



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΔΥΤΙΚΗΣ ΑΤΤΙΚΗΣ**

**ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ & ΠΡΟΝΟΙΑΣ**

**ΤΜΗΜΑ ΒΪΟΙΑΤΡΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ**

**ΤΟΜΕΑΣ ΑΙΣΘΗΤΙΚΗΣ ΚΑΙ ΚΟΣΜΗΤΟΛΟΓΙΑΣ**

**ΕΦΑΡΜΟΓΗ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΑΣ ΨΗΦΙΑΚΗΣ  
ΕΙΚΟΝΑΣ  
ΣΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΑΠΕΥΘΕΙΑΣ ΣΕ  
Ο/Ω ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΑ**

**ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΔΡΕΜΕΤΣΙΚΑ ΔΗΜΗΤΡΑ  
ΑΜ 20678066  
ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ: ΓΕΩΡΓΙΑ ΤΣΟΤΣΟΥ  
ΑΘΗΝΑ 2024**



**UNIVERSITY OF WEST ATTICA**

**FACULTY OF HEALTH AND CARE SCIENCES**

**DEPARTMENT OF BIOMEDICAL SCIENCES  
DEVISION OF AESTHETICS AND COSMETIC  
SCIENCE**

**DIGITAL COLORIMETRY APPLICATION  
IN THE QUANTIFICATION OF METALS DIRECTLY  
IN O/W EMULSIONS**

**DISSERTATION  
DREMETSIKA DIMITRA  
CN 20678066  
SUPERVISOR: GEORGIA TSOTSOU  
ATHENS 2024**

## Τίτλος Εργασίας

Εφαρμογή Χρωματομετρίας Ψηφιακής Εικόνας στον προσδιορισμό μετάλλων απευθείας σε Ο/Ω γαλακτώματα

### Μέλη Εξεταστικής Επιτροπής

Η προπτυχιακή διπλωματική εργασία εξετάστηκε επιτυχώς από την κάτωθι Εξεταστική Επιτροπή:

1	ΒΑΡΒΑΡΕΣΟΥ ΑΘΑΝΑΣΙΑ	ΕΠΙΤΡΟΠΗ	
2	ΜΥΡΟΦΟΡΑ ΠΗΛΑΚΟΥΤΑ	ΕΠΙΤΡΟΠΗ	
3	ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ	ΕΠΙΤΡΟΠΗ	ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥ ΛΟΣ <small>Digitally signed by ΑΠΟΣΤΟΛΟΣ ΠΑΠΑΔΟΠΟΥΛΟΣ Date: 2024.10.08 15:11:47 +03'00'</small>



*Αφιέρωση  
Στον παλπού μου και στην γιαγιά μου*

Ευχαριστίες:

Θα ήθελα να ευχαριστήσω θερμά την κυρία Γεωργία Τσότσου, καθηγήτρια στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής, για το ενδιαφέρον, τον πολύτιμο χρόνο και την βοήθεια της στην ολοκλήρωση της διπλωματικής εργασίας μου. Η καθοδήγηση που μου παρείχε ήταν πολύτιμη και η συνεχής υποστήριξη της καθ' όλη την διάρκεια της προσπάθειας μου ήταν αξιοσημείωτη.

Τέλος, θα ήθελα από τα βάθη της καρδιάς μου να ευχαριστήσω την οικογένεια μου Μαρία, Γιώργο, Κωνσταντίνο, Θοδωρή, Γιάννα και Νίκο για την υποστήριξη, την αγάπη και την κατανόηση τους.

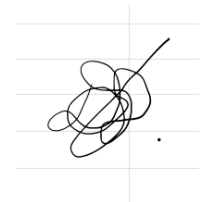
## **ΔΗΛΩΣΗ ΣΥΓΓΡΑΦΕΑ ΠΤΥΧΙΑΚΗΣ/ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗΣ ΕΡΓΑΣΙΑΣ**

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Δρεμέτσινα Δήμητρα του Γεωργίου, με αριθμό μητρώου 20678066 φοιτήτρια του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής της Σχολής Αισθητικής και Κοσμητολογίας του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών δηλώνω υπεύθυνα ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος.

Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».

Η Δηλούσα  
Δρεμέτσινα Δήμητρα



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

ΕΙΚΟΝΑ 1: Η δομή του Aluminium Chlorohydrate.....	16
ΕΙΚΟΝΑ 2: Η δομή της κερσετίνης.....	21
ΕΙΚΟΝΑ 3: Σύμπλοκο κερσετίνης- aluminium chlorohydrate .....	23
ΕΙΚΟΝΑ 4: Σχηματική Παρουσίαση διαδικασίας 2.5.....	27
ΕΙΚΟΝΑ 5: Φωτογραφία Καψιδίων με ίδιο ισχυρό οπτικό σήμα στα δείγματα.....	44
ΕΙΚΟΝΑ 6: Φωτογραφία Καψιδίων με ίδιο ασθενές οπτικό σήμα στα δείγματα .....	46
ΕΙΚΟΝΑ 7: Φωτογραφία Καψιδίων 10 λεπτά μετά την προετοιμασία τους.....	49
ΕΙΚΟΝΑ 8: Φωτογραφία Καψιδίων 10 λεπτά μετά την προετοιμασία τους.....	55
ΕΙΚΟΝΑ 9: Φωτογραφία spot test σε ειδικό διηθητικό χαρτί .....	60
ΕΙΚΟΝΑ 10: Φωτογραφία spot test σε ειδικό διηθητικό χαρτί .....	60



## ΚΑΤΑΛΟΓΟΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

ΠΙΝΑΚΑΣ 1: Συστατικά Εργαστηριακής Κρέμας BC.....	27
ΠΙΝΑΚΑΣ 2: Αναλυτικές Παράμετροι για εύρεση βέλτιστου καναλιού χρώματος.....	29
ΠΙΝΑΚΑΣ 3: Αναλυτικές Παράμετροι για εύρεση βέλτιστου καναλιού χρώματος.....	30
ΠΙΝΑΚΑΣ 4: Αναλυτικές Παράμετροι για εύρεση βέλτιστου χρόνου ανάλυσης.....	31
ΠΙΝΑΚΑΣ 5: Εκατοστιαία ποσοτική σύνθεση γαλακτωματοποιημένης λοσιόν.....	45
ΠΙΝΑΚΑΣ 6: Συστατικά Εργαστηριακής Κρέμας Montanon.....	46
ΠΙΝΑΚΑΣ 7: Συστατικά Εργαστηριακής Κρέμας BC2.....	50
ΠΙΝΑΚΑΣ 8: Διερεύνηση ποσοτικοποίησης αγνώστων δειγμάτων.....	54
ΠΙΝΑΚΑΣ 9: Συνοπτική Παρουσίαση Αποτελεσμάτων.....	58

# ΠΕΡΙΕΧΟΜΕΝΑ

<b>ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ</b>	<b>11</b>
<b>SUMMARY</b>	<b>12</b>
<b>1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ</b>	<b>13</b>
1.1 ΑΛΑΤΑ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ	14
1.2 QUERCETIN	20
1.3 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑ ΚΑΙ ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΟΥ	22
<b>2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ</b>	<b>24</b>
2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ	24
2.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ	24
2.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΛΗΨΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	24
2.4 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	25
2.5 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΣΕ ΚΑΨΙΔΙΑ ΠΛΑΚΑΣ ΜΙΚΡΟΤΙΤΛΟΔΟΤΗΣΗΣ	26
<b>3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ</b>	<b>28</b>
3.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΒΕΛΤΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ	28
3.2 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ	32
3.3 ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ	58
3.4 SPOT TEST ΣΕ ΧΑΡΤΙ	59
3.5 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ	60
3.6 ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ	64
<b>4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ</b>	<b>68</b>
4.1 ΒΕΛΤΙΣΤΕΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ	68
4.2 ΕΦΑΡΜΟΣΙΜΟΤΗΤΑ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ	69
4.3 ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ	70
<b>5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ</b>	<b>71</b>

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΣΤΑ ΕΛΛΗΝΙΚΑ

Η παρούσα πτυχιακή εργασία εκπονήθηκε με σκοπό να προτείνει μία νέα μεθοδολογία ποσοτικού προσδιορισμού των αλάτων του αργιλίου που περιέχονται στα καλλυντικά προϊόντα, στο πλαίσιο του ποιοτικού τους ελέγχου. Τα άλατα του αργιλίου χρησιμοποιούνται σε διάφορες κατηγορίες καλλυντικών. Λόγω της δράσης τους η οποία εκδηλώνεται με μηχανική παρεμπόδιση των ιδρωτοποιών αδένων, έχουν καθιερωθεί ως τα κύρια ενεργά συστατικά των περισσότερων αποσμητικών και αντιδρωτικών προϊόντων που κυκλοφορούν σήμερα. Ωστόσο λόγω της ενδεχόμενης τοξικότητας του αργιλίου και του ενδεχομένου συσσώρευσης του στον ανθρώπινο οργανισμό, προκύπτει η ανάγκη διερεύνησης της επιβάρυνσης της έκθεσης του ανθρώπου στο αργίλιο από τα καλλυντικά, κυρίως μέσω της δερματικής οδού. Σε συνδυασμό με την δυνητική σχέση των αλάτων του αργιλίου με νευροεκφυλιστικές ασθένειες και καρκίνο του μαστού, διαφαίνεται η επιτακτική **ανάγκη ποσοτικοποίησης** τους στα καλλυντικά στα οποία χρησιμοποιούνται. Αυτό αποσκοπεί αφενός στην επιβεβαίωση της τήρησης των καθιερωμένων ορίων της συγκέντρωσης τους στα προϊόντα του εμπορίου και αφετέρου στην διαφύλαξη της ασφάλειας των χρηστών. **Η αρχή της μεθόδου ποσοτικοποίησης που προτείνεται βασίζεται στην συμπλοκοποίηση του περιεχόμενου αργιλίου του εξεταζόμενου αποσμητικού προϊόντος με την κερσετίνη, προσδίδοντας του ένα συγκεκριμένο χρώμα.** Καταγράφοντας το χρώμα αυτό με μία κάμερα κινητού και αναλύοντας το με κατάλληλο λογισμικό προκύπτει η αναλογία μεταξύ της έντασης του χρώματος και της συγκέντρωσης του αργιλίου μέσα στο προϊόν. Η δυνατότητα της άμεσης εφαρμογής της παρούσας μεθοδολογίας και η πρακτικότητα της συνιστούν τα κύρια πλεονεκτήματα της. Η μεθοδολογία αυτή δοκιμάστηκε σε διαφορετικές πειραματικές συνθήκες και με διαφορετικές μεθόδους προκειμένου να διερευνηθεί κατάλληλα και να αξιολογηθεί συνολικά.

## SUMMARY

This senior thesis was devised in order to suggest a new methodology regarding the quantification of aluminium salts that are contained in cosmetics products, in the scope of their quality control. Aluminium salts are being used in different product categories and have been established as the main active ingredients of the most antiperspirants and deodorants that exist on the market today due to their action regarding the sweat glands occlusion. However, taking into account the possible aluminium toxicity and the possibility of its accumulation in the human body, the necessity of investigating the systemic body burden of aluminium, from the cosmetic source through dermal exposure, arises. In addition, the potential relation between aluminium salts and neurodegenerative diseases and breast cancer reveals the crucial necessity of their quantification in the cosmetics they are being used in order to confirm the compliance within their concentration permitted limits in the products of the market and to protect consumers' safety. The principle of the suggested quantification method is based on the reaction between the aluminium contained in the deodorant being analysed and quercetin, which acts as a chromogenic reagent and forms a complex with the aluminium, adding a specific colour to it. After capturing that colour using a smartphone camera and analysing it with the appropriate software, the relation between colour intensity and the concentration of aluminium contained in the product, arises. The methodology's direct implementation capability and its' practicality are its' main advantages. The methodology has been tested in different experimental conditions and through different methods in order to be investigated sufficiently and evaluated altogether.

## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η ανάλυση της περιεκτικότητας των αλάτων του αργιλίου που μελετήθηκε στην παρούσα εργασία καθίσταται ιδιαίτερα σημαντική, λαμβάνοντας υπόψιν το τοξικολογικό προφίλ των ουσιών αυτών και την **δυσνητικά επιβλαβή έκθεση** του χρήστη στις ουσίες αυτές [1, 2]. Για τους παραπάνω λόγους, τα άλατα του αργιλίου ως καλλυντικά συστατικά πρέπει να βρίσκονται μεταξύ κάποιων καθορισμένων από τη νομοθεσία **ορίων συγκέντρωσης**. Το κύριο πλεονέκτημα της προτεινόμενης αναλυτικής μεθόδου αποτελεί η **παράλειψη ενδιάμεσων σταδίων προκατεργασίας** που συνήθως απαιτούνται στις καθιερωμένες μεθόδους ποσοτικοποίησης συστατικών σε καλλυντικά προϊόντα, καθώς έχει την **δυνατότητα εφαρμογής απευθείας στο εξεταζόμενο προϊόν**. Η προτεινόμενη μεθοδολογία αναπτύχθηκε συνδυάζοντας δύο διαφορετικές μεθοδολογίες που έχουν δοκιμαστεί από προηγούμενους ερευνητές. Η πρώτη μεθοδολογία, σύμφωνα με τους ερευνητές Tsotsou G. και Tsara A. [3, 4] βασίζεται στην απευθείας προσθήκη ενός χρωμογόνου αντιδραστηρίου σε ένα γαλάκτωμα που αντιδρά ειδικά με τον υπό διερεύνηση αναλύτη που περιέχεται σε αυτό και η ένταση του παραγόμενου χρώματος που αποκτά το γαλάκτωμα, καταγράφεται με μία κάμερα κινητού και έχει αποδειχθεί ότι είναι ανάλογη με την συγκέντρωση του αναλύτη μέσα στο γαλάκτωμα. Το συγκεκριμένο πρωτόκολλο έχει χρησιμοποιηθεί επιτυχώς για αναλύτες όπως αντιοξειδωτικοί παράγοντες, ουρία, γλυκόζη, συστατικά δηλαδή για τα οποία δεν υπάρχουν περιοριστικά όρια όσον αφορά την χρήση τους στα καλλυντικά. Το πεδίο εφαρμογής της εν λόγω μεθοδολογίας αποφασίστηκε να διευρυνθεί στο πλαίσιο της ανάλυσης ενός συστατικού όπως το aluminium chlorohydrate που υπάγεται σε περιοριστικά όρια και επομένως υπάρχει η ανάγκη ποσοτικοποίησης του προκειμένου να διασφαλιστεί η ασφάλεια του χρήστη [1]. Η δεύτερη μεθοδολογία βασίζεται στην χρωμογόνο αντίδραση μεταξύ της κερσετίνης και διαφόρων μετάλλων, μεταξύ αυτών και του αργιλίου. Η συμπλοκοποίηση

της κερσετίνης και του εκάστοτε μετάλλου, μελετήθηκε και ερευνήθηκε η επίδραση που έχει το κάθε μέταλλο με το οποίο συμπλοκοποιείται, στην μετατόπιση της κορυφής της και στην ένταση αυτής, από τα 370 στα 425nm [5]. Τα δύο αυτά πρωτόκολλα συνδυάστηκαν λοιπόν για να αναπτυχθεί η παρούσα προτεινόμενη μεθοδολογία η οποία ανακεφαλαιώνοντας, επιχειρεί να ποσοτικοποιήσει το aluminium chlorohydrate απευθείας μέσα στα αποσμητικά και αντιδρωτικά προϊόντα. Η ποσοτικοποίηση βασίζεται στην συμπλοκοποίηση του με το χρωμογόνο αντιδραστήριο κερσετίνη και σε ακόλουθη φωτογράφιση και ανάλυση του χρώματος του δείγματος με κατάλληλο λογισμικό επεξεργασίας εικόνων.

## **1.1 ΑΛΑΤΑ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ**

---

### **1.1.1 ΑΝΤΙΔΡΩΤΙΚΗ ΔΡΑΣΗ: ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ**

Τα άλατα του αργιλίου χρησιμοποιούνται σε διάφορες καλλυντικές συνθέσεις, εμπεριέχονται κυρίως σε αποσμητικά, αλλά συναντώνται και σε λευκαντικές οδοντόκρεμες (aluminium fluoride), σε κραγιόν και σε αντηλιακά με νανοσωματίδια για την επικάλυψη τους. Τα άλατα του αργιλίου, όπως το χλωριούχο αργίλιο ( $AlCl_3$ ), χρησιμοποιούνται ως αντιδρωτικά αλλά και αποσμητικά συστατικά ρυθμίζοντας την έκκριση των ιδρωτοποιών αδένων και αναστέλλοντας την οσμή του παραγόμενου ιδρώτα [6]. Οι όροι αποσμητικά και αντιδρωτικά προϊόντα χρησιμοποιούνται γενικά ως ισοδύναμοι, όμως επιτελούν διαφορετικές λειτουργίες και ως εκ τούτου περιέχουν διαφορετικά συστατικά [6]. Τα αποσμητικά προϊόντα σε αντίθεση με τα αντιδρωτικά αποσκοπούν αποκλειστικά στην ρύθμιση της οσμής του ιδρώτα και περιέχουν αντιμικροβιακά συστατικά, αρώματα και ουσίες που δεσμεύουν τα δύσοσμα προϊόντα της αποσύνθεσης του ιδρώτα [7]. Τα αντιδρωτικά προϊόντα αποσκοπούν στη μείωση της παραγωγής του ιδρώτα μέσω μηχανικής παρεμπόδισης των ιδρωτοποιών αδένων [8]. Λόγω της αποτελεσματικότητας των αλάτων του αργιλίου στην

ρύθμιση της έκκρισης ιδρώτα, τα συστατικά αυτά έχουν εδραιωθεί στην συγκεκριμένη κατηγορία προϊόντων και η κυκλοφορία τους στην αγορά χρονολογείται από το 1947 [9].

---

### **1.1.2 ΤΟΞΙΚΟΤΗΤΑ**

Παρά την ευρεία χρήση τους, τα άλατα του αργιλίου κατηγορείται ότι συνιστούν γονιδιοτοξικούς παράγοντες, παράγοντες δηλαδή που επιδρούν και μεταβάλλουν τη δομή και το περιεχόμενο πληροφοριών του DNA. Η τοξικότητα αυτή ως προς τα άλατα του αργιλίου σχετίζεται με τροποποιήσεις του DNA, επιγενετικές βλάβες, αύξηση του κινδύνου του καρκίνου του μαστού και της νόσου Alzheimer λόγω της αθροιστικής συστημικής συσσώρευσης του, ενώ όπως κατέδειξαν και τα αποτελέσματα μιας μελέτης, το χλωριούχο αργίλιο μπορεί να παρέμβει στην λειτουργία των οιστρογονικών υποδοχέων σε μαστικά καρκινικά κύτταρα, καθώς αλληλεπιδρά με τους υποδοχείς αυτούς [10]. Ωστόσο τα δεδομένα φαίνονται αμφιλεγόμενα [11, 12, 13].

---

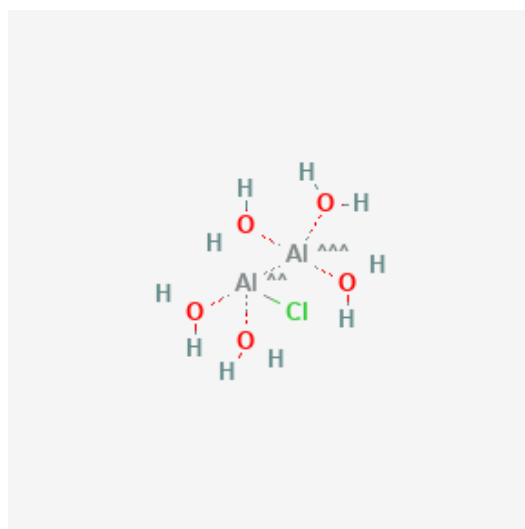
### **1.1.3 ΔΟΜΗ, ΜΗΧΑΝΙΣΜΟΣ ΔΡΑΣΗΣ ΚΑΙ ΣΤΟΙΧΕΙΑ**

#### **ΔΙΑΔΕΡΜΙΚΗΣ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗΣ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE**

Όσον αφορά την δομή του aluminium chlorohydrate ( $Al_2ClH_9O_7$ ), παρουσιάζεται στην εικόνα 1 [14]. Ο μηχανισμός δράσης των αλάτων του αργιλίου, όπως το aluminium chlorohydrate το οποίο μελετήθηκε στην παρούσα εργασία, βασίζεται στον σχηματισμό αδιάλυτων πολυμερικών συμπλεγμάτων του υδροξειδίου του αργιλίου μέσα στους εκφορητικούς πόρους των ιδρωτοποιών αδένων. Τα συμπλέγματα φράσσουν τους εκφορητικούς πόρους, επιτυγχάνοντας έτσι την παρεμπόδιση της έκκρισης ιδρώτα στην επιφάνεια του δέρματος [15]. Η δράση τους δηλαδή εκδηλώνεται με την μηχανική παρεμπόδιση του εκφορητικού πόρου των απεκκριτικών ιδρωτοποιών αδένων. Αναλυτικότερα, τα άλατα του αργιλίου, ερχόμενα σε επαφή με την επιφάνεια του δέρματος, αλληλεπιδρούν με βασικά δομικά συστατικά του, όπως για παράδειγμα με τους πολυσακχαρίτες

των επιθηλιακών κυττάρων του πόρου και σχηματίζουν χημικά αδρανή σύμπλοκα. Το σχετικά υψηλό μοριακό βάρος των συμπλόκων συνδυαστικά με το υψηλό θετικό τους φορτίο, περιορίζει τη πιθανότητα διείσδυσης τους μέσω της κεράτινης στιβάδας. Η διαδερμική απορρόφηση τους περιορίζεται περαιτέρω από τον σχηματισμό συμπλόκων πρωτεϊνικής φύσεως στα πιο απομακρυσμένα σημεία της κεράτινης στιβάδας. Επομένως, οι χημικές ιδιότητες των σχηματιζόμενων συμπλεγμάτων φαίνεται να δυσχεραίνουν την συστηματική διάδοση του αργιλίου μέσω της δερματικής οδού. [1]

ΕΙΚΟΝΑ 1



ΕΙΚΟΝΑ 1: Η ΔΟΜΗ ΤΟΥ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE

#### **1.1.4 ΤΟ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE ΩΣ ΕΡΕΘΙΣΤΙΚΗ ΚΑΙ ΕΥΑΙΣΘΗΤΟΠΟΙΟΣ ΟΥΣΙΑ**

Σύμφωνα με το ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), όπως δηλώνεται στην γνωμοδότηση της SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), ως προς την συστηματική τοξικότητα που ακολουθεί την δερματική εφαρμογή των αλάτων του αργιλίου, τα ευρήματα καμίας έρευνας δεν την συσχέτισαν με θάνατο σε ανθρώπους ή ζώα [16]. Σε συμφωνία με την παλαιότερη δημοσίευση της επιτροπής του 2014, οι



επικαιροποιημένες γνωμοδοτήσεις του 2019 και του 2023, δηλώνουν ότι το aluminium chlorohydrate, ενσωματωμένο σε καλλυντικά προϊόντα με την μέγιστη συγκέντρωση 6.25% σε μη ψεκαζόμενα αποσμητικά και 10.60% σε ψεκαζόμενα, δεν δύναται να προκαλέσει δερματικό ερεθισμό στους καταναλωτές ενώ διατείνεται ότι η καθημερινή εφαρμογή καλλυντικών συνθέσεων με άλατα του αργιλίου δεν επιβαρύνει την συστηματική έκθεση των καταναλωτών στο αργίλιο η οποία οφείλεται κυρίως στην διατροφή τους [17]. Επίσης, το αργίλιο μετά από μελέτες σε ζώα, διαπιστώθηκε ότι δεν θεωρείται ευαισθητοποιός ουσία για το δέρμα, ενώ ωστόσο ενδέχεται σε σπάνιες περιπτώσεις να προκαλέσει δερματίτιδα εξ' επαφής [2]. Ως ευαισθητοποιητής δέρματος ορίζεται ο παράγοντας που ως επακόλουθο της επαφής του με το δέρμα και της διείσδυσης του σε αυτό, μπορεί να προκαλέσει ειδική ανοσολογική αντίδραση και σε ενδεχόμενη επανέκθεση του δέρματος στον παράγοντα αυτόν, να προκληθεί αλλεργική δερματίτιδα εξ' επαφής.

---

### **1.1.5 ΚΛΙΝΙΚΕΣ ΜΕΛΕΤΕΣ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗΣ ΑΣΦΑΛΕΙΑΣ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE**

Προκαταρκτικές κλινικές μελέτες της διαδερμικής απορρόφησης του αργιλίου που διεξήχθησαν το 2001 υπέδειξαν πολύ χαμηλή διαδερμική απορρόφηση (0.002-0.06%) μετά από χρήση αντιδρωτικών προϊόντων που περιείχαν άλατα του αργιλίου σε αντιπροσωπευτικά επίπεδα με αποτέλεσμα να προκύπτει ότι η έκθεση του ανθρώπου στο αργίλιο δεν επιβαρύνεται σημαντικά από την καλλυντική χρήση [18]. Πιο πρόσφατα δεδομένα σχετικά με την δερματική απορρόφηση των αλάτων του αργιλίου αξιολογήθηκαν και προβλήθηκαν από την γνωμοδότηση της SCCS το 2019. Η δερματική απορρόφηση υπολογίστηκε μέσω κλινικής μελέτης στην οποία συμμετείχαν 6 εθελόντριες, οι οποίες υπεβλήθησαν σε εφαρμογή 0,75g αποσμητικού προϊόντος που περιείχε το aluminium chlorohydrate σε επιφάνεια 100 cm<sup>2</sup> στην μασχαλιαία περιοχή. Το περιεχόμενο aluminium chlorohydrate, είχε ενισχυθεί με ραδιενεργό ισότοπο <sup>26</sup>Al το οποίο κατόπιν

βιοπαρακολούθησης, θα ανιχνεύονταν μετά από 24 ώρες στα ούρα των εθελοντριών. Η ανθρώπινη βιοπαρακολούθηση αναφέρεται στον άμεσο προσδιορισμό της έκθεσης του ανθρώπου σε τοξικές ουσίες του περιβάλλοντος μέσω του προσδιορισμού των ίδιων των ουσιών ή μεταβολιτών τους σε ανθρώπινα δείγματα όπως αίμα, ούρα κλπ. Τα αποτελέσματα διαμόρφωσαν το τελικό ποσοστό απορρόφησης του αργιλίου μέσω του δέρματος, το οποίο ανήλθε στο 0.00052%. Σε συνδυασμό με την ανάλυση των κοπράνων στην ίδια μελέτη που διαμόρφωσε το ποσοστό απορρόφησης στο 0.0014%, το ολικό ποσοστό της βιοδιαθεσιμότητας του αργιλίου υπολογίστηκε στο 0.00192%. Ωστόσο η απόλυτη βιοδιαθεσιμότητα δεν ήταν δυνατό να προσδιοριστεί καθώς το ανιχνευόμενο αργίλιο στα περισσότερα δείγματα αίματος μετά την τοπική εφαρμογή του, ήταν κάτω από το LLOQ (Lower Limit of Quantification), δηλαδή το κατώτατο όριο ποσοτικού προσδιορισμού, το οποίο αναφέρεται στην κατώτατη συγκέντρωση που μπορεί να προσδιοριστεί με ακρίβεια και πιστότητα. Μία νέα κλινική μελέτη διεξήχθη προκειμένου να παρέχει μία εκτίμηση της απόλυτης βιοδιαθεσιμότητας του αργιλίου. Η SCCS επισήμανε ότι η ολική ανάκτηση μετά από τοπική εφαρμογή του ραδιενεργού ισοτόπου  $^{26}\text{Al}$  ανήλθε στο 70% και οι συμμετέχοντες θεώρησαν ότι η χαμηλή ανάκτηση οφείλεται σε απώλεια του ισοτόπου λόγω αλληλεπίδρασης με το περιβάλλον, καθώς μπορεί να μεταφέρθηκε στα ρούχα των εθελοντών. Προκειμένου να επιβεβαιωθεί αυτή η υπόθεση, μετά από τοπική εφαρμογή αντιδρωτικής σύνθεσης εμπλουτισμένης με ραδιενεργό  $^{26}\text{Al}$ , εφαρμόστηκε και αφαιρέθηκε, σε διάφορες χρονικές στιγμές (20min, 1h, 4h, 24h), μία ειδική κολλώδης ταινία στο δέρμα των εθελοντών. Μετά την αφαίρεση της ταινίας στις 24 ώρες, ακολούθησε διάτρηση βιοψίας με την οποία διαπιστώθηκε ότι πάνω από το 95% της εφαρμοζόμενης δόσης παρέμεινε εξωτερικά από το σώμα. Στο τέλος της γνωμοδότησης η SCCS καταλήγει στο συμπέρασμα ότι η συστημική έκθεση σε αργίλιο δεν επιβαρύνεται σημαντικά μέσω της δερματικής οδού, η οποία συνυφαίνεται με την καθημερινή καλλυντική χρήση [1].

---

### **1.1.6 ΑΛΑΤΑ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΝΟΣΟ ALZHEIMER**

Σύμφωνα με το BfR (γερμανικό ομοσπονδιακό ινστιτούτο για την αξιολόγηση κινδύνου) και όσον αφορά την σύνδεση του αργιλίου και των αλάτων του με την νόσο Alzheimer, αυτή δεν αποδεικνύεται απόλυτα από επιστημονικά δεδομένα [19]. Ωστόσο βάσει ερευνών πιθανολογείται ότι το αργίλιο παρεμβαίνει σε συγκεκριμένες κυτταρικές οδούς σηματοδότησης στο ΚΝΣ και κάνει άτομα με συγκεκριμένα μοτίβα γονιδιακής έκφρασης πιο επιρρεπή στην γονιδιοτοξικότητα του αργιλίου [20, 21, 22]. Σύμφωνα με τον Παγκόσμιο Οργανισμό Υγείας (ΠΟΥ), η αυξημένη πρόσληψη αργιλίου δεν δύναται να αποτελέσει αιτιολογικό παράγοντα για την νόσο Alzheimer [23]. Καταλήγοντας, η συσσώρευση του αργιλίου στην νόσο Alzheimer δύναται να συμβάλλει στην παθογένεια της εφόσον έχει ήδη εμφανιστεί, αλλά το αν αποτελεί αίτιο πρόκλησης της παραμένει υπό διερεύνηση [24].

---

### **1.1.7 ΑΛΑΤΑ ΤΟΥ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ΚΑΙ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗ ΜΕ ΚΑΡΚΙΝΟ ΤΟΥ ΜΑΣΤΟΥ**

Αναφορικά με τον καρκίνο του μαστού, οι έρευνες που έχουν διεξαχθεί δεν έχουν καταφέρει να αποδείξουν μία αιτιολογική σχέση μεταξύ αυτού και της πρόσληψης αργιλίου μέσω των αντιδρωτικών [25]. Γενικά, σύμφωνα με μελέτες έχει ανιχνευθεί αργίλιο στον ιστό των μαστών [26] και σε μητρικό γάλα [27], ενώ αυξημένα επίπεδα του έχουν παρατηρηθεί σε κακοήθη μαστικά κύτταρα [28]. Αναλυτικότερα, μελέτες σε γυναίκες με καρκίνο του μαστού υπέδειξαν ότι ιστός από τον μαστικό αδένα τους και το έκκριμα του περιείχε υψηλότερες συγκεντρώσεις αργιλίου συγκριτικά με υγιείς γυναίκες, χωρίς όμως να επεξηγείται αν πρόκειται για αιτία ή συνέπεια του καρκίνου, μιας και η συγκέντρωση και άλλων μετάλλων ήταν αυξημένη (σίδηρος, νικέλιο, χρώμιο) [29]. Ένδειξη για την σύνδεση του καρκίνου του μαστού και του αργιλίου αποτέλεσε μία έρευνα

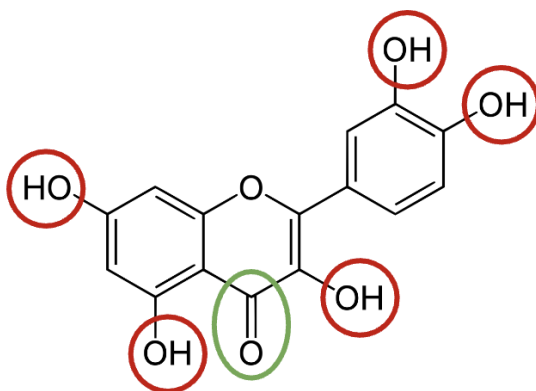
που διεξήχθη σε άτομα με καρκίνο του μαστού και έδειξε σημαντικά αυξημένα επίπεδα αργιλίου στον ιστό που αντιστοιχεί στην μασχालιαία περιοχή, η οποία πλήττεται κυρίως από την εφαρμογή των αποσμητικών προϊόντων, συγκριτικά με την εσωτερική περιοχή [30]. Τα επιστημονικά δεδομένα γενικά φαίνονται αντιφατικά, καθώς πραγματοποιήθηκαν 3 επιδημιολογικές έρευνες, με σκοπό την εύρεση σύνδεσης μεταξύ της χρήσης αντιδρωτικών προϊόντων με άλατα του αργιλίου και της εμφάνισης καρκίνου του μαστού. Οι δύο δεν βρήκαν κάποια συσχέτιση μεταξύ των δύο αυτών παραγόντων [31, 32] ενώ η μία βρήκε [33]. Ακόμη, το aluminium chlorohydrate των αντιδρωτικών προϊόντων πιθανολογείται ότι παρεμβαίνει στην οιστρογονική σηματοδότηση σε καρκινικά μαστικά κύτταρα, επηρεάζοντας την ανάπτυξη του καρκίνου σε αυτά [34]. Ακόμη και σε υγιή άτομα και ειδικά σε νεότερες ηλικίες, αναφέρεται ότι η συσσώρευση του αργιλίου στον μαστικό ιστό που προκύπτει από την συχνή εφαρμογή των σχετικών προϊόντων, δύναται να αυξήσει τον κίνδυνο ανάπτυξης καρκίνου του μαστού [35]. Βάσει αυτών προκύπτει ότι η ενδεχόμενη βλαπτική δράση του αργιλίου στα καλλυντικά χρήζει περαιτέρω μελέτης και επιστημονικής έρευνας.

## 1.2 QUERCETIN

Η κερκετίνη ή κερσετίνη (3,3',4',5,7-pentahydroxyflavone) ανήκει στα φλαβονοειδή, μία υποκατηγορία πολυφαινολικών ενώσεων, με δομή όπως φαίνεται στην εικόνα 2 [36]. Η κερσετίνη βρίσκεται κυρίως σε φαρμακευτικά φυτά, φρούτα και λαχανικά και λόγω της δομής της μπορεί να σχηματίζει σύμπλοκα με μία σειρά κατιόντων. Οι φλαβονοειδείς ενώσεις γενικά αποτελούν προϊόντα που απαντώνται στη φύση με τη μορφή δευτερογενών μεταβολιτών των φυτών [37]. Χαρακτηριστικές ιδιότητες των ενώσεων αυτών, που βρίσκουν εφαρμογή ειδικά στο πεδίο της κοσμητολογίας, αποτελούν η αντιοξειδωτική τους δράση, η ιδιότητα τους να επιδρούν στην λειτουργία κυτταρικών ενζύμων και η δράση τους ως χρωμοφόρα αντιδραστήρια. Η αντιοξειδωτική τους δράση έγκειται στην ικανότητα δέσμευσης

των ελεύθερων ριζών που αν παρέμεναν αδέσμευτες, θα συμμετείχαν σε οξειδοαναγωγικές αντιδράσεις και θα πολλαπλασιάζονταν διαδοχικά, προκαλώντας το οξειδωτικό stress και τις βλαπτικές συνέπειες του όπως φωτογήρανση, φωτοκαρκινογέννεση, ανοσοκαταστολή, ιστικές καταστροφές, μεταλλάξεις και κυτταρική τοξικότητα [38, 39, 40]. Πιο συγκεκριμένα λόγω της ικανότητας της κερσετίνης να συμπλοκοποιείται με μεταλλικά ιόντα, συμμετέχει σε βιολογικές και βιοχημικές δράσεις και στο πλαίσιο αυτό εκδηλώνεται ο αντιοξειδωτικός της χαρακτήρας και η αντιφλεγμονώδης δράση της. Επιπρόσθετα, η κερσετίνη διαθέτει αντινεοπλασματικές και καρδιοπροστατευτικές ιδιότητες [41]. Το флаβονοειδές αυτό, διαθέτει επιπλέον μεγάλο εύρος βιολογικής δραστηριότητας στον ανθρώπινο οργανισμό καθώς αλληλεπιδρά με νουκλεϊκά οξέα, πρωτεΐνες και ένζυμα, ενώ μπορεί και ενώνεται με την ανθρώπινη αλβουμίνη ορού πλάσματος (HSA- Human Serum Albumin), την αφθονότερη πρωτεΐνη δηλαδή στην αιματική κυκλοφορία [42, 43]. Η κερσετίνη ακόμα ανήκει στην κατηγορία των φυτοοιστρογόνων, μία κατηγορία φυσικών ενώσεων προερχόμενων από φυτά που παρουσιάζουν την ικανότητα μίμησης της οιστρογονικής δράσης στον άνθρωπο, με αποτέλεσμα να ρυθμίζουν τις ορμόνες και τις βιολογικές διαδικασίες στις οποίες εμπλέκονται [44].

ΕΙΚΟΝΑ 2



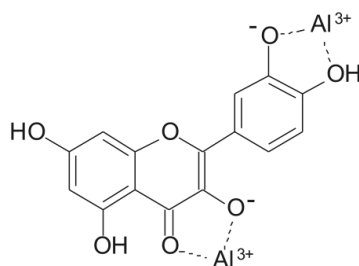
ΕΙΚΟΝΑ 2 : Η ΔΟΜΗ ΤΗΣ ΚΕΡΣΕΤΙΝΗΣ

### 1.3 ΠΛΕΟΝΕΚΤΗΜΑ ΚΑΙ ΘΕΩΡΗΤΙΚΗ ΠΕΡΙΓΡΑΦΗ ΜΕΘΟΔΟΥ

Για τον ποσοτικό προσδιορισμό των αλάτων του αργιλίου μέχρι σήμερα χρησιμοποιούνται αναλυτικές τεχνικές που περιλαμβάνουν ενόργανες μεθόδους ανάλυσης, κυρίως **χρωματογραφικές και φασματοσκοπικές μεθόδους**, όπως η φασματοσκοπία υπεριώδους-ορατού, ο μοριακός φθορισμός, η φασματομετρία ατομικής απορρόφησης και η φασματομετρία ατομικών μαζών σε επαγωγικά συζευγμένο πλάσμα (ICP-MS) [45, 46]. Γενικά η χρωματογραφία συνιστά την πιο ευρέως χρησιμοποιούμενη ενόργανη αναλυτική μέθοδο για τον ποσοτικό προσδιορισμό συστατικών καλλυντικών. Όσον αφορά την ποσοτικοποίηση του αργιλίου σε αντιδρωτικά προϊόντα έχει χρησιμοποιηθεί η υγρή χρωματογραφία υψηλής πίεσης (απόδοσης) με παραγωγοποίηση του aluminium chlorohydrate με το χρωμοφόρο αντιδραστήριο κερσετίνη, πριν από την χρωματογραφική στήλη [47]. Στην δημοσίευση αυτή των Kalogria E. και συνεργατών, ακολουθήθηκε η ίδια χρωματομετρική αντίδραση συμπλοκοποίησης αργιλίου με κερσετίνη για την ποσοτικοποίηση του aluminium chlorohydrate με υγρή χρωματογραφία HPLC [47]. Για την ανάλυση απαιτήθηκε προκατεργασία του εξεταζόμενου δείγματος με εκχύλιση. Γενικότερα, στις χρωματογραφικές τεχνικές προκειμένου να απομονωθεί το υπό μελέτη συστατικό από τα υπόλοιπα έκδοχα του προϊόντος, τα οποία στα καλλυντικά προϊόντα είναι αυξημένα σε αριθμό, και να παραληφθεί ένα ομοιογενές και αναπαραγώγιμο διάλυμα συμβατό με την επιλεγμένη μέθοδο χρωματογραφίας, εφαρμόζεται κάποια τεχνική απομόνωσης του συστατικού, συνήθως εκχύλιση. Το πρόβλημα που ανακύπτει από την διαδικασία αυτή σχετίζεται με την ανάγκη ανάκτησης σταθερού και υψηλού ποσοστού του προσδιοριζόμενου συστατικού. Επιπρόσθετα, η προκατεργασία του δείγματος που απαιτείται στις χρωματογραφικές τεχνικές οδηγεί σε αύξηση των πιθανοτήτων των σφαλμάτων του αναλυτή που προκύπτουν κατά την εκτέλεση των ενδιάμεσων σταδίων της επεξεργασίας του δείγματος. Τα ενδιάμεσα στάδια

περιλαμβάνουν ζυγίσεις, εκχυλίσεις, αραιώσεις και άλλες μεθόδους που μπορεί να παρέμβουν στην τελική ακρίβεια και επαναληψιμότητα της μεθόδου. **Η προτεινόμενη μεθοδολογία φαίνεται να υπερτερεί ως προς την πρακτικότητα της και την απουσία του σταδίου της εκχύλισης.** Βασικό πλεονέκτημα της συνιστά η **δυνατότητα της απ' ευθείας εφαρμογής της στο καλλυντικό προϊόν.** Παράλληλα, έχει έναν περισσότερο φιλικό προς το περιβάλλον χαρακτήρα, καθώς δεν χρησιμοποιεί οργανικούς διαλύτες και παράγει **στερεά απόβλητα που είναι περισσότερο διαχειρήσιμα.** Μέσω της μεθόδου που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο επιδιώκεται να προσδιοριστεί ποσοτικά το aluminium chlorohydrate που ενσωματώθηκε σε πρότυπη εργαστηριακή κρέμα σε συγκεντρώσεις ανάλογες των πραγματικών συγκεντρώσεων του στα αντιδρωτικά προϊόντα του εμπορίου. Έπειτα με την προσθήκη της κερσετίνης που δρα ως χρωμοφόρο αντιδραστήριο και αντιδρά με τα άλατα του αργιλίου, σχηματίζεται ένα έγχρωμο σύμπλοκο κίτρινου χρώματος. Οι πειραματικές συνθήκες επιλέχθηκαν ώστε η ένταση του χρώματος να καθορίζεται από την συγκέντρωση του aluminium chlorohydrate. Παρασκευάστηκαν πρότυπα κρεμών με διαφορετικές συγκεντρώσεις aluminium chlorohydrate, τα οποία παρουσία κερσετίνης χρωματίστηκαν ανάλογα με την συγκέντρωση αργιλίου που περιείχαν. Τα δείγματα αυτά φωτογραφήθηκαν και αναλύοντας την ένταση χρώματος του κάθε δείγματος ποσοτικοποιήθηκε το aluminium chlorohydrate. Ένα από τα παραγόμενα σύμπλοκα κερσετίνης- aluminium chlorohydrate απεικονίζεται στην εικόνα 3 [36].

EIKONA 3



EIKONA 3: ΣΥΜΠΛΟΚΟ ΚΕΡΣΕΤΙΝΗΣ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE

## **2. ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ**

### **2.1 ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ**

Η κερσετίνη που χρησιμοποιήθηκε ήταν η quercetin 95%(UV)/ 98% (HPLC), Sophora Japonica Extract από Kingherbs Limited και το aluminium chlorohydrate ήταν το Aluminium chlorohydrate 50% w/w aqueous solution (Chlorohydrol) από Elementis Specialties. Το βασικό stock της κερσετίνης που χρησιμοποιήθηκε στα αρχικά πειράματα ήταν συγκέντρωσης 3,33 mg/mL και παρασκευάστηκε αρχικά σε μείγμα αιθανόλης:νερού σε αναλογία 3:2 ή 1:1, ενώ στην πορεία των πειραμάτων ο διαλύτης έγινε αποκλειστικά η αιθανόλη. Για τα πειράματα που έγιναν στο διηθητικό χαρτί το stock της κερσετίνης ήταν 6,66 mg/mL και παρασκευάστηκε με διάλυση σε αιθανόλη. Το εμπορικό stock του aluminium chlorohydrate που χρησιμοποιήθηκε ήταν ένα 50% w/w υδατικό διάλυμα.

### **2.2 ΕΞΟΠΛΙΣΜΟΣ**

Για την φωτογράφιση των δειγμάτων χρησιμοποιήθηκε κάμερα τηλεφώνου iPhone 6s 8 megapixel και λευκός φωτογραφικός θάλαμος εξοπλισμένος (Shenzhen PULUZ Technology Limited, China) με μία σειρά από φώτα LED και με άνοιγμα στο πάνω μέρος του ώστε να μπορεί να τοποθετείται το κινητό τηλέφωνο για την λήψη των φωτογραφιών. Για την παρασκευή των δειγμάτων και των κρεμών που χρησιμοποιήθηκαν, χρησιμοποιήθηκε ο ομογενοποιητής Silverson L5M-A. Για την μέτρηση του pH χρησιμοποιήθηκε το πεχάμετρο Inolab ph level 1 precision. Για την λήψη των φασμάτων, χρησιμοποιήθηκε το φασματοφωτόμετρο UV-Vis διπλής δέσμης Jasco SV-600.

### **2.3 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΛΗΨΗΣ ΦΩΤΟΓΡΑΦΙΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗΣ**

Για την λήψη της κάθε φωτογραφίας το κινητό τοποθετήθηκε στο άνοιγμα στην κορυφή του ειδικού θαλάμου, σε απόσταση 23cm από



την βάση του. Τα δείγματα είτε μέσα σε καψίδια είτε πάνω στο διηθητικό χαρτί, τοποθετήθηκαν στον θάλαμο σε μία ευθεία γραμμή παράλληλη με την πηγή LED και ποτέ ακριβώς κάτω από τα φώτα. Τα δείγματα που βρέθηκαν μέσα στα καψίδια φωτογραφήθηκαν αμέσως μετά την προσθήκη της κερσετίνης και ύστερα ανά 5 λεπτά μέχρι τα 15 λεπτά. Όπως αναφέρεται και στην υποενότητα 3.1.3, οποιαδήποτε στιγμή εντός των πρώτων 15 λεπτών προσφέρει μία ικανοποιητική καμπύλη αναφοράς, όσον αφορά την ευαισθησία και την γραμμική συσχέτιση. Το λογισμικό που χρησιμοποιήθηκε για την ανάλυση των εικόνων ονομάζεται imageJ και αναλύει το κάθε χρώμα σε επιμέρους συνιστώσες στο κόκκινο, το μπλε και το πράσινο. Το λευκό που περιέχει όλα τα χρώματα αντιστοιχεί στην τιμή 255, ενώ το μαύρο στην τιμή 0. Όλα τα ενδιάμεσα χρώματα και οι αποχρώσεις τους είναι αλγεβρικά αθροίσματα των επιμέρους ποσοστών των συνιστωσών blue, green και red. Η ανάλυση της κάθε απόχρωσης οδηγεί σε έναν μοναδικό συνδυασμό των τιμών των συνιστωσών. Η συνιστώσα που θεωρήθηκε βέλτιστη ως προς τις παραμέτρους ανάλυσης παρουσίασε διαφοροποίηση, όπως αναφέρεται και στην υποενότητα 3.1.1. Η επεξεργασία της εικόνας στο imageJ έγινε επιλέγοντας μια περιοχή 1.500-2.200 τετραγωνικών pixels που αντιστοιχεί στο κάθε δείγμα και πρέπει να είναι αντιπροσωπευτική για το χρώμα και να χαρακτηρίζεται από ομοιογένεια και ομοιομορφία. Γενικά όσο μεγαλύτερο είναι το εμβαδόν της περιοχής που αναλύεται τόσο πιο αντιπροσωπευτική είναι η ανάλυση του χρώματος για το δείγμα.

## 2.4 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

Κατόπιν ανάλυσης των φωτογραφιών με το software imageJ οι τιμές που προέκυψαν από την RGB ανάλυση του χρώματος των δειγμάτων στις συνιστώσες red, green, blue,  $(R+G+B)/3$  και  $0.299R+0.587G+0.114B$  καταχωρήθηκαν σε ένα φύλλο excel. Με βάση τα πρότυπα δείγματα και συγκεκριμένα τις τιμές της παραμέτρου blue ή green τις περισσότερες φορές, κατασκευάστηκε η καμπύλη αναφοράς της τιμής της έντασης της συνιστώσας που χρησιμοποιήθηκε συναρτήσει της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate των πρότυπων δειγμάτων. Μετά την κατασκευή της

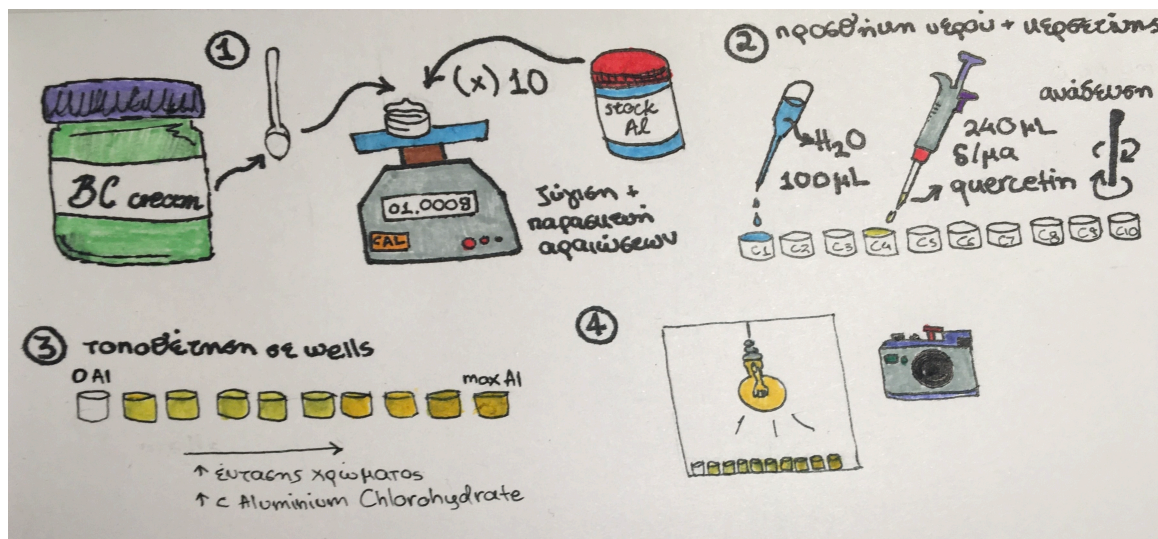
καμπύλης αναφοράς με γραφική απεικόνιση σε ορθογώνιο σύστημα αξόνων, όπου τοποθετήθηκαν τα ζεύγη έντασης χρώματος, συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate των πρότυπων δειγμάτων προέκυψε μία πρότυπη σχέση της μορφής  $y=a+bx$ , όπου  $y$ : η τιμή της μπλε συνιστώσας του χρώματος,  $x$ : η συγκέντρωση αργιλίου στα πρότυπα δείγματα,  $a$ : η τεταγμένη επί την αρχή και  $b$ : η κλίση, η οποία περιέγραφε τα πειραματικά δεδομένα. Μέσω της εξίσωση βαθμονόμησης αργότερα, προσδιορίστηκαν ποσοτικά τα άγνωστα δείγματα ως προς το περιεχόμενο aluminium chlorohydrate.

## **2.5 ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΠΟΣΟΤΙΚΟΥ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΣΕ ΚΑΨΙΔΙΑ ΠΛΑΚΑΣ ΜΙΚΡΟΤΙΤΛΟΔΟΤΗΣΗΣ**

Η μέθοδος ποσοτικού προσδιορισμού των δειγμάτων που περιείχαν aluminium chlorohydrate σε διαφορετικές συγκεντρώσεις και τοποθετούνταν σε καψίδια πλάκας μικροτιτλοποίησης αποτέλεσε την κύρια μέθοδο που χρησιμοποιήθηκε κατά την εκπόνηση της παρούσας διπλωματικής. Με βάση την μέθοδο αυτή, δοκιμάστηκαν πολλές διαφορετικές πειραματικές συνθήκες, ωστόσο η αρχή της μεθόδου παρέμεινε η ίδια. Αναλυτικότερα χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά μία πρότυπη κρέμα BC με σύσταση που περιγράφεται στον πίνακα 1. Με αραιώσεις του stock 5.5% w/w σε αυτήν παρασκευάστηκαν πρότυπα με διαφορετικές συγκεντρώσεις aluminium chlorohydrate. Ύστερα ακολούθησε ζύγιση ποσότητας 1g αυτών σε βαζάκια και προσθήκη 240μL διαλύματος κερσετίνης σε αιθανόλη περιεκτικότητας 3.33 mg/mL, ενώ είχε προηγηθεί προσθήκη απιονισμένου νερού ποσότητας 100μL. Ακολούθησε ανάδευση και κατόπιν τοποθέτηση των εν λόγω δειγμάτων στα αποσπώμενα καψίδια πλάκας μικροτιτλοδότησης μέχρι να πληρωθεί όλη η επιφάνεια τους. Με μία πλαστική σπάτουλα απομακρύνθηκε η περίσσεια δείγματος που προεξείχε από την επιφάνεια, ώστε να ισοπεδωθεί. Μετά την τοποθέτηση και του τελευταίου δείγματος στο καψίδιο, τα δείγματα φωτογραφήθηκαν στον θάλαμο, όπως περιγράφεται στην υποενότητα 2.3, σε χρόνο  $t=0$ ,  $t=5$ ,  $t=10$  και  $t=15$  min. Η ανάλυση των φωτογραφιών έγινε τις περισσότερες φορές μετά από 10 λεπτά, ενώ γενικά οποιοσδήποτε χρόνος μεταξύ των 15 πρώτων λεπτών φάνηκε να παρέχει ικανοποιητικά αποτελέσματα. Όσον αφορά το βέλτιστο κανάλι, τις περισσότερες φορές

χρησιμοποιήθηκε το blue, ενώ σε συγκεκριμένα πειράματα χρησιμοποιήθηκαν και οι συνιστώσες green, average  $(R+G+B)/3$  και  $0.299R+0.587G+0.114B$ . Η διαδικασία περιγράφεται σχηματικά στην εικόνα 4 και οι βέλτιστες συνθήκες στην υποενότητα 3.1.

ΕΙΚΟΝΑ 4



ΣΧΗΜΑΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ 2.5

### ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΡΕΜΑΣ BC

Aqua

ParaffinumLiquidum

Cetearyl Alcohol

Glyceryl Stearate

Phenoxyethanol

Xanthan Gum

Ethylhexylglycerin

ΠΙΝΑΚΑΣ 1 ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΡΕΜΑΣ BC

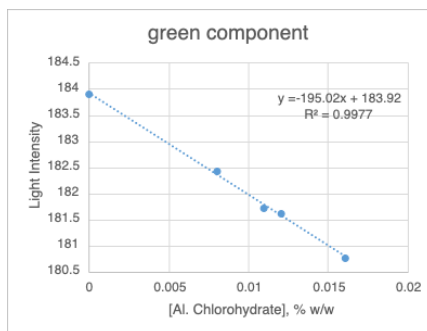
## 3. ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ ΚΑΙ ΣΥΖΗΤΗΣΗ

### 3.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΒΕΛΤΙΣΤΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

#### 3.1.1 ΕΠΙΛΟΓΗ ΒΕΛΤΙΣΤΟΥ ΚΑΝΑΛΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

Όσον αφορά την επιλογή του βέλτιστου καναλιού, παρατηρήθηκε πως για διαφορετικές πειραματικές συνθήκες, το καταλληλότερο κανάλι μεταβάλλονταν. Αναλυτικότερα, σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν και διέφεραν μεταξύ τους ως προς την ποσότητα της προστιθέμενης κερσετίνης, του νερού και της παρτίδας BC που χρησιμοποιούνταν, παρατηρήθηκε πως το βέλτιστο κανάλι ήταν μεταξύ του blue και του green. Γενικά με το κανάλι του green παρατήθηκε χαμηλή ευαισθησία και πολύ καλή γραμμική συσχέτιση ( $R^2=0.998$ ) όπως φαίνεται και στο γράφημα 3.1 και στον πίνακα 2, ενώ με το κανάλι του blue παρατηρήθηκε μια σχετικά καλή γραμμική συσχέτιση ( $R^2=0.967$ ) αλλά καλύτερη ευαισθησία, σύμφωνα με το γράφημα 3.2 και τον πίνακα 3. Ακόμη, με την συνιστώσα του average, προέκυπταν ικανοποιητικά αποτελέσματα σχεδόν σε κάθε πείραμα που πραγματοποιήθηκε. Η γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης του χρώματος και της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate αυξάνεται όσο αυξάνεται η τιμή του συντελεστή συσχέτισης  $R^2$ . Η υψηλότερη ευαισθησία της ανίχνευσης της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate εκφράζεται με την αύξηση της κλίσης της καμπύλης. Επομένως η επιλογή του καναλιού της ανάλυσης εξαρτάται από την παράμετρο που θεωρείται σημαντικότερη για τον προσδιορισμό. Αν η παράμετρος αυτή είναι η ευαισθησία θα επιλεγεί το blue, ενώ αν είναι η γραμμική συσχέτιση το green. Το εύρος της γραμμικότητας δεν φάνηκε να επηρεάστηκε σημαντικά από την επιλογή διαφορετικών καναλιών, καθώς η διαφορά ήταν της τάξης του 0,001% w/w aluminum chlorohydrate. Γενικά για την εύρεση του βέλτιστου καναλιού χρώματος προτείνεται να γίνει καμπύλη αναφοράς για όλα τα κανάλια χρώματος και να επιλεγεί αυτό που δίνει την καλύτερη καμπύλη για τα άγνωστα δείγματα, με την υψηλότερη τιμή  $R^2$ , την μεγαλύτερη κλίση και την πιο εκτεταμένη γραμμική περιοχή.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.1

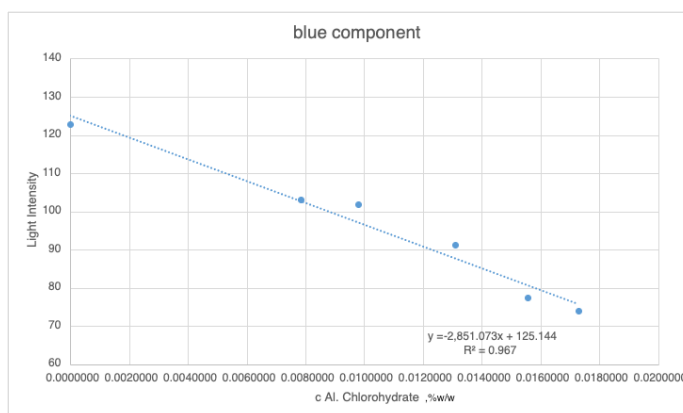


ΓΡΑΦΗΜΑ 3.1: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, στο πλαίσιο εύρεσης του βέλτιστου καναλιού χρώματος

ΚΑΝΑΛΙ ΧΡΩΜΑΤΟΣ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ $R^2$	ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ
Red	$8,6166x + 183,94$	0,007	μέχρι και 0,016% w/w Al. Chlorohydrate
Green	$-195,02x + 183,92$	0,9977	μέχρι και 0,016% w/w Al. Chlorohydrate
Blue	$-3119,1x + 129,38$	0,9209	μέχρι και 0,016% w/w Al. Chlorohydrate
$(R+G+B)/3$	$-1116,6x + 165,88$	0,9372	μέχρι και 0,016% w/w Al. Chlorohydrate
$0.299R+0.587G+0.114B$	$-461,56x + 177,72$	0,961	μέχρι και 0,016% w/w Al. Chlorohydrate

ΠΙΝΑΚΑΣ 2: ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΓΙΑ ΔΙΑΦΟΡΑ ΚΑΝΑΛΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΚΟΝΑΣ ΟΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΕ ΩΣ ΒΕΛΤΙΣΤΟ ΚΑΝΑΛΙ ΤΟ GREEN, ΣΤΟ ΠΛΑΙΣΙΟ ΕΥΡΕΣΗΣ ΤΟΥ ΒΕΛΤΙΣΤΟΥ ΚΑΝΑΛΙΟΥ ΧΡΩΜΑΤΟΣ

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα blue, στο πλαίσιο εύρεσης του βέλτιστου καναλιού χρώματος

ΚΑΝΑΛΙ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ $R^2$	ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ
Red	$28,047x + 185,522$	0,027	μέχρι και 0,0173% w/w Al. Chlorohydrate
Green	$-20,437x + 184,462$	0,012	μέχρι και 0,0173% w/w Al. Chlorohydrate
Blue	$-2851,073x + 125,44$	0,967	μέχρι και 0,0173% w/w Al. Chlorohydrate
(R+G+B)/3	$-948,468x + 164,917$	0,912	μέχρι και 0,0173% w/w Al. Chlorohydrate
0.299R+0.587G+0.114B	$-338,374x + 178,167$	0,722	μέχρι και 0,0173% w/w Al. Chlorohydrate

**ΠΙΝΑΚΑΣ 3: ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΓΙΑ ΔΙΑΦΟΡΑ ΚΑΝΑΛΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΚΟΝΑΣ ΟΠΟΥ ΠΡΟΕΚΥΨΕ ΩΣ ΒΕΛΤΙΣΤΟ ΚΑΝΑΛΙ ΤΟ BLUE**

### **3.1.2 ΠΡΟΣΜΕΙΞΕΙΣ ΜΕΤΑΛΛΩΝ ΚΑΙ ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ**

Η ύπαρξη περισσότερων του ενός βέλτιστων καναλιών πιθανώς οφείλεται στο διαφορετικό background χρώματος που είχε κάθε φορά η κρέμα BC που αναλύονταν και χρησιμοποιούνταν σε μεγάλες συγκεντρώσεις τόσο για την παρασκευή πρότυπων δειγμάτων όσο και για την αραιώση των αγνώστων δειγμάτων. Το διαφορετικό background χρωμάτων διαμορφώνονταν πιθανώς από τις επιμολύνσεις μετάλλων προερχόμενων είτε από την ίδια την κρέμα BC και τις α' ύλες της, είτε από το νερό που χρησιμοποιούνταν. Μετά την προσθήκη της κερσετίνης λοιπόν της οποίας η δράση είναι να δεσμεύει μέταλλα, είναι λογικό να προκύπτει διαφοροποίηση μεταξύ διαφορετικών παρτίδων της ίδιας κρέμας, ως αποτέλεσμα της διαφοράς στην ποσότητα των περιεχόμενων μετάλλων. Επίσης παρ'ότι το aluminium chlorohydrate ήταν σε πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση συγκριτικά με τις προσμείξεις των μετάλλων, ήταν απαραίτητο να αραιωθούν τα δείγματα που το περιείχαν ώστε η συγκέντρωση του aluminium chlorohydrate σε αυτά να ενταχθεί **εντός της δυναμικής περιοχής συγκεντρώσεων**. Με την αραιώση με κρέμα BC όμως, εκτός από την μείωση της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate που επιτεύχθηκε, προστέθηκαν και τα άλλα μέταλλα μέσω του διαλύτη με αποτέλεσμα να μην μπορούν να θεωρηθούν αμελητέα συγκριτικά με το αργίλιο. Επίσης οποιαδήποτε **προσθήκη** μη πλήρως



απιονισμένου νερού **επιβάρυνε την κρέμα με μέταλλα**. Σημαντική ένδειξη της συμμετοχής των μετάλλων στην διαμόρφωση των διαφορετικών background κρέμας αποτελεί η διαφοροποίηση των blank δειγμάτων, που περιείχαν μόνο την κρέμα BC και καθόλου aluminium chlorohydrate.

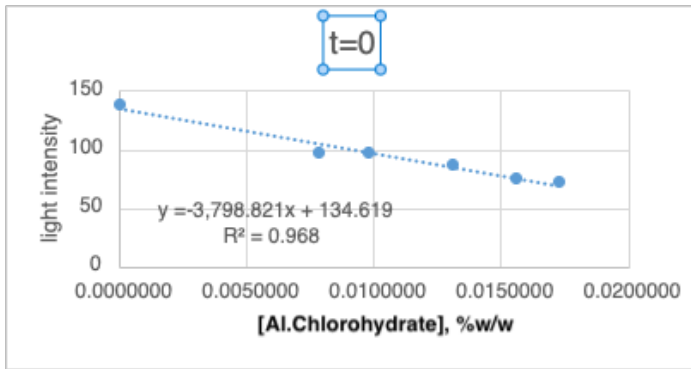
### 3.1.3 ΕΠΙΛΟΓΗ ΒΕΛΤΙΣΤΟΥ ΧΡΟΝΟΥ ΑΝΑΠΤΥΞΗΣ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Προκειμένου να επιλεγεί ο κατάλληλος χρόνος στον οποίο θα ληφθεί η φωτογραφία των δειγμάτων και θα ακολουθήσει η ανάλυση της, λήφθηκαν και πάλι υπόψιν οι παράμετροι του  $R^2$ , της τιμής της κλίσης της καμπύλης αναφοράς που προέκυπτε καθώς και το εύρος της γραμμικής περιοχής, όπως αναφέρεται και στην υποενότητα 3.1.1. Όπως φαίνεται και στον πίνακα 4, οποιαδήποτε στιγμή εντός των πρώτων 15 λεπτών προσφέρει μία ικανοποιητική καμπύλη αναφοράς με τα επιθυμητά χαρακτηριστικά ως προς την ευαισθησία και την γραμμική συσχέτιση. Παρ'όλα αυτά ο βέλτιστος χρόνος που παρέχει τις καλύτερες συνθήκες βρέθηκε να είναι στα 10 λεπτά. Η χρονική στιγμή στα 5 λεπτά επίσης διαμόρφωνε πολύ καλές συνθήκες ανάλυσης, ωστόσο θεωρήθηκε ότι απαιτείται επιπλέον χρόνος για να αναπτυχθεί επαρκώς το χρώμα των δειγμάτων και να ληφθεί μια πιο αντιπροσωπευτική εικόνα. Στα γραφήματα 3.1.3, 3.1.4, 3.1.5, 3.1.6 φαίνεται η καμπύλη αναφοράς που προκύπτει από την ανάλυση των ίδιων δειγμάτων στα 0,5,10 και 15 λεπτά μετά την παρασκευή τους. Στον πίνακα 4 φαίνεται η επίδραση του χρόνου στην εξίσωση ευθείας, την ευαισθησία, την γραμμικότητα και την γραμμική περιοχή της μεθόδου.

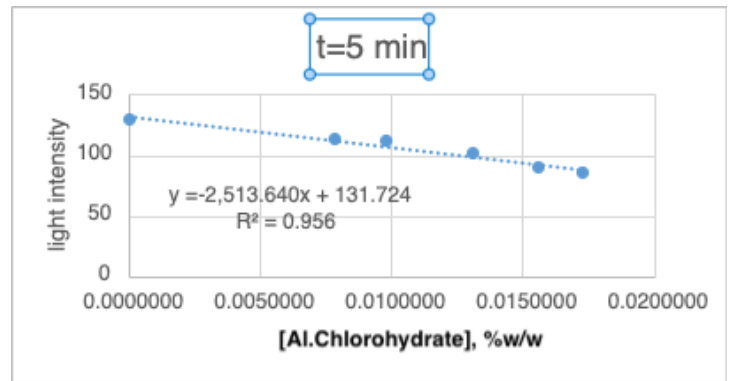
ΧΡΟΝΟΣ	ΕΞΙΣΩΣΗ ΕΥΘΕΙΑΣ	ΣΥΝΤΕΛΕΣΤΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ $R^2$	ΔΥΝΑΜΙΚΗ ΠΕΡΙΟΧΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ
0 min	$-3798,821x + 134,619$	0,968	μέχρι και 0.0173% w/w Al. Chlorohydrate
5 min	$-2851,073x + 125,44$	0,967	μέχρι και 0.0173% w/w Al. Chlorohydrate
10 min	$-3140,349x + 128,56$	0,978	μέχρι και 0.0173% w/w Al. Chlorohydrate
15 min	$-2513,640x + 131,724$	0,956	μέχρι και 0.0173% w/w Al. Chlorohydrate

**ΠΙΝΑΚΑΣ 4: ΑΝΑΛΥΤΙΚΕΣ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΓΙΑ ΔΙΑΦΟΡΑ ΚΑΝΑΛΙΑ ΧΡΩΜΑΤΟΣ ΜΕΤΑ ΑΠΟ ΧΡΩΜΑΤΟΜΕΤΡΙΚΗ ΑΝΑΛΥΣΗ ΕΙΚΟΝΑΣ ΣΕ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΟΥΣ ΧΡΟΝΟΥΣ**

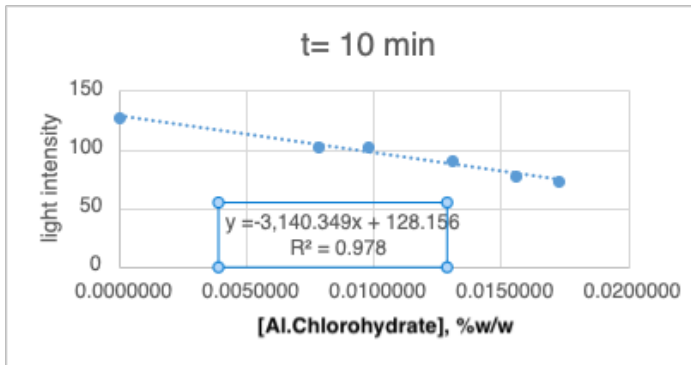
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.1.3



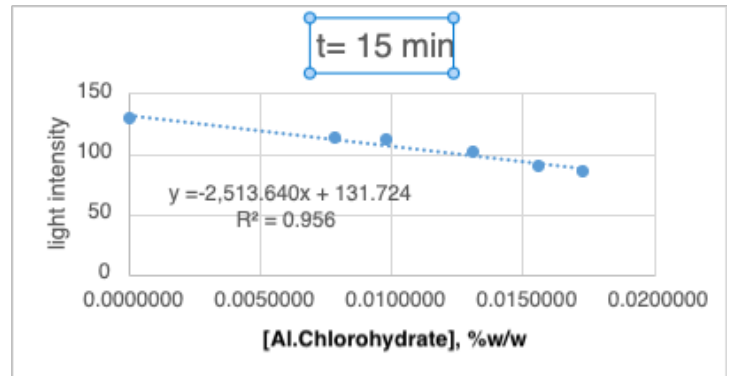
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.1.4



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.1.5



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.1.6



ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ 3.1.3, 3.1.4, 3.1.5, 3.1.6: Γραφικές παραστάσεις μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, σε χρόνους  $t = 0, 5, 10, 15$  min. Ο χρόνος 0 αντιστοιχεί σε φωτογράφιση αμέσως μετά την ολοκλήρωση όλων των δειγμάτων και ουσιαστικά όλοι οι χρόνοι συμπεριλαμβάνουν τα 15-20 λεπτά που μεσολαμβάνουν για να παρασκευαστούν όλα τα δείγματα. Παρόλο που υπήρχε το χρονικό διάστημα αυτό, εξακολούθησε να ισχύει η γραμμική συσχέτιση, όμως γενικά απαιτούνταν γρήγοροι χειρισμοί για να είναι σχετικά ελεγχόμενη η εκκίνηση της αντίδρασης συμπλοκοποίησης σε όλα τα δείγματα.

### 3.2 ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΔΙΑΦΟΡΕΤΙΚΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΣΥΝΘΗΚΩΝ ΚΑΙ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

Γενικά κατά την επιλογή των πειραματικών συνθηκών όσον αφορά τα άλατα του αργιλίου, κρίθηκε σκόπιμο να μελετηθούν σε συνθήκες κοντά στις πραγματικές, δηλαδή οι περιεχόμενες περιεκτικότητες του aluminium chlorohydrate στα γαλακτώματα που παρασκευαστήκαν, να είναι σχετικά αντίστοιχες των πραγματικών συγκεντρώσεων που περιέχονται στα αντιδρωτικά προϊόντα. Λόγω αυτού το αρχικό stock aluminium chlorohydrate που παρασκευάστηκε κάθε φορά σε κάποια κρέμα βάσης (πρότυπη εργαστηριακή κρέμα) ήταν συγκέντρωσης (4.95- 5.5)%w/w.



### 3.2.1 ΠΕΙΡΑΜΑ 1: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE

Όσον αφορά το πρώτο πείραμα που έγινε και αντιπροσώπευε την πρώτη επαφή με τα αντιδραστήρια και τις πειραματικές μεθόδους υπήρξε αναγνωριστικό και αποτέλεσε το πρώτο βήμα στην προσπάθεια εύρεσης των ιδανικών πειραματικών συνθηκών για την προτεινόμενη μεθοδολογία. Για το αρχικό stock 4.95% w/w, χρησιμοποιήθηκαν 5g πρότυπης κρέμας BC του εργαστηρίου και 0.55g υδατικού διαλύματος 50% w/w aluminium chlorohydrate (συνεπώς σε κάθε 1g γαλακτώματος περιέχονταν 0.0495 g aluminium chlorohydrate). Ύστερα πραγματοποιήθηκαν διάφορες αραιώσεις. Η πρώτη αραιώση πραγματοποιήθηκε με την χρήση 100mg από το stock 4.95% w/w και την προσθήκη 900mg πρότυπης κρέμας. Για την επόμενη αραιώση ληφθήκαν 30mg από το 1g του πρώτου stock 4.95% w/w, και προστέθηκαν σε 970mg πρότυπης κρέμας BC. Κατόπιν χρησιμοποιήθηκαν 80, 60, 40, 30 mg του 4.95% w/w που προστέθηκαν αντίστοιχα σε 3.920, 3.940, 3.960 και 3.970 mg πρότυπης κρέμας. **Οι τελικές συγκεντρώσεις του aluminium chlorohydrate στα δείγματα αντίστοιχα ήταν 0.495% w/w, 0.148% w/w, 0.099% w/w, 0.074% w/w, 0.049% w/w και 0.037% w/w.** Τα αραιωμένα γαλακτώματα αναδεύτηκαν μέχρι να ομογενοποιηθούν και ύστερα λήφθηκε 1.0 g του καθενός και τοποθετήθηκε σε ξεχωριστά βαζάκια. Μέσα σε κάθε βαζάκι προστέθηκε αργότερα η κερσετίνη σε ποσότητα 20μL, το stock της οποίας παρασκευάστηκε με αρχική διάλυση 100mg κερσετίνης σε 1mL αιθανόλης και κατόπιν λήψη 100μL αυτού του διαλύματος και εκ νέου διάλυση σε 400μL αιθανόλης. Δηλαδή η **συγκέντρωση της κερσετίνης ήταν 0.5 mg/g κρέμας.** Μετά την ανάδευση και την ομογενοποίηση που ακολούθησε την προσθήκη της κερσετίνης, αναπτύχθηκε χρώμα και μια μικρή ποσότητα από το κάθε δείγμα τοποθετήθηκε σε ένα well ώστε να μπορέσει να αναλυθεί η ένταση του χρώματος στην σειρά των δειγμάτων που περιείχαν αυξανόμενες συγκεντρώσεις του aluminium chlorohydrate. Η ίδια διαδικασία έγινε και για 1g της πρότυπης κρέμας BC στην οποία δεν περιέχονταν καθόλου aluminium chlorohydrate και αποτελούσε το blank. Η εικόνα των δειγμάτων έδινε ένα πολύ αντίστοιχο οπτικό σήμα έντασης χρώματος (έτσι όπως αξιολογήθηκε με γυμνό μάτι) για τις

περισσότερες από τις συγκεντρώσεις που εξετάστηκαν. Συγκεκριμένα, εξαιρώντας το well που περιείχε το blank, στην πλειοψηφία των υπολοίπων δεν υπήρχε σαφής διάκριση χρώματος και διαβάθμιση της έντασης και του τόνου του χαρακτηριστικού κίτρινου που προκύπτει από την αντίδραση συμπλοκοποίησης κερσετίνης και αργιλίου. Συνεπώς έγινε αντιληπτό ότι η εξεταζόμενη ποσότητα του aluminium chlorohydrate ήταν αρκετά μεγάλη και υπήρχε κορεσμός στα περισσότερα δείγματα.

---

### 3.2.2 ΠΕΙΡΑΜΑ 2: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE

Σε δεύτερο χρόνο παρασκευάστηκε νέο stock aluminium chlorohydrate 5.5% w/w, με την προσθήκη 1.1g του αρχικού υδατικού διαλύματος 50% w/w σε 8.9g της πρότυπης κρέμας και νέο stock κερσετίνης με την προσθήκη 100mg της σε 10mL αιθανόλης. Παρασκευάστηκαν νέα αραιωμένα γαλακτώματα με την προσθήκη 80, 60, 40, 30mg του 5.5% w/w σε 3.920, 3.940, 3.960 και 3.970mg πρότυπης κρέμας, ενώ χρησιμοποιήθηκαν και 4000mg μεμονωμένης κρέμας BC χωρίς το aluminium chlorohydrate. **Επομένως οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων σε aluminium chlorohydrate αντίστοιχα ήταν 0.11 % w/w, 0.082 % w/w, 0.055 % w/w και 0.041 % w/w.** Τοποθετώντας 40μL από το νέο stock κερσετίνης σε κάθε δείγμα (δηλαδή η συγκέντρωση της κερσετίνης ήταν 0.38 mg/ g κρέμας) και αναμειγνύοντας το, παραλήφθηκε μία μικρή ποσότητα των 5 δειγμάτων και μεταφέρθηκε στα καψίδια. Παρατηρώντας τα καψίδια και φωτογραφίζοντας τα ανά 5 λεπτά, παρατηρήθηκε μεν διαφοροποίηση στο χρώμα σε κάποια από τα δείγματα, όμως δεν αξιολογήθηκε ως αξιόπιστη λόγω της εμφανούς ετερογένειας τους στην φωτογραφία. **Λόγω της έλλειψης ομοιγένειας χρώματος και υφής στα δείγματα, όπως προέκυψε και από την ανάλυση του χρώματος της επιφάνειας κάθε καψιδίου μέσω του προγράμματος ανάλυσης των φωτογραφιών, δεν θεωρήθηκαν αντιπροσωπευτικά και δεν μπόρεσε να διαφανεί η αναλογία έντασης χρώματος και συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate.** Η ανομοιογένεια αποδόθηκε στην μη επιτυχή ανάμειξη της κερσετίνης στο σχετικά παχύρρευστο γαλακτώμα και λόγω αυτού στα πείραμα που

ακολούθησαν, παρασκευάστηκαν δείγματα στα οποία προστέθηκε και νερό για να ευνοηθεί η ομογενής ανάμειξη.

---

### **3.2.3 ΠΕΙΡΑΜΑ 3: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΕΩΝ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE**

Σε επόμενη δοκιμή δοκιμάστηκε παρασκευή 3 μεγαλύτερων αραιώσεων με βάση το 5.5%w/w stock του aluminium chlorohydrate. Πιο συγκεκριμένα για την αραιώση 1:150 χρησιμοποιήθηκαν 200mg του stock αυτού και προστέθηκαν σε 29.800 mg πρότυπης κρέμας, με συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate δηλαδή **0.0367%w/w**. Από τα 30g του αραιωμένου προϊόντος (της αραιώσης 1:150 δηλαδή), ληφθήκαν 50mg που προστέθηκαν σε τελική ποσότητα 50g πρότυπης κρέμας BC (αραιώση 1:150.000) και άλλα 50mg που προστέθηκαν σε τελική ποσότητα 25g κρέμας (αραιώση 1:75.000) και αντίστοιχα προέκυψαν οι συγκεντρώσεις 0.0000367%w/w και 0.0000734%w/w. Σε ποσότητα 1g από το κάθε αραιωμένο γαλάκτωμα προστέθηκαν 500μL κερσετίνης από το stock συγκέντρωσης 10mg/ml (**συνεπώς η συγκέντρωση της κερσετίνης ήταν 3.33 mg/ g κρέμας**), ενώ το ίδιο συνέβη και για 1g πρότυπης κρέμας BC ελεύθερης aluminium chlorohydrate. Οι μεγαλύτερες αραιώσεις (1:150.000 και 1:75.000) που παρασκευάστηκαν φάνηκε να περιείχαν ελάχιστη ποσότητα aluminium chlorohydrate καθώς έδιναν το ίδιο τελικό χρώμα τόσο μεταξύ τους, όσο και με το blank. **Συνεπώς διαπιστώθηκε πως μεταξύ των τριών αραιώσεων που παρασκευάστηκαν, η καταλληλότερη ήταν η 1:150 η οποία διαφοροποιήθηκε από το blank καθώς αναπτύχθηκε χρώμα και αντιπροσώπευε μία περιοχή συγκεντρώσεων aluminium chlorohydrate γύρω στο 0.0367%w/w.**

---

### **3.2.4 ΠΕΙΡΑΜΑ 4: ΑΡΧΙΚΗ ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΒΕΛΤΙΣΤΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ ΚΕΡΣΕΤΙΝΗΣ**

Προκειμένου να βρεθεί και η κατάλληλη ποσότητα κερσετίνης που έπρεπε να προστεθεί, χρησιμοποιήθηκε κάθε φορά 1g αραιωμένου γαλακτώματος 5.5% w/w aluminium chlorohydrate σε αραιώση 1:150 και 1g πρότυπης κρέμας ελεύθερης aluminium chlorohydrate. Σε αυτό προστέθηκε διάλυμα κερσετίνης συγκέντρωσης 10mg/mL, σε ποσότητα 40, 80 και 160μL, στο πλαίσιο εύρεσης των βέλτιστων πειραματικών συνθηκών. Επομένως τα δείγματα που προέκυψαν

είχαν συγκέντρωση σε κερσετίνη 0.384 mg/mL, 0.740 mg/mL και 1.379 mg/mL αντίστοιχα. **Η ασθενέστερη χρωματική διαβάθιση προέκυψε με την ποσότητα των 40μL η οποία κρίθηκε ως ακατάλληλη, ενώ η εντονότερη διαβάθμιση και διαφοροποίηση χρώματος παρατηρήθηκε με την ποσότητα των 80μL και 160μL οπότε η περιοχή συγκέντρωσης των δειγμάτων σε κερσετίνη (0.740-1.379) mg/mL θεωρήθηκε και η καταλληλότερη.**

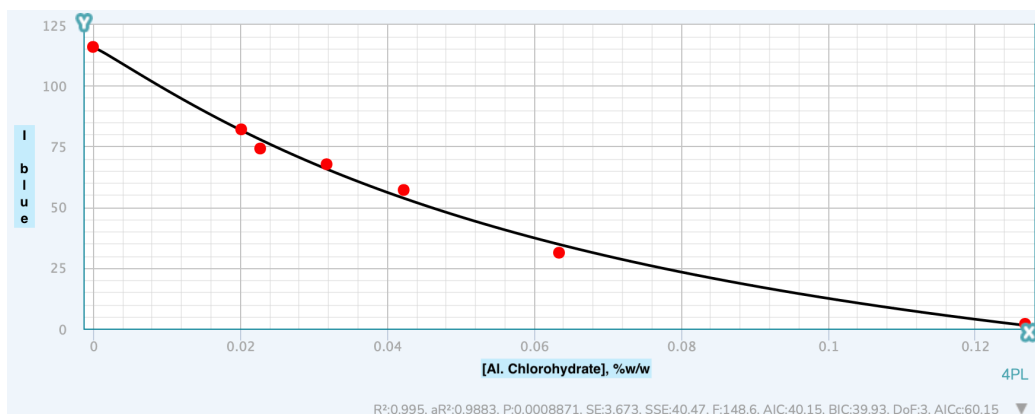
---

### **3.2.5 ΠΕΙΡΑΜΑ 5: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ ΚΑΙ ΕΥΡΟΥΣ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΠΕΡΙΟΧΗΣ**

Στην συνέχεια δοκιμάστηκαν νέες αραιώσεις και προστέθηκε και νερό στα ενδιάμεσα στάδια παρασκευής των προτύπων προκειμένου να βελτιωθεί η υφή και η ομοιογένεια τους και να διευκολυνθεί ο χειρισμός τους. Για την αραιώση 1:200 χρησιμοποιήθηκε 0.1g του αρχικού stock 5.5% aluminium chlorohydrate, 19.9g της πρότυπης κρέμας και 2mL νερό. Για την αραιώση 1:150 χρησιμοποιήθηκαν 2mL του έτοιμου δείγματος 1:150 που είχε παρασκευαστεί στο πείραμα 4 και προστέθηκαν τα 400μL νερό. Για την αραιώση 1:100 ζυγίστηκε 0.1mL του 5.5% και προστέθηκαν 9.9 mL κρέμας και 4 mL νερό. Για την αραιώση 1:75, ζυγίστηκε 0.1g του 5.5%, 7.40mL κρέμας και 2.9 mL νερό. Η αραιώση 1:50 παρασκευάστηκε με 0.1g του 5.5%, 4.90mL κρέμας και 2mL νερό. Για την αραιώση 1:25 ζυγίστηκε 0.1g του 5.5%, 2.40g της πρότυπης κρέμας και 1.25mL νερού. **Επομένως οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων σε aluminium chlorohydrate ήταν 0, 0.249% w/w, 0.0305% w/w, 0.0392% w/w, 0.0528% w/w, 0.0785% w/w και 0.1466% w/w.** Ύστερα παρασκευάστηκε νέο stock κερσετίνης, με την προσθήκη 100mg του αντιδραστηρίου σε 18mL αιθανόλης και 12mL νερού, οπότε παρασκευάστηκε **υδατικό διάλυμα κερσετίνης συγκέντρωσης 3,33 mg/mL.** Από τα αραιωμένα δείγματα λήφθηκε 1g από το καθένα και προστέθηκαν 240μL του διαλύματος κερσετίνης (**0.596mg/g κρέμας**), μαζί με 100μL νερό για την ανάδευση. Μετά την τοποθέτηση κάθε δείγματος σε ξεχωριστό well και την λήψη φωτογραφιών ανά 5 λεπτά, **παρατηρήθηκε ότι η ένταση του κίτρινου χρώματος πράγματι αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του αργιλίου.** Πιο συγκεκριμένα, το λιγότερο έντονο κίτρινο παρατηρήθηκε, όπως ήταν αναμενόμενο, στο well που περιείχε μόνο την κρέμα BC όπου η συγκέντρωση του aluminium

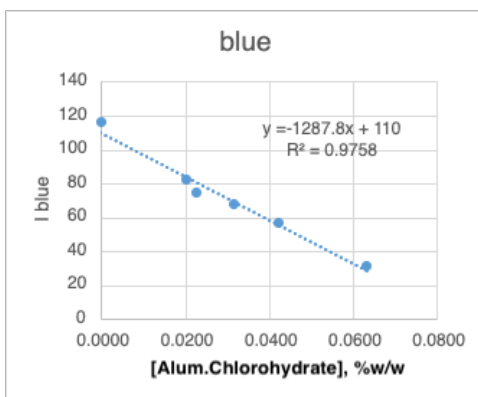
chlorohydrate ήταν μηδενική και το εντονότερο κίτρινο αναπτύχθηκε στο well με την αραιώση 1:25, με την μεγαλύτερη δηλαδή συγκέντρωση του αργιλίου (**0.1466% w/w**). Σχεδιάζοντας την γραφική παράσταση της σχέσης μεταξύ συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate και έντασης χρώματος (χρησιμοποιώντας την μπλε συνιστώσα και με ανάλυση της φωτογραφίας στα 10 λεπτά), λήφθηκε το γράφημα 3.2.5A από το οποίο προκύπτει πως υπήρχε γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης του χρώματος και της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε aluminium chlorohydrate με  $R^2$  **0.995**. Απομονώνοντας την γραμμική περιοχή από το γράφημα 3.2.5A, προκύπτουν τα γραφήματα 3.2.5B (blue channel) και 3.2.5Γ (average) από τα οποία προκύπτει ότι η γραμμική περιοχή εκτείνεται μεταξύ 0 και 0.063% w/w aluminium chlorohydrate. Το  $R^2$  με τιμή 0.9758 υποδεικνύει μια σημαντική γραμμική συσχέτιση.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.5A

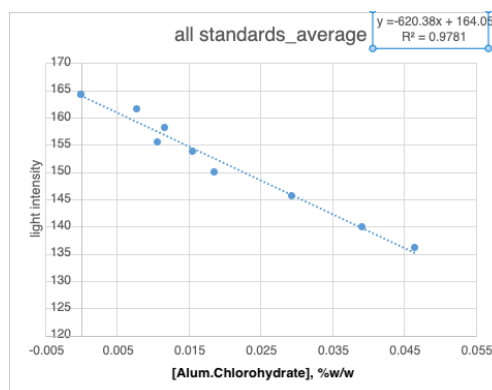


ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.5.A: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα **blue**, κατά την διεξαγωγή του πειράματος σε γαλάκτωμα, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.5B



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.5Γ



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.5B: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα **blue**, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων, το γράφημα προκύπτει απομονώνοντας **την γραμμική περιοχή από το γράφημα 3.2.5A**

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.5Γ: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα **average**, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων, το γράφημα προκύπτει απομονώνοντας **την γραμμική περιοχή από το γράφημα 3.2.5A**

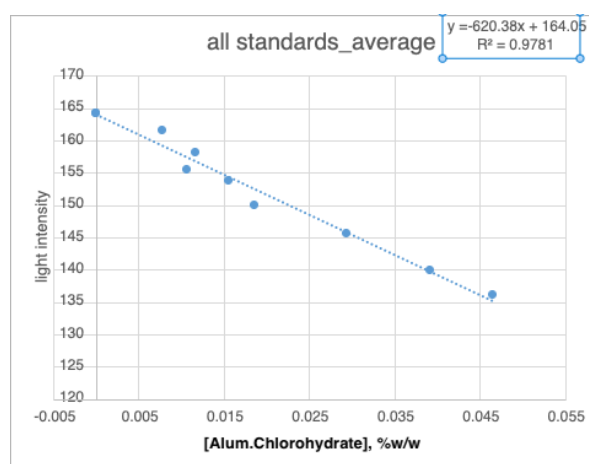
---

### **3.2.6 ΠΕΙΡΑΜΑ 6: ΠΡΟΣΘΗΚΗ ΝΕΡΟΥ ΣΤΑ ΔΕΙΓΜΑΤΑ ΚΑΙ ΕΠΙΒΕΒΑΙΩΣΗ ΓΡΑΜΜΙΚΗΣ ΣΥΣΧΕΤΙΣΗΣ**

Δοκιμάζοντας νέες αραιώσεις στις οποίες επίσης προστέθηκε νερό, παρασκευάστηκε ξανά το stock **4.36% w/w aluminium chlorohydrate** με προσθήκη 1.1g aluminium chlorohydrate σε 8.9g BC κρέμας, ενώ χρειάστηκαν επιπλέον και 2.6mL νερού προκειμένου να ομογενοποιηθεί το stock και να έχει την επιθυμητή υφή. Για όλες τις αραιώσεις χρησιμοποιήθηκε 0.1g aluminium chlorohydrate. Για τις πρώτες αραιώσεις 1:300 και 1:220 χρησιμοποιήθηκε 0.1g aluminium chlorohydrate στην καθεμία και προστέθηκαν 29.9g και 21.9g κρέμας BC, ενώ προστέθηκε και νερό σε ποσότητα 12mL και 8mL αντίστοιχα. Για την αραιώση 1:200 χρησιμοποιήθηκαν 19.9g κρέμας BC και 8mL νερού. Η αραιώση 1:150 παρασκευάστηκε με 14.9g BC και 6mL νερού, η 1:100 με 9.90g BC και 4 mL νερού και η 1:50 με 4.90g κρέμας και 2mL νερού. **Οι συγκεντρώσεις των προτύπων σε aluminium chlorohydrate ήταν 0.010% w/w, 0.014% w/w, 0.015% w/w, 0.021% w/w, 0.031% w/w και 0.062% w/w αντίστοιχα.** Για το δείγμα μηδέν (blank), ζυγίστηκε 1.0g κρέμας, ενώ επαναχρησιμοποιήθηκαν και τα προηγούμενα δείγματα με τις αραιώσεις 1:200, 1:100, 1:75 και 1:50 χωρίς να προστεθεί επιπλέον νερό. Ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία ζύγισης 1g δείγματος, προσθήκης 240μL διαλύματος κερσετίνης 3.33 mg/mL, ανάδευσης, τοποθέτησης σε καψίδια και φωτογράφισης ανά 5 λεπτά. Κατόπιν φωτογράφισης στα 10 λεπτά και **μετά από χρωματομετρική ανάλυση των προτύπων, προέκυψε ξανά ότι η ένταση του χρώματος είναι ανάλογη της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate.** Κατασκευάζοντας την καμπύλη αναφοράς μεταξύ συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate και έντασης χρώματος (χρησιμοποιώντας τον μέσο όρο των επιμέρους συνιστωσών), λήφθηκε το γράφημα 3.2.6 που με  $R^2$  ίσο με 0.9781,

αποδεικνύει την γραμμική συσχέτιση τους. Η γραμμική περιοχή σύμφωνα με το γράφημα 3.2.6 εκτείνεται μεταξύ 0 και 0.046 % w/w aluminium chlorohydrate. Επομένως προκύπτει ότι η γραμμική συσχέτιση της έντασης του χρώματος και της περιεκτικότητας των δειγμάτων σε aluminium chlorohydrate εξακολουθεί να υφίσταται, όπως ήταν αναμενόμενο και με την προσθήκη νερού η οποία είναι απαραίτητη για τον ευκολότερο χειρισμό και την καλύτερη ομοιογένεια των δειγμάτων.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.6



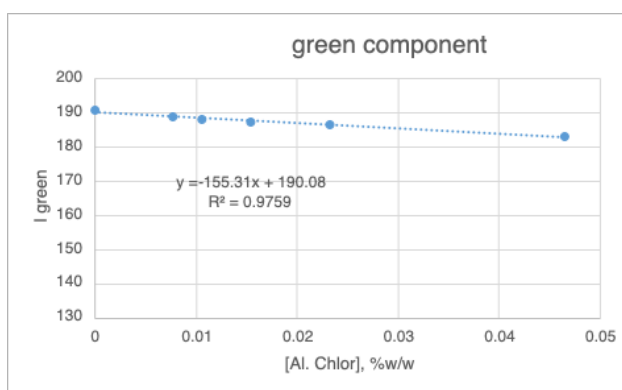
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.6: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα average, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων

### 3.2.7 ΠΕΙΡΑΜΑ 7 : ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ ΑΡΑΙΩΜΕΝΟ STOCK ΚΕΡΣΕΤΙΝΗΣ

Σε επόμενο πείραμα τα ίδια δείγματα του πειράματος 6 αναπτύχθηκαν με την ίδια διαδικασία, με διαφορετικό stock κερσετίνης. Το αραιωμένο stock της κερσετίνης παρασκευάστηκε με 1:5 αραιώση του προηγούμενου 3,33 mg/mL stock της κερσετίνης σε αιθανόλη, με αποτέλεσμα το νέο stock να έχει συγκέντρωση **0.644mg/mL**. Μετά την προσθήκη 240μL της αραιωμένης κερσετίνης, προστέθηκαν και 100μL νερού σε κάθε δείγμα και μετά φωτογραφήθηκαν τα καψίδια στα οποία ήταν τοποθετημένα. Η τελική συγκέντρωση των προτύπων σε κερσετίνη ήταν **0.115mg/mL**, ενώ σε aluminium chlorohydrate ήταν αντίστοιχα **0**, **0.00775 % w/w**, **0.0155 % w/w**, **0.0106 % w/w**, **0.0233 % w/w** και **0.0465 % w/w**. Τελικά προέκυψε και πάλι διαβάθμιση της έντασης του κίτρινου χρώματος

ανάλογη με την συγκέντρωση του aluminium chlorohydrate. Μετά την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς με χρήση της πράσινης συνιστώσας, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση παρασκευής των προτύπων, αποδείχθηκε πράγματι ότι και στο αραιωμένο stock εξακολούθησε να ισχύει η γραμμική συσχέτιση με  $R^2$  ίσο με 0.976, όπως φαίνεται και στο γράφημα 3.2.7Α. Αυτό παρατηρήθηκε παρόλο που η αναλογία mol κερσετίνης και aluminium chlorohydrate ήταν μεταξύ 0.17-1.04.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.7Α



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.7Α: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων, όλα τα δείγματα αναπαρίστανται ως σημεία στο γράφημα

### 3.2.8 ΠΕΙΡΑΜΑ 8: ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ ΠΥΚΝΟ STOCK ΚΕΡΣΕΤΙΝΗΣ

Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε και για πυκνό stock κερσετίνης που δημιουργήθηκε με διάλυση 500mg σκόνης κερσετίνης σε 30 mL αιθανόλης, με αποτέλεσμα να προκύψει stock συγκέντρωσης **16.6 mg/ mL**. Μετά την κερσετίνη, προστέθηκαν και 100μL νερού σε κάθε δείγμα και ληφθήκαν φωτογραφίες. Ωστόσο το χρώμα ήταν πολύ έντονο σε όλα τα δείγματα και δεν υπήρχε οπτική διαφοροποίηση του ανεξαιρέτως συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate. Λόγω αυτού η συγκέντρωση αυτή της κερσετίνης θεωρήθηκε ακατάλληλη για χρήση στον ποσοτικό προσδιορισμό του aluminium chlorohydrate και δεν κατασκευάστηκε καμπύλη

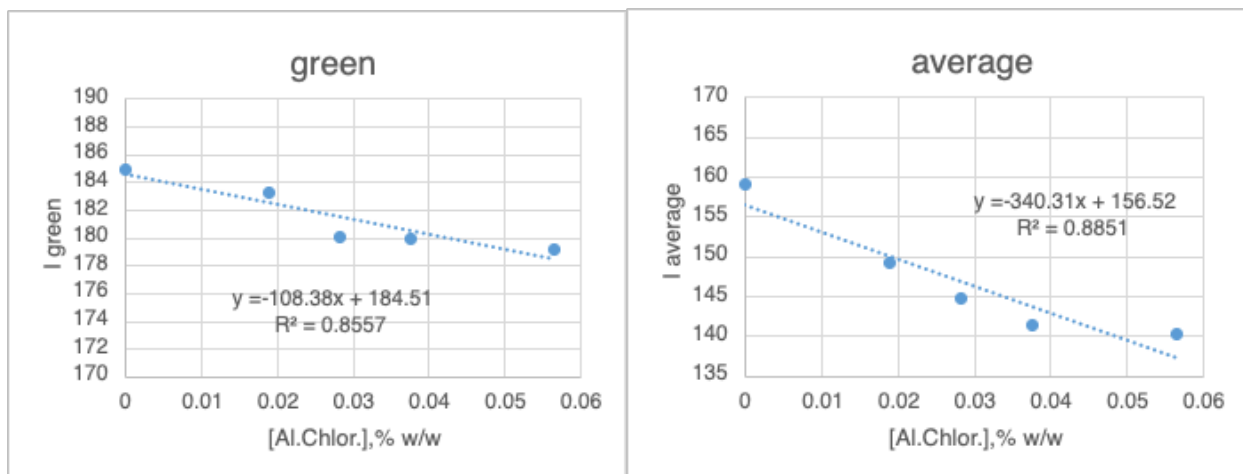


**αναφοράς.** Σε νέο πείραμα αναπτύχθηκαν τα ίδια δείγματα για stock κερσετίνης 2,5 φορές πυκνότερο από το stock 3.33mg/mL, δηλαδή συγκέντρωσης **8.32 mg/mL**. Από το νέο stock προστέθηκαν εκ νέου 240μL και 100μL νερού. Τα δείγματα που προέκυψαν είχαν συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate **0, 0.019% w/w, 0.028% w/w, 0.038% w/w και 0.057% w/w**. Ύστερα τα δείγματα φωτογραφήθηκαν και με την ανάλυση της φωτογραφίας που λήφθηκε σε χρόνο  $t=10\text{min}$ , υπήρξε και πάλι αναλογία της έντασης του χρώματος με την αύξηση της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate, όπως φαίνεται στο γράφημα 3.2.8Γ. **Σύμφωνα με το γράφημα 3.2.8Γ, εξακολούθησε να ισχύει η γραμμική συσχέτιση με  $R^2 0.995$ . Η γραμμική περιοχή όμως φαίνεται πιο περιορισμένη σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις aluminium chlorohydrate λόγω της συνεισφοράς της μη συμπλοκοποιημένης κερσετίνης στην ένταση του ανακλώμενου χρώματος.** Αυτό φαίνεται και στα γραφήματα 3.2.8Α και 3.2.8Β, που αντιπροσωπεύουν τις καμπύλες αναφοράς που κατασκευάστηκαν με τις συνιστώσες του green και average, με  $R^2 0.856$  και **0.885** αντίστοιχα. Οι χαμηλότερες τιμές της γραμμικής συσχέτισης, προκύπτουν στα γραφήματα 3.2.8Α και 3.2.8Β όταν συμπεριλαμβάνονται για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς όλα τα δείγματα με εύρος συγκεντρώσεων που φτάνει μέχρι το 0.057%, δηλαδή αντιστοιχεί στην γραμμική περιοχή του αραιότερου stock κερσετίνης συγκέντρωσης 3.33 mg/mL. Οι τιμές της γραμμικής συσχέτισης ωστόσο αποκαθίστανται όταν χρησιμοποιούνται για την κατασκευή της καμπύλης αναφοράς δείγματα με συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate μέχρι 0.038% w/w, όπως φαίνεται στο γράφημα 3.2.8Γ. **Στο γράφημα 3.2.8Γ δηλαδή, η γραμμική περιοχή είναι πιο περιορισμένη και εκτείνεται από το 0 μέχρι το 0.038% w/w**, οπότε προκύπτει ότι για τις συγκεντρώσεις αυτές, η γραμμική συσχέτιση βελτιώνεται, καθώς προκύπτει  $R^2 0.995$ . Ο περιορισμός της γραμμικής περιοχής στο πείραμα όπου χρησιμοποιείται το πυκνό stock της κερσετίνης φαίνεται λογικός καθώς η ίδια κερσετίνη αποκτά ένα εντονότερο χρώμα κι έτσι προστίθεται ένα background κίτρινο χρώμα σε όλα τα δείγματα το οποίο μπορεί να επιφέρει έναν γρηγορότερο κορεσμό. Επίσης ενδέχεται λόγω της περίσσειας κερσετίνης να αλλάζει η αναλογία δέσμευσης κερσετίνης και aluminium chlorohydrate προς έγχρωμο σύμπλοκο εντονότερου χρώματος. Γενικά, φαίνεται ότι η αντίδραση αργιλίου κερσετίνης

δεν περιγράφεται από την αναλογία 1:1, αλλά η αντίδραση συμβαίνει με τέτοιο τρόπο ώστε πολλά μόρια aluminium chlorohydrate να δεσμεύονται από 1 μόριο κερσετίνης, έτσι ώστε να είναι πάντα σε περίσσεια η κερσετίνη. Το γεγονός του ότι η αύξηση της κερσετίνης δεν οδήγησε στη δημιουργία αυξημένου αριθμού συμπλόκων με το αργίλιο ( $\Delta I_{\text{green}}(0-0.047: [\text{ALC}])=7.631$  για συγκέντρωση κερσετίνης 0.644 mg/mL, ( $\Delta I_{\text{green}}(0-0.056: [\text{ALC}])=5.728$  για συγκέντρωση κερσετίνης 8.32 mg/mL) ίσως αποτελεί ποσοτική ένδειξη ότι δεν πρόκειται για αντίδραση 1:1. Συγκρίνοντας τα πειράματα 7 και 8 μεταξύ τους προκύπτει ότι για παρόμοιες συγκεντρώσεις aluminium chlorohydrate παρατηρήθηκαν αρκετά παρόμοιες πτώσεις της έντασης του χρώματος παρόλο που στην δεύτερη περίπτωση ήταν η κερσετίνη σε πολύ μεγαλύτερη συγκέντρωση (12.5 φορές μεγαλύτερη). Στην πρώτη περίπτωση, του αραιωμένου stock η διαφορά της έντασης του χρώματος (για την συνιστώσα green) για συγκέντρωση του aluminium chlorohydrate από 0 μέχρι 0.047 ήταν ίση με 7.631 ενώ στην περίπτωση του πυκνότερου stock (για την συνιστώσα green) για συγκέντρωση του aluminium chlorohydrate από 0 μέχρι 0.056 ήταν ίση με 5.728.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.8Α

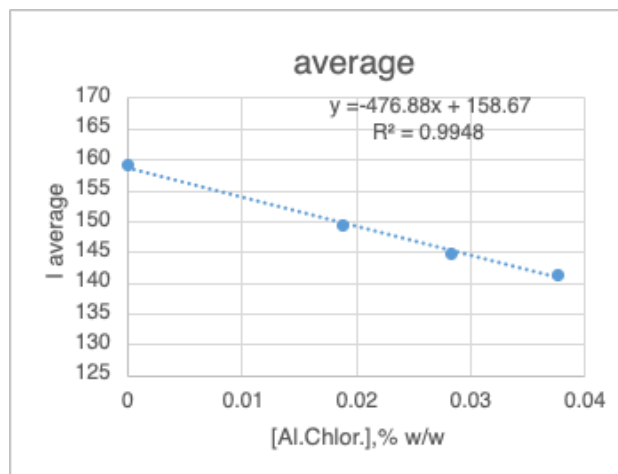
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.8B



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.8Α: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων, όλα τα δείγματα αναπαρίστανται ως σημεία στο γράφημα

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.8B: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα average, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων, όλα τα δείγματα αναπαρίστανται ως σημεία στο γράφημα

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.8Γ



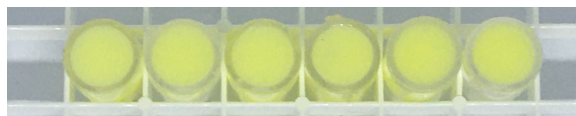
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.8Γ: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα average, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των προτύπων, μόνο τα δείγματα με συγκεντρώσεις (0-0.038)%w/w αναπαρίστανται ως σημεία στο γράφημα

### 3.2.9 ΠΕΙΡΑΜΑ 9: ΠΟΣΟΤΙΚΟΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE ΣΕ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗ ΛΟΣΙΟΝ

Σε νέο πείραμα έγινε προσπάθεια ποσοτικού προσδιορισμού του aluminium chlorohydrate σε νέα γαλακτωματοποιημένη λοσιόν καθαρισμού τυπικής σύνθεσης με συστατικά όπως φαίνονται στον πίνακα 5, η οποία παρασκευάστηκε από φοιτητές στο εργαστηριακό μάθημα της Δερματοκοσμητολογίας Ι, στο πλαίσιο της αντίστοιχης εργατηριακής άσκησης. Με βάση την λοσιόν αυτήν παρασκευάστηκε 5.5% stock του aluminium chlorohydrate με προσθήκη 1.1g του αντιδραστηρίου σε 8.9g της λοσιόν. Έπειτα παρασκευάστηκαν αραιώσεις 1:400, 1:300, 1:250, 1:200 και 1:150 με προσθήκη 0.05g του 5.5% stock σε 19.95g, 14.95g κρέμας και προσθήκη 1.0g του 5.5% stock σε 24.9g, 19.9g και 14.9g αντίστοιχα, ενώ παρασκευάστηκε και το blank. Τα δείγματα είχαν τις εξής συγκεντρώσεις: **0.01375% w/w, 0.0183% w/w, 0.022% w/w, 0.0275% w/w και 0.0367% w/w aluminium chlorohydrate**. Λόγω της λεπτόρρευστης υφής της λοσιόν, δεν κρίθηκε απαραίτητη η προσθήκη νερού. Μετά την παρασκευή των δειγμάτων, μεταφέρθηκε 1g από το καθένα σε βαζάκι και προστέθηκαν 240μL stock κερσετίνης συγκέντρωσης 3.33mg/mL. Μετά την μεταφορά σε καψίδια, **διαπιστώθηκε πως το χρώμα δεν ήταν ανάλογο της**

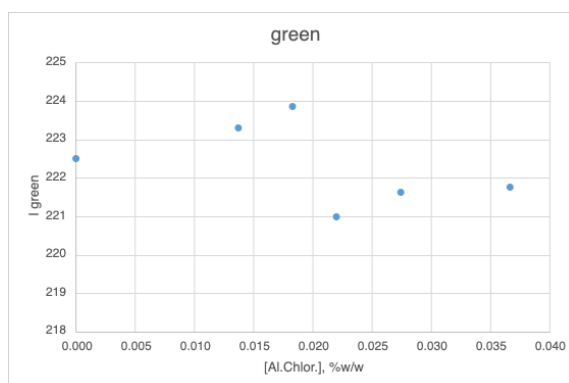
**συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate και ήταν σε κάθε περίπτωση πιο έντονο από ότι συνήθως, όπως φαίνεται και στην εικόνα 5 και στο γράφημα 3.2.9, με  $R^2$  με πολύ χαμηλή τιμή (0.19). Μια υπόθεση που θα μπορούσε να εξηγήσει αυτήν την παρατήρηση είναι ότι η κερσετίνη δεσμεύτηκε με κάποιο μέταλλο εκτός του αργιλίου, που περιέχονταν σε όλα τα δείγματα σε ίδια συγκέντρωση. Αυτό είναι πάρα πολύ πιθανό, όπως διαπιστώθηκε αργότερα, λόγω του ότι η παρασκευή της λοσιόν δεν έγινε με νερό επαρκώς απιονισμένο. Έτσι είναι πιθανό τα προερχόμενα από το νερό μέταλλα να δεσμεύτηκαν από την κερσετίνη με αποτέλεσμα την παραγωγή του ίδιου έγχρωμου συμπλόκου σε όλα τα δείγματα. Επομένως είναι πολύ σημαντική η αποφυγή επιμόλυνσης των αντιδραστηρίων και κυρίως των αραιωτικών μέσων, δηλαδή του νερού και της κρέμας BC με μέταλλα καθώς δεσμεύονται από την κερσετίνη δημιουργώντας εγχρώμα προϊόντα που παρεμβάλλονται στο πραγματικό σήμα που οφείλεται στο aluminium chlorohydrate.**

ΕΙΚΟΝΑ 5



ΕΙΚΟΝΑ 5: Τα καψίδια φωτογραφήθηκαν αμέσως μετά την ολοκλήρωση παρασκευής όλων των δειγμάτων ( $t=0$ ), όμως δεν υπήρχε καμία διαφοροποίηση της έντασης του χρώματος και σε όλα κυριαρχούσε το ίδιο ισχυρό οπτικό σήμα, οι συγκεντρώσεις σε aluminium chlorohydrate ήταν από από αριστερά προς τα δεξιά 0, 0.01375%w/w, 0.0183%w/w, 0.022%w/w, 0.0275% w/w και 0.0367%w/w.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.9



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.9: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, αμέσως μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων ( $t=0$ ), τα σημεία προέκυψαν βάσει της ΕΙΚΟΝΑΣ 5.

ΕΚΑΤΟΣΤΙΑΙΑ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΛΟΣΙΟΝ	
Aqua	63,79%
Stearic acid	3,50%
SABOWAX FL 65	2,80%
Paraffinum liquidum	12,00%
Isopropyl myristate	5,00%
Octyldodecanol	3,00%
AMERCHOL L-101	3,00%
Almond oil (Sweet)	2,50%
Propylparaben	0,10%
BHT	0,01%
Methylparaben	0,25%
Glycerin	3,00%
Triethanolamine 99%	0,50%
Germall 115	0,30%
Parfum	0,25%

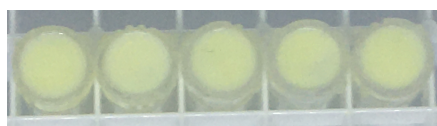
**ΠΙΝΑΚΑΣ 5: ΕΚΑΤΟΣΤΙΑΙΑ ΠΟΣΟΤΙΚΗ ΣΥΝΘΕΣΗ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΟΠΟΙΗΜΕΝΗΣ ΛΟΣΙΟΝ**

### **3.2.10 ΠΕΙΡΑΜΑ 10: ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΚΡΕΜΑ ΜΟΝΤΑΝΟΝ**

Ανάλογη διαδικασία ακολουθήθηκε για δείγματα με βάση κρέμα που περιείχε τον O/W μη ιονικό γαλακτωματοποιητή Montanon, η σύσταση της οποίας παρατίθεται στον πίνακα 6. Αρχικά δημιουργήθηκε το stock 5.5% του aluminium chlorohydrate με προσθήκη 0.55g σε 4.45g της κρέμας αυτής. Εν συνεχεία παρασκευαστήκαν αραιώσεις 1:400, 1:300, 1:250 και 1:200, με προσθήκη 0,05g του 5.5% stock σε 19.95g, 14.95g κρέμας montanon αντίστοιχα και 0.03g του stock σε 8.30g και 6.63g αντίστοιχα. **Οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων σε aluminium chlorohydrate ήταν 0.01375% w/w, 0.0183% w/w, 0.0198% w/w και 0.0248% w/w.** Για την παρασκευή του δείγματος μηδέν ζυγίστηκε 1g του stock. Αφού

ζυγίστηκε 1g από το κάθε δείγμα, προστέθηκαν 200μL κερσετίνης 3.33mg/mL και 100μL νερού. Μετά την ανάδευση, προέκυψε το ίδιο **πολύ ασθενές χρώμα** σε όλα τα δείγματα, όπως φαίνεται και στην εικόνα 6 και στο διάγραμμα 3.2.10 με πολύ χαμηλή τιμή  $R^2$  (**0.64**), με αποτέλεσμα να διαπιστωθεί ότι δεν υπήρχε κάποια γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης του χρώματος των δειγμάτων και της περιεκτικότητάς τους σε aluminium chlorohydrate. Το αργίλιο που περιέχονταν στην κρέμα, πιθανολογείται ότι ήταν σε πολύ μικρή συγκέντρωση και δεν μπόρεσε να ποσοτικοποιηθεί στην συγκέντρωση αυτή στην μήτρα montanov. **Διαπιστώθηκε επομένως, σύμφωνα με το γράφημα 3.2.10 ότι η γραμμική περιοχή της BC δεν ταυτίζεται με την γραμμική περιοχή της montanov κι έτσι το πείραμα αναπροσαρμόστηκε ώστε να αυξηθούν οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων σε aluminium chlorohydrate.**

ΕΙΚΟΝΑ 6



ΕΙΚΟΝΑ 6: Τα καψίδια φωτογραφήθηκαν αμέσως μετά την ολοκλήρωση παρασκευής όλων των δειγμάτων (t=0), όμως δεν υπήρχε καμία διαφοροποίηση της έντασης του χρώματος και σε όλα κυριαρχούσε το ίδιο πολύ ασθενές οπτικό σήμα, οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων ήταν από αριστερά προς τα δεξιά ίσες με 0, 0.01375%w/w, 0.0183%w/w, 0.0198%w/w και 0.0248%w/w aluminium chlorohydrate.

#### ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΡΕΜΑΣ ΜΟΝΤΑΝΟΒ

Aqua

C12-15 Alkyl Benzoate

Caprylic / Capric Triglyceride

Arachidyl Alcohol (and) Behenyl Alcohol (and) Arachidyl Glucoside

Phenoxyethanol

Ammonium Acryloyldimethyltaurate/ VP Copolymer

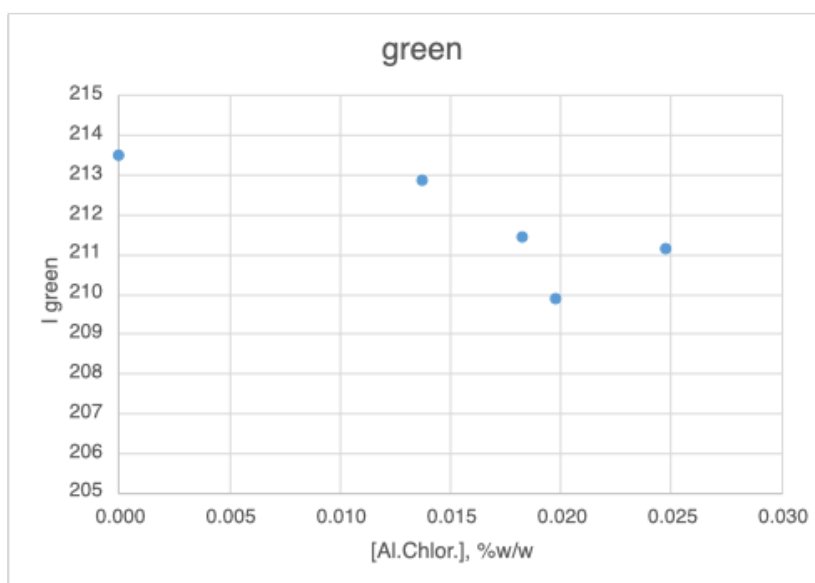
Ethylhexylglycerin

Citric Acid

ΠΙΝΑΚΑΣ 6: ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΡΕΜΑΣ ΜΟΝΤΑΝΟΒ



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.10



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.10: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, αμέσως μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων ( $t=0$ ), τα σημεία προέκυψαν βάσει της ΕΙΚΟΝΑΣ 6.

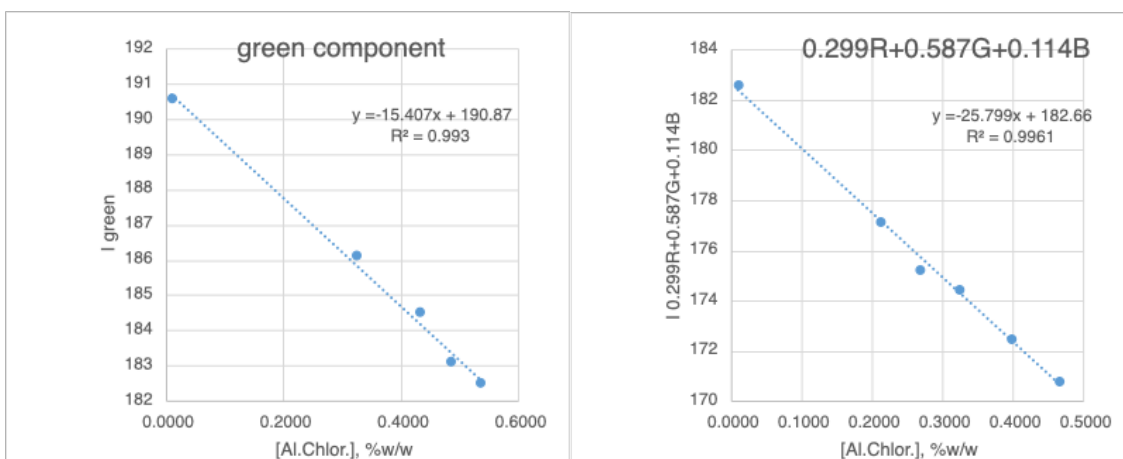
### 3.2.11 ΠΕΙΡΑΜΑ 11: ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΚΑΙ ΠΟΣΟΤΙΚΟΠΟΙΗΣΗ ΑΡΓΙΛΙΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΜΕ ΒΑΣΗ ΚΡΕΜΑ ΜΟΝΤΑΝΟΝ

Σε επόμενο πείραμα χρησιμοποιήθηκε το stock της κρέμας σε γαλακτωματοποιητή Montanon 5.5% w/w aluminium chlorohydrate, με αραιώση 1:400 στην ίδια την κρέμα. Προσθέτοντας κάθε φορά στην ίδια ποσότητα κρέμας (1g) διαφορετικές ποσότητες της αραιώσης 1:400 της montanon με συγκέντρωση 5.5% w/w σε aluminium chlorohydrate, παρασκευάστηκαν δείγματα με διαφορετική τελική συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate. **Με την προσθήκη 0, 80, 110, 125, 140, 170 και 200 mg του stock προέκυψαν δείγματα με τελική συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate: 0, 0.0106% w/w, 0.3255% w/w, 0.4327% w/w, 0.4846% w/w, 0.5350% w/w, 0.6325% w/w, 0.7251% w/w** και αντίστοιχη τελική συγκέντρωση σε κερσετίνη 0.512%w/w, 0.511%w/w, 0.512% w/w, 0.511%w/w, 0.511%w/w, 0.511%w/w και 0.512%w/w. Σε κάθε δείγμα προστέθηκαν 100μL νερού προκειμένου να διευκολυνθεί η ανάδευση και η ομογενοποίηση. Ύστερα ακολουθήθηκε η ίδια διαδικασία με βάση την αραιώση 1:300 της κρέμας montanon, με αντίστοιχη προσθήκη 0, 50, 65, 80, 100 και 120 mg σε 1g της για να παρασκευαστούν

δείγματα με τελικές συγκεντρώσεις σε aluminium chlorohydrate 0, 0.0106% w/w, 0.2125% w/w, 0.2696% w/w, 0.3255% w/w, 0.3976% w/w και 0.4672% w/w και αντίστοιχες τελικές συγκεντρώσεις σε κερσετίνη 0.512%w/w, 0.512%w/w, 0.513%w/w, 0.511%w/w, 0.512% w/w και 0.513%w/w. Μετά την λήψη της φωτογραφίας των δειγμάτων στα 10 λεπτά, η φωτογραφία αναλύθηκε και κατασκευάστηκαν 2 καμπύλες αναφοράς, με βάση την συνιστώσα green και με βάση την συνιστώσα 0.299R+0.587G+0.114B, όπως φαίνεται στα γραφήματα 3.2.11A και 3.2.11B. Τα αποτελέσματα όσον αφορά το χρώμα των δειγμάτων που τοποθετήθηκαν στα καψίδια με σειρά αυξανόμενης συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate υπέδειξαν ότι η ένταση του χρώματος αυξάνεται με την αύξηση της συγκέντρωσης του αργιλίου στο δείγμα. **Επομένως και στην κρέμα montanon υπάρχει γραμμικότητα, όπως φαίνεται και από γραφήματα 3.2.11A και 3.2.11B, με  $R^2 \geq 0.99$ , απλά είναι μετατοπισμένη σε μεγαλύτερες συγκεντρώσεις aluminium chlorohydrate.** Στην κρέμα montanon τα όρια ανίχνευσης (LOD) και ποσοτικοποίησης (LOQ) είναι πολύ υψηλότερα συγκριτικά με την κρέμα BC γιατί μάλλον λόγω του υψηλού pH της κρέμας montanon (6.15, στους 25°C) το aluminium chlorohydrate γίνεται αδιάλυτο με αποτέλεσμα να μην είναι όλη η ποσότητα του διαθέσιμη προς αντίδραση.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.11A

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.11B



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.11A: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, αμέσως μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων που προέκυψαν από την αραιώση 1:400 της κρέμας montanon (t=0)

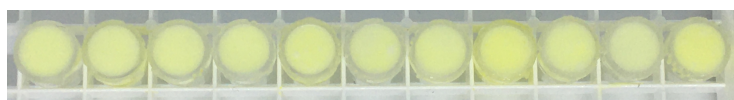
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.11B: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα 0.299R+0.587G+0.114B, αμέσως μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων που προέκυψαν από την αραιώση 1:300 της κρέμας montanon (t=0)



### 3.2.12 ΠΕΙΡΑΜΑ 12: ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΚΑΙ ΕΠΙΜΟΛΥΝΣΗ ΝΕΡΟΥ

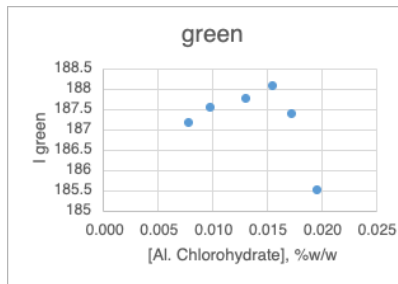
Σε νέο πείραμα χρησιμοποιήθηκαν εκ νέου τα stock 3.66% w/w του aluminium chlorohydrate της κρέμας BC, της φοιτητικής κρέμας και της κρέμας montanon, αφού στα τελευταία 2 παρασκευάστηκαν αραιώσεις 1:400 και 1:300. Ύστερα παρασκευαστήκαν με βάση την BC τα πρότυπα σε αραιώσεις 1:500, 1:400, 1:300, 1:250, 1:225 και 1:200, με συγκεντρώσεις **0.0078% w/w, 0.0098% w/w, 0.0131% w/w, 0.0156% w/w, 0.0173% w/w και 0.0196% w/w aluminium chlorohydrate** αντίστοιχα. Επίσης παρασκευάστηκε και δείγμα μόνο με BC χωρίς καθόλου aluminium chlorohydrate. Σε κάθε δείγμα προστέθηκε νερό σε ποσότητα 100μL και κερσετίνη από το stock 3.33 mg/mL σε ποσότητα 200μL οδηγώντας σε συγκέντρωση σε κερσετίνη 0.512 mg/mL. Μετά την ανάπτυξη των δειγμάτων λήφθηκε φωτογραφία 10 λεπτά αργότερα. **Τα αποτελέσματα ωστόσο δεν ήταν τα αναμενόμενα. Μετά από την ανάλυση της εικόνας 7, προέκυψε το γράφημα 3.2.12A, όπου συνυπάρχουν 2 διαφορετικές γραμμικές περιοχές. Στα γραφήματα 3.2.12B και 3.2.12Γ παρουσιάζονται οι 2 διαδοχικές γραμμικές περιοχές με μη σχετιζόμενη συσχέτιση έντασης χρώματος- συγκέντρωσης. Αυτές οι 2 περιοχές εμφανίζονται εντός περιοχής συγκεντρώσεων όπου σύμφωνα με προηγούμενο γράφημα (3.2.8A) αναμένονταν εννιαία γραμμική περιοχή. Επιπλέον το δείγμα 0 της BC που δεν περιείχε καθόλου αργίλιο, εμφανίστηκε εντονότερα από ότι συνήθως χρωματισμένο, όπως φαίνεται στην εικόνα 7, οδηγώντας στην υπόθεση ότι το νερό που χρησιμοποιήθηκε, είχε όπως επιβεβαιώθηκε αργότερα, ως πρόσμειξη μέταλλα τα οποία έχουν ανταγωνιστική σχέση με το αργίλιο για την συναρμογή με την κερσετίνη.**

EIKONA 7

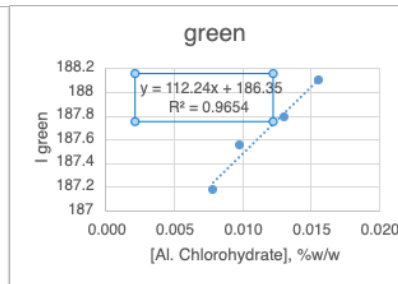


EIKONA 7: Τα καψίδια φωτογραφήθηκαν 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της προετοιμασίας των δειγμάτων (t=10 min) και ύστερα ακολούθησε η επεξεργασία της φωτογραφίας, οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων ήταν από αριστερά προς τα δεξιά ίσες με 0, 0.0098% w/w, 0.0131% w/w, 0.0098% w/w, 0.0131% w/w, 0.0078% w/w, 0.0098% w/w, 0.0131% w/w, 0.0156% w/w, 0.0173% w/w, 0.0196% w/w aluminium chlorohydrate.

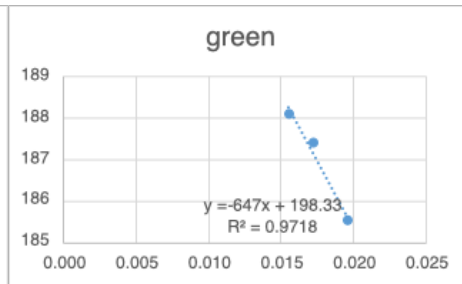
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Α



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Β



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Γ



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Α: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων, το γράφημα προκύπτει από όλα τα δείγματα

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Β: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, για  $t=10\text{min}$ , το γράφημα προκύπτει από τα δείγματα με συγκεντρώσεις **0.0078% w/w, 0.0098% w/w, 0.0131% w/w, 0.0156% w/w aluminium chlorohydrate** που συνιστούν την **πρώτη γραμμική περιοχή με  $R^2=0.965$** , φαίνεται ότι για συγκέντρωση aluminium chlorohydrate  **$<0.00065\% \text{w/w}$**  εννοείται ο ανταγωνισμός υπέρ της πρόσμειξης, αφού τα μέταλλα παρεμβάλλονται και δεσμεύονται στην κερσετίνη

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Γ: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, για  $t=10\text{min}$ , για τα δείγματα με συγκεντρώσεις **0.0156% w/w, 0.0173% w/w και 0.0196% w/w aluminium chlorohydrate** που συνιστούν την **δεύτερη γραμμική περιοχή με  $R^2=0.972$** , φαίνεται ότι για συγκέντρωση aluminium chlorohydrate  **$\geq 0.00065\% \text{w/w}$**  εννοείται ο ανταγωνισμός υπέρ του αργιλίου, μετά την “κατανάλωση” των μεταλλικών προσμειξεων

ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΡΕΜΑΣ BC2
Aqua
Isopropyl Palmitate
Glycerin
Cetearyl Alcohol
Glyceryl Stearate Citrate
Glyceryl Stearate
Panthenol
Phenoxyethanol
Sodium Polyacrylate
Gellan Gum
Ethylhexylglycerin
Citric Acid

ΠΙΝΑΚΑΣ 7: ΣΥΣΤΑΤΙΚΑ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΑΚΗΣ ΚΡΕΜΑΣ BC2

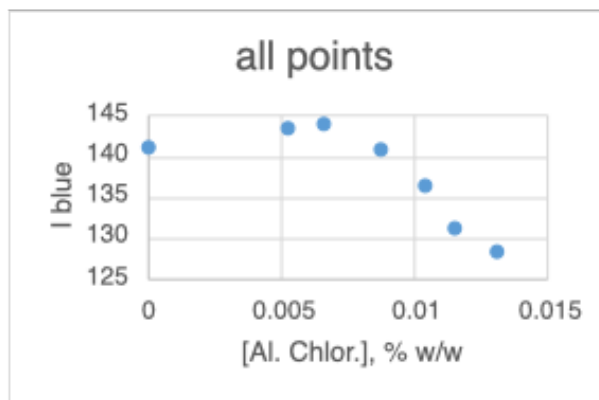
---

### 3.2.13 ΠΕΙΡΑΜΑ 13: ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΜΟΣ ΙΟΝΤΩΝ ΝΕΡΟΥ ΚΑΙ ALUMINIUM CHLOROHYDRATE ΓΙΑ ΣΥΜΠΛΟΚΟΠΟΙΗΣΗ ΜΕ ΚΕΡΣΕΤΙΝΗ

Το ίδιο πείραμα και η ανάπτυξη σε καψίδια έγινε και για δείγματα της γαλακτωματοποιημένης καθαριστικής λοσιόν και μίας νέας εργαστηριακής κρέμας BC2 με σύσταση αναγραφόμενη στον πίνακα 7, με αραιώσεις 1/400 και 1/300 σε BC από τα αρχικά stock των δειγμάτων με συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate 5.5%. Η επανάληψη του πειράματος έγινε και μία ακόμη φορά για την λοσιόν, την BC2 και την montanon, μόνο για την αραιώση 1/300. Σε κάθε γραμμάριο του κάθε δείγματος προστέθηκαν 240μL κερσετίνης και 100μL νερού. Στο πρώτο γράφημα φαίνεται η συμπεριφορά των δειγμάτων με το μη απιονισμένο νερό, στο οποίο περιέχονταν ιόντα κυρίως μαγνησίου και ασβεστίου τα οποία αντέδρασαν και συμπλοκοποιήθηκαν με την κερσετίνη. Χρησιμοποιώντας όλα τα δείγματα μαζί ως σημεία για την κατασκευή μίας συνολικής καμπύλης αναφοράς, με βάση την συνιστώσα blue προέκυψε το γράφημα 3.2.13A, στο οποίο δεν φαίνεται κάποια γραμμική συσχέτιση συνολικά, με τιμή  $R^2$  0.58. Σύμφωνα και με την βιβλιογραφία, συγκριτικά με το κίτρινο χρώμα που προκύπτει από την συμπλοκοποίηση της κερσετίνης με το αργίλιο, αυτό του ασβεστίου και του μαγνησίου είναι πολύ ασθενέστερο. Χωρίζοντας και απομονώνοντας τις 2 επιμέρους γραμμικές περιοχές που φαίνεται να συνυπάρχουν στο γράφημα 3.2.13A, προκύπτουν τα γραφήματα 3.2.13B και 3.2.13Γ. Αναλυτικότερα στο **γράφημα 3.2.13B** φαίνεται να εκτυλίσσεται ένα πρώτο στάδιο στο οποίο κυριαρχεί η **συμπλοκοποίηση της κερσετίνης και των ιόντων του μη απιονισμένου νερού**, τα οποία μετέπειτα ανταγωνίζεται το aluminium chlorohydrate όταν φτάσει σε κάποια συγκεκριμένη συγκέντρωση. Στο δεύτερο στάδιο, που φαίνεται στο γράφημα **3.2.13Γ**, μετά την κατανάλωση όλων των ιόντων του νερού και την επάρκεια της συγκέντρωσης του αργιλίου **η κερσετίνη αρχίζει να συμπλοκοποιείται με το aluminium chlorohydrate**. Και στις 2 μεμονωμένες περιπτώσεις ωστόσο υπήρχε γραμμικότητα καθώς στο γράφημα 3.2.13B προκύπτει  $R^2$  0.999 και στο γράφημα 3.2.1Γ  $R^2$  0.966. **Επομένως ο ανταγωνισμός φαίνεται να είναι υπέρ της πρόσμειξης σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις αργιλίου (μέχρι**

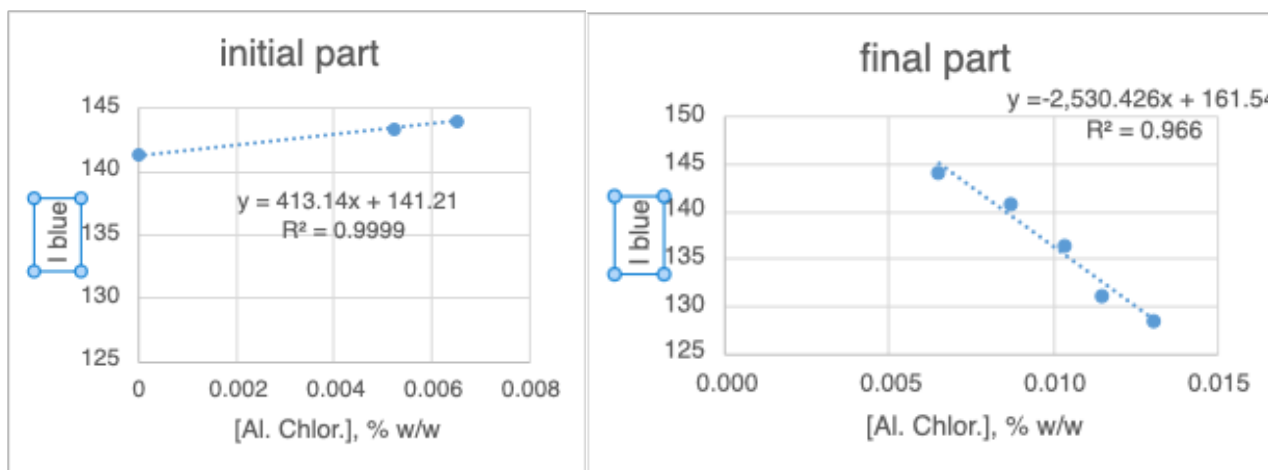
**0.0065 % w/w) (γράφημα 3.2.13B), ενώ στις υψηλότερες συγκεντρώσεις αργιλίου ( $\geq 0.0065$  % w/w)(γράφημα 3.2.13Γ), φαίνεται να επικρατεί το αργίλιο όσον αφορά την συμπλοκοποίηση.**

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.13Α



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.13B

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.13Γ



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Α: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα blue, την χρονική στιγμή  $t=10$  min, το γράφημα προκύπτει από όλα τα δείγματα και φαίνεται να περιέχει 2 μεμονωμένες γραμμικές περιοχές για διαφορετικές συγκεντρώσεις aluminium chlorohydrate

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12B: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα blue, την χρονική στιγμή  $t=10$  min, το γράφημα περιγράφει τη συμπλοκοποίηση της κερσετίνης με τα ιόντα που περιέχονταν στο νερό, για συγκέντρωση aluminium chlorohydrate 0-0.0065%w/w, καθώς στις συγκεντρώσεις αυτές ο ανταγωνισμός λειτουργεί υπέρ της “πρόσμειξης”

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Γ: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα blue, την χρονική στιγμή  $t=10$  min, το γράφημα περιγράφει τη συμπλοκοποίηση της κερσετίνης με το aluminium chlorohydrate καθώς για [aluminium chlorohydrate] $\geq 0-0.0065$ %w/w ο ανταγωνισμός λειτουργεί υπέρ του αργιλίου

### 3.2.14 ΠΕΙΡΑΜΑ 14: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΚΡΙΒΕΙΑΣ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ

Σκοπός του πειράματος αυτού ήταν η μέτρηση της ακρίβειας κατά τον προσδιορισμό της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate σε εμπορικά δείγματα που το περιέχουν. Στο εμπόριο η αναμενόμενη συγκέντρωση εύρεσης του παράγοντα αυτού, όσον αφορά τα μέγιστα επιτρεπόμενα όρια είναι, όπως αναφέρεται και στην υποενότητα 1.1.4, 6.25%w/w σε μη ψεκαζόμενα αποσμητικά και 10.60%w/w σε ψεκαζόμενα προϊόντα. Αυτές οι συγκεντρώσεις είναι κατά 99 και κατά 168 φορές αντίστοιχα, υψηλότερες του ανώτατου ορίου της γραμμικής περιοχής που χρησιμοποιήθηκε στα πειράματα της μεθοδολογίας αυτής. **Η πρακτική σημασία αυτού έγκειται στο ότι οποιοδήποτε προϊόν του εμπορίου πρόκειται να αναλυθεί, πρέπει προηγούμενα να αραιωθεί κατά περίπου 100 φορές αν πρόκειται για μη ψεκαζόμενο προϊόν και κατά 170 φορές αν πρόκειται για σπρέι.** Αυτή η προαπαιτούμενη σημαντική αραιώση έχει ως αποτέλεσμα ο ποσοτικός προσδιορισμός ουσιαστικά να διεξάγεται στην μήτρα που θα χρησιμοποιηθεί ως αραιωτικό μέσο. Η ανάγκη αυτή μίας τέτοιας αραιώσης ουσιαστικά ακυρώνει και σχεδόν μηδενίζει την όποια παρεμβολή της μήτρας στο ποσοτικό προσδιορισμό. Σύμφωνα και με προηγούμενες μελέτες [3, 4, 50] αποδείχθηκε ότι η σύσταση μιας μη αραιωμένης μήτρας παρεμβάλλεται στον ποσοτικό προσδιορισμό. Στο πείραμα αρχικά χρησιμοποιήθηκε ως δείγμα του εμπορίου μέσα στο οποίο προσδιορίστηκε ποσοτικά το aluminium chlorohydrate, ένα αποσμητικό προϊόν (Macrovida Deodorant Roll-on) το οποίο δεν περιείχε άλατα του αργιλίου. Με βάση το αποσμητικό αυτό, παρασκευάστηκε ένα γαλάκτωμα με 4.95%w/w συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate. Από αυτό το 4.95%w/w ύστερα παρασκευαστήκαν σε κρέμα BC αραιώσεις 1/500 και 1/300 σε BC, με συγκεντρώσεις 0.008%w/w και 0.011%w/w. Οι αραιώσεις αυτές, μαζί με τα υπόλοιπα άγνωστα δείγματα, δηλαδή τις αραιώσεις 1/300 της λοσιόν, της φοιτητικής κρέμας και της montanon, μαζί με τα πρότυπα δείγματα της BC, αναπύχθηκαν σε καψίδια, προστέθηκαν 240μL κερσετίνης και 100μL νερού, αναδεύτηκαν και φωτογραφήθηκαν. Χρησιμοποιώντας καμπύλη αναφοράς κατασκευασμένη σε κρέμα BC, δηλαδή στο αραιωτικό μέσο, προσδιορίστηκαν ποσοτικά οι αραιώσεις όλως των αγνώστων όπως φαίνεται στον πίνακα 8. Από

τον πίνακα 8 φαίνεται ότι η ακρίβεια προσδιορισμού ήταν ικανοποιητική σε κάθε περίπτωση σύμφωνα με τις προδιαγραφές του EMA (European Medicines Agency), εκτός από την κρέμα montanon [52]. Στην περίπτωση της montanon, η απόκλιση ίσως να είναι, όπως προαναφέρθηκε, αποτέλεσμα του pH που βρέθηκε ίσο με 6.15 στους 25°C, στο οποίο σύμφωνα με την βιβλιογραφία η διαλυτότητα του aluminium chlorohydrate σε νερό είναι περιορισμένη. Οπότε, αν στην μήτρα αυτή το pH είχε ρυθμιστεί έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η πλήρης διαλυτότητα του aluminium chlorohydrate, πιθανόν η απόκλιση να ήταν μικρότερη. Όσον αφορά το **LOQ**, δηλαδή το όριο ποσοτικοποίησης στην κρέμα BC προέκυψε ως μέσος όρος τιμή 0.020%. Το **LOD**, το όριο ανίχνευσης του aluminium chlorohydrate υπολογίστηκε ως μέσος όρος με τιμή 0.006%.

	ΛΟΣΙΟΝ ΚΑΘΑΡΙΣΜΟΥ	BC2	ΑΠΟΣΜΗΤΙΚΟ MACROVITA 0%Al	MONTANON
<b>ΜΕΣΟΣ ΟΡΟΣ ΜΕΤΡΟΥΜΕΝΗΣ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗΣ</b>	5.13 %w/w Al. Chlorohydrate	3.94 %w/w Al. Chlorohydrate	4.714 %w/w Al. Chlorohydrate	4.55 %w/w Al. Chlorohydrate
$R^2$	>0.967	>0.967	>0.967	>0.966
<b>ΠΡΑΓΜΑΤΙΚΗ ΣΥΓΚΕΝΤΡΩΣΗ</b>	5.5 %w/w Al. Chlorohydrate	3.667 %w/w Al. Chlorohydrate	4.365 %w/w Al. Chlorohydrate	5.5 %w/w Al. Chlorohydrate
<b>ΣΧΕΤΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ (RE%)</b>	-6.812	7.39	7.995	-17.210
<b>RECOVERY (%)</b>	93.187	107.391	107.995	82.790
<b>n=</b>	2	2	1	2

**ΠΙΝΑΚΑΣ 8: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΑΚΡΙΒΕΙΑΣ ΕΚΦΡΑΣΜΕΝΗΣ ΩΣ ΣΧΕΤΙΚΟ ΣΦΑΛΜΑ ΚΑΙ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΣ ΑΝΑΚΤΗΣΗΣ ΚΑΤΑ ΤΟΝ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟ ΑΓΝΩΣΤΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ**

### 3.2.15 ΠΕΙΡΑΜΑ 15: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ pH

Σε νέο πείραμα χρησιμοποιήθηκε νέα κρέμα BC με αρχικό pH 5.20, το οποίο ρυθμίστηκε στο 4.80 στους 29.5°C με χρήση καθαρού οξικού οξέος (CH<sub>3</sub>COOH) και με βάση αυτήν παρασκευάστηκαν εκ νέου τα αραιωμένα πρότυπα δείγματα 1:500, 1:400, 1:300, 1:250, 1:225 και 1:200 με χρήση νέου stock 3.66%w/w aluminium chlorohydrate που παρασκευάστηκε με 2.2g διαλύματος aluminium chlorohydrate, 17.8g της κρέμας BC και 10 mL νερού. Για την



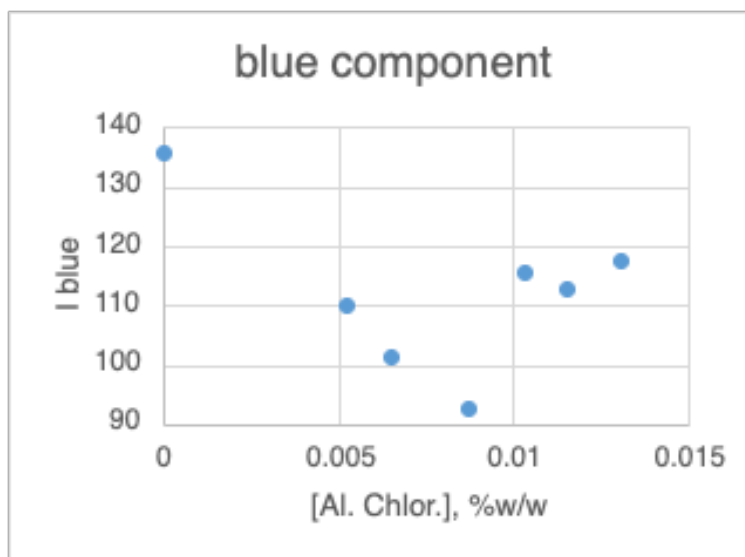
παρασκευή των αραιώσεων προστέθηκαν 0.05g του stock σε 24.95, 19.95, 14.95, 12.45, 11.2 και 9.95g BC και 10, 8, 6, 5, 4,5, 4 mL νερού αντίστοιχα, οδηγώντας σε συγκεντρώσεις **0.005% w/w, 0.006% w/w, 0.008% w/w, 0.010% w/w, 0.011% w/w και 0.013% w/w aluminium chlorohydrate**. Για την κρέμα montanon παρασκευάστηκαν 2 stock με 2.2 και 4.4g aluminium chlorohydrate και 17.8 και 15.6g νερού αντίστοιχα, ενώ και στα 2 προστέθηκαν 10mL νερού, οδηγώντας σε συγκεντρώσεις **3.66% w/w και 7.33% w/w aluminium chlorohydrate**. Τα ίδια stock παρασκευάστηκαν και για την φοιτητική κρέμα, την λοσιόν και το αποσμητικό macrovita, χωρίς να προστεθεί νερό, δηλαδή είχαν συγκεντρώσεις **5.5% w/w και 11% w/w aluminium chlorohydrate**. Από το μικρότερης συγκέντρωσης stock κάθε δείγματος παρασκευάστηκε αραιώση 1:300, ενώ από το μεγαλύτερης συγκέντρωσης stock αραιώση 1:600. Για την montanon προέκυψαν δηλαδή 2 δείγματα με συγκέντρωση σε aluminium chlorohydrate **0.008% w/w**. Και για την λοσιόν, την φοιτητική κρέμα και το αποσμητικό προέκυψαν 2 δείγματα από την κάθε μία με συγκέντρωση **0.013% w/w**. Το αποσμητικό της macrovita βρέθηκε με **pH 4.45** στους 29.5°C, η φοιτητική κρέμα μετά από διόρθωση με οξικό οξύ, με **pH 4.81** και η κρέμα montanon με **pH 5.02** στην ίδια θερμοκρασία. Το pH της BC, δηλαδή του αραιωτικού μέσου όλων των δειγμάτων ήταν **5.10** στην ίδια θερμοκρασία. **Μετά την ανάλυση της εικόνας 8 και την κατασκευή της αντίστοιχης καμπύλης αναφοράς με χρήση της μπλε συνιστώσας, δεν προέκυψε γραμμική συσχέτιση μεταξύ έντασης χρώματος και συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, όπως φαίνεται στο γράφημα 3.2.15 με  $R^2$  0.11. Λόγω αυτού δεν προσδιορίστηκαν τα άγνωστα δείγματα.**

EIKONA 8



EIKONA 8: Τα καψίδια φωτογραφήθηκαν 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της προετοιμασίας των δειγμάτων (t=10 min) όμως βάσει της καμπύλης αναφοράς που προέκυψε από τα δείγματα δεν φάνηκε καμία γραμμική συσχέτιση μεταξύ έντασης χρώματος και συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate: οι συγκεντρώσεις των δειγμάτων ήταν από αριστερά προς τα δεξιά: 0.008%w/w, 0.013%w/w, 0.013%w/w, 0.013%w/w, 0, 0.005%w/w, 0.006%w/w, 0.008%w/w, 0.010%w/w, 0.011%w/w και 0.013%w/w, 0.013%w/w, 0.008%w/w, 0.013%w/w, 0.013%w/w aluminium chlorohydrate

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.15



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.15: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα blue, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων, το γράφημα προκύπτει από όλα τα δείγματα και υποδεικνύει με  $R^2$  0.11 ότι δεν υπάρχει γραμμική συσχέτιση. Πιθανολογείται ότι στο γράφημα απεικονίζονται 2 διαφορετικά είδη συμπλόκων: αρχικά το τριμερές σύμπλοκο Aluminium Chlorohydrate- Quercetin-  $\text{CH}_3\text{COOH}$  και αφού καταναλωθεί το οξικό οξύ, το διμερές Aluminium Chlorohydrate- Quercetin

### 3.2.16 ΠΕΙΡΑΜΑ 16: ΔΙΕΡΕΥΝΗΣΗ ΕΠΙΔΡΑΣΗΣ pH

Το ίδιο πείραμα επαναλήφθηκε προκειμένου να μειωθεί περαιτέρω το pH. Έτσι το pH της νέας BC που χρησιμοποιήθηκε ρυθμίστηκε στο **4.70**, το pH της λοσιόν στο **4.37** και της montanon στο **4.82**.

**Γενικά πρέπει να ληφθεί υπόψιν ότι κυρίως το pH της BC είναι αυτό που καθορίζει την “συμπεριφορά” των δειγμάτων λόγω της μεγάλης περιόσεως της μήτρας BC στα δείγματα.** Μετά την παρασκευή των αραιώσεων, την προσθήκη της κερσετίνης και την ανάπτυξη στα καψίδια, ακολούθησε η επεξεργασία των φωτογραφιών και η ανάλυση τους. Τα αποτελέσματα που προέκυψαν και πάλι έδειξαν ότι δεν υπάρχει **καμία γραμμική**



**συσχέτιση μεταξύ του κίτρινου χρώματος και της περιεκτικότητας του δείγματος σε aluminium chlorohydrate.** Όπως και στο προηγούμενο πείραμα (3.2.15), λόγω της απουσίας γραμμικότητας, δεν μπόρεσε να ελεγχθεί η ακρίβεια στον προσδιορισμό των αγνώστων καθώς δεν υπήρχε διαθέσιμη αξιόπιστη καμπύλη αναφοράς. Η ρύθμιση όλων των δειγμάτων σε **pH οριακά χαμηλότερο του 5** που περιγράφηκε προηγουμένως έγινε προκειμένου να διατηρηθεί η σταθερότητα του aluminium chlorohydrate μέσα στα δείγματα, η οποία μειώνεται σε pH άνω του 5.5-6, γεγονός που επιβεβαιώνεται και από το ότι μεταξύ όλων των “αγνώστων” δειγμάτων (montanon, BC2, λοσιόν, φοιτητική κρέμα, αποσμητικό), η χειρότερη ακρίβεια κατά τον προσδιορισμό παρατηρήθηκε στην κρέμα montanon, η οποία είχε pH 6.15 (25°C). Ο λόγος δηλαδή που η κρέμα montanon μετά τον προσδιορισμό σε κάθε πείραμα, φαίνονταν να περιέχει λιγότερο αργίλιο από αυτό που περιείχε στην πραγματικότητα, ίσως οφείλεται στην αποσταθεροποίηση ή έλλειψη διαλυτότητας του προσδιοριζομένου παράγοντα στο υψηλό pH. Ωστόσο σύμφωνα με τη δημοσίευση των Kalogria E. και συνεργατών [47], ως βέλτιστο pH παρουσιάζεται το 4.5, γεγονός που σημαίνει ότι στο pH αυτό εξακολουθεί να συμβαίνει η αντίδραση της συμπλοκοποίησης μεταξύ aluminium chlorohydrate και κερσετίνης. **Κατόπιν διερεύνησης, διαπιστώθηκε ότι το οξικό οξύ το οποίο χρησιμοποιήθηκε ως μέσο οξίνισης του pH είναι αυτό που παρεμβάλλεται στην συμπλοκοποίηση κερσετίνης και aluminium chlorohydrate και μετατατοπίζει το μέγιστο της απορρόφησης της και άρα και την απόχρωση που αποκτούν τα δείγματα [51].** Ωστόσο πιθανολογείται ότι αν η προσθήκη του οξικού οξέος γίνονταν με τέτοιο τρόπο έτσι ώστε να εξασφαλιστεί η περίσσεια του, δεν θα δημιουργούσε επιπλοκή στην μεθοδολογία, καθώς θα σχηματίζονταν το εννιαίο τριμερές σύμπλοκο Al.Chlorohydrate-Quercetin-CH<sub>3</sub>COOH το οποίο θα μετατόπιζε συνολικά την απορρόφηση για όλες τις συγκεντρώσεις του aluminium chlorohydrate, ενώ θα δημιουργούσε και μεγαλύτερες διαφοροποιήσεις στο χρώμα.

### 3.3 ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

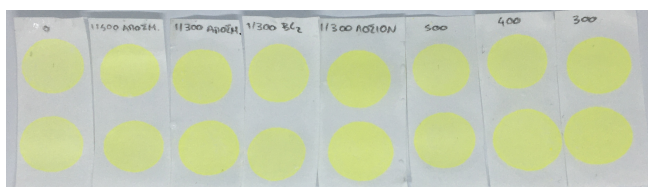
ΠΕΙΡΑΜΑ	ΣΥΝΤΟΜΟ ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ
1,2,3,4,5	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Γραμμική Συσχέτιση</b> έντασης χρώματος δείγματος και συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate σε μήτρα BC</li> <li>• <b>Γραμμική Περιοχή</b> τουλάχιστον <b>0- 0.037% w/w</b> Al. Chlor. και επέκταση γραμμικής περιοχής μέχρι και <b>0.063% w/w</b>, με <math>R^2 = 0.976</math> (n=2), υπό τυπικές συνθήκες</li> <li>• Για <b>αρχικό ιξώδες</b> γαλακτώματος <b>420k mPa*s</b> είναι απαραίτητη η αραιώση του κατά <b>1.34x</b> για <b>επιτυχή ομογενοποίηση</b></li> </ul>
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Διατήρηση Γραμμικής Συσχέτισης</b> και μετά από αραιώση με νερό</li> <li>• <b>Γραμμική Περιοχή:</b> 0 -0.046%w/w Al. Chlor. με <math>R^2 = 0.9781</math>(n=1)</li> </ul>
7,8	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Βέλτιστη συγκέντρωση <b>stock</b> διαλύματος κερσετίνης (<b>0.644-3.33</b>) <b>mg/mL</b></li> <li>• quercetin 1* (<b>3.33 mg/mL</b>) : γραμμική περιοχή 0-0.063%w/w Al. Chlor., <math>R^2 = 0.993</math>, ΔI (0-0.042)%w/w Al. Chl.= 13.111</li> <li>• quercetin 1/4 (<b>0.644 mg/mL</b>) γραμμική περιοχή 0-0.046%w/w Al. Chlor., <math>R^2 = 0.923</math>, ΔI (0-0.045)%w/w Al. Chl.= 7.631</li> <li>• quercetin *2.5 (<b>8.34 mg/mL</b>) γραμμική περιοχή 0-0.037%w/w Al. Chlor., <math>R^2 = 0.037</math>, ΔI (0-0.045)%w/w Al. Chl.= 5.728</li> <li>• Σε όλες τις περιπτώσεις η κερσετίνη είναι σε περίσσεια παρόλο που δεν υπάρχει περίσσεια σε επίπεδο moles, άρα η συμπλοκοποίηση <b>δεν</b> γίνεται σε αναλογία <b>1:1</b></li> </ul>
9,12	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Σημαντική η <b>αποφυγή παρουσίας άλλων μετάλλων</b> καθώς παρεμβάλλονται και <b>ανταγωνίζονται</b> το aluminium chlorohydrate για πρόσδεση στην κερσετίνη</li> </ul>
10,11	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Γραμμική Συσχέτιση</b> και εντός άλλης μήτρας (montanon)</li> <li>• <b>Μετατοπισμένη γραμμική περιοχή και μικρότερη ευαισθησία:</b> για μεταβολή I κατά 3 μονάδες (συνιστώσα average) εντός μήτρας BC η [Al. Chlor.] πρέπει να μεταβληθεί κατά <b>0.005% w/w</b>, ενώ εντός μήτρας montanon κατά <b>0.05%w/w</b></li> <li>• Όριο ανίχνευσης (LOD) και όριο ποσοτικοποίησης (LOQ) είναι πολύ υψηλότερα σε montanon σε σχέση με BC</li> </ul>
13	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Παρουσία μετάλλων ως “πρόσμειξη”: σε χαμηλότερες συγκεντρώσεις aluminium chlorohydrate, ο ανταγωνισμός λειτουργεί αρχικά υπέρ της πρόσμειξης και στις υψηλότερες συγκεντρώσεις αργιλίου (<math>\geq 0.0065\%</math>w/w) φαίνεται να επικρατεί το αργίλιο όσον αφορά την συμπλοκοποίηση με κερσετίνη</li> </ul>
14	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Ικανοποιητικός ποσοτικός προσδιορισμός aluminium chlorohydrate σε άγνωστα δείγματα</li> <li>• Lotion καθαρισμού: <math>R^2 &gt; 0.967</math>, n=2, bias: -6.812%</li> <li>• BC2: <math>R^2 &gt; 0.967</math>, n=2, bias: 7.39%</li> <li>• Αποσμητικό εμπορίου: <math>R^2 &gt; 0.967</math>, n=1, bias: 7.995%</li> <li>• Montanon: <math>R^2 &gt; 0.966</math>, n=2, bias: 17.210%</li> </ul>
15,16	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Δεν υπήρξε κάποιο <b>ασφαλές</b> συμπέρασμα σχετικά με την επίδραση του pH στην γραμμικότητα της συσχέτισης έντασης χρώματος και [aluminium chlorohydrate]</li> <li>• Στο πείραμα όπου το <b>οξικό οξύ</b> χρησιμοποιήθηκε ως μέσο οξίνισης σταμάτησε να υφίσταται η γραμμική συσχέτιση έντασης χρώματος- [aluminium chlorohydrate], πιθανότατα <b>λόγω παρεμβολής του CH3COOH (μέσο οξίνισης)</b> στην συμπλοκοποίηση σύμφωνα με την βιβλιογραφία</li> </ul>

ΠΙΝΑΚΑΣ 9: ΣΥΝΟΠΤΙΚΗ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣΗ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

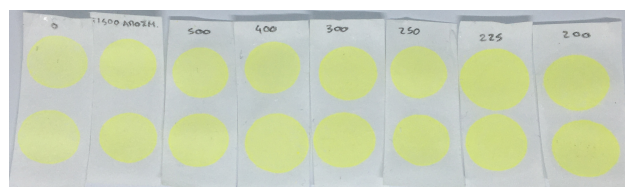
### 3.4 SPOT TEST ΣΕ ΧΑΡΤΙ

Η προσπάθεια προσδιορισμού της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate, με χρήση κερσετίνης, δοκιμάστηκε με την ίδια μεθοδολογία προσαρμοσμένη σε διαφορετικά στερεά υποστρώματα. Αρχικά δοκιμάστηκε ο χρωματομετρικός προσδιορισμός χρησιμοποιώντας ως **υπόστρωμα πλάκα χρωματογραφίας λεπτής στιβάδας** (thin layer chromatography: TLC). Πάνω στην πλάκα TLC αποτυπώθηκαν μικρές σταγόνες 12μL από διάλυμα κερσετίνης συγκέντρωσης 6,66 mg/mL. Αφού οι σταγόνες στέγνωσαν, απλώθηκε με μία πλαστική σπάτουλα, μικρή ποσότητα των πρότυπων δειγμάτων που περιείχαν το άλας του αργιλίου, καλύφθηκαν μέσα σε λίγο χρόνο με μία καλυπτρίδα και η περίσσεια ποσότητα απομακρύνθηκε με την ίδια καλυπτρίδα. Αμέσως μετά, ακολούθησε φωτογράφιση των προτύπων αφού είχαν τοποθετηθεί σε μία ευθεία σειρά στον φωτογραφικό θάλαμο. Ωστόσο η εικόνα όλων των δειγμάτων ήταν η ίδια, συμπεριλαμβανομένου του μηδενός, πιθανόν εξαιτίας του στρώματος της πλάκας TLC, αποτελούμενο από ένα φύλλο αλουμινίου επικαλυμμένο με διοξείδιο του πυριτίου. Πιθανολογείται ότι **οι προσμείξεις μετάλλων του στρώματος της επικάλυψης συμπλοκοποιήθηκαν με την κερσετίνη** δίνοντας έγχρωμο παράγωγο. Λόγω αυτού το πείραμα επανεκτελέστηκε χρησιμοποιώντας το **ειδικό διηθητικό χαρτί της χρωματογραφίας χάρτου**, όπου ακολούθηθηκε η ίδια ακριβώς διαδικασία, με την διαφορά ότι λόγω του ότι παρατηρήθηκε διαφοροποίηση στο χρώμα των προτύπων, ακολούθησε και ανάλυση της φωτογραφίας με την χρήση του προγράμματος imageJ. Όσον αφορά τα αποτελέσματα της μεθοδολογίας αυτής προέκυψε το συμπέρασμα ότι η γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης της ανακλώμενης ακτινοβολίας και της συγκέντρωσης του aluminium chlorohydrate των δειγμάτων επαληθεύεται με την μεθοδολογία του χαρτιού, όπως και στα παρακάτω γραφήματα 3.4.1, 3.4.2 και 3.4.3, με  $R^2 \geq 0.97$ . **Ωστόσο η ακρίβεια κατά τον προσδιορισμό των άγνωστων δειγμάτων ήταν χαμηλή (της τάξης του -50%) και συνεπώς για εξαγωγή ασφαλέστερων συμπερασμάτων και για να διαφανεί η πραγματική καταλληλότητα της μεθόδου απαιτείται επανάληψη και περαιτέρω διερεύνηση.**

ΕΙΚΟΝΑ 9



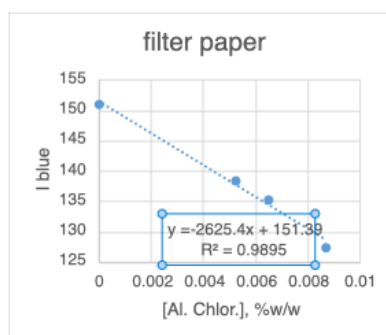
ΕΙΚΟΝΑ 10



ΕΙΚΟΝΑ 9: Τα δείγματα που αναπύχθηκαν στο ειδικό διηθητικό χαρτί φωτογραφήθηκαν αμέσως μόλις προετοιμάστηκαν ( $t=0$ ), η φωτογραφία περιλαμβάνει τα άγνωστα δείγματα 1:500 του αποσμητικού macronita, τα δείγματα 1:300 του αποσμητικού, της BC2 και της Ιοτιον και τα πρότυπα δείγματα 1:500, 1:400 και 1:300, με συγκεντρώσεις σε aluminium chlorohydrate 0, 0.005%w/w, 0.008%w/w, 0.008%w/w, 0.008%w/w, 0.005%w/w, 0.006%w/w, 0.008%w/w

ΕΙΚΟΝΑ 10: Τα δείγματα που αναπύχθηκαν στο ειδικό διηθητικό χαρτί φωτογραφήθηκαν αμέσως μόλις προετοιμάστηκαν ( $t=0$ ), η φωτογραφία περιλαμβάνει το άγνωστο δείγμα 1:500 του αποσμητικού macronita και τα πρότυπα δείγματα 1:500, 1:400, 1:300, 1:250 και 1:200, με συγκεντρώσεις 0, 0.005%w/w, 0.005%w/w, 0.006%w/w, 0.008%w/w, 0.010%w/w, 0.011%w/w και 0.013%w/w aluminium chlorohydrate.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.4.1



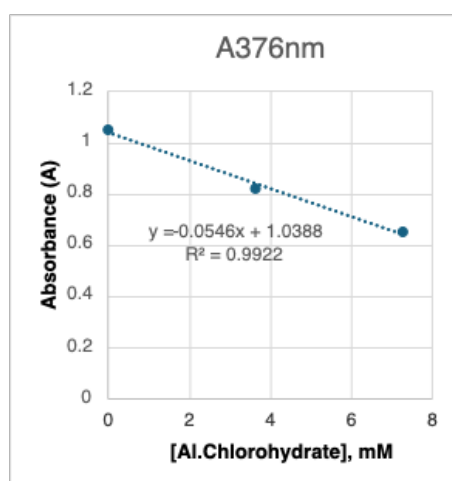
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.4.1: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος blue συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, το γράφημα προκύπτει από την ανάλυση της εικόνας 10 και συμπεριλαμβάνει ως σημεία τα πρότυπα δείγματα 0, 1:500, 1:400 και 1:300.

### 3.5 ΦΑΣΜΑΤΟΦΩΤΟΜΕΤΡΙΑ

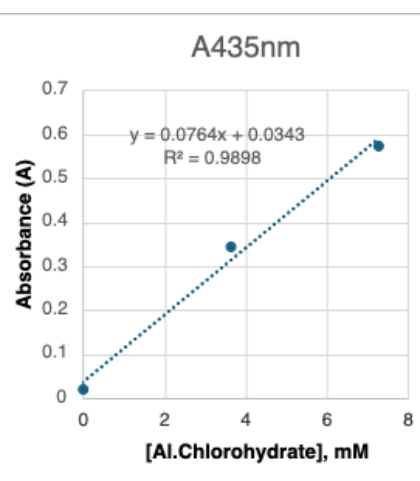
Πέραν της ανάλυσης της έκτασης συμπλοκοποίησης της κερσετίνης με το αργίλιο, με χρήση φωτογραφικής κάμερας, χρησιμοποιήθηκε και ανάλυση με φασματοφωτόμετρο διπλής δέσμης. Η φασματοφωτομετρία επιλέχθηκε προκειμένου να προσδιοριστεί η μεταβολή της απορρόφησης της κερσετίνης, με προσθήκη aluminium chlorohydrate, γλωριούχου ασβεστίου ( $\text{CaCl}_2$ ) και συνδυασμού αυτών. Το  $\text{CaCl}_2$  χρησιμοποιήθηκε στο πλαίσιο εξέλιξης της μεθοδολογίας για τον προσδιορισμό ύδατος των ένυδρων

καλλυντικών προϊόντων, όπου αναλύεται περαιτέρω στην ενότητα 3.6. Επίσης η φασματοφωτομετρία επιλέχθηκε για να προβληθεί η ήδη γνωστή και επιβεβαιωμένη βιβλιογραφικά μετατόπιση της κερσετίνης από τα 370 στα 430nm που συνοδεύει την πρόσδεση του αργιλίου σε αυτήν. Αρχικά στο φασματοφωτόμετρο τοποθετήθηκε μόνο το διάλυμα της κερσετίνης προκειμένου να ληφθεί το φάσμα απορρόφησης της και να μελετηθεί η απορρόφηση της. Στο φασματοφωτόμετρο τοποθετήθηκαν 2 κιουβέτες, η μία περιείχε το διάλυμα της κερσετίνης, δηλαδή 50μL αραιωμένου διαλύματος κερσετίνης συγκέντρωσης 0.66 mg/mL σε 2000μL αιθανόλης και 200μL νερού και η άλλη κιουβέτα το τυφλό δηλαδή 2000μL αιθανόλης και 200μL νερού. Επομένως η τελική συγκέντρωση της κερσετίνης στην κιουβέτα ήταν 0.0147 mg/mL. Ύστερα το διάλυμα της κερσετίνης τιτλοδοτήθηκε με υδατικό διάλυμα aluminium chlorohydrate 5,5% w/w και παρατηρήθηκε πως όσο περισσότερο αργίλιο προστίθεται τόσο περισσότερο μειώνεται η απορρόφηση της κερσετίνης στα 376nm και αυξάνεται στα 435nm, στα μήκη κύματος δηλαδή όπου η κερσετίνη παρουσιάζει τις κορυφές της, όπως φαίνεται και στα παρακάτω γραφήματα 3.5.1 και 3.5.2.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.1



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.2

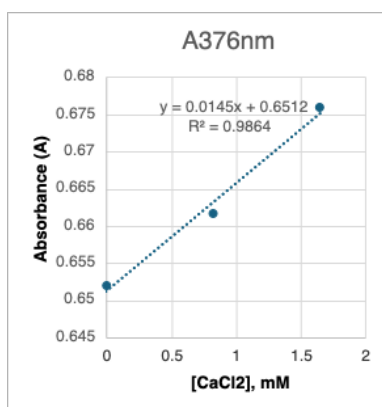


ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.1: Γραφική παράσταση απορρόφησης διαλύματος κερσετίνης στα 376nm συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate σε mM, με το οποίο τιτλοδοτήθηκε

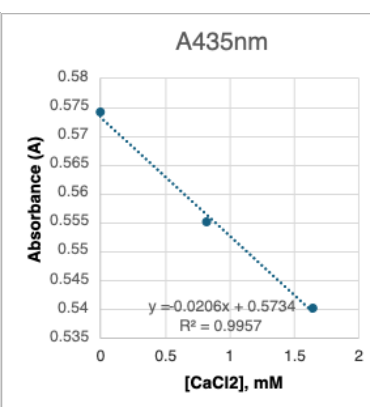
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.2: Γραφική παράσταση απορρόφησης διαλύματος κερσετίνης στα 435nm συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate σε mM, με το οποίο τιτλοδοτήθηκε

Επακόλουθη προσθήκη διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου στην **ήδη συμπλοκοποιημένη** με aluminium chlorohydrate κερσετίνη επέφερε ωστόσο **αναστροφή** της κατάστασης καθώς κατά την προσθήκη αυξανόμενης συγκέντρωσης ασβεστίου παρατηρήθηκε αύξηση της απορρόφησης στα 376 nm με ταυτόχρονη μείωση της απορρόφησης στα 435nm, όπως φαίνεται στα γραφήματα 3.5.3 και 3.5.4:

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.3



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.4

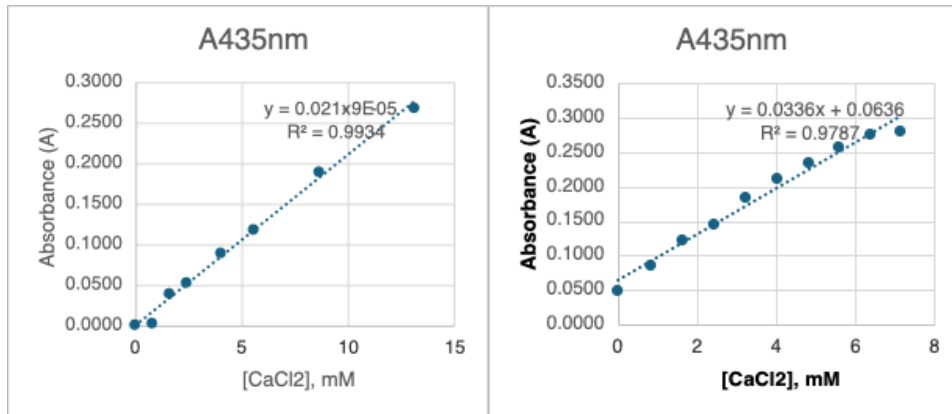


ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.3: Γραφική παράσταση απορρόφησης διαλύματος κερσετίνης στα 376nm συναρτήσει της συγκέντρωσης του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου σε mM

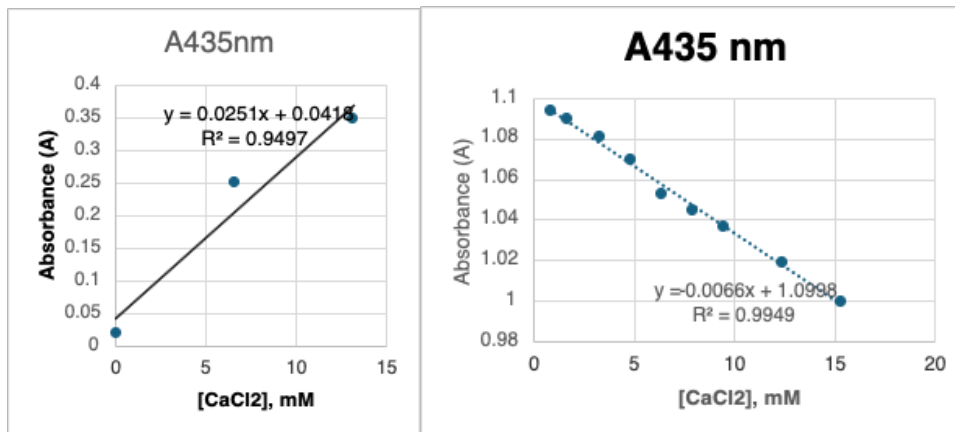
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.4: Γραφική παράσταση απορρόφησης διαλύματος κερσετίνης στα 435nm συναρτήσει της συγκέντρωσης του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου σε mM

Αυτό αποτελεί ένδειξη ανταγωνισμού του ασβεστίου με το αργίλιο για την πρόσδεση στην κερσετίνη. Στα γραφήματα 3.3.5, 3.5.6 και 3.5.7 φαίνεται πως με τιτλοδότηση κερσετίνης με **χλωριούχο ασβέστιο**, προκύπτει εξίσωση ευθείας με μέσο όρο κλίσης 0.0266, με  $R^2 \geq 0.95$ . Ακολουθώντας την αντίστοιχη διαδικασία για τιτλοδότηση της κερσετίνης με χλωριούχο ασβέστιο και **aluminium chlorohydrate**, παρατηρήθηκε πως οι μεταβολές των τιμών ήταν πολύ λιγότερο απότομες σε σχέση με την μεμονωμένη προσθήκη του χλωριούχου ασβεστίου, όπως φαίνεται στο γράφημα 3.5.8 με κλίση 0.0066 με  $R^2 \geq 0.95$ .

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.5



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.7



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.8

ΓΡΑΦΗΜΑΤΑ 3.5.5, 3.5.6, 3.5.7: Γραφικές παραστάσεις απορρόφησης έγχρωμου συμπλόκου κερσετίνης στα 435nm συναρτήσει της συγκέντρωσης του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου σε mM που προκύπτουν κατά την τιτλοδότηση κερσετίνης με CaCl<sub>2</sub>.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.5.8: Γραφική παράσταση απορρόφησης έγχρωμου συμπλόκου κερσετίνης στα 435nm συναρτήσει της συγκέντρωσης του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου σε mM που προκύπτει κατά την τιτλοδότηση του κερσετίνης με CaCl<sub>2</sub> και aluminium chlorohydrate.

Μετά την επεξεργασία των αποτελεσμάτων δηλαδή προέκυψε πως η κλίση της καμπύλης (α) στην περίπτωση της τιτλοδότησης μόνο με το CaCl<sub>2</sub> (γραφήματα 3.5.5, 3.5.6, 3.5.7) ήταν 5 φορές μεγαλύτερη από αυτήν στην περίπτωση του ανταγωνισμού (γράφημα 3.5.8), **δηλαδή η ευαισθησία της μεθόδου ήταν 5 φορές ανώτερη στην περίπτωση της τιτλοδότησης μόνο με το χλωριούχο ασβέστιο.** Επομένως, **ο ανταγωνισμός θεωρήθηκε ακατάλληλος ως μεθοδολογία προσδιορισμού της περιεκτικότητας σε υγρασία.** Μετά την απόρριψη του ανταγωνισμού μελετήθηκε ποιο από τα δύο



μέταλλα μεταξύ αργιλίου και ασβεστίου είναι το καταλληλότερο για τιτλοδότηση. Με βάση κάποια προκαταρκτικά πειράματα προέκυψε ότι **η τιτλοδότηση με αργίλιο απευθείας (γραφήματα 3.5.1, 3.5.2) θεωρείται η καταλληλότερη μεθοδολογία**, καθώς τα δείγματα που προέκυπταν είχαν εντονότερες διαφοροποιήσεις μεταξύ τους και παρατηρούνταν κορεσμός αργότερα σε σχέση με την τιτλοδότηση μόνο με ασβέστιο. Ωστόσο αξίζει να αναφερθεί ένας σημαντικός περιορισμός της μεθόδου που σχετίζεται με **την αστάθεια του αργιλίου**, καθώς αυτό αποικοδομείται και η χρήση του ίδιου stock aluminium chlorohydrate κατά την διάρκεια των πειραμάτων ενδέχεται να επηρεάσει την αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου.

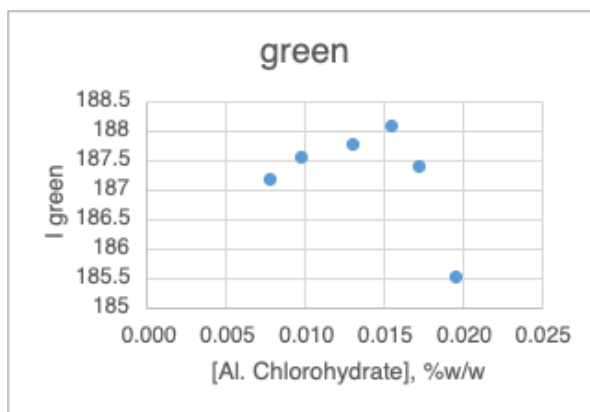
### **3.6 ΔΟΚΙΜΑΣΙΑ ΠΡΟΣΔΙΟΡΙΣΜΟΥ ΤΟΥ ΝΕΡΟΥ**

Κατά την διάρκεια εκπόνησης της εργασίας αναδύθηκε μια σημαντική προοπτική εξέλιξης της, στην κατεύθυνση της ανάλυσης της **περιεκτικότητας της υγρασίας** των καλλυντικών, η οποία καθίσταται ιδιαίτερα σημαντική για τον ποιοτικό τους έλεγχο, λαμβάνοντας υπόψιν τόσο την σημαντικότητα συνήθως συμμετοχή του νερού στην εκατοστιαία τελική σύνθεση ενός καλλυντικού, όσο και το ενδεχόμενο να αποτελέσει το νερό πηγή μόλυνσης για το καλλυντικό προϊόν. Το ποσοστό του νερού στα καλλυντικά μπορεί να προσδιοριστεί με διάφορες μεθόδους όπως η θερμική, η αζεοτροπική, η Karl Fischer και άλλες που βασίζονται στην μέτρηση της ηλεκτρικής αγωγιμότητας, της διηλεκτρικής σταθεράς και του πυρηνικού μαγνητικού συντονισμού [48, 49]. Η δοκιμασία προσδιορισμού υγρασίας των καλλυντικών προέκυψε ως ιδέα όταν κατά την εκτέλεση ενός πειράματος διαπιστώθηκε πως χρησιμοποιούνταν μη επαρκώς απιονισμένο νερό (λόγω προβλήματος της στήλης απιονισμού) αντί του προβλεπόμενου απιονισμένου, απαλλαγμένου δηλαδή νερού από ιόντα αλάτων και ιχνοστοιχείων. Η ένδειξη παρουσίας ιόντων νατρίου, ασβεστίου, σιδήρου κ.α στο νερό διαφάνηκε καθώς η προστιθέμενη ποσότητα των αλάτων του αργιλίου δεν υπέδειξε την αναμενόμενη συμπεριφορά. **Στα αποτελέσματα των δειγμάτων που είχαν παρασκευαστεί με το μη επαρκώς απιονισμένο νερό,**

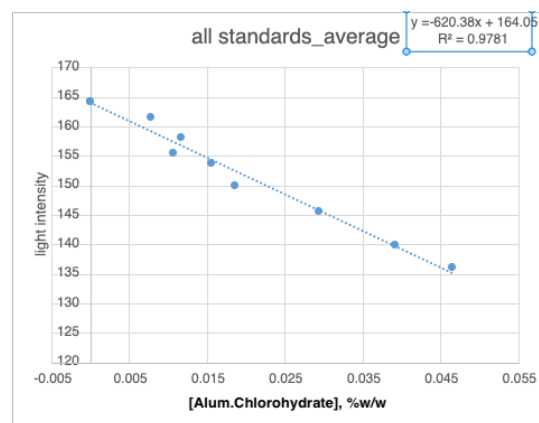


δεν παρουσιάστηκε γραμμική συσχέτιση σε όλο το εύρος των συγκεντρώσεων του aluminium chlorohydrate, σε σχέση με αντίστοιχα δείγματα που είχαν παρασκευαστεί με απιονισμένο, όπως φαίνεται στα παρακάτω γραφήματα 3.2.12Α και 3.2.6, των πειραμάτων 12 και 6 αντίστοιχα.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Α



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2..6



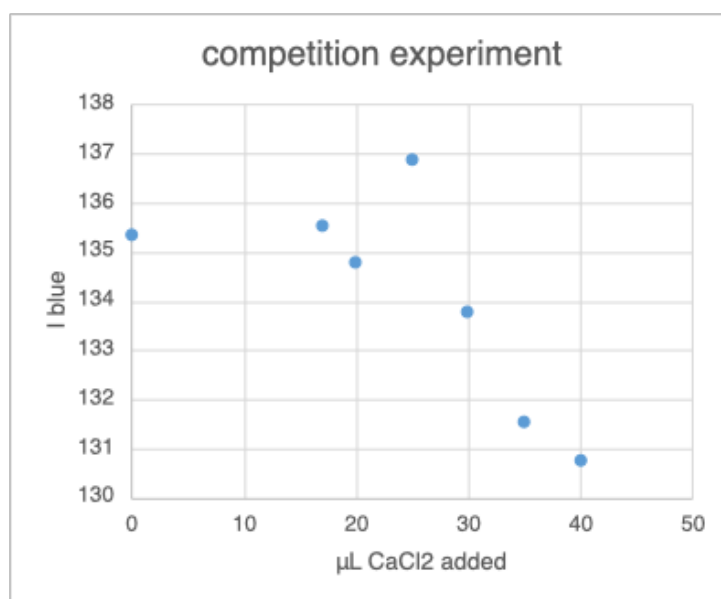
ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.12Α: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα green, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων, το γράφημα προκύπτει από όλα τα δείγματα

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.2.6: Γραφική παράσταση μεταβολής έντασης χρώματος συναρτήσει της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate, με βάση την συνιστώσα average, 10 λεπτά μετά την ολοκλήρωση της παρασκευής των δειγμάτων

Έτσι, πυροδοτήθηκε η ιδέα δοκιμής προσδιορισμού της περιεκτικότητας του νερού μέσω προσθήκης ενός άλατος ( $\text{CaCl}_2$ ) στο καλλυντικό προϊόν, στο πλαίσιο μελέτης του ανταγωνισμού των μετάλλων για κερσετίνη και προσπάθειας ποσοτικού προσδιορισμού του προστιθέμενου άλατος με βάση το σημείο ανταγωνισμού. Την προσθήκη και διάλυση του ασβεστίου σε μία κρέμα, θα ακολουθούσε θεωρητικά η κατανομή του στην υδατική της φάση, το ποσοστό της οποίας θα καθόριζε και την συγκέντρωση του ασβεστίου. Αποτυπώνοντας λοιπόν την συγκέντρωση του διαλυμένου άλατος στην κρέμα, θα αποτυπώνονταν έμμεσα και η

περιεχόμενη υγρασία της κρέμας. Για να αποτυπωθεί η συγκέντρωση του διαλυμένου  $\text{CaCl}_2$  στην κρέμα, έπρεπε να διαφανεί το κατά πόσον μπορεί το άλας αυτό να μειώσει το ήδη υπάρχον κίτρινο χρώμα της κρέμας που οφείλεται στο σύμπλοκο κερσετίνης-αργιλίου, ανταγωνιζόμενο το αργίλιο για την ένωση με την κερσετίνη. Επομένως θα υπολογίζονταν το ασβέστιο μέσω του ανταγωνισμού και τελικά θα προσδιορίζονταν η ποσότητα ύδατος. Εκτελώντας κάποια προκαταρκτικά πειράματα σε κρέμα BC με aluminium chlorohydrate περιεκτικότητας 0.0135%w/w και τιτλοδοτώντας αυτήν με διάλυμα χλωριούχου ασβεστίου συγκέντρωσης 25mg/mL προέκυψε ότι η περιοχή όπου υπήρχε γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης του χρώματος και της συγκέντρωσης του  $\text{CaCl}_2$  ήταν αρκετά περιορισμένη ενώ και η ευαισθησία της μεθόδου ήταν πολύ χαμηλή. Λόγω της **έλλειψης επαρκούς γραμμικής περιοχής, υψηλής ευαισθησίας και ικανοποιητικού συντελεστή απορρόφησης του συμπλόκου**, η τιτλοδότηση με  $\text{CaCl}_2$  αξιολογήθηκε ως **ακατάλληλη** παρόλο που υπήρξε μια αρχική ένδειξη ότι η πτώση της απορρόφησης ήταν ανάλογη της προστιθέμενης ποσότητας  $\text{CaCl}_2$ , όπως φαίνεται στο γράφημα 3.6.

ΓΡΑΦΗΜΑ 3.6



ΓΡΑΦΗΜΑ 3.6: Γραφική παράσταση έντασης μπλε χρώματος, συναρτήσει της ποσότητας του διαλύματος χλωριούχου ασβεστίου που προστέθηκε σε μL

Η συγκεκριμένη μεθοδολογία δεν διερευνήθηκε περαιτέρω, ωστόσο μελλοντικά θα μπορούσε να εξελιχθεί με την προϋπόθεση εύρεσης ενός πλήρως υδατοδιαλυτού άλατος το οποίο θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί για τιτλοδότηση της κερσετίνης, αν έδινε μεγάλες διαφορές στην ένταση του χρώματος. Χρησιμοποιώντας ύστερα μία κρέμα με διαφορετικές περιεκτικότητες σε νερό και προσθέτοντας κάθε φορά σταθερή ποσότητα του άλατος αυτού, θα μπορούσε να μελετηθεί αν προκύπτει γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης του χρώματος της κρέμας και της ποσότητας ύδατος που περιείχε.

## 4. ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑ

### 4.1 ΒΕΛΤΙΣΤΕΣ ΠΡΟΤΕΙΝΟΜΕΝΕΣ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΕΣ ΣΥΝΘΗΚΕΣ

Ως προς τις βέλτιστες πειραματικές συνθήκες προέκυψε ότι εντός μήτρας κρέμας BC η γραμμική περιοχή εκτείνεται από **0 μέχρι και 0.063% w/w aluminium chlorohydrate** ( $R^2 \geq 0.976$  (με  $n=2$ )).

Σε κάθε 1 γραμμάριο δείγματος γαλακτώματος (μήτρα BC με ιξώδες 420k mPa\*s) που χρησιμοποιήθηκε, ακολούθησε προσθήκη 100μL πλήρως απιονισμένου νερού και 240μL διαλύματος κερσετίνης. Η αραιώση αυτή ήταν **απαραίτητη** για την επιτυχή ομογενοποίηση. Επισημαίνεται η σημασία της πολύ καλής ανάδευσης για την επίτευξη ομοιογενών δειγμάτων, καθώς και η **αποφυγή “επιμολύνσεων” από μέταλλα** στο αραιωτικό μέσο καθώς διαπιστώθηκε ανταγωνιστική σχέση ως προς την συναρμογή με την κερσετίνη και δημιουργία παρεμβολών στο μετρούμενο σήμα. Η κατάλληλη συγκέντρωση της κερσετίνης στο δείγμα κρέμας βρέθηκε ίση με **0.596 mg/g κρέμας**. Η χρήση χαμηλότερης συγκέντρωσης κερσετίνης (μέχρι και 80% χαμηλότερη) **δεν επιδρά στην γραμμικότητα**, γιατί όπως αποδείχθηκε η κερσετίνη είναι σε **περίσσεια** ακόμη και αν δεν υπάρχει περίσσεια σε επίπεδο moles. Ωστόσο η χρήση **υψηλότερης συγκέντρωσης κερσετίνης αντενδείκνυται καθώς επιδρά στην γραμμικότητα**.

Η φωτογράφιση των δειγμάτων θεωρήθηκε βέλτιστη στα **10 λεπτά** μετά την έναρξη της αντίδρασης αν και όλοι οι χρόνοι εντός του πρώτου 15λέπτου προτείνονται επίσης για την λήψη φωτογραφίας. Για την ανάλυση της φωτογραφίας με το software imageJ χρησιμοποιήθηκαν τα περισσότερα κανάλια χρώματος, εκτός του red. Όσον αφορά το pH, προτείνεται μία τιμή μεταξύ **5.2 και 5.5** στους (25°C), όχι άνω του 5.5-6 καθώς το aluminium chlorohydrate αποσταθεροποιείται και θεωρείται δυσδιάλυτο. Επίσης για την μείωση του pH **αντενδείκνυται η χρήση οξικού οξέος ως μέσου οξίνισης** καθώς συνιστά παράγοντα που παρεμβάλλεται στην συμπλοκοποίηση κερσετίνης- aluminium chlorohydrate.

Αναφορικά με το **ιξώδες**, διαπιστώθηκε πως μία κρέμα με αρχικό ιξώδες 420k mPa\*s πρέπει να αραιωθεί **1:1.34**, καθώς διαφορετικά το aluminium chlorohydrate δεν ομογενοποιείται επαρκώς στο αραιωτικό μέσο και προκύπτουν ετερογενή δείγματα με ανομοιόμορφη κατανομή χρώματος, ακατάλληλα για ανάλυση.

## 4.2 ΕΦΑΡΜΟΣΙΜΟΤΗΤΑ ΜΕΘΟΔΟΥ ΚΑΙ ΠΕΔΙΟ ΕΦΑΡΜΟΓΗΣ

Μέσω των πειραμάτων που πραγματοποιήθηκαν στα καψίδια μικροτιπλοδότησης, με συμπλοκοποίηση aluminium chlorohydrate με κερσετίνη εντός γαλακτώματος, προέκυψαν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

α) **αποδείχθηκε η γραμμική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης aluminium chlorohydrate και της έντασης της ανακλώμενης ακτινοβολίας** από τα δείγματα που φωτογραφίζονται. **Η ύπαρξη της γραμμικότητας συνεπάγεται την δυνατότητα ποσοτικοποίησης του aluminium chlorohydrate εντός γαλακτωμάτων χωρίς εκχύλιση.**

β) άλλα μέταλλα παρόντα σε ανεπαρκώς απιονισμένο νερό ή στην κρέμα- αραιωτικό μέσο, **παρεμβάλλονται** σημαντικά στην αντίδραση, πιθανώς λόγω ανταγωνισμού για συμπλοκοποίηση με την κερσετίνη. Συνεπώς για την μεθοδολογία είναι πολύ σημαντική η αποφυγή παρουσίας μεταλλικών “προσμείξεων” στο αραιωτικό μέσο που χρησιμοποιείται. Η μεθοδολογία λόγω της μεγάλης αραιώσης που απαιτεί για την ανάλυση των εμπορικών προϊόντων, δεν φαίνεται να παρουσιάζει αδυναμία εφαρμογής σε φόρμουλες καλλυντικών με περιεχόμενα μέταλλα ή σε συνθέσεις που περιέχουν οξικό οξύ, σε συνήθη επίπεδα, καθώς με μια τέτοια αραιώση θα μειωθούν οι παρεμβολές από τα συστατικά αυτά. Ωστόσο η χρήση μίας μήτρας με μεγάλη περιεκτικότητα σε μέταλλα και οξικά οξέα αντενδείκνυται καθώς θα υπάρξουν παρεμβολές από αυτά.

γ) αν η μεθοδολογία εφαρμοστεί **απουσία μετάλλων, ακολουθώντας το προτεινόμενο πρωτόκολλο για τον ποσοτικό προσδιορισμό αγνώστων, παρέχει αξιόπιστα αποτελέσματα, με καλή ακρίβεια.**

**Κατά την μελέτη της ακρίβειας προσδιορισμού του aluminium chlorohydrate σε 4 δείγματα σε διαφορετικές μήτρες οι οποίες ήταν εμπορικά προϊόντα στα οποία είχε εξωγενώς προστεθεί το aluminium chlorohydrate, το σχετικό σφάλμα δεν υπερέβαινε το +/-17.2%.**

Κατ'επέκταση η μεθοδολογία φαίνεται να έχει πρακτική εφαρμογή στο πεδίο του **ποιοτικού ελέγχου των τελικών καλλυντικών προϊόντων** για τον ποσοτικό προσδιορισμό του aluminium chlorohydrate που έχει περιορισμό χρήσης. Η προτεινόμενη μεθοδολογία που βασίζεται στην φωτογράφιση των δειγμάτων με κάμερα κινητού smartphone και στην χρωματομετρική ανάλυση που ακολουθεί προκειμένου να προσδιοριστεί και να ποσοτικοποιηθεί το

aluminium chlorohydrate φαίνεται ιδιαίτερα πρακτική και εύχρηστη. Η πρακτικότητα αυτή έγκειται στην **παράλειψη μεθόδων προκατεργασίας των δειγμάτων** (π.χ εκχυλίσεων) και στην **απουσία εξειδικευμένου πειραματικού εξοπλισμού**, με αποτέλεσμα την **μείωση του κόστους, του χρόνου, της πολυπλοκότητας** της ανάλυσης και του **περιβαλλοντικού αντίκτυπου**, μιας και δεν χρησιμοποιούνται οργανικοί διαλύτες και δεν παράγονται υγρά απόβλητα, αλλά στερεά που είναι περισσότερο διαχειρήσιμα.

### 4.3 ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΕΞΕΛΙΞΗΣ

Με βάση τις δημοσιευμένες σχετικές εφαρμογές [3, 4, 50], αλλά και την παρούσα εργασία η συγκεκριμένη μεθοδολογία, φαίνεται να έχει πολλές προοπτικές εξέλιξης και εφαρμογής. Θα μπορούσε επιπλέον να διερευνηθεί η καταλληλότητα της για τον προσδιορισμό και την ποσοτικοποίηση ουσιών που έχουν περιορισμό χρήσης (Παράρτημα III Κανονισμού EC 1223/2009), ουσιών όπως δραστικοί παράγοντες, συντηρητικά, αντηλιακά φίλτρα και άλλων ουσιών για τις οποίες υπάρχουν υποψίες ως προς την ασφάλεια χρήσης τους. Επίσης θα μπορούσε να διερευνηθεί η εφαρμογή της και σε άλλα πεδία πέραν αυτού της κοσμητολογίας, όπου υπάρχει ανάγκη ποιοτικού ελέγχου γαλακτωμάτων (πχ στην βιομηχανία τροφίμων). Προκειμένου να ολοκληρωθεί η μελέτη της καταλληλότητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας στον ποσοτικό προσδιορισμό του aluminium chlorohydrate, θα πρέπει να διεξαχθούν επιπλέον πειράματα σε γαλακτώματα με υψηλότερο pH, όπως το pH της montanon, δηλαδή 6.15 (25°C) για να διαφανεί αν το υψηλό pH αποτελεί την αιτία που δεν προσδιορίστηκε η άγνωστη συγκέντρωση του aluminium chlorohydrate στην μήτρα αυτή με υψηλότερη ακρίβεια. Η διερεύνηση αυτή είναι αναγκαία για να προκύψει ένα ασφαλές συμπέρασμα όσον αφορά την αποσταθεροποίηση του aluminium chlorohydrate στο pH αυτό και την μείωση της διαθέσιμης ποσότητας αργιλίου προς αντίδραση. Επίσης η επανεκτέλεση του πειράματος της montanon με ρυθμισμένο pH σε τιμή 5.2, όμοιο με το pH δηλαδή της BC θα ήταν χρήσιμη για να διευκρινιστεί αν θα υπήρχε αποκατάσταση της ακρίβειας. Τέλος, επανεκτέλεση του πειράματος σε pH χαμηλότερο του 5 θα επέτρεπε την πλήρη διερεύνηση της επίδρασης του pH στον προσδιορισμό.

## 5. ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

- [1] Scientific Committee on Consumer Safety SCCS ADDENDUM to the scientific opinion SCCS/1613/19 on the safety of aluminium in cosmetic products (lipstick) -Submission II. (n.d.). Retrieved October 7, 2024, from [https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-08/sccs\\_o\\_248.pdf](https://health.ec.europa.eu/system/files/2022-08/sccs_o_248.pdf)
- [2] Scientific Committee on Consumer Safety SCCS OPINION ON the safety of aluminium in cosmetic products. (2014). <https://doi.org/10.2772/63908>
- [3] Tsotsou G.E, Extraction-free analysis in cosmetics by digital image colorimetry, illustrated by the quantification of urea, *Heliyon*, 2024; 10, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25503>
- [4] Tsotsou G.E, Tsara A., Extraction-Free, In Situ Analysis of Glucose in Cosmetic Formulations Based on Digital Image Colorimetry by Smartphone, *Journal of Cosmetic Science*, 2023;74:289.
- [5] de Castilho T.S, Bescovites T.M, Nicolini K.P, Nicolini J., Study of interaction between metal ions and quercetin, *Food Science and Human Wellness*, 2018;7: 215-219, (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2213453018300120>)
- [6] Martini M.C., Déodorants et antitranspirants, *Annales de Dermatologie et de Vénérologie*, 2020; 147: 387–395, (<https://doi.org/10.1016/j.annder.2020.01.003>)
- [7] Teerasumran P., Velliou E., Bai S., Cai Q., Deodorants and antiperspirants: New trends in their active agents and testing methods, *International journal of cosmetic science*, 2023; 45, doi: 10.1111/ics.12852
- [8] Benohanian A., Antiperspirants and Deodorants, *Clinics in dermatology*, 2001; 19: 138-405, DOI: 10.1016/S0738-081X(01)00192-4

- [9] Laden K. Felger CB: Antiperspirants and Deodorants: Cosmetic Science and Technology Series, Marcel Dekker, New York 1988; 7: 419
- [10] Darbre P. , Aluminium, antiperspirants and breast cancer, Journal of inorganic biochemistry, 2005; 99: 1912-9, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2005.06.001. PMID: 16045991.
- [11] Paz L., Moura L., Feio D., Cardoso M., Ximenes W., Montenegro R., Alves A., Burbano R., Lima P., Evaluation of in vivo and in vitro toxicological and genotoxic potential of aluminum chloride. Chemosphere, 2017;175:130-137, doi: 10.1016/j.chemosphere.2017.02.011
- [12] Sanajou S., Sahin G., Baydar T., Aluminium in cosmetics and personal care products, Journal of Applied Toxicology, 2021; 41: 1704 - 1718, doi: 10.1002/jat.4228
- [13] Willhite C., Karyakina N., Yokel R., Yenugadhati N., Wisniewski T., Arnold I., Momoli F., Krewski D., Systematic review of potential health risks posed by pharmaceutical, occupational and consumer exposures to metallic and nanoscale aluminum, aluminum oxides, aluminum hydroxide and its soluble salts, Critical Reviews in Toxicology, 2014; 44, 1 - 80, doi: 10.3109/10408444.2014.934439
- [14] National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 6328160, Dialuminium chloride pentahydroxide, 2024 <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Dialuminium-chloride-pentahydroxide>, Accessed Aug. 29, 2024.
- [15] R.P. Quartrale K. Laden, C.B. Felger (Eds.), The mechanism of antiperspirant action in eccrine sweat glands, Marcel Dekker, New York 1988; 32: 89-118
- [16] ATSDR, Toxicological profile for aluminium, Atlanta GA.: U.S 2008, Department of Health and Human Services, Public Health Service, <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp22.pdf>



- [17] Scientific Committee on Consumer Safety SCCS OPINION on the safety of aluminium in cosmetic products -Submission III, (2023), Retrieved October 7, 2024, from [https://health.ec.europa.eu/document/download/3aef8532-9bb5-4fb3-8b30-c757ead34e63\\_en?filename=sccs\\_o\\_266\\_0.pdf](https://health.ec.europa.eu/document/download/3aef8532-9bb5-4fb3-8b30-c757ead34e63_en?filename=sccs_o_266_0.pdf))
- [18] Flarend, R., Bin, T., Elmore, D., & Hem, S., A preliminary study of the dermal absorption of aluminium from antiperspirants using aluminium-26, Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association, 2001; 39: 163-8, doi: 10.1016/S0278-6915(00)00118-6.
- [19] Updated\* BfR Health Assessment No. 033/2007, 2005, [https://mobil.bfr.bund.de/cm/349/no\\_risk\\_of\\_alzheimers\\_disease\\_from\\_aluminium\\_in\\_consumer\\_products.pdf](https://mobil.bfr.bund.de/cm/349/no_risk_of_alzheimers_disease_from_aluminium_in_consumer_products.pdf)
- [20] Pogue, A., & Lukiw, W., Aluminum, the genetic apparatus of the human CNS and Alzheimer's disease (AD), Morphologie : bulletin de l'Association des anatomistes, 2016;100, 56-64, doi: 10.1016/j.morpho.2016.01.001
- [21] Campbell A., The role of aluminum and copper on neuroinflammation and Alzheimer's disease, J Alzheimers Dis; JAD, 2006; 10: 165-72, doi: 10.3233/jad-2006-102-304
- [22] Borenstein Graves A., White E., Koepsell T.D, Reifler B.V, van Belle G., Larson E.B, The association between aluminum-containing products and Alzheimer's disease, Journal of Clinical Epidemiology, 1990; 43: 35-44, [https://doi.org/10.1016/0895-4356\(90\)90053-R](https://doi.org/10.1016/0895-4356(90)90053-R)
- [23] International Programme on Chemical Safety (IPCS), 1997. Environmental Health Criteria 194, Aluminum (<https://www.inchem.org/documents/ehc/ehc/ehc194.htm>), Accessed Aug. 30, 2024.
- [24] Crapper McLachlan D.R., Aluminum and alzheimer's disease, Neurobiology of Aging, 1986; 7: 525-532, [https://doi.org/10.1016/0197-4580\(86\)90102-8](https://doi.org/10.1016/0197-4580(86)90102-8)

- [25] BfR Opinion No. 001/2014, 2014, Aluminium containing antiperspirants contribute to aluminium intake, <https://mobil.bfr.bund.de/cm/349/aluminium-containing-antiperspirants-contribute-to-aluminium-intake.pdf>
- [26] Mulay I.L, Roy R., Knox B.E, Suhr N.H, Delaney W.E, Trace-metal analysis of cancerous and noncancerous human tissues. *J Natl Cancer Inst.*, 1971; 47: 1-13, PMID: 4328191
- [27] Fernandez-Lorenzo J.R, Cocho J.A, Rey-Goldar M.L, Couce M., Fraga J.M, Aluminum contents of human milk, cow's milk, and infant formulas. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.*, 1999; 28: 270-5, doi: 10.1097/00005176-199903000-00011
- [28] Exley C., Charles L.M, Barr L., Martin C., Polwart A., Darbre P.D, Aluminium in human breast tissue, *Journal of inorganic biochemistry*, 2007; 101: 1344-6, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2007.06.005.
- [29] Moussaron A., Alexandre J., Chenard M.P, Mathelin C., Reix N., Correlation between daily life aluminium exposure and breast cancer risk: A systematic review, *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2023; 79, 127-247, doi: 10.1016/j.jtemb.2023.127247
- [30] Exley C., Charles L.M, Barr L., Martin C., Polwart A., Darbre PD., Aluminium in human breast tissue, *Journal of Inorganic Biochemistry*, 2007; 101: 1344-1346, doi: 10.1016/j.jinorgbio.2007.06.005
- [31] Mirick D. K., Davis, S., Thomas D. B., Antiperspirant use and the risk of breast cancer, *Journal of the National Cancer Institute*, 2002; 94: 1578-158, doi: 10.1093/jnci/94.20.1578
- [32] Fakri S., Al-Azzawi A., Al-Tawil N., Antiperspirant use as a risk factor for breast cancer in Iraq. *Eastern Mediterranean Health Journal*, 2006; 12: 478-482, PMID: 17037719

- [33] McGrath, K. G., An earlier age of breast cancer diagnosis related to more frequent use of antiperspirants/deodorants and underarm shaving., *European Journal of Cancer Prevention*, 2003; 12: 479-485, doi: 10.1097/00008469-200312000-00006.
- [34] Gorgogietas V., Tsialtas I., Sotiriou N., Laschou V., Karra A., Leonidas D., Chrousos G., Protopapa E., & Psarra A., Potential interference of aluminum chlorohydrate with estrogen receptor signaling in breast cancer cells, *Journal of molecular biochemistry*, 2008; 7: 1-13, PMID: 30148119
- [35] Linhart C., Talasz H., Morandi E., Exley C., Lindner H., Taucher S., Egle D., Hubalek M., Concin N., Ulmer H., Use of Underarm Cosmetic Products in Relation to Risk of Breast Cancer: A Case-Control Study. *EBioMedicine*, 2017; 21: 79 - 85, doi: 10.1016/j.ebiom.2017.06.005
- [36] Frederice R., Paula A., Paula F., Marcelo G., Molecular Fluorescence in Silica Particles Doped with Quercetin-Al<sup>3+</sup> Complexes, *Article J. Braz. Chem.*, 2010; 21: 1213-1217, doi: 10.1590/S0103-50532010000700008.
- [37] Singh P., Arif Y., Bajguz A., Hayat S., The role of quercetin in plants, *Plant Physiol Biochem.*, 2021;166:10-19, doi: 10.1016/j.plaphy.2021.05.023
- [38] Batiha G., Beshbishy A., Ikram M., Mulla Z., El-Hack M., Taha A., Algammal A., & Elewa Y., The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods*, 2020; 9: 374, doi: 10.3390/foods9030374
- [39] Xu D., Hu, M., Wang Y., & Cui Y., Antioxidant Activities of Quercetin and Its Complexes for Medicinal Application. *Molecules*, 2019; 24:1123, doi: 10.3390/molecules24061123
- [40] Boots A., Haenen G., & Bast A., Health effects of quercetin: from antioxidant to nutraceutical, *European journal of pharmacology*, 2006; 585: 325-37, doi: 10.1016/j.ejphar.2008.03.008

- [41] Anand David AV, Arulmoli R., Parasuraman S., Overviews of Biological Importance of Quercetin: A Bioactive Flavonoid, *Pharmacogn Rev.*, 2016; 10: 84-89, doi: 10.4103/0973-7847.194044
- [42] Sengupta B., Sengupta PK, The interaction of quercetin with human serum albumin: a fluorescence spectroscopic study, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2002; 299: 400-403, [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(02\)02667-0](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(02)02667-0)
- [43] Bhat, I., & Bhat, R., Quercetin: A Bioactive Compound Imparting Cardiovascular and Neuroprotective Benefits: Scope for Exploring Fresh Produce, Their Wastes, and By-Products, *Biology*, 2021; 10: 586, doi: 10.3390/biology10070586.
- [44] Chen ZJ, Vetter M., Chang GD, Liu S., Chang CH., Quercetin, a phytoestrogen and dietary flavonoid, activates different membrane-bound guanylate cyclase isoforms in LLC-PK1 and PC12 cells, *J Pharm Pharmacol*, 2003; 55: 353-8, doi: 10.1211/002235702685
- [45] G. G. Teixeira, A. Virgilio, P. M. Santos, *ChemistrySelect* 2023; 8, e202301322, <https://doi.org/10.1002/slct.202301322>
- [46] F. Leng, Y. Jing, Q. Wei, Y. Wang, Y. Lv, X. Wang, X. Zhu, *Bulgarian Chemical Communications*; 2016; 48: 159-164, [http://www.bcc.bas.bg/BCC\\_Content\\_Volume\\_48-1.html](http://www.bcc.bas.bg/BCC_Content_Volume_48-1.html)
- [47] Kalogria E., Varvaresou A., Papageorgiou S., Protopapa E., Tsaknis I., Matikas A., Panderi I., Pre-Column Derivatization HPLC Procedure for the Quantitation of Aluminium Chlorohydrate in Antiperspirant Creams Using Quercetin as Chromogenic Reagent, *Chromatographia*, 2014; 77: 1275 - 1281, doi: 10.1007/s10337-014-2722-9
- [48] Ougi, K., Hayashi, Y., Tsuji, T., Ito, T., Leong, K., Usuda, S., Kumada, S., Okada, K., & Onuki, Y., Time-domain NMR analysis for the determination of water content in pharmaceutical ingredients and wet granules, *International journal of pharmaceutics*, 2021; 604, 120770, doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120770

[49] Βαρβαρέσου Α., Παπαγεωργίου Σ., Μέλλου Φ., Ιακώβου Κ.: Εργαστηριακές Σημειώσεις Ποιοτικού Ελέγχου Καλλυντικών Προϊόντων, Αθήνα 2019: σελ 55-60

[50]Tsotsou G.E, Paraskevoudou P.E., An extraction-free, smartphone-based approach for measuring the antioxidant capacity of emulsions using a paper-based DPPH assay, *Microchemical Journal*, 2024; 207: 111792, doi: 10.1016/j.microc.2024.111792

[51] Mammen D, Daniel M., A critical evaluation on the reliability of two aluminum chloride chelation methods for quantification of flavonoids, *Food Chem*, 2012;135:1365-8, doi: 10.1016/j.foodchem.2012.05.109.

[52] ICH guideline Q2(R2) on validation of analytical procedures, 2022, [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf), Accessed Oct.3, 2024.

