

283889

T.C.
HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

**İNTRAVENÖZ EMÜLSİYONLARIN FORMÜLASYONU,
FİZİKOKİMYASAL DEĞİŞMELERİ VE TOKSİSİTESİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR**

**GALENİK FARMASİ PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ**

Ecz. Şengül Eryılmaz

ANKARA - 1982

T.C.

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ FAKÜLTESİ

İNTRAVENÖZ EMÜLSİYONLARIN FORMÜLASYONU,
FİZİKOKİMYASAL DEĞİŞMELERİ VE TOKSİSİTESİ
ÜZERİNDE ÇALIŞMALAR

GALENİK FARMASİ PROGRAMI
BİLİM UZMANLIĞI TEZİ

Ecz. Şengül Eryılmaz

Rehber Öğretim Üyesi: Doç.Dr. Süheyla Kaş

ANKARA-1982

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
GİRİŞ VE AMAÇ	
I. KURAMSAL İLKELER	1
I.1. Emülsiyon ve İntravenöz Emülsiyon Tanımı	3
I.2. Emülsiyon Oluşum Kuramları	4
I.3. İntravenöz Emülsiyon Formülasyonu	6
I.3.1. Yağ Fazı	6
I.3.2. Su Fazı	9
I.3.3.3 Emülgatörler	9
I.3.4. İzotoni Ayarlayıcı Maddeler	15
I.3.5. Antioksidanlar	17
I.4. İntravenöz Emülsiyon Hazırlama Yöntemleri	18
I.4.1. Filtrasyon	21
I.4.2. Sterilizasyon	22
I.4.3. Ambalajlama	23
I.5. İntravenöz Emülsiyonların Stabilitesi	23
I.5.1. pH	23
I.5.2. Serbest Yağ Asidi	24
I.5.3. Partikül Büyüklüğü	25
I.5.3.1. Partikül Büyüklüğü Ölçüm Yöntemleri	27
I.5.4. Viskozite	27
I.5.5. Santrifüj ile Ayırma	28

	<u>Sayfa</u>	
I.5.6.	İletkenlik	28
I.5.7.	Elektrolitlerin Etkisi	28
I.6.	Intravenöz Emülsiyonların Toksisitesi	29
I.6.1.	Akut Toksisite	32
I.6.2.	Kronik Toksisite	33
I.7.	Intravenöz Emülsiyonların Kullanım Alanları	34
II.	DENEYSEL	36
II.1.	Gereçler	36
II.1.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler	36
II.1.2.	Kullanılan Araç ve Gereçler	38
II.2.2	Yöntemler ve Deneyler	39
II.2.1.	Fizikokimyasal İncelemeler	39
II.2.1.1.	Yağların Standardizasyonu	39
II.2.1.1.1.	Soya Yağının Standardizasyonu	39
II.2.1.1.2.	Pamuk Yağının Standardizasyonu	41
II.2.1.2.	Emülgatörlerin Standardizasyonu	44
II.2.2.	Intravenöz Emülsiyonların Hazırlanışı	54
II.2.2.1.	Formülasyona Giren Maddeler ve Oranları	54
II.2.2.1.1.	Yağlar	54
II.2.2.1.2.	Emülgatörler	54
II.2.2.1.3.	Su	58
II.2.2.1.4.	İzotoni Ayarlayıcı Maddeler	58
II.2.2.1.5.	pH Ayarlayıcı Maddeler	58
II.2.2.1.6.	Antioksidenlar	58
II.2.2.2.	Intravenöz Emülsiyonların Formülasyonu ve Saklanması	60

II.2.3.	Intravenöz Emülsiyonların Stabilité Çalışmaları	61
II.2.3.1.	Izotoni Ayarlayıcı Maddelerin İlavesi	61
II.2.3.2.	Fiziksel Özelliklerindeki Değişmelerin İncelenmesi	63
II.2.3.2.1.	pH'daki Değişmelerin İncelenmesi	63
II.2.3.2.2.	Serbest Yağ Asidinde Değişmelerin İncelenmesi	63
II.2.3.2.3.	Partikül Büyüklüğündeki Değişmelerin İncelenmesi	64
II.2.3.2.4.	Viskozitedeki Değişmelerin İncelenmesi	67
II.2.3.2.5.	Santrifüjle Ayrılan Kısımdaki Değişmelerin İncelenmesi	67
II.2.3.2.6.	İletkenlikteki Değişmelerin İncelenmesi	67
II.2.4.	Intravenöz Emülsiyonların Toksisite Çalışmaları	68
II.2.4.1.	Kronik Toksisite Çalışmaları	68
III.	BULGULAR	71
III.1.	Bulguların Sunuluşu	71
III.2.	Intravenöz Emülsiyonların Hazırlanışı	72
III.3.	Intravenöz Emülsiyonların Stabilitesi	74
III.3.1.	Zamanın Fizikokimyasal Özelliklerdeki Değişmelere Etkisi	75
III.3.2.	Sıcaklığın Fizikokimyasal Özelliklerdeki Değişmeye Etkisi	98
III.3.3.	Işığın Fizikokimyasal Özelliklerdeki Değişmelere Etkisi	112

	<u>Sayfa</u>	
III.4.	Intravenöz Emülsiyonların Toksisitesi	114
III.4.1.	Kronik Toksisite	114
IV.	TARTIŞMA VE SONUÇ	118
IV.1.	Emülsiyon Formülasyonu	118
IV.2.	Bekleme Şartlarının Emülsiyonların Fizikokimyasal Özelliklerine Etkisi	120
IV.3.	Kronik Toksisite Çalışmaları	130
ÖZET		133
SUMMARY		134
KAYNAKLAR		135
ÖZGEÇMİŞ		151

TEŞEKKÜR

Yaptığım çalışmayı yöneten ve bana her yönden yardımcı olan Sayın Doç.Dr. Süheyla KAŞ'a, yakın ilgi ve desteğinden dolayı sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımnda ilgisini esirgemeyen Sayın Prof.Dr. A.Atilla HINCAL'a, yardımlarından ötürü Sayın Doç.Dr. Serpil KIŞLALIOĞLU ve Sayın Dr.Murat ŞUMNU'ya teşekkürü bir borç bilirim.

Viroloji bölümündeki aletlerden yararlanmamı sağlayan Sayın Prof.Dr. Altan GÜNALP'e deneylerimle ilgili alet ve malzemelerin temininde büyük yardımlarını gördüğüm Gülhane Askeri Tıp Akademisi Farmakoloji Bölüm Başkanı Sayın Dr. Necati DİKMEN'e, maddelerimin kontrolünde gerekli laboratuvar aletlerini kullanmak için olanak sağlayan Sayın Doç.Dr.Aysen KARAN'a, Analitik Kimya Bölümündeki arkadaşlarıma, soya lesitini ve soya yağının temininde yardımlarını esirgemeyen Sayın Ecz. Tayfun KOZOĞLU'na tavşanların sağlanması ve bakımı için tüm olanakları sağlayan Sayın Nail ODABAŞIOĞLU'na, kan deneylerinin yapılması için laboratuvar olanaklarını sağlayan Sayın Dr. Muhlise ALVER'e, Intralipid^R'in teminini sağlayan Vitrum AB'ye, çalışmam süresince büyük destek ve yardımlarını gördüğüm A.İ.T.İ.A. Eczacılık Fakültesi Galenik Farmasi Bölümü'nden Sayın Dr. Ecz. Gönül HAKYEMEZ'e ve bölüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

GİRİS VE AMAC

Emülsiyonlar eskiden beri tedavi amacıyla kullanılan, iki fazlı, farmasötik preparatlardır. Günümüzde, topik, oral ve intravenöz olarak pek çok etken maddenin verilmesinde kullanılmaktadırlar.

Yağlar, intravenöz olarak ilk kez 1679'da Courten tarafından kullanılmıştır (1). 1873'de Hodder koleraya karşı intravenöz olarak süt kullanmış; ilk sistemli çalışma ise Japonya'da Yamakawa tarafından 1920'de yapılmıştır. Yamakawa lesitin ile hazırlanan yağ emülsiyonlarını intravenöz olarak uygulamıştır (2-4). Daha sonra soya fosfatidleri ve yumurta lestini ile hazırlanan emülsiyonlar, yüksek kalori sağlamak amacıyla geniş ölçüde kullanılmaya başlanmıştır (5).

Yağ emülsiyonları suda çözünmeyen ilaçların intravenöz yoldan verilmesi için de kullanılmıştır (4,6,7). Ayrıca tanı amacıyla radyolojide iyotlu yağlar ile hazırlanan emülsiyonlar kullanılmıştır (8,9).

Intravenöz emülsiyonların en önemli kullanılış alanı, intravenöz beslenmedir. Enfeksiyonlarda, komplike ameliyatlardan sonra, travmalarda, yanıklarda, oral yol ile beslenmenin olanaksız olduğu durumlarda, intravenöz beslenmeye başvurulmuştur (2).

Yağlar ile yüksek enerji sağlanmasından (1 g yağ 9 cal. 1 g karbonhidrat veya protein 4 cal.), yağ içerisinde bulunan ve vücutta sentez edilemeyen yağ asitlerinden ve yağ emülsiyonlarının içerdiği fosfatidlerden dolayı, intravenöz yağ emülsiyonları total parenteral beslenmede yeğlenmiştir (2).

Bu araştırmanın amacı :

a- Türkiye'nin doğal ürünlerinden olan soya yağı, pamuk yağı ve soya lesitinini ilaç formülasyonu yönünden değerlendirmek,

b- Doğal emülgatörler ve sentetik noniyonik emülgatörler ile hazırlanan y/s emülsiyonlarını az hacim ile çok kalori vermesi nedeniyle kullanmak,

c- Farklı yağ ve emülgatörler ile hazırlanan emülsiyonları, farklı sıcaklıklarda bekleterek, stabilitesinde oluşacak değişiklikleri incelemek ve en dayanıklı emülsiyon formülasyonlarını saptamak,

d- En dayanıklı olan intravenöz emülsiyon formülasyonlarının kronik toksisitesini tavşan deneyleri ile saptayıp "in vitro" bulgularla karşılaştırmaktır.

I- KURAMSAL İLKELER

Bu bölümde emülsiyonun tanımı, kuramları, formülasyonu ve intravenöz bir emülsiyonun yapısına giren yağların, emülgatörlerin, isotoni ayarlayıcı maddelerin, antioksidanların özellikleri, intravenöz emülsiyonun stabilitesi toksisitesi ve kullanım alanlarına ait derlemeler bulunmaktadır.

I.1. Emülsiyon ve Intravenöz Emülsiyon Tanımı

Emülsiyonlar, birbiri ile karışmayan iki sıvıdan birinin emülgatörler yardımıyla, diğer sıvı içinde damlacıklar halinde dağılması ile oluşan iki-fazlı heterojen sistemlerdir.

Sherman, emülsiyonu, birbiri ile karışmayan iki sıvıdan birinin diğeri içerisinde oluşturduğu küçük damlacıkların daha sonra birleşerek ana sıvıya dönüşmesi şeklinde tanımlarken (10), Becher, emülsiyonları, bir sıvının karışmadığı diğer bir sıvı içerisinde damlacıklar halindeki dispersiyonu olarak açıklar (11).

Emülsiyonlarda damlacıkların etrafını saran faz, dış faz yada dispersiyon ortamı adını alırken, damlacıklardan oluşan faz iç faz yada dispers faz olarak tanımlanır.

Emülsiyonlar fazların su yada yağ oluşuna göre kısımlara ayrılır. Dış fazı yağ ise yağ içinde su (s/y) emülsiyonları, dış fazı su ise su içinde yağ (y/s) emülsiyonları oluşur. Ayrıca çok fazlı emülsiyon sistemleri de (y/s/y, s/y/s) vardır(12,13).

Emülsiyon damlacıklarının çapı genellikle 0.1-100 μm ' dir. Dispers faz partikülleri 100-600 Å büyüklüğünde ise mikro-emülsiyon veya miseller emülsiyon oluşur. Bunlar, ışığı geçiren, saydam, akışkan ve termodinamik açıdan dayanıklı sistemlerdir (10,14-17).

Partikül büyüklüğünün küçük olması nedeniyle y/s tipi emülsiyonlar intravenöz yoldan beslenme, elektrolit dengesini sağlamak ve plazma hacmini artırmak için intravenöz olarak kullanılmaktadır.

I.2. Emülsiyon Oluşum Kuramları

Yağ su ile karıştırıldığı zaman farklı büyüklükte damlacıklar oluşmaktadır. Karışmayan iki sıvının yüzeyleri arasındaki farklı çekim kuvvetleri yüzeylerarası gerilime neden olmaktadır. Yüzeylerarası gerilim düşürülerek sıvıların birbirini içinde dağılması farklı mekanizmalar ile ortaya çıkmaktadır.

I.2.1. Yüzeyler Arası Film Kuramı

Emülgatör maddeler, su-yağ arayüzeyine adsorbe olarak veya arayüzeyde iyonize olarak iç faz damlacıklarının etrafında film oluşturup koalesensi önler ve sistemi stabilize ederler (12,18).

Adsorbsiyon sırasında yüzey etken maddelerin hidrofilik uçları su fazına lipofilik uçları yağ fazına gelecek şekilde dizilerek yağ su arayüzeyinde monomoleküler bir film oluştururlar.

Yüzey gerilim, filmin hangi tarafında fazla ise film o faza doğru bükülüp damlacıklar oluşturur. Sulu faz ile yüzey etken madde arasındaki yüzey gerilim düşük ise film tabakası yağ damlacıklarının etrafını sararak y/s tipi emülsiyon oluştururken, yağ fazı tarafında yüzey gerilim az ise film tabakası su partiküllerinin etrafını sararak s/y tipi emülsiyon oluşturur (13,18,19).

I.2.2 Yönelmiş Uçlar Kuramı

Yüzey etken madde moleküllerinde bulunan polar ve polar olmayan gruplar, yağ su arayüzeyine adsorbe olduklarında, polar gruplar su fazına, polar olmayan gruplar yağ fazına doğru yönelirler. Polar gruplarda fazla ise misel yağ tarafına bükülerek y/s emülsiyonu oluştururken, polar olmayan grupların fazlalığında misel su tarafına bükülerek s/y emülsiyonu oluşturur. Tek değerli metal sabunlarında metalin tuz yapan kısmı suda çözündüğünden y/s tipi emülsiyonu, çok değerli metal sabunlarında ise fazla miktarda yağ asidi bulunduğundan misel su tarafına doğru bükülerek s/y tipi emülsiyon oluşturmaktadır (13,19).

I.2.3 Karışım Yüzey Filmi Kuramı

Suda çözünmeyen bazı maddeler hidrofilik yüzey etken maddelerle birleşerek karışım veya kompleks film oluştururlar. Yüzeyler arasına sıkı bir şekilde adsorbe olan bu yüzey etken maddeler koalesense dayanıklı filmler olduklarından daha stabil emülsiyonların hazırlanmasına olanak sağlarlar.

I.3. İntravenöz Emülsiyon Formülasyonu

Bu bölümde intravenöz emülsiyonların bileşimine giren yağ, emülgatör, izotoni ayarlayıcı maddeler, antioksidanlar ve suyun özellikleri stabilite ve toksisiteye etkileri anlatılacaktır.

I.3.1. Yağ Fazı

Emülsiyonlarda yağ fazının seçiminde ilk düşünülecek nokta kullanılış amacıdır. Daha sonra yağın toksisitesi ve formüle eklenecek diğer maddeler ile ortaya çıkabilecek kimyasal geçimsizlikler dikkate alınmalıdır.

Parenteral emülsiyonlarda kullanılmak üzere pek çok toksik olmayan yağ türleri araştırılmış (20) ve parenteral beslenmede mineral yağlar ve yapısı insan vücudundaki yağlara benzer olan sentetik trigliseritler kullanılmıştır. Vücuttaki yağlar genellikle doymamış yağ asidi olarak palmitoleik, oleik, linoleik asit, doymuş yağ asidi olarak palmitik, miristik ve stearik asit içerirler. Genellikle kullanılan sentetik trigliseritler triolein, etil oleat, izoamil salisilat, asetostearin aseto-olein, palmito-diolein, butiro-oleindir (21,22). Waddell ve arkadaşları sentetik trigliseritlerin daha saf elde edilebilmelerinden dolayı diğer yağlardan üstün olduğunu görüşündedirler (23).

Shafiroff ve arkadaşları kısa zincirli yağ asidi gliseritleri ile hazırlanan emülsiyonların toksik olduğunu, yüksek

molekül ağırlıklı yağ asidi gliseritleri (laurik, miristik, palmitik ve stearik asit) ile hazırlanan emülsiyonların ise toksik etki göstermediğini klinikte hastalar üzerinde yaptıkları deneylerle saptamışlardır (24). Düşük moleküllü doymuş yağ asidi trigliseritlerinin yüksek moleküllü doymamış yağ asidi trigliseritlerinden daha toksik olduğu, yağ asitlerinin karbon atomu sayısının 8'den fazla olduğu zaman toksisitenin gittikçe azaldığı saptanmıştır (25).

Toksisitelerinin düşük olması nedeniyle yeğlenen bitkisel yağlar, yağ içeren çekirdeklerden sıkma ve çözücü ekstraksiyonu ile elde edilirler (2,22). Oleik, linoleik, stearik, palmitik, miristik, linolenik asitlerin gliserin ile yaptığı esterleri içerirler (21).

Parenteral emülsiyonların hazırlanmasında susam yağı (26-28), hindistan cevizi yağı (23,28,30), mısır yağı (31,32), safran yağı (33,34), zeytinyağı, yerfıstığı yağı (22,23), keten tohumu yağı, kakao yağı, balık yağı (20), pamuk yağı (22,33-37), soya yağı (2,20,23,25) gibi doğal kaynaklı yağlar en çok kullanılanlar arasındadırlar.

Sentetik triolein emülsiyonu, pamuk yağı, zeytinyağı, yerfıstığı yağı ve hindistan cevizi yağı ile hazırlanan emülsiyonların toksisiteleri karşılaştırılmış, pamuk yağının toksisitesinin en düşük olduğu saptanmıştır (23). Soya ve pamuk yağı ile hazırlanan emülsiyonların toksisitelerinin en düşük olduğu,

soya yağının pamuk yağına göre daha az toksik olduğu görülmüştür (25). Pamuk yağının toksisitesinin, pamuk yağı içerisindeki "gossypol" adı verilen maddeden ileri geldiği fakat bu maddeye karşı toleransın oldukça fazla olduğu saptanmıştır. (20,38). Her iki yağında saflaştırıldıkları zaman toksisitelerinin düşük ve oksidatif değişikliklere dayanıklı olduğu görülmüştür (20).

I.3.1.1.Soya Yağı

Soya fasülyesinden çözücü ekstraksiyonu veya sıkma ile elde edilen soya yağı, %26 oleik asit, % 49 linoleik asit, % 11 linolenik asit, az miktar palmitik asit ve % 14 doymuş yağ asitlerinin trigliseritlerini içeren sarı renkli, karakteristik kokulu bir yağdır (39-41). Pamuk yağından farklı olarak doymamış yağ asidi olan linolenik asit içermektedir (2,25). Soya yağı emülsiyonları ile oleik, linoleik, linolenik, araşidonik asit gibi vücutta sentez edilemeyen fakat besinlerle birlikte alınması zorunlu olan yağ asitleri vücuda verilmektedir (2,42,43).

I.3.1.2.Pamuk Yağı

Pamuk çekirdeğinden sıkma veya çözücü ekstraksiyonu ile elde edilen pamuk yağı, % 30 linoleik asit, % 10 palmitik asit, % 4 stearik asit, diğer doymuş yağ asidi trigliseritleri ve az miktarda α , β , γ tokoferol içerir. İyi saflaştırılmamış yağlarda ekstraksiyondan gelen "gossypol" adı verilen toksik madde mevcuttur (40). Bu maddeden dolayı uzun süren parenteral

beslenmelerde toksik etkiler görülmüştür (38).

I.3.2. Su Fazı

Parenteral preparatların hazırlanmasında pirojeniz, enjeksiyonluk su kullanılır. Yeni distillenmiş yada deiyonize suyun nötral bir cam kap veya uygun bir imbikten tekrar distillenmesi ile elde edilir. PH'sı 5-7 arasında olmalı ve 20 ppm'den fazla uçmayan katı artık içermemelidir. İntravenöz emülsiyonlarda su fazı, izotoni ayarlayıcı maddeleri, PH ayarlayıcı maddeleri ve suda çözünen emülgatörleri içermektedir.

I.3.3. Emülgatörler

Emülgatörler, yüzeyleyarası etki ile emülsiyonun dayanıklılığını sağlayan, sıvıların birbiri içerisinde dağılmasını kolaylaştıran maddelerdir.

Emülgatörler, bitkisel ve hayvansal kaynaklı doğal emülgatörler, sentetik yüzey etken maddeler ve ince öğütülmüş tozlar olmak üzere 3 ana gruba ayrılmışlardır (15). Sentetik yüzey etken maddeler anyonik, katyonik, noniyonik ve amfaterik olmak üzere sınıflandırılmıştır. Bu sınıflara ait özellikler geniş olarak Schwartz ve Perry tarafından anlatılmıştır (44).

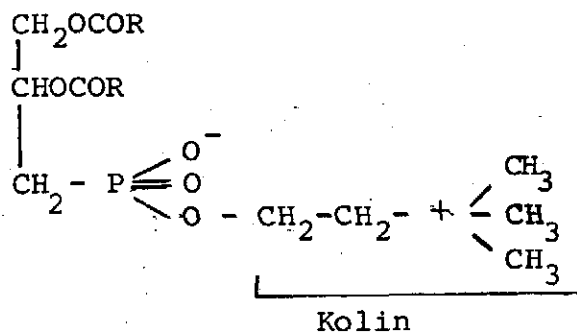
Parenteral emülsiyonlarda kullanılacak olan emülgatörler toksik, antijenik, pirojenik, irritan ve hemolitik etkili olmalıdır (45). Emülgatörlerin hemolitik etkisi enjeksiyondan sonra anemiye neden olduğundan istenmez (34). Anyonik ve kat-

yonik emülgatörlerin hemolitik ve iritan etkili olması kullarımlarını sınırlamıştır (46). Hemolitik etki, emülgatörlerin tipine ve saflığına bağlıdır. Noniyonik emülgatörlerde iyonize olabilen grup bulunmadığından pH'ları yüksek ve hemolitik etkileri çok düşüktür (47). Saflaştırılmış ve saflaştırılmamış fosfatitler ile hazırlanan pamuk yağı emülsiyonlarının hemolitik etkileri incelenmiş ve saflaştırılmış fosfatidlerde hemolitik etki olmadığı görülmüştür (34).

Parenteral emülsiyonlarda doğal kaynaklı emülgatörlerden yumurta ve soya lesitini ile sentetik noniyonik emülgatörler kullanılmaktadır (20). Bu emülgatörlerin başlıca özellikleri sırasıyla tartışılacaktır.

I.3.3.1 Lesitinler

Yumurta sarısı ve soya fasulyesinden elde edilen lesitin, monoglisericil fosforik asidin hidroksil gruplarından birinin uzun zincirli yağ asitleriyle, diğer hidroksil grubunun ise kolin ile esterleşmesinden oluşur (Formül I).



Formül I: Lesitin

Yumurta lesitini ile soya lesitini yapı bakımından benzerdir. Yumurta lesitini kahverengi veya sarımsı bej renkte, şeffaf, nem çekici, suda asetonda çözünmeyen alkol kloroform, petrol eteri ve eterde çözünen mum görünümünde bir maddedir (39,48).

Soya lesitini ise, kahverengi, viskoz bir sıvıdır. Suda, asetonda çözünmez. Eter, petrol eteri, alkol ve kloroformda çözünür.

Yumurta lesitininde % 54 oranında, soya lesitininde ise % 77 oranında yağ asidi bulunur (20). Yağ asitlerinin % 55'i linoleik asit, % 11.1'i palmitik asit, % 9.8'i oleik asit, % 8.6'ı, palmitoleik asittir (39,40). Lesitin, diğer emülgatörlerden daha iyi metabolize olmakta ve % 1.2 lesitin içeren emülsiyonlar 1 ml/kg dozda intravenöz yoldan verildiğinde, toksik etki göstermemektedir (49).

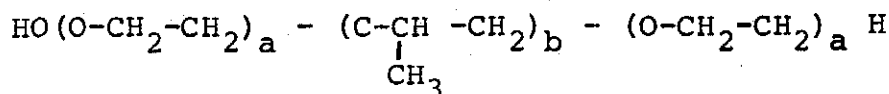
Yumurta lesitinin, soya lesitinininden daha az toksik olduğu hayvan deneyleri ile gösterilmiştir (20). Lesitinin ısıya bağlı hidrolizi sonucu oluşan lizolesitin, sifingomiyelin ve sefalinler toksisiteye neden olmaktadır (50). Vela ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada kromatografik olarak saflaştırılmış yumurta lesitini ve soya yağı ile hazırlanan SR-151 emülsiyonu, yumurta lesitini ve soya yağı ile hazırlanan ve klinikte başarı ile kullanılan Intralipid^R ve pamuk yağı, soya lesitini ile hazırlanan Lipomul I.V.'nin toksisiteleri karşılaştırıldığında saflaştırılmış yumurta lesitini ile hazır-

lanan SR-151 emülsiyonunun daha az toksik olduğu, Intralipid^R içerisinde lizolesitin, sifingomiyelin ve sefalinlerin bulunduğu belirtilmiştir (50).

Ethiodol ve bir soya lesitini olan asolektin ile hazırlanan emülsiyonların stabil olmadığı görülmüştür (8). Saflaştırılmış lesitinler ile hazırlanan emülsiyonlarda toksisitenin azalmasına karşın stabilitede azalma olduğu görülmüştür (51). Toksisite ve stabilite açısından saflaştırılmış yumurta lesitinin emülsiyon hazırlanmasında uygun emülgatör olduğu belirtilmiştir (52). Stabilitenin artırılması için saflaştırılmış lesitinle ile kompleks yüzeyler arası film oluşturan noniyonik yüzey etken maddeler kullanılmıştır (20,51).

I.3.3.2.Pluronikler

Sentetik noniyonik emülgatörlerden olan pluronikler, propilen glikol ve etilen oksitin polimeridir (Formül II).



Hidrofilik polioksi etilen grubu (a)	Hidrofobik poloksi propilen grubu (b)	Hidrofilik polioksi etilen grubu (a)
--	---	--

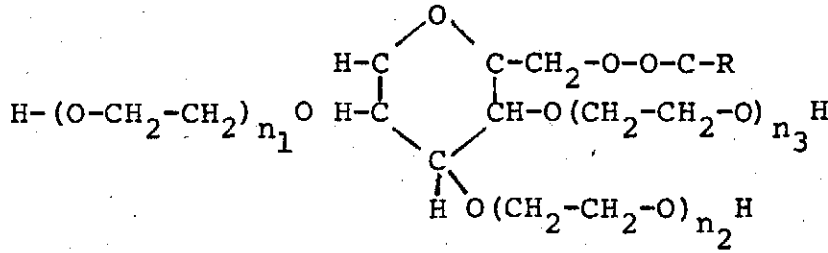
Formül II: Pluronik

a ve b gruplarının oranına göre hidrofilye lipofilye denge değişmektedir (53). Molekül ağırlığı 1100-12500 arasında değişmekte; ve buna bağlı olarak sıvı, pat kıvamında ve pulsu görü-

nümde olmaktadır. Intravenöz emülsiyonlarda daha çok pluronik F68 (54-56), pluronik F108, L42, F88, F77 kullanılmaktadır (57,58). Pluronik F68'in bitkisel yağlar ile hazırlanan emülsiyonlarda küçük partiküller vermesi ve stabiliteyi artırması daha çok kullanılmasına neden olmaktadır (20,59). Pluronikler parenteral yol ile kullanıldığında metabolik olarak inerttirler (36). Noniyonik emülgatör oldukları için de hemolitik etkileri yoktur. Ratlarda I.V. LD₅₀'nin 7.7 g/kg olduğu bulunmuştur (47).

I.3.3.3. Tweenler

Intravenöz emülsiyonlarda kullanılan diğer non iyonik sentetik emülgatörler, anhidr sorbitol ve yağ asitlerinin polioksietilen esterleri olan Tween'lerdir (Formül III).



$$N = n_1 + n_2 + n_3$$

R = Yağ asidi

R = Laurik asit - Tween 20

R = Stearik asit - Tween 60

R = Oleik asit - Tween 80

Formül III: Tweenler

Tweenler suda alkolde çözünür, gliserin ve mineral yağlarda çözünmezler. Tween 20 beyaz sıvı, Tween 80 sarı renkte sıvı, Tween 60 beyazımsı renkte oda sıcaklığında jel görünümündedir (39,40). Tween 20, Tween 60 ve Tween 80'nin hemolitik etkileri incelendiğinde Tween 20'nin hemolitik etkili olduğu görülmüştür (47,60). % 0.5 konsantrasyonlarda Tween 60 içeren emülsiyonların toksik olmadığı ve çok düşük konsantrasyonlarda emülgatör etkisinin iyi olduğu görülmüştür (47,61). Tween 60 ile hazırlanan y/s emülsiyonlarının 6 ay süre ile oda sıcaklığında bekletildiğinde stabil olduğu görülmüştür (27).

Tween 80 için i.v. LD₅₀'nin 5.8 g/kg olduğu ve yüksek dozlarda toksik etki göstermediği görülmüştür (47). Intravenöz emülsiyonların hazırlanmasında, toksisitesinin az olması ve dayanıklı emülsiyon oluşturması nedeniyle Tween 60 ve Tween 80 kullanılmaktadır (47).

I.3.3.4. Diğer Sentetik Emülgatörler

Pek çok sentetik yüzey etken madde intravenöz emülsiyonların stabilizasyonunda ve intravenöz dispersiyonların hazırlanmasında kullanılmıştır. Emülfor EL 620, K₁ vitaminin stabilizasyonu için kullanılmış, toksisitesinin ve hemolitik etkisinin düşük olduğu görülmüştür (45).

Ayrıca antijenik olmayan jelatinin emülgatör olarak kullanılması düşünülmüş, fakat otoklavda sterilizasyon sırasında ve oda ısısında bekleme süresinde hidroliz olduğu görülmüştür (21,45). Intravenöz jelatinin (Knon P-20) toksik olmadığı saptanmıştır (29).

Bunlardan başka, emülgatör olarak kullanılan polietilen glikolmonostearat, monopalmıtat, diasetiltartarater monoglisirit (TEM) (2,50), Drew 535 (62), Dremulse (34,51,63), Ethomen 15 (Polioksietilen amin) (64), ile birlikte emülsiyonların stabilitesini artırmak için az miktarda metil selüloz eklenmiştir (42). Metil selülozun yüksek ısıda çözünürlüğünün az olması nedeniyle sterilizasyon sırasında faz ayrımı görülmüştür (45).

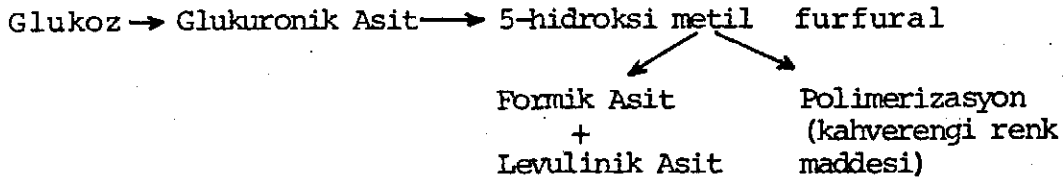
Safra tuzları ve sodyum kolat emülgatör olarak kullanılmış, fakat bu emülsiyonun sterilizasyona dayanıklı olmadığı görülmüştür (20). Sodyum kolat ile hazırlanan emülsiyonların hemolitik etkili olduğu ve anemiye neden olduğuda gözlenmiştir (34).

Parenteral emülsiyonlarda emülgatör olarak doğal kaynaklı lesitinler ve noniyonik sentetik emülgatörlerden Pluronikler ve Tweenler toksisitelerinin az olması nedeniyle daha çok kullanılmaktadır (21).

I.3.4. İzotoni Ayarlayıcı Maddeler

Intravenöz emülsiyonları izotonik yapmak için sulu faza % 0.9 sodyum klorür (28,65), % 2.25-2.5 gliserol (21,52), %5 sorbitol, ksilitol ve levüloz eklenmiştir (20). Sodyum klorür, emülgatörler üzerine adsorbe olarak faz ayrılmasına neden olduğundan uygun bir izotoni ayarlayıcı madde değildir (20). Kullanılan % 5'lik glukoz çözeltileri sterilizasyon sırasında ısının etkisi ile bozunup toksik etkili maddeler oluşturduklarından uygun izotoni ayarlayıcı madde olarak kabul edilemezler (21,66).

Glukoz ısının etkisi ile aşağıdaki şekilde parçalanmaktadır.

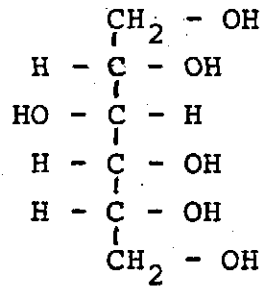


Bu reaksiyon sonucu pH'da düşme ve faz ayrımı görülmektedir (36,52). Lesitinler ve fosfatidler ile hazırlanan emülsiyonlarda glukoz ile lesitinler reaksiyona girerek renk maddeleri oluşturmaktadır. Lesitin içerisindeki sefalinlerin amino grubu ile glukoz reaksiyona girmektedir. Saf lesitinlerde bu reaksiyon görülmemiştir (67). Bazen sorbitol eklenmesi ile de emülsiyonlarda faz ayrımı görülmüştür (52). Ticari preparatlarda izotoni ayarlayıcı olarak gliserol, sorbitol ve ksilitol yeğlenmektedir (20).

I.3.4.1.Sorbitol

Molekül ağırlığı 182.18 olan sorbitol, suda çok çözünen beyaz, iğne şeklinde kristallerdir. Sıcak alkol, metanol, izopropanol, sikloheksan, fenol ve asetonda çözünür. Açık formülü aşağıda gösterilmiştir (Formül IV).

Sudaki %5.48'lik çözeltisi izotoniktir. İzotonik çözeltisinin hemolitik etkisi yoktur (39,40,49). Sorbitol % 40-50 konsantrasyonda intravenöz yoldan verildiğinde hiçbir yan etki göstermemiş; glukoz ve fruktoz yerine sorbitolün yoğun çözeltileri kullanılmıştır (68).



Formül IV: Sorbitol

I.3.4.2. Gliserol

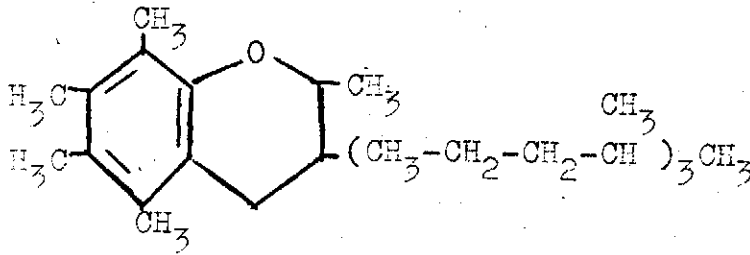
Ofisinal gliserol, % 3 su içeren şurup kıvamında, kokusuz, renksiz tatlı bir sıvıdır. Su alkol ile her oranda karışır, eter, kloroform, aseton, benzen ve yağlarda çözünmez. % 2.5 luk çözeltisi izotoniktir (37,39). Ratlarda intravenöz LD₅₀ 5-6 ml/kg bulunmuştur. Daha yüksek konsantrasyonlarda hemolitik etki göstermiştir (37). Besleyici amaçlarla ve ilaçların parenteral yoldan verilmesinde çözücü olarak kullanılmaktadır (37). Otoklav sterilizasyonuna dayanıklı olduğu gösterilmiştir (20).

I.3.5. Antioksidanlar

Emülsiyon içerisindeki etken maddelerin çoğu oksidasyon ile bozulur; bitkisel yağlar açılır ve serbest radikal oluştururlar (12). Yağ damlacıkları etrafındaki stabilizan emülgatör filmi oksidatif bozunma sonucu parçalanır ve emülsiyonda kremlaşma başlar (21,45).

Oksidasyonu önlemek için kullanılan antioksidan maddelerden gallik asit, propil gallat, askorbik asit, askorbil pal-

mitat, butil hidroksi toluen, butil hidroksi anisol en çok kullanılanlar arasındadır (37). Antioksidanlar genellikle % 0.001-0.1 konsantrasyonlarda kullanılırlar. İntravenöz emülsiyonlarda en çok kullanılan ve toksisitesi olmayan DL α tokoferoldür (37). (Formül V).



Formül V: DL α -Tokoferol

Tokoferol, suda, alkali ve asitlerde çözünmeyen, petrol eteri, absolu alkol, benzen, kloroformda çözünen; yağlar ile karışan, kahverengimsi şeffaf bir sıvıdır (39). DL α tokoferol % 0.05 oranında yağ fazına eklenerek doymamış yağ asitlerinin peroksidasyonu önlenir (20,21).

I.4. İntravenöz Emülsiyon Hazırlama Yöntemleri

Emülsiyonlar, birbiriyle karışmayan iki sıvının birbiri içinde dağılması ile elde edilen sistemlerdir. İki sıvı arasındaki arayüzeyin parçalanması sonucu sıvıların karışması sağlanacağından emülsiyonların hazırlanmasında mekanik karıştırıcılar, kolloid değirmenleri homojenizatörler ve ultrasonik karıştırıcılarda kullanılır.

Karıştırma yönteminde tank içine konulan ana sıvının yüksek devirli karıştırıcılarla (bıçak, pervane, türbin) karıştırılması sonucu dağılan faz önce büyük, sonra küçük damlacıklara ayrılır.

Rotor denilen hareketli bir kısım ile stator denilen sabit bir kısımdan oluşan kolloid değirmenleri rotor ve stator arasındaki açıklıktan sıvıları yüksek hızla geçirerek yaklaşık 2 μ m çapında partiküllere ayırırlar. Karıştırma sırasında ortamın ısısı artabileceğinden soğutucu bir sistem içerisinde çalışılır (10-12).

Homojenizatörler dar bir açıklıktan yüksek basınç ile sıvıların geçirilmesi sonucu küçük damlacıklara ayrılmasını sağlayan aletlerdir. Homojenizasyon ile damlacık çapı yaklaşık 1 μ m olan emülsiyonlar hazırlanabilir (10,12).

Intravenöz emülsiyonların hazırlanmasında genellikle homojenizatörler kullanılmıştır. Suda çözünen emülgatörler, izotoni ayarlayıcı maddeler, pH ayarlayıcı maddeler, su fazında; yağda çözünen emülgatörler ve antioksidanlar yağ fazında çözüldürüldükten sonra yağ ve su fazı 45-90 $^{\circ}$ C arasında ısıtılarak karıştırılır. Daha sonra 2000-50000 psi arasında basınç uygulanarak istenilen partikül büyüklüğü elde edilene kadar 4-5 kez homojenizatörden geçirilirler (20,35,63,65,69-71).

Bazı araştırmacılar yağ ve su fazını ısıttıktan sonra mekanik karıştırıcılar ile 5-10 dakika 3500 rpm'de karıştırıp sonra 3500 psi'lik basınç altında homojenizatörden geçirerek

intravenöz emülsiyonları hazırlamışlardır (26,31,32,52,62,72-74).

Diğer bir çalışmada su fazı 75 °C'da kadar ısıtılıp homojenizatöre doldurulmuş üzerine 70 °C'da kadar ısıtılan yağ fazı eklenerek 3000 psi basınç altında homojenizatörden geçirilmiştir. Sistemin ısısını 72 °C da sabit tutmak için soğutucu kullanılmıştır. Oksidasyonu önlemek için sistemden azot gazı geçirilmiştir (36).

Zilvermist ve arkadaşları lesitin, gliserol ve yağı karıştırarak 3000 pound'luk basınç altında homojenizatörden geçirdikten sonra sterilize etmişlerdir. Kullanılmadan önce steril su ilave edilip çalkalanarak y/s emülsiyonları hazırlanmıştır (74).

Küçük partikül büyüklüğüne sahip emülsiyonların hazırlanmasında ultrasonik titreşimli karıştırıcılardan faydalanılmıştır (10,12,75). Bu yöntemde emülsiyon oluşumu ultrasonik titreşimlerin kabın çeperlerine ve sıvı yüzeyine çarparak hava boşlukları oluşturması sonra bu boşlukların kaybolması şeklinde olur (76,77). Emülsiyon oluşumuna ortamın viskozitesi, ısısı, emülsiyon oluşum süresi etki etmektedir. Yağ fazının viskozitesi ne kadar düşük ise emülsiyon oluşumu o kadar kolay olmaktadır(78).

Ultrasonik titreşimli karıştırıcılar ortamın ısısını artırarak, yağ-su arayüzeyinde yağın dispersiyonunu hızlandırır. Bazı araştırmacılara göre emülsiyon hazırlama sırasında soğutucu sistem kullanılması yağın dispersiyonunu azaltmaktadır (78).

Emülsiyon oluşma süresinin emülsiyonun kalitesi üzerine etkisi incelendiğinde emülsiyon hazırlama sırasında düşük frekanslı ses dalgaları kullanıldığı zaman oksidasyon ve depolimerizasyon reaksiyonlarının daha az olduğu görülmüştür. Uzun süre ultrasonik ses dalgaları ile temasta kalan emülsiyonlarda ise partikül büyüklüğünde artış görülmüştür. Yüksek frekans ile partiküllerin çarpışma hızında artma ve dispers faz partiküllerinde koagülasyon görülmüştür. 15 dakika süre ile emülsifiye edilen emülsiyonlarda partikül büyüklüğü analizleri yapılmış ve tekrarlanabilir sonuçlar alınmıştır. 30 dakika süren ve yüksek frekansta yapılan çalışmalarda y/s emülsiyonlarında faz değişimi olduğu boya ve seyreltme yöntemleri ile saptanmıştır (79).

Perflorometilsikloheksan, Pluronik F68 ve lesitin içeren emülsiyonlar yağ su arayüzeyine ultrasonik karıştırıcının uç kısmı daldırılarak 5 dakika buz banyosu içerisinde karıştırılarak hazırlanmıştır (55,76).

Diğer bir çalışmada, ethiodol, lesitin ve Pluronik F 68 içeren emülsiyonlar önce 3 kez 5'er dakika 22000 rpm'de kolloid değişmenlerinden geçirilmiş sonra 75-180 watts'lik titreşim uygulanmıştır. 25 ml'lik karışım 55 watts'da 3 dakika emülsifiye edilmiş ve 0.5 μm 'den daha küçük partiküller oluşturulmuştur (80).

I.4.1 Filtrasyon

Parenteral preparatların süzülmesinde gözenek genişliği 3-5 μm 'den küçük filtreler kullanılır (19). Isı ile sterilizasyon sırasında bozulan preparatların süzülmesinde ise gözenek

büyüklüğü 0.29-8 μ m olan zar (membran) filtreler kullanılır (17). Parenteral çözeltilerin süzülmesinde kullanılan porselen filtrelerin sakıncalı tarafı gözenekleri arasında kolaylıkla mikroorganizmaların üremesidir. Bu nedenle asit ile yıkanarak yüksek ısıda etüvde sterilize edildikten sonra kullanılırlar (18).

I.4.2. Sterilizasyon

Intravenöz emülsiyonlar hazırlandıktan sonra 110 °C'da 10-40 dakika, 117 °C'da 10 dakika ve 120 °C'da 20 dakika otoklavda sterilize edilmiştir (20,36,69,81,82). Sterilizasyondan sonra 5-15 dakika çalkalanan şişeler 5 °C ye kadar soğutulmuştur (36,63,69). Genellikle intravenöz emülsiyonlar otoklav sterilizasyonuna dayanıklıdır. Lesitin glukoz ve sorbitol içeren emülsiyonlarda bazen sterilizasyondan sonra faz ayrımı olduğu bildirilmiştir (20,67). Sterilizasyon sırasında ısı nedeniyle non-iyonik emülgatörlerin çözünürlüğünün azalması ve yağ damlacıkları etrafındaki emülgatör filminin bozulmasıyla da faz ayrımı görülmüştür (64).

I.4.3. Ambalajlama

Intravenöz emülsiyonlar beslenme amacıyla yüksek hacimlerde kullanıldıklarından genellikle 100-500 cc'lik infüzyon şişelerinde saklanırlar (52,82,83). Sterilizasyon sırasında şişe içerisinde oluşacak basınç düşünülerek şişe üzerinde % 20 boşluk bırakılmıştır (36).

Kullanılan kauçuk kapakların yağ fazında çözünmemesi ve absorblanmaması gereklidir. Isıya dayanıklı silikonlanmış kauçuk kapakların kullanılması önerilmektedir (21). Hazırlanan emülsiyonların 4-5 °C'da buzdolabında saklandığı zaman uzun süre bozulmadan kaldığı görülmüştür (82).

I.5. Intravenöz Emülsiyonların Stabilitesi

Bu bölümde, emülsiyonlarda bekletme süresi ve ortamın sıcaklığına bağlı olarak pH, serbest yağ asidi, partikül büyüklüğü, viskozite, iletkenlik ve toksisitede görülen değişiklikler üzerinde durulacaktır.

I.5.1. pH

Emülsiyonların pH'sı toksisiteyi etkileyen önemli etmenlerdendir. Yeni hazırlanan emülsiyonların pH'sı, yağ, emülgatör ve izotoni ayarlayıcı maddelerin özelliklerine bağlı olarak değişmektedir. % 10 pamuk yağı içeren soya lesitini ile stabilize edilen Lipomul I.V.'nin pH'sı 4.4-4.9, %10 pamuk yağı içeren Lipphysan'ın pH'sı 5.5, % 10 soya yağı içeren Intralipid'in pH'sı 6.8'dir (20,35).

Emülsiyonların pH'sı, su fazına disodyum fosfat eklenerek ayarlanmıştır (84). Ethiodol, Tween 80, Span 80 ile hazırlanan emülsiyonların pH'sı mono ve disodyum fosfat eklenerek 7.4'e ayarlanmış, 60 °C'da sekiz hafta bekletildiğinde pH'nın 2.3'e düştüğü görülmüştür (8). Diğer bir çalışmada emülsiyonlar hazırlandıktan sonra % 10 disodyum hidrojen fosfatın steril

çözeltisinden 100 ml'lik emülsiyona yaklaşık 1 ml. eklenerek pH 7.4'e ayarlanmıştır (85).

Zeringue soya yağı ve yumurta lesitini ile hazırlanmış emülsiyonları, gliserol, sorbitol ve dekstroz ile izotonik hale getirmiştir. Yeni hazırlanan emülsiyonların pH'sı 5.4 bulunmuş, hazırlandıktan sonra 0.1N. sodyum hidroksit eklenerek pH 6.8-7'e ayarlanmıştır. Sterilizasyondan sonra gliserol ile izotonik yapılan emülsiyonun pH'sının 6.5'a dekstroz ve sorbitol ile izotonik yapılan emülsiyonların pH'sının 4.8'e düştüğü görülmüştür. En dayanıklı ve pH'sı en uygun emülsiyonun gliserol ile hazırlanan emülsiyon olduğu bulunmuştur (52). Ayrıca pH'sı 6-8'e ayarlanan emülsiyonların 25 °C da yüzey gerilimleri ölçülmüş ve en düşük yüzey geriliminin pH 6.6-6.8 arasında olduğu ve bu pH'larda emülsiyonların dayanıklı olduğu görülmüştür (52).

Hakkanson bekleme süresi ve sıcaklığın pH üzerine etkisini araştırmak için Intralipid^R bileşiminde hazırladığı emülsiyonları 0.05 M. sodyum fosfat ve 0.1N sodyum hidroksit ile pH 6.8'e ayarlamış; sıcaklık ve zamana bağlı olarak pH'da düşme gözlenmiştir (83). Diğer bir çalışmada ise, intralipid^R 4,20 ve 40 °C'da iki sene bekletildiğinde sıcaklık ve zamana bağlı olarak pH'nın düştüğü ve dolayısı ile toksisitenin arttığı saptanmıştır (82).

I.5.2. Serbest Yağ Asidi

Vücuda alınan yağlar barsaktan serbest yağ asidi ve monogliserid şeklinde emilirler. Uzun zincirli yağ asitleri

(C₉-C₁₂) ise kan kapillerine gelirler. Vücudun en önemli enerji kaynağını oluşturan serbest yağ asitleri insan plazmasında normal olarak 500-900 mEq l⁻¹ olarak bulunur (86,88). Stearik ve palmitik asit gibi uzun zincirli yağ asitlerinin kana verilmesinde kısa sürede koagülasyon ve tromboz oluşmasına karşılık oleik linoleik, linolenik ve araşidonik asit gibi doymamış yağ asitleri ile kısa zincirli yağ asitleri tromboz oluşturmazlar. Yağ asitleri ve yağ asitlerinin sodyum tuzlarının intravenöz yoldan verilmesinden sonra oluşan trombozun nedeninin yağ asitlerinin, kanda pıhtılaşmayı sağlayan Hegeman faktörünü aktive etmesi olduğu belirtilmiştir (89).

Intravenöz emülsiyonlarda da zamana ve sıcaklığa bağlı olarak oksidasyon sonucu serbest yağ asitleri açığa çıkmaktadır. Isıya bağımlı olarak iki hafta bekletilen emülsiyonların serbest yağ asidi miktarında başlangıç konsantrasyonunun on katı kadar bir artış olduğu görülmüştür (82,83). Farklı pH'larda hazırlanan emülsiyonların hidroliz hızları incelendiğinde, pH 6-7 arasında açığa çıkan serbest yağ asidinin en düşük düzeyde olduğu saptanmıştır (83).

Hindistan cevizi yağı ve soya lesitini ile hazırlanan susuz emülsiyonlar ve aynı yağ ile emülgatörden hazırlanan su içeren emülsiyonlarda serbest yağ asidi konsantrasyonunun yüksek olduğu bulunmuştur (74).

I.5.3. Partikül Büyüklüğü

Genel olarak emülsiyonların partikül büyüklüğü 0.1-100 µ m

arasındadır. Zamanla görülen kremalaşma, partikül büyüklüğünde artışa ve yüzeyler arası alanda azalmaya neden olur (90). Teorik olarak dayanıklı bir emülsiyonda, dağılan fazın birim hacimde veya dış fazın birim ağırlığında benzer sayıda partikül bulunması gerekmektedir.

Intravenöz emülsiyonlar vücutta şilomikron adı verilen dışta protein içte fosfolipid ve yağ tabakasından oluşan partikül büyüklüğü 0.1-1 μ m olan doğal yağ partiküllerine benzer şekilde taşınmaktadır. Intravenöz emülsiyonlar için en uygun partikül büyüklüğü 0.5-5 μ m'dir. Partikül büyüklüğü ve toksisite arasında doğrusal ilişki olduğu partikül büyüklüğü arttıkça toksisitenin arttığı saptanmıştır (70).

Partikül büyüklüğü yağ-su fazı arasındaki yoğunluk farkına, emülgatör konsantrasyonuna, emülgatörün cinsine ve hazırlama yöntemine bağlı olarak değişmektedir (92). Yağ-su fazı arasında yoğunluk farkı fazla ise kremalaşma görülür. Bazı çalışmalarda emülgatör konsantrasyonu arttıkça partikül büyüklüğünün azaldığı ve stabilitenin arttığı görülmüştür (72,92).

Sterilizasyon sırasında ısı nedeniyle emülgatör filmlerinin bozulması sonucu emülsiyonlarda koalesens görülmüştür (45). Polioksietilen lauril alkol ile hazırlanan emülsiyonlarda otoklav sterilizasyonundan sonra partikül büyüklüğünün 2 μ m olduğu, daha lipofilik bir emülgatör ilavesi ile 0.7 μ m'ye düştüğü görülmüştür. İki emülgatör kullanılarak yağ-su fazı arasında daha stabil bir film oluşmakta ve yüzeyler arasında serbest enerji değişikliği daha az olmaktadır (64).

Ayrıca homojenizasyon sırasında uygulanan basınç ve ortamın sıcaklığına bağlı olarak partikül büyüklüğü artmaktadır (64).

I.5.3.1. Partikül Büyüklüğü Ölçüm Yöntemleri

Emülsiyonlarda partikül büyüklüğü optik mikroskop, elektron mikroskobu, ultramikroskop ve Coulter Sayacı yöntemiyle yapılmaktadır. İntravenöz emülsiyonlarda partiküllerin çoğunluğunun 0.5 μm ve daha küçük olduğu ve hiçbirinin 7-8 μm 'den büyük olmadığı gösterilmiştir (63,69). Ethiodol içeren emülsiyonların partikül büyüklüğü mikroskopta ve % 0.9 sodyum klorür çözeltisi ile seyreltilerek Coulter Sayacı yöntemi ile tayin edilmiş, tuz çözeltisinin partikül büyüklüğünü artırdığı saptanmıştır (9,93-95).

Elektron mikroskobu ile 1 μm 'den küçük partiküller sayılabildiği halde rutin çalışmalarda uygun bir yöntem olmadığı belirtilmiştir (70).

I.5.4. Viskozite

Emülsiyonların viskozitesi, emülgatörler ve yüzeylerarası filmin özelliğinden etkilenir. Emülgatör konsantrasyonu arttıkça viskozitede artış görülmüştür. Emülsiyon damlacıklarının etrafındaki emülgatör filmlerinde oluşan deformasyonda viskoziteyi etkilemektedir (96).

Emülsiyonların viskozitesi ile dış fazın viskozitesi arasında doğrusal bir ilişki vardır. İç faz hacminin artması ve

iç faz partikül büyüklüğünün azalması ile viskozite artar. Seyreltik emülsiyonlarda partikül büyüklüğüne bağlı olarak viskozitede fazla değişiklik olmamıştır (86). Bisailon çalışmasında, hazırladığı Neutralipid'in viskozitesinde zamana bağlı olarak belirgin bir değişme olmadığı halde, elektrolit ve amino asit ilavesi ile değişmeler olduğunu belirtmiştir (98).

I.5.5. Santrifüjle Ayırma

Emülsiyonlarda hızlandırılmış stabilite testlerinde santrifüj kullanılarak ayrılan faz ve ayrılma hızı saptanmıştır (10). Emülsiyon stabilitesi zamana bağlı olarak kremalaşmanın olması, yağ fazının ayrılması ile ölçülmektedir. Ultrasantrifüj ile koalesens hızı tayinlerinde, koalesens hızının santrifüj, kuvveti ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir. İntravenöz yağ emülsiyonlarında santrifüj ile yağ fazındaki ayrılma incelenmiş ve santrifüje dayanıklı olduğu görülmüştür (51).

I.5.6. İletkenlik

Emülsiyonlarda sıcaklığa ve zamana bağlı olarak faz değişiklikleri görülmektedir. Genellikle seyreltme, boyaların çözünlülüğü ve elektriksel iletkenlik yöntemleri ile emülsiyon tipi tayin edilmiştir. Noniyonik emülgatörler ile hazırlanan emülsiyonlarda iletkenlik yöntemi ile doğru sonuçlar alınmıştır (12,13).

I.5.7. Elektrolitlerin Etkisi

Emülsiyonlara tuzların eklenmesi ile görülen flokülasyon stabiliteyi azaltır (90,99).

Intralipid^R ve Lipofundin üzerine elektrolitlerin etkisi incelendiğinde elektrolitlerin eklenmesinden sonra mikroskopta incelenen emülsiyonlarda agregatların oluştuğu ve brown hareketlerinin azaldığı görülmüştür. Partikül büyüklüğü, mikroskop ve elektrolit eklenmesinden sonra Coulter Sayacı yöntemi ile saptandığında 2 μ m'den küçük partiküllere elektrolitlerin etkisinin fazla olduğu gözlenmiştir (94).

Gray ve Singleton tarafından pamuk yağı, soya yağı, saf yumurta lesitini ve ham lesitin ile hazırlanan emülsiyonlara elektrolitlerin etkisi incelenmiş; saflaştırılmış yumurta lesitini ile stabilize edilen pamuk yağı emülsiyonlarının, soya yağı emülsiyonlarına göre elektrolitlerin etkisine karşı daha dayanıklı olduğu bulunmuştur. Saf lesitin ile hazırlanan emülsiyonların elektrolitlere karşı, ham lesitin ile hazırlananlardan daha az dayanıklı olduğu görülmüştür (100).

Le Veen tarafından hastalardan alınan serumlar üzerine intravenöz emülsiyon eklenerek, ilaçlar, elektrolitler ve kan proteinlerinin flokülasyon üzerine etkisi incelenmiştir. Gama globulin, serum kalsiyumu ve benzalkonyum klorürün emülsiyonlarda bozulmayı artırdığı gözlenmiştir (101).

Elektrolitler emülsiyon stabilitesini azalttığından emülsiyonlara eklenmemesi önerilmektedir (20,102,103).

I.6. Intravenöz Emülsiyonların Toksisitesi

Intravenöz emülsiyonların toksisitesi yağ, emülgatör ve izotoni ayarlayıcı maddelerin özellikleri ile zamana bağlı

olarak, emülsiyonlarda görülen kimyasal değişikliklere bağlıdır (20). Intravenöz emülsiyonların hazırlanmasında pekçok emülgatör ve yağ denenmiştir. Emülgatörlerin bir kısmının iritasyon ve hemolitik etkili olduğu görülmüştür (47). Denenen emülgatörler arasında noniyonik sentetik emülgatörlerden olan pluroniklerin toksik etkili olmadığı saptanmıştır (20).

Yağ olarak zeytin yağı, susam yağı, pamuk yağı, soya yağı ve mineral yağlar denenmiş, zeytinyağının hemolitik etkili olduğu granulamatos lezyonu oluşturduğu saptanmıştır (20,102).

Soya yağı ve pamuk yağı ile hazırlanan emülsiyonların vücutta metabolize olmalarına karşın mineral yağlar ile hazırlanan emülsiyonların metabolize olmadıkları belirtilmiştir (104).

Pamuk yağı ve soya yağı emülsiyonlarının toksisiteleri karşılaştırıldığında pamuk yağının "gossypol" adı verilen maddeden dolayı toksik olduğu saptanmıştır.(38). Ticari Lipomul I.V. emülsiyonlarında her şişede ortalama 6 mg "gossypol" bulunduğu saptanmıştır(105,106).

Intravenöz olarak verilen emülsiyonların eritrositlerle birleşerek agregatlar oluşturduğu emülgatörün cinsine bağlı olarak hemoliz ve anemiye neden olduğu görülmüştür (105,107,108). Uzun süre kullanıldıklarında ateş, anoreksiya, kusma, karaciğer ve dalakta intravenöz yağ pigmentleri görülmüştür (20,105,107).

Partikül büyüklüğünün artması ile emboli görüldüğü ve akut toksisitenin arttığı saptanmıştır (56,70). Zamana ve sıcak-

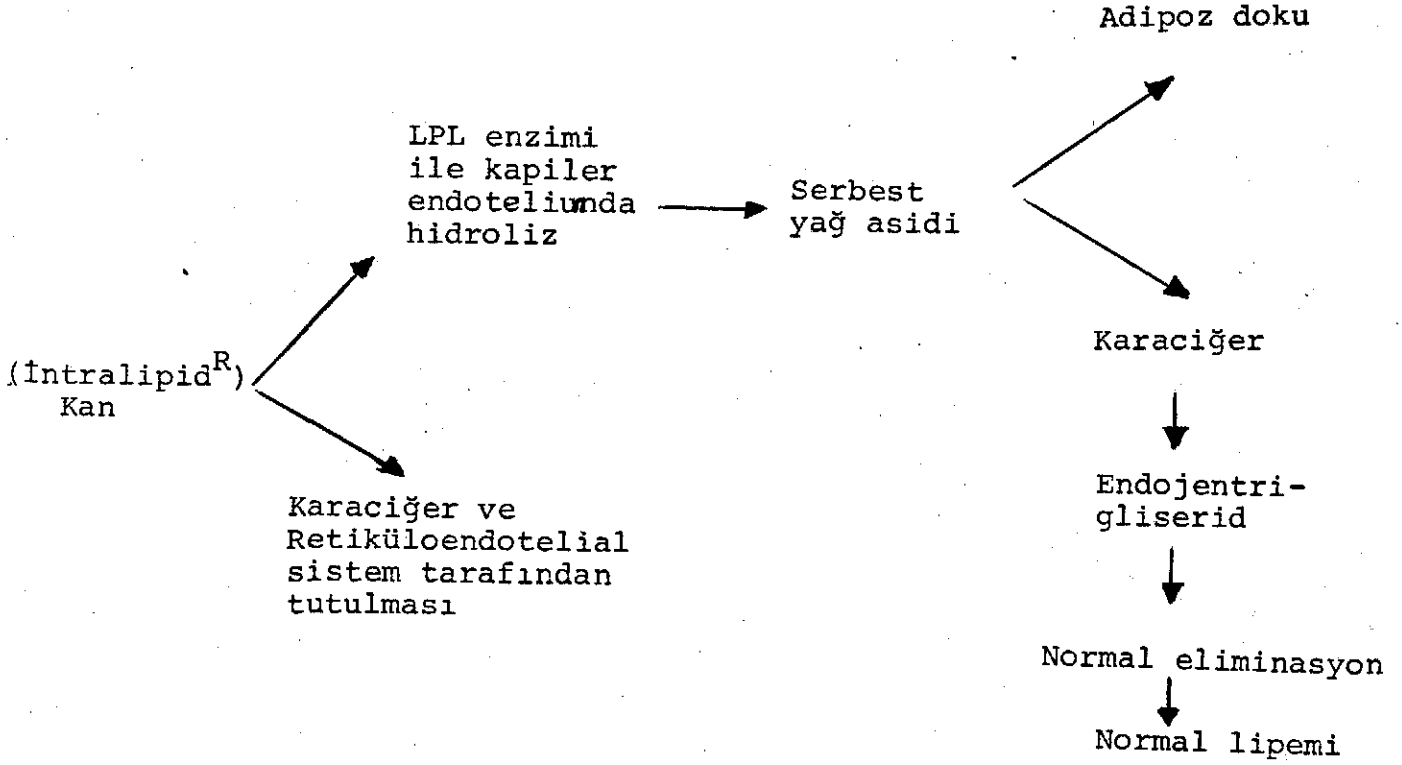
lığa bağılı olarak serbest yağ asidinde oluşan artışın toksisiteyi artırdığı tavşanlarda incelenmiş; ve serbest yağ asidi için LD₅₀'nin 0.21 mEq/kg olduğu saptanmıştır (83).

Emülsiyonlar birinci derece kinetiğine göre metabolize olmaktadır (20,109,110). Yağın cinsi eliminasyon hızını da etkilemektedir. Soya ve pamuk yağı emülsiyonları ile yapılan çalışmalarda pamuk yağı emülsiyonlarında partiküllerin yükünün fazla olması nedeniyle fagositozun, soya yağı emülsiyonuna göre daha çabuk olduğu görülmüştür (20).

Intravenöz yağ emülsiyonları, silomikron adı verilen barsak mukoza hücrelerinde sentez edilen 0.1-1 µm büyüklüğünde küre şeklindeki doğal yağ partiküllerine benzer şekilde metabolize olur (111). Şilomikronlar % 86 trigliserit, % 8.5 fosfolipid ve % 3 kolesterol ile az miktar protein içerirler. Endoplazmik retikulum içerisinde oluşan şilomikronlar hücre çeperlerinden intraselüler boşluğa oradan lenflere ve kana geçerler (86,88).

Şilomikronlar klerens sırasından retiküloendoteliyal hücreleri tarafından fagosite edilerek, karaciğer, dalak ve yağ dokusu tarafından tutulurlar. Dokulardan kana gelen lipoprotein lipaz enzimi şilomikronları hidroliz ederek serbest yağ asidi ve gliserin oluşmasını sağlar. Serbest yağ asitleride plazma albuminlerine bağlanarak, yağ sentezinin yapı taşı veya enerji kaynağı olarak kullanılmak üzere hücrelere taşınır (86). Parenteral beslenmede kullanılan intravenöz emülsiyon intralipid^R'in,

kandan eliminasyonunun şilomikronlara benzer şekilde aşağıda sematize edildiği gibi kandan elimine olduğu belirlenmiştir.



Klinikte lipomul I.V. ile yapılan çalışmalarda bir kısım yağ emülsiyonunun feçesten atıldığı, saptanmıştır (112,114).

Pluronikler ile stabilize pamuk yağı emülsiyonlarının vücuttan atılma süreleri incelendiğinde, emülgatör bileşiminin emülsiyonların eliminasyonunda da etkin bir faktör olduğu belirtilmiştir (115).

I.6.1. Akut Toksisite

Akut toksisite deneylerinde tavşanlar kullanılmıştır. Yaklaşık 2.5 kg ağırlığındaki tavşanlara, kulak venasından, ser-

best yağ asidi için saptanan LD₅₀ değerinde serbest yağ asidi içeren emülsiyon verilmiş (0.21 mEq/kg) ve 5 dakika içinde ölüm olup olmadığı gözlenmiştir.

I.6.2. Kronik Toksisite

Kronik toksisite deneyleri ise 5.5-22.6 kg ağırlığındaki köpeklere 6-9 g yağ/kg dozda emülsiyon 4 ml/dak. hızda enjekte edilerek yapılmıştır. 28 gün süre ile kanda trigliserit, hemoglobin, hematokrit, miktarları incelenmiş, karaciğerde ve dalakta intravenöz yağ pigmentlerinin birikip birikmediği saptanmıştır (38).

Kronik toksisite deneyleri için sıçanlar da kullanılmıştır. 200-220 g ağırlığında beyaz, erkek sıçanlar enjeksiyondan önce 10 gün gözetim altına alınmış, yedikleri yiyecek miktarı vücut ağırlıkları, hemoglobin miktarı, eritrosit sayısı, tayin edilmiştir. 30 gün süre ile 2-4 g yağ/kg dozda emülsiyon her gün kuyruk venasından 5 dakika içerisinde verilmiş, yediği yiyecek miktarı, vücut ağırlığı, hemoglobin miktarı, eritrosit sayısı tayin edilmiştir. Son enjeksiyondan 24 saat sonra öldürülen ratlarda karaciğer ve dalak çıkarılmış % 10 nötral kalsiyum formalin çözeltisi ile fikse edilerek saklanmıştır. Bu organlardan 6 µ kalınlığında dokular kesilerek hematoksinin ve eosin ile boyanıp elektron mikroskopunda intravenöz yağ pigmentleri incelenmiştir (116).

Tavşanlarda yapılan kronik toksisite deneylerinde 2,2.75, 3 g yağ/kg dozda emülsiyon kulak venasından 2.5 dakikada 1 ml

olacak şekilde enjekte edilmiştir. İnfüzyondan önce, infüzyon sırasında, infüzyondan sonra her hafta kanda, hemoglobin, hematokrit, eritrosit, lokosit, pıhtılaşma süresi, idrarda ise; dansite, albumin, hemoglobin, pH, şeker aseton ve sediment aranmıştır. İnfüzyonlar haftada 5 gün ve üç hafta süre ile yapılmış ve enjeksiyondan sonra hayvanda gözlenen değişiklikler başlangıç verileri ile karşılaştırılmıştır.

I.7. Intravenöz Emülsiyonların Kullanım Alanları

Intravenöz emülsiyonlar oral yada tüp beslenmesinin imkansız olduğu durumlarda, az hacim ile çok kalori vermek amacıyla kullanılan emülsiyonlardır.

Ameliyat öncesi ve sonrası hastanın beslenemediği durumlarda, yağ emülsiyonları ve protein hidrolizatları verilir. Beslenmeden dolayı iyileşmede gecikme, enfeksiyonlara karşı duyarlılık, vücut ağırlığında azalma, hipoproteinemi ve ödem görülebileceğinden, bu durumlarda, % 10-20 yağ içeren soya yağı veya pamuk yağı emülsiyonları, karbonhidrat amino asit ve vitaminler ile kombine olarak verilmektedir (2,118).

Ciddi yanıklarda, oral beslenme mümkün olsa dahi gerekli enerji intravenöz yağ emülsiyonları ile sağlanmaktadır. Yanıklarda gerekli olan yaklaşık 2500 kalörinin 1000-1500 kalorisini yağ emülsiyonları ile karşılanmaktadır (119,120).

Normal beslenemeyen diyabetli hastalarda, glukoz ve amino asit çözeltileri kullanılmadığından gerekli kalörinin sağ-

lanmasında intravenöz yağ emülsiyonları kullanılmaktadır (2).

1 gram yağ 9 kalori, 1 gram karbohidrat ve protein 4 kalori verdiğiinden (17), karbohidrat, protein çözeltileri ve yağ emülsiyonlarının kalori değerleri karşılaştırıldığında yağ emülsiyonlarının en fazla kalori veren parenteral sıvı olduğu görülmektedir.

II. DENEYSEL

II.1. Gereçler

II.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Soya Yağı	: Sümerbank
Pamuk Yağı	: Çukobirlik
Soya Lesitini	: Sümerbank
Yumurta Lesitini	: Sigma
Tween 60	: Merck
Tween 80	: Difco
Pluronic F 68	: Meyer
Sorbitol	: Fako
Sorbitol	: Bilim
Gliserin	: Atabay
D.L. α -Tokoferol	: Sigma
Eter	: Merck
Fenolftalein	: Merck
Potasyum hidroksit	: Merck
Oksalik asit dihidrat	: Merck
Hidroklorik asit	: Merck
Sodyum karbonat	: Merck
Metil oranj	: Merck
Iyot triklorür	: Merck
Iyot	: Rhone Poulenc
Karbontetraklorür	: Merck
Glasyal asetik asit	: Merck
Sodyum tiyosülfat	: Merck

Patasyum iyodür	: Merck
Nişasta	: Merck
Potasyum dikromat	: Merck
Bakır-II-Nitrat	: Riedel
Trietanolamin	: Merck
Difenilkarbazon	: Merck
Difenilkarbazit	: Merck
Metanol	: Merck
Kloroform	: Merck
Disodyum hidrojen fosfat 2H ₂ O	: Merck
Potasyum dihidrojen fosfat	: Merck
Stearik asit	: Merck
Palmitik asit	: Merck
Oleik asit	: Merck
Sülfürik asit	: Merck
Silikajel-G	: Merck
Aluminyum oksit	: Merck
Aluminyum oksit	: Macherey Nagel
Petrol eteri	: Merck
Aseton	: Atabay
Etanol	: T.C.Tekel İdaresi
Jansiyan viyole	: Merck
Hayem solusyonu	: Saymer
Heparin	: Roche

II.1.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

U.V. Spektrofotometresi	: Spectrophotometer Beckman DB-GT
U.V. Spektrofotometresi	: Spectrophotometer Hitachi 200
I.R. Spektrofotometresi	: Perkin Elmer, Model 457
I.R. Spektrofotometresi	: Pye Unicam SP 1200
Ultrasonik Karıştırıcı (prob)	: Sonifer B-12
Termostat	: Heidolph
Termostatlı su banyosu	: Haake, Model FJ
Piknometre	
pH metre	: Corning pH meter, Model 7
pH metre	: Beckman Zeromatic SS-3
Refraktometre	: Carl Zeiss Jena Nr.83667
Viskometre	: Ubbelohde K 0.01000 App.Nr.22998
İletkenlik Ölçeri	: YSI, Model 31
Yüzey gerilim ölçeri	: Fischer, Model 20
Mekanik Karıştırıcı	: Heidolph
Santrifüj	: Wirowka tip We-2
Rotavapor	: Büchi Nr. 258990
Optik mikroskop	: Karl Kaps Asklar/Wetzler Nr.2536
Optik mikroskop	: PZO Warszawa 6813
Sahli Hemometresi	: Sahli-Vert
Hematokrit santrifüjü	: Janetzki TH12
Heparinli hematokrit tüpü	: Brand
Spektrofotometre	: Bausch and Lomb Spectronic 700

II.2. Yöntemler ve Deneyler

II.2.1. Fizikokimyasal İncelemeler

Bu bölümde intravenöz emülsiyonların hazırlanmasında kullanılan yağların ve emülgatörlerin standardizasyonu yer almaktadır.

II.2.1.1. Yağların Standardizasyonu

Pamuk yağı ve soya fasulyesi yağının fizikokimyasal özellikleri kontrol edilmiş ve bilinmeyen özellikleri aşağıda bildirildiği şekillerde saptanmıştır.

II.2.1.1.1. Soya Yağının Standardizasyonu

II.2.1.1.1.1. U.V. Spektrumu

U.V. spektrumu eterdeki % 0.05'lik çözeltisi hazırlandıktan sonra 200-300 nm aralığında çekilmiştir (Şekil 1).

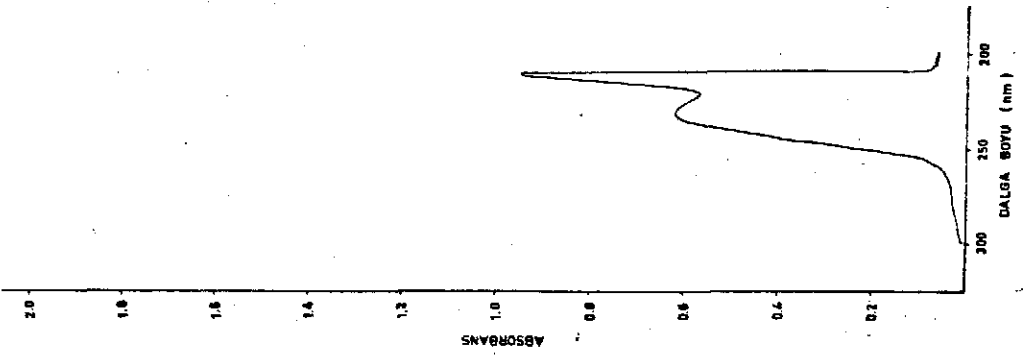
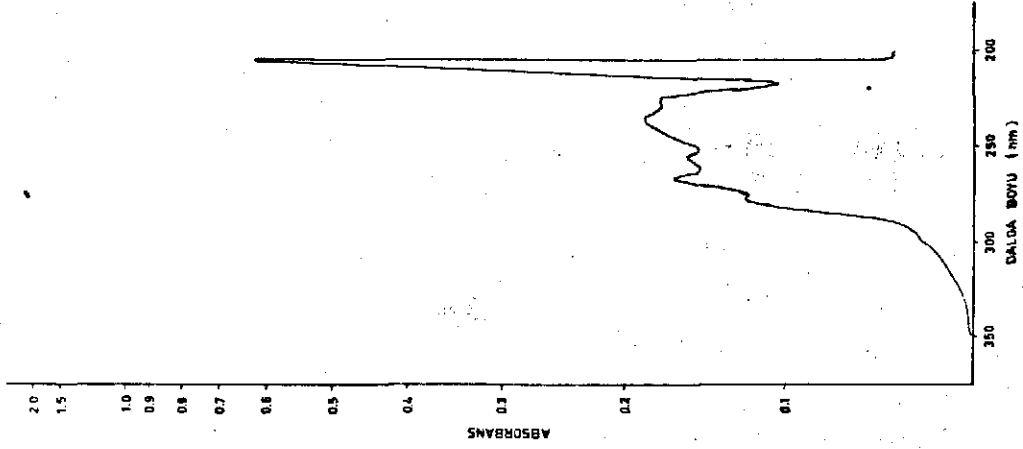
$\lambda_{\max} = 217 \text{ nm}$ 'dir.

II.2.1.1.1.2. I.R. Spektrumu

I.R. spektrumu potasyum bromür diskleri arasında 4000-400 cm^{-1} aralığında çekilmiştir. Başlıca absorpsiyon bandları 720, 1160, 1455, 1738, 2918 nm 'lerde görülmektedir (Şekil 2).

II.2.1.1.1.3. Kırılma İndisi

Kırılma indisi 37 °C'da ölçülmüş ve 8 deneyin ortalaması 1.4668 \pm 0.0001 olarak bulunmuştur.



II.2.1.1.1.4. Özgül Ağırlığı

Özgül ağırlığı 37 °C'lik su banyosunda 5 ml'lik piknometreler ile ölçülmüş ve 5 deneyin ortalaması 0.9206 ± 0.0016 olarak saptanmıştır.

II.2.1.1.1.5. Asitlik Derecesi

Yağların asitlik derecesi T.F. 1974'e göre tayin edilmiş ve soya yağının asitlik derecesi 0.1741 ± 0.0125 ($n = 5$) bulunmuştur.

II.2.1.1.1.6. Sabunlaşma İndisi

T.F.1974'e göre yapılmış olan soya yağının sabunlaşma indisi 191.0095 ± 0.4355 ($n = 5$)'dir.

II.2.1.1.1.7. İyot İndisi

Yağların iyot indisi T.F. 1974'e göre tayin edilmiş ve soya yağının iyot indisi 130.3097 ± 0.2430 ($n = 5$) bulunmuştur.

II.2.1.1.2. Pamuk Yağının Standardizasyonu

II.2.1.1.2.1. U.V. Spektrumu

U.V. Spektrumu eterdeki % 0.05'lik çözeltisi hazırlandıktan sonra 200-300 nm aralığında çekilmiştir (Şekil 3)

$\lambda_{\max} = 268 \text{ nm}$ 'dir.

II.2.1.1.2.2. I.R. Spektrumu

I.R. spektrumu potasyum bromür diskleri arasında 4000-400 cm^{-1} aralığında çekilmiştir. Başlıca absorpsiyon bandları 722,1165,1460,1748,2910 nm'lerde görülmektedir (Şekil 4).

II.2.1.1.2.3. Kırılma İndisi

Kırılma indisi 37 °C'da ölçülmüştür. 8 deneyin ortalaması 1.4668 \pm 0.0004'dür.

II.2.1.1.2.4. Özgül Ağırlığı

Özgül ağırlığı 37 °C'lık su banyosunda 5 ml'lik piknometreler ile ölçülmüş ve 5 deneyin ortalaması 0.9128 \pm 0.0001 olarak saptanmıştır.

II.2.1.1.2.5. Asitlik Derecesi

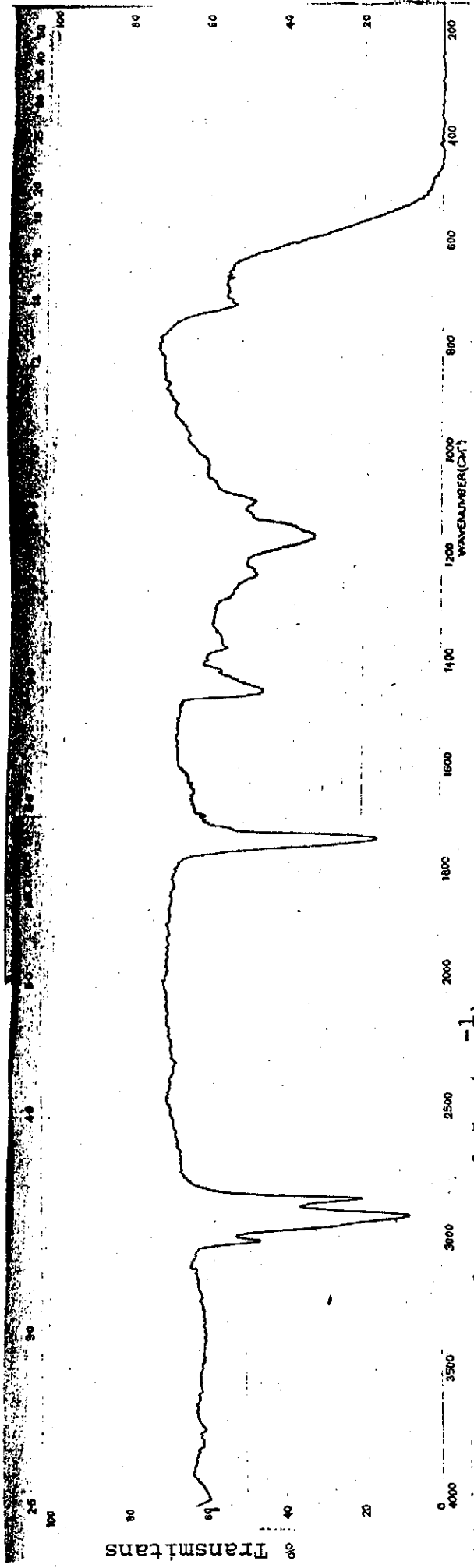
T.F. 1974'deki yöntemle göre tayin edilmiş olan asitlik derecesi 0.3722 \pm 0.0067 dir (n = 5).

II.2.1.1.2.6. Sabunlaşma İndisi

T.F. 1974'de belirtilen yöntemle göre tayin edilmiş ve 5 deneyin ortalaması 197,9234 \pm 0.2772 olarak bulunmuştur

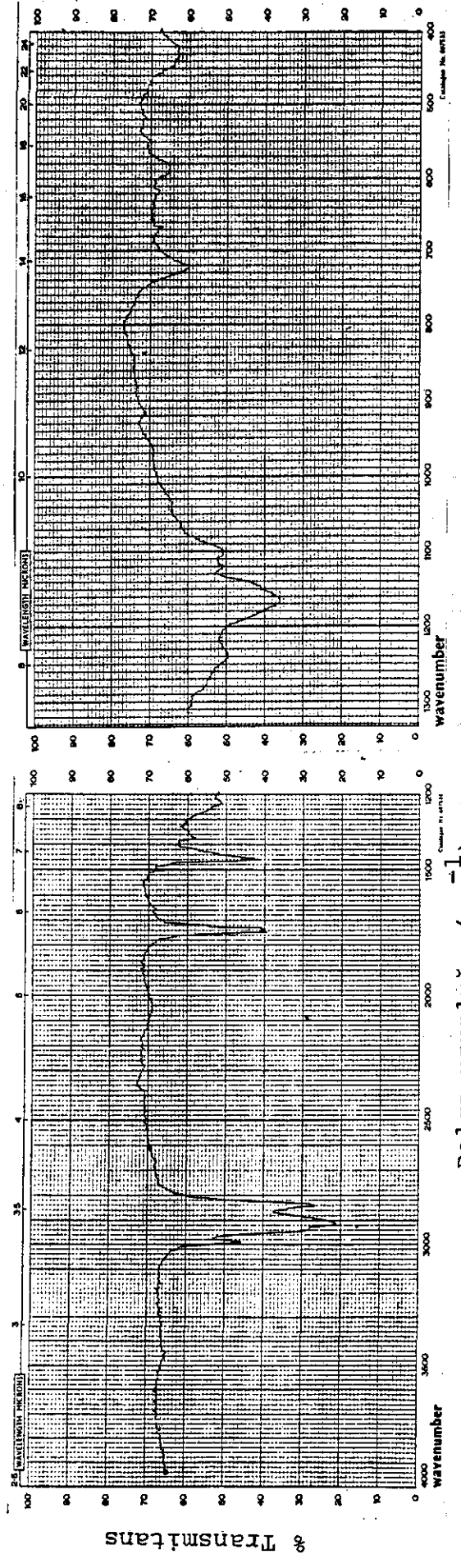
II.2.1.1.2.7. İyot İndisi

T.F.1974'de verilen yöntemle göre tayin edilen iyot indisi 5 deneyin ortalamasıdır ve 103.8882 \pm 1.0165 dir.



Dalga uzunluğu (cm^{-1})

Şekil 2. Soya Yağının I.R. Spektrumu



Dalga uzunluğu (cm^{-1})

Şekil 4. Pamuk Yağının I.R. Spektrumu

II.2.1.2. Emülgatörlerin Standardizasyonu

Bu bölümde i.V. emülsiyonların hazırlanmasında kullanılan emülgatörlerin (Tween 60, Tween 80, Ploronik F 68, soya lesitini ve yumurta lesitini) fizikokimyasal özelliklerinin kontrolünde kullanılan yöntemler verilmiştir.

II.2.1.2.1. U.V. spektrumu

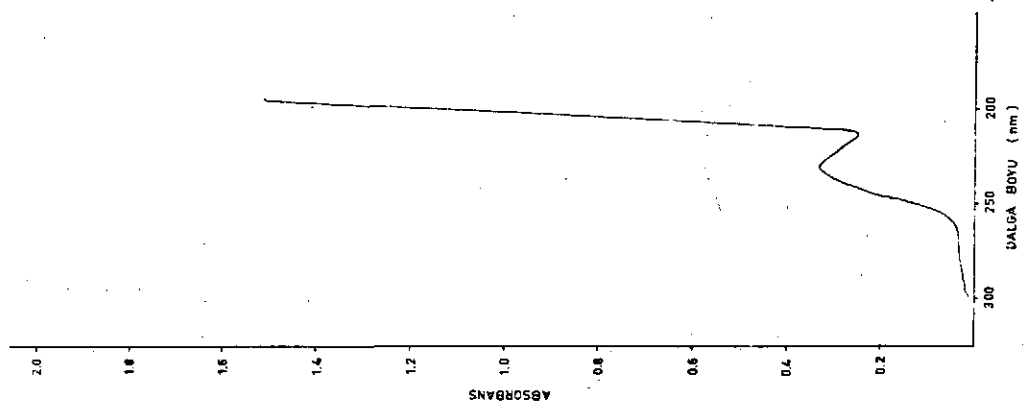
Tween 80'nin U.V. spektrumu sudaki % 0.05'lik çözeltisinde, soya ve yumurta lesitinin ise % 0.05'lik eterdeki çözeltisinde 200-400 nm aralığında çekilmiştir (Şekil 5-8).

II.2.1.2.2. I.R. Spektrumu

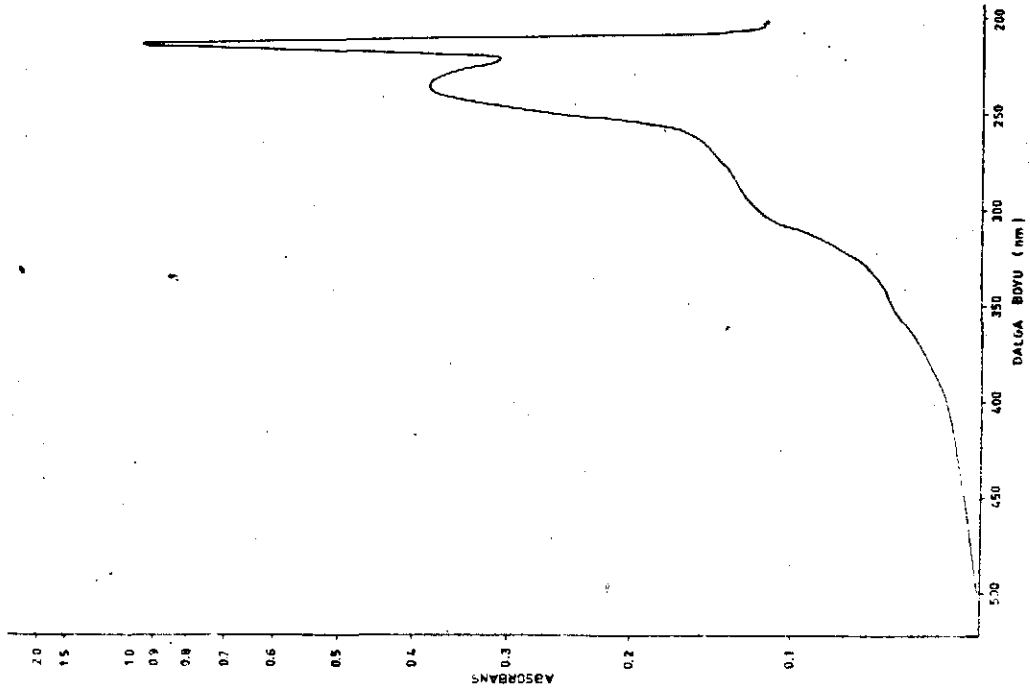
Tween 80, Tween 60, soya ve yumurta lesitinin IR spektrumu potasyum bromür diskleri arasında, pluronik F68'in ise % 1'lik kloroformdaki çözeltisinde sodyum klorür hücresinde $4000-400 \text{ cm}^{-1}$ aralığında çekilmiştir. Spektrumlar Şekil 9-14'de gösterilmektedir.

II.2.1.2.3. Kırılma İndisi

Emülgatörlerin kırılma indisi 37°C 'da ölçülmüştür. Tween 60, Tween 80, soya ve yumurta lesitinde saf maddenin kırılma indisi, pluronik F 68'in ise sudaki %0.3 lük çözeltisinin kırılma indisi ölçülmüştür. 8 deneyin ortalaması olan sonuçlar Tablo 1'de gösterilmiştir.



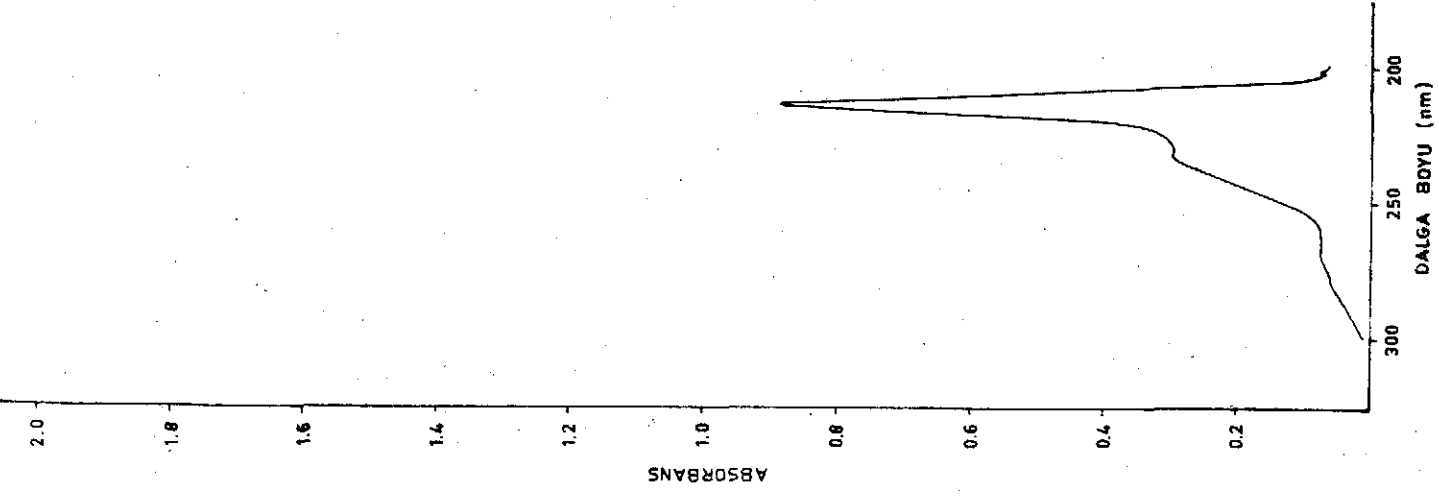
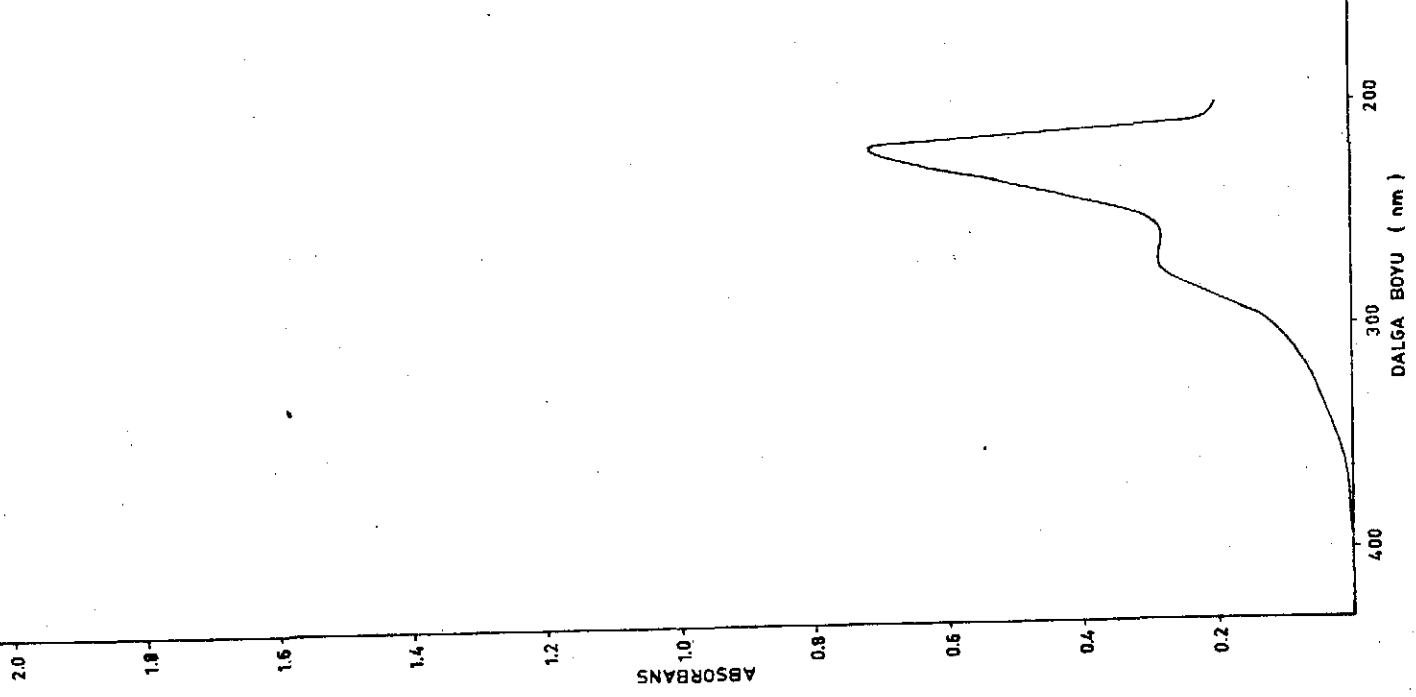
Şekil 5. Tween 80'in U.V. Spektrumu.

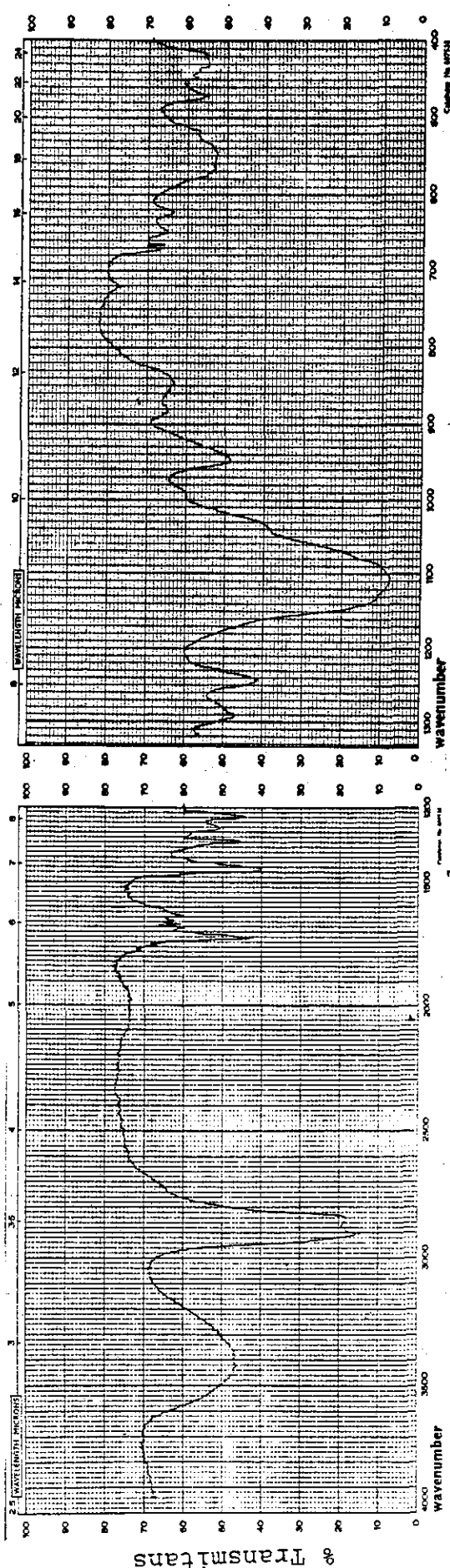


Şekil 6. Soya Lesitininin U.V. Spektrumu

Şekil 8. Standart Yumurta Lesitininin U.V. Spektrumu

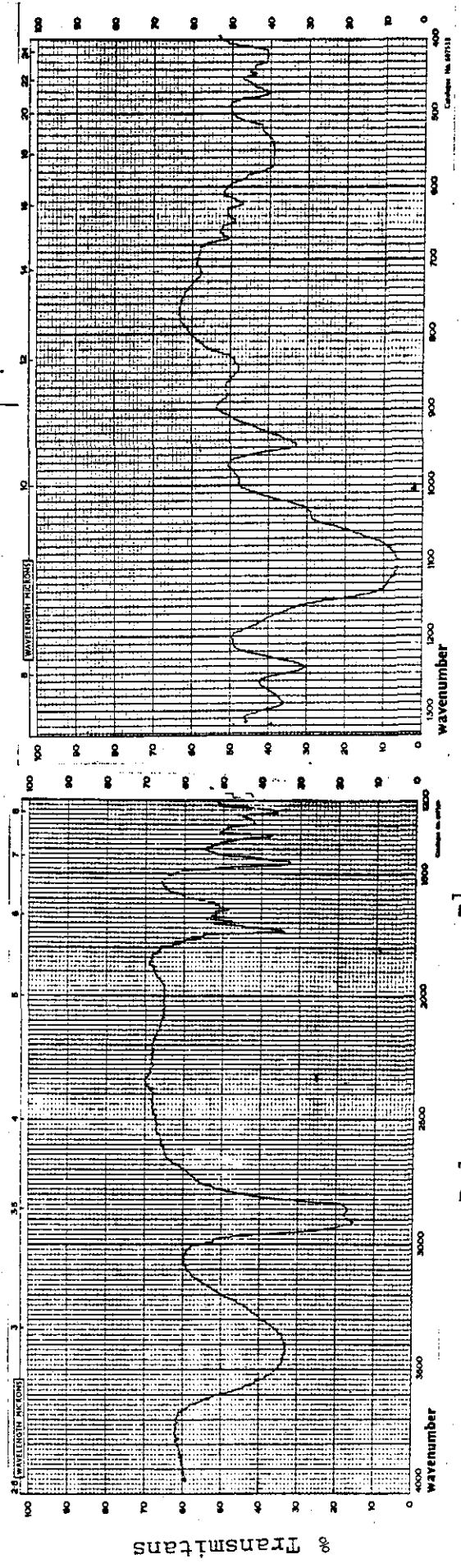
Şekil 7. Yumurta Lesitininin U.V. Spektrumu





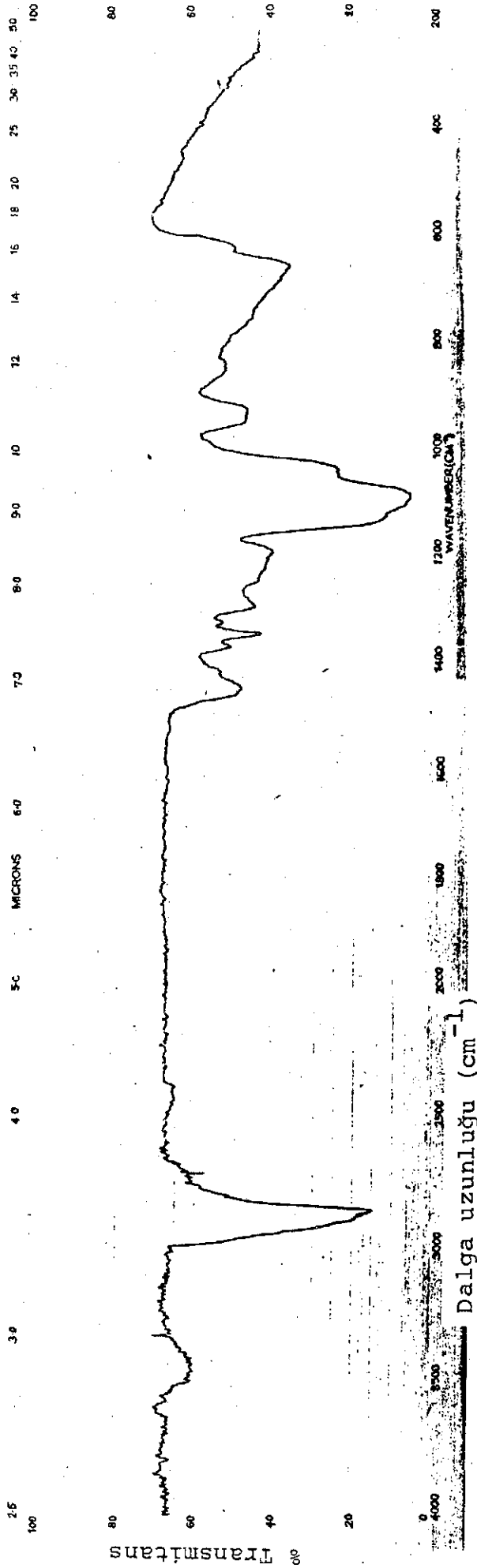
Dalga uzunluğu (cm^{-1})

Şekil 10. Tween 60'in I.R. Spektrumu

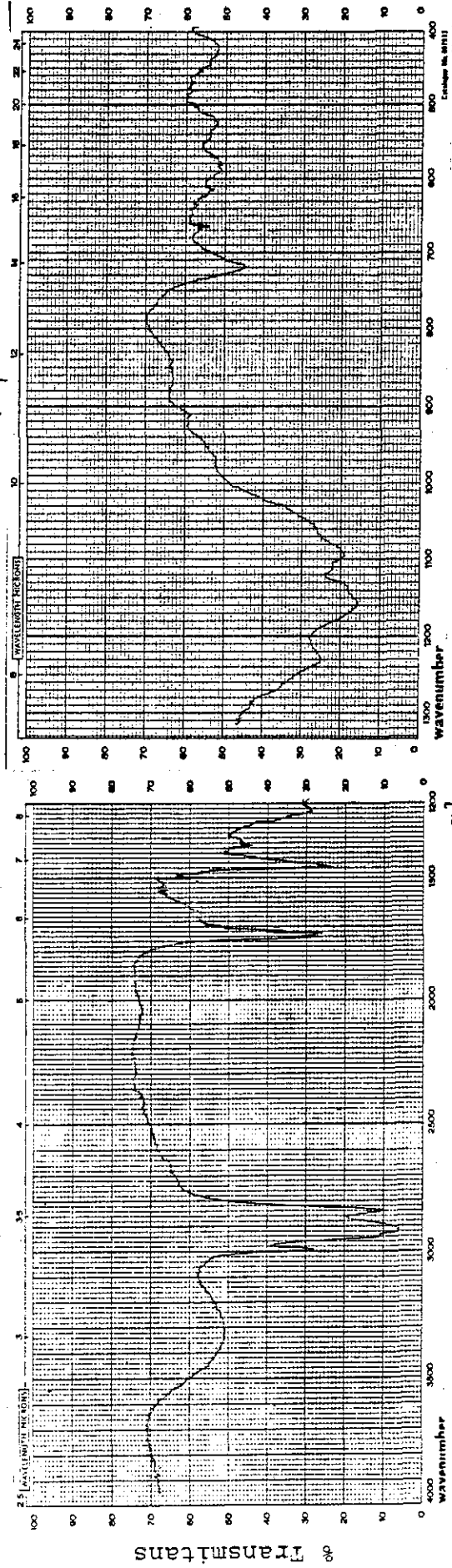


Dalga uzunluğu (cm^{-1})

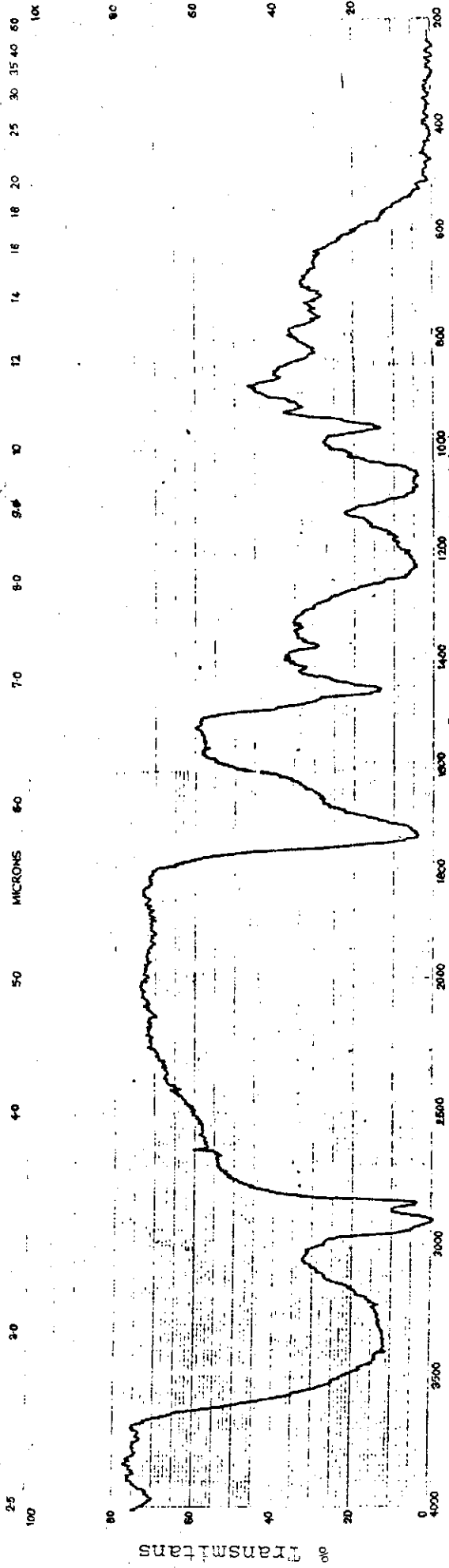
Şekil 9. Tween 80'in I.R. Spektrumu



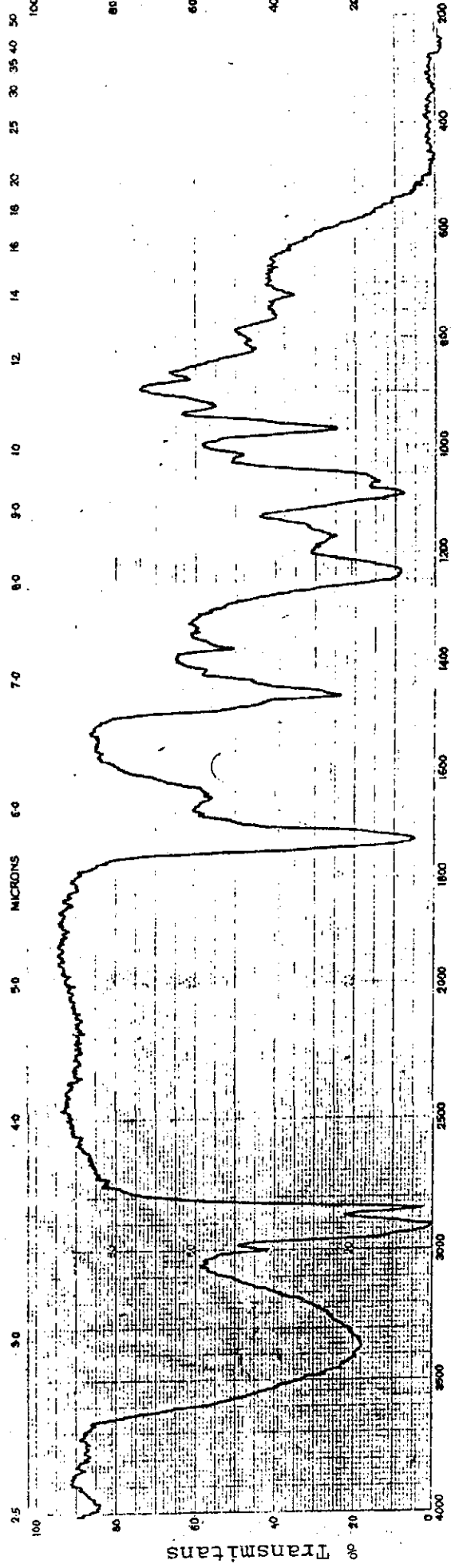
Şekil 12. Pluronic F 68'in I.R. Spektrumu



Şekil 11 Sorra Lecitininin I.R. Spektrumu



Şekil 14. Standart Yumurta lesitininin I.R. spektrumu



Şekil 13. Yumurta Lesitininin I.R. Spektrumu

II.2.1.2.4. Özgül Ağırlığı

Emülgatörlerin özgül ağırlığı 5 ml'lik piknometrelerde 37 °C'lik su banyosunda tayin edilmiştir. 5 deneyin ortalaması olan sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

II.2.1.2.5. pH

Emülgatörlerin pH'sı emülsiyon bileşimindeki konsantrasyonda sulu çözeltilerinde ölçülmüştür (Tablo 3). Veriler 5 deneyin ortalamasıdır.

II.2.1.2.6. Kritik misel konsantrasyonu

Tablo 4'de görülen emülgatörlerin kritik misel konsantrasyonu suda çözünenlerin sudaki ve yağda çözünenlerin yağdaki çözeltilerinde 37 °C lik su banyosunda Do Nouy tensiyometresi kullanılarak tayin edilmiştir. Yüzey gerilim konsantrasyonun logaritmasına karşı grafiklenmiştir. Belli bir konsantrasyon aralığında doğru sal ilişki elde edilmiş, bu konsantrasyondan sonra yüzey gerilimin değişmediği görülmüştür. Eğrinin doğrusal kısımları arasındaki konsantrasyon aralıkları daha sıklaştırılarak doğruların kesim noktaları bulunmuş ve kritik misel konsantrasyonları tesbit edilmiştir.

II.2.1.2.7. İletkenlik

Emülgatörlerin sulu çözeltilerinin iletkenlikleri emülsiyon bileşimindeki konsantrasyonlarda saptanmıştır. Tablo 5 ' de verilen bulgular 5 deneyin ortalamasıdır.

TABLO 1: EMÜLGATÖRLERİN 37 °C'da ÖLÇÜLEN KIRILMA İNDİSİ

EMÜLGATÖR	KIRILMA İNDİSİ								\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	V_K	
	1.462	1.462	1.462	1.463	1.462	1.462	1.462	1.462					1.462
Tween 60	1.462	1.462	1.462	1.463	1.462	1.462	1.462	1.462	1.462	1.462	0.0003	0.0001	0.0205
Tween 80	1.466	1.466	1.466	1.466	1.466	1.467	1.466	1.466	1.466	1.466	0.0003	0.0001	0.0204
Soya Lesitini	1.474	1.475	1.474	1.475	1.475	1.475	1.475	1.475	1.475	1.475	0.0005	0.0001	0.0339
Yumurta Lesitini	1.472	1.472	1.471	1.472	1.472	1.471	1.472	1.472	1.472	1.472	0.0004	0.0001	0.0271
Pluronic F68 (%0.3 sulu çöz.)	1.321	1.320	1.321	1.321	1.320	1.321	1.320	1.321	1.320	1.321	0.0005	0.0001	0.0378

TABLO 2: EMÜLGATÖRLERİN 37 °C'DA ÖLÇÜLEN ÖZGÜL AĞIRLIĞI

Emülgatör	Özgül Ağırlığı (37 °C)					\bar{X}	S	$S_{\bar{X}}$	V_K
Tween 60	1.0678	1.0660	1.0732	1.0742	1.0742	1.0710	0.0038	0.0016	0.3548
Tween 80	1.0750	1.0748	1.0751	1.0656	1.0730	1.0727	0.0040	0.0017	0.2330
Soya Lesitini	0.9631	0.9631	0.9606	0.9657	0.9671	0.9643	0.0025	0.0011	0.2592

TABLO 3: EMÜLGATÖRLERİN 25 °C'DA SULU ÇÖZELTİLERİNİN pH'SI

Emülgatör	pH					\bar{X}	S	$S_{\bar{X}}$	V_K
Tween 80 (%1)	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4	5.4	-	-	-
Tween 80 (% 1.5)	5	5.1	5	5	5	5.02	0.4635	0.2072	9.2330
Pluronic F68 (% 0.3)	5.9	5.9	5.9	5.9	6	5.92	0.4762	0.1972	8.0439

TABLO 4: EMÜLGATÖRLERİN 37 °C'DA ÖLÇÜLEN KRİTİK MİSEL KONSANTRASYONLARI

Emülgatörler	Kritik misel konsantrasyonu (g dl ⁻¹)			
	\bar{X}	S	S _x	V _k
Tween 60 (Distile su)	0.0375	0.005	0.0025	13.333
Tween 80 (Distile su)	0.0625	0.005	0.0025	8
Pluronic F 68 (Distile su)	0.09	0.005	0.0025	5.1282
Soyu lesitini (Soya yağı)	0.08	-	-	-
Yumurta lesitini (Soya yağı)	0.085	-	-	-
Soya lesitini (Pamuk yağı)	0.075	-	-	-
Yumurta lesitini (Pamuk yağı)	0.07	-	-	-

TABLO 5: EMÜLGATÖRLERİN 25 °C'DA SULU ÇÖZELTİLERİNİN İLETKENLİKLERİ

Emülgatör	İletkenlik (μ MHOS)					\bar{X}	S	S _x	V _k
Tween 60 (%1) x 10 ²	0.2	0.2	0.25	0.2	0.25	0.22	0.02	0.01	9.09
Tween 80 (%1.5) x 10 ²	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	-	-	-
Pluronic F 68 (%0.3) x 10	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	-	-	-

II.2.2. İntravenöz Emülsiyonların Hazırlanışı

Bu bölümde, farklı yağ, emülgatör ve izotoni ayarlayıcıları kullanılarak hazırlanan emülsiyonların bileşimine giren maddelerin özelliklerinin incelenmesinde, emülsiyonların formülasyonunda ve hazırlanan emülsiyon formüllerinin sterilizasyon, ambalajlama ve saklama şartlarında kullanılan yöntemler sırasıyla açıklanmıştır.

II.2.2.1. Formülasyona Giren Maddeler ve Kullanıldıkları Oranlar

II.2.2.1.1. Yağlar

II.2.1.1.'de fizikokimyasal özellikleri saptanmış ve standardize edilmiş olan pamuk yağı ve soya yağı, emülsiyonların hazırlanmasında % 10 oranında kullanılmıştır.

II.2.2.1.2. Emülgatörler

II.2.1.2'de fiziko kimyasal özellikleri belirtilmiş olan Tween 60, Tween 80, Pluronik F 68, soya lesitini alındıkları şekilde, yumurta lesitini ise ekstraksiyonla elde edildikten sonra intravenöz emülsiyonların hazırlanmasında kullanılmışlardır.

Saf yumurta lesitini, yumurta sarısından çözücü ekstraksiyonu ile ham lesitin halinde elde edildikten sonra alüminyum oksit kolonundan geçirilerek saflaştırılmış ve saflığı ince tabaka kromatografisi ile kontrol edilmiştir (121,122).

Çalışmamızda Singleton ve arkadaşlarının uyguladığı yöntem aynen kullanılmıştır (121). 500 g beyazlarından iyice ayrıl-

miş yumurta sarısı 1000 ml. aseton ile 25 °C'da 2-3 saat mekanik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Bir saat bekletildikten sonra boya maddeleri ve sabit yağları içeren aseton fazı alınmış ve kalan kısım 3 kez 200 ml'lik 15 °C'ye kadar soğutulmuş aseton ile yıkanmıştır. Elde edilen beyaz, pulsu görünümdeki artık, % 95'lik etanol ile ekstre edilmiş ve etanol fazı 50 °C'yi geçmeyen sıcakta azot gazı altında rotovaporda buharlaştırılmıştır. Yoğunlaştırılan ham lesitin, 300 ml. petrol eteri ile ekstre edildikten sonra tekrar yoğunlaştırılarak 1000 ml. 15 °C'da aseton ilavesi ile ham lesitin çöktürülmüştür. (Tablo 6). Çökelek, aseton ile yıkanmıştır. 1 g. ham lesitin için 25 g aktif bazik alüminyum oksit kullanılarak alt ucuna cam pamuğu ve süzgeç kağıdı koyulan kolona kloroform ile bulamaç haline getirilip bir defada doldurulur. Kolon üzerinde 5 cm kloroform kalıncaya kadar akıtılır. Ham lesitin kloroformdaki % 5'lik çözeltisi kolona uygulandıktan sonra kloroform: metanol (9:1 h/h) çözücü sistemi eklenerek kolondan 10 ml./dak. hızda kısımlar alınmış, ayrı ayrı kaplarda toplanarak buzdolabında saklanmıştır. Fraksiyonlar silikajel G (20/40) ile hazırlanan 250 µm kalınlığındaki plaklara uygulanmıştır. Standart lesitin 2 µg/ml konsantrasyonda kloroform: metanol çözücü karışımındaki çözeltisinden 20 µl. uygulanmıştır. Kloroform: Metanol: Su (65:25:4 h/h/h) oranında hazırlanan çözücü sisteminde 45 dakika oda ısısında sürüklenen plaklara % 50 H₂ SO₄ püskürtülüp 150 °C'da bir saat etüvde bekletilmiştir (123). Bu fraksiyonlar sabit yağ, lizolesitin, lesitin, sifingomiyelin ve sefalinlerdir. 3,4,5 inci fraksiyonlarda elde edilen saf lesitin Rf değeri 0.34 olarak bulunmuştur. 3,4,5

inci fraksiyonların 50 °C'yi geçmeyen sıcaklıkta azot gazı altında kuruluğa kadar yoğunlaştırılması sonucu saf lesitin elde edilmiştir (Tablo 7).

TABLO 7: SAF LESİTİN ELDESİ

625 g alüminyum oksit + 700 ml. kloroform kolona bir defada doldurulur.

↓

% 0.5'lik ham lesitin kloroformdaki çözeltisi ilave edilir. 10 ml/dak. hızda akacak şekilde ayarlanır.

↓

Kloroform: Metanol (9:1) (h/h) karışımı eklenir.

↓

Fraksiyonlar ayrı kaplara toplanır.

↓

Silikagel G ile hazırlanan plaklara tatbik edilir.

↓

Kloroform: Metanol: Su
65 : 25 : 4 (h/h)

↓

Çözücü sisteminde sürüklenir.

↓

%50 H₂SO₄ püskürtülüp 150 °C'da 1 saat etüvde bekletilir.

↓

2,3,5 inci fraksiyonların Rf değeri hesaplanır.
2,3,5 inci fraksiyonlar azot gazı altında vakumda yoğunlaştırılır.

II.2.2.1.3. Su

Pirojensiz yeni distillenmiş su kullanılmıştır. Kullanılan suyun pH'sı 6.4, yüzey gerilimi 72.5 mNm^{-1} , iletkenliği $0.18 \times 10 \mu\text{MHOS}$ olarak saptanmıştır.

II.2.2.1.3. İzotoni Ayarlayıcı Maddeler

Hazırlanan intravenöz emülsiyonlarda izotoni ayarlayıcı madde olarak sorbitol ve gliserol kullanılmıştır. Gliserolün hemolitik etkisinin olması, buna karşılık sorbitol ile hazırlanan emülsiyonlarda sterilizasyondan sonra bazen faz ayrımı görülmesi nedeniyle, her iki izotoni ayarlayıcı madde ile hazırlanan emülsiyonların stabilite ve toksisitelerinde görülen farklılıklar araştırılmıştır. Kullanılan gliserol ve sorbitolün özellikleri Tablo 8'de gösterilmiştir.

II.2.2.1.5. pH Ayarlayıcı Maddeler

Çalışmamızda emülsiyonların pH'sı sulu faza % 10 disodyum hidrojen fosfat eklenerek 7'ye ayarlanmıştır.

II.2.2.1.6. Antioksidanlar

Antioksidan olarak % 0.05 konsantrasyondaki DL α tokoferol yağ fazına eklenmiştir. Tokoferol toksisitesinin düşük olması ve insan vücudunda kolaylıkla metabolize olması nedeniyle yeğlenmiştir.

TABLO 8: İZOTONİ AYARLAYICI MADDELERİN FİZİKSEL ÖZELLİKLERİ

Fiziksel özellikleri	Sorbitol					Gliserol				
	\bar{x}	S	S_x^2	V_K		\bar{x}	S	S_x^2	V_K	
pH	5.8	0.0843	0.0377	1.464		5.98	0.0447	0.2	0.7474	
Kırılma indisi	1.459	-	-	-		1.472	-	-	-	
Dansite	1.255	0.0011	0.0001	0.0876		1.260	0.0009	0.0004	0.0714	

II.2.2.2. Intravenöz Emülsiyonların Formülasyonu ve Saklanması

Emülsiyonların formülasyonunda yağ fazı olarak soya ve pamuk yağı, emülgatör olarak da Tween 60, Tween 80, Pluronik F 68, soya lesitini ve yumurta lesitini kullanılmıştır. Ayrıca her formülün izotonisitesi sorbitol ve gliserol ile ayarlanmıştır. İzotoni ayarlayıcı maddelerin stabiliteye etkisi araştırılmıştır.

Emülsiyonlar ultrasonik titreşimli karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. Ultrasonik titreşimli karıştırıcı ile hazırlanan emülsiyonlarda, karıştırma süresinin emülsiyon hacminin ve uygulanan voltajın partikül büyüklüğü üzerine etkisi olup olmadığı araştırılmıştır.

Hazırlanan emülsiyonlar, G₃ porselen filtresinden süzldükten sonra 170 °C'da 2 saat etüvde sterilize edilmiş olan 100 ml'lik şişelere 80 ml. koyularak kapatılmışlardır. Bu şekilde şişe üzerinde oluşacak buhar basıncı ile kapakların atılması önlenmiş ve tüm şişelerde oluşabilecek oksidatif değişiklikler sabit tutulmuştur. Kullanılan şişelerin alkalenlik sınır testi T.F. 1974 zeyil 35'e göre yapılmıştır. T.F.1974'e göre 100 ml. yi geçmeyen kaplarda 0.01 N. sülfürük, asitden 1.5 ml' den fazla harcanılmaması gereklidir. Çalışmamızda 0.01N sülfürik asitden 0.6 ml. sarfedildiğinden şişelerin alkalenlik sınırınının T.F.1974 standartlarına uyduğu gösterilmiştir.

Kapatılan emülsiyonlar daha sonra T.F. 1974'de göre otoklavda 115-116 °C'da 30 dakika sterilize edilmişlerdir.

Sterilizasyonu tamamlanan emülsiyonlar 4 °C'da buzdolabında, 20, 40 °C'da etüvde karanlıkta ve 40 °C'da su banyosunda ışıkta 6 ay bekletilerek oluşan değişiklikler gözlenmiş; ışığın, sıcaklığın ve saklama süresinin stabilite üzerine etkisi incelenmiştir.

II.2.3. Intravenöz Emülsiyonların Stabilite Çalışmaları

Intravenöz emülsiyonları uzun süre bekletme sonucu, pH, serbest yağ asidi, partikül büyüklüğü, viskozite, santrifüjle ayrılan kısım ve iletkenlik gibi fiziksel özelliklerinde ve toksisitesinde fark olacağı, düşünülmesi gereken bir konu olduğundan, hazırlanan ve Tablo 9'da kodlanan emülsiyonlar ile Intralipid^R (Vitrum AB) intravenöz emülsiyonu örneği 6 ay boyunca 4, 20 ve 40 °C'larda karanlıkta ve 40 °C da ışıkta bekletildikten sonra her ay sonunda yukarıda saydığımız fiziksel özelliklerindeki farkların incelenmesindeki yöntemler bu kısımda belirtilmiştir.

Diğer taraftan, intravenöz emülsiyonlara izotonisite ayarlayıcı olarak eklenebilen gliserol ve sorbitolün bekleme sonucu emülsiyonların fiziksel özelliklerinde nasıl bir etki yapacağını belirtmek için formüller hem gliserol ve hemde sorbitol içerecek şekilde hazırlanmışlardır.

II.2.3.1. İzotoni Ayarlayıcı Maddelerin İlavesi

Her emülsiyon formülünün izotonikliği sorbitol ve gliserol kullanılarak ayarlanmış ve izotoni ayarlayıcı maddelerin

TABLO 9: HAZIRLANAN EMÜLSİYON FORMÜLLERİ VE BİLEŞİMİ

Emül- siyon koçu	Madde- ler	Pamuk Yağı (g)	Soya Yağı (g)	Soya Lesitini (g)	Yumurta Lesitini (g)	Pluronik F 68 (g)	Tween 60 (g)	Tween 80 (g)	Sorbitol (g)	Gliserol (g)	DL Tokoferol (g)	İnjesiyon luk su (ml)k.g.m.
E ₁		10	—	1.20	—	—	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₂		10	—	—	1.20	—	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₃		10	—	1.20	—	0.30	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₄		10	—	—	1.20	0.30	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₅		10	—	—	—	—	1.00	—	—	2.27	0.05	100
E ₆		10	—	—	—	—	—	1.50	—	2.28	0.05	100
E ₇		10	—	1.20	—	—	—	—	6.84	—	0.05	100
E ₈		10	—	—	1.20	—	—	—	6.84	—	0.05	100
E ₉		10	—	1.20	—	0.30	—	—	6.84	—	0.05	100
E ₁₀		10	—	—	1.20	0.30	—	—	6.86	—	0.05	100
E ₁₁		10	—	—	—	—	1.00	—	6.86	—	0.05	100
E ₁₂		10	—	—	—	—	—	1.50	6.82	—	0.05	100
E ₁₃		—	10	1.20	—	—	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₁₄		—	10	—	1.20	—	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₁₅		—	10	1.20	—	0.30	1.00	—	—	2.28	0.05	100
E ₁₆		—	10	—	1.20	0.30	—	1.50	—	2.27	0.05	100
E ₁₇		—	10	—	—	—	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₁₈		—	10	—	—	—	—	—	—	2.27	0.05	100
E ₁₉		—	10	1.20	—	—	—	—	6.84	—	0.05	100
E ₂₀		—	10	—	1.20	—	—	—	6.84	—	0.05	100
E ₂₁		—	10	1.20	—	0.30	1.00	—	6.86	—	0.05	100
E ₂₂		—	10	—	1.20	0.30	—	—	6.82	—	0.05	100
E ₂₃		—	10	—	—	—	—	—	6.84	—	0.05	100
E ₂₄		—	10	—	—	—	—	1.50	6.84	—	0.05	100

Su fazına % 10'luk disodyum hidrojen fosfat ilavesi ile pH 7'ye ayarlanmıştır.

stabiliteye etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır.

II.2.3.2. Fiziksel Özelliklerindeki Değişmelerin İncelenmesi

II.2.3.2.1. pH'daki Değişmelerin İncelenmesi

4, 20, 40 °C'larda 6 ay süre ile saklanan emülsiyonlarda sterilizasyondan hemen sonra ve her ay pH'lar pH metre ile kontrol edilmiştir. Sonuçlar Tablo 11-14'de gösterilmiştir. Elde edilen değerler arasında fark olmadığından standart sapma, standart hata ve varyasyon katsayısı verilmemiştir.

II.2.3.2.2. Serbest Yağ Asidinde Değişmelerin İncelenmesi

Hazırlanan emülsiyonlarda otoklav sterilizasyonundan hemen sonra ve 4,20, 40 °C'larda 6 ay boyunca her ay serbest yağ asidi miktarı saptanmıştır.

Serbest yağ asidi tayininde, Itaya'nın geliştirdiği kolorimetrik yöntem uygulanmıştır (124). Asitlik, palmitik, olik ve stearik asit cinsinden saptanmıştır. Standart eğri için palmitik, oleik, stearik asidin 0.0025, 0.0050, 0.0075, 0.01, 0.0125, 0.0150, 0.0175, 0.02 $\mu\text{Eq ml}^{-1}$ konsantrasyonlardaki kloroformdaki çözeltileri kullanılmıştır. 10-50 μl . emülsiyon üzerine (ya da stearik, palmitik, oleik asidin kloroformdaki çözeltisi üzerine) 8 ml kloroform 1 ml (pH 6-7) fosfat tamponu eklenip 80 saniye bir tüp içerisinde çalkalanmıştır. 15 dakika bekletildikten sonra kloroform fazı başka bir tüpe aktarılarak kloroform fazı üzerine 4 ml. bakır tri etanol amin çözeltisi

1M. trietanolamin - 9 ml.

1N asetik asit - 1 ml.

% 6.45 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ - 10 ml.

ilave edilmiş ve 20 kez çalkalanmıştır. 15 dakika bekletildikten sonra üst faz ayrılmıştır. 2 ml. kloroform fazına 1 ml.

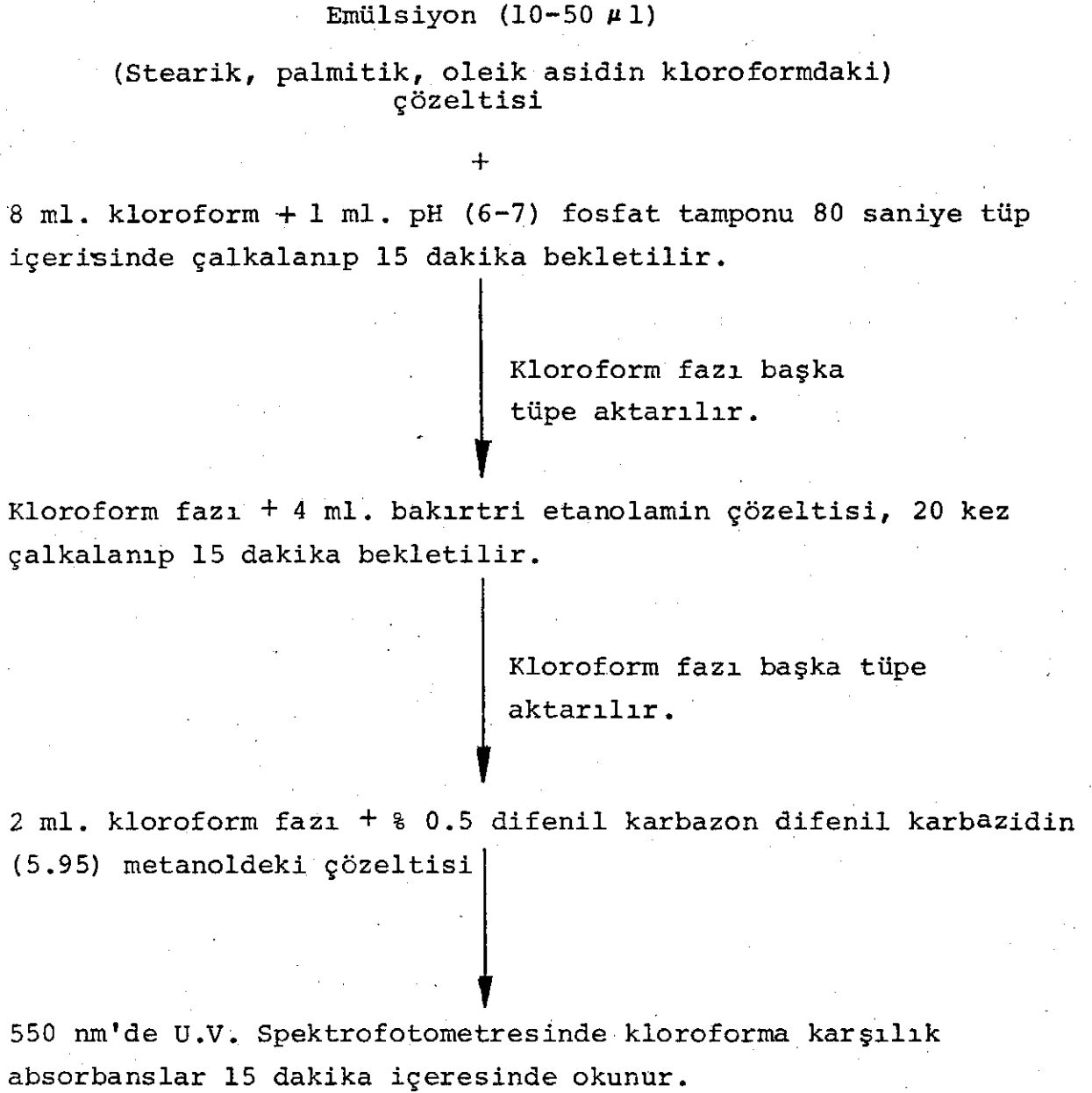
% 0.5'lik difenil karbazon, difenil karbazidin (5:95) metanoldeki çözeltisinden ilave edilerek 550 nm'de 15 dakika içerisinde kloroforma karşı, U.V. spektrofotometresinde absorpsiyonlar okunmuştur (Tablo 10).

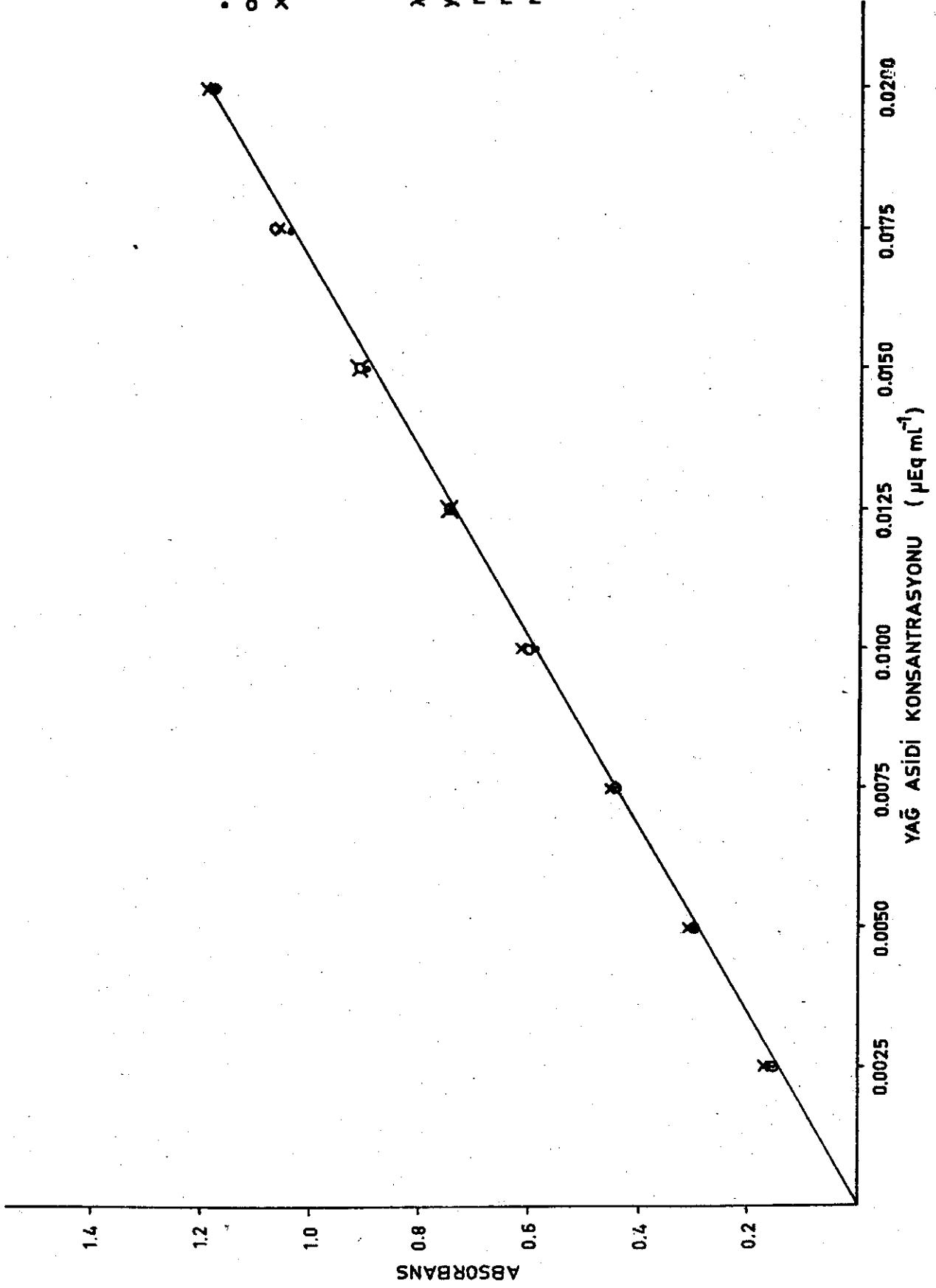
Stearik, palmitik ve oleik asit ile hazırlanan standard eğri Şekil 15'de gösterilmiştir. Serbest yağ asidi miktarı $y = 0.011 + 59.093X$ denkleminde hesaplanmış ve Tablo 15-18'de gösterilmiştir.

II.2.3.2.3. Partikül Büyüklüğündeki Değişmelerin İncelenmesi

Partikül büyüklüğü, optik mikroskopta, emülsiyonların distile su ile seyreltilmesinden sonra, partiküllerin sayılması ile saptanmıştır. Sterilizasyondan hemen sonra partikül büyüklüğü sayılarak partikül büyüklüğüne karşı % kümülatif sıklığın (frekansın) grafiklenmesinden elde edilen eğrilerden d_0 ve d_t saptanarak d_t/d_0 oranı bulunmuş ve Tablo -19-22'de gösterilmiştir. Burada d_0 = sterilizasyondan hemen sonraki % 50 kümülatif sıklığa karşı gelen çap ve d_t ise her ay yapılan partikül büyüklüğü kontrollerinde % 50 kümülatif sıklığa karşı gelen çaptır.

TABLO 10: SERBEST YAĞ ASİDİ MİKTAR TAYİNİ





Şekil 15. Standart Eğri

II.2.3.2.4. Viskozitedeki Değişmelerin İncelenmesi

Emülsiyonların viskoziteleri her ay sonunda bekletildikleri sıcaklıklarda (4 °C, 20 °C, 40 °C) kılcal viskometre (ubbelohde App Nr. 22998 $k = 0.01000$) ile saptanmıştır. Emülsiyonların yoğunluğuda 4, 20 ve 40 °C'larda saptandıktan sonra eşitlikden yararlanılarak dinamik viskoziteleri, poise cinsinden hesaplanmıştır ve 5 deneyin ortalaması olarak Tablo 23-26'da gösterilmiştir.

$$\eta = k \times t \times d - \text{Eşitlik}$$

$$\eta = \text{Dinamik viskozite (poise)}$$

$$k = 0.01000 \text{ (Viskometreye ait sabite)}$$

$$t = \text{Akış süresi (saniye)}$$

$$d = \text{Yoğunluk}$$

II.2.3.2.5. Santrifüjle Ayrılan Kısımdaki Değişmelerin İncelenmesi

Emülsiyonlar 6 ay süre ile her ay sonunda, 3500 rpm'de 15 dakika santrifüj edildikten sonra ayrılan faz ölçülerek buradan ayrılan faz yüzdesi hesaplanmıştır. Sonuçlar 4 deneyin ortalaması olarak Tablo 27-30'da gösterilmiştir.

II.2.3.2.6. İletkenlikteki Değişmelerin İncelenmesi

100 ml'lik mezürler içerisinde iletkenlik ölçeri ile emülsiyonların iletkenlikleri μ MHOS cinsinden saptanmış ve sonuçlar Tablo 31-34'de gösterilmiştir. Elde edilen veriler

arasında fark olmadığından standart sapma, standart hata, varyasyon katsayısı verilmemiştir.

II.2.4. Intravenöz Emülsiyonların Toksisite Çalışmaları

Intravenöz emülsiyonların kronik toksisiteleri yapılan tavşan deneyleri ile saptanmıştır.

Fiziksel stabilite çalışmaları sonucunda en stabil olduğu saptanan emülsiyon formülleri (E_5 ve E_{11}) 2 g yağ kg^{-1} olacak şekilde tavşanlara verilerek tavşanların ağırlıklarında ve hayvanlardan alınan kandaki hemoglobin, hematokrit, eritrosit ve lökosit miktarındaki değişmeler gözlenmiştir.

Kronik toksisite ile ilgili çalışmalar kullanılan yöntemler ve tayinler aşağıda verilmiştir.

II.2.4.1. Kronik Toksisite Çalışmaları

Intravenöz emülsiyonların kronik toksisite çalışmaları, serum çiftliğinden sağlanan ağırlıkları 2.5-3.5 kg arasında olan beyaz erkek tavşanlarda yapılmıştır. Enjeksiyondan önce, 10 gün süre ile tavşanlar gözlenmiş ve bu süre içerisinde hayvanların istedikleri zaman yemek yemelerine ve su içmelerine izin verilmiştir. Enjeksiyondan önce kalpten alınan 2 ml. kan üzerinde kan sayımı yapılmıştır. Yeni hazırlanan E_5 ve E_{11} kod numaralı emülsiyonlar 2 kg yağ kg^{-1} dozda olacak şekilde, kulak venasından, 1 ml. si 2.5 dakika hızda her gün 5 gün süre ile enjekte edilmiştir. Enjeksiyon sonrasında, kalpten tekrar kan

alınmış ve hemoglobin, hematokrit, eritrosit ve lökosit sayısı saptanarak hazırlanan emülsiyonların hemoliz yapıp yapmadığı ve anemiye neden olup olmadığı incelenmiştir.

Bu tayinler aşağıdaki şekilde gerçekleştirilmiştir:

Hemoglobin sayımı: Sahli hemometer yöntemi uygulanmıştır (125). Bu yöntemin esası 0,1N HCl karşısında hemoglobinin kahverengi asid-hematine (hemin-Cl) dönmesidir. Tüpün içerisinde ön tarafta hemoglobin yüzdeleri arka tarafında ise buna karşı gelen hemoglobin grafları vardır. Kalibre edilmiş tüpün içine 0,1NHCl 10 seviyesine kadar konduktan sonra sahli pipeti ile kan 0,02 ye kadar alınır, tüpe konulur. 10 dakika beledikten sonra tüpteki çözeltinin rengi skaladaki renge uyuncaya kadar tüpe distile su eklenir. Okunan rakam hemoglobin sayısını verir.

Hematokrit Sayımı: Heparinli hemotokrit tüplerine 10 çizgisine kadar alınan heparinli kan, 10.000 devir/dakika hızda 5 dakika özel santrifüjde santrifüj edilir. Tüpün alt kısmında eritrosit, üstünde lökosit ve trombositte oluşan tabaka vardır. Okuma iki tabakanın birleştiği siyah renkli yerde yapılır (125).

Eritrosit Sayımı: Özel eritrosit pipetine 0,5 çizgisine kadar heparinli kan 101 çizgisine kadar hayem çözeltisi çekilir. 3 dakika çalkalandıktan sonra pipetten 4 damla çözelti dışarı atılır ve küçük bir damla Thoma lamı üzerine konur. Hava kabarcığı kalmayacak şekilde lamel ile kapatılır. Mikroskopta Thoma lamı üzerindeki 5 büyük kare üzerindeki eritrositler sayılır, bulunan sayı 10.000 ile çarpılarak mm^3 deki eritrosit

sayısı bulunur (125, 126).

Hayem Çözeltisi: Sodyum sülfat	2.5 g
Sodyum klorür	0.5 g.
Civa klorür	0.25 g.
Distile su	100 ml.

Lökosit Sayımı: Özel lökosit pipeti ile 0.5 çizgisine kadar heparinli kan, 11 çizgisine kadar lökosit çözeltisi çekilir. Pipet iyice sallanıp 3 dakika bekletildikten sonra 4 damla çözelti dışarı atılır. Thoma lamı üzerine 1 damla çözelti damlatılıp hava kabarcığı olmayacak şekilde lamel kapatılır. Mikroskopta 16 büyük kare içerisindeki lökositler sayılır. Bulunan sayı 200 ile çarpılarak mm^3 'deki lökosit sayısı hesaplanır (125,126).

Lökosit Çözeltisi: Jansiyon viyole (%1)	1 ml
Glasiyal asetik asit	3 ml
Distile su k.m	100 ml.

III. BULGULAR

Bu çalışmada elde edilen bulgular 2 ayrı grup altında toplanmıştır.

Birinci bölümde 6 ay farklı sıcaklıklardan (4 °C, 20 °C, 40 °C) karanlıkta ve ışıktaki bekletme sonucu emülsiyonların fiziksel özelliklerinde gözlenen değişimler yer almaktadır.

İkinci bölümde ise, yeni hazırlanan intravenöz emülsiyonların kronik toksisitelerinin, yapılan tavşan deneyleri ile saptanması sonucunda, tavşanların ağırlıklarında, hemoglobin, eritrosit, lökosit ve hematokrit sayılarındaki farklılıklar gözönünde tutularak deney öncesi miktarlar ile karşılaştırılması yapılmaktadır.

III.1. Bulguların Sunuluşu

Intravenöz emülsiyonların fiziksel özelliklerindeki değişimler, zamana ışığa ve sıcaklığa bağımlı olduğundan bu çalışmalardan elde edilen bulgular, zamana karşı farklı sıcaklıklarlarda, pH, serbest yağ asidi, partikül büyüklüğü (d_o/d_t), viskozite, santrifüj ile ayrılan kısım yüzdesi ve iletkenlikteki değişimlerin çizilmesiyle elde edilen grafikler ve tablolarda gösterilmiştir. Tablolarda ve çizilen grafiklerde deneysel noktalar en az 4 en çok 8 deneyin ortalaması olup her bir deneysel bulguya ait ortalamanın standart hatası, standart saptaması ve varyasyon katsayısı gösterilmiştir.

Değişkenler arasındaki ilişkiler en anlamlı olarak doğrusal bir bağlantı verecek şekilde gösterilmelidir. Bu amaçla değişkenlerin normal-normal, log-normal ve log-log grafikleri çizilmiş fakat doğrusal bir ilişki hiçbirisinde elde edilememiştir. Bu nedenle bulguları en açık bir şekilde gösteren ve Boberg ve Hakansson'unda (82) uyguladığı normal grafik kağıdına çizim daha uygun bulunarak bulgular milimetrik kağıt üzerinde gösterilmiştir.

Grafiklenen veriler 4,20 ve 40 °C'da (karanlık ve ışıkta) sadece en dayanıklı emülsiyonu veren pamuk yağı-Tween 60 - gliserol (E₅) ve pamuk yağı-Tween 60 - sorbitol (E₁₁) ile en dayanıksız emülsiyon formülasyonu olan soya yağı-soya lesitini-sorbitol (E₁₉)'un sonuçlarıdır. Verilerin çakıştığı durumlarda sadece E₅ ve E₁₉ grafiklenmiştir.

III.2. Intravenöz Emülsiyonların Hazırlanışı

Intravenöz emülsiyonların hazırlanmasında soya ve pamuk yağı % 10 oranında kullanılmıştır.

Emülgatör olarak kullanılan soya lesitini ve yumurta lesitini, intralipid^R formülü esas alınarak, % 1.2 oranında kullanılırken, pluronik F 68 konsantrasyonu, pamuk yağı emülsiyonu olan Lipiphysan esas alınarak % 0.3 oranında kullanılmıştır. Tween 60 ve Tween 80 konsantrasyonları, farklı konsantrasyonlarda emülsiyonların hazırlanıp en dayanıklı emülsiyonun saptanmasıyla seçilmiştir. Tween 60 ve Tween 80 ile, % 0.5, %1, % 1.5 konsantrasyonlarda emülsiyon hazırlanmış ve Tween 60 için en

dayanıklı ve küçük partiküllü emülsiyon oluşturan konsantrasyonun % 1 olduğu, Tween 80 için ise % 1.5 olduğu saptanmıştır. Hazırlanan emülsiyon formülleri Tablo 9'da gösterilmiştir.

Intravenöz emülsiyonlar ultrasonik titreşimli karıştırıcı kullanılarak hazırlanmıştır. En uygun karıştırma devri ve süresini saptamak için ön deneyler yapılmıştır.

Ön çalışmalarda, 4,5 ve 6 devirde 5,7,10 ve 15 dakika süre ile ultrasonik titreşimli karıştırıcıda karıştırılarak emülsiyonlar hazırlanmış ve partikül büyüklükleri mikroskopta incelenmiştir. En uygun karıştırma süresinin 6 devirde 15 dakika olduğu saptanmıştır. En uygun devir/dakikanın bulunmasından sonra 6 devirde 15 dakika süreye ile 20,50 ve 100 ml.'lik hacimde emülsiyonlar hazırlanarak partikül büyüklüğü mikroskopta incelenmiş ve partikül büyüklüklerinde her hangibir fark gözlenmemiştir. Bu bulgulara dayanılarak emülsiyonlar 6 devirde, 67 Watta, 15 dakika ultrasonik titreşimli karıştırıcıda karıştırılarak hazırlanmıştır. Soya lesitini, yumurta lesitini gibi yağda çözünen emülgatörler ve DL α tokoferol yağ fazında, Tween 60, Tween 80, Pluronik F 68 gibi suda çözünen emülgatörler ve izotoni ayarlayıcı maddeler su fazında çözünmüşlerdir. Sonra her iki faz 70 °C'ye kadar su banyosunda ısıtılmış ve yağ fazına, karıştırılarak, su fazı ilave edilmiştir. Karıştırma sırasında emülsiyonunun ısınmasını önlemede buz banyosunun etkisi araştırılmış ve buz banyosu kullanılarak ve kullanılmadan emülsiyonlar hazırlanmıştır. Hazırlanan bu emülsiyonların partikül büyüklüğüne ve otoklavda sterilizasyona dayanıklılığında farklılık görülmediğinden çalış-

mamızda buz banyosu kullanılmadan emülsiyonlar hazırlanmıştır.

Hazırlanan emülsiyonların pH'sını 7'ye ayarlamak için iki ayrı elektrolit çözeltisi denenmiştir. Bunlardan birisi, gliserol ve sorbitol ile izotonik hale getirilmiş pH 7 fosfat tamponudur. Diğeri ise gliserol ve sorbitol ile izotonik hale getirilen sulu faza eklenen % 10'luk disodyum hidrojen fosfat çözeltisidir. Fosfat tamponu ile pH ayarı yapılan emülsiyonlarda otoklav sterilizasyonundan sonra faz ayrımı olduğu, % 10 disodyum hidrojen fosfat ile pH ayarı yapılan emülsiyonların ise otoklav sterilizasyonuna dayanıklı olduğu saptanmıştır. Buna dayanarak, çalışmalarımızda sulu faza % 10 disodyum hidrojen fosfat eklenerek pH 7'ye ayarlanmıştır.

Emülsiyonlar sulu faza % 2.6 gliserol veya % 5.48 sorbitol eklenmek suretiyle izotonik yapılmışlardır.

Hazırlanan emülsiyonların 120 °C'da 20 dakika otoklavda sterilize edilmesinden sonra faz ayrımı görülmesi üzerine emülsiyonlar 110 °C'da 30 dakika ve 115 °C'da 30 dakika sterilize edilmişlerdir. 115 °C'da 30 dakika otoklavda sterilizasyonundan sonra faz ayrımı olmadığından ve bu sıcaklık ile sürenin, T.F.1974'ün önerdiği sterilizasyon olduğundan hazırlanan emülsiyonlar 115 °C'da 30 dakika süre ile otoklavda sterilize edilmişlerdir.

III.3. Intravenöz Emülsiyonların Stabilitesi

Hazırlanan emülsiyonlar zamanın, sıcaklığın ve ışığın etkisini incelemek üzere 6 ay bekletilmiş ve her ay sonunda, pH,

serbest yağ asidi partikül büyüklüğü, viskozite, santrifüjle ayrılan kısım yüzdesi ve iletkenliklerindeki değişmeler gözlenmiştir.

III.3.1. Zamanın Fizikokimyasal Özelliklerdeki Değişmelere Etkisi

Bu başlık altında bekletmenin fizikokimyasal özellikler üzerine etkisine ait bulgular incelenecektir.

III.3.1.1. pH

Hazırlanan intravenöz emülsiyonların pH'sı % 10'luk disodyum hidrojen fosfat çözeltisi ile pH 7'ye ayarlanmıştır. Tablo (11-14)'de gösterilen zamana bağlı olarak pH'da gözlenen değişiklikler incelendiğinde, 6 ay sonunda intravenöz emülsiyonların pH'sında belirgin bir düşüş olduğu görülmüştür. pH'da zamana bağlı gözlenen bu düşüş sterilizasyondan hemen sonrada kendini göstermiş ve her ay sonunda daha da artmıştır.

Tablo (11-14)'den görüldüğü gibi pamuk yağı, gliserol ve pamuk yağı, sorbitol ile hazırlanan emülsiyonların pH'sındaki düşüş soya yağı, gliserol ve soya yağı, sorbitol ile hazırlanan dan daha azdır. Ayrıca lesitin ile hazırlanan emülsiyonların pH düşüşü daha fazladır.

Şekil 16'da, pH'sında en az (E_5) ve en çok (E_{19}) düşüşün gözlendiği emülsiyonlar grafiklenmiştir. pH'daki bu düşüş, Şekil 16'dan da görüldüğü üzere sterilizasyondan hemen sonrada belirgindir.

TABLO 11. 4 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN pH'SINDA GÖZLENEN DEĞİŞMELER

Emül- siyon kodu	Zaman (ay)	pH						
		Steriliz. sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁		6.8	6.5	6.5	6.4	6.3	6.3	6.2
E ₂		6.9	6.9	6.6	6.5	6.5	6.4	6.4
E ₃		6.8	6.7	6.4	6.4	6.4	6.4	6.2
E ₄		6.8	6.8	6.8	6.6	6.5	6.4	6.4
E ₅		6.9	6.8	6.8	6.8	6.7	6.7	6.7
E ₆		6.9	6.7	6.6	6.6	6.5	6.5	6.5
E ₇		6.8	6.8	6.8	6.6	6.5	6.5	6.5
E ₈		6.8	6.8	6.8	6.6	6.5	6.5	6.3
E ₉		6.8	6.5	6.5	6.3	6.3	6.2	6.1
E ₁₀		6.8	6.8	6.6	6.6	6.4	6.4	6.3
E ₁₁		6.8	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6
E ₁₂		6.8	6.8	6.6	6.6	6.5	6.3	6.3
E ₁₃		6.9	6.6	6.6	6.5	6.4	6.4	6.4
E ₁₄		6.8	6.8	6.7	6.5	6.5	6.4	6.4
E ₁₅		6.8	6.6	6.5	6.5	6.5	6.4	6.4
E ₁₆		6.8	6.8	6.6	6.5	6.4	6.3	6.3
E ₁₇		6.8	6.8	6.8	6.7	6.7	6.7	6.6
E ₁₈		6.8	6.8	6.8	6.7	6.4	6.4	6.3
E ₁₉		6.8	6.5	6.5	6.4	6.2	6.1	6.1
E ₂₀		6.8	6.7	6.7	6.5	6.5	6.4	6.3
E ₂₁		6.8	6.6	6.6	6.6	6.4	6.3	6.3
E ₂₂		6.8	6.8	6.7	6.5	6.5	6.4	6.4
E ₂₃		6.9	6.8	6.8	6.6	6.5	6.5	6.4
E ₂₄		6.9	6.9	6.9	6.7	6.5	6.4	6.4
INTRALİPİD		-	-	-	-	-	-	6.8

TABLO 12: 20 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN pH'SINDA GÖZLENEN DEĞİŞMELER

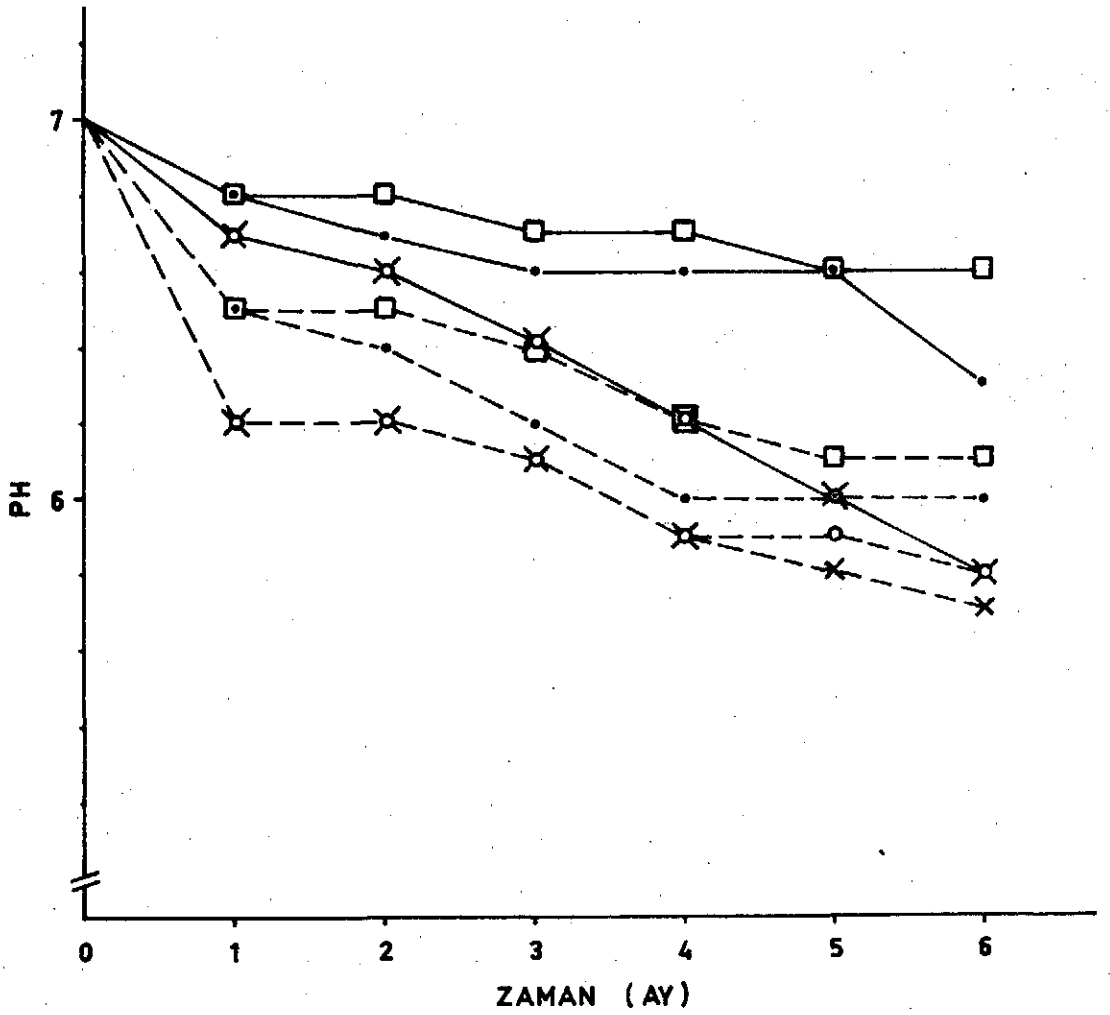
Emül- siyon kodu	Zaman (ay)	pH					
	Steriliz. sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁	6.8	6.5	6.4	6.2	6.1	6.	5.9
E ₂	6.9	6.6	6.6	6.4	6.3	6.3	6.2
E ₃	6.8	6.7	6.2	6.2	6.2	6.1	6
E ₄	6.8	6.7	6.5	6.5	6.4	6.2	6.2
E ₅	6.9	6.8	6.8	6.7	6.6	6.6	6.4
E ₆	6.9	6.7	6.5	6.5	6.3	6.3	6.2
E ₇	6.8	6.6	6.5	6.4	6.3	6.3	6.3
E ₈	6.8	6.5	6.4	6.4	6.3	6.2	6
E ₉	6.8	6.5	6.2	6.1	6.1	6.1	6.1
E ₁₀	6.8	6.6	6.4	6.3	6.1	6	6
E ₁₁	6.8	6.8	6.7	6.6	6.6	6.6	6.3
E ₁₂	6.8	6.8	6.4	6.4	6.4	6.3	6.3
E ₁₃	6.9	6.6	6.4	6.4	6.3	6.3	6.1
E ₁₄	6.8	6.6	6.6	6.5	6.4	6.3	6.2
E ₁₅	6.8	6.4	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2
E ₁₆	6.8	6.5	6.5	6.4	6.2	6	6
E ₁₇	6.8	6.8	6.7	6.7	6.6	6.6	6.4
E ₁₈	6.8	6.8	6.6	6.6	6.3	6.3	5.9
E ₁₉	6.8	6.5	6.4	6.2	6	6	6
E ₂₀	6.8	6.6	6.5	6.4	6.2	6.2	6.2
E ₂₁	6.8	6.5	6.4	6.4	6.3	6.1	5.8
E ₂₂	6.8	6.7	6.6	6.5	6.4	6.3	6.1
E ₂₃	6.9	6.5	6.5	6.4	6.4	6.3	6.1
E ₂₄	6.9	6.9	6.7	6.6	6.5	6.3	6.3
INTRALİPİD	-	-	-	-	-	-	6.6

TABLO 13: 40 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN pH'SINDA GÖZLENEN DEĞİŞMELER

Emil-siyon kodu	Zaman (ay)	pH						
		Steriliz. sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁		6.8	6.3	6.3	6.1	5.9	5.8	5.8
E ₂		6.9	6.6	6.5	6.3	6.3	6.1	6
E ₃		6.8	6.3	6.1	6	6	5.8	5.8
E ₄		6.8	6.6	6.5	6.4	6.3	6	6
E ₅		6.9	6.7	6.6	6.6	6.4	6.4	6.3
E ₆		6.9	6.6	6.4	6.3	6.1	5.9	5.8
E ₇		6.8	6.6	6.3	6.1	6	5.9	5.9
E ₈		6.8	6.3	6.3	6.1	6	6	5.9
E ₉		6.9	6.4	6.1	6	5.9	5.8	5.6
E ₁₀		6.8	6.5	6.3	6.3	6	5.9	5.9
E ₁₁		6.8	6.7	6.6	6.4	6.2	6	5.8
E ₁₂		6.8	6.8	6.4	6.2	6.1	6	5.9
E ₁₃		6.9	6.4	6.3	6.3	6.2	6.2	6
E ₁₄		6.8	6.5	6.4	6.4	6.3	6	6
E ₁₅		6.8	6.2	6.2	6.1	6.1	6.1	6
E ₁₆		6.8	6.5	6.3	6.1	6.1	6	5.9
E ₁₇		6.8	6.6	6.6	6.5	6.4	6.3	6.3
E ₁₈		6.8	6.7	6.5	6.4	6.1	6	5.8
E ₁₉		6.8	6.2	6.2	6.1	5.9	5.9	5.8
E ₂₀		6.8	6.6	6.6	6.3	6.1	6.1	6
E ₂₁		6.8	6.3	6.1	6	6	5.9	5.5
E ₂₂		6.8	6.6	6.6	6.3	6.1	6.1	6.
E ₂₃		6.9	6.4	6.3	6.1	6	5.9	5.9
E ₂₄		6.9	6.8	6.5	6.3	6.1	5.9	5.8
INTRALİPİD		-	-	-	-	-	-	6.5

TABLO 14: 40 °C'DA IŞIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN
pH'SINDA GÖZLENEN DEĞİŞMELER

Zaman Emül- siyon kodu (ay)	pH						
	Steriliz. sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁	6.8	6.3	6.2	6	5.8	5.8	5.6
E ₂	6.9	6.5	6.5	6.3	6.1	6	5.9
E ₃	6.8	6.3	6.1	6	5.9	5.8	5.7
E ₄	6.8	6.6	6.4	6.2	6.1	5.9	5.9
E ₅	6.9	6.7	6.6	6.6	6.4	6.4	6.3
E ₆	6.9	6.6	6.4	6.2	6.1	5.9	5.8
E ₇	6.8	6.6	6.3	6.1	6	5.9	5.8
E ₈	6.8	6.2	6.1	6	6	5.8	5.8
E ₉	6.8	6.4	6	5.8	5.8	5.8	5.6
E ₁₀	6.8	6.5	6.3	6.1	5.9	5.9	5.8
E ₁₁	6.8	6.7	6.6	6.4	6.2	6	5.8
E ₁₂	6.8	6.8	6.3	6.2	6.1	6	5.9
E ₁₃	6.9	6.4	6.3	6.2	6.2	6.1	5.9
E ₁₄	6.8	6.5	6.3	6.2	6.1	5.9	5.9
E ₁₅	6.8	6.2	6.2	6.1	6.1	6.1	6
E ₁₆	6.8	6.4	6.3	6.1	6	5.9	5.9
E ₁₇	6.8	6.6	6.5	6.5	6.4	6.3	6.3
E ₁₈	6.8	6.4	6.4	6.3	6.1	6	5.8
E ₁₉	6.8	6.2	6.2	6.1	5.9	5.8	5.7
E ₂₀	6.8	6.5	6.4	6.1	5.9	5.9	5.9
E ₂₁	6.8	6.3	6.1	5.9	5.8	5.6	5.3
E ₂₂	6.8	6.5	6.5	6.3	6	5.9	5.9
E ₂₃	6.9	6.4	6.3	6.1	6	5.9	5.9
E ₂₄	6.9	6.8	6.5	6.3	6.1	5.9	5.8
INTRALIPID	-	-	-	-	-	-	6.5



Şekil 16. En dayanıklı (E_5) ile en dayanıksız emülsiyonun (E_{19}) pH'sında zamana ve sıcaklığa bağlı olarak gözlenen değişmeler

- E_5 □ 4 °C
 - - - E_{19} . 20 °C
 ○ 40 °C (karanlıkta)
 X 40 °C (ışıkta)

6 ay bekletilmiş intralipid^R örneklerinde ise pH düşüşü hazırladığımız formülasyonların pH'sından daha azdır.

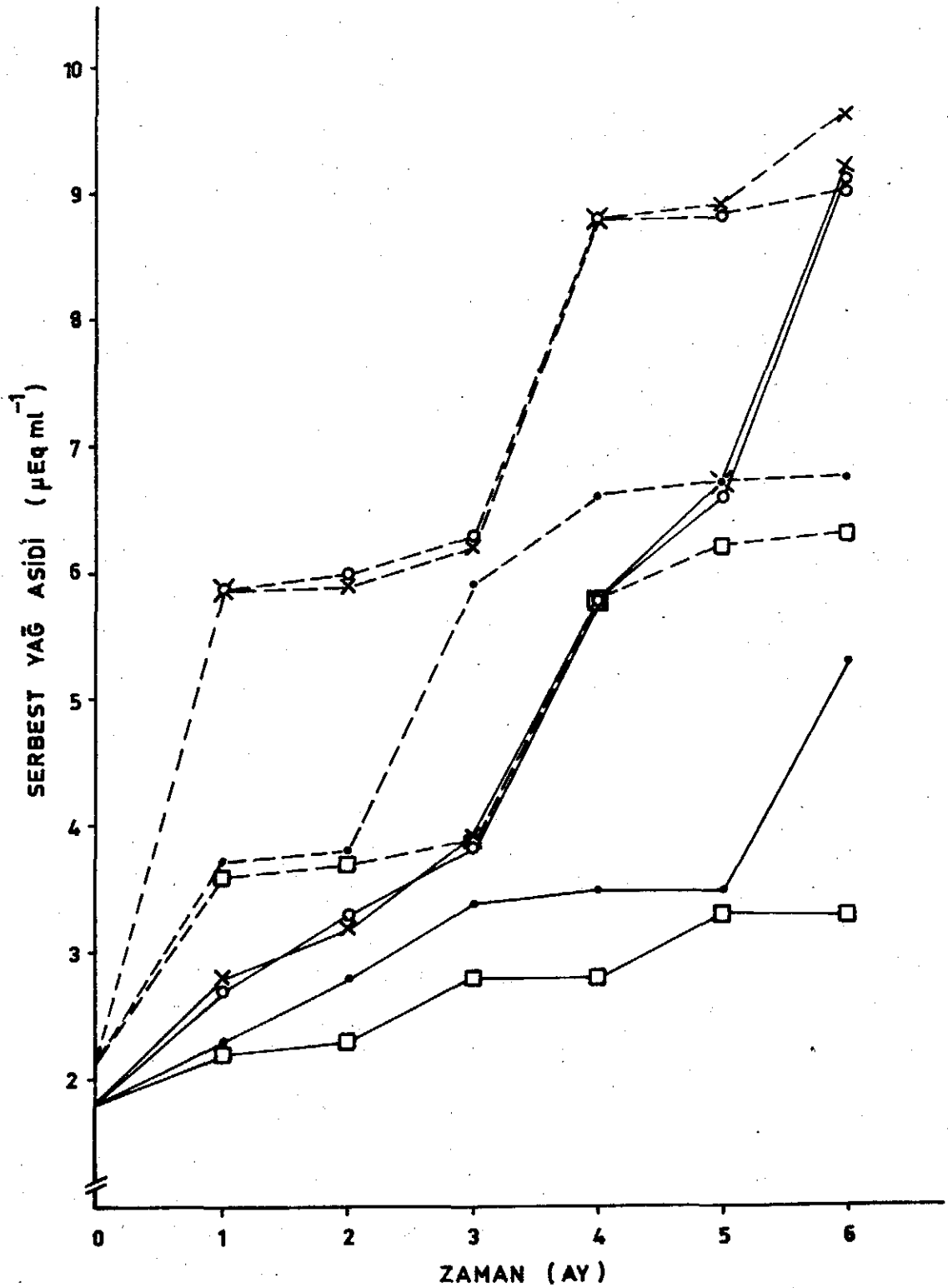
III.3.1.2. Serbest Yağ Asidi

Yeni hazırlanan intravenöz emülsiyonlarda serbest yağ asidi miktarı saptanarak ml'de μ Eq olarak tablolanmıştır. Bekleyen emülsiyon formüllerinin serbest yağ asidi konsantrasyonunda başlangıç konsantrasyonuna göre yaklaşık $1 \mu\text{Eqml}^{-1}$ artış görülmüştür. Tablo (15-18), şekil 17'de serbest yağ asidi açığa çıkışında artışın en az (E_5), ve en çok (E_{19}) olduğu formüller grafiklenmiştir.

Lesitin ile hazırlanan emülsiyonların serbest yağ asidi miktarındaki artış noniyonik emülgatörlere kıyasla daha fazladır (Tablo 15-18).

Intralipid'in 6 ay sonundaki serbest yağ asidi miktarının E_5 ve E_{11} den daha az olduğu görülmüştür.

Zamanla spontane hidroliz sonucu serbest yağ asidi miktarında görülen artış dolaylı olarak pH'da düşmeye neden olmaktadır. Hidroliz, hidronyum iyonları ile katalize edildiğinden hidronyum iyonları arttıkça reaksiyon hızıda artmaktadır. Tamponlanmış emülsiyonlarda özellikle pH 6.8 civarında, hidroliz hızı en düşüktür. Dolayısı ile bu bölgede pH yüksek ve serbest yağ asidi miktarı düşüktür.



Şekil 17. En dayanıklı (E₅) ile en dayanıksız emülsiyonun (E₁₉) zamana ve sıcaklığa bağlı olarak serbest yağ asidi miktarında gözlenen değişimler

- E₅ □ 4 °C
 - - - E₁₉ . 20 °C
 ○ 40 °C (karanlıkta)
 X 40 °C (ışıkta)

III.3.1.3. Partikül Büyüklüğü

Yeni hazırlanan emülsiyonlarda partiküllerin optik mikroskop ile saptanan çapları $3,125 \mu\text{m}$ 'den küçüktür ve pek çoğu $3,25 \mu\text{m}$ civarındadır.

Ultramikroskopta "oil immersion" tekniği ile yeni hazırlanan emülsiyonların partikül büyüklükleri incelendiğinde ortalama büyüklüğün, pamuk yağı ve soya yağı ile hazırlananlarda, sırasıyla, yaklaşık 300 nm ve 500 nm olduğu görülmüştür.

Yeni hazırlanan emülsiyonların partikül büyüklükleri sterilizasyondan hemen sonra saptanarak % kümülatif sıklık eğrisi üzerinden % 50 sıklığa karşı gelen değerler (d_0) bulunmuştur. Her ay sonunda yapılan partikül büyüklüğü tayinlerinde % 50 sıklığa karşı gelen değer (d_t) hesaplanmasından sonra d_t/d_0 oranı bulunarak partikül büyüklüğündeki zamana bağlı artış gösterilmiştir (Tablo 19-22, Şekil 18).

Partikül büyüklüğünde en fazla artış Tween 80 ile hazırlanan emülsiyonlarda gözlenirken en az artış Tween 60 ve Lesitin Pluronik F 68 karışımı ile hazırlananlarda görülmüştür (Tablo-19-22).

III.3.1.4. Viskozite

Yeni hazırlanan ve bekleyen emülsiyonların viskoziteleri karşılaştırıldığında, zamanla viskozitede belirgin bir düşüş olmadığı görülmüştür. Bu veriler Tablo (23-26)'da ve Şekil 19'da gösterilmiştir.

TABLO 19: 4°C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN d_t/d_o ORANLARI

Zaman (ay) Emülsiyon kodu	d_t / d_o Oranları					
	1	2	3	4	5	6
E ₁	1.02	1.06	1.09	1.09	1.09	1.09
E ₂	1.00	1.02	1.04	1.04	1.06	1.06
E ₃	1.04	1.04	1.11	1.11	1.13	1.15
E ₄	1.04	1.06	1.06	1.08	1.10	1.12
E ₅	1.04	1.04	1.04	1.07	1.07	1.09
E ₆	1.04	1.06	1.09	1.09	1.11	1.11
E ₇	1.02	1.02	1.04	1.08	1.08	1.11
E ₈	1.03	1.03	1.07	1.11	1.11	1.11
E ₉	1.00	1.00	1.00	1.02	1.04	1.04
E ₁₀	1.03	1.05	1.05	1.07	1.09	1.09
E ₁₁	1.00	1.00	1.04	1.04	1.07	1.09
E ₁₂	1.02	1.06	1.16	1.23	1.23	1.25
E ₁₃	1.04	1.04	1.09	1.13	1.18	1.20
E ₁₄	1.04	1.06	1.08	1.08	1.10	1.12
E ₁₅	1.00	1.00	1.02	1.06	1.06	1.09
E ₁₆	1.08	1.08	1.08	1.13	1.13	1.17
E ₁₇	1.04	1.04	1.06	1.08	1.10	1.16
E ₁₈	1.00	1.08	1.14	1.20	1.41	1.54
E ₁₉	1.00	1.02	1.04	1.06	1.12	1.12
E ₂₀	1.08	1.08	1.12	1.16	1.16	1.16
E ₂₁	1.03	1.03	1.03	1.05	1.05	1.10
E ₂₂	1.06	1.08	1.08	1.08	1.12	1.12
E ₂₃	1.06	1.06	1.10	1.10	1.12	1.14
E ₂₄	1.04	1.08	1.14	1.33	1.52	1.58

d_o : Sterilizasyondan sonra % 50 kümülatif sıklığa karşı gelen çap

d_t : Her ay sonundaki kontrollerde % 50 kümülatif sıklığa karşı gelen çap

TABLO 20: 20 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN d_t/d_o ORANLARI

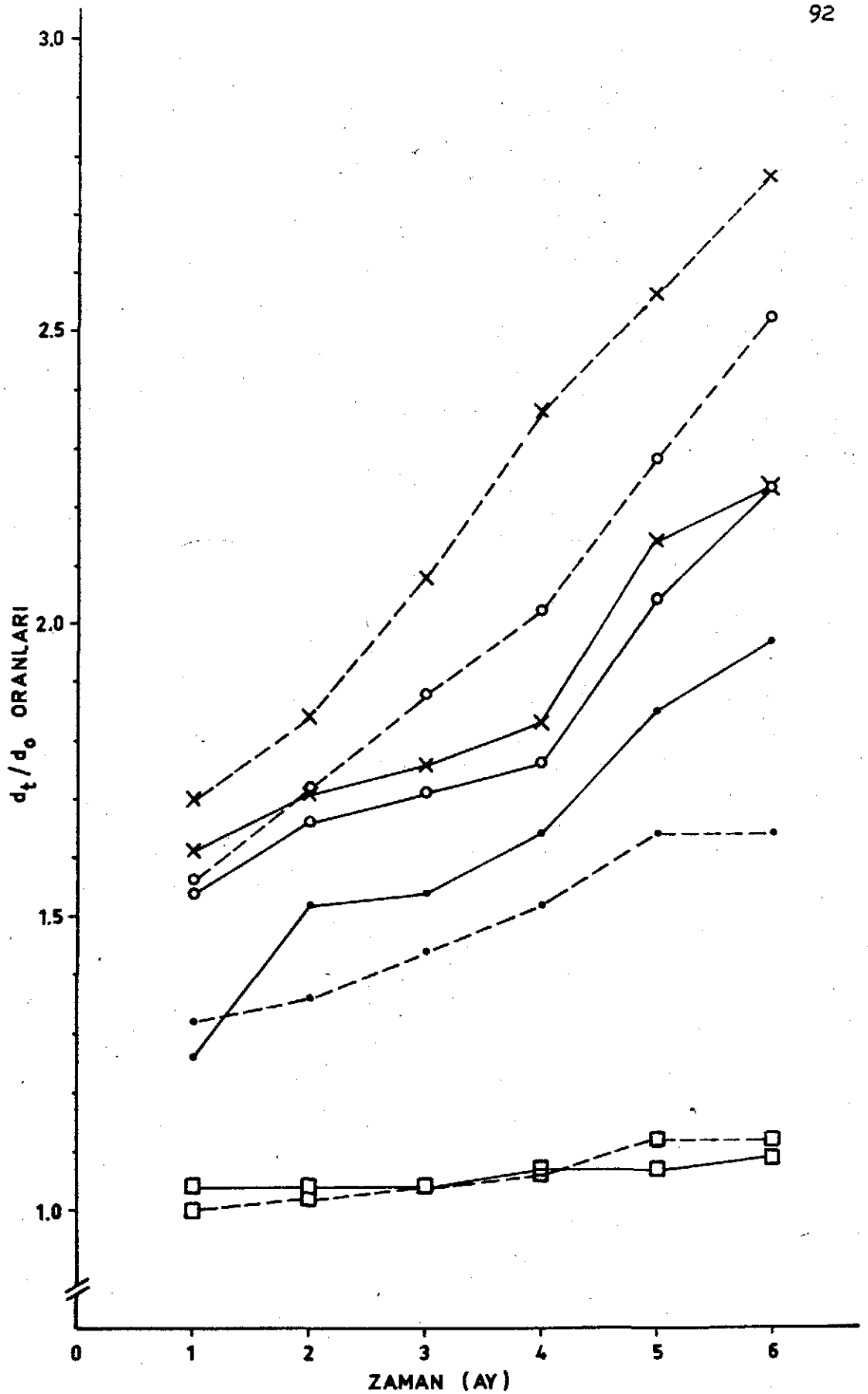
Zaman (ay) Emülsiyon Kodu	d_t / d_o Oranları					
	1	2	3	4	5	6
E ₁	1.27	1.43	1.50	1.65	2.02	2.04
E ₂	1.24	1.28	1.34	1.42	1.48	1.52
E ₃	1.33	1.40	1.82	1.86	1.95	2.11
E ₄	1.31	1.37	1.58	1.58	1.64	1.75
E ₅	1.26	1.52	1.54	1.64	1.85	1.97
E ₆	1.18	1.25	1.31	1.43	1.50	1.63
E ₇	1.06	1.53	1.64	1.82	1.90	1.94
E ₈	1.07	1.23	1.34	1.34	1.38	1.76
E ₉	1.16	1.31	1.41	1.47	1.56	1.70
E ₁₀	1.13	1.25	1.33	1.33	1.33	1.45
E ₁₁	1.45	1.47	1.47	1.50	1.59	1.59
E ₁₂	1.41	1.53	1.62	1.62	1.62	1.75
E ₁₃	1.13	1.54	1.72	2.00	2.00	2.36
E ₁₄	1.28	1.32	1.36	1.44	1.52	1.56
E ₁₅	1.24	1.42	1.55	1.59	1.63	2.36
E ₁₆	1.34	1.43	1.65	1.65	1.82	2.13
E ₁₇	1.29	1.37	1.47	1.62	1.66	1.70
E ₁₈	1.22	1.31	1.37	1.64	1.70	1.77
E ₁₉	1.32	1.36	1.44	1.52	1.64	1.64
E ₂₀	1.12	1.28	1.40	1.40	1.44	1.84
E ₂₁	1.36	1.38	1.61	1.73	1.84	1.90
E ₂₂	1.16	1.28	1.36	1.36	1.36	1.48
E ₂₃	1.06	1.27	1.48	1.53	1.65	1.65
E ₂₄	1.33	1.33	1.54	1.64	1.66	1.70

TABLO 21: 40 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN d_t/d_o ORANLARI

Zaman (ay) Emülsiyon kodu	d_t/d_o Oranları					
	1	2	3	4	5	6
E ₁	1.47	1.70	1.86	1.90	2.27	2.54
E ₂	1.40	1.56	1.64	1.84	2.14	2.48
E ₃	1.60	1.88	2.13	2.31	2.60	2.80
E ₄	1.41	1.83	2.20	2.45	2.66	2.83
E ₅	1.54	1.66	1.71	1.76	2.04	2.23
E ₆	1.54	1.70	1.97	2.04	2.40	2.90
E ₇	1.51	1.64	1.86	2.13	2.31	2.71
E ₈	1.43	1.59	1.80	2.11	2.19	2.42
E ₉	1.72	1.95	2.08	2.20	2.31	2.50
E ₁₀	1.64	1.76	1.92	2.18	2.43	2.54
E ₁₁	1.52	1.61	1.73	1.80	1.95	2.14
E ₁₂	1.72	1.86	1.90	2.37	2.55	3.25
E ₁₃	1.68	1.95	1.95	2.18	2.27	2.45
E ₁₄	1.44	1.60	1.68	1.88	2.16	2.52
E ₁₅	1.77	1.83	2.14	2.12	2.16	2.65
E ₁₆	1.47	1.91	2.30	2.56	2.78	2.95
E ₁₇	1.54	1.54	1.66	1.95	2.08	2.33
E ₁₈	1.72	1.91	2.20	2.37	2.66	2.70
E ₁₉	1.56	1.72	1.80	1.96	2.10	2.20
E ₂₀	1.48	1.66	1.88	2.20	2.28	2.52
E ₂₁	1.61	1.76	2.11	2.15	2.15	2.38
E ₂₂	1.68	1.80	1.96	2.60	2.60	2.60
E ₂₃	1.53	1.72	1.78	2.21	2.34	2.89
E ₂₄	1.70	2.04	2.20	2.45	2.58	3.04

TABLO 22: 40 °C'DA IŞIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN d_t/d_o ORANLARI

Emülsiyon kodu	d_t/d_o Oranları					
	1	2	3	4	5	6
E ₁	1.50	1.72	1.95	2.09	2.43	2.54
E ₂	1.48	1.68	1.84	2.00	2.28	2.52
E ₃	1.64	1.88	2.13	2.31	2.62	2.88
E ₄	1.62	2.12	2.70	2.91	3.04	3.04
E ₅	1.61	1.71	1.76	1.83	2.14	2.23
E ₆	1.56	1.77	2.00	2.18	2.50	2.90
E ₇	1.73	1.77	2.00	2.26	2.57	3.02
E ₈	1.63	1.76	2.00	2.26	2.46	2.65
E ₉	1.93	2.10	2.33	2.54	2.60	2.75
E ₁₀	1.76	1.96	2.07	2.31	2.74	3.01
E ₁₁	1.61	1.66	1.85	1.95	2.16	2.52
E ₁₂	1.81	1.90	2.25	2.65	2.74	3.34
E ₁₃	1.77	1.95	2.00	2.22	2.31	2.54
E ₁₄	1.52	1.72	1.84	2.04	2.14	2.56
E ₁₅	1.87	2.00	2.36	2.81	2.85	2.87
E ₁₆	1.69	2.21	2.82	3.04	3.17	3.17
E ₁₇	1.66	1.66	1.85	2.29	2.41	2.58
E ₁₈	1.83	1.95	2.45	2.58	2.79	2.91
E ₁₉	1.74	1.76	1.82	2.02	2.72	2.72
E ₂₀	1.70	1.84	2.08	2.36	2.56	2.76
E ₂₁	1.92	1.92	2.30	2.32	2.69	2.69
E ₂₂	1.80	2.00	2.12	2.76	2.80	3.08
E ₂₃	1.70	1.87	1.95	2.51	2.63	2.89
E ₂₄	1.79	2.04	2.45	2.56	2.83	3.08

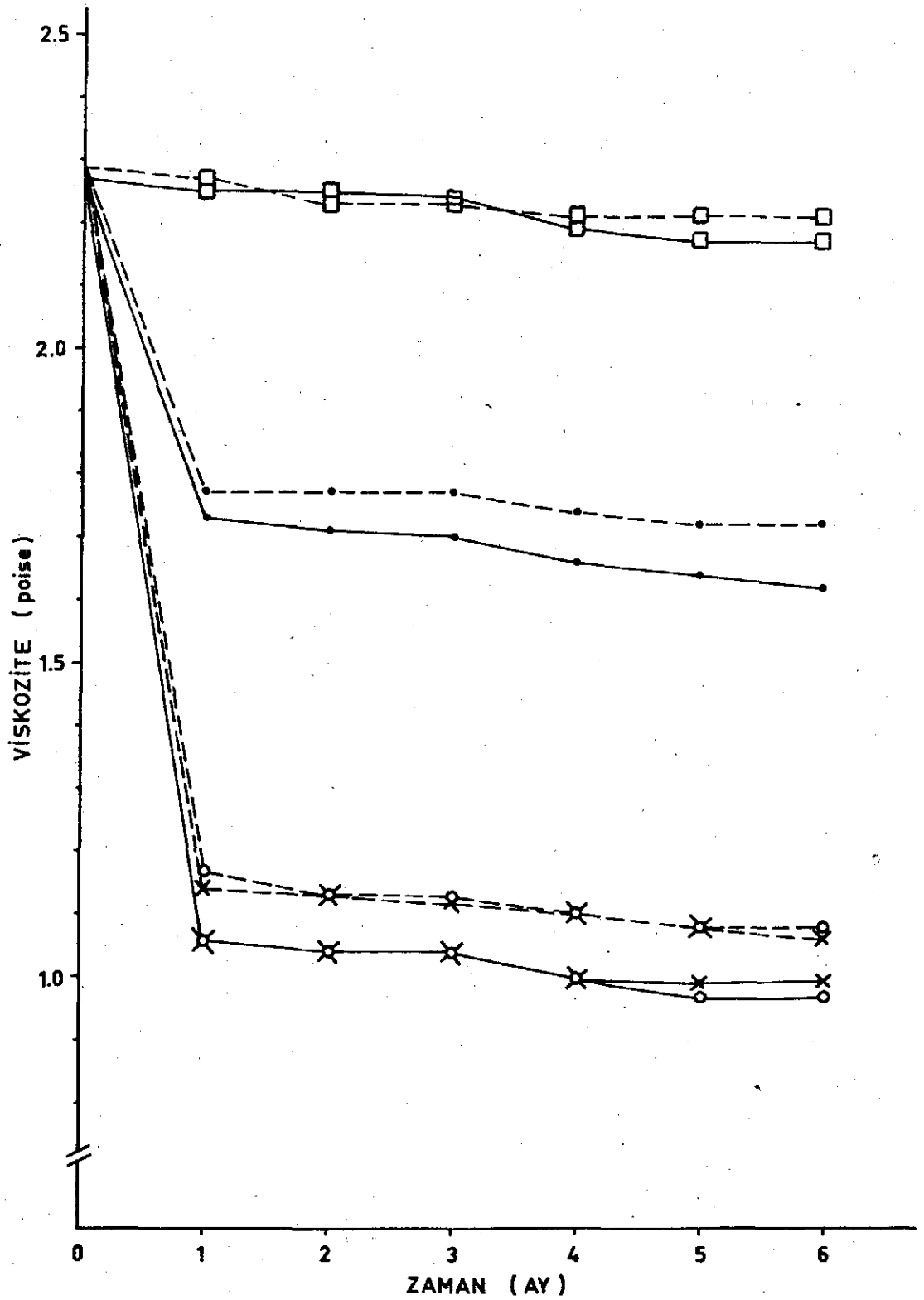


Şekil 18. En dayanıklı (E₅) ile en dayanıksız emülsiyonun (E₁₉) zamana ve sıcaklığa kbağlı olarak d_0/d_t oranlarında gözlenen değışmeler.

— E₅ □ 4 °C
 - - - E₁₉ . 20 °C
 ○ 40 °C (karanlıkta)
 × 40 °C (ışıkta)

TABLE 24: 20°C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETTİLEN EMÜLSİYONLARIN VİSKOZİTESİNDE GÜZLENEN DEĞİŞİMLER

Zaman (ay)	Emülsiyon kodu	Viskozite (Poise)																																			
		1						2						3						4						5						6					
		\bar{x}	S	S _x	V _k	\bar{x}	S	S _x	V _k	\bar{x}	S	S _x	V _k	\bar{x}	S	S _x	V _k	\bar{x}	S	S _x	V _k	\bar{x}	S	S _x	V _k	\bar{x}	S	S _x	V _k								
E1	2.0970	0.0004	0.0001	0.0412	1.6666	0.0004	0.0001	0.0412	1.6368	0.0002	0.00009	0.0212	1.6165	0.0005	0.0002	0.0579	1.5866	0.0004	0.0001	0.0406	1.5866	0.0003	0.0001	0.0353	1.6165	0.0002	0.0009	0.0212									
E2	2.0879	0.0008	0.0003	0.0827	1.6768	0.0004	0.0001	0.0432	1.6565	0.0005	0.0002	0.0571	1.6161	0.0007	0.0003	0.072	1.5955	0.0003	0.0001	0.0385	1.5952	0.0003	0.0001	0.0371	1.5749	0.0002	0.0001	0.0238									
E3	2.0960	0.0003	0.0001	0.0374	1.6566	0.0003	0.0001	0.0374	1.6561	0.0003	0.0001	0.0316	1.6557	0.0003	0.0002	0.0353	1.6255	0.0003	0.0001	0.0375	1.6056	0.0003	0.0001	0.0361	1.6051	0.0003	0.0001	0.0317									
E4	2.0964	0.0004	0.0002	0.0476	1.6367	0.0002	0.0001	0.0254	1.6257	0.0004	0.0002	0.0475	1.5955	0.0004	0.0001	0.0456	1.5755	0.0004	0.0001	0.0438	1.5456	0.0002	0.0001	0.0258	1.5346	0.0002	0.0001	0.0258									
E5	2.2740	0.0001	0.00005	0.0212	1.7354	0.0002	0.0001	0.0291	1.7155	0.0002	0.0001	0.0254	1.7052	0.0002	0.0008	0.0200	1.6649	0.0001	0.00005	0.0122	1.6480	0.0001	0.0006	0.0141	1.6251	0.0001	0.0007	0.0158									
E6	2.0866	0.0001	0.00006	0.014	1.6465	0.0001	0.00007	0.015	1.6262	0.0001	0.0007	0.015	1.6264	0.0002	0.0001	0.02	1.6064	0.0002	0.00005	0.011	1.5963	0.0001	0.00003	0.012	1.5765	0.0001	0.0008	0.018									
E7	2.4066	0.0003	0.0001	0.0300	1.7776	0.0004	0.0002	0.0443	1.7470	0.0007	0.0003	0.0741	1.7272	0.0003	0.0001	0.0360	1.7274	0.0003	0.0001	0.0300	1.7065	0.0004	0.0002	0.0474	1.6966	0.0003	0.0001	0.0316									
E8	2.3678	0.0007	0.0003	0.0715	1.7181	0.0002	0.0001	0.0291	1.7177	0.0006	0.0002	0.0622	1.7072	0.0004	0.0001	0.0414	1.7070	0.0002	0.0001	0.0277	1.6866	0.0003	0.0001	0.0304	1.6866	0.0007	0.0003	0.0720									
E9	2.4066	0.0003	0.0001	0.0308	1.9588	0.0005	0.0001	0.0300	1.9299	0.0003	0.0001	0.0420	1.7987	0.0004	0.0002	0.0494	1.7780	0.0003	0.0001	0.0376	1.7676	0.0003	0.0001	0.0383	1.7272	0.0003	0.0001	0.0380									
E10	2.3983	0.0005	0.0002	0.0511	1.8189	0.0006	0.0003	0.0678	1.8083	0.0007	0.0003	0.0708	1.8080	0.0002	0.0001	0.0291	1.7973	0.0004	0.00001	0.0414	1.7964	0.0003	0.0001	0.0364	1.7964	0.0002	0.0001	0.0254									
E11	2.2938	0.0001	0.00005	0.0122	1.7375	0.0001	0.00007	0.0158	1.7377	0.0003	0.0001	0.0316	1.7165	0.0002	0.0001	0.0234	1.7165	0.0002	0.0001	0.0282	1.7165	0.0001	0.0008	0.0187	1.6955	0.0002	0.0001	0.0254									
E12	2.1862	0.0001	0.0008	0.0167	1.7650	0.0001	0.00007	0.0158	1.7646	0.0001	0.0006	0.0141	1.7445	0.0001	0.0007	0.0158	1.7246	0.0008	0.00003	0.0122	1.7144	0.0008	0.0003	0.0081	1.7045	0.0002	0.0001	0.0228									
E13	2.0943	0.0001	0.00006	0.0141	1.7255	0.0002	0.00009	0.0212	1.7250	0.0002	0.0001	0.0254	1.6959	0.0001	0.0008	0.0187	1.6756	0.0001	0.00006	0.0141	1.6355	0.0002	0.0001	0.0223	1.6357	0.0003	0.0001	0.0035									
E14	2.0762	0.0002	0.0001	0.0188	1.7458	0.0007	0.0003	0.0720	1.7456	0.0003	0.0001	0.0380	1.7255	0.0004	0.0001	0.0413	1.7048	0.0003	0.0001	0.0397	1.6947	0.0005	0.0002	0.0571	1.6942	0.0007	0.0001	0.0705									
E15	2.2335	0.0001	0.0007	0.0158	1.7879	0.0002	0.0001	0.0254	1.7869	0.0004	0.0002	0.0470	1.7668	0.0002	0.0001	0.0200	1.7461	0.0003	0.0001	0.0380	1.7358	0.0003	0.0001	0.0305	1.7253	0.0007	0.0003	0.0721									
E16	2.2974	0.0001	0.0006	0.0141	1.7974	0.0002	0.0001	0.025	1.7969	0.0001	0.0006	0.0141	1.7766	0.0001	0.0005	0.0122	1.7764	0.0002	0.0001	0.0223	1.7657	0.0001	0.00008	0.0187	1.7653	0.0001	0.0007	0.0158									
E17	2.2951	0.0001	0.0008	0.0187	1.7163	0.0003	0.0001	0.0374	1.7062	0.0002	0.0001	0.0254	1.7055	0.0003	0.0001	0.0360	1.6852	0.0003	0.0001	0.0376	1.6847	0.0001	0.0008	0.0188	1.6847	0.0002	0.0001	0.0255									
E18	2.1956	0.0003	0.0001	0.0312	1.5369	0.0004	0.0001	0.0432	1.5270	0.0004	0.0002	0.0472	1.4970	0.0002	0.0008	0.200	1.4968	0.0003	0.0001	0.0380	1.4667	0.0003	0.0001	0.0383	1.4667	0.0002	0.0001	0.0256									
E19	2.2956	0.0001	0.00008	0.0187	1.7759	0.0001	0.00007	0.0158	1.7760	0.0001	0.00008	0.0187	1.7769	0.0002	0.0001	0.0283	1.7458	0.0002	0.0001	0.0291	1.7251	0.0002	0.0001	0.0235	1.7249	0.0001	0.0007	0.0158									
E20	2.2977	0.0001	0.00007	0.0158	1.7570	0.0001	0.00007	0.0158	1.7568	0.0001	0.0004	0.0100	1.7366	0.0001	0.0001	0.0158	1.7363	0.0001	0.00007	0.0158	1.7258	0.0001	0.00004	0.0100	1.7057	0.0001	0.0007	0.0158									
E21	2.2963	0.0001	0.00007	0.0158	1.8065	0.0002	0.0001	0.0254	1.8063	0.0007	0.0003	0.0760	1.7771	0.0004	0.0001	0.0415	1.7465	0.0002	0.00001	0.0280	1.7466	0.0002	0.0001	0.0225	1.7065	0.0003	0.0001	0.0353									
E22	2.3576	0.0001	0.00007	0.0158	1.8281	0.0001	0.00007	0.0158	1.8276	0.0007	0.00009	0.0070	1.8071	0.0002	0.0001	0.0245	1.8065	0.0001	0.00007	0.0158	1.7865	0.0001	0.00001	0.0007	1.7662	0.0001	0.0007	0.0158									
E23	2.3873	0.0003	0.0001	0.0308	1.7880	0.0003	0.0001	0.0316	1.7871	0.0004	0.0001	0.0422	1.7472	0.0003	0.0001	0.0301	1.7470	0.0003	0.0001	0.0353	1.7472	0.0005	0.0002	0.0514	1.7466	0.0002	0.0001	0.0654									
E24	2.2416	0.0003	0.0001	0.0311	1.7866	0.0004	0.0001	0.0412	1.7666	0.0006	0.0003	0.0687	1.7666	0.0003	0.0001	0.0363	1.7265	0.0006	0.0003	0.0679	1.7263	0.0007	0.0003	0.0718	1.7062	0.0004	0.0002	0.0452									
INTERVALID	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-								



Şekil 19. En dayanıklı E₅ ile en dayanıksız emülsiyonun (E₁₉) zamana ve sıcaklığa bağlı olarak viskozitesinde gözlenen değişimler

— E₅ □ 4 °C
 - - - E₁₉ . 20 °C
 ○ 40 °C (karanlıkta)
 x 40 °C (ışıkta)

III.3.1.5. Santrifüjle Ayrılan Yüzde

Hazırlanan emülsiyonlarda ilk hazırlandıklarında ve sterilizasyon sonunda herhangi bir ayrılma görülmemektedir. Bu emülsiyonların santrifüjlenmesi de ayrılmaya neden olmamıştır. Fakat birinci ay sonunda ayrılan fazın yüzdesi başlangıca göre yaklaşık % 1-1.5 fazladır.

Bekleme süresi uzadıkça bu ayrılan kısım yüzdesi artmakta ve 6 ay sonunda ilk ayın konsantrasyonunun yaklaşık iki katına, sterilizasyondan sonraki yüzdenin ise yaklaşık üç katına çıkmaktadır (Tablo 27-30) ve (Şekil 20).

Intralipid^R'inin santrifüjle ayrılan kısım yüzdesi hazırlanan emülsiyon formüllerinden daha düşük bulunmuştur.

III.3.1.6. İletkenlik

Yeni hazırlanan ve bekleyen emülsiyonların viskoziteleri karşılaştırıldığında zamanla iletkenlikte yavaş bir yükselme görülmüştür. Bu artış 4,5 ve 6'ıncı aylarda daha da belirgindir (Tablo 31-34) ve (Şekil 21).

Intralipid^R'nin iletkenliğinin 6 ay sonunda diğer formüllerden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

III.3.2. Sıcaklığın Fizikokimyasal Özelliklerdeki Değişmeye Etkisi

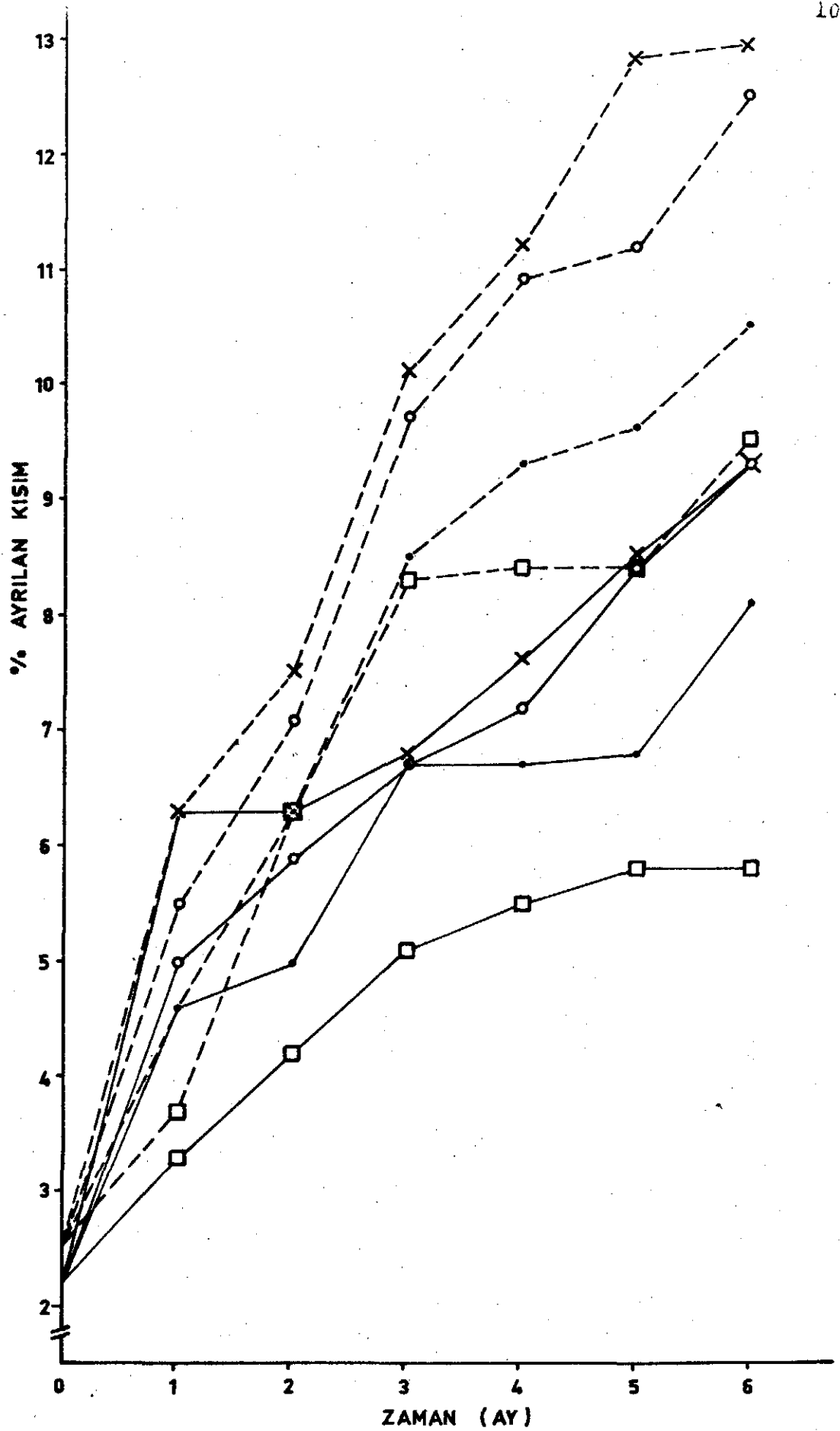
Bu bölümde 4,20 ve 40 °C da saklanan emülsiyonlarda sıcaklığın fizikokimyasal özellikler üzerine etkisine ait bulgular incelenecektir.

TABLO 27: 4°C'DA KARARLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN 3500 rpm'DE SANTRİFUJ İLE AYRILAN KISIM YÜZDESİNDE GÖZLENEBİLEN DEĞİŞİMLER

Zaman (ay)	Kısım																																			
	1						2						3						4						5						6					
	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k								
E ₁	2.5316	0.0122	0.0061	0.4819	3.4140	0.0475	0.0237	2.8068	3.6419	0.2217	0.0108	1.2720	4.5974	0.0299	0.0149	1.7180	6.3787	0.3110	0.1555	3.8480	7.7460	0.7889	0.3844	10.8210	9.3088	0.7649	0.3824	31.4500								
E ₂	3.4784	0.0349	0.0176	1.0033	4.6613	0.4869	0.2434	34.1348	5.1066	0.2550	0.1275	7.7090	6.8098	0.0326	0.0163	0.9698	7.4181	0.2917	0.1458	8.0095	8.4039	0.0703	0.0351	0.3822	9.2372	0.8097	0.4048	12.6938								
E ₃	3.7321	0.0643	0.0521	1.7228	4.6755	0.8182	0.4091	17.4997	6.1622	1.2346	0.6173	20.0350	6.7231	0.0652	0.0326	0.9697	7.2557	0.7183	0.3591	9.8998	8.5475	0.0843	0.0421	0.9862	9.3950	0.8942	0.4471	0.5178								
E ₄	3.8169	0.0336	0.0168	0.8002	4.5974	0.8051	0.4025	17.5125	0.854	0.0703	0.0351	0.3823	6.3787	0.8097	0.4048	12.6938	7.7460	1.5349	0.7683	8.0447	8.0447	0.7683	0.3403	7.1668	9.5834	0.8330	0.4166	0.6952								
E ₅	2.3913	0.0558	0.0279	2.3334	3.3615	0.0326	0.0163	0.9698	3.6419	0.2917	0.1458	8.0095	5.0854	0.0703	0.0351	0.3823	6.3787	0.8097	0.4048	12.6938	7.7460	0.7683	0.3403	7.1668	9.5834	0.8330	0.4166	0.6952								
E ₆	2.3454	0.0757	0.0378	3.2275	3.3902	0.0469	0.0234	1.3833	4.5974	0.8051	0.4025	17.5125	0.2771	0.8036	0.4018	14.4169	5.5686	0.7332	0.3666	3.1666	5.9258	0.9224	0.4612	1.6184	6.8380	1.1255	0.8273	16.3650								
E ₇	4.0652	0.9209	0.4604	22.653	6.6975	0.4471	0.2232	9.5178	6.3213	0.7677	0.3838	12.1447	7.2771	0.8970	0.4685	11.8707	7.3880	0.8646	0.4323	11.3979	7.5564	0.8970	0.4485	11.8704	9.3511	1.6364	0.8182	17.4997								
E ₈	3.4633	0.7457	0.3728	21.531	4.6398	0.8342	0.4171	17.9795	0.854	0.0703	0.0351	0.3823	6.8098	0.0326	0.0163	0.9698	7.5564	0.8970	0.4485	11.8707	8.4039	0.0815	0.0407	0.9697	9.3088	1.6101	0.8050	17.2965								
E ₉	3.3337	0.6392	0.3196	19.173	4.6755	0.8182	0.4091	17.4997	6.3213	0.8036	0.4018	12.4017	7.2771	0.8411	0.4205	10.8587	4.180	0.7768	0.3884	9.7774	7.7460	1.5349	0.7674	21.0921	9.3088	1.6101	0.8050	17.2965								
E ₁₀	2.2901	0.0201	0.0100	0.8743	3.4140	0.0475	0.0237	2.8068	4.5974	0.8051	0.4025	17.5125	5.0854	0.0703	0.0351	0.3823	6.3787	0.8097	0.4048	12.6938	7.7460	1.5349	0.7674	21.0921	9.3088	1.6101	0.8050	17.2965								
E ₁₁	2.2392	0.0386	0.0193	1.7238	3.3346	0.0799	0.0399	2.2860	4.2095	0.9131	0.4565	21.6938	5.1066	0.0438	0.0219	0.8575	4.240	0.7628	0.3814	13.8084	8.756	0.9133	0.4566	15.5435	8.975	0.8087	0.4443	15.0650								
E ₁₂	2.9857	0.0514	0.0257	1.7245	3.3902	0.0469	0.0234	1.3833	4.6544	0.8051	0.4025	17.2975	5.5686	0.7332	0.3666	13.1666	9.760	0.9279	0.4639	15.5271	5.7260	0.9279	0.4679	15.5271	8.0447	0.7683	0.3841	9.5503								
E ₁₃	2.6088	0.0261	0.0130	1.0023	3.8361	0.7756	0.3879	20.2262	6.3213	0.7677	0.3838	12.1447	15.46	0.8411	0.4205	10.8587	2.910	1.5108	0.7556	21.1161	7.7460	0.7889	0.3844	10.8201	9.2372	0.8807	0.4403	9.5342								
E ₁₄	3.8926	0.0930	0.0465	2.3904	4.9108	0.7349	0.3814	13.8088	3.495	0.3932	0.3932	12.3868	7.7460	0.7889	0.3864	10.8208	1.530	0.8464	0.4202	10.3091	9.4956	0.0705	0.0350	0.8424	10.5497	0.6807	0.3403	7.1685								
E ₁₅	2.5975	0.0226	0.0113	0.8700	3.8069	0.7958	0.3979	20.9052	5.021	0.7774	0.3887	14.1291	5.5093	0.4771	0.7359	26.7166	7.5564	0.8970	0.4485	11.8707	7.7460	1.5349	0.7668	9.7774	9.3088	0.7683	0.3841	9.5342								
E ₁₆	2.7089	0.1548	0.0774	5.7144	4.6398	0.8342	0.4171	17.9795	6.948	0.0564	0.0283	0.8424	7.9448	0.7768	0.3884	9.7774	8.5474	0.8236	0.4118	11.1419	6.975	0.7768	0.3884	9.7774	10.6314	0.7899	0.3844	9.7536								
E ₁₇	3.1141	0.0744	0.0372	2.3891	3.8136	0.7349	0.3814	19.2604	6.755	0.8182	0.4091	17.4997	6.4297	0.7796	0.3898	12.1248	2.264	0.7399	0.3699	10.2388	3.686	0.0533	0.0266	0.6309	9.2737	0.8406	0.4233	9.0643								
E ₁₈	3.3196	0.0273	0.0136	0.8223	4.1831	0.8485	0.4242	20.2839	4.2241	0.8959	0.4479	21.2092	7.1972	0.7593	0.3796	10.5897	1.972	0.7593	0.3796	10.5897	6.149	0.8295	0.4147	10.8931	8.2650	0.0788	0.0394	9.9534								
E ₁₉	2.5105	0.0211	0.0105	0.8424	3.7923	0.8051	0.4025	21.2298	9.3495	0.7865	0.3932	0.1238	8.3640	0.705	0.0352	0.8358	4.393	0.0605	0.0302	0.7233	4.393	0.0703	0.0351	0.8330	9.5834	0.8330	0.4160	0.6952								
E ₂₀	3.2634	0.0264	0.0132	0.8084	4.6613	0.0469	0.0234	1.3833	5.9760	0.9279	0.4639	15.5271	6.3639	0.9279	0.4639	15.5271	2.138	0.7332	0.3666	13.1666	0.447	0.7683	0.3841	9.5503	8.5474	0.8236	0.4118	11.1418								
E ₂₁	3.0080	0.0446	0.0223	1.4827	4.1949	0.9296	0.4648	2.1602	5.9760	0.9279	0.4639	15.5271	5.5564	0.8970	0.4485	11.8707	7.5856	0.8640	0.4223	11.979	8.0800	0.7889	0.3944	9.7636	8.8538	0.7627	0.3183	8.6124								
E ₂₂	3.2017	0.0868	0.0434	2.7110	4.6755	0.8182	0.4091	17.4997	6.4070	0.8182	0.4091	17.4997	7.6502	0.691	0.3430	9.0193	8.583	0.8330	0.4166	0.6952	9.9077	0.7617	0.3808	7.6879	10.9180	0.8644	0.4322	7.1972								
E ₂₃	3.0652	0.0233	0.0116	0.7601	4.6544	0.8051	0.4025	17.2972	5.0635	0.0423	0.0211	0.8358	6.0505	0.9105	0.4552	15.083	7.5856	0.8640	0.4422	11.3979	8.0094	0.7449	0.3724	9.3003	9.6551	0.6897	0.3448	7.1433								
E ₂₄	3.0196	0.0567	0.0283	1.8777	4.2101	0.9164	0.4582	21.7667	4.6755	0.8182	0.4091	17.4997	6.4297	0.7796	0.3898	12.1248	7.2264	0.7399	0.3699	10.2388	3.686	0.9330	0.0266	0.6309	9.2737	0.8406	0.4233	9.0643								
UNPAIRED	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-							

TABLE 28: 20°C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMULSIYONLARIN 3500 rpm'DE SANTRİFÜJ İLE AYRILAN KISIM YÜZDESİNDE GÜZLENE DEĞİŞİMLER

Zaman (ay)	Kısım																																			
	1						2						3						4						5						6					
	Sterilizasyondan sonra																																			
	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k	\bar{x}	S	S_x	V_k				
E ₁	2.5316	0.0122	0.0061	0.4819	4.6398	0.1418	0.0709	0.0089	5.1066	0.0708	0.0354	3.0128	6.8098	0.0491	0.0245	1.9185	8.5475	0.1892	0.0946	7.1013	9.3950	0.4973	0.2486	17.4853	10.5434	0.5785	0.2892	2.2096								
E ₂	3.4784	0.0349	0.0176	1.0033	5.5240	0.6942	0.3471	25.1094	6.8672	0.1749	0.0874	5.4968	8.1530	0.0370	0.0168	0.9773	8.4039	0.2908	0.1450	0.9218	9.3950	0.0675	0.0337	14.9656	9.6975	0.1102	0.0551	1.6182								
E ₃	3.7321	0.0643	0.0321	1.7228	5.1060	1.5118	0.7454	21.1264	6.8098	0.7643	0.3872	8.5857	7.7460	0.8259	0.4280	6.7372	8.5475	0.8051	0.4125	16.2975	9.2372	0.0651	0.0325	1.2866	10.6314	0.7880	0.3944	9.7536								
E ₄	3.8169	0.0336	0.0168	0.8802	5.1622	0.7527	0.3714	13.7980	6.3787	0.7555	0.3726	14.1884	7.2557	0.7390	0.3698	10.2388	8.5475	0.7683	0.3842	9.5203	9.5834	0.6707	0.3405	7.1682	19.5437	1.2168	0.6183	19.8582								
E ₅	2.3913	0.0558	0.0279	2.3334	9.4140	0.0337	0.0168	0.9773	4.9108	0.2908	0.1454	5.9216	6.8098	0.0674	0.0337	0.9856	6.8380	0.1102	0.0551	1.6182	6.8380	0.0674	0.0337	0.9856	7.6503	0.6910	0.3450	9.0193								
E ₆	2.3454	0.0757	0.0378	3.2275	4.6398	0.8942	0.4171	17.9192	5.1066	0.0438	0.0219	0.8577	6.8098	0.0674	0.0337	0.9856	6.8088	0.0584	0.0229	0.8577	8.8975	0.0971	0.0485	1.4077	9.3950	0.3942	0.4471	9.5178								
E ₇	4.0659	0.9209	0.4604	22.653	6.1622	1.2346	0.6173	2.0350	6.6948	0.0564	0.0282	0.8424	8.5475	0.0843	0.0421	0.9862	8.5475	0.8236	0.4118	11.1478	9.6975	0.7223	0.3671	7.4483	10.6314	0.3650	0.3475	0.5372								
E ₈	3.4633	0.7457	0.3728	21.531	5.1060	0.8136	0.4017	12.588	6.7231	0.6420	0.3160	9.6970	6.8098	0.0781	0.0390	0.9224	7.7888	0.8115	0.4107	10.8248	9.2372	0.8842	0.4371	0.5178	20.9180	0.8644	0.4322	7.9171								
E ₉	3.3337	0.6392	0.3196	19.173	6.3778	0.8036	0.4017	12.588	6.7231	0.0652	0.0326	0.9697	7.9446	0.0780	0.0390	0.9125	8.5474	0.8125	0.4007	10.8048	9.3950	0.8942	0.4471	0.5178	20.9180	0.8644	0.4322	7.9171								
E ₁₀	2.2901	0.0201	0.0100	0.8794	4.6613	0.8134	0.4217	12.5282	5.5740	0.0652	0.0316	0.9897	6.8078	0.2612	0.4117	1.1322	7.7460	0.9151	0.4437	11.8034	8.5110	0.9043	0.5467	10.1510	10.6314	0.8657	0.5334	7.4215								
E ₁₁	2.2392	0.0386	0.0193	1.7238	4.6615	0.4920	0.2460	10.5546	5.0423	0.0489	0.0244	0.9697	6.7231	0.0632	0.0326	0.9697	6.7815	0.1327	0.0663	1.9567	6.8672	0.0584	0.0292	0.0584	0.8405	0.4202	10.3090									
E ₁₂	2.9857	0.0514	0.0257	1.7245	5.1060	0.4920	0.2460	10.555	5.1323	0.0489	0.0244	0.9697	5.9763	0.9279	0.4639	15.5271	6.8672	0.1327	0.0663	1.9567	7.2557	0.7183	0.3591	9.8998	9.2513	0.8405	0.4202	10.3090								
E ₁₃	2.6086	0.0261	0.0130	1.0023	4.6754	0.8182	0.4091	17.4997	6.7513	0.0564	0.0282	0.8353	7.7888	0.8942	0.4442	9.5178	9.0078	0.9617	0.4806	12.3474	9.3950	0.7743	0.3871	8.5958	12.3905	0.8360	0.4180	6.7471								
E ₁₄	3.8926	0.0930	0.0465	2.3904	5.1060	0.4920	0.2460	10.555	6.7231	0.0652	0.0326	0.9697	7.7888	0.8942	0.4471	0.5178	8.5110	0.7683	0.3841	9.5503	9.6975	0.8942	0.4471	0.5178	10.6214	0.9650	0.3475	0.5372								
E ₁₅	2.5975	0.0226	0.0113	0.8700	4.2664	0.9448	0.4724	22.1459	6.1340	1.2169	0.6084	19.8386	6.3778	0.8035	0.4017	12.5983	7.6855	0.9110	0.4555	11.8534	9.3950	0.5942	0.4471	9.5178	10.9180	0.8644	0.4322	7.9172								
E ₁₆	2.7089	0.1548	0.0774	5.7144	5.1236	0.7678	0.3814	13.8088	7.2557	0.7183	0.3591	9.8900	8.4039	0.0815	0.0407	0.9733	8.5853	0.7683	0.3841	9.5503	9.9077	0.0585	0.0292	0.8577	11.2923	0.7339	0.3699	10.2388								
E ₁₇	3.1141	0.0744	0.0372	2.3891	5.4105	0.7628	0.3814	13.8088	5.5240	0.7648	0.3814	13.808	7.2264	0.7319	0.3699	10.2388	8.0447	0.7683	0.3841	9.5503	9.3526	0.6807	0.3403	7.1685	9.4956	0.8481	0.4240	0.9068								
E ₁₈	3.3196	0.0273	0.0136	0.8223	5.0423	0.0489	0.0244	0.9697	5.7998	0.8753	0.4376	15.0910	7.6115	0.8291	0.4147	10.8931	8.0094	0.7449	0.4724	9.3003	9.1552	0.7860	0.3930	9.1552	9.7222	0.7743	0.3871	7.9153								
E ₁₉	2.5105	0.0211	0.0105	0.8424	4.6755	0.8182	0.4091	17.4997	6.7495	0.7865	0.3932	12.3868	8.5110	0.7743	0.3871	7.9153	9.3950	0.0730	0.0362	0.8577	9.6975	0.8942	0.4471	9.5178	10.5437	0.7485	0.3742	7.0990								
E ₂₀	3.2654	0.0264	0.0132	0.8084	5.1066	0.6051	0.4024	17.297	6.1622	0.0652	0.0326	1.2966	6.8098	0.7889	0.3944	9.7636	7.2771	0.7183	0.3591	9.8938	8.5853	1.5229	0.7614	16.2319	9.6551	0.8644	0.4322	7.9172								
E ₂₁	3.0080	0.0446	0.0223	1.4827	4.6544	0.8051	0.4025	17.2976	5.0282	0.0652	0.0326	1.2966	8.0800	0.7889	0.3944	9.7636	9.3821	1.5229	0.7614	16.2319	10.0847	0.9022	0.4511	8.9462	10.9180	0.8644	0.4322	7.9172								
E ₂₂	3.2017	0.0868	0.0434	2.7110	5.5240	0.0826	0.0413	11.6094	6.8098	0.0438	0.0219	0.8578	7.3888	0.9279	0.4638	15.5271	9.2372	0.0584	0.0292	0.8504	10.6314	0.7183	0.3891	8.8998	11.2921	1.0600	0.5400	11.468								
E ₂₃	3.0652	0.0233	0.0116	0.7601	5.5240	0.7678	0.3814	13.8088	6.3495	0.7909	0.3954	11.4322	7.2065	1.4619	0.7349	9.2858	8.4039	0.0815	0.0407	0.9733	8.7795	0.7372	0.3686	8.9968	9.3526	0.8481	0.4240	0.9068								
E ₂₄	3.0196	0.0567	0.0283	1.6777	5.4105	0.7514	0.3757	13.8338	5.4314	0.7655	0.3817	14.1484	7.6431	1.5721	0.7860	20.5688	8.0447	0.7683	0.3841	0.5503	9.4956	0.6807	0.3403	7.1685	10.0847	0.9022	0.4511	8.9462								
ORTAALIPID	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		



Şekil 20. En dayanıklı E₅ ile en dayanıksız emülsiyonun (E₁₉) zamana ve sıcaklığa bağlı olarak santrifüj ile ayrılan kısım yüzdelерinde gözlenen değışmeler

— E₅ □ 4 °C ○ 40 °C (karanlıkta)
 - - - E₁₉ . 20 °C X 40 °C (ışıkta)

TABLO 31: 4 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN İLETKENLİĞİNDE GÖZLENEN DEĞİŞMELER

Emülsiyon kodu	Zaman (ay)	İletkenlik (μ MHOS) $\times 10^2$					
	Sterilizasyon sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁	2.10	2.50	2.50	2.70	2.70	2.70	2.90
E ₂	2	2.40	2.40	2.60	2.80	2.80	2.80
E ₃	2.10	2.30	2.60	2.80	2.80	2.90	3.00
E ₄	1.90	2.10	2.10	2.30	2.40	2.60	2.60
E ₅	0.50	0.70	0.70	0.80	1.00	1.10	1.10
E ₆	0.30	0.60	0.70	0.70	0.90	0.90	1.00
E ₇	1.40	1.90	2.30	2.50	3.30	3.30	3.30
E ₈	1.80	2.00	2.00	2.10	2.20	2.50	2.50
E ₉	0.90	1.10	1.80	2.10	2.20	2.60	2.90
E ₁₀	1.30	1.50	1.60	1.60	1.80	2.00	2.10
E ₁₁	0.20	0.25	0.70	0.70	0.80	0.90	0.90
E ₁₂	0.20	0.28	0.80	0.90	1.00	1.10	1.10
E ₁₃	2.10	2.50	2.50	2.60	2.70	2.70	2.80
E ₁₄	1.80	2.10	2.10	2.20	2.40	2.60	2.70
E ₁₅	0.90	1.20	1.70	1.70	2.60	2.80	3.00
E ₁₆	1.20	1.40	1.40	1.50	1.70	1.90	2.10
E ₁₇	0.50	0.90	0.90	0.90	0.90	1.10	1.20
E ₁₈	0.50	0.80	1.10	1.10	1.10	1.20	1.50
E ₁₉	1.60	1.80	1.90	2.00	2.10	2.20	2.40
E ₂₀	1.20	1.30	1.50	1.70	1.70	1.90	2.00
E ₂₁	1.40	1.60	1.80	1.90	2.10	2.10	2.30
E ₂₂	1.30	1.50	1.50	1.90	2.00	2.00	2.10
E ₂₃	0.30	0.70	0.70	0.70	0.80	0.80	0.90
E ₂₄	0.40	0.70	0.70	1.00	1.00	1.10	1.10
İNTRALİPİD	-	-	-	-	-	-	3.70

TABLO 32: 20 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN İLETKENLİĞİNDE GÖZLENEN DEĞİŞMELER

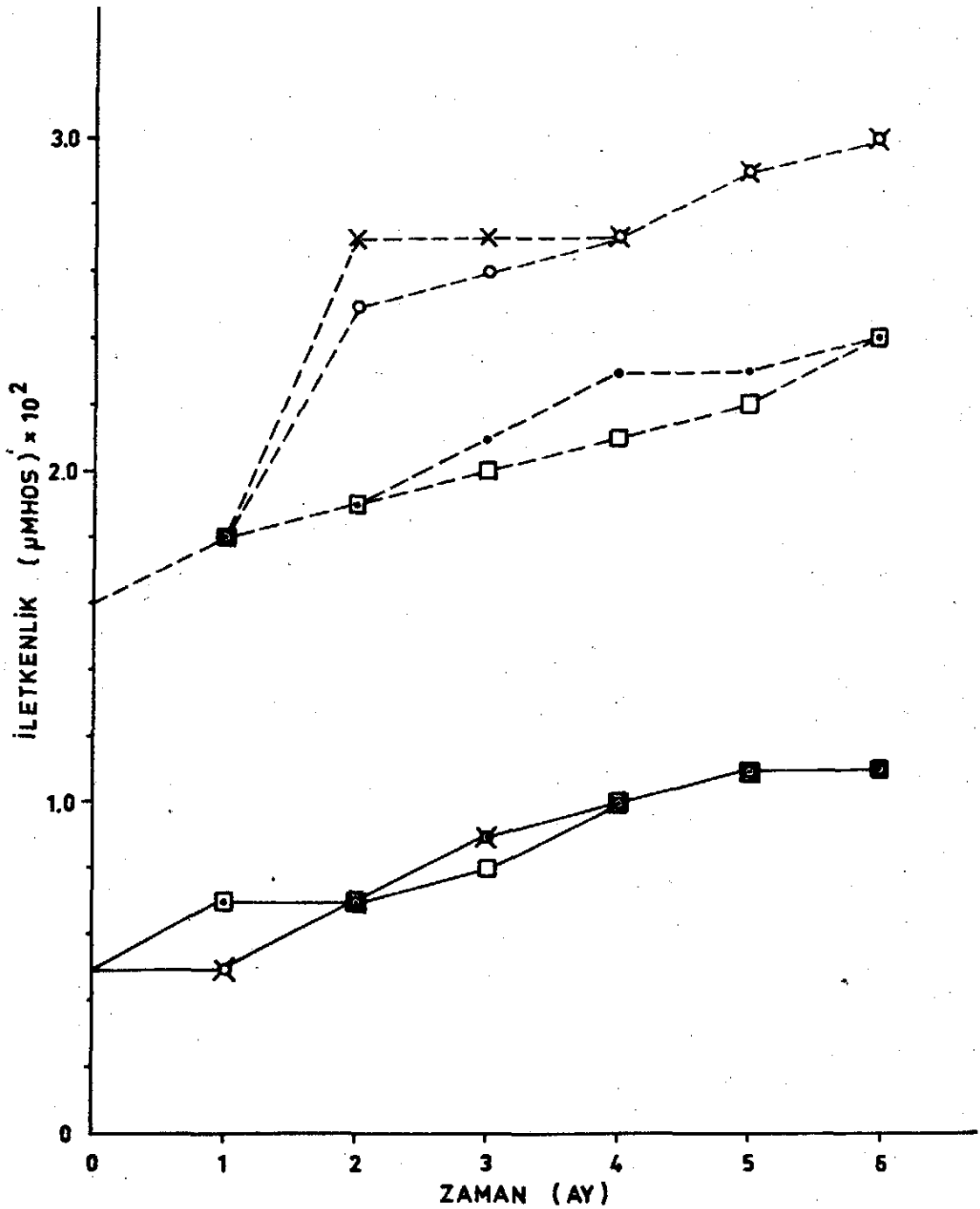
Emülsiyon kodu	Zaman (ay)	İletkenlik (μ MHOS) $\times 10^2$						
		Sterili. sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁		2.10	2.60	2.60	2.80	2.90	3.00	3.00
E ₂		2.00	2.40	2.60	2.60	2.70	2.90	2.90
E ₃		2.10	2.40	2.60	2.80	2.80	3.10	3.30
E ₄		1.90	2.30	2.40	2.40	2.70	2.70	2.90
E ₅		0.50	0.70	0.70	0.90	1.00	1.10	1.10
E ₆		0.30	0.60	0.70	0.90	0.90	0.90	1.10
E ₇		1.40	1.90	3.10	3.30	3.30	3.30	3.60
E ₈		1.80	2.00	2.10	2.30	2.30	2.50	2.70
E ₉		0.90	1.10	1.80	2.10	2.20	2.80	2.90
E ₁₀		1.30	2.00	2.10	2.40	2.70	2.90	3.00
E ₁₁		0.20	0.26	0.70	0.80	0.90	1.10	1.20
E ₁₂		0.20	0.28	0.80	0.90	1.00	1.10	1.10
E ₁₃		2.10	2.50	2.50	2.60	2.80	2.80	2.80
E ₁₄		1.80	2.30	2.40	2.40	2.60	2.80	3.00
E ₁₅		0.90	2.20	2.50	2.80	3.00	3.10	3.20
E ₁₆		1.20	1.50	1.70	1.70	1.90	2.10	2.20
E ₁₇		0.50	0.90	0.90	0.90	1.10	1.10	1.20
E ₁₈		0.50	0.70	0.80	1.20	1.30	1.40	1.50
E ₁₉		1.60	1.80	1.90	2.10	2.30	2.30	2.40
E ₂₀		1.20	1.50	1.50	1.70	1.80	1.90	2.20
E ₂₁		1.40	1.60	2.00	2.40	2.60	2.80	3.00
E ₂₂		1.30	1.60	1.60	2.00	2.10	2.30	2.40
E ₂₃		0.30	0.70	0.70	0.70	0.80	0.80	0.90
E ₂₄		0.40	0.70	0.70	1.00	1.00	1.10	1.10
İNTRALİPİD		-	-	-	-	-	-	3.80

TABLO 33: 40 °C'DA KARANLIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN İLETKENLİĞİNDE GÖZLENEN DEĞİŞMELER

Zaman (ay) Emülsiyon kodu	İletkenlik (μ MHOS) $\times 10^2$						
	Sterili. sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁	2.10	2.70	2.80	3.00	3.00	3.10	3.30
E ₂	2.00	2.50	2.60	2.70	2.80	3.00	3.00
E ₃	2.10	2.80	3.10	3.30	3.50	3.50	3.50
E ₄	1.90	2.50	2.50	2.60	2.80	2.80	3.00
E ₅	0.50	0.50	0.70	0.90	1.00	1.10	1.10
E ₆	0.30	0.60	0.70	0.90	0.90	0.90	1.10
E ₇	1.40	1.90	3.30	3.30	3.30	3.50	3.80
E ₈	1.80	2.10	2.60	2.60	2.80	2.90	3.00
E ₉	0.90	1.10	2.00	2.10	2.60	3.00	3.20
E ₁₀	1.30	2.50	2.50	2.70	2.80	3.00	3.10
E ₁₁	0.20	0.26	0.70	0.80	0.90	1.10	1.20
E ₁₂	0.20	0.28	0.80	1.00	1.00	1.10	1.20
E ₁₃	2.10	2.50	2.60	2.60	2.80	3.00	3.00
E ₁₄	1.80	2.50	2.60	2.80	2.80	3.00	3.00
E ₁₅	0.90	2.50	3.00	3.20	3.50	3.50	3.50
E ₁₆	1.20	2.00	2.10	2.10	2.30	2.40	2.60
E ₁₇	0.50	0.90	1.00	1.00	1.10	1.10	1.30
E ₁₈	0.50	0.70	0.80	1.20	1.30	1.40	1.50
E ₁₉	1.60	1.80	2.50	2.60	2.70	2.90	3.00
E ₂₀	1.20	1.60	1.80	1.90	1.90	2.10	2.30
E ₂₁	1.40	1.60	2.20	2.40	2.70	2.90	3.10
E ₂₂	1.30	1.70	1.80	2.00	2.20	2.40	2.60
E ₂₃	0.30	0.70	0.70	0.70	1.00	1.10	1.20
E ₂₄	0.40	0.70	0.80	1.00	1.10	1.10	1.20
İNTRALİPİD	-	-	-	-	-	-	4.10

TABLO 34: 40 °C'DA IŞIKTA 6 AY BEKLETİLEN EMÜLSİYONLARIN İLETKENLİĞİNDE GÖZLENEN DEĞİŞMELER

Zaman (ay)	İletkenlik (μ MHOS) $\times 10^2$						
	Sterili- sonra	1	2	3	4	5	6
E ₁	2.10	2.70	2.80	3.00	3.00	3.10	3.30
E ₂	2.00	2.50	2.60	2.80	2.90	3.00	3.00
E ₃	2.10	2.80	3.10	3.30	3.50	3.50	3.50
E ₄	1.90	2.50	2.60	2.60	2.80	3.00	3.10
E ₅	0.50	0.50	0.70	0.90	1.00	1.10	1.10
E ₆	0.30	0.60	0.70	0.90	0.90	1.00	1.10
E ₇	1.40	1.90	3.30	3.30	3.30	3.50	3.80
E ₈	1.80	2.10	2.50	2.70	2.80	3.00	3.10
E ₉	0.90	1.10	2.00	2.10	2.60	3.00	3.20
E ₁₀	1.30	2.50	2.50	2.60	2.70	3.10	3.10
E ₁₁	0.20	0.25	0.70	0.80	1.00	1.30	1.40
E ₁₂	0.20	0.29	0.90	1.00	1.00	1.10	1.20
E ₁₃	2.10	2.50	2.60	2.80	2.80	3.00	3.00
E ₁₄	1.80	2.50	2.60	2.90	3.00	3.00	3.10
E ₁₅	0.90	2.50	3.10	3.20	3.50	3.50	3.60
E ₁₆	1.20	2.10	2.20	2.50	2.60	2.60	2.80
E ₁₇	0.50	0.90	1.00	1.00	1.10	1.10	1.30
E ₁₈	0.50	0.70	0.80	1.20	1.30	1.40	1.50
E ₁₉	1.60	1.80	2.70	2.70	2.70	2.90	3.00
E ₂₀	1.20	1.60	1.80	1.90	2.00	2.20	2.40
E ₂₁	1.40	1.60	2.20	2.40	2.90	3.00	3.10
E ₂₂	1.30	1.70	1.90	2.10	2.22	2.50	2.60
E ₂₃	0.30	0.70	0.70	0.60	1.10	1.10	1.20
E ₂₄	0.40	0.70	0.80	1.00	1.10	1.10	1.20
İNTRALİPİD	-	-	-	-	-	-	4.10



Şekil 21. En dayanıklı E₅ ile en dayanıksız emülsiyonun (E₁₉) zamana ve sıcaklığa bağlı olarak iletkenliklerinde gözlenen değişimler

— E₅ □ 4 °C
 - - - E₁₉ . 20 °C
 ○ 40 °C (karanlıkta)
 X 40 °C (ışıkta)

III.3.2.1. pH

Sıcaklığa bağlı olarak pH'da gözlenen değişiklikler incelendiğinde birinci ayın sonunda 4 ve 20 °C'larda bekleyen emülsiyonların pH'larında başlangıç pH'sı olan pH 7'den düşüşün az olduğu görülmüştür. Buna karşın 40 °C'da bekleyen emülsiyonların pH'sınının pH 6.8'in altında olduğu görülmüştür (Tablo 11-14).

Ayrıca 4 °C'da bekleyen emülsiyonlarda ilk üç ay sonundaki düşüşün 20 ve 40 °C'larda bekleyenlere kıyasla daha az olduğu belirgindir. 4,5 ve 6 ıncı aylardaki hızlı düşüş tablolarından görülmektedir. Lesitinin emülgatör olarak kullanıldığı emülsiyonlarda ise pH düşüşü noniyonik emülgatörlere kıyasla son üç ayda daha belirgindir. Intralipid^R nin pH'sında sıcaklığa bağlı olarak düşme görülmüştür. Bu düşüş hazırlanan formüllere göre daha azdır.

III.3.2.2. Serbest Yağ Asidi

4 °C'da bekleyen emülsiyonlarda ilk ay sonunda, serbest yağ asidi miktarında belirgin fark yoktur. 4,5 ve 6 ıncı ayların sonunda serbest yağ asidi miktarı başlangıç değerinin yaklaşık iki katına yükselmiştir (Tablo 15) .

Bekleme sıcaklığı arttıkça, serbest yağ asidi miktarıda artmaktadır. 20 °C da bekleyen emülsiyonların serbest yağ asidi miktarı başlangıç değerinin iki katına çıkarken, 40 °C'da bekleyenlerde yaklaşık üç katına çıkmıştır. (Tablo 17-18) .

Emülgatör olarak lesitin kullanıldığında serbest yağ asidindeki artış daha da fazladır.

Sıcaklığa bağlı olarak serbest yağ asidinin daha fazla açığa çıkması nedeniyle sıcaklık arttıkça (40 °C) pH'da belirgin düşme görülmektedir (Şekil 16).

Intralipid^R'nin sıcaklığa bağlı olarak serbest yağ asidindeki artış hazırlanan formüllere göre daha azdır.

III.3.2.3. Partikül Büyüklüğü

4 °C'da bekletilen emülsiyonların partikül büyüklüklerindeki artış 3 üncü aydan sonra daha belirgindir (Tablo 19).

Bekleme sıcaklığındaki artışa bağlı olarak partikül büyüklüğünde de artış gözlenmiştir (Tablo 19-22 Şekil 18). 4 °C'da bekletilen emülsiyonların aksine, yüksek sıcaklıklarda bekletilen pluronik F 68 ve Tween 80 ile hazırlanan emülsiyonların partikül büyüklüğündeki artış başlangıç değerine göre daha fazla bulunmuştur (Tablo 21-22). Tween 60 ve lesitin ile hazırlanan emülsiyonlarda ise en az artış gözlenmiştir.

Diğer fiziksel özelliklerindeki değişmeler sonucu en dayanıksız olarak nitelendirilen (E₁₉)'un d_t/d_0 oranındaki artış E₅ ve E₁₁ den farklı değildir (Tablo 19-22).

III.3.2.4. Viskozite

Sıcaklık arttıkça emülsiyon viskozitelerinde bir düşme beklendiğinden, 4, 20 ve 40 °C'larda bekleyen emülsiyonların

viskoziteleride sırasıyla düşmektedir. Fakat 4 °C'da bekleyen emülsiyonların viskozitesinde başlangıç değerinden belirgin farklılık görülmezken (Tablo 23), 20° ve 40 °C'da bekleyenlerde ise başlangıç değerinden daha düşük olduğu gözlenmiştir. (Tablo 24-26, Şekil 19).

Sıcaklığa bağlı olarak intralipid^R nin viskozitesinde düşme görülmüştür.

III.3.2.5. Santrifüj ile Ayrılan Yüzde

4, 20 ve 40 °C'larda bekleyen emülsiyonların santrifüjle ayrılan kısmının yüzdesine bakıldığında, birinci ay sonunda, sıcaklık arttıkça ayrılan kısmının yüzdesinin arttığı görülmüştür. Bu da sıcaklık nedeniyle koalesensin artmasına bağlanabilir.

Her ay sonundaki gözlemler sıcaklık artışının kremalaşmayı artırdığını belirlemektedir. 20 ve 40 °C sıcaklıklarda, 6 ıncı ayın sonunda ayrılan kısım yüzdesi başlangıç değerinin yaklaşık üç katına (Tablo 28, 29) çıkarken 4 °C'da bekleyenlerin yaklaşık iki katıdır (Tablo 27).

Intralipid^R'in santrifüjle ayrılan kısım yüzdesinde sıcaklığa bağlı olarak artış görülmüştür. Bu artış hazırlanan emülsiyon formüllerine göre daha azdır.

III.3.2.6. İletkenlik

4 ve 20 °C'da bekletilen emülsiyonların iletkenliklerinde 1-6 ay süresindeki veriler arasında fark gözlenmiştir (Tablo

31-32) 40 °C'da bekleyenlerde ise düşük sıcaklığa göre bir artış belirlenmiştir (Tablo 33) . 4

40 °C'da bekletilen Intralipid^R'in iletkenliği 4 °C ve 20 °C'da bekletilenlere göre daha yüksek bulunmuştur.

III.3.3. Işığın Fizikokimyasal Özelliklerdeki Değişmelere Etkisi

Bu kısım içinde 40 °C'da bekleyen emülsiyonlara ışığın etkisine ait bulgular incelenecektir.

III.3.3.1. pH

40 °C da su banyosunda (ışıkta) ve etüvde (karanlıkta) bekleyen emülsiyonların pH'sına ışığın etkisi araştırıldığında, ilk 5 ayda belirgin bir farklılık göze çarpmamaktadır. 6 ıncı ayda ise ışıkta bekleyenlerin pH'sı daha düşük bulunmuştur (Tablo 13-14) .

Lesitin ile hazırlananlarda gözlenen pH düşüşü non-iyonik emülgatörlerden daha belirgindir. Bu da ışığın etkisi sonucu lesitin bozulmasına bağlanabilir.

Intralipid^R'in pH'sında ışığa bağlı olarak değişiklik görülmemiştir.

III.3.3.2. Serbest Yağ Asidi

Serbest yağ asidi miktarında gözlenen değişimler pH'da gözlenenlerin aksidir. Yani 40 °C'da ışıkta bekleyen emülsiyonların serbest yağ asidi miktarları ilk 5 ayda değişmemiş fakat

6 ıncı ayın sonunda daha yüksek bulunmuştur (Tablo 17-18).

Lesitinin emülgatör olarak kullanıldığı durumlarda serbest yağ asidi miktarındaki artış belirgindir (Tablo 17,18).

Intralipid^R in serbest yağ asidi miktarında ışığa bağlı olarak belirgin bir artış gözlenmemiştir.

III.3.3.3. Partikül Büyüklüğü

40 °C'da ışıkta ve karanlıkta saklanan emülsiyonların partikül büyüklüklerindeki artış 2 inci aydan sonra kendini göstermektedir (Tablo 21,22) ve 40 °C'da ışıkta bekleyen emülsiyonların partikül büyüklüklerindeki artış karanlıkta bekleyenlerden daha fazla olmaktadır (Tablo 21,22). Bu değişme ışığın etkisi ile emülsiyon damlacıkları etrafındaki emülgatör filmlerinin bozulması ve yağın oksidasyonuna bağlanabilir.

III.3.3.4. Viskozite

40 °C'da ışıkta ve karanlıkta saklanan emülsiyonların viskozitelerinde birinci aydan 6 ıncı aya kadar fark gözlenmemiştir (Tablo 25,26).

6 ay boyunca 40 °C'da ışıkta ve karanlıkta saklanan Intralipid^R in viskozitelerinde farklılık görülmemiştir.

III.3.3.5. Santrifüj ile Ayrılan Yüzde

Işıktaki 40 °C'da bekleyen emülsiyonlarda birinci ay ile 5 inci ay sonuna kadarki gözlemlerde karanlıkta saklanana kıyasla

bir artış gözlenmiştir. Fakat 6 ıncı aydaki veriler arasında belirgin farklılık yoktur (Tablo 29, 30).

40 °C'da ışııkta ve karanlıkta 6 ay saklanan Intralipid^R in santrifüjle ayrılan kısım yüzdelerinde fark gözlenmemiştir.

III.3.3.6. İletkenlik

40 °C'da ışııkta bekletmenin emülsiyonların iletkenlikleri üzerinde bir etkisinin olmadığını elde edilen veriler göstermiştir (Tablo 33,34).

40 °C'da ışııkta ve karanlıkta 6 ay saklanan Intralipid^R in iletkenliklerinin aynı olduğunu görülmüştür.

III.4. İntravenöz Emülsiyonların Toksisitesi

Yapılan fizikokimyasal çalışmalar, E₅ ve E₁₁ kodlu ve Tablo 9'da formülü açık olarak verilen emülsiyonların hazırlananlar arasında en stabil olduğunu ortaya çıkarmıştır.

Bu emülsiyonların uygunluğunun değerlendirilmesi için biyolojik açıdanda (toksisite, klerens ve depozisyon) incelenmesi gerekmektedir.

Bu amaçla yapılan tavşan deneyleri ile kronik toksisite araştırılmıştır. Bu bölümde hayvan deneylerinden elde edilen veriler bulunmaktadır.

III.4.1. Kronik Toksisite

Serum çiftliğinden sağlanan, erkek beyaz tavşanlar her grupta 5 tavşan

olacak şekilde 2 gruba ayrılmışlar ve enjeksiyona başlamadan önce 10 gün süre ile vücut ağırlıklarının tayini ve kandaki hemoglobin, hematokrit, lökosit ve eritrosit sayımı yapılmıştır. Veriler Tablo 35'de görülmektedir.

Emülsiyon formülasyonuna giren izotoni ayarlayıcı maddelerin, gliserol ve sorbitolün, toksik etkisi arasındaki farkı incelemek üzere birinci gruptaki 5 tavşana E_5 , ikinci gruptakilere ise E_{11} , 5 gün süre ile kulak venasından, 1 ml'si 2.5 dakika hızda enjekte edilmiştir. Enjeksiyona başladıktan 7 gün sonra yine vücut ağırlıkları ve kan sayımı tekrarlanmış ve Tablo 35'deki veriler elde edilmiştir.

E_5 verilen tavşanlardan bir tanesi kontrol süresinin ikinci gününde ortakulak iltihabı olduğu zannedilerek deneyden çıkarılmıştır.

Tavşanların ağırlıklarında kontrolün ilk gününe göre 50 gram ile 250 gram arasında bir azalma gözlenmiştir. Tavşanların yiyecek miktarı bir kafeste birden fazla tavşan bulunduğundan hesaplanamamıştır.

Enjeksiyonun yedinci gününde E_5 emülsiyonu verilen tavşanların vücut ağırlıklarındaki yüzde fark (+ 2.94)-(-10.14) arasında iken E_{11} formülasyonunun verildiği tavşanlardaki yüzde farklar (+ 10.20)-(-11.37) arasındadır. Tablo 35'de de görüldüğü gibi birinci hafta sonunda bazı tavşanların vücut ağırlıklarında artış görülmüştür. Enjeksiyonun on dördüncü gününde ise bu yüzde farklar sırasıyla (-2.26)-(-8.30) ve (-8.30)-(+15-17) arasında

TABLO 35: Tavşanlarda yapılan kronik toksisite deneylerinde enjeksiyondan önce ve sonra vücut ağırlıklarında ve kanda gözlenen değişimler

Bilgiyon kodu	Tavşan No	Kan																								
		Vücut Ağırlığı (g)						Hematokrit %						Eritrosit x 10 ⁵ mm ⁻³						İkrosit x 10 ³ mm ⁻³						
		Enj. önce			Enj. sonra			Enj. önce			Enj. sonra			Enj. önce			Enj. sonra			Enj. önce			Enj. sonra			
		X̄	S	7.gün	14.gün	14.gün	14.gün	7.gün	14.gün	14.gün	14.gün	7.gün	14.gün	14.gün	7.gün	14.gün	14.gün	7.gün	14.gün	14.gün	7.gün	14.gün	14.gün	7.gün	14.gün	14.gün
E5	185	2560	18.23	2550	-0.39	2550	-2.26	6.5	-10.5	7.5	-21.05	37	26	-29.7	34	-81	27	24	-11.1	26	-3.7	9.4	8	-14.8	7.4	-21.2
	339	3450	16.73	3100	-10.14	-	-	8.5	11.7	-	-	41	28	-31.7	-	-	32.5	36	-10.7	-	-	5.6	7.4	32.1	-	
	416	2380	21.67	2450	2.94	2300	-3.36	12	33.3	11	22.2	46	48	4.3	48	4.3	36	45	25	43.5	20.8	6	6.4	6.66	5.4	-10
E11	738	2890	5.47	2750	-4.84	2650	-8.30	7	-26.3	6.5	-31.5	42	25	-40.4	28	-33.3	56.5	30	-46.9	28	-50.4	6.6	8.6	30.3	7.8	-18.1
	235	2870	13.03	2800	-2.43	2630	-8.36	11	0	9.5	-13.6	42	41	-2.3	35	-16.6	42	44	4.7	44.5	5.9	6.4	9	40.6	8.2	28.1
	245	2890	11.40	2610	-9.68	2650	-8.30	9	5.5	5.5	-38.8	36	30	-16.6	25	-30.5	57.5	37	-35.6	34	-40.8	6.8	4.8	-29.4	4.4	-35.2
E5	251	2450	11.40	2750	10.20	-	-	9	11.1	-	-	41	35	-14.6	-	-	45	41	-8.8	-	-	7.6	8.4	-10.5	-	
	518	2240	7.07	2230	-0.44	1900	-15.17	5	-50	6	-40	38	17	-55.2	26	-31.5	37	25	-32.4	26	-29.7	8.4	7.6	-9.5	6.4	-23.8
	550	2990	11.40	2650	-1137	2650	-11.37	9.5	-47.3	4.5	-52.6	35	15	-57.1	10	-71.4	42.5	24	-43.5	21	-50.5	8.2	5.6	-31.7	4.8	-41.4

- 339 Nolu tavşan 4-III.1982 tarihinde ölmüştür.

- 251 Nolu tavşan 8-III.1982 tarihinde ölmüştür.

bulunmuştur. İlk hafta sonuçlarına göre tavşanların vücut ağırlıklarında azalma gözlenmiştir.

Enjeksiyonun başlamasından 15 gün sonra E_5 enjekte edilen 339 numaralı tavşan ve 18 gün sonra ise E_{11} enjekte edilen 251 numaralı tavşan ölmüştür.

Tavşanların hematolojik bulgularına bakılınca (Tablo 35), E_5 'in verildiği tavşanlarda 7.günün sonunda hemoglobin miktarındaki yüzde fark (+ 33.3)-(-26.3) arasında iken E_{11} 'in enjekte edildiği tavşanlarda (+5.5)-(-50) arasındadır. Hematokritteki yüzde fark ise (+ 4)-(-40.9) ile (-2.3)-(-57.1) arasında değişmektedir. Yüzde lökosit farkı ise (32.1)-(-14.8) ile (+ 40.6) (31.4) arasında iken; yüzde eritrosit farkı (+ 25)-(-46.9) ile (4.77)-(-43.5) arasındadır. 14. gün sonundaki bulgular ise (Tablo 35) 7. gün sonundakilere göre E_{11} 'de daha fazla düşüş ve artan yüzde fark göstermiştir. 14 gün sonunda hemoglobin miktarındaki yüzde fark E_5 ve E_{11} için sırasıyla (+ 22.2)-(-31.5) ile (-13.6)-(-2.6) dir. Hematokrit sayısı (+ 4.3)-(-33.3) ile (-16.6)-(-71.4), eritrosit sayısı (+ 20.8)-(-40.4) ile (+ 5.9)-(-50.5) iken lökosit sayısı (+ 18.1)-(-21.2) ile (+ 28.1)-(-41.4) olarak hesaplanmıştır.

IV. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu bölümde önce emülsiyon formülasyonlarında kullanılan maddeler ve yöntem tartışılacak, sonra bu yöntemle hazırlanan intravenöz emülsiyonların fizikokimyasal özelliklerindeki değişimler ve nedenleri saptanarak en dayanıklı ve en dayanıksız olan formüller belirlenecektir.

En dayanıklı olarak bulunan emülsiyonların hayvan deneyleri ile yapılan toksisite çalışmalarının sonuçları, fizikokimyasal özelliklerdeki değişmelerle karşılaştırılacak ve hazırlanan emülsiyon formülleri arasında en uygun olanı seçilecektir.

IV.1. Emülsiyon Formülasyonu

Emülsiyonlar bir sıvı içinde kendisiyle karışmayan en az bir başka sıvıyı damlacık halinde bulunduran heterojen sistemlerdir. Çalışmamızda hazırlanan emülsiyonlar ise, intravenöz olarak, beslenme amacıyla, az hacimde çok kalori sağlamak için kullanılan emülsiyonlardır. Intravenöz yolla uygulandıklarından, yağ damlacıkları çapının emboliye neden olmaması için 5 μ m'nin altında olması gerekmektedir. Bu denli küçük çaptaki damlacıklar yüksek sıcaklık ve basınç uygulaması sonucu elde edilebileceği gibi çalışmamızda ultrasonik titreşimli karıştırıcılarlada elde edilebilmektedir. Ultrasonik titreşimli karıştırıcılar kullanılarak damlacıklar disperse edilmiş ve optik mikroskopla yapılan tayin

sonucunda ortalama çaplarının yaklaşık 3 μ m olduğu gözlenmiştir. Fakat optik mikroskop ile 1 μ m'nin altındaki boyutları görmek sınırlı olduğundan, bu emülsiyonlar ultramikroskopta incelenmiş ve ortalama çaplarının 300-500 nm arasında olduğu bulunmuştur. Bu kk damlacıklardan oluşan emülsiyonlar, emboli gibi yan etkileri göstermeyeceği gibi, brown hareketleri nedeniyle de kremalaşmayı önleyerek fiziksel stabiliteyi artırmışlardır.

Yağ fazı olarak toksisitesi en az olan (2,20,23,25,37) ve Türkiye'de üretilen soya yağı ve pamuk yağı seçilmiştir. Emülgatör olarak da, doğal emülgatörlerden, soya lesitini ve yumurta sarısı lesitini, yapay emülgatörlerden ise Pluronik F 68, Tween 60, Tween 80 gibi noniyonikler ve lesitin Pluronik F 68 karışımları kullanılmıştır. Lesitini intravenöz yağ emülsiyonlarında emülgatör olarak kullanmamızın nedeni yapay emülgatörlerden daha iyi metabolize olması, aynen yağlar gibi taşınması ve yapay emlgatrlerde grldğu üzere böbrekler yoluyla atılmayışıdır. Fakat zamanla hidroliz sonucu oluşan lisolesitin nedeniyle hemolitik etki ve granuloma oluşturduğu bildirildiğinden (28,30,51) alışmamızda rafine soya lesitini kullanılmıştır. Rafine lesitinde dayanıklı emülsiyon oluşturma özelliği azaldığından kompleks ara yüzey filmi oluşturarak emülsiyonları stabilize etmek amacıyla, lesitin ve Pluronik F 68 emülgatör karışımı kullanılmıştır. Pluronik F 68, intravenöz emülsiyon hazırlanmasında metabolize açısından inert oluşu, emülsiyon oluşum ve stabilitesinde yardımcı oluşu ve güvenilirliği nedenleriyle kullanıldığından (20, 36) alışmamızın kapsamına alınmıştır.

Çalışmamızda noniyonik emülgatör olarak Pluronik F 68'in yanısıra Tween 60 ve 80'de denenmiştir. Bekleme ile hidrolizin çok yavaş olması stabilitede değişiklik yapmamaları, kan basıncını etkilemeyeşleri (28) düşük konsantrasyonda küçük partiküllü emülsiyonlar oluşturmaları (47) ve otoklavda sterilizasyonuna dayanıklı olmaları nedeniyle hazırladığımız intravenöz emülsiyonlarda kullanılmışlardır.

Emülsifiye olan yağ, osmotik bir etki yaratmadığından, emülsiyonları izotonik hale getirmek için uygun izotoni sağlayıcı maddelerin eklenmesi gerekirken bu çalışmada gliserol ve sorbitol kullanılmıştır. Sorbitolün bazı araştırmacılarca (52) otoklav sterilizasyonunu takiben pH değişimi ve faz ayrışması gösterdiğinin açıklanması üzerine, hazırlanan emülsiyonlarda fizikokimyasal stabilitelerinde oluşturacakları farkı incelemek üzere her iki izotoni ayarlayıcısıda kullanılarak formüller hazırlanmıştır.

Emülsiyonların aşırı sıcak ve soğuğa dayanıklılığı pratik açıdan önem taşır; çünkü piyasadaki emülsiyonlar, yüksek sıcaklıklarda olduğu kadar düşük sıcaklıklardada uzun süre bekleme durumunda kalabilirler. Bu değişik şartların emülsiyonlar üzerindeki etkisini incelemek üzere, araştırmamızda hazırladığımız emülsiyonlar, 6 ay süre ile 5, 20 ve 40 °C'da (ışık ve karanlıkta) saklanmışlardır.

IV.2. Bekleme Şartlarının Emülsiyonların Fizikokimyasal Özelliklerine Etkisi

Hazırlanan emülsiyonların fizikokimyasal özelliklerinde,

zaman, sıcaklık ve ışık etkisiyle gözlenen değişikliklerin genel tartışması bu bölüm altında yapılacaktır.

"Stabilite" relatif bir terimdir; fakat stabilite derecesi fizikokimyasal parametrelerdeki değişmelerin gözlenmesiyle saptanabilir (127).

Genel olarak emülsiyonların ve intravenöz yağ emülsiyonlarının stabilitesi, yağ fazı, emülgatör ve eklenen diğer yardımcıların özelliklerine, bekleme süresi, bekleme sıcaklığı ve ışık etkisine dayanır. Çalışmamızda araştırılan pH, serbest yağ asidi, partikül büyüklüğü, viskozite, ayrılan kısım yüzdesi ve iletkenlik gibi fizikokimyasal özelliklerde zaman, sıcaklık ve ışığın etkisiyle gözlenen değişiklikler bu kısımda sırasıyla tartışılacaktır.

IV.2.1. Bekleme Şartlarının pH'ya Etkisi

% 10 Disodyum hidrojen fosfat çözeltisi ile pH'sı 7'ye ayarlanan emülsiyonların pH'sı sterilizasyondan hemen sonra 6.8-6.9'a düşmüş ve düşüş, 6 ay boyunca, her ay sonundaki ölçümlerde kendini göstermiştir (Tablo 11-14).

Pamuk yağı ile hazırlananların pH düşüşü soya yağı ile hazırlananlar ile karşılaştırıldığında daha az bulunmuştur. pH'daki değişmeyi emülgatörler açısından incelediğimizde en fazla düşüşün lesitin, lesitin + pluronik F 68 karışımında gözleendiği; buna karşı Tween 60 ile hazırlananların pH'sındaki değişmenin en az olduğu görülmüştür.

Zeringue ve arkadaşlarının (52) bulgularında aksine, sorbitol ve gliserol kullanılarak hazırlanan emülsiyonların pH'ında fark gözlenmemiştir, 6 ay bekleme sonunda gliserol ve sorbitol ile hazırlananların pH'larında görülen az bir fark, daha çok farklı emülgatörlere dayanmaktadır.

Zamanla pH'da görülen bu düşüş literatür bulguları ile de uyum içindedir (82,83).

Bekleme sıcaklığının pH'ya etkisi incelendiğinde, ilk üç ayın sonunda, 4° ve 20 °C'da bekleyenlerin pH'larında pH' 7'den az bir düşüş görülürken, 40 °C'da bekleyenlerde pH 6.6'nın altındadır (Tablo 11-14). 40 °C'da bekleyenlerde son üç ayda düşüş daha hızlıdır ve pH 6'nın altındadır. Lesitin emülgatör olarak kullanıldığı emülsiyonlarda, pH düşüşünün noniyoniklere kıyasla, son üç ayda daha belirgindir. Zamana bağlı olarak pH' da gözlenen bu düşüş, izotoni ayarlayıcılarına (sorbitol ve gliserol) dayandığı kadar lesitin zayıf tamponlama kapasitesinde dayanır. Lesitin, lizolesitine hidrolizinin önlenmesi ile bu fazla düşüşün azaltılabileceği gösterilmiştir (26). Noniyonik emülgatörlerden Tween 60 ile hazırlananlarda görülen az pH değişimi, noniyonik emülgatörlerin pH değişmesine ve elektrolitlere hassasiyetinin az olmasına bağlanabilir (127).

40 °C'da ışıktaki ve karanlıkta bekletilen lesitin ile stabilize edilmiş emülsiyonların pH'larında ilk aylarda farklılık olmamasına karşın, son aylarda, ışık etkisiyle pH'sının düştüğü görülmüştür (Tablo 13-14). Lesitin ışık etkisiyle bozulması nedeniyle, lesitin ve lesitin + pluronik F 68'in emülgatör

olarak kullanıldığı emülsiyonların pH'sının daha düşük olduğu saptanmıştır.

IV.2.2. Bekleme Şartlarının Serbest Yağ Asidi Miktarına Etkisi

Serbest yağ asitleri veya esterleşmemiş yağ asitleri, plazmada, yağ dokusu içindeki trigliseridin lipolizinden, veya plazma trigliseridlerinin dokular içine alınıp orada tutulması sırasında lipoprotein lipazın etkisinin bir sonucu olarak meydana çıkarlar. Bunlar serum albumini ile birleşik halde $0.1-2.0 \mu\text{Eq ml}^{-1}$ arasında değişen konsantrasyonlarda bulunurlar ve yağ dokusunda bulunan uzun zincirli yağ asitlerinin, yani palmitik, stearik, oleik ve benzerini kapsarlar.

Çalışmamızda bekleme süresine bağlı olarak, pH'da gözlenen düşüş, dolaylı olarak serbest yağ asidi miktarındaki artışa dayanmaktadır. Bekleyen emülsiyonların serbest yağ asidi miktarlarında başlangıç değerine göre artış görülmüştür. Bu artış doğal emülgatörle hazırlananlarda yüksek bulunurken (lesitin ve lesitin + Pluronik F 68), non iyonik emülgatör olan Tween 60'ın kullanıldığı formüllerde en azdır. Tablo 15-18 Noniyonik emülgatörlerden Tween 60 kullanıldığında serbest yağ asitlerinde fazla artış olmaması, pH değişmelerine az hassas olmasına bağlanabilir (127). Lesitin ile hazırlanan emülsiyonların serbest yağ asidi miktarındaki fazlalık lesitin tamponlama kapasitesinin azlığına ve lesitin hidrolizine bağlanabilir. Hidroliz, hidronyum iyonları ile katalize edildiğinden (83) hidronyum iyonları arttıkça, reaksiyon hızında artmaktadır. Tamponlanmış

emülsiyonlarda ve özellikle pH 6.8 civarında hidroliz hızı en düşüktür (83) ve sonuçta bu emülsiyonlarda serbest yağ asidi miktarı az, pH ise 6.8-6.9 civarındadır.

Emülsiyonlarda gözlenen bu serbest yağ asidi miktarındaki artış toksisitede de en önemli etkenlerden biridir.

Serbest yağ asidi miktarı bekleme sıcaklığına bağlı olarak da artış göstermektedir. 4 °C'da bekleyen emülsiyonların serbest yağ asidi miktarı başlangıç değerine göre yaklaşık $1 \mu\text{Eqml}^{-1}$ yükselirken, 20 ve 40 °C da bekleyenlerde bu artış sırasıyla 2 ve 3 katına çıkmaktadır. (Tablo 11-14) Boberg ve Hakansson'un (82) çalışmaları bu bulguları desteklemektedir.

Işıқта bekleme serbest yağ asidindeki artışı fazlaştırmıştır.

IV.2.3. Bekleme Şartlarının Partikül Büyüklüğüne Etkisi

Genel olarak, partiküllü maddelerin kan dolaşımına verilmesinin emboli tehlikesi nedeniyle istenmemesine karşı, eritrositlerden daha küçük çapta ($< 7 \mu\text{m}$) olan partiküllerden oluşan emülsiyon ve süspansiyonlar kalite kontrollerine ve saklama şartlarına özen gösterildiği takdirde rutin olarak verilebilmektedir (91).

Yağ emülsiyonlarındaki küçük partiküllerin büyüklüğü, ($< 5 \mu\text{m}$), stabilitede artış ve toksisitede azalma ile ilişkilidir. $7 \mu\text{m}$ 'nin üzerindeki partiküllerin emboliye ve kan basıncında değişmelere neden olduğu gösterilmiştir (33,70,115).

Çalışmamızda, yeni hazırlanan emülsiyonların ortalama partikül çapları, optik mikroskopla tayin sonucunda yaklaşık 3 μ m olarak bulunmuştur. Yağ fazının ve emülgatörlerin özellikleri damlacık stabilitesinde etkindir. Verilen bir emülgatör için emülsiyon damlacıklarının d_t/d_o oranlarındaki artış, sırasıyla Tween 80 > lesitin > lesitin + Pluronik F 68 > Tween 60 iken verilen bir yağ için ise, soya yağı pamukyağı olarak bulunmuştur. Tween 60, Lesitin + Pluronik F 68'in emülgatör olarak kullanıldığı durumlarda, partiküllerin daha küçük olduğu ve bu emülsiyonlarda zamana bağlı olarak görülen partikül büyüklüğü artışının az olduğu Tablo 19-22'den açıkça görülmektedir. Davis (55) lesitin ve Pluronik F 68 ile hazırladığı emülsiyonlarda bekleme süresine bağlı olarak d_t/d_o oranının arttığını; ve bu oran artışının yumurta lesitini ile hazırlananda Pluronik F 68 ile hazırlanana kıyasla daha fazla olduğunu göstermiştir. Çünkü Pluronik F 68'in yağ/su ara fazında kalın yüzeylerarası film oluşturduğuna inanılmaktadır. Florence ve Rogers (127), non-iyonik emülgatörlerin, emülsiyon sistemlerini elektrostatik itici kuvvetler ve sterik engelleme ile stabilize ettiğini göstermişlerdir. Halbuki lesitin yüzeylerarası gerilimi etkilemeden emülsiyonun viskozitesini artırarak stabilizeye yardımcı olur.

4 °C'da bekleyen emülsiyonlarda d_t/d_o oranında fark yoktur; yüksek sıcaklıklarda bekleyenlerde d_t/d_o oranlarında tedrici bir artış görülmektedir (Tablo 19-22). Bu tür bir instabilite sadece serbest yağ asidi miktarındaki artış ve pH'daki düşmeye bağlanmamalıdır; çünkü tamponlanmış ve pH'sı 6.8 civa-

rında olan emülsiyonlarda dahi zamanla partikül büyüklüğü oranında (d_t/d_0) artışa ve kremalaşmaya rastlanmaktadır. Hakansson (83) 'da yaptığı çalışmasında sıcaklığa bağlı olarak partikül büyüklüğünün arttığını göstermiştir. Sıcaklık, Brown hareketlerini artırarak flokülasyon hızını artırdığı gibi, yüzeyler arası viskoziteye de düşük değerlere indirebildiğinden (11), damlacık etrafındaki filmin bozulması sonucu koelesans hızı artar ve damlacıklar büyür.

IV.2.4. Bekleme Şartlarının Viskoziteye Etkisi

Stabilite çalışmalarında, mutlak, viskozite ile ilgilenilmez burada önemli olan bekleme ile viskozitedeki değişimlerdir.

Sherman'a (10) göre stabilite çalışmalarında sadece viskozite değişmelerinin saptanması yeterli değildir; viskozitedeki değişmeleri partikül büyüklüğündeki değişmelerle birleştirmek araştırmacıyı daha anlamlı sonuçlara götürebilir.

Yukarıdaki düşünceden hareketle, viskozite bulgularını partikül büyüklüğü bulguları ile birleştirerek tartışılacaktır.

Çalışmamızda hazırlanan ve 4 °C'da bekletilen emülsiyonların viskozitelerinde zamanla belirgin bir düşüş gözlenmezken 20 ° ve 40 °C'da bekleyenlerde başlangıç viskozitesinin sırasıyla bir ve iki katı kadar düşüş gözlenmiştir. Tablo (23-26). Çünkü yüksek sıcaklık, yüzeyler arası filmin reolojik özelliklerini etkileyerek emülgatör filmini parçalar ve damlacık

koelesensini artırır. Zamanla viskozite azalması koelesense dayanan partikül büyüklüğünü verirken bu da instabiliteye yol açar (10). Koelesens damla sayısında azalmaya ve damla büyüklüğünde artışa neden olarak, bekleyen emülsiyonlarda reolojik özelliklerini etkiler.

4 °C'da bekleyen, akıcı, seyreltik y/s tipi intravenöz yağ emülsiyonlarının viskozitelerinde damlacık büyüklüğüne bağlı bir değişme gözlenmiştir (Tablo 19-23). Viskozitedeki değişme, zamanla damlacık etrafındaki emülgatör filmlerinin reolojik özellikleri ile ilgilidir.

Bisaillon hazırladığı Nutralinid R'nin viskozitesinde ısıya ve sıcaklığa bağlı olarak belirgin değişme olmadığı halde elektrolitlerin etkisi ile viskozitede belirgin değişmeler olduğunu bildirmiştir (98).

IV.2.5. Bekleme Şartlarının Santrifüjle Ayrılan Kısım Yüzdesi'ne Etkisi

Normal saklama koşullarında bekletilen emülsiyonun, stabilitesi, santrifüjlenerek emülsiyonun flokülasyon, koelesens ve kremalaşması ile dispers fazın ayrılması gözlenerek, daha hızlı olarak saptanabilir.

Santrifüj hızı damlacık etrafında adsorbe olmuş emülgatör tabakasını bozacak belli bir hıza ulaşıncaya dek, yağ damlacıklarının ayrılmasına neden olmaz. Yüksek hızda santrifüj edilen emülsiyonlarda, dispers fazın ayrılma hızı ve miktarı saptanır. Santrifüjde koelesens esas reaksiyondur. Fakat koagülas-

yonun son aşaması hakkında bilgi verdiğiinden tam anlamı ile stabiliteyi veremez (10).

Emülsiyonlar ilk hazırlandıklarında ve sterilizasyonu takiben 3500 rpm'de santrifüjlendiklerinde herhangi bir ayrılma gözlenmemiştir. Sherman'ın bulgularına göre (10) emülsiyonlarda 2000-3000 rpm'de oda sıcaklığında santrifüjlenince belirgin bir ayrılma gözlenmemiştir. Bu da bizim bulgularımızla uyum içindedir.

Fakat bekleme süresi uzadıkça ve bekleme sıcaklığı arttıkça 40 °C'da santrifüj'den sonra ayrılan fazda yaklaşık başlangıçtaki üç katıdır. Buda viskozitedeki düşüşe ve emülsiyonlardaki gözlenen kremalaşmaya dayanmaktadır.

Tween 60'ın emülgatör olarak kullanıldığı emülsiyonlarda bekleme şartlarında, santrifüjle ayrılan kısım yüzdesi, kullanılan diğer emülgatörlerle hazırlananlara göre azdır. Buda noniyonik emülgatörlerin yağ/su arafazında kalın yüzeyler arası film oluşturmaya, emülsiyon sistemlerin elektrostatik itici kuvvetler ve sterik engelleme ile stabilize ettiklerinden damlacık etrafındaki filmin bozulması azalmakta ve damlacık stabilizasyonunun artması sonucunda koagülasyon flokülasyon ve kremalaşma azalmaktadır.

IV.2.6. Bekleme Şartlarının İletkenliğe Etkisi

Hazırlanan ve farklı şartlarda bekletilen emülsiyonların iletkenliklerinde belirgin farklılık gözlenmemiştir.

Araştırmamızda, hazırlanan emülsiyon formüllerinin yanı sıra Vitrum'dan sağlanan Intralipid (% 10)'inde altı ayın sonunda fizikokimyasal özelliklerindeki değişimler incelenmiştir:Çünkü Intralipid^R elimize geldiğinde hazırlanışı üzerinden bir süre geçmişti.

Çalışmamızda Intralipid esas alınarak emülsiyonların pH'daki değişimi intralipide göre daha düşük olarak bulunmuştur. Her sıcaklıkta 6 ıncı ayda aradaki fark 0.4-0.5 arasındadır.

Aynı farklı durum serbest yağ asidin'dede kendini göstermiş ve 6 ıncı ayın sonunda Intralipid'in serbest yağ asidi miktarı hazırladığımız formülden 1.5-2.0 katı daha düşüktür. Buda intralipid'deki pH düşüşünün azlığına bağlanabilir.

Viskozitedeki değişimler gözleendiğinde her iki preparatın arasında belirgin fark olmadığı görülmüştür.

Santrifüjle ayrılan kısım yüzdesinde de fark gözlenmiştir. 4 °C'da bekleyende fark 6 ıncı ayın sonunda 2 katı iken, 40 °C'da karanlıkta ve ışıktaki bekleyende bu fark 1.5 katına inmiştir.

İletkenlikteki farklılıkta belirgindir. Intralipid'in iletkenliği her sıcaklıkta hazırladığımız formülden daha fazladır.

İçeriği aynı olan bu iki formülasyon arasında bulunan fark, kullanılan yağın ve emülgatörün özelliğine ayrıca Türkiye'de üretilen yağın özelliklerinin farkına dayanabilir kanısındayız.

IV.3. Kronik Toksisite Çalışmaları

Intravenöz yağ emülsiyonlarının kronik toksisite testlerinin başlıca amacı insan veya hayvan kullanımında, en az toksik etkili olanı seçebilmektedir.

Intravenöz emülsiyonlar, yağ, emülgatör ve izotoni ayarlayıcı maddelerin özelliklerinden, zamanla bu maddelerde görülen kimyasal değişmelerden ve emülsiyonun damlacık büyüklüğünden etkilenerek toksik etki gösterebilir. Bu etkilerini, eritrosit agregasyonu, lökosit, hemoglobin ve hematokrit sayısında değişme, karaciğer ve dalakta renklenme ve vücut ağırlığında farklılık şeklinde gösterebilirler.

Fizikokimyasal değişmelerin incelenmesi sonucunda, sorbitol ve gliserol ile izotoni ayarı yapılan Tween 60 ile Stabilize edilen pamuk yağı intravenöz emülsiyonlarının (E_5 ve E_{11}) en dayanıklı emülsiyonlar olduğu gözlenmiştir. Fakat bu uygunluğun, biyolojik açıdan toksisite deneyleri ile de kanıtlanması gerektiğinden, bu iki emülsiyon formülü tavşanlara verilerek iki hafta süre ile yukarıda belirtilen özelliklerindeki değişmeler takip edilmiştir (Tablo 35).

Enjeksiyonu izleyen yedinci günde, her iki emülsiyonunda (E_5 ve E_{11}) verildiği tavşanların vücut ağırlıklarında artış görülmüş, yani başlangıç ağırlıklarına göre yüzde pozitif bir artış kaydedilmiştir. Bu artış, verilen yağ nedeniyle kalorinin artması

sonucunda vücut ağırlığının yükselmesine bağlanabilir.

Fakat ondördüncü günde de vücut ağırlığında beklenen bu artış gözlenememiştir.

Bu durum, hayvanların enjekte edilen yağ ile gereken kaloriyi aldıklarından yedikleri yiyecek ve su miktarını azaltmış olabileceklerine bağlanabilir. Fakat deneylerimizde kafeste birden fazla tavşan olduğundan yiyecek miktarlarını kontrol edebilmemiz mümkün olamamıştır.

Jones ve arkadaşları (117) 'da çalışmalar sırasında ilk hafta sonunda hayvanların ağırlıklarında azalma gözlemişler ve bunu belli bir nedene bağlayamamışlardır.

Enjeksiyonu izleyen yedinci günde E₅ kodlu emülsiyonun verildiği tavşanlarda hemoglobin, hematokrit, eritrosit ve lökosit sayısında bir artış (pozitif yüzde fark) gözlenirken, E₁₁ formülasyonu enjekte edilen tavşanlarda bu artışın daha az olduğu gözlenmiştir (Tablo 35).

On dördüncü günün sonunda ise gliserol ile izotoni ayarı yapılan, E₅ kodlu emülsiyonu olan tavşanların hemoglobin, hematokrit, eritrosit ve lökosit sayılarında yüzde pozitif fark gözlenirken, E₁₁ verilen tavşanlarda hemoglobin hematokrit miktarlarında azalma olmuş lökosit ve eritrosit sayılarında diğer emülsiyona göre daha az olmak şartıyla pozitif fark gözlenmiştir.

Genelde, ikinci hafta sonunda, hematolojik bulgularda başlangıca göre negatif bir fark gözlenmiştir, yani intravenöz

yağ emülsiyonların kanda etkisini göstermektedir. İki haftalık kronik toksisite bulgularımıza göre gliserol ile izotonik ayarı yapılmış emülsiyonun sorbitol ile izotonik olana nazaran anemiye etken olma olasılığının daha az olabileceği görülmektedir.

Fizikokimyasal değişmedeki incelemeler ve kronik toksisite deneyleri bulgularına dayanılarak gliserol ile isotoni ayarı yapılmış, Tween 60 ile stabilize edilmiş aşağıda terkibi verilen pamuk yağı emülsiyonunun, stabil olduğu, 4°C'da karanlıkta, 6 ay bekletme sonunda fizikokimyasal özelliklerinde belirgin değişme gözlenmediği ve klinik açıdan toksik etki göstermeden kullanılabileceği kanısına varılmıştır.

Pamuk yağı: 10 g

Tween 60 : 1 g

Gliserol : 2.27 g

DL- Tokoferol : 0.05 g

Enjeksiyonluk su k_m 100 ml.

ÖZET

Yağ fazı olarak, Türkiye'de üretilen soya ve pamuk yağı; emülgatör olarakda, soya ve yumurta lesitini gibi doğal ve Tween 60, Tween 80 ve Pluronik F 68 gibi yapay non-iyonikler kullanılarak hazırlanan intravenöz emülsiyonlar, sorbitol ve gliserol ile izotonik hale getirilmişlerdir.

Otoklav sterilizasyonunu takiben 6 ay boyunca, 4, 20 ve 40 °C'larda karanlıkta ve ışıktaki bekletilen emülsiyonların pH, serbest yağ asidi, partikül büyüklüğü, viskozite, santrifüjle ayrılan kısım yüzdesi ve iletkenlik gibi fizikokimyasal değişimler gözlenerek, en dayanıklı emülsiyon olarak pamuk yağı ve Tween içeren E₅ ve E₁₁; en dayanıksız formülasyonunda soya yağı ve soya lesitininden hazırlanan E₁₉ olduğu saptanmıştır.

En dayanıklı olarak bulunan E₅ ve E₁₁ kod numaralı emülsiyonların hayvan deneyleri ile yapılan kronik toksisite çalışmalarının bulguları, o emülsiyonların fizikokimyasal özelliklerindeki değişimlerle karşılaştırılmış ve 4 °C da bekletilen E₅ kodlu, gliserol ile isotonisi uyarlanmış emülsiyonun klinik açıdan, toksik etki göstermeden, kullanılabilirliği gösterilmiştir.

SUMMARY

The intravenous fat emulsions were prepared by using soybean and cottonseed oil of Turkish origin as the oil phase and soybean and egg lecithin, Tween 60, Tween 80 and Pluronic F 68 as emulsifying agents. The isotonicity of these emulsions were adjusted by glucerol and sorbitol.

The changes in the physicochemical properties as pH, free fatty acids, droplet size distribution, viscosity percent separated by centrifugation and conductivity, of these autoclaved emulsions which were stored at 4, 20 and 40 °C for 6 months (in dark and light) were observed. These observations have shown that, the emulsions containing cottonseed oil and Tween 60 (E₅ and E₁₁) were stable; where as, formulations prepared by soybean oil and soybean lecithin were least stable.

The kronic toxicity of these stable emulsion formalutaions (E₅ and E₁₁) were carried on by animal experiments when the kronic toxicity results of these emulsions were compared with the changes in the physicochemical properties, it was observed that E₅ emulsion formulation stored at 4 °C, isotonicity adjusted by glycerol, was suitable form clinical stand poind and could possibly be used without showing toxic effect.

KAYNAKLAR

1. Geyer, R.P.: Parenteral nutrition, *Physiol., Rew.*, 40, 150 (1960).
2. Hallberg, D., Hom, I., Obel, A.L., Schuberth, O., Wretling, A.: Fat emulsion for complete intravenous nutrition, *Postgrad. Med.J.*, 43, 307 (1967).
3. McNiff, B.L.: Clinical use of 10% soybean oil emulsion, *Am.J.Hosp.Pharm.*, 34, 1080 (1977).
4. Jeppsson, R., Schoefl G.I.: Electron microscopic observations on cerebral and pulmonary blood vessels after the intravenous injection of artificial lipid emulsions containing barbituric acids, *AJEBAK.*, 52, 703 (1974).
5. Mann, G.V., Geyer, R.P., Watkin, D.M., Smythe, R.L., Dju, D., Zamcheck, N., Stare, F.J.: Parenteral nutrition. VII. Metabolic studies on puppies infused with fat emulsions, *J.Lab.Clin.Med.*, 33, 1503 (1948).
6. Fortner, C.L., Grove, W.R., Bowie, D., Waker, D.M.: Fat emulsion vehicle for intravenous administration of an aqueous insoluble drug, *Am.J.Hosp. Pharm.*, 32, 582, (1975).
7. Litterst, C., Mimnaugh, E.G., Cowles, A.C., Gram, H.E., Guarino, A.M.: Distribution of ^{14}C -Lomustine (^{14}C -CCNU)-derived

radioactivity following intravenous administration of three potential clinical formulations to rabbits, *J.Pharm.Sci.*, 63, 1718 (1974).

8. Hom, F.S., Autian, J., Martin, A.N., Berk, J.E., Teplick, J.G.: Stabilization of ethiodol emulsion for intravenous administration, *Am.J.Pharm. Ass.*, 46, 254 (1957).
9. Grimes, G., Vermess, M., Gallelli, J.F., Girton, M., Chatterji, D.C.: Formulation and evaluation of ethiodized oil emulsion for intravenous hepatography, *J.Pharm.Sci.*, 68, 52 (1979).
10. Sherman, P.: *Emulsion Science*, Academic Press, London, 1968.
11. Becher, P.: *Emulsions, Theory and Practice*, 2.Baskı, Reinhold Publ. Co., New York, 1962.
12. Lachman, L., Harbert, A., Lieberman, J.: *The theory and Practice of Industrial Pharmacy*, 2.Baskı, Lea and Fibige Philadelphia, 1976.
13. Martin, E.: *Husa's Pharmaceutical Dispensing* Martin, Mack Publishing Compuns, 1959.
14. Schulman, H.J., Stoeckenius, W., Prince, L.M.: Mechanicm of oformation and structure of micro emulsions by electron microscopy, *J.Phys. Chem.*, 63, 1677 (1959)
15. Sprowls, J.B.: *Prescription Pharmacy*, 2.Baskı, Lippincott Com., Philadelphia, 1970.
16. Friberg, S., Lapczynska, I., Gillberg, G.: Microemulsions containing nonionic surfactants-the importance of the PIT value, *J.Coll. Inter. Sci.*, 56, 19 (1976).

17. Florence, A.T., Rogers, J.A.: Emulsion stabilization by non-ionic surfactants: experiment and theory, *J.Pharm. Pharmac.*, 23,233 (1971).
18. Remington's Pharmaceutical Sciences, 14. Baskı, Mack.Publ. Co., 1975.
19. İzgü,E.; Genel ve Endüstriyel Farmasötik Teknoloji, C.I.Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları: 52,Ankara 1979.
20. Davis, S.S.: Pharmaceutical aspects of intravenous fat emulsions, *J.Hosp.Pharm.*, 32, 149 (1974).
21. Groves, M.J.: Parenteral Products, 1.Baskı, Pitman Press, London, 1973.
22. Singleton, W.S.: Characterized oils for use in intravenous fat emulsions, *Am.J.Clin.Nutr.*, 16,16 (1965).
23. Waddell, W.R., Geyer, R.P., Olsen, R.F., Andrus, S.B., Stare, F.J.: Clinical experience with intravenous infusion of emulsified fat *J.Lab.Clin.Med.*, 45, 697 (1953).
24. Shafiroft, G.R., Mulholland, J.H., Baron, H.C.: Intravenous infusions into human subjects of fractionated coconut oil emulsions, *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 79, 721 (1952).
25. Wretling, A.: The pharmacological basis for the use of fat emulsions in intravenous nutrition, *Acta Chir.Scand.Suppl.*, 325, 31 (1964).

26. Lambert, F.G., Miller, J.P., Frost, D.V.: Febrile response following intravenous administration of fat, *Am.J.Physiol.*, 164, 490 (1951).
27. Cannon, R.R., Frazier, E.L., Hughes, R.H.: Fat emulsions as caloric supplements in parenteral nutrition, with particular reference to amino acid utilization, *J.Lab.Clin.Med.*, 44, 250 (1954).
28. Lambert, F.G., Miller, J.P., Frost, D.V.: The evaluation of various emulsifiers including polyoxyethylene sorbitan monostearate (Tween 60) for parenteral fat emulsions, *Am.J. Pharm.Ass.*, 45, 685, (1956).
29. Shafiroff, G.P., Mulholland, J.H., Roth, E., Baron, H.C.: Intravenous infusions of a combined fat emulsion into human subjects, *Proc. Soc.Exp.Biol.Med.*, 70, 343 (1949).
30. Geyer, R.P., Mann, G.V., Stare, F.J.: Parenteral nutrition. IV. Fat emulsions for intravenous nutrition: The turbidimetric determination of infused fat in blood after intravenous administration of fat emulsions, *J.Lab.Clin.Med.*, 33, 175 (1948).
31. Geyer, R.P., Watkin, M.D., Watthews, L.W., Stare, F.J.: Parenteral nutrition. XI. Studies with stable and unstable fat emulsions administered intravenously, *Proc.Soc. Exp.Biol.Med.*, 77, 872 (1951).
32. McKibbin, J.M., Pope, A., Thayer, S., Ferry, R.M., Stare, F.J.: Parenteral nutrition. I. Studies on fat emulsions for intravenous alimentation, *J.Lab.Clin.Med.*, 30, 488 (1945).

33. Atik, M., Marrero, R., Isla, F., Manale, B.: Hemodynamic changes following infusion of intravenous fat emulsions, *Am.J.Clin.Nutr.*, 16, 68 (1965).
34. Hatrwig, Q.L.: Factors influencing hemoglobin changes associated with daily infusions of intravenous fat emulsions, *Metabolism*, 10, 41 (1961).
35. Meyer, E.C., Fancher, J.A., Schur, E.P., Webster, H.D.: Clinical experience With Intravenous fat emulsions. Composition, preparation and testing of an intravenous fat emulsion, *Metabolism*, 6, 591 (1957).
36. Schurr P.E.: Composition and preparation of experimental intravenous fat emulsions, *Cancer Research*, 29, 258 (1969).
37. Spiegel, A.J., Nose Worthy, M.M.: Use of nonaqueous solvents in parenteral products, *J.Pharm. Sci.*, 52, 917 (1963).
38. Edgren, B., Hallberg, D., Hakansson, I., Meng, H.C., Wretlind, A.: Long-term tolerance study of two fat emulsions for intravenous nutrition in dogs, *Amer.J.Clin.Nutr.*, 14, 28 (1964).
39. Blacow, N.IX.: *Martindale The Extra Pharmacopocia*, Baski, Pharmaceutical, Press, London, 1972.
40. Freres, V.: *Formulaire Pharmaceutique*, Paris, 1965.
41. *The Merck Index*, 18. Baski, Merck and Co., Inc. Rahwey, N.J., 1968.

42. Heller, L.: Further Studies in parenteral nutrition, Acta Chir.Scand. suppl., 466, 10 (1976).
43. Sorkness, R.: Total parenteral nutrition, J.Parent Drug Ass., 34, 80 (1980).
44. Schwartz, A.M., Perry, I.W.; Surface Active Agents-Their Chemistry and Technology, Vol.II Interscience publ. Inc., New York, 1949.
45. Macek, T.J.: Preparation of parenteral dispersions, J.Pharm. Sci., 52, 694 (1963).
46. Swarbrick, J.: Solubilized systems in pharmacy, J.Pharm.Sci., 54, 1229 (1965).
47. Charnicki, W.F.: Surface active agents in parenterals, Am.J. Pharm., 130, 409 (1958).
48. Pro pharmacopoea, Lecithine design Ann. Pharm. Français, 31, 379 (1973).
49. WHO Food Additive Series No: 5 Toxicological evaluation of some food additive including anticaking agents antimicrobials, antioxidants, emulsifiers and thickening agents. World Health Organization, Geneva, 1979.
50. Vela, R.A., Hartwing, Q.L., Atik, M., Marrero, R.R., Cohn, I.: Long-term intravenous administration of fat emulsions in dogs and single infusions in man, Am.J.Clin.Nutr., 16, 80 (1965).

51. Yeadon, D.A., Galdblatt, L.A., Altschul, A.M.: Lecithin in oil-in-water emulsions, *J.Am.Oil chem-soc.*, 35, 435 (1958).
52. Zeringue, H.J., Brown, M.L., Singleton, W.S.: Chromatographically homogeneous egg lecithin as stabilizer of emulsions for intravenous nutrition, *J.Am. Oil Chem.Soc.*, 41, 688 (1964).
53. Prasad, K., Luong, T.T.: Etude des propriétés des emkalyx-pluronic, 1st Int.Conf.Pharm. Tech., 2, 41 (1977).
54. Davis, S.S., Purewal, T.S., Choudhury, K.Hansrani, P., Wilson, C.G., Hardy, J., Frier, M.: Studies on the stability and in vivo deposition of intravenous emulsions, 2nd Int.Conf.Pharm., 1, Techn., 189 (1980).
55. Davis, S.S., Purewal, R.B., Smith, A., Choudhury, K.: The stability of fluorocarbon emulsions the effect of the chemical nature of the oil phase, *J.coll. Inter. Sci.*, 11, 265, (1976).
56. Davis, S.S.: The emulsion-obsolete dosage form or novel drug delivery system and therapeutic agent, *J.Clin. Pharm.*, 1, 11 (1976).
57. Jeppsson, R.: Effects of barbituric acids using an emulsion form intraperitoneally and subcutaneously, *Acta Pharm.Suecica*, 9, 206 (1972).
58. Jeppsson, R., L.unberger, S.: Intraarterial administration of emulsion formulations containing cyclandelate and nitroglycrein, *Acta Pharm. Suecica*, 10, 129 (1973).

59. Waddell, N.P., Geyer, R.P., Olsen, F.R., Stare, F.J.:
Clinical observations on the use of nonphosphatide (Pluronic)
fat emulsions, *Metabolism*, 6, 815, (1957).
60. Krantz, J.C., Carr, C.J., Bird, J.G., Cook, S.: Sugar
alcohols. XXVI. Pharmacodynamic studies of polyoxyalkylene
derivatives of hexitol anhydride partial fatty acid esters,
J.Pharm. Exp. Therap., 93, 188 (1948).
61. Schmidt, J.L., Richards, R.K., Grossman, M.I., Brondyk, H.D.:
The acute effects of intravenous injection of Tween 60 fat
emulsions, *J.Lab.Clin. Med.*, 44, 926, (1954).
62. Shafiroff, G.P., Mulholland, J.H.; Effects of intravenous
infusion of experimental "Instant" fat emulsion into
volunteer subjects, *Proc. soc. Exp. Biol.Med.*, 91, 111 (1956).
63. Singleton, W.S., White, J.L., Ditrapani, L.L., Brown, M.L.:
An emulsifier system for experimental intravenous fat
emulsions, *J.Am.Oil Chem. Soc.*, 39, 260 (1962).
64. Benerito, R.R., Singleton, W.S.: Fat emulsion. Effect of
heat on solubility of hydrophilic emulsifiers, *J.Am.Oil.
Chem. Soc.*, 33, 364 (1956).
65. Geyer, R.P., Mann, G.V., Young, J., Kinney, T.D., Stare,
J.F.: Parenteral nutrition. V. Studies on soybean phosphatides
as emulsifiers for intravenous fat emulsions, *J.Lab.Clin.
Med.*, 33, 163 (1948).

66. Sturgeon, R.J., Athanikar, N.K., Harbison, H.A., Degradation of dextrose during heating under simulated sterilization, *J.Parent. Drug Ass.*, 34, 175 (1980).
67. Benerito, R.R., Formusa, K.M., White, J.L., Singleton, W.S.: *Proceeding of society for experimental biology and medicine*, 94, 47 (1957).
68. Thoren, L.: Parenteral nutrition with carbohydrate and alcohol, *Acta Chir. Scand. Suppl.*, 325, 74 (1964).
69. Singleton, W.S. White, L.J., Benerito, R.R., Talluto, K.F.: Fat Emulsion. Effect of polyoxyethylene and alkyl content of emulsifiers on stability to sterilization, *J.Am. Oil. Chem. soc.*, 35, 265 (1958).
70. Fujita, T., Sumaya, T., Kokoyama, K.: Fluorocarbon emulsion as a candidate for artificial blood: Correlation between particle size of the emulsion and acute toxicity, *Europ.Surg. Res.*, 3, 436 (1971).
71. Clark, D.E., Brunschwig, A.: Intravenous nourishment with protein carbohydrate and fat in man, *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 49, 329 (1942).
72. Takamura, A., Noro, S., Minowa, T., Koishi, M.: Evaluation of emulsion stability. The effect of a natural emulsifier, soya sterol, on W/o type emulsions, *Chem. Pharm. Bull.*, 28, 696 (1980).
73. Lerner, S.R., Chaikoff, I.L., Entenman, C.: A fat emulsion for intravenous feeding, *Proc.Soc.Exp.Biol.Med.*, 70, 388, (1949).

74. Zilversmit, D.B., Salky, N.K., Trumbull, M.L., McCandless, E.L.: The preparation and use of anhydrous fat emulsions for intravenous feeding and matabolic experiments, *J.Lab. Clin.Med.*, 49, 386 (1956).
75. Ljungber, S., Jeppsson, R.: Inravenous injection of lipid soluble drugs, *Acta Pharm. Suecica*, 7, 435 (1970).
76. Higgins D.M., Skauen, D.M.: Influence of power on quality of emulsions prepared by ultrasound, *J.Pharm. Sci.*, 61, 1567 (1972).
77. Skauen, D.M.: Some pharmaceutical applications of ultrasonics, *J.Pharm. Sci.*, 56, 1373 (1967).
78. Beal, H.M., Skauen, D.M.: A study of emulsification with ultrasonic Waves II. *Am.J.Pharm.Ass.*, 44, 490 (1955).
79. Singiser, R.E., Beal, H.M.: Emulsification with ultrasonic Waves I, *Am.J.Pharm.Ass.*, 49, 478 (1960).
80. Kann, D.E., Tester, W.W.: The emulsification and evaluation of an parenteral contrast medium for lymphography, *Am.J. Hosp.Pharm.*, 22, 606 (1965).
81. Thompson, S.W., Jones, L.D., Ferrell, J.F., Hunt, O.R., Meng, H.C., Kuyama, T., Sasaki, H., Schaffner, F., Singleton, W.S., Cohn, I.: Testing of fat emulsions for toxicity III. Toxicity studies with new fat emulsions and emulsion components, *Am.J.Clin. Nutr.*, 16, 43 (1965).
82. Baberg, J., Hakansson, I.: Physical and biological changes in an artificial fat emulsion during storage, *J.Pharm. Pharmacol.*, 16, 641 (1964).

83. Hakansson, I.,: Physico-chemical changes in artificial fat emulsions during storage. Studies of the hydrolysis and its physiological effects, Acta chem, Scand. Suppl., 20, 2267 (1966).
84. Geyer, R.P., Watkin, D.M., Matthews, W.L., Stare, F.J.: Parenteral nutrition VII. The vasodepressor activity of soybean phosphatide preparations, J.Lab. Clin. Med., 34, 688, (1949).
85. Geyer, R.P., Mann, G.V., Stare, F.J.: Parenteral nutrition. IV. Improved techniques for the preparation of fat emulsions for intravenous nutrition, J.Lab. Clin. Med., 33, 153 (1948).
86. İmren, A.H.: Fizyopatoloji Metabolizma, C.Ia, 2.Baskı, Formül Matbaası, İstanbul, 1978.
87. Dole, V.; A relation between non-esterified fatty acids in plasma and the metabolism of glucose, J.Clin. Invest. 35, 150 (1956).
88. Aras, K.Bağlum, S., Erşen, G.: Tıbbi Biyokimya IV.Lipidler, I.Baskı, Sevinç Matbaası, Ankara, 1971.
89. Connor, W.E., Hoak, J.C., Warner, E.D.: Massive thrombosis produced by fatty acid infusion, J.Clin Invest., 42,860 (1963).
90. Garrett, E.R.: Stability of oil-in-water emulsions, J.Pharm. Sci., 54, 1557, (1965).

91. Jeppsson, R., Groves, M.J., Yalabik, H.S.: Determination of the particle size distribution of some emulsions. Intended as drug vehicles for intravenous administration, 1st Int. Conf. Pharm.Tech., 2,16 (1977).
92. Noro, S., Takamura, A., Koishi, M.: Evaluation of emulsion stability. Effect of Tween group emulsifiers on stability of o/W type emulsions, Chem.Pharm. Bull., 27, 309 (1979).
93. Groves, M.J., Freshwater, D.C.: Particle size analysis of emulsion systems, J.Pharm.Sci., 57, 1273 (1968).
94. Singleton, W.S., Brown, M.L.: Effect of saline electrolyte on particle size in fat emulsions by electronic counting, J.Am.Oil. Chem. Soc. 42, 312 (1965).
95. Reichmann, K.W., Petersen, R.V.: Temperature studies with nonaqueous emulsions, J.Pharm.Sci., 62, 1850 (1973).
96. Sherman, P.: The flow properties of emulsions, J.Pharm. Pharmacol., 16, 1 (1964).
97. Schumacher, G.E.: Some theoretical aspects of bulk compounding technology. III.Emulsions, Am.J.Hosp.Pharm., 27, 64 (1970).
98. Bisailon, S., Guay, F.: Etude acceleree de la stabilite d'une emulsion d'huile de soja et de la preparation commerciale Nutralipid^R, en l'absence et en presence d'acides amines ou d'electrolytes, 2nd Int.Conf.Pharm. Techn., 1, 180 (1980).
99. Lemberger, A.P., Mourad, N.: Deaggregation in oil-in-water emulsions I, J.Pharm. Sci., 54, 229 (1965).

100. Gray, M.S., Singleton, W.S.: Creaming of phosphatide Stabilized fat emulsions by electrolyte solutions, *J.Pharm. Sci.*, 56, 1428 (1967).
101. Le Veen, H.H., Giordano, P., Johnson, A.: Flocculation of intravenous fat emulsions, *Am.J.Clin.Nutr.*16, 129 (1965).
102. Mueller, J.F.: Recent advances in intravenous fat alimentation, *Am.J.Clin.Nutr.*, 6, 472 (1958).
103. Dawes, W.H., Groves, M.J.: The effect of electrolytes on phospholipid-stabilized soybean oil emulsions, *Int.J.Pharm.*, 1, 144 (1978).
104. Davis, S.S.: Colloids as drug-delivery systems, *Pharm.Techn.*2, 71 (1981).
105. Le Veen, H.H., Giordano, P., Brooklyn, J.S.: The Mechanism of removal of intravenously injected fat, *Arc.Surg.*, 83, 311 (1961).
106. Peaston, M.J.: Maintenance of metabolism during intensive patient care, *Postgrad, Med.*, 1., 43, 317 (1967).
107. Werr, J.A., Preston, F.W.: Effect of an intravenous fat emulsion on blood coagulation, *A.M.A.Arc.Surg.*, 79, 213 (1959).
108. Brockner, J., Amris, C.J., Larsen, V.: Fat infusions and blood coagulation. Effect of various fat emulsions on blood coagulability, *Acta Chir.Scand. Suppl.*, 343, 48 (1965).

109. Carlson, L.A., Hallberg, D.: Studies on the elimination of exogenous lipids from the blood stream. The Kinetics of the elimination of a fat emulsion and of chylomicrones in the dog after single injection, *Acta Physiol. Scand.*, 59, 52 (1963).
110. Jeppsson, R., Stephan, R.: The influence of emulsifying agents and of lipid soluble drugs on the fractional removal rate of lipid emulsions from the blood stream of the rabbit, *Acta Pharmacol. Toxicol.*, 37, 134 (1975).
111. Dole, V.P., Hamlin, J.T.: Particulate fat in lymph and blood, *Physiol. Rev.*, 42, 674 (1962).
112. Forget, P.P., Fernandes, J., Begemann, H.: Utilization of fat emulsion during total parenteral nutrition in children, *Acta Paediatr. Scand.*, 64, 377 (1975).
113. Bryan, H., Shennan, A., Griffin, E., Angel, A.: Intralipid- its rational use in parenteral nutrition of the newborn, *Pediatrics*, 58, 787 (1976).
114. Watkin, D.M.: Fecal excretion of lipids before, during and after hyperalimentation with fat administered intravenously, *Am.J.Clin.Nutr.*, 16, 213 (1965).
115. Geyer, R.P.: Studies on the metabolism of intravenous fat emulsion, *Fette. Med.*, 6, 59 (1967).
116. Meng, H.C., Kuyama, T., Thompson, S.W., Ferrell, J.F.: Toxicity testing of fat emulsions. I. Tolerance study of long-term intravenous administration of Intralipid in rats, *Am.J.Clin.Nutr.*, 16, 29 (1965).

117. Jones, L.D., Castleberry, M.W., Canham, J.E., King, N.W.: Toxicity testing of fat emulsions for intravenous administration, *Am.J.Clin. Nutr.*, 16, 62 (1965).
118. Troell, L., Wretling, A.: Protein and calorie requirements in burns, *Acta chir.scand.*, 122, 15 (1961).
119. Carlson, L.A., Liljedahl, S.: Lipid metabolism and trauma, *Acta Chir.Scand.*, 137, 123 (1971).
120. Schuberth, O.: Clinical experience with fat emulsions for intravenous use, *Acta Chir.Scand.Suppl.*, 325, 43 (1964).
121. Singleton, W.S., Gray, M.S., Brown, M.L., White, J.L.: Chromatographically homogeneous lecithin from egg phospholipids, *J.Am. Oil Chem. Soc.*, 42, 53 (1965).
122. Small, D.M., Bourges, M.C., Deruichian, D.G.: The biophysics of lipidic associations. I. The ternary systems lecithin-bile-salt-water, *Biochim. Biophys. Acta*, 125, 1563 (1966).
123. Stahl, E.: *Thin-Layer Chromatography*, Academic Press Publ. Inc., London, 1965.
124. Itaya, K.: A more sensitive and stable colorimetric determination of free fatty acids in blood, *J.Lipid Res.*, 18, 663 (1977).
125. Aksoy, M.: *Hematoloji-I*, İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi Fakülte No: 94 Rektörlük No: 2091, Sermet Matbaası, İstanbul, 1975.
126. Yund, I.: *Pratik Laboratuvar Metodları*, 2.Baskı, Batur Matbaası, İstanbul, 1975.

127. Florence, A.T., Rogers, J.A.: Emulsion Stabilization by non-ionic surfactants: Experiment and theory, *J.Pharm. Pharmacol.*, 23, 153 (1971).

ÖZGEÇMİŞ

1956 yılında Senirkent'de doğdum. İlk ve orta okulu çeşitli ilçelerde okuduktan sonra 1973 yılında Yenimahalle Kız Lisesini bitirdim. Aynı yıl A.İ.T.İ.A. Eczacılık Yüksek Okuluna girdim. 1977 yılında öğrenimimi tamamladım. 1978 yılında halen çalışmakta olduğum A.İ.T.İ.A. Eczacılık Fakültesi Galenik Farmasi Bölümüne asistan olarak girdim.