

# **Entwicklung und Validierung eines hautähnlichen Systems zur Testung von Emollienten zur dermalen Anwendung**

Dissertation zur Erlangung des akademischen Grades des  
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)  
eingereicht im Fachbereich Biologie, Chemie, Pharmazie  
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**CHRISTIANE BRUNS**  
aus Nordhorn

im November 2008

1. Gutachter: Prof. Dr. Rainer H. Müller

2. Gutachter: Prof. Dr. Alfred Fahr

Tag der mündlichen Prüfung: 10.11.2009

Auch aus Steinen, die einem in den Weg gelegt werden, kann man Schönes bauen.  
**(Johann Wolfgang von Goethe)**

Das Fehlen einer Kennzeichnung oder eines entsprechenden Hinweises auf ein Warenzeichen, ein Gebrauchsmuster oder einen Patentschutz lässt nicht den Schluss zu, dass über die in dieser Arbeit angegebenen Dinge frei verfügt werden kann.

**Inhaltsverzeichnis**

<b>1. Einleitung und Zielsetzung</b>	<b>1</b>
<b>2. Theoretische Grundlagen</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Topographische Betrachtung der Humanhaut</b>	<b>4</b>
2.1.1. Aufbau und Funktion der obersten Schichten der Haut	4
2.1.2. Stratum corneum	7
2.1.3. Oberflächeneigenschaften der Haut und deren experimentelle Bestimmung	8
2.1.3.1. Transepidermaler Wasserverlust: Tewameter	8
2.1.3.2. Hydratation des Stratum corneum: Corneometrie	10
2.1.3.3. Hydrolipidfilm und Sebumlipide: Sebumetrie	12
2.1.3.4. Oberflächenspannung	13
2.1.3.5. Oberflächenrauigkeit: Profilometrie/ FOITS	16
<b>2.2. Beeinflussung von Hautparametern durch Emollienten</b>	<b>18</b>
2.2.1. Reduktion der Hautrauigkeit	20
2.2.2. Okklusive Eigenschaften	21
<b>2.3. Emollienten</b>	<b>22</b>
2.3.1. Chemische Klassen und Aufbau	23
2.3.2. Physikochemische Eigenschaften und sensorische Effekte	28
2.3.3. Methoden zur Bewertung der sensorischen Effekte	30
2.3.3.1. Spreiten der Emollienten auf der Haut	30
2.3.3.2. Frictiometrie: Frictiometer	33
<b>3. Material und Methoden</b>	<b>37</b>
<b>3.1. Verwendete Emollienten</b>	<b>37</b>
<b>3.2. Verwendete Kollagenmembranen</b>	<b>39</b>
3.2.1. Kollagenmembranen (Wurstpellen)	40
3.2.1.1. Naturin Klassik (Mitteldarm)/ EWD-Darm	40
3.2.1.2. R2-Darm/ R2LD-Darm	40
3.2.1.3. COFFI-Kollagenfolie	41
3.2.2. Sonstige Kollagenmembranen	
3.2.2.1. Matricol <sup>®</sup> -Skin Relax	42
<b>3.3. Verwendete Gelbildner</b>	<b>42</b>
3.3.1. Gelatine	42
3.3.2. Agar-Agar	43
3.3.3. Hydroxyethylcellulose (HEC)	44
3.3.4. Polyacrylsäure: Carbopol	44

<b>3.4. Herstellung der Kollagensubstituten mit Untergrundgel</b>	<b>45</b>
<b>3.5. Methoden zur Untersuchung der Kollagensubstituten</b>	<b>46</b>
3.5.1. Untersuchungsmethoden zur Standardisierung des Systems	46
3.5.1.1. Bestimmung des TEWL	46
3.5.1.2. Bestimmung der Hydratation (Corneometrie)	47
3.5.1.3. Bestimmung der Oberflächenenergie	48
3.5.1.4. Bestimmung der Oberflächenrauigkeit	49
3.5.1.5. Härtebestimmung der Gele	49
3.5.1.6. Klebkraftmessung	51
3.5.2. Untersuchungsmethoden zur Charakterisierung von Emollienten	52
3.5.2.1. Spreitverhalten nach Zeidler	52
3.5.2.2. Bestimmung der Frictiometrie	52
<b>3.6. Statistische Versuchsplanung und -auswertung</b>	<b>53</b>
3.6.1. Untersuchungsreihen zur Evaluierung aller Einflüsse	55
<b>4. Versuchsergebnisse und Diskussion</b>	<b>57</b>
<b>4.1. Voruntersuchungen unbehandelter Kollagenmembranen</b>	<b>57</b>
4.1.1. Spreitverhalten der Emollienten	57
4.1.2. Kontaktwinkel der Emollienten	59
4.1.3. Oberflächenenergie und Oberflächenrauigkeit	62
4.1.4. Zusammenfassende Beurteilung der unbehandelten Kollagenmembranen	67
<b>4.2. Konditionierungsstudien</b>	<b>68</b>
4.2.1. Kollagenmembranen ohne Untergrundgel	68
4.2.1.1. Oberflächenenergie und Oberflächenrauigkeit	68
4.2.2. Kollagenmembranen mit Untergrundgel	71
4.2.2.1. Konditionierung des Systems über das Untergrundgel	71
4.2.2.2. Untersuchungen zur Standardisierung des Systems	72
4.2.2.2.1. TEWL- und Corneometermessungen	72
4.2.2.2.2. Oberflächenrauigkeit	75
4.2.2.3. Untersuchungen zur Charakterisierung der Emollienten	77
4.2.2.3.1. Frictiometrie	77
4.2.2.3.2. Spreitverhalten	79
4.2.3. Zusammenfassende Beurteilung der Konditionierungsstudien	80
<b>4.3. Untersuchungsreihe Gelbildner</b>	<b>82</b>
4.3.1. Untersuchungen zur Standardisierung des Systems	82
4.3.1.1. TEWL- und Corneometermessungen	82
4.3.1.2. Einfluss der Oberflächenrauigkeit	84
4.3.1.3. Einfluss der Gelfestigkeit	85
4.3.1.4. Einfluss der Membran-Gel-Adhäsion	87
4.3.2. Untersuchungen zur Charakterisierung der Emollienten	88
4.3.2.1. Frictiometrie	88
4.3.2.2. Spreitverhalten	90
4.3.3. Zusammenfassende Beurteilung der Substituten der Gelbildnerstudie	91

<b>4.4. Untersuchungsreihe Membranen</b>	<b>93</b>
4.4.1. Untersuchungen zur Standardisierung des Systems	93
4.4.1.1. TEWL- und Corneometermessungen	93
4.4.1.2. Einfluss der Membran-Gel-Adhäsion	95
4.4.1.3. Einfluss der Oberflächenrauigkeit	96
4.4.2. Untersuchungen zur Charakterisierung der Emollienten	97
4.4.2.1. Frictiometrie	97
4.4.2.2. Spreitverhalten	99
4.4.2.3. Zusammenfassende Beurteilung der Substituten der Membranstudie	101
<b>4.5. Abschließende Untersuchungen an dem etablierten Kollagensubstitut</b>	<b>103</b>
4.5.1. Einfluss von Sebumlipiden	103
4.5.2. Spreitverhalten aller Öle	106
4.5.3. Okklusivität der Öle	108
<b>5. Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>110</b>
<b>6. Summary and perspective</b>	<b>111</b>
<b>7. Literaturverzeichnis</b>	<b>117</b>
<b>DANKSAGUNG</b>	<b>130</b>
<b>LEBENS LAUF</b>	<b>131</b>
<b>PUBLIKATIONS LISTE</b>	<b>132</b>

### **Zusammenfassung**

Aufgrund der herausragenden Bedeutung der sensorischen Eigenschaften für die Durchsetzung eines dermalen Produktes auf dem Markt besteht eine berechtigte Forderung nach einer korrespondierenden Methode, um verbraucherrelevante Hauteigenschaften auf physikalische, objektive Weise zu erfassen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, ein Hautsubstitut zur Verfügung zu stellen, welches reproduzierbar menschliche Haut simuliert und an dem verschiedenste Methoden zur Testung von Emollienten an der Haut durchgeführt werden können.

Zur Etablierung eines solchen Systems wurden verschiedene Kollagenmaterialien auf die Eignung für Kosmetiktests untersucht. Aus den Ergebnissen dieser Tests wurde deutlich, dass die Kollagenmembranen befeuchtet werden müssen, um ein hautähnliches Verhalten zu zeigen. Diese Befeuchtung wurde in einer Untersuchungsreihe zunächst über eine gezielte Lagerung der Membranen bei definierten Klimabedingungen erreicht. In einem nächsten Schritt wurden die Membranen mit einem Untergrundgel versehen, über das die Konditionierung erfolgte. Bei diesen Substituten bestand die Möglichkeit, sowohl den Wassergehalt der Oberfläche als auch die Wasserverdunstung der Substituten über die Zusammensetzung des Untergrundgels gezielt einzustellen und damit verschiedene Hautzustände zu simulieren. Eine breit angelegte Untersuchungsreihe sollte zeigen, welche Kombination aus Untergrundgel und Kollagenmembran am besten zur Durchführung etablierter Kosmetiktests geeignet ist. Die aus dieser Untersuchungsreihe resultierende optimale Membran-Untergrundgel-Kombination wurde abschließend noch einmal eingehend in Bezug auf ihre Eignung als Substitut zur Differenzierung und Evaluierung von Emollienten, u.a. unter Anwendung einer Oberflächenmodifikation mit Sebumlipiden, bewertet.

**Abstract**

Due to the outstanding importance of sensory attributes for the implementation of a dermal product in the market, there is a justified demand for a corresponding method to measure consumer-relevant skin characteristics in a physical, objective way. Aim of the work on hand therefore was, to provide a skin substitute, which reproducibly disassembles human skin and which gives the possibility to carry out different methods for testing of emollients on the skin.

For establishment of such a system, different collagen materials were analysed for applicability for cosmetic tests. The results made obvious that the collagen materials have to be moisturised in order to show skin-like behaviour. The moisturisation was achieved in one study via storaction of the membranes under defined climatic conditions. In the next step, the membranes were equipped with an underground gel, which achieved the conditioning. With these substitutes, the possibility was given to regulate both, the water content of the surface and the water evaporation of the substitutes via the composition of the underground gel and hence to simulate different skin conditions. A large-scale study was supposed to show which combination of underground gel and collagen membrane is suited best for the execution of well established cosmetic tests. The resulting optimal membrane-undergroundgel-combination was afterwards assessed thoroughly again for qualification as a substitute for differentiation and evaluation of emollients by application of a surface modification with sebum lipids.



## 1. Einleitung und Zielsetzung

Die Akzeptanz des Verbrauchers ist oberstes Ziel bei der Entwicklung von Kosmetika. Ganz besonders wichtig ist hierbei das durch das Produkt beim Konsumenten erzeugte Hautgefühl. Dieses wird normalerweise über Sensoriktests an einer definierten Anzahl von Probanden abgeprüft. Nachteile dieser Tests sind jedoch, dass eine ausreichende Anzahl von Probanden an der Kosmetikstudie teilnehmen muss, um trotz der hohen Abweichungen bei in-vivo Tests eine statistische Aussagekraft zu gewährleisten. Zudem dürfen bei Prüfungen an Probanden keine neuen Substanzen getestet werden, die noch kein toxikologisch akzeptiertes Profil besitzen.

Aufgrund der herausragenden Bedeutung der sensorischen Eigenschaften für die Durchsetzung eines Produktes auf dem Markt besteht daher eine berechtigte Forderung nach einer korrespondierenden Methode, um verbraucherrelevante Hauteigenschaften auf physikalische, objektive Weise zu erfassen.

Da kosmetische Öle (Emollienten) neben Wasser als Hauptbestandteil einer Emulsion oder Creme einen entscheidenden Einfluss auf das sensorische Profil dieser nehmen, stehen 16 Öle aus verschiedenen chemischen Klassen im Fokus dieser Arbeit.

Die sensorischen Eigenschaften einer Emulsion werden maßgeblich durch die Spreiteigenschaft(en) der kosmetischen Ölkomponente(n) bestimmt [Zeidler 1985]. Bei der von *Zeidler* etablierten Methode der Messung der Spreiteigenschaften wird eine definierte Menge Öl auf den Unterarm eines Probanden aufgebracht und die Fläche erfasst, auf der sich das Öl nach 10min ausgebreitet hat. Die Fähigkeit eines Lipides, sich spontan auf der Hornschicht auszubreiten, korreliert mit dem empfundenen Hautgefühl. Lipide mit hohem Spreitvermögen werden vom Anwender als schnell einziehend und deshalb weniger fettend beurteilt, während solche mit geringem Spreitvermögen als stark fettend und abdeckend empfunden werden. Da diese sehr zeitintensive Methode erheblichen Schwankungen unterworfen ist, besteht eine Zielsetzung der Arbeit darin, für die Methode des Spreitens eine geeignete Ersatzmethode zu finden, die eine gute Korrelation zu den in-vivo Spreitwerten aufweist und/oder im Idealfall ein geeignetes Hautsubstitut zu etablieren, auf dem die Öle anhand ihrer Spreitwerte reproduzierbar differenziert werden können.

Taktil wahrnehmbare Hauteigenschaften wie Glätte, Rauheit, Weichheit, Elastizität, Flexibilität, Wachsigkeit, Klebrigkeit, Einzieh- und Rückstandsverhalten aufgebracht Produkte werden im Allgemeinen durch das Streichen des menschlichen Fingers über die betreffende Hautstelle beurteilt. Die Streichbewegung ist an diesen Stellen stark abhängig von der vorhandenen Reibung. Daher wird ein „Frictiometer“ hinsichtlich der Fähigkeit zur Erfassung des Reibwertes an der Hautoberfläche bewertet. Es handelt sich dabei um ein Gerät, das aus einer Sonde mit einer oszillierend-drehenden Platte aus Teflon besteht. Dabei wird das Drehmoment gemessen, das aufgewendet werden muss, damit die Teflonplatte auf der entsprechenden Fläche rotiert. Die Untersuchung der instrumentellen Differenzierung der Emollienten anhand dieses Gerätes sowie die mögliche Korrelation zu den in-vivo Spreitdaten ist eine weitere Zielsetzung der Arbeit.

Eine mögliche Herangehensweise an die Entwicklung eines Hautsubstitutes zur Kosmetiktestung ist es, die Topographie der menschlichen Hautoberfläche zu imitieren. Um dies zu erreichen ist zunächst eine intensive Literaturrecherche hinsichtlich der nachzustellenden humanen Gegebenheiten notwendig. Etablierte „Skin-Bioengineering-Methoden“ wurden verwendet, um die an den Substituten erhaltenen Daten ausreichend bewerten zu können:

- Wasserverdunstung an der Oberfläche (TEWL-Messung)
- Hydratation der Oberfläche (Corneometer-Messung)
- Bestimmung der Oberflächenrauigkeit
- Bestimmung der Oberflächenspannung
- Bestimmung der Sebumlipide (Sebumeter-Messung)

Zusammenfassend soll das zu etablierende Substitut zur Kosmetiktestung eine Vielzahl an Anforderungen erfüllen:

Es soll aus einem mit der Humanhaut vergleichbaren Material bestehen (Kollagen) und auch in der Oberflächentopographie der Humanhaut möglichst ähnlich sein.

Des Weiteren soll das Substitut verschiedene Möglichkeiten zur in-vitro Testung von Kosmetika bieten und durch Modifikation an verschiedene Hautzustände adaptiert werden können. Nicht zuletzt sollte das Substitut sich sensorisch möglichst hautähnlich verhalten.

Zur Etablierung dieses Systems zur Testung von Emollienten wurden verschiedene Kollagenmaterialien auf die Eignung für die oben genannten Tests untersucht und unter Einsatz der oben genannten Methoden wurde evaluiert, welches Material das hautähnlichste Verhalten zeigte.

## **2. Theoretische Grundlagen**

### **2.1. Topographische Betrachtung der Humanhaut**

#### **2.1.1. Aufbau und Funktion der obersten Schichten der Haut**

Die Haut gliedert sich morphologisch im Wesentlichen in drei Teile (vgl. Abb. 1): Die Subcutis (Unterhaut), die Dermis (Lederhaut) und die Epidermis (Oberhaut) auf der Körperaußenseite.

Die Subcutis stellt eine lockere Bindegewebsschicht dar, die stellenweise umfangreiche Fetteinlagerungen (das Unterhautfettgewebe) besitzt und Träger der Gefäß- und Nervenversorgung ist.

Die Dermis schließt sich als Stütz- und Bindegewebe an die Subcutis an. Der obere Bereich der Dermis (Stratum papillare) enthält feine Blutgefäße (Kapillaren), die die gefäßlose Epidermis durch Diffusion über die Basalmembran mit Nährstoffen versorgt. Die hier vorliegenden Fibroblasten sind in eine Matrix aus Strukturproteinen wie Kollagen, Elastin und einer amorphen Grundsubstanz aus wasserbindenden Mucopolysacchariden eingebettet. Die unterste Schicht der Dermis (Stratum reticulare) besteht aus kollagenen und elastischen Faserbündeln, die für die mechanischen Eigenschaften der Haut verantwortlich sind [Holbrook, 1967]. Eine wesentliche Bedeutung kommt dabei den Kollagenfasern zu, die 98% des Trockengewichtes der Dermis für sich beanspruchen [Leonhardt, 1990]. Durch die fingerförmige Verzahnung von Subcutis und Dermis entsteht die auf der Epidermis sichtbare feine Felderung und Spaltrichtung auf der Haut.

Kosmetisch interessant ist vor allem die Epidermis, da Kosmetika primär dort ihre Wirkung entfalten. Sie ist die eigentliche Schutzhülle, die uns vor Umwelteinflüssen bewahrt.

Das Plattenepithel der Epidermis lässt sich von innen nach außen in die Schichten Stratum basale (Basalzellschicht), Stratum spinosum (Stachelzellschicht), Stratum granulosum (Körnerschicht) und Stratum corneum (Hornhaut) gliedern. Zusätzlich findet man an stark beanspruchten Stellen zwischen Stratum granulosum und Stratum corneum als Übergangszellschicht das Stratum lucidum (Glanzschicht). Die Keratinozyten stellen die Hauptzelltypen der Epidermis dar (90% der Trockenmasse). Diese wandern in einem typischerweise 28 Tage dauernden Zyklus durch die einzelnen epidermalen Schichten zur Hautoberfläche. Während dieses epidermalen Differenzierungsprozesses erfahren die

Keratinozyten eine drastische morphologische und histochemische Veränderung, indem sich die mitotisch aktiven Zellen der Basalzellschicht zu toten kernlosen, verhornten Korneozyten umwandeln, die an der Oberfläche abgeschuppt werden (Desquamation) [Kalinin et al. 2001].

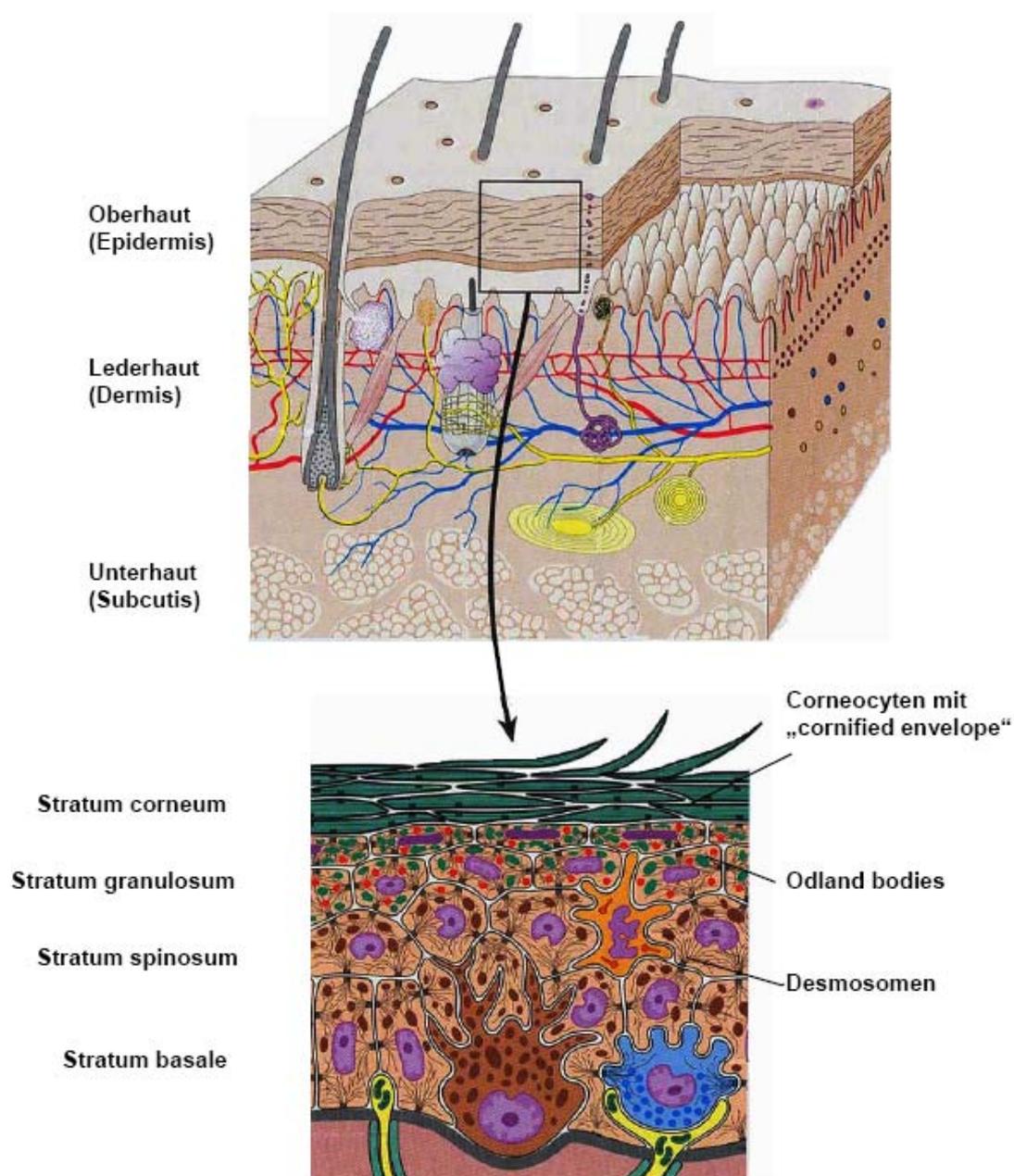


Abb. 1: Aufbau der Humanhaut [modifiziert nach Speckmann et al. 1998]

Das **Stratum basale** ist der Ausgangspunkt der epidermalen Regeneration. Hier besitzen die Keratinozyten eine charakteristische rechteckige bis hochzylindrische Form, deren Längsachse senkrecht zur Hautoberfläche steht. Über zahlreiche Desmosomen sind die basalen Keratinozyten mit den Nachbarzellen verknüpft [De Luca et al. 1992]. Andere Zellen wie Melanozyten, Langerhans'sche- oder Merkel-Zellen, sind in der Epidermis zwar angesiedelt, nehmen aber nicht direkt an der Organisation des Gewebes teil [Ziegenmeyer 1986]. Diese Zellen sind verantwortlich für UV-Absorption, Immunabwehr und Sensibilität gegenüber mechanischen Reizen an der Hautoberfläche.

Das **Stratum spinosum** besteht aus leicht abgeflachten Zellen, die durch viele Cytoplasmaausläufer mit Desmosomen und daran befestigten Tonofibrillen gekennzeichnet sind, die den Zellen ein stachelartiges Aussehen geben. In den oberen Schichten des Stratum spinosum sind außerdem bereits membranumschlossene Vesikel mit einem Durchmesser von 100-300nm zu finden. Diese sogenannten *Odland bodies* [Elias 1981] (auch *Lamellar bodies*, *Keratinosomen* oder *membran coated granules* genannt) werden im Golgi-Apparat gebildet und enthalten hydrolytische Enzyme, Glycoproteine und bestimmte Lipide [Landmann 1991]. Die Lipide sind innerhalb dieser Granula in einer membranähnlichen kontinuierlichen Doppelschicht in Form von abgeflachten Vesikeln übereinandergestapelt und spielen eine Rolle bei der späteren Bildung der Permeabilitätsbarriere des Stratum corneum [Fritsch 1990].

Das **Stratum granulosum** (Körnerzellschicht) wird von den Keratinozyten während ihrer transepithelialen Wanderung nach durchschnittlich 10-14 Tagen erreicht. Die Zellen sind abgeflacht und enthalten viele stark verdichtete, starre Tonofibrillen und membranlose Keratohyalingranula, die die Zellen ganz ausfüllen können und aus einer Mischung verschiedener Proteine bestehen [Mackenzie, 1973]. Außerdem werden die *Odland bodies* hier mit lamellaren Membranstrukturen gefüllt und exocytiert, wodurch sich hochgeordnete zusammenhängende Lipidlamellen zwischen den Zellschichten ausbilden. Die Proteine jedoch bleiben im Inneren der Keratinozyten und werden unter Enzymeinwirkung miteinander vernetzt [Fritsch 1990].

Sind die Keratinozyten im Stratum corneum angekommen, so werden sie als Endprodukt der epidermalen Zelldifferenzierung *Corneocyten* genannt.

### 2.1.2. Stratum corneum

Die Corneocyten des Stratum corneum weisen eine deutlich abgeflachte, hexagonale Struktur und einen deutlich niedrigeren Wassergehalt auf [Plewig et al. 1970, Warner et al. 1988, Jarnik et al. 1998]. Diese Form und außergewöhnliche Festigkeit ist die Folge einer Kreuzvernetzung und Kondensation der Proteine und wird zusätzlich verstärkt durch die festen Zell-Zellkontakte der Desmosomen.

Anstelle der üblichen Plasmamembran hat sich in den Corneocyten der 7 bis 15nm dicke sogenannte "*cornified envelope*" vollständig ausgebildet, der das Keratingerüst vor chemischen Einflüssen schützt und als semipermeable Membran wirkt [Elias 1983]. Diese verhornte Hülle aus quervernetzten Proteinen (hauptsächlich Ivolucrin, Loricrin, Elafin und Cystatin A [Kalinin et al. 2002, Swartzendruber et al. 1987] und kovalent gebundenen Lipiden [Meguro et al. 2000] stellt den chemisch widerstandsfähigsten Teil der Corneocyten dar. Verschiedenen Studien zufolge tragen sowohl die Horn- als auch die daran kovalent gebundene Lipidhülle neben den interzellulären extrahierbaren Lipiden zu der Barrierefunktion des Stratum corneum bei [Kalinin et al. 2001, Meguro et al. 2000, Behne et al. 2000, Steinert 2000, Elias et al. 1991, Schurer et al. 1991, Elias et al. 1988].

Der Wassergehalt des Stratum corneums liegt zwischen 10 und 35% [Jarnik et al. 1998, Elias et al. 1988], wobei ein Gradient von innen (Grenze zum Stratum granulosum) nach außen (Grenze zur Umgebungsluft) herrscht. Die innerste Zellschicht des Stratum corneum steht mit der hohen Feuchte der Zellen des Stratum granulosum, die bis zu 70% betragen kann, im Gleichgewicht, die äußerste Schicht dagegen mit der meist trockeneren Umgebungsluft. Die dadurch erzeugte Wasserabgabe an die Umgebung führt zu einem Konzentrationsgradienten, der zwischen  $0,3 \text{ ml/m}^2 \cdot \text{h}$  und  $0,5 \text{ ml/m}^2 \cdot \text{h}$  [Black et al. 2000, Landmann 1991] beträgt und auch als transepidermaler Wasserverlust (TEWL) bezeichnet wird.

Für den pH-Wert im Stratum corneum wird ebenfalls ein Gradient beschrieben, wobei dieser an der Oberfläche des Stratum corneum zum antimikrobiellen Schutz zwischen 4,5 und 5,5 liegt, im Inneren kontinuierlich ansteigt und in den untersten Schichten einen Wert von etwa pH 7 erreicht, entsprechend dem pH-Wert in der lebenden Epidermis [Öhmann et al. 1994, Turner et al. 1998].

Die Struktur des Stratum corneum lässt sich anschaulich mit dem "Backstein-und-Mörtel"-Modell (Abb. 2) beschreiben. Dabei stellen die Corneocyten die "Backsteine" dar, die für

die chemische und mechanische Stabilität der Haut zuständig sind und der "Mörtel" steht für die interzellulären Lipide, denen die eigentliche Barrierefunktion hinsichtlich Wasserhomöostase und dem Eindringen fremder Substanzen zugeschrieben wird [Elias 1983].

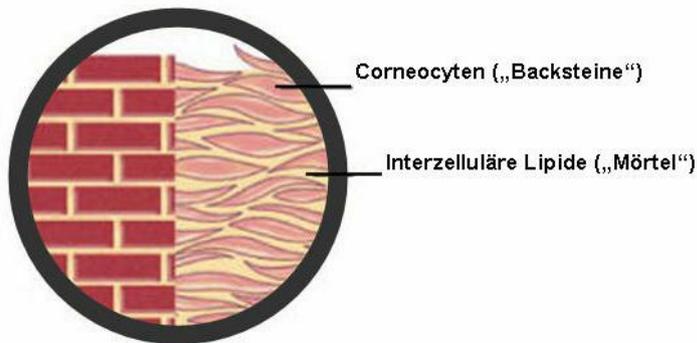


Abb. 2: Modellhafte Vorstellung des Stratum corneum

Die Corneocyten enthalten einen natürlichen Feuchthaltefaktor, den Natural Moisturizing Factor (NMF). Dieser besteht aus einer Mischung von Aminosäuren, deren Derivaten und verschiedenen Salzen und trägt bis 10% zu der Trockenmasse des Stratum corneums bei. Zellen mit einem hohen Wassergehalt quellen und werden dadurch ohne Zwischenräume eng aneinander gepresst. Ein gesundes Stratum corneum hat einen Wassergehalt von 15-20% und ist elastisch und biegsam.

### 2.1.3. Oberflächeneigenschaften der Haut und deren experimentelle Bestimmung

#### 2.1.3.1. Transepidermaler Wasserverlust: Tewameter

Der TEWL gilt als Indikator für die Integrität der Barrierefunktion der Haut und wird durch die von der Hautoberfläche freigesetzten Menge Wasser in Gramm pro Quadratmeter pro Stunde definiert [Lodén et al. 1992, Cua et al. 1990, Freeman und Maibach 1988, Elsner et al. 1981]. Der unmerkliche, weitestgehend temperaturunabhängige Wasserverlust der Haut durch Diffusion und Verdunstung (*Perspiratio insensibilis*) beträgt ca.  $7\text{g/m}^2\cdot\text{h}$ . Ohne die Lipide des Stratum corneum würde dieser um das 2500fache, ohne Stratum corneum selber um das 4.000.000fache zunehmen [Landmann 1988].

Ein Gerät zur Bestimmung des TEWL ist das von der Fa. Courage & Khazaka, Köln, Deutschland entwickelte Tewameter. Dieses Gerät misst Feuchtigkeit und Temperatur durch zwei Fühlerpaare, welche, in einem Messkopf integriert, hautnah aufgebracht werden können (Abb. 3).

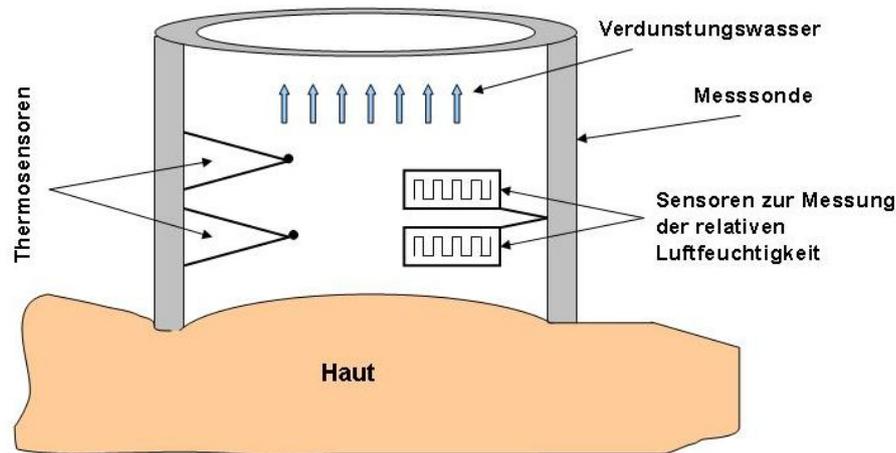


Abb. 3: Funktionsprinzip Tewameter [modifiziert nach Tupker et al. 1993]

Wenn man die Hautoberfläche als eine wasserdurchlässige Oberfläche betrachtet, kann man den Wasseraustausch an der Grenzfläche Haut/Umgebung über das Fick'sche Diffusionsgesetz beschreiben [Tupker 2006]:

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx}$$

$m$  = Wassertransport (g)

$t$  = Zeit (h)

$D$  = Diffusion konstant

$A$  = Oberfläche (m<sup>2</sup>)

$p$  = Wasserdampfdruck der Atmosphäre (mmHg)

$x$  = Entfernung der Hautoberfläche zur Messstelle (m)

Basierend auf dieser Gleichung ermittelt ein in das Gerät integrierter Mikroprozessor den Partialdruck des Wasserdampfes für die zwei verschiedenen übereinander liegenden Ebenen jedes Fühlerpaars und über den Gradienten des Partialdruckes die Verdunstungsrate. Die Messwerte drücken die Verdunstungsrate in [g/m<sup>2</sup> · h] aus.

Nach den Gesetzmäßigkeiten des Fick'schen Gesetzes müsste bei zunehmender Luftfeuchtigkeit der TEWL abnehmen, wobei die Beziehung jedoch nicht linear ist [Grice

et al. 1972, Spruit und Malten, 1969, Bettley und Grice 1967]. Im Gegensatz dazu steht jedoch die Beobachtung, dass der TEWL sich bei steigender Umgebungsfeuchte zunächst ebenfalls erhöht. Dies liegt an der hohen Wasserbindungskapazität des Stratum corneum, das bei steigender Luftfeuchtigkeit vermehrt Wasser aufnimmt [Bieber 1997] und mit zunehmendem Wassergehalt auch zunehmend permeabel wird [Grice 1980]. Die Beeinflussung des TEWL durch Umgebungsbedingungen (Luftkonvektion, Lufttemperatur, Luftfeuchtigkeit, klimabedingte Einflüsse) sowie physiologische Gegebenheiten (Alter, Geschlecht, Hauttemperatur, Neigung zum Schwitzen und anatomischer Lokalisation) muss bei der Durchführung der Messungen berücksichtigt werden [Pinnagoda et al. 1990]. Darüber hinaus beeinflussen auch instrumentenabhängige Faktoren das Messergebnis, z.B. Anpressdruck der Sonde, Wassergehalt des aufgetragenen Externums [Morrison 1992] und intrainstrumentelle Veränderungen [Pinnagoda et al. 1990].

### **2.1.3.2. Hydratation des Stratum corneum: Corneometrie**

Eine trockene, raue und spröde Hautoberfläche wird von einem Mangel an Wasser im oberflächlichen Teil des Stratum corneum verursacht, während eine geschmeidige und glatte Hautoberfläche vorliegt, solange ein Wassergehalt von mindestens 10% in der Hornschicht enthalten ist. Damit spielt die Hydratation des Stratum corneum auch für die Barrierefunktion eine wichtige Rolle, da sie dessen physikalische Barriere gewährleistet, und auch das Enzymsystem der Hornschicht sensibel vom Hydrierungszustand desselben abhängt. *Finley et al.* [1980] konnten zeigen, dass die Corneocyten von trockener atopischer Haut die Tendenz zum Verklumpen haben und infolgedessen dazu neigen, sich als große Schuppe abzuheben. Dabei kann eine klinisch als trocken erscheinende Haut durchaus einen normalen Wassergehalt vorweisen [Thune 1988]. In-vivo-Studien haben jedoch gezeigt, dass bei trockener Haut die Wasserbindungsfähigkeit im Vergleich zu normaler Haut reduziert, die Wasseraufnahmefähigkeit hingegen gleich ist. Die Barrierefunktion der Hornschicht ist, wie bereits erwähnt, zum Großteil auf die Interzellularlipide zurückzuführen. So führt beispielsweise ein Mangel an essentiellen Fettsäuren (wie z.B. der Linolsäure) zu einer starken Zunahme der Permeabilität des Stratum corneum mit einer 5- bis 8-fachen Erhöhung des TEWL und einer fehlerhaften

Differenzierung der Corneocyten [Elias 1983, Prottey et al. 1975]. *Prottey et al.* [1975] und *Hansen und Jensen* [1985] postulierten eine Verbesserung der Hautsymptome nach topischer und systemischer Supplementierung der fehlenden Fettsäure. *Fluhr et al.* [2002] halten die gemeinsame Gabe der drei wichtigsten Lipidklassen (Cholesterin, Ceramide, freie Fettsäuren) notwendig zur Regeneration der Barrierschicht (vgl. Kapitel 2.1.3.1).

Die Bestimmung der Hydratation der Hornschicht mit Hilfe der Messung der Hautkapazität ist eine valide Methode, die sich zur Beschreibung der Trockenheit von Ekzemen und zur Ermittlung der Effekte rehydrierender Externa bewährt hat [Fischer et al. 1998, Seidenari und Giusti 1995, Agner und Serup 1989, Blichmann und Serup 1988, Triebkorn et al. 1983]. *Blichmann und Serup* [1988] postulierten, dass mit Hilfe eines Corneometers die Hydratation der Haut bis zu einer Tiefe von 60-100µm erfasst werden kann, wobei die Dicke der Epidermis 50-150µm beträgt.

Das Prinzip des Corneometers lässt sich folgendermaßen beschreiben: metallische Kondensatorplatten sind durch eine Polymerfolie von der Haut getrennt (Abb. 4). Ein entsprechend geformter Meßkondensator reagiert auf die in sein Meßvolumen eingebrachten Proben mit unterschiedlichen Kapazitätsänderungen, die vom Gerät vollautomatisch erfasst und ausgewertet werden. Das gemessene Dielektrikum ist wegen der hohen Dielektrizitätskonstanten von Wasser ( $\epsilon=80,1$ ) stark abhängig von Wassergehalt des Statum corneum. Die Stärke des Dielektrikums wird in "relativen Corneometer Einheiten" angegeben.

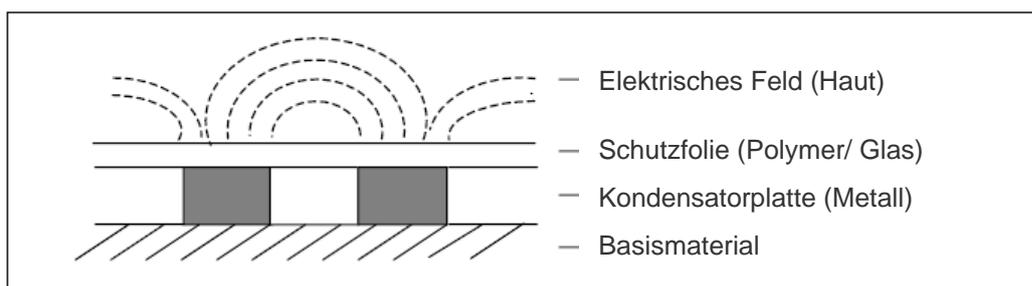


Abb. 4: Funktionsprinzip Corneometer

Bei der Corneometrie ist es wenig sinnvoll, einen Mittelwert für "normale" Haut anzugeben, da große Unterschiede zwischen Alter, Geschlecht und der gemessenen Hautregion bestehen. Die Methode eignet sich jedoch sehr gut, um bei einem Individuum

die relativen Veränderungen der Hautfeuchtigkeit zu verfolgen. Als grobe Tendenz werden für gesunde Humanhaut (Unterarm) Werte zwischen 35-60 Corneometer-Einheiten gemessen. Üblicherweise wird eine Hautregion über eine bestimmte Zeit mit Externa behandelt und die Veränderung bezüglich der Hydratation des Stratum corneum gemessen. Es muss bei den Messungen darauf geachtet werden, dass dasselbe Areal nicht zu schnell hintereinander gemessen wird, da sonst Okklusionseffekte auftreten können.

### **2.1.3.3. Hydrolipidfilm und Sebumlipide: Sebumetrie**

Die Hautoberfläche wird von einer dünnen Emulsionsschicht aus Sebum- und Schweißbestandteilen, transepidermal abgegebenem Wasser, epidermalen Lipiden und losen Hornhautschuppen bedeckt (Hydrolipidfilm). Es kann je nach Mengenverhältnis eine O/W- oder W/O-Emulsion vorliegen. Außerdem enthält diese Emulsion Keratin- und Eiweißspaltprodukte aus dem Verhornungsprozeß [Raab et al. 1999]. Die interzellulären extrahierbaren Lipide bestehen hauptsächlich aus Ceramiden, Cholesterol und freien Fettsäuren. Von den Talgdrüsen wird das Sebum (Talg, Oberflächenlipide), das hauptsächlich aus Wachsestern, Triacylglycerolen und Squalen zusammengesetzt ist [Stewart 1992], sezerniert und über Haarfollikeleinmündungen auf die Hautoberfläche transportiert [Fluhr et al. 2003]. An der Hautoberfläche liegen zwei Hydrolipidfilme vor. Der oberflächliche Hydrolipidmantel, dessen Komponenten aus dem Schweiß und aus dem Sekret der Talgdrüsen (Leitkomponente: Squalen) stammen und ein Hydrolipidgemisch, das sich in der tiefsten Schicht des Stratum corneum, nahe der Barrierezone findet, und liposomale Strukturen aufweist. Dieses setzt sich aus transepidermalem Wasser und Komponenten aus dem Verhornungsprozeß mit Cholesterol als Leitsubstanz der Lipidkomponenten zusammen. Menge und Zusammensetzung der Hydrolipidemulsion bestimmen den aktuellen Hautzustand und variieren in Abhängigkeit von Genetik, Körperregion, sowie von äußeren (Tages-, Jahreszeit, Luftfeuchte) und inneren Faktoren (Krankheit, Stress) [Raab et al. 1999].

Im Gegensatz zu alten Vorstellungen erfüllt das Sebum mehrere wichtige Funktionen, von denen hier der Transport von Antioxidantien zur Hautoberfläche und die antimikrobielle Aktivität exemplarisch genannt seien. Ein unmittelbarer Beitrag der Sebumlipide zur epidermalen Barrierefunktion besteht neuesten Erkenntnissen zufolge allerdings nicht [Wille und Kydonieus 2003].

Ein Gerät zur Quantifizierung des Lipidgehalts der Hautoberfläche ist das Sebumeter der Fa. Courage & Khazaka, Köln. Das Messprinzip des Sebumeters beruht auf einer Veränderung der Lichtdurchlässigkeit eines speziellen Kunststoffbandes bei Benetzung mit Fett. Die Veränderung der Lichtdurchlässigkeit ist dabei abhängig von der aufgetragenen Fettmenge und wird photometrisch gemessen. Der gemessene Oberflächenfettgehalt wird in  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  digital zur Anzeige gebracht.

#### 2.1.3.4. Oberflächenspannung

Unter Oberflächenspannung (Oberflächenenergie) ist das Verhältnis aus der zur Vergrößerung der Oberfläche erforderlichen Arbeit zu verstehen:

$$\sigma = \frac{\Delta W}{\Delta A} \quad (1)$$

Der Wert der Oberflächenspannung wird in Energie/ Fläche, z.B. in  $\text{J}/\text{m}^2 = \text{N}/\text{m}$  oder in Bruchteilen hiervon, z.B.  $\text{mN}/\text{m} = \text{dyn}/\text{cm}$  gemessen.

Physikalische Systeme neigen dazu, ihren Energiegehalt zu minimieren. Auch ein Flüssigkeitstropfen nimmt auf einer Oberfläche die Form an, die den geringsten Energieaufwand bei der Ausbildung aller Grenzflächen benötigt. Ist die Grenzflächenenergie der Kontaktfläche kleiner als die Oberflächenenergie der Unterlage, so wird die Gesamtenergie dadurch verringert, dass der Tropfendurchmesser in der Kontaktfläche möglichst groß wird. Der Tropfen benetzt dann die Unterlage.

Das Benetzungsvermögen wird durch den Winkel  $\theta$ , den die Oberfläche kleiner Tropfen im Kontaktpunkt mit einer festen Oberfläche bildet, vollständig beschrieben. Es liegt eine Dreiphasengrenzlinie vor, an deren drei unterschiedlichen Phasen drei verschiedene Grenzflächenspannungen wirken: Die Grenzflächenspannung zwischen der flüssigen und der festen Phase  $\sigma_{ls}$ , die Grenzflächenspannung zwischen der flüssigen und der gasförmigen Phase  $\sigma_{lg}$  und die Grenzflächenspannung zwischen dem Feststoff und der gasförmigen Phase  $\sigma_{sg}$ . Diese drei Grenzflächenspannungen, deren Betrag ausschließlich von der chemischen Zusammensetzung der Phasen, dem Druck, sowie der Temperatur abhängt, stehen gemäß der Young'schen Gleichung im Gleichgewicht zueinander:

$$\sigma_{s,g} = \sigma_{l,s} + \cos \Theta \cdot \sigma_{l,g} \quad (2)$$

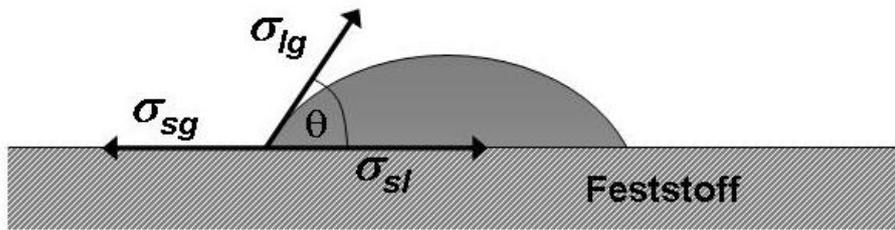


Abb. 5: Definition des Kontaktwinkels  $\theta$

Die Oberflächenenergie fester Körper ist der direkten Messung, d.h. einer Energiemessung, prinzipiell nicht zugänglich. Zu ihrer Bestimmung muss immer der Umweg über eine Auswirkung der Oberflächenenergie wie z.B. der Benetzbarkeit gegangen werden, so dass die Bestimmung der Kontaktwinkel von mindestens zwei Flüssigkeiten mit bekannter Oberflächenspannung notwendig ist.

Die Wechselwirkungen zwischen den Molekülen der einzelnen Phasen eines Systems an der Phasengrenze sind entscheidend, um Benetzungs- und Adhäsionsprobleme zu lösen. Für den Fall, dass zwei Flüssigkeiten oder eine Flüssigkeit und ein Feststoff miteinander in Kontakt stehen, treten an der Phasengrenze ausschließlich Wechselwirkungen zwischen den beiden polaren und den beiden dispersen Anteilen der Grenzflächenspannung der beteiligten Phasen auf. Aus dem Grunde ist die Kenntnis der polaren und dispersen Anteile ausgesprochen wichtig und liegt der Bestimmung der Oberflächenenergie aus Kontaktwinkelmessungen anhand der Theorie von Owens-Wendt-Rabel & Kaelble [Owens und Wendt 1969] zugrunde. Dieser Theorie nach versteht man unter polaren Wechselwirkungen die Coloumb-Wechselwirkungen zwischen permanenten Dipolen und die zwischen permanenten und induzierten Dipolen. Die Wechselwirkung aufgrund von zeitlichen Veränderungen in der Ladungsverteilung innerhalb der Moleküle wird als disperse Wechselwirkung bezeichnet. Der polare und disperse Beitrag zur Oberflächenenergie bzw. Oberflächenspannung setzt sich additiv zusammen.

Demnach gilt:

$$\sigma_l = \sigma_l^d + \sigma_l^p \quad \sigma_s = \sigma_s^d + \sigma_s^p \quad (3)$$

Hier bezeichnen  $\sigma_l^d$  und  $\sigma_l^p$  die dispersen und polaren Anteile der Flüssigkeit,

während  $\sigma_s^d$  und  $\sigma_s^p$  die jeweiligen Anteile des Festkörpers bezeichnen. Die Grenzflächenenergie lässt sich nach *Owens, Wendt, Rabel & Kaelble* aus den Anteilen der Flüssigkeit und des Festkörpers durch die Bildung des geometrischen Mittels berechnen. Für  $\sigma_{l,s}$  ergibt sich:

$$\sigma_{l,s} = \sigma_l + \sigma_s - 2(\sqrt{\sigma_s^d} \times \sqrt{\sigma_l^d} + \sqrt{\sigma_s^p} \times \sqrt{\sigma_l^p}) \quad (4)$$

Setzt man den Ausdruck für  $\sigma_{l,s}$  in die Gleichung (2) ein und stellt die entstehende Gleichung nach unbekanntem Größen um, so erhält man eine Geradengleichung der Form

$$y = a \times x + b \quad (5)$$

mit

$$y = (1 + \cos \Theta) / 2 \times (\sigma_l / \sqrt{\sigma_l^d}) \quad x = \sqrt{\sigma_l^p} / \sqrt{\sigma_l^d} \quad (6)$$

$$a = \sqrt{\sigma_s^p} \quad b = \sqrt{\sigma_s^d} \quad (7)$$

Demnach kann durch die Aufstellung einer Ausgleichsgeraden  $\sigma_l^p$  aus der Steigung und  $\sigma_l^d$  aus dem Achsenabschnitt berechnet werden. Dazu wird der Kontaktwinkel von mindestens zwei Flüssigkeitstropfen mit unterschiedlichen Eigenschaften auf der unbekanntem Unterlage vermessen.

*Kenny et al.* [1992] untersuchten den Einfluss von Schweiß auf das Klebevermögen von Pflastern und fanden heraus, dass die Oberflächenenergie der Haut mit steigender Temperatur und relativer Feuchte von  $38 \text{ mJ/m}^2$  ( $23^\circ\text{C}$ , 34% rel. Feuchte) auf  $57 \text{ mJ/m}^2$  ( $33^\circ\text{C}$ , 60% rel. Feuchte) anstieg. Verwunderlich daran war, dass nur die polare Komponente von 5 auf  $22 \text{ mJ/m}^2$  stieg, während die disperse Komponente mit  $32\text{-}35 \text{ mJ/m}^2$  konstant blieb.

Die Oberflächenspannung der Haut wird in der Literatur mit  $25 \text{ mN/m}$  bis  $40 \text{ mN/m}$  angegeben, wobei der polare Anteil ca. 40% beträgt [Mavon et al. 1997, Lucast 2000].

### 2.1.3.5. Oberflächenrauigkeit: Profilometrie/ FOITS

Die nahe Betrachtung der Oberfläche der menschlichen Haut zeigt, dass diese an jeder Stelle des menschlichen Körpers ein geometrisches Muster aufweist, das in einer bisher noch ungeklärten Art und Weise aus der dreidimensionalen Organisation der obersten Hautschichten resultiert [Grove und Grove 2006]. Nach *Wolf et al.* [1970] und *Hashimoto* [1974] kann das Hautrelief in fünf Anordnungen klassifiziert werden, die sich gegenseitig überlagern. Diese Anordnungen setzen sich entsprechend ihrer Tiefe zusammen aus den Oberflächeneigenschaften der Corneocyten sowie der Konfiguration der Hügel und Rillen, die der Haut ihr mikroskopisches „Berg-und-Tal“ Aussehen, sowie ihr dermatoglyphisches Muster verleihen [Lambers und Pronk 2002, Hashimoto 1974, Wolf 1971, Wolf und Hanusova 1970, Wolf 1970]:

1. Ebene: deutlich sichtbare Falten, Rillen und Furchen (100 $\mu$ m bis einige mm)
2. Ebene: primäre Linien, die in der Haut kreuz und quer Quadrate, Parallelogramme und Rechtecke formen (20-100 $\mu$ m)
3. Ebene: sekundäre Linien, die von den primären Linien abzweigen (5-40 $\mu$ m)
4. Ebene: tertiäre Linien, die die Ränder der Corneocyten formen (ca. 0,5 $\mu$ m)
5. Ebene: quartäre Linien, die dem Corneocyten Relief entsprechen (ca. 0.05 $\mu$ m)

Die Studien von *Wolf et al.* [1970] sowie von *Hanusova* und *Dolejsi* [1958] konnten zeigen, dass das grundlegende Hautrelief vererbt wird und zwischen den Körperregionen stark schwankt. Auch der Einfluss des Alters sowie die Einflüsse an stark sonnenausgesetzten Regionen wurden untersucht [Lavker et al. 1980]. Dabei wurde festgestellt, dass die geschützten Hautregionen junger Erwachsener eine geordnete Geometrie und Regelmäßigkeit aufweisen, während diese Geometrie mit zunehmendem Alter abnimmt und in stark sonnenexponierten Regionen älterer Erwachsener praktisch vollkommen verschwunden ist.

Die zugrunde liegenden morphogenetischen Faktoren, die die Anzahl der feinen Falten und Furchen der topographischen Eigenschaften der Haut bestimmen, sind noch immer ungeklärt. Dennoch sind die Funktionen der besonderen Oberflächeneigenschaften der Haut sehr einleuchtend. Die geometrischen Linien der Haut ermöglichen dem Stratum corneum eine Deformation ohne dass die Struktur der starren Corneocyten aufbricht und so die Integrität und physikalische Barriere der Haut bewahrt wird [Schellander und

Headington 1974]. Außerdem ist die Hauptrichtung der Hautlinien senkrecht zur Bewegungsrichtung und erreicht darüber ein Maximum an Dehnbarkeit [Ferguson und Barbenel 1981].

Besonders intensiv ist die Topographie der Haut in Bezug auf die kosmetische Bedeutung untersucht worden. Die verschiedenen Techniken zur Erfassung der Oberflächentopographie zielen in erster Linie darauf ab, den Einfluss von kosmetischen Präparaten auf Falten, Hautschuppen oder krankhaften Läsionen der Haut zu bewerten und die Ergebnisse zur Begründung eines Werbeanspruchs zu verwenden [Grove und Grove 2006].

Für die Untersuchung der Hautrauheit ist die Profilometrie mit Hilfe der Replikatechnik ein Standardverfahren [Grove et al. 1998]. Dabei werden Negativabdrücke der Haut aus Silikon hergestellt, die weniger als  $1\mu\text{m}$  von dem Originalprofil der Haut abweichen. Die Struktur der Hautoberfläche bleibt hierbei von dem Material völlig unbeeinflusst. Auch der völlig ausgehärtete Silikongummi bleibt von den Vermessungsinstrumenten unverändert. Die Auswertung der Mikrotopografie-Replika kann unterschiedlich erfolgen. Zwei im weiteren Verlauf der Arbeit verwendete Techniken sollen hier vorgestellt werden.

Ein Gerät zur Erfassung der Oberflächenrauigkeit ist der Hommeltester (Hommelwerke GmbH, Villingen-Schwenningen), der auf dem Tastschnittverfahren beruht. Dabei wird die Oberfläche der Replika mit einer Diamantnadel abgetastet. Der senkrecht ausgeübte Druck der Nadel auf die Replika ist dabei so gering, dass keine Verformung der Oberfläche eintritt. Die Vertikalbewegung der Nadel wird in elektrische Signale umgewandelt, aus denen die Rauigkeitsparameter nach Mittelung der Messstrecken zu einem Wert errechnet werden.

Für das „Fast Optical In-vivo Topometry of Human Skin“ (FOITS)-Verfahren sind im Allgemeinen keine Silikonreplika notwendig, da mit dieser berührungslos arbeitenden Technik in kürzester Zeit dreidimensionale Informationen der Hautoberfläche gewonnen werden können. Bei diesem Verfahren zur 3D-Informationsgebung wird eine Kombination aus Gray-Code- und Phasenshift eingesetzt. Das direkte Messsystem besteht aus einer Projektionseinheit und einer CCD-Kamera. Bei der Gray-Code-Methode werden nacheinander Gitter mit einer rechteckförmigen Helligkeitsverteilung und unterschiedlicher Linienanzahl projiziert. Bei der Phasenshift-Technik wird nur ein Gitter mit sinusförmiger Intensitätsverteilung mehrmals mit unterschiedlicher Phasenlage projiziert. Die Oberflächenstruktur des Untersuchungsareals bewirkt eine Abweichung der

Intensitäts- und Phaseninformation der projizierten Gitterstrukturen von der theoretischen Idealstruktur einer ebenen Oberfläche [Rohr und Schrader 1998].

Die gemessenen Rauigkeitsparameter der beiden Methoden können durch standardisierte Rauheitskennwerte nach DIN charakterisiert werden. Besonders bedeutsam sind hier die gemittelte Rautiefe (Rz) und der arithmetische Mittenrauwert (Ra). Rz ist das arithmetische Mittel aus den Einzelrautiefen fünf aneinander gereihter, gleichlanger Einzelmessstrecken. Ra ist der arithmetische Mittelwert der absoluten Beträge aller senkrechten Abweichungen von der Mittellinie innerhalb der Gesamtmessstrecke.

## **2.2. Beeinflussung von Hautparametern durch Emollienten**

Die Bewertung kosmetischer Präparate im Hinblick auf die Veränderung des Hautzustandes steht im Fokus der Kosmetikforschung. Kosmetische Formulierungen enthalten im allgemeinen 5-30% Lipide. Als mengenmäßig zweitgrößter Komponente neben Wasser kommt den Emollienten daher eine herausragende Bedeutung zu [Lanzendörfer 2002]. Prinzipiell unterscheidet man zwischen dem Einfluss von Emollienten auf die kosmetische Verbesserung des Hautzustandes und zur Behandlung von Krankheiten, sowie den Funktionen innerhalb einer Rezeptur und dem damit einhergehenden sensorischen Einfluss der Emollienten, der in Kapitel 2.3.2 genauer betrachtet wird.

Prinzipiell verfügen Kosmetika über zwei Strategien, um Feuchtigkeit in der Haut zu bewahren. Einerseits wirken sie okklusiv und verhindern so die Wasserverdunstung aus der Hornschicht (vgl. Kapitel 2.2.3) und zum anderen können sie als Feuchthaltemittel fungieren und Wasser in der Hornschicht festhalten. Durch die Verwendung von Substanzen, wie sie z. B. im Natural Moisturizing Factor (NMF) vorkommen, wird beim Auftrag des Produktes Feuchtigkeit gebunden und in der Hornschicht festgehalten. Solche Feuchthaltemittel wie Glycerin und Urea werden in der wässrigen Phase eingesetzt. Studien haben jedoch gezeigt, dass solche hygroskopischen Komponenten, speziell, wenn sie in ein kosmetisches Präparat inkorporiert sind, den TEWL nur geringfügig und kurzzeitig beeinflussen können [Martini und Cotte 1982].

Schließlich wirkt noch ein weiterer Faktor hydratisierend: Emulsionen, die üblicherweise kosmetisch genutzt werden, enthalten je nach Emulgator- und Emulsionstyp nicht nur

durch die Emulgatorstrukturen gebundenes Wasser (interlamellar im Gelgerüst der Emulgatoren fixiertes Wasser), sondern mehr oder weniger freies, sogenanntes „Bulkwasser“. Dieses wird in die hydrophilen Bereiche der Lipidschicht eingelagert und kann die Hornschicht sofort wirkungsvoll hydratisieren. Das gebundene Wasser der Emulsion wird dagegen wie ein Wasserdepot nach und nach freigesetzt. Diese Rezepturen verfügen über Barrierschicht-stabilisierende Fettsäuren und bieten Feuchtigkeit an, die in der Haut gebunden wird und eine zu hohe Abdunstung verhindern.

Über die verschiedenen Öle können die Konsistenz und das Aussehen von Rezepturen angepasst werden. Emollienten können innerhalb einer Emulsion auch als Lösungsvermittler und Lösungsmittel für Wirkstoffe (z.B. UV-Filter), sowie als Dispersionshilfe für unlösliche Produkte agieren [Salka 1997]. Die Wahl der Lipide und des Emulgatorsystems bestimmen die Charakteristiken des Produktes [Lanzendörfer 2002]. O/W-Emulsionen sind dabei die vom Konsumenten am häufigsten gewählte Applikationsform. Sie sind charakterisiert durch eine hydrophile äußere Phase und besitzen exzellente Absorptionseigenschaften. Aufgrund ihres relativ hohen Wassergehalts besitzen sie einen kühlenden Effekt, da nach Applikation auf die Haut Wasser aus der Formulierung freigesetzt wird. Im Gegensatz dazu besitzen W/O-Emulsionen eine lipophile äußere Phase. Die lipidreicheren Formulierungen werden vorwiegend bei Hautzuständen eingesetzt, die durch einen Mangel an Feuchtigkeit, Elastizität oder verstärkter Hautschuppung gekennzeichnet sind. Verschiedene Studien haben gezeigt, dass die Hydratation der Haut bei Verwendung verschiedener O/W- und W/O-Formulierungen sehr unterschiedlich sein kann [Arct und Pytkowska 2003, Fluhr et al. 2002, Denda 2002, Prall 1973]. Bei kurzzeitiger Anwendung ist der Hydratationseffekt bei Formulierungen, die einen hohen Wassergehalt besitzen, höher als bei lipidreichen Formulierungen. Bei O/W-Emulsionen hängt die Befeuchtung demnach vom ihrem Wassergehalt ab. *Fluhr et al.* [1997] fanden heraus, dass bei Langzeitanwendung von O/W- und W/O-Formulierungen mit unterschiedlichen Wassergehalten W/O-Formulierungen eine bessere Stratum corneum-Hydratation erreichen können.

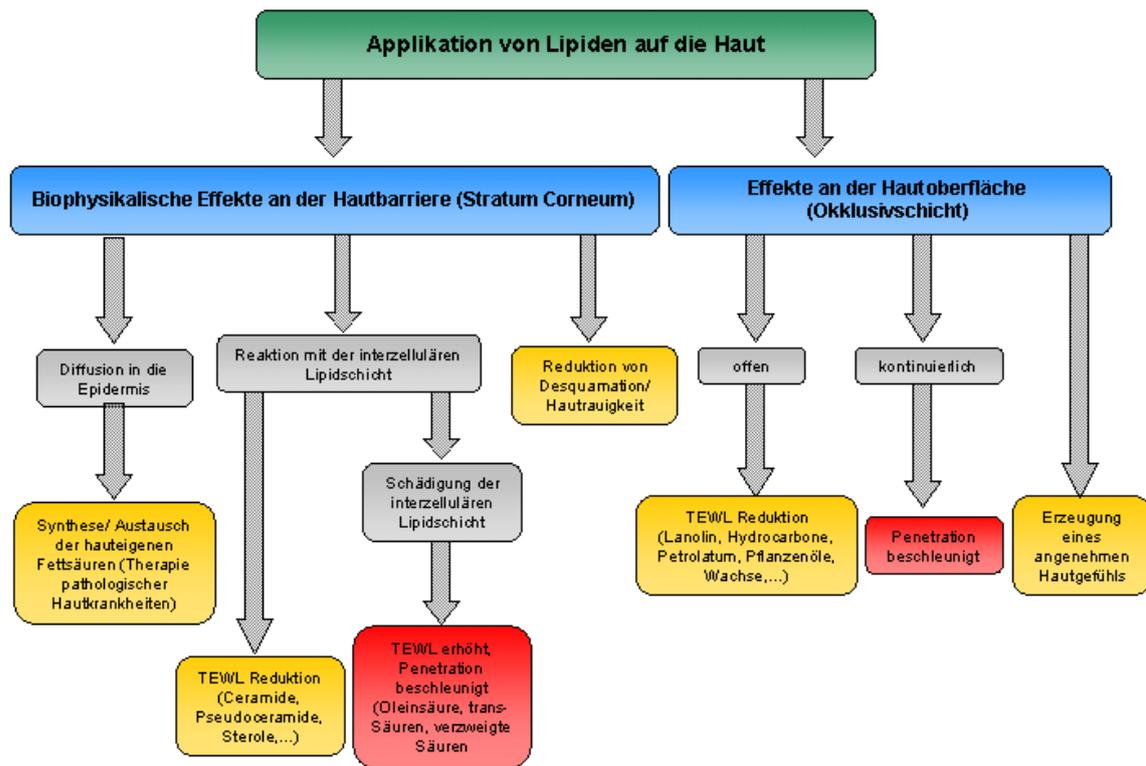


Abb. 6: Effekte von kosmetischen Lipiden [angelehnt an Arct und Pytkowska 2003]

### 2.2.1. Reduktion der Hautrauigkeit

Nach externer Applikation von dermatologischen bzw. kosmetischen Präparaten beginnt zunächst ein Diffusionsprozess von Inhaltsstoffen vorzugsweise in das Stratum corneum. Falls einerseits hygroskopische Substanzen und/oder Wasser hydrophile Zonen durchdringen bzw. lipophile Substanzen hydrophobe Zonen der Zellmembran erreichen, ist eine Quellung der Zellverbände die Folge, die sich nach außen durch eine Glättung der Hautoberflächenstruktur bemerkbar macht. Neben diesen intrazellulären Prozessen treten interzelluläre Vorgänge (Auffüllung leerer Zellzwischenräume) auf, die die Hautglättung unterstützen. Es ist sehr schwierig, diese Einflüsse zu messen, weil sich die verschiedenen Hautschichten in einem dynamischen Fließgleichgewicht befinden, dessen Hauptrichtung von innen nach außen verläuft und viele regulatorische Vorgänge (Reaktion auf innere Reize bzw. Umwelteinflüsse) bewirken, die die Einflüsse überlagern. Neben der Hauttemperatur werden nach Applikation von Kosmetika vor allem Sebum- und

Schweißproduktion reguliert, die ihrerseits wiederum Einfluss auf die Hautoberflächenstruktur nehmen. Man kann die Effekte dieser Regulationsprozesse daher nur sehr schwer innerhalb der natürlichen Hautstrukturvariation von den Signalen separieren, die von Externa hervorgerufen werden [Klaschka 1981].

### **2.2.2. Okklusive Eigenschaften**

Die interzelluläre Lipidschicht bildet die Basis für die effizienten Barriereigenschaften der Haut bezüglich des Eindringens von Fremdstoffen als auch gegenüber dem Verlust von Feuchtigkeit [Le Bouwstra und Honeywell-Nguyen 2002]. Die Wasserabgabe aus dem Stratum corneum wird bei der Applikation von Ölen auf die Haut reduziert [Tstutsumi 1979, Weil und Princen 1977, Handijani-Vila et al. 1975] und es konnte gezeigt werden, dass bei einer Reduktion des TEWL ein gleichzeitiger Anstieg der Hydratation des Stratum corneum stattfindet [Clar et al. 1974].

Die wichtigsten hauteigenen Lipide bei der Ausbildung der interzellulären Lipidschicht sind Ceramide, Cholesterol und freie Fettsäuren. Eine Vielzahl von Hautkrankheiten basieren auf einem Fehlen der Enzyme zur Synthese dieser essentiellen Fettsäuren in der Haut. Extern applizierte Produkte, die ungesättigte Fettsäuren enthalten, können einigen dieser pathologischen Hautveränderungen entgegenwirken und die natürlichen Hautlipide ersetzen [Arct und Pytkowska 2003]. Dabei hat die topische Applikation von physiologischen Lipiden entscheidende Vorteile gegenüber der Applikation nichtphysiologischer Lipide wie z.B. Vaseline. Studien haben gezeigt, dass auch die Gabe nur einer hauteigenen Lipidklasse nicht ausreicht um eine gestörte Barriere wiederherzustellen. Erst die gemeinsame Gabe der drei wichtigsten Lipidklassen (Cholesterol, Ceramide, freie Fettsäuren) führt zur Regeneration der Barrierschicht [Fluhr et al. 2002].

Paraffinöl sowie Fette und Wachse mit hohem Anteil linearer Alkanpartialstrukturen unterbinden infolge ihrer geringen Wasserdampfdurchlässigkeit die Perspiratio insensibilis, d.h. die natürliche Wasserdampfabdunstung von der Hautoberfläche. Damit kommt es zu einem Feuchtigkeitsstau im Stratum corneum und zu einer verstärkten Quellung. Die okklusiven Eigenschaften einer Vielzahl verschiedenster Lipide sind so effektiv, dass sie durch das erhöhte Wasserangebot in der Hornschicht die Penetration von Wirkstoffen

beschleunigen [Arct und Pytkowska 2003]. Mit der Wirkstoffabgabe wird die Sättigungskonzentration des Wirkstoffs in der Kohlenwasserstoffgrundlage unterschritten, so dass weiterer Wirkstoff aus suspendierten Kristallen in Lösung gehen kann. Wirkstofffreie Kohlenwasserstoffgrundlagen können demnach für eine Erhöhung des Feuchtigkeitsgehalts der Hornschicht verwendet werden. Vaseline wird als der Positiv-Standard zur Veranschaulichung des transepidermalen Wasserverlustes und als der wirksamste okklusive Emollient dargestellt [Fluhr et al. 2002]. Eine vollständige Okklusion des Stratum corneum ist jedoch nicht erwünscht. Studien haben gezeigt, dass der transepidermale Wasserverlust nach einer vollständigen Okklusion wieder auf den Wert vor der Applikation zurückfällt und die Okklusion demnach keine Regeneration des Stratum corneum nach sich gezogen hat [Grubauer et al. 1987].

Es zeigt sich, dass insbesondere verzweigt-kettige Ester höherer Fettsäuren die Wasserabgabe durch die Haut nur sehr wenig beeinflussen. Dies ist ein in der Kosmetik sehr gewünschter Effekt. Die heute so beliebten leichten, „softigen“ Cremes und Lotionen erfordern Emulsionen mit Ölkomponenten, die sich sehr gut auf der Haut verteilen und in sie einziehen. Derartige Hautpflegepräparate verhalten sich ähnlich den natürlichen Hautlipiden. Ölkomponenten mit diesen Eigenschaften lassen Wirkstoffe besser zur Geltung kommen, indem sie diesen als „Gleitschiene“ dienen. Emulsionen und andere Zubereitungen mit derartigen Ölkomponenten eignen sich daher besonders gut als Trägermaterial kosmetischer oder pharmazeutischer Wirkstoffe [Brunke und Köster 1989].

### **2.3. Emollienten**

Emollienten sind der CTFA nach Substanzen, "*...which help to maintain the soft, smooth and pliable appearance of the skin...*" [CTFA 2004]. Sie verleihen der Haut Glätte und Geschmeidigkeit, wobei der Begriff nicht die Zugehörigkeit zu einer bestimmten Substanzklasse bezeichnet, sondern auf die Summe der sensorisch erlebbaren Effekte abhebt. Konsumenten der heutigen Zeit bevorzugen natürliche kosmetische Produkte, die unbedenkliche Inhaltsstoffe enthalten, ein leichtes, nicht fettendes Hautgefühl erzeugen und über zusätzliche Attribute wie ein schnelles Einziehen in die Haut, einen Long-Lasting-Effekt und eine spürbare Wirkung verfügen.

Ein wichtiges Kriterium für die Auswahl eines Öls ist die Zusammensetzung der enthaltenen Triglyceride bzw. der an Glycerin gebundenen Fettsäuren. Ungesättigte Säuren

machen die Öle flüssig und leicht verteilbar. Daher werden gern ölsäurehaltige Pflanzenöle wie das Olivenöl für die Hautpflege eingesetzt.

Verschiedene klinische Studien haben gezeigt, dass die Verwendung des passenden Emollients zur Therapie verschiedener Hautkrankheiten z. B. der atopischen Dermatitis, einen entscheidenden Einfluss auf den Behandlungserfolg zeigt [Gehring et al. 1999]. Emollienten sind daher nicht einfach nur Transportvehikel sondern vielmehr eine essentielle Komponente für eine erfolgreiche topische Behandlung [Fluhr et al. 2002].

### 2.3.1. Chemische Klassen und Aufbau

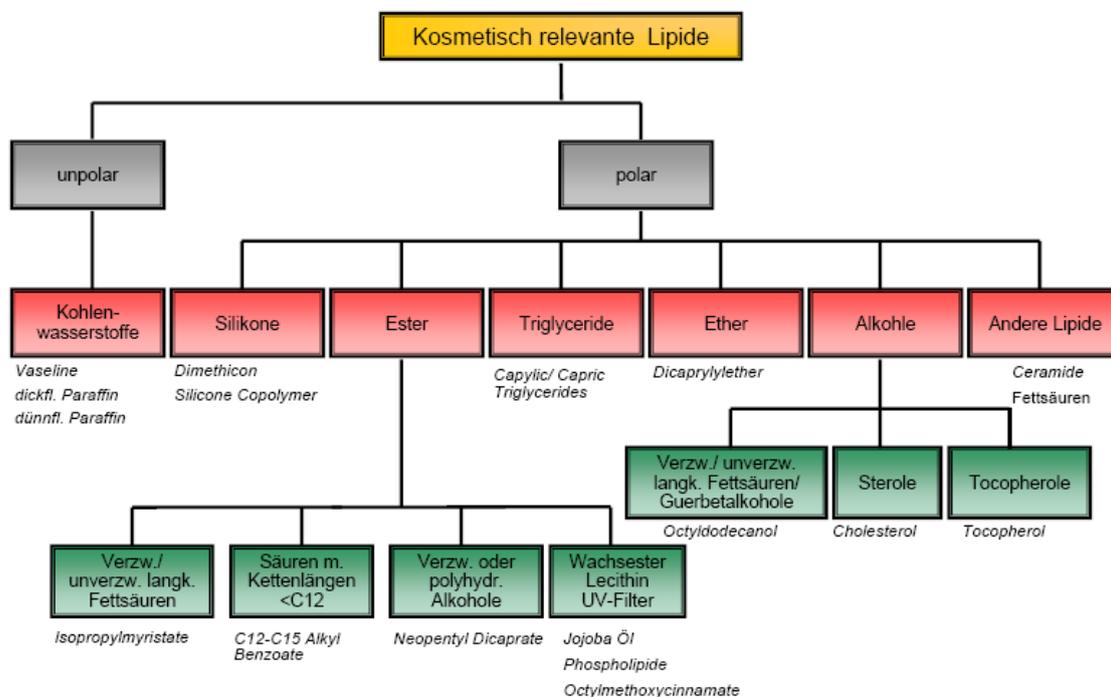


Abb. 7: Einteilung kosmetisch relevanter Lipide [angelehnt an Lanzendörfer 2002]

#### Kohlenwasserstoffe

Längerkettige, flüssige und feste Kohlenwasserstoffe spielen in der Kosmetik eine große Rolle, da sie aufgrund ihrer Reaktionsträgheit vielfältig eingesetzt werden können. Bevorzugt werden Paraffine (lat. affinis, "wenig reaktionsfähig"), Vaseline (auch Petrolatum) oder Wachse verwendet, deren okklusive Eigenschaften sich bei dem Einsatz in Hautpflegeprodukten zunutze gemacht werden und die außerdem eine Steigerung des Glättegefühls bewirken. Dünnflüssiges *Paraffinum perliquidum* wird aufgrund seiner

niedrigen Viskosität ( $< 70\text{mPa}\cdot\text{s}$ ) gegenüber dickflüssigem *Paraffinum (sub)liquidum* (Viskosität  $>100\text{mPa}\cdot\text{s}$ ) bevorzugt in Sprühformulierungen eingesetzt. Nur ungesättigte Kohlenwasserstoffe, wie z.B. Squalen sind anfällig für oxidative Prozesse, deshalb werden sie durch vollständige Hydrierung in Squalan umgewandelt, das gute Glättungseigenschaften besitzt. Die Kettenverzweigungen dieser Isoprenoide sind für das gute Spreitvermögen verantwortlich.

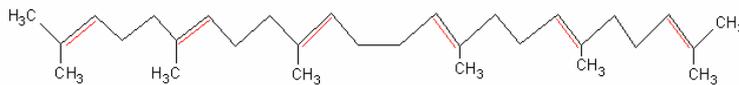


Abb. 8: *Squalan/Squalen*

### Silikonöle

Silikonöle sind hochmolekulare Organopolysiloxane, die aufgrund ihrer einzigartigen Eigenschaften, sowohl beim Konsumenten als auch beim Entwickler, als vielfach verarbeitete Rohstoffe in kosmetischen Produkten zählen. Sie werden häufig als Mineralölersatz postuliert, wobei sie die Vorteile einer niedrigen Oberflächenspannung und die damit verbundenen guten Hautbenetzungseigenschaften besitzen [Kutz 2001]. Als Nachteile sind ihr schlechtes Lösungsvermögen in Ölen und ihre Unlöslichkeit in Wasser zu nennen, die über die Anlagerung organofunktionaler Bestandteile (lipophile Gruppen bzw. hydrophile Reste) verbessert werden kann [Raab et al. 1999, Schueller und Romanowski 1999]. Man unterscheidet zyklische Silikonöle und lineare Polysiloxane. Letztere sind Körperpflegeadditive, die in der Lage sind, das Hautgefühl zu modifizieren und die Hautbarriere zu schützen. Sie besitzen entschäumende und entseifende Eigenschaften und verschaffen ein seidiges Hautgefühl. Als Beispiel sei hier das eingesetzte Dimethicone Copolyol (Abb. 9) genannt. Zyklische Silikonöle dagegen sind flüchtige Komponenten mit niedriger Viskosität, die ein angenehm leichtes, nicht fettiges Hautgefühl vermitteln [Schueller und Romanowski 1999].



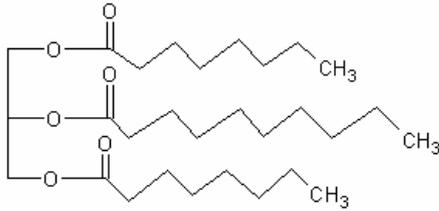


Abb. 10: Caprylic/ Capric Triglyceride (Beispiel)

Durch Umesterung von Triglyceriden in Gegenwart von Glycerin, oder durch direkte Veresterung von Fettsäuren mit Glycerin, entstehen Mono- und Diglyceride von Fettsäuren. Im Vergleich zu den Triglyceriden sind diese Partialglyceride stärker hydrophil, so dass sie nach Einarbeitung in reine Lipidformulierungen diese, sensorisch betrachtet, weniger fettend oder okklusiv erscheinen lassen und als W/O- und Co-Emulgatoren eingesetzt werden.

### Ester

Die kosmetisch wichtigste Gruppe der Ester stellen die Wachsester dar. Diese entstehen durch Veresterung langkettiger Fettsäuren mit einwertigen, langkettigen Alkoholen.

Bei den flüssigen Wachsestern stellt eine der Veresterungskomponenten häufig die Ölsäure dar, eine beliebte Alkoholkomponente ist der Decylalkohol, der auch als Spreit- und Penetrationsverbesserer eingesetzt werden kann. Generell liegen jedoch bei den natürlichen Wachsen überwiegend Gemische von Estern meist einwertiger Alkohole mit höheren Fettsäuren vor, die daneben noch freie Fettsäuren, Kohlenwasserstoffe und Alkohole enthalten, als Beispiel sei Dicaprylyl Carbonate (Abb. 11) genannt.

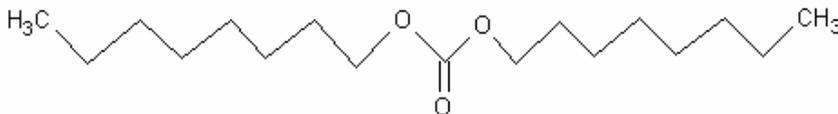


Abb. 11: Dicaprylyl Carbonate

Als nativer Wachsester ist das Jojoba-Öl zu nennen, das zu 50% C<sub>42</sub>-Ester enthält und daneben noch ähnlich langkettige Wachsester sowie geringe Mengen an freien Fettsäuren und einwertigen primären Fettalkoholen. Oleyl Erucate gilt als synthetisches Jojoba-Öl, das dem nativen Öl in den guten Einzugs- und Spreitcharakteristiken und der trotz Doppelbindung guten Oxidationsstabilität, nicht nachsteht. Problematisch ist jedoch die Bildung einer körnigen Masse im Erstarrungspunkt (ca. 10-12°C) und die schwierige Einarbeitung in Emulsionen [Kutz 2001].

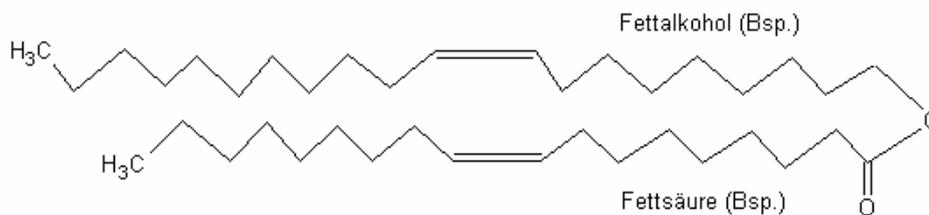


Abb. 12: Jojoba-Öl

Eine Sondergruppe stellen synthetische Ester dar, die aus einem Alkohol und einer oder mehreren Fettsäuren bestehen. Zu ihnen gehören z.B. die gut spreitenden Öle wie Isopropyl Myristate (IPM), die aus Gründen der besseren Verteilbarkeit von kosmetischen Produkten ebenfalls breite Verwendung finden.

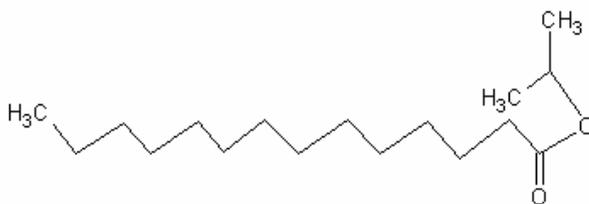


Abb. 13: Isopropyl Myristate

### Fettalkohole/ Fettalkoholether

Unter Fettalkoholen versteht man einwertige primäre Alkohole mit einer Kettenlänge über 4 C-Atomen. Abhängig von ihrer Kettenlänge liegen ölige Flüssigkeiten, wachswichtige Massen oder feste Produkte vor. Ein beliebter Konsistenzgeber in kosmetischen Zubereitungen ist Cetearylalkohol, ein Gemisch aus Cetyl- und Stearylalkohol. Bei dem für meine Untersuchungen ausgewählten Fettalkohol handelt es sich um Octyldodecanol, der zur Gruppe der Guerbet-Alkohole gehört. Diese Bezeichnung fasst Substanzen

zusammen, welche nach dem Guerbet-Verfahren synthetisiert werden. Dabei werden primäre Alkohole mit Natrium oder Kupfer bei erhöhtem Druck erhitzt, so dass eine Alkohol-Selbstkondensation einsetzt. Octyldodecanol besitzt günstige taktile Eigenschaften wie eine geringe Klebrigkeit [Zeidler 1992] und ein durchschnittliches Spreitvermögen [Zeidler 1985].

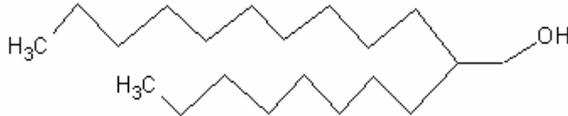


Abb. 14: Octyldodecanol

Fettalkoholether sind eine Randgruppe lipophiler Hilfsstoffe für Kosmetika, die als Fettalkoholethoxylate häufig emulgierende Eigenschaften besitzen. Der von mir eingesetzte Dicaprylylether ist ein hochspreitendes Öl, das ein trockenes Hautgefühl vermittelt. Dicaprylylether ist hydrolytisch stabil und findet eine breite Anwendung in kosmetischen Präparaten, da es auch für Formulierungen mit extremen pH-Werten geeignet ist.

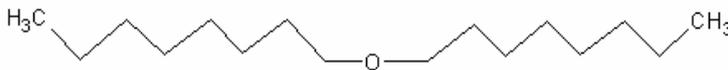


Abb. 15: Dicaprylylether

### 2.3.2. Physikochemische Eigenschaften und sensorische Effekte

Es ist literaturbekannt, dass die physikochemischen Eigenschaften von Emollienten einen starken Einfluss auf das sensorische Profil eines kosmetischen Präparates besitzen [Lanzendörfer 2002]. Infolge der großen anwendungstechnischen Bedeutung der kosmetischen Öle erscheint es wünschenswert, Zusammenhänge zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften einer Ölkomponente und ihrem Verhalten auf der Haut aufzeigen zu können.

Die Auswahl eines Emollienten oder einer Mischung von Emollienten hängt im Allgemeinen von folgenden Charakteristiken ab:

- chemischer Struktur
- Molekulargewicht
- Polarität
- Spreitverhalten
- sensorische Eigenschaften (emolliency)
- hydrolytische Stabilität
- rheologische Eigenschaften
- Lösungsvermittelnde Eigenschaften gegenüber öllöslichen Feststoffen
- Wirkung als Permeabilitätsbeschleuniger

Für die kosmetische Verwendung der Öle und Fette ist ihre Spreitung, Viskosität und Oberflächenspannung von größtem Interesse. Die Unterschiede in der Oberflächenspannung sind wenig ausgeprägt, größer sind sie in der Viskosität, die enger mit der Spreitung korreliert. Verschiedene Autoren postulierten die Korrelation zwischen dem Spreitverhalten kosmetischer Öle und dem empfundenen Hautgefühl [Elias 1981, Zeidler 1992]. *Zeidler* [1985] stellte folgende generelle Regeln für den Zusammenhang zwischen den physikochemischen Eigenschaften eines Öls und dem Spreitverhalten auf:

- Der Spreitwert nimmt mit ansteigender Viskosität des Öls ab.
- Vergleicht man Öle gleicher Viskosität miteinander steigt das Spreitverhalten mit abnehmender Oberflächenspannung.
- Die Spreitbarkeit eines Öls korreliert mit der subjektiv empfundenen Absorptionsfähigkeit in die Hornschicht der Epidermis und dem Zeitverlauf des fettigen Gefühls.
- Wenn die Oberflächenspannung konstant bleibt, sinken die Spreitwerte mit ansteigender Viskosität.
- Einige verzweigt-kettige Öle spreiten besser als unverzweigt-kettige.
- Klebrigkeit von Formulierungen tritt auf, wenn Öle mit hoher Oberflächenenergie und hoher Viskosität inkorporiert werden.

Außerdem gilt nach *Zeidler* [1985] für die einzelnen Lipidgruppen:

*Synthetische mittelkettige Triglyceride* zeigen ein ausgeglichenes Verhältnis aus Spreiten, Absorption und After-Feel, während die meisten *natürlichen Triglyceride* ein ausgesprochen fettiges After-Feel besitzen, das zusätzlich korreliert werden kann mit niedrigem Spreitwert und geringer Absorption.

*Synthetische Ester* zeigen normalerweise gute Spreitwerte und Absorptionscharakteristiken und zeichnen sich aus durch ein trockenes After-Feel. Bei *Estern und Guerbet-Alkoholen*, die starke hydrophile Wechselwirkungen zeigen, ist der Spreitwert umso höher je niedriger das Molekulargewicht.

Wenn die Viskosität unverändert bleibt, spreiten *Alkohole* schneller als *Hydrocarbone*, die wiederum schneller spreiten als *Ester*.

*Silikonöle* sind beliebte Inhaltsstoffe zur Modifizierung der sensorischen Effekte, da sie im Allgemeinen das Spreiten aufgrund ihrer niedrigen Oberflächenspannung steigern.

### **2.3.3. Methoden zur Bewertung der sensorischen Effekte**

#### **2.3.3.1. Spreiten der Emollienten auf der Haut**

Unter „Spreitung“ ist das flächenhafte Ausbreiten einer Substanz zu verstehen. Der in der Kosmetik üblicherweise verwandte Spreitwert nach *Zeidler* [1985] gibt an, welche Fläche (in mm<sup>2</sup>) der menschlichen Haut am Unterarm zu einer definierten Zeit (10min) nach Applikation einer definierten Menge der flüssigen Ölkomponente bedeckt ist. Standardisierte Bedingungen bezüglich Temperatur und Umgebungsfeuchte sind einzuhalten. Desweiteren ist es zur Sicherstellung der Vergleichbarkeit der Ergebnisse notwendig, eine Referenzsubstanz in die Versuchsreihen einzubeziehen, da die Absolutwerte des Spreitens sehr stark von dem jeweiligen Hauttyp abhängen. Um dies zu umgehen, postulierten *Roehl und Brand* [1991] die Bestimmung der Spreitwerte auf mit Gelatine überzogenen Glasplatten. Gelatine entspricht in der Aminosäurezusammensetzung weitgehend der des Kollagen und ist somit gut als Modell der Humanhaut geeignet.

Um eine gleichmäßige Verteilung des eingesetzten Wirkstoffs auf der Haut zu gewährleisten, ist ein ausgewogenes Spreiten der Öle in einer Emulsion ein wichtiges Kriterium [Ansmann und Kawa 1991].

Dieses kann nach Kawa et al. [1999] durch die Kombination unterschiedlich spreitender Substanzen erreicht werden. Während hoch spreitende Substanzen ein unmittelbar nach Hautauftrag einsetzendes, deutliches Glättegefühl ergeben, das schon nach kurzer Zeit abfällt, erzeugen niedrig spreitende Öle ein geringeres Glättegefühl, das jedoch über die Zeit konstant bleibt. Durch Kombination hochspreitender Emollienten mit mittel- und langsam spreitenden Ölkomponenten kann ein schnell einsetzendes, aber kontinuierlich abfallendes Glättegefühl realisiert werden. Letzteres trägt anerkanntermaßen zur kosmetischen Akzeptanz eines Hautpflegeproduktes bei [Kawa et al. 1999].

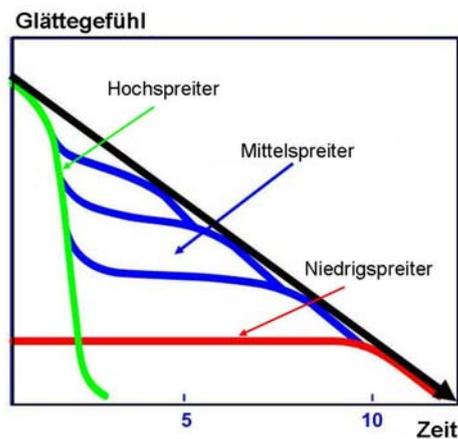


Abb. 16: Schematische Darstellung einer Spreitkaskade [nach Kawa et al. 1999]

Unter Berücksichtigung der bekannten Tatsache, dass auch eine niedrige Viskosität einer Ölkomponente deren Ausbreitung auf der Haut fördert, ergaben anwendungstechnische Untersuchungen, dass insbesondere Verbindungen mit niedriger Oberflächenspannung und niedriger Viskosität die Haut schnell und gleichmäßig benetzen, verbunden mit einem als sehr angenehm beschriebenen Hautgefühl. Gleiches gilt für kosmetische Zubereitungen, deren Fettphasen Komponenten mit ausgeprägten hautbenetzenden Eigenschaften enthalten. Flüssigkeiten mit einer Oberflächenspannung, die genau so groß oder kleiner ist als die Oberflächenspannung des Feststoffs, werden auf der Oberfläche spreiten, während Flüssigkeiten mit einer größeren Oberflächenspannung einen eindeutigen Kontaktwinkel ausbilden [Charkoudian 1988]. Die Oberflächenspannung der Haut wird in der Literatur

mit 25-29mN/m angegeben [Lucast 2000]; die Bestimmung der von uns verwendeten Ölkomponenten ergab Werte im Bereich von ca. 20-34mN/m.

Anhand des Kontaktwinkels kann eine Aussage über die Benetzungsfähigkeit des Feststoffes im gegebenen Stoffsystem getroffen werden. Je geringer der Kontaktwinkel ist, desto besser kann der Feststoff benetzt werden bzw. desto vollständiger ist die Bedeckung der Feststoffoberfläche mit Flüssigkeit. In Abhängigkeit von dem sich einstellenden Kontaktwinkel wird zwischen nicht benetzenden ( $\Theta \geq 90^\circ$ ), teilweise benetzenden ( $0^\circ < \Theta \leq 90^\circ$ ) und vollständig benetzenden ( $\Theta = 0^\circ$ ) Systemen unterschieden. Voraussetzung für die Gültigkeit der Young'schen Gleichung ist das Vorliegen einer nicht deformierbaren und nicht löslichen Feststoffoberfläche.

Die endgültige Tropfenkontur und damit die von einem einzelnen Tropfen bedeckte Feststoffoberfläche, hängt dabei sowohl vom mikroskopischen Benetzungswinkel, als auch von der Oberflächenrauigkeit und der Oberflächenporosität des Feststoffs ab [Dörfler 1994].

*Wenzel* [1936, 1949] untersuchte schon in den 40er-Jahren den Einfluss der Rauigkeit auf den Kontaktwinkel. Aus energetischen Überlegungen heraus, unterstellte er folgenden Zusammenhang:

$$\cos(\Theta_r) = \frac{\text{Fläche der rauhen Oberfläche}}{\text{Fläche der glatten Oberfläche}} \cos(\Theta_g) \quad (8)$$

Dabei folgerte er, dass raue Oberflächen gegenüber glatten Oberflächen einen veränderten Kontaktwinkel  $\Theta_{\text{rau}}$  aufweisen müssten, da sie einen anderen Energiegehalt pro Flächeneinheit zeigen. *Wenzel* rechnete hierbei mit dem mittleren Verhältnis der Projektionsfläche zur tatsächlichen Oberfläche des aufgerauten Feststoffes. Für mikroskopisch raue Oberflächen und einem Kontaktwinkel  $\Theta_{\text{glatt}}$  von über  $90^\circ$  ergibt sich damit rein rechnerisch mit zunehmender Rauigkeit eine Zunahme des Benetzungswinkels. Umgekehrt liefert die Berechnung nach *Wenzel* bei Benetzungswinkeln unter  $90^\circ$  mit zunehmender Rauigkeit geringer werdende Kontaktwinkel. Grundsätzlich stimmt dieser Befund mit den Versuchsergebnissen vieler Autoren überein [Busscher et al. 1984, Fukai et al. 1998].

### 2.3.3.2. Frictiometrie: Frictiometer

Es sind Hautreibungsvorgänge, in denen unsere taktilen Empfindungen vermittelt werden. Mit dem Streichen eines Fingers über die Haut erhalten wir Informationen darüber, ob die Haut geschmeidig oder rau, sowie trocken oder ölig ist. Daher ist es von großer Bedeutung für die Entwicklung von Kosmetika die Reibungseigenschaften der Haut zu verstehen [Leveque 1989].

Nach den Gesetzmäßigkeiten von *Amonton* gilt für den Friktionskoeffizienten  $\mu$ :

$$\mu = \frac{F}{W} \quad \begin{array}{l} F = \text{Reibungskraft} \\ W = \text{Auflagekraft} \end{array} \quad (9)$$

Demnach kann also der Reibungskoeffizient  $\mu$  mit jeder Technik bestimmt werden, die in der Lage ist, gleichzeitig die Auflagekraft zwischen den berührenden Flächen und die Kraft zu bestimmen, die notwendig ist, um die Flächen relativ zueinander in Bewegung zu setzen (statischer Friktionskoeffizient), bzw. um die Flächen relativ zueinander zu bewegen (dynamischer Friktionskoeffizient). Außerdem geht *Amonton* davon aus, dass der dynamische Friktionskoeffizient unabhängig ist von der Geschwindigkeit der Sonde sowie von der Auflagekraft. *Koudine et al.* [2000], *El-Shimi* [1977] und *Comaish* und *Bottoms* [1971] haben jedoch festgestellt, dass dies nur für Feststoffe mit begrenzten elastischen Eigenschaften und nicht für ein viskoelastisches System wie die Haut gilt, da sie herausfanden, dass  $\mu$  mit steigender Auflagekraft ansteigt [El-Shimi 1977, Comaish und Bottoms 1971, Koudine et al. 2000].

Eine Vielzahl unterschiedlicher Techniken sind in der Literatur zur Messung der Frictiometrie beschrieben worden. Man kann diese einteilen in Messinstrumente, bei denen eine Sonde linear über die Haut gleitet [Bhushan et al. 2005, Gee et al. 2005, Sivamani et al. 2003, Sivamani et al. 2003a, Tanaka et al. 2003, Egawa et al. 2002, Asserin et al. 2000, Koudine et al. 2000, Eisfeld und Busch 1999, Nakajima und Narasaka 1993, Wolfram 1983, Comaish und Bottoms 1971] und solche, bei denen eine Sonde auf der Haut rotiert [Tronnier et al. 2001, Lindahl et al. 1998, Elsnau 1995, Lodén et al. 1992, Henricsson und Svensson 1990, Nacht et al. 1981, El-Shimi, 1977, Highley et al. 1977].

Das von der Firma Courage & Khazaka und dem Institut für experimentelle Dermatologie, Universität Witten/ Herdecke, im Jahre 2001 neu entwickelte Frictiometer FR 700 beruht auf dem Rotationsprinzip und ist dem Hersteller nach nicht nur in der Lage die taktilen Parameter der Haut zu bestimmen, sondern auch geeignet, durch Änderung der Sensoroberfläche (z.B. durch Überziehen mit einem textilen Material) die Hautoberflächenparameter (z.B. durch Anrauen) zu ändern.

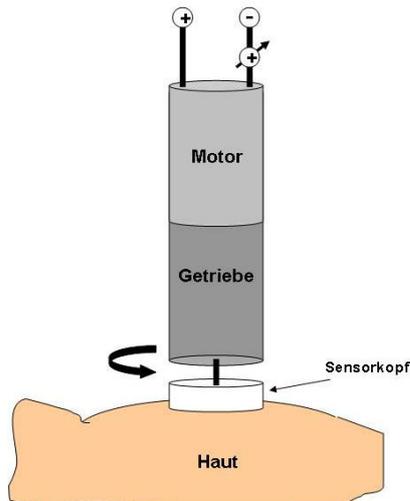


Abb. 17: Funktionsprinzip des Frictiometer®

Die Adhäsion (Reibungskraft) zwischen Sensor und Haut ergibt sich aus dem Auflagedruck und der Gestaltung der Oberfläche des Sensorkopfes (Größe und vor allem Oberflächenbeschaffenheit) sowie dem Zustand der Hautoberfläche. Die Kraft, die notwendig ist, um den Sensor z.B. nach Applikation von Kosmetika auf der Haut zu bewegen (Reibung/ Friktion) korreliert den Herstellern nach mit der Glätte der Haut sowie im Wesentlichen mit den subjektiven, taktilen Empfindungen [Tronnier et al. 2001]. Die Reibung auf der Oberfläche wird bestimmt durch die physikalischen Parameter Normalkraft  $N$  und Reibungskraft  $F$ . Bei dieser Messmethode wird die Normalkraft durch die Auflagekraft des Sensorkopfes und die Reibungskraft durch das mit einer Rotationsbewegung erzeugte Drehmoment auf der Oberfläche bestimmt. Die Reibungskraft wird als Frictiometerwert (0-1000) in einen Computer eingelesen und anhand einer geeigneten Software analysiert.

Die austauschbaren Sensorköpfe des Frictimeters bestehen aus Teflon und weisen unterschiedliche Oberflächenbeschaffenheiten auf. Teflon hat geringe Abriebwerte und ist gegenüber schwankenden Temperaturen unempfindlich. Außerdem ist es gut hautverträglich und hat eine sehr geringe Wasseraufnahme (0,005%).

Insbesondere ist in der Literatur auch untersucht worden, inwiefern der Einfluss von Kosmetika auf der Haut mit einem Frictimeter bewertet werden kann. Der Eingangseffekt nach der Applikation von Ölen ist ein Absenken des Friktionskoeffizienten. *Nacht et al.* [1981] und *Highley et al.* [1977] zeigten außerdem, dass nach der anfänglichen Abnahme der Friktion, die Öle im Endeffekt den Friktionskoeffizienten erhöhen. Außerdem konnten *Nacht et al.* [1981] zeigen, dass die prozentuale Änderung des Friktionskoeffizienten bei Applikation verschiedener Cremes auf die Haut mit der sensorisch empfundenen Fettigkeit korreliert. *Prall* [1973] und *Nacht et al.* [1981] fanden heraus, dass der Friktionskoeffizient nach der Anwendung von Emollienten und Cremes etwa genauso stark steigt wie bei Applikation von Wasser. Die Effekte der Cremes jedoch hielten für Stunden, während die Effekte des Wassers nur 5-20 Minuten andauerten.

Hydratationsstudien zeigten, dass trockene Haut niedrigere Friktionswerte aufweist als hydratisierte Haut, wobei jedoch der Grad der Befeuchtung eine große Rolle spielt. Sehr feuchte Haut zeigt wiederum Friktionswerte, die mit trockener Haut vergleichbar sind. Eine gemäßigte Zugabe von Wasser bewirkt eine Glättung der Haut, dadurch entsteht eine größere Kontaktfläche zwischen der Frictimetersonde und der Haut, die eine Erhöhung des Frictimeterwertes bewirkt. Außerdem steigt durch die Applikation von Wasser die Adhäsion zwischen Sonde und Haut und erzeugt so einen höheren Widerstand, der zum Rotieren der Sonde überwunden werden muss. Trockene Haut dagegen ist weniger geschmeidig, so dass die Adhäsion zwischen Sensorkopf und Haut geringer ist. Die Frictimetersonde kann dadurch leichter über die Haut gleiten und erzeugt niedrigere Frictimeterwerte.

Verschiedene Autoren versuchten bereits, die zur sensorischen Bewertung von Topika subjektiven, qualitativen Beschreibungen quantitativ durch Korrelation mit dem Friktionskoeffizienten zu erfassen. *Prall* [1973] fand eine Korrelation zwischen Friktion und Hautglätte, nachdem er die Topographie und Härte der Haut in die Analyse mit einbezog. *Nacht et al.* [1981] fanden einen Zusammenhang zwischen der empfundenen Fettigkeit und dem Friktionskoeffizienten.

Man kann zwischen drei generellen Kurvenverläufen unterscheiden, die den zeitlichen Verlauf des Friktionskoeffizienten nach Applikation von Ölen bzw. Cremes auf der Haut charakterisieren:

- 1) **Ein sofortiger starker Anstieg des Friktionskoeffizienten, der dann langsam abfällt.**

Diese Kurve zeigen Substanzen, die, wie Wasser, eine schnelle Hydratation der Haut erzielen.

- 2) **Zunächst ein Abfall des Friktionskoeffizienten, der dann in einen zeitlichen Anstieg des Friktionskoeffizienten übergeht.**

Diese Kurve zeigen Substanzen, die recht fettig sind und dadurch den anfänglichen Abfall des Friktionskoeffizienten bewirken. Der dann folgende Anstieg der Friktion ist wahrscheinlich den okklusiven Effekten zu zuschreiben. Diese Produkte und Zusätze bewirken eine Hydratation der Haut, indem sie die Wasserabduftung verhindern.

- 3) **Ein sofortiger schwacher Anstieg des Friktionskoeffizienten, der dann langsam abfällt.**

Substanzen, die diesen Kurvenverlauf zeigen, zeigen eine Kombination der beiden oben genannten Effekte, d.h. Hydratation der Haut sowohl durch Wasserzufuhr als auch durch Okklusion.

In der Literatur wurde außerdem untersucht, welchen Einfluss die Topographie des Sensorkopfes auf die Frictionmeterwerte hat. *El-Shimi* [1977] und *Comaish und Bottoms* [1971] verglichen unterschiedliche Sonden miteinander und fanden heraus, dass glatte Sensorköpfe unterschiedlicher Materialien höhere Friktionskoeffizienten erzeugten als raue Sensorköpfe. Eine Erklärung dafür könnte darin liegen, dass die glatten Sensorköpfe eine größere Adhäsion zur Haut besitzt und dem Gerät so einen höheren Widerstand entgegensetzt.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Verwendete Emollienten

Die folgenden Übersichten beinhalten eine Auflistung der verwendeten Emollienten und deren Bezugsquellen (Tab. 1) sowie die physikalisch- chemischen Daten aller verwendeten Öle (Tab.2).

Tab. 1: Verwendete Emollienten und deren Bezugsquellen

Lipidklasse	Emollienten	Handelsname	Bezugsquelle
<b>Kohlenwasserstoffe, Paraffine</b>	Paraffinum perliquidum	n.a.	Hansen & Rosenthal KG, Hamburg
	Paraffinum liquidum	n.a.	Hansen & Rosenthal KG, Hamburg
	Squalane	Fitoderm	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
<b>Silikone</b>	Dimethicone Copolyol	DM 100	Wacker Chemie GmbH, Burghausen
	Cyclopentasiloxan	DC 245	Dow Corning S.A., Belgien
<b>Triglyceride</b>	Caprylic/ Capric Triglycerides	Myritol 312	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
<b>Ester</b>	Decyl Oleate	Cetiol V	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
	Ethylhexyl Stearate	Cetiol 868	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
	C12-15 Alkyl Benzoate	Finsolv TN	Finetex Inc., New Jersey
	Isopropyl Myristate	n.a.	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
	Cetearyl Isononanoate	Cetiol SN	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
	Dibutyl Adipate	Cetiol B	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
	Dicaprylyl Carbonate	Cetiol CC	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
	Oleyl Erucate (synth. Jojobaöl)	Cetiol J 600	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
<b>Alkohole</b>	Octyldodecanol	Eutanol G	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG
<b>Ether</b>	Dicaprylyl Ether	Cetiol OE	Cognis Deutschl. GmbH & Co. KG

Tab. 2: Physikalisch-chemische Daten der Öle

INCI	Spreitwert	Spreit- vermögen	Molekular- gewicht	Viskosität 20°C	Oberflächen- spannung	Polarität	
	[mm <sup>2</sup> ]	[Klasse]	[g/mol]	[mPas]	[mN/m]	[Klasse]	
Dicaprylyl Carbonate	1600	hoch	286	6,3	31,0	schwach	<b>Hochspreiter</b>
Dicaprylyl Ether	1600	hoch	240	3,0	29,2	schwach	
Cyclopentasiloxan	1600	hoch		3,6	20,5	schwach	
Isopropyl Myristate	1200	hoch	270	4,5	30,1	stark	
Dibutyl Adipate	1000	hoch	260	4,6	31,0	stark	
Ethylhexyl Stearate	800	mittel	390	12,4	31,9	mittel	<b>Mittelspreiter</b>
Cetearyl Isononanoate	700	mittel	390	15,2	31,1	mittel	
Decyl Oleate	700	mittel	415	13,3	32,9	stark	
Paraffinum perliquidum	663	mittel		24,7	31,7	keine	
Octyldodecanol	600	mittel	300	47,4	31,0	schwach	
Squalane	600	mittel	422	31,6	30,2	schwach	
Caprylic/ Capric Triglycerides	550	mittel	500	22,9	31,4	stark	
Dimethicone Copolyol	429	schwach	203	82,9	22,6	schwach	<b>Niedrigspreiter</b>
Oleyl Erucate	350	schwach	590	31,3		schwach	
C12-15 Alkyl Benzoate	250	schwach		11,6	33,6	stark	
Paraffinum liquidum	203	schwach		182,6	33,0	keine	

Quelle: experimentelle Daten, Daten Fa. Cognis, Daten entnommen aus Dietz 1999

## **3.2. Verwendete Kollagenmembranen**

Basisüberlegung für die Auswahl der Untersuchungsmaterialien war, ein Material zu finden, das hautähnliche Oberflächeneigenschaften aufweist. Da trockene, fettfreie Humanhaut zu 71,9% aus Kollagen besteht [Rothmann 1954] bieten sich dabei künstlich hergestellte Kollagenmembranen an. Für die Untersuchungen wurden daher vor allem Kunstdärme verwendet, die normalerweise als Wursthüllen im Lebensmittelbereich Einsatz finden.

### **3.2.1. Kollagenmembranen (Wurstpellen)**

Wenn Kollagenfasern in Wasser gleichmäßig erhitzt werden, schrumpfen sie zunächst und werden dann in Gelatine verwandelt [Lang und Effenberger 2005]. Die hier verwendeten Wurstpellen werden auch als „Kunstdärme aus regenerierten Naturprodukten“ bezeichnet. In der Praxis sind sie unter dem Namen Hautfaser- oder Kollagendarm aus gehärtetem Eiweiß bekannt. Ausgangsmaterial für die Herstellung des Kollagendarms sind Rinderhäute. Die Rinder sollten vorzugsweise in einem Alter von 18 bis 24 Monaten geschlachtet werden, da empirische Studien gezeigt haben, dass in diesem Alter die Fibrillendimension und der Grad der natürlichen Quervernetzung des Hautcollagens so konstituiert ist, dass sie sich am besten verarbeiten lassen. Bei der weiteren Verarbeitung der Rinderhäute wird zunächst ein alkalischer Hautaufschluss mit Natronlauge oder Kalkmilch durchgeführt, der die Entfernung nichtkollagener Begleitstoffe aus der Hautmatrix, eine partielle Desamidisierung des Kollagens und eine makroskopische Erhöhung der Flexibilität des Fasergeflechtes zur Folge hat. Der alkalische Hautaufschluss wird durch Zugabe von Säure abgebrochen. Die stark gequollenen Kollagenschwarten werden zunächst grob gewolft und dann über Lochwalzen in eine gelartige Kollagenpaste überführt, die nach Zugabe rezepturabhängiger Zusatzstoffe wie z.B. Feuchthaltemittel (Glycerin) oder färbende Komponenten durch Kolloidmühlen passiert wird. Der so entstandene Faserbrei wird mit Säure versetzt, damit sich eine gequollene, gelartige Masse ausbilden kann. Bei der Überführung der Kollagenmasse via Extrusion in die Schlauchform unterscheidet man zwischen dem Trockenspinnverfahren, dem Nassspinnverfahren und dem Hybridverfahren. Innerhalb dieser Verfahren werden die geformten Gebilde stabilisiert, getrocknet und die neu gebildeten Strukturen gehärtet (z.B.

durch Beaufschlagung mit aldehydischen Vernetzern). Die Sauerstoffdurchlässigkeit der Wursthüllen aus regenerierten Naturprodukten beträgt in etwa  $100\text{g/m}^2\cdot 24\text{h}$  bei  $23^\circ\text{C}$  und 85% relative Feuchte, während die Wasserdampfpermeabilität  $800\text{cm}^3/24\text{h}\cdot\text{m}^2/\text{bar}$  bei  $23^\circ\text{C}$  und 53% relative Feuchte beträgt [Lang und Effenberger 2005].

### 3.2.1.1. Naturin Klassik (Mitteldarm)/ EWD-Darm

Naturin Klassik und EWD-Darm (Produktbezeichnungen), der Firma Naturin GmbH & Co. KG, Weinheim, sind Wurstpellen, die bei Brühwurstsorten zu Einsatz kommen. Dabei besitzt der EWD-Darm im Unterschied zum Naturin Klassik- Darm kein eigenes Raucharoma.

Tab. 3: Zusammensetzung Mitteldarm/ EWD-Darm

Rohstoff	Naturin Klassik Mitteldarm [%]	EWD-Darm [%]
Kollagen	>85%	>85%
Feuchthaltemittel	>2%	>5%
Färbende Komponenten	<2%	---
Sonstiges	Lecithin Coating an der Innenseite	---
pH-Wert	3,8- 4,3	4,1

### 3.2.1.2. R2-Darm/ R2LD-Darm

R2- und R2LD-Darm (Produktbezeichnungen) von der Firma Naturin GmbH & Co. KG, Weinheim, sind Wurstpellen, die als Rohwurst Darm zu Einsatz kommen. Der R2-Darm ist hervorragend geeignet für Rohwurstsorten mit längerer Reifezeit und der R2LD-Darm für höchste Verarbeitungsgeschwindigkeiten.

Tab. 4: Zusammensetzung R2-Darm/ R2LD-Darm

<b>Rohstoff</b>	<b>R2-Darm [%]</b>	<b>R2LD-Darm [%]</b>
Kollagen	>80%	85%
Feuchthaltemittel	>2%	11%
Färbende Komponenten	---	---
Sonstiges	NaCl/ Na-Acetat Mischung	<1% Asche <3% Pflanzenöl
pH-Wert	4,6- 5,0	

### 3.2.1.3. COFFI-Kollagenfolie

Die COFFI- Kollagenfolie (Produktbezeichnung) der Firma Naturin GmbH & Co. KG, Weinheim, ist eine essbare Eiweißfolie aus Kollagen, die als Braten und Schinkenfolie bei der Herstellung von Kochpökelfwaren eingesetzt werden kann. Sie bietet Vorteile gegenüber anderen Wurstpellen, da sie deutlich geschmeidiger ist, gute Barriere-Eigenschaften aufweist und dadurch Saftverluste reduziert.

Tab. 5: Zusammensetzung COFFI-Kollagenfolie

<b>Rohstoff</b>	<b>[%]</b>
Kollagen	65%
Wasser	15%
Feuchthaltemittel	15%
Acetoglyceride	4%
Asche (600°C)	1%
Färbende Komponenten	---

### 3.2.2. Sonstige Kollagenmembranen

#### 3.2.2.1. Matricol®-Skin Relax

Zusätzlich zu den ausgewählten Wurstdärmen wurde die Matricol Skin Relax Maske der Firma Dr. Suwelack Skin & Health Care AG, Billerbeck, als Kollagenmembran ausgewählt. Die Skin-Relax-Folie ist eine mikroporöse Biomatrix aus hochreinem Kollagen. Den Herstellern nach ist die Maske für jeden Hauttyp und -zustand geeignet, speziell jedoch für trockene, sensible sowie atrophische Haut. Matricol aktiviert die Flüssigkeitszufuhr und setzt produkteigene Wirkstoffe frei, die die guten Hydratationseigenschaften begünstigen.

Tab. 6: Zusammensetzung Matricol Skin-Relax-Biomatrix

Rohstoff
Kollagen
Hydrogenated Polyisobutene
Hydrolyzed Hibiscus Esculentus Extract (and) Dextrin
PPG-15 Stearyl Ether
PEG-40 Sorbitan Peroleate

### 3.3. Verwendete Gelbildner

#### 3.3.1. Gelatine

Gelatine ist das Produkt der partiellen Hydrolyse von Kollagen. Je nach verwendetem Herstellungsverfahren und Ausgangsmaterial unterscheidet man zwei verschiedene Gelatine-Typen. Bei dem „sauren Verfahren“ mit Schweineschwarten entsteht Gelatine Typ A („acid“), bei dem die Säureamidgruppen von Glutamin und Asparagin erhalten bleiben. Bei diesem Verfahren liegt der isoelektrische Punkt der Gelatine bei pH 8,5 bis 9,0. Im Gegensatz dazu liefert das kalkalkalische Aufschlussverfahren von Kalbs- oder Rinderhäuten bzw. Knochen den Gelatine Typ B („basic“). Ein Teil der Säureamidgruppen wird hierdurch verseift, so dass der isoelektrische Punkt hier zwischen pH 4,8 und 5,0 liegt. Handelsübliche Speisegelatinen setzen sich aus 84-90% Eiweiß, 8-12% Wasser und 2-4% Mineralsalzen zusammen.

In der Aminosäurezusammensetzung entspricht Gelatine weitgehend der des Kollagens. Sie besteht zu einem Drittel aus Glycin und zu weiteren 22% aus den Iminverbindungen Prolin und Hydroxyprolin; die restlichen 45% entfallen auf 17 weitere Aminosäuren wie z.B. Alanin, Arginin, Glutaminsäure und Serin [Rose1987].

In Wasser löst sich Gelatine unter Quellungserscheinungen zu einer mehr oder weniger viskosen Flüssigkeit, die beim Erkalten zu einer Gallerte erstarrt. Das Gelbildungsvermögen ist ein wesentliches Qualitätsmerkmal der Gelatine. Mit dem "Bloomgelometer" wird mit einem Stempel definiert die Oberfläche der Gelatine Gele verformt. Die Masse in Gramm, die zu dieser Oberflächenverformung nötig ist, wird in sogenannten "Bloomgramm" als "Bloomwert" oder einfach als "Bloom" angegeben. Die mit Gelatine hergestellten Gele schmelzen bereits bei Körpertemperatur. In dieser Arbeit wurde Gelatine Speisepulvergelatine 240 Bloom, Typ „A“ der Firma GELITA Deutschland GmbH, Eberbach, verwendet.

### **3.3.2. Agar-Agar**

Agar-Agar ist ein hydrophiles Kolloid mit Polysaccharid Struktur, das aus verschiedensten Meeresalgen der Rhodophyceen-Klasse durch Heißwasserextraktion, nachfolgendes Ausfrieren und anschließende Reinigung gewonnen wird. Agar-Agar ist eines der wirksamsten Gelbildner, schon 0,04%ige Lösungen erweisen sich als Gele. Agar-Agar ist unlöslich in kaltem Wasser und Alkohol, jedoch löslich, d.h. kolloid dispergierbar in heißem Wasser. Eine 1,5%ige Lösung ist klar und bildet, sobald sie auf 32-39°C abgekühlt ist, ein festes, elastisches Gel, das erst bei 85°C wieder schmilzt.

Die Viskosität der Lösungen ist weitgehend vom Ausgangsmaterial abhängig, bei 45°C ist sie bei pH-Werten von 4,5-9,0 relativ konstant und wird im Bereich pH 6,0-8,0 weder durch Altern noch durch Elektrolyte, sofern diese nicht in hohen Konzentrationen vorliegen, beeinflusst. In dieser Arbeit wurde Agar-Agar der Merck KGaA, Darmstadt eingesetzt.

### **3.3.3. Hydroxyethylcellulose (HEC)**

Hydroxyethylcellulose ist ein Cellulose-Derivat, das wässrige Lösungen bildet, die nur eine geringe Oberflächenaktivität besitzen, neutral reagiert und thermoreversible Koagulation zeigt.

Die Viskosität der einprozentigen Lösung des eingesetzten Natrosol 250 HHR der Fa. Hercules GmbH, Le Picq Cedix, Frankreich, beträgt nach Herstellerangaben 1500-2500mPas.

### **3.3.4. Polyacrylsäure: Carbopol**

Polyacrylsäure bildet ein in Wasser nur z.T. lösliches anionenaktives Polymerisat aus Acrylsäure. Der Verdickungsprozess dieser Polymere tritt erst nach Neutralisation auf, erst dann erfolgt eine Abstoßung der Ketten und eine signifikante Verdickung tritt ein. Zuvor sind die Carbopolketten verknäult und bilden kein Gelgerüst aus [Gallardo et al. 2000].

In dieser Arbeit wurde Carbopol Ultrez 10<sup>®</sup> der Firma Noveon, Inc. verwendet.

### 3.4. Herstellung der Kollagensubstituten mit Untergrundgel

#### Am Beispiel von Substituten mit Gelatine-Untergrundgel

Tab. 7: Zusammensetzung der Substituten mit Gelatine Untergrundgel

Rohstoff	[g]
Wasser	ad 100,00
Glycerin (87%)	16,20
Gelbildner (z.B. Gelita 240 Bloom Gelatine)	2,00
Phenoxyethanol	0,81
Kollagenmembran	

Die exakt eingewogenen Mengen Wasser und Glycerin werden erhitzt. Gelatine wird für 5-10min mit 50g der Glycerin-Wasser-Mischung gequollen. Sobald die Mischung 50-60°C erreicht hat, wird die gequollene Gelatine hinzugefügt und mit Hilfe eines Magnetrührers verrührt, bis die Gelatine komplett gelöst ist. Phenoxyethanol wird hinzugefügt und die Gelatinemasse wird abgekühlt. Sobald die Masse etwa 40-50°C erreicht, wird sie bis zum Rand in Petrischalen gefüllt. Die Gelierung der Gelatinemasse dauert ca. 30min bis 2h, abhängig von der Temperatur und relativen Feuchte in der Umgebung. Zwischenzeitlich wird die Kollagenmembran für ca. 15min in Wasser befeuchtet. Sobald die Gelatinemasse eine ausreichende Gelfestigkeit aufweist, wird die befeuchtete Kollagenmembran von überschüssigem Wasser befreit und dann straff über die Gelatine Oberfläche gespannt (s. Abb. 18). Unter der Oberfläche auftretende Luftblasen sind zu entfernen. Die Konditionierung wird in einer Klimakammer bei 20°C und 80-90% relativer Feuchte über 15-20h erreicht.

Der überwiegende Teil aller Untersuchungen wurde an verschiedenen Membran/ Untergrundgel-Variationen durchgeführt, die vergleichbar hergestellt wurden.

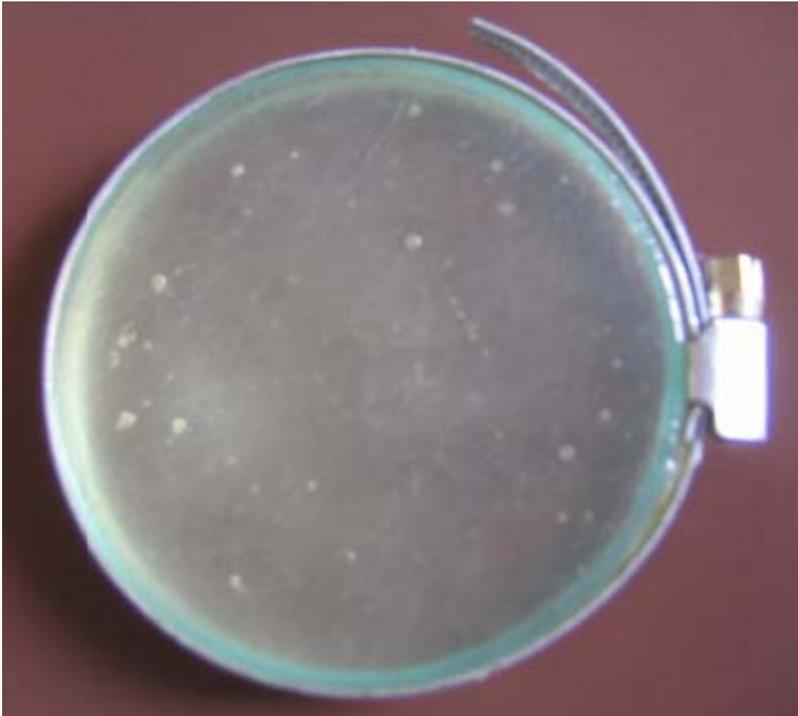


Abb. 18: Gelatinesubstitut mit Untergrundgel

### **3.5. Methoden zur Untersuchung der Kollagensubstituten**

#### **3.5.1. Untersuchungsmethoden zur Standardisierung des Systems**

##### **3.5.1.1. Bestimmung des TEWL**

Es wurden Substituten entsprechend dem oben genannten Beispiel hergestellt, wobei jedoch unterschiedliche Glycerin/Wasser-Mischungen eingesetzt wurden, die jeweils eine entsprechende Befeuchtung der Membran (35%, 50%, 80%) erzielen sollten. Aus Tab. 8 wird deutlich, welche Menge an Glycerin in einer Glycerin-Wasser-Mischung zugegeben werden muss, um eine bestimmte relative Feuchte über der Mischung zu erzeugen. Die Substituten wurden außerdem entsprechend der im Substitut herrschenden relativen Feuchte (35%, 50%, 80%) und bei 20°C konditioniert.

Tab. 8: Relative Feuchten erzeugt durch unterschiedliche Glycerin-Wasser-Mischungen [nach Grover und Nicol 1949]

Relative Feuchte	Glycerin	Wasser
25%	92%	8%
30%	90%	10%
35%	87%	13%
50%	80%	20%
60%	74%	26%
70%	65%	35%
80%	52%	48%
90%	30%	70%

Messungen zur Bestimmung der Wasserdampfdiffusion an der Oberfläche der Substituten wurden durchgeführt mit einem Tewameter TM210 der Firma Courage & Khazaka, Köln. Um eine statistisch ausreichende Datendichte zu bekommen, wurden an drei Substituten einer Charge Dreifachmessungen von je 20 Sekunden an drei verschiedenen Arealen aus 4 Chargen gemessen, wobei das Gerät einen Wert pro Sekunde erfasste. Alle Messungen wurden unter klimatisierten Bedingungen bei 20°C (+/-1°C) und 55% relativer Feuchte (+/- 5%) durchgeführt.

### 3.5.1.2. Bestimmung der Hydratation (Corneometrie)

Es wurden Substituten entsprechend dem oben genannten Beispiel hergestellt, wobei jedoch unterschiedliche Glycerin/Wasser-Mischungen eingesetzt wurden, die jeweils eine entsprechende Befeuchtung der Membran (35%, 50%, 80%) erzielen sollten. Die Substituten wurden außerdem entsprechend der im Substitut herrschenden relativen Feuchte (35%, 50%, 80%) und bei 20°C konditioniert.

Die Bestimmung der Hydratation der Oberfläche der Substituten wurde durchgeführt mit einem Corneometer CM 820 der Firma Courage & Khazaka, Köln. Um eine statistisch ausreichende Datendichte zu bekommen, wurden an drei Substituten Corneometerwerte an 10 verschiedenen Arealen aufgenommen. Es wurden jeweils 3 Chargen untersucht. Alle Messungen wurden unter klimatisierten Bedingungen bei 20°C (+/-1°C) und 55% relativer Feuchte (+/- 5%) durchgeführt.

### 3.5.1.3. Bestimmung der Oberflächenenergie

Die Bestimmung der Oberflächenenergie der Wurststellen bzw. der Oberfläche der Substituten  $\sigma_s$  erfolgte mit dem Kontaktwinkel-Messsystem OCAH200 (DataPhysics Instruments GmbH, Filderstadt). Dazu wurde der Kontaktwinkel, den zwei Testflüssigkeiten mit bekannten polaren und dispersen Anteilen mit der Feststoffoberfläche bilden, anhand der „Sessile-drop-Methode“ bestimmt. Das Aufbringen eines Flüssigkeitstropfens konstanten Volumens (5  $\mu\text{l}$ ) auf die Kollagenmembran bzw. Substituten-Oberfläche wurde mit dem Video-Messsystem aufgenommen. Alle Messungen wurden bei Umgebungstemperaturen von 20°C (+/-2°C) durchgeführt. Der Kontaktwinkel wurde mit der OCAH200 Software anhand des „Ellipsen Fittings“ bestimmt. Aus dem rechten und linken Kontaktwinkel erfolgte die Berechnung des mittleren Kontaktwinkels. 6-10 Tropfen je Flüssigkeit wurden an verschiedenen Stellen abgesetzt und die Winkel berechnet. Mittelwert und Standardabweichung wurden aus den mittleren Kontaktwinkeln gebildet. Anhand der OCAH200 Software zur Berechnung der Oberflächenenergie wurden die polaren und dispersen Anteile der unterschiedlichen Oberflächen nach dem Verfahren von Owens, Wendt, Rabel und Kaelble [Owens und Wendt 1969] unter Zuhilfenahme der Literaturwerte (Tab. 8) der Testflüssigkeiten berechnet. Dabei werden die Messergebnisse linearisiert; die Kurvensteigung repräsentiert den polaren Anteil und das Absolutglied den dispersen Anteil der Oberflächenspannung.

Tab. 9: Literaturwerte der Testflüssigkeiten

Testflüssigkeit	$\sigma_L^{\text{ges}}$ [mN/m]	polarer Anteil $\sigma_L^{\text{p}}$ [mN/m]	disperser Anteil $\sigma_L^{\text{d}}$ [mN/m]	Literatur
Tricresylphosphat	40,90	1,70	39,20	Fowkes [1964]
Diiodomethan	50,80	1,30	49,50	Owens et al. [1969]
<b>Wasser</b>	72,30	53,60	18,70	Rabel [1971]

### 3.5.1.4. Bestimmung der Oberflächenrauigkeit

Für die Bestimmung der Oberflächenrauigkeit der Substituten wurden zunächst Silikonreplika mit Hilfe von Bisico S4, additionsvernetzendes Vinylsilikon der Firma Bisico, Bielefelder Dentalsilicone GmbH & Co. KG, Bielefeld, hergestellt. Dazu wurden die Komponenten A und B in gleichen Mengenanteilen gemischt und auf eine ca. 4x4cm große Fläche in einer etwa 3mm dicken Schicht auf das topographisch zu bestimmende Areal aufgebracht. Nach einer etwa 5-minütigen Aushärtung konnten die Silikonreplika abgezogen werden. Es wurde je ein Replika von drei Substituten jeder Charge gefertigt.

Die Bestimmung der Oberflächenrauigkeit der Replika erfolgte per FOITS. Aus Kostengründen konnte nur eine kleine Auswahl der gefertigten Silikonreplika per FOITS bestimmt werden. In Anlehnung an die bestehenden DIN-Vorschriften 4762 bis 4768 können verschiedene Oberflächenparameter ausgewertet werden. Als besonders aussagekräftig hat sich unter anderem der arithmetische Mittenrauwert  $R_a$  erwiesen, der in dieser Arbeit ausgewählt wurde. Der arithmetische Mittenrauwert ist die mittlere Abweichung des Istprofils vom mittleren Profil; der Abstand  $h$  wird vom mittleren Profil aus gemessen (Abb. 19).

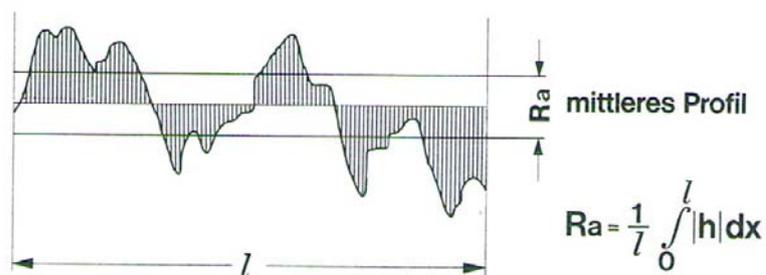


Abb. 19: Arithmetischer Mittenrauwert  $R_a$

### 3.5.1.5. Härtebestimmung der Gele

Die mechanischen Eigenschaften der Gele wurden anhand der Texture Profile Analysis (TPA) mit einem Texture Analyser (Modell TA.XT2) der Firma Winopal, Forschungsbedarf GmbH, Ahnsbeck, durchgeführt.

Dabei wurde jeweils derselbe Messzyklus abgefahren, bei dem der zylinderartige Polycarbonat-Stempel (12,66mm Durchmesser) 4mm tief in das zu testende Gel gedrückt,

wieder herausgezogen und nach einer Rückbildungszeit von 5sek zwischen den Kompressionszyklen erneut in das Gel eingefahren wird. Dieser Zyklus wurde an drei Substituten einer Charge je zweimal durchgeführt. Die Auswertung erfolgte mit der TA.XT2 Software anhand eines Makros für die Bestimmung der Parameter Härte, Komprimierbarkeit, Haftvermögen und Kohäsionskraft aus den aufgenommenen Kompressionskurven. Für diese Arbeit ausgewertet wurde allerdings nur die Bestimmung der Härte der Gele.



*Abb. 20: Bestimmung der Härte der Kollagensubstituten mit dem Texture Analyzer*

### 3.5.1.6. Klebkraftmessung

Die Bestimmung des Haftvermögens zwischen den Kollagenmembranen und dem darunter befindlichen Gel wurde mit einem Spezialaufbau „Peel Test“ am Texture Analyser TA.XT2 bestimmt. Bei diesem Aufbau handelt es sich um einen Seilzug, der über eine mit einer dünnen Schnur versehene Klemme die Kollagenmembran mit dem Texture Analyser verbindet (Abb. 21). Für die Bestimmung des Haftvermögens wird die Klemme an einem Ende der Kollagenmembran befestigt und die Verbindungsschnur leicht gespannt. Nun wird der „Peel-Test“-Zyklus gestartet. Dieser besteht darin, dass das Gerät die über Klemme und Schnur verbundene Membran über eine Strecke von 155-170mm (je nach Elastizität der Membran) nach oben zieht und die Kraft aufnimmt, die dafür, d.h. also für das Abziehen der Membran, aufgewendet werden muss. Für die Auswertung wird die „Area under the curve“ (AUC) der aufgenommenen Kraft-Weg-Kurve bestimmt, wobei der Schnittpunkt der Kurve mit der x-Achse (d.h. Kraft=0) als Endpunkt der Messung betrachtet wird.



Abb. 21: Bestimmung der Membran-Untergrundgel-Haftung der Kollagensubstituten mit dem Texture Analyser

### **3.5.2. Untersuchungsmethoden zur Charakterisierung von Emollienten**

#### **3.5.2.1. Spreitverhalten nach Zeidler**

Spreitwerte wurden bestimmt auf Humanhaut, auf trockenem EWD-Darm und auf Naturin EWD-Darm (Rückseite) mit einem Untergrundgel aus einem Gemisch aus Agar-Agar und Gelatine. Für die Bestimmung der Spreitwerte (basierend auf der Methode von Zeidler) wurden 10µl Öl (Reihe Humanhaut: 5µl) auf die Membranoberfläche bzw. die Humanhaut aufgebracht und die Fläche bestimmt, auf der sich das Öl nach 10min ausgebreitet hat. Es war notwendig, die Auswertung der Spreitflächen aufgrund der verschiedenen Oberflächen auf unterschiedliche Art und Weise durchzuführen:

- Abnehmen des Flecks mit Pergamentpapier und optische oder gravimetrische Auswertung
- Erfassen der Ölflecks mit Graphit und anschließende optische Auswertung
- Anfärben der Umrisse des Ölflecks mit einem Farbstift und anschließende optische Auswertung

Ein Minimum an 3 Wiederholungen (3 Probanden bzw. je 3 Substituten aus je 2 Chargen) wurde durchgeführt.

#### **3.5.2.2. Bestimmung der Frictiometrie**

Die Messungen mit dem Frictiometer<sup>®</sup> FR 700 wurden sowohl an Probanden als auch auf der Oberfläche der EWD-Gelatine-Substituten durchgeführt. Dabei wurden 5µl Öl aufgebracht und auf einer definierten Fläche (4cm<sup>2</sup>) mit einem Metallstift gleichmäßig verteilt. Das Frictiometer wurde mit einer angerauten Teflonscheibe ausgestattet und nach einer Leerlaufzeit von ca. 10sec auf die behandelte Fläche aufgesetzt. Die Messung wurde je einmal auf drei verschiedenen Substituten aus 2 Chargen und auch auf Humanhaut als Dreifachmessung an zwei Probanden durchgeführt. Die Messzeit betrug 60sec mit einer Datenaufnahme von 1 Frictiometerwert pro Sekunde. Alle Messungen wurden unter klimatisierten Bedingungen bei 22°C (+/-1°C) und 50% relativer Feuchte (+/-5%) durchgeführt.

### **3.6. Statistische Versuchsplanung und -auswertung**

Die statistische faktorielle Versuchsplanung stellt eine effektive Methode zur Optimierung der Planung und Durchführung von Versuchen und zur Reduktion der Versuchsanzahl dar. Im Gegensatz zu der klassischen Versuchsplanung, bei der ein Faktor über mehrere Versuche variiert wird und alle anderen Faktoren konstant bleiben, werden in der faktoriellen Versuchsplanung mehrere Faktoren gleichzeitig variiert und erlauben so die Bestimmung der Signifikanz der Wirkung eines einzelnen Faktors auf die Zielgröße und eine quantitative Beschreibung der Zusammenhänge (Wechselwirkungen) aller Variablen innerhalb eines Versuchsraumes [Scheffler 1997].

In dem vorliegenden Fall ist das Ziel der Versuchsplanung die Eingangsgrößen für die Herstellung von Gelatinesubstituten zur Kosmetiktestung dahingehend zu variieren, dass im Hinblick auf die zu optimierenden Zielgrößen das beste Ergebnis erzielt wird. Unter Ziel- bzw. Ausgangsgrößen versteht man die Ergebnisse der durchgeführten Versuchsreihen, in diesem Fall also die Ergebnisse der verschiedenen Kosmetiktests auf dem Hautsubstitut. Einfluss- bzw. Eingangsgrößen (Faktoren) sind Parameter, durch die die erwarteten Ziel- bzw. Ausgangsgrößen möglicherweise beeinflusst werden. Als Einflussgrößen wurden in diesem Fall die Konzentration an Gelbildner und die Konzentration an Feuchthaltemittel ausgewählt.

Unter einem Effekt versteht man die Stärke des Einflusses eines Faktors auf die Zielgröße, der aus den Versuchsergebnissen errechnet werden kann. Die Signifikanz muss statistisch überprüft werden und bestimmt die weitere Optimierungsrichtung.

Bei der Auswahl der Eingangs- und Ergebnisgrößen ist es zunächst wichtig, alle am Prozess beteiligten, stetig veränderbaren Parameter, sowie deren gegenseitige Abhängigkeit zu identifizieren (Tab. 10).

Tab. 10: Einfluss- und Antwortgrößen des gewählten statistischen Versuchsdesigns am Beispiel Agar-Agar

		Bezeichnung	Dimension	-	+
Einflussgröße		x <sub>1</sub> Konzentration des Gelbildners	[%]	1,0	1,5
		x <sub>2</sub> Konzentration Feuchthaltemittel	[%]	20	30
Antwortgröße	y <sub>1</sub>	TEWL-Wert			
	y <sub>2</sub>	Corneometer Wert			
	y <sub>3</sub>	Friktimetrie			
	y <sub>4</sub>	Spreitverhalten			

Aufgrund der Tatsache, dass die Änderung der Konzentration an Gelbildner und die Änderung der Konzentration an Feuchthaltemittel sich gegenseitig beeinflussen können und infolge dessen möglicherweise Wechselwirkungen zwischen den Versuchsparametern auftreten, wurde die Durchführung eines 2<sup>2</sup>-Versuchsplanes gewählt. Die Basis beschreibt dabei die Anzahl der Niveaus der ausgewählten Eingangsgrößen und der Exponent die Anzahl der Eingangsgrößen (Tab. 11).

Ein 2<sup>2</sup>-Faktorenexperiment untersucht den Einfluss von zwei unabhängigen Faktoren auf jeweils zwei unterschiedlichen Niveaus. Das niedrige Niveau wird mit (-), das hohe Niveau mit (+) bezeichnet. Differenzen wurden generell als signifikant angesehen bei einem p-Wert  $\leq 0,05$ , die mit dem Student *t*-Test (Vergleich zweier Mittelwerte) berechnet wurden und mit den Signifikanzschranken der *t*-Verteilung verglichen.

Tab. 11: Teilfaktorieller Versuchsplan im 2<sup>2</sup>-Design

Versuchs-Nr.	Normierte Stufen		Wechselwirkung
	A	B	AB
1	-	-	+
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	+

A= Einfluss Konzentration Gelbildner B= Einfluss Konzentration Feuchthaltemittel (Glycerin)

### 3.6.1. Untersuchungsreihen zur Evaluierung aller Einflüsse

In der ersten Untersuchungsreihe wurden dabei verschiedene Gelbildner mit dem Standardmaterial EWD-Darm untersucht. Im Anschluss sollen die zwei am besten geeigneten Gelbildner mit ausgewählten Membranen untersucht werden. Bei allen Versuchen soll jeweils auch die Chargenvariabilität von zwei Chargen berücksichtigt werden. Folgende Gelrezepturen wurden für die einzelnen Versuche verwendet:

Tab. 12: Gelrezepturen der Versuchsvarianten

	V1	V2	V3	V4
<b>Agar-Agar</b>				
<b>Wasser</b>	81,82	81,4	75,57	75,19
<b>Agar-Agar</b>	1,0	1,5	1,0	1,5
<b>Glycerin (87%)</b>	16,36	16,28	22,67	22,56
<b>Phenoxyethanol</b>	0,82	0,81	0,76	0,75
<b>Gelatine</b>				
<b>Wasser</b>	81,0	79,3	74,8	73,3
<b>Gelatine</b>	2,0	4,0	2,0	4,0
<b>Glycerin (87%)</b>	16,2	15,9	22,4	22,0
<b>Phenoxyethanol</b>	0,8	0,8	0,8	0,7
<b>Hydroxyethylcellulose</b>				
<b>Wasser</b>	81,0	80,2	74,8	74,1
<b>HEC</b>	2,0	3,0	2,0	3,0
<b>Glycerin (87%)</b>	16,2	16,0	22,4	22,2
<b>Phenoxyethanol</b>	0,8	0,8	0,7	0,7
<b>Carbopol</b>				
<b>Wasser</b>	81,83	81,28	75,58	75,08
<b>Carbopol</b>	0,30	0,50	0,30	0,50
<b>Glycerin (87%)</b>	16,37	16,26	22,67	22,52
<b>Phenoxyethanol</b>	0,82	0,81	0,76	0,75
<b>Natronlauge</b>	0,69	1,15	0,69	1,15

Tab. 13: Übersicht über die Untersuchungsmethoden an den Untergrundgel-Membran-Kombinationen

<b>Charakterisierung des Hydrogels</b>	
Gelierung des Gels	Dokumentation der Zeit
Gelfestigkeit (Härte)	Messung mit dem Texture Analyzer
<b>Charakterisierung der Kombination aus Hydrogel und Membran</b>	
Herstellung / Handhabbarkeit/ Konditionierung	subjektive Bewertung
Wasserabgabe	TEWL Messung
Hydratation der Oberfläche	Corneometermessung
Adhäsion zwischen dem Gel und der Membran	Klebkraftmessung mit einem speziellen Aufsatz am Texture Analyzer
Oberflächenrauigkeit	Silikonreplika nach ca. 24h, Bestimmung der Oberflächenrauigkeit (per FOITS)
<b>Sonstige Messungen</b>	
Friktiometrie	Friktimeterwerte von Dicaprylyl Carbonate und Oleyl Erucate
Spreitwerte	Spreitwert nach Zeidler mit einem Öl (Dicaprylyl Carbonate), Auswertung via Pergamentpapier falls Graphit nicht möglich

## **4. Versuchsergebnisse und Diskussion**

Zur Etablierung des Systems zur Testung von Emollienten wurden verschiedene Kollagenmaterialien auf die Eignung als Substitut für Kosmetikttests untersucht. Dabei wurde deutlich, dass die Kollagenmembranen befeuchtet werden müssen, um eine mit der Haut vergleichbare Elastizität aufzuweisen. Diese Befeuchtung wurde in einer Untersuchungsreihe zunächst über eine gezielte Lagerung der Membranen bei definierten relativen Luftfeuchten erreicht. In einem nächsten Schritt wurden die Membranen mit einem Untergrundgel versehen, über das die Befeuchtung erfolgen sollte. Bei diesen Substituten bestand die Möglichkeit, sowohl Wassergehalt der Oberfläche als auch Wasserverdunstung der Substituten über die Zusammensetzung des Untergrundgels gezielt einzustellen. Eine breit angelegte statistische Untersuchungsreihe sollte zeigen, welche Kombination aus Untergrundgel und Kollagenmembran am besten zur Testung von Kosmetika geeignet ist.

Die aus diesen Untersuchungsreihen resultierende optimale Membran-Untergrundgel-Kombination wurde im Anschluss daran noch einmal eingehend in Bezug auf die Eignung als Substitut zur Differenzierung und Evaluierung von Emollienten, u.a. unter Anwendung einer Oberflächenmodifikation mit Sebumlipiden, bewertet.

### **4.1. Voruntersuchungen unbehandelter Kollagenmembranen**

Bei den Voruntersuchungen wurden vier verschiedene Kollagenmembranen der Firma Naturin, Weinheim, verwendet. Dabei ähneln sich herstellungsbedingt der R2-Darm und der R2LD-Darm sowie der Naturin-Klassik („Mitteldarm“) und der EWD-Darm sehr stark (vgl. Kapitel 3.2).

#### **4.1.1. Spreitverhalten der Emollienten**

Zunächst wurde das Spreitverhalten der Öle auf den trockenen Membranen R2-Darm und Mitteldarm sowie auf Humanhaut mit dem „Graphit-Verfahren“ im Klimaraum bestimmt. Anhand dieses Verfahrens konnte die Bestimmung der Spreitfläche direkt auf der Haut bzw. auf dem Hautsubstitut erfolgen, ohne den bei dem Zeidler Verfahren [Zeidler 1985] üblichen Umweg über eine Aufnahme des Ölflecks mit Pergamentpapier zu gehen. Lediglich das Abblasen des aufgestäubten Graphits stellte sich als wenig praktikabel dar

und müsste noch optimiert werden. Aus Abb. 22 wird deutlich, dass die mit dem Graphit-Verfahren auf den trockenen Kollagenmembranen erfassten Daten und die anhand des üblichen Zeidler-Verfahrens bestimmten Literaturdaten der Öle auf Humanhaut vergleichbar sind. Die Öle können allerdings durch die hohen Standardabweichungen, genau wie bei dem ursprünglichen Zeidler Verfahren, nur sehr grob über Spreitbereiche wie Niedrigspreiter, Mittelspreiter und Hochspreiter voneinander differenziert werden.

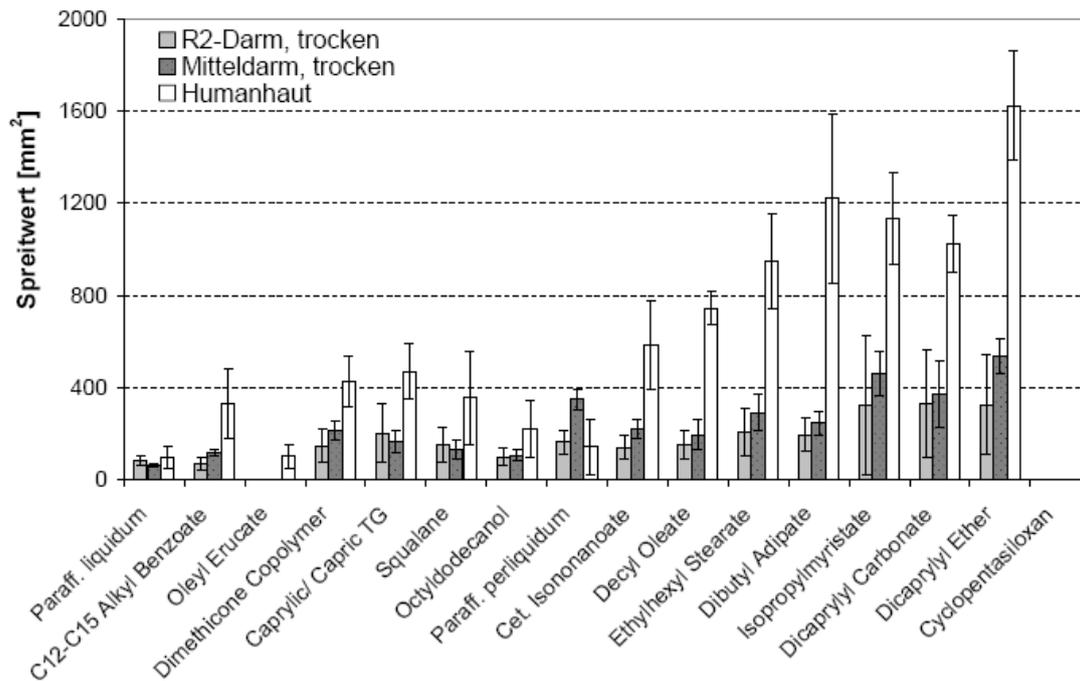


Abb. 22: Spreitverhalten auf R2-Darm, Mitteldarm und Humanhaut, sortiert nach steigendem Spreitwert auf Humanhaut (14 Öle)

Die Daten auf den Substituten R2-Darm und Mitteldarm sind deutlich niedriger als die auf Humanhaut, aber auch hier kann man die drei groben Spreitbereiche der Öle voneinander differenzieren. Vergleicht man den Korrelationskoeffizienten (Abb. 23) der beiden Kollagenmembranen zu den Literaturdaten auf Humanhaut, so wird deutlich, dass der R2-Darm eher geeignet ist als der Mitteldarm, da dieser eine höhere Korrelation ( $R^2=0,84$ ) aufweist.

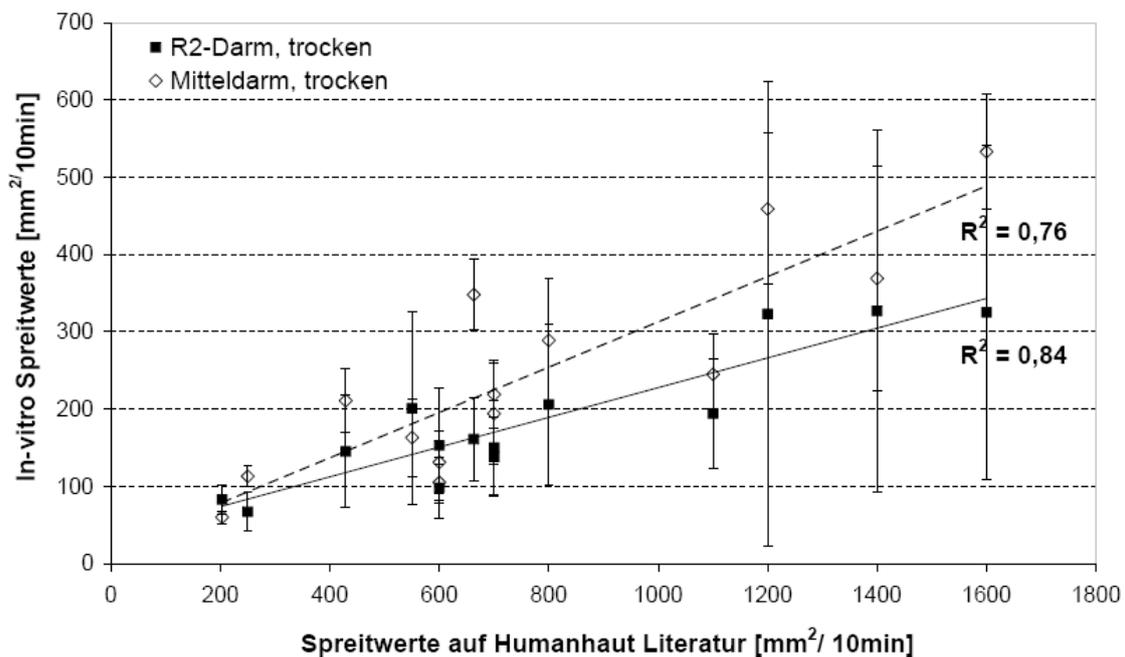


Abb. 23: Korrelation der Spreitwerte auf R2-Darm und Mitteldarm zu den Literaturwerten auf Humanhaut

Um einen tieferen Einblick in die Zusammenhänge zwischen den physikalisch-chemischen Eigenschaften der Öle und dem Spreitverhalten auf den Kollagenmembranen genauer zu untersuchen, wurden die Kontaktwinkel der Öle auf der Kollagenmembran R2-Darm bestimmt.

#### 4.1.2. Kontaktwinkel der Emollienten

Der zeitliche Verlauf des Benetzens der Kollagenmembranen durch die Emollienten wurde bis zum „steady-state“ der einzelnen Öle, d.h. also, bis zu dem Punkt, an dem sich der Benetzungswinkel nicht mehr verändert, durchgeführt. Die Bestimmung des Kontaktwinkels bietet eine gute Möglichkeit, den Vorgang des Spreitens auf der Haut (in diesem Fall auf einem Hautsubstitut) zu simulieren und die Öle über ihren unterschiedlichen Verlauf beim Spreiten voneinander zu differenzieren. Abb. 24 zeigt, dass diese theoretischen Überlegungen auch für die Praxis zutreffen. In Bezug auf die Differenzierbarkeit der einzelnen Öle jedoch besteht bei der Aufnahme des zeitlichen Verlaufs der Kontaktwinkel die Schwierigkeit, einen sinnvollen Zeitpunkt für die Differenzierung der Emollienten zu finden, da sich die Reihenfolge der Größe der Kontaktwinkel der Öle im Verlauf der Kinetik immer wieder ändert (Abb. 24). Ein

Auswertepunkt könnte z.B. der „steady state“ der Emollienten sein, der in diesem Fall für alle Emollienten bei ca. 4,5sec läge, oder aber ein Punkt, kurz nach Aufbringen des Öls, an dem die Penetration in die Oberflächenrauigkeiten der Kollagenmembran abgeschlossen ist.

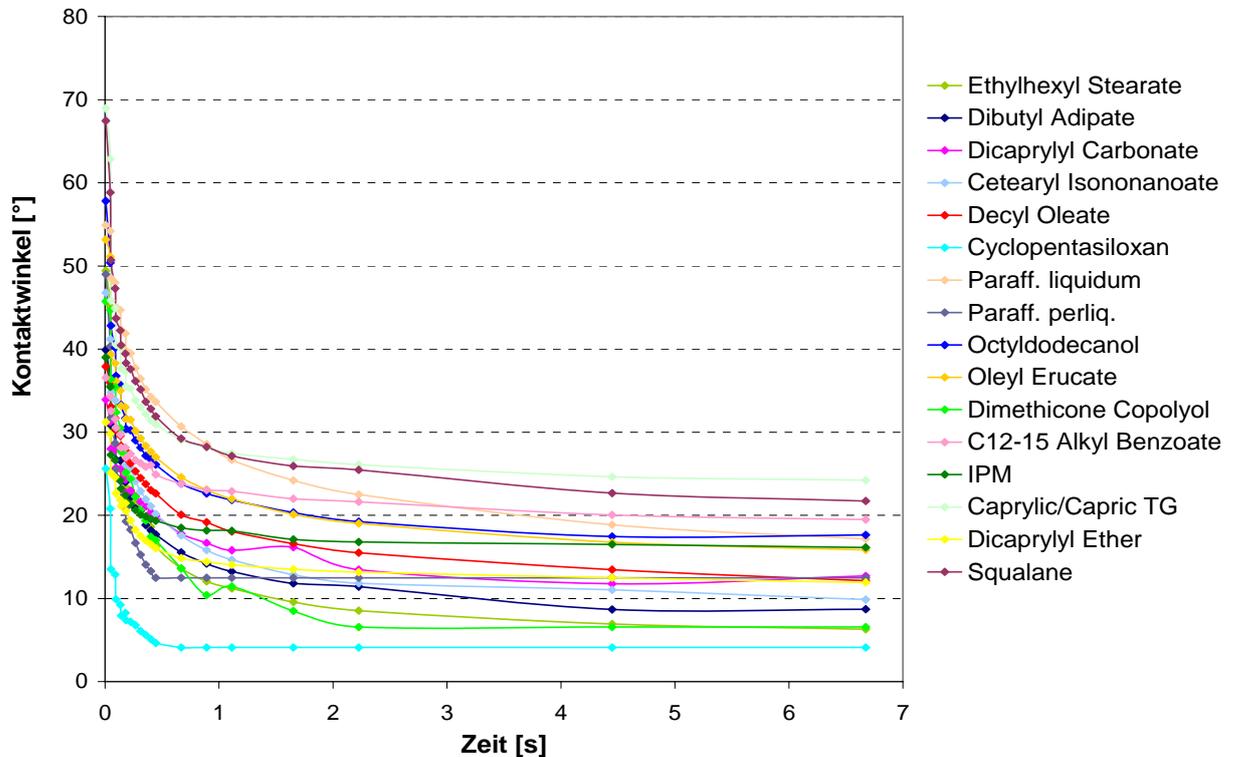


Abb. 24: Kinetik der Kontaktwinkel der Emollienten auf R2-Darm

Definiert man den Kontaktwinkel des ersten Tropfenbildes der Aufnahme des zeitlichen Verlaufs der Öle, bei dem keine Dynamik mehr im Bild ist, als Anfangskontaktwinkel und trägt diesen gegenüber dem Spreitwert auf (Abb. 25), so kann man erkennen, dass dieser Anfangskontaktwinkel der Öle und der Spreitwert sich umgekehrt proportional verhalten. Da das Spreiten von Flüssigkeitstropfen u.a. von der Viskosität und der Oberflächenspannung der Flüssigkeit abhängt, besitzen Öle mit hohen Spreitwerten im Allgemeinen einen niedrigen Anfangskontaktwinkel und umgekehrt.

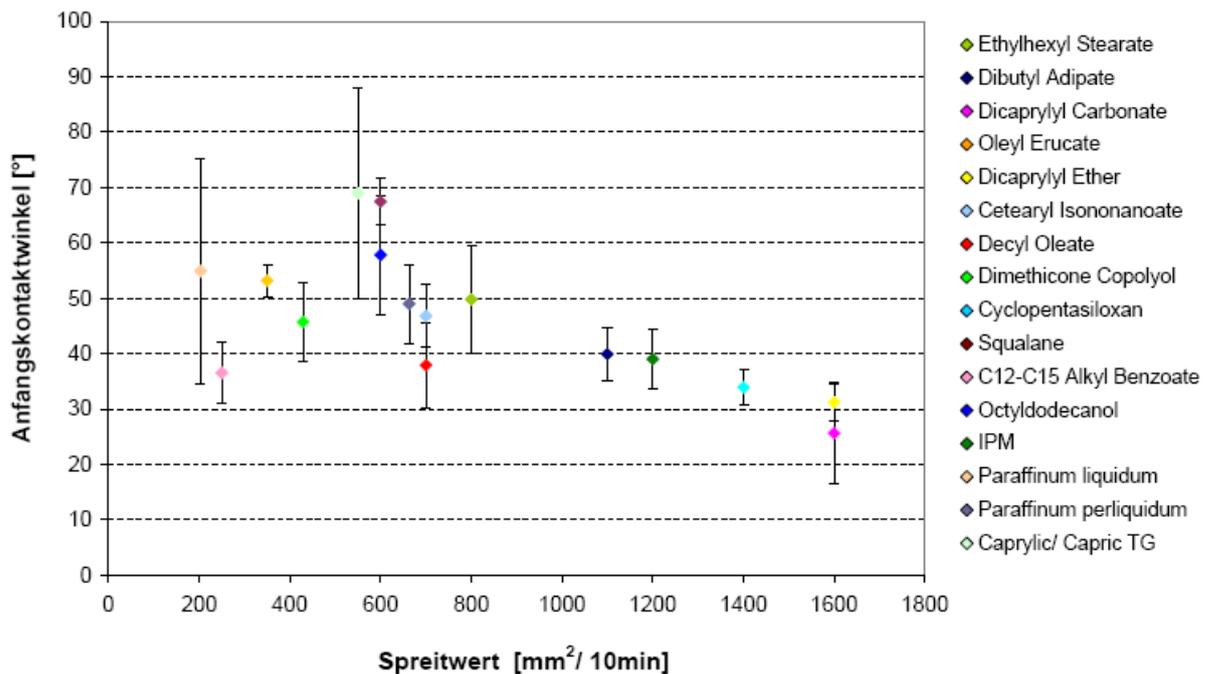


Abb. 25: Anfangskontaktwinkel der Kinetik der Kontaktwinkel der Emollienten auf R2-Darm

Betrachtet man nun vergleichsweise die Anfangskontaktwinkel der Öle auf Humanhaut (Finger) (Abb. 26), so wird deutlich, dass die Anfangskontaktwinkel auf Humanhaut zwar tendenziell etwas niedriger liegen als auf der Kollagenmembran, der generelle Verlauf bzgl. Hoch- und Niedrigspreitern jedoch gleich ist und die meisten Öle in einem vergleichbaren Bereich ( $\pm 5^\circ$ ) liegen. Man kann also über den Kontaktwinkel auf der Kollagenmembran R2-Darm die Öle nicht nur in Spreitbereiche (Niedrig-, Mittel-, Hochspreiter) einordnen, sondern auch eine Abschätzung bzgl. des Verhaltens auf der Haut vornehmen.

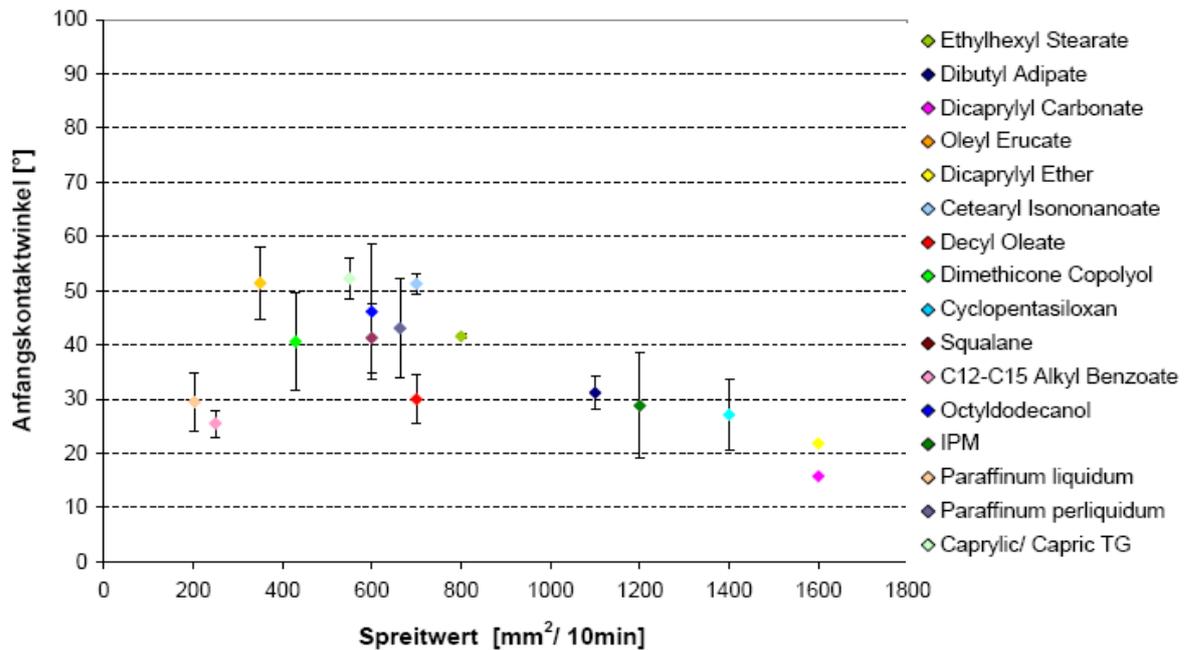


Abb. 26: Anfangskontaktwinkel der Kinetik der Kontaktwinkel der Emollienten auf Humanhaut (Finger)

Weitere Kenntnis über die Abläufe an der Oberfläche der Kollagenmembranen soll die Erfassung der Oberflächenenergie sowie der Oberflächenrauigkeit der Membranen bringen, die ebenfalls eng mit dem Benetzungsverhalten der Öle verknüpft sind.

#### 4.1.3. Oberflächenenergie und Oberflächenrauigkeit

Zur Bestimmung der polaren und dispersen Anteile der Membranen wurden die Kontaktwinkel von Wasser und Tricresylphosphat auf den vier oben genannten Membranen bestimmt und daraus entsprechend die Oberflächenenergie anhand der Theorie von Owens, Wendt, Rabel & Kaelble berechnet (Abb. 27 und 28).

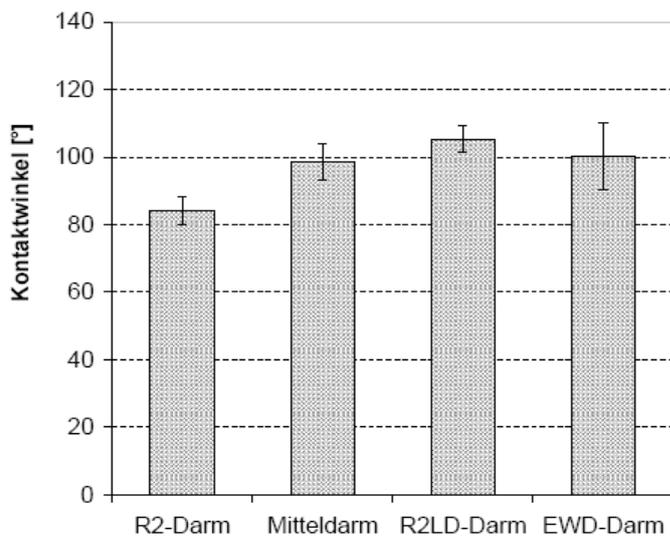


Abb. 27: Kontaktwinkel von Wasser auf den Kollagenmembranen

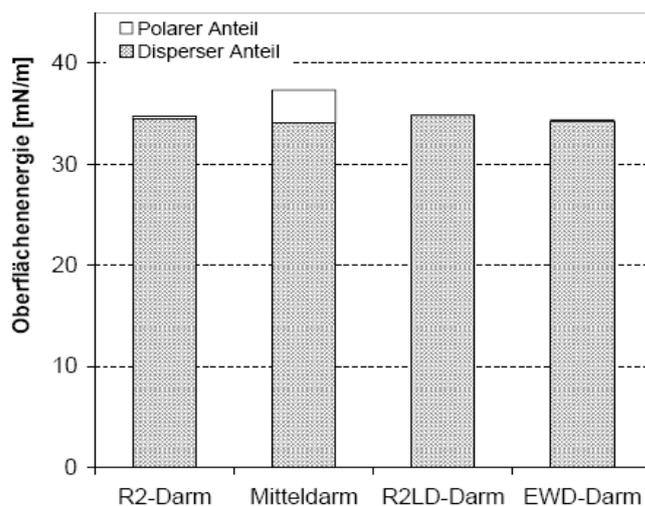


Abb. 28: Oberflächenenergie der Kollagenmembranen

Der Kontaktwinkel von Wasser auf den vier Kollagenmembranen liegt zwischen  $84^\circ$  und  $105^\circ$  während der Kontaktwinkel von Wasser auf Humanhaut (Unterarm) bei ca.  $90^\circ$  liegt [Mavon et al. 1997]. Demnach sind die Kontaktwinkel des R2-Darms ( $84,06^\circ \pm 4,2$ ), des Mitteldarms ( $98,71^\circ \pm 5,4$ ) und des EWD-Darms ( $100,25^\circ \pm 10,0$ ) prinzipiell mit der Haut vergleichbar.

In der Literatur wird eine Oberflächenenergie der Haut zwischen 25 und 29 mN/m postuliert, wobei der polare Anteil ca. 40% der Gesamtenergie beträgt [Lucast 2000, Mavon et al. 1997]. Alle vier dieser trockenen Kollagenmembranen sind in diesem Punkt

nicht hautähnlich, da sie (bis auf Mitteldarm) praktisch keinen polaren Anteil und somit keine polaren Wechselwirkungen zeigen. Dies ist ein deutlicher Hinweis darauf, dass die Kollagenmembranen zu trocken sind und möglicherweise im befeuchteten Zustand hautähnlichere Werte zeigen.

Bei der Erfassung der Oberflächenrauigkeit der trockenen Kollagenmembranen (Abb. 29) zeigt sich, dass die Werte für den Rauigkeitsparameter  $R_a$  untereinander starke Ähnlichkeiten aufweisen, von dem ebenfalls erfassten Silikonreplika des Unterarms einer 26jährigen Frau jedoch stark abweichen. Die trockenen Kollagenmembranen sind erstaunlicherweise deutlich glatter als die menschliche Unterarmhaut, wobei der in der Literatur für die Hautrauigkeit angegebene Wert von  $18,0\mu\text{m}$  ( $\pm 2,8$ ) den für  $R_a=13,15\mu\text{m}$  ( $\pm 2,5$ ) experimentell bestimmten Wert für Humanhaut weitgehend unterstützt [Lodén 1995].

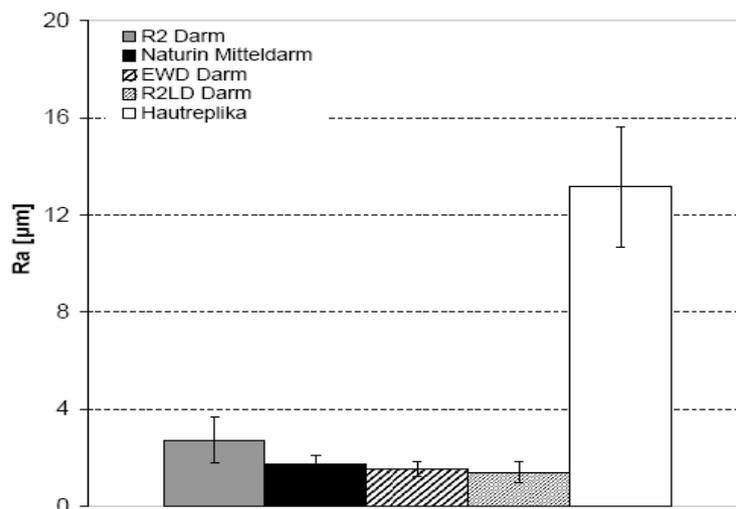


Abb. 29: Oberflächenrauigkeiten der Kollagenmembranen und einem Silikon-Hautreplika gemessen mit dem Hommel Rauigkeitstester

Es wird insgesamt deutlich, dass der R2-Darm bei der Betrachtung der Kontaktwinkel von Wasser auf den Membranen und der Bestimmung der Oberflächenrauigkeit jeweils eine Sonderposition darstellt, da der Kontaktwinkel von Wasser deutlich niedriger liegt als bei den anderen Membranen und die Oberflächenrauigkeit deutlich höher als bei den Vergleichsmembranen. Möglicherweise ist die Vorbehandlung des R2-Darms mit Salzen auf der Innenseite hier eine Ursache. Es wird außerdem deutlich, dass die Membranen, die eine niedrige Oberflächenrauigkeit aufweisen, einen hohen Kontaktwinkel mit Wasser zeigen und umgekehrt. Dieser Befund stimmt überein mit dem in der Literatur gefundenen Zusammenhang, dass raue Oberflächen gegenüber glatten Oberflächen einen veränderten

---

Kontaktwinkel aufweisen, da sie einen veränderten Energiegehalt pro Flächeneinheit besitzen. Der Kontaktwinkel von Wasser auf glatten Kollagenmembranen ist demnach  $<90^\circ$ , da mit zunehmender Rauigkeit eine Zunahme des Benetzungswinkels erfolgt [Baxter und Cassie 1945]. Die Tatsache, dass der Kontaktwinkel auf einer rauen Oberfläche über wesentlich längere Zeit abnimmt als auf einer glatten Feststoffoberfläche, deutet auf das Eindringen der Flüssigkeit in die Oberflächenrauigkeiten hin. Ursache ist vermutlich die Penetration der Flüssigkeit in die Oberflächenrauigkeiten. Es wurden REM- Bilder von Silikonreplika der Haut (24jährige Frau und 44jähriger Mann) sowie der Vorder- und Rückseite des Naturin Mitteldarm und des R2-Darmes aufgenommen. Anhand dieser Bilder (Abb. 30-35) kann die Oberflächenstruktur der Haut gut mit der der Kollagenmembranen verglichen werden. Auf diesen Bildern wird deutlich, dass die Kollagenmembranen teilweise eine starke Maserung und dementsprechend auch eine bestimmte Vorzugsrichtung aufweisen.

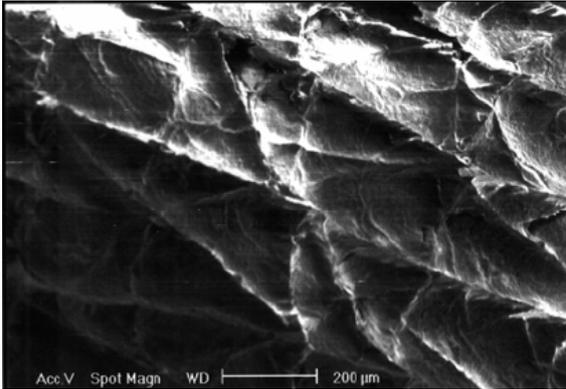


Abb. 30: REM-Aufnahme eines Silikonreplika der Unterarmhaut einer 24-jährigen Frau

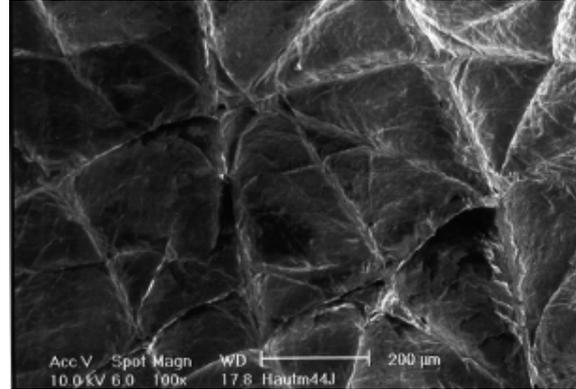


Abb. 31: REM-Aufnahme eines Silikonreplika der Unterarmhaut eines 44-jährigen Mannes

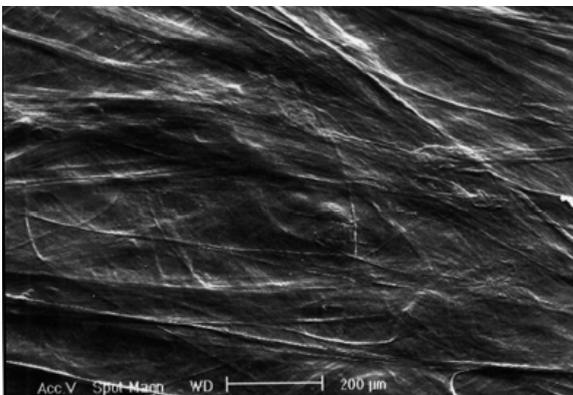


Abb. 32: REM-Aufnahme der Vorderseite des unbehandelten Naturin Mitteldarm

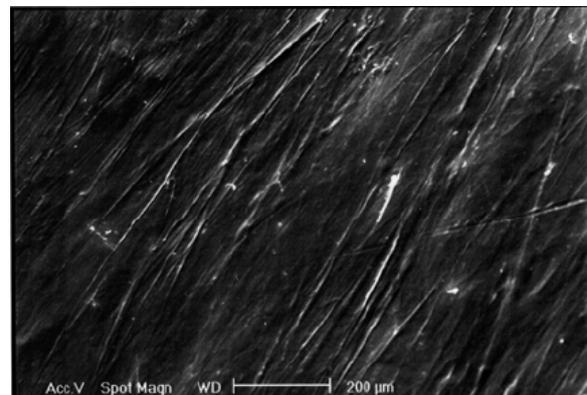


Abb. 33: REM-Aufnahme der Rückseite des unbehandelten Naturin Mitteldarm

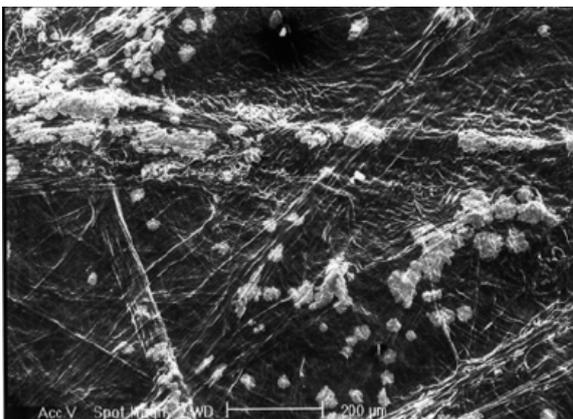


Abb. 34: REM-Aufnahme der Vorderseite des unbehandelten R2-Darms

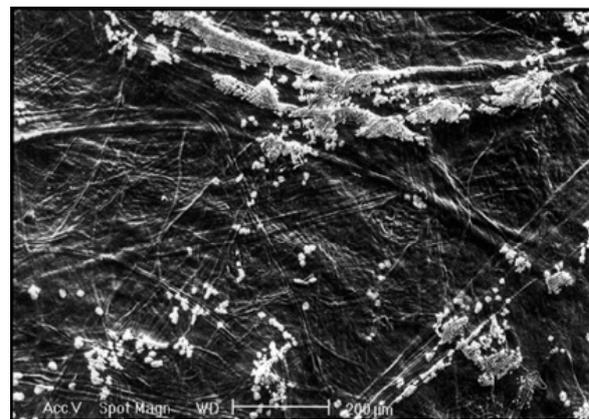


Abb. 35: REM-Aufnahme der Rückseite des unbehandelten R2-Darms

Allerdings wurden bei den vorangegangenen Untersuchungen die Vorzugsrichtungen der Rauigkeiten nicht berücksichtigt. *Rye et al.* [1996] zeigten jedoch, dass längs der Rauigkeiten ein linearer Abfall der Tropfenoberfläche zu beobachten ist. Dementsprechend ist denkbar, dass längs der Rauigkeiten ein noch geringerer Kontaktwinkel als senkrecht

zur Richtung der Riefen gemessen wird. Dies wird in weiteren Kontaktwinkel und Oberflächenenergiestudien untersucht.

Die Tatsache, dass die Rauigkeit der Hautoberfläche entscheidenden Einfluss auf das Spreitverhalten der Öle hat, ist vielfach bestätigt worden [Wenzel 1949, Busscher et al. 1984]. Wenn jedoch dieser Theorie zufolge, die hohen Spreitwerte auf der Humanhaut maßgeblich auf die hohe Hautrauigkeit zurückzuführen ist, müssten die Spreitwerte auf dem R2-Darms höher liegen als auf dem Mitteldarm. Dies trifft jedoch nicht zu und ist damit wiederum ein Hinweis dafür, dass das Spreiten ein mehrdimensionaler Vorgang ist, der von den verschiedensten physikalisch-chemischen Größen der Membran/Haut sowie der Flüssigkeit beeinflusst wird.

#### **4.1.4. Zusammenfassende Beurteilung der unbehandelten Kollagenmembranen**

Aus den Vorversuchen auf den unbehandelten Kollagenmembranen wird deutlich, dass einige Kollagenmembranen offensichtlich sehr gut geeignet sind, um ein Hautsubstitut zur Kosmetiktestung darzustellen, im Allgemeinen jedoch zu trocken sind, um hautähnlich zu sein. Deshalb wurde bei den anschließenden Untersuchungen eine Konditionierung der Oberfläche der Membranen durch Befeuchtung vorgenommen.

Die besten Ergebnisse in Bezug auf den Einsatz als Hautsubstitut wurden mit dem R2-Darm und dem Mitteldarm erzielt. Allerdings gab es auch bei diesen beiden Membranen erhebliche Probleme, die Daten zu reproduzieren, da der R2-Darm an der äußeren Membranoberfläche mit Salzen vorbehandelt wurde, die zu Inkompatibilitäten führten. Ebenso ist die Reproduzierbarkeit bei dem Mitteldarm nicht gegeben, da dieser an der Innenseite mit Lecithin vorbehandelt wurde. Daher wurden diese beiden Membranen an dieser Stelle von den weiteren Messungen ausgeschlossen. Stattdessen wurde nur noch der von der Zusammensetzung her mit dem R2-Darm eng verwandte R2LD-Darm und der mit dem Mitteldarm vergleichbare EWD-Darm eingesetzt.

## **4.2. Konditionierungsstudien**

### **4.2.1. Kollagenmembranen ohne Untergrundgel**

#### **4.2.1.1. Oberflächenenergie und Oberflächenrauigkeit**

Zunächst wurde die Konditionierung der Membranen über die Lagerung in Exsikkatoren, die, je nach gewünschter Befeuchtung bzw. Trocknung Salzlösungen mit definiert eingestellter relativer Feuchte, Wasser oder Trockenmittel enthielten, erreicht. So wurden die Kollagenmembranen entsprechend auf 0%, 35%, 55%, 75% und 100% relativer Feuchte eingestellt.

Die Bestimmung der Oberflächenenergie wurde nach den Ergebnissen aus der vorangegangenen Studie als das geeignetste Verfahren zur ersten Beurteilung der konditionierten Membranen im Hinblick auf das Spreiten von Ölen erachtet.

Es wird deutlich, dass die Oberflächenenergie des EWD-Darms sich erwartungsgemäß verhält (Abb. 36). Während der disperse Anteil über die Zunahme an Feuchtigkeit weitestgehend gleich bleibt, steigt der polare Anteil, wie zu erwarten, an. Der vollständig befeuchtete EWD-Darm zeigt eine hautähnliche Oberflächenenergie von 28,0mN/m wobei der polare Anteil 11,34mN/m (entspricht 40,5%) beträgt. In der Literatur wird die Oberflächenspannung der Haut mit 25-29mN/m und einem 40%igen polaren Anteil postuliert [Mavon et al. 1997, Lucast 2000].

Die Oberflächenenergie des R2LD-Darms (Abb. 37) über die verschiedenen Konditionierungsstufen dagegen ist sehr unregelmäßig. Außer bei den auf 35% relative Feuchte konditionierten Membranen ist der polare Anteil des R2LD-Darms im Allgemeinen größer als der des EWD-Darms. Der vollständig befeuchtete R2LD-Darm zeigt eine extrem hohe Oberflächenenergie und einen polaren Anteil von 86,0%.

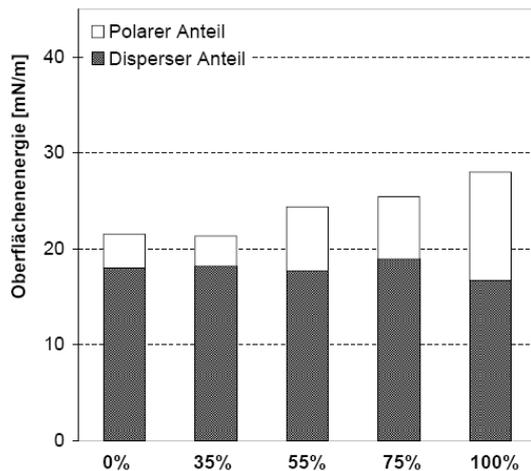


Abb. 36: Oberflächenenergie des konditionierten **EWD-Darms**

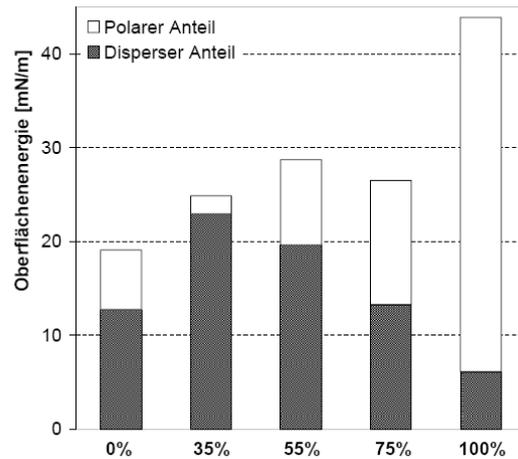


Abb. 37: Oberflächenenergie des konditionierten **R2LD-Darms**

Im Allgemeinen scheint dieser Kollagendarm also eine höhere Wasserbindungskapazität zu besitzen, die sich auch durch den höheren Gehalt an Feuchthaltemittel (11%) im Vergleich zu 5% beim EWD-Darm erklären lässt. Die Unregelmäßigkeiten lassen sich jedoch darüber nicht deuten. Um diesen auf den Grund zu gehen, wurden erneut Kollagenmembranen konditioniert und deren Oberflächenenergie bestimmt. Dabei fiel auf, dass insbesondere der R2LD-Darm eine Vorzugsrichtung besitzt, die den Kontaktwinkel massiv beeinflusst und bei der Bestimmung der Oberflächenenergie berücksichtigt werden muss. Demnach wurde die Oberflächenenergie der konditionierten Membranen erneut einmal entsprechend der Maserung und einmal quer zur Maserung bestimmt (Abb. 38 und 39).

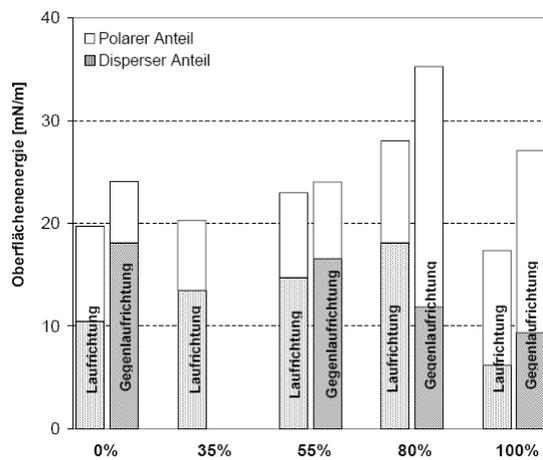


Abb. 38: Oberflächenenergie des konditionierten **EWD-Darms** unter Berücksichtigung der Laufrichtung

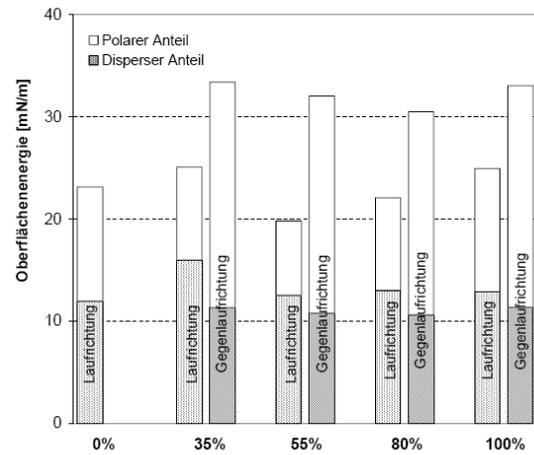


Abb. 39: Oberflächenenergie des konditionierten **R2LD-Darms** unter Berücksichtigung der Laufrichtung

Bei der Berücksichtigung der Laufrichtung der beiden Membranen wird die in den Voruntersuchungen aufgestellte Vermutung bestätigt, dass der R2LD-Darm eine starke Abhängigkeit von der Vorzugsrichtung aufweist; die Oberflächenenergien in Laufrichtung sind deutlich niedriger als die in Gegenlaufichtung. Dies Phänomen ist bei dem EWD-Darm nur bei den stärker befeuchteten Membranen zu beobachten, die weniger befeuchteten Membranen scheinen von der Laufrichtung unabhängig zu sein. *Wolf et al.* [1971] fanden heraus, dass auch die Hautlinien eine Hauptrichtung aufweisen, die senkrecht zur Bewegungsrichtung verläuft und die Haut über diese ein Maximum an Dehnbarkeit erreicht.

Betrachtet man die Polarität der Oberflächenenergien, so fällt auf, dass bei dem R2LD-Darm der polare Anteil in Gegenlaufichtung konstant höher liegt als der disperse Anteil. In Laufrichtung dreht sich dieses Verhältnis um. Die starken Diskrepanzen unter Berücksichtigung des Linienverlaufs (Abb. 39) erklären das in Abb. 37 gezeigte inhomogene Verhalten des R2LD-Darms, wenn die Laufrichtung nicht berücksichtigt wird. *Rye et al.* [1996] zeigten, dass beim Aufbringen eines Tropfens mit dem Linienverlauf ein linearer Abfall der Flüssigkeitsoberfläche zu beobachten ist. Unsere Ergebnisse bestätigen, dass längs der Rauigkeiten ein geringerer Kontaktwinkel als senkrecht zur Richtung der Riefen gemessen wird. Auch hier ist die Ursache vermutlich die Tatsache, dass die Flüssigkeit längs des Linienverlaufs leicht in die Rauigkeitstäler penetrieren kann, während

quer zum Linienverlauf größere Kontaktwinkel durch die Oberflächenrauigkeiten ausgebildet werden.

Aus den Ergebnissen wird deutlich, dass der R2LD-Darm eine wesentlich ausgeprägtere Maserung mit Vorzugsrichtung aufweist als der EWD-Darm. Dadurch ist er für einige Testverfahren (z.B. Spreiten) weniger geeignet.

Im Allgemeinen lässt sich feststellen, dass beide Membranen sich gut konditionieren lassen und sich nach der Befeuchtung deutlich hautähnlicher anfühlen. Deshalb wurde dieses Konditionierungsprinzip gezielt weiterverfolgt, indem die Befeuchtung über ein unter den Kollagenmembranen befindliches Untergrundgel eingestellt wurde.

#### **4.2.2. Kollagenmembranen mit Untergrundgel**

##### **4.2.2.1. Konditionierung des Systems über das Untergrundgel**

Das Untergrundgel wurde zunächst aus Wasser, dem Gelbildner und einem Konservierungsmittel hergestellt. Um einerseits die schnelle Austrocknung des Gels zu verhindern und um darüber hinaus eine definierte relative Feuchte im Substitut einzustellen, wurde Glycerin zugegeben. Als dreiwertiger Alkohol vermag Glycerin mehrere Wasserstoffbrückenbindungen gleichzeitig auszubilden und die Wasserbindungsfähigkeit zu erhöhen. Aufgrund seiner hygroskopischen Eigenschaften wird das Abdampfen von Feuchtigkeit aus den Substituten verhindert und die Retention begünstigt [Jungermann 1991].

Die so erstellte Oberfläche bietet eine Plattform zur Durchführung kosmetischer Tests, die über die folgenden Eigenschaften verfügt:

- eine definiert einzustellende Wasserabgabe aus dem Hydrogel
- eine hautähnliche Kollagenmembran, die je nach gewähltem Typ über unterschiedliche Oberflächeneigenschaften verfügt

Durch den speziellen Aufbau mit dem Untergrundgel in einer Petrischale und der Kollagenmembran fest darüber gespannt ergibt sich ein Substitut, auf dessen ebener Oberfläche sich die verschiedensten Untersuchungen durchführen lassen. Eine sehr gute Möglichkeit bietet sich zur Bestimmung der Wasserabgabe aus dem Substitut (TEWL-Messung) und zur Bestimmung der Hydratation der Oberfläche (Corneometrie).

#### **4.2.2.2. Untersuchungen zur Standardisierung des Systems**

##### **4.2.2.2.1. TEWL- und Corneometermessungen**

Zunächst einmal war es wichtig, herauszufinden, wie standardisierbar das beschriebene System ist. Eine gute Möglichkeit dazu stellen TEWL- und Corneometermessungen dar, da sie detaillierte Auskunft über den Status an der Oberfläche der Membranen geben. Deshalb wurden einige grundlegende Untersuchungen diesbezüglich an dem Standard-Substituten EWD-Agar durchgeführt.

Es wurden an jeweils fünf unterschiedlichen Proben einer Charge der Standard-Substituten EWD-Agar mit 0,3 und 2,0%iger Agar-Konzentration bei anfangs 32°C (Hauttemperatur), 40min lang alle 10min die TEWL- und Corneometerwerte aufgenommen. Wie man in Abb. 40 und 41 sieht, hat eine Veränderung der Konzentration an Gelbildner dabei sehr unterschiedliche Auswirkungen auf die TEWL- und Corneometerwerte der Substituten. Während die TEWL-Werte nicht signifikant abhängig von der Konzentration an Gelbildner sind, zeigen die Corneometerwerte eine starke Abhängigkeit (Abb. 40 und 41). Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass durch die höhere Konzentration an Gelbildner entweder mehr Wasser an der Oberfläche der Substituten vorhanden ist oder Fehlmessungen durch Elektrolyte an der Oberfläche der Substituten zustande kommen.

Bezüglich der Abhängigkeit von der Temperatur stellt es sich genau umgekehrt: während die TEWL-Werte eine starke Abhängigkeit von der Temperatur zeigen, hat diese auf die Corneometer Werte offensichtlich keinen Einfluss. Für die TEWL- Werte lässt sich dies leicht erklären: Bei höherer Temperatur wird verstärkt Wasser aus den Substituten verdunstet, das durch die TEWL-Messung erfasst wird.

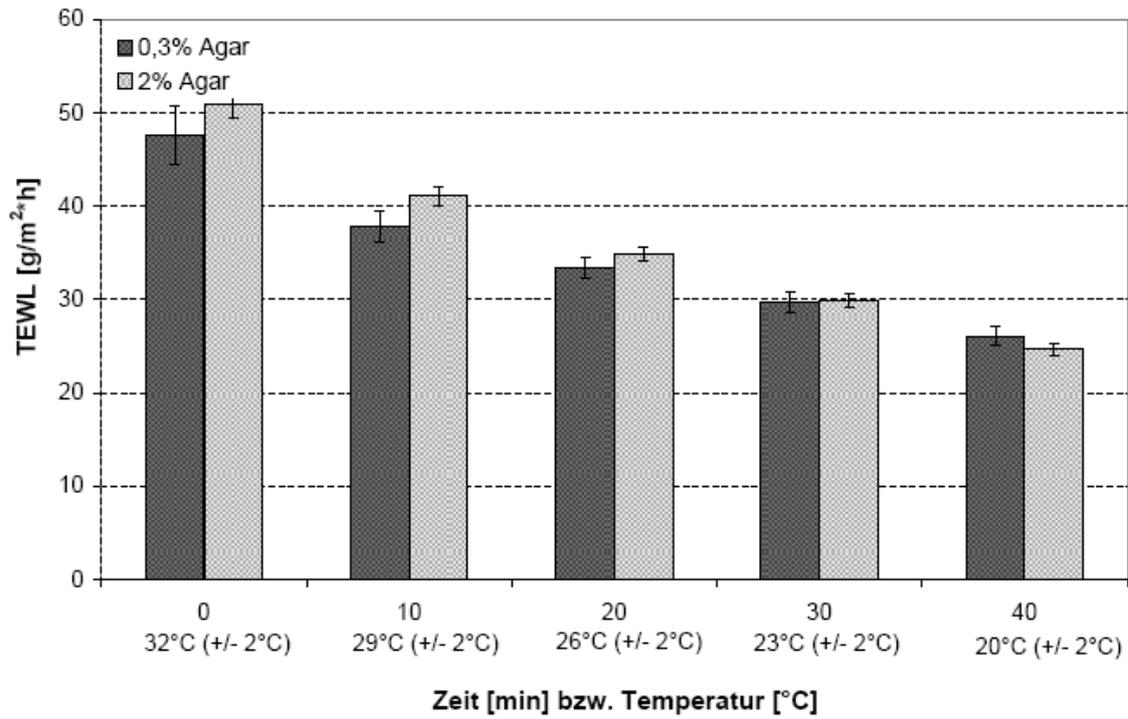


Abb. 40: TEWL-Werte auf den Standard-Substituten bei unterschiedlichen Agar-Agar Konzentrationen

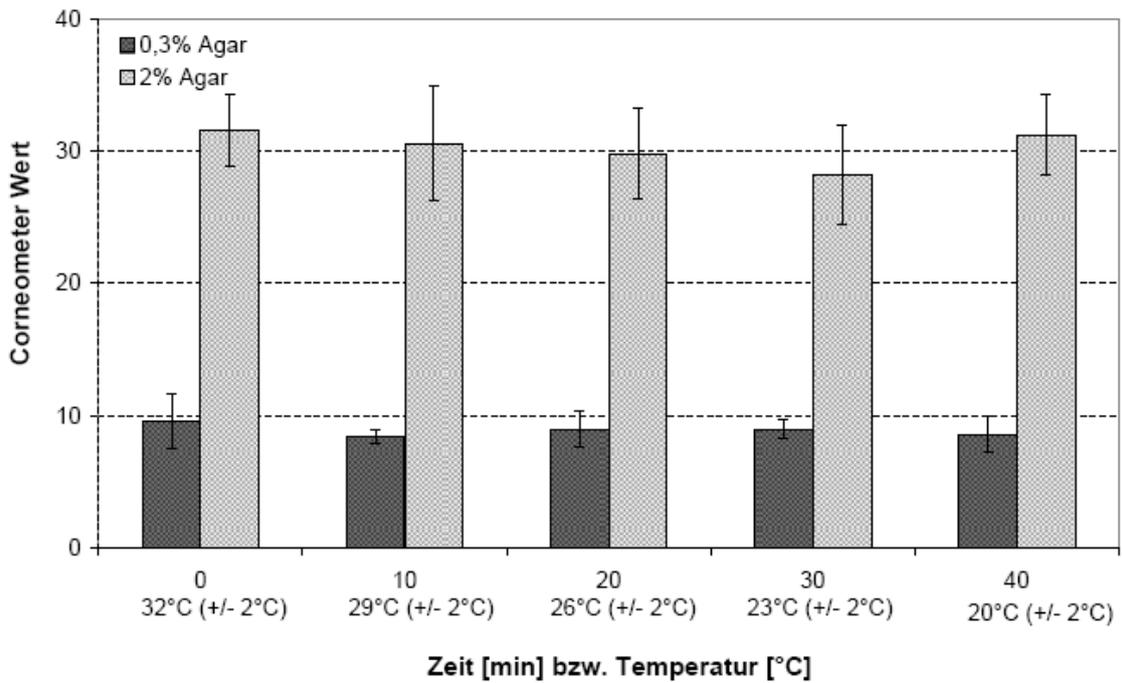


Abb. 41: Corneometer-Werte auf den Standard-Substituten bei unterschiedlichen Agar-Agar Konzentrationen

Um diese Thesen weiter zu untermauern, wurden weitere Untersuchungen an den EWD-Agar Substituten durchgeführt. Eine Studie mit unterschiedlich befeuchteten Substituten (35%, 50%, 80%) unterschiedlicher Chargen sollte zeigen, wie die Daten auch bei Einstellung auf unterschiedliche Feuchten reproduziert werden können. Aus Abb. 42 und 43 wird deutlich, dass sowohl TEWL- als auch Corneometerwerte reproduzierbar mit ansteigender Feuchte zunehmen. Die Absolutwerte für Wasserabgabe aus dem Substitut bzw. Wassergehalt an der Oberfläche sind zwar nicht exakt mit den Werten für Humanhaut vergleichbar, es sind jedoch für die unterschiedlichen Befeuchtungen Abstufungen erkennbar, so dass unterschiedliche Hautzustände simuliert werden können.

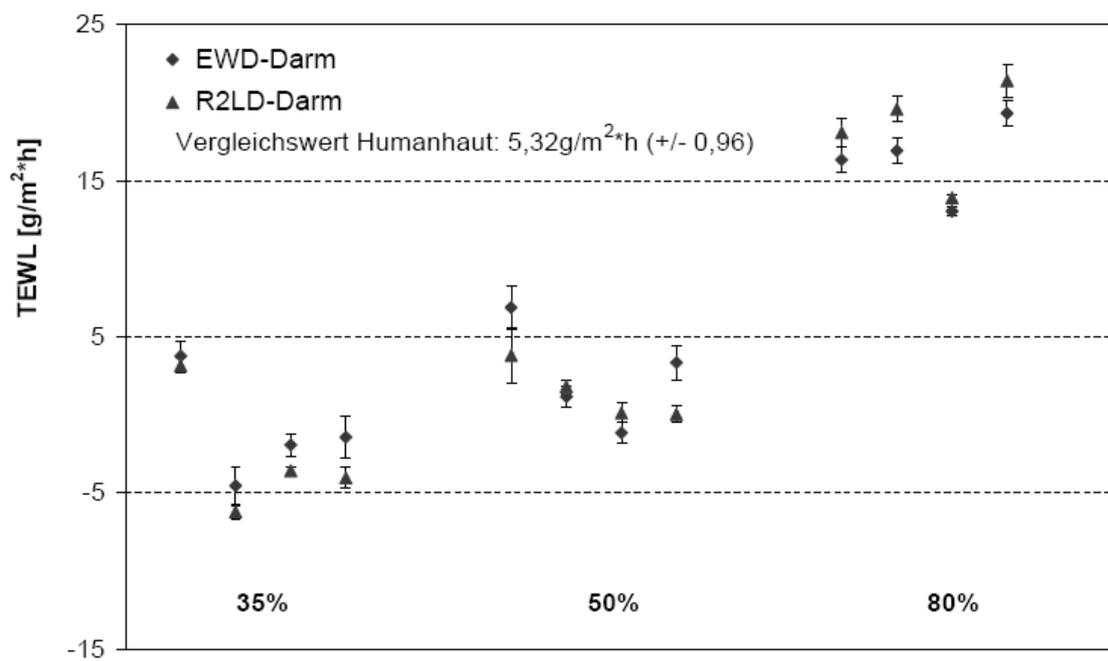


Abb. 42: TEWL-Werte der konditionierten Kollagenmembranen mit Untergrundgel bei 20°C

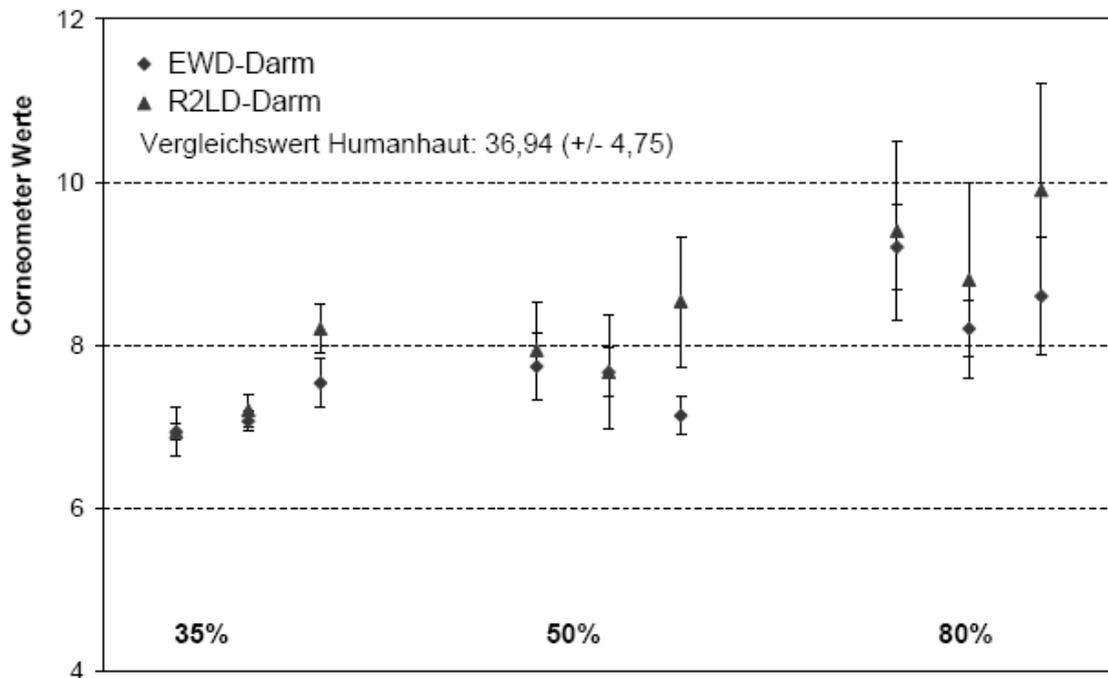


Abb. 43: Corneometer-Werte der konditionierten Kollagenmembranen mit Untergrundgel bei 20°C

Bei der Betrachtung der TEWL- und Corneometerwerte wird deutlich, dass sich die Substituten sehr reproduzierbar an bestimmte humane Hautzustände anpassen lassen. Sowohl TEWL- als auch Corneometer-Werte steigen mit zunehmender relativer Feuchte im Substitut, wobei der deutlich größere Anstieg zwischen den 50- und 80%igen Substituten zu verzeichnen ist. Einzelne Chargen sind reproduzierbar, R2LD-Darm und EWD-Darm unterscheiden sich kaum. Es liegen zwar keine realistisch humanhautähnlichen Werte vor, die Absolutwerte lassen sich jedoch reproduzierbar durch Veränderung des Glycerinanteils einstellen.

#### 4.2.2.2.2. Oberflächenrauigkeit

Des Weiteren soll untersucht werden, wie sich die Oberfläche der Substituten verändert, wenn unterschiedliche Glycerin-Wasser-Mischungen zur Herstellung verwendet werden. Die Oberflächenenergie der mit Wasser befeuchteten Membranen ist oben schon eingehend untersucht worden, deshalb liegt der Fokus dieser Untersuchungen auf der Betrachtung der Oberflächenrauigkeit sowohl von Substituten bei denen das Untergrundgel aus Wasser, als auch von Substituten, bei denen das Untergrundgel aus unterschiedlichen Glycerin-Wasser-Mischungen hergestellt wurde (Abb. 44).

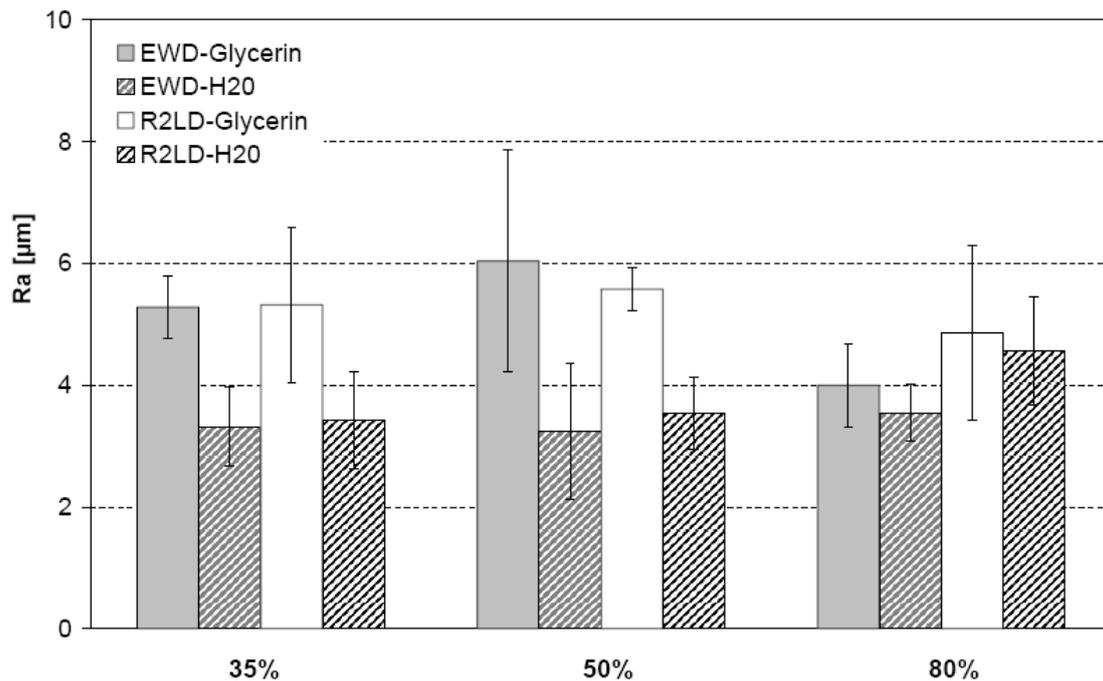


Abb. 44: Oberflächenrauigkeiten der konditionierten Kollagenmembranen EWD und R2LD mit Gelatine Untergrundgel bestehend aus a) Glycerin+Wasser und b) Wasser (Konditionierung über Lagerung)

Es wird deutlich, dass die Oberflächenrauigkeit sich durch die Verwendung von Glycerin, sowohl beim R2LD als auch beim EWD-Darm stark erhöht. Diese Beobachtung steht im Gegensatz zu dem in der Literatur beschriebenen Phänomen, dass Glycerin die Hautrauigkeit maßgeblich reduziert [Jungerman 1991]. Eine mögliche Erklärung könnte sein, dass Glycerin selbst nicht in der Lage ist, Kollagen zu glätten, sondern lediglich als Feuchthaltemittel fungiert. Solange Wasser (in der Haut) vorhanden ist, kann Glycerin dieses speichern. Über das Wasser wird eine Glättung der Kollagenmembran bewirkt. Das Glycerin jedoch ist nur indirekt als Speichermedium an dieser Glättung beteiligt. Wenn nun, wie bei den auf 35 und 50% konditionierten Substituten kaum Wasser vorhanden ist, kann auch keine Glättung erfolgen.

Dieser Theorie entspricht auch, dass die mit 80% konditionierten Substituten, bei denen eine Glycerin-Wasser-Mischung eingesetzt wurde, bzgl. der Rauigkeit signifikant niedriger ( $p \leq 0,05$ ) liegen als die Substituten mit niedrigerer relativer Feuchte.

Für die nur mit Wasser hergestellten Substituten hat die Veränderung der relativen Feuchte keinen signifikanten Einfluss auf die Oberflächenrauigkeit. Vom absoluten Rauigkeitwert her gesehen, sind die mit Glycerin hergestellten Substituten jedoch humanhautähnlicher als

die ohne Glycerin hergestellt, da die Hautraugigkeit in einer vorhergehenden Studie bereits mit  $13,15\mu\text{m}$  ( $\pm 2,5$ ) bestimmt wurde.

#### 4.2.2.3. Untersuchungen zur Charakterisierung der Emollienten

Im Folgenden sollen die Substituten eingehend auf die Eignung zur Charakterisierung der Modellsustanzen mit Hilfe verschiedener Untersuchungsmethoden untersucht werden.

##### 4.2.2.3.1. Frictiometrie

Die Frictiometerwerte wurden an allen 16 zu untersuchenden Ölen auf den Gelatine-EWD-Substituten mit dem Frictiometer FR 700 wie in Kapitel 3.5.2.2 beschrieben bestimmt. Dabei konnte eine hohe Korrelation zwischen den Spreitwerten auf der Haut (Literaturwerte) und den Frictiometerwerten gefunden werden (Abb. 45).

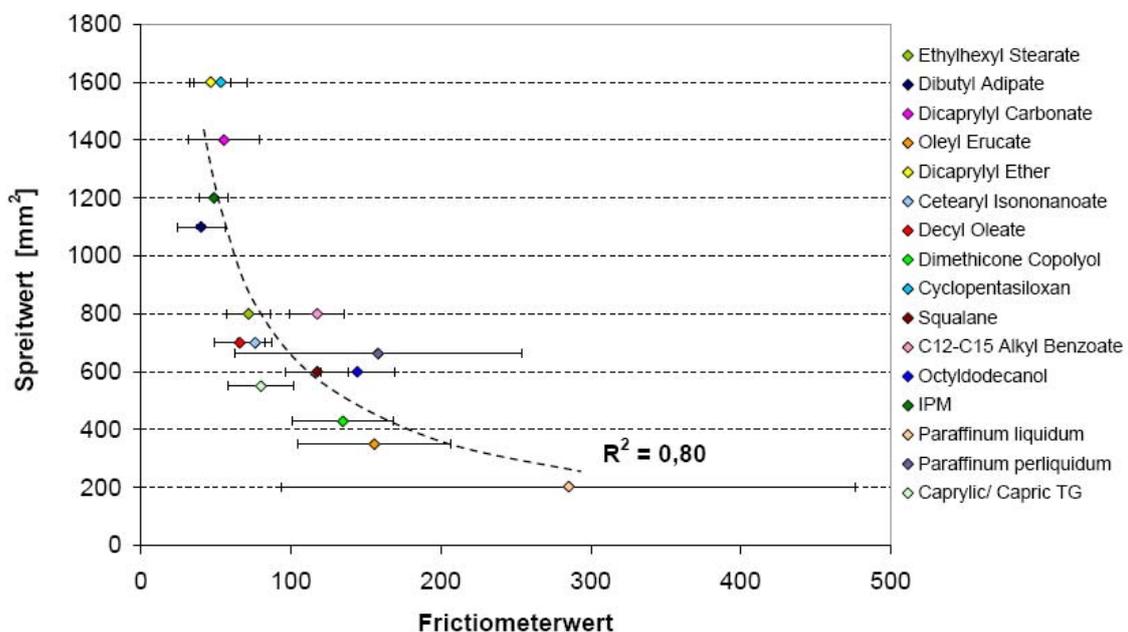


Abb. 45: Korrelation der Frictiometerwerte der Öle auf EWD-Darm mit Gelatine Untergrundgel und den Literaturwerten auf Humanhaut (Zeidler Methode)

Dieses Ergebnis stimmt mit den Befunden in der Literatur überein. Auch *Nacht et al.* [1981] fanden einen Zusammenhang zwischen der empfundenen Fettigkeit und dem Frictionskoeffizienten. Die „leichten“ Öle mit hohem Spreitwert und tendenziell eher

niedriger Viskosität spreiten nach Aufbringen auf die Substituten schnell weg und erzeugen unmittelbar nach Hautauftrag ein deutliches Glättegefühl, das schon nach kurzer Zeit abfällt. Diese Öle ermöglichen es der Frictiometersonde leicht über die Haut zu gleiten und dementsprechend niedrige Standardabweichungen zu erzeugen. Die hochviskosen Öle mit niedrigen Spreitwerten erzeugen im Allgemeinen beim Konsumenten ein ausgesprochen fettiges Hautgefühl. Diese Öle spreiten nach Aufbringen auf die Substituten nur langsam und haben so die Möglichkeit eine größere Haftung über die Kontaktfläche zwischen Sonde und Haut herzustellen und dem Frictiometer so einen größeren Widerstand entgegen zu setzen. *Zeidler* [1985] fand außerdem heraus, dass Öle wie Paraffinum liquidum mit hoher Oberflächenenergie (33,0 mN/m) und hoher Viskosität (182,6mPa·s) zur Klebrigkeit neigen. Die Schwankungen, die beim Rotieren der Sonde bei Paraffinum Liquidum und auch Paraffinum perliquidum auftreten, weisen eindeutig auf dieses Phänomen hin.

Auch der Vergleich zu den Daten auf Humanhaut (Abb. 46) zeigt eine hohe Ähnlichkeit zu den Frictiometerwerten auf den Kollagensubstituten. Der Korrelationskoeffizient zu den Literaturdaten ist hier mit 0,76 zwar schlechter als auf den Kollagensubstituten, aber dennoch ist durch die breitere Aufspreizung der Werte hier eine bessere Differenzierung der Öle gegeben.

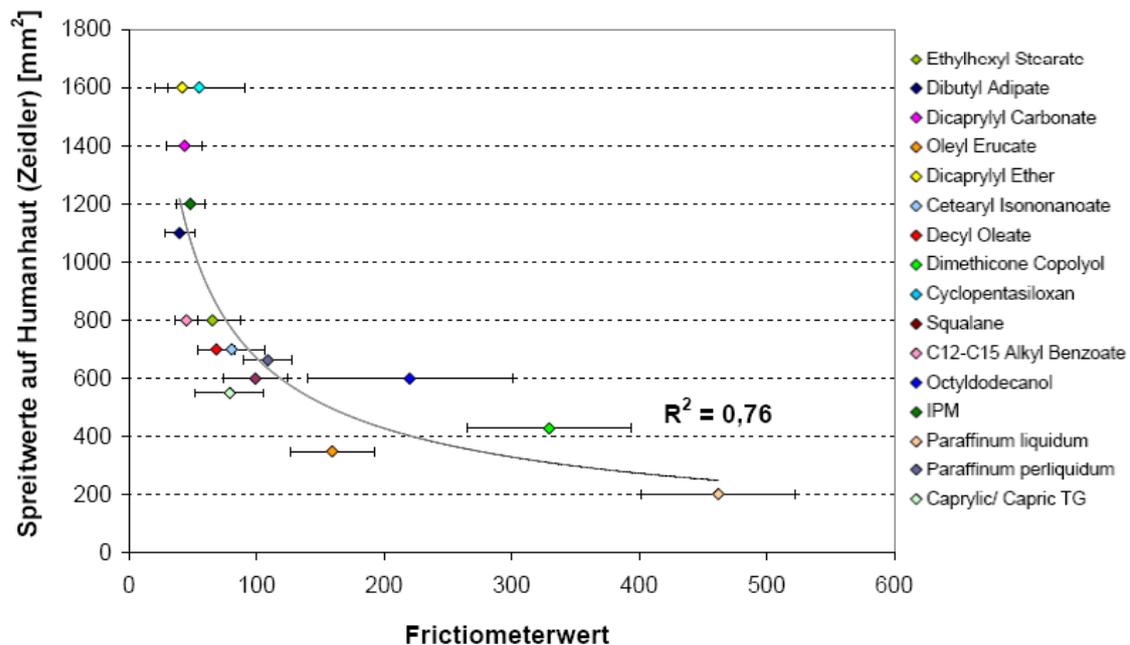


Abb. 46: Korrelation der Frictiometerwerte der Öle auf Humanhaut und den Literaturwerten auf Humanhaut (Zeidler-Methode)

Die hohen Korrelationskoeffizienten zu den Literaturdaten deuten darauf hin, dass die Frictiometrie das Potential hat, nach entsprechender Optimierung eine Alternativmethode zu der sehr aufwendigen Spreitmethode auf Humanhaut darzustellen. Es bleibt allerdings zu erwähnen, dass die Frictiometrie als Methode noch nicht ausreichend ausgereift ist. Es besteht eine hohe Variabilität zwischen den einzelnen Messsonden, außerdem ist zu beachten, dass die Härte der Haut bzw. des Substituts sowie die Topographie der Sonde einen großen Einfluss auf die Ergebnisse haben können.

#### **4.2.2.3.2. Spreitverhalten**

Die Bestimmung des Spreitens der Öle mit Hilfe der etablierten Zeidler-Spreitmethode bleibt aus den oben genannten Gründen eine wichtige Untersuchungsmethode zum Verständnis der Vorgänge an der Oberfläche der Substituten. Das Spreiten auf diesen „Standard-Substituten“ jedoch erwies sich besonders bei den Hochspreitern als häufig wenig reproduzierbar, die einzelnen Öle konnten nur schwach voneinander differenziert werden. Es ergibt sich ein Korrelationskoeffizient von  $R^2=0,49$  zu den Literaturwerten auf Humanhaut (Abb. 47). Gründe dafür sind an den Gegebenheiten der Substituten an der Oberfläche zu suchen. Obwohl TEWL- und Corneometer-Messungen beweisen, dass die Substituten eine recht gute Standardisierung aufweisen, könnte es trotzdem sein, dass sich bei einzelnen Substituten Glycerin und/oder Wasser an der Oberfläche ansammelt und die Spreitung der Öle beeinflusst.

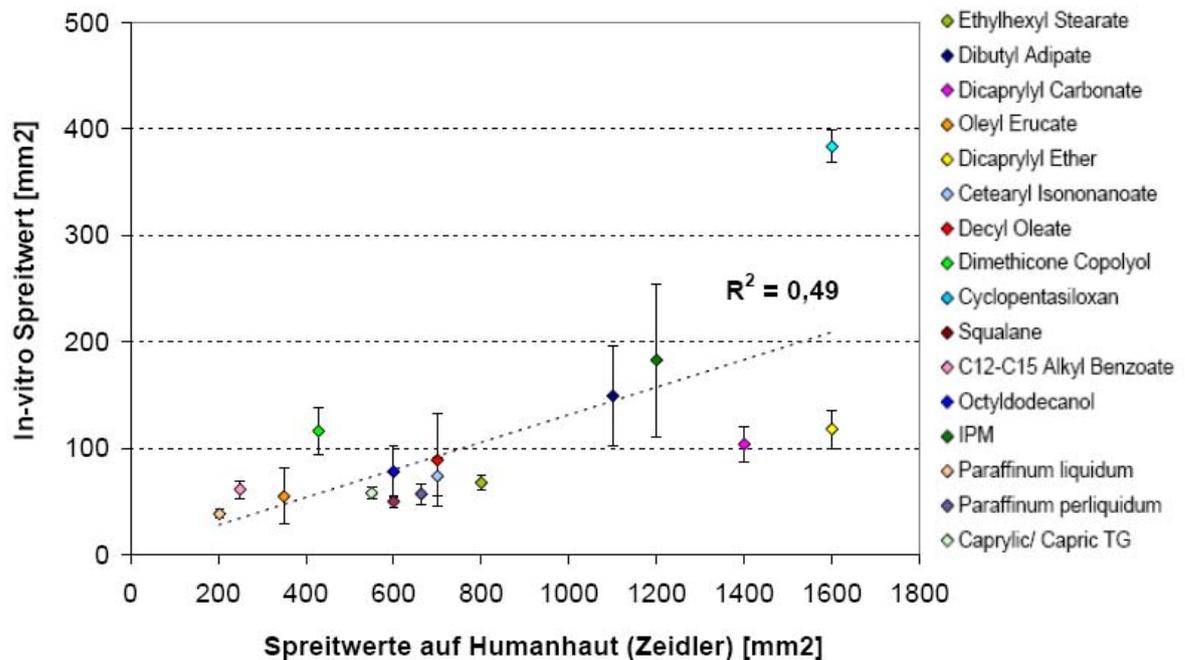


Abb. 47: Korrelation der Spreitwerte der Öle auf EWD-Darm mit Gelatine-Untergrundgel und den Literaturwerten auf Humanhaut

#### 4.2.3. Zusammenfassende Beurteilung der Konditionierungsstudien

Die vorangegangenen Messungen haben einen Überblick über die Möglichkeiten und Limitierungen der konditionierten Substituten gegeben. Es konnte gezeigt werden, dass die Kollagenmembranen sich gut konditionieren lassen. Die eingesetzten Kollagenmembranen weisen, je nach Typ, unterschiedlich stark ausgeprägte Laufrichtungen auf, die bei den Kosmetikttests zu berücksichtigen sind. Durch die gezielte Befeuchtung mit einem Untergrundgel kann die Wasserabgabe aus der Membran entsprechend unterschiedlicher Hautzustände simuliert werden. Die Methode der Frictionmetrie auf den Substituten hat das Potential, nach entsprechender Optimierung und Weiterentwicklung das sehr aufwendige Spreiten auf Humanhaut zu ersetzen.

Des Weiteren sind folgende Detailfragen zu beantworten:

- Welche Membran ist am besten zur Herstellung der Substituten und zur Durchführung der Tests geeignet?
- Welches Untergrundgel ist am besten zur Herstellung der Substituten und zur Durchführung der Tests geeignet?
- Wie robust sind die Ergebnisse der einzelnen Tests und wodurch werden diese beeinflusst?

Diese Fragestellungen sollen mit Hilfe eines statistischen Versuchsdesigns geklärt werden. Dazu wurde ein teilfaktorieller Versuchsplan mit  $2^2$ - Designs aufgestellt.

## Untersuchungsreihe Gelbildner

### 4.2.4. Untersuchungen zur Standardisierung des Systems

In dieser Untersuchungsreihe wurden folgende Gelbildner untersucht: Agar-Agar, Gelatine, Hydroxyethylcellulose (HEC) und Polyacrylsäure, Carbopol.

#### 4.2.4.1. TEWL- und Corneometermessungen

Bei der Bestimmung der TEWL-Werte wird bestätigt, was sich in den Voruntersuchungen schon herauskristallisiert hat. Es besteht keine signifikante Abhängigkeit der Wasserverdunstungsrate aus den Substituten zu dem Gehalt an Gelbildner oder zu dem Gehalt an Glycerin (Abb. 48). Es sind auch zwischen den einzelnen Untergrundgel-EWD-Kombinationen keine signifikanten Unterschiede erkennbar ( $p \leq 0,05$ ), die sich einheitlich in den Ergebnissen der Versuche 1 bis 4 widerspiegeln.

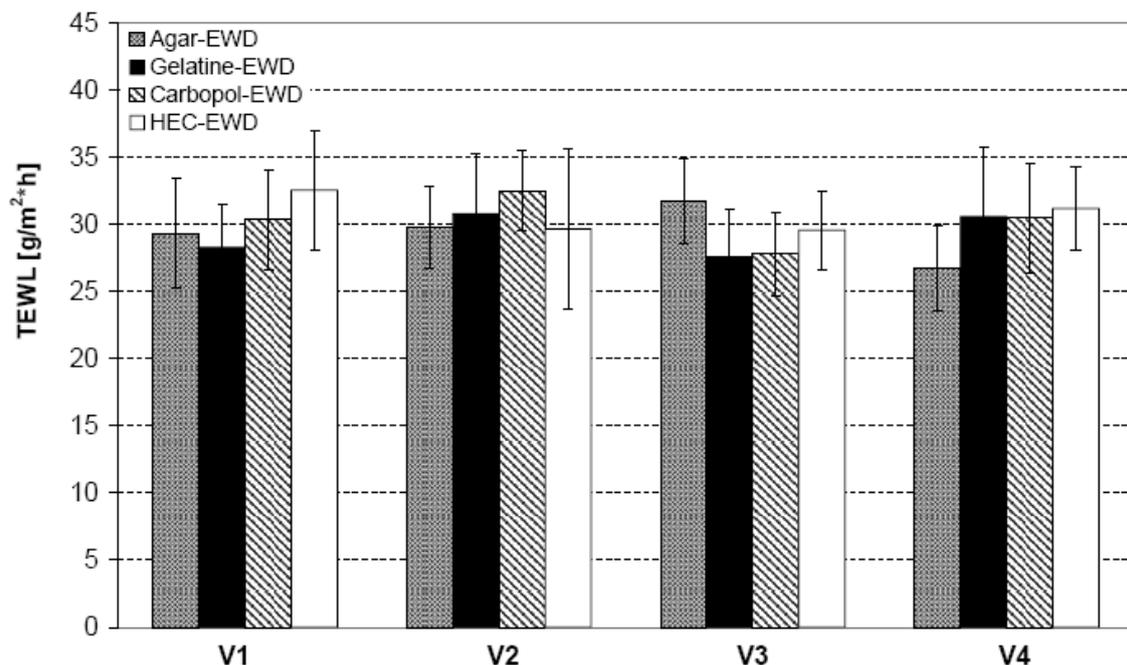


Abb. 48: TEWL-Werte der verschiedenen Untergrundgel-EWD-Membran-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

Auch bei der Betrachtung der Corneometerwerte (Abb. 49) bestätigen sich größtenteils die Ergebnisse aus den Voruntersuchungen. Bei den Kombinationen Gelatine-EWD, Carbopol-EWD und HEC-EWD ist eine eindeutige Abhängigkeit der Daten von der Konzentration an Gelbildner erkennbar. Bei niedrigen Gelbildnerkonzentrationen (V1+V3)

sind auch die Corneometerwerte niedrig, bei hohen Gelbildnerkonzentrationen (V2+ V4) liegen die Werte signifikant höher ( $p \leq 0,05$ ). Nur bei der Kombination Agar-EWD sieht man keinen Einfluss der Konzentration an Gelbildner oder an Glycerin. Außerdem fällt auf, dass die Corneometer-Werte für Substitute, die mit Agar-Agar hergestellt wurden, deutlich höher liegen als die der Substitute, bei denen das Untergrundgel mit anderen Gelbildnern gebildet wurde.

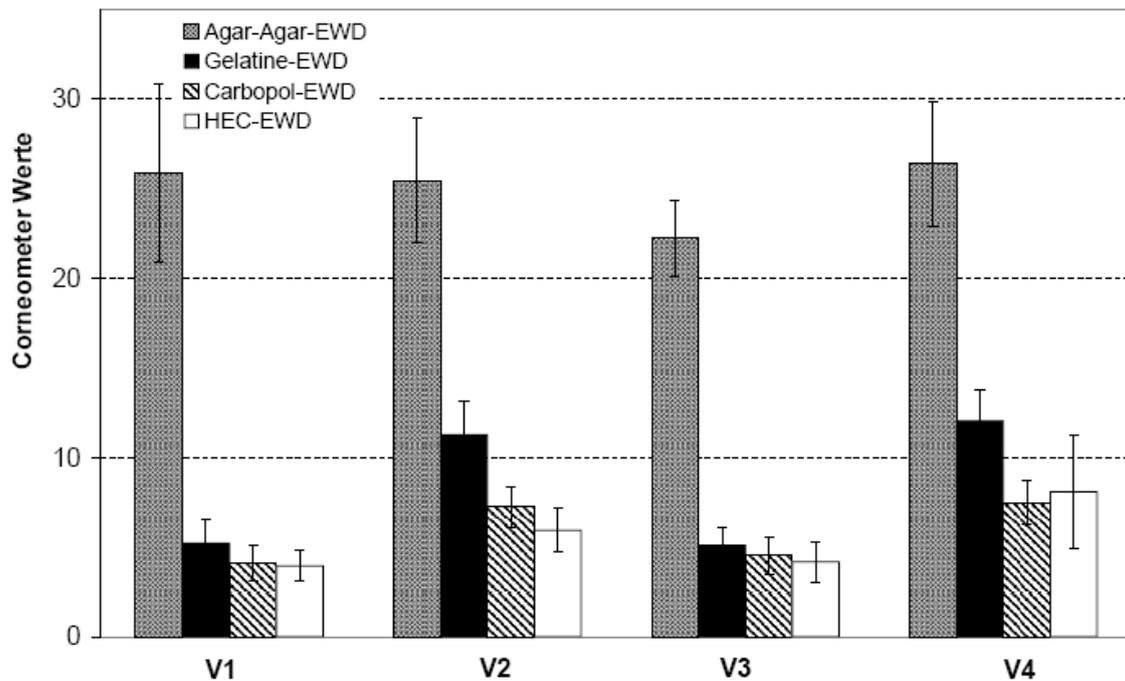


Abb. 49: Corneometer Werte der verschiedenen Untergrundgel- Membran-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen ist möglicherweise in dem Wasserbindevermögen der einzelnen Gelbildner zu suchen. Wasser besitzt eine Dielektrizitätszahl von 80, während die von Eis bei 100 liegt. Offensichtlich binden harte Gele (vgl. auch Abb. 51) Wasser deutlich stärker als weiche Gele, so dass auch die Dielektrizitätskonstante entsprechend höher liegt.

#### 4.2.4.2. Einfluss der Oberflächenrauigkeit

Die Untersuchungen der Silikonreplika per FOITS ergaben die in Abb. 50 dargestellten Ergebnisse. Es wurden für alle vier Gelbildner jeweils zwei Chargen der Replika der Rezeptur V2 (hoher Gelbildneranteil, niedriger Glycerinanteil) untersucht. Zwischen den Gelbildnern Agar-Agar, Gelatine und HEC sind keine signifikanten Unterschiede sichtbar, Carbopol-EWD-Substituten jedoch besitzen eine deutlich rauere Oberfläche, die auch visuell erkennbar ist und evtl. auf einen pH-Effekt zurückzuführen ist.

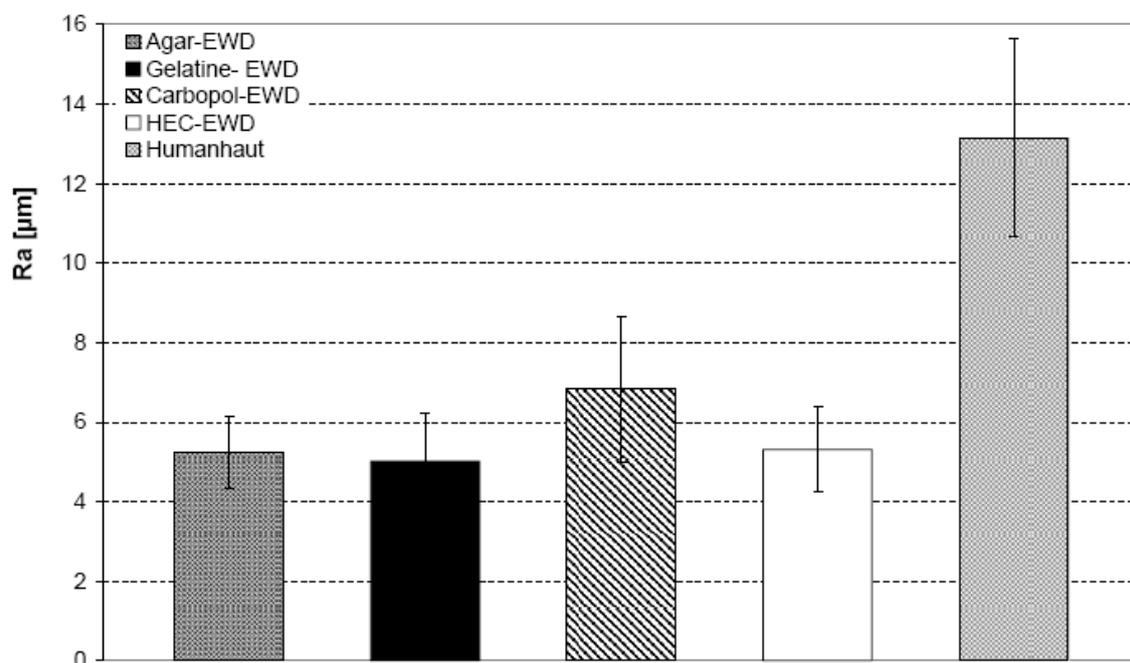


Abb. 50: Rauigkeitsparameter Ra als Ergebnis der FOITS-Untersuchungen der Silikonreplika der einzelnen Untergrundgel-EWD-Substituten

In den Vorversuchen wurde die Rauigkeit der trockenen EWD-Membran mit  $1,54\mu\text{m}$  ( $\pm 0,31$ ) bestimmt. Die Oberfläche der trockenen Membranen ist demnach glatter als die der Untergrundgel-EWD-Substituten. Offensichtlich bewirkt eine Befeuchtung der Membran, dass die Rauigkeiten stärker ausgeprägt werden. Die Humanhaut ist im Vergleich zu den Untergrundgel-Substituten deutlich rau, wie das Silikonreplika ( $R_a = 13,15 \pm 2,48$ ) einer 26jährigen Frau zeigt.

#### 4.2.4.3. Einfluss der Gelfestigkeit

Die Ergebnisse der Messung der Gelfestigkeit mit dem Texture Analyzer entsprechen den Erwartungen (Abb. 51 und 52). Es sind einheitlich für alle Gelbildner deutliche Unterschiede bei V2 und V4 erkennbar, die in der Rezeptur eine höhere Konzentration an Gelbildner enthalten. Die Gelfestigkeit von Agar-Agar liegt etwa 100mal höher als die der übrigen Gelbildner. Auch mit 4%igen Gelatine Substituten kann man bereits recht feste Gele herstellen. Carbopol und HEC-Gele jedoch sind innerhalb der eingesetzten, bereits recht hohen Konzentrationen (siehe Tab. 12), sehr weich.

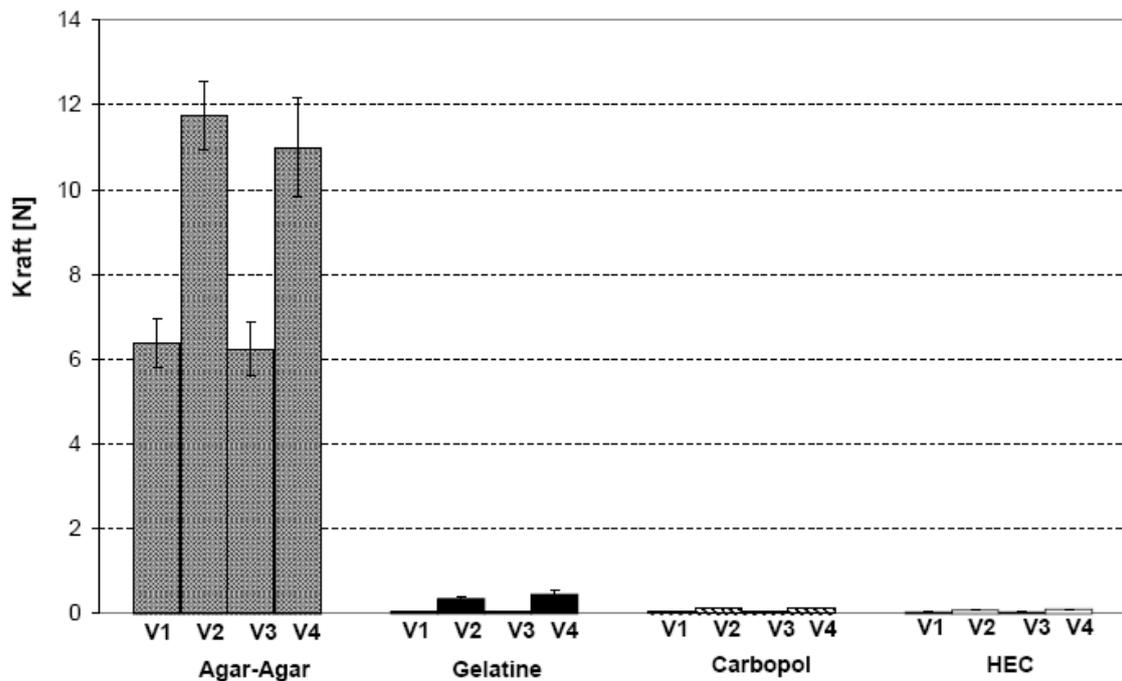


Abb. 51: Härte der einzelnen Untergrundgel- EWD-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

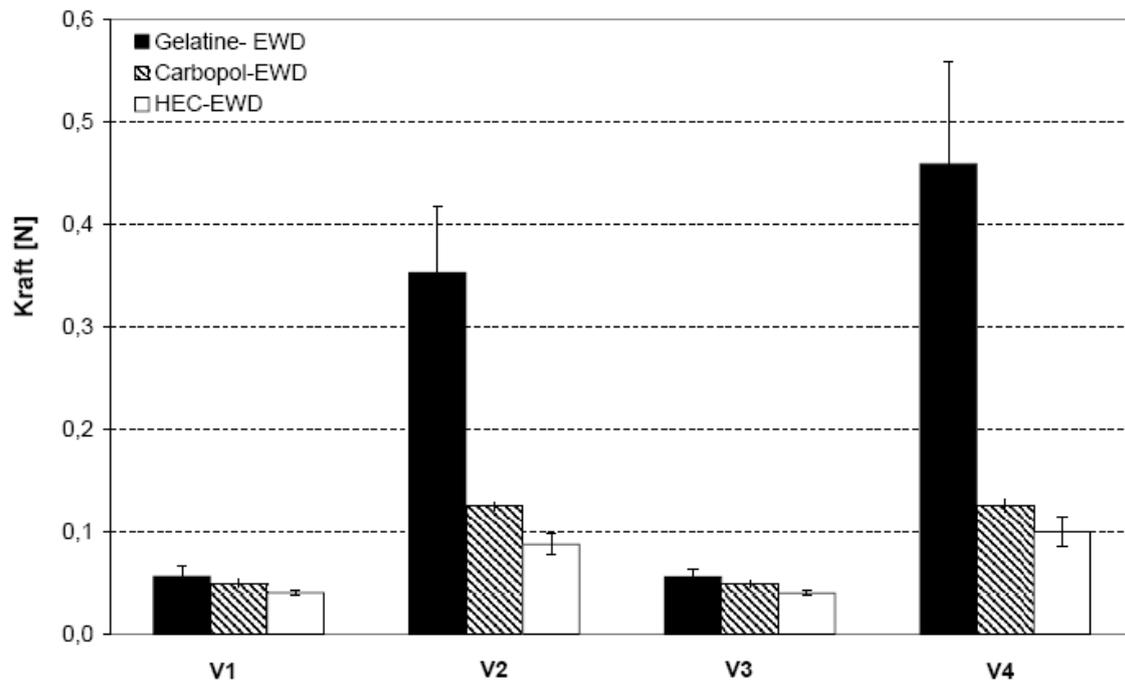


Abb. 52: Härte der einzelnen Untergrundgel-EWD-Kombinationen (ohne Agar-EWD)

#### 4.2.4.4. Einfluss der Membran-Gel-Adhäsion

Bezüglich der Adhäsion werden bei den einzelnen Untergrundgel-EWD-Kombinationen unterschiedliche Phänomene deutlich (Abb. 53). Eine feste Verbindung zwischen Membran und Gel ist sehr wichtig für die Eignung der Substituten als Vorrichtung zur Kosmetiktestung. Agar-Agar-Substituten weisen die höchste Klebkraft auf, Gelatine-Substituten die niedrigste. Während die Veränderung der Rezeptur bei den Gelatine-EWD- und Carbopol-EWD-Substituten so gut wie keinen Einfluss zeigte, sind bei Agar-Agar und HEC deutliche, gegensätzliche Einflüsse erkennbar. Während Agar-Agar die niedrigsten Werte bei den V1 Substituten aufweist, zeigt HEC hier die höchsten Werte. Bei V4 zeigt HEC die niedrigsten Werte, Agar-Agar dagegen die höchsten. Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die beiden Gelbildner unterschiedlich z.B. auf die Zugabe von Glycerin reagieren. Während eine höhere Zugabe von Glycerin (V3+V4) die Adhäsion zwischen Agar-Agar und EWD-Darm erhöht, führt diese bei HEC dazu, dass die Adhäsion zwischen Membran und Untergrundgel abnimmt. Tendenziell wird auch aus den Ergebnissen der anderen Gelbildner deutlich, dass die Kombination aus Zugabe von Gelbildner und Glycerin i.A. zu einer höheren Membran-Gel-Adhäsion führt.

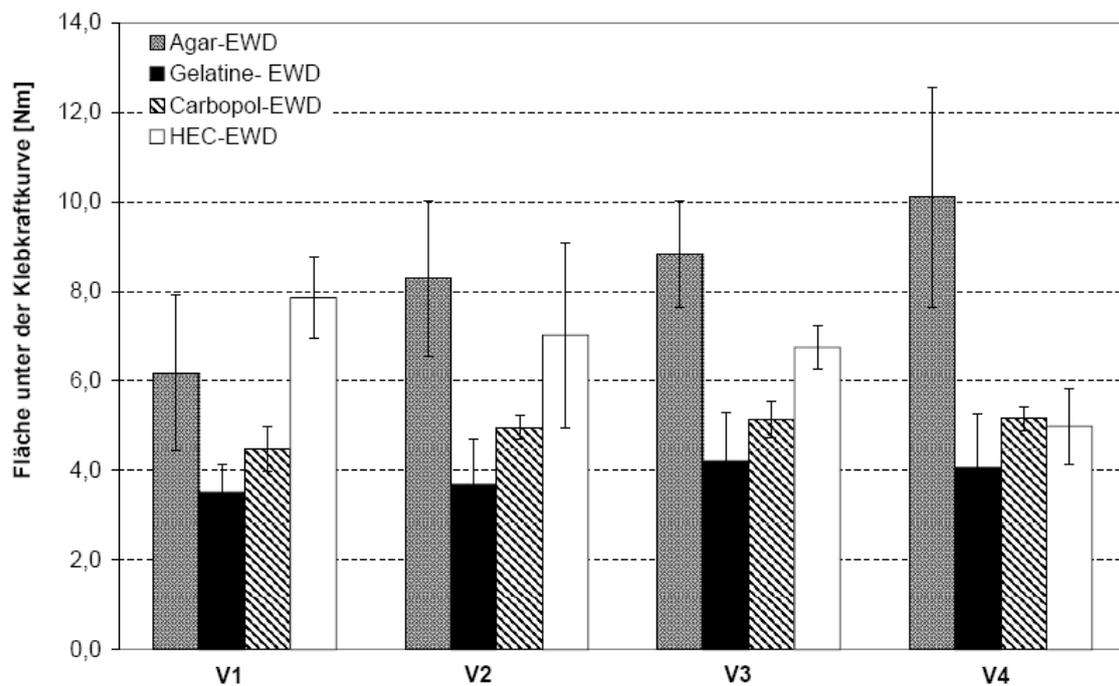


Abb. 53: Adhäsion der einzelnen Untergrundgel-EWD-Kombinationen im Vergleich untereinander

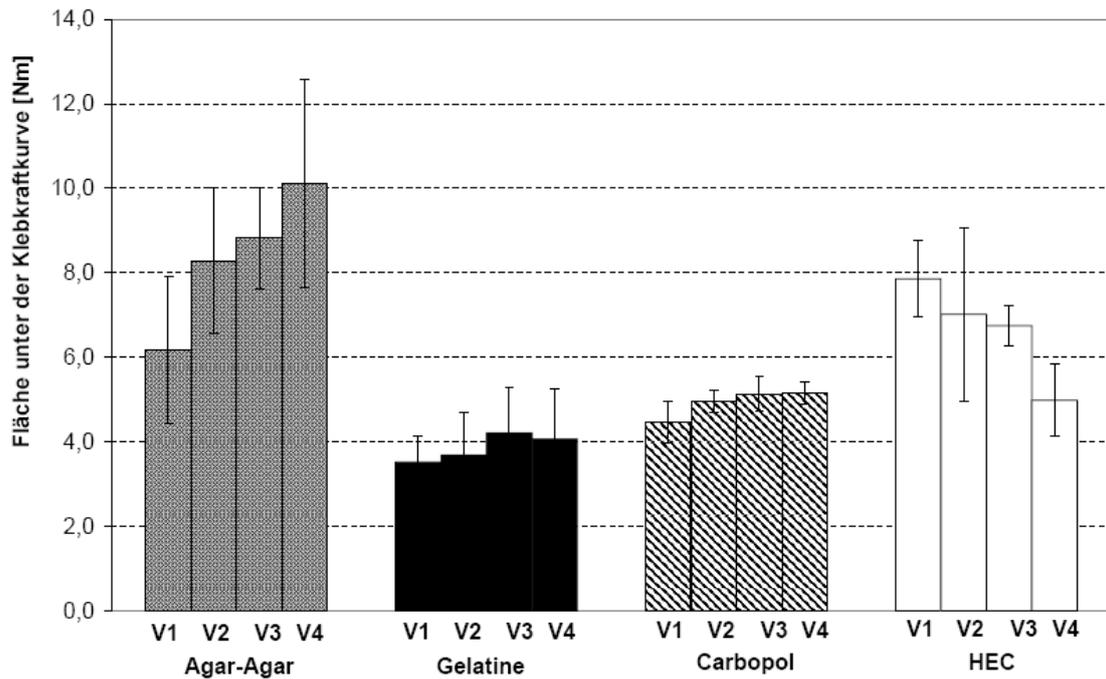


Abb. 54: Adhäsion der einzelnen Untergrundgel-EWD-Kombinationen

#### 4.2.5. Untersuchungen zur Charakterisierung der Emollienten

##### 4.2.5.1. Frictiometrie

Betrachtet man die Frictiometermessungen (Abb. 55), so wird deutlich, dass alle Substituten die Möglichkeit bieten, das hoch spreitende Öl Dicaprylyl Carbonate ( $1600\text{mm}^2/10\text{min}$ ) von dem Niedrigspreiter Oleyl Erucate ( $350\text{mm}^2/10\text{min}$ ) zu differenzieren. In der Spannweite liegen jedoch erhebliche Unterschiede. Um eine Methode zu etablieren, die die Möglichkeit bietet alle Öle zumindest in Spreitklassen einzuordnen, müssen eine große Spannweite sowie möglichst niedrige Standardabweichungen zwischen diesen beiden extremen Spreitern gegeben sein. Diese Möglichkeit bieten offensichtlich die Kombinationen Gelatine-EWD und HEC-EWD deutlich besser als Agar-EWD und Carbopol-EWD. Leider zeigen alle Daten hohe Standardabweichungen, die insbesondere auf die Chargenvariabilität zurück zu führen sind.

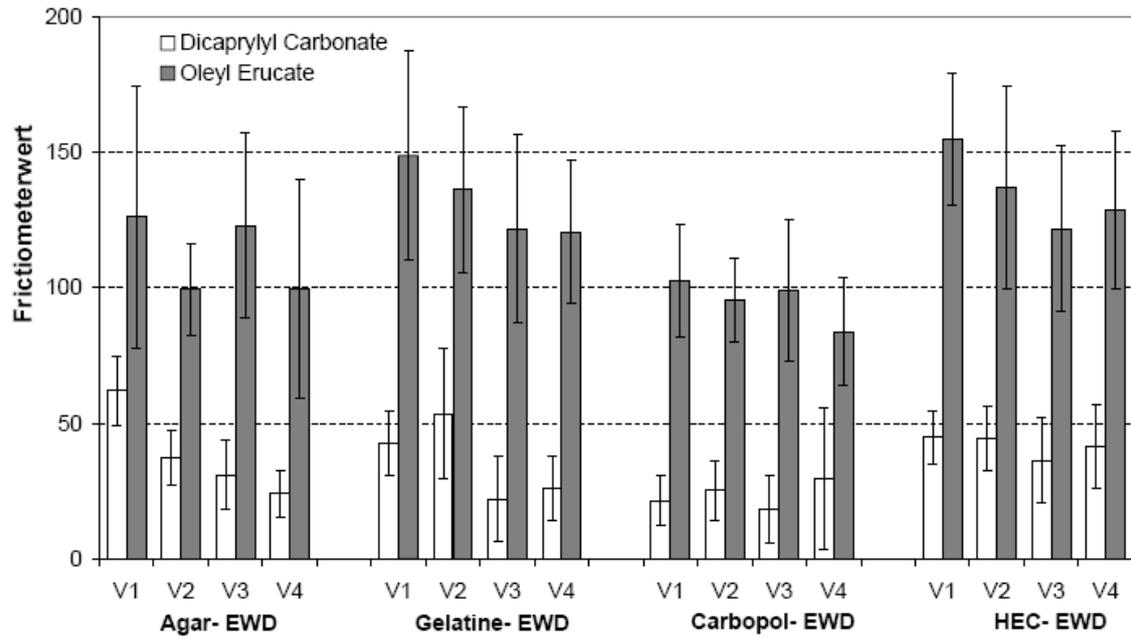


Abb. 55: Frictionmeter Werte der verschiedenen Untergrundgel- EWD-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

#### 4.2.5.2. Spreitverhalten

Ein weiteres wichtiges Kriterium bei der Beurteilung der Substituten ist die Möglichkeit des Spreitens der Öle (in diesem Fall Dicaprylyl Carbonate) auf dem Substitut. Abb. 56 zeigt, dass die Spreitwerte auf dem EWD-Darm mit Untergrundgel keine Ähnlichkeit zu den Werten auf Humanhaut aufweisen. Die Spreitwerte unterscheiden sich nicht signifikant zwischen den Rezepturen und kaum zwischen den einzelnen Gelbildnern. Im Allgemeinen sind die Spreitwerte für den Hochspreiter Dicaprylyl Carbonate viel zu klein. Das Spreitverhalten wird durch verschiedenste physikalisch-chemische Eigenschaften der Öle sowie Gegebenheiten an der Oberfläche der Substituten beeinflusst. Einer dieser Einflüsse ist z.B. die Hydrophilie: je hydrophiler die Oberfläche der Substituten, umso schlechter das Spreitvermögen der Öle. Dies spiegelt sich möglicherweise auch in den niedrigeren Spreitwerten für Agar-Agar wieder, die bei den Corneometermessungen deutlich höhere Werte als die anderen Untergrundgele zeigten (Abb. 49).

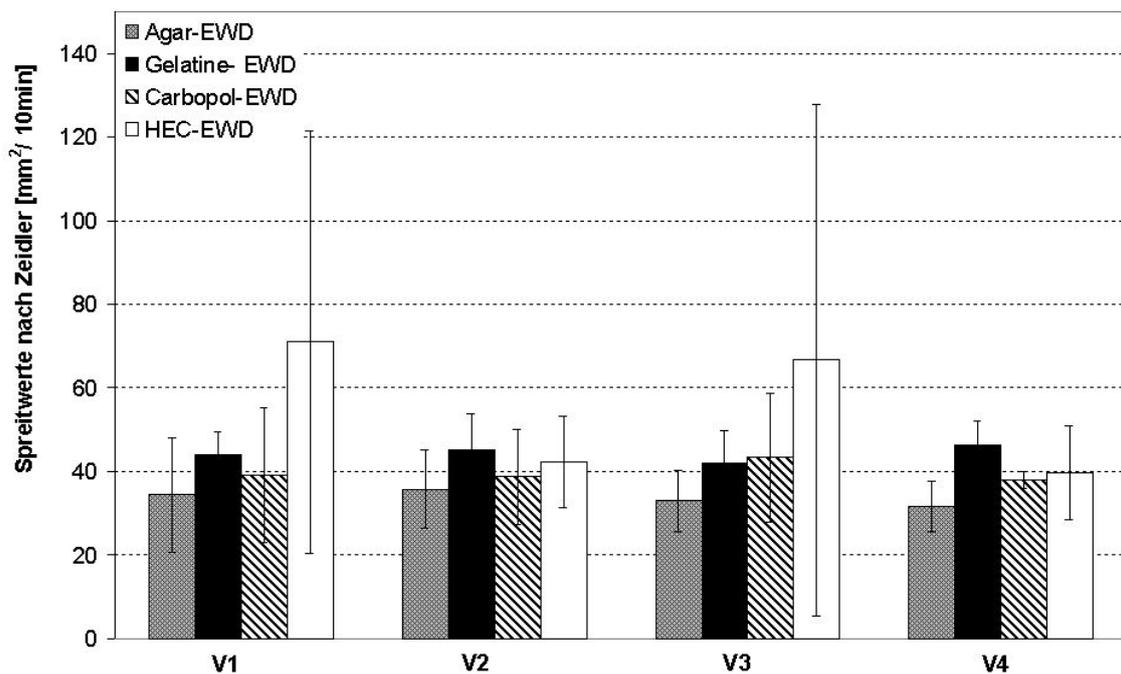


Abb. 56: Spreitwerte der verschiedenen Untergrundgel- EWD-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen) für das Öl Dicaprylyl Carbonate bei 24°C

#### **4.2.6. Zusammenfassende Beurteilung der Substituten der Gelbildnerstudie**

Aus der Übersichtstabelle (Tab. 15) wird deutlich, dass alle Gelbildner Vor- und Nachteile im Hinblick auf die Eignung als Untergrundgel für die Substituten zur Kosmetiktestung besitzen. Zur Evaluierung der beiden Gelbildner, die sich am besten zur Herstellung dieser Substituten eignen, müssen jedoch Prioritäten gesetzt werden.

Besonders wichtig sind folgende Punkte zu erachten:

- standardisierbare Herstellung der Substituten
- reproduzierbare Bestimmung der TEWL- und Corneometerwerte
- Einstellung der Hydratation an der Oberfläche durch Anpassung der Gelrezeptur
- Einfache Herstellung und angenehmes Handling
- Gute Adhäsion zwischen Membran und Untergrundgel

Zur Sicherstellung dieser Anforderungen sind die Gelbildner Agar-Agar und Gelatine am besten geeignet. Allerdings sind diese vom chemischen Aufbau her beide Polymere natürlichen Ursprungs und weisen ähnliche Gelbildungseigenschaften auf. Um in der Folgestudie auch einen Gelbildner mit ganz anderen Eigenschaften einzusetzen, wurden Agar-Agar und HEC ausgewählt. Agar-Agar hat gegenüber allen anderen Gelbildnern den großen Vorteil, dass die hergestellten Substituten auch bei in-vivo Bedingungen von 32°C verwendet werden können. Um zu prüfen, ob die Agar-Agar-Nachteile bei der Frictiometrie, der Gel-Membran-Adhäsion und beim Spreiten kaschiert und mit den Vorteilen der Gelatine-Substituten kombiniert werden können, wurden zusätzlich Versuche mit einem Untergrundgel aus einer Agar-Agar-Gelatine-Mischung durchgeführt.

Tab. 14: Übersichtstabelle zu den Ergebnissen der Untersuchungsreihe Gelbildner

Beurteilung	Agar- Agar		Gelatine		Carbopol-Ultrez 21		HEC- Natrosol	
<b>Herstellung</b>	Sehr einfach, unkompliziert	+	Relativ einfach, jedoch stark abhängig von der relativen Feuchte, im Sommer problematisch	-	Langwierige und unpraktische Herstellung, Neutralisation mit Na(OH)	-	Einfache Herstellung, optimaler Zeitpunkt des Abfüllens in die Petrischalen muss abgepasst werden	+
<b>Konditionierung</b>	Konditionierung bei Hauttemperatur (32°C) möglich	++	Konditionierung nur bis ca. 25°C möglich	-	Konditionierung nur bis ca. 25°C möglich	-	Konditionierung nur bis ca. 25°C möglich	-
<b>TEWL/ Corneometrie</b>	TEWL über Temperatur einstellbar, Corneometer-Werte abhängig von der Gelbildnerkonzentration	+	Reproduzierbare Daten, Corneometerwerte abhängig von der Gelbildnerkonzentration	+	Reproduzierbare Daten, Werte vergleichbar mit Gelatine	+	Reproduzierbare Daten, Werte vergleichbar mit Gelatine und Carbopol	+
<b>Friktimetrie</b>	Friktimeterwerte sind schlecht reproduzierbar, Öle schwer zu differenzieren	-	Friktimeterwerte sind recht wenig reproduzierbar, jedoch Öle besser zu differenzieren als auf Agar-Agar	+	Friktimeterwerte sind reproduzierbar, Öle gut zu differenzieren, jedoch geringe Spanne	+	Friktimeterwerte sind reproduzierbar, Öle gut zu differenzieren	+
<b>Peel Test</b>	Adhäsion stark abhängig vom Zeitpunkt des Aufbringens der Membran	-	Gute Adhäsion, Membran und Gel trocknen im Verbund aus	+	Hohe Membran-Gel Adhäsion, jedoch Gel sehr weich	-	Hohe Membran-Gel Adhäsion bei niedr. HEC-Gehalt, Austrocknung bei V2+V4, V1+ V3 sehr weich	-
<b>Spreitwerte</b>	Spreitwerte wenig reproduzierbar, nicht korrelierbar zu Humanhaut	-	Spreitwerte mäßig reproduzierbar, jedoch nicht vergleichbar zu Humanhaut	+	Spreitwerte wenig reproduzierbar	-	Spreitwerte wenig reproduzierbar	-

### 4.3. Untersuchungsreihe Membranen

Als Konsequenz aus den vorangehenden Untersuchungsreihen wurden in dieser Studie folgende Untergrundgel- Membran-Kombinationen untersucht:

- Agar-Gelatine-EWD
- Agar-COFFI
- Agar-Matricol
- Hydroxyethylcellulose (HEC)-COFFI
- HEC-Matricol

Tab. 15: Rezeptur des Untergrundgels der Agar-Agar-Gelatine Substituten

	V1	V2	V3	V4
<b>Wasser</b>	81,40	80,4	75,20	74,20
<b>Agar-Agar</b>	0,50	0,75	0,50	0,75
<b>Gelatine</b>	1,00	2,00	1,00	2,00
<b>Glycerin (87%)</b>	16,30	16,10	22,60	22,3
<b>Phenoxyethanol</b>	0,80	0,80	0,80	0,70

Die Rezepturen der anderen Untergrundgele können der Tab.12 (S. 55) entnommen werden.

#### 4.3.1. Untersuchungen zur Standardisierung des Systems

##### 4.3.1.1. TEWL- und Corneometermessungen

Auch in dieser TEWL-Studie werden die Ergebnisse der vorangegangenen Untersuchungen weitgehend bestätigt. Es ist kein offensichtlicher Zusammenhang zwischen der Erhöhung der Konzentration an Gelbildner und/oder der Erhöhung der Konzentration an Glycerin in der Rezeptur erkennbar (vgl. Abb 57). Der Großteil der Untergrundgel-Membran-Kombinationen zeigt nur zufällige Unterschiede zwischen den Rezepturvariationen. Auffällig im Vergleich zu der Gelbildnerstudie ist jedoch, dass die Spanne der auftretenden TEWL-Werte hier deutlich breiter ist. Während in der Gelbildnerstudie Werte zwischen 27 und 33g/m<sup>2</sup>\*h auftraten, sehen wir hier Werte

zwischen 25 und 36  $\text{g/m}^2\cdot\text{h}$ . Diese hohen Werte werden größtenteils von den Kombinationen HEC-COFFI, Agar-Matricol und Agar-Gelatine-EWD gebildet. Außerdem fällt auf, dass die TEWL-Werte für die Substituten, die eine Kombination aus Agar-Agar und Gelatine als Untergrundgel enthalten, eine breitere Spanne aufweisen als dies Agar-Agar oder Gelatine in der Gelbildnerstudie alleine getan haben.

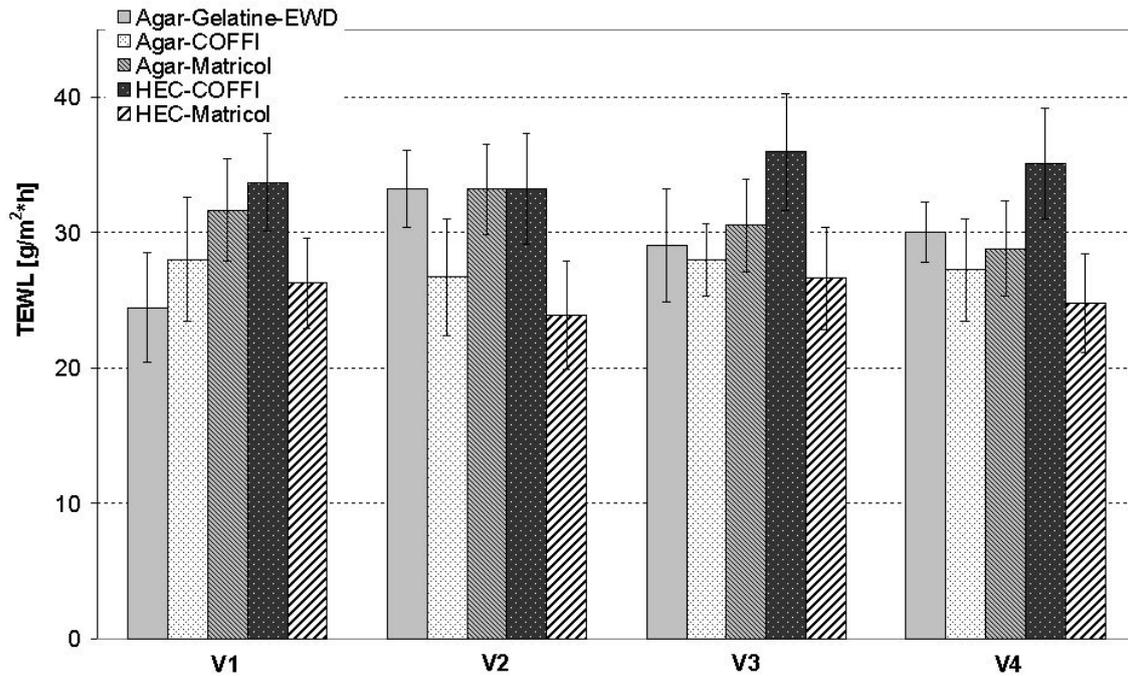


Abb. 57: TEWL-Werte der verschiedenen Untergrundgel- Membran-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

Bei der Betrachtung der Corneometerwerte (Abb. 58) fällt auf, dass die Werte im Gegensatz zu den Corneometermessungen der Gelbildnerstudie deutlich höher liegen.

Bei der Vorstudie lagen die Werte bei 5-26 Corneometereinheiten, während hier für die Kombination Agar-Matricol sogar Werte über 90 Corneometereinheiten auftreten. Es wurde auch visuell festgestellt, dass besonders die mit Matricol hergestellten Substituten viel Wasser in der Membran speichern, was darauf hindeutet, dass die hohen Corneometerwerte tatsächlich auf Wasser zurück zu führen sind und keine Artefakte durch sonstige Ionen gemessen wurden. Die Ergebnisse der Substituten, die die Mischung aus Agar-Agar und Gelatine als Untergrundgel enthalten, liegen erwartungsgemäß zwischen den Werten der Substituten mit nur Agar-Agar bzw. mit nur Gelatine. Dennoch wird

deutlich, dass Agar-Agar als äußerst effektiver Gelbildner den eindeutig größeren Einfluss besitzt.

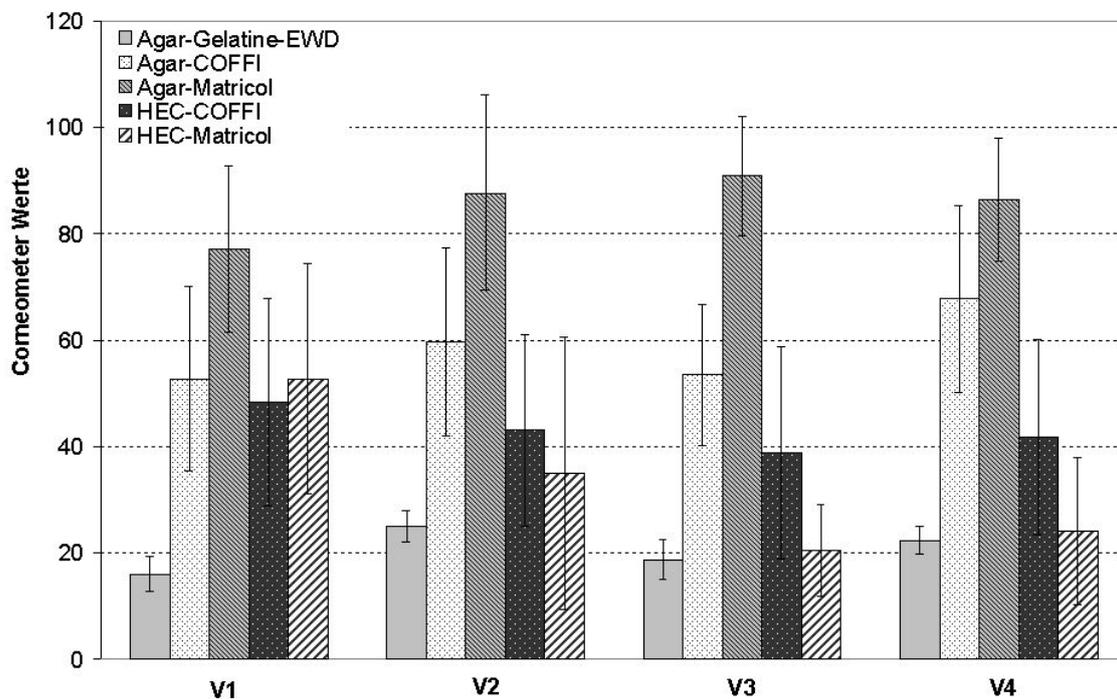


Abb. 58: Corneometer-Werte der verschiedenen Untergrundgel-Membran-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

#### 4.3.1.2. Einfluss der Membran-Gel-Adhäsion

Die Bestimmung der Fläche unter der Klebkraftkurve sollte Auskunft darüber geben, wie stark die Adhäsion zwischen den einzelnen Membranen und Untergrundgelen ist. Auffällig ist, dass die Klebkraft der Untergrundgel-Membran-Kombinationen dieser Studie deutlich höher ist als die der Gelbildnerstudie. In der vorigen Untersuchung lagen die Klebkraftwerte aller Substituten zwischen 3,5 und 10,0Nm, während in dieser Studie die Werte mehr als doppelt so hoch, zwischen 9,0 und 21,0Nm liegen. Das würde darauf hindeuten, dass der EWD-Darm keine besonders gute Verbindung mit den bisher getesteten Gelbildnern eingeht. Allerdings zeigt die Mischung der beiden Gelbildner Agar-Agar und Gelatine in Kombination mit dem EWD-Darm ebenfalls deutlich höhere Adhäsionswerte als die einzelnen Gelbildner mit dem EWD-Darm. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die Kombination aus Agar-Agar und Gelatine in einem Gel die Eigenschaften des Gels stark beeinflusst und sogar neue Eigenschaften, wie ein deutlich verbessertes Haftungsvermögen, entstehen können.

Außerdem kann man feststellen, dass die mit Matricol hergestellten Substituten im Allgemeinen eine geringere Adhäsion zwischen Untergrundgel und Membran besitzen als die mit COFFI hergestellten Substituten. Diese Tatsache kann man auch in Bezug zu den Corneometerwerten setzen, da ein hoher Wassergehalt an der Oberfläche einer guten Adhäsion entgegensteht.

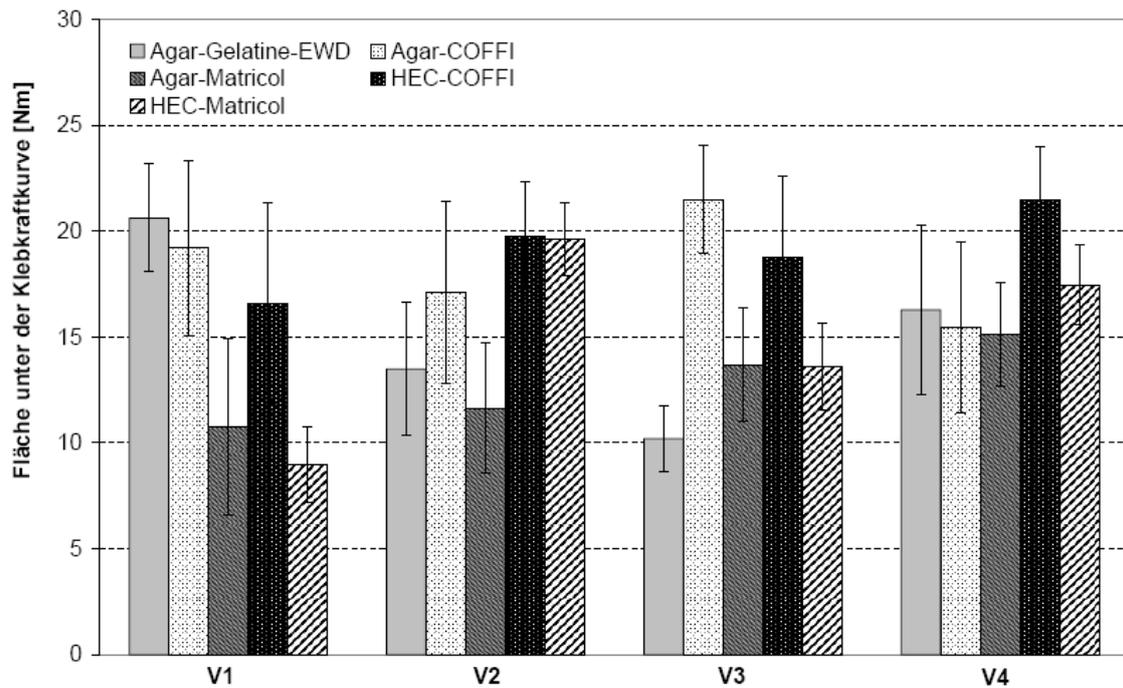


Abb. 59: Adhäsion zwischen Untergrundgel und Membran der verschiedenen Untergrundgel-Membran-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

#### 4.3.1.3. Einfluss der Oberflächenrauigkeit

Die Bestimmung der Oberflächenrauigkeit der untersuchten Membran-Untergrundgel-Kombinationen zeigt, dass die Kombinationen Agar-COFFI, HEC-COFFI und HEC-Matricol bei etwa  $10\mu\text{m}$  liegen und sich nicht signifikant voneinander unterscheiden (Abb. 60). Die Agar-Gelatine-EWD-Substituten liegen signifikant niedriger, in dem Bereich, in dem auch die Agar-Agar-EWD bzw. die Gelatine-EWD-Substituten der Gelbildnerstudie lagen. Eine außergewöhnliche Ausnahme stellen die Agar-Matricol-Substituten dar. Sie liegen signifikant höher als alle anderen Substituten, obwohl alle Agar-Agar-Substituten wesentlich niedrigere Rauigkeiten aufweisen und auch HEC-Matricol-Substituten nicht darauf hindeuten, dass die erhöhte Rauigkeit auf die Matricol-Membran zurück zu führen ist.

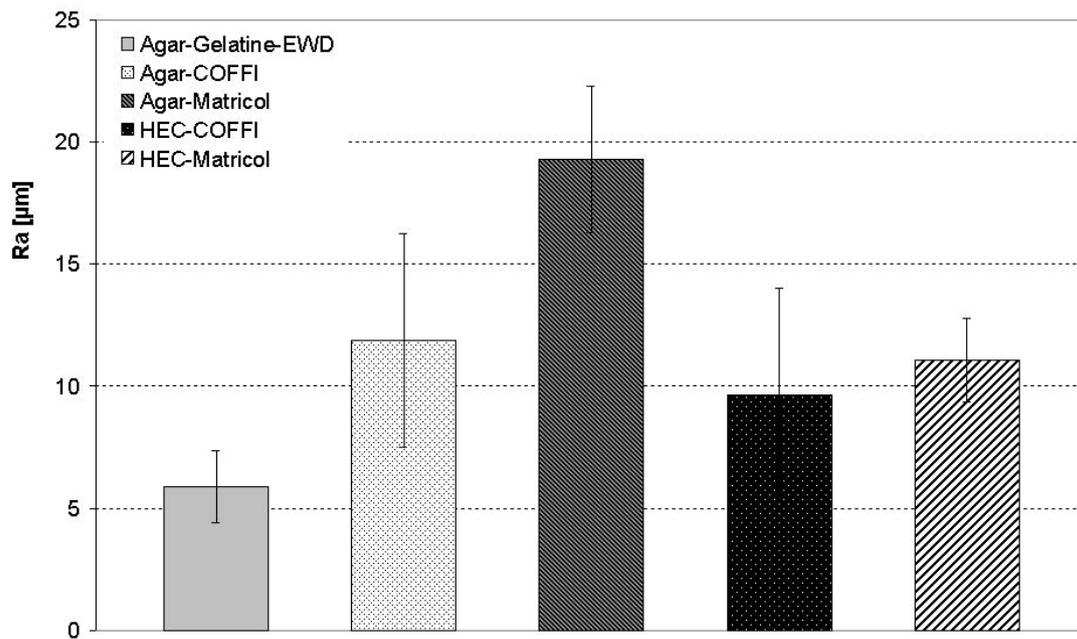


Abb. 60: Rauigkeitsparameter Ra als Ergebnis der FOITS-Untersuchungen der Silikonreplika der einzelnen Untergrundgel-Membran-Kombinationen der Rezeptur V2

### 4.3.2. Untersuchungen zur Charakterisierung der Emollienten

#### 4.3.2.1. Frictiometrie

Ziel der Frictiometer Untersuchungen war es, die Eignung der einzelnen Untergrundgel-Membran-Kombinationen in Bezug auf dieses Verfahren zur Korrelation mit den Spreitwerten der Öle zu prüfen (Abb. 61). Dabei wurde deutlich, dass die Matricol-Substituten für die Frictiometrie ungeeignet sind, da der hohe Wassergehalt an der Oberfläche beim Spreiten erhebliche Schwierigkeiten bereitet. Weitere Frictiometer-Versuche mit Matricol-Substituten wurden daher abgebrochen. Auch die HEC-COFFI-Substituten müssen als ungeeignet eingestuft werden, da die Messung zwar durchführbar ist, die Daten jedoch nicht reproduzierbar und die Öle nicht differenzierbar sind. Die Agar-Gelatine-EWD Substituten zeigen eine deutliche Verbesserung gegenüber den Agar-EWD-Substituten in Bezug auf die Reproduzierbarkeit der Daten und außerdem eine größere Differenzierungsspanne der Öle als bei Gelatine-EWD. Allerdings muss beachtet werden, dass nur eine Charge untersucht wurde und die Variabilität innerhalb der Chargen somit nicht mit eingegangen ist.

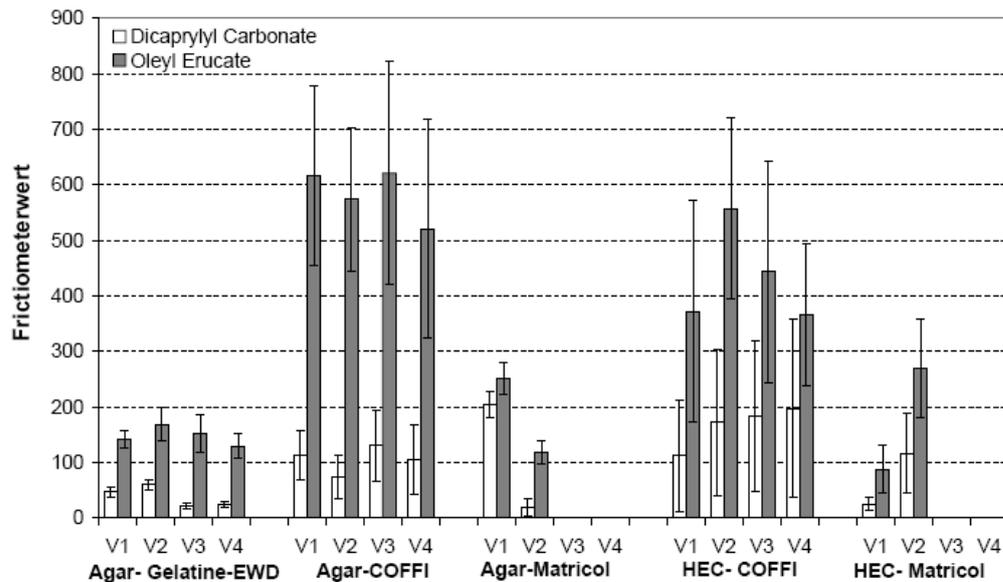


Abb. 61: Frictionmeterwerte der verschiedenen Untergrundgel- Membran-Kombinationen (Mittelwerte aus jeweils zwei Chargen)

Das eindeutig größte Potential zur Differenzierung von Ölen verschiedenster Spreitwerte bieten die Agar-COFFI-Substituten. Dadurch, dass die Frictionmeterwerte für Oleyl Erucate etwa dreimal so hoch liegen wie die auf den Substituten in der Gelbildnerstudie, die Frictionmeterwerte für Dicaprylyl Carbonate jedoch nur gut doppelt so hoch, ist eine breitere Spanne zur Differenzierung von Ölen mit dazwischen liegenden Spreitwerten gegeben. Ein für alle Untersuchungen gleichermaßen geltender Einfluss der Rezeptur konnte nicht gefunden werden. Bei den Agar-COFFI-Substituten wird ein Zusammenhang zwischen dem Gehalt an Gelbildner und den Frictionmeterwerten deutlich. Die Substituten der Rezepturen mit geringem Gelbildnergehalt (V1 und V3) zeigen höhere Frictionmeterwerte als die Substituten der Rezepturen mit hohem Gelbildnergehalt (V2 und V4). Es ist leicht vorstellbar, dass die Kontaktfläche zwischen Sondenkopf des Frictionmeters und einer harten Oberfläche weniger groß ist als die zu einer weichen, evtl. noch beweglichen Oberfläche. Durch eine größere Kontaktfläche entstehen so größere Frictionmeterwerte, da das Gerät einen höheren Widerstand überwinden muss, um auf der Fläche zu rotieren. Außerdem kann man bei den Agar-Gelatine-EWD sowie bei den Agar-COFFI-Membranen eine Korrelation zu den Corneometerwerten feststellen. Hohe Corneometerwerte bewirken in diesen Fällen hohe Frictionmeterwerte, da eine feuchte Oberfläche Stick-Slip-Effekte begünstigt. Dieses Phänomen ist auch in der Literatur beobachtet worden [Lodén 1995].

### 4.3.2.2. Spreitverhalten

Bei der Betrachtung der Spreitwerte der Untergrundgel-Membran-Kombinationen fällt auf, dass deutlich höhere, bei der Kombination Agar-Matricol sogar humanhautähnliche Spreitwerte erzeugt werden (Abb. 62 und 63). Da für alle Matricol-Substituten nur eine Charge hergestellt wurde, liegen besonders für die Dicaprylyl Carbonate-Daten jedoch extrem hohe Standardabweichungen vor. Bei genauer Betrachtung der Zusammensetzung der Matricol Substituten wird deutlich, dass die hohen Spreitwerte darauf zurückzuführen sind, dass die Matricol Skin Relax-Folien Emulgatoren enthalten. Interessanterweise kommen diese jedoch bei der Kombination HEC-Matricol deutlich weniger zur Geltung. Leider stellen Matricol-Folien keine wirkliche Option zur in-vitro Bestimmung der Spreitwerte dar, da zunächst einmal die Bestimmung der Spreitfläche aufgrund der feuchten Oberfläche nicht reproduzierbar durchgeführt werden kann. Daraus resultieren unter anderem auch die hohen Standardabweichungen (vgl. z.B. V1). Außerdem stellt die Beeinflussung der Öle durch Emulgatoren keine humanhautähnlichen Bedingungen dar.

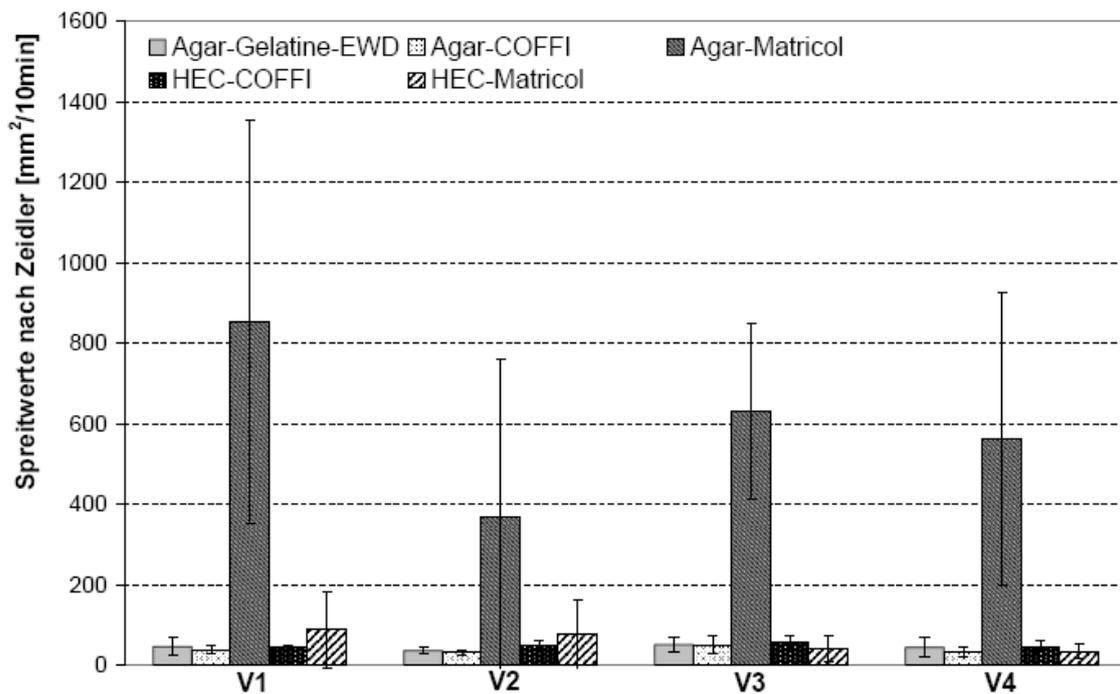


Abb. 62: Spreitwerte von Dicaprylyl Carbonate auf den einzelnen Untergrundgel- Membran- Kombinationen

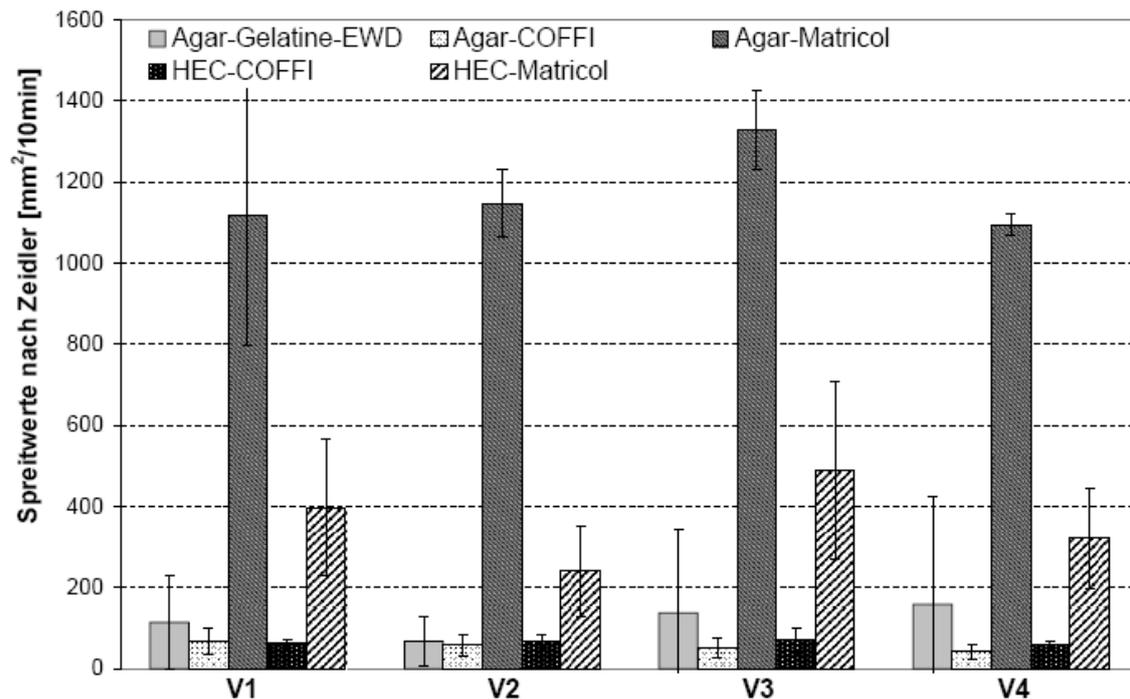


Abb. 63: Spreitwerte von Dicaprylyl Ether auf den einzelnen Untergrundgel- Membran-Kombinationen

Die in den Spreitversuchen erhaltenen Ergebnisse lassen sich mit den Ergebnissen der übrigen Untersuchungen sehr gut in einen Gesamtzusammenhang bringen.

Abb. 60 zeigte, dass die Oberfläche der Agar-Matricol-Substituten im Vergleich zu den übrigen Kombinationen signifikant rauer ( $p= 0,05$ ) und die der Agar-Gelatine-EWD-Substituten signifikant glatter ( $p= 0,05$ ) ist. Die übrigen drei Kombinationen weisen untereinander nur zufällige Unterschiede auf. Um von den Oberflächeneigenschaften auf das Verhalten der Öle beim Aufbringen auf die Membran zu schließen, müssen an dieser Stelle die Matricol-Membranen ausgeschlossen werden, da bei diesen durch den hohen Wassergehalt und die Emulgatoren an der Oberfläche beim Spreiten andere Phänomene eine Rolle spielen. Die raue Oberfläche der Agar-COFFI-Substituten z.B. im Vergleich zu den Agar-Gelatine-Substituten, spiegelt sich auch in den Frictiometer-Werten wieder. Auf einer raueren Oberfläche muss die Scheibe des Frictiometers einen höheren Widerstand überwinden, um auf der Oberfläche trotz des aufgetragenen Öls zu rotieren.

#### **4.3.2.3. Zusammenfassende Beurteilung der Substituten der Membranstudie**

Aus der Übersichtstabelle (Tab.16) wird deutlich, dass die Untergrundgel-Membran-Kombinationen mit Matricol aufgrund ihrer wässrigen Oberfläche als Substituten zur Kosmetiktestung nicht geeignet sind.

Die meisten der für das Substitut zur Kosmetiktestung genannten Anforderungen erfüllen die Kombinationen Agar-Gelatine-EWD und Agar-COFFI. Es wird jedoch deutlich, dass aus den bisher durchgeführten Versuchen noch kein Substitut bestimmt werden kann, das für alle Tests gleichermaßen gut geeignet ist. Während die Agar-Gelatine-EWD-Substituten ausgesprochene Vorteile bei der Bestimmung der TEWL- und Corneometerwerte besitzen, ist die Kombination aus Agar-COFFI deutlich besser zur Frictiometrie geeignet. Es ist also zwingend notwendig, je nach gewählter Anwendung unterschiedliche Untergrundgel-Membran-Kombinationen als Substitut für den jeweiligen Test auszuwählen.

An diesem Punkt sind die Basisuntersuchungen zur Etablierung eines Substitutes zur Kosmetiktestung abgeschlossen. Es wurden zwei Untergrundgel-Membran-Kombinationen etabliert, die als Substituten zur Durchführung von TEWL- und Corneometermessungen sowie zur Frictiometrie verwendet werden können.

Ziel der nachfolgenden Untersuchungen ist es, eine der beiden möglichen Kombinationen auch im Hinblick auf das Spreitverhalten zu verbessern und eine konkrete Anwendung für die TEWL- und Corneometermessungen zu etablieren. Dafür wurden für die weiteren Untersuchungen Agar-Gelatine-EWD-Substituten ausgewählt.

Tab. 16: Übersichtstabelle zu den Ergebnissen der Untersuchungsreihe Membranen

Beurteilung	Herstellung		TEWL/ Corneometrie		Friktimetrie		Peel Test		Spreitwerte	
<b>Agar-Gelatine-EWD</b>	Unkompliziert, jedoch muss der optimale Zeitpunkt zum Aufbringen der Membran gefunden werden	+	Reproduzierbare Daten, Corneometerwerte abhängig von der Gelbildnerkonzentration	+	Friktimetrie möglich, jedoch geringe Spanne zur Differenzierung der Öle	+	Gute Adhäsion, jedoch abhängig vom Aufbringen der Membran	+	Spreitwerte wenig reproduzierbar, Öle nicht differenzierbar	-
<b>Agar-COFFI</b>	Unkompliziert, jedoch muss der optimale Zeitpunkt zum Aufbringen der Membran gefunden werden	+	Daten ok, jedoch weniger reproduzierbar als auf EWD Darm	+	Friktimetrie möglich, jedoch geringe Spanne zur Differenzierung der Öle	+	Gute Adhäsion, jedoch abhängig vom Aufbringen der Membran	+	Spreitwerte wenig reproduzierbar, nicht korrelierbar zu Humanhaut	-
<b>Agar-Matricol</b>	Gel sickert bei zu früher Aufbringung durch. Evtl. Aufbringen nach der Gelierung, dann Befeucht. der Matricol Folien notwendig	-	Daten ok, jedoch weniger reproduzierbar als auf EWD Darm	+	Friktimetrie auf Matricol nicht möglich	-	Matricol Folie reißt leicht, Peel Test nicht exakt durchführbar	-	Hautähnliche Spreitwerte, jedoch wenig reproduzierbar	-
<b>HEC-COFFI</b>	Unkompliziert, schnellere Herstellung als mit Agar Jedoch V1+V3 zu weich	+	Daten ok, jedoch weniger reproduzierbar als auf EWD Darm	+	Für Friktimetrie nicht geeignet	-	Gute Adhäsion	+	Spreitwerte wenig reproduzierbar, nicht korrelierbar zu Humanhaut	-
<b>HEC-Matricol</b>	Unkompliziert, schnellere Herstellung als mit Agar Jedoch V1+V3 zu weich	+	Starke Schwankungen! Sehr inhomogene, feuchte Oberfläche	-	Friktimetrie auf Matricol nicht möglich	-	Matricol Folie reißt leicht, Peel Test nicht exakt durchführbar	-	Hautähnliche Spreitwerte, jedoch wenig reproduzierbar	-

#### 4.4. Abschließende Untersuchungen an dem etablierten Kollagensubstitut

Aus den vorangehenden Untersuchungen haben sich die Substituten der Kombination Agar-Gelatine-EWD als geeignet zur Kosmetiktestung herausgestellt. In einigen abschließenden Untersuchungen sollen Möglichkeiten und Grenzen dieser Kombination als Hautsubstitut noch einmal näher beleuchtet werden. Dazu wurde die Kollagenmembran selbst noch einmal genauer betrachtet und der Einfluss von Sebumlipiden auf die Hydrophobierung der Membran untersucht.

##### 4.4.1. Einfluss von Sebumlipiden

Ziel des Aufbringens von Sebumlipiden auf die Oberfläche der Membran war es, die Kollagenmembran humanhautähnlicher und lipophiler zu gestalten und dadurch das Spreiten der Öle auf der Membran zu begünstigen.

Die bei dieser Studie verwendeten Literaturdaten für die aufgebrauchten Sebummengen sind unter Vorbehalt zu betrachten, da unterschiedliche Autoren bei der Bestimmung des Sebumgehaltes der Haut stark unterschiedliche Daten fanden, diese zum Teil sehr veraltet sind [Gloor et al. 1972, Nicolaidis 1965, Kligman und Shelley 1958] und sich zudem die Daten an verschiedenen Hautarealen stark unterscheiden [Greene et al. 1970]. Aus diesem Grund wurden außerdem exemplarisch Daten der Stirn verwendet, da keine validen Daten für die Unterarmhaut in der Literatur gefunden wurden. Die Daten an der humanen Stirnhaut dürften jedoch i.A. deutlich höher liegen als auf dem humanen Unterarm. Die auf die Oberfläche der Substituten aufgebrauchten Sebummengen wurden an die von den Autoren *Gloor et al.* [1972] und *Kligman und Shelley* [1958] experimentell gefundenen Daten angelehnt. Tab.18 zeigt jedoch, dass zwischen den real aufgebrauchten und den mit dem Sebumeter erfassten Werten bereits eine hohe Diskrepanz liegt, die für die explorative Studie jedoch nicht weiter berücksichtigt wurde. Bei *Greene et al.* [1970] wurden mit  $30\mu\text{g}/\text{cm}^2$  Werte für den Gehalt an Sebum auf dem Arm (3 Stunden nach Reinigung) gefunden, die mit den experimentell bestimmten Sebummengen auf den mit 6,3mg Sebum behandelten Substituten sehr gut überein stimmt.

Nach der Behandlung der Substituten mit Sebum wurden die Spreitwerte der Hochspreiter Dicaprylyl Carbonate ( $1400\text{mm}^2/10\text{min}$ ) und Dicaprylylether ( $1600\text{mm}^2/10\text{min}$ ) auf den Substituten bestimmt (Abb. 64).

Tab. 17: Literaturdaten und experimentell bestimmte Mengen an Sebum

	Literaturwert auf Humanhaut (Stirn) ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )	Auf die Substituten ( $69,4\text{ cm}^2$ ) aufgebrauchte Menge an Sebum (absolut)	Sebumgehalt der Substituten nach Aufbringen der errechneten Sebummengen-Sebumeter ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )
<b>Gloor et al.</b>	91,44 (+/- 0,80)	6,3mg	28,33 (+/- 8,62)
<b>Kligman &amp; Shelley</b>	200,0	13,9mg	69,67 (+/- 16,07)

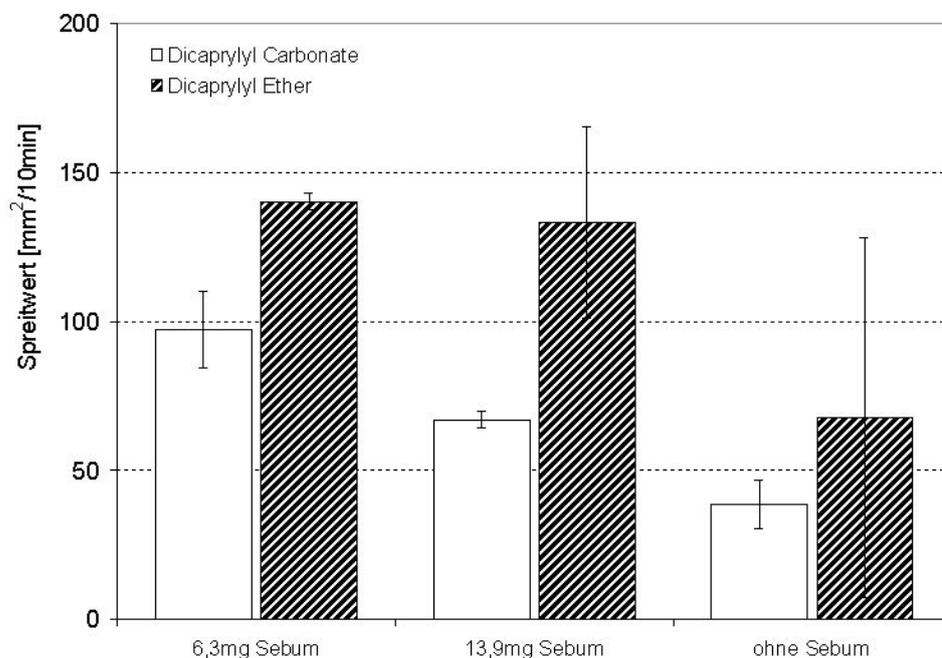


Abb. 64: Spreitwerte von Dicaprylylether und Dicaprylyl Carbonate auf Agar-Gelatine-EWD-Substituten, die mit unterschiedlichen Sebummengen (6,3mg und 13,9mg - vgl. Tab. 18) vorbehandelt wurden

Abb. 64 zeigt, dass die Spreitwerte auf den mit Sebumlipiden behandelten Substituten zwar nur wenig höher und dementsprechend nicht hautähnlicher sind als die Spreitwerte auf den Substituten, die nicht mit Sebumlipiden behandelt wurden, jedoch eine bessere Reproduzierbarkeit zeigen. Obwohl die beiden Emollienten vom Spreitwert auf Humanhaut nur kaum unterschiedlich sind, sind sie auf den mit Sebum behandelten Substituten vom Spreitwert her signifikant unterschiedlich. Allerdings bieten die dennoch

niedrigen Absolutwerte keine große Spanne, um auch alle übrigen Öle differenzieren zu können. Auffällig ist außerdem, dass Dicaprylyl Carbonate auf den mit der höheren Sebummenge behandelten, hydrophoberen Substituten niedrigere Spreitwerte zeigt als auf den Substituten mit der geringeren Menge an Sebumlipiden.

Genauere Informationen zum Vergleich der Daten mit und ohne Sebumlipide sollte die Bestimmung der Oberflächenenergie liefern. Dazu wurden zum einen die mit 13,9mg Sebum vorbehandelten Agar-Gelatine-EWD-Substituten, sowie Substituten, bei denen der EWD-Darm mit der Innenseite nach außen (=“Rückseite“) aufgespannt wurde und Substituten ohne Vorbehandlung untersucht. Zudem wurden jeweils die unterschiedlichen Laufrichtungen der Maserung des Kollagendarms berücksichtigt (Abb. 65).

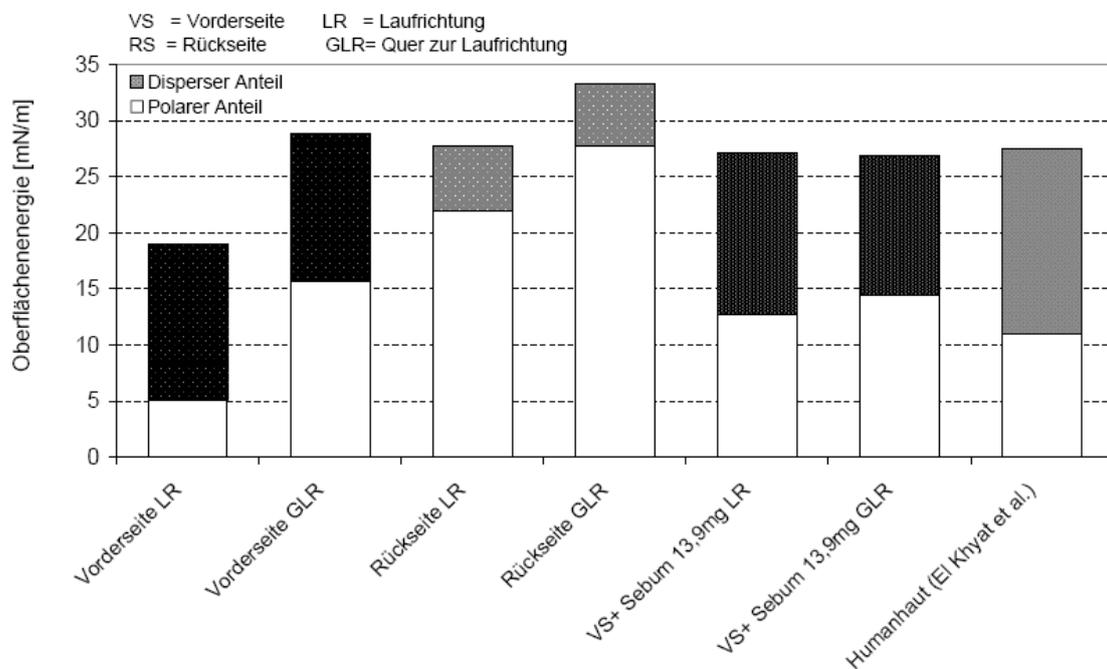


Abb. 65: Oberflächenenergie der Agar-Gelatine-EWD Substituten

Den von *El Khyat et al.* [2004] bestimmten Humanhautwerten am ähnlichsten sind die mit 13,9mg Sebum behandelten Agar-Gelatine-EWD-Substituten (Vorderseite), sowohl in Lauf- als auch quer zur Laufrichtung. Allerdings scheint das keinesfalls die einzige Bedingung zu sein, die erfüllt sein muss, damit die Öle humanhautähnlich auf der Oberfläche spreiten, wie Abb. 64 gezeigt hat. Auch für die Substituten ohne Sebumlipide, auf denen die Oberflächenenergie auf der Vorderseite in Gegenlaufrichtung bestimmt wurde, stimmen die experimentellen Daten sehr gut mit dem Literaturwert auf Humanhaut

überein. Aber auch hier wurde aus Abb. 64 (ohne Sebum) ersichtlich, dass keine Differenzierung der Öle über die Bestimmung der Spreitwerte möglich ist. Abb. 65 zeigt außerdem, dass durch das Aufbringen der Sebumlipide die Laufrichtung des Kollagendarms verloren geht. Die Hautlipide verändern die Substitutenoberfläche demnach so, dass die unterschiedliche Maserung des Darms nicht mehr bestimmt werden kann.

Abweichend von den übrigen Ergebnissen auf der Vorderseite der Kollagenmembran zeigt die Rückseite des EWD-Darms für beide Laufrichtungen eine deutlich zum polaren Anteil (80:20) verschobene Oberflächenenergie. Dieses Ergebnis deutet darauf hin, dass der EWD-Darm auf der Rückseite nicht nur in Bezug auf die Polarität völlig andere Eigenschaften aufweist als auf der Innenseite. Um dem genauer nachzugehen, wurden explorative Spreitversuche auf der Rückseite (Innenseite) der Agar-Gelatine-EWD-Substituten durchgeführt und festgestellt, dass humanhautähnliche Spreitwerte erzielt werden können.

#### **4.4.2. Spreitverhalten aller Öle**

Basierend auf den guten Ergebnissen der explorativen Versuche auf der Rückseite der Agar-Gelatine-EWD-Substituten sind Spreitversuche unter Einbezug aller Emollienten vorgenommen worden. Abb. 66 zeigt, dass die Öle humanhautähnliche Spreitwerte zeigen. Die Korrelation zu den Literaturwerten (Abb. 67) ist für alle 16 Öle mit einem Korrelationskoeffizienten von  $R^2=0,83$  gut. Es bestehen gute Differenzierungsmöglichkeiten für die einzelnen Öle, da auch die Standardabweichungen im Vergleich zu den in-vivo Daten relativ klein sind.

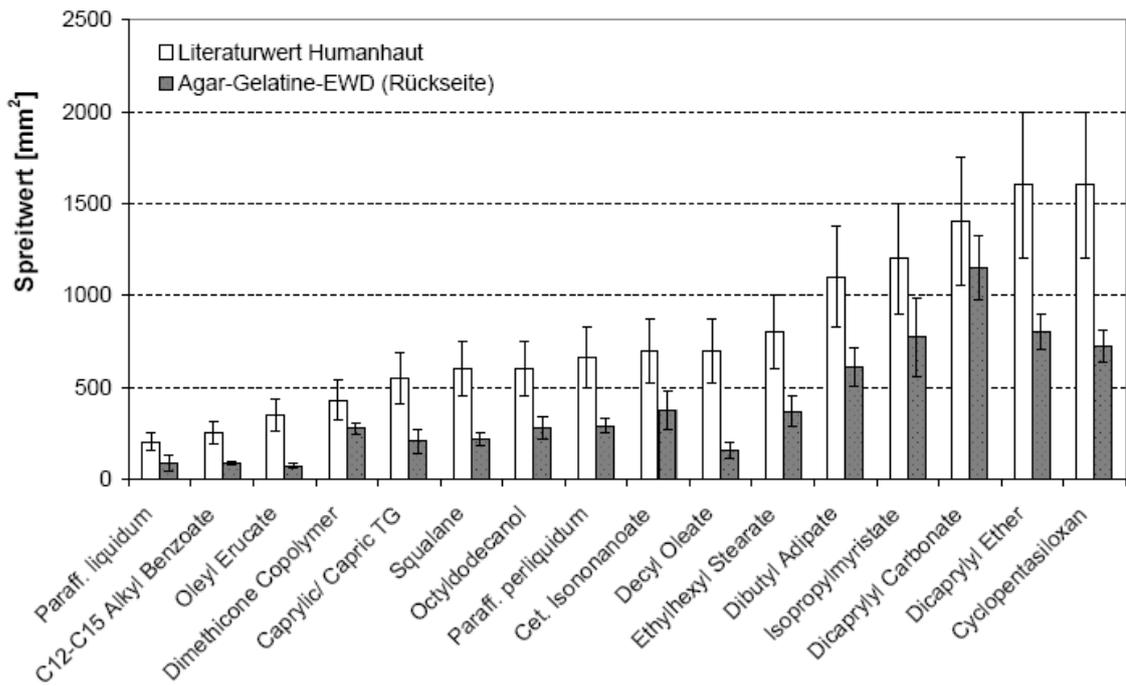


Abb. 66: Spreitwerte der Öle- Vergleich zwischen den Literaturdaten und den Daten auf der Rückseite der Agar-Gelatine-EWD-Substituten

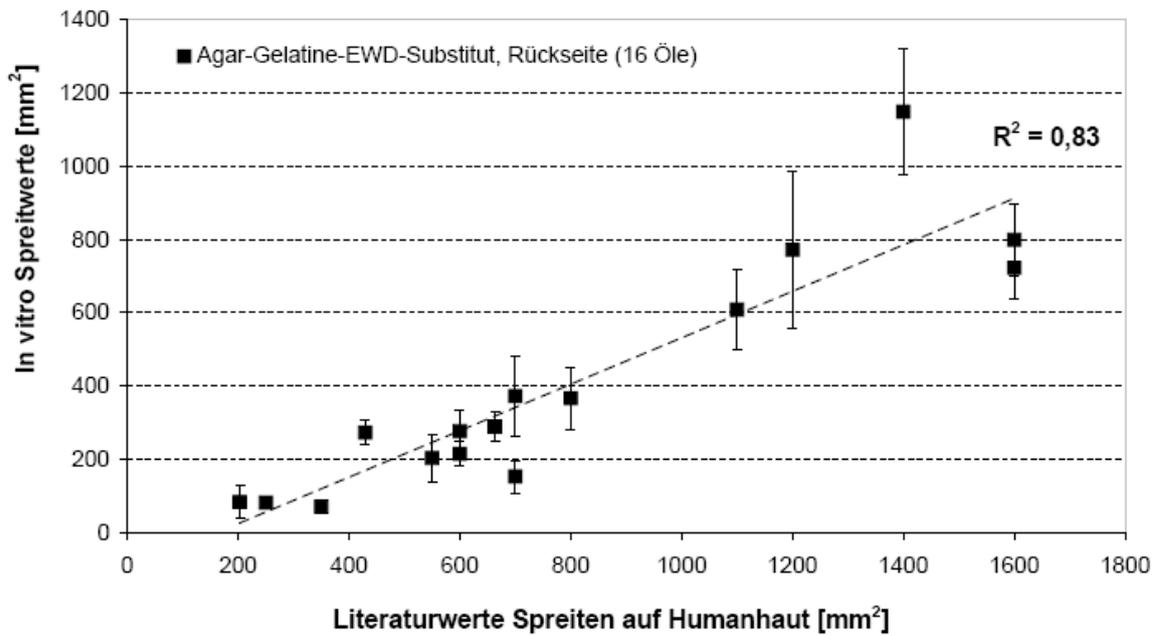


Abb. 67: Korrelation der Spreitwerte auf dem trockenen Mitteldarm und den Daten auf der Rückseite der Agar-Gelatine-EWD-Substituten zu den Literaturwerten

Die auf der Rückseite der Agar-Gelatine-EWD Substituten experimentell gefundenen Spreitwerte sollen durch die Bestimmung der Oberflächenrauigkeit in einen Gesamtzusammenhang gebracht werden. Abb. 68 macht deutlich, dass die Rückseite der Agar-Gelatine-EWD- Substituten wesentlich rauer ist als die Vorderseite und damit auch der Humanhaut nach *Loden et al.* [1995] deutlich ähnlicher. Damit konnte der starke Einfluss der Oberflächenrauigkeit und Oberflächenenergie auf die Benetzung erneut belegt werden.

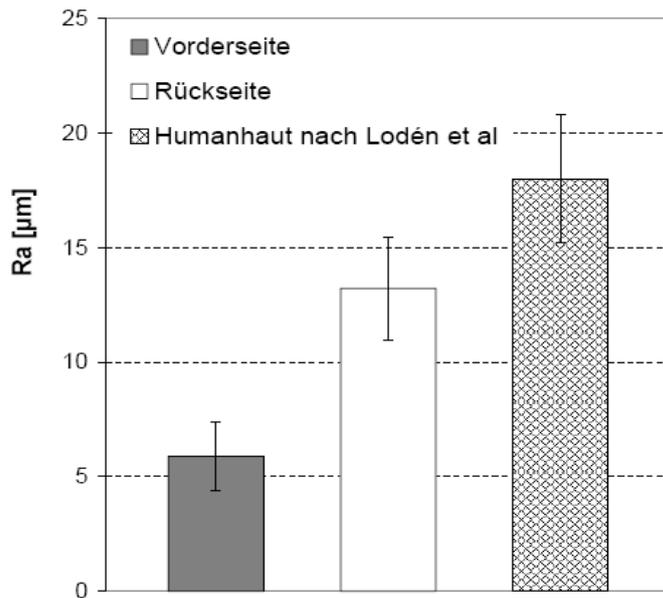


Abb. 68: Oberflächenrauigkeit der Vorder- und Rückseite der Agar-Gelatine-EWD-Substituten

#### 4.4.3. Okklusivität der Öle

Generell kann die Okklusivität als Unterdrückung des transepidermalen Wasserverlustes dargestellt werden. Wenn der Ölfilm eine starke Barriere zum Wasserverlust darstellt, wird der transepidermale Wasserverlust unterbunden und die Okklusivität ist (nahezu) 100%.

Eine weitere Perspektive zur Nutzung der Agar-Gelatine-EWD-Substituten könnte daher die Bestimmung der Okklusivität der Öle sein. In einer explorativen Studie wurden zwei von ihren okklusiven Eigenschaften her grundsätzlich unterschiedliche Öle Paraffinum Perliquidum und Dicaprylyl Carbonate in einer definierten Menge ( $2\text{mg}/\text{cm}^2$ ) auf die Oberfläche der Substituten aufgebracht. Bei dem Aufbringen auf die unbehandelte

Oberfläche der Substituten perlt die Öle ab. Erst nach der Hydrophobisierung der Oberfläche mit Sebumlipiden konnte ein homogener Ölfilm aufgebracht werden.

Bei der Bestimmung der TEWL-Werte wurde deutlich, dass Paraffinum Liquidum als äußerst okklusives Öl den TEWL tatsächlich hochsignifikant ( $p=0,001$ ) senkt und gegenüber dem unbehandelten Substitut die Wasserabdunstung verhindert (Abb. 69). Dicaprylyl Carbonate dagegen hat keinerlei okklusiven Effekt, da keine signifikante Veränderung des TEWL gegenüber den Nullwerten erkennbar ist. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass Dicaprylyl Carbonate als Hochspreiter nach Aufbringen auf die Substitutenoberfläche weiter spreitete und der Oberflächenfilm demnach über die Zeit immer inhomogener wurde, dieses Phänomen war bei Paraffinum Perliquidum als Niederspreiter nicht so stark ausgeprägt.

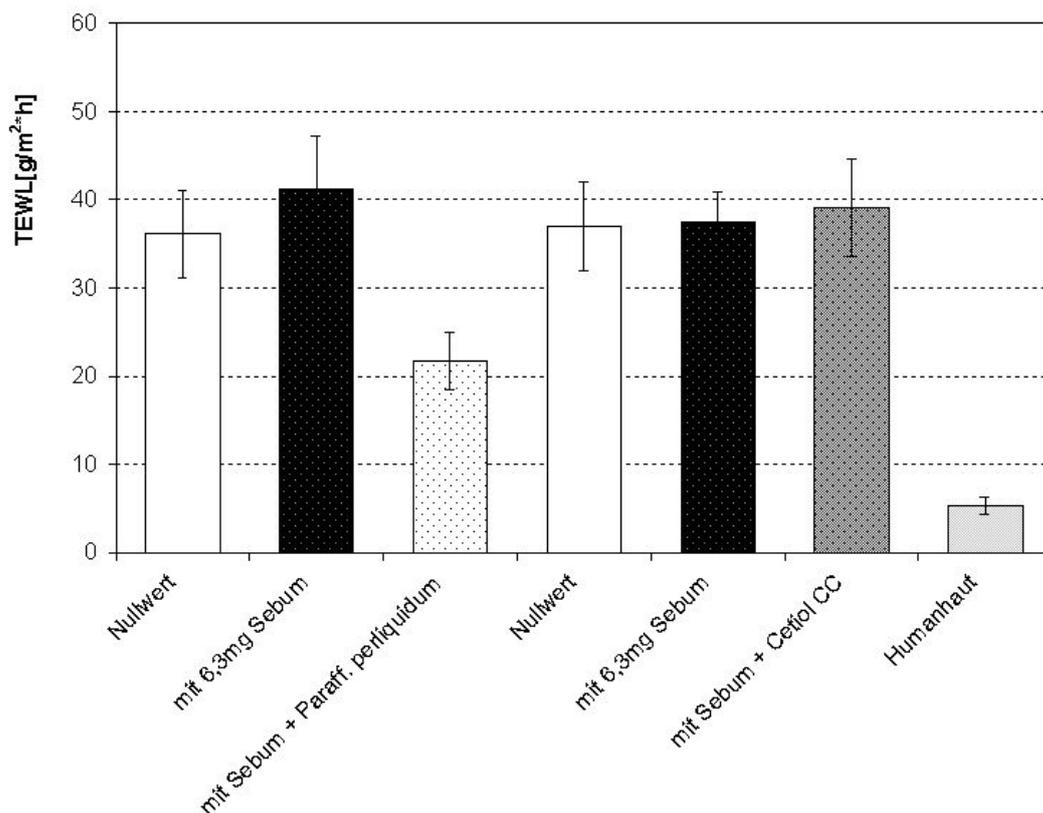


Abb. 69: Bestimmung der Okklusivität von Ölen durch TEWL-Messung auf den Substituten

## 5. Zusammenfassung und Ausblick

Die Zielsetzung dieser Arbeit bestand darin, physikalische Methoden zu entwickeln, um verbraucherrelevante, sensorische Hauteigenschaften von Emollienten auf objektive Weise zu erfassen. Dabei sollte ein Hautsubstitut etabliert werden, das die Gegebenheiten an der Humanhaut auf standardisierte Weise simuliert und als Substitut zur Kosmetiktestung fungiert. Im Rahmen dieser Zielsetzung wurden sowohl bestehende Methoden zur Bestimmung von Oberflächeneigenschaften der Haut angewendet und weiterentwickelt, sowie eine neue Methode zur Bestimmung von Hautparametern erschlossen. Ein Hautsubstitut, bestehend aus einer Kollagenmembran, die über ein Untergrundgel gezielt befeuchtet wird, wurde etabliert, das reproduzierbar menschliche Haut simuliert und an dem verschiedenste Methoden zur Testung von Rohstoffen an der Haut simuliert werden können. Künstlich hergestellte Kollagenmembranen (vorwiegend Wurstpellen) standen dabei im Fokus der Untersuchungen der Arbeit. In verschiedenen experimentellen Studien wurde die Eignung dieser Membranen zur Testung von Kosmetika evaluiert.

Die erste Untersuchungsreihe an unbehandelten Kollagenmembranen diente einer Vorauswahl der Membranen. Dabei wurden grundsätzliche Eigenschaften und Unterschiede an zwei verschiedenen zunächst trockenen Kollagenmembranen herausgestellt und bewertet. Auf den Wurstpellen R2-Darm und Mitteldarm konnten die Spreitwerte der Öle mit einer hohen Korrelation zu den Humanhautwerten bestimmt werden, die Differenzierung der Öle war jedoch durch die deutlich niedrigeren, wenig reproduzierbaren Werte nicht gegeben. Bei der Bestimmung der Kontaktwinkel auf den Kollagenmembranen wurde festgestellt, dass die Möglichkeit besteht, über die Bestimmung des Kontaktwinkels auf dem R2-Darm die Öle in Spreitbereiche einzuordnen und eine Abschätzung bzgl. des Verhaltens auf Humanhaut vorzunehmen. Bei der Bestimmung der Oberflächenenergie der Kollagenmembranen wurde deutlich, dass die Membranen in Bezug auf diese hautähnliche Werte zeigen, jedoch keinen polaren Anteil aufweisen und damit zu trocken sind.

Daraufhin wurde in der anschließenden Untersuchungsreihe eine gezielte Befeuchtung weiterer ausgesuchter Kollagenmembranen z.B. über Salzlösungen vorgenommen. Bei

dieser Konditionierung der Membranen konnte gezeigt werden, dass eine definierte relative Feuchte einen positiven Einfluss auf die Beschaffenheit der Membranen hat und diese hautähnlicher gestaltet. Dies konnte u.a. über die Bestimmung der Oberflächenenergie gezeigt werden. Der vollständig befeuchtete EWD-Darm z.B. zeigt eine hautähnliche Oberflächenspannung von 28,0mN/m mit einem polaren Anteil von 40,5%. Außerdem wurde beobachtet, dass insbesondere der R2LD-Darm eine Vorzugsrichtung besitzt, die die Bestimmung der Oberflächenenergie massiv beeinflusst und demnach auch beim Spreiten zu berücksichtigen ist.

Als Weiterentwicklung der vorteilhaften Konditionierung wurden die Membranen mit einem Untergrundgel, bestehend aus Wasser, Gelbildner und Glycerin versehen, über die eine definierte, konstante Befeuchtung der Membran gewährt werden sollte. Bei der Bestimmung der TEWL- und Corneometerwerte ließ sich zeigen, dass die Möglichkeit besteht, mit den Substituten bestimmte Hautzustände zu simulieren. Sowohl TEWL- als auch Corneometerwerte steigen mit zunehmender relativer Feuchte im Substitut. Es liegen zwar keine humanhautähnlichen Werte vor, die Absolutwerte lassen sich jedoch reproduzierbar durch Veränderung des Glycerinanteils einstellen.

Weiterhin wurde festgestellt, dass sich die Oberflächenrauigkeit der Substituten mit Untergrundgel durch die Verwendung von Glycerin im Vergleich zu den Substituten deren Untergrundgel aus reinem Wasser bestand, signifikant erhöhte. Offensichtlich bewirkt das Wasser die Glättung der Membran. Glycerin kann zwar als Feuchthaltemittel dienen, jedoch offensichtlich keine Glättung bewirken.

Bei den Methoden zur Charakterisierung der Emollienten auf den Substituten mit Untergrundgel zeigte sich, dass das Frictiometer in der Lage ist, die Öle darüber zu differenzieren, ob die Frictiometersonde leicht oder mit Widerstand über die mit Öle behandelte Substitutenfläche gleitet. Es konnte ein Korrelationskoeffizient von 0,80 zu den Spreitwerten auf Humanhaut (Zeidler-Methode) gefunden werden. Bei den Frictiometerwerten auf Humanhaut besteht ein Korrelationskoeffizient von 0,76 zu den Literaturdaten, wobei jedoch über das Frictiometer eine bessere Differenzierung der Emollienten durch eine höhere Aufspreizung der Werte gegeben ist.

Die Bestimmung der Spreitwerte entsprechend der Zeidler-Methode ergab auf den EWD-Gelatine-Substituten keine reproduzierbaren Werte.

Detailfragen dazu, welche Kollagenmembran-Untergrund-Kombination für welchen Kosmetiktest am besten geeignet ist, sollten in einer Gelbildner- und einer Membranstudie jeweils anhand eines teilfaktoriellen Versuchsplans mit 2<sup>2</sup>-Design geklärt werden. In der Untersuchungsreihe Gelbildner wurde die Eignung von Agar-Agar, Gelatine, Hydroxyethylcellulose (HEC) und Polyacrylsäure zur Herstellung des Untergrundgels für die Substituten zur Kosmetiktestung bewertet. Es stellte sich heraus, dass Agar-Agar und Gelatine einige Vorteile gegenüber HEC und Polyacrylsäure aufweisen.

Agar-Agar ist für einige Tests besonders gut geeignet, da die mit Agar-Agar hergestellten Substituten auch bei Hauttemperatur (32°C) konditioniert werden können. Außerdem zeigte Agar-Agar sehr reproduzierbare TEWL- und Corneometerwerte und ist sehr leicht zu handhaben. Die Substituten mit Gelatine zeigten ebenfalls reproduzierbare TEWL- und Corneometerwerte und bieten zudem die Möglichkeit der Bestimmung der Frictiometer- und Spreitwerte. Die Herstellung des Untergrundgels für die Gelatine-EWD-Substituten ist zwar nicht ganz so praktikabel wie bei den Agar-Agar-Substituten, doch dafür besitzen diese eine bessere Membran-Untergrundgel-Adhäsion. Es wurde demnach aufgrund seiner besonderen Eigenschaft, dass die Substituten auch bei Hauttemperatur verwendet werden können, Agar-Agar als Gelbildner für die Membranstudie ausgewählt. Außerdem wurde versucht, die guten Ergebnisse der beiden Gelbildner Agar-Agar und Gelatine in einem Untergrundgel zu kombinieren. Außerdem wurde HEC aufgrund seiner guten Ergebnisse in den TEWL-Corneometer- und Frictiometerstudien ausgewählt.

In der Untersuchungsreihe „Membranen“ wurden entsprechend folgende Membran-Untergrundgel- Kombinationen untersucht: Agar-Agar-Gelatine-EWD, Agar-Agar-COFFI, Agar-Agar-Matricol, HEC-COFFI und HEC-Matricol.

Agar-Agar-Gelatine-EWD-Substituten besitzen ausgesprochene Vorteile bei der Bestimmung der TEWL- und Corneometerwerte, während die Kombination aus Agar-Agar-COFFI deutlich besser zur Frictimetrie geeignet ist. Die Matricol Skin Relax-Folie ist für die meisten der untersuchten Anwendungen nicht geeignet und auch das Untergrundgel mit HEC erwies sich in Kombination mit den Membranen COFFI und Matricol Skin Relax Folie als nicht vorteilhaft.

Es ist demnach zwingend erforderlich, je nach gewünschter Anwendung, die passende Untergrundgel-Membran-Kombination als Substitut zur Kosmetiktestung auszuwählen.

Genau hier bestehen weitere Optimierungsmöglichkeiten für die Kollagenmembran-Untergrundgel-Substituten. Nach den in dieser Arbeit festgesetzten Erkenntnissen können ganz gezielt die für eine bestimmte Anwendung am besten geeigneten Kombinationen weiter optimiert werden. Dies bietet sich unter anderem z.B. für die Bestimmung der Okklusivität von Ölen an. Sollte sich in nachfolgenden Untersuchungen bestätigen, dass anhand der Substituten die Okklusivität der Öle plausibel bestimmt werden kann, so könnte diese Erkenntnis ein für die Kosmetikindustrie äußerst interessanter Ansatz zur Auslobung von Ölen sein, da sowohl die okklusiven Eigenschaften als auch die Leichtigkeit eines Öls experimentell gezeigt werden können.

## 6. Summary and perspective

Aim of this work was to establish physical methods to measure consumer-relevant, sensoric skin characteristics of emollients in an objective way. In the course of this, a skin substitute was supposed to be established which disassembles the conditions on human skin in a standardised way and acts as a substitute for cosmetic testing.

Within the scope of this objective target, not only existing methods for determination of surface characteristics of skin were applied and sophisticated but also a new method for definition of skin parameters was developed. A skin substitute consistent of a collagen membrane was established, which is constantly moisturised via an underground-hydro-gel and can simulate human skin in a reproducible way and hence functions as a substitute for cosmetic raw material testing. Different artificially manufactured collagen membranes (predominantly sausage casings) were in the focus of experimental work. During numerous studies the applicability of these membranes for testing of cosmetics was evaluated.

The first study with untreated collagen membranes served as preselection of the membranes. Basic characteristics and differences were emphasized and evaluated with two different, dry collagen membranes. On the sausage casings R2 casing and Middle casing, the spreading values of cosmetic oils could be determined with a high correlation to the human skin data. However, the differentiation of oils was, due to the lower and hardly reproducible values, not given. During contact angle measurements on the collagen membranes it was stated, that there is a possibility to categorise the oils into spreading ranges via contact angle determination on the R2 casing und to make an estimation towards the behaviour on human skin. During surface energy determination it became obvious, that the collagen membranes show skin-like values, however, do not have a polar part and are therewith too dry.

Hence, in a subsequent study a defined moisturisation of further chosen collagen membranes was undertaken. During storatoin of the membranes f.i. over salt solutions, which caused a defined relative humidity, it could be shown, that this amendment has a significant positive influence on the quality structure of the membranes and configures them more skin-like. Evidence for this could be supplied via surface energy measurements.

The completely moisturised EWD-casing f.i. has a skin-like surface energy of 28,9mN/m with a polar part of 40.5%. Furthermore it was observed that, in particular the R2LD-casing has a preferential-direction of its texture which massively influences the determination of surface energy and is hence also to be considered during spreading experiments.

As another advancement of the advantageous conditioning, the membranes were equipped with an underground-hydro-gel, consisting of water, gel-former and glycerine, which should achieve a defined, constant moisturisation of the membrane. During determination of the TEWL- and Corneometer values it could be shown, that the possibility is given, to dissemble certain skin conditions with the substitute. Both Corneometer and TEWL-values rise with increasing relative humidity in/on the substitute. The absolute values are not skin-like, however, they can be adjusted reproducibly via the amount of glycerine.

Additionally, it was noted, that the surface roughness of the substitutes with glycerine in the underground-gel increased significantly as opposed to the underground-gels where pure water was applied. Obviously, only water can achieve the smoothness of the collagen membranes. Glycerine can serve as a moisturising agent but cannot effect smoothness.

With regard to the methods for characterisation of emollients on the substitutes with underground-gel, it became obvious, that the frictiometer is able to differentiate oils depending on the fact that the frictiometer probe slides easily or with a resistance over the oil-treated substitute surface. A correlation coefficient of 0.80 could be found for the spreading values on human skin (Zeidler method). With the frictiometer values on human skin there is a correlation value of 0.76 for the literature data, however, the differentiation of emollients is simplified as the values are better spread apart. The determination of the spreading values according to the Zeidler method on the EWD-gelatine substitutes was not successful.

The essential question, which collagen membrane-underground gel-combination is suited best for which cosmetic test, was supposed to be clarified in a gel-former and a membrane study with a partly-factorial experimental plan with a 2<sup>2</sup>-design. In the gel-former study the applicability of agar-agar, gelatine, hydroxyethylcellulose and polyacryl acid were evaluated for preparation of the substitutes. It became obvious, that agar-agar and gelatine

show some advantages compared to hydroxyethylcellulose and polyacryl acid. Agar-agar is for some test especially applicable as the substitutes can be conditioned at skin temperature (32°C). Additionally, substitutes with agar-agar showed very reproducible TEWL- and Corneometer values and are easy to handle. Substitutes with gelatine also showed very reproducible TEWL- and Corneometer values and furthermore the substitutes offer the possibility to determine frictionometer and spreading values. The preparation of the underground-gel for the gelatine-EWD-substitutes is not as feasible as for the agar-agar underground-gel, however, the adhesion between membrane and underground-gel is with gelatine much better than with agar-agar. Hence due to the exceptional feature of agar-agar, that it can be conditioned at skin temperature, which is very important for cosmetic testing, agar-agar was chosen as gel-former for the membrane study. In addition, agar-agar and gelatine were mixed in one underground-gel as to combine the positive results of both gel-formers. As a second gel-former, hydroxyethylcellulose was chosen due to its good results in TEWL-, Corneometer- and frictionometer studies.

In the membrane study the following membrane-underground-gel combinations were evaluated: agar-agar-gelatine-EWD, agar-agar-COFFI, agar-agar-Matricol, HEC-COFFI, and HEC-Matricol. Agar-agar-gelatine-EWD substitutes show pronounced advantages with regard to the determination of TEWL- and Corneometer values, while the combination of agar-agar-COFFI is much more suitable for friction tests. The tested Matricol Skin Relax foil is not applicable for most of the evaluated cosmetic tests and also the underground-gel with HEC did not prove advantageous in combination with the membranes COFFI and Matricol Skin Relax. Hence, it is inevitable to choose the most adequate underground-membrane-combination for each cosmetic test.

With this point there are more possibilities for optimisation of the substitutes given. With the realising made in this work, the combination which is suited best for a certain application, can be specifically optimised. This is especially promising for the determination of occlusivity of oils. If further studies can prove that the substitutes are feasible to determine the occlusivity of oils, this realising could be a very interesting approach for the appraisal of oils for the cosmetic industry as not only the occlusive behaviour but also the light sensory feeling of emollients can be proven.

## 7. Literaturverzeichnis

**Agner T., Serup J.**

Skin reactions assessed by non-invasive bioengineering methods, *Contact Dermatitis*, 20, 352-359, 1989

**Ansmann A., Kawa R.**

Cosmetic Water- in- Oil Emulsions- How to Formulate Elegant Skin Care Products, *Seifen-Öle- Fette-Wachse*, 117 (10), 369- 371, 1991

**Arct J., Pytkowska K.**

Positive and negative effects of lipids on the skin barrier permeability, *Euro Cosmetics*, 5, 18-22, 2003

**Asserin J., Zahouani H., Humbert Ph., Couturaud V., Mougín D.**

Measurement of the friction coefficient of the human skin in vivo. Quantification of the cutaneous smoothness, *Coll. Surf. B: Biointerf.*, 19, 1-12, 2000

**Baxter S., Cassie A.**

The water repellency of fabrics and a new water repellency test, *J. Text. Inst.*, 36 (8), 67-89, 1945

**Behne M., Uchida Y., Seki T., De Montellano P.O., Elias P.M., Holleran W.M.**

Omegahydroxyceramides are required for corneocyte lipid envelope (CLE) formation and normal epidermal permeability barrier function, *J. Invest. Dermatol.*, 114, 185-192, 2000

**Bettley F. R., Grice K. A.**

The influence of ambient humidity on transepidermal water loss, *Br. J. Dermatol.*, 78, 575-581, 1967

**Bhushan B., Wei G., Haddad, P.**

Friction and Wear studies of human hair and skin, *Wear*, 259 (7), 1012-1021, 2005

**Bieber T.**

Neurodermitis ist eine allergische Erkrankung. *Hautfreund*, 1, 11-12, 1997

**Black D., Del Pozo A., Lagarde J. M., Gall, Y.**

Seasonal variability in the biophysical properties of stratum corneum from different anatomical sites, in: *Skin Research and Technology*, 6, 70-76, 2000

**Blichmann C., Serup J.**

Assessment of skin moisture, *Acta Derm Venerol (Stockh.)*, 68, 284-290, 1988

**Brunke E.J., Köster F.H.**

Benetzung und Spreitung als Auswahlkriterien kosmetischer Öle, Seifen, Öle, Fette, Wachse, 115 (2), 45-47, 1989

**Busscher H., Van Pelt A., De Boer P., De Jong H., Arends J.**

The effect of surface roughness of polymers on measured contact angles of liquids, *Coll. Surf.*, 9, 319-331, 1984

**Charkoudian J. C.**

A model skin surface for testing adhesion to skin, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 39, 225-234, 1988

**Clar E. J., Hei C.P., Sturelle C.G.**

Skin impedance and moisturization, *Conf. of the Society of Cosm. Chem. Of Great Britain*, 1974

**Cua A.B., Wilhelm K.P., Maibach H.I.**

Frictional properties of human skin: relation to age, sex and anatomical region, stratum corneum hydration and transepidermal water loss, *Br. J. Derm.*, 123, 473-479, 1990

**Comaish S., Bottoms E.**

The skin and friction: deviations from Amonton's laws, and the effects of hydration and lubrication, *Br. J. Dermatol.*, 84, 37-43, 1971

**CTFA**

*International Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*, 10th Edition, 2004

**De Luca M., Cancedda R.**

Culture of human epithelium, *Burns*, 18, Suppl., 1, 5-10, 1992

**Denda M.**

Role of Lipids in Skin Barrier Function, in: Förster, T., *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*, Marcel Dekker, New York, 2002

**Dietz T.**

Basic Properties of cosmetic oils and their relevance to emulsion preparations, *SOFW Journal*, 125 (7), 2-9, 1999

**Dörfler H.**

Eigenschaften schwerlöslicher Monoschichten an der Grenzfläche Wasser/Luft, in: Dörfler, H.: *Grenzflächen- und Kolloidchemie*, VCH, Weinheim, 43-82, 1994

**Downing D., Wertz P., Stewart, M.**

The role of sebum and epidermal lipids in the cosmetic properties of skin, *Int. J. Cosm. Sci.*, 8, 115-123, 1986

**Egawa M., Oguri M., Hirao T., Takahashi M., Miyakawa M.**

The evaluation of skin friction using a frictional feel analyzer, *Skin Research and Technology*, 8 (1), 41-51, 2002

**Eisfeld W., Busch P.**

Das Stick-Slip-Verfahren- eine neue Methode zur sensorischen Bewertung taktiler Hauteigenschaften, Kongress der SEPAWA 1999, 46, 116-123, 1999

**Elias P.M.**

Lipids and the epidermal permeability barrier, Arch., Dermatol., Res., 270, 95-117, 1981

**Elias P. M.**

Epidermal lipids, membranes, and keratinisation, Int. J. Dermatol., 20, 1-19, 1981

**Elias P. M.**

Epidermal lipids, barrier function, and desquamation, in: J. Invest. Derm., 80, 44-49, 1983

**Elias P. M., Feingold K. R.**

Lipid-related barriers and gradients in the epidermis, in: Annals of the New York Academy of Sciences, 548, 4-13, 1988

**Elias P. M., Menon, G. K.**

Structural and lipid biochemical correlates of the epidermal permeability barrier, in: Adv. Lipid Res., 24, 1-26, 1991

**El Khyat A., Courderot-Masuyer C., Gharbi T., Humbert, P.**

Influence of the hydrophobic and hydrophilic characteristics of sliding and slider surfaces on friction coefficient: in vivo human skin friction comparison, Skin Res. Technol., 10 (4), 2004

**El-Shimi A.F.**

In vivo skin friction measurements, J. Soc. Cosmet. Chem., 28, 37-51, 1977

**Elsnau W.H.**

Skin Friction Measurement, in: Berardesca, E., Elsner, P., Wilhelm, K.P., Maibach, H.I., Bioengineering of the Skin: Methods and Instrumentation, CRC Press, 1995

**Elsner P., Wilhelm D., Maibach H.I.**

Frictional properties of human forearm and vulvar skin: Influence of age and correlation with transepidermal water loss and capacitance, Dermatologica, 181, 88-91, 1990

**Ferguson J., Barbenel J.C.**

Skin surface patterns and the directional mechanical properties of the dermis, in: Marks, R., Payne, P. A., Bioengineering and the Skin, MTP, Lancaster, 83-92, 1981

**Finley A.Y., Nicholls S., King C.S., Marks R.**

The „dry“ non-eczematous skin associated with atopic eczema, Br. J. Dermatol., 102, 249-256, 1980

**Fischer T., Greif C., Wigger-Alberti W., Elsner P.**

Instrumentelle Methoden zur Bewertung der Sicherheit und Wirksamkeit von Kosmetika, *Acta Derm. Venerol.*, 24, 243-250, 1998

**Fluhr J. W., Vrzak G., Gloor M.**

Hydratisierender und die Steroidpenetration modifizierender Effekt von Harnstoff und Glycerin in Abhängigkeit von der verwendeten Grundlage, *Z. Hautkr.*, 73, 210-214, 1997

**Fluhr J., Holleran W.M., Berardesca E.**

Clinical Effects of Emollients on Skin in: Leyden, J.L., Rawlings, A.V., *Skin Moisturization, Cosmetic Science and Technology Series*, Marcel Dekker, Inc., 25, New York, 2002

**Fluhr J.W., Mao-Qiang M., Brown B.E., Wertz P.W., Crumrine D., Sundberg J.P., Feingold K.R., Elias, P.M.**

Glycerol regulates stratum corneum hydration in sebaceous gland deficient (asebia) mice, *J. Invest. Dermatol.*, 120, 728-737, 2003

**Fowkes F.M.**

Attractive Forces at Interfaces, *Indust. Eng. Chem.*, 56 (12), 40-52, 1964

**Freeman S., Maibach H.**

Study of irritant contact dermatitis produced by repeat patch test with sodium lauryl sulfate and assessed by visual methods, transepidermal water loss and laser doppler velocimetry, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 19, 496-502, 1988

**Fritsch, P.**

*Dermatologie*, Springer Verlag, 1990

**Fukai J., Mitsura T., Miyatake O.**

Maximum spreading of liquid droplets colliding with flat surfaces, *J. Chem. Eng.*, 31 (3), 456-461, 1998

**Gallardo V., Ruiz M.A., Delago A.V.**

Pharmaceutical suspensions and their applications, in: Nielloud, F., Marti-Mestres, G., *Pharmaceutical Emulsions and Suspensions*), Marcel Dekker, New York, 409-464, 2000

**Gee M.G., Tomlins P., Calver A., Darling R.H., Rides M.**

A new friction measurement system for the frictional component of touch, *Wear*, 259, 1437-1442, 2005

**Gehring W., Bopp R., Rippke F., Gloor M.**

Effect of topically applied evening primrose oil on epidermal barrier function in atopic dermatitis as a function of vehicle, *Arzneimittelforschung*, 49, 635-642, 1999

**Ghadially R., Haklker-Sorensen L., Elias P.M.**

Effects of petrolatum on stratum corneum structure and function, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 26, 387-396, 1992

**Gloor M., Wiegand I., Friederich H.C.**

Über Menge und Zusammensetzung der Hautoberflächenlipide beim so genannten seborrhoischen Ekzem, *Dermatologische Monatsschrift* 158, 759-764, 1972

**Greene M.D., Downing D.T., Pochi P.E. Strauss, J.S.**

Anatomical variation in the amount and composition of human skin surface lipid, *J. Invest. Derm.*, 54 (3), 240-247, 1970

**Grice K. A.**

Transepidermal water loss, in: Jarret A, *The physiology and pathophysiology of the skin*, Academic press, London, 6, 2115-2127, 1980

**Grice K. A., Satter H., Baker H.**

The effect of ambient humidity on transepidermal water loss, *J. Invest. Dermatol.* 58, 343-346, 1972

**Grove G.L., Grove M.J., Leyden J.J.**

Optical profilometry: an objective method for quantification of facial wrinkles, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 21, 631-637, 1998

**Grove G.L., Grove M.J.**

Objective measurement for assessing skin surface topography noninvasively, in: Serup, J., *Handbook of Non-invasive methods and the skin*, CRC Press Inc., 2006

**Grover D.W., Nicol J.M.**

The vapour pressure of glycerin solution at 20C°, *J. Soc. Chem. Ind.*, 59, 175-177, 1949

**Grubauer G., Feingold K.R., Elias P.M.**

Relationship of epidermal lipogenesis to cutaneous barrier function, *J. Lipid Res.*, 28, 746-752, 1987

**Hansen H. S., Jensen B.**

Essential function of linoleic acid esterified in acylglucosylceramide and acylceramide in maintaining the epidermal permeability barrier. Evidence from feeding studies with oleate, linoleate, arachidonate, colominate and linoleate, *Biochem. Biophys. Acta*, 834, 357-363, 1985

**Handijani-Vila R.M., Rondot B., Lachampt F.**

Perspiratio insensibilis control by specific association of lipids, *Cosmetics and Perfumery*, 90, 39-41, 1975

**Hanusova S., Dolejsi V.**

Types of skin surface relief., *Arch. Klin. Exp. Dermatol.*, 208 (1), 1-23, 1958

**Hashimoto K.**

New methods for surface ultrastructure: comparative studies of scanning electron microscopy, transmission electron microscopy and replica method, *Int. J. Dermatol.*, 13, 357-381, 1974

**Henricsson V., Svensson A.**

Evaluation of a new device for measuring oral mucosal surface friction, *Scand. J. Dent. Res.*, 98, 529-536, 1990

**Highley D.R., Coomey M., DenBeste M., Wolfram L.J.**

Frictional Properties of skin, *J. Invest. Derm.*, 69, 303-305, 1977

**Holbrook K.A.**

Ultrastructure of the epidermis, *The Keratinocyte Handbook* by Irene Leigh, Brigitte Lane and Fiona Watt; Cambridge University Press, 356-399, 1994

**Janistyn H.**

Handbuch der Kosmetika und Riechstoffe, I. Band: Die kosmetischen Grundstoffe, 3. Auflage, Dr. Alfred Hüthig Verlag, Heidelberg, 1978

**Jarnik M., Simon M.N., Steven A.C.**

Cornified cell envelope assembly: a model based on electron microscopic determinations of thickness and projected density, in: *J. Cell Sci.*, 111 (8), 1051-1060, 1998

**Jungermann E., Sonntag N.O.V.**

Glycerine- A Key Cosmetic Ingredient, Marcel Dekker, Inc., New York, 1991

**Kalinin A., Marekov L.N., Steinert P.M.**

Assembly of the epidermal cornified cell envelope, *J. Cell Sci.*, 114, 3069-3070, 2001

**Kalinin A.E., Kajava A.V., Steinert P.M.**

Epithelial barrier function: assembly and structural features of the cornified cell envelope, *Bioessays*, 24, 789-800, 2002

**Kanitakis J.**

Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin, in: *Eur. J. Derm.*, 12 (4), 390-399, 2002

**Kameshwari V., Mistry M.D.**

Sensory properties of emollients, *Cosmet. Toil.*, 114, 45-51, 1999

**Kawa R., Ansmann A., Jackwerth B., Leonard M.**

Das Synergistic-Sun-Systems-Konzept: Synergien in der Formulierungswelt kosmetischer Sonnenschutzprodukte nutzen, *Parfümerie Kosmetik*, 80 (3), 17-23, 1999

**Kenney J. F., Haddock T.H., Sun R.L., Parreira, H.C.**

Medical-Grade Acrylic Adhesives for Skin Contact, *J. Appl. Polym. Sci.*, 45, 355-361, 1992

**Klaschka F.**

Stratum Corneum- Struktur und Funktion, Grosse Verlag, Berlin, 1981

**Kligman A.M., Shelley W.B.**

An investigation of the biology of the human sebaceous gland. *J. Invest. Dermatol.*, 30 (3), 99-125, 1958

**Kutz G.**

Kosmetische Emulsionen und Cremes: Formulierung, Herstellung, Prüfung, Verl. für Chemische Industrie, Ziolkowsky, Augsburg, 2001

**Koudine A.A., Barquins M., Anthoine P., Aubert, L., Lèvéque, J.-L.**

Frictional properties of skin: proposals of a new approach, *Int. J. Cosmet. Sci.*, 22, 11-20, 2000

**Lambers H., Pronk H.**

Biophysical Methods for Stratum Corneum Characterization, in: Förster, T., *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*, Marcel Dekker, New York, 2002

**Landmann L.**

Die Permeabilitätsbarriere der Haut, *Pharmazie in unserer Zeit*, 4, 155-163, 1991

**Lang B., Effenberger G.**

Wursthüllen Kunst Darm, 3. Aufl., Deutscher Fachverlag, Wiesbaden, 2005

**Landmann L.**

The epidermal permeability barrier, *Anat. Embryol.*, 178, 1-13, 1988

**Lanzendörfer G.**

Lipidic Ingredients in Skin Care Formulations, in: Förster, T., *Cosmetic Lipids and the Skin Barrier*, Marcel Dekker, New York, 2002

**Lavker R.M., Kwong F., Kligman A.M.**

Changes in skin surface patterns with age, *J. Gerontol.*, 35 (3), 348-354, 1980

**Le Bouwstra J.A., Honeywell-Nguyen P.L.**

Skin structure and mode of action of vesicles, *Adv. Drug Deliver. Rev.* 54 (Suppl. 1), 41-55, 2002

**Leonhardt H.**

Histologie, Zytologie und Mikroanatomie des Menschen, 8.Aufl., Thieme Verlag, 1990

**Leveque J.L.**

Cutaneous Investigation in Health and Disease- Noninvasive Methods and Instrumentation, Marcel Dekker, New York, 1989

**Lindahl O.A., Omata S., Änquist K.-A.**

A tactile sensor for detection of physical properties of human skin, *J. Med. Eng. Technol.*, 22 (4), 147-153, 1998

**Lodén M.**

Biophysical properties of dry atopic and normal skin with special reference to effects of skin care products, 192, 1-48, 1995

**Lodén M., Olssen H., Axell T., Linde Y.W.**

Friction, capacitance and transepidermal water loss (TEWL) in dry atopic and normal skin, Brit. J. Derm., 126 (2), 137-141, 1992

**Lowe N.J., Stoughton R.B.**

Essential fatty acid deficient hairless mouse: a model of chronic epidermal hyperproliferation, Br. J. Dermatol., 96, 155-162, 1977

**Lucast D.H.**

Skin tight. Adhesives Age, 43, 36-38, 2000

**Mackenzie I.C.**

An examination of cellular organization within the stratum corneum by a silver staining method, J. Invest. Dermatol., 61, 245-250, 1973

**Marks R.**

Sophisticated Emollients, 2. Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart, 2001

**Martini M.C., Cotte J.**

Influence des produits hygroscopiques et occlusifs sur l'évaporation in vivo de l'eau du stratum corneum, Rôle de l'excipient, Labo. Pharma, 30, 323, 1982

**Mavon H., Zahouani H., Redoules D., Agache, P., Gall Y., Humbert, P.**

Sebum and stratum corneum lipids increase human skin surface free energy as determined from contact angle measurements: A study on two anatomical sites, Colloids and Surfaces, 8, 147-155, 1997

**Meguro S., Arai Y., Masukawa Y., Uie K., Tokimitsu I.**

Relationship between covalently bound ceramides and transepidermal water loss (TEWL), Arch. Dermatol. Res., 292, 463-468, 2000

**Morrison B.M.**

ServoMed evaporimeter: Precautions when evaluating the effect of skin care products on barrier function, J. Soc. Cosm. Chem., 43, 161-167, 1992

**Nacht S., Close J.A., Young D., Gans E.H.**

Skin friction coefficient: changes induced by skin hydration and emollient application and correlation with perceived skin feel, J. Soc. Cosmet. Chem., 32, 55-65, 1981

**Nakajima K., Narasaka H.**

Evaluation of skin surface associated with morphology and coefficient of friction, Int. J. Cosm. Sci., 15, 135-151, 1993

**Nicolaides N.**

Skin lipids. II. Lipid class composition of samples from various species and anatomical sites, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 42, 691-702, 1965

**Owens D.K., Wendt R.C.**

Estimation of the Surface Free Energy of Polymers, *J. Appl. Polym. Sci.*, 13, 1741-1747, 1969

**Odland G.F.**

A submicroscopic granular component in human epidermis, *J. Invest. Dermatol.*, 34, 11-15, 1960

**Öhman, H., Vahlquist, A.**

In vivo studies concerning a pH gradient in human stratum corneum and upper epidermis, *Acta Derm. Venereol.*, 74, 375-379, 1994

**Pinnagoda J., Tupker R.A., Anger T., Serup J.**

Guidelines for transepidermal water loss (TEWL) measurement, *Contact Dermatitis*, 22, 164-178, 1990

**Plewig G., Marples R.**

Regional differences of cell sizes in human stratum corneum, Part I., *J. Invest. Dermatol.*, 34, 13-18, 1970

**Poumay Y., Pittelkow M.R.**

Cell density and culture factors regulate keratinocyte commitment to differentiation and expression of suprabasal K1/K10 keratins, *J. Invest. Dermatol.*, 104, 271-276, 1995

**Prall J. K.**

Instrumental evaluation of the effects of cosmetic products on skin surfaces with particular reference to smoothness, *J. Soc. Cosmet. Chem.*, 24, 693-707, 1973

**Prottey C., Hartop P.J., Black J.G., McCormack J.**

The repair of impaired epidermal barrier function in rats by cutaneous application of linoleic acid, *Brit. J. Derm.*, 94, 13-21, 1976

**Prottey C., Hartop P.J., Press M.**

Correction of cutaneous manifestations of essential fatty acid deficiency in man by application of sunflower seed oil to the skin, *J. Invest. Dermatol.*, 64, 228-234, 1975

**Raab W., Kindl U., Daniels R.**

*Pflegekosmetik- Ein Leitfaden*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1999

**Rabel W.**

Einige Aspekte der Benetzungstheorie und ihre Anwendung auf die Untersuchung und Veränderung der Oberflächeneigenschaften von Polymeren, Farbe und Lack, *77 (10)*, 997-1005, 1971

**Roehl E. L., Brand H.M.**

A Quantitative Description of Emolliency, SOFW, 117 (4), 1991

**Rohr M., Schrader K.**

Fast Optical In vivo Topometry of Human Skin (FOITS). Vergleichende Untersuchungen zur Laserprofilometrie, SOFW J., 2, 3-8, 1998

**Rose P.I.**

Gelatin, in: Mark, H.F., Encyclopedia of Polymer Science and Engineering, Wiley, London, 7, 488-513, 1987

**Rothman S.**

Physiology and Biochemistry of the Skin, The University of Chicago Press, 1954

**Rye R., Mann J., Yost F.**

The flow of liquids in surface grooves, Langmuir, 2, 555-565, 1996

**Salka B.A.**

Choosing Emollients-Four factors will help you decide, Cosmet. Toil., 112 (10), 101-106, 1997

**Scheffler E.**

Statistische Versuchsplanung und -auswertung- Eine Einführung für Praktiker, 3. Auflage, DVG, Stuttgart, 1997

**Schellander F.A., Headington J.T.**

The stratum corneum--some structural and functional correlates, Br. J. Dermatol., 91 (5), 507-11, 1974

**Schueller R., Romanowski P.**

Conditioning Agents for Hair and Skin, Cosmetic Science and Technology Series, Marcel Dekker, Inc., New York, 21, 1999

**Schurer N.Y., Plewig G., Elias, P.M.**

Stratum corneum lipid function, In: Dermatologica, 183 (2), 77-94, 1991

**Seidenari S., Giusti G.**

Objective assessment of the skin of children affected by atopic dermatitis: a study of pH, capacitance and TEWL in eczematous and clinically uninvolved skin, Acta Derm. Venerol. (Stockh.), 75, 429-433, 1995

**Sivamani R.K., Wu G.C., Gitis N.V., Maibach H.I.**

Tribological testing of skin products: gender, age, and ethnicity on the volar forearm, Skin Res. Technol, 9 (4), 299-305, 2003

**Sivamani R.K., Goodman J., Gitis N.V., Maibach H.I.**

Coefficient of friction: tribological studies in man- an overview, Skin Res. Tech., 9, 227-234, 2003a

**Sivamani R.K., Wu G., Maibach H.I., Gitis N.V.**

Tribological Studies on Skin: Measurement of the Coefficient of Friction in Serup, J., Gregor, B.E., Grove, G.L., Handbook of Non-invasive methods and the skin, CRC Press Inc., 2006

**Speckmann E.-J., Wittkowski W.**

Bau und Funktion des menschlichen Körpers, Urban & Schwarzenberg, München, 1998

**Spruit D., Malten K. E.**

Humidity of the air and water vapour loss of the skin. The changing permeability, Dermatol. 138, 418-426, 1969

**Steinert P.M.**

The complexity and redundancy of epithelial barrier function, J. Cell. Biol., 151, 5-8, 2000

**Stewart M.**

Sebaceous glands lipids, Seminars Dermatol., 11, 100-105, 1992

**Swartzendruber D.C., Wertz P.W., Madison K.C., Downing D.T.**

Evidence that the corneocyte has a chemically bound envelope, J. Invest. Dermatol., 88, 709-713, 1987

**Tanaka M., Lévêque J.L., Tagami H., Kikuchi K., Chonan, S.**

The "Haptic Finger"- a new device for monitoring skin condition, Skin Res. Technol., 9 (2), 131-136, 2003

**Thune P., Nilsen T., Hanstad I. K., Gustavsen T., Lövig-Dahl H.**

The water barrier function of the skin in relation to water content of stratum corneum, pH and skin lipids, Acta Derm. Venereol (Stockh.), 68, 277-283, 1988

**Triebskorn A., Gloor M., Greiner F.**

Comparative investigations on the water content of the stratum corneum using different methods of measurement, Dermatologica 167, 64-69, 1983

**Tronnier H., Wiebusch M., Heinrich.U.**

Friktiometrie an der menschlichen Haut, Kosmetische Medizin, 22, 228-235, 2001

**Tsutsumi H., Utsugi T., Hayashi S.**

Study on the occlusivity of oil films, J. Soc. Cosmet. Chem., 30, 345-356, 1979

**Tupker R.A., Pinnagoda J., Coenraads P.J., Nater J.P.**

Transepidermal Water Loss Measurement by Means of an Evaporimeter, in: Frosch, P.J., Kligman A.M., Noninvasive methods for the quantification of skin functions, An update on methodology and clinical applications, Springer Verlag, Berlin, 56-69, 1993

**Tupker R.A., Pinnagoda J.**

Measurement of Transepidermal Water Loss by Semiocclusive Systems, in Serup, J., Handbook of Non-invasive methods and the skin, CRC Press Inc., 2006

**Turner, N.G., Cullander, C., Guy, R.H.**

Determination of pH gradient across the stratum corneum, J. Invest. Dermatol. Symp. Proc., 3 (2), 110-113, 1998

**Visscher, M.O.**

Biomedical assessment and instrumental evaluation of healthy infant skin, Pediatric Derm., 19 (6), 473-481, 2002

**Warner R.R., Myers M.C., Taylor, D.A.**

Electron probe analysis of human skin: determination of the water concentration profile, J. Invest. Derm., 90 (2), 218-224, 1988

**Weil I., Princen H.**

Diffusion theory analysis of transepidermal water loss through occlusive films, J. Soc. Cosmet. Chem., 28 (8), 481-484, 1977

**Wenzel R.**

Resistance of solid surfaces to wetting by water, Indust.Eng. Chem., 28 (8), 988-994, 1936

**Wenzel R.**

Communication to the editor- Surface roughness and contact angle, J. Phys. Coll. Chem., 53, 1466-1467, 1949

**Wille J., Kydonieus A.**

Palmitoleic acid isomer (C16: 1D6) in human skin sebum is effective against GRAM-positive bacteria, Skin Pharmacol. Appl. Skin Physiol., 16, 176-187, 2003

**Wilson D.R., Maibach H.**

Transepidermal Water Loss : A Review, in : Leveque, J.L., Cutaneous Investigation in Health and Disease- Noninvasive Methods and Instrumentation, Marcel Dekker, New York, 1989

**Wolf J., Hanusova S.**

Influence of the age on skin relief in man, Folia Morphol. (Praha), 18 (3), 262-81, 1970

**Wolf J.**

Secondary relief of the skin's surface, its genesis and significance, Folia Morphol. (Praha), 18 (1), 39-45, 1970

**Wolf J.**

Tertiary relief of the skin surface, its development and significance, Folia Morphol., (Praha), 19 (3), 242-51, 1971

**Wolfram L.J.**

Friction of the skin, *J. Soc. Cosm. Chem*, 34, 465-476, 1983

**Wokalek H.**

Die Haut, in: Niedner, R., Ziegenmeyer, J., *Dermatika, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart*, 1992

**Zeidler U.**

Über das Spreiten von Lipiden auf der Haut. *Fette, Seifen, Anstrichmittel*, 87, 403-408, 1985

**Zeidler U.**

Über die taktilen Eigenschaften kosmetischer Öle, Seifen-Öle-Fette-Wachse, 118, 1001ff, 1992

**Zhang M., Mak A. F. T.**

In vivo friction properties of human skin, *Prosthetics and Orthotics*, 23, 135-141, 1999

**Ziegenmeyer J.**

Haut- Vehikel- Pharmakon, die entscheidenden Kriterien für die percutane Resorption, *Pharmazie in unserer Zeit* 15, 129-143, 1986

## **Danksagung**

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. R.H. Müller für die Ermöglichung dieser externen Promotion und die universitäre Betreuung bedanken. Die Projektgespräche mit ihm waren mir eine große Hilfe bei der Erstellung dieser Arbeit.

Für die freundliche Übernahme des Koreferats danke ich Herrn Prof. Dr. Alfred Fahr.

Herrn Prof. Dr. Gerd Kutz danke ich für die Zuweisung des Themas und die Betreuung an der Fachhochschule Lippe und Höxter.

Danken möchte ich außerdem allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der Fachhochschule Lippe und Höxter, die mich bei der Durchführung der Untersuchungen unterstützt haben. Besonders bedanken möchte mich in diesem Zuge bei Dipl. Ing. Volker Salzmann, der mir nicht nur bei der Umsetzung der technischen Probleme behilflich war. Ein Dankeschön auch an alle Probanden, die sich für die Testungen an Humanhaut unentgeltlich zur Verfügung gestellt haben.

Bei der Firma Cognis Deutschland GmbH & Co. KG möchte ich mich ganz herzlich für die Bereitstellung der Plattform zur Fertigstellung dieser Arbeit bedanken.

Ganz herzlich sei allen Mitarbeitern der Abteilung CT-PP- Consumer Perception & Skin Biophysics für die freundliche Arbeitsatmosphäre, die herzliche Aufnahme sowie die ständige Hilfsbereitschaft gedankt, die die Fertigstellung dieser Arbeit ermöglicht haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Frau Dr. Daniela Prinz und Herr Dipl. Ing. Carsten Neumann.

Herrn Dipl. Ing. Jürgen Millhoff danke ich außerdem ganz herzlich für die zahlreichen fachlichen Diskussionen, die wertvolle Anregungen für diese Arbeit geben konnten und für die kritische Durchsicht des Manuskripts.

Darüber hinaus danke ich Herrn Nikolai Ernst des Dr. Schrader Institutes für die unentgeltliche Durchführung der FOITS Messungen.

Für die meist kostenlose Bereitstellung von Materialien und Testgeräten möchte ich abschließend allen in dieser Arbeit genannten Firmen danken. Mein besonderer Dank gilt hierbei Herrn Dr. Holger Becker der Naturin GmbH & Co. KG für die fortwährende großzügige Bereitstellung der Kollagendärme und dem Unternehmen Courage und Khazaka Electronic GmbH in Köln für die freundliche Leihgabe ihrer Hautmessgeräte.

Meiner Familie und meinen Freunden danke ich von ganzem Herzen für die Geduld und die liebevolle Unterstützung. Sie haben den größten Teil zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen, indem sie mich immer wieder motiviert haben! Danke!

## **Curriculum Vitae**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version  
aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten

## Publikationen

### Posterausstellungen

C. Bruns, R.H. Müller, D. Prinz, G. Kutz,  
“Identification of topical excipients with high performance spreadability“  
Scientific poster on the “5<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics Biopharmaceutics and  
Pharmaceutical Technology”, Geneva, 29.03.2006

G. Kutz, V. Salzmann, C. Bruns, A. Lewandowski,  
“Comparative studies on processing facilities with special regard to the new Co-Twister  
System”,  
Scientific poster on the “5<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics Biopharmaceutics and  
Pharmaceutical Technology”, Geneva, 29.03.2006

G. Kutz, C. Bruns, S. Hennig, M. Enga,  
“Current ingredients in semi-solid formulations and their effects on skin hydration,  
transepidermal water loss and water resistance”,  
Scientific poster on the “5<sup>th</sup> World Meeting on Pharmaceutics Biopharmaceutics and  
Pharmaceutical Technology”, Geneva, 29.03.2006

### Wissenschaftlicher Vortrag

C. Bruns, G. Kutz, J. Wilms,  
“A new manufacturing process for ISDN retard pellets: feasibility studies and risk  
assessment”,  
Scientific lecture on the “First European Congress on Life Science Process Technology”,  
Nürnberg, 12.10.2005

### Fachartikel

Gerd Kutz, Sabine Hennig, Christiane Bruns,  
„Neue Hilfsstoffe für Dermatika- Vom galenischen Rohstoff zum wertsteigernden Additiv“  
PZ Prisma - Pharmazeutische Zeitung, 4, 219-227, (2005)

G. Kutz, C. Bruns, V. Salzmann,  
“Comparative studies on emulsion preparation using different processing facilities”,  
Scientific poster on the “4<sup>th</sup> World Congress On Emulsions”, Lyon, 3.-6.10.2006

G. Kutz, C. Bruns, Enga, M., Hennig, S.,  
“Current food ingredients in cosmetic formulations and their effects on relevant skin  
parameters”,  
Scientific poster on the “4<sup>th</sup> World Congress On Emulsions”, Lyon, 3.-6.10.2006

C. Bruns, S. Hennig, G. Kutz, V. Salzmann,  
“Feasibility studies on emulsion manufacturing using the Co-Twister processing facility”,  
Scientific lecture on the “First European Congress on Life Science Process Technology”,  
Nürnberg, 12.10.2005

**Patent**

Erfindungsmeldung C 3158: Vorrichtung zum Testen von kosmetischen und pharmazeutischen -  
Rohstoffen beinhaltend eine Membran, die über ein Behältnis gespannt wird, welches ein Hydrogel als tragenden Untergrund für die Membran enthält.

Anmelder: Cognis IP Management GmbH

Amt: Deutsches Patent- und Markenamt

Aktenzeichen: 10 2007 059 199.5

Anmeldetag: 8. Dezember 2007

Veröffentlichung: Juni 2009