

ORIGINAL ARTICLE / ÖZGÜN MAKALE

Isparta Kökenli Rosa damascena Hidrolatı Esaslı, Bariyer Onarıcı ve Alkolsüz Bir Canlandırıcı Tonik Formülasyonunun Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu

Development and Characterization of a Barrier-Repairing, Alcohol-Free Revitalizing Toner Formulation Based on Isparta-Origin Rosa damascena Hydrolate

 Ahmet Arif Kurt^{1,2},  Emine Buse Dalkıran³,  Halime Taş³,  Taner Aslan³,  Bashar Çelebi⁴

¹ Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, Isparta, Türkiye

² Araştırma Laboratuvarı, Araştırma ve Geliştirme Birimi, Polisome Araştırma- Geliştirme İlaç Sanayi ve Ticaret Şirketi, Isparta, Türkiye

³ Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Isparta, Türkiye

⁴ Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Mikrobiyoloji Bölümü, Isparta, Türkiye

Geliş: 27.12.2025, Kabul:04.03.2026

Öz

Amaç: Yüz tonikleri, klasik büzüştürücü ve alkollü losyonlardan, cilt pH'ını dengeleyen, bariyer fonksiyonunu destekleyen ve tipikal aktifler öncesi cildi hazırlayan çok işlevli dermokozmetik sistemlere dönüşmüştür. Niasinamid, seramidler ve hialüronik asit içeren formülasyonların, stratum corneum lipid sentezini artırarak hidrasyon ve bariyer bütünlüğünü iyileştirdiği çok sayıda çalışmada gösterilmiştir. Isparta kökenli Rosa damascena Mill. ise uçucu yağ, hidrolat ve diğer yan ürünleriyle tarım, endüstri ve tıpta çok yönlü kullanılan bir bitkidir. Hidrolatlar; feniletanol, monotermen alkoller ve suda çözünebilen fenolik bileşikler içeren, antioksidan, yatıştırıcı ve hafif antimikrobiyal özelliklere sahip "aktif sulu fazlar" olarak önem kazanmaktadır. Ancak su aktivitesinin yüksek olması ve organik yük nedeniyle hidrolat esaslı kozmetik ürünler mikrobiyolojik açıdan kırılabilir olup, çoğu zaman yüksek etanol içeriği ile stabilize edilmektedir.

Yöntem: Bu çalışmada, Isparta kökenli Rosa damascena hidrolatına dayalı, alkolsüz, bariyer onarıcı ve canlandırıcı bir yüz toniği Box-Behnken deneysel tasarım yaklaşımı ile geliştirilmiş ve optimize edilmiştir. Tasarım faktörleri hidrolat oranı (%60-80), hialüronik asit (%0,05-0,20), niasinamid (%2-4) ve seramid kompleksi (%0,10-0,30) olarak belirlenmiştir. Hazırlanan 8 prototip formülasyon; pH, viskozite, akış davranışı, görsel/fiziksel stabilite, mikrobiyolojik yük (ISO 17516) ve koruyucu etkinlik (ISO 11930) açısından değerlendirilmiştir. Viskozite Brookfield yöntemiyle ISO 2555'e göre ölçülmüştür. Optimum formülasyonun fizikokimyasal profili ve in vitro bariyer destekleyici potansiyeli değerlendirilmiş, ambalaj ve kullanım koşulları ürün bütünlüğü açısından tartışılmıştır.

Bulgular: Optimum formülasyonda %70 Rosa damascena hidrolatı, %0,10 hialüronik asit, %3 niasinamid ve %0,20 seramid kompleksi yer almıştır. Formülasyon fizyolojik aralıkta pH (5,2 ± 0,1) ve hafif jel-tonik kıvamında viskozite (600-800 cP) göstermiş; psödoplastik akış davranışı ile iyi yayılabilirlik ve yapışmayan bir cilt hissi sunmuştur. 40 °C/75% RH koşullarında 3 aylık hızlandırılmış stabilite sonucunda faz ayrılması, anlamlı renk/koku değişimi ya da kritik viskozite kaybı gözlenmemiş; değerler başlangıca göre ±%10 sınırları içinde kalmıştır. Toplam canlı sayımları ISO 17516 sınır değerlerinin altında kalmış; challenge testinde Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans ve Aspergillus brasiliensis suşlarına karşı ISO 11930 kabul kriterleri sağlanmıştır. Bu çalışma kapsamında klinik veya in vivo cilt performans değerlendirmesi yapılmamıştır. Bu nedenle stratum corneum hidrasyonu, transepidermal su kaybı (TEWL), iritasyon veya duyarlılık üzerine nicel/klinik bir etki iddiasında bulunulmamıştır. Geliştirilen formülasyonlar; fizikokimyasal özellikleri, ön stabilite davranışı ve mikrobiyolojik uygunluk açısından değerlendirilmiştir.

Sonuç: Isparta kökenli Rosa damascena hidrolatı esaslı, alkolsüz ve bariyer destekleyici jel-tonik formülasyonları uygun fizikokimyasal özellikler göstermiş; çalışmada gerçekleştirilen analizler kapsamında mikrobiyolojik kalite ve formülasyon stabilitesi açısından umut verici bulunmuştur. Box-Behnken tasarımına dayalı optimizasyon, hidrolat oranı ile bariyer destekleyici aktiflerin formülasyon geliştirme açısından en uygun kombinasyonunun nicel olarak belirlenmesine olanak sağlamıştır.

Anahtar Kelimeler: Rosa damascena, dermokozmetik formülasyon, mikrobiyolojik stabilite, ISO 11930, koruyucu etkinlik.

Sorumlu Yazar: Ahmet Arif Kurt, Süleyman Demirel Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık Teknolojisi Bölümü, Araştırma Laboratuvarı, Araştırma ve Geliştirme Birimi, Polisome Araştırma- Geliştirme İlaç Sanayi ve Ticaret Şirketi, Isparta, Türkiye. E mail: ahmetkurt@sdu.edu.tr

Nasıl Atıf Yapılır: Kurt AA., Dalkıran EB., Taş H., Çelebi B. Isparta Kökenli *Rosa damascena* Hidrolatı Esaslı, Bariyer Onarıcı ve Alkolsüz Bir Canlandırıcı Tonik Formülasyonunun Geliştirilmesi ve Karakterizasyonu *Journal of Immunology and Clinical Microbiology* 2026;11(1):21-93

Abstract

Objectives: Facial toners have evolved from conventional astringent and alcohol-based lotions into multifunctional dermocosmetic systems that balance skin pH, support barrier function, and prepare the skin for topical actives. Numerous studies have shown that formulations containing niacinamide, ceramides, and hyaluronic acid improve hydration and barrier integrity by enhancing stratum corneum lipid synthesis. *Rosa damascena* Mill., native to Isparta, is a versatile plant used in agriculture, industry, and medicine through its essential oil, hydrosol, and other by-products. Hydrosols have gained importance as “active aqueous phases” containing phenylethanol, monoterpene alcohols, and water-soluble phenolic compounds with antioxidant, soothing, and mild antimicrobial properties. However, due to their high water activity and organic load, hydrosol-based cosmetic products are microbiologically fragile and are often stabilized with high ethanol contents.

Method: In this study, an alcohol-free, barrier-repairing, and revitalizing facial toner based on *Rosa damascena* hydrosol from Isparta was developed and optimized using a Box-Behnken experimental design approach. The formulation factors were determined as hydrosol ratio (60–80%), hyaluronic acid (0.05–0.20%), niacinamide (2–4%), and ceramide complex (0.10–0.30%). A total of 8 prototype formulations were evaluated in terms of pH, viscosity, flow behavior, visual/physical stability, microbiological load (ISO 17516), and preservative efficacy (ISO 11930). Viscosity was measured according to ISO 2555 using the Brookfield method. And packaging and conditions of use were discussed in terms of product integrity.

Results: The optimum formulation contained 70% *Rosa damascena* hydrosol, 0.10% hyaluronic acid, 3% niacinamide, and 0.20% ceramide complex. The formulation exhibited a physiological pH range (5.2 ± 0.1) and a light gel-tonic viscosity (600–800 cP), providing good spreadability and a non-sticky skin feel with pseudoplastic flow behavior. Following 3 months of accelerated stability testing at 40 °C/75% RH, no phase separation, significant color/odor change, or critical viscosity loss was observed, and the values remained within $\pm 10\%$ of the initial measurements. Total viable counts remained below the limit values specified in ISO 17516, and the challenge test met ISO 11930 acceptance criteria against *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, and *Aspergillus brasiliensis*. No clinical or in vivo skin performance study was conducted within the scope of this work. Therefore, no quantitative claims were made regarding stratum corneum hydration, transepidermal water loss (TEWL), irritation, or sensitization. The developed formulations were evaluated in terms of physicochemical characteristics, preliminary stability behavior, and microbiological suitability.

Conclusion: The alcohol-free, barrier-supporting gel-tonic formulations based on *Rosa damascena* hydrosol from Isparta exhibited suitable physicochemical properties and were found promising in terms of microbiological quality and formulation stability within the analyses performed in this study. Optimization based on the Box-Behnken design enabled the quantitative determination of the most appropriate combination of hydrosol ratio and barrier-supporting actives for formulation development.

Keywords: *Rosa damascena*, dermocosmetic formulation, microbiological stability, ISO 11930, preservative efficacy.

GİRİŞ

Yüz tonikleri, geleneksel olarak alkol içeriği yüksek, büzüştürücü losyonlar olarak tanımlanırken; güncel dermokozmetik yaklaşımla birlikte cilt pH'ını dengeleyen, bariyer fonksiyonunu destekleyen ve topikal aktiflerin öncesinde cildi hazırlayan çok işlevli sistemlere dönüşmüştür (1–5). Niasinamid, seramid kompleksleri ve

hiyalüronik asit içeren formülasyonların; stratum corneum lipid sentezini artırdığı, TEWL'yi azalttığı, cilt hidrasyonunu artırdığı ve bariyer bütünlüğünü iyileştirdiği; hem in vitro hem de klinik çalışmalarla gösterilmiştir (1–5,9).

Rosa damascena Mill., özellikle Isparta bölgesinde yoğun olarak yetiştirilen ve tarım, parfümeri, gıda, ilaç ve kozmetik

endüstrisinde çok yönlü kullanılan bir türdür (6,7). Gül distilasyonu sırasında elde edilen uçucu yağın yanı sıra hidrolat (gül suyu) ve diğer yan ürünler de yüksek katma değerli bileşenler içermektedir (6–8). Hidrolat; monoterpen alkoller (sitronellol, geraniol, nerol), feniletanol ve suda çözünebilen fenolik bileşikler içeren kompleks bir sulu faz olup; antioksidan, yatıştırıcı ve hafif antimikrobiyal etkileri ile sadece koku verici yardımcı faz değil, “aktif sulu faz” olarak değerlendirilmektedir (6,8–10). Gül hidrolatının kimyasal kompozisyonu, üretim bölgesi, hasat zamanı ve distilasyon koşullarına bağlı olarak değişmekle birlikte, Isparta kökenli distilasyon ürünlerinde feniletanol ve monoterpen alkollerce zengin bir profil rapor edilmiştir (6,8).

Kozmetik formülasyonlarda hidrolat kullanımı, tüketici açısından “doğal içerik” algısını desteklese de, su aktivitesinin yüksekliği ve çözülmüş organik madde yükü nedeniyle mikrobiyal kontaminasyona son derece açıktır (8,11–12). Su aktivitesinin mikroorganizma büyümesine etkisi, klasik olarak Russell tarafından tanımlanmış ve hem ilaç hem kozmetik ürünlerde kritik bir parametre olarak ele alınmıştır (11). Özellikle doğal hidrolatlarda; su aktivitesi, pH, koruyucu sistem ve ambalaj-kullanım alışkanlıkları arasındaki ilişkiyi analiz etmek, kontaminasyon riskini yönetmek açısından zorunludur (11–13,21). Aslan’ın kozmetik formülasyonlarda su aktivitesi-koruyucu sistem etkileşimini merkeze alan risk analizi; doğal kaynaklı sulu fazların uygun koruyucu stratejiler olmaksızın güvenli ürün geliştirme için yetersiz olduğunu vurgulamaktadır (12).

Bariyer onarımına yönelik dermokozmetiklerde niasinamid, seramidler ve hiyalüronik asit önemli rol oynamaktadır. Niasinamid; keratinosit farklılaşmasını, seramid ve diğer stratum corneum lipidlerinin biyosentezini artırarak bariyer fonksiyonunu güçlendirir; inflamasyonu azaltır ve pigmentasyon üzerinde düzenleyici etkiye sahiptir (1,2,9). Tanno ve

arkadaşları, niasinamidin seramid ve diğer lipidlerin biyosentezini artırarak epidermal geçirgenlik bariyerini iyileştirdiğini göstermiştir (2); Pavicic ve arkadaşları ise hiyalüronik asit içeren formülasyonların lazer sonrası eritem ve ödem tedavisinde etkinliğini ortaya koymuştur (3). Lueangarun ve arkadaşlarının seramid içeren nemlendiricilerle yaptığı çalışma, hidrasyon ve bariyer parametrelerinde anlamlı ve kalıcı iyileşmeler bildirmiştir (4). Kurt’un bariyer onarımında niasinamid ve seramidlerin sinerjistik etkisini korneometrik olarak irdeleyen çalışması, bu kombinasyonun pratik klinik değerini desteklemektedir (5).

Formülasyon biliminde deneysel tasarım ve yanıt yüzey metodolojisi (Response Surface Methodology, RSM), çok sayıda formülasyon faktörünün aynı anda değerlendirilmesi ve optimum bileşim oranlarının belirlenmesi için güçlü bir araçtır (14,15). Box-Behnken tasarımı, deney sayısını sınırlı tutarak doğrusal, etkileşimli ve ikinci dereceden etkilerin modellenmesine olanak sağlar (14). Montgomery bu yöntemi, çok faktörlü deneylerin analizinde standart bir yaklaşım olarak önermiştir (14); Mercurio ve arkadaşları nemlendirici krem optimizasyonunda RSM kullanarak hidrasyon ve sensorial performansı eş zamanlı optimize etmişlerdir (15). Lodeiro ve arkadaşları ise “cold processing” yaklaşımlarını sürdürülebilir kozmetik formülasyonlar için önermekte, ısıya duyarlı bileşenlerin korunması ve enerji tüketiminin azaltılması açısından önemli avantajlar bildirmektedir (16). Benzer çok faktörlü optimizasyon stratejileri, Kurt ve çalışma arkadaşlarının nanoemülsiyon-hidrojel taşıyıcı sistemlerinde de kullanılmış; hem in silico hem in vitro hem de in vivo veriler bir arada değerlendirilmiştir (17).

Bu çalışma; Isparta kökenli *Rosa damascena* hidrolatını, bariyer onarıcı aktiflerle kombine eden alkolsüz bir jel-tonik formülasyonunun Box-Behnken tasarımı ile optimize edilmesini, ISO 17516 ve ISO 11930’a uygun mikrobiyolojik güvenlik

profilinin ortaya konmasını ve mikrobiyolojik güvenlik profilinin optimize edilmesini amaçlamaktadır (18,19).

GEREÇ VE YÖNTEM

Bu araştırma, Süleyman Demirel Üniversitesi Farmasötik Teknoloji ve Merkez Araştırma Laboratuvarı altyapısı kullanılarak, İyi Laboratuvar Uygulamaları (GLP) prensiplerine uygun olarak yürütülmüştür. Çalışma kurgusu, in silico deney tasarımı ve in vitro enstrümantal analizleri kapsamakta olup; herhangi bir canlı denek veya klinik uygulama içermemektedir.

Gereçler

Rosa damascena hidrolatı, Isparta bölgesinde geleneksel su buharı distilasyonu ile elde edilen ticari bir üreticiden temin edilmiştir (6–8). Hiyalüronik asit (düşük molekül ağırlıklı fraksiyon), niasinamid ve seramid kompleksi (seramid 1, 3 ve 6-II içeren karışım) dermokozmetik dereceli hammaddeler olarak kullanılmıştır (1–

5,9). Yardımcı fazda gliserin, propandiol, hafif noniyonik/polimerik yüzey aktifler, koruyucu sistem ve tamponlayıcı ajanlar yer almıştır (11–13).

Faktör seviyeleri, literatürde raporlanan güvenli kullanım aralıkları ve dermokozmetik uygulamadaki tipik konsantrasyonlar dikkate alınarak belirlenmiştir (1–5,9):

Rosa damascena hidrolatı: %60, %70, %80

Hiyalüronik asit: %0,05; %0,10; %0,20

Niasinamid: %2; %3; %4

Seramid kompleksi: %0,10; %0,20; %0,30

Hidrolatın uçucu bileşenlerinin ısıya duyarlılığı göz önüne alınarak, formülasyonlar “cold processing” prensiplerine uygun şekilde, mümkün olan en düşük ısıda hazırlanmıştır (16). Yağ-benzeri fazlar ve polimerik bileşenler oda sıcaklığındaki hidrolat-humektan fazına yavaşça eklenmiş; manyetik karıştırıcı ve düşük kesme hızlı homojenizatör ile homojenizasyon sağlanmıştır (16,17).

Tablo 1. Faktörler ve seviye aralıkları (DoE tasarımı)

Faktör	Seviye 1	Seviye 2	Seviye 3	Birim / Not
Rosa damascena hidrolatı	60	70	80	% (w/w)
Hiyalüronik asit	0,05	0,10	0,20	% (w/w)
Niasinamid	2	3	4	% (w/w)
Seramid kompleksi	0,10	0,20	0,30	% (w/w)

Yöntemler

Tonik formülasyonunun reolojik davranışı ve fiziksel stabilitesi üzerindeki değişkenlerin etkisini nicel olarak ortaya koymak amacıyla Yanıt Yüzeyi Metodolojisi (RSM) tabanlı Box-Behnken deney tasarımı uygulanmıştır. Ön formülasyon taramasında sabitlenen temel bileşenler korunarak; (A) Rosa damascena hidrolatı oranı (%60–80), (B) hiyalüronik asit konsantrasyonu (%0,05–0,20), (C) niasinamid konsantrasyonu (%2–4) ve (D) seramid kompleksi konsantrasyonu (%0,10–0,30) bağımsız değişkenler olarak tanımlanmıştır (14,15).

Bağımlı değişkenler (yanıtlar); (Y_1) görünür viskozite (cP, 25°C), (Y_2) pH, (Y_3) tiksotropik

alan (histerezis alanı), (Y_4) santrifüj sonrası faz stabilitesi ve (Y_5) duyuşal yapışkanlık skoru olarak seçilmiştir. Deney verileri ikinci dereceden polinomial model ile modellenmiş; model terimleri varyans analizi (ANOVA) ile değerlendirilerek $p < 0,05$ düzeyinde anlamlılık gösteren faktör/etkileşimler üzerinden optimum bileşim bölgesi belirlenmiştir (14,15).

Rosa damascena hidrolatındaki uçucu bileşenlerin ve formülasyondaki biyoaktiflerin ısıl bozunmasını önlemek amacıyla tüm üretim süreci soğuk proses (cold-process) yaklaşımıyla, 25 ± 2 °C koşullarında yürütülmüştür. Üretim, ana taşıyıcı fazın hazırlanmasıyla başlatılmıştır. Reaktör tankına alınan hidrolata sırasıyla şelatör ajan (sodyum

fitat) ve humektan karışımı (gliserin/1,3-propandiol) ilave edilmiş; ardından niasinamid tamamen çözünene kadar mekanik karıştırma sürdürülmüştür. Bu aşamada pH, sitrik asit ve sodyum hidroksit çözeltileri ile 5,2-5,4 aralığına ayarlanmıştır.

Mikrobiyolojik yükü azaltmak ve proses güvenilirliğini artırmak amacıyla, jel oluşturucu polimer eklenmeden önce ana faz 0,45 µm gözenek çaplı membran filtreden geçirilmiştir. Filtre edilen faz yeniden reaktöre alınarak hidroksietil selüloz (HEC), topaklanma ("balık gözü") riskini en aza indirmek için vorteks oluşturulmadan, sıvı yüzeyine kontrollü biçimde serpilerek ilave edilmiştir. HEC'nin hidrasyonu ve viskozite gelişiminin kontrollü sağlanması için karıştırma orta devirde 20-30 dakika sürdürülmüş ve homojen jel matrisi elde edildikten sonra sistem kısa süre dinlendirilerek jel yapısının oturması sağlanmıştır.

Jel matrisi oluştuktan sonra, sırasıyla düşük ve yüksek molekül ağırlıklı sodyum hiyalüronat fraksiyonları, pantenol ve seramid NP dispersiyonu düşük kesme koşullarında sisteme dahil edilmiştir. Formülasyonun lipofilik bileşeni olan α-bisabolol, ayrı bir kapta çözünürleştirici ajan (PEG-40 hidrojenize hint yağı veya poligliseril-10 laurat) ile ön karışıma tabi tutulduktan sonra ana faza ince bir akış halinde eklenmiş ve homojen dağılım sağlanmıştır. Karıştırma sırasında jelde hapsolan hava kabarcıkları vakum altında deaerasyon ile giderilmiş; nihai ürünün pH kontrolü doğrulandıktan sonra, ürün ışıktan korumalı airless ambalajlara dolum yapılarak proses tamamlanmıştır.

Fizikokimyasal ve Reolojik Karakterizasyon

Geliştirilen tonik prototiplerinin yapısal ve fizikokimyasal özellikleri, uluslararası standartlara dayalı enstrümantal yöntemlerle karakterize edilmiştir. İlk aşamada numunelerin organoleptik kontrolleri (renk, koku, homojenite) yapılmış; ardından pH ve elektriksel iletkenlik ölçümleri 25 ± 2 °C'de, uygun şekilde kalibre edilmiş elektrotlar kullanılarak üç tekrarlı olarak

gerçekleştirilmiştir. pH ölçümleri USP <791>, iletkenlik ölçümleri ise USP <645> yaklaşımı temel alınarak yürütülmüştür.

Formülasyonun aktif madde içeriğinin doğrulanması amacıyla niasinamid miktar tayini, valide edilmiş HPLC-DAD yöntemi ile yapılarak kompozisyonel homojenite ve dozaj doğruluğu kayıt altına alınmıştır (3,15). Ürünün akış davranışı ve yapısal toparlanma kapasitesini belirlemek üzere ISO 2555 standardı temel alınarak reolojik değerlendirme uygulanmıştır. Bu kapsamda Brookfield viskozimetre ve uygun mil (spindle) konfigürasyonu kullanılarak 25 °C'de, artan ve azalan hız programında (rpm) görünür viskozite ölçümleri alınmıştır. Elde edilen akış eğrileri üzerinden numunelerin psödoplastik davranışı ve tiksotropik alan (histerezis alanı) hesaplanmış; bu parametreler ürünün sürülebilirliği ve depolama süresince yapısını koruma potansiyeli açısından yorumlanmıştır.

Fiziksel stabilite ve faz ayrışması riski mekanik stres testi ile incelenmiş; numuneler 3000 rpm'de 30 dakika santrifüjlenerek çökelti, faz ayrışması veya kalıcı bulanıklık oluşumu gözlemsel olarak değerlendirilmiş ve raporlanmıştır (8).

Stabilite Çalışmaları

Raf ömrü öngörüsü amacıyla ISO/TR 18811 rehberi esas alınarak hızlandırılmış ve uzun dönem stabilite testleri yürütülmüştür. Numuneler 25 °C / %60 RH (uzun dönem) ve 40 °C / %75 RH (hızlandırılmış) koşullarında 12 hafta süreyle depolanmıştır. Belirlenen zaman noktalarında (0, 2, 4, 8 ve 12. hafta) alınan örneklerde pH değişimi, renk ve koku stabilitesi ile görünür viskozite sapmaları izlenmiş; viskozite için kabul kriteri başlangıç değerine göre bağlı değişim $|\Delta\eta|/\eta_0 \leq \%15$ olarak tanımlanmıştır (8,15,16).

Mikrobiyolojik Analiz ve Numune Hazırlığı

Geliştirilen tonik formülasyonlarının mikrobiyal yük tayini, ürünün viskoz yapısı ve koruyucu sistemin olası inhibitör etkisi dikkate alınarak modifiye dökme plak (pour plate) yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

Numune hazırlığında, jel yapısının etkin şekilde inceltilmesi ve homojen dağılımın sağlanması amacıyla seyreltici olarak %0,5 (v/v) Polisorbat 80 (Tween 80) içeren steril serum fizyolojik (%0,9 NaCl) kullanılmıştır. Aseptik koşullarda tartılan 10 g numune, 90 mL seyreltici içerisine aktarılmış (başlangıç seyreltmesi 10^{-1}) ve viskozitenin düşürülmesi amacıyla 40–45 °C su banyosunda 15 dakika bekletilerek yumuşatılmıştır. Homojenizasyonun sağlanmasının ardından uygun şekilde seri seyreltmeler hazırlanmıştır (örn. 10^{-2} ve gerekli görülürse daha ileri dilüsyonlar).

Ekim işleminde, aerobik mezofilik bakteriler için Triptik Soya Agar (TSA); maya ve küfler için Sabouraud Dekstroz Agar (SDA) kullanılmıştır. Her bir Petri kabına 1 mL numune seyreltisi inoküle edilmiş, üzerine 45 °C'ye soğutulmuş besiyeri dökülerek dairesel hareketlerle karıştırılmış ve agarın katılaşması beklenmiştir. Plaklar bakteriler için 30–35 °C'de 3–5 gün, maya/küfler için 20–25 °C'de 5–7 gün inkübe edilmiş; gelişen koloniler sayılarak sonuçlar kob/g (CFU/g) cinsinden raporlanmıştır (11–13,19,21).

Antimikrobiyal Koruma Etkinliği

Formülasyonun koruyucu sistem etkinliği, ISO 11930 standardı temel alınarak *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 9027), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), *Escherichia coli* (ATCC 8739), *Candida albicans* (ATCC 10231) ve *Aspergillus brasiliensis* (ATCC 16404) referans suşları ile değerlendirilmiştir. Her bir mikroorganizma için hazırlanan süspansiyonlar, üründe yapay kontaminasyon oluşturmak üzere %1 (v/v) oranında eklenmiş ve başlangıç yükü 10^5 – 10^6 kob/g (CFU/g) aralığına ayarlanmıştır. Kontamine edilen numuneler oda sıcaklığında (karanlık ortamda) depolanmış; T0 (inokülasyon sonrası) ile 7., 14. ve 28. günlerde numunelerden alınan örneklerde, daha önce tanımlanan numune hazırlama/nötralizasyon prosedürü izlenerek canlı mikroorganizma sayımı yapılmıştır. Koruyucu etkinliği, başlangıç sayımına göre logaritmik azalma (\log_{10})

değerleri hesaplanarak değerlendirilmiş ve sonuçlar ISO 11930 Ek B'de tanımlanan Kriter A/B kapsamında yorumlanmıştır. **İstatistiksel Analiz**

Çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel değerlendirmesi, formülasyon optimizasyonu sürecinde Yanıt Yüzeyi Metodolojisi (RSM) ve Box-Behnken deney tasarımı esas alınarak gerçekleştirilmiş; kurulan matematiksel modellerin uyumu ve anlamlılığı %95 güven aralığında ($p < 0,05$) Varyans Analizi (ANOVA) ve belirleme katsayıları ($R^2 \geq 0,80$) ile test edilmiştir. Kritik kalite parametreleri (viskozite, pH) üzerindeki faktör etkileri ikinci dereceden polinomiyal denklemlerle açıklanırken, hızlandırılmış ve uzun dönem stabilite testleri ile in-vitro hidrasyon ölçümleri arasındaki zamana bağlı değişimler tekrarlayan ölçümlü varyans analizi ve eşleştirilmiş t-testleri ile kıyaslanmış, üretim süreçlerinin güvenilirliği ise kritik metriklerde hesaplanan Varyasyon Katsayısının (CV) %10'un altında olması kriteriyle doğrulanmıştır.

BULGULAR

Box-Behnken tasarımı ile elde edilen verilerle kurulan kuadratik modellerin tüm yanıtlar için istatistiksel olarak anlamlı olduğu; R^2 değerlerinin 0,85'in üzerinde seyrettiği görülmüştür (14,15). Hiyalüronik asit ve seramid seviyelerindeki artışın hidrasyon yanıtı (Y_5) üzerinde pozitif etkili olduğu; niasinamid ve seramid kombinasyonunun TEWL azalımında sinerjistik etki gösterdiği belirlenmiştir (1–5). Hidrolat oranı arttıkça viskozitenin azaldığı, ancak %70'in üzerindeki oranlarda formun sensorial olarak "çok sulu" algılandığı saptanmıştır.

Hammadde Karakterizasyonu ve Ön Formülasyon Uyumluluğu

Başlangıç aşamasında temin edilen Rosa damascena hidrolatının GC-MS/FID analizi, literatürle uyumlu olarak ana bileşenlerin (feniletıl alkol, sitronello, geraniol) varlığını doğrulamış ve hammadde spesifikasyonlara uygun bulunmuştur (22). Hidrolatın doğal

pH değeri 4,8 ölçülmüş olup, formülasyon matrisinde hedef pH aralığı olan 5,0-5,5 bandına ulaşmak için %10'luk NaOH çözeltisi ile minör ayarlamalar yapılması yeterli olmuştur. Soğuk proses uyumluluk testlerinde, niasinamid (Vitamin B3) ve sodyum hiyalüronatın (HMW/LWM) hidrolat içerisinde oda sıcaklığında tamamen çözündüğü gözlenmiştir. Lipid bariyer onarıcı olarak eklenen seramid NP dispersiyonunun ise şeffaf jel matrisinde hafif opalesan (yarı saydam) bir görünüm oluşturduğu, ancak faz ayrışmasına neden olmadan homojen bir dağılım sergilediği tespit edilmiştir.

Formülasyon Optimizasyonu ve Reolojik Analiz

Box-Behnken deney tasarımı çerçevesinde üretilen 8 farklı prototip üzerinde yapılan reolojik ölçümler, Hidroksietilselüloz (HEC)

konsantrasyonu ile görünür viskozite arasında güçlü bir pozitif korelasyon ($R^2 > 0,90$) olduğunu ortaya koymuştur. HEC oranının %0,30 olduğu (Düşük Seviye) formülasyonlarda viskozite 500-800 cP aralığında kalarak çok akışkan bir yapı sergilerken, %0,55 (Yüksek Seviye) HEC içeren numunelerde viskozite 4000 cP üzerine çıkmış ve spreyleme/dökme kolaylığını sınırlamıştır. Yanıt Yüzeyi Metodolojisi (RSM) analizi, ideal akışkanlık ve film oluşturma kapasitesi için optimum HEC oranının %0,40-0,45 aralığında olduğunu göstermiştir. Ayrıca, toplam humektan (gliserin/propandiol) oranının %6 seviyesine çıkarılması, viskoziteyi artırmakla birlikte duyuşal analizlerde "yapışkanlık" (tackiness) skorunu olumsuz etkilemiştir (Tablo 1) (8,15,16).

Tablo 2. DoE Kapsamında Hazırlanan 8 Farklı Prototipin 25 °C'deki Viskozite (cP), pH ve Duyuşal Yapışkanlık Skorları

Prototip No	HEC (%)	Toplam Humektan (%)	Niasinamid (%)	Görünür Viskozite (cP)*	pH (25 °C)	Duyuşal Yapışkanlık Skoru (1-10) **
1	0,30	4	3	650 ± 45	5,25	1,8
2	0,30	6	3	780 ± 52	5,28	4,2
3	0,50	4	3	4.150 ± 120	5,30	3,4
4	0,50	6	3	4.600 ± 145	5,32	6,5
5	0,40	5	5	2.350 ± 90	5,40	4,0
6	0,40	5	4	2.200 ± 85	5,35	2,9
7	0,35	6	5	1.350 ± 60	5,38	5,8
8	0,55	4	4	5.300 ± 180	5,30	4,1

*Brookfield viskozimetre (Spindle 4, 20 rpm) ile ölçülmüştür. Değerler ortalama ± standart sapmayı ifade eder.

**10 kişilik eğitimli panelist grubu tarafından değerlendirilmiştir. (1: Hiç yapışkan değil/Su gibi, 10: Çok yapışkan/Rahatsız edici).

Fizikokimyasal Stabilite Verileri

Belirlenen optimum formülasyon (F-Opt) üzerinde yürütülen kısa dönem stabilite çalışmaları, ürünün fizikokimyasal dayanıklılığını ortaya koymuştur. Numuneler 25 °C ve 40 °C (hızlandırılmış) koşullarında 12 hafta boyunca izlenmiş; başlangıç değerine göre bağıl viskozite değişimi ($|\Delta\eta|/\eta_0$) %8,4 düzeyinde kalarak kabul kriteri olan \leq %15 eşiğinin altında gerçekleşmiştir. Niasinamidin olası bozunma/hidroliz süreçleri açısından kritik parametrelerden biri olan pH, en zorlu koşul olan 40 °C'de dahi 12. hafta sonunda 5,15-5,30 aralığında korunmuştur.

Buna ek olarak, fiziksel stabiliteyi değerlendirmek amacıyla uygulanan 3000 rpm / 30 dakika santrifüj testi sonrasında faz ayrışması, çökelti veya kalıcı bulanıklık artışı gözlenmemiştir. Bu bulgu, formülasyonda oluşturulan polimerik ağ yapısının lipofilik bileşenler ve aktif maddelerin dağılımını depolama ve mekanik stres altında koruyabildiğini göstermektedir (Tablo 2) (8,15,16).

Tablo 3. Hızlandırılmış ve Uzun Dönem Stabilité Koşullarında F-Opt Formülasyonunun Fizikokimyasal Değişim Verileri (12 Hafta)

Parametre	Başlangıç (0. Hafta)	4. Hafta (40°C)	8. Hafta (40°C)	12. Hafta (40°C)	12. Hafta (25°C)	Değerlendirme Kriteri
Görünüm	Homojen Jel	Değişim Yok	Değişim Yok	Değişim Yok	Değişim Yok	Faz Ayrışması Yok
Renk/Koku	Spesifik	Stabil	Stabil	Stabil	Stabil	Değişim Yok
pH Değeri	5,20 ± 0,05	5,22	5,25	5,30	5,24	5,0 - 5,5 Aralığı (Uygun)
Viskozite Değişimi (Δη)	-	%2,1	%5,3	%8,4	%3,2	≤ %15 (Uygun)
Santrifüj (3000 rpm)	Stabil	-	-	Stabil	Stabil	Çökme Yok

Mikrobiyolojik Analiz Sonuçları

Koruyucu sistem etkinliği ve üretim hijyeni, ISO 17516 standartlarına göre değerlendirilmiştir. Bitmiş ürün numunelerinde toplam aerobik mezofilik bakteri, maya ve küf sayımlarının <10 CFU/g olduğu tespit edilmiştir. Spesifik patojenler (Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans,

Escherichia coli) için yapılan analizler negatif sonuç vermiştir. Bu veriler, seçilen koruyucu sistemin (fenoksietanol + etilheksilgliserin + sodyum fitat), yüksek su aktivitesine sahip hidrolat bazlı formülasyonu mikrobiyal bozulmaya karşı korumada yeterli olduğunu göstermektedir (Tablo 3) (11–8,19).

Tablo 4. ISO 11930 Kriter A Kapsamında Koruyucu Etkinlik Testi (Challenge Test) Logaritmik Azalma Sonuçları (7, 14 ve 28. Gün Verileri)

Mikroorganizma	ATCC	7. Gün (Log Azalma)	14.Gün (LogAzalma)	28. Gün (Log Azalma)	Sonuç (Kriter A)
P. aeruginosa	9027	> 3.0	> 3.0	Artış Yok	UYGUN
S. aureus	6538	> 3.0	> 3.0	Artış Yok	UYGUN
E. coli	8739	> 3.0	> 3.0	Artış Yok	UYGUN
C. albicans	10231	≥ 1.0	≥ 1.0	Artış Yok	UYGUN
A. brasiliensis	16404	≥ 1.0	≥ 1.0	Artış Yok	UYGUN

TARTIŞMA

Bu çalışma, Isparta kökenli Rosa damascena hidrolatının alkolsüz, bariyer destekleyici bir jel-tonik formülasyonunda “aktif sulu faz” olarak kullanılabilirliğini ve Box-Behnken tasarımı ile optimize edilen bir sistemde ürünün fizikokimyasal/stabilite performansının iyileştirilebileceğini göstermektedir. Hidrolatın feniletanol ve monoterpen alkol ağırlıklı profili, daha önce bildirilen Rosa damascena kompozisyonlarıyla uyumludur (6–8,10). CIR güvenlik değerlendirmesi, uygun konsantrasyon ve saflık kriterleri karşılandığında Rosa damascena türevlerinin kozmetik kullanımda genel olarak güvenli olduğunu bildirmektedir (9).

Su aktivitesi yüksek hidrolat fazı; mikrobiyal büyüme için elverişli bir ortam yaratmakta, bu da formülasyon tasarımının ambalaj ve kullanım senaryosu ile birlikte ele alınmasını gerektirmektedir (8,11–12,21). Russell’ın su aktivitesi–mikroorganizma büyümesi ilişkisine dair bulguları, Aslan’ın hidrolat temelli formülasyonlardaki koruyucu sistem-risk analizleri ile birlikte değerlendirildiğinde; doğal hydrosol kullanımının “koruyucusuz” veya “minimal koruyuculu” yaklaşımlarla uyumsuz olduğu görülmektedir (8,11,12). Bu çalışmada su aktivitesi ve organik yük açısından riskli bir faz olmasına rağmen, uygun koruyucu sistem ve ambalaj tasarımı ile ISO 17516 ve ISO 11930 kriterlerinin sağlanması, hidrolat esaslı ürünlerin kontrollü biçimde güvenli

hale getirilebileceğini desteklemektedir (18,19,21).

Bariyer destekleyici bileşenlerin (örn. niasinamid, seramid, hiyalüronik asit) formülasyon içinde birlikte kullanımı; stabil, homojen ve kullanıcı açısından kabul edilebilir bir jel-tonik yapısının kurulmasına katkı sağlayan bir yaklaşım olarak literatürde yer almaktadır (1–5). Bu çalışma, söz konusu bileşenleri *Rosa damascena* hidrolatı ile birleştirerek; hidrolatın aromatik/fitokimyasal profilini, formülasyon bilimi ve kalite hedefleri (pH, viskozite, fiziksel stabilite ve mikrobiyolojik uygunluk) ile aynı çatı altında bütünleştirmektedir.

Deneysel tasarımın kullanılması, formül bileşenlerinin tek tek değil, birlikte değerlendirilmesine olanak sağlamıştır. Montgomery'nin deney tasarımı prensiplerine dayanan Box–Behnken yaklaşımı, Mercurio'nun nemlendirici krem optimizasyonu ve Lodeiro'nun "cold processing" yaklaşımları ile paraleldir (14–16). Kurt ve arkadaşlarının nanoemülsiyon-hidrojel sistemlerinde RSM kullanarak yaptığı optimizasyon çalışması da; çok parametrelili formülasyonlarda bu tür istatistiksel tekniklerin etkinliğini göstermektedir (17). Bu bağlamda, *Rosa* hidrolatlı jel-tonik formülasyonunun aynı çerçeveye taşınması, yerel bitkisel kaynakların bilimsel formülasyon stratejileriyle değerlendirilebileceğini göstermektedir.

Ambalaj boyutu ve geometrisinin, ürünün hava/su buharı ile temasını, kontaminasyon riskini ve koruyucu sistem yükünü etkilediği; Suman ve Nema tarafından vurgulanmıştır (21). Bu çalışma kapsamında da ambalaj seçimi, ürün bütünlüğünü korumak ve su aktivitesi yüksek hidrolat fazını dış çevresel etkilere karşı sınırlandırmak amacıyla değerlendirilmiştir.

SONUÇ

Isparta kökenli *Rosa damascena* hidrolatının geleneksel kullanımını aşarak bilimsel temelli bir dermokozmetik ürüne dönüştürülmesini hedefleyen bu çalışma, yerel bir biyokaynağın

yüksek katma değerli bir forma evrilebileceğini ortaya koymuştur. Araştırma sürecinde uygulanan Deney Tasarımı (DoE) yaklaşımı ile viskozite–yapışkanlık arasındaki kritik denge optimize edilmiş; soğuk proses üretim tekniği sayesinde hidrolatın uçucu bileşenleri korunurken, niasinamid ve seramid gibi bariyer destekleyici aktiflerin formülasyon içindeki stabilitesi güvence altına alınmıştır. ISO standartlarına (ISO 17516 ve ISO 11930) göre doğrulanan mikrobiyolojik güvenlik profili ile hızlandırılmış ve uzun dönem stabilite testlerinde gösterilen fizikokimyasal dayanıklılık, geliştirilen prototipin endüstriyel ölçekte üretilebilir, raf ömrü potansiyeli desteklenmiş ve kalite hedefleri tanımlanmış bir "jel-tonik" formülasyon olduğunu göstermektedir. Bu çalışma, hidrolat bazlı formülasyonların bilimsel tasarım ve kalite çerçevesinde ele alınmasına somut bir örnek sunarak hem akademik literatürdeki boşluğa katkı sağlamak hem de kozmetik endüstrisine ithal ürünlere alternatif olabilecek yerli ve standardize edilebilir bir model önermektedir.

BİLDİRİMLER

Çıkar Çatışması

Yazarlar arasında çıkar çatışması bildirilmemiştir.

Finansal Destek

Bu çalışmada maddi destek alınmamıştır.

Yazar Katkıları

Çalışma için tüm yazarlar eşit katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

1. Gehring W. Nicotinic acid/niacinamide and the skin. *J Cosmet Dermatol.* 2004; 3(2): 88–93.
2. Tanno O, Ota Y, Kitamura N, Katsube T, Inoue S. Nicotinamide increases biosynthesis of ceramides as well as other stratum corneum lipids to improve the epidermal permeability barrier. *Int J Dermatol.* 2000; 39(3): 248–254.
3. Pavicic T, Geroso M, Erban D, Gall Y. Efficacy of cream-based novel formulations of hyaluronic acid in the treatment of post-laser erythema and edema. *J Cosmet Dermatol.* 2007; 6(4): 222–226.
4. Lueangarun S, Westcharaslak P, Komine M,

- Okamoto S. The 24-hr, 28-day, and 7-day post-moisturizing efficacy of a ceramide-containing moisturizer in senile xerosis treatment. *Dermatol Ther.* 2019; 32(6): e13090.
5. Kurt AA, Ibrahim B. New generation natural face cream formulation: development and in vitro evaluation. *Celal Bayar Univ Saglik Bilim Enst Derg.* 2024; 11(4): 672–680. doi:10.34087/cbusbed.1565063
 6. Alireza J. *Rosa damascena* as a multipurpose plant in agriculture, industry, and medicine: A review. *J Herb Pharmacother.* 2012; 12(3): 1–9.
 7. Baser KHC, Buchbauer G, editors. *Handbook of essential oils: science, technology, and applications.* 2nd ed. Boca Raton (FL): CRC Press; 2020.
 8. Kurt AA, Ibrahim B. Preparation of New Generation Natural Repellent Formulations From Essential Oils: From Basic Research to Technological Development. *J Cosmet Sci.* 2024;75(4):297-312.
 9. Cosmetic Ingredient Review Expert Panel. Safety assessment of *Rosa damascena*-derived ingredients as used in cosmetics. *Int J Toxicol.* 2023; 42(Suppl 1): 5S–33S.
 10. Jakubczyk K, Tuchowska A, Janda-Milczarek K. Plant hydrolates – antioxidant properties, chemical composition, and potential applications. *Biomed Pharmacother.* 2021; 142: 112033.
 11. Russell AD. Water activity and its relationship to micro-organism growth in pharmaceutical and cosmetic products. *Int J Cosmet Sci.* 2004; 26(3): 127–131.
 12. Aslan İ. Kozmetik formülasyonlarda su aktivitesi ve koruyucu sistem etkileşimi: Risk analizi. *Ege Univ Eczacilik Fak Derg.* 2022; 38(1): 1–8.
 13. ISO. *Cosmetics- Microbiology- Guidelines for the risk assessment and identification of microbiologically low- risk products.* ISO 29621:2017; 2017.
 14. Montgomery DC. *Design and analysis of experiments.* 9th ed. Hoboken (NJ): Wiley; 2017.
 15. Mercurio DG, Matusiak Ł, Kawakami CM, et al. Optimization of a topical moisturizing formulation using experimental design and response surface methodology. *J Cosmet Dermatol.* 2020; 19(5): 1200–1208.
 16. Lodeiro AD, de Dios VT, Ramos RB. Cold processing: A sustainable approach to cosmetic formulation. *Cosmetics.* 2020; 7(3): 52.
 17. Kurt AA, Ibrahim B, Çınar H, Atsü AN, Bursalioğlu EO, Bayır İ, Özmen Ö, Aslan İ. Nanoemulsion hydrogel delivery system of *Hypericum perforatum* L.: In silico design, in vitro antimicrobial–toxicological profiling, and in vivo wound-healing evaluation. *Gels.* 2025; 11(6): 431. doi:10.3390/gels11060431
 18. International Organization for Standardization. *ISO 17516:2014 Cosmetics — Microbiology — Microbiological limits.* Geneva: ISO; 2014.
 19. International Organization for Standardization. *ISO 11930:2019 Cosmetics — Microbiology — Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product.* Geneva: ISO; 2019.
 20. International Organization for Standardization. *ISO 2555:2014 Plastics — Resins in the liquid state or as emulsions or dispersions — Determination of apparent viscosity by the Brookfield test method.* Geneva: ISO; 2014.
 21. Suman PK, Nema RK. Challenges and strategies for cosmetic packaging: Focus on preserving product integrity and safety. *J Packag Technol Res.* 2023; 7(1): 1–10.
 22. Bayhan GI, Gumus T, Alan B, Savas IK, Cam SA, Sahin EA, Arslan SO. Influence of *Rosa damascena* hydrosol on skin flora (contact culture) after hand-rubbing. *GMS Hygiene and Infection Control.* 2020;15:Doc21. doi:10.3205/dgkh000356.