

T.C.
MERSİN ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
FARMASÖTİK TEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**AĞIZ VE DİŞ PREPARATLARINDA FARMASÖTİK
VE MİKROBİYOLOJİK KALİTE KONTROL
ÇALIŞMALARI**

Biyolog Sema ALTAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Nefise Özlen ŞAHİN

Tez No:

MERSİN – 2010

Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Eczacılık Fakültesi Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi Programı çerçevesinde yürütülmüş olan “**Ağız Ve Diş Preparatlarında Farmasötik ve Mikrobiyolojik Kalite Kontrol Çalışmaları**” başlıklı çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi 30/06/2010

Jüri Başkanı

Doç. Dr. Nefise Özlen ŞAHİN

Jüri Üyesi

Doç. Dr. Nizami DURAN

Jüri Üyesi

Yrd. Doç. Dr. Altan YÜKSEL

Bu tez, Enstitü Yönetim Kurulunun ...14...07...2010...tarihi ve 2010/212...sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

Enstitü Müdürü
Prof. Dr. Ülku CEMELKOĞLU

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam süresince akademik anlamdaki engin bilgi birikimini ve desteğini esgirmeyen danışman hocam sayın Doç. Dr. Nefise Özlen ŞAHİNE'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım. Aynı şekilde yardımlarını rica ettiğim her seferde beni kırmadan desteklerini ve önerilerini sunan sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Altan YÜKSEL'e çok teşekkür ederim.

Mikrobiyolojik çalışmalarda zaman zaman danıştığım, faydalı önerileri ile yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Aylin DÖĞEN'e ve identifikasyon çalışmalarını Mersin Üniversitesi Araştırma Hastahanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarını kullanarak yapmamı sağlayan Prof. Dr. Gönül ASLAN'a ve Laboratuvar çalışanlarına teşekkür ederim.

Yakın ilgi ve moral destekleri ile her zaman yanımda olan çalışma arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Bu noktaya gelebilmem böylesi, emek isteyen ve disiplinli bir çalışma süresi gerektiren dönemi en iyi şekilde tamamlamamı sağlama konusunda en büyük paya sahip olan ve desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Canım Ailem;

Annem Sabahat ALTAN, ikinci annem Nevin AKGÖREN, babam Fersende Altan ve biricik kardeşim Ertan ALTAN iyiki varsınız.

Canım dostlarım Deniz TOPLUOĞLU ve Nihan ÇOLAK; çok şeyler yaşadık beraber farklı şehirlerde olsak dahi, çok güçlü kıldınız beni.

Özgür AKGÜL;

Tanıştığımız uzun yıllar süresince hep güzel şeyler kattın hayatıma, çok şey öğrendim senden daha güçlü bastı ayaklarım seninle. Bu yola birazda senin sayende çıktım. Hayatıma kattığın her renk için çok teşekkür ederim.

Sema ALTAN

İÇİNDEKİLER

Kabul ve Onay	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ	x
ÖZET	xi
ABSTRACT	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kozmetoloji.....	4
2.2.Kozmetikler.....	4
2.2.1. Kozmetik Nedir?.....	4
2.2.2. Kozmesötik Nedir?.....	5
2.2.3. Kozmetiğin Tarihçesi.....	6
2.3. Kozmetik Ürünlerin Yapısına Giren Maddeler.....	9
2.4. Kozmetik Ürünlerin Sınıflandırılması.....	10
2.5. Dişin Genel Yapısı.....	11
2.5.1. Diş Yüzeyindeki Oluşumlar.....	12
2.5.2. Ağız Mikroflorası.....	12
2.5.3. Ağız ve Diş Bakım Ürünleri.....	13
2.5.3.1. Diş Macunları.....	14
2.5.3.2. Gargaralar.....	15
2.5.3.3. Diş Tozları.....	16
2.6. Kozmetiklerin Üretiminde Dikkat Edilmesi Gerekenler.....	16
2.6.1. Suyun Sterilizasyonu.....	17
2.6.2. Ambalaj Malzemesinin Seçimi.....	18
2.6.3. Hammadde Seçimi.....	19

2.7. Kozmetiklerde Koruyucu Kullanımı.....	19
2.7.1. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Antimikrobiyal Koruyucular.....	20
2.8. Stabilite ve Stabilite Testleri.....	21
2.8.1. Stabilite.....	21
2.9. Kozmetik Ürünlerde Yapılan Kalite Kontrol Testleri.....	22
2.9.1. Farmasötik Kontroller.....	22
2.9.1.1. Fiziksel Kontroller.....	22
2.9.1.1.1. Organoleptik Kontroller.....	23
2.9.1.1.2. Viskozite ve Reolojik Kontroller.....	23
2.9.1.1.2.1. Viskozite.....	24
2.9.1.1.2.1.1. Newtonian Akış Gösteren Sistemler.....	24
2.9.1.1.2.1.2. Newtonian Akış Göstermeyen Sistemler.....	25
2.9.1.1.2.1.2.1. Plastik akış.....	25
2.9.1.1.2.1.2.2. Pseudoplastik Akış.....	26
2.9.1.1.2.1.2.3. Dilatant Akış.....	26
2.9.1.1.2.1.2.4. Tikotropik.....	27
2.9.1.1.2.2. Viskozitenin Ölçülmesi.....	27
2.9.1.1.2.2.1. Viskozite Ölçümlerinde Kullanılan Cihazlar.....	27
2.9.1.1.2.2.1.1. Kılcal Viskozimetre.....	27
2.9.1.1.2.2.1.2. Düşen Bilye Metodu.....	29
2.9.1.1.2.2.1.3. Penetrometre.....	29
2.9.1.1.2.2.1.4. Rotasyon Tipi Viskozimetre.....	30
2.9.1.1.3. pH.....	31
2.9.1.1.4. Faz Ayrımı.....	32
2.9.1.1.5. Partikül Büyüklüğü.....	32
2.9.1.2. Kozmetiklerde Mikrobiyal Stabilite ve Mikrobiyolojik Kontroller.....	32
2.9.1.2.1. Kozmetik Ürünlerde Gözlemlenen Mikrobiyal Kontaminasyonlar.....	33
2.10. Stabilite Testleri Neden Yapılır?.....	34

2.10.1. Hızlandırılmış Stabilite.....	35
2.10.2. Gerçek Zamanlı Stabilite.....	35
2.10.3. Stress Testleri.....	35
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	36
3.1. Gereç.....	36
3.1.1. Kullanılan Besiyeri Çeşitleri.....	38
3.1.2. Kullanılan Boyalar.....	40
3.1.3. Kullanılan Çözeltiler.....	41
3.1.4. Kullanılan Cihazlar.....	41
3.2. Yöntem.....	41
3.2.1. Farmasötik Kontroller.....	41
3.2.1.1. Organoleptik Kontroller.....	42
3.2.1.2. Viskozite Kontrolleri.....	42
3.2.1.3. pH Kontrolleri.....	42
3.2.1.4. Faz Ayrımı.....	43
3.2.1.5. Partikül Büyüklüğü Kontrolleri.....	43
3.2.2. Mikrobiyolojik Kontroller.....	44
3.2.2.1. Mikrobiyolojik kontrolü yapılacak olan ürünlerin ve dilüsyonların hazırlanması.....	44
3.2.2.2. Örneklerdeki bakteri kontaminasyonunun ve canlı sayısının saptanması.....	44
3.2.2.3. Örneklerdeki bakterilerin identifikasyonu.....	45
3.2.2.3.1. Gram Boyama.....	46
3.2.2.3.2. DNase Testi.....	47
3.2.2.3.3. Şeker Fermentasyon Testi.....	47
3.2.2.3.4. Sitrata Kullanımı Testi.....	47
3.2.2.3.5. Lizin Testi.....	47
3.2.2.3.6. Üreaz Testi.....	47
4. BULGULAR.....	48
4.1. Farmasötik Kontrollerin Bulguları.....	48
4.1.1. Organoleptik Kontrollerin Bulguları.....	48
4.1.2. Ürünlerin Viskozite Bulguları.....	51

4.1.3. Ürünlerin pH Bulguları.....	51
4.1.4. Faz Ayrımı Görülen Preparatların Bulguları.....	52
4.1.5. Tozlarda Partikül Büyüklüğü Kontrolü Bulguları.....	53
4.2. Mikrobiyolojik Testlerin Bulguları.....	53
4.2.1. Ürünlerdeki Kontaminasyon Oranları.....	53
4.2.2. Stabilite Öncesi ve Stabilite Sonrasında Ürünlerde ki Toplam Canlı Mikroorganizma Sayıları.....	53
4.2.3. Ürünlerden İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyon Sonuçları.....	55
5. TARTIŞMALAR.....	58
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	67
7. KAYNAKLAR.....	70
ÖZGEÇMİŞ.....	78

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. Kapiler viskozimetre.....	28
Şekil 2.2. Düşen bilye düzeneği.....	29
Şekil 2.3. Penetrometre.....	30
Şekil 2.4. Rotasyonel tip viskozimetre.....	30
Şekil 4.1. Faz ayrımı görülen preparat.....	52
Şekil 4.2. Kanlı agarda üremiş bakteri kolonileri.....	55
Şekil 4.3. Barid Parker selektif agarda üreyen Staphylococ kolonileri.....	56
Şekil 4.4. EMB agarda üreyen Pseudomonas kolonileri.....	57
Şekil 4.5. EMB agarda üreyene E.coli kolonileri.....	57

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1. Farmasotik ürünlerde bulunan kontaminantlar.....	2
Çizelge 2.1. Kozmetik Ürünlerin Kategorilerini Gösteren Liste.....	10
Çizelge 2.2. Kozmetiklerde kullanılan bazı prezervatifler ve etkinlikleri.....	21
Çizelge 2.3. Newtonian Akış Reogramı.....	24
Çizelge 2.4. Plastik Akış Reogramı.....	25
Çizelge 2.5. Pseudoplastik Akış Reogramı.....	26
Çizelge 2.6. Dilatant Akış reogramı.....	26
Çizelge 2.7. Tikotropi reogramı.....	27
Çizelge 3.1. Kullanılan Preparatların Gruplandırılması.....	36
Çizelge 3.2. Kullanılan Preparatların İçerikleri.....	37
Çizelge 4.1. Stabilite Öncesi ve Stabilite Sonrası +30 °C Organoleptik Kontrollerin Sonuçları.....	49
Çizelge 4.2. Stabilite Öncesi ve Stabilite Sonrası +4 °C Organoleptik Kontrollerin Sonuçları.....	50
Çizelge 4.3. Ürünlerin Viskozite Bulguları.....	51
Çizelge 4.4. Ürünlerin pH Bulguları.....	52
Çizelge 4.5. Ürünlerdeki toplam canlı sayıları.....	54
Çizelge 4.6. Stabilite Sonrasında Ürünlerdeki toplam canlı sayıları.....	54
Çizelge 4.7. t=0 Anında İzole edilen Bakterilerin İdentifikasyon Sonuçları.....	56

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

cfu:	koloni oluşturuucu birim (coloni forming unit)
CMC:	Karboksi Metil Selüloz
CTFA:	Cosmetics Toiletries and Fragrance Association
DMDM:	Dimetilol dimetilhidantoin
EMB:	Eozin metilen mavisi
FDA:	Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
FDCA:	Gıda ve İlaç İdaresi Yasası (Federal Food, Drug and Cosmetic Act)
GMP:	İyi imalat uygulamaları (Good Manufacturing Practice)
HCl:	Hidroklorik asit
K₂HPO₄:	Dipotasyum fosfat
KNS (-):	Koagülaz negatif <i>Staphylococ</i>
NaCl:	Sodyum Klorür
PCA:	Plate Count Agar
PEG:	Polietilen Glikol
SDS:	Sodyum Dodesil Sülfat
TSB:	Tryptic Soy Broth
TSE:	Türk Standartları Enstitüsü
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü (World Health Organisation)

ÖZET

Ağız ve Diş Preparatlarında Farmasötik ve Mikrobiyolojik Kalite Kontrol Çalışmaları

İlaçların aksine, kozmetik ürünler, üretim izni aldıktan ve pazara sunulduktan sonra incelenmemekte, takip edilmemektedir. Bu noktadan hareketle, bu çalışmada piyasada ve aktarlarda satılan 11 adet ağız ve diş bakım ürünü mikrobiyolojik ve farmasötik açıdan incelenmiştir. Bu ürünlerden 8 tanesi hiç kullanılmamış, 3 tanesi kullanılmış ürünlerdir.

Kozmetik ürünlerde karşılaşılan en önemli sorun, mikrobiyolojik stabilite ile ilgilidir. Bunun için, ürünler hızlandırılmış stabilite çalışmasına tabi tutulmuş; stabilite öncesinde ve sonrasında mikrobiyolojik ve farmasötik yönden test edilmiştir.

TSE tarafından ağız ve çevresi için kullanılan kozmetik ürünlerin gram veya mililitresinde ki mikroorganizma sayısının 100 cfu/gr'ın altında olması gerektiği bildirilmiştir. Çalışmamızda farmakopelerce istenmeyen patojen bakterilerden *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* kontaminasyonları araştırılmış, ürünlerdeki toplam canlı sayıları hesaplanmış ve farmasötik kalite kontrol testleri yapılmıştır.

Yapılan testler sonucunda kullanılmış 3 ürünün gram/ml'sinde 10^3 'ün üzerinde, kullanılmamış 8 ürünün ise; sadece 1'inin 10^3 'ün üzerinde koloni sayısı bulunmuştur. Kullanılmış ve kullanılmamış tüm ürünlerde mikroorganizma kontaminasyonlarına rastlanmıştır. Test edilen örneklerin arasında kullanılmış olan diş pudralarının birinde *Escherichia coli*, kontaminasyonuna rastlanmıştır.

İncelenen örneklerden hiç tüketilmemiş olan bir ağız suyunda oksidaz pozitif *Pseudomonas* türüne rastlanmıştır ve bu, *Pseudomonas spp.* olarak değerlendirilmiştir. Örneklerin hepsinde *Staphylococcus* kontaminasyonu görülmüştür. Hiçbiri Koagülaz pozitif olmadığından bu bulaşan *Staphylococcus spp.* olarak adlandırılmıştır. Stabilite sonrasında da aynı testler tekrarlanmıştır. Ancak, stabilite öncesine göre çok fazla bir farklılık görülmemiştir.

Farmasötik testleri gerçekleştirmek amacıyla; örnekler stabilite testine alınmadan önce ve stabiliteden çıktıktan sonra pH, viskozite, ve organoleptik incelemeler ve tozlarda partikül büyüklükleri ölçümleri gerçekleştirilip birbirleri ile karşılaştırılmıştır. Örneklerin pH'sının literatürlerde belirtilen değerlere uygunluk gösterdiği tespit edilmiştir. Yarı-katı preparatlardan iki diş patında ise, stabilite çalışması sonrasında faz ayrımı ile karşılaşılmıştır.

Bu çalışmada elde edilen veriler, ağız ve diş preparatlarında üretim, depolama ve nakliye esnasında farmasötik ve mikrobiyolojik açıdan meydana gelebilecek değişiklikler belirlenerek ürün kalitesi, güvenilirliği ve tüketicinin sağlığı açısından gerekli önlemlerin alınması gerektiği tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Kozmetikler, farmasötik kalite kontrol, stabilite, mikrobiyolojik kontrol, ağız ve diş preparatları, reolojik kontroller.

ABSTRACT

Pharmaceutical And Microbiological Quality Control Studies On Mouth & Teeth Care Products

In contrast to medicine, cosmetic products are not undergone any investigation and no post-marketing follow-up study is conducted. Taking this into account, in this study, 11 mouth and tooth product were collected from hypermarkets, community pharmacy stores and spice shops. Next, they were investigated with respect to microbiological and pharmaceutical aspects. 8 out of these products were never consumed, but 3 of them were used products.

The most important problem encountered with cosmetics products is microbiological stability. Thus, the products under investigation were subject to accelerated stability tests. They were tested using microbiological and pharmaceutical methods prior to and after stability studies

TSE reported the requirement for the number of live microorganisms in the cosmetic products for mouth and its surroundings as less than 100 per gram or mililiter. In this study, contamination caused with *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, the microorganisms reported as restricted in pharmacopeas were investigated. Total number of live microorganisms was determined and also, pharmaceutical quality control tests were carried out.

As a result, it was determined that 3 out of consumed products had more than 10^3 live microorganisms per gram/ml whereas only 1 unused product had same amount of live microorganisms. Both consumed and unused products had microbiological contamination. *E. coli* contamination was determined in one of the consumed tooth powder

One of the unused mouth wash products oxidase positive *Pseudomonas* species were found and this was evaluated as *Pseudomona spp.* *Staphylococcus* contamination was determined in all samples. As none of them was coagulase positive, this contaminant was specified as *Staphylococcus spp.* The same microbiological tests were repeated in the end of the stability study. However, no significant difference was observed in comparison to the data obtained from the tests performed prior to the stability study

In order to conduct pharmaceutical tests, the samples were tested for pH, viscosity, and organoleptic properties prior to and after the stability study. In addition, the samples in powder form were undergone particle size determination study. pH values of the samples were found similar to those given in literature. 2 of semi-solid preparations exhibited phase separation during stability study.

The data obtained in this study indicate that mouth and tooth products should be investigated for any change that might occur during manufacture, storage and delivery, and then, necessary precautions should be taken for the product quality, safety, and consumer health.

Keywords: cosmetics, pharmaceutical quality control, stability, microbiological control, mouth and teeth products, reological controls.

1. GİRİŞ

Sağlık Bakanlığı'nın 24 Mart 2005 tarihli Resmi Gazetede yayınlanan Türk Kozmetik Kanunu'na göre, “ Kozmetikler; insan vücudunun epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve genital organlar gibi değişik dış kısımlarına, ağız ve dişlere veya mukozaya uygulanmak üzere hazırlanmış, amaç veya yan amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek ve koruma suretiyle iyi bir durumda muhafaza etmek, görünümünü değiştirmek ve vücut kokularını düzeltmek olan, saç boyaları ve saç rengi açıcıları da dahil bütün preparatlar ve/veya maddelerdir. “(1)

Kozmetik ürünlerin steril olmasına gerek yoktur (2). Ancak, kozmetik ürünler, içerdikleri maddelerden dolayı mikroorganizma üremesi için uygun ortamlar oluşturmaktadırlar. Bu yüzden de mikrobiyal kontaminasyona karşı korunmaları gerekmektedir (3).

Kremlerin yanı sıra, özellikle, göz farı, şampuanlar, rimeller, diş macunları, ağız suları, yüz pudraları, yüz losyonları gibi sıcak ve nem altında olan ve banyoda tutulan kozmetik ve tuvalet ürünlerinde mikroorganizma üremesi gözlemlenebilmektedir(2). Kozmetik ürünlerdeki belirgin kontaminantlar *Enterobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.* gibi bakteriler ile *Candida spp.* gibi mayalar ve *Aspergillus* gibi küflerdir. Kozmetik ürünler, mikrobiyolojik açıdan incelendiğinde, aseptik koşullarda üretilmediklerinden zaman zaman patojen olmayan mikroorganizmaların varlığına rastlanmaktadır. Önemli olan bu bulaşanların patolojik özellik taşımasıdır. Aksi halde, patojen mikroorganizmalar içeren kozmetik ürünler, kullanıcıyı güzelleştirmek yerine sağlığını tehlikeye atacak; hastalık meydana getirecektir (2).

Kozmetik ürünlerin kontaminasyonu ile ilgili ilk olay, 1946'da Yeni Zelanda' da dört bebeğin *Clostridium tetani* ile kontamine olmuş talk pudrasının kullanılması sonucu ölmesidir (4).

Mısır'da yapılan bir çalışmada ise, ağız sularının az miktarda bakteri ve küfle kontamine olmasının yanı sıra *Candida spp.* barındırdığı da tespit edilmiştir (5,6). Bu da önemli patojenik durumlara yol açmıştır.

Çizelge 1.1. Kozmetik ürünlerde bulunan bulaşanlar (7).

Sene	Ürün	Kontaminant
1946	Talk	<i>Clostridium tetani</i>
1955	Chloroxylenol dezenfektan	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1967	Carmine tozu	<i>Salmonella cubana</i>
1967	El kremi	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
1977	Lens solüsyonu	<i>Serratia ve Enterobacter spp.</i>
1983	Sıvı sabun	<i>Pseudomonas stutzeri</i>
1984	Timollü ağız suyu	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
1986	Antiseptik ağız suları	<i>Coliform bakteriler</i>

Kozmetik ürünlerin oluşturduğu bu ve benzeri tehlikeli durumlar, bu alanda çalışmaların artmasına yol açmıştır (8). Kozmetik ürünlerde gerçekleştirilen mikrobiyolojik kontroller; bu ürünlerde patojen bulaşanların varlığını da ispatlamıştır. Bu önemli sonuç; kozmetik üreticilerinin üretim işlemlerinde mikrobiyolojik kontaminasyonu önleyecek biçimde önlemler almasının gerekliliğini ortaya koymuştur. Bundan dolayı; kullanıcılara arzı gerçekleşmeden önce ürünün güvenliğinden emin olmak amacıyla üretim ve geliştirme sırasında çeşitli testler yapılmaktadır (9, 10).

Cosmetics Toiletries and Fragrance Association (CTFA) tarafından, kozmetik ürünler için mikrobiyolojik kalite sınırları belirlenmiştir (11). Üretici bu koşullara uymak zorundadır. Buna göre; bir ürünün bir gram veya mililitresinde mikroorganizma sayısı 1000 cfu/gr ya da cfu/ml'yi geçmemelidir. Bebek kozmetik ürünleri ve göz kozmetik ürünlerinde ise, mikroorganizma sayısı 500 cfu/gr ya da cfu/ml'yi geçmemelidir.

Amerikan farmakopesine göre ise; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Salmonella typhi* gibi dört bakterinin ile *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* küfü kozmetik ürünlerde bulunmamalıdır.

Ülkemizde TSE'nin uyguladığı satandartlar CTFA'dan farklıdır. Buna göre; ağız çevresi kozmetik ürünlerde en fazla 500 cfu/gr ya da cfu/ml mikroorganizma bulunmalıdır (1).

Bahsedilen nedenler ve belirlenen kurallar çerçevesinde; bu çalışmamızda piyasadaki ağız ve diş bakım ürünlerinde kozmetik ürünlerde bulunmaması gereken üç patojen bakterinin (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*)

klasik mikrobiyal yöntemlerle identifikasyonlarının yapılması, ayrıca; test edeceğimiz ürünlerin, üç aylık stabilite testine tabi tutulup; viskozite ve pH değerleri ölçülerek farmasötik kontrollerinin gerçekleştirilmesi amaçlanmaktadır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kozmetoloji

Kozmetoloji, Galenus' un (M.S. 130-250) “Ceratum Refrigerans” isimli kold kremin geliştirilmesinden bu yana birçok aşama kaydetmiştir (12). İlgili kanun, direktif ve yönetmeliklerde verilen yasal tanımlarda kozmetikler, vücudun temizlenmesi, güzelleştirilmesi, cazibesinin artırılması ve görünüşün değiştirilmesi amacıyla kullanılan ürün ve maddeler olarak tanımlanmaktadır. Kozmetoloji bilimi ise; bu ürünler ve maddelerin insanların görünüşlerini düzeltmek için sistematik bir şekilde incelenmesi esasına dayanmaktadır (12).

2.2. Kozmetikler

İnsanlar, çağlar boyunca süslenmeye ve bakımlı olmaya özen göstermişlerdir. Kozmetik ürünlerin kullanımı ile ilgili ilk arkeolojik verilere eski Mısır' da rastlanmaktadır (13). Romalılar ve Mısırlılar zehirli etkileri bilinmeksizin, sadece daha güzel görünmek adına yaygın şekilde cıva kullanmışlardır (13).

Bilim ve teknolojideki tarihsel gelişim, kozmetik endüstrisinde ve pazarında hedef kitlenin zamanla değişmesine neden olmuştur. İlk çağlarda, kozmetik endüstrisinde hedef kitleyi kadınların oluşturmaktaydı. Günümüzde ise, kozmetikler ve kozmetoloji hem kadın hem de erkekler için aynı önem derecesine sahiptirler.

İlaçlardan farklı olarak, kozmetik ürünler tedavi edici etkiye sahip olmayan birtakım maddeler içerir. Kozmetik preparatları ilaç şekillerinden ayıran yalnızca “etken madde içermemesi” değildir. Bazı kozmetik preparatlar etkin madde içermelerine rağmen dozları tedavi edici miktarlarda olmadığından yine de kozmetik olarak sınıflandırılır. Örneğin; diş patları, çürük oluşumunu önleyici ve diş taşının meydana gelmesini önleyici, bakteriostatik etkili enzim inhibe eden preparatlar, etkin madde içermelerine rağmen kozmetik olarak değerlendirilmektedirler (14).

2.2.1. Kozmetik Nedir?

Kozmetik kelimesi; Yunanca “dekore etmek”, “süslemek” anlamına gelen “cosmein” kelimesinden türetilmiştir (15). Bu sözcüğün anlamının aynı zamanda “bakmak, bakım, vücut ile aklın harmonisi”dir.

1994 yılında Sağlık Bakanlığı tarafından yayınlanmış yönetmeliğe göre kozmetik, “İnsan vücudunun epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve genital organlar gibi değişik dış kısımlarına, ağız ve dişlere veya mukozaya uygulanmak üzere hazırlanmış amacı ve yan amacı bu kısımları temizlemek koku vermek suretiyle iyi bir durumda muhafaza etmek görünümünü değiştirmek ve vücut kokularını düzeltmek olan saç açıcıları da dahil bütün preparatlar veya maddelerdir.” diye tanımlamıştır (1).

Amerikan Gıda, İlaç ve Kozmetik Kanunu’na (FDCA) göre kozmetik; “Dökülmek, ovulmak, serpilmek veya daha başka bir şekilde uygulanmak suretiyle vücudun veya görünümünün değiştirilmesi için kullanılan maddeler olup sabunlar bu gruba dahil değildir”; diye tanımlanmaktadır (16).

2.2.2. Kozmesötik Nedir?

Kozmesötikler, sınıflandırma itibarıyla, ilaçlarla kozmetikler arasında yer alan ve biyolojik etkinliklerinin olduğuna inanılan kozmetik ürünlerdir. Maalesef, bu hususla ilgili açık ve net bir tanım hiçbir ülkenin yasal düzenlemelerinde yer almamaktadır (17).

Kozmetikler, önceleri sadece cildin nemlendirilmesi, yumuşatılması ve makyaj amaçlı kullanılmaktaydı (12, 18). Günümüzün değişen ihtiyaçları, teknolojik ilerlemeler araştırmacıları değişik ve yeni arayışlara yönlendirmiştir. Yeni hammaddeler kullanarak yeni teknolojiler uygulayarak elde edilen kozmetikleri tüketicilerin hizmetine sunulmaktadır. Farmasötik Teknolojideki hızlı gelişmelere paralel olarak geçen yüzyılın ortalarından itibaren geliştirilen modern taşıyıcı sistemlerin son 20 yıldır kozmetiklere uyarlanması yeni kozmetik formülasyonlar ve yeni etkin maddelerin bulunması ile kozmetolojide yeni bir çığır açılmıştır (18).

Bu gelişmeler sonucunda klasik kozmetik tanımından daha farklı ilaç ve kozmetik arasında bir grup preparat üretilmiş ve bunlara ‘kozmesötikler ’ adı verilmiştir (12, 17). Kozmesötik ürünlere; ağız dış preparatlarından ağız suları dış patları, diş tozları, saç bakım ürünlerinden kepek şampuanları, deriye uygulanan topikal preparatlardan ise yaşlanma karşıtı, selülit önleyici ve nemlendirici kremler örnek verilebilir (12)

2.2.3. Kozmetiğin Tarihçesi

Sosyal bir varlık olan insanın toplumsal statü, beğenilme ve özgüven açısından daha iyi, daha güzel olma güdüsünün etkisiyle çeşitli maddeler veya ürünleri güzelleşmek ve bakımlı olmak amacıyla kullanımının geçmişi ilk çağlara dayanmaktadır. Kozmetiğin tarihi insanlık tarihi kadar eskidir ve neredeyse yeryüzündeki tüm toplumlarda kozmetik öteden beri kullanılmaktadır. Havva, kemik tarakla saçlarını tarayarak Adem'e güzel görünmek istemiş, maden devrinde insanlar; levhaları cilalayarak ayna olarak kullanmışlardır (13, 15).

İlk kozmetik ürün; kokudur. Koku, ruhsal açıdan insanları etkileyen bir etkiye sahiptir. Güzel kokmak çekiciliği artırır, insan psikolojisinde pozitif etki yaratır (19).

İlk çağlarda kokunun insan yaşamında ve psikolojisinde önemini açıklayan kaynaklara göre; Truvalı Helen tüm çekiciliğini, Afrodit'in verdiği güçlü kokulu bir maddeye borçludur. Yine; Mısırlıların ölümlerini güzel kokulu odunlar ve yağlarla yaktığı bilinmektedir (19).

Güneydoğu Asya ve Hindistan'da toplumsal gelişmeyle beraber kozmetikte de gelişmeler olmuştur. Asurlular ve Babililer'de kokulu zamklar, özel ağaçlar ve hoş kokulu maddeler tapınaklarda ve evlerde yakılarak kötülüklerin uzaklaştırıldığına inanılmıştır. Bu maddeler, daha sonraki çağlarda, parfüm ve kolonya yapımında kullanılmıştır (20).

Yapılan arkeolojik çalışmalar sonucunda; yarım milyon yıldır insan vücudunu farklı şekillerde süsleyip, değişiklikler yapıldığı görülmüştür. Genel olarak vücutta değişiklikler yapmak, boyamak insanın doğasında vardır. (21). Sosyolojik ve toplumsal dürtüler insanı buna sevkeder. Arkeologlar, yapılan kazılarda muhtemelen dudakları boyamak amacıyla kullanılan ucu sivriltilmiş kırmızı orkallı çubuklar bulmuşlardır (21). Günümüzden 5000 yıl kadar önce, alt sınıflardan kendini ayırmak için Mısırlı zengin kadınlar tarafından kına, çeşitli pomatlar ve saç boyaları kullanılmıştır (21). Mısırlıların, sık sık banyo yapıp, parfümlü yağ ve kremleri vücutlarına sürdükleri literatürde belirtilmiştir (21).

Kozmetiklerin gözleri güzelleştirmede kullanımı ise; çok eski çağlara dayanır. İlk göz boyası uygulaması M.Ö. 4000'li yıllara dayanır. Göz kozmetiklerinin kullanımı 59-62'li yıllarda popüler hale gelmiştir. Cleopatra döneminde rastıklarla gözlerin güzelleştirilmesine, cilt güzelliği için kremlerin kullanılmasına önem verilmiştir (22).

Diş preparatlarının kullanımı ise; nispeten daha yenidir. Diş temizliği; yapılmadığı durumlarda pek çok hastalığı tetiklediği için kişisel hijyen açısından en önemli unsurlardan biridir. İnsanoğlu diş bakımına 5 bin yıldır önem vermektedir. Kazılarda, M.Ö. 3500 yıllarına ait kürdan vb. diş temizleyicilerine rastlanmıştır.

İlk geliştirilen diş fırçaları, bal ve yağ ilavesiyle hazırlanan patlarla kullanılmaktaydı. Tatlı veya acı; astrenjan etkili patlar hazırlanırdı. İlk diş patları; kalsiyumlu alum, uçucu yağlar, tıbbi kömür, çöktürülmüş kalsiyum karbonat, glikoz şurubu, inci tozu, yengeç gözü, ejderha kanı gibi ilginç maddeler ile hazırlanırmaktaydı. İlk modern diş patları, 19. yüzyılın sonlarında Dr. Willoughby Miller'ın diş çürümesinin mekanizmasını aydınlatmasıyla bunu önlemek için geliştirilmiştir. Yine, ilk ağız suları 19. yüzyılın ortalarında geliştirilmiş alkol bazlı, likör benzeri preparatlardı. Diş tozlarının hazırlanması ise, çok daha zordu. Türk tarihine bakıldığında ise, 13-14.yüzyıllardan beri diş bakımına önem verildiği ve diş bakım preparatlarının (ör.: misvak) kullanıldığı görülmektedir.

2.2.4 Ülkemizde Kozmetik

Türkiye'de kozmetik endüstrisinin gelişimi çok geç olmuştur. Yeni kurulan cumhuriyette sanayileşme hızla ilerlemekteyse de modern anlamda kozmetik üretimi ancak, 1972 yılında başlamıştır. Sadece birkaç firmayla yola çıkan bazı kozmetik sanayi kuruluşları bu süreçte birçok zorlukla karşılaşmışlardır. Bu yüzden, 1972 yılında 50 ton şampuan üretilmesi büyük bir başarı olarak değerlendirilmiştir. 1975 yılında, aynı firmalar cilt ürünlerinin üretimine başladıklarında, eski problemlerden daha uzak ve daha deneyimli olarak hızla çalışmaya devam etmişlerdir (19).

1980'de hükümetin sanayiye daha fazla önem ve teşvik vermesiyle birlikte kozmetik sektörü de canlanmıştır. İlk modern ürünler, genellikle; şampuanlar olmuştur. 18. yüzyıldan beri üretilen kolonyalar ve sabunlar ise, bu süreçte genellikle ambalaj ve sunum farklılığı açısından gelişme göstermiştir. İlk parfüm ve erkek kozmetik ürünlerinin üretimi de 80'li yıllara rastlar. Rebul'ün lavanta kokulu traş losyonları Türkiye'de kozmetik sektörünün atağa geçtiğinin göstergelerindedir. İlk kez, eczanelerde "kozmetik reyonunun" oluşturulması da yine Rebul Eczanesi ile 80'li yıllarda başlamıştır. Kozmetik üretimi, 1997'de ise, 1996 yılına göre, miktar olarak % 94, değer olarak % 39 oranında artış göstermiştir (19).

80'lerdeki hızlı gelişime rağmen, sektör pek çok ürünü üretmek yerine ithal etmeyi tercih etmekteydi. Ancak; gelişen teknolojiler ve batılılaşan Türk insanının taleplerini karşılamak için artan pazar imkanları ile karlılık oranları yüzünden 1998'de ithalat azalmıştır. Bu yılda kozmetik ithalatı 1997 yılı ile karşılaştırıldığında miktar olarak %5, değer olarak % 15 oranında düşmüştür. Bunun nedenleri arasında; Türk sanayicisinin bu alanda üretime daha fazla yatırım yapması sonucu birden fazla ürünün üretilmesi, firmalar arası fiyat rekabeti ve bazı firmaların evlerde ürün pazarlaması, sayıları günden güne artan ürünlerin üretim artışına paralel olarak genel hijyenik önlemlerin alınmadığı, elde edilen bu ürünlerin bekleme süreleri de hesaba katılarak karışımlara eklenen katkı maddelerinin mikrobiyal faaliyetleri açısından bozulmaları sayılabilir. Oysa; hijyenik ve teknolojik koşullarda üretilen kozmetik ürünlerin üretimi hijyenik ve teknolojik proseslere bağlı olmalıdır. Sentetiklerin de kullanıldığı parfüm ve diğer kozmetik ürünlerin WHO kurallarına uygunluğu zorunluluğu bulunmaktadır (19).

Kişi başına yıllık harcamalara bakıldığında dünyada kozmetiğe en çok para harcayan ülke İsviçre'dir. Maalesef; Türkiye'de nüfusun büyük çoğunluğunda ise, kozmetik dendiğinde akıllarına gelen ilk şey sadece sabun olmaktadır (19).

Saç ve cilt bakımı ürünleri. % 29'luk bir oranla % 20'lik bir orana sahip olan Amerika'dan önde gelir. Türkiye vücut bakımında % 28 oranla diğer ülkelerin önündedir (19).

Saç bakım ürünleri tüketiminin Türkiye'deki dağılımı incelendiğinde, en yüksek tüketimin % 65 ile şampuan olduğu görülür (19).

Kozmetik ürünlerin üretiminde olduğu kadar hammadde üretiminde de Türkiye hızla gelişme kaydetmiştir. Türkiye Kimya Sanayicileri Derneği Bültenine göre, bugün Türkiye kozmetikte kullanılan gülyağı, ıhlamur çiçeği, defneyaprağı, bergamot, nane, limon, portakal, mandalina, turunç gibi narenciye esans yağlarını ihraç eden bir ülkedir (19).

Diğer dünya ülkeleri gibi tüketim açısından ilk sıralarda yer alan Türkiye kozmetik sanayi, 2000'lerde birçok yerli ve yabancı kuruluşlarca hammadde üretiminden başlayarak her çeşit kozmetik ürünü üreten dünya ülkeleri arasına girmiştir (19).

2.3. Kozmetik Ürünlerin Yapısına Giren Maddeler

Kozmetik endüstrisi üzerine yoğunlaşan çalışmalar sonucunda, kozmetiklerin içerebileceği zararlı maddeler en aza indirgenmeye çalışılmıştır (23).

Daha önceki yıllarda zararlı elementler içeren kozmetik ürünler geliştirilen çalışmalar sonucunda günümüzde artık bu zararlı elementleri içermemektedir. Nörotoksik etkilerinden dolayı heksaklorofen, alerjik reaksiyonlarından dolayı cıva bileşenleri kloroforokarbonlar, karsinojen etkilerinden dolayı kloroform, metilen klorid, nitrozamin ve dioksanın kozmetik ürünlerin kullanımı U.S FDA tarafından yasaklanmıştır (24, 25).

Birçok kozmetik ürün; sülfaktan, emülsüfiyan, su, etkin bileşen, inceltici, renk ve koku maddelerinden en az birini içerir (26,27). Temel yapıyı sıvağ, etken madde ve eterik yağlar oluşturur. Tüm kozmetik ürünlerde etken madde bulunmayabilir. Etkin maddenin yanına bazı yardımcı maddeler de eklenebilir (26, 27).

Kozmetik bileşenleri 12 gruba ayrılmaktadır (26):

1. Sıvağlar

- a. Yağlar ve mumlar: Kakao yağı, palm yağı
- b. Hayvansal yağlar: Domuz yağı, balmumu
- c. Doğal mumlar: Karnaubu, kandellila mumu

2. Alkoller: Undesilen, sorbit, setil, stearil, risinol

3. Yağ asitleri: Laurik, milistik, palmitik

4. Emülgatörler: Karragen, agar, arap zamkı.

5. Koruyucular: Metil paraben, propil paraben, imidazol idinil, formaldehit çözeltisi.

6. Antioksidanlar: Pirogalinler, bütihidroksi anisol, askorbil palmitat, vitamin E, sesamol.

7. Boya maddeleri:

a. Anorganik pigmentler: Alüminyum oksit, alüminyum silikat, baryum, kaolin, çinko stearat

b. Organik pigmentler: Karmen, karamel, nişasta

b. Sentetik pigmentler: Ksanten knolin azo, nitro

8. Koku maddeleri

9. Anorganik yardımcı maddeler: Kil, boraks, borik asit

10. Etkin maddeler: Vitaminler, hormonlar, enzimler, proteinler, kalojen
11. Ekstreler: Propolis, arı sütü, yeşil çay. Aosaine
12. Nemlendiriciler: Kalsiyum klorür, laktat gliserol

Ülkemizin zengin bir bitki florasına sahip olması; kozmetik sektöründe kullanılabilir pek çok maddenin ülke içinde üretimine olanak vermektedir. Özellikle; uçucu yağlar (gül, lavanta), ülkemizdeki bitkilerden elde edilerek parfüm, kolonya, krem vb. formülasyonlarında kullanılmaktadır. Son yıllarda; diş patlarına ilave edilen misvak da yerli bitkilerden elde edilmekte olan bir hammaddedir. Pek çok doğal emülsifan ve mineraller de yine ülkemizde üretilmektedir.

2.4. Kozmetik Ürünlerin Sınıflandırılması

Kozmetik ürünlerin sınıflandırılması, amaca yönelik yapılabileceği gibi uygulanan yere yönelik ve taşıyıcı şekiller göz önüne alınarak da yapılabilir. 2005 yılında Resmi Gazete’ de yayımlanan Kozmetik Yönetmeliği’ne göre, kozmetik ürünler Çizelge 2.1 de görüldüğü gibi yirmi gruba ayrılmaktadır (28).

Çizelge 2.1. Kozmetik ürünlerin kategorileri (29).

Kozmetik Ürün Kategorileri

1. Cilt için kremler, emülsiyonlar, losyonlar, jeller ve yağlar (el, yüz, ayak v.b. için)
2. Yüz maskeleri (cilt yüzeyini aşındıranlar/ soyanlar hariç)
3. Fondötenler (sıvı, pat, toz)
4. Makyaj pudraları, banyo sonrası kullanılacak pudralar, hijyenik pudralar v.b.
5. Kozmetik ürün tanımı kapsamındaki tuvalet sabunları, deodorant sabunlar v.b.
6. Parfümler, tuvalet suları (eau de toilette), ve kolonyalar (eau de Cologne)
7. Banyo ve duş ürünleri (tuzlar, köpükler, yağlar, jeller v.b.)
8. Depilatuvarlar (kıl dökücü ve kıl sökücüler)
9. Deodorantlar ve ter önleyiciler
10. Saç bakım ürünleri:
 - Saç boyaları ve açıcılar
 - Dalgalandırma ve düzleştirme ve sabitleştirme amacıyla kullanılanlar
 - Şekillendirme ürünleri
 - Temizleyiciler (losyonlar, pudralar, şampuanlar)
 - Bakım ve şartlandırma ürünleri (losyonlar, kremler, yağlar)
 - Taranıp şekillendirilmesi için ürünler (losyonlar, saç spreyleri, briyantiner)
11. Traş için kullanılan ürünler (kremler, köpükler, losyonlar v.b.)
12. Yüz ve göz makyajında ve makyajın temizlenmesinde kullanılan ürünler
13. Dudaklara uygulanmak üzere hazırlanmış ürünler
14. Ağız ve diş bakım ürünleri

15. Tırnak bakımı ve süsü için kullanılan ürünler
16. Dış genital organlara haricen uygulanmak amacıyla üretilmiş kişisel hijyen ürünleri
17. Güneş banyosu için ürünler
18. Güneş olmaksızın cilde yanık ten görünümü vermek üzere kullanılan ürünler
19. Cilt rengini açmak için kullanılan ürünler
20. Cilt kırışıklıklarına karşı kullanılan ürünler

Bu çizelgedeki kozmetik ürünlerin bazıları mikroorganizma üremesine duyarlıdır. Örneğin ağız suları ve diş macunlarının formülasyonlarında anti-mikrobiyal ajanların yer almasında rağmen, önemli miktarlarda bakteri ve mantar içerebilmektedirler (30). *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida* türleri en sık rastlanan mikrobiyolojik bulaşanlardır. Yapılan bir çalışmada; diş macunlarının ağız sularına göre daha sık kontamine olduğu gösterilmiştir (31).

2.5. Dişin Genel Yapısı

Diş minesi, dentin, diş eti (gangiva), diş özü sement (cementum) dişin ilk gözlemde sayılabilecek bölümleridir (32).

Diş minesi; dişin ağız ortamıyla temas eden dış kısımdır (32). Bu tabaka diş etinin altındaki bölümlerde bulunmaz. Dişi fiziksel hasarlardan, kimyasal ve mikrobik saldırılardan korur. pH 5.5'in altında erezyona uğrayan diş minesinin sertliğini, kristal özellikte olan hidroksiapatit sağlar. Bu madde, iyon değiştirme özelliğine sahiptir. Florür iyonu varlığında, diş minesinin hemen yüzeyinde, iyon değiştirme reaksiyonu ile daha sert ve asite daha dayanıklı olan floroapatit oluşur (32).

Dentin, diş minesinin hemen altında bulunan, içerdiği maddeler açısından diş minesine benzeyen ve yapıya gözeneklilik veren, çok ince tüpçüklerden oluşan bir tabakadır (32). Diş minesi gibi florür ile reaksiyona girebilmektedir. Ancak; diş minesinden daha yumuşak, aside ve aşınmaya karşı daha dayanıksızdır (32).

Diş özü, kan damarlarını ve sinir hücrelerini bulunduran dişin canlı bölgesidir (32). Bu bölgeye olan herhangi bir uyarı diş ağrısına neden olur. Diş kökü, dişin oluşturduğu kemiğe bir zarla bağlı olan ve "cementum" adı verilen bir tabaka ile kaplıdır. Diş eti, dişin diş minesi taşımayan kısmını koruyan tabakadır.

2.5.1. Diş Yüzeyindeki Oluşumlar

Zamanla, diş yüzeyinde, ağız sağlığını etkileyen farklı tiplerde oluşumlar gelişmektedir. Bunların içinde en önemlileri, pelikül, diş plağı, metaria alba, ekstrinsik lekeler ve tartardır (33, 34, 35).

Pelikül, dişin tükürükle temasından bir süre sonra diş yüzeyinde oluşan, uzaklaştırılmasının ardından birkaç dakika içinde tekrar oluşan, bakteri içermeyen ve hücresel olmayan bir tabakadır. Ağızın savunma mekanizmasındaki bir aşamadır. Tükürükte bulunan bazı glikoproteinlerin, hidroksiapatite seçici olarak tutunması sonucunda oluşmaktadır. Ağız içinde bulunan mikroorganizmalardan, önce Gram (+) olanlar ve daha sonra diğerleri, bu tabakaya tutunup polisakkarit yapısında yapışkan özellikli maddeleri salmaya başlarlar. Daha sonra, bu tabakaya ağızdaki gıda ve hücre artıkları da yapışır ve sonuçta oluşan tabaka “diş plağı (mikrobiyal dental plak)” olarak adlandırılır (35, 36). Karbonhidratlar, mikroorganizmalar tarafından parçalanarak, laktik asit gibi organik asit oluşumuna ve dolayısıyla, diş minesi dekalsifikasyonunun başlamasına neden olurlar. Diş plağında bulunan ve olgunlaşması 9- 12 gün içerisinde gerçekleşen Gram (-) bakteriler, patojenik olabilir ve saldıkları toksinler diş eti enfeksiyonlarına yol açabilir (33, 35).

2.5.2. Ağız Mikroflorası

Ağız boşluğu, hem yumuşak hem katı yüzeyleri birlikte barındırması, yüzeyleri yıkayan tükürük ve diş eti oluk sıvısının varlığı ve dış ortama açık olması nedeniyle eşsiz bir yapıdır. Ekolojik olarak çok farklı mikroçevrelerden oluşur. Bu nedenle; çok çeşitli mikrofloralar içerir (37).

Ağız boşluğunda mikroorganizmaların yerleşmesi ve üremesini etkileyen faktörler; fizikokimyasal (yüzey, sıcaklık, pH), konak (ağız bakımı, sigara içme, genetik durum) ve bakteriyel faktörlerdir (38).

Ağız mikroflorasının dengesini, kolonizasyon direnci sağlar (37, 38). Dengenin bozulması sonucu ekolojik kayma olur. Ağız diş hastalıklarının büyük çoğunluğu ağız biyofilmlerindeki ekolojik kaymadan kaynaklanır. Mikrofloranın sağlıklı durumdan hastalıklı duruma geçmesine yol açan faktörler farklı bakterilerin varlığı ve Gram pozitif bakterilerin Gram negatiflere oranının değişmesi, özel türlerin artması, bakterilerin virulans faktörlerini değiştirmesi, genetik duyarlık nedeniyle konağın

immün yanıtındaki değişiklikler, çevresel faktörler ya da yaş olarak sıralanabilir. Bakterilerin biyofilmlere giriş-çıkış nedenleri ile; kommensal halden patojen hale geçmelerinin sebebi henüz bilinmemektedir (38).

Doğumdan itibaren steril kabul edilen oral florada Stafilokok, Streptokok, Koliform grubu bakteri ve Gram pozitif çomakların bulunabileceği bilinmektedir (37). Ağız boşluğunda mikrofloranın erişebileceği bir üst sınır mevcuttur. Bu mikroflorayı da sınırlayan bazı etkiler olduğu düşünülmektedir. Bunlardan biri, tükürüğün yıkayıcı etkisidir. Tükürükle birlikte her gün 1.25 gr. bakteri hücresinin yutulduğu bildirilmiştir. Ayrıca çiğneme, dilin, dudakların ve yanak mukozasının hareketleri de mikroorganizmaların diş yüzeyinden uzaklaşmasına yardımcıdır. Diş plağı mikroflorasında ise; çoğunlukla mikroorganizmalar, tükürük glikoproteinleri, hücre dışı mikrop ürünleri, dökülmüş epitelium hücreleri, lökosit ve eritrositler bulunur. Bakteriyolojik teşhis sonucu en çok üreyen mikroorganizmalara bakıldığında; %27 fakültatif Streptokoklar, %23 fakültatif Difteroidler, %18 anaerop Difteroidler, %13 Peptostreptokok, %6 Legionella, %4 Bakteriodes, %4 Fusobakteriler, %3 Neisserialar, %2 Vibriolar görülmüştür (39). Ağızdaki mikroorganizmaların çoğu patojenite sağlayacak özelliktedir. Diş çürüğü, dişeti iltihabı normal flora bakterileri ile oluşan enfeksiyonlara örnektir (39).

2.5.3. Ağız ve Diş Bakım Ürünleri

Kozmetik olarak değerlendirilen ağız bakım ürünleri, ağız boşluğuna uygulanan (diş macunları, diş tozları, ağız banyoları) veya diş protezlerinin bakımı için kullanılan ürünlerdir (32).

Diş macunları, ağız suları ve diş tozlarının formülünde antimikrobiyal madde yer almasına rağmen, önemli miktarlarda bakteri ve mantar da bulunmaktadır. *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* ve *Candida* türleri en sık rastlanan mikroorganizma bulaşanlarıdır. Yapılan bir çalışmada diş macunlarının ağız sularına göre daha sık kontamine olduğu gösterilmiştir (31).

2.5.3.1. Diş Macunları

Diş macunu ilk defa Mısır’lılar tarafından kullanılmıştır. Günümüzde kullanılan modern anlamda diş macunu ise, 18. yüzyılda İngiltere’de geliştirilmiştir (32). Diş macunları dahilen kullanılan, pat özelliğinde olan yarı katı preparatlardır. Toz halindeki etken maddeler şurup, gliserin ve bal gibi viskoz haldeki sıvağlarla elektuvar şeklinde hazırlanır. Ayrıca; viskozite arttırıcı maddeler de ilave edilir (40).

Diş macunu, düzenli ve etkili bir fırçalama ile düzenli kullanıldığı zaman, gıda artıklarını, plak dokusunu ve lekeleri dişten uzaklaştırabilmektedir (40).

Diş macunu, uzun yıllar farmasötik bir ürün olarak sınıflandırılmıştır. Bu nedenle, fiziksel ve kimyasal açıdan farmasötik ürünler kadar stabil olması istenir. Macun, kabından kolayca çıkarılabilecek viskoziteye sahip olmalı ve akmadan diş fırçasının üzerinde kalabilmelidir (41)

Bir diş macununun sıvı fazı, su ve nemlendiriciden oluşur (40, 41). Nemlendiricinin görevi, yarı katı diş macunu kütesinin kuruyup viskozitesinin artmasını engellemek ve formüldeki diğer toz maddeleri pat haline getirmektir. Nemlendirici madde, suyun macun kütesinden uzaklaşmasını önler. Bunun için nemlendirici olarak, gliserin, sorbitol, propilen glikol ve polietilen glikoller kullanılmaktadır. Seçilen nemlendirici, ağız boşluğundaki bakterilerin fermantasyonuna karşı dirençli olmalıdır (41).

Diş macunları ayrıca, köpük oluşturuucu maddeler içerirler (40). Köpük oluşturuucu madde olarak önceleri sabun kullanılmaktaydı. Ancak, sabunların alkali pH oluşturmaları, tatlarının iyi olmaması ve formülasyondaki bazı maddelerle kimyasal geçimsizlik yaratmalarından dolayı günümüzde bu maddelerin yerine yüzey etken maddeler kullanılmaktadır. Bunların başlıcaları; sodyum lauril sülfat, dodesil benzen sülfat’tır (41).

Diş macunlarında kullanılan bir diğer grup madde ise, bağlayıcı maddelerdir. Bağlayıcı maddeler, bekleme sırasında katı ve sıvı fazı herhangi bir ayrılma olmadan bir arada tutacak viskoz bir ortam sağlamaları amacıyla kullanılmaktadır. Bağlayıcı madde derişiminin, viskoziteyi gereğinden fazla arttırmaması için dikkatli ayarlanması gerekmektedir. Bağlayıcı madde olarak; aljinat, karagen, silika ve selüloz türevleri gibi hidrojel özelliğindeki maddeler kullanılmaktadır (41).

Diş macunları, kendilerini mikrobiyal bozulmaya karşı koruyabilen özelliğe sahiptir (40, 41). Bunun nedeni; kütle içindeki nemlendiricinin macun kütledeki suyu bağlayarak var olan mikroorganizmanın üremesini engellemesidir. Ancak; diş macunu formülasyonunda bulunan bağlayıcı olarak kullanılan maddeler mikrobiyal üremeyi destekler özellik göstermektedir. Bu nedenle; diş macunlarına sodyum benzoat ve hidroksi benzoatlar gibi koruyucular ilave edilmektedir (41).

2.5.3.2. Gargaralar

Ağız suları olarak da adlandırılan “gargaralar”ın temel kullanım nedenleri, kaynağının ne olduğuna bakılmaksızın ağız kokusunun giderilmesidir (40). Bunlar, haricen kullanılan güzel koku ve lezzetteki sulu çözelti formundadır. Kullanım esnasında asla yutulmamaları gerekir. Hazırlandıkları şekliyle kullanılabilirler gibi, belli bir miktar su ile seyreltikten sonra kullanılabilen çeşitleri de mevcuttur (40).

Ağız gargaraları, genelde, alkol, nemlendirici, yüzey etkin madde ve sudan oluşmuş opak olmayan preparatlardır (40). Bu preparatların hazırlanışı esnasında karşılaşılan en önemli problem; formülasyonda bulunan uçucu yağın tamamının çözülmesinin sağlanması ile ilgilidir. Ağız gargaraları; içeriğindeki maddeler sebebiyle genellikle, kendi kendilerini mikroorganizma üremesine karşı koruyabilmektedirler. Ancak, yine de bir kontaminasyon riskinin olabileceği göz ardı edilmemelidir (42).

Ağız gargaralarının stabilitesi incelendiğinde; düşük sıcaklıklarda uçucu yağın alkollü taşıyıcıdaki çözünürlüğü azaldığı için çözeltinin bulanıklaşması gibi sorunlarla karşılaşmaktadır (32).

Nemlendirici maddeler, gargaralara viskozluk vermek, tadı güzelleştirmek ve şişe kapağına bulaşan preparatın orada kuruyup kalmasını engellemek ve koku verici maddelerin çözülmesini kolaylaştırmak amacıyla formülasyonlara konmaktadır. En çok tercih edileni gliserindir (32).

Kozmesötik amaçlı kullanılan gargaralara ilave edilen çinko klorür aynı zamanda, protein çökrütücü etkisi ile bakteriler üzerinde de etkili olmaktadır (42).

2.5.3.3. Diş Tozları

Diş tozları kullanım yaygınlığı açısından diş macunlarıyla kıyaslanınca diş macunlarının oldukça gerisinde kalmaktadır. Diş tozları aşındırıcılığı fazla olan bölünmemiş toz preparatlardır (40, 42).

Diş tozları, yapılarında nemlendirici, su ve bağlayıcı veya jel oluşturucu maddeler bulundurmazlar. İstenirse formülasyona ayrıca, florür veya serbest oksijen veren bir etkin madde eklenebilir (33).

2.6. Kozmetiklerin Üretiminde Dikkat Edilmesi Gereken Hususlar

Kozmetik ürünlerin steril olma zorunluluğu olmamasına rağmen, şimdiye kadar kontamine farmasötik ürünlerin kullanılması sonucunda sağlığı tehdit eden hasarların ortaya çıkması, kozmetik endüstrisinde hijyenik imalat şartları ve yöntemlerin uygulanması ve uygun koruyucuların kullanılmasının gerekliliğini ortaya koymuştur (43).

Modern kozmetik ürün formülasyonları; uygun mineraller, üreme faktörleri, uygun ortam asitliği ve nem ile mikroorganizma üremesi için uygun ortam sağlamaktadır (30). Mikroorganizmalar için besin teşkil eden maddeler geleneksel kozmetik ürünlerde fazlaca bulunur. Bunların arasında; karbonhidratlar, şeker alkolleri, yağ asitleri, proteinler, aminoasitler, glikozitler, yağ alkolleri, steroidler, peptidler, vitaminler ve bitkisel hammaddeler önemli yer tutar. Bu maddeler, mikroorganizma çoğalmasını destekleyen potansiyele sahiptir. Ürünlerin kullanıcıların sağlığına zarar vermesi, mikroorganizma üremesinin miktarına ve tipine bağlıdır (30).

Bütün kozmetik ürünlerde mikrobiyal kontaminasyon riski mevcuttur. Özellikle su bazlı kozmetik ürünler koruma olmadığı sürece mantar ve bakterilerin üremesine elverişlidir. Toz kozmetik ürünler (diş tozları, göz farları, pudralar) ise, mikrobiyolojik açıdan çözeltilere kıyasla daha kararlı olmalarına rağmen, zamanla kontaminasyona maruz kalabilirler (44).

Kontamine olmuş kozmetik ürünlerdeki mikroorganizmalar, bütünlüğü bozulmuş deriyi enfekte edilebilir. Oluşan enfeksiyonlar, yumuşak ve sert dokularda önemli hasarlara yol açabilir. Gram negatif bakteriler ve diğer bakteriler tarafından üretilen endotoksin ve diğer metabolitler ciltte aşınma, iritasyon ve alerji yapabilirler (45).

Kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik kontaminasyon, ürün kalitesi, kurallara uyma ve tüketici sağlığı açısından önemli bir risk oluşturur. Kozmetik ürün üreticisi olan firmalar, önemli paralar harcayarak mikroorganizma kontaminasyonu riskini azaltarak ürün kalitesini korumaya çalışırlar (30). Bu amaçla ya koruyucu maddelerden yararlanılır ya da kontaminasyon riskini azaltan yöntemlerle üretim gerçekleştirilir.

Kozmetik ürünlerde mikroorganizma kontaminasyonu sonucu koku, renk, viskozite ve performansta istenmeyen değişiklikler meydana gelebilir. Bu değişikliklerin nedeni, mikroorganizmaların ürün bileşenleri üzerinde yaptığı bozunma ve üründeki mikroorganizma kaynaklı metabolitlerdir. Eğer, mikroorganizmaların üremesi için uygun ortam mevcutsa değişiklikler hızla gerçekleşebilir (30).

Kozmetik ürünlerin üretiminde iyi imalat uygulamaları (GMP) ile mikrobiyal kalite yükseltilebilir. İyi imalat uygulamaları açısından dikkat edilmesi gereken hususlar; üretimde kullanılan suyun sterilizasyonu, uygun hammadde ve ambalaj malzemesinin seçimidir (46).

2.6.1 Suyun Sterilizasyonu

Kozmetik sektöründe üretimde kullanılan su kalite standartları açısından, tüm mikroorganizmalardan yoksun olmalıdır. Sınırlı sayıda mikroorganizma içermelidir ve *Pseudomonas* gibi fırsatçı mikroorganizmaları içermemelidir (46).

Su; üretim yerinin temizlenmesinin yanı sıra formülasyonların içeriğinde de yer almaktadır. Bu nedenle, ürünlerin içeriğinde yer alan ve mikrobiyal kontaminasyona eğilim gösteren en iyi bilinen hammadde sudur. Kullanılan suyun mikrobiyolojik kalitesi oldukça önemlidir (47).

Suda sıklıkla rastlanan bakteriler, *Pseudomonas*, *Xantomonas*, *Flavobacterium*, *Archramobacter*, *Aerobacter sp*'lerdir (10, 48, 49, 50, Marino ve Ark, 2000).

Suyun sürekli olarak kalite kontrolünün yapılması gerekmektedir. Suyun saflaştırılmasında kullanılan reçine yatakları filtreleri, ultraviyole arıtmaları ve ters osmoz sistemleri kontaminasyon kaynağı olabilir. Bu nedenle, bu sistemlerin uygun bir yöntemle sık sık dezenfeksiyonun yapılması gerekir. Kondensasyon suları ve diğer geri dönüşüm sularının da kalite kontrolünün yapılması ve biositlerle muamelesi önemli bir şarttır (46).

2.6.2 Ambalaj Malzemesinin Seçimi

Bir ürün, aseptik şartlarda işlem görmüş ve üretim sırasında kontamine olmamış bile olsa, primer ambalaj kaplarına aktarıldığında hala mikroorganizmalarla karşılaşma riski taşıyabilir.

Ambalajlama materyalinin iki önemli rolü vardır. Bunlar; ürünün içeriğine etki etmesi, kirlenme ve mikroorganizma girişini önlemesidir. Primer ambalaj materyali olarak kullanılan cam kaplar, dolumdan çıktıklarında hala temizdirler. Ancak; tozlu koşullarda saklanıp, sekonder ambalaj materyali olan karton kutulara aktarılmalarıyla *Penicillium sp.* ve *Aspergillus sp.* gibi küf mantarlarının bulaşması gerçekleşebilir. Yapılan incelemelerde, selüloz asetat, polipropilen, polietilen, polivinilklorid, metalden yapılmış kutular gibi düzgün yüzeyli, su geçirmez ambalaj materyelleri düşük sayıda mikroorganizma içerdiği tespit edilmiştir (49).

Ambalajlamanın rolü gün geçtikçe önem kazanmaktadır. Mikroorganizmaların sürekli yeni savunma mekanizmaları geliştirmesiyle koruyuculara karşı dirençli suşlar oluşmaktadır (51).

Ambalajın ve kapağın şekli ürünün kullanımı esnasında mikrobiyal kontaminasyonu önlemede önemlidir (51, 52). Bu, özellikle üreticilerin ekonomik risklerini azaltma açısından önem arz eder. Çünkü; ürünün görünümü, kokusu, tüketicinin ürünü tekrar almasına ya da almamasına neden olmaktadır. Mikrobiyal kirlenme ürünün estetik görünümünde de değişime yol açmaktadır. Kötü ambalajlama ya da zayıf üretim koşulları nedeniyle oluşan kontaminasyonları kozmetik ürünlere eklenen koruyucular dahi önleyememektedir (51). Yapılan çalışmalarda elde edilen bulgulara göre; kapların dizaynı yeterli koruyuculuk sağlıyorsa, ürün formülasyonuna ilave edilen koruyucularla zayıf düzeyde korunmuş olsa bile, kullanıcı kullanımından kaynaklanan mikrobiyal kontaminasyondan korunabilmektedir (52, 53).

Açılır kapanır bir primer ambalaj, kullanıcı tarafından açık bırakıldığında, hiçbir koruyucu özelliği kalmamaktadır. Banyoda tutulan ürünlerde bu ortamdaki sıcaklık ve neme uzun süre maruz kalma sonucu mikroorganizma üremesi olabilmektedir (54). Literatürde yer alan çalışmalar, ağız bakım ürünlerinin %92'sinin kullanım sırasında kontamine olduğunu göstermektedir (51).

2.6.3 Hammadde Seçimi

Kozmetiklerin kontaminasyonuna sebep olan en önemli etken hammaddedir. Hammaddeler, doğal kaynaklı olsalar bile sıklıkla mikroorganizmalarla kontamine edilirler. Özellikle doğal kaynaklı olanlarda yeterli saflaştırma yapılmamışsa, buna sık rastlanır.

Biyolojik kaynaklı katılar, yumurta ve süt ürünleri, kuru hayvan ve bitki ekstraktları, *Salmonella sp.*, *E. coli* ve *Stafilokok* türlerini içerebilir. Bu tip hammaddelerin *Salmonella sp.*, *E. coli* ile kontamine olmaması gerekmektedir (49).

Bitkisel kaynaklı hammaddelerde çeşitli bakterilerin yanı sıra, küf ve maya mantarları da bulunabilmektedir. Örneğin; kitre zamkı (*Tragaconth*) gibi bazı bitkisel hammaddelerin *E. coli* içermemesi istenir (55).

Hayvansal proteinler ve vitaminleri içeren doğal kaynaklı maddelerin kullanıldığı ürünlerdeki bu maddeler, mikroorganizmalar için önemli besiyeri teşkil etmelerinin yanı sıra koruyucu maddeleri etkisiz hale getirerek kontaminasyon kaynağı olarak davranır (43). Talk, tıpkı diğer yüksek adsorban özelliği olan tozlar gibi çevresel bulaşanları ve mikroorganizmaları tutabilmektedir.

Farmasötik hammaddelerin mikrobiyolojik analizinde, bakteri ve mantarlarla en fazla kontaminasyonu arap zamkı ve *tragaconth*'da saptadığını bildirmiştir (56). Kozmetik sektöründe yaygın olarak kullanılan bu maddelerin mikrobiyolojik açıdan incelenmesi bitmiş ürün stabilitesi açısından da önemlidir.

Tüm bunların yanı sıra, üretimde kullanılan HEPA filtrelerle hava kaynaklı mikroorganizma sayısının azaltılması, kullanılan ekipmanların, tesisatların düzenli olarak temizlenmesi, dezenfekte edilmesi ve son olarak da personelin hijyen kurallarına dikkat etmesi mikroorganizma kontaminasyonlarını azaltma açısından etkinli olacaktır.

2.7. Kozmetiklerde Koruyucu Kullanımı

Kozmetik ürünler; mikrobiyal kontaminasyona ve bozulmaya oldukça müsaittirler. Kozmetik ürünler için mikrobiyolojik korunma ürün kalitesi ve insan sağlığı açısından çok önemli bir konudur (57).

Kozmetiklerin mikrobiyal kontaminasyonu, elli yıl önce küflerden kaynaklanan kirlenmelerin tespitine dek önemsenmemiş bir olguydu (5). 1960'lı yıllarda, kozmetiklerin çeşitli patojenlerle kontaminasyonu bu konuda daha etkili kozmetik

prezervasyon uygulamalarının geliştirilmesine yol açmıştır (5). 1965’de Kallings, Enerfeldt ve Silverstolpe, kozmetik ve steril olmayan farmasötik ürünlerdeki mikrobiyal kontaminasyonları çalışmalarında bildirmişler ve bu bildiri endüstride büyük önlemler alınmasına neden olmuştur (58). Bu önlemlerin ardından, üretim esnasında, mikrobiyal kontrollerin artırılması ve su bazlı kozmetik ürünlerin prezervasyonunun artırılması sağlanmıştır (58).

Amerika Birleşik Devleti’nde 1969 yılında yapılan bir çalışmada incelenen kozmetik ürünlerin, % 24,4’ünün 300 cfu/g’dan daha fazla mikroorganizma ile kontamine olduğu açıklanmış ve ardından aynı araştırmacılar 1972’de yaptıkları çalışmada ürünlerin sadece % 3,5’ inin kontamine olduğunu belirlemişlerdir (43).

Mikrobiyal korunma, ürünün kullanımı süresince ve raf ömrü boyunca mikroorganizma üremesi ve çoğalması görülmeyeceğini ifade eden bir terimdir. Mikrobiyolojik kararlılık, maddenin mikroorganizma üremesi ve çoğalmasına karşı gösterdiği dirençtir (57, 59). Mikroorganizmalarla kontaminasyon sonucu, ürünün etkinliği ve kararlılığının yanı sıra, ürünün kullanım sırasındaki güvenilirliği de etkilenebilir.

Pek çok kozmetik ürün bakteri ve mantarların büyümesi için uygun ortam oluştururlar. Bu nedenle, ürünün bozulmasına engel olmak ve kullanım esnasında güvenilirliğini sağlamak için koruma gereklidir. Üründe zamanla görülen kötü koku oluşumu, renk veya kıvam değişikliği, faz ayrımı gibi belirtiler, genellikle kontaminasyonun varlığına işaret eder.

2.7.1. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Antimikrobiyal Koruyucular

Farmasötik ürünlerde olduğu gibi kozmetiklerde de prezervasyon, doğal ve sentetik koruyucular ile sağlanır. Mikrobiyolojik prezervasyon, kozmetik ürünlerin mikrobiyolojik bozunmasını kontrol etmek amacıyla yapılan antimikrobiyal bir işlemdir. Etkin koruma preparatın güvenilirliğini ve kararlılığını artırır. Bu amaçla; kimyasal maddeler ve koruyucular kullanılır. “Prezervatif” olarak adlandırılan bu maddelerin kozmetik ürünü tüm mikroorganizmalara karşı koruması istenir (57).

İyi bir prezervatif; bakterisit, fungusit ve virüsit etkili olmalıdır. Kullanıcı için toksik ve iritan etkisi olmamalıdır. Stabil olmalı, depolama sırasında etkinliği azalmamalı; diğer bileşenlerle uyumlu olmalı; renksiz, kokusuz ve tatsız olmalı; uçucu

olmamalıdır (5, 48). Ancak bu koşulların tümünü kapsayan ideal bir prezervatif bulmak güçtür (60). Prezervatif seçimi; prezervasyonu yapılacak ürünün tipine ve uygulama bölgesine uygun olacak şekilde yapılmalıdır.

Çizelge 2.2. Kozmetiklerde kullanılan bazı prezervatifler ve etkinlikleri (60).

PREZERVATİF	ETKİNLİK	GEÇİMLİLİK	İNAKTİVASYON	ETKİN pH
Parabenler, benzoik asit esterleri	G(+), mayalar	Katyonik	Anyonik ve non-iyonik proteinler	<7
İmidazonil üre	Mayalara karşı geniş, zayıf	Anyonik ve non-iyonik		4-9
Diazolidinil üre	Mayalara karşı geniş, zayıf	Katyonik proteinler		4-9
İzotiozolonlar	Geniş	Anyonik, non-iyonik,	T°C>60°C	4-8
DMDM hidantoin		Katyonik		
Benzalkonyum Cl	Gram(+), Gram(-), küflere karşı zayıf etki	Katyonik, non-iyonik	Anyonik proteinler ve sabunlar	4-9
2-bromo-2-nitropropanol-1,3-diol	Geniş	Anyonik, noniyonik, katyonik	Sıcaklık, yüksek pH, sistein, alüminyum	<6

2.8. Stabilite ve Stabilite Testleri

2.8.1. Stabilite

Kozmetik ürünlerin büyük bir kısmını topikal preparatlar oluşturmaktadır. Ancak; bu durum kozmetik ürünler üzerinde yapılacak olan araştırmaların, çözelti, emülsiyon, süspansiyon, yarı-katı, jel, aerosol, toz, sıkıştırılmış toz gibi ürünlere yapılan araştırmalardan farklı olmasını gerektirmemektedir (61).

Kozmetik ürünlerin güvenliği, depolama esnasındaki dayanıklılığı ve mikrobiyolojik saflığı optimum düzeyde olmalıdır. Kozmesötikler de farmasötik ürünler gibi piyasaya sürülmeden önce stabilite testlerine tabi tutularak raf ömrü ve saklama koşulları belirlenir. Kozmetik ürünlerin, değişik iklim kuşaklarında, üretim, depolama ve tüketim esnasında sıcaklık, nem gibi bazı faktörlerin etkisi altında stabil yani dayanıklı kaldıklarından emin olunması gerekmektedir (62).

“Stabilite çalışmaları, bir ürünün kalitesinin değişik çevre koşullarının etkisi ile veya zamana bağlı olarak hangi oranda değişikliğe uğradığını ortaya koyan çalışmalardır” (62).

Stabilite çalışmalarının amacı; ürün için en uygun saklama koşulları ile raf ömrünün belirlenmesinde kullanılabilecek verileri elde etmektir.

Hazırlanan kozmetik preparatlarda üretim, depolama ve nakliye sırasında meydana gelebilecek değişmelerin incelenmesi için, stabilite testleri, gerçek zamanlı ve hızlandırılmış olarak yapılır. Bu testler; farklı sıcaklık (30-60°C vb.), ışık ve rutubet koşullarında yürütülür. Meydana gelen değişmeler incelenir. Öngörülenden daha farklı ve olumsuz neticelerin elde edilmesi halinde bu sorunların önlenmesi yoluna gidilir. Ürünün raf ömrü, bu değişimler göz önünde bulundurularak belirlenir.

Bir ürünün stabilitesi; fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörlerin etkisi açısından incelenir. Çalışma süresince; üründe meydana gelen farmasötik, mikrobiyolojik ve kimyasal değişimler belirlenir.

2.9. Kozmetik Ürünlerde Yapılan Kalite Kontrol Testleri

Kozmetik preparatlarda, formülasyonun geliştirilmesi aşamasından başlayan ve preparatın üreticiden çıkıp raflardaki yerine ulaşmasına kadar geçen sürede her aşamada çeşitli testler yapılarak sonuçta elde edilen ürünün her konuda sorunsuz olması amaçlanmaktadır (61). Kozmetiklerde de, diğer ürünlerde olduğu gibi ürünün stabilitesi, ürünün kullanılacağı süre boyunca kullanıcıların mümkün olan tüm gereksinimlerini karşılayabilecek düzeyde olmalıdır (63). Üreticiden tüketiciye ulaşana kadar ürünün nakliyesi için geçen süre içinde kalitesini koruması da ayrıca önemlidir (63).

2.9.1. Farmasötik Kontroller

Farmasötik kontroller; ürün tipine göre değişse de stabilite, faz ayrımı, viskozite, salım vb. unsurları kapsar. Kozmetik ürünlerde yapılan farmasötik stabilite çalışmaları fiziksel, kimyasal ve mikrobiyolojik kontroller olarak gruplanmaktadır. Bu çalışmanın kapsamında yer alan ürünler, farmasötik ürünlerin aksine terapötik etkiye sahip bir etkin madde içermediğinden kimyasal stabilite çalışmaları yapılmasına gerek görülmemiş; sadece, fiziksel ve mikrobiyolojik stabilite çalışmaları yapılmıştır.

2.9.1.1. Fiziksel kontroller

Merhemler, kremler, ağız ve diş bakım ürünleri gibi yarı katı preparatlar, üretimden sonra kullanıcıya ulaşana kadar ve kullanım esnasında geçen süre zarfında

ambalajından kolay çıkabilmeli, kolay uygulanabilmeli ve homojen bir yapıya sahip olmalı, bu yapıyı korumalıdır. Çalışmamızda, yukarıda sayılan özelliklere etkili olabilecek fiziksel kontroller; organoleptik kontroller ve pH açısından gerçekleştirilmiştir.

2.9.1.1.1. Organoleptik Kontroller

Bu çalışma kapsamında incelenecek kozmetiklerde renk, koku, görünüm gibi duyu organlarımızla algılanabilecek özellikleri ürünün pazarlanması açısından önemli olmasının yanı sıra, tüketiciye ulaşana dek raflarda beklediği süre boyunca ve kullanıldığı süreçte meydana gelebilecek herhangi bir destabilizasyonun göstergesi olması açısından önemlidir. Bu yüzden, üretimi takiben ürünün, renk, koku, görünüm ve bulanıklık gibi organoleptik özellikleri incelenir. Ayrıca, stabilite çalışmalarında belli zaman aralıklarıyla (0., 0.5, 1, 2., 3., 6., 9., 12. ay) organoleptik özelliklerde sıcaklık ve nem etkisiyle meydana gelen değişimler araştırılır. Bu çalışmada da 3 aylık stabilite çalışmasında sıcaklık etkisiyle organoleptik özelliklerde oluşan değişiklikler incelenmiştir.

2.9.1.1.2. Viskozite ve Reolojik Kontroller

Reolojik özellikler; viskozite ve elastikiyeti kapsar. Ürünün reolojik özellikleri, primer ambalaj materyalinden akıcılığı, uygulama kolaylığı ve özellikle kozmesötiklerde etkili maddenin dozaj şeklinden serbestlenerek istenen etkiyi gösterebilmesi açısından önemlidir(64). Bu özellikler, uygun ölçüm metotlarının kullanımı ile belirlenir. Ambalajlama, depolama ve nakliye esnasında belirlenen düzeylerden önemli sapmalar yapmaması gerekir. Bunun için; ürün serilerinden üretim, ambalaj ve depolama aşamalarında numune alınıp kontroller gerçekleştirilir. Nakliyenin reoloji üzerine etkisini görmek için ise, stres koşullarında stabilite çalışmaları yapılabilir. Bu tez çalışmasında reolojik özelliklerden viskozitede stres koşullarında ve stabilite çalışmalarında meydana gelebilecek değişiklikler incelenmiştir.

2.9.1.1.2.1. Viskozite

Sıvıların akmaya karşı gösterdiği dirence “viskozite” denir. Viskozluk akıcılıkla ters orantılıdır. Viskozluk artınca akıcılık azalacaktır (65). Bu, özellikle preparatın uygulanabilirliği açısından önemlidir.

Viskozitenin birimi, “Poise”dir. Poise, $\text{dincm}^{-2}\text{sn}$ veya gcm^{-1} dir. Bunun %1’i olan centipoise (cP), daha çok kullanılan bir ölçü birimidir.

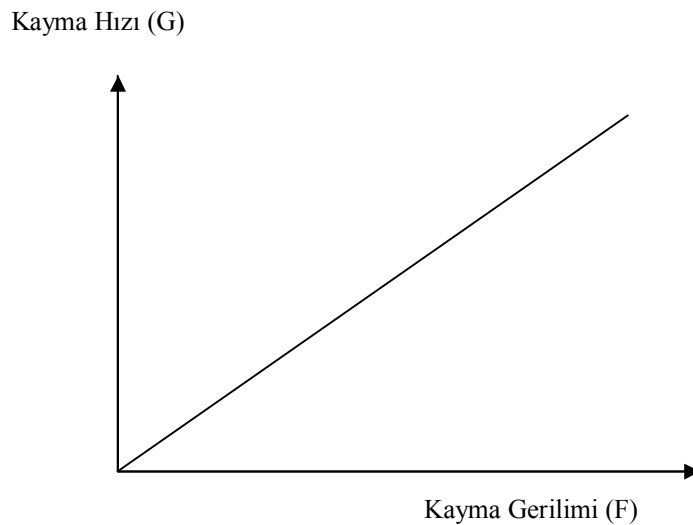
Sıvılar akış özelliklerine göre iki sınıfa ayrılır:

- Newtonian akış gösterenler
- Newtonian olmayan akış gösterenler

2.9.1.1.2.1.1. Newtonian Akış Gösteren Sistemler

Bu sistemlerde kayma gerilimi kayma deformasyonunun değişme hızı ile orantılı olarak artmaktadır (65). Bu nedenle, viskozluk bu çözeltilerde aynı koşullarda sürekli sabittir. Bu tür sıvılarda moleküller birbiri üzerinden düzenli olarak kayarlar. İç sürtünmeleri sabittir. Newton eşitliğine uygun akış gösterirler. Kayma hızının kayma gerilimine karşı grafiği çizildiğinde sıfır noktasından geçen doğrusal bir akış eğrisi elde edilir.

Çizelge 2.3. Newtonian Akış Reogramı (65).



2.9.1.1.2.1.2. Newtonian Akış Göstermeyen Sistemler

Non-Newtonian sıvılar olarak adlandırılan bu sistemler, Newtonian akış eşitliğine uymazlar. Bu sistemlere; jeller, merhemler, patlar, müsilaçlar, süspansiyonlar, emülsiyonlar örnek verilebilir. Bu sistemlerde kayma gerilimi kayma deformasyonunun değişme hızı ile orantılı olarak artmaz. Non-Newtonian sistemler 4 gruba ayrılır (65):

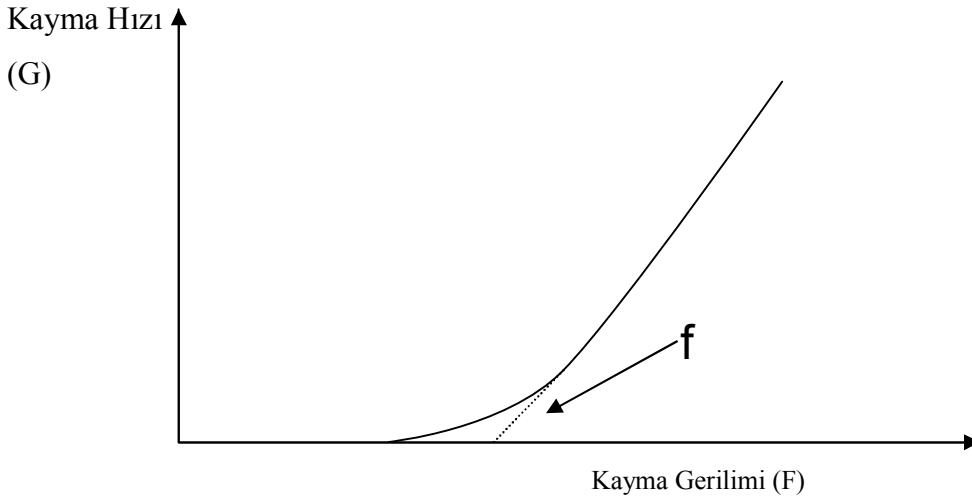
2.9.1.1.2.1.2.1. Plastik akış (Bingham Akışı)

Bu akışı sergileyen sistemler, hemen akışkanlık göstermezler. Ancak; kayma gerilimi belli bir eşik değerine ulaştıktan sonra akmaya başlarlar. Diğer bir deyişle; akış eğrisi tam orijinden geçmez.

Reogram, başlangıçta bir eğri; daha sonra doğru şeklindedir. Sistem doğrunun “kayma gerilimi” ekseninin kestiği noktadan sona akmaya başlar. O noktadan sonra Newtonian sıvılardaki gibi davranmaya başlar.

Bingham akışı, daha çok süspansiyonlarda ve floküle olmuş sistemlerde görülmektedir (65).

Çizelge 2.4. Plastik Akış Reogramı (65).

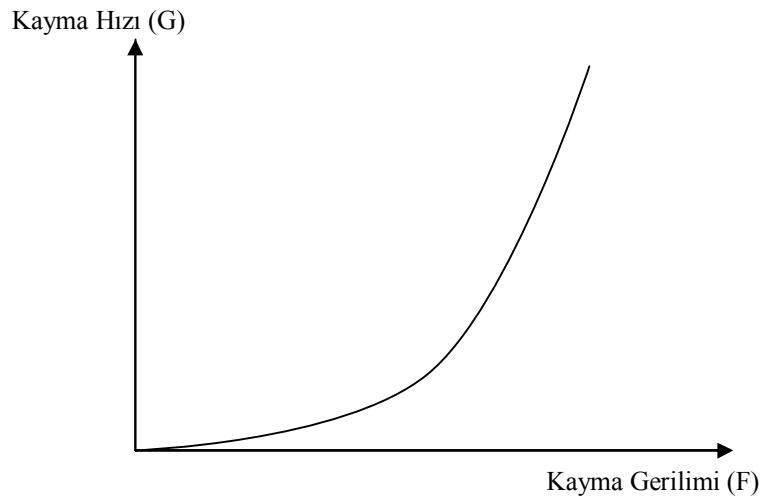


2.9.1.1.2.1.2.2. Pseudoplastik Akış

Bu akışta, akış reogramı orijinden başlar. Burada, akışın başlaması için bir eşik değeri bulunmamaktadır. Bu sistemlerin, viskozitesi kayma hızı ile ters orantılıdır. Dolayısıyla, karıştırma ile viskozite düşer.

Yarı katı sistemler; zamklar, sodyum aljinat, metil selüloz, CMC dispersiyonları gibi maddeler pseudoplastik akış gösterirler (65).

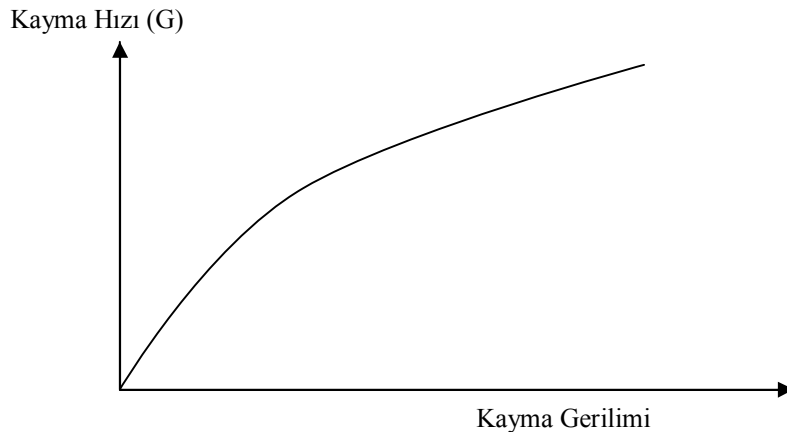
Çizelge 2.5. Pseudoplastik Akış Reogramı (65).



2.9.1.1.2.1.2.3. Dilatant Akış

Pseudoplastik akışın tam tersi olacak şekilde akış gösterir. Viskozite, kayma gerilimi ile doğru orantılıdır. Bu sistemde karıştırma ile viskozite artar. Bazı süspansiyonlar ve emülsiyonlar dilatant akış gösterir (65).

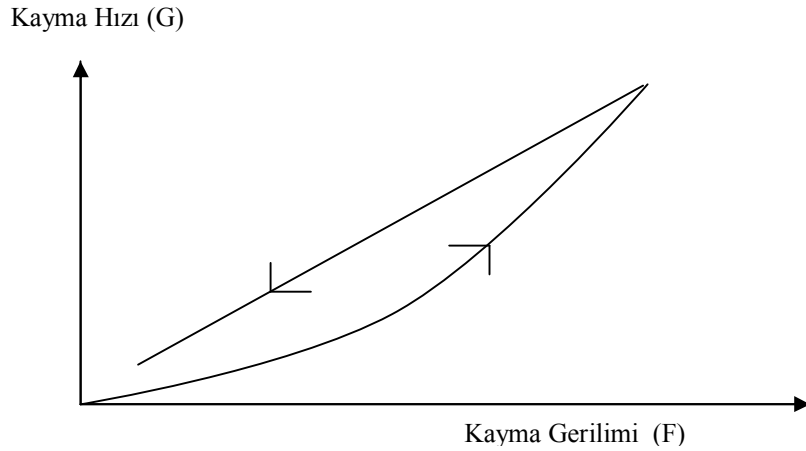
Çizelge 2.6. Dilatant akış reogramı (65).



2.9.1.1.2.1.2.4. Tikotropik Akış

Bu sistemlerde zamana bağlı olarak akış özelliği değişir. Gerilimin etkisiyle viskozluk geri dönüşümlü olarak değişmektedir. Gerilimin etkisi ortadan kalkınca, sistem yeniden eski haline döner. Emülsiyonlar, süspansiyonlar, merhemler ve bazı koloidal dispersiyonlarda bu tip akış görülür. Çalkalanınca viskoziteleri azalır, durunca zaman içerisinde viskoziteleri tekrar artar. Bu sistemler izotermal olarak, jel-sol-jel dönüşümü gösteren sistemlerdir (65).

Çizelge 2.7. Tikotropik akış reogramı (65).



2.9.1.1.2.2. Viskozitenin Ölçülmesi

Bir sistemin reolojik özelliklerinin ölçülmesi ve değerlendirilmesinin yapılması için uygun yöntemin ve doğru viskozimetrenin seçilmesi gerekmektedir. Burada amaç; gerilim-kayma hızı arasındaki fonksiyonel ilişkiyi belirlemektir (65).

2.9.1.1.2.2.1. Viskozite Ölçümlerinde Kullanılan Cihazlar

Viskoziteyi ölçmek amacıyla, viskozitesini ölçeceğimiz sistemin özelliği göz önüne alınarak farklı çalışma prensiplerine sahip olan viskozimetrelerden en uygun olanı seçilir (65).

2.9.1.1.2.2.1.1. Kılcal Viskozimetre

Yöntem, çapı belli kılcal bir tüpte, belli iki işaret (A & B) arasında sıvının yer çekimi etkisi ile akması için gerekli sürenin saptanması esasına dayanır (65). Kinematik viskozite ölçümünde kullanılır.

Şekil 2.1. Kapiler viskozimetre.



Aşağıdaki eşitlik kullanılarak incelenen sıvının viskozitesi ölçülür:

$$\eta = \frac{\pi r^4 \Delta P}{8lv} \quad (1)$$

r: Kılcal yarıçapı

t: Sıvının akış süresi

ΔP : Kılcalın alt ve üst kısım basınç farkı

l: Kılcalın uzunluğu

v: sıvının hacmi

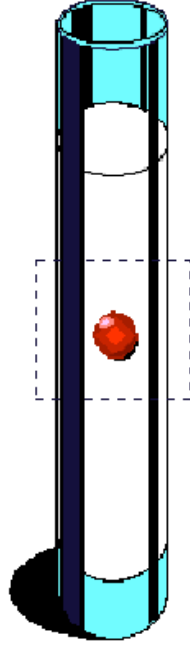
2.9.1.1.2.2.1.2. Düşen Bilye Metodu

Cam veya çelikten yapılmış bir bilyenin viskozitesi ölçülerek sıvıyı içeren şeffaf silindirik borunun alt-üst edilerek bilyenin iki işaret arasındaki geçiş zamanının tayin edilmesi esasına dayanır (65). Daha sonra, bilinen değerler aşağıdaki eşitlikte yerine konarak incelenen sıvının viskozitesi belirlenir. Hassas bir yöntem değildir.

$$\eta = K (P_1 + P_2) \quad (2)$$

K: bilye değişmesi, t: geçiş süresi, P_1 : bilye yoğunluğu. P_2 : sıvı yoğunluğu

Şekil 2.2. Düşen Bilye Düzenegi.



2.9.1.1.2.2.1.3. Penetnometre- Konsistometre

Viskozitesi çok yüksek olan maddeleri ölçmek için kullanılan ucunda sivri ve belli bir uzaklıkta iğne bulunan ağır bir huninin, viskozitesi ölçülecek maddeye batış süresinin ("t") belirlenmesi esasına dayanan sistemlerdir (65).

Şekil 2.3. Penetrometre.



2.9.1.1.2.2.1.4. Rotasyon Tipi Viskozimetre

Silindir içerisinde asılı duran ve buna bağlı olan ikinci bir silindirden oluşan bir sistemdir. Dış silindire ölçülecek madde konur ve döndürülür. Dönmenin etkisi ile sıvı hareket edip iç silindiri döndürür.

Şekil 2.4. Rotasyonel tip viskozimetre.



Bu tez çalışmasında kullanılan viskozimetre Haake ve Brookfield rotasyon tipi viskozimetredir. Bu tip viskozimetrelerde dış silindir değil; iç silindir asılı olan ve sıvı içinde dönen uçlarla viskoziteyi ölçer (65).

2.9.1.1.3. pH

pH; bir çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini tarif eden ölçü birimidir. 0'dan 14'e kadar olan bir skalada ölçülür. pH teriminde p; eksi logaritmanın matematiksel sembolünden ve H ise hidrojenin kimyasal formülünden türetilmişlerdir. pH tanımı, hidrojen konsantrasyonunun eksi logaritması olarak verilebilir:

pH hidrojen iyonun aktivitesi cinsinden bir asit veya bazın derecesini ifade etme yoluyla ihtiyaç duyulan niceliksel bilgiyi sağlar. Bir maddenin pH değeri hidrojen iyonu $[H^+]$ ile hidroksil iyonunun $[OH^-]$ derişimlerinin oranına direk bağlıdır. Eğer H^+ derişimi OH^- derişiminden fazla ise çözelti asidik; yani pH değeri 7 den düşüktür. Eğer OH^- derişimi H^+ derişiminden fazla ise bazik; yani pH değeri 7 den büyüktür. Eğer OH^- ve H^+ iyonlarından eşit miktarlarda mevcutsa, madde 7 pH değerinde ve “nötr”dür denir (66).

Asit ve bazlar her biri serbest hidrojen ve hidroksil iyonlarına sahiptirler. Belli koşullarda ve belli bir çözeltide hidrojen ve hidroksil iyonlarının ilişkileri sabit olduğu için, birini tespit etmek diğerini bilmek ile mümkündür. pH logaritmik bir fonksiyon olması açısından, pH değerindeki bir birimlik değişim hidrojen iyon derişimindeki on-katlık değişime karşılık gelir (66).

pH değerinin farmasötik ürünler açısından birçok belirleyiciliği ve önemi vardır. Belirli zaman aralıklarında ölçülen pH raf ömrü tayininde yararlıdır. Kozmetik ürünlerde pH değeri, mikroorganizma üremesine uygun bir ortamın oluşup oluşmadığının belirlenmesinde, kimyasal bozunma reaksiyonlarının tespitinde ve etkinlik açısından önemlidir. Bakterilerin üremesi için, pH 5.5-8.0; daha asidik şartlarda üreyen maya ve mantarlar için ise 3.5 ve daha düşük pH'lar uygun ortamlardır. Bu pH değerleri modern kozmetiklerde görülen pH değerleridir. Bu nedenle, kullanılan koruyucuların pH 2-11 arasında etkili olmaları istenir (66).

Her bir maddenin dayanıklı olduğu bir pH değeri vardır. Bu değerlerin dışına çıkıldığında hidroliz, parçalanma, çökme gibi bozunma reaksiyonları görülebilir. Dolayısıyla, pH stabilite açısından önemli bir faktördür.

Ağız pH'sı diş minesinin kritik pH değeri olan 5.5'in altına düşerse asit ataklarının süresine ve sıklığına bağlı olarak erozyon gerçekleşir (66). Diş macunlarının pH'yı yükseltmeleri gerekmektedir. pH'nın 5.5'ten 7.5'e yükselmesi ise ağız Streptokoklarının termojenik olmalarına yol açar (67).

Diş aşınmalarından dolayı asidik olmayan aynı zamanda bakteri üremesine engel olmak amacıyla da bazik olmayan pH aralıkları tercih edilmeye çalışılmaktadır. Ancak; yapılan bir çalışmada piyasadaki birkaç diş macununun pH değerlerinin 3.67 ile 11.13 arasında değiştiği görülmüştür (68).

Bu çalışmada, pH'nın raf ömrüne ve farmasötik bozulmaya etkisini belirlemek amacıyla stabilite öncesinde ve stabilite sonrasında pH ölçümleri gerçekleştirilmiştir.

2.9.1.1.4. Faz Ayrımı

Faz ayrışması; kimyasal değişimler sonucu ya da sulu fazın buharlaşarak ortamdan ayrılması neticesinde yarı-katı preparatlarda ve emülsiyonlarda görülen önemli stabilite problemlerinden biridir.

Faz ayrımına neden olabilecek diğer faktörler ise bağlayıcı maddelerden kaynaklı stabilite problemleri ya da suyun macun kütesinden ayrılmasını engelleyen nemlendiricelerin formülasyonda yeter miktarda olmayışı olabilir (41).

2.9.1.1.5. Partikül Büyüklüğü

Partikül büyüklüğü ölçümü tozlarda gerçekleştirilen kontroller arasında bulunmaktadır. Tozlar, haricen ya da dahilen kullanılan; partikül büyüklüklerine göre kaba, ince ya da mikronize, iki veya daha fazla sayıda etken madde ile yardımcı maddelerin homojen karışımlarıdır. Kozmetik tozlarda; partikül büyüklüğü tayini, akış hızı tayini, yığın açısı tayini, yığın hacmi tayini, ağırlık ortalaması ve ağırlık sapması tayini, etken maddede miktar tayini kontrollerin yapılması istenir.

Bu tez çalışmasında, bölünmemiş tozlar olarak nitelendirilen diş tozlarında partikül büyüklüğü tayinini gerçekleştirilmiştir.

Bölünmemiş tozlar; dahilen değişik miktarlarda alınan veya haricen kullanılan çok ince toz halinde hazırlanan karışımlardır. Partikül büyüklüğü tayini elekler ve mikroskop yardımıyla ile yapılır (69).

2.9.1.2. Kozmetiklerde Mikrobiyal Stabilite ve Mikrobiyolojik Kontroller

Raf ömrü ve kullanım süresi boyunca mikrobiyal stabilitenin korunması, kozmetik ürünlerde karşılaşılan önemli sorunların başında gelmektedir.

Ürünlerin kontaminasyona uğraması çok değişkenli olabilmektedir. Hammaddenin mikroorganizma içermesi, uygun olmayan imalat ve dolum koşulları, prezervatif maddenin yeterli derecede etki gösterememesi gibi nedenlerden kaynaklanan mikrobiyal bozulmalara rastlanmaktadır (70, 72, 72).

Kozmetik hammaddelerin steril olma zorunlulukları bulunmamakla birlikte, üründe mikrobiyal kontaminasyona neden olabilmektedirler (56, 73). Bu nedenle, hammaddeden kaynaklanan mikroorganizma sayısı olabildiğince aza indirgenmelidir. Mikroorganizma üremesi için gerekli olan uygun çevresel koşulların oluşmasının ardından, ürün kalitesinde düşme, stabilite kaybı gibi sonuçlar görülür (74, 75, 76).

Bakteri küf ve mayalar kozmetiklerin sulu fazlarında ürediklerinden dolayı, kozmetik ürünlerin su fazındaki prezervatif konsantrasyonu yeterli ve kullanılan su da steril olmalıdır (71).

Kozmetik ürünler pH 3-11 aralığında olacak şekilde hazırlanmaktadır (72). Mikroorganizmalar ise en iyi gelişimi pH 5-9 arasında göstermektedirler (71). Asidik pH da bakteriler üreyemezken, mantarlar üreyebilmektedir (73). Bu nedenle, optimum pH'nın sağlanması önemlidir.

Genelde gargarlar gibi alkol içeren ürünlerde, mikroorganizma üremelerine pek rastlanmamaktadır (43).

Mikroorganizmalarla kontaminasyon ve ürünün bozulmasını etkileyen diğer faktörler ise, saklama sıcaklığı, sekonder ve primer ambalajlardır (10).

Kozmetik ürünlerin muhafazaları genellikle oda sıcaklığında gerçekleştirildiği için mikroorganizma üremesinin görülmesi için uygun preparatlardır. Ürünlerin ambalajları ise, ürünleri çevre etmenlerinden koruyan bir set olarak görev yapmaktadır (73). Ambalajda kullanılan malzeme de preparatla geçimli, dirençli olmalı ve nem çekmemelidir (73). Aksi halde, mikroorganizma üremesi için uygun ortam oluşturur ve ürünün kontamine olmasına yol açar.

2.9.1.2.1. Kozmetik Ürünlerde Gözlemlenen Mikrobiyal Kontaminasyonlar

Kozmetiklerin mikrobiyal kontaminasyonunu belgeleyen ilk olay, Clostridium tetani ile kontamine olmuş talk pudrasının 1946 yılında Yeni Zellanda'da dört bebekte kullanılması sonucu karşılaşılan vakasıdır (60). Toz ürünlerin bile mikrobiyal kontaminasyon içermemesinin gerekliliğini en iyi ortaya koyan örnektir.

Kozmetik ürünlerde birçok mikroorganizmanın yüksek miktarlarda bulunmasından dolayı, yüksek oranda sağlık riskleri ortaya çıkmaktadır. Olası riskler arasında gangren, barsak hastalıkları göz ve kulakta cilt inflamasyonu sayılabilir. *Pseudomonas* ve *Staphylococcus* suşlarının sepsise ve apseye neden olduğu bilinmektedir. *Klebsiella*, *Candida*, *Aspergillus*, *Penicillium* ve *Fusarium* suşları konjunktivite neden olmaktadır. Clostridium suşları tetanos ve gazlı gangrene neden olmaktadır (74, 75).

Kozmetik ürünlerde bakterilerin, küf ve maya türü mantarların üremesi sonucu oluşan metabolik ürünler alerjik reaksiyonlara yol açabilmektedir(76, 25). Ayrıca toksin salgılayan bazı küf mantarları bulunmaktadır. Bu mantarların salgıladıkları toksinlerin deriden emilimleri sonucu insanda akut ve kronik zehirlenmeler görülebilmektedir (73).

Kozmetiklerde mikroorganizmalarla kontaminasyon primer ve sekonder kontaminasyonlar şeklinde gelişmektedir. Primer kontaminasyonlar üretim esnasında gerçekleşen kontaminasyonlardır ki GMP uygulamalarıyla önlenbilir (77). Sekonder kontaminasyonlar ise; üretimden sonra tüketici tarafından kullanım esnasında meydana gelmektedir. Bu kontaminasyonlar, özenli kullanım ve hijyen kurallarına uyulması ile önlenbilir (78).

2.10. Stabilite Testleri Neden Yapılır?

Stabilite çalışmalarının amacı; ürün için uygun saklama koşulları ve raf ömrünün belirlenmesinde kullanılacak verileri elde etmektir. Tüm stabilite testlerinin genel amacı formülasyon içeriklerinin dayanıklı olup olmadığını, içerik ve primer ambalajın geçimli olup olmadığını belirlemektir. Testten geçirilen ürün yeni ürün ise dayanıklılık ve geçimlilik testlerinin gerçek zamanlı olarak yapılması gerekir (79).

Stabilite testleri; bir ürünün ambalajı içinde ve saklama koşullarında raf ömrünün ve kullanım süresinin belirlenmesi için yapılan testlerdir. Hazırlanan kozmetik preparatlarda meydana gelebilecek değişmelerin incelenmesi için, stabilite testleri, farklı sıcaklık, ışık ve rutubet koşullarında yürütülür. Meydana gelen değişmeler incelenir ve bunların önlenmesi yoluna gidilir.

Stabilite testleri, hızlandırılmış, uzun süreli ve stres testleri olmak üzere 3 başlıkta toplanır (61, 63).

2.10.1. Hızlandırılmış Stabilite Testleri

Yüksek sıcaklık veya nem gibi stres koşulları uygulanarak kimyasal bozunma ve fiziksel değişim hızını arttırmaya yönelik çalışmalardır. Geçici raf ömrünün belirlenmesinde sıklıkla kullanılmaktadır. Tek başına yeterli değildir. Gerçek zamanlı stabilite testleriyle birlikte değerlendirmeye alınıp öyle sonuca varılmalıdır (63). Bu çalışma kapsamındaki ağız ve diş bakım ürünlerinde 3 ay sürecek bir hızlandırılmış stabilite çalışması yapılmıştır. Bu hızlandırılmış stabilite çalışmasında sıcaklığın ürünlerin üzerindeki etkisi incelenmiştir. Stabilite öncesinde ve stabiliteden çıktıktan sonra ürünlerde renk, koku, görünüm, bulanıklık, faz ayrımı, partikül büyüklüğü, viskozite, pH ve mikrobiyolojik açıdan değişimler incelenmiş ve karşılaştırmaya gidilmiştir.

Hızlandırılmış stabilite çalışmaları raf ömrünü belirlemek amacıyla 37°, 40° ve 45°C'lik sıcaklıklarda 1-2-3 aylık sürelerle gerçekleştirilebilmektedir. Ancak bu kriterler ürünün çeşidine göre de değişiklik gösterebilmektedir (80).

2.10.2. Gerçek Zamanlı Stabilite Testleri

Ürünün, raf-ömrü esnasında ve raf ömrü sonrasında fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mikrobiyolojik özelliklerindeki değişikliklerin belirlenmesi amacı ile gerçekleştirilen çalışmalardır. Tam amacı, raf ömrünü belirlemek, raf ömrünü doğrulamak ve saklama koşulları ile ilgili dikkat edilmesi gerekli koşulları belirlemektir (63).

2.10.3. Stress Testleri

Stress testleri, özellikle kozmesötiklere uygulanır. Genellikle, etkin maddenin (florür vb.) zorlanmış koşullardaki dayanıklılığı ve parçalanma mekanizmaları hakkında bilgi edinmek için yapılır. Ürünün nakliye esnasındaki dayanıklılığı hakkında bilgi edinmek için de yapılabilir. Yüksek ya da düşük (+4°C) sıcaklıklar veya ışığın etkisinin incelenmesi için gerçekleştirilir. Bu testler, varolan stabilite testlerinin karakteristiklerinin analitik yöntemlerin uygunluklarının desteklenmesini de sağlar.

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Piyasa preparatlarından seçilmiş diş patları, diş tozları ve ağız sularından oluşan örneklerle çalışılmıştır. 8 adet kullanılmamış, 3 adet kullanılmış ürün marketler ve aktarlar gibi farklı satış noktalarından temin edilmiştir. Kullanılmış ürünler ürünleri rutin olarak kullanan tüketicilerden elde edilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan Preparatların Gruplandırılması.

Preparatın Kodu	Preparatın Türü	Kullanılmış	Kullanılmamış	Ambalaj Tipi
A1	Diş Patı		1 adet	Tüp
A2	Diş Patı		1 adet	Tüp
A3	Diş Patı		1 adet	Tüp
A4	Diş Pastası		1 adet	Tüp
B4	Diş Pastası	1 adet		Tüp
A5	Diş Temizleme Pudrası		1 adet	Vidalı Kapaklı Kutu
B5	Diş Temizleme Pudrası	1 adet		Vidalı Kapaklı Kutu
A6	Ağız Suyu (Alkolsüz)		1 adet	Vidalı Kapaklı Plastik Şişe
B6	Ağız Suyu (Alkolsüz)	1 adet		Vidalı Kapaklı Plastik Şişe
A7	Ağız Suyu		1 adet	Vidalı Kapaklı Cam Şişe
A8	Diş Pastası		1 adet	Tüp
	TOPLAM	3 adet	8 adet	

Çizelge 3.2. Kullanılan Preparatların İçerikleri.

Örneğin Numarası Ve Adı	Örneğin İçeriği
A.1. Diş Patı	Su, Hydrated Silika, Sorbitol, SDS, Selüloz, Gum Aroma, Sodyum Florid, Carbomer, C177891, Sodyum Sakarin, Trisodyum fosfat, Limonene, Gliserin, C174260, Etoxidiglicol, Propilen Glicol, Chamommilla, Recutita, Melisa Officinalis, Rosmarinus Officinalis, Salvia Officinalis, Sodyum Florür (% 0,32)
A. 2. Diş Patı	Su, Sorbitol, Silika Hidrat, Gliserin, Potasyum Nitrat, PEG-6, SDS, Aroma, Karbomer, Metil Paraben, Propil Paraben, Silika, Sodyum Florür, Sodyum Fosfat, Sodyum Sakarin, Trisodyum fosfat, ksantan zamkı, C1777891, Potasyum Nitrat %5, Sodyum florür (% 0,32)
A. 3. Diş Patı	Kalsiyum Karbonat, Sorbitol, Rafine Su, Silika, SDS, Aroma, Misvak Özü, Sodyum Karboksi, Metil Selüloz, Sodyum Karaginat, Sodyum Silikat, Sodyum Benzoat, Gliserin, Sodyum Sakkarin
A. 4. Diş Pastası	Sorbitol, Sodyum Benzoat, Sakarin, CMC, SDS, Flavaur, VIORYL, Antiifoam, DikalsiyumFosfat, Carbonat de Shaux, Titanyumdioksit, Deiyonize su, Floride (%0,15), Sodyum monoflora fosfat.
B. 4. Diş Pastası	Sorbitol, Sodyum Benzoat, Sakarin, CMC, SDS, Flavaur, VIORYL, Antiifoam, DikalsiyumFosfat, Carbonat de Shaux, Titanyumdioksit, Deiyonize su, Floride (%0,15), Sodyum monoflora fosfat.
A.5. Diş Temizleme Pudrası	Kalsiyum Karbonat, SDS, Aroma, Saccorinum
B.5. Diş Temizleme Pudrası	Kalsiyum Karbonat, SDS, Aroma, Saccorinum
A. 6. Ağız Suyu	Su, Gliserin, Polysorbat 20, Aroma, Metilparaben, Sodyum florid, Sodyum Sakarin, Sodyum Benzoat, Propilparaben, Cetylpyridinium Chloride, CI42051
B. 6. Ağız Suyu	Su, Gliserin, Polysorbat 20, Aroma, Metilparaben, Sodyum florid, Sodyum Sakarin, Sodyum Benzoat, Propilparaben, Cetylpyridinium Chloride, CI42051
A. 7. Ağız Suyu	Su, Gliserin, PEG-40 Hidrogenated Castoroil, Xylitol, PEG-12, Dimethicone, Aroma nico-methanol hydro fluoride, potasyum sorbate, sodyum sakarin, CI47005, chlorhexidine di Gluconate, CI42051
A. 8. Diş Pastası	Sorbitol, Sodyum Benzoat, Sakarin, CMC, SDS, Vioryl, Köpük Giderici, Deiyonize su, Dikalsiyumfosfat, Kalsiyumkarbonat, Titandioksit, Sodyummonoflorofosfat (%0,15 Florür)

3.1.1. Kullanılan Besiyeri Çeşitleri

Tryptic Soy Broth (TSB)

Kazeinden elde edilen Pepton 17.0 g/L

Soyadan elde edilen Pepton 3.0 g/L

D(+) Glikoz 2.5 g/L

NaCl 5.0 g/L

K₂HPO₄ 2.5 g/L

Dehidre TSB (Merck, Almanya) besiyeri, 30.0 g/L olacak şekilde distile su içinde gerekirse ısıtılarak eritilip erlene aktarılıp, otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi. Otoklav sonrası 25 °C 'de pH'sı kontrol edildi ve 7.3 ± 0.2 olarak bulundu. Genel canlandırma besiyeri olarak kullanılmıştır.

Plate Count Agar

Kazeinden elde edilen Pepton 5.0 g/L

Maya özütü 2.5 g/L

D(+) Glukoz 1.0 g/L

Agar-agar 14.0 g/L

Plate Count Agar dehidre besiyeri (Merck, Almanya), 22.5 g/L olacak şekilde distile su içinde ısıtılarak eritilip, otoklavda 121 °C'da 15 dakika sterilize edildi ve steril Petri kutularına 12,5'er mL döküldü. Hazırlanmış besiyeri berrak, çok açık sarımsı renktedir. 25 °C' de pH'sı 7.0' ye ayarlandı. Bu besiyeri, toplam bakteri sayımı için kullanılmıştır.

Kanlı Agar

Kolay ve zor gelişen mikroorganizmaların gelişimi için bu besiyerinden yararlanılmıştır. Or-Bak (Türkiye, Ankara) firmasından alınan hazır koyun kanlı petri besiyerleri kullanılmıştır.

Müller Hinton

Kolay ve zor gelişen mikroorganizmaların gelişimi için bu besiyerinden yararlanılmıştır. Or-Bak (Türkiye, Ankara) firmasından alınan hazır petri besiyerleri ve Müler Hinton Boullion (Merck, Almanya) besiyerine Bacto agar (B.D. Amerika), eklenerek Müller Hinton agar besiyeri hazırlanılıp kullanılmıştır.

Baird-Parker Agar Base

Kazeinden elde edilen Pepton 10.0 g/L

Et özütü 5.0 g/L

Maya özütü 1.0 g/L

Sodyum pirüvat 10.0 g/L

Glisin 12.0 g/L

Lityum klorid 5.0 g/L

Agar-agar 15.0 g/L

Baird Parker (Merck, Almanya) besiyeri, *S. aureus* için seçici besiyeri olarak kullanılmıştır. 58 gr dehidre besiyeri 950 ml distile su içinde 1-2 dakika kaynatılarak tümüyle çözüldürülüp ve otoklavda 121 °C 'de 15 dakika sterilize edildi. Bazal besiyeri 45 °C 'ye soğutuldu ve manyetik karıştırıcıda yavaşça karıştırılırken üzerine önceden oda sıcaklığına getirilmiş 50 ml yumurta sarısı-tellurit emülsiyonu (Merck, Almanya) ilave edilip, standart 9 cm çaplı steril petri kutularına 12.5 ml döküldü. Hazırlanmış besiyeri sarımsı-kahve renkte olup 25 °C 'da pH'sı 6.8'e ayarlandı.

Baird-Parker Agar besiyeri refakatçi floranın inhibisyonu için lityum klorür ve tellurit içerirken besiyeri bileşimindeki piruvat ve glisin Stafilokokların gelişimini selektif bir şekilde stimüle eder. *S. aureus* kolonileri lipoliz ve proteoliz sonucunda koloni etrafında tipik zon ve halka oluşturmaları, telluritin telluriuma indirgenmesi sonucunda siyah koloni oluşturmaları olmak üzere 2 tipik karakteristik özellik ile belirlenirler. 37 °C 'da 24 saat inkübasyon sonunda *S. aureus* 1-1.5 mm çapında siyah, parlak konveks koloniler oluşturur. Koloni çapı 48 saat inkübasyondan sonra 1.5- 2.5 mm olarak belirlenmiştir (81).

EMB Agar

Pepton 10.0 g/lt

Lactoz 10.0 g/lt

K₂HPO₄ 2.0 g/lt

Eozin (sarımtrak) 0.4 g/lt

Metilen mavisi 0.065 g/lt

Agar-agar 13.5 g/lt

Eosine Methyllene Blue (Eozin Metilen Mavisi) Agar (Merck, Almanya), dehidre besiyeri, 36.0 g/L olacak şekilde damıtık suda ısıtılarak eritilip ve otoklavda 121 °C 'da 15 dakika süre ile sterilize edildi. 45-50 °C'a soğuduğunda steril petri kutularına 12.5'er ml döküldü. Hazırlanmış besiyeri berrak ve kahve-kırmızı renklidir, pH'sı 25 °C 'da 7' ye ayarlandı.

Bu besiyeri; yaygın olarak koliform grubu bakteri sayımında ve *E. Coli* tanımlanmasında kullanılmaktadır. 35- 37 °C' da 24 saat inkübasyon sonunda saydam, amber renkli koloniler Salmonella ve Shigella gibi laktoz ve sakaroz negatif bakterileri, menekşe renkli ve yansıyan ışıkla yeşilimsi metalik parlak görülen koloniler *E. Coli*'yi, pembe-menekşe renkli mukoid, gri kahverengi merkezli koloniler Enterobacter ve diğer koliformları gösterir (82).

Koliform grup bakterilerin analizinde yayma ya da sürme yöntemi ile inoküle edilen Petri kutuları aerobik olarak 35 °C 'da 24 sa-48 sa inkübe edilip kullanıldı.

3.1.2. Kullanılan Boyalar

Gram Boyama

Üreyen kolonilerin koloni morfolojileri ve Gram reaksiyonlarının tanımlanmasında kristal viyole, iyodür çözeltisi ve safranin, fuksin kullanılır (82). Bu çalışmada Gram boyama için sulu fiksin'den yararlanılmıştır.

3.1.3. Kullanılan Çözeltiler

Serum Fizyolojik

Gram boyama öncesi kolonilerin lama aktarılması esnasında kullanılmıştır.

Kovak Ayıracı

İndol oluşumunu test etmek amacıyla kullanılmıştır.

3.1.4. Kullanılan Cihazlar

Otoklav: Nüve OT 4060 (Türkiye)

Etüv: Memmert (Almanya)

Binder (ABD)

Manyetik Karıştırıcı: Biosan (Almanya)

Su Banyosu: Precisterm (İspanya)

Laminar Akım Kabini: Polar (Türkiye)

Fotoğraflı Görüntüleme: Canon SD 630 (Japonya)

Viskozimetre: Fungi Lab Viscostar +L Barcelona (İspanya)

pH Metre: WTW pH 315İ (Almanya)

Buzdolabı: Regal RBD4602NFC (Türkiye)

Elektirikli Terazı: Adventurer OHAUS (ABD)

Işık Mikroskobu Nikon (Japonya)

3.2. Yöntem

3.2.1. Farmasötik Kontroller

Preparatlarımızın sıcaklık karşısındaki 3 aylık stabilitelerini belirlemek amacıyla hızlandırılmış stabilite çalışması yapılmıştır. Bunun için Pastör fırınında sterilize edilmiş 28 cc'lik kapaklı cam kavanozlar kullanılmıştır. Bu kavanozların her birine her preparattan uygun ve eşit miktarda olacak şekilde konulup ağızları sıkıca kapatılıp etiketlenmiştir.

3.2.1.1. Organoleptik Kontroller

Ürünlerin organoleptik özellikleri incelenirken ürünler stabilite kabinlerine alınmadan önce renk, koku, partikül durumları, homojenlik, bulanıklık durumları kontrol edilip not alınmıştır. Ürünlerden belirli hacimlerde alınıp vidalı kapaklı cam kavanozlara konulup sıkıca ağzları kapatılmıştır. Her örnek için, iki kavanoz kullanılmıştır. Ardından her örnek için hazırlanmış olduğumuz kavanozlardan biri +4 °C de buzdolabında diğeri ise +30 °C'lik etüvde olacak şekilde üç aylık stabilite çalışması başlatılmıştır.

Üç aylık sürenin ardından stabiliteden çıkan preparatlara stabiliteye konmadan önce uygulanan tüm testler aynı şekilde uygulanıp miktarlar ve hacimlerdeki azalmalar belirlenip not alınmıştır.

3.2.1.2. Viskozite Kontrolleri

Ürünlerin viskozitelerinin stabilite öncesinde ve stabilite sonrasında incelenmesi amacıyla Fungi Lab Viscostar +L (Barcelona) marka Haake ve Brookfield rotasyon tipi viskozimetre kullanılmıştır.

Ürünler, viskozitenin ölçüleceği kaplara alındıktan sonra uygun uçlar ve dönüş hızları ayarlanıp ölçümler gerçekleştirilmiştir. Her ölçüm, en az 3 kez tekrarlanmıştır. Bu ölçümlerin aritmetik ortalamaları alınıp standart sapmaları hesaplanmıştır. Tamamlanan işlemlerin ardından ürünler stabilite kabinlerine alınmıştır.

3 aylık stabilite süresinin dolmasının ardından aynı ölçümler, aynı uçlar ve aynı dönüş hızları ile aynı koşullarda aynı viskozimetre kullanılarak yine en az 3 kez tekrarlanmıştır. Ölçümlerin aritmetik ortalaması alınıp standart sapmaları yeniden hesaplanmıştır.

Elde edilen sonuçların karşılaştırılabilmesi amacıyla değerler tablolara aktarılmıştır.

3.2.1.3. pH Kontrolleri

pH kontrolleri yapılmadan önce pHmetre stabilite öncesinde ve stabilite sonrasında, pH=4 ve pH=7 olan iki tampon çözeltiyle iki noktalı olarak kalibre edildi. Kalibrasyonun ardından t=0 anında ağız sularının ve diş patlarının pH ölçümleri üç kez yapılmıştır. Bu 3 ölçümün aritmetik ortalamaları baz alınarak ardından standart

sapmaları hesaplanmıştır. pH ölçümleri gerçekleştirilen preparatlar +4 °C ve 30 °C'lik stabilite kabinlerine konmuştur.

Üç aylık stabilite süresinin tamamlanmasının ardından t= 90 anında pHmetre tekrar iki noktalı olacak şekilde kalibre edilmiştir ve pH ölçümleri tekrarlanmıştır. Ölçüm, üç kez tekrarlanıp, aritmetik ortalamaları alınmış ve standart sapmaları hesaplanmıştır.

3.2.1.4. Faz Ayrımı

Sıcaklığın farmasötik ürünlerde homojenliğe etkisi olabileceği düşüncesiyle hızlandırılmış stabilite çalışmamız sonucunda ürünlerde oluşabilecek faz ayrımları test edilmiştir.

Faz ayrımı kontrolleri; dış patlarında gerçekleştirilmiştir. Stabilite kabinlerine alınmadan önce t=0 anında, dış patlarında sürme yöntemiyle homojenite kontrolü gerçekleştirilmiş ve sonuçlar not alınmıştır. İşlemlerin tamamlanmasının ardından ürünler stabilite kabinlerine konmuştur.

Üç aylık stabilite süresinin tamamlanmasının ardından faz ayrışması ve homojenlik durumları kontrol edilip faz ayrışması görülen preparatlar fotoğraflanıp alt fazdaki homojenlik durumları yorumlanmış ve not alınmıştır.

3.2.1.5. Partikül Büyüklüğü Kontrolleri

Diş tozlarında sıcaklığın partikül büyüklüğü üzerinde etkili olabileceğinden bu preparatlarda mikroskopik yöntemle partikül büyüklüğü tayinine gidilmiştir.

Tozların lam ve lamel arasında birbirine yapışmadan sayılabilecek şekilde durabilmesi için süspande edilmiştir. Bu işlemde kullanılmak üzere likit vazelin tercih edilmiştir. Likit vazelinin seçilmesinin nedeni; diş tozlarının içerisinde çözünmemesive toz partiküllerin arasında elektriklemeden kaynaklı agregasyonun engellemesidir.

Partikül büyüklüğü sayımı gerçekleştirilecek numuneler ambalajın her yerinden eşit özelliklerde ve büyüklüklerde tozun geldiğine emin olunacak şekilde spatülün ucuyla alınıp, küçük bir beherde bulunan sıvı vazelinin içinde süspande edilmiştir. Elde edilen süspansiyondan Pastör pipeti yardımıyla 1 damla alınıp lam üzerine damlatılmış ve üzerine lamel kapatılarak ışık mikroskopunda 40X'lik objektifde sayım gerçekleştirilmiştir.

Bu işlemlerin ardından preparatlarımız stabilite kabinlerine alınmıştır. 3 aylık stabilite süresinin tamamlanmasının ardından aynı işlemler tekrarlanıp stabilite sonrası meydana gelmiş olabilecek değişikliklerin tespit edilmesi amaçlanmış ve sonuçlar not alınmıştır.

3.2.2. Mikrobiyolojik Kontroller

3.2.2.1. Mikrobiyolojik kontrolü yapılacak olan ürünlerin ve dilüsyonların hazırlanması

Ağız ve diş preparatları yapılarında yağ fazları içerdiklerinden dolayı suda çözünmemektedirler. Bu yüzden bakterilerin sulu faza geçebilmeleri amacıyla, yüzey etken maddelerden yararlanılmaktadır (83). Bu nedenle; kullanılması önerilen maddelerden bakteriler üzerinde inhibitör etkisi düşük düzeyde olan Tween 80 (Merck, Almanya) tercih edilmiştir.

Test edeceğimiz numunelerden steril koşullarda diş patları, diş tozları ve diş pastalarından 1'er gram; ağız sularından 1'er ml olacak şekilde tartılarak steril cam tüplere konulmuştur. Tüplerdeki örneklerin üzerine 0.5 ml Tween 80 ve 8,5 ml TSB eklenmiştir. Tüplerdeki karışımların dispersiyonlarını kolaylaştırmak amacıyla tüpler 40 °C'lik su banyosunda 30 dakikayı geçmeyecek şekilde steril bagetlerle karıştırılmıştır. Bu işlemlerin sonunda Tween 80 oranının %5 olduğu 1/10'lük dilüsyon elde edilmiştir. 1/10'lük dilüsyonun koloni sayımı yapmak açısından fazla yoğun olabileceği ihtimali göz önüne alınarak; 1/100 lük dilüsyonlar hazırlanmıştır (84). Hazırlanan bu dilüsyonlar 37 °C'da 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

3.2.2.2. Örneklerdeki bakteri kontaminasyonunun ve mikroorganizma sayısının saptanması

Bölüm 3.2.2.1'de hazırlanıp 24 saatlik inkübasyona bırakılmış olan dilüsyonlardaki bakteri kontaminasyonunun belirlenmesi amacıyla Kanlı Agar'a ve Müller Hinton Agar'a her örnek için çift paralel olacak şekilde sürme yöntemi ile ekimler yapılmış ve 37 °C'da 24 saatlik inkübasyona bırakılmıştır.

Yirmi dört saatlik inkübasyonun sonucunda üreme görülen numunelerdeki canlı sayısını saptamak amacıyla; belirlenen numuneleri içeren dilüsyonlardan PCA

(Plate Count Agar)'a dökme kültürel sayım yöntemiyle ekim yapılmıştır. 1/10'lük ve 1/100'lük dilüsyonlardan 1'er ml alınıp boş petri kaplarına konulup üzerilerine 45 °C'a soğutulmuş PCA'a dökülmüştür. Daha sonra, sekiz hareketi yapacak şekilde yavaşça karıştırılmıştır. Her örnek için çift paralelli çalışılmıştır. Petri kutularının soğumasının ardından 37°C'lık etüvde, petri kutuları ters çevrilmiş bir şekilde 48 saatlik inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun ardından aşağıdaki eşitlik kullanılarak

Direkt sayım sonucu oluşan koloniler X dilüsyon faktörü (3)

toplam canlı mikroorganizma sayısı (cfu/ml) hesaplanmıştır (85).

3.2.2.3. Örneklerdeki bakterilerin identifikasyonu

Amerikan Farmakopesine göre; kozmetik ürünlerde ve farmasötik ürünlerde bulunması istenmeyen 4 bakteri ve 1 maya mevcuttur. Bu bakteriler; *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi* maya *Candida albicans* ve *Aspergillus niger* küfüdür. Bu çalışmada, istenmeyen bu bakterilerden üçünün (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*) araştırmasını yapmak amacıyla selektif besiyerlerine ekimler gerçekleştirilerek kimliklendirme (identifikasyon) çalışması yapılmıştır.

Bölüm 3.2.2.1'de hazırlanan 1/10'lük ve 1/100'lük dilüsyonların selektif besiyerlerine gerçekleştirilen ekimlerinin ardından 37 °C'da 24- 48 saatlik inkübasyon sürecinde oluşan tipik koloniler belirlenmiştir (86,87). Bu yöntem selektif olmayan zenginleştirme tekniği olarak adlandırılmaktadır. Bu yöntemde selektif olmayan besiyerinde 37 °C' da 24 saat aerobik inkübasyonun ardından selektif ya da selektif olmayan katı besiyerine ekim gerçekleştirilir. Bu yöntem; özellikle kozmetik ve farmasötik ürünlerdeki tüm istenmeyen *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* kontaminantlarını saptamakta kullanılmaktadır.

Bu yönteme göre; Bölüm 3.2.2.1. deki gibi hazırlanan dilüsyonlar 37 °C' da 24 saat aerobik inkübasyonun ardından seçici besiyerlerine ekilmiştir.

E.coli kontaminasyonunu saptamak amacıyla, EMB Agar'a, *Pseudomonas aeruginosa* kontaminasyonunu saptamak için Baird Parker Agar' a ekimler yapıp 37 °C' da 24 saat inkübasyona bırakılmıştır.

İnkübasyon sürelerinin tamamlanmasının ardından, Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarı'nda, gelişen kolonilerin özellikleri değerlendirilmiştir. Selektif besiyerlerinde oluşan tipik koloniler ve tipik olmayan kolonilerin hepsinden örnekler alınıp, Gram boyama yapıp, kolonilerdeki bakterilerin Gram özellikleri ve kolonilerin morfolojileri belirlenmiştir. Gram boyamanın ardından biyokimyasal testlere geçilmiştir.

Gram boyama sonucu Gram negatif fermentatif ve non fermentatif basillerin identifikasyonu sonucu oksidaz testleri, DNase testi, sitrat kullanım testi, şeker fermentasyon testi, üre besiyeri, lizin ve hareket besiyerleri kullanılmıştır. Bu testlerle tanı konulamayan bakteriler sadece gram negatif olarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar çizelge 4.2.'de görülmektedir.

Staphylococcus için selektif besi yeri olan Baird Parker besiyerinde gelişen kolonilerin türünün belirlenmesi amacıyla DNase test agarı kullanılmıştır. Ancak; kontrol edilen kolonilerin hepsi DNase (-) *Staphylococcus* spp. olarak tanımlanmıştır.

3.2.2.3.1. Gram Boyama

Selektif besiyerinde üremiş olan koloniler öze alınmış, mikroskop lamında bir damla serum fizyolojik çözeltisinin içinde öze yardımıyla çözülmüştür. Lam üzerindeki serum fizyolojik çözeltisi kuruyana kadar preparat, bek alevinin yanında bekletilmiştir.

Kuruyan preparatın üzerine kristal viyoleto dökülüp 1 dakika beklenip ardından distile suyla yıkandı. Yıkanan preparatın üzerine Sol. de lugol damlatılıp 1 dakika beklendi. Ardından lugol da damıtık suyla yıkandı. Preparat % 96'lık alkole daldırılıp çıkartıldı ve hemen damıtık su ile yıkandı. Yıkama işleminin ardından preparata sulu fuksin damlatılıp 1 dakika beklendi. Bu sürenin dolmasının ardından, bol distile suyla yıkayıp kurumaya bırakıldı.

Yıkayıp kurumaya bırakılan preparatlar mikroskopta immersiyon merceğinde incelendi. Kristal viyoleto'ü içinde tutamayıp pembe renkte görülen bakteriler Gram (-), boyayı içinde tutup hücre dışına bırakmayan ve mor renkte görünen bakteriler Gram (+) olarak değerlendirildi. Koloni şekilleri belirlendi.

3.2.2.3.2. DNase Testi

Selektif besiyerlerinde üremiş olan kolonilerden öze yardımıyla alınıp petrilere daha önceden dökülmüş olan DNase Agarlara ekim yapıldı. Ekimlerin ardından petri kutuları 24 saatlik inkübasyona bırakılıp, inkübasyonun ardından besiyerinin üzerine 1N HCl konulup bakterilerin berrak zon oluşturup oluşturmamalarına göre bakteriler DNase (-) ya da DNase (+) olarak değerlendirildi.

3.2.2.3.3. Şeker Fermantasyon Testi

Selektif besiyerlerinde üremiş olan kolonilerden öze yardımıyla alınıp ilk önce sıvı besiyerine aktarılıp Vortex ile iyice karıştırıldı. Ardından sıvı besiyerinden, tüpteki iki şekerli besiyerine ekim yapıp 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından tüpte sarı renk görülen örnekler şeker fermantasyonundan dolayı (+), renk değişikliği olmayanlar ise (-) olarak değerlendirildi.

3.2.2.3.4. Sitrat Kullanımı Testi

Bazı bakteriler, karbon kaynağı olarak sitratları kullanırlar. Sitrat testi, incelenecek bakterinin tek karbon kaynağı olarak sitratı kullanıp kullanmadığını anlamak için yapılmıştır. Bunun için; hazırlanmış sitratlı besiyerine, sıvı besiyerindeki bakteriden iğne öze ile ekim yapıldı. İnkübasyona bırakıldı ve inkübasyonun ardından renk değişikliği görülmeyen tüpler (-) negatif, mavi-mor renge dönmüş tüpler ise (+) pozitif olarak değerlendirildi.

3.2.2.3.5. Lizin Testi

Tüpte hazırlanmış besiyerine iğne öze ile ekim gerçekleştirildi ve 24 saatlik inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından renk değişikliği gözlenmeyen örnekler (+), renk değişikliği olan örnekler ise (-) olarak değerlendirildi.

3.2.2.3.6. Üreaz Testi

Sıvı besiyerindeki örnekler, üre agara ekildi. İnkübasyonun ardından renk değişimi görülen tüplerdeki bakteriler üreaz (+), sarı rengini koruyan tüplerdeki bakteriler ise üreaz (-) olarak değerlendirildi.

4. BULGULAR

Bu çalışmamızda; 11 adet ağız ve diş bakım ürününde farmasötik ve mikrobiyolojik kontroller yapılmıştır.

4.1. Farmasötik Kontrollerin Bulguları

4.1.1. Organoleptik Kontrollerin Bulguları

Test edilecek ürünlerimizi stabilite kabinlerine koymadan önce hiç açılmamış ürünlerin renk, koku, kıvam ve partikül durumu gibi fiziksel özellikleri kontrol edilip not alındıktan sonra ürünler 3 aylık bir süre için stabilite kabinlerine alınmıştır. 3 aylık süre sonunda aynı kontroller stabilite kabinlerinden çıkartılan ürünlerde de gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1. ve 4.2.'de görülmektedir.

Çizelge 4.1. Stabilité öncesi ve stabilité sonrası +30 °C organoleptik kontrollerin sonuçları.

Stabilité Öncesi					Stabilité Sonrası				
Örnek Numarası	Renk	Kıvam	Koku	Partikül	Örnek Numarası	Renk	Kıvam	Koku	Partikül
1	Açık Yeşil	Yarı katı	Bitki Esansı	Yok	1	Açık Yeşil	Faz Ayrımı Görüldü	Bitki Esansı	Alt fazda hafif topaklanma
2	Beyaz	Yarı Katı	Klasik	Yok	2	Beyaz	Yarı Katı	Klasik	Yok
3	Fil Dişi	Yarı Katı	Misvak	Yok	3	Fil Dişi	Yarı Katı	Misvak	Yok
4	Beyaz	Yarı Katıdan Daha Akıcı	Bitki Esansı	Yok	4	Beyaz	Yarı Katıdan Daha Viskoz	Bitki Esansı	Yok
5	Beyaz	Katı/Toz	Nane	Birbirine yapışık olmayan toz	5	Beyaz	Katı/Toz	Nane Azalmış	Birbirine yapışık olmayan toz
6	Mavi	Sıvı	Nane	Yok	6	Mavi	Miktarda azalma	Nane	Yok
7	Yeşil	Sıvı	Nane	Yok	7	Yeşil	Miktarda azalma	Nane	Yok
8	Fil Dişi	Yarı Katı	Mix Aroması	Yok	8	Fil Dişi	Yarı Katıdan Daha Akıcı. Belirgin Faz Ayrımı	Mix Aroması (Azalmış)	Alt fazda hafif topaklanma

Çizelge 4.2. Stabilité öncesi ve stabilité sonrası +4 °C organoleptik kontrollerin sonuçları.

Stabilité Öncesi					Stabilité Sonrası			
Örnek Numarası	Renk	Kıvam	Koku	Partikül	Örnek Numarası	Renk	Kıvam	Partikül
1	Açık Yeşil	Yarı katı	Bitki Esansı	Yok	1	Açık Yeşil	Yarı katıdan daha viskoz	Yok
2	Beyaz	Yarı Katı	Klasik	Yok	2	Beyaz	Yarı Katı	Yok
3	Fil Dişi	Yarı Katı	Misvak	Yok	3	Fil Dişi	Yarı Katıdan çok daha viskoz akıcılığını neredeyse tamamen kaybetmiş	Yok
4	Beyaz	Yarı Katıdan Daha Akıcı	Bitki Esansı	Yok	4	Beyaz	Daha viskoz hale gelmiş	Yok
5	Beyaz	Katı/Toz	Nane	Birbirine yapışık olmayan toz	5	Beyaz	Katı/Toz	Hafif kümelenme görüldü
6	Mavi	Sıvı	Nane	Yok	6	Mavi	Sıvı hacimde azalma	Yok
7	Yeşil	Sıvı	Nane	Yok	7	Yeşil	Sıvı	Yok
8	Fil Dişi	Yarı Katı	Mix Aroması	Yok	8	Fil Dişi	Yarı Katıdan daha viskoz	Yok

4.1.2. Ürünlerin Viskozite Bulguları

Stabilite kabinlerine konulmadan önce ve 3 aylık stabilite süresinin sonunda etüvden çıkarılan ürünlerin, viskozimetre ile ürünlere uygun uçlar ve uçlara uygun olarak belirlenen dönüş hızlarıyla yapılan ölçümlerin ardından elde edilen viskozite değerleri Çizelge 4.6.'de sunulmuştur.

Çizelge 4.3. Ürünlerin Viskozite Bulguları.

Stabilite Öncesi Viskozite Ölçümleri n=3				Stabilite Sonrası Viskozite Ölçümleri n = 3				
Örnek Numarası	Uç	rpm	Viskozite (cP)	Örnek Numarası	Uç	rpm	Viskozite (cP)	
							4°C	30°C
A1	L4	12	40315 (±3600)	A1	L4	12	61815 (±1812)	51314 (± 1325)
A2	L4	12	56.609 (± 4.5)	A2	L4	12	62310 (±3513)	53253 (±6210)
A3	L3	3	250837	A3	L3	3	ÖKV	ÖKV
A4	L4	12	28035 (±1310)	A4	L4	12	64389 (±1381)	37077 (±5112)
B4	L4	12	64083 (±2323)	B4	L4	12	STA	STA
A6	L2	200	6 (±2.6)	A6	L2	200	7.2 (± 1.33)	5.8 (± 3.4)
B6	L2	200	5.6 (±1,96)	B6	L2	200	STA	STA
A7	L1	100	7.06 (±1.08)	A7	L1	100	10.3 (± 0.15)	5.3 (± 1.40)
A8	L4	12	38725 (±2674)	A8	L4	12	64083 (± 1672)	41585 (±3710)

ÖKV: Ölçülemeyecek kadar viskoz

STA: Stabilite testine alınmadı

A: Kullanılmamış preparatlar

B: Kullanılmış preparatlar

4.1.3. Ürünlerin pH Bulguları

Piyasadan temin edilen ürünler, stabilite kabinlerine konmadan önce ve 3 aylık stabilite süresinin sonunda pHmetre ile pH ölçümüne tabi tutuldu. Elde edilen bulgular Çizelge 4.7'de görülmektedir.

Çizelge 4.4. Ürünlerin pH Bulguları.

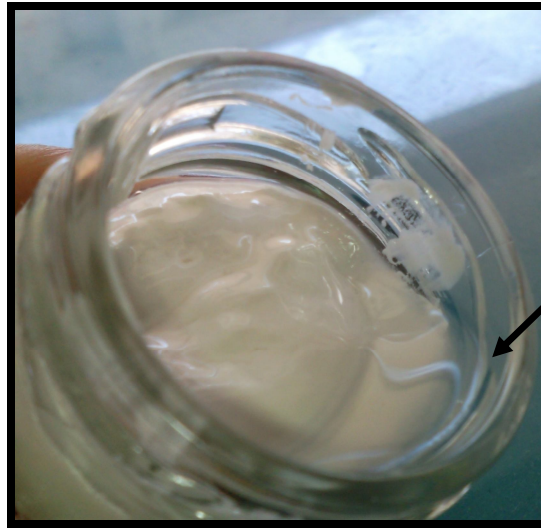
n = 3

Stabilite Öncesi pH Ölçümleri		Stabilite Sonrası pH ölçümleri		
Ürün Numarası	pH	Ürün Numarası	4°C	30°C
1	6.55 (± 0.03)	1	6.66 (± 0.03)	6.59 (±0.0001)
2	8.07 (±0.02)	2	7.13 (±0.0001)	6.92 (±0)
3	8.3 (±0.0245)	3	8.52 (±0)	8.30 (±0.02)
4	9.08 (±0.0001)	4	8.46 (±0.0122)	9.36 (±0.024)
B4	7.25 (±0.0075)	B4	STA	STA
6	5.36 (±0.024)	6	5.75 (±0.069)	6.0 (±0.033)
B6	6 (±0.033)	B6	STA	STA
7	4.46 (±0.0001)	7	4.77 (±0.0001)	4.69 (±0.0001)
8	8.79 (±0)	8	8.55 (±0.0071)	8.50 (±0.0245)

STA: Stabilite testine alınmadı

4.1.4. Faz Ayrımı Görülen Preparatların Bulguları

Stabilite kabininden çıkarılan ürünlerde sıcaklık etkisi ile faz ayrımı olup olmadığına bakıldı. 30°C'da tutulan bazı yarı-katı ürünlerde faz ayrımına rastlandı. Şekil 4.1.'de eğimli şekilde duran kabın bir tarafında toplanmış üst faz net bir şekilde görülebilmektedir.



Şekil 4.1. Faz ayrımı görülen preparat.

4.1.5.Tozlarda Partikül Büyüklüğü Kontrolü Bulguları

Tozların partikül büyüklüğünün ölçümü için, sayım yapılırken tozların, lam ve lamel arasında birbirine yapışmadan sayılabilecek homojenlikte görünebilmeleri için sıvı vazelinde süspande edilmesine karşın, dış tozlarının partikül büyüklüklerinin 1 mikrometreden daha küçük olmasından dolayı ışık mikroskobunda homojen görünümlü bir görüntü elde edilememiştir. Bu nedenle, stabilite çalışması öncesinde ve de sonrasında tozların partikül büyüklükleri hesaplanamamıştır.

4.2. Mikrobiyolojik Testlerin Bulguları

4.2.1. Ürünlerdeki Kontaminasyon Oranları

Mikrobiyolojik olarak test edilen 8'i kullanılmamış, 3'ü kullanılmış olan preparatlarımızın hepsinde mikrobiyolojik kontaminasyona rastlanmıştır.

4.2.2. Stabilite Çalışması Öncesi ve Sonrasında Ürünlerdeki Toplam Canlı Mikroorganizma Sayıları

Stabilite çalışması öncesi, ürünlerdeki toplam canlı mikroorganizma sayıları Çizelge 4.5.'de görülmektedir. Kullanılmamış 8 adet örnekten 1'inde 10^3 cfu/grün üzerinde koloni sayısı saptanmıştır. Öte yandan, kullanılmış 3 ürünün 3'ünde de 10^3 'ün üzerinde koloni olduğu tespit edilmiştir.

Bu verilere göre; çalışılan örneklerin %27.3'ünde 10^3 'ün üzerinde koloni bulunduğu saptanmıştır.

Üç aylık stabilite süresinin ardından, stabilite çalışması öncesinde Plate Count Agar kullanılarak yapıldığı gibi ürünlerdeki canlı bakteri sayımı aynı şekilde yeniden gerçekleştirildi. Elde edilen sayım sonuçlarının 3 ay öncesinden çokta farklı olmadığı tespit edildi. Ancak; stabilite testine kullanılmış ürünler alınmadığından dolayı 10^3 'ün üzerinde bakteri sayımı ile karşılaşılmamıştır. Elde edilen sonuçlar Çizelge 4.6.'da sunulmuştur.

Çizelge 4.5. Stabilité öncesi ürünlerdeki toplam canlı mikroorganizma sayıları.

Örnekler	Ambalaj Şekli	Kullanım Durumu	Toplam Canlı Mikroorganizma Sayısı (cfu/gr)	
			4 °C	30 °C
B4	Tüp	Kullanılmış	2.55x10 ⁴	
B6	Vidalı Kapaklı Plastik Şişe	Kullanılmış	8.5x10 ³	
B5	Vidalı Kapaklı Plastik Şişe	Kullanılmış	2.32x10 ³	
A6	Vidalı Kapaklı Plastik Şişe	Kullanılmamış	1.69x10 ³	
A8	Tüp	Kullanılmamış	8.2x10 ²	
A1	Tüp	Kullanılmamış	8x10 ²	
A5	Vidalı Kapaklı Plastik Şişe	Kullanılmamış	3.7x10 ²	
A7	Vidalı Kapaklı Cam Şişe	Kullanılmamış	1.6x10 ²	
A2	Tüp	Kullanılmamış	1.3x10 ²	
A4	Tüp	Kullanılmamış	1.1x10 ²	
A3	Tüp	Kullanılmamış	3x10 ¹	

Çizelge 4.6. Stabilité sonrasında ürünlerdeki toplam canlı mikroorganizma sayıları.

Örnekler	Ambalaj Şekli	Kullanım Durumu	Toplam Canlı Mikroorganizma Sayısı (cfu/gr)	
			4 °C	30 °C
A1	Tüp	Kullanılmamış	4x10 ²	6x10 ²
A2	Tüp	Kullanılmamış	2x10 ²	3.4x10 ²
A3	Tüp	Kullanılmamış	4x10	8x10 ¹
A4	Tüp	Kullanılmamış	2x10 ²	9x10 ²
A5	Vidalı Kapaklı Plastik Şişe	Kullanılmamış	3x10 ²	4x10 ²
A6	Vidalı Kapaklı Plastik Şişe	Kullanılmamış	3x10 ³	2x10 ³
A7	Vidalı Kapaklı Cam Şişe	Kullanılmamış	1.8x10 ²	2x10 ²
A8	Tüp	Kullanılmamış	4.8 x10 ²	6x10 ²



Şekil 4.2. Kanlı agarda üremiş bakteri kolonileri.

4.2.3. Ürünlerden İzole Edilen Bakterilerin İdentifikasyon Sonuçları

Bölüm 3.2.2.3’de anlatıldığı gibi selektif besiyerlerine ekimi gerçekleştirilmiş koloniler mikroskopik ve biyokimyasal testlerle tür düzeyinde tanımlanma yoluna gidilmiştir.

Çizelge 4.7.’de verilmiştir. Çalışılan örneklerin hiçbirinde *Pseudomonas aureus* ve *Staphylococcus aureus* türlerine rastlanmamıştır. Ancak *Pseudomonas* ve *Staphylococcus*’un diğer türleri tespit edilmiştir. Bunlarda tür tanımlanmasına gidilememiş, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.* kontaminasyonu olarak değerlendirilmiştir.

Çizelgede de görüldüğü gibi; kullanılmış sadece 1 üründe *E.coli* kontaminasyonu görülmüştür. Kullanılmamış 1 adet üründe ise; *Pseudomonas spp.* kontaminasyonuna rastlanmıştır.

Tüm ürünlerde *Staphylococcus* cinsine ait kontaminasyona rastlanmıştır. Ancak; bunlar DNase(+) olarak değerlendirilmediğinden, KNS(-) olarak değerlendirilmiştir.

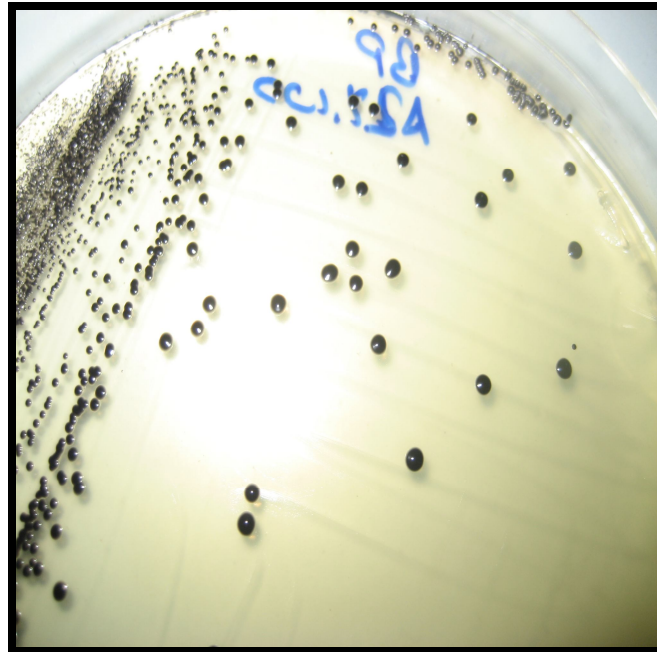
Stabilite sonrasında t=90 anında, yine Bölüm 3.2.2.3 de anlatıldığı gibi ürünlerimizdeki bakteri kontaminasyonlarını belirlemek amacıyla, selektif besiyerlerine ekimler yapılmıştır. Sonuçlar t=0 anındaki sonuçlarla kıyaslandığında, t=0 anındaki

ürünlerde gözlemlenen bakteri türlerinden daha farklı türler izole edilmediği görülmüştür.

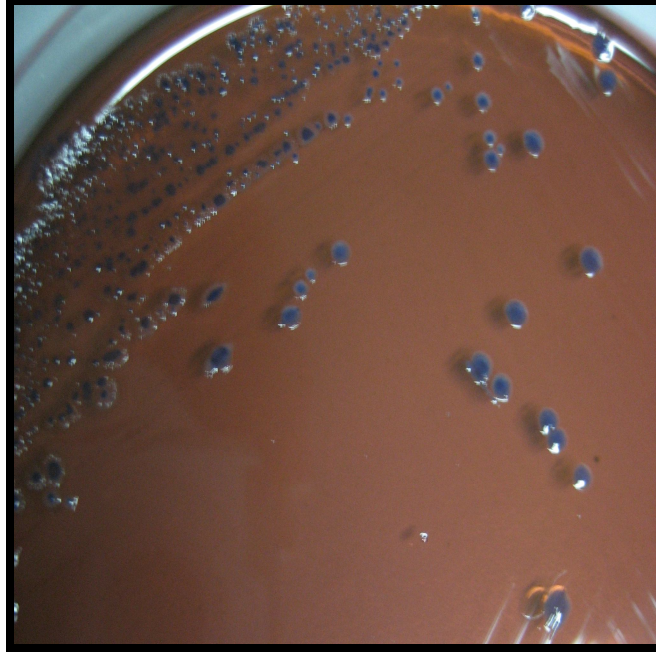
Çizelge 4.7. t=0 Anında izole edilen bakterilerin identifikasyon sonuçları.

Örnekler	Gram (-)	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomonas spp.</i>	KNS
A1	+			+
A2	+			+
A3	+			+
A4	+			+
A5	+			+
A6	+		+	+
A7	+			+
A8	+			+
B4	+			+
B5	+	+		+
B6	+			+
Toplam	8	1	1	8

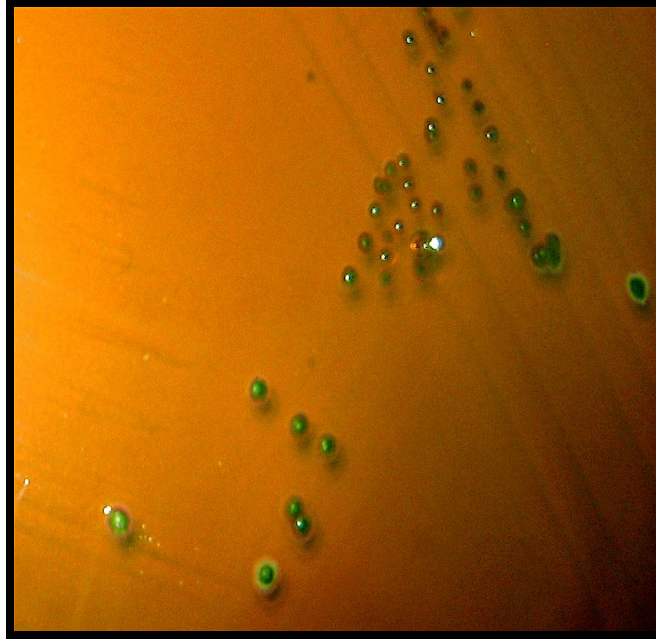
KNS: Koagülaz Negatif *Staphylococ*



Şekil 4.3. Baird Parker selektif agarda üreyen *Staphylococcus* kolonileri.



Şekil 4.4. EMB agarda üreyen *Pseudomonas* kolonileri.



Şekil 4.5. EMB agarda üreyene *E.coli* kolonileri.

5. TARTIŞMA

Kozmetik preparatlarda görülen kontaminasyonlar genellikle, hammadde, ambalaj malzemesi, personel, üretimde kullanılan su gibi nedenlerden kaynaklanmaktadır (49). Bu kontaminasyonlar, üretim esnasında GMP kurallarına uyularak geçilebilmektedir (46). Mikrobiyolojik kontaminasyonlardan kaynaklı yaşanan birçok olumsuz vakanın ardından GMP kurallarına uyulması ve kozmetiklerde mikrobiyolojik stabilitenin sağlanması amacıyla, kozmetiklerde prezervatiflerin kullanılmasına başlanmıştır (43). Kozmetik preparatlardaki mikrobiyolojik kontaminasyonlar, sadece üretim esnasındaki hatalardan kaynaklanmamaktadır. Bunların dışında kullanım esnasında da, satış sonrası kaynaklı kontaminasyonlar tespit edilmiştir (51, 54).

Kozmetik ürünlerde mikrobiyolojik kontaminasyonlar çalışılırken uygulanan testlerden biri de, ürünlerdeki bakteri, küf veya mayaların sayımlarının gerçekleştirilmesidir. Bunların yapılmasındaki amaç, kozmetik ürünlerde bulunan canlı mikroorganizma sayısının hesaplanmasıdır. Ülkemizde uygulanan kozmetik yönetmeliğine göre 1 gram veya 1 mililitresinde patojen olmayan mikroorganizma sayısının 1000 cfu/gr üzerinde olmaması gerektiği belirtilmiştir. Ayrıca, bebek kozmetikleri, göz kozmetik ürünlerinde 1 gram veya 1 mililitresinde 500 cfu/gr, ağız çevresi ürünleri içinde bu değer 100 cfu/gr olarak belirlenmiştir (1).

Bu çalışmamızda, ağız ve diş preparatlarının mililitre veya gramlarında içerdikleri mikroorganizma sayıları Plate Count Agar kullanılarak tespit edilmiştir. Sayım sonucunda en az mikroorganizma içeren preparat olarak diş patları belirlenmiştir. Ashour ve ark.'nın 1987 yılında diş patları ve ağız sularında mikrobiyolojik kontaminasyonlar ile ilgili yapmış oldukları çalışma ise; mikrobiyolojik sayımlar sonucunda en az kontaminasyonun gargaralarda gözlemlendiği bildirilmiştir (31).

Çalışmamızdaki mikrobiyolojik sayımlar sonucunda, test edilen diş pastalarının %83'ünün gramında 100 cfu/gr üzerinde, bu %83'lük diliminde %20 sinin gramında 1000 cfu/gr üzerinde canlı mikroorganizma bulunduğu belirlenmiştir. Ashour ve ark. yaptıkları çalışmalarda diş macunlarının %6'sının gramında 1000 cfu/gr üzerinde canlı mikroorganizma sayımı yaptıklarını bildirmişlerdir (31). Dolayısıyla, sonuçlar literatürle paralellik göstermektedir.

Ağız sularında yaptığımız canlı mikroorganizma sayımları sonuçlarında, çalışılan tüm gargaralarda mililitrede 100 cfu/gr üzerinde ve gargaraların %66'sında ise mililitrede 1000 cfu/gr üzerinde canlı mikroorganizma bulunduğu belirlenmiştir. Ashour ve ark. çalıştıkları ağız sularının %2'sinin mililitrede 1000 cfu/gr üzerinde, % 60'ının ise, mililitrede 1000 cfu/gr daha az sayıda canlı mikroorganizma içerdiğini bildirmişlerdir (31).

Çalışmamızda en fazla canlı mikroorganizma içeren ürünler arasında ikinci sırada kullanılmış ağız suları yer almaktadır. Çeşitli çalışmalar ve literatürlerde yer alan bilgilere bakıldığında, ağız sularının diş pastalarına göre daha düşük bir kontaminasyon riski taşıdıkları görülmektedir (31). Ancak; çalışmamızda ağız suları ile ilgili bulguları yorumlandığında, bu ifadelerle paralellik göstermeyen sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Bu şekilde sonuçlar almamızın nedenleri düşünülecek olduğunda, yüksek oranda canlı mikroorganizma içeren ağız sularının kullanılmış ağız suları oldukları görülmektedir. Ağız sularının kullanımları esnasında içeriklerindeki alkolün zamanla ortamdaki uzaklaşması sonucunda preparatın kontaminasyonuna olumsuz yönde etki etmiş olabileceği söylenebilir. Aynı zamanda, ağız sularının ambalaj şekillerinin de geniş ağızlı, vidalı kapaklı şişeler olması sebebiyle kontaminasyon riskini arttırdığı da göz önüne alınması gereken bir başka faktör olabilir. Ayrıca, formülasyonda prezervatif madde olarak kullanılmış olan "Sodyum benzoat"ın da kullanım esnasında zamanla etkinliğini yitirmiş olabilmesi de olasıdır. Diğer bir faktör ise; en fazla canlı mikroorganizma sayısı tespit edilen ürünler arasında yer alan ağız suyunun formülasyonunda alkol bulunmadığıdır. Formülasyonlardaki alkolün antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle de yüksek oranda su içeren ve bunun yanında alkol içermeyen ağız suyu preparatımızda bu derece yüksek oranda kontaminasyon olması aslında çok da beklenmeyen bir durum değildir.

Çalışmamızda test ettiğimiz bir diğer preparat ise, beyazlatıcı diş tozlarıdır. Test edilen tüm diş tozlarının gramlarında 100 cfu/gr üzerinde canlı mikroorganizma içerdikleri belirlenmiştir.

Kozmetik ürünlerde yapılan diğer çalışmalara bakıldığında; Berhavan ve ark. 2000 yılında yaptıkları çalışmaları sonucunda test ettikleri kozmetik kremlerden %70'inin 1000 cfu/gr'dan az canlı mikroorganizma içerdiğini bildirmişlerdir (88). Çarıkçı ve ark. yaptıkları çalışmalarda kullanılmış kozmetik ürünlerin % 6.3'ünün

gramında 1000 cfu/gr üzerinde canlı mikroorganizma koloni sayımı bildirmişlerdir (89).

Amerikan farmakopesinde ve Türk Kozmetik yönetmeliğinde kozmetik ürünlerde insan sağlığını olumsuz yönde etkileyen *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger* gibi patojen bakteri, küf ve mayaların bulunması yasaklanmıştır. Ancak; belirlenen bu kurallara rağmen, dünya genelinde yapılan çalışmalar ve yayımlanan literatürlerde de görülüyor ki, bu patojen bakteri kontaminasyonlarına kozmetik preparatlarda hala rastlanmaktadır (31,88- 89, 93- 95).

Yayımlanan literatürlere göre, yasaklanmış olan bu dört patojen bakteriden olan *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* diş macunları, ağız suları, topikal ürünler, şampuanlar, ilaç ve dezenfektanlarda görülmektedir (31, 89, 90-92).

Çalışmamızda patojen test bakterilerinden biri olan *E.coli* kontaminasyonuna kullanılmış beyazlatıcı diş tozunda rastlanmıştır.

Ashour ve ark.ları gargaralar ve diş macunlarında yaptıkları çalışmalarında diş macunlarında % 2 oranında *Escherichia coli* kontaminasyonu bildirmişlerdir. Gargaralarda ise, *Escherichia coli* kontaminasyonuna rastlamamışlardır (31). Çalışmamızda gargaraların hiçbirinde *Escherichia coli* kontaminasyonuna rastlanmamıştır. Bu açıdan, Ashour ve arklarının elde ettiği sonuçlara benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Kozmetik preparatlarda yapılan diğer çalışmalara bakıldığında zaman, Abdelaziz ve arkadaşlarının 1989 yılında göz farları, maskaralar ve yüz kremleri ile yaptıkları çalışmaları sonucunda 150 ürünün sadece 1'inde, Ergun ve ark.larının 1987 yılında yaptıkları çalışmalarında 14 izolattan 2'sinde *Escherichia coli* kontaminasyonuna rastladıklarını bildirmişlerdir (93, 94). Behavan ve ark.ları 2000 yılında yaptıkları çalışmalarında kullanılmış ve kullanılmamış kozmetik kremlerdeki *Escherichia coli* kontaminasyonunu %13 olarak bildirmişlerdir (88).

Çalışmamızda incelediğimiz tüm kullanılmış ve kullanılmamış ürünlerde gram negatif bakteri kontaminasyonuna rastlanmıştır. Behavan ve ark.larının yaptıkları çalışmada sadece kullanılmış kozmetik ürünlerde bu oranın %8 olduğu bildirilmiştir (88).

Çalışmamızda hiçbir üründe *Pseudomonas aeruginosa* kontaminasyonuna rastlanmamıştır. Ashour ve ark.larının yaptıkları çalışmada, diş pastalarında %3 oranında *Pseudomonas aeruginosa* kontaminasyonu görülmüştür. Gargaralarda yaptıkları çalışmalarda ise, *Pseudomonas aeruginosa* kontaminasyonuna rastlamamışlardır. Brannan ve arkadaşlarının 1987 yılında yaptıkları çalışmada, koruyucu eklenmemiş şampuanlarda %14, paraben eklenmiş şampuanlarda %50 ve koruyucu eklenmemiş cilt losyonlarında %12.2 oranında *Pseudomonas spp.* kontaminasyonu bildirmişlerdir (54). Çarıkçı ve ark.larının, kullanılmış ve kullanılmamış kozmetik ürünlerde yaptıkları çalışmaları sonucunda %1.6 oranında *Pseudomonas aeruginosa* kontaminasyonu bildirilmiştir (89). Okeke ve Lamikanra 2001 yılında hiç kullanılmamış kozmetik ürünlerde yaptıkları çalışmaları sonucunda %17.28 oranında *Pseudomonas aeruginosa* izole ettiklerini bildirmişlerdir (95). Kabukçunun 1997'deki araştırmasına göre, yine hiç kullanılmamış kozmetik ürünlerde %20.19 oranında *Pseudomonas aeruginosa* kontaminasyonu bildirilmiştir (96). Dolayısıyla, mikrobiya kontaminasyonda kişisel kullanım ve ambalaj materyali önemlidir.

Çalışmamızda *Pseudomonas aeruginosa* kontaminasyonu bulunmamıştır. Ancak; kullanılmış ağız sularının birinde oksidaz testine pozitif sonuç veren bir koloni izole edilmiştir. Daha derinlemesine bir tür tanımlamasına gidilemediği için bu kontaminasyon *Pseudomonas spp.* olarak değerlendirilmiştir. Bu kontaminasyon tüm preparatlar içinde %33.3'lük bir orana denk gelmektedir.

Stafilokoklar arasında en patojen olan tür *Staphylococcus aureus*'dur. *Staphylococcus epidermidis*'den koagülaz üretebilme özelliği ile ayrılmaktadır.

Çocuklardaki deri enfeksiyonlarının %70'i *Staphylococcus aureus* kaynaklı gerçekleşmektedir (88).

Çalışmamızda en fazla izole edilen bakteri izolatları KNS'ler olmuştur. Bu stafilokoklar hastalık oluşturmazlar. Deride ve gastrointestinal kanalda kalıcı olarak bulunabilmektedirler. Yapay kalp kapağından kaynaklı endokardit, periton diyalizine bağlı enfeksiyonlar ve prostetik kalça eklemi sendromlarının en önemli etkeni KNS'lerdir (97).

Ashour ve arkadaşlarının 1986 yılında yapmış oldukları çalışmalarında diş macunlarında %3 oranında *Staphylococcus aureus*, %5 oranında *Staphylococcus spp.*

kontaminasyonu bildirmişlerdir. Aynı çalışmada gargaralardan alınan sonuçlarda ise %10 oranında *Staphylococcus spp.* izolatları elde ettiklerini bildirmişlerdir (31).

Behravan ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları çalışmalar sonucunda kullanılmış kozmetik ürünlerde %38, kullanılmamış kozmetik ürünlerinde %25 oranında *Staphylococcus aureus* izolatları elde etmişlerdir (88).

Brannan ve arkadaşları 1987 yılındaki çalışmalarında prezervatif eklenmemiş cilt losyonlarında %18.4 oranında *Staphylococcus spp.* izolatı elde etmişlerdir (54).

Dawsoon ve Reinhardt 1981 yılında göz farlarında yapmış oldukları çalışmalarda, *Staphylococcus aureus* kontaminasyonunun %1, *Staphylococcus epidermidis* kontaminasyonunun % 17,4 oranında olduğunu bildirmişlerdir (8).

Çalışmamızda tüm preparatlarda stafilokok kontaminasyonlarına rastlanmıştır. Ancak; elde ettiğimiz izolatlar koagülaz testine pozitif sonuç vermedikleri için, *Staphylococcus aureus* olarak isimlendirilememiştir. Elde edilen izolatların hepsi KNS olarak değerlendirilmiştir.

Üç aylık stabilite süresinin ardından stabilite kabinlerinden çıkan preparatlarda t=0 anında uyguladığımız mikrobiyolojik testlerin aynısını tekrarlanmıştır. Elde edilen sonuçlar bakıldığında çok da farklı sonuçlar elde edilmediği görülmüştür.

A1 kodlu örnekte stabilite öncesinde 800 cfu/gr mikroorganizma sayısı bulunmuşken, üç aylık sürenin ardından +4 °C'de bu değer 400 cfu/gr olarak tespit edilmiştir. Öte yandan, +30 °C için bu değer 600 cfu/gr olarak bulunmuştur. +4 °C'deki değer az olmasının nedeni psikrofil bakteriler dışındaki bakterilerin bu sıcaklık derecesinde t=0 anındakine ya da t=90 anında 30 °C'de elde edilen sayım sonucuna benzer bir oranda üreme göstermemiş olması olabilir.

A1 ve A8 kodlu örneklerde stabilite sonrasında +30°C'de gramdaki canlı mikroorganizma sayısı 25 °C de yapılmış olan t=0 anındaki değerden düşük çıkmıştır. Yaptığımız farmasötik incelemeler sonunda bu ürünlerin ikisinde de faz ayrımı olduğu gözlemlendi. Bu faz ayrımı, canlı mikroorganizma sayısının artmasına uygun ortam oluşturmuş olabilir.

Bu iki örnek dışındaki A3 ve A6 kodlu örneklerde de +30 °C ve +4°C'deki canlı mikroorganizma sayımları t=0 anındaki değerlerden düşük çıkmıştır. A6 kodlu örneğin stabilite sonundaki göstermiş olduğu değişimlere bakıldığında, +30°C'deki numunesinde hacimsel bir azalma olduğu görülmüştür. Bu ürün, formülasyonunda alkol

içermemesinden dolayı hacimsel azalmanın formülasyonundaki suyun ortamdan uzaklaşmasından kaynaklı olabileceği ve bu azalmanın da mikrobiyal üremenin baskılanmış olabileceği düşünülmektedir.

A3 kodlu örnekte ise stabilite sonunda karşılaşılan en önemli problem viskozluğunun çok fazla olmasıdır. Bu yüksek viskozite problemi, preparatın stabilite kabinlerinde beklediği 3 aylık süreçteki bir kimyasal değişimden kaynaklı olabilir. Bunun neticesinde, mikrobiyal büyüme baskılanmış olabilir.

Yukarıda tek tek değinilen preparatlar dışındaki diğer preparatların hepsinde 3 aylık süre sonunda $t=90$ anında $t=0$ anındaki canlı mikroorganizma sayısının üzerinde veriler elde edilmiştir. Bu verilerden yüksek olanları da $+30^{\circ}\text{C}$ 'deki örneklerde görülmüştür. Bu veriler, $+4^{\circ}\text{C}$ 'de tutulan örneklerle karşılaştırılınca, $+30^{\circ}\text{C}$ 'de üreyebilen mikroorganizmaların $+4^{\circ}\text{C}$ 'de üreyen psikrofil mikroorganizmalara göre daha geniş bir skalaya sahip olduğu bilgisine ulaşılmaktadır. Bu nedenden dolayı, $+30^{\circ}\text{C}$ 'de sayılan canlı mikroorganizma sayıları daha yüksek bulunmuş olabilir.

Farmasötik kontroller başlığı altında gerçekleştirdiğimiz organoleptik kontroller sonucunda 3 aylık sürenin sonunda preparatların renklerinde değişiklik gözlenmemiştir. Bazı preparatların ise kokularında azalmalar görülmüştür. Kokudaki azalmanın nedeninin sıcaklığın etkisiyle esansiyel yağların preparattan buharlaşarak uzaklaşmasının olabileceği düşünülmektedir.

Preparatlarda incelediğimiz diğer bir farmasötik özellik ise, viskozitedir. Stabilite öncesinde ve stabilite sonrasında viskozimetre ile gerçekleştirilen viskozluk ölçümlerine göre; preparatların çoğu viskozite ile sıcaklığın ters orantılı olduğu görüşü ile paralellik göstermiştir. $t=0$ anındaki ölçümler oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir.

A1, A4 ve A8 kodlu örneklerin $+30^{\circ}\text{C}$ 'de 3 ay tutulması sonucunda elde edilen viskozite değerleri, $+4^{\circ}\text{C}$ ve $t=0$ anındaki ölçümlerden daha yüksek bulunmuştur.

A1 ve A8 kodlu örneklerin stabilite sonundaki faz ve homojenlikleri gözlemlendiğinde; her iki preparatın da $+30^{\circ}\text{C}$ 'de tutulması sonucunda faz ayrımının gerçekleştiği tespit edilmiştir. Diş patları gibi yarı katı farmasötik preparatlarda su ve katı fazın birbirinden ayrılmasını önlemek amacıyla, yüzey etkin maddeler ve bağlayıcı maddeler kullanılmaktadır. Böylelikle, preparatlarda faz ayrımının önüne geçilmektedir (41). Faz ayrımları dikkate alındığında $+30^{\circ}\text{C}$ 'deki A1 ve A8 kodlu örneklerin

viskozitelerinin yüksek çıkmasının nedeninin, faz ayrımı sonucunda sıvı fazın ortamdan uzaklaşması ile bağlantılı olabileceği düşünülmektedir.

A4 numaralı ürünün viskozitesi ise, hem +30°C'deki hem de +4°C'de tutulan iki örneğinde de diğer ürünlerden farklı olarak belirgin bir biçimde artmıştır. Ancak; bu preparatın her iki sıcaklık derecesinde stabilite kabininde tutulan örneklerinde de faz ayrımı görülmediği halde viskozitesinde artış görülmüştür.

Diş macunlarının yapısında bulunan, nemlendirici maddelerin stabilite problemlerinden kaynaklı olarak viskoziteyi arttırabilme özelliği vardır. Nemlendiricilerin görevi; yarı-katı diş macununun kütlesinin kuruyarak viskozitesinin artmasını engellemektir (41). Bu preparatlarda görülen viskozite artışının nemlendirici maddelerden kaynaklı olabileceği düşünülebilir.

A3 kodlu üründe stabilite öncesi ve stabilite sonrasında viskozite ölçümünde problemler yaşanmıştır. Ülkemizde ağız ve diş bakım ürünlerinin viskoziteleri hakkında belirlenmiş kriterler bulunmamaktadır. Ancak; Avustralya'da diş macunlarıyla ilgili yayınlanmış yönetmeliğin 5 numaralı ekine göre; diş pastaları tüpten kendi kendine akabilecek şekilde düşük bir viskoziteye sahip olmamalıdır. Buna karşın diş fırçası üzerine sıkıldıklarında hemen fırçanın kıllarının dibine doğru incek bir akış sergilememeleri gerektiği de bildirilmiştir (68). Bu ifadelere bakıldığında; A3 kodlu ürünün aşırı viskoz olmasından dolayı Avustralya'daki yönetmelikte belirtilen viskozite kriterlerine uymadığı görülmektedir. Bu preparatın stabilite öncesindeki viskozite ölçümü çok düşük bir rpm ayarında dahi güçlkle gerçekleştirilebilmiştir. Buna karşın, stabilite sonrasında aynı preparatta aynı şartlarda gerçekleştirilmeye çalışan viskozite ölçümü, preparatın 3 ay sonunda aşırı viskoz hale gelmesiyle gerçekleştirilememiştir. Bu değişimin nedeninin; fizikokimyasal nedenlerden kaynaklı olabileceği düşünülmektedir.

Bu preparatlar dışında geriye kalan 4 preparatın beklenildiği gibi stabilite çalışması süresince sıcaklıktaki artışla ters orantılı olarak değişen bir viskozite farklılığı gösterdiği belirlenmiştir. Preparatlarda yapılan organoleptik incelemelerden bir diğeri faz ayrımlarının gerçekleşip gerçekleşmediği olmuştur. Test ettiğimiz 8 kullanılmış ürünün 2'sinde stabilite sonrasında faz ayrımı görülmüştür. Bu faz ayrımlarının görüldüğü preparatların ikisi 30°C'deki diş patlarıdır. Avustralya'da yapılan bir çalışmada belirtildiği üzere diş patları 45°C'de 28 gün kadar bekledikten sonra faz

ayırımı, fermentasyon ve gaz oluşumu göstermemelidir (68). Ürünlerimiz bu koşullara uygunluk göstermemektedir.

Diş patları hazırlanırken formülasyonlarındaki sulu ve katı fazın birbirinden ayrılmasını önlemek amacıyla; aljinat, silika, karagen, selüloz gibi bağlayıcı maddeler kullanılır (41). Bu bağlayıcı maddeler kullanım esnasında ya da rafta beklerken, özelliklerini yitirdikleri takdirde, preparatlarda faz ayrımları görülebilmektedir.

Sıcaklığın stabilite üzerine etkisi incelediğimiz bu çalışmamızda 30°C'deki A1 ve A8 kodlu 2 diş patında faz ayrımı görülmüştür. Bu preparatların formülasyonlarında kullanılan bağlayıcı maddelerin sıcaklığın etkisiyle formülasyonda geçimsizliğe neden olabilecek bir fizikokimyasal değişime uğramış olabileceği düşünülmektedir. Preparatlarda yapılan incelemeler esnasında faz ayrımından kaynaklanan alt fazda homojen olmayan deriye sürüldüğünde de hissedilen partiküllü bir yapı gözlemlenmiştir.

Diş tozlarında gerçekleştirdiğimiz fiziksel stabilite çalışmamızda amaç, sıcaklığın partikül büyüklüğü üzerindeki etkisini belirlemektir. Stabilite öncesinde ve stabilite sonrasında sıvı vazelinde süspand ederek ışık mikroskopunda partikül büyüklüğünü ölçmeye çalışılmıştır. Ancak; diş tozlarının partikül büyüklüklerinin 1 µm'den daha küçük olduğu ve agregasyon oluşturmaları sebebiyle, ışık mikroskopunda sayım gerçekleştirilememiştir. Bu agregasyonu önlemek için, tozların sıvı vazelinde süspand edilmesi de sonucu değiştirmemiştir. Bu kadar küçük boyuttaki partiküllerin ışık mikroskopu ile ölçülmesi mümkün olmadığından sıcaklığın diş tozlarında partikül büyüklüğü üzerindeki etkisi incelenememiştir.

Farmasötik kontroller başlığı altında incelenen son özellik ise pH'dır. Ürünlerin pH'sının 3 aylık stabilite sonunda sıcaklık karşısındaki değişimi de incelenmiştir.

Ağız ve diş bakım ürünlerinin pH'ları hakkında ülkemizde yayımlanmış olan bir yönetmelik bulunmamaktadır. Avusturalya'da yapılan bir çalışmada, diş bakım ürünlerinin pH'larının 4.2 ile 10.5 arasında olduğu belirtilmiştir (68).

Rich ve arkadaşları 2000 yılında yaptıkları bir çalışmada belirttiklerine göre; diş bakım ürünlerinin potansiyel zararını en aza indirebilmek için nötral pH'ya sahip olmaları gerekmektedir.

Ağız içi pH'sının 5.2 nin altına düşmesi halinde, enamel demineralizasyonu ve kök hücre rezorpsiyonları gerçekleşmektedir (68, 98). Bu nedenle, hergün, günde 2 kez

kullanılan diş bakım ürünlerinin, nötr pH'ya sahip olmaları gerekmektedir. Bu çalışmada yapılan ölçümlere göre; sadece A7 kodlu ağız gargarasının pH'sının t=0'da 4.46 ve t=90'da 4.77 (30°C) ve 4.69 (4°C) olması ürünün böyle bir risk taşıdığını göstermektedir.

A7 kodlu ağız gargarasının pH'sının bu kadar düşük çıkmasının sebebi; bu gargarada diğer gargaraların formülünde kullanılan koruyucu maddelerden farklı olarak asidik karaktere sahip bir prezarvatif olan potasyum sorbat kullanılması olabilir (65).

Diş aşınmalarını engellemek için, ürünün pH'sı asidik olmalıdır. Ancak, kuvvetli bazik ortam bakteri üremesine yol açabileceğinden; pH nötral ya da zayıf asidik olmalıdır (67).

pH'ya sıcaklığın etkisinin incelendiği stabilite çalışmasında ürünlerin pH değerlerinde anlamlı değişimler gözlenmemiştir. Preparatların pH değerleri stabilite öncesinde ve sonrasında 4.46 ile 9.36 arasında kalımıştır.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sekiz adet kullanılmamış ağız ve diş bakım ürününde sıcaklığın fiziksel stabiliteye olan etkisini ve 8 adet kullanılmamış, 3 adet kullanılmış ağız ve diş bakım ürününde ise, sıcaklığın mikrobiyolojik stabilitesini incelemiş olduğumuz bu çalışmada elde edilen bulguların değerlendirilmesinin ardından şu noktalar ön plana çıkmaktadır:

1. Ülkemizde kozmetik üretim yapan fabrika ve firmaların yeterli denetimlere tabi tutulmamaları kozmetik ürünlerinin kalitesi ve güvenirliliği ile ilgili endişeler uyandırabilmektedir.

2. Sağlık Bakanlığınca yayımlanmış kozmetik üretimi ile ilgili yönetmeliğin günümüzde gelişen kozmetik endüstrisi karşısında yetersiz kalmaktadır. Özellikle, AB uyum çalışmaları çerçevesinde gerçekleştirilen ihracat ve ithalat düzenlemeleri sonucunda ülkemizde yurt dışından birçok kozmetik ürünün girişi gerçekleşmiştir. Bunların denetimi yeterince yapılamamaktadır.

3. Kozmetik üreticileri, ürünü pazara sunabilmek için sadece Sağlık Bakanlığınca bildirimde bulunmakla yükümlüdürler. Bu bildirimlerinde GMP kurallarına uygun bir şekilde üretim gerçekleştirdiklerini ve yönetmelikte yer alan her türlü maddeye uyduklarını beyan etmektedirler. Bakanlık ise, aksi bir şikayet gelmediği sürece bu bildirimini teminat olarak kabul edip üreticileri bu bildirim ile sorumlu kılmaktadır. Bu işleyişin sadece bildirimle sınırlı kalmaması, denetimlerin yerinde gerçekleştirilmesi tüketicilerin sağlığı açısından yararlı olacaktır.

4. Çalışmamızda ağız ve diş bakım ürünlerinde uygulanan mikrobiyolojik kalite kontrol deneyleri sonucunda; Sağlık Bakanlığınca yayımlanan “Kozmetik Yönetmeliği”nde bulunması istenmeyen patojen dört bakteriden biri olan *E. Coli* kontaminasyonuna kullanılmış diş tozunda rastlanmıştır. Bununla birlikte; diğer preparatlardan izole edilen bakteri kolonilerinin incelenmeleri ardından bu kontaminasyonların, kozmetik preparatlarda bulunmaları istenmeyen patojen bakterilerden olmayıp ancak “çevre bulaşanları” adı altında tanımlanan bakteriler oldukları belirlenmiştir. Ayrıca preparatlarda yapılan canlı mikroorganizma sayımları sonrasında birçok preparatta kozmetik yönetmeliğince belirlenen ml ya da gramda bulunması istenen 10^2 değerinin çok üstünde canlı mikroorganizma bulunduğu tespit

edilmiştir. Hiç kullanılmamış ve kullanılmış preparatların bu kadar yüksek oranda canlı mikroorganizma kontaminasyonuna sahip olması, patojen bir bakteri olan *E.coli*'nin ürünlerden izole edilmiş olması ve yalnız bu çalışmayla değil incelenen kozmetik ürünlerde gerçekleştirilmiş ve literatürde yer alan diğer çalışmalarda da birçok mikrobiyolojik kaynaklı stabilite problemlerinin rapor edilmiş olması gibi durumları, düşünüldüğünde üretim, ambalajlama veya transferlerin GMP kurallarına uygun olmayan şartlarda gerçekleştirildiği görülmektedir.

5. Ağız ve diş preparatlarının diş aşınmalarına neden olacak şekilde asidik ya da bakterilerin üremesine yol açacak bazik bir yapıya sahip olmamaları gerekmektedir. Çalışmamızda kullandığımız preparatlardan ağız sularından birinin çok fazla asidik yapıda olduğu belirlenmiştir. Bunun nedenlerinden biri ise, formülasyonunda kullanılan prezervatif maddenin asidik yapıda olmasıdır. Üretim esnasında bu gerekliliğin üzerinde durulacak şekilde formülasyonların geliştirilmesi kullanıcıların sağlığı açısından olumlu bir çalışma olacaktır.

6. Çalışmamızda incelediğimiz bir diğer özellik ise, stabilite çalışması esnasında preparatların viskozitesi üzerinde sıcaklığın etkisi olmuştur. Diş patlarının sahip olması gereken viskozite özellikleri “Kozmetik Yöntemeliği”mizde kantitatif değerlerle belirtilmemiştir. Bu yüzden, test ettiğimiz preparatların çoğunda farklı değerler gözlemledik. Piyasadaki preparatların viskozite açısından belli bir standardı bulunmamaktadır. Bu standart, sadece sözel olarak fırçanın kıllarının dibine incek kadar düşük bir viskozitenin ya da fırçanın üzerinde her an düşebilecek kadar uygulamada güçlük çıkarabilecek yüksek bir viskozitenin istenmediği şekilde ifade edilmiştir.

Gerçekleştirdiğimiz viskozite ölçümlerinin çoğunda, beklendiği gibi sıcaklık artışı ile ters orantılı olarak değişen bir davranışla karşılaştık. Ancak, aktarlardan temin ettiğimiz bir diş patında stabilite sonrasında viskozite ölçümünü gerçekleştiremedik. Bunun nedeninin belirlenmesi için, farmasötik ve mikrobiyolojik stabilitenin yanı sıra kimyasal stabilitenin de incelenmesi gerekir. Aynı zamanda, faz ayrımı görülen iki preparatımızda da viskozite değişiminde beklenen tersine artış ve azalmalar gerçekleşmiştir. Bunlarda da yine faz ayrımına neden olan değişimlerin kimyasal stabilite çalışmaları ile belirlenmeleri gerekmektedir.

Kozmetiklerin artık sadece güzelleşmek amacıyla kullanılmasının dışında etken madde içeren kozmesötik özellikte olmaya başlamaları ile, ilaçların üretiminde

uygulanan stabilite ve diğer testlerin, ruhsatlandırma çalışmaları ve üretim izinleri gibi uygulamaların kozmetik sektörü için de ne kadar gerekli olduğu çalışmamızın bulguları sonucunda görülmüştür. Bu çalışmada elde edilen bulgular, ürün sayısının artırılıp kimyasal stabilite testleri, tozların aşındırma tayini, partikül büyüklüğü tayininin elektron mikroskobu ile gerçekleştirilmesi gibi testler eklenerek daha da geliştirilebilir.

KAYNAKLAR

1. **T.C. Resmi Gazete**,5324 sayılı Kozmetik Kanunu , **2005**.
2. **Sutton SVW, Magee MA, Brannan DK**. Preservative efficacy, microbial content and disinfectant testing. In: Brannan DK , *Cosmetic Microbiology: A Practical Handbook*. Boca Raton DC: CRL Press LLC, **1997**:95-126.
3. **T.C. Resmi Gazete**, Kozmetik yönetmeliğinde değişiklik yapıldığına dair yönetmelik., 28 Ocak **1998**; 23244-23.
4. **Tremewan HC**. Tetanus neonatorum in New Zealand. *N Z Med. J*, **1946**; 45: 312-313
5. **Brannan DK**. Cosmetic Preservation. *Cosmet. and Toiletries*, **1996**; 111: 69-83
6. **Abdelaziz AA, Ashour MS**. Microbial contamination of a hexetidine mouth wash. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg B*, **1987**; 184(262-8): 3-4.
7. **Baird R**. Microbial spoilage, infection risk and contamination control. In: Denyer SP, Hodges AN, Gorman SP. Eds. *Hugo's and Russell's pharmaceutical microbiology*. 7th Ed. UK: Blackwell Publishing company. **2004**; 207
8. **Dawson NL, Reinhardt DJ**. Microbial flora of In-use, display eye shadows testers and bacterial challenges of unused eye shadows. *Applied and Environmental Microbiology*, **1981**; 42(2): 297-302.
9. **Lindstrom SL**. Consumer use testing: Assurance of Microbiological safety. *Cosmet. and Toiletries*, **1986**; 101(3):71-74.
10. **Orth DS, Dumatol C, Zia S**. House organisms, dealing with the bug in the plants. *Cosmet. Toilet*, **1996**; 111:59-70.
11. **Methodology Subcommittee of the CTFA Microbiology**. Committee, Microbiological limit guideline for cosmetics and toiletries. CTFA Inc. Washington, D.C. **1985**; 1-2.
12. **Alpmen GB**. Başlarken Ed. *Yazan Y Kozmetik Biliminden*, 1.Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2004**; xiii
13. **Dermoday Kozmetologları**. Kozmetik ürünlerin tarihi. <http://www.dermoday.com/dosyalar/1235044094.pdf>. Erişim tarihi: 07.01.2010
14. **Yılmaz O**. Diş Macunu Karşılaştırmalı Klinik Etkinlikleri. <http://www.medicaldentist.com/agiz-ve-dis-sagligi/dise-ti-hastaliklari/dis-macunu/>. Erişim tarihi: 07.01.2010

15. **Kışlalıoğlu S.** Kozmetik Bilimi Ed. Yazan Y *Kozmetik Biliminden*, 1.Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2004**; 3
16. **U.S. Food and Drug Administration** Center for Food Safety and Applied Nutrition Office of Cosmetics and Colors April 28, **2000**.
17. **Eken A.**, Polat M.U.,The Biologic Active Ingredients Used In Cosmeceutical Moisturizers, *Turkiye Klinikleri J Cosmetol.*, **2002**; 3:200-205
18. **Kligman AM.** Cosmetics. A dermatologist looks to the future: promises and problems. *Dermatol Clin*, **2000**; 18(4):699-709.
19. **Şenol A.** Dünden bugüne kozmetik. *T.Klin. Kozmetoloji*, **2002**; 3:195-199
20. **Wilson LA, Ahearn DG.** Pseudomonas-induced corneal ulcers associated with contaminated eye mascaras. *Am J Ophthalmol*, **1977**; 84(1):112-9.
21. **Curry JC, Brannan DK.** *History of cosmetic microbiology*. In: Geis PA. Eds. *Cosmetic microbiology: Apractical approach* 2nd Ed. New York: Taylor & Francis Group, **2006** 2-6
22. **Darelos ZD.** Overview: cosmetics and the art of adornment. *Dermatologic Therapy*, **2002**; 14(3):175-177.
23. **Yazan Y.** Başlarken Ed. Yazan Y Kozmetik biliminden, 1.Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2004**; 42.
24. **U.S. Food and Drug Administration** Center for Food Safety and Applied Nutrition FDA/IAS Booklet: **1992** .
25. **Larry E, Millikan MD.** Cosmetology, cosmetics, cosmeceuticals: definitions and regulations *Clinics in Dermatology*, **2001** 19(4):371-374.
26. **Güven KC.** Tıbbi formüller. İstanbul ofset **1988**.
27. **Houlton S.** Cosmetics and toiletries, *Chemistry in Britain*, **1998**; 34(11):33-36.
28. **T.C. Resmi Gazete**, 25823 sayılı Kozmetik Kanunu, **2005**.
29. **T.C. Resmi Gazete**, 25823 sayılı Kozmetik Kanunu Ek-I, **2005**
30. **Sivri NN.** Türkiye piyasasında mevcut bazı kozmetiklerin gama radyasyonla dekontaminasyonu. 4. ulusal sterilizasyon dezenfeksiyon kongresi, Samsun, **2005**:230-249.

31. **Ashour MSE, Abdelaziz AA, El-Tayeb OM, Hefnai H.** Microbial contamination of cosmetics and personal care items in Egypt. I. Contamination of toothpastes and mouthwashes. *J. Soc. Cosmet. Chem.* **1987**; 38 435-441
32. **Tırnaksız F.** Kozmetik Bilimi Ed. Yazan Y Kozmetik Biliminden, 1.Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2004** 197-212
33. **Wilkinson JB, Moore RJ.** The teeth and dental products. In: Wilkinson JB, Moore RJ. Eds. Harry's cosmeticology. London, New York: Chemical Pub. Co., **1982** 587-639
34. **Knowlton J, Pearce S.** The teeth and tooth paste. In: Knowlton J, Pearce S. Eds. Handbook of cosmetic science and technology. UK, Cotswold Publ. Comp., **1996** 244-260
35. **Pader M.** Dental plaque. *Cosm. Toilet.* **1992**; 107:81-89
36. **Verran J.** Dental plaque - associated infections and antibacterial oral hygiene products. *Int J Cosmet Sci.* **1991**;13(1):29-42.
37. **Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE.** Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* **2005**; 43(11):5721-32.
38. **Külekcı G, Gökbuket A.** Ağız mikroflorasının genel sağlığa etkisi. *Ankem derg.* **2009**;23(3):137-145
39. **Meşe A, Meşe S.** Protetik restorasyonların oral floraya etkileri. *Dicle tıp dergisi.* **2005**;32(2):96-101
40. **Geçgil Ş.** İlaçların farmasötik şekillerine göre tanımı ve özellikleri. Farmasötik Teknolojiye Başlangıç'tan. İstanbul, Cihan Matbaacılık. **1991**; 237-330
41. **Garlen D.** Toothpastes. In: Liberman HA, Rieger MM, Banker GS. Eds. Pharmaceutical Dosage Forms- Dispers Systems. NY, Marckel Dekker Inc., **1989**; 511-532
42. **Pader M.** Oral Hygiene Products and Practice. NY, Marcel Dekker **1988**
43. **Özalp M.** Kozmetik ürünlerde görülen mikrobiyolojik kontaminasyonlar. *T. Klin. J.Kozmetoloji* **1998**; 1(3):167-176
44. **Orth DS.** Principles of preservative efficacy testing. *Cosmetic and Toiletries*, **1981**; 96:43-52
45. **Lachapelle G, Gour L.** Improved method for the enumeration of gram-negative bacteria in cosmetics. *Cosmetic and Toiletries* **1982**; 97:63-6.
46. **Warwick EF.** Preventing microbial contamination in manufacturing. *Cosmet. Toilet* **1993**; 108:77-82

47. **CTFA The microbiology committee.** Microbiological tests of process water, *Cosmet. Toilet.*, **1998** ; 119:59-71

48. **Knowlton, JL, Pearce S.** Industrial microbiology, hygiene and preservation. In: Knowlton, JL, Pearce S. Eds. *The Handbook of Cosmetic Science Technology.* Oxford, Elsevier Advanced Technology **1994**; 440

49. **Underwood E.,** Ecology of microorganisms as it affects the pharmaceutical industry. In: Hugo WB, and Russel AD. Eds. *Pharmaceutical Microbiology* 5th Ed. Oxford, London and Edinburg, Blackwell scientific publications, **1993**; 353.

50. **Otto LA, Pickett MJ.** Rapid method for identification of gram-negative, nonfermentative bacilli. *J. Clin Microbiol.* **1976**; 3(6):566-75.

51. **Brannan DK.** Packaging's role in preservation, *Cosmet. Toilet.* **1998**; 113: 79-89.

52. **Brannan DK, Dille JC.** Type of closure prevents microbial contamination of cosmetics during consumer use. *Appl Environ Microbiol.* **1990**; 56(5): 1476–1479.

53. **Lindstrom SL.** Consumer use testing: Assurance of Microbiological safety, *Cosmet. Toilet.***1986**; 111:43-45.

54. **Brannan DK, Dille JC, Kaufman DJ.** Correlation of in vitro challenge testing with consumer use testing for cosmetic products. *Appl Environ Microbiol.* **1987**; 53(8): 1827–1832.

55. **Russel M.** Microbiological control of raw materials In: Baird RM, Bloomfield SF. Eds. *Microbial Quality Assurance In Pharmaceuticals* 2th Ed., Cosmetics and Toiletries. UK: Taylor & Francis **1996**; 35

56. **De La Rosa MC, Medina MR, Vivar,C.** Microbiological quality of pharmaceutical raw materials, *Pharmaceutica Acta Helvetiae*, **1995**, 70:227-232.

57. **Özer Ö.** Kozmetik Bilimi Ed. Yazan Y Kozmetik Biliminden, 1.Baskı İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri, **2004**; 277- 306

58. **Orth DS.** Preervative-free and self-preserving cosmetics and drugs. *Cosmet. Toilet.* **1998**; 113:51-58

59. **Butler H.** Historical Backround, Microbiological control of cosmetics, *Poucher's Perfumes, Cosmetics and Soaps* , **1993**; 3(9):572-639.

60. **Siquet F, Devleeschouwer MJ.**In: Barel A. Ed. *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, New York: Marcel Dekker Incorporated. **2001**: 250

61. **Özer Ö.** Kozmetik preparatlarda yapılan testler. Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Kozmetoloji yayımlanmamış ders notu.
62. **Özer Ö.** Kozmetik ürünlerde stabilite çalışmaları. Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Kozmetoloji yayımlanmamış ders notu
- 63.. **Mitsui T.** Stability of cosmetics. In: Mitsui T. Ed. 1th Ed. *New cosmetic science*. Amsterdam: Elsevier Science B.V. **1997**: 191-194
64. **Yazan Y.** Reoloji ve Kozmetolojideki Yeri. *T Klin J Cosmetol* **2002**, 3
65. **Acarturk F, Agabeyoglu İ, Celebi İ, Degim T, degim Z, Doganay T, Taka S, Tırnaksız F.** *Modern Farmasötik Teknoloji*. 1. Baskı. Ankara. Fersa Matbaacılık Ltd. Şti. **2007**
66. **Çelik Ç, Özgünaltay G, Atar N.** Diş Aşınmaları. *Hacettepe Dişhekimliği Fakültesi Dergisi* **2007**; 31(2):22-30
67. **Külekcı G, Gökbuget A.** Ağız mikroflorasının Genel Sağlığa Etkisi. *ANKEM Derg* **2009**;23(3):137-145
68. **Karunanathan M.** Toothbrush and toothpaste Use In Australia. *Department of Preventive Dentistry faculty of Dentistry University of Sydney*.**1987**
69. **Geçgil Ş.** *Farmasötik Teknolojiye Başlangıç*. 1. Baskı İstanbul; Cihan Matbaacılık. **1991**; 327-330
70. **Valderrama MJ, Marquina D, Pienado JM.** Isolation, characterization and effect of Candida parasilosis isolated from deteriorated cosmetic. *Int. Biodeteriotion and biodegration*. **1997**; 40(2):151-155
71. **Orth DS.** Microbiological risk assessment of raw materials. *Cosmet. Toilet*. **1996**; 111:43-45
72. **Bhadoria R, Ahearn DG.** Loss of effeciveness of preservative systems of mascaras with age. *Applied and Environmental Microbiology*. **1980**; 398(3): 665-667
73. **Farrington JK, Martz EL, Wells SJ.** Ability of laboratory methods to predict in-use efficacy of antimicrobial preservatives in an experimental cosmetic. *Applied and Environmental Microbiology*. **1994**; 60(12): 4553-4558.
74. **Russel AD, Hugo WB** Microbial spoilage and preservation of pharmaceutical products. In: Beverdige EG. Eds. 5th Ed. *Pharmaceutical Microbiology* London and Edinburg: Blackwell Scientific Publications. **1993**:150

75. **Berkelman RL, Anderson RL, and Davis BJ.** Intrinsic bacterial contamination of commercial iodophor solution: investigation of the implicated manufacturing plant. *Applied and Environmental Microbiology*. **1984**; 47:752-756
76. **Russel M.** Microbiological control of raw materials. In: Bloomfield SF, Baird RM, Leak E, Leech R, Eds. 1th Ed. *Microbial quality assurance in pharmaceuticals, cosmetics and toiletries*. Chichester: Ellis Horwood limited. **1988**;35
71. **Orth DS.** Microbiological considerations in cosmetic Formula development and evaluation. *Cosmet. Toilet.***1989**; 104:49-64
72. **Leech R.** Natural and physical preservative systems,. In: Baird RM, Bloomfield SF, Leek E, Leech R. Eds. *Microbial Quality Assurance In Pharmaceuticals* 1th Ed., Cosmetics and Toiletries. Chichester: Ellis Horwood Limited **1988**; 77
73. **Beveridge EG.** Microbial spoilage and preservation of pharmaceutical products. In Russel AD, Hugo WB Eds. *Pharmaceutical Microbiology*. 5th Ed. London & Edinburg: blackwellScientific Publication. **1993**; 150
74. **Baggerman C. Kannegieter LM.** Microbial contamination of raw materials for large volume parenterals. *J. Applied and Environmental Microbiology*. **1984**; 48(3):662-644.
75. **Gruening R.** As Much As Necessary, As Little As Possible. *Cosmet. Toilet.* **1998**;131:61-66
76. **Heinzel M.** Preserving Cosmetic Preparations, Cosmetics and Toiletries In Umbach Ed. *Development. Production and use*. N.Y: Ellis Horwood Limited. **1991**; 270
77. **Orth DS.** Handbook of Cosmetic Microbiology. N.Y.: Marcel Dekker Inc. **1993**; 75-99
78. **Bruch CW.** Cosmetics: Sterility vs. Microbiological Control. *American Perfumer and Cosmetics*. **1971**; 86:46-51
79. **Mitsui T.** New Cosmetic Science. Amsterdam, Lausanne, New York, Oxford, Shannon, Singapore, Tokyo: Elsevier. **1996**.
80. **Colipa.** Guidelines On Stability Testing Of Cosmetic Products. **2004**
81. **Temiz A.** Genel mikrobiyoloji uygulama teknikleri. 4.Baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, **2008**; 230-231.
82. **Temiz A.** Genel mikrobiyoloji uygulama teknikleri. 4.Baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, **2008**; 237-238

83. **Hitchins, A.D.** Committee on microbiology and extraneous materials, *J.A.O.A.C Int*, **2000**; 83(2):491-492.
84. **Anelich LE, Korsten L.** Survey of micro-organisms associated with spoilage of cosmetic creams manufactured in South Africa. *Int J Cosmet Sci.* **1996**;18(1):25-40.
85. **Temiz A.** Genel mikrobiyoloji uygulama teknikleri. 4.Baskı, Ankara, Hatiboğlu Yayınevi, **2008**; 165.
86. **Fung DYC.** Rapid methods and automation in food microbiology: A review. *Food Reviews International.* **1994**; 10(3):357-375
87. **Ferguson A, Patel A, Baird RM.** A Comparison Of Two Incubation Temperatures For The Isolation Of Gram-Negative Contaminants From Raw Materials And Non-Sterile Pharmaceuticals. *J Clin Pharm Ther.* **1987**;12(4):249-54
88. **Behravan J, Bazzaz F, Malaekheh P.** Survey of bacteriological contamination of cosmetic creams in Iran (2000). *Int J Dermatol.* **2005**; 44(6):482-5.
89. **Çarıkçı Aİ, Uçar F, Yalçın H.** Kozmetik ürünlerde bakteriyal ve fungal kompozisyonun klasik yöntemler ve PCR yöntemi kullanılarak saptanması. *Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi.* **2008**;6(1):1-16
90. **Abdelaziz AA, Ashour MS, Hefni H, El-Tayeb OM.** Microbial contamination of cosmetics and personal care items in Egypt--eye shadows, mascaras and face creams. *J Clin Pharm Ther.* **1989**;14(1):21-8
91. **Palmieri MJ, Carito SL, Meyer RF.** Comparison of rapid NFT and API 20E with conventional methods for identification of Gram-negative nonfermentative bacilli from Pharmaceuticals and cosmetics, *Applied and Environmental Microbiology*, **1988**; 54(11):2837-2841
92. **Jimenez L, Smalls S.** Molecular diagnosis of microbial contamination in cosmetic and pharmaceutical products. *J.A.O.A.C. Int.* **2000**;83(4):963-966
93. **Abdelaziz AA, Ashour ME, Henfi H.** Microbial contamination of cosmetics and personal care items in Egypt eye shadows, mascaras and face creams. *J. Clin. Pharm. Therap.* **1989**;14:21-28
94. **Ergun H, Tuncer I, Sengil AZ.** Microbiological analysis of some, cosmetics on the market. *Mikrobiyol. Bül.* **1987**;21(4):301-307
95. **Okeke IN, Iamikanra A.** Bacteriological quality of skin-moisturizing creams and lotions distributed in a tropical developing country. *Journal of Applied Microbiology.* **2001**;91:922-928
96. **Kabukçu B.** Türkiyede üretilen şampuanların mikrobiyolojik kalite kontrolleri üzerinde araştırmalar. **1997**; Yüksek Lisans Tezi. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

97. **Tünger A, Çavuşoğlu C, Korkmaz M.** Mikrobiyoloji 2000. 1. Baskı, İzmir, Asya Tıp Yayıncılık,1997

98. **Dale JW.** Toothbrushing frequency and its relationship to dental caries and periodontal disease. *Aust. Dent. J.* **1969**;14:120-123

ÖZGEÇMİŞ

19.12.1982 yılında Almanya’da doğdu. 2000 yılında Mersin Dumlupınar Lisesi’nden mezun oldu. 2002 yılında Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü’nde başladığı lisans eğitimini 2007 yılında tamamladı. 2007 yılında Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Tezli Yüksek Lisans Programı’nda yüksek lisans eğitimine başladı.

Halen, Mersin Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı’nda yüksek lisans eğitimine devam etmektedir.