

**TÜRKİYE CUMHURİYETİ
ANKARA ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**FARKLI SAKLAMA KOŞULLARINDA MUHAFAZA EDİLEN A, D, E
VİTAMİNLERİNİ İÇEREN BAZI VETERİNER MÜSTAHZARLARININ
ETKİN MADDE DÜZEYLERİ**

Onur ALAÇIK

**FARMAKOLOJİ VE TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
DOKTORA TEZİ**

**DANIŞMAN
Prof. Dr. Ali BİLGİLİ**

Bu araştırma Ankara Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Müdürlüğü'nün
13L3338009 proje numarası ile desteklenmiştir.

**ANKARA
Aralık 2016**

Ankara Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğü'ne,

Doktora tezi olarak hazırlayıp sunduğum “Farklı Saklama Koşullarında Muhafaza Edilen A, D, E Vitaminlerini İçeren Bazı Veteriner Müstahzarlarının Etkin Madde Düzeyleri” başlıklı tez; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Öğrencinin Adı Soyadı: Onur ALAÇIK

Tarih: 28.12.2016

İmza:

Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü

Farmakoloji ve Toksikoloji Doktora Programı

çerçevesinde yürütülmüş olan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından

Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi:28.12.2016

Prof. Dr. Ali BİLGİLİ

Ankara Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Jüri Başkanı

(Danışman)

Prof. Dr. Aslan KALINBACAK

Ankara Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

İç Hastalıkları Anabilim Dalı

Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ

Ankara Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Prof. Dr. Yavuz Osman BİRDANE

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

Doç. Dr. Yavuz Kürşad DAŞ

Ondokuz Mayıs Üniversitesi

Veteriner Fakültesi

Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı

(Raportör)

İÇİNDEKİLER

Etik Beyan Sayfası	ii
Kabul ve Onay	iii
İçindekiler	iv
Önsöz	vi
Simgeler ve Kısaltmalar	vii
Şekiller	viii
Çizelgeler	xii
1.GİRİŞ	1
1.1. İlaçlarda Kalite ve Güvenilirlik	3
1.1.1.Stabilite (Dayanıklılık)	4
1.1.1.1.Kimyasal Stabilite	7
1.1.1.2. Fiziksel Stabilite	7
1.1.1.3. Mikrobiyolojik Stabilite	7
1.1.1.4. Terapötik Stabilite	7
1.1.1.5. Toksikolojik Stabilite	8
1.1.2. Hızlandırılmış Stabilite Testleri	8
1.1.3. Belirgin Değişiklikler	8
1.2. Çalışmada Kullanılan Vitaminler	9
1.2.1. Vitamin A	9
1.2.2. Vitamin D	12
1.2.3. Vitamin E	15
2. GEREÇ ve YÖNTEM	18
2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler	18
2.2. Kromatografik Şartlar	19
2.3. İlaç Müstahzarları	19
2.4. Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler	19
2.5. Laboratuvar Malzemeleri	20
2.6. Standart Çözeltisi Hazırlığı	20
2.6.1. Numune Hazırlığı	20
2.7. Yöntem	20
2.8.Valide Edilen Analitik Metot	22
2.8.1. Analitik Metot Tanımı ve Prensibi	22
2.8.2. Metot Detayları ve Validasyonda Kullanılan Materyaller	22
2.8.2.1. Doğruluk Numunesinde Kullanılan Standartlar	23
2.8.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik İçin Kullanılan Ekipman	26
2.9. Validasyon İşlemi	26
2.10. İstatistiksel Hesaplamalar	47
3. BULGULAR	48
3.1. Açılmış Spesiyalitelerdeki Çalışmalar	48
3.1.1. Sabit Sıcaklıkta Işığın Etkisinin Araştırılması	48
3.1.1.1. Işığın A Vitaminine Etkileri	48
3.1.1.2. Işığın D Vitaminine Etkileri	52
3.1.1.3. Işığın E Vitaminine Etkileri	56
3.1.2. Sıcaklığın Etkisinin Araştırılması	61
3.1.2.1. Sıcaklığın A Vitaminine Etkileri	61
3.1.2.2. Sıcaklığın D Vitaminine Etkileri	65

3.1.2.3. Sıcaklığın E Vitaminine Etkileri	69
3.2. Kapalı Spesiyalitelerdeki Çalışmalar	74
3.2.1. Sabit Sıcaklıkta Işığın Etkisinin Araştırılması	74
3.2.1.1. Işığın A Vitaminine Etkileri	75
3.2.1.2. Işığın D Vitaminine Etkileri	79
3.2.1.3. Işığın E Vitaminine Etkileri	83
3.2.2. Sıcaklığın Etkisinin Araştırılması	87
3.2.2.1. Sıcaklığın A Vitaminine Etkileri	87
3.2.2.2. Sıcaklığın D Vitaminine Etkileri	91
3.2.2.3. Sıcaklığın E Vitaminine Etkileri	95
4. TARTIŞMA	100
5. SONUÇ ve ÖNERİLER	106
ÖZET	109
SUMMARY	111
KAYNAKLAR	113
EKLER	119
ÖZGEÇMİŞ	121

ÖNSÖZ

Veteriner hekimlikte olduğu kadar beşeri hekimlikte de tedavi ve koruma amaçlı kullanılan vitaminler günümüz koşullarında çok önemli bir yere sahiptir. Hayvan sağlığında vitaminlerin kullanımı hastalıklara karşı bağışıklık sisteminin direncinin yükseltmesi ve ilaçtan arınma süresinin bulunmaması dolayısıyla diğer ilaçlara nazaran veteriner hekimler tarafından sıklıkla kullanılan ürünlerdir. Çalışmamızda A, D₃ ve E vitaminin içeren kombinasyonların prospektüslerindeki farklı saklama koşulu önerilerindeki sıcaklık ve ışık ortamları oluşturularak, bu ortamlarda bekletilen ilaçlarda etkin madde düzeyindeki değişimleri incelendi ve en doğru saklama ortamı tespit edilmeye çalışıldı.

Bu çalışma konusunun belirlenmesinde, çalışmanın yürütülmesinde ve Doktora eğitimim süresince, yardım ve desteklerini esirgemeyen değerli danışman hocam Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ali BİLGİLİ başta olmak üzere, tez izleme komitesindeki hocalarım: Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof. Dr. Ayhan FİLAZİ'ye ve Prof. Dr. Aslan KALINBACAK'a, çalışmalarım süresince katkılarını esirgemeyen ve doktora eğitim hayatımda bilimsel katkılarıyla bana yardımcı olan Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ender YARSAN'a, Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. İ. Safa GÜRCAN'a ayrıca Anabilim Dalı öğretim üyesi Doç. Dr. Begüm Yurdakök DİKMEN'e ki en zor zamanlarımda desteğini esirgemeyen, kimyager Didem GÜNER'e, Eczacı Süha KAYA'a, Kimyager Gamze GÜL'e, özellikle de bu günlere gelmem de emeği geçen ve doktora eğitimi almam için beni cesaretlendiren, sonsuz özveri ve destek veren çok sevgili annem Aysel ALAÇIK'a, babam Necmi ALAÇIK'a ve çalışmalarım da desteğini hiç esirgemeyen kardeşim İrem ALAÇIK'a ve mutluluk kaynağım çok sevgili eşim Sevim Bahadır ALAÇIK'a sonsuz teşekkürlerimi ve minnetlerimi sunarım.

SİMGELER VE KISALTMALAR

- At : Numune çözeltisi kromatogramlarındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması.
- Ast : Standart çözeltisi kromatogramlarındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması.
- Wt : Numune tartımı.
- Wst : Standart Tartımı Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ (mg).
- P : Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ standardı etki gücü olarak.
- d : Numune Yoğunluğu.
- YBSK : Yüksek Basıncılı Sıvı Kromatografisi.
- Ast1 : Standart çözelti 1 kromatogramındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması
- Ast2 : Standart çözelti B kromatogramındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması
- W₁ : Standart çözelti 1'deki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ ağırlığı
- W₂ : Standart çözelti 2'deki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ ağırlığı

ŞEKİLLER

- Şekil 3.1.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU) 49
- Şekil 3.2.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 50
- Şekil 3.3.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 51
- Şekil 3.4.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU) 53
- Şekil 3.5.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 54
- Şekil 3.6.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 55
- Şekil 3.7.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (mg) 57
- Şekil 3.8.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (mg) 58
- Şekil 3.9.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (mg) 59

- Şekil 3.10.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU) 62
- Şekil 3.11.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 63
- Şekil 3.12.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 64
- Şekil 3.13.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU) 66
- Şekil 3.14.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 67
- Şekil 3.15.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 68
- Şekil 3.16.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (mg) 70
- Şekil 3.17.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (mg) 71
- Şekil 3.18.** 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (mg) 72
- Şekil 3.19.** Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza 76

edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU)

Şekil 3.20. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 77

Şekil 3.21. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 78

Şekil 3.22. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU) 80

Şekil 3.23. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 81

Şekil 3.24. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 82

Şekil 3.25. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (mg) 84

Şekil 3.26. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (mg) 85

Şekil 3.27. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (mg) 86

Şekil 3.28. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A 88

vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU)

Şekil 3.29. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 89

Şekil 3.30. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 90

Şekil 3.31. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU) 92

Şekil 3.32. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU) 93

Şekil 3.33. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU) 94

Şekil 3.34. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (mg) 96

Şekil 3.35. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (mg) 97

Şekil 3.36. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağılı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (mg) 98

ÇİZELGELER

Çizelge 2.1. Spesifiklik Parametresine Ait Sistem Uygunluk Sonuçları	27
Çizelge 2.2. Spesifiklik Parametresine Ait Sonuçlar	27
Çizelge 2.3. Vitamin A İçin Doğrusallık Çalışma Sonuçları	29
Çizelge 2.4. Vitamin E İçin Doğrusallık Çalışma Sonuçları	29
Çizelge 2.5. Vitamin D ₃ İçin Doğrusallık Çalışma Sonuçları	30
Çizelge 2.6. Vitamin A İçin Doğrusallık % Hata Çalışma Sonuçları	30
Çizelge 2.7. Vitamin E İçin Doğrusallık % Hata Çalışma Sonuçları	31
Çizelge 2.8. Vitamin D ₃ İçin Doğrusallık % Hata Çalışma Sonuçları	31
Çizelge 2.9. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin A Miktarı İçin Çalışma Aralığı Sonuçları	32
Çizelge 2.10. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin E Miktarı İçin Çalışma Aralığı Sonuçları	32
Çizelge 2.11. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin D ₃ Miktarı İçin Çalışma Aralığı Sonuçları	32
Çizelge 2.12. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin A İçin Doğruluk Çalışması Verileri	34
Çizelge 2.13. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin E İçin Doğruluk Çalışması Verileri	34
Çizelge 2.14. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin D ₃ İçin Doğruluk Çalışması Verileri	35
Çizelge 2.15. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D ₃ Sistem Kesinliği Sonuçları	35
Çizelge 2.16. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D ₃ Tekrarlanabilirlik Sonuçları	36
Çizelge 2.17. Vitamin A İçin Laboratuvar İçi Kesinlik Sonuçları	37
Çizelge 2.18. Vitamin E İçin Laboratuvar İçi Kesinlik Sonuçları	38
Çizelge 2.19. Vitamin D ₃ İçin Laboratuvar İçi Kesinlik Sonuçları	38
Çizelge 2.20. Tespit Limiti (LOD) Sonuçları	39

Çizelge 2.21. Hesaplama Limiti (LOQ) Sonuçları	39
Çizelge 2.22. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D ₃ Mobil Faz Akış Hızının Değişimine Ait Sonuçlar	40
Çizelge 2.23. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D ₃ Artan Akış Hızı Miktar Tayini Sonuçları	41
Çizelge 2.24. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D ₃ Azalan Akış Hızı Miktar Tayini Sonuçları	41
Çizelge 2.25. Kolon Sıcaklığının Değişimine Ait Sonuçlar	42
Çizelge 2.26. Azalan Kolon Sıcaklığı Miktar Tayini Sonuçları	43
Çizelge 2.27. Artan Kolon Sıcaklığı Miktar Tayini Sonuçları	44
Çizelge 2.28. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D ₃ Çözelti Stabilitesi Çalışmasında Sistem Uygunluk Sonuçları	45
Çizelge 2.29. Çözelti Stabilitesi Çalışmasında Miktar Sonuçları	46
Çizelge 2.30. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D ₃ İçin Sistem Uygunluk Sonuçları	46
Çizelge 3.1. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	52
Çizelge 3.2. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D ₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	56
Çizelge 3.3. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg)	60
Çizelge 3.4. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	65
Çizelge 3.5. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D ₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	69

Çizelge 3.6. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg)	73
Çizelge 3.7. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	79
Çizelge 3.8. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D ₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	83
Çizelge 3.9. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg)	87
Çizelge 3.10. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	91
Çizelge 3.11. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D ₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU)	95
Çizelge 3.12. 25°C ve 4°C karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg)	98
Çizelge 5.1. Açık spasiyetelerde 25°C’de karanlık ve aydınlık ortamda ve 25°C ve 4°C karanlık ortamda muhafaza edilen vitamin kombinasyonlarının firmalara göre etkin madde düzeylerinin zamana bağlı % oransal değişimleri.	107
Çizelge 5.2. Kapalı spasiyetelerde 25°C’de karanlık ve aydınlık ortamda ve 25°C ve 4°C karanlık ortamda muhafaza edilen vitamin kombinasyonlarının firmalara göre etkin madde düzeylerinin zamana bağlı % oransal değişimleri.	108

1. GİRİŞ

Genel anlamda vitamin, normal metabolik olayların sürdürülmesi için gerekli olan ama genellikle vücutta sentezlenemeyen ve bu sebeple dışarıdan alınması gereken madde olarak tanımlanır. Hücrelerdeki metabolik olayların normal şekilde sürdürülmesi için çok küçük miktarlarda alınmasına gerek duyulan maddelerdir; protein, şeker ve yağların metabolizmasına giren birçok enzimin yardımcı-faktörü veya yardımcı-enzimi olarak iş görürler. Noksanlıkları hayvanlarda birçok hastalık yanında, gelişme geriliği, verim düşüklüğü ve üremenin zayıflaması gibi ekonomik yönden önemli birçok olaya sebep olurken, daha da önemlisi ölüme yol açabildiği belirtilmiştir. Vitaminler hem beşerî hem de veteriner hekimlikte en fazla suistimal edilen maddeler arasındadır. Hücre metabolizmasındaki görevleri sebebiyle gerekli veya gereksiz olarak koruyucu ve sağaltıcı olarak reçetelere yazılabilmektedir. Ancak hastalığın tanısı yapılmaksızın, aşırı ve gereksiz vitamin tüketimi bazen zehirlenmelere (vitamin A ve D’de gibi) yol açabileceği gibi, ekonomik yönden önemli bir yükü de beraberinde getirdiği belirtilmiştir (Kaya ve ark, 2002).

Hayvanlar besinler ile gerekli vitamin ihtiyaçlarını karşılarken bazı durumlarda dışardan koruyucu veya sağaltıcı amaçla vitaminlerin kullanması gerekmektedir. Fizyolojik olarak gebelik; et, süt ve yumurta gibi verimler ile iş gücünün artması vb. durumlarda vitamin ihtiyacı da artar (Aksoy ve Daş, 2012).

Vitaminler diğer organik besin elementleriyle kıyaslandıklarında gıdalarda daha düşük seviyelerde yer alan, insan beslenmesinde “olmazsa, olmaz” türden olan bileşikler olduğu ve insan ve hayvan vücudunda sentezlenemediklerinden dolayı muhakkak diyetle alınmaları gerekmektedir. Vücuttaki biokimyasal reaksiyonları düzenlemeleri ve bu reaksiyonların devam etmesini sağlamaları vitaminlerin önemini göstermektedir. Farklı gıda gruplarında farklı vitamin grupları bulunmaktadır, her farklı vitamin grubunun da vücudun metabolizmasında farklı etkileri olduğu belirtilmiştir (Borton ve Benjamin, 1978).

Vitamin eksikliği ya da fazla vitamin alımı çeşitli boyutlarda sağlık problemlerini ortaya çıkaracağı gibi, vücutta önemli metabolik bozukluklara da yol açtığı bildirilmiştir. (Benowiez ve Robert, 1981; Borton ve Benjamin, 1978).

Sağaltıcı ve koruyucu amaçlarla hazırlanmış vitaminlerin yanlışlıkla kullanılması söz konusu olduğu; sağaltıcı olarak kullanılan vitaminlerin çoğu ise kendileri için önerilen günlük dozların çok üzerinde miktarlarda yeme katkısı veya enjeksiyon tarzında kullanılmakta olduğu bildirilmiştir (Kaya ve ark, 2002).

Vitaminler; karbonhidratlar, proteinler ve lipitlerden daha farklı metabolik aktivitelere sahip olduğu, yapısal destek sağlamadıkları ve enerji vermedikleri belirtilmiştir. Ancak metabolik aktiviteleri enzim yardımcı faktörü olarak, enerji transferinde rol oynayarak, membran bütünlüğünü sağlayarak etkiledikleri bildirilmiştir. Vitaminlerin aktivitesi ve stabilitesi çok çeşitli faktörler tarafından etkilendiği ve bunun sonucunda da vitaminlerin vücutta gösterdikleri etkinliklerin değişebildiği vurgulanmıştır. Hava ya da oksijen, ışık, gıdanın işlenme süreci, asit ya da alkali koşullar ve çeşitli kimyasal maddeler ve bunların oluşturduğu koşullar vitaminlerin stabilitesini ve aktivitesini etkileyen faktörlerdir. Yağda çözünebilen vitaminlerin karakteri elektronegatif atom içermemelerinden ve polar olmayan yapılarından kaynaklandığı ve yaygın olarak bilinen yağda çözünebilen vitaminlerin başlıcaları A, D, E, K vitaminleri olduğu belirtilmiştir (Bosco ve Dominick, 1980).

Canlıların değişen beslenme şekilleriyle, ihtiyaçları olan vitamin düzeyleri, besinlerinden karşılanamamaktadır. Bu nedenle vitaminlerin sentetik formları kullanımı her geçen gün artmaktadır. Hayvan metabolizması için çok önemli olan, bazen koruyucu amaçlı, bazen de tedaviye destek amaçlı kullanılan vitaminlerin sıcaklık, ışık gibi fiziki etmenlerden etkilendiğini ve etkinliklerinde değişimler yaşanabileceği bildirilmektedir. Ancak bu etkinlik değişiminin ne sürede ne kadar olduğu hakkında net bir bilgi mevcut değildir.

Etkin maddenin ve ürünün stabilitesi, ilaç şekillerinin tasarımında ve geliştirilmesinde göz önünde bulundurulması en önemli unsurdur. Stabilitate; en

önemli kalite göstergelerinden birisidir. İlacın dayanıklı olması, üretim, depolama, nakil, klinik veya eczanede saklama ve kullanım süresi boyunca üretildiği tarihteki özelliklerinin önceden belirlenmiş sınırlar içinde kalması olduğu ayrıca da üretici firma, öncelikle pazarladığı ürünün stabilitesinin temininden sorumlu olduğuna değinilmiştir (Acartürk, 2009). İlaçlar etiketindeki gibi saklanması gerektiği; bazı ilaçların nem, bazılarının ışık, bazılarının da sıcaklıktan etkilendikleri ve etiketlerinde buna göre talimat bulunduğu unutulmaması ve bu sebeple, ilaçlar karanlık ve kuru bir yerde, gerekiyorsa buzdolabında donmaktan korunarak saklanması uygun olacağı belirtilmiştir (Kaya ve ark., 2007).

Karışım halindeki bazı vitaminlerin stereoizomerlerin oluşumuyla ve oksidasyon ile biyolojik etkinliklerini kaybederek bozulabileceği ve bu olayların ışık, sıcaklık, nem, mineral asitleri, metal iyonları, doymamış yağlar ve oksidanlar aracılığıyla başlatılarak katalize edildiği bildirilmiştir. Depolama süresince, farklı işleme koşulları üretilen yemlerdeki vitaminlerin stabilitesiyle, (Gadient ve Fenster, 1994; Dozier, 2002; Anderson ve Sunderland, 2002) yemlerde ve karışımlarda olduğu gibi (Leerbeck ve Hjarde, 1975; Parrish ve Patterson, 1983; Zhuge ve Klopfenstein, 1986; Dove ve Ewan, 1990, 1991; Gadient ve Fenster, 1994; Shurson et al., 1996; Matyka et al., 1996; Ja'skiewicz et al., 1998) farklı düzeydeki vitaminlerin stabilitesiyle (Schröder et al., 1985; De Man et al., 1986; Dahl et al., 1994; Frias ve Vidal-Valverde, 2001) ilgili bir çok çalışma rapor edilmiştir (Tavčar-Kalcher, 2007).

1.1. İlaçlarda Kalite ve Güvenilirlik

Tüketime sunulan ürünlerin güvenilirliğinin ve kalitesinin değerlendirilmesi halk sağlığı ve gıda güvenliği yönünden son derece önemli olduğu belirtilmiştir. Günümüz ticari hayatında üretici firmaların pazar paylarını büyütmesi ve rekabet edilebilecek kalitede ürün elde edilebilmesi için araştırma-geliştirme çalışmalarının artması ve ayrıca uluslararası ticaretin büyümesi ile ürünlerde kalite ve güvenlik çok önemli hale gelmiş ve resmi kurumların kontrol ve denetleme çalışmalarının da sık

ve doğru olması gerektiği belirtilmiştir (Ekici, 2011).

Yüzde yüz güvenli veya hiç yan etkisi olmayan ilaç bulunmamaktadır. Bu durumdan ötürü ilaç, yakından izlenmeyi ve olası olumsuz etkilerine karşı uyanık olmayı gerektirir. Pekmezci (2008), tarafından yaşamın herhangi bir döneminde ilaçla muhatap olan, ilaç üreticisinden ilacı öneren hekimine, ilacı uygulayandan sağlık elemanlarına, ilacı sağlayan eczacı ve ilaç tüketicisine kadar herkesin ilaç kullanımı, muhafazası ve olası zararlı etkileri konusunda bilinçli olunması gerektiği vurgulanmıştır (Pekmezci, 2008).

İnsan ve hayvan hastalıklarının sağaltımı amacıyla ilaç seçimi ve bilinçli şekilde kullanımı ancak yeterli ilaç bilgisiyle sağlanabilir. İnsan hekimliğinden farklı olarak, veteriner hekimliğinde genellikle sağaltım uygulanan hasta hayvan ekonomik değerinin olması gerektiğine değinilmiştir (Faghihi, 2004). Dolayısıyla ilaç seçiminde, sağlık yararı ve risk durumu bakımından olduğu kadar, ekonomik değer ve karlılık yönlerine de özen gösterilmelidir. Hayvan türleri ve fizyolojik durumları arasında aynı ilaç etkin maddesine karşı önemli duyarlılık ayrımları söz konusudur. Ayrıca, veteriner sağaltımında kullanılan ilaçlardan çoğunluğunun insanlar için muhtemel birer zehir olabilecekleri ve gıda değeri olan hayvanlara geçen kalıntıların tüketici durumundaki insanlarda akut ve kronik zehirlenme riski yaratabileceği gerçeğinin iyi bilinmesinin zorunlu olduğu belirtilmiştir (Şanlı, 2002).

Veteriner hekim bir taraftan hayvan hastalıklarının koruyucu ve iyileştirici sağaltımını yaparken, diğer taraftan da halk sağlığını da göz önünde bulundurması gerekir. Veteriner hekimin; sağaltım için fazla ilaç temin etmemesi ve kullanmaması gerektiği; bu durumun ambalajı açıldıktan sonra kullanılması sırasında kalan ilacın bozulmasına veya hatalı kullanılmasına sebep olabileceği vurgulanmıştır (Kaya ve ark, 2007).

1.1.1. Stabilite (Dayanıklılık)

Stabilitede esas olan, etkin maddenin hazırlanan spesiyalite içerisinde

durağan kalmasıdır. Zaman içinde, çeşitli iç ve dış etkenler sonucu, etkin madde değişikliğe uğrayarak bozulma ürünleri oluşmaya başlar. Bu bozulma ürünlerinin farmakolojik etkisi, etkin madde ile aynı olabileceği gibi farklı ya da toksik de olabilmektedir. Ayrıca stabilite, sadece etkin madde için geçerli olmadığı gibi aynı zamanda formülasyona konulan yardımcı maddelerin stabilitesinin de önemli olduğu bilinmektedir. Diğer yandan stabilitede, etkin maddenin kimyasal olarak gösterdiği etkinlik yanında, biyolojik olarak gösterdiği etkinlik de önemlidir. Spesyalitenin stabilitesine etkiyen dış etkenlerin başlıcaları sıcaklık, ışık, nem, oksijen (O₂) gibi faktörler olup iç etkenlerin ise, maddenin kendi reaksiyon yeteneği veya yardımcı maddelerin veya çözücülerin etkileri olarak bilinmektedir. Bütün bunlar maddenin raf ömrünü etkilediği ve raf ömrünün belirlenmesi de spesyalitenin son kullanma tarihinin saptanması açısından önemli olduğu belirtilmiştir (Atasoy, 1998; Değim, 1990).

İlaçta stabilitenin sağlanmasının öncelikli amacı; spesyalite içindeki etkin madde ile ilaç şeklinin, belirtilen süreler içerisinde ve hasta tarafından kullanılabileceği kadar herhangi bir nedenle etkisinin veya özelliklerinin kaybolmasını engellemek olduğu bildirilmiştir. Bir formülasyonun stabilitesi değerlendirilirken göz önünde bulundurulması gereken birçok ölçüt olduğu bilinmektedir. Bunlardan bazıları; yüzey görünümü, sertliği, ufalanma-aşınma miktarı, dağılma zamanı, çözünme hızı ve viskozitesi gibi fiziksel faktörler olarak sıralanmıştır (Atasoy, 1998).

Önemli olan noktalardan birisi de ilacın içerisindeki etkin maddenin doz şekli içerisinde kimyasal olarak parçalanıp, parçalanmadığının bilinmesidir. Bir ilacın geliştirilmesi sırasında bozulma ürünlerinin tanımlanması yanında, bozulma mekanizması ve kinetiğinin de bilinmesi gerekmektedir. Bozulma ürünlerinin kantitatif yönden incelenmesi, bu ürünler toksik ise daha da önem kazanacağı bildirilmiştir. Stabilitayı belirleyici ölçüt, o ürünün raf ömrü boyunca etkin maddesinin resmi ya da kabul edilmiş standartlara uygun olarak kaldığının gösterilebilmesidir. Diğer yandan ilaçların bozulmalarının hangi şartlarda ve ne şekilde olduğunun bilinmesi, ilaçların kullanılabilirlikleri açısından önemli olduğu vurgulanmıştır (Bozkır, 1989).

Sıcaklık, nem, ışık, pH, ambalaj, iyon kuvveti, yardımcı veya diğer etkin maddelerle reaksiyon gibi çeşitli fiziksel ve kimyasal faktörler, ilaçların kimyasal stabilitesi üzerine etkili olduğu ve hidroliz, oksidasyon, redüksiyon, dekarboksilasyon, rasemizasyon gibi kimyasal reaksiyonların etkin maddenin bozulmasına neden olduğu belirtilmiştir (Saghei, 2014). İlaçların fiziksel stabilitesini ortaya koyan başlıca özellikler arasında genel olarak faz ayrışmaları, parçacık büyüklüğü değişimi, viskozite değişiklikleri, polimorfizm, etkin maddelerin kristal yapısındaki değişimler, izomerizasyon, nem oranı değişimi, buharlaşma ile kayıp, ışık, ısı, sıcaklık ve nemin etkisi de sayılabilir. Mikrobiyolojik stabilitede başlıca faktörleri etkin ve yardımcı maddelerin işlenmeden önceki mikrobiyolojik saflıkları, imalat tekniklerinin kontaminasyona etkisi, imalat hijyeni, ilaç şekillerinde mikrobiyolojik saflığının sağlanması ile koruyucu maddelerin etkileri olarak belirlenmiştir (Bozkır, 1989).

Stabilite çalışması, raf ömrü boyunca etkin maddenin veya farmasötik ürünün kimyasal, fiziksel, mikrobiyolojik ve biyolojik kontrolleri olarak tanımlanmaktadır. Raf ömrü özellikleri, ürünün serbest bırakılma özelliklerinden ancak kabul edilebilir ve onaylanabilir sapmalar gösterebileceği gibi bunun stabilitenin değerlendirilmesine ve saklama sırasında gözlenen değişikliklere dayanmasına bağlı olduğu bildirilmiştir. Etkin madde veya farmasötik ürün için önerilen saklama sistemi içinde, uygun koşullarda saklandığı sırada belirli seriler üzerinde yapılan stabilite çalışmaları ile tespit edilen özelliklere uygun olmasının beklendiği zaman süreci raf ömrü olarak bildirilmiştir. Raf ömrü, en düşük stabiliteyi gösteren seri dikkate alınarak tespit edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Bir ilacın raf ömrü boyunca belirtilen 5 stabilite özelliğini yerine getirmesi gerektiği belirtilmiştir (USP 26, 2003; Vadas, 2002). Bunlar:

1. Kimyasal stabilite
2. Fiziksel stabilite
3. Mikrobiyolojik stabilite
4. Terapötik stabilite
5. Toksikolojik stabilite

1.1.1.1. Kimyasal Stabilite

Her etkin madde kimyasal bütünlüğünü veya etiketinde belirtilen etki gücünü önceden belirlenmiş sınırlar içinde koruması gerekmektedir. Bir ilacın stabilitesinin izlenebilmesi için, bozunma kinetiğinin bilinmesi ve ancak stabilite bilgilerinin iyi planlanması ve dikkatle gerçekleştirilen kinetik çalışmalar ile elde edilebileceği vurgulanmıştır. Farmasötik ürünlerden meydana gelen bozunma reaksiyonlarının belirli bir hızla ve kinetikle gerçekleşebileceği belirtilmiştir (Fung H. 1990; Martin A. 1993). İlacın kimyasal olarak raf ömür hesapları yani etkin maddenin %ü10'unun bozunma süresi ($t_{%10}$), kinetik hesaplara göre yapılacağı bildirilmiştir. Bozunma sonucunda ortaya çıkan bozunma ürünlerinin de bilinmesi ve ayrılması stabilite açısından önemli olduğu vurgulanmıştır (Saghei, 2014).

1.1.1.2. Fiziksel Stabilite

Farklı ilaç şekillerine göre fiziksel stabilite özelliklerinin de değişebildiği ve bunların ürünün görünüşü, renk, koku, tat, homojenlik, pH, berraklık, viskozite, faz ayrışması, dağılma, sertlik, aşınma ve çözünme hızı gibi özellikler olduğu bildirilmiştir (Acartürk, 2009)

1.1.1.3. Mikrobiyolojik Stabilite

Sıvı ve yarı katı ilaçlarda mikrobiyolojik üreme söz konusu olabilmektedir. Bu üremeyi engellemek amacıyla ürüne ilave edilen antimikrobiyal maddelerin etkilerini, önceden belirlenmiş sınırlar içinde sürdürmeleri gerektiği ve parenteral ürünlerin ise, raf ömrü boyunca sterilitelelerini korumaları gerektiği belirtilmiştir (Bozkır, 1989).

1.1.1.4. Terapötik Stabilite

Kimyasal, fiziksel ve mikrobiyolojik stabilitedeki değişiklikler çözünme hızının zamana bağlı olarak azalması ve etkin maddenin daha geç emilmesi ile

sonuçlanabileceği bildirilmiştir. Polimorfizm gösteren bir etkin maddenin, saklama koşullarına bağlı olarak kristal şekli ve buna bağlı olarak çözünme özellikleri değişebilmektedir. Supozituarlarda ise sıvının erime özelliklerinin değişmesi sonucunda vücut sıcaklığında erimemesi ile ilacın terapötik stabilitesinin doğrudan etkilenebileceği belirtilmiştir (Atasoy, 1998; Değim, 1990).

1.1.1.5. Toksikolojik Stabilite

Toksikolojik dayanıklı olmama nadiren görülür. Etkin maddenin yeterince stabil olmaması ve oluşan bozunma ürünleri etkin maddeden daha toksik ise ya da yardımcı maddelerin bozunma ürünleri toksik ise, toksikolojik stabiliteden söz edilebileceği ve bozunma sonucunda toksisitede artış olacağı belirtilmiştir (Bozkır, 1989).

1.1.2. Hızlandırılmış Stabilite Testleri

Stabilite programının abartılı saklama koşullarının (yüksek sıcaklık ve yüksek nem gibi) uygulanmasıyla kimyasal bozunma ve fiziksel değişim hızının artması ile yapılan çalışmalar olarak nitelendirilmiştir (Saghei, 2014). Bu çalışmaların geçici bir raf ömrü tespitinde yardımcı olabildiği gibi ürünün etiketinde belirtilen saklama koşullarının dışındaki şartlarda kısa süre maruz bırakılması ile sonuçlarını değerlendirilmesi olarak tanımlanmıştır. Ancak hızlandırılmış stabilite çalışmalarını, daima beklenen saklama koşullarında yürütülen gerçek zaman stabilite çalışmaları ile tamamlanmasının uygun olacağı tavsiye edilmiştir (Bozkır, 1989).

1.1.3. Belirgin Değişiklikler

Etkin maddenin ilk halinden %5 kaybı belirlenmiş bir parçalanma ürününün kabul edilebilir limitlerinin ve pH değerinin limitin dışına çıkması, çözünme hızı sonuçlarının spesifikasyonlara uygun olmaması ile diğer özelliklerindeki belirgin değişiklik olarak tanımlanmıştır (Saghei, 2014).

1.2. Çalışmada Kullanılan Vitaminler

1.2.1. Vitamin A

Vitamin A, retinolun biyolojik etkisine sahip bileşikler için kullanılan genel bir terimdir. Retinol ise doğal vitamin A şekillerini ve sentetik türevlerini kucaklar. Saf vitamin A tatlı su balıklarının karaciğerinden elde edilen soluk sarı renkte, yağda çözünen bir sıvıdır. Evcil hayvanlar vitamin A ihtiyaçlarının çoğunu yem veya otlarda bulunan karotenlerden (bitkilerde doğal olarak 600'den fazla karoten bulunur) sağlarlar. İnsan ve hayvanlar vitamin A ön maddesi olarak kabul edilen ve bitkisel kaynaklı olan 4 tip karotenden yararlanırlar; bunlar α , β , γ karotenler ile kriptoksantin (hidroksi- β Karoten) oluşurlar. Saf karotenler portakal kırmızısı renkte, kristal maddelerden olup bunlardan β Karoten en fazla bulunan ve en önemli vitamin A kaynağı olarak tanımlanmıştır (Kaya ve ark, 2002).

Bitkilerin yapraklarında diğer kısımlarından daha fazla miktarda karoten bulunduğu bilinmektedir. Vitamin A ve karotenler hava, ışık ve yükseltgeyici maddeler karşısında hızla parçalanmaktadır ve bu sebeple de hasat, kurutma ve depolanma sırasında yeşil bitkiler ve otlarda bulunan karotenlerin büyük bir kısmının yıkımlandığı bildirilmiştir. Karoten bitki yapraklarında kısmen enzimatik ve kısmen de ışığın etkisiyle parçalanmaktadır; yapraklardaki karotenin enzimlerle tahribi kurutma işlemi sırasında sıcaklık ile artarken, kurutma tamamlandıktan sonrada durur. Güneş ışığı, yüksek rutubet ve orta dereceli sıcaklıklarda 2 saat içinde % 35'e ve 24 saatte de % 80'e yakın kayıp oluşabildiği, alfalanın karoten düzeylerindeki azalmanın ise: 0,4°C'de 12 ayda %30; 1,1-4,4°C'de 6 ayda % 50; oda sıcaklığında 6-12 ayda %60-72 ve 80°C'de 16 günde % 98 oranında olduğu bulunmuştur. Oksijenli ortamda ve yüksek sıcaklıkta vitamin A'nın parçalanmasının hızlandığı; ama oksijensiz ortamdaki sıcaklığın ise daha az etkili olduğu tespit edilmiştir (J. C. Bauernfeind, 1972).

Ağız sıkıca kapatılmış koyu renkli spesiyalitelerde morina balığı yağı 30 yıl süreyle etkin kalabilmektedir. Açık kaplarda saklanan vitamin A'da parçalanmanın

söz konusu olduğu bulunmuştur. Morina balığı yağı yemlere katıldığında ve normal şartlarda depolandığında birkaç hafta içinde parçalanmaktadır. Yeme katılan balık yağı havanın yıkımlayıcı etkisine açık durumdadır. Burada yağın acılaşması ve vitamin A tahribinin önlenmesi için, yemlerinin üretimi ve depolanmalarında dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır. Yükseltgenmeyi önleyici madde ihtiva eden kuru vitamin A şekilleri, jelatin ya da balmumu ile kaplanmış halde yemlere katıldığında, dayanıklılığında önemli bir artış sağladığı, ancak, oda sıcaklığında depolanan karma yemlerdeki vitamin miktarının giderek azaldığı tespit edilmiştir. Dayanıklılığı artırılmış vitamin A iyi şartlarda depolanmadığında kayıpların 6 ay sonra % 50 olduğu bulunmuştur (Kaya ve ark, 2002).

Vitamin A ve karotenlerin sindirim kanalından emilmesi hayvanın türüne, vitamin kaynağına veya vitamin ön maddesine göre önemli değişkenlik arz eder; besin maddesinin sindirilme oranı emilmeye elverişli vitamin miktarını belirlemektedir. Yağlar ve sübyeleştirici maddeler emilmeyi arttırmaktadır. Bu arada, karotenin bir kısmı sindirim kanalında parçalanır; bu olayı vitamin E gibi yükseltgenmeyi engelleyen maddeler azaltırken, nitratlar tarafından artırılmaktadır. Diğer yandan, alınan vitamin miktarı ihtiyaçtan fazla değilse emilmenin tam olacağı; fazla miktarda alındı ise, bir kısmı dışkıyla atılacağı bildirilmiştir. Yağda çözünmesi sebebiyle, bitkisel veya hayvansal yağlardaki çözeltileri daha iyi emildiği; ama serbest alkol ve esterlerinin sudaki çözeltileri yağlı olanlardan daha hızlı ve iyi emilecekleri bildirilmiştir (Aksoy ve Daş, 2012). A vitamini parenteral uygulamada esterleriyle (palmitat) hazırlanan sulu dispersiyonları hızlı ve tam emileceği karaciğer, böbrek ve yağ dokuda depolanıp idrar, dışkı, süt ve yumurta ile atılacağı tespit edilmiştir (Anon, 2012b).

Vitamin A'nın biyolojik zarların dayanıklılığını artırdığı ayrıca görme, büyüme, epitel dokunun farklılaşmasında ve bütünlüğünü korumasında, kemiklerin gelişmesinde, üreme ve embriyonun gelişmesinde önemli görevler aldığı bildirilmiştir. Mannoz ve galaktoz içeren glikolipitlerin ve glikoprotein sentezinde biyokimyasal görevi olduğu ve mukopolisakkaritlerin sentezi, sülfatın etkinleşmesi, kolesterolün sentezi, hidroksisteroitlerin dehidrojenasyonu ve ilaçların karaciğerde

(ME)'le mikrozomal enzimlerin hidroksillenmesi ve demetillenmesi tepkimelerinde yardımcı-faktör olarak görev aldığı belirtilmiştir. Ayrıca, güçlü bir anaboliktir ve antikarsinojen etkisi vardır. Vitamin A noksanlığında özellikle solunum yollarının hastalıklarına duyarlılık artmaktadır. Kemiklerde şekil bozuklukları, deride kuruma, keratinleşme ve çatlama görüleceği; bilhassa bacaklarda papuler deri döküntülerinin oluşacağına değinilmiştir. Vitamin A erkeklerde sperma üretimi ve dişilerde gebeliğin sürdürülmesi için gereklidir; dolayısıyla, vitamin A noksanlığı testislerde soysuzlaşma, yavruda şekil bozuklukları ve yavrunun uterus duvarından emilmesine sebep olabileceği belirtilmiştir. Gebe, sağılan, genç ve besi hayvanlarının ihtiyacı fazla olduğundan, koruyucu vitamin A desteği mutlaka yapılmasının gerektiği ve yeni doğmuş köpek ve kedi yavrularında vitamin A uygulamalarının yararlı olabileceği belirtilmiştir (Mc Dowell, 1989a).

Gebelik, vitamin A plazma düzeyini önemli ölçüde etkiler; gebeliğin ilk 1/3'ünde plazma vitamin A düzeyi azalır, sonra artar ve doğumda da dik bir düşme görülür. Bundan sonra, plazma vitamin düzeyi hızla normale çıkar. Plasenta vitamin A ve karotenlerin yavruya geçişini önemli şekilde engellemektedir; bunun sonucu, yavrunun dolaşımındaki vitamin A seviyesi annedekine göre yetersiz kalacağından gebeliğin son 1/3'lük döneminde vitamin uygulanmasının, ana rahminde yavrunun sağlıklı gelişimine yardımcı olacağı tespit edilmiştir (Anon, 2012b).

Evcil hayvanlarda sağaltıcı olarak kullanılacak vitamin A miktarları hakkında yeterli bilgi yoktur. Yalnız, bir genelleme yapılarak, günlük alım miktarının (60-66 Ü/kg) 10-20 katı dozlarda ilk uygulamanın yapılması ve bundan sonra daha küçük miktarlarda verilmesi tavsiye edilir. Vitamin A'nın biyolojik etkinliği ünite (Ü) ya da ağırlık (μg veya mg) esas alınarak hesaplanır. Buna göre 1 Ü vitamin A; 0,3 μg retinol, 0,55 mg vitamin A palmitat, 0,34 μg retinil asetat veya 0,6 μg β -karotene eşdeğerdir. Kasiçi yolla uygulanan büyük bir doz, hayvanın birkaç aylık ihtiyacını karşılayabilmektedir; bunun için sığırlara verilecek sağaltım dozu 2×10^6 Ü (veya 600 mg) retinol eşdeğeri ölçüsünde büyük olabilir. Yalnız, verilen vitamin A miktarı karaciğerin depolama yeteneğinden (2 mg retinol eşdeğeri/kg c.a. veya 150-300 $\mu\text{g/g}$)

karaciğer) fazla olmaması gerekir; aksi halde vücutta tutulmayacağı belirtilmiştir (Aksoy ve Daş, 2012).

Vitamin A zehirleyici etkileri olan vitaminlerden birisidir. Zehirleyici vitamin A miktarı koruyucu ve sağaltıcı miktarlarının çok üzerindedir ve karaciğerin depolama yeteneğinin yaklaşık 4 katıdır. Günlük ihtiyacın 10-1.000 katının uzunca bir süre alınmasıyla akut veya kronik nitelikte zehirlenmelerle karşılaşılır. İhtiyaçtan fazla miktarda alınması vitamin A zehirlenmesi diye bilinen ve letarji, sancı, kemik ve eklem ağrısı, huzursuzluk, tüylerin dökülmesi, deride kuruma, dökülme ve kaşıntıyla seyreden belirtilere sebep olur; sağaltımın kesilmesini takiben, derideki dökül-meler keratoz uzun süre (birkaç ay) kalırken, diğerleri 1 hafta içinde iyileşeceğine değinilmiştir (Kaya ve ark, 2002). Kronik zehirlenmede klinik belirti olarak iskelet sisteminde bozuklukları kırıklar, büyümede gerileme ve cücelik, kilo kaybı, dermatoz, anemi, üreme problemleri ve bağırsak yangıları gözlenebileceği; akut toksisitede ise uyuşukluk, uykusuzluk, letarji, huzursuzluk ve mide-bağırsak bozukluklar görülebileceği belirtilmiştir (Fettman, 2001).

1.2.2. Vitamin D

Vitamin D, bitki yapısında bulunan ergosterol'ün UV ışığına maruz bırakılmasıyla elde edildiği bilinmektedir. Bağırsaklardan minerallerin emilmesini, kan kalsiyum, fosfor ve fosfataz dengesinin sağlanmasını ve sürdürülmesini, kemiklerin normal mineralizasyonu ve iskelet oluşumunu sağlamakta rol aldığı bilinmektedir. Üreme ve büyüme faaliyetleri ile ilgili görevlere de sahiptir. Toksikolojik çalışmalarda D₃ (kolefalsiferol) vitaminin D₂ (ergokalsiferol) vitaminine göre yaklaşık 20 kat daha toksik olduğu tespit edilmiştir. Eksikliğinde ise gençlerde raşitizm, erginlerde osteomalasi gibi kemik hastalıklarının yanı sıra, iştah azalması, ergin hayvanlarda verim düşüklüğü, genç hayvanlarda gelişme geriliği ve hastalıklara karşı hassasiyet artışı gibi belirtiler tespit edilmiştir (Anon, 2010)

D vitaminin raşitizmaya karşı etkinliği olan ve birbirine yakın bir dizi steroid bileşiğin genel ismidir. Hem bitki ve hem de hayvanlarda vitamin D ön maddesi

halinde bulunurlar; bunlardan, bitkilerdeki ergokalsiferol, hayvanlardaki ise 7-dehidrokolesteroldür. Vitamin D'nin doğada yaygın şekilde bulunmadığı, yeşil ve gelişme dönemlerindeki bitkilerde çok az miktarda bulunduğu; taneler ve bunlardan hazırlanan ürünlerin vitamin etkinliğinde ya çok zayıf olduğu veya hiç olmadığı bilinmektedir. Kuru ottaki vitamin kurutma sırasında ergosterolden şekillenir. Bitkisel kaynaklı vitaminin etkinliği kanatlılarda çok zayıftır (1/15'i kadar); buna karşılık memelilerde etkilidir. Bunun başlıca sebebi kanatlılarda vücuttan hızla atılmasıdır. Hayvansal veya bitkisel sterollerin güneş ışığına tutulması ile doğal vitamin D hazırlanması yanında, bugün genellikle sentetik olarak hazırlanan vitamin D₃'ten yararlanılmaktadır. Vitamin D etkinliğine sahip ve yarı sentetik olarak hazırlanan birçok madde vardır; bunlar dihidrotaşisterol (DHT), kalsifediol (25-hidroksivitamin D₃, 25-OHD₃) ve 1- α -hidroksikolekalsiferol (α -kalsidiol, 1 α -OHD₃) olarak bildirilmiştir. Birimi ve etkinliği bakımından Vitamin D Ünite (Ü) veya ağırlık esasına göre değerlendirilir; 1 Ünitesi 0.025 μ g vitamin D₃'ün biyolojik etkinliğine denktir; yani 1 μ g vitamin 40 Ü olarak tespit edilmiştir (Kaya ve ark, 2002).

Hayvan türlerinin çoğu yemleriyle günlük ihtiyaçlarını karşılayabilecek ölçüde vitamin D alırlar. Vitaminden yararlanma güneş ışığına maruz kalmaya bağımlılık gösterir. Ancak günlük ihtiyaçlarını karşılayacak miktarlarda vitamin katılması tavsiye edilir; çoğu hayvan türünün yemlerinde 200-1.200 Ü/kg miktarlarda vitamin D bulunması önerilir. Sığır 275-300 Ü/kg yem; veya 6-6.5 Ü/kg c.a., At 6-6.5 Ü/kg c.a., Koyun ve keçi 70-275 Ü/kg yem; veya 6-6.5 Ü/kg c.a., Köpek 500 Ü/kg yem; veya 22 Ü/kg c.a. kadar olduğu bilgisi verilmiştir (Aksoy ve Daş, 2012).

D vitamini vücuda alındıktan sonra önce karaciğerde ardından böbrekte birbirini izleyen 2 hidroksillenme tepkimesi ile etkinleştikten sonra hedef doku ve organlarda etkisini gösterdiği bilinmektedir. Vitamin D ve metabolitlerinin çoğu safrayla atılırlar; bu şekilde sindirim kanalına gelen vitamin molekülleri bir ölçüde geri emilmektedir. Vitamin D tüm etkilerini parathormon ile birlikte yapmaktadır. Vitamin D'nin etkisi ister fizyolojik ister farmakolojik dozlarda olsun kemiklerden

kalsiyumun saliverilmesine sebep olup; kan kalsiyum seviyesinin normal sınırları içinde kalmasını sağlamaktadır. Vitamin D'nin noksanlığı halinde gençlerde raşitizm (rickets) ve erginlerde osteomalasi (kemik erimesi, yetişkin raşitizması) diye bilinen kemik hastalıkları meydana gelir. Raşitizm kan kalsiyum ve fosfat düzeyinin azalması ve kemikleşmenin bozulmasıyla kendini gösterdiği; hastalığın ilk belirtisi kan, kemik ve kıkırdak dokuda *AF* (alkali fosfotaz) etkinliğinin artması olduğu vurgulanmıştır. Hastalık endokondral kavşakların kalınlaşması, uzun kemiklerin eğilmesi, eklemlerin sertleşmesi ve şişmesi şeklinde ortaya çıkar. Sık sık kırıklar oluşur. En çok buzağı, kuzu, oğlak, domuz yavrusu, köpek yavrusu ve kanatlılarda karşılaşılan bir hastalık olduğuna değinilmiştir (Mc Dowell, 1989b).

Koruyucu ve sağaltıcı olarak vitamin D uygulamalarından başarılı sonuçlar alabilmek için, her zaman fosfor ve kalsiyum ile destekleme yapılması gerektiği belirtilmiştir. Vitamin D'nin ayrıca, doğum felcinin önlenmesi için de kullanıldığı; bu amaçla doğumdan önce, 3-8 gün süreyle, ağızdan günde 20-30 milyon Ü (500-750 mg) vitamin D verilmesi ile bu hastalığın sıklığı önemli oranda azaltılabileceği belirtilmiştir (Kaya ve ark, 2002). Hipervitaminozis D, kalsitriolün Ca ve P metabolizması üzerinde doğrudan; vitamin A, vitamin E, vitamin K gibi diğer yağda çözünen vitaminlerin metabolizmasının engellemesinde dolaylı olarak etkili olduğu belirtilmiştir (Littledike ve Horst, 1982).

Doğrudan etkileri çoğunlukla depo alanlarından ve yumuşak dokulardaki distrofik mineralizasyondan aşırı miktarda Ca hareketinin yanı sıra aktif osteositin akut nekrozundan kaynaklandığı belirtilmektedir. Hiperkalemi de vazokonstriksiyon, (hipertansiyona ve iskemik doku hasarına yol açar) sık işeme, çok su içme, letarji, kusma, kalpte ritim bozukluğu, sinirsel rahatsızlıklar yapabilmektedir. Dolaylı etkileri olarak yağda çözünen vitaminlerin kan pıhtılaşmasında ve antioksidan fonksiyonlarına bağlı olarak diğer fonksiyonlardaki değişiklikleri içerdiği belirtilmiştir (Fettman, 2001).

1.2.3. Vitamin E

Vitamin E, biyolojik yönden etkin bir grup tokoferole (tokotrienol) verilen genel bir isimdir. Vitamin E etkinliği gösteren 8 doğal tokoferol izomeri vardır; bunlardan 2'si aslında tokotrienol bileşiğidir. Tokoferollerden en fazla bulunanı α -tokoferoldur; ayrıca hayvan dokularında tokoferollerin %90'ı gibi yüksek bir oranı bu tip tokoferollerden oluştuğu belirtilmiştir. Besinlerde ise yine bu oran %80-90'ı bulmaktadır; bu koenzim-Q4'ün 6-kromonol şekline çok benzemekte olup; son maddenin birçok sistemde benzer etkiler oluşturduğu ve tokoferollerin D ve L izomerleri halinde bulunduğu D şekillerinin de daha etkin olduğu belirtilmiştir (Kaya ve ark, 2002).

Vitaminin E (dl- α -tokoferol asetatın), antioksidan ve hücreleri koruyucu etkisi olduğu ayrıca α -tokoferol seviyesinin yeşil otlarda ve yoncada oldukça yüksek olduğu ancak konsantrasyonunun farklılıklar gösterdiği belirtilmiştir. Birçok faktörün otlaktaki tokoferol seviyesini etkilediği ve hayvanların vitamin ihtiyaçlarını karşılamalarında değişikliklere sebebiyet verdiği vurgulanmıştır (Blood ve Radostits, 1989).

Vitamin E katı veya sıvı halde bulunan yağda çözünen bir vitamin olup, dayanıklı değildir; ışık, hava, kızartma, kaynatma ve saklanma sırasında hızla parçalanabildiği bildirilmiştir. Sıvı formları suda çözünmez ama bitkisel yağ, alkol ve organik çözücülerde iyi çözünürler; α -tokoferol berrak, sarı ya da kiremit kırmızısı renkte, hemen hemen kokusuz, koyu kıvamlı bir madde olarak belirtilmiştir. Vitamin E ağırlık veya Ü ile değerlendirilir; 1 Ü vitamin E 1 mg d, 1- α -tokoferol asetata; d-şekilleri daha etkin olduğunda da d- α -tokoferol asetatın 1.36 Ü, d- α -tokoferolun 1.49 Ü ve d- α -tokoferol süksinatın 1.21 Ü'ü 1 mg'a eşit olarak tespit edilmiştir (Plumbs, 2005).

Vitamin E, organizmada üreme sisteminde ve tüm dokularda antioksidan olarak önemli bir etkiye sahiptir. Yağ oksidasyonunu engeller ve doymamış yağların okside olmadan uzun süre aktif kalmalarını sağlamaktadır. Ayrıca immün sistem

üzerinde olumlu etkisi olduğu belirtilmiştir. Vitamin E bütün vücut dokularına dağılır, dokularda birikir, yağ dokusunda depolanır, safra, idrar ve dışkıyla atılır. Dİ yolla verildikten sonra %70-80 kadarı bir hafta içinde safrayla atılır. İdrarla çıkarılan metabolitlerinin (tokoferoik asitin glukuronidleri) az da olsa etkinliği mevcut olduğu tespit edilmiştir. Plazmada $<0,5 \mu\text{g/ml}$, tokoferol noksanlığı olarak değerlendirilmektedir. Vitamin E zar lipidlerindeki doymamış yağ asitlerinin yükseltgenmesini engellerken, selenyum glutasyon ve glutasyon peroksidaz sistemiyle şekillenmiş olan peroksitlerin parçalanmasını hızlandırırken, vitamin E uygulaması meme hastalığı ve yavru zarlarının alıkonulma sıklığını da azalttığı belirtilmiştir. Sağaltım dozlarında vitamin E'nin vücutta bağışıklık sistemini (hücrel ve sıvısal) güçlendirdiği böylece, bakteriyel ve viral hastalıklara karşı direnci artırdığı bilgisi verilmiştir (Kaya ve ark, 2002).

Yağ asitlerinden serbest oksijen gruplarının ve peroksitlerin oluşumunu engellediği belirtilmiştir. Ayrıca, karbonhidrat, albumin ve mineral metabolizmasını düzenlediği, damar içindeki trombositlerin kümeleşmesini engelleyerek kanın pıhtılaşmasını engellediğine değinilmiştir. Kan dolaşımı ve kas fonksiyonu üzerine pozitif etkisine ilaveten, vitamin E özellikle cinsiyet organlarının gelişimi ve fonksiyonlarının sürdürülmesinden vitamin A ile birlikte sorumlu olduğu ve hatta eksikliğinde, iskelet kaslarında ve kalp kasında kas distrofisi gibi dejenerasyonlar meydana gelebileceği belirtilmiştir (Anon, 2010).

Selenyum ve vitamin E noksanlığında hayvanlarda karşılaşılan başlıca dejeneratif hastalıklar kuzu ve buzağılardaki beyaz kas hastalığı, domuz ve civcivlerdeki hepatit, piliçlerdeki eksudativ diathez ve kas distrofisi, etçiller ve omnivorlardaki sarı yağ hastalıkları olarak tespit edilmiştir (Mc Dowell, 1989c).

Vitamin E, vitamin A ve D'ye kıyasla neredeyse zehirsizdir. Üst güvenlik sınırları birçok tür için beslenme miktarlarının neredeyse 100 katı kadar daha üstünde kabul görmektedir (NRC, 1987). Buna rağmen, gerçekten yüksek dozlarda istenmeyen etkilerin tamamen yoksun değildir. Ancak aşırı dozda uygulanmasında ise fare, tavuk ve köpeklerde pıhtılaşma bozukluklarını tetiklediği veya Vitamin K

eksikliği olanlarda durumun şiddetlendiği tespit edilmiştir. (Fettman, 2001).

Piyasada değişik ambalaj formları halinde satışa sunulmakta olan vitamin spesiyalitelerinin ekonomik olması sebebiyle büyük ambalaj formları veteriner hekimler tarafından tercih edilmektedir. İlk kullanımı takiben aynı şişeden gerekli miktarlarda ilaç, farklı zamanlarda kullanılmaktadır. Belirli bir zaman sonra, ilaçların tavsiye edilen sürelerde ve saklama koşullarında muhafaza edilmemesi sebebiyle, etkinliklerinde değişimler şekillenebilmektedir. Ayrıca vitamin spesiyalitelerinin prospektüslerinde belirtilen saklama koşulu önerileri arasında farklılıklar görülmesi en uygun saklama koşulunun nerede ve nasıl olacağı hakkında bilgi karışıklığı yaşanmasına neden olmaktadır.

Bu çalışma kapsamında, veteriner hekimlerce yaygın şekilde kullanılan A, D3 ve E, vitaminlerini içeren benzer kombinasyonlara sahip ilaçların farklı saklama koşullarındaki etkin madde düzeylerinin değişimleri istatistiksel veriler ışığında değerlendirilerek, bu tür ilaçların prospektüslerinde bulunan saklama koşulu önerileri arasında en uygun olan saklama koşulu tespit edilerek birbirinden farklı bilgilerin ortadan kaldırılması hedeflendi.

2. GEREÇ ve YÖNTEM

Bu çalışma dâhilinde A, D, E vitaminlerinin etkin madde analizleri gerçekleştirildi. Açılmış spesiyalitelerdeki çalışmada; önceden belirli bir süre kapalı halde, karanlıkta ve aydınlıkta oda sıcaklığında ($+25^{\circ}\text{C}$ 'de) ayrıca $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında bekletilen, 3 ayrı firmadan alınmış ve her firmaya ait 3 farklı seri numarasına sahip veteriner spesiyaliteler 0'ıncı gün ile birlikte açılarak her bir ortam için 3 ayrı numuneden alınan örneklerin analizi gerçekleştirildi. Aynı ürünlerin analizleri oda sıcaklığında karanlıkta, aydınlıkta ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında bekletilerek 7. gün, 14. gün, 28. gün ve 56. günde tekrarlandı.

Kapalı spesiyalitelerdeki çalışmada ise, önceden belirli bir süre kapalı halde, karanlıkta ve aydınlıkta oda sıcaklığında ayrıca $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında bekletilen, 3 ayrı firmadan alınmış ve her firmaya ait 3 farklı seri numarasına sahip spesiyalitelerin ilk 3'er numuneleri 0. gün ile birlikte açılarak her bir ortam için analizi gerçekleştirildi. Kalan ürünler oda sıcaklığında karanlıkta, aydınlıkta ve $+4^{\circ}\text{C}$ 'de buzdolabında bekletilmeye devam edildi 7. günde, 14. gün, 28. gün ve 56. günde açılarak analizleri gerçekleştirildi. Elde edilen veriler ışığında hesaplamalar yapıldı. Hesaplamalar sonucunda elde edilen değerlerin 0. güne göre etkin madde miktarlarının değişimi ortamlar ve sıcaklıklar göz önünde bulundurularak istatistiksel olarak değerlendirildi.

Vitamin A, vitamin D₃ ve vitamin E analizleri güncel Amerikan Farmakopesi'nden (USP 32-NF 27, 2009) alınan metotlar ile tek bir metoda indirgenerek modifiye ve valide edilmiş tek bir yöntem ile YBSK'de ölçümleri gerçekleştirildi. İlaçlar doğrudan tek bir ilaç deposundan temin edildi. İlaçların son kullanma tarihi, seri numarası gibi tanımlayıcı bilgileri kaydedildi.

2.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

- a. Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi (YBSK) (Shimadzu LC 20 At, Japonya)

- b. Dörtlü gradient pompa
- c. Otomatik örnekleyici (SIL-20A ht)
- d. Otomatik gaz giderici (DGU-20As)
- e. UV dedektör veya değiştirilebilir dalga boylu Diode Array Detector (DAD) (SPD-20A)
- f. Kolon fırını (CTO-10AS vp)
- g. Thermo scientific ODS hypersil C18
(Seri no 10145776-Kolon özellikleri: 250 mm x4.6 mm x 5 µm)
- h. Hassas terazi (Sartorius Marka -seri no 12308773)
- i. Ultrasonik banyo (seri no 1471519)
- j. Otomatik pipet (Vitelap 1000µl seri no 11L09323)

2.2. Kromatografik Şartlar

Kolon	: Thermo Scientific
Tip	: ODS Hypersil
Partikül boyut	: 5 µm
Uzunluk	: 250 mm
Çap	: 4.6 mm
Kolon sıcaklığı	: 25 °C
Akış hızı	: 1.0 ml/dk
Dalga boyu	: 325 nm Vit A, 280 nm Vit E, 265 nm Vit D ₃
Enjeksiyon Hacmi	: 20.0 µL
Analiz süresi	: 15 dk
Mobil Faz	: Metanol

2.3. İlaç Müstahzarları

Bu çalışmada 3 ayrı firmadan, yakın üretim tarihli, 1 ml'de 500.000 IU vitamin A, 75.000 IÜ vitamin D₃, 50 mg vitamin E kombinasyonuna sahip ilacın, farklı numaralı serilerinde, A, D₃, E vitaminlerinin etkin madde analizleri gerçekleştirildi.

2.4. Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Metanol (Merck Lot No I748007 433), saf su (Lot No Z0331233 431 Merck), Vitamin A (0.15 g %99,0 Lot No 20607), Vitamin E (%98,5- 0,5 g Lot No 20502),

Vitamin D₃ (Lot No 30909 0.15 g, %100,0)

2.5. Laboratuvar Malzemeleri

Balon joje (50 ml- 100 ml), beher (100 ml), 20 ml'lik enjektör, mavi uçlu pipet ucu. Rutin laboratuvar araç ve gereçleri ile cam malzemeler.

2.6. Standart Çözeltisi Hazırlığı

40 mg Vitamin A, 20 mg Vitamin E ve 10 mg Vitamin D₃ çalışma standardı 100 ml'lik balon jojeye tartılır ve metanol ile çözülerek hacmine tamamlanır.

2.6.1. Numune Hazırlığı

0,1 ml bitmiş ürün numunesi 50 ml'lik balon joje içerisine tartılır ve metanol ile hacmine tamamlanır.

Plasebo Çözeltisi Hazırlığı

250 mg Benzil Alkol, 125 mg Butil Hidroksi Toluen (BHT) ve 17.175 g ayçiçek yağı bir behere tartılır ve homojen olacak şekilde karıştırılır.

Plasebo Numunesi Hazırlığı

0.1 ml Vitamin kombinasyonu plasebo numunesi 50 ml'lik balon joje içerisine tartılır ve metanol ile hacmine tamamlanır.

2.7. Yöntem

- Standart çözelti 1, 6 kez enjekte edilir. Ardışık 6 enjeksiyonun RSD $\leq$ % 2,0 olmalıdır.
- Standart çözelti 2, 2 kez enjekte edilir. Benzerlik faktörü 0,99- 1,01 olmalıdır.
- Kuyruklanma Faktörü 0,8-2,0 arasında olmalıdır.
- İki paralel numune çözeltisi hazırlanır, her bir numune çözeltisinden 2'şer enjeksiyon yapılır.
- Teorik plaka sayısı $\geq$ 1500 olmalıdır.

$$\text{Benzerlik Faktörü} = \frac{A_{st2}}{A_{st1}} \times \frac{W_{st1}}{W_{st2}}$$

Ast1 : Standart çözelti 1 kromatogramındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması

Ast2 : Standart çözelti B kromatogramındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması

W₁ : Standart çözelti 1'deki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ ağırlığı

W₂ : Standart çözelti 2'deki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ ağırlığı

Miktar Tayini için Hesaplama

$$\text{Vitamin A (IU/ml)} = \frac{At \times Wst/100 \times P}{Ast \times Wt /50 \times 100}$$

$$\text{Vitamin E (mg/ml)} = \frac{At \times Wst/100 \times P}{Ast \times Wt /50 \times 100}$$

$$\text{Vitamin D}_3 \text{ (IU/ml)} = \frac{At \times Wst/100 \times P}{Ast \times Wt /50 \times 100}$$

At : Numune çözeltisi kromatogramlarındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması

Ast : Standart çözeltisi kromatogramlarındaki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pik alanlarının ortalaması

Wt : Numune tartımı

Wst : Standart tartımı

P : Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ standartın etki gücü

Sonuçların Değerlendirilmesi

Miktar tayini sonuçları Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ için (mg/enjektör) cinsinden hesaplandı ve noktadan sonra tek basamak olarak değerlendirildi.

2.8. Valide Edilen Analitik Metot

Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃'ün miktar tayininde ICH Topic Q2 (R1) "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology"ye göre valide edilen analitik yöntem kullanıldı.

2.8.1. Analitik Metot Tanımı ve Prensibi

Vitamin kombinasyonunun içerisinde bulunan Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ miktar tayininde Amerikan Farmakopesinde bildirilen ilkeler doğrultusunda analizlerin gerçekleştirilmesinde kullanılan YBSK analitik metodu, geliştirilerek serbest bırakma ve stabilite testlerinde kullanıldı.

2.8.2. Metot Detayları ve Validasyonda Kullanılan Materyaller

Reaktifler

Metanol

Kaynak: Merck

Standartlar

Vitamin A Propiyonat

Molekül Ağırlığı: 342,5 g/mol

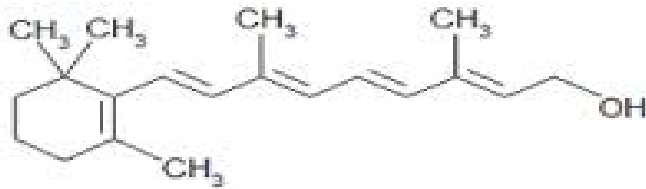
Fiziksel Özelliği : Sarı viskoz yağ, soğutulduğunda kısmen kristal toz

Kaynak : BASF

Etki gücü : 2.68

Kapalı Formülü : C₂₃H₃₄O₂

Açık Formülü :



Vitamin E Asetat

Molekül Ağırlığı : 472.743 g/mol

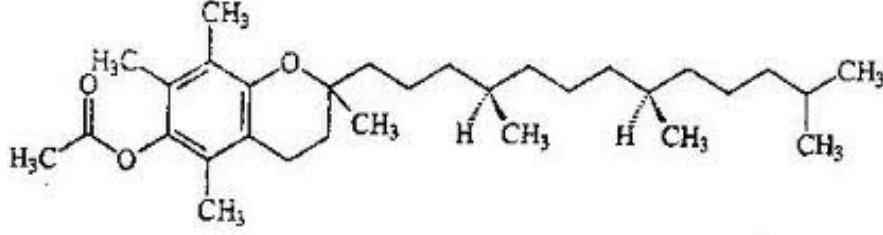
Fiziksel Özelliği : Açık sarı viskoz yağ

Kaynak : BASF

Etki Gücü : 96.8

Kapalı Formülü : $C_{31}H_{52}O_3$

Açık Formülü :



Vitamin D₃ Kolekalsiferol

Molekül Ağırlığı : 384.64 g/mol

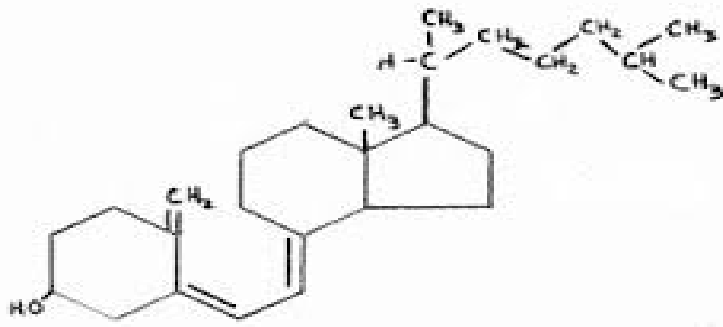
Fiziksel Özelliği : Beyaz ya da kısmen beyazımsı kristal

Kaynak : Siemsgluss Iberica S.A

Etki Gücü : 99.5

Kapalı Formülü : $C_{27}H_{44}O$

Açık Formülü :



2.8.2.1. Doğruluk Numunesinde Kullanılan Standartlar

Reaktifler

Metanol

Kaynak: Merck

Standartlar

Vitamin A Propiyonat

Molekül Ağırlığı: 342.5 g/mol

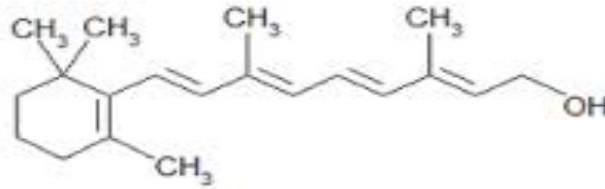
Fiziksel Özelliği : Sarı viskoz yağ, soğutulduğunda kısmen kristal toz

Kaynak : BASF

Etki Gücü : 2.68

Kapalı Formülü : $C_{23}H_{34}O_2$

Açık Formülü :



Vitamin E Asetat

Molekül Ağırlığı : 472.743 g/mol

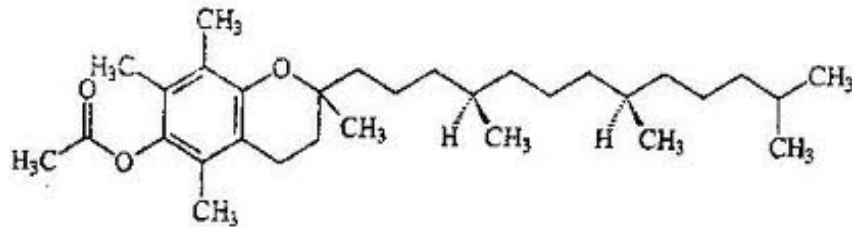
Fiziksel Özelliği : Açık sarı viskoz yağ

Kaynak : BASF

Etki Gücü : 96.8

Kapalı Formülü : $C_{31}H_{52}O_3$

Açık Formülü :



Vitamin D3 Kolekalsiferol

Molekül Ağırlığı : 384.64 g/mol

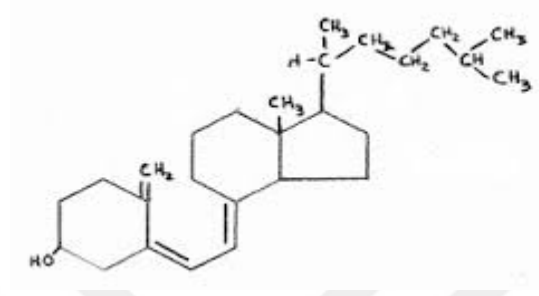
Fiziksel Özelliği : Beyaz yada kısmen beyazımsı kristal

Kaynak : Siemsgluss Iberica S.A

Etki Gücü : 99.5

Kapalı Formülü : $C_{27}H_{44}O$

Açık Formülü :



Butil Hidroksi Toluen (BHT)

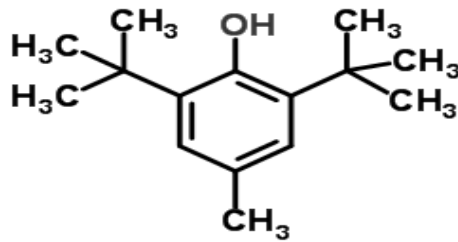
Molekül Ağırlığı : 220.350 g/mol

Fiziksel Özelliği : Beyaz kristal toz

Kaynak : LANEESS

Kapalı Formülü : $C_{15}H_{24}O$

Açık Formülü :



Benzil Alkol

Molekül Ağırlığı : 108.13 g/mol

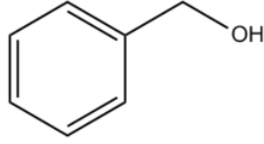
Fiziksel Özelliği : Renksiz sıvı

Kaynak : Siemsgluss Iberica S.A

Etki Gücü : 99.98

Kapalı Formülü : C_7H_8O

Açık Formülü :



Ekipman

YBSK : YBSK-02

Dedektör : LC-10 AT/PDA

Terazi

Marka-Model : Sartorius/ BL 210 S

Ultrasonik Banyo: DM-04

2.8.2.2. Laboratuvar İçi Kesinlik (Ara Kesinlik) İçin Kullanılan Ekipman

YBSK : YBSK-05

Seri No : L20225116387

2.9. Validasyon İşlemi

Spesifiklik

Kabul Kriterleri

- Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ pikinin alıkonma zamanında plasebodan ve çözücünden pik gelmemelidir.
- Standart çözelti 1, 6 kez enjekte edilir. Ardışık 6 enjeksiyonun RSD (%) ≤ %2,0 olmalıdır.
- Teorik Plaka Sayısı ≥1500 olmalıdır.
- Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ piki spektral olarak saf olmalıdır (saflık açısı değeri saflık eşiği değerinden küçük olmalıdır).

İşlem

- 3 kör enjekte edildi.
- 2 plasebo enjekte edildi.
- 6 standart enjekte edildi ve RSD (%) hesaplandı.
- 2 test çözeltisi enjekte edildi.

Sonuçlar

Çizelge 2.1. Spesifiklik Parametresine Ait Sistem Uygunluk Sonuçları.

Standart Enjeksiyon Sayısı	Vitamin A Pik Alanı/(mAU x s)	Vitamin E Pik Alanı/ (mAU x s)	Vitamin D ₃ Pik Alanı/ (mAU x s)
1	43706329	1380777	5772091
2	44374787	1408581	5964107
3	45433938	1394952	6006121
4	44237092	1418802	6049483
5	44342827	1396888	6069098
6	45399184	1436098	5910033
Ortalama	44582360	1406016	5961822
TF	1.40	1.22	1.30
TPS	3595	8686	7521
RSD (%)	1.55	1.39	1.84

Çizelge 2.2. Spesifiklik Parametresine Ait Sonuçlar.

Vitamin A	Saflık Açısı	Saflık Eşiği
Test-1	0.07368	0.99973
Test-2	0.03977	0.99987
Vitamin E	Saflık Açısı	Saflık Eşiği
Test-1	0.0092	0.98106
Test-2	0.04158	0.99276
Vitamin D ₃	Saflık Açısı	Saflık Eşiği
Test-1	0.02307	0.65353
Test-2	0.02302	0.65325

Sonuçların Değerlendirilmesi

Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ alıkonma zamanında çözücünde ve plaseboda herhangi bir pik tespit edilmedi. Analitik yöntemin numunede incelenecek olan miktar tayinini analiz edebilecek kadar spesifik olduğu tespit edildi. Pikler spektral olarak saf bulundu. Sonuçlar kabul kriterlerine uygun bulundu.

Doğrusallık

Kabul kriterleri

Korelasyon kat sayısı (R^2) 0.995'dan az olmamalıdır.

% hata ve eğim raporlandı.

İşlem

Standart Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ Test çözelti konsantrasyonunun %80, %90, %100, %110, %120'sine karşılık gelen Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ standart çözeltileri hazırlandı. Her bir standart çözeltiden üçer enjeksiyon ve %80 ile %120'lik standart çözeltilerinden altı enjeksiyon yapıldı.

Doğrusallık Çözeltilerinin Hazırlanması:

Seviye 1 (%80): 32 mg Vitamin A, 16 mg Vitamin E ve 8 mg Vitamin D₃ çalışma standardı 100 ml'lik balon jofeye tartıldı ve metanol ile çözülerek hacmine tamamlandı.

Seviye 2 (%90): 36 mg Vitamin A, 18 mg Vitamin E ve 9 mg Vitamin D₃ çalışma standardı 100 ml'lik balon jofeye tartıldı ve metanol ile çözülerek hacmine tamamlandı.

Seviye 3 (%100): 40 mg Vitamin A, 20 mg Vitamin E ve 10 mg Vitamin D₃ çalışma standardı 100 ml'lik balon jofeye tartıldı ve metanol ile çözülerek hacmine tamamlandı.

Seviye 4 (%110): 44 mg Vitamin A, 22 mg Vitamin E ve 11 mg Vitamin D₃ çalışma standardı 100 ml'lik balon jofeye tartıldı ve metanol ile çözülerek hacmine tamamlandı.

Seviye 5 (%120): 48 mg Vitamin A, 24 mg Vitamin E ve 12 mg Vitamin D₃ çalışma standardı 100 ml'lik balon jofeye tartıldı ve metanol ile çözülerek hacmine tamamlandı.

Sonuçlar

Çizelge 2.3. Vitamin A İçin Doğrusallık Çalışma Sonuçları.

Seviye %	Standart Konsantrasyonu (IU/ml)	Alan AU (mAU x s)	Ortalama Alan	RSD (%)
80	0,32	37067291	37571010	1,30
		37013004		
		38139684		
		37874383		
		37347857		
		37983838		
90	0,36	39515450	39299041	0,56
		39074931		
		39306742		
100	0,40	41220981	41551751	0,82
		41535157		
		41899116		
110	0,44	42479917	43483308	1,87
		43250149		
		44719859		
120	0,48	45331183	45374449	1,14
		46061707		
		45916302		
		44736334		
		45073324		
		45127842		

Çizelge 2.4. Vitamin E İçin Doğrusallık Çalışma Sonuçları.

Seviye %	Standart Konsantrasyonu (mg/ml)	Alan AU (mAU x s)	Ortalama Alan	RSD (%)
80	0,13	884095	886511	0,46
		892727		
		889147		
		885237		
		886922		
		880938		
90	0,17	1008156	1008545	0,69
		1001812		
		1015667		
100	0,197	1088889	1093573	0,55
		1100289		
		1091541		
110	0,235	1196955	1201717	1,53
		1186202		
		1221993		

120	0,26	1289184	1305530	1,14
		1291463		
		1325334		
		1308163		
		1299274		
		1319762		

Çizelge 2.5. Vitamin D₃ İçin Doğrusallık Çalışma Sonuçları.

Seviye %	Standart Konsantrasyonu (mg/ml)	Alan AU (mAU x s)	Ortalama Alan	RSD (%)
80	0,08	4168413	4176005	0,51
		4144110		
		4173471		
		4187166		
		4174196		
		4208665		
90	0,09	4615255	4599526	0,34
		4598902		
		4584422		
100	0,1	5051168	5084471	0,60
		5110385		
		5091859		
110	0,11	5600659	5628928	0,91
		5598024		
		5688100		
120	0,12	6020218	6178846	1,73
		6100236		
		6283649		
		6239540		
		6280476		
		6148954		

Çizelge 2.6. Vitamin A İçin Doğrusallık % Hata Çalışma Sonuçları.

Konsantrasyon (mg/enjektör)	Ortalama Alanlar (mAU x s)	Elde Edilen Alanlar (mAU x s)	Fark	% hata
0,32	37571006	-0,1071084	37571006,11	-35077553308
0,36	39299041	0,1053968	39299040,89	37286749593
0,4	41551751	0,317902	41551750,68	13070616316
0,44	43483309	0,5304072	43483308,47	-99,99999878
0,48	45374449	0,7429124	45374448,26	99,99999836

Çizelge 2.7. Vitamin E İçin Doğrusallık % Hata Çalışma Sonuçları.

Konsantrasyon (mg/enjektör)	Ortalama Alanlar (mAU x s)	Elde Edilen Alanlar (mAU x s)	Fark	% hata
0,13	886511	-1,1165081	886512,1165	-79400419,62
0,17	1008545	-0,9040029	1008545,904	-111564454,5
0,197	1093573	-0,76056189	1093573,761	-143784979,9
0,235	1201717	-0,55868195	1201717,559	-100,0000465
0,26	1305530	-0,4258662	1305530,426	100,0000326

Tablo 2.8. Vitamin D₃ İçin Doğrusallık % Hata Çalışma Sonuçları.

Konsantrasyon (mg/ enjektör)	Ortalama Alanlar (mAU x s)	Elde Edilen Alanlar (mAU x s)	Fark	% hata
0,08	4176004	-1,3821396	4176005,382	-302140636,3
0,09	4599526	-1,3290133	4599527,329	-346085876,6
0,1	5084471	-1,275887	5084472,276	-398504904,9
0,11	5628928	-1,2227607	5628929,223	-100,0000217
0,12	6178846	-1,1696344	6178847,17	100,0000189

Sonuçların Değerlendirilmesi

Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ dedektör yanıtı arasında lineer bir ilişki tespit edildi. Elde edilen sonuçlar kabul kriterlerine uygun bulundu.

Çalışma Aralığı

Kabul kriterleri

En düşük ve en yüksek seviyede alanların relatif standart sapması %2,0'den fazla olmamalıdır

İşlem

Doğrusallık çalışmasında hazırlanan en düşük ve en yüksek derişimdeki standart çözeltiler kullanıldı

Sonuçlar

Çizelge 2.9. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin A Miktarı İçin Çalışma Aralığı Sonuçları.

Sıra No	En Düşük Derişimde alanlar (%80)	En Yüksek Derişimde alanlar (%120)
1	37067291	45331183
2	37013004	46061707
3	38139684	45916302
4	37874383	44736334
5	37347857	45073324
6	37983838	45127842
Ortalama	37571010	45374449
RSD (%)	1,30	1,14

Çizelge 2.10. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin E Miktarı İçin Çalışma Aralığı Sonuçları.

Sıra No	En Düşük Derişimde alanlar (%80)	En Yüksek Derişimde alanlar (%120)
1	884095	1289184
2	892727	1291463
3	889147	1325334
4	885237	1308163
5	886922	1299274
6	880938	1319762
Ortalama	886511	1305530
RSD (%)	0,46	1,14

Çizelge 2.11. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin D₃ Miktarı İçin Çalışma Aralığı Sonuçları.

Sıra No	En Düşük Derişimde alanlar (%80)	En Yüksek Derişimde alanlar (%120)
1	4168413	6020218
2	4144110	6100236
3	4173471	6283649
4	4187166	6239540
5	4174196	6280476
6	4208665	6148954
Ortalama	4176005	6178846
RSD (%)	0,51	1,73

Sonuçların Değerlendirilmesi

Doğrusallık çalışmalarından elde edilen veriler doğrultusunda Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ miktar tayini için test yoğunluğunun %80'ni ile %120'si aralığı, çalışma aralığı olarak uygun bulundu.

Doğruluk

Kabul Kriterleri

Her bir geri kazanım %98,0- %102,0 arasında olmalıdır.

Geri Kazanım (%) = Deneysel Konsantrasyon/Teorik Konsantrasyon x 100

İşlem

Analitik yöntemin doğruluğunu sınamak için Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ test yoğunluğunun %80, %100, %120'si olmak üzere 3 yoğunlukta numune hazırlandı. Tüm seviyeler için 3'er numune hazırlandı. Her numuneden 2'şer enjeksiyon yapıldı.

Doğruluk Çözeltilerinin Hazırlanması

Doğruluk Çözeltisi Hazırlığı

4.750 g Vitamin A, 1.250 g Vitamin E, 50 mg Vitamin D₃, 250 mg benzil alkol, 125 mg BHT ve 17.175 g ayçiçek yağı 25 ml'lik balon joje tartıldı ve homojen olacak şekilde karıştırıldı.

Standart Çözeltisi Hazırlığı: 40 mg Vitamin A, 20 mg Vitamin E ve 10 mg Vitamin D₃ çalışma standardı 100 ml'lik balon jojeye tartıldı ve metanol ile çözülerek hacmine tamamlandı.

%80 Konsantrasyonda Doğruluk Numunesi: 0.08 ml Vitamin kombinasyonu bitmiş ürün numunesi 50 ml'lik balon joje içerisine tartıldı ve metanol ile hacmine tamamlandı.

%100 Konsantrasyonda Doğruluk Numunesi: 0,1 ml Vitamin kombinasyonu bitmiş ürün numunesi 50 ml'lik balon joje içerisine tartıldı ve metanol ile hacmine tamamlandı.

%120 Konsantrasyonda Doğruluk Numunesi

0.12 ml Vitamin kombinasyonu bitmiş ürün numunesi 50 ml'lik balon joje içerisine tartıldı ve metanol ile hacmine tamamlandı.

Sonuçlar

Çizelge 2.12. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin A İçin Doğruluk Çalışması Verileri.

Seviye %	Teorik Konsantrasyon (IU/ml)	Deneysel Konsantrasyon (IU/ml)	Geri Kazanım (%)
80	404850,5	404739,9	100,0
	403952,4	405017,8	100,3
	402984,5	404791,8	100,4
100	505545,2	506366,2	100,2
	503568,5	504369,7	100,2
	501236,5	502326,9	100,2
120	603578,2	604640,5	100,2
	601457,5	601317,4	100,0
	602536,4	602664,3	100,0
Ortalama	UY/NA	UY/NA	100,2
SD	UY/NA	UY/NA	0,13
RSD (%)	UY/NA	UY/NA	0,13

Çizelge 2.13. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin E İçin Doğruluk Çalışması Verileri.

Seviye %	Teorik Konsantrasyon (IU/ml)	Deneysel Konsantrasyon (IU/ml)	Geri Kazanım (%)
80	39,5	39,4	99,7
	40,2	40,1	99,8
	40,0	39,7	99,3
100	49,6	50,0	100,8
	49,9	49,6	99,4
	49,5	49,3	99,6
120	60,2	60,6	100,7
	60,4	60,2	99,7
	60,4	60,1	99,5
Ortalama	UY/NA	UY/NA	99,8
SD	UY/NA	UY/NA	0,55
RSD (%)	UY/NA	UY/NA	0,54

Çizelge 2.14. Vitamin Kombinasyonu İçerisindeki Vitamin D₃ İçin Doğruluk Çalışması Verileri.

Seviye %	Teorik Konsantrasyon (IU/ml)	Deneyisel Konsantrasyon (IU/ml)	Geri Kazanım (%)
80	59900,5	59852,2	99,9
	60010,4	59636,8	99,4
	59658,5	59358,0	99,5
100	75002,5	75232,9	99,7
	75110,0	75045,6	99,9
	75985,4	76393,6	100,5
120	90053,2	89695,7	99,6
	89905,4	89383,4	99,4
	89785,3	89532,7	99,7
Ortalama	UY/NA	UY/NA	99,8
SD	UY/NA	UY/NA	0,39
RSD (%)	UY/NA	UY/NA	0,39

Sonuçların Değerlendirilmesi

Elde edilen sonuçlar kabul kriterlerine uygun bulundu.

Kesinlik

Sistem Kesinliği Kabul kriterleri

- Sistem uygunluk şartları sağlanmalıdır.

İşlem

- Standart çözeltisi 6 kez enjekte edildi.

Sonuçlar

Çizelge 2.15. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ Sistem Kesinliği Sonuçları.

Standart Enjeksiyon Sayısı	Vitamin A Pik Alanı (mAU x s)	Vitamin E Pik Alanı (mAU x s)	Vitamin D ₃ Pik Alanı (mAU x s)
1	43706329	1380777	5772091
2	44374787	1408581	5964107
3	45433938	1394952	6006121
4	44237092	1418802	6049483
5	44342827	1396888	6069098
6	45399184	1436098	5910033
Ortalama	44582360	1406016	5961822
TF	1.40	1.22	1.30
TPS	3595	8686	7521
RSD (%)	1.55	1.39	1.84

Sonuçların Değerlendirilmesi

Sistem uygunluk parametreleri kabul kriteri içinde bulundu.

Tekrarlanabilirlik

Kabul Kriterleri

- Sistem uygunluk şartları sağlanmalıdır.

İşlem

- Standart çözeltisi 6 kez enjekte edildi.
- 6 ayrı numune hazırlandı. Her bir test çözeltisinden 2 enjeksiyon yapıldı.

Sonuçlar

Çizelge 2.16. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ Tekrarlanabilirlik Sonuçları

Enjeksiyon Sayısı	Vitamin A Miktar (IU/ml)	Vitamin E Miktar (mg/ml)	Vitamin D ₃ Miktar (IU/ml)
1	502815,9	49,3	74930,4
2	506305,3	49,5	75253,9
3	502336,9	49,8	75852,6
4	503161,1	49,6	75396,7
5	500280,3	50,5	73933,8
6	503993,9	50,1	74366,2
Ortalama	503148,9	49,8	74955,6
RSD (%)	0,39	0,88	0,94
SD	1983,7	0,438	704,3
TPS	3752	8180	7133
TF	1.38	1.15	1.27
Güven Aralığı	501561.6-504736.2	49.5-50.2	74392.0-75519.2

Sonuçların Değerlendirilmesi

Elde edilen sonuçlar kabul kriterlerine uygun bulundu.

Laboratuvar İçi Kesinlik

Kabul Kriterleri

- Ortalamalar arasındaki fark %2,0'den fazla olmamalıdır.
- %95 Güven aralığı hesaplanır.
- Sistem uygunluk şartları sağlanmalıdır.

İşlem

- Standart çözeltisi 6 kez enjekte edilir.
- Laboratuvar içi değişimlerin miktar tayini analizleri üzerine olan etkisini görmek amacıyla, farklı günde farklı cihaz ve farklı kolon kullanılarak farklı bir analist tarafından, vitamin kombinasyonu ürününden, bağımsız olarak 6 farklı test çözeltisi hazırlandı ve metot kesinliği bölümündeki işlem uygulandı.

Sonuçlar

Çizelge 2.17. Vitamin A İçin Laboratuvar İçi Kesinlik Sonuçları

Numune Sayısı	Vitamin A	
	Analiz 1	Analiz 2
	Miktar (IU/ml)	Miktar (IU/ml)
1	502815,9	508376,3
2	506305,3	507070,3
3	502336,9	507338,2
4	503161,1	508565,9
5	500280,3	509111,2
6	503993,9	504765,2
Ortalama	503148,9	507537,9
RSD (%)	0,39	0,308
SD	1983,7	1560,9
TPS	3752	4236
TF	1.38	1.44
Güven Aralığı /CI	501561.6-504736,2	506289.0-508786,8
Fark	0.9	

Sonuçlar

Çizelge 2.18. Vitamin E İçin Laboratuvar İçi Kesinlik Sonuçları

Numune Sayısı	Vitamin E	
	Analiz 1	Analiz 2
	Miktar (mg/ml)	Miktar(mg/ml)
1	49,3	50,3
2	49,5	50,5
3	49,8	49,8
4	49,6	50,6
5	50,5	50,1
6	50,1	50,2
Ortalama	49,8	50,3
RSD (%)	0,88	0,573
SD	0,438	0,288
TPS	8180	8464
TF	1.15	0.11
Güven Aralığı /CI	49.5-50.2	50.1-50.5
Fark	1.0	

Sonuçlar

Çizelge 2.19. Vitamin D₃ İçin Laboratuvar İçi Kesinlik Sonuçları.

Numune Sayısı	Vitamin D ₃	
	Analiz 1	Analiz 2
	Miktar (IU/ml)	Miktar (IU/ml)
1	74930,4	74503,9
2	75253,9	74571,1
3	75852,6	74990,6
4	75396,7	75865,0
5	73933,8	73751,7
6	74366,2	75384,7
Ortalama	74955,6	74844,5
RSD (%)	0,94	0,989
SD	704,3	740,209
TPS	7133	7449
TF	1.27	1.31
Güven Aralığı /CI	74392.0-75519.2	74252.2-75436.8
Fark	0.2	

Sonuçların Değerlendirilmesi

Elde edilen sonuçlar kabul kriterlerine uygun bulundu.

Hesaplama Limiti (LOQ) ve Tespit Limiti (LOD) Tespiti

İşlem

- Numune 6 kez injekte edilir.

Hesaplama Limiti (LOQ Kesinlik) ve Tespit Limiti (LOD)

- Sistem uygunluk parametreleri uygun olmalıdır
- LOQ çözeltisi 6 kez injekte edilmelidir
- LOD çözeltisi 6 kez injekte edilmelidir.

Sonuçlar

Çizelge 2.20. Tespit Limiti (LOD) sonuçları.

Numune Sayısı	Alanlar (mAU x s)
1	4749
2	67349
3	74873
4	414091
5	1058668
6	4839110

Çizelge 2.21. Hesaplama Limiti (LOQ) sonuçları.

Numune Sayısı	Alanlar (mAU x s)
1	945905
2	4073915
3	8302708
4	12905388
5	22792706
6	55475314

$$LOD=3.3 \times \sigma/S$$

$$3.3 \times 0/20829=0$$

$$LOQ=10 \times \sigma/S$$

$$10 \times 0/20829=0$$

Sağlamlık

Kabul Kriterleri

- Sistem uygunluk şartları sağlanmalıdır.

İşlem

- Standart çözeltisi 6 kez enjekte edildi.

• YBSK Metotta tanımlandığı gibi standart çözeltisi hazırlandı. Standart çözeltisi 6 defa enjekte edilir. Sağlamlık için aşağıdaki metot değişiklikleri incelendi.

1) Mobil faz akış hızı değişiminin etkisi: Mobil fazın azalan akış hızı 0,9 ve artan akış hızı 1.1 ml /dk.'ya ayarlandı.

2) Kolon sıcaklığı değişiminin etkisi: Kolon fırınının sıcaklığı 35°C ve 15°C'ye ayarlandı.

Sonuçlar

Çizelge 2.22. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ Mobil Faz Akış Hızının Değişimine Ait Sonuçlar.

<u>Vitamin A</u> akış hızı ml /dk	RSD (%)	Tf	TPS
Azalan akış hızı	0.82	1.44	3784
1.0 Akış	0.39	1.38	372
Artan akış hızı	1.53	1.29	3541
<u>Vitamin E</u> akış hızı ml /dk	RSD (%)	Tf	TPS
Azalan akış hızı	1.58	1.23	9013
1.0 Akış	0.88	1.15	8180
Artan akış hızı	1.89	1.14	8109
<u>Vitamin D₃</u> akış hızı ml /dk	RSD (%)	Tf	TPS
Azalan akış hızı	1.36	1.32	7700
1.0 Akış	0.94	1.27	7133
Artan akış hızı	1.65	1.23	7023

Çizelge 2.23. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ Artan Akış Hızı Miktar Tayini Sonuçları.

Vitamin A	
Numune Sayısı	Artan Akış Hızı/(IU/ml)
Ortalama Num-1	499050.3
Ortalama Num-2	499242.1
Ortalama	499146.2
Numune Sayısı	Akış Hızı 1,0 ml/dk/Miktar (IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	503148.9
Fark (%)	0.8
Vitamin E	
Numune Sayısı	Artan Akış Hızı/ Miktar / (mg/ml)
Ortalama Num-1	50.7
Ortalama Num-2	49.5
Ortalama	50.1
Numune Sayısı	Akış Hızı/ 1,0 ml/dk/Miktar /(mg/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	49.8
Fark (%)	0.6
Vitamin D₃	
Numune Sayısı	Artan Akış Hızı/ Miktar / (mg/ml)
Ortalama Num-1	74080.1
Ortalama Num-2	75448.7
Ortalama	74764.4
Numune Sayısı	Akış Hızı/ 1,0 ml/dk/Miktar/(IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	74955.6
Fark (%)	0.3

Çizelge 2.24. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ Azalan Akış Hızı Miktar Tayini Sonuçları.

Vitamin A	
Numune Sayısı	Azalan Akış Hızı /Miktar /(IU/ml)
Ortalama Num-1	495886.9
Ortalama Num-2	493972.5
Ortalama	494929.7
Numune Sayısı	Akış Hızı/ 1,0 ml/dk Miktar/(IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	503148.9
Fark (%)	1.6

Vitamin E	
Numune Sayısı	Azalan Akış Hızı/Miktar/(mg/ml)
Ortalama Num-1	50.2
Ortalama Num-2	50.3
Ortalama	50.3
Numune Sayısı	Akış Hızı/ 1,0 ml/dk/Miktar /(mg/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	49.8
Fark (%)	1.0
Vitamin D₃	
Numune Sayısı	Azalan Akış Hızı Miktar / (IU/ml)
Ortalama Num-1	75371.2
Ortalama Num-2	75832.7
Ortalama	75601.9
Numune Sayısı	Akış Hızı/ 1,0 ml/dk/Miktar (IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	74955.6
Fark (%)	0.9

Çizelge 2.25. Kolon Sıcaklığının Değişimine Ait Sonuçlar.

Vitamin A Kolon Sıcaklığı (°C)	RSD (%)	TF	TPS
15 °C	0.81	1.41	3643
Azalan kolon sıcaklığı	0.39	1.38	372
35°C	1.78	1.34	3570
Vitamin E Kolon Sıcaklığı (°C)	RSD (%)	TF	TPS
15 °C	1.67	1.17	8611
Azalan kolon sıcaklığı	0.88	1.15	8180
35°C	1.84	1.19	8391
Vitamin D3 Kolon Sıcaklığı (°C)	RSD (%)	TF	TPS
15 °C	1.59	1.26	7473
Azalan kolon sıcaklığı	0.94	1.27	7133
35°C	1.02	1..28	7235

Çizelge 2.26. Azalan Kolon Sıcaklığı Miktar Tayini Sonuçları.

Vitamin A	
Numune Sayısı	Azalan Kolon Sıcaklığı / 25°C Miktar /(IU/ml)
Ortalama Num-1	496740.2
Ortalama Num-2	497940.9
Ortalama	497340.6
Numune Sayısı	Kolon Sıcaklığı / 25°C Miktar /(IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	503148.9
Fark (%)	1.2
Vitamin E	
Numune Sayısı	Azalan Kolon Sıcaklığı / 15°C Miktar / (mg/ml)
Ortalama Num-1	50.0
Ortalama Num-2	49.3
Ortalama	49.7
Numune Sayısı	Kolon Sıcaklığı / 25°C Miktar /(mg/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	49.8
Fark (%)	0.20
Vitamin D₃	
Numune Sayısı	Azalan Kolon Sıcaklığı / 15°C Miktar / (IU/ml)
Ortalama Num-1	74553.6
Ortalama Num-2	76101.1
Ortalama	75327.4
Numune Sayısı	Kolon Sıcaklığı / 25°C Miktar /(IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	74955.6
Fark (%)	0.5

Çizelge 2.27. Artan Kolon Sıcaklığı Miktar Tayini Sonuçları.

Vitamin A	
Numune Sayısı	Artan Kolon Sıcaklığı / 35°C Miktar /(IU/ml)
Ortalama Num-1	500134.3
Ortalama Num-2	503985.5
Ortalama	502059.9
Numune Sayısı	Kolon Sıcaklığı / 25°C Miktar / (IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	503148.9
Fark (%)	0.2
Vitamin E	
Numune Sayısı	Artan Kolon Sıcaklığı / 30°C Miktar / (mg/ml)
Ortalama Num-1	49.8
Ortalama Num-2	50.7
Ortalama	50.3
Numune Sayısı	Kolon Sıcaklığı / 25°C Miktar /(mg/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	49.8
Fark (%)	1.0
Vitamin D₃	
Numune Sayısı	Artan Kolon Sıcaklığı / 30°C Miktar / (IU/ml)
Ortalama Num-1	75278.0
Ortalama Num-2	73697.5
Ortalama	74487.8
Numune Sayısı	Kolon Sıcaklığı / 25°C Miktar / (IU/ml)
Tekrarlanabilirlik Numune Sonucu	74955.6
Fark (%)	0.6

Sonuçların Değerlendirilmesi

Tüm sağlık çalışmaları elde edilen sonuçlar Vitamin kombinasyonu içerisindeki Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ miktar tayininin yöntem parametrelerindeki küçük değişimlerden etkilenmediğini gösterdi.

Çözelti Stabilitesi

Kabul Kriterleri

- Sistem uygunluk şartları sağlanmalıdır.

İşlem

- Metotta tanımlandığı gibi standart ve numune çözeltileri hazırlandı. Farklı zaman dilimlerinde 2 numune çözeltisi 24 saat boyunca taze olarak hazırlanan standarda karşı analiz edildi. Her numuneden 2'şer enjeksiyon yapıldı.

Sonuçlar

Çizelge 2.28. Vitamin A, Vitamin E ve Vitamin D₃ çözelti stabilitesi çalışmasında sistem uygunluk sonuçları.

Vitamin A Zaman	RSD (%)	TF	TPS
Başlangıç	1.43	1.33	3645
24. Saat	0.55	1.38	3896
Vitamin E Zaman	RSD (%)	TF	TPS
Başlangıç	0.41	1.18	8448
24. Saat	0.73	1.18	8478
Vitamin D ₃ Zaman	RSD (%)	TF	TPS
Başlangıç	1.07	1.27	7303
24. Saat	1.73	1.29	7297

Çizelge 29: Çözelti stabilitesi çalışmasında miktar sonuçları.

Zaman	Vitamin A	Vitamin E	Vitamin D3
	Miktar (IU/ml)	Miktar (mg/ml)	Miktar (IU/ml)
Başlangıç	502451.3	50.3	75617.4
	505784.4	49.7	74017.6
Ortalama	504117.9	50.0	74817.5
24. Saat	508778.8	50.0	75299.0
	503944.8	50.6	74640.9
Ortalama	506361.8	50.3	74969.9
Fark (%)	0.45	0.60	0.20

Sonuçların Değerlendirilmesi

Elde edilen sonuçlara göre numune çözeltisi 24 saat stabildir.

Sistem Uygunluk Testi

Sistem Uygunluk Kriterleri

- Sistem uygunluk şartları sağlanmalıdır.

İşlem

Standart çözeltisinden altı enjeksiyon yapılır. Sistem uygunluk çözeltisi enjekte edildi ve rezolüsyon hesaplandı. Standart çözeltisinden altı enjeksiyon yapıldı ve RSD (%) hesaplandı.

Sonuçlar

Çizelge 2.30. Vitamin A, Vitamin E Ve Vitamin D₃ İçin Sistem Uygunluk Sonuçları.

Standart Enjeksiyon Sayısı	Vitamin A Pik Alanı (mAU x s)	Vitamin E Pik Alanı/ (mAU x s)	Vitamin D ₃ Pik Alanı/ (mAU x s)
1	43706329	1380777	5772091
2	44374787	1408581	5964107
3	45433938	1394952	6006121
4	44237092	1418802	6049483
5	44342827	1396888	6069098
6	45399184	1436098	5910033
Ortalama	44582360	1406016	5961822
TF	1.40	1.22	1.30
TPS	3595	8686	7521
RSD (%)	1.55	1.39	1.84

Not: Sistem uygunluk parametresinde kesinlik standart verileri kullanıldı.

Sonuçların Değerlendirilmesi

Elde edilen sonuçlar incelendiğinde kurulan sistem uygunluk parametrelerinin doğru ve yeterli olduğu kanıtlandı.

2.10. İstatistiksel Hesaplamalar

A, D ve E vitaminlerine ilişkin elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmeleri SPSS istatistik paket programı (Ver. 20) ile yapıldı. Verilerin dağılımı Kolmogorov Simirnov testi kullanılarak belirlendi. Çarpık dağılım gösteren veriler, logaritmik dönüşüm yöntemi kullanılarak normal dağılım haline getirildi. Vitaminlerin, farklı sıcaklık ve bulundurulma (ortam) şartlarına göre zamana göre gösterdikleri değişim, genelleştirilmiş doğrusal modeller (Generalized Linear Model) (GLM) kullanılarak değerlendirildi. Bağımsız grup ortalamaları arasındaki farklılıklara Bonferroni düzelmesi kullanılarak bakıldı. İncelenen değişkenlerin açık şişelerden ve kapalı şişelerden elde edilen ortalamalarının zaman göre gösterdikleri farklılıklar bağımsız gruplarda tekrarlı ölçümlerin varyans analizi yöntemi ile incelendi. İlk olarak sabit sıcaklıktaki ortamda, ışığın etkisi incelendi. Bu değerlendirme sırasında oda sıcaklığında bekletilen ürünün ışığa maruz kalmış ve karanlıkta (kutusunda) bekletilmiş olan durumlarının direkt ışığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi incelendi. Diğer durumda ise karanlık ortamda sıcaklığın etkisi incelendi. Bu değerlendirmede ise karanlıkta (kutusunda) oda sıcaklığında bekletilen ve +4°C’de karanlıkta (buzdolabında) bekletilen ürünlerde sıcaklığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi incelendi. Tablolardaki istatistikler, aritmetik ortalama ve standart sapma ile gösterildi.

3. BULGULAR

3.1. Açılmış Spesiyalitelere Çalışmalar

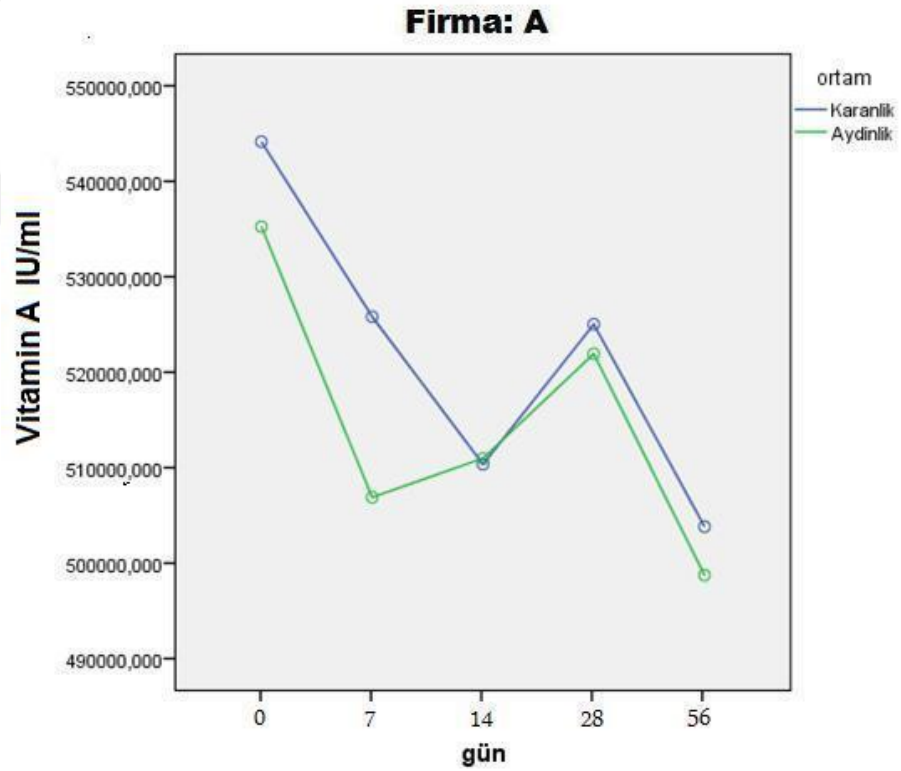
Açılmış spesiyalitelere çalışmada; önceden belirli bir süre kapalı halde, karanlıkta ve aydınlıkta oda sıcaklığında ayrıca +4°C’de buzdolabında bekletilen, 3 ayrı firmadan alınmış ve her firmaya ait 3 farklı seri numarasına sahip spesiyalitelere 0’ıncı gün ile birlikte açılarak her bir ortam için 3 ayrı numuneden alınan örneklerin analizi gerçekleştirildi. Aynı ürünlerin analizleri oda sıcaklığında karanlıkta, aydınlıkta ve +4°C’de buzdolabında bekletilerek 7. gün, 14. gün, 28. gün ve 56. günde tekrarlandı. Elde edilen veriler ışığında hesaplamalar yapıldı. Açık spesiyalitelere elde edilen sonuçlar 2 ayrı başlık altında analiz edildi. İlk olarak sabit sıcaklıktaki ortamda, ışığın etkisinin analiz edilmesi oldu. Bu değerlendirme sırasında oda sıcaklığında bekletilen ürünün ışığa maruz kalan ve karanlıkta (kutusunda) bekletilen ürünlerin direkt ışığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi analiz edildi. Diğer durumda ise karanlık ortamda sıcaklığın etkisinin analiz edilmesi oldu. Bu değerlendirme sırasında ise oda sıcaklığında karanlıkta (kutusunda) bekletilen ve +4°C’de karanlıkta (buzdolabında) bekletilen ürünlerde sıcaklığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi analiz edildi.

3.1.1. Sabit Sıcaklıkta Işığın Etkisinin Araştırılması

3.1.1.1. Işığın A Vitaminine Etkileri

Açık spesiyalitelere A vitaminindeki değişimleri analiz edilen çalışmada 25°C’de karanlık (kutusunda) ve 25 °C’de aydınlık (gün ışığına maruz kalarak) ortamda bekletilerek 0’ıncı gün, 7. gün, 14. gün, 28. gün ve 56. günde tekrarlanan ölçümlerle etken madde düzeylerinin sıfırıncı (0.) günde değeri göre kıyaslaması yapıldı ve değişimler IU ve mg olarak hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu kapsamda A firmasının açık spesiyalitelere 25°C’de karanlıkta

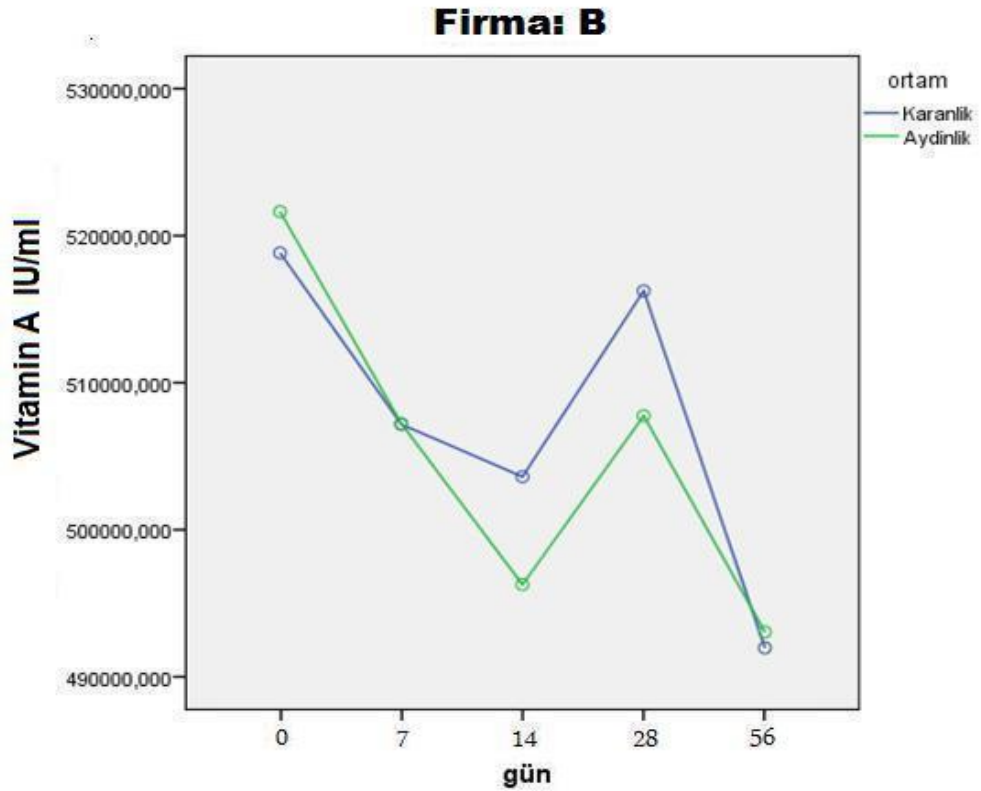
bekletilenlerinde %7,23 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $544455,76 \pm 9363,06$ IU, $526269,32 \pm 9210,65$ IU, $507980,71 \pm 11177,58$ IU, $531997,04 \pm 11736,96$ IU, $505061,23 \pm 18337,51$ IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C'de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %6,82 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $535247,37 \pm 14114,08$ IU, $506895,94 \pm 5871,85$ IU, $510974,18 \pm 10641,72$ IU, $521925,41 \pm 10651,99$ IU, $498738,66 \pm 13618,43$ IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise aydınlık ortamdaki ilaçların 7. günü ve karanlık ortamda ise 7. ve 14. gün değişimi anlamlı ($p < 0,001$) bulundu. Aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar kıyaslanmasında ise 7. gün itibariyle değişim (Şekil 3.1.) sırasıyla ($p < 0,01$) anlamlı olarak bulundu.



Şekil 3.1. Oda sıcaklığında 25°C'de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri IU.

B firmasına ait açık spesiyalitelerin 25°C'de karanlıkta bekletilenlerinde %4,65 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin

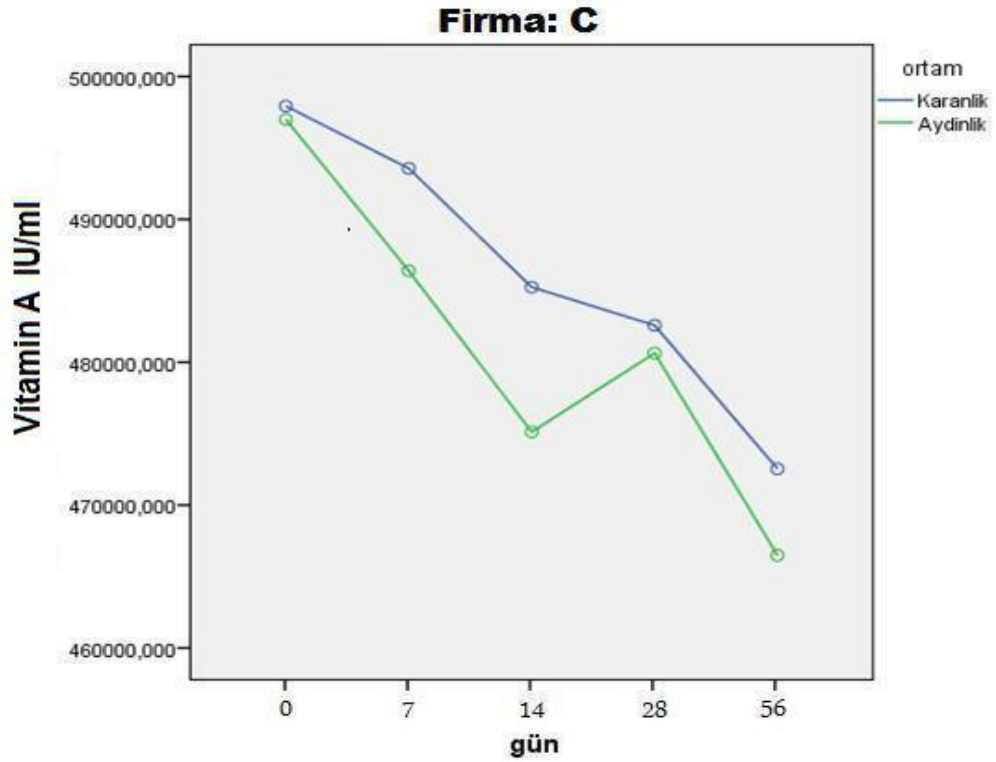
gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında $520844,00 \pm 10797,48$ IU, $508533,72 \pm 11166,95$ IU, $502969,26 \pm 6667,83$ IU, $523900,26 \pm 13539,19$ IU, $496620,39 \pm 24243,97$ IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C 'de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %5,4 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $521640,36 \pm 8514,14$ IU, $507225,94 \pm 15497,97$ IU, $496272,79 \pm 12896,62$ IU, $507750,80 \pm 12509,07$ IU, $493047,88 \pm 13677,71$ IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise aydınlık ortamdaki ilaçların 7. 14. ve 56. günler ve karanlık ortamda ise 7. ve 56. gün değişimi ($p < 0,001$) düzeyinde anlamlıdır. Aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar kıyaslanmasında ise 28. gün itibariyle değişim (Şekil 3.2.) düzeyinde ($p < 0,05$) anlamlı olarak bulundu.



Şekil 3.2. Oda sıcaklığında 25°C 'de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri IU.

Sonuncu firma olan C firmasına ait açık spesiyalitelerin 25°C 'de karanlıkta bekletilenlerinde %3,58 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre

değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 496194,74±9345,90 IU, 491469,27±12087,42 IU, 480121,18±11101,02 IU, 482466,42±13237,10 IU, 478399,45±14901,30 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %6,13 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 496991,62±12525,14 IU, 486396,98±10997,29 IU, 475123,25±5780,78 IU, 480640,26±14842,69 IU, 466483,23±17106,79 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise aydınlık ortamdaki ilaçların 7. 14. ve 56. günler ve karanlık ortamda ise 7. 14. 28. ve 56. günler değişimi ($p<0,001$) düzeyinde anlamlı bulundu. Aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar kıyaslanmasında ise ($p>0,05$) düzeyinde herhangi bir değişim (Şekil 3.3.) bulunamadı.



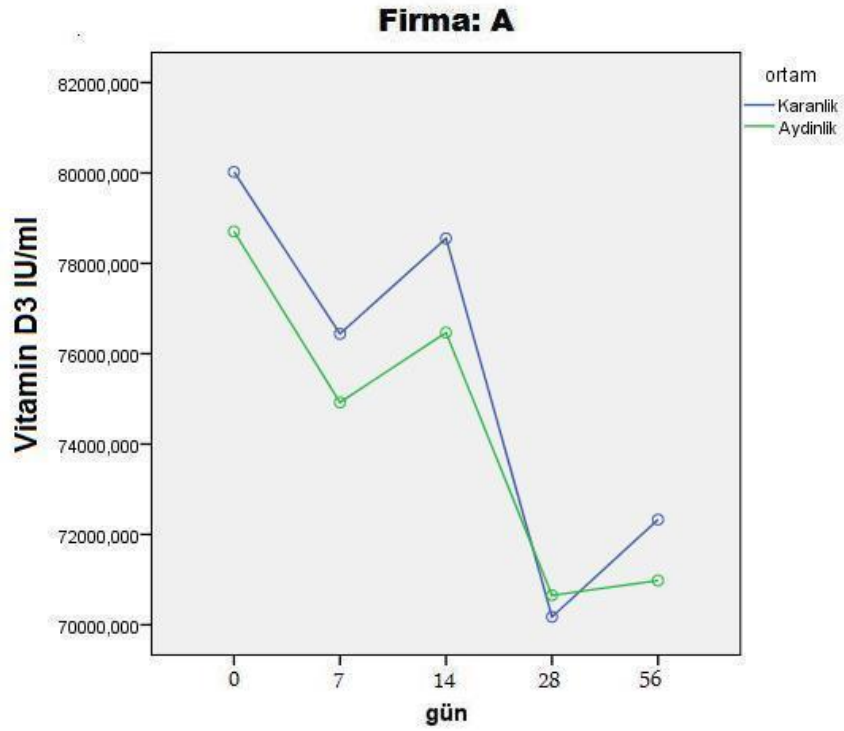
Şekil 3.3. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri IU.

Çizelge 3.1. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Sıcaklık (Sabit)	Ortam (Işığın Etkisi)	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	P
(A)	25 °C	Aydınlık	535247,37±14114,08 ^a	506895,94±5871,85b ^{**}	510974,18±10641,72 ^{bc}	521925,41±10651,99 ^{db}	498738,66±13618,43 ^{ec}	***
		Karanlık	544455,76±9363,06 ^a	526269,32±9210,65 ^b	507980,71±11177,58 ^c	531997,04±11736,96 ^{db}	505061,23±18337,51 ^{ec}	***
(B)	25 °C	Aydınlık	521640,36±8514,14 ^a	507225,94±15497,97 ^b	496272,79±12896,62 ^c	507750,80±12509,07 ^{bd}	493047,88±13677,71 ^e	***
		Karanlık	520844,00±10797,48 ^a	508533,72±11166,95 ^b	502969,26±6667,83 ^{bc}	523900,26±13539,19 ^{db*}	496620,39±24243,97 ^e	***
(C)	25 °C	Aydınlık	496991,62±12525,14 ^a	486396,98±10997,29 ^b	475123,25±5780,78 ^c	480640,26±14842,69 ^{dc}	466483,23±17106,79 ^e	***
		Karanlık	496194,74±9345,90 ^a	491469,27±12087,42 ^b	480121,18±11101,02 ^c	482466,42±13237,10 ^d	478399,45±14901,30 ^e	***
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)								
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.								

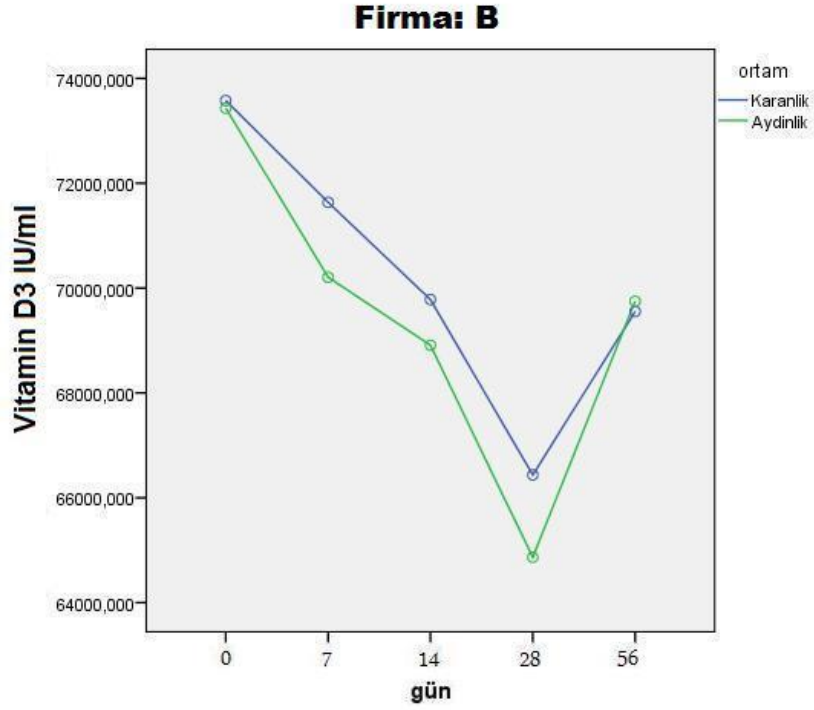
3.1.1.2. Işığın D Vitaminine Etkileri

Aynı çalışmanın D₃ vitaminler üzerinde değişimin IU (Çizelge 3.2.) olarak hesaplandı ve zamana göre analiz edildiğinde ise A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde D₃ vitamini %12,00 oranında değişim gözlemlendi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 79629,03±4471,17 IU, 75456,38±2841,61 IU, 78228,11±5314,28 IU, 70068,13±1895,50 IU, 72130,24±2611,72 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %10,23 oranında değişim gözlemlendi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 78705,55±4440,35 IU, 74921,78±3532,83 IU, 76467,78±3834,31 IU, 70652,29±2645,62 IU, 70980,85±2777,65 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise aydınlık ortamdaki ilaçların 7. ve 28. günler ve karanlık ortamda ise 7. ve 56. günler değişimi (p<0,001) düzeyinde anlamlı bulundu. Aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar kıyaslanmasında ise herhangi bir değişim (p>0,05) anlamlı bulunamadı (Şekil 3.4.).



Şekil 3.4. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri IU.

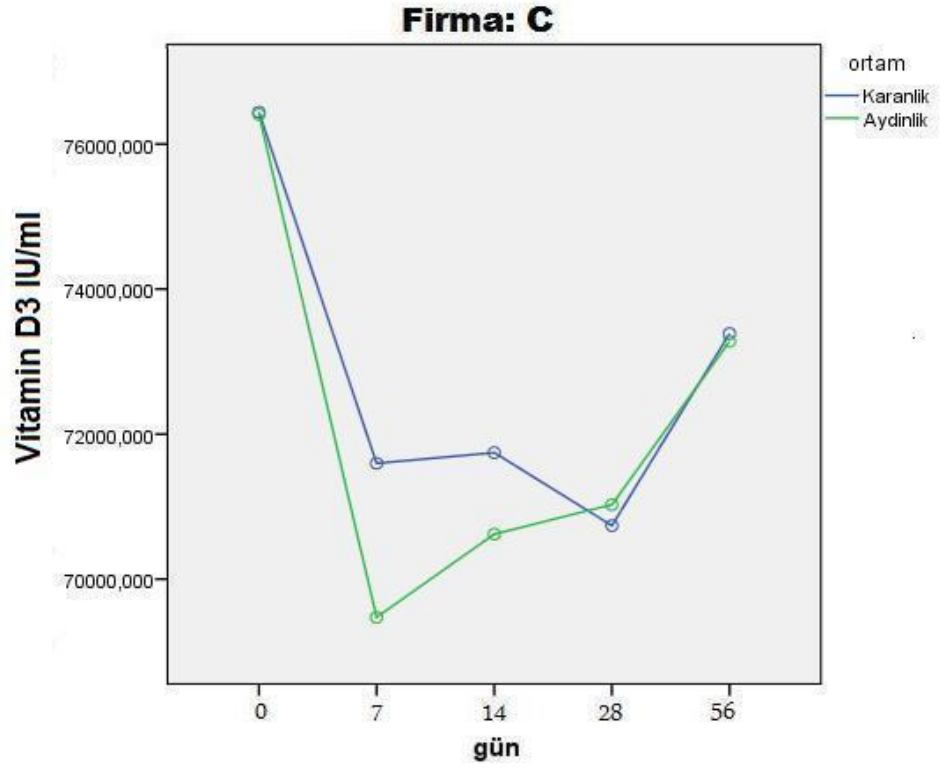
D₃ vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde açık spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %9,0 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 74223,24±922,03 IU, 72047,32±2116,58 IU, 68415,24±2857,10 IU, 67544,71±2581,70 IU 69756,99±2485,86 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %11,67 oranında değişim gözlemlendi. Değişim Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 73432,99±1121,18 IU, 70208,04±3009,67 IU, 68909,87±2449,64 IU, 64865,73±1523,95 IU, 69748,34±1495,35 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise aydınlık ortamdaki ilaçların 7. 14. 28. ve 56 günler ve karanlık ortamda ise 7. 14. 28 ve 56. günler değişimi anlamlı ($p < 0,001$) olarak bulundu. Aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar kıyaslanmasında ise herhangi bir değişim (Şekil 3.5.) ($p > 0,05$) düzeyinde anlamlı bulunamadı.



Şekil 3.5. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri IU.

D₃ vitaminin etkin madde miktarı C firmasının açık spesiyalitelerinde 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %8,73 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 76955,50±3292,72 IU, 72341,69±3081,66 IU, 70234,90±1211,18 IU, 70787,98±1806,67 IU, 74406,06±1632,12 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %9,07 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 76407,82±3448,18 IU, 69474,74±1971,52 IU, 70620,47±2511,93 IU, 71027,34±1740,41 IU, 73277,45±2474,21 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise ilaçların Sıfırıncı (0.) Güne göre değişimleri aydınlık ortam için 7. ve 56. günlerde anlamlı ($p<0,001$) bulundu, karanlık ortamda ise aydınlık ortam için 7. 14. ve 56. günlerde ($p<0,001$) düzeyinde anlamlı bulundu. Aydınlık ve karanlık ortamların kıyaslanmasında ise sadece 7. gün değişimi (Şekil 3.6.) ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı bulundu. C firmasında aydınlık etkisinin D₃ vitaminin üzerinde daha kısa sürede

değişime neden olduğu tespit edildi.



Şekil 3.6. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri IU.

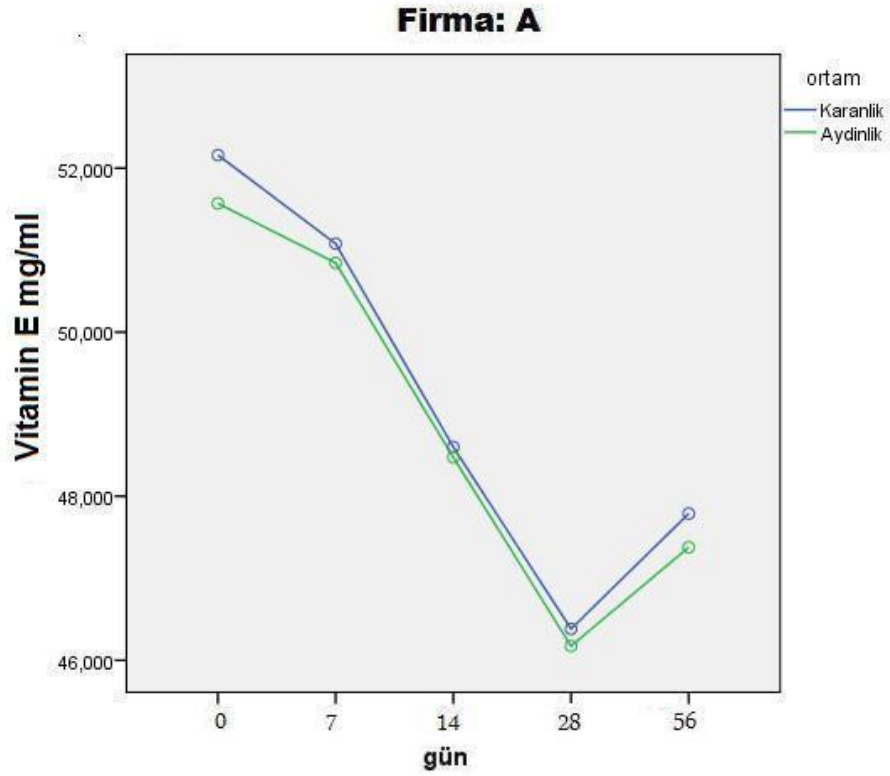
Çizelge 3.2. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Sıcaklık (Sabit)	Ortam (Işığın Etkisi)	x ±sd	x ±sd	x ±sd	x ±sd	x ±sd	p
(A)	25 °C	Aydınlık	78705,55± 4440,35 ^a	74921,78± 3532,83 ^b	76467,78± 3834,31 ^{bc}	70652,29± 2645,62 ^d	70980,85± 2777,65 ^{ed}	***
		Karanlık	79629,03± 4471,17 ^a	75456,38± 2841,61 ^b	78228,11± 5314,28 ^{bc}	70068,13± 1895,50 ^d	72130,24± 2611,72 ^e	***
(B)	25 °C	Aydınlık	73432,99± 1121,18 ^a	70208,04± 3009,67 ^b	68909,87± 2449,64 ^c	64865,73± 1523,95 ^d	69748,34± 1495,35 ^e	***
		Karanlık	74223,24± 922,03 ^a	72047,32± 2116,58 ^b	68415,24± 2857,10 ^c	67544,71± 2581,70 ^d	69756,99± 2485,86 ^e	***
(C)	25 °C	Aydınlık	76407,82± 3448,18 ^a	69474,74± 1971,52 ^{b*}	70620,47± 2511,93 ^{bc}	71027,34± 1740,41 ^{cd}	73277,45± 2474,21 ^e	***
		Karanlık	76955,50± 3292,72 ^a	72341,69± 3081,66 ^b	70234,90± 1211,18 ^c	70787,98± 1806,67 ^{cd}	74406,06± 1632,12 ^e	***
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)								
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.								

3.1.1.3. Işığın E Vitaminine Etkileri

E vitaminine ait değişimi mg (Çizelge 3.3.) üzerinden hesaplandı ve zamana göre değişim analiz edildiğinde ise A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde E vitamini %10,67 oranında değişim gösterdi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 52,02±2,33 mg, 50,42±2,78 mg, 49,05±1,63 mg, 46,47±1,46 mg, 47,74±1,10 mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %10,47 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 51,57±1,99 mg, 50,84±2,15 mg, 48,47±1,20 mg, 46,17±0,76 mg, 47,38±1,35 mg şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise ilaçların Sıfırncı (0.) güne göre değişimlerinde aydınlık ortamda bekletilen ilaçlardaki vitamin E düzeyi 7. günde fark (p<0,001) düzeyinde anlamlıdır. Karanlık ortamda ise 7. 14. 28. ve 56. günlerde anlamlı (p<0,001) bulundu. Aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar arasında değişim (Şekil 3.7.) (p>0,05) düzeyinde

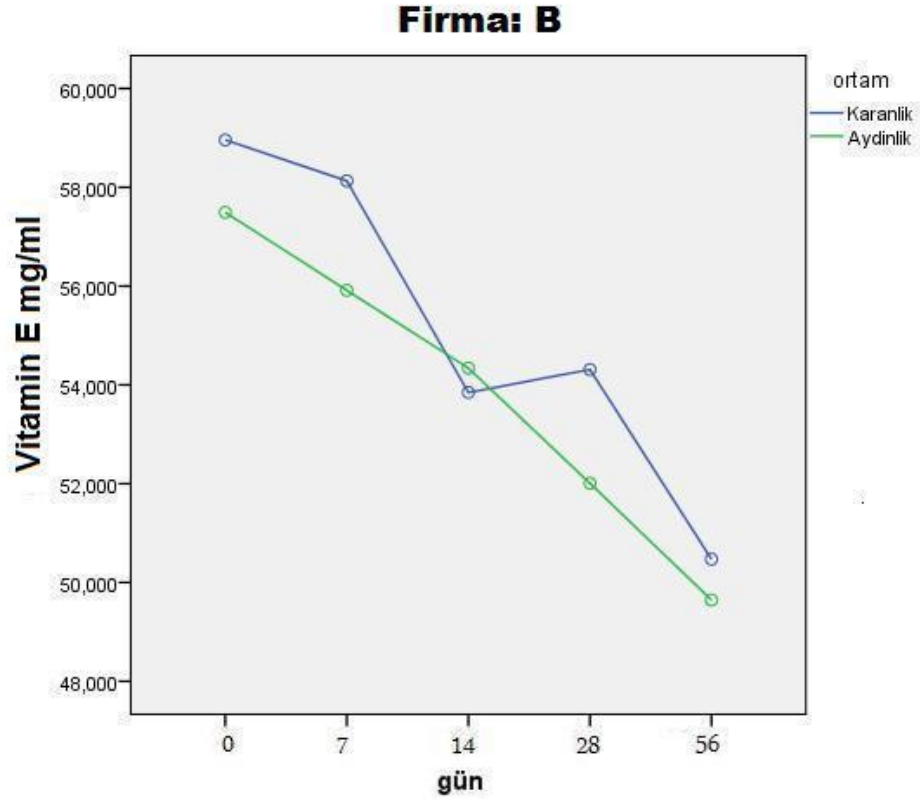
anlamli olarak bulunmadı.



Şekil 3.7. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri mg.

E vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde açık spesyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %12,76 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında $58,94 \pm 1,50$ mg, $58,09 \pm 2,95$ mg, $52,87 \pm 0,76$ mg, $56,29 \pm 4,13$ mg, $51,42 \pm 0,42$ mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %13,66 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $57,49 \pm 0,82$ mg, $55,91 \pm 2,26$ mg, $54,34 \pm 1,54$ mg, $52,01 \pm 0,80$ mg, $49,64 \pm 1,20$ mg şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise aydınlık ortamda bekletilen ilaçlardaki vitamin E düzeyi 7. 28. ve 56. günlerde anlamlı ($p < 0,001$) bulundu. Karanlık ortamda ise sadece 14. günde anlamlı ($p < 0,001$) bulundu. Ancak aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar

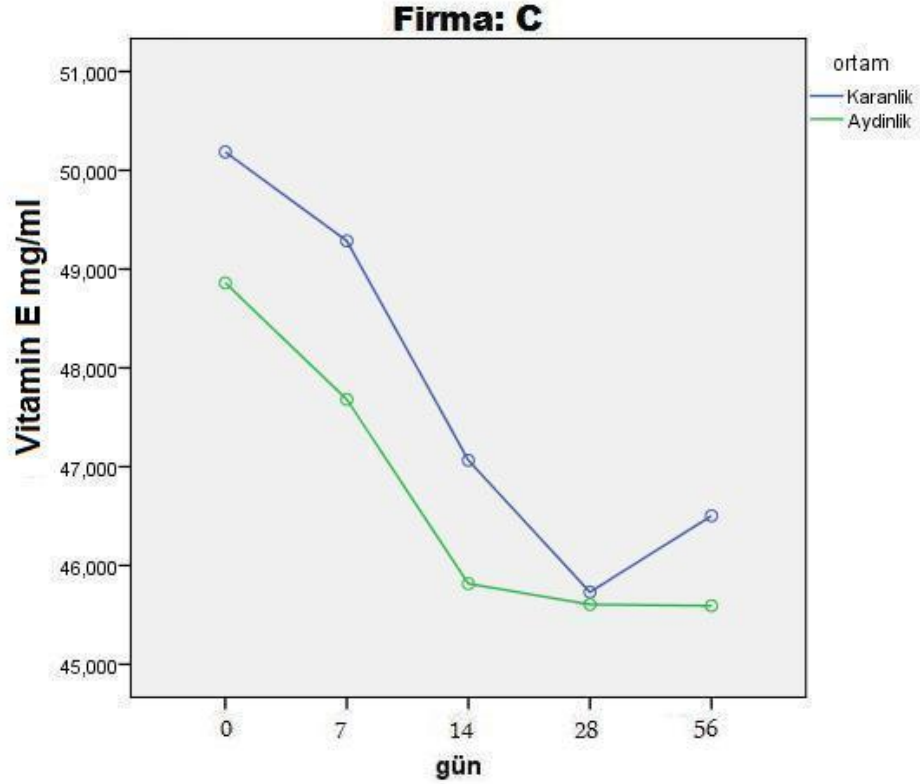
arasında değişim (Şekil 3.8.) ($p>0,05$) düzeyinde değişim gözlenmedi ve anlamlı olarak bulunmadı.



Şekil 3.8. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri mg.

E vitaminin etkin madde miktarı C firmasının açık spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %8,72 oranında değişim gözlendi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 50,01±1,02 mg, 48,81±1,49 mg, 46,30±0,69 mg, 45,65±0,70 mg, 46,37±2,21 mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %6,7 oranında değişim gözlendi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 48,86±1,70 mg, 47,68±1,77 mg, 45,82±1,36 mg, 45,61±1,64 mg, 45,59±1,93 mg şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise aydınlık ortamda bekletilen ilaçlardaki vitamin E düzeyi 7. ve 14. günlerde anlamlı ($p<0,001$) bulundu. Karanlık ortamda ise sadece 14. günde ($p<0,001$) düzeyinde anlamlı

bulundu. Ayrıca aydınlık ve karanlık ortamlarda bekletilen ilaçlar arasında değişim (Şekil 3.9.) ($p>0,05$) anlamlı olarak bulunmadı.



Şekil 3.9. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri mg.

Işığın A, D₃, E vitaminleri üzerindeki etkisinin etkin madde düzeyindeki değişimini analiz edildiğinde; ışığa ve karanlığa maruz bırakılan vitaminlerde, etkin maddenin zamana göre % oransal değişimin en fazla E vitamininde olduğu tespit edildi. Bununla birlikte aydınlık ortamda bekletilen E vitaminin etkin madde düzeyindeki değişimin karanlık ortamda bekletilene oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Ayrıca B firmasındaki etkin madde düzeyindeki değişimin A ve C firmalarına oranla daha fazla olduğu gözlemlendi.

Çizelge 3.3. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg)

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Sıcaklık (Sabit)	Ortam (Işığın Etkisi)	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	P
(A)	25 °C	Aydınlık	51,57±1,99 ^a	50,84±2,15 _b	48,47±1,20 ^{bc}	46,17±0,76 ^c _d	47,38±1,35 ^{ec}	***
		Karanlık	52,02±2,33 ^a	50,42±2,78 _b	49,05±1,63 ^c	46,47±1,46 ^d	47,74±1,10 ^{ec}	***
(B)	25 °C	Aydınlık	57,49±0,82 ^a	55,91±2,26 _b	54,34±1,54 ^{bc}	52,01±0,80 ^d	49,64±1,20 ^e	***
		Karanlık	58,94±1,50 ^a	58,09±2,95 _{ab}	52,87±0,76 ^c	56,29±4,13 ^d _b	51,42±0,42 ^{ec}	***
(C)	25 °C	Aydınlık	48,86±1,70 ^a	47,68±1,77 _b	45,82±1,36 ^c	45,61±1,64 ^c	45,59±1,93 ^{ec}	***
		Karanlık	50,01±1,02 ^a	48,81±1,49 _b	46,30±0,69 ^c	45,65±0,70 ^c _d	46,37±2,21 ^{ec}	***
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama Şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)								
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.								

A vitaminin ışıktaki ve karanlıkta bekletilerek analiz edilmesi sonucunda, etkin madde düzeyinde oransal olarak en az değişen vitamin olduğu tespit edildi. Ancak aydınlık ortamda bekletilen vitamin A’nın oransal değişimin karanlık ortamda bekletilene oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Firmalar arasında A vitaminin % oransal değişimi anlamlı (p>0,05) bir farklılık göstermediği tespit edildi.

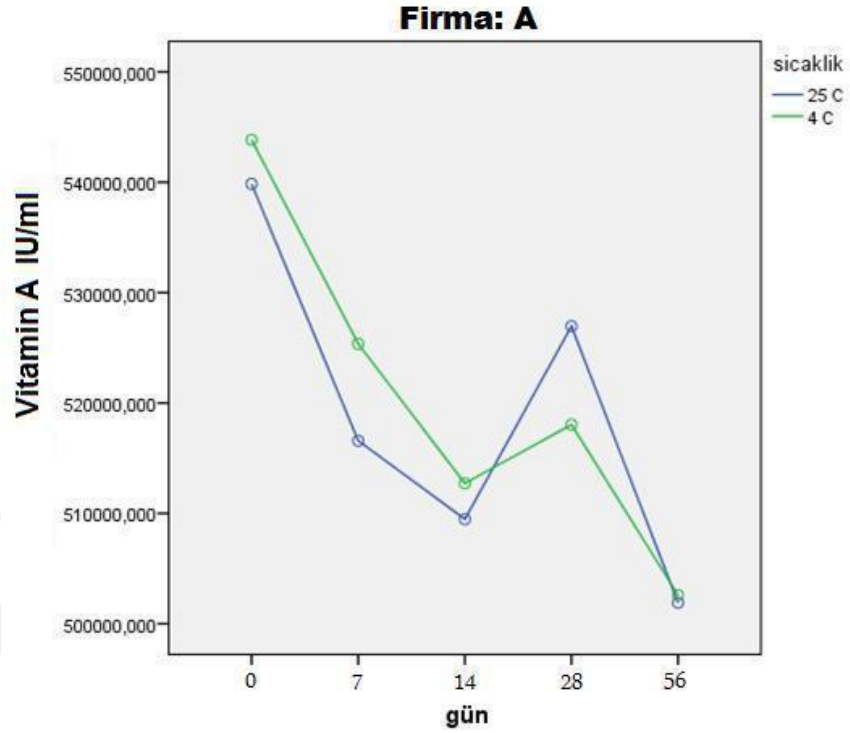
D₃ vitamin 2 farklı ortamda bekletilmesiyle birlikte zamana göre değişim anlamlı bir oranda tespit edilmesinin yanı sıra A firmasındaki D₃ vitaminin etkin madde düzeyindeki değişimin B ve C firmalarına oranla daha fazla olduğu gözlemlendi.

3.1.2. Sıcaklığın Etkisinin Araştırılması

3.1.2.1. Sıcaklığın A Vitaminine Etkileri

Açık spesiyalitelerde sıcaklığın vitaminler üzerindeki etkisini değerlendirdiğimiz çalışmada ise A vitaminindeki değişimlerin 25°C’de karanlık (kutusunda) ve 4 °C’de karanlık (buzdolabında) ortamda bekletilerek 0. gün, 7. gün, 14. gün, 28. gün ve 56. günde tekrarlanan ölçümlerle etken madde düzeylerinin 0. günde değeri göre (Çizelge 3.4.) kıyaslaması yapıldı ve değişimler IU olarak hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu kapsamda A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %7,23 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 544455,76±9363,06 IU, 526269,32±9210,66 IU, 507980,71±11177,58 IU, 531997,04±11736,96 IU, 505061,23±18337,51 IU şeklinde gerçekleştiği görüldü. Buna karşılık A firmasının açık spesiyalitelerinin 4 °C’de karanlık (buzdolabında) ortamda bekletilenlerinde %7,58 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 543841,46±12280,83 IU, 525361,71±16783,83 IU, 512717,96±16452,69 IU, 518044,06±13132,56 IU, 502595,94±14468,30 IU şeklinde gerçekleşti.

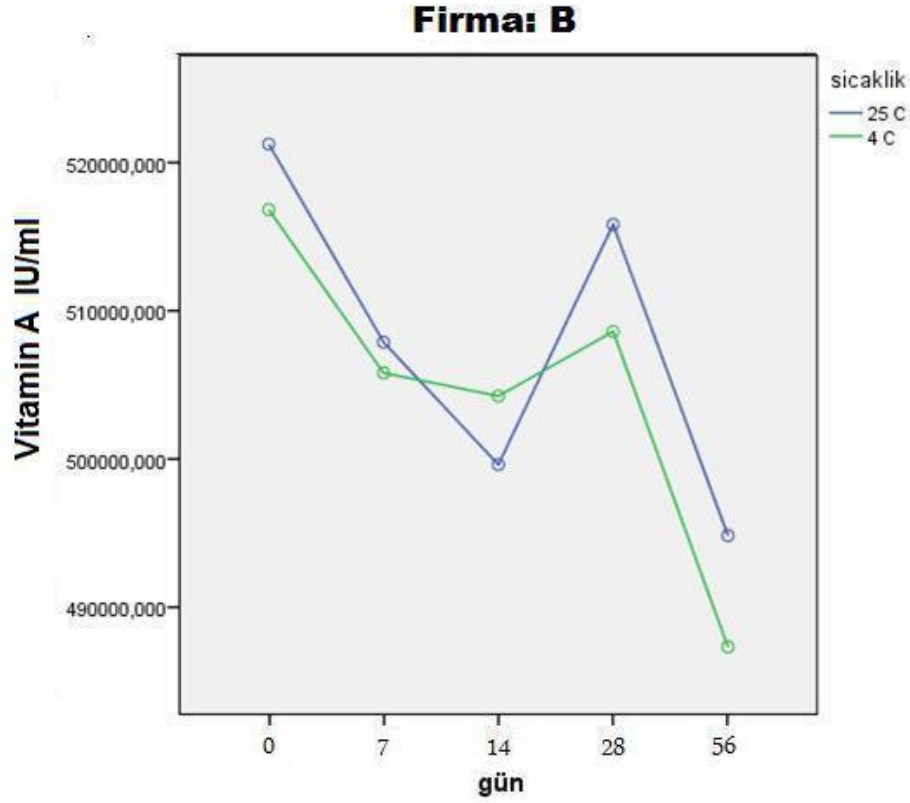
İstatistiksel değerlendirmede ise ilaçlardaki A vitamininin 25 °C’deki 7. 14. ve 56. günlerde değişimleri anlamlı ($p<0,001$) iken, 4 °C sıcaklıkta bekletilen ilaçlarda 7. ve 56. günlerde anlamlı ($p<0,001$) düzeyinde anlamlı bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler kıyaslandığı zaman 28. gün itibariyle değişim (Şekil 3.10.) ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı olarak bulundu.



Şekil 3.10. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri IU.

B firmasına ait açık spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %4,65 oranında değişim gözlemlendi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 520844,00±10797,48 IU, 508533,72±11166,95 IU, 502969,26±6667,83 IU, 523900,26±13539,19 IU, 496620,39±24243,97 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) ortamda bekletilenlerinde %5,70 oranında değişim gözlemlendi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 516823,30±14137,07 IU, 505805,47±19504,84 IU, 504246,89±8697,37 IU, 508597,36±11136,57 IU, 487317,06±25212,36 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise ilaçlardaki A vitaminin 25°C’deki 7. ve 56. günlerde değişimleri anlamlı ($p<0,001$) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki A vitamini değişimi 7. 14. ve 56. günlerde ($p<0,001$) düzeyinde anlamlı bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler kıyaslandığı zaman 28. gün itibariyle değişim (Şekil 3.11.) ($p<0,05$) düzeyinde anlamlı olarak bulundu. Ayrıca

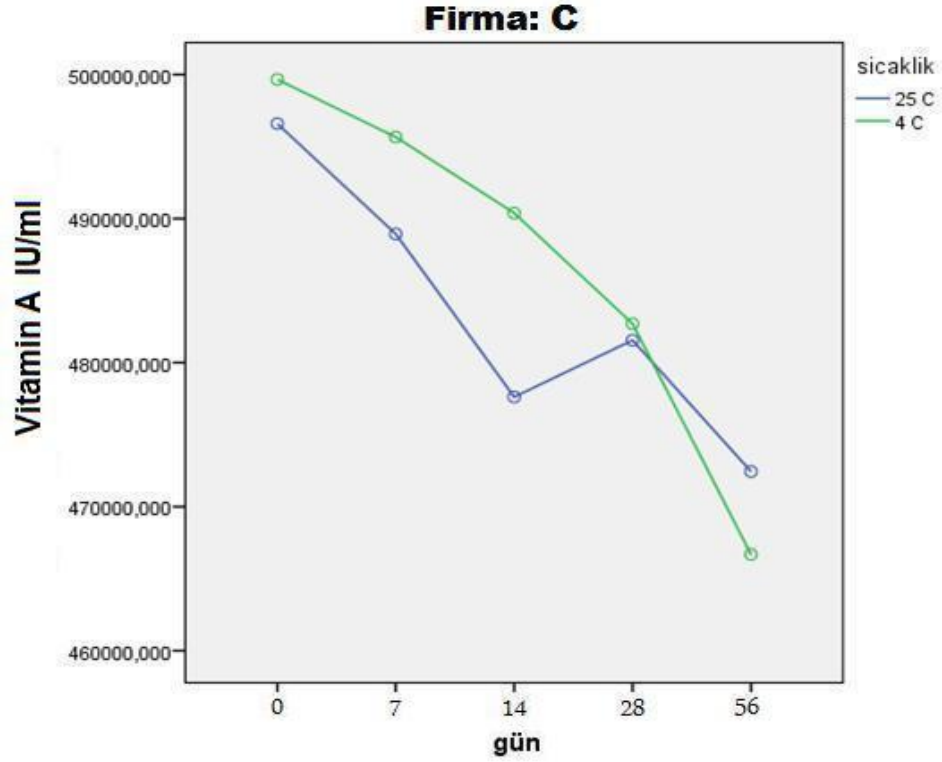
B firması için buzdolabında saklanılan ürünlerin etkin madde değişiminin 7. günde itibaren belirgin hale geldiği tespit edildi.



Şekil 3.11. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri IU.

C firmasına ait açık spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %3,58 496194,74±9345,90 IU, 491469,27±12087,42 IU, 480121,18±11101,02 IU, 482466,42±13237,10 IU, 478399,45±14901,30 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %6,60 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 495661,55±11949,08), 490388,33±5451,04 IU, 475123,25±5780,78 IU, 482698,68±17434,40 IU, 466679,96±16909,36 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise ilaçlardaki A vitaminin 25°C’deki 7. 14. 28. ve 56. günlerde değişimleri anlamlı ($p<0,001$) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki A vitamini değişimi 7. 14. ve 56. günlerde ($p<0,001$) düzeyinde anlamlı

bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler (Şekil 3.12.) kıyaslandığı zaman ($p>0,05$) anlamlı olarak bulunmadı. Ayrıca C firması için buzdolabında saklananlarında etkin madde düzeyinin değişiminin en belirgin olduğu zaman 56. gün olduğu tespit edildi.



Şekil 3.12. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri IU.

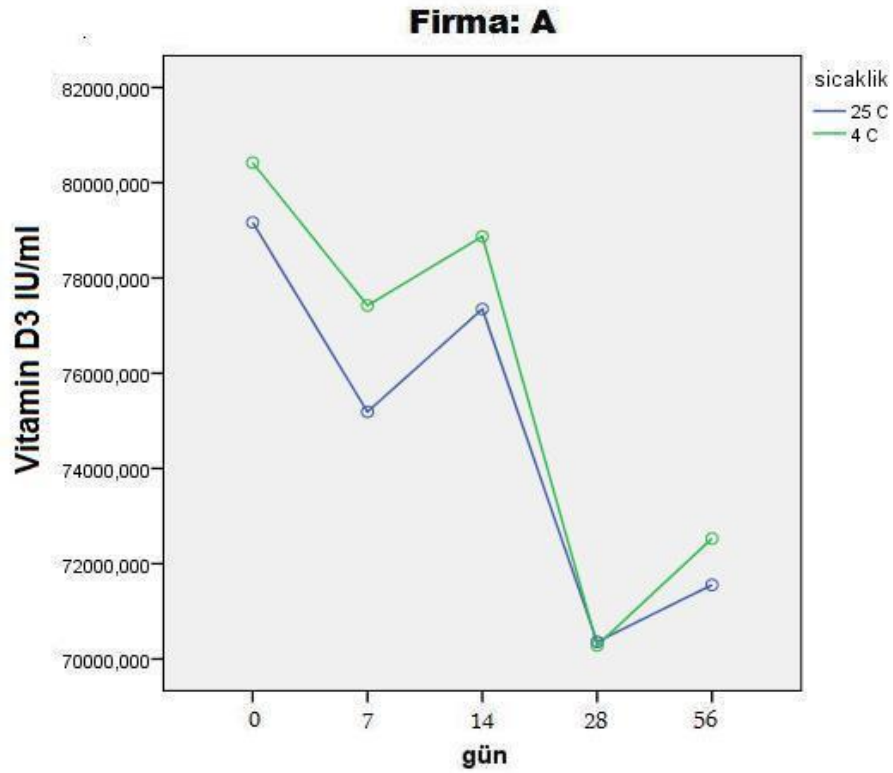
Çizelge 3.4. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Ortam (Sabit)	Sıcaklık Etkisi	x ±sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	P
(A)	Karanlık	25 °C	544455,76 ±9363,06a	526269,32 ±9210,66b	507980,71 ±11177,58 c	531997,04 ±11736,96 cd*	505061,23 ±18337,51 e	***
		4 °C	543841,46 ±12280,83 a	525361,71 ±16783,83 b	512717,96 ±16452,69 bc	518044,06 ±13132,56 db	502595,94 ±14468,30 e	***
(B)	Karanlık	25 °C	520844,00 ±10797,48 a	508533,72 ±11166,95 b	502969,26 ±6667,83b c	523900,26 ±13539,19 bcd	496620,39 ±24243,97 e	***
		4 °C	516823,30 ±14137,07 a	505805,47 ±19504,84 b	504246,89 ±8697,37c	508597,36 ±11136,57 bd*	487317,06 ±25212,36 e	***
(C)	Karanlık	25 °C	496194,74 ±9345,90a	491469,27 ±12087,42 b	480121,18 ±11101,02 c*	482466,42 ±13237,10 d	478399,44 ±14901,30 e	***
		4 °C	499658,71 ±13065,32 a	495661,55 ±11949,08 b	490388,33 ±5451,04c	482698,68 ±17434,40 cd	466679,96 ±16909,36 e	***
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)								
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.								

3.1.2.2. Sıcaklığın D Vitaminine Etkileri

Aynı çalışmada ilaçlardaki D₃ vitaminlerinin değişimi (Çizelge 3.5.) IU olarak hesaplandı ve zamana göre analiz edildiğinde ise A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde D₃ vitamini %12 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 79629,03±4471,17 IU, 75456,38±2841,61 IU, 78228,11±5314,28 IU, 70068,13±1895,50 IU, 72130,24±2611,72 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %12,60 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.)

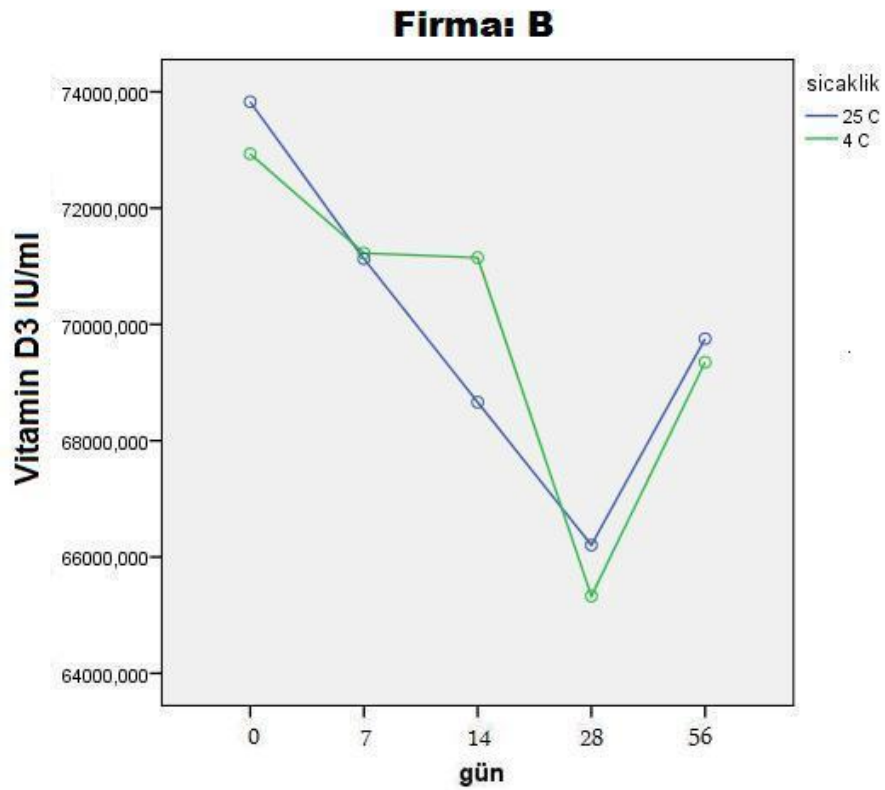
güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 80419,29±3145,76 IU, 77422,91±4423,23 IU, 78875,00±4382,02 IU, 70283,14±1719,08 IU, 72529,13±3444,17 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ise ilaçlardaki D₃ vitaminin 25°C'deki 7. 14. 28. ve 56. günlerde değişimleri (Şekil 3.13.) anlamlı (p<0,001) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki D₃ vitamini değişimi aynı günlerde anlamlı (p<0,001) düzeyinde anlamlı bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler kıyaslandığı zaman (p>0,05) düzeyinde anlamlı olarak bulunmadı.



Şekil 3.13. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri IU.

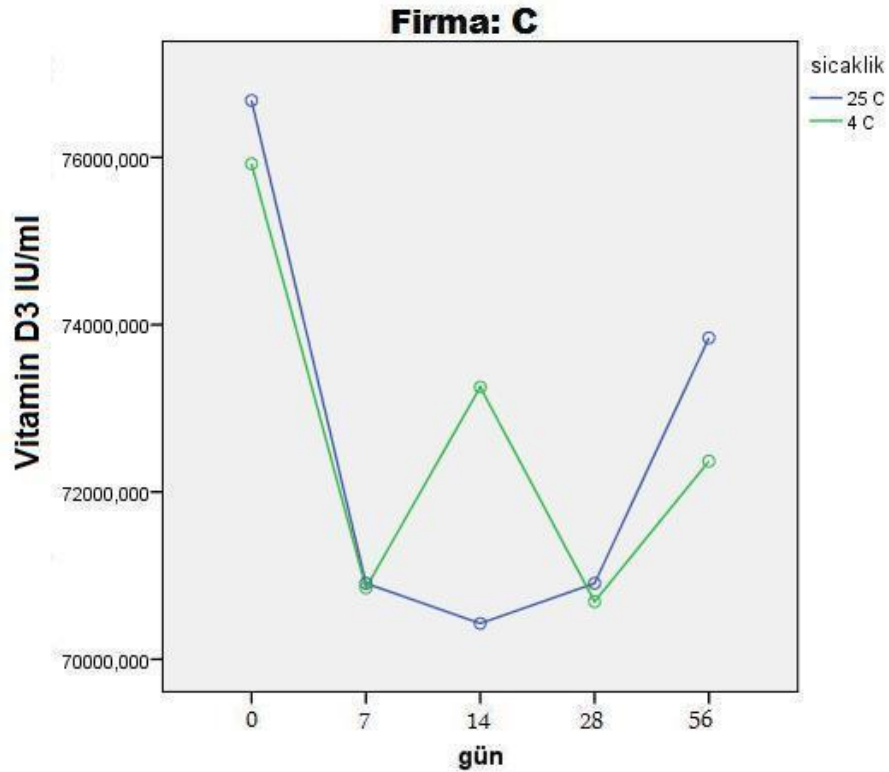
D₃ vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde açık spesiyalitelerin 25°C'de karanlıkta bekletilenlerinde %8,99 oranında değişim tespit edildi. Sıfırncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği

diğer günlere göre ele alındığında $74223,24 \pm 922,03$ IU, $72047,32 \pm 2116,58$ IU, $68415,24 \pm 2857,10$ IU, $67544,71 \pm 2581,70$ IU, $69756,99 \pm 2485,86$ IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %10,42 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırinci (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $72932,75 \pm 2012,27$ IU, $71224,73 \pm 4140,15$ IU, $71147,50 \pm 2459,91$ IU, $65327,90 \pm 1342,24$ IU, $69349,99 \pm 1389,78$ IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ilaçlardaki D₃ vitaminin 25°C’deki 7. 28. ve 56. günlerde değişimleri anlamlı ($p < 0,001$) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki D₃ vitamini değişimi 7. 14. 28. ve 56. günlerde anlamlı ($p < 0,001$) düzeyinde anlamlı bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler (Şekil 3.14.) kıyaslandığı zaman ($p > 0,05$) anlamlı olarak bulunmadı.



Şekil 3.14. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri IU.

D₃ vitaminin etkin madde miktarı C firmasının açık spesiyalitelerinde 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %8,73 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 76955,50±3292,72 IU, 72341,69±3081,66 IU, 70234,90±1211,18 IU, 70787,98±1806,67 IU, 74406,06±1632,12 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %6,89 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 75923,48±2996,89 IU, 70853,02±2241,14 IU, 73254,72±3551,65 IU, 70688,59±2029,69 IU, 72367,98±2459,94 IU şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ilaçlardaki D₃ vitaminin 25°C’deki 7. ve 56. günlerde değişimleri anlamlı (p<0,001) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki D₃ vitamini değişimi aynı günlerde (p<0,001) düzeyinde anlamlı bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler (Şekil 3.15.) kıyaslandığı zaman 14 günde ki fark önemli oranda (p<0,01) anlamlı bulundu.



Şekil 3.15. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri IU.

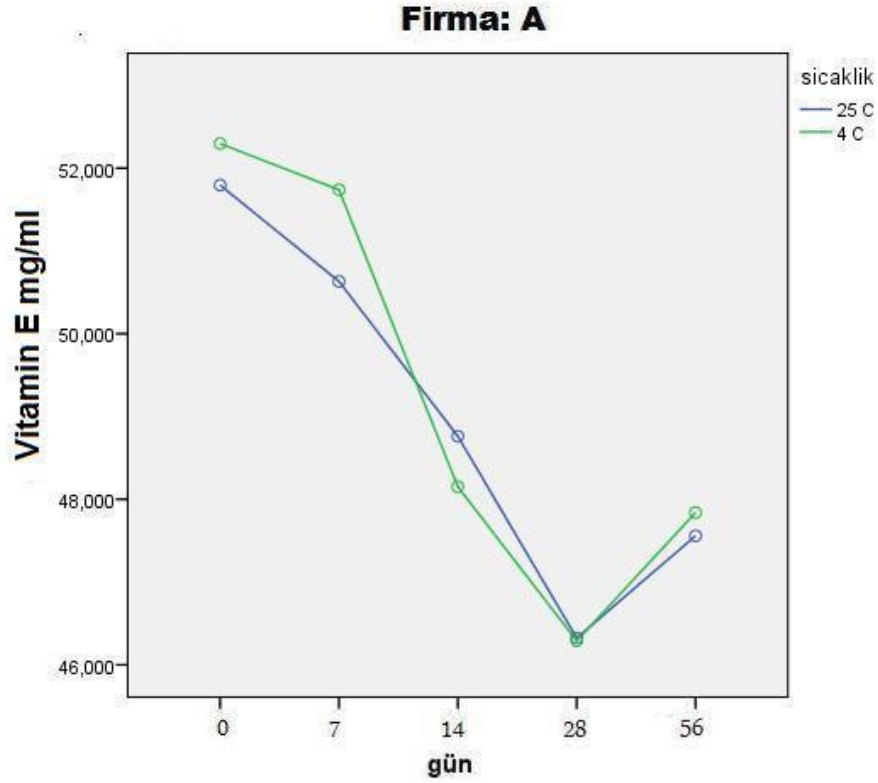
Çizelge 3.5. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Ortam (Sabit)	Sıcaklık Etkisi	x ±sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	P
(A)	Karanlık	25 °C	79629,03± 4471,17a	75456,38± 2841,61b	78228,11± 5314,28c	70068,13± 1895,50d	72130,24± 2611,72e	***
		4 °C	80419,29± 3145,76a	77422,91± 4423,23b	78875,00± 4382,02c	70283,14± 1719,08d	72529,13± 3444,17e	***
(B)	Karanlık	25 °C	74223,24± 922,03a	72047,32± 2116,59b	68415,24± 2857,10bc	67544,71± 2581,70d	69756,99± 2485,86e	***
		4 °C	72932,75± 2012,27a	71224,73± 4140,15b	71147,50± 2459,91c	65327,90± 1342,24d	69349,99± 1389,78e	***
(C)	Karanlık	25 °C	76955,49± 3292,72a	72341,69± 3081,67b	70234,90± 1211,18bc	70787,98± 1806,67cd	74406,06± 1632,12e	***
		4 °C	75923,48± 2996,89a	70853,02± 2241,14b	73254,72± 3551,65bc **	70688,59± 2029,69cd	72367,98± 2459,94e	***
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)								
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.								

3.1.2.3. Sıcaklığın E Vitaminine Etkileri

E vitaminine ait değişimi (Çizelge 3.6.) mg üzerinden hesaplanarak zamana göre değişim analiz edildiğinde ise A firmasının açık spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde E vitamini %10,66 oranında değişim gösterdiği tespit edildi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 52,02±2,33 mg, 50,42±2,78 mg, 49,05±1,63 mg, 46,47±1,46 mg, 47,74±1,10 mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %11,49 oranında değişim gözlemlendi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 52,30±1,59 mg, 51,74±1,94 mg, 48,15±2,18 mg, 46,29±0,85 mg, 47,84±1,19 mg şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ilaçlardaki E vitaminin 25°C’deki 7. ve 28. günlerde değişimleri anlamlı (p<0,001) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki E vitamini değişimi 7. 14. ve 28. günlerde (p<0,001) düzeyinde anlamlı bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler (Şekil 3.16.) kıyaslandığı zaman

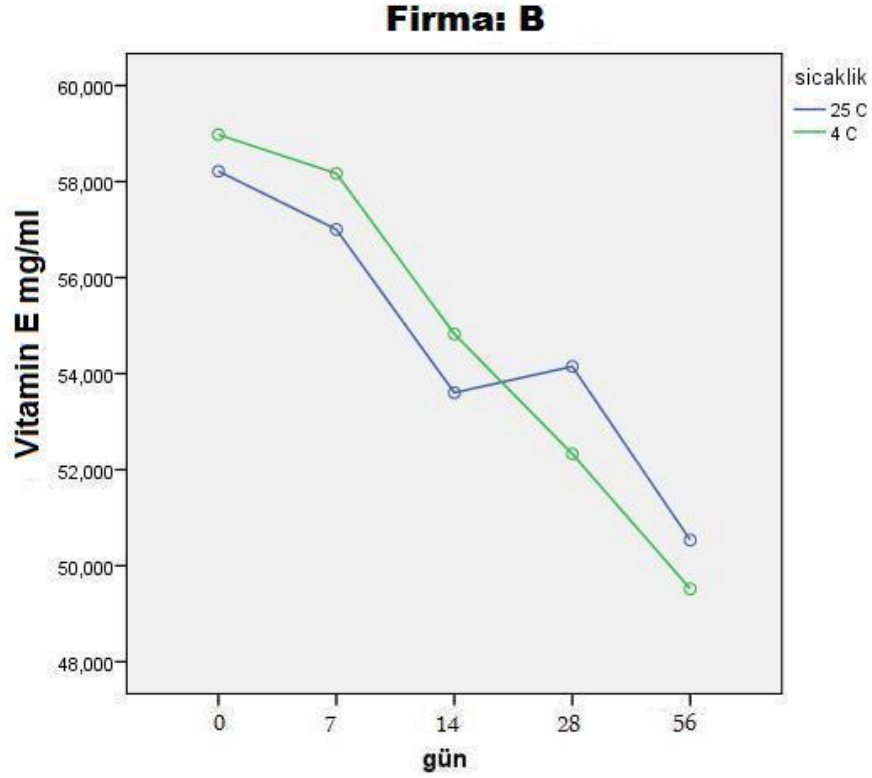
($p>0,05$) düzeyinde anlamlı olarak bulunmadı.



Şekil 3.16. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri mg.

E vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde açık spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %12,75 oranında değişim görüldü. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 58,94±1,50 mg, 58,09±2,95 mg, 52,87±0,76 mg, 56,29±4,13 mg, 51,42±0,42 mg şeklinde gerçekleşti. B firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %16,03 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 58,98±2,67 mg, 58,17±3,60 mg, 54,83±0,84 mg, 52,33±0,99 mg, 49,52±2,15 mg şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirmede ilaçlardaki E vitamininin 25°C’deki sadece 14. günde değişimi anlamlı ($p<0,001$) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki E vitamini değişimi 14. ve 28. günlerde ($p<0,05$)

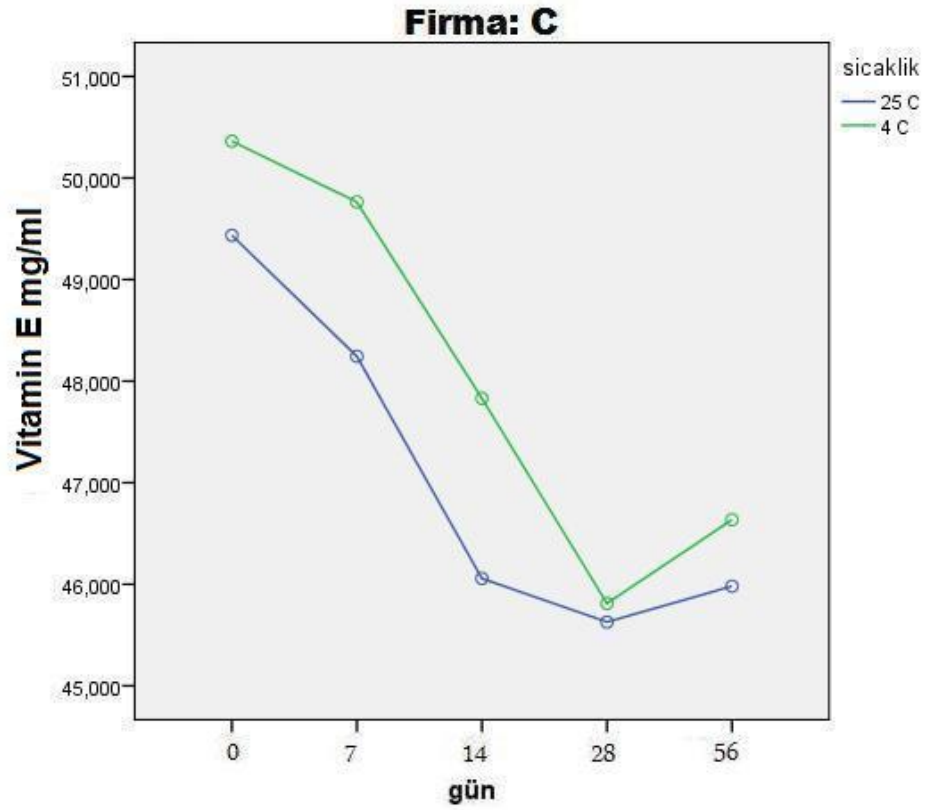
düzeyinde anlamlı bulundu. 4°C ve 25°C sıcaklıklarda bekletilen ilaçlar arasındaki (Şekil 3.17.) değişim 14. ve 28. günlerde fark ($p<0,05$) düzeyinde anlamlıdır. B firmasına ait vitamin kombinasyonunda 4°C’de bekletilmesi ile 25°C’de bekletilmesi arasında ($p<0,01$) düzeyinde anlamlı olduğu tespit edildi.



Şekil 3.17. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (mg).

E vitaminin etkin madde miktarı C firmasının açık spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %8,71 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 50,01±1,02 mg, 48,81±1,49 mg, 46,30±0,69 mg, 45,65±0,70 mg, 46,37±2,21 mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık C firmasının açık spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %9,03 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 50,36±0,58 mg, 49,76±0,41 mg, 47,83±0,37 mg, 45,81±0,33 mg, 46,64±0,29 mg

şeklinde gerçekleşti. İstatistiksel değerlendirme ile ilaçlardaki E vitaminin 25°C'deki 7. ve 14. günlerde değişimleri anlamlı ($p<0,001$) iken, 4°C sıcaklıkta bekletilen ilaçlardaki E vitamini değişimi 14. ve 28. günlerde anlamlı ($p<0,001$) olarak bulundu. 25°C ve 4°C sıcaklıktaki değişimler (Şekil 3.18.) kıyaslandığı zaman ($p>0,05$) düzeyinde anlamlı olarak bulunmadı.



Şekil 3.18. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (mg).

Çizelge 3.6. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Ortam (Sabit)	Sıcaklık Etkisi	x ±sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	P
(A)	Karanlık	25 °C	52,02±2,3 3 ^a	50,42±2,7 8 ^b	49,05±1,6 3 ^{bc}	46,47±1,4 7 ^d	47,74±1,1 0 ^{ed}	***
		4 °C	52,30±1,5 9 ^a	51,74±1,9 4 ^b	48,15±2,1 8 ^c	46,29±0,8 5 ^d	47,84±1,1 9 ^{ed}	***
(B)	Karanlık	25 °C	58,94±1,5 0 ^a	58,09±2,9 5 ^{ab}	52,87±0,7 6 ^c	56,29±4,1 3 ^{bd}	51,42±0,4 2 ^{ed}	***
		4 °C	58,98±2,6 7 ^a	58,17±3,6 0 ^{ab}	54,83±0,8 4 ^{c*}	52,33±0,9 9 ^{cd*}	49,52±2,1 5 ^e	***
(C)	Karanlık	25 °C	50,01±1,0 2 ^a	48,81±1,4 9 ^b	46,30±0,6 9 ^c	45,65±0,7 1 ^{cd}	46,37±2,2 1 ^{ec}	***
		4 °C	50,36±0,5 8 ^a	49,76±0,4 1 ^{ab}	47,83±0,3 7 ^c	45,81±0,3 3 ^d	46,64±0,2 9 ^{ed}	***
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.(p<0,001)								
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.								

Sıcaklığın A, D₃, E vitaminleri üzerindeki etkisi analiz edildiğinde; sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde, etkin maddenin zamana göre % oransal değişimin en fazla E vitamininde olduğu tespit edildi. Bununla birlikte 4°C’de bekletilen E vitaminin etkin madde düzeyindeki değişimin 25°C’lik ortamda bekletilene oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Ayrıca B firmasındaki etkin madde düzeyindeki değişimin diğer firmalara oranla daha fazla olduğu gözlemlendi.

A vitaminin 4°C ve 25°C’de bekletilerek analiz edilmesi sonucunda, etkin madde düzeyinde % oransal olarak en az etkilenen vitamin olduğu tespit edildi. Ayrıca 4°C (buzdolabında) bekletilen vitamin A’nın etkin madde düzeyi değişimi % oransal olarak 25°C’lik ortamda bekletilene oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Firmalar arasındaki A vitaminin % oransal değişimi analiz edildiğinde C firmasında değişimin A ve B firmalarına oranla daha fazla olduğu tespit edildi.

D₃ vitamin 2 farklı ortamda bekletilmesiyle birlikte zamana göre değişimlerin

istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiş olup % oransal değişiminin vitamin A ya oranla daha fazla ancak vitamin E'ye oranla daha az olduğu tespit edildi. Bunun yanı sıra 4°C (buzdolabında) bekletilenlerinde 25°C bekletilene oranla etkin madde düzeyindeki değişimin daha fazla olduğu tespit edildi. Ayrıca A firmasının 4°C (buzdolabında) bekletilenlerinde vitamin D₃ 'un etkin madde düzeyindeki değişimin B ve C firmalarına oranla daha fazla olduğu görüldü.

3.2. Kapalı Spesiyalitelerdeki Çalışmalar

3.2.1. Sabit Sıcaklıkta Işığın Etkisinin Araştırılması

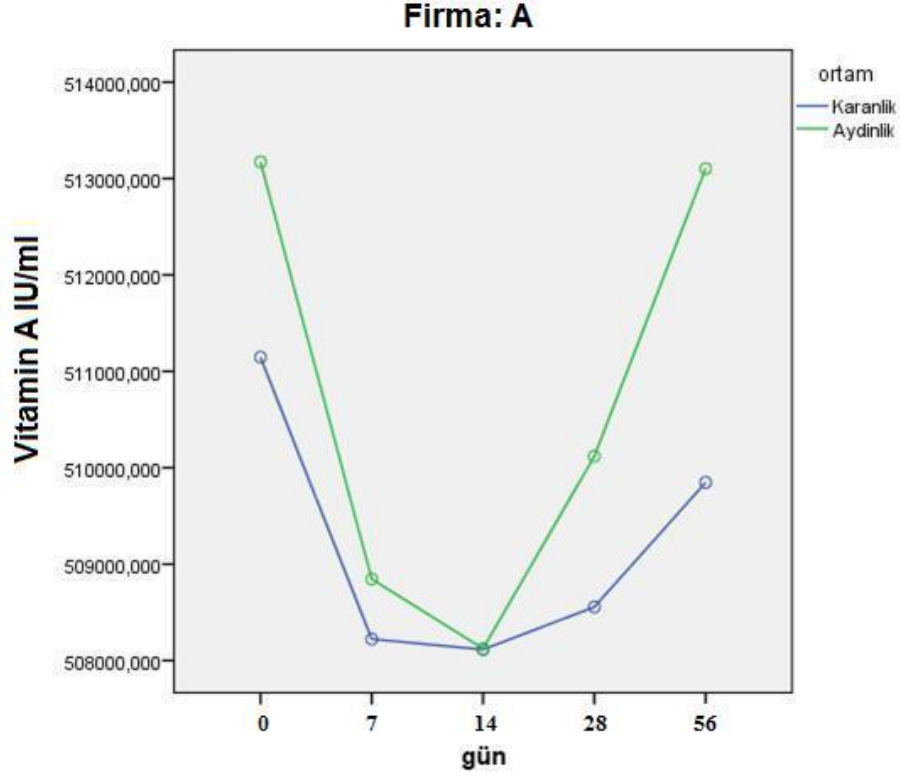
Kapalı spesiyalitelerdeki çalışmada ise, önceden belirli bir süre kapalı halde, karanlıkta ve aydınlıkta oda sıcaklığında ayrıca +4°C'de buzdolabında bekletilen, 3ayrı firmadan alınan ve her firmaya ait 3 farklı seri numarasına sahip spesiyalitelerinin ilk 3'er numuneleri Sıfırıncı (0.) gün ile birlikte açılarak her bir ortam için analizi gerçekleştirildi. Kalan ürünler oda sıcaklığında karanlıkta, aydınlıkta ve +4°C'de buzdolabında bekletilmeye devam edildi. Aynı firmaya ait diğer ürünlerde rastgele seçilerek 7. günde, 14. gün, 28. gün ve 56. günde açılarak analizleri gerçekleştirildi.

Kapalı spesiyalitelerden elde edilen sonuçlar 2 ayrı başlık altında analiz edildi. İlk olarak sabit sıcaklıktaki ortamda, ışığın etkisinin analiz edilmesi oldu. Bu değerlendirme sırasında oda sıcaklığında bekletilen ürünün ışığa maruz kalan ve karanlıkta (kutusunda) bekletilen durumlarının direkt ışığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi analiz edildi. Diğer durumda ise karanlık ortamda sıcaklığın etkisinin analiz edilmesi oldu. Bu değerlendirme sırasında ise oda sıcaklığında karanlıkta (kutusunda) bekletilen ve +4°C'de karanlıkta (buzdolabında) bekletilen ürünlerde sıcaklığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi analiz edildi.

3.2.1.1. Işığın A Vitaminine Etkileri

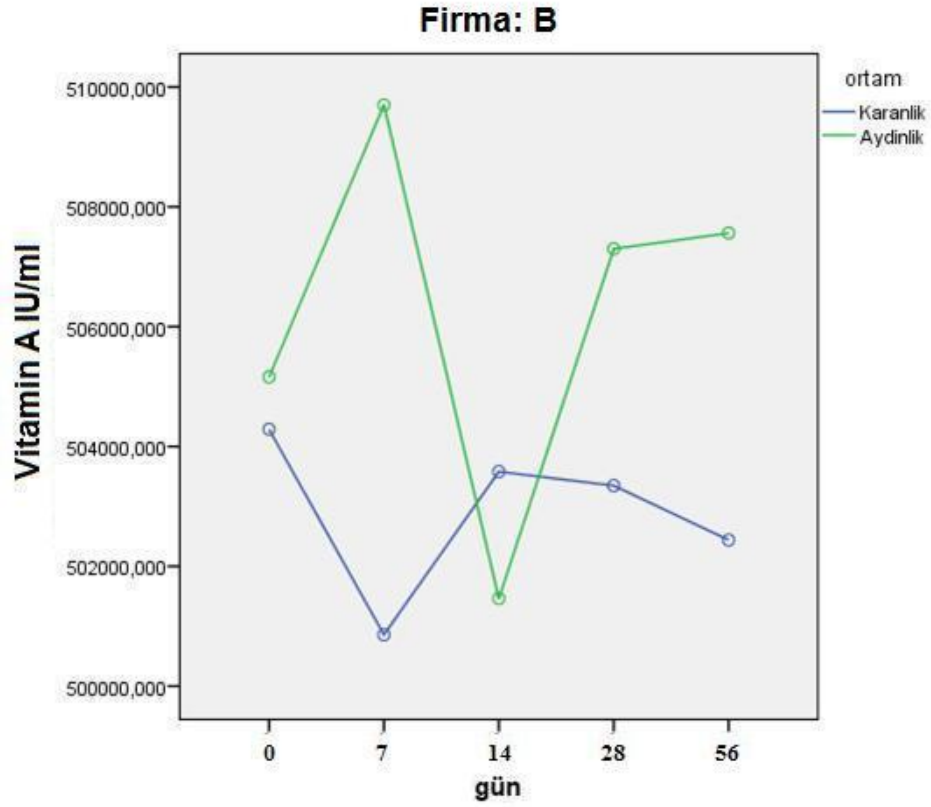
Kapalı spesiyalitelerde A vitaminindeki değişimleri (Çizelge 3.7.) analiz edildiği çalışmada 25°C’de karanlık (kutusunda) ve 25°C’de aydınlık (gün ışığına maruz kalarak) ortamda bekletilerek 0. gün, 7. gün, 14. gün, 28. gün ve 56. günde tekrarlanan ölçümlerle etken madde düzeylerinin 0. gündeki değerine göre kıyaslaması yapıldı ve değişimler IU olarak hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi.

Bu kapsamda A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,92 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 510796,19±7411,44 IU, 507804,24±3843,06 IU, 505993,45±5491,39 IU, 506081,88±5647,28 IU, 510373,56±6390,53 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %0,98 oranında değişim (Şekil 3.19.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 513172,85±10080,7 IU, 508845,50±9835,33 IU, 508124,06±6747,92 IU, 510118,63±8826,41 IU, 513102,32±7145,70 IU şeklinde gerçekleşti.



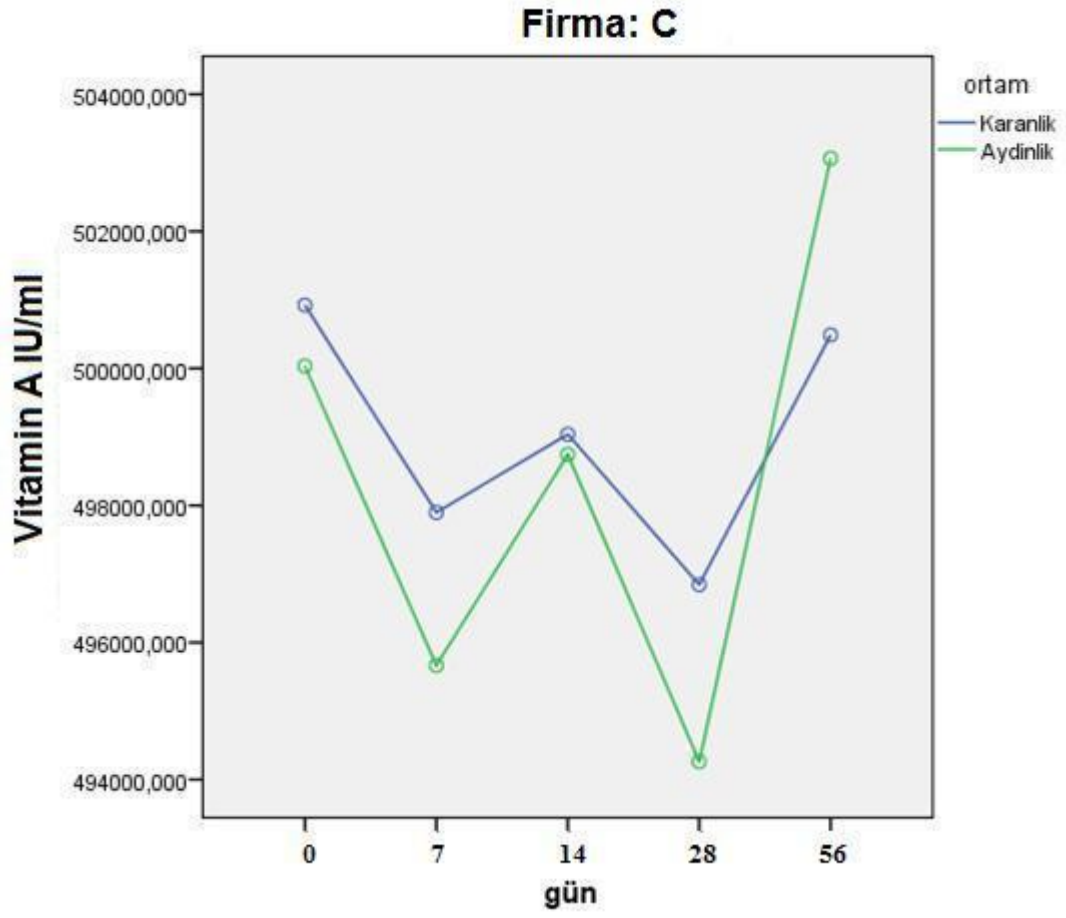
Şekil 3.19. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU).

B firmasına ait kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,54 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında $504924,00 \pm 5276,79$ IU, $502199,34 \pm 6545,53$ IU, $503974,66 \pm 6359,67$ IU, $504163,45 \pm 5374,37$ IU, $502959,77 \pm 5049,46$ IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %0,73 oranında değişim (Şekil 3.20.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $505159,20 \pm 9427,07$ IU, $509702,33 \pm 11926,70$ IU, $501462,55 \pm 7502,87$ IU, $507298,9 \pm 6547,52$ IU, $507561,83 \pm 6883,01$ IU, şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3.20. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU).

Sonuncu firma olan C firmasına ait kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %1,41 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 502839,30±7936,05 IU, 500296,03±9059,88 IU, 495945,97±8534,22 IU, 495752,73±4831,79 IU, 502840,22±6616,52 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %1,15 oranında değişim (Şekil 3.21.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 500034,034±3290,11 IU, 495665,39±5291,00 IU, 498742,86±7423,05 IU, 494261,02±6362,17 IU, 503063,13±9115,72 IU, şeklinde gerçekleşti.



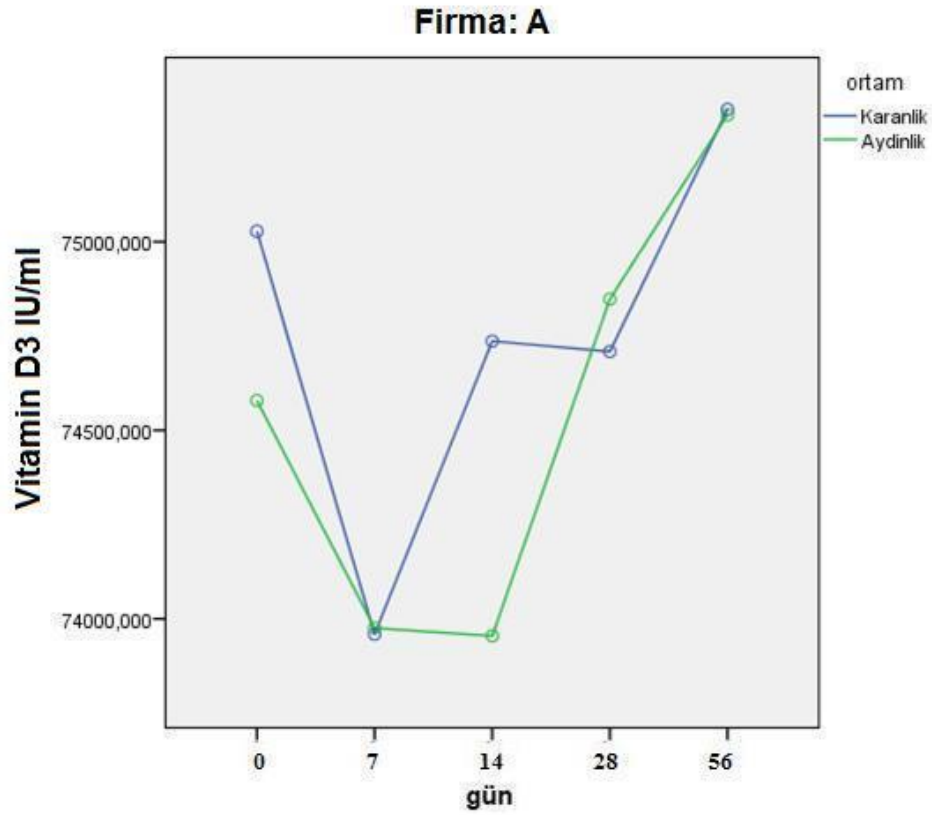
Şekil 3.21. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU).

Çizelge 3.7. Oda sıcaklığında 25°C'de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün
Firma	Sıcaklık (Sabit)	Ortam (Işığın Etkisi)	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd
(A)	25 °C	Aydınlık	513172,85± 10080,70 ^{a***}	508845,50± 9835,33 ^b	508124,06± 6747,92 ^b	510118,63± 8826,41 ^{ab}	513102,32± 7145,70 ^{a***}
		Karanlık	510796,19± 7411,44 ^a	507804,24± 3843,06 ^b	505993,45± 5491,39 ^c	506081,88± 5647,28 ^{bd***}	510373,56± 6390,53 ^a
(B)	25 °C	Aydınlık	505159,20± 9427,07 ^a	509702,33± 11926,70 ^b **	501462,55± 7502,87 ^{c*}	507298,9±6 547,52 ^{bd**}	507561,83± 6883,01 ^d
		Karanlık	504924,00± 5276,79 ^a	502199,34± 6545,53 ^{bc}	503974,66± 6359,67 ^{bc}	504163,45± 5374,37 ^a	502959,77± 5049,46 ^{cd}
(C)	25 °C	Aydınlık	500034,034 ±3290,11 ^a	495665,39± 5291,00 ^b	498742,86± 7423,05 ^c	494261,02± 6362,17 ^{b*}	503063,13± 9115,72 ^d
		Karanlık	502839,30± 7936,05 ^a	500296,03± 9059,88 ^b	495945,97± 8534,22 ^{c*}	495752,73± 4831,79 ^c	502840,22± 6616,52 ^a
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)							
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.							

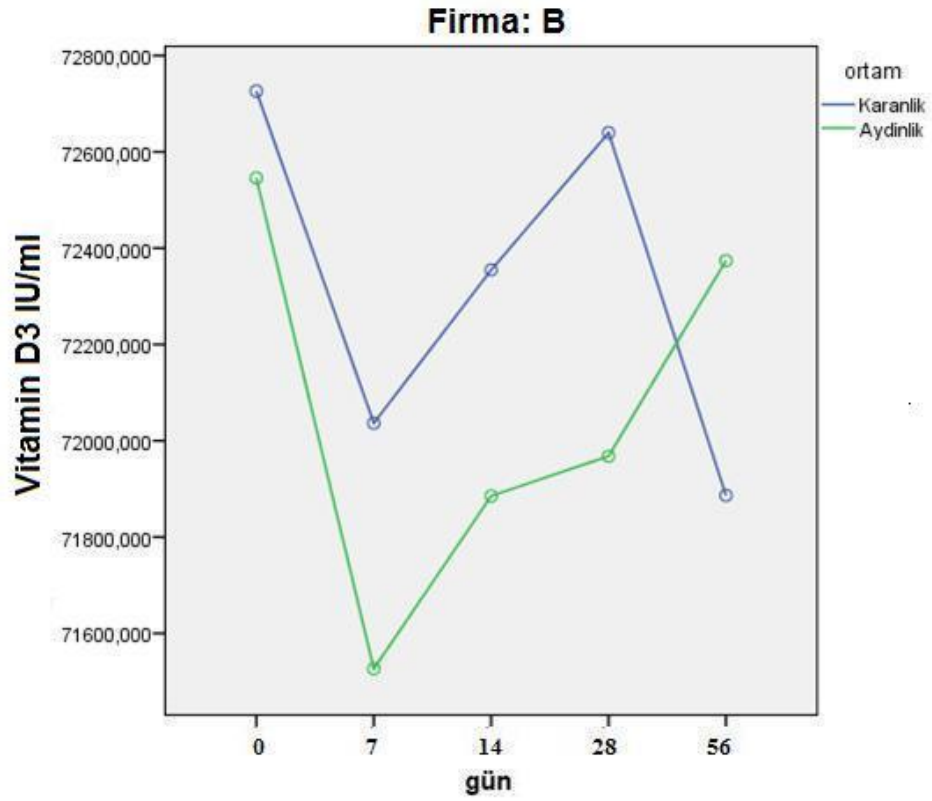
3.2.1.2. Işığın D Vitaminine Etkileri

Aynı çalışmanın D₃ vitaminler üzerinde değişimin (Çizelge 3.8.) IU olarak hesaplandı ve zamana göre analiz edildiğinde ise A firmasının kapalı spesiyaliterlerinin 25°C'de karanlıkta bekletilenlerinde D₃ vitamini %1,5 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 75129,49±1084,81 IU, 74152,00±1343,05 IU, 73998,93±1156,6 IU, 74285,83±689,15 IU, 75637,00±1127,93 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının kapalı spesiyaliterlerinin 25°C'de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %0,84 oranında değişim (Şekil 3.22.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 74578,96±3149,92 IU, 73975,33±2183,81 IU, 73954,61±2451,25 IU, 74847,95±2884,03 IU, 75336,72±3467,34 IU şeklinde gerçekleşti.



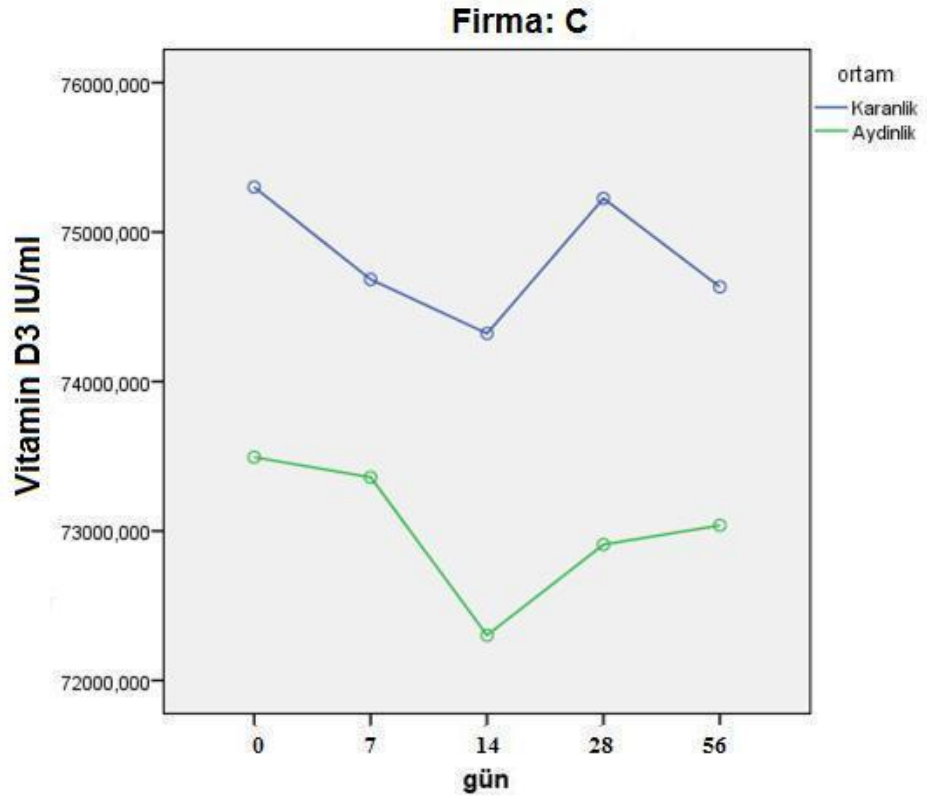
Şekil 3.22. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU).

D₃ vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %1,31 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 72425,81±701,51 IU, 71544,63±1082,14 IU, 71477,79±1022,28 IU, 72590,98±1474,54 IU, 71729,88±605,81 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %1,41 oranında değişim (Şekil 3.23.) gözlemlendi. 0. güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 72545,75±1006,00 IU, 71526,47±942,19 IU, 71885,25±786,57 IU, 71968,03±782,5314 IU, 72374,21±1113,37 IU şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3.23. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU).

D₃ vitaminin etkin madde miktarı C firmasının kapalı spesiyalitelerinde 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %1,56 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 75514,05±1958,87 IU, 75103,41±2049,50 IU, 74337,09±1824,40 IU, 75600,77±1513,24 IU, 74778,58±1816,22 IU şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %1,62 oranında değişim (Şekil 3.24.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 73493,52±1589,83 IU, 73359,71±1850,69 IU, 72302,16±1925,18 IU, 72909,34±1663,20 IU, 73037,94±1773,22 IU şeklinde gerçekleşti.



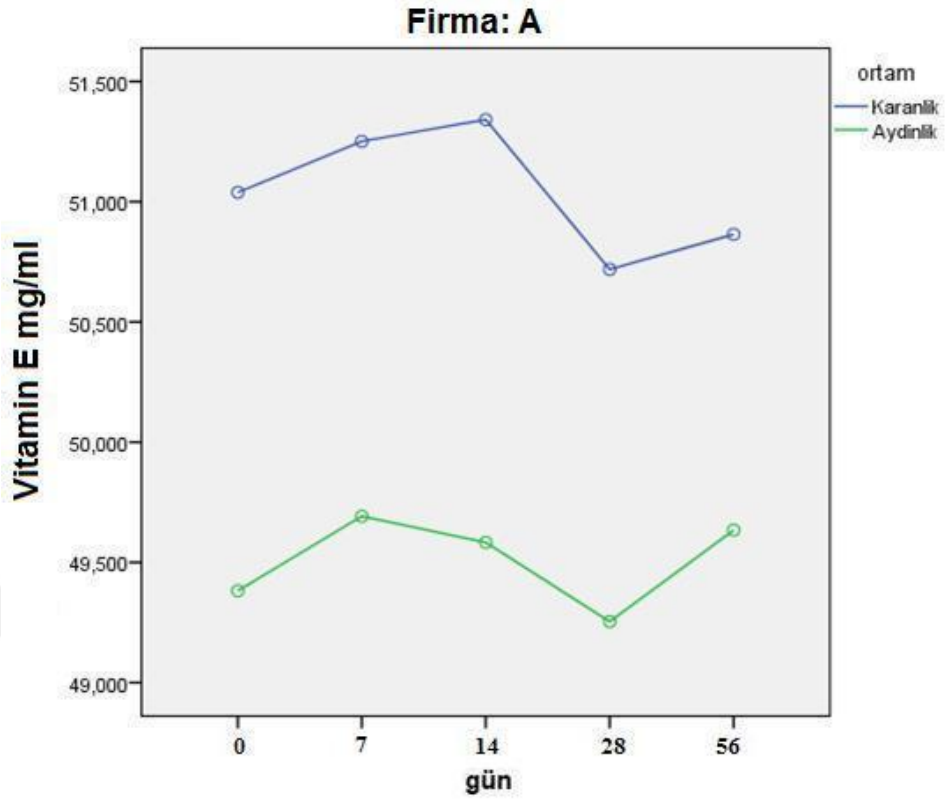
Şekil 3.24. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU).

Çizelge 3.8. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün
Firma	Sıcaklık (Sabit)	Ortam (Işığın Etkisi)	x ±sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd
(A)	25°C	Aydınlık	74578,96±3149,92 ^{a**}	73975,33±2183,81 ^b	73954,61±2451,25 ^b	74847,95±2884,03 ^a	75336,72±3467,34 ^d
		Karanlık	75129,49±1084,81 ^a	74152,00±1343,05 ^{b*}	73998,93±1156,60 ^{bc}	74285,83±689,15 ^{d**}	75637,00±1127,93 ^{**}
(B)	25°C	Aydınlık	72545,75±1006,00 ^a	71526,47±942,19 ^b	71885,25±786,57 ^{c**}	71968,03±782,5314 ^{c**}	72374,21±1113,37 ^{cd} ***
		Karanlık	72425,81±701,51 ^a	71544,63±1082,14 ^b	71477,79±1022,28 ^b	72590,98±1474,54 ^a	71729,88±605,81 ^{bc}
(C)	25°C	Aydınlık	73493,52±1589,83 ^a	73359,71±1850,69 ^b	72302,16±1925,18 ^{b***}	72909,34±1663,20 ^c	73037,94±1773,22 ^d
		Karanlık	75514,05±1958,87 ^a	75103,41±2049,50 ^b	74337,09±1824,40 ^c	75600,77±1513,24 ^{a***}	74778,58±1816,22 ^d
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)							
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.							

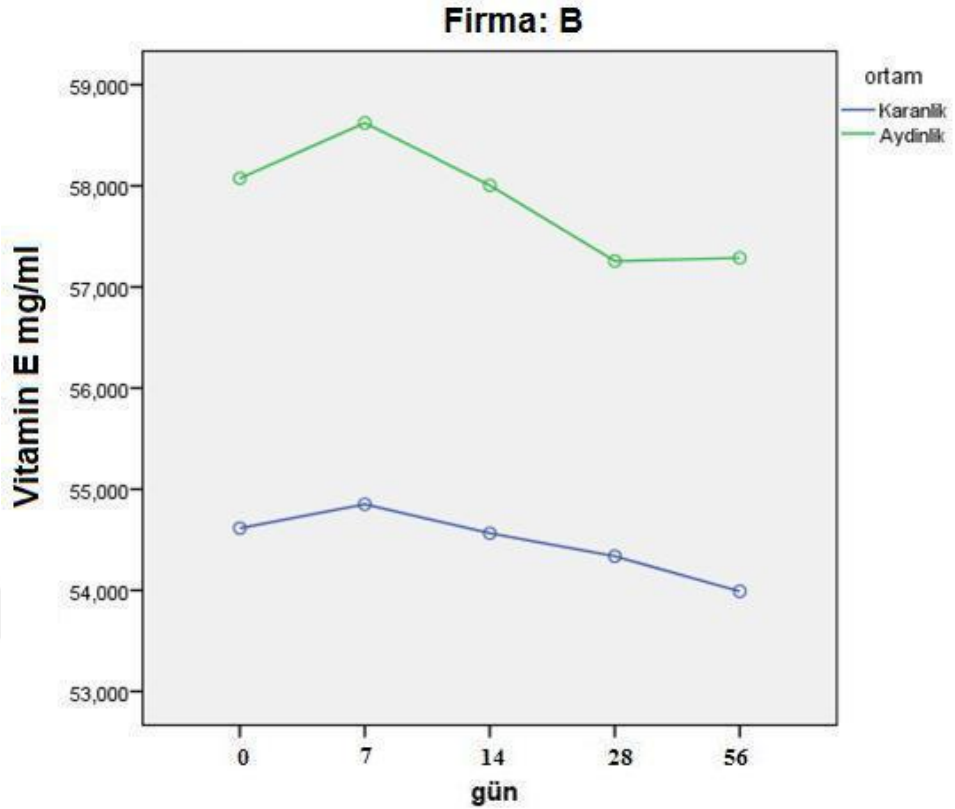
3.2.1.3. Işığın E Vitaminine Etkileri

E vitaminine ait değişimi (Çizelge 3.9.) mg üzerinden hesaplandı ve zamana göre değişim analiz edildiğinde ise A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde E vitamini %0,43 oranında değişim gösterdi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 51,30±2,20 mg, 51,406±2,17 mg, 51,80±2,02 mg, 51,486±2,36 mg, 51,08±2,1 mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %0,26 oranında değişim (Şekil 3.25.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 49,38±0,95 mg, 49,69±0,85 mg, 49,588±0,43 mg, 49,25±0,50 mg, 49,63±1,14 mg şeklinde gerçekleşti.



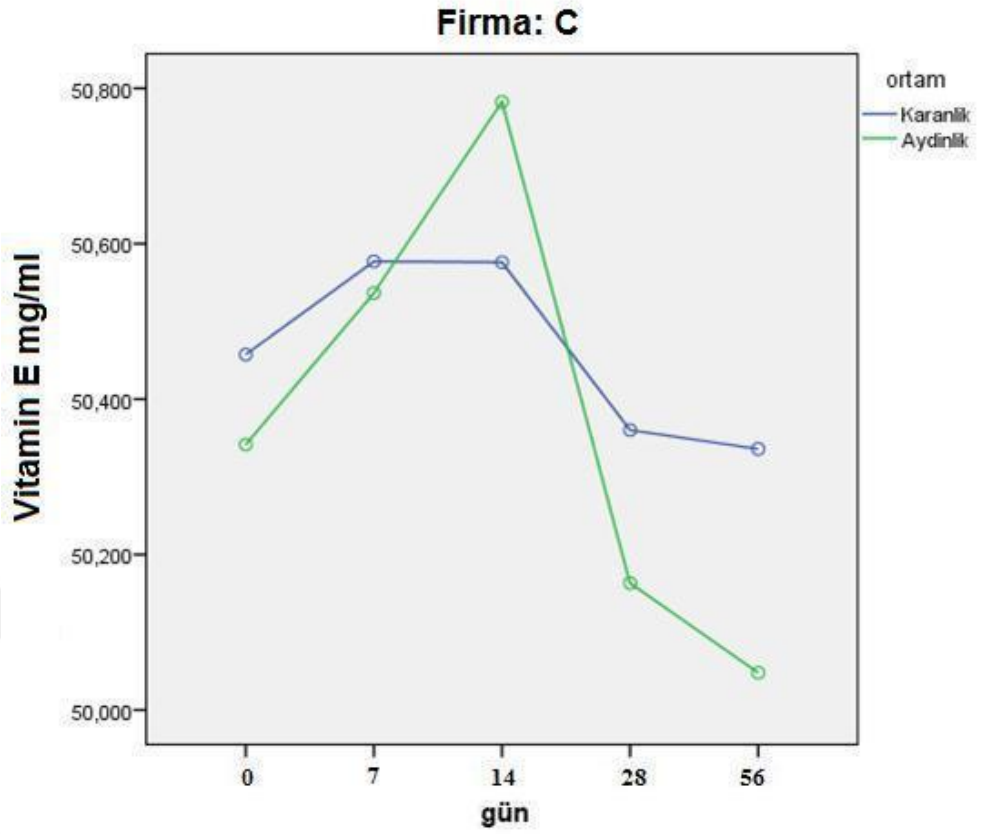
Şekil 3.25. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (mg).

E vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,75 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında $50,71 \pm 0,88$ mg, $50,58 \pm 1,36$ mg, $50,801 \pm 0,82$ mg, $50,38 \pm 0,64$ mg, $50,33 \pm 1,00$ mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %1,39 oranında değişim (Şekil 3.26.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $58,07 \pm 0,92$ mg, $58,62 \pm 0,91$ mg, $58,01 \pm 1,19$ mg, $57,26 \pm 0,81$ mg, $57,28 \pm 1,02$ mg şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3.26. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (mg).

E vitaminin etkin madde miktarı C firmasının kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,54 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 52,183±0,86 mg, 52,14±0,77 mg, 52,12±0,72 mg, 52,02±0,58 mg, 51,90±0,82 mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de aydınlıkta (gün ışığına maruz kalarak) bekletilenlerinde %0,58 oranında değişim (Şekil 3.27.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 50,34±1,55 mg, 50,54±1,48 mg, 50,78±1,13 mg, 50,16±1,65 mg, 50,05±1,46 mg şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3.27. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (mg).

Çizelge 3.9. Oda sıcaklığında 25°C’de aydınlık ve karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Sıcaklık (Sabit)	Ortam (Işığın Etkisi)	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	P
(A)	25°C	Aydınlık	49,38±0,95 ^a *	49,69±0,85 ^b *	49,588±0,43 ^{c*}	49,25±0,50 ^{ad*}	49,63±1,14 ^{b*}	**
		Karanlık	51,30 ±2,20 ^a	51,406±2,17 ^b	51,80±2,02 ^c	51,486±2,36 ^d	51,08±2,10 ^a	*
(B)	25°C	Aydınlık	58,07±0,92 ^a ***	58,62±0,91 ^b ***	58,01±1,11 ^a ***	57,26±0,81 ^c ***	57,28±1,02 ^c ***	**
		Karanlık	50,71±0,88 ^a	50,58±1,36 ^b	50,801 ±0,82 ^c	50,38±0,64 ^d	50,33±1,00 ^d	*
(C)	25°C	Aydınlık	50,34±1,55 ^a *	50,54±1,48 ^b *	50,78±1,13 ^{c*}	50,16±1,65 ^{d*}	50,05±1,46 ^e	*
		Karanlık	52,18 ±0,86 ^a	52,14±0,77 ^b	52,12±0,72 ^{ab}	52,02±0,58 ^c	51,9±0,82 ^d	*
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)								
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.								

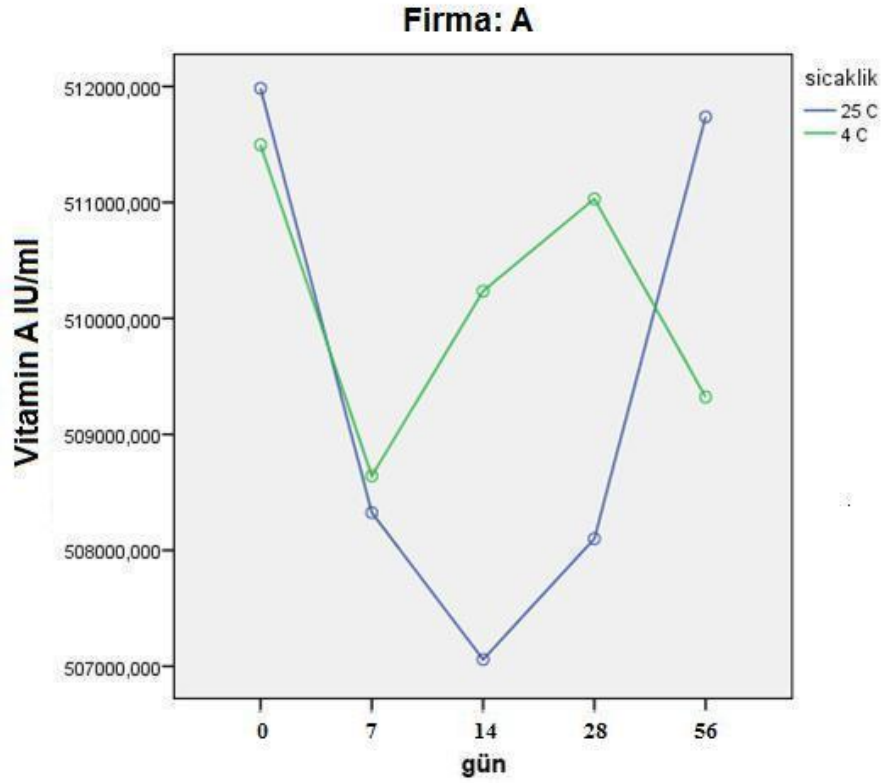
Işığın (bekletilme ortamının) A, D₃ ve E vitaminleri üzerindeki etkisinin etkin madde düzeyindeki değişimini analiz ettiğimizde; ışıktaki ve karanlıkta bekletilen ilaçların A, D₃ ve E vitaminlerinin etkin madde düzeylerinin zamana göre değişiminin, açık spesiyalitelere A, D₃ ve E vitaminlerinin etkin madde düzeyindeki değişimine oranla çok az olduğu ve kapalı şişesinde bekletilen ilaçlardaki A, D₃ ve E vitaminlerinin etkin madde düzeyini neredeyse koruduğu tespit edildi.

3.2.2. Sıcaklığın Etkisinin Araştırılması

3.2.2.1. Sıcaklığın A Vitaminine Etkileri

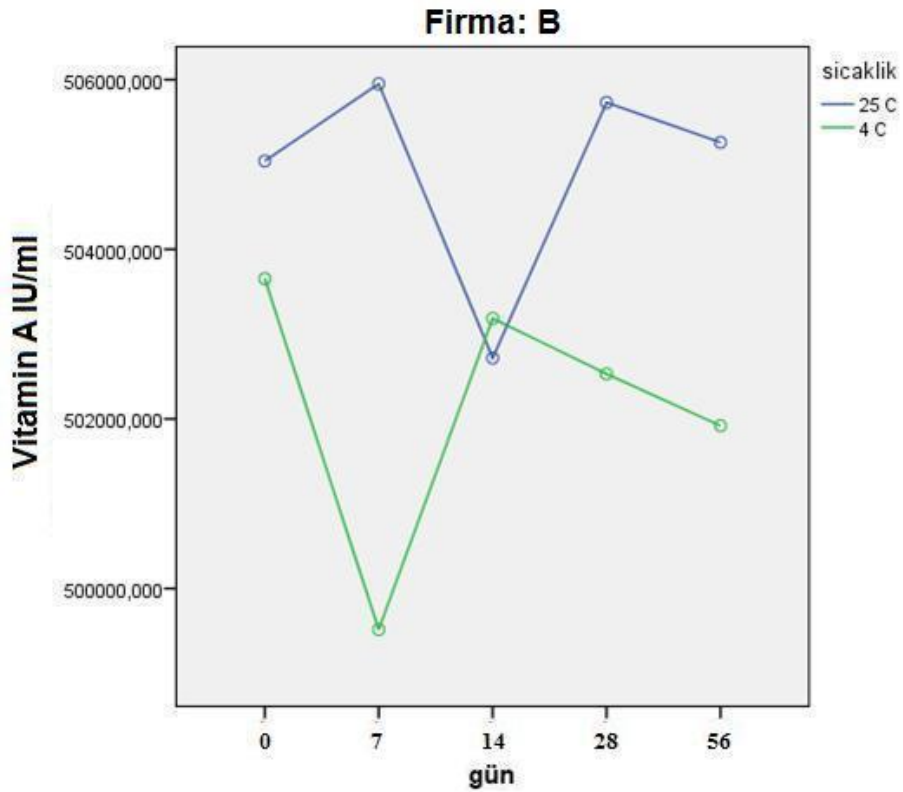
Sıcaklığın vitaminler üzerindeki etkisini değerlendirdiğimiz bu çalışmada A vitaminindeki değişimleri 25°C’de karanlık (kutusunda) ve 4°C’de karanlık (buzdolabında) ortamda bekletilerek 0. gün, 7. gün, 14. gün, 28. gün ve 56. günde tekrarlanan ölçümlerle etkin madde düzeylerinin 0. günde değerine göre

kıyaslaması yapıldı ve değişimler (Çizelge 3.10.) IU olarak hesaplandı ve istatistiksel olarak değerlendirildi. Bu kapsamda A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,94 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırinci (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 510796,19±7411,44 IU, 507804,24±3843,06 IU, 505993,45±5491,39 IU, 506081,88±5647,28 IU, 510373,56±6390,53 IU, şeklinde gerçekleştiği görüldü. Buna karşılık A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) ortamda bekletilenlerinde %0,56 oranında değişim (Şekil 3.28.) gözlemlendi. Sıfırinci (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 511497,27±s6981,96 IU, 508640,83±10239,34 IU, 510235,33±7734,12 IU, 511030,57±6654,05 IU, 509321,9±5488,94 IU şeklinde gerçekleşti.



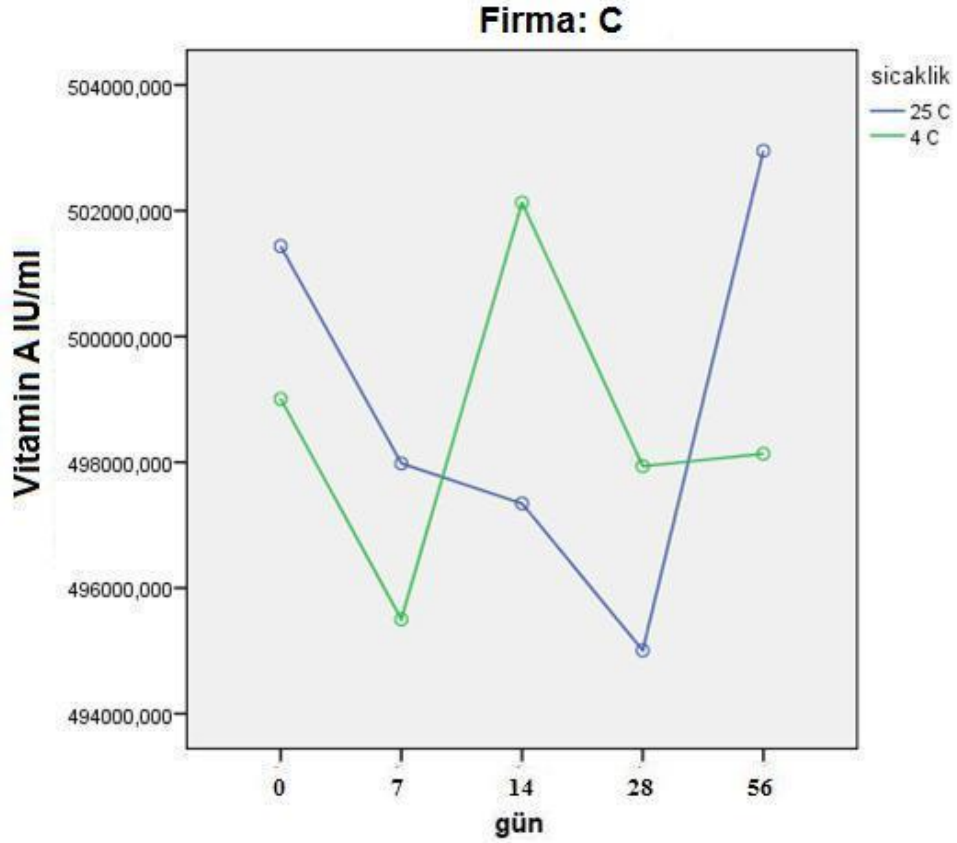
Şekil 3.28. 25°C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU).

B firmasına ait kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,54 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 504924,00±5276,79 IU, 502199,34±6545,53 IU, 503974,66±6359,67 IU, 504163,45±5374,37 IU, 502959,77±5049,46 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) ortamda bekletilenlerinde %0,82 oranında değişim (Şekil 3.29.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 503653,03±7939,07 IU, 499515,57±11303,99 IU, 503185,43±5957,52 IU, 502530,57±8267,75 IU, 501918,72±6836,18 IU, şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3.29. 25°C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU).

C firmasına ait kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %1,41 502839,30±7936,05 IU, 500296,03±9059,88 IU, 495945,97±8534,22 IU, 495752,73±4831,79 IU, 502840,22±6616,52 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %0,7 oranında değişim (Şekil 3.30.) gözlemlendi. Sıfırinci (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 499008,57±3269,73 IU, 495501,1±7507,52 IU, 502130,1±6941,95 IU, 497935,93±5656,62 IU, 498134,14±6347,52 IU şeklinde gerçekleşti.



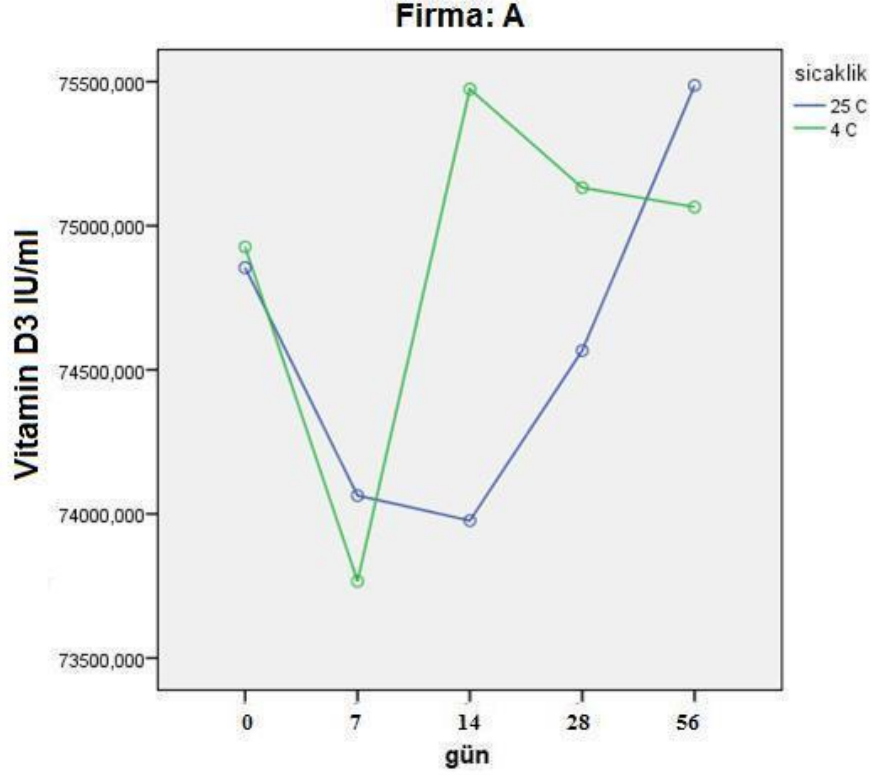
Şekil 3.30. 25°C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU).

Çizelge 3.10. 25°C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların A vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün
Firma	Ortam (Sabit)	Sıcaklık Etkisi	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd
(A)	Karanlık	25°C	510796,19± 7411,44 ^a	507804,24± 3843,06 ^b	505993,45± 5491,39 ^b c	506081,88± 5647,28 ^{cd**}	510373,56± 6390,53 ^{ab}
		4 °C	511497,27± s6981,96 ^a	508640,83± 10239,34 ^b	510235,33± 7734,12 ^{ac}	511030,57± 6654,05 ^{ac}	509321,9±5 488,94 ^b
(B)	Karanlık	25°C	504924,00± 5276,79 ^a	502199,34± 6545,53 ^{bc}	503974,66± 6359,67 ^{bc}	504163,45± 5374,37 ^a	502959,77± 5049,46 ^{cd}
		4 °C	503653,03± 7939,07 ^a	499515,57± 11303,99 ^{b*}	503185,43± 5957,52 ^a c	502530,57± 8267,75 ^{c*}	501918,72± 6836,18 ^d
(C)	Karanlık	25°C	502839,30± 7936,05 ^a	500296,03± 9059,88 ^b	495945,97± 8534,22 ^{bc}	495752,73± 4831,79 ^{bc}	502840,22± 6616,52 ^b
		4 °C	499008,57± 3269,73 ^a	495501,1±7 507,52 ^b	502130,1±6 941,95 ^{bc}	497935,93± 5656,62 ^{cd}	498134,14± 6347,52 ^d
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)							
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.							

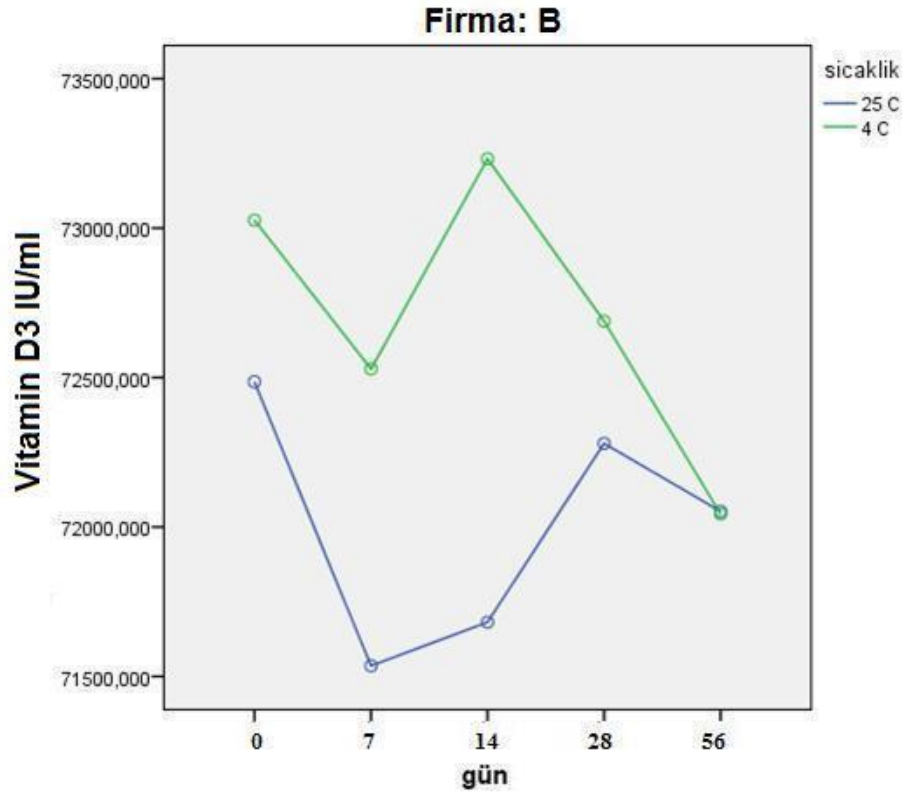
3.2.2.2. Sıcaklığın D Vitaminine Etkileri

Aynı çalışmada ilaçlardaki D₃ vitaminlerinin değişimi (Çizelge 3.11.) IU olarak hesaplandı ve zamana göre analiz edildiğinde ise A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde D₃ vitamini %1,5 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 75129,49±1084,81 IU, 74152,00±1343,05 IU, 73998,93±1156,60 IU, 74285,83±689,15 IU, 75637,00±1127,93 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %1,55 oranında değişim (Şekil 3.31.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 74926,3±2525,4 IU, 73766,58±1912,03 IU, 75474,16±2588,37 IU, 75131,73±2611,14 IU, 75064,74±2457,63 IU şeklinde gerçekleşti.



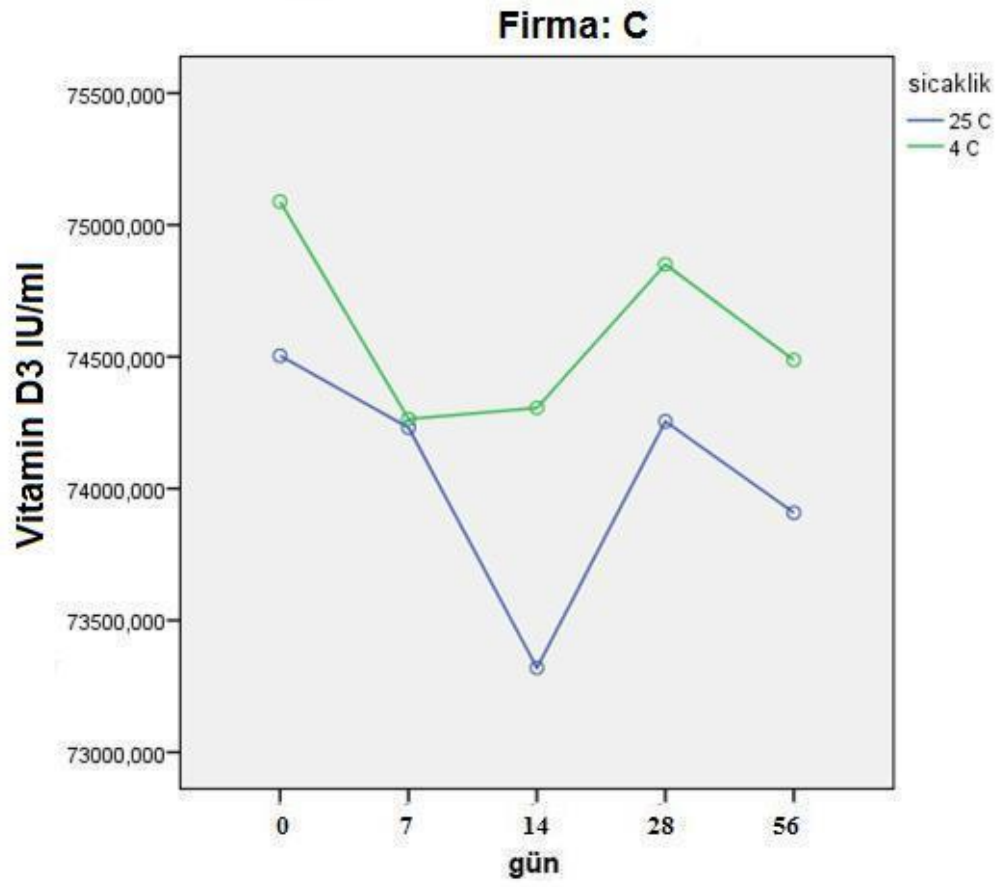
Şekil 3.31. 25 °C ve 4 °C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (IU).

D₃ vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %1,31 oranında değişim tespit edildi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 72425,81±701,51 IU, 71544,63±1082,14 IU, 71477,79±1022,28 IU, 72590,98±1474,54 IU, 71729,88±605,81 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %1,35 oranında değişim (Şekil 3.32.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 73026,52±1134,63 IU, 72528,58±1812,91 IU, 73231,83±1747,49 IU, 72688,61±1276,86 IU, 72042,99±698,51 IU, şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3.32. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (IU).

D₃ vitaminin etkin madde miktarı C firmasının kapalı spesiyalitelerinde 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %1,56 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırinci (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında 75514,05±1958,87 IU, 75103,41±2049,50 IU, 74337,09±1824,40 IU, 75600,77±1513,24 IU, 74778,58±1816,22 IU, şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %1,1 oranında değişim (Şekil 3.33.) gözlemlendi. Sıfırinci (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 75088,67±2435,16 IU, 74263,87±2481,29 IU, 74306,04±2195,32 IU, 74850,31±2830,58 IU, 74487,51±2395,05 IU, şeklinde gerçekleşti.



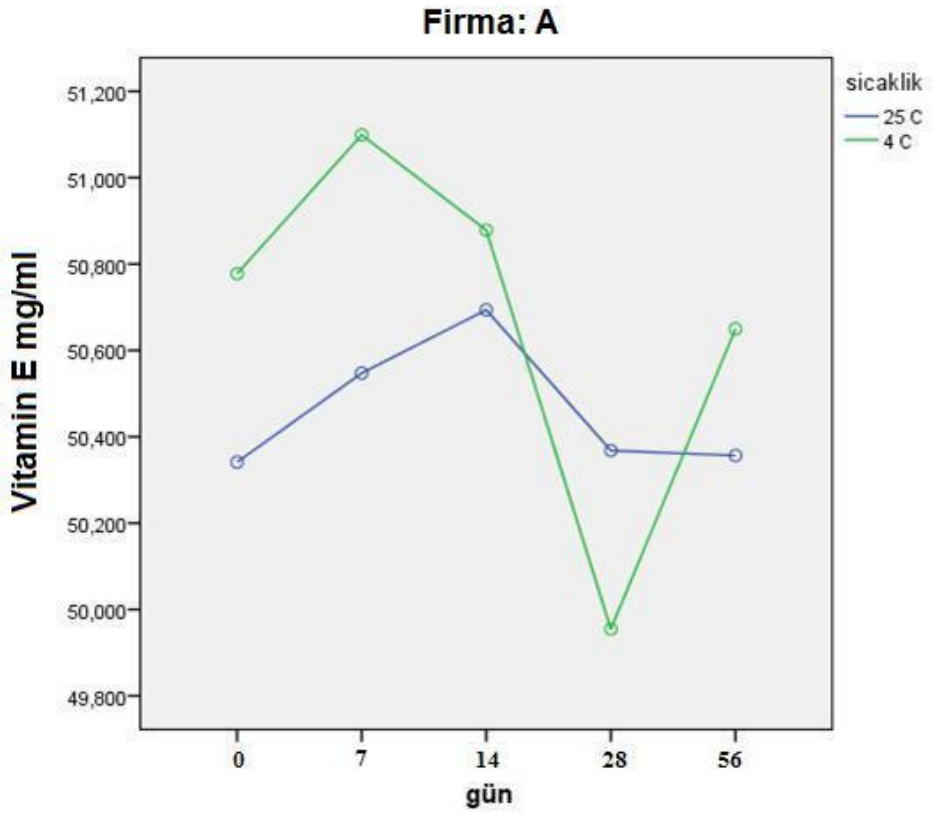
Şekil 3.33. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (IU).

Çizelge 3.11. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların D₃ vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (IU).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün
Firma	Ortam (Sabit)	Sıcaklık Etkisi	x ±sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd	x ± sd
(A)	Karanlık	25 °C	75129,49±10 84,81 ^a	74152,00±134 3,05 ^b	73998,93±115 6,60 ^c	74285,83±689, 15 ^b	75637,00±1127,9 3 ^d
		4 °C	74926,3±252 5,4 ^a	73766,58±191 2,03 ^b	75474,16±258 8,37 ^{c*}	75131,73±261 1,14 ^d	75064,74±2457,6 3 ^d
(B)	Karanlık	25 °C	72425,81±70 1,51 ^a	71544,63±108 2,14 ^b	71477,79±102 2,28 ^b	72590,98±147 4,54 ^a	71729,88±605,81 bd
		4 °C	73026,52±11 34,63 ^a	72528,58±181 2,91 ^b	73231,83±174 7,49 ^{ac*}	72688,61±127 6,86 ^b	72042,99±698,51 d
(C)	Karanlık	25 °C	75514,05±19 58,87 ^a	75103,41±204 9,50 ^b	74337,09±182 4,40 ^c	75600,77±151 3,24 ^{ad}	74778,58±1816,2 2 ^e
		4 °C	75088,67±24 35,16 ^a	74263,87±248 1,29 ^b	74306,04±219 5,32 ^b	74850,31±283 0,58 ^c	74487,51±2395,0 5 ^{cd}
a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)							
* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.							

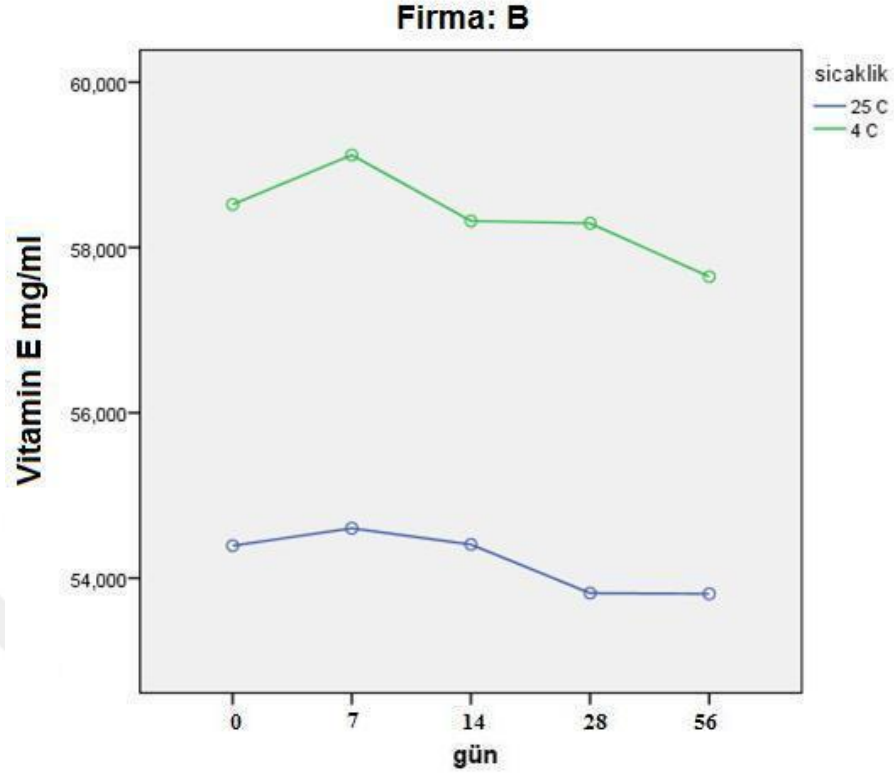
3.2.2.3. Sıcaklığın E Vitaminine Etkileri

E vitaminine ait değişimi (Çizelge 3.12.) mg üzerinden hesaplanarak zamana göre değişim analiz edildiğinde ise A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde E vitamini %0,43 oranında değişim gösterdiği tespit edildi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 51,30±2,20 mg, 51,406±2,17 mg, 51,80±2,02 mg, 51,486±2,36 mg, 51,08±2,10 mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık A firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %1,63 oranında değişim (Şekil 3.34.) gözlemlendi. Sıfıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre 50,78±0,45 mg, 51,10±0,71 mg, 50,888±0,70 mg, 49,95±0,36 mg, 50,65±0,76 mg şeklinde gerçekleşti.



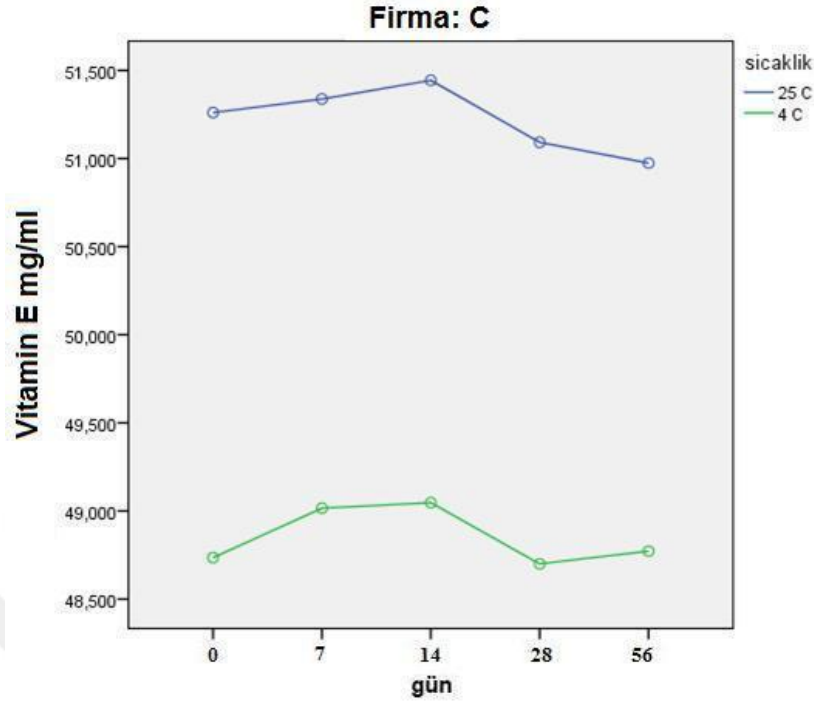
Şekil 3.34. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin A firmasına göre değişimleri (mg).

E vitaminleri B firmasında üzerinde değişimin zamana göre analiz edildiğinde kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,75 oranında değişim görüldü. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında $50,71 \pm 0,88$ mg, $50,58 \pm 1,36$ mg, $50,801 \pm 0,82$ mg, $50,38 \pm 0,64$ mg, $50,33 \pm 1,00$ mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık B firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %1,49 oranında değişim (Şekil 3.35.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $58,52 \pm 2,37$ mg, $59,12 \pm 2,419$ mg, $58,32 \pm 2,06$ mg, $58,30 \pm 1,64$ mg, $57,65 \pm 2,12$ mg şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3.35. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin B firmasına göre değişimleri (mg).

E vitaminin etkin madde miktarı C firmasının kapalı spesiyalitelerin 25°C’de karanlıkta bekletilenlerinde %0,54 oranında değişim gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre ele alındığında $52,183 \pm 0,86$ mg, $52,14 \pm 0,77$ mg, $52,12 \pm 0,72$ mg, $52,02 \pm 0,58$ mg, $51,90 \pm 0,82$ mg şeklinde gerçekleşti. Buna karşılık C firmasının kapalı spesiyalitelerinin 4°C’de karanlık (buzdolabında) bekletilenlerinde %0,08 oranında değişim (Şekil 3.36.) gözlemlendi. Sıfırıncı (0.) güne göre değişimler, ölçümlerin gerçekleştirildiği diğer günlere göre $48,74 \pm 1,92$ mg, $49,02 \pm 1,75$ mg, $49,053 \pm 1,63$ mg, $48,70 \pm 1,84$ mg, $48,77 \pm 1,46$ mg şeklinde gerçekleşti.



Şekil 3. 36. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin C firmasına göre değişimleri (mg).

Çizelge 3.12. 25°C ve 4°C Karanlık şartlarda muhafaza edilen ilaçların E vitamini miktarlarının zamana bağlı etkin madde düzeylerinin firmalara göre değişimleri (mg).

			0. Gün	7. Gün	14. Gün	28. Gün	56. Gün	
Firma	Ortam (Sabit)	Sıcaklık Etkisi	$\bar{x} \pm \text{sd}$	$\bar{x} \pm \text{sd}$	$\bar{x} \pm \text{sd}$	$\bar{x} \pm \text{sd}$	$\bar{x} \pm \text{sd}$	P
(A)	Karanlık	25°C	51,30±2,20 ^a	51,40±2,17 ^{ab}	51,80±2,02 ^c	51,48±2,36 ^b	51,08±2,10 ^d	**
		4°C	50,78±0,45 ^a	51,10±0,71 ^b	50,88±0,70 ^{ac}	49,95±0,36 ^{acd*}	50,65±0,76 ^{ac}	**
(B)	Karanlık	25°C	50,71±0,88 ^a	50,58±1,36 ^a	50,801±0,82 ^a	50,38±0,64 ^b	50,33±1,00	**
		4°C	58,52±2,37 ^{a***}	59,12±2,41 ^{b***}	58,32±2,06 ^a	58,30±1,64 ^{b***}	57,65±2,12 ^{c***}	**
(C)	Karanlık	25°C	52,183±0,86 ^a	52,14±0,77 ^b	52,12±0,72 ^b	52,02±0,58 ^{bc}	51,90±0,82 ^d	**
		4°C	48,74±1,92 ^a	49,02±1,75 ^{b***}	49,053±1,63 ^{b***}	48,70±1,84 ^{***}	48,77±1,46 ^{a*}	

a, b, c, d, e: Aynı satırda farklı harflerle gösterilen gruplar arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. ***. Aynı saklama şartları için *** ile gösterilen dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır. (p<0,001)

* ve **. Farklı saklama şartları için * ile gösterilen (p<0,05) ve ** ile gösterilen (p<0,01) aynı dönemdeki ilaçların arasındaki fark istatistiki olarak anlamlıdır.

Kapalı spesiyalitelerde sıcaklığın A, D₃ ve E vitaminleri üzerindeki etkisinin etkin madde düzeyindeki değişimi analiz edildiğinde; sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde zamana göre değişiminin, açık spesiyalitelerdeki A, D₃ ve E vitaminlerin etkin madde düzeyindeki değişimlerine oranla çok az olduğu ve kapalı şişesinde bekletilen ilaçlardaki A, D₃ ve E vitaminlerinin etkin madde düzeyini neredeyse koruduğu tespit edildi.



4. TARTIŞMA

Çalışmamız dahilinde saha şartlarında sıklıkla kullanılan ve farklı saklama koşullarına maruz bırakılarak, vitaminlerin etkin madde düzeyindeki değişimlerinin incelendiği bu çalışmaya benzer herhangi bir çalışma bulunmadığı ve bilimsel anlamda değerlendirildiğinde sınırlı sayıda araştırmanın olduğu tespit edildi.

Stabiliteyi etkileyebilecek bir dizi çevresel, fiziksel ve kimyasal etkenler vardır ve dolayısıyla bu durum vitaminlere ait etkin maddelerin raf ömrünü etkilemektedir. En önemli faktörler başlıca şunlardır: Sıcaklık, nem, oksijen, ışık, ürünün pH'ı, oksitleyici ve indirgeyici maddeler, metal iyonların (demir ve bakır) varlığı olarak bildirilmiştir. Bu faktörlerden ilk dördü (kimyasal anlamda) organik etkin maddeler içeren hemen hemen her ürün için geçerli olduğu ve sadece inorganik mineral tuzlarını ihtiva eden ürünlerin, sabit kalma eğiliminde olduğu bildirilmiştir (IADSA 2013).

Vitaminlerdeki etkin maddelerin dayanıklılığı zaman içinde değişiklik gösterebilmekte ve ürünün raf ömrü süresince etkin madde düzeyinde değişiklikler olabilmektedir. Ancak vitamin kombinasyonlarında birbirinden farklı vitaminlerin bir arada bulunmalarına rağmen etkin madde düzeylerindeki değişim aynı oranda olmayabilir. Değişimler vitaminden vitamine farklılık gösterebileceği tespit edilmiştir (Berry Ottaway P, 2008).

Berry Ottaway P. ve arkadaşları (2008), tarafından yapılan çalışmada 4 vitamin içeren tabletin 24,85°C ve %75 nispi nemde, polietilen plastik kaplar (LDPE) içinde 6 ay boyunca etkin maddelerindeki değişimi incelenmiş ve plastik kaplar içinde 6 ay sonra multivitamin tablet içindeki kayıpların vitamin A'da (%44), vitamin C'de (%23), vitamin B₁₂'de (%7,7), folik asitte (%10,5) olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda da cam şişeler içerisinde aynı çözeltiliye sahip farklı vitaminlerin zamana göre sıcaklığın ve ışığın etkileri sonucunda vitaminlerin etkin madde düzeylerindeki değişimleri birbirinden farklılar gösterdiği tespit edildi.

Arshad, Riasat ve arkadaşlarının (2011), hastanelerdeki ilaçların stabilitesindeki farklılıklarını incelediği çalışmada: Oda sıcaklığında muhafaza edilen ilaçların yüksek sıcaklıklara maruz bırakılanlara oranla, fiziksel özelliklerinde ve etkinliklerinde azalmaların daha az olduğu tespit edilmiştir. Crichton ve arkadaşları (2004), tarafından sunulan çalışmada ise sıcaklığın sadece ilaçları etkisiz hale getirmediği aynı zamanda istenmeyen ilaç reaksiyonları da oluşturduğu konusu vurgulanmıştır. Sıcaklığın vitamin kombinasyonlarının etkin madde düzeylerine etkisinin olduğu çalışmamızda da kanıtlanmaktadır.

Lewis (2000), tarafından yapılan, aynı süre zarfında, sıcaklığın ilaçların etkin madde düzeyindeki değişiminin incelediği çalışmada, ilaçların güvenliğini ve etkinliğini korumak için son kullanım tarihine kadar soğuk koşullar altında saklanması gerektiği ve ayrıca soğutuculardan çıkarılan ürünlerin soğukta saklanan ürünlere oranla daha kısa sürede bozulduğu bilgisi verilmiştir. Çalışmamızda A, D₃, E vitaminleri üzerinde sıcaklığın etkisi değerlendirildiğinde; sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde, zamana göre % oransal değişimin diğer vitaminlere oranla (A ve D₃) en fazla E vitamininde olduğu tespit edildi. Bununla birlikte 4°C’de bekletilen A ve E vitaminlerindeki değişimin 25°C’lik ortamda bekletilene oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Bu durumda buzdolabı (4°C) ortamında bekletilen ürünlerin etkin madde düzeylerindeki değişimin oda sıcaklığında bekletilen ürünlere oranla daha fazla olduğu tespit edildi. Ancak D₃ vitaminin 2 farklı ortamda bekletilmesiyle zamana göre değişimi istatistiksel olarak anlamlı bulunsa da buzdolabında bekletilen ürünlerdeki değişimin 25°C’de bekletilenlere oranla önemli bir fark oluşturmadığı tespit edildi. D₃ vitaminin etkin madde düzeyindeki değişim değerlerinin birbirine yakın olmasından dolayı sıcaklık farklarından etkilenmediği tespit edildi.

Tavčar-Kalcher ve arkadaşları (2007), tarafından yapılan araştırmada bir yıllık süre içinde, karanlıkta, 25°C sıcaklık ve %60 nispi nem koşullarında bekletilen 16.000.000 IU Vitamin A, 2500 mg Vitamin D₃, 12.000 mg Vitamin E içeren vitamin kombinasyonunun stabilitesi incelenmiştir. Çalışma öncesinde etkin madde miktarları ölçüldükten sonra bu ölçümler 3. 6. ve 12. aylarda tekrarlanmıştır. Vitaminlerde kolin klorür içeren kombinasyonların içermeyenlere oranla

kıyaslanarak değişimleri incelenmiştir. Kolin klorür içermeyen tüm vitaminlerin, içerenlere oranla daha kararlı olduğu tespit edilmiştir. Kolin klorür içermeyen vitamin yoğunluklarının 12 ay boyunca depolanması sırasında, A, E ve K₃ vitaminlerinin değerlerinin sırasıyla %53, %59, ve %80'e düştüğü tespit edilmiştir. Buna rağmen kolin klorür içeren konsantrasyonlarda ise başlangıca oranla sırasıyla, %39, %50 ve %9'e düştüğü görülmüştür. Aynı çalışmaya göre A vitaminin ilk 3 aylık dönemde istatistiksel anlamda değişimi anlamlı bulunmuştur. Kolin klorür içermeyen numunelerde 3 aylık dönem sonunda etkin madde düzeyinin %77'ye kadar gerilediği görülmektedir. Parrish ve Patterson (1983) ve Ja'skiewicz ve ark. (1998), tarafından yapılan çalışmalarda tespit edilen değişimlerin Tavçar-Kalcher, G. ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada elde ettiği sonuçlarla uyumlu olduğu görülmüştür. Ancak Zhuge ve Klopfenstein (1986), tarafından yapılan benzer bir çalışmada bulunan değerlerin Tavçar-Kalcher ve arkadaşlarının (2007), bulduğu sonuçlara oranla daha farklı olduğu tespit edilmiştir.

Aynı çalışmada E vitaminindeki değişim %50 oranında olsa dahi ilk 3 aylık dönemde değişim sadece kolin klorür içeren numunelerde istatistiksel olarak ($P<0.01$) anlamlı bulunmuştur. Benzer çalışmalar ise Dove ve Ewan (1991) ve Ja'skiewicz ve ark. (1998), tarafından gerçekleştirilmiştir. Ancak ilk 3 aylık dönemde normal numunelerdeki değişim istatistiksel anlamada anlamlı bulunmamıştır. Bu durum sıcaklığın vitaminler üzerinde ki etkilerini araştırdığımız çalışmamızdan farklılık göstermekte olup, bizim çalışmamızda 7. gün itibariyle değişimlerin istatistiksel olarak anlamlı bulunduğu ve çalışma sonunda elde edilen değişimlerin önemli birer bulgu olduğu tespit edildi.

Tavçar-Kalcher ve arkadaşları (2007), tarafından yapılan çalışmada tespit edilen diğer bir bulgu ise E vitaminin, A vitaminden daha kararlı olduğu ve buna ek olarak Dahl ve ark. (1994); Matyka ve ark. (1996); Ja'skiewicz ve ark. (1998); Frias ve Vidal-Valverde (2001), tarafından yapılan çalışmalarda da benzer sonuçlar tespit edildiği bilinmektedir. Ancak hem sıcaklığın hem de ışığın etkilerinin araştırıldığı çalışmamızda bulunan sonuçların bu çalışmalardan farklılıklar gösterdiği tespit edildi. E vitaminine sıcaklığın ve ışığın etkisi A vitaminine olan etkisinden daha fazla olduğu yapılan bu çalışmada bulundu.

Vitaminlerin, gıda katkısı, yem katkısı ya da farmasötik formlarda da kullanılsa dahi dikkat edilmesi gereken en önemli noktanın stabilite olduğunu vurgulamıştır. Yağda çözünen vitaminler (A, D, E, K), C vitamini, tiamin, riboflavin ve biyotin gibi vitaminlerin oksidasyona çok hassas oldukları belirtilmiştir. Antioksidan olarak kullanılan formülasyonların mutlaka oksijenden, metal iyonlarından (özellikle Fe^{+2} ve Cu^{+2}) ve ultraviyole ışıklardan korunması gerektiği bildirilmiştir. Bu nedenle A ve E vitaminlerinin formülasyonlarında kararlı ester formları kullanılmaktadır (Gerald ve Combs Jr., 1992).

Bu çalışmada vitaminlerin stabilitelerinin aynı saklama koşullarında olsa dahi farklı oranlarda etkilendiği ve yağda çözünen vitaminlerin birçok dış etmene karşı hassasiyetinin olduğu tespit edildi.

A vitaminin karanlıkta saklanması önerilmektedir (Gerald ve ark., 1992). Çalışmamızda A vitaminin ışıktaki ve karanlıkta bekletilerek analiz edilmesi sonucunda, etkin madde düzeyinde % oransal olarak E ve D₃'e göre en az değişen vitamin olduğu tespit edildi. Çalışmamızda da A vitamininin karanlıkta bekletilmesinin daha uygun olacağı tespit edildi.

D₃ vitaminin soğukta ve karanlıkta bekletilmesinin daha uygun olacağı belirtilmiştir. Bu çalışmada sıcaklığın D₃ vitamini üzerindeki etkilerine yönelik elde edilen sonuçlara göre 25°C'de bekletilen formülasyonların 4°C'de bekletilen formülasyonlara oranla daha az değişimler göstermesi ile belirtilen verilere göre zıtlık göstermektedir.

E vitaminin soğukta saklanması önerilmektedir (Gerald ve ark. (1992). Ancak bu çalışmada farklı bilgilere ulaşılmış olup, sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde, etkin maddenin zamana göre % oransal değişimin en fazla E vitamininde olduğu tespit edildi. Bununla birlikte 4°C'de bekletilen E vitaminin etkin madde düzeyindeki değişimin 25°C'lik ortamda bekletilene oranla daha fazla olduğu ve soğuk ortamda bekletilen vitamin E'nin etkin madde düzeyindeki değişiminin oda sıcaklığına göre daha anlamlı bulunması sonucunda bu tür

vitaminlerin açıldıktan sonra buzdolabına bekletilmemesi ve oda sıcaklığında tutulmasının daha uygun olacağı çalışmamızda da tespit edildi.

Wade ve Weller (1994), tarafından yapılan çalışmada elde edilen verilere göre tokoferollerin (vitamin E) demir ve gümüş tuzlarında hızlıca, atmosferik oksijenle yavaşça okside olduğu bildirilmiştir. Oksidasyon ürünleri tokoferil, tokoferil kuinon ve tokoferil hidrokinon, yanı sıra dimer ve trimerleri içerir. Tokoferol esterler, oksidasyona karşı serbest tokoferollere oranla daha kararlı olmasına karşın, daha az etkili antioksidanlardır. Tokoferoller, bir atıl gaz altında, hava geçirmez kapta, soğuk, kuru, ışıktan korunarak muhafaza edilmesi önerilmesine rağmen bu çalışmada ise bu durumdan farklı olarak vitamin E'nin soğuk ortamda saklanması yerine, oda sıcaklığında saklanması daha doğru olacağı tespit edildi. Ancak Wade ve Weller (1994), E vitamininin ışıktan uzak tutulmasının etkin madde düzeyindeki değişimleri azaltacağı yönündeki bulguları bizim çalışmamızdaki bulguları destekler niteliktedir.

Tekelioğlu ve ark. (2011), tarafından vitamin-mineral karışımlarındaki farklı süreler ile inorganik ve organik minerallerin vitamin stabilitesi üzerine etkisini tespit etmek amacıyla yapılan araştırmada, vitamin yoğunluklarındaki düşüşlerin, vitamin K için 2'nci, vitamin A, tiamin ve vitamin C için 4'üncü, vitamin E ve niasin için 9'uncu aydan itibaren istatistiksel bakımdan anlamlı ($p < 0.05$) değişimler olduğu tespit edilmiştir. Depolama süresinin vitaminlerin stabilitesi üzerindeki etkilerinin araştırıldığı çalışmada vitamin E için kayıp oranının diğer vitaminlere oranla daha düşük (%6) olduğu, vitamin A da ise bu değişimin %48 civarında olduğu tespit edilmiştir. Ancak bizim çalışmamızda E vitaminindeki etkin madde düzeyindeki kayıpların diğer vitaminlere (A ve D₃) oranla daha fazla olduğu tespit edildi.

Nguyen Kim Hoa (2013), tarafından 400 IU vitamin E içeren tabletlerin sabit oda sıcaklığında, ışığa maruz bırakılarak ve karanlıkta bekletilen numunelerde, ışığın etkisi araştırılmıştır. Bu çalışma ile ışığın E vitamininin etkin madde düzeyinin azalmasında önemli bir yıkıcı etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Karanlıkta bekletilen vitamin E içeren tabletlerin etkin madde düzeylerindeki kayıpların,

aydınlık ortamda bekletilen benzer ürünlere oranla daha az olduğu tespit edilmiştir. 180 gün süre ile aydınlıkta bekletilme sonrasında da E vitamininde kayıpların fazla olduğu tespit edilmiştir. Bu durum E vitaminini düşük veya yüksek düzeylerde içeren ve ışığa son derece duyarlı olan tüm seçilen tıbbi ürünlerde de görülmüştür. Bu çalışmada Nguyen Kim Hoa'nun (2013), çalışmasını destekler nitelikte sonuçlar elde edildi; ışığa maruz bırakılan ve karanlıkta bekletilen vitaminlerde, etkin maddenin zamana göre % oransal değişimin en fazla E vitamininde olduğu tespit edildi.



5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Veteriner hekimlikte hayvan hastalıklarının sağaltımında destekleyici olarak hem de hayvanın direncini yükselterek oluşabilecek hastalıkların önüne geçmek adına kullanılan vitaminlerin, günümüzde kullanımı oldukça yaygın olmasının yanı sıra bu ilaçlardan istenilen etkinin sağlanması da çok önemli bir husustur. Diğer ilaçlarda olduğu gibi vitaminlerin de saklama koşullarına dikkat edilmediği takdirde bu ilaçlardan istenilen etki elde edilemeyeceği gibi sağaltımın tam ve doğru gerçekleşmemesi sonucunda kayıplar yaşanabilecektir.

Çalışmamızda A, D₃ ve E vitaminin içeren kombinasyonların prospektüslerindeki saklama koşulu önerilerindeki sıcaklık ve ışık ortamları oluşturularak, bu ortamlarda bekletilen ilaçlarda etkin madde düzeyindeki değişimleri incelenerek en doğru saklama ortamı tespit edilmeye çalışıldı. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar itibarıyla oda sıcaklığında, kendi kapalı kutusunda veya ışık almayan bir alanda saklanması en uygun olan saklama koşulu olarak tespit edildi. A, D₃ ve E vitaminlerini içeren kombinasyonların sabit sıcaklıkta karanlıkta bekletilen numunelerin direk ışığa maruz bırakılanlara göre daha iyi sonuçlar verdiği tespit edildi. Sıcaklığın vitaminler üzerinde etkisini araştırdığımız çalışmada ise oda sıcaklığında bekletilen ürünlerdeki etkin madde düzeyinin buzdolabında bekletilen ürünlere göre daha iyi sonuçlar verdiği tespit edildi.

Açık spesiyalitelere (Çizelge 5.1.) yapılan çalışmada A, D₃ ve E vitaminlerindeki kayıpların birbirinden farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Işığın (muhafaza ortamının) A, D₃, E vitaminleri üzerindeki etkisinin etkin madde düzeyindeki değişimi analiz edildiğinde; ışığa ve karanlığa maruz bırakılan vitaminlerde, zamana göre % oransal değişimin en fazla E vitamininde olduğu tespit edildi. A vitaminin ışıktaki ve karanlıkta bekletilerek analiz edilmesi sonucunda, etkin madde düzeyinde oransal olarak en az değişen vitamin olduğu tespit edildi.

Çizelge 5.1. Açık spasiyetelerde 25°C’de karanlık ve aydınlık ortamda ve 25°C ve 4°C karanlık ortamda muhafaza edilen vitamin kombinasyonlarının firmalara göre etkin madde düzeylerinin zamana bağlı % oransal değişimleri.

Sabit Sıcaklıkta Işığın Etkisinin Araştırılması		Firmalar		
Vitamin	Ortam / Sıcaklık	A (%)	B (%)	C (%)
Işığın A Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	7,23	4,65	3,85
	AYDINLIK 25°C	6,82	5,40	6,13
Işığın D Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	12,00	9,00	8,73
	AYDINLIK 25°C	10,23	11,67	9,07
Işığın E Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	10,67	12,76	8,72
	AYDINLIK 25°C	10,47	13,66	6,70
Sıcaklığın Etkisinin Araştırılması		Firmalar		
Vitamin	Ortam / Sıcaklık	A (%)	B (%)	C (%)
Sıcaklığın A Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	7,23	4,65	3,58
	KARANLIK 4°C	7,58	5,70	6,60
Sıcaklığın D Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	12,00	8,99	8,73
	KARANLIK 4°C	12,60	10,42	6,89
Sıcaklığın E Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	10,66	12,75	8,71
	KARANLIK 4°C	11,49	16,03	9,03

Sıcaklığın A, D₃, E vitaminleri üzerindeki etkisinin etkin madde düzeyindeki değişimi analiz edildiğinde; sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde, zamana göre etkin madde düzeyindeki % oransal değişimin E vitamininde en fazla olduğu tespit edildi. Bununla birlikte 4°C’de bekletilen E vitaminin etkin madde düzeyindeki değişimin 25°C’lik ortamda bekletilene oranla daha fazla olduğu tespit edildi. D₃ vitamininin % oransal değişiminin vitamin A ya oranla daha fazla ancak vitamin E’ye oranla daha az olduğu tespit edildi. Bunun yanı sıra 4°C’de (buzdolabında) bekletilen D₃ vitamininin 25°C’de bekletilenlere oranla değişimin daha fazla olduğu tespit edildi.

Kapalı spasiyetelerde (Çizelge 5.2.) ışık (bekletilme ortamının) ve sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde zamana göre değişiminin, açık spasiyetelerdeki A, D₃ ve E vitaminlerin etkin madde düzeyindeki değişimlerine oranla çok az olduğu ve kapalı şişesinde bekletilen ilaçlardaki A, D₃ ve E vitaminlerinin etkin madde düzeyini neredeyse koruduğu tespit edildi. Uygun şartlarda kapalı spasiyetelerinde bekletilen A, D₃ ve E vitaminin içeren

kombinasyonların etkin madde düzeylerinin değişim oranlarının tespit edebilmesi için uzun dönem stabilite çalışmalarından yararlanılması gerektiğine karar verildi.

Çizelge 5.2. Kapalı spasiyetelerde 25°C’de karanlık ve aydınlık ortamda ve 25°C ve 4°C karanlık ortamda muhafaza edilen vitamin kombinasyonlarının firmalara göre etkin madde düzeylerinin zamana bağlı % oransal değişimleri.

Kapalı Spesiyalitelere Çalışmalar				
Sabit Sıcaklıkta Işığın Etkisinin Araştırılması		Firmalar		
Vitamin	Ortam / Sıcaklık	A (%)	B (%)	C (%)
Işığın A Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	0,92	0,54	1,41
	AYDINLIK 25°C	0,98	0,73	1,15
Işığın D Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	1,50	1,31	1,56
	AYDINLIK 25°C	0,84	1,41	1,62
Işığın E Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	0,43	0,75	0,54
	AYDINLIK 25°C	0,26	1,39	0,58
Sıcaklığın Etkisinin Araştırılması		Firmalar		
Vitamin	Ortam / Sıcaklık	A (%)	B (%)	C (%)
Sıcaklığın A Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	0,94	0,54	1,41
	KARANLIK 4°C	0,56	0,82	0,70
Sıcaklığın D Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	1,50	1,31	1,56
	KARANLIK 4°C	1,55	1,35	1,10
Sıcaklığın E Vitaminine Etkileri	KARANLIK 25°C	0,43	0,75	0,54
	KARANLIK 4°C	1,63	1,49	0,08

Sonuç olarak farklı firmalardan temin edilen ve farklı ortamlarda bekletilen örneklerle yapılan çalışmalar sonucunda, ilk kullanımı takiben ilaçların saklanabileceğİ en uygun ortamın oda sıcaklığı ve güneş ışığına maruz bırakılmadan kendi karton kutusunda saklanması daha uygun olacağı tespit edildi. İlk kullanımı takiben ilaçlar buzdolabında bekletilmemeli ve direkt güneş ışığına maruz bırakılmamalıdır.

ÖZET

Farklı Saklama Koşullarında Muhafaza Edilen A, D, E Vitaminlerini İçeren Bazı Veteriner Müstahzarlarının Etkin Madde Düzeyleri

Bu çalışma kapsamında, veteriner hekimlerce yaygın şekilde kullanılan A, D₃, E, vitaminlerini içeren benzer kombinasyonlara sahip ilaçların farklı saklama koşullarında etkin madde düzeylerinin değişimleri istatistiksel veriler ışığında değerlendirildi. İlaçların prospektüslerindeki saklama koşulları birbirinden farklılık göstermesinden dolayı bu tür ilaçların prospektüslerinde bulunan farklı bilgilerin ortadan kaldırılması amacıyla en uygun saklama koşulunun bulunması hedeflendi.

Bu amaçla 1 ml’de 500.000 IU vitamin A, 75.000 IU vitamin D₃, 50 mg vitamin E içeren kombinasyonların, A, D, E vitaminlerinin farklı saklama koşullarındaki etkin madde değişimlerinin analizleri gerçekleştirildi. Açılmış ve kapalı spesiialitelerdeki çalışmada; 25°C’de karanlıkta ve aydınlıkta ayrıca +4°C’de buzdolabında bekletildi, ilaçlar doğrudan tek bir ilaç deposundan temin edildi. İlaçların son kullanma tarihi, seri numarası gibi tanımlayıcı bilgileri kaydedildi. 3 ayrı firmadan alınmış ve her firmaya ait 3 farklı seri numarasına sahip spesiialiteler 0. gün ile birlikte açılarak her bir ortam için 3 ayrı numuneden alınan örneklerin analizi gerçekleştirildi ve bu analizler 7. gün, 14. gün, 28. gün ve 56. günde gerçekleştirildi. Vitamin A, vitamin D₃ ve vitamin E analizleri güncel Amerikan Farmakopesi’nden (USP 32-NF 27, 2009) alınan metotlar ile tek bir metoda indirgenerek modifiye ve valide edilen tek bir yöntem ile YBSK’de ölçümleri gerçekleştirildi. Elde edilen veriler miktar tayini hesabına göre hesaplanarak elde edilen bu değerler istatistiksel olarak SPSS ile değerlendirildi. Verilerin dağılımı Kolmogorov Simirnov testi kullanılarak belirlendi. Çarpık dağılım gösteren veriler, logaritmik dönüşüm yöntemi kullanılarak normal dağılım haline getirildi. Vitaminlerin, farklı sıcaklık ve bulundurulma (ortam) şartlarına göre zaman içerisinde gösterdikleri değişim, bağımsız gruplarda tekrarlı ölçümlerde varyans analizi yöntemi kullanılarak değerlendirildi. Açık şişelerden ve kapalı şişelerden elde edilen sonuçlar iki ayrı başlık altında incelendi. İlk olarak sabit sıcaklıktaki ortamda, ışığın etkisinin incelenmesi oldu. Bu değerlendirme sırasında oda sıcaklığında bekletilen ürünün ışığa maruz kalmış ve karanlıkta (kutusunda) bekletilmiş olan durumlarının direkt ışığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi incelendi. Diğer durumda ise karanlık ortamda sıcaklığın etkisinin incelenmesi oldu. Bu değerlendirme sırasında ise oda sıcaklığında karanlıkta (kutusunda) bekletilen ve +4°C’de karanlıkta (buzdolabında) bekletilen ürünlerde sıcaklığın vitaminler üzerindeki etkisinin zamana göre değişimi incelendi.

Açık şişelerde yapılan çalışmada A, D₃ ve E vitaminlerindeki kayıpların birbirinden farklılıklar gösterdiği tespit edildi. Işığın A, D₃, E vitaminleri üzerindeki etkisinin etkin madde düzeyindeki değişimi analiz edildiğinde zamana göre % oransal değişimin en fazla E vitamininde en az A vitamininde olduğu tespit edildi. Sıcaklığın A, D₃, E vitaminleri üzerindeki etkisi incelendiğinde; sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde, zamana göre etkin madde düzeyindeki % oransal değişim en fazla E vitamininde en az A vitamininde olduğu tespit edildi. Bununla birlikte 4°C’de bekletilen A ve E vitaminlerinin 25°C’lik ortamda bekletilene oranla etkin madde düzeyindeki % oransal değişimin daha fazla olduğu tespit edildi. Kapalı spesiialitelerde ışığın ve sıcaklık farkına maruz bırakılan vitaminlerde zamana göre değişiminin, açık spesiialitelerdeki A, D₃ ve E vitaminlerin etkin madde düzeyindeki değişimlerine oranla çok az olduğu ve kapalı şişesinde bekletilen ilaçlardaki A, D₃ ve E vitaminlerinin etkin madde düzeyini neredeyse koruduğu tespit edildi. Uygun şartlarda kapalı spesiialitelerinde bekletilen A, D₃ ve E vitaminin içeren kombinasyonların etkin madde düzeylerinin değişim oranlarının tespit edebilmesi için uzun dönem stabilite çalışmalarından yararlanılması değerlendirildi.

Sonuç olarak farklı firmalardan temin edilen ve farklı ortamlarda bekletilen örneklerle yapılan çalışmalar sonucunda, ilk kullanımı takiben ilaçların saklanabileceği en uygun ortamın oda sıcaklığı ve güneş ışığına maruz bırakılmadan kendi karton kutusunda saklanması daha uygun olacağı tespit edildi. İlk kullanımı takiben ilaçlar buzdolabında bekletilmemeli ve direkt güneş ışığına maruz bırakılmamalıdır.

Anahtar Kelimeler: Vitamin A, Vitamin D, Vitamin E, Stabilite, Saklama Koşulları, Sıcaklık, Işık.



SUMMARY

Active Substances Levels in Some Veterinary Preparations Containing A, D, E Vitamins Stored in Different Conditions

In this study, changes of the active ingredient level in different storage conditions evaluated whereby statistical data in the drugs containing vitamin A, D₃, E, which have similar combinations, used veterinarians widely. In order to find the optimum storage conditions have been targeted because of the eliminate of the different information in the prospectus of such drugs due to storage conditions informations in the prospectus differ from each other.

Aimed to investigate the active substances levels under different storage conditions for the medicines with similar combinations containing 500,000 IU of vitamin A, 75,000 IU of vitamin D₃, and 50 mg vitamin E in 1 ml. In studies opened and closed specialties stayed at 25°C in the dark and light; +4°C refrigerated, the drugs were directly obtained from a single drug store. Identifying information was recorded as drug expiration date, serial number. The preparations, obtained from three different companies and bearing three different batch numbers for each company, the first three samples of each were opened together on day zero (0) and products analyses performed on day 7th, day 14th, day 28th and day 56th. The analyses for vitamin A, vitamin D₃ and vitamin E were performed via a single method modified and validate by reducing the methods taken from the current US Pharmacopoeia (USP 32NF 27, 2009) to a single method and the measurements were thus conducted via HPLC. The obtained data are calculated according to the amount of account determination values and this obtained values were evaluated statistically. The values are obtained, calculated on account of the resulting assay data were analyzed by SPSS statistical analysis. The distribution of data was determined using the Kolmogorov-Smirnov test. Showing skewed distribution datas, has become the normal distribution method using a logarithmic transformation. Vitamins, showed that change according to in time, different temperatures and keep (media) the circumstances, independent groups were assessed using repeated measures analysis of variance method. The results obtained from open bottles and closed bottled and examined under two separate headings. First, the media in a constant temperature, was to examine the effect of light. During this evaluation, impact of the direct light over the changes of the vitamins in time were analyzed exposed to light and stayed in dark (box) which stand at room temperature. The other case was to examine the effect of temperature in the dark. This assessment examined change over time the impact of the vitamin products heat stored in at room temperature (in its own box) and kept in the dark at +4°C (in its own box refrigerator).

In studies performed in opened bottles, found in losses of vitamin A, D₃ and E vary from each other. When the light effect on active ingredient level of exchange was analyzed in vitamins A, D₃, E, it was found that relative change over time as percentage % in most vitamin E and at least vitamin A. When the heat effect on active ingredient level of exchange was analyzed in vitamins A, D₃, E, it was found that relative change over time as percent % in most vitamin E and at least vitamin A. However relative change in the level of the substance was found more held in +4°C vitamins A and E than held in +25°C. When we examined the variation of the effect of the light and temperature on the vitamins A, D₃ and E in closed bottles in terms of active substances level, we found that the variation with time in the vitamins subjected to temperature difference is much lower than the variations in the active substances levels of the vitamins A, D₃ and E in open bottles and that the active substances levels of the vitamins A, D₃ and E in the medicines kept in their closed bottles were almost completely preserved. It was concluded that it was necessary to make use of the long-term stability studies in order to determine the rates of change in the active substances

levels of the combinations comprising the vitamins A, D₃ and E, which are kept in the closed bottles under suitable conditions.

As a result, according to studies with obtained from different companies and with samples placed stayed in different environments, the most suitable environment detected following the first use of the drug would be as stored at room temperature and stored in its cardboard box without being exposed to the solar light.

Keywords: Vitamin A, Vitamin D, Vitamin E, Stability, Storage Conditions, Temperature, Light.



KAYNAKLAR

ACARTÜRK F, (2009). Reaksiyon Kinetiği ve Stabilité. TEB Eczacılık Akademisi Yayını-Modern Farmasötik Teknoloji Kitabı 2. Baskı 01.01.2009. 141-82.

AKSOY A, DAŞ YK (2012). Vitaminlerin Veteriner Sağaltımda Kullanımı. *Türkiye Klinikleri J Vet. Sci* **3(3)**:65-76

WADE A. ve WELLER P. J. (1994). Handbook of Pharmaceutical Excipients.14-13.

ANDERSON, J.S, SUNDERLAND R. (2002). Effect of extruder moisture and dryer processing temperature on vitamin C and E and astaxanthin stability. *Aquaculture* 207, 137–149.

ANONİM, (2010). ADE-vit prospektüsü- (Interhas). Erişim Adresi: [<http://www.interhas.com/tr/urun.asp?sayfa=ADE-Vit>] Erişim Tarihi:20.01.2013.

ANONİM, (2012a). Adevilin Erişim Adresi: [<http://www.vilsan.com.tr/index.php?page=product>] Erişim Tarihi:14.01.2013.

ANONİM, 2012b, Vil-ADE Erişim Adresi: [<http://www.vilsan.com.tr/index.php?page=product>] Erişim Tarihi:21.01.2013.

ARSHAD A, RİASAT M, MAHMOOD K. (2011). Drug Storage Conditions in Different Hospitals in Lahore. *Journal of Pharmaceutical Science and Technology* Vol. 3 (1), 543-547.

ATASOY, F. (1998). Veteriner ilaçlarında son kullanma tarihi geçen bazı kemoterapötiklerin etken madde düzeylerinin araştırılması. Uludağ Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek lisans Tezi, Bursa.

BERRY OTTAWAY P. (2008). “The stability of vitamins in fortified foods and supplements”. In “Food Fortification and Supplementation” Ed. Peter Berry Ottaway. CRC Press Ltd., USA.

BLOOD D.C, RADOSTITS O.M. (1989). Diseases caused by nutritional deficiencies Veterinary Medicine, 7th Ed. London: Baillière Tindall&Cox. 1187-1224.

BENOWIEEZ, (1981). Vitamins & You. Berklett books, New York.

BORTON, (1978). Human Nutrition. McGraw-Hill, New York.

BOSCO, (1980). The People's Guide to Vitamins & Minerals. Contemporary Books, Chicago.

BOZKIR, A. (1989). Türkiye’de üretilen katı formdaki ilaç şekillerinin memleketimiz coğrafi ve iklim özelliklerine bağlı olarak stabilitelerinin araştırılması. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

CRÍCHTON B. (2004). Keep In A Cool Place: Exposure Of Medicines To High Temperatures In General Practice During A British Heatwave. *Journal of the Royal Society of Medicine*. 3: 328-329.

DAHL, GB, SVENSSON L, KINNANDER NJ, ZANDER M, BERGSTRÖM UK, (1994). Stability of vitamins in soybean oil emulsion under conditions simulating intravenous feeding of neonates and children. *J. Parenter. Enteral Nutr.* **18**: 234-239.

DEĞİM Z, (1994). Noizometral Stabilité test ile bazı ilaçların dayanıklılıklarının incelenmesi. Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

DEMAN JM, DEMAN L, WYGERDE T, (1986). Stability of vitamin A beads in nonfat dry milk. *Milchwissenschaft* **41**: 468–469.

DOVE CR, EWAN RC, (1990). Effect of excess dietary copper, iron or zinc on the tocopherol and selenium status of growing pigs. *J. Anim. Sci.* **68**: 2407–2413.

DOVE CR, EWAN RC, (1991). Effect of trace minerals on the stability of vitamin E in swine grower diets. *J. Anim. Sci.* **69**: 1994–2000.

DOZIER W A, (2002). Mash conditioning and vitamin stability. *Feed Inter* **23**: 20-4.

EKİCİ H, (2011). Florfenikol İhtiva eden Preparatların Broylerde Biyoeşdeğerliği, Farklı Saklama Şartlarının Etkileri ile Farmakovijilans Taramaları. Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimler Enstitüsü, Doktora Tezi.

FETTMAN, MARTİN J, (2001). Nutritional Pharmacology-Fat-Soluble Vitamins, Adams, H. Richard, ed., *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*. 8th ed. Ames, IA: Iowa State University Press, 683-701.

FRIAS J, VIDAL V C, (2001). Stability of thiamine and vitamins E and A during storage of enteral feeding formula. *J. Agric. Food Chem.* **49**: 2313–2317.

FUNG H. (1990). "Chemical kinetics and drug stability", Modern Pharmaceutics, (Ed: GS Banker, CT Rhodes), 2nd Ed, Marcel Dekker Inc., New York, 209-237.

GADIANT M, FENSTER R, (1994). Stability of ascorbic acid and other vitamins in extruded fish feeds. *Aquaculture* **124**: 207–211.

GERALD F, COMBS JR (1992) The Vitamins Fundamental Aspects in Nutrition and Health 4th Ed. 57-59.

GKGM, (2015). Gıda ve Kontrol Genel Müdürlüğü Ruhsatlı Veteriner Tıbbi Ürünler. Erişim Adresi: <http://www.gkgm.gov.tr/vtu/>. Erişim Tarihi:07.05.2015.

IADSA (2013). The International Alliance of Dietary / Food Supplement Associations- Final Draft 27.11.13 Shelf-life Recommendations for Supplements Guidelines for Manufacturers Erişim tarihi: 07.06.2016
Er.Adr:http://www.iadsa.org/publications/1474972849_Stability_Testing_for_Shelf_L.

JASKIEWICZ T, MATYKA S, KOROL W, (1998). Influence of storage conditions on vitamin A and E stability in premixes with the share of isolated microelemental fraction. *Biul. Nauk. Przem. Pasz.* **37**: 5–13.

BAUERNFEIND J C (1972). Carotenoid vitamin A precursors and analogs in foods and feeds. *J. Agric. Food Chem*, **20 (3)**: 456–473 176-180.

KAYA S, PİRİNÇCİ İ, BİLGİLİ A (2002). Vitaminler-Beslenme Farmakolojisi. Veteriner Farmakoloji, Cilt:2 Baskı:3 Medisan Yayınevi. Ankara.192-208.

KAYA S, PİRİNÇCİ İ, BİLGİLİ A (2007). Kemoterapötikler (Antibiyotikler) Veteriner Farmakoloji, Cilt:2 Baskı:4 Medisan Yayınevi. Ankara. 329-488.

LATHERS CM (2001). Role of Veterinary Medicine in Public Health: Antibiotic use in food animals and humans and effect on evolution of antibacterial resistance. *J. Clin. Pharmacol* **41**: 595-599.

LATHERS CM (2002). Clinical pharmacology of antimicrobial use in humans and animals, *J. Clin. Pharmacol* **42**:587-600.

LEERBECK E, HJARDE W (1975). Stability of vitamin K₃ in vitaminized mixed feeds. *Acta Agric. Scand.* **25**: 313-319.

LEWIS B (2000). Update for nurse anesthetists refrigerated anesthesia related medications. *AANA Journal Course*. **68**: 265-268.

MARTİN A (1993). Physical Pharmacy, 4th Ed., Lea & Febiger, Philadelphia ve London, 284-323.

MATYKA S, SAGAN A, JASKIEWICZ T (1996). Stability of vitamins A in E in feed premixes containing isolated fractions of trace elements. *Biul. Nauk. Przem. Pasz* 35: 17–26.

DOWELL Mc, RUSSELL LEE (1989a). Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to Human Nutrition, 2nd Part 20-48.

DOWELL Mc, RUSSELL LEE (1989b). Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to Human Nutrition, 3rd Part 60-75.

DOWELL Mc, RUSSELL LEE (1989c). Vitamins in Animal Nutrition: Comparative Aspects to Human Nutrition, 3rd Part 97-107.

NGUYEN KİM HOA (2013). Effect of Light and Storage Time on Vitamin E in Pharmaceutical Products. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 4(5): 176-180

NRC (1987). Vitamin Tolerance of Animals. Washington DC: National Academy of Sciences-National Research Council.

PARRİSH DB, PATTERSON K (1983). Effects of grinding and storage for one month on retention of vitamin A in premixes and mineral supplements. *J. Assoc. Off. Anal. Chem.* 66: 1306-1308.

PLUMB, DONALD C (2005). Vitamin E/Selenium- Veterinary Drug Handbook 6th Ed. Distributed By Blackwell Publishing 798-800

SAGHAEI S (2014). Farklı saklama şartlarında muhafaza edilen Oksitetrasiklin, Enrofloksasin, Sülfonamid-Trimetoprim ve Levamizol içeren veteriner

müstahzarlarının orijinal ve açılmış şekillerindeki etkin madde düzeyi. Ankara Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara.

SCHRÖDER MJA, SCOTT KJ, BLAND MA, BISHOP DR (1985). Flavour and vitamin stability in pasteurized milk in polyethylene-coated cartons and in polyethylene bottles. *J. Soc. Dairy Technol.* **38**: 48–52.

SHURSON J, SALZER T, KOEHLER D (1996). Metal-specific amino acid complexes, inorganic trace minerals effect on vitamin stability examined. *Feedstuffs* **68**: 13–23.

TAVCAR-KALCHER G, ANTON VENGUST (2007). Stability of vitamins in premixes, *Animal Feed Science and Technology* **Vol:132**, Issues 1–2, 148-154

TEKELİOĞLU S, GÜRBÜZ E, ÇOŞKUN B, İNAL F (2011). Farklı Mineral formlarının ve depolama süresinin vitamin stabilitesi üzerine etkileri. *Eurasian J Vet. Sci*, **27: 3**: 155-159.

USP 26 (2003). 11th Ed., The United States Pharmacopeial Con. Inc., Twinbrook Parkway, Rockville.

USP 32-NF 27 (2009). In United States Pharmacopeia and National Formulary; The United States Pharmacopeial Convention, Inc: Rockville, MD.

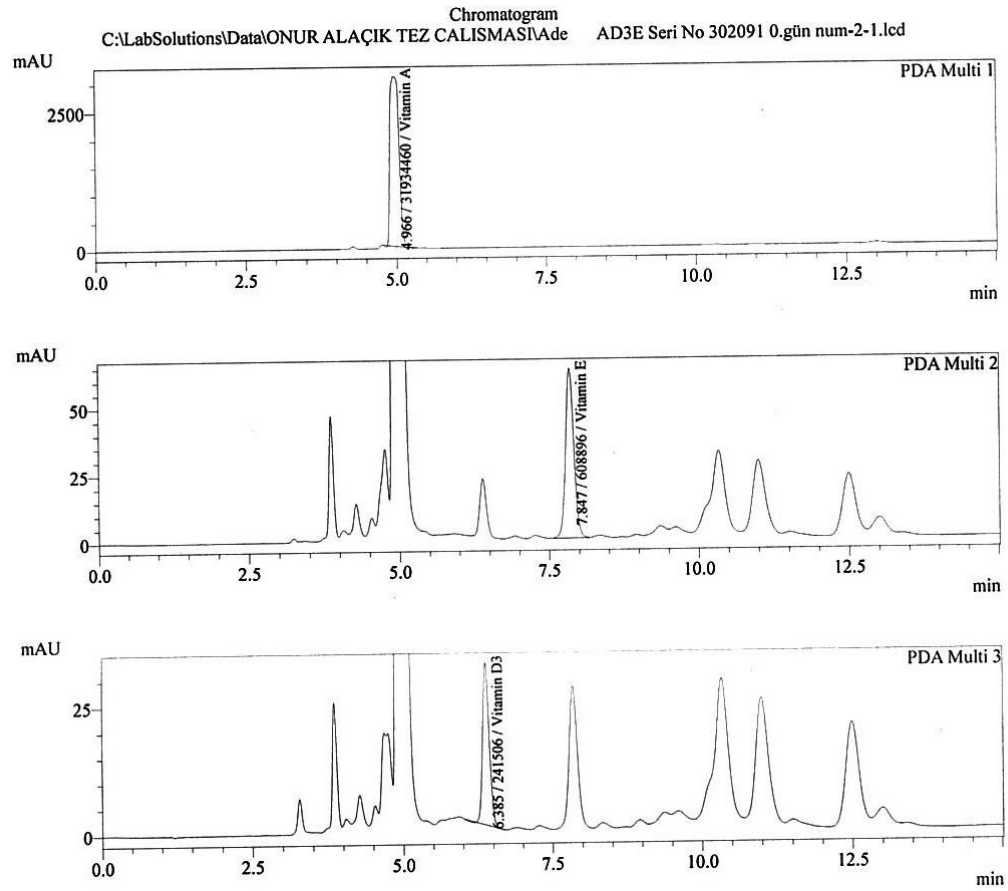
VADAS EB (2002). "Stability of Pharmaceutical Products", Remington: The Science and Practice of Pharmacy, (Ed: AR Gennaro), 20th Ed., Lippincott Williams &Wilkins, 986-994.

ZHUGE Q, KLOPFENSTEIN CF (1986). Factors affecting storage stability of vitamin A, riboflavin, and niacin in a broiler diet premix. *Poultry Sci.* **65**: 987–994.

EKLER

1. B firmasının 0. Gün açık müstahzarına ait YBSK'den elde edilen kromatogram sonucu örneği.

Sample Information
Acquired by : Admin
Sample Name : AD3E Seri No 302091 0.gün num-2-1
Sample ID : AD3E
Injection Volume : 20 uL
Data Filename : AD3E Seri No 302091 0.gün num-2-1.lcd
Method Filename : AD3E.lcm
Batch Filename : 10.05.2014.lcb
Date Acquired : 10.05.2014 21:08:59
Data Processed : 17.05.2014 10:02:41



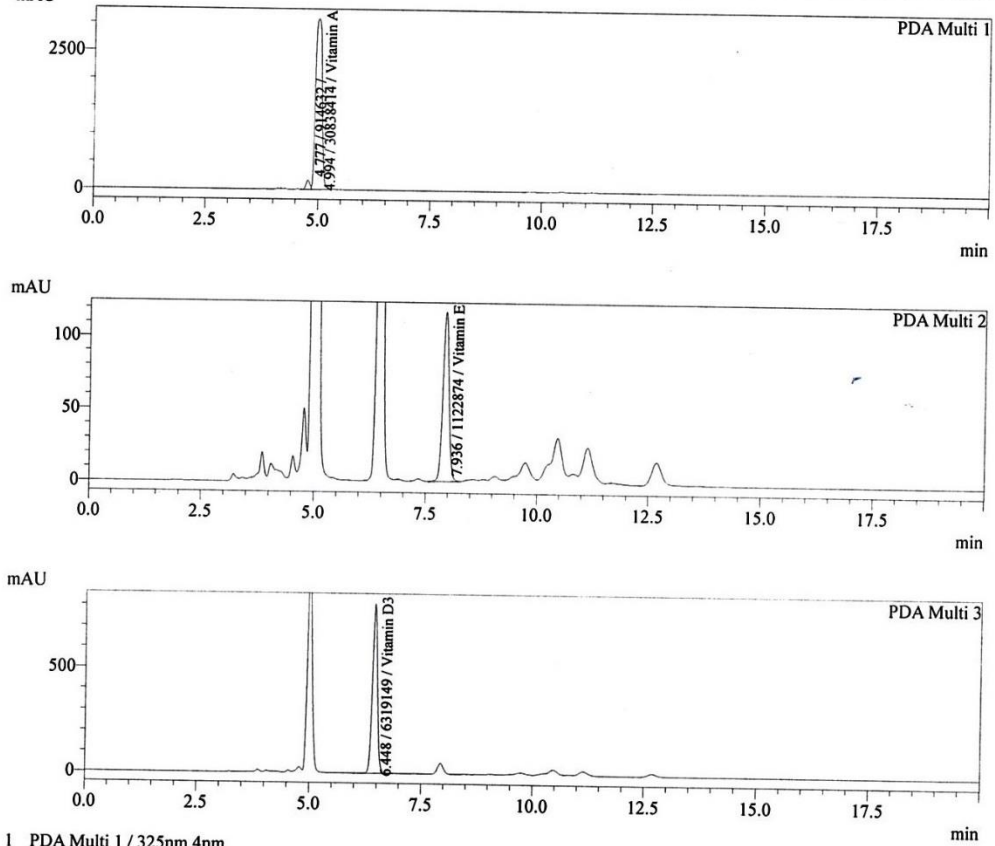
Quantitative Results

PDA ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Area %	Channel
1	Vitamin A	4.966	31934460	3064487	100.000	Ch1
2	Vitamin E	7.847	608896	63116	100.000	Ch2
3	Vitamin D3	6.385	241506	31583	100.000	Ch3

2. Vitamin A, vitamin D ve vitamin E nin standartlarına ait YBSK'den elde edilen kromatogram sonucu örneği.

Sample Information
 Acquired by : Admin
 Sample Name : Vit A Batch No 20607-Vit E BN 20502-Vit D3 BN 30909 std-A-1
 Sample ID : std-A-1
 Injection Volume : 20 uL
 Data Filename : Vit A Batch No 20607-Vit E BN 20502-Vit D3 BN 30909 std-A-1.lcd
 Method Filename : Ade .lcm
 Batch Filename : 10.05.2014.lcb
 Date Acquired : 10.05.2014 12:15:04
 Data Processed : 17.05.2014 09:37:20

Chromatogram
 Vit A Batch No 20607-Vit E BN 20502-Vit D3 BN 30909 std-A-1 ...Batch No 20607-Vit E BN 20502-Vit D3 BN 30909 std-A-1.lcd



- 1 PDA Multi 1 / 325nm 4nm
- 2 PDA Multi 2 / 280nm 4nm
- 3 PDA Multi 3 / 265nm 4nm

Quantitative Results						
ID#	Name	Ret. Time	Area	Height	Area %	Channel
1	Vitamin A	4.994	30838414	3079043	97.120	Ch1
2	Vitamin E	7.936	1122874	116866	100.000	Ch2
3	Vitamin D3	6.448	6319149	812125	100.000	Ch3

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: Onur

Soyadı: ALAÇIK

Doğum yeri ve tarihi: Ankara, 09.12.1984

Uyruğu: TC

Medeni durumu: Evli

Askerlik durumu: Muaf-Bedelli.

İletişim adresi ve telefonu: Naci Çakır Mah. No:12 Gündüzler Sitesi B Blok
Daire: 39 Dikmen / Çankaya / Ankara.

II- Eğitimi

1. (28.01.2010- Halen) Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı.
2. (01.09.2004 –30.06.2009) Kırıkkale Üniversitesi / Veteriner Fakültesi
3. (01.09.1995 – 30.06.2002) TED Ankara Koleji (Lise)

Yabancı dili: İngilizce.

III- Ünvanları

2009 Veteriner Hekim

IV- Mesleki Deneyimi

1. (15.02.2012- Halen) Tarım ve Kırsal Kalkınmayı Destekleme Kurumu/ Uzman.
2. (01.10.2009–06.01.2012) Vilsan Veteriner İlaçları Tic. San. A.Ş. / Veteriner Hekim- Ürün Müdürü Y. / Pazarlama ve Ruhsatlandırma Departmanı.

V- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

1. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Derneği Üyeliği

VI- Bilimsel İlgi Alanları

Yayınları

1. DOĞAN K, ALACIK O (2010). “Ankara Merkez ve Çevre İlçelerinden Toplanan İçme ve Kullanma Sularında Metal Varlığının Araştırılması” (Poster Sunumu) III. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi AYDIN 29 Eylül-2 Ekim 2010 syf: 160.
2. ALACIK O, BİLGİLİ A (2013). “Balık Yetiştiriciliğinde Antibakteriyel İlaç Kullanımı” (Poster Sunumu). IV. Veteriner Farmak. ve Toksikoloji Kong. ELAZIĞ 11-13.09.2013 syf: 102
3. BİLGİLİ A, ALACIK O (2016). “Balık Yetiştiriciliğinde Antibakteriyel İlaç Kullanımı” (Bilimsel Makale) Türk Veteriner Hekimler Birliği Dergisi (Ulusal) Cilt:16 Sayı: 1-2 2016 sayfa: 74-81.
4. ALACIK O (2016). “IPARD Desteklerinin Kırmızı Et Sektörüne Etkileri” (Makale) Kırsal Kalkınma Dergisi (Ulusal) 6. Sayı (Ekim – Aralık 2016) sayfa: 26-31.

VII- Bilimsel Etkinlikleri

Verdiği seminerler

1. Mastitiste Kullanılan Veteriner Meme içi Antibiyotikler (Doktora Semineri).
2. Balık Hastalıklarında Kullanılan Antibiyotikler (Doktora Semineri).

Katıldığı Kongreler

1. III. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi AYDIN 29 Eylül-2 Ekim 2010.
2. IV. Veteriner Farmakoloji ve Toksikoloji Kongresi ELAZIĞ 11-13 Eylül 2013.

VIII- Diğer Bilgiler

Eğitim programı haricinde aldığı kurslar, sertifikalar ve diğer üyelikleri

1. ISO 22000 / HACCP Eğitimi Sertifikası.
2. ISO 9001:2008 Kalite Yönetim Sistemi Sertifikası.