

MULTİPL EMÜLSİYONLAR  
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Ecz: Ümit ARALP

Anadolu Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Öğretim Yönetmeliği Uyarınca  
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. E. Yasemin YAZAN

Ocak 1995

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ  
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

MULTİPL EMÜLSİYONLAR  
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

Ecz. Ümit ARALP

24

Anadolu Üniversitesi  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Lisansüstü Öğrenim Yönetmeliği Uyarınca  
Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalında  
YÜKSEK LİSANS TEZİ  
Olarak Hazırlanmıştır

Danışman: Doç. Dr. E. Yasemin YAZAN

Ocak 1995

Fevziye Ümit ARALP' in YÜKSEKLİSANS tezi olarak hazırladığı  
“ MULTİPL EMÜLSİYONLAR ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR ” başlıklı bu çalışma jürimizce  
Lisansüstü Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca değerlendirilerek kabul edilmiştir.

17.02.1995

Üye : Doç.Dr.Nilüfer TARIMCI

Üye : Doç. Dr.Filiz ÖNER

Üye : Doç. Dr.Yasemin YAZAN

---

Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitü' sü Yönetim Kurulu' nun 25.01.1995 gün ve 06.  
sayılı kararıyla onaylanmıştır.

---

ANADOLU ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
YÖNETİM KURULU  
17.02.1995

## DÜZELTMELER

	<u>Sayfa</u>	<u>Satır</u>	<u>Yanlış</u>	<u>Doğru</u>
1.	7	20	Whithill	Whitehill
2.	16	18	Yağ+Lipo- emülsiyon filik Sürf.	Yağ+Lipo- filik Sürf.
3.	20	3	(5,14)	(65,14)
4.	33	8	(63)	(60)
5.	34	1	dondurulmuş- kesit elektroskop	dondurulmuş- kesit elektron mikroskop
6.	34	6	(47)	(60)
7.	37	14	b:	C:
8.	38	6	(34,51)	(34,17)
9.	39	9	$\emptyset - (\emptyset_{wi} + \emptyset_o)$	$\emptyset = \emptyset_{wi} + \emptyset_o$
10.	41	18	$\checkmark(t) = \checkmark_o \cdot \text{Cos}(W - \delta)$	$\checkmark(t) = \checkmark_o \cdot \text{Cos}(Wt - \delta)$
11.	42	16,24	$\varepsilon$	$\gamma$
12.	42	24	$(C_\varepsilon)^n$	$(C_\gamma)^n$
13.	43	4	C: Zamana ait parametre	C: Dayanıklılık sabiti
14.	52	8	325-326	325-328
15.	62	1	MgSO	MgSO <sub>4</sub>
16.	62	6	10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-2</sup>
17.	62	7	247,47 g	247,47 mg
18.	62	18	2,6 ml	12,6 ml
19.	96	6	15 dak	5 dak
20.	97	19	KCl	izotonik KCl
21.	98	22	10 M	10 <sup>-2</sup> M

## ÖZET

Çalışmanın ana amacı, kozmetik özellik taşıyan badem yağı ile s/y/s multipl emülsiyon sistemini oluşturmak ve bu sistemin stabilitesinin Polinilpirolidon (PVP) katılarak iyileştirilmesidir.

Multipl emülsiyonun hazırlanması, çift basamaklı üretim yöntemine göre yapılmıştır. Formülasyonun iç ve dış sulu fazlarına bir makromolekül olan PVP eklenerek, non-iyonik sürfektanla birlikte yüzeylerarası bir ağ oluşturulması ve dolayısıyla sistemin stabilitesinin arttırılması beklenmiştir. Sistemin termal stabilitesi ile ilgili çalışmalar ve reolojik özellikleri incelenerek emülsiyon sistemleri değerlendirilmiştir. Bunun yanısıra, iç sulu faza eklenen  $MgSO_4$ 'ın salımı ve sistemin verimi kondüktometrik olarak saptanarak hesaplanmıştır.

Bu çalışmalar sonunda, dış sulu faza PVP eklenmesi ile multipl emülsiyon sisteminin stabilitesinin arttırılabileceği gözlenmiştir.

## SUMMARY

The principal aim of the study was to formulate w/o/w multiple system using the cosmetic almond oil and to improve the stability of the system by the addition of polyvinylpyrrolidone.

Double-step procedure was used for the preparation of multiple emulsions. A macromolecule, polyvinylpyrrolidone, which was added either to the internal or external aqueous phase, was expected to form an interfacial network with the non-ionic surfactant. Emulsion systems were evaluated regarding the results of the studies on the thermal stability and the investigation of the rheological characteristics of the system. Besides this, the yield of the system was calculated by determining the conductometric release of  $MgSO_4$  which was incorporated into the internal aqueous phase.

Improvement in the stability of the multiple emulsion system was observed by the addition of polyvinylpyrrolidone in the external aqueous phase.

## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım süresince göstermiş olduğu destek-  
lerinden dolayı Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın  
Hocam Prof. Dr. Kemal Hüsnü Can BAŞER'e,

Yardımlarını hiç bir zaman esirgemeyerek, anlayış  
ve hoşgörüsü ile çalışmalarımı destekleyen Farmasötik  
Teknoloji Ana Bilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Erden GÜLER'e,

Değerli bilgi ve önerilerini benden esirgemeyen,  
yapıcı eleştirileri ile çalışmalarım da baştan bu yana beni  
yönlendiren, engin anlayış ve iyi niyet göstererek her  
zaman yardımcı olan tez danışmanım Sayın Hocam Doç. Dr.  
Yasemin YAZAN'a,

Çalışmalarım süresince daima yakın ilgi ve  
yardımlarını gördüğüm tüm Tıbbi Bitkiler Araştırma Merkezi  
çalışanlarına,

Çalışmalarım da damlacık boyut ölçümlerinde yardımcı  
olan Anadolu Üniversitesi Çevre Mühendisliği Bölümü Öğr.  
Grv. Dr. Tuncay DÖĞEROĞLU'na,

Mikroskop altında yapılan fotoğraf çekimlerindeki  
yardımlarından dolayı Osmangazi Üniversitesi Fen Edebiyat  
Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden Yrd. Doç. Dr. Ünal ÖZELMAS'a,

Yapılan mikrobiyoloji çalışmalarında yardımcı olan  
Osmangazi Üniversitesi Tıp Fakültesi Temel Tıp Bilimleri  
Bölümü Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'ndan Prof. Dr. Yurdanur  
AKGÜN'e,

Maddeleri sağlayan, Üniversite Paris Sud'den Prof.  
Dr. Monique SEILLER'e ve reolojik çalışmaların değerlendiril-

rilmesini yapan Prof. Dr. J. GROSSIORD'a,

Maddi ve manevi destekleri, sonsuz anlayış ve hoşgörüleri ile daima yanımda olan aileme, teşekkür ederim.



## İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	iv
SUMMARY	v
TEŞEKKÜR	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ VE AMAÇ	1
2. KURAMSAL KISIM	3
2.1. Multipl Emülsiyonlar	3
2.1.1. Tanımı ve tarihçesi	3
2.1.2. Multipl emülsiyon hazırlamak için kullanılan yardımcı maddeler	6
2.1.3. Multipl emülsiyon hazırlama yöntemleri	15
2.1.4. Multipl emülsiyonlardan etken madde çıkışı	21
2.1.5. Multipl emülsiyonun özelliklerinin belirlenmesi	25
2.1.6. Multipl emülsiyonun stabilizasyonu	28
2.1.7. Multipl emülsiyonun saklanması ve korunması	44
2.1.8. Multipl emülsiyonların uygulamaları	45
2.2. Vitamin A	48
2.2.1. Fiziksel özellikleri	48

2.2.2. Kimyasal özellikleri	49
2.2.3. Stabilitesi	53
2.2.4. Farmakolojik ve farmakokinetik özellikleri	54
3. DENEYSEL KISIM	57
3.1. Araç ve Gereçler	57
3.1.1. Kullanılan maddeler	57
3.1.2. Kullanılan aletler	57
3.2. Yöntemler ve Deneyler	59
3.2.1. Multipl emülsiyon	59
3.2.1.1. Hazırlama yöntemi	59
3.2.1.2. Multipl emülsiyonların özelliklerinin belirlenmesi	61
3.2.1.3. Multipl emülsiyonlarda yapılan stabilite testleri	62
4. BULGULAR	66
4.1. Multipl Emülsiyon Deneylerinin Bulguları	66
4.1.1. Multipl emülsiyonların özelliklerinin belirlenmesi	66
4.1.2. Multipl emülsiyonların stabilite testleri	80
5. GENEL SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR	93
5.1. Multipl Emülsiyonun Hazırlanması	93
5.2. Multipl Emülsiyonun Özelliklerinin	

Belirlenmesi

96

5.3. Multipl Emülsiyonların Stabilite Çalışmaları 99

KAYNAKLAR DİZİNİ

102

ÖZGEÇMİŞ

114

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil</u>	<u>Sayfa</u>
2.1. Multipl emülsiyonun şematik gösterimi	4
2.1. Çift basamaklı yöntem ile emülsiyon hazırlanması	16
2.3. Faz değişimi yöntemi ile emülsiyon hazırlanması	18
2.4. Üçlü faz diyagram yöntemi ile emülsiyon hazırlanması	19
2.5. Difüzyon ile serbestleşme mekanizmasının gösterimi	21
2.6. Kırılma ile serbestleşme mekanizmasının gösterimi	24
2.7. Stabiliteyi etkileyen mekanizmalar	30
4.1. Birinci formül'ün mikrofotoğrafı (1000 x)	67
4.2. İkinci formül'ün mikrofotoğrafı (1000 x)	67
4.3. Üçüncü formül'ün mikrofotoğrafı (1000 x)	68
4.4. Birinci formül'ün damlacık iriliği dağılımı	69
4.5. İkinci formül'ün damlacık iriliği dağılımı	69
4.6. Üçüncü formül'ün damlacık iriliği dağılımı	70
4.7. $MgSO_4$ 'ın su içinde standart eğrisi	72
4.8. Birinci formül'de $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı salım yüzdesi profili	74
4.9. İkinci formül'de $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı salım yüzdesi profili	76
4.10. Üçüncü formül'de $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı salım yüzdesi profili	78
4.11. Birinci formül'ün artan kaydırma gerilimi ile dinamik özelliklerinin değişimi	82

4.12. İkinci formül'ün artan kaydırma gerilimi ile dinamik özelliklerinin değişimi	83
4.13. Üçüncü formül'ün artan kaydırma gerilimi ile dinamik özelliklerinin değişimi	84
4.14. Birinci formül'ün reogramı	88
4.15. İkinci formül'ün reogramı	89
4.16. Üçüncü formül'ün reogramı	90

## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>Çizelge</u>	<u>Sayfa</u>
4.1. Su içinde $MgSO_4$ konsantrasyonlarına ait iletkenlik	71
4.2. İletkenlik= $f(MgSO_4)$ 'a ait istatistiksel değerler	71
4.3. Birinci formül'de $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı iletkenliği	73
4.4. İkinci formül'de $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı iletkenliği	75
4.5. Üçüncü formül'de $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı iletkenliği	77
4.6. Multipl emülsiyonlarda multipl damlaların % verimleri	79
4.7. Multipl emülsiyonların pH değerleri	79
4.8. Multipl emülsiyonlarda sıcaklığa bağlı görülen farklılıklar	80
4.9. Multipl emülsiyonlarda görülen mikrobiyolojik üreme	81
4.10. Birinci formül'ün osilasyon testleri ve viskoelastik özelliklerini belirleyen parametreler	85
4.11. İkinci formül'ün osilasyon testleri ve viskoelastik özelliklerini belirleyen parametreler	85
4.12. Üçüncü formül'ün osilasyon testleri ve viskoelastik özelliklerini belirleyen parametreler	86
4.13. Birinci formül'ün Cross modeline ait parametreleri	91
4.14. İkinci formül'ün Cross modeline ait parametreleri	91
4.15. Üçüncü formül'ün Cross modeline ait parametreleri	92

## GİRİŞ ve AMAÇ

Multipl emülsiyon çalışmaları uzun zamandan beri birçok alanda uygulanmaktadır. Multipl emülsiyonların ilaç ve kozmetik alanlarında kullanılmasının nedenleri, etken maddelerin etkilerinin uzatılması, ortama ve çevreye duyarlı maddelerin korunması, birbiriyle geçimsiz maddelerin birarada verilebilmesidir.

Multipl emülsiyonlar, emülsiyon içinde emülsiyon olarak tanımlanabilen kompleks yapıda sistemlerdir. İç fazın içinde dağılmış olan globüller, dış fazla karışabilir. Bu sistemlerin stabilitesi henüz tam anlamıyla sağlanamadığından, araştırmalar bu yönde çoğalmaktadır.

Çalışmamızda, multipl emülsiyon sistemi (s/y/s), kırışıklık giderici özellik taşıyan A vitamini kullanılarak kozmetik bir krem formülasyonu olarak hazırlanmıştır. Doğal bir yağ olan kozmetik özellikli badem yağı ile formüle edilen sistemin iç sulu fazına iletkenlik özelliği bulunan magnezyum sülfat eklenmiştir. Dış sulu faza salınan magnezyum sülfat konsantrasyonundan multipl damlaların verimi hesaplanmıştır. Hala sorun olan sistemin stabilitesini arttırmak amacıyla, iç veya dış sulu fazlara yüzey etken madde ile biraraya gelip bir ağ oluşturacağı düşünülen polivinilprolidon makromolekülü eklenerek termal stabilite çalışmaları yapılmıştır. Ortama herhangi bir koruyucu madde eklemeyen, mikrobiyolojik üremenin ne olacağı incelenmiş ve sisteme kesin olarak koruyucu eklenmesi gerektiği sonucuna varılmıştır.

Hazırlanan multipl emülsiyon sistemlerinin viskoelastik özelliklerini belirlemek ve belli koşullar altındaki akış özelliklerini saptamak amacıyla reolojik deneyler gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmalar sonunda PVP'un dış faza konduğu durumlarda stabilizasyonun artabileceği oysa viskoelastik özellikler ile PVP eklenmesi arasında bir ilişki bulunmadığı gözlenmiştir. PVP dış sulu fazda eklenildiğinde, multipl damla veriminin artışı, kondüktometrik çalışmalarla gösterilmiştir.

Bu çalışmanın ana amacı, orjinal bir multipl emülsiyon formülasyonuna bir makromolekül ekleyerek, sistemin stabilitesinde iyileştirme sağlanıp sağlanamayacağının incelenmesidir. Etken madde olan A vitamini ile ilgili çalışmalar, çalışmanın ikinci bölümünü oluşturacaktır.



## 2. KURAMSAL KISIM

### 2.1. Multipl Emülsiyonlar

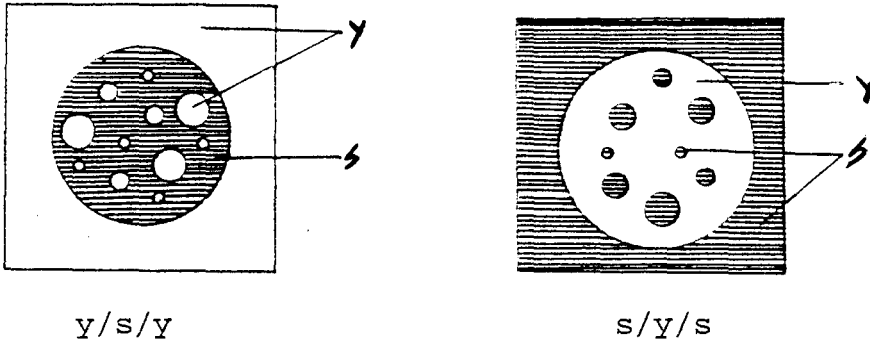
#### 2.1.1. Tanımı ve tarihçesi

Emülsiyonlar birbiri ile karışmayan iki veya daha çok sıvının birbiri içinde dağılmasıyla oluşan, tektür görünüşlü heterojen sistemlerdir(35). Emülsiyon kelimesi dağılmış madde anlamına gelen emulsum kelimesinden türemiştir (32).

Klasik emülsiyonlar, dağıtan fazla karışmayan sıvı damlacıklarının, devamlı fazda dağılmasıyla oluşur. Sıvılardan dağılmış olanı iç faz, dağılan faz, dispers faz, veya devamsız faz, bu damlacıkları içine alan sıvıya dış faz, dağıtma vasatı, dağıtan faz veya devamlı faz denir. Fazların durumuna göre iki farklı emülsiyon tipi olduğu ifade edilmiştir: burada birbiriyle karışmayan sıvılardan en tanınmış olanı yağ ve sudur. İç faz yağ, dış faz su olursa, yağ/su (y/s); iç faz su, dış faz yağ olursa, su/yağ (s/y) tipi emülsiyonlardan bahsedilir (35,32,29). Genellikle emülsiyonlar birbiri ile karışmayan iki faz ile üçüncü faz olan emülsiyon yapıcı ajanlardan oluşur. Emülsiyon yapıcı ajanlar, s/y veya y/s emülsiyonlarının kararlı hale getirilmesini sağlarlar (80). Klasik emülsiyonlarda iç fazın damlacık büyüklüğü genellikle 0,1-100 mikron arasında değişir (29). Bu sistemler düşük termodinamik stabiliteleri ile tanınır(81).

Multipl emülsiyonlar, emülsiyon içinde emülsiyon-

lardır(81,66).Diğer bir deyişle, multipl emülsiyonlar y/s veya s/y emülsiyonlarının aynı anda var olmasıdır; s/y/s emülsiyon sistemlerinde olduğu gibi, yağ damlacıklarını içine alabilmesi ve sulu fazda dağılmış hale geçmesidir. Bunun tam tersi sistemlerde de y/s/y tipi emülsiyonlar oluşur (24). Şekil 2.1 de her iki multipl emülsiyon tipi gösterilmiştir.



Şekil 2.1- Multipl emülsiyonun şematik gösterimi

Basit emülsiyon sistemleri tek sıralı emülsiyonlardır çünkü yüzeylerarası fazı bir tanedir. Oysa multipl emülsiyonlar iki sıralı emülsiyonlardır, çünkü iki adet yüzeylerarası fazı vardır. Ayrıca üç ve dört sıralı emülsiyonlar da bulunmaktadır (14).

Multipl s/y/s veya y/s/y emülsiyonlarında damlacık büyüklükleri birbirlerinden farklı olabilir. Hatta birkaç mikrometreden küçük multipl damlalar elde edilmiştir. Yapılan çalışmalarda multipl emülsiyonun damlacık büyüklüklerinin 0,05-0,2 mikrometre, içteki damlalarında 0,02-0,05 mikrometre arasında olabileceği saptanmıştır (18).

Emülsiyonlar çok eskiden beri bilinmektedir. Galenus, balmumunun emülsifiye edici özelliğinden yararlanarak, 1674

'de İngiltere'de Grew, yağı yumurta ile karıştırarak emülsiyon tipi preparatlar hazırlamışlardır. 1718'de emülsiyonlar Amerikan Farmakopesi'ne girmiş, 1747'de Dublin'de arap zamkı ile bademyağı emülsiyonu hazırlanmıştır. 1849'da İngiliz yöntemi ile emülsiyon hazırlama tekniği rapor edilmiştir. 1872'de de şişe yöntemi uygulanmıştır. 1874'de Almanlar kontinental yöntemi uygulayarak emülsiyon oluşturmuşlardır (32).

Multipl emülsiyonlar ise yüz yıldan beri bilinmektedir. Onbeş yıldan beri de dikkatle laboratuvarlarda uygulanmaktadır (24).

Basit emülsiyondan faz değişimi ile multipl emülsiyonun oluşabileceğini Seifriz göstermiştir (62). 1925'de su damlacıklarını içine alan s/y emülsiyonlarının, yağ damlacıklarını içinde bulunduran y/s emülsiyonlarının varlığını belirlemiştir. Bu emülsiyonlar ikili multipl sistemler olarak tanımlanmış ve daha karmaşık üçlü multipl, dörtlü multipl, beşli multipl emülsiyon sistemlerinin de olabileceği belirtilmiştir (23).

Araştırmacılar, 1965'de emülsiyon inversiyonundan oluşabilecek multipl damlaları bulmuşlardır (23).

Yapılan çalışmalar sonunda, sorbitan monolaurat konsantrasyonunun arttırılması ile y/s emülsiyonundan kararlı bir multipl emülsiyonunun elde edilebileceği rapor edilmiştir. İlk baştaki emülsifyan ajanın viskoziteye etkisi ve oluşan emülsiyonun tipi üzerindeki çalışmalarda, faz değişimi boyunca multipl emülsiyonların oluşabileceği

gösterilmiştir (24).

Multipl damlacıkların yapılarının hidrodinamik oluşumlarını mikroskobik yaklaşım kullanarak inceleyen araştırmacılar, multipl emülsiyon yapıları üzerinde de çalışmalar yapmışlardır (23).

Multipl emülsiyonların formulasyonu üzerine yapılan çalışmalardan sonra, oluşan emülsiyon tipleri de gösterilmiştir. Bir çok farklı formun değişik koşullara göre kullanılabilceğini tartışmışlardır. Bunlar;  $y_1/s/y_1$ ,  $y_1/s/y_2$ ,  $y_2/s/y_2$ ,  $y_2/s/y_1$ ,  $s_1/y/s_1$ ,  $s_1/y/s_2$ ,  $y_1/y_2/s$ ,  $y_2/y_1/s$ ,  $s/y_2/y_1$ ,  $s/y_1/y_2$  şeklinde olabileceği gibi, yazarların görüşlerine göre bu kombinasyonlarından bazıları bazı sistemlerde beraber de kullanılmıştır. Daha karmaşık olarak da  $y_1/s/y_1/s/y_2$  yada  $y_2/s/y_1/s/y_2$  dört arayüzey içeren dört sıralı emülsiyonlardan da bahsedilmiştir (23,15).

## 2.1.2. Multipl emülsiyon hazırlamak için kullanılan yardımcı maddeler

### 2.1.2.1. Yağlar

Multipl emülsiyonları oluşturan yağlar, sistemin hareketini etkiler. Bu nedenle yağın yapısı oldukça önemlidir.

Multipl emülsiyonlarda hidrokarbon yağları, mumlar, silikonlar, esterler ve trigliseritler kullanıldığı gibi, hidrokarbon yağlarının rafine edilmesi ile hazırlanan hafif sıvı parafin gibi yağlar, isopropil miristat ve etil oleat gibi uzun zincirli yağ asitlerinin esterlerinden de yarar-

lanılmıştır (23,81).

Bitkisel yağlardan yerfıstığı yağı, Brodin ve arkadaşları (8,9) tarafından kullanılmıştır.

Davis ve Walker'da (13), floresan izleme tekniği kullanılarak multipl emülsiyon damlalarının ölçümleri sırasında mineral yağ olarak sıvı parafin ve skualen ile, bitkisel yağlardan susam yağı, mısır yağı ve yerfıstığı yağından yararlanmışlardır.

Ayrıca bitkisel yağlardan mısır yağı, susam yağı, yerfıstığı yağının yanısıra, zeytinyağı, hintyağı ve jojoba yağı multipl emülsiyonların fizikokimyasal özelliklerini değiştirmek için ve yağlı membrandan madde çıkış hızlarının incelemesinde kullanılmıştır (81).

Bir çok araştırmacı yağları çeşitli oranlarda kullanmış ve yağ karışımlarından da yararlanmışlardır.

1976'da Matsumoto ve arkadaşları (48), 1977'de Kita ve arkadaşları (39), 1982'de Tomita ve arkadaşları (77), iki basamaklı emülsiyon yöntemini kullanarak elde ettikleri multipl emülsiyonda parafin yağını; 1978'de Kavaliunas (38) paraksileni; 1981'de Florence ve Whithill (21) izopropil miristatı kullanmışlardır.

Adeyeye ve Price (2), multipl emülsiyon sistemlerinde mineral yağını kullanarak, mikroskopik ve kondüktometrik çalışmalar yapmışlardır.

Shah ve arkadaşları (69), multipl emülsiyon tekniği kullanarak yaptıkları albumin mikrokapsüllerinde mısır yağından faydalanmışlardır.

Multipl emülsiyonlarda, yağın yapısı sistemin karakterini etkiler. Yağ membranının, hapsedilen materyale olan stabilitesi, diğer faktörlerle birlikte yağın yapısına bağlıdır (59).

Yağ fazının fizikokimyasal özellikleri, sistemin vizkozitesi ve yoğunluğu açısından önem taşır (14).

Polar olmayan lipofilik moleküllerin dielektrik sabiteleri, şekilleri ve diğer özellikleri de araştırılmaktadır (42).

#### 2.1.2.2. Sürfektanlar

Klasik emülsiyonlarda olduğu gibi multipl emülsiyonlarda da sürfektanlar sistemi kararlı hale getirirler (15).

Sürfektanlar anyonik, katyonik ve non-iyonik olabilirler. Besin, ilaç ve kozmetik alanlarında genellikle noniyonik sürfektanlar tercih edilmektedir (68,23).

##### a) Anyonik sürfektanlar

Anyonik sürfektanların lipofil grubu negatif yüklüdür. Sabun ve sabun sınıfı maddelerdir (32).

Alkali metal sabunlar çoğunlukla haricen kullanılır, dahilen kullanımda rahatsızlık vericidirler. Yüksek PH da stabildirler ancak divalan-metal sabunlarla geçimsizdir. Kalsiyum oleat, çinko stearat, alüminyum stearat, vb gibi divalan metal sabunlar haricen kullanım için hazırlanan, yağ içinde su emülsiyonlarında kullanılmıştır (54,32).

Amin sabunlarından da haricen kullanılan kremlerin

hazırlanmasında yararlanılmıştır. Bunlar alkali metal sabunlara oranla daha kararlı emülsiyon oluşumu sağlarlar (54).

Yağ alkollerinin sülfatlarının sodyum tuzları da krem formüllerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Dirençli ve geniş PH aralığında kararlıdırlar. Bunlar enjekte olacak ürünler için oldukça toksiktirler , bu nedenle dahilen kullanılmazlar (54).

#### b) Katyonik sürfektanlar

Katyonik sürfektanlar hem Gram (-) hem de Gram (+) organizmalara karşı bakterisidal etki gösterirler. Oysa sporlara, virüslere ve funguslara karşı daha az etkilidirler. Temizleyici kremlerde çok kullanılırlar.

Katyonik yüzey etken maddeler, sabunlarla ve anyonik maddelerle etkileşmezler. Ancak diğer yüzey aktif maddelerin çoğundan daha fazla deriye zararlıdırlar. Emülsiyon hazırlanmasında kullanılan önemli katyonik sürfektan benzalkonyum klorür'dür. Bu da insan derisinde rahatsızlık verici olarak nitelendirilmese de,toksik özellik taşır (54)

#### c) Doğal sürfektanlar-Amfoterik sürfektanlar

Bunlara örnek olarak, kolestrol ve esterleri,lanolin, saponin, bazı proteinler ve poliüronik maddeler verilebilir (32).

#### d) Non-iyonik sürfektanlar

Nötral maddelerdir. Hidrofil ve hidrofob iki kısımdan oluşurlar. Non-iyonik sürfektanlar, organik ve katyonik

sürfektanların kullanılmadığı yerlerde kullanılırlar. Bu sürfektanlar gösterdikleri düşük toksisitelerinden dolayı enjekte olacak ürünlerde de kullanılabilir(32). Oral emülsiyonlardaki kullanımının güvenilirliği bilimsel olarak kanıtlanmıştır.

Tanımlanmış non-iyonik emülsifiyan maddeler, polioksietilen yağ asiti esterleri, eterleri, glikol ve gliserol esterleri ve sorbitan türevleridir. Sükroz esterleri tıbbi preparasyonlarda kullanılır ancak yaygın olarak kullanımı henüz kabul görmemiştir (54).

Multipl emülsiyon sistemlerinde kullanılan lipofilik ve hidrofilik sürfektanlardan; lipofilik sürfektan s/y emülsiyonunda, hidrofilik sürfektan ise y/s emülsiyonlarında kullanılır (67).

Multipl emülsiyonların biçimlenmesindeki iki emülsiyon yapıcı ajanın farklı tipte olduğunu araştırmacılar, su ve benzen ile magnezyum oleat ve sodyumu karıştırarak hazırlanmış bir çok sistemle göstermişlerdir(24). Araştırmacılar sürfektan seçimi için, ( diğ er sürfektan seçme yöntemleri içinde) HLB değerinin önemini belirlemişlerdir (41).

Emülsiyonların hazırlanması sırasında birbiriyle karışmayan iki sıvı karıştırıldığında yüzey gerilimi oluşacaktır. Bu yüzey gerilimini ortadan kaldırmak için kullanılan sürfektanlar, karıştırıldıktan sonra sulu ve susuz kısımlar arasında transfer olurlar. Bunların arasındaki denge önemlidir. Sürfektanların sistematik olarak seçimi için HLB değeri yani lipofilik-hidrofilik-dengesi önem taşır. Diğ er



bir deyişle, HLB, s/y ve y/s dengesi yani suda ve yağda çözünen kısımlar arasındaki dengedir (28,29). HLB değeri sürfektanın fonksiyonunu belirler. Hidrofilik-lipofilik denge değeri 1-20 arasında değişir. Küçük HLB değerine sahip yüzey etken maddeler lipofilik karakter gösterirler (29,28). İki yüzey etken madde karıştırıldığında, HLB değeri bunların arasındaki değeri verir (32).

HLB değeri sürfektanın bilinen molekül yapısından hesaplanabilir ancak solvandaki değişmeler sonucu HLB değeri de değişir(örneğin önce tuz eklenmesi ve sıcaklığın arttırılması gibi) (20).

Multipl s/y/s emülsiyonlarında; primer emülsiyon yapımında düşük HLB değerine sahip,sekonder emülsiyon yapımında yüksek HLB değerine sahip sürfektanın kullanılması istenir (58).Genel olarak s/y/s sistemlerinde optimal HLB değeri, birinci sürfektan için 2-7 arasında, ikinci sürfektan için ise 6-16 arasında olmalıdır (23).

Klasik emülsiyonlarda olduğu gibi, multipl emülsiyonlarda da optimal sürfektan konsantrasyonu sistemin kararlılığı için gereklidir. Düşük konsantrasyonlar stabilizasyon için yeterli değildir. Yüzeylerarasını koruyamazlar ve emülsiyon hızla degradasyona uğrayabilir. Yüksek konsantrasyonlarda ise sistemde viskozite artabilir. Viskozite artışı istenen düzeyde olmazsa sistem kararlı olmaz, toksisite problemleri ortaya çıkar. Bu nedenle sürfektanların aralarındaki denge çok önemlidir (23,15). Dolayısıyla lipofilik ve hidrofilik sürfektan-

arın uyuşması gereklidir, yoksa birinci sürfektandan, ikinci sürfektana göç ortaya çıkabilir (15).

Multipl emülsiyon sisteminde HLB değeri Frenkel formülünden hesaplanabilir (14).

$$HLB_{mel} = \frac{HLB_1 \cdot \emptyset(s/y/s) \cdot P_1 \% + HLB_2 \cdot P_2 \%}{\emptyset(s/y/s) \cdot P_1 \% + P_2 \%}$$

HLB<sub>mel</sub>: Sürfektan karışımının HLB değeri

HLB<sub>1</sub> ve HLB<sub>2</sub>: Birinci ve ikinci sürfektanların HLB değeri

P<sub>1</sub>% ve P<sub>2</sub>%: Birinci ve ikinci sürfektanların yüzdesi

$\emptyset(s/y/s)$ : s/y emülsiyonun, s/y/s multipl emülsiyonundaki faz hacmi

Sürfektanların üzerinde birçok araştırma yapılmış; yapılan çalışmalarda, içteki sulu faz ve yağlı fazda kullanılan sürfektanların arayüzeye göçü üzerine olabilecek etkileri incelenmiştir (40).

Birçok araştırmacı, multipl emülsiyon sistemleri için farklı sürfektanlardan yararlanmışlardır.

Matsumoto ve arkadaşları (48), s/y/s multipl emülsiyonlarının hazırlanmasında çok çeşitli non-iyonik sürfektanları denemişlerdir. Lipofilik sürfektan olarak sorbitan monooleat (Span 80), hidrofilik ajan olarak da polioksietilen sorbitan monolaurat (Tween 20), polioksietilen sorbitan monooleat (Tween 80), polioksietilen oleil eter (Nikkol BO-10Tx), polioksieti-

en lauril eter (Nikkol BO-9Ex), polioksietilen nonilfenil eter (Nikkol NP-10), polioksietilen monolaurat (Nikkol MTL-10) kullanılmışlardır.

Kita ve arkadaşları (39) 1977'de, lipofilik ajan olarak Span 80, hidrofilik ajan olarak da Tween 20, Kavaliunas ve Frank(38) 1978'de, nonilfenil dietil glikol eteri (EMU-09) kullanılmışlardır.

1981'de, Florence ve Whitehill (21), sürfektan olarak Span 80, Tween 80, polioksietilen lauril eter (Brij 30) ve polioksietilen oktilfenol (Triton X-165)'ü denemişlerdir.

Tomita ve arkadaşları (77), lipofilik emülsiyon ajanı olarak Span 80 ve hidrofilik olarak Tween 80'i ; Matsumoto (47),1982'de, lipofilik emülsiyon yapıcı olarak Span 80, hidrofilik olarak da Tween 80, sodyum dodesil sülfonat (SDS) ve dietil trimetil amonyum bromürü (CTABr) kullanılmışlardır.

Bunlardan başka Brij 30, Brij 35, Brij 93, Brij 97, sorbitan tristearat, polibutilen polimerik türevleri, polioksietilen oleik alkol, sorbitan seskiolat, vb kullanılabilirliği gösterilmiştir (15).

### 2.1.2.3. Su fazı

Sulu faz olarak distile su ya da saf demineralize sudan yararlanılmıştır. Multipl emülsiyon preparatlarının yapımı sırasında sulu faza gerektiği kadar hidrofilik sürfektan katılır. Ayrıca multipl emülsiyon sistemlerinin kararlılığını sağlamak için belirli yardımcı maddeler de eklenebilir (65).

#### 1.2.4. Yardımcı maddeler

Multipl emülsiyonların stabilitesini arttırmak için aşka maddelere gereksinim duyulabilir (14).

İç veya dış su fazına ve yağlı faza eklenen bu maddeler: antistatikler, beyazlatıcılar, muımları dağıtıcı ajanlar, emisitler, renklendiriciler, parfümler, aromatanlar, tam-onlar, etken maddeler, ultraviyole soğuranları, vd olabilir (65).

Sulu faza eklenebilecek olan maddeler:

a) Yüzeılerarası filmi sağlamlaştıran stabilizatörler: Örneğin gliserol, sodyum kazeinat, sodyum klorür(65).

b) Mikrobik gelişmelerden koruyucu ve antioksidanlar:

Klasik emülsiyonlarda fenol (%0.5) , klorkrezol (%0.1), fenilmerkürü nitrat (%0.001), setrimid (%0.001), benzalkonyum türevleri ( % 0.001), benzoik asit ve diğer hidrobenzoatlar ve kloroform kullanılabilir (54).

Sorbik asit koruyucu olarak kullanılır ve özellikle non-iyonik sürfektanları içeren ürünler için uygundur. Etkenliği yüksek olmasına karşın allerjik oluşturucu özelliğinden dolayı tercih edilmez (54).

Hidroksibenzoatlar da geniş çapta kullanılırlar. Koku-suz, tatsız, inert, kararlıdırlar ve toksik değildirler (54).

Yüksek esterlerin (propil ve butil) doymuşluğa yakın konsantrasyondaki çözeltileri kullanılır. Non-iyonik sürfektanlarla kullanıldığında etkenlikleri düşer (54).

Oksidasyonu önleyiciler de aktif bileşiklerin veya yağ fazının oksidasyonunu azaltmak için emülsiyonlara eklenir.

n çok kullanılanları, alkilgallat, askorbik asit, sodyum metabisülfid'tir (54).

c) PH değışikliklerinde:

Laktik asit, sodyum fosfat kullanılır (65).

d) Dayanıklılığı arttırmada hidrokolloid polimerler:

Çeşitli selüloz türevleri, yoğun kolloidal solüsyonlar oluşturmak için kullanılır. Bu şekilde oral alınabilecek su içinde yağ dağılımları yapılabilir. Yüzey etken özellik göstermezler. Ancak yağların sıvılarla oluşturdukları yoğun solüsyonlarda yayılabilirler. Damlacıkların biraraya gelmesi jelin özellikleri ile engellenir. Bu amaçla jelatin, selüloz türevleri (karboksimetil selüloz, sodyum karboksimetil selüloz), pektin, zamklar (kitre zamkı) kullanılabilir. Zamkları hazırlamak kolay ve jelleşme noktası yüksektir, nötraldir. Ayrıca polietilen glikol 300, polietilen glikol 400, polietilen glikol 1540, akasya zamkı, sodyum aljinat, karboksipolimetilen de kullanılmıştır (54).

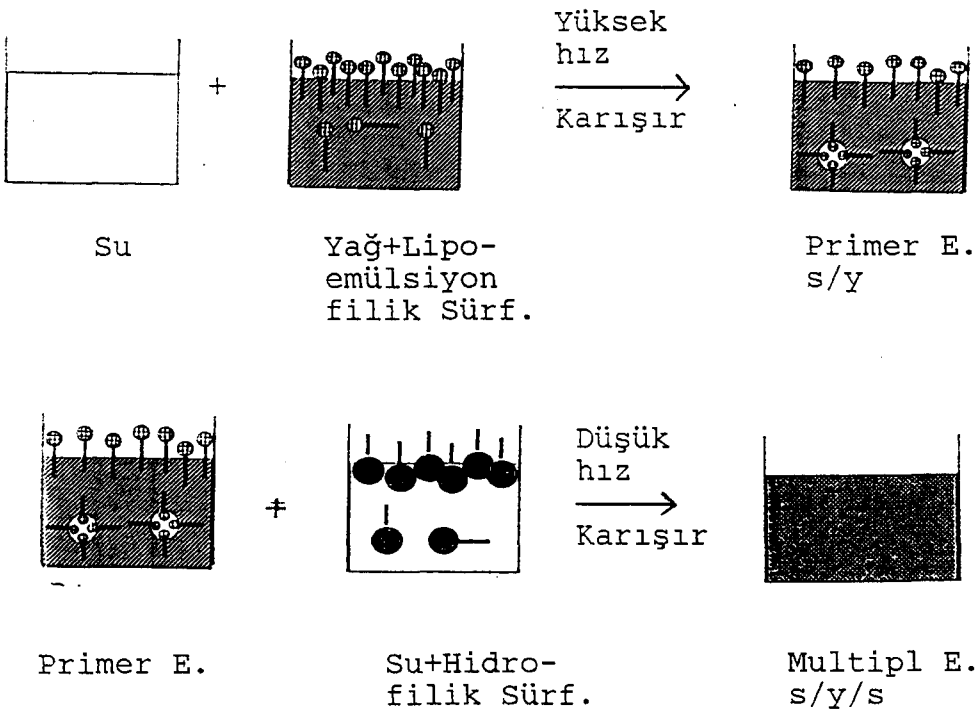
### 2.1.3. Multipl emülsiyon hazırlama yöntemleri

Kozmetik ve farmasötik amaçlı multipl emülsiyon üretiminde çok fazla denebilecek sayıya ulaşamamıştır. Genelde besinle ilgili çalışmalar dikkat çekicidir.

Üretim şekli, emülsiyon üretiminde önem taşır. Üretim şekli, emülsiyon tipinin kalitesini düşürebilir. Bu nedenle de multipl emülsiyon üretimi sınırlıdır (65).

### 1.3.1. Çift basamaklı üretim tekniği

Bu üretim tekniği en yaygın olarak kullanılmaktadır (66). Burada, multipl emülsiyon hazırlanması laboratuvarlarda ilk emülsiyondan tekrar emülsifikasyonla gerçekleştirilebilmiştir. Çift basamaklı üretimde, ilk emülsiyon bilinen yöntemle hazırlanır. İkinci basamak ise, ilk emülsiyonun daha ileri emülsiyonudur. Bunun için s/y emülsiyonun oluşturulmasında lipofilik sürfektan kullanılmıştır. İlk emülsiyonda sulu çözeltiye, lipofilik sürfektan içeren yağlı çözelti eklenmiştir. Bu şekilde primer emülsiyon oluşturulmuştur. Daha sonra primer emülsiyon, hidrofilik sürfektan içeren sulu çözeltiye eklenmiştir. Bu şekilde s/y/s multipl emülsiyonu elde edilebilir (66,23). Şekil 2.2.'de üretim tekniği şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.2- Çift basamaklı emülsiyon hazırlama yöntemi

Bu hazırlama tekniğinde, ikinci emülsiyon basamağı kritiktir. Burada emülsiyona giren lipofilik yüzey etken, s/y emülsiyonun yüzeylerarasını oluşturan kristal yapıya girer ve yağ membranının stabilizasyonunda rol alır. Oysa hidrofilik yüzey etken y/s dış yüzeylerarasına girerek yağ globüllerinin saçılmasına neden olur (14).

Bu hazırlama yönteminde, yüksek hızda karıştırma ve sonikasyon kullanılmaz. Aşırı hızda karıştırmada damlalar parçalanabilir ve yağ damlaları dıştaki su fazına karışabilir (23).

İlk emülsiyon basamağında oldukça kısa bir üretim zamanında (25 ila 35 dak ), yüksek hızda (1200 ila 1500 rpm ) ve yüksek sıcaklıkta (yaklaşık 80°C) karıştırma yapılmalıdır(66).

İkinci emülsiyon basamağında ise aşırı karışmadan dolayı damlacıklar parçalanabileceğinden üretim hızı düşük (400 ila 600 rpm ) tutulmalı, üretim oda ısısında ve yavaş (yaklaşık 1 saat) yapılmalıdır. Primer emülsiyonun tamamı eklendikten sonra 20 dak devamlı karıştırılmalıdır. Multipl emülsiyon hazırlanmasında 2500 ila 3000 rpm 'de karıştırma ve kısa üretim zamanı da (10 dak ) uygulanabilir ancak bu yöntemi uygulamak çok zordur (66).

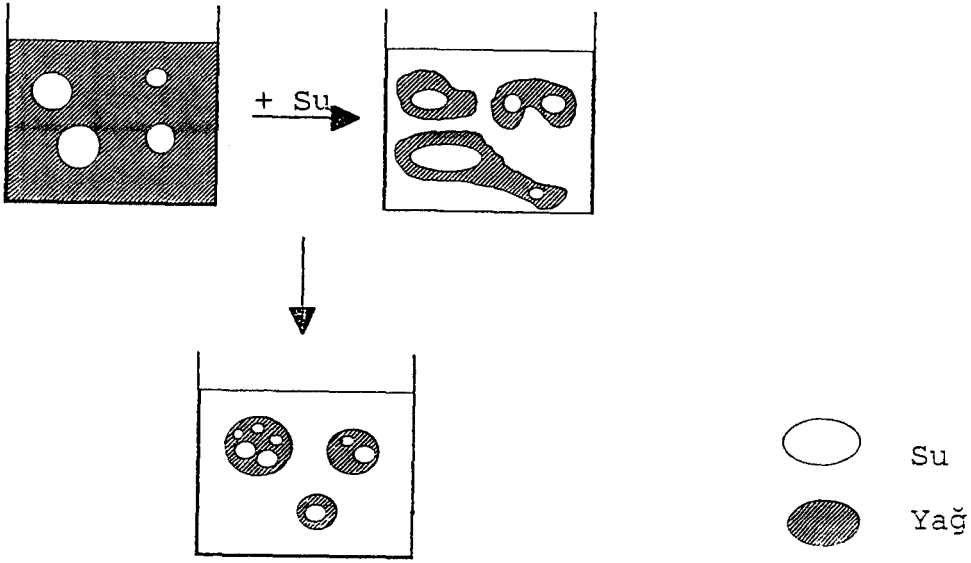
Matsumoto ve arkadaşları (48), 1976'da s/y/s multipl emülsiyon üretiminde, çift basamaklı üretim tekniğinden yararlanmışlardır.

Brodin ve arkadaşları'da (8,9), çift basamaklı üretim tekniğini uygulamışlardır.

### 2.1.3.2. Faz değişimi yöntemi

Bu yöntem özel bir formülasyon, kompleks aletler ve karmaşık bir hazırlık gerektirir (14).

Yöntem iki basamaklı emülsiyon hazırlama yöntemine benzer. İki yöntem arasındaki fark ise sürfektan solüsyonu içine sulu sürfektan solüsyonunu koymaktır(66). Şekil 2.3.'de üretimin nasıl oluştuğu gösterilmiştir.



Şekil 2.3- Faz değişimi yöntemi ile emülsiyon hazırlanması

Yapılan çalışmalarda basit emülsiyon (s/y) hazırlanmış, buna gittikçe artan miktarlarda hidrofilik ajan içeren sulu solüsyon eklenmiş ve katılan su hacmi %70 olmuştur, bu arada ani olarak multipl emülsiyon oluşumu gözlenmiştir (14).

Faz değişim yönteminin avantajlarından birisi, iç su fazının bilinen oranda sağlanabilmesidir. Hassas bir üretim olması ise dezavantajdır. Multipl emülsiyondan, basit y/s

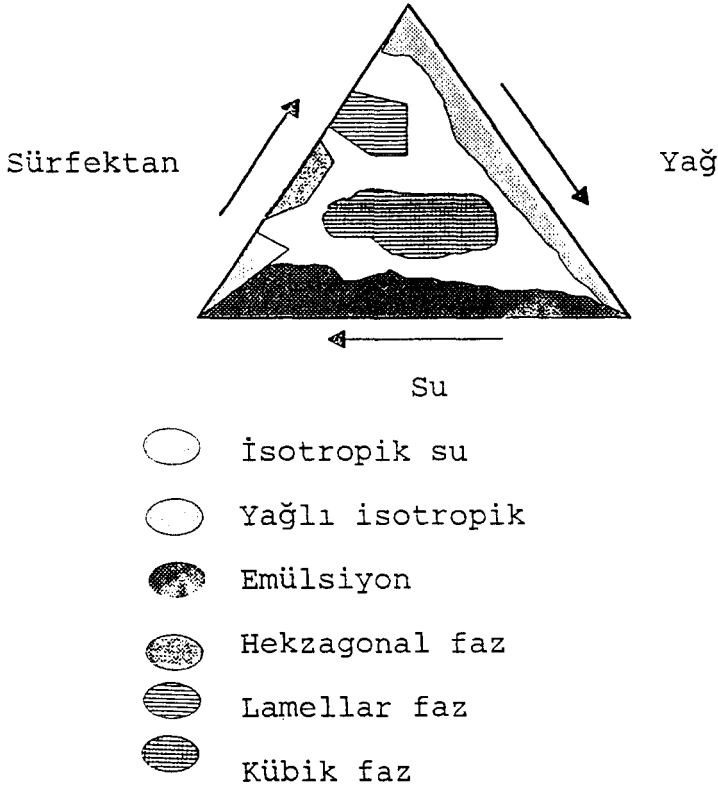


mülasyonu oluşumu gözlenmiştir (66).

### 1.3.3. Üçlü faz diyagramı yöntemi

Bu yöntem çekici bir yöntemdir ancak her zaman kolay sonuç vermez (14).

Üçlü faz diyagramı yöntemi ile multipl emülasyonu oluşturanlar, belirli oranlarda karıştırıldığında, lamellar jel fazı veya yağlı izotropik fazı oluştururlar. Böylece tek basamakta belirli surfektanlarla multipl emülasyonların elde edilebileceği gösterilmiştir. Bu yöntem, yüksek hızda karıştırma sırasında eklenen su miktarının iki fazdan birinde yayılmasını içerir(66). Üçlü faz diyagramı Şekil 2.4.'de gösterilmiştir.



Şekil 2.4- Üçlü faz diyagramı ile emülasyon hazırlama

Bu yöntemin iki yararı vardır: yapılacak karıştırma miktarı sınırlıdır, diyagramın alanı ise sınırsızdır. İlk oluşan kristalin faz, sistemin stabilitesini arttırır (5,14).

Üçlü faz diyagram yönteminde lamellar fazın su içindeki dağılımının bir avantajı vardır: buda emülsifikasyon basamağının tek olmasıdır. Tek bir dezavantajı ise bütün sürfektanların lamellar faz oluşturmamasıdır. Bu yüzden HLB yüksek tutulur fakat bu da multipl emülsiyonun kararlılığının sağlanmasında istenmez. Lamellar faza eklenen yağ miktarı her zaman düşüktür ve genellikle %10'dan fazla değildir (66).

Bu yöntemde, suda dağılan yağlı izotropik fazın avantajı, lamellar fazın sudaki dağılımına benzer. Bu işlem de, bir emülsiyon oluşturma basamağını gerektirir. Buna ek olarak da ilk faz saf ve kararlıdır, elde edilmesi de kolaydır. Bunun temel dezavantajı ise ters misellerde tutulan %10'dan düşük suyun miktarıdır. Varolan iki farklı yöntemde de sürfektanların miktarı yüksektir. Emülsifiye edilmemiş suyun içindeki yağlı izotropik fazın ya da lamellar fazın dağılımından dolayı, iç fazın toplam miktarının belirlenmesi zordur (66).

#### 2.1.3.4. Bir basamaklı emülsiyonların geliştirilmesi

Klasik emülsiyonlara; Fomblin HC (perfluoropolimetil-isopropil eter) eklenerek, uygulama alanı ve fizikokimyasal özellikleri değiştirilip, tek basamaklı multipl emülsiyonlar geliştirilmiştir. Üç faz sistemlerinin formülasyonunda kullanılan Fomblin HC'nin en önemli özelliği suda ve yağlı fazda çözünmemesidir (6).

#### 2.1.4. Multipl emülsiyonlardan etken madde serbestleşmesi

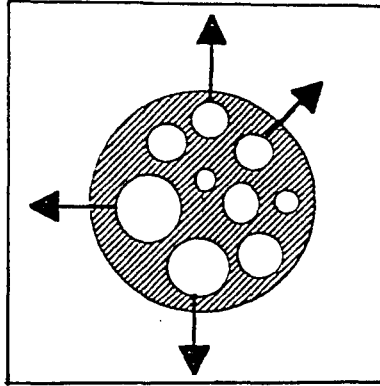
Multipl emülsiyonlardan etken madde salım mekanizması tam olarak bilinmemektedir, bunun çalışılması kompleks ve zordur (66).

Etken maddenin salımını, maddenin  $PK_a$ 'sı, partiyon katsayısı, partikül iriliği, difüzyon katsayısı, emülsiyonun pH'sı, iyonik şekli, viskozitesi, fizikokimyasal özellikleri, vd 'i etkiler (14).

Etken maddenin salımı iki temel mekanizmayla gerçekleşir. Bunlar ya birarada ya da tek başlarına gerçekleşir(66). İlk mekanizma difüzyon mekanizmasıdır. Bu mekanizma ile etken madde iki faz arasında basit difüzyonla salınır. İkinci mekanizma ise yağ membranının kırılması ile iç sulu faz ile dış sulu fazın karışmasıdır (68).

##### 2.1.4.1. Difüzyon mekanizması

Bu mekanizma yüksek y/s partiyon katsayısı içeren maddeler için geçerlidir. Yağda çözünen non-iyonik maddeler pasif difüzyonla dışarı çıkarlar(66,14).Mekanizma Şekil 2.5'de gösterilmiştir.



Şekil 2.5- Difüzyon ile serbestleşme mekanizmasının gösterimi

Florence ve Whitehill (23), yağda çözünen non-iyonik maddelerin dağılımını 1.derece kinetikle açıklamışlardır.

Fick Yasası ile şu şekilde ifade edilmiştir:

$$\frac{dC_o}{dt} = \frac{-DA \cdot \Delta C}{dx} = \frac{-DA}{dx} \cdot (C_o - C_i)$$

$C_e = C_o / P$  olduğunda,

$$\frac{dC_e}{dt} = \frac{1}{P} \cdot \frac{dC_o}{dt} = \frac{DA}{dx} \cdot \frac{1}{P} \cdot (PC_e - C_i)$$

$C_e$  = Dış sulu fazdaki ilaç konsantrasyonu

$C_o$  = Yağlı fazdaki ilaç konsantrasyonu

$C_i$  = iç sulu fazdaki ilaç konsantrasyonu

$D$  = Yağlı fazda maddenin difüzyon katsayısı

$dx$  = Difüzyon tabakasının kalınlığı

$P$  = Dış sulu faz ve yağ arasındaki ilaç partisyon katsayısı

$t$  = Zaman

Tutulmuş iyon iç sulu fazda kullanıldığı zaman madde iyonize olur ve  $C_i$  ihmal edilir.

$$\frac{dC_e}{dt} = \frac{DA \cdot C_e}{dx} = k \cdot C_e \quad \text{ve}$$

$$C_e = C_e \cdot e^{-kt} \quad \text{olur.}$$

$k$  = Sabitedir. Dış faz ve sıvı membran arasındaki alan da ilaç difüzyon katsayısında bir etkindir (23). Böylece yağda çözünen non-iyonik maddeler konsantrasyon gradiyenti

vönünde difüzyona uğrarlar.

Brodin ve arkadaşları (8), 1978'de, multipl emülsiyon sistemlerinde çalışarak, narkotik antagonist olan naltrekson'un sulu sıvı membranın arasından salım mekanizmasını etkileyen önemli faktörleri göstermişlerdir. İlk çalışmalarında, y/s/y sistemlerinde, kompleks bir salım şekli bulmuşlardır; özellikle ilaçların daha yüksek konsantrasyonlarını içeren sistemlerde, ilacın iki belirli fazda ( $\alpha$  ve  $\beta$  fazları) salındığını bulmuşlardır.  $\alpha$  fazının hızla ortaya çıkışı yağ süspansiyonundan salımına karşılık gelirken, bu yağ süspansiyonu (emülsiyonların üretimi sırasında iç yağ fazındaki kayıp yüzünden) dış yağ fazında ilaç partiküllerinin varlığını göstermektedir (8).

Sonikasyonla hazırlanan emülsiyonlar geciktirilmiş  $\beta$  fazı göstermektedir.  $\beta$  fazı sırasında salımın daha yavaş olduğu bulunmuştur. Düşük konsantrasyonda ilaç içeren emülsiyon sistemlerinin iç yağ fazından salım olduğu gösterilmiştir. Çözünmüş ilaç dağılımı bilinmediğinden  $\alpha$  ve  $\beta$  fazının miktarının tartışılması mümkün olmamıştır (8).

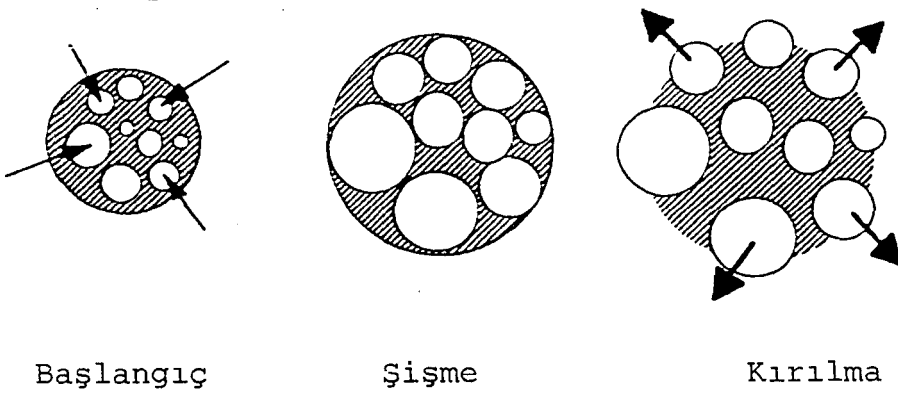
Brodin ve arkadaşları (9), çalışmalarında, narkotik antagonist olan naloksan'ın salım mekanizması üzerinde yaptıkları çalışmalarla önemli faktörleri belirlemişlerdir. Naloksan'ın difüzyon katsayısını, sürfektanlı ve sürfektansız sulu çözeltilerde saptamışlardır. Yaptıkları çalışmalarda membran yapının, katılan sürfektanların yapısının ve osmozun etkisini göstermişlerdir. Osmoz olayı oluştuğunda, difüzyon katsayısının düştüğünü belirtmişlerdir. Buradaki düşüş

multipl emülsiyonun bir veya iki yüzeyi arasındaki sürfektanlardan tuzun dışarı verilmesi ile oluşmaktadır. Bu da sürfektanın yüzeyinin sertliğini arttırmaktadır.

Garti ve Magdassi (43), yaptıkları çalışmalarda elektrolit salımını incelemişler. Salınan sodyum klorür ve organik emülsiyon olan efedrin hidroklorür de farklılık olduğunu göstermişlerdir. Elektrolitin baştaki konsantrasyonunun artması ile salım hızı azalmıştır. Multipl emülsiyonlardan elektrolit salımını için, polimerik matrikslerden yapılmış ilaç taşıyıcı sistemlerden salım gösteren modellere benzer kinetik model bulunmuşlardır.

#### 2.1.4.2. Yağlı membranın kırılması ile serbestleşme mekanizması

İçteki sulu faza, dıştaki sulu fazdan osmotik basınçtan dolayı su akışı olur. Dolayısı ile damlacıklarda şişme oluşur. Yağlı fazın kırılması ile içteki globüller dışarı karışırlar. Moleküllerin tamamı konsantrasyon gradiyentine bağlı olarak taşınırlar(14).Şekil 2.6.'da mekanizma gösterilmiştir.



Şekil 2.6- Kırılma ile serbestleşme mekanizması

Multipl emülsiyonlardan madde salımını inceleyen, agdassi ve Garti (44), yaptıkları çalışmalarda ilaçların göçmesinin kontrollü difüzyonla mı yoksa kırılma ile mi gerçekleştiğini gözlemişler ve ilaçların salımının multipl damlacıkların kırılmasının ardından birleşme ile değil, kontrollü bir difüzyonla olduğunu bulmuşlardır. Elektrolitin salımı bileşiğin konsantrasyonuna ve yapısına bağlıdır. İç fazın viskozitesine bağlı değildir. Elektrolitin salımı difüzyon veya kırılma ile salınma şeklindedir. Kırılma ile salınan elektrolitler kararlı emülsiyon elde etmek için yeterli değildir. Difüzyon kontrolü düşünülmelidir.

S/y/s emülsiyonlarında ilaç serbestleşmesini görebilmek için içteki sulu faza belirleyiciler konmuştur. Bu maddeler poliporfir (82), politartrazin (82); elektrolitlerden, sodyum klorür (1), kokain (57), sodyum siyanür, bakır sülfat, sülfürik asit, hidroklorik asit, magnezyum sülfat, sodyum hidroksit'tir (71).

#### 2.1.5. Multipl emülsiyonların özelliklerinin belirlenmesi

Multipl emülsiyonların istenen özelliklere sahip olup olmadığını anlamak için karakteristik bazı çalışmalar yapılır (63). Karakteristik çalışmalar aşağıdaki konuları kapsar:

##### a) Makroskobik analiz

Multipl emülsiyonlarda, organoleptik karakterler (renk, kıvam, görünüş) ve homojenite (kremalaşma, faz ayrılması) incelenir (34).

b) Emülsiyon tipinin saptanması

Multipl emülsiyonlar dış fazla seyreltilerek dış fazın su veya yağ olduğu saptanır (34).

c) Mikroskopik analiz

Multipl emülsiyon damlacıklarının mikroskop altında incelenmesi, hem multipl karakter taşıyıp taşımadıklarını saptamak için, hem de büyüklüklerinin ölçümü açısından önem taşımaktadır. Multipl emülsiyonlar basit ve direkt olarak mikroskopla izlenebilir.

Analiz yapılacak örnek lam ile lamel arasına konur ve immersiyon yağı damlatılarak, 1250x büyütme ile incelenir (16).

Matsumoto (48), s/y/s emülsiyonlarını mikroskop altında saptadıktan sonra, bunu fotomikrografi ile göstermiştir. Yapıldığı çalışmada yağ damlalarının ışığı yansıtıp, iç su damlalarının görülmesini engelleyebileceğini belirtmiştir. Belirtilen bir başka problem de basit ufak damlacıkların büyük basit damlacıkların altında görülerek multipl damla izlenimini vermeleri ve multipl damlacıkların içlerindeki damlacıklarında kayıp olması ve kayıp ile iç damlacıkların büyüklüklerinde azalma olmasıdır (23).

Kavaliunas ve Frank'da (38), ışık mikroskobu kullanmışlardır.

Mathew ve arkadaşları (46), damlacık büyüklüklerini eyepiece mikrometre ve stage mikrometre kullanılan mikroskop ile göstermiş ve immersiyon yağı altında farklı multipl emülsiyonları belirlemişlerdir.



Omotosho ve arkadaşları (59), preparasyondan hemen sonra ışık mikroskobunu kullanarak, multipl damlacıklar ve içteki su damlacıklarının büyüklüklerini saptamışlardır.

Adeyeye ve Price'da (2), multipl emülsiyon sistemleri üzerindeki non-iyonik sürfektan konsantrasyonunun ve tipinin etkilerini mikroskop altındaki çalışmaları ile göstermişlerdir.

Fotomikrografi ile ortaya çıkan problemi, Davis ve Burpage (12), freeze-etching elektron mikroskobu tekniği ile ortadan kaldırmışlardır. Örnekler önce dondurulup (freeze-etched) elektron mikroskobu ile incelenmiş ve içteki su damlacıklarının görünüşleri net olarak izlenebilmiştir. Bu yöntemin dezavantajı ise masraflı ve zaman alıcı olmasıdır (23).

Florence ve Whitehill (23), multipl emülsiyonların üç farklı tipte olduğunu faz-kontrastlı mikroskop kullanarak saptamışlardır ve bunu fotomikrografi ile göstermişlerdir. Her multipl emülsiyon karakterinde farklılık olduğunu belirtmişlerdir. Tip A multipl emülsiyonlarında oldukça küçük multipl damlaların (ortalama çap 8.5 mikrometre) içinde az sayıda bağıl olarak büyük damlacıklar (ortalama çap 3.3 mikrometre); tip B multipl emülsiyonlarında ise daha büyük multipl damlalarda (ortalama çap 19 mikrometre), daha fazla sayıda iç damlacık (ortalama 2.2 mikrometre) vardır. Tip C emülsiyonlarının çok fazla sayıda iç damlacığın büyük (ortalama çap 25 mikrometre) multipl damlalarda bulunduğu belirtilmiştir. Florence ve Whitehill (21), fotomikrografi ile, üç sistemdeki

multipl damlaların büyüklükleri ve değişimleri, A ve B emülsiyonlarının iç sulu damlacıklarının büyüklükleri, A ve B emülsiyonlarında multipl ya da basit yağ damlalarının oranlarındaki değişimleri ve A ve B emülsiyonlarında iç su damlalarının sayılarındaki değişimi saptamışlardır.

#### d) NMR (nükleer magnetik rezonans)

NMR testi multipl emülsiyonun karakterini belirlemede yeni bir tekniktir. Basit emülsiyonlarda su protonlarının NMR sinyalleri birbirine yakın, dar veya tektir. Pikler genişlememiştir. Multipl emülsiyonlarda ise pik genişlemiş ve/veya su proton sinyali çift katı olmuştur (67).

Basit emülsiyonlarda, tek bir arayüzey vardır. Su molekülleri burada özgür olarak salınır, hızları, gevşeme ve tekrar orientasyonu da fazladır. Bu yüzden spektrumdaki pikler dardır. Multipl emülsiyonlarda ise iki arayüzey bulunur ve global yüzeylerarası alan oldukça önem taşır. Su molekülleri bu iki yüzey arasına yapışıktır. Moleküller özgür değildir, daha az değişkendir ve hızları da gevşeme ve tekrar orientasyonda çok yavaştır. Su proton sinyalleri spektrumda çift yada genişlemiş olarak görülebilir (41,14).

#### 2.1.6. Multipl emülsiyonların stabilizasyonu

Kozmetik veya farmasötik bir emülsiyon, rahatsız edici ve duyarlılık yaratıcı olmamalıdır. Fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik olarak kararlı olmalıdır. Hoş kokulu ve iyi görünümlü olmalıdır. Ürünlerin bu özellikleri gösterip göstermediği piyasaya verilmeden önce stabilite testlerinden ge-

irilerek anlaşılabilir (60).

Emülsiyonlar termodinamik yönden kararsız sistemlerdir ve hazırlanmalarından sonra değişikliğe uğrarlar. Kozmetik emülsiyonlar yaklaşık olarak 2-3 yıl kararlı kalmalıdır. Farklı bölgelerin iklim değişikliklerine karşı duyarlılık göstermelidirler (60).

Bir emülsiyonun stabilitesi, emülsiyonun kendi fiziksel kararlılığı ve onu meydana getiren maddelerin fiziksel ve kimyasal kararlılıkları açısından düşünülmelidir (60).

#### 2.1.6.1. Fiziksel kararlılık

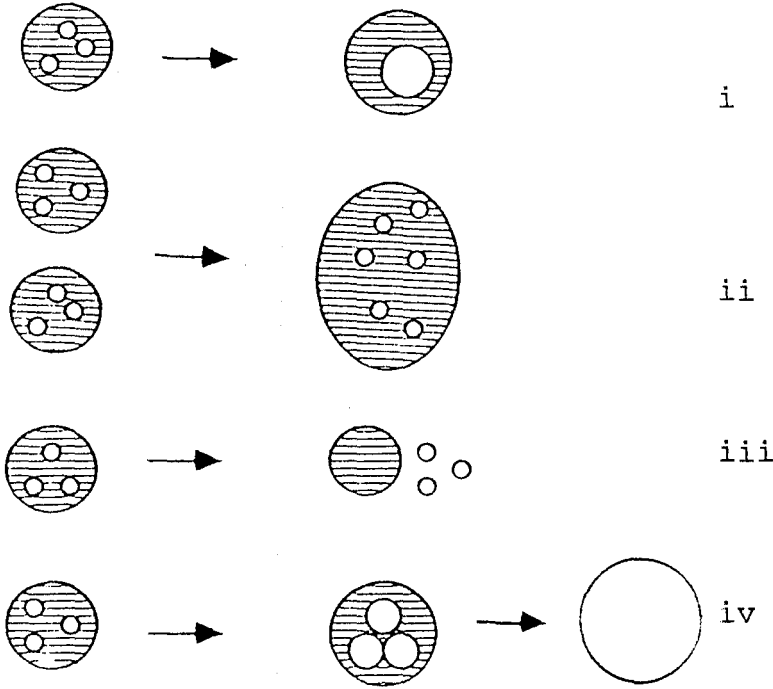
Multipl emülsiyonlarda (s/y/s) kararlılığı etkileyen mekanizmalar şunlardır (21,14).

- i) İçteki su damlacıklarının birleşmesi
- ii) Basit veya multipl yağ damlalarının birleşmesi
- iii) Kırılan yağ filminin, iç ve sulu fazdan ayrılması
- iv) İçteki damlaların şişmesi ve yağlı alandan geçerek dışarıya su akışı

Şekil 2.7'de mekanizmalar gösterilmiştir.

Kremalaşma bir emülsiyonda oluşabilecek dönüşümlü değişikliklerdendir. Bu değişiklik farmasötik bir emülsiyon için kabul edilebilir ancak elle çalkalama veya karıştırma ile orijinal duruma geri döndürülebilmelidir. Oysa kozmetik bir emülsiyonda kremalaşma genellikle kabul edilemez. Birleşme de dönüşümsüz bir olaydır. Bu olayı etkileyen faktör yüzeylerarası bariyerin mekanik gücüdür. Fazlar arasındaki orantısızlık difüzyon olayının bir sonucudur. Faz ayırımı da emülsiyon damlalarının kremalaşması ile emülsiyonun üst kısmında de-

işik bir emülsiyon tabakası ile oluşur (14,51).



Şekil 2.7- Stabiliteyi etkileyen mekanizmalar

Burada faz hacmi, sıcaklık, karıştırma hızı ve kayma gibi etkenler önem taşır.

a) Faz hacmi

Araştırmacılar deneysel koşullar altında, s/y/s multipl emülsiyonlarında iç sulu faz hacminin ( $\phi_{s/y}$ ), emülsiyon veriminde önemli olduğunu bulmuşlardır. Bunun yanısıra iç sulu faz hacminin, fazdan madde salımını da etkilediğini rapor etmişlerdir. İkinci faz hacminin ( $\phi_{s/y/s}$ ), düşük hacim fraksiyonları üzerinde multipl damla verimini etkilemesi ise enteresandır.  $\phi_{s/y/s}$ , 0.4'ün üzerine çıktığında anlamlı bir etki olmamıştır (23).

Davis ve Walker'da (13), yağ tipinin yanısıra faz hac-

inin multipl emülsiyonlara etkisini göstermişlerdir.

Bazı çalışmacılar optimal iç faz hacminin %25-50 olması gerektiğini söylerken (23), Seiller ve arkadaşları (46), multipl emülsiyonlarda  $\dot{\gamma}$ s/y değerinin en az %70 ve hatta 30'a kadar olduğunda kararlı emülsiyonların hazırlanabileceğini belirtmişlerdir.

Yapılan bir çalışmada ise tutulmuş iç damlacıkların sayısının ve tutulma olasılığının, multipl damlacıkların bağlayıcıları ile orantılı olduğu bulunmuştur (23).

#### b) Kaymanın etkisi

Burada iki ayrı parametre olan kayma gerilimi ve hızı nem taşır.

Multipl emülsiyon üretiminde kullanılan aletlerin, emülsiyonun stabilizasyonunda etkili olan viskozitesi üzerine direkt etkisi vardır. Ultra-Turrax, Mikrovortex ve Pinmixers (77) karıştırıcılardan multipl emülsiyon hazırlanmasında yararlanılmıştır. Ultra-Turrax'da rotor ve stator arasından geçen sıvıda kayma gerilimi oluşturulmuştur. Bu üretimde hava sıvı yüzeylerarasında kalan sürfektan büyük miktarda havanın tutulmasına yol açmıştır. Kayma sonucu hava kabarcıkları ile birleşerek sistem kararsız hale gelmiştir (63).

Yapılan çalışmalarda homojenizasyon zamanı yükseldikçe multipl damlacıkların veriminin hızla düştüğü görülmüştür. Yüksek kayma, multipl emülsiyonun büyük yüzdesini bozabilir ve basit emülsiyona (y/s) dönüşmesine neden olabilir (24).

### c) Sıcaklık

Sıcaklık önemli parametrelerdendir ve primer emülsiyon retimi boyunca da dikkatle kontrol edilmelidir. Primer emülsiyon üretim sıcaklığı  $70^{\circ}\text{C}$  ve multipl emülsiyon içinse bu eğer  $10^{\circ}\text{C}$ 'dir.

Emülsiyon üretiminde, sıcaklık, yüzeylerarasındaki gerilimi, sürfektanların lipofilik özelliklerini ve fazların özünürlüğünü etkiler. Primer emülsiyonun üretim sıcaklığı yüksek olmalıdır. Yüksek sıcaklıkta yüzeylerarasındaki gerilim düşürülerek kararlı emülsiyonlar elde edilip, düzenli ve ufak damlalar sağlanabilir (63).

### d) Karıştırma hızı

Karıştırma hızı primer emülsiyon için 800-2500 rpm ve multipl emülsiyonlar için 600-2000 rpm arasında olmalıdır. Böylece primer emülsiyon yapımında karıştırma hızı yüksek, multipl emülsiyon yapımında ise düşük tutulmalıdır (8). Eğer karıştırma hızı yeterli değilse, damlalarda kremalaşma ve/veya birleşme oluşabilir (34).

### e) Damlacık büyüklüklerinin etkisi

Multipl emülsiyonlarda damlacık büyüklükleri birbirine çok yakın ise maksimum stabiliteye ulaşmak olasıdır. Yüksek hacim fraksiyonunda, damlalar dikkatle çok sıkı olarak birbirarada bulduklarında, kremalaşma güçleşir. Arayüzey kararlı değilse, damlalar birleşebilir (63).

Primer damlacıkların yüzey alanı multipl damlacıklarından fazla olduğundan, primer emülsiyonun hazırlanması, ge-

ekli olan sürfektan miktarı, multipl emülsiyon için gerekli landan fazladır. Burada primer ve sekonder sürfektan oranı .4'e eşit veya daha büyük olmalıdır. Bundan küçük oranda karlı emülsiyon oluşamaz (63).

#### .1.6.2. Kimyasal stabilite

Emülsiyonların kimyasal stabilitesi, pH ayarlanması ile antioksidan ve şelat yapıcı ajanlar kullanılarak, ürünün ışıktan korunması, vb gibi önlemlerle sağlanabilir (63).

#### .1.6.3. Mikrobiyolojik stabilite

İnsan dokusu ile uzun süre temasta kalabilen emülsiyonların hijyenik standartları taşınması istenir. Bunlar patojenik mikroorganizmalardan arındırılmış ve raf ömürleri boyunca uzak olmalıdır. Kullanım süresince kozmetik emülsiyonlar kontaminasyona açıktır. Bu nedenle de antimikrobial ajanlar içermeleri gereklidir (60).

#### .1.6.4. Stabilite testleri

Multipl emülsiyon sistemlerinin stabilite problemleri başlıca engel oluşturduğundan stabilite testlerinden geçirilmesi gereklidir. Stabiliteyi belirleyici hiçbir standart test yoktur. Üreticiden üreticiye test yöntemleri değişmektedir. Krem ve losyon tipi multipl emülsiyonlar başlıca faz ayırımı için değerlendirilmişlerdir.

Kozmetik emülsiyonların stabilitelerini önceden belirlemek için kullanılan yöntemler şu şekilde sıralanabilir:

a) Mikroskobik testler

Polarize mikroskop deneyleri ve dondurulmuş-kesit elektroskop tekniği multipl emülsiyonların yapılarının incelenmesinde kullanılmıştır. Devamlı fazın yapısı damlacık birleşiminden sorumludur ve emülsiyon stabilizasyonunu belirler (47).

Birçok araştırmacı bu tekniklerden yararlanarak, yeni hazırlanmış multipl emülsiyonların stabiliteyi üzerinde çalışmışlardır (12).

b) Santrifüj

Uzun süreli stabiliteyi tahmin etmek için dizayn edilmiş testlerden biridir.

Taze hazırlanmış multipl emülsiyon santrifüj tüplerine (boyu 10 cm ve çapı 1.5 cm) konmuş, 1000rpm 'de 3, 9, 18, 30, 45, 60 dakikada santrifüj edilmiştir. Oluşacak kremalaşma veya faz ayırımı izlenmiştir. Bu yöntem multipl emülsiyonun fiziksel stabilitesinin saptanmasında önem taşır (1).

Santrifüj ile test yöntemleri çok viskoz ürünler veya katı katılar için uygun değildir. Santrifügasyonun, emülsiyona neden olan filmin zayıflamasına yol açabileceği ve bunun sonucu damlacık birleşmelerinin oluşabileceği öne sürülmüştür (60).

Santrifüj deneyleri, normal emülsiyon durumlarını yansıtmaz ancak emülsiyonların karşılaştırılmasını sağlar. Ayırma hızı da zamanla artıyorsa uzun süreli stabilitesinin tahmini için fikir verebilir (60).



c) Damla büyüklüğü ölçüm yöntemleri

Emülsiyonların damlacık büyüklük dağılımı veya ortalama damlacık büyüklüğündeki değişmeler ürünün uzun süreli stabilitelerinin göstergesi olmuştur. Damlacık büyüklüğü analizi birçok teknikle yapılabilir; mikroskopik teknikler, elektron ayırma teknikleri, vd.

Damlacık büyüklüğü ufaldıkça emülsiyonların daha kararlı olduğuna inanılır. Kozmetik emülsiyonlar 0.5-10 mikrometre damlacık büyüklüğüne sahiptir. Partikül büyüklüğündeki değişmeler eskimiş emülsiyonlar için kararsızlığı gösterir (60).

Multipl emülsiyonlarda mikroskopi kullanarak damlacık büyüklüğü ölçümü yapan birçok araştırmacı olmuştur (23,59,46)

Multipl emülsiyon sistemlerinde, partikül büyüklüklerini ölçmek için sadece mikroskobiden değil, Coulter-Counter tekniğinden de yararlanılmıştır. Multipl emülsiyonlarda bu teknik, elektrolit solüsyonundaki emülsifiye olmuş partiküllerin ufak delikten geçerken yarattığı elektrik direncindeki değişimi ölçer. Delikten geçen damlacıklar hacimleri ile orantılı olarak elektrik direncinde değişiklik yaratırlar (60). Davis ve Burbage (12), Coulter-Counter yöntemini başarı ile uygulamışlardır. İç su fazından dış su fazına doğru osmotik gradyan yönünde net bir su akışı vardır. Bu nedenle multipl damlalar büzülmüştür. Bu büzülmenin derecesi ve hızı, yüzey alanı ve iç su faz hacmi ile ilişkilidir. Partikül büyüklüğü analizini 10 sn sürede gerçekleştirdiklerini belirtmişlerdir.

Garti ve arkadaşları da (27), Coulter-Counter'dan ya-

arlanmışlardır. Multipl emülsiyonlarına sodyum klorür çözeltisi eklemişler ve sonuçta multipl damlaların çapı küçültülmüştür. Bu durum suyun iç sıvı fazından, devamlı sıvı elektrolit faza akışından dolayıdır. Elektrolitlerin varlığından dolayı yaratılan osmotik dengesizliğin sonucu olarak yağ fazı boyunca su geçişi olur. Bu multipl damlaların büyüklükleri, dilüsyondan sonra ölçülmüştür.

d) Multipl emülsiyonların elektriksel iletkenliğinin ölçülmesi

iletkenlik ölçümü de uzun süreli stabiliteyi önceden belirlemek için kullanılan test yöntemlerindedir (60).

Multipl emülsiyonlarda, emülsiyonun üst kısmında yağın çoğalması ve alt kısımda ise suyun artması ile iletkenlik farklılıkları oluşur. Üst ve alt kısımlar arasındaki iletkenlik farklılıkları kararsızlığın göstergesidir (25).

iletkenlik ölçümlerinde asıl yöntem iç sulu faza konan elektrolitlerin konsantrasyonlarının dozlarındaki ölçümü ile bulunmuştur. Burada, ölçüm için CDM 3 tip kondüktometrelerden yararlanılmıştır (16). Su fazında elektrolit bulunan multipl emülsiyon, izotonik glikoz çözeltisi ile 1/15 oranında seyreltilmiş ve iç fazdan dış faza elektrolit akımı durdurulmuştur. Denge meydana gelinceye kadar bu olay devam edecektir. Dış sulu faza salınan elektrolitlerin hacmi  $M(t)$ , ilk baştaki örneğin iç fazında bulunan total elektrolitin hacmi ile ilişkilidir (16).

$$B(t) = M(t) / M_0$$

İlham (34), yaptığı çalışmada elektrolit olarak  $MgSO_4$ ' dan yararlanmış, kondüktometre ile iletkenlik= $f(MgSO_4)$  ölçümlerini gerçekleştirmiştir.

i) Sisteme belirleyici koymak

Sistemin iç fazına belirleyici koymanın etkileri Matsumoto (48), tarafından araştırılmış, belirleyici olarak da glikoz kullanılmıştır. İlk emülsifikasyon basamağında iç sulu faza %0.5 glikoz eklenmiş, ikinci emülsiyon oluşumundan sonra s/y/s emülsiyonunu distile sudan arındırmak için dializ etmiştir. Ve göç eden distile su içindeki glikoz miktarını şu formülle bulmuşlardır.

$$\text{Alan \%} = 100 - 100a.(C/V1+V2+V3)$$

a: Glikozun göç eden miktarı

b: İç fazdaki glikoz ağırlığı

V1,V2,V3: Sırası ile iç sıvı faz hacmi, dış sıvı faz hacmi, distile su hacmi

S/y/s multipl sistemlerinde daha sonra iyon seçici elektrolitler kullanılmıştır. Bunlardan biri olan %0.1 NaCl' den sodyum veya klor iyonları dializ edilmiştir. Bunların hesaplanması da şu şekilde gösterilmiştir (51).

$$\% \text{ Verim} = 100 - 100X/V1 \quad \text{ve}$$

$$X = A (V2+V3) / (B-A)$$

A ve B: İyon konsantrasyonu (distile suda ve sulu faz-

daki)

X(ml.): Bağlanmış iç sulu faz hacmi

V1,V2,V3: Sırası ile iç sıvı faz, dış sıvı faz, distile su hacmi

Kullanılan birçok iyonik belirleyiciden bazıları şunlardır: Magnezyum sülfat (34,51), sodyum klorür (17,49), magnezyum klorür, alüminyum klorür, kalsiyum klorür (1), kokain (57), sodyum siyanür, bakır sülfat, sülfürik asit, hidroklorik asit, sodyum hidroksit (71).

#### e) Viskozite çalışmaları

S/y/s multipl emülsiyonlarında yapılan deneysel çalışmalar sonucu, viskozitenin iç sulu faz ile dış sulu faz arasındaki osmotik basınca etki ettiği bulunmuştur. Viskozite değişimleri osmotik basınç yönünde çoğalma ve azalmalara yol açacaktır. Dış sulu fazın osmotik basıncı, iç sulu faza oranla yüksek olunca viskozite artış gösterecektir. Viskozite değişimelerindeki miktar, iki su fazı arasındaki osmotik basınç gradyanı ile orantılıdır (49).

S/y/s multipl emülsiyon sistemlerinde, bağlı viskozite şu şekilde bulunur (16):

$$nr = n / no$$

nr: Bağlı viskozite

no: Dağılan su fazının viskozitesi

n : Örneğin viskozite ölçümü

S/y/s multipl emülsiyon sistemlerinde, viskozite ve da-

ğılan faz arasındaki ilişki Mooney'in eşitliği ile gösterilmiştir (49).

$$\ln n_{rel} = a \cdot \phi / (1 - \lambda \cdot \phi)$$

$n_{rel}$ : Bağlı viskozite

$a$  : Biçim faktörü

$\lambda$  : Kütle faktörü

$\phi$  : Dağılan fazdaki hacim fraksiyonu

S/y/s multipl emülsiyonlarında dağılan faz, içteki sulu faz ve yağ fazından ibarettir, dolayısıyla  $\phi = (\phi_w + \phi_o)$  ile gösterilmiştir.  $\phi_w$  ve  $\phi_o$  içteki sulu faz ile yağ fazının hacim fraksiyonudur. Eşitlik buna göre (39,47):

$$\ln n_{rel} = a \cdot (\phi_w + \phi_o) / (1 - \lambda \cdot (\phi_w + \phi_o))$$

Bu sabite deneysel  $a$  (2.3-1.9) ve  $\lambda$  (0.5-1.9) oranlarında düzensiz oynamalarla bulunmuştur. Bu değerler aynı örneklerde osmotik basınç etkisi, çözünmenin etkisi, yapının etkisi yüzünden değişimler gösterir.  $\phi_w$  iç sulu faz hacim fraksiyonu ise şöyle gösterilmiştir (50).

$$\phi_w = ((1 - \lambda \cdot \phi_o \cdot \ln n_{rel} - a \cdot \phi_o) / (a + \lambda \cdot \ln n_{rel}))$$

Hacim fraksiyonundaki artış ( $d\phi_w/dt$ ), seyreltilmiş örneklerin birim hacmindeki yağ yüzeyi boyunca nüfuz eden suyun akış hacmine karşılık gelir. Bu seyreltilmiş örneğin birim hacmindeki yağ yüzeyiyle çevrilmiş sıvı kompartıman varlığıyla da ilgilidir. Bu da şu eşitlikle verilir (49,47):

$$d\phi_w / dt = L_p \cdot A \cdot R \cdot T \cdot (g_2 \cdot c_2 - g_1 \cdot c_1)$$

$L_p$ : Yağ yüzeyinin hidrodinamik katsayısı

$R$  : Gaz sabiti

$A$  : Seyreltilmiş örneğin birim hacminde iki fazı ayıran yağ yüzeyinin toplamını gösterir.

$T$  : Mutlak sıcaklık

$c_1$  ve  $c_2$ : Süspande sıvının dış ve iç sıvı fazında elektrolit konsantrasyonu

$g_1$  ve  $g_2$ : İki su fazındaki elektrolitin osmotik basınç katsayısıdır.

Birim zamanda, akan suyun molaritesi şu şekilde verilmiştir (47,49):

$$\phi_w = J_w / \bar{V} = (d\phi_w / dt) / \bar{V}$$

$\bar{V}$  : Suyun kısmi molar hacmi

$J_w$  : Akan suyun hacmi

$$\phi_w = L_p \cdot A \cdot R \cdot T \cdot (g_2 \cdot c_2 - g_1 \cdot c_1) / \bar{V}$$

$$\phi_w = P_o \cdot A \cdot (g_2 \cdot c_2 - g_1 \cdot c_1)$$

$P_o$  = Osmotik geçirgenlik katsayısı yada difüzyon katsayısı (membrana ait).

Abd Elbary ve arkadaşları (1), yaptığı çalışmalar da elektrolit eklenmesinin multipl emülsiyonlarda viskoziteyi azalttığını göstermişlerdir. Elektrolitlerin ve belirleyici maddelerin eklenmesi Newtonian akışı pseudoplastik akışa dönüştürmüştür. Emülsiyonların kremalaşması ile viskoziteleri arasında direkt bir ilişki yoktur.

Ayrıca görünür viskozite; akış eğrisi (kayma oranının

kayma gerilimine grafiğinden) kullanılarak bulunur (22).

$$Rapp = \text{koni sabitesi} \cdot \frac{\text{alet okuması} \cdot \text{aralık faktörü}}{\text{hız}}$$

Rapp = Görünür viskozitesi

### i) Reolojik çalışmalar

Multipl emülsiyonlar sıvı ve katı özelliklerini içeren viskoelastik maddeler olarak bilindiklerinden, reolojik çalışmalar gerçekleştirilebilir. Bu yönde, iki farklı deney yapılabilir (72).

#### Osilasyon deneyi:

Parçalayıcı bir yöntem değildir ve multipl emülsiyonların yapıları hakkında bilgi verir. Osilasyon deneyi, düzenli olarak germek ve sinüsoidal gerilimin uygulanışından ibarettir. Gerilim'in etkisi ile , aynı açısal frekansta ve bir gecikme fazı ile kayma oluşur.

$$\tau(t) = \tau_0 \cdot \cos wt$$

$$\gamma(t) = \gamma_0 \cdot \cos(wt - \delta)$$

$\tau_0, \gamma_0$ : Gerilim ve kaymanın şiddeti

W : Açısal frekans

t : süre

$$G^* = \frac{\tau_0}{\gamma_0}, \quad \text{ve } G'' = G^* \cdot \sin \delta \quad \text{dinamik parametreleri}$$

reolojik davranışı tanımlayan temel viskoelastik parametre-

lerdir.

\*

G kayma modülüdür, G" ise kayıp modülüdür.

$\delta$  gerilimin, gerilime karşı gelen gecikme fazıdır.

Viskoelastik maddeler için bu değer 0-90 arasındadır. Saf elastik maddeler için ise 0'a eşittir.

\*

Artan gerilim ile G ,  $\delta$  ve G"'daki değişim grafiğe geçirildiğinde, parametrelerin sabit olduğu plato bölgesi, multipl emülsiyonun yapısını belirler. Gerilim ve kaymanın kritik değerleri,  $(\tau_0)_c$  ve  $(\delta_0)_c$  ise visko-elastik geçişi gösterir (72).

### Akış deneyi:

Multipl emülsiyonlarında kayma geriliminin uyardığı bir eskitme yöntemi olarak, oluşan yapısal ve geri dönüşümsüz olaylara yol açan parçalayıcı bir yöntemdir.

Kayma geriliminin azalması (T), sabit kalması ve çoğalmasının fonksiyonu olarak kayma hızının (E) ölçülmesini içerir. Reogramın sonucu üç kısım gösterir.

Akış deneyinde kayma ve eskime etkisi araştırılır. Kayma artan bir eskime olarak alınabilir.

Eskime etkisini incelemek için multipl emülsiyonların reolojik davranışlarının modelizasyonu gereklidir. Cross matematiksel model en uygun sonucu vermiştir.

$$\frac{M - M_s}{M_0 - M_s} = \frac{1}{1 + (C_E)^{.n}}$$



M : Görünür viskozite katsayısı

$M_0$  : Gerilimin sıfır olduğu anki viskozite

$M_s$  : Sonsuz kayma hız viskozitesi

C : Zamana ait parametre

n : İndeks gradyanı

$M_0$ , viskozite üzerinde eskime etkisinin saptanmasını

sağlar (72).

Abd Elbary (1), reolojik çalışmalarında Rheomat 15

viskometresini kullanmış ve  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  de farklı gerilim oranlarında kaymayı göstermiştir.

#### f) Sıcaklık etkisi

Multipl emülsiyonlar hazırlandıktan sonra,  $4^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\pm 1^{\circ}\text{C}$  de tutularak faz ayırımı ya da kremalaşma izlenir. Multipl emülsiyon stabilitesi açısından önemlidir (34).

Uzun süreli stabiliteyi belirleyen test dizaynı olan sıcaklık analizi için ufak hacimlerde emülsiyonlar yeterlidir

(60).

#### g) İnvivo çalışmalar

Stabilite çalışmalarında invivo yöntem de denenmiştir.

S/y/s sistemlerinde iç sulu faza siyanür eklenmiş ve preparat farelere uygulanmıştır. Siyanürün enkapsüle edildiği s/y/s emülsiyonu uygulanan fareler 1 hafta sonra etki göstermişlerdir. S/y/s emülsiyonların sulu fazında enkapsüle edilmemiş siyanür içerenler verildiğinde ise 5 dakika içerisinde hepsinin öldüğü görülmüştür (80,11).

Yapılan bazı çalışmalarda antikanser ajanları s/y/s e-

emülsiyonlarının iç sulu fazlarına eklenmiştir. R1 lenfoma im-  
plante edilmiş farelere metatoraksat tek dozda verilmiş, sıvı  
solüsyondaki ilacın tek injeksiyonundan daha etkili olduğu  
bulunmuştur. Beş kez günlük dozun uygulanması ile fareyi ö-  
lümden korumuşlardır (80).

Lösemili farelerde yapılan çalışmalarda, metatoraksatın  
aktivitesini saptamışlar ve diğer çalışmalarda da multipl  
emülsiyon injeksiyonu yaparak tümör içi injeksiyonlarda  
başarı elde etmişlerdir (80).

Frank ve arkadaşları (9) ise invivo çalışmalarda y/s/y  
emülsiyonları kullanarak naltrekzon'un etkisinin üç katı  
daha uzatıldığını göstermişlerdir.

#### h) Mikrobiyolojik stabilite testleri

Kozmetik emülsiyonların mikrobiyolojik açıdan test e-  
dilmesi, son ürünün mikroorganizmalardan uzak olduğunu gös-  
termesi açısından gereklidir. Mikrobiyolojik testler,  
koruyucu maddelerin tüketim boyunca mikroorganizmaların  
büyümesini engellemesi için yeterli olup olmadığını göstermek  
için de kullanılmıştır (60).

#### 2.1.7. Multipl emülsiyonların saklanması ve korunması

Multipl emülsiyonlar oldukça karmaşık sistemlerdir.  
Bunların kararlı halde bozunmadan korunmaları oldukça güçtür.  
Multipl emülsiyonlar farklı koşullar altında bozunabilirler.  
Bozunmaya etki eden faktörler sıcaklık, nem, basınç, ışık ve  
havadır.

Multipl emülsiyonlarda, yüksek sıcaklıklarda faz ayrış-

ması oluşabilir ve stabiliteleri düşebilir. Multipl emülsiyonların iç fazında bakteriler üreyebilir. Bu nedenle her bir madde steril olmalı ve emülsiyon aseptik ortamda hazırlanmalıdır (80).

Multipl emülsiyon sistemleri biyolojik sıvılarla ilişkiye girdiklerinde fiziksel bozunma oluşabilir, ancak bu gerekçe, etkilerini değiştirmez.

Farklı bölgelerdeki sıcak ve soğuk iklim koşullarına dayanıklı olarak 2-3 yıl kalabilmeleri için, multipl emülsiyonların, istenen nemde , sıcaklıkta, ışıktan az etkilenebileceği yerlerde saklanmaları gereklidir (60).

## 2.1.8. Multipl emülsiyonların uygulamaları

### 2.1.8.1. Multipl emülsiyonların farmasötik amaçlı uygulamaları

Multipl emülsiyonu farmasötik amaçla ilk kullanan Herbert olmuştur (80).1965'de yaptığı çalışma sonucu, multipl emülsiyonların aşılama üstünlük sağladığını göstermiştir (11). Alışıl gelmiş şekilde, Grip virüsü s/y sistemi olarak kullanıldığında, bu emülsiyonun visköz formda olması uygulamada ve uygulanan kişide olumsuzluklar yaratmaktadır. S/y/s sistemlerini oluşturarak bu engel ortadan kaldırılmıştır(24). Yapılan çalışmalarla grip aşısının ve kısa dönem etkili preparatlarının etki süreleri de uzatılmıştır (80).

Multipl emülsiyonlar, uzatılmış etkili ilaç sistemleri olarak da birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Sodyum varfarin, klorpromazin, benzilpenisilin, metadon, sefolorid,

izoprenalin sülfat üzerinde bu yönde çalışmalar yapılmıştır (80).

S/y/s emülsiyonlarının iç sulu fazına farklı antikanser ajanları eklenmiştir. Yapılan çalışmaların birinde multipl emülsiyon uygulandıktan sonra lösemili farelerde metatoraksat'ın aktivitesinin çoğaldığını bulunmuştur (80).

Frank ve arkadaşları (9), y/s/y multipl emülsiyonlarından narkotik antagonist olan naltrekzon'un salım süresinin üç katına çıktığını göstermişlerdir.

Enzimleri hareketsizleştirmek için de multipl emülsiyondan yararlanılmıştır. Oral insülinin alımının multipl emülsiyonlarca yönlendirilebileceğini göstermek için de kullanılmıştır. S/y/s multipl emülsiyonlarının pepsin , tripsin, kemotripsin aktivitelerine karşı oldukça dirençli olduklarını bulmuşlardır (80).

Multipl emülsiyonlar farmasötik alanda antimikotikler, analjezikler, antienflamatuarlar ve antiglakom ilaçları için de kullanılmıştır (14).

Shah ve Gennaro (69), mikrokapsül elde edilmesinde multipl emülsiyon tekniğinden yararlanmışlardır.

#### 2.1.8.2. Kozmetik amaçlı uygulamalar

Kozmetik amaçla kullanılan multipl emülsiyonlar, salınan maddelerin etkilerinin uzatılmasında, hassas biyolojik maddelerin korunmasında ve birbirleriyle geçimsiz maddelerin birarada verilmesinde kullanılmaktadır (24).

Multipl emülsiyonların iç ve dış fazlarına farklı etken maddeler eklenerek; güneş kremleri, nemlendiriciler, besleyi-

ci ve koruyucu el kremleri, makyaj temizleyicileri, traş kremleri, antiperspiran ve parfüm preparatları hazırlanmıştır (81).

Multipl emülsiyonlarda hidrofilik ajan olarak sakkaritlerden ksiloz, maltoz, sorbitol ya da polisakkaritlerden ksantan, pektin, karragen, dekstran veya sentetik türevlerden sentetik polimerler kullanılmıştır (80).

Makyaj temizleyicilerinde, iç fazda hyaluronik asit, dış fazda polietilen partikülleri; vücut bakım kremlerinde iç fazda gliserin , dış fazda sodyum laktat; el koruyucu kremlerinde dış fazda suda çözünür limon ekstratı, iç fazda hidrokinoon; antiperspiran ve deodoran preparatlarda ise dış fazda alüminyum türevleri ve iç fazda da lanolin hidroksi etilen kullanılmıştır (67).

Fomblin HC eklenmesi ile oluşturulan multipl sistemler de kozmetik uygulamalarda önerilmektedir (6).

Multipl emülsiyonların kozmetik amaçlı çok çalışılmasına karşın yalnızca dört ticari preparatı vardır. Bunlar , Estee Lauder (Triple Creme Skin Rehydrator), Bioderma, Lancaster, Rubinstein laboratuvarlarında yapılmış olanlardır (24,81).

Multipl emülsiyonlar, farmasötik ve kozmetik amaçlı uygulamalarının yanı sıra ev temizliği, beslenme ve kimya alanında da kullanılmaktadır (65).

## 2.2. A Vitamini

### 2.2.1. A vitaminin fiziksel özellikleri

A vitamini, başlıca asetik ve palmitik asitlerin esterleri olmak üzere Retinol ve Retinol esterleri içerir. Uygun yağlarla seyreltilmiş olabilir veya sıvağ içinde bulunabilir. Ayrıca antimikrobik ajanlar ve antioksidanlar da içerebilir (78).

Retinol, primer alkoldür; soluk sarı renkli kristal şeklindedir. Pratikte suda çözünmez. Alkolde, kloroformda, eterde ve yağda çözünür (56).

Vitamin A , asetat, propionat ve palmitat esterleri halinde kullanılabilir (56).

Vitamin A asetat, rengi soluk sarıdan soluk kırmızıya kadar değişen kristalli ya da merhem benzeri maddedir .Hafif, kendine has kokusu vardır fakat acımış değildir. Kloroformda ve izopropanolde çözünür ve pratikte suda çözünmez (75).

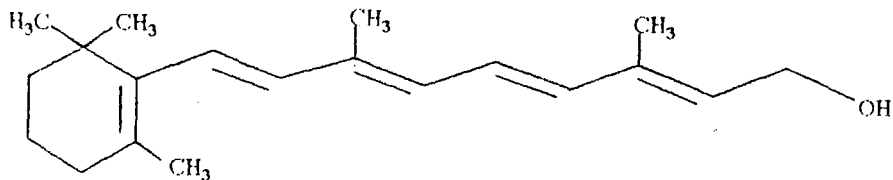
Vitamin A palmitat, rengi parlak sarıdan sarı-kırmızıya doğru değişen, merhem benzeri ya da yağlı madde şeklindedir. Zayıf, kendine has ve acımış olmayan kokusu vardır. İzopropanol, eter , kloroform ve petrol eterinde çok iyi çözünür. Etanolde az çözünür. Suda nerede ise hiç çözünmez (75).

Vitamin A ve esterleri havaya, oksidasyona, asitlere ve ışığa karşı duyarlıdır (56).

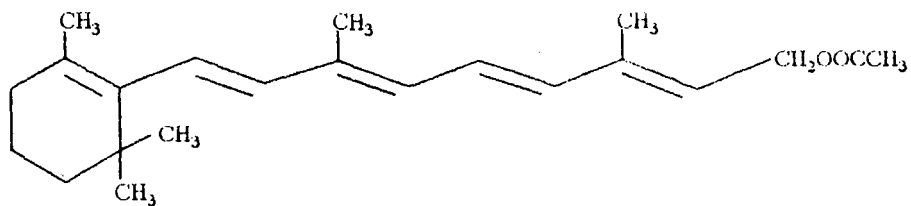
0.344 mg Vitamin A asetat, 0.300 mg Retinole, 0.359 mg Vitamin A propionat ise, 0.550 mg Vitamin A palmitat'a eşdeğerdir (56).

### 2.2.2. Kimyasal özellikleri

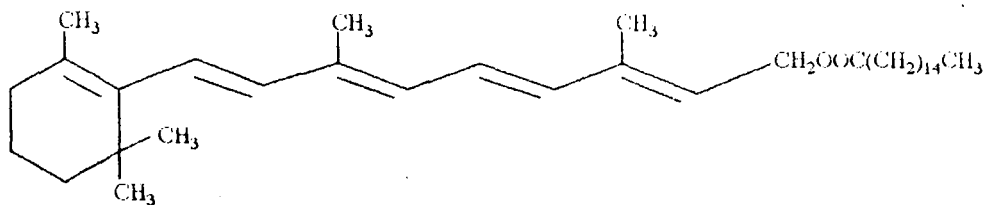
Vitamin A, Retinol, 3,7-dimetil-9(2,6,6-trimetil-1-sikloheksen-1-il)-2,4,6,8-nonatetraen-1-ol yapısında, kapalı formülü  $C_{20}H_{30}O$  olan bir maddedir. Açık formülü aşağıdaki gibidir (74).



Vitamin A asetat; kapalı formülü  $C_{22}H_{32}O_2$  olan bir maddedir. Aşağıdaki formül ile gösterilir (75).



Vitamin A palmitat; kapalı formülü  $C_{36}H_{60}O_2$ 'dir. Aşağıdaki formül ile gösterilir (75).



### 2.2.2.1. Tanınması

#### a) Renk testi:

A Vitamini ve esterlerinin tanınması için antimon triklorürün kloroformdaki doymuş çözeltisinden (Carr-Price be-  
tecinden ) yararlanılmıştır (31).

30 Ünite içeren (6 mg retinol) kloroformun 1 ml sine,  
10 ml antimon triklorür çözeltisi eklendiğinde, derhal geçici mavi renk oluşur (7).

#### b) Kromatografik test:

##### i) İnce tabaka kromatografisi:

İnce tabaka kromatografisi bir fizikokimyasal ayırma yöntemi olup, bir karışımı oluşturan maddeleri daha çabuk, daha hassas ve daha iyi bir çözümüyle ayırdığından ayırma yöntemleri içinde önemli bir yere sahiptir. Burada hareketsiz faz olarak kullanılan adsorban madde cam ya da metal plak üstüne ince tabaka şeklinde kaplanır. Maddeler uygun bir çözücü içerisinde plak üzerine uygulanır. Ve plak, hareketli faz (uygun bir çözücü sistemi) içeren tankın içine yerleştirilir. Sıkıca kapatılır. Ve çözücü sistemi adsorban üzerinde kapiler şekilde yükselirken karışımdaki maddeler birbirinden ayrılırlar. Renksiz madde için belirteç püskürtülerek gözlenir (31). Vitamin A için adsorban olarak silikajel ve solvan sistemi olarak da sikloheksan-eter (4:1) karışımı kullanılmıştır (79). Standart çözelti için 1 kapsül USP Vitamin RS kloroformda çözümlenip 25 ml ye tamamlanır (79).

Vitamin A sıvı şekilde ise, 15000 USP ünite kloroformda



çözülerek 10 ml' ye tamamlanır. Eğer Vitamin A katı formda ise, 15000 USP ünitesine eşdeğer miktar ölçülerek 75 ml suda hızlı bir biçimde sallayarak (1 dakika) çözülür. 10 ml kloroform ile 1 dakika süre çalkalayarak ekstre edilir ve santrifügasyonun ardından kloroform fazında belirlenir. 0.015 ml standart çözelti ile 0.01 ml Vitamin A çözeltisi plağa uygulanır. Tankın içine konarak ilerlemesi sağlanır. Solvant 10 cm yüksekliğe ulaştığında, plak çıkartılıp, kurutulur. Mavi yeşil noktacıkların gözlenebilmesi için fosfomolibdik asit TS püskürtülerek, Retinol'ün varlığı incelenir. Yaklaşık Rf değerleri sırasıyla, retinolün alkol, asetat ve palmitat şekilleri için 0.1, 0.45 ve 0.7'dir (79).

#### ii) UV spektrumu

Mutlak etanolün 100 kısmı ile 1 kısım hidroklorik asit karışımında 10 ünite madde eritilir. Hazırlandıktan hemen sonra maksimum absorbans 326 nm 'de bulunmuştur. Çözelti 30 sn su banyosunda ıstılıp hemen soğutulduğunda, 332 nm 'de düşük maksimum ya da inip-çıkmalar meydana gelmiş ve 348-367 ve 389 nm'lerde maksimum değerler alınmıştır (7).

#### 2.2.2.2. Miktar tayini

A Vitaminin miktar tayininde hızlı çalışılmalı, çözeltiler ışıktan ve oksidan etkenlerden korunmalıdır. Tayin yapılırken, absorpsiyonun bulunduğu dalga boyu yeri ve spektrofotometrenin dalga boyu skalası önem taşır (78).

## a) Yöntem 1:

0.5 g örnek tartılır, izopropanolde çözülür ve 250 ml 'ye tamamlanır. Bu çözeltinin absorbansı 326 nm 'de 0.5 olacak şekilde izopropanol kullanılarak seyreltilir (10 mm hücre içinde). Bu örnek çözeltinin 300, 310, 320, 326, 330, 340 nm ve 350 nm 'lerde absorbansı ölçülür ve maksimum absorbans veren dalga boyu belirlenir, 326 nm 'de oran 1 olarak alınır. Maksimum dalga boyu 325-326 nm' de iken absorbans oranı  $\bar{E}$  0.03 olarak alınır (75). Vitamin A miktarının hesaplanması şu şekilde yapılır (73).

$$1 \text{ g 'daki A Vitaminin ünitesi} = \bar{E} / \% \text{ cm (326) } \times 1900$$

$$\bar{E} / \% \text{ cm (326 nm) } = A / W \times V / 100$$

V : Örnek çözeltinin toplam hacmi (ml)

W : V ml örnek çözeltide bulunan maddenin miktarı (g)

## b) Yöntem 2:

Eğer Yöntem 1'e göre maksimum absorbsiyon dalga boyu 325-328 nm arasında değil ise ve absorbans oranı 0.03 olmaz ise Yöntem 2 kullanılır. 500 ünite Vitamin A'dan az olmamak şartıyla tam tartılmış örnek miktarı, 30 ml absolü etanol R ve sodyum hidroksit R karışımının sudaki %50 a/h çözeltisinin 3 ml 'sine eklenir. Geri çeviren soğutucu altında otuz dakika kaynatılır, hızla soğutulur ve 30 ml su katılır. Karışım, her seferinde 50 ml eter kullanılarak üç kez ayırma hunisinde ekstre edilir. Ayrılan kısım atılır ve eter tabakası 50 ml su ile yıkanır. Ekstre, 5 ml kalıncaya kadar buharlaştırılır, kalan eter ısıtmadan uçurulur. Artık, ml 'sinde 9-15

inite Vitamin A bulunacak şekilde izobutanol'de eritilir. Absorbans, 310 (A1), 325 (A2) ve 334nm (A3)'lerde ölçülür. Maksimum absorbansın bulunduğu dalga boyu saptanır (78). Vitamin A'nın miktarının hesaplanması şu şekilde yapılır (73):

$$1 \text{ g 'daki Vitamin A Ünitesi} = \epsilon / \% \text{ cm (325 nm) } \times 1830$$

$$\epsilon / \% \text{ cm (325 nm) } = A2 / W \times V / 100 \cdot f$$

$$f = 6,815 - 2,555 \times A1 / A2 - 4.260 \times A3 / A2$$

f = Korelasyon katsayısı

V = Örnek çözeltideki toplam ml

W = V ml örnek çözeltide bulunan maddenin miktarı (g)

### 2.2.3. Stabilitesi

Vitamin A katı formunda iken yayılabilir özelliğe sahiptir. Sıvı halde ise uygun yağlarla seyreltilebilir veya antioksidan ve antimikrobik maddeler ile birlikte uygun bir taşıyıcı sistem içinde bulunabilir (45).

Vitamin A ışıktan korunarak hava almayan kaplarda saklanmalı ve 8-15°C'de depolanmalıdır. Kap, açılıp bir kerede kullanılmaz ise, atmosfer gazlarından arındırılması gereklidir (7,61).

Tüm parenteral çözeltilerdeki Vitamin A'ya, stabilite açısından özen gösterilmelidir. UV ışığından ve güneş ışığından etkileneceğinden maddeyi kaplamak stabilite açısından önemlidir, güven vericidir. Kaplayıcının dozajı önemli bir faktördür çünkü iyi ayarlanmadığı zaman geçiş oluşurken, Vitamin bozulur, parçalanır. Bu şekilde aminoasitlerden ve

yağ emülsiyonlarından koruma sağlanabilir. Ester şekilleri, örneğin asetatları kullanılabilir (45).

#### 2.2.4. Farmakolojik ve farmakokinetik özellikleri

Vitamin A, derinin epitelyum tabakasının düzenliliğinin sağlanması ve korunması için önem taşır. Vitamin A yokluğunda epitelyum keratinize olur (64). Vitamin A epidermal hücrelerin farklılaşmasını yavaşlatır. Retinoidler in vivo olarak epidermal hiperplazi'de etkilidirler (33). Trans retinoik asit ve arotinoid etil ester uygulanmış saçsız farelerde epidermal transglutaminaz ve stratum korneum aktivitesi denenmiş ve hiperplazi'de artış oysa epidermal hücre kaybında azalma olduğu bulunmuştur. Stratum korneum tekrar eski haline dönmüş, retinoid tedavisinden sonra epidermal farklılık artmıştır. Bunun nedeni, hücre kaybının azalmasından dolayı değil, hücre oluşumundandır (10).

Vitamin A, saç yapısının rejenerasyonu ve bakımı (3), saçın büyüme hızının artması (5) ve deri kırıışıklığını gidermek için (55), deri yapısının bakımında ve deri hastalıklarına karşı kullanılan kozmetik preparatların formülasyonuna girer (70). Vitamin A, vitamin içeren kozmetik kremlerde (30), yumuşatıcı ve besleyici kremlerde (26), aseton bazlı tırnak parlaticısını silicilerin yapımında (51), deriye nem ve elastikiyet kazandırmak amacı ile nemlendirici olarak kullanılan kozmetik kremlerde (37), besleyici ve nemlendirici olarak (53), parfümlenmiş formülasyonlarda (36), yaşlanmayı önleyici kozmetiklerde (76), cildi yumuşatmak ve saçı yumuşatmak için kullanılan preparatlarda (4), iritasyona yol aç-

neyecek miktarda Vitamin A içeren susuz kozmetik preparasyonlarda (19) kullanılmaktadır.

Vitamin A'nın fazla miktarda alınması, hipervitaminozise neden olur. Bunun sonucu kemikte, deride ve karaciğerde patalojik değişiklikler oluşur. Yorgunluk, kilo kaybı, sıkıntı, kusma, mide rahatsızlıkları, düşük ateş, deri yapısının farklılaşması, kanayan dudaklar, anemi, başağrısı, şişen gözler gibi semptomlara yol açar. Çocuklarda kronik toksisite etkisi ile görsel bozukluklara (ağrılı ve şişmeli) neden olur. Bu bozukluklar Vitamin A'nın geri çekilmesi ile düzelir ancak çocuklardaki kemik bozuklukları düzelmeyebilir (45).

Vitamin A, infeksiyonların tedavisinde özellikle topik ve oral olarak akne vulgaris tedavisinde kullanılır. Yoksunluğunda ise mikrobik enfeksiyonlara duyarlılığın artması, kseroftalminin artması, teratojeni, vb. oluşabilir (64).

Normal bir insanda Vitamin A gereksinimi vücut ağırlığı ile orantılıdır. Örneğin, Amerika'daki diyetlerde sağlıklı bir erişkine 5000 IU/gün doz verilmektedir (61,64). Emzirme ve hamilelik süresinde doz arttırılabilir. Fetusun büyümesi sağlanır (64). 25000-50000 IU/gün doz ise 8 ay veya daha az kullanımda toksik olabilir. Bir günde 1500000 IU/gün doz yetişkinlerde zehirlenmeye yol açabilir. Zehirlenme, başağrısı, kusma ve bebeklerde bingıldakta şişmeye neden olacaktır (45). Terapotik olarak 10000-200000 Unite/gün doz kullanılır (61).

Vitamin A'nın biyolojik olarak elde edilmesi, karoten

ve buna bağlı bileşiklerden veya hayvansal besinlerden sağla-  
r. Karotenlerin hepsi Vitamin A'ya dönüşmez, emilip atıla-  
bilir. Yeşil ve sarı sebzeler ve sarı meyvalar karoten baki-  
ından zengindir. Yağlar, yumurta akı, karaciğer, böbrek ve  
balık da Vitamin A kaynağıdırlar.

### 3. DENEYSEL KISIM

#### 3.1. Araç ve Gereçler

##### 3.1.1. Kullanılan maddeler

Bademyağı	Kimpa İlaç Laboratuvarı ve Ticaret, Türkiye
Glikoz	E.Merck,Almanya
Magnezyum Sülfat	E.Merck,Almanya
Poligliserol (Abil EM)	Goldschmidt AG,Almanya
Polioksi etilen soya sterolü(Generol)	Henkel, Fransa
Polioksi etilen stearilik alkol(Mergital)	Henkel, Fransa
Polivinilpirolidon (PVP)	Kurtsan A.Ş.,Türkiye
Vitamin A	E.Merck, Almanya

##### 3.1.2. Kullanılan aletler

Buzdolabı	Profilo
Etüv	Elektromag
Fotoğraf makinası	Nikon FX-35A
Kondüktometre	Tacussel Consort K-720
Mekanik karıştırıcı	Janke-Kunkel IKA Labortechnik
Mikroskop	Olympus BH-2 Nikon HFX-2
PH metre	Elektromag
Partikül boyut analiz cihazı	Malvern Laser Diffraction System

Santrifüj aleti

BHG Hermle KG

Tartı aleti

Mettler 10



## 3.2. Yöntemler ve Deneyler

### 3.2.1. Multipl emülsiyon

Bu çalışmamızda üç farklı multipl emülsiyon formülasyonu çift basamaklı üretim yöntemi ile hazırlanmıştır.

#### 3.2.1.1. Hazırlama yöntemi

Multipl emülsiyon hazırlanması için; yağlı fazı oluşturan badem yağı ve lipofilik sürfektan (Abil EM) 80°C'ye getirilmiştir. Vitamin A ve MgSO<sub>4</sub> içeren sulu faz da aynı sıcaklığa getirilmiş ve sulu faz 15 dak süresince 1500 rpm'de karıştırılarak eklenmiştir. 15 dak süre ile 800 rpm'de homojenizasyon yapılarak primer emülsiyon (s/y) elde edilmiştir. Hidrofilik sürfektanları içeren (Generol, Mergital) sulu faz, oda sıcaklığında primer emülsiyona katılmış ve 10 dak süre ile 700 rpm'de karıştırarak, 1000 rpm'de homojenize edilmiştir. Bu yöntemle üç formülasyon hazırlanmıştır. Formülasyonların ikisinde, iç ve dış sulu fazlara polivinilprolidon (PVP) eklenmiştir.

Bu formüller şöyledir;

Formül 1 (F1):

Primer Emülsiyon

-----	
Bademyağı	%34
Abil EM 90	%4
Vitamin A	%1,5
MgSO <sub>4</sub>	%0,7
Demineralize su ym	%100

Multipl Emülsiyon

---

Primer emülsiyon	%85
Generol E 25	%0,34
Mergital 1212	%0,66
Demineralize su ym	%100

Formül 2 (F2):

Primer Emülsiyon

---

Bademyağı	%34
Abil EM 90	%4
Vitamin A	%1,5
MgSO <sub>4</sub>	%0,7
PVP	%1
Demineralize su ym	%100

Multipl Emülsiyon

---

Primer emülsiyon	%85
Generol E 25	%0,34
Mergital 1212	%0,66
Demineralize su ym	%100

Formül 3 (F3):

Primer Emülsiyon

---

Bademyağı	%34
Abil EM 90	%4
Vitamin A	%1.5
MgSO <sub>4</sub>	%0,7
Demineralize su ym	%100

### Multipl Emülsiyon

---

Primer emülsiyon	%85
Generol E 25	%0,34
Mergital 1212	%0,66
PVP	%1
Deminerale su ym	%100

#### 3.2.1.2. Multipl emülsiyonların özelliklerinin belirlenmesi

Multipl emülsiyonların istenen özellikte olup olmadığını anlamak için bir seri karakteristik çalışma yapılmıştır.

##### a) Makroskobik analiz

Hazırlanan multipl emülsiyonların organoleptik karakterleri (renk, kıvam, görünüş), homojenitesi (kremalaşması, faz ayrılması) kontrol edilmiştir.

##### b) Emülsiyon tipinin saptanması

Multipl emülsiyonlar dış fazla seyreltilerek dış fazının su olup olmadığı araştırılmıştır.

##### c) Mikroskobik deney

Multipl emülsiyon örnekleri su ile seyreltikten sonra lam ve lamel arasına konulmuş, immersiyon yağı damlatılarak 1000 X'de büyütme ile mikroskopta incelenmiştir.

##### d) Damlacık iriliği ölçümü

Multipl emülsiyonlarda damlacık iriliği analizi için lazer difraksiyon tekniğinden yararlanılmış, damlacık irilikleri ve dağılımları saptanmıştır.

### e) MgSO<sub>4</sub> 'ın salımı

Multipl emülsiyonların, üç formülasyonu da 1/15 oranında izotonik glikoz çözeltisi ile seyreltilerek 8 saat süresince MgSO<sub>4</sub> liberasyonu kondüktometrik olarak saptanmıştır. Bunun için önce kondüktivite = f( MgSO<sub>4</sub>) ilişkisi bulunmuştur. Bu amaçla 10<sup>-5</sup> M stok MgSO<sub>4</sub> çözeltisi hazırlanmıştır. Bunun için de 247,47g MgSO<sub>4</sub> 100 ml'ye su ile tamamlanmıştır. Bu çalışmalar sonucunda multipl damlaların % salımları ve % verimleri hesaplanmıştır. Buna göre; 100g'da 0,56g MgSO<sub>4</sub> varsa, 3g'da 0,01684g MgSO<sub>4</sub> bulunmuştur. Dış sulu faz oranı %20 ise 3g'daki dış sulu faz oranı 0,6'dır. Buradaki toplam dış su faz miktarı 12,6'dır. Buradan hareketle şu formülden yararlanılmıştır.

$$MS = \frac{m}{Mwt} = M$$

$$\frac{1000\text{ml}}{2,6\text{ml}} = \frac{m}{a} \qquad \frac{0.0168}{100} = \frac{a}{b}$$

$$x = a \qquad x = b = \% \text{ Salım}$$

$$100 - \% \text{ Salım} = \% \text{ Verim}$$

### f) pH ölçümü

Multipl emülsiyon preparasyonlarının pH'ları pH metre-den yararlanılarak ölçülmüştür.

### 3.2.1.3. Multipl emülsiyonlarda yapılan stabilite testleri

Stabilitesi oldukça önemli olan multipl emülsiyon sistemlerin farklı birçok stabilite testi uygulanmıştır.

#### a) Santrifügasyon testi

Hazırlanan multipl emülsiyonların hızlandırılmış yerçekimi koşulu altında stabil olup olmadığını anlamak için santrifügasyon testi yapılmıştır. Yeni hazırlanan ve 24 saatlik örneklere, 25°C de, 15 dak 4000 rpm'de hızlandırılmış yerçekimi koşulu uygulanmış ve makroskobik görünümüne bakılmıştır.

#### b) Sıcaklık etkisinin belirlenmesi

Multipl emülsiyonlar hazırlandıktan sonra 4°C±1°C (buz dolabında), 25°C±1°C (oda sıcaklığında), 40°C±1°C (etüvde) tutularak faz ayırımı veya kremalaşma oluşumu gözlenmiştir.

#### c) Mikrobiyolojik stabilite testleri

Bunun için formülasyon örnekleri, mikrobiyolojik ortamlara ekilmiş ve üreme izlenmiştir. İlk örnek alındıktan sonra Kanlı Agar (Oxoid), EMB Agar (Oxoid) ve iki adet Sabouraud Dextrose Agar (Oxoid) besiyerine tek koloni halinde ekim yapılmış ve kanlı ve EMB Agar besiyerleri 37°C'lik etüvde 24 saat (üreme olmayanlar 48 saat) inkübe edilmiştir. Sabouraud Dextrose Agar besiyerine ekilmiş olanlar oda ısısında, diğeri 37°C'de inkübe edilip, değerlendirilmiştir. Üreme olmuş kültürlerde, üremiş mikroorganizmanın identifikasyonu için de direkt mikroskobik inceleme, koloni morfolojisi özellikleri, Gram boyama, Laktofenol ile boyama ve biyokimyasal testler yapılmıştır.

#### d) Reolojik analiz

Reolojik çalışmalar için 2 ml'lik örnekler üzerinde osilasyon ve akış testleri yürütülmüştür.

i) Osilasyon testleri:

Örneklerin viskoelastik özelliklerini belirlemek için sinüzoidal kaydırma kuvveti (  $T(t)$  ) uygulanmıştır:

$$T(t) = T_0 \cdot \cos(\omega t)$$

Burada  $\omega$ , açısal frekansı,  $T_0$  kuvvetin şiddetini ve  $t$ 'de zamanı göstermektedir.  $T$  kayma kuvvetinin etkisi ile, aynı açısal frekans ve bir gecikme fazı ( $\delta$ ) ile karakterize edilen gerilim oluşur:

$$\gamma = \gamma_0 \cdot \cos(\omega t - \delta)$$

Burada  $\gamma_0$ , gerilim şiddetidir.

Her örnek için birçok dinamik özellik saptanmıştır.

Bunlar:

a:  $\delta$  gecikme fazı

b:  $G^*$  kayma özelliği

$$G^* = (T_0/\gamma_0)$$

c:  $G''$  kayıp özelliği

$$G'' = G^* \cdot \sin \delta$$

Sabit bir frekansta (1HZ) ve sıcaklıkta (20°C) artan kaydırma kuvveti uygulanmış örneklerde  $G^*$ ,  $\delta$  ve  $G''$  dinamik parametrelerinin değişimi izlenmiştir. Böyle bir çalışmaya ait grafikte iki kısım dikkate değerdir. İlk kısımda parametreler sabittir. Bu " plato" bölgesi multipl emülsiyonun yapısını belirler. İkinci kısımda,  $G^*$ ,  $\delta$  ve  $G''$  değişir. Bu iki kısım arasındaki geçiş viskoelastik geçiştir ve buradaki kuvvet ( $T_0$ )c ve gerilim şiddeti ( $\gamma_0$ )c ile belirlenir.

ii) Akış testleri:

Sabit sıcaklıkta (20°C) kayma kuvveti siklusları kaydedilmiştir. Herbir siklus üç basamaktan oluşmaktadır:

- \* 3 dak süre ile, kaydırma kuvveti 0'dan maksimum bir değere kadar (150 veya 200 Pa) arttırılmış.
- \* 2 dak süre ile maksimum kaydırma uygulanmış.
- \* 3 dak sürede kaydırma kuvveti, maksimumdan 0'a kadar indirilmiştir.

Bu şekilde, herbir formülün yapısının yıkılması ve emülsiyonun değişmesinde kaydırmanın rolü incelenerek, ölçümler yapılmıştır. Kaydırma kuvveti siklusları, üç koşulda uygulanmıştır.

- a) Yeni örnek üzerinde,
- b) 30 dak bekletildikten sonra,
- c) 1 saat süre ile  $500 \text{ s}^{-1}$  kaydırma kuvveti uygulandıktan sonra (deriye uygulamayı simüle etmek amacıyla).

Testler iki kez tekrarlanmış ve ortalamalar alınmıştır.

## 4. BULGULAR

Bu bölümde multipl emülsiyonun istenen özellikte ve stabilitede olup olmadığını saptamak için yapılan deneylere ait bulgular verilmiştir.

### 4.1. Multipl Emülsiyona Ait Deneylerinin Bulguları

#### 4.1.1. Multipl emülsiyonların özelliklerinin belirlenmesi

##### 4.1.1.1. Makroskobik analiz

Bölüm 3.2.1.2. (a)'da anlatılan şekilde multipl emülsiyonun hazırlanan formüllerde görünüşlerinin beyaz renkte, deriye sürülebilmesi için uygun kıvamda ve homojen olduğu görülmüştür.

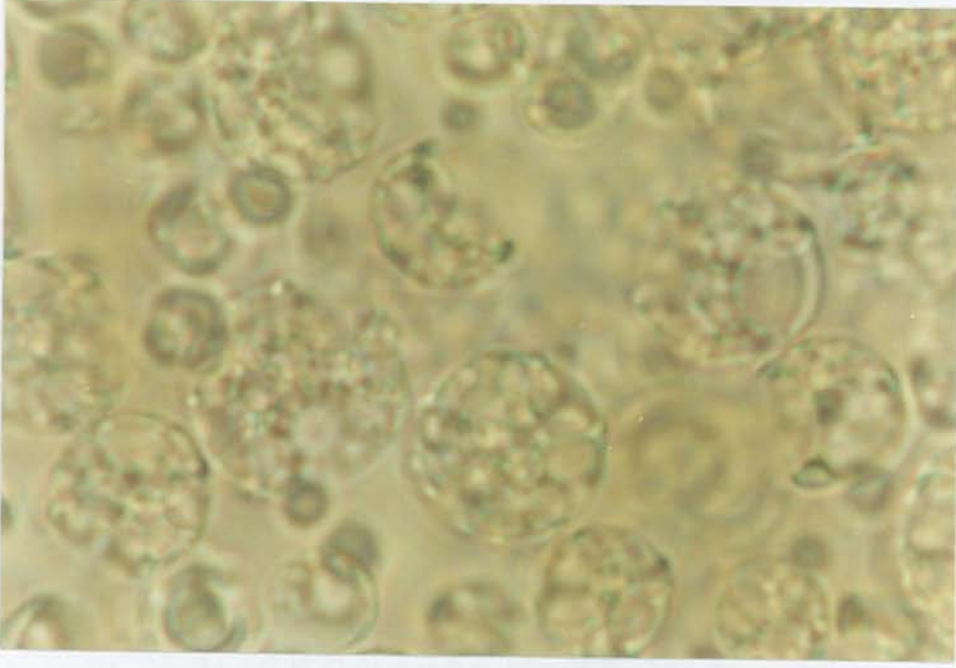
##### 4.1.1.2. Emülsiyon tipinin saptanması

Multipl emülsiyonların su ile seyreltilme sonucu, homojen bir görünüm vererek dış fazlarının su olduğu saptanmıştır.

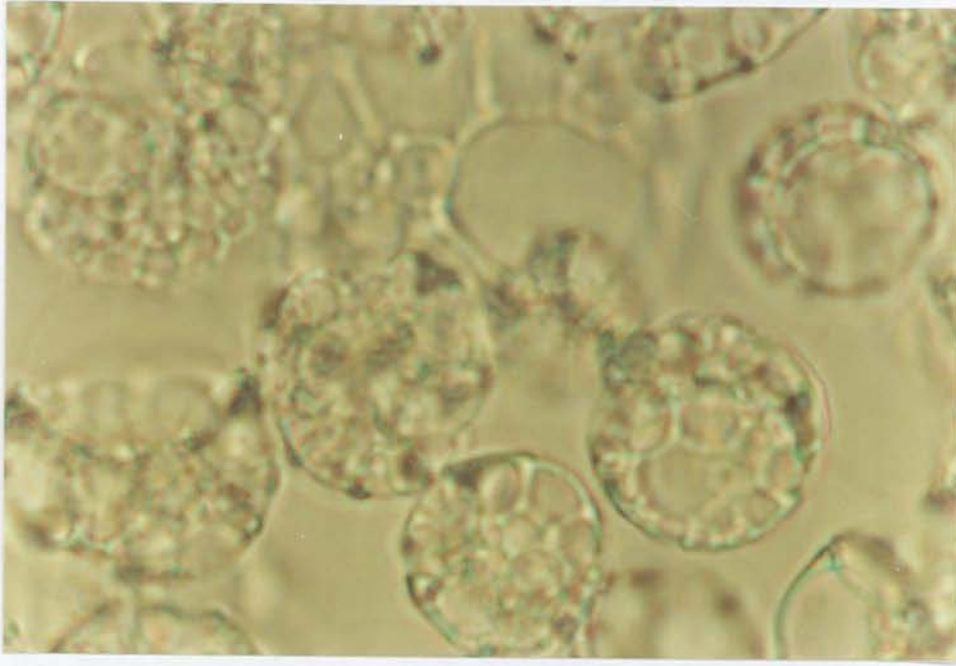
##### 4.1.1.3. Mikroskobik deney

Multipl damlaların varlığı Olympus mikroskobu ile izlenmiş ve ayrıca Nikon HFX-2 mikroskobu ve Nikon FX-35A fotoğraf makinesi kullanılarak mikrofotoğrafları çekilmiştir. Multipl damlaların yanısıra basit damlaların varlığı da görülmüştür. Şekil 4.1'de 1. formül, Şekil 4.2'de 2. formül, Şekil 4.3'de de 3. formül'e ait mikrofotoğraflar gösterilmiştir.

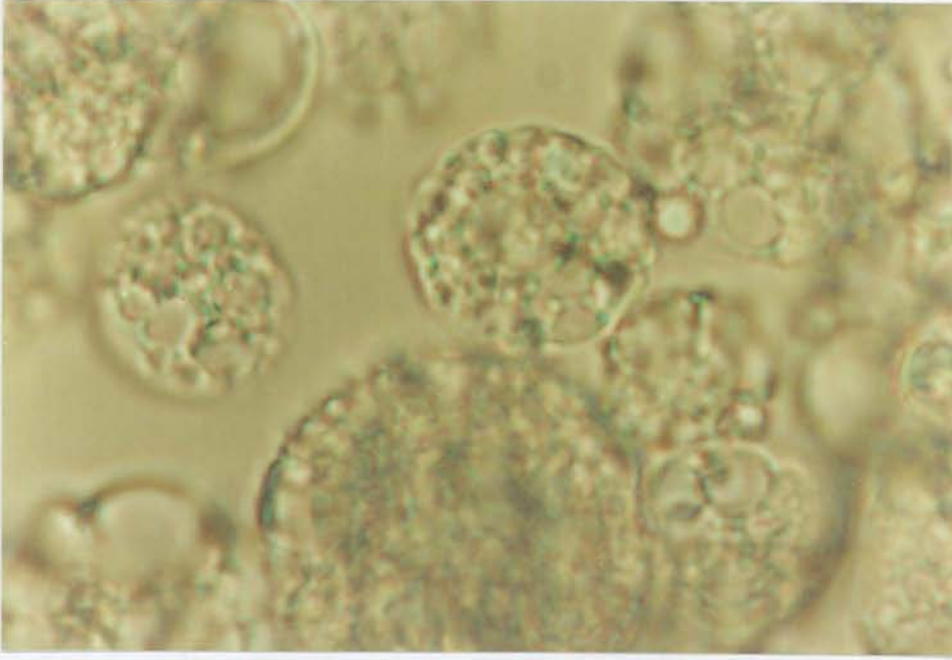




Şekil 4.1- Birinci formül'ün mikrofotoğrafı (1000 X)



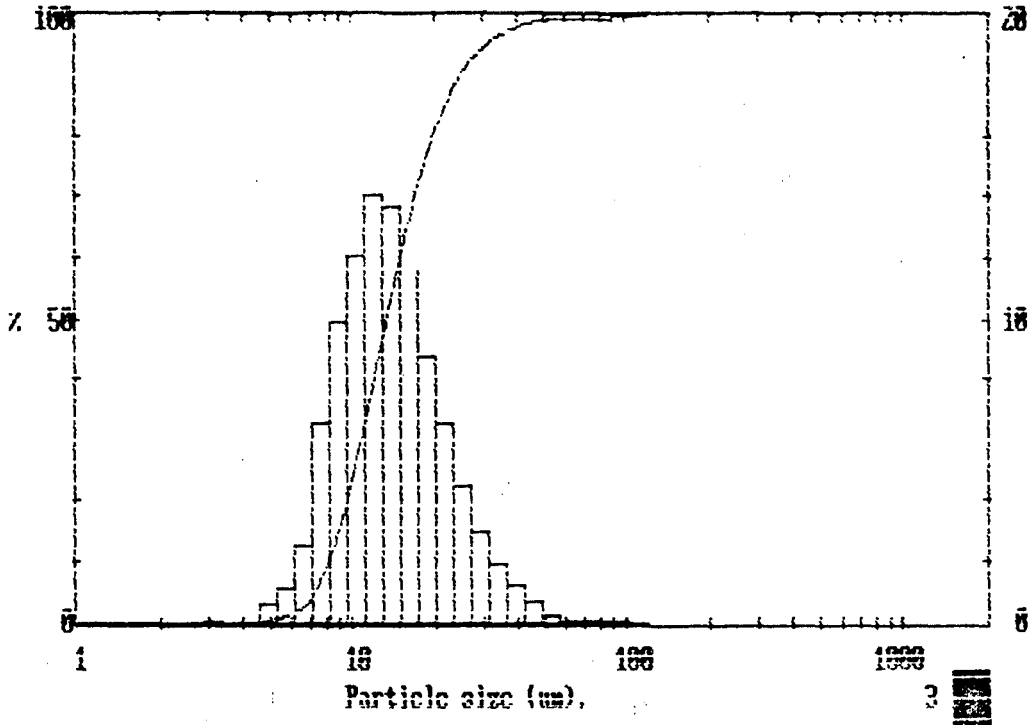
Şekil 4.2- İkinci formül'ün mikrofotoğrafı (1000X)



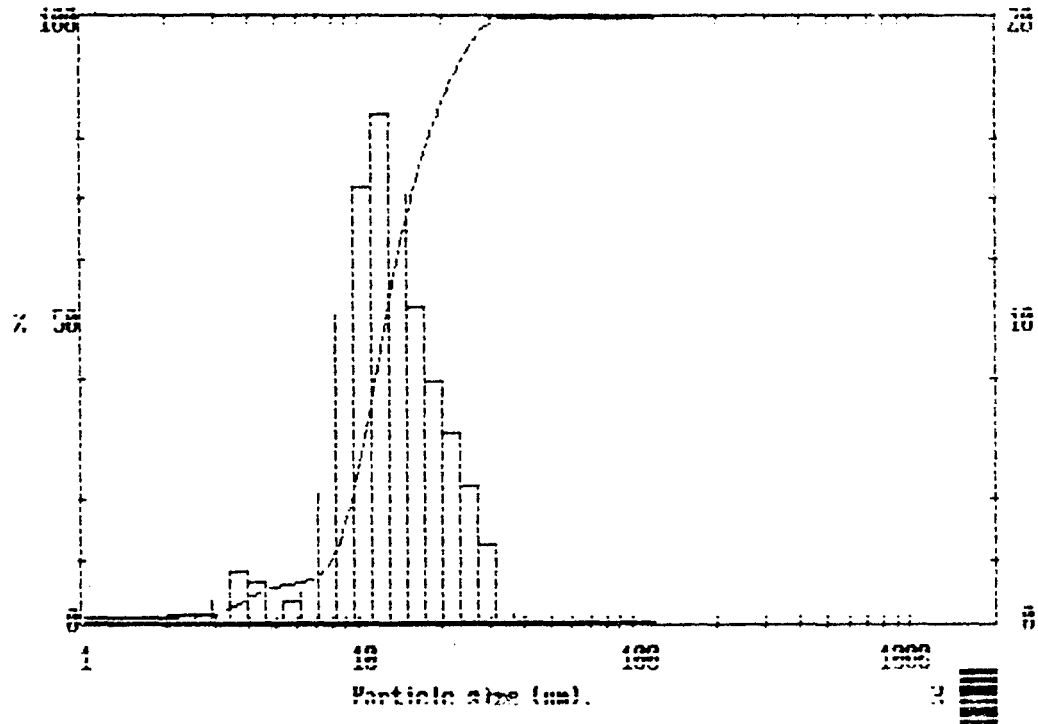
Şekil 4.3- Üçüncü formül'ün mikrofotoğrafı (1000 X)

#### 4.1.1.4. Damla büyüklüğünün ölçümü

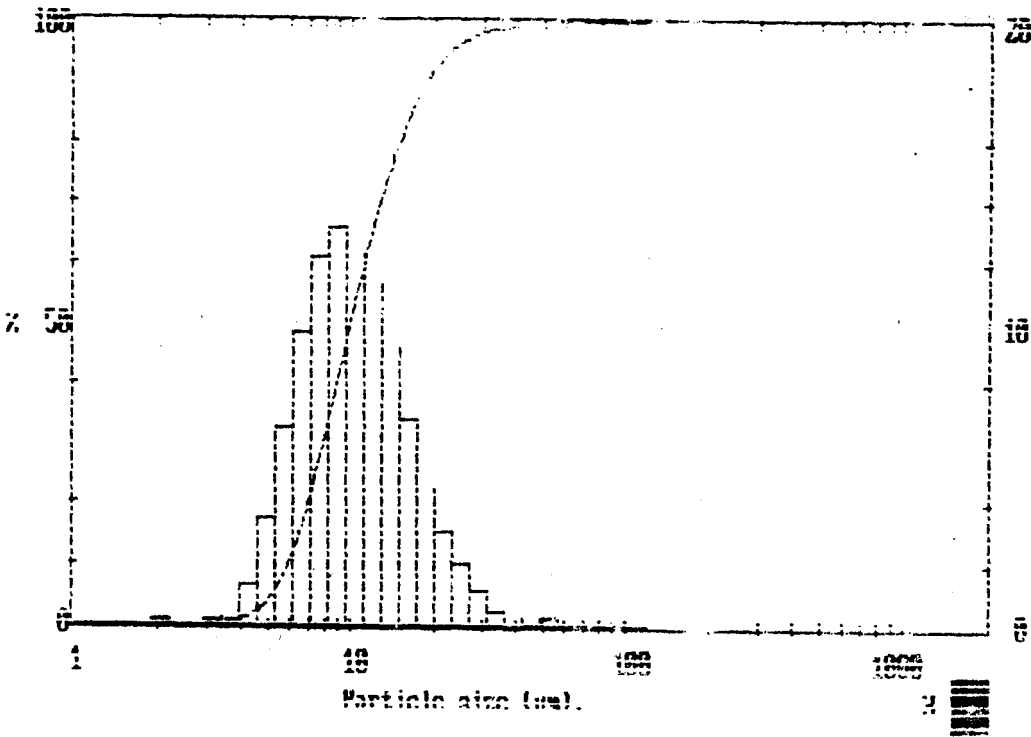
Üç farklı multipl emülsiyon formülasyonunun Bölüm 3.2.1.2 (d)'de anlatıldığı gibi Lazer Difraksiyon cihazından yararlanarak damla irilikleri ve dağılımları saptanmıştır. Bu analiz sonucunda 1. formülün ortalama damlacık çapının 17,28 mikrometre, 2. formülün ortalama damlacık çapının 12,96 mikrometre, 3. formülün ortalama damlacık çapının ise 17,04 mikrometre olduğu bulunmuştur. Şekil 4.4'de 1. formülün, Şekil 4.5'de 2. formülün, Şekil 4.6'da 3. formülün damlacık irilikleri ve dağılımları gösterilmiştir.



Şekil 4.4- Birinci formül'ün damlacık iriliği dağılımı



Şekil 4.5- İkinci formül'ün damlacık iriliği dağılımı



Şekil 4.6- Üçüncü formül'ün damlacık iriliği dağılımı

#### 4.1.1.5. MgSO<sub>4</sub> salımı

MgSO<sub>4</sub> konsantrasyonu ve iletkenliği arasındaki ilişkiyi saptamak için yapılan çalışmalarda elde edilen veriler Çizelge 4.1'de ve bu verilere ait grafik ise Şekil 4.7'de verilmiştir. Bu eğriye ait istatistiksel değerler ise Çizelge 4.2 'de belirtilmiştir. Kalibrasyon eğrisi şu şekilde bulunmuştur:

$$y = 167269,733x + 12,1656$$

Burada, x MgSO<sub>4</sub> konsantrasyonu (M), y ise iletkenlik-tir (µS).

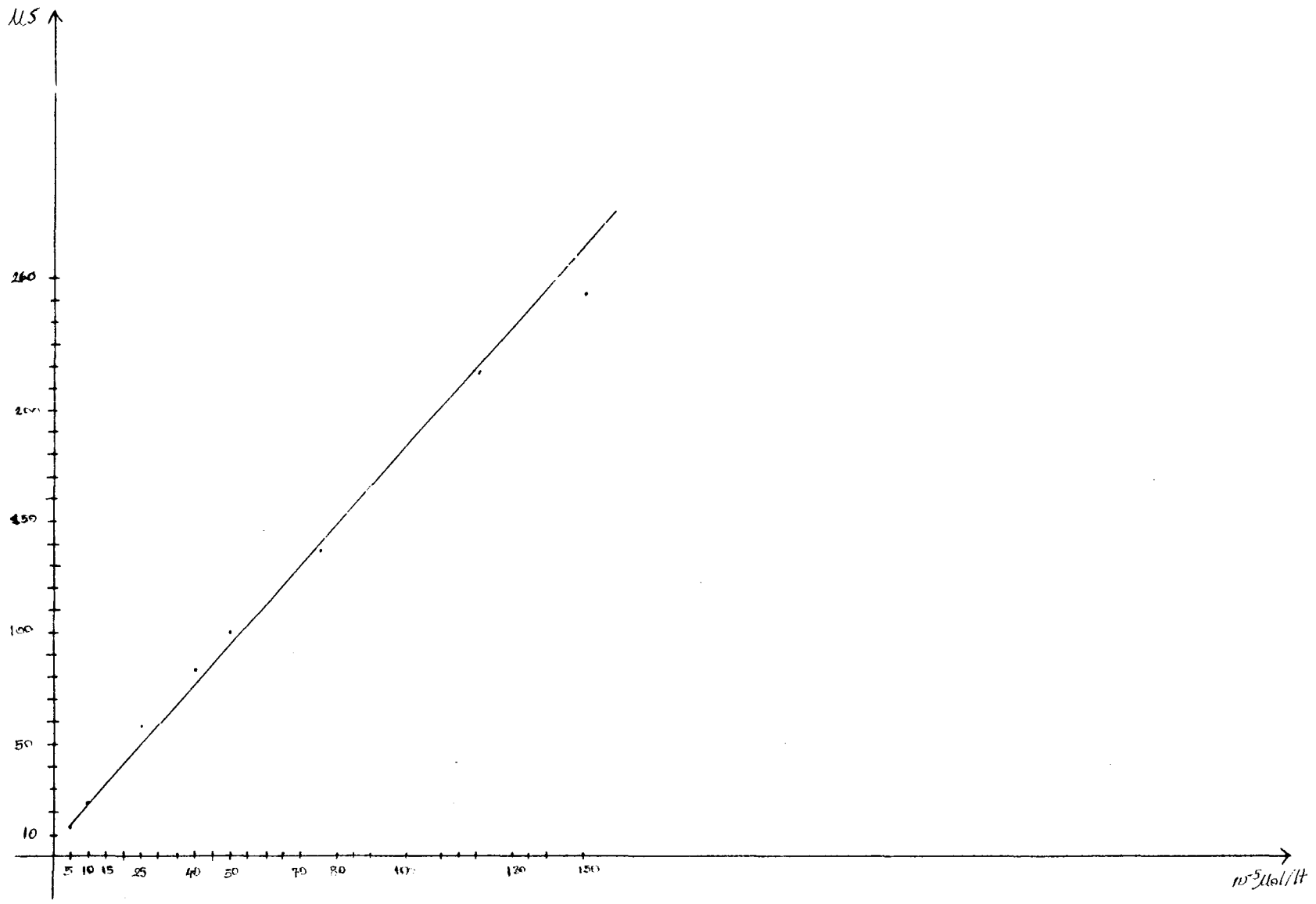
Multipl emülsiyonlarda Bölüm 3.2.1.2 (e)'de anlatıldığı gibi yapılan çalışmaların sonuçları; 1., 2. ve 3. formüller sırası ile Çizelge 4.3'de, Çizelge 4.4'de, Çizelge 4.5'de ve Şekil 4.8'de, Şekil 4.9'da ve Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Çizelge 4.7'de üç formülün multipl damlalarının % verimleri gösterilmiştir.

Çizelge 4.1- Su içinde  $MgSO_4$  konsantrasyonlarına ait iletkenlik değerleri

Konsantrasyon (M)	İletkenlik ( $\mu S$ )
$5 \times 10^{-5}$	13
$10 \times 10^{-5}$	23
$25 \times 10^{-5}$	58
$40 \times 10^{-5}$	83
$50 \times 10^{-5}$	100
$75 \times 10^{-5}$	137
$90 \times 10^{-5}$	167
$100 \times 10^{-5}$	184
$120 \times 10^{-5}$	217
$150 \times 10^{-5}$	252

Çizelge 4.2- İletkenlik=  $f(MgSO_4)$ 'a ait istatistiksel değerler

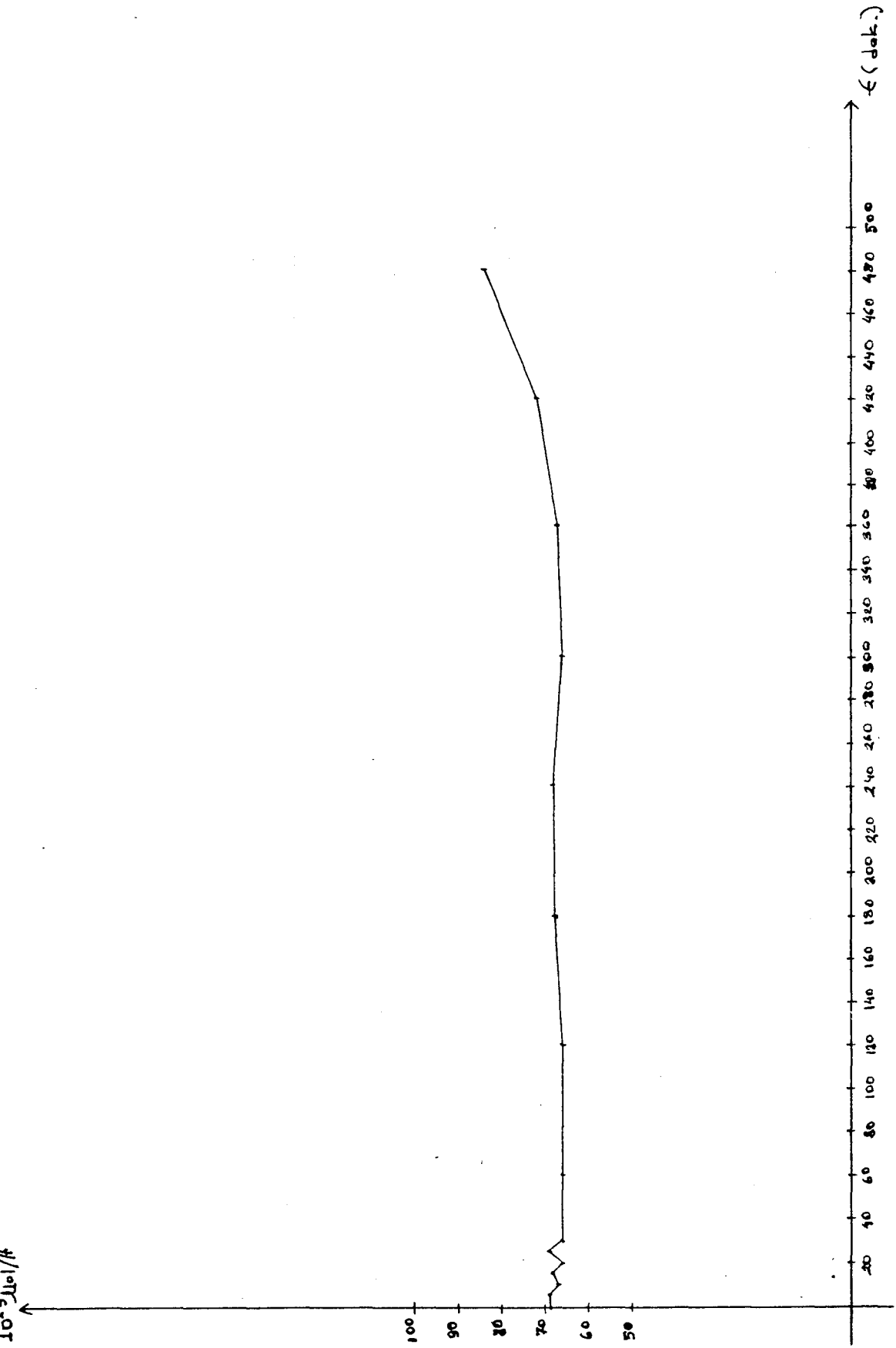
Eğrinin eşitliği	$y = 167269,733x + 12,1656$
Eğim	167269,733
Kesme değeri	12,1656
Korelasyon katsayısı (r)	0,9974



Şekil 4.7-  $MgSO_4$ 'ın su içinde iletkenliğinin standart eğrisi

Çizelge 4.3- Birinci formül'de  $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı iletkenliği ve salım yüzdesi

Zaman (dakika)	1.Deney	2.Deney	3.Deney	Ortalama		
	İletk. (M <sub>s</sub> )	İletk. (M <sub>s</sub> )	İletk. (M <sub>s</sub> )	İletk. (M <sub>s</sub> )	Kons.(M).	% Salım
0	190	136	59	128	$69 \times 10^{-5}$	12,73
5	192	139	53	127	$69 \times 10^{-5}$	12,73
10	192	134	47	124	$67 \times 10^{-5}$	12,38
15	199	133	47	126	$68 \times 10^{-5}$	12,56
20	192	133	45	123	$66 \times 10^{-5}$	12,20
25	204	132	45	127	$69 \times 10^{-5}$	12,73
30	195	134	40	123	$66 \times 10^{-5}$	12,20
60	196	132	41	123	$66 \times 10^{-5}$	12,20
120	194	130	46	123	$66 \times 10^{-5}$	12,20
180	194	137	46	126	$68 \times 10^{-5}$	12,56
240	194	139	46	126	$68 \times 10^{-5}$	12,56
300	187	135	46	123	$66 \times 10^{-5}$	12,20
360	194	135	46	125	$67 \times 10^{-5}$	12,38
420	180	138	82	133	$72 \times 10^{-5}$	13,31
480	184	135	143	154	$84 \times 10^{-5}$	15,53



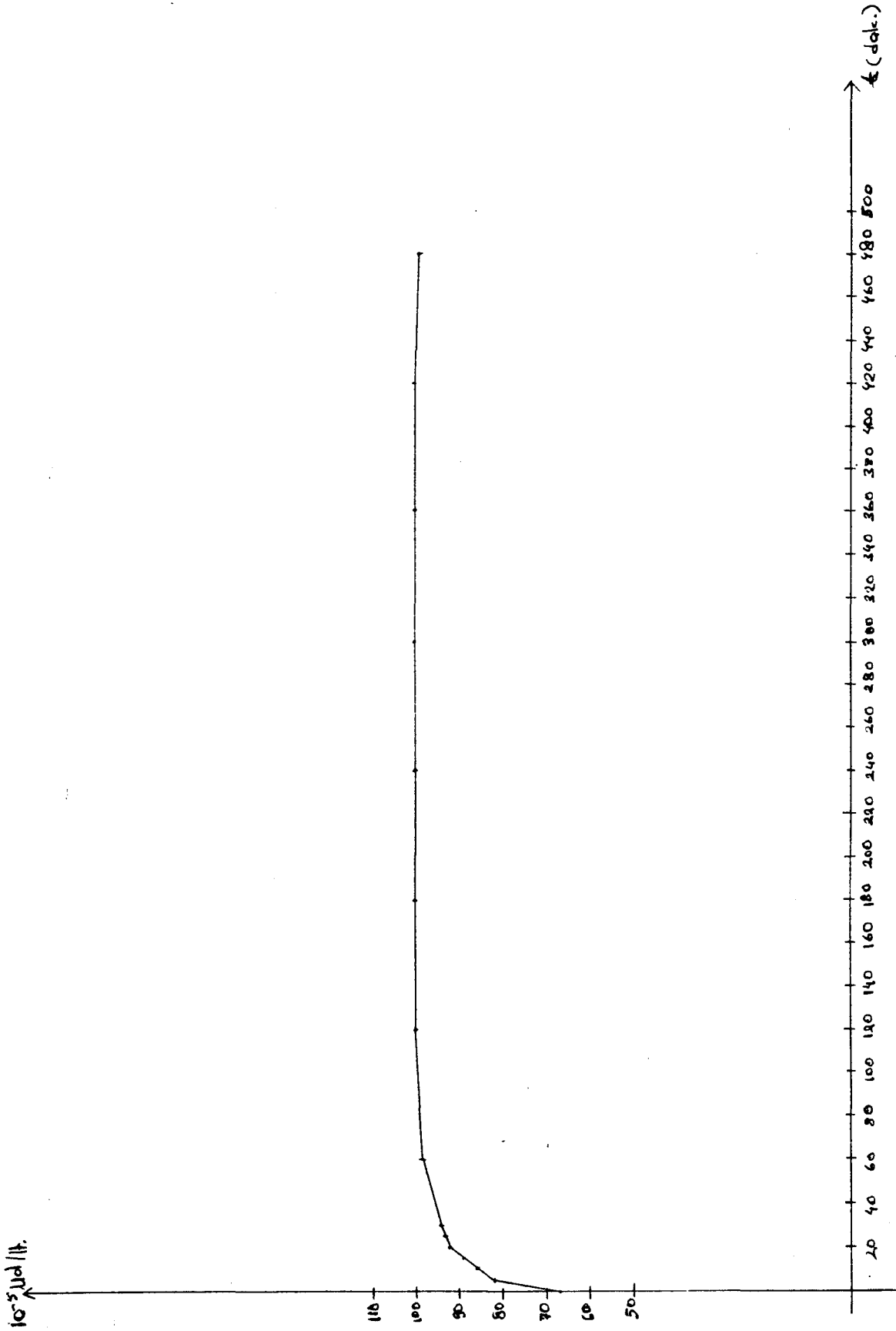
Şekil 4.8- Birinci formül'de  $MgSO_4$ 'in zamana bağlı

salım yüzdesi



Çizelge 4.4- İkinci formül'de  $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı iletkenliği ve salım yüzdesi

Zaman (dakika)	1.Deney	2.Deney	3.Deney	Ortalama		
	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	Kons.(M)	% Salım
0	161	107	107	125	$67 \times 10^{-5}$	12,38
5	177	127	144	149	$82 \times 10^{-5}$	15,15
10	180	138	150	156	$86 \times 10^{-5}$	15,90
15	181	152	151	161	$89 \times 10^{-5}$	16,45
20	181	164	152	166	$92 \times 10^{-5}$	17,01
25	181	168	152	167	$93 \times 10^{-5}$	17,19
30	181	173	152	169	$94 \times 10^{-5}$	17,78
60	183	191	154	176	$98 \times 10^{-5}$	18,12
120	184	196	158	179	$100 \times 10^{-5}$	18,48
180	184	196	160	180	$100 \times 10^{-5}$	18,48
240	184	195	160	180	$100 \times 10^{-5}$	18,48
300	181	198	160	180	$100 \times 10^{-5}$	18,48
360	183	198	160	180	$100 \times 10^{-5}$	18,48
420	178	198	160	179	$100 \times 10^{-5}$	18,48
480	174	198	160	177	$99 \times 10^{-5}$	18,30



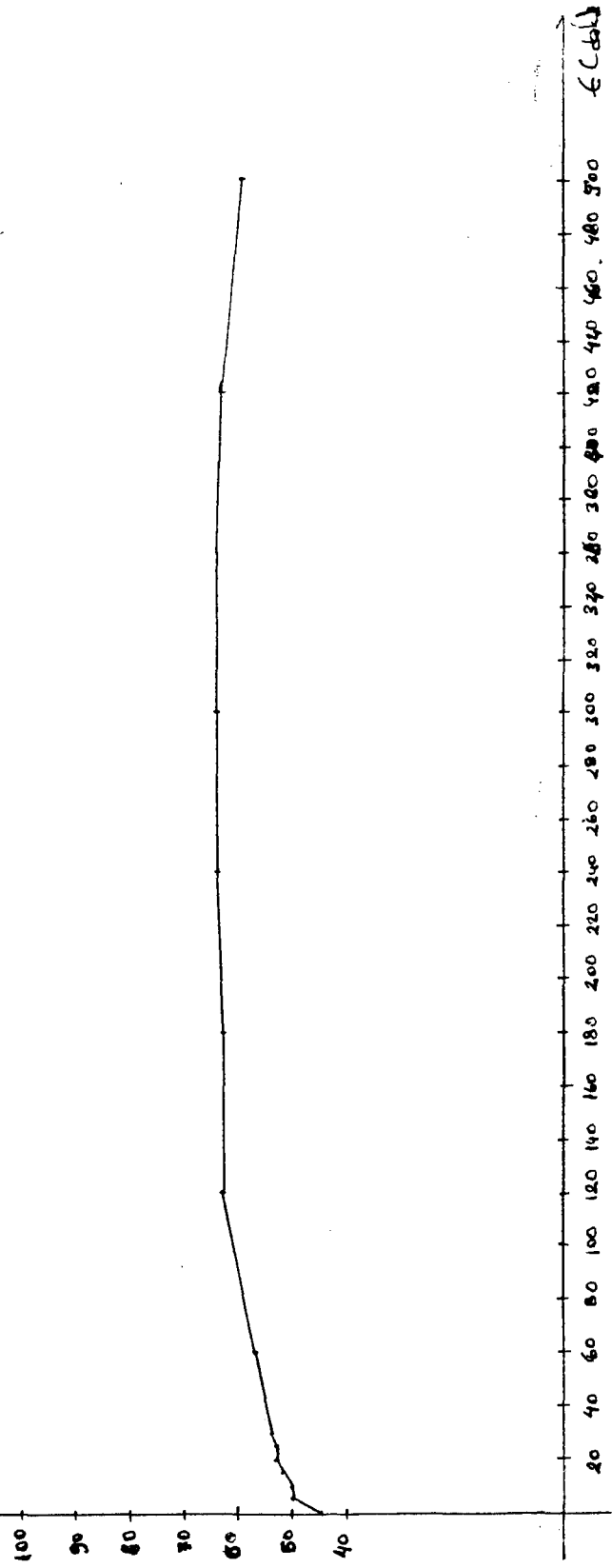
Şekil 4.9- ikinci formül'de  $\text{MgSO}_4$ 'in zamana bağlı salım

vüzdesi

Çizelge 4.5- Üçüncü formül'de  $MgSO_4$ 'ın zamana bağlı  
iletkenliği ve salım yüzdesi

Zaman (dakika)	1.Deney			2.Deney			3.Deney			Ortalama	
	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	İletk. ( $\mu S$ )	Kons. (M)	%Salım	
0	116	64	85	88					$45 \times 10^{-5}$	8,27	
5	125	70	90	95					$50 \times 10^{-5}$	9,25	
10	128	71	92	97					$50 \times 10^{-5}$	9,25	
15	129	73	95	99					$52 \times 10^{-5}$	9,61	
20	130	74	96	100					$53 \times 10^{-5}$	9,79	
25	131	76	97	101					$53 \times 10^{-5}$	9,79	
30	132	78	98	103					$54 \times 10^{-5}$	9,98	
60	136	83	106	108					$57 \times 10^{-5}$	10,54	
120	139	101	113	118					$63 \times 10^{-5}$	11,65	
180	139	102	114	118					$63 \times 10^{-5}$	11,65	
240	138	102	116	119					$64 \times 10^{-5}$	11,84	
300	138	105	116	120					$64 \times 10^{-5}$	11,84	
360	137	105	116	119					$64 \times 10^{-5}$	11,84	
420	132	105	115	117					$63 \times 10^{-5}$	11,65	
480		106	116	111					$59 \times 10^{-5}$	10,90	

90° 310/14



Şekil 4.10- Üçüncü formül'de MgSO<sub>4</sub>'ın zamana bağlı salım vızdesi

Çizelge 4.6- Multipl emülsiyonların multipl damlalarının  
% verimleri

	İletkenlik ( $\mu S$ )	Konsantrasyon ( M )	% Verim
1.formül	128	$69 \times 10^{-5}$	87,27
2.formül	125	$67 \times 10^{-5}$	87,62
3.formül	88	$45 \times 10^{-5}$	91,73

#### 4.1.1.6. pH Ölçümü

Hazırlanan multipl emülsiyonlardan alınan örneklerin pH'ları pH metreden yararlanarak ölçülmüş ve değerler Çizelge 4.7'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.7- Multipl emülsiyonların pH değerleri

	pH
1. formül	5,97
2. formül	5,60
3. formül	4,87

#### 4.1.2. Stabilite testleri

##### 4.1.2.2. Santrifügasyon testi

Üç değişik formülün örneklerinde, hazırlandıkları anda ve 24 saat sonra hiçbir faz ayrımı olmadığı gözlenmiştir.

##### 4.1.2.3. Sıcaklık etkisinin belirlenmesi

Bölüm 3.2.1.2 (b)'de belirtildiği gibi hazırlandıktan sonra  $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilen üç farklı formül faz ayrımı veya kremalaşma açısından değerlendirilmiş ve sonuçlar Çizelge 4.8'de gösterilmiştir.

Çizelge 4.8- Multipl emülsiyonlarda sıcaklığa bağlı görülen farklılıklar

	Faz ayrılması		
	40°C(Etöv)	25°C(Oda sıcak.)	4°C(Buzdolabı)
1. formül	50 gün	88 gün	88 gün
2. formül	7 gün	-----	-----
3. formül	10 gün	-----	-----

##### 4.1.2.4. Mikrobiyolojik testler

Örneklerden steril koşullarda madde alınmış,  $25^{\circ}\text{C}$  (oda sıcaklığında),  $4^{\circ}\text{C}$  (buzdolabında), ve  $40^{\circ}\text{C}$  (etüvde)'e konmuş-

tur. Bu ortamlarda bekletilen örneklerden 1. gün ve haftada 2 defa örnekler alınarak mikrobiyolojik kontroller yapılmıştır. Preparatlardaki mikroorganizma üremesinin izlenmesine ait sonuçlar Çizelge 4.9'da verilmiştir.

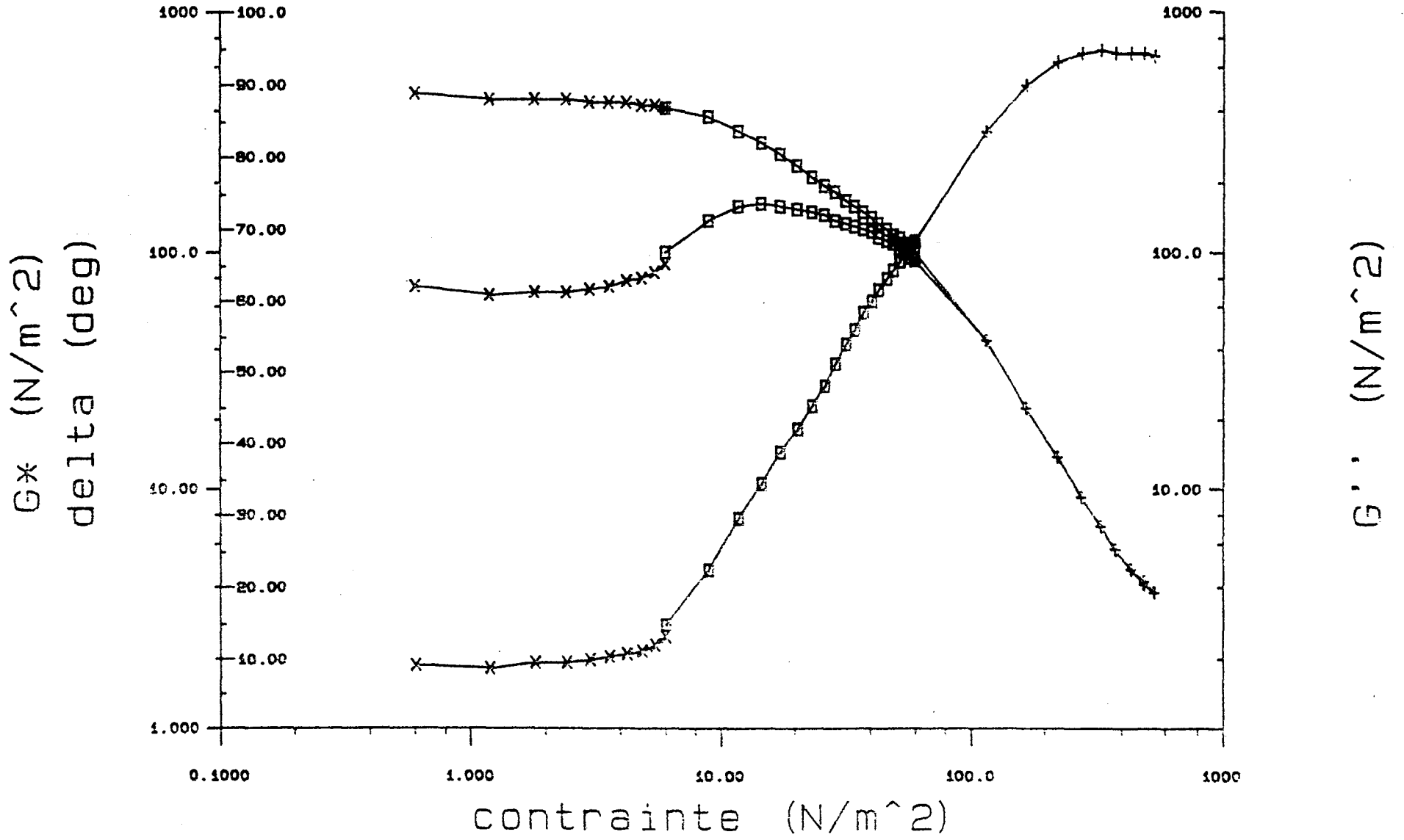
Çizelge 4.9- Multipl emülsiyonlarda görülen mikrobiyolojik üreme

	Mikrobiyolojik Kontaminasyon		
	40°C (Etüv)	25°C (Oda sıcaklığı)	4°C (Buzdolabı)
1.formül	-----	Mantar (görünmez)	Stafilokokkus (görünmez)
2.formül	-----	Mantar (görünür) 29 gün	Mantar (görünür) 71 gün
3.formül	-----	Mantar (görünür) 30 gün	Stafilokokkus, Mantar (görünür) 73 gün

#### 4.1.2.5. Reolojik analiz

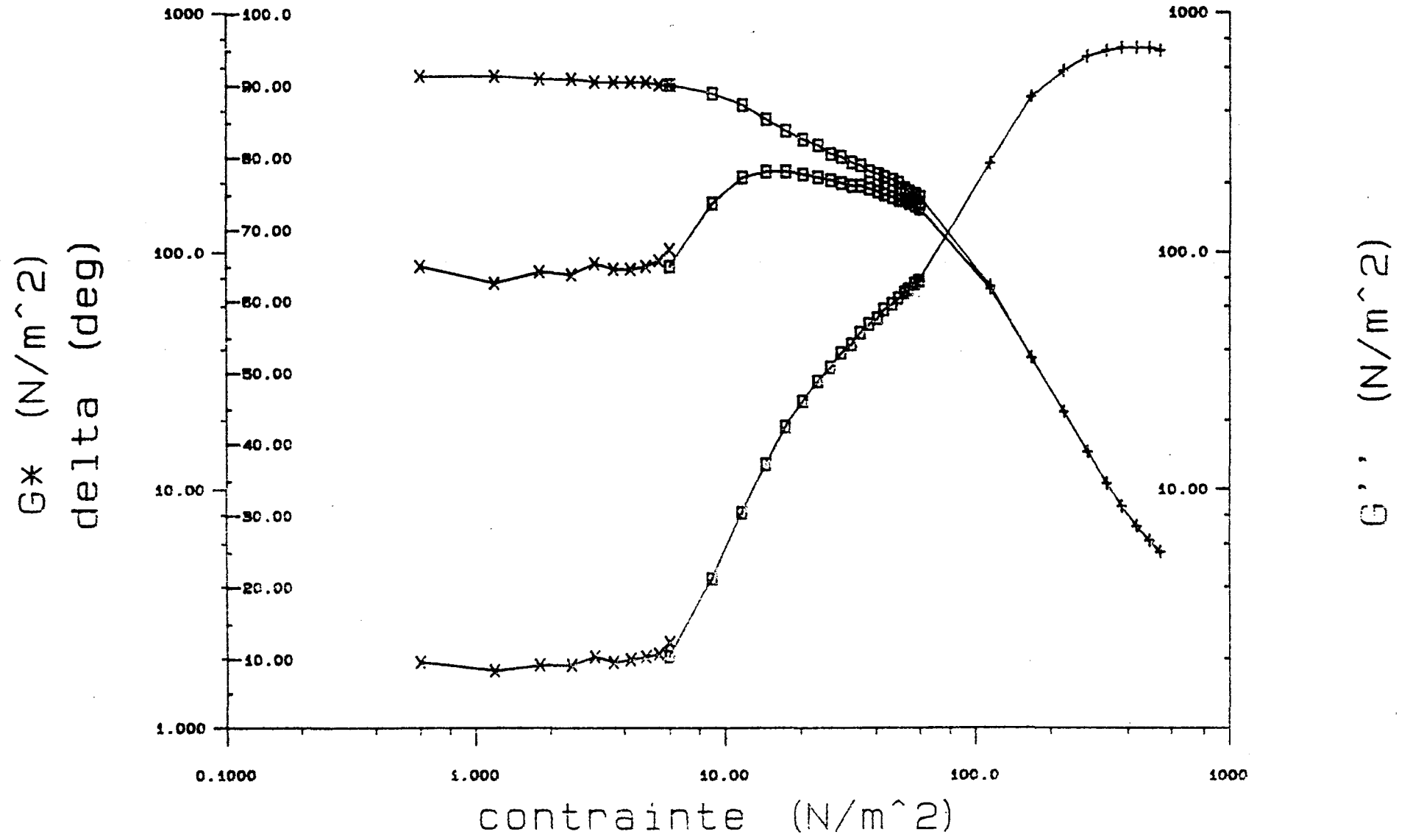
##### a) Osilasyon testleri

Şekil 4.11, 4.12, 4.13'te, herbir formül için, kaydırma kuvvetinin artmasına bağlı olarak  $G^*$ ,  $\delta$  ve  $G''$  dinamik parametrelerinin değişimi gösterilmiştir. Çizelge 4.10, 4.11, 4.12 4.13'de ise hazırlanan multipl emülsiyonların tipik yapısal değerleri olan, plato bölgesindeki  $G^*$  ve  $\delta$  değerleri ve viskoelastik geçişi belirleyen kaydırma kuvveti  $(T_0)_c$  ve gerilimin  $(\gamma_0)_c$  kritik değerleri verilmiştir.

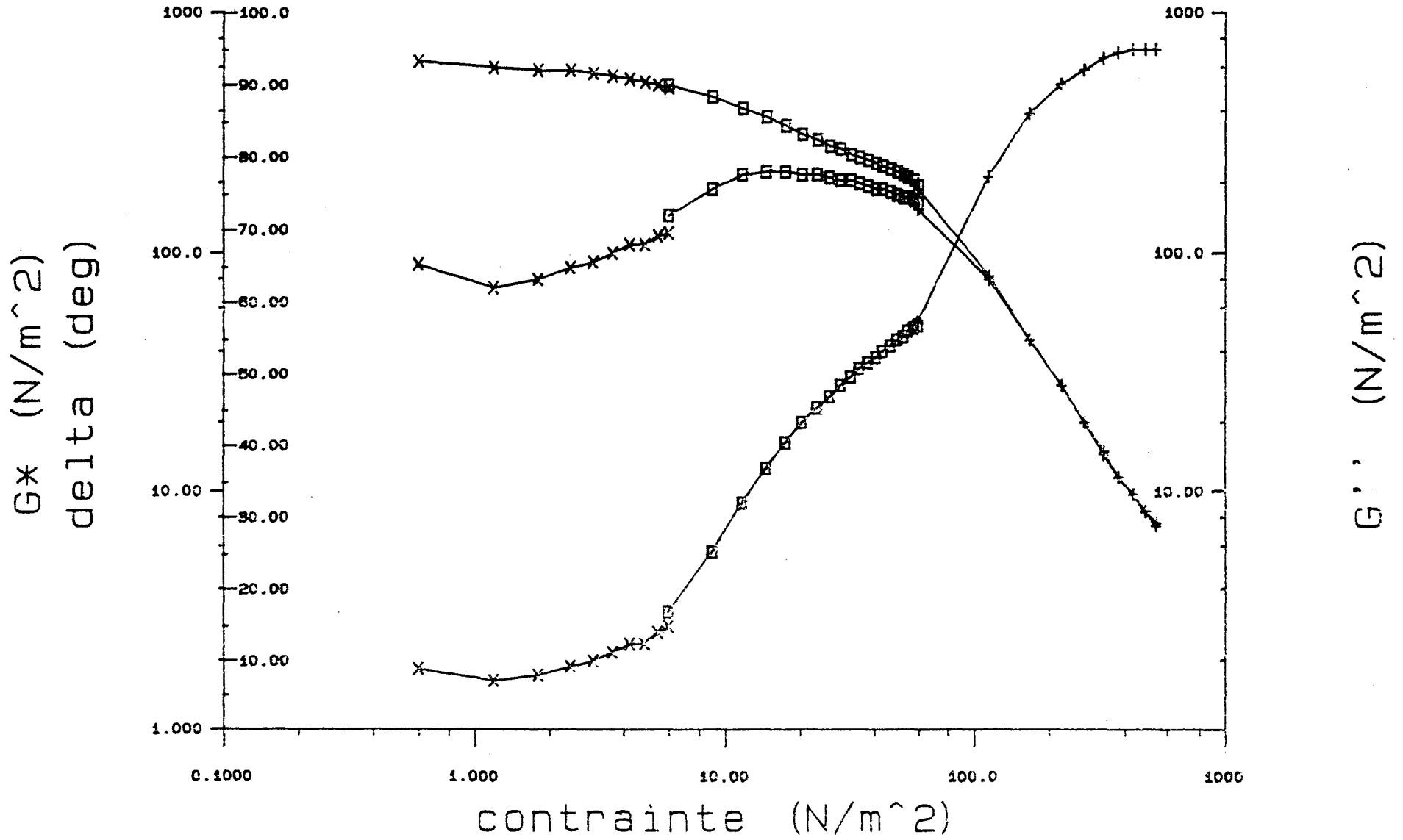


Şekil 4.11- Birinci formül'ün artan kaydırma gerilimi ile dinamik özelliklerinin değişimi





Şekil 4.12- İkinci formül'ün artan kaydırma gerilimi ile dinamik özelliklerinin değişimi



Şekil 4.13- Üçüncü formül'ün artan kaydırma gerilimi ile dinamik özelliklerinin değişimi

Çizelge 4.10- Birinci formül'ün osilasyon testleri ve viskoelastik özelliklerini belirleyen parametreler

	1. Deney	2. Deney	Ortalama
$G^*$ (Pa)	427	399	413
$\delta$ (derece)	10,3	10,5	10,0
$T_c$ (Pa)	14	17	16
$\gamma$	0,05	0,07	0,06

Çizelge 4.11- İkinci formül'ün osilasyon testleri ve viskoelastik özelliklerini belirleyen parametreler

	1. Deney	2. Deney	Ortalama
$G^*$	521	519	520
$\delta$ (derece)	9,1	9,6	9,0
$T_c$ (Pa)	17	17	17
$\gamma$	0,05	0,05	0,05

Çizelge 4.11- Üçüncü formül'ün osilasyon testleri ve viskoelastik özelliklerini belirleyen parametreler

	1. Deney	2. Deney	Ortalama
G*	551	522	537
δ (derece)	10,4	10,2	10,0
Tc (Pa)	17	14	16
γ	0,05	0,04	0,05

#### b) Akış testleri

Şekil 4.14-4.16'da multipl emülsiyon formüllerinden elde edilen reogramlar gösterilmiştir. Buradada görüldüğü gibi herbir eğride kaydırmaya bağlı olarak, her kuvvet değerinde görünür viskozitede düşme olduğu; bu zamana bağlı davranışın da kaydırma kuvveti ile indüklenen yapısal bozunmayı gösterdiği görülmektedir. Bu bozunma tersinir değildir çünkü 30 dakika bekletilmeden sonra bile ilk reogram elde edilememiştir. Reogramların kantitatif tanımlamasını yapabilmek için, herbir reogramın çıkan ve inen kısımlarının birçok reolojik matematiksel eşitliğe uyumu incelenmiş ve en iyi uyumun Cross eşitliğine olduğu saptanmıştır:

$$M - M_{\infty} / M_0 - M_{\infty} = 1 / 1 + (C\gamma)^n$$

Burada;

$M = \gamma$  kayma hızına ait viskozite

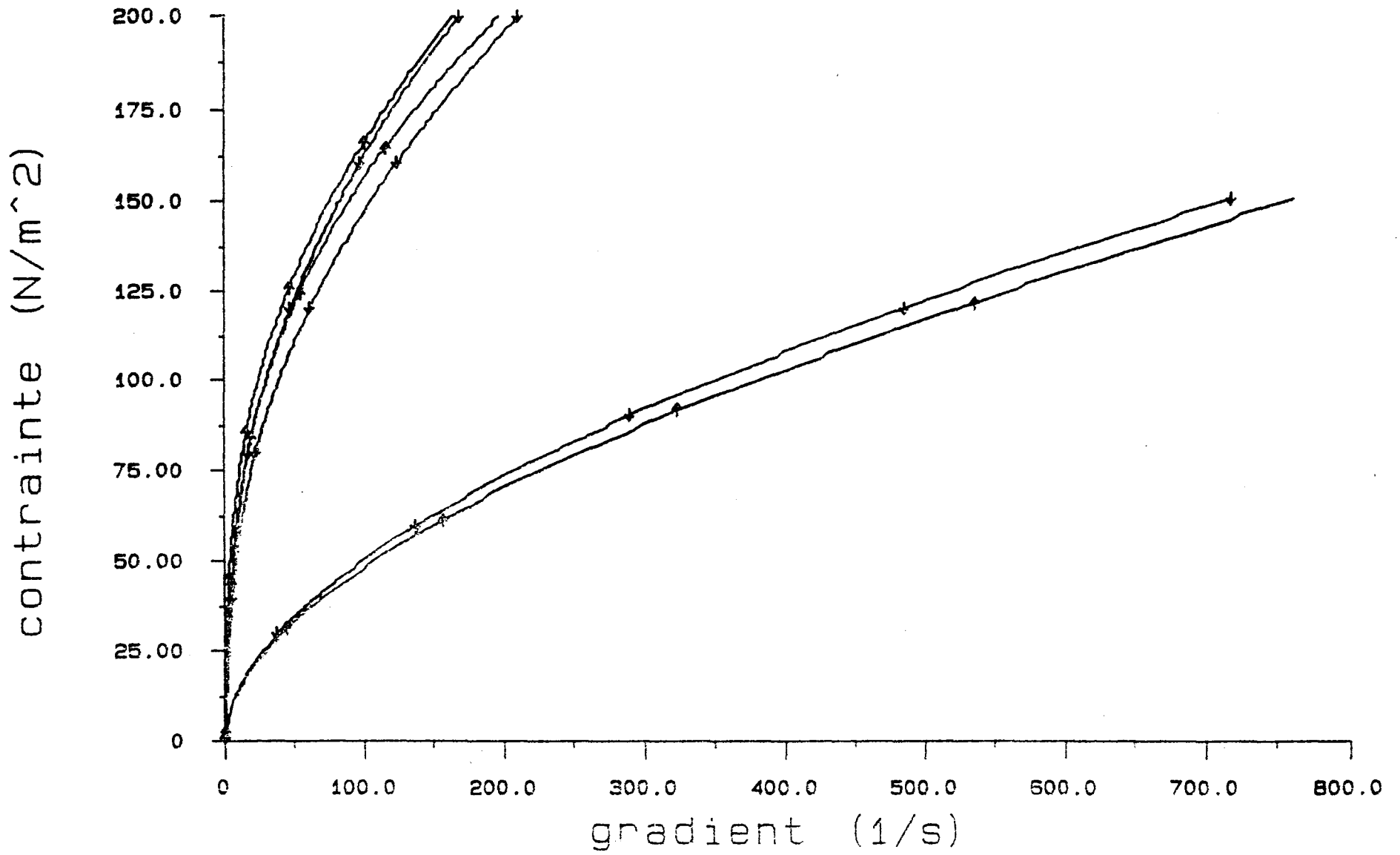
$M_0 = 0$  kayma hızına ait viskozite

$M_\infty =$  Sonsuz kayma hızına ait viskozite

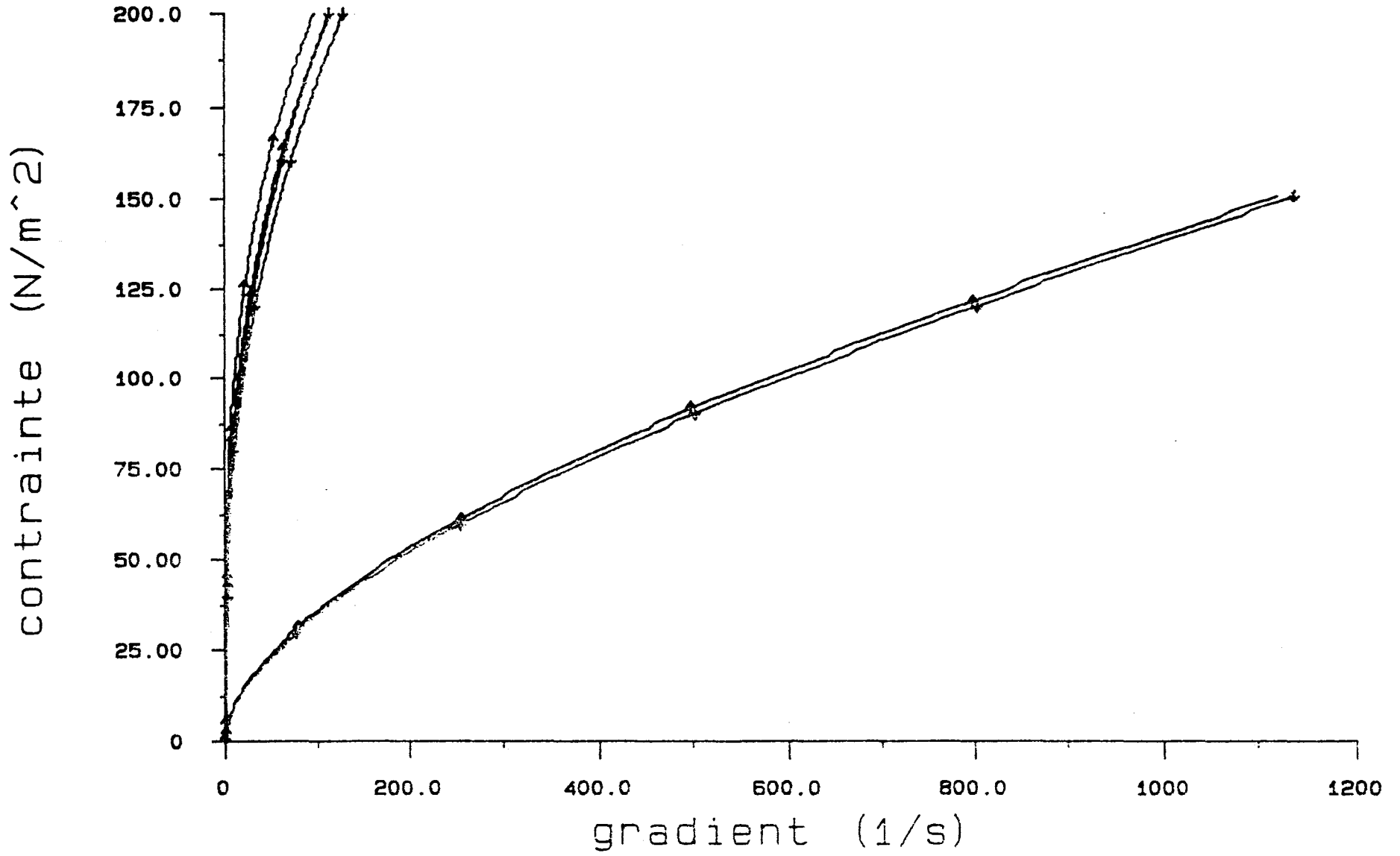
$C =$  Dayanıklılık katsayısı

$n =$  Gradyan indeks'idir.

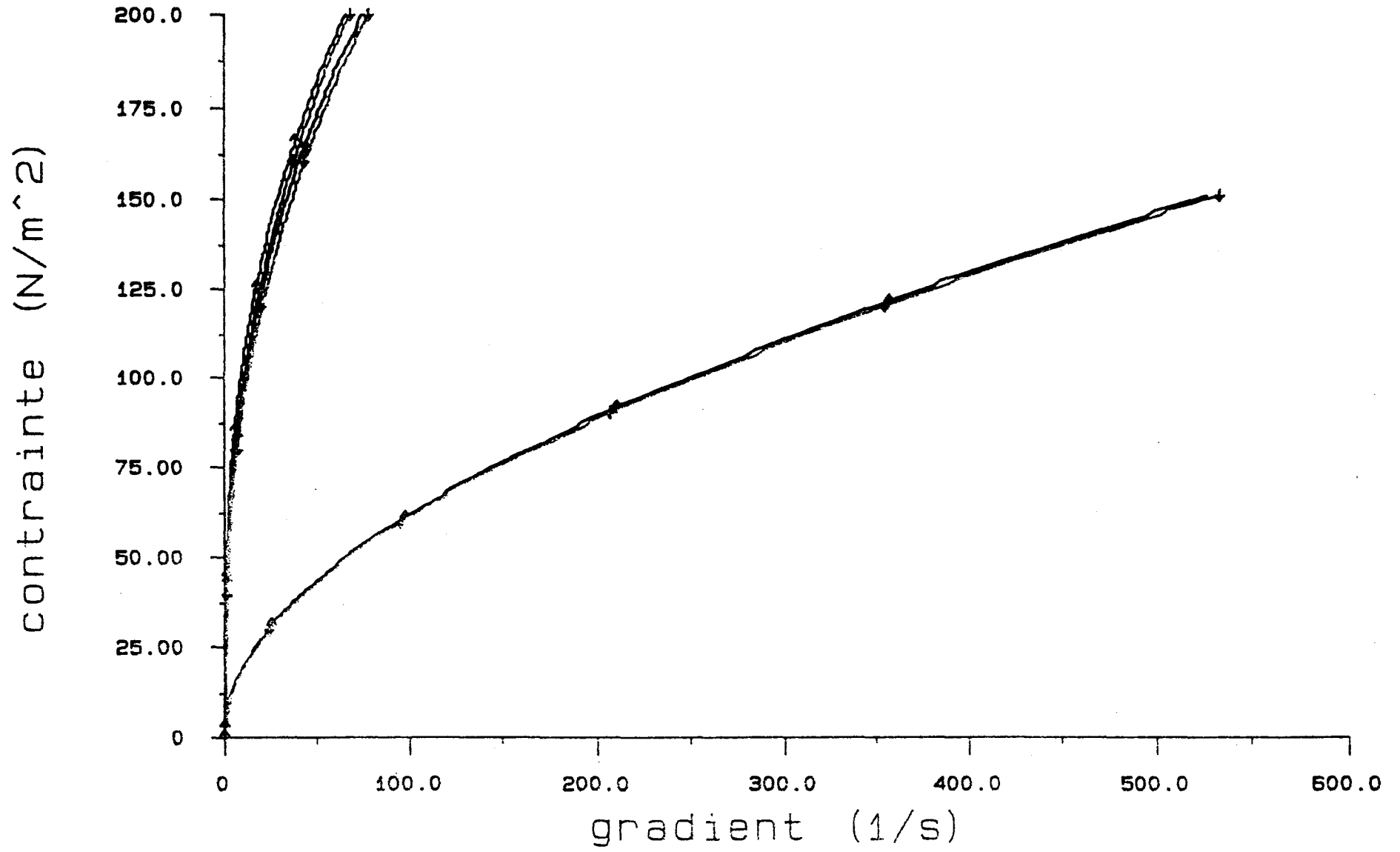
Çizelge 4.13 14,15'de bu parametrelere ait değerlerin yanısıra regresyon katsayıları verilmiştir. Hesaplanan parametreler ile çok iyi korelasyon katsayılarına ulaşılmıştır. Her formül için, viskozite'de düşüş gözlenmektedir.



Şekil 4.14- Birinci formül'ün reogramı



Şekil 4.15- İkinci formül'ün reogramı



Şekil 4.16- Üçüncü formül'ün reogramı



Çizelge 4.13- Birinci formül'ün Cross modeline ait parametreleri

Deney Fazı	0 kayma hızında vizkozite	Sonsuz kayma hızında vizkozite	Dayanıklılık (C)	Gradyan indeksi (n)	Korelasyon katsayısı
Yükseliş	895 Pa.s	0,24 Pa.s	129 s	0,68	0,988
İniş	191 Pa.s	0 Pa.s	45 s	0,56	0,996
Yükseliş	553 Pa.s	0,06 Pa.s	202,9 s	0,59	0,994
İniş	271 Pa.s	0 Pa.s	154 s	0,54	0,997
Yükseliş	10,2Pa.s	0,06 Pa.s	2,9 s	0,56	0,999
İniş	4,1 Pa.s	0 Pa.s	0,3 s	0,60	0,999

Çizelge 4.14- İkinci formül'ün Cross modeline ait parametreleri

Deney Fazı	0 kayma hızında vizkozite	Sonsuz kayma hızında vizkozite	Dayanıklılık (C)	Gradyan indeksi (n)	Korelasyon katsayısı
Yükseliş	908 Pa.s	0 Pa.s	176 s	0,61	0,996
İniş	550 Pa.s	0 Pa.s	136 s	0,59	0,997
Yükseliş	773 Pa.s	0 Pa.s	99 s	0,65	0,998
İniş	351 Pa.s	0 Pa.s	41 s	0,63	0,998
Yükseliş	7,4 Pa.s	0,07 Pa.s	1,8 s	0,61	0,998
İniş	4,1 Pa.s	0,07 Pa.s	0,7 s	0,61	0,998

Çizelge 4.15- Üçüncü formül'ün Cross modeline ait parametreleri

Deney Fazı	0 kayma hızında vizkozite	Sonsuz kayma hızında vizkozite	Dayanıklılık (C)	Gradyan indeksi (n)	Korelasyon katsayısı
Yükseliş	588 Pa.s	0 Pa.s	78 s	0,61	0,996
İniş	613 Pa.s	0 Pa.s	106 s	0,60	0,997
Yükseliş	419 Pa.s	0 Pa.s	47 s	0,61	0,998
İniş	320 Pa.s	0 Pa.s	35 s	0,61	0,998
Yükseliş	26,9Pa.s	0,1Pa.s	6,1 s	0,62	0,999
İniş	11,4Pa.s	0,09Pa.s	1,5 s	0,61	0,999

## 5. GENEL SONUÇLAR

### 5.1. Multipl Emülsiyonun Hazırlanması

Emülsiyonlar birbiri ile karışmayan iki veya daha çok sıvının birbiri içinde dağılması ile oluşan heterojen sistemlerdir.

Multipl emülsiyonlar ise y/s veya s/y tipi emülsiyonlarının aynı anda var olmasıdır, diğer bir deyişle de emülsiyon içinde emülsiyonlardır (66).S/y/s multipl emülsiyon sistemlerinde, yağ damlacıkları su damlacıklarını içine alır ve sulu fazda dağılır. Y/s/y multipl emülsiyon sistemlerinde ise, su damlacıkları bir veya birden çok yağ damlacıklarını içine alarak, yağlı fazda dağılmış haldedir (24).

Multipl emülsiyonların üretim şekli önem taşır, çünkü üretim şekli emülsiyon tipinin kalitesini belirler. Bu yüzden de üretim şeklinin iyi seçilmesi ve dikkatle uygulanması gereklidir (65).

Multipl emülsiyon üretim yöntemlerinden,üçlü faz diyağramı kullanılması yöntemin ilgi çekici olmasına karşın kolay sonuç vermez. Burada oluşan kristalin faz, sistemin stabilitesini arttırır. Avantajlarının yanısıra, bütün sürfektanların lamellar faz oluşturmaması ise bir dezavantajdır. Ayrıca yağlı izotropik fazın dağılımı, lamellar fazın sudaki dağılımına benzer. Bu da bir emülsiyon oluşturma basamağı gerekir. İlk faz saf ve kararlıdır, sürfektan miktarı yüksektir. Emülsifiye edilmiş suyun içindeki yağlı izotropik fazın ya da lamellar fazın dağılımından dolayı, iç fazın toplam miktarının

belirlenmesi güttür (66).

Faz değişimi yöntemi de, iç su fazının bilinen oranda sağlanabilmesine karşın hassas bir üretim yöntemi olması dezavantajını taşır. Bu yöntem ile basit emülsiyon oluşumu da gözlenmiştir.

Tüm bu nedenlerden dolayı, multipl emülsiyon üretiminde yaygın bir teknik olarak kullanılan ve iyi sonuç veren bir yöntem olduğu için çift basamaklı üretim yöntemi tercih edilmiştir.

Multipl emülsiyon üretiminde etken madde olarak, epitelium keratinizasyonunda rol oynayan Vitamin A kullanılmıştır. Emülsiyon üretiminde kullanılan yağlar sistemin hareketini etkiler. Bu nedenle yağın yapısı oldukça önemlidir. Ayrıca formülasyon kozmetik amaçlı bir krem olduğundan, kozmetik özelliğe sahip bademyağı yaptığımız çalışmalarda kullanılmıştır. S/y/s multipl emülsiyon üretiminde kullanılan sürfektanların, primer emülsiyon üretiminde kullanılacak olanının düşük HLB değerinde olması gerekmektedir. Primer emülsiyon üretimi için sürfektanın HLB değeri 2-7 arasında, ikinci sürfektanın ise 6-16 arasında olması istenir (23). Yaptığımız çalışmada, primer emülsiyonda lipofilik sürfektan olarak seçtiğimiz Abil EM 90'nın HLB değeri düşük, kıvamlı bir sıvıdır. Multipl emülsiyon üretiminde kullandığımız Generol'ün HLB değeri 12,6 olan sıvı bir madde ve Mergital'de HLB değeri 14,6 olan pellet formunda katı bir maddedir. Dayanıklılığı arttırmak amacıyla iç ve dış sulu fazlara eklediğimiz makromolekül ise polivinilpirolidon'dur.

Sistemin iç su fazına belirleyici bir iletken olarak MgSO eklenmiştir.

Çift basamaklı üretim tekniğinde primer emülsiyon bilinen yöntemle hazırlanır. Önce sulu çözeltiye lipofilik sürfektan içeren yağlı çözelti eklenmiş ve daha sonra primer emülsiyon hidrofilik sürfektan içeren sulu çözeltiye eklenerek multipl emülsiyon oluşturulmuştur (66,23).

Bu hazırlama yönteminde, ikinci emülsiyon basamağı kritiktir. Lipofilik yüzey etken, s/y emülsiyonun yüzeylerarasını oluşturan kristal yapıya girerek yağ membranının stabilizasyonunu etkilemektedir. Ancak hidrofilik yüzey etken madde y/s yüzeylerarasına girip yağ globüllerinin saçılmasına neden olur (14).

Bu yöntemde aşırı karıştırmada damlalar parçalanabilir ve yağ damlaları dıştaki su fazına karışabilir. Bu nedenle primer emülsiyon kısa bir üretim zamanında ve yüksek hızda ve sıcaklıkta, multipl emülsiyon ise oda ısısında, yavaş ve düşük hızda yapılmalıdır. Sıcaklık oldukça önemlidir ve primer emülsiyon için bu değer 80°C'dir. Primer emülsiyonun üretim sıcaklığı yüksek olmalıdır. Yüksek olduğu zaman yüzeylerarasındaki gerilim düşürülerek kararlı emülsiyonlar ve ufak damlalar elde edilebilir. Karıştırma hızı da primer emülsiyon için 800-2500 rpm ve multipl emülsiyonlar için 600-2000 rpm arasında olmalıdır.

Eğer karıştırma hızı yeterli değilse, damlalarda kremlaşma ve/veya birleşme meydana gelebilir(66,23). Bundan dolayı, primer emülsiyon basamağında su ve MgSO<sub>4</sub> ile bademyağı,

Abil EM ve Vitamin A, su banyosunda 80°C'ye getirilir, 15 dak süre ile 1500 rpm'de mekanik karıştırıcı ile karıştırılarak ve 15 dak'da 800 rpm'de karıştırılarak primer emülsiyon elde edilir. İkinci emülsiyon basamağında ise, oda sıcaklığında primer emülsiyon ile su ve hidrofilik sürfektanlar 10 dak süre ile 700 rpm'de ve 15 dak 1000 rpm'de homojenizasyon amacıyla karıştırılıp multipl emülsiyon hazırlanır.

Hazırlanan emülsiyonların homojen görünümde ve deriye uygulanabilir kıvamda olması, kozmetik kullanımını sağlamaktadır.

## 5.2. Multipl Emülsiyonların Özelliklerinin Belirlenmesi

Hazırladığımız her üç multipl emülsiyon formülasyonunun yaptığımız karakteristik çalışmalarla istenen özelliklere sahip olup olmadığı belirlendi. Yapılan bu çalışmalar sonucunda belirlenen konular şunlardır:

Makroskobik çalışmalar sonucunda, multipl emülsiyonların organoleptik karakterlerinden renginin beyaz, istenen kıvamda ve görünüşte, homojen oldukları belirlenmiştir.

Emülsiyon tipinin saptanmasında da, sistemlerin dış fazının su olduğunu saptamak için, dış faz su ile seyreltilmiş ve homojen görünüm almasından sistemin dış fazının su olduğu anlaşılmıştır.

Multipl emülsiyonların hazırlanan her üç formülasyonunda mikroskobik inceleme yapılarak, multipl emülsiyonların multipl karakter taşıdıkları gözlenmiş ve bunlar fotomikroskopi ile görüntülenmiştir. Bu tekniğin tek dezavantajı ise, yağ damlalarının ışığı yansıtıp, iç su damlalarının

görülmesini engelleyebileceğidir; ya da basit damlaların büyük basit damlalar altında görülüp, multipl damla izlenimi vermeleri de mümkündür. Bu teknikte örnek su ile seyrelttikten sonra, lam ve lamel arasına konup daha sonra immersiyon yağı damlatılarak mikroskopta 1000 x'de büyütülerek multipl damlalar direkt olarak görüntülenmiştir. Her üç formülasyonda da istenen multipl damlacıklar belirlenmiş, dış su fazında PVP içeren formülasyondaki damlacıkların daha belirgin olduğu gözlenmiştir.

Multipl emülsiyonun damlacık iriliğinin dağılımı ve ortalama damlacık iriliklerindeki değişmeler, ürünün karakterizasyonunda ve stabilitesinde önem taşır. Multipl emülsiyonlarda damlalar birbirine yakın ise maksimum stabiliteye ulaşmak mümkündür. Damlalar çok sıkı olarak bulduklarından kremalaşma olması güçtür. Yüzeylearası kararlı değilse, damlalarda birleşebilir. Damlacık büyüklüğünün analizi birçok teknik ile yapılabildiği gibi çalışmada Lazer difraksiyon tekniğinden yararlanarak ölçümler gerçekleştirilmiştir (60). Hazırlanan multipl emülsiyonlar önce KCL çözeltisi ile seyreltilmiş fakat multipl damlalar iyi bir şekilde analiz edilememiştir. Ve su ile yapılan seyreltmelerde sonuçlar daha iyi alınmıştır. Multipl emülsiyonlar su ile seyreltildikten sonra, multipl damlaların çapı küçültülerek iç sıvı fazdan, dış sıvı faza elektrolit akışı olmuştur. Elektrolit varlığından dolayı yaratılan osmotik dengesizlik sonucu yağ fazı boyunca su geçişi olur. Ve multipl damlalarda büzülme meydana gelir. Büzülmenin derecesi ve

nızı, yüzey alanı ve iç su faz hacmi ile ilişkilidir. Ve sonuçta multipl damlaların irilikleri , dilüsyondan sonra ölçülür. Multipl emülsiyonlarda damlacık iriliği ufaldıkça emülsiyonlarında daha kararlı olduğuna inanılır. Genelde kozmetik emülsiyonlarda damlacık irilikleri 0,5-10 mikrometre arasındadır. Yaptığımız ölçümler sonucunda birinci formül'ün ortalama damlacık çapı 17,28 mikrometre, ikinci formül'ün ortalama damlacık çapı 12,96 mikrometre , üçüncü formül'ün ortalama damlacık çapı ise 17,04 olarak bulunmuştur. İstenen damlacık iriliklerinde multipl emülsiyonların hazırlandıkları belirlenmiştir.

Multipl emülsiyonların karakterizasyonunda ve uzun süreli stabiliteyi önceden belirlemek için iletkenlik ölçümünden yararlanılabilir. Multipl emülsiyonlarda, emülsiyonların üst kısmındaki yağın çoğalması ve alt kısmında ise suyun artması ile iletkenlik farklılıkları gözlenerek karakterizasyonu hakkında bizi bilgilendirilmiş olunur. İletkenlik ölçümü ile iç sulu faza konan belirleyicinin dış sulu fazdaki konsantrasyonları bulunur.

Bu çalışmada sistemin iç sulu fazında belirleyici olarak  $MgSO_4$  kullanılmış ve dış sulu faza salınan  $MgSO_4$ 'ın konsantrasyonları bulunmuştur.  $MgSO_4$ 'ın 10 M'lık stok çözeltisinden on değişik konsantrasyonda  $MgSO_4$ 'ın iletkenlikleri ölçülerek, standart eğri hesaplanmış ve multipl emülsiyonların iletkenlikleri ölçülerek % salımlar ve % verimleri hesaplanmıştır. Hazırladığımız multipl emülsiyonlar 1/15 oranında glikoz çözeltisi ile seyreltilmiş, 5 dak



karıştırıldıktan sonra homojen bir karışım elde edilmiştir. Ve 8 saat boyunca ölçümler alınmıştır. Multipl emülsiyonlar glikoz çözeltisi ile seyreltildikten sonra iç sulu fazdan, dış sulu faza elektrolit akımı denge meydana gelinceye kadar devam eder. Dış sulu faza salınan elektrolit konsantrasyonu, ilk baştaki elektrolit konsantrasyonu ile ilişkilidir. Bu yüzden glikoz ile seyreltilip, 8 saat boyunca ölçümler alınmıştır. Dış su fazında PVP içeren multipl emülsiyonların damlacıklarının % verimlerinin daha yüksek oldukları gözlenmiştir.

Multipl emülsiyonların pH'ları da ölçülmüştür. Çünkü kırışık giderici krem olarak kullanılacak multipl emülsiyonun uzun süre deride kalması istenir. Bu yüzden hassaslık verici, duyarlık yaratıcı olması istenmez. Yapılan ölçümlerde PH'ların deri pH'sı olan 5.5'a yakın oldukları bulunmuştur.

### 5.3. Multipl Emülsiyonların Stabilite Çalışmaları

Multipl emülsiyon sistemlerinde stabilite önem taşır. Özellikle kozmetik olarak kullanılacak olan emülsiyonların iyi dokunsal özelliklere sahip olması, istenen fonksiyonları göstermesi, rahatsızlık verici ve duyarlılık yaratıcı olmaması, fiziksel, kimyasal, mikrobiyolojik yönden kararlı kalmaları ve iklim değişikliklerinden etkilenmemeleri istenir. Bu amaçla yapılan stabilite ile ilgili çalışmalarda hazırladığımız kremlerin stabil oldukları gözlenmiştir.

Santrifügasyon ile emülsiyon oluşmasına neden olan filmin zayıflamasına yol açılabileceği ve bunun sonucunda da damlaların birleşmesinin meydana gelebileceği belirtilmiş-

tir. Bu yüzde santrifügasyon ile uzun süreli stabiliteyi tahmin etmek ve fiziksel stabiliteyi saptamak mümkündür.

Santrifügasyon testinde multipl emülsiyonlar hazırlandığı an ve 24 saat geçtikten sonra santrifüj tüplerine ( boyu 10 cm ve çapı 1,5) konmuş ve 15 dak 4000 rpm'de santrifüj edilerek, faz ayırımı ve kremalaşma oluşup oluşmadığı izlenmiş ve her üç formülasyonunda stabil olduğu belirlenmiştir.

Sıcaklık da stabilite açısından önemli bir parametredir (34). Kozmetik emülsiyonların 2-3 yıl kararlı kalmaları iklim değişikliklerine duyarlılık göstermemeleri istenir (51). Hazırlanan emülsiyonlar  $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $25^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de tutularak faz ayırımı ve kremalaşma oluşup oluşmadığı gözlenmiştir. Ve hazırlanan emülsiyonların  $4^{\circ}\text{C}\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de daha uzun süre stabil kaldıkları belirlenmiştir.

İnsan dokusu ile uzun süre temasta kalacağından hazırlanan emülsiyonların hijyenik yönden istenen standartta olması ve raf ömürleri boyunca patojenik mikroorganizmalardan uzak kalmaları beklenir. Sıcaklıkla ilgili yapılan çalışmalardan sonra alınan örnekler çeşitli besi yerlerine ekilerek oluşan mikroorganizmalar da belirlenmiştir. Koruyucu bir maddenin veya karışımın, formülasyonlara eklenmesi kaçınılmaz görünmektedir.

Yaptığımız bu çalışmalar sonucunda , bu çalışma kapsamındaki sistemin stabil olarak elde edebileceği saptanmıştır. Dayanıklılığı arttırmak amacıyla su fazına polivinilprolidon eklenmesinin sistemin stabilitesi üzerinde etkili

olmadığı, sürfektanla birleşip bir ağ meydana getirip stabiliteyi arttırmadığı anlaşılmıştır.Yine de dış sulu faza polivinilprolidon eklendiğinde formülasyonda daha iyi özellikte multipl damlaların oluştuğu ve damlaların % verimlerinin daha yüksek olduğu anlaşılmıştır. A vitamini ile ilgili çalışmalar daha ileride yapılacaktır.

## KAYNAKLAR DİZİNİ

1. Abd Elbary, A., Nour, S.A., İbrahim, I.: Physical stability and rheological properties of w/o/w emulsions as a function of electrolytes. *Pharma Index*, 52(3):357,362,199
2. Adeyeye, C.M., Price, J.C.: Effect of non-ionic surfactant concentration and type on the formation and stability of w/o/w multiple emulsions: Microscopic and Conductometric evaluations. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 17(5): 725-726, 1991.
3. Agoston, L., Hung Jeljes HU, Cl.A6IK7/06, 1984.
4. Bates, H.L., US. Patent Cl.424-195.1; A6IK7/06, 1987.
5. Bazzano, G.S., PCT. Int., Cl.A6IK7/06, 1982.
6. Bonina, F., Bader, S., Montenegro, L., Serofani, G.,Visca, M.: Three phase emulsions for controlled delivery in the cosmetic field. *International Journal of Cosmetic Science*, 14:65, 1992.
7. British Pharmacopoeia I, PP: 596,597, London, 1988.
8. Brodin, A.F., Frank, S.G.: Drug release from o/w/o multiple emulsion systems. *Acta Pharm. Suec.*, 15: 111,114-116, 1978.
9. Brodin, A.F., Kavaliunas, D.R., Frank, S.G.: Prolonged drug release from multiple emulsions. *Acta Pharm. Suec*, 15: 1,11, 1978.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

10. Connor, M.J.: Retinoid stimulation of epidermal differentiation in vivo, *Life Sciences*, 38(20): 807, 1986.
11. Davis, S.S.,: Liquid membranes and multiple emulsions. *Chemistry and Industry*, 684,686, 1981.
12. Davis, S.S., Purewal, T.S., Burbage, A.S.: The particle size analysis of multiple emulsions. *Journal of Pharmaceutical Pharmacology Supplement*,28: 60, 1976.
13. Davis, S.S., Walker, I.: Measurement of the yield of multiple emulsion droplets by a fluorescent tracer technique. *International Journal of Pharmaceutics*, 17: 203,206-211, 1983.
14. De Luca, M., Rocha-Filho, P., Grossiord, J.L., Rabaron, A., Vaution, C., Seiller, M.: Les emulsions multiples. *International Journal of Cosmetic Science*, 13: 2-10,16-18, 1991.
15. De Luca, M., Vaution, C., Rabaron, A., Seiller, M.: Classification et obtention des emulsions multiples. *STP Pharma*, 4(8): 680-682,683, 1988.
16. De Luca, M., Grossiord, J.L., Vaution, C., Seiller, M.: Les emulsions multiples H/L/H:Mechanismes des liberation. *An. Acad. bras. ci.* 62(3): 284-286, 1990.
17. De Luca, M., Grossiord, J.L., Medard, J.M., Vaution, C.:

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

A stable w/o/w multiple emulsion. *Cosmetics and Toiletries*, 105: 66, 1990.

18. Distefano, F.V., Shaffer, O.M., El-Aasser, M.S., Vanderhoff, J.W.: Multiple oil-in-water-in-oil emulsions of extremely fine droplet size. *Journal of Colloid and Interface Science*, 92(1): 269, 1983.
19. Dulak, M.P., Zecchino, J.R., Avon Products, Inc., Eur. Patent CI.A6IK7/48, 1988.
20. Eccleston, G.M., Florence, A.T.: Application of emulsion theory to complex and real systems. *International Journal of Cosmetic Science*, 7: 200, 1985.
21. Florence, A.T., Whitehill, D.: Some Features of breakdown in water-in-oil-in water multiple emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 79(1): 243 - 245, 253, 1981.
22. Florence, A.T., Whitehill, D.: Stabilization of water/oil/water multiple emulsions by polymerization of the aqueous phases. *Journal of Pharmaceutical Pharmacology*, 34: 688, 1982.
23. Florence, A.T., Whitehill, D.: The formulation and stability of multiple emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 11: 277-299, 1982.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

24. Fox, C.: An introduction to multiple emulsion. Cosmetics and Toiletries, 101: 101-112, 1986.
25. Förster, T.H., Schambil, F., Tesman, H.: Emulsification by the phase inversion temperature method: the role of self bodying agents and the influence of oil polarity. International Journal of Cosmetic Science, 12: 219, 1990.
26. Gal, M., Institutue de Medicina Si Farmacie, ROM, CI.A6IK9/06, 1984.
27. Garti, N., Magdassi, S., Whitehill, D.: Transfer phenomena across the oil phase in water-oil-water multiple emulsions evaluated by Coulter-Counter. I- Effect of emulsifier 1 on water permeability. Journal of Colloid and Interface Science, 104(2): 587, 1985.
28. Geçgil, Ş.: İlaç formülasyonunda Hesaplamalar, s: 193,194 Yörük matbahası,İstanbul, 1978.
29. Geçgil, Ş., Geçgil, T.: Galenik Farmasiye Başlangıç, s: 207-210, Yörük matbahası, İstanbul, 1972.
30. Georgescu, L., Matinescu, I., Lazar, G., Breazu, D., Maior, N., Intreprinderea de Produse Cosmetice Formec, ROM., CI.A6IK7/48, 1983.
31. Gürsoy,A., Ergenç, N., Ateş Ö.: İlaçların Tanınması ve

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Kantitatif Tayini, s:122, İstanbul Üniversitesi Yayınları, İstanbul, 1989

32. Güven, K.C.: Eczacılık Teknolojisi 1, s: 82-92, Modern Röprodüksiyon, İstanbul, 1987.
33. Harry, R.G.: Harry's Cosmeticology, Chapter 3, p:44, Longman House, London, 1982.
34. İlham, C.: Project de mise au point d'une emulsion multiple a base d'huile de soja, Rapport de pre-stage de Galenique. Universite Paris XI, 1991-1992.
35. İzgü, E.: Farmasötik Teknoloji I, s: 248, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 1983.
36. Kahla, M., Cuisinier, K., Noura, K.L., Fr. Demande, Cl.A61K7/46, 1991.
37. Kamisaka, H., Shaku, M., Polo Chemical Industries Inc., Jpn. Kokai Tokkyo Koho Jp., Cl.A6IK7/00, 1989.
38. Kavaliunas, D.R., Slyvan, G.F.: Liquid crystal stabilization of multiple emulsions. Journal of Colloid and Interface Science, 66(3): 586, 1978.
39. Kita, Y., Matsumoto, S., Yonezawa, D.: Viscometric method for estimating the stability of w/o/w-type multiple phase emulsions. Journal of Colloid and Interface Science, 62(1): 88,89, 1977.



KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

40. Law, T.K., Whateley, T.L., Florence, A.T.: Stabilization of w/o/w multiple emulsions by interfacial complexation of macromolecules and nonionic surfactants. *Journal of Controlled Release*, 3:279, 1986.
41. Lissant, K.J.: Making and breaking emulsions. *Emulsions and Emulsion Technology I*. Ed: K.J.Lissant , *Surfactant Science Series*, 6: 77.
42. Lo, I., Florence, A.T., Trequier, J.P., Seiller, M., Puisieux, F.: The influence of surfactant HLB and the nature of the oil phase on the phase diagrams of nonionic surfactant-oil-water-systems. *Journal of Colloid and Interface Science*, 59(2): 321, 1977.
43. Magdassi, S., Garti, N.: A kinetic model for release of electrolytes from w/o/w multiple emulsions. *Journal of Controlled Release*, 3: 273, 1986.
44. Magdassi, S., Garti, N.: Release of electrolytes in multiple emulsions: Coalescence and breakdown or diffusion through oil phase . *Colloids and Surfaces*, 12: 369,373, 1984.
45. Martindale The Extra Pharmacopoeia Twenty-ninth Edition 29, pp.1278-1280, Pharmaceutical Press, London, 1989.
46. Mathew, M., Thampi, C.S.: Evaluation of multiple w/o/w

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

emulsions containing terbutalin sulphate. The Eastern Pharmacist, 181, January 1990.

47. Matsumoto, S.: Development of w/o/w-Type dispersion during phase inversion of concentrated w/o emulsions. Journal of Colloid and Interface Science, 94(2): 362, 366, 1983.
48. Matsumoto, S., Kita, Y., Yonezawa, D.: An attempt at preparing water-in-oil-in-water multiple-phase emulsions. Journal of Colloid and Interface Science, 57(2): 354, 356, 1976.
49. Matsumoto, S., Kohda, M.: The viscosity of w/o/w emulsions: An attempt to estimate the water permeation coefficient of the oil layer from the viscosity changes in diluted systems on aging under osmotic pressure gradient. Journal of Colloid and Interface Science, 73(1): 13, 17-20, 1980.
50. Matsumoto, S., Inonue, T., Kohda, M., Ohta, T.: An attempt to estimate the stability of the oil layer in w/o/w emulsions by means of viscometry. Journal of Colloid and Interface Science, 77(2): 564, 1980.
51. Matsumoto, S., Ueda, Y., Kita, Y., Yonezawa, D.: Preparation of water-in-olive oil-in-water multiple phase emulsions in an eatable form. Agricultural and

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

Biological Chemistry 42(4): 740, 1978.

52. Matyasovsky, Z., Ritter, T.M., Hung Heljes HU, CI.A6IK7/047, 1991.
53. Melita, G., Institutue de Medicina si Farmacie, ROM., CI.A6IK9/06, 1984.
54. Mulley, B.A.: Medicinal emulsions. Emulsions and Emulsion Technology I. Ed: K.J. Lissant ,Surfactant Science Series, 6: 295-300.
55. Nakada, M., Funada, T.,Nippon Oils and Fats Co.Ltd., Jpn. Kokai Tokkyo Koho , Japan patent, CI.A6IKI7/00, 1990.
56. Nederlandse Farmacopee 3-193, p: 217,Staatsuitgeverij',s-Gravenhage ,1983.
57. Ohwaki, T., Nitta, K., Ozawa, H., Kawashima, Y., Hino, T., Takeuchi, H., Niwa, T.: Improvement of the formation percentage of water-in-oil-in-water multiple emulsion by the addition of surfactants in the internal aqueous phase of the emulsion. International Journal of Pharmaceutics, 85: 20, 1992.
58. Omotosho, J.A.: The effect of acacia, gelatin and polyvinylpyrrolidone on chloroquine transport from multiple w/o/w emulsions. International Journal of Pharmaceutics, 62: 81, 1990.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

59. Omotosho, J.A., Whateley, T.L., Jaw, T.K., Florence, A.T.  
: The nature of the oil phase and the release of solutes from multiple (w/o/w) emulsions. Journal of Pharmaceutical Pharmacology , 38: 865-870, 1986.
60. Öner, F.: Methods for testing the physical stability of emulsion type cosmetic formulation. Proceedings of the First International Cosmetics Symposium (ICOS) .  
Editörleri:Başer, K.H., Yazan, Y., s: 134, Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir,1993
61. Pharmacopeia of India II,pp.542,543, Publications and Information Directorate (CSIR) , New Delphi, 1985.
62. Poiter, L., Raynal, S., Seiller, M., Grossiard, J.L., Clause, D.: Study of state transitions within multiple w/o/w emulsions using colorimetry (DSC). Thermochemica Acta, 204: 145, 1992.
63. Pryliski, C., De Luca, M., Grossiard, J.L., Vaution, C., Seiller, M.: W/o/w multiple emulsions. Manufacturing and formulation considerations. Cosmetics and Toiletries, 106: 97-100, 1991.
64. Remingtons Pharmaceutical Sciences, 16th Edition, p. 949, Mack Publishing Company, Easton, Pennsylvania.
65. Rocha-Filho, P.A., Vaution, C., Seiller, M.: Les

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- emulsions multiples L/H/L. STP Pharma, 5(10): 653-655, 659, 1989.
66. Seiller, M., Tokgoz, N.S., Grossiord, J.L.: Multiple emulsions as promising preparations in cosmetic science Proceedings of the First International Cosmetics Symposium. Editörleri: Başer, K.H., Yazan, Y., s:157 Anadolu Üniversitesi Yayınları, Eskişehir,1993.
67. Seiller, M., De Luca, M., Vaution, C., Grossiord, J.L., Rabaron, A.: Les emulsions multiples.Nouve Dermatologie ,10(1): 91-93, 1991.
68. Seiller, M., Vaution, C., Grossiord, J.L., Rabaron, A.: Les emulsions multiples en cosmetologie. Actualites Pharmaceutiques, 289: 41-43, 1991.
69. Shah, M.V., De Gennaro, M.D., Suryakasuma, H.: Evaluation of albumin microcapsules prepared using a multiple emulsion technique. Microencapsulation,4(3): 223-225, 1987.
70. Szepessy, G., Kaposi, M.S., Mohr, T., Horvath, K., Furjes , J., Furjes, D., Hung Jeljes Hu, CI.A6IK7/48, 1990.
71. Takashi, K., Ohtsubo, F., Takeuchi, H.: A study of stability of (w/o)/w-type emulsions using a tracer technique. Journal of Chemical Engineering at Japan, 14 (5): 416, 1981.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

72. Terisse, I., Seiller, M., Rabaron, A., Grossiord, J.L.:  
Rheology: How to characterize and the foresee the  
evaluation of w/o/w multiple emulsions. Basılmamış yayın.
73. The Japanese Standarts of Cosmetic Ingredients Second  
Edition, pp. 351,458, Yakuji Nippo, Ltd.,Tokyo,Japan.  
1985.
74. The Merck index Eleventh Edition, p. 9916, Merck and Co.,  
Inc. Rahway. N.J., USA, 1989.
75. The Pharmacopoeia of Japan Eleventh Edition 020-49/1,  
pp.911-913,628-630, Yakuji Nippo, Ltd., Tokyo, Japan.
76. Thorel, J.N., Fr. Demande, CI.A6IK7/40, 1988.
77. Tomita, M., Abe, Y., Kondo, Y.: Viscosity change after  
dilution with solutions of water-oil-water emulsions  
and solute permeability through the oil layer. Journal  
of Pharmaceutical Sciences, 71(3): 332, 1982.
78. Türk Farmakopesi, s: 701-702, 865-867, Milli Eğitim  
Basımevi ,İstanbul, 1974.
79. United States Pharmacopoeia XXII, p.1451, United States  
Pharmacopoeial Convention, Inc., Rockville, USA, 1990.
80. Whitehill, D.: Multiple emulsion and their future uses.  
Chemist and Druggist, 130-135, 1980.

## KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

81. Yazan, Y., Seiller, M., Grossiord, J.L.: Multiple emulsions. *Bolettino Chimico Farmaceutico*, 132(6): 187-194, 1993.
82. Zats, J.I., Cueman, G.H.: Assesment of stability in water -in-oil-in-water multiple emulsions. *Journal of the Society of Cosmetic Chemists*, 39:214, 1988.