

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO



MAŠA TATIĆ

**PROUČEVANJE MEDSEBOJNE
KORELACIJE REOLOŠKIH METOD ZA
KREME**

RESEARCH OF CORRELATION BETWEEN
RHEOLOGICAL METHODS FOR CREAMS

Ljubljana, 2017

Diplomsko nalogo sem opravljala na Univerzi v Ljubljani, Fakulteti za farmacijo, Katedri za farmacevtsko tehnologijo, pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm.

ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici prof. Mirjani Gašperlin za strokovno vodenje in usmerjanje pri raziskovalnem delu in izdelavi diplomske naloge. Prav tako se zahvaljujem strokovni sodelavki Tatjani Hrovatič ter asist. Maji Bjelošević, mag. ind. farm., za koristne nasvete in pomoč pri delu v laboratoriju.

Zahvala gre tudi moji družini in prijateljem, ki so me tekom celotnega študija spodbujali in verjeli vame.

IZJAVA

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm.

KAZALO VSEBINE

1 UVOD	8
1.1 REOLOGIJA.....	8
1.1.1 REOLOGIJA NA PODROČJU FARMACIJE IN KOZMETOLOGIJE	8
1.1.2 DEFINICIJE OSNOVNIH REOLOŠKIH PRAMETROV.....	8
1.1.3 REOLOŠKA OPREDELITEV SISTEMOV.....	12
1.1.4 REOMETRIJA	12
1.1.5 MERITVE OSCILACIJE	14
2. PENETROMETRIJA	17
3. RAZMAZNOST	18
3.1. DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA RAZMAZNOST	18
3.2. METODE MERJENJA RAZMAZNOSTI	19
3.2.1 Metoda vzporednih plošč	19
3.2.2 Subjektivno ocenjevanje	20
3.2.3 Metoda glavne krivulje.....	20
3.2.4. In vivo testi.....	21
4. KORELACIJE MED SORODNIMI REOLOŠKIMI METODAMI	21
2 NAMEN DELA	22
3 MATERIALI IN METODE	23
3.1 MATERIALI.....	23
3.2 METODE.....	23
3.2.1 DOLOČANJE REOLOŠKIH PARAMETROV – MERJENJE VISKOZNOSTI, AMPLITUDNI IN FREKVENČNI TEST	23
3.2.2 TEST RAZMAZNOSTI.....	24
3.2.3 PENETROMETRIJA	25
3.2.4 ORGANOLEPTIČNO VREDNOTENJE	27
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	28
4.1 TEST RAZMAZNOSTI.....	28
4.1.1 Določanje optimalne količine testiranega vzorca	28
4.1.2 Določanje optimalnega časa merjenja	29
4.1.3 Obremenitev vzorca	30
4.1.4 Primerjava razmaznosti krem	30
4.2 PENETROMETRIJA	32
4.2.1 Določitev optimalne količine vzorca v vsebniku	33

4.2.2 Primerjava globine penetracije krem	33
4.2.3 Primerjava testa penetracije z razmaznostjo krem	35
4.3 REOLOŠKO VREDNOTENJE – DOLOČANJE VISKOZNOSTI, AMPLITUDNI TEST IN FREKVENČNI TEST	36
4.3.1 Primerjava reoloških meritev krem	36
4.3.1.1 Primerjava meritev viskoznosti krem	36
4.3.1.2 Medsebojna primerjava oscilatornih testov pri obeh kremah	39
4.3.2 Primerjava reoloških meritev krem s testom razmaznosti	43
4.3.3 Primerjava reoloških meritev krem s testom penetracije	44
5 SKLEP	44
6 VIRI	46

POVZETEK

Reološke lastnosti farmacevtskih in kozmetičnih pripravkov imajo ključno vlogo pri kontroli kakovosti, učinkovitosti in fizikalne stabilnosti vhodnih surovin in končnega izdelka ter pri optimizaciji tehnološkega procesa. Z dobrim načrtovanjem formulacije in posledično reoloških lastnosti vplivamo tudi na sprejemljivost končnega izdelka iz vidika potrošnikov ter na zahtevane organoleptične lastnosti po aplikaciji izdelka na kožo.

Eksperimentalno delo diplomske naloge smo izvedli na dveh komercialnih kremah s slovenskega tržišča. Med seboj smo proučevali odnose med tremi reološkimi parametri, ki so bili pridobljeni z neodvisnimi metodami. Krema smo pred instrumentalnim testiranjem senzorično vrednotili, pri čemer smo se osredotočili na organoleptične lastnosti, ki se smiselno povezujejo z proučevanimi reološkimi parametri. Z uporabo rotacijskih in oscilacijskih testov smo določili viskoznost in viskoelastične lastnosti krem, s testom penetracije globino oziroma stopnjo penetracije krem in s testom razmaznosti polmer razmaza krem v časovni točki, kjer se ta ni več spreminjal.

Cilj diplomske naloge je bil ugotoviti, ali obstajajo povezave med preizkušanimi reološkimi metodami. Tako bi lahko, na podlagi vzporednic med proučevanimi reološkimi parametri, z določitvijo enega izmed parametrov predvideli, kakšna bosta druga dva. To bi pomenilo, da lahko z uporabo le ene reološke metode sklepamo, kakšne bodo reološke lastnosti in tokovno obnašanje končnega izdelka. To bi bilo veliko bolj praktično, časovno in stroškovno manj potratno, kar je v velikoserijski farmacevtski in kozmetični industriji velika prednost.

Razlike med proučevanimi kremama so bile razvidne že iz senzoričnega vrednotenja in smo jih kasneje potrdili tudi z instrumentalnimi testi. Krema, ki smo jo glede na sestavo opredelili kot lipofilno, je bila viskoznejša, trše konsistence, težje razmazna, mastna in okluzivna v primerjavi s hidrofilno kremo z večjim deležem vode, vlažilcev in humektantov. S pomočjo reoloških metod smo lipofilni kremi določili večjo viskoznost, manjši polmer razmaza in manjšo stopnjo penetracije (tršo konsistenco) v primerjavi s hidrofilno kremo, kar povsem sovпада z organoleptičnim vrednotenjem in teoretičnim osnovam.

Povzamemo lahko, da obstajajo logične povezave med testiranimi reološkimi parametri in metodami. Za dokončno potrditev, da lahko z uporabo le ene reološke metode, napovemo preostale reološke lastnosti, pa bo potrebno med seboj primerjati večje število vzorcev.

KLJUČNE BESEDE: reologija, viskoznost, razmaznost, penetrometrija, kreme, senzorična ocena

SEZNAM OKRAJŠAV

KI – kozmetični izdelek

LVO – linearno visukoelastično območje

G' - elastični modul

G'' - plastični modul

γ – strižna deformacija

T – strižna napetost

D – strižna hitrost

$\tan \delta$ – tangens delta

1 UVOD

1.1 REOLOGIJA

Reologija je veda o pretočnih lastnostih, tokovnem obnašanju in deformaciji kapljevin ter drugih snovnih sistemov. Termin je sestavljen iz dveh grških besed, in sicer »rheos«, kar pomeni tok ter »logos«, kar pomeni veda (1,2).

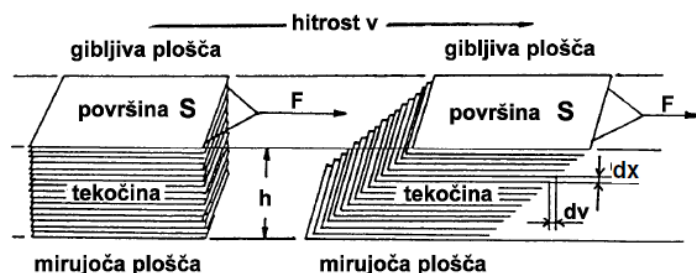
1.1.1 REOLOGIJA NA PODROČJU FARMACIJE IN KOZMETOLOGIJE

Farmacevtski in kozmetični izdelki se lahko nahajajo v širokem spektru tehnoloških oblik kot so tekočine, poltrdne in trdne snovi, ki se v reoloških lastnosti med seboj bistveno razlikujejo. Reološke lastnosti imajo pomembno vlogo pri kontroli kakovosti in fizikalne stabilnosti vhodnih surovin in končnega izdelka ter pri sami optimizaciji tehnološkega procesa. S stalnim nadzorom kakovosti proizvodnje, vhodnih sestavin, polnjenja in skladiščenja izdelkov pa dosežemo konstantno kakovost končnega izdelka, ki je bistvenega pomena pri masovni industrijski proizvodnji.

Poleg tega reološki parametri vplivajo na sprejemljivost končnega izdelka iz vidika potrošnikov; v to kategorijo spadajo občutek na koži med in po nanosu izdelka, optimalen način delovanja in čas zadrževanja izdelka na tarčnem mestu, iztisk iz vsebnika, lahkotnost nanosa ter senzorične lastnosti, kot so konsistenca, mazljivost, lepljivost, razprostiranje, zaostanek filma. Na občutek na koži in dolgoročno obstojnost kozmetičnega izdelka vplivajo predvsem formulacija izdelka in način izdelave, pri čemer je poznavanje in prilagajanje reoloških lastnosti ključnega pomena (3,4).

1.1.2 DEFINICIJE OSNOVNIH REOLOŠKIH PRAMETROV

Osnovne reološke parametre lahko pojasnimo z enostavnim modelom dveh vzporednih plošč s površino A [m²] in medsebojno razdaljo h [m], med katerima je preiskovana tekočina (Slika 1). Spodnja plošča miruje, medtem ko se zgornja premika z določeno silo F [N] in hitrostjo v [$\frac{m}{s}$]. Ustvari se plastni laminarni tok in ne sme priti do turbulence, saj v tem primeru natančen izračun spremenljivk, povezanih z viskoznostjo, ni mogoč. Za definiranje reoloških parametrov si izberemo dve sosednji plasti, ki sta razmaknjeni za dx prečno glede na smer gibanja. Razlika hitrosti med gibanjem izbranih plasti pa je dv (1).



Slika 1: Model vzporednih plošč za prikaz strižne deformacije (1)

Strižna deformacija (ang. shear strain) γ

Strižna deformacija oz. strig je posledica delovanja strižne sile, ki povzroči določen premik plasti in jo definiramo kot tangens kota deformacije telesa. Strižna sila nastane s tokom, deluje v smeri ploskve in je odgovorna za spremembo oblike telesa (1,2).

$$\gamma = \frac{dy}{dx} = \tan\theta \cong \theta$$

Enačba 1

(y - premik, x – višina/debelina)

Če se atomi (molekule) po prenehanju delovanja mehanske sile vrnejo v prvotni položaj, govorimo o prožni oziroma elastični deformaciji. Pri elastični deformaciji pride do raztega kemijskih vezi v tolikšni meri, da ne povzroči pretrganja teh vezi. Lahko pa pride med obremenitvijo do odmika atomov do razdalje, ko se niso več sposobni vrniti v začetno stanje, ali pa pride do njihovega preurejanja in posledično do prekinitve kemijskih vezi. V tem primeru deformacijo opredelimo kot plastično oziroma trajno. Do katere vrste deformacije pride, je odvisno od molekularne sestave sistema ter velikosti in trajanja deformacije (1).

Strižna napetost (ang. shear stress) τ

Pri modelu dveh vzporednih plošč spodnja plošča miruje, medtem ko se zgornja premika. Četudi gre za počasno premikanje zgornje plošče, pride do napetosti, ki je vzporedna s površino tekočine in jo imenujemo strižna napetost. Definirana je kot količnik sile F, ki leži v zgornji ploskvi, in površine plošče S. Podajamo jo v Pascalih [Pa] (enačba 2) (1,2).

$$\tau = \frac{F}{S} \text{ [N/m}^2\text{ = Pa]}$$

Enačba 2

Strižna hitrost (ang. shear rate) $D/\dot{\gamma}$

Podaja mero tekočinske deformacije in jo izračunamo kot kvocient med diferencialom hitrosti zgornje plošče dv in razdaljo med sosednjima tekočinskima plastema dx. Ko obravnavamo

poltrdne in trdne sisteme pa je strižna hitrost definirana kot odvod deformacije $d\gamma$ po času dt (enačba 3).

$$D = \frac{dv}{dx} = \frac{d\gamma}{dt} [s^{-1}]$$

Enačba 3

Definiranje viskoznosti (ang. viscosity) η

Viskoznost je fizikalna količina in opisuje lastnost materiala. Predstavlja merilo notranjega upora tekočine, ki je izpostavljena deformaciji.

Reometrija se ukvarja z merjenjem oziroma instrumentalnim vrednotenjem reoloških lastnosti. Ena od vej reometrije je tudi viskometrija, s pomočjo katere določamo viskoznost tekočin. Vse materiale lahko razvrstimo na lestvico od tekočih do trdnih snovi. V teoriji so trdni materiali opredeljeni kot elastični, medtem ko so tekočine definirane kot viskozne. V realnem svetu pa so snovi redko povsem elastične oziroma viskozne, zato jih opredelimo kot viskoelastične.

Viskometrija obravnava idealno viskozne tekočine in – z določenimi omejitvami – viskoelastične tekočine – torej viskozne snovi z elastičnim delom. Če tekočina zlahka steče, je njena odpornost proti deformaciji nizka, torej gre za tekočino z nizko viskoznostjo. Tekočine z večjo odpornostjo proti deformaciji ne stečejo zlahka in so visoko viskozne (5).

Dinamična viskoznost

Dinamično viskoznost predstavlja notranji upor tekočine pri pretakanju in jo dobimo s preoblikovanjem Newtonovega zakona. Podamo jo kot sorazmernostni faktor med strižno napetostjo in strižno hitrostjo. Ta zveza velja le za Newtonske tekočine (enačba 4).

$$\frac{F}{S} = \eta \times \frac{dv}{dx} \Rightarrow \tau = \eta \times \gamma [Pa \cdot s]$$

Enačba 4

V primeru, da viskoznost med obremenitvijo ni konstantna, jo imenujemo navidezna viskoznost. V tem primeru je potrebno določiti strižne pogoje (1).

Kinematična viskoznost

Kinematična viskoznost opisuje tokovno obnašanje snovi pod vplivom gravitacije. Definirana je kot kvocient med dinamično viskoznostjo η in gostoto preiskovane snovi ρ , pri točno določeni temperaturi (enačba 5) (1).

$$v = \frac{\eta}{\rho}$$

Enačba 5

Relativna viskoznost

Relativna viskoznost je pomemben parameter pri testiranju polimerov v raztopinah. Za večino polimerov je določeno razmerje med molsko maso in viskoznostjo, pri čemer velja, da višja kot je molska masa, večja je viskoznost raztopine polimera. Čeprav je večina polimernih raztopin nenenewtonskih tekočin, se obnašajo kot newtonske, dokler je stopnja strižne hitrosti dovolj nizka. Relativno viskoznost se izračuna kot kvocient med viskoznostjo raztopine polimera in viskoznostjo čistega topila (enačba 6) (6).

$$\eta_r = \frac{\eta}{\eta_0} [1]$$

Enačba 6

Dejavniki, ki vplivajo na viskoznost

Tokovno obnašanje snovi in meritve viskoznosti so odvisne predvsem od treh dejavnikov - od molekularne zgradbe snovi, jakosti in časa delovanja zunanjih sil ter temperature. Če so molekule med seboj tesno povezane, se snov bolj upira deformaciji in posledično težje steče. Zunanje sile povzročijo deformacijo snovi. Na deformacijo vpliva jakost sile in čas trajanja deformacije. Newtonske tekočine so od zunanjih sil neodvisne. Tekočine, katerih viskoznost je odvisna le od jakosti delovanja strižne sile, imenujemo časovno neodvisne nenenewtonske tekočine, medtem ko tekočine, ki so poleg jakosti strižne sile odvisne še od časa in smeri delovanja striga, pa opredelimo kot časovno odvisne nenenewtonske tekočine. V viskometriji zunanje sile predstavljajo stopnjo strižne hitrosti ali napetosti. Med delovanjem zunanjih sil je pomembno upoštevati tudi okoljske razmere, kot sta temperatura in tlak, ki prav tako vplivata na izmerjene viskozne vrednosti. Razmerje med temperaturo in viskoznostjo je inverzno proporcionalno - z zvišanjem temperature se zmanjša viskoznost obravnavane snovi in obratno. V večini primerov viskoznost tekočin s povečanjem tlaka narašča, vendar je vpliv tlaka v primerjavi s temperaturo minimalen, saj je večina tekočin (razen plinov) pri nizkih in srednjih vrednostih tlakov skoraj nestisljivih. S povečanim pritiskom se količina prostega volumna v notranjosti strukture zmanjša, posledično je zmanjšano prosto gibanje molekul, notranje sile trenja pa se povečajo. Rezultat je večji upor proti toku in povečana viskoznosti.

Tokovno obnašanje snovi se razvije na podlagi vpliva zgoraj omenjenih faktorjev, vendar viskoznost lahko določamo le v primeru, ko se razvije plastični laminarni tok. V primeru

turbulentnega gibanja vrednotenje viskoznosti ni mogoče, saj se molekule prosto gibljejo in ne tvorijo urejene strukture (7).

1.1.3 REOLOŠKA OPREDELITEV SISTEMOV

V širšem pomenu sisteme razdelimo v dve skupini, in sicer na idealne ali newtonske in realne ali nenewtonske. Newtonski sistemi so idealizirani snovni sistemi, za katere velja, da je viskoznost neodvisna od delovanja sile oziroma mehanske obremenitve na sistem ter njenega trajanja. Viskoznost matematično opišemo z Newtonovim zakonom (enačba 7) in je odvisna le od temperature ter atmosferskega tlaka $\eta = f(T, p)$ (1).

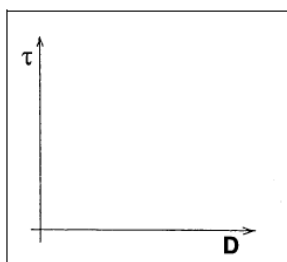
$$\eta = \frac{\tau}{D}$$

Enačba 7

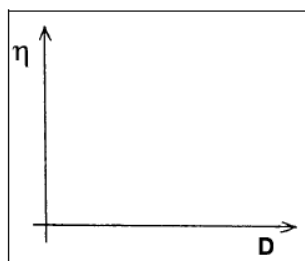
Nenewtonski sistemi, kot so realne kapljevine, poltrdni in trdni sistemi, so bolj kompleksni, saj je njihova viskoznost odvisna od mehanske obremenitve na sistem, nekateri sistemi pa so poleg tega odvisni še od časa trajanja deformacije. Viskoznost lahko z naraščajočo strižno obremenitvijo pada ali narašča, odvisno od medsebojnih interakcij strukturnih elementov določenega sistema (1).

Grafični prikaz tokovnega obnašanja snovi

Najbolj pregledno tokovno obnašanje obravnavanih sistemov prikažemo grafično, z reogrami, ki nam podajo odvisnost strižne hitrosti D od strižne napetosti τ (Slika 2) (1). Druga oblika grafičnega prikaza pa je viskozigram oz. viskoznostni diagram, kjer je prikazana odvisnost viskoznosti η od strižne hitrosti D (Slika 3) (1).



Slika 2: Reogram (1)



Slika 3: Viskozigram (1)

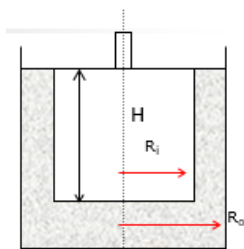
1.1.4 REOMETRIJA

V reometriji poznamo veliko različnih metod in inštrumentov, ki nam pomagajo meriti in vrednotiti reološke lastnosti merjenih sistemov. Tekočinam določamo viskoznost s pomočjo enostavnih viskozimetrov, kot so pretočni, kroglični itd., pri kompleksnejših sistemih pa za

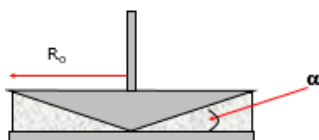
vrednotenje reoloških parametrov uporabljamo oscilacijske in rotacijske viskozimetre. Oscilacijski viskozimetri omogočajo natančnejše določanje lastnosti viskoelastičnih sistemov, saj med meritvijo ne posegajo v notranjo strukturo vzorca in tako ne pride do porušanja sekundarnih vezi, kot se zgodi pri meritvah z rotacijskimi viskozimetri.

Vrednotenje reoloških parametrov z rotacijskimi reometri

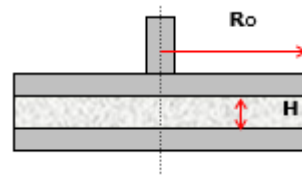
Najpogosteje uporabljamo rotacijske reometre in viskozimetre za proučevanje reološkega obnašanja nenewtonskih tekočin. Merilni sistem rotacijskih reometrov sestavljata dva dela, od katerih je lahko eden v mirujočem stanju in drugi rotira ter obratno, lahko pa tudi oba dela rotirata hkrati. Na trdno rotirajoče telo, ki je potopljeno v tekoči ali poltrdni sistem, deluje zaviralna sila, ki je premosorazmerna viskoznosti merjenega sistema. Rotacijski reometri se glede na način merjenja ločijo na rotacijske reometre s kontrolirano strižno hitrostjo ali pa rotacijske reometre z nastavljivo strižno napetostjo (2). Katero vrsto geometrijsko različnih senzorskih sistemov bomo izbrali, se odločimo na podlagi lastnosti vzorca, ki ga proučujemo. Izbiramo med sistemom koaksialnih valjev, sistemom stožec-plošča in sistemom dveh vzporednih plošč. Pri sistemu koaksialnih valjev se tekočina, ki jo merimo, nahaja v reži med obema valjema. Eden od valjev (notranji ali zunanji) rotira z določeno kotno hitrostjo, medtem ko drugi miruje (slika 4). Sistem stožec-plošča je sestavljen iz ploščice, na katero nanesemo vzorec ter stožca, ki se na vzorcu vrti. Vzorec se nahaja torej v reži med stožcem in ploščo, kjer sta strižna napetost in strižna hitrost za majhne kote stožca po celotni reži identični. Uporaba tega sistema je primerna, kadar je vzorca na voljo zelo malo, poleg tega pa omogoča preprost nanos vzorca ter čiščenje merilnega sistema. (slika 5). Sistem stožec-plošča smo uporabljali tudi v okviru raziskovalnega dela diplomske naloge. Pri sistemu dveh vzporednih plošč pa se strižna hitrost po celotnem vzorcu, ki se nahaja med dvema ploščama, spreminja. Ta merilni sistem je primeren za proučevanje bolj viskoznih tekočin ter poltrdnih snovi (slika 6) (1,2).



Slika 4: Sistem koaksialnih valjev



Slika 5: Sistem stožec-plošča



Slika 6: Sistem dveh vzporednih plošč

Prednost uporabe rotacijskih viskozimetrov je merjenje v širokem območju strižnih sil, slabost pa v grobosti metode, ki med merjenjem pripelje do porušanja notranje strukture. Rotacijski viskozimetri se med seboj razlikujejo po merilnih delih različnih geometrijskih oblik (oblika disk, vesla, vetrnice...), območju merjenja, možnosti uravnavanja temperature, izpisu reograma itd. Najbolj uporabljen rotacijski viskozimeter je Brookfieldov viskozimeter ki ima za merilni sistem vreteno različnih dimenzij za merjenje različnih viskoznosti vzorcev. Silo, ki je potrebna, da se vreteno vrtil, merimo s pomočjo kalibrirane vzmeti z odklonom kazalca na merilni skali (1).

1.1.5 MERITVE OSCILACIJE

Oscilacijske meritve uporabljamo za določitev deleža elastičnega in viskoznega doprinosa k viskoelastičnemu odzivu tekočine ali poltrdnih snovi. V primerjavi z rotacijskimi meritvami omogočajo natančnejše določanje viskoelastičnih lastnosti sistemov, saj ne posegajo v njihovo notranjo strukturo, kar pomeni, da ne pride do porušanja sekundarnih vezi. Vzorec, ki se nahaja med spodnjo ploščo in merilnim sistemom, izpostavimo stalnim, različno velikim strižnim obremenitvam; to dosežemo z osciliranjem merilnega sistema. Vzorec se nihanju levo in desno upira z določenim navorom, to zazna merilna vzmet, s katero je povezan in signal se pretvori v električnega, ki ga zazna računalniški program in omogoči izračun različnih reoloških lastnosti. Oscilacijske meritve so od rotacijskih nekoliko daljše (1,2).

Merilne tehnike pri oscilatornih strižnih pogojih

Z oscilacijskimi meritvami določimo linearno viskoelastično območje (LVO), ki predstavlja mejo, kako velikim deformacijam lahko izpostavimo vzorec, ne da bi porušili njegove notranje strukture. Meritve izvajamo pri pogojih majhnih strižnih deformacij in s tem zagotovimo, da se bo snov na strižno silo odzvala v območju linearnega viskoelastičnega odziva, reološke količine pa naj bi bile relativno preprosto merljive. Meritve izvajamo pri nedestruktivnih strižnih pogojih oz. v območju LVO z uporabo dveh merilnih tehnik – **dinamični ali oscilatorni testi in statični testi oz. testi lezenja in obnove** (ang. creep – recovery). Uporabljamo rotacijske reometre z nastavljlivo strižno napetostjo ali z nastavljlivo strižno hitrostjo. Viskoelastične lastnosti so odvisne od časovnega poteka strižne deformacije, zato lahko s spreminjanjem frekvenca oscilacije enostavno spremljamo časovni potek strižne deformacije v določenem frekvenčnem intervalu.

Elastično trdno telo se odzove v fazi s sinusno spreminjajočo se strižno deformacijo, medtem ko se viskozna tekočina odzove izven nje (zamaknjena za 90°). Torej doprinos elastične in

viskozne komponente lahko določimo le, če poznamo **fazni zamik (δ)** med inducirano strižno deformacijo in nastalo napetostjo (2).

Teoretične osnove oscilatornih tresov

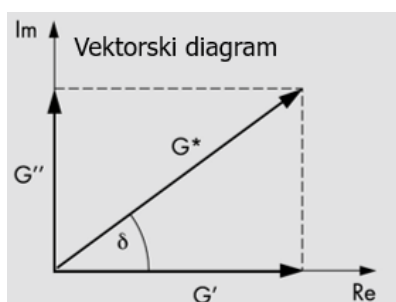
Za lažjo izpeljavo in razumevanje enačb stanja, ki opisujejo oscilatorne teste, obravnavamo nastavljivo strižno deformacijo kot vsiljeno nihanje. Snov se na vsiljeno strižno deformacijo odzove s periodičnim nihanjem strižne napetosti z določeno frekvenco ω in amplitudo γ_a (2).

Definicija osnovnih pojmov

Celoten odpor na sinusno deformacijo je določen s **kompleksnim strižnim modulom G^*** , ki ga sestavljata frekvenčno odvisni dinamični količini G' in G'' . Kompleksni strižni modul je na sliki 7 prikazan v kompleksni ravnini kot vsota viskoznega in elastičnega modula. Vektorski naklon strižnega modula pa določa fazni zamik $-\delta$.

$$G^* = G' + i G''$$

Enačba 8



Slika 7: Prikaz kompleksnega strižnega modula v kompleksni ravnini

G' [Pa] - Elastični modul/modul akumulacije energije (ang. storage modulus) – predstavlja elastični doprinos viskoelastičnega odziva snovi.

G'' [Pa] - Viskozni modul/modul energetske izgube (ang. loss modulus) – predstavlja viskozni doprinos viskoelastičnega odziva snovi.

Fazni zamik δ – definiramo ga kot tangens razmerja viskoznega in elastičnega modula; večji kot je $\tan \delta$, bolj je snov viskozna oz. plastična ter manjši kot je, bolj je snov trdna oz. elastična. (Enačba 9) Za viskoelastične sisteme velja $0^\circ < \delta < 90^\circ$ (2).

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

Enačba 9

Test pri konstantni frekvenci oscilacije – Amplitudni test

Za določitev območja linearnosti viskoelastičnih snovi, običajno v prvem koraku izvedemo amplitudni test oz. test pri konstantni frekvenci oscilacije. Teoretično in praktično je dokazano, da so reološke lastnosti viskoelastičnih sistemov do neke kritične vrednosti neodvisne od amplitude strižne deformacije oz. napetosti. Ko to vrednost presežemo, pa pričnejo vrednosti dinamičnih količin - G^* , G' , G'' itd. z naraščajočo amplitudo deformacije padati, fazni zamik δ pa naraščati. Ta pojav ponazori prehod reološkega obnašanja proučevane snovi iz linearnega v nelinearen viskoelastičen odziv. Amplitudni test običajno izvajamo tako, da zvezno povečujemo amplitudo vstopnega signala (strižne deformacije) in pri tem merimo odziv, ki se kaže kot periodično spreminjanje strižne napetosti. Ko odziv periodičnega nihanja strižne napetosti ni več sinusen, poleg tega pa se spremenijo tudi vrednosti reoloških količin, pomeni, da je notranja struktura testiranega vzorca popustila.

Kritični amplitudi strižne deformacije in napetosti opredeljujeta prehod iz linearnega v nelinearen viskoelastičen odziv in sta odvisni predvsem od mehanskih lastnosti preiskovanega vzorca. Ker sta odvisni tudi od frekvence oscilacije, nadaljnje teste, kjer frekvenca oscilacije ni konstantna, izvajamo v območju nižjih amplitud kot je zgornja oz. kritična meja LVO pri določeni/konstantni frekvenci oscilacije. S tem poskrbimo, da ne pride do porušanja notranje strukture (2).

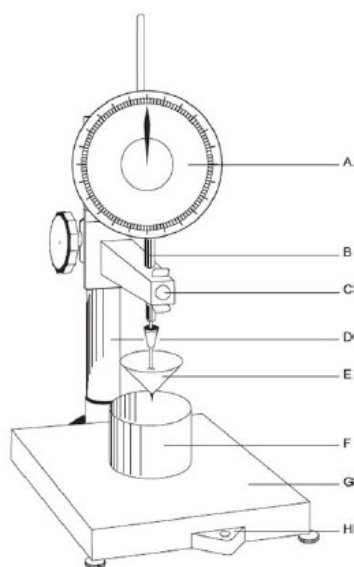
Meritve frekvenčne odvisnosti dinamičnih količin - Frekvenčni test

Meritve frekvenčne odvisnosti dinamičnih količin izvajamo pri spreminjanju frekvenc oscilacije, pod pogojem, da se izvajajo v območju amplitud strižnih deformacij ki zagotavljajo LVO. Običajno povečujemo frekvenco oscilacije stopenjsko ali zvezno in tako določimo frekvenčno odvisnost dinamičnih količin v nedestruktivnih strižnih pogojih, ko notranja struktura ni zrušena. Ko spreminjamo frekvenco oscilacije, med meritvijo spreminjamo hitrost vnesene strižne deformacije, frekvenčna odvisnost dinamičnih oz. reoloških količin pa predstavlja spekter viskoznih in elastičnih odzivov na časovni potek eksperimenta. Za navedeno odvisnost se pogosto uporablja izraz mehanski spekter, s katerim lahko ugotavljamo tip mikrostrukture testirane snovi, stopnjo premreženosti, geliranosti polimerov, jakost vezi

med strukturnimi elementi ipd. Poleg tega nam podaja natančnejšo analizo mehanskega odziva snovi na strižno napetost (2).

2. PENETROMETRIJA

Penetrometrija je ena od mnogih metod v farmaciji, ki se uporablja za ugotavljanje konsistence poltrdnih sistemov. Merilno telo s specifično velikostjo in obliko pod določenimi in validiranimi pogoji penetrira v preiskovan vzorec, ki se nahaja v vsebniku (F) z znanimi dimenzijami pod penetrometrom. Penetrometer, ki ga prikazuje slika 8, sestavljata merilno telo (E) in stojalo (B), na katerem je merilna skala (A), ki prikazuje globino penetracije, podano v desetinkah milimetra, in vijaki za nastavitve položaja merilnega telesa. Merilno telo je izdelano iz primerne materiala z gladko površino in točno določeno obliko, velikostjo in maso. V našem primeru smo uporabljali merilno telo v obliki stožca (8).



Slika 8: Penetrometer

Meritve izvajamo pri sobni temperaturi na vzorcih, ki so bili predhodno hranjeni 24 ur na $25 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Pri polnjenju vsebnika z vzorcem moramo biti previdni, da ne pride do nastajanja zračnih mehurčkov. Merilno telo mora biti nastavljeno tako, da se njegova konica nahaja pravokotno in tik nad ravno površino preiskovanega vzorca. Ko merilno telo spustimo, penetrira v vzorec. Po določenem času, ki ga lahko nastavimo (običajno 5 sekund), odčitamo globino penetracije. Če je vzorec bolj viskozen, oziroma je njegova konsistenca večja in gostejša, bo globina penetracije manjša in obratno. Vzorci z manjšo konsistenco omogočajo lažji nanos na kožo in hitrejšo absorpcijo, medtem ko so tisti z večjo konsistenco bolj čvrsti in se težje nanašajo na kožo, vendar omogočajo dobro prekrivnost. Da dosežemo ponovljivost,

meritev ponovimo še na dveh vzorcih. Globino penetracije podajamo kot aritmetično sredino treh meritev, izraženo v desetinkah milimetra. Vzorci, ki smo jih predhodno uporabili za določanje globine penetracije, so za nadaljnje proučevanje reoloških lastnosti neuporabni, zato to metodo običajno izvajamo na koncu (8).

3. RAZMAZNOST

Razmaznost opredelimo kot sposobnost razprostiranja vzorcev poltrdnih sistemov – kreme, geli, mazila, losjoni - ob nanosu na kožo. Če je premikanje vzorca s krožnimi gibi po koži enostavno in med razmazovanjem ne pride do trenja, ocenimo, da je razmaznost dobra. Razmaznost je zelo pomembna lastnost poltrdnih oblik, saj vpliva na dostavo optimalne količine odmerka zdravilne učinkovine ali kozmetično aktivnih snovi na tarčno mesto. Prav tako vpliva na enostavnost aplikacije na kožo, iztis vzorca iz embalaže in na sprejemljivost za potrošnika. Razmaznost je povezana s stičnim kotom kapljice poltrdne snovi ali tekočine na standardizirani površini in predstavlja stopnjo mazljivosti, ki je neposredno povezana s koeficientom trenja. Subjektivno ocenjevanje razmaznosti poteka pri strižni hitrosti od 10^2 do 10^{-5} s^{-1} (9).

3.1. DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA RAZMAZNOST

Lastnosti formulacije, kot so konsistenca, viskoznost, elastičnost ter reološke lastnosti so ključnega pomena pri razvoju in določanju vpliva na končno obnašanje izdelka. V to kategorijo sodi tudi razmaznost, na katero bistveno vpliva sestava formulacije. S povečevanjem viskoznosti dostavnega vehikla podaljšamo čas zadrževanja izdelka na tarčnem mestu, obenem pa se s tem zmanjša njegova razmaznost. Razmaznost in ostale lastnosti formulacije je potrebno prilagoditi glede na namen uporabe izdelka, mesto njegovega nanosa, optimalen čas zadrževanja izdelka na tarčnem mestu in sprejemljivost za uporabnika.

Pri reološkem vrednotenju moramo biti prav tako pozorni, da je hitrost striga dosežena v primerljivem času s tistim, ki ga uporabnik potrebuje, da razmaže pripravek. Za opredeljevanje razmaznosti naj bi bilo najprimernejše območje strižnih hitrosti $0\text{--}250 \text{ s}^{-1}$, v kasnejši raziskavi pa naj bi prišli do zaključka, da bi morali viskoznost in razmaznost dermalnih izdelkov vrednotiti pri temperaturi $30\text{--}35 \text{ }^{\circ}\text{C}$, strižni hitrosti 10^4 s^{-1} , ki naj bi bila dosežena v času 10 sekund.

Eden od dejavnikov, ki vplivajo na razmaznost, je temperatura. Ko naneseemo tanek film pripravka na tarčno mesto, se ta po razmazu nemudoma segreje na telesno temperaturo, ki se spreminja zaradi povečanega pretoka krvi kot posledica drgnjenja ter psiholoških dejavnikov

posameznika. Ravno zaradi tega se reološki eksperimenti za ugotavljanje korelacije z razmaznostjo izvajajo pri temperaturi, prilagojeni za posamezen eksperiment (približno v območju 30-35°C).

Na razmaznost in čas zadrževanja nanesenega vzorca na tarčno mesto vpliva hitrost izhlapevanja topila, ki je odvisna od formulacije izdelka. Kreme z lipofilnim značajem se težje razmažejo, so bolj viskozne in se na tarčnem mestu zadržujejo dlje časa, saj je izhlapevanje topila manjše v primerjavi s hidrofilnimi kremami, ravno zaradi večje vsebnosti oljnih komponent (9).

3.2. METODE MERJENJA RAZMAZNOSTI

Za merjenje razmaznosti poznamo več metod. Ena izmed najpogostejše uporabljenih metod za določanje razmaznosti poltrdnih izdelkov je metoda vzporednih plošč, ki smo jo uporabili tudi pri eksperimentalnem vrednotenju v diplomski nalogi. Poleg nje se uporablja še metoda glavne krivulje ter *in vivo* testi v kombinaciji s subjektivnim senzoričnem ocenjevanjem (9).

3.2.1 Metoda vzporednih plošč

Metoda vzporednih plošč temelji na teoretični enačbi vodoravnega laminarnega toka med dvema vzporednima ploščama. Gre za relativno poceni in enostavno metodo, njena slabost pa je manjša natančnost in občutljivost metode ter ročna interpretacija dobljenih rezultatov. Za izvedbo potrebujemo dve stekleni plošči znanih dimenzij in mas. Na sredino spodnje plošče nanesemo točno določeno in optimizirano količino vzorca, nanj dobro fiksiramo zgornjo ploščo in izmerimo premer razmaza v različnih časovnih točkah. Razmaz merimo s pomočjo merilne skale v obliki tarče, ki jo namestimo pod spodnjo ploščo. Za ugotavljanje vpliva sile roke na razmaz uporabljamo uteži z znanimi masami, ki jih po fiksaciji zgornje plošče položimo na sredino zgornje plošče. Za merjenje razmaznosti se v raziskavah uporabljata spodnji enačbi (Enačba 10 in Enačba 11) (9).

$$S = m \times \frac{l}{t} \quad \text{Enačba 10}$$

S pomeni razmaznost; m – masa zgornje plošče [g]; l – dolžina plošč [cm]; t – čas, potreben, da plošči zdrsita čez celotno dolžino l [s].

$$S_i = d^2 \times \frac{\pi}{4} \quad \text{Enačba 11}$$

S_i pomeni indeks razmaznosti in definira območje razmaza [mm^2], ki je odvisno od i – nanesene mase [g]; d – premer vzorca [mm].

3.2.2 Subjektivno ocenjevanje

Subjektivno ocenjevanje temelji na senzoričnih zaznavah prostovoljcev in je najboljši približek realnemu občutku po nanosu in dejanski mazljivosti. Kljub temu pa ponovljivosti rezultatov ne moremo zagotoviti, zaradi velike variabilnosti rezultatov, ki so posledica subjektivnih dejavnikov posameznika. Pri subjektivnem ocenjevanju gre za različne načine pridobivanja rezultatov – lahko enostavnost razmaza primerjamo z viskoznostjo formulacije, in sicer tako, da točkujemo enostavnost razmaza in tista z najvišje doseženimi točkami, velja za formulacijo z najbolj sprejemljivo viskoznostjo in razmaznostjo. Pri drugem načinu lahko predpostavimo, da subjektivno razmaznost in viskoznost enačimo s strižno napetostjo (premikanje prsta vzdolž površine), subjektivno lepljivost pa čas, ki je potreben, da odlepimo prst iz površine. Prsta se premikata v oscilatornem gibanju eden proti drugemu, s konstantno amplitudo in v enakem časovnem intervalu, pri tem pa se spreminja hitrost gibanja prsta kot posledica različnih viskoznosti formulacij. Lažje kot se prst premika vzdolž površine, manjša je viskoznost formulacije. Iz tega sklepamo, da je subjektivna razmaznost obratno sorazmerna s strižno napetostjo (9).

3.2.3 Metoda glavne krivulje

Pri tej metodi gre za kombinacijo prednosti subjektivnega ocenjevanja in instrumentalnih metod. V mnogih študijah so senzorično ocenjevanje razmaznosti združili s konceptom glavne krivulje iz reoloških meritev viskoznosti vzorcev. Z izpeljavo iz glavne krivulje so določili korelacijo med strižno napetostjo in strižno hitrostjo, ki sta bili prisotni med mazanjem vzorca na kožo. V raziskavi, ki je opisana v nadaljevanju (9), so razmaznost testiranih vzorcev primerjali z razmaznostjo različno viskoznih newtonskih silikonskih olj. Vsak vzorec posebej so nanесли na notranjo stran podlahti in ocenili, s katerim silikonskim oljem lahko enačimo njegovo razmaznost. Po tem so viskoznost testiranih vzorcev in silikonskih olj izmerili z viskozimetrom ter iz presečišča obeh reogramov razbrali strižne pogoje, ki se pojavijo ob razmazu pripravka na kožo. Glavno krivuljo so dobili s pomočjo logaritemske skale. Iz nje so razbrali, da je preferirano območje s strižno hitrostjo $400\text{--}700\text{ s}^{-1}$ in strižno napetostjo $200\text{--}700\text{ Nm}^{-2}$. Prostovoljci so nato ponovno nanесли vzorce na kožo in jih ocenili pod navedenimi pogoji. Senzorične ocene prostovoljcev so povezali z instrumentalnimi določenimi meritvami na reometru. Dobljeni rezultati nam definirajo, kakšni so optimalni pogoji za sprejemljivost potrošnika ter nadaljnje reološke teste (9).

3.2.4. *In vivo* testi

In vivo raziskave nam podajo realno oceno mazljivosti pripravka v naravnem okolju, brez pristranskosti in omejitev instrumentalnih metod. Teste izvajamo na prostovoljcih in živalskih modelih. Pri raziskavah na ljudeh se je najbolj uveljavila uporaba gama scintigrafije, s katero vrednotimo razmaznost, tako lokalno kot sistemsko ter zadrževanje nanešene formulacije (običajno poltrdnih farmacevtskih pripravkov) na sluznici. Pripravek, ki ga prostovoljci nanesejo na sluznico, vsebuje radioaktivni označevalec ali barvilo, ki identificira širjenje in zadrževanje formulacije na sluznici oz. njen vstop v telo (9).

4. KORELACIJE MED SORODNIMI REOLOŠKIMI METODAMI

Reološke parametre, pridobljene z metodami reometrije in viskometrije, ponavadi med seboj povezujemo in nadgrajujemo s sorodnimi metodami - v našem primeru s penetrometrijo in testom razmaznosti. Medsebojno povezovanje reoloških metod nam da celovit pregled nad formulacijo in končnim tokovnim obnašanjem pripravkov. Vemo, da se s povečevanjem viskoznosti in čvrstosti izdelka poveča čas zadrževanja zdravilne učinkovine ali kozmetično aktivne snovi, razmaznost in penetracija pa zmanjšata ter obratno. Poleg tega velja, da je razmaznost obratno sorazmerna s kohezivnostjo pripravka, zaradi močnih notranjih vezi, ki omejujejo njegovo pretočnost (9).

2 NAMEN DELA

Cilj diplomske naloge bo ugotoviti, ali obstajajo medsebojne povezave med sorodnimi reološkimi metodami. S pomočjo treh reoloških metod bomo določili tri različne reološke parametre, ki jih bomo potem uporabili za medsebojno primerjavo in iskanje morebitnih povezav. Naš namen je ugotoviti, ali lahko na podlagi najdenih vzporednic med proučevanimi reološkimi parametri in metodami z določitvijo le enega od parametrov, sklepamo, kakšna bosta ostala parametra, oziroma kakšno bo končno tokovno obnašanje vzorca. Če bi dokazali, da obstajajo logične korelacije med proučevanimi parametri, bi bilo določanje in vrednotenje reoloških lastnosti testiranih vzorcev z uporabo le ene metode enostavnejše, časovno manj potratno in stroškovno bolj sprejemljivo.

Proučevanje medsebojne korelacije reoloških metod bo potekalo na komercialnih vzorcih dveh krem, kupljenih na slovenskem tržišču. Z uporabo tržnih vzorcev, ki po načelih dobre proizvodne prakse (GMP – good manufacturing practice) zagotavljajo kakovost, varnost, učinkovitost ter doslednost sestave za vsako proizvodno serijo, se izognemo morebitnim napakam, ki bi se pojavile med postopkom izdelave v laboratoriju ter bi posledično lahko vplivale na končne rezultate in zaključke diplomske naloge. Za doseg cilja se bomo poslužili naslednjih metod oz. pristopov:

1. Kremama bomo določili organoleptične lastnosti (vizualna ocena – izgled in po aplikaciji kreme na kožo - konsistenca, mazljivost, film na koži, viskoznost)
2. Kremama bomo s pomočjo rotacijskega viskozimetra določili reološke parametre - viskoznost, elastični in viskozni modul ter skušali najti povezave z njunim polmerom razmaza oz. razmaznostjo, ki jo bomo določili z optimizirano metodo dveh vzporednih plošč in globino penetracije (konsistenca) krem, pridobljeno s testom penetracije.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

- Negovalna krema AtopiControl za suho in razdraženo kožo, Eucerin; Beiersdorf AG; Hamburg, Nemčija
- pH5 krema za suho in občutljivo kožo, Eucerin; Beiersdorf AG; Hamburg, Nemčija
- beli vazelin (Lex, Slovenija)

3.2 METODE

3.2.1 DOLOČANJE REOLOŠKIH PARAMETROV – MERJENJE VISKOZNOSTI, AMPLITUDNI IN FREKVENČNI TEST

Za določanje reoloških meritev smo uporabili rotacijski in oscilacijski reometer Anton Paar Physica MCR 301 (Graz, Avstrija), prikazan na sliki 9. Pri vseh meritvah smo za merilno telo uporabili sistem stožec – ploščica, nastavek CP 50-2 ($2r = 49,961$ mm, $\text{kot} = 2,00^\circ$). Pred začetkom merjenja smo morali napravo inicializirati in definirati začetne pogoje meritev, namestiti merilno telo ter nastaviti t.i. »zero gap«. Vzorec smo nanесли na sredino spodnje plošče (približno 1 g), spustili stožec v lego merjenja (0,209 mm), obrisali odvečno količino vzorca s spatulo in pričeli z merjenjem.



Slika 9: Viskoizimeter Anton Paar Physica MCR 301 (Graz, Avstrija)

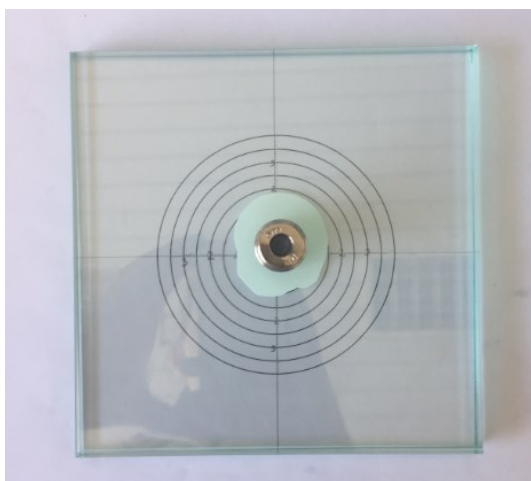
Teste rotacije smo izvajali pri temperaturi 25°C. Za izbris reološke zgodovine smo vzorec za 0,25 min izpostavili strižni hitrosti 5 s⁻¹ in ga pustili mirovati 30 s. Potem smo ga izpostavili zveznemu spreminjanju strižne hitrosti od 1 do 100 s⁻¹ in od 100 do 1 s⁻¹. Za meritve viskoznosti kreme.

Meritve oscilacije so potekale pri enaki temperaturi. Amplitudne teste smo izvajali pri frekvenci 1 Hz in 10 Hz in določali viskoelastično območje, ko se je strižna deformacija spreminjala od 0,001 – 10 %. Pogoji pri amplitudnih testih so bili za obe kremi enaki. Pri frekvenčnem testu smo pri kremi AtopiControl izbrali amplitudo 0,02 %, medtem ko je bila pri kremi pH5 amplituda nižja, in sicer 0,005 %. Obnašanje elastičnega in plastičnega modula smo spremljali pri spremembi frekvence od 10 do 0,01 Hz.

3.2.2 TEST RAZMAZNOSTI

Pri merjenju razmaznosti vzorcev smo se ravnali po metodi, ki jo je razvil Dušan Vivoda mag. farm., spec. (test razmaznosti), vendar smo jo optimizirali in prilagodili čas merjenja razmaznosti, debelino uporabljenih plošč, količino nanešenega vzorca in obremenitev z utežmi glede na karakteristike proučevanega vzorca.

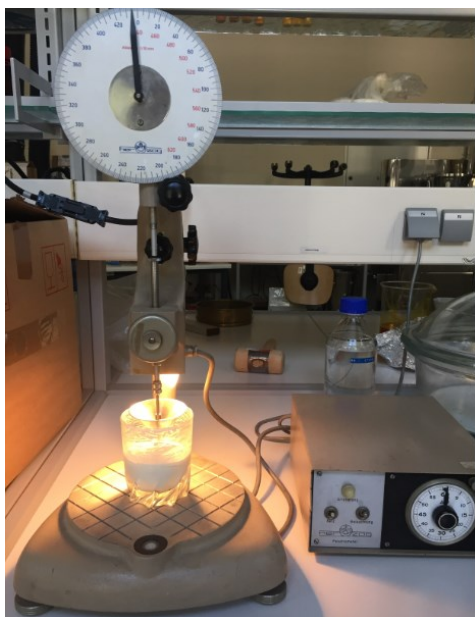
Uporabili smo list papirja, na katerem je bila narisana merilna skala v obliki tarče. Nanjo smo položili težjo stekleno ploščo (15×15 cm, debelina = 5 mm, masa = 270,02 g) in s pomočjo 2 mL brizge nanесли optimizirano količino vzorca točno na sredino najmanjšega kroga tarče s premerom 1 cm. Pozorni moramo biti, da količina vzorca ne presega premera sredinskega kroga, v višino pa lahko sega tudi do 1 cm. Na vzorec smo položili lažjo stekleno ploščo (15 ×15 cm, debelina = 2 mm, masa = 104,24 g) tako, da smo jo poravnali po robovih z spodnjo ploščo in previdno fiksirali. Po fiksaciji zgornje plošče smo vzorec obremenili še z utežmi, ki predstavljajo silo roke, s katero razmažemo formulacijo na koži. Polmer razmaza smo merili v različnih časovnih točkah, in sicer po 15, 30, 60, 90, 180 in 240 sekundah. Za obe kremi smo izvedli pet ponovitev in podali rezultat kot njihovo povprečno vrednost v vsaki časovni točki. Slika 10 prikazuje polmer razmaza kreme, ki ga merimo s pomočjo test razmaznosti.



Slika 10: Prikaz razmaza vzorca s testom razmaznosti

3.2.3 PENETROMETRIJA

Konsistenco merimo z napravo, imenovano penetrometer (Walter Herzog GmbH, Nemčija), ki je prikazana na sliki 11, za merilno telo pa smo uporabili stožec znanih dimenzij ($2r = 65$ mm, $m = 102,5$ g).



Slika 11: Penetrometer (Walter Herzog GmbH, Nemčija)

Vzorci so bili 24 ur predhodno shranjeni na $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$ v steklenem vsebniku ($2r = 7,7 \text{ cm}$; $h = 8,0 \text{ cm}$; $V = 220 \text{ mL}$), meritve pa so potekale pri sobni temperaturi. Vsebnik z vzorcem se nahaja natanko pod penetrometrom, konica stožca pa je oddaljena od gladine vzorca približno 1 mm . Merilno telo spustimo. Penetrira v vzorec in po petih sekundah izmerimo globino penetracije, ki jo odčitamo na merilni skali in je podana v desetinkah milimetra.

Med seboj smo primerjali rezultate povprečnih meritev globine penetracije krem. Pri kremi AtopiControl smo vzeli za rezultat aritmetično sredino petih meritev in izračunali standardni odklon, saj je v Evropski farmakopeji predpisano, da v primeru, ko posamezna meritev (od treh izvedenih) odstopa od aritmetične sredine za več kot 3% , izvedemo dodatne meritve (v Evropski farmakopeji 6, v sklopu diplome 5 meritev) in podamo kot rezultat aritmetično sredino in relativni standardni odklon. Pri kremi pH5 izračun standardnega odklona ni potreben, saj smo zaradi premajhne količine vzorca izvedli le dve meritvi, ki sta bili indentični. Ocenili smo, da ne potrebujemo dodatnih meritev.

Aritmetično sredino in standardni odklon smo izračunali s pomočjo spodaj navedenih enačb.

Izračun standardnega odklona:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2}{N}}$$

Enačba 12

Pri čemer je x_i = i-ta meritev med vsemi izvedenimi meritvami, $\bar{x}$ = aritmetična sredina vseh meritev, N pa število vseh meritev (10).

Izračun aritmetične sredine:

$$M = \frac{1}{N} (x_1 + x_2 + x_3 + \dots + x_N) = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i$$

Enačba 13

Pri čemer je M oziroma $\bar{x}$ = aritmetična sredina, $x_1, x_2, x_3, \dots$ = posamezna meritev, N = število vseh meritev (11).

3.2.4 ORGANOLEPTIČNO VREDNOTENJE

Pred izvedbo vseh navedenih instrumentalnih reoloških metod smo kremi organoleptično ocenili. Organoleptično vrednotenje je analizni postopek, s katerim opišemo in ocenimo lastnosti proučevanega vzorca s pomočjo čutov. Analizni instrument je torej človek, ki preko čutnega zaznavanja oz. z uporabo čutov (vid, otip, vonj, okus), subjektivno ocenjuje vzorec (24).

Kremam smo določili organoleptične lastnosti, ki se smiselno povezujejo z reološkimi lastnostmi. Najprej smo vizualno ocenili izgled krem, po aplikaciji krem na kožo, pa smo med seboj primerjali njuno mazljivost, film na koži, konsistenco in viskoznost. Že na podlagi senzorične ocene lahko sklepamo oz. napovemo, kakšne bodo reološke lastnosti vzorcev.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

Dvema komercialnima kremama smo določali in vrednotili različne reološke lastnosti s pomočjo sorodnih metod. Z rotacijskim viskozimetrom smo merili viskoznost, z uporabo penetrometra globino penetracije oziroma konsistenco krem ter s testom razmaznosti širjenje oziroma polmer razmaza krem. Kremam smo prav tako podali senzorično oceno in med seboj primerjali organoleptične lastnosti, ki so smiselne pri povezovanju z reološkimi lastnostmi. Naš namen je bil poiskati medsebojne povezave med reološkimi metodami na podlagi korelacij med posameznimi reološkimi parametri. S potrditvijo hipoteze o medsebojni korelaciji različnih reoloških metod bi lahko že na podlagi vrednotenja posameznega reološkega parametra z uporabo ene od omenjenih metod, sklepali o drugih reoloških parametrih, ki jih sicer vrednotimo z ostalima metodama. S tem bi pridobili na času in stroških, kar je ključnega pomena pri masovni farmacevtski in kozmetični proizvodnji ter vrednotenju.

4.1 TEST RAZMAZNOSTI

Razmaznost je merilo konsistence losjonov, krem in gelov, ki jo povezujemo z enostavnostjo nanosa določenega vzorca na kožo. Na razmaznost vpliva veliko dejavnikov, kot so količina in vrsta lipofilnih komponent, zgoščeval in površinsko aktivnih snovi v vzorcu ter delež vode (9). Krema z visokim deležem lipofilne faze ima načelom slabšo razmaznost, je bolj viskozna in lepljiva. Razmaznost pogosto določamo z uporabo metode vzporednih plošč, saj je relativno enostavna in poceni. Merimo širjenje vzorca; to je razmaz krem med dvema ploščama v določenem času. Za simulacijo sile roke smo uporabili uteži, ki jih po fiksaciji plošč postavimo na sredino zgornje steklene plošče.

4.1.1 Določanje optimalne količine testiranega vzorca

Določeno količino vzorca smo nanašali znotraj sredinskega kroga tarče (le-ta predstavlja merilno skalo) z brizgo. Najprej smo ugotavljali, s katero brizgo je nanos vzorca enostavnejši. Odločali smo se med 2 mL in 5 mL brizgo. Pri uporabi 5 mL brizge smo imeli težave z

odvzemanjem vzorca iz vsebnika, saj je bila potrebna količina za nanos na ploščo zelo majna (do 1 mL vzorca). Največje težave nam je predstavljala krema AtopiControl zaradi svoje viskoznosti in goste konsistence, pri kremi pH5 pa teh težav ni bilo. Za obe kremi smo uporabili 2 mL brizgo.

Za določitev optimalne količine vzorca smo preizkušali količine v območju od 0,4 - 0,6 mL vzorca, saj pri večjih količinah (0,6 - 1,0 mL) celoten vzorec ni bil znotraj omejenega območja sredinskega kroga, v območju do 0,4 mL vzorca pa je bila količina premajhna, poleg tega pa doziranje tako majhne količine z brizgo ni enostavno. Optimalna količina vzorca za kremo AtopiControl je bila 0,4 mL oziroma 0,39 gramov, medtem ko smo pri vzorcu pH5 Skin-Protection nanесли 0,5 mL vzorca oziroma 0,49 gramov. Optimalna količina vzorca je tista, ko je iz meritev v različnih časovnih točkah jasno razvidno, da se razmaz spreminja. Zaključimo lahko, da je količina vzorca za nanos na ploščo odvisna od reoloških lastnosti kreme in njene sestave.

4.1.2 Določanje optimalnega časa merjenja

Za določitev najbolj optimalnega časa za odčitavanje in primerjavo vrednosti razmaznosti dveh krem smo polmer razmaza merili v različnih časovnih točkah, in sicer: po 15, 30, 60, 90, 180 in 240 sekundah. Merjenje po 15 sekundah ni bilo optimalno, saj se je razmaz pri obeh kremah po izteku časa še vedno širil. Merjenje razmaza po prvih sekundah je precej vprašljivo in neoptimalno, saj hitro pride do razlik med posameznimi meritvami zaradi različne hitrosti in spretnosti pri fiksaciji plošč in postavljanju uteži. Tudi čas začetka merjenja lahko variira v območju nekaj sekund, ne glede na to, da vse meritve izvaja ista oseba. Zadnji dve časovni točki sta bili izbrani z namenom, da potrdimo, da se razmaz po določenem času ne spreminja več in tako dobimo konstantne rezultate. Vmesne točke prikazujejo širjenje razmaza kreme z naraščajočim časom. Pri kremi AtopiControl smo zadnjo časovno točko zanemarili, saj v primerjavi z rezultatom pri 90 s in 180 s ni bilo sprememb. Za medsebojno primerjavo in ocenjevanje krem smo izbrali polmer razmaza pri 240 sekundah, kjer se razmaz pri nobeni kremi ne spreminja več in se rezultati med seboj občutno razlikujejo. V točki, ko se razmaz ne spreminja več, pride do porušitve notranje strukture kreme. Vrednotenje po tej časovni točki ni več smiselno, saj se razmaz ne spreminja več, krema pa se kasneje vpije v kožo.

4.1.3 Obremenitev vzorca

Uteži predstavljajo simulacijo obremenitve oz. silo roke, ki pritiska na vzorec. Na voljo smo imeli 10-, 20- in 50-gramske uteži. Pri obeh kremah smo pričakovano potrdili, da se razmaznost z uporabo večjih uteži povečuje, iz česar lahko sklepamo, da večja kot je sila roke, s katero kremo razmažemo po koži, širši bo polmer razmaza oziroma razmaznost kreme. Pri kremi pH Skin-Protection smo za podlago uporabili težjo (debelejšo) ploščo, zgoraj pa je bila lažja (tanjša) plošča. Uporabili smo rezultate tako z 10-, kot z 20-gramsko utežjo, saj so najbolj nazorno prikazali razlike v razmazu te kreme pri različnih obremenitvah. Če primerjamo polmer razmaza v najbolj optimalni časovni točki, torej po 240 s, je iz slike 13 jasno razvidno, da je pri obremenitvi z 10-gramsko utežjo manjši (2,88 cm) v primerjavi s polmerom razmaza pri obremenitvi z 20-gramsko utežjo (3,02 cm). Eksperimentalno pridobljeni rezultati potrjujejo hipotezo, da z večjo obremenitvijo dosežemo večjo razmaznost kreme.

Pri kremi Atopi Control je bila težja utež zgoraj, nanjo pa smo položili še 50-gramsko utež, saj manjša obremenitev (10- in 20- gramaska utež) ni povzročila razmaza oziroma širjenja kreme. Vzrok je verjetno v večji viskoznosti in rigidnosti kreme v primerjavi s kremo pH5.

4.1.4 Primerjava razmaznosti krem

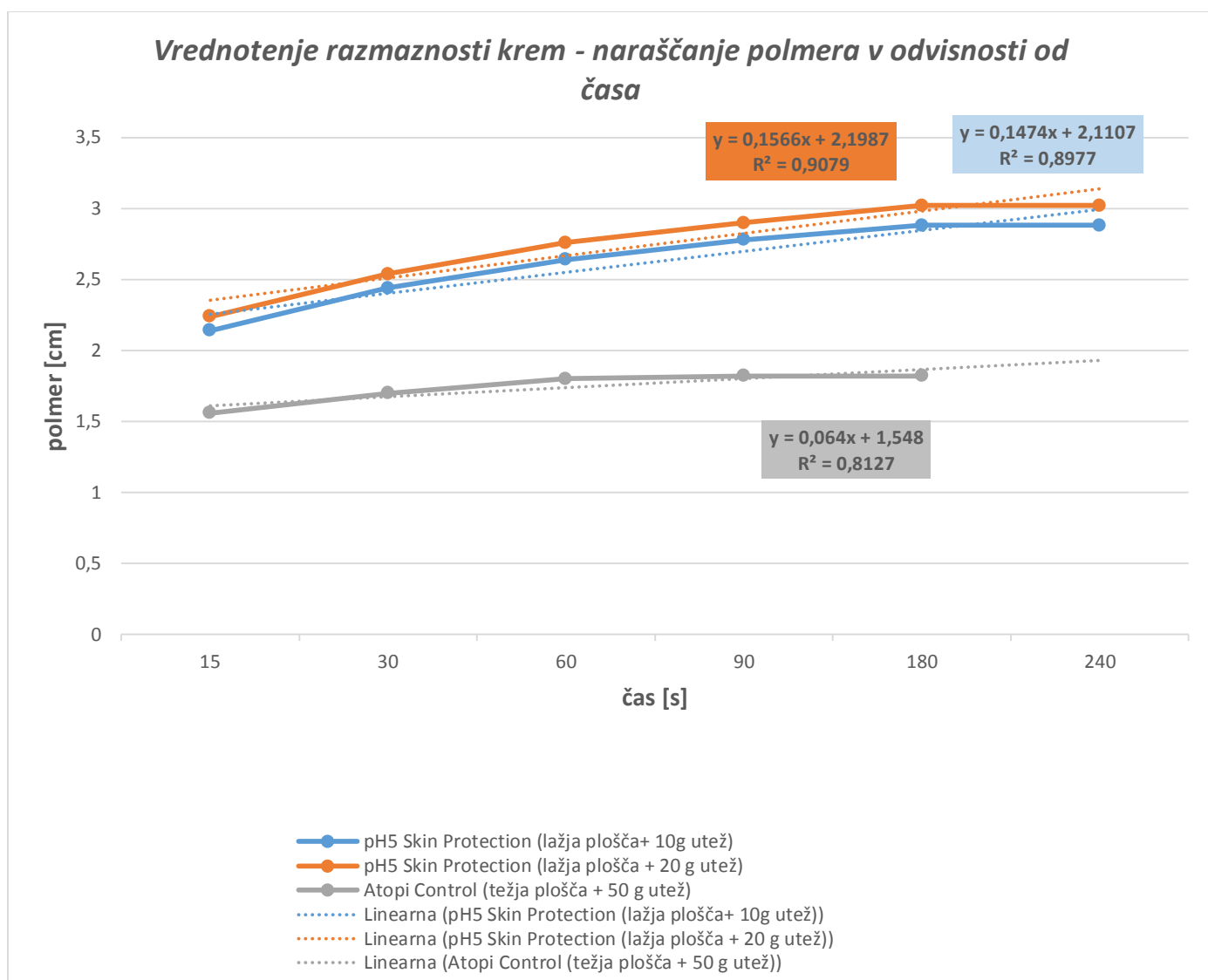
Slika 12 prikazuje polmer razmaza, izmerjen v različnih časovnih točkah za kremi AtopiControl in pH5. Iz slike 12 je razvidno naraščanje polmera razmaza v odvisnosti od časa. Izbrali smo le tiste meritve, za katere smo določili, da so najbolj optimalne, torej Atopi Control, obremenjeno s težjo ploščo in 50-gramsko utežjo in pH5 Skin Protection, obremenjeno z lažjo ploščo, na katero smo enkrat postavili 10- in potem še 20-gramsko utež. Opazimo lahko, da gre pri obeh kremah za linearno naraščanje polmera s časom. Pri kremi AtopiControl se polmer ustali že po 90 s in se ne spreminja več, medtem ko se pri kremi pH5 ustavi po 180 s.

Krema AtopiControl je emulzija vode v olju (w/o), zato jo sestavlja več lipofilnih komponent (12 % ω -6 maščobnih kislin - olje semen svetlina, olje grozdnih pešk) (12). Ravno zaradi visoke vsebnosti lipofilnih in negovalnih sestavin je krema bogata in negovalna, primerna za nego suhe, razdražene in atopijske kože (12). Krema pH5 pa vsebuje humektante (glicerol), ki preprečujejo transepidermalno izgubo vode in s tem kožo vlažijo ter ohranjajo njeno zaščitno

funkcijo (13). Krema je zaradi večje vsebnosti vode in humektantov, bolj hidrofilna in v primerjavi s kremo AtopiControl posledično manj viskozna. Krema pH5 se zaradi svoje sestave po aplikaciji lepo vpije v kožo, koža je prijetna in mehka na otip, ne pušč mastnih sledov in tvori lahkoten film.

Opisane razlike v formulaciji in različni vsebnosti lipofilnih in hidrofilnih komponent v kremah se odražajo v razmaznosti. Iz slike 12 je jasno razvidno, da ima krema AtopiControl, ki je bolj lipofilna, mastna in viskozna, slabšo razmaznost v primerjavi s hidrofilno kremo pH5.

Parameter, ki smo ga izbrali za nadaljnjo medsebojno primerjavo krem z ostalimi reološkimi metodami, je bil polmer razmaza kreme v časovni točki, kjer se razmaz ni več spreminjal. V tej točki pride do porušitve notranje zgradbe krem, polmer razmaza se ne spreminja več in krema se vpije v kožo. Na sliki 12 vidimo, da se pri kremi AtopiControl polmer razmaza ustali prej, kot pri kremi pH5. Za nadaljnjo primerjavo z ostalimi točkami smo vzeli polmer razmaza pri 180 s za kremo AtopiControl in pri 240 s za kremo pH5.



Slika 12: Naraščanje polmera razmaza v različnih časovnih točkah za kremo AtopiControl in kremo pH5

4.2 PENETROMETRIJA

Penetrometrija je ena od oficialnih metod v farmaciji, ki se uporablja za ugotavljanje konsistence poltrdnih sistemov in je natančno opisana v Evropski farmakopeji (8). Meritve smo izvajali s penetrometrom, ki ima za merilno telo stožec znanih dimenzij. Obema kremama, ki smo jih vrednotili, smo izmerili globino penetracije stožca, ki nam da podatek o čvrstosti kreme. Rezultate globine penetracije krem smo medsebojno primerjali in ugotavljali, ali obstaja logična korelacija z meritvami viskoznosti krem ter njune razmaznosti.

4.2.1 Določitev optimalne količine vzorca v vsebniku

Glede na to, da je za izvedbo te metode potrebna relativno velika količina vzorca, smo za določitev optimalne količine vzorca v steklenem vsebniku uporabili beli vazelin, ki je cenejši kot kremi, ki smo ju proučevali. Količina vzorca je morala biti ravno pravšnja, torej ne prevelika, saj je gledano iz ekonomskega vidika to relativno potratno in ne premajhna, ker bi v tem primeru dobili netočne rezultate. V primeru, da se konica merilnega telesa dotakne dna vsebnika, ne dobimo realne globine penetracije, saj obstaja možnost, da bi merilno telo penetriralo globlje. Optimalna količina, ki smo jo določili s pomočjo belega vazelina, je bila približno polovica vsebnika. Glede na senzorično in vizualno oceno belega vazelina je bila njegova konsistenca primerljiva s proučevanima kremama, zato smo tako količino uporabili tudi za nadaljnje meritve krem AtopiControl ter pH5.

4.2.2 Primerjava globine penetracije krem

Pred izvajanjem meritev so bili vzorci 24 ur shranjeni v laboratoriju na $25 \pm 5^{\circ}\text{C}$, kot je navedeno v protokolu za test penetracije (8). Pri kremi AtopiControl smo izvedli 5 meritev pri kremi pH5 pa le dve zaradi premajhne količine vzorca. Izvedeni meritvi sta bili povsem identični, zato smo se odločili, da izvedba tretje meritve ni potrebna, kljub temu da je v Evropski farmakopeji navedeno, da rezultate podajamo kot izračun aritmetične sredine treh meritev. Pri kremi AtopiControl smo imeli na voljo večjo količino vzorca, zato smo izvedli več meritev kot je zahtevano v protokolu Evropske farmakopeje in s tem preverili ponovljivost meritev. Za izračun povprečja smo uporabili rezultate vseh izvedenih meritev.

Preglednica I prikazuje rezultate posameznih ponovitev meritev globine penetracije stožca v preskušani kremi. Rezultati so podani v enotah penetrometra, torej v desetinkah milimetra.

Preglednica I: Globina penetracije stožca obeh preizkušanih krem

Meritve	AtopiControl	pH5
x_1	$175 \frac{mm}{10}$	$280 \frac{mm}{10}$
x_2	$186 \frac{mm}{10}$	$280 \frac{mm}{10}$
x_3	$205 \frac{mm}{10}$	
x_4	$190 \frac{mm}{10}$	
x_5	$195 \frac{mm}{10}$	
$\bar{x}$	$190,2 \frac{mm}{10}$	$280 \frac{mm}{10}$
σ	10,9	0

Iz Preglednice I razberemo, da se meritve pri kremi AtopiControl nahajajo znotraj relativno majhnega intervala $175\text{--}205 \frac{mm}{10}$. V Evropski farmakopeji so podani mnogo širši razponi vrednosti globine penetracije za posamezne sestavine, zato lahko trdimo, da gre pri tej kremi za dobro ponovljivost meritev. Meritvi pri kremi pH5 sta enaki.

S pomočjo enačb, ki so navedene v eksperimentalnem delu diplomske naloge (poglavje 3.2. Metode) pod opisom metode penetracije (poglavje 3.2.3. Penetrometrija), smo izračunali povprečno vrednost globine penetracije. Pri kremi AtopiControl je znašala $190,2 \frac{mm}{10}$, s standardnim odklonom 10,9, pri kremi pH5 pa je globina penetracije znašala $280 \frac{mm}{10}$.

Če kremi vrednotimo senzorično, so med njima že opazne razlike v konsistenci in viskoznosti. Krema AtopiControl je gostejša, bolj viskozna, okluzivna in trše konsistence v primerjavi s kremo pH5. V teoriji velja dejstvo, da je globina penetracije večja, če je krema manj viskozna. Slika 14 prikazuje rezultata povprečne vrednosti globine penetracije obeh krem, pri enaki količini vzorca v merilnem vsebniku in enakih pogojih shranjevanja ter merjenja. Iz penetrometričnega vrednotenja je razvidno, da ima krema AtopiControl bistveno manjšo globino penetracije v primerjavi s kremo pH5, kar je v skladu s teoretično hipotezo in senzoričnim vrednotenjem.

4.2.3 Primerjava testa penetracije z razmaznostjo krem

Med seboj smo primerjali dva reološka parametra, pridobljena s pomočjo neodvisnih reoloških metod. Želeli smo poiskati povezavo med polmerom razmaza kreme, ki ga določimo s pomočjo metode dveh vzporednih plošč ter globino (stopnjo) penetracije, izmerjeno s pomočjo penetrometra. V mnogih študijah so ugotovili, da med razmaznostjo in penetracijo obstaja (9,23) pozitivna linearna regresija, kar pomeni - večja kot je globina penetracije, večji bo polmer razmaznosti. Primerjali smo torej povprečne vrednosti meritev globine penetracije obeh krem ter razmaznost v časovni točki, kjer se polmer razmaza ne spreminja več. Pri kremi AtopiControl je bil to polmer razmaza pri 180 sekundah, pri kremi pH5 pa po 240 sekundah. Preglednica II prikazuje medsebojno primerjavo polmera razmaza krem, izraženega v centimetrih ter globino penetracije, izraženo v desetinkah milimetra. Iz Preglednice II je razvidno, da je polmer razmaza pri kremi AtopiControl manjši – 1,82 cm, v primerjavi s kremo pH5 – 2,88 in prav tako velja za globino penetracije, ki je pri kremi AtopiControl manjša – $190,2 \frac{mm}{10}$, kot pri kremi pH5, ki znaša $280 \frac{mm}{10}$. Iz rezultatov lahko potrdimo, da ima krema z manjšo stopnjo penetracije, manjši polmer razmaza in obratno. S tem potrdimo teoretično osnovo, ki pravi, da imajo kreme z gostejšo konsistenco in posledično manjšo stopnjo penetracije, slabšo razmaznost oziroma manjši polmer razmaza.

Preglednica II: Primerjava penetracije in testa razmaznosti za kremi AtopiControl in pH5

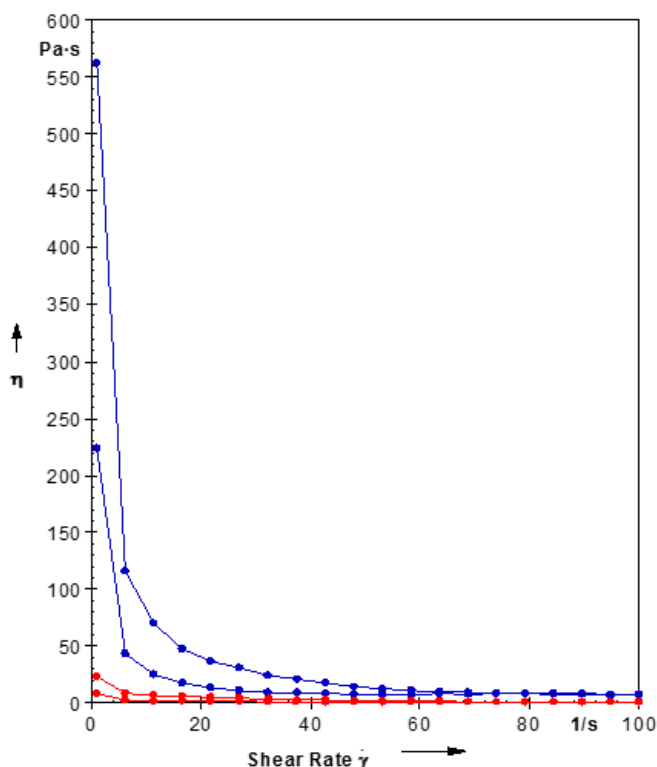
	<i>globina penetracije [1/10 mm]</i>	<i>polmer razmaza [cm]</i>
<i>krema pH5</i>	280	2,88
<i>krema AtopiControl</i>	190,2	1,82

4.3 REOLOŠKO VREDNOTENJE – DOLOČANJE VIZKOZNOSTI, AMPLITUDNI TEST IN FREKVENČNI TEST

4.3.1 Primerjava reoloških meritev krem

4.3.1.1 Primerjava meritev viskoznosti krem

Reološke meritve in senzorično vrednotenje potrjujejo vizualno opažene razlike v konsistenci in viskoznosti med kremama AtopiControl in pH5. Razlike v viskoznosti so razvidne iz viskozigramov. Slika 15 prikazuje viskoznost krem v odvisnosti od strižne hitrosti. Teste rotacije smo izvajali pri temperaturi 25°C. Za izbris reološke zgodovine smo vzorec za 0,25 min izpostavili strižni hitrosti 5 s⁻¹ in ga pustili mirovati 30 s. Potem smo ga izpostavili zveznemu spreminjanju strižne hitrosti od 1 do 100 s⁻¹ in od 100 do 1 s⁻¹. Viskoznost, pridobljena z rotacijskimi meritvami, se imenuje »apparent viscosity« ali navidezna viskoznost.



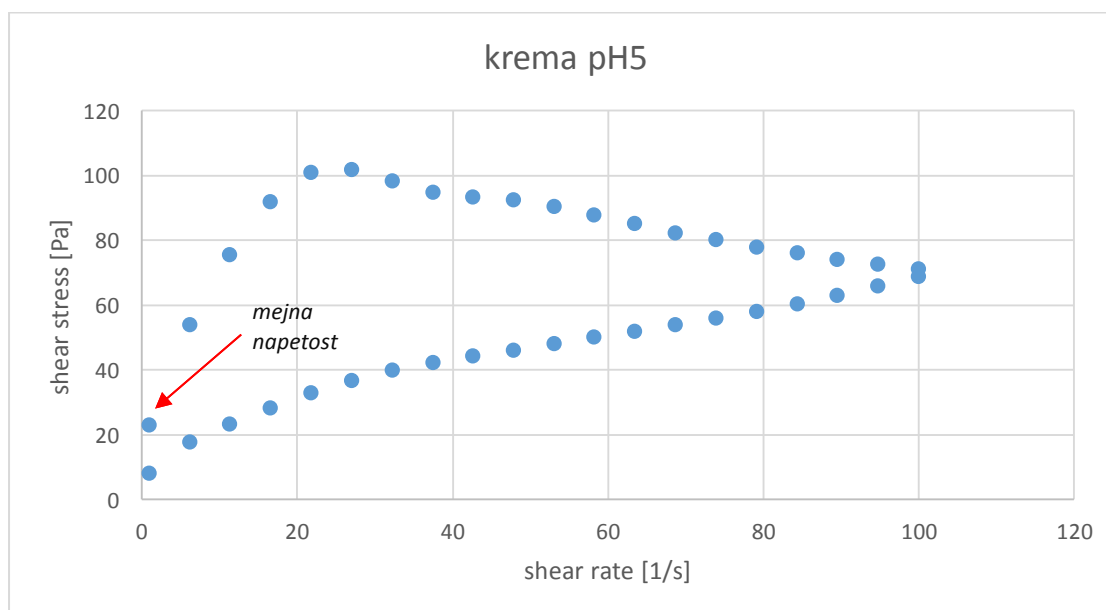
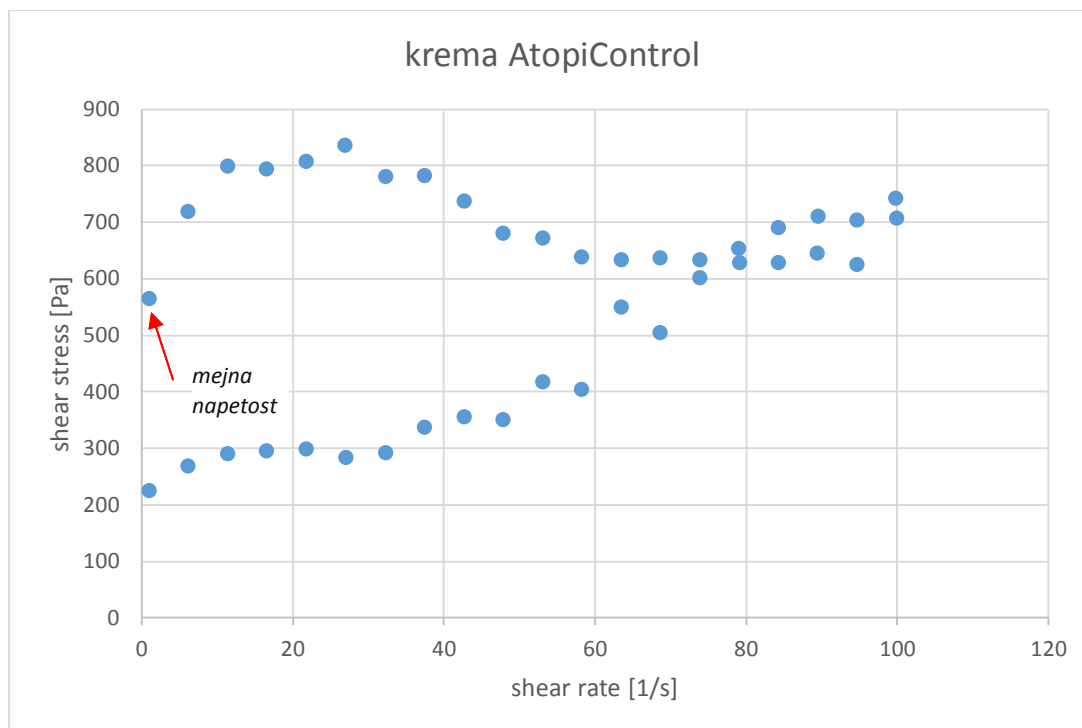
● η Viscosity AtopiControl pri zveznemu spreminjanju strižne hitrosti od 1 do 100 s⁻¹ in od 100 do 1 s⁻¹

● η Viscosity pH5 pri zveznemu spreminjanju strižne hitrosti od 1 do 100 s⁻¹ in od 100 do 1 s⁻¹

Slika 13: Prikaz odvisnosti viskoznosti kreme AtopiControl in kreme pH5 od strižne hitrosti

Iz viskozigrama na sliki 13 je razvidno, da spadata obe kremi med nenewtonske poltrdne sisteme, za katere velja, da viskoznost pri danem tlaku in temperaturi ni konstantna. Nenewtonske sisteme razdelimo na časovno neodvisne nenewtonske sisteme, pri katerih je viskoznost odvisna le od jakosti delovanja strižne sile in na časovno odvisne nenewtonske sisteme, pri katerih se viskoznost razen z jakostjo, spreminja tudi s časom delovanja strižne sile. Za obe vrsti sistema velja ti. *shear thinning behaviour*, kar pomeni, da viskoznost z naraščajočo obremenitvijo oziroma strižno hitrostjo pada (14). Strukturni elementi se zaradi delovanja striga uredijo v smeri toka oziroma preidejo v bolj urejeno stanje, ali pa se zmanjša efektivni hidrodinamski volumen delcev zaradi odstranjevanja solvatne plasti ob delcu. Zunanje sile povzročijo orientiranje polimernih molekul vzdolž osi, notranje trenje med molekulami se zmanjša in dolge polimerne verige zdrsnejo ena ob drugi. Pride do pretrganja sekundarnih oz. ti. Wan der Waalsovih vezi med polimernimi verigami in posledično do znižanja viskoznosti (1).

Že iz viskozigramov na sliki 13 je razvidno, da ozkazuje krema Atopi kontrol v celotnem območju merjenja višje vrednosti viskoznosti kot krema pH5. Ker je primarjava celotnih krivulj zahtevnejša, smo za primerjavo izbrali viskoznost v eni točki. Izbrali smo viskoznost pri najmanjši strižni hitrosti, saj velja, da je ta vrednost najbližja realni viskoznosti. To je v svoji diplomski nalogi z naslovom Vrednotenje reoloških lastnosti losjona za zaščito pred soncem s komplementarnimi reološkimi metodami ugotovila že Nika Zupanc. Iz slike 13 je razvidno, da se vrednosti viskoznosti pri najnižji strižni hitrosti (1 s^{-1}) zelo razlikujeta, in sicer znaša viskoznost za kremo AtopiControl 563 Pas in za kremo pH5 23,1 Pas. Razvidno je, da med senzorično oceno in instrumentalnim vrednotenjem – reološke meritve, obstajajo logične medsebojne korelacije.



Slika 14: Reogram za kremo AtopiControl in kremo pH5 pri zveznem spreminjanju strižne hitrosti od 1 do 100 s⁻¹ in od 100 do 1 s⁻¹

S pomočjo reograma, ki prikazuje odvisnost strižne hitrosti od strižne napetosti, lahko natančneje dokončno opredelimo tokovno obnašanje sistema, ki ga proučujemo. Slika 14 prikazuje reogram za obe kremi. Iz reogramov je razvidno, da je potrebno pri obeh kremah premagati neko strižno silo, preden se vzpostavi strižni tok. Tej strižni sili pravimo mejna

napetost (na reogramu je pri obeh kremah označena s puščico). V začetni fazi merjenja, ko strižna hitrost narašča, so vrednosti strižne napetosti večje, pri zveznem spreminjanju iz višjih strižnih hitrosti na nižje pa se zaradi vpliva delovanja predhodne strižne zgodovine na notranjo strukturo sistema strižna napetost zmanjša. Odvisnost strižne napetosti od strižne hitrosti je na reogramu prikazana s histerezo zanko.

Takšno tokovno obnašanje je značilno za plastične sisteme, pri katerih je notranja struktura dovolj trdna, da se upira strižni deformaciji do neke mejne strižne sile. Ko je mejna strižna napetost dosežena, se pričnejo osnovni delci, ki tvorijo notranjo strukturo urejati v smeri strižne sile in pride do vzpostavitve strižnega toka (2).

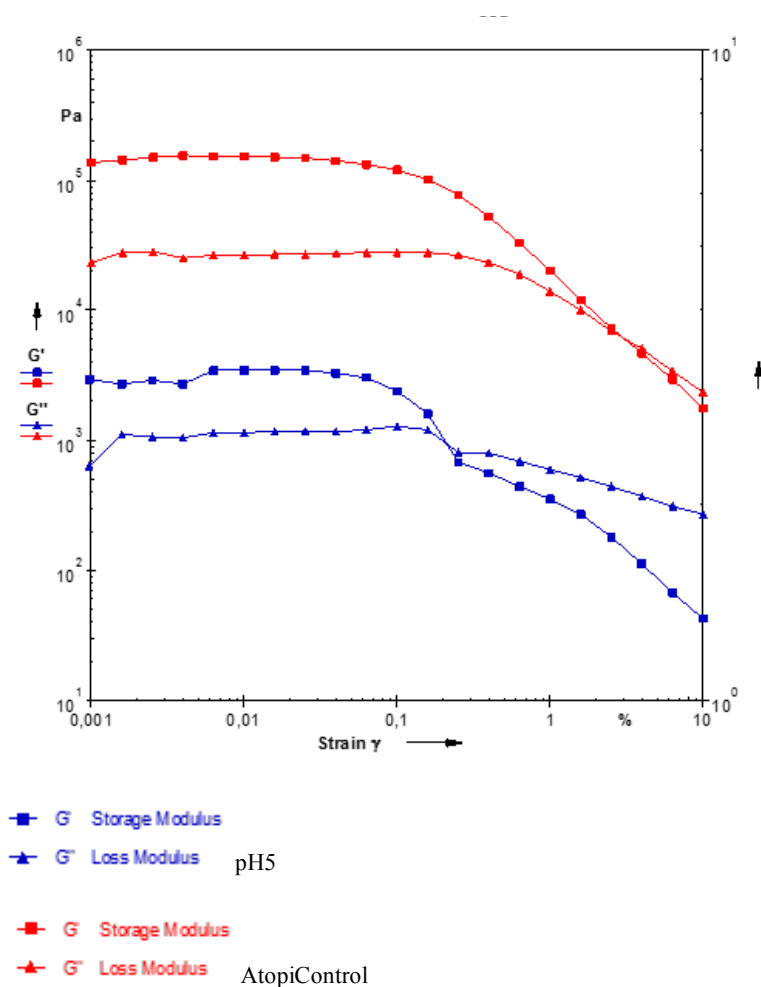
Plastično obnašanje sistema, ki je značilno za obe kremi, opredelimo kot tip tokovnega obnašanja, ki je strižno odvisen. Strižno odvisne nenewtonske tekočine pa lahko izkazujejo tudi časovno odvisno obnašanje sistema, kjer je viskoznost odvisna od časa delovanja striga (2). Za obe kremi lahko prav tako trdimo, da gre za tiksotropni sistem. Za tiksotropne sisteme je značilen upad viskoznosti pri danih strižnih pogojih s časom delovanja striga. Na sliki 15 vidimo, da ob povečevanju strižne sile in s časom viskoznost pri obeh krema pada, kar lahko razumemo kot proces urejanja notranje strukture v strižni tok, ki poteka dovolj dolgo, da ga lahko zaznamo. Čez čas pride do ravnotežnega stanja podiranja in vzpostavljanja notranje strukture. Ob zmanjševanju strižne napetosti pa je proces izgradnje notranje strukture sistema izrazitejši kot proces podiranja, zato viskoznost zopet narašča s časom delovanja striga. Viskoznost v našem primeru po prenehanju delovanja strižnih sil po določenem času ni enaka začetni. Tako časovno obnašanje imenujemo ireverzibilno tiksotropno obnašanje (2).

4.3.1.2 Medsebojna primerjava oscilatornih testov pri obeh kremah

Določanje LVO z amplitudnim testom

Namen vrednotenja je bil določiti viskozni in elastični doprinos k viskoelastičnemu odzivu poltrdne snovi, zato smo nadaljnje teste, pri katerih smo spreminjali frekvenco oscilacije, izvajali pri nedestruktivnih strižnih pogojih, oziroma v območju linearnega viskoelastičnega območja. To pomeni, da jih izvajamo v območju nižjih amplitud, kot je zgornja meja LVO pri določeni frekvenci oscilacije.

Za določitev t.i. kritične amplitude oziroma LVO smo najprej izvedli amplitudni test – test pri konstantni frekvenci oscilacije. Vse teste oscilacije smo pri obeh kremah izvajali pri 25°C. Amplitudni test za kremo AtopiControl smo izvedli znotraj deformacijskega območja $\gamma = 0,001 - 10 \%$ pri frekvenci 10 Hz, za kremo pH5 pa znotraj enakega deformacijskega območja pri frekvenci 1 Hz. Slika 15 prikazuje spreminjanje dinamičnih količin - G' in G'' z naraščajočo amplitudo strižne deformacije pri obeh kremah. Z rdečo krivuljo je prikazano reološko obnašanje kreme AtopiControl, z modro krivuljo pa kreme pH5. Iz slike 15 je razvidno, da se pri 0,02 % deformaciji struktura še ne poruši pri nobeni od testiranih krem. Omenjeno vrednost smo nato uporabili za frekvenčne teste pri kremi AtopiControl, medtem ko smo za kremo pH5 izbrali manjšo amplitudo in sicer 0,005 %, saj je že iz grafa na sliki 15 razvidno, da reološko obnašanje pri tej kremi prej preide iz linearnega v nelinearen viskoelastičen odziv.

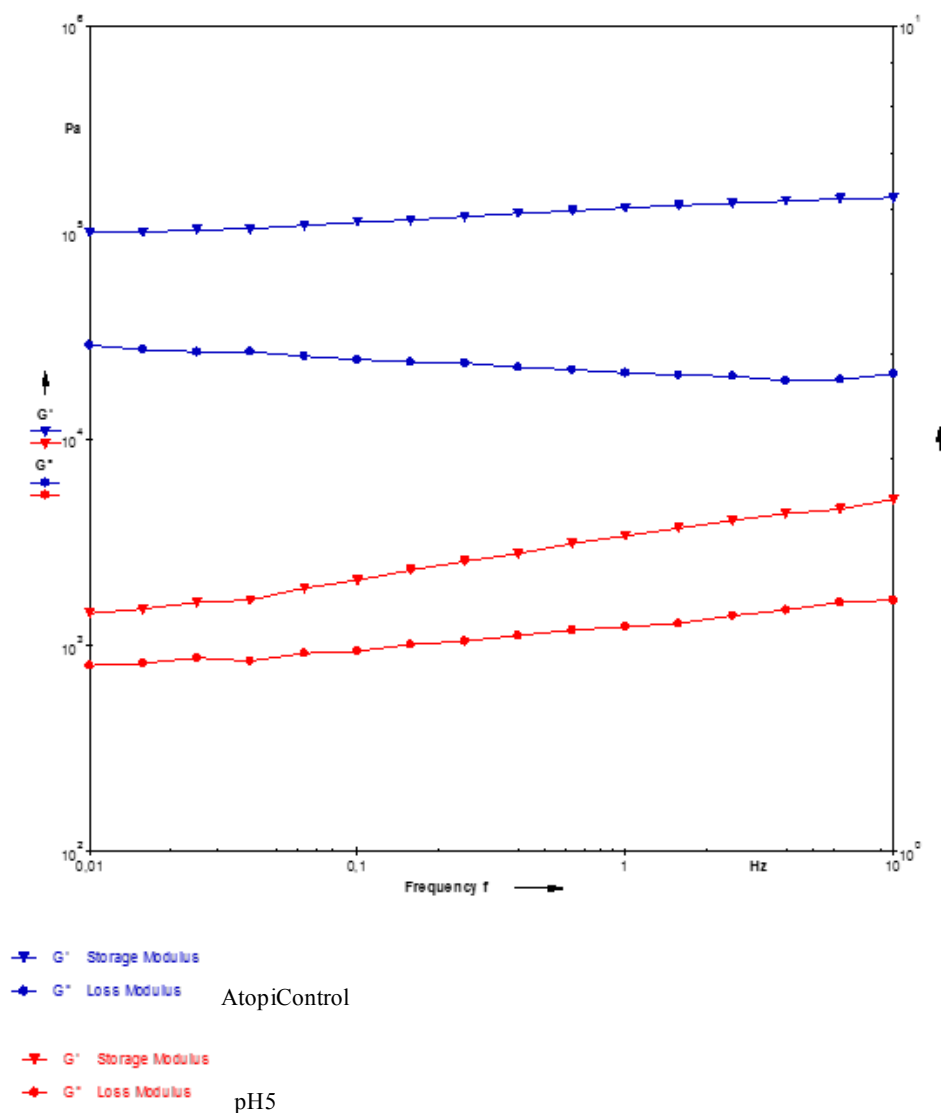


Slika 15: Amplitudni test za kremi AtopiControl in pH5

Določanje reoloških parametrov s frekvenčnim testom

Meritve frekvenčne odvisnosti dinamičnih količin smo izvedli v območju LVO pri različnih frekvencah oscilacije v območju predhodno določenih amplitud strižnih deformacij (za kremo AtopiControl 0,02 %, za kremo pH5 0,005 %), ki zagotavljajo LVO. Zvezno smo povečevali frekvenco oscilacije v območju od 0,01 do 10 Hz pri obeh kremah.

Slika 16 prikazuje frekvenčno odvisnost viskoznega (G'') in elastičnega (G') modula za obe kremi. Modra krivulja prikazuje tokovno obnašanje kreme AtopiControl, rdeča krivulja pa kreme pH5. Iz slike 16 lahko razberemo, da pri obeh kremah elastično obnašanje prevladuje nad viskoznim ($G' > G''$). Elastično obnašanje je precej značilno za viskoelastične poltrdne snovi, odvisnost obeh dinamičnih količin (G' in G'') od frekvence pa je relativno majhna (2). Če med seboj primerjamo elastični modul obeh krem, je ta precej večji pri kremi AtopiControl. S povečevanjem frekvence se elastičnost te kreme poveča iz približno 99900 Pa na 147000 Pa. Visoka vrednost G' modula pomeni, da gre za zelo elastično strukturo, ki je bližje trdnemu sistemu (15). Krema pH5 ima manjši G' , kar pomeni, da je v primerjavi s kremo AtopiControl manj elastična in je njena struktura manj trdna oz. bolj podobna tekoči snovi. Vrednost G' pri pH5 s spreminjajočo frekvenco naraste iz približno 1430 Pa na 5090 Pa.



Slika 16: Spreminjanje dinamičnih količin (G' in G'') s povečevanjem frekvence oscilacije pri obeh kremah

Če se osredotočimo še na viskozni modul G'' , vidimo, da ta pri kremi AtopiControl pade iz približno 28300 Pa na 20600 Pa, pri kremi pH5 pa naraste iz 796 Pa na 1650 Pa. Opazimo torej, da z naraščanjem frekvence oscilacije pri kremi pH5 poleg G' narašča tudi G'' , kar je verjetno posledica preurejanja strukturnih elementov kreme, ko se energija porablja (G'' - modul energetskih izgub) (15). Povzamemo, da je krema AtopiControl veliko bolj elastična kot krema pH5, torej ima tršo strukturo.

4.3.2 Primerjava reoloških meritev krem s testom razmaznosti

V mnogih študijah so ugotovili, da obstaja korelacija med viskoznostjo uporabljenih sestavin v določenem kozmetičnem izdelku (npr. kreme, geli) in senzoričnimi parametri končnega kozmetičnega izdelka oziroma z občutkom na koži po nanosu dermalnega pripravka. Parametri, ki močno korelirajo z reološkimi dinamičnimi parametri (elastični in viskozni modul) so kohezivnost, razmaznost, integriteta oblike itd. Razmaznost je eden od pomembnejših parametrov, ki je močno odvisna od formulacije kozmetičnega izdelka in reoloških lastnosti uporabljenih sestavin. Omenjene študije lahko dobro izkoristimo pri načrtovanju formulacije in tehnoloških postopkov izdelave dermalnega pripravka in s tem dosežemo dobro sprejemljivost končnega izdelka s strani potrošnika (16,17,18).

Med razmaznostjo in viskoznostjo obstaja logična povezava, in sicer večja kot bo viskoznost sistema, slabše se bo ta razmazal na mestu aplikacije. Odločili smo se, da bomo med seboj primerjali polmer razmaza krem, kjer se razmaznost ne spreminja več, z viskoznostjo krem pri najmanjši obremenitvi (1 s^{-1}), ki je sicer najbližje realni vrednosti viskoznosti. Krema AtopiControl, katere navidezna viskoznost znaša 563 Pas, je bolj viskozna od kreme pH5, z viskoznostjo 23,1 Pas. Napoved o negativni odvisnosti med viskoznostjo in razmaznostjo lahko potrdimo, saj je polmer razmaza pri bolj viskozni kremi AtopiControl znaša 1,82 cm, pri kremi pH5 pa je večji in znaša 2,88 cm oziroma 3,02 cm pri večji obremenitvi.

Med seboj lahko primerjamo tudi rezultate frekvenčnega testa in polmera razmaza. Za primerjavo smo vzeli vrednost elastičnega modula G' pri 0,016 Hz, ker so bile tam najbolj razvidne razlike med testnima kremama. Krema AtopiControl ima višji elastični modul, pri 0,016 Hz znaša 100000 Pa, medtem ko je pri enaki frekvenci oscilacije ta vrednost pri kremi pH5 nižja, in sicer 1490 Pa. Krema AtopiControl ima torej tršo strukturo in jo je posledično tudi težje razmazati. Tudi organoleptične lastnosti nakazujejo na tršo strukturo, prav tako jo je ob nanosu na kožo težje razmazati in se počasneje vpije v primerjavi s kremo pH5. Vsa omenjena opažanja pa instrumentalno potrdimo z merjenjem polmera razmaza, ki je pri kremi AtopiControl bistveno manjši kot pri kremi pH5.

4.3.3 Primerjava reoloških meritev krem s testom penetracije

Med viskoznostjo in stopnjo penetracije prav tako obstaja negativna korelacija, ki je bila dokazana že v mnogih študijah (9). Pred izvedbo testa penetracije smo pričakovali, da bo penetrometer pri manj viskozni kremi penetriral globlje. Eksperimentalne vrednosti so domnevo potrdile, saj je imela manj viskozna krema pH5 večjo stopnjo oziroma globino penetracije, v primerjavi s kremo AtopiControl.

Če primerjamo rezultate, pridobljene s frekvenčnim testom, ima krema z večjim G' tršo strukturo, kar pomeni, da penetrometer težje prodre v notranjost. Če primerjamo elastična modula obeh krem pri frekvenci oscilacije 0,016 Hz, kjer se modula najbolj razlikujeta med seboj, je vrednost pri AtopiControl 563 Pas, pri kremi pH5 pa 23,1 Pas. Krema AtopiControl ima zato manjšo globino penetracije, ker se njena struktura težje podre in ima zato manjšo globino penetracije $190,2 \frac{mm}{10}$, pri kremi AtopiControl pa je merilno telo penetrometra prodrlo do globine $280 \frac{mm}{10}$.

5 SKLEP

Med seboj smo primerjali reološke parametre, ki so bili pridobljeni s pomočjo sorodnih neodvisnih reoloških metod – rotacijski in oscilacijski testi, penetrometrija in test razmaznosti. Eksperimentalno vrednotenje je potekalo na dveh vzorcih iz tržišča, s čimer smo se izognili morebitnim subjektivnim napakam pri izdelavi krem v laboratoriju, ki bi lahko vplivale na končne rezultate.

Med seboj smo primerjali dve kremi, ki sta se razlikovali že na podlagi organoleptičnega vrednotenja. Ena od krem je bila bolj lipofilna, mastna, težje razmazna, bolj okluzivna in trše konsistence od tiste z večjo vsebnostjo vode, humektantov in vlažilcev. Organoleptična opazanja so potrdili tudi instrumentalni testi. Bolj viskozni kremi smo odčitali manjši polmer razmaza ter manjšo globino penetracije v primerjavi z manj viskozno hidrofilno kremo.

Iz dobljenih rezultatov lahko zaključimo, da obstajajo medsebojne povezave med testiranimi reološkimi metodami in parametri, ki smo jih izbrali za primerjavo pri vsaki metodi, torej med

polmerom razmaza, med stopnjo penetracije ter viskoznostjo krem. Če bi želeli z večjo gotovostjo dokazati, da lahko le s pomočjo enega od omenjenih reoloških parametrov sklepamo o ostalih reoloških lastnostih, bi morali med seboj primerjati večje število vzorcev, ki bi omogočili natančnejšo korelacijo. V primeru, da bi nam to uspelo dokazati, bi v fazi razvoja in industrijske proizvodnje poltrdnih kozmetičnih izdelkov prihranili na času in stroških.

6 VIRI

1. Planinšek O., Srčič S.: Navodila za vaje pri predmetu fizikalna farmacija. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2007: 43-53.
2. Zupančič Valant A.: Uvod v reologijo. Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana 2007: 35-60.
3. Elektronski vir: <http://www.world-of-rheology.com/industries/cosmeticspharma/> (Dostop 1.9.2017)
4. Gašperlin M.: Predavanje pri predmetu Uvod v kozmetologijo - Znanstvene osnove razvoja kozmetičnih izdelkov, sodobne tehnologije in analitika. Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2012.
5. Elektronski vir: <http://www.viscopedia.com/basics/defining-viscosity/> (Dostop 12.9.2017)
6. Elektronski vir: <http://www.viscopedia.com/basics/types-of-viscosity/> (Dostop 12.9.2017)
7. Elektronski vir: <http://www.viscopedia.com/basics/factors-affecting-viscometry/> (Dostop 12.9.2017)
8. European Pharmacopoeia 6th Ed. Main Volume 6.0. Measurement of consistency by penetrometry. Council of Europe, Strasbourg 2008
9. Garg A., Aggarwal D., Garg S., Singla A.: Spreading of Semisolid Formulations. Pharmaceutical Technology 2002; 84-94.
10. Elektronski vir: https://sl.wikipedia.org/wiki/Standardni_odklon (Dostop 20.10.2017)
11. Elektronski vir: https://sl.wikipedia.org/wiki/Aritmeti%C4%8Dna_sredina (Dostop 20.10.2017)
12. Elektronski vir: <https://www.eucerin.si/proizvodi/atopicontrol/negovalna-krema> (Dostop 24.10.2017)
13. Elektronski vir: <https://www.eucerin.si/proizvodi/obcutljiva-koza/ph5-krema> (Dostop 24.10.2017)
14. Mezger, Thomas G.: The Rheology Handbook: For Users of Rotational and Oscillatory Rheometers (2nd.rev.ed.), Vincentz Network GmbH & Co KG, 2006: 34.
15. Vizireanu C., Ionescu A., Istrati D., Dima F.: Rheologic behavior of pastry creams. University of Galati, Faculty of Food Science and Engineering, Romania 2011: 69-79.

16. Dayan N.: Handbook of Formulating Dermal Applications: A Definitive Practical Guide. Scrivener Publishing, 2016: 339-367.
17. Rao M. A.: Rheology of Fluid and Semisolid Foods; Principles and Applications (2nd. Ed.), Cornell University, Department of Food Science and Technology, USA, NY, Geneva 2007.
18. Yao, M.L. and J.C. Patel: Rheological characterization of body lotions. Rheometric Scientific, Inc., USA 2001: 83-88.
19. Kovačič G.: Regresija in korelacija; Kvantitativne metode v geografiji in uvod v GIS. Fakulteta za humanistične študije, Univerza na Primorskem 2014.
20. Ahlin Grabnar P.: Predavanje pri predmetu Uvod v kozmetologijo: Kakovost kozmetičnih izdelkov. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2012.
21. Vivoda D.: Priročnik Magistralne recepture II: Predgovor farmacevta (test razmaznosti), Lexarna, Koper 2011.
22. Elektronski vir: <https://blog.anton-paar.com/rheology-of-creams-and-lotions/> (Dostop 14.11.2017)
23. I. Eros and J. Szuts: Investigation of Consistence of Ointments of Suspension Type, Part III: Relations among the Results of the Different Investigating Methods, 1985: 369–373.
24. Ahlin Grabnar P.: Predavanje pri predmetu Uvod v kozmetologijo: Učinkovitost kozmetičnih izdelkov. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2012.