



T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



**İPEK PROTEİNİ MİKROPARTİKÜLLERİ YÜKLÜ
HİDROJEL FORMÜLASYONLARININ
GELİŞTİRİLMESİ VE *IN VITRO*
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Meltem YEŞİLKAVAK

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı

İzmir
2024

T.C.
EGE ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü

**İPEK PROTEİNİ MİKROPARTİKÜLLERİ YÜKLÜ
HİDROJEL FORMÜLASYONLARININ
GELİŞTİRİLMESİ VE *IN VITRO*
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Meltem YEŞİLKAVAK

Danışman
Prof. Dr. Sinem Yaprak KARAVANA

Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı
Kozmetoloji Bilim Dalı Yüksek Lisans Programı

İzmir
2024

Tez Değerlendirme Kurulu Üyeleri

(Adı Soyadı)

(İmza)

Başkan (Danışman): Prof. Dr. Sinem Yaprak KARAVANA

Üye : Prof. Dr. Kevser Özgen ÖZER

Üye : Doç. Dr. Meryem Sedef ERDAL

Yüksek lisans tezinin kabul edildiği tarih:23.08.2024

ÖNSÖZ

Lisans yıllarında kıymetli hocalarımız sayesinde en sevdiğim derslerden biri olan Kozmetoloji'yi daha detaylı anlamak, mesleğime katkı sağlamak ve fark yaratmak için başlamış olduğum yüksek lisans programında, literatür taramaları sonucunda sürdürülebilirlik hedefiyle ipek proteini ve spirulina aktif maddelerini içeren nemlendirici ve yaşlanma karşıtı özellikte bir kozmetik preparat hazırlanmayı, kozmetik ürünlerde yeni taşıyıcı sistemlerin potansiyelini değerlendirmeyi ve cilt bakımında yenilikçi yaklaşımların geliştirilmesine katkı sağlamayı hedefleyerek tez konumu seçtim. Yaptığım çalışmalar sonucunda hazırladığım tezimin faydalı bir çalışma olmasını umuyorum.

İzmir, 23.08.2024

Meltem YEŞİLKAVAK

ÖZET

İpek Proteini Mikropartikülleri Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının Geliştirilmesi ve *In Vitro* Değerlendirilmesi

Su, derinin esnekliğini ve yapısını koruyan en temel unsurdur. Derinin sağlıklı görünümünü ve işlevselliğini koruyabilmesi için, dış tabakanın (Stratum corneum) su içeriğinin korunması hayati önem taşır. Burada su kaybı olması, dış tabakanın yeniden yapılanmasını zayıflatır. Böylece transepidermal su kaybı artar ve deri elastikiyetini kaybeder. Bu süreç ilerledikçe, cilt kuruluğu kaçınılmaz hale gelir. Cilt kuruluğu sürecinde, inflamatuvar maddeler serbest kalır, bu da derinin sertleşmesine ve çatlmasına yol açar. Bunun sonucunda, deri daha hassas hale gelir ve enfeksiyonlara karşı daha savunmasız hale gelir. Bu süreç çevresel etkenlerden veya biyolojik yaşlanma süreci sebebiyle gerçekleşebilir.

Nemlendirici özellikli preparatların kullanımı; cilt kuruluğu semptomlarının ve dolayısıyla yaşlı cildin görünümünün iyileştirilmesine de yardımcı olur. Bu sebeple nemlendirici özellikli preparatlar kozmetik preparatlar arasında büyük bir yer tutar.

Doğal kaynakların korunması ve gezegenin geleceğini güvence altına alma amacı yeni dünyanın en önemli sosyal sorumluluklarından. Bu sebeple kozmetik endüstrisini de sürdürülebilir preparatların artmasına odaklanmaktadır.

İpek proteini ve spirulina; sürdürülebilir içeriklere iyi birer örnektirler. Sürdürülebilir içerik olmalarının yanında, ipek proteininin cilt ile uyumlu olması, deriden su kaybının azaltılmasına yardımcı olması, cildi nemlendirmesi ve cildin elastikiyetini artırması gibi birçok faydası vardır. Spirulina da benzer şekilde cildi nemlendirir, kırıksıklıkları önlemeye yardımcı olur bu sayede cilt yaşlanmasının gecikmesini sağlar.

Bu avantajlarının yanında ipek proteinin ve spirulinanın kötü kokuya sahip olması, ipek proteininin protein yapısından kaynaklı düşük stabilite ve düşük çözünürlük probleminin olması gibi dezavantajları vardır. Bu problemlerin önüne geçebilmek ve preparatın cilt üzerinde kalış süresini dolayısıyla etki süresini uzatmak için, ipek proteini ve spirulinanın mikropartikülleri hazırlanmıştır. Mikropartiküllerin hazırlanmasında yardımcı madde olarak çevre dostu ve biyoyumlu bir polimer olan

sodyum aljinattan yararlanılmıştır. Daha sonra, bu mikropartiküller düşük toksisite, iyi biyouyumluluk gibi özellikleriyle bilinen kitosan polimeri ile hazırlanmış hidrojele yüklenmiştir. Bitmiş ürünün karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır.

Bu tez çalışması ile sürdürülebilirlik hedefiyle ipek proteini ve spirulina aktif maddelerini içeren nemlendirici ve yaşlanma karşıtı özellikte bir kozmetik preparat hazırlanması, kozmetik ürünlerde yeni taşıyıcı sistemlerinin potansiyelinin değerlendirilmesi ve cilt bakımında yenilikçi yaklaşımların geliştirilmesine katkıda bulunulması amaçlanmaktadır.

Anahtar Kelimeler; İpek fibroin; spirulina; hidrojel; sodyum aljinat; yaşlanma karşıtı

ABSTRACT

Development and *In Vitro* Evaluation of Silk Protein Microparticles Loaded Hydrogel Formulations

Water is the most basic element that maintains the elasticity and structure of the skin. For the skin to maintain its healthy appearance and functionality, it is vital to maintain the water content of the outer layer (Stratum corneum). Water loss here weakens the restructuring of the outer layer. Thus, trans-epidermal water loss increases and the skin loses its elasticity. As this process progresses, skin dryness becomes inevitable. During the skin dryness process, inflammatory substances are released, which leads to hardening and cracking of the skin. As a result, the skin becomes more sensitive and more vulnerable to infections. This process can occur due to environmental factors or the biological aging process.

The use of moisturizing preparations also helps to improve the symptoms of skin dryness and therefore the appearance of aged skin. For this reason, moisturizing preparations have a large place among cosmetic preparations.

The aim of protecting natural resources and securing the future of the planet is one of the most important social responsibilities of the new world. For this reason, the cosmetics industry also focuses on increasing sustainable preparations.

Silk protein and spirulina; are good examples of sustainable content. In addition to being sustainable content, silk protein has many benefits such as being compatible with the skin, helping to reduce water loss from the skin, moisturizing the skin, and increasing the elasticity of the skin. Spirulina also similarly moisturizes the skin, helps prevent wrinkles, and thus delays skin aging.

In addition to these advantages, silk protein and spirulina have disadvantages such as having a bad odor, low stability, and low solubility problems due to the protein structure of silk protein. To prevent these problems and to extend the duration of the preparation on the skin and therefore the duration of its effect, microparticles of silk protein and spirulina were prepared. Sodium alginate, an environmentally friendly

and biocompatible polymer, was used as an excipient in the preparation of microparticles. Then, these microparticles were loaded into the hydrogel prepared with chitosan polymer, known for its properties such as low toxicity and good biocompatibility. Characterization studies of the finished product were carried out.

This thesis aims to prepare a moisturizing and antiaging cosmetic preparation containing silk protein and spirulina active ingredients with sustainability goals, to evaluate the potential of new carrier systems in cosmetic products, and to contribute to the development of innovative approaches in skin care.

Keywords; Silk fibroin; spirulina; hydrogel; sodium alginate; anti-aging

İçindekiler

ÖNSÖZ.....	II
ÖZET.....	III
ABSTRACT.....	V
İçindekiler	VII
Tablolar Dizini.....	VIII
Şekiller Dizini	IX
GİRİŞ	1
GENEL BİLGİLER.....	3
1.1. Derinin Yapısı.....	3
1.2. Cildin Nemini Kaybetmesi	5
1.3. Kozmetik Ürünler	6
1.4. Nemlendirici Ürünler.....	6
1.5. Hidrojeller.....	8
1.6. Mikropartiküller	9
1.7. İyonik Jelleşme Yöntemi.....	10
1.8. İpek Proteini ile ilgili Genel Bilgiler	10
1.9. Spirulina ile ilgili Genel Bilgiler	11
1.10. Polimerler ile ilgili Genel Bilgiler	12
1.11. Kitosan ile ilgili Genel Bilgiler	13
1.12. Sodyum Aljinat ile ilgili Genel Bilgiler	14
1.13. Sodyum Benzoat ile ilgili Genel Bilgiler.....	14
1.14. Yeşil Kozmetik Tanımı ile ilgili Genel Bilgiler	15
GEREÇ VE YÖNTEM.....	17
2.1.Kullanılan Maddeler, Araç ve Gereçler.....	17
2.2. Yöntem	21
BULGULAR.....	74
TARTIŞMA	140
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	155
KAYNAKÇA	156
TEŞEKKÜR	165
ÖZGEÇMİŞ.....	165

Tablolar Dizini

Tablo 1: Cihaz Listesi	18
Tablo 2: Malzeme Listesi.....	19
Tablo 3: Kısaltma Listesi	20
Tablo 4: Geçimlilik Çalışması	22
Tablo 5: F1 Formülasyon İçeriği	25
Tablo 6: F2 Formülasyon İçeriği	30
Tablo 7: F3 Formülasyon İçeriği	34
Tablo 8: F4 Formülasyon İçeriği	37
Tablo 9: F5 Formülasyon İçeriği	41
Tablo 10: F6 Formülasyon İçeriği	45
Tablo 11: F7 Formülasyon İçeriği	49
Tablo 12: F8 Formülasyon İçeriği	53
Tablo 13: F9 Formülasyon İçeriği	57
Tablo 14: Hidrojel Formülasyonları.....	63
Tablo 15: Mikropartikül Formülasyonları % Verim Sonuçları.....	94
Tablo 16: Mikropartikül Formülasyonlarında Partikül Büyüklüğü Sonuçları.....	95
Tablo 17: Mikropartikül Formülasyonlarında Zeta Potansiyeli Sonuçları	96
Tablo 18: Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonların Mekanik Özellikleri.....	116
Tablo 19: Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel pH Değerleri.....	118
Tablo 20: Formülasyonların Yayılabilirlik Sonuçları	120
Tablo 21: G1 Stabilite Sonuçları.....	121
Tablo 22: G2 Stabilite Sonuçları.....	126
Tablo 23: G3 Stabilite Sonuçları.....	130
Tablo 24: G4 Stabilite Sonuçları.....	135

Şekiller Dizini

Şekil 1: Derinin yapısı (Gopinathan K. Menon, 2012)	3
Şekil 2: Nemlendiricilerin mekanizmaları (Tanya M. Barnes, 2021)	7
Şekil 3: Formülasyon 1 Üretim Şeması	26
Şekil 4: Formülasyon 1 İpek Proteini Mikropartikülleri SEM Görüntüsü.....	27
Şekil 5: Formülasyon 1 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	28
Şekil 6: Formülasyon 1 Spirulina Mikropartikülleri SEM Görüntüsü.....	28
Şekil 7: Formülasyon 1 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	29
Şekil 8: Formülasyon 2 Üretim Şeması	31
Şekil 9: Formülasyon 2 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	32
Şekil 10: Formülasyon 2 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	33
Şekil 11: Formülasyon 3 Üretim Şeması	35
Şekil 12: Formülasyon 3 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	36
Şekil 13: Formülasyon 3 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	37
Şekil 14: Formülasyon 4 Üretim Şeması	38
Şekil 15: Formülasyon 4 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	39
Şekil 16: Formülasyon 4 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	40
Şekil 17: Formülasyon 5 Üretim Şeması	42
Şekil 18: Formülasyon 5 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	43
Şekil 19: Formülasyon 5 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	44
Şekil 20: Formülasyon 6 Üretim Şeması	46
Şekil 21: Formülasyon 6 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	47
Şekil 22: Formülasyon 6 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	48
Şekil 23: Formülasyon 7 Üretim Şeması	50
Şekil 24: Formülasyon 7 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	51
Şekil 25: Formülasyon 7 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	52
Şekil 26: Formülasyon 8 Üretim Şeması	54
Şekil 27: Formülasyon 8 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	55
Şekil 28: Formülasyon 8 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü	56
Şekil 29: Formülasyon 9 Üretim Şeması	58
Şekil 30: Formülasyonlardaki Spirulinanın $CaCl_2$ Çözeltilerine Renk Vermesi (Sırasıyla F7 – F6 – F8 – F9)	59
Şekil 31: Osilasyon Reometresi	69

Şekil 32: TPA (Texture Profile Analysis; Tekstür Profil Analizi) Grafiğinin Genel Görünümü	70
Şekil 33: TPA Cihazı	70
Şekil 34: TPA (Texture Profile Analysis; Tekstür Profil Analizi) Yayılabilirlik Grafiğinin Genel Görünümü	73
Şekil 35: İpek proteini FTIR spektrumu	74
Şekil 36: Spirulina FTIR spektrumu	75
Şekil 37: Sodyum Aljinat FTIR spektrumu	75
Şekil 38: Kitosan (Yüksek Molekül Ağırlıklı) FTIR spektrumu	76
Şekil 39: Kitosan (Orta Molekül Ağırlıklı) FTIR spektrumu	76
Şekil 40: Sodyum Benzoat FTIR spektrumu	77
Şekil 41: İpek proteini DTK Sonuçları	77
Şekil 42: Spirulina DTK Sonuçları	78
Şekil 43: Kitosan (Yüksek Molekül Ağırlıklı) DTK Sonuçları	78
Şekil 44: Kitosan (Orta Molekül Ağırlıklı) DTK Sonuçları	78
Şekil 45: Sodyum Aljinat DTK Sonuçları	79
Şekil 46: Sodyum Benzoat DTK Sonuçları	79
Şekil 47: Kalsiyum Klorür DTK Sonuçları.....	80
Şekil 48: İpek proteini (sıvı form) UV Spektrumu	80
Şekil 49: İpek proteini (liyofilize toz) UV Spektrumu.....	81
Şekil 50: Spirulina ve Kitosan karışımı FTIR Spektrumu	81
Şekil 51: İpek proteini ve Kitosan karışımı FTIR Spektrumu	82
Şekil 52: İpek proteini ve Spirulina karışımı FTIR Spektrumu	82
Şekil 53: İpek proteini ve Sodyum Aljinat karışımı FTIR Spektrumu	83
Şekil 54: Spirulina ve Sodyum Aljinat karışımı FTIR Spektrumu	83
Şekil 55: Spirulina, Kitosan ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu.....	84
Şekil 56: Sodyum Benzoat, Kitosan ve Spirulina karışımı FTIR Spektrumu.....	84
Şekil 57: Sodyum Benzoat, Kitosan ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu	85
Şekil 58: Spirulina, Sodyum Aljinat ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu.....	85
Şekil 59: Spirulina, Sodyum Aljinat, Sodyum Benzoat, Kitosan ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu	86
Şekil 60: Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları	86

Şekil 61: İpek proteini, Spirulina, Sodyum Benzoat, Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları	87
Şekil 62: İpek proteini, Kitosan ve Spirulina DTK Sonuçları	87
Şekil 63: İpek proteini, Sodyum Benzoat ve Kitosan Karışımı DTK Sonuçları.....	88
Şekil 64: İpek proteini, Spirulina, Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları	88
Şekil 65: Spirulina ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları	89
Şekil 66: İpek proteini, Spirulina, Kalsiyum Klorür ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları	89
Şekil 67: İpek proteini ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları	90
Şekil 68: Spirulina ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları	90
Şekil 69: İpek proteini, Spirulina, Kitosan, Sodyum Benzoat ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları	91
Şekil 70: İpek proteini, Spirulina, Kalsiyum Klorür ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları	91
Şekil 71: İpek proteini, Spirulina, Kitosan ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları	91
Şekil 72: İpek proteini ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları	92
Şekil 73: Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları	92
Şekil 74: İpek Mikropartikülleri DTK Sonuçları	93
Şekil 75: Spirulina Mikropartikülleri DTK Sonuçları	93
Şekil 76: İpek Proteini Mikropartikülleri Partikül Büyüklüğü Grafiği.....	95
Şekil 77: Spirulina Mikropartikülleri Partikül Büyüklüğü Grafiği	95
Şekil 78: İpek Proteini Mikropartikülleri Zeta Potansiyeli Grafiği	96
Şekil 79: Spirulina Mikropartikülleri Zeta Potansiyeli Grafiği.....	97
Şekil 80: İpek proteini mikropartikülleri SEM görüntüsü	97
Şekil 81: Spirulina mikropartikülleri SEM görüntüsü	98
Şekil 82: İpek proteini mikropartikülleri mikroskop görüntüsü	98
Şekil 83: Spirulina mikropartikülleri mikroskop görüntüsü	99
Şekil 84: G1 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	100
Şekil 85: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	100
Şekil 86: G1 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	101
Şekil 87: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	101

Şekil 88: G2 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	102
Şekil 89: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	102
Şekil 90: G2 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	103
Şekil 91: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	103
Şekil 92: G3 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	104
Şekil 93: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	104
Şekil 94: G3 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	105
Şekil 95: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	105
Şekil 96: G4 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	106
Şekil 97: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C).....	106
Şekil 98: G4 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	107
Şekil 99: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C).....	107
Şekil 100: G1 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	108
Şekil 101: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	108
Şekil 102: G1 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	109
Şekil 103: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	109
Şekil 104: G2 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	110
Şekil 105: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	110
Şekil 106: G2 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	111
Şekil 107: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	111
Şekil 108: G3 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	112
Şekil 109: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	112
Şekil 110: G3 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	113
Şekil 111: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	113
Şekil 112: G4 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	114
Şekil 113: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)	114
Şekil 114: G4 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	115
Şekil 115: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)	115
Şekil 116: Hidrojel Formülasyonların %Oklüziflik Grafiği	119
Şekil 117: G1 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	122
Şekil 118: G1 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	122
Şekil 119: G1 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	123

Şekil 120: G1 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	123
Şekil 121: G1 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	124
Şekil 122: G1 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	124
Şekil 123: G1 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	125
Şekil 124: G1 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	125
Şekil 125: G2 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	126
Şekil 126: G2 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	127
Şekil 127: G2 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	127
Şekil 128: G2 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	128
Şekil 129: G2 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	128
Şekil 130: G2 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	129
Şekil 131: G2 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	129
Şekil 132: G2 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	130
Şekil 133: G3 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	131
Şekil 134: G3 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	131
Şekil 135: G3 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	132
Şekil 136: G3 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	132
Şekil 137: G3 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	133
Şekil 138: G3 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	133
Şekil 139: G3 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	134
Şekil 140: G3 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	134
Şekil 141: G4 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	135
Şekil 142: G4 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	136
Şekil 143: G4 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	136
Şekil 144: G4 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	137
Şekil 145: G4 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)	137
Şekil 146: G4 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)	138
Şekil 147: G4 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)	138
Şekil 148: G4 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)	139

GİRİŞ

Su, derinin esneklik ve bütünlüğünün korunmasında rol oynayan en önemli faktördür. Derinin normal görünümünü koruyabilmesi ve fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesi için Stratum corneumun su içeriğinin korunması önemlidir. Derinin suyunu kaybetmesi ile oluşan cilt kuruluğu Stratum corneumdaki su içeriğinin azalmasının sonucudur. Suyun yüzeyden buharlaşması ile gerçekleşen kayıp Stratum corneumda yeniden yapılanmayı zayıflatır. Bu durum korneositlerin anormal dökülmesine ve buna bağlı olarak beyazımsı pullanmaya neden olur. Stratum corneumun su içeriğinin yaklaşık %10'un altına düşmesi ile deri esnekliğini yitirir, transepidermal su kaybı artar. Bunun sonucunda da cilt kuruluğu süreci yaşanır. Cilt kuruluğu sürecinde serbest duruma gelen inflamatuvar medyatörler keratinositlerin aşırı çoğalmasına neden olur. Bu durumda Stratum corneumun suyu görünür şekilde azalır, ayrıca doğal nemlendirici faktör düzeyi ve enzim etkinliği azalarak lipid yapısının değişmesine yol açar. Nemini kaybeden deride, sertlik ve esneklik kaybına bağlı olarak çatlak oluşur ve derinin bütünlüğü bozulur. Bu aşamada hasarın onarımı ve deriyi canlandırmak güçleşir, aynı zamanda duyarlılık artar. Deforme olmuş deri bakteriyel ve fungal enfeksiyonlara daha yatkındır. Kaşıntının yanı sıra enflamasyon ve dermatit (egzema) gibi bazı deri rahatsızlıkları ortaya çıkabilir (Gönüllü, 2016). Yaşlanma süreci fizyolojik olaylarla da birleştiğinde; derinin bütünlüğünün bozulduğu, derinin nemini koruma yeteneğini kaybettiği ve derinin neminin önemli miktarda azaldığı bir süreçtir. Bu amaçla hümeaktan, oklüzif, emoliyan etkili nemlendirici preparatlar piyasada oldukça yaygın olarak bulunmaktadır.

“Bugünün gerekliliklerini, gelecek kuşakların kendi ihtiyaçlarını gidermelerine engel olmadan karşılamak” olarak tanımlanan sürdürülebilirlik kavramı tüketici davranışlarında farkındalık yaratmıştır. Bu kavram; kozmetik endüstrisinde de insan sağlığına ve doğaya saygılı ürünler geliştirmek, hammadde kaynağını yenilenebilir maddelerden seçmek, mevcut ürünlerde inovasyonlar yaparak daha çevre dostu profillere bürünmesini sağlamak gibi farkındalıklar kazandırmıştır.

Doğal bir protein olan ipek proteininin insan derisiyle biyouyumlu olması, biyobozunur olması, toksik olmaması, güvenli bir aktif madde olması günümüzün en çok aranan kozmetik hammaddelerinden biri olmasını sağlamıştır. İpek proteini

doğal nemlendirici faktör ile yapısal benzerlik gösterir, tirozinkinazı inhibe eder. Bu sayede transepidermal su kaybını azaltır, cilt hidrasyonunu artırır, cilt elastikiyetini artırır. Bu şekilde de kırışıklık ve yaşlanma önleyici etki gösterir. Deriyi UV (ultraviyole) radyasyonundan korur. Antibakteriyel etki gösterir.

Spirulina sürdürülebilirlik açısından en umut verici mikroalg türlerinden biridir. Nemlendirici, kırışıklık önleyici, yaşlanma ve sivilce karşıtı özellikleriyle topikal cilt bakımı formülasyonlarında kullanılan spirulinanın en önemli özelliği ise toksisitesinin düşük olmasıdır.

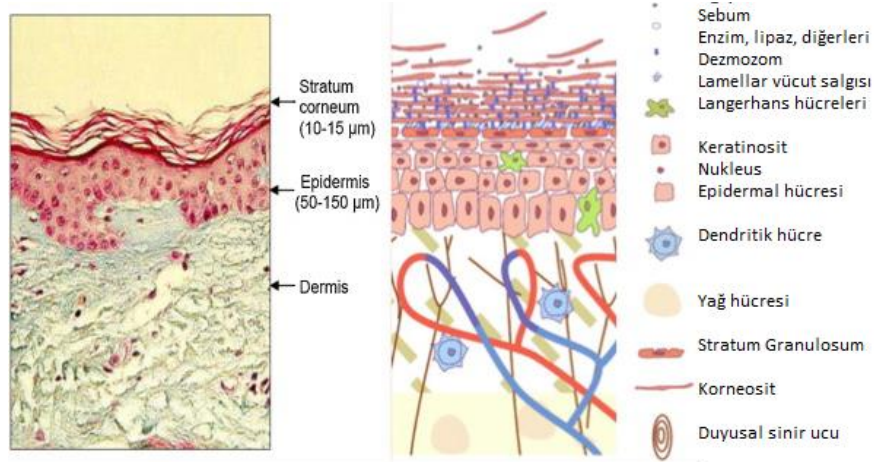
İpek proteininin ve spirulinanın bu avantajlarının yanında sahip oldukları kötü koku, ipek proteininin protein yapısından kaynaklı düşük stabilite ve düşük çözünürlük problemi gibi dezavantajları vardır. Bu problemlerin önüne geçmek, aynı zamanda hazırlanan formülasyonun cilt üzerinde kalış süresini uzatmak ve buna bağlı olarak etki süresinin artırılması için tez çalışmasında ipek proteini ve spirulina mikropartikülleri hazırlanmıştır. İpek proteini ve spirulina mikropartikülleri, düşük toksisite ve cilt ile uyumluluk gösteren sodyum aljinat polimeri ile hazırlanmıştır. Daha sonra, hazırlanan mikropartiküler sistem biyoyumlu, düşük toksisite özellikleriyle bilinen kitosan polimeri ile hazırlanmış hidrojel formülasyonuna yüklenerek formülasyona son şekli verilmiştir. Bu çalışma kapsamında; ipek proteini ve spirulina mikropartikülleri yüklü hidrojel formülasyonun geliştirilmesi ve *in vitro* değerlendirilmesinin yapılmasıyla sürdürülebilir kozmetiğe örnek olacak, nemlendirici ve yaşlanma karşıtı özellikte bir formülasyon geliştirmek, yeni taşıyıcı sistemlerinin kozmetik ürünlerdeki kullanım potansiyeli hakkında güncel ve yeni bir bakış açısı sağlamak amaçlanmaktadır.

GENEL BİLGİLER

1.1. Derinin Yapısı

Deriye uygulanacak kozmetik preparatların etkinliğini değerlendirmek için öncelikle derinin yapısı, içerdiği maddeler, fonksiyonları gibi deri ile ilgili bilgilere sahip olmamız gerekir.

Deri, cildimizi eksojen ortamdaki muhafaza eden bir kılıf görevi görür ve iç organlarımızın, deri altı dokularımızın su kaybetmesini engeller. Derimiz hareket ettiğimizde cilt üzerinde kalıcı deformasyona sebep olmayacak kadar esnek ama uyarıları algılayabilecek kadar ince yapıdadır. Derimizin bununla birlikte sentez, metabolizma ile vücudun sıcaklığını dengeleyen ter salgısının üretimi ve terleme yoluyla atık maddeleri vücuttan atmak gibi ek görevleri de vardır. Tüm bunların haricinde deri, vücudumuza antijenik uyarılara karşı koruma sağlar, derimizin immün sistemin bir parçası olarak da çalışan bu bölümüne SALT (Skin Associated Lymphoid tissue; Derideki Lenfoid Doku) denir. Deri üç katmandan oluşur: Derialtı (Hipodermis) doku, dermis ve epidermis. (Değim, 2009).



Şekil 1: Derinin yapısı (Gopinathan K. Menon, 2012)

Epiderminin en dıştaki tabakası Stratum corneumdur (boynuzsu tabaka). Bu tabakanın kalınlığı 6-15 pm arasındadır. 15-25 kat ölü, yassılaştırmış, uzamış ve tamamen keratinize olmuş korneositleri bulundurur. Bu korneositler iki tabakalı lipit matris içine gömülmüş formdadır. Bu hücreler keratinsitten korneosit formuna farklılaşmıştır. Bazal tabakada stern hücreleri adı verilen ana hücrelerin mitoz bölünme ile çoğalması sonucu genç yeni hücreler meydana gelir ve yaşlı hücreler deri yüzeyine doğru gelir. Bu hücreler farklılaşma (differensiasyon) gösterdikçe epiderminin üst tabakalarına yönelirler. Farklılaşma sonucu 30-40 pm çapında, ama 0.5 pm'den daha az kalınlıkta boynuzsu hücreler oluşur. Bu plakçıklar 15-25 tabaka olacak şekilde kümelenmiştir. Yeni boynuzsu hücreler Stratum corneuma ulaştıklarında ve üstte bulunan hücreler veya hücre dizileri pul pul biçimde (gevşek bağlı hücre kümeleri) derinin üst yüzeyinden atılırlar. Sağlıklı deride bu epidermal gelişim denge halindedir. Bu hesaplamalar, derinin yüzeyinden işaretli substratların atılması için geçen süreden yapılan hesaplamalara dayanır. Hücre yığılması kişiye bağlı olarak, vücudun belirlenen bölgesine ve derinin durumuna göre sütunlar şeklinde düzenli veya dağınık halde bulunur. Stratum corneumun %40'ı proteinlerden oluşur. Stratum corneum cildin birincil bariyeri olarak görev yapar, vücuttan su kaybını düzenler ve cilt yüzeyinden potansiyel olarak zararlı maddelerin ve mikroorganizmaların nüfuz etmesini önler (Değim, 2009; Benson, 2012).

Stratum corneumdaki lipit miktarı ve cinsi bulunduğu vücut bölgesine göre farklılık gösterir. Genel olarak permeabilitenin Stratum corneumdaki lipitlere göre belirlendiği kabul edilmektedir. Stratum corneum tabakasının yaklaşık %20-25'ini çeşitli bileşiklerin kombinasyonu olan doğal nemlendirici faktör (Natural Moisturizing Factor, NMF) oluşturur. Bu bileşikler, dış çevrenin kurutucu etkisine karşı nemi Stratum corneumun dış tabakalarında koruyan maddelerdir. NMF ve keratin arasındaki spesifik iyonik etkileşme ve buna eşlik eden suyun mobilitesinde azalma sonucunda keratin iplikçikleri arasındaki moleküller arası kuvvette düşme ve esneklik özelliğinde artış gerçekleşmektedir. NMF'yi oluşturan bileşikler arasında üre (%10-20), laktik asit, glikolik asit, fosfolipit, malik asit, pirüvik asit ve pirolidon karboksilik asidin sodyum tuzu yer almaktadır (Ulya Badıllı, 2016).

NMF'nin amino asitler, amino asit türevleri ve spesifik tuzların bir karışımı olduğu uzun yıllardır bilinmektedir. NMF, yalnızca Stratum corneum hücrelerinde bulunur.

NMF'yi oluşturan içerikler, suda yüksek oranda çözünür ve higroskopik yapıdadırlar. Bu nedenle NMF, kendi absorbladığı suda çözünür ve bu sayede atmosferik suyu (%50 kadar düşük bağıl nemlerde bile) absorblar. Bu sayede Stratum corneumun en dıştaki katmanları oldukça düşük neme maruz kaldığında bile su seviyelerini korumasını sağlar (Anthony V Rawlings, 1994) .

1.2. Cildin Nemini Kaybetmesi

Korneositlerin cilt yüzeyinden kademeli olarak dökülmesi deskuamasyon olarak tanımlanır. Korneositleri Stratum corneumdaki komşularına bağlayan kohezyon kuvvetlerinin bozulması nedeniyle oluşur. Stratum corneum içindeki ana adeziv özellik, korneodesmozin ile ilişkili özel bir desmozom olan korneodesmozom, hücreler arası lipit lamelleri, lektin benzeri deskuamin ve lipit lamelleri ve korneositleri bir arada tutan van de Waals kuvvetleridir. Kimotriptik enzim, tripsin benzeri enzimatik aktivite, glikozidaz ve lameller cisimlerden ekstrüde edilen lipazlar gibi proteinazlar yapıların bozulmasından sorumludur. Bu enzimlerin etkisi, doku içindeki su içeriğinden kritik olarak etkilenir. Stratum corneumun düşük su içeriği enzimatik aktiviteleri inhibe ederek anormal deskuamasyona neden olur. Bu nedenle, Stratum corneumun su içeriğinin korunması sadece dokunun mekanik özellikleri için değil, aynı zamanda normal, düzenli deskuamasyon için de hayati önem taşır. Stratum corneum, üst üste binen korneositlerden ve seramidler, yağ asitleri ve kolesterollerden oluşan hücreler arası bir lipit karışımından oluşur. Bu korneositlerin hücre içi boşluğu, NMF, yani amino asitler, laktik asitler, pirolidon karboksilik asitler (PCA) ve üreden oluşan filaggrinin düşük moleküler ağırlıklı, suda çözünür parçalanma ürünleri ile doldurulur. Son derece higroskopik özellikleri nedeniyle NMF, suyu çevrenin kurutucu etkisine karşı etkili bir şekilde bağlar. Hücreler arası boşluklardaki lipit molekülleri, oldukça organize edilmiş iki ve çok katmanlı bir şekilde düzenlenir ve su kaybına karşı etkili bir bariyer sağlar (Hashizume, 2004).

Soğuk ve az nemli iklimler, klima, soğuk hava, rüzgara maruz kalma gibi çevresel faktörler; hipotiroidizm gibi hastalıklar; anormal keratinizasyon; sedef hastalığı, iktiyozis ve atopik dermatit; yaşlı bireylerde korneositlerin azalmış deskuamasyonu;

bariyer hasarı; tahriş edici ürünlere veya organik çözücülere maruz kalması; yanlış kozmetik ürün kullanımı, sabun, deterjan ile sık temas; bakterilerin kolonizasyonu gibi sebepler cilt kuruluşuna sebep olabilir. Çevresel ve fizyolojik sebeplerle sık karşılaşılan bu durumdan dolayı hümektan, oklüzif, emoliyan etkili nemlendirici preparatlar piyasada oldukça yaygın olarak bulunmaktadır.

1.3. Kozmetik Ürünler

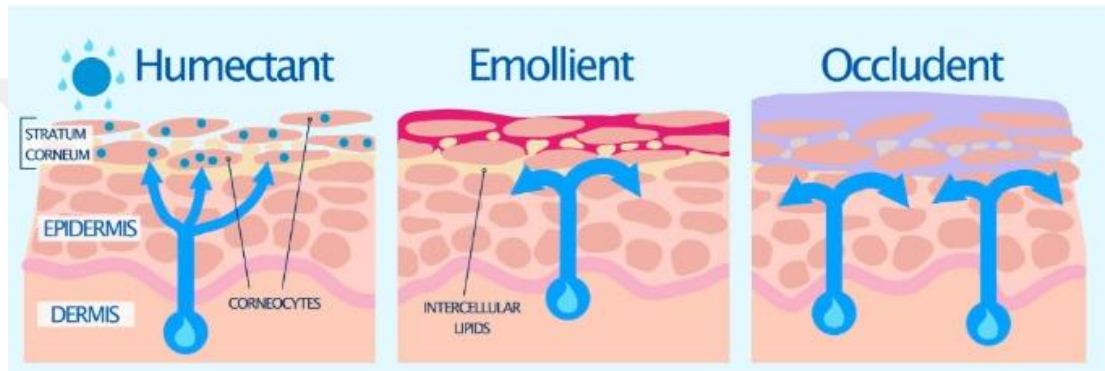
Kozmetik Kanunu'ndaki tanımıyla kozmetik ürün; insan vücudunun dış kısımlarına; epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlarına veya dişler ile ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek, bunları korumak, iyi bir durumda tutmak veya vücut kokularını düzeltmek olan bütün madde veya karışımları kapsamaktadır (T.C. Resmi Gazete, 30 Mart 2005, sayı: 25771). Bu tanımın dışında kalan preparatlar kozmetik ürün olarak tanımlanamayacağı için tasarlanan ürünün sınırlarının belirlenmesi için bu tanım önemlidir.

1.4. Nemlendirici Ürünler

Nemlendiriciler, sağlıklı cilt yapısını korumaya yardımcı olmak için özel olarak formüle edilmiş topikal ürünlerdir. Nemlendirilmiş cilt dolgun, parlak ve elastik bir yapıdadır. Nemini kaybetmiş ciltte özellikle göz çevresi yorgun görünür, cilt mattır ve elastikiyetini kaybetmiştir. Nemlendirici preparatlar ayrıca klinik tahriş ve kuruluk belirtilerini (yani pullanma ve pürüzlü cilt görüntüsü), gerginlik ve kaşıntı hissini azaltmaya yardımcı olur. Nemlendirici preparatlar, cilde doğrudan su sağlayarak ve transepidermal su kaybını (Transepidermal water loss, TEWL) azaltmak ve önlemek için oklüzyonu artırarak cilt nemini ve Stratum corneumun su içeriğini artırır. Ayrıca, bir nemlendiricinin uygulanması, kısmen pul pul dökülmüş cilt pulları arasındaki boşlukları doldurarak cilt yüzeyini pürüzsüzleştirir ve hücreler arası lipit çift tabakalarının suyu absorbe etme ve tutma yeteneğini geri kazandırmaya yardımcı olur. Nemlendirici preparatlar cilde pürüzsüz bir görüntü kazandırır, kaşıntı, kızarıklık gibi semptomların düzelmesine yardımcı olur,

yaşlanma karşıtı özellik gösterir, güneş koruyucu aktifler içeren nemlendiriciler fotoyaşlanmanın önüne geçilmesine yardımcı olur ve aynı zamanda pürüzsüz ve nemli cilt hastanın sosyal yaşamında ve psikolojik tatmininde olumlu bir rol oynadığından, nemlendirici kullanımı yaşam kalitesini artırabilir. (Tanya M. Barnes, 2021).

Nemlendiriciler kendi arasında nem çekici/su tutucu maddeler (hümektanlar), örtücü maddeler (oklüzifler) ve yumuşatıcı maddeler (emolijanlar) olarak üçe ayrılır.



Şekil 2: Nemlendiricilerin mekanizmaları (Tanya M. Barnes, 2021)

Nem Çekici/Su Tutucu Maddeler (Hümektanlar): Hümektanlar, ciltteki NMF'ye benzer şekilde davranan higroskopik maddelerdir. Dermisten epidermise veya atmosferden Stratum corneuma su çekerler ve suyu burada tutarak biyolojik sünger gibi davranırlar (Şekil 2). Ancak suyun çevreye buharlaşmasına neden olabilirler ve bu nedenle TEWL'yi azaltmak ve hidrasyonu artırmaya yardımcı olmak için örtücü maddelerle birlikte kullanılmaları gerekebilir. Bazı hümektanlar ayrıca yumuşatıcı özelliklere de sahiptir. Hümektanlar cilt üzerinde hafif şişme sağlayarak ince kırışıklıkları geçici olarak azaltır. Etkisi uzun süreli olmasa da 'kırışıklık giderici' olarak nitelendirilen ürünler çoğunlukla bu maddeler ile ilişkilidir (Tanya M. Barnes, 2021; Gönüllü, 2016).

Yumuşatıcı Maddeler (Emoliyanlar): Emoliyanlar, Stratum corneumun hücre içi çift katmanlı yapısını simüle ederler (Şekil 2). Korneositler arasındaki boşlukları doldurarak cilde yumuşaklık ve pürüzsüzlük hissi vermesini sağlamaya yardımcı olur. Cildin genel görünümünü ve dokusunu iyileştirir (Tanya M. Barnes, 2021).

Örtücü Maddeler (Oklüzifler): Oklüzifler; ciltte bulunan sebum ve doğal lipitler gibi davranır. Stratum corneumdan suyun buharlaşmasını önlemek için cilt yüzeyi üzerinde hidrofobik bir bariyer filmi oluşturarak TEWL'yi azaltırlar ve suyu cildin en üst katmanlarında hapsederler (Şekil 2). Hafif nemli cilde uygulandığında daha yüksek etki gösterir. Örtücü maddelerin etkinliği deri üzerinde buldukları sürece sürer, deriden uzaklaştırıldığında TESK normal düzeyine döner (Tanya M. Barnes, 2021; Gönüllü, 2016).

1.5. Hidrojeller

Hidrojeller, büyük miktarlarda su veya biyolojik sıvıları emebilen, geniş ölçüde şişen üç boyutlu ve hidrofilik polimer ağ yapılarıdır. Bu tür ağlar, kimyasal çapraz bağların (bağ noktaları ve bağlantı noktaları) veya fiziksel çapraz bağların, örneğin karmaşık yapıları veya kristalitlerin varlığından dolayı suda çözünmeyen homopolimerlerden veya kopolimerlerden oluşturulur. İkincisi, matrise ağ yapısı ve fiziksel bütünlük sağlar. Bu tür hidrojeller, biyoaktif moleküllerin salınımını düzenlemek için sulu ortamda şişer. Tıbbi ve farmasötik alanlarda çok sayıda hidrojel uygulaması vardır çünkü yüksek su tutma kapasiteleri ve doğal dokulara benzer yumuşak dokuları sayesinde doğal canlı dokulara benzemektedirler. Ayrıca hidrojellerin yüksek su içeriği, biyouyumluluklarına katkıda bulunur (A P Rokhade, 2009). Yüksek su tutma kapasitesi ve cilt üzerinde bir tabaka oluşturabilmesi sayesinde formülasyonun nemlendirme ve yaşlanma karşıtı etkisine katkı sağlar.

1.6. Mikropartiküller

Temel olarak, "mikropartikül" terimi, 1-1000 µm çapında bir parçacığı ifade eder. Polimerik mikropartiküller genellikle daha küçük bir miktarda aktif bileşiğin immobilize edilebileceği bir polimer matrisi tarafından oluşturulur. Genel olarak, mikropartikül hazırlama yöntemi, morfolojileri ve kapsüllenmiş aktiflerin dağılımı dikkate alınarak, mikropartiküller iki kategoriye ayrılabilir: "mikroküreler" ve "mikrokapsüller".

Mikroküreler genellikle aktif maddenin homojen olarak dağıldığı matris sistemleri olarak karakterize edilir. Buna karşılık, mikrokapsüller, bir membran kabuğunun çekirdeği (katı veya sıvı) çevrelediği ve kapsüllenmiş bir aktif bileşik ile bir rezervuar oluşturduğu heterojen parçacıklardır (M.N. Singh, 2010; Anna Łetoča, 2022).

Mikropartiküller sistemler (mikroküre&mikrokapsül) kozmetikte kullanımının avantajları aşağıdaki gibidir:

- Maddelerin fiziksel özelliklerinin değiştirilmesi, örn; yağlar kapsüllenenek serbestçe akan kuru toz haline getirilebilirler. Böylece hazırlanan sonuç ürünün kullanım sırasında deride yağlı his bırakması önlenmiş olur.
- Maddelerin stabilite ve çözünürlük problemlerinin üstesinden gelmeyi sağlar.
- Kozmetik maddelerin ortam koşullarından korunması, örn; enzimler mikrokapsül içine hapsedilerek inaktivasyona karşı korunabilirler. Yine esanslar suda çözünen bir kabuk içinde mikrokapsüllenenek oksidasyon ile bozunmaları önlenabilir.
- Mikroenkapsülasyon, sayesinde kapsüllenmiş bir uçucu madde, önemli ölçüde buharlaşma olmadan daha uzun süre saklanabilir
- Geçimsiz maddelerin aynı ürün içinde bir arada hazırlanabilmelerinin sağlanması, örn; antibakteriyal özellikteki klorlanmış fenoller ve neomisin sülfat sabunlar ile geçimsizdir. Bu maddeleri içeren antiseptik sabunlar etkin maddelerin mikrokapsül haline getirilmesi ile hazırlanabilirler.

•Kozmetik amaçlı maddelerin preparatlardan sürekli salımlarının sağlanması. Esansların mikrokapsülleri hazırlanarak sekiz saati aşan bir süre sürekli salımları sağlanmıştır.

•İlaçları nem, ışık, oksijen veya ısı gibi çevresel tehlikelerden korumak için kullanılabilir.

•Birçok çekirdek materyalin higroskopik özellikleri mikroenkapsülasyon ile azaltılabilir

•Aktif maddelerin kokusunu gizleyebilir (Özer, 2016; M.N. Singh, 2010; Ee Taek Hwang, 2020).

1.7. İyonik Jelleşme Yöntemi

İyonik jelleşme, belirli koşullar altında iki iyonik tür arasındaki elektrostatik etkileşimlerle nanopartiküllerin ve mikropartiküllerin üretilmesine izin veren bir tekniktir. Türlerden en az birinin polimer olması gerekir. Reaksiyona bir ilaç veya biyoaktif molekül eklendiğinde, polimerik zincirler arasında sıkışabilir ve bu da nanoparçacık/mikroparçacık yapısının içinde yakalanmasına neden olur. Bu tür bir formülasyon, ilacın kontrollü bir şekilde salınmasına izin verir ve moleküllerin eş kapsüllenmesi, parçacıkların bölgeye özgü işlevselleşmesi ve ilacın biyoaktivitesinin artan süreleri gibi başka avantajlar sunar (Pedroso-Santana & Fleitas-Salazar, 2020). İyonik jelleşme yöntemi ayrıca bu işlemin toksik olmaması, organik çözücü içermemesi, kullanışlı ve kontrol edilebilir olması sebebiyle tercih edilen bir yöntemdir (P.L. Lam a, 2014).

1.8. İpek Proteini ile ilgili Genel Bilgiler

Eski çağlardan beri insanlar, yüksek su tutma özelliği, boyama kolaylığı, karakteristik parlaklığı ve dokunulduğunda hissedilen inceliği ve yumuşaklığı nedeniyle ipeği giysi yapımında malzeme olarak kullanmaktadırlar. İpek; ipekböcekleri, sinekler, örümcekler, akarlar ve akrepler gibi çeşitli böcekler

tarafından özel epitel hücreleri ile üretilen bir protein biyopolimeridir (Chouhan, 2020; Zehra Gün Gök, 2019). İpek, Bombyx mori ipek böceği ve örümcekler (Nephila clavipes ve Araneus diadematus) gibi Lepidoptera takımına ait böcekler tarafından üretilir (Zehra Gün Gök, 2019). İpekböcekleri, güvelere dönüşmeleri sırasında kendilerini korumak için poliamino asit bazlı (ipek proteini) kozalar üretirler ve insanlar; karakteristik parlaklıkları, nem çekicilikleri ve dayanıklılıkları nedeniyle ilaç, kozmetik, tekstil gibi çeşitli alanlarda ürünler üretmek için yüzyıllardır bu kozalardan ipek lifleri toplamıştır (John G. Hardy, 2008).

İpek proteini, serisin ile birbirine yapıştırılmış iki fibroin filamanından oluşan kesintisiz ipliktir. İpek fibroin, biyoyumluluk ve gelişmiş mekanik özellikleri gibi birçok olumlu özelliğe sahip doğal bir glikoproteindir. Disülfür bağları ile kovalent olarak bağlanmış iki eşmolar protein alt biriminden oluşur (Zehra Gün Gök, 2019). Fibroinin fizikokimyasal özellikleri, enzim inhibitörü, immüno-uyarıcı, kontakt lens yapı malzemesi ve jel formlarında ilaçların kontrollü salınımı için başarılı bir şekilde değerlendirilmiştir. İpek fibroinin göz farı afinitesini artırdığını, deodorantlar için uzun süreli etki yarattığını, rujlardan renk akmasını azalttığını ve kollajen oluşumunu teşvik ederek kırışık önleyici bir madde olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur. İpek fibroinin amino asit bileşimi, yapısal olarak cildin NMF'sine benzeyen bileşenlere sahiptir. Fibroinin kristalli alanları yüksek oranda glisin (%44) ve alanin (%30) içerir. İpek fibroin, antibakteriyeldir, ultraviyole B, (UVB) ışımına karşı koruma sağlar. Cilt ve saç gibi dokularda nemin tutulmasını destekleme yeteneğine sahiptir. Cilt kuruluşundan kaynaklanan kaşıntıyı hafifletir, hasarlı cildi onarmaya yardımcı olur (A V Daithankar, 2005; Baby Joseph, 2012; Wilbur Johnson Jr, 2020; J. Wong, 2014; Jaime A. Barajas-Gamboa, 2016; Jianming He, 2019).

1.9. Spirulina ile ilgili Genel Bilgiler

Arthrospira fotosentetik, filamentli, spiral şekilli, çok hücreli, mavi-yeşil bir mikro algdir. Kimyasal bileşimi; proteinler (%55-%70), karbonhidratlar (%15-%25), esansiyel yağ asitleri (%18) vitaminler, mineraller, karotenler, klorofil a ve fikosiyanın gibi pigmentler içerir. Pigmentler gıda ve kozmetik sanayinde kullanılmaktadır. Spirulinanın toksisitesi düşüktür, antienflamatuvar, antikanser,

antiviral, immünolojik özelliklere sahiptir ve aynı zamanda güçlü bir antioksidan görevi görür (Shabana Kouser Ali, 2012; Isadora Kaniak Ikeda, 2022).

Mikroalgler arasında Spirulina (Arthrospira), değerli fitokimyasal içeriği ve daha sürdürülebilir üretim zinciri nedeniyle en umut verici türlerden biridir. Spirulina, nemlendirici, kırışıklık önleyici, yaşlanma karşıtı ve sivilce karşıtı bakım formülasyonlarında kullanılmaktadır. Ayrıca UVB koruması sağlayarak fotoyaşlanmanın geciktirilmesine katkı sağlar. Spirulinanın içeriğinde bulunan polisakkaritler hücre bölünme sürecini uyarır, keratinizasyon süreçlerine veya Stratum corneumun yenilenmesine katkıda bulunur. Spirulina, hücreleri kollajen üretimi için indükler ve elastaz enziminin inhibisyonunu artırır. Böylece cilt yaşlanmasının geciktirilmesine katkı sağlar Alglerin içerdiği vitaminler, mineraller ve proteinler ayrıca cildin mikro rahatlamasına ve nemlenmesine katkıda bulunabilir. (Isadora Kaniak Ikeda, 2022; Irene Ragusa, 2021).

1.10. Polimerler ile ilgili Genel Bilgiler

Doğal polimerler, özellikle tıp, kozmetik, gıda, paketlenme ve ilaç gibi alanlarda giderek daha popüler hale gelmektedir. Bu, temel olarak, malzeme insan vücudu ile temas halinde olduğunda önemli olan biyouyumluluklarından kaynaklanmaktadır. Biyopolimerler bu özelliğinin yanı sıra önemli bir ekolojik gereksinimi karşılar: biyolojik olarak parçalanabilirlikleri sayesinde çevreyi kirletmezler. Biyopolimerlere olan büyük ilgiyi etkileyen eşit derecede önemli bir faktör, sıfır atık yönüne uygunluklarıdır (Karolina Kulka, 2023).

Polimerlerin suda çözünürlüğünün değiştirilebilmesi, çapraz bağlanma yoluyla zincir uzunluklarının artırılması veya kopolimerler ve diğer gruplarla hidrofobize edilmesi veya hidrofilleştirilmesi yoluyla, geniş bir uygulama yelpazesine sahip zengin bir malzeme elde edilir. Polimerler; ilaçların hidrojel veya mikropartikül şeklinde formüle edilmesi durumunda ilacın cilt yüzeyinde kalma süresini uzatır (Krushnakumar J Gandhi, 2012).

1.11. Kitosan ile ilgili Genel Bilgiler

Polisakkaritler, en yaygın kullanılan doğal polimer gruplarından biridir. Polisakkaritler, yüzyıllardır kozmetik ve kişisel bakım formülasyonlarının geliştirilmesinde kullanılan, omurgaları boyunca birçok hidroksil grubu içeren kompleks karbonhidrat polimerleridir. Bu, polisakkaritlerin biyoyumlu olması, düşük toksisite göstermesi, yenilenebilir olması gibi özelliklerinden dolayı mümkün olmuştur. Ayrıca polisakkaritler, sentetik polimerlerden daha iyi bir güvenlik profili sunarak kullanımlarıyla ilişkili sağlık, çevre tehlikelerini ve risklerini azaltır. Bu grup, doğada en yaygın ikinci polisakkarit olan kitin ve bir kitin türevidir olan kitosan içerir (Karolina Kulka, 2023; Eduardo Guzmán, 2022).

Kitosanın doğal kaynaktan elde edilmesi, sürdürülebilir olması, düşük üretim maliyetine sahip olması, biyoyumlu olması, toksik olmaması ve güvenli olması bu içeriğin ilgi görmesini sağlar. Kitosan, FDA ve AB tarafından kozmetikte kullanımı onaylanmış bir bileşendir. Antimikrobiyaldir, antibakteriyeldir, antioksidandır, kolajen birikimini, anjiyogenezi ve granülasyon dokusu oluşumunu hızlandırır. Kitosanın pozitif yükleri ile deri yüzeyinin anyonik yükleri arasında etkileşim vardır. Bu sayede kitosan sebum ile kompleksler oluşturarak sebumun deriden uzaklaştırılmasına katkı sağlar. Stratum corneumun su içeriğini iyileştirir. Ayrıca kitosanın moleküler ağırlığı ne kadar yüksek olursa nem tutma kapasitesi de o kadar yüksek olur. Polimerin molekül ağırlığındaki artış nemlendirme özelliklerini artırır. Bu nemlendirme etkisi, polimerin, suyun buharlaşmasını önleyerek cilt yüzeyinde hidratlı bir kitosan tabakası oluşturma kabiliyeti dikkate alınarak açıklanabilir. Kitosanın cildi nemlendirme özelliği, derinin mekanik özelliklerini (elastikiyet ve pürüzsüzlük) iyileştirir. Aynı zamanda kollajen üretim yollarını uyararak cilt üzerinde yaşlanma karşıtı etki gösterir. Kitosan; ultraviyole korumada, cilt temizliğinde ve derinin farklı temel işlevlerini (koruma, emilim, savunma ve sentez gibi) güçlendirici bir faktör olarak geniş çapta kullanılmaktadır. Kozmetik ve farmasötik jel formülasyonlarında sıklıkla kullanılmaktadır (Aslı Sedef Can, 2013; Eduardo Guzmán, 2022; Karolina Kulka, 2023).

1.12. Sodyum Aljinat ile ilgili Genel Bilgiler

Aljinatlar, düşük toksisite, iyi biyoyumluluk ve biyolojik olarak parçalanabilirlik, ve viskozite artırma özelliklerinin yanı sıra düşük üretim maliyeti ve kolay ulaşılabilirlik özelliklerine sahip, doğal polimerlerdir. Aljinatlara özgü en önemli özelliklerden biri, katyonlarla temas üzerine meydana gelen jel oluşumu süreci olan iyonik jelleşmeye girebilme yeteneğidir. Avantajlarından dolayı aljinatlar gıda ve ilaç endüstrilerinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Barbara Jadach, 2022).

Sodyum aljinat hidrofilik özelliklere sahip bir polisakkarittir ve sudaki dağılımları kolloidal özellikler ortaya koymaktadır. Hem soğuk hem de sıcak suda çözünebilir. Molekül ağırlığı 12000 ile 180000 Da arasında değişmektedir (Barbara Jadach, 2022).

Sodyum aljinat cilt ile uyumlu bir polisakkarittir. Esas olarak kalsiyum iyonları ile çapraz bağlanma (iyonik jelleşme yöntemi) sonucunda jel oluşturabilmesi nedeniyle ilaç endüstrisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sodyum aljinat, farklı salım mekanizmalarına sahip birçok dozaj formunda kullanılabilir (mukoadezif sistemler, mikroküreler, mikrokapsüller, tabletler ve biyomalzemeler gibi). Aynı zamanda ilaç endüstrisinde ilaç veya enzimlerin kapsüllenmesinde kullanılan düşük toksisite gösteren, immünojenik olmayan bir bileşiktir (Barbara Jadach, 2022).

1.13. Sodyum Benzoat ile ilgili Genel Bilgiler

Sodyum benzoat, benzoik asidin sodyum bikarbonat, sodyum karbonat veya sodyum hidroksit ile nötrleştirilmesiyle üretilen sodanın kimyasal benzoatıdır (CFR - Code of Federal Regulations Title 21, 2024). Sodyum benzoat, Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi'ne (U.S. Food and Drug Administration, FDA) göre bir genellikle güvenli olarak kabul edilir (Generally Recognized as Safe, GRAS) statüsüne sahiptir (Łucja Justyna Walczak-Nowicka, 2022).

Sodyum benzoat; kozmetik, gıda ve farmasötik ürünlerde antimikrobiyal koruyucu olarak kullanılır. Oral ilaçlarda %0,02-0,5, parenteral ürünlerde %0,5, kozmetiklerde %0,1-0,5 konsantrasyonlarında kullanılır (Rowe, 2009). Sodyum benzoat diş macunlarında, gargaralarda, yüz temizleyicilerde, göz makyajı temizleyicilerinde ve yüz ve el kremlerinde kullanılır (Karolina Nowak, 2021). Ayrıca sodyum benzoat; yeşil kozmetik formülasyonlarda kullanılabilen bir koruyucudur (Evren Algın Yapar, 2018).

1.14. Yeşil Kozmetik Tanımı ile ilgili Genel Bilgiler

Yeşil kozmetik, doğa dostu ve çevreye duyarlı ürünleri ifade eder; bu ürünler genellikle doğal, organik ve sürdürülebilir bileşenler kullanılarak üretilir. Bir kozmetik, formülasyonu mineraller ve bitkiler gibi bitkilerden türetilen aktif bileşenler içeriyorsa ve laboratuvarında kimyasal olarak çoğaltılan benzer aktif bileşenler içermiyorsa "yeşil" olarak kabul edilebilir (Irene Dini, 2021).

Yeşil kozmetik ürünleri; kimyasal maddelerden, parabenlerden ve sentetik maddelerden kaçınarak cilt sağlığını korumayı hedefler. Geri dönüştürülebilir veya biyolojik olarak parçalanabilen ambalajlar kullanarak sürdürülebilirliğe katkı sağlamayı amaçlar.

Yeni bir tanım olan “yeşil kozmetikler” ile ilgili kesin bir tanımı olan resmi bir düzenlemeler yoktur. Amerika Birleşik Devletleri’nde "organik"terimini ABD Tarım Bakanlığı (United States Department of Agriculture, USDA) düzenler. USDA'nın Tarımsal Pazarlama Hizmetinin bir parçası olan Ulusal Organik Program (National Organic Program, NOP), sertifikalı organik ürünlerdir. Bu nedenle, yalnızca tarımsal bileşenler içeren veya bunlardan oluşan ve USDA/NOP organik üretimini karşılayabilen kozmetikler, NOP düzenlemeleri uyarınca sertifikalandırılabilir. Sertifikalı organik kozmetikler de dahil olmak üzere sertifikalı organik ürünlere dört kategori uygulanabilir:

- % 100 organik (organik sertifikalı %100 organik içeriklerle üretilirler)
- Organik (su ve tuz hariç en fazla %5 organik olmayan ürün içerebilirler);

-"İle üretimiştir" (su ve tuz hariç en az %70 organik sertifikalı bileşenlerle üretilirler)

-Belirli organik bileşenler (organik ve organik olmayan maddelerin bir kombinasyonunu içerirler).

Avrupa'da bu pazar, doğal/organik olduğu iddiasında bulunan Avrupa pazarındaki herhangi bir ürün için yeni bir dizi kılavuz olan ISO 16128 (Kasım 2016), AB Yönetmelikleri EC 1223/2009 ve AB 655/2013 tarafından düzenlenmektedir ve bu yönetmelikler, bir etiketteki her beyanın yeterli ve doğrulanabilir kanıtlarla desteklenmesini gerektirir (Irene Dini, 2021).



GEREÇ VE YÖNTEM

2.1.Kullanılan Maddeler, Araç ve Gereçler

Tez çalışması kapsamında kullanılan malzemeler ve ekipmanlar aşağıda listelenmiştir. Tablo 1’de ekipmanlar, Tablo 2’de malzemeler, Tablo 3’te ise kısaltmalar listelenmiştir.



Tablo 1: Cihaz Listesi

Cihaz Adı	Marka/Model	Menşei
Terazi	Mettler Toledo ML	Amerika
pH-Metre	Thermo Scientific	Amerika
Isıtıcılı Manyetik Karıştırıcı	Velp Scientifica	İtalya
Mekanik karıştırıcı	Janke & Hunkel	Almanya
Buzdolapları (+4/-20)	Vestel	Türkiye
Manyetik karıştırıcı	IKA Yellowline	Almanya
Etüv	Nüve EN 400	Türkiye
Partikül Boyutu Analizörü	Malvern-Mastersizer 2000 Laser Difraktometre	İngiltere
Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DTK)	Perkin Elmer DSC 6000	Amerika
Fourier Transform Infrared (FT-IR)	Perkin Elmer Spectrum 100	Amerika
Saf Su Cihazı	Sartorius Stedim	Almanya
Stabilite Kabini	Nüve TK 252	Türkiye
Mikroskop	Zeiss Primo Star Mikroskobu	Almanya
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Carl Zeiss 300VP	Almanya
Peristaltik pompa	New Era Pump Systems	Amerika
UV Spektrofotometre	Thermo Scientific	Amerika
Reometre	TA TX Discovery HR1	İngiltere
Texture Profile Analyzer Ta-XT-Plus	TA-XT Plus, Stable Micro System	İngiltere
İnkübatör	Thermo Scientific Max Q 6000	Amerika
Zetasizer	Malvern Nanosizer	İngiltere

Tablo 2: Malzeme Listesi

Malzeme İsmi	Marka	Menşei
İpek proteini (liyofilize toz)	Bugamed Biyoteknoloji	Türkiye
İpek proteini (sıvı form)	Bugamed Biyoteknoloji	Türkiye
Spirulina	IMCD	Hollanda
Sodyum Aljinat	Sigma-Aldrich	ABD
Kitosan (Orta molekül ağırlıklı)	Sigma-Aldrich	ABD
Kitosan (Yüksek molekül ağırlıklı)	Sigma-Aldrich	ABD
Kalsiyum Klorür	Merck	Almanya
Fosforik Asit	Sigma-Aldrich	ABD
Sodyum Hidroksit	Sigma-Aldrich	ABD
Laktik Asit Solüsyonu	Merck	Almanya
Sodyum Benzoat	Merck	Almanya

Tablo 3: Kısaltma Listesi

Kısaltmalar	
U.S. Food and Drug Administration; Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi	FDA
Ultraviyole	UV
Skin Associated Lymphoid tissue; Derideki Lenfoid Doku	SALT
Natural Moisturizing Factor; Doğal Nemlendirici Faktör	NMF
Transepidermal Su Kaybı	TESK, TEWL
Ultraviyole B	UVB
Fourier Transform Infrared	FT-IR
Diferansiyel Tarama Kalorimetresi	DTK
Kalsiyum Klorür	CaCl ₂
Sodyum Hidroksit	NaOH
Fosforik Asit	H ₃ PO ₄
Taramalı Elektron Mikroskobu	SEM
Texture Profile Analysis; Tekstür Profil Analizi	TPA
Genellikle güvenli olarak kabul edilir; Generally Recognized as Safe	GRAS
ABD Tarım Bakanlığı; United States Department of Agriculture	USDA
Ulusal Organik Program; National Organic Program	NOP

2.2. Yöntem

2.2.1. Aktif Madde ve Yardımcı Madde Fizikokimyasal Özelliklerinin İncelenmesi

2.2.1.1. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi ile Yapılan Çalışmalar

İpek proteini (liyofilize toz), spirulina, kitosan (orta molekül ağırlıklı), kitosan (yüksek molekül ağırlıklı), sodyum aljinat ve sodyum benzoat maddelerinin FT-IR (Fourier Transform Infrared; Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) (Perkin Elmer Spectrum 100) spektrum analizi $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığı alınarak, 25°C oda sıcaklığında çalışılmıştır.

2.2.1.2. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi ile Yapılan Çalışmalar

İpek proteini (liyofilize toz), spirulina, kitosan (orta molekül ağırlıklı), kitosan (yüksek molekül ağırlıklı), sodyum benzoat, kalsiyum klorür ve sodyum aljinatın DTK (Differential Scanning Calorimeter; Diferansiyel Tarama Kalorimetresi) (Perkin Elmer DSC 6000) ile analizleri gerçekleştirilmiştir. DTK analizi için yapılan çalışmada numuneler, 10^{-5} hassasiyetle 4 mg civarında tartılıp, basınç ile alüminyum örnek kabında kapaklar birleştirildi. 30°C 'den $10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ sıcaklık artışıyla 300°C 'ye kadar yükseltildi ve analiz sırasında alüminyum referansı kullanılarak $50\text{ ml}/\text{dk}$ hızda azot gazı akış hızı ile gerçekleştirildi.

2.2.1.3. UV Spektrumu Analizleri

İpek proteini (liyofilize toz) ve ipek proteini (sıvı form), UV (Thermo Scientific Evolution Array) spektrumu ölçümleri için 10 mg etken madde, 10 ml distile suyla karıştırılmıştır. Hazırlanan bu çözeltilerin maksimum absorpsiyonu (λ_{max}), 1cm'lik kuvarz küvetlerde UV spektrofotometre cihazı ile dalga boyu taraması yapılarak belirlenmiştir.

2.2.1.4. Geçimlilik Çalışmaları

Formülasyonda kullanılacak maddelerin birbiriyle geçimliliklerini incelemek için literatürlerden yararlanılmıştır. Ayrıca farklı oranlarda ve bileşimlerde karışımlar Tablo 4'te belirtildiği şekilde hazırlanmış, FT-IR (Perkin Elmer Spectrum 100) ve DTK (Perkin Elmer DSC 6000) analizlerinden yararlanılmıştır.

FT-IR spektrum analizleri için $400-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyu aralığı alınarak, 25°C oda sıcaklığında çalışılmıştır.

DTK analizleri için numuneler 10^{-5} hassasiyetle 4 mg civarında tartılıp, basınç ile alüminyum örnek kabında kapaklar birleştirildi. 30°C 'den $10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ sıcaklık artışıyla 300°C 'ye kadar yükseltildi ve analiz sırasında alüminyum referansı kullanılarak 50 ml/dk hızda azot gazı akış hızı ile gerçekleştirilmiştir.

İpek proteini olarak ipek proteini (liyofilize toz), kitosan olarak kitosan (yüksek molekül ağırlıklı) kullanılmıştır.

Tablo 4: Geçimlilik Çalışması

Sıra No	Hammadde	Oran	Yöntem
1	Spirulina-Kitosan fiziksel karışımları	1:1	FT-IR
2	İpek proteini-Kitosan fiziksel karışımları	1:1	FT-IR
3	İpek proteini-Spirulina fiziksel karışımları	1:1	FT-IR
4	İpek proteini-Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1	FT-IR
5	Spirulina-Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1	FT-IR
6	Spirulina-Kitosan-İpek proteini fiziksel karışımları	1:1:1	FT-IR
7	Sodyum Benzoat-Kitosan-Spirulina fiziksel karışımları	1:1:1	FT-IR
8	Sodyum Benzoat-Kitosan- İpek proteini fiziksel karışımları	1:1:1	FT-IR

Sıra No	Hammadde	Oran	Yöntem
9	Spirulina-Sodyum Aljinat- İpek proteini fiziksel karışımları	1:1:1	FT-IR
10	Spirulina- Sodyum Aljinat- Sodyum Benzoat- Kitosan- İpek proteini fiziksel karışımları	1:1:1:1:1	FT-IR
11	Kitosan – Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1	DTK
12	İpek proteini – Spirulina – Sodyum Benzoat – Kitosan – Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1:1:1:1	DTK
13	İpek proteini – Kitosan – Spirulina fiziksel karışımları	1:1:1	DTK
14	İpek proteini – Kitosan – Sodyum Benzoat fiziksel karışımları	1:1:1	DTK
15	İpek proteini – Spirulina – Kitosan – Sodyum Aljinat'ın fiziksel karışımları	1:1:1:1	DTK
16	Spirulina – Sodyum Benzoat fiziksel karışımları	1:1	DTK
17	İpek proteini – Spirulina – Kalsiyum Klorür – Sodyum Benzoat fiziksel karışımları	1:1:1:1	DTK
18	İpek proteini – Sodyum Benzoat fiziksel karışımları	1:1	DTK
19	Spirulina – Sodyum Benzoat fiziksel karışımları	1:1	DTK
20	İpek proteini – Spirulina – Kitosan – Sodyum Benzoat – Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1:1:1:1	DTK
21	İpek proteini – Spirulina – Kalsiyum Klorür – Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1:1:1	DTK
22	İpek proteini – Spirulina – Kitosan – Sodyum Benzoat fiziksel karışımları	1:1:1:1	DTK
23	İpek proteini – Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1	DTK

Sıra No	Hammadde	Oran	Yöntem
24	Kitosan – Sodyum Aljinat fiziksel karışımları	1:1	DTK

2.2.2. Formülasyon Geliştirme Çalışmaları

2.2.2.1. Formülasyon Optimizasyonu

2.2.2.1.1. Mikropartikül Formülasyonu

Tez çalışmasında aktif madde olarak ipek proteini ve spirulina kullanılmıştır. İpek proteini ve spirulinanın sudaki çözünürlüğü literatürden araştırılmıştır. Literatürde spirulinanın suda serbestçe çözündüğü, ipek proteinin polimerik yapısından kaynaklı olarak %30-40 konsantrasyona kadar su ile karışabildiği bilgisine ulaşılmıştır (Spirulina Extract (Tentative), 2018; E. S. Sashina, 2006)

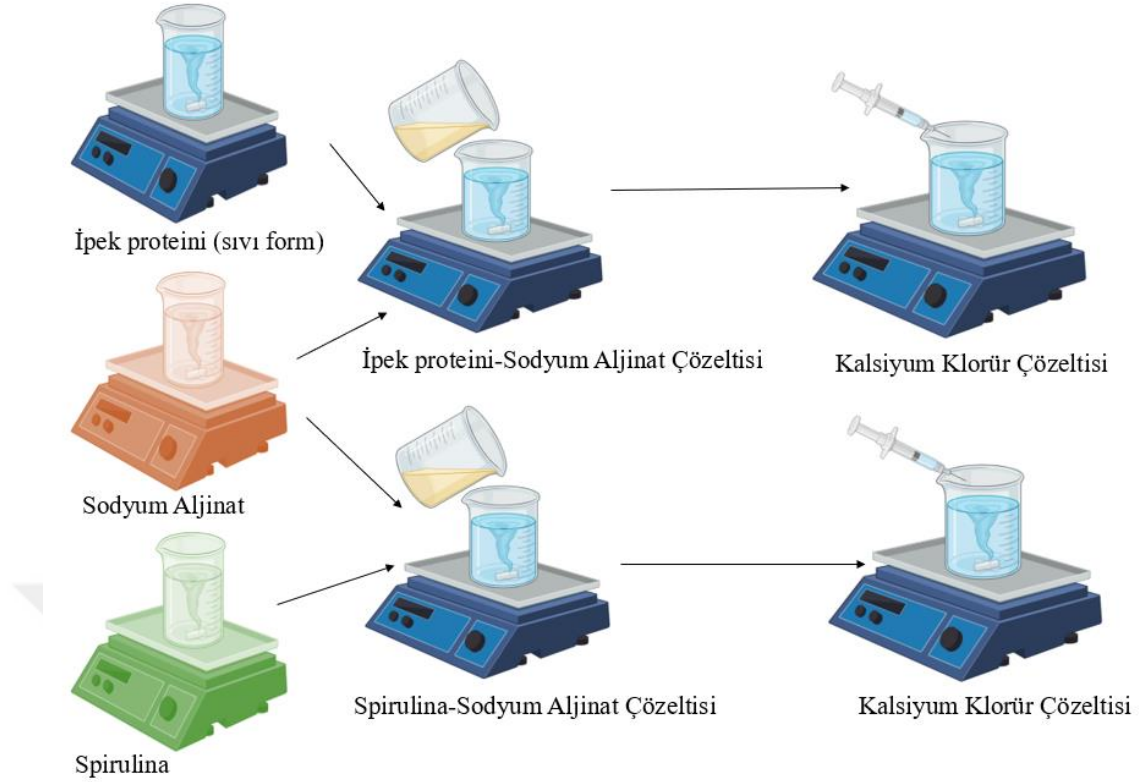
Üreticiden iki farklı ipek proteini formu temin edilmiştir. İki form ile de deneme çalışmaları yapılmıştır.

İpek proteini mikropartikülleri ve spirulina mikropartikülleri aynı yöntem ile ayrı ayrı beherlerde hazırlanmıştır. Hazırlanan ipek proteini mikropartikülleri ve spirulina mikropartikülleri, aynı hidrojel formülasyonunun içerisine ilave edilerek formülasyon son haline getirilmiştir.

Formülasyon 1:

Tablo 5: F1 Formülasyon İçeriği

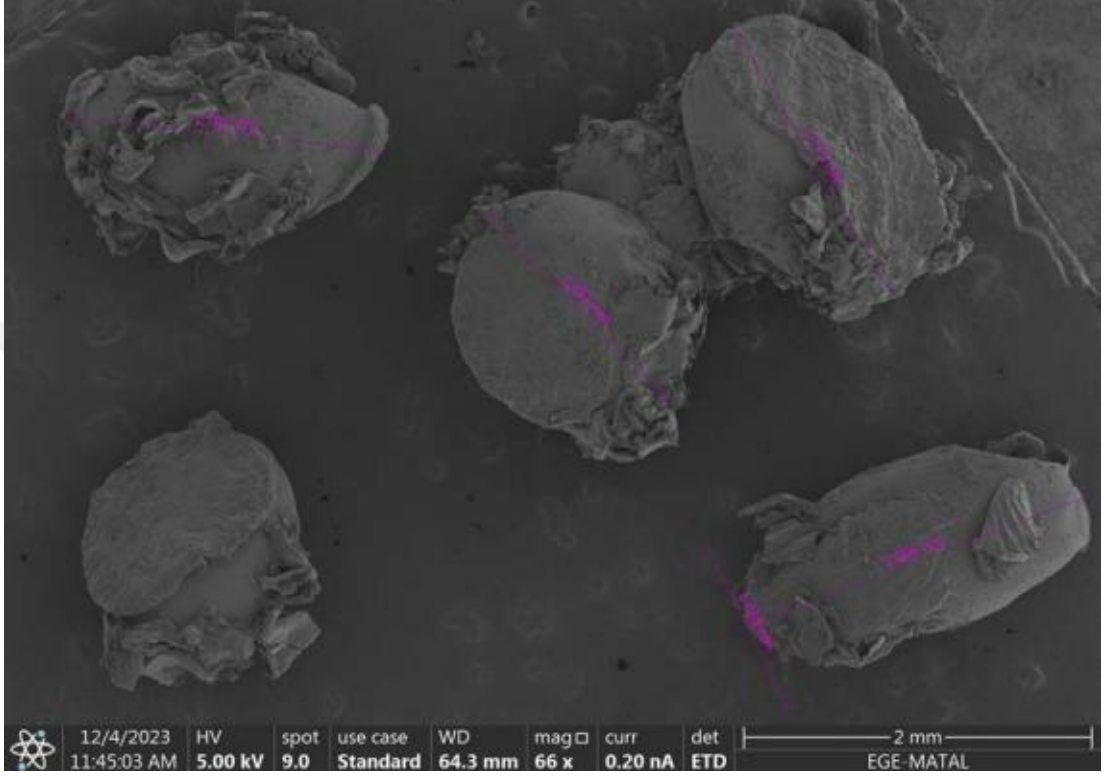
<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (sıvı form)	10 ml
Sodyum aljinat	2 g
CaCl ₂ (Kalsiyum klorür)	5.55 g
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	2 g
CaCl ₂ (Kalsiyum klorür)	5.55 g



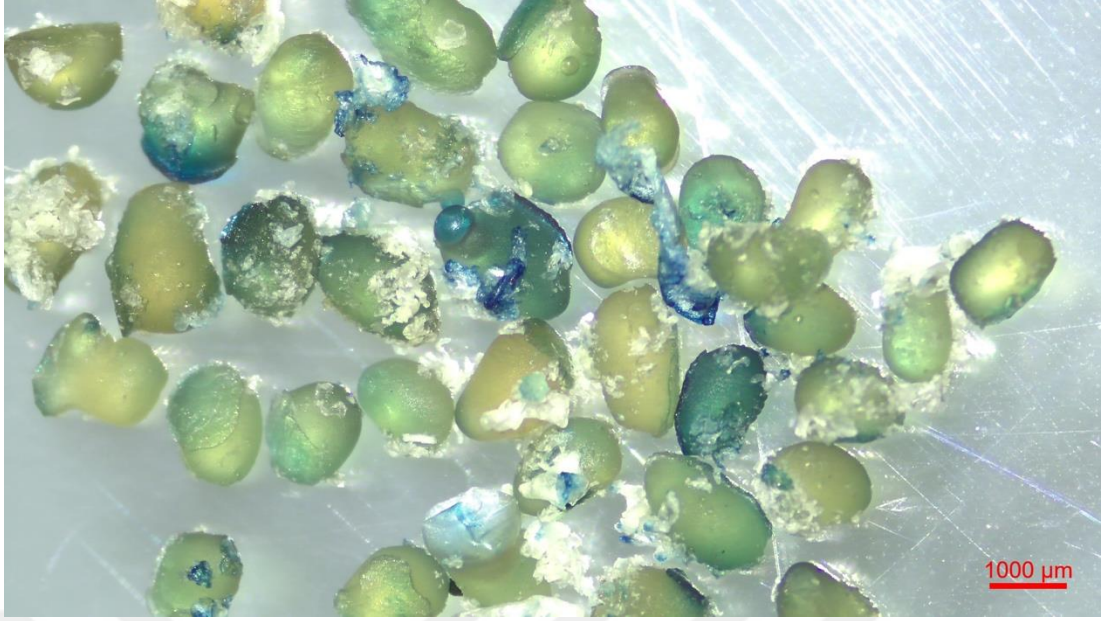
Şekil 3: Formülasyon 1 Üretim Şeması

Literatürlerden faydalanarak ilk formülasyon tasarımı oluşturulmuştur (Adriana R. Machado, 2022; Jacyara M. M. Vidart, 2016; Roberto Elia, 2015; Nuray Yağmur, 2020) (Tablo 5). Mikropartiküller iyonik jelleşme yöntemiyle hazırlanmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm hızda karıştırılmıştır. 2 ayrı kaptta 2 gram sodyum aljinat tartılmıştır ve beherlere alınmıştır. Daha sonra beherlere 40 ml distile su eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 80 dk 400 rpm'de karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinat çözeltilerinden birine 10 ml %5 ipek proteini (sıvı form) çözeltisi eklenmiştir. 30 dk 200 rpm'de karıştırılmıştır. Hazırlanan diğer sodyum aljinat çözeltisi spirulina çözeltilisine eklenmiştir ve 20 dk 300 rpm'de karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kaptta 5.55 g $CaCl_2$ tartılmıştır. 250 ml balon jojelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. Spirulina-sodyum aljinat karışımı ve ipek proteini-sodyum aljinat karışımı 200 rpm hızda manyetik karıştırma altında damlalık yardımıyla damla damla iki ayrı $CaCl_2$ çözeltisine ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işlem devam

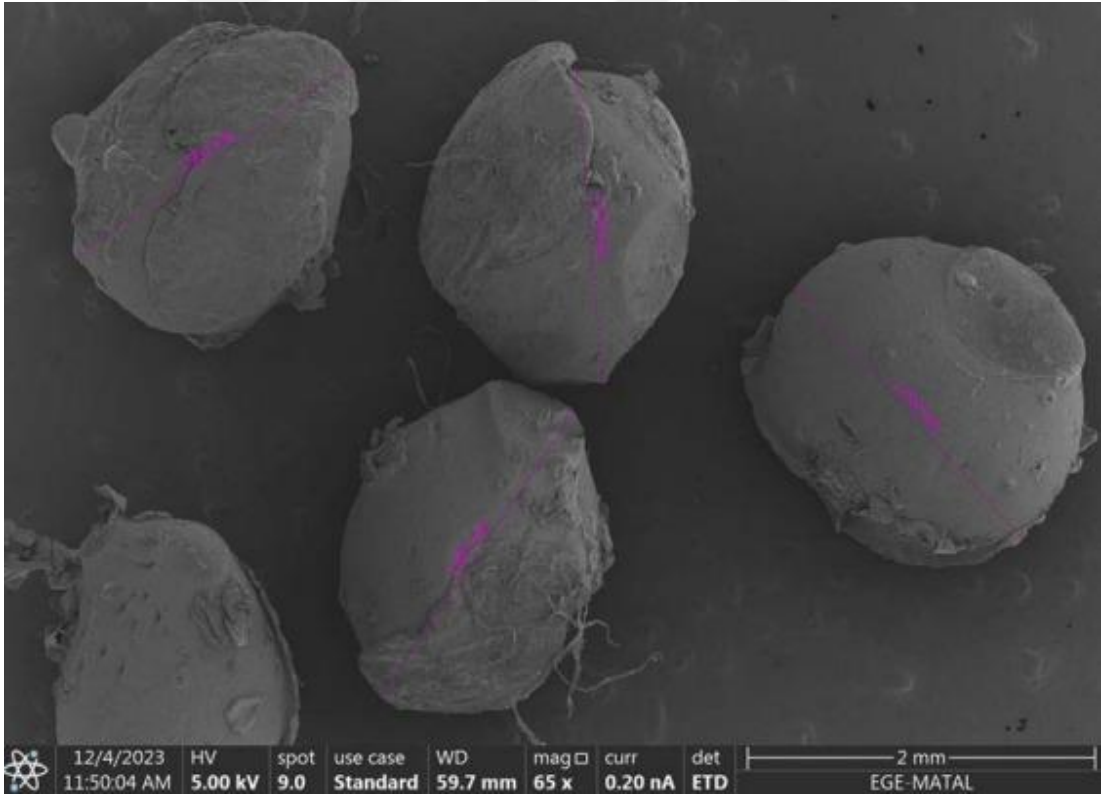
edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 30 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir, ardından distile su ile 3-4 kez yıkanıp, süzölmüştür. Etüvde 30-35°C’de 24 saat kurutulmuştur.



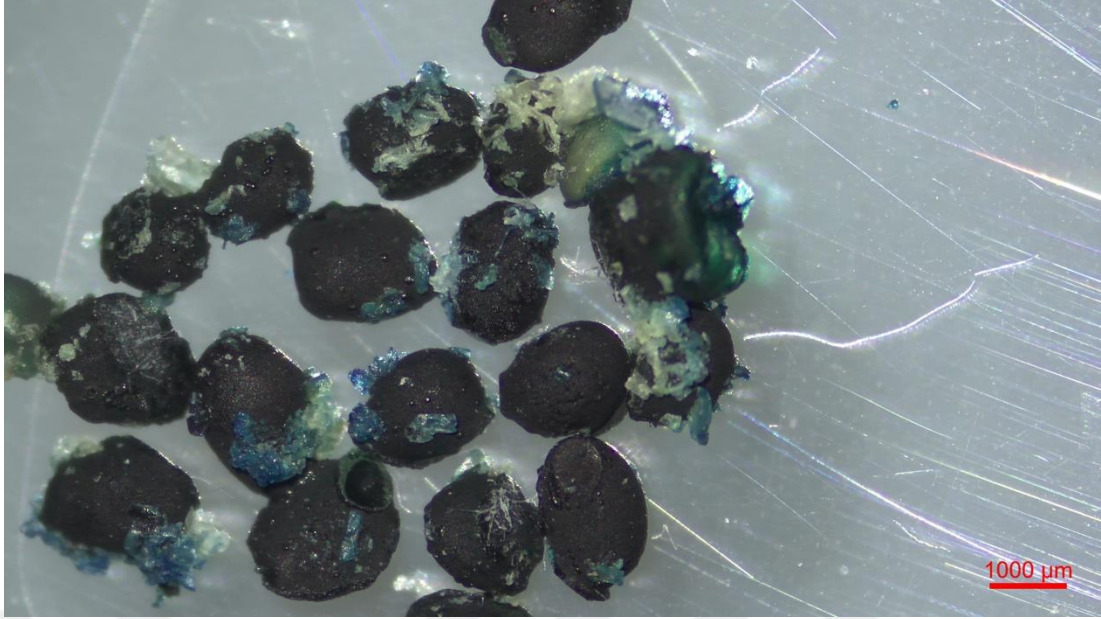
Şekil 4: Formölasyon 1 İpek Proteini Mikropartikülleri SEM Görüntüsü



Şekil 5: Formülasyon 1 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



Şekil 6: Formülasyon 1 Spirulina Mikropartikülleri SEM Görüntüsü



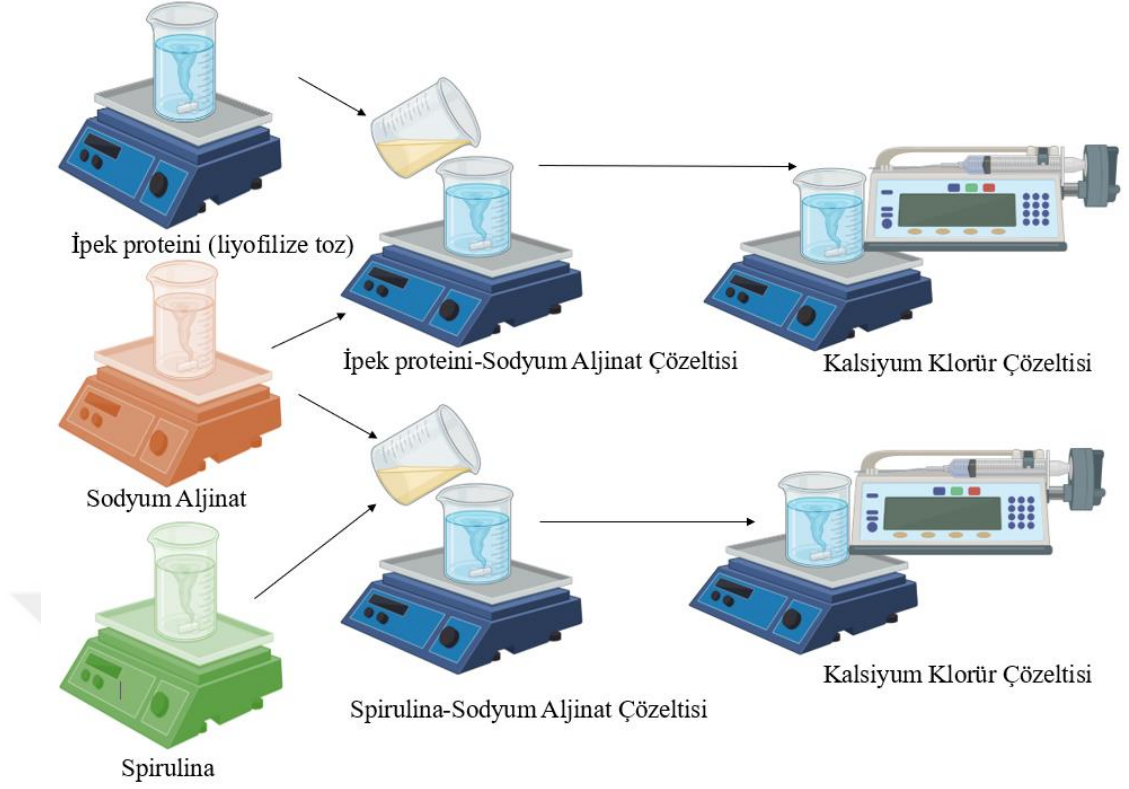
Şekil 7: Formülasyon 1 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Mikropartiküllerin hazırlanması sırasında sodyum aljinat distile suya hızlıca ilave edilmiştir. Sodyum aljinat çözeltisinde görülen topaklanmaların, agregasyonun bundan kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Homojen bir karışım elde etmek için gereken karıştırma süresinin de agregasyona bağlı olarak uzadığı gözlenmiştir. Damlatma işlemi damlalıklı yapıldığından mikropartiküller arasında şekilsel ve boyutsal olarak homojen bir görünüm sağlanamamıştır. Bunun sonucunda da, bazı mikropartiküllerin birbiri ile yapıştığı, şekilsel bozukluklar olduğu ve partikül büyüklüklerinin geniş bir aralıkta olduğu görülmüştür. Sıvı formdaki ipek proteininin kullanımı, proses boyunca oldukça farklı sorunlara yol açmıştır. Sıcaklık ve karıştırma hızı gibi çevresel faktörlere karşı oldukça hassas olduğu görülmüştür. İpek proteininin sıvı formu 2-8°C arasında muhafaza edilmesi gerektiğinden, sıcaklık değişimleri ve mekanik işlemler, özellikle hızlı karıştırma, proteinin yapısal bütünlüğünü kolaylıkla bozabilmektedir. Bu durum, formülasyon geliştirme sürecinde karşılaşılan önemli zorluklardan biri olmuştur. Spirulina mikropartikülleri ekstrüde edilirken spirulinanın %5 CaCl₂ ortamını boyadığı gözlenmiştir. Etüvde kurutma kaba süzgeç kağıdı (Achem 40x40 cm, 82 gr/m², 0,18 mm) kullanılarak yapılmıştır. Ancak, kurutma sırasında mikropartiküllerin süzgeç kağıdına yapıştığı görülmüştür. Bu bulgular ışığında formülasyon geliştirme çalışmalarına devam edilmiştir.

Formülasyon 2:

Tablo 6: F2 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	2 g
CaCl ₂	5.55 g
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	2 g
CaCl ₂	5.55 g

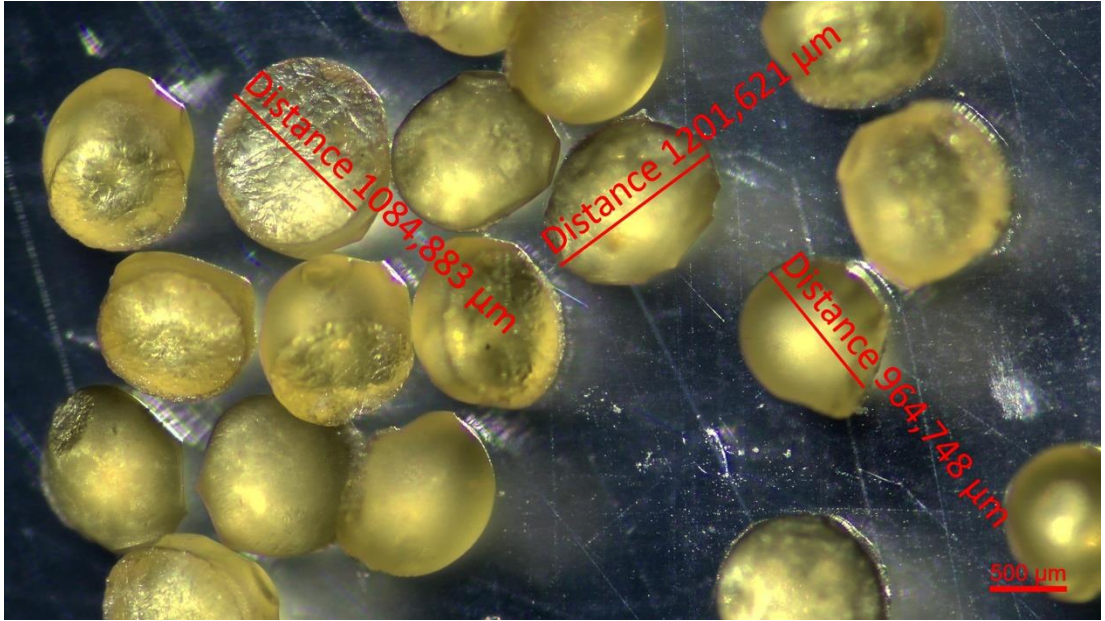


Şekil 8: Formülasyon 2 Üretim Şeması

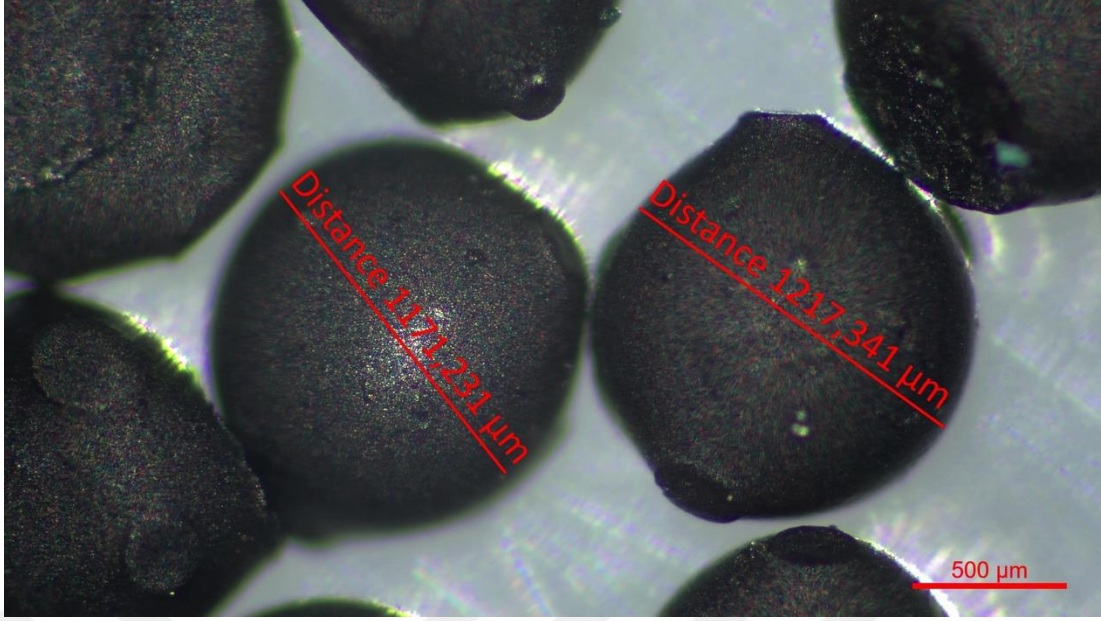
Formülasyon 1'deki formülasyon içeriğinden farklı formda bir ipek proteini kullanılmıştır. Üretici firmadan temin edilen liyoofilize toz formundaki ipek proteini ile çalışılmıştır. Bir önceki denemeden elde edilen sonuçlar doğrultusunda da proste bazı değişiklikler yapılmıştır. Sodyum aljinat distile suya azar azar eklenmiştir. Mikropartiküllerin homojen görünümünü sağlamak için damlalık kullanımı yerine damlatma işleminde peristaltik pompa kullanılmıştır. Kurutma işlemi içinde kaba süzgeç kağıdı (Achem 40x40 cm, 82 gr/m², 0,18 mm) yerine ince filtre kağıdından (Whatmann, Cat No 1001-85, 185 mm, 11 µm gözenek boyutu) faydalanılmıştır.

0.5 gram ipek proteini (liyoofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm hızda karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kapta 2 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Beherlere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla

karişirken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik kariştiricida 20 dk 400 rpmde kariştirilmiştir. Hazirlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltilisine diğerri spirulina çözeltilisine eklenerek 20 dk 300 rpmde kariştirilmiştir. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kaptta 5.55 g CaCl₂ tartılmıştır. 250 ml balon jojelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızda manyetik kariştırıma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazirlanan CaCl₂ çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karişımı, hazirlanan diğer CaCl₂ çözeltilisine ipek proteini-sodyum aljinat karişımı ekstrüde edilmiştir. Karişımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 30 dk 300 rpmde kariştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkanıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C'de 24 saat kurutulmuştur.



şekil 9: Formülasyon 2 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



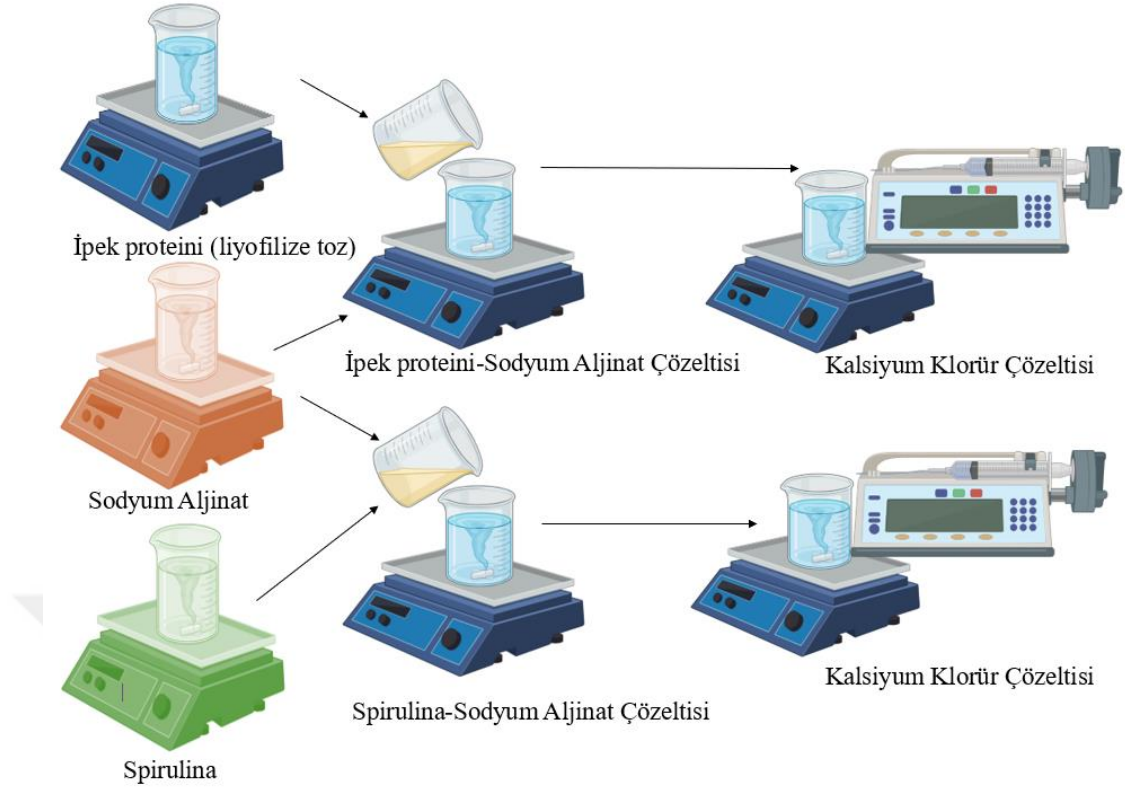
Şekil 10: Formülasyon 2 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Liyofilize ipek proteini ile çalışmak, çevresel etmenlerin daha az etkilemesi nedeniyle prosesi oldukça kolaylaştırmıştır. Üretici firmadan temin edilen ürün sertifikalarında, sıvı ipek proteini ve liyofilize ipek proteininin benzer moleküler ağırlıklara sahip olduğu gözlemlenmiştir. Bu doğrultuda, araştırmalara liyofilize ipek proteini ile devam edilmesine karar verilmiştir. İnce filtre kağıdında kurutma yapıldığında yapışma problemi gözlenmemiştir. Peristaltik pompa ile damlatma yapıldığında ise mikropartiküllerin daha homojen bir görünüme sahip olduğu görülmüştür. Ayrıca sodyum aljinat distile suya azar azar eklendiğinde sodyum aljinat çözeltisinin daha kısa sürede homojen hale geldiği tespit edilmiştir. F3 formülasyonunda da üretime bu değişikliklerle devam edilmiştir. Spirulina mikropartikülleri ekstrüde edilirken spirulinanın %5 CaCl_2 ortamını boyamaya devam ettiği gözlenmiştir. Deneme çalışmalarına bu problemin çözümü üzerine yapılacak çalışmalarla devam edilmiştir.

Formülasyon 3:

Tablo 7: F3 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	4 g
CaCl ₂	5.55 g
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	4 g
CaCl ₂	5.55 g

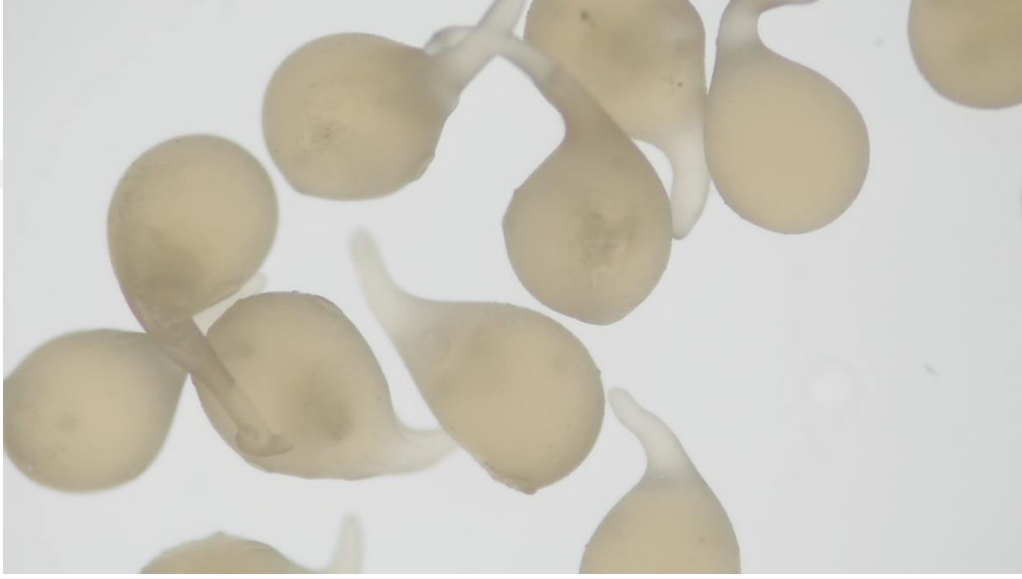


Şekil 11: Formülasyon 3 Üretim Şeması

Polimerin oranının; Spirulina mikropartikülleri ekstrüde edilirken spirulinanın %5 CaCl₂ ortamını boyaması problemine olan etkisini görmek için sodyum aljinat konsantrasyonu 2 katına çıkartılmıştır.

0.5 gram ipek proteini (liyofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kapta 4 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Beherlere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırırken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 35 dk 400 rpmde karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri spirulina çözeltisine eklenerek 30 dk 300 rpmde karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kapta 5.55 g CaCl₂ tartılmıştır. 250 ml balon jodelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızda manyetik karıştırma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3

ml/dk hızla; hazırlanan CaCl_2 çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğer CaCl_2 çözeltisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 30 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkayıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde $30-35^\circ\text{C}$ 'de 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 12: Formülasyon 3 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



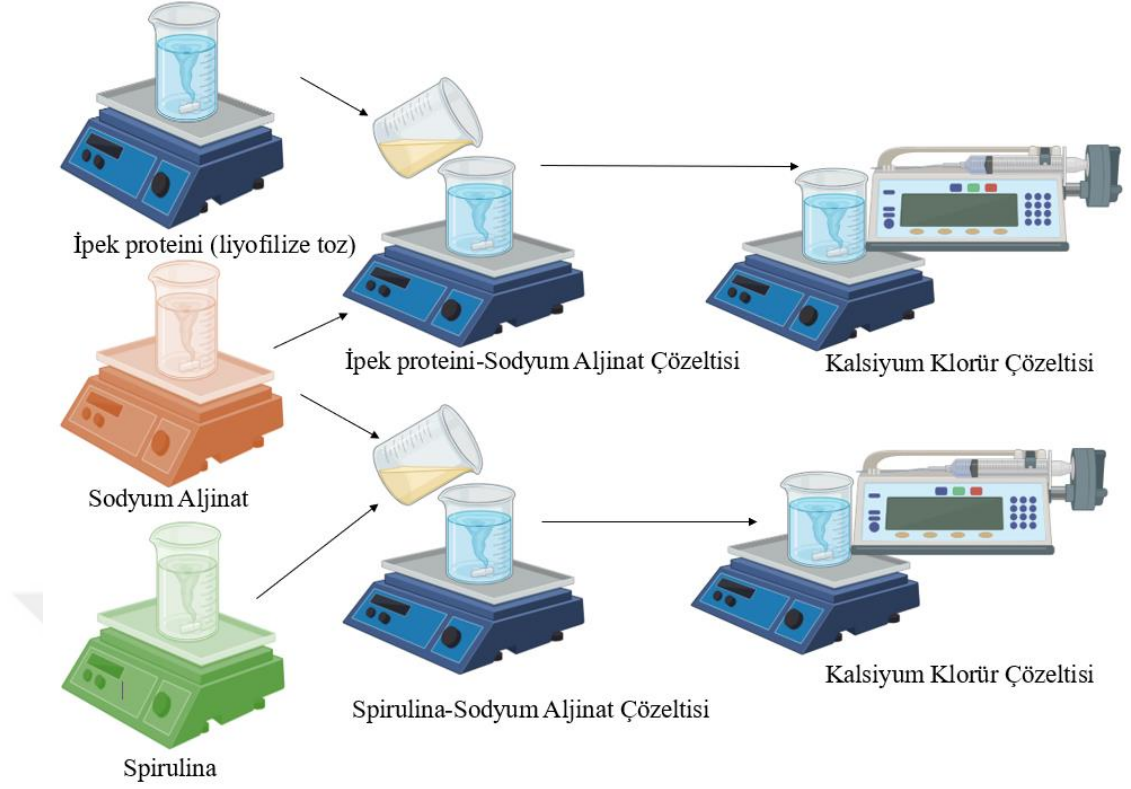
Şekil 13: Formülasyon 3 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Sodyum aljinat-ipek proteini çözeltisi ve sodyum aljinat-spirulina çözeltisinin viskozitesi önceki denemelerdeki çözeltilere kıyasla oldukça yüksek olduğu görülmüştür. Bu sebeple enjektör ile damlatırken küresel şekiller elde edilememiştir. Spirulina mikropartikülleri ekstrüde edilirken spirulinanın %5 CaCl₂ ortamını boyamaya devam ettiği gözlenmiştir. Deneme çalışmalarına bu problemlerin çözümü üzerine yapılacak çalışmalarla devam edilmiştir.

Formülasyon 4:

Tablo 8: F4 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	1 g
CaCl ₂	5.55 g
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	1 g
CaCl ₂	5.55 g



Şekil 14: Formülasyon 4 Üretim Şeması

Spirulina mikropartikülleri ekstrüde edilirken spirulinanın %5 CaCl_2 ortamını boyaması problemine yönelik çalışmalara bu formülasyon denemesinde de devam edilmiştir. Formülasyon 3'te düzgün mikropartiküller elde edilemediğinden dolayı sodyum aljinat çözeltisi daha önceki çalışmalardaki gibi %5 olacak şekilde hazırlanmıştır. Vizkozite kaynaklı sorunlardan dolayı, polimer konsantrasyonuna deneme 2'de olduğu gibi devam edilmesine karar verilmiştir. Sodyum aljinatın toplam hacminin mikropartikül boyutuna ve spirulinanın CaCl_2 ortamını boyaması problemine etkisini görmek için ipek proteini -sodyum aljinat (1:2) ve spirulina-sodyum aljinat oranı (1:2) olacak şekilde hazırlanmıştır.

0.5 gram ipek proteini (liyofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kapta 1 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Beherlere 20 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılırken azar

azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 25 dk 400 rpmde karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri spirulina çözeltisine eklenerek 25 dk 300 rpmde karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kapta 5.55 g CaCl₂ tartılmıştır. 250 ml balon jöjelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızda manyetik karışıma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazırlanan CaCl₂ çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğeri CaCl₂ çözeltisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 30 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkanıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C'de 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 15: Formülasyon 4 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



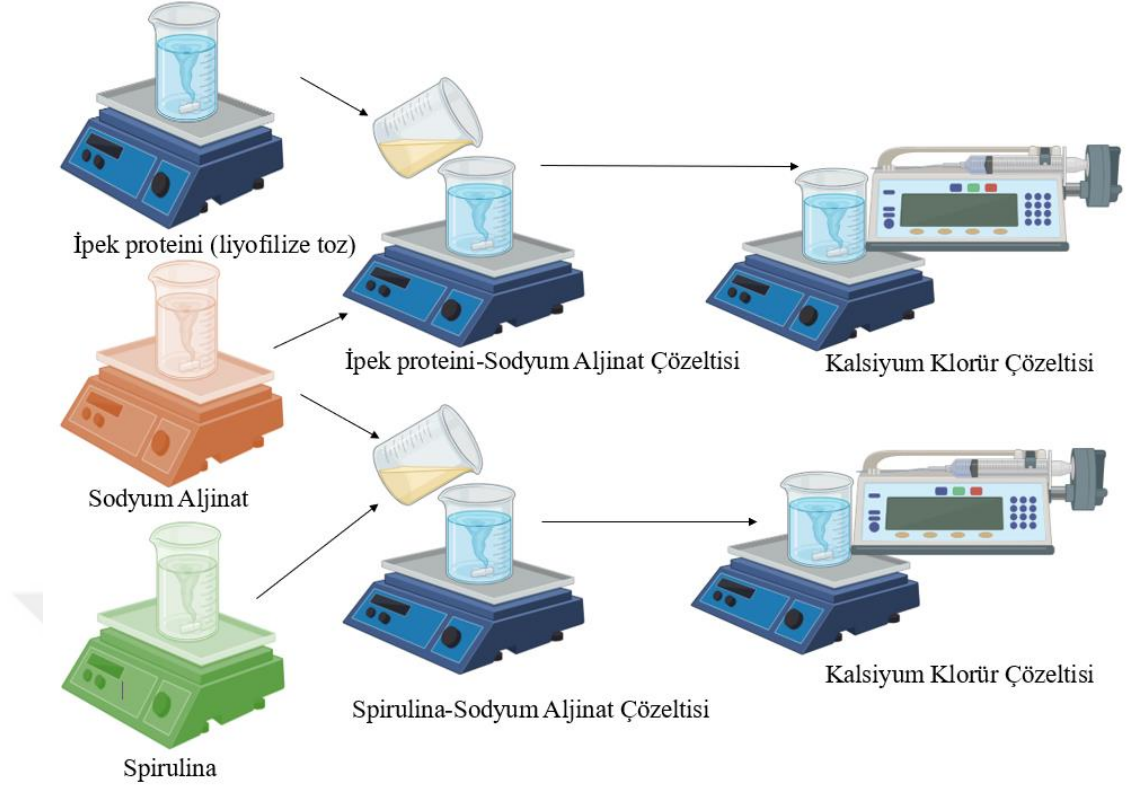
Şekil 16: Formülasyon 4 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Mikropartiküller şekilsel olarak Formülasyon 3'ten farklı olarak homojen bir görünüştedir. Sodyum aljinatın hacminin değiştirilmesinin mikropartikül boyutunda ve spirulina mikropartikülleri ekstrüde edilirken spirulinanın %5 CaCl_2 ortamını boyaması probleminde bir çözüm üretmediği için deneme çalışmalarına bu problemlerin çözümü üzerine yapılacak çalışmalarla devam edilmiştir.

Formülasyon 5:

Tablo 9: F5 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g

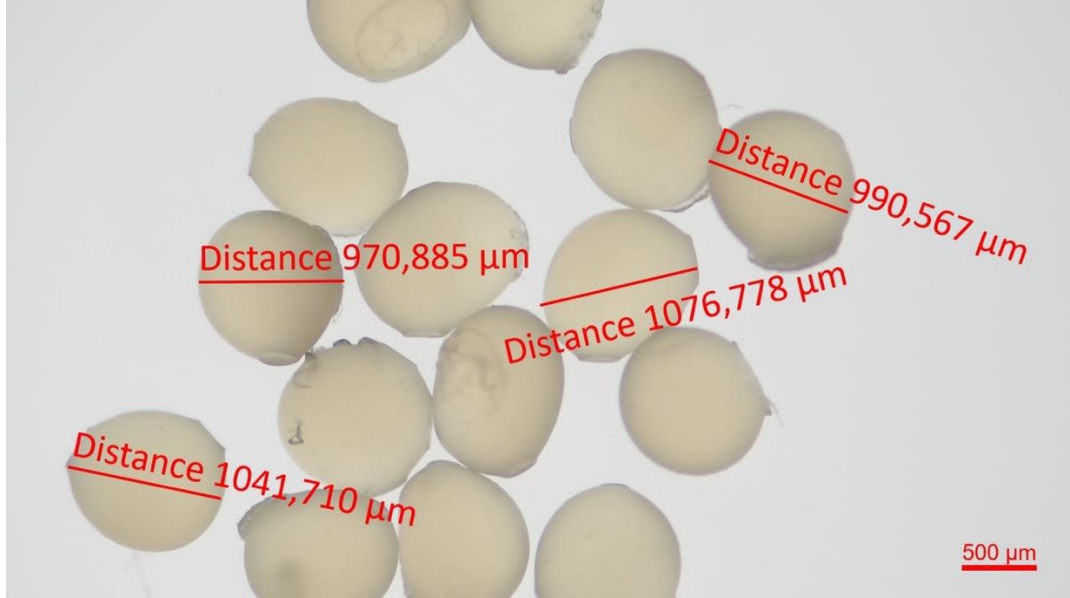


Şekil 17: Formülasyon 5 Üretim Şeması

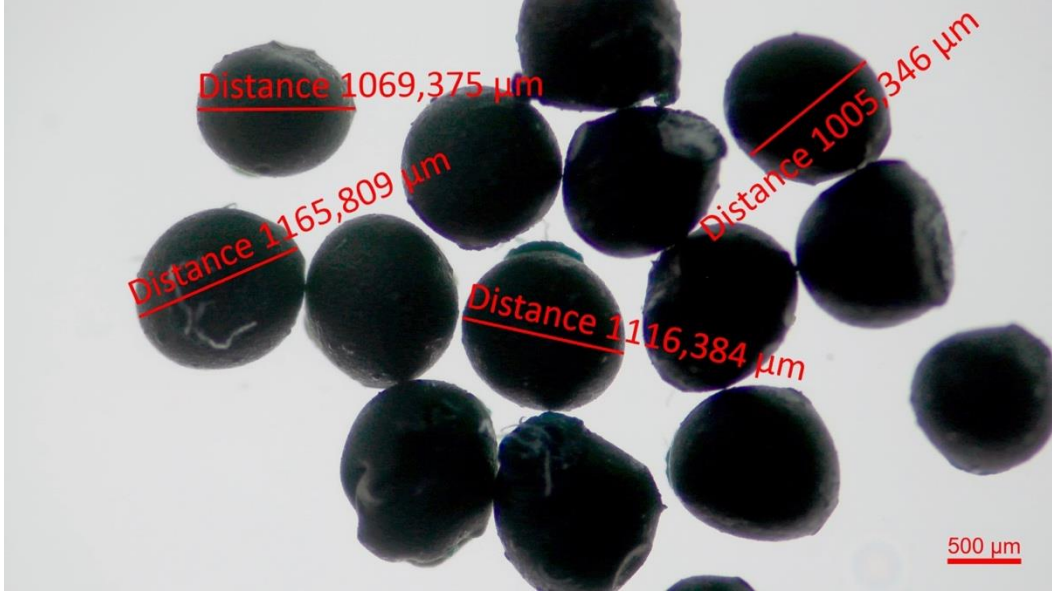
Genişletilen literatür taramasından edinilen bilgilere göre mikropartikül boyutlarının daha küçük olması için yeni formülasyon sodyum aljinat konsantrasyonu %4 olacak şekilde hazırlanmıştır (Anna Łętocha, 2022). Ayrıca önceki proseslerde damlatma işlemi tamamlandıktan sonra çeperin sertleşmesi için CaCl_2 çözeltisi içinde 30 dk daha karıştırmaya devam edilmiştir, bu süre kısaltılarak bu işlemin de mikropartikül boyutuna ve spirulinanın CaCl_2 çözeltisini boyaması problemine vereceği reaksiyon gözlemlenmiştir.

0.5 gram ipek proteini (liyo-filize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kapta 1.6 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Behirlere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karışırken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 400 rpmde karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri

spirulina çözeltilisine eklenerek 20 dk 300 rpmde karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kapta 5.55 g CaCl₂ tartılmıştır. 250 ml balon jodelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızda manyetik karıştırma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazırlanan CaCl₂ çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğer CaCl₂ çözeltilisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 10 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkayıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C'de 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 18: Formülasyon 5 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



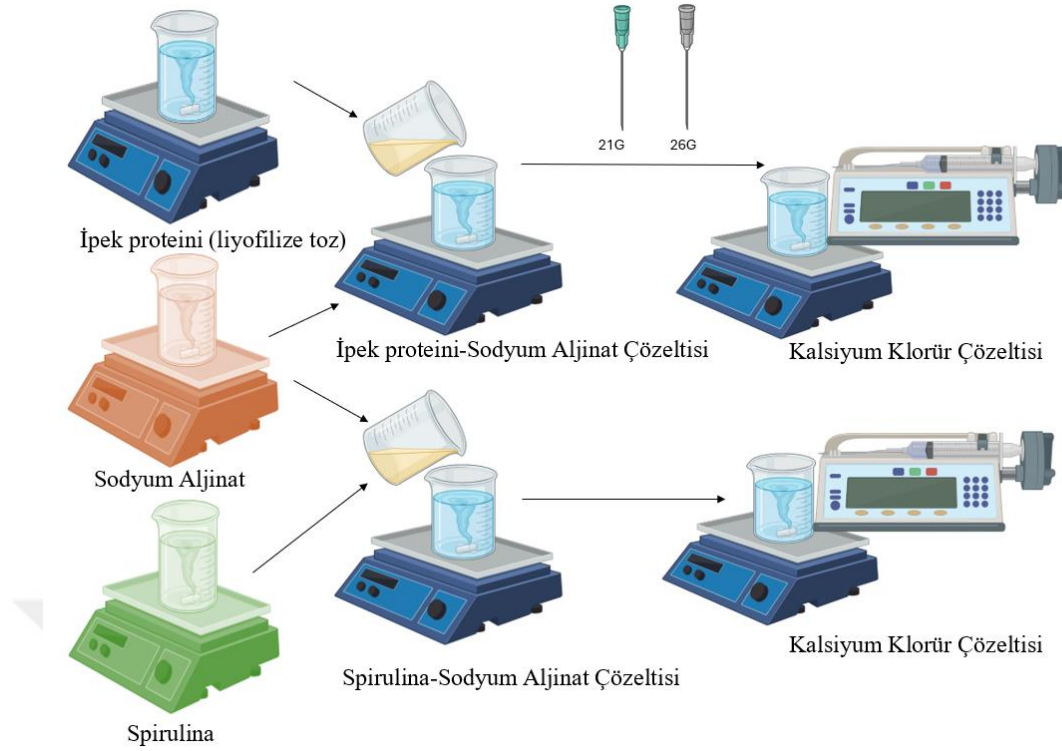
Şekil 19: Formülasyon 5 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Çeperin sertleşmesi için CaCl_2 çözeltisi içinde bekletme süresinin azaltılması Spirulinanın %5 CaCl_2 ortamını daha açık renkte boyamıştır ancak problem devam etmektedir. Daha küçük mikropartiküller elde edilebildiği görülmüştür. Bu bulgular doğrultusunda, sonraki formülasyon denemesinde mikropartiküllerin damlatma işlemi tamamlandıktan sonra CaCl_2 çözeltisi içinde 10 dk bekletilmesine ve sodyum aljinat konsantrasyonunun %4 oranında olmasına karar verilmiştir. Mikropartikül boyutunu küçültmek ve spirulinanın CaCl_2 çözeltisini boyaması problemini iyileştirmek için yapılan çalışmalara devam edilmiştir.

Formülasyon 6:

Tablo 10: F6 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g

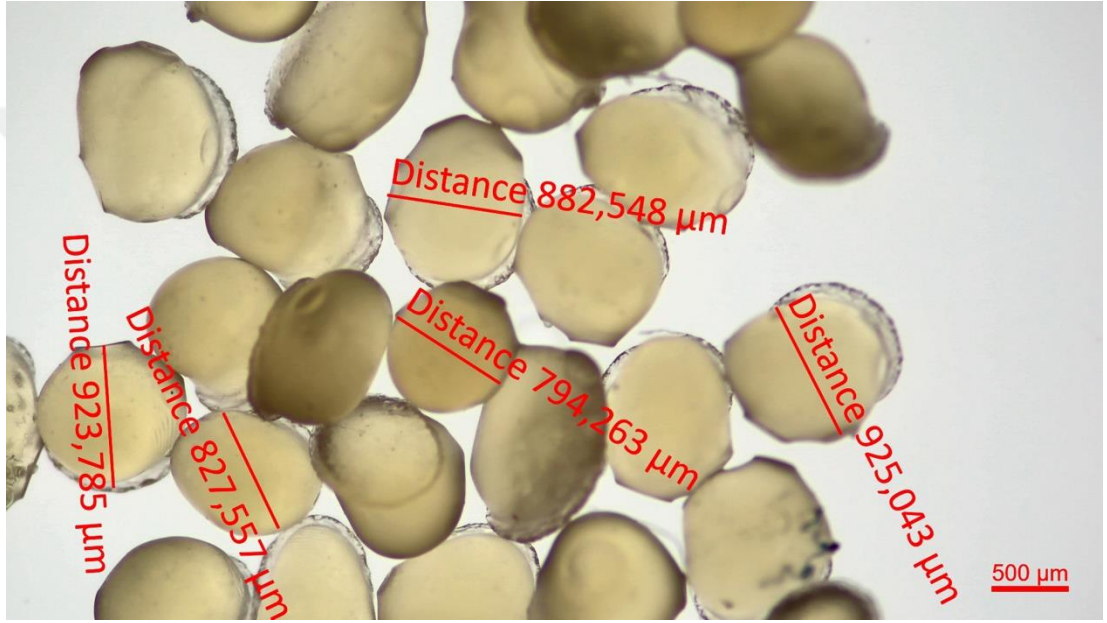


Şekil 20: Formülasyon 6 Üretim Şeması

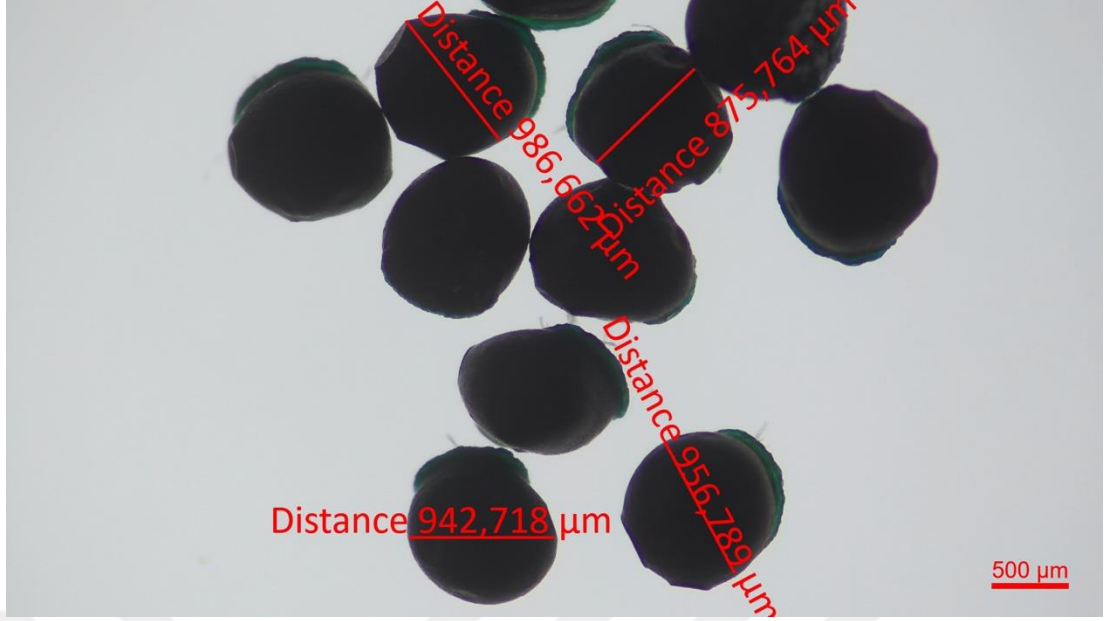
Önceki çalışmalarda peristaltik pompada enjektör ile damlatma işlemi 21G enjektör iğnesi ile yapılmıştır. Bu formülasyonda ise mikropartiküllerin boyutuna olan etkisini görmek için 26G enjektör iğnesi kullanılmıştır. Sodyum aljinat konsantrasyonu %4 olacak şekilde hazırlanmıştır. Damlatma işlemi tamamlandıktan sonra CaCl_2 çözeltisi içinde 10 dk bekletilmiştir.

0.5 gram ipek proteini (liyofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kapta 1.6 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Behrelere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karışırken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 400 rpmde karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri spirulina çözeltisine eklenerek 20 dk 300 rpmde karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kapta 5.55 g CaCl_2 tartılmıştır. 250 ml balon jodelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır.

400-500 rpm hızda manyetik karıştırma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazırlanan CaCl₂ çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğer CaCl₂ çözeltilisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 10 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkanıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C'de 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 21: Formülasyon 6 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



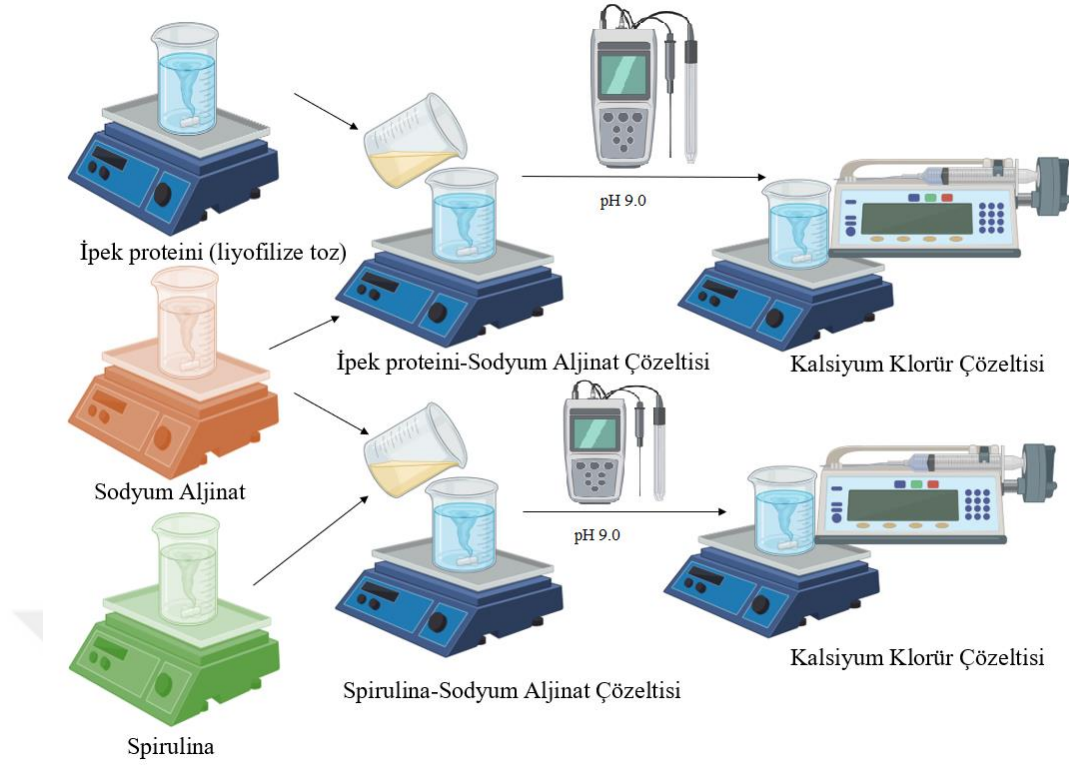
Şekil 22: Formülasyon 6 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Elde edilen mikropartiküllerin mikroskopta incelendiğinde de çaplarının $<1000 \mu\text{m}$ olduğu gözlenmiştir. Literatürdeki mikropartikül spesifikasyonları ile uyumlu olduğu için 26G enjektör iğnesinin kullanılmasına karar verilmiştir. Spirulinanın CaCl_2 ortamını boyama problemi bir önceki denemedeki durumla aynı olduğu gözlenmiştir. Bu problemin iyileştirilmesi üzerine yapılacak çalışmalarla araştırmaya devam edilmiştir.

Formülasyon 7:

Tablo 11: F7 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
NaOH (Sodyum Hidroksit)	0.05 N
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
NaOH (Sodyum Hidroksit)	0.05 N

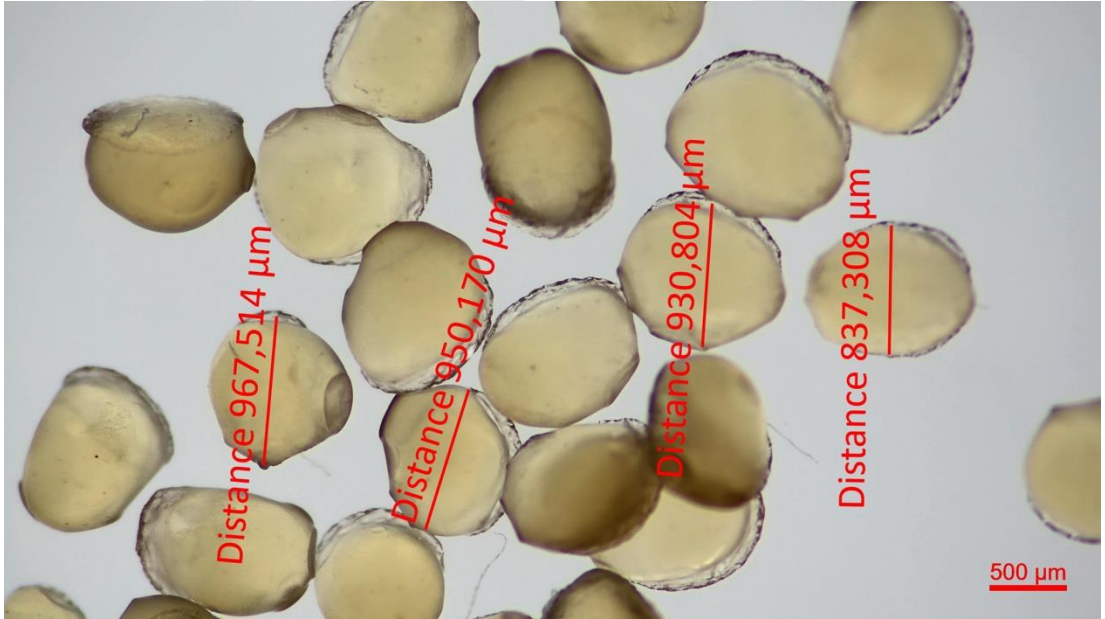


Şekil 23: Formülasyon 7 Üretim Şeması

Aktif maddenin damlatma yapılan sertleştirici solüsyona geçmesi probleminin çözümü için alternatif çözüm yolları araştırılmıştır. Karıştırma süresi, karıştırma hızı ve sertleştirici solüsyonun pH değerinin değiştirilmesi veya solüsyona zıt yüklü polimer ilavesi ile bu problemin çözülebileceği ile ilgili sonuçlara ulaşılmıştır (Erol Alver, 2017; Özer, Farmasötik Teknoloji Pratik El Kitabı I-II-III-IV, 2017). F7, F8 ve F9 formülasyonlarında CaCl_2 çözeltilerinin pH değerleri pH ajanları ile değiştirilmiştir. Sonuçlar değerlendirilmiştir. F7 formülasyonunda CaCl_2 çözeltisi 0.05 N NaOH özeltisi ile pH 9.0 olacak şekilde ayarlanmıştır.

0.5 gram ipek proteini (liyofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kaptan 1.6 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Beherlere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karışırken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 400 rpmde karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri

spirulina çözeltilisine eklenerek 20 dk 300 rpmde karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kaptaki 5.55 g CaCl₂ tartılmıştır. 250 ml balon jöjelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızla karıştırılmıştır. Ayrı bir kaptaki 100 g distile su tartılmıştır. Üzerine tartılan 0.2 g NaOH eklenmiştir. 5 dk karıştırarak çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan CaCl₂ çözeltilisinin pH'ı ölçülmüştür. 0.05 N NaOH çözeltilisi ile pH 9.0 olacak şekilde ayarlanmıştır. 400-500 rpm hızda manyetik karıştırma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazırlanan CaCl₂ çözeltililerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğer CaCl₂ çözeltilisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 10 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkayıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C'de 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 24: Formülasyon 7 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



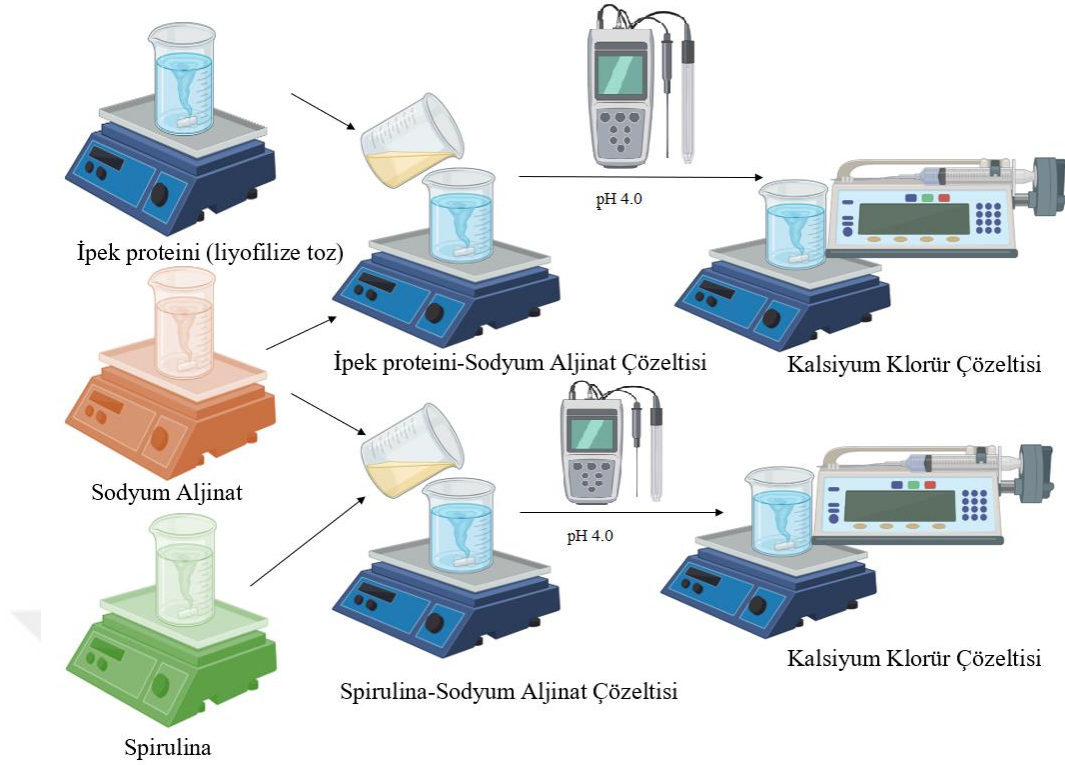
Şekil 25: Formülasyon 7 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Spirulina mikropartiküllerinin CaCl_2 ortamını boyaması önceki denemelere göre çok daha koyu olduğu gözlenmiştir (Şekil 30). CaCl_2 çözeltisi pH ajanı yardımıyla farklı pH değerlerine ayarlanarak çalışmalarla devam edilmiştir.

Formülasyon 8:

Tablo 12: F8 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
H ₃ PO ₄ (Fosforik Asit)	%10
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
H ₃ PO ₄ (Fosforik Asit)	%10

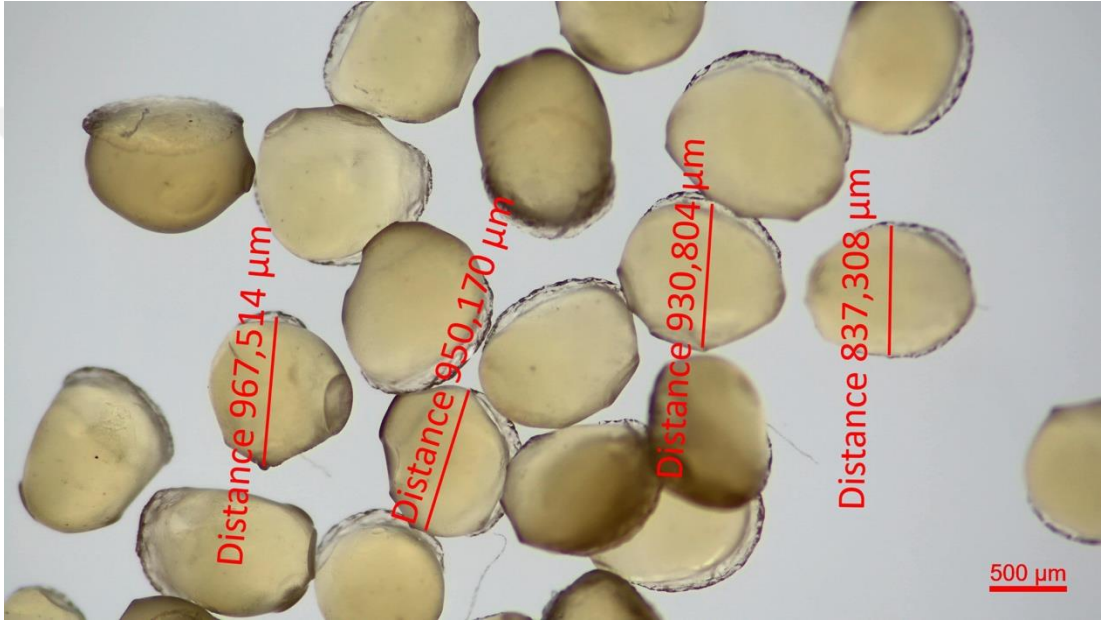


Şekil 26: Formülasyon 8 Üretim Şeması

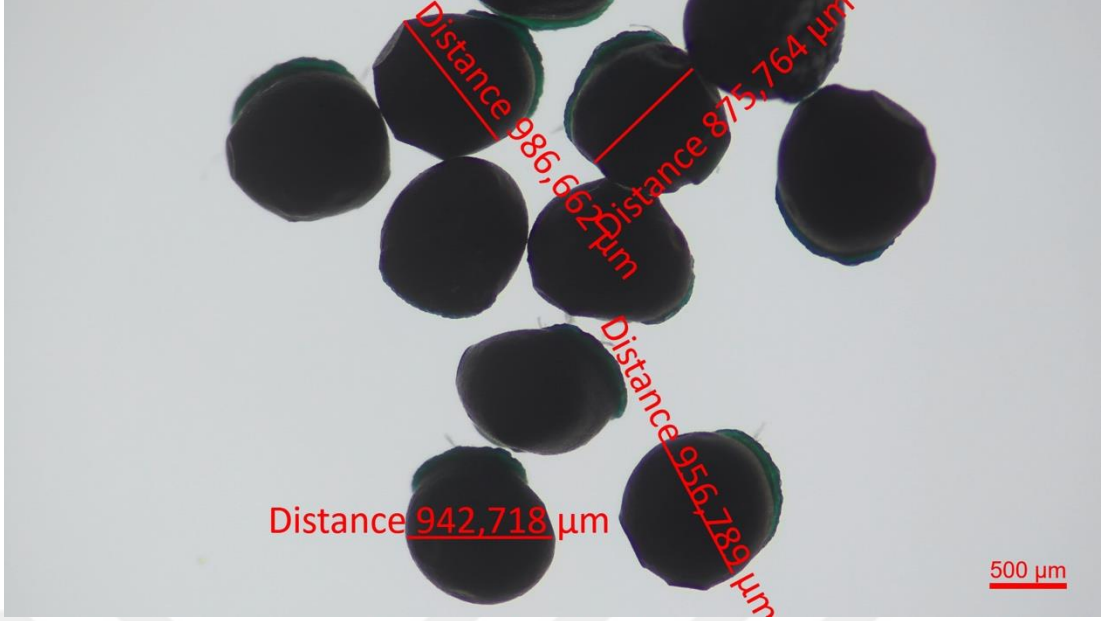
F8 formülasyonunda CaCl_2 çözeltisi %10 H_3PO_4 çözeltisi ile pH 4.0 olacak şekilde ayarlanmıştır.

0.5 gram ipek proteini (liyofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kaptta 1.6 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Beherlere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırırken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 400 rpmde karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri spirulina çözeltisine eklenerek 20 dk 300 rpmde karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kaptta 5.55 g CaCl_2 tartılmıştır. 250 ml balon jodelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızla karıştırılmıştır. Ayrı bir balon jodeye 16.8 g konsantre fosforik asit tartılmıştır, 100 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. 5 dk karıştırarak çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan CaCl_2 çözeltisinin pH'ı ölçülmüştür. %10 fosforik asit

çözeltisi ile pH 4.0 olacak şekilde ayarlanmıştır. 400-500 rpm hızda manyetik karıştırma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazırlanan CaCl_2 çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğer CaCl_2 çözeltisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 10 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkayıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C’de 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 27: Formülasyon 8 İpek Proteini Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü



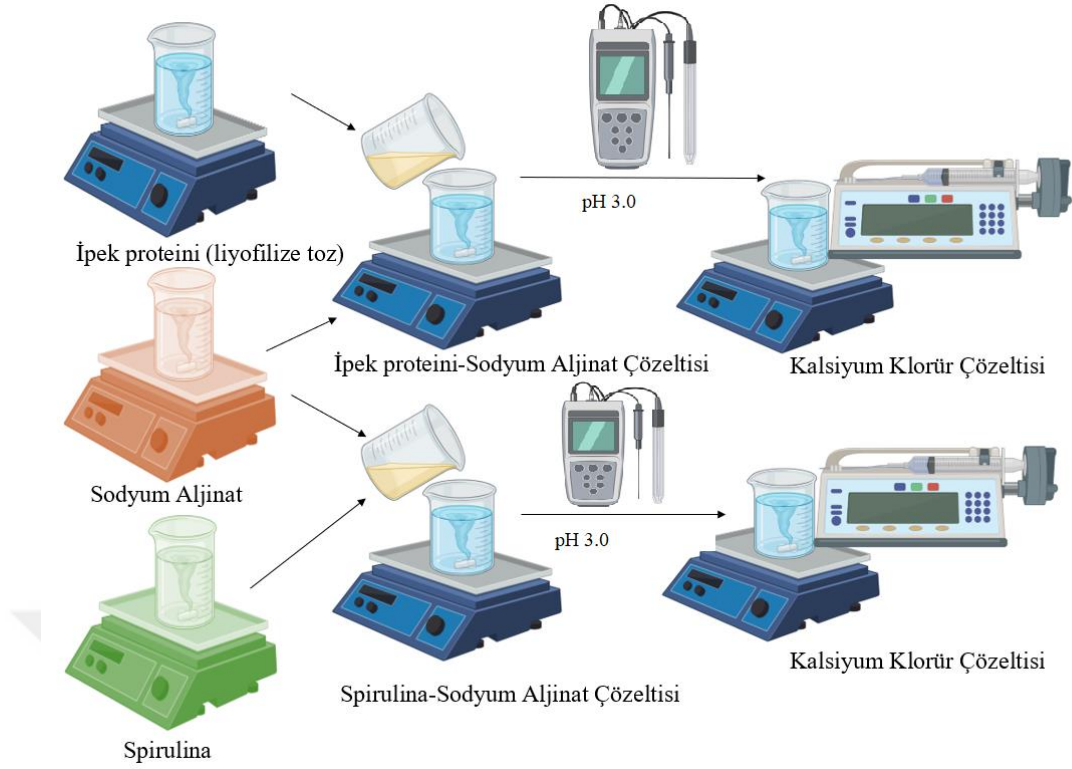
Şekil 28: Formülasyon 8 Spirulina Mikropartikülleri Mikroskop Görüntüsü

Spirulina mikropartiküllerinin CaCl_2 ortamını boyaması şeffafa yakın bir renkte olduğu görülmüştür (Şekil 30). Ciddi bir iyileşme görülmüştür. Bir sonraki denemede daha asidik bir ortamdaki davranışı gözlenmiştir.

Formülasyon 9:

Tablo 13: F9 Formülasyon İçeriği

<i>İpek Proteini Mikropartikülleri İçeriği</i>	
İpek proteini (liyofilize toz)	0.5 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
Fosforik Asit (H ₃ PO ₄)	%10
<i>Spirulina Mikropartikülleri İçeriği</i>	
Spirulina	1 g
Sodyum aljinat	1.6 g
CaCl ₂	5.55 g
Fosforik Asit (H ₃ PO ₄)	%10

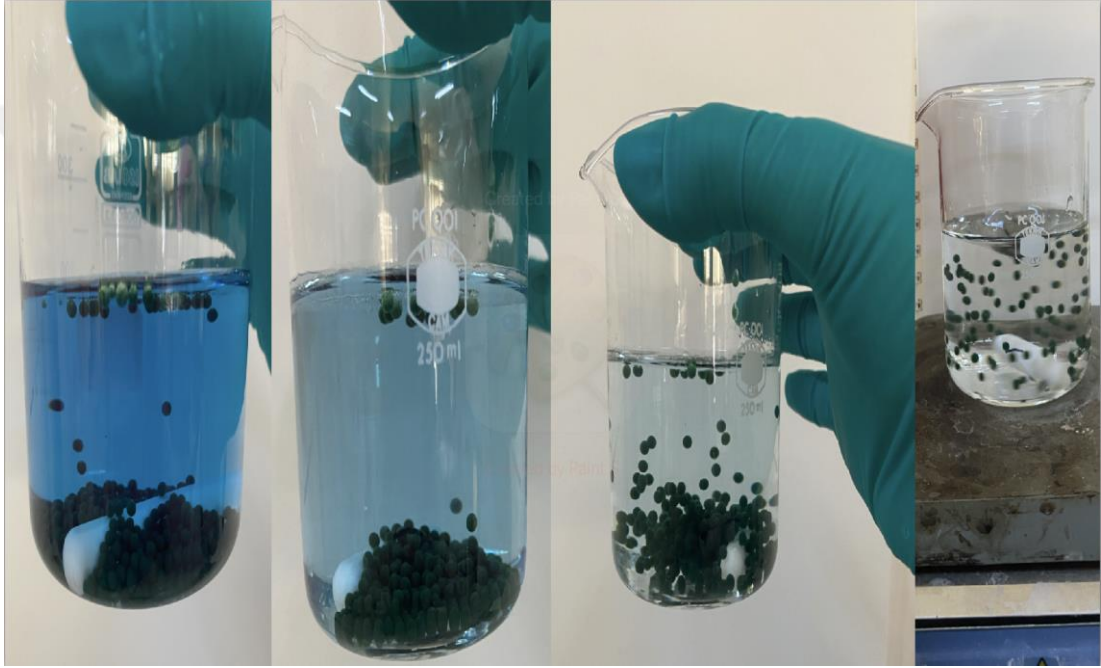


Şekil 29: Formülasyon 9 Üretim Şeması

F9 formülasyonunda CaCl_2 çözeltisi %10 H_3PO_4 çözeltisi ile pH 3.0 olacak şekilde ayarlanmıştır.

0.5 gram ipek proteini (liyofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır. 2 ayrı kapta 1.6 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Beherlere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karışırken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 400 rpmde karıştırılmıştır. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri spirulina çözeltisine eklenerek 20 dk 300 rpmde karıştırılmıştır. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kapta 5.55 g CaCl_2 tartılmıştır. 250 ml balon jodelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızla karıştırılmıştır. Ayrı bir balon jodeye 16.8 g konsantre fosforik asit tartılmıştır, 100 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. 5 dk karıştırarak çözünmesi sağlanmıştır. Hazırlanan CaCl_2 çözeltisinin pH'ı ölçülmüştür. %10 fosforik asit

çözeltisi ile pH 3.0 olacak şekilde ayarlanmıştır. 400-500 rpm hızda manyetik karıştırma altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazırlanan CaCl_2 çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğer CaCl_2 çözeltisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir. Damlatma işlemi bitince 10 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkayıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C’de 24 saat kurutulmuştur.



Şekil 30: Formülasyonlardaki Spirulinanın CaCl_2 Çözeltilerine Renk Vermesi (Sırasıyla F7 – F6 – F8 – F9)

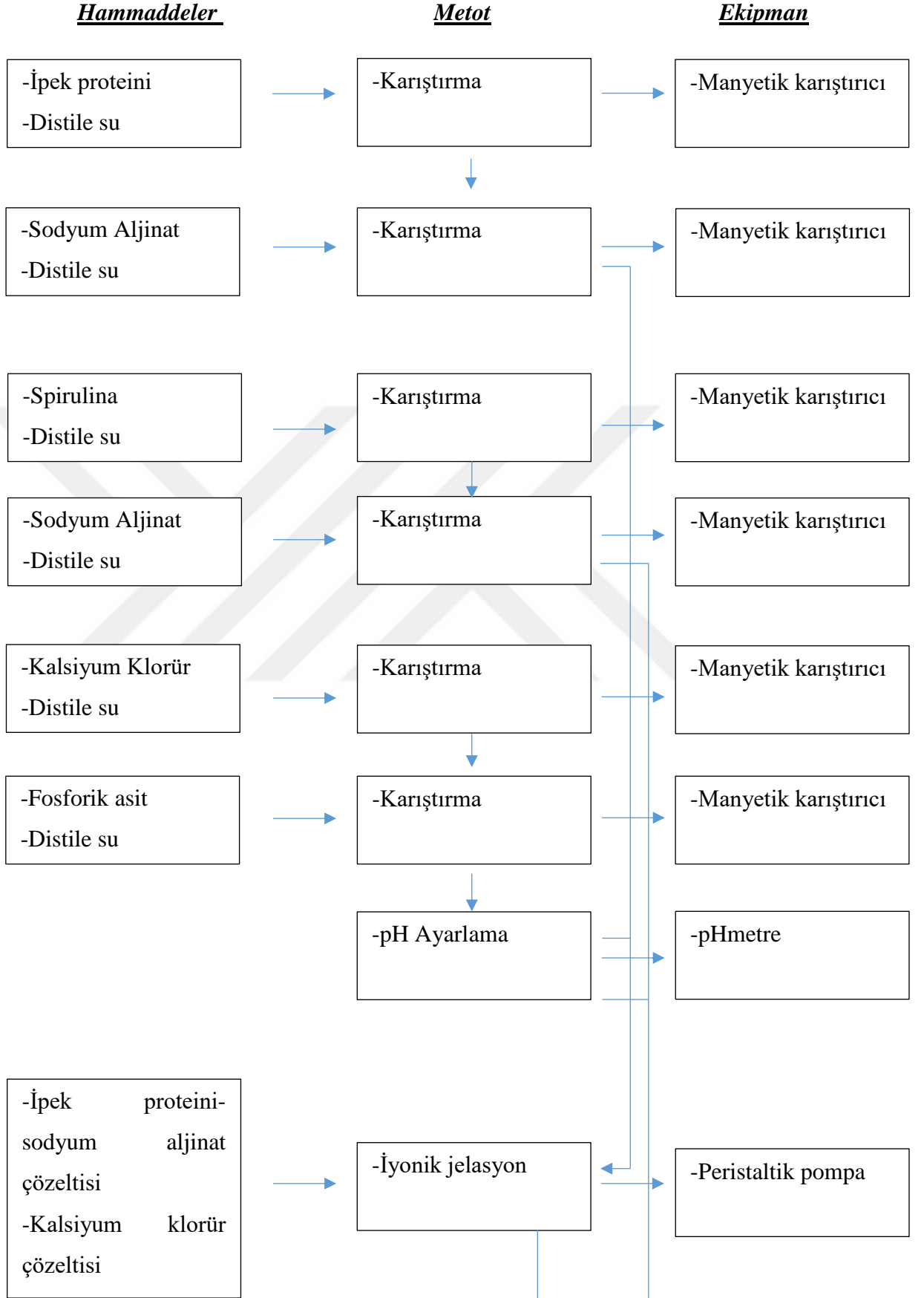
Spirulina mikropartiküllerinin CaCl_2 ortamını hiç boyamadığı görülmüştür (Şekil 30). İleriki bölümlerde anlatılan mikropartiküllerin karakterizasyonu çalışmalarının sonuçları da istenilen aralıklarda olduğu için bu formülasyonun final formülasyon olmasına karar verilmiştir.

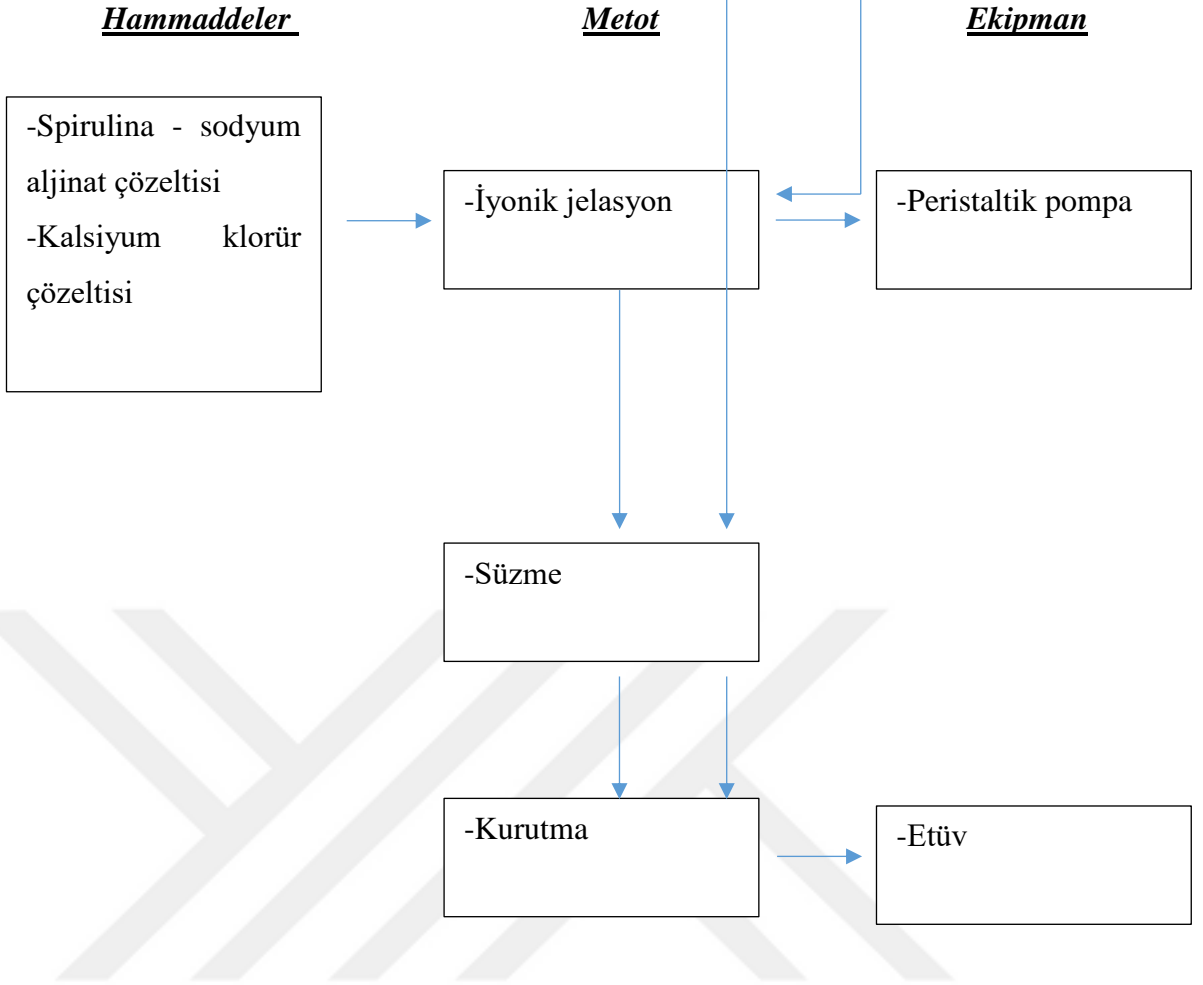
Nihai Formülasyon ve Üretim Metodu

ÜRETİM AKIŞ ŞEMASI

1. 0.5 gram ipek proteini (liyofilize toz) tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 300 rpm karıştırılmıştır.
2. 1 gram spirulina tartılmıştır. Beherdeki 10 ml distile suya eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 15 dk 300 rpm karıştırılmıştır.
3. 2 ayrı kapta 1.6 gram sodyum aljinat tartılmıştır. Beherlere 40 ml distile su eklenmiştir. Distile su manyetik karıştırıcı yardımıyla karışırken azar azar sodyum aljinat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 20 dk 400 rpmde karıştırılmıştır.
4. Hazırlanan sodyum aljinatların biri ipek proteini çözeltisine diğeri spirulina çözeltisine eklenerek 20 dk 300 rpmde karıştırılmıştır.
5. İpek proteini ve spirulina için 2 ayrı kapta 5.55 g CaCl_2 tartılmıştır. 250 ml balon jodelere konmuştur. Distile su ile 250 ml'ye tamamlanmıştır. Damlatma işlemi için behere alınmıştır. 400-500 rpm hızla karıştırılmıştır.
6. Ayrı bir balon jodeye 16.8 g konsantre fosforik asit tartılmıştır, 100 ml'ye saf su ile tamamlanmıştır. 5 dk karıştırarak çözünmesi sağlanmıştır.
7. Hazırlanan CaCl_2 çözeltisinin pH'ı ölçülmüştür. %10 fosforik asit çözeltisi ile pH 3.0 olacak şekilde ayarlanmıştır.
8. 400-500 rpm hızda manyetik karıştırıcı altında peristaltik pompa yardımıyla 0.3 ml/dk hızla; hazırlanan CaCl_2 çözeltilerinden birine spirulina-sodyum aljinat karışımı, hazırlanan diğeri CaCl_2 çözeltisine ipek proteini-sodyum aljinat karışımı ekstrüde edilmiştir. Karışımların tamamı damlatılana kadar işleme devam edilmiştir.
9. Damlatma işlemi bitince 10 dk 300 rpmde karıştırmaya devam edilmiştir.
10. Ardından distile su ile 3-4 kez yıkanıp ince filtre kağıdı üzerinde etüvde 30-35°C'de 24 saat kurutulmuştur.

ÜRETİM AKIŞ ŞEMASI





2.2.2.1.1. Hidrojel Formülasyonu

Literatürlerden faydalanarak hidrojel formülasyonlar hazırlanmıştır (Zeynep AY ŞENYİĞİT, 2014; Sinem Yaprak KARAVANA, 2018; Wilbur Johnson Jr, 2020; Robin J. Marles, 2011; Shahid Bashir, 2020).

Tablo 14: Hidrojel Formülasyonları

	G1	G2	G3	G4
Laktik asit solüsyonu	%1	%1	%1	%1
Kitosan (orta molekül ağırlıklı)	%2	%2	-	-
İpek proteini (liyofilize toz)	-	%2	-	%2
Kitosan (yüksek molekül ağırlıklı)	-	-	%2	%2
Sodyum benzoat	%0.2	%0.2	%0.2	%0.2
Hidrojele ilave edilen İpek proteini mikropartikülü miktarı	10 mg mikropartikül – 2 g jel	10 mg mikropartikül – 2 g jel	10 mg mikropartikül – 2 g jel	10 mg mikropartikül – 2 g jel
Hidrojele ilave edilen Spirulina mikropartikül miktarı	10 mg mikropartikül – 2 g jel	10 mg mikropartikül – 2 g jel	10 mg mikropartikül – 2 g jel	10 mg mikropartikül – 2 g jel

Dilüe laktik asit solüsyonu hazırlanır. 250 ml’lik balon jöjeye bir miktar distile su alınmıştır. Üzerine otomatik pipet yardımıyla 2.77 ml konsantre laktik asit solüsyonu eklenmiştir. Distile su ile 250 ml’e tamamlanmış, çalkalanmıştır. Tablo 14’te

belirtildiği gibi jelleştirici ajan tartılmıştır. Behere 100 g dilüe laktik asit solüsyonu eklenmiştir. Dilüe laktik asit solüsyonu manyetik karıştırıcı yardımıyla karışırken azar azar jelleştirici ajan eklenmiştir. 0.2 mg sodyum benzoat eklenmiştir. Manyetik karıştırıcıda 400 rpmde 1 gün boyunca karıştırılarak şişmeye bırakılmıştır. 24 saat sonra 500 mg ipek mikropartikülleri ve 500 mg spirulina mikropartikülleri tartılmıştır. 100 g kitosan hidroveli ile karıştırılmıştır.

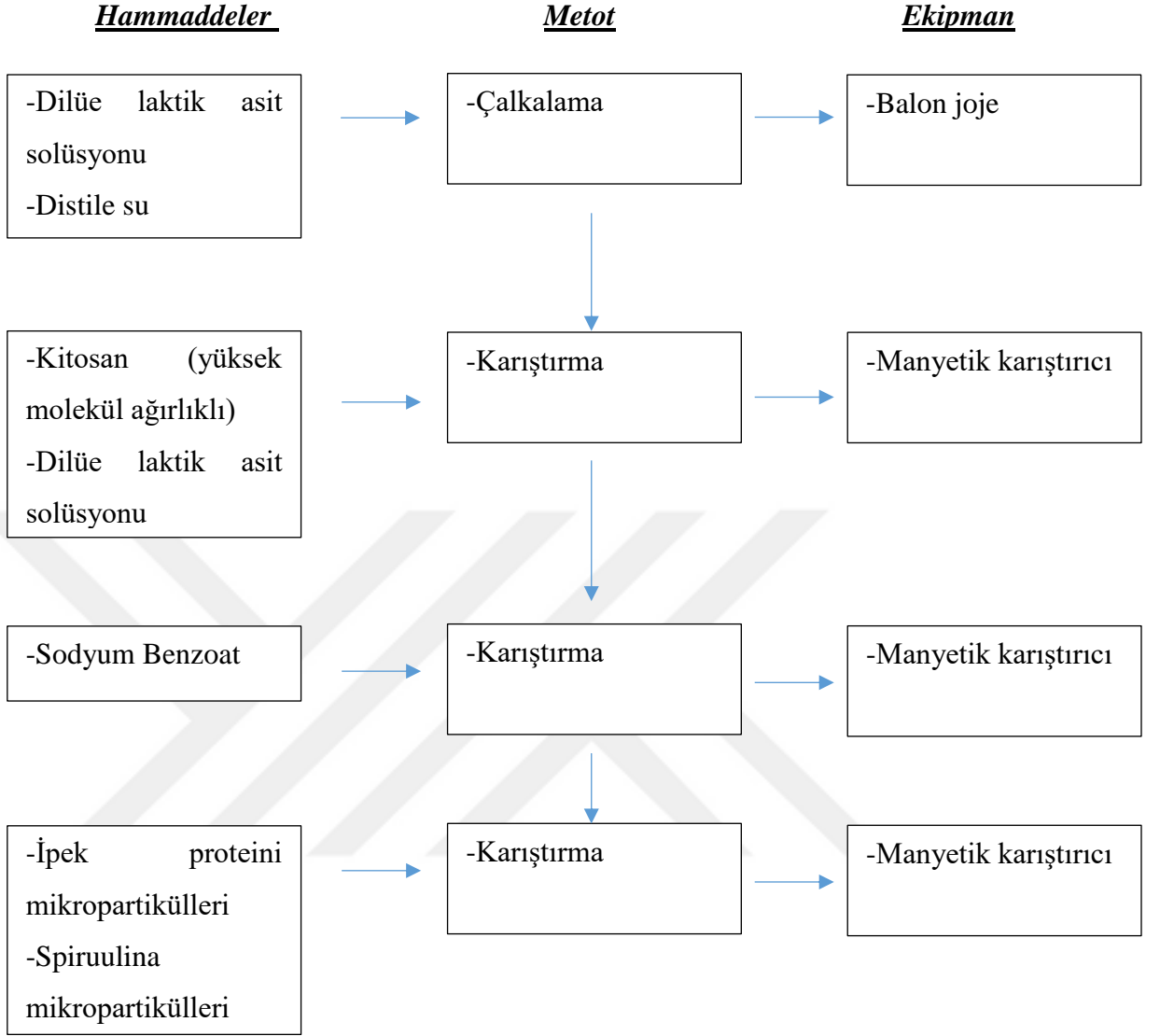


Nihai Formülasyon ve Üretim Metodu

ÜRETİM AKIŞ ŞEMASI

1. Dilüe laktik asit solüsyonu hazırlanır. 250 ml'lik balon jøjeye bir miktar distile su alınmıştır. Üzerine otomatik pipet yardımıyla 2.77 ml konsantre laktik asit solüsyonu eklenmiştir. Distile su ile 250 ml'e tamamlanmış, çalkalanmıştır.
2. 2 g kitosan (yüksek molekül ağırlıklı) tartılmıştır. Behere 100 g dilüe laktik asit solüsyonu eklenmiştir. Dilüe laktik asit solüsyonu manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırken azar azar jelleştirici ajan eklenmiştir.
3. Beherdeki karışıma 0.2 mg sodyum benzoat eklenmiştir.
4. Manyetik karıştırıcıda 400 rpmde 1 gün boyunca karıştırılarak şişmeye bırakılmıştır.
5. 24 saat sonra 500 mg ipek mikropartikülleri ve 500 mg spirulina mikropartikülleri tartılmıştır.
6. 100 g kitosan hidrojel ile karıştırılmıştır.

ÜRETİM AKIŞ ŞEMASI



2.2.3. Formülasyonların Karakterizasyonu

2.2.3.1. Mikropartikül Formülasyonlarda Diferansiyal Tarama Kalorimetresi ile Yapılan Çalışmalar

İpek proteini mikropartikülleri ve spirulina mikropartiküllerinin DTK (Differential Scanning Calorimeter; Diferansiyal Tarama Kalorimetresi) (Perkin Elmer DSC 6000) ile analizleri gerçekleştirilmiştir. DTK analizi için yapılan çalışmada numuneler, 10^{-5} hassasiyetle 4 mg civarında tartılıp, basınç ile alüminyum örnek kabında kapaklar birleştirilmiştir. 30°C'den 10°C/dk sıcaklık artışıyla 300°C'ye kadar yükseltilmiştir ve analiz sırasında alüminyum referansı kullanılarak 50 ml/dk hızda azot gazı akış hızı ile gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.2. Elde Edilen Mikropartiküllerin % Verimi

Mikropartiküllerin % verimleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır (İpek Eroğlu, 2014).

Eşitlik 1: % Verim

% Verim = [Elde edilen mikropartikül ağırlığı (g) / Hesaplanan (polimer + aktif madde) mikropartikül ağırlığı (g)] x 100

2.2.3.3. Mikropartikül Formülasyonlarında Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizi

Mikropartiküllerin partikül boyutu analizi Malvern-Mastersizer 2000 Laser Difraktometre cihazı yardımıyla belirlenmiştir. Ölçümler sırasında mikropartiküller %10-12 konsantrasyonda distile su içinde dağıtılıp 2000 rpmde karıştırılmıştır. Tüm denemeler 3 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Suyun viskozitesi 0,8872 cP ve refraksiyon indisi 1.330 olarak alınmıştır (Bilsen Tural, 2009) .

2.2.3.4. Mikropartikül Formülasyonların Zeta Potansiyeli

Mikropartiküllerin zeta potansiyeli; Malvern NanoZS4700 nanoserisi zetasizer cihazı yardımı ile belirlenmiştir. Zeta potansiyel değerleri ölçümü öncesinde formülasyonlardan 6 mg alınıp 1mL distile su ile seyreltilmiştir ve zeta potansiyel değerleri ölçülmüştür. Ölçümler 5 tekrar olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. Suyun viskozitesi 0,8872 cP ve refraksiyon indisi 1.330 olarak alınmıştır.

2.2.3.5. Mikropartikül Formülasyonlarının Partikül Yüzey Morfolojisi Tayini

Hazırlanan mikropartiküllerin yüzey morfolojileri tayini için; mikropartiküller alüminyum plak üzerine monte edilmiştir, bir vakum buharlaştırıcı kullanılarak altın paladyum (Au/Pd) ile püskürtmeyle kaplanmıştır ve SEM (Scanning Electron Microscope; Taramalı Elektron Mikroskobu) (Carl Zeiss 300VP) ile incelenmiştir. Işın mikroskobundaki (Zeiss Primo Star Mikroskobu) görüntüleri de incelenmiştir.

2.2.3.6. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının Reolojik Özelliklerinin İncelenmesi

Hazırlanan boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının reolojik analizleri, akış özellikleri ve osilasyon çalışmaları 25°C ± 0.1°C'de ve 32°C ± 0.1°C'de reometre cihazı (TA-TX Discovery HR 1) (Şekil 31) ile yapılmıştır.

Akış özellikleri çalışmaları; 40 mm çapındaki çelik prob, 0.3 mm sabit aralık kullanılarak ve kayma oranı 10-1000 1/s arasında değiştirilerek formülasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. 60 tane kayma gerilimi değerleri ölçümleri kayma oranı bu değerler arasında değişirken yapılmıştır. Kayma gerilimine karşı kayma oranı grafikleri çizilmiştir ve akış eğrileri elde edilmiştir. Her örnek için çalışma en az üç tekrarla gerçekleştirilmiştir. Çalışmada kayma oranına karşı viskozite değerleri grafiğe geçirilmiştir (Mohammad Nasrin Abdul Rahman, 2017).

Osilasyon alışmaları, 40 mm çapındaki elik prob, 0.3 mm sabit aralık kullanılarak $25^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de ve $32^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de yapılmıştır. Her formülasyon için lineer viskoelastik bölge belirlenmiştir. Her formülasyon için ilgili lineer viskoelastik bölgede elastik modül (G') ve viskoz modül (G'') tayin edilmiştir. Her örnek için çalışma en az üç tekrarla gerçekleştirilmiştir (Gavin P. Andrews S. P., 2005).



şekil 31: Osilasyon Reometresi

2.2.3.7. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

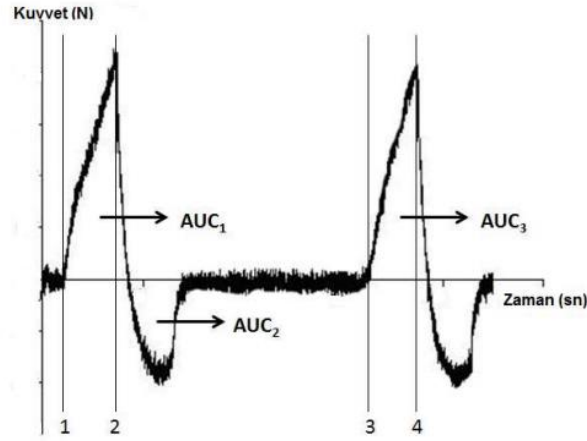
Boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonunun mekanik özellikleri olan sertlik, sıkıştırılabilirlik, adeziflik, koheziflik ve elastikiyetinin belirlenmesi için software-kontrollü penetromere (TA-XT Plus, Stable Micro System, İngiltere) cihazı kullanılmıştır (şekil 32-33) (David S. Jones, 2002).

Test parametreleri aşağıda verilmiştir. Test $25^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de ve $32^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirilmiştir. Test, her formülasyon için en az üç kez tekrarlanmıştır ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

Test Parametreleri

- Prob: Perspex (10 mm ap)
- Test öncesi probun hızı: 1.0 mm/s

- Test esnasında probun hızı: 1.0 mm/s
- Test sonrası probun hızı: 2.5 mm/s
- Hedef modu: Mesafe
- Probu formülasyona batma mesafesi: 20.0 mm
- Probu ikinci batmadan önce bekleme süresi: 180.0 s
- Teste başlamak için probun hissetmesi gereken kuvvet: 0.005 N



Şekil 32: TPA (Texture Profile Analysis; Tekstür Profil Analizi) Grafiğinin Genel Görünümü



Şekil 33: TPA Cihazı

2.2.3.8. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının pH Özelliklerinin İncelenmesi

Boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonların pH değeri pHmetre ile $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de ve $32\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de ölçülmüştür. Her çalışma en az 3 tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

2.2.3.9. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının *In Vitro* Oklüzif Özelliğinin İncelenmesi

Formülasyonların su kaybını önleme yeteneğini değerlendirmek amacıyla *in vitro* oklüzivite testi yapılmıştır. Çalışmada tıkanma faktörünü (F) ifade eden suyun buharlaşma miktarı hesaplanmış ve kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. 25 ml'lik önceden tartılmış bir behere 15 g damıtılmış su ilave edilmiştir. Beherler filtre kağıdıyla (Whatmann, Cat No 1001-85, 185 mm, 11 μm gözenek boyutu) kapatılmıştır ve parafilm kullanılarak sabitlenmiştir. Daha önce tartılan 250 mg formülasyon, filtre kağıtlarının üzerine yayılmıştır. Beherler, $32 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ 'de 48 saat süreyle inkübatörlere (Thermo Scientific Max Q 6000) yerleştirilmiştir. Kontrol grubu filtre kağıtlarına herhangi bir yayma yapılmamıştır. Her bir formülasyona sahip beherler 6., 24. ve 48. saatlerde üç tekrar halinde tartılmıştır. Hidrojel formülasyonlarının kapanma faktörleri aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır (Muhammet Davut Arpa, 2022).

Eşitlik 2: *In Vitro* Oklüziflik Hesaplaması

$$F = 100 - \left(\frac{A - B}{A} \right)$$

A: Yayılmayan kontrol kabının ağırlığı

B: Hidrojel yayılmış test kabının ağırlığı

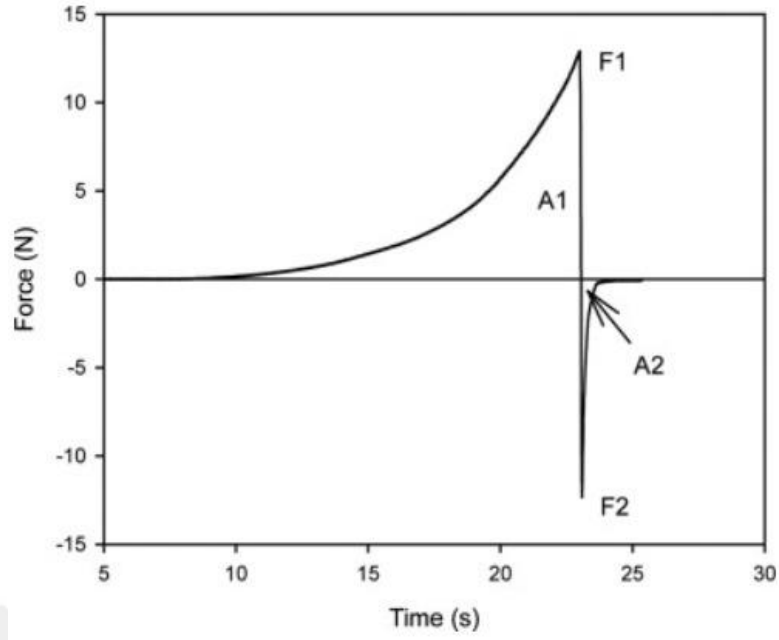
2.2.3.10. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonların Yayılabilirliği

Boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonların yayılabilirlik özelliğinin belirlenmesi için software-kontrollü penetromere (TA-XT Plus, Stable Micro System, İngiltere) cihazı kullanılmıştır (Şekil 33) (S. Bayarri, 2012).

Test parametreleri aşağıda verilmiştir. Test $32^{\circ}\text{C} \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ 'de gerçekleştirildi. Test, her formülasyon için üç kez tekrarlanmıştır ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

Test Parametreleri

- Prob: Perspex 45° tam olarak eşleştirilmiş erkek-dişi koni
- Test öncesi probun hızı: 2.0 mm/s
- Test esnasında probun hızı: 2.0 mm/s
- Test sonrası probun hızı: 2.0 mm/s
- Hedef modu: Mesafe
- Probun formülasyona batma mesafesi: 25.0 mm
- Teste başlamak için probun hissetmesi gereken kuvvet: 0.005 N



Şekil 34: TPA (Texture Profile Analysis; Tekstür Profil Analizi) Yayılabilirlik Grafiğinin Genel Görünümü

2.2.4. Formülasyonların Stabilite Çalışmaları

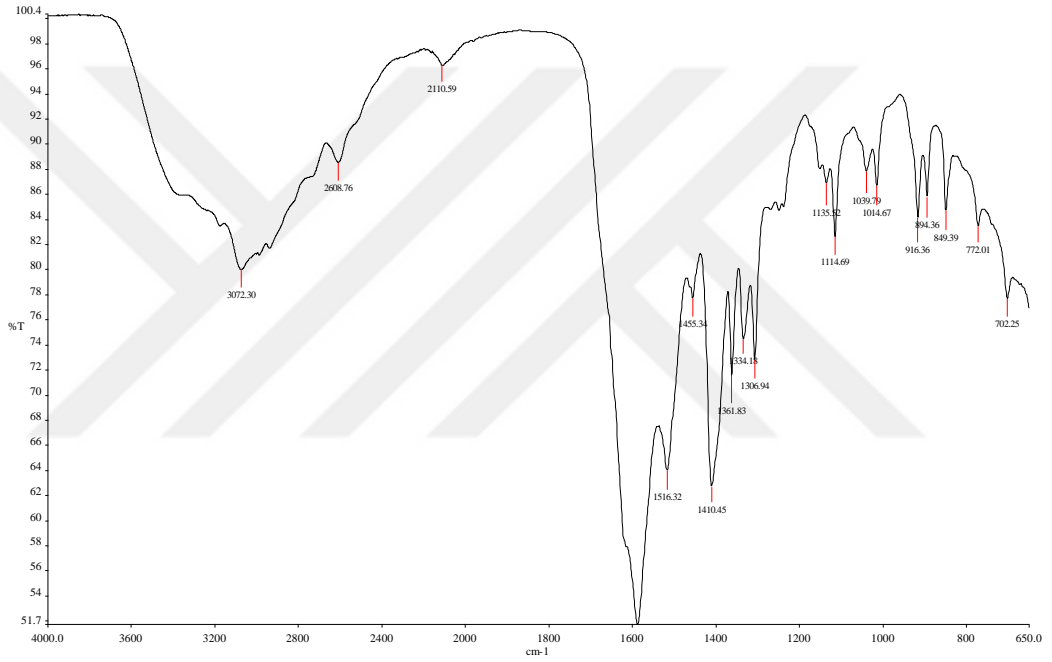
Stabilite çalışmaları, 6 ay süre ile $25\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de %60 relatif nem koşulları ve $40\pm 5^{\circ}\text{C}$ 'de %75 relatif nem koşulları altında stabilite kabini (Nüve TK 252) kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Mikropartikül yüklü hidrojel primer ambalaj olarak kullanılabilen olan, ağzı plastik burgulu kapaklı, içi sarı laklı 40 g gormülasyon içeren beyaz metal tüp ambalaj içinde stabilite kabininde bekletilmektedir. Numuneler görünüş, pH ve viskozite açısından değerlendirilmektedir.

BULGULAR

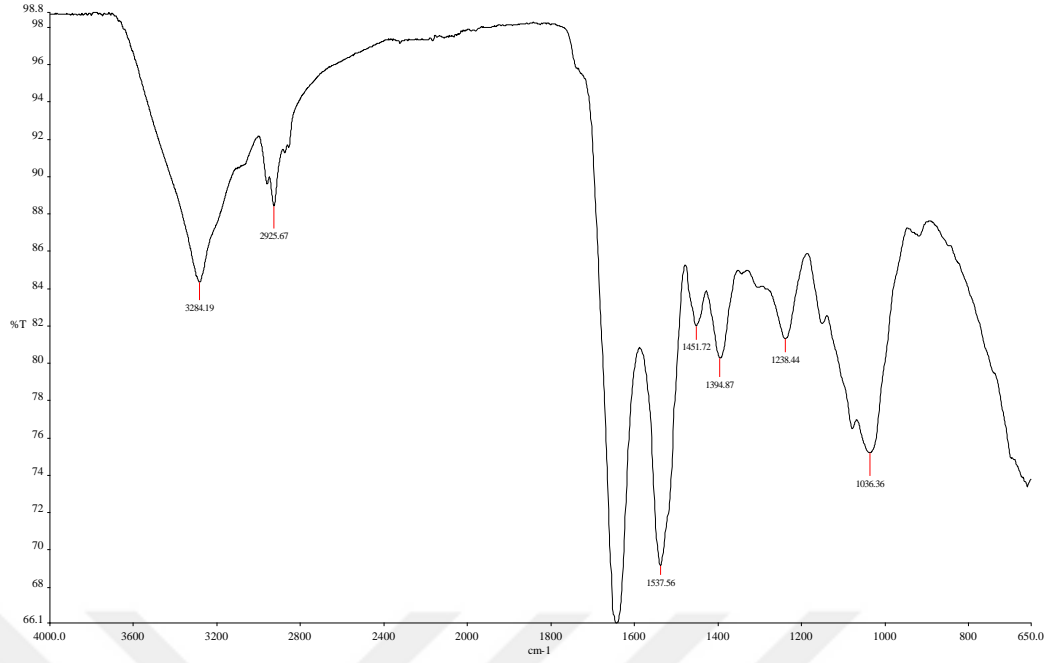
3.1. Aktif Madde ve Yardımcı Maddelerin Fizikokimyasal Özellikleri

3.1.1. Fourier Dönüümlü Kızılötesi Spektroskopisi ile Yapılan Çalışmalar

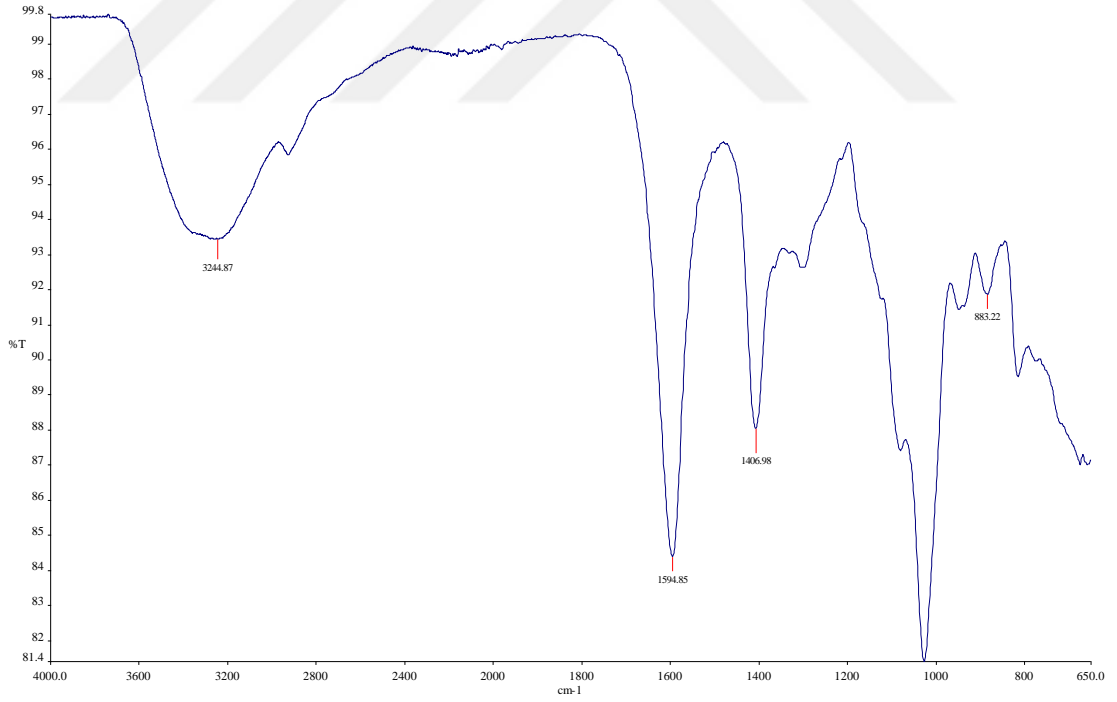
FT-IR çalışmaları yöntem 2.2.1.1’de belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen bulgulara ait sonuçlar Şekil 35 –40’de görülmektedir.



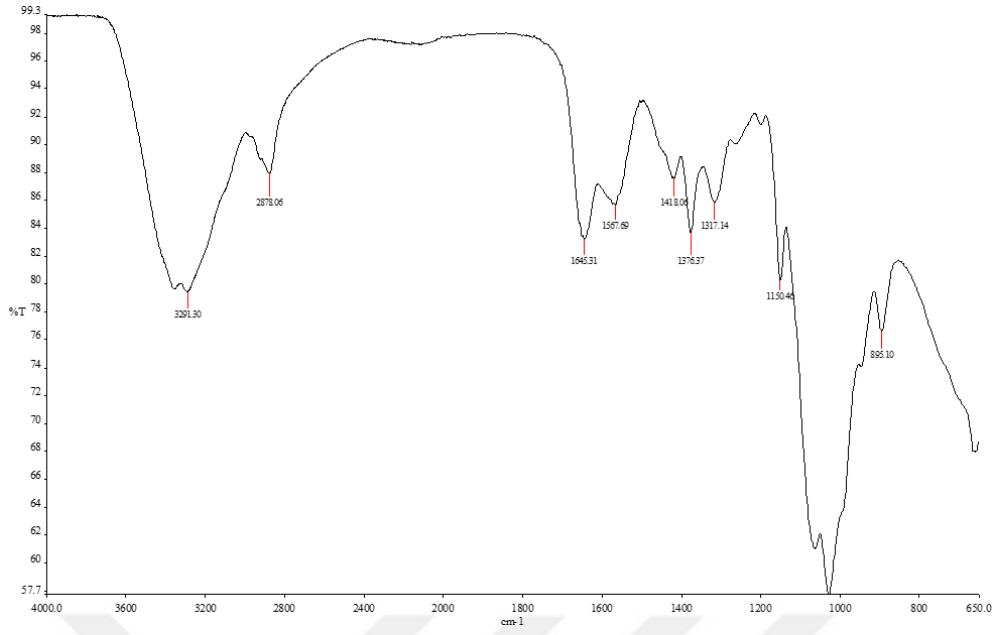
Şekil 35: İpek proteini FTIR spektrumu



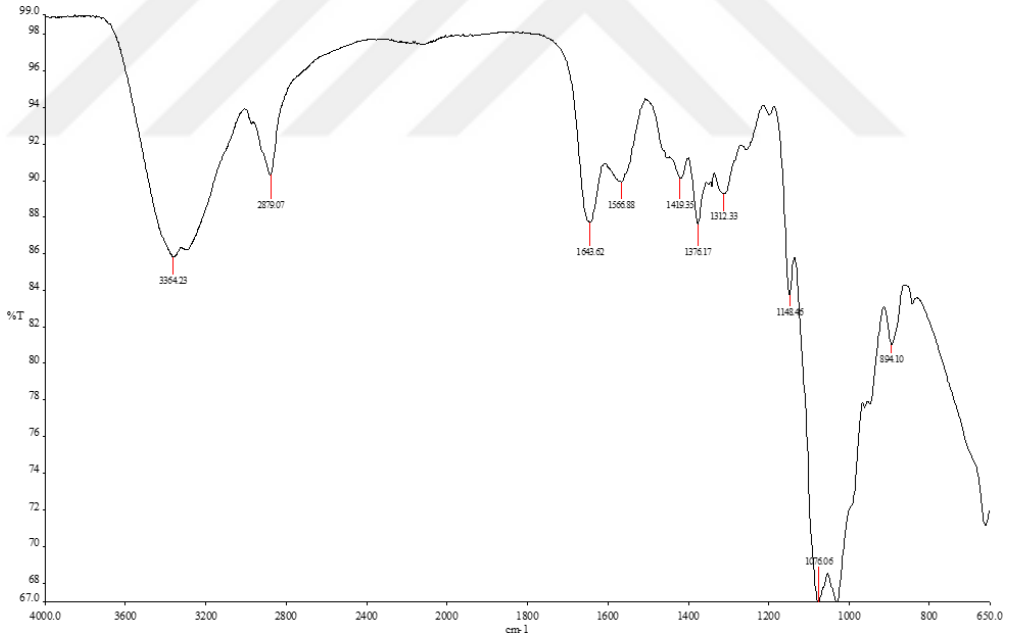
Şekil 36: Spirulina FTIR spektrumu



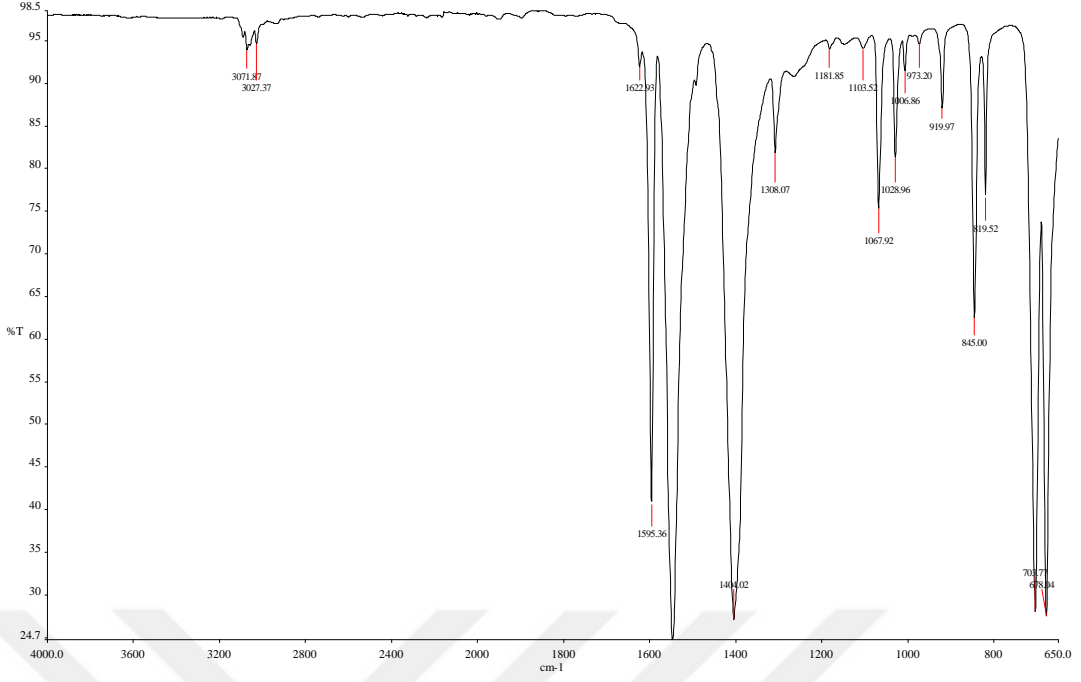
Şekil 37: Sodyum Aljinat FTIR spektrumu



Şekil 38: Kitosan (Yüksek Molekül Ağırlıklı) FTIR spektrumu



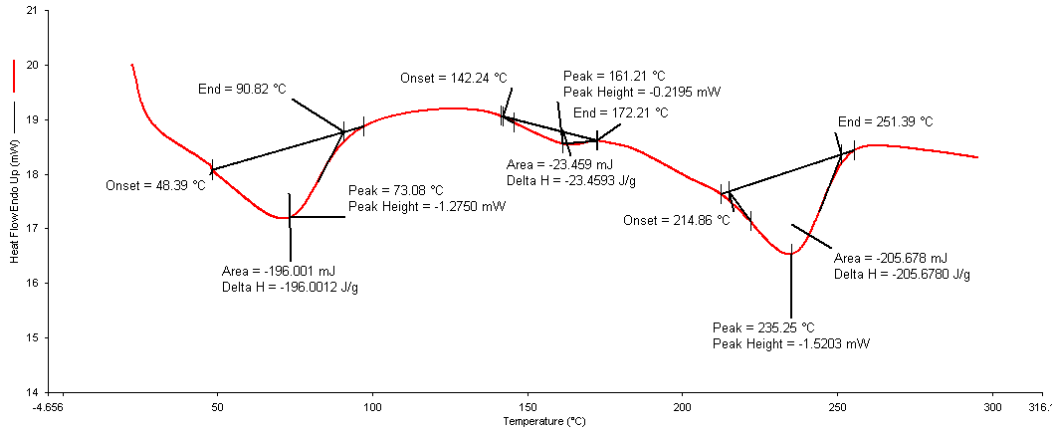
Şekil 39: Kitosan (Orta Molekül Ağırlıklı) FTIR spektrumu



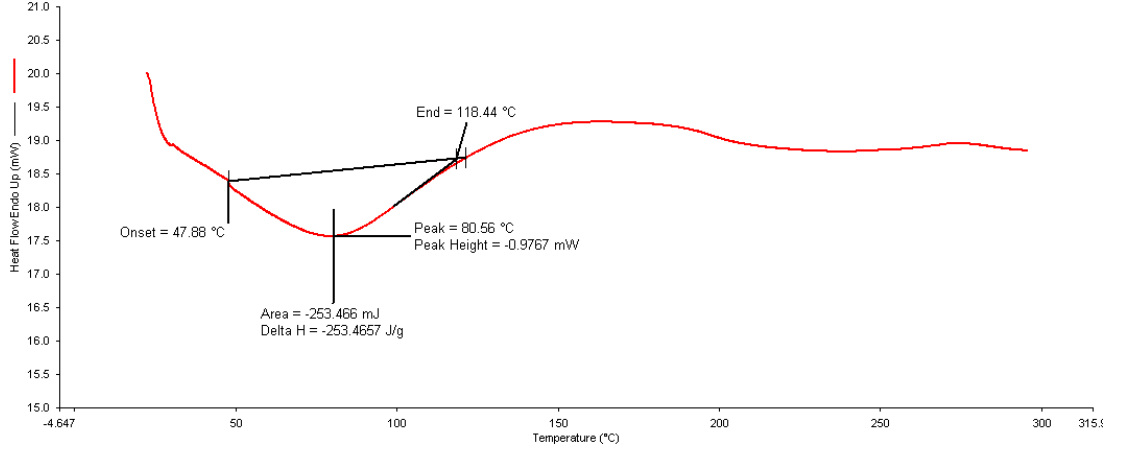
Şekil 40: Sodyum Benzoat FTIR spektrumu

3.1.2. Diferansiyel Tarama Kalorimetresi ile Yapılan Çalışmalar

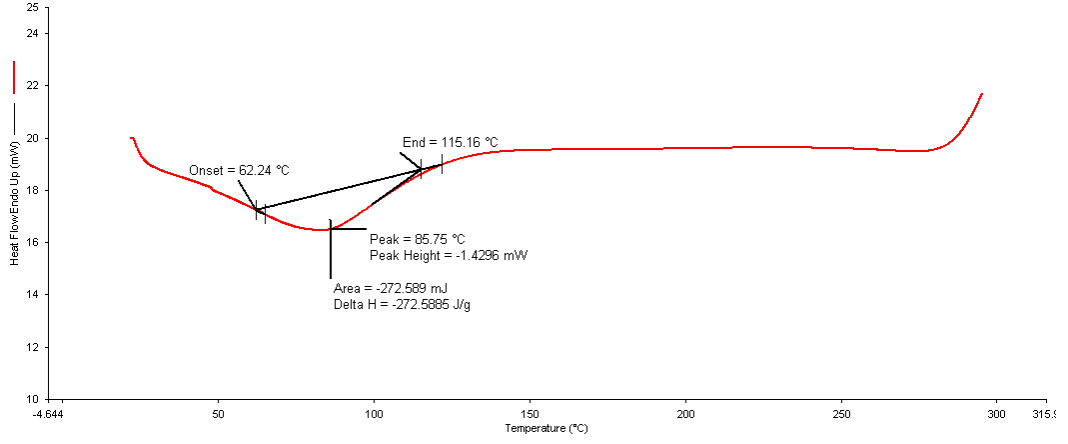
İpek proteini, spirulina, kitosan (yüksek molekül ağırlıklı), kitosan (orta molekül ağırlıklı), kalsiyum klorür ve sodyum aljinatın DTK çalışması yöntem: 2.2.1.2’de bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular sonuç Şekil 41 – Şekil 47’de sunulmuştur.



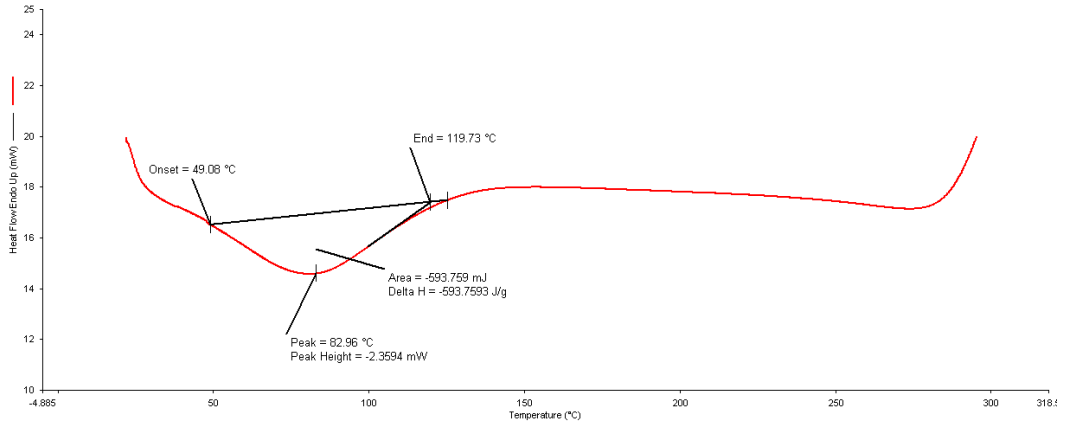
Şekil 41: İpek proteini DTK Sonuçları



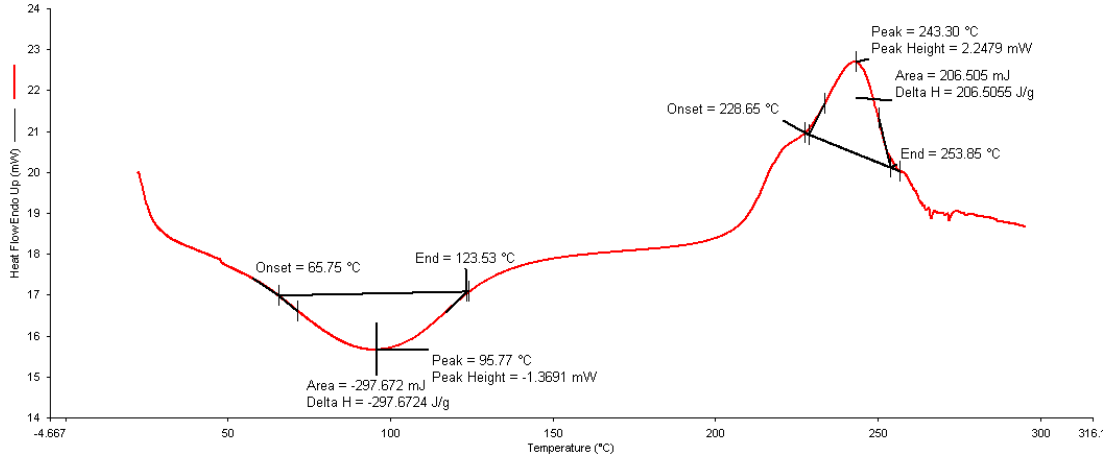
Şekil 42: Spirulina DTK Sonuçları



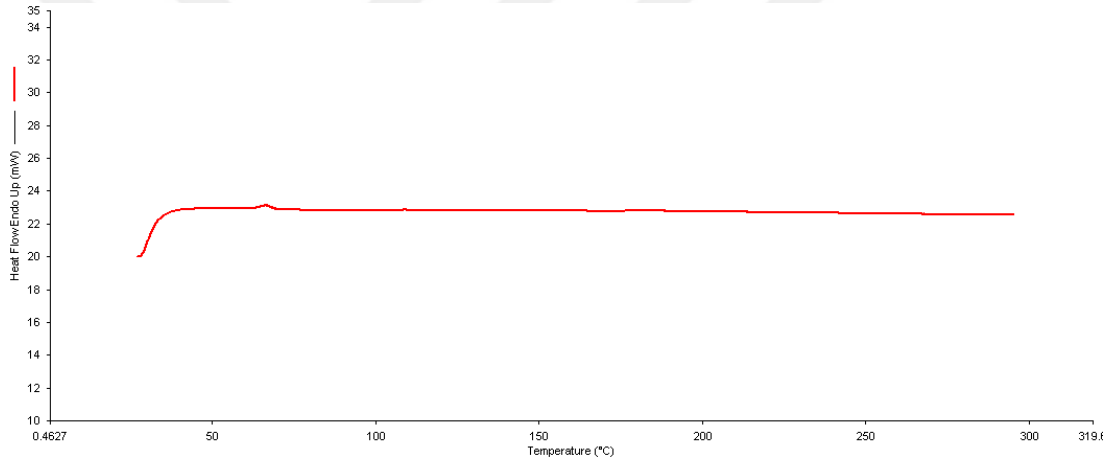
Şekil 43: Kitosan (Yüksek Molekül Ağırlıklı) DTK Sonuçları



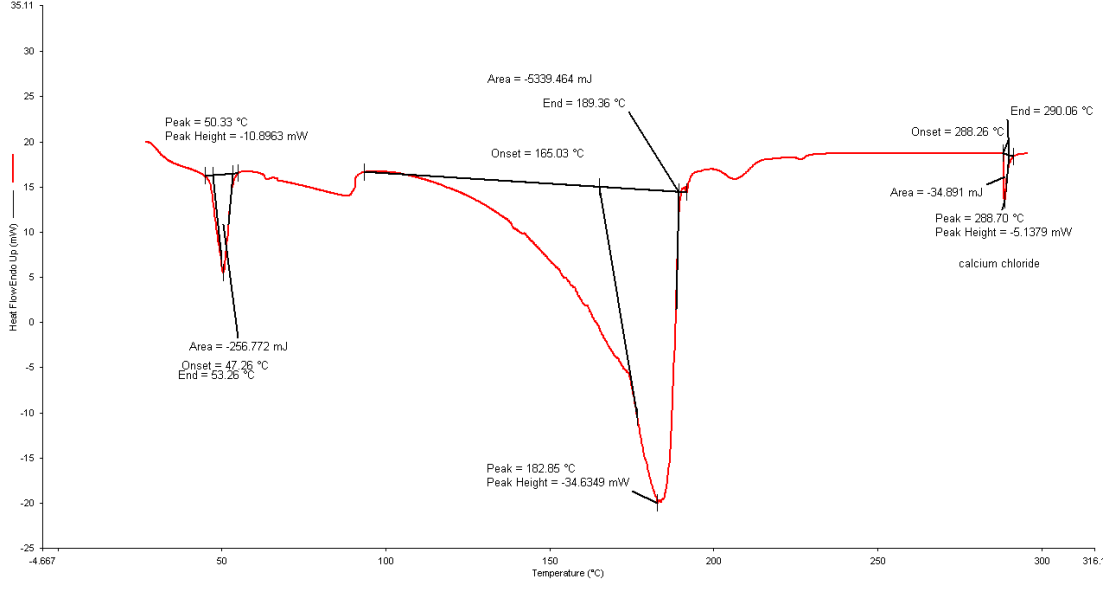
Şekil 44: Kitosan (Orta Molekül Ağırlıklı) DTK Sonuçları



Şekil 45: Sodyum Aljinat DTK Sonuçları



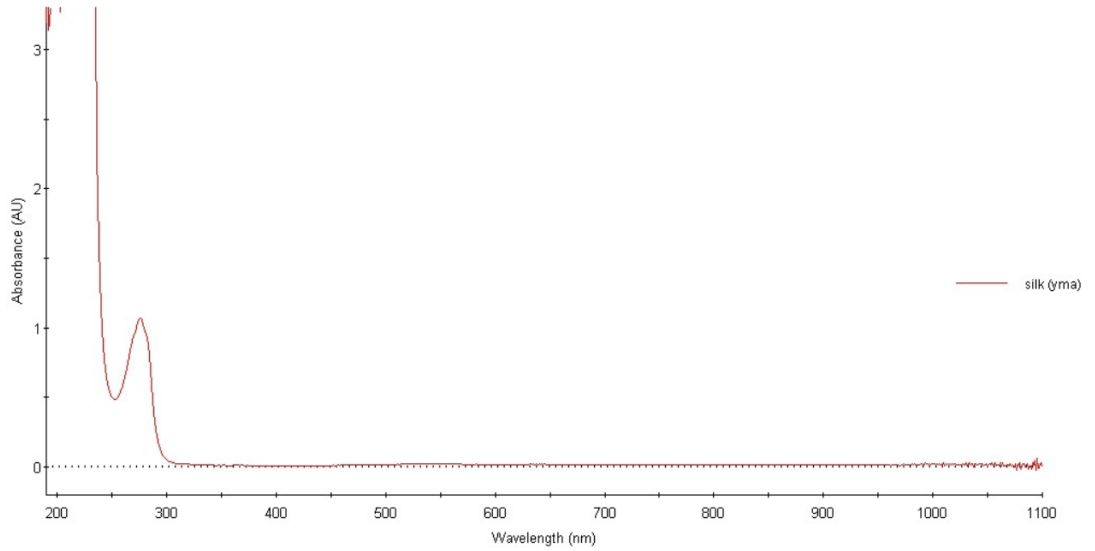
Şekil 46: Sodyum Benzoat DTK Sonuçları



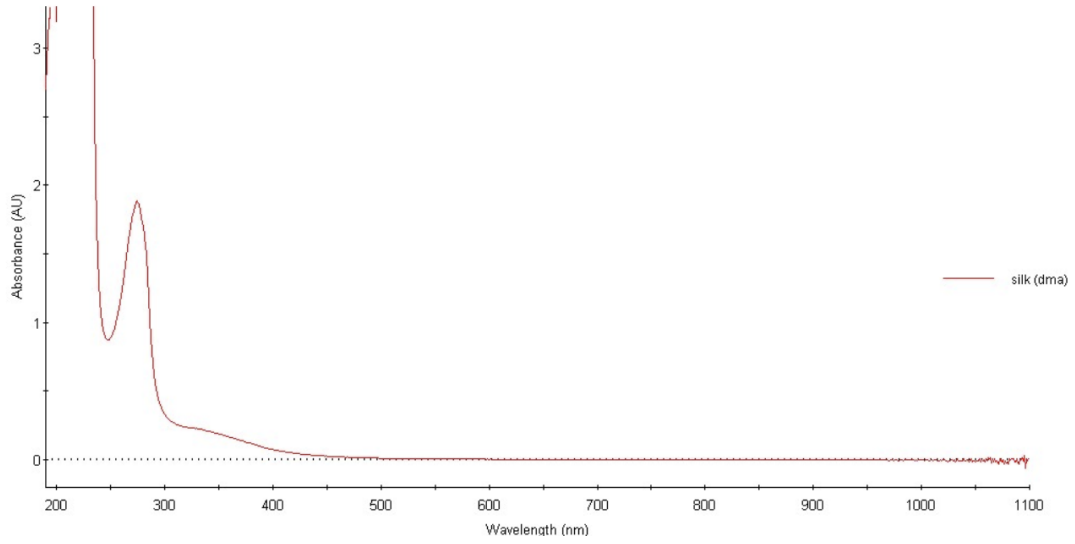
Şekil 47: Kalsiyum Klorür DTK Sonuçları

3.1.3. UV Spektrumu Analizleri

İpek proteini (sıvı form) ve ipek proteini (liyofilize toz) UV Spektrumu analizleri 2.2.1.2’de bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular sonuç Şekil 48 – Şekil 49’da sunulmuştur.



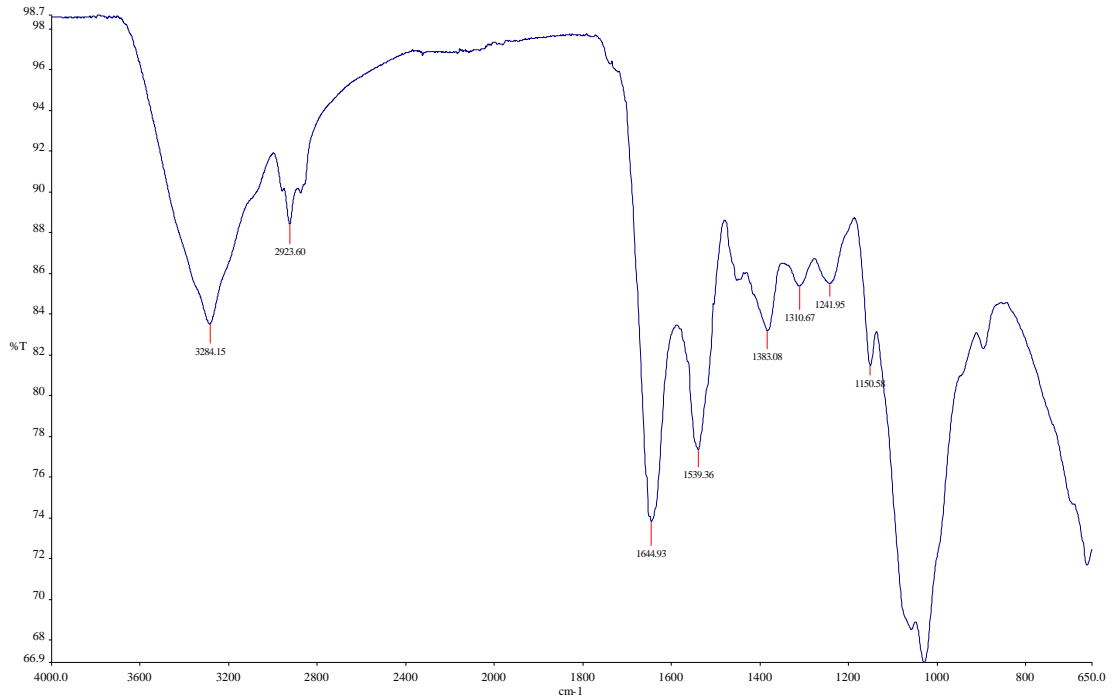
Şekil 48: İpek proteini (sıvı form) UV Spektrumu



Şekil 49: İpek proteini (liyofilize toz) UV Spektrumu

3.1.4. Geçimlilik Çalışmaları

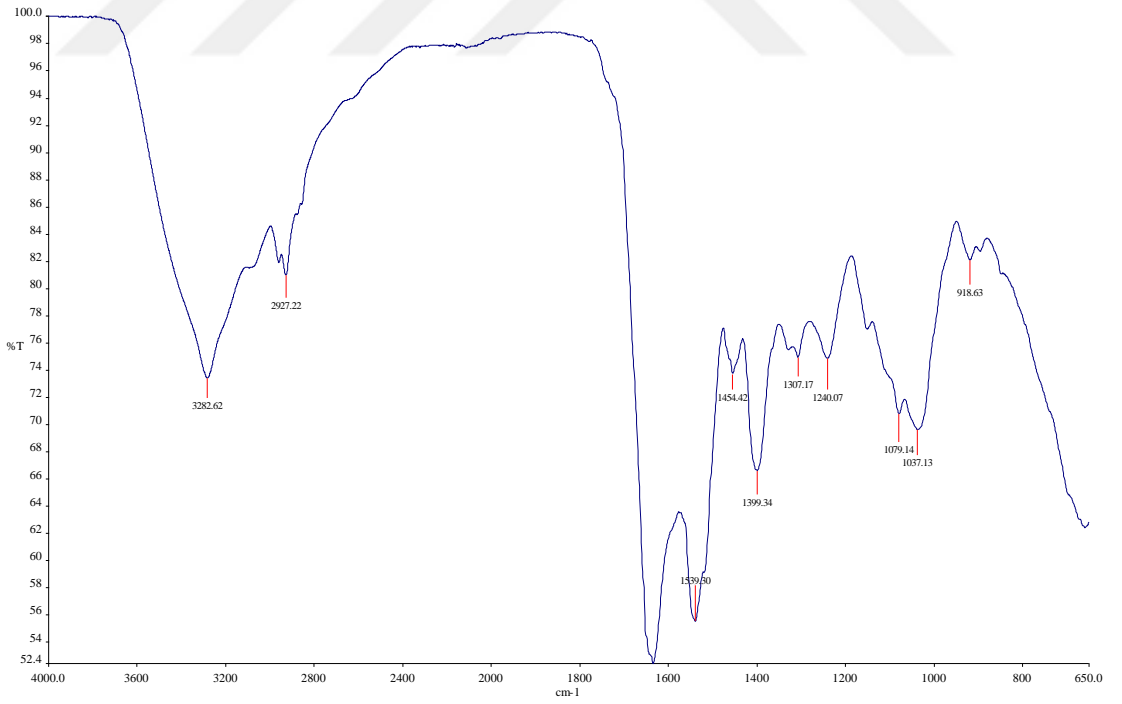
İpek proteini, spirulina, kitosan, sodyum aljinat, sodyum benzoat ve kalsiyum klorür ile yapılan geçimlilik çalışmaları yöntemi 2.2.1.4'te bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular sonuç Şekil 50 – Şekil 73'te sunulmuştur.



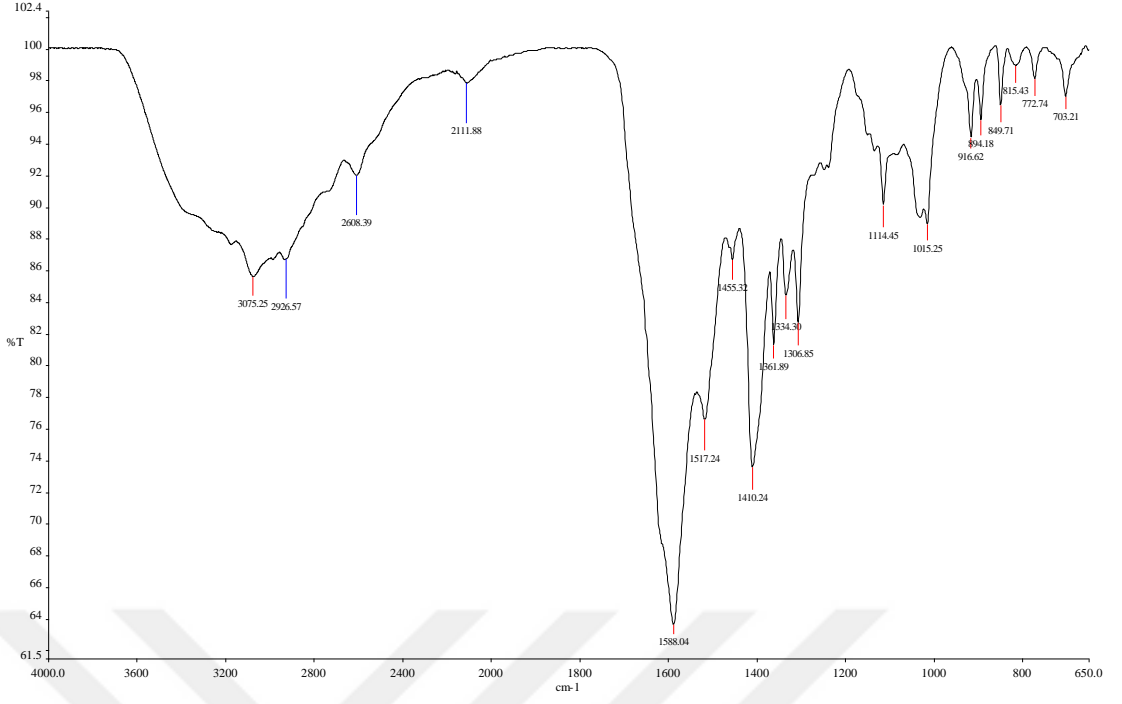
Şekil 50: Spirulina ve Kitosan karışımı FTIR Spektrumu



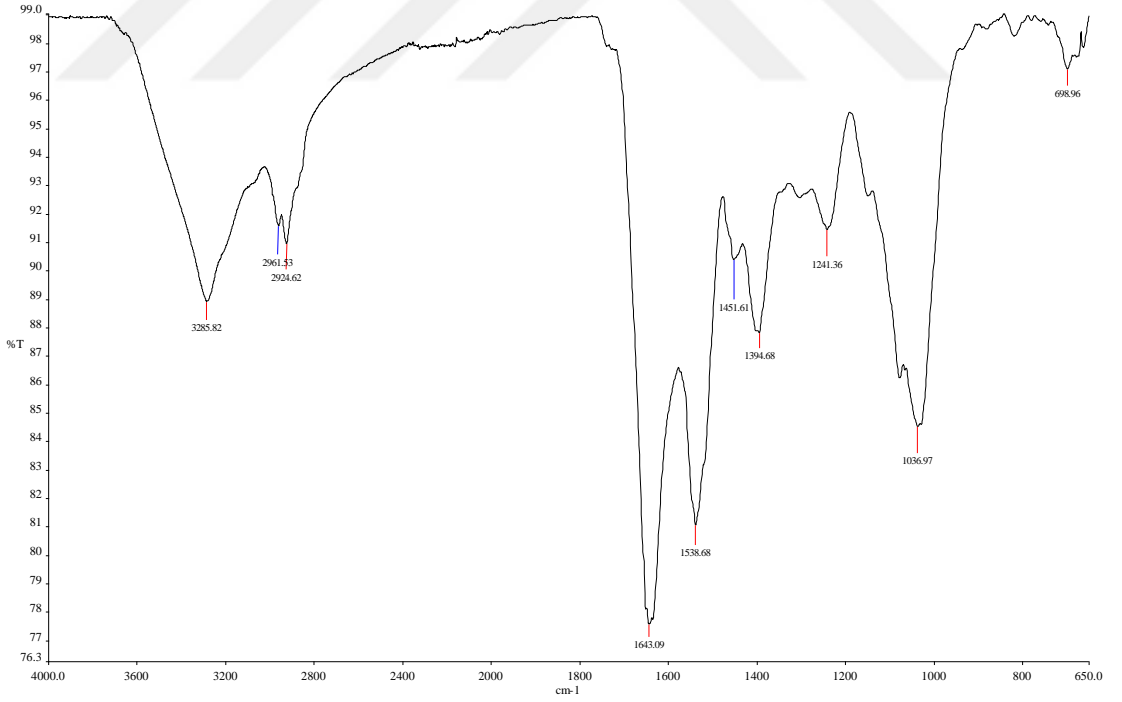
Şekil 51: İpek proteini ve Kitosan karışımı FTIR Spektrumu



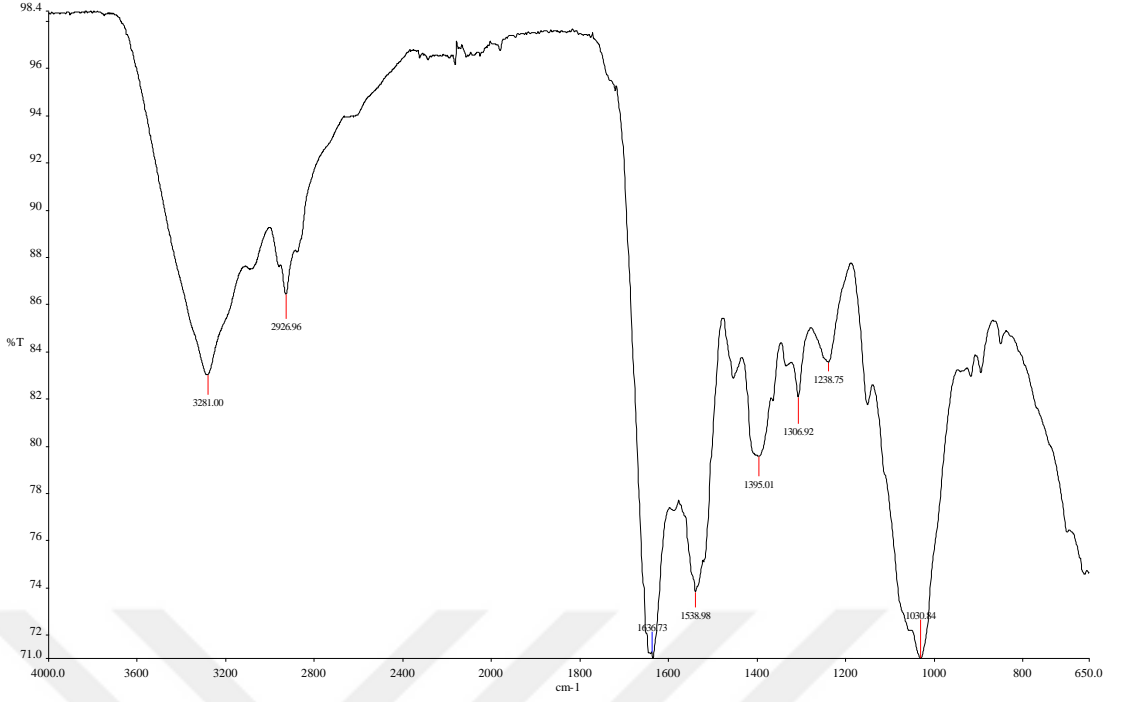
Şekil 52: İpek proteini ve Spirulina karışımı FTIR Spektrumu



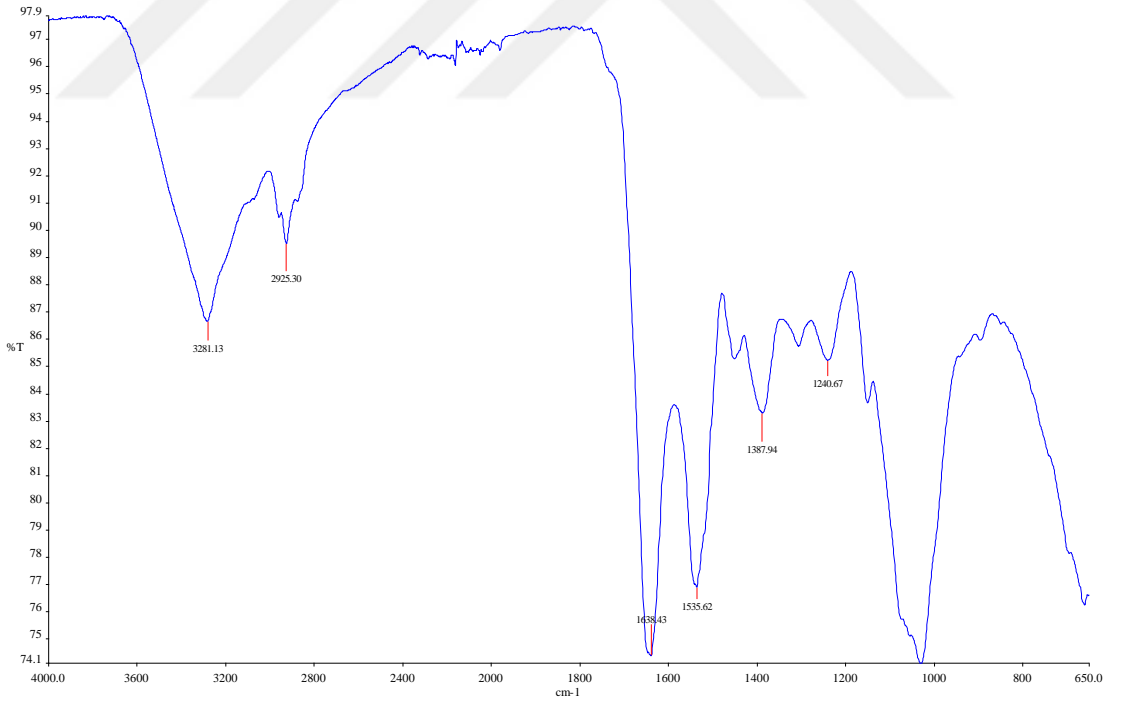
Şekil 53: İpek proteini ve Sodyum Aljinat karışımı FTIR Spektrumu



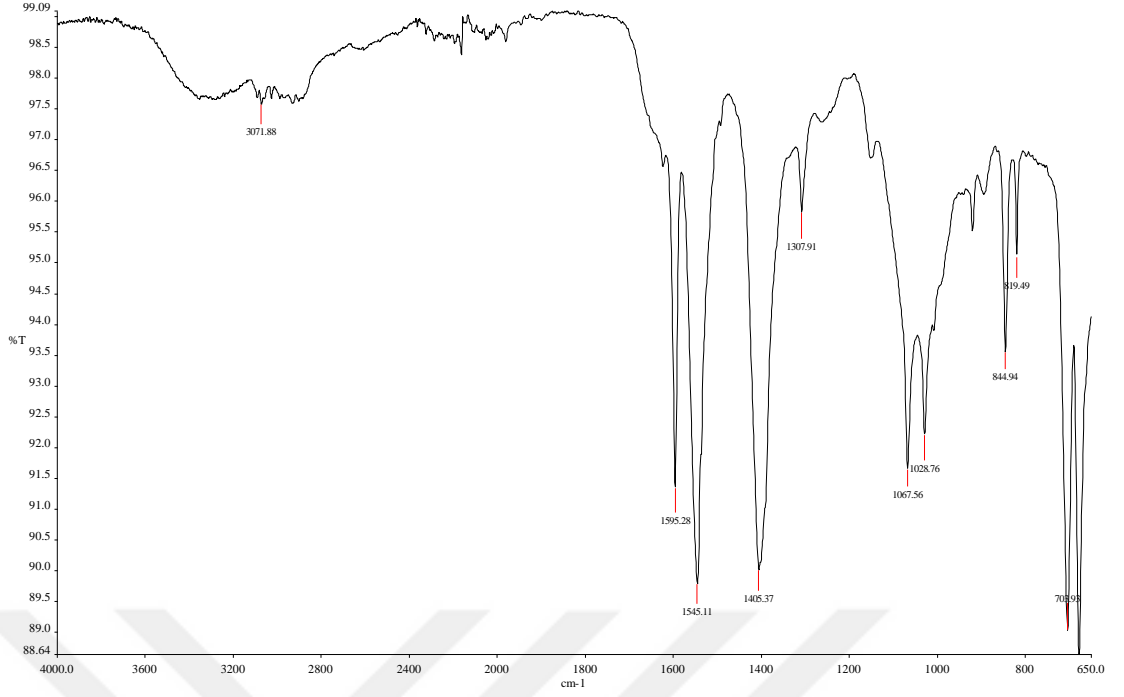
Şekil 54: Spirulina ve Sodyum Aljinat karışımı FTIR Spektrumu



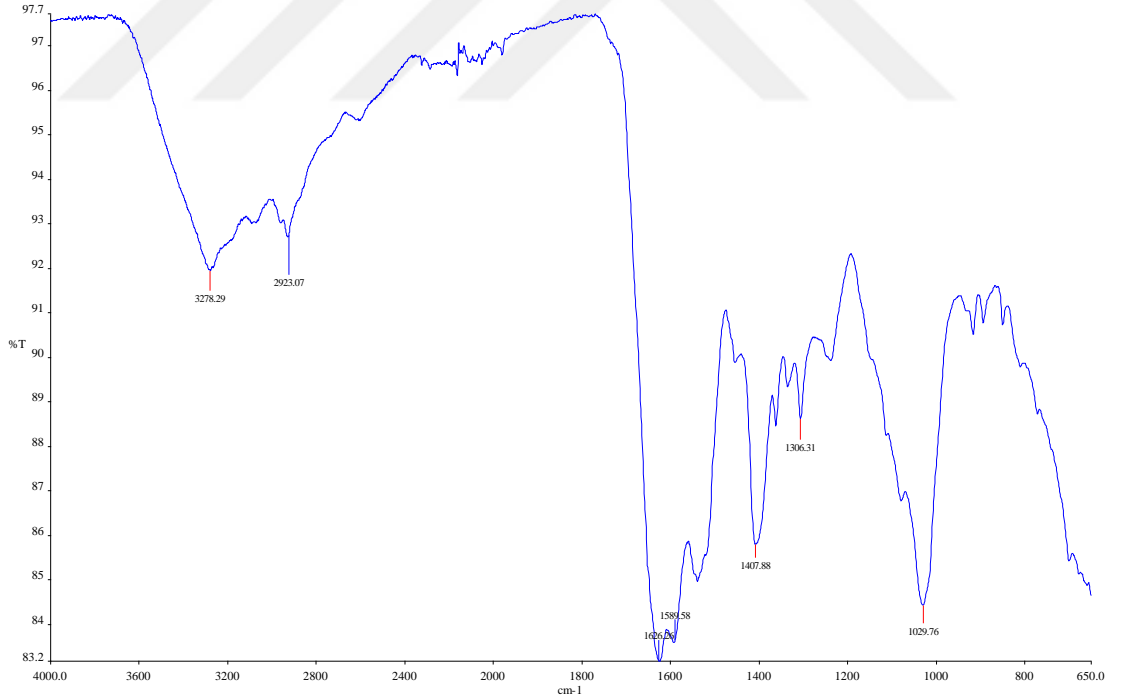
Şekil 55: Spirulina, Kitosan ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu



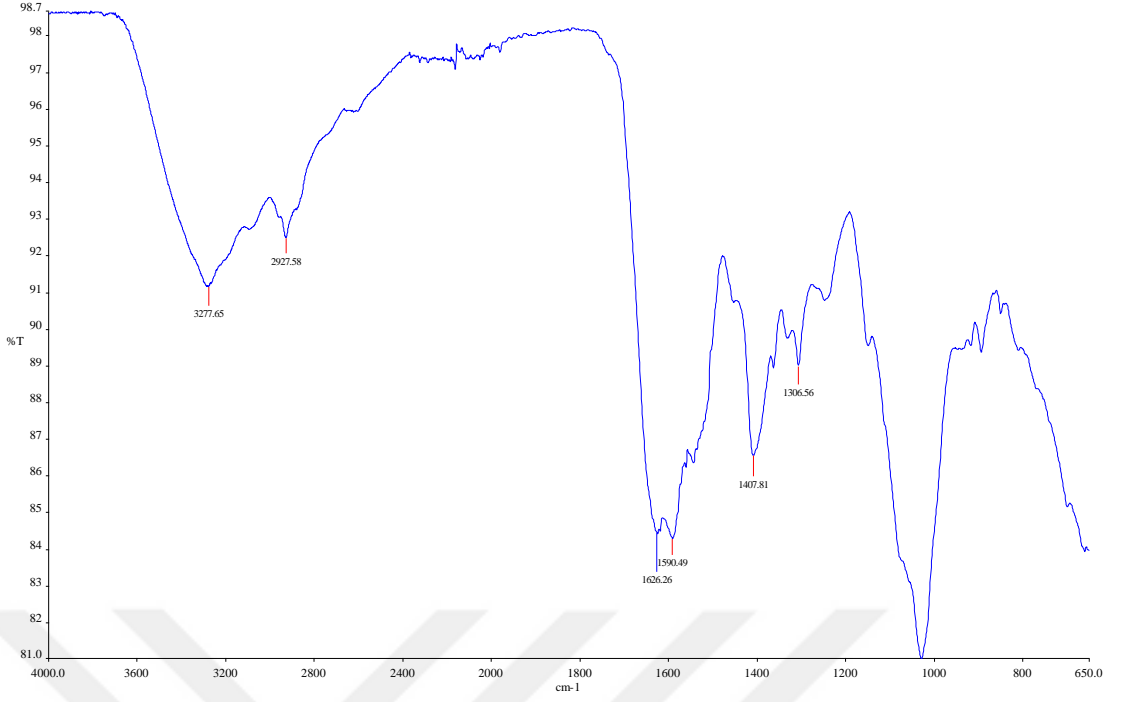
Şekil 56: Sodyum Benzoat, Kitosan ve Spirulina karışımı FTIR Spektrumu



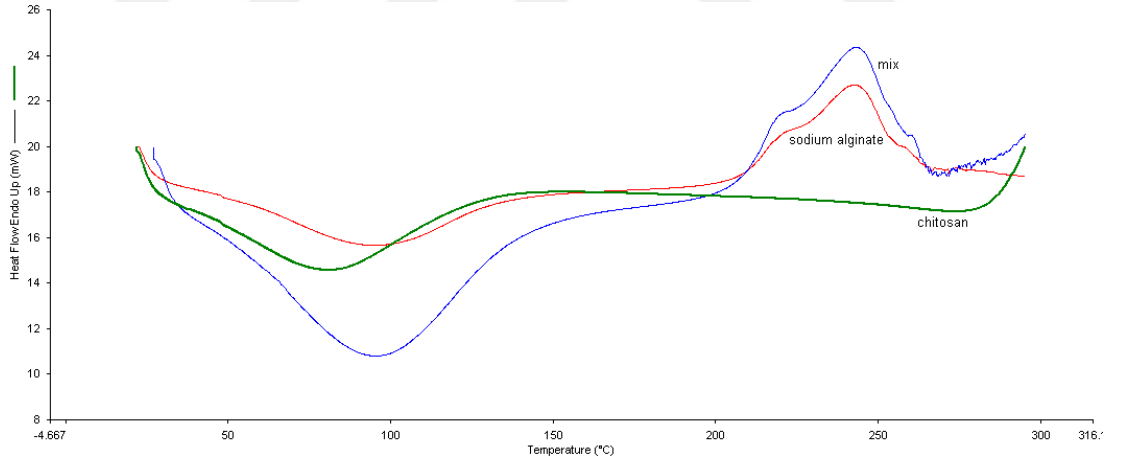
Şekil 57: Sodyum Benzoat, Kitosan ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu



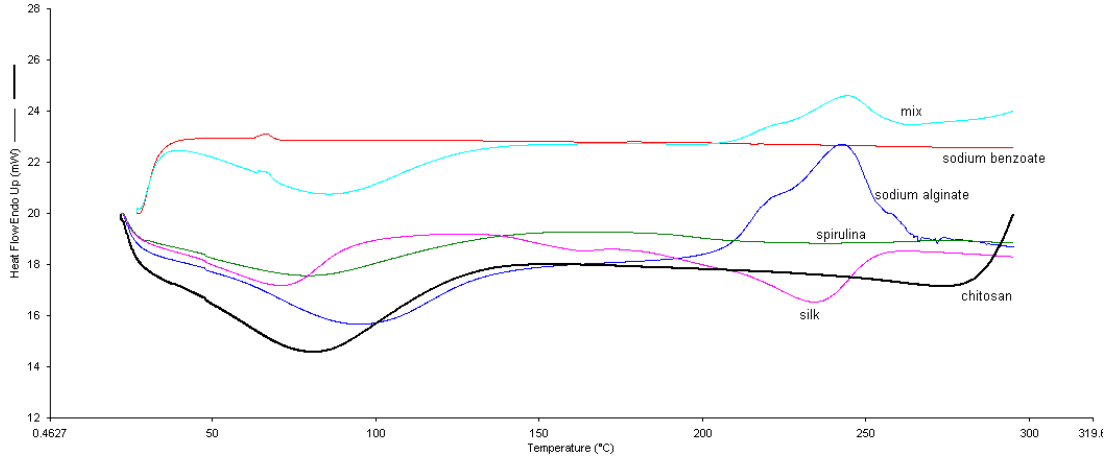
Şekil 58: Spirulina, Sodyum Aljinat ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu



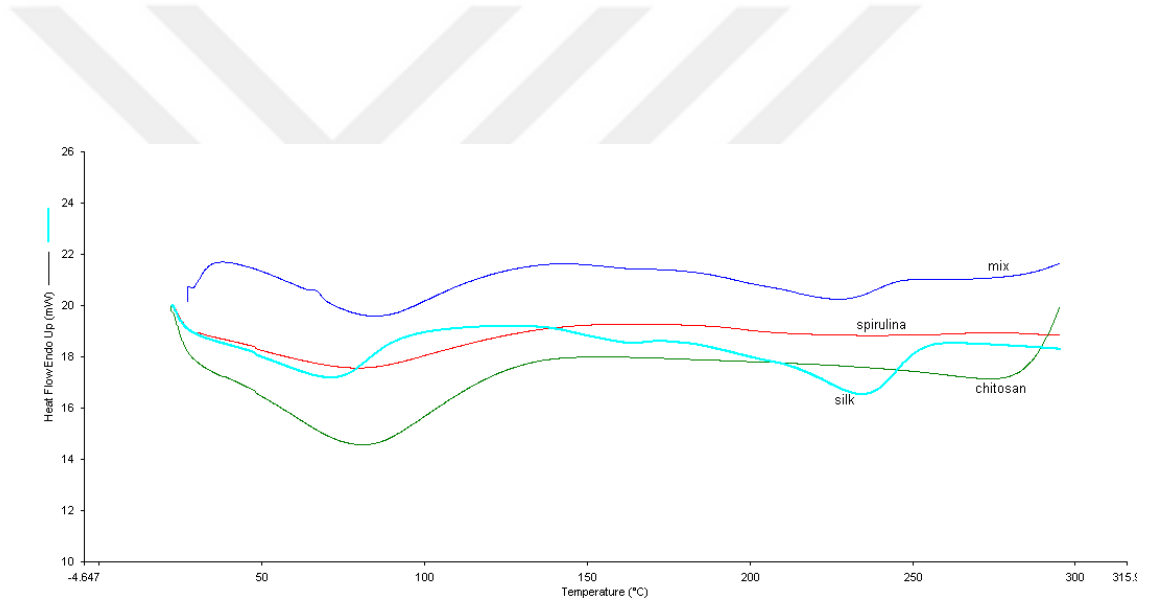
Şekil 59: Spirulina, Sodyum Aljinat, Sodyum Benzoat, Kitosan ve İpek proteini karışımı FTIR Spektrumu



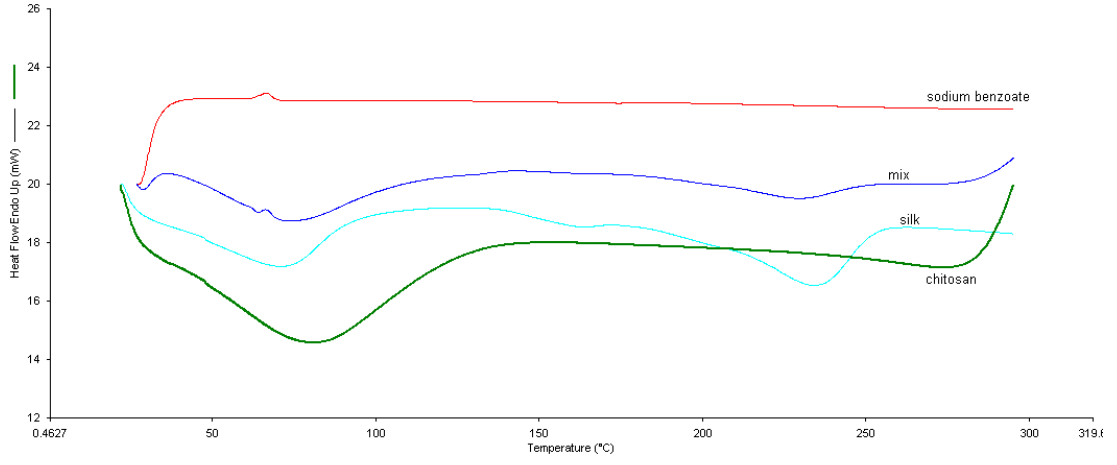
Şekil 60: Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları



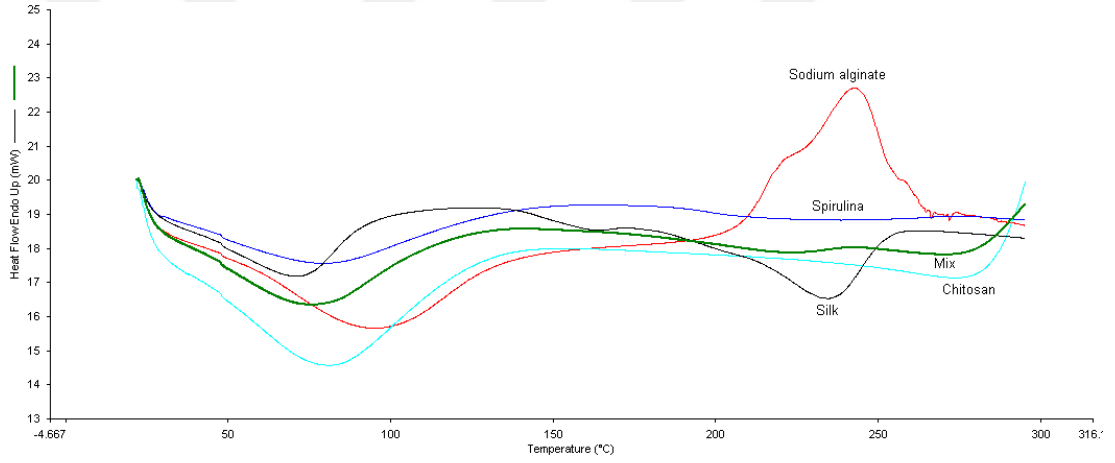
Şekil 61: İpek proteini, Spirulina, Sodyum Benzoat, Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları



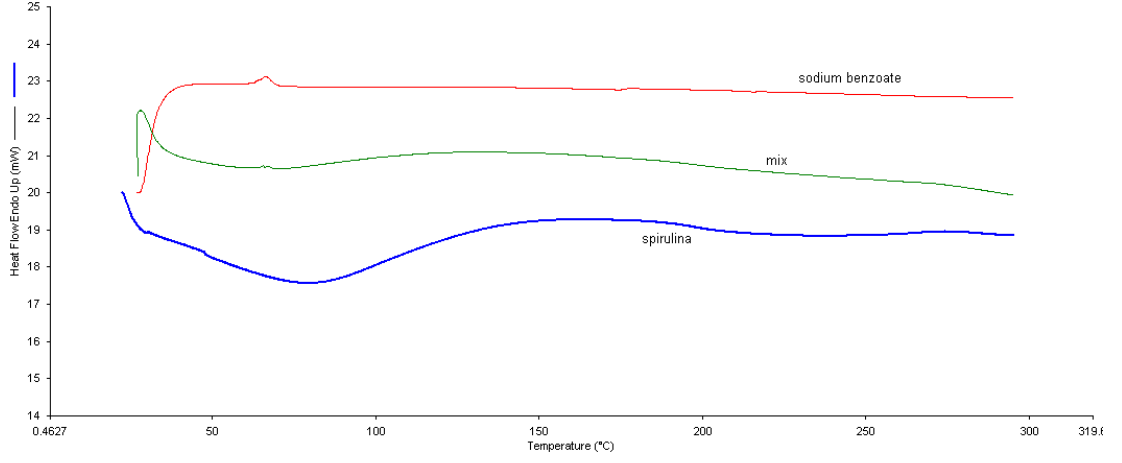
Şekil 62: İpek proteini, Kitosan ve Spirulina DTK Sonuçları



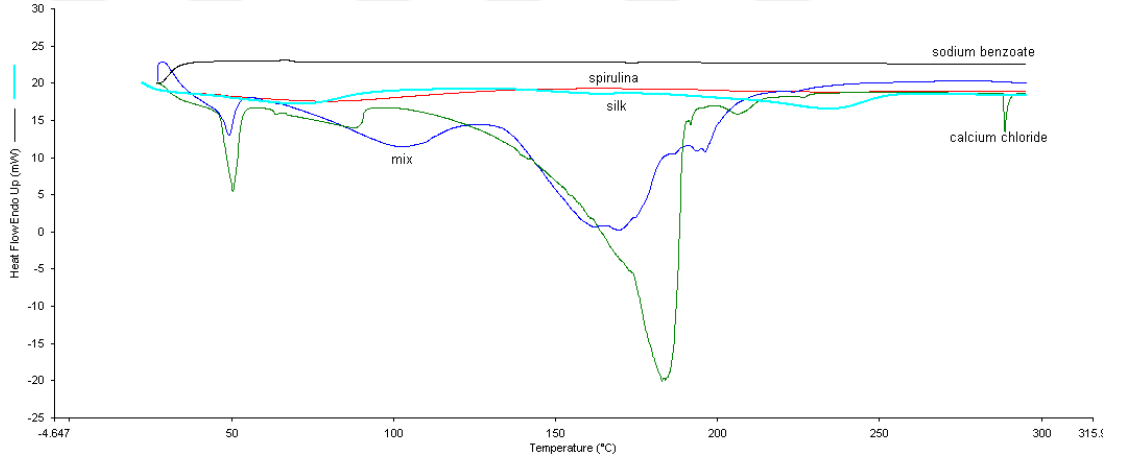
Şekil 63: İpek proteini, Sodyum Benzoat ve Kitosan Karışımı DTK Sonuçları



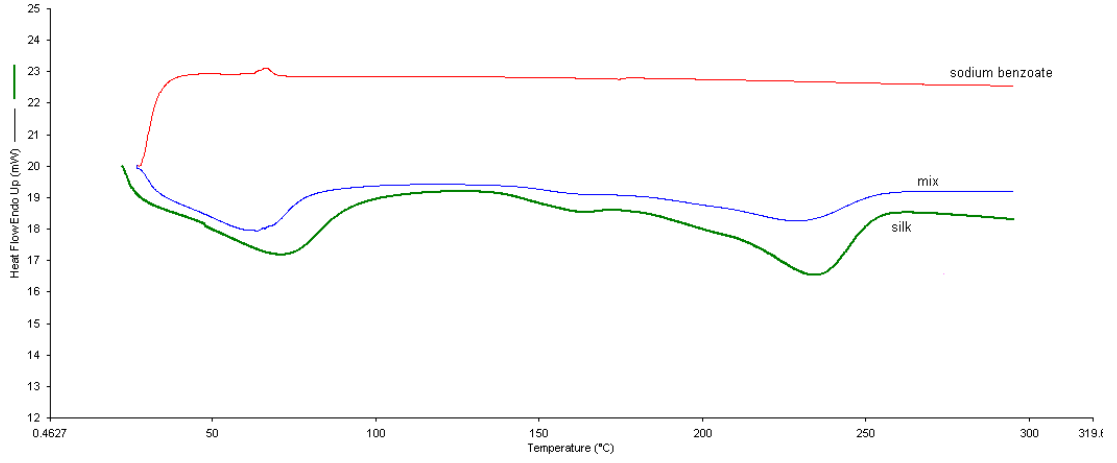
Şekil 64: İpek proteini, Spirulina, Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları



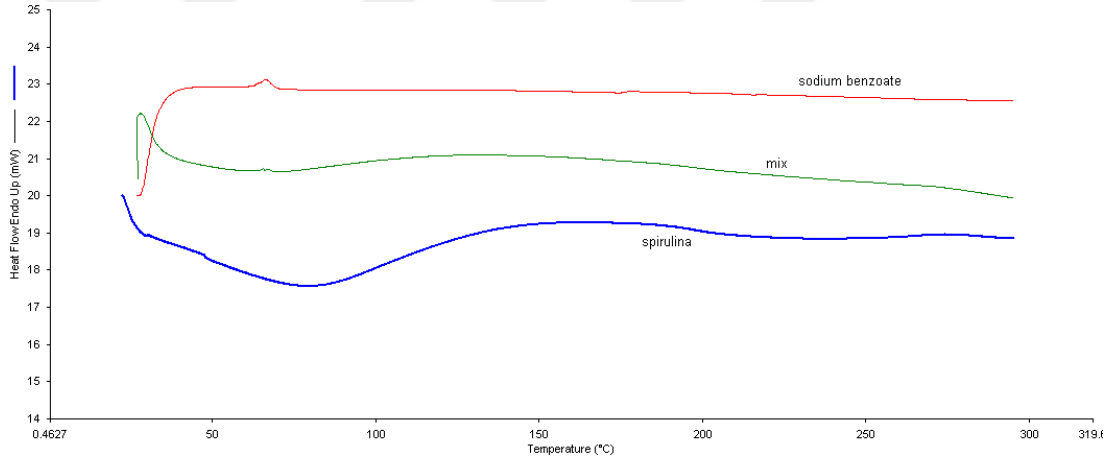
Şekil 65: Spirulina ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları



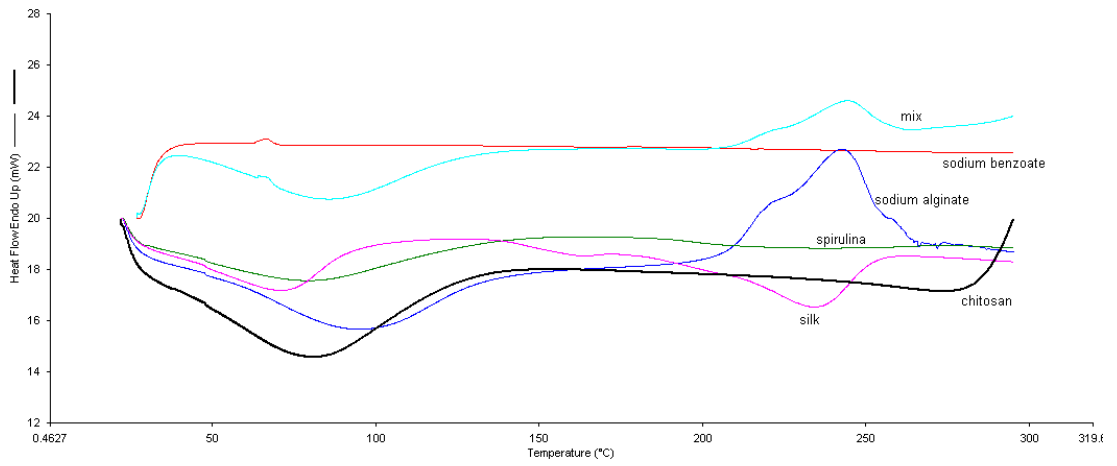
Şekil 66: İpek proteini, Spirulina, Kalsiyum Klorür ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları



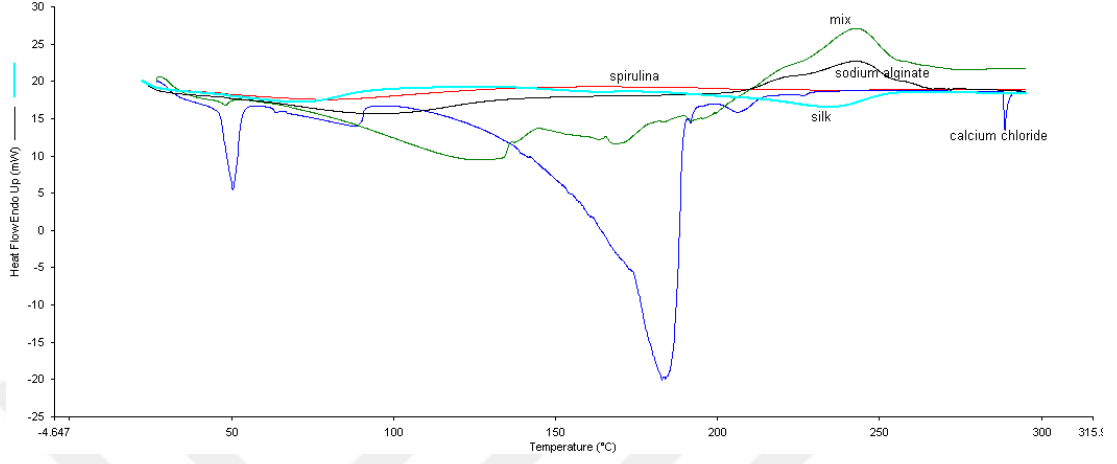
Şekil 67: İpek proteini ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları



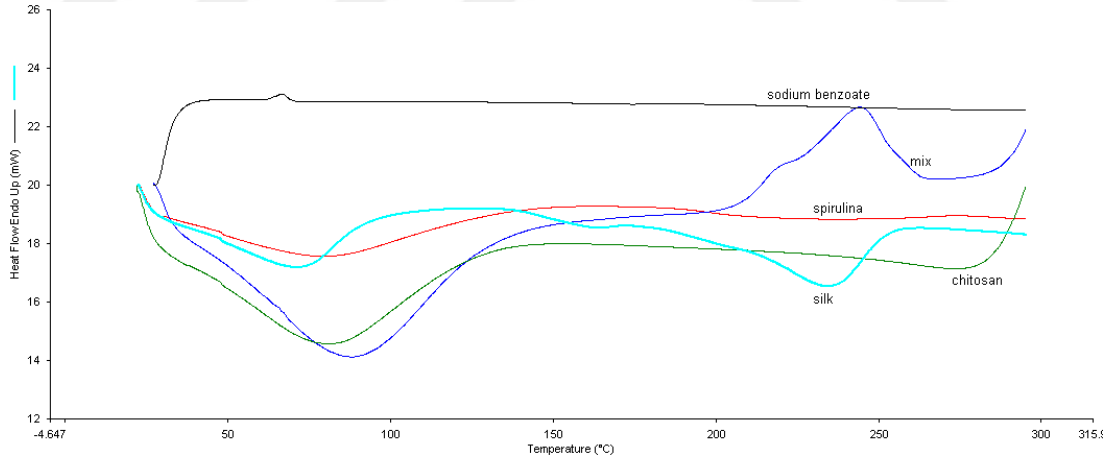
Şekil 68: Spirulina ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları



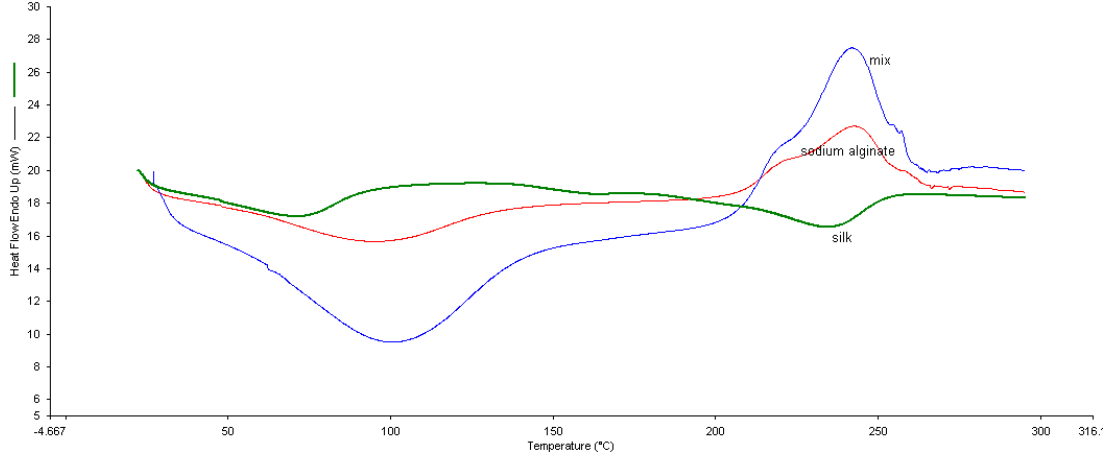
Şekil 69: İpek proteini, Spirulina, Kitosan, Sodyum Benzoat ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları



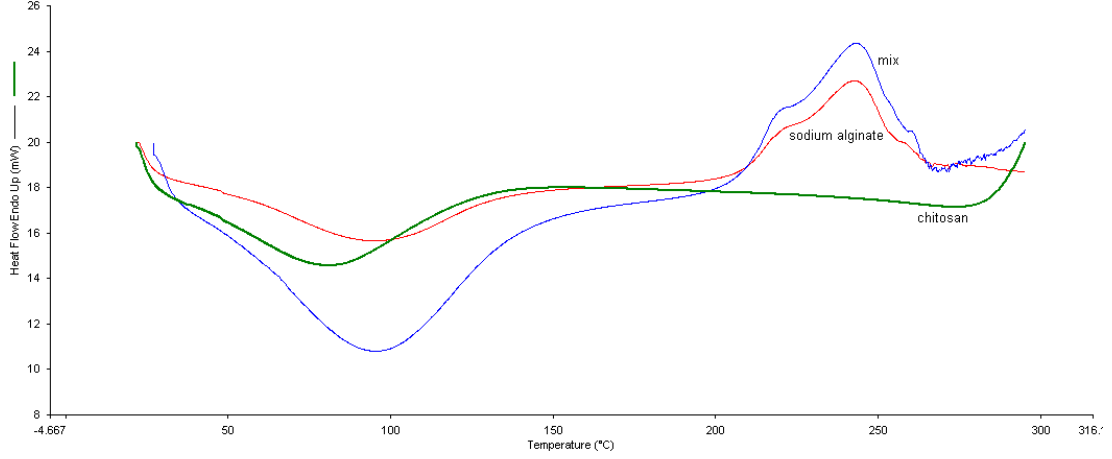
Şekil 70: İpek proteini, Spirulina, Kalsiyum Klorür ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları



Şekil 71: İpek proteini, Spirulina, Kitosan ve Sodyum Benzoat Karışımı DTK Sonuçları



Şekil 72: İpek proteini ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları



Şekil 73: Kitosan ve Sodyum Aljinat Karışımı DTK Sonuçları

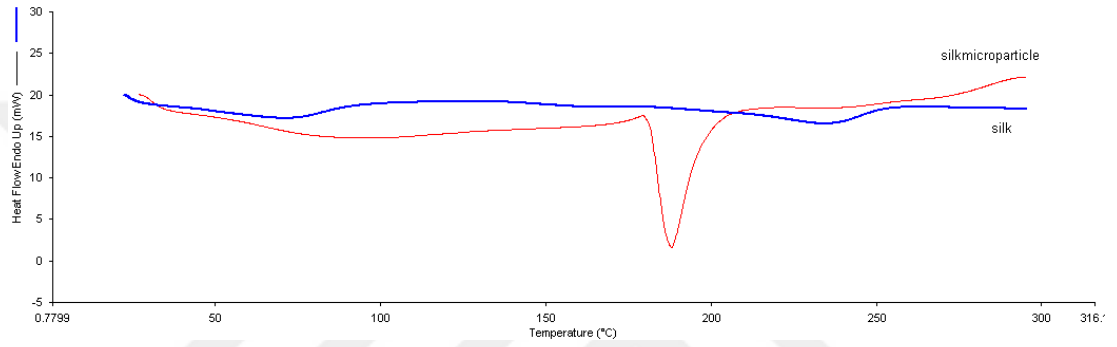
3.2.1. Formülasyon Optimizasyonu

Formülasyon çalışmaları Yöntemler Bölümü 2.2.2.1’de anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Optimize mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonun G3 formülasyonu olmasına karakterizasyon çalışmaları sonucunda karar verilmiştir.

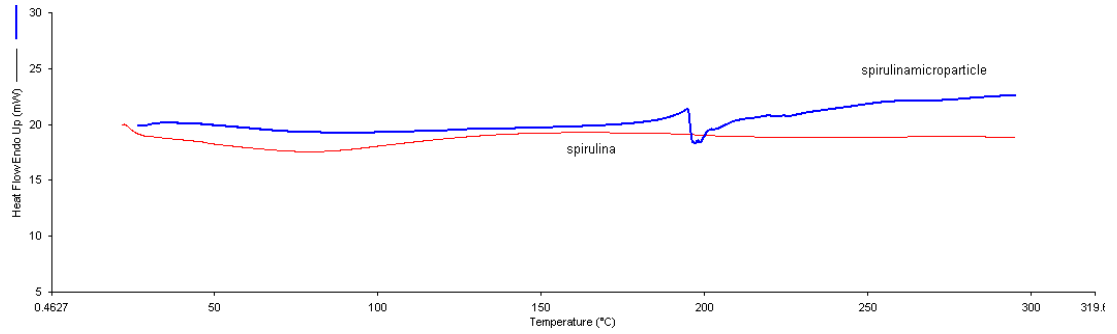
3.3. Formülasyon Karakterizasyon Çalışmalarına ait Bulgular

3.3.1. Mikropartikül Formülasyonlarda Diferansiyel Tarama Kalorimetresi ile Yapılan Çalışmalar

İpek proteini mikropartikülleri ve spirulina mikropartikülleri ile gerçekleştirilen DTK çalışması yöntem: 2.2.3.1’de bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Şekil 74 – Şekil 75’te sunulmuştur.



Şekil 74: İpek Mikropartikülleri DTK Sonuçları



Şekil 75: Spirulina Mikropartikülleri DTK Sonuçları

3.3.2. Elde Edilen Mikropartiküllerin % Verimi

Formülasyonlarda yapılan %verim hesabı 2.2.3.2’de bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Tablo 15’te sunulmuştur.

Tablo 15: Mikropartikül Formülasyonları % Verim Sonuçları

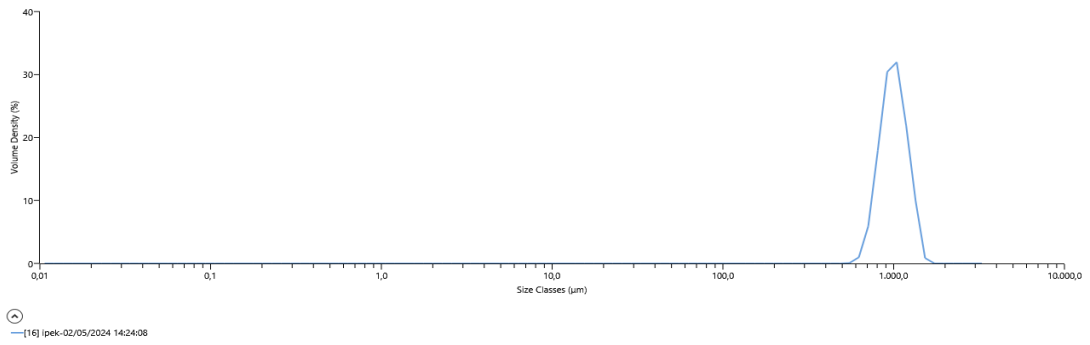
Formülasyon	% Verim
F2	84.91
F3	77.45
F4	86.14
F5	87.23
F6	87.32
F7	89.76
F8	88.08
F9	90.45

3.3.3. Mikropartikül Formülasyonlarında Partikül Büyüklüğü ve Dağılımı Analizi

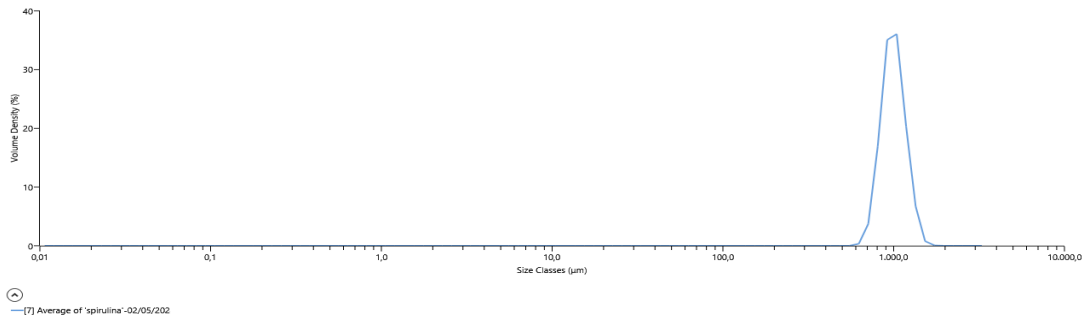
Mikropartikül formülasyonlarının partikül büyüklüğünün ve partikül boyutu dağılımının belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerin yöntemi 2.2.3.3’de bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Tablo 16, Şekil 76 – Şekil 77’de sunulmuştur.

Tablo 16: Mikropartikül Formülasyonlarında Partikül Büyüklüğü Sonuçları

	İpek proteini mikropartikülleri	Spirulina partikülleri
Span değeri	0,46±0,04	0,41±0,07
D(10)	790± 0,58 µm	812±1,00 µm
D(50)	995±2,65 µm	990± 1,53µm
D(90)	1240±2,52 µm	1220±2,65 µm



Şekil 76: İpek Proteini Mikropartikülleri Partikül Büyüklüğü Grafiği



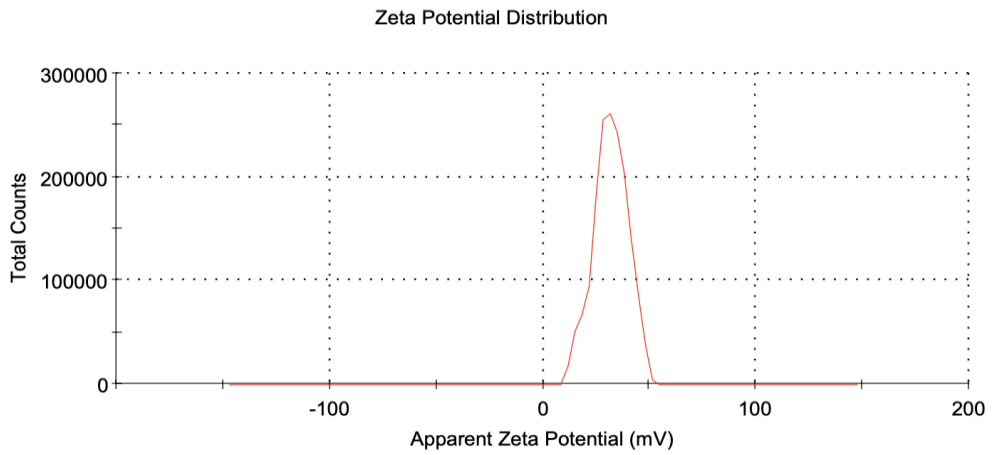
Şekil 77: Spirulina Mikropartikülleri Partikül Büyüklüğü Grafiği

3.3.4. Mikropartikül Formülasyonların Zeta Potansiyeli

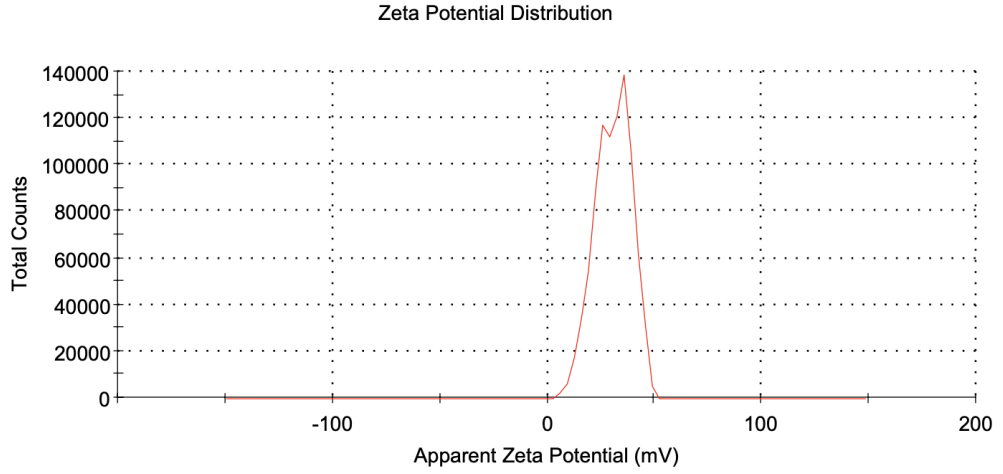
Mikropartikül formülasyonlarının zeta potansiyelinin belirlenmesi amacıyla yapılan analizlerin yöntemi 2.2.3.4'te bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Tablo 17, Şekil 78 – Şekil 79'da sunulmuştur.

Tablo 17: Mikropartikül Formülasyonlarında Zeta Potansiyeli Sonuçları

	Zeta Potansiyeli
İpek proteini mikropartikülleri	+31,70±0,10 mV
Spirulina partikülleri	+30,70±0,06 mV



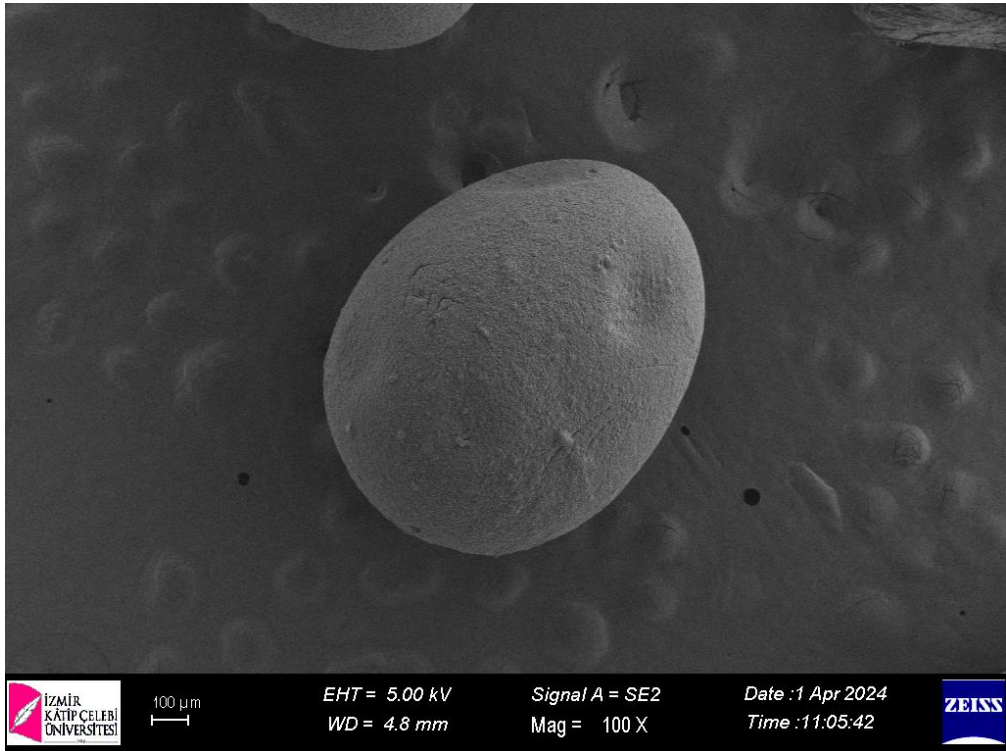
Şekil 78: İpek Proteini Mikropartikülleri Zeta Potansiyeli Grafiği



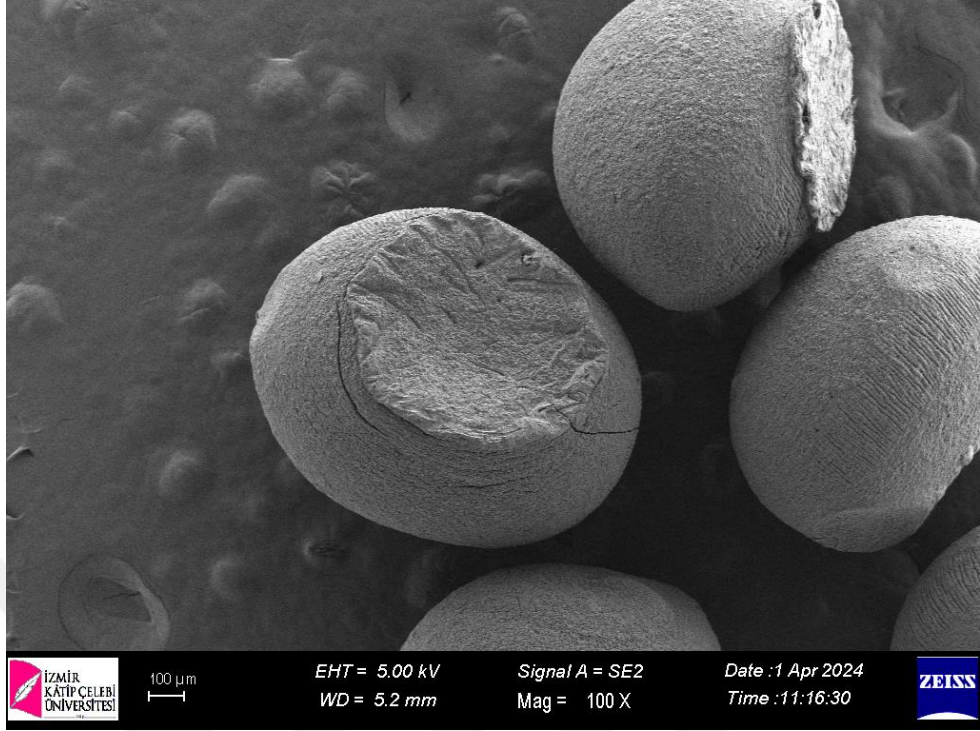
Şekil 79: Spirulina Mikropartikülleri Zeta Potansiyeli Grafiği

3.3.5. Mikropartikül Formülasyonlarının Partikül Yüzey Morfolojisi Tayini

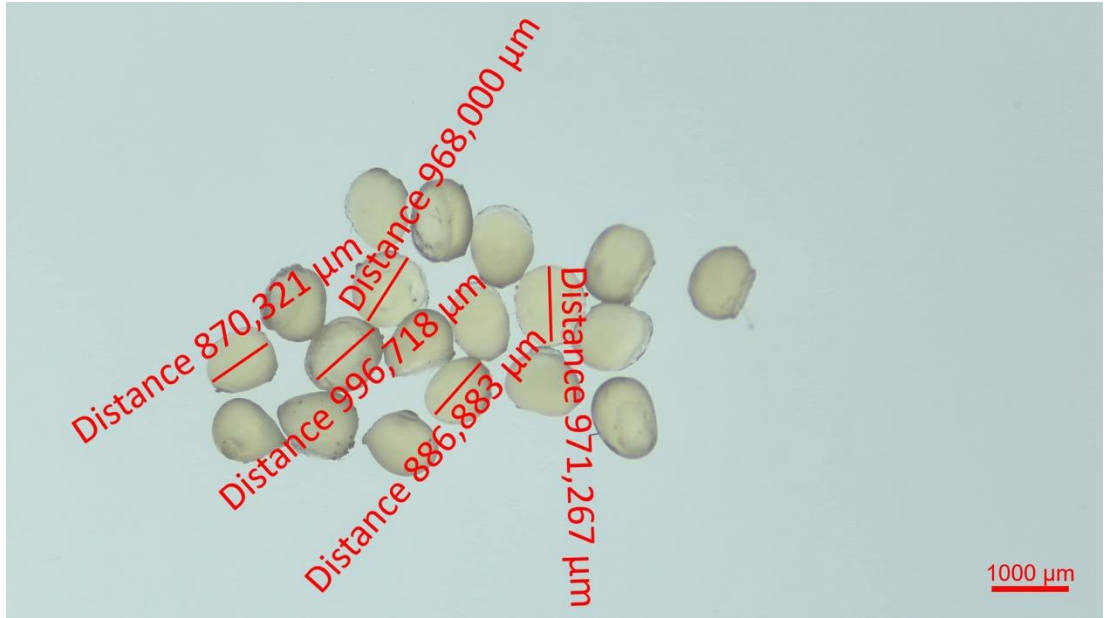
Hazırlanan mikropartiküller formülasyonların yüzey morfolojilerinin tayini yöntemi 2.2.3.5'te bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Şekil 80 – Şekil 83'te sunulmuştur.



Şekil 80: İpek proteini mikropartikülleri SEM görüntüsü



Şekil 81: Spirulina mikropartikülleri SEM görüntüsü



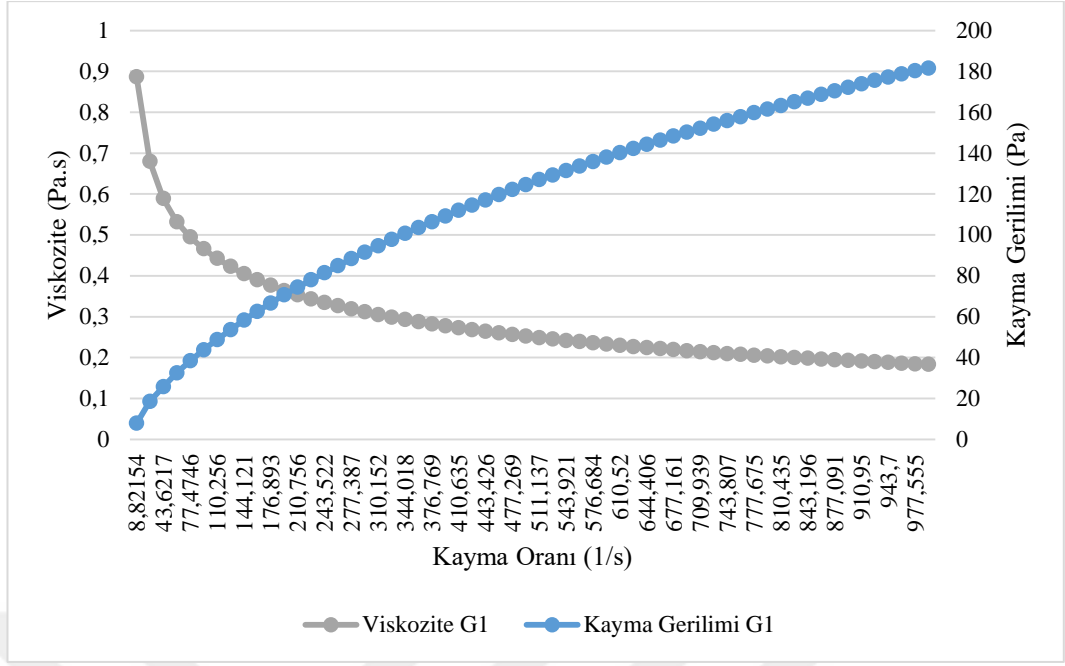
Şekil 82: İpek proteini mikropartikülleri mikroskop görüntüsü



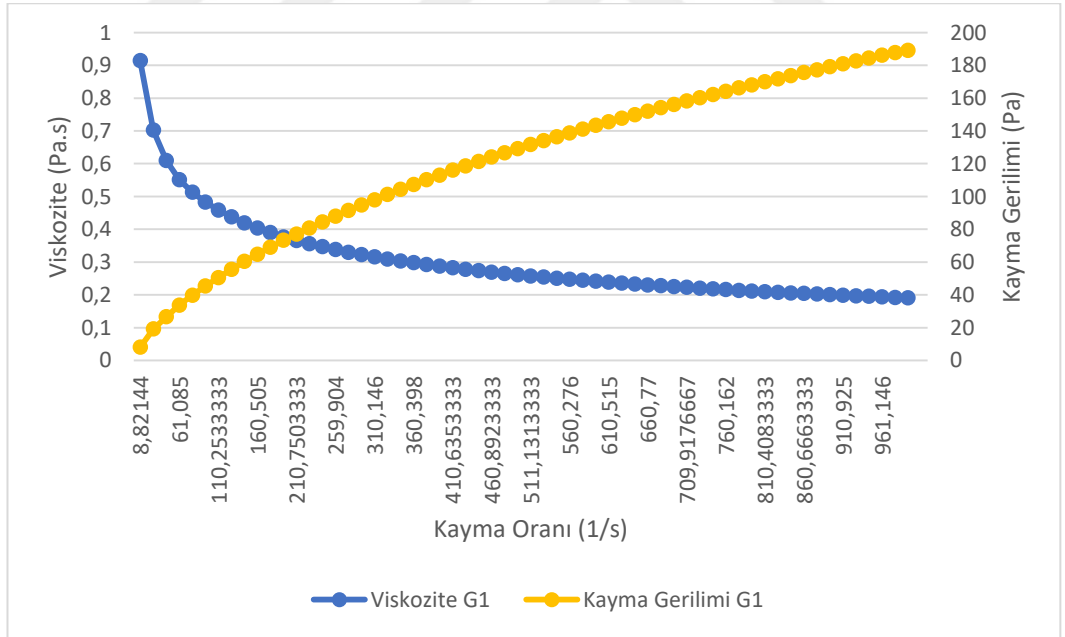
Şekil 83: Spirulina mikropartikülleri mikroskop görüntüsü

3.3.6. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının Reolojik Özelliklerinin İncelenmesi

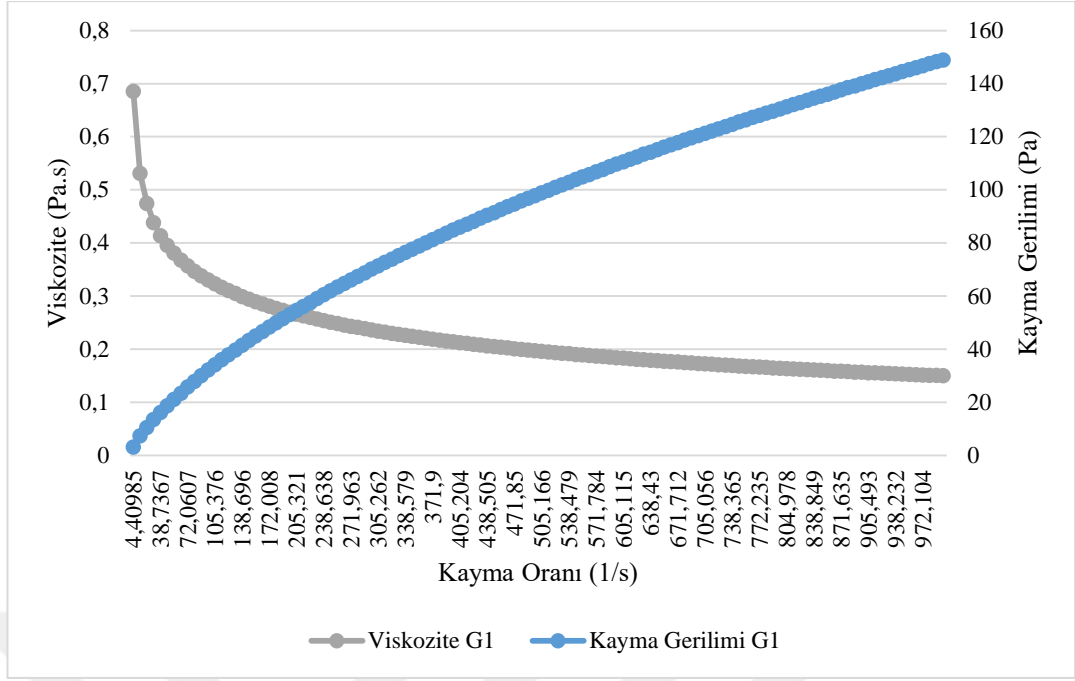
Hazırlanan boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının reolojik analizlerin yöntemi 2.2.3.6'te bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Akış grafikleri ve osilasyon grafikleri Şekil 84 – Şekil 115'te sunulmuştur.



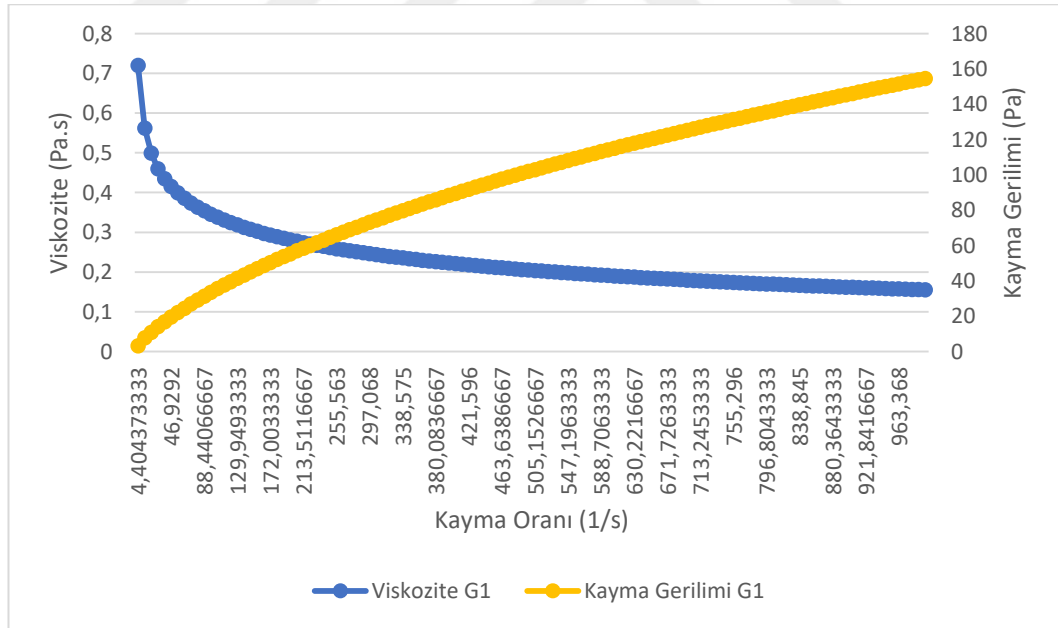
Şekil 84: G1 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



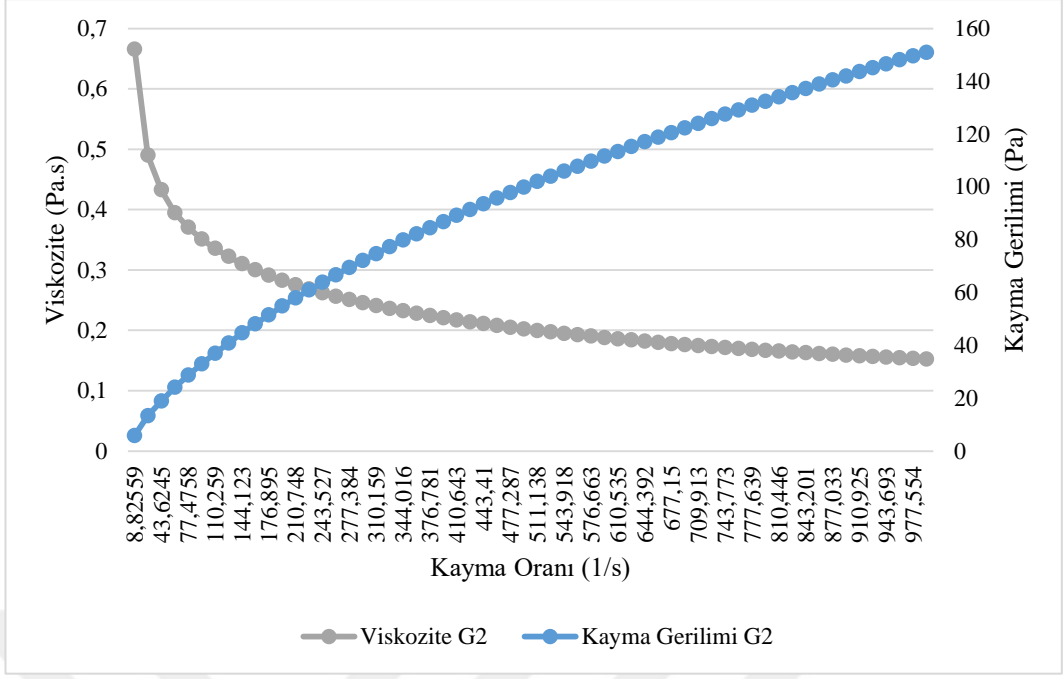
Şekil 85: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



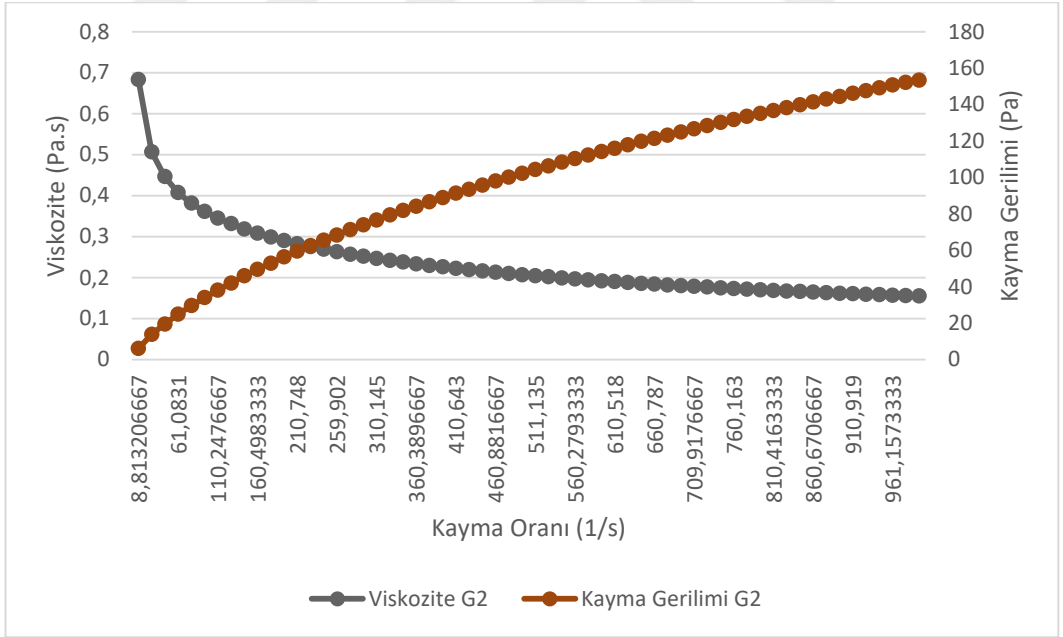
Şekil 86: G1 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



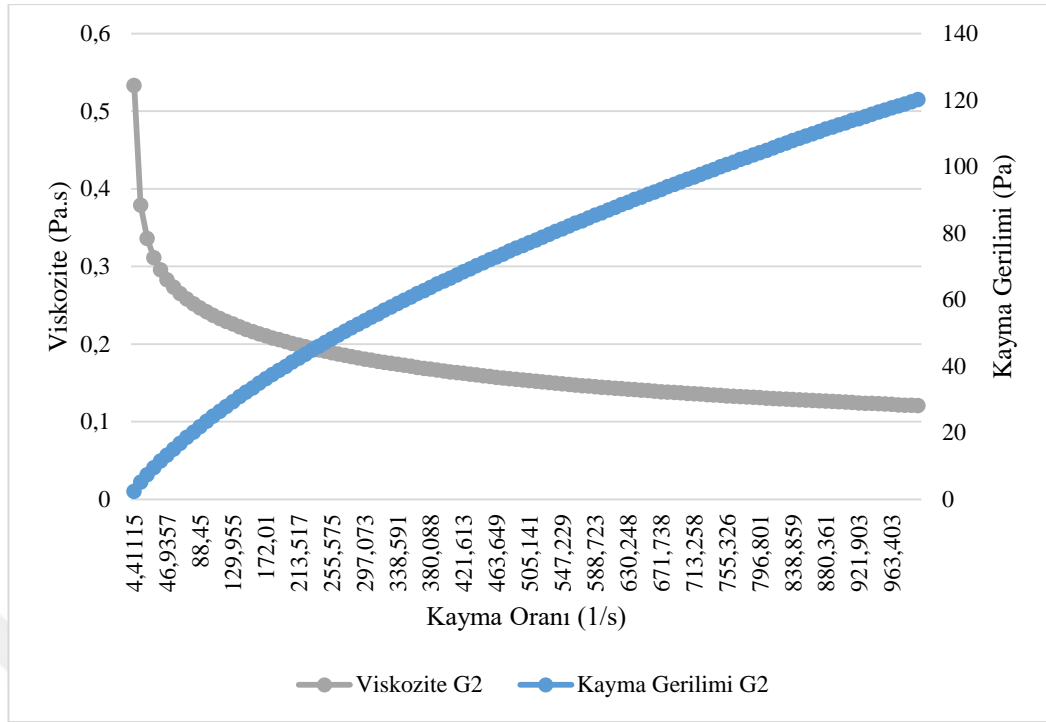
Şekil 87: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



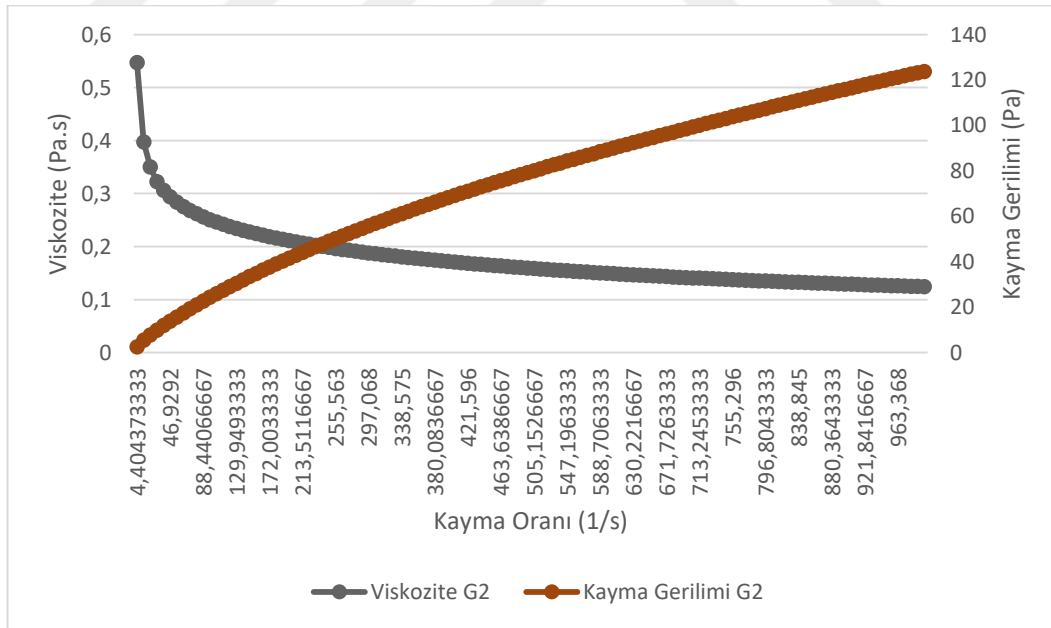
Şekil 88: G2 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



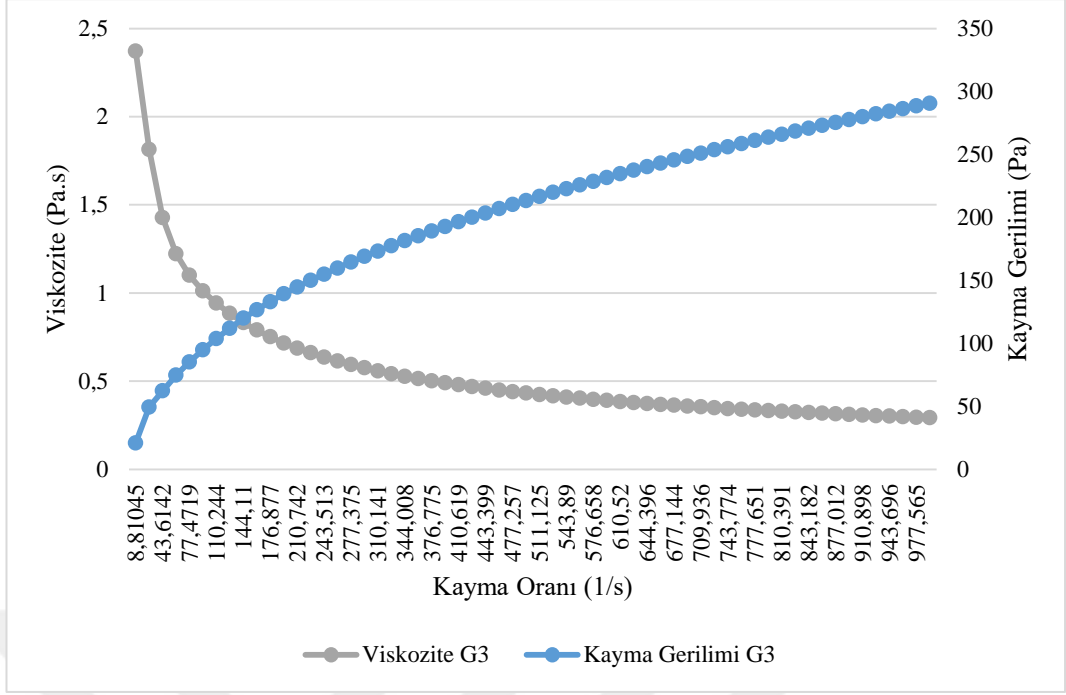
Şekil 89: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



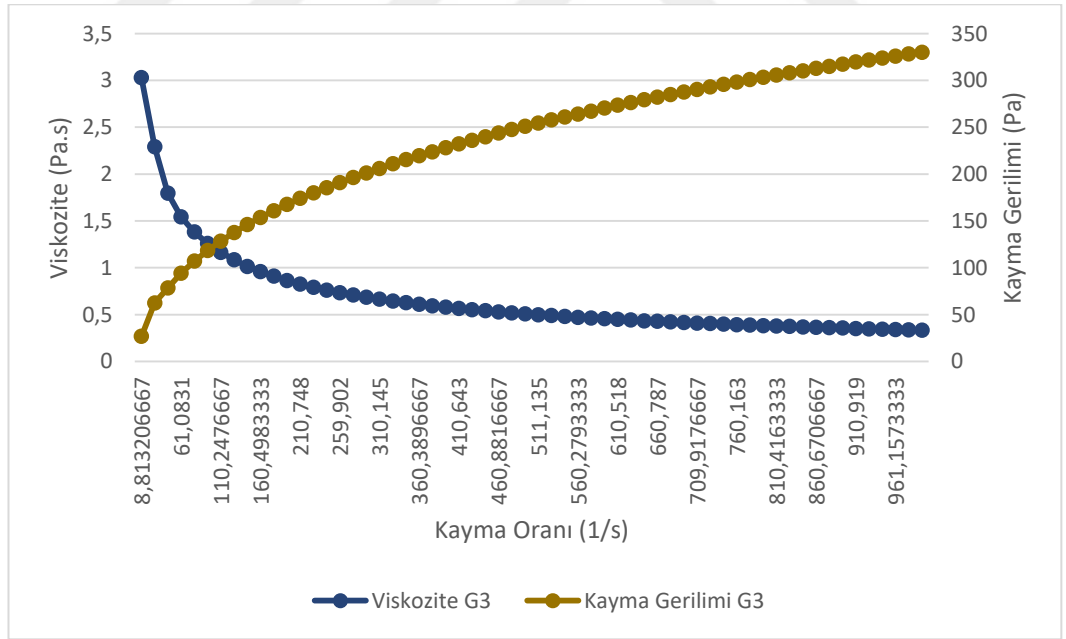
Şekil 90: G2 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



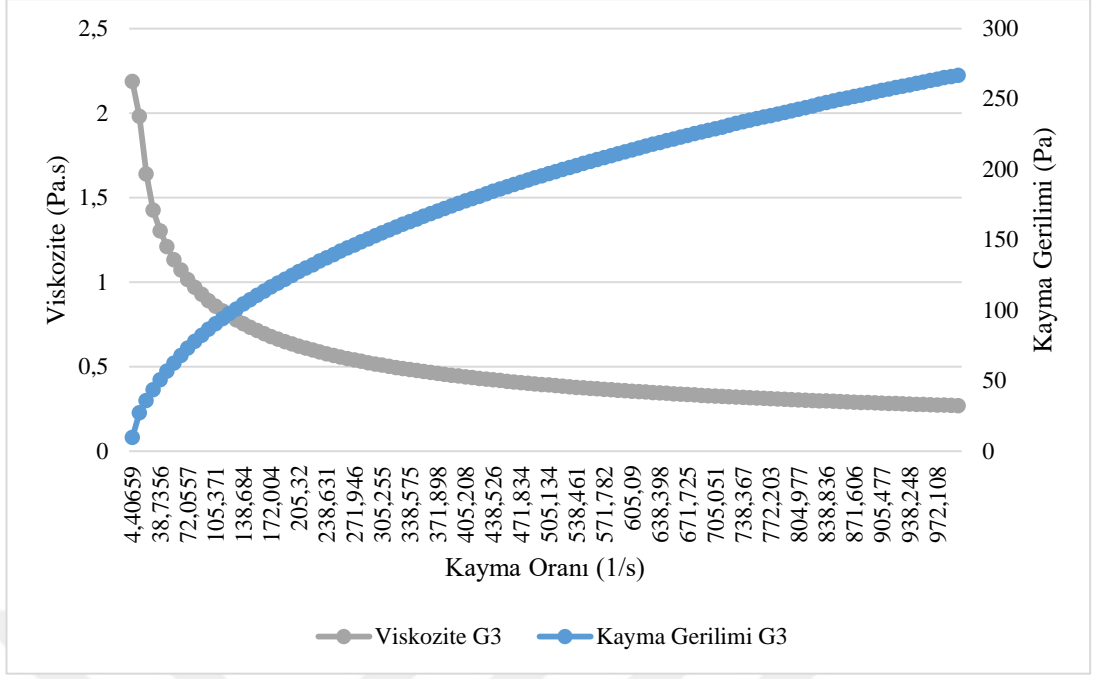
Şekil 91: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



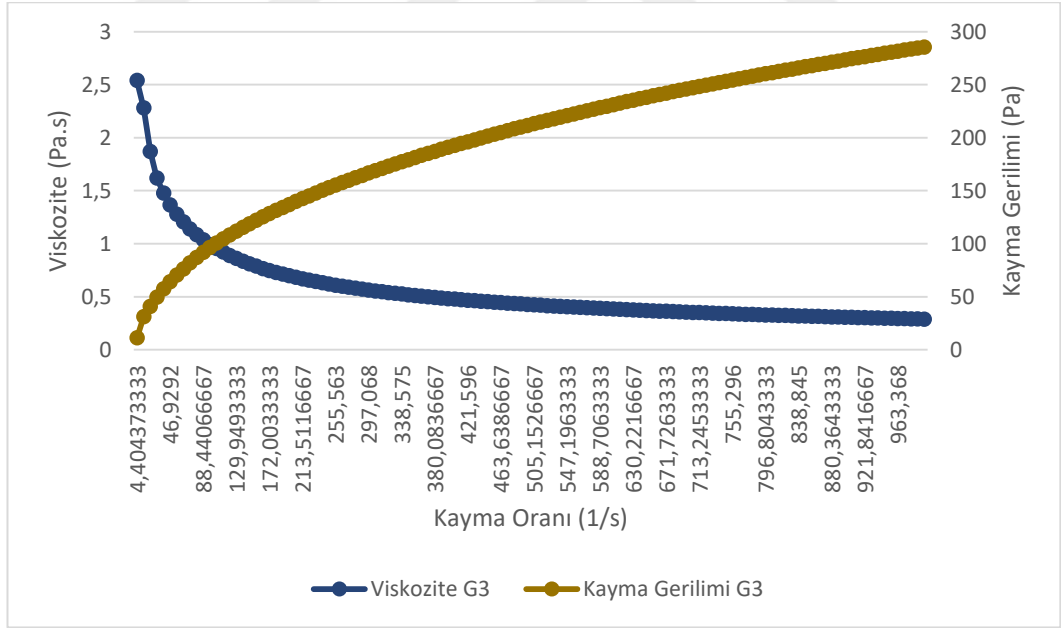
Şekil 92: G3 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



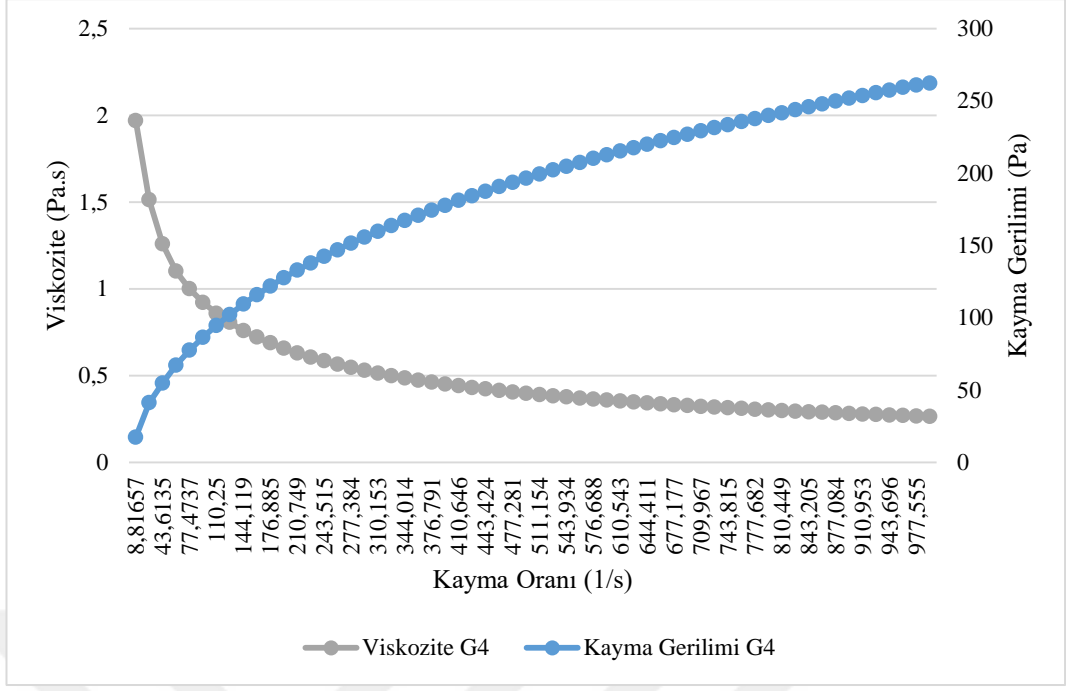
Şekil 93: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



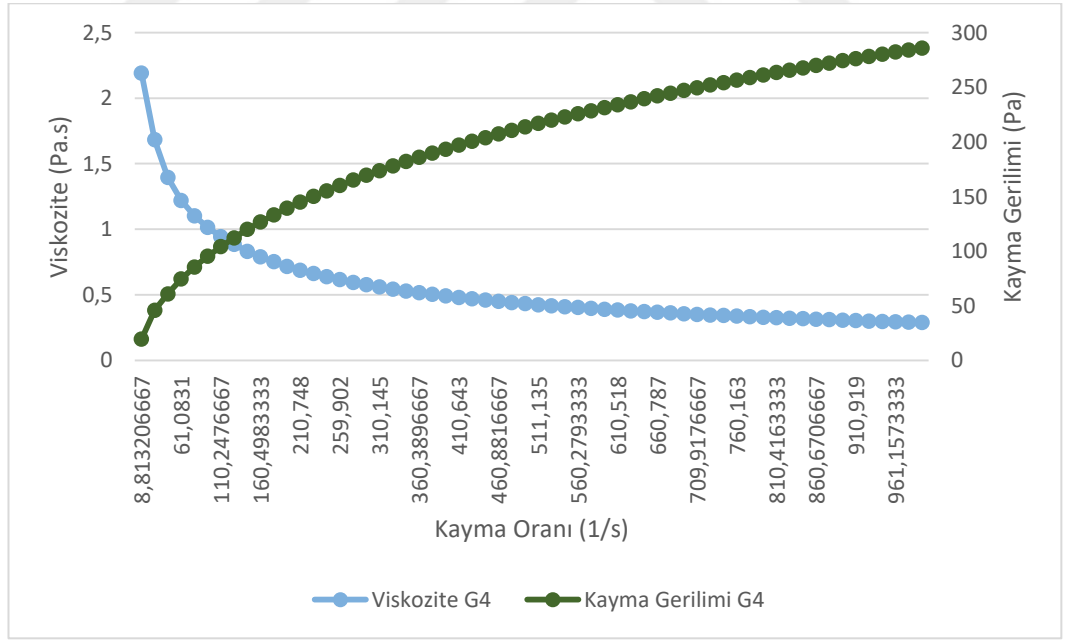
Şekil 94: G3 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



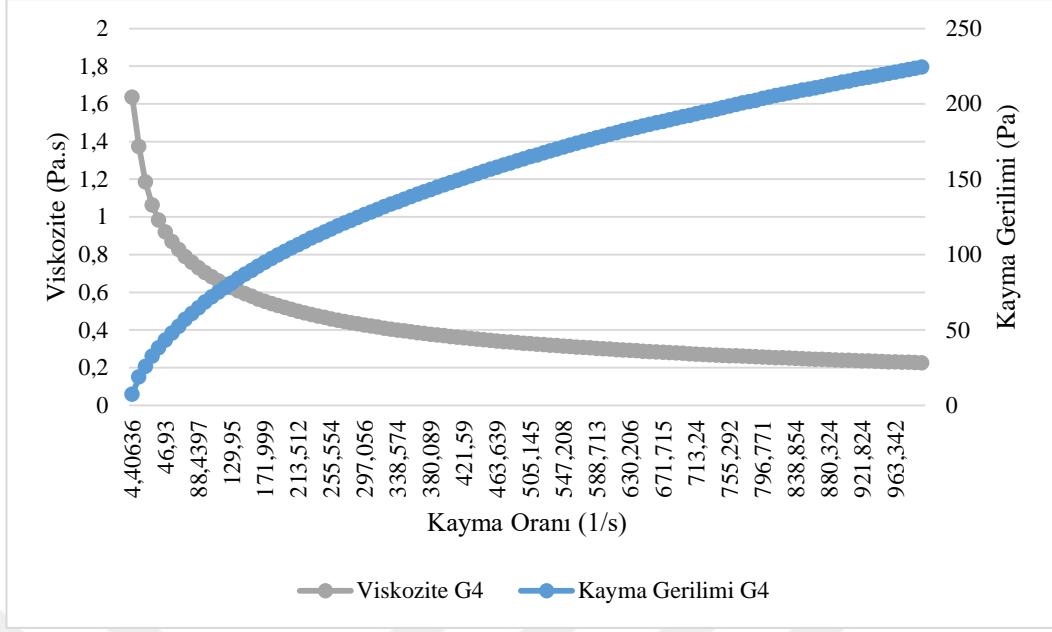
Şekil 95: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



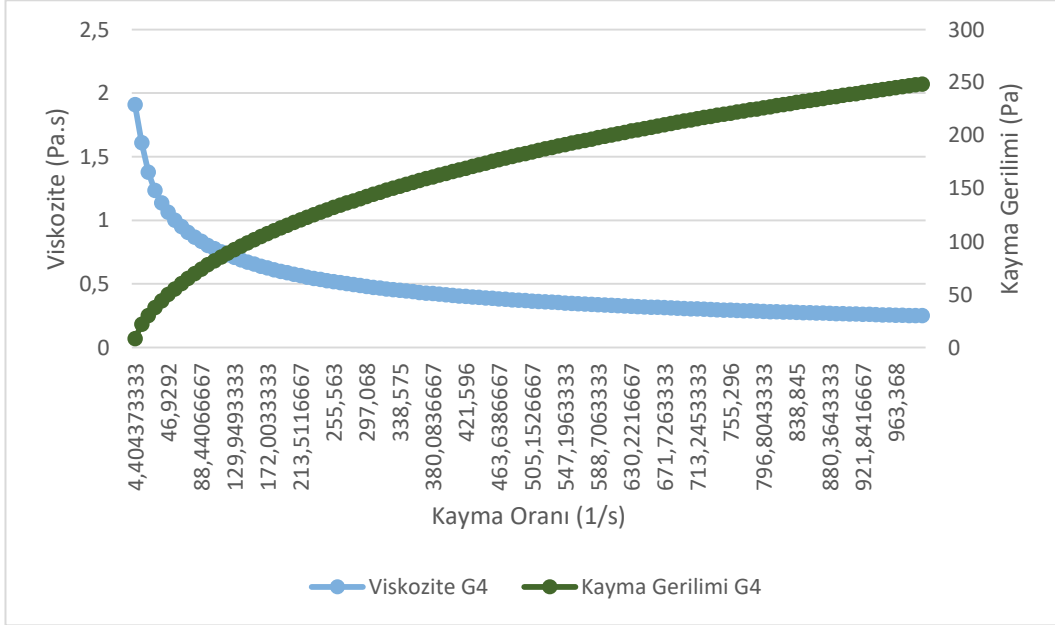
Şekil 96: G4 Boş Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



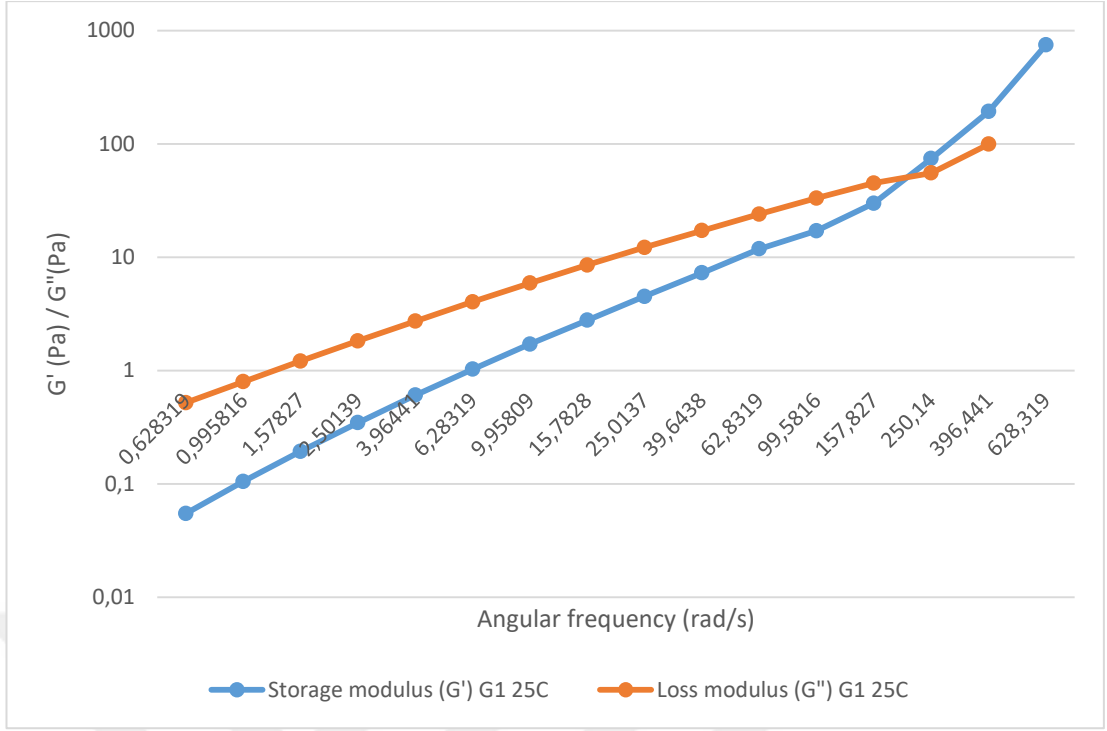
Şekil 97: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (25°C)



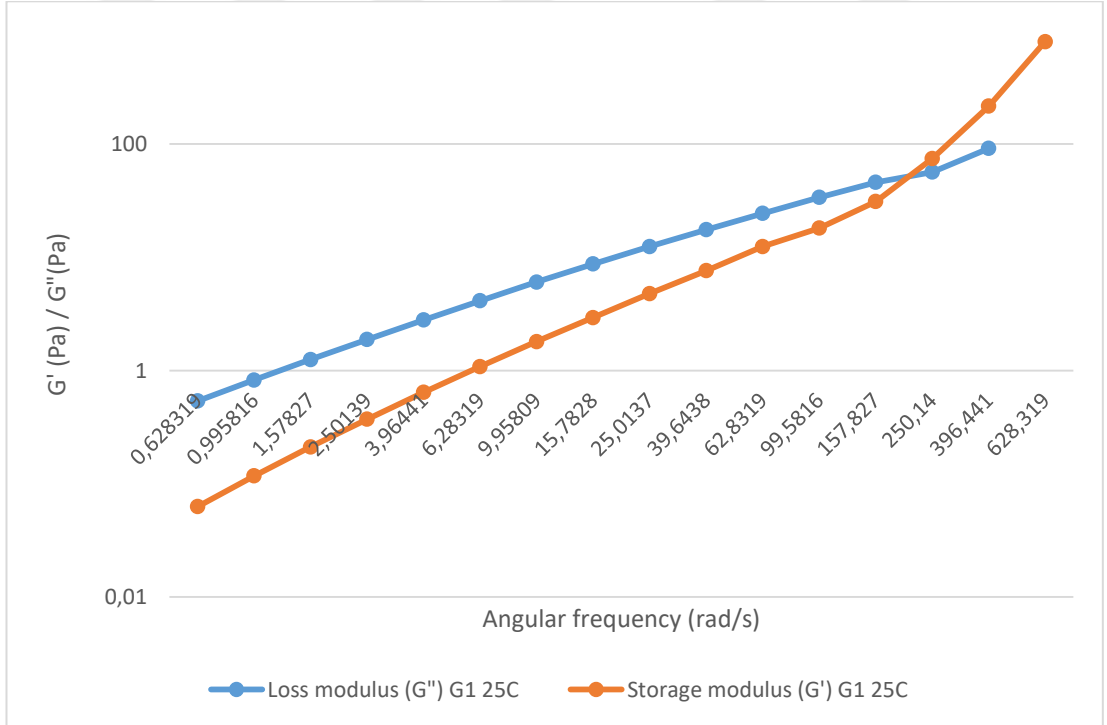
Şekil 98: G4 Boş Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



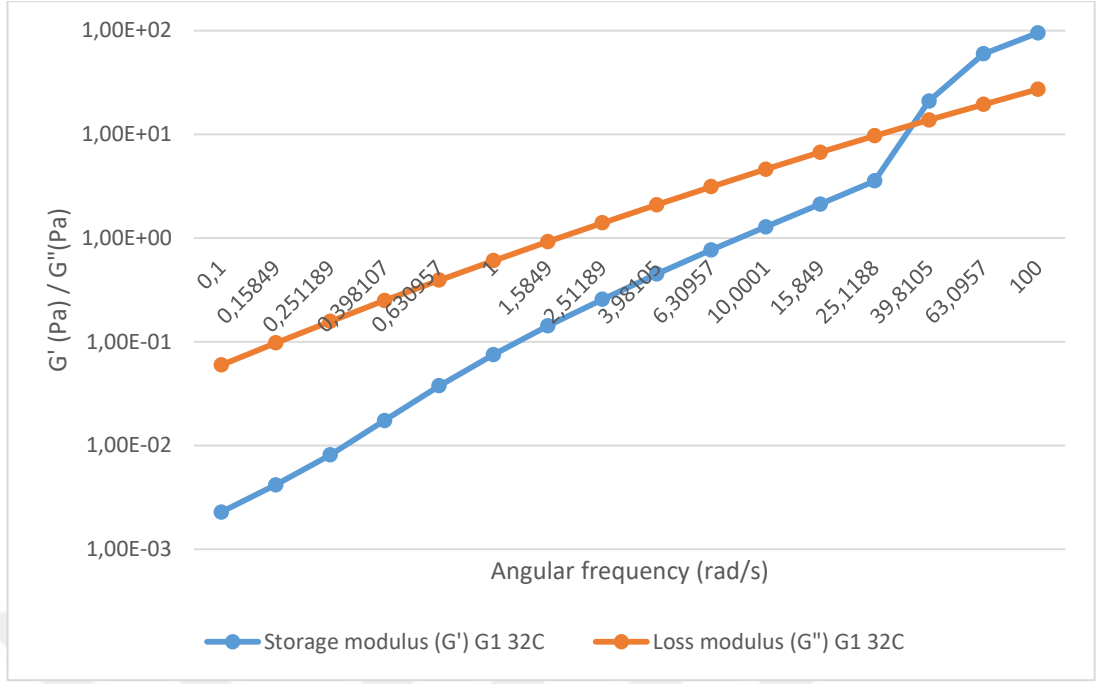
Şekil 99: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Akış Grafiği (32°C)



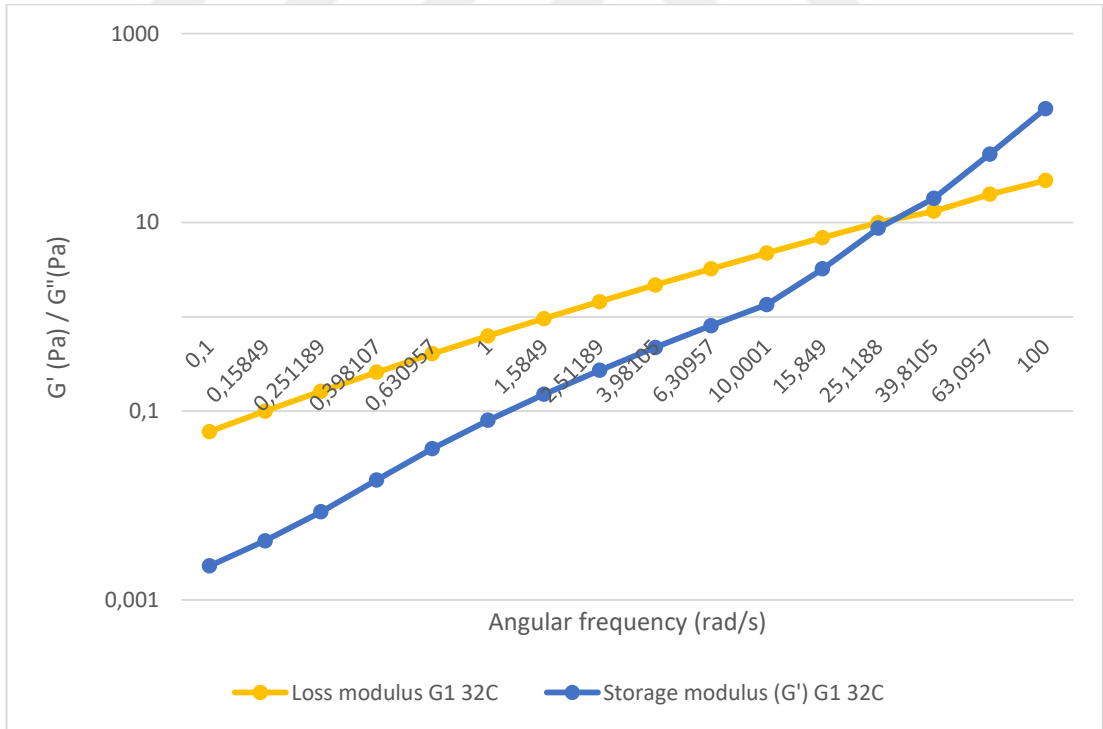
Şekil 100: G1 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



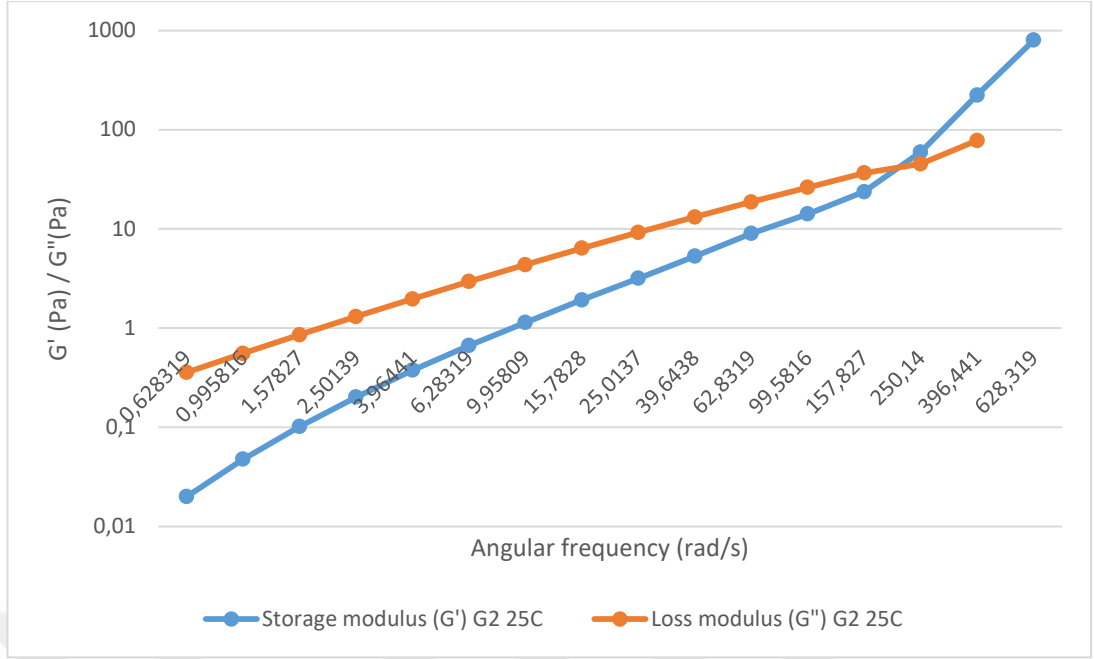
Şekil 101: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



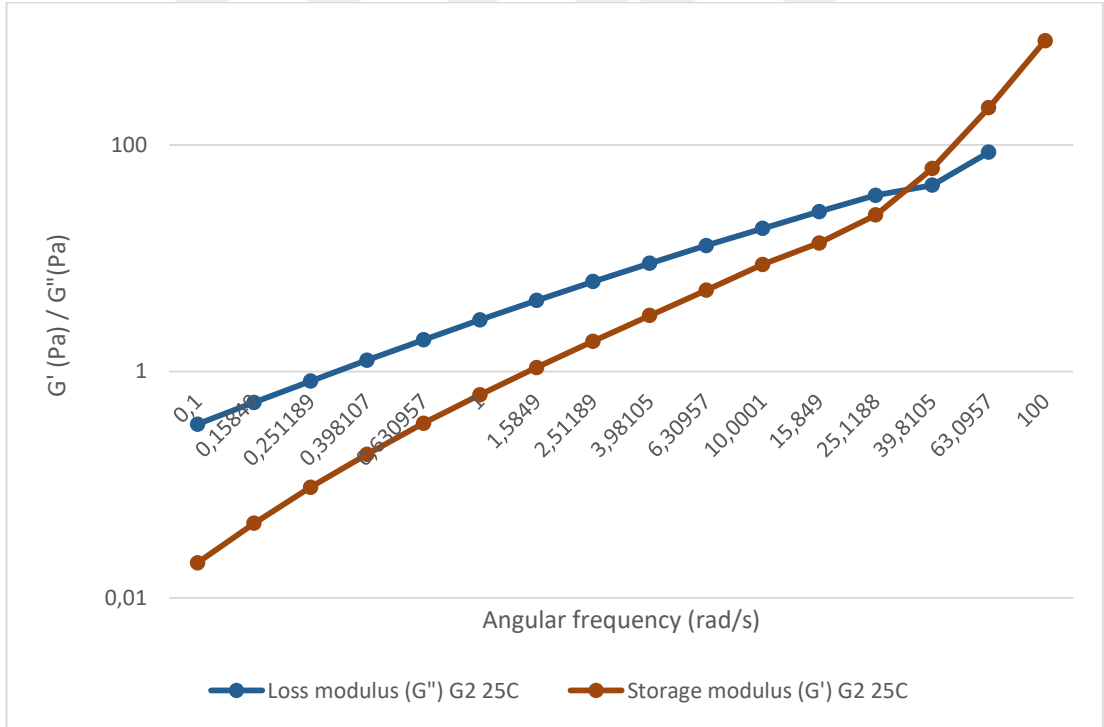
Şekil 102: G1 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)



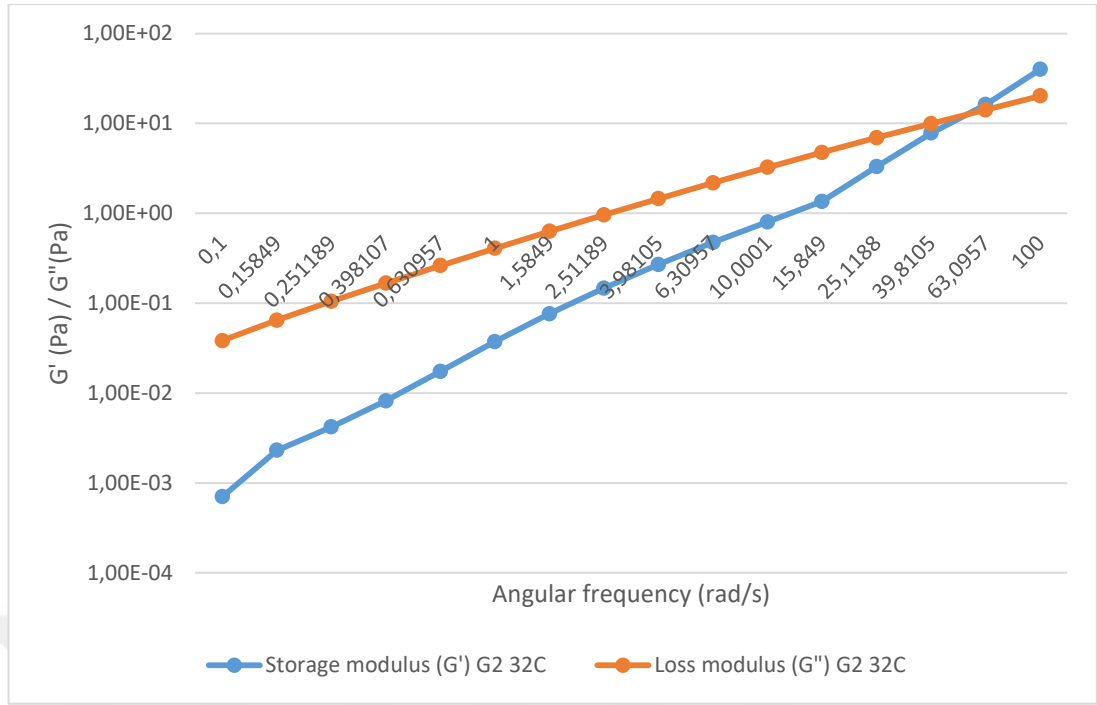
Şekil 103: G1 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)



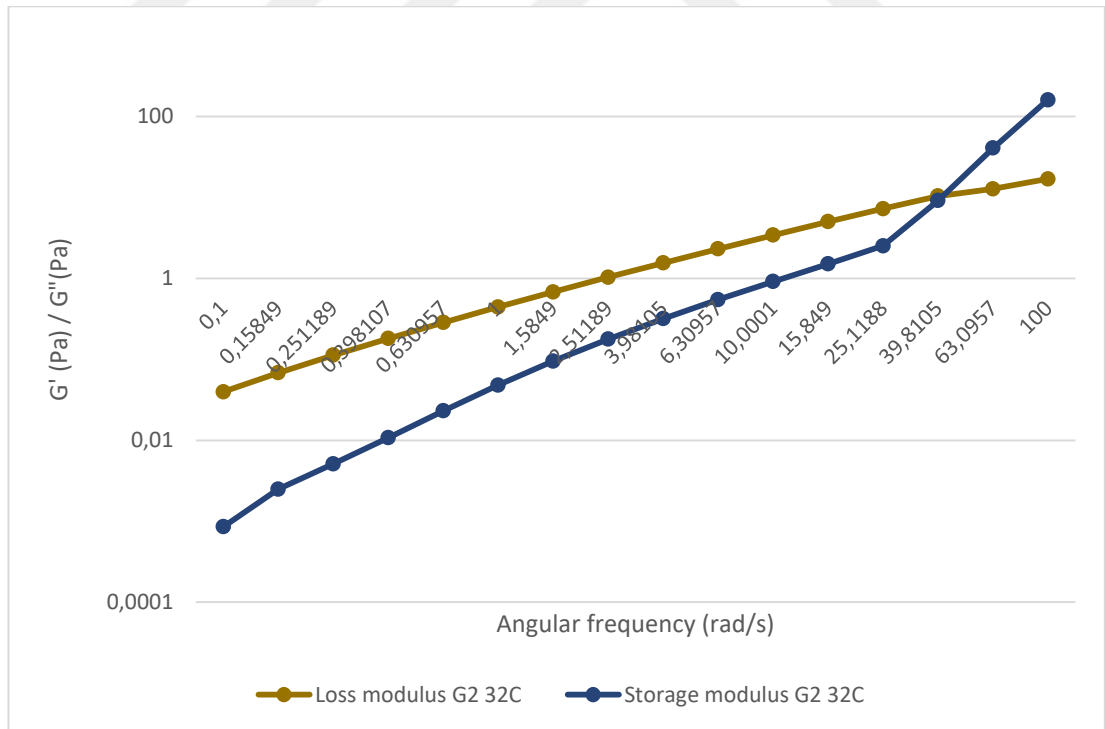
Şekil 104: G2 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



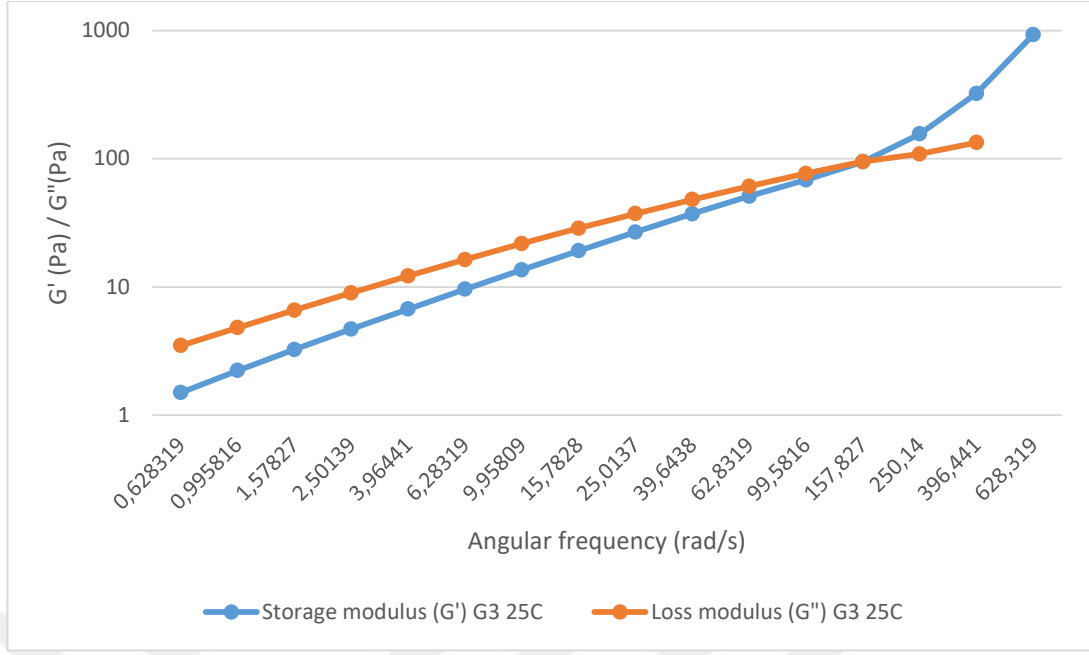
Şekil 105: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



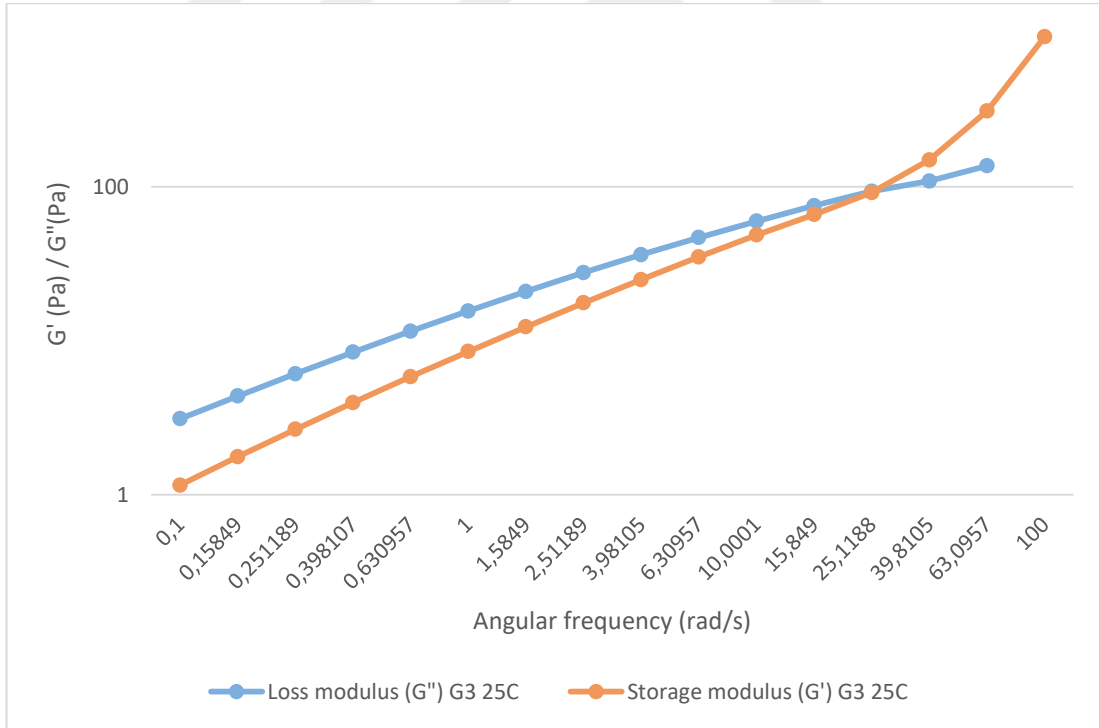
Şekil 106: G2 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)



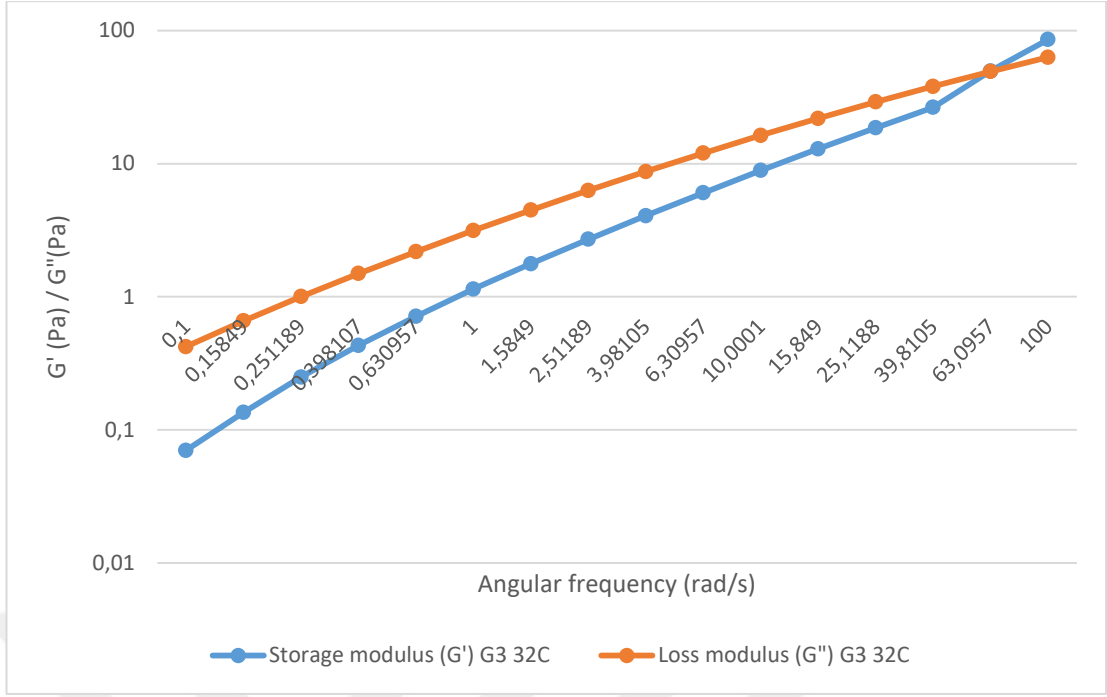
Şekil 107: G2 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)



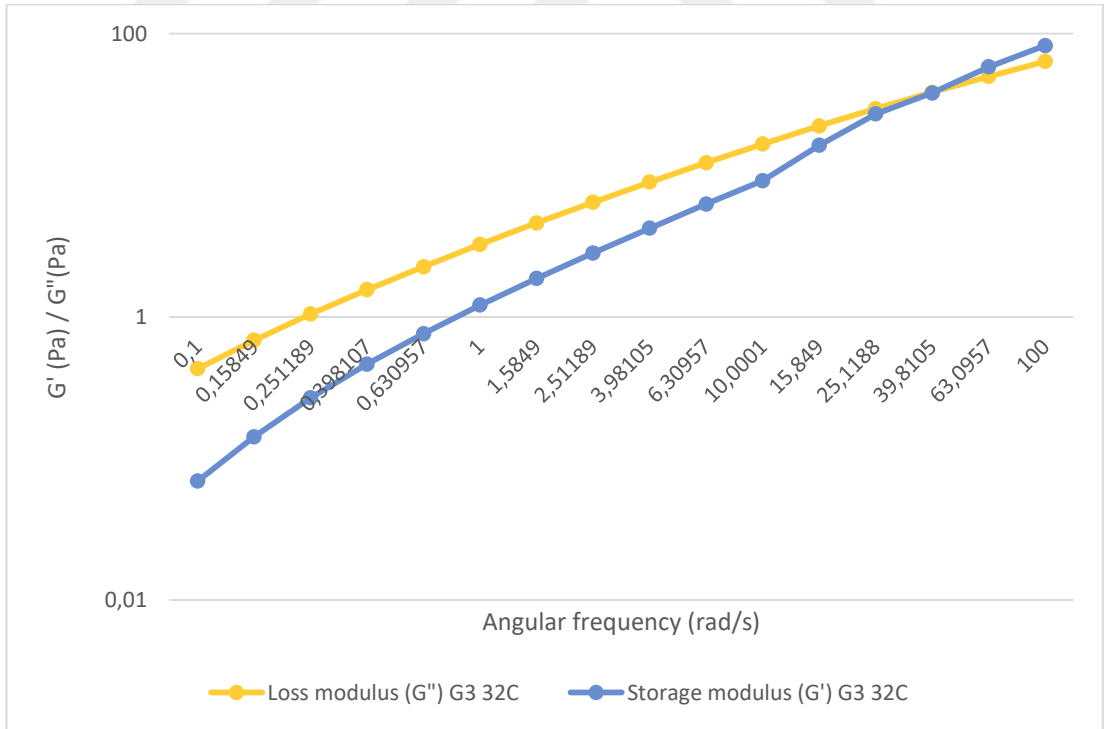
Şekil 108: G3 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



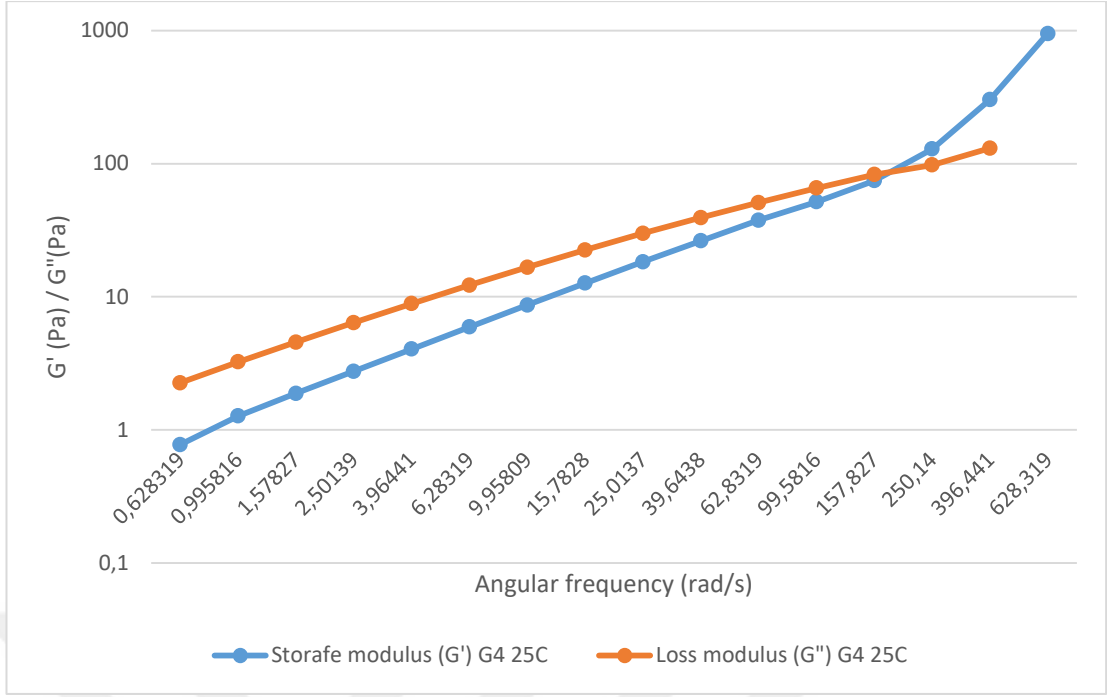
Şekil 109: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



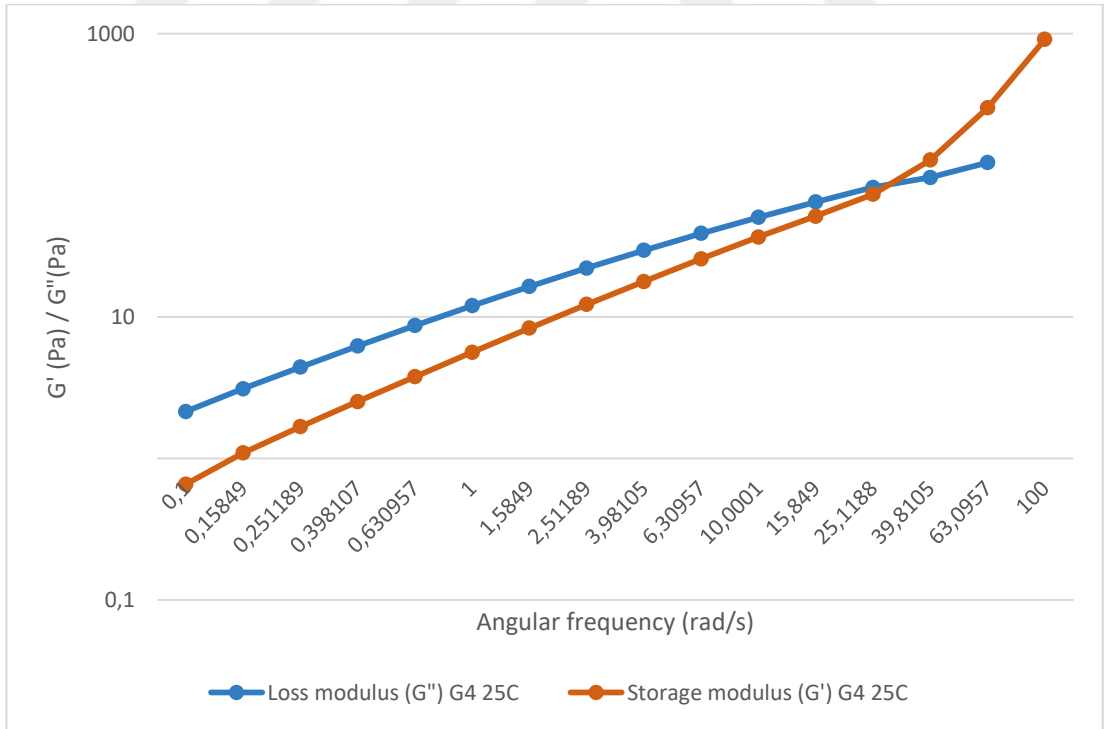
Şekil 110: G3 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)



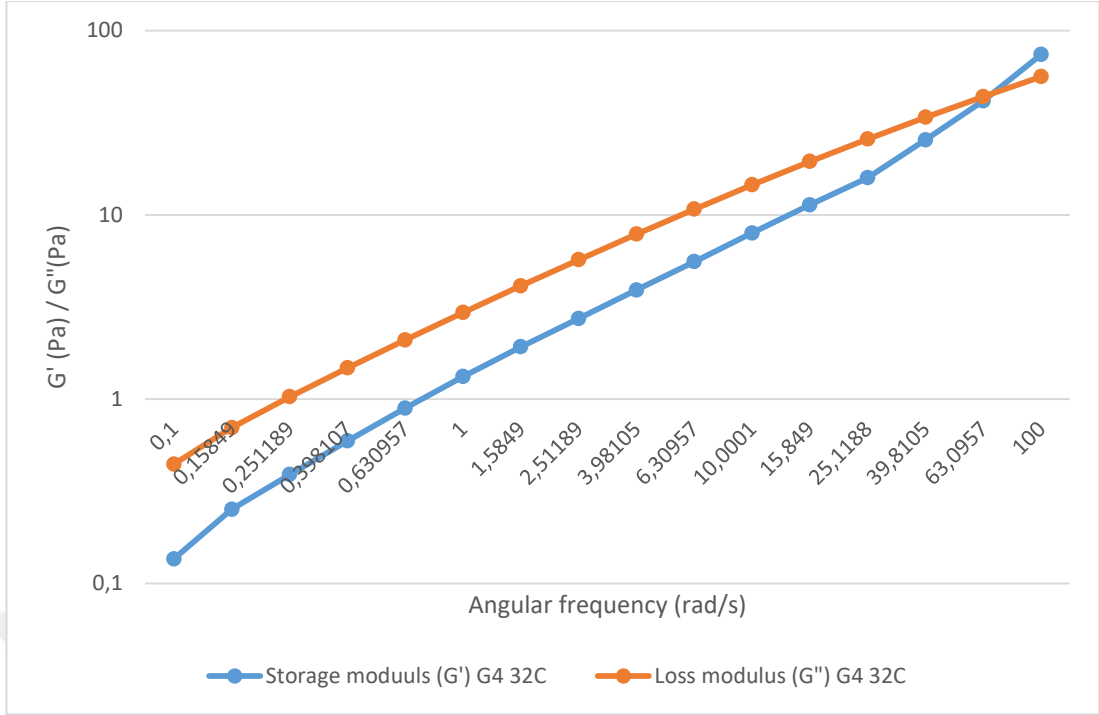
Şekil 111: G3 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)



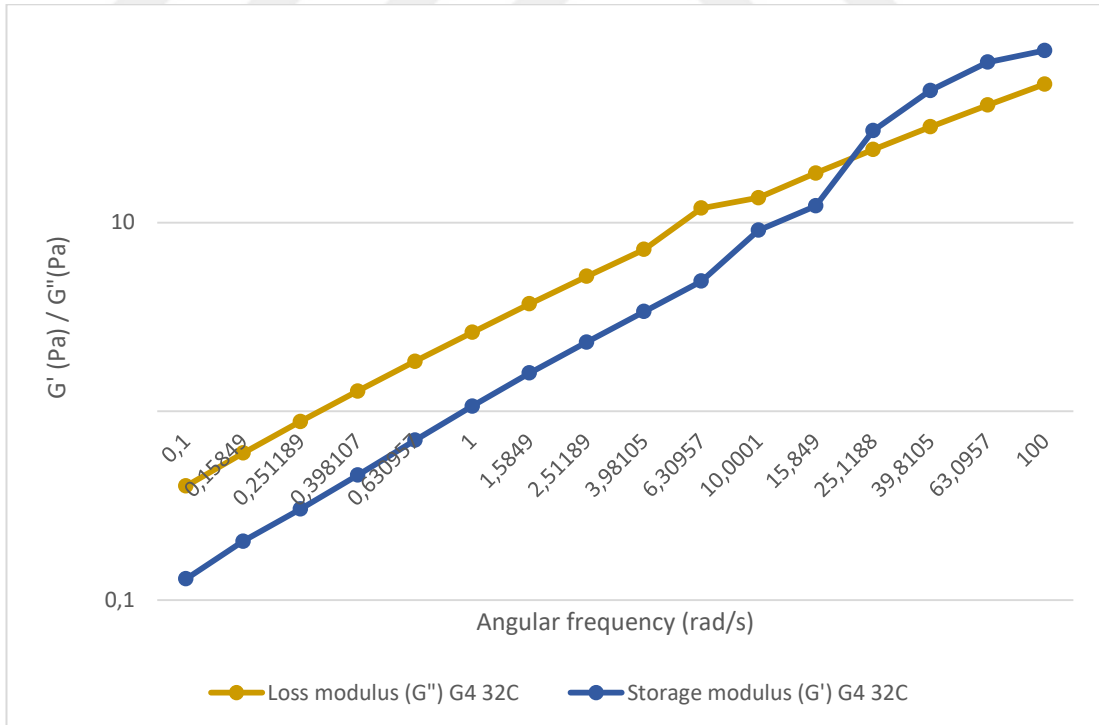
Şekil 112: G4 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



Şekil 113: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (25°C)



Şekil 114: G4 Boş Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)



Şekil 115: G4 Mikropartikül Yüklü Hidrojel Osilasyon Grafiği (32°C)

3.3.7. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının Mekanik Özelliklerinin İncelenmesi

Boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının mekanik özelliklerinin tayini yöntemi 2.2.3.7’de bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Tablo 18’de sunulmuştur.

Tablo 18: Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonların Mekanik Özellikleri

	Sıkışabilirlik (g.s)±SS	Adeziflik (g.s)±SS	Koheziflik ±SS	Sertlik (g)±SS	Elastikiyet ±SS
G1B 25°C	0,10±0,04	0,21±0,02	1,02±0,11	0,09±0,03	1,00±0,07
G1M 25°C	0,12±0,02	0,24±0,03	1,05±0,01	0,11±0,05	1,03±0,01
G1B 32°C	0,10±0,02	0,19±0,10	0,98±0,05	0,03±0,00	0,99±0,02
G1M 32°C	0,13±0,04	0,22±0,03	1,02±0,08	0,05±0,04	1,02±0,01
G2B 25°C	0,06±0,15	0,09±0,02	1,01±0,20	0,07±0,03	1,01±0,05
G2M 25°C	0,08±0,03	0,12±0,02	1,04±0,02	0,10±0,07	1,03±0,04
G2B 32°C	0,05±0,02	0,10±0,01	0,99±0,24	0,02±0,01	0,98±0,01
G2M 32°C	0,07±0,05	0,12±0,04	1,02±0,01	0,04±0,01	1,02±0,02
G3B 25°C	0,48±0,15	0,66±0,03	1,12±0,04	0,36±0,07	1,00±0,30

	Sıkışabilirlik (g.s) \pm SS	Adeziflik (g.s) \pm SS	Koheziflik \pm SS	Sertlik (g) \pm SS	Elastikiyet \pm SS
G3M 25°C	0,51 \pm 0,29	0,67 \pm 0,19	1,16 \pm 0,01	0,40 \pm 0,11	1,03 \pm 0,01
G3B 32°C	0,49 \pm 0,12	0,71 \pm 0,20	1,10 \pm 0,06	0,18 \pm 0,03	0,99 \pm 0,02
G3M 32°C	0,52 \pm 0,01	0,76 \pm 0,46	1,14 \pm 0,01	0,21 \pm 0,02	1,03 \pm 0,03
G4B 25°C	0,35 \pm 0,04	0,47 \pm 0,02	1,08 \pm 0,18	0,17 \pm 0,01	1,01 \pm 0,06
G4M 25°C	0,40 \pm 0,06	0,50 \pm 0,07	1,09 \pm 0,01	0,19 \pm 0,05	1,03 \pm 0,02
G4B 32°C	0,41 \pm 0,12	0,39 \pm 0,09	1,05 \pm 0,03	0,14 \pm 0,01	1,03 \pm 0,10
G4M 32°C	0,43 \pm 0,02	0,42 \pm 0,03	1,07 \pm 0,01	0,16 \pm 0,00	1,05 \pm 0,02

B: Boş Hidrojel Formülasyonları, M: Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonları

3.3.8. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının pH Özelliklerinin İncelenmesi

Boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının pH özelliklerinin tayini yöntemi 2.2.3.8’de bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Tablo 19’da sunulmuştur.

Tablo 19: Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel pH Değerleri

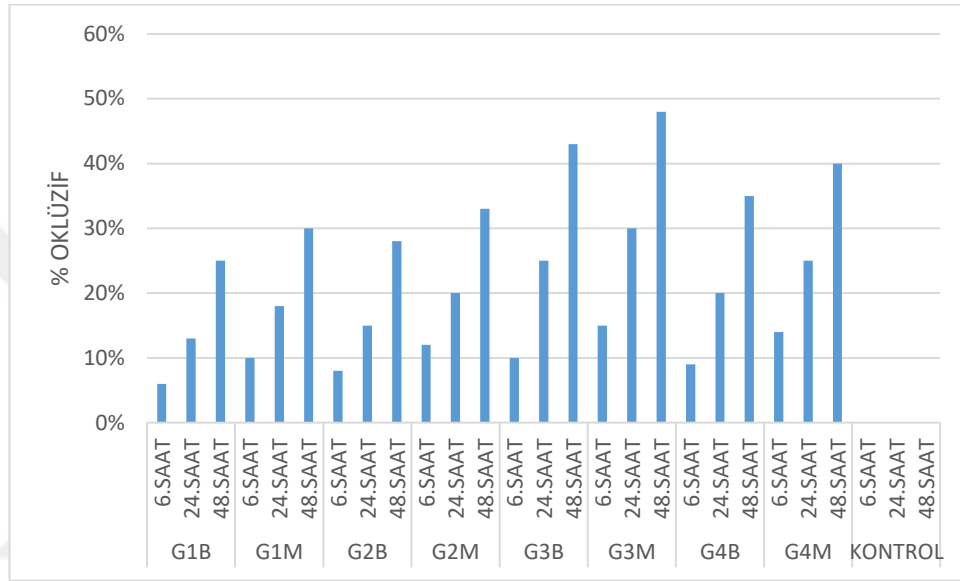
Formülasyon	25°C	32°C
G1B	6.0±0.00	5.8±0,01
G1M	5.8±0,06	5.6±0,00
G2B	5.9±0,04	5.8±0,12
G2M	5.7±0,10	5.5±0,15
G3B	5.9±0,00	5.7±0,06
G3M	5.6±0,12	5.4±0,10
G4B	5.9±0,02	5.5±0,06
G4M	5.6±0,15	5.3±0,00

B: Boş Hidrojel Formülasyonları

M: Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonları

3.3.9. Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonlarının *In Vitro* Oklüzif Özelliğinin İncelenmesi

Boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının *in vitro* oklüzif özelliklerinin tayini yöntemi 2.2.3.9’da bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Şekil 116’da sunulmuştur.



B: Boş Hidrojel Formülasyonları, M: Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonları

Şekil 116:Hidrojel Formülasyonların %Oklüziflik Grafiği

3.3.10 Boş Hidrojel Formülasyonların ve Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonların Yayılabilirliği

2.2.3.9’da formülasyonlarının yayılabilirlik özelliklerinin tayini yöntemi 2.2.3.10’da bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Tablo 20’de sunulmuştur.

Tablo 20: Formülasyonların Yayılabilirlik Sonuçları

Formülasyon	Yayılabilirlik (g.s)
G1B	150,24±0,73
G1M	142,37±1,32
G2B	155,68±0,84
G2M	147,54±0,57
G3B	90,97±0,64
G3M	78,70±0,94
G4B	94,70±0,23
G4M	84,31±1,06

B: Boş Hidrojel Formülasyonları

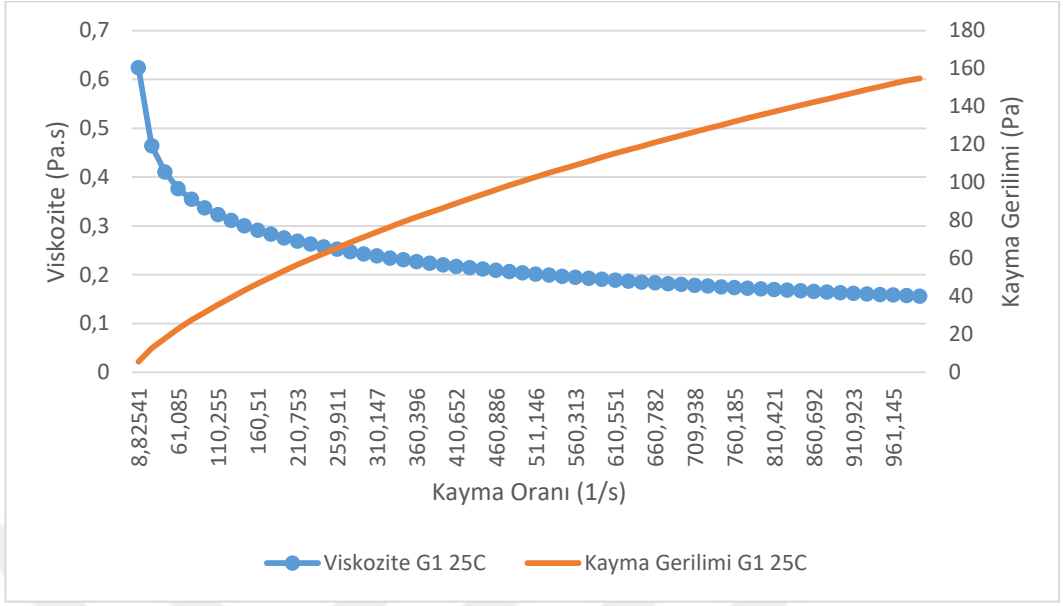
M: Mikropartikül Yüklü Hidrojel Formülasyonları

3.4. Formülasyonların Stabilite Çalışmaları

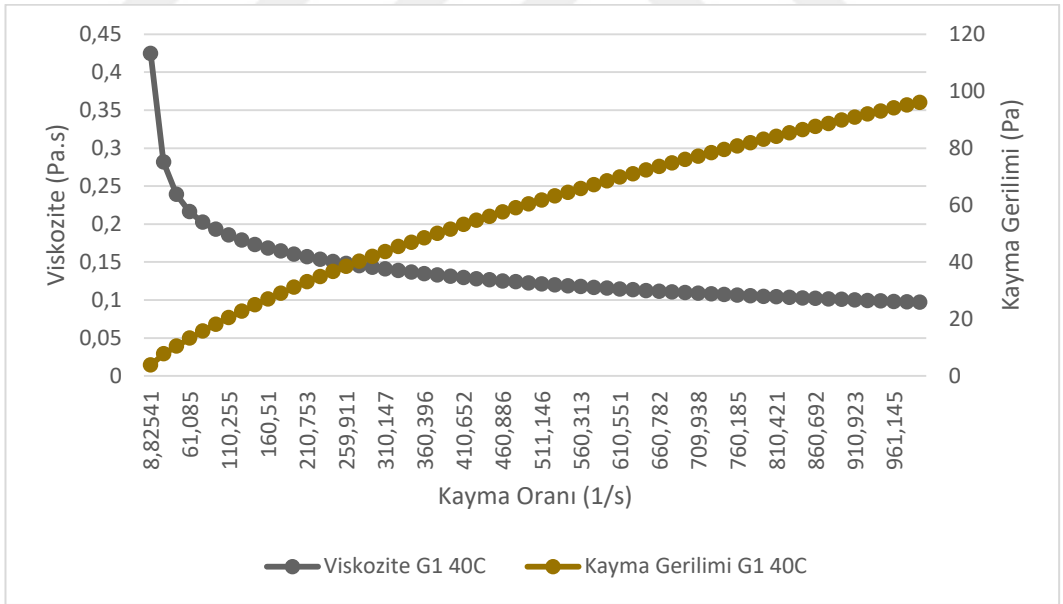
Yapılan stabilite çalışmalarının yöntemi 2.2.4'te bahsedildiği şekilde gerçekleştirilmiştir. Bulunan bulgular Tablo 21 – Tablo 24, Şekil 117 – Şekil 148'te sunulmuştur.

Tablo 21: G1 Stabilite Sonuçları

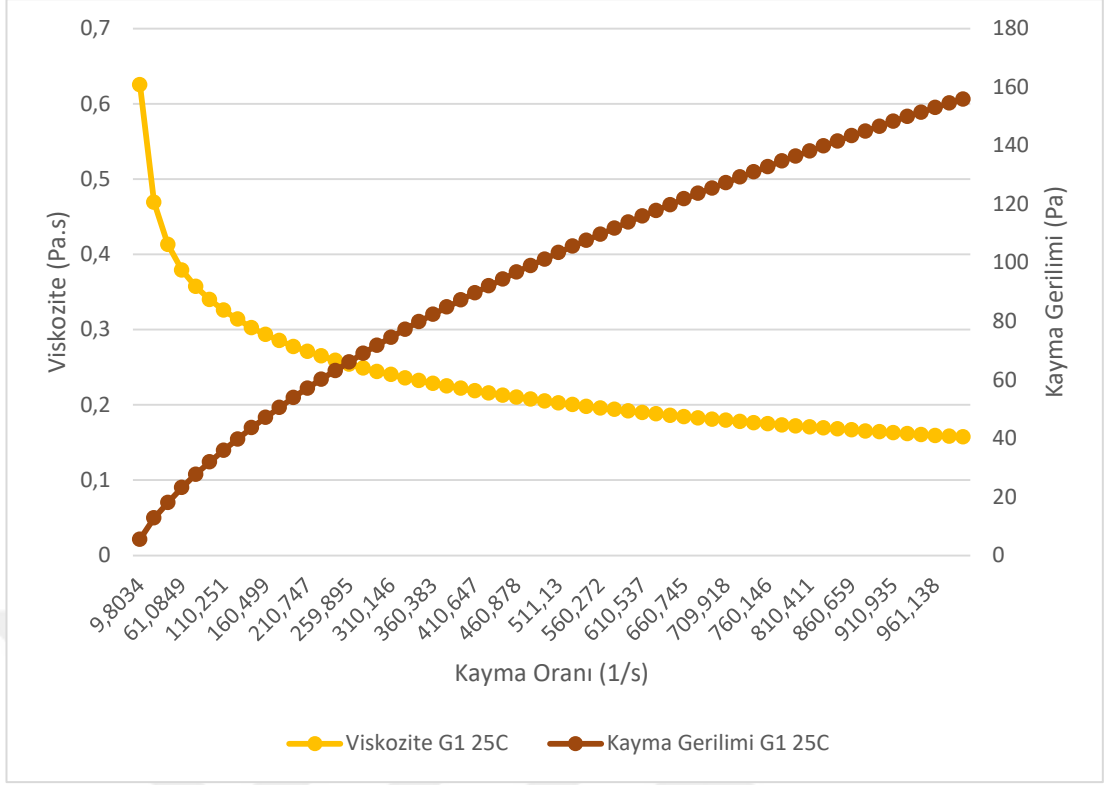
	25°C %60 Nem			40°C %75 Nem		
	Başlangıç	1.ay	2.ay	Başlangıç	1.ay	2.ay
Görünüş	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel
pH	5.8±0,057	5.6 ±0,115	5.5±0,152	5.8±0,057	5.5.±0,000	5.2±1,000



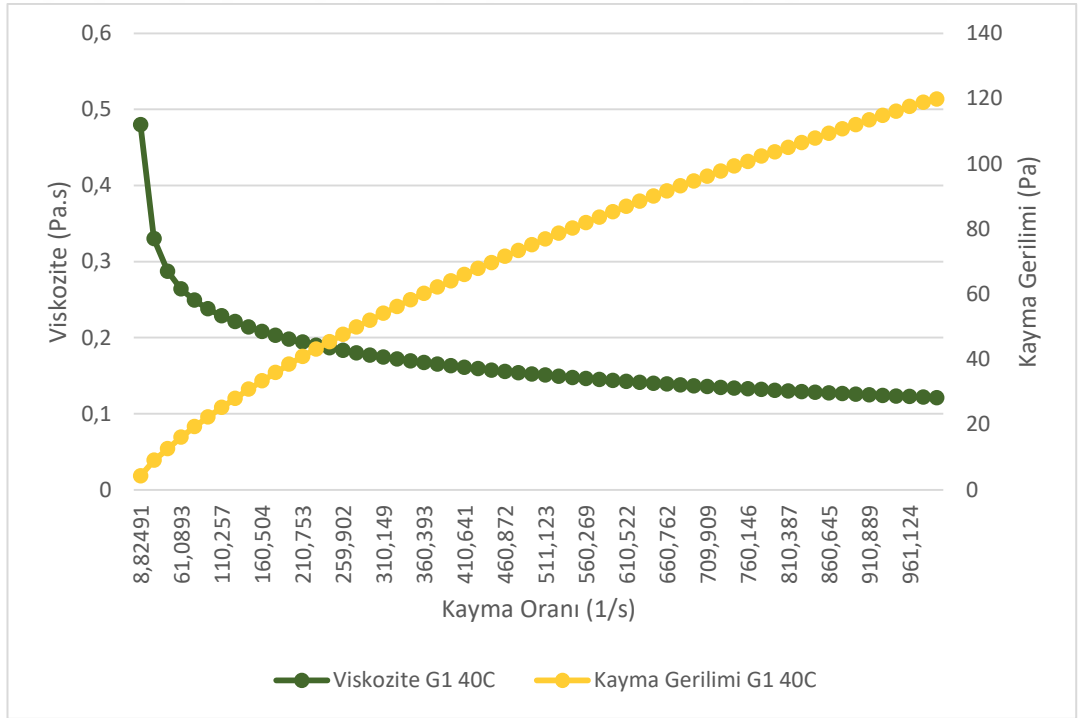
Şekil 117: G1 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



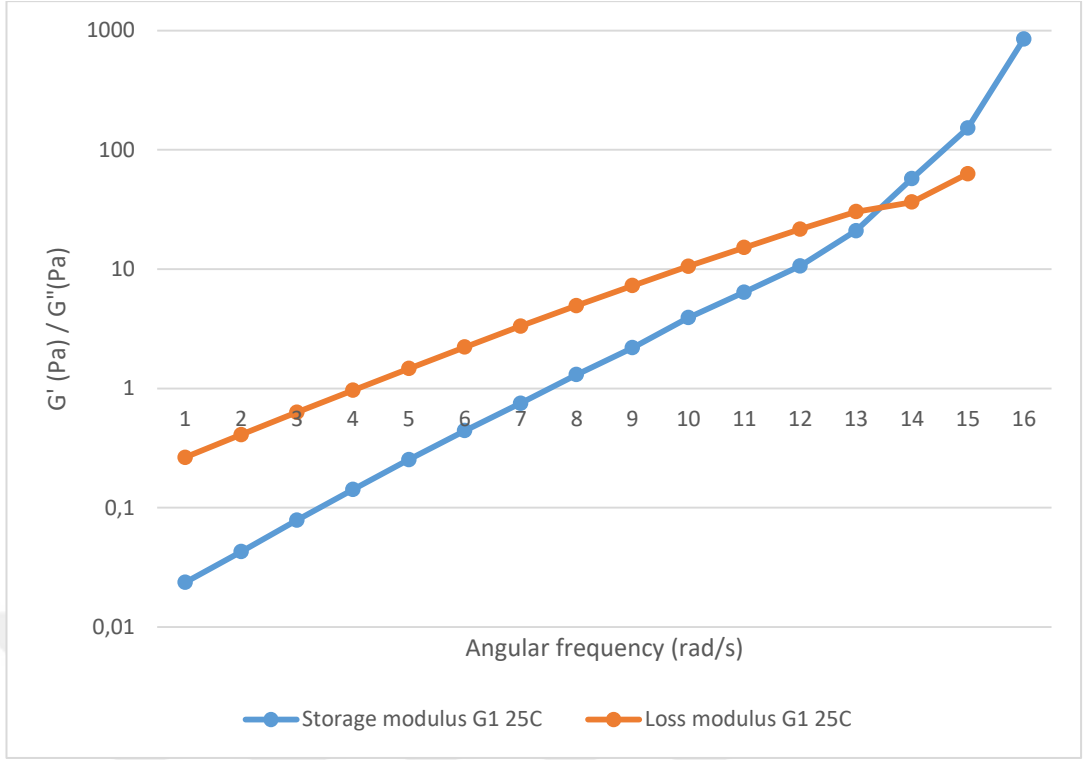
Şekil 118: G1 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



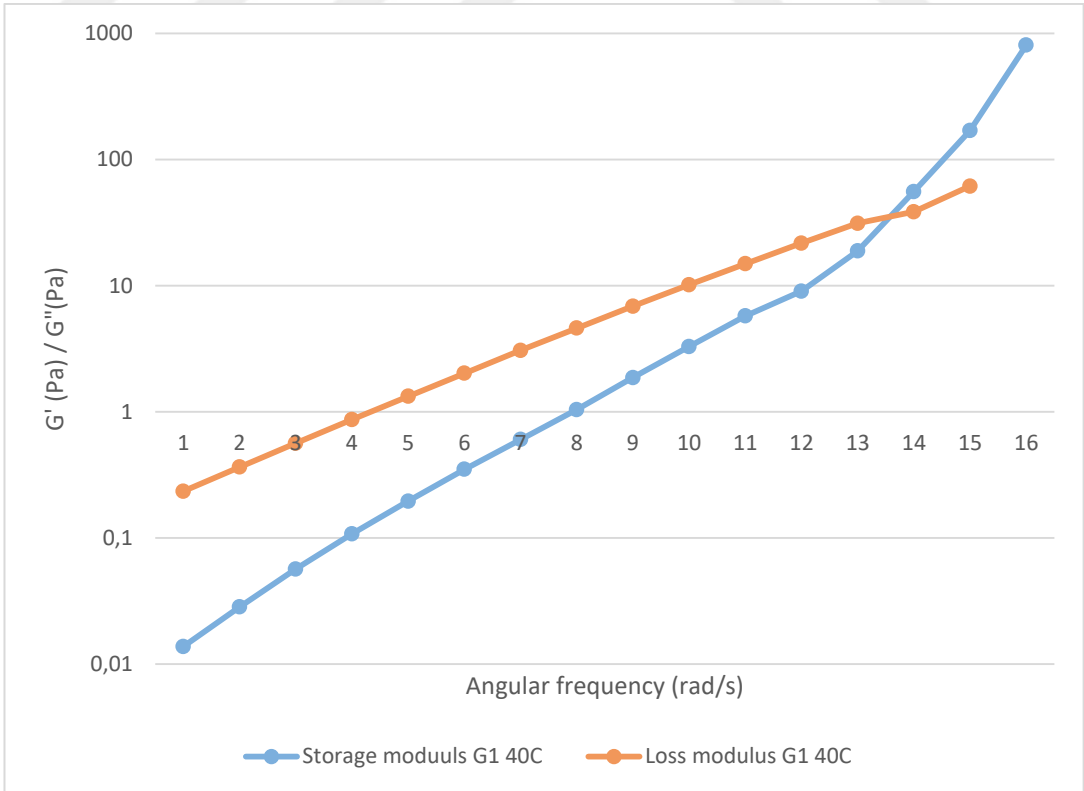
Şekil 119: G1 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



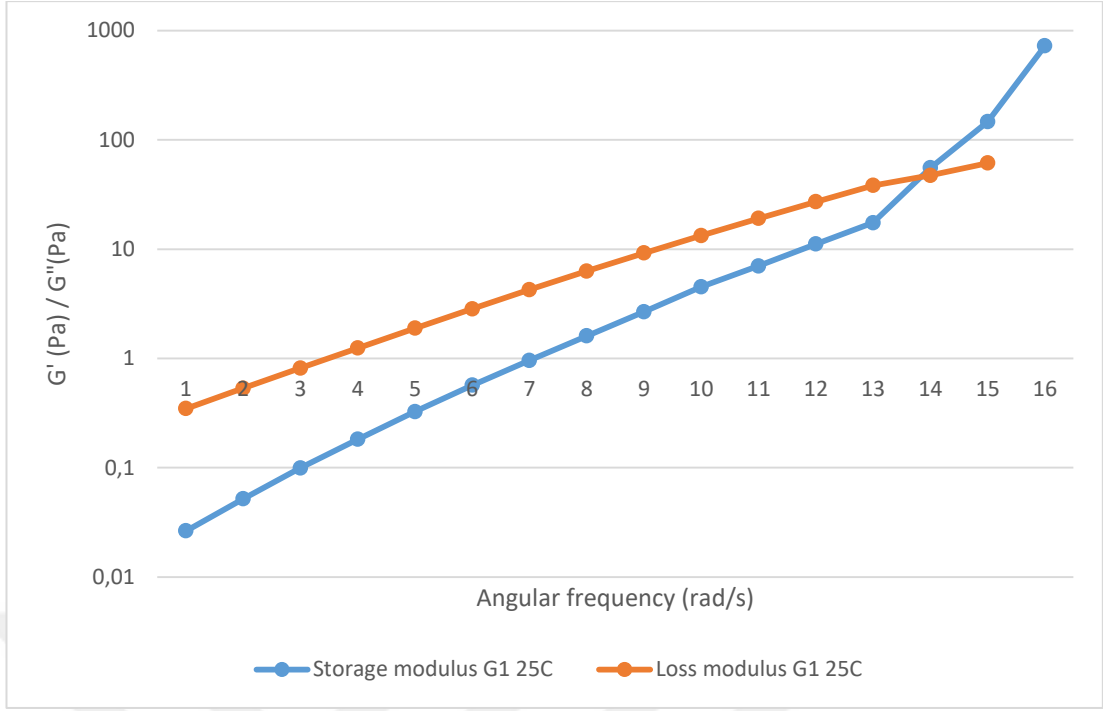
Şekil 120: G1 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)



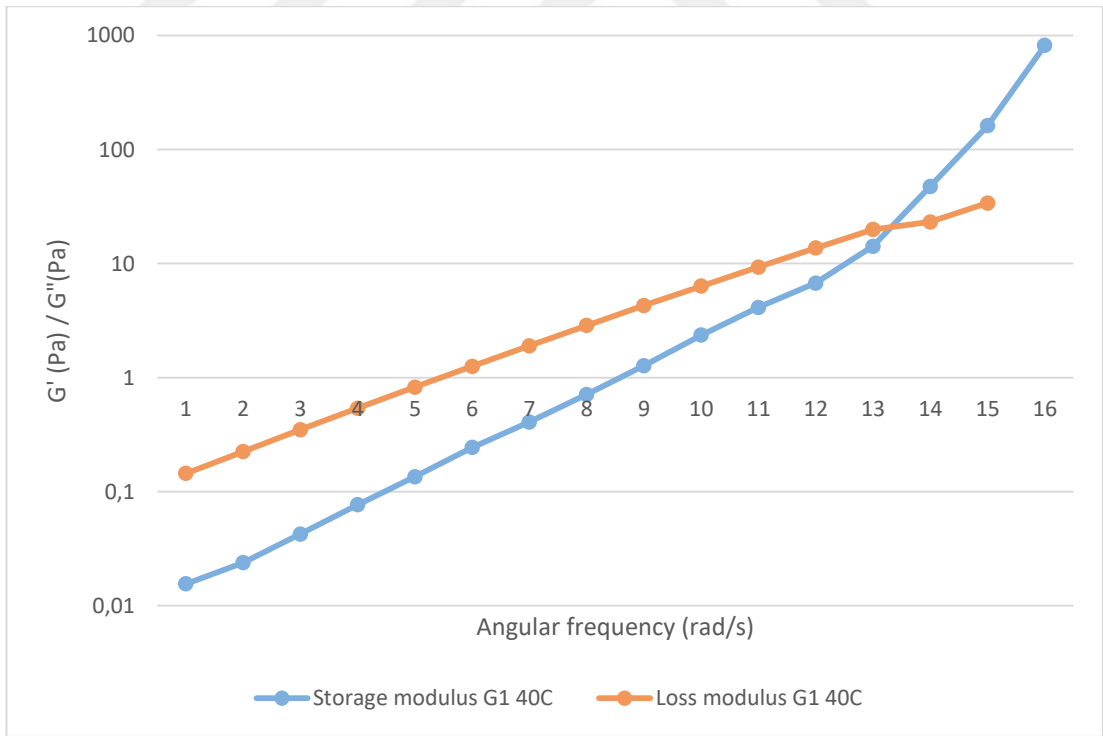
Şekil 121: G1 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



Şekil 122: G1 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



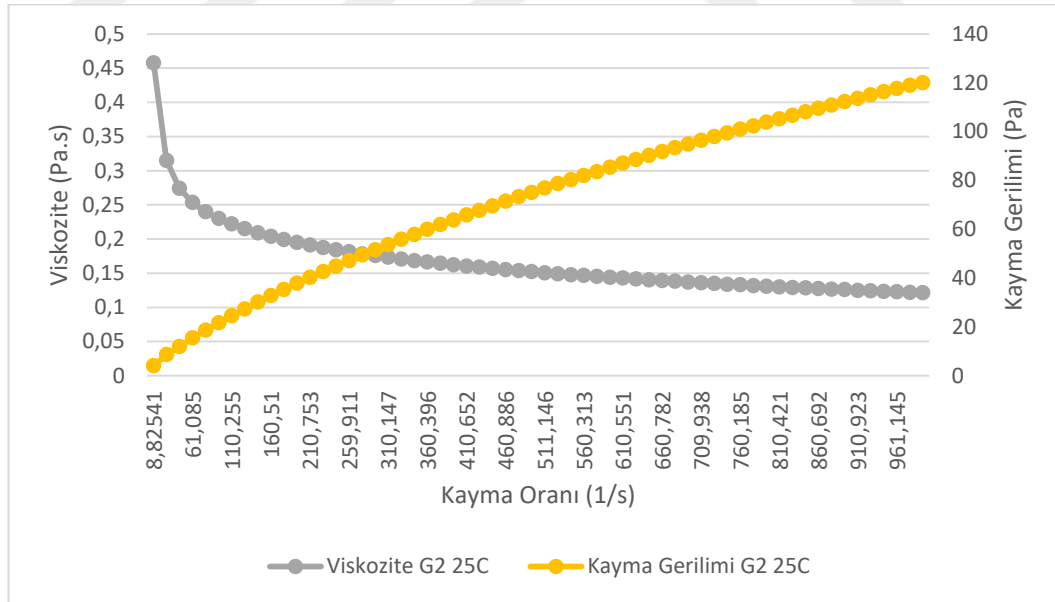
Şekil 123: G1 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



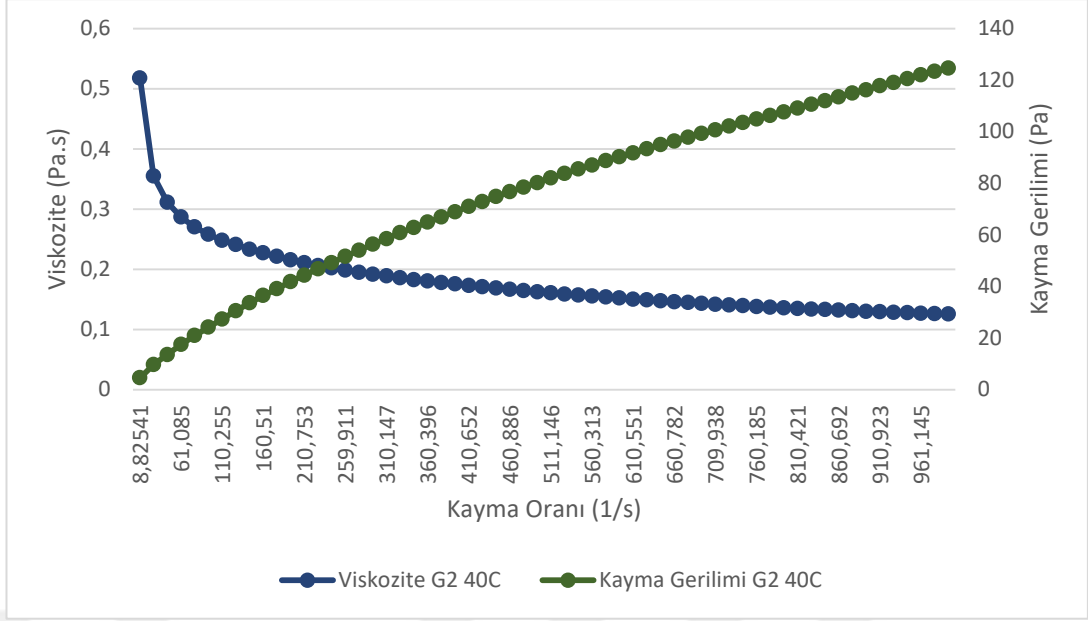
Şekil 124: G1 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)

Tablo 22: G2 Stabilite Sonuçları

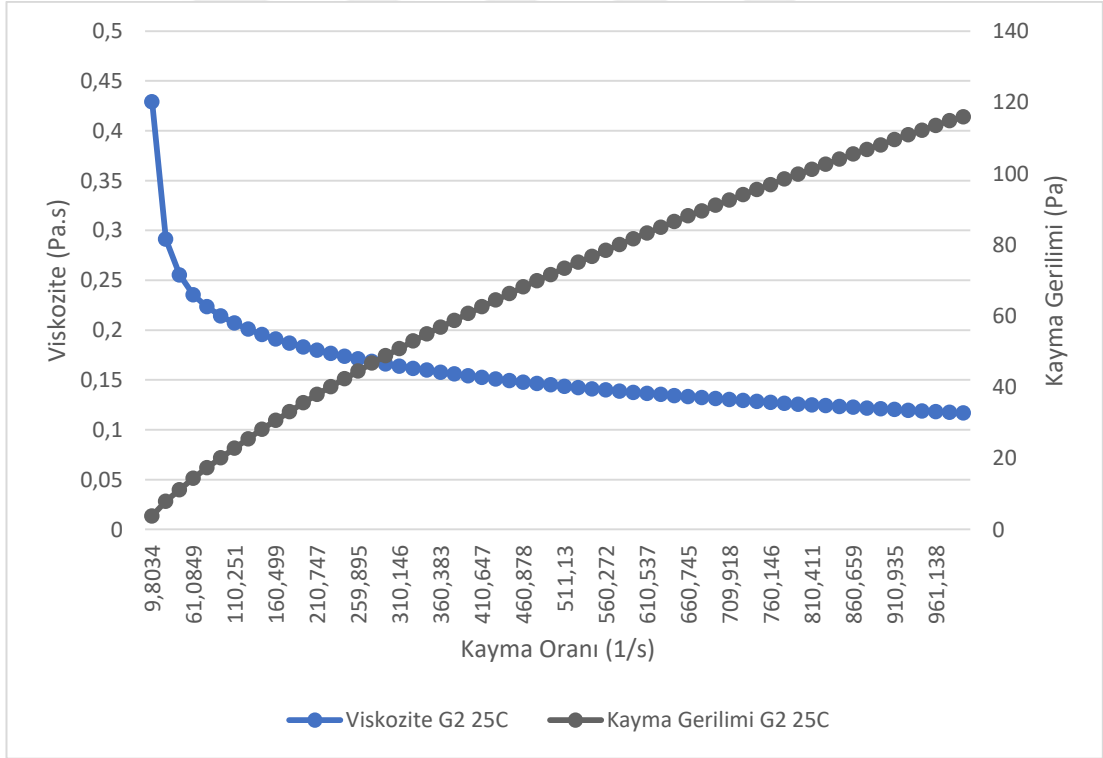
	25°C %60 Nem			40°C %75 Nem		
	Başlangıç	1.ay	2.ay	Başlangıç	1.ay	2.ay
Görünüş	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren sarımsı renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren sarımsı renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren sarımsı renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren sarımsı renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren sarımsı renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren sarımsı renkli jel
pH	5.7±0,1	5.6±0,000	5.5±0,152	5.7±0,1	5.5±1,000	5.3±0,474



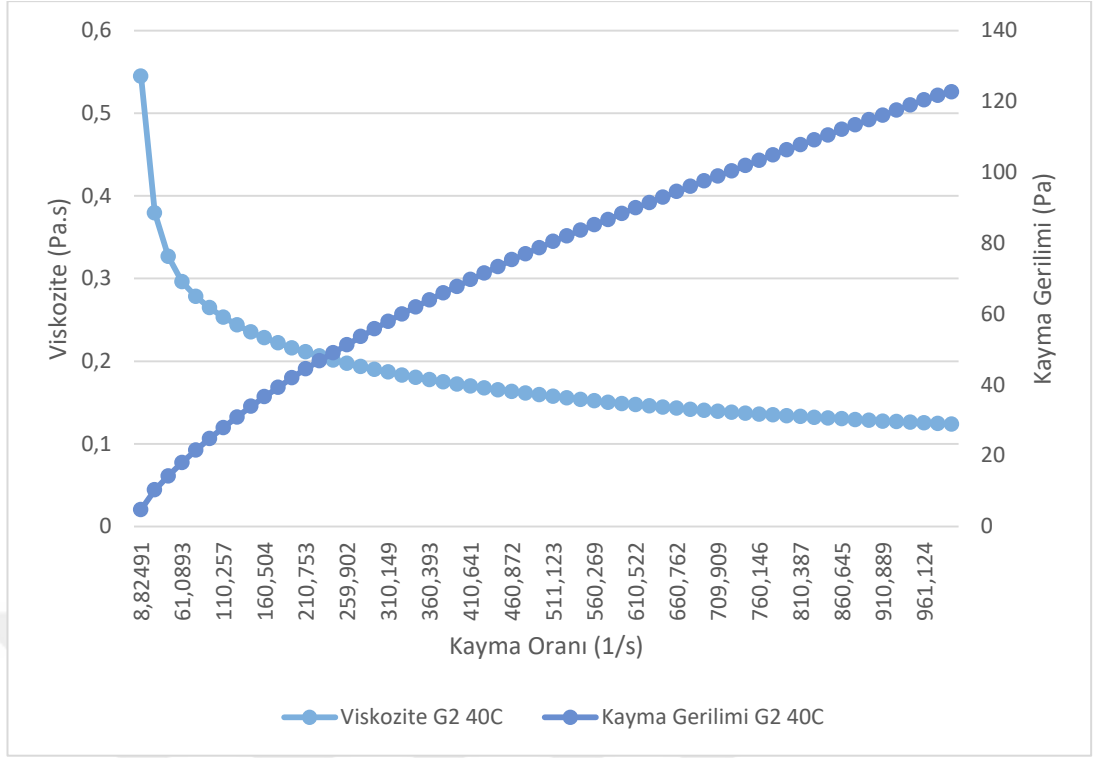
Şekil 125: G2 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



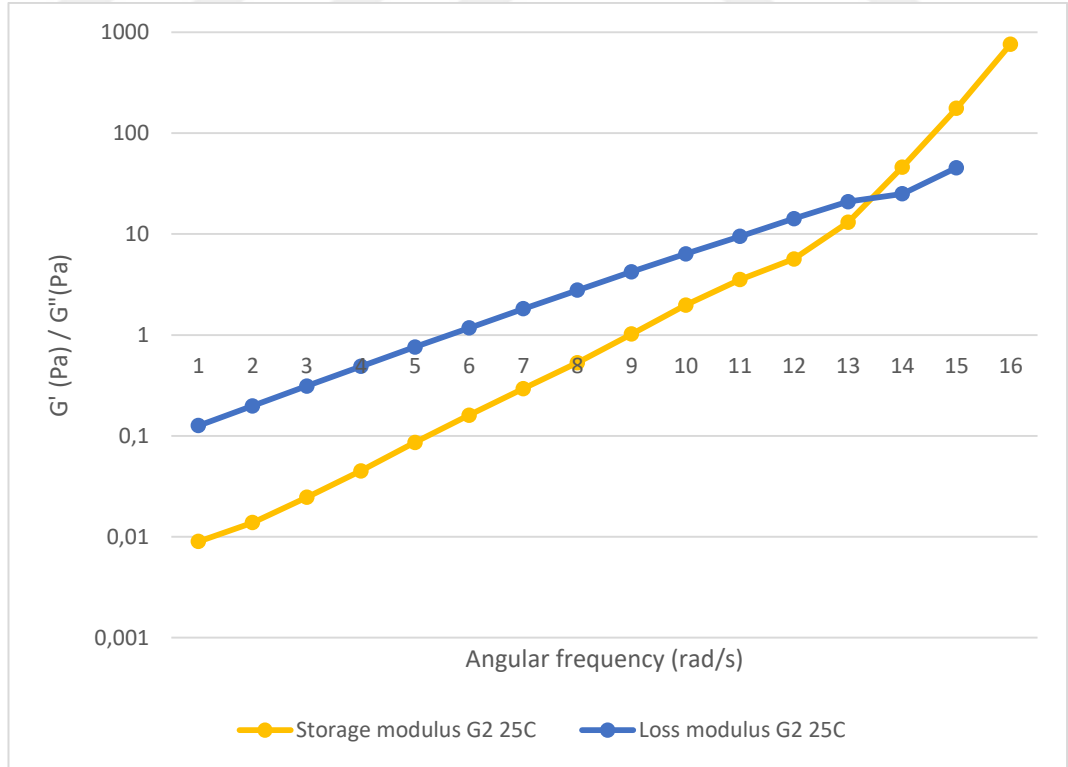
Şekil 126: G2 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



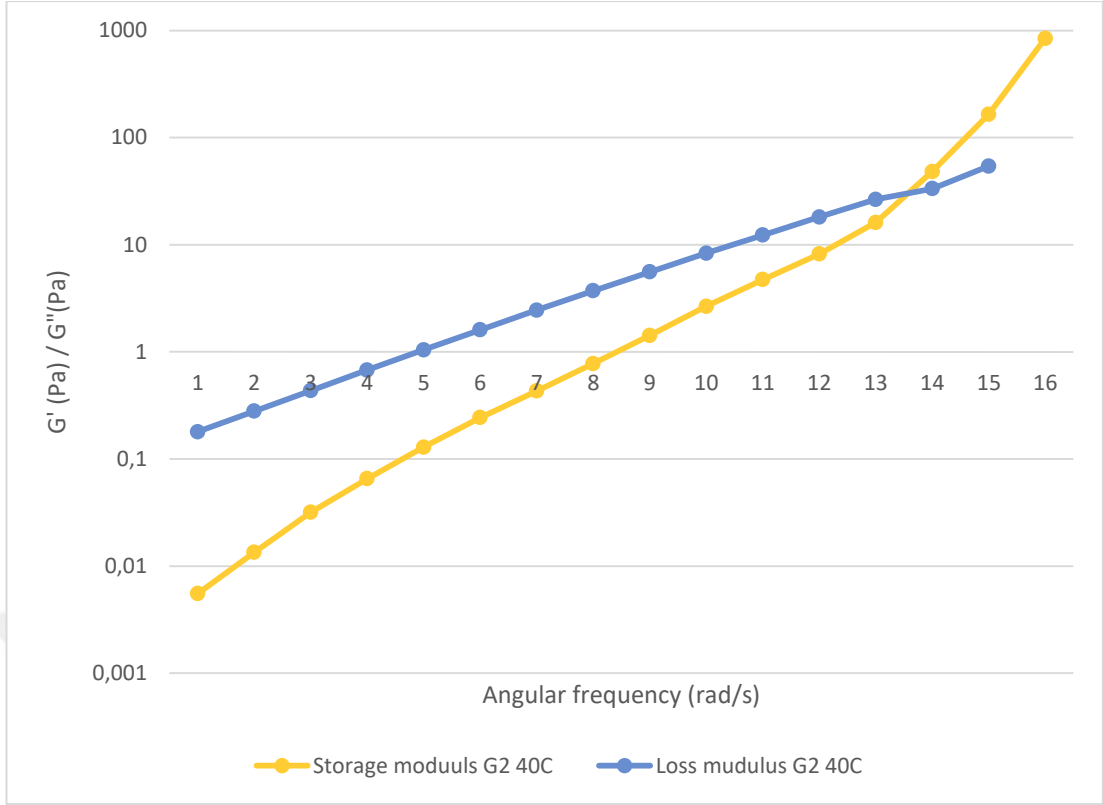
Şekil 127: G2 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



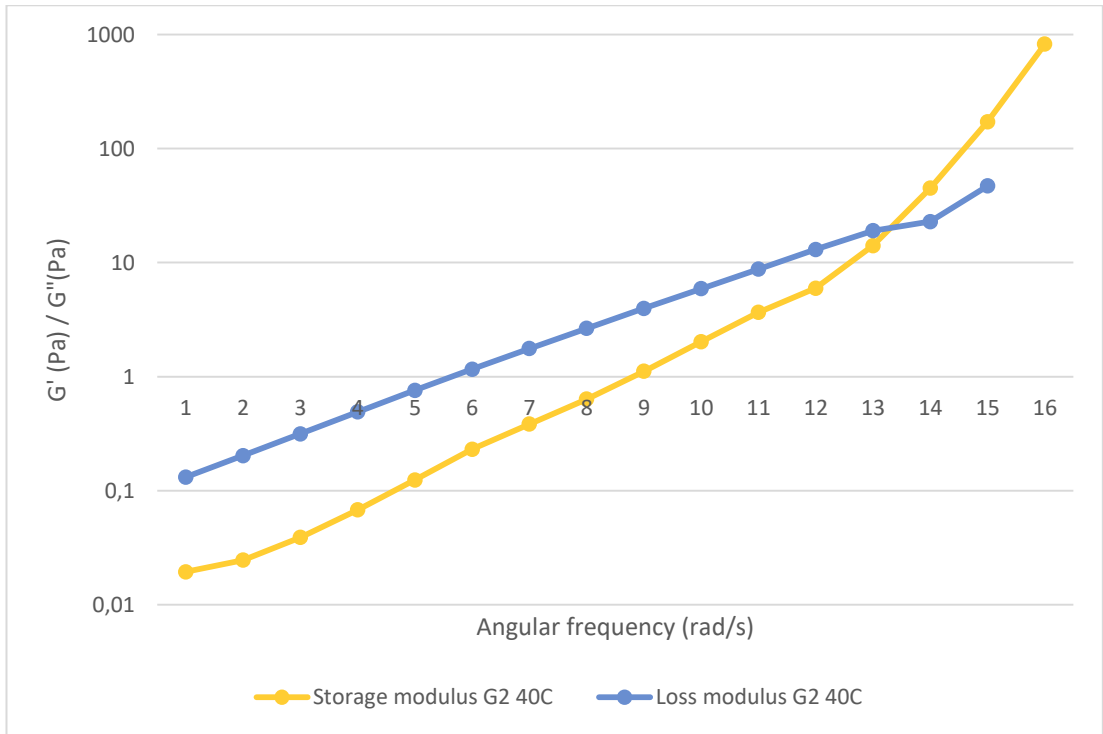
Şekil 128: G2 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)



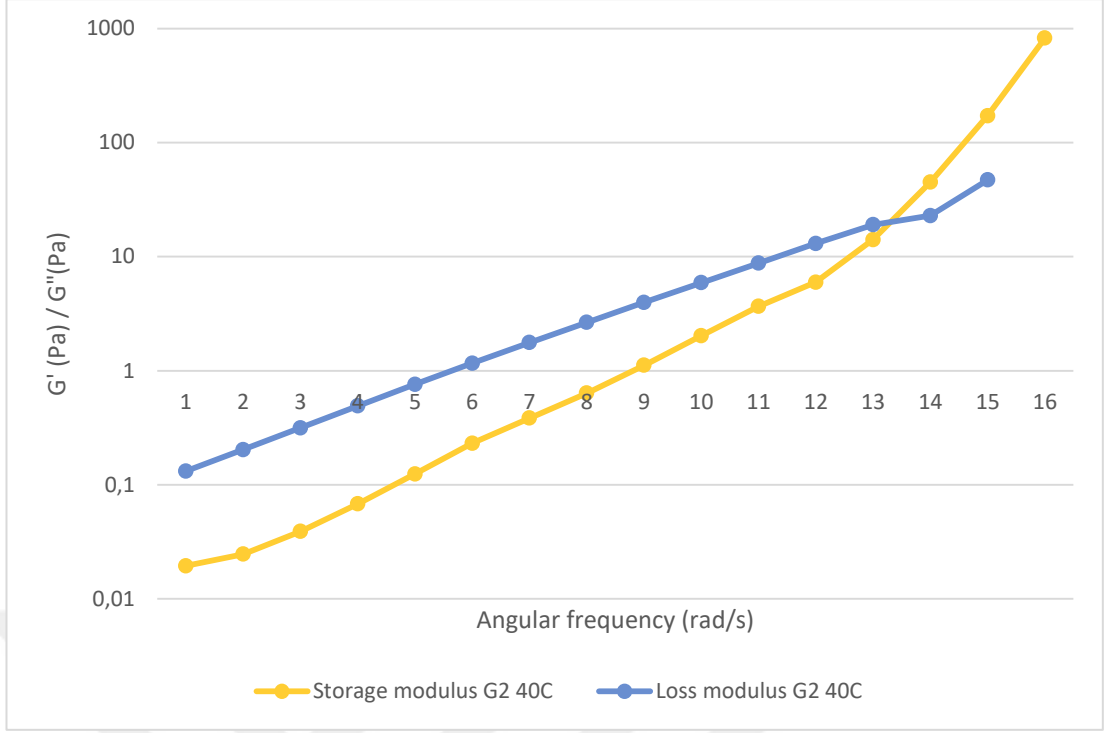
Şekil 129: G2 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



Şekil 130: G2 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



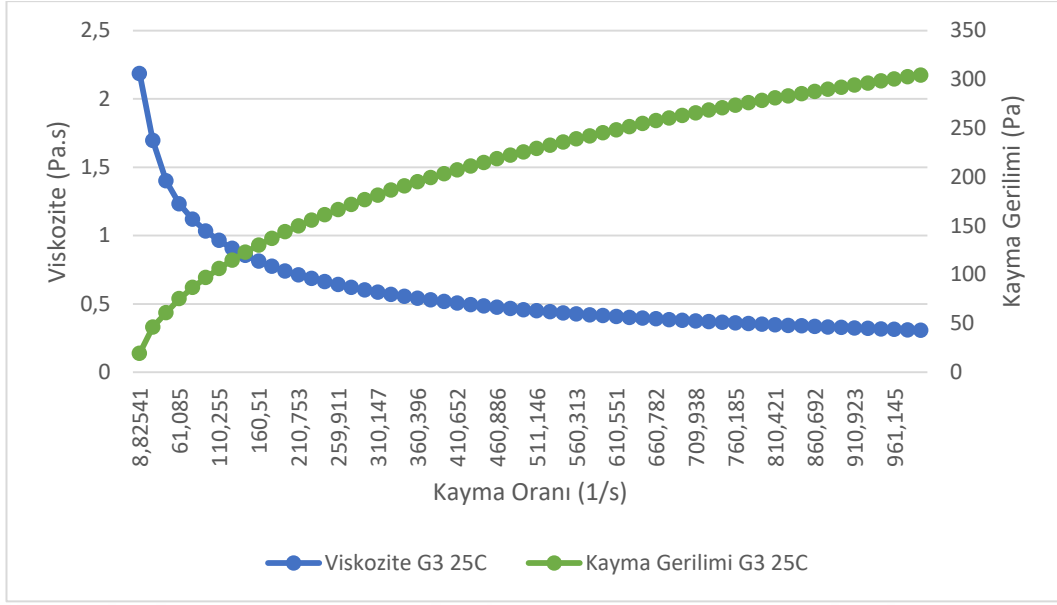
Şekil 131: G2 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



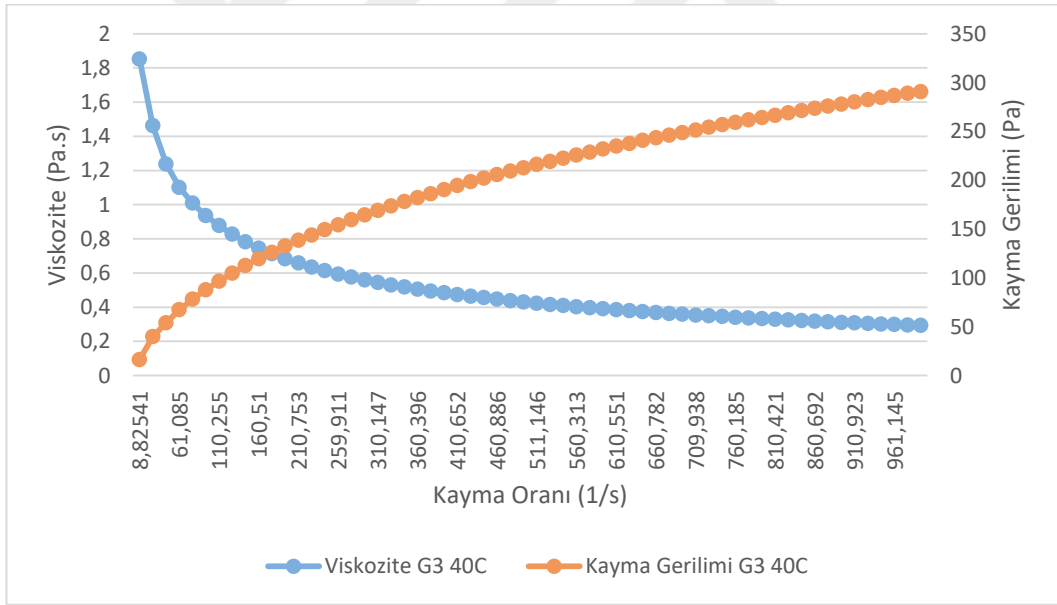
Şekil 132: G2 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)

Tablo 23: G3 Stabilite Sonuçları

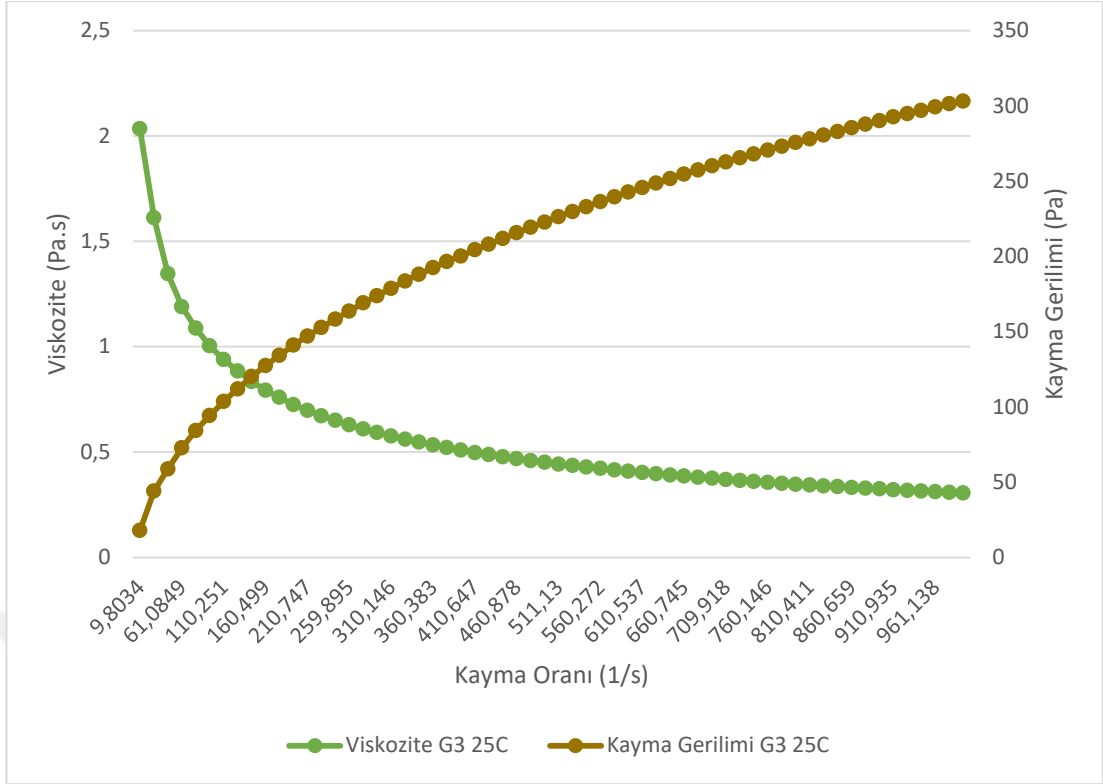
	25°C %60 Nem			40°C %75 Nem		
	Başlangıç	1.ay	2.ay	Başlangıç	1.ay	2.ay
Görünüş	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel
pH	5.6±0,115	5.5±0,356	5.3±0,000	5.6±0,115	5.5±1,000	5.4±0,592



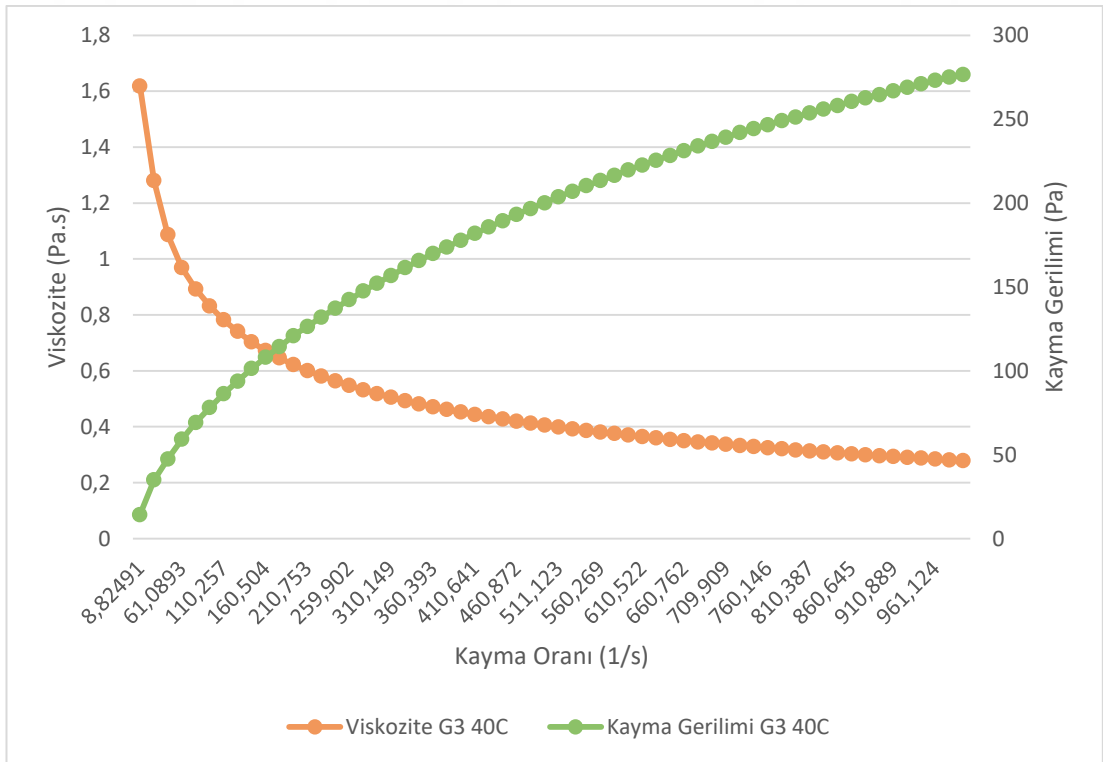
Şekil 133: G3 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



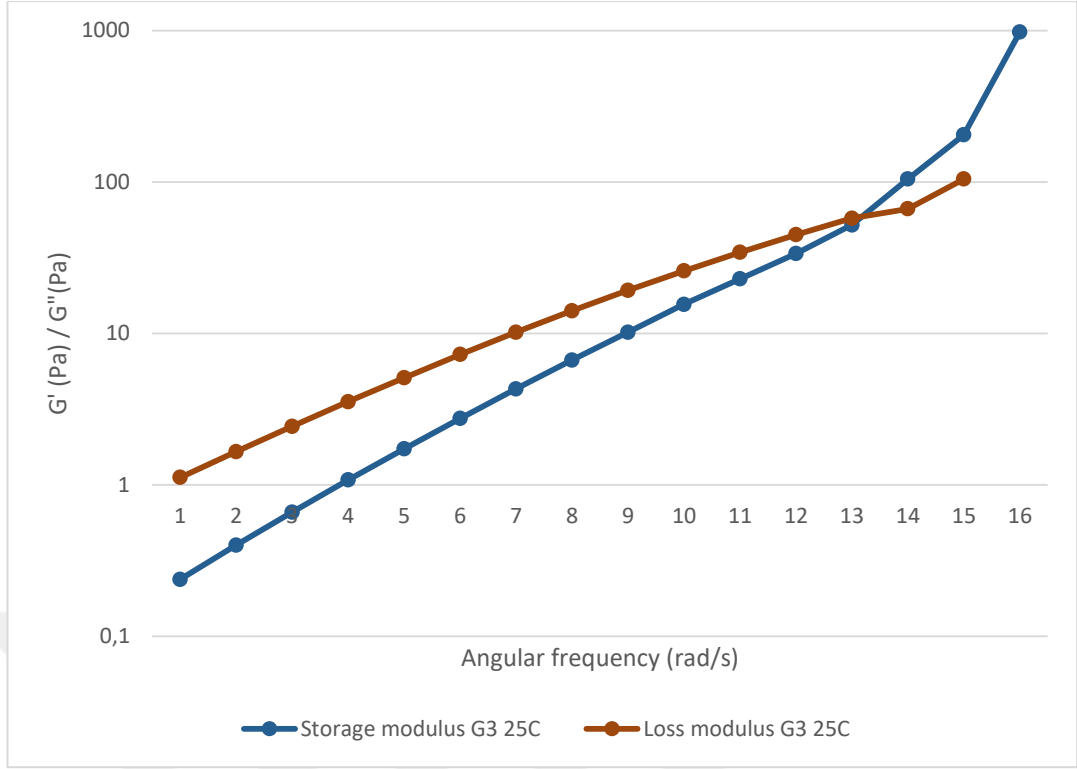
Şekil 134: G3 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



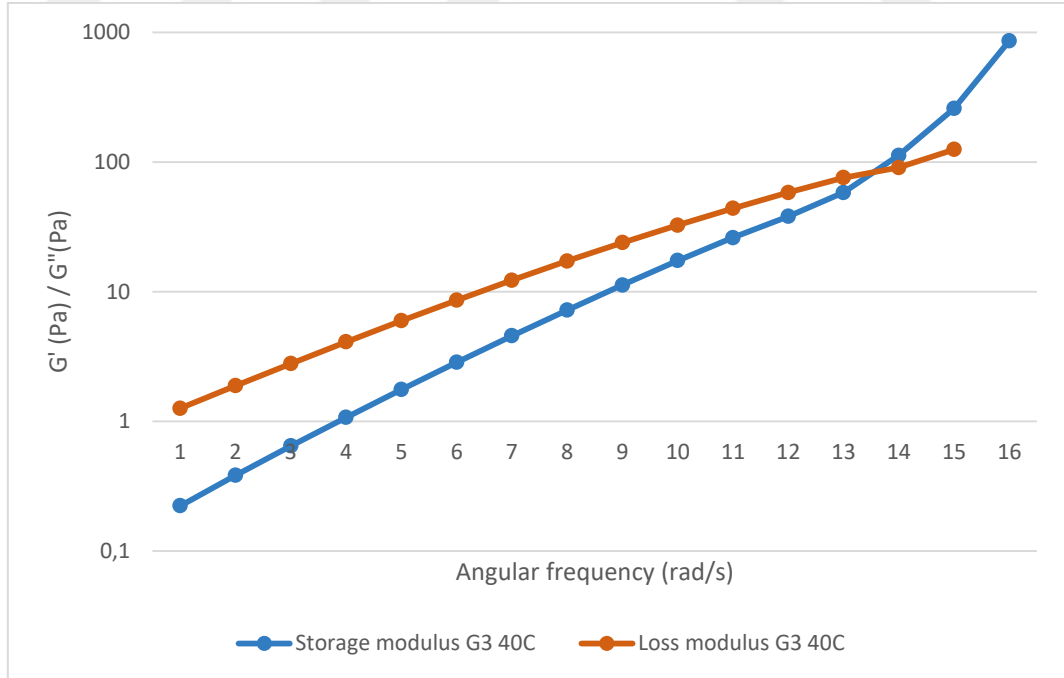
Şekil 135: G3 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



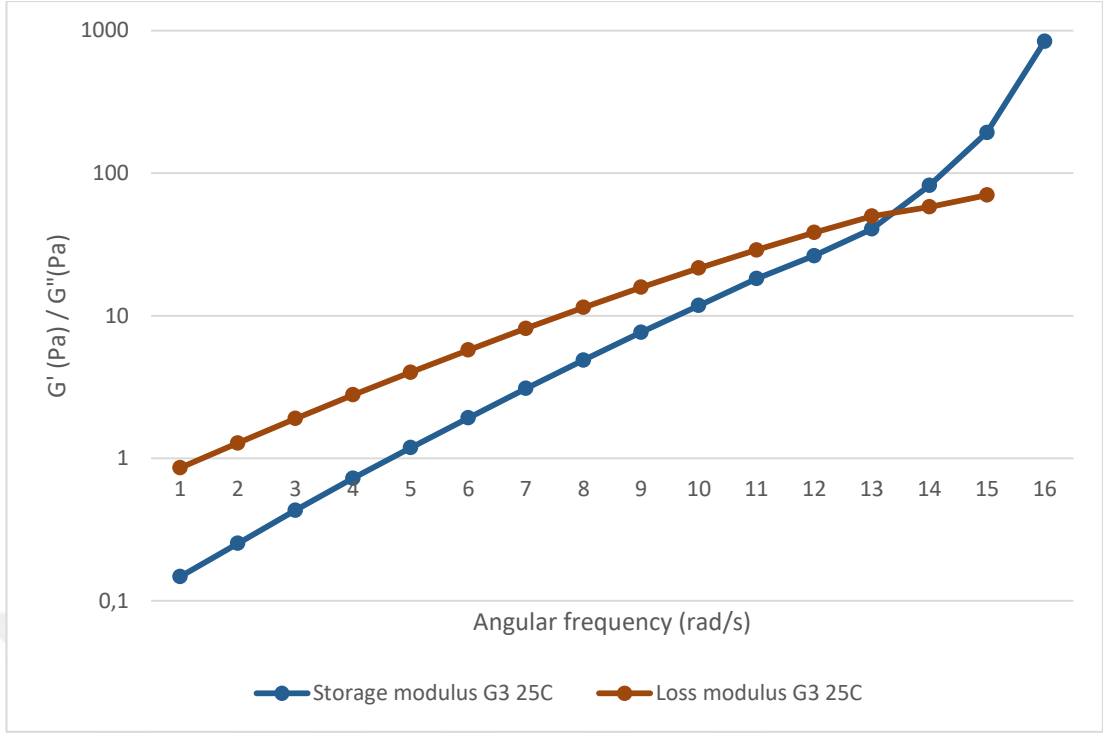
Şekil 136: G3 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)



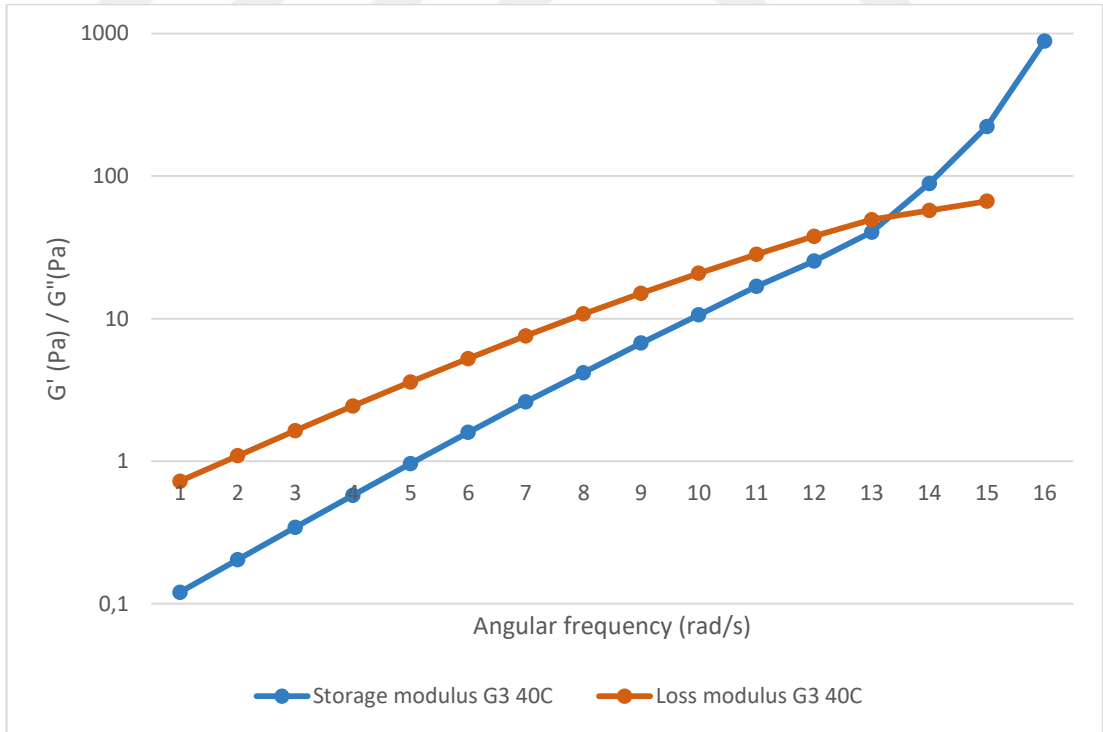
Şekil 137: G3 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



Şekil 138: G3 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



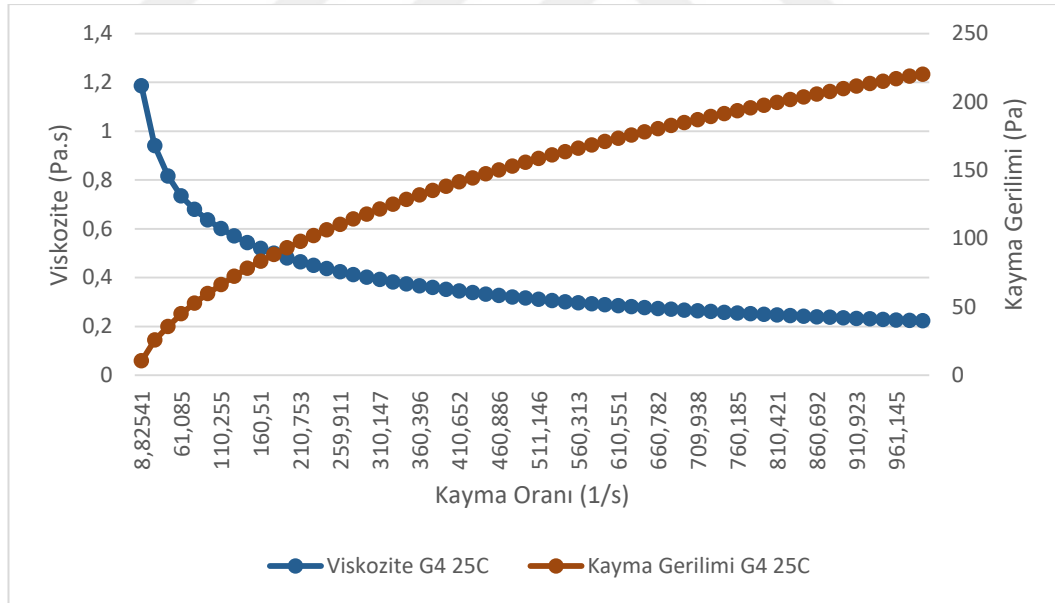
Şekil 139: G3 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



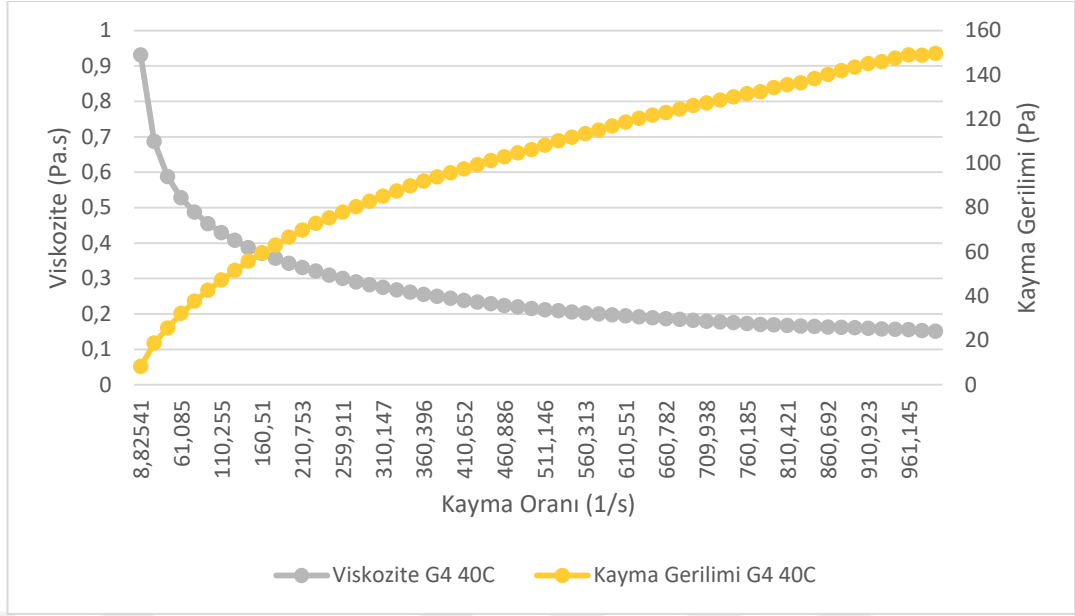
Şekil 140: G3 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)

Tablo 24: G4 Stabilite Sonuçları

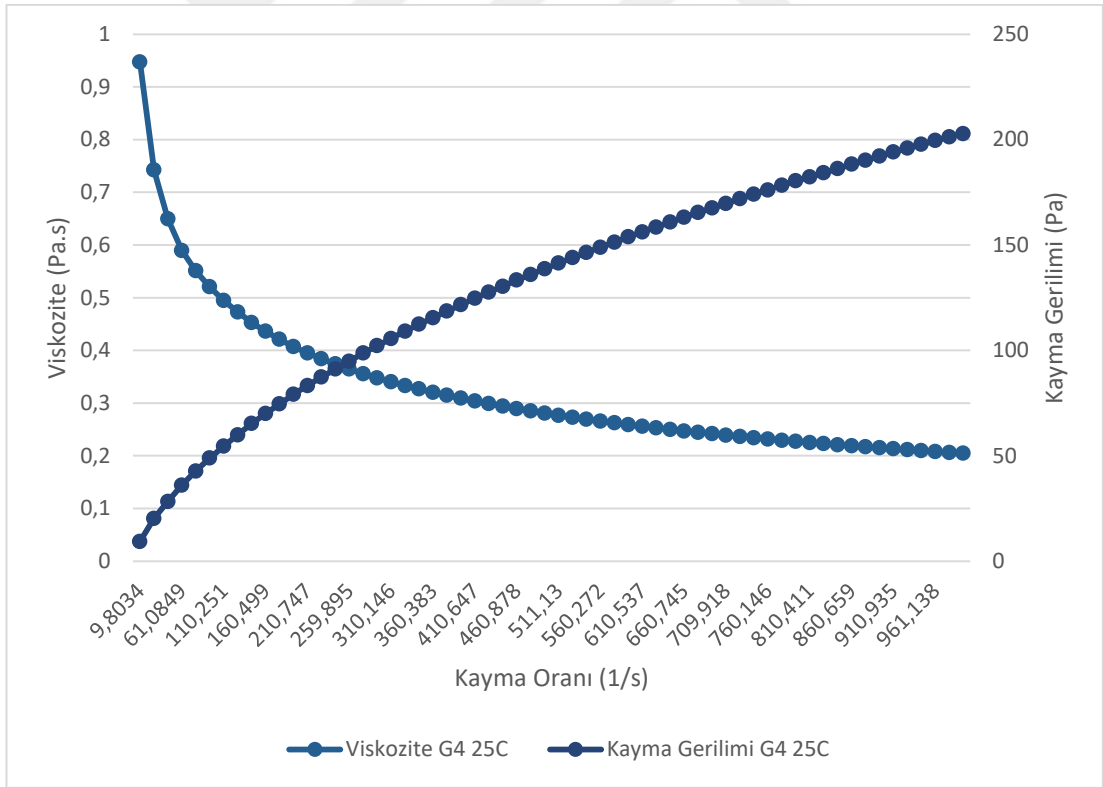
	25°C %60 Nem			40°C %75 Nem		
	Başlangıç	1.ay	2.ay	Başlangıç	1.ay	2.ay
Görünüş	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel	Koyu yeşil ve sarımsı mikroparti küller içeren şeffaf renkli jel
pH	5.6±0,152	5.4±1,000	5.3±0,000	5.6±0,152	5.4±0,114	5.3±0,243



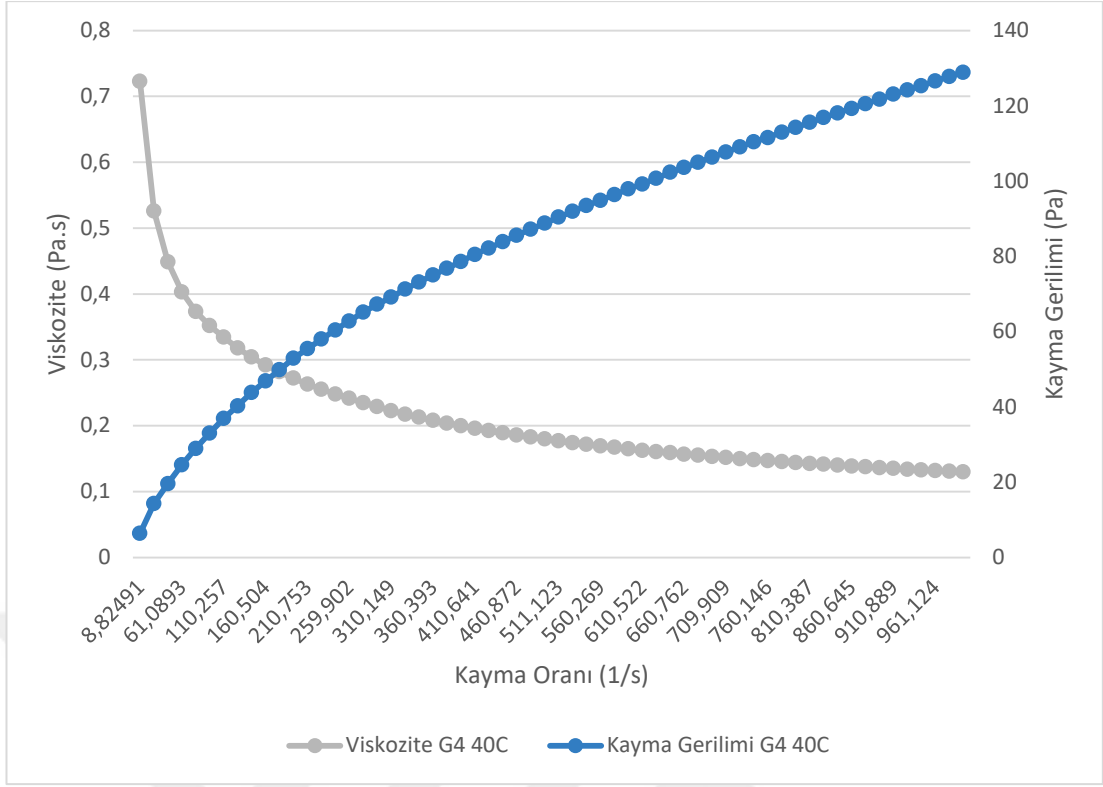
Şekil 141: G4 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



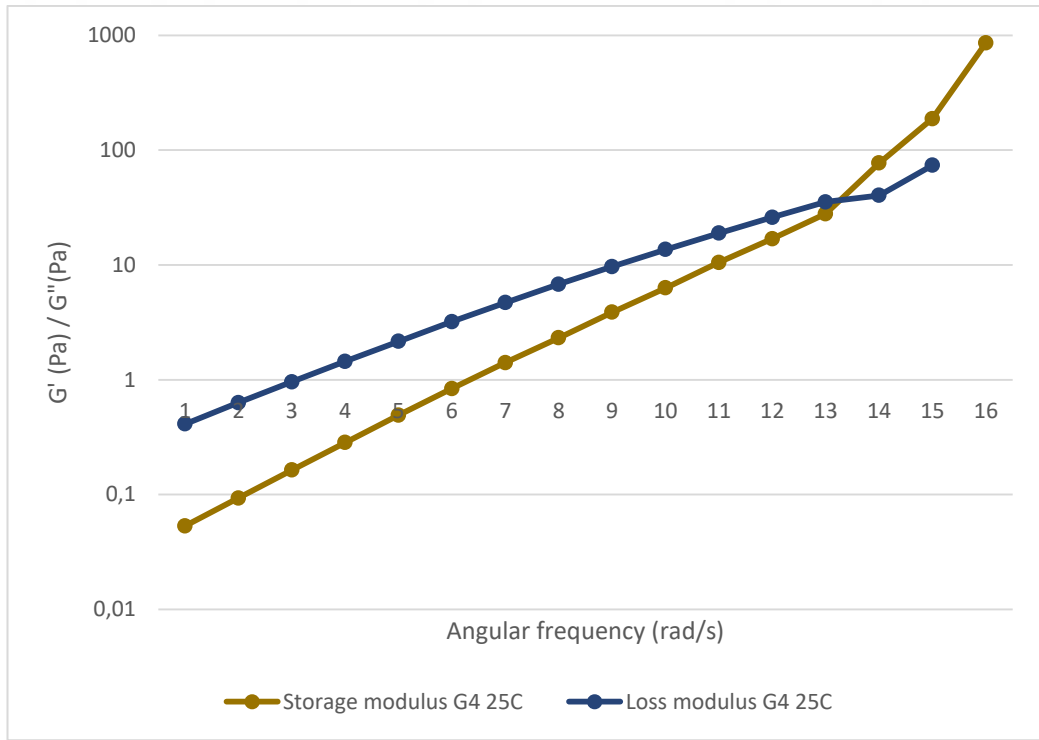
Şekil 142: G4 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



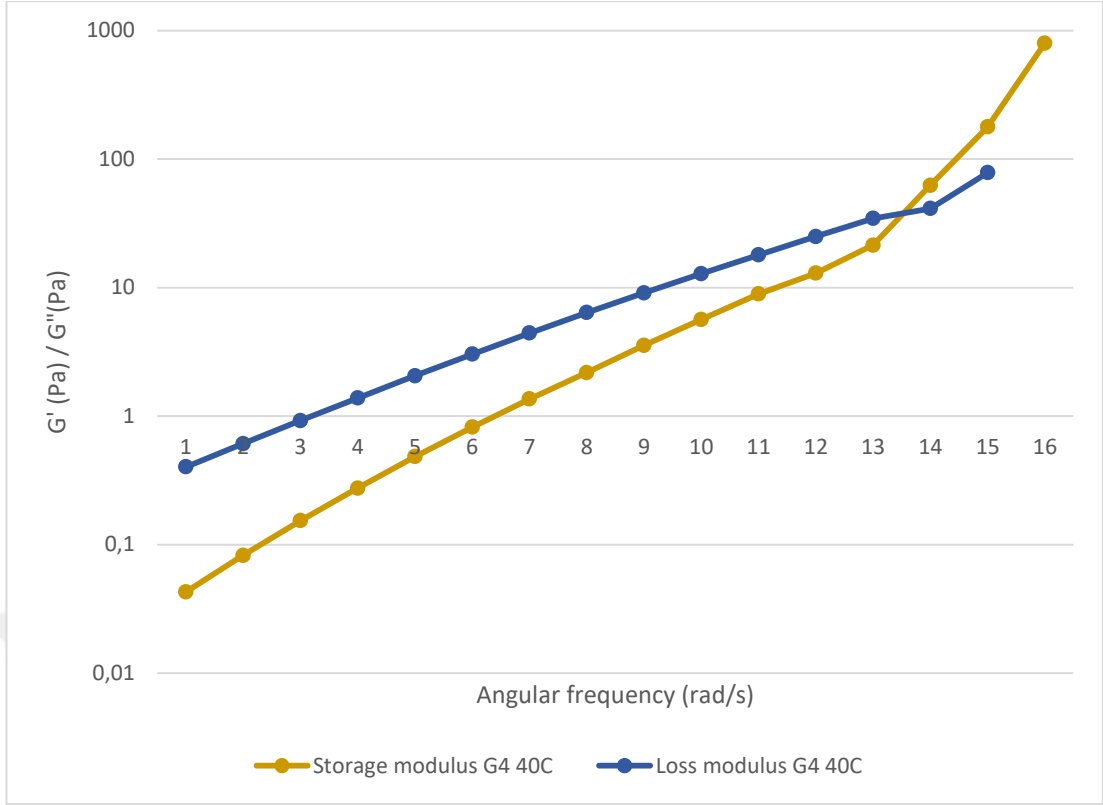
Şekil 143: G4 Akış Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



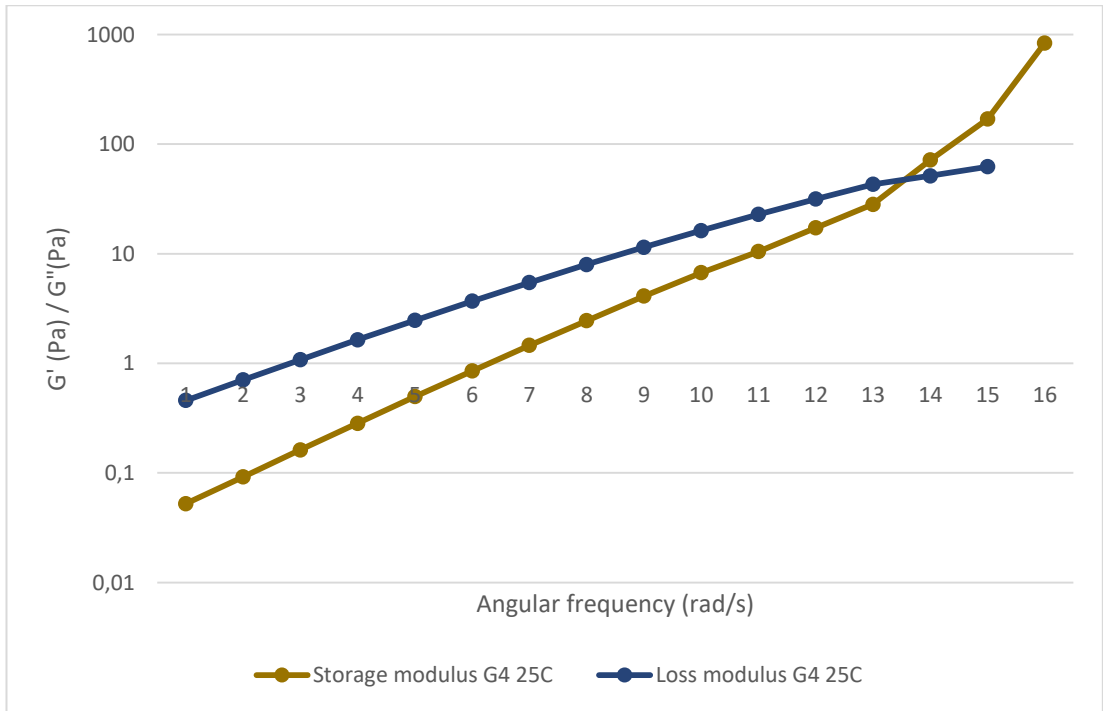
Şekil 144: G4 Akış Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)



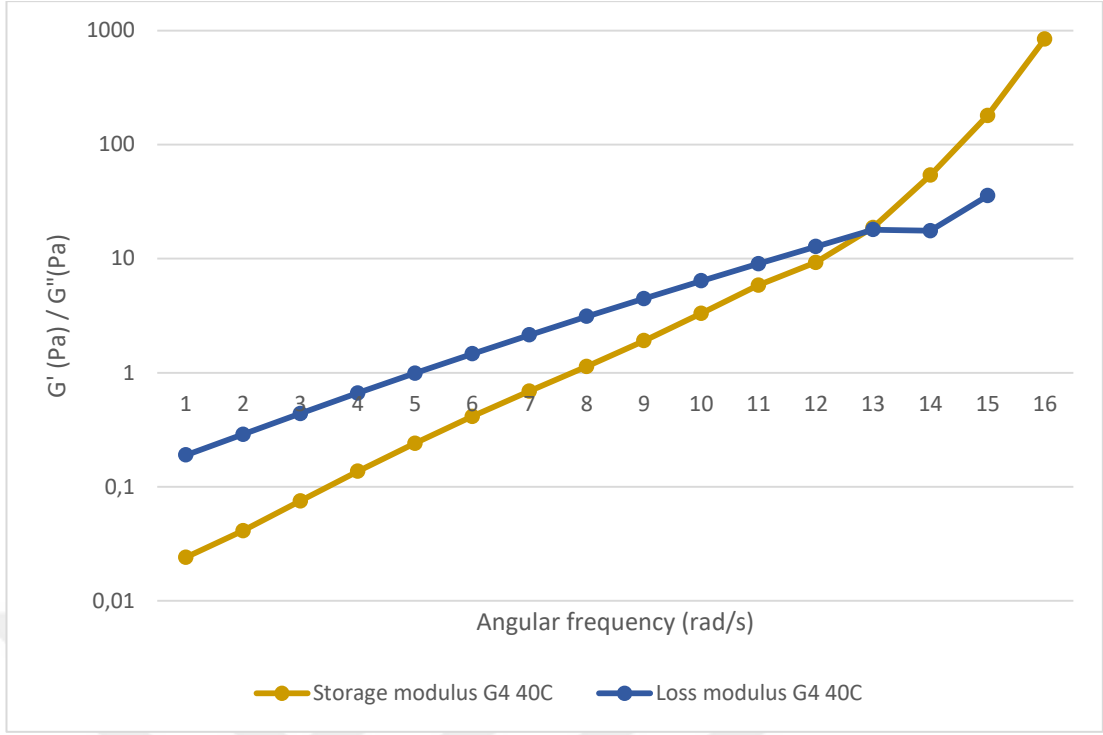
Şekil 145: G4 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 1.ay)



Şekil 146: G4 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 1.ay)



Şekil 147: G4 Osilasyon Grafiği (25°C %60 Nem; 2.ay)



Şekil 148: G4 Osilasyon Grafiği (40°C %75 Nem; 2.ay)

TARTIŞMA

Su, vücut ve cilt sağlığı için hayati derecede önemlidir. Vücudu dış çevreden koruyan derinin bütünlüğünü koruyabilmesi ve fonksiyonlarını gerçekleştirebilmesi için suya ihtiyacı vardır. Derinin su içeriği, yaşlanmaya bağlı olarak azalabileceği gibi soğuk hava, rüzgar, hava kirliliği, UV ışınları, sigara-alkol tüketimi, stres ve yorgunluk gibi duygusal etmenler, kullanılan ilaç ve kozmetik ürünlere bağlı olarak da azalabilir. Su içeriğini kaybetmiş cilt; zararlı dış etmenlere karşı daha açık olur, kaşıntı, kızarıklık, pul pul dökülme gibi semptomlar gösterebilir, kırışıklık oluşumu artabilir, kişinin psikolojisini ve dolaylı olarak sosyal yaşamını olumsuz etkileyebilir. Bu gibi sosyal, psikolojik ve fizyolojik sebeplerden ötürü cildin su içeriğini korumasına ve iyileştirmesine yardımcı olarak cildin daha genç, sağlıklı ve parlak görünmesini sağlayan nemlendirici preparatlar toplumda pek çok yaş grubundan kişinin başvurduğu popüler ürünlerdir.

Son zamanlarda, nemlendirici preparatlar ve diğer pek çok ürünle dünya piyasasında büyük bir pazar payına sahip olan kozmetik endüstrisi “sürdürülebilirlik” farkındalığıyla içerik, bitmiş ürün, ambalaj, üretim ve taşıma gibi süreçlerde iyileştirmeler yapmaktadır.

Nemlendirme ve yaşlanma karşıtı etkilere sahip ve sürdürülebilir bir kozmetik ürün geliştirme amacı taşıyan tez çalışmasında aktif madde olarak ipek proteini ve spirulina tercih edilmiştir.

Bu aktif maddelerin seçilme sebepleri; hem bireylerin hem de gezegenin sağlığını ön planda tutan, daha etik ve bilinçli bir güzellik rutini sağlamayı amaçlayan “yeşil kozmetik” kavramı kapsamında önerilen kozmetik içeriklerden olmaları, ipek proteininin NMF'nin yapısına benzer bir yapıda olması ve bu sayede cildin su içeriğinin korunmasına ve/veya iyileştirilmesine katkı sağlayan bir içerik olması ve spirulinanın antioksidan, nemlendirme fonksiyonu olması, kırışıklıkları azaltmaya yardımcı olması gibi sebeplerdir (Irene Ragusa, 2021; A V Daithankar, 2005; Baby Joseph, 2012; Wilbur Johnson Jr, 2020).

Bu aktif maddelerin sahip oldukları pek çok faydalarının yanında bazı dezavantajları bulunmaktadır. İki aktif maddenin de kötü kokulara sahip olması özellikle kozmetik

endüstrisinde kullanımları için önemli bir sorundur. Bununla birlikte ipek proteinin çözünürlüğünün düşük olması ve stabilitesinin korunmasının zor olması formülasyon geliştirme anlamında ciddi problemler yaratmaktadır. Bu problemler göz önünde bulundurularak hem kötü kokuyu maskeleyen hemde stabilite sorunlarının önüne geçmek amacıyla aktif maddelerin mikropartiküler sistemleri hazırlanıp bu mikropartiküllerin hidrojel formülasyonuna yüklenmesi yoluna gidilmiştir.

Hidrojel formülasyonlar yüksek su tutma kapasitesine sahiptir ve cilt üzerinde bir tabaka oluşturarak nemlendirme ve yaşlanma karşıtı etkiye katkı sağlar (A P Rokhade, 2009). Ayrıca yüksek su içeriği ile insan dokularına benzer olması, biyouyumlu olması, toksik olmaması, biyobozunur olması, uygulama bölgesinde uzun süre kalması, bu sayede daha az uygulama sıklığı imkanı sunması gibi avantajları vardır (Stanisław Mitura, 2020; Ahmed, 2015).

Kullanılacak yardımcı maddeler seçilirken “yeşil kozmetik” tanımına uygun maddeler olmasına ve “CosIng” veri tabanına kayıtlı, kozmetik ürün olarak kullanımı onaylanmış maddeler olması dikkate alınmıştır. Seçilen yardımcı maddeler sodyum aljinat, kalsiyum klorür, kitosan ve sodyum benzoattır (Irene Dini, 2021; Evren Algın Yapar, 2018; Filipe Smith Buarque, 2023; CosIng - Cosmetics Ingredients, 2024).

Formülasyon geliştirme çalışmalarına başlamadan önce öncelikle aktif maddelerin ve kullanılan yardımcı maddelerin fizikokimyasal özellikleri değerlendirilmiştir. Bu amaçla Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR), Diferansiyel Tarama Kalorimetresi (DTK) ve UV Spektrofotometre Cihazı’ndan faydalanılmıştır.

İpek proteinin FT-IR spektrumunda maddenin kimyasal yapısına bağlı olarak gözlenen karakteristik pikler, maddenin saflığı konusunda bilgi vermektedir. Bulunan pikler literatür ile uyumlu olup İpek proteini başlıca pikleri 3072.30, 2608.76, 2110.59, 1580, 1516.32, 1455.34, 1410.45, 1361.83, 1334.18, 1306.94, 1135.52, 1114.69, 1039.79, 1014.67, 916.36, 894.36, 849.39, 772.01 ve 702.25 cm^{-1} dalga boyunda verdiği tespit edilmiştir (Şekil 35). 3072.30 cm^{-1} , 2608.76 cm^{-1} civarındaki pikler hidrojen bağlarına yanıt olarak oluştuğu belirtilmiştir. İpek proteinindeki amid gruplarının varlığı nedeniyle, 1580 cm^{-1} ’deki bant amid I (C-O) bükülmesine, 1516.32 cm^{-1} ’deki bant amid II (N-H, C-N) bükülmesine, 1455.34, 1410.45, 1361.83, 1334.18, 1306.94, 1135.52, 1114.69, 1039.79 ve 1014.67 cm^{-1}

¹'deki bantlar amid III (N-H, C-N) gerilmesine , 916.36, 894.36, 849.39, 772.01 ve 702.25 cm⁻¹ amid IV'e atfedilmiştir (Hao Zhang, 2012).

Spirulina FT-IR spektrumunda maddenin kimyasal yapısına bağlı olarak gözlenen karakteristik pikler, maddenin saflığı konusunda bilgi vermektedir. Bulunan pikler literatür ile uyumlu olup Spirulina başlıca pikleri 3284.19, 2925.67, 1537.56, 1451.72, 1394.87, 1238.44 ve 1036.36 cm⁻¹ dalga boyunda verdiği tespit edilmiştir (Şekil 36). 3284.19 cm⁻¹'deki bant, O–H ve N–H bağlarının gerilmesine atfedilebilir. C-H bağlarının gerilmesi, 2925.67 cm⁻¹'deki bantta doğrulanmıştır. 1537.56 cm⁻¹ bandında, N-H ile C-N'nin gerilmesi arasındaki etkileşim amidatlanmış (protein) yapıların da karakteristiğidir. 1451.72 ve 1394.87 cm⁻¹'deki bantlar, proteinlerde bulunan COO- gruplarının simetrik gerilmesinin karakteristiğidir. 1238.44 cm⁻¹'de, çift bağların asimetrik titreşimleri P=O'dur. C-O, C–C ve C–OH bağları 1036.36 cm⁻¹'de gözlenir. Bu veriler, karboksil, amino ve fosfat gruplarının varlığının Spirulina'da baskın olduğunu gösterir (Cíntia Guarienti, 2021).

Sodyum aljinat FT-IR spektrumunda maddenin kimyasal yapısına bağlı olarak gözlenen karakteristik pikler, maddenin saflığı konusunda bilgi vermektedir. Bulunan pikler literatür ile uyumlu olup Sodyum aljinat başlıca pikleri 3244.87, 1594.85, 1406.98 ve 883.22 cm⁻¹ dalga boyunda verdiği tespit edilmiştir (Şekil 37). 3244.87 cm⁻¹'deki bant –NH ve –OH gerilme titreşimlerine atfedilir. 1594.85 cm⁻¹'deki bant, amid I grubu varlığına; 1406.98 cm⁻¹'deki bant, amid II grubu varlığına, 883.22 cm⁻¹'deki bant C-O gerilmesine atfedilir (Svetlana R. Derkach, 2019).

Kitosan (yüksek molekül ağırlıklı) FT-IR spektrumunda maddenin kimyasal yapısına bağlı olarak gözlenen karakteristik pikler, maddenin saflığı konusunda bilgi vermektedir. Bulunan pikler literatür ile uyumlu olup Kitosan (yüksek molekül ağırlıklı) başlıca pikleri 3291.30, 2878.06, 1645.31, 1567.69, 1418.06, 1376.37, 1317.14, 1150.46, 1062.27 ve 895.10 cm⁻¹ dalga boyunda verdiği tespit edilmiştir (Şekil 38). 3291.30cm⁻¹'deki bant, NH grubu-gerilme titreşimine atfedilir. 2878.06, 1418.06 ve 1317.14 cm⁻¹ 'deki bantlar, piranoz halkasına atfedilen simetrik veya asimetrik CH₂ germe titreşimidir. 1645.31cm⁻¹'deki bant, amid grubunda C=O (amid I bandı)dir. 1567.69 cm⁻¹'deki bant birincil amine atfedilir. 1376.37cm⁻¹'deki bant, amid grubunda CH₃'e atfedilir. 1150.46 ve 1062.27 cm⁻¹ glikozidik bağda –C–O–C– 'e atfedilir. 895.10 cm⁻¹ CH₃COH grubuna karşılık gelir (A. Pawlak, 2003).

Kitosan (orta molekül ağırlıklı) FT-IR spektrumunda maddenin kimyasal yapısına bağlı olarak gözlenen karakteristik pikler, maddenin saflığı konusunda bilgi vermektedir. Bulunan pikler literatür ile uyumlu olup Kitosan (orta molekül ağırlıklı) başlıca pikleri 3364.23, 2879.07, 1643.62, 1566.88, 1419.35, 1376.17, 1312.33, 1148.45, 1076.06 ve 894.10 cm^{-1} dalga boyunda verdiği tespit edilmiştir (Şekil 39). 3364.23 cm^{-1} 'deki bant, NH grubu-gerilme titreşimine atfedilir. 2879.07, 1419.35 1312.33, cm^{-1} 'deki bantlar, piranoz halkasına atfedilen simetrik veya asimetrik CH₂ germe titreşimidir. 1643.62 cm^{-1} 'deki bant, amid grubunda C=O (amid I bandı)dır. 1566.88 cm^{-1} 'deki bant birincil amine atfedilir. 1376.17 cm^{-1} 'deki bant, amid grubunda CH₃'e atfedilir. 1148.45ve 1076.06 cm^{-1} glikozidik bağda -C-O-C-'e atfedilir. 894.10 cm^{-1} CH₃COH grubuna karşılık gelir (A. Pawlak, 2003).

Sodyum benzoat FT-IR spektrumunda maddenin kimyasal yapısına bağlı olarak gözlenen karakteristik pikler, maddenin saflığı konusunda bilgi vermektedir. Bulunan pikler literatür ile uyumlu olup Sodyum benzoat başlıca pikleri 3071.87, 3027.37, 1622.93, 1595.36, 1570, 1404.02, 1308.07, 1181.85, 1103.52, 1067.92, 1028.96, 1006.86, 973.20, 919.97, 845.00, 819.52, 703.77 ve 678.04 cm^{-1} dalga boyunda verdiği tespit edilmiştir (Şekil 40). 3071.87, 3027.37 cm^{-1} 'deki bantlar sp² C-H gerilmesine, 1622.93, 1595.36ve 1570 cm^{-1} 'deki bantlar konjuge C=O gerilmesine, 1404.02, 1308.07, 1181.85, 1103.52, 1067.92, 1028.96 ve 1006.86 cm^{-1} arasındaki bantlar aromatik C=C gerilmesine, 973.20, 919.97, 845.00, 819.52, 703.77 ve 678.04 cm^{-1} arasındaki bantlar monosubstitüe düzlem dışı bükülmeye (=C-H) karşılık gelmiştir (Munish Kumar, 2017).

Diferansiyal tarama kalorimetresi ile yapılan çalışmalarda da aktif maddelerin ve polimerlerin DTK termogramları incelenmiştir.

İpek proteininin DTK termogramı değerlendirildiğinde 73.74°C ve 235.25°C'de endotermik pik, 172.21°C'de ise camsı geçiş gösterdiği görülmüştür (Şekil 41). Sonuçlar literatür ile uyumludur (Theodora Chlapanidas, 2011). Spirulinada ise yine literatürle uyumlu olarak 75.56°C'de endotermik pik gözlemlenmiştir (Şekil 42) (Ana Paula Quites Larrosa, 2018).

Yüksek molekül ağırlıklı kitosan ve orta molekül ağırlıklı kitosanın DTK termogramlarında sırasıyla 85.75°C ve 82.96°C'de endotermik pik gözlenmiştir.

(Şekil 43-44). Literatüre göre yaklaşık 310°C’de kitosan ekzotermik bir tepe gösterir ve bu tepe kitosanın termal bozunmasına (monomer dehidratasyonu, glikozit bağının kopması ve asetil ve deasetillenmiş birimlerin ayrışması) atfedilir. Fakültemiz laboratuvarında bulunan DTK cihazında en yüksek 300°C sıcaklığa ulaşılabildiğinden kitosana ait ekzotermik pik tespit edilememiştir. Ancak elde edilen endotermik piklerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür (Shaikat Chandra Dey, 2016).

Sodyum aljinat 95.11°C’de endotermik pik, 243.30°C’de ekzotermik pik vermektedir (Şekil 45). 95.11°C’deki endotermik pik polisakkaritin su ve nem içeriğinin kaybına, 243.30°C’de ekzotermik pik termal ayrışmaya atfedilir (K. Madhusudana Rao, 2013).

Sodyum benzoat literatürde yaklaşık 400°C’de endotermik pik vermektedir (Mingfang Ma, 2015). Kullandığımız DTK cihazında en yüksek 300°C sıcaklığa ulaşabilmesi sebebiyle çalışma aralığı olan 30-300°C’de herhangi bir pike rastlanmamıştır (Şekil 46).

Kalsiyum Klorür 47.26°C, 102.05°C ve 288.70°C’de endotermik pik vermiştir ve piklerin literatür ile uyumlu olduğu görülmüştür (Şekil 47) (Camila Barreneche, 2014).

İpek proteininin UV spektrumları 2.2.1.3’te belirtildiği şekilde çekilmiştir. İpek proteini (liyoofilize toz) ve ipek proteini (sıvı form) maksimum absorban değerleri 275 nm olarak bulunmuştur (Şekil 48-49). Bulunan λ_{max} değerlerinin literatürlerde belirtilen dalga boylarıyla uyumlu olduğu görülmüştür (A. Sionkowska, 2011).

Aktif maddelerin ve yardımcı maddelerin geçimlilik çalışmaları 2.2.1.4 bölümünde anlatıldığı şekilde yapılmıştır. Elde edilen karışımların FT-IR spektrumları ve DTK termogramları incelendiğinde aktif maddelerin ve yardımcı maddelerin tek başlarına çekilen FT-IR spektrumları ve DTK termogramlarına göre bulunan piklerin pozisyonunda önemli bir değişiklik olmadığı gözlenmiştir. Bulgular değerlendirildiğinde aktif maddeler ve yardımcı maddeler arasında etkileşme olmadığı sonucuna varılmıştır (Şekil 50-73).

Tez çalışması kapsamında formülasyonlar “Yöntemler bölümü” 2.2.2.2.’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır.

Formülasyonların hazırlanmasında kullanılacak aktif maddelerin miktarına yapılan literatür araştırmaları ve patent taramaları sonucunda karar verilmiştir.

İpek proteini içeren formülasyonlar ile ilgili yapılan literatür taramasında piyasada bulunan kozmetik müstahzarlarda %0.1-%1.4 oranında ipek proteini içeren formülasyonlar tespit edilmiştir (Wilbur Johnson Jr, 2020). Farklı bir çalışmada %1 oranında ipek proteini içeren kozmetik formülasyon beklenen özellikleri karşılamıştır (Duy Toan Pham, 2023). Bu araştırmalar sonucunda %1 oranında ipek proteini içeren bir formülasyon tasarlanmıştır.

Spirulina içeren formülasyonlar ile ilgili yapılan literatür ve patent taramasında; konu ile ilgili bir patentte %0.1-%5 konsantrasyonlarında spirulina içeren formülasyonlar güvenli ve kabul edilebilir olarak değerlendirilmiştir (Avrupa Birliği Patent No. EP2695604A1, 2014), bir çalışmada tasarlanan kozmetik formülasyonda spirulinanın %5 oranında kullanılmasına karar verilmiştir (Liza Józsa, 2020). Başka bir çalışmada %1 oranında spirulina içeren formülasyondan faydalanılmıştır (Irene Ragusa, 2021). Bu araştırmalar sonucunda %2 oranında spirulina içeren bir formülasyon tasarlanmıştır.

Yapılan literatür taramalarının ardından mikropartikül formülasyonunun içeriğine karar verilmiş ve denemelere başlanmıştır. Üretici firmadan temin edilen iki farklı ipek proteini formu ile de deneme çalışmaları yapılmıştır. İpek proteininin (sıvı form) sıcaklık, karıştırma hızı ve karıştırma süresi gibi mekanik işlemlere karşı oldukça hassas olduğu görülmüştür. Liyofilize toz formundaki ipek proteinine kıyasla sıvı formda proses boyunca farklı problemler görülmüştür. Üretici firmadan temin edilen ürün sertifikalarına göre iki farklı ipek proteini formunun spesifikasyonları ve sonuçları birbirleri ile de uyumlu oldukları için liyofilize toz formundaki ipek proteini ile çalışmalara devam edilmesine karar verilmiştir. Proses sırasında karşılaşılan uzun karıştırma süresi, mikropartiküllerin şekilsel bozukluklukları, partikül büyüklüklerinin geniş aralıkta olması, partikül büyüklüklerinin istenilen aralıkta olmaması, spirulina mikropartikülleri ekstrüde edilirken spirulinanın CaCl_2 ortamını boyaması problemlerinin çözümü üzerine

çalışmalar yapılmıştır. Karıştırma süresini kısaltmak için sodyum aljinatın suya ilavesi azar azar olacak şekilde yapılmıştır, damlatma homojenliğini sağlamak için peristaltik pompa kullanılmıştır, partikül boyutlarını küçültmek için sodyum aljinat konsantrasyonu azaltılmıştır, damlatma işlemi sırasında 21G yerine 26G enjektör iğnesi kullanılmıştır, boyama problemi için CaCl_2 solüsyonu asidik pH'ta (pH 3.0) hazırlanmış ve mikropartiküllerin CaCl_2 solüsyonu içinde karıştırma süresi 30 dk'dan 10 dk'ya düşürülmüştür. Ayrıca, hazırlanan mikropartiküllerin organoleptik değerlendirmesi sonucunda, aktif maddelerin kötü koku problemine çözüm sağlandığı ve mikropartiküllerin kötü koku içermediği belirlenmiştir.

Mikropartiküllerin hazırlanmasını takiben karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. İlk olarak hazırlanan mikropartiküllerin DTK termogramları çekilmiştir (Şekil 74-75). İpek proteini DTK sonuçları ve ipek proteini mikropartiküllerinin DTK sonuçları karşılaştırılmıştır. Tek başına ipek proteinindeki spesifik pikler ipek proteini mikropartiküllerinde gözlenmemiştir. Buradan çıkan sonuçla ipek proteinin başarılı bir şekilde enkapsüle edildiği yorumu yapılmıştır. Aynı şekilde spirulina DTK sonuçları ve spirulina mikropartiküllerinin DTK sonuçları kıyaslandığında spirulinadaki spesifik piklerin spirulina mikropartiküllerinde olmadığı görülmüştür.. Spirulinanın başarılı bir şekilde enkapsüle edildiği yorumu yapılmıştır (Lalit Kumar, 2014).

Mikropartikül formülasyonları hazırlarken formülasyonların verim hesapları da yapılmıştır (Tablo 15). Final mikropartiküller için verim %91.45 bulunmuştur. Sonuç olarak yüksek verimli bir proses gerçekleştirildiği görülmüştür. Verim hesabı sonucuna göre bitmiş formülasyonda %0.915 oranında ipek proteini ve %1.829 oranında spirulina içerdiği düşünülmektedir.

İpek proteini için yapılan literatür taramalarına göre %0.1-%1.4 konsantrasyonları güvenli aralık olarak kabul edilmektedir (Wilbur Johnson Jr, 2020). Bitmiş formülasyonun içerdiği düşünülen %0.915 oranı ipek proteini için güvenli olarak kabul edilen aralıktadır. Mg cinsinden 24 saatte yaklaşık 0,027 mg ipek proteini uygulanacağı tahmin edilmektedir. 0.05 g ipek proteini içeren formülasyon ile yapılan deri irritasyon testinde tahriş edici değil olarak sınıflandırılmıştır (Wilbur Johnson Jr, 2020). Bu sebeple formülasyonda bulunan ipek proteini miktarının bu doğrultuda etki göstermesi beklenmektedir.

Spirulina için yapılan literatür taramalarına göre %0.1-%5 konsantrasyonları güvenli aralık olarak kabul edilmektedir (Avrupa Birliği Patent No. EP2695604A1, 2014). Bitmiş formülasyonun içerdiği düşünülen %1.829 oranı spirulina için güvenli olarak kabul edilen aralıktadır. Mg cinsinden 24 saatte yaklaşık 0,055 mg spirulina uygulanacağı tahmin edilmektedir. 0,9 mg spirulina içeren formülasyon ile yapılan klinik çalışmalarda deri üzerinde tahriş edici bir etki göstermemiştir (Irene Ragusa, 2021). Bu sebeple formülasyonda bulunan spirulina miktarının bu doğrultuda etki göstermesi beklenmektedir.

Mikropartikül terimi literatürde 1-1000 µm çapındaki bir parçacığı ifade etmektedir. (M.N. Singh, October 2010; Anna Łetocha, 2022). Hazırlanan mikropartiküllerin partikül büyüklüğü ve dağılımı analiz edilmiştir. Partikül boyutu, mikrometre cinsinden hacim çapı olarak ifade edilir ve D10, D50 ve D90 ifadeleri sırasıyla %10, %50 ve %90'ının belirtilen değerlerden daha küçük çaplara sahip olduğunu anlatmaktadır. D10 değeri ipek proteini mikropartikülleri için $790 \pm 0,58$ µm, spirulina mikropartikülleri için $812 \pm 1,00$ µm dir. D90 değeri ipek proteini mikropartikülleri için $1240 \pm 2,52$ µm, spirulina mikropartikülleri için $1220 \pm 2,65$ µm'dir. D50 değeri, partiküllerin %50'sinin partikül çapının bu değer altında kaldığını göstermektedir ve ortalama çap olarak kabul edilir. Yapılan 3 tekrarlı çalışmalar sonucunda ipek proteini mikropartiküllerinin ortalama çapının $995 \pm 2,645$ µm, spirulina mikropartiküllerinin ortalama çapının $990 \pm 1,527$ µm olduğu görülmektedir. Hazırlanan mikropartiküllerimizin literatürdeki mikropartikül spesifikasyonlarına uygun olduğu görülmüştür (Tablo 16, Şekil 76-77).

Mikropartikül formülasyonların zeta potansiyelleri değerlendirilmiştir. Yapılan 3 tekrarlı çalışmalar sonucunda ipek proteini mikropartiküllerinin zeta potansiyeli değerinin $+31,7 \pm 0,100$ mV, spirulina mikropartiküllerinin zeta potansiyeli değerinin $+30,7 \pm 0,057$ mV olduğu görülmektedir. Zeta potansiyeli sıklıkla damlacık kararlılığının bir göstergesi olarak kullanılmaktadır; +30 mV'den daha pozitif ve -30 mV'den daha negatif değerler birleşmeye karşı iyi kararlılığı gösterir (Rai Muhammad Sarfraz, 2017; Hunter, 2001). Bu sebeple tez kapsamında hazırlanan mikropartiküllerin kararlı yapıda olduğu söylenebilmektedir (Tablo 17, Şekil 78-79).

Hazırlanan mikropartiküllerin yüzey morfolojileri tayini taramalı elektron mikroskobu ve ışın mikroskobu ile yapılmıştır. Mikropartiküller bir vakum buharlaştırıcı kullanılarak altın paladyum (Au/Pd) ile püskürtmeyle kaplanıp taramalı elektron mikroskobunda incelenmiştir. Mikropartiküllerin küresel şekillerde ve homojen bir yapıdadır (Şekil 80-83). Bu yapılar enkapsülasyon işleminin başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir.

Formülasyon geliştirme çalışmaları ve karakterizasyon çalışmaları sonucunda 0.5 g ipek proteini (liyofilize toz)- 1.6 g sodyum aljinat, 1 g spirulina-1.6 g sodyum aljinat oranlarında hazırlanan mikropartiküller optimum olarak seçilmiştir. İyonik jelleşme prosesinde CaCl_2 ortamı pH 3.0 olacak şekilde hazırlanmıştır.

Tez çalışması kapsamında mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonları “Yöntemler bölümü” 2.2.2.2.’de anlatıldığı şekilde hazırlanmıştır. %1 laktik asit solüsyonu hazırlanmıştır. Jelleştirici ajan olarak kitosan (orta molekül ağırlıklı) (G1); kitosan (orta molekül ağırlıklı) ve ipek proteini (G2); kitosan (yüksek molekül ağırlıklı) (G3); kitosan (yüksek molekül ağırlıklı) ve ipek proteini (G4) kullanılmıştır. Jelleştirici ajanlar %1 laktik asit solüsyonu ile karıştırılıp hidrojeller hazırlanmıştır. Ardından mikropartiküller hidrojele yüklenerek formülasyona son şekli verilmiştir. Hazırlanan dört farklı mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonu ve boş hidrojel formülasyonu için karakterizasyon çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalar sonucunda final formülasyon olarak G3 formülasyonuna karar verilmiştir.

İpek proteini, biyopolimerik yapısı sayesinde hidrojel formülasyonlarında önemli bir yardımcı madde olarak kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasında, ipek proteininden elde edilen mikropartiküllerin yanı sıra bu proteinin formülasyonlardaki polimerik etkileri de incelenmiştir. İpek proteininin biyoyumlu ve biyobozunur olması, kozmetik formülasyonlarda etkinliği artırmak için tercih edilmelerini sağlamaktadır (Ung-Jin Kim, 2004).

Formülasyonların uygun akış özelliği göstermesi ve viskozitesinin optimum değerde olması üretim, ambalajlanma ve kullanım aşamaları açısından oldukça önemlidir. Bu amaçla hazırlanan boş hidrojel formülasyonlar ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlar reometre cihazı ile viskozite ve akış özelliği açısından incelenmiştir. Mikropartikül yüklemenin hidrojellerin viskozite ve akış özelliklerinde meydana

getirdiği değişiklik gözlenmiştir. Viskozite ve akış çalışmaları 25°C ve 32°C sıcaklıkta yapılmıştır. Şekil 84-99'da görüldüğü gibi tüm formülasyonların viskozitesi kayma hızı arttıkça azalmıştır. Tüm formülasyonlarda mikropartikül yüklemesi sonucunda viskozitenin arttığı gözlenmiştir. Jel formülasyonlarının 25°C'de ve 32°C'de non-Newtonian/ pseudoplastik akış gösterdikleri görülmektedir. Polimer çözeltileri ve polimerleri içeren yarı katı sistemlerin genelde pseudoplastik akış gösterdiği literatürde belirtilmiştir (Evren H. Gokce, 2017; Çelebi, 2009).

Osilasyon çalışmaları sırasında formülasyona ait elastik ve viskoz modülü profilleri çizilmektedir. Elastik modül, ürünün katı benzeri özelliğini tanımlar ve depolanan enerjinin ölçüsüdür (David S. Jones, 2002). Yüksek elastikiyet özelliklerine sahip formülasyon, uygulama bölgesindeki kalış süresini arttırarak kontrollü ve uzun süreli bir salım sağlamaktadır (Gavin P. Andrews D. S., 2006). Osilasyon çalışmaları sonunda iki farklı değere ulaşılır. Bunlardan birisi elastisitenin ölçüsü olan depo modülü G' , diğeri ise viskoz bir yapıyı tanımlayan G'' kayıp modülüdür. Yüksek konsantrasyondaki polimer çözeltilerinde polimer zincirleri arasında girişim olmaktadır. Eğer bu karışık zincirlerin birbirinden ayrılması için yeterli süre tanınırsa, yapılan osilasyon çalışmaları sonucunda viskoz modül, elastik modülden daha yüksek değerlere ulaşmaktadır ($G'' > G'$). Eğer zincirlerin açılımı için yeterince zaman olmaz ise $G' > G''$ bulunur ki bu durum polimerin katı benzeri bir özellik taşıdığını göstermektedir. Ayrıca yapısal olarak katı şekle yaklaştıkça uygulanan osilasyon sıklığına bağımlılık da azalmaktadır (Shinya Ikeda, 2001).

Şekil 100-115'te boş hidrojel formülasyonların ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının 25°C'de ve 32°C'de osilasyon sıklığına bağılı olarak gösterdiği değişim görülmektedir. Boş hidrojel formülasyonlar ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlar karşılaştırıldığında anlamlı değişiklikler gözlenmemiştir. Tüm reolojik özellikler incelendiğinde, tüm formülasyonlarda belirli sıklık değerlerinden sonra jel tipi mekanik spektrum görülmekte ve $G' > G''$ bulunmaktadır.

Hazırlanan tüm formülasyonlarda sıcaklık değişimine bağılı olmaksızın 100 Hz'den sonra osilasyon sıklığından bağımsız bir durum ortaya çıkmaktadır ki bu da çapraz bağılı bir jelin oluştuğunun göstergesidir (Shinya Ikeda, 2001; Flemming Madsen, 1998). Osilasyon sıklığından bağımsız jeller, Madsen ve arkadaşları tarafından da kuvvetli jel olarak tanımlanmaktadır (Flemming Madsen, 1998).

Yarı katı formülasyonlar, kullanıcının uyuncunu arttırabilmek için bazı mekanik özelliklere sahip olmalıdır. Hidrojel formülasyonun primer ambalajından kolay bir şekilde çıkarılabilmesi, kolay uygulanabilmesi ve ürünün uygulama bölgesinde uzun süre dağılmadan kalabilmesi hidrojellerin tasarımında önemli parametrelerdir. Jones ve arkadaşları tarafından TA-TX Plus Texture Analyser cihazı (David S Jones, 2002) yarı katı preparatların mekanik özelliklerinin tayininde kullanılmıştır. Hidrojellerin mekanik özellikleri TPA analizi ile tayin edilmiştir.

Tez çalışması kapsamında hazırlanan hidrojel formülasyonuna; sertlik, adeziflik, koheziflik, sıkıştırılabilirlik ve elastikiyet gibi mekanik özellikleri incelenmiş ve elde edilen değerler Tablo 18’de gösterilmiştir.

Hidrojellerin deformasyonu için gerekli kuvveti tanımlayan sertlik, formülasyonun uygulanabilirliği açısından oldukça önemlidir. Sertlik parametresi; hidrojel formülasyonunun istenen bölgeye uygulanabilirliğinin bir göstergesidir. Kolay uygulanabilirlik açısından, mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonunun sertliğinin düşük olması beklenir (D S Jones, 1996). Hidrojellerin viskozitesi arttıkça sertlik değerleri de artmaktadır. Boş hidrojel formülasyonları ile mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının sertlik değerleri karşılaştırılmıştır. Mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının, artan viskozite değerleriyle uyumlu olarak, boş hidrojel formülasyonlarına kıyasla daha yüksek sertlik değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Hazırlanan jel formülasyonları arasında en düşük sıkıştırılabilir değerini G2 formülasyonu göstermektedir (25°C için 0,10±0,07, 32°C için 0,04±0,01) (Tablo 18). Formülasyonların sertlik değerinin literatüre göre uygun olduğu görülmektedir (İpek Özcan, 2009)

Sıkıştırılabilirlik parametresi, hazırlanan hidrojel formülasyonunun ambalajından alınabilmesi ve uygulanacak bölgesinde yayılabilmesini ifade eder. Optimum hidrojel formülasyonunun sıkıştırılabilirlik değerinin düşük olması beklenmektedir (Neslihan Üstündağ Okur, 2020). Hidrojellerin viskozitesi arttıkça sıkıştırılabilirlik değerleri artar. Boş hidrojel formülasyonları ile mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının sıkıştırılabilirlik değerleri karşılaştırılmıştır. Mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının, artan viskozite değerleriyle uyumlu olarak, boş hidrojel formülasyonlarına göre daha yüksek sıkıştırılabilirlik değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Formülasyonların sıkıştırılabilirlik değerlerinin literatürle uyumlu olduğu

görülmekle birlikte düşük sıkıştırılabilirlik değerinin G2 formülasyonuna ait olduğu saptanmıştır (25°C için $0,08\pm 0,03$, 32°C için $0,07\pm 0,15$) (Tablo 18) (Erdal Cevher, 2008; İpek Özcan, 2009).

Adeziflik formülasyonun biyoadezif özelliği hakkında fikir vermektedir. Formülasyonun cihazın probundan ayrılabilmesi için gerekli olan işin hesaplanması ile bulunmaktadır (D S Jones, 1996). Yapılan bir çalışmada; hidrojenlerin adeziflik değerinin biyoadezif polimerin viskozitesine bağlı olarak değiştiği, yüksek viskoziteye sahip hidrojenlerin adezifliğinin daha yüksek olduğu belirtilmiştir (Giulia Bonacucina, 2006). Boş hidrojel formülasyonları ile mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının adeziflik değerleri karşılaştırılmıştır. Mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının, artan viskozite değerleriyle uyumlu olarak, boş hidrojel formülasyonlarına kıyasla daha yüksek adeziflik değerlerine sahip olduğu belirlenmiştir. Adezifliğin artmasıyla birlikte formülasyonun uygulama bölgesinde kalış süresinin de arttığı bilinmektedir (Erdal Cevher, 2008). Mekanik testler sonucunda elde edilen adeziflik verilerine göre G3 formülasyonunun en adezif formülasyon olduğu söylenebilir (25°C için $0,67\pm 0,19$, 32°C için $0,76\pm 0,46$) (Tablo 18). Sonuçların daha önce yapılan literatür çalışmaları ile karşılaştırıldığında anlamlı olduğu görülmektedir (Erdal Cevher, 2008).

Kohezyon, hidrojinin uygulama sonrası tekrar eski yapısına dönmesini tanımlamaktadır. Hidrojel formülasyonunun içindeki polimerin kendi molekülleri arasındaki çekme kuvveti yüksek ise kohezifliği de yüksektir. Koheziflik, ürünün uygulama bölgesindeki performansını etkilemektedir. Yüksek kohezifliğe sahip hidrojel uygulanmasının ardından tekrar eski yapısına döner. Kohezifliği yüksek olan hidrojel, topikal olarak uygulamanın ardından hidrojel şeklini uzun süre korur (David S Jones, 2002). Boş hidrojel formülasyonları ile mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının ve formülasyonların birbirleriyle koheziflik değerleri karşılaştırılmıştır. Elde edilen bulgular incelendiğinde; mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının, boş hidrojel formülasyonlarına kıyasla daha yüksek koheziflik değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. G3 formülasyonunun koheziflik değerinin diğer formülasyonlara göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (25°C için $1,14\pm 0,01$, 32°C için $1,16\pm 0,01$) (Tablo 18). Literatürle uyumlu ve kabul edilebilir bir koheziflik olduğu söylenebilmektedir (Erdal Cevher, 2008).

Elastikiyet ise deforme olmuş sistemin eski haline dönme yeteneğinin bir ölçüsüdür. Bu değerin düşük olması, elastikiyetin yüksek olduğunu göstermektedir (David S Jones, 2002). Boş hidrojel formülasyonları ile mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının ve formülasyonların birbirleri ile elastikiyet değerleri karşılaştırılmıştır. Mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının, boş hidrojel formülasyonları ile benzer elastikiyet değerlerine sahip olduğu gözlenmiştir. Tüm formülasyonların elastikiyet değerleri birbirine yakın bulunmuştur (Tablo 18). Sonuçlar daha önce yapılan çalışmalarla uyumludur (Anna Wang, 2011; Erol Eli Simsolo, 2018)

Sağlıklı cildin pH'sı 5.5'tir. Bu pH değerinde ürün kullanımı cildi enfeksiyonlara karşı koruduğu gibi, alerjik deri hastalıkları, egzemaların oluşumunu da engellemektedir (Milica Lukic, 2021). Hazırlanan boş hidrojellerin ve mikropartikül yüklü hidrojellerin 25°C ve 32°C'de pH değerleri ölçülmüştür (Tablo 19). Boş hidrojellere mikropartikül yükleme sonucu daha asidik formülasyonlar elde edildiği tespit edilmiştir. Hazırlanan tüm hidrojellerin pH değerlerinin deri pH'ı ile uyumlu olduğu görülmektedir.

Çalışmamız kapsamında hazırladığımız formülasyonların temel amacı cildi nemli tutmaya yardımcı olmak ve bu şekilde cildin yaşlanmasını geciktirmek, esnekliğini kaybetmesini önlemeye yardımcı olmak gibi etkiler sağlamaktır. Bu sebeple hidrojel formülasyonun *in vitro* oklüzif etkinliği değerlendirilmiştir (Şekil 91). Formülasyonun oklüzif değerlerinde artış olması, cilt hidrasyonundaki artışa karşılık gelir. Ciltte gözlemlenen oklüzif etki, kaşıntı ve kuruluk gibi olumsuz reaksiyonların oluşumunu azaltabilir (Muhammet Davut Arpa, 2022). Boş hidrojel formülasyonlar ve mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlar için sonuçlar ilgili bölümde paylaşılmıştır (Şekil 91). Mikropartikül yüklü hidrojellerin daha yüksek oklüzif özellik gösterdiği tespit edilmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı kitosanla hazırlanan hidrojeller (G3 ve G4), orta molekül ağırlıklı kitosan ile hazırlanan hidrojellere (G1 ve G2) kıyasla daha iyi oklüzif özellikler göstermiştir.

Yayılabirlik, bir yüzeye uygulandıktan sonra yarı katı bir formülasyonun belirli bir süre boyunca genişlemesi olarak ifade edilir (Muhammet Davut Arpa, 2022). Yayılabirlik, formülasyonun kullanım yerine iletilmesini, uygulama kolaylığını ve ambalajdan ekstrüde edilebilirliği belirler ve tüketici tercihlerini etkiler (Bakhrushina

Elena O., 2022). Hidrojellerin yayılabilirliği, cilde kolay uygulanmasını değerlendirmek için oldukça önemlidir (Muhammet Davut Arpa, 2022). Boş hidrojel formülasyonları ile mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonlarının ve formülasyonların birbirleri ile yayılabilirlik değerleri karşılaştırılmıştır. Mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonların boş hidrojel formülasyonlarına kıyasla daha düşük yayılabilirlik değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, formülasyonlar birbiri ile kıyaslandığında en geniş alana yayılan hidrojel G2, en dar alana yayılan hidrojel G3 olmuştur (Tablo 20). Yayılabilirliğin viskozite ile ters orantılı davranış gösterdiği görülmüştür.

Optimum hidrojel formülasyonu için %1 laktik asit solüsyonu, %2 kitosan (yüksek molekül ağırlıklı) ve %0.2 sodyum benzoat içeren formülasyon (G3) seçilmiştir. Bu formülasyonun optimum olarak belirlenmesinin nedeni mikropartikül yüklü hidrojeller için yapılan karakterizasyon çalışmaları sonucunda optimum verilerin bu formülasyon ile elde edilmesidir. Ayrıca, kitosanın molekül ağırlığı arttıkça nem tutma kapasitesinin de artması bu formülasyonun bir diğer avantajı olarak düşünülebilir (Eduardo Guzmán, 2022; Karolina Kulka, 2023). Karakterizasyon çalışmalarının sonuçları “Bulgular” bölümü 3.3.6.-3.3.10. kısmında detaylı bir şekilde paylaşılmıştır. Reometre ile yapılan analizlerde bu formülasyonun viskozite değerleri daha yüksek bulunmuştur. Bu sayede mikropartiküllerin hidrojel içerisinde asılı kalma kapasitesinin artacağı ve bununla birlikte cilt üzerinde kalış süresinin de artan viskozite ile birlikte uzayacağı düşünülmektedir. *In Vitro* oklüzif özelliği incelendiğinde en yüksek % değerini de bu formülasyon sağlamıştır. pH değeri cilt ile uyumludur. Mekanik testlerin sonuçlarına göre de G3 formülasyonunun değerleri literatürle uygun bulunmuştur. Tüm bu bulgular değerlendirildiğinde uygulamalar sonunda nemlendirici ve yaşlanma karşıtı etki süresinin uzayacağı da öngörülmektedir.

Stabilite çalışmaları mikropartikül yüklü hidrojel formülasyonunda 25°C %60 ve 40°C %75 relatif nemde gerçekleştirilmektedir (Tablo 21-24, Şekil 92-123). Sonuçlar her formülasyon için 3 tekrarlı ölçüm yapılarak değerlendirilmiştir. Formülasyonların stabilitesi kapsamında; görünüş, koku, pH ve reolojik karakterizasyon verileri elde edilmiştir. 2 ay boyunca takip edilen özelliklerde 25°C’de %60±5 relatif nemde stabilite kabininde bekletilen formülasyonlarda ve 40°C de %75±5 relatif nemde

stabilite kabininde bekletilen formülasyonlarda sonuçlar başlangıç verileri ile uyumludur. Görsel olarak yapılan incelemede görünüşte bir değişiklik gözlenmemiştir. Formülasyonlarda stabilite çalışmaları boyunca koku da bi değişiklik görülmemiş, aktif maddelerin kendisine özgün kokusu da saptanmamıştır.



SONUÇ VE ÖNERİLER

Dünyada giderek tükenen kaynaklara karşın her alanda sürdürülebilir kaynaklara ihtiyaç vardır. Bu ihtiyaçtan yola çıkarak tez çalışmasında geliştirme çalışmaları yapılan formülasyonun “yeşil kozmetik” kapsamında da bir örnek teşkil etmesi amaçlanmıştır.

Yapılan literatür araştırmalarında ipek proteini mikropartikülleri ve spirulina mikropartikülleri yüklenmiş hidrojel formülasyonlarına rastlanmamıştır. Bu anlamda tez çalışmasıyla kozmesötik ürünlerde kullanılan yeni taşıyıcı sistemlere örnek olabileceği düşünülmektedir.

Geliştirilen formülasyonların stabilite sonuçları tamamlandıktan sonra, etkinlik çalışmaları da yapılarak, cilt yaşlanmasına karşı bir ürün alternatifi olarak önerilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- A P Rokhade, P. V. (2009, Şubat). Preparation and characterization of novel semi-interpenetrating polymer network hydrogel microspheres of chitosan and hydroxypropyl cellulose for controlled release of chlorothiazide. *Journal of Microencapsulation* 26(1), s. 27-36.
- A V Daithankar, M. N. (2005, Ocak). Moisturizing efficiency of silk protein hydrolysate: Silk fibroin. *Indian Journal of Biotechnology Vol 4*, s. 115-121.
- A. Pawlak, M. M. (2003). Thermogravimetric and FTIR studies of chitosan blends. *Thermochimica Acta* 396, 153–166.
- A. Sionkowska, A. P. (2011). The influence of UV radiation on silk fibroin. *Polymer Degradation and Stability* 96(4), s. 523-528.
- Adriana R. Machado, P. M.-S. (2022). Alginate Particles for Encapsulation of Phenolic Extract from *Spirulina* sp. LEB-18: Physicochemical Characterization and Assessment of In Vitro Gastrointestinal Behavior. *Polymers Volume 14 Issue 21* .
- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of Advanced Research* 6, 105-121.
- Ana Paula Quites Larrosa, Á. S. (2018). Physicochemical, biochemical, and thermal properties of *Arthrospira* (*Spirulina*) biomass dried in spouted bed at different conditions. *Journal of Applied Phycology* (30), s. 1019-1029.
- Anna Łętocha, M. M. (2022). *Preparation and Characteristics of Alginate Microparticles for Food, Pharmaceutical and Cosmetic Applications*. *Polymers* 14(18): 3834.
- Anna Wang, L. W. (2011). Texture Profile of Gelatin and Tea Polyphenol Mixed Gels. *Advanced Materials Research Vols. 201-203*, 2862-2865.
- Anthony V Rawlings, I. R. (1994, Kasım). Stratum Corneum Moisturization at the Molecular Level. *Journal of Investigative Dermatology volume 103 issue 5*, s. 731-740.
- Aslı Sedef Can, M. S. (2013). Optimization and Characterization of Chitosan Films for Transdermal Delivery of Ondansetron. *Molecules* 18, s. 5455-5471.
- Baby Joseph, S. J. (2012, Aralık). Therapeutic applications and properties of silk proteins from *Bombyx mori*. . *Frontiers in Life Science Volume 6, Issue 3-4*, s. 55-60.

- Bakhrushina Elena O., A. M. (2022). Dermatologic Gels Spreadability Measuring Methods Comparative Study. *International Journal of Applied Pharmaceutics* 14(1), s. 164-168.
- Barbara Jadach, W. Ś. (2022, Mayıs). Sodium Alginate as a Pharmaceutical Excipient: Novel Applications of a Well-known Polymer. *Journal of Pharmaceutical Sciences Volume 111, Issue 5*, s. 1250-1261.
- Benson, H. A. (2012). Skin Structure, Function, and Permeation. A. C. Heather A.E. Benson içinde, *Transdermal and Topical Drug Delivery* (s. 2-22). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Bilsen Tural, N. Ö. (2009). Preparation and characterization of polymer coated superparamagnetic magnetite nanoparticle agglomerates. *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 70, 860–866.
- Camila Barreneche, A. I. (2014). Thermophysical characterization of sorption TCM. *Energy Procedia* 48, s. 273-279.
- Campos, C. N. (2014). *Avrupa Birliği Patent No. EP2695604A1*.
- CFR - Code of Federal Regulations Title 21. (2024, Temmuz 08). U.S. Food & Drug Administration:
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/cfrsearch.cfm?fr=184.1733> adresinden alındı
- Chouhan, B. B. (2020, Şubat). Silk biomaterials in wound healing and skin regeneration therapeutics: From bench to bedside. *Acta Biomaterialia Volume 103*, s. 24-51.
- Cíntia Guarienti, L. E. (2021). Effects of microencapsulation on the preservation of thermal stability and antioxidant properties of Spirulina. *Journal of Food Measurement and Characterization volume 15*, 5657-5668.
- CosIng - Cosmetics Ingredients. (2024, Ağustos 14). European Commission:
<https://ec.europa.eu/growth/tools-databases/cosing/> adresinden alındı
- Çelebi, N. (2009). Reoloji. F. A. Nevin Çelebi içinde, *Modern Farmasötik Teknoloji* (s. 391-405). Ankara: TEB.
- D S Jones, A. D. (1996). Development and mechanical characterization of bioadhesive semi-solid, polymeric systems containing tetracycline for the treatment of periodontal diseases. *Pharm Res;13(11)*, 1734-1738.

- David S Jones, M. S. (2002). Examination of the flow rheological and textural properties of polymer gels composed of poly(methylvinylether-co-maleic anhydride) and poly(vinylpyrrolidone): Rheological and mathematical interpretation of textural parameters. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 91(9), 2090–2101.
- Değim, T. (2009). Deriden Emilim ve Deriye Uygulanan Yarı Katı Preparatlar. T. D. Zelihağül Değim içinde, *Modern Farmasötik Teknoloji* (s. 337-364). Ankara: Türk Eczacılar Birliği Eczacılık Akademisi Yayını.
- Duy Toan Pham, Q. C. (2023). Controlled-Release Wedelia trilobata L. Flower Extract Loaded Fibroin Microparticles as Potential Anti-Aging Preparations for Cosmetic Trade Commercialization. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 1109-1121.
- E. S. Sashina, A. M. (2006, March 7). Structure and Solubility of Natural Silk Fibroin. *Russian Journal of Applied Chemistry Vol. 79, No. 6,* s. 869-876.
- Eduardo Guzmán, F. O. (2022, Eylül). Chitosan: A Promising Multifunctional Cosmetic Ingredient for Skin and Hair Care. *Cosmetics* 9(5), s. 99.
- Ee Taek Hwang, S. L. (2020, Kasım 3). Highly Stable and Fine-Textured Hybrid Microspheres for Entrapment of Cosmetic Active Ingredients. *ACS Omega* 5, 45, s. 29577–29584.
- Erdal Cevher, D. Ş. (2008). Effect of Thiolated Polymers to Textural and Mucoadhesive Properties of Vaginal Gel Formulations Prepared with Polycarbophil and Chitosan . *AAPS PharmSciTech* 9(3), 953-965.
- Erol Alver, M. B. (2017). One step effective removal of Congo Red in chitosan nanoparticles by encapsulation. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 171(15), 132-138.
- Erol Eli Simsolo, İ. E. (2018). Formulation and Evaluation of Organogels Containing Hyaluronan Microparticles for Topical Delivery of Caffeine. *AAPS PharmSciTech Volume 19*, s. 1367–1376.
- Evren Algın Yapar, N. C. (2018). Detection and Quantification of Preservatives in Green Cosmetics. *Current Perspectives on Medicinal & Aromatic Plants*, 2, s. 72-77.
- Evren H. Gokce, S. T. (2017). Wound healing effects of collagen-laminin dermal matrix impregnated with resveratrol loaded hyaluronic acid-DPPC

- microparticles in diabetic rats. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics Volume 119*, s. 17-27.
- Filipe Smith Buarque, S. A. (2023). Choline chloride-based deep eutectic solvent as an inhibitor of metalloproteases (collagenase and elastase) in cosmetic formulation. *3 Biotech 13*(219).
- Flemming Madsen, K. E. (1998). A rheological examination of the mucoadhesive/mucus interaction: the effect of mucoadhesive type and concentration. *Journal of Controlled Release 50*, s. 167–178.
- Gavin P. Andrews, D. S. (2006). Rheological Characterization of Bioadhesive Binary Polymeric Systems Designed as Platforms for Drug Delivery Implants. *Biomacromolecules 7*(3).
- Gavin P. Andrews, S. P. (2005). Rheological characterisation of primary and binary interactive bioadhesive gels composed of cellulose derivatives designed as ophthalmic viscosurgical devices. *Biomaterials 26*, 571–580.
- Giulia Bonacucina, M. C.-F. (2006). Rheological, adhesive and release characterisation of semisolid Carbopol/tetraglycol systems. *International Journal of Pharmaceutics 307*, s. 129–140.
- Gopinathan K. Menon, G. W. (2012, Ekim 1). The structure and function of the stratum corneum. *International Journal of Pharmaceutics Volume 435, Issue 1*, s. 3-9.
- Gönüllü, Ü. (2016). Yüze ve Vücuda Uygulanan Dermakozmetik/Kozmesötik Ürünler, Nemlendirici Madde ve Ürünler. U. B. Sevgi Akarsu içinde, *Dermakozmetik Kozmesötik Madde ve Ürünler* (s. 65-72). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Hao Zhang, L.-l. L.-y.-h.-z. (2012). Preparation and characterization of silk fibroin as a biomaterial with potential for drug delivery. *Journal of Translational Medicine volume 10, Article number: 117*.
- Hashizume, H. (2004). Skin Aging and Dry Skin. *The Journal of Dermatology volume 31, issue 8*, 603-609.
- Hunter, R. J. (2001). Zeta potential of highly charged thin double-layer systems. *Journal of Colloid and Interface Science, 237*(1), , 147–149.

- İpek Eroğlu, E. H. (2014). Evaluation of characteristics and in vitro antioxidant properties of RSV loaded hyaluronic acid–DPPC microparticles as a wound healing system. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 126, s. 50-57.
- İpek Özcan, Ö. A. (2009). Enhanced Topical Delivery of Terbinafine Hydrochloride with Chitosan Hydrogels. *AAPS PharmSciTech* 10, 1024-1031.
- Irene Dini, S. L. (2021). The New Challenge of Green Cosmetics: Natural Food Ingredients for Cosmetic Formulations. *Molecules*,26(13), 3921.
- Irene Ragusa, G. N. (2021). Spirulina for Skin Care: A Bright Blue Future. *Cosmetics* 8(1), 7.
- Isadora Kaniak Ikeda, E. B. (2022). Potential application of Spirulina in dermatology. *Journal of Cosmetic Dermatology* 21(10), 4205-4214.
- J. Wong, H.-K. C. (2014). Silk for pharmaceutical and cosmeceutical applications. *Silk Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 519-545.
- Jacyara M. M. Vidart, M. N. (2016). Sericin and Alginate Blend as Matrix for Incorporation of Diclofenac Sodium. *Chemical Engineering Transactions* 52, 343-348.
- Jaime A. Barajas-Gamboa, A. M.-G.-O.-L. (2016, Nisan). Sericin applications: a globular silk protein. *Ingeniería y competitividad Volume 18 No. 2*, s. 193 - 206.
- Jianming He, Y. T. (2019, Eylül 19). Effects of Silk Fibroin Moisturizing Cream on Acetone/Ether-Induced Dry Skin Pruritus in Mice. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications Vol.09 No.03*, s. 235-243.
- John G. Hardy, L. M. (2008, Eylül 23). Polymeric materials based on silk proteins. *Polymer Volume 49, Issue 20*, s. 4309-4327.
- K. Madhusudana Rao, K. K. (2013). Synthesis and Characterization of biodegradable Poly (Vinyl caprolactam) grafted on to sodium alginate and its microgels for controlled release studies of an anticancer drug. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* 3(06), s. 61-69.
- Karolina Kulka, A. S. (2023, Şubat). Chitosan Based Materials in Cosmetic Applications: A Review. *Molecules* 28(4), s. 1817.

- Karolina Nowak, E. J.-W. (2021). Controversy around parabens: Alternative strategies for preservative use in cosmetics and personal care products. *Environmental Research* 198.
- Krushnakumar J Gandhi, S. V. (2012). Polymers In Pharmaceutical Drug Delivery System: A Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 14(2), s. 57-66.
- Lalit Kumar, S. V. (2014). Polymeric microparticles-based formulation for the eradication of cutaneous candidiasis: development and characterization. *Pharmaceutical Development and Technology* 19(3), s. 318–325.
- Liza Józsa, Z. U. (2020). Formulation of Creams Containing Spirulina Platensis Powder with Different Nonionic Surfactants for the Treatment of Acne Vulgaris. *Molecules* 25.
- Łucja Justyna Walczak-Nowicka, M. H. (2022). Sodium Benzoate—Harmfulness and Potential Use in Therapies. *Nutrients*, 14, 1497 .
- M.N. Singh, K. H. (Ekim 2010). Microencapsulation: a promising technique for controlled drug delivery. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 5(2), 65-77.
- Milica Lukic, I. P. (2021). Towards Optimal pH of the Skin and Topical Formulations: From the Current State of the Art to Tailored Products. *Cosmetics* 8(69).
- Mingfang Ma, J. G. (2015). Controllable self-assemblies of sodium benzoate in different solvent environments. *RSC Advances* 5, s. 70178-70185.
- Mohammad Nasrin Abdul Rahman, O. A. (2017). Rheological characterization of different gelling polymers for dental gel formulation. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 9(12), 2633-2640.
- Muhammet Davut Arpa, İ. M. (2022). Azelaic acid loaded chitosan and HPMC based hydrogels for treatment of acne: formulation, characterization, in vitro- ex vivo evaluation. *Pharmaceutical Development and Technology Vol. 27, No. 3*, , s. 268–281.
- Munish Kumar, R. B. (2017, Temmuz). Combating food pathogens using sodium benzoate functionalized silver nanoparticles: synthesis, characterization and antimicrobial evaluation. *Journal of Materials Science* 52(14).

- Neslihan Üstündağ Okur, V. Y. (2020). Formulation and Detailed Characterization of Voriconazole Loaded In Situ Gels For Ocular Application. *J. Fac. Pharm. Ankara / Ankara Ecz. Fak. Derg.*, 44(1), 33-49.
- Nuray Yağmur, S. Ş. (2020). Microencapsulation of ellagic acid extracted from pomegranate peel onto Spirulina: Characterization, loading, and storage stability properties. *Journal of Food Processing and Preservation* Volume 45, Issue 1.
- Özer, Ö. (2016). Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Yeni Taşıyıcı Sistemler. E. H. Özgen Özer içinde, *Kozmetoloji 3.baskı* (s. 205-216). İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları.
- Özer, Ö. (2017). *Farmasötik Teknoloji Pratik El Kitabı I-II-III-IV*. İzmir: Ege Üniversitesi Yayınları Eczacılık Fakültesi Yayın No:5.
- P. D. Karkos, S. C. (2011). Spirulina in Clinical Practice: Evidence-Based Human Applications. *Hindawi*.
- P.L. Lam a, R. G. (2014). Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. *Journal of Controlled Release* 178, 25-45.
- Pedroso-Santana, S., & Fleitas-Salazar, N. (2020). Iontropic gelation method in the synthesis of nanoparticles/microparticles for biomedical purposes. *Polymer International*, 69, 443-447.
- Rai Muhammad Sarfraz, M. A. (2017). Development, in-Vitro and in-Vivo Evaluation of Ph Responsive β -CD-Co-methacrylic Acid Crosslinked Polymeric Microparticulate System for Solubility Enhancement of Rosuvastatin Calcium (RST). *Polymer-Plastics Technology and Engineering* 57(12).
- Roberto Elia, J. G. (2015). Encapsulation of Volatile Compounds in Silk Microparticles. *J Coat Technol Res.*, 793–799.
- Robin J. Marles, M. L. (2011). United States Pharmacopeia Safety Evaluation of Spirulina. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* Volume 51, Issue 7, s. 593-604.
- Rowe, R. C. (2009). Sodium Benzoate. P. J. Raymond C Rowe içinde, *Handbook of Pharmaceutical Excipients Sixth edition* (s. 627-629). Washington: Pharmaceutical Press.

- S. Bayarri, I. C. (2012). Viscoelasticity and texture of spreadable cheeses with different fat contents at refrigeration and room temperatures. *Journal of Dairy Science*, 6926-6936.
- Shabana Kouser Ali, A. M. (2012). Spirulina - An Overview. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences Vol 4, Issue 3*, s. 9-15.
- Shahid Bashir, M. K.-u.-H. (2020). Safety assessment of Spirulina platensis through sprague dawley rats modeling. *Food Science and Technology* 40(2), s. 376-381.
- Shaikat Chandra Dey, M. A.-A. (2016). Preparation, Characterization and Performance Evaluation of Chitosan as an Adsorbent For Remazol Red. *International Journal of Latest Research in Engineering and Technology* 2(2), s. 52-62.
- Shinya Ikeda, K. N. (2001). "Weak Gel"-Type Rheological Properties of Aqueous Dispersions of Nonaggregated κ -Carrageenan Helices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49(9), s. 4436-4441.
- Sinem Yaprak Karavana, Z. A. (2018). gemcitabine hydrochloride microspheres used for intravesical treatment of superficial bladder cancer: a comprehensive in vitro/ex vivo/in vivo evaluation. *Drug Design, Development and Therapy* 12, 1959–1975.
- Spirulina Extract (Tentative). (2018). *Residue Monograph prepared by the meeting of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA), 86th Meeting*.
- Stanisław Mitura, A. S. (2020). Biopolymers for hydrogels in cosmetics: review. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 31(50).
- Svetlana R. Derkach, N. G. (2019). Interactions between gelatin and sodium alginate: UV and FTIR studies. *Journal of Dispersion Science and Technology*.
- Tanya M. Barnes, D. M. (2021). Vehicles for Drug Delivery and Cosmetic Moisturizers: Review and Comparison. *Pharmaceutics* 13(12).
- Theodora Chlapanidas, S. F. (2011). Regenerated Silk Fibroin Scaffold and Infrapatellar Adipose Stromal Vascular Fraction as Feeder-Layer: A New Product for Cartilage Advanced Therapy. *Tissue Engineering: Part A* 17(13), s. 1725-1733.

(2024, Ocak 22). *Türkiye İlaç Ve Tıbbi Cihaz Kurumu Kozmetik Ürünler İle Sınır Teşkil Eden Ürünlere İlişkin Kılavuz Sürüm 3.0*. Ankara: TÜRKİYE İLAÇ VE TIBBİ CİHAZ KURUMU.

Ulya Badıllı, N. T. (2016). Dermakozmetik/Kozmesötik Etkin Maddeler-1. U. B. Sevgi Akarsu içinde, *Dermakozmetik Kozmesötik Madde ve Ürünler* (s. 29-40). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.

Ung-Jin Kim, J. P.-J. (2004). Structure and Properties of Silk Hydrogels. *Biomacromolecules* 5, 786-792.

Wilbur Johnson Jr, W. F. (2020). Safety Assessment of Silk Protein Ingredients as Used in Cosmetics. . *International Journal of Toxicology* 39(Supplement 3), s. 127-144.

Zehra Gün Gök, M. Y. (2019, Mart). İpek Serisin ve Potansiyel Uygulama Alanları. *European Journal of Science and Technology No. 15*, s. 450-459.

Zeynep Ay Şenyiğit, S. Y. (2014). Evaluation of chitosan based vaginal bioadhesive gel formulations for antifungal drugs. *Acta Pharm.* 64, 139–156.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı'nın tüm olanaklarından yararlanmam konusunda desteklerini esirgemeyen, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Sayın Prof. Dr. Özgen Özer'e,

Tez çalışmamın tüm aşamalarında bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yol gösterici yorumlarıyla katkıda bulunan, akademik yolculuğumdaki değerli katkılarının yanında hayata dair de bana ışık tutan ve her zaman destek olan çok değerli danışman hocam Sayın Prof.Dr. Sinem Yaprak Karavana'ya,

Tez çalışmalarım sırasındaki destek ve yardımlarından dolayı tüm Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri ve araştırma görevlilerine, yüksek lisans ve doktora öğrencilerine ve Farmasötik Bilimler Araştırma Laboratuvarı (FABAL) ekibine,

Tez çalışmam boyunca desteklerini esirgemeyen çalıştığım kurumdaki değerli direktörüm Udaya Dude, değerli müdürüm Emre Erol Aldeniz, değerli yöneticim Erdi Ekmekçi ve tüm ekip arkadaşlarıma,

Tüm hayatım boyunca sonsuz sevgileriyle her şeyi başarabileceğim konusunda beni cesaretlendiren, her zaman her koşulda en büyük destekçilerim, yol göstericilerim ve ilham kaynaklarım olan sevgili ailem; annem Bilsen Yeşilkavak, babam Eyyup Yeşilkavak, ablam Begüm Yeşilkavak ve kardeşim Egemen Yeşilkavak'a sonsuz teşekkür ederim.

29728 nolu projemizi Yüksek Lisans Tez Projesi olarak destekleyen Ege Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne teşekkürü borç bilirim.

İzmir, 23.08.2024

Meltem YEŞİLKAVAK