

Usporedba eksperimentalnih i teorijskih vrijednosti zaštitnih faktora u kremama za sunčanje

Detić, Lucija

Master's thesis / Diplomski rad

2023

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology / Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:149:055769>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-27**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE SVEUČILIŠNI
DIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Detić

DIPLOMSKI RAD

Zagreb, 2023.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
FAKULTET KEMIJSKOG INŽENJERSTVA I TEHNOLOGIJE SVEUČILIŠNI
DIPLOMSKI STUDIJ

Lucija Detić

USPOREDBA EKSPERIMENTALNIH I TEORIJSKIH VRIJEDNOSTI
ZAŠTITNIH FAKTORA U KREMAMA ZA SUNČANJE

Voditelj rada:

Izv. prof. dr. sc. Vladimir Dananić

UNIVERSITY OF ZAGREB
FACULTY OF CHEMICAL ENGINEERING AND TECHNOLOGY

Lucija Detić

COMPARISON OF EXPERIMENTAL AND THEORETICAL
VALUES OF PROTECTIVE FACTORS IN SUNSCREENS

Članovi ispitne komisije:

Izv.prof.sc. Vladimir Dananić, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Doc.dr.sc. Iva Movre Šapić, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Doc.dr.sc. Vesna Očelić Bulatović, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije

Prof.dr.sc. Marijana Kraljić Roković, Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije (zamjena)

Zagreb, 2023.

Posebice zahvaljujem svom mentor Izv.prof.dr.sc. Vladimiru Dananiću na vođenju kroz ovaj diplomski rad, na pomoći i razumijevanju. Zahvaljujem na čitavoj suradnji tokom mog studiranja i na najboljem mentorstvu. Isto tako zahvaljujem svojoj obitelji, dečku, prijateljima i kolegama na podršci u svakom trenutku tijekom studiranja.

Sažetak

U ovom radu obraditi će se tema usporedbe teorijskih i eksperimentalnih vrijednosti faktora zaštite od sunca. Teorijski dio obuhvaća osnovnu teoriju vezanu uz shvaćanje teme ovog diplomskog rada, teorija vezana uz proizvode za zaštitu od sunca, njihove regulative, primjene, utjecaj na ljudsko zdravlje i okoliš. Kako bi lakše razumjeli eksperimentalni dio definirati ćemo osnovne pojmove kao što je sunčevo zračenje, UV zračenje, MED i SPF faktor. Rad također obrađuje numerički izračun SPF faktora koji se koristiti u eksperimentalnom djelu rada. Kroz ovaj rad ukratko ćemo proći kroz osnovne tehnike određivanja faktora zaštite od sunca u kozmetičkim proizvodima, s naglaskom na SPF metodu koja se koristi u eksperimentalnom djelu rada. Eksperimentalni dio obuhvaća postupak pripreme kreme za sunčanje, izračuna koncentracija UV filtera potrebnih za dobivanje željenih faktora, proces proizvodnje te u konačnici testiranje i provjeru podudaranja rezultata. Kao metoda testiranja koristi se "in vivo" SPF metoda provedena na nizu ispitanika. Cilj ovog rada je usporediti teorijske rezultate dobivene izračunom koncentracije UV filtera koji su potrebni za određeni zaštitni faktor i rezultata dobivenih eksperimentom, odnosno SPF metodom. Temeljem usporedbe rezultata napraviti će se zaključak usporedbe teorije i eksperimenta, je li došlo do odstupanja i ako je koji je razlog tome.

Ključne riječi:

Proizvodi za sunčanje, SPF faktor, MED, SPF metoda, UV zračenje, UV filtra, UVA, UVB

Summary

This paper will deal with the topic of comparison of theoretical and experimental values of sun protection factors. The theoretical part includes basic theory related to the understanding of the subject of this thesis, theory related to sun protection products, their regulations, applications, impact on human health and the environment. In order to make it easier to understand the experimental part, we will define basic terms such as solar radiation, UV radiation, MED and SPF factor. The paper also deals with the numerical calculation of the SPF factor which will be used in the experimental part of the paper. In this work, we will briefly go through the basic techniques for determining sun protection factors in cosmetic products, with an emphasis on the SPF method used in the experimental part of the work. The experimental part includes the procedure for preparing sunscreen, calculating the concentrations of UV filters needed to obtain the desired factors, the production process, and finally testing and checking the matching of the results. The "in vivo" SPF method performed on a number of subjects is used as a testing method. The aim of this work is to compare the theoretical results obtained by calculating the concentration of UV filters that are required for a certain protection factor and the results obtained by experiment, that is, by the SPF method. Based on the comparison of the results, the conclusion of the comparison of theory and experiment will be made, whether there was a deviation and if so, what is the reason for it.

Key words:

Sunscreen products, SPF factor, MED, SPF method, UV radiation, UV filters

Sadržaj

1. Uvod u zaštitu od Sunčevog zračenja	1
1.1. Povijest kozmetičkih proizvoda za sunčanje	1
1.2. Utjecaj na zdravlje	3
1.2.1. Prednosti upotrebe krema za sunčanje.....	3
1.2.2. Posljedice upotrebe krema za sunčanje	3
1.3. Nanošenje	3
1.4. Regulacije	4
1.4.1. Europa.....	4
1.4.2. Sjedinjene države	5
1.4.3. Australija.....	5
1.4.4. Ostale države	6
1.5. Utjecaj na okoliš	6
2. Definiranje osnovnih pojmova	9
2.1. Sunčevo zračenje	9
2.2. UV zračenje	10
2.3. MED	12
2.4. SPF	13
2.5. Izračun SPF-a	14
2.5.1. Individualan SPF (SPF_i).....	14
2.5.2. Ukupan SPF	14
2.5.3. Interval 95% vjerojatnosti	15
1.5.4. Primjer izračuna prilikom eksperimenta	16
1.5.5. Predviđanje broja ispitanika.....	16
3. Aktivni i neaktivni sastojci	17
3.1. Aktivni sastojci (UV filtri)	17
3.2. Neaktivni sastojci	21
4. Metode za određivanje SPF faktora	22
4.1. COLIPA metoda	22
4.2. UVA testna metoda	23
4.3. Metode bazirane na mjerenju fizikalnih efekata	24
4.4. Metode bazirane na biološkom efektu	24
4.5. In vitro određivanje SPF vrijednosti preko optometrije	24

5.	SPF metoda	25
5.1.	Povijest SPF metode	25
5.2.	Etičko razmatranje	26
5.3.	Opis metode	27
5.4.	Ispitanici	28
5.4.1.	Tip kože ispitanika	28
5.4.2.	Učestalost sudjelovanja u testiranju	28
5.4.3.	Broj ispitanika	29
5.4.4.	Fototip kože	29
5.4.5.	Selekcija voluntera	32
5.4.6.	Kriterij odbacivanja	33
5.5.	Područje ispitivanja	34
5.6.	Izvor ultraljubičastog zračenja	34
5.7.	SPF formulacije	36
5.8.	Kvaliteta proizvoda i nanošenje	36
5.9.	UV izlaganje	38
5.10.	Postupak procjene MED	40
5.11.	Izračun SPF faktora i statistika	41
5.12.	Prikaz rezultata	41
6.	Eksperimentalni dio	42
6.1.	Cilj	42
6.2.	Priprema uzorka i teorijsko određivanje zaštitnog faktora I UVA faktora	42
6.4.	Tijek ispitivanja SPF faktora	57
6.4.1.	MED procjena	59
6.4.2.	Izračun SPF faktora	61
6.5.	Rezultati SPF testiranja za očekivani zaštitni faktor 30 i 50	62
6.6.	Uvjeti ispitivanja prilikom određivanja UVA faktora	68
6.7.	Tijek ispitivanja UVA faktora	69
6.8.	Rezultati UVA testiranja	72
7.	Komentiranje rezultata i zaključak	78
8.	Literatura	81

1. Uvod u zaštitu od Sunčevog zračenja

Sunčanje je izraz koji se koristi za izlaganje tijela djelovanju Sunčevih zraka. Još od davnih vremena sunčanje se smatralo jednim od načina prirodnog liječenja. Sunčevo zračenje se sastoji od infracrvenog i ultraljubičastog zračenja. Takvo zračenje utječe na ljudski organizam, odnosno pretvara ergosterol u vitamin D, utječe na količinu kalcija u organizmu, stvara se pigment melanin (koji stvara zaštitnu tamnu boju), ubrzava se optok krvi, poboljšava mijena tvari i liječe neke bolesti (helioterapija). Međutim, sunčanje može imati i loše posljedice na organizam, nesustavno i naglo sunčanje može dovesti do sunčanice, toplinskog udara, pretjeranog starenja kože, promjene pigmentacije ili raka kože.

Kako bi se spriječilo štetno djelovanje Sunčeva zračenja koriste se različiti proizvodi za zaštitu. U ovom radu, bazirat ćemo se na kozmetičkim proizvodima za zaštitu od Sunčeva zračenja, točnije na kremama za sunčanje. Osim krema, postoje još i različiti losioni, sprejevi, gelovi, pjene te mnogi drugi proizvodi. Krema za sunčanje imaju osnovnu podjelu u dvije vrste: mineralne (koje se još nazivaju i fizikalne) to su kreme koje sadrže fizikalne UV filtere, kao što su cinkov oksid ili titanijev dioksid) te kemijske kreme za sunčanje (to su kreme koje sadrže organske UV filtere).

1.1. Povijest kozmetičkih proizvoda za sunčanje

Povijest korištenja proizvoda za zaštitu od Sunčeva zračenja seže još u doba starih Grka, koji su u tu svrhu koristili maslinovo ulje, dok su primjerice Egipćani koristili različite ekstrakte, kao što su ekstrakti riže ili jasmína koji se koriste još i u današnje vrijeme. Najpoznatija zaštita od sunca, prije razvitka modernih proizvoda bila je pasta pod nazivom borak ili burak koja je bila izrađena od vodene trave, riže i različitih začina. Što se tiče prvih UV filtera proizvedeni su 1928. ,a prva moderna krema za sunčanje 1932. a proizveo ju je kemičar H.A. Milton Blake koji ju je formulirao s UV filterom zvanim 'salol' (Fenil salicilat) u koncentraciji od 10%. Dok je prvu komercijalnu kremu izdao L'Oreal 1936. a osmislio ju je kemičar Eugène Schueller. Ono što je

zanimljivo je da su u početku kreme za sunčanje koristili američki vojnici u Drugom svjetskom ratu (oni su koristili tako zvani Red Vet Pet). Godine 1974. Greiter je prilagodio ranije izračune Friedricha Ellingera i Rudolfa Schulzea i uveo "faktor zaštite od sunca" (SPF), koji je postao globalni standard za mjerenje UVB zaštite, čime je utvrđeno da su prethodne kreme za sunčanje imale zaštitni faktor 2. Vodootporne kreme za sunčanje uvedene su 1977.⁸



Slika 1. Prikaz primjene paste borak ili burak³³



Slika 2. Primjer "kreme za sunčanje" koja je korištena u drugom svjetskom ratu³⁴

1.2. Utjecaj na zdravlje

1.2.1. Prednosti upotrebe krema za sunčanje

Dokazano je da se upotrebom sredstva za zaštitu od Sunčeva zračenja može spriječiti melanom i karcinom pločastih stanica, odnosno mogu se spriječiti dvije vrste raka kože. Također, kao što je i ranije spomenuto, svakodnevno nanošenje kreme za sunčanje može usporiti razvoj bora i starenje kože kao i stvaranje opekline na koži.⁷

1.2.2. Posljedice upotrebe krema za sunčanje

Dugotrajna uporaba krema za sunčanje može izazvati nedostatak vitamina D. Objašnjenje toga je da zaštita od Sunca sprječava da ultraljubičasto svjetlo dopire do kože, pa se smanjuje sinteza vitamina D. Te količine vitamina D mogu se nadoknaditi prehranom ili raznim dodacima. Neki sastojci krema za sunčanje nisu još dovoljno ispitani pa se ne može sa sigurnošću reći da su sigurni za ljudski organizam. Kao posljedica toga, svake godine se niz UV filtera (aktivnih sastojaka proizvoda za sunčanje) povlači s tržišta. Osim toga, upotreba proizvoda za sunčanje ima negativan utjecaj na okoliš, no o tome nešto kasnije.⁷

1.3. Nanošenje

Kako bi spriječili da UV zrake oštete stanice kože, preporuča se zaštitni faktor 30 (za normalne tipove kože). To je količina koja je potrebna kako bi se spriječio rak kože. Prilikom testiranja krema za sunčanje koristi se količina od 2 mg /cm². Što bi značilo, ako se testira osoba od 163 cm i 68 kg sa strukom od 82 cm i nosi kupaći kostim koji pokriva područje prepona, treba se nanijeti količina od 30mg za učinkovitu zaštitu.¹⁷

1.4. Regulacije

1.4.1. Europa

Proizvodi za sunčanje u Europi pripadaju u skupinu kozmetičkih proizvoda, te su kao takvi regulirane Uredbom o kozmetici (EZ) br. 1223/2009 koja je na snazi od srpnja 2013. godine. Preporuke za formuliranje proizvoda za zaštitu od sunca vodi Znanstvena zajednica za sigurnost potrošača (SCCS). Propisi o kozmetičkim proizvodima u Europi zahtijevaju od proizvođača da slijede šest domena kada formuliraju svoj proizvod.⁵

1. Izvješće o kozmetičkoj sigurnosti mora izraditi kvalificirano osoblje
2. Proizvod ne smije sadržavati supstance zabranjene za kozmetičke proizvode
3. Proizvod ne smije sadržavati tvari koje su zabranjene za kozmetičke proizvode
4. Proizvod mora biti u skladu s odobrenom listom bojila za kozmetičke proizvode.
5. Proizvod mora biti u skladu s odobrenim popisom konzervansa za kozmetičke proizvode.
6. Proizvod mora sadržavati UV filtre odobrene u Europi.⁵

Prema Uredbi o kozmetici moraju :

1. Imati minimalan SPF 6
2. Omjer UVA/UVB $\geq 1/3$
3. Sadržavati kritičnu valnu duljinu minimalno 370 nanometara
4. Imati upute za uporabu i mjere opreza.
5. Zadovoljavati UVA i SPF zahtjeve
6. Imati deklaraciju o sadržaju nanočestica
7. Sadržavati rok trajanja proizvoda⁵

1.4.2. Sjedinjene države

U Sjedinjenim državama kreme za sunčanje ubrajaju se u lijekove koji se izdaju bez receptata, što kao posljedicu ima manji broj sastojaka koji je odobren u formulacijama krema za sunčanje. U 2019. FDA (Američka agencija za hranu i lijekove) je predložila strože propise o zaštiti od sunca i općoj sigurnosti, uključujući zahtjev da se zabrane proizvodi s SPF-om većim od 60. Široki spektar krema za sunčanje znači da moraju pružati zaštitu i od UVA i od UVB zraka. Ono što je bitna razlika s Europom je da su zabranjeni izrazi kao što je " vodootporni ", " otporni na znoj ", " trenutna zaštita ", " zaštita dulja od 2h ", osim u slučaju kada to odobri FDA. Kreme za sunčanje moraju sadržavati standardizirane podatke na ambalaži. Međutim, ne postoji propis koji smatra potrebnim navesti sadrži li sadržaj nanočestica mineralnih sastojaka. Nadalje, američki proizvodi ne zahtijevaju da datum isteka proizvoda bude prikazan na etiketi. Od 2021. godine FDA uvodi novu klasifikaciju krema za sunčanje. Nova klasifikacija je na "GRASE" sigurne i učinkovite kreme za sunčanje, i " not GRASE " koje iz nekih razloga nisu priznate na tržištu kao sigurne i učinkovite (bilo da je to jer fale dodatne informacije na etiketama, ili zbog sigurnosnih problema). GRASE podrazumijeva da je krema za sunčanje prošla neklinička ispitivanja na životinjama i klinička ispitivanja na ljudima. U Sjedinjenim Državama samo dva sastojka (para-aminobenzojeva kiselina i trolamin salicilat) nisu klasificirana kao GRASE.¹⁶

1.4.3. Australija

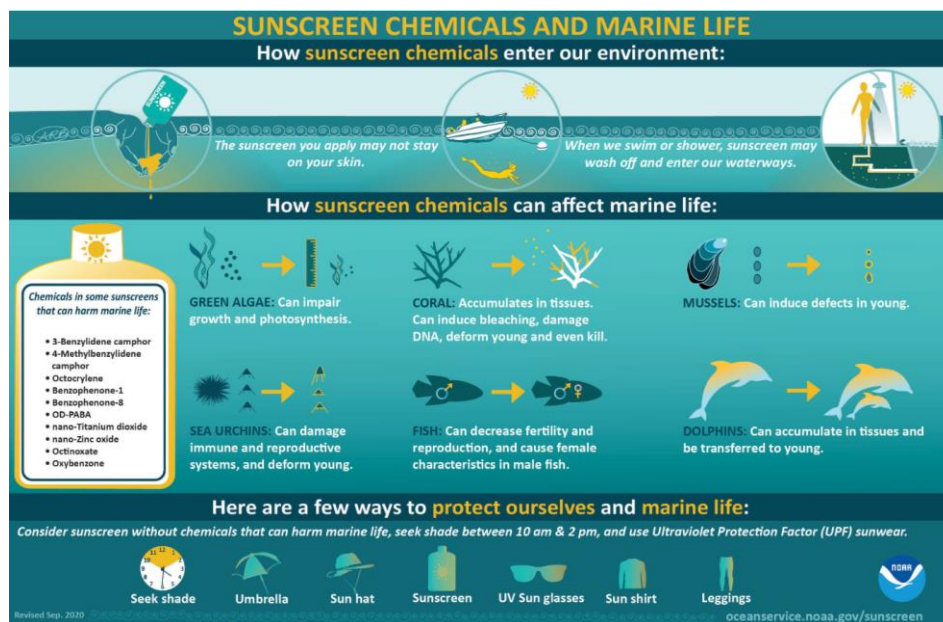
U Australiji postoji podjela krema za sunčanje na terapijske i kozmetičke. Terapijske se opet dijele na primarne (to su kreme kod kojih je SPF faktor manji od 4) i sekundarne kreme (to su sve one kod kojih je SPF faktor veći od 4). Australija također ima organizaciju koja regulira upotrebu krema i naziva se TGA (Therapeutic Goods Administration) te je zadužena za regulaciju terapijskih krema za sunčanje. Pod kozmetičke kreme za sunčanje smatraju se one koje sadrže sastojak za zaštitu od sunca, ali nije dokazano da štite od sunca, te su one kontrolirane NICNAS (National Industrial Chemicals Notification and Assessment Scheme).¹¹

1.4.4. Ostale države

Ostale zemlje također imaju određena pravila i udruge koje se bave regulacijom upotrebe krema za sunčanje. Tako primjerice u Japanu su kreme za sunčanje smatrane kozmetičkim proizvodom i regulira ih JCIA (Japan Cosmetic Industry Association), u Kini također pripadaju kategoriji kozmetičkih proizvoda, lista odobrenih UV filtera jednaka je kao i u Europi, a regulira ih SFDA (State Food and Drug Administration). U Novom Zelandu regulacije su jednake kao u Europi, jedina je razlika da ima manju listu odobrenih UV filtera nego što je to u Europi. U Kanadi kreme za sunčanje se reguliraju s obzirom na to koje sastojke sadrže, te se onda na temelju toga klasificiraju dalje u lijekove ili kozmetiku. ⁵

1.5. Utjecaj na okoliš

Kada se priča o utjecaju proizvoda za sunčanje na okoliš, poseban naglasak stavlja se na UV filter oksibenzon koji je prvi zabranjen na Havajima s obzirom na njegov štetan utjecaj na oceane. Osim oksibenzona, mnogo proizvoda za sunčanje sadrži i oktinoksat za koji je također dokazano da je vrlo toksičan za razvoj koralja i morskog života, odnosno da nanosi ozbiljnu štetu koraljnim grebenima. Osim njih sastojci proizvoda za sunčanje za koje se još smatra da imaju štetan utjecaj na okoliš su: Benzofenon-1, Benzofenon-8, OD-PABA, 4-metilbenzildiene camfor, 3-benzildien camfor, nano-titan dioksid, nano-cink oksid i oktokrilen.³⁵



Slika 3. Prikaz utjecaja proizvoda za sunčanje na okoliš³⁵

S obzirom da nakon nanošenja proizvoda za sunčanje dio ne ostaje na koži, nego se ispire prilikom plivanja ili tuširanja njihovi sastojci odlaze u vodu. Kemikalije koje se nalaze u kremama utječu pretežito na morski sustav i to pretežito na rast i fotosintezu zelenih algi. Sastojci se mogu akumulirati u tkivima koralja te uzrokovati njihovo izbjeljivanje te oštetiti i deformirati potomke. Osim toga utječu i na potomke kod dagnji, oštećuju imunološki i reproduktivni sustav ježinaca, smanjuju plodnost i reprodukciju riba te deformiraju mladunčad kod dupina. Neki od glavnih utjecaja na okoliš:

1. Izbjeljivanje koralja

Dokazano je kako Oksibenzon oštećuje DNA koralja jer remeti endokrini rad kostura planule što rezultira ubijanjem potomaka. Osim toga oksibenzon čini vodu oko koraljnih grebena otrovnim, a to čini stres za alge koje koraljima daju boju. Posljedica toga je da se u algama stvaraju virusne infekcije što odbija koralje i time dolazi do njihova izbjeljivanja. Osim oksibenzona na izbjeljivanje koralja utječu i nanočestice cinkova oksida.³⁵



Slika 4. Primjer izbjeljivanja koralja djelovanjem oksibenzona³⁵

2. Morski život

Najveći utjecaj kemikalija iz krema za sunčanje primijećen je na embrijima i ličinkama riba.

3. Golemi plastični otpad

Sve više se predlaže upotreba papirnatih ambalaža za proizvode za sunčanje kako bi se spriječilo gomilanje plastičnog otpada koji se koristi kao ambalaža. Osim toga velika većina proizvoda za sunčanje sadržava mikroplastiku koja utječe na životinjske ali i ljudske organizme.



Slika 5. Primjer proizvoda za sunčanje u papirnoj ambalaži³⁶

2. Definiranje osnovnih pojmova

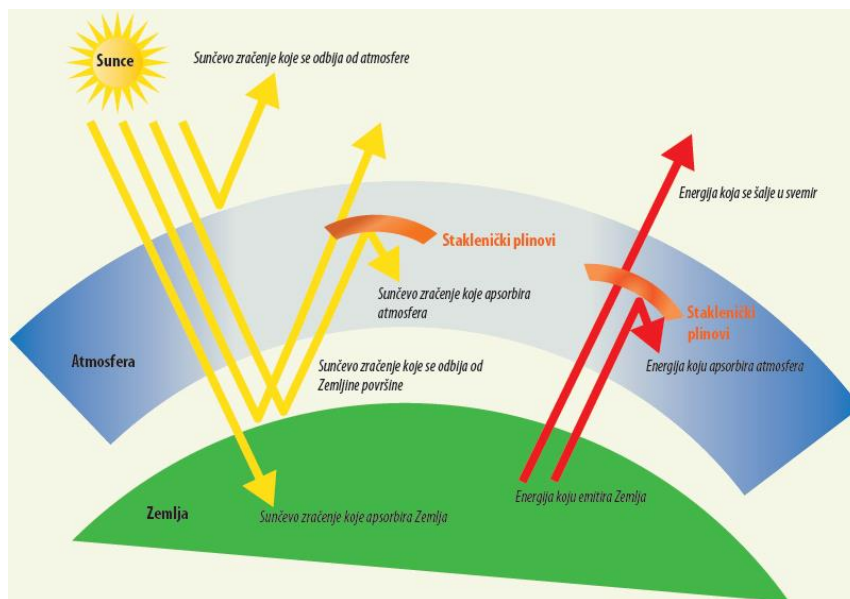
2.1. Sunčevo zračenje

Sunce je velika užarena kugla s promjerom oko 1,39 milijuna kilometara. Sunčevo zračenje je kratkovalno zračenje koje Zemlja dobiva od Sunca. Razlikuju se nekoliko vrsta Sunčeva zračenja ovisno o upadu na plohu na Zemlji, pa razlikujemo:

1. Izravno sunčevo zračenje (dolazi iz prividnog smjera Sunca)
2. Raspršeno/Difuzno sunčevo zračenje (nastaje raspršenjem zračenja u atmosferi i do tla dopire iz svih smjerova)
3. Ukupno sunčevo zračenje (sastoji se od izravnog i raspršenog, a nagnuta ploha Zemlje osim raspršenog zračenja prima i od tla odbijeno zračenje)
4. Odbijeno sunčevo zračenje (dio zračenja koji se odbije od tla ili vodenih površina)²³

U spektar sunčeva zračenja spadaju radio-valovi, mikrovalovi, infracrveno zračenje, vidljiva svjetlost, ultraljubičasto zračenje, X i Y zrake. A osnovna podjela je na:

1. Infracrveno zračenje (valna duljina > 760 nm)
2. Vidljiva svjetlost (valna duljina 400 – 760 nm)
3. UV zračenje (280- 400 nm)²⁵



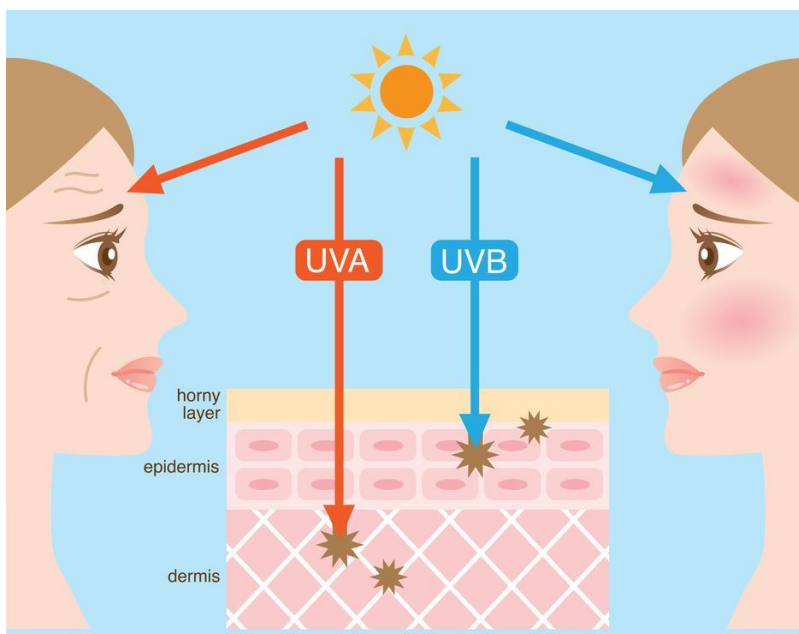
Slika 6. Sunčevo zračenje³⁷

2.2. UV zračenje

UV zračenje nije vidljivo zračenje ali utječe na sva živa bića. UV zračenje se dijeli u tri grupe:

1. UVA (320-400 nm)
2. UVB (280-320 nm)
3. UVC (200-280 nm)

Što je manja valna duljina veća je energija zračenja, pa su prema tome manje valne duljine štetnije za kožu, ali veće valne duljine prodiru dublje u kožu. Najkraće su UVC zrake i njih upija ozon u atmosferi, pa one ne predstavljaju opasnost za ljude. UVB zrake utječu na gornji sloj kože. To su zrake koje uzrokuju opekline. Tijelo proizvodi melanin kako bi zaštitio stanice kože od UVB zraka, pa predugo izlaganje tim zrakama uzrokuju crvenilo, ali isto tako UVB zrake su nužne za tijelo zbog proizvodnje vitamina D3. UVA zrake prodiru dublje u kožu, posljedica toga je da slamaaju elastin i kolagen u koži, pa prevelika izloženost UVA zrakama uzrokuje pojavom bora, melanoma ili raka kože.²³



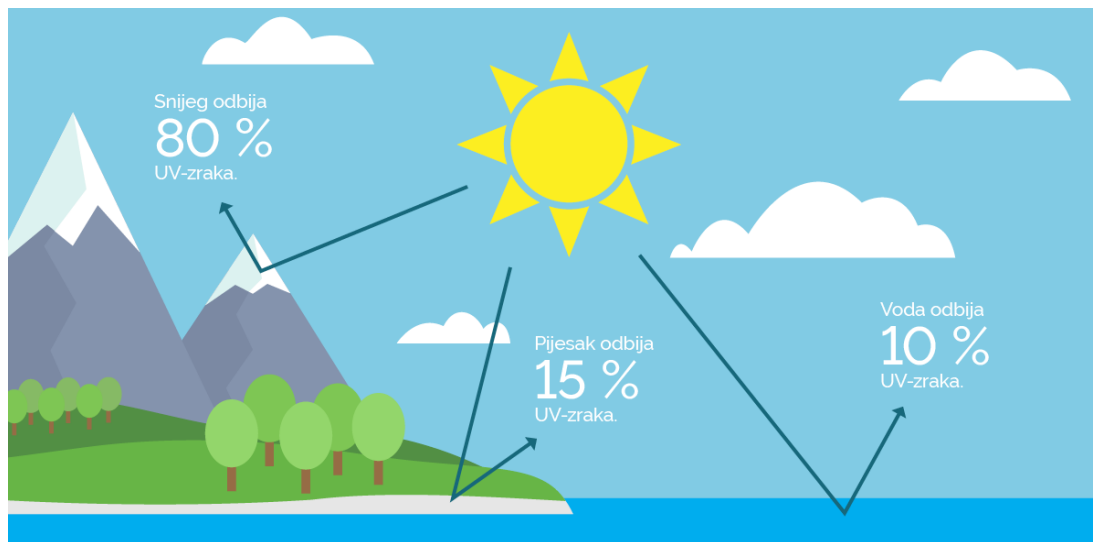
Slika 7. Utjecaj UVA i UVB zraka na kožu³⁸

Najvažniji faktori koju utječu na UV zračenje koje dolazi do tla su :

1. Atmosferski ozon- UV zračenje se apsorbira i raspršuje u atmosferi. UVC zračenje kao što je već spomenuto se potpuno apsorbira na molekulama kisika i ozona, isto kao i UVB zračenja, ali ipak nekoliko postotaka UVB zračenja dolazi do površine Zemlje. Zbog toga većina zračenja na Zemlji se sastoji od UVA zračenja a mali dio od UVB.
2. Visina Sunca- je kut između horizonta i smjera prema Suncu (poznat pod nazivom Solarni zenitni kut). Kada je velika visina Sunca UV zračenje je puno intenzivnije jer zrake prolaze kraći put kroz atmosferu i zato prolaze kroz manje područje apsorpcijskih tvari. UV zračenje ovisi o geografskoj širini, dobom godine i dobom dana.
3. Nadmorska visina- UV zračenje poraste 6-8% s porastom nadmorske visine za 1000 m, a razlog tome je da je manje apsorpcijskih tvari u atmosferi iznad određene visine.
4. Oblaci i stanje atmosfere- UV zračenje biti će najjače kada je nebo vedro, odnosno oblaci smanjuju UV zračenje što opet ovisi o debljini oblaka i tipu oblaka. Kada je prisutna atmosferska mutnoća UV zračenje je apsorbirano i raspršeno na vodenim česticama te to dovodi do smanjenja UV zračenja.

5. Refleksija na tlu- iznos reflektiranog zračenja ovisiti će o svojstvima površine od koje se odbija. Primjerice voda, trava ili zemlja reflektirati će samo 10% UV zračenja, dok će snijeg reflektirati čak 80%.

Najvažnija primjena UV zračenja je da uništava mikroorganizme pa se rabi za sterilizaciju. Isto tako upotrebljava se i u mikroskopiji (kada je potrebno detaljno razlučivanje), spektroskopiji te raznim fizikalnim i kemijskim istraživanjima.²⁷



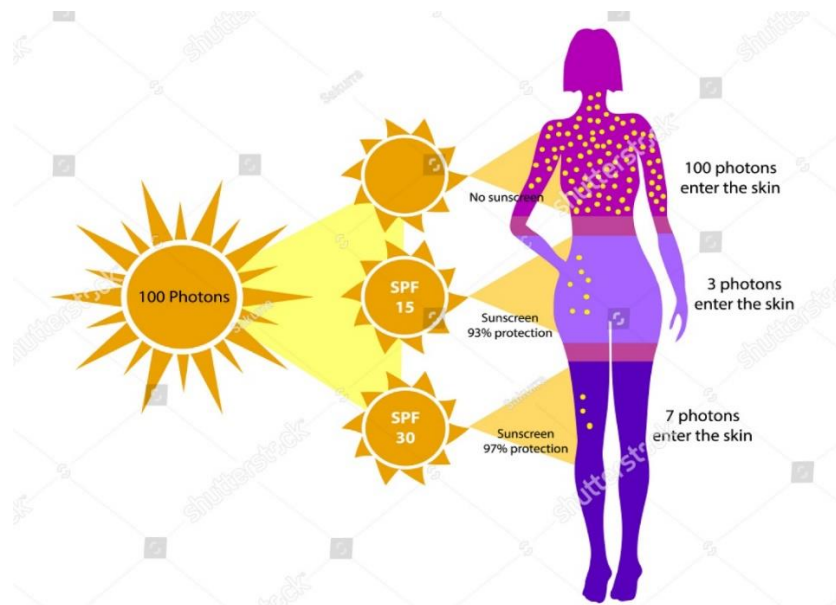
Slika 8. Reflektiranje UV zraka ovisno o svojstvima površine³⁹

2.3. MED

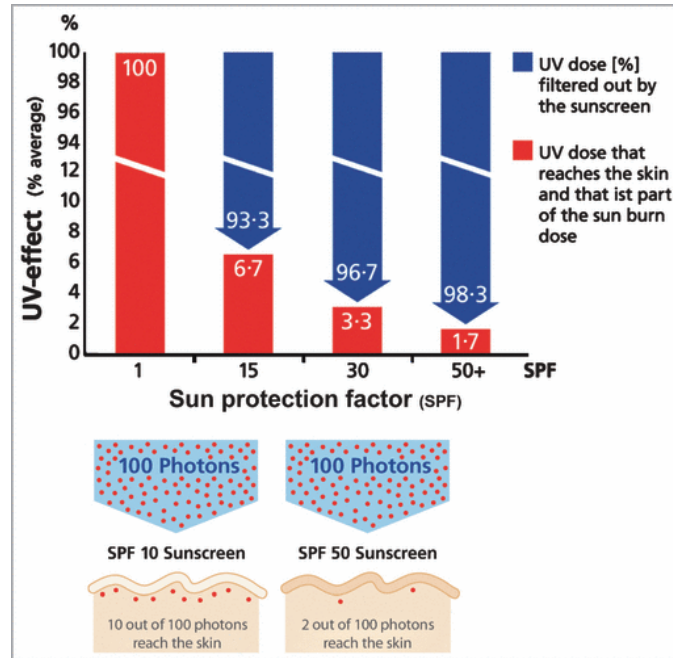
Minimalna eritemska doza (MED) definirana je kao ultraljubičasta (UV) doza koja proizvodi vidljiv eritem ili eritem s definiranim granicama na koži pojedinca. MED ovisi o konstitutivnoj boji kože, debljini kože, prethodnom izlaganju UV zračenju (zadebljanje kože i fakultativna pigmentacija) i imunološkom statusu.. MED testiranje provodi se izlaganjem površine kože nizu UV doza i očitavanjem rezultata nakon 16 do 24 sata.²⁸ Najniža doza koja uzrokuje eritem je MED za tu osobu, odnosno MED je vrijeme koje je potrebno da dođe do crvenila kože nakon izlaganja UV zračenju.³⁰

2.4. SPF

SPF (sun protection factor ili faktor zaštite od Sunčeva zračenja) je mjera koja pokazuje koliko je Sunčeve energije odnosno UV zračenja potrebno da bi došlo do stvaranja opekline na zaštićenoj koži (tj. koži koja je prekrivena kremom za sunčanje) u odnosu na količinu sunčeve energije koja je potrebna za stvaranje opekline na nezaštićenoj koži. Sve više je razvijena kriva teorija koja tvrdi da ukoliko je osobi potrebno sat vremena da dobije opeklina na nezaštićenoj koži da će mu zaštitni faktor 15 omogućiti boravak na suncu 15 puta dulje, odnosno 15 sati bez dobivanja opekline.⁴ Ta teorija je kriva jer se SPF faktor ne povezuje s vremenom izlaganja Suncu, već količinom izlaganja Suncu. Iako su te dvije stvari usko povezane, tu su ipak i drugi faktori koju uvjetuju količinu izloženosti Sunčevoj energije. Primjerice, ukoliko provedemo 1h na Suncu u 9h ujutro, izloženi smo jednakoj količini Sunčeva zračenja kada smo izloženi 15 minuta u 13h poslije podne. Intenzitet Sunca, osim toga povezan je s zemljopisnim položajem, odnosno veći intenzitet biti će na nižim geografskim širinama. Osim toga, vrijeme potrebno da dođe do opekline ovisi i o drugim faktorima, kao što je tip kože, količina nanasene kreme, učestalost nanašanja kreme, učinkovitost nanasene kreme.²



Slika 9. Primjer izlaganja Sunčevu zračenju sa i bez zaštitnih faktora povezan s ulaskom fotona u kožu⁴⁰



Slika 10. Porastom SPF faktora smanjuje se prodiranje UV zraka u ljudski organizam⁴¹

2.5. Izračun SPF-a

2.5.1. Individualan SPF (SPF_i)

Individualan SPF_i svakog proizvoda na ispitaniku se izračunava s individualnog MED-a na nezaštićenoj koži (MED_u) i individualnog MED-a na zaštićenoj koži (MED_p) prema jednadžbi: ³¹

$$SPF_i = MED_p / MED_u \quad (1)$$

2.5.2. Ukupan SPF

Ukupan SPF je aritmetička sredina individualnih SPF vrijednosti podijeljen s ukupnim brojem ispitanika (n), a izražava se na jednoj decimali:

$$SPF = (\sum SPF_i) / n \quad (2)$$

A prema tome može se izračunati i standardna devijacija:

$$s = \sqrt{[(\Sigma(SPF_i^2) - ((\Sigma SPF_i)^2 / n)) / (n - 1)]} \quad (3)$$

2.5.3. Interval 95% vjerojatnosti

Prema 95% intervalu SPF se izražava kao:

$$95\%CI = SPF - c \text{ prema } SPF + c \quad (4)$$

gdje se c računa prema :

$$c = (t \text{ vrijednost}) \cdot SEM = (t \text{ vrijednost}) \cdot s/\sqrt{n} \quad (5)$$

gdje su:

SEM- standardna greška srednje vrijednosti

n- ukupan broj ispitanika

t- *t* vrijednost iz tablice distribucije (1) s razinom vjerojatnosti $p= 0.05$ i sa stupnjevima slobode

$$v=(n-1)^{31}$$

Tablica 1. Tablica distribucije *t* vrijednosti

N	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
<i>t</i> vrijednost	2.262	2.228	2.201	2.179	2.160	2.145	2.131	2.120	2.110	2.101	2.093

t vrijednost se izračunava (kada je $n>4$) prema:

$$t = 2.03 + 12.7 / n^{1.75} \quad (6)$$

1.5.4. Primjer izračuna prilikom eksperimenta

Eksperimentalno određivanje SPF faktora kakvo ćemo imati u ovom radu, započinje testiranjem proizvoda na određenom broju ispitanika (n) koji ne smije biti manji od 10. Prvo se izračunava individualni SPF faktor prema jednadžbi (1). Nakon toga se izračunava ukupan SPF prema jednadžbi (2). Nakon što je to određeno, izračunava se i 95% interval vjerojatnosti prema jednadžbi (4) uz korištenje jednadžbe (4), (5) i (6) kao i tablicu distribucije (1). Odnosno dobiva se jednadžba:⁵¹

$$95\%CI_n = SPF_n - c_n \text{ prema } SPF_n + c_n \quad (7)$$

gdje je c_n :

$$c_n = t_n \times s_n / \sqrt{n} \quad (8)$$

Ako je vrijednost 95% intervala vjerojatnosti $> 17\%$ predviđenog SPF vrijednosti za proizvod, tada se testiranje nastavlja na dodatnim ispitanicima sve dok interval 95% vjerojatnosti nije manji od 17% predviđene vrijednosti. Ako se taj kriterij ne ispuni, tada se testiranje odbacuje.⁵¹

1.5.5. Predviđanje broja ispitanika


Ako je 95% interval vjerojatnost 17% veći od predviđenog, tada se može predvidjeti broj potrebnih ispitanika kako bi se ispunio taj kriterij:⁵¹

$$n^* = (t_n \times s_n / c_n)^2 \quad (9)$$

npr. nakon 10 ispitanika:

$$n^* = (2.262 \times s_n / 0,17SPF_n)^2$$

Tablica 2. Kategorije SPF faktora i preporuke označavanja⁴²

Sun protection category indicated on the label	Sun protection factor indicated on the label (SPF)	Recommended minimum UVA protection factor	Recommended minimum critical wavelength
Low protection	6	1/3 of the sun protection factor indicated on the label (SPF) 	370 nm
	10		
Medium protection	15		
	20		
	25		
High protection	30		
	50		
Very high protection	50 +		

3. Aktivni i neaktivni sastojci

3.1. Aktivni sastojci (UV filtri)

Da bi kreme za sunčanje pružale zaštitu moraju sadržavati određenu količinu aktivnih sastojaka, odnosno UV filtera. Koncentracija UV filtera proporcionalna je SPF vrijednosti, odnosno porastom koncentracije UV filtera dolazi do porasta SPF faktora. UV filtere dijelimo na kemijske i fizikalne. Kemijski UV filtri apsorbiraju UV zračenje te svaki od njih ima specifični apsorpcijski spektar dok ih fizikalni reflektiraju, raspršuju i apsorbiraju, obično su to aromatske konjugirane molekule s karbonilnim skupinama. Takve strukture omogućuju molekulama da apsorbiraju UV zrake visoke energije i oslobađaju zrake nižih energija čime se sprječava prodiranje UV zraka u kožu. Ono što je karakteristično za UV filtere je da prilikom izlaganja suncu nisu izloženi kemijskim promjenama, pa zadržavaju moć upijanja UV zraka bez značajne fotodegradacije (iznimka je AVOBENZONE koji je podložan fotodegradaciji pa se s njime kombinira neka vrsta kemijskog stabilizatora koji usporava njegovu razgradnju). No ipak s vremenom dolazi do razgradnje kemijskih spojeva u kremama za sunčanje (iako je to jako sporo)

zato one sadrže rok trajanja. Kemijski filteri su puno prihvaćeniji i korišteniji u kremama jer su rjeđi, bolje mazivosti i potrebno ih je dodati u manjim koncentracijama kako bi se dobile željene vrijednosti SPF-a. Glavni nedostatak kod kemijskih UV filtera je da se moraju nanositi barem 20 minuta prije izlaganja suncu, te mogu izazvati iritacije ili začepiti pore. Fizikalni UV filteri, kao što im i naziv govori stvaraju fizikalnu barijeru koja odbija UV zračenje. Oni su fotostabilni, ali nisu često korišteni jer na koži ostavljaju bijeli trag. Njihova prednost je da se mogu nanositi neposredno prije izlaganja Suncu, duže traju i manja je mogućnost iritacije, ali ipak vrlo lako se ispiru pa je potrebno obilnije nanošenje. Zato je najbolja zaštita kada prema sadrži obje vrste UV filtera.⁴³

Tablica 3. UV filteri dopušteni prema FDA, usporedba njihove kategorizacije i UVA/UVB zaštite⁴³

FDA Monograph Sunscreen Ingredients	Amount of Ray Protection		Chemical (C) or Physical (P)
	UVA	UVB	
Aminobenzoic acid (PABA)	○	●	C
Avobenzene	●	◐	C
Cinoxate	◐	●	C
Dioxybenzone	◑	●	C
Ecamsule	●	◐	C
Homosalate	○	●	C
Menthyl anthranilate	◑	●	C
Octocrylene	◐	●	C
Octyl methoxycinnamate	◐	●	C
Octyl salicylate	○	●	C
Oxybenzone	◑	●	C
Padimate O	○	●	C
Phenylbenzimidazole	○	●	C
Sulisobenzene	◑	●	C
Titanium dioxide	◑	●	P
Trolamine salicylate	○	●	C
Zinc Oxide	●	●	P

Protection Level: ● = extensive ◑ = considerable ◐ = limited ○ = minimal

Tablica 4. UV filteri dozvoljeni prema FDA i njihovo maksimalno doziranje⁴³

UV-filter	Maksimalno doziranje	Dopušteno korištenje	UVA	UVB
p-Aminobenzojeva kiselina	15% (EU: zabranjeno-listopad 2009.)	USA, AUS		X
<u>Padimate O</u>	8% (EU, USA, AUS) 10% (JP)	EU, USA, AUS, JP		X
Fenilbenzimidazol sulfonska kiselina	4% (US, AUS) 8% (EU) 3% (JP)	EU, USA, AUS, JP		X
Cinoksat	3% (US) 6% (AUS)	USA, AUS	X	X
Dioksibenzon	3%	USA, AUS	X	X
Oksibenzon	6% (US) 10% (AUS, EU)	EU, USA, AUS	X	X
<u>Homosalat</u>	10% (EU) 15% (US, AUS)	EU, USA, AUS		X
Mentil antrnilat	5%	USA, AUS	X	
<u>Oktokriken</u>	10%	EU, USA, AUS	X	X
<u>Oktinoksat</u>	7.5% (US) 10% (EU, AUS) 20% (JP)	EU, USA, AUS, JP		X
Oktil salicilat	5% (EU, USA, AUS) 10% (JP)	EU, USA, AUS, JP		X
Sulisobenzoat	5% (EU) 10% (US, AUS, JP)	EU, USA, AUS, JP	X	X
Trolamin salicilat	12%	USA, AUS		X
Avobenzon	3% (US) 5% (EU, AUS)	EU, USA, AUS	X	
Ecamsule	10%	EU, AUS	X	
Titan dioksid	25% (US) No limit (JP)	EU, USA, AUS, JP		X
Cink oksid	25% (US) No limit (AUS, JP)	EU, USA, AUS, JP	X	X

Tablica 5. Ostali UV filteri⁴³

UV-filter	Maksimalna koncentraciji	Dopušteno korištenje
4-metilbenzildien kamfor	4%*	EU, AUS
Tinosorb M	10%*	EU, AUS, JP
<u>Tinosorb S</u>	10% (EU, AUS) 3% (JP)*	EU, AUS, JP
Tinosorb A2B	10%	EU
Neo Heliopan AP	10%	EU, AUS
Meksoril XL	15%	EU, AUS
<u>Benzofenon-9</u>	10%	JP
Uvinul T 150	5% (EU, AUS) 3% (JP)*	EU, AUS
Uvinul A Plus	10% (EU, JP)	EU, JP
<u>Uvasorb HEB</u>	10% (EU) 5% (JP)*	EU, JP
Parsol SLX	10%	EU, AUS, JP
Amiloksat	10%*	EU, AUS

3.2. Neaktivni sastojci

Na konačan iznos SPF vrijednosti ne utječu samo aktivni sastojci, već i komponente tako zvane ne aktivne faze. Osim toga, ne aktivni sastojci utječu i na ostala svojstva proizvoda kao što su: koliko će se ravnomjerno proizvod nanijeti na kožu, koliko će se proizvod brzo osušiti ili upiti, kao i na konačan pH proizvoda. Primjer neaktivnih sastojaka koji utječu na svojstva proizvoda za sunčanje su antioksidanti. Antioksidanti mogu povećati SPF vrijednost, isto tako usporavaju fotostarenje, neutraliziraju reaktivne vrste kisika koje mogu uzrokovati fotokatalizu, pomažu u oporavku kože nakon izlaganja UVB zračenju. Ciklodekstrini su također jedni od sastojaka koji mogu pomoći u stabilizaciji nestabilnih UV filtera. Oni također pokazuju smanjenje fotorazgradnje, smanjuju prodiranje UVA i UVB zračenja u kožu. Slično ponašanje imaju i polimeri kao poliestar-8 i polikrilen S1. Oni su također poznati po tome pružaju vodootpornost krema za sunčanje. U kreme za sunčanje koje sadrže fizikalne UV filtere, obično se dodaju pigmenti željezovog oksida koji mogu povećati zaštitu od UV zračenja, ali s obzirom da ostavljaju neprozirni bijeli sloj nakon mazanja često se izbjegavaju. Sve je više istraživanja koja pokazuju da dodavanje različitih vitaminskih antioksidansa (npr.; retinol, alfa tokoferol, gama tokoferol, tokoferil acetat, askorbinska kiselina, askorbil tetraizopalmitat, askorbil palmitat, natrijev askorbil fosfat, ubikinon) i/ili mješavina određenih botaničkih antioksidansa (npr.; epigalokatehin-3-galat, b-karoten, vitis vinifera, silimarin, ekstrakt spiruline, ekstrakt kamilice i eventualno drugi) kremama za sunčanje učinkovito pomaže u smanjenju oštećenja od slobodnih radikala nastalih izlaganjem sunčevom ultraljubičastom zračenju, vidljivom svjetlu, blisko infracrveno zračenje i infracrveno-a zračenje.⁷

4. Metode za određivanje SPF faktora

4.1. COLIPA metoda

COLIPA metoda je metoda za određivanje SPF vrijednosti u proizvodima za sunčanje razvijena od strane stručnjaka specijalno za upotrebu u zemljama Europske unije, čime je prilagođena direktivama Europske unije u kozmetici. S obzirom na ostale metode COLIPA metoda ima:

1. Izvor sunčeve svjetlosti koji je definiran određivanjem spektra umjetne svjetlosti i relativnih intenziteta valne duljine u njemu
2. MED zaštićene i nezaštićene kože se očitava u isto vrijeme i to pod uvjetima koju su usporedivi
3. Za točnije i ponovljive rezultate MED-a koriste se kolorimetrijske metode i sustavi
4. Način nanošenja proizvoda je standardiziran
5. Dodana je dodatna kalibracija istodobnim testiranjem formulacije s višim zaštitnim faktorom (14-17) i nižim zaštitnim faktorom (11.5-14)
6. Testirana grupa ljudi mora imati sve tipove kože
7. Broj ispitanika mora biti između 10 i 20 ovisno o pojedinačnim rezultatima ispitanika (ako je pojedinačni rezultati ispitanika ne razlikuju više od 17% tada je prihvatljiv broj ispitanika manji od 20)

To je metoda koja se temelji na in vitro spektrofotometriji UV supstrata i konvoluciji dobivenih podataka o apsorbanciji sa spektrom djelovanja za krajnju točku in vivo postojanog tamnjenja pigmenta (PPD) kako bi se osigurao in vitro UVA zaštitni faktor (UVAPF) koji je u korelaciji s in vivo mjerenjem.²⁶

COMPARISON OF DIN 67501, FDA AND COLIPA METHODS FOR SPF TESTING			
	New DIN 67 501	FDA 1993	COLIPA
Applied amount	2 ± 0.04 mg/cm ²	2 mg/cm ²	2 ± 0.04 mg/cm ²
Test area	0.4 cm ²	1 cm ²	1 cm ²
Time between irradiation and measurement	20 ± 4 h	20 ± 4 h	20 ± 4 h
Light source	Defined spectrum, defined intensity max. 10 % variation	Sunlight or solar-simulator, defined spectrum and energy, max. variation 10 %	Solar-simulator, calibrated, defined spectrum and energy, max. variation 15 %
Number of volunteers	20, skin types I-III	20, skin types I-III	10-20, skin types I-III
Factor between single steps	1.25	1.25	1.25
Standards	SPF 14, SPF 15, alternative SPF 13 (CTFA)	SPF 4.47	SPF 4.0-4.5, SPF 14.0-17.0, alternative SPF 13 (CTFA)
Sun protection classification	< 4 low, < 8 medium, < 15 high, > 15 very high	under discussion < 4 minimal, < 8 moderate, < 12 high, < 20 very high, < 30 ultra high	no classification
Waterproof test		»waterproof« test »very waterproof« test	under development
Application time	20 Min.	15 Min.	15-30 Min. (minimum)

Slika 11. Usporedba DIN 67501, FDA i COLIPA metode za testiranje SPF vrijednosti (DIN 67501 je Njemačka metoda, FDA američka)¹²

4.2. UVA testna metoda

Sve veća potreba za zaštitom od UVA zračenja zahtijevala je razvoj metode kojom se može odrediti fizikalni i biološki utjecaj UVA formulacija krema za sunčanje na standardiziran, ponovljiv i validiran način.²⁸

4.3. Metode bazirane na mjerenju fizikalnih efekata

Fizikalni efekt krema za sunčanje može se lako odrediti s Diffey i Robson metodom: definirana količina proizvoda stavlja se na potpornu foliju, čija nepravilna površina simulira ljudsku kožu. UV svjetlo (240-400 nm s precizno definiranim spektralnim energijama) se prenosi kroz uzorak i foliju. Apsorpcija svjetla se određuje spektrofotometrijski. Pomoću integracije može se izračunati i UVA i UVB dio spektra. ³

4.4. Metode bazirane na biološkom efektu

Trenutno postoje četiri metode za određivanje biološkog efekta na UVA formulacijama krema za sunčanje:

1. Mjerenje UVA-induciranog eritema u senzibiliranoj koži (8-metoksipsoralenom, antracen..) ljudskih volontera (to se naziva PUVA metoda)
2. Mjerenje kasne eritermalne reakcije na neosjetljivoj koži nakon jako visoke doze UVA zračenja
3. Kolorimetrijsko mjerenje UVA-induciranog izravnog tamnjenja pigmenta
4. Kolorimetrijsko mjerenje reakcije kasnog tamnjenja na neosjetljivoj koži nakon vrlo visoke doze UVA zračenja³

4.5. In vitro određivanje SPF vrijednosti preko optometrije

Slojevi tankog filma formulacija za zaštitu od sunca pripremaju se na stakalcima od kvarcnog stakla. Uzorci se ozračuju solarnim simulatorom i mjeri se propusnost po valnoj duljini. In vitro SPF izračunava se množenjem MPF (monokromatski zaštitni faktor) sa spektrom eritemskog djelovanja. 2,00 mg/cm² uzorka se nanosi na 'Transpore' traku koja je pričvršćena na ploče od kvarcnog stakla kako bi se odredila odgovarajuća količina za transmisiju. Naneseni proizvod filtrira propuštenu svjetlost i mogu nastati lažni podaci zbog ograničenja sustava detektora.¹⁹

5. SPF metoda

Vrijednost SPF se tradicionalno procjenjuje koristeći SPF test koji koristi eritermalni odgovor kože na UV zračenje. Tada se SPF faktor računa na temelju energije potrebne za izazivanje minimalnog eritemskog odgovora sa i bez proizvoda za sunčanje nanesenog na kožu dobrovoljaca korištenjem ultraljubičastog zračenja obično iz umjetnog izvora.⁴

5.1. Povijest SPF metode

Faktor zaštite od sunca određen in vivo sada je univerzalni pokazatelj učinkovitosti proizvoda za zaštitu od sunca protiv opekline. Povijesno gledano, prve poznate studije koje su uspostavile osnovu za SPF ili Index zaštite počele su 1930-ih, a objavili su ih 1940-ih H. Blum i sur. a 1950-ih R.Schulze. Ove studije i drugi radovi standardizacija i znanstvenih grupa doveli su do povijesne definicije minimalne eritemske doze i SPF-a te do prve standardne metode za određivanje i označavanje SPF-a koju su izdali FDA i SAD 1978. To je uslijedilo 1984. prema normi DIN67501 u Njemačkoj koja se uglavnom primjenjivala u Europi. Ova dva standarda uglavnom su se razlikovala u pogledu vrste korištenog UV izvora (ksenonska lučna lampa ili prirodna sunčeva svjetlost i živina lampa) i stope nanošenja proizvoda na kožu (2,0 i 1,5 mg/cm²) što dovodi do nekih odstupanja u izmjerenim zaštitnim faktorima. Svi naknadno izdani standardi zadržali su izvor umjetnog ksenona i količinu primjene od 2,0 mgcm⁻². Slične standarde kao FDA izdalo je Udruženje za standarde Australije (SAA) 1986. godine, što je uključivalo testiranje SPF-a i otpornosti na vodu, te Udruga japanske kozmetičke industrije (JCIA) 1991. Ove su metode obnovljene 1986., 1993. ., 1997., i 1998. (australski standardi) i 1999. (japanski standardi). Južnoafrički ured za standarde predstavio je sličnu metodu 1992. koja je obnovljena 2002.. Novozelandske norme pridružile su se australskim normama te iznijele njihovu zajedničku novu verziju 1993. i njihovu obnovljenu verziju 1998. Europska kozmetička, toaletna i parfumerijska udruga (COLIPA) u svojoj metodi SPF testa iz 1994. uvela je nove tehnike za okarakteriziranje i specificiranje spektra emisije UV izvora i za kolorimetrijski odabir

tipova kože. U isto vrijeme, predložena su dva proizvoda s visokim zaštitnim faktorom kako bi se uzelo u obzir povećanje SPF vrijednosti. Australaska norma iz 1998. i novi standard DIN iz 1999. usklađeni su s COLIPA 1994. metodom. Nedavno su Koreja, Kolumbija i Mercosur usvojili metode koje se odnose na standarde FDA ili COLIPA. Kina također razmatra usvajanje SPF standarda. COLIPA, JCIA i CTFA-SA započeli su raspravu o usklađivanju metode mjerenja SPF-a 2000. godine. Zajednički dogovor o međunarodnoj metodi SPF testa postignut je u listopadu 2002. godine. Godine 2005. CTFA je izrazio interes za zajedničkom međunarodnom SPF metodologijom s COLIPA-om, JCIA-om i CTFA-SA. Ova ažurirana verzija je rezultat rasprava koje su započele u lipnju 2005. Uvedene su manje izmjene i dopune smjernica koje odražavaju i prevode iskustvo tehničara i stručnjaka.⁸

5.2. Etičko razmatranje

Osnovni principi testiranja na ljudima opisani su u sljedećim dokumentima:

1. DEKLARACIJA SVJETSKOG LIJEČNIČKOG UDRUŽENJA IZ HELSINKIJA UKLJUČUJUĆI NJENE RAZLIČITE REVIZIJE (1964.-1975.-1983.-1996.-2000.-2002.-2004.)
2. NACIONALNI PROPISI U VEZI S LJUDIMA

U skladu s ovim osnovnim načelima, naglašavaju se sljedeće točke jer se izravno odnose na studije mjerenja SPF-a:

1. Mjerenje zaštite od sunca provodi se kako bi se procijenila razina zaštite koju pravilno naneseni kozmetički proizvodi pružaju potrošačima izloženim sunčevoj svjetlosti. Takve studije ne bi trebale ostavljati štetne, dugotrajne učinke na dobrovoljce
2. Testove mora izvoditi obučeno i kvalificirano osoblje kako bi se izbjeglo bilo kakvo oštećenje kože dobrovoljaca uključenih u test
3. Prije početka bilo kakvog ispitivanja, nadzornik laboratorija za ispitivanje mora imati odgovarajuće informacije o proizvodu koji se testira, njegovoj pretkliničkoj procjeni sigurnosti i svim mogućim upozorenjima
4. Djeca ne smiju sudjelovati u testovima mjerenja SPF-a¹³

5.3. Opis metode

Međunarodna SPF metoda ispitivanja je laboratorijska metoda koja koristi solarni simulator ksenonske lučne svjetiljke definiranog i poznatog izvora. Da bi se odredio faktor zaštite od sunca, induciraju se inkrementalni nizovi odgođenih eritemskih odgovora na određenom broju malih pod-mjesta na koži odabranih ispitanika/dobrovoljaca . Test je ograničen na područje leđa između struka i linije ramena. Područje kože svakog ispitanika izloženo je ultraljubičastom svjetlu bez ikakve zaštite, drugo područje izloženo je nakon nanošenja uzorka proizvoda za zaštitu od sunca. Nadalje, barem još jedno područje izloženo je nakon nanosa referentne formulacije za zaštitu od sunca (koji se odabire s obzirom na očekivanu vrijednost SPF-a). Postupnim povećanjem UV doze stvaraju se različiti stupnjevi eritema kože (crvenilo zbog površinske vazodilatacije). Ove odgođene eritemske reakcije vizualno se procjenjuju intenzitetom crvenila 16 do 24 sata nakon izlaganja UV zračenju, prema procjeni obučenog edukatora. Minimalna eritemska doza za nezaštićenu kožu i MED dobiven nakon primjene proizvoda za zaštitu od sunca moraju se odrediti na istom ispitaniku istog dana. Više od jednog proizvoda može se testirati na istom dobrovoljcu u bilo kojem testu. Individualni faktor zaštite od sunca za svakog ispitanika izračunava se kao omjer MED_p/MED_i. Faktor zaštite od sunca za proizvod je aritmetička sredina svih važećih SPF_i rezultata svakog subjekta u testu i treba ga izraziti na jedno decimalno mjesto. Najmanje 10 valjanih rezultata i najviše 20 koristi se za izračun SPF-a. Granice pouzdanosti (95% interval pouzdanosti) za srednji SPF trebaju biti unutar raspona od +/- 17% srednjeg SPF-a. Svaki test mora uključivati odgovarajuću referentnu formulaciju za zaštitu od sunca s visokim ili niskim SPF-om, ovisno o očekivanom SPF-u ispitivanih formulacija. Dobiveni SPF za SPF formulaciju kreme za sunčanje trebao bi biti unutar očekivanog raspona.⁵¹

5.4. Ispitanici

5.4.1. Tip kože ispitanika

Fototip kože subjekata uključenih u SPF ispitivanje mora biti fototip I, II ili III prema Fitzpatricku ili mora imati ITA vrijednost veću od 28° prema kolorimetrijskim metodama, te koža ne smije biti potamnijela na području testiranja. Obučeni znanstvenik ili tehničar trebao bi pregledati svakog ispitanika kako bi osigurao da ne postoji stanje koje bi dobrovoljca moglo dovesti u opasnost i da rezultati testa ne mogu biti ugroženi nepovoljnim stanjem kože kao što su oštećenja od sunca, mrlje i prethodna povijest abnormalnog odgovora na sunce.



Slika 12. Ispitanik s fotoosjetljivom reakcijom⁴⁴

5.4.2. Učestalost sudjelovanja u testiranju

Budući da je nakon testiranja potrebno dosta vremena kako bi se poništilo tamnjenje kože koje je rezultat prethodnog testa, mjesto za testiranje koje je bilo izloženo UV zračenju ne bi se smjelo koristiti dva mjeseca. Informirani, pismeni pristanak mora se dobiti od svih dobrovoljaca.²⁴

5.4.3. Broj ispitanika

Za svako ispitivanje mora se zabilježiti najmanje 10 važećih rezultata ili najviše 20 važećih rezultata. Iz izračuna srednjeg SPF-a može se isključiti najviše pet pojedinačnih rezultata, ali svako isključenje mora biti opravdano. Svi pojedinačni rezultati moraju biti uključeni u izvješće, čak i ako nisu uključeni u izračun srednjeg SPF-a. Najmanje 10 važećih rezultata je dovoljno samo ako je 95% interval pouzdanosti srednjeg SPF-a unutar $\pm 17\%$ srednjeg SPF-a. Inače, broj ispitanika se postupno povećava od 10 do ispunjenja statističkog kriterija. Ako statistički kriterij nije ispunjen nakon 20 važećih rezultata od najviše 25 subjekata, test će biti odbijen.²⁴

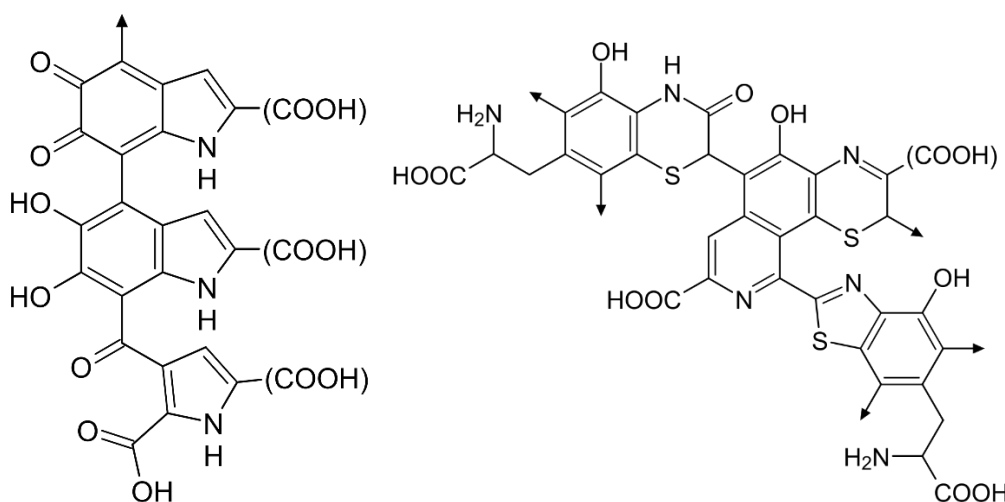
5.4.4. Fototip kože

Sustav klasifikacije fototipa kože razvio je Thomas B. Fitzpatrick 1975. godine. Temelji se na osjetljivosti kože na opekline od sunca i sposobnosti kože da tamni. Fototip kože može predvidjeti rizik od raka kože. Fototipovi se kreću od I do VI, a prvenstveno su vezani uz boju kože. Boja kože određena je količinom melanina u koži, što je kontrolirano genetski. Melanin je glavna linija prirodne zaštite kože od štetnih ultraljubičastih sunčevih zraka.



Slika 13. Različiti tipovi kože⁴⁵

Iako melanin pruža zaštitu od UV zračenja, previše melanina može spriječiti korisnu apsorpciju UV svjetla za sintezu vitamina D. Stoga diljem svijeta postoji niz tipova kože koji su povezani s intenzitetom sunčeve svjetlosti u okruženju predaka. Sisavci imaju dvije vrste melanina, poznate kao eumelanin i feomelanin, koji su prisutni u koži i kosi. Eumelanin je crne ili smeđe boje i njegova se prisutnost može lako uočiti. Poznato je jer određuje koliko je koža tamna. Nasuprot tome, feomelanin je crvene ili žute boje, a ljudi s puno feomelanina imaju svjetliju kožu i često pjegice.²⁴



Slika 14. Molekulska formula eumelanina i fenomelanina⁴⁶

Feomelanin se pretvara u melanin kada melanociti rade na visokoj razini. Međutim, kada gen koji kontrolira pretvorbu feomelanina u melanin ne radi učinkovito, osoba ima veću količinu feomelanina, što se manifestira kao svjetlija koža. Ovo je jedna od nekoliko genetskih varijacija koje mogu rezultirati svijetlom kožom. Fototip kože također se može objektivno izmjeriti pomoću instrumenta za analizu kože.












Ljestvica fototipa kože započela je sa samo tri fototipa, primjenjiva na svjetliju kožu. Trenutna Fitzpatrickova klasifikacija tipa kože ima šest tipova u rasponu od izrazito svijetle (tip I) do vrlo tamne (tip VI). Fototipovi su sljedeći:

- Tip I-Ivory bijele boje, lako gori, nikad ne tamni
- Tip II-Bijelo, lako izgori, vrlo teško tamni
- Tip III-Bijelo, umjereno gori, umjereno tamni

- Tip IV-Bež ili maslinasto, minimalno gori, umjereno i lako tamni
- Tip V-Umjereno smeđa, rijetko gori, obilno tamni
- Tip VI-Tamno smeđa ili crna, nikad ne gori, obilno tamni

Osobine kao što su boja kose, boja očiju i reakcija kože na izlaganje suncu uzimaju se u obzir pri određivanju fototipa kože. Fototip kože može se koristiti u području dermatologije za procjenu minimalne doze eritema (MED) za početnu dozu fototerapije. Fototerapija je tretman koji se koristi za neka stanja kože kao što su psorijaza, ekcem i žutica u novorođenčadi. Tipovi kože IV-VI izloženi su riziku od hiperpigmentacije ili hipopigmentacije kod laserskog uklanjanja dlačica i laserskog resurfacinga. Također mogu imati promjene pigmentacije s kemijskim pilingom. Sredstva za izbjeljivanje mogu uzrokovati komplikacije za tipove kože IV-VI, uključujući suhoću, iritaciju i hiperpigmentaciju. Neka su istraživanja pokazala da melanin možda nije jedini čimbenik koji određuje osjetljivost kože na UV svjetlo. Na primjer, kod osoba s bolešću koja se zove vitiligo, koža postaje depigmentirana na nekim područjima. Međutim, depigmentirana koža se ponaša slično kao potpuno pigmentirana koža pacijenta izloženog suncu. Drugo istraživanje pokazalo je da osobe s albinizmom nemaju veću učestalost melanoma u usporedbi s osobama s pretežno crvenim pigmentima, iako njihovoj koži potpuno nedostaje melanina. Postoje neki dokazi da kemijski intermedijeri putova sinteze melanina također mogu pridonijeti fotozaštiti, nudeći dimenziju izvan one opisane ljestvicom fototipa kože.⁴⁶

WHAT IS YOUR FITZPATRICK SCALE SKIN TYPE?

What Is Your Fitzpatrick Scale Skin Type?	Celebrity Match	Minimum SPF	Details
I Ivory skin Never tans, always burns		SPF 30+ everyday	 Ivory skin that burns very easily and doesn't tan. Likely to have light blonde or red hair and light eyes. Celebrity Match: Emma Stone, Anne Hathaway, Cate Blanchette
II Fair to light Usually burns, tans with difficulty.		SPF 30+ everyday	 Fair to light skin that will usually burn in the sun, and has difficulty tanning. Celebrity Match: Drew Barrymore, Jennifer Aniston, Brad Pitt, Zach Efron
III Fair to beige Sometimes burns, tans gradually.		SPF 30+ everyday	 Fair to beige skin with golden undertones that will sometimes burn and will tan gradually. Celebrity Match: Sandra Bullock, Demi Moore, John Stamos
IV Light brown, Rarely burns, easily tans		SPF 30+ everyday	 Olive or light brown skin that will tan easily and rarely burn. Celebrity Match: Eva Mendez, Jessica Alba, Taylor Lautner
V Dark brown Tans without burning		SPF 15+ everyday	 Dark brown skin that will tan without burning. Celebrity Match: Tyra Banks, Mindy Kaling, Barack Obama
VI Deep brown Never burns and quickly tans		SPF 15+ everyday	 Deeply pigmented dark brown skin that never burns and will tan very quickly. Celebrity Match: Michelle Obama, Lupita Nyong'o, Kanye West

sungrubbies
EST. 1997

Slika 15. Fitzpatrikova skala tipova kože⁴⁷

5.4.5. Selekcija voluntera

Odabir dobrovoljaca provodi dermatolog prema Helsinškoj deklaraciji iz 1964. (s naknadnim izmjenama) gdje ne smiju sudjelovati:

- djeca i osobe mlađe od 18 godina ili starije od 70 godina;
- trudnice i dojilje;
- subjekti koji su fotoosjetljivi
- subjekti koji koriste protuupalne lijekove;

- subjekti s dermatološkim stanjima
- subjekti s poviješću abnormalne reakcije na sunce;
- ispitanici koji su koristili solarij u prethodnih osam tjedana prije SPF testiranja;
- ispitanici koji su bili izloženi suncu na području leđa u prethodnih osam tjedana prije SPF testiranja
- subjekti koji imaju tragove ili mrlje u području testiranja;
- ispitanici s postojećim oštećenjima od sunca u području ispitivanja;
- ispitanici koji imaju prekomjernu dlakavost na području na testu na dan testiranja (može biti obrijan do 3 dana prije dana testiranja);
- subjekti koji imaju skeletne izbočine i ekstremna područja zakrivljenosti u testnom području⁵¹

5.4.6. Kriterij odbacivanja

Rezultati ispitivanja će se odbaciti ako:

1. Nakon niza ispitivanja na subjektu ne dobivamo eritemski odgovor ni na jednom podmjestu
2. Eritemski odgovori nasumično izostaju 16 do 24 sata nakon izlaganja što ukazuje na neravnomjerno nanošenje proizvoda, nekonstantno svjetlosno zračenje ili nestabilan proizvod
3. Sva podmjesta pokazuju eritemski odgovor 16 do 24 sata nakon izlaganja
4. Ako se rezultati moraju odbiti kod više od pet ispitanika tada je cijeli test nevažeći⁵¹

5.5. Područje ispitivanja

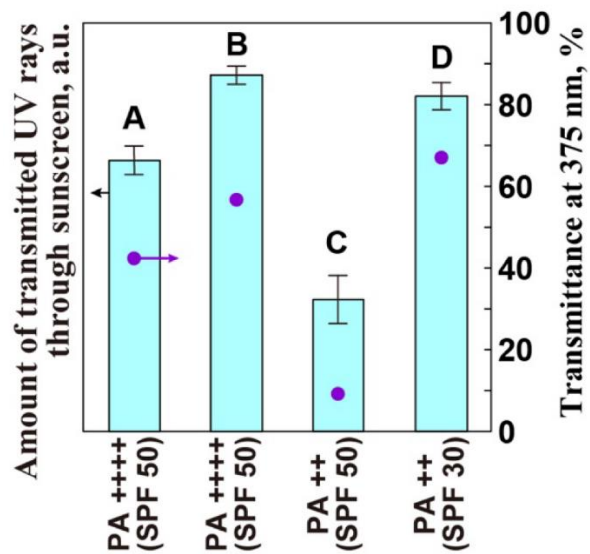
Kao područje provođenja ispitivanja izabrana su leđa. Mjesta testiranja ocrtavaju se na području između lopatica i struka. Prilikom provođenja eksperimenta treba izbjegavati nanošenje uzorka na izbočine na koži ili na jako zakrivljena i ne ravna područja.⁵¹

5.6. Izvor ultraljubičastog zračenja

UV solarni simulator mora emitirati kontinuirani spektar bez praznina ili ekstremnih vrhova emisije u UV području. Izlaz iz UV solarnog simulatora mora biti stabilan, ujednačen preko cijele izlazne zrake i prikladno filtriran kako bi se stvorila spektralna kvaliteta koja je u skladu s potrebnim granicama prihvatljivosti. Kako bi se osiguralo da su odgovarajuće količine UVA zračenja uključene u spektar solarnog simulatora kroz cijeli UVA raspon, ukupni radiometrijski udio UVA II (320-340nm) zračenja simulatora mora biti jednak ili veći od 20% ukupnog UV zračenja (290-400 nm) zračenje. Dodatno, UVA I (340-400nm) zračenje mora biti jednako ili veće od 60% ukupnog UV zračenja. Spektralna specifikacija izvora opisana je u smislu kumulativne eritemske učinkovitosti uzastopnim pojasima valnih duljina od 290 nm do 400 nm. Eritemska učinkovitost svakog pojasa valne duljine izražava se kao prethodna vrijednost ukupne eritemske učinkovitosti od 290 do 400 nm ili kao relativna kumulativna eritemska učinkovitost. Kada je ukupno zračenje jako, povremeno se može izazvati osjećaj topline ili boli u ozračenoj koži ispitanika. Stoga se mora potvrditi da maksimalno zračenje koje će se koristiti neće izazvati osjećaj topline u koži, prije samog provođenja SPF testa. U nekim slučajevima utvrđeno je da je zračenje od ukupne radijancije od 160 mW/cm² izazvalo ovaj osjećaj u većini područja na leđima ispitanika, dok ga zračenje od 120 mW/cm² nije izazvalo. Kada se veliki snop UV izvora koristi za istovremeno izlaganje nekoliko pod-mjesta nizom ozračivanja i mijenjanjem vremena izlaganja; intenzitet snopa treba biti što ujednačeniji. Minimalno zračenje snopa, u bilo kojoj točki, ne smije biti više od 10% niže od maksimalnog zračenja snopa u bilo kojoj točki. Ako varijacija premašuje 10%, potrebno je izvršiti odgovarajuću kompenzaciju za različito zračenje u vremenu izlaganja na svakom pod-mjestu. Prije izlaganja UV zračenju svakog ispitnog mjesta, UV zračenje treba provjeriti radiometrom kalibriranim prema spektroradiometrijskim mjerenjima izlaza solarnog simulatora.²⁷



Slika 16. Prikaz UV solarnog simulatora⁴⁸



Slika 17. Primjer prenesenih UV zraka kroz kreme za sunčanje⁴⁹

5.7. SPF formulacije

Referentna formulacija treba se koristiti kao metodološka kontrola za provjeru postupka ispitivanja. Stoga se jedna referentna formulacija mora mjeriti istog dana kada se testiraju proizvodi. Ako srednja vrijednost SPF-a dobivena u bilo kojem testu ne spada unutar indikativnog raspona referentnih vrijednosti ili intervala pouzdanosti od 95% srednje vrijednosti SPF-a, onda se cijeli test mora odbiti. Najmanje jedna referentna formulacija za zaštitu od sunca mora se koristiti po ispitivanju. Hoće li se koristiti referentna formulacija s niskim ili visokim zaštitnim faktorom ovisi o očekivanom SPF-u testiranih proizvoda. Ako se koristi referentna formulacija s visokim zaštitnim faktorom, nema potrebe za uključivanjem referentne formulacije s niskim zaštitnim faktorom u test iako možda postoje testni proizvodi s niskim zaštitnim faktorom. Tablica koja prikazuje rezultate testiranja proizvoda s niskim zaštitnim faktorom stoga može navesti dvije različite referentne formulacije: raspon za svaku mora biti unutar indikativnog raspona. Preporučeni raspon SPF referentnih krema za sunčanje su sljedeći:⁵¹

Tablica 6. Preporučeni raspon referentnih formulacija

Srednja SPF vrijednost	Donja granica	Gornja granica
16,6	14,2	19,0
16,2	13,8	18,7
5,1	4,4	5,9

5.8. Kvaliteta proizvoda i nanošenje

Količina nanesenog proizvoda i ujednačenost razmazivanja po ispitivanim mjestima utječe na točnost rezultata ispitivanja. Nanošenje proizvoda, izlaganje UV zračenju i MED procjena trebaju se provoditi u stabilnim uvjetima, sa sobnom temperaturom između 18 i 26 stupnjeva Celzijusa. Minimalna površina mjesta nanošenja proizvoda mora biti 30 cm², a najveća 60 cm². Nezaštićeno mjesto ispitivanja koje se koristi za određivanje MEDu mora biti u neposrednoj blizini mjesta ispitivanja MEDp. Položaj ispitnih proizvoda i referentnih mjesta za testiranje kreme za sunčanje mora biti nasumično raspoređen na leđima za cijelu ispitnu grupu subjekata

kako bi se smanjila sustavna pogreška koja proizlazi iz anatomskih razlika u koži. Između rubova susjednih mjesta nanošenja proizvoda mora postojati minimalni razmak od 1 cm. Prije nanošenja proizvoda, područje testiranja može se očistiti, ali samo pomoću suhe pamučne blazinice ili nečeg sličnog. Mjesto nanošenja proizvoda treba se ocrtati markerom za kožu i šablonom od ne upijajućeg materijala. Količina ispitnog proizvoda i referentne formulacije za zaštitu od sunca koja se nanosi na kožu prije nanošenja mora biti $2,00 \text{ mg/cm}^2 \pm 2,5 \%$. Osjetljivost vage treba biti najmanje 0,0001g s najmanje 4 decimalna mjesta. Prilikom vaganja proizvoda i prije nanošenja na kožu potrebno je paziti da se spriječi gubitak hlapljivih komponenti isparavanjem. Važno je da se ukupna količina izvaganog proizvoda prenese na mjesto testiranja. Tekući proizvodi koji se sastoje od dva sloja moraju se prije vaganja snažno protresti kako bi se osigurala homogena disperzija. Kako bi se pomoglo ravnomjernom prekrivanju, kapljice proizvoda treba nanijeti štrcaljkom/pipetom, a zatim raširiti po cijelom testnom mjestu uz lagani pritisak pomoću jastučića za prste. Vrijeme nanošenja treba biti u rasponu od 20 do 50 sekundi, ovisno o površini i lakoći nanošenja proizvoda. U slučaju praškastih proizvoda, alikvote praha treba prenijeti na kožu pomoću lopatice. Nakupljeni prah se utapka, a zatim prstom rasporedi po cijelom testnom mjestu. Alternativno, prethodno napunjeni kozmetički aplikator može se koristiti umjesto prsta. U ovom slučaju, važno je provjeriti ostaje li 2 mg/cm^2 testnog praškastog proizvoda na koži nakon nanošenja. Ispitanici bi trebali biti u ležećem položaju kako bi spriječili da uzorci padnu s površine. Izlaganje ispitnog mjesta slijedu UV doza počinje 15 do 30 minuta nakon nanošenja proizvoda. Svako vanjsko izlaganje mjesta testiranja UV svjetlu treba izbjegavati tijekom tog razdoblja i tijekom razdoblja od 24 sata prije izlaganja kao i 24 sata nakon izlaganja.⁹

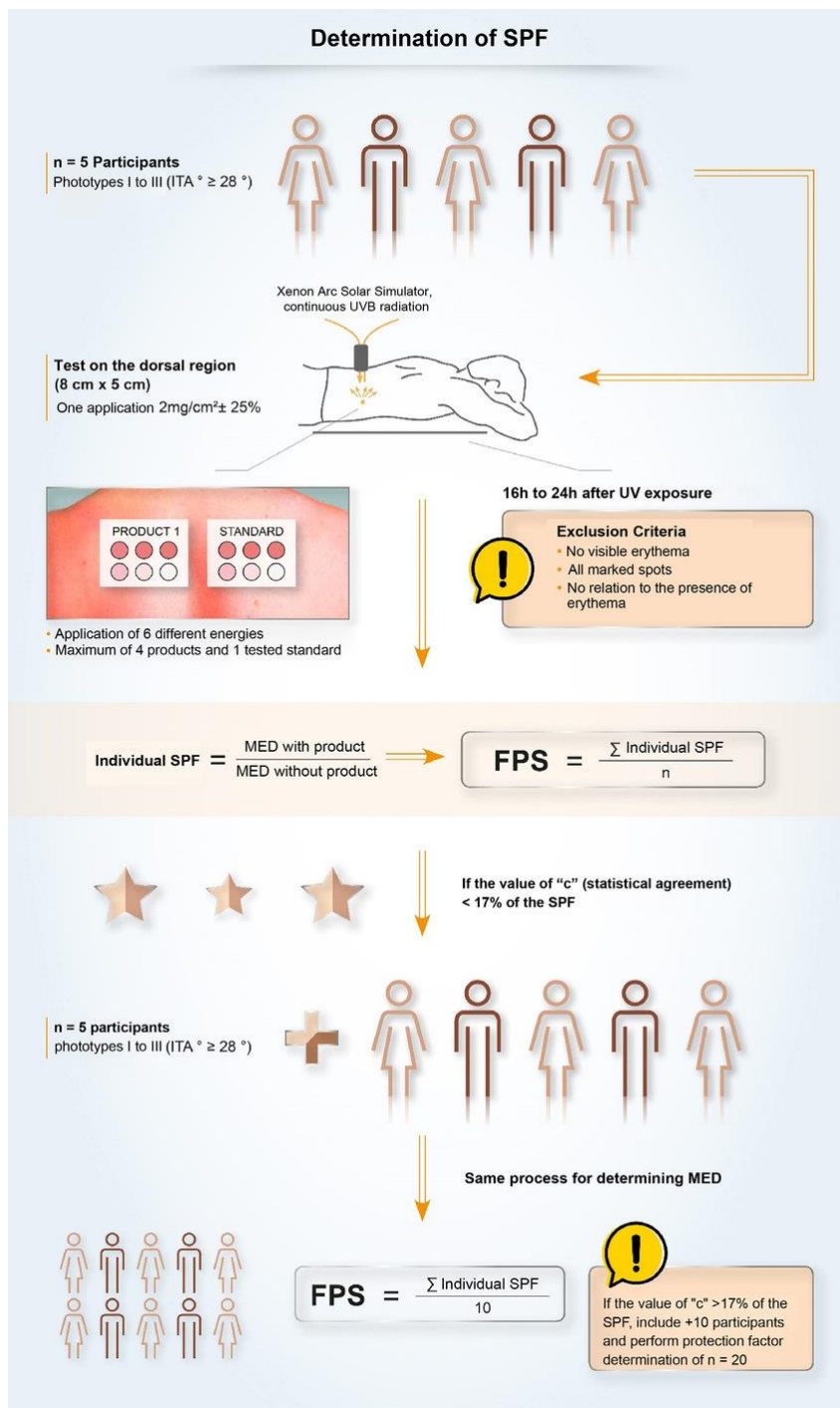


Slika 18. Primjer testiranja različitih prirodnih zaštita⁴⁴

5.9. UV izlaganje

Kada se ispitanik izlaže UV zračenju, može sjediti ili biti u ležećem položaju. Ispitanika treba postaviti tako da se cijela količina testnog proizvoda ravnomjerno nanese i ostane na koži. Položaj mora biti isti prilikom nanošenja proizvoda za izlaganje UV zračenju i za MED procjenu. Ispitna pod-mjesta namijenjena izlaganju UV zračenju trebaju biti bez mrlja i imati ujednačen ton kože. Šablona koja ne upija UV zračenje može se koristiti za označavanje pod-mjesta izloženosti zračenju. Minimalna prihvatljiva površina svakog pod-mjesta je $0,5 \text{ cm}^2$. Minimalni razmak između svakog pod-mjesta izloženosti trebao bi biti najmanje 1 cm, a svako pod-mjesto mora imati istu površinu. Prije početka glavnog ispitivanja možda će biti potrebno odrediti privremeni pojedinačni MEDu kako bi se centrirali rasponi UV doza za izlaganje MEDu i MEDp. To se može izvesti ili primjenom preliminarne serije izlaganja UV zračenju do 1 tjedan prije testa ili procjenom privremenog MEDu kolorimetrijskom tehnikom bez izlaganja. Za nezaštićenu kožu, središte ukupnog raspona doze UV zračenja trebalo bi odrediti pomoću privremene MEDu subjekta ili procijenjene MEDu. Najmanje 5 pod-mjesta usredotočenih na očekivani MEDp bit će izloženo inkrementalnim UV dozama koristeći preporučenu geometrijsku progresiju od 1,12 ili 1,25. Maksimalna geometrijska progresija od 1,12 mora se koristiti za očekivani SPF veći od 25. Manja geometrijska progresija se može koristiti, ali također mora biti

dosljedna kroz niz izlaganja. Nakon izlaganja UV zračenju, referentni i testni proizvodi mogu se nježno ukloniti pomoću jastučića vate.¹⁰



Slika 19. Shema SPF metode⁴⁶

5.10. Postupak procjene MED

Minimalna eritemska doza za nezaštićenu kožu (MED_u), ona za zaštićenu kožu (MED_p) i ona za referentnu formulaciju za zaštitu od sunca utvrđuju se istog dana. MED se procjenjuje kada je eritemski odgovor optimalan 20 +/- 4 sata nakon izlaganja UV zračenju. Tijekom vremenskog intervala između izlaganja UV zračenju i MED procjene, ispitanik mora izbjegavati bilo kakvo dodatno izlaganje UV zračenju. MED se procjenjuje vizualno. Vizualna procjena treba biti obavljena pri dovoljnom i ravnomjernom osvjetljenju. Preporuča se najmanje 450 luksa. Promatračev vid treba se provjeriti ima li normalan vid boja, pa se zato preporučuje godišnja provjera oštine vida. Preporučuje se promatranje eritemskih odgovora na "slijepi" način, odnosno : promatrači eritemskih odgovora na bilo kojem subjektu ne bi smjeli biti iste osobe kao i osobe koje su vršile nanašanje proizvoda i izlaganje.³ Podaci o ispitivanju bit će odbijeni u sljedećim okolnostima:

1. Niz izloženosti ne uspijeva na subjektu izazvati eritemski odgovor ni na jednom pod-mjestu 20 +/- 4 sata nakon izlaganja.
2. Eritemski odgovori unutar serije izlaganja nasumično izostaju 20 +/- sati nakon izlaganja.
3. Sva pod-mjesta u seriji izlaganja pokazuju eritemski odgovor 20 +/- 4 sata nakon izlaganja.

Kada se jedan ili više gornjih kriterija odnosi na seriju izloženosti pod-mjesta na nezaštićenoj koži ili na referentna mjesta izloženosti kreme za sunčanje, tada se svi podaci za sve proizvode moraju odbaciti. Kada se jedan ili više gornjih kriterija odnosi na seriju izloženosti tretiranog proizvoda, tada se svi podaci za taj proizvod o toj temi moraju odbaciti. Ako se podaci moraju odbaciti na više od 5 ispitanika, tada se mora odbaciti cijeli test. MED se izražava u jedinicama energije (J/m², mJ/cm²) ili MED jedinicama ili vremenu (sekunde). Jedinice vremena mogu se koristiti samo ako je brzina toka solarnog simulatora konstantna tijekom ispitivanja. Sva mjerenja zračenja koja se provode za određenu seriju moraju se provesti pomoću istog radiometra.²⁹

5.11. Izračun SPF faktora i statistika

Kao što je prethodno spomenuto izračun konačnog SPF faktora radi se izračunom aritmetičke sredine individualnih SPF faktora (SPFi). Minimalan broj individualnih vrijednosti SPF-a mora biti najmanje 10, a najviše 20. Stvarni broj testiranih subjekata definiran je kao broj potreban za dobivanje srednjeg SPF-a s intervalom pouzdanosti od 95% koji spada u raspon od +/-17% izmjenjenog srednjeg SPF-a.³²

5.12. Prikaz rezultata

- Preporuča se da izvještaj o rezultatima sadrži sljedeće stavke:
 - Informacije o ispitaniku (broj, ime ili identifikacijski kod, tip kože ili ITA vrijednost)
 - Pojedine MED za nezaštićenu kožu, MED za kožu zaštićenu proizvodom i MED referentnog uzorka
 - Individualne SPF vrijednosti za svaki proizvod i za svaki referentni uzorak
 - Podatke o tehničaru koji je provodio ispitivanje
 - Zajednički SPF rezultat i individualne SPF vrijednosti izražene na jednu decimalu uključujući sve dobre i odbačene vrijednosti
 - Standardno odstupanje u intervalu od 95%
 - Podatke o UV izvoru
 - Ime proizvoda, kod i očekivanu SPF vrijednost⁵¹

6. Eksperimentalni dio

6.1. Cilj

Cilj ovog djela rada je eksperimentalno dokazati da teorijski određeni faktor zaštite od sunca ostaje unutar dopuštenih, prihvatljivih granica. Eksperiment se provodio u suradnji s firmom Meyer d.o.o. koja se uz ostale kozmetičke proizvode bavi proizvodnjom proizvoda za zaštitu od sunčanja. Osim faktora zaštite od Sunca, još se određivao UVA i UVB faktor da bi se provjerilo zadovoljava li proizvod/formulacija određene, pripisane norme i zahtjeve. Istraživanje je provedeno pod nadzorom liječnika specijalista dermatologije. Također istraživanje je provedeno u skladu s normom EN_ISO_24444:2022A1.

6.2. Priprema uzorka i teorijsko određivanje zaštitnog faktora I UVA faktora

Za provođenje eksperimentalnog djela ovog rada pripremili smo ukupno tri uzorka. Dva uzorka istog zaštitnog faktora (30), ali različitih formulacija, jedna formulacija je losion, a druga je sprej, odnosno mlijeko za sunčanje. Te uzorke smo pripremili kako bi smo promatrali kako različite formulacije odnosno baze utječu na konačan rezultat SPF i UVA faktora, odnosno možemo li na temelju utjecaja različitih sastojaka zaključiti potiču li ili smanjuju određene baze djelovanje UV filtera. Kao treći uzorak pripremili smo kremu za sunčanje zaštitnog faktora 50, što nam je služilo za usporedbu što će se dogoditi povećanjem koncentracije UV filtera.

Prvi korak prije pripreme uzorka je teorijski izračun potrebne koncentracije UV filtera, odnosno teorijsko određivanje SPF/UVA faktora. Da bi smo teorijski odredili potrebne koncentracije UV filtera, koristili smo se BASF simulatorom. BASF simulator je program koji na temelju koncentracije dodanih UV filtera može odrediti zaštitni faktor i predvidjeti UVA odnosno UVB faktor. BASF simulator radi tako da odmah nudi dozvoljene UV filtre i raspon koncentracija koje se mogu dozirati (što je prilagođeno određenim regijama te se prilikom formuliranja proizvoda mora imati na umu na koje tržište će se plasirati).

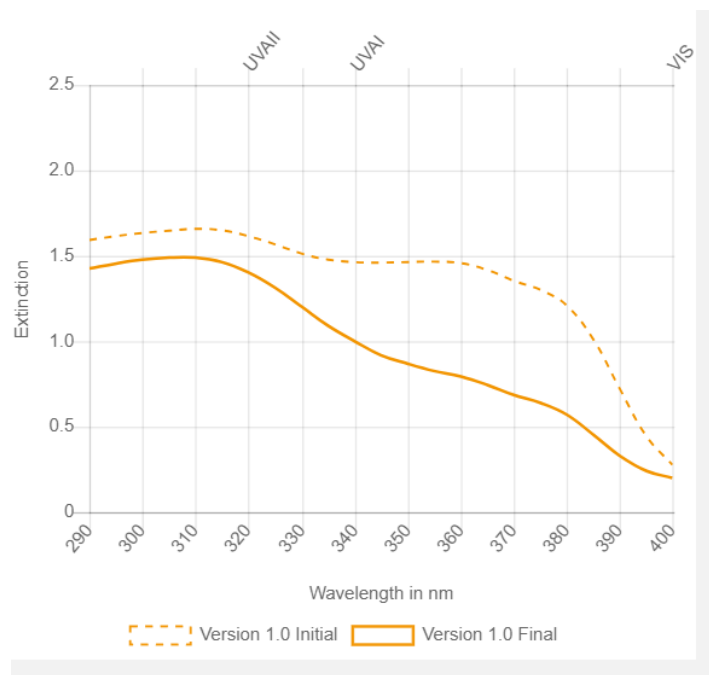
Prvo smo odredili UV filtere koje ćemo koristiti u formulaciji 1 koju smo nazvali FO21-00128 (gdje 21 označava grupu proizvoda- proizvodi za sunčanje, a 128 je redni broj formulacije). U toj formulaciji koristili smo oktokrilen (2-etilheksil 2-cijano-3,3-difenil-2-propenoat), etilheksil salicilat, avobenzone (Butil metoksidibenzoilmetan), eusolex-t avo (titanijev dioksid) i parsol mcx (etilheksil metoksicinamat). BASF simulator nam odmah označava koji filteri pokrivaju UVA, a koji UVB područje. Pa s obzirom na naše korištene filtere samo avobenzon pokriva UVA područje. Isto tako na BASF simulatoru označene su maksimalne dozvoljene koncentracije UV filtera koje se mogu dodati u proizvod. Maksimalna koncentracija za Oktokrilen, etilheksil salicilat i avobenzona je 10%, za eusolex-t avo je 20% dok se parsola mcx može dodati čak i do 100%. Sljedeća slika prikazati će teorijski izračunate koncentracije dodanih UV filtera I zaštitni faktor kao I UVA faktor koje bi ti UV filteri trebali pokrivati:

FILTER SELECTION		
Max.		
– BMDBM	10%	5
– EHMC	20%	6
– EHS	10%	5
– OCR	10%	4.9
– TiO2 (nano) aq	100%	1.5
Total:		22.40%
SPF (SUN PROTECTION FACTOR)		
SPF:	i	30.9
Rating:	i	30
Filter Efficiency:	i	1.38
UVA-METRICS ⓘ		
EU, AUS, MERCOSUR		
Rating:	i	UVA
UVA-PF in vitro (ISO 24443)		
UVA-PF:		11.0
UVA-PF/SPF:		0.36
Critical Wavelength (nm):		376

Slika 20. Teorijski izračunate koncentracije za zaštitni faktor 30 i UVA faktor 11

(formulacija 1)⁵⁰

Gdje je teorijski izračunata SPF vrijednost 30.9 , a teorijski UVA faktor =11 a UVB faktor =19.



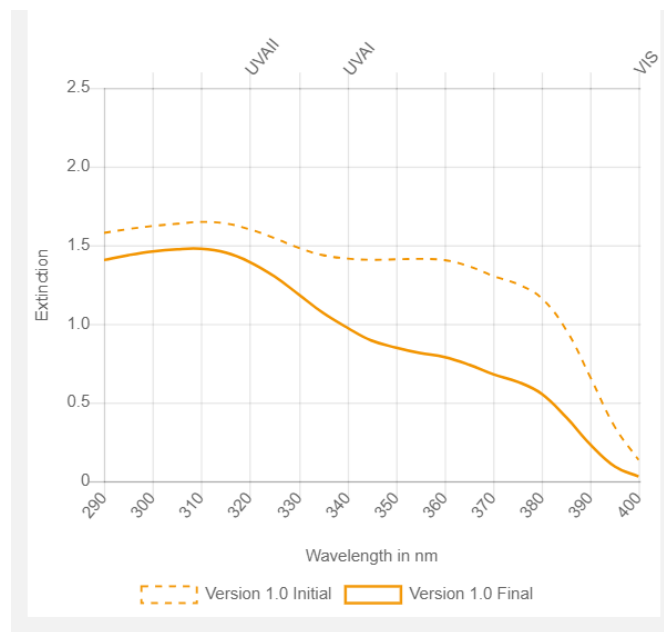
Slika 21. Grafički prikaz ovisnosti absorpcije o valnoj duljini za kremu za sunčanje (formulacija 1- očekivani UVA 11) -prema teorijskom izračunu⁵⁰

Zatim smo odredili UV filtere koje ćemo koristiti u formulaciji 2 koju smo nazvali FO21-00124 (21 označava grupu proizvoda- proizvodi za sunčanje, a 124 je redni broj formulacije). U toj formulaciji koristili smo oktokrilen (2-etilheksil 2-cijano-3,3-difenil-2-propenoat), etilheksil salicilat, avobenzone (Butil metoksidibenzoilmetan) i parsol mcx (etilheksil metoksicinamat). S obzirom na naše korištene filtere samo avobenzon pokriva UVA područje. Sljedeća slika prikazati će teorijski izračunate koncentracije dodanih UV filtera I zaštitni faktor kao I UVA faktor koje bi ti UV filteri trebali pokrivati:

FILTER SELECTION		
– BMDBM	Max. 10%	5
– EHMC	20%	7.6
– EHS	10%	5
– OCR	10%	6
Total:		23.60%
SPF (SUN PROTECTION FACTOR)		
SPF:	i	30.1
Rating:	i	30
Filter Efficiency:	i	1.28
UVA-METRICS ⓘ EU, AUS, MERCOSUR		
Rating:	i	UVA
UVA-PF in vitro (ISO 24443)		
UVA-PF:		10.2
UVA-PF/SPF:		0.34
Critical Wavelength (nm):		374

Slika 22. Teorijski izračunate koncentracije za zaštitni faktor 30 i UVA faktor 10

(formulacija 2)⁵⁰



Slika 23. Grafički prikaz ovisnosti absorbancije o valnoj duljini za kremu za sunčanje (formulacija 2- očekivani UVA 10) -prema teorijskom izračunu⁵⁰

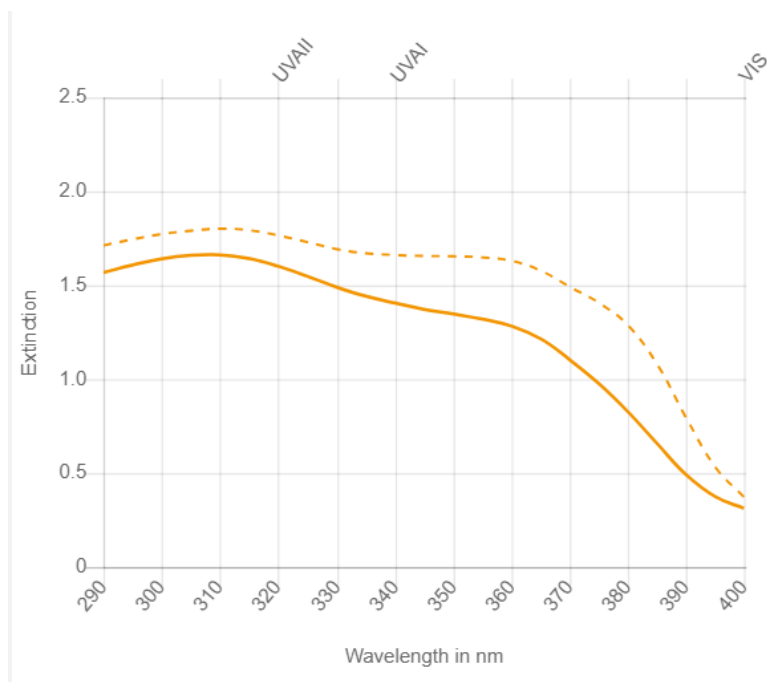
Gdje je teorijski izračunata SPF vrijednost 30.1 , a teorijski UVA faktor =10 a UVB faktor =20.

Nakon toga smo odredili UV filtere koje ćemo koristiti u formulaciji 3 koju smo nazvali FO21-00122 (21 označava grupu proizvoda- proizvodi za sunčanje, a 124 je redni broj formulacije). U toj formulaciji koristili smo oktokrilen (2-etilheksil 2-cijano-3,3-difenil-2-propenoat), etilheksil salicilat, avobenzone (Butil metoksidibenzoilmetan), tinosorb s (Bis-etilheksiloksifenol metoksifenil triazin) ,eusolex t-avo(titanijev dioksid) i parsol mcx (etilheksil metoksicinamat). S obzirom na naše korištene filtere avobenzone i tinosorb s pokrivaju UVA područje, dodali smo i tinosorb s jer nam čak i maksimalna koncentracija avobenzona ne može pokriti željeni UVA faktor. Sljedeća slika prikazati će teorijski izračunate koncentracije dodanih UV filtera i zaštitni faktor kao i UVA faktor koje bi ti UV filteri trebali pokrivati:

FILTER SELECTION		
Max.		
— BEMT	10%	3.5
— BMDBM	10%	5
— EHMC	20%	6
— EHS	10%	5
— OCR	10%	5
— TiO2 (nano) aq	100%	2.5
Total:		27.00%
SPF (SUN PROTECTION FACTOR)		
SPF:	i	47.4
Rating:	i	30
Filter Efficiency:	i	1.76
UVA-METRICS ⓘ		
EU, AUS, MERCOSUR		
Rating:	i	UVA
UVA-PF in vitro (ISO 24443)		
UVA-PF:		17.8
UVA-PF/SPF:		0.37
Critical Wavelength (nm):		375

Slika 24. Teorijski izračunate koncentracije za zaštitni faktor 50 i UVA faktor 18

(formulacija 3)⁵⁰



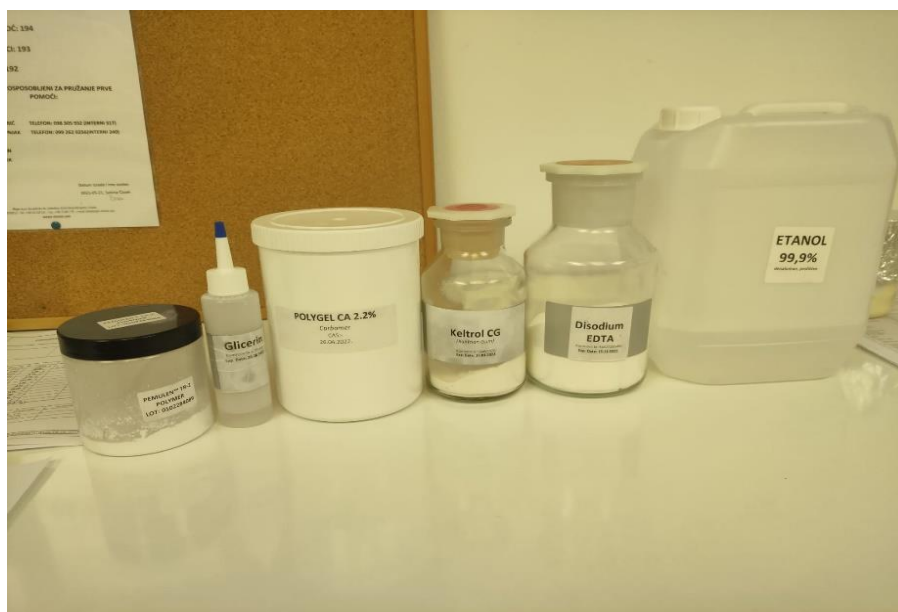
Slika 25. Grafički prikaz ovisnosti absorbancije o valnoj duljini za kremu za sunčanje (formulacija 3- očekivani UVA 18) -prema teorijskom izračunu⁵⁰

Gdje je teorijski izračunata SPF vrijednost 47.4 , a teorijski UVA faktor =18 a UVB faktor =32.

Nakon izračuna koncentracije UV filtera potrebnih za dobivanje željenih SPF I UVA faktora slijedio je dodatak ostalih sastojaka proizvoda. U literaturi smo pronašli koji se još sastojci mogu dodati u ovakve proizvode. Proizvodi za sunčanje kao što su losioni, kreme i sprejevi tijekom pripreme razdijeljuju se u dvije faze. Prvu fazu čini tzv. “vodena faza”, a drugu “masna faza”. Te dvije faze se spajaju kod određenih temperatura (otprilike 75°C) te nastaje emulzija. Nakon hlađenja emulzija u proizvode se još po želji dodaju druge aktivne tvari (npr. vitamin E), konzervansi (mi smo koristili fenoksietanol), parfem, alkohol (također prema zahtjevima kupca) te je potrebno dodati natrijevu lužinu koja se koristi za neutralizaciju i podešavanje pH. Sljedeće ćemo u kratko opisati sastojke “vodene” i “masne” faze od kojih smo radili losion, odnosno kremu za sunčanje. Prvo smo u laboratorijsku čašu dodali Ksantan gumu (koja se dodaje u koncentraciji između 0,10-0,20%). Ksantan guma je anionski polisaharid visoke molekularne težine koji se koristi kao stabilizator i modifikator viskoznosti u sustavima na bazi vode. To je prirodni proizvod koji nije otrovan i ne iritira kožu. Može se koristiti u kombinaciji s drugim zgušnjivačima i stabilizatorima za poboljšanje teksture, viskoznosti, stabilnosti i izgleda.

Visoka viskoznost ksantanske gume pri niskim brzinama smicanja učinkovito stabilizira kreme i losione koji su prvenstveno emulzije ulja u vodi. Ksantan guma održava emulzije stabilnima u širokom temperaturnom i pH rasponu.

Zatim smo Ksantan gumu prevlažili glicerinom. Glicerina se u ovakve proizvode dodaje u koncentraciji od 4-10% , a služi kao jedna vrsta barijere protiv sunčevih zraka i zagađivača iz okoliša, osim toga glicerina se dodaje u proizvode za sunčanje jer može uklanjati nečistoće začepljene u porama kože te može posvijetliti ton kože. Nakon toga smo dodali EDETU BD odnosno dinatrij EDETU (0,05-0,15 %). Ona služi za izdvajanje nepoželjnih metalnih iona u kozmetičkim proizvodima. U posebnoj čaši nabubri smo karbomer, tj pomiješali smo prah karbomera s demineraliziranom vodom kako bi smo dobili otopinu koncentracije 2,2% te smo takve otopine nakon što je nabubrila dodali oko 7% u primarnu čašu. Karbomer je zapravo jako neaktivan sastojak koji služi isključivo kao pomoć aktivnim sastojcima da bolje djeluju u formulacijama. On je sredstvo za zgušnjavanje koje pomaže u poboljšanju teksture i povezuje sve ostale sastojke, obično dolazi u obliku bijelog praha, a u kozmetičkoj industriji se koristi u obliku gela ili otopine. Zatim smo ponovo u posebnoj laboratorijskoj čaši pomiješali pemulen tr-2 (C10-30 akrilatni ukršteni polimer) s demineraliziranom vodom. Pemulen tr-2 je polimerni emulgator vrlo visoke molekularne mase, on se koristi za stvaranje stabilnih emulzija ulja u vodi. Tu otopinu također dodamo u primarnu čašu i zatim smo sve pomiješali i dodali još oko 40-60% demineralizirane vode.



Slika 26. Sastojci "vodene" faze

Slijedila je priprema ‘‘masne’’ faze. U ‘‘masnu’’ fazu prvo dodajemo potrebne koncentracije UV filtera koje su već prethodno navedene. Nakon dodanih UV filtera dodali smo još: Cetiol AB (C12-15 alkil benzoat) koji se koristi kao emolijens, odnosno on jako dobro otapa kristalne UV filtere. Zatim Cetiol CC (dikapril karbonat cetiol) koji je također emolijens koji služi za bolje razmazivanje proizvoda i poboljšava teksturu finalne formulacije. Također ima veliku sposobnost otapanja kristalnih UV filtera i raspršivanje pigmentata što je jako pogodno za ovakve proizvode, a dodaje ga se u koncentraciji između 4-10%. Sljedeće smo dodali stearyl dimetikon u koncentraciji između 0,1-0,5%. On poboljšava glatkoću, mazivost, sjaj i doprinosi vodootpornosti. Također je značajan za disperziju pigmentata. Sljedeće smo dodali silikon dimetikon odnosno, xiameter 200 silikonski fluid 350 cs, koji je bistar, bezbojan polidimetilsiloksan srednje viskoznosti, a koristi se kao površinsko sredstvo ili za desapuniranje krema i losiona. Lako se razmazuje po koži, ostavljajući osjećaj meke, baršunaste kože. Nakon toga te dvije faze smo grijali do 75°C, pomiješali i homogenzirali. Zatim je slijedilo hlađenje. Hladili smo u vodenoj kupelji do 40°C te dodali parfem, alkohol, vitamin E i konzervans. Nakon dodatka, ohladili smo još do sobne temperature, prebacili u ambalažu od 100 mL i označili. Takvi uzorci su poslani na testiranje.



Slika 27. Sastojci ‘‘masne’’ faze



Slika 28. Spajanje emulzije

Priprema spreja, odnosno mlijeka je vrlo slična pripremi losiona, tj. kreme što se tiče samog postupka, no ipak razlikuje se u sastojcima. "Vodenu" fazu kod spreja čine samo glicerol u koncentraciji od 1-3% i oko 60% demineralizirane vode. U "masnu" fazi osim UV filtera dodali smo još Cetiol AB i Cetiol CC koje smo već ranije spomenuli. Zatim emulgator se pf (glicerol stearate i cetearat-20 cetearat-12 cetearil alkohol cetil palmitat) koji je ne ionska baza kojom se postiže dobra stabilnost elektrolita, i regulator je viskoziteta. Također smo u masnu fazu dodali hidrogenirani dimer dilinoleil/dimetilkarbonat kopolimer koji je vrlo važan sastojak s obzirom da pruža vodootpornost u formulacijama kreme za sunčanje, a dodaje ga se između 0,2-0,3%. Kako bi se osigurala bolja mazivost dodaje se još i shea maslac u manjim koncentracijama. Još jedan sastojak po kojem se sprej razlikuje od kreme je butilirani hidroksitoulen (BHT) koji je derivat fenola s antioksidativnim svojstvima. On se koristi kao stabilizator emulzija, kao konzervans i za sprječavanje oksidacije. On održava svojstva proizvoda kao boju, miris i teksturu.

Tablica 7. Tablični prikaz sastojaka formulacije F0 21-00124

	<i>NAME of RAW MATERIAL</i>
1	VODA demineralizirana
2	GLYCERIN
3	CETIOL AB
4	EMULGADE SE PF
5	SHEA BUTTER
6	COSMEDICA DC
7	D.C. 200/350
8	BHT
9	EMULGIN B2
10	CETIOL CC
11	OCTOCRYLENE
12	ETHYLHEXYL SALICYLATE
13	AVOBENZONE
14	HOMOSALATE
15	PARSOL MCX
16	PARFEM PINA MANIA
17	ETHYLHEXYLGLYCERIN
18	PHENOXYETHANOL

Tablica 8. Tablični prikaz sastojaka formulacije F0 21-00128

	<i>NAME of RAW MATERIAL</i>
1	VODA demineralizirana
2	XANTHAN GUM
3	GLYCERIN
4	EDTA BD
5	PEMULEN TR 2
6	CARBOMER 2,2%
7	CETIOL AB
8	CETIOL CC
9	OCTOCRYLENE
10	ETHYLHEXYL SALICYLATE
11	AVOBENZONE
12	EUSOLEX T-AVO
13	HOMOSALATE
14	PARSOL MCX
15	BEAUSIL WAX 069
16	D.C. 200/350
17	NaOH 10%
18	PARFEM PINA MANIA
19	PHENOXYETHANOL
20	TOCOPHERYL ACETATE
21	ALCOHOL denat

Tablica 9. Tablični prikaz sastojaka formulacije F0 21-00122

	<i>NAME of RAW MATERIAL</i>
1	VODA demineralizirana
2	XANTHAN GUM
3	GLYCERIN
4	EDTA BD
5	PEMULEN TR 2
6	CARBOMER 2,2%
7	CETIOL AB
8	CETIOL CC
9	OCTOCRYLENE
10	ETHYLHEXYL SALICYLATE
11	AVOBENZONE
12	EUSOLEX T-AVO
13	TINOSORB S
14	PARSOL MCX
15	COSMEDICA DC
16	D.C. 200/350
17	NaOH 10%
18	PARFEM PINA MANIA
19	PHENOXYETHANOL
20	TOCOPHERYL ACETATE
21	ALCOHOL denat

6.3. Uvjeti ispitivanja prilikom određivanja SPF faktora

U ispitivanju je sudjelovalo 10 osoba za svaku formulaciju koje su ispunjavale uvjete za ulazak u istraživanje i pristale na informirani pristanak za sudjelovanje u studiji. Ispitanike je prije testiranja pregledao dermatolog kako bi utvrdio mogu li pristupiti ispitivanju. Koža na odabranom području bila je normalna bez ikakvih smetnji. Prije ispitivanja, ispitanici su obavješteni da ne koriste nikakve vrste antihistaminika ili farmakoloških sredstva koja bi mogla utjecati na rezultate. Ispitivanje je provedeno koristeći UV solarni simulator Multiport V601.



Slika 29. Prikaz korištenog solarnog simulatora⁵¹

Sva ispitivanja provedena su u klimatiziranoj prostoriji na temperaturi od 22 °C i relativnoj vlažnosti zraka od 40- 60%. Svi ispitanici bili su dobrovoljci. Ispitanici su bili grupa muškaraca i žena u rasponu od 29 do 57 godina. Svakom ispitaniku dodijeljen je kod kako bi se zadržala anonimnost. Ispitivanje je provedeno u skladu s preporukom komisije Europske zajednice koja je na snazi od 22. rujna 2006. godine, a vezana je uz učinkovitost proizvoda za zaštitu od Sunca. Njena glavna odredba je da proizvodi za sunčanje trebaju biti dovoljno učinkoviti protiv UVA i UVB zračenja, te pružati visoku razinu zaštite od Sunca prvenstveno radi zdravlja. Prema tome, proizvodi za sunčanje trebaju sadržavati minimalnu količinu UVA i UVB zaštite te one moraju biti međusobno povezane. Također, prema preporuci dermatologa ispitivanje se provelo pri kritičnoj valnoj duljini od 370nm (solarni simulator ima raspon od 290-410 nm).

Tablica 10. Karakteristike sudionika u ispitivanju za zaštitni faktor 30 ⁵¹

<i>Inclusion number</i>	<i>Subject code</i>	<i>Age</i>	<i>Sex</i>	<i>Race</i>	<i>Fitzpatrick phototype</i>
1	L005	45	Male	Caucasian	II
2	K003	41	Male	Caucasian	III
3	J002	49	Male	Caucasian	I
4	S012	37	Male	Caucasian	II
5	Z003	52	Female	Caucasian	I
6	S001	34	Female	Caucasian	I
7	A006	52	Female	Caucasian	II
8	F001	47	Male	Caucasian	II
9	J004	66	Female	Caucasian	II
10	S002	29	Male	Caucasian	II

Tablica 11. Karakteristike sudionika u ispitivanju za zaštitni faktor 50 ⁵¹

<i>Inclusion number</i>	<i>Subject code</i>	<i>Age</i>	<i>Sex</i>	<i>Race</i>	<i>Fitzpatrick phototype</i>
1	C001	57	Male	Caucasian	II
2	K010	46	Female	Caucasian	III
3	K005	44	Female	Caucasian	II
4	K004	50	Female	Caucasian	I
5	G002	57	Female	Caucasian	I
6	T007	50	Male	Caucasian	II
7	R005	49	Female	Caucasian	III
8	B001	35	Male	Caucasian	II
9	Z005	43	Male	Caucasian	II
10	B009	36	Female	Caucasian	I

Referentni standardi koji su se koristili:

- za SPF ≤ 24 : P2, P3, P5, P6 ili P8 referentni standard (svi ispitanici);
- SPF ≥ 25 , ali manji od SPF 50: P5 ili P6 referentni standard (na najmanje 5 ispitanika) i P2 ili P3 na preostalim ispitanicima;

- SPF ≥ 50 : referentni standard P8 (na najmanje 5 ispitanika) i P2 ili P3 na preostalim subjektima.

Ako se na ispitaniku koristi referentni standard P5, P6 ili P8, nema potrebe za uključivanjem nižeg SPF referentni standard za tu temu iako možda postoje testni proizvodi s nižim zaštitnim faktorom uključeni u isti test. S obzirom da su se testiranja provodila na SPF 30 i 50 korištene su referentne formulacije P5/P6 te kod SPF 50 P8 i P2/3. U *tablici 12.* prikazan je raspon prihvatljivosti razlikovanja rezultata kod referentnih formulacija prilikom čega zaključujemo valjanost metode.

Tablica 12. Srednji SPF i granice prihvatljivosti⁵¹

Reference sunscreen formulation	Mean SPF	Acceptance limits	
		Lower limit	Upper limit
P2	16,1	13,7	18,5
P3	15,7	13,7	17,7
P5	30,6	23,7	37,4
P6	43,0	31,0	54,9
P8	63,1	43,9	82,3

Tablica 13. Karakteristike solarnog simulatora⁵¹

Certificate of Spectral Measurement - SUMMARY							
Characterization of the UV source with intensity in units of energy/unit area							
Solar Simulator SN:	MULTIPOINT (MP) SOLAR SIMULATOR						
	24303 (4 August 2022)						
	Port1	Port2	Port3	Port4	Port5	Port6	
% RCEE <290 nm (<0.1%)	0.0%	0.0059%	0.0461%	0.0%	0.0%	0.0507%	Passed
290 nm-300 nm (1.0%-8.0%)	3,51%	3,69%	3,69%	3,35%	3,43%	3,45%	Passed
290 nm-310 nm (49.0%-65.0%)	52,56%	53,35%	53,29%	51,81%	52,22%	52,11%	Passed
290 nm-320 nm (85.0%-90.0%)	85,38%	85,83%	85,72%	85,11%	85,14%	85,08%	Passed
290 nm-330 nm (91.5%-95.5%)	92,04%	92,33%	92,32%	91,92%	91,87%	91,79%	Passed
290 nm-340 nm (94.0%-97.0%)	94,73%	94,92%	94,90%	94,67%	94,61%	94,51%	Passed
290 nm-400 nm (99.9%-100.0%)	100,00%	99,99%	99,95%	100,00%	100,00%	99,95%	Passed
% UVA2/Total UV (≥20%) 320-340 nm / 290-400 nm)	25,97%	26,53%	26,61%	26,13%	26,29%	26,02%	Passed
% UVA1/Total UV (≥60%) (340-400 nm / 290-400 nm)	64,72%	63,72%	63,58%	64,61%	64,37%	64,68%	Passed
Total Irradiance (250-1400 nm)	657	544	622	662	705	631	W/m2
UVB Irradiance (290-320 nm)	0,1175	0,0974	0,1098	0,1134	0,1218	0,1156	
UVA Irradiance (320-400 nm)	656,688	543,836	622,232	662,331	705,265	631,249	
UVA2 Irradiance (320-340 nm)	71,006	53,388	60,725	72,318	79,980	77,325	
UVA1 Irradiance (340-400 nm)	631,409	485,736	540,312	658,725	695,189	662,783	
Visible + IR Irradiance (400-1400 nm)	0,0128	0,0122	0,0123	0,0128	0,0116	0,0131	
% RCEE <290 nm (<0.1%)	0.0%	0.0059%	0.0461%	0.0%	0.0%	0.0507%	
Uniformity ≥90%	93,55	96,09	96,14	93,23	94,42	98,05	

Prije izlaganja UV zračenju svakog ispitnog mjesta, UV zračenje mora se izmjeriti i zabilježiti pomoću eritem radiometra koji je unakrsno kalibriran u odnosu na spektrometrijsko mjerenje solarnog simulatora .

6.4. Tijek ispitivanja SPF faktora

Eksperiment se započinje upoznavanjem s ispitanicima te detaljnim opisom samog postupka provođenja ispitivanja. Prije svakog ispitivanja ispitanik potpisuje privolu da je suglasan/suglasna s izvođenjem eksperimenta. Svaki ispitanik dobiva svoj kod nakon čega započinjemo s ispitivanjem. Nakon toga imamo četiri početna koraka:

1. Razdoblje aklimatizacije kože – uvjeti ispitivanja moraju biti stabilni sa sobnom temperaturom
2. Razdoblje održavanja temperature između (23 ± 3) °C
3. Određivanje ITA-o na poleđini ispitanika
4. Iscrtavanje testnih mjesta na poleđini ispitanika

- kao što je spomenuto ispitna mjesta namijenjena izlaganju UV zračenju moraju biti bez mrlja i dlaka i imati ujednačen ton boje bez varijacija . Ako je potrebno, kosu ili dlake treba obrijati najviše tri dana prije testa, ali ne nakon toga, no ukoliko je potrebno, kosa se može ošišati ili ošišati škarama na dan ispita.

- minimalna ukupna površina ispitnog mjesta za nanošenje proizvoda mora biti 30 cm^2 i najviše 60 cm^2

- zatim se raspoređuju položaji ispitnih proizvoda i referentnih preparata za testiranje kreme za sunčanje nasumično na leđima ispitanika u cijeloj ispitnoj skupini kako bi se smanjile pogreške koje nastaju zbog razlika u koži. Nezaštićeno mjesto ispitivanja koje se koristi za određivanje MEDu mora biti nasumično odabrano kao jedno od testnih mjesta u cijelom testnom području i među ispitanicima

- mora postojati minimalni razmak od 1 cm između granica susjednih ispitnih mjesta,

- prije nanošenja proizvoda, područje testiranja mora se očistiti suhom vatom ili nečim sličnim

- ispitna mjesta moraju biti ocrtana markerom koji ne ometa ispitivanje niti šteti koži

Obično se koristi marker za kožu i/ili predložak od neupijajućeg materijala.

Kožni marker mora biti neizbrisiv tako da se može uočiti u vrijeme MED evaluacije 16 h do 24 h nakon izlaganja UV zračenju.

Nakon same pripreme ispitanika slijedi priprema uzorka.

Izvaži se količina testnog proizvoda i referentne formulacije za zaštitu od sunca koja se nakon toga nanosi na kožu. Debljina nanošenja mora biti između $(2,00 \pm 0,05)$ mg/cm² .Vaga koja se koristi za vaganje proizvoda mora vagati s preciznošću od 0,1 mg. Prije vaganja svi proizvodi moraju biti homogeni i moraju se protresti kako bi se osigurala ujednačenost disperzija.

Prilikom rukovanja proizvodom tijekom vaganja ili prije nanošenja na kožu, mora se pripaziti na odgovarajuće mjere za sprječavanje gubitka hlapljivih komponenti isparavanjem. To je važno

da se ukupna količina izvaganog proizvoda prenese na mjesto primjene proizvoda bez značajnih gubitaka. Količinu proizvoda koja se nanosi izvaže se direktno u štrcaljki ili drugom posudu kao što je satno staklo.

Sljedi nanošenje proizvoda na mjesto ispitivanja. Nanošenje započinje stavljanjem posteljice za prste (od lateksa, nitrila, itd.) Koristitimo novu posteljicu za svaku novu primjenu proizvoda. Nanosi se maksimalno $2,1 \text{ mg/cm}^2$ (dodatnih 5 % zbog mogućih gubitaka). S obzirom da su naši uzorci tekućine/ emulzije koristili smo "Metodu A".

Metoda A: Tekući proizvodi (losioni, kreme, ulje, tekućine, gelovine, sprejevi na pumpicu, roll on, aerosoli..): Kako bi se osiguralo ravnomjerno pokrivanje nanošenje se vrši preko štrcaljke/pipete i zatim se raširi po ispitnom području, prvo kružnim pokretima, a zatim okomito i vodoravno pomoću laganog pritiska.

Osim metode A, postoje još i metoda B (koja se koristi za viskozne tekućine i polukrutine kao što su balzami, stickovi i slično), metoda C (to je metoda koja se koristi kada želimo analizirati prahove) te metoda D (metoda korištena za zapjenjene formulacije).

Nakon nanošenja proizvoda ili referentne formulacije, nanoseni uzorak provjerava se ultraljubičastom "Woods" lampom snage najmanje 6 W koja je u stanju vizualizirati je li nanošenje ravnomjerno. Pa tako ako je na uzorku primijete pruge, to mjesto se mora odbaciti i ne smije se koristiti prilikom testiranja. Ukoliko ispitna mjesta prođu provjeru, slijedi razdoblje čekanja (15 do 30 minuta) prije izlaganja UV zračenju. Prilikom izlaganja UV zračenju treba se paziti da :

1. Minimalna površina svakog mjesta izloženosti bude barem $0,5 \text{ cm}^2$
2. Minimalna udaljenost između granica svakog mjesta bude barem 1 cm
3. Minimalna broj izloženih testnih područja za određivanje MEDu I MEDp bude pet (pet za svakog)

6.4.1. MED procjena

Prije početka testiranja potrebno je utvrditi privremeni MED (MEDi) kako bi se odredili rasponi UV doza za određivanje MEDu i MEDp. Privremeni MEDi-u određuje se predtestom gdje se izvodi primjena preliminarne serije izlaganja UV zračenju do tjedan dana prije samog testiranja. On se određuje kolorimetrijskom ITA^o tehnikom. Ukoliko on nije određen do tjedan

dana prije, može se odrediti I na dan testiranja ali bez UV izlaganja također kolorimetrijskom tehnikom. MEDi-u i MEDi-p moraju biti određeni istog dana.

Tablica 14. Preliminarne MEDiu srednje doze izloženosti⁵¹

ITA° value of individual	Midpoint dose (J/m2 eff.)
28° to 30°	361
31° to 35°	331
36° to 40°	296
41° to 45°	263
46° to 50°	232
51° to 55°	205
56° to 60°	179
61° to 65°	157
≥ 66°	136

Za nezaštićeno mjesto, raspon primjenjenih UV doza određuje se pomoću ispitanikovih privremenih MEDi u na temelju ITA°. Najmanje pet mjesta izloženo je inkrementalnoj UV dozi koristeći preporučenu geometrijsku progresiju od 1.25x, a za ostalo se koriste geometrijske progresije manje od 1,25x. Vrijeme izlaganja zaokružuje se na najbliži cijeli broj sekundi. Za mjesta koja su zaštićena proizvodom raspon primjenjenih UV doza definira se očekivanim MEDi-p, što je zapravo umnožak očekivanog SPF faktora testnog proizvoda i procijenjenog MEDi-u za ispitanika. Minimalna eritemna doza za pojedinačnu nezaštićenu kožu (MEDiu), za ispitivani proizvod (MEDip) i za referentnu formulaciju određuju se istog dana. MED se procjenjuje 20h +/- 4h nakon izlaganja UV zračenju. Bitno je da ispitanik tijekom intervala između izloženosti UV zračenju i MED procjeni izbjegava bilo kakvo dodatno izlaganje UV zračenju.

Reakcije koje se uočavaju na izloženim područjima mogu biti ružičaste/crvene (eritem), sive/smeđe (pigmentacija) ili mješavina oba. Ako je došlo do pigmentacije tada kožu treba lagano pritisnuti satnim stakalcem kako bi se utvrdilo postoji li prisutan eritem. Ako je eritem prisutan doći će do blagog blijedenja kože i crvenila kože kod pritiska, a boja će se ukloniti nakon uklanjanja pritiska.

Ljestvica ispitivanja za mjesta izložena UV zračenju je sljedeća:

1. 0- nema eritema

2. 0,5 dvosmislen eritem i/ili bez jasnih granica
3. 1- primjetan nedvosmislen eritem s definiranim granicama koji ispunjava vise od 50% mjesta izloženosti
4. 2- umjeren do intezivan eritem

6.4.2. Izračun SPF faktora

Izračun SPF_i referentne kreme za sunčanje i proizvoda koji se testira za svakog ispitanika izračuna se preko *jednadžbe (1)* i zaokružuje na jedno decimalno mjesto. Kao što je već spomenuto konačan SPF faktor računa se kao aritmetička sredina svih važećih pojedinačnih SPF_i vrijednosti. Najmanji valjani broj SPF_i vrijednosti mora biti deset, a najveći 20. Iz izračuna možemo isključiti najviše pet rezultata SPF_i, ali svako od njih mora biti opravdano prema kriteriju odbijanja i objašnjeno u konačnim rezultatima. Ukoliko imamo 6 nevaljanih rezultata automatski se poništava cijelo testiranje za taj testni proizvod. Bitno je da srednji dobiveni SPF faktor bude unutar granica prihvatljivosti prikazanih u *tablici 7*.

6.5. Rezultati SPF testiranja za očekivani zaštitni faktor 30 i 50

Tablica 15. Rezultati ITA°, MEDu i MEDp za svi 10 voluntera za formulaciju 1 (očekivani SPF 30.9)⁵¹

No.	Date	Applied	Read	Sim EE (highest)	Subject code	Skin	MEDu		MEDp	
				W/m ² eff.		ITA	mm:ss	J/m ² eff.	mm:ss	J/m ² eff.
1	27/02/23	MD	AW	9,51	L005	54	00:32	194,0	15:50	5820,5
2	28/02/23	MD	AW	9,51	K003	39	00:46	280,1	22:52	8404,3
3	06/03/23	MD	AW	9,51	J002	58	00:28	169,4	13:50	4537,8
4	07/03/23	MD	AW	9,51	S012	43	00:41	248,9	20:19	8363,4
5	08/03/23	MD	AW	9,51	Z003	56	00:28	212,2	17:21	6375,3
6	14/03/23	MD	AW	9,51	S001	55	00:32	217,3	17:44	6519,0
7	15/03/23	MD	AW	9,51	A006	52	00:32	194,0	15:50	6519,0
8	20/03/23	MD	AW	9,51	F001	47	00:36	275,4	22:29	8262,9
9	21/03/23	MD	AW	9,51	J004	42	00:41	248,9	20:19	8363,4
10	22/03/23	MD	AW	9,51	S002	42	00:41	278,8	22:46	8363,4

Tablica 16. Rezultati SPF za testni proizvod i referentni standard za formulaciju 1 (očekivani SPF 30.9)⁵¹

SPFi	Reference standard				Reference standard			SPF
	P#	mm:ss	J/m ² eff.	SPF	P#	mm:ss	J/m ² eff.	
30,0	3	08:27	3104,3	16,0				
30,0	3	12:12	4482,3	16,0				
26,8	3	07:23	2710,6	16,0				
33,6	3	10:50	3982,6	16,0				
30,0	3	09:15	3035,8	14,3				
30,0					5	17:44	6519,0	30,0
33,6					5	15:50	6519,0	33,6
30,0					5	22:29	8262,9	30,0
33,6					5	20:19	7467,3	30,0
30,0					5	22:46	8363,4	30,0

Gdje je aritmetička sredina $SPFi$ (svakog pojedinačnog voluntera) :

$$x(SPFi)= 30,8$$

odnosno za referentne standard:

$$x_1(SPFi)= 15,7$$

$$x_2(SPFi)= 30,7$$

Standardna devijacija (s) :

$$s(testnog proizvoda)=2,20$$

$$s_1(referentni standard)=0,76$$

$$s_2(referentni standard)=1,61$$

Standardna pogreška (p):

$$p(testnog proizvoda)=0,70$$

$$p_1(referentni standard)=0,34$$

$$p_2(referentni standard)=0,72$$

S.E.% prosječne srednje vrijednosti:

$$s.e.\% \text{ prosječne srednje vrijednosti (testni proizvod)}=2,3\%$$

$$s.e.\% \text{ prosječne srednje vrijednosti }_1(referentni standard)=2,2\%$$

$$s.e.\% \text{ prosječne srednje vrijednosti }_2(referentni standard)=2,3\%$$

95% interval pouzdanosti:

$$95\% \text{ interval pouzdanosti (testni proizvod)}=29,2-32,4$$

$$95\% \text{ interval pouzdanosti }_1(referentni standard)=14,8-16,6$$

$$95\% \text{ interval pouzdanosti }_2(referentni standard)=28,7-32,7$$

17%interval srednje vrijednosti SPF:

17%interval srednje vrijednosti SPF (testni proizvod)=25,6-36,0

17%interval srednje vrijednosti SPF ₁(refernetni standard)=13,0-18,4

17%interval srednje vrijednosti SPF ₂(refernetni standard)=25,5-35,9

Provođenjem ispitivanja na 10 sudionika na uzoraku kreme za sunčanje očekivane vrijednosti zaštinog faktora 30 dobili smo da je srednja vrijednost SPF faktora 30,8. Zaštitni faktor u kontrolnom uzorku (P3) iznosio je 15,7, a u kontrolnom uzorku (P5) 30,7.

Tablica 17. Rezultati ITA°, MEDu i MEDp za svi 10 voluntera za formulaciju 2 (očekivani SPF 30.1)⁵¹

No.	Date	Applied	Read	Sim EE (highest)	Subject code	Skin	MEDu		MEDp	
				W/m ² eff.		ITA	mm:ss	J/m ² eff.	mm:ss	J/m ² eff.
1	27/02/23	MD	AW	9,51	L005	54	00:32	194,0	15:50	6519,0
2	28/02/23	MD	AW	9,51	K003	39	00:46	280,1	22:52	8404,3
3	06/03/23	MD	AW	9,51	J002	58	00:28	169,4	13:50	5082,3
4	07/03/23	MD	AW	9,51	S012	43	00:41	248,9	20:19	9367,0
5	08/03/23	MD	AW	9,51	Z003	56	00:28	212,2	17:21	7140,3
6	14/03/23	MD	AW	9,51	S001	55	00:32	217,3	17:44	6519,0
7	15/03/23	MD	AW	9,51	A006	52	00:32	194,0	15:50	7301,3
8	20/03/23	MD	AW	9,51	F001	47	00:36	275,4	22:29	8262,9
9	21/03/23	MD	AW	9,51	J004	42	00:41	248,9	20:19	9367,0
10	22/03/23	MD	AW	9,51	S002	42	00:41	278,8	22:46	9367,0

Tablica 18. Rezultati SPF za testni proizvod i referentni standard za formulaciju 2 (očekivani SPF 30.1)⁵¹

SPFi	Reference standard				Reference standard			SPF
	P#	mm:ss	J/m ² eff.	SPF	P#	mm:ss	J/m ² eff.	
33,6	3	08:27	3104,3	16,0				
30,0	3	12:12	4482,3	16,0				
30,0	3	07:23	2710,6	16,0				
37,6	3	10:50	3982,6	16,0				
33,6	3	09:15	3035,8	14,3				
30,0					5	17:44	6519,0	30,0
37,6					5	15:50	6519,0	33,6
30,0					5	22:29	8262,9	30,0
37,6					5	20:19	7467,3	30,0
33,6					5	22:46	8363,4	30,0

Gdje je aritmetička sredina SPFi (svakog pojedinačnog voluntera) :

$$x(\text{SPFi}) = 33,4$$

odnosno za referentne standard:

$$x_1(\text{SPFi}) = 15,7$$

$$x_2(\text{SPFi}) = 30,7$$

Standardna devijacija (s) :

$$s(\text{testnog proizvoda}) = 3,33$$

$$s_1(\text{referentni standard}) = 0,76$$

$$s_2(\text{referentni standard}) = 1,61$$

Standardna pogreška (p):

$$p(\text{testnog proizvoda}) = 1,05$$

$$p_1(\text{referentni standard}) = 0,34$$

$$p_2(\text{referentni standard}) = 0,72$$

S.E.% prosječne srednje vrijednosti:

s.e.% prosječne srednje vrijednosti (testni proizvod)=3,1%

s.e.% prosječne srednje vrijednosti ₁(refernetni standard)=2,2%

s.e.% prosječne srednje vrijednosti ₂(refernetni standard)=2,3%

95% interval pouzdanosti:

95%interval pouzdanosti (testni proizvod)=31,0-35,8

95%interval pouzdanosti₁ (refernetni standard)=14,8-16,6

95%interval pouzdanosti ₂(refernetni standard)=28,7-32,7

17%interval srednje vrijednosti SPF:

17%interval srednje vrijednosti SPF (testni proizvod)=27,7-39,1

17%interval srednje vrijednosti SPF ₁(refernetni standard)=13,0-18,4

17%interval srednje vrijednosti SPF ₂(refernetni standard)=25,5-35,9

Provođenjem ispitivanja na 10 sudionika na uzoraku kreme za sunčanje očekivane vrijednosti zaštinog faktora 30 dobili smo da je srednja vrijednost SPF faktora 33,4. Zaštitni faktor u kontrolnom uzorku (P3) iznosio je 15,7, a u kontrolnom uzorku (P5) 30,7.

Tablica 19. Rezultati ITA^o, MEDu i MEDp za svi 10 volunera za formulaciju 3 (očekivani SPF 50)⁵¹

No.	Date	Applied	Read	Sim EE (highest)	Subject code	Skin	MEDu		MEDp	
				W/m ² eff.		ITA	mm:ss	J/m ² eff.	mm:ss	J/m ² eff.
1	13/03/23	MD	AW	9,51	C001	49	00:36	245,9	33:28	13771,5
2	16/03/23	MD	AW	9,51	K010	34	00:51	313,3	42:37	19648,2
3	23/03/23	MD	AW	9,51	K005	50	00:36	245,9	33:28	13771,5
4	23/03/23	MD	AW	9,51	K004	60	00:28	189,7	25:49	9487,0
5	27/03/23	MD	AW	9,51	G002	60	00:28	212,5	28:55	11900,5
6	28/03/23	MD	AW	9,51	T007	43	00:41	278,8	37:59	13939,0
7	28/03/23	MD	AW	9,51	R005	32	00:51	313,3	42:37	19648,2
8	29/03/23	MD	AW	9,51	B001	50	00:36	219,6	29:53	12296,0
9	29/03/23	MD	AW	9,51	Z005	46	00:36	245,9	33:28	15424,1
10	30/03/23	MD	AW	9,51	B009	60	00:28	189,7	25:49	10625,4

Tablica 20. Rezultati SPF za testni proizvod i referentni standard za formulaciju 3 (očekivani SPF 50)⁵¹

SPFi	Reference standard				Reference standard			SPF
	P#	mm:ss	J/m ² eff.	SPF	P#	mm:ss	J/m ² eff.	
56,0	8	42:10	15493,0	63,0				
62,7	8	53:42	22104,2	70,6				
56,0	8	42:10	15493,0	63,0				
50,0					3	08:16	3035,8	16,0
56,0					3	09:15	3808,2	17,9
50,0					3	12:08	4460,5	16,0
62,7					3	13:38	5012,3	16,0
56,0	8	37:39	13833,0	63,0				
62,7					3	10:42	4406,9	17,9
56,0	8	32:32	11953,6	63,0				

Gdje je aritmetička sredina SPFi (svakog pojedinačnog voluntera) :

$$x(\text{SPFi}) = 56,8$$

odnosno za referentne standard:

$$x_1(\text{SPFi}) = 64,5$$

$$x_2(\text{SPFi}) = 16,8$$

Standardna devijacija (s) :

$$s(\text{testnog proizvoda}) = 4,72$$

$$s_1(\text{referentni standard}) = 3,38$$

$$s_2(\text{referentni standard}) = 1,05$$

Standardna pogreška (p):

$$p(\text{testnog proizvoda}) = 1,49$$

$$p_1(\text{referentni standard}) = 1,51$$

$$p_2(\text{referentni standard})=0,47$$

S.E.% prosječne srednje vrijednosti:

$$s.e.\% \text{ prosječne srednje vrijednosti (testni proizvod)}=2,6\%$$

$$s.e.\% \text{ prosječne srednje vrijednosti }_1(\text{referentni standard})=2,3\%$$

$$s.e.\% \text{ prosječne srednje vrijednosti }_2(\text{referentni standard})=2,8\%$$

95% interval pouzdanosti:

$$95\% \text{ interval pouzdanosti (testni proizvod)}=53,4-66,5$$

$$95\% \text{ interval pouzdanosti }_1(\text{referentni standard})=60,3-68,7$$

$$95\% \text{ interval pouzdanosti }_2(\text{referentni standard})=15,5-18,1$$

17% interval srednje vrijednosti SPF:

$$17\% \text{ interval srednje vrijednosti SPF (testni proizvod)}=47,1-66,5$$

$$17\% \text{ interval srednje vrijednosti SPF }_1(\text{referentni standard})=53,5-75,5$$

$$17\% \text{ interval srednje vrijednosti SPF }_2(\text{referentni standard})=13,9-19,7$$

Provođenjem ispitivanja na 10 sudionika na uzoraku kreme za sunčanje očekivane vrijednosti zaštinog faktora 50 dobili smo da je srednja vrijednost SPF faktora 56,8. Zaštitni faktor u kontrolnom uzorku (P3) iznosio je 16,8 a u kontrolnom uzorku (P8) 64,5.

6.6. Uvjeti ispitivanja prilikom određivanja UVA faktora

Uzorak je testiran prema metodi : Određivanje UVA faktora u kremama za sunčanje in vitro (MEĐUNARODNI STANDARD ISO 24443, prvo izdanje 2012-06-01) koristeći Labsphereov UV-2000S stolni analizator zaštite od sunca (S/N 1026090507). Dugolučni ksenonski izolator Atlas SuntestTM, tip CPS+, filtriran originalnim UV filtrom za kratko zračenje u kombinaciji s filtrom "UV Special Glass" , pružajući VIS+UVA+UVB. SunCool CPS/CPS+ Air Chiller korišten je za učinkovito hlađenje uzoraka. PMMA ploče bile su postavljene na nereflektirajuću površinu tijekom izlaganja UV zračenju.

6.7. Tijek ispitivanja UVA faktora

1. Mjerenja transmisije kroz neobrađenu ploču. Referentna ploča pripremljena je nanošenjem oko 15 mikrolitara glicerina ili modificirane otopine glicerina na hrapavu stranu supstratne ploče.
2. In vitro mjerenje transmisije proizvoda za zaštitu od sunca nanesenog na PMMA ploču, prije UV zračenja. Snimanje početnog UV spektra s $A_0(\lambda)$ podacima.
3. Matematička prilagodba početnog UV spektra pomoću koeficijenta "C" kako bi se postigao in-vitro SPF (0% UV doza) jednak izmjerenom SPF-u (in-vivo). $UVAPF_0$ se izračuna pomoću $A_0(\lambda)$ i C.

Izračun SPF in vitro za svaku ploču:

$$SPF_{in\ vitro} = \frac{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_0(\lambda)} * d\lambda} \quad (10)$$

Izračun prilagođenog in vitro SPF i određivanje koeficijenta C:

$$SPF_{in\ vitro,adj} = SPF_{measured\ in\ vivo} = \frac{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=290nm}^{\lambda=400nm} E(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_0(\lambda)+C} * d\lambda} \quad (11)$$

Gdje je:

$E(\lambda)$ Spektar djelovanja eritema

$I(\lambda)$ Spektralno zračenje UV izvora

$A_0(\lambda)$ Srednja monokromatska mjerenja apsorbanције po pločici ispitivanog proizvoda prije izlaganja UV zračenju.

$d\lambda$ Korak valne duljine (1 nm)

Izračun UVAPF₀:

$$UVAPF_0 = \frac{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_0(\lambda)*C} * d\lambda} \quad (12)$$

Gdje je:

$P(\lambda)$ PPD akcijski spektar.

$I(\lambda)$ Spektralno zračenje UV izvora (UVA 320-400nm za PPD ispitivanje).

$A_0(\lambda)$ Srednja monokromatska apsorbancija sloja testnog proizvoda prije UV zračenja

$d\lambda$ Korak valne duljine (1 nm)

Na temelju čega se onda izračunava UVA doza prema:

$$D = UVAPF_0 * D_0 \left[\frac{J}{cm^2} \right] \quad (13)$$

Gdje je:

$$D_0 = 1.2 \left[\frac{J}{cm^2} \right] \quad (14)$$

Zatim slijedi UV izlaganje uzorka prema izračunatoj UV dozi D. Potom imamo in-vitro mjerenje transmisije nakon izlaganja UV zračenju. Akvizicija drugog UV spektra s $A(\lambda)$ podacima. Zatim se matematički podesi drugi spektar prema prijašnje određenom koeficijentu C. Nakon toga se in-vitro izračuna UVA (UVA-PF) faktor nakon zračenja koristeći $A(\lambda)$ I C I kritična valna duljina iz podataka o $A(\lambda)$.

Izračun UVA-PF ploča nakon izlaganja uzorka zračenju:

$$UVAPF = \frac{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * d\lambda}{\int_{\lambda=320nm}^{\lambda=400nm} P(\lambda) * I(\lambda) * 10^{-A_e(\lambda)*C} * d\lambda}$$

(15)

Gdje je:

$P(\lambda)$ PPD akcijski spektar.

$I(\lambda)$ Spektralno zračenje UV izvora (UVA 320-400nm za PPD ispitivanje).

$A_e(\lambda)$ Srednja monokromatska apsorbancija sloja testnog proizvoda nakon UV zračenja.

$d\lambda$ Korak valne duljine (1 nm)

Ako je interval pouzdanosti od 95% UVAPF vrijednosti manji od 17% srednje vrijednosti UVAPF, nisu potrebne dodatne ploče i konačni rezultati se mogu prijaviti, u protivnom dodatni uzorci dodaju se uzastopno dok se ne zadovolji kriterij ispitivanja.

Izračun kritične valne duljine:

Vrijednost kritične valne duljine λ_C za testni proizvod definirana je kao valna duljina gdje je područje ispod spektra apsorbancije za testni proizvod od 290 nm do λ_C je 90% je integral spektra apsorbancije od 290 nm do 400 nm, a izračunava se na sljedeći način:

$$\int_{290}^{\lambda_C} A_{\lambda} d\lambda = 0.9 \int_{290}^{400} A_{\lambda} d\lambda$$

(16)

6.8. Rezultati UVA testiranja

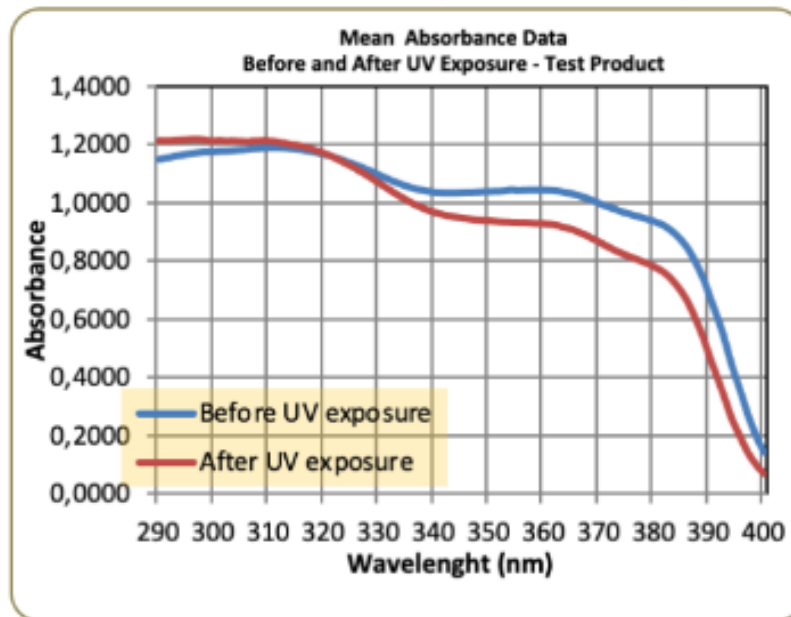
Tablica 21. Uvjeti testiranja za formulaciju 1 (SPF 30.9 – očekivani UVA 11)⁵¹

	(FO 21-00124)				S2 Reference Sunscreen			
<u>Date of Testing:</u>	31/03/2023				13/03/2023			
<u>Measured/Labeled SPF (In Vivo):</u>	33/30				16/16			
<u>UVA Irradiance:</u> <small>(requirement 40 to 240 W/m²)</small>	56.0 W/m ²				56.0 W/m ²			
<u>Irradiance Ratio of UVA/UVB:</u> <small>(requirement 8 to 22)</small>	9.4				9.4			
	Plate1	Plate2	Plate3	Plate4	Plate1	Plate2	Plate 3	Plate 4
<u>Exposure Duration [min]:</u>	83.9	82.7	82.8	85.1	61.0	61.1	60.8	60.8
<u>Total dose UVA_(320-400nm) [J/cm²]:</u>	24.81	24.44	24.47	25.17	18.04	18.06	17.98	17.98
<u>C Coef(av.):</u> <small>(Test product recommendation: 0.8 to 1.6)</small>	1.30	1.32	1.30	1.29	1.22	1.17	1.09	1.25
<u>Drying Temperature:</u>	33°C				33°C			
<u>Irradiation Temperature:</u> <small>(requirement: between 75 and 35°C)</small>	33°C				33°C			

Tablica 22. Rezultati određivanja UVA faktora u formulaciji 1 (SPF 30.9 – očekivani UVA 11)⁵¹

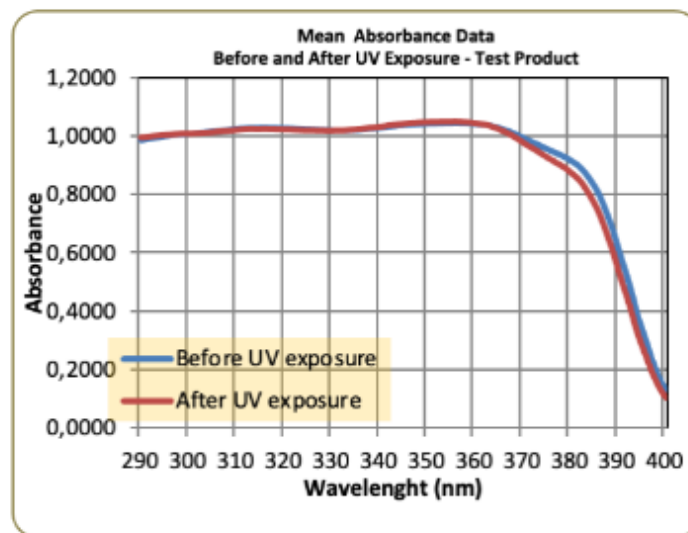
	(FO 21-00124)	S2 Reference Sunscreen
<u>In-Vitro UVAPFDx:</u>	14.54	14.59 <small>(requirement 10.7 – 14.7)</small>
<u>UVAPF C.V. %:</u> <small>(limit 17%)</small>	5,04%	1.98%
<u>Critical Wavelength:</u> <small>(requirement: minimum 370 nm)</small>		
Pre Irradiation:	381.55 nm	381.30 nm
Post Irradiation:	378.45 nm	381.15 nm
<u>Ratio (Measured SPF in vivo/UVAPF):</u>	2,30	2,98
<u>Ratio (Labeled SPF in vivo/UVAPF):</u>	2,06	2,98

Sun lotion SPF 30 (FO 21-00124)



Slika 30. Grafički prikaz ovisnosti absorbancije o valnoj duljini za kremu za sunčanje (formulacija 1- očekivani UVA 11) prije i nakon izlaganja UV zračenju⁵¹

S2 Reference Sunscreen



Slika 31. Grafički prikaz ovisnosti absorbancije o valnoj duljini za referentni uzorak prije i nakon izlaganja UV zračenju⁵¹

Ovim ispitivanje određivan je UVA faktor u kremi za sunčanje očekivanog UVA faktora 11 in vitro metodom. U obzir su uzete sve moguće fotonestabilnosti. Metoda se mora redovito provjeriti, te se to čini upotrebom referentne formulacije P8 čije vrijednosti UVA-PF moraju biti između 19,1-23,1. S obzirom da se radi isključivo o testnoj metodi, ne zahtijevaju se nikakva minimalna ograničenja izvedbe.

Rezultati:

In-vitro UVA-PF: 14,54

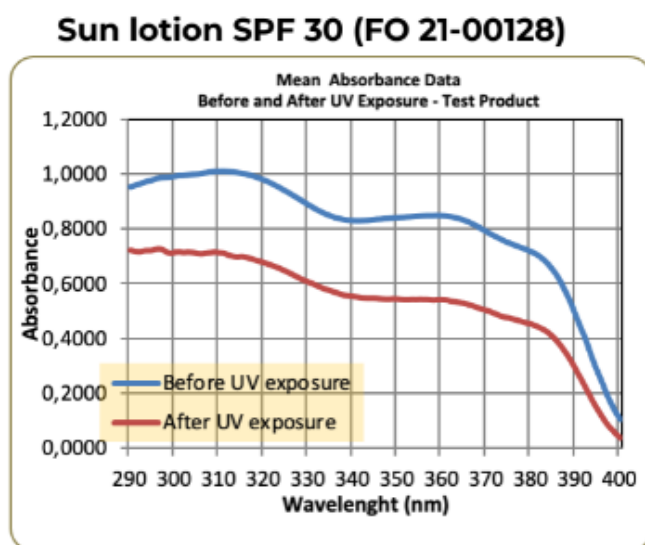
Kritična valna duljina nakon zračenja: 378,45 nm

Tablica 23. Uvjeti testiranja za formulaciju 2 (SPF 30.1 -očekivani UVA 10)⁵¹

	(FO 21-00128)				S2 Reference Sunscreen			
<u>Date of Testing:</u>	30/03/2023				13/03/2023			
<u>Measured/Labeled SPF (In Vivo):</u>	31/30				16/16			
<u>UVA Irradiance:</u> <small>(requirement 40 to 240 W/m²)</small>	56.0 W/m ²				56.0 W/m ²			
<u>Irradiance Ratio of UVA/UVB:</u> <small>(requirement 8 to 22)</small>	9.4				9.4			
	Plate1	Plate2	Plate3	Plate4	Plate1	Plate2	Plate3	Plate4
<u>Exposure Duration [min]:</u>	64.9	65.7	66.3	69.3	61.0	61.1	60.8	60.8
<u>Total dose UVA_(320-400nm) [J/cm²]:</u>	19.19	19.42	19.59	20.48	18.04	18.06	17.98	17.98
<u>C Coef(av.):</u> <small>¹Test product recommendation: 0.8 to 1.6)</small>	1.43	1.48	1.57	1.57	1.22	1.17	1.09	1.25
<u>Drying Temperature:</u>	33°C				33°C			
<u>Irradiation Temperature:</u> <small>(requirement: between 75 and 35°C)</small>	33°C				33°C			

Tablica 24. Rezultati određivanja UVA faktora u formulaciji 2 (SPF 30.1 – očekivani UVA 10)⁵¹

	(FO 21-00128)	S2 Reference Sunscreen
<u>In-Vitro UVAPFDx:</u>	6.17	14.59 (requirement 10.7 – 14.7)
<u>UVAPF C.V. %:</u> (limit 17%)	10,49%	1.98%
<u>Critical Wavelength:</u> (requirement: minimum 370 nm)		
Pre Irradiation:	380.15 nm	381.30 nm
Post Irradiation:	378.70 nm	381.15 nm
Ratio (Measured SPF in vivo/UVAPF):	4,99	2,98
Ratio (Labeled SPF in vivo/UVAPF):	4,86	2,98



Slika 32. Grafički prikaz ovisnosti absorbancije o valnoj duljini za kremu za sunčanje (formulacija 2-očekivani UVA 10) prije i nakon izlaganja UV zračenju⁵¹

Ovim ispitivanje odredivan je UVA faktor u kremi za sunčanje očekivanog UVA faktora 10 in vitro metodom. Rezultati:

In-vitro UVA-PF: 6,17

Kritična valna duljina nakon zračenja: 378,70 nm

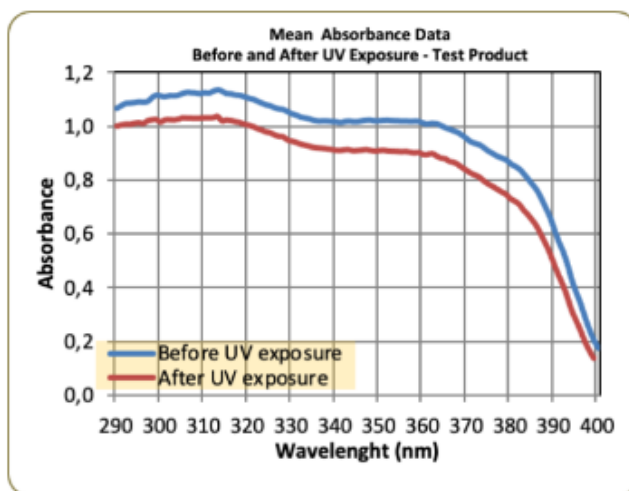
Tablica 25. Uvjeti testiranja za formulaciju 3 (SPF 47,4-očekivani UVA 18)⁵¹

	FO 21-00122	P8 Reference Sunscreen							
<u>Date of Testing:</u>	21/06/2023	30/05/2023							
<u>Measured/Labeled SPF (In Vivo):</u>	--/50	63/60							
<u>UVA Irradiance:</u> <small>(requirement 40 to 240 W/m²)</small>	56.0 W/m ²	56.0 W/m ²							
<u>Irradiance Ratio of UVA/UVB:</u> <small>(requirement 8 to 22)</small>	9.4	9.4							
		Plate1	Plate2	Plate3	Plate4	Plate1	Plate2	Plate3	Plate4
<u>Exposure Duration [min]:</u>		133.4	137.8	139.4	140.5	77.2	78.3	78.6	77.2
<u>Total dose UVA_(320-400nm) [J/cm²]:</u>		35.22	36.38	36.79	37.09	23.34	23.68	23.78	23.36
<u>C Coef(av.):</u> <small>(Test product recommendation: 0.8 to 1.6)</small>		1.45	1.55	1.55	1.56	0.76	0.77	0.76	0.76
<u>Pre irradiation UVA</u>		29.35	30.31	30.66	30.91	19.45	19.73	19.81	19.47
<u>Drying Temperature:</u>		33°C				33°C			
<u>Irradiation Temperature:</u> <small>(requirement: between 75 and 35°C)</small>		33°C				33°C			

Tablica 26. Rezultati određivanja UVA faktora u formulaciji 3 (SPF 47,4- očekivani UVA 18)⁵¹

	FO 21-00122	P8 Reference Sunscreen
<u>In-Vitro UVAPFDx:</u>	20.34	21.15 (requirement 19.1 – 23.1)
<u>UVAPF C.V. %:</u> <small>(limit 17%)</small>	16,31%	4.17%
<u>Critical Wavelength:</u> <small>(requirement: minimum 370 nm)</small>		
Pre Irradiation:	381.10 nm	380.00 nm
Post Irradiation:	379.85 nm	380.20 nm
<u>Ratio (Measured SPF in vivo/UVAPF):</u>	--	3,30

FO 21-00122



Slika 33. Grafički prikaz ovisnosti absorbancije o valnoj duljini za kremu za sunčanje (formulacija 3- očekivani UVA 18) prije i nakon izlaganja UV zračenju⁵¹

Ovim ispitivanje određivan je UVA faktor u kremi za sunčanje očekivanog UVA faktora 18 in vitro metodom. Rezultati:

In-vitro UVA-PF: 12,6

Kritična valna duljina nakon zračenja: 379,65 nm

7. Komentiranje rezultata i zaključak

Eksperimentalni dio započeo je teorijskim izračunom koncentracija UV filtera, Potom su pripremljeni uzorci formulacija prikazanih u *tablicama 7., 8., i 9.* te su poslani na testiranje. Nakon upoznavanja dobrovoljaca s postupkom provođenja testiranja započeto je testiranje u prisutnosti dermatologa. Prva faza testiranja bila je određivanje "privremenog" MED. Privremeni MED (MEDi) određivao se tjedan dana prije samog testiranja proizvoda. MEDi određen je ITA° tehnikom. On nam je važan kako bi mogli odrediti raspon UV doza kojima se ispitanici moraju podvrgnuti kako bi odredili MEDp i MEDu. Primjerice, ukoliko je ITA° vrijednost ispitanika iznosila 28° do 30° ispitanik se izlaže dozi od 361 J/m². Veća ITA° vrijednost označava svjetliju kožu, odnosno zahtjevati će se manje UV izlaganje kako bi odredili MEDp i MEDu. Raspon ITA° vrijednosti kretao se od 32° do 60°. Na dan testiranja, na ispitanike su se prema zahtjevima nanosile odgovarajuće količine uzoraka prema zahtjevima koji su opisani ranije. U *tablici 15., 16., 17., 18., 19. i 20.* prikazani su rezultati ITA mjerenja, datum ispitivanja, inicijali odgovorne osobe za nanošenje uzorka i osobe odgovorne za procjenu MEDp i MEDu, rezultati MEDp i MEDu za testirane proizvode, rezultati individualnog SPF za testirane proizvode, kao MEDp i MEDu za referentne proizvode. Potom je na temelju tih vrijednosti izračunat ukupni SPF. Teorijski SPF za formulaciju 1 iznosio je 30,9, dok je eksperimentalno dobiven 30,8. Za formulaciju 2 teorijski SPF=30,1 a eksperimentalni SPF=33,4. Kod formulacije 3 teorijski SPF=47,4 a eksperimentalni=56,8. Uz to određene su SPF vrijednosti referentnih formulacija (koje su odabrane s obzirom na očekivane SPF vrijednosti) kako bi se provjerilo je li metoda dobro provedena. Nakon što se provjerila provedba metode, izračunata je standardna devijacija prema *jednadžbi 3*, standardna pogreška prema *jednadžbi 5*, s.e% od prosječne srednje vrijednosti te 95% interval vjerojatnosti prema *jednadžbi 4*. Standardne devijacije su iznosile: s(formulacija 1)=2,20, s(formulacija 2)=3,33 i s(formulacija 3)=4,72. Prema tome vidimo da je najveća standardna devijacija kod formulacije 3, odnosno formulacije koja ima najveći zaštitni faktor. Time zaključujemo da povećanjem zaštitnog faktora, smanjuje se točnost metode jer dolazi do sve većeg raspršenja podataka što utječe na konačne rezultate. Standardno odstupanje od prosječne srednje vrijednosti iznosilo je: s.e.% (formulacija 1)=2,3%, s.e.%(formulacija 2)=3,1% te s.e.% (formulacija 3)=2,6%. Najveće standardno odstupanje od prosječne srednje vrijednosti dobiveno je u formulaciji 2. Time zaključujemo da formulacija 2

različito djeluje na različite tipove kože i time dobivamo rezultate koji odskakuju od očekivane vrijednosti, primjerice na različitim tipovima kože izmjeren je SPF 30,0 i 37,6. Izračunom 95% intervala pouzdanosti određen je i 17% interval srednje vrijednosti SPF. Oni su redom iznosili: 17% interval srednje vrijednosti SPF (formulacija 1)=25,6-36,0 , 17% interval srednje vrijednosti SPF (formulacija 2)=27,7-39,1 i 17% interval srednje vrijednosti SPF (formulacija 3)=47,1-66,5. S obzirom da se sve dobivene vrijednosti SPF-a nalazile unutar navedenih intervala nije odbačeno ni jedno testiranje. Usporedbom s teorijski zadanim vrijednostima, zaključili smo da su rezultati zadovoljavajući i da su teorijska i eksperimentalna metoda određivanja faktora zaštite u kremama za sunčanje veoma kompaktibilne i mogu se povezivati kako bi se dobili zadovoljavajući rezultati i konkurentan proizvod na tržištu.

Osim SPF vrijednosti u ove tri formulacije je prilikom testiranja određen UVA, odnosno UVB faktor. Prema zahtjevima na tržištu, da bi proizvod prošao testiranje omjer UVA/UVB > 1/3. UVA faktor određivan je in vitro mjerenjem transmisije formulacije nanosene na PMMA ploču.

Određena je srednja monokromatska vrijednost apsorbancije po pločici ispitivanog proizvoda prije UV izlaganja, i na temelju toga te SPF-a, PPD akcijskog spektra, spektralnog zračenja UV izvora te koraka valne duljine određena je UVA- PF_0 vrijednost iz koje se izračunala UVA doza (D) isto tako UVA-PF vrijednost nakon UV izlaganja. Izračunate su i kritične valne duljine uzorka prije i nakon izlaganja zračenju. Uvjeti određivanja prikazani su u *tablicama 21., 23. i 25.*, a rezultati ispitivanja u *tablicama 22., 24. i 26.* Na grafičkim prikazima 30., 32. i 33. prikazane su ovisnosti absorbancije o valnoj duljini prije i nakon UV izlaganja. Iz *grafičkog prikaza 30.* koji prikazuje ovisnost absorbancije o valnoj duljini za formulaciju 1 primjećujemo kako je u početku ovisnost absorbancije o valnoj duljini veća za uzorak nakon UV izlaganja, ali povećanjem valne duljine dolazi do smanjenja absorbancije u oba uzorka, ali je ipak manja za uzorak nakon UV izlaganja. U *grafičkom prikazu 31.* prikazana je ista ta ovisnost ali za referentni uzorak, te primjećujemo kako se kod referentnog uzorka te dvije ovisnosti gotovo u potpunosti poklapaju. Promatrajući *grafički prikaz 32.* za formulaciju dva primjećujemo da će kod uzorka nakon izlaganja UV zračenju biti puno manja ovisnost absorbancije pri jednakim valnim duljinama nego je to kod uzorka prije UV izlaganja. Slično vrijedi i kod *grafičkog prikaza 33.* koji se odnosi na formulaciju 3. Teorijski određene UVA vrijednosti su :

UVA(formulacija 1)=11, UVA(formulacija 2)=10 i UVA(formulacija 3)=18, a eksperimentalno dobivene UVA(formulacija 1)=14,54, UVA(formulacija 2)=6,17 i UVA(formulacija 3)=12,6.

Zaključujemo kako UVA testiranje nije zadovoljavajuće, odnosno teorijski pretpostavljene vrijednosti ne prate eksperimentalne (kod formulacije 2 i 3 to su znatno manje a kod formulacije veće vrijednosti). Formulacija 1 zadovoljava UVA zahtjeve, dok je kod formulacija 2 i 3 premala vrijednost UVA faktora i nisu prošle testiranje te se kao takve ne mogu plasirati na tržište. S obzirom da je metoda za određivanje UVA faktora zadovoljavajuća (što smo zaključili na temelju referentnih vrijednosti) pretpostavlja se da je razlog zašto formulacije 2 i 3 nisu zadovoljile teorijske zahtjeve taj da je dio aktivnih sastojaka (UVA nosioca zaštite) ispario s obzirom da formulacije u sebi sadržavaju etanol koji ih je povukao sa sobom, dok kod formulacije 1 to nije slučaj. Prema tome zaključujemo kako će na iznos konačnih UVA faktora znatno utjecati i baza pa bi se prilikom teorijskih izračuna i to trebalo uzeti u obzir prije slanja na testiranje kako proizvodi ne bih bili odbačeni.

8. Literatura

- [1] Blum H, Eicher M, Teurus W: Evaluation of protective measures against sunburn, Am j Physiol 146, 118-125, 1945.
- [2] Willis I, Kligman AM: Evaluation of sunscreens by human assay, J Soc Cosm Chem, 20, 639-651, 1969.
- [3] Kaidbey KH, Kligman AM: Laboratory methods for appraising the efficacy of sunscreen, J Soc Cosm Chem. 29, 525-536, 1978
- [4] Bilek P, Dosckoczil S, Greiter F: Sun protection factor (SPF): problems and recommendations
- [5] Morton JJ, Murphy EG: Sun protection factors: regulatory issues and methods of determinations
- [6] Skillman J: Sunscreen testing, FDA public method report, Cosmet Toil, 103, 55-85
- [7] Sayre R. Sunlight risk and how sunscreen work, Cosm Toil, 105-109
- [8] Urbach F: The historical aspects of sunscreen, J Photochem Photobiol, 99-104
- [9] Groves G: The protective ability of sunscreens, Plenum Press 1991.
- [10] Sayre R: Sunlight risk and how sunscreen work, Cosm Toil, 105-109
- [11] Standard Association of Australia: Sunscreen products, evaluation and classification
- [12] Gabriel K., Marks R, Jackson EM, Davies RE: Sun protection factor testing : Comparison of FDA and DIN method
- [13] Sunscreen testing- Tehnical report, Comission Internationale de l'Eclairage
- [14] Japan Cosmetic Industry Association : Standard SPF testing
- [15] DIN: Experimental evaluation of erythematous protection of external sunscreen products for the human skin

- [16] Department of health and human services, FDA, USA : Sunscreen drug products for over-the-counter use
- [17] Stenberg C, Larko O: Sunscreen application and its importance for the sun protection factor,1400-1402
- [18] Sayre RM, Powell J, Rheims LA: Product application technique alters the sun protection factor
- [19] Brown S, Diffey BL: The effect of applied thickness on sunscreen protection: in vivo and in vitro studies
- [20] Luckiesh M, Taylor A: Erythematous and tanning effectiveness of ultraviolet energy, General Electric Review
- [21] Pearse A, Marks R: Response of human skin to ultraviolet radiation: dissociation of erythematous and metabolic changes following sunscreen protection
- [23] Van der Leun J.: Interactions of different wavelengths in effects of UV radiation on skin,257-264
- [24] Fitzpatrick TB: The validity and practicability of sun-reactive skin types, Archives Dermatol.
- [25] Searle N, Hirt R: Ultraviolet spectral energy distribution of sunlight
- [26] Sayre RM: COLIPA Standard for solar simulators
- [27] Berger D: Simulating solar radiation, Solar UV simulator skin testing
- [28] Diffey B, Farr P, Oakley A: Quantitative studies on UVA-induced erythema in human skin
- [29] Kagetsu N, Gange W , Parrish J: UVA-induced erythema, pigmentation and skin surface temperature changes are irradiance dependent
- [30] Diffey B, Jansen C, Urbach F, Wulf HC: The standard erythema dose
- [31] Chardon A: Some Consideration on Mathematical Aspects : Expression and Calculation on Integrals : Sun Protection Measurements

- [32] Azizi E, Modan M, Kushelevsky AP, Schewach-Millet M: A more reliable index of sunscreen protection, based on life table analysis of individual sun protection factors
- [33] https://en.wikipedia.org/wiki/Borak_%28cosmetic%29 (pristup 18. Siječnja 2023.)
- [34] <http://eosmith.com/suntans-cornflakes-coco-chanel-skin-cancer/> (pristup 18. Siječanj 2023.)
- [35] <https://oceanservice.noaa.gov/news/sunscreen-corals.html> (pristup 20. Siječanj 2023.)
- [36] <https://avasol.com/collections/sunscreen> (pristup 30. Siječanj 2023.)
- [37] <https://www.sciencephoto.com/media/1156401/view/solar-radiation-reflection-and-absorption-illustration> (pristup 18. Veljače 2023.)
- [38] <https://skinkraft.com/blogs/articles/various-types-of-uv-rays-affect-on-skin> (pristup 18. Veljače 2023.)
- [39] <https://www.mojeoko.hr/savjeti-za-zdrave-oci/bolesti-oka-i-smetnje-vida/snjezna-slepoca-ili-fotokeratitis> (pristup 18. Veljače 2023.)
- [40] <https://depositphotos.com/187866130/stock-illustration-definition-sun-protection-factor-spf.html> (pristup 18. Veljače 2023.)
- [41] https://www.researchgate.net/figure/Relationship-between-sun-protection-factor-SPF-and-ultraviolet-UV-effect-UV_fig1_273468195, figure 4 (pristup 18. Veljače 2023.)
- [42] <https://pimgrup.com/en/spf-analysis-sun-protection-factor/> (pristup 19. Veljače 2023.)
- [43] <https://ultraviolette.com.au/blogs/news/uv-filters> (pristup 19. Veljače 2023.)
- [44] <https://deeproofsathome.com/plant-based-sun-protection/> (pristup 02. Ožujka 2023.)
- [45] <https://skincareandmoore.com/the-fitzpatrick-scale-all-about-your-skin-type/> (pristuo 03. Ožujka 2023.)
- [46] https://www.researchgate.net/figure/Structure-of-eumelanin-and-pheomelanin-The-positions-with-COOH-in-eumelanin_fig2_331903150 (pristup 27. Lipnja 2023.)

[47] <https://www.heatwaveworcester.co.uk/tanning-worcester/fitzpatrick-skin-type/> (pristup 18. Veljače 2023.)

[48] <https://www.newport.com/f/uv-solar-simulators> (pristup 04.Ožujka 2023.)

[49] <https://www.mdpi.com/2076-3417/12/22/11521> (pristup 04. Ožujka 2023.)

[50] https://sunscreensimulator.basf.com/Sunscreen_Simulator

[51] THE REPORT FROM DETERMINING THE DEGREE OF PROTECTION AGAINST UVA RADIATION OF COSMETICAL PRODUCT, Zidac 2023.