquid chromatographic retention", *Analytica Chimica ACTA*, 321(2-3):225-236.
- [412] Osborne, LM. ve Miyakawa, TW., (1997). "Use of experimental design in the optimization of hplc methodology for the separation of stereoisomers", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 20(4):501-509.
- [413] Harrington, CF., Roberts, DJ. ve Nickless, G., (1997). "Optimization of a reversed-phase high performance liquid chromatography separation using an ion-pair reagent for the determination of carboxylic acids in plant materials", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 20(11):1773-1787.
- [414] Dahllof, I., Svensson, O. ve Torstensson, C., (1997). "Optimising the determination of nitrate and phosphate in sea water with ion chromatography using experimental design", *Journal of Chromatography A*, 771(1-2):163-168.
- [415] Notar, M. ve Leskovsek, H., (1997). "Optimisation of supercritical fluid extraction of polynuclear aromatic hydrocarbons from spiked soil and marine sediment standard reference material", *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 358(5):623-629.
- [416] Duarte, MMB., Neto, GDO., Kubota, LT., Filho, JLL., Pimentel, MF., Lima, F., Lins, V., (1997). "Application of factorial design to improve a FIA system for penicillin determination", *Analytica Chimica ACTA*, 350(3):353-357.
- [417] Nsengiyumva, C., DeBeer, JO., VandeWauw, W., Vlietinck, AJ., Parmentier, F., (1997). "An experimental design approach to selecting the optimum liquid chromatographic conditions for the determination of

vitamins B-1, B-2-phosphate, B-3, B-6 and C in effervescent tablets containing saccharin and sunset yellow FCF”, *Chromatographia*, 44:634-644

- [418] Saim, N., Dean, JR., Abdullah, MP. ve Zakaria, Z., (1998). “An experimental design approach for the determination of polycyclic aromatic hydrocarbons from highly contaminated soil using accelerated solvent extraction”, *Analytical Chemistry*, 70(2):420-424.
- [419] Reguera, C., Arcos, MJ. ve Ortiz, MC., (1998). “An optimization procedure for determination of indomethacin and acemethacin by differential pulse adsorptive stripping voltammetry. Application on urine samples”, *Talanta*, 46(6):1493-1505.
- [420] Fournier, JB., El Hourch, M., Taglioni, JP. ve Fournier, J., (1998). “Application of experimental design to the determination of pesticides in water by GC-MS”, *Analisis*, 26(8):M44-M52.
- [421] Morales, ML., Gonzalez, AG. ve Troncoso, AM., (1998). “Ion-exclusion chromatographic determination of organic acids in vinegars”, *Journal of Chromatography A*, 822(1):45-51.
- [422] Furlanetto, S., Tognini, C., Carpenedo, R., La Porta, E. ve Pinzauti, S., (1998). “Set-up and validation of an adsorptive stripping voltammetric method for kynurenic acid determination in human urine”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18(1-2):67-73.
- [423] Santos, FJ., Jauregui, O., Pinto, FJ. ve Galceran, MT., (1998). “Experimental design approach for the optimization of supercritical fluid extraction of chlorophenols from polluted soils”, *Journal of Chromatography A*, 823(1-2):249-258.
- [424] Marengo, E., Gennaro, MC. ve Angelino, S., (1998). “Neural network and experimental design to investigate the effect of five factors in ion-interaction high-performance liquid chromatography”, *Journal of Chromatography A*, 799(1-2):47-55.
- [425] Boucharat, C., Desauziers, V. ve Le Cloirec, P., (1998). “Experimental design for the study of two derivatization procedures for simultaneous GC analysis of acidic herbicides and water chlorination by-products”, *Talanta*, 47(2):311-323.
- [426] Appelblad, P., Jonsson, T., Backstrom, T. ve Irgum, K., (1998). “Determination of C-21 ketosteroids in serum using trifluoromethanesulfonic acid catalyzed precolumn dansylation and 1,1'-oxalyldiimidazole postcolumn peroxyoxalate chemiluminescence detection”, *Analytical Chemistry*, 70(23):5002-5009.
- [427] Reubsæet, KJ., Norli, HR., Hemmersbach, P. ve Rasmussen, KE., (1998). “Determination of benzodiazepines in human urine and plasma with solvent modified solid phase micro extraction and gas chromatography; rationalisation of method development

- using experimental design strategies”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18(4-5):667-680.
- [428] Vannecke, C., Bare, S., Bloomfield, M. ve Massart, DL., (1999). “An experimental design approach to the optimisation of a flow injection analysis method for glycine”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18(6):963-973.
 - [429] Salafranca, J., Cacho, J. ve Nerin, C., (1999). “Supercritical fluid extraction (SFE) optimization by full-factorial design for the determination of Irganox 1076, Irgafos 168, and Chimassorb 81 in virgin and recycled polyolefins”, *HRC-Journal of High Resolution Chromatography*, 22(10):553-558.
 - [430] Bloomfield, MS., (1999). “The spectrophotometric determination of hydroperoxide and peroxide in a lipid pharmaceutical product by flow injection analysis”, *Analyst*, 124(12):1865-1871.
 - [431] Carro, AM., Cobas, JC., Rodriguez, JB., Lorenzo, RA. ve Cela, R., (1999). “Application of chemometric techniques to the optimization of the solid-phase extraction of 27 pesticides before GC-MIP-AES analysis”, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14(12):1867-1873.
 - [432] Pokorna, L., Revilia, A., Havel, J. ve Patocka, J., (1999). “Capillary zone electrophoresis determination of galanthamine in biological fluids and pharmaceutical preparatives: Experimental design and artificial neural network optimization”, *Electrophoresis*, 20(10):1993-1997.
 - [433] Varesio, E., Gauvrit, JY., Longeray, R., Lanteri, P. ve Veuthey, JL., (1991). “Optimization of fast CE analyses of ecstasy derivatives by use of experimental designs”, *Chromatographia*, 50(3-49):195-201.
 - [434] Zuloaga, O., Etxebarria, N., Fernandez, LA. ve Madariaga, JM., (1999). “Optimisation and comparison of microwave-assisted extraction and Soxhlet extraction for the determination of polychlorinated biphenyls in soil samples using an experimental design approach”, *Talanta*, 50(2):345-357.
 - [435] Stalikas, CD. ve Pilidis, GA., (1999). “Development of a method for the simultaneous determination of phosphoric and amino acid group containing pesticides by gas chromatography with mass-selective detection - Optimization of the derivatization procedure using an experimental design approach”, *Journal of Chromatography A*, 872(1-2):215-225.
 - [436] Furlanetto, S., Tognini, C., Carpenedo, R., La Porta, E. ve Pinzauti, S., (1998). “Set-up and validation of an adsorptive stripping voltammetric method for kynurenic acid determination in human urine”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 18(1-2):67-73.
 - [437] Toasaksiri, S., Massart, DL. ve Vander Heyden, Y., (2000). “Study of method validation criteria in a capillary electrophoresis method for the separation of non-steroidal anti-inflammatory drugs”, *Analytica Chimica ACTA*, 416(1):29-42.

- [438] Sanz-Asensio, J., Martinez-Soria, MT., Plaza-Medina, M. ve Perez-Clavijo, M., (2000). "Trimethyltin chloride determination by hydride generation - gas phase molecular absorption spectrometry - A sequential application of experimental designs", *Analytica Chimica ACTA*, 409(1-2):171-180.
- [439] Ragonese, R., Macka, M., Hughes, J., ve Petocz, P., (2002). "The use of the Box-Behnken experimental design in the optimisation and robustness testing of a capillary electrophoresis method for the analysis of ethambutol hydrochloride in a pharmaceutical formulation", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 27(6):995-1007.
- [440] Motamed, B., Bohm, JL., Hennequin, D., Texier, H., Mosrati, R. ve Barillier, D., (2000). "Development of an HPLC method for the determination of phenolic by-products: optimisation of the separation by means of the experimental designs methodology", *Analisis*, 28(7):592-599.
- [441] Cagigal, E., Gonzalez, L., Alonso, RM., Jimenez, RM., (2000). "Experimental design methodologies to optimise the spectrofluorimetric determination of Losartan and Valsartan in human urine", *Talanta*, 54(6):1121-1133.
- [442] Mirza, T. ve Tan, HSI., (2001). "Determination of captopril in pharmaceutical tablets by anion-exchange HPLC using indirect photometric detection; a study in systematic method development", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25:139-52.
- [443] Chepkwony, HK., Roets, E. ve Hoogmartens, J., (2001). "Liquid chromatography of troleandomycin", *Journal of Chromatography*, 914(1-2):53-58.
- [444] Careri, M., Elviri, L. ve Mangia, A., (2001). "Validation of a high-performance liquid chromatographic method for determination of isoflavonoids in soybeans. Study of the extraction procedure by experimental design", *Chromatographia*, 54(1-2):45-50.
- [445] Arambarri, I., Garcia, R. ve Millan, E., (2001). "Application of experimental design in a method for screening sediments for globaldetermination of organic tin by electrothermal atomic absorption spectrometry (ETAAS)", *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*, 371(7):955-960.
- [446] Harang, V., Karlsson, A. ve Josefson, M., (2001). "Liquid chromatography method development and optimization by statistical experimental design and chromatogram simulations", *Chromatographia*, 54(11-12):703-709.
- [447] Palma, M. ve Barroso, CG., (2002). "Ultrasound-assisted extraction and determination of tartaric and malic acids from grapes and winemaking by-products", *Analytica Chimica ACTA*, 458(1):119-130.
- [448] Berzas, JJ., Rodriguez, J., Villasenor, MJ., Contento, AM. ve Cabello, MP., (2002). "Validation of a capillary gas chromatographic method for

the determination of sildenafil citrate in its pharmaceutical formulations (Viagra). Experimental design for evaluating the ruggedness of the method”, *Chromatographia*, 55(9-10):601-606.

- [449] Dron, J., Garcia, R. ve Millan, E., (2002). “Optimization of headspace solid-phase microextraction by means of an experimental design for the determination of methyl tert.-butyl ether in water by gas chromatography-flame ionization detection”, *Journal of Chromatography A*, 963(1-2):259-264.
- [450] Hillaert S., Vander Heyden Y. ve Van den Bossche W., (2002). “Optimisation by experimental design of a capillary electrophoretic method for the separation of several inhibitors of angiotensin-converting enzyme using alkylsulphonates”, *Journal of Chromatography A*, 978(1-2): 231-242.
- [451] Hillaert, S. ve Van den Bossche, W, (2002). “Optimization and validation of a capillary zone electrophoretic method for the analysis of several angiotensin-II-receptor antagonists”, *Journal of Chromatography A*, 979, (1-2):323-333.
- [452] Romero, R., Jonsson, JA., Gazquez, D., Bagur, MG., Sanchez-Vinas, M., (2002). “Multivariate optimization of supported liquid membrane extraction of biogenic amines from wine samples prior to liquid chromatography determination as dabsyl derivatives”, *Journal of Separation Science* , 25(9):584-592.
- [453] Liu, HT., Wang, KT., Xu, HP., Chen, XG. ve Hu, ZD., (2002). “Application of experimental design and artificial neural networks to separation and determination of active components in traditional Chinese medicinal preparations by capillary electrophoresis”, *Chromatographia*, 55(9-10):579-583.
- [454] Ragonese, R., Macka, M., Hughes, J. ve Petocz, P., (2002). “The use of the Box-Behnken experimental design in the optimisation and robustness testing of a capillary electrophoresis method for the analysis of ethambutol hydrochloride in a pharmaceutical formulation”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 27(6):995-1007.
- [455] Roy, S., Riga, AT. ve Alexander, KS., (2002). “Experimental design aids the development of a differential scanning calorimetry standard test procedure for pharmaceuticals”, *Thermochimica ACTA*, 392:(SI)399-404.
- [456] Furlanetto, S., Orlandini, S., Aldini, G., Gotti, R., Dreassi, E. ve Pinzauti, S., (2000). “Designing experiments to optimise and validate the adsorptive stripping voltammetric determination of nimesulide”, *Analytica Chimica ACTA*, 413(1-2):229-239.
- [457] Salafranca, J., Domeno, C., Fernandez, C. ve Nerin, C., (2000). “Experimental design applied to the determination of several contaminants in Duero River by solid-phase microextraction”, *Analytica Chimica ACTA* , 477(2):257-267.

- [458] Smadja, C., Le Potier, I., Chaminade, P., Jacquot, C., Trouvin, JH. ve Taverna, M., (2003). "Comparison of on-line preconcentration methods for determination of derivatized serotonin by CE-LIF", *Chromatographia*, 58(1-2):79-85.
- [459] Waters, RB. ve Dovletoglou, A., (2003). "Evaluating HPLC assay robustness with experimental design", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 26(18):2975-2985.
- [460] Calabro, ML., Galtieri, V., Cutroneo, P., Tommasini, S., Ficarra, P. ve Ficarra, R., (2004). "Study of the extraction procedure by experimental design and validation of a LC method for determination of flavonoids in Citrus bergamia juice", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 35(2):349-363.
- [461] Medenica, M., Jancic, B., Ivanovic, D. ve Malenovic, A., (2004). "Experimental design in reversed-phase high-performance liquid chromatographic analysis of imatinib mesylate and its impurity", *Journal of Chromatography A*, 1031(1-2):243-248.
- [462] Saurina, J., Hlabangana, L., Garcia-Milla, D. ve Hernandez-Cassou, S., (2004). "Flow-injection determination of amine contaminants in cyclamate samples based on temperature for controlling selectivity", *Analyst*, 129(5):468-474.
- [463] Criado, MR., da Torre, SP., Pereiro, IR. ve Torrijos, RC., (2004). "Optimization of a microwave-assisted derivatization-extraction procedure for the determination of chlorophenols in ash samples", *Journal of Chromatography A*, 1024(1-2):155-163.
- [464] Flores, JR., Nevado, JJB., Salcedo, AMC. ve Diaz, MRC., (2004). "Development and validation method for determination of Paroxetine and its metabolites by nonaqueous capillary electrophoresis in human urine. Experimental design for evaluating the ruggedness of the method", *Electrophoresis*, 25(3):454-462.
- [465] Berzas, JJ., Guiberteau, C., Villasenor, MJ. ve Rodriguez, V., (2004). "Development of a capillary gas chromatographic procedure", *Analytica Chimica ACTA*, 519(2):219-230.
- [466] Moreno, CL., Rudner, PC., Garcia, JMC. ve Pavon, JMC., (2004). "Development of a sequential injection analysis device for the determination of total polyphenol index in wine", *Microchimica ACTA*, 148(1-2):93-98.
- [467] Hilaert, S., Snoeck, L. ve Van den Bossche, W., (2004). "Optimization and validation of a capillary zone electrophoretic method for the simultaneous analysis of four atypical antipsychotics", *Journal of Chromatography A*, 1033(2):357-362.
- [468] Li, WY., Nadig, D., Rasmussen, HT., Patel, K. ve Shah, T., (2005). "Sample preparation optimization for assay of active pharmaceutical ingredients in a

transdermal drug delivery system using experimental designs”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 37(3):493-498.

- [469] Araujo, AAS., Cides, LCS., Storpirtis, S., Matos, JR. ve Bruns, RE., (2005). “Effects of experimental conditions on the estimation of kinetic parameters of the thermal decomposition of AZT using factorial design”, *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 79(3):697-701.
- [470] Nevado, JJB., Cabanillas, CG., Llerena, MJV. ve Robledo, VR., (2005). “Enantiomeric determination, validation and robustness studies of racemic citalopram in pharmaceutical formulations by capillary electrophoresis”, *Journal of Chromatography A*, 1072(2):249-257.
- [471] Ahlström, L-H., Eskilsson, C. S. ve Björklund, E., (2005). “Determination of banned azo dyes in consumer goods”, *Trends in Analytical Chemistry*, 24(1):49-56.
- [472] Padilla, A., Palma, M. ve Barroso, CG., (2005). “Determination of phenolics in cosmetic creams and similar emulsions”, *Journal of Chromatography A*, 1091(1-2):83-88.
- [473] Baranda, AB., Etexbarria, N., Jimenez, RM., Alonso, RM., (2005). “Development of a liquid-liquid extraction procedure for five 1,4-dihydropyridines calcium channel antagonists from human plasma using experimental design”, *Talanta*, 67(5):933-941.
- [474] De Aragdo, NM., Veloso, MCC., Bispo, MS., Ferreira, SLC. ve de Andrade, JB., (2005). “Multivariate optimisation of the experimental conditions for determination of three methylxanthines by reversed-phase high-performance liquid chromatography”, *Talanta*, 67(5):1007-1013.
- [475] McCourt, J., Stroka, J. ve Anklam, E., (2005). “Experimental design-based development and single laboratory validation of a capillary zone electrophoresis method for the determination of the artificial sweetener sucralose in food matrices”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 382(5):1269-1278.
- [476] Ben Hamed, A, Elost, S, Havel, J, (2005). “Optimization of the capillary zone electrophoresis method for Huperzine A determination using experimental design and artificial neural Networks”, *Journal of Chromatography A*, 1084(1-2):7-12.
- [477] Spanila, M., Pazourek, J., Farkova, M. ve Havel, J., (2005). “Optimization of solid-phase extraction using artificial neural networks in combination with experimental design for determination of resveratrol by capillary zone electrophoresis in wines”, *Journal of Chromatography A*, 1084(1-2):180-185.
- [478] Novotna, K., Havlis, J. ve Havel, J., (2005). “Optimisation of high performance liquid chromatography separation of neuroprotective peptides - Fractional experimental designs combined with artificial neural networks”, *Journal of Chromatography A*, 1096(1-2):50-57.

- [479] Mamani, MCV., Farfan, JA., Reyes, FGR. ve Rath, S., (2006). "Simultaneous determination of tetracyclines in pharmaceuticals by CZE using experimental design", *Talanta*, 70(2):236-243.
- [480] Araujo, P., Couillard, F., Leirnes, E., Ask, K., Bokevoll, A. ve Froyland, L., (2006). "Experimental design considerations in quantification experiments by using the internal standard technique: Cholesterol determination by gas chromatography as a case study", *Journal of Chromatography A*, 1121(1):99-105.
- [481] Cardenes, L., Martin-Calero, A., Ayala, JH., Gonzalez, V. ve Afonso, AM., (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.
- [482] Meier, S., Mjos, SA., Joensen, H. ve Grahl-Nielsen, O., (2006). "Validation of a one-step extraction/methylation method for determination of fatty acids and cholesterol in marine tissues", *Journal of Chromatography A*, 1104(1-2):291-298.
- [483] Barro, R., Garcia-Jares, C., Llompart, M., Bollain, MH. ve Cela, R., (2006). "Rapid and sensitive determination of pyrethroids indoors using active sampling followed by ultrasound-assisted solvent extraction and gas chromatography", *Journal of Chromatography A*, 1111(1):1-10.
- [484] Capella-Peiro, ME., (2006). "Optimization by factorial design of a capillary zone electrophoresis method for the simultaneous separation of antihistamines", *Analytical Biochemistry*, 352(1): 41-49.
- [485] Srinubabu, G., Jaganbabu, K., Sudharani, B., Venugopal, K., Girizasankar, G. ve Rao, JVLNS., (2006). "Development and validation of a LC method for the determination of pramipexole using an experimental design", *Chromatographia*, 64(1-2):95-100.
- [486] Armenta, S., Garrigues, S., de la Guardia, M., (2006). *Analytica Chimica ACTA*, 571(2):288-297. Bossu, CM, Ferreira, EC, Chaves, FS, Menezes, EA, Nogueira, ARA, *Microchemical Journal* 84(1-2):88-92.
- [487] Bossu, CM., Ferreira, EC., Chaves, FS., Menezes, EA. ve Nogueira, ARA., (2006). "Flow injection system for hydrolysable tannin determination", *Microchemical Journal* 84(1-2):88-92.
- [488] Iriarte, G, Ferreiros, N, Ibarrondo, I, Alonso, RM, Maguregi, MI, Gonzalez, L, Jimenez, RM, (2006). "Optimization via experimental design of an SPE-HPLC-UV-fluorescence method for the determination of valsartan and its metabolite in human plasma samples", *Journal of Separation Science*, 29(15):2265-2283.
- [489] Hlabangana, L., Hernandez-Cassou, S. ve Saurina, J., (2006). "Determination of biogenic amines in wines by ion-pair liquid chromatography and post-column derivatization with 1,2-naphthoquinone-4-sulphonate", *Journal of Chromatography A*, 1130(1):130-136.

- [490] Pospichal, R., Nesmerak, K., Rychlovsky, P., Nemcova, I. , (2007). "Determination of chondroitin sulfate by thiazine dyes using flow injection analysis with spectrophotometric detection", *Analytical Letters*, 40(6):1167-1175.
- [491] Idris, AM., Assubaie, FN., Sultan, SM., (2007). "Experimental design optimization of a sequential injection method for promazine assay in bulk and pharmaceutical formulations", *Journal of Automated Methods & Management in Chemistry*, 32470.
- [492] Alnajjar, A., AbuSeada, HH., Idris, AM., (2007) . "Capillary electrophoresis for the determination of norfloxacin and tinidazole in pharmaceuticals with multi-response optimization", *Talanta*, 7(2):842-846.
- [493] Diez, R., Sarabia, L. ve Ortiz, M. C., (2007). "Optimization of analytical conditions and validation of a fluorescence method for the determination of sulfadiazine in milk", *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 388(4):957-968.
- [494] Regueiro, J., Llompart, M., Psillakis, E., Garcia-Monteagudo, JC. ve Garcia-Jares, C., (2009). "Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of phenolic preservatives in water", *Talanta*, 79(5):1387-1397.
- [495] Savic, I., Nikolic, G., Bankovic, V., (2008). "Development and validation of spectrophotometric method for phenylephrine hydrochloride estimation in nasal drops formulations", *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 27(2):149-156.
- [496] Nemutlu, E., Celebier, M., Uyar, B. ve Altinoz, S., (2007). "Validation of a rapid micellar electrokinetic capillary chromatographic method for the simultaneous determination of isoniazid and pyridoxine hydrochloride in pharmaceutical formulation", *Journal of chromatography B-Analytical Technologies In The Biomedical And Life Sciences*, 854(1-2):35-42.
- [497] Dincel, A. ve Basci, N.E., (2007) . "An experimental design approach to selecting the optimum LC conditions for the determination of local anaesthetics", *Chromatographia* 66(S):S81-S85.
- [498] Liu, XM., Liu, LH., Chen, HL., Chen, XG. (2007). "Separation and determination of four active components in medicinal preparations by flow injection-capillary electrophoresis", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(5):1700-1705.
- [499] Polo, M., Garcia-Jares, C., Llompart, M. ve Cela, R.,(2007). "Optimization of a sensitive method for the determination of nitro musk fragrances in waters by solid-phase microextraction and gas chromatography with micro electron capture detection using factorial experimental design", *Analytical And Bioanalytical Chemistry*, 388(8):1789-1798.
- [500] Antelo, A., Lasa, M. ve Millan, E., (2007). "Use of Experimental Design to Develop a Method for Analysis of 1,3-Dichloropropene Isomers in Water by HS-SPME and GC-ECD", 66(7):555-563.

- [501] Alnajjar, A., AbuSeada, HH., Idris, AM., (2007). "Capillary electrophoresis for the determination of norfloxacin and tinidazole in pharmaceuticals with multi-response optimization", *Talanta*, 7(2):842-846.
- [502] Zuazagoitia, D., Millan, E., Garcia, R., (2007). "A screening method for polycyclic aromatic hydrocarbons determination in water by headspace SPME with GC-FID", *Chromatographia*, 66(9-10):773-777.
- [503] Maia, PP., Amaya-Farfan, J., Rath, S. ve Reyes, FGR., (2007). "Simultaneous determination of streptomycin and oxytetracycline in agricultural antimicrobials by CZE after an experimental design", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 43(2):450-456.
- [504] Ostra, M., Ubide, C. ve Zuriarrain, J., (2007). "Interference modelling, experimental design and pre-concentration steps in validation of the Fenton's reagent for pesticides determination", *Analytica Chimica ACTA*, 584(1):228-235.
- [505] Lu, CC., Jong, YJ., Ferrance, J., Ko, WK. ve Wu, SM., (2007). "On-line sample stacking and short-end injection CE for the determination of fluoxetine and norfluoxetine in plasma: Method development and validation using experimental designs", *Electrophoresis*, 28(18):3290-3295.
- [506] Yu, ZR., Peldszus, S. ve Huck, PM., (2007). "Optimizing gas chromatographic-mass spectrometric analysis of selected pharmaceuticals and endocrine-disrupting substances in water using factorial experimental design", *Journal of Chromatography A*, 1148(1):65-77.
- [507] Paim, CS., Goncalves, H., Lange, A., Miron, D ve Steppe, M., (2008). "Method for quantitative determination of entacapone in tablets using experimental design of Plackett-Burman for robustness evaluation and comparison with HPLC", *Analytical Letters*, 41(4):571-581
- [508] Petkovska, R., Cornett, C. ve Dimitrovska, A., (2008). "Development and validation of rapid resolution RP-HPLC method for simultaneousdetermination of atorvastatin and related compounds by use of chemometrics", *Analytical Letters*, 41(6):992-1009.
- [509] Rodriguez, E., Villoslada, FN., Moreno-Bondi, MC. ve Marazuela, MD., (2010). "Optimization of a pressurized liquid extraction method by experimental designmethodologies for the determination of fluoroquinolone residues in infant foods by liquid chromatography", *Journal of Chromatography A*, 1217(5):605-613.
- [510] Brum, DM., Cassella, RJ. ve Netto, ADP., (2008). "Multivariate optimization of a liquid-liquid extraction of the EPA-PAHs from natural contaminated waters prior to determination by liquid chromatography with fluorescence detection", *Talanta*, 74(5): 1392-1399.
- [511] Gaujac, A., Emidio, ES., Navickiene, S., Ferreira, SLC. ve Dorea, HS., (2008). "Multivariate optimization of a solid phase microextraction-

headspace procedure for the determination of benzene, toluene, ethylbenzene and xylenes in effluent samples from a waste treatment plant”, *Journal of Chromatography A*, 1203, (1):99-104.

- [512] Prieto, A., Zuloaga, O., Usobiaga, A., Etxebarria, N., Fernandez, LA., (2008). “Use of experimental design in the optimisation of stir bar sorptive extraction followed by thermal desorption for the determination of brominated flame retardants in water samples”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 390(2):739-748.
- [513] Popovic, I., Ivanovic, D., Medenica, M., Malenovic, A., Jancic-Stojanovic, B., (2008). “LC determination of lercanidipine and its impurities using DryLab software and experimental design procedures”, *Chromatographia*, 67(5-6):449-454.
- [514] Xia, J., Xiang, BR. ve Zhang, W., (2008). “Determination of metacrate in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and HPLC with the aid of response surface methodology and experimental design”, *Analytica Chimica ACTA*, 625(1):28-34.
- [515] Mamani, MCV., Amaya-Farfan, J., Reyes, FGR., da Silva, JAF., Rath, S., (2008). “Use of experimental design and effective mobility calculations to develop a method for the determination of antimicrobials by capillary electrophoresis”, *Talanta*, 76(5):1006-1014.
- [516] Tappin, MRR., Nakamura, MJ., Siani, AC. ve Lucchetti, L., (2008). “Development of an HPLC method for the determination of tetranortriterpenoids in *Carapa guianensis* seed oil by experimental design”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 48(4):1090-1095.
- [517] Song, JZ., Qiao, CF., Li, SL., Han, QB. ve Xu, HX., (2008). “Purity determination of yunaconitine reference standard using HPLC with experimental design and response surface optimization”, *Journal of Separation Science*, 31(22):3809-3816.
- [518] Zivanovic, L., Licanski, A., Zecevic, M., Jovic, B. ve Kostic, M., (2008). “Application of experimental design in optimization of solid phase extraction of mycophenolic acid and mycophenolic acid glucuronide from human urine and plasma and SPE-RP-HPLC method validation”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47(3):575-585.
- [519] Drover, VJ. ve Bottaro, CS., (2008). “Determination of pharmaceuticals in drinking water by CD-modified MEKC: Separation optimization using experimental design”, *Journal of Separation Science*, 31(21):3740-3748.
- [520] Vucicevic, K., Popovic, G., Nikolic, K., Vovk, I. ve Agbaba, D., (2009). “An Experimental Design Approach to Selecting the Optimum HPLC Conditions for the Determination of 2-Arylimidazole Derivatives”, *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 32:5656-667.

- [521] Asci, B., Donmez, OA., Bozdogan, A. ve Sungur, S., (2009). "Determination of Ibuprofen, Pseudoephedrine HCl, Chlorpheniramine Maleate and Nipagen by Liquid Chromatography and Fractional Factorial Design", *Innovations in Chemical Biology*, 285-290.
- [522] Calderon-Preciado, D., Jimenez-Cartagena, C., Penuela, G. ve Bayona, JM., (2009). "Development of an analytical procedure for the determination of emerging and priority organic pollutants in leafy vegetables by pressurized solvent extraction followed by GC-MSdetermination", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394(5):1319-1327.
- [523] Talebpour, Z., Ghassempour, A., Abbaci, M. ve Aboul-Enein, HY., (2009). "Optimization of Microwave-Assisted Extraction for the Determination of Glycyrrhizin in Menthazin Herbal Drug by Experimental Design Methodology", *Chromatographia*, 70(1-2):191-197.
- [524] Hadjmohammadi, MR., Nazari, S. ve Kamel, K., (2009). "Determination of Flavonoid Markers in Honey with SPE and LC using Experimental Design", *Chromatographia*, 69(11-12):1291-1297.
- [525] Liu, HT., Wen, Y ., Luan, F. ve Gao, Y., (2009). "Application of experimental design and radial basis function neural network to the separation and determination of active components in traditional Chinese medicines by capillary electrophoresis", *Analytica Chimica ACTA*, 638(1):88-93.
- [526] Ozcan, S., Tor, A. ve Aydin, ME., (2009). "Determination of selected polychlorinated biphenyls in water samples by ultrasound-assisted emulsification-microextraction and gas chromatography-mass-selective detection", *Analytica Chimica ACTA*, 647(2):182-188.
- [527] Regueiro, J., Llompart, M., Psillakis, E., Garcia-Monteagudo, JC. ve Garcia-Jares, C., (2009). "Ultrasound-assisted emulsification-microextraction of phenolic preservatives in water", *Talanta*, 79(5):1387-1397.
- [528] Dzodic, P., Zivanovic, L., Protic, A., Zecevic, M. ve Jovic, B., (2009). "Chemometrically Assisted Development and Validation of LC for SimultaneousDetermination of Carbamazepine and Its Impurities Iminostilbene and Iminodibenzyl in Solid Dosage Form", *Chromatographia*, 70(9-10):1343-1351.
- [529] Barmpalexis, P., Kanaze, FI. ve Georgarakis, E., (2009). "Developing and optimizing a validated isocratic reversed-phase high-performance liquid chromatography separation of nimodipine and impurities in tablets using experimental design methodology", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 49(5):1192-1202.
- [530] Zivanovic, L., Protic, A., Zecevic, M., Jovic, B. ve Kostic, M, (2009). "Chemometrically Assisted Development and Validation of LC for SimultaneousDetermination of Carbamazepine and Its Impurities

Iminostilbene and Iminodibenzyl in Solid Dosage Form”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 50(4):640-648.

- [531] Ahmadi, S., Ghassempour, A., Fakhari, AR., Jalali-Heravi, M. ve Aboul-Enein, HY., (2010). “Optimization of Tribenuron-methyl determination by differential pulse polarography using experimental design”, *Analytical Methods*, 2(1):41-48.
- [532] Rodriguez, E., Villoslada, FN., Moreno-Bondi, MC. ve Marazuela, MD., (2010). “Optimization of a pressurized liquid extraction method by experimental design methodologies for the determination of fluoroquinolone residues in infant foods by liquid chromatography”, *Journal of Chromatography A*, 1217(5):605-613
- [533] Lamas, JP., Sanchez-Prado, L., Garcia-Jares, C. ve Llompart, M., (2010). “Determination of fragrance allergens in indoor air by active sampling followed by ultrasound-assisted solvent extraction and gas chromatography-mass spectrometry”, *Journal of Chromatography A*, 1217(12):1882-1890.
- [534] Andrade-Eiroa, A., Dievart, P. ve Dagaut, P., (2010). “Improved optimization of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) mixtures resolution in reversed-phase high-performance liquid chromatography by using factorial design and response surface methodology”, *Talanta*, 81(1-2):265-274.
- [535] Hadjmohammadi, MR., Saman, S. ve Nazari, SJ., (2010). “Separation optimization of quercetin, hesperetin and chrysin in honey by micellar liquid chromatography and experimental design”, *Journal of Separation Science*, 33(20):3144-3151.
- [536] Ferrarini, A., Huidobro, AL., Pellati, F. ve Barbas, C., (2010). “Development and validation of a HPLC method for the determination of sertraline and three non-chiral related impurities”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53(2):122-129.
- [537] Jofre, VP., Assof, MV., Fanzone, ML., Goicoechea, HC., Martinez, LD. ve Silva, MF., (2010). “Optimization of ultrasound assisted-emulsification-dispersive liquid-liquid microextraction by experimental design methodologies for the determination of sulfur compounds in wines by gas chromatography-mass spectrometry”, *Analytica Chimica ACTA*, 683(1):126-135.
- [538] Ozcan, S., Tor, A. ve Aydin, ME., (2010). “Determination of polycyclic aromatic hydrocarbons in waters by ultrasound-assisted emulsification-microextraction and gas chromatography mass spectrometry”, *Analytica Chimica ACTA*, 665(2):193-199.
- [539] Fernandez, C., Larrechi, MS., Forteza, R., Cerda, V. ve Callao, MP., (2010). “Multisyringe chromatography (MSC) using a monolithic column for the determination of sulphonated azo dyes”, *Talanta*, 82(1):137-142.

- [540] Jansen, MA., Kiwata, J., Arceo, J., Faull, KF., Hanrahan, G. ve Porter, E., (2010). "Evolving neural network optimization of cholesteryl ester separation by reversed-phase HPLC", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 397(6):2367-2374.
- [541] Gorji, S. ve Bahram, M., (2010). "Experimental design for the study and optimization of the effect of different surfactants on the spectrophotometric determination of sulfide based on phenothiazine dye production", *Analytical Methods*, 2(7) :948-953.
- [542] Semreen, MH. ve Aboul-Enein, HY., (2010). "Experimental design strategies in lc method development and in robustness testing for reversible cholinesterase inhibitor rivastigmine in pharmaceutical formulation", *Journal of Liquid chromatography & Related Technologies*, 33(2):191-201.
- [543] Iuliani, P., Carlucci, G. ve Marrone, A., (2010). "Investigation of the HPLC response of NSAIDs by fractional experimental design and multivariate regression analysis. Response optimization and new retention parameters", *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 51(1):46-55.
- [544] Asci, B., Donmez, OA., Bozdogan, A. ve Sungur, S., (2010). "Experimental design of reversed-phase high performance liquid chromatographic conditions for simultaneous determination of ibuprofen, pseudoephedrine hydrochloride, chlorpheniramine maleate, and nipagen", *Journal of Analytical Chemistry*, 65(7):743-748.
- [545] Wen, Y., Liu, H., Tian, L., Han, P.ve Luan, F., (2010). "Analysis of Alkaloids in Pharmaceutical Preparations Containing Kushen by Capillary Electrophoresis with Application of Experimental Design and a Quantitative Structure-Property Relationship Approach", *ACTA Chromatographica*, 22(3):445-457.
- [546] Sangoi, MD., Wrasse-Sangoi, M., de Oliveira, PR., Todeschini, V. ve Rolim, CMB., (2011). "Rapid simultaneous determination of aliskiren and hydrochlorothiazide from their pharmaceutical formulations by monolithic silica hplc column employing experimental designs", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 34(17):1976-1996.
- [547] Khamanga, SM. ve Walker, RB., (2011). "The use of experimental design in the development of an HPLC-ECD method for the analysis of captopril", *Talanta*, 83(3):1037-1049.
- [548] Bazhdanzadeh, S., Talebpour, Z., Adib, N. ve Aboul-Enein, HY., (2011). "A simple and reliable stir bar sorptive extraction-liquid chromatography procedure for the determination of chlorpromazine and trifluoperazine in human serum using experimental design methodology", *Journal of Separation Science* 34(1):90-97.
- [549] Ozcan, S., (2011). "Analyses of polychlorinated biphenyls in waters and wastewaters using vortex-assisted liquid-liquid microextraction and gas

chromatography-mass spectrometry”, *Journal of Separation Science*, 34(5):574-584.

- [550] Liu, MX., Zheng, Y., Ji, YB. ve Zhang, C., (2011). “Development and validation of a capillary electrophoresis method for the enantiomeric purity determination of RS86017 using experimental design”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 55(1):93-100.
- [551] Es'haghi, Z., Ebrahimi, M. ve Hosseini, MS.,(2011). “Optimization of a novel method for determination of benzene, toluene, ethylbenzene, and xylenes in hair and waste water samples by carbon nanotubes reinforced sot-gel based hollow fiber solid phase microextraction and gas chromatography using factorialexperimental design”, *Journal of Chromatography A*,1218(21):3400-3406.
- [552] Wen, YY., Li, JH., Zhang, WW. ve Chen, LX.,(2011). “Dispersive liquid-liquid microextraction coupled with capillary electrophoresis for simultaneous determination of sulfonamides with the aid of experimental design”, *Electrophoresis*, 32(16):2131-2138.
- [553] Khodadoust, S. ve Hadjmohammadi, M., (2011). “Determination of N-methylcarbamate insecticides in water samples using dispersive liquid-liquid microextraction and HPLC with the aid of experimental design and desirability function”, *Analytica Chimica ACTA*, 699(1):113-119.
- [554] Guillen-Casla, V., Magro-Moral, J., Rosales-Conrado, N., Perez-Arribas, LV., Leon-Gonzalez, ME. ve Polo-Diez, LM., (2011). “Direct chiral liquid chromatography determination of aryloxyphenoxypropionic herbicides in soil: deconvolution tools for peak processing”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 400(10):3547-3560.
- [555] Sereshti, H., Izadmanesh, Y. ve Samadi, S., (2011). “Optimized ultrasonic assisted extraction-dispersive liquid-liquid microextraction coupled with gas chromatography for determination of essential oil of *Oliveria decumbens* Vent”, *Journal of Chromatography A*, 1218(29):4593-4598.
- [556] Kamarei, F., Ebrahimzadeh, H. ve Yamini, Y., (2011). “Optimization of ultrasound-assisted emulsification microextraction with solidification of floating organic droplet followed by high performance liquid chromatography for the analysis of phthalate esters in cosmetic and environmental water samples”, *Microchemical Journal*, 99(1):26-33.
- [557] Kamarei, F., Ebrahimzadeh, H. ve Yamini, Y., (2011). “Optimization of ultrasound-assisted emulsification microextraction with solidification of floating organic droplet followed by high performance liquid chromatography for the analysis of phthalate esters in cosmetic and environmental water samples”, *Microchemical Journal*, 99(1):26-33.
- [558] Semreen, MH. ve Aboul-Enein, HY., (2011). “Enantioselective Separation and Determination of Citalopram Enantiomers in Pharmaceutical Dosage Form and Bulk Drug Using Experimental Design Approach on Chiralcel

(R) OC as a Chiral Stationary Phase”, *ACTA Chromatographica*, 23(3):389-401.

- [559] Golabchifar, AA., Rouini, MR., Shafaghi, B., Rezaee, S., Foroumadi, A. ve Khoshayand, MR., (2011). “Optimization of the simultaneous determination of imatinib and its major metabolite, CGP74588, in human plasma by a rapid HPLC method using D-optimal experimental design”, *Talanta*, 85(5):2320-2329.
- [560] Broekaert, N., Van Peteghem, C., Daeseleire, E., Sticker, D. ve Van Poucke, C., (2011). “Development and validation of an UPLC-MS/MS method for the determination of ionophoric and synthetic coccidiostats in vegetables”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 401(10):3335-3344.
- [561] Mudiam, MKR., Ch., R., Chauhan, A., Manickam, N., Jain, R. ve Murthy, RC., (2012). “Optimization of UA-DLLME by experimental design methodologies for the simultaneous determination of endosulfan and its metabolites in soil and urine samples by GC-MS”, *Analytical Methods*, 4(11):3855-3863.
- [562] Adlnasab, L., Ebrahimzadeh, H. ve Yamini, Y., (2012). “Optimized conditions for liquid-phase microextraction based on solidification of floating organic droplet for extraction of nitrotoluene compounds by using response surface methodology”, *Analytical Methods*, 4(1):190-195.
- [563] Fatemi, MH., Hadjmohammadi, MR., Shakeri, P. ve Biparva, P., (2012). “Extraction optimization of polycyclic aromatic hydrocarbons by alcoholic-assisted dispersive liquid-liquid microextraction and their determination by HPLC”, *Journal of Separation Science*, 35(1):86-92.
- [564] Machado, AMD., Cardoso, MD., Emidio, ES., Prata, VD., Dorea, HS., dos Anjos, JP., Magriotis, ZM. ve Nelson, DL., (2012). “Experimental design methodology to optimize the solid phase microextraction procedure prior to gc/ms determination of ethyl carbamate in samples of homemade cachaca”, *Analytical Letters*, 45(10):1143-1155.
- [565] Ghoreishi, SM., Behpour, M. ve Khoobi, A., (2012). “Central composite rotatable design in the development of a new method for optimization, voltammetric determination and electrochemical behavior of betaxolol in the presence of acetaminophen based on a gold nanoparticle modified electrode”, *Analytical Methods*, 4(8):2475-2485.
- [566] Jowkarderis, M. ve Raofie, F., (2012). “Optimization of supercritical fluid extraction combined with dispersive liquid-liquid microextraction as an efficient sample preparation method for determination of 4-nitrotoluene and 3-nitrotoluene in a complex matrix”, *Talanta*, 88:50-53.
- [567] Mudiam, MKR., Ratnasekhar, C., Jain, R., Saxena, PN., Chauhan, A. ve Murthy, RC., (2012). “Rapid and simultaneous determination of twenty amino acids in complex biological and food samples by solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry with the aid

of experimental design after ethyl chloroformate derivatization”, *Journal of Chromatography B-Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences*, 907:56-64.

- [568] Christopoulou, OD., Sakkas, VA. ve Albanis, TA., (2012). “Development and application of chemometric-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of suspected fragrance allergens in water samples”, *Journal of Separation Science*, 35(24): 3554-3560.
- [569] Silveira, CDD., Martendal, E., Soldi, V. ve Carasek, E., (2012). “Application of solid-phase microextraction and gas chromatography-mass spectrometry for the determination of chlorophenols in leather”, *Journal of Separation Science*, (35)4:602-607.
- [570] Bertol, G., Franco, L. ve de Oliveira, BH., (2012). “HPLC Analysis of Oxindole Alkaloids in *Uncaria Tomentosa*: Sample Preparation and Analysis Optimisation by Factorial Design”, *Phytochemical Analysis*, 23(2):143-151.
- [571] Rafamantanana, MH., Debrus, B., Raoelison, GE., Rozet, E., Lebrun, P., Uverg-Ratsimamanga, S., Hubert, P. ve Quetin-Leclercq, J., (2012). “Application of design of experiments and design space methodology for the HPLC-UV separation optimization of aporphine alkaloids from leaves of *Spirospermum penduliflorum* Thouars”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 62:23-32.
- [572] Cheng, YC., Wang, CC., Chen, YL. ve Wu, SM., (2012). “Large volume sample stacking with EOF and sweeping in CE for determination of common preservatives in cosmetic products by chemometric experimental design”, *Electrophoresis*, 33(9-10):1443-1448.
- [573] Tsiallou, TP., Sakkas, VA. ve Albanis, TA., (2012). “Development and application of chemometric-assisted dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of suspected fragrance allergens in water samples”, *Journal of Separation Science*, 35(13):1659-1666.
- [574] Vinas, P., Lopez-Garcia, I ., Campillo, N., Rivas, RE. ve Hernandez-Cordoba, M., (2012). “Ultrasound-assisted emulsification microextraction coupled with gas chromatography-mass spectrometry using the Taguchi design method for bisphenol migration studies from thermal printer paper, toys and baby utensils”, *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404(3):671-678.
- [575] Liu, AL., Wang, K., Chen, W., Gao, F., Cai, YS., Lin, XH., Chen, YZ., Xia, XH., (2012). “Simultaneous and sensitive voltammetric determination of acetaminophen and its degradation product for pharmaceutical quality control and pharmacokinetic research by using ultrathin poly (calconcarboxylic acid) film modified glassy carbon electrode”, *Electrochimica ACTA* 63:161-168.

- [576] Vosough, M., Mojdehi, NR. ve Salemi, A., (2012). "Chemometrics assisted dispersive liquid-liquid microextraction for quantification of seven UV filters in urine samples by HPLC-DAD", *Journal of Separation Science*, 35(24):3575-3585.
- [577] Beg, S., Kohli, K., Swain, S. ve Hasnain, MS., (2012). "Development and validation of RP-HPLC method for quantitation of amoxicillin trihydrate in bulk and pharmaceutical formulations using Box-Behnken experimental design", *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 35(1-4):393-406.
- [578] Tadic, S., Nikolic, K. ve Agbaba, D., (2012). "Development and Optimization of an HPLC Analysis of Citalopram and Its Four Nonchiral Impurities Using Experimental Design Methodology", *Journal of AOAC International*, 95 (3):733-743.
- [579] Hasnain, MS., Rao, S., Singh, MK., Vig, N., Gupta, A., Ansari, A., Sen, P., Joshi, P., Ansari, SA., (2013). "Development and validation of LC-MS/MS method for the quantitation of lenalidomide in human plasma using Box-Behnken experimental design", *Analyst*, 1388(5):1581-1588.
- [580] Zachariadis, GA. ve Rosenberg, E., (2013). "Use of modified Doehlert-type experimental design in optimization of a hybrid electrospray ionization trap time-of-flight mass spectrometry technique for glutathione determination", *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 27(3):489-499.
- [581] Naheid, SA., Idris, AM., Elgorashe, REE., Altayeb, MAH., Alnajjar, AO. ve Assubaie, FN., (2013). "High-throughput sequential injection assay method for chlorpromazine", *Journal of Analytical Chemistry*, 68(3):233-240.
- [582] "A statistical experimental design approach to evaluate the influence of various penetration enhancers on transdermal drug delivery of buprenorphine", *Journal of Advanced Research*, 6(2):155–162.
- [583] Dash, R., Mohammed, H., Humaira, T. ve Ramash, D., (2015). "Design, optimization and evaluation of glipizide solid self-nanoemulsifying drug delivery for enhanced solubility and dissolution", *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(5):528–540.
- [584] Parmar, K., Patel, J. ve Sheth N., (2015). "Self nano-emulsifying drug delivery system for Embelin: Design, characterization and in-vitro studies", *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(5):396–404.
- [585] Gonzalez, P.G., Hernandez, T. ve Gonzalez, L., (2015). "The use of experimental design and response surface methodologies for the synthesis of chemically activated carbons produced from bamboo", *Fuel Processing Technology*, 127:133–139.
- [586] Shokraneha F., Asghariana, R., Abdollahpoura, A., Raminb M., Montaseric A. ve Mahboubid, A., (2015). "A Novel High Performance Liquid Chromatographic Method for Determination of Nystatin in Pharmaceutical

Formulations by Box-Behnken Statistical Experiment Design”, Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 14: 43-49.

- [587] Ghasemzadeh, A., Jaafar, H. ve Rahmat, A., (2015). “Optimization protocol for the extraction of 6-gingerol and 6-shogaol from *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and improving antioxidant and anticancer activity using response surface methodology”, BMC Complement and Alternative Medicine, 15:258.
- [588] Bhuyan, D., Quan V., Chalmers, A., Bowyer, C., Scarlett, J.(2015) “Microwave-assisted extraction of *Eucalyptus robusta* leaf for the optimal yield of total phenolic compounds”, Industrial Crops and Products 69:290-299.
- [589] Aghaeinejad-Meybodi, A., Ebadi, A., Shafiei, S., Khataee, A. ; Rostampour, M. (2015). “Degradation of antidepressant drug fluoxetine in aqueous media by ozone/H₂O₂ system: process optimization using central composite design”, Environmental Technology 36(12):1477-1488.
- [590] Tsiaka, T., Zoumpoulakis, P., Sinanoglou, J., Makris, C., Heropoulos, G. ve Calokerinos, C., (2015). “Response surface methodology toward the optimization of high-energy carotenoid extraction from *Aristeus antennatus* shrimp”, Analytica Chimica Acta, 877:100-110.
- [591] Dash, R., Habibuddin, M., Humaira, T. ve Patel, A., (2015). “Application of Quality by Design for the Optimization of an HPLC Method to Determine Ezetimibe in a Supersaturable Self-Nanoemulsifying Formulation”, Journal of Liquid Chromatography Related Technologies 38:874-885.
- [592] Giriraj, P. ve Sivakkumar, T., (2015). “A Rapid-Chemometrics Assisted RP-HPLC Method with PDA Detection for the Simultaneous Estimation of Ofloxacin and Nimorazole in Pharmaceutical Formulation”, Journal Of Liquid Chromatography & Related Technologies, 38:904-910.
- [593] Huang, S., Zhu, F., Jiang, R., Zhou, S., Zhu, D., Liu, Hng. ve Ouyang, G., (2015). “Determination of eight pharmaceuticals in an aqueous sample using automated derivatization solid-phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry”, Talanta 136:198-209.
- [594] Hameed, E., Salam, R. ve Hadad, G., (2015). “Chemometric-assisted spectrophotometric methods and high performance liquid chromatography for simultaneous determination of seven beta-blockers in their pharmaceutical products: A comparative study”, Spectrochimica Acta Part A-Molecular And Biomolecular Spectroscopy, 141:278-286.
- [595] Nam, S., Yoon, Y., Choi, D. ve Zoh, K., (2015). “Degradation characteristics of metoprolol during UV/chlorination reaction and a factorial design optimization”, Journal of Hazardous Materials 285:453-463.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Ayşe ASLAN ÇAKIR
Doğum Tarihi ve Yeri : 10.05.1980 İstanbul
Yabancı Dili : İngilizce
E-posta : ayseaslancakir@gmail.com

ÖĞRENİM DURUMU

Derece	Alan	Okul/Üniversite	Mezuniyet Yılı
Y. Lisans	Analitik Kimya	Yıldız Teknik Üniversitesi	2015
Lisans	Kimya	Yıldız Teknik Üniversitesi	2014
Lise	Sosyal Bilgiler	Üsküdar İmamhatip Lisesi	1997

İŞ TECRÜBESİ

Yıl	Firma/Kurum	Görevi
2009	Akça Lojistik Hizmetleri	Müşteri Hizmetleri Uzmanı
2007	Yaygın Eğitim ve Kültür Derneği	Koordinatör Yardımcısı

