

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NIKA ZUPANC

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJ KOZMETOLOGIJE

Ljubljana, 2016

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

NIKA ZUPANC

**VREDNOTENJE REOLOŠKIH LASTNOSTI LOSJONA ZA ZAŠČITO PRED
SONCEM S KOMPLEMENTARNIMI REOLOŠKIMI METODAMI**

**EVALUATION OF RHEOLOGICAL PROPERTIES OF SUNSCREEN LOTION
WITH COMPLEMENTARY RHEOLOGICAL METHODS**

DIPLOMSKA NALOGA

Ljubljana, 2016

Diplomsko delo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo, Katedri za farmacevtsko tehnologijo, pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm., in somentorstvom asist. dr. Mirjam Gosenca, mag. farm.

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici prof. dr. Mirjani Gašperlin, mag. farm., in somentorici asist. dr. Mirjam Gosenca, mag. farm., za dosegljivost, strokovne nasvete in usmerjanje pri raziskovalnem delu in izdelavi diplomske naloge. Zahvaljujem se tudi strokovnima sodelavkama na Katedri za farmacevtsko tehnologijo Maji Bjelošević in Tatjani Hrovatič za pomoč pri delu v laboratoriju. Najlepša hvala tudi vsem mojim bližnjim, ki so me spodbujali in verjeli vame tekom celotnega študija.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko delo izdelala samostojno pod mentorstvom prof. dr. Mirjane Gašperlin, mag. farm., in somentorstvom asist. dr. Mirjam Gosenca, mag. farm.

Nika Zupanc

Diplomska komisija:

Predsednik: prof. dr. Stanislav Gobec, mag. farm.

Mentorica: prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

Somentorica: asist. dr. Mirjam Gosenca, mag. farm.

Članica: doc. dr. Urša Pečar Fonović, univ. dipl. biol.

VSEBINA

POVZETEK	II
ABSTRACT	IV
SEZNAM OKRAJŠAV	VI
1 UVOD	1
1.1 Kozmetični izdelki za zaščito pred soncem	1
1.1.1 UV valovanje in vpliv na kožo	1
1.1.2 UV filtri	3
1.1.3 Vrste KI za zaščito pred soncem	5
1.1.4 Fizikalna stabilnost emulzijskih sistemov v primeru KI za zaščito pred soncem	5
1.2 Vrednotenje reoloških lastnosti KI	6
1.2.1 Reologija	6
1.2.2 Penetrometrija	8
1.2.3 Test razmaznosti	9
2 NAMEN DELA	13
3 MATERIALI IN METODE	14
3.1 Materiali	14
3.2 Metode	15
3.2.1 Postopek izdelave losjona za zaščito pred soncem	15
3.2.2 Stabilnostni testi na povišani temperaturi	16
3.2.3 Meritve viskoznosti	17
3.2.4 Penetrometrija	17
3.2.5 Test razmaznosti	18
4 REZULTATI IN RAZPRAVA	20
4.1 Stabilnostni testi pri povišani temperaturi	20
4.2 Reološke lastnosti: viskoznost	22
4.3 Reološke lastnosti: penetrometrija	29
4.4 Reološke lastnosti: test razmaznosti	33
4.5 Povezava reoloških lastnosti, pridobljenih z različnimi metodami	37
5 SKLEP	41
6 VIRI IN LITERATURA	42

POVZETEK

Določanje reoloških lastnosti kozmetičnega izdelka je ključnega pomena v fazi razvoja, saj tako ovrednotimo njegovo notranjo strukturo, spremljamo fizikalno stabilnost in obnašanje pod vplivom različnih obremenitev. Za vrednotenje uporabljamo različne metode: določanje viskoznosti z različnimi viskozimetri (kapilarni, Hoepplerjev, rotacijski, oscilacijski), določanje konsistence in teksture (npr. penetracija v preiskovano snov, mazljivost, vlečljivost). Ključnega pomena je, da z njimi dobimo natančne in zanesljive podatke o reoloških lastnostih, ne nazadnje pa je pomemben vidik pri izbiri tudi praktičnost in optimizacija stroškov dela, zlasti na industrijskem nivoju.

V okviru diplomske naloge smo izdelali losjon za zaščito pred soncem z različno vsebnostjo titanovega dioksida (0% (placebo), 5% in 10%). Vzorce smo v okviru enomesečnega shranjevanja izpostavili povišani temperaturi (30, 40 in 60 °C), kontrolne vzorce smo shranili na sobni temperaturi. Vzorcem smo določili njihovo fizikalno stabilnost in na podlagi opazanj prilagodili nadaljnje reološko vrednotenje v vnaprej določenih časovnih točkah (0. dan, 1. teden, 2. teden in 4. teden) s komplementarnimi metodami. V omenjenih časovnih točkah smo z rotacijskim viskozimetrom izmerili viskoznost vzorcev, s penetrometrom proučevali konsistenco in s testom razmaznosti z metodo vzporednih plošč določili mazljivost vzorcev. Rezultate omenjenih metod smo primerjali in skušali najti povezave, da bi ugotovili ali lahko tudi z enostavnejšimi metodami, kot sta penetrometrija in test razmaznosti, dobimo komplementarne in zanesljive podatke o reoloških lastnostih kozmetičnega izdelka.

Vzorci, ki so bili izpostavljeni povišani temperaturi (30, 40 in 60 °C), so se izkazali za fizikalno nestabilne, saj je prišlo do razplastitve faz in sedimentacije titanovega dioksida, zato smo morali proces vrednotenja prilagoditi. Rezultati treh različnih metod so bili med sabo primerljivi zgolj pri vzorcih, staranih na sobni temperaturi. Pri vzorcih, staranih na povišani temperaturi (še posebej na 40 °C) se rezultati niso skladali oz. smo med njimi težko našli povezave. Vzrok za to vidimo v fizikalni nestabilnosti vzorcev, saj se je njihova notranja struktura na povišani temperaturi zelo spremenila, kar se je kljub prilagoditvi vrednotenja odražalo na rezultatih.

Zaključimo lahko, da penetrometrija in test razmaznosti ne dajeta dovolj natančnih informacij, zato lahko služita zgolj kot podporni metodi za vrednotenje reoloških lastnosti sistemov. Za pridobitev bolj natančnih in zanesljivih rezultatov pa je potrebno uporabiti bolj natančne

metode, kot je določanje viskoznosti z reometrom, zlasti v fazi razvoja kozmetičnega izdelka ali vrednotenja stabilnosti.

KLJUČNE BESEDE: *reologija, izdelki za zaščito pred soncem, titanov dioksid, viskoznost, penetrometrija, test razmaznosti*

ABSTRACT

Rheological evaluation of the cosmetic product is crucial in its development stage as data regarding its internal structure, physical stability and behaviour under the influence of various conditions can be obtained. Various different methods are known for the evaluation of rheological properties: determining viscosity with various viscometers (capillary, Hoeppler, rotational, oscillating), determining consistency and texture (eg. penetration into the investigated substance, spreadability). It is crucial that they give accurate and reliable data about rheological properties, important aspects when it comes to selection are also practicality and work costs, especially on an industrial scale.

Within the thesis we have evaluated a sunscreen lotion with different amount of titanium dioxide (0% (placebo), 5% and 10%). The samples were within the one-month storage exposed to increased temperature (30, 40 and 60 °C), while the control samples were stored at the room temperature. Physical stability of the samples was evaluated and on the basis of observations further rheological evaluation at different time points (day 0, week 1, week 2, week 4) by complementary methods was adjusted. In mentioned time points we have measured samples viscosity with rotational viscometer, studied its consistency with penetrometer and determined spreadability with spreadability test with parallel plate method. We compared the results of these methods and tried to find connections to determine whether simple and cheap methods, like penetrometry and spreadability test, can give complementary and reliable data on the rheological properties of the cosmetic product to thus facilitate the evaluation process.

Samples exposed to increased temperature (30, 40 and 60 °C) have proved to be physical unstable, because the phase separation and sedimentation of titanium dioxide occurred, so we had to adjust the evaluation process. The results of three different methods were comparable only for samples stored at room temperature. For samples exposed to increased temperature (especially to 40 °C) were not consistent, so we were not able to find specific connections between them. The reason for such behaviour can most likely be due observed physical instability of the samples. Namely, their internal structure was altered at the increased temperature, which reflected on the results despite the adjustment of the evaluation process.

We concluded that penetrometry and spreadability test are too rough methods and therefore can serve only as supporting methods for rheological evaluation. To obtain precise and reliable results, it is necessary to use more precise methods, like determining viscosity with

rheometer, especially in the phase of development of the cosmetic product and evaluation of stability.

KEY-WORDS: *rheology, sunscreen products, titanium dioxide, viscosity, penetrometry, spreadability test*

SEZNAM OKRAJŠAV

KI	kozmetični izdelek
UV	ultravijoličen
TiO ₂	titanov dioksid
V/O	voda v olju
SPF	sončni zaščitni faktor
HLB	hidrofilno lipofilno ravnotežje

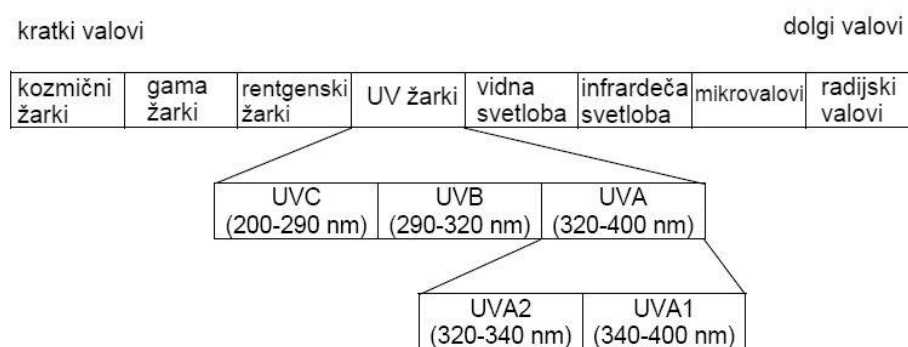
1 UVOD

1.1 Kozmetični izdelki za zaščito pred soncem

Kozmetične izdelke (KI) za zaščito pred soncem nanašamo na kožo z namenom, da jo zaščitimo pred škodljivimi učinki ultravijoličnega (UV) valovanja. V Evropi jih glede na Uredbo o kozmetičnih izdelkih 1223/2009 uvrščamo v skupino kozmetičnih izdelkov, medtem ko veljajo v Ameriki strožje zahteve, saj so po navedbah agencije FDA (angl. Food and Drug Administration) opredeljeni kot zdravila brez recepta in jih je mogoče dobiti samo v lekarnah. V Evropi je za vgrajevanje v kozmetične izdelke dovoljenih 28 UV filtrov, kateri so navedeni v Prilogi VI Uredbe o kozmetičnih izdelkih, v Ameriki pa je takšnih samo 16. Zakonodaja na tem področju se razlikuje tudi drugod po svetu, na Japonskem so varovalni izdelki za sončenje opredeljeni kot kozmetični izdelki, v Avstraliji pa kot zdravila (1).

1.1.1 UV valovanje in vpliv na kožo

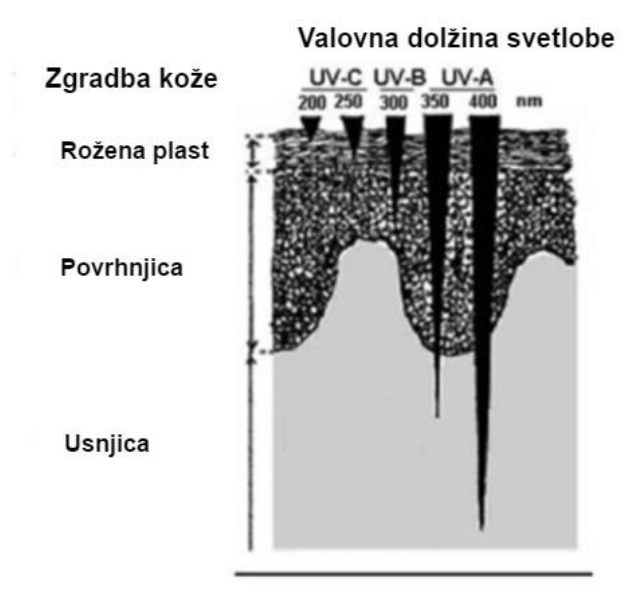
Sonce na Zemljo oddaja elektromagnetno valovanje skoraj vseh valovnih dolžin. Kot je prikazano na sliki 1 se UV valovanje nahaja v območju med 200 in 400 nm in ga lahko razdelimo na žarke UVC, UVB in UVA.



Slika 1: Območje valovnih dolžin UV valovanja.

Večja kot je valovna dolžina UV valovanja, bolj narašča prodiranje UV žarkov v kožo. Iz slike 2 je razvidno, da najgloblje prodirajo žarki UVA, ki segajo vse do usnjice, medtem ko se

žarki UVB ustavijo v povrhnjici. Na podlagi prodiranja lahko lažje razložimo vpliv posameznih UV žarkov na kožo.



Slika 2: Prodiranje UV žarkov v kožo.

Žarki UVC (200 – 290 nm) imajo najvišjo energijo sevanja, vendar jih atmosfera zadrži in ne pridejo do Zemljinega površja. Žarki UVB se nahajajo v območju med 290 in 320 nm in predstavljajo manjši delež sončnega sevanja (5%). Prodrejo samo v povrhnjico in tako nimajo vpliva na staranje kože, pač pa povzročijo površinske nepravilnosti, kot so rdečina (eritem), opekline, pigmentacijo in zadebelitev povrhnjice. Največji delež UV sevanja predstavljajo žarki UVA, katerih valovna dolžina znaša med 320 in 400 nm. Ti prodirajo globlje v usnjico, kjer dosežejo kolagenska in elastinska vlakna, zmanjšajo njihovo čvrstost in elastičnost ter tako pripomorejo k hitrejšemu staranju. Večji vpliv na nastanek kožnega raka imajo žarki UVB, saj se kožne celice, iz katerih rak nastane, v večini nahajajo v povrhnjici (2, 3).

Zgodnji škodljivi učinki UV žarkov so rdečina, zadebelitev povrhnjice, kožne alergije, opekline in fotosenzibilnost, med pozne škodljive učinke pa prištevamo kožnega raka, fotostaranje, pigmentacijo ter oslavljen imunski sistem. Poleg tega ima UV sevanje tudi pozitivne učinke, kot so sinteza vitamina D v koži, ugoden vpliv na zdravljenje luskavice ter splošno boljše počutje (2, 3).

1.1.2 UV filtri

Glavne učinkovine v izdelkih za zaščito pred soncem so UV filtri. So sestavine kozmetičnih izdelkov, ki omogočajo zaščito pred UV sevanjem, zato lahko z njihovo uporabo podaljšamo varen čas bivanja na soncu. UV filtri tako UV žarke razpršijo, absorbirajo ali odbijejo, preden ti dosežejo gradnike kože in jim škodujejo. Najpogosteje jih delimo po kemizmu, in sicer na organske in anorganske oz. kemijske in fizikalne UV filtre. Glede na delovanje ločimo absorberje in blokatorje, glede na izvor pa naravne in sintezne filtre. UV filter mora biti učinkovit v čim širšem delu UV spektra (UVA in UVB), stopnja prodiranja v kožo mora biti čim nižja, ne sme povzročati kakršnih koli fotoalergijskih ali fototoksičnih reakcij, mora biti stabilen oz. fotostabilen pri različnih pogojih, dobro topen, zaželeno pa je tudi, da je brez vonja in barve (2).

Organski UV filtri absorbirajo UV žarke, pri čemer molekule preidejo v višji energijski nivo ter po vrnitvi v prvotno stanje oddajo odvečno absorbirano energijo, največkrat v obliki infra rdeče svetlobe. Pri nanosu kozmetičnega izdelka UV filter absorbira del sevanja, ki bi drugače prodril v kožo in tam povzročil škodljive učinke. Med organske UV filtre prištevamo derivate p-aminobenzojske kisline (PABA), salicilate, cinamate, benzofenone, derivate kafe in derivate dibenzoil metana (2).

Anorganski UV filtri lahko UV sevanje odbijejo, kot sta npr. barijev sulfat in smukec, določene valovne dolžine pa lahko tudi absorbirajo, kot v primeru titanovega dioksida in cinkovega oksida. Prednost anorganskih UV filtrov je, da delujejo v širokem območju UV sevanja ter ne prodirajo v kožo in tako ne povzročajo alergijskih reakcij, medtem ko je slabost povezana s tem, da odbijajo ali sipajo tudi vidno svetlobo in tako dajejo videz bele kože, njihov belilni učinek pa je odvisen od velikosti delcev (2).

1.1.2.1 Titanov dioksid (TiO_2)

Titanov dioksid je anorganski UV filter, ki deluje po principu absorpcije UV sevanja, delno pa ga tudi odbija in sipa. Po navedbah iz Priloge VI Uredbe o kozmetičnih izdelkih se kot UV filter v KI lahko uporablja v koncentraciji do 25%. Bolj je učinkovit v območju sevanja UVB (290 – 320 nm) in UVA-II (320 – 340 nm). Absorbira tudi vidno svetlobo, zato po nanosu izdelka pušča bel zaostanek na koži, ta pa je odvisen predvsem od velikosti delcev. Manjši kot

so delci (v nano območju), manj je belega obarvanja kože, saj nanodelci ne sipajo vidne svetlobe, temveč jo prepuščajo in dajejo transparenten videz (2).

V izdelkih za zaščito pred soncem se titanov dioksid pogosto nahaja v obliki nanodelcev, kar mora biti po novi zakonodaji na embalaži posebej označeno. Namesto v mikrometrskih velikostih (10^{-6}) je tukaj velikost delcev titanovega dioksida v nanometriškem območju (10^{-9}). Najdemo ga v treh različnih kristaliničnih oblikah: rutil, anataz in brokit, od katerih je najbolj reaktivna oblika anataz. Reaktivnost delcev je odvisna od njihove oblike, velikosti in površinskih lastnosti. Za nanodelce se smatrajo delci, ki so manjši od 100 nm vsaj v eni dimenziji. Zaradi svoje majhnosti in velike specifične površine so površinsko reaktivni, pod vplivom svetlobe pa delujejo fotokatalitično, kar pomeni, da pospešijo nekatere kemijske reakcije. Tako lahko nanodelci titanovega dioksida inducirajo nastanek reaktivnih kisikovih zvrsti ter posledično povzročijo poškodbe celic in genskega materiala. Nanodelci so nagnjeni k združevanju, zato v izdelkih ne najdemo posameznih nanodelcev titanovega dioksida, ampak njihove skupke oz. agregate, ki nastanejo tekom proizvodnje. Zaradi želje po izkazovanju specifičnih lastnosti so nanodelci pogosto obloženi z različnimi anorganskimi in organskimi materiali (npr. silikoni, površinsko aktivnimi snovmi, polimeri). S tem izboljšamo njihovo dispergiranje v podlago, zmanjšamo fotoreaktivnost, izboljšamo stabilnost izdelka in kompatibilnost z ostalimi sestavinami v izdelku. Z oblaganjem se zmanjša tudi združevanje delcev, kar pripomore k bolj transparentnemu videzu, vendar pa je zaradi majhnosti delcev večja možnost za pojav neželenih učinkov (4,5).

Titanov dioksid je po klasifikaciji IARC (ang. International Agency for Research on Cancer) karcinogen 2B, kar pomeni da je za ljudi potencialno karcinogena snov, študija pa je bila sicer izvedena na podganah. V študijah na živalih so ugotovili, da v določenih primerih nanodelci TiO_2 prehajajo v živi del povrhnjice in usnjice. Te študije so bile izvedene na brezdlakih miših in prašičjih mladičih, ki imajo tanjšo in bolj prepustno kožo. V študijah na ljudeh penetracije v živi del kože niso zaznali, tako na zdravi kot tudi na poškodovani koži, so se pa nanodelci akumulirali v poroženeli plasti povrhnjice, lasnih foliklih in žlezah znojnicah. S tem je tudi izključen privzem TiO_2 v sistemski krvni obtok po dermalnem nanosu. Penetracija v različne plasti kože je odvisna tudi od formulacije izdelka: od obloženosti delcev, podlage, agregacije delcev, itd. Študije na različnih vrstah celic (bronhialne epiteljske celice, fibroblasti, keratinociti) so pokazale, da imajo nanodelci TiO_2 citotoksične in genotoksične učinke in posledično lahko povzročajo poškodbe DNA. Ob dermalni in peroralni izpostavitvi

TiO₂ ne predstavlja tveganja za akutno toksičnost, ob inhalaciji pa nanodelci lahko povzročijo vnetje pljuč, zato se odsvetuje uporaba izdelkov v obliki pršil. Titanov dioksid naj ne bi povzročal draženja, preobčutljivostnih reakcij, prav tako tudi ni reproduktivno toksičen (6).

1.1.3 Vrste KI za zaščito pred soncem

Varovalni izdelki za sončenje so raznovrstni glede na uporabljen nosilni sistem, v katerega vgradimo UV filter. Glede na agregatno stanje so nosilni sistemi lahko tekoči, poltrdni, trdni ali v obliki pršila. Med tekoče KI za sončenje uvrščamo olja, etanolno vodne raztopine in tekoče emulzije (losjoni, mleka). Med poltrdne spadajo kreme in geli (hidrogeli in oleogeli), trdne KI za zaščito pred soncem pa predstavljajo stiki. Številčno najbolj zastopani varovalni izdelki za sončenje na trgu so tekoče emulzije. To so grobo disperzni sistemi, sestavljeni iz dveh nemešajočih se tekočin, od katerih je ena enakomerno razpršena (dispergirana) v drugi v obliki kapljic. Ena tekočina predstavlja hidrofilno fazo, druga lipofilno, za stabilizacijo sistema pa potrebujemo emulgator, ki vzpostavi stik med obema. Za dokončno dispergiranje ene faze v drugi, je potrebna mehanska obdelava oz. mešanje. Vanje se lahko vgrajujejo raznovrstni UV filtri, tako hidrofilni kot lipofilni. Omogočajo tudi vgraditev številnih pomožnih snovi različne polarnosti. Enostavno lahko prilagajamo njihovo viskoznost in tvorimo emulzije različnih tipov. Bolj učinkovite so praviloma tiste emulzije, ki imajo UV filter vgrajen v zunanjo fazo. Slabost emulzij je njihova fizikalna oz. termodinamska nestabilnost, saj tak sistem zaradi velike medfazne energije vedno teži k razplastitvi (1,7).

Ostale sestavine v izdelkih za sončenje povečajo topnost UV filtrov, omogočajo nastanek želene tehnološke oblike izdelka, vzdržujejo fizikalno, kemijsko in mikrobiološko stabilnost ali pa kožo na različne načine negujejo (1,7).

1.1.4 Fizikalna stabilnost emulzijskih sistemov v primeru KI za zaščito pred soncem

KI za zaščito pred soncem so pogosto izpostavljeni povišani temperaturi in drugim obremenilnim dejavnikom, zato je preverjanje njihove fizikalne stabilnosti ključnega pomena. Stabilnost je sposobnost izdelka, da skozi čas v predvidljivih pogojih shranjevanja, ohranja svoje lastnosti znotraj predpisanih mej. Glede na naravo sprememb lastnosti kozmetičnega izdelka ločimo kemijsko, fizikalno in mikrobiološko stabilnost. Pri fizikalni stabilnosti gre za

ohranitev prvotnih fizikalnih lastnosti izdelka skozi čas shranjevanja, vključno z izgledom, najpogostejše možne posledice fizikalne nestabilnosti pa so ločevanje faz, agregacija in sedimentacija. Pri emulzijah ločimo različne oblike fizikalne nestabilnosti – združevanje kapljic (flokulacija, agregacija), usedanje kapljic (sedimentacija), zbiranje kapljic na površini (flotacija oz. creaming), zlitje kapljic (koalescenca), Ostwaldova rast in ločitev faz. Od tega so flokulacija, sedimentacija in flotacija reverzibilne oblike fizikalne nestabilnosti, kjer emulgatorski film obdrži svoje lastnosti, koalescenca in Ostwaldova rast pa sta ireverzibilni obliki, saj pride do poškodbe oz. prekinitve emulgatorskega filma. Fizikalno stabilnost emulzij testiramo v okviru stabilnostnih študij, in sicer z obremenilnimi testi (stresanje, centrifugiranje, shranjevanje na povišani ali znižani temperaturi), organoleptičnim vrednotenjem ter fizikalno-kemijskim vrednotenjem (merjenje vrednosti pH, viskoznosti, električne prevodnosti). Toplotne obremenitve lahko izvajamo pri konstantni temperaturi (sobna, povišana: 45-50 °C, znižana: 0-8 °C) ali pa sistem podvržemo izmenjajočim se ciklom temperaturnih obremenitev (24-urni cikli na -10 °C in 25 °C) (1,8).

1.2 Vrednotenje reoloških lastnosti KI

1.2.1 Reologija

Izraz reologija izhaja iz grščine in je sestavljen iz dveh delov; »rheos«, kar pomeni tok in »logos«, kar pomeni veda. Reologija je torej veda o pretočnih lastnostih snovi, tako kapljev in kot tudi drugih sistemov, pri katerih je viskoznost odvisna od njihove notranje strukture. Reološko vrednotenje sistemov je na področju farmacije in kozmetologije ključnega pomena, saj omogoča ovrednotenje notranje strukture sistemov, spremljanje fizikalne stabilnosti in obnašanja snovi pod vplivom temperature, pomaga pri optimizaciji in kontroli kakovosti surovin in končnih izdelkov (9).

Osnovni reološki parametri so predstavljeni z modelom dveh vzporednih plošč s površino S [m²] in medsebojno razdaljo h [m], med katerima je preiskovana tekočina. Spodnja plošča miruje, zgornjo pa premikamo s silo F [N] in hitrostjo v [m/s]. Nastane plastni laminarni tok (9).

S strižno deformacijo γ oz. strigom opišemo delovanje strižne sile, ki povzroči določen premik plasti (enačba 1).

$$\gamma = \frac{dy}{dx} [/] \quad \text{/enačba 1/}$$

Strižna sila deluje v smeri ploskve in je odgovorna za spremembo oblike telesa. Po prenehanju delovanja sile se lahko atomi oz. molekule vrnejo v prvotno stanje, takrat govorimo o prožni oz. elastični deformaciji. V nasprotnem primeru, kadar se atomi preveč odmaknejo in se niso sposobni vrniti v prvotno stanje, opredelimo deformacijo kot plastično ali trajno.

Strižna napetost τ (ang. shear stress) je količnik sile F , ki leži v ploskvi in površine S , enota za merjenje je Pa (enačba 2).

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

Strižna hitrost $\dot{\gamma}$ (ang. shear rate) je mera tekočinske deformacije oz. količnik med diferencialom hitrosti dv in razmikom med dvema sosednjima tekočinskima plastema dx .

V primeru poltrdnih in trdnih sistemov je definirana kot odvod strižne deformacije $d\gamma$ po času dt (enačba 3).

$$\dot{\gamma} = \frac{dv}{dx} \text{ ali } \dot{\gamma} = \frac{d\gamma}{dt} [\text{s}^{-1}] \quad \text{/enačba 3/}$$

Viskoznost delimo na dinamično in kinematično. Dinamična viskoznost η je sorazmernostni faktor med strižno napetostjo τ in strižno hitrostjo $\dot{\gamma}$ in predstavlja notranjo upornost tekočin pri pretakanju (enačba 4).

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} [\text{Pas}] \quad \text{/enačba 4/}$$

Kinematična viskoznost ν pa predstavlja količnik med dinamično viskoznostjo η in gostoto sistema ρ pri določeni temperaturi (enačba 5).

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} [\text{m}^2/\text{s}] \quad \text{/enačba 5/}$$

Tokovno obnašanje sistemov lahko prikažemo z grafi, kot sta reogram in viskoznostni diagram. Reogram prikazuje odvisnost strižne napetosti od strižne hitrosti, medtem ko gre pri viskoznostnem diagramu za odvisnost viskoznosti od strižne hitrosti (9, 10, 11).

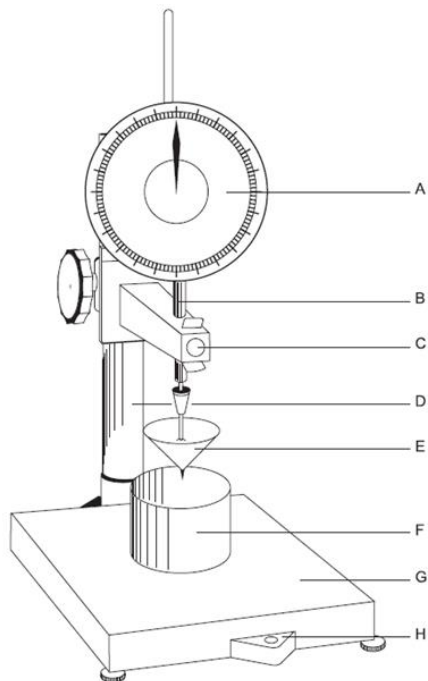
Reološke parametre lahko merimo in vrednotimo z različnimi metodami in instrumenti. Za merjenje viskoznosti tekočin uporabljamo enostavne viskozimetre, npr. kapilarne ali pretočne kroglične, pri kompleksnejših sistemih pa za opredelitev viskoznosti oz. viskoelastičnih lastnosti uporabljamo rotacijske in oscilacijske reometre. Pri aparaturah, ki temeljijo na rotaciji, pride do porušanja strukture vzorca in moramo vzorec po meritvi zavreči, medtem ko se pri oscilaciji notranja struktura vzorca ohranja (9).

Na principu rotacije delujejo kompleksnejši rotacijski reometri, ki se razlikujejo glede na vrsto uporabljenega merilnega telesa. Ločimo sistem koaksialnih valjev, sistem stožec-plošča in sistem dveh vzporednih plošč. Pri sistemu koaksialnih valjev se preiskovana snov nahaja v reži med obema valjema, pri čemer en valj (notranji ali zunanji) rotira z določeno kotno hitrostjo, drugi pa miruje. V diplomski nalogi smo uporabljali sistem stožec-plošča, kjer se vzorec nahaja v reži med stožcem in ploščo, za majhne kote stožca je strižna hitrost po celotni reži enaka, prav tako tudi strižna napetost. Prednosti te vrste sistema so enostavnost doziranja vzorca in čiščenja merilnega sistema ter majhne količine potrebnega vzorca. Pri sistemu dveh vzporednih plošč pa se vzorec nahaja v reži med ploščama z določenim polmerom in razdaljo med njima, strižna hitrost se po polmeru plošče spreminja (9, 10).

Reološke lastnosti sistemov lahko proučujemo tudi z enostavnejšimi komplementarnimi metodami, kot sta penetrometrija in test razmaznosti, s katerimi pridobimo podatke o konsistenci in mazljivosti sistema in z njimi nadgradimo predhodno pridobljene reološke parametre (npr. viskoznost). Ti metodi dobro dopolnjujeta že uveljavljene kompleksnejše reološke metode, sta praktični in lahko zmanjšata stroške v kozmetični in farmacevtski industriji.

1.2.2 Penetrometrija

Penetrometrija se v farmacevtski industriji uporablja za ugotavljanje konsistence poltrdnih sistemov. Pod določenimi in validiranimi pogoji merilno telo penetrira v preiskovano snov, ki se nahaja v vsebniku točno določene velikosti in oblike. Penetrometer je sestavljen iz merilnega telesa (E) in stojala (B), na katerem je merilna skala (A) ter več vijakov za nastavitve položaja merilnega telesa, kot je z oznakami prikazano na sliki 3. Pod merilno telo postavimo vsebnik s preiskovanim vzorcem (F). Merilno telo ima gladko površino in točno definirano obliko, velikost in maso, najpogosteje gre za obliko stožca ali igle. Meritve izvajamo pri sobni temperaturi, površina preiskovanega vzorca mora biti ravna. Položaj merilnega telesa nastavimo tako, da se njegova konica nahaja tik nad vzorcem. Merilno telo spustimo, da penetrira v vzorec, ga zadržimo v tem položaju za določen čas in odčitamo globino penetracije, rezultate pa podamo v desetinkah milimetra. Bolj kot je vzorec rahle konsistence, globlje bo merilno telo penetriralo in odčitana meritev bo višja. Vzorec je po



Slika 3: Penetrometer

meritvi neuporaben in ga zavržemo, meritev nato ponovimo na dveh preostalih paralelah (12, 13).

Določanje konsistence je poleg področja farmacije pogosto tudi v kozmetični, prehranski in gradbeni industriji. V kozmetiki je povezano z nanašanjem in razprostiranjem izdelka na koži ter z izbiro vrste embalaže. Tako lahko na podlagi meritev ugotovimo ali bo izdelek primeren za nanos (npr. nižje vrednosti meritev pomenijo, da izkazuje izdelek bolj čvrsto, trdno konsistenco in se bo posledično težje nanesel na kožo) oziroma se odločimo, v kakšno embalažo ga bomo polnili (12, 13).

1.2.3 Test razmaznosti

S pojmom razmaznost definiramo, kako se določen vzorec s poltrdno konsistenco (krema, losjon, gel) ob nanosu razmaže na koži. Razmaznost formulacije vpliva na iztis izdelka iz primarne embalaže ter na nanos samega izdelka na kožo oziroma na njegove senzorične lastnosti, s tem pa vpliva na privlačnost za uporabnika. Posredno vpliva tudi na učinkovitost izdelka, saj z enakomernim nanosom zagotovimo enakomerno in ustrezno količino (kozmetično) aktivne sestavine na želenem mestu (14, 15).

1.2.3.1 Dejavniki, ki vplivajo na razmaznost

Razmaznost je povezana s stičnim kotom kapljice tekočine ali poltrdne snovi na standardiziranem substratu in je merilo za mazljivost, ki je neposredno povezana s koeficientom trenja. Na razmaznost vpliva sestava formulacije (tekstura, čvrstost), hitrost in čas striga med mazanjem ter temperatura mesta, kamor izdelek namažemo. Kako hitro se izdelek razmaže pa je odvisno od viskoznosti formulacije in hitrosti izhlapevanja topila. Lastnosti formulacije, kot so viskoznost, elastičnost, reološke lastnosti in konsistenca, so najpomembnejši dejavniki pri razvoju in končnem obnašanju poltrdnega pripravka, zato moramo biti nanje zelo pozorni. Pri sestavi formulacije je pomembna vrsta in količina lipofilnih snovi, površinsko aktivnih snovi in zgoščeval ter delež vode. Načeloma se bo

lipofilna krema na koži težje razmazala kot hidrofilna, imela bo višjo viskoznost in bo bolj mastna, vendar je to v veliki meri odvisno od mazljivosti vgrajene lipofilne faze. S povečanjem viskoznosti izdelka se poveča čas zadrževanja učinkovine na tarčnem mestu, razmaznost pa je slabša. Razmaznost je obratno sorazmerna tudi s kohezivnostjo formulacije, saj močne vezi povzročijo slabšo pretočnost in razmaznost izdelka (14).

1.2.3.2 Metode za določanje razmaznosti

Glede hitrosti in časa striga je pomembno, da pri določanju razmaznosti upoštevamo hitrost in čas, s katerim uporabnik dejansko nanaša izdelek na kožo. Najprimernejše strižne hitrosti za merjenje so po navedenih raziskavah med 0-250 s⁻¹. Pomembna je tudi temperatura mesta, kamor nanese formulacijo, ki naj bi se gibala med 20-35 °C.

Za določanje razmaznosti poznamo več metod, in sicer metodo vzporednih plošč, subjektivno ocenjevanje, metodo glavne krivulje ter teste *in vivo* (14).

Metoda vzporednih plošč se uporablja najpogosteje, saj je preprosta in poceni. Za meritve uporabljamo dve stekleni plošči znanih dimenzij in mase. Na sredino prve plošče damo točno določeno količino vzorca, nanj položimo drugo ploščo in izmerimo razmaz vzorca v različnih časovnih točkah. Pod spodnjo ploščo pred meritvijo namestimo merilno skalo v obliki tarče, da lahko med meritvijo izmerimo premer razmaza. Pazimo, da je zgornja plošča dobro fiksirana, da med meritvijo ne zdrsi. Za povečanje razmaznosti lahko po fiksiranju plošč na zgornjo ploščo položimo še utež z znano maso. Za merjenje razmaznosti se pri tej metodi lahko uporabita tudi enačbi (enačba 6 in enačba 7): (14)

$$S = m \times \frac{l}{t} \quad \text{/enačba 6/}$$

pri čemer je S razmaznost, m masa zgornje plošče (g), l dolžina plošč (cm) in t čas, ki je potreben, da plošči zdrsita čez celotno dolžino (s).

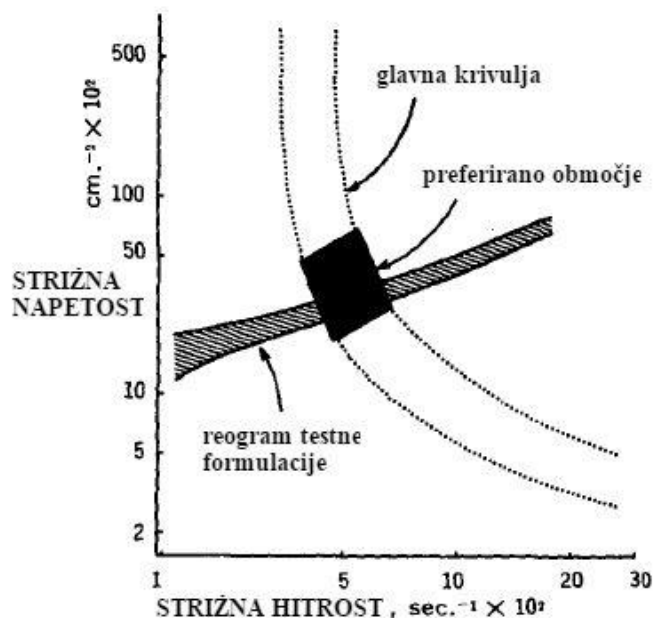
$$S_i = d^2 \times \frac{\pi}{4} \quad \text{[mm}^2\text{]} \quad \text{/enačba 7/}$$

S_i je površina razmaza (mm²), ki je odvisna od mase i (g), d pa je premer razmaza (mm).

Subjektivno ocenjevanje temelji na principu senzorične ocene mazljivosti, kot jo podajo prostovoljci in je izmed vseh metod najbližje realnemu občutku po nanosu. Vendar pa gre za subjektivno metodo z izrazito variabilnimi rezultati (14).

Metoda glavne krivulje združuje prednosti subjektivnega ocenjevanja in instrumentalnih metod. V študijah so združili senzorično oceno razmaznosti s konceptom glavne krivulje iz reoloških meritev viskoznosti vzorcev. Določili so korelacijo med strižno napetostjo in strižno hitrostjo, ki sta delovali med mazanjem pripravka na kožo. V eni izmed raziskav so

prostovoljci ocenjevali razmaznost testnih formulacij različnih konsistenc in jih primerjali z Newtonskimi silikonskimi olji različnih konsistenc. Posamezno formulacijo so si razmazali na notranjo stran podlahti in določili, katero izmed silikonskih olj ima enako razmaznost kot nanešena testna formulacija. Nato so z viskozimetrom stožec-plošča izmerili viskoznost testne formulacije in izbranega silikonskega olja. Iz presečišča reogramov za oba vzorca (testna formulacija in silikonsko olje) so določili strižne pogoje, ki se pojavijo pri razmazu formulacije na kožo. S pomočjo logaritemske skale so nato pretvorili rezultate in dobili t.i. glavno krivuljo. Preferirano območje glavne krivulje je bilo $400\text{--}700\text{ s}^{-1}$ in $200\text{--}700\text{ Pa}$, kar predstavlja najbolj ugodne strižne pogoje pri nanosu testne formulacije na kožo. Prostovoljci so nato ponovno ocenili formulacije, tokrat pod temi strižnimi pogoji. Senzorično ocenjevanje so tako povezali z instrumentalnimi meritvami na reometru. Dobljeni podatki so potem dali odgovor glede optimalnih pogojev razmaznosti (strižna hitrost in strižna napetost), ki so za določeno formulacijo najbolj sprejemljivi s strani uporabnika in pod katerimi je priporočljivo v nadaljevanju testirati izbrane formulacije. Na sliki 4 je prikazan primer glavne krivulje s preferiranim območjem strižne napetosti in strižne hitrosti in reogramom testne formulacije (14, 16).



Slika 4: Primer glavne krivulje.

Raziskave in vivo se izvajajo na živalskih modelih (podganah, miših in ovcah) ali na človeških prostovoljcih. Ta metoda je nepristranska, nima instrumentalnih omejitev, z njo

dobimo realno oceno mazljivosti izdelka. Na ljudeh se je po raziskavah za najboljšo tehniko izkazala gama scintigrafija, s katero ocenjujemo zadrževanje zdravilne učinkovine in razmaznost tako lokalno kot sistemsko, gre predvsem za zadrževanje in razmaznost poltrdnih farmacevtskih pripravkov, ki se nanašajo na sluznice. Raziskave *in vivo* so v primerjavi s senzoričnim ocenjevanjem na prostovoljcih bolj objektivne, nepristranske in invazivne (v primeru gama scintigrafije se pripravki nanašajo na sluznice in vstopajo direktno v telo, poleg tega so označeni z radioaktivnimi označevalci in barvili za boljšo sledljivost). Pri senzorični oceni pa gre samo za nanos pripravka na kožo in subjektivno oceno razmaznosti s strani prostovoljca, rezultati so zato odvisni od vsakega posameznika, med tem, ko so pri raziskavah *in vivo* rezultati jasni in ponovljivi.

Razmaznost lahko določamo tudi z nekaterimi aparaturami, ki se drugače uporabljajo v druge namene, to so npr. viskozimetri, penetrometri, analizatorji teksture in merilniki razmaza. (14)

2 NAMEN DELA

Namen diplomskega dela bo določiti in povezati rezultate reoloških lastnosti losjona za zaščito pred soncem z različno vsebnostjo titanovega dioksida, pridobljenih s setom komplementarnih metod. Zanimalo nas bo, ali lahko dobimo enakovredne in zanesljive podatke o reoloških lastnostih izdelka z uporabo enostavnejših metod, kar je pomembno za kozmetično industrijo tako z vidika praktičnosti kot stroškov dela.

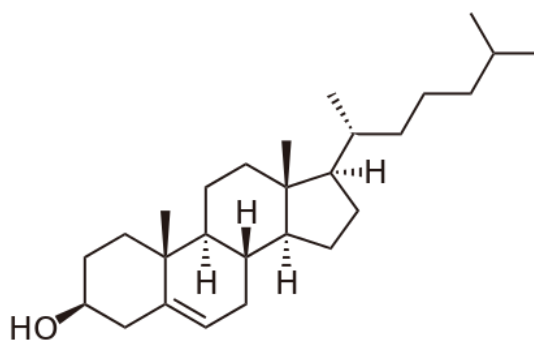
V okviru diplomske naloge bomo vrednotili reološke lastnosti losjona za zaščito pred soncem z različno vsebnostjo titanovega dioksida (0% (placebo), 5% in 10%). Vzorce bomo izpostavili povišani temperaturi (30, 40 in 60 °C), kontrolne vzorce bomo shranili na sobni temperaturi. Na podlagi rezultatov določanja fizikalne stabilnosti bomo nadaljnje reološke meritve opravili pri tistih temperaturah, kjer se prvotne lastnosti losjona najbolj ohranijo. Z rotacijskim viskozimetrom bomo v različnih časovnih točkah (0. dan, 1. teden, 2. teden in 4. teden) tekom enomesečnega shranjevanja izmerili viskoznost losjona, s penetrometrom proučevali konsistenco, s testom razmaznosti z metodo vzporednih plošč pa določali mazljivost losjona. Nadalje bomo primerjali rezultate, pridobljene z omenjenimi metodami, in skušali najti povezavo med njimi.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 Materiali

Holesterol (Lex, Slovenija)

Holesterol je voskast steroid, prekursor nekaterih hormonov in pomembna sestavina celičnih membran, kjer pomembno vpliva na njihovo fluidnost. Deluje kot šibek emulgator voda v olju V/O s HLB (ang. hydrophilic-lipophilic balance) vrednostjo 1, emolient, stabilizator in zgoščevalec. Pridobivamo ga s hidrolizo lanolina. Je v obliki belih do rahlo rumenih granul oz. kristalov. Topen je v organskih topilih, njegova kemijska struktura je prikazana na sliki 5 (17).



Slika 5: Kemijska formula holesterola.

Mandljevo olje (Caesar & Loretz GmbH, Nemčija)

Mandljevo olje je pridobljeno s stiskanjem semen sladkega mandljevca. Je zmes trigliceridov nenasičenih maščobnih kislin (prevladujeta oleinska in linolna), vsebuje pa tudi vitamine A, B in E. Deluje kot emolient. Je blede rumene barve in rahlega vonja, uporablja se predvsem za nego kože in las, kot olje za masažo ter za odstranjevanje ličil (18).

Lanolin (Caesar & Loretz GmbH, Nemčija)

Lanolin je rumen vosek, ki ga pridobivamo iz ovčje volne, in sicer ga ovce izločajo skozi žleze lojnice. Kemijsko je kompleksna zmes estrov višjih maščobnih alkoholov in sterolov z višjimi maščobnimi kislinami, preostanek pa predstavljajo lanolinski alkoholi (prosti višje maščobni alkoholi, steroli in triterpenski alkoholi) s šibkimi emulgatorskimi lastnostmi V/O

(HLB = 1), deluje pa tudi kot emolient. Je kompatibilen s človeško kožo, saj je po funkciji podoben sebumu, pripomore tudi k hitrejši regeneraciji poškodovane kože (19).

Kakavovo maslo (Lex, Slovenija)

Kakavovo maslo je naravna maščoba iz semen kakavovca, kemijsko je kompleksna zmes trigliceridov nasičenih (stearinske, palmitinske) in nenasičenih maščobnih kislin (zlasti oleinske). Nahaja se v obliki večjih svetlo rumenih kosov s prijetnim vonjem po čokoladi, stali se pri telesni temperaturi. Deluje kot emolient, nudi minimalno zaščito pred UV sevanjem (SPF = 2), zaradi vsebnosti vitamina E pa ima tudi antioksidativne lastnosti (20).

Prečiščena voda

Prečiščena voda je pridobljena s postopkom dvojne destilacije na Katedri za biofarmacijo in farmakokinetiko Fakultete za farmacijo.

Titanov dioksid (Lek, član skupine Sandoz, Slovenija)

Titanov dioksid je bela praškasta snov brez vonja. V vodi in organskih topilih je netopen. Deluje kot anorganski UV filter in pigment (CI77891). UV sevanje lahko absorbira, določene valovne dolžine pa tudi odbija in sipa. Uporablja se tako v prehranski kot gradbeni industriji, v kozmetični se uporablja v vlogi UV filtra v izdelkih za zaščito pred soncem in kot pigment, saj daje belo obarvanje. Delci titanovega dioksida mikrometrskih velikosti sipajo vidno svetlobo, dajejo izdelkom opalescentnost in se težje razmažejo, medtem ko delci v nano velikostnem razredu vidno svetlobo prepuščajo in omogočajo transparentnost (6).

3.2 Metode

3.2.1 Postopek izdelave losjona za zaščito pred soncem

V okviru diplomske naloge smo izdelali vzorce z različnim deležem titanovega dioksida, in sicer 5%, 10% in placebo za primerjavo (brez vgrajenega titanovega dioksida). V osnovni recepturi znaša delež titanovega dioksida 5%, pri izdelavi losjona z 10% deležem titanovega dioksida pa smo ustrezno zmanjšali delež ostalih sestavin, vendar ohranili enako razmerje. Pri izdelavi placeba smo količino titanovega dioksida izničili, delež ostalih sestavin pa ustrezno povečali. Recepture vseh treh vzorcev so prikazane v preglednici I.

Preglednica I: Recepture vzorcev z različnim deležem TiO₂ (5%, 10%, placebo)

	5% TiO ₂	10% TiO ₂	placebo
Del A			
holesterol	1,20%	1,10%	1,30%
mandljevo olje	15,60%	14,80%	16,40%
lanolin	31,30%	29,70%	33,00%
kakavovo maslo	31,30%	29,70%	33,00%
Del B			
prečiščena voda	15,60%	14,80%	16,40%
Del C			
titanov dioksid	5,00%	10,00%	/

Najprej smo pripravili del A. V pateno smo na precizni tehtnici (Sartorius Group, Nemčija) zatehtali holesterol, mandljevo olje in lanolin ter jih segrevali na vodni kopeli (GFL Gesellschaft für Labortechnik mbH, Nemčija) pri temperaturi 80 °C, dokler se lanolin ni stalil. Dodali smo kakavovo maslo in mešali, da se je kakavovo maslo raztopilo. Prečiščeno vodo smo segreli na vodni kopeli na 80 °C in jo počasi dodajali delu A ob stalnem mešanju do ohlajanja. Zatehtali smo titanov dioksid, ki smo ga predhodno presejali skozi sito z velikostjo por 600 µm in ga dodali osnovi. Vse skupaj smo homogenizirali z unguatorjem (CITO Unguator B/R, Italija).

3.2.2 Stabilnostni testi na povišani temperaturi

Z namenom ocene fizikalne stabilnosti vzorcev smo le te podvrgli testiranju pri povišani temperaturi v sušilniku (Kambič Laboratorijska oprema, Slovenija), in sicer na 40 °C in 60 °C, kontrolni vzorci so bili shranjeni na temperaturi prostora (22 ± 1 °C). V časovnih točkah 0. dan, 1., 2. in 4. teden smo izvedli vrednotenje reoloških lastnosti vzorcev, in sicer smo jim z reometrom izmerili viskoznost, z uporabo penetrometra pa proučevali konsistenco. Vzorce smo 24 h pred izvedbo meritev vzeli iz sušilnika, da so se temperirali na sobno temperaturo oziroma stabilizirali. Pri inkubaciji tako na 40 °C in 60 °C smo takoj na začetku opazili, da vzorci niso fizikalno stabilni, saj so se namreč razplastili, titanov dioksid pa je sedimentiral (viden bel cement na dnu erlenmajerice). Na podlagi teh opažanj smo izključili testiranje na 60 °C, medtem ko smo vzorce še nadalje shranjevali na 40 °C. Pri teh vzorcih je bila razplastitev namreč manj očitna, vendar smo jih vsakokrat, ko smo jih vzeli iz sušilnika, premešali z desetimi zamahi in pustili mirovati en dan. Naknadno smo v poskuse vključili testiranje vzorcev na 30 °C, saj je bila to optimalna temperatura, pri kateri ni prišlo do

razplastitve. Vzorcem, izpostavljenim 30 °C, smo ob enakih časovnih točkah izmerili viskoznost in konsistenco, dodatno smo izvedli še test razmaznosti z metodo vzporednih plošč.

3.2.3 Meritve viskoznosti

Za meritve viskoznosti smo uporabili reometer Physica MCR 301 znamke Anton Paar (Graz, Avstrija), ki je prikazan na sliki 6. Kot merilno telo smo uporabili sistem stožec-plošča, nastavek CP50-2 ($2r = 49,961$ mm; $\text{kot} = 2,001^\circ$). Spodnji del je plošča, ki miruje, zgornji del pa je stožec, ki se vrti s predhodno določeno strižno hitrostjo v območju od 1 s^{-1} do 100 s^{-1} . Meritve smo izvajali pri 22 °C. Pred začetkom meritev smo nanесли približno 1 g vzorca na sredino plošče, stožec spustili v položaj za merjenje (0,209 mm nad ploščo) ter odstranili odvečno količino vzorca ob robovih. Za posamezen vzorec smo v vsaki časovni točki izvedli dve ponovitvi, rezultat smo podali kot povprečno vrednost obeh.



Slika 6: Reometer MCR 301 Anton Paar Physica (Graz, Avstrija)

3.2.4 Penetrometrija

Meritve konsistence smo izvajali na penetrometru (Walter Herzog GmbH, Nemčija), prikazanem na sliki 7, kot merilno telo smo uporabili stožec ($m = 102,5$ g; $2r = 65$ mm). Vzorce smo za potrebe meritev shranjevali v plastičnih ali steklenih lončkih ustreznih

dimenzij ($2r = 80 \text{ mm}$, $h = 80 \text{ mm}$ ali 90 mm). Meritve smo izvajali pri sobni temperaturi. Vzorec smo postavili na sredino merilne površine in konico stožca čim bolj približali gladini vzorca, približno 1 mm nad površino. S pričetkom meritve se je stožec spustil v vzorec, po približno 5 sekundah smo odčitali vrednost (v desetinkah milimetra) na zgornji skali. Za posamezen vzorec smo v določeni časovni točki izvedli dve ponovitvi, rezultat smo podali kot povprečno vrednost obeh.

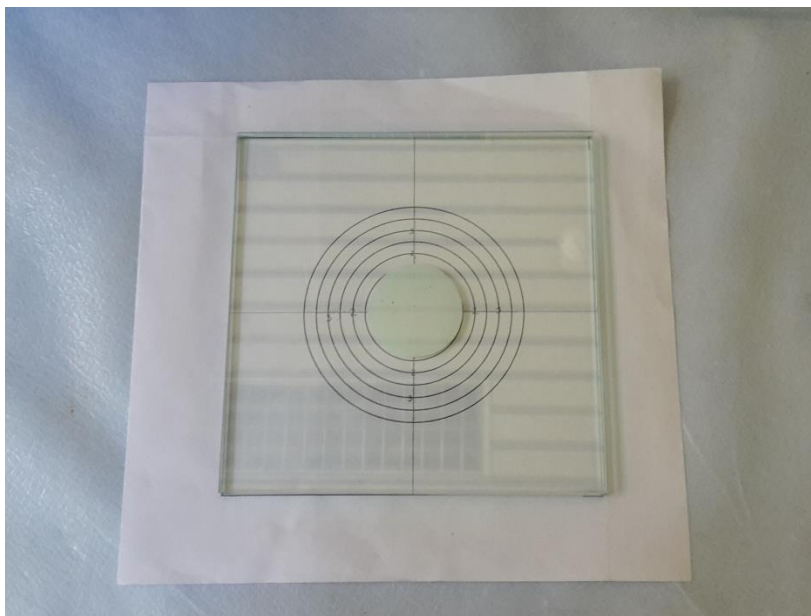


Slika 7: Penetrometer (Walter Herzog GmbH, Nemčija)

3.2.5 Test razmaznosti

Test razmaznosti smo naredili za vzorce, starane na sobni temperaturi in na $30 \text{ }^{\circ}\text{C}$. Postopek testa smo najprej optimizirali glede debeline uporabljenih plošč, količine testiranega vzorca, časa merjenja razmaza ter uporabljenih obremenitev (uteži). Za izvedbo meritev smo na merilno skalo v obliki tarče položili debelejšo stekleno ploščo ($15 \times 15 \text{ cm}$, debelina = 5 mm). V krog na sredini smo nanесли $0,3 \text{ g}$ vzorca, kar je bila pri optimiziranju maksimalna količina, ki smo jo lahko še nanесли v srednji krog (upoštevaje lastnosti vzorca (čvrsta konsistenca) – le teh namreč nismo nanašali z brizgo, temveč smo zahtevano količino natehtali in jo nato nanесли na stekleno ploščo). Na vzorec smo položili tanjšo stekleno ploščo ($15 \times 15 \text{ mm}$, debelina = 2 mm), jo fiksirali ob robovih in izmerili polmer razmaza po 10 s , 1 min in 3 min . Za tanjšo ploščo zgoraj smo se odločili, ker je bila debelejša plošča pretežka in se razmazi med sabo niso veliko razlikovali. Za posamezen vzorec smo izvedli po dve ponovitvi, kot rezultat smo podali povprečno vrednost obeh. Uteži pri testu nismo uporabljali, saj smo med

optimiziranjem ugotovili, da nimajo posebnega vpliva na meritev. Primer testiranega vzorca z omenjenim testom je prikazan na sliki 8.



Slika 8: Test razmaznosti

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

V okviru diplomske naloge smo vrednotili losjon za zaščito pred soncem z različno vsebnostjo titanovega dioksida (0% (placebo), 5% in 10% m/m). Vzorce smo med enomesečnim shranjevanjem izpostavili povišani temperaturi (kontrolne vzorce smo shranili na sobni temperaturi) ter jih ob vnaprej določenih časovnih točkah, tj. 0. dan, 1. teden, 2. teden in 4. teden, vrednotili z različnimi metodami, s katerimi lahko ovrednotimo reološke lastnosti izdelka. Natančneje, fizikalno stabilnim vzorcem smo z rotacijskim viskozimetrom izmerili viskoznost, s penetrometrom proučevali konsistenco, s testom razmaznosti z metodo vzporednih plošč pa določili mazljivost vzorcev. Rezultate, pridobljene z omenjenim naborom metod, smo primerjali, zanimalo nas je predvsem, ali z njimi pridobimo komplementarne podatke o reoloških lastnostih izdelka.

4.1 Stabilnostni testi pri povišani temperaturi

V okviru preverjanja fizikalne stabilnosti vzorcev smo le-te vključili v t.i. preliminarne teste stabilnosti, ki se izvajajo v začetni fazi razvoja kozmetičnega izdelka, kjer se vrednoti ustreznost formulacije. Vrednotimo organoleptične in fizikalno kemijske parametre, vzorce pa izpostavimo povišani (37, 40, 45 ali 50 °C) oz. nižani temperaturi (5, -5 ali -10 °C) ali pa opravimo ciklične teste (cikel po 24 ur: 40 in 4 °C za 4 tedne ali 45/50 in -5 °C za 12 dni). V našem primeru smo vzorce za štiri tedne izpostavili povišani temperaturi, nato pa smo jih ob vnaprej določenih časovnih točkah vrednotili s setom komplementarnih metod. Preliminarne teste stabilnosti smo nekoliko prilagodili, v prvem tednu staranja smo določili fizikalno stabilnost vzorcev, nato pa na podlagi opažanj ustrezno ukrepali ter nadaljevali s staranjem. Toplotna obremenitev vzorcev je posledično vplivala na njihove reološke lastnosti.

Vzorce z vgrajenim titanovim dioksidom (5% in 10%) ter placebo smo izpostavili povišani temperaturi (40 in 60 ± 1 °C), kontrolne vzorce pa smo hranili na temperaturi prostora (22 ± 1 °C). Pri prvem pregledu vzorcev (po petih dneh) je pri vseh vzorcih, ki so bili izpostavljeni povišani temperaturi, prišlo do razplastitve, in sicer je bila lipofilna faza na vrhu, titanov dioksid pa je sedimentiral na dno. Pri kontroli na sobni temperaturi do teh sprememb ni prišlo, losjon je ostal fizikalno stabilen. Primerjava vzorcev s kontrolo je prikazana na slikah 9 in 10. Losjon je bil torej pri povišanih temperaturah fizikalno nestabilen, toplotna obremenitev je bila tako močna, da se je notranja struktura porušila. Na podlagi opažanj smo se odločili, da

vzorci, izpostavljeni 60 °C, izključimo iz nadaljnega vrednotenja, medtem ko smo vzorce izpostavljene 40 °C obdržali za nadaljnje testiranje, vendar smo jih pred vsako meritvijo ustrezno premešali. Za tak ukrep smo se odločili, ker je bila pri slednjih razplastitev faz manj očitna, pa tudi v realnosti se poletne temperature velikokrat povzpnejo do 35 °C, če pa losjon direktno izpostavimo soncu, se ta hitro segreje do 40 °C in tako ta temperatura velja za bolj realen približek dejanskim pogojem. Dodatno smo se odločili, da bomo vzorce testirali še pri 30 °C, kar se je v začetku izkazala kot optimalna temperatura z vidika ohranjanja fizikalne stabilnosti, vzorci so namreč ostali homogeni. Nadaljnje vrednotenje smo tako ob časovnih točkah 0. dan, 1. teden, 2. teden in 4. teden opravili na vzorcih, ki so bili shranjeni na sobni temperaturi, 30 in 40 °C.



Slika 9: Primerjava vzorcev z 10% deležem TiO₂: sobna temperatura (levo), 40 °C (na sredini) in 60 °C (desno).



Slika 10: Primerjava vzorcev s 5% in 10% deležem TiO₂: 5% TiO₂ na sobni temperaturi, 5% TiO₂ na 60 °C, 10% TiO₂ na sobni temperaturi, 10% TiO₂ na 60 °C (iz leve proti desni).

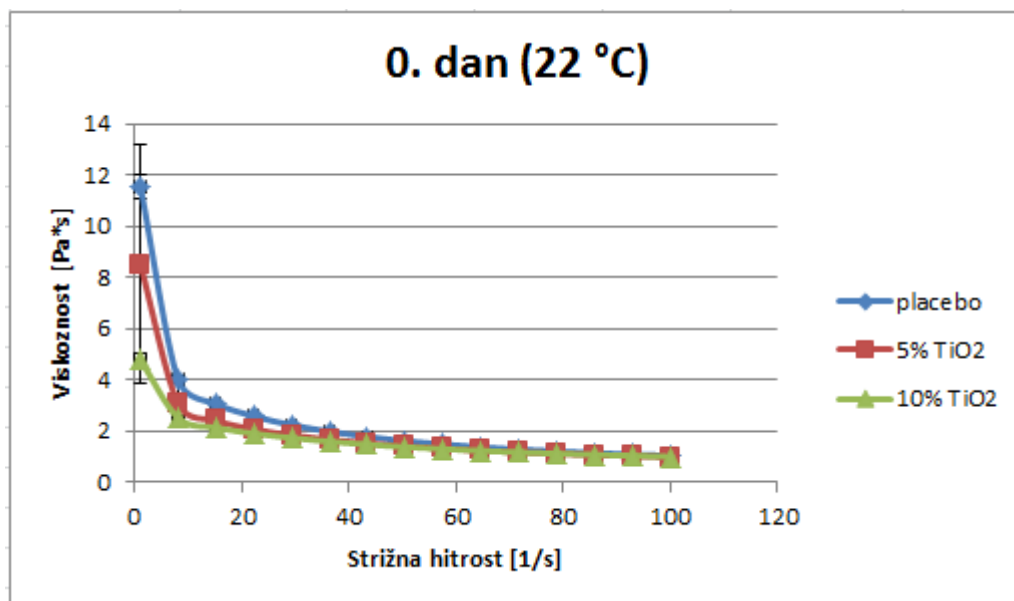
Glede na vrsto disperznega sistema je izdelani losjon za zaščito pred soncem hkrati emulzija in suspenzija. Placebo vzorec, tj. brez vgrajenega titanovega dioksida, je emulzija V/O, saj sta

prisotni hidrofilna (prečiščena voda) in lipofilna faza (mandljevo olje, kakavovo maslo, lanolin, holesterol), ki ju med sabo povezujeta šibka emulgatorja V/O (holesterol in lanolin). Losjon z vgrajenim titanovim dioksidom pa je suspenzija, saj so v njem dispergirani netopni delci titanovega dioksida. Takšna suspenzija zaradi velike površine suspendiranih delcev in velike površinske energije teži k združevanju delcev in sedimentaciji, do česar je prišlo tudi v našem primeru pri vzorcih z vgrajenim titanovim dioksidom, ki so bili izpostavljeni povišani temperaturi, kljub temu, da smo izdelano suspenzijo homogenizirali z unguatorjem. Predvidevamo, da bi optimalnejšo fizikalno stabilnost dosegli z manjšimi delci titanovega dioksida (npr. mletje z ustreznimi homogenizatorji), ali pa bi bilo potrebno dodati snovi za preprečevanje združevanja delcev (močljivci, flokulanti, polimeri). V raziskavah se za boljšo stabilizacijo k suspenzijam titanovega dioksida pogosto dodajajo silikoni z dodatkom polioksietilenskih skupin. Ti se vežejo na površino delcev titanovega dioksida (silikonske skupine so medtem iztegnjene) in sterično stabilizirajo suspenzijo, kar se odraža v nižji viskoznosti sistema. (22, 23)

4.2 Reološke lastnosti: viskoznost

Meritve viskoznosti smo izvedli na reometru z merilnim sistemom stožec-plošča. Spremljali smo odvisnost viskoznosti od strižne hitrosti, kot rezultat smo dobili viskoznostne krivulje. Zanimal nas je vpliv deleža vgrajenega titanovega dioksida ter vpliv temperature, pri kateri smo shranjevali vzorce, na viskoznost losjona.

Na sliki 11 so prikazane viskoznostne krivulje vzorcev z različno vsebnostjo titanovega dioksida ob času 0 (vzorci ob času 0 niso bili podvrženi toplotni obremenitvi).

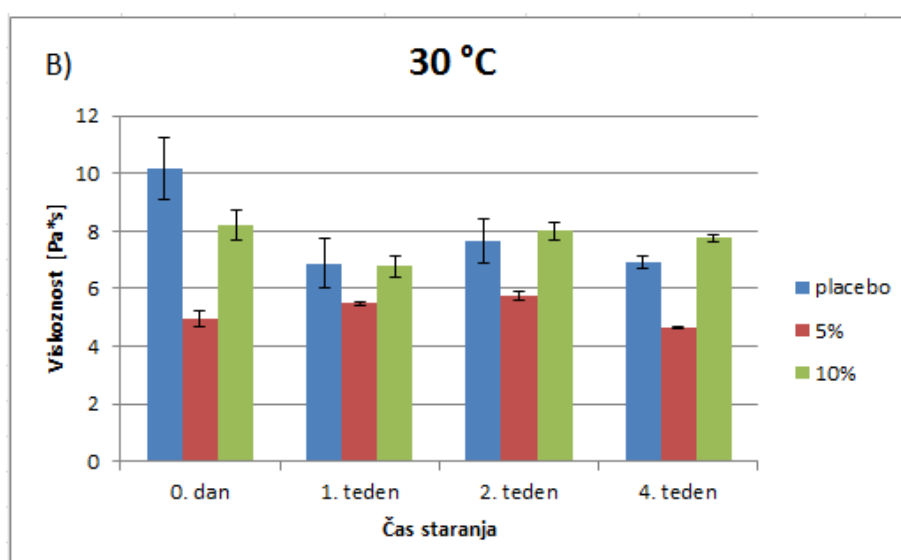
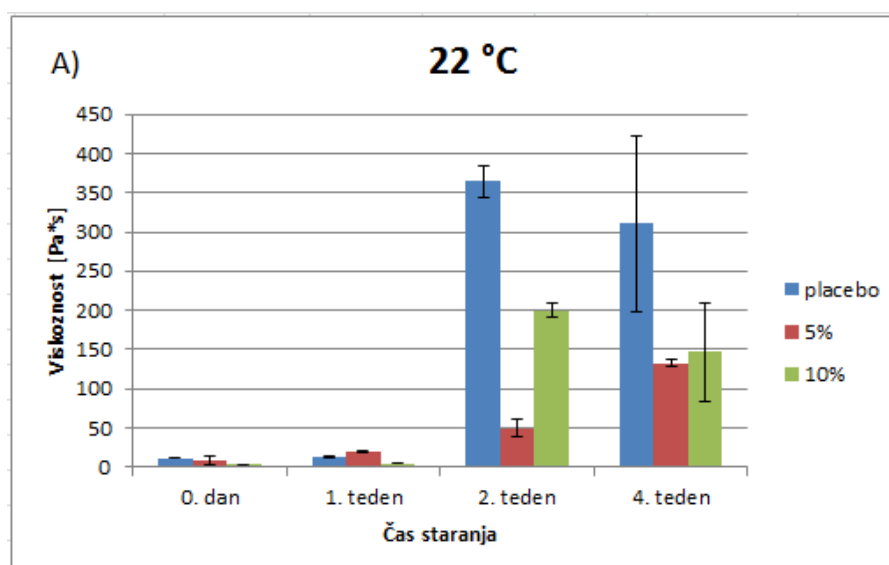


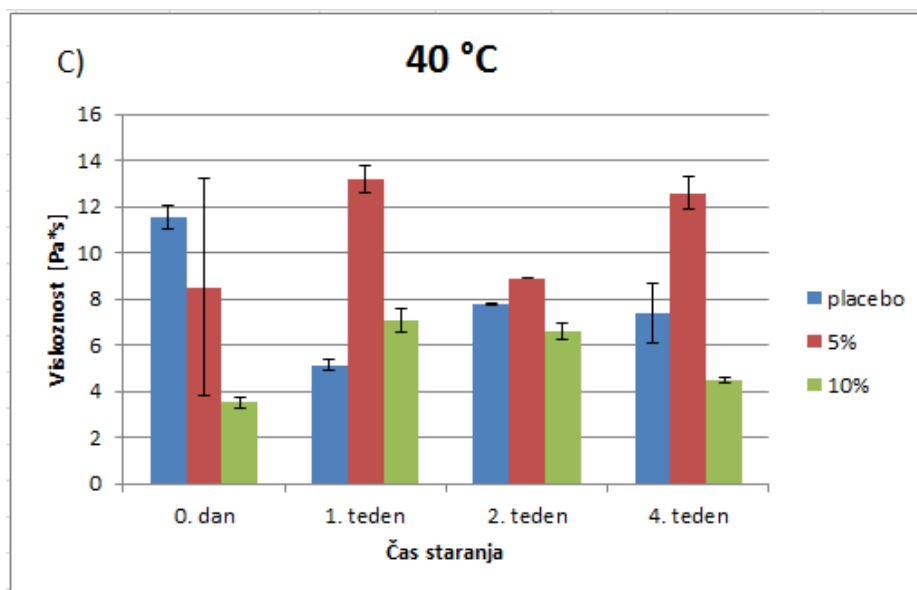
Slika 11: Viskoznostne krivulje vzorcev z različno vsebnostjo TiO₂ pri 22 °C ob času 0.

Kot je razvidno iz slike 11, viskoznost s povečano strižno hitrostjo pada pri vseh treh vzorcih, kar pomeni, da losjon izkazuje pseudoplastično obnašanje. V grobem gre za ne-Newtonski sistem, kjer je viskoznost odvisna od delovanja mehanske sile, oz. natančneje pseudoplastičen sistem, saj viskoznost z naraščajočo strižno obremenitvijo pada (9). Za pseudoplastične sisteme je značilno, da se enostavno razmažejo, na koži naredijo koherenten zaščitni film, znotraj katerega so UV filtri enakomerno razporejeni, kar je pomembno za doseganje višjega sončnega zaščitnega faktorja SPF (21). V primeru izdelanega losjona je takšno obnašanje zaželeno tako z vidika učinkovitosti kot tudi organoleptičnih lastnosti. Enako reološko obnašanje smo potrdili tudi za ostale vzorce pri vseh temperaturah ali časovnih točkah.

Rezultati meritev viskoznosti v odvisnosti od deleža titanovega dioksida in temperature so prikazani s stolpčnimi diagrami, kjer viskoznost posameznega vzorca predstavlja vrednost viskoznosti, ki jo vzorec izkazuje pri najmanjši strižni hitrosti (1/s) in jo imenujemo navidezna viskoznost (v nadaljevanju viskoznost). Le-ta je najboljši približek realni viskoznosti, z večanjem obremenitve se namreč notranja struktura vzorcev poruši, kar se odraža v zmanjševanju viskoznosti in posledično razlike v viskoznosti niso več razvidne.

Slika 12 prikazuje viskoznost vzorcev v odvisnosti od **deleža vgrajenega titanovega dioksida** (0% (placebo), 5%, 10%) pri različnih temperaturah (22, 30 in 40 °C) in časovnih točkah (0. dan, 1., 2. in 4. teden).





Slika 12: Vpliv deleža TiO₂ (placebo, 5% in 10%) na viskoznost vzorcev, izpostavljenih A) 22 °C, B) 30 °C in C) 40 °C v različnih časovnih točkah.

Do očitnih sprememb v viskoznosti je prišlo pri staranju vzorcev na sobni temperaturi, še posebej po dveh tednih shranjevanja (slika 12A). Viskoznost se je zelo povežala (najbolj opazno pri placebo: iz 12,8 na 364 Pas; pri 5% TiO₂ iz 20,35 na 49,9 Pas; pri 10% TiO₂ pa iz 4,79 na 199,5 Pas), kar kaže na to, da je struktura vzorcev postala bolj čvrsta. Tudi na videz so vzorci, izpostavljeni sobni temperaturi, izgledali bolj čvrsti, viskozni in podobni pasti, na vrhu vzorcev se je naredila debela skorjica. Po štirih tednih shranjevanja se je viskoznost v primerjavi z 2. tednom sicer nekoliko zmanjšala pri placebo (iz 364 na 310,5 Pas) in pri 10% TiO₂ (iz 199,5 na 147 Pas), medtem ko je pri 5% TiO₂ prišlo do povečanja (iz 49,9 na 132,5 Pas), vendar je bila v primerjavi z 0. dnem in 1. tednom še vedno značilno višja. Pri staranju vzorcev na 30 °C in 40 °C tekom štirih tednov ni prišlo do tako velikih razlik glede na začetno viskoznost, vrednosti so se gibale v enakih velikostnih razredih.

Pri vzorcih, izpostavljenih 30 °C smo skozi celoten čas shranjevanja opazili tanko plast lipofilne faze na vrhu, najbolj izrazito po štirih tednih staranja (pri vseh vzorcih), vendar do popolne razplastitve sistema ni prišlo. Viskoznosti placebo in losjona z vgrajenim 10% deležem TiO₂ sta bili skozi celoten čas staranja zelo podobni: 6,88 napram 6,78 Pas (1. teden); 7,66 napram 8,00 Pas (2. teden); 6,92 napram 7,75 Pas (4. teden), medtem ko je bila viskoznost losjona s 5% TiO₂ v vsaki časovni točki nižja od obeh, vendar konstantna (0. dan: 4,94 Pas; 1. teden: 5,49 Pas; 2. teden: 5,75 Pas; 4. teden: 4,65 Pas) (slika 12B).

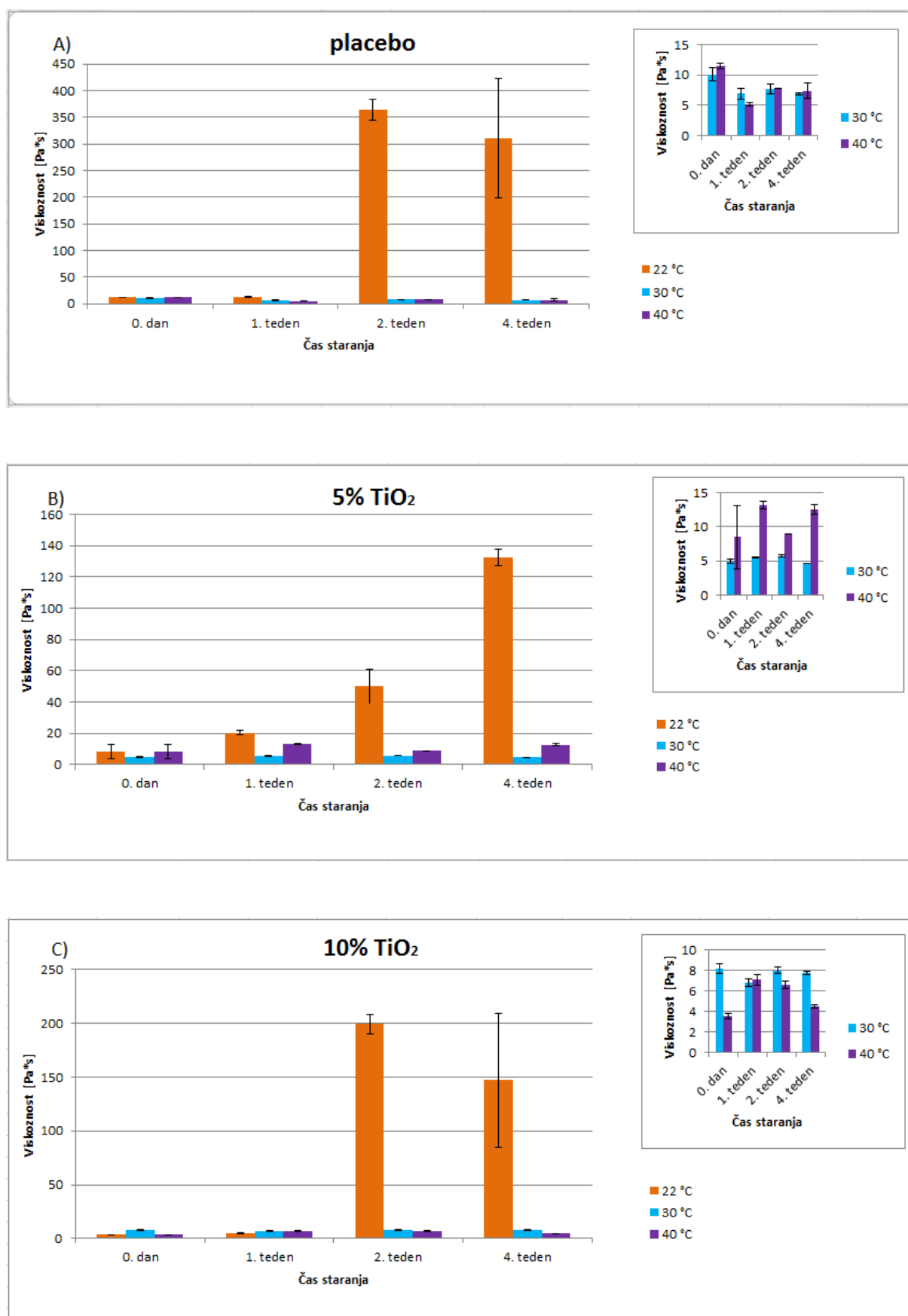
Pri staranju na 40 °C smo opazili popolnoma drugačen trend, saj so najvišjo viskoznost izkazovali vzorci s 5% TiO₂ (z izjemo 0. dne, ko pa vzorci seveda še niso bili temperaturno

obremenjeni) (slika 12C). Viskoznost placeba je bila skoraj v vseh časovnih točkah višja od vzorcev z 10% TiO₂ (razen 1. teden). Toplotna obremenitev je bila tukaj že tako izrazita, da je tekom enomesečnega staranja pri vseh vzorcih prišlo do razplastitve. Pred posameznimi meritvami smo zato vzorce, ki so bili izpostavljeni 40 °C premešali, vedno smo sledili istemu protokolu (z desetimi zamahi in pustili mirovati en dan na sobni temperaturi); tako smo se izognili temu, da bi merili zgolj viskoznost zgornje lipofilne faze, vendar pa se zavedamo, da smo tako vplivali na rezultate. Tudi v vsakdanjem življenju je včasih na embalaži navedeno, da je potrebno izdelke za zaščito pred soncem pred uporabo pretresti, kar sovpada z našo odločitvijo o ravnanju z vzorci izpostavljenimi 40 °C.

Iz rezultatov meritev viskoznosti lahko povzamemo, da, glede na delež titanovega dioksida, placebo vzorci starani na sobni temperaturi in 30 °C, načeloma izkazujejo najvišjo viskoznost (z izjemo 1. tedna na 22 °C in 2. ter 4. tedna na 30 °C), pri staranju na 40 °C pa vzorci s 5% titanovega dioksida. Najnižjo viskoznost so izkazovali vzorci z vgrajenim titanovim dioksidom; slednje velja zlasti za vzorce z vgrajenim 10% TiO₂ večinoma na 40 °C, ter v primeru 5% TiO₂ pri 30 °C. Pričakovali bi, da večji kot je delež vgrajenega UV filtra, višja bo viskoznost, rezultati pa so pokazali ravno nasprotno (25).

Na trgu je v kozmetičnih izdelkih za zaščito pred soncem titanov dioksid najpogosteje vgrajen v 5%. V kolikor primerjamo viskoznost izdelanega losjona z vgrajenim 5% TiO₂ po štirih tednih staranja pri vseh treh temperaturah (slika 12), vidimo da pri sobni temperaturi viskoznost znaša 132,5 Pas, pri 30 °C 4,64 Pas, pri 40 °C pa 12,6 Pas. Na povišani temperaturi se viskoznost močno zmanjša, kar tudi olajša nanos takšnega izdelka na kožo, vendar se pojavijo druge težave. Ker je pri vzorcih, staranih na 40 °C, prišlo do ločitve faz in sedimentacije titanovega dioksida, predvidevamo, da bi bil lahko tovrsten izdelek pri povišani temperaturi neučinkovit, saj ne bi več zagotavljal ustrezne zaščite pred UV sevanjem. Formulacijo bi bilo zato potrebno prilagoditi, da bi losjon ohranil svojo strukturo in namen uporabe tudi pri različnih temperaturnih obremenitvah.

Za lažje ovrednotenje vpliva temperature na viskoznost izdelanih vzorcev so rezultati meritev viskoznosti prikazani še v odvisnosti od **temperature** (22, 30 in 40 °C) pri različnih deležih vgrajenega TiO₂ in v prej omenjenih časovnih točkah (slika 13). V desnem zgornjem kotu vsakega grafa je zaradi boljše preglednosti (manjše vrednosti viskoznosti) prikazana zgolj viskoznost vzorcev izpostavljenih 30 in 40 °C.



Slika 13: Vpliv temperature (22, 30 in 40 °C) na viskoznost vzorcev pri različnih deležih TiO₂: A) placebo, B) 5% TiO₂, C) 10% TiO₂ v različnih časovnih točkah. Desni zgornji kot

grafov: Vpliv temperature (samo 30 in 40 °C) na viskoznost vzorcev pri različnih deležih TiO₂: A) placebo, B) 5% TiO₂, C) 10% TiO₂ v različnih časovnih točkah.

Pri vseh deležih titanovega dioksida (vključno s placebo) so najvišjo viskoznost izkazovali vzorci na sobni temperaturi, še posebej po dveh in štirih tednih staranja. Največje razlike v viskoznosti so bile opazne pri placebo, kjer je viskoznost v 2. tednu narasla iz 12,8 Pas (1. teden) na 364 Pas, v 4. tednu pa je znašala 310,5 Pas (slika 13A). Pri 5% TiO₂ se je viskoznost skozi štiri tedne stopnjevala: 8,51 Pas; 20,35 Pas; 49,9 Pas; 132,5 Pas (slika 13B). Pri 10% TiO₂ je bil spet najbolj opazen 2. teden, kjer se je viskoznost povišala iz 4,79 Pas (1. teden) na 199,5 Pas, v 4. tednu pa zmanjšala na 147 Pas (slika 13C).

Viskoznost vseh vzorcev, staranih na 30 in 40 °C, je bila v primerjavi z vzorci na sobni temperaturi v drugem velikostnem razredu (in sicer značilno nižja), vendar so bile tudi med njimi opazne razlike. Iz tega razloga so na posamezen graf na sliki 13 vstavljeni manjši grafi (desno zgoraj), ki prikazujejo zgolj viskoznosti vzorcev, staranih na 30 in 40 °C. Pri placebo je bila viskoznost vzorcev, staranih na 40 °C zelo primerljiva s 30 °C (slika 13A), pri vzorcih z vgrajenim 5% TiO₂ pa je bila viskoznost vzorcev, staranih na 40 °C višja od tistih na 30 °C (slika 13B). Na splošno je bila viskoznost vseh vzorcev izpostavljenih 30 °C skozi celoten čas staranja zelo podobna, kot smo opisali že pri razlagi slike 12. Iz tega lahko potrdimo, da smo imeli pri shranjevanju na 30 °C stabilnejše sisteme kot pri shranjevanju na 40 °C, saj ni prišlo do sedimentacije TiO₂, ločitev faz je bila minimalna, viskoznost pa se je tekom celotnega staranja ohranjala. Glede na ugotovitve bi bilo tako najbolj primerno tovrsten losjon shranjevati na temperaturi do 30 °C, kar je sicer težko izvedljivo v poletnih mesecih, ko se temperature dvignejo krepko nad 30 °C. Pri vzorcih z vgrajenim 10% TiO₂ je prišlo do obratnega pojava kot pri 5% TiO₂, saj je bila viskoznost vzorcev na 40 °C nižja od tistih na 30 °C (z izjemo 1. tedna) (slika 13C). Načeloma se viskoznost vzorcev s povišano temperaturo zmanjšuje (24), kar smo lahko potrdili le za vzorce z vgrajenim 10% TiO₂. Pri vzorcih z vgrajenim 5% TiO₂ je tako glede obnašanja na povišani temperaturi prišlo do odstopanja, ena izmed možnih razlag bi bila fizikalna nestabilnost vzorcev staranih na 40 °C, saj je kljub mešanju verjetno prišlo do trajnega porušenja notranje strukture vzorcev in posledično do nasprotujočih rezultatov.

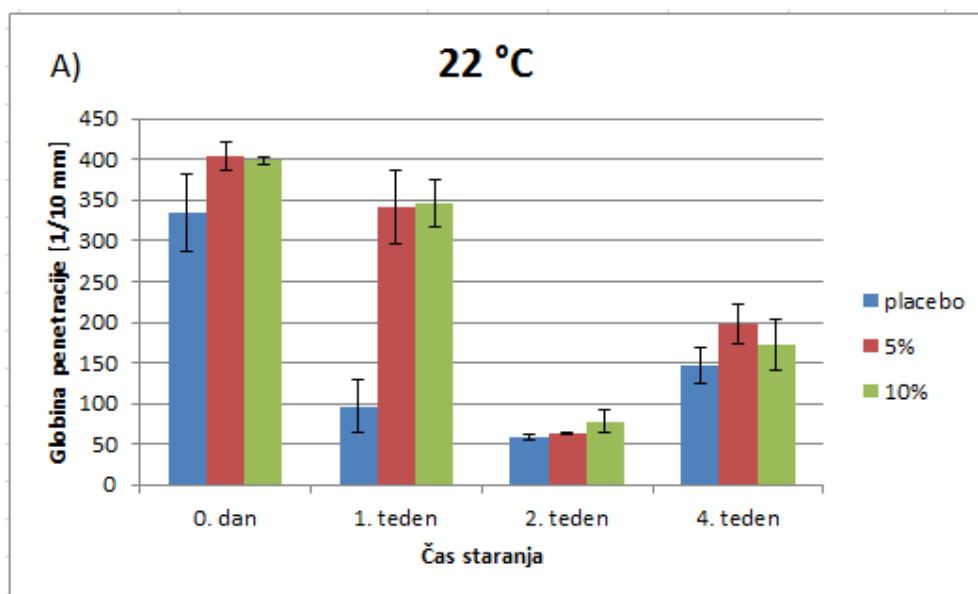
Povzamemo lahko, da se je struktura vseh vzorcev najbolj učvrstila pri sobni temperaturi, kar se je odražalo v značilnem porastu viskoznosti napram vzorcem staranim na povišani temperaturi. Velik vpliv na rezultate je imela fizikalna nestabilnost vzorcev, zaradi česar je bilo marsikateri trend težko pojasniti (nižja viskoznost vzorcev z vgrajenim TiO₂ v primerjavi

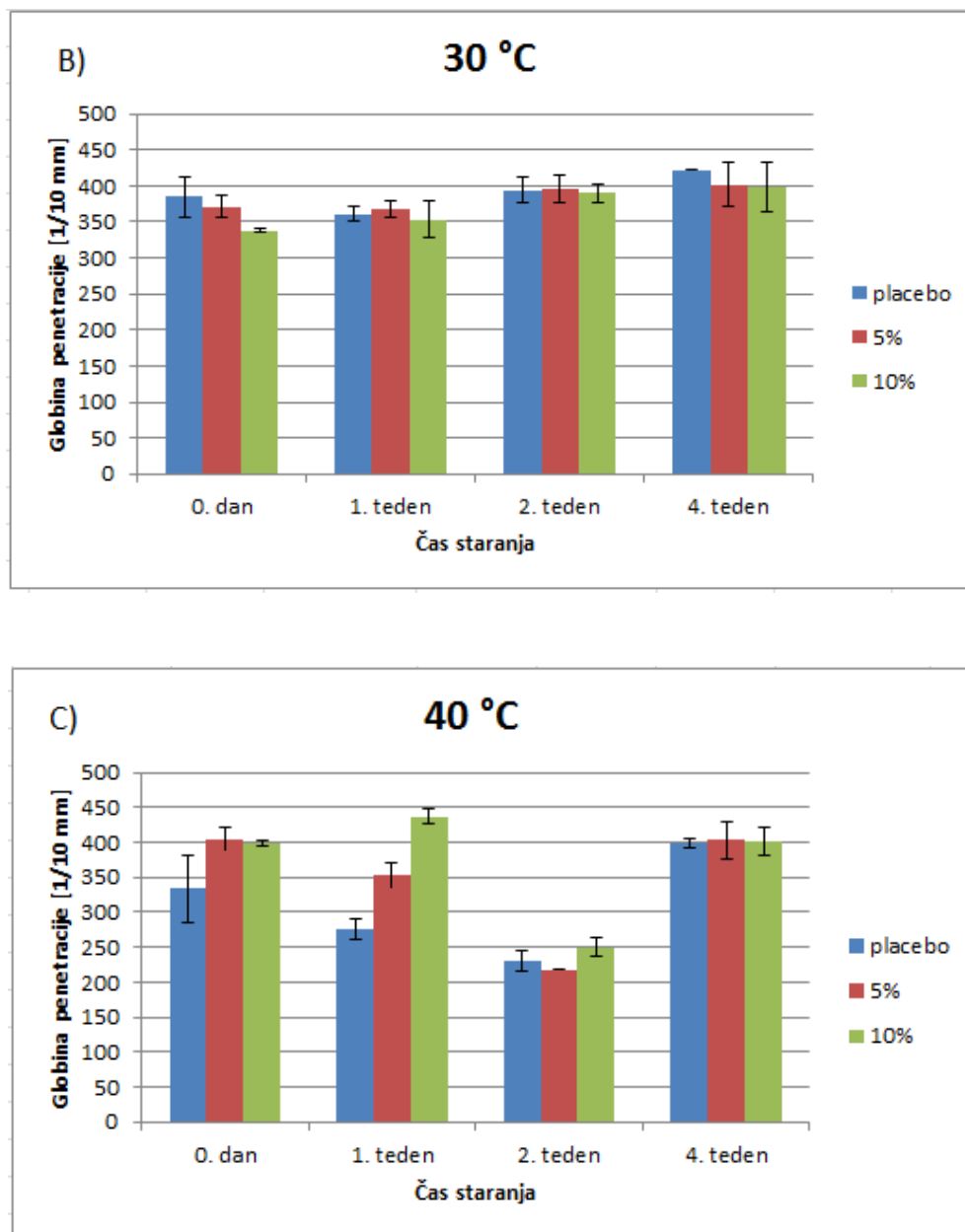
s placebo, višja viskoznost vzorcev, staranih na 40 °C v primerjavi s 30 °C). Stabilni vzorci bi pod vplivom enakih toplotnih obremenitev najverjetneje izkazovali drugačne reološke lastnosti, ki bi jih lažje opredelili.

4.3 Reološke lastnosti: penetrometrija

Meritve penetrometrije smo izvedli s penetrometrom, kot merilno telo smo uporabili stožec definiranih dimenzij. Z omenjeno metodo smo ugotavljali konsistenco izdelanih vzorcev z različno vsebnostjo titanovega dioksida (placebo, 5% in 10%), ki smo jih tekom enomesečnega staranja na sobni in povišani temperaturi (30 in 40 °C) ovrednotili v različnih časovnih točkah (0. dan, 1., 2. in 4. teden). Penetrometrija je sicer relativno enostavna metoda, zato nas je zanimalo predvsem, ali lahko dobimo komplementarne in zanesljive podatke o reoloških lastnostih izdelka v primerjavi s kompleksnejšo metodo določanja viskoznosti z reometrom (sistem stožec-plošča).

Na sliki 14 je prikazana globina penetracije stožca v odvisnosti od **deleža vgrajenega titanovega dioksida** (0% (placebo), 5%, 10%) v različnih časovnih točkah in pri različnih temperaturah (22, 30 in 40 °C). Rezultati so podani v enotah penetrometra, tj. desetinkah milimetra.



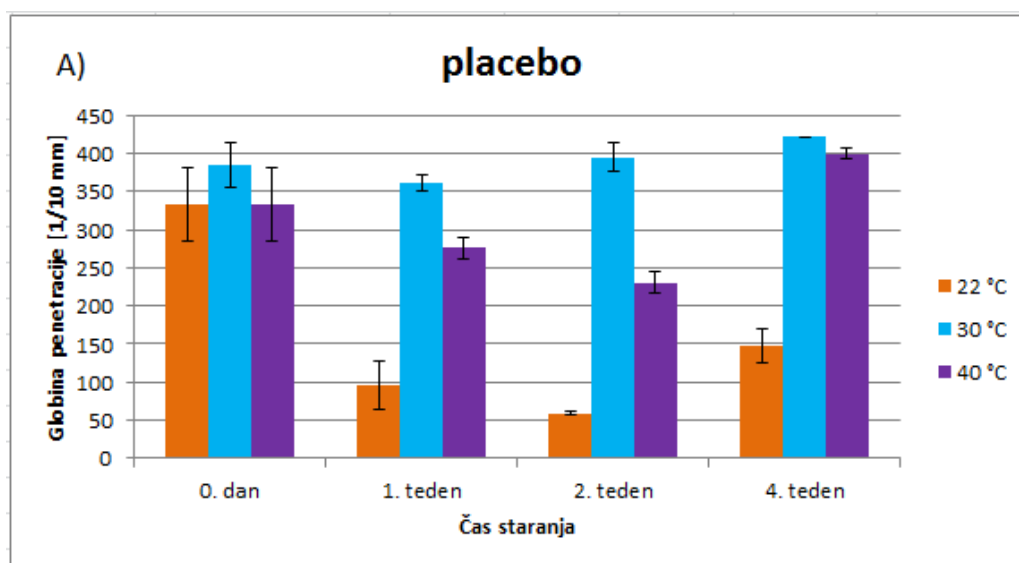


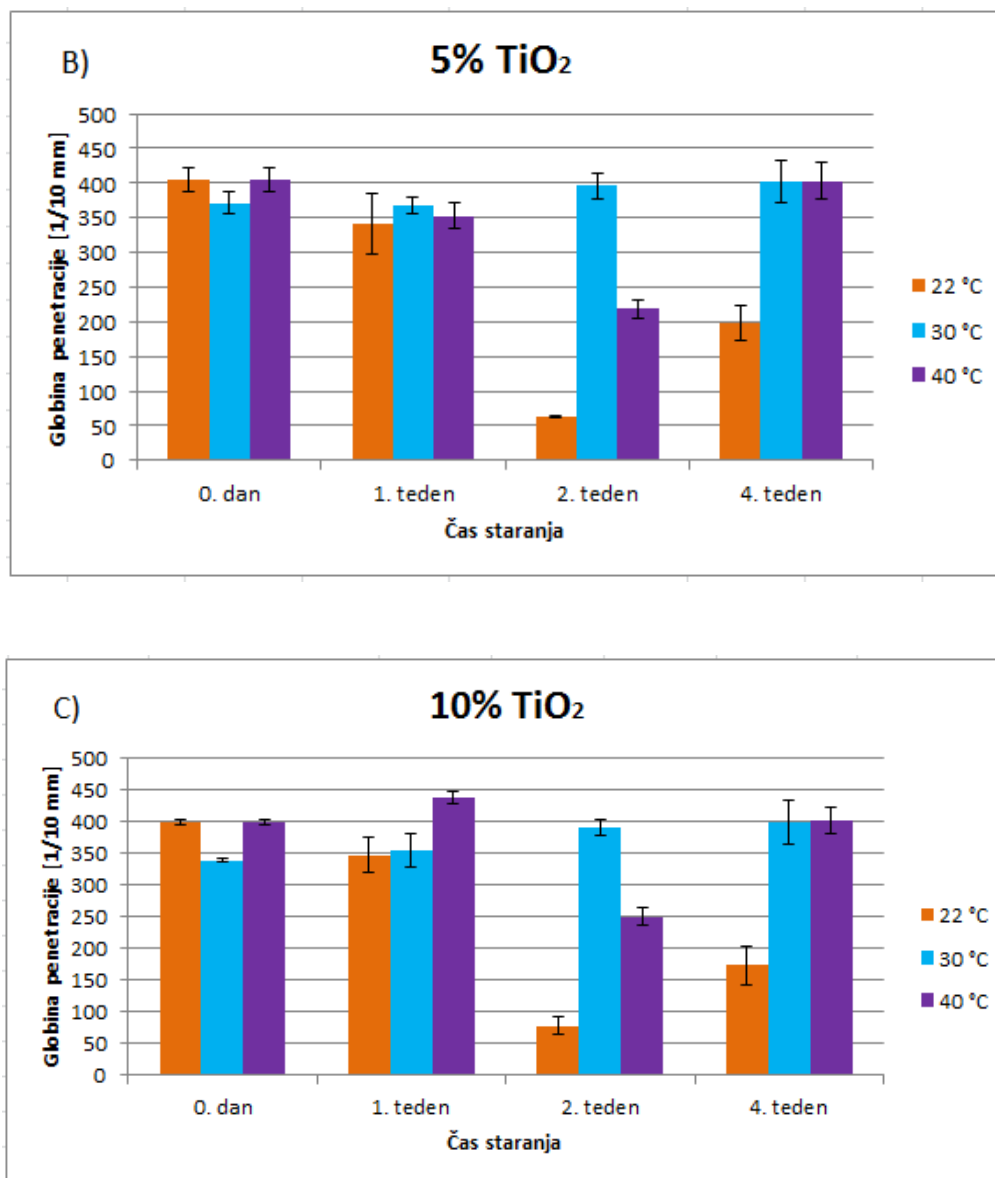
Slika 14: Vpliv deleža TiO₂ (placebo, 5%, 10%) na globino penetracije stožca za vzorce izpostavljene A) 22 °C, B) 30 °C in C) 40 °C v različnih časovnih točkah.

Globina penetracija stožca v vzorec in viskoznost vzorca sta obratno sorazmerna; večja kot je globina penetracije stožca, manj čvrsta je struktura vzorca ter nižja viskoznost in obratno. Glede na delež vgrajenega titanovega dioksida (vključno s placebo) je bila največja globina penetracije pri staranju na sobni temperaturi pri obeh vzorcih z vgrajenim TiO₂. Pri vzorcih staranih na 30 °C je bila največja globina penetracije pri placebo in vzorcih s 5% TiO₂, pri 40 °C pa pri vzorcih z 10% deležem TiO₂. Globina penetracije stožca je bila v vseh primerih (z izjemo vzorcev staranih na 30 °C) najmanjša v primeru placeba.

Vsi vzorci starani na 30 °C so imeli skozi celoten čas staranja primerljivo globino penetracije (med 360 in 390 $\frac{mm}{10}$), medtem ko se je pri vzorcih, izpostavljenih sobni temperaturi, po dveh tednih le-ta občutno zmanjšala (pri 5% TiO₂ iz 341,5 na 63 $\frac{mm}{10}$; pri 10% TiO₂ iz 346 na 78 $\frac{mm}{10}$; pri placebo pa iz 96,5 na 59 $\frac{mm}{10}$), kar nakazuje, da se je struktura vzorcev učvrstila (slika 14A in 14B). Najverjetneje je bila globina penetracije stožca manjša zaradi skorjice, ki se je naredila na površini vzorcev, tudi celotna struktura je bila bolj kompaktna. Podobno se je po dveh tednih zgodilo pri vzorcih, staranih na 40 °C, vendar v manjši meri in brez vidne skorjice na površini (pri 5% TiO₂ iz 352,5 na 218,5 $\frac{mm}{10}$; pri 10% TiO₂ iz 436,5 na 249,5 $\frac{mm}{10}$; pri placebo pa iz 276 na 230,5 $\frac{mm}{10}$) (slika 14C). Po štirih tednih staranja na 22 °C in 40 °C je struktura postala nekoliko bolj rahla, saj se je globina penetracije stožca v primerjavi z 2. tednom povečala, na vrhu vzorcev ni bilo več prisotne skorjice ali pa je bila ta zelo tanka. Če primerjamo globino penetracije stožca v 4. tednu pri vseh pogojih staranja, vidimo da je pri 30 in 40 °C pri vseh treh vzorcih praktično enaka (30 °C: med 398 in 422 $\frac{mm}{10}$, 40 °C: med 399 in 403 $\frac{mm}{10}$), pri 22 °C pa je občutno manjša (placebo 147,5 $\frac{mm}{10}$, 5% TiO₂ 197,5 $\frac{mm}{10}$, 10% TiO₂ 173 $\frac{mm}{10}$).

Slika 15 prikazuje globino penetracije stožca v odvisnosti od **temperature** (22, 30 in 40 °C) pri različnih deležih vgrajenega TiO₂ tekom enomesečnega staranja.





Slika 15: Vpliv temperature (22, 30 in 40 °C) na globino penetracije stožca pri različnih deležih TiO₂: A) placebo, B) 5% TiO₂ in C) 10% TiO₂ v različnih časovnih točkah.

Načeloma smo največjo globino penetracije opazili pri vzorcih staranih na 30 °C (razen pri vzorcih z vgrajenim 10% TiO₂), kar nakazuje, da imajo vzorci izpostavljeni 30 °C manj čvrsto strukturo. Najmanjšo globino penetracije smo v večini opazili pri vzorcih staranih na sobni temperaturi (razen pri 5% TiO₂ na 0. dan in 10% TiO₂ na 0. dan, kjer je bilo to pri vzorcih na 30 °C). Po dveh tednih staranja na sobni temperaturi se je globina penetracije (v primerjavi s 1. tednom) izrazito zmanjšala, kot je bilo opisano ob sliki 14 in potrjuje učvrstitev strukture vzorcev.

Vsi vzorci starani na 30 °C so imeli zelo podobno globino penetracije stožca, pri vzorcih staranih na 40 °C pa je enako kot na sobni temperaturi po dveh tednih prišlo do zmanjšanja globine penetracije.

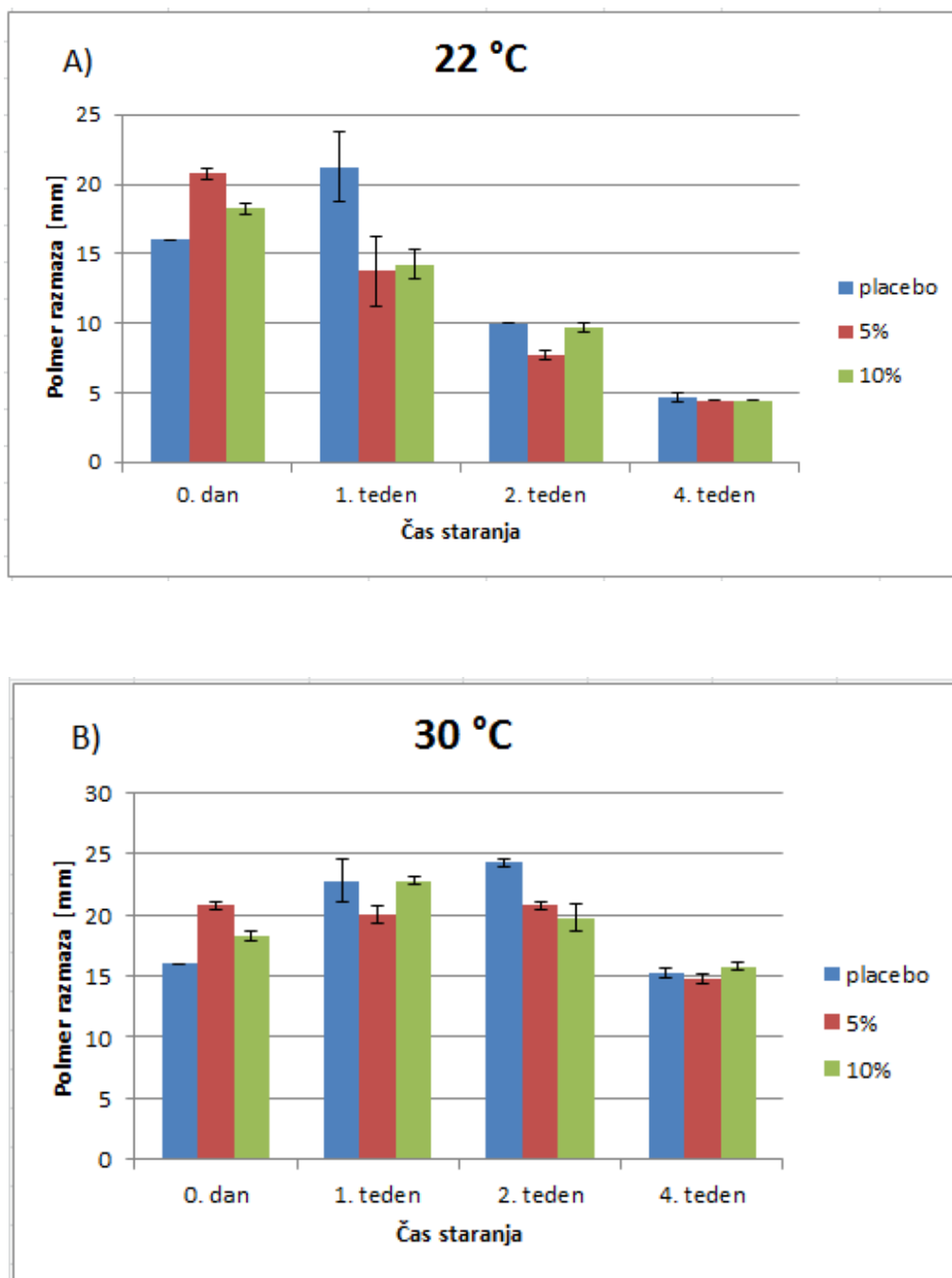
Če primerjamo rezultate meritev med placebom in vzorci z vgrajenim 5% in 10% TiO₂ po dveh tednih staranja (slika 15), je razvidno, da je oblika stolpčnega diagrama v 2. tednu pri vseh treh enaka (vrednosti globine penetracije pri različnih temperaturah se pri placebo in vzorcih z vgrajenim TiO₂ gibljejo v enakih velikostnih razredih), ravno tako je enaka pri meritvah v 4. tednu. Rezultati nakazujejo, da je penetrometrija manj občutljiva in natančna metoda v primerjavi z meritvami viskoznosti z reometrom, kjer so bile razlike med placebom in vzorci z vgrajenim TiO₂ bolj izrazite.

4.4 Reološke lastnosti: test razmaznosti

Razmaznost vzorcev vpliva na iztis izdelka iz primarne embalaže ter na nanos na kožo, kar je posledično povezano z njegovimi senzoričnimi lastnostmi in privlačnostjo za uporabnika. Ker gre za dokaj enostavno in poceni metodo, nas je zanimalo, ali so pridobljeni rezultati komplementarni s tistimi, pridobljenimi z meritvami viskoznosti z reometrom in s penetrometrijo.

Test razmaznosti smo izvedli z metodo vzporednih plošč, tako da smo na merilno skalo v obliki tarče položili debelejšo stekleno ploščo, nanjo v krog na sredini nanесли vzorec, na katerega smo položili tanjšo stekleno ploščo ter merili polmer razmaza vzorca ob različnih časih. Test smo prav tako izvedli na vzorcih z različnim deležem TiO₂, ki so bili starani na sobni temperaturi in 30 °C med enomesečnim staranjem. Pred izvedbo meritev smo na testnem vzorcu optimizirali parametre: debelino uporabljenih plošč, količino testiranega vzorca, čas merjenja razmaza ter uporabo obremenitev (uteži). Na podlagi opazanj smo se za nadaljnje meritve odločili za uporabo debelejšše steklene plošče spodaj in tanjše zgoraj, saj je bila pri optimiziranju debelejša plošča zgoraj pretežka in se razmazi vzorcev med sabo niso bistveno razlikovali. Na sredino plošče smo nanесли po 0,3 g vzorca, kar je bila maksimalna količina, ki smo jo še lahko nanесли v srednji krog. Polmer razmaza smo izmerili po 10 s, 1 min in 3 min, kot rezultate pa smo podali meritve pri 3 min. Do takrat se je razmaz širil, po 3 min pa se je ustalil in širjenje je bilo od te točke naprej zanemarljivo. Uteži pri izvedbi meritev nismo uporabljali, saj smo ugotovili, da nimajo bistvenega vpliva.

Na sliki 16 je prikazan polmer razmaza vzorcev v odvisnosti od **deleža vgrajenega titanovega dioksida** (0% (placebo), 5%, 10%) pri različnih temperaturah (22 in 30 °C) in časovnih točkah.



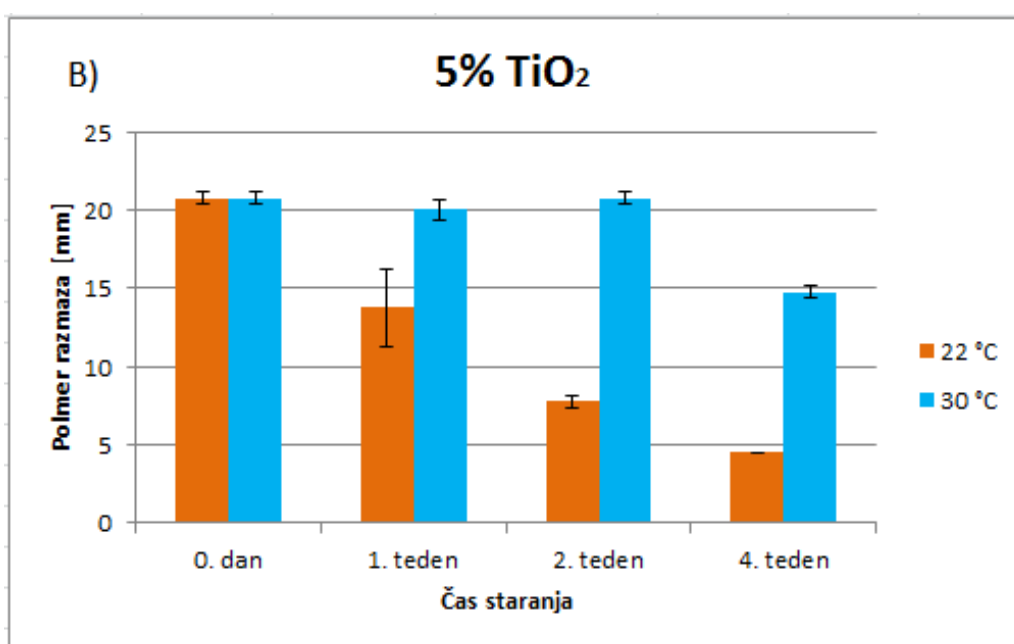
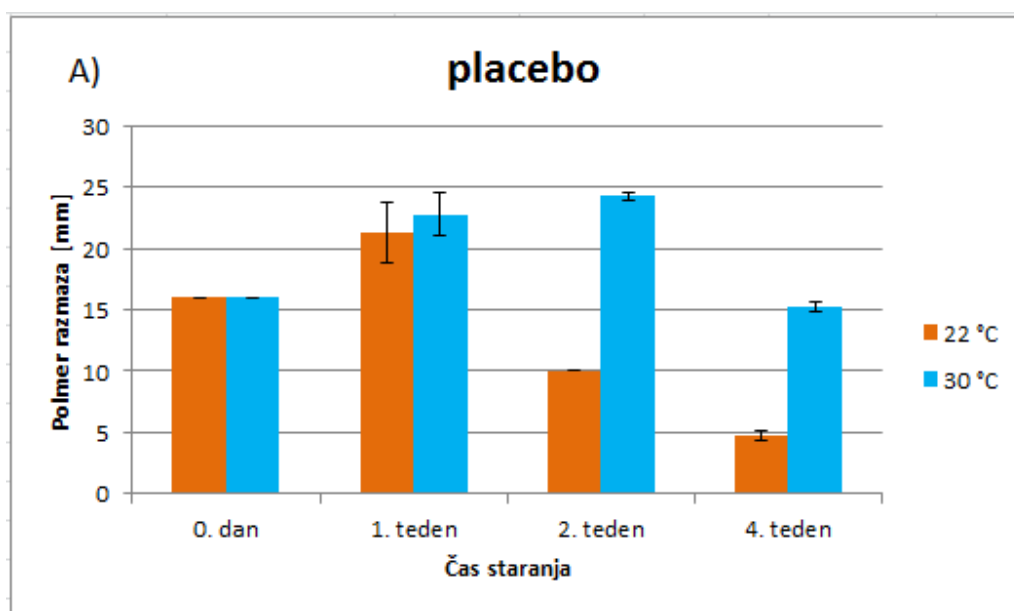
Slika 16: Vpliv deleža titanovega dioksida na polmer razmaza losjona izpostavljenega A) 22°C in B) 30 °C v različnih časovnih točkah.

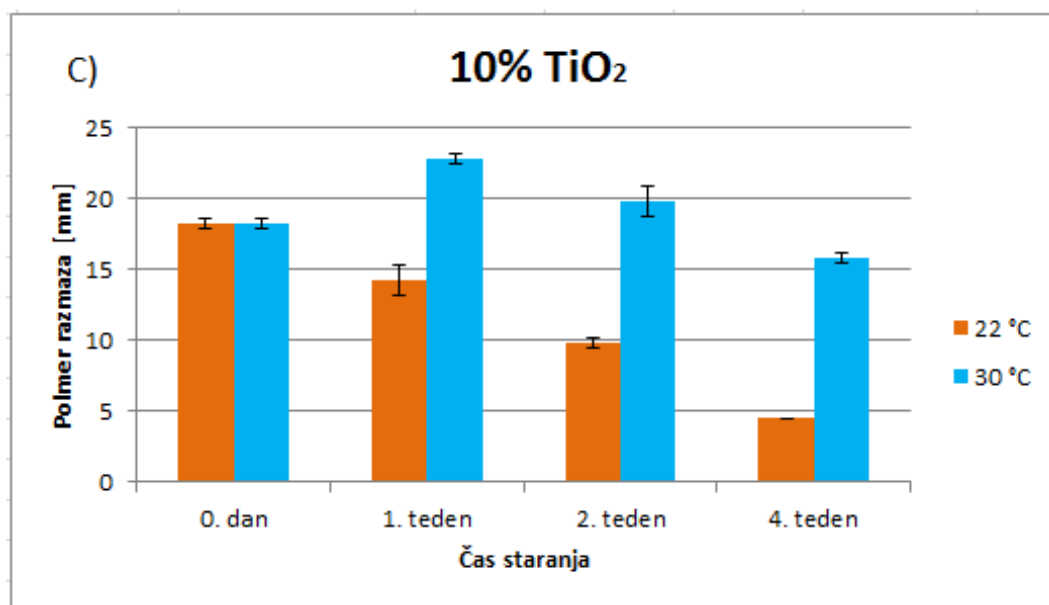
Med velikostjo razmaza in viskoznostjo vzorca velja, enako kot pri penetrometriji, obratno sorazmerje. Višja kot je viskoznost vzorca, manj se bo le-ta razlezel in bo posledično velikost razmaza manjša in obratno.

Pri vzorcih, staranih na sobni temperaturi, je bila največja velikost razmaza pri placebo (razen 0. dan), najmanjša pa pri vzorcih z vgrajenim 5% TiO_2 (ponovno z izjemo 0. dne). V drugem tednu na sobni temperaturi se je pri vseh vzorcih, velikost razmaza občutno zmanjšala (placebo: iz 21,25 na 10 mm; 5% TiO_2 : iz 13,75 na 7,75 mm; 10% TiO_2 iz 14,25 na 9,75 mm), zmanjšanje razmaza je sledilo tudi pri meritvah na 4. teden, kar nakazuje na učvrstitev strukture vzorcev po štirih tednih staranja. Na vrhu vzorcev se je pojavila skorjica, prisotnih je bilo veliko skupkov in agregatov (tudi pri placebo, kjer ni bilo vgrajenega TiO_2 , vendar v manjši meri), zaradi česar so se vzorci manj razlezli. Razmaz se je po štirih tednih staranja na sobni temperaturi pri vseh vzorcih poenotil (placebo: 4,75 mm; 5% TiO_2 : 4,5 mm; 10% TiO_2 : 4,5 mm).

Pri vzorcih, staranih na 30 °C ni bilo opaznega značilnega trenda, največji oz. najmanjši polmer razmaza je za vse testirane vzorce variiral v različnih časovnih točkah. Enako kot pri staranju na sobni temperaturi se je tudi tukaj velikost razmaza po štirih tednih staranja v primerjavi z 2. tednom zmanjšala in poenotila (placebo: iz 24,25 na 15,25 mm; 5% TiO_2 : iz 20,75 na 14,75 mm; 10% TiO_2 : iz 19,75 na 15,75 mm), vendar je bila v primerjavi s sobno temperaturo večja. Na splošno je bila velikost razmaza pri vzorcih staranih na 30 °C večja od vzorcev na sobni temperaturi, kar zopet potrjuje dejstvo, da se je na sobni temperaturi struktura vzorcev močno učvrstila.

Polmer razmaza vzorcev je prikazan še v odvisnosti od **temperature** (22 in 30 °C) pri različnih deležih vgrajenega TiO_2 med enomesečnim staranjem (slika 17).





Slika 17: Vpliv temperature (22 in 30 °C) na polmer razmaza vzorcev pri različnih deležih TiO₂: A) placebo, B) 5% TiO₂, C) 10% TiO₂ in v različnih časovnih točkah.

Tekom enomesečnega staranja se je velikost razmaza pri staranju na sobni temperaturi pri vseh testiranih vzorcih postopoma zmanjševala in poenotila, najmanjša je bila v 4. tednu. Pri vzorcih izpostavljenih 30 °C trend padanja velikosti razmaza ni bil opazen, pri placebo in vzorcih z vgrajenim 10% TiO₂ je v 1. tednu polmer razmaza glede na začetno vrednost celo narasel. Velikost razmaza je bila prav tako najmanjša v 4. tednu, vendar veliko večja v primerjavi s 4. tednom na sobni temperaturi, kar zopet potrjuje manj koherentno strukturo vzorcev staranih na 30 °C. Pri vseh vzorcih je bila razlika v velikosti razmaza med vzorci staranimi na sobni temperaturi in 30 °C zelo dobro vidna (z izjemo 0. dne, kjer je bil razmaz pri obeh enak, saj takrat vzorci še niso bili temperaturno obremenjeni). V vseh primerih je bila na sobni temperaturi velikost razmaza manjša kot na 30 °C, kar se sklada z ugotovitvami ob sliki 16 in potrjuje učvrstitev strukture vzorcev staranih na sobni temperaturi.

4.5 Povezava reoloških lastnosti, pridobljenih z različnimi metodami

S primerjavo rezultatov, pridobljenih z različnimi metodami (meritve viskoznosti, penetrometrije in testom razmaznosti), s katerimi lahko ovrednotimo reološke lastnosti izdelka, smo želeli ugotoviti, ali lahko z enostavnimi in poceni metodami, kot sta penetrometrija in test razmaznosti, dobimo komplementarne in zanesljive podatke o reoloških

lastnostih izdelka. Posledično nas je zanimalo, ali bi lahko samo s penetrometrijo in testom razmaznosti napovedali reološko obnašanje izdelka, s čimer bi lahko znižali stroške v začetni fazi formulacije kozmetičnega izdelka.

Rezultate treh omenjenih metod smo med sabo primerjali najprej za vzorce, starane na sobni temperaturi, nato pa sledi še primerjava za vzorce, starane na 30 in 40 °C.

Kot že omenjeno, smo največ ujemanja med vsemi tremi metodami opazili pri **vzorcih staranih na sobni temperaturi**. Viskoznost *placeba* je tekom prvih dveh tednov staranja postopoma naraščala (velik porast v 2. tednu), nato pa se je v 4. tednu nekoliko zmanjšala (slika 12A). V primeru penetrometrije je globina penetracije stožca tekom staranja padala (padec v 2. tednu je bil nekoliko manj izrazit), v 4. tednu pa se je povečala, kar se glede na obratno sorazmerje sklada z rezultati meritev viskoznosti (slika 14A). Polmer razmaza se je tekom staranja (z izjemo 1. tedna) postopoma zmanjševal, kar več ne sovпада z rezultati prejšnjih dveh meritev (slika 16A).

Pri *vzorcih z vgrajenim 5% TiO₂* viskoznost skozi celoten čas staranja postopoma narašča, globina penetracije pa od 0. dne do 2. tedna ustrezno pada, nato pa v 4. tednu naraste (slika 12A in 14A). Polmer razmaza se v tem primeru popolnoma sklada z meritvami viskoznosti, saj skozi celoten čas staranja pada (slika 16A).

Pri *vzorcih z vgrajenim 10% TiO₂*, enako kot pri placebo, viskoznost tekom prvih dveh tednov postopoma narašča, v 4. tednu pa nekoliko upade (slika 12A). Tukaj se rezultati penetrometrije ujemajo, saj globina penetracije stožca postopoma pada, v 4. tednu pa naraste (slika 14A). Velikost razmaza pa od 0. dne do 2. tedna ravno tako pada, odstopa meritev v 4. tednu, kjer se razmaz zmanjša, namesto da bi se povečal (slika 16A).

Med rezultati treh metod za **vzorce starane na 30 °C** nismo opazili tako značilnih povezav kot pri vzorcih staranih na sobni temperaturi. Znotraj rezultatov, pridobljenih s posamezno metodo je bil opazen značilen trend, in sicer so bile tako viskoznost, globina penetracije kot polmer razmaza dokaj podobni med različnimi vzorci tekom celotnega staranja. Nekoliko se je razlikovala viskoznost vzorca z vgrajenim 5% TiO₂, saj je bila povsod nižja kot viskoznost placebo in vzorca z 10% TiO₂, omenjenih razlik pri penetrometriji in testu razmaznosti nismo opazili (slika 12B). Vzorci so bili tukaj izpostavljeni povišani temperaturi, ki je vplivala na njihovo strukturo, prišlo je do rahle ločitve faz, na vrhu vzorcev smo tako tekom staranja opazili (sicer manjšo) količino lipofilne faze, kar tudi nakazuje na spremembe v strukturi

vzorcev in je posledično lahko razlog za neskladnost med rezultati pridobljenimi z omenjenimi metodami.

Med rezultati, pridobljenimi z uporabljenima metodama v primeru **vzorcev staranih na 40 °C**, nismo opazili značilnih podobnosti, rezultati so tudi v nasprotju z obnašanjem vzorcev, ki so bili starani na sobni temperaturi in 30 °C. Vzrok pripisujemo temu, da so bili vzorci izpostavljeni previsoki temperaturi, saj je prišlo do popolnega porušenja strukture vzorcev, razplastitve faz in sedimentacije titanovega dioksida. Vzorce, starane na 40 °C, smo sicer pred vsako meritvijo ustrezno premešali in pustili mirovati, vendar rezultati vseeno nakazujejo na njihovo fizikalno nestabilnost v primeru shranjevanja na temperaturi, višji od 40 °C.

V vsakdanjem življenju kreme in losjone za zaščito pred soncem v največjem obsegu uporabljamo poleti: na plaži, bazenu, jih nosimo s sabo v poletnih temperaturah, pogosto pustimo v avtu, katerega notranjost se lahko izrazito segreje. Poleti temperatura zraka že na območju našega tipa podnebja velikokrat doseže 35 °C, če pa losjon pustimo nekaj časa na soncu, se ta lahko zlahka segreje na 40 °C ali več. Načeloma velja, da se s povečevanjem temperature viskoznost sistema zmanjšuje (24), v našem primeru pa ta trend drži samo za vzorce z vgrajenim 10% TiO₂. Predvidevamo, da bi se proučevani losjon v primeru uporabe na povišani temperaturi razplastil, titanov dioksid bi sedimentiral na dno, ko bi ga uporabnik iztisnil iz embalaže in nanesel na kožo pa seveda ne bi več zagotavljal ustrezne zaščite pred UV sevanjem. Poleg tega bi bil neugoden za nanos na kožo tudi z vidika senzorične sprejemljivosti, saj bi se njegove senzorične lastnosti, tj. barva, vonj, konsistenca, mazljivost, spremenile in bi bil za uporabnika neprivlačen.

Vpliv ekstremnih temperatur (npr. če jih pustimo v avtu, kjer lahko temperatura variira od -3 do 89 °C) na stabilnost izdelkov za zaščito pred soncem so že raziskovali. Devet različnih krem oz. losjonov za zaščito pred soncem so shranili v steklene vial, jih za 8 ur izpostavili različnim toplotnim obremenitvam: -20, 4, 21, 30 in 60 °C (kontrola je bila shranjena na sobni temperaturi, tj. 21 °C) ter opazovali spremembe. Pri enem vzorcu je prišlo do minimalne ločitve faz pri -21 in 4 °C, do popolne ločitve faz pa pri 30 in 60 °C. Pri drugem vzorcu je prišlo do popolne ločitve faz pri 60 °C, oba se po 30 sekundah stresanja nista homogenizirala. Pri treh vzorcih so opazili rahlo razbarvanje, pri vseh ostalih pa je izgled ostal nespremenjen. Povzeli so, da ekstremne temperature v večini primerov vodijo v ireverzibilne spremembe fizikalne stabilnosti izdelkov za zaščito pred soncem, kar se odraža v zmanjšanju njihove

učinkovitosti za zaščito kože. Na podlagi ugotovitev so zaključili, da je ustrezno shranjevanje tovrstnih izdelkov ključnega pomena za zagotavljanje ustrezne stabilnosti in senzoričnih lastnosti izdelkov (26).

Če povzamemo, rezultati, pridobljeni s tremi različnimi metodami, so bili med sabo primerljivi zgolj pri vzorcih, staranih na sobni temperaturi. Pri vzorcih, ki so bili starani na povišani temperaturi (30 °C in 40 °C) povezave nismo našli. Vzrok je verjetno fizikalna nestabilnost vzorcev, saj je (še posebej pri vzorcih, staranih na 40 °C) prišlo do ločitve faz in sedimentacije titanovega dioksida, notranja struktura vzorcev se je zelo spremenila. Rezultati nakazujejo, da bi bila potrebna evalvacija in najverjetneje sprememba sestave formulacije proučevanega losjona z vidika optimizacije fizikalne stabilnosti tekom toplotnih obremenitev. Ena izmed možnosti je sprememba vrste in/ali količine površinsko aktivnih snovi, ki izboljšajo fizikalno stabilnost sistema (npr. sterična stabilizacija delcev) ali dodatek polimerov (27). Veliko bi doprinesla tudi homogenizacija formulacije, tako zmanjšanje kot poenotenje delcev titanovega dioksida.

Rezultati penetrometrije in testa razmaznosti so bili komplementarni z rezultati meritev viskoznosti samo pri vzorcih, staranih na sobni temperaturi, pri fizikalno nestabilnih oz. temperaturno obremenjenih vzorcih pa ne. Na osnovi pridobljenih rezultatov lahko zaključimo, da penetrometrija in test razmaznosti kot hitri, enostavni in robustni metodi v kozmetični industriji tako lahko služita zgolj kot podporni metodi za merjenje oz. preverjanje reoloških lastnosti sistemov, ki tudi niso bili izpostavljeni stresnim pogojem (npr. za hitro oceno vzorcev in potrditev ustreznosti serije). Še vedno pa je za pridobitev natančnih in zanesljivih podatkov, zlasti v fazi razvoja kozmetičnega izdelka in tekom stabilnostnih študij potrebno uporabiti bolj specifične in natančne metode, kot je reometrično določanje viskoznosti.

5 SKLEP

V okviru diplomske naloge smo s setom komplementarnih metod določali in primerjali reološke lastnosti losjona za zaščito pred soncem z različno vsebnostjo titanovega dioksida. Vzorce smo tekom enomesečnega staranja izpostavili sobni in povišani temperaturi (30 in 40 °C) ter jim v določenih časovnih točkah z rotacijskim viskozimetrom izmerili viskoznost, s penetrometrom proučevali konsistenco in s testom razmaznosti z metodo vzporednih plošč določili mazljivost. Predhodno smo se prepričali o fizikalni stabilnosti vzorcev in na podlagi opažanj prilagodili nadaljnje vrednotenje. Želeli smo ugotoviti, ali lahko z enostavnejšimi metodami, kot sta penetrometrija in test razmaznosti, pridobimo komplementarne in zanesljive podatke o reoloških lastnostih izdelka, v primerjavi z določanjem viskoznosti z rotacijskim viskozimetrom, kar bi pripomoglo k ekonomski in časovni optimizaciji dela v kozmetični industriji.

Rezultati, pridobljeni z omenjenimi metodami so bili primerljivi zgolj pri vzorcih na sobni temperaturi, pri povišani temperaturi pa so bili nasprotujoči oz. smo med njimi težko našli povezave. Vzrok za to je najverjetneje fizikalna nestabilnost vzorcev na povišani temperaturi, saj je prišlo do razplastitve faz in sedimentacije titanovega dioksida, zaradi česar smo morali reološko vrednotenje prilagoditi.

Praktično ovrednotenje rezultatov nakazuje, da bi se proučevani losjon med vsakdanjo uporabo (npr. v poletnih mesecih na plaži) razplastil, titanov dioksid bi sedimentiral na dno, ko bi ga uporabnik nanesel na kožo ne bi več zagotavljal ustrezne zaščite pred UV sevanjem in bi bil posledično neučinkovit ter neugoden z vidika senzoričnih lastnosti. Ena izmed rešitev za boljšo fizikalno stabilnost losjona bi bila sprememba sestave formulacije (sprememba vrste in/ali količine površinsko aktivnih snovi oz. dodatek polimerov) in homogenizacija delcev titanovega dioksida.

Zaključimo lahko, da tako penetrometrija in test razmaznosti kot hitri, enostavni in cenovno ugodni metodi v kozmetični industriji služita zgolj kot podporni metodi za določanje oz. preverjanje reoloških lastnosti sistemov, ki niso bili izpostavljeni stresnim pogojem. Za pridobitev natančnih in zanesljivih podatkov v fazi razvoja kozmetičnega izdelka ter tekom stabilnostnih študij pa je potrebno poseči po bolj specifičnih in preciznih metodah, kot je določanje viskoznosti z rotacijskim viskozimetrom.

6 VIRI IN LITERATURA

1. Barel A., Paye M., Maibach H.: Handbook of Cosmetic Science and Technology Third Edition, Informa Healthcare, New York 2009: 121-125, 311-313
2. Kočevar Glavač N., Zvonar A.: Kozmetologija II. Koža in sonce: Kozmetično aktivne sestavine: Izdelki za zaščito in aktivno nego kože. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2012: 33-47
3. Čufar A., Kristl J.: Varovalni pripravki za sončenje. I. del: UV sevanje, varovalni mehanizmi in UV filtri. Farmacevtski vestnik 1994; 45: 71-87
4. Jacobs J.F., Van de Poel I., Osseweijer P.: Sunscreens with Titanium Dioxide (TiO₂) Nano-Particles: A Societal Experiment. Nanoethics 2010; 4 (2): 103-113
5. Smijs T.G., Pavel S.: Titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles in sunscreens: focus on their safety and effectiveness. Nanotechnology Science and Application 2011; 4: 95-112
6. Elektronski vir:
http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_136.pdf
(Dostop: 13.3.2016)
7. Čufar A., Kristl J.: Varovalni pripravki za sončenje. II. del: Oblikovanje in mednarodni predpisi. Farmacevtski vestnik 1994; 45: 147-163
8. Roškar R.: Embalaža in stabilnost: Vaje iz stabilnosti zdravil. Univerzitetni študijski program Kozmetologija. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2013: 12, 13
9. Planinšek O., Srčič S.: Navodila za vaje pri predmetu fizikalna farmacija. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo, Ljubljana 2007: 43-53
10. Zupančič Valant A.: Uvod v reologijo. Univerza v Ljubljani, Fakulteta za kemijo in kemijsko tehnologijo, Ljubljana 2007: 35-43
11. Elektronski vir:
<http://www.dongjins.com/service/file/Introduction%20to%20rheology.pdf> (Dostop: 1.5.2016)
12. European Pharmacopoeia 5th Ed. Main Volume 5.0. Measurement of consistency by penetrometry. Council of Europe, Strasbourg 2004: 235-237
13. Elektronski vir:
<http://www.koehlerinstrument.com/literature/applications/Penetration-Paper.pdf> (Dostop: 3.5.2016)

14. Garg A., Aggarwal D., Garg S., Singla A.: Spreading of Semisolid Formulations. *Pharmaceutical Technology* 2002. 84-105
15. Baki G., Alexander K.: *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*. Wiley 2015: 180-181
16. Barry W.B., Grace A.J.: Sensory Testing of Spreadability: Investigation of Rheological Conditions Operative during Application of Topical Preparations. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 1972; 61 (3): 335-341
17. Liebert M.A.: Final Report on the Safety Assessment of Cholesterol. *Journal of the American College of Toxicology* 1986; 5 (5): 491-516
18. Elektronski vir:
<http://www.zdravo.si/mandljevo-olje.html> (Dostop: 11.5.2016)
19. Elektronski vir:
<http://www.herbana.si/voski-trdila-mascobe-in-derivati/218-lanolin-adepts-lane.html>
(Dostop:11.5.2016)
20. Elektronski vir:
https://en.wikipedia.org/wiki/Cocoa_butter (Dostop: 11.5.2016)
21. Gaspar L.R., Maia Campos P.M.B.G.: Rheological behavior and the SPF of sunscreens. *International Journal of Pharmaceutics* 2003; 250: 35-44
22. Nasu A., Otsubo Y.: Rheology and UV protecting properties of complex suspensions of titanium dioxides and zinc oxides. *Journal of Colloid and Interface Science* 2007; 310: 617-623
23. Nasu A., Otsubo Y.: Rheology and UV protecting properties of suspensions of fine titanium dioxides in a silicone oil. *Journal of Colloid and Interface Science* 2006; 296: 558-564
24. Yang H-G., Li C-Z., Gu H-C., Fang T-N.: Rheological behavior of titanium dioxide suspensions. *Journal of Colloid and Interface Science* 2001; 236: 96-103
25. Mikulašek P., Wakeman R.J., Marchant J.Q.: The influence of pH and temperature on the rheology and stability of aqueous titanium dioxide dispersions. *Chemical Engineering Journal* 1997; 67: 97-102
26. Jung G.W., Ting P.T., Salopek T.G.: Stability of sunscreens and sunblocks following exposure to extreme temperatures. *Journal of the American Academy of Dermatology* 2012; 66 (6): 1007-1009
27. Elektronski vir:
<http://www.pharmtech.com/improving-stability-suspension> (Dostop: 14.8.2016)