



**ΕΘΝΙΚΟΝ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟΝ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΑΘΗΝΩΝ**

**Χαρακτηρισμός και βελτιστοποίηση  
της διεργασίας παραγωγής  
γαλακτωμάτων μέσω της συγκριτικής  
αξιολόγησης δύο τύπων πειραματικού  
σχεδιασμού.**

**ΤΜΗΜΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**

**ΚΑΜΠΑΝΗ ΑΝΝΑ-ΜΑΡΙΑ**

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ ΦΑΡΜΑΚΕΥΤΙΚΗΣ**

**2014**

## **ΠΡΟΛΟΓΟΣ**

Η παρούσα διπλωματική εργασία πραγματοποιήθηκε στο Εργαστήριο Φαρμακευτικής Τεχνολογίας, του τμήματος Φαρμακευτικής του Εθνικού και Καποδιστριακού Πανεπιστημίου Αθηνών, κατά το έτος 2014 στα πλαίσια του Μεταπτυχιακού προγράμματος Βιομηχανικής Φαρμακευτικής.

Έχοντας πλέον ολοκληρώσει τη διπλωματική εργασία και τον κύκλο των μεταπτυχιακών μου σπουδών, θα ήθελα να ευχαριστήσω ιδιαίτερα τους καθηγητές μου, τον Αναπληρωτή καθηγητή κ. Δημήτριο Ρέκκα και τον Επίκουρο καθηγητή κ. Παρασκευά Δάλλα. Τους ευχαριστώ ιδιαίτερα, για όλες τις γνώσεις που μου προσέφεραν στις προπτυχιακές σπουδές, τα μαθήματα που πήρα κατά τη διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας, αλλά και για την ώθηση και τη δημιουργία μέσω αυτών, της επιθυμίας μου, να συνεχίσω τις σπουδές μου σε μεταπτυχιακό επίπεδο.

Οι συμβουλές τους, το ενδιαφέρον τους και οι υποδείξεις τους, υπήρξαν καθοριστικές σε όλη τη διάρκεια της συνεργασίας μας αλλά και για την ολοκλήρωση της παρούσας εργασίας.

Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την Αναπληρώτρια καθηγήτρια κ. Γεωργία Βαλσαμή για την τιμή που μου έκανε με την παρουσία της στην τριμελή επιτροπή.

Θα ήθελα ακόμη να ευχαριστήσω όλους του συμφοιτητές μου, διδακτορικούς, μεταπτυχιακούς και προπτυχιακούς για την εξαιρετική συνεργασία μας στο εργαστήριο.

Τελειώνοντας, θα ήθελα να ευχαριστήσω τους γονείς μου, τους οποίους εκτιμώ απεριόριστα, γιατί βρίσκονται πάντα κοντά μου, βοηθώντας κάθε μου προσπάθεια.

**Καμπανή Αννα-Μαρία**

**Αθήνα, Ιούλιος 2014**

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην παρούσα διπλωματική εργασία επιχειρήθηκε η αξιολόγηση της σταθερότητας γαλακτωμάτων, μέσω της συγκριτικής μελέτης δύο πειραματικών σχεδιασμών. Ειδικότερα, παρασκευάστηκαν γαλακτώματα με ελαιώδη φάση προερχόμενη από εκχύλιση των φυτών *Calendula officinalis* και *Hypericum perforatum*, και η σταθερότητα τους εκτιμήθηκε μέσω της σύγκρισης δύο παραγοντικών σχεδιασμών, ενός πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού (τριών παραγόντων σε τρία επίπεδα) και ενός Box Behnken σχεδιασμού.

Στο θεωρητικό μέρος, αναπτύχθηκε η θεωρία του σχηματισμού γαλακτωμάτων, και έγινε αναφορά στα συστατικά που απαρτίζουν τα γαλακτώματα τα οποία παρασκευάστηκαν. Παράλληλα, ορίστηκαν οι τρεις παράγοντες (μάζα, χρόνος, ταχύτητα ομογενοποίησης), οι οποίοι συσχετίστηκαν με την απόκριση  $d(n,0.9)$  μέσω της ανάλυσης των δυο τύπων πειραματικού σχεδιασμού.

Έπειτα, στο πειραματικό μέρος ταυτοποιήθηκαν οι παράγοντες που επιδρούν με στατιστικά σημαντικό τρόπο στη διεργασία και ανιχνεύθηκαν οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ τους. Κατά αυτό τον τρόπο επιτεύχθηκε χαρακτηρισμός της διεργασίας.

Με τη χρήση ειδικών στατιστικών όρων όπως R-squared, Pred.R-squared αλλά και του σφάλματος πρόβλεψης των δύο σχεδιασμών, αξιολογήθηκαν οι δύο τύποι σχεδιασμού, όπου κρίθηκαν και οι δυο ικανοποιητικοί ως προς την δυνατότητα πρόβλεψης τους από τα εξαγόμενα μαθηματικά μοντέλα.

Εν συνεχεία, εντοπίστηκε ο βέλτιστος χώρος εντός του πειραματικού σχεδιασμού, μέσα στον οποίο ο συνδυασμός των παραγόντων οδήγησε στις χαμηλότερες δυνατές τιμές της απόκρισης (σταθερά γαλακτώματα). Συγκεκριμένα, ο βέλτιστος χώρος βρίσκεται σε υψηλές ταχύτητες ομογενοποίησης, και είναι ανεξάρτητος του χρόνου ομογενοποίησης και της μάζας του προς ομογενοποίηση υλικού.

Δεδομένου ότι και οι δύο σχεδιασμοί μπορούν να θεωρηθούν ισοδύναμοι ως προς την αποτελεσματικότητά τους, οδηγηθήκαμε στο συμπέρασμα ότι ο Box Behnken σχεδιασμός υπερτερεί έναντι του πλήρους παραγοντικού σχεδιασμού καθώς εξασφαλίζει αξιόπιστα αποτελέσματα παρέχοντας ταυτόχρονα μεγάλη οικονομία χρόνου (υποδιπλάσιος αριθμός πειραμάτων) και χαμηλό κόστος σε σύγκριση με τον πλήρη παραγοντικό.

## ABSTRACT

The present study aims to evaluate the emulsion stability by comparing two types of experimental design . Specifically , emulsion oily phase derived from *Calendula officinalis* and *Hypericum perforatum* extraction, and their stability was evaluated by comparing two factorial designs , a full factorial design ( three factors at three levels) and a Box Behnken design .

In the first part , the theory of emulsion formation is developed , and an extensive reference of the components that make up the emulsions is represented. Furthermore , there were three factors defined (mass , time, homogenization speed) , which are correlated with the response  $d(v, 0.9)$  through the analysis of the two types of experimental design.

In the experimental part, factors affecting a statistically significant manner of the process have been identified and the interactions between them have been detected, leading to the characterization of the process.

By using specific statistical terms such as R-squared, Pred.R-squared and the prediction error of the two designs , both types of design were evaluated , and they were judged satisfactory on their forecasting ability .

Subsequently, the optimum area within experimental design was determined, in which the combination of factors led to the lowest values of the response (stable emulsions) . Specifically , the area optimization takes place at high speed homogenization, and is independent of time and mass of material.

Since both designs can be considered equivalent in their effectiveness , it is concluded that the Box Behnken design outweighs the full factorial design as it ensures reliable results, while providing major time savings ( half number of experiments ) and low cost.

# Κεφάλαιο 1- ΘΕΩΡΙΑ ΤΩΝ ΓΑΛΑΚΤΩΜΑΤΩΝ

## I.1. Συστήματα διασποράς- Γαλακτώματα

---

### I.1.1 Ορισμός των γαλακτωμάτων και κατηγοριοποίηση τους.

Αντικείμενο της μελέτης της παρούσας διπλωματικής εργασίας αποτελούν τα γαλακτώματα. Αυτά συνιστούν ετερογενή συστήματα διασποράς, αποτελούμενα από δύο μη αναμιγνυόμενες υγρές φάσεις, την εξωτερική ή συνεχή, που αποτελεί το μέσο διασποράς και την ασυνεχή ή εσωτερική, που βρίσκεται διασπαρμένη στην πρώτη υπό τη μορφή σφαιρικών σταγονιδίων. [1]

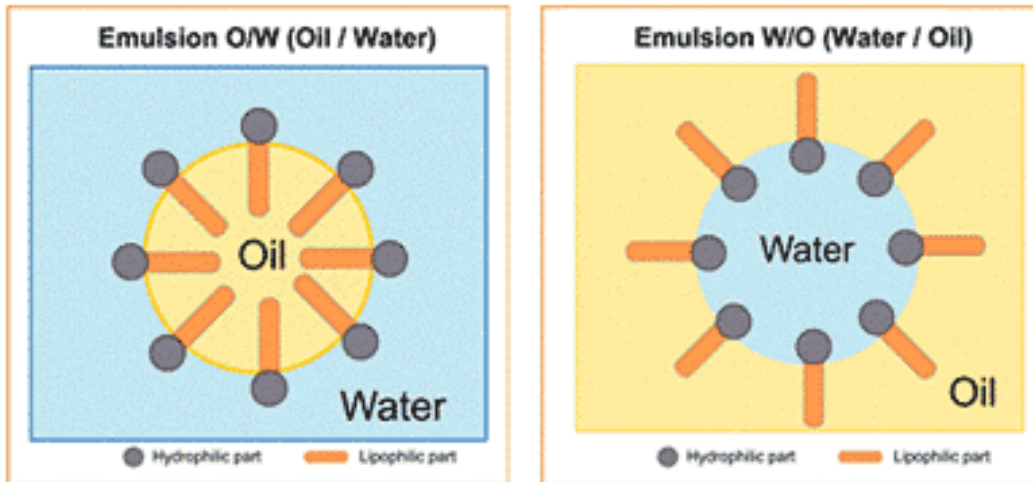
Τα γαλακτώματα κατατάσσονται σε διάφορες κατηγορίες, ανάλογα με τα εκάστοτε χαρακτηριστικά που μελετάμε κάθε φορά. Έτσι λοιπόν μια πρώτη μορφή κατηγοριοποίησης των γαλακτωμάτων γίνεται με βάση τη φύση της εξωτερικής φάσης. Στην πλειοψηφία των περιπτώσεων οι δύο υγρές φάσεις των γαλακτωμάτων είναι το νερό και το λάδι. Στην περίπτωση όπου το λάδι αποτελεί το μέσο διασποράς, το γαλάκτωμα αποκαλείται water in oil (w/o), και στην ακριβώς αντίθετη περίπτωση oil in water (o/w). Υπάρχουν επίσης και πολλαπλά γαλακτώματα, όπου εσωτερική φάση είναι στην ουσία ένα γαλάκτωμα (o/w/o και w/o/w).

Επιπρόσθετα, με βάση το μέγεθος των σταγονιδίων της διασπαρμένης φάσης, τα γαλάκτωματα μπορούν να χωριστούν στις κατηγορίες των μικρογαλακτωμάτων και των μακρογαλακτωμάτων. Στην περίπτωση των μικρογαλακτωμάτων η διάμετρος των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης κυμαίνεται μεταξύ των 0,005-0,1  $\mu\text{m}$ , ενώ στα μακρογαλακτώματα μεταξύ των τιμών 0,1-100  $\mu\text{m}$ .

Η φύση της εξωτερικής φάσης των γαλακτωμάτων αποτελεί καθοριστικό χαρακτηριστικό για τη συμπεριφορά και τις ιδιότητες των γαλακτωμάτων. Με βάση τις ιδιότητες της εξωτερικής φάσης τα γαλακτώματα υποβάλλονται στις παρακάτω δοκιμασίες, ώστε να διαπιστωθεί ο τύπος τους, εάν είναι δηλαδή o/w ή w/o. [1]

1. **Δοκιμασία αραιώσης:** Με την προσθήκη νερού σε γαλακτώματα o/w, αυτό ενσωματώνεται και παραμένουν σταθερά. Αντίθετα στην περίπτωση των w/o γαλακτωμάτων η προσθήκη νερού οδηγεί σε διαχωρισμό της ελαιώδους φάσης.
2. **Δοκιμασία αγωγιμότητας:** Τα o/w γαλακτώματα έχουν πολύ μεγάλη ηλεκτρική αγωγιμότητα συγκριτικά με τα w/o.

3. **Δοκιμασία χρωματισμού:** Κατά την προσθήκη υδατοδιαλυτής χρωστικής σε ο/w γαλάκτωμα, παρατηρείται ομοιόμορφος χρωματισμός του γαλακτώματος, ενώ η χρωστική σχηματίζει συσσωματώματα στην περίπτωση των w/o γαλακτωμάτων.



**Εικόνα 1:** Απεικόνιση των ειδών των γαλακτωμάτων, ο/w (αριστερά) και w/o (δεξιά).

### 1.1.2 Διαδικασία σχηματισμού γαλακτωμάτων.

Τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα. Ειδικότερα, για να μπορέσει να μετατραπεί μια ποσότητα υγρού σε σταγονίδια που θα αποτελέσουν τη διεσπαρμένη φάση, απαιτείται ενέργεια μέσω της μηχανικής ανάδευσης που πραγματοποιείται στα συστατικά των γαλακτωμάτων. Η μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων του υγρού, συνεπάγεται αύξηση της επιφάνειας της διεσπαρμένης φάσης και ως εκ τούτου αύξηση της ενέργειας της επιφάνειας. Έτσι, το σύστημα με την πάροδο του χρόνου τείνει να μετατραπεί σε μία θερμοδυναμικά σταθερότερη μορφή με συνένωση των σταγονιδίων, και επακόλουθη μείωση της επιφάνειας και συνεπώς και της επιφανειακής ενέργειας.

Κατά το σχηματισμό των γαλακτωμάτων, πραγματοποιούνται ταυτόχρονα τα παρακάτω φαινόμενα. Αρχικά, με τη μηχανική ανάδευση του μίγματος ελαίου και νερού, οι δυο φάσεις τείνουν να σχηματίσουν σταγονίδια, τα οποία με τη διακοπή της ανάδευσης διαχωρίζονται σε δύο φάσεις. Για να μπορέσει η διεσπαρμένη φάση να παραμείνει σε μορφή σταγονιδίων, για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα, σύμφωνα με τη διάρκεια ζωής του γαλακτώματος, απαιτείται η προσθήκη γαλακτωματοποιητή. Οι γαλακτωματοποιητές είναι αμφίφιλα μόρια, αποτελούμενα από πολικές και μη πολικές ομάδες. Έτσι, κατά την προσρόφηση των

γαλακτωματοποιητών στην ενδοεπιφάνεια ελαίου και νερού, οι πολικές ομάδες διατάσσονται προς την υδατική φάση και οι μη πολικές προς την ελαιώδη φάση.

Αναλυτικότερα, οι γαλακτωματοποιητές προσροφόμενοι στην ενδοεπιφάνεια, ελαττώνουν την ενδοεπιφανειακή τάση άρα και την ελεύθερη ενέργεια, ενώ ταυτόχρονα σχηματίζουν μια προστατευτική στιβάδα γύρω από κάθε σταγονίδιο της διεσπαρμένης φάσης, εμποδίζοντας κατά αυτό τον τρόπο τη συνένωση τους.

Μέσω της διαδικασίας της γαλακτωματοποίησης επιδιώκεται η ελαχιστοποίηση της διαφοράς μεταξύ της ελεύθερης ενέργειας του γαλακτώματος και της ελάχιστης ελεύθερης ενέργειας, ώστε να καθυστερήσει όσο το δυνατόν περισσότερο η συνένωση των σταγονιδίων, και ο επακόλουθος διαχωρισμός φάσεων του γαλακτώματος.[1],[2]

### I.1.3 Υδρόφιλη- Λιπόφιλη ταξινόμηση/ Hydrophil-Lipophil Balance (HLB).

Μέσω του Griffin επινοήθηκε μία αυθαίρετη κλίμακα τιμών για να χρησιμοποιηθεί ως μέτρο της υδρόφιλης-λιπόφιλης ισορροπίας (HLB) των επιφανειοδραστικών ουσιών. Οι υδρόφιλες ουσίες εμφανίζουν υψηλές τιμές HLB (>7) και σχηματίζουν ο/ω γαλακτώματα, ενώ οι λιπόφιλες χαμηλές τιμές HLB(<7) και δίνουν w/o γαλακτώματα. (Πίνακας 1).

Το HLB ενός μη ιονικού επιφανειοδραστικού του οποίου το υδρόφιλο τμήμα είναι αποκλειστικά το πολυοξαιθυλένιο υπολογίζεται από τον παρακάτω τύπο:

$$HLB = E/5$$

όπου E= το % βάρος του αυθυλενοξειδίου.

Για εστέρες λιπαρών οξέων η τιμή HLB δίνεται από τον τύπο:

$$HLB = 20(1 - S/A)$$

Για να προκύψει σταθερό γαλάκτωμα θα πρέπει η τιμή HLB του γαλακτωματοποιητή, ή του μείγματος των γαλακτωματοποιητών να είναι ίσο με το απαιτούμενο HLB για γαλακτωματοποίηση.[1] Δηλαδή:

<b>Required-HLB(ελαιώδους φάσης)= HLBγ(μείγματοςγαλακτωματοποιητών)</b>
---



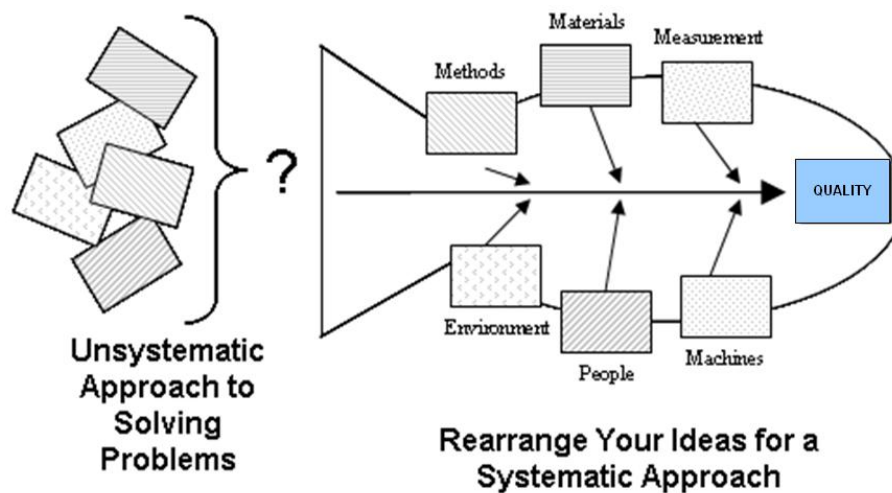


#### I.1.4 Συντήρηση γαλακτωμάτων-Ιδανικό συντηρητικό.

Τα συντηρητικά, προστίθενται στα γαλακτώματα για να παράσχουν την απαραίτητη αντιμικροβιακή προστασία, ώστε αυτά να είναι ασφαλή κατά τη χρήση τους σε όλη τη διάρκεια ζωής τους. Οι μεταβολές στις ιδιότητες τους, μπορούν να παρατηρηθούν οπτικά είτε με αλλαγή του χρώματος των γαλακτωμάτων, είτε με μεταβολή των ρεολογικών χαρακτηριστικών τους, είτε με την εμφάνιση δυσάρεστων οσμών. Είναι δυνατόν, τα ίδια τα συστατικά των γαλακτωμάτων να ευνοούν την ανάπτυξη μικροοργανισμών (όπως η εξωτερική υδατική φάση στα ο/ω γαλακτώματα), καθιστώντας τα έτσι ακατάλληλα για φαρμακευτική χρήση.

Για την επίτευξη λοιπόν αντιμικροβιακής προστασίας προστίθενται συντηρητικά, τα οποία καταστρέφουν ή παρεμποδίζουν την ανάπτυξη μικροοργανισμών σε όλη τη διάρκεια παραγωγής και χρήσης των εν λόγω προϊόντων [1][4].

Αξίζει να επισημανθεί ότι η προσθήκη συντηρητικών στα σκευάσματα δεν υποκαθιστά σε καμία περίπτωση τις Αρχές Ορθής Πρακτικής Παραγωγής (GMP), καθώς η ποιότητα αποτελεί χαρακτηριστικό του προϊόντος που οφείλει να ενσωματώνεται σε αυτό, καθόλη τη διάρκεια της παραγωγικής διαδικασίας (Built-in quality) [3][4]. Αντιθέτως με βάση διεθνείς οδηγίες, η χρήση των συντηρητικών έγκειται στην προστασία του προϊόντος από μικροβιακή επιμόλυνση από τη στιγμή που αυτό θα ανοιχτεί και έως όλη τη διάρκεια ζωής του.



**Εικόνα 3 : Διαγραμμα Ishikawa όπου απεικονίζονται οι 5M+E παραγοντες που συμβαλλουν στα τελικα χαρακτηριστικα ποιότητας του προϊοντος.**

Για να είναι κατάλληλο ένα συντηρητικό, θα πρέπει να έχει τις ακόλουθες ιδιότητες [1]:

- Ευρύ αντιμικροβιακό φάσμα, δηλαδή ισχυρή βακτηριοστατική ή καλύτερα βακτηριοκτόνο δράση, έναντι των μικροοργανισμών.
- Συνεχή δράση, δηλαδή να είναι σταθερή ουσία και να μην αλλοιώνεται από τις καιρικές συνθήκες ή τις συνθήκες φύλαξης του σκευάσματος.
- Συμβατό χημικώς και φαρμακολογικώς με τα άλλα συστατικά του σκευάσματος, καθώς και με την συσκευασία
- Μη τοξικό, μη ερεθιστικό και να μην προκαλεί αλλεργία ή ευαισθητοποίηση, όταν το σκεύασμα χρησιμοποιείται για μεγάλο χρονικό διάστημα
- Να βρίσκεται σε μη ιονική κατάσταση, ώστε να μπορεί να διαπερνά την κυτταρική μεμβράνη των μικροοργανισμών
- Διαλυτό στη συνταγή, στην απαιτούμενη συγκέντρωση
- Σταθερό σε μεγάλο εύρος θερμοκρασίας και Ph
- Να μην επηρεάζει την οσμή, το χρώμα και τις ρεολογικές ιδιότητες του προϊόντος
- Εύκολα διαθέσιμο και σε χαμηλό κόστος.

Παράλληλα, οι σπουδαιότεροι παράγοντες που ευθύνονται για τη δραστικότητα των συντηρητικών είναι οι ακόλουθοι:

- Η συγκέντρωση. Όσο αυξάνεται η συγκέντρωση του συντηρητικού, τόσο μεγαλύτερη είναι και η δραστικότητα του. Ωστόσο, η συγκέντρωση του συντηρητικού δεν είναι δυνατόν να αυξηθεί απεριόριστα για δύο λόγους. Πρώτον διότι αυξάνεται η τοξικότητα του προϊόντος σε υψηλές συγκεντρώσεις, και δευτερευόντως γιατί δημιουργούνται προβλήματα διαλυτότητας αυτού στο τελικό προϊόν. Έτσι, οι χρησιμοποιούμενες κατά βάση συγκεντρώσεις των συντηρητικών κυμαίνονται μεταξύ των τιμών 1/100000 για τα πολύ δραστικά, έως 1/100 για τα λιγότερο δραστικά.
- Ο συντελεστής κατανομής: Δεδομένου ότι οι μικροοργανισμοί αναπτύσσονται κυρίως στην υδατική φάση, θα πρέπει να ληφθεί υπόψη ο συντελεστής κατανομής του συντηρητικού στην υδατική καθώς τα περισσότερα συντηρητικά είναι συνήθως διαλυτά και στις δύο φάσεις (υδατική και ελαιώδη).

Ωστόσο, δεδομένου ότι είναι δύσκολο μία ουσία να συνδυάζει όλα τα προηγούμενα χαρακτηριστικά, συνήθως χρησιμοποιούνται μίγματα συντηρητικών, για καλύτερη κατανομή τους στο διφασικό σύστημα ή για την επίτευξη της δημιουργίας ενός ευρύτερου αντιμικροβιακού φάσματος[5].

### **1.1.5 Σύγχρονη τάση δημιουργίας δημιουργίας καλλυντικό-φαρμακοτεχνικών μορφών, αποτελούμενα από φυσικά προϊόντα.**

Στη σημερινή εποχή διακρίνουμε μια ολοένα και αυξανόμενη τάση για τη χρησιμοποίηση σκευασμάτων που αποτελούνται από υλικά φυσικής προέλευσης, τα οποία θεωρούνται λιγότερα αβλαβή κατά τη χρήση τους από τους ασθενείς, αλλά ταυτόχρονα είναι και περισσότερο φιλικά προς το περιβάλλον. Ωστόσο το γεγονός ότι χρησιμοποιούνται φυσικές πρώτες ύλες, δεν αποτελεί σε καμία περίπτωση πανάκεια για τον αποκλεισμό κάθε περίπτωσης εμφάνισης ανεπιθύμητων ενεργειών (αλλεργικές αντιδράσεις) από τη χρήση των συγκεκριμένων καλλυντικό-φαρμακοτεχνικών μορφών.

Αποτελέσματα ερευνών που έχουν διεξαχθεί αναφέρουν πως οι κύριες αιτίες εμφάνισης αλλεργικών αντιδράσεων σε ασθενείς που χρησιμοποιούν καλλυντικό-φαρμακοτεχνικά σκευάσματα, οφείλονται στην παρουσία αρωμάτων, συντηρητικών και γαλακτωματοποιητών.[6]

Σε σχέση με τα αρώματα που χρησιμοποιούνται αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι η ύπαρξη των αρωμάτων δεν αναγράφεται στα περισσότερα σκευάσματα. Έτσι πολλά προϊόντα που χαρακτηρίζονται ως υποαλλεργικά, ή αναγράφεται στη συσκευασία τους ότι δεν περιέχουν αρωματικές ουσίες (fragrance-free), στην πραγματικότητα περιέχουν αρωματικά συστατικά αλλά αυτά φέρονται με τον όρο

αιθέρια έλαια, με αποτέλεσμα οι ασθενείς να μην είναι σε θέση να αναγνωρίζουν εύκολα την παρουσία τους[7].

Καθώς λοιπόν τα περισσότερο χρησιμοποιούμενα συντηρητικά όπως τα parabens, οι ισοθειαζολινόνες, η ιμιδαζολιδινυλ-ουρία, θεωρούνται υπεύθυνα για πρόκληση αλλεργικών αντιδράσεων, και για την ευαισθητοποίηση δέρματος της πάσχουσας περιοχής, τα τελευταία χρόνια οι βιομηχανίες προσανατολίζονται στη δημιουργία καλλυντικό-φαρμακοτεχνικών μορφών που δεν περιέχουν συντηρητικά (preservative free). Προς αυτή τη κατεύθυνση, μπορούν να χρησιμοποιηθούν ουσίες που ονομάζονται εναλλακτικά συντηρητικά (alternative preservatives), τα οποία έχουν αντιμικροβιακή δράση χωρίς να υπάγονται στη κατηγορία των χημικών συντηρητικών σύμφωνα με το παράρτημα VI της Commission Directive 76/768/EEC και είναι συνήθως πολυλειτουργικά γιατί εμφανίζουν παράλληλα μαλακτική, υγραντική καθώς και άλλες δράσεις πέραν της αντιμικροβιακής. Σε αυτή την κατηγορία ανήκουν οι αλκοόλες, διάφορα επιφανειοδραστικά, και αιθέρια έλαια[8].

Η Τεχνολογία των «εμποδίων» (Hurdle Technology), η οποία χρησιμοποιήθηκε κατά κόρον στη βιομηχανία τροφίμων από το 1970, εφαρμόζεται και στις περιπτώσεις καλλυντικών-φαρμακοτεχνικών σκευασμάτων που δεν περιέχουν συντηρητικά. Η Τεχνολογία των εμποδίων αναφέρεται στο σωστό συνδυασμό ορισμένων εμποδίων, ώστε να αποτραπεί η ανάπτυξη των μικροοργανισμών. Στόχος είναι να ανασταλεί η ανάπτυξη των μικροοργανισμών, τοποθετώντας διάφορα εμπόδια που το καθένα θα μειώνει τον συνολικό αριθμό των μικροοργανισμών, αλλά δε θα σκοτώνει το συνολικό πληθυσμό. Κάθε εμπόδιο θα επιτρέπει την επιβίωση ενός συνεχώς μειούμενου αριθμού μικροοργανισμών, έτσι ώστε καθώς ο αριθμός των εμποδίων θα αυξάνεται, ο αριθμός των επιζώντων μικροοργανισμών θα μειώνεται έως ότου προσεγγίσει το μηδέν.

Ακολουθώντας λοιπόν τις αρχές της Τεχνολογίας των εμποδίων, στην περίπτωση δημιουργίας καλλυντικών-φαρμακοτεχνικών μορφών χωρίς τα παραδοσιακά συντηρητικά, οφείλουν να τηρούνται οι παρακάτω αρχές[8]:

- Αρχές Ορθής Πρακτικής Παραγωγής. Αυτές θα πρέπει να εφαρμόζονται αυστηρά κατά τη διάρκεια παραγωγής των καλλυντικών-φαρμακοτεχνικών προϊόντων, είτε όταν χρησιμοποιούνται τα παραδοσιακά συντηρητικά, είτε όταν χρησιμοποιούνται 'εναλλακτικά' συντηρητικά.
- Κατάλληλη συσκευασία των προϊόντων. Δεδομένου ότι η συσκευασία συνιστά το φυσικό φραγμό ανάμεσα στο προϊόν και το περιβάλλον, αυτή πρέπει να επιλέγεται προσεκτικά με κριτήρια ποιότητας και κόστους. Έτσι, αποφεύγονται όσοι περιέκτες καλύπτονται με ευρύ καπάκι επειδή επιτρέπουν τη συμπύκνωση νερού στην επιφάνεια του, ευνοώντας την ανάπτυξη μικροοργανισμών. Για το λόγο αυτό, προτιμώνται τα σωληνάρια (tubes) λόγω της μικρότερης επιφάνειας επαφής του περιεχομένου με το περιβάλλον. Μία ακόμη καλύτερη λύση αποτελούν τα σωληνάρια με βαλβίδες μη επιστροφής (non-return valves), όπου μετά την άσκηση πίεσης για την εξαγωγή του προϊόντος, δεν επιτρέπουν την είσοδο του αέρα.
- Έλεγχος της μορφής του γαλακτώματος (o/w ή w/o). Είναι γνωστό ότι τα w/o γαλακτώματα όπου η εξωτερική φάση είναι η ελαιώδης, είναι λιγότερο επιρρεπή σε μικροβιακή επιμόλυνση σε σχέση με τα o/w γαλακτώματα.
- Έλεγχος του pH. Ο κάθε μικροοργανισμός διαθέτει μια βέλτιστη τιμή pH που ευνοεί την ανάπτυξη του. Γενικά ισχύει ότι ο ρυθμός ανάπτυξης των

μικροοργανισμών μειώνεται καθώς το pH 'απομακρύνεται' από τις ουδέτερες τιμές.

- Χαμηλή ενεργότητα του νερού. Καθώς οι μικροοργανισμοί χρειάζονται την ύπαρξη νερού για την ανάπτυξη τους, συστατικά τα οποία περιορίζουν τη διαθεσιμότητα του νερού βοηθούν στον έλεγχο της μικροβιακής ανάπτυξης. Η ενεργότητα του νερού εκφράζει την ποσότητα του βιολογικά διαθέσιμου νερού που υπάρχει μέσα στα καλλυντικό-φαρμακοτεχνικά σκευάσματα. Ουσίες που μειώνουν την ενεργότητα του νερού είναι μεταξύ άλλων τα άλατα, οι πολυόλες και τα υδροκολλοειδή.
- Χρησιμοποίηση πολυλειτουργικών αντιμικροβιακών συστατικών. Διάφορα συστατικά που περιέχονται στα καλλυντικό-φαρμακοτεχνικά σκευάσματα, όπως τα αιθέρια έλαια, διάφορα εκχυλίσματα και επιφανειοδραστικές ουσίες, που χρησιμοποιούνται για τις ευεργετικές τους δράσεις στο δέρμα, ταυτόχρονα συμβάλλουν στη συντήρηση των σκευασμάτων. Κατά αυτό τον τρόπο με προσεκτική επιλογή των παραπάνω συστατικών μπορεί να μειωθεί ή και να εξαλειφθεί η χρήση των συντηρητικών.

Σχετικά με τους γαλακτωματοποιητές, οι οποίοι προσδίδουν την απαραίτητη φυσική σταθερότητα στα γαλακτώματα, αποφεύγεται η χρήση των «πρωτευνόντων» γαλακτωματοποιητών καθώς αυτοί ευθύνονται για την εμφάνιση αλλεργικών αντιδράσεων σε ασθενείς.

Έχοντας αξιοποιήσει τις παραπάνω πληροφορίες, στην παρούσα εργασία έγινε μια προσπάθεια δημιουργίας και κατόπιν μελέτης γαλακτωμάτων, τα οποία είναι ελεύθερα συντηρητικών, και αποτελούμενα από «δευτερεύοντες» γαλακτωματοποιητές ημισυνθετικής προέλευσης (παράγωγα κυτταρίνης). Όλα τα χρησιμοποιούμενα συστατικά είναι φυσικής και ημισυνθετικής προέλευσης, καθώς μπορούν να εξασφαλίσουν τα απαραίτητα φυσικοχημικά χαρακτηριστικά των γαλακτωμάτων, χωρίς να εμφανίζουν τις ανεπιθύμητες ενέργειες των συνηθισμένων υλικών όπως τα συντηρητικά και τους πρωτευνόντες γαλακτωματοποιητές. Για το λόγο αυτό, σχετικά με τα συντηρητικά δόθηκε ιδιαίτερη έμφαση και προσοχή σε όλα τα στάδια παραγωγής, ώστε να μειώσουμε την πιθανότητα μικροβιακής επιμόλυνσης, όσο αυτό είναι δυνατό να επιτευχθεί σε εργαστηριακή κλίμακα. Είναι κατανοητό, ότι τόσο κατά τη διεργασία παραγωγής, όσο και κατά τη διεργασία φύλαξης και χρήσης του προϊόντος πρέπει να λαμβάνονται οι περισσότερες δυνατές προφυλάξεις, ώστε να ελαχιστοποιείται η πιθανότητα της προσβολής των γαλακτωμάτων από μικροοργανισμούς.

## 1.2 Υλικά που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα διπλωματική εργασία για την Παρασκευή γαλακτωμάτων.

---

Όλα τα υλικά, τα οποία χρησιμοποιήθηκαν ως πρώτες ύλες για το σχηματισμό των γαλακτωμάτων είναι φυσικής προέλευσης (ελαιώδης φάση) και και ημισυνθετικής (γαλακτωματοποιητές).

Συγκεκριμένα για την ελαιώδη φάση χρησιμοποιήθηκε ένα μίγμα ελαίων προερχόμενο από τα φυτά *Calendula officinalis* οικ. Compositae και *Hypericum perforatum*, οικ. Guttiferae.

Για την υδατική φάση χρησιμοποιήθηκε απιονισμένο νερό. Εντός της υδατικής φάσης ενσωματώθηκαν οι γαλακτωματοποιητές, οι οποίοι αποτελούν παράγωγα κυτταρίνης (HPMC). Στη συνέχεια ακολουθεί λεπτομερής περιγραφή των συστατικών της κάθε φάσης.

### 1.2.1 *Calendula officinalis* ως συστατικό ελαιώδους φάσης/Βιολογική δράση.

Για την παρασκευή γαλακτωμάτων χρησιμοποιήσαμε ως ελαιώδη φάση μίγμα ελαίων προερχόμενα από τα φυτά *Calendula officinalis* οικ. Compositae και *Hypericum perforatum* οικ. Guttiferae, τα οποία βρίσκονταν μεταξύ τους σε αναλογία 1:1.

Τα φυτά της *Calendula officinalis* είχαν ήδη αρχίσει να χρησιμοποιούνται από τον 12<sup>ο</sup> αιώνα για θεραπευτικούς σκοπούς, με τη μορφή εκχυλισμάτων του φυτού, αλοιφών και βαμμάτων είτε για την επούλωση πληγών, είτε ως αντιφλεγμονώδη.

Τα συστατικά τα οποία είναι υπεύθυνα για τη θεραπευτική δράση της *C. officinalis* είναι τα φαινολικά οξέα, οι στερόλες, τα φλαβονοειδή, τα καρτενοειδή, οι σεσκιτερπενικές γλυκοσίδες, και οι τριτερπενικές αλκοόλες.

Ειδικότερα, η ψ-taraxasterol που ανήκει στην κατηγορία των τριτερπενικών αλκοολών, καθώς και οι μυριστικοί και παλμιτικοί εστέρες της φαραδιόλης, έχουν την κύρια ευθύνη για την τοπική δράση της *C. officinalis*. [9]

Έρευνες, αποδεικνύουν διάφορες δράσεις της *C. officinalis*, κατά την τοπική εφαρμογή της. Ειδικότερα, η *C. officinalis* διαθέτει αποδεδειγμένη δράση, η οποία σχετίζεται με την επιτάχυνση της διαδικασίας επούλωσης χειρουργικών τραυμάτων. Ο μηχανισμός δράσης της στηρίζεται στην τόνωση της επιθηλιακής ανοικοδόμησης και στην αύξηση του μεταβολισμού των γλυκοπρωτεϊνών και του κολλαγόνου στην τραυματισμένη περιοχή. Έχει μελετηθεί ότι στην επούλωση τραυμάτων το φυτό

*Hypericum perforatum* διαθέτει συνεργιστική δράση με τη *Calendula officinalis*, οδηγώντας σε καλύτερα φαρμακολογικά και φαρμακοκινητικά αποτελέσματα. Έτσι σε κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε γυναίκες που είχαν υποστεί καισαρική τομή και τους χορηγήθηκε μείγμα ελαίου *C.officinalis* 30% και *H.perforatum* 70% (treated group), διαπιστώθηκε μείωση της περιμετρικής επιφάνειας του τραύματος σε ποσοστό  $37,6 \pm 9.9\%$ , σε σχέση με την ομάδα γυναικών (control group) που του χορηγήθηκε germ oil. [9]

Table 1  
Area of surgical wounds before and after treatment with the *Hypericum-Calendula* oily extract (treated group)

Patients	SPA <sup>a</sup> (cm <sup>2</sup> )		% Wound reduction
	Before treatment	After treatment	
1	13.8	9.4	31.9
2	14.9	8.7	41.6
3	11.6	7.2	37.9
4	17.3	11.2	35.2
5	12.5	9.1	27.2
6	13.7	7.8	43.1
7	16.6	6.6	60.2
8	12.2	8.4	31.1
9	19.3	10.2	47.1
10	11.7	8.3	29.0
11	15.6	8.6	44.9
12	10.2	7.5	26.5
Mean	$13.58 \pm 2.71$	$8.16 \pm 1.40$	$37.6 \pm 9.9$
<i>t</i>	7.96	5.22	11.6

**Εικόνα 4: Πίνακας που καταδεικνύει την επί τοις εκατό μείωση της επιφάνειας του τραύματος, μετά από τη χρήση εκχυλίσματος *Hypericum-Calendula*.**

Παράλληλα, το φυτό *C.officinalis* έχει διαπιστωθεί μέσω κλινικών μελετών που πραγματοποιήθηκαν σε γυναίκες ασθενείς μετά από μαστεκτομή, ότι μειώνει τα επίπεδα της φλεγμονής, σε περιπτώσεις οξείας δερματίτιδας που προκαλείται λόγω της ραδιοθεραπείας που υποβάλλονται οι ασθενείς. Κύριος υπεύθυνος για αυτή τη δράση είναι τα τριτερπενοειδή και κυρίως ο μονοεστέρας της φαραδιόλης.[10][11]

Ταυτόχρονα, είναι γνωστή από την αρχαιότητα η χρήση της *Calendula officinalis* κατά της ψωρίασης. Η ψωρίαση αποτελεί μια χρόνια μη μεταδοτική φλεγμονώδη κατάσταση όπου σύμφωνα με τη βιβλιογραφία μπορεί να επιδεινωθεί με μολύνσεις ή όταν το ανοσοποιητικό σύστημα του ασθενούς είναι κατασταλαμένο. Έτσι, μολονότι η ψωρίαση δεν προκαλείται από βακτηριακή λοίμωξη, ο *Staphylococcus aureus* έχει αποδειχθεί ότι επιδεινώνει καταστάσεις όπως την ψωρίαση και την ατοπική δερματίτιδα.[12]

Μάλιστα, σε έρευνα που πραγματοποιήθηκε για τη διαπίστωση της αντιβακτηριακής δράσης φυτών που παραδοσιακά χρησιμοποιούνταν κατά της ψωρίασης μεταξύ των οποίων και η *Calendula officinalis*, αυτή βρέθηκε να είναι αποτελεσματική τόσο σε gram-θετικά βακτήρια όπως *Staphylococcus aureus*, όσο και σε gram-αρνητικά βακτήρια.[12] Ακριβώς πάνω σε αυτές τις δράσεις, την αντιφλεγμονώδη και την αντιβακτηριακή, οφείλεται η ευρεία χρήση της *C.officinalis* στην αντιμετώπιση της ψωρίασης. Στην παρούσα διπλωματική μελέτη το λάδι από το φυτό *Calendula officinalis* εκχυλίστηκε σε σογιέλαιο.

Στην παραδοσιακή ιατρική, η *C.officinalis* συστήνεται και για χρήση μαλακτική, για εγκαύματα αλλά και για την ακμή.

## **I.2.2 *Hypericum perforatum* ως συστατικό ελαιώδους φάσης/Βιολογική δράση.**

Το δεύτερο συστατικό της ελαιώδους φάσης των γαλακτωμάτων μας, είναι έλαιο προερχόμενο από το φυτό *Hypericum perforatum*, οικ. *Guttiferae*. Συγκεκριμένα η ελαιώδης φάση προκύπτει από εκχύλισμα του φυτού σε ελαιόλαδο.

Το φυτό *Hypericum perforatum* ή *St'John's wort* όπως αλλιώς αποκαλείται, από την αρχαιότητα είναι γνωστό ότι το χρησιμοποιούσαν για τη καταπολέμηση του άγχους, της κατάθλιψης και για την επούλωση πληγών. Μάλιστα εκτενείς αναφορές από τον Ιπποκράτη τον 5<sup>ο</sup> αιώνα π.χ για το βότανο, αναφέρουν τη χρήση του σε εγκαύματα, πληγές και ερεθισμούς του δέρματος, με τη μορφή ελαίου, βάμματος και εγχύματος.

Το *H.perforatum* περιλαμβάνει διάφορες ουσίες, οι οποίες ως επί των πλείστων ανήκουν στις κατηγορίες των ναφθοδιανθρονών, των φλωρογλουκινολων, των φλαβονοειδών και των ταννινών.

Κύριες ουσίες που είναι υπεύθυνες για τη δράση του *H.perforatum* είναι η υπερικίνη που αποτελεί μια ναφθοδιανθρόνη και η υπερφορίνη που ανήκει στην κατηγορία των φλωρογλουκινολών.[13]. Οι δράσεις του *H.perforatum*, οι οποίες έχουν αποδειχθεί και τεκμηριωθεί με κλινικές μελέτες είναι η αντικαταθλιπτική της δράση, η αντιμικροβιακή, η αντιφλεγμονώδης, και η επουλωτική της δράση σε τραύματα ασθενών.

Αρχικά, η *in vivo* αντικαταθλιπτική δράση της δρόγης, οφείλεται στην παρουσία της υπερφορίνης. Συγκεκριμένα, η υπερφορίνη φαίνεται να αναστέλλει τη δράση των υποδοχέων του GABA (γ-αμινοβουτυρικό οξύ), κα της σεροτονίνης (5-HT), οι οποίοι είναι γνωστοί στόχοι με φαρμακολογική επίδραση στην περίπτωση της κατάθλιψης. Παράλληλα η υπερφορίνη θεωρείται ότι είναι εκλεκτικός



αναστολέας της επαναπρόσληψης σεροτονίνης προσυναπτικά, παρουσιάζοντας έτσι αντικαταθλιπτική δράση, ενώ την ίδια στιγμή αναστέλλει την επαναπρόσληψη της ντοπαμίνης, της νορεπινεφρίνης και της L-γλουταμίνης. [13][14]

Σχετικά με την αντιφλεγμονώδη δράση του *H.perforatum*, κλινικές μελέτες σε ανθρώπους αποδεικνύουν ότι η υπερφορίνη δρα συνεργιστικά μαζί με τις κερκετίνες και την αμεντοφλαβόνη στην καταπολέμηση της φλεγμονής [13]. Η χρήση του φυτού προλαμβάνει την ενεργοποίηση του πυρηνικού παράγοντα καπα Β (NF-Kb), καθώς επίσης του παράγοντα μεταγωγής σήματος, και του παράγοντα μεταγραφής 3 και 1, μειώνοντας έτσι τη δημιουργία οξείας φλεγμονώδους κατάστασης [15]. Παράλληλα, έχει διαπιστωθεί ότι το συγκεκριμένο φυτό εμφανίζεται αποτελεσματικό στην αντιμετώπιση φλεγμονωδών καταστάσεων μέσω της αναστολής έκφρασης γονιδίων προ-αντιφλεγμονωδών παραγόντων όπως είναι η κυκλοοξυγενάση-1, η 5-λιποξυγενάση και η ιντερλευκίνη.[16]

Επίσης έχει βρεθεί ότι τοπική εφαρμογή του φυτού ανακουφίζει από τη φλεγμονή και τη φαγούρα του δέρματος που προκαλείται από νευροδερματίτιδα [17]. Ακόμη είναι γνωστή η αντιβακτηριακή δράση που κατέχει το φυτό *in vivo* [18]. Ειδικότερα τα εκχυλίσματα του φυτού βρέθηκαν να είναι δραστικά κυρίως κατά των gram-θετικών βακτηρίων σε σχέση με τα gram-αρνητικά βακτήρια.[19]

Όπως ήδη αναφέρθηκε σε κλινική μελέτη που πραγματοποιήθηκε σε γυναίκες μετά από καισαρική τομή, αποδείχθηκε η δράση του φυτού ως επουλωτικού, καθώς αυτό συνέβαλλε στην επιθηλιακή ανοικοδόμηση της τραυματισμένης περιοχής [9]. Παράλληλα, είναι γνωστή η χρήση του φυτού ως μαλακτικό, αλλά και κατά των εγκυμάτων. Οφείλουμε να αναφέρουμε ότι η σημαντικότερη ανεπιθύμητη ενέργεια που μπορεί να προκληθεί από τη χρήση του *H.perforatum*, είναι αυτή της φωτοτοξικότητας. Συγκεκριμένα, έχουν αναφερθεί φαινόμενα φωτοευαισθησίας σε ζώα που κατανάλωσαν τη δρόγη, υπό μορφή δερματικών εξανθημάτων και φυσαλίδων. Παρόλα αυτά, είναι πιθανό η φωτοτοξικότητα να ενισχυθεί αν τα άτομα παρουσιάζουν ενδογενή ευαισθησία στην ηλιακή ακτινοβολία ή λαμβάνουν άλλα φάρμακα με φωτοδυναμικότητα. Για τον λόγο αυτό, όταν χρησιμοποιούνται σκευάσματα για τοπική χρήση, όπως τα γαλακτώματα, συνίσταται η χρήση τους το βράδυ πριν τον ύπνο ή σε συνδυασμό με αντηλιακό αν αυτά πρόκειται να χρησιμοποιηθούν την ημέρα.

Ακόμη, αξίζει να αναφερθεί το γεγονός ότι πρέπει να αποφεύγεται η συγχορήγηση του *H.perforatum* με φάρμακα που μεταβολίζονται από το κυτόχρωμα P450. Αυτό συμβαίνει διότι η υπερφορίνη αποτελεί επαγωγέα των συγκεκριμένων ηπατικών ισοενζύμων (κυρίως CYP3A4 και CYP2C9) που συμμετέχουν στην πρώτη φάση του μεταβολισμού. Αποτέλεσμα αυτού του γεγονότος είναι να μειώνονται οι συγκεντρώσεις των φαρμακευτικών ουσιών στο πλάσμα, και να μειώνεται περαιτέρω η βιοδιαθεσιμότητα του φαρμάκου [13].

### 1.2.3 Γαλακτωματοποιητές –Αιθέρες κυτταρίνης

Δεδομένου ότι τα γαλακτώματα είναι θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα, αυτά έχουν την τάση να διαχωρίζονται στις επί μέρους φάσεις που τα απαρτίζουν. Για το λόγο αυτό χρησιμοποιούνται οι γαλακτωματοποιητικοί παράγοντες που δρουν στην διεπιφάνεια των δύο υγρών με σκοπό να αποτρέψουν τη συνένωση των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης. Αυτό επιτυγχάνεται με διαφορετικούς τρόπους και εξαρτάται από το είδος του γαλακτωματοποιητή [20].

Ανάλογα με τη δράση τους στην ενδοεπιφάνεια οι γαλακτωματοποιητές χωρίζονται σε τρεις κατηγορίες

#### **Επιφανειοδραστικές ουσίες:**

Ελαττώνουν την επιφανειακή και την ενδοεπιφανειακή τάση και αποτελούνται από ένα υδρόφιλο και ένα υδρόφοβο μέρος. Μπορεί να είναι ανιονικές, κατιονικές, μη ιονικές ή αμφοτερικές ανάλογα με το φορτίο που αποκτά το υδρόφοβό τους μέρος όταν διαλυθεί στο νερό. Παρεμποδίζουν τη συνένωση των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης σχηματίζοντας μια μονομοριακή στιβάδα γύρω από κάθε σταγονίδιο. Αυτό επιτυγχάνεται με την προσρόφηση μορίων ή ιόντων της επιφανειοδραστικής ουσίας στη διεπιφάνεια ελαίου-ύδατος, με συνέπεια την ελάττωση της επιφανειακής τάσης. Στην περίπτωση ιονισμένης επιφανειοδραστικής ουσίας, τα σταγονίδια απωθούνται μεταξύ τους λόγω του ομώνυμου φορτίου τους και εμποδίζεται η τάση για συνένωση. Στα μη ιονικά επιφανειοδραστικά η παρεμπόδιση της συνένωσης των σταγονιδίων είναι κυρίως στερεοχημική.

#### **Υδρόφιλα κολλοειδή:**

Είναι πολυμερή που διογκούνται ή διαλύονται στο νερό και εμποδίζουν τη συνένωση των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης σχηματίζοντας ισχυρή, συνεκτική μεμβράνη γύρω από κάθε σταγονίδιο. Επιπλέον, αυξάνουν το ιξώδες της εξωτερικής φάσης με αποτέλεσμα τη μικρότερη κίνηση των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης και κατά συνέπεια τη σταθερότητα του γαλακτώματος. Ο συνδυασμός τους με επιφανειοδραστικές ουσίες προσθέτει έναν ενεργειακό φραγμό ανάμεσα στα σταγονίδια με αποτέλεσμα αυτά να απωθούνται όταν πλησιάζουν μεταξύ τους. Έτσι συνδυάζεται η στερεοχημική με την ηλεκτροαπωθητική παρεμπόδιση.

#### **Στερεές ουσίες σε λεπτό καταμερισμό**

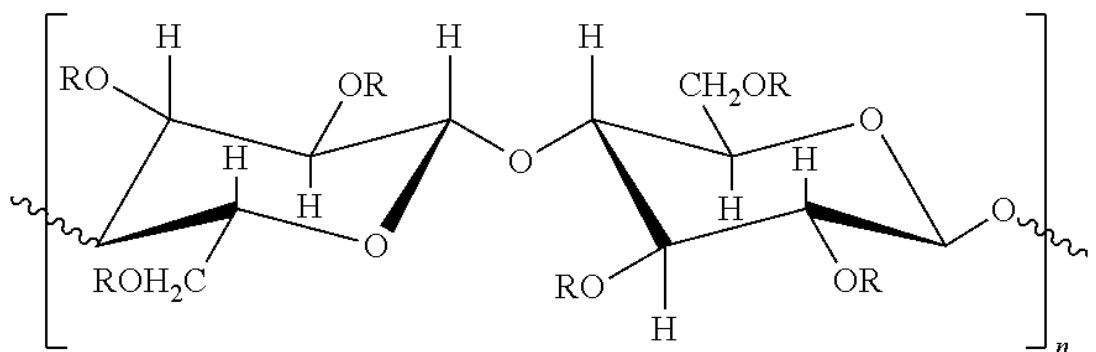
Είναι πολικά ή άπολα στερεά συστατικά που σχηματίζουν μεμβράνη γύρω από κάθε σταγονίδιο, εμποδίζοντας έτσι τη συνένωση τους.

Ως γαλακτωματοποιητές στην παρούσα εργασία χρησιμοποιούνται αιθέρες κυτταρίνης οι οποίοι αποτελούν «δευτερεύοντες γαλακτωματοποιητές». Η κυτταρίνη, η οποία είναι ανανεώσιμο φυσικό προϊόν αποτελείται από

επαναλαμβανόμενες μονάδες άνυδρης γλυκόζης, και παρότι διαθέτει υδρόφιλο χαρακτήρα (HLB=12) δε διαλύεται στο νερό λόγω της κρυσταλλικής φύσης της. Ωστόσο, με την προσθήκη υποκαταστατών στο σκελετό της άνυδρης γλυκόζης εξαφανίζεται η κρυσταλλικότητα και προκύπτουν τα παράγωγα κυτταρίνης. Οι αιθέρες της κυτταρίνης κυκλοφορούν με την εμπορική ονομασία METHOCEL και ανάλογα με το είδος της υποκατάστασης τους είναι δυνατόν να διαχωριστούν σε δύο κατηγορίες:[21]

- Μεθυλο-κυτταρίνη (methylcellulose): Τα προϊόντα που ανήκουν σε αυτή τη κατηγορία συμβολίζονται με το γράμμα Α.
- Υδροξυ-προπυλ-μεθυλ-κυτταρίνη (Hydroxypropylmethylcellulose-HPMC): Τα προϊόντα αυτής της κατηγορίας συμβολίζονται με το γράμμα Ε, F, J, K.

Formula I



**Εικόνα 7: Απεικόνιση χημικού τύπου του πολυμερούς HPMC (υδρόξυ-προπυλ-μεθυλο κυτταρίνη).**

Και στους δύο τύπους, ο βασικός σκελετός αποτελείται από την πολυμερική αλυσίδα της κυτταρίνης, και η διαφορά των προϊόντων έγκειται στις διαφορετικές αναλογίες υδρόξυ-πρόπυλ και μεθυλ-υποκατάστασης που παρουσιάζουν.

Η χρήση των προϊόντων των αιθέρων της κυτταρίνης, και ειδικότερα του HPMC είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη και έχει αξιοποιηθεί επί σειρά ετών στους τομείς των τροφίμων, των φαρμάκων και των καλλυντικών, αποδεικνύοντας ταυτόχρονα ότι είναι ασφαλή προϊόντα. Οι σημαντικότερες ιδιότητες που διαθέτει το HPMC συνοψίζονται παρακάτω:[21]

1. Γαλακτωματοποιητική δράση: Οι αιθέρες της κυτταρίνης χρησιμοποιούνται για τη σταθεροποίηση γαλακτωμάτων, μέσω μείωσης της επιφανειακής και διεπιφανειακής τάσης και αύξησης του ιξώδους της υδατικής φάσης.

2. Ικανότητα συγκράτησης νερού: Διαθέτουν ικανότητα συγκράτησης νερού, δημιουργώντας γέλες οι οποίες βρίσκουν ιδιαίτερη εφαρμογή στην παρασκευή γαλακτωμάτων.
3. Ικανότητα αύξησης ιξώδους: Αυξάνουν το ιξώδες της υδατικής φάσης των γαλακτωμάτων, με αποτέλεσμα να δρουν ως γαλακτωματοποιητές και να παρέχουν με αυτό τον τρόπο σταθερότητα στα γαλακτώματα.
4. Αντιμικροβιακή προστασία: Εξαιτίας της ικανότητας τους να συγκρατούν ελεύθερο νερό, ενώ ταυτόχρονα μπορούν να αυξάνουν το ιξώδες των γαλακτωμάτων, οδηγούν στην επίτευξη αντιμικροβιακής προστασίας. Αυτή η ιδιότητα τα καθιστά ιδιαίτερα σημαντικά σε περιπτώσεις που παρασκευάζονται γαλακτώματα χωρίς προσθήκη συντηρητικών
5. Διαλυτότητα στο νερό: Μπορούν να διαλυθούν στο νερό χωρίς να υπάρχουν κάποια αυστηρά όρια διαλυτότητας. Ακόμη η εύκολη διασπορά τους σε ψυχρό ύδωρ διευκολύνει τη διαδικασία παρασκευής των γαλακτωμάτων.

Στην παρούσα εργασία χρησιμοποιείται ΗΡΜC ως κύριος γαλακτωματοποιητής, ο οποίος είναι ένας μη ιονικός αιθέρας κυτταρίνης.

Κατά την Παρασκευή των γαλακτωμάτων μας, χρησιμοποιήσαμε μίγμα προϊόντων ΗΡΜC, ίδιου τύπου υποκατάστασης και διαφορετικού βαθμού ιξώδους: Ε4Μ υψηλού ιξώδους (E-degree of substitution, 4M=4000 mPa\*s ή cps) και Ε6 χαμηλού ιξώδους (E-degree of substitution, 6 mPa\*s ή cps) .

Το πολυμερές Ε4Μ έχει τη δυνατότητα να προσροφάται ισχυρά στην ενδοεπιφάνεια και να σχηματίζει ένα προστατευτικό περίβλημα γύρω από τα σταγονίδια της εσωτερικής φάσης. Ωστόσο, λόγω της μεγάλης αύξησης του ιξώδους που προκαλεί στη συνεχή φάση, προβάλλει αντίσταση κατά τη διασπορά του ελαίου και κατά συνέπεια εμποδίζει τη μείωση των σταγονιδίων κατά τη γαλακτωματοποίηση. Το πολυμερές Ε4Μ διαθέτει μοριακό βάρος 90000, και συγκαταλέγεται στους αργούς γαλακτωματοποιητές καθότι η διαδικασία της προσρόφησης απαιτεί αρκετό χρόνο. Συγκεκριμένα, για τα πολυμερή με μοριακό βάρος μικρότερο των 20000 η διαδικασία της προσρόφησης είναι αρκετά γρηγορότερη συγκριτικά με τα υπόλοιπα που έχουν μεγαλύτερο μοριακό βάρος. Το πολυμερές Ε6 αν και δε προσροφάται τόσο ισχυρά στην ενδοεπιφάνεια όσο το Ε4Μ, έχει την ικανότητα να δημιουργεί σταγονίδια μικρότερης διαμέτρου γιατί μπορεί και διαχέεται γρηγορότερα στη διεπιφάνεια, δρώντας έτσι άμεσα στην επιφάνεια των σταγονιδίων (γρήγορος γαλακτωματοποιητής).[22]

Σε μελέτη που πραγματοποιήθηκε χρησιμοποιώντας ΗΡΜC (Ε15,Ε50,Ε4Μ) ως γαλακτωματοποιητή σε ο/ω γαλακτώματα, διεξάχθηκαν τα ακόλουθα συμπεράσματα:

- Τα πολυμερή χαμηλού ιξώδους εμφανίζουν αποτελεσματικότερη γαλακτωματοποιητική δράση συγκριτικά με αυτά που είναι υψηλού ιξώδους
- Αύξηση της συγκέντρωσης των πολυμερών οδηγεί σε μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης
- Τα γαλακτώματα τα οποία περιέχουν E4M εμφανίζονται πιο σταθερά σε σχέση με τα υπόλοιπα

Γαλακτώματα τα οποία περιέχουν μίγμα πολυμερών, οδηγούν στη παρασκευή σταθερότερων γαλακτωμάτων.[23]

Στο σημείο αυτό αναφέρεται ότι οι γαλακτωματοποιητές, συνεισφέρουν καθοριστικά στη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, επηρεάζοντας τη διάμετρο των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης. Ειδικότερα, όπως είναι απολύτως αναμενόμενο αυξανόμενης της συγκέντρωσης των γαλακτωματοποιητών μειώνεται η διάμετρος των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης.

#### 1.2.4 Σταθερότητα γαλακτωμάτων/Καταστάσεις αποσταθεροποίησης.

Με τον όρο σταθερά, χαρακτηρίζονται τα γαλακτώματα εκείνα που τα σταγονίδια ή σωματίδια της διεσπαρμένης φάσης βρίσκονται ομοιόμορφα κατανομημένα στο μέσο διασποράς.

Η αποσταθεροποίηση των γαλακτωμάτων, η οποία οδηγεί σε τελική συνένωση και διαχωρισμό των φάσεων αποτελεί αναπόφευκτο γεγονός καθώς όλα τα συστήματα διασποράς αποτελούν θερμοδυναμικά ασταθή συστήματα. Έτσι, το σύστημα τείνει συνεχώς να μηδενίζει την ελεύθερη ενέργεια επιφάνειας, μέσω μείωση της συνολικής επιφάνειας, δηλαδή μέσω συνένωσης των σταγονιδίων.

Στη βιβλιογραφία υπάρχουν τέσσερις όροι, οι οποίοι περιγράφουν τις διάφορες καταστάσεις αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων, και οι οποίοι παρατίθενται παρακάτω [1][4]:

- **Ωρίμανση Ostwald –Ostwald ripening**: Περιγράφει μια διαδικασία που τα μεγάλα σταγονίδια διαθέτουν μία τάση αύξησης του μεγέθους τους εις βάρος των μικρότερων σταγονιδίων. Οι μεγαλύτερες σταγόνες διαθέτουν μικρότερο χημικό δυναμικό, και έτσι τα μόρια των μικρών σταγονιδίων διαχέονται προς τα μεγαλύτερα σταγονίδια, με αποτέλεσμα να επέρχεται τελικά ρήξη του γαλακτώματος. Η πίεση που δέχεται μία μικρότερη σταγόνα είναι μεγαλύτερη από αυτή που δέχεται μία μεγάλη, όπως άλλωστε είναι γνωστό από την εξίσωση Laplace:

$$P = 2\gamma/r$$

P= η πίεση

γ= επιφανειακή τάση

r= ακτίνα της σταγόνας.

Αυτή η διαφορά της πίεσης είναι η κινητήριος δύναμη της εξάπλωσης των μεγαλύτερων σταγονιδίων, με τελικό αποτέλεσμα το διαχωρισμό των φάσεων του γαλακτώματος.

Το φαινόμενο της ωρίμανσης κατά Ostwald είναι δυνατόν να καθυστερήσει, στην περίπτωση όπου το μέγεθος των σταγονιδίων είναι μεγάλο. Καθώς, η διαλυτότητα της διασπαρμένης φάσης αυξάνεται με τη μείωση του μεγέθους των σταγονιδίων, καθυστερείται η ωρίμανση Ostwald όταν τα σταγονιδια είναι μεγάλου μεγέθους. Βέβαια στην προαναφερθείσα περίπτωση τα φαινόμενα της κροκίδωσης και της συνένωσης, έχουν αυξημένη πιθανότητα να λάβουν χώρα. Επίσης στις περιπτώσεις όπου η κατανομή μεγέθους των εσωτερικών σταγονιδίων είναι 'στενή', παρατηρείται καθυστέρηση της εμφάνισης του φαινομένου της ωρίμανσης Ostwald.

- **Κρέμωση ή συσσωμάτωση –creaming**: Αναφέρεται στην προς τα πάνω μετακίνηση και συγκέντρωση των σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης, σε σχέση με το μέσο διασποράς. Οι σταγόνες διατηρούν την ταυτότητα τους, και έτσι η κρέμωση αποτελεί ένα αντιστρεπτό γεγονός, καθώς με τη χρήση ελάχιστης ενέργειας το σύστημα μπορεί να επαναγαλακτωματοποιηθεί. Η κρέμωση αποτελεί μια κατάσταση που παρατηρείται σε όλα γαλακτώματα στα οποία υπάρχει διαφορά πυκνότητας μεταξύ των δύο φάσεων. Τέλος, αξίζει να αναφερθεί ότι το ιξώδες του μέσου διασποράς παίζει σημαντικό ρόλο στο ρυθμό κρέμωσης των γαλακτωμάτων.

Παρακάτω περιγράφεται και αναλύεται η διαδικασία που λαμβάνει χώρα κατά το σχηματισμό της κρέμας και κατά την καθίζηση.

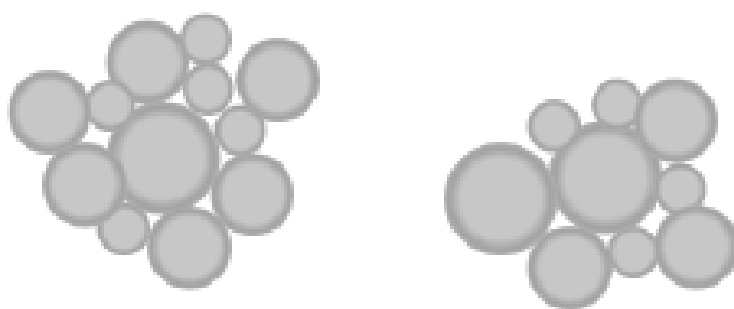
### **Σχηματισμός κρέμας και καθίζηση:**

Οι παράγοντες που συντελούν στην κροκίδωση και το σχηματισμό κρέμας εξαρτώνται άμεσα από το νόμο του Stokes που περιγράφεται με την παρακάτω εξίσωση:

$$U = \frac{d^2(\rho - \rho')g}{18\eta}$$

Σύμφωνα με την παραπάνω εξίσωση, όταν η πυκνότητα της εσωτερικής φάσης ( $\rho$ ) είναι μικρότερη από την πυκνότητα της εξωτερικής φάσης ( $\rho'$ ), η ταχύτητα ( $u$ ) είναι αρνητική με αποτέλεσμα την προς τα επάνω συγκέντρωση των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης και το σχηματισμό κρέμας. Εάν ισχύει το αντίθετο, δηλαδή  $\rho > \rho'$ , τότε τα σταγονίδια θα συγκεντρωθούν προς τα κάτω και θα υπάρξει καθίζηση. Ο παράγοντας που επηρεάζει περισσότερο το σχηματισμό κρέμας είναι η διάμετρος των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης. Με την αλλαγή των παραγόντων της εξίσωσης Stokes μπορεί να αποφευχθεί ο σχηματισμός κρέμας. Συγκεκριμένα, με την προσθήκη ενός παράγοντα αύξησης του ιξώδους ( $\eta$ ) στην εξωτερική φάση και με την ομογενοποίηση που μειώνει τη διάμετρο ( $d$ ) των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης, μειώνεται η ταχύτητα κίνησης των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης με αποτέλεσμα την αύξηση της σταθερότητας του γαλακτώματος. Η πιθανότητα του σχηματισμού κρέμας, πρέπει να περιορίζεται στο ελάχιστο, καθώς γαλακτώματα αυτής της μορφής, δεν είναι ομοιογενή, ενώ η μεγάλη προσέγγιση των σταγονιδίων μεταξύ τους διευκολύνει συχνά τη συνένωση τους, με τελικό αποτέλεσμα τη ρήξη του γαλακτώματος.

- **Κροκίδωση ή θρόμβωση –flocculation**: Αναφέρεται στην κατάσταση εκείνη, όπου παρατηρείται σύμφυση ή συγκόλληση σταγόνων με σχηματισμό χαλαρών δομών τύπου τσαμπιού σταφυλιού, διαχωριζόμενες ωστόσο από τη συνεχή φάση, η οποία φέρεται με τη μορφή λεπτού υγρού φιλμ. Για τη θρόμβωση, ευθύνεται το ζήτη δυναμικό επιφάνειας των σταγονιδίων. Η θρόμβωση αποτελεί αντιστρεπτή διαδικασία, όπως ακριβώς ήταν και η κρεμωση που αναφέρθηκε προηγουμένως, αφού οι σταγόνες διατηρούν την ταυτότητα τους, και με τη χρήση ελάχιστης ενέργειας το σύστημα μπορεί να επαναγαλακτωματοποιηθεί.

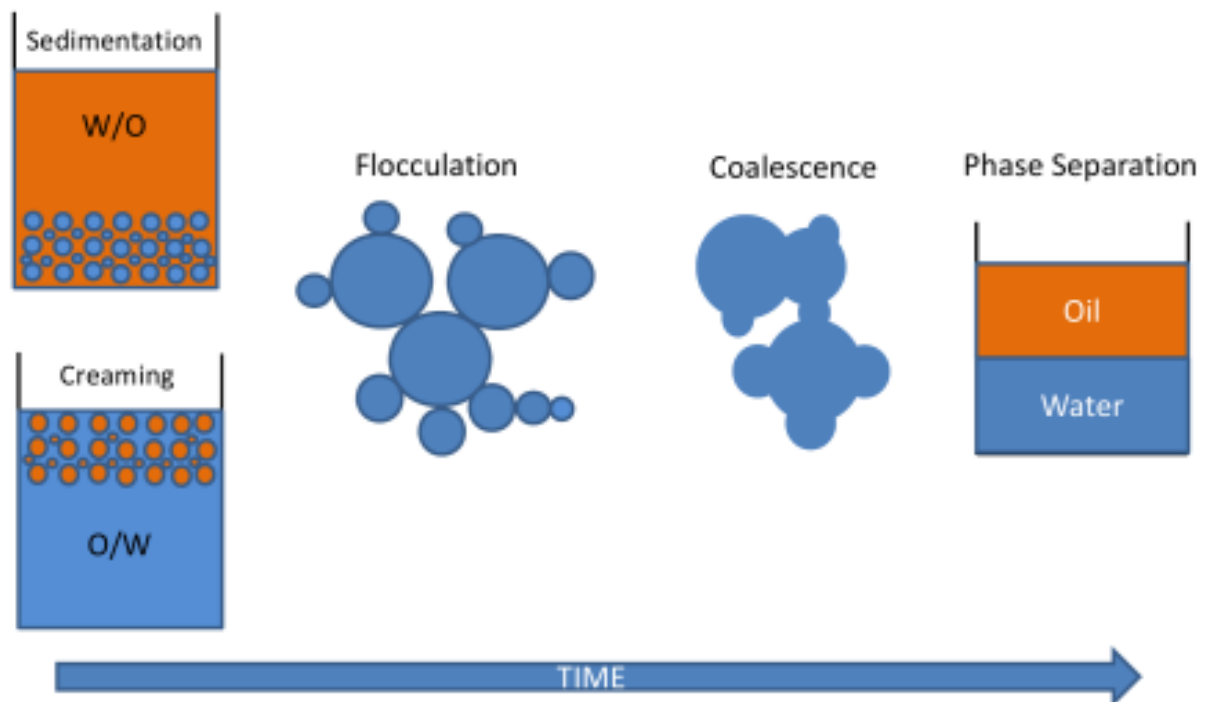


**Εικόνα 8: Απεικόνιση σταγονιδίων, τα οποία έχουν υποστεί κροκίδωση.**

- **Συνένωση –coalescence**: Αναφέρεται στη συγχώνευση δυο σταγονιδίων της διεσπαρμένης φάσης σε μία μεγαλύτερη σε όγκο αλλά μικρότερη σε επιφάνεια, η οποία δημιουργείται μετά από ρήξη του λεπτού υγρού φιλμ της συνεχούς φάσης, που βρισκόταν μεταξύ των σταγονιδίων. Μέσω της συνένωσης οι αρχικές σταγόνες χάνουν την ταυτότητα τους. Τα

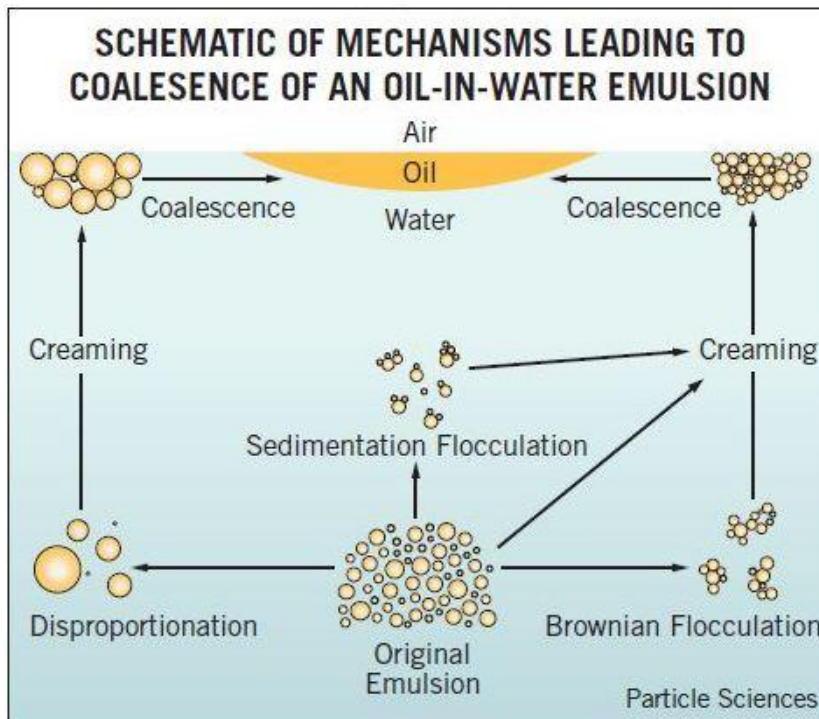
χαρακτηριστικά του γαλακτώματος αλλοιώνονται με τη συνένωση, παρόλο που η συνένωση γίνεται συνήθως οπτικά αντιληπτή στα τελευταία στάδια της, όπου οδεύει στη ρήξη του γαλακτώματος.

- **Ρήξη γαλακτώματος –breaking:** Αναφέρεται στο σαφή διαχωρισμό του γαλακτώματος σε δύο φάσεις.
- **Αναστροφή φάσης-phase inversion:** Η διεσπαρμένη φάση μετατρέπεται σε μέσο διασποράς, και το μέσο διασποράς σε διεσπαρμένη φάση.

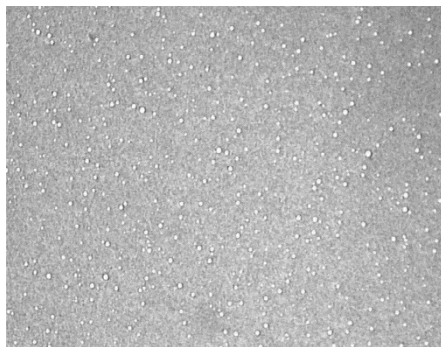


*Εικόνα 9: Απεικόνιση της πορείας αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων σε συνάρτηση με το χρόνο, με τελικό αποτέλεσμα το διαχωρισμό των γαλακτωμάτων.*





**Εικόνα 10:** Σχηματική απεικόνιση της διαδικασίας αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων.



**Εικόνα 11:** Απεικόνιση της εσωτερικής φάσης των γαλακτωμάτων, με τη χρήση μικροσκοπίου Leica. Σταθερό γαλάκτωμα (επάνω), και τάση συνένωσης (κάτω).

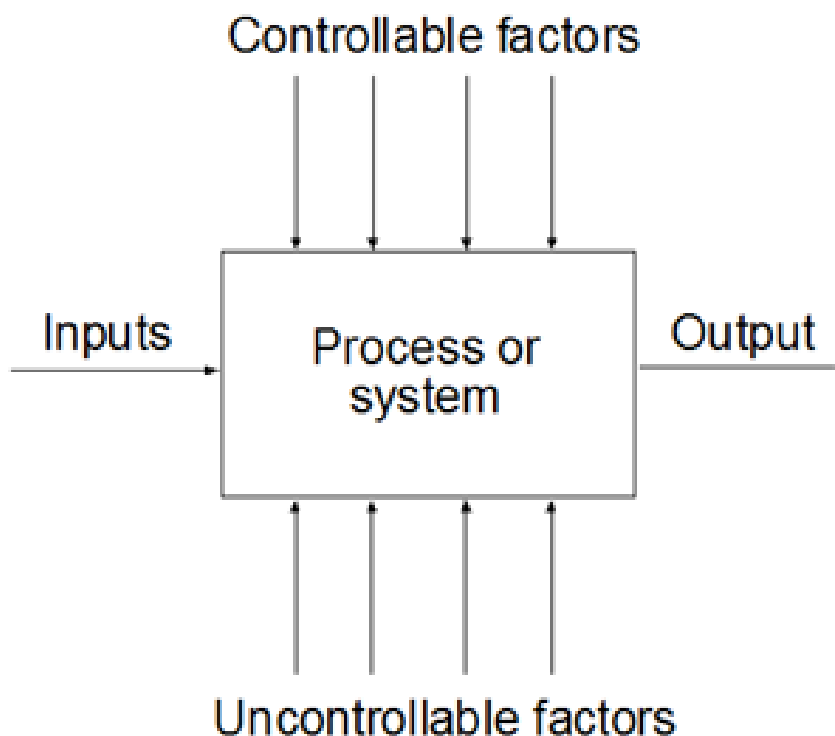
## Κεφάλαιο II

### II.1 Ανάλυση Πειραματικού Σχεδιασμού.

---

#### II.1.1 Ορισμός συστήματος και εισαγωγή στον πειραματικό σχεδιασμό.

Ως σύστημα ορίζεται ο συνδυασμός υλικών, εξοπλισμού, εξαρτημάτων ανθρώπων διεργασιών και άλλων παραγόντων, οι οποίοι δρουν συλλογικά για να μετατρέψουν ένα σύνολο δεδομένων σε μία απόκριση. Οι μεταβλητές  $x$  αναπαριστούν τις ελεγχόμενες μεταβλητές (controllable factors), οι οποίες μπορούν να προσαρμοστούν και να τεθούν σε ορισμένα επίπεδα-στόχους, σε αντίθεση με τις μεταβλητές  $z$  (uncontrollable factors), οι οποίες είναι δύσκολο ή αδύνατο να ελεγχθούν στο πεδίο δράσης του συστήματος, αν και μπορεί να είναι ελεγχόμενες στα πλαίσια ενός συγκεκριμένου πειράματος.[24]



Εικόνα 12: Απεικόνιση της διεργασίας.

Έτσι μπορεί να είναι επιθυμητά τα παρακάτω:

- καθορισμός των μεταβλητών με τη μέγιστη απόκριση
- να τεθούν τα  $x$  με τη μέγιστη επίδραση, ώστε η απόκριση ή οι αποκρίσεις να βρίσκονται σχεδόν πάντα κοντά στις επιθυμητές τιμές-στόχους
- να τεθούν τα  $x$  με τη μέγιστη επίδραση, ώστε η μεταβλητότητα στην απόκριση να είναι μικρή
- να τεθούν τα  $x$  με τη μέγιστη επίδραση, ώστε οι επιδράσεις των μη ελεγχόμενων μεταβλητών στην απόκριση να είναι μικρές.

Ο πειραματικός σχεδιασμός αποτελεί μια στρατηγική διεξαγωγής πειραμάτων με τέτοιο τρόπο ώστε η πληροφορία που απορρέει να λαμβάνεται με τη μέγιστη δυνατή ακρίβεια και αποτελεσματικότητα και με τον ελάχιστο αριθμό πειραμάτων. Μέσω της χρήσης του πειραματικού σχεδιασμού θα καθοριστεί η σχέση μεταξύ των παραγόντων που επιδρούν στο σύστημα και της απόκρισης, ενώ παράλληλα θα διερευνηθούν οι αλληλεπιδράσεις των παραγόντων και η επίδραση τους στο τελικό αποτέλεσμα. Ο στατιστικός πειραματικός σχεδιασμός (Statistical Experimental Design ή Design of Experiments, DOE), αποτελεί μια αξιόπιστη βάση για τη λήψη απόφασης διότι παρέχει ένα αξιόπιστο πλαίσιο εντός του οποίου όλοι οι σημαντικοί παράγοντες μεταβάλλονται συστηματικά σε έναν περιορισμένο αριθμό πειραμάτων.

Τα βασικά στάδια που ακολουθούνται κατά τη διεξαγωγή του πειραματικού σχεδιασμού, περιγράφονται συνοπτικά παρακάτω.

- Περιγραφή του προβλήματος
- Αναλυση προυπαρχοντων δεδομένων
- Προσδιορισμός αντικειμενικού στόχου
- Επιλογή των παραγόντων
- Καθορισμός αποκρίσεων
- Επιλογή καταλληλου μαθηματικού μοντέλου
- Διερεύνηση πιθανών περιορισμών
- Μητρα πειραματικου σχεδιαμου
- Πειραματικο σχέδιο
- Πειραματικές δοκιμές
- Αναλυση αποτελεσμάτων
- Συμπεράσματα

Στην ουσία ο πειραματικός σχεδιασμός αποτελεί έναν καθορισμένο τρόπο με τον οποίο πρόκειται να διεξαχθεί το πειραματικό πρόγραμμα, και αφορά την επιλογή των επιπέδων των παραγόντων και των συνδυασμών τους. Ο πειραματικός σχεδιασμός επιτρέπει την εξαγωγή αξιόπιστων συμπερασμάτων χρησιμοποιώντας τη στατιστική στο σχεδιασμό και την ανάλυση πειραμάτων.



**Εικόνα 13 : Σχηματικό διαγράμμα που απεικονίζονται οι αρχές του *Juran*: *Plan-Do-Study-Act***

Παρακάτω θα αναφερθούμε στις βασικότερες αρχές του πειραματικού σχεδιασμού, οι οποίες είναι οι εξής:

- **Τυχαιοποίηση/Randomization:** Τα πειράματα εκτελούνται σε τυχαία σειρά, ώστε να αποφευχθεί η μεροληψία ή το συστηματικό σφάλμα κατά την ανάλυση άγνωστων ή μη ελεγχόμενων παραγόντων κατά τη διεργασία.
- **Blocking:** Χρησιμοποιείται για την ελαχιστοποίηση παραγόντων θορύβου, και σε περιπτώσεις που γνωρίζουμε τον παράγοντα θορύβου, αλλά η τυχαιοποίηση δεν είναι εφικτή.

Οι βασικότερες κατηγορίες πειραματικού σχεδιασμού είναι οι ακόλουθες:[29]  
[30]

- **Screening designs:** Αναφέρεται στην επιλογή των περισσότερο σημαντικών παραγόντων από ένα πλήθος λιγότερο σημαντικών. Δίνεται έμφαση στην αναγνώριση των κύριων επιδράσεων παρά στην αξιολόγηση των υφιστάμενων αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παραγόντων.
- **Response Surface Methodology- Μεθοδολογία Απόκρισης Επιφάνειας:** Αναφέρεται στην εξεύρεση του μαθηματικού μοντέλου ώστε να προβλέψουμε την απόκριση εντός του σχεδιαστικού χώρου ή ακόμα και στην περιφέρεια αυτού. Έτσι, αντί να εκτιμούμε άμεσα την επίδραση της κάθε μεταβλητής επιθυμούμε να προσαρμόσουμε τις συμμεταβλητές στο μοντέλο της εξίσωσης της απόκρισης, και να χαρτογραφήσουμε την απόκριση σε όλο τον πειραματικό χώρο υπό μορφή επιφάνειας.
- **Factorial designs- process related- Παραγοντικός σχεδιασμός:** Αποτελεί ένα σχεδιασμό ταυτοποίησης αλληλεπιδράσεων των μελετούμενων παραγόντων, με ταυτόχρονο προσδιορισμό του μεγέθους και της κατεύθυνσης των επιδράσεων στην απόκριση. Στην ουσία η μήτρα του σχεδιασμού περιλαμβάνει όλους τους πιθανούς συνδυασμούς των επιπέδων των ανεξάρτητων μεταβλητών.
- **Mixture design- Σχεδιασμός μίγματος:** Αποτελεί το σχεδιασμό επιλογής στις περιπτώσεις όπου οι μεταβλητές του ενδιαφέροντος αντιστοιχούν σε ποσοστιαίες αναλογίες των συστατικών ενός μίγματος.
- **Mixture- process designs:** Στην ουσία αποτελεί συνδυασμό των δύο προηγούμενων σχεδιασμών. Εφαρμόζονται όταν επιθυμείται η διερεύνηση αλληλεπιδράσεων μεταξύ των συστατικών μίας σύνθεσης και των παραμέτρων μιας διεργασίας.

## II.1.2 Σκοπός πειραματικού σχεδιασμού.

Οι σημαντικότεροι σκοποί του πειραματικού σχεδιασμού συνοψίζονται παρακάτω: [29][30]

**Screening:** χρησιμοποιείται για να διαχωρίσει τους παράγοντες οι οποίοι επιδρούν σημαντικά σε μία διεργασία ή ένα προϊόν και να προσδιορίσει τα εύρη διερεύνησης τους. Στους σχεδιασμούς screening απαιτείται μικρός αριθμός πειραμάτων σε σχέση με τον αριθμό των παραγόντων που διερευνώνται.

**Optimization:** Σε αυτή την περίπτωση το ενδιαφέρον έγκειται στον καθορισμό ενός εύρους τιμών των σημαντικών παραγόντων που οδηγούν στις καλύτερες δυνατές τιμές απόκρισης. Αυτοί οι σχεδιασμοί είναι περισσότερο περίπλοκοι από τους screening, και για το λόγο αυτό αποτελούν μεγαλύτερο αριθμό πειραμάτων ανά παράγοντα.

**Robustness testing:** χρησιμοποιείται για τον προσδιορισμό της ευαισθησίας ενός προϊόντος ή μιας διεργασίας σε μικρές αλλαγές των ρυθμίσεων των παραγόντων.

## II.2.1 Box Behnken Πειραματικός Σχεδιασμός- RSM

Στους σχεδιασμούς της μεθοδολογίας επιφανειών απόκρισης που χρησιμοποιούνται για τον υπολογισμό δευτεροβάθμιων μοντέλων, ανήκουν και οι σχεδιασμοί Box Behnken. Στην παρούσα διπλωματική εργασία εκτελείται αρχικά ένας σχεδιασμός Box Behnken, και έπειτα ένας πλήρης παραγοντικός πειραματικός σχεδιασμός.[25] [27] [29][30]

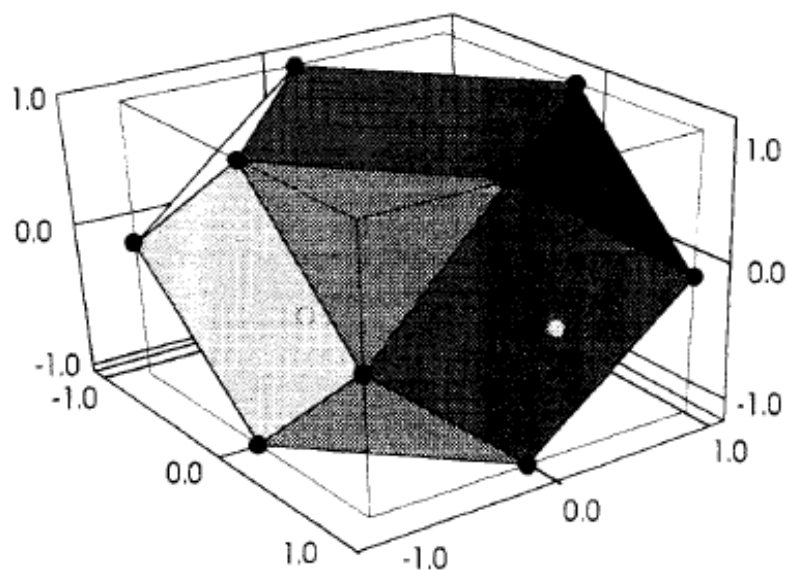
Η μεθοδολογία Επιφανειών Απόκρισης (Response Surface Methodology) είναι ένα από τα ισχυρότερα εργαλεία του πειραματικού σχεδιασμού. Στόχος της είναι η δημιουργία επιφανειών απόκρισης και η περιγραφή εν συνεχεία των επιφανειών αυτών με αντίστοιχα μοντέλα.

Οι πειραματικοί σχεδιασμοί τύπου Box Behnken, αποτελούν σχεδιασμούς το σημαντικότερο πλεονέκτημα των οποίων είναι ότι κάθε παράγοντας χρησιμοποιείται σε τρία επίπεδα. Αποτελούν στην ουσία υποσύνολο του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού σε 3 επίπεδα (3 level full factorial design). Ο σχεδιαστικός χώρος για τρεις παράγοντες φαίνεται στην εικόνα που ακολουθεί. Τα πειραματικά σημεία είναι οριοθετημένα στο κέντρο κάθε ακμής του κύβου, σε απόσταση  $\sqrt{2}$  από το κεντρικό σημείο του σχεδιασμού, και ο πειραματικός χώρος ο

οποίος προκύπτει είναι σφαιρικός.

**Table 5.26** Box-Behnken Design for 3 Factors

No.	$X_1$	$X_2$	$X_3$
1	-1	-1	0
2	+1	-1	0
3	-1	+1	0
4	+1	+1	0
5	-1	0	-1
6	+1	0	-1
7	-1	0	+1
8	+1	0	+1
9	0	-1	-1
10	0	-1	+1
11	0	+1	-1
12	0	+1	+1
13	0	0	0



**Figure 5.17** Box-Behnken design for 3 factors.

**Εικόνα 14:** Απεικόνιση του σφαιρικού χώρου που προκύπτει από τα πειραματικά σημεία του Box Behnken σχεδιασμού με 3 παράγοντες.

Στους σχεδιασμούς αυτού του τύπου, κάθε συνδυασμός των δυο από τους παράγοντες ελέγχεται και οριοθετείται στις ακραίες τιμές, ενώ οι υπόλοιποι παράγοντες παίρνουν την κωδικοποιημένη τιμή coded-zero.

Ακολούθως, ο Box Behnken σχεδιασμός με τεσσέρις μεταβλητές, έχει όλους



τους δυνατούς σχεδιασμούς παραγοντικών σχεδιασμών με τους 2 από τους παράγοντες, ενώ οι άλλοι δύο παράγοντες βρίσκονται στην τιμή μηδέν.

Γενικότερα, οι Box Behnken σχεδιασμοί με  $k$  παράγοντες περιλαμβάνουν  $\frac{k(k-1)}{2}$  factorial designs  $2^2$ , παίρνοντας ένα ζευγάρι παραγόντων κάθε φορά, και κρατώντας τους άλλους παράγοντες στο επίπεδο coded μηδέν. Ο αριθμός των πειραμάτων αυξάνεται ραγδαία καθώς αυξάνεται ο αριθμός των παραγόντων,

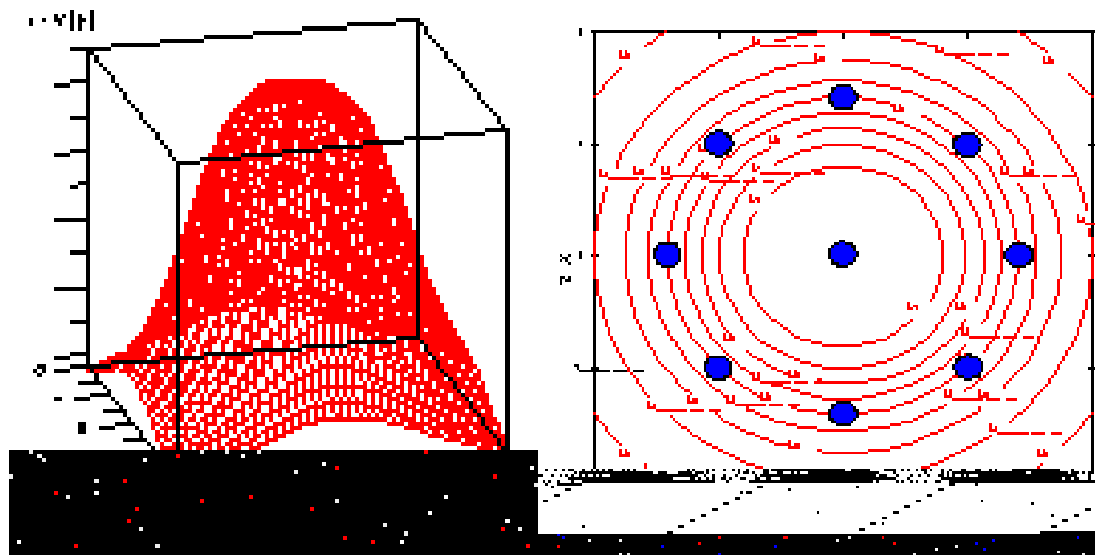
Ένα σημαντικό πλεονέκτημα των Box Behnken είναι ότι δεν περιλαμβάνει συνδυασμούς των οποίων οι παράγοντες είναι ταυτόχρονα στο υψηλότερο ή χαμηλότερο επίπεδο. Έτσι, οι σχεδιασμοί αυτοί είναι χρήσιμοι στην αποφυγή πειραμάτων που διεξάγονται σε ακραίες συνθήκες, στις οποίες μη επιθυμητές αποκρίσεις είναι δυνατόν να εμφανιστούν. Από την άλλη πλευρά όμως, αυτοί οι σχεδιασμοί δε συνίστανται για καταστάσεις στις οποίες θέλουμε να γνωρίζουμε τις αποκρίσεις των παραγόντων που βρίσκονται στα άκρα των ακμών του κύβου.

Θα πρέπει να δοθεί έμφαση στο γεγονός ο σχεδιαστικός χώρος που προκύπτει από τα πειραματικά σημεία του Box Behnken σχεδιασμού που βρίσκονται στον κύβο, είναι σφαιρικός, και συνεπώς τα άκρα των ακμών του κυβου δεν καλύπτονται από το συγκεκριμένο σχεδιασμό. Επακόλουθο αυτού του γεγονότος είναι ότι προβλέψεις στα παραπάνω σημεία αποτελούν 'επέκταση' (extrapolation) και οφείλουν να γίνονται προσεκτικά. Ο αριθμός των πειραματικών σημείων ( $N$ ) του Box Behnken σχεδιασμού δίνεται από τον τύπο:

$$N = 2k(k - 1) + c$$

όπου  $k$  είναι ο αριθμός των μεταβλητών και  $c$  ο αριθμός των κεντρικών σημείων.

Ένα ιδιαίτερα σημαντικό χαρακτηριστικό των εν λόγω σχεδιασμών αποτελεί η περιστροφικότητα. Η έννοια της περιστροφικότητας, η οποία εκφράζει την κατανομή του σφάλματος πρόβλεψης (prediction error) του μοντέλου στον πειραματικό χώρο, εισήχθη από τους Box και Hunter το 1957. Έτσι αν ένας σχεδιασμός είναι περιστροφικός το μοντέλο που θα προσαρμοστεί στα δεδομένα έχει την ίδια πιθανότητα σφάλματος, δηλαδή την ίδια διασπορά πρόβλεψης (variance of estimate) για όλα τα σημεία που απέχουν την ίδια απόσταση από το κέντρο του πειραματικού χώρου. Η ιδιαίτερα επιθυμητή λοιπόν ιδιότητα της περιστροφικότητας, εμφανίζεται για συγκεκριμένο αριθμό υπό μελέτη παραγόντων. Για παράδειγμα σε περίπτωση που υπό μελέτη παράγοντες είναι τέσσερις ( $k=4$ ) ή επτά ( $k=7$ ) είναι απόλυτα περιστροφικός, ενώ είναι περίπου περιστροφικός όταν οι μελετώμενοι παράγοντες είναι τρεις ( $k=3$ ).



**Εικόνα 15:** Απεικόνιση τρισδιάστατη (αριστερά) και υψομετρική- contour map (δεξιά) του χαρακτηριστικού της περιστροφικότητας που διαθέτουν οι Box Behnken σχεδιασμοί.

## II.2.2 Παραγοντικοί σχεδιασμοί

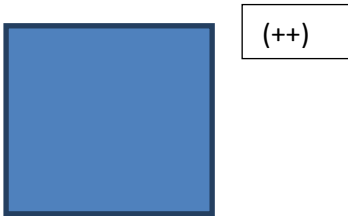
Οι παραγοντικοί σχεδιασμοί θεωρούνται σημαντικό κεφάλαιο της προσέγγισης του πειραματικού σχεδιασμού. Στους εν λόγω σχεδιασμούς η σχέση μεταξύ παραγόντων και απόκρισης μελετάται μεταβάλλοντας ταυτόχρονα και με ορισμένο τρόπο όλους τους παράγοντες του πειράματος, γι' αυτό δίνεται ιδιαίτερη σημασία στις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραγόντων. Η μεθοδολογία αυτή θεωρείται εξαιρετικά αποτελεσματική καθώς χρησιμοποιεί τη στατιστική στο σχεδιασμό και στην ανάλυση των πειραμάτων με αποτέλεσμα την εξαγωγή συμπερασμάτων μεγαλύτερης αξιοπιστίας, σε σχέση με άλλες μεθόδους πειραματισμού (π.χ. OFAT).

One Factor At Time	Factorial Design
Απουσία δυνατότητας εκτίμησης αλληλεπιδράσεων μεταξύ των παραγόντων.	Δυνατότητα ανίχνευσης αλληλεπιδράσεων εξαιτίας ταυτόχρονης αλλαγής των επιπέδων των παραγόντων.
Απουσία ακρίβειας. Αν το πρώτο πείραμα είναι λάθος, τότε και όλα τα επόμενα θα είναι λανθασμένα.	Αυξημένη ακρίβεια. Το αποτέλεσμα κάθε πειράματος συμμετέχει ισότιμα στον υπολογισμό της επίδρασης του κάθε παράγοντα. Το λάθος διαμοιράζεται.
Εκτέλεση μεγάλου αριθμού πειραμάτων, αφού υπολογίζεται μία επίδραση κάθε φορά από δύο πειράματα.	Οικονομία πειραμάτων, αφού μεταβάλλονται όλοι οι παράγοντες ταυτόχρονα.

Υπάρχουν δύο βασικά είδη παραγοντικών σχεδιασμών οι πλήρεις και οι κλασματικοί. Στους πλήρεις παραγοντικούς σχεδιασμούς περιλαμβάνονται όλοι οι πιθανοί συνδυασμοί επιπέδων των υπό μελέτη παραγόντων και εκτιμάται όχι μόνο η επίδραση κάθε παράγοντα στην απόκριση ξεχωριστά, αλλά και των πιθανών αλληλεπιδράσεων (interactions) μεταξύ των παραγόντων. Αντίθετα, στους κλασματικούς παραγοντικούς σχεδιασμούς περιλαμβάνεται ένα μέρος (κλάσμα) των πειραμάτων του πλήρους σχεδιασμού και με την εφαρμογή τους είναι εφικτός ο υπολογισμός μόνο των κύριων επιδράσεων. Οι συγκεκριμένοι σχεδιασμοί είναι απαραίτητοι όταν υπάρχουν πολλοί παράγοντες στα αρχικά στάδια μίας μελέτης, και επιθυμείται η ταυτοποίηση των σημαντικών παραγόντων. (screening designs)

Γενικά ένας πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός συμβολίζεται με  $I^f$ , όπου  $I$  είναι ο αριθμός των επιπέδων και  $f$  ο αριθμός των παραγόντων. Ο αριθμός αυτός αποτελεί τον αριθμό των πειραμάτων που απαιτείται να διεξαχθούν για τη μελέτη των συγκεκριμένων παραγόντων στα προαναφερθέντα επίπεδα. Ο συμβολισμός αυτός προϋποθέτει ότι όλοι οι παράγοντες μελετώνται στον ίδιο αριθμό επιπέδων. Σε διαφορετική περίπτωση προκύπτουν οι επονομαζόμενοι ασύμμετροι παραγοντικοί σχεδιασμοί (assymetrical deigns) ή σχεδιασμοί σε μικτά επίπεδα παραγόντων (mixed level designs) και συμβολίζονται με διαφορετικό τρόπο.

Η απλούστερη περίπτωση παραγοντικού σχεδιασμού σχετίζεται με τη μελέτη 2 παραγόντων σε δύο επίπεδα, δηλαδή την διεξαγωγή  $2^2$  πειραματικών δοκιμών (experimetal runs), και ο πειραματικός χώρος εμφανίζεται με τη μορφή τετραγώνου, όπως απεικονίζεται παρακάτω.



Στην περίπτωση του του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού με τρεις παράγοντες ο πειραματικός χώρος θα έχει τη μορφή κύβου και οι πειραματικές δοκιμές θα είναι  $2^3=8$ .

Ο σχεδιασμός ολοκληρώνεται με την κατασκευή της μήτρας του σχεδιασμού (design matrix) που αποτελεί το ανάπτυγμα του σχεδιασμού, του συνδυασμού δηλαδή των επιπέδων των παραγόντων.

# ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΟ ΜΕΡΟΣ

## Κεφαλαίο III

---

### III.1.1 Σκοπός της μελέτης.

Στην παρούσα διπλωματική εργασία επιχειρήθηκε η αξιολόγηση της σταθερότητας ο/w γαλακτωμάτων, μέσω της συγκριτικής μελέτης δύο πειραματικών σχεδιασμών. Λαμβάνοντας υποψιν μας δεδομένα από προηγούμενη μας εργασία, χρησιμοποιήσαμε συγκεκριμένη συνταγή για την παρασκευή των γαλακτωμάτων, η οποία είχε προκύψει από την εκτέλεση σχεδιασμού μιγματος. Ειδικότερα, η συγκεκριμένη συνταγή οδηγούσε στην παραγωγή γαλακτωμάτων με την καλύτερη δυνατή τιμή της απόκρισης  $d(v,0.9)$  (ενδεικτική του μεγέθους των σωματιδίων) (βλ. III.1.3). Θεωρήθηκε λοιπόν σκόπιμο, στην παρούσα φάση να εκτελεσθούν σχεδιασμοί διεργασίας (process designs), ώστε να μελετηθεί αυτή τη φορά η σχέση των παραγόντων που επιδρούν στη διεργασία και των αποκρίσεων, αλλά και να συγκριθούν και να αξιολογηθούν τα πορίσματα που προκύπτουν από τον εκάστοτε σχεδιασμό.

Για το σκοπό αυτό, εκτελέσθηκε αρχικά ένας Box Behnken σχεδιασμός και εν συνεχεία ένας πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός. Κατά αυτό τον τρόπο αναλύθηκαν και εκτιμήθηκαν οι παράγοντες που επιδρούν σημαντικά στη διεργασία, καθώς και οι αλληλεπιδράσεις που λαμβάνουν χώρα στον κάθε πειραματικό σχεδιασμό. Έπειτα, θεωρήθηκε σκόπιμη η εκτίμηση της ικανότητας πρόβλεψης της επιθυμητής απόκρισης στον πειραματικό χώρο από τον κάθε σχεδιασμό. Εκτελώντας στη συνέχεια 'πειράματα επιβεβαίωσης' (verification runs) μας δόθηκε η δυνατότητα να επιβεβαιώσουμε την εγγύτητα των αποτελεσμάτων μας, συγκριτικά με αυτά που προβλέπονταν από τα εξαγόμενα μαθηματικά μοντέλα των πειραματικών σχεδιασμών.

Τέλος, έγινε προσπάθεια να εκτιμηθεί η ικανότητα της διεργασίας τόσο κατά την εκτέλεση πειραμάτων του Box Behnken σχεδιασμού, όσο και κατά την εκτέλεση των πειραμάτων του παραγοντικού σχεδιασμού. Η ικανότητα των διεργασιών πραγματοποιήθηκε με τη βοήθεια συγκεκριμένων στατιστικών δεικτών, και αναλυτικότερα μέσω του δείκτη  $Cpk$ .

Κάνοντας εν τέλει μια συνολική αποτίμηση των πληροφοριών από τους δυο σχεδιασμούς, και λαμβάνοντας υποψιν τα πλεονεκτήματα και μειονεκτήματα τους, προτείνουμε το σχεδιασμό εκείνο που συνδυάζει αποτελεσματικότερα την ακρίβεια της πληροφορίας που απορρέει, με την οικονομία που μεταφράζεται ως λιγότερος αριθμός πειραμάτων και λιγότερος χρόνος.

### III.1.2 Εφαρμογή του πειραματικού σχεδιασμού

Στην παρούσα εργασία εκτελέστηκαν δύο πειραματικοί σχεδιασμοί. Οι παράγοντες που μελετήθηκαν, καθώς και τα επίπεδα αυτών, ήταν και στους δυο σχεδιασμούς κοινοί. Αναλυτικότερα οι εξεταζόμενοι παράγοντες είναι:

- A: η μάζα του γαλακτώματος,
- B: ο χρόνος ομογενοποίησης και
- C: η ταχύτητα του ομογενοποιητή.

Χρησιμοποιώντας τις αρχές του πειραματικού σχεδιασμού, έγινε δυνατός ο καθορισμός της σχέσης μεταξύ των παραγόντων που επιδρούν στο σύστημα και της απόκρισης ή των ιδιοτήτων του συστήματος. Είναι επιθυμητή σε κάθε περίπτωση η προσέγγιση των στόχων σε συνάρτηση με τους περιορισμούς που υπάρχουν.

Ξεκινώντας με τον Box Behnken σχεδιασμό, παραθέτουμε παρακάτω το ανάπτυγμα του σχεδιασμού όπου παρουσιάζονται όλοι οι συνδυασμοί παραγόντων που χρησιμοποιήθηκαν σε κάθε πείραμα του σχεδιασμού.

		Factor 1	Factor 2	Factor 3
Std	Run	A:MASS	B:time	C:C
		g	min	rpm
1	11	600.00	9.00	1500.00
2	6	900.00	6.00	4500.00
3	12	600.00	6.00	3000.00
4	14	600.00	6.00	3000.00
5	8	600.00	9.00	4500.00
6	13	900.00	3.00	3000.00
7	10	600.00	6.00	3000.00
8	2	300.00	6.00	1500.00
9	9	600.00	3.00	1500.00
10	1	900.00	9.00	3000.00
11	15	300.00	6.00	4500.00
12	5	600.00	3.00	4500.00
13	4	300.00	3.00	3000.00
14	3	300.00	9.00	3000.00
15	7	900.00	6.00	1500.00

Όπως γίνεται αντιληπτό από τον παραπάνω πίνακα εξετάστηκαν τρεις παράγοντες ο καθένας από τους οποίους μεταβλήθηκε σε τρία επίπεδα, ενώ ο σχεδιασμός ολοκληρώθηκε με την πραγματοποίηση 15 πειραμάτων. Έπειτα, παρουσιάζεται ο

πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός, όπου όπως φαίνεται ολοκληρώνεται με την εκτέλεση 27 πειραμάτων, με τους ίδιους παράγοντες να μεταβάλλονται στα ίδια επίπεδα με τον προηγούμενο σχεδιασμό.

		Factor 1	Factor 2	Factor 3
Std	Run	A:MASS	B:TIME	C:RPM
		g	min	rpm
1	10	600.00	9.00	4500.00
2	27	600.00	9.00	1500.00
3	25	300.00	6.00	4500.00
4	17	600.00	3.00	3000.00
5	12	900.00	9.00	1500.00
6	14	600.00	3.00	1500.00
7	19	600.00	6.00	3000.00
8	2	300.00	3.00	3000.00
9	4	900.00	6.00	3000.00
10	6	900.00	3.00	3000.00
11	3	600.00	6.00	3000.00
12	8	300.00	9.00	4500.00
13	23	300.00	3.00	1500.00
14	5	900.00	9.00	4500.00
15	7	600.00	6.00	1500.00
16	16	600.00	6.00	4500.00
17	24	900.00	6.00	1500.00
18	15	900.00	9.00	3000.00
19	18	300.00	9.00	3000.00
20	22	300.00	6.00	1500.00
21	21	300.00	3.00	4500.00
22	26	300.00	9.00	1500.00
23	13	900.00	6.00	4500.00
24	20	900.00	3.00	4500.00
25	28	600.00	3.00	4500.00
26	1	300.00	6.00	3000.00
27	11	600.00	9.00	3000.00
28	9	900.00	3.00	1500.00

### III.1.3 Αποκρίσεις που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.

Τα αποτελέσματα των μετρήσεων είναι η κατανομή των σωματιδίων (Εικόνα 16), που υπολογίζεται γενικά από τα μεγέθη  $d(v,0.9)$ ,  $d(v,0.5)$ ,  $d(v,0.1)$  και span. Έτσι λοιπόν, τις αποκρίσεις μπορούν να αποτελέσουν τα παρακάτω μεγέθη, βάσει των οποίων υπολογίζεται η κατανομή των σωματιδίων της ελαιώδους φάσης. Στη συγκεκριμένη περίπτωση χρησιμοποιείται ως απόκριση το  $d(v,0.9)$ .

**$D(v,0.9)$ - (εκφράζεται σε  $\mu\text{m}$ ):** Συμβολίζει το μέγεθος του σωματιδίου για το οποίο για το οποίο το 90% των σωματιδίων του δείγματος βρίσκεται κάτω από το μέγεθος αυτό.

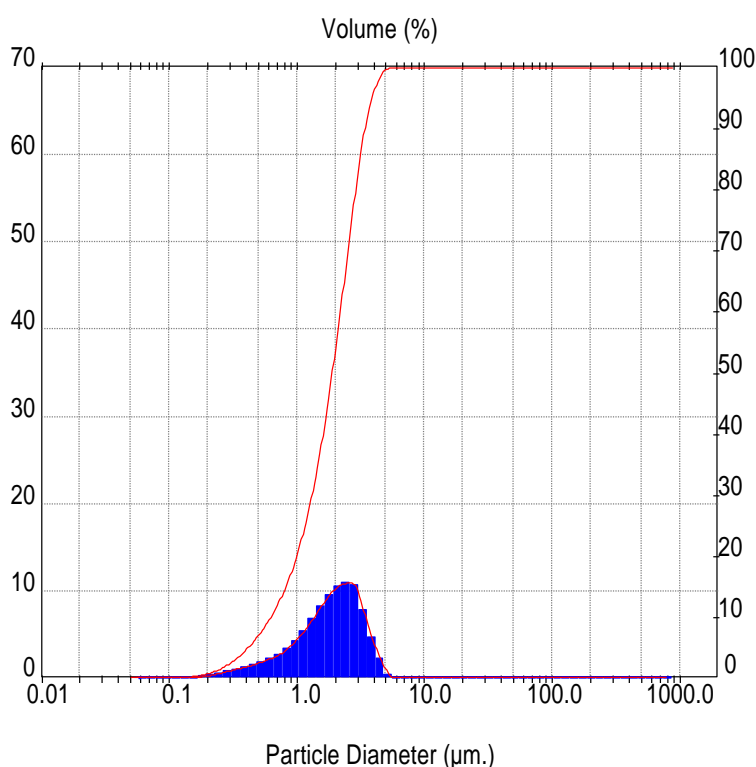
**$D(v,0.5)$ - (εκφράζεται σε  $\mu\text{m}$ ):** Συμβολίζει το μέγεθος του σωματιδίου για το οποίο το 50% του δείγματος είναι μικρότερο και το 50% μεγαλύτερο από την τιμή αυτή.

**$D(v,0.1)$ - (εκφράζεται σε  $\mu\text{m}$ ):** Συμβολίζει το μέγεθος του σωματιδίου για το οποίο το 10% των σωματιδίων του δείγματος βρίσκεται κάτω από το μέγεθος αυτό.

**Span-(αδιάστατο μέγεθος):** Συμβολίζει το εύρος της κατανομής των σωματιδίων και δίνεται από την παρακάτω σχέση:

$$\text{span}=[d(v,0.9)-d(v,0.1)]/d(v,0.5).$$

Όσο πιο μικρή είναι η τιμή του span τόσο πιο στενή είναι η κατανομή.



**Εικόνα 16:** Διάγραμμα ενδεικτικής σχηματικής απεικόνισης της κατανομής των σωματιδίων.



**Result: Analysis Table**

ID:		Run No: 19		Measured: 5/2/2014 5:46ii			
File: (Result Not Saved)				Analysed: 5/2/2014 5:46ii			
Path: C:\SIZERS\DATA\				Source: Analysed			
Range: 300RF mm		Beam: 2.40 mm		Sampler: MS1			
Presentation: 3NAD		Analysis: Poly disperse		Obs': 14.6 %			
Modif ications: None				Residual: 3.493 %			
Conc. = 0.0047 %Vol		Density = 1.000 g/cm³		S.S.A.= 4.9533 m²/g			
Distribution: Volume		D[4, 3] = 1.98 um		D[3, 2] = 1.21 um			
D(v, 0.1) = 0.62 um		D(v, 0.5) = 1.89 um		D(v, 0.9) = 3.41 um			
Span = 1.480E+00		Uniformity = 4.592E-01					
Size (um)	Volume Under%	Size (um)	Volume Under%	Size (um)	Volume Under%	Size (um)	Volume Under%
0.05	0.00	0.67	11.32	9.00	100.00	120.67	100.00
0.06	0.00	0.78	14.08	10.48	100.00	140.58	100.00
0.07	0.02	0.91	17.58	12.21	100.00	163.77	100.00
0.08	0.04	1.06	21.99	14.22	100.00	190.80	100.00
0.09	0.08	1.24	27.51	16.57	100.00	222.28	100.00
0.11	0.14	1.44	34.36	19.31	100.00	258.95	100.00
0.13	0.23	1.68	42.65	22.49	100.00	301.68	100.00
0.15	0.36	1.95	52.28	26.20	100.00	351.46	100.00
0.17	0.56	2.28	62.86	30.53	100.00	409.45	100.00
0.20	0.87	2.65	73.83	35.56	100.00	477.01	100.00
0.23	1.32	3.09	84.52	41.43	100.00	555.71	100.00
0.27	1.97	3.60	92.38	48.27	100.00	647.41	100.00
0.31	2.87	4.19	97.10	56.23	100.00	754.23	100.00
0.36	4.01	4.88	99.44	65.51	100.00	878.67	100.00
0.42	5.37	5.69	100.00	76.32	100.00		
0.49	7.00	6.63	100.00	88.91	100.00		
0.58	8.98	7.72	100.00	103.58	100.00		

**Εικόνα 17: Ενδεικτικός πίνακας εμφάνισης αποτελεσμάτων, αμέσως μετά τη μέτρηση του δείγματος.**

Στη συνέχεια, όπως θα αναλύσουμε και παρακάτω τα αποτελέσματα των μετρήσεων υποβλήθηκαν σε στατιστική επεξεργασία με τη βοήθεια του στατιστικού εργαλείου της Ανάλυσης Διασποράς (ANOVA) μέσω του προγράμματος πειραματικού σχεδιασμού Design Expert 9.0.0.

### III.1.4 Παρασκευή γαλακτωμάτων

Ο τρόπος παρασκευής των γαλακτωμάτων είναι κοινός για όλα τα γαλακτώματα που παρήχθησαν και στους δύο σχεδιασμούς. Μέγιστη προσπάθεια καταλαμβάνεται ώστε οι παράμετροι της διεργασίας παραγωγής να διατηρούνται ίδιες, καθώς με αυτό τον τρόπο οι διαφορές που θα παρατηρηθούν στις αποκρίσεις, δε θα αποδίδονται στη μεταβλητότητα που εισάγεται εξωγενώς κατά την εκτέλεση των πειραμάτων. Κατά τη διαδικασία παραγωγής των γαλακτωμάτων ακολουθείται η εξής διαδικασία:

#### Παρασκευή υδατικής φάσης.

Για τη δημιουργία της υδατικής φάσης ακολουθείται η μέθοδος που προτείνεται από την εταιρεία παραγωγής του HPMC, DOW.[20]

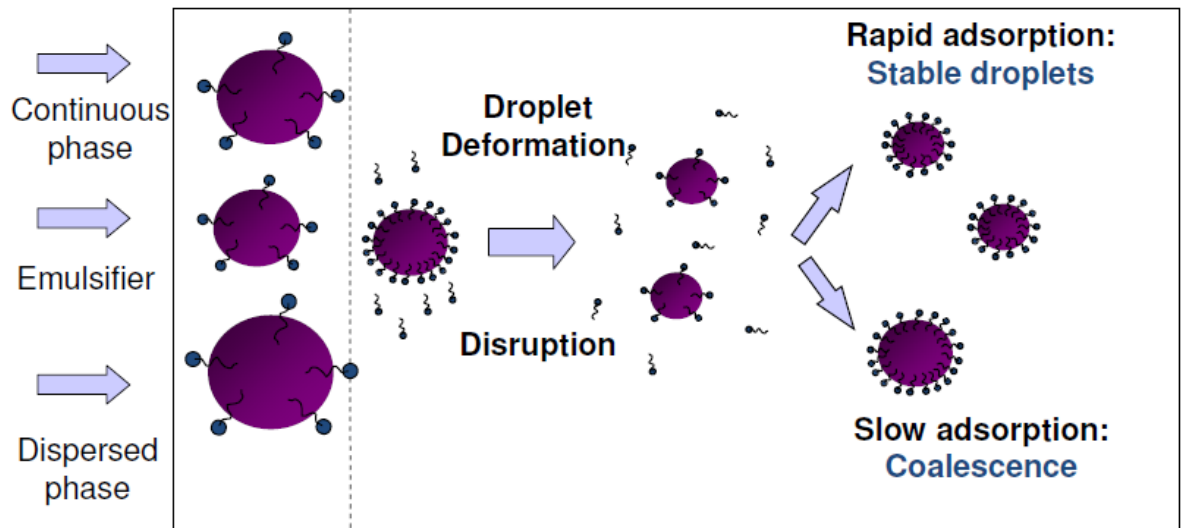
Για τη διασπορά των πολυμερών στο υδατικό μέσο διάλυσης προτείνεται η

hot/cold process (θερμό/κρύο), ώστε να επιτευχθεί η πλήρης διασπορά τους στο μέσο διάλυσης. Ειδικότερα, μέσω αυτής της διαδικασίας το 1/3 της συνολικής ποσότητας ύδατος κάθε συνταγής τοποθετείται σε υδατόλουτρο έως ότου η θερμοκρασία του πλησιάσει τους 90° C. Έπειτα, εφόσον έχουν ζυγιστεί προηγουμένως σε ηλεκτρονικό ζυγό οι αντίστοιχες ποσότητες του κάθε γαλακτωματοποιητή, αυτά προστίθενται στην ποσότητα του νερού με ταυτόχρονη ήπια ανάδευση με μηχανικό αναδευτήρα Stuart, 500rpm. Η ανάδευση συνεχίζεται έως οτου να επιτευχθεί πλήρης διαβροχή και ομοιόμορφη κατανομή των σωματιδίων HPMC στο διάλυμα. Μετά το διάλυμα απομακρύνεται από το υδατόλουτρο, και προστίθεται σε αυτό το υπόλοιπο 2/3 της συνολικής ποσότητας ύδατος που έχει ψυχθεί και βρίσκεται σε θερμοκρασία 4° C ± 2° C, με ταυτόχρονη ήπια ανάδευση με τον μηχανικό αναδευτήρα Stuart. Η ανάδευση συνεχίζεται για 40 λεπτά ώστε να πραγματοποιηθεί πλήρης διάλυση των πολυμερών στο υδατικό μέσο. Ουσιαστικά η hot/cold process βασίζεται στο γεγονός ότι το HPMC είναι αδιάλυτο στο θερμό νερό. Με τη προσθήκη του θερμού ύδατος τα πολυμερή διασπείρονται στο θερμό υδατικό μέσο με σκοπό την αποφυγή δημιουργίας σβώλων και τη βέλτιστη διασπορά του στο υδατικό διάλυμα. Το HPMC είναι διαλυτό στο κρύο υδατικό μέσο, και η διάλυση του επιτυγχάνεται κατά την προσθήκη του κρύου υδατικού διαλύματος, στο υπόλοιπο μέρος της υδατικής φάσης. Τέλος επειδή κατά την ανάδευση εγκλωβίζονται φυσαλίδες αέρα στην υδατική φάση, αυτή αφήνεται σε ηρεμία για 24h σε θερμοκρασία δωματίου, προκειμένου να απομακρυνθεί ο εγκλωβισμένος αέρας.

#### Γαλακτωματοποίηση.

Μετά την απομάκρυνση του αέρα από την υδατική φάση, προστέθηκε η ποσότητα των ελαίων *Calendula officinalis* και *Hypericum perforatum*. Ακολούθησε ανάδευση του μίγματος σε ομογενοποιητή Silverson L4R, με τη χρήση του δακτυλίου "emulsor screens", ο οποίος προτείνεται από την κατασκευαστική εταιρεία για την παρασκευή γαλακτωμάτων.[26] Τα γαλακτώματα αφέθηκαν σε ηρεμία για 24h σε θερμοκρασία δωματίου προτού φυλαχθούν, ώστε να διαφύγει ο εγκλωβισμένος αέρας.

# Physiochemical Processes Occurring During Homogenization



**Εικόνα 18:** Απεικόνιση της διαδικασίας της γαλακτωματοποίησης, και τη δημιουργία σταθερού γαλακτώματος (επάνω) και σταγονιδίων που οδηγούνται σε συνένωση (κάτω).

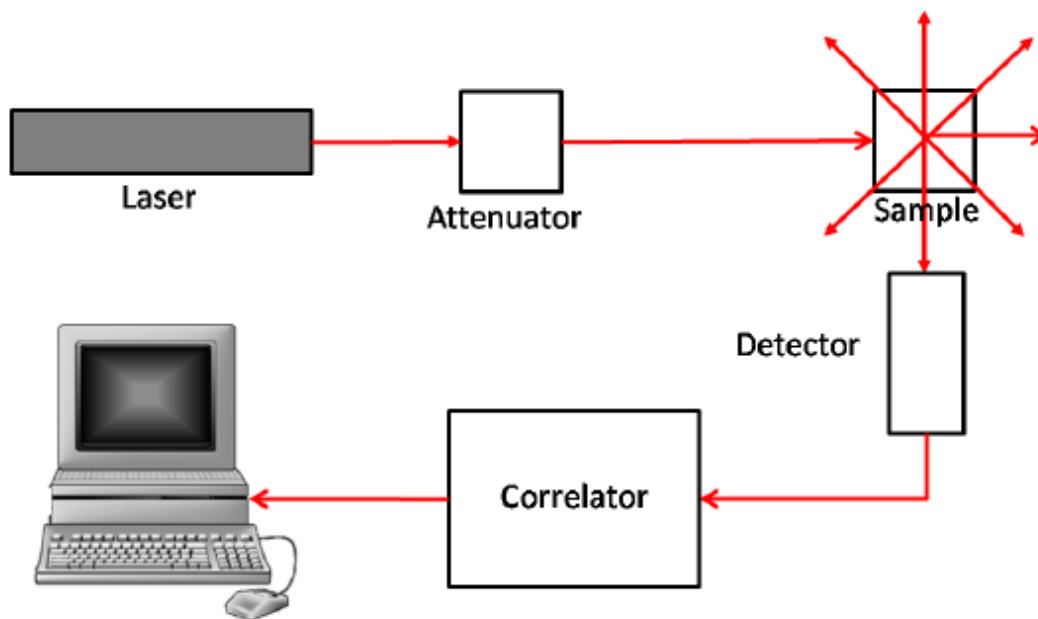
## Αποθήκευση γαλακτωμάτων.

Αμέσως μετά την παρασκευή τους τα γαλακτώματα τοποθετήθηκαν σε πλαστικούς περιέκτες και αποθηκεύτηκαν σε θερμοκρασία δωματίου για χρονικό διάστημα τριών μηνών, ώστε να μελετηθεί η σταθερότητα τους. Για την εξυπηρέτηση του ίδιου σκοπού, μια άλλη ποσότητα γαλακτώματος τοποθετήθηκε σε πλαστικούς περιέκτες και υποβλήθηκε σε κύκλους ψύξης-απόψυξης.

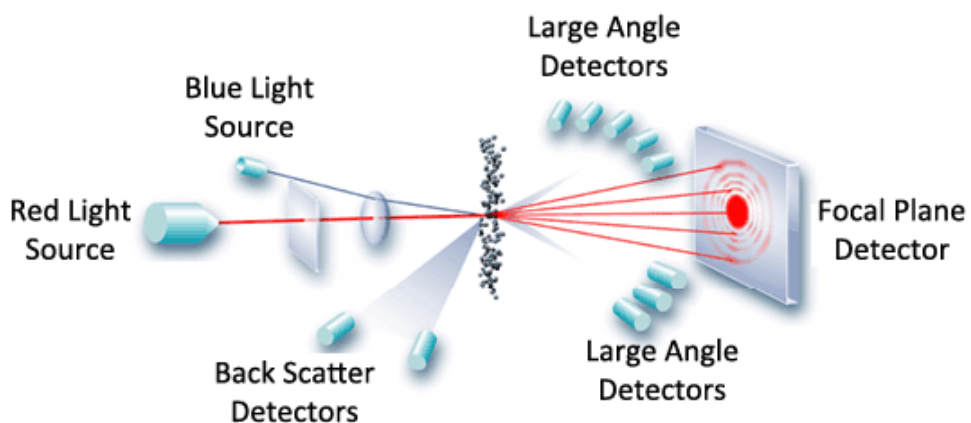
### III.1.5 Malvern Mastersizer- Μέτρηση του μεγέθους και της κατανομής των σταγονιδίων.

Η μέτρηση του μεγέθους και της κατανομής των σταγονιδίων της εσωτερικής φάσης των γαλακτωμάτων πραγματοποιούνται με τη βοήθεια της διάταξης μέτρησης μεγέθους σωματιδίων με σκεδασμό δέσμης laser (Malvern Mastersizer). Συγκεκριμένα, μέσω της θεωρίας του Mie προβλέπεται το μέγεθος των σωματιδίων της ασυνεχούς φάσης ανάλογα με τον τρόπο που σκεδάζεται το φως από τα σωματίδια. Σύμφωνα με αυτή τη θεωρία ο τρόπος με τον οποίο σκεδάζεται το φως είναι μοναδικός για κάθε μέγεθος σωματιδίου [27][28]. Η διαδικασία μέτρησης των δειγμάτων γίνεται όπως περιγράφεται παρακάτω, σε συμφωνία με τη μέθοδο που αναγράφεται στο εγχειρίδιο της συσκευής[27][28]:

Αρχικά, γίνεται διασπορά των δειγμάτων σε 200ml νερού, με ταυτόχρονη ανάδευση στις 2.500 στροφές. Για τα μίγματα τα οποία είχαν χαμηλότερο ιξώδες απαιτήθηκε μικρότερη ποσότητα νερού, διότι διαλύονται γρηγορότερα συγκριτικά με εκείνα που έχουν υψηλότερο ιξώδες. Η συσκευή μπορεί να προσδιορίζει τη σωστή συγκέντρωση του δείγματος, μέσω της μέτρησης του ποσού της δέσμης λέιζερ που έχει χαθεί περνώντας μέσα από το δείγμα. Αυτό αποδίδεται με τον όρο obscuration (σκεδασμός), ο οποίος δίνεται ως ποσοστό και το εύρος του πρέπει να κυμαίνεται προσεγγιστικά εντός των ορίων 11%-30%, για να μπορούν να θεωρούνται αξιόπιστες οι μετρήσεις που λαμβάνονται. Μέσω του obscuration καθορίζεται η συγκέντρωση του δείγματος, όταν αυτό προστίθεται στο μέσο διασποράς. Όταν έχει επιτευχθεί πλήρης διάλυση του δείγματος στο μέσο διασποράς πραγματοποιείται μέτρηση. Αναλυτικότερα, από κάθε γαλάκτωμα λαμβάνονται τρεις σταγόνες (επιφάνεια-μέσο-κάτω μέρος γαλακτώματος), και από την κάθε σταγόνα λαμβάνονται τρεις μετρήσεις. Κατά αυτό τον τρόπο, για κάθε απόκριση λαμβάνεται ο μέσος όρος των εννέα αποκρίσεων που προκύπτουν από τις εννέα μετρήσεις που λαμβάνονται για το κάθε γαλάκτωμα.



**Εικόνα 19:** Οργανολογία του χρησιμοποιούμενου μηχανήματος *Malvern Mastersizer*.



**Εικόνα 20 :** Απεικόνιση της πορείας του φωτός και της σκέδασης που υφίσταται στο χρησιμοποιούμενο μηχανήμα- *Malvern Mastersizer*.

### III.1.6 Θέσπιση Ιεραρχημένης Κλίμακας

Σε ορισμένες περιπτώσεις συνταγών παρατηρήθηκε διαχωρισμός των φάσεων του γαλακτώματος με την πάροδο του χρόνου, ή όταν αυτά υποβλήθηκαν σε επιταχυνόμενες διαδικασίες μελέτης της σταθερότητας τους. Έτσι, για την καλύτερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων έγινε παράλληλα και οπτική παρατήρηση και με βάση αυτή δημιουργήθηκε μια ιεραρχημένη κλίμακα, που αντιπροσωπεύει την εικόνα που εμφάνισαν τα γαλακτώματα στο χρονικό διάστημα και τις διάφορες συνθήκες που μελετήθηκαν. Η ιεραρχημένη κλίμακα που χρησιμοποιήθηκε είναι η ακόλουθη:

**LEVEL1:** Κανένας διαχωρισμός φάσεων ή αλλαγή χρώματος

**LEVEL2:** Ύπαρξη λίγων σταγόνων ελαίου στην επιφάνεια του γαλακτώματος.

**LEVEL3:** Έντονη ύπαρξη διχρωμίας στο γαλάκτωμα χωρίς να υπάρχει διαχωρισμός φάσεων.

**LEVEL4:** Σαφής διαχωρισμός φάσεων στο γαλάκτωμα.

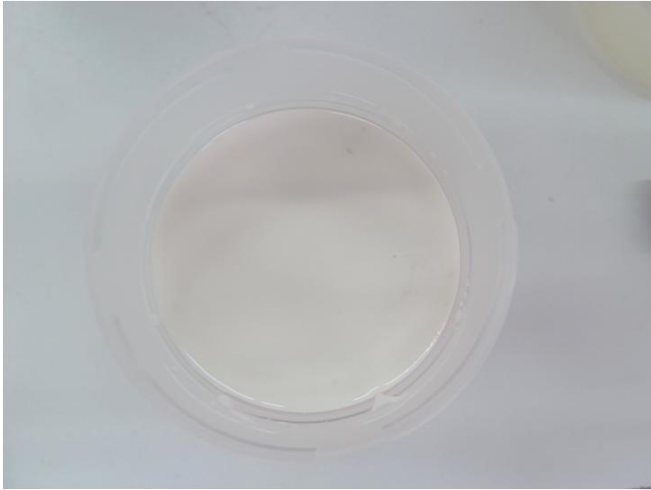
Η χρήση της ιεραρχημένης κλίμακας έγινε στις ακόλουθες περιπτώσεις:

- Θερμοκρασία δωματίου  $t=1$  μήνας και  $t=3$  μήνες
- Κύκλοι ψύξης-απόψυξης

Είναι κατανοητό ότι μέσω της θέσπισης της ιεραρχημένης μεταβλητής, μπορούν να αξιολογηθούν μέσω των τεχνικών του πειραματικού σχεδιασμού και οι περιπτώσεις κατά τις οποίες υπήρξε διαχωρισμός γαλακτωμάτων.

Από την άλλη πλευρά, η χρήση τιμών των αποκρίσεων από λιγότερα πειράματα, αν δηλαδή εξαιρούσαμε από το σχεδιασμό τα γαλακτώματα εκείνα που παρουσίασαν διαχωρισμό φάσεων, θα οδηγούσε στην εξαγωγή δυσχερών μαθηματικών μοντέλων. Για τον παραπάνω λόγο χρησιμοποιήθηκε η ιεραρχημένη κλίμακα.

Οι βαθμοί απεικονίζονται παρακάτω από τις φωτογραφίες των αντίστοιχων γαλακτωμάτων, η λήψη των οποίων έγινε κατά τη διάρκεια της οπτικής τους παρατήρησης.



**LEVEL 1**



**LEVEL 2**



**LEVEL 3**



**LEVEL 4**



### III.1.7 Αξιολόγηση Σταθερότητας των γαλακτωμάτων.

Ένα γαλάκτωμα ή ένα φαρμακευτικό σκεύασμα εν γένει, θεωρείται σταθερό όταν διατηρεί όλα τα φυσικά, χημικά, μικροβιολογικά, θεραπευτικά και τοξικολογικά χαρακτηριστικά του ως το τέλος της διάρκειας της ζωής του. Ως διάρκεια ζωής ορίζεται το χρονικό διάστημα από την ημέρα παρασκευής και συσκευασίας του φαρμακευτικού προϊόντος, έως την ημερομηνία όπου η χημική, βιολογική, και φαρμακολογική του δράση δεν θα έχουν μεταβληθεί σημαντικά, αλλά θα βρίσκονται εντός των προδιαγραφών δηλαδή των ελάχιστων απαιτήσεων που καθορίζουν οι διεθνείς κανονιστικές οδηγίες.

Προκειμένου να αξιολογήσουμε τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων, και να προβλέψουμε τη διάρκεια ζωής τους ακολουθήσαμε τις παρακάτω διεργασίες, για την εξαγωγή των απαραίτητων συμπερασμάτων.

- **Αποθήκευση σε θερμοκρασία δωματίου σε χρόνο t=0 , t=1 μήνα και t=3 μήνες**

Τα γαλακτώματα παρέμειναν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος για 90 ημέρες, ενώ η διεργασία αυτή θα συνοδεύθηκε από συνεχή οπτική παρατήρηση των γαλακτωμάτων. Παράλληλα, έχουν ληφθεί μετρήσεις στο Malvern Mastersizer, μετά από t=0 (24h), t=1 μήνα και t=3 μήνες από την παρασκευή των γαλακτωμάτων.

Ταυτόχρονα, έλαβαν χώρα διεργασίες επιταχυνόμενης γήρανσης, κατά τις οποίες ήταν επιθυμητή η μελέτη του βαθμού αποσύνθεσης ή φυσικής μεταβολής των γαλακτωμάτων, χρησιμοποιώντας ακραία επίπεδα θερμοκρασίας και υγρασίας. Έτσι, οι διαδικασίες αυτές θεωρήθηκαν ως μία πρόβλεψη της αντίστασης των γαλακτωμάτων σε αλλαγές θερμοκρασίας και ως μία ένδειξη σταθερότητας σε θερμοκρασία δωματίου. Οι διαδικασίες που έλαβαν χώρα είναι οι εξής:

- **Κύκλοι ψύξης-απόψυξης/freeze-thaw cycles.**

Μέσω αυτής της επιταχυνόμενης διαδικασίας επιτυγχάνεται η εκτίμηση της σταθερότητας των γαλακτωμάτων κατά τη διάρκεια των περιόδων ψύξης και απόψυξης. Η διαδικασία αποσταθεροποίησης των γαλακτωμάτων συμβαίνει κατά τη διάρκεια των περιόδων ψύξης και απόψυξης και όχι κατά τη διάρκεια αποθήκευσης τους σε συνθήκες ψύξης. Κατά την κατάψυξη των γαλακτωμάτων στους  $-21^{\circ}\text{C}$ , σχηματίζονται κρυσταλλίδια πάγου στη συνεχή φάση, τα οποία ασκούν πιέσεις στα διεσπαρμένα σταγονίδια ελαίου, με συνέπεια συνήθως την ρήξη του γαλακτώματος. Ειδικότερα, πραγματοποιούνται συνολικά 4 κύκλοι ψύξης - απόψυξης. Έτσι, μικρή ποσότητα γαλακτωμάτων τοποθετείται σε ερμητικά κλεισμένους περιέκτες, για 16h σε καταψύκτη στους  $-21^{\circ}\text{C}$ . Έπειτα, τα

γαλακτώματα παραμένουν για 8h σε θερμοκρασία δωματίου ( $21^{\circ} \text{C} \pm 2$ ). Ο κύκλος αυτός επαναλαμβάνεται συνολικά 4 φορές και πραγματοποιούνται μετρήσεις στο Malvern Mastersizer στο τέλος του δεύτερου και τέταρτου κύκλου. Γίνεται αντιληπτή λοιπόν η καταπόνηση των γαλακτωμάτων μέσω της συγκεκριμένης επιταχυνόμενης διαδικασίας για τη μελέτη σταθερότητας των γαλακτωμάτων.

Αξίζει να σημειώσουμε ότι με αυτή τη διεργασία λαμβάνουμε μόνο εκτιμήσεις σχετικές με τη σταθερότητα των γαλακτωμάτων και όχι με τη διάρκεια ζωής τους. Για την πρόβλεψη της διάρκειας ζωής των καλλυντικό-φαρμακευτικών προϊόντων, η μόνη κανονιστικά αποδεκτή μέθοδος την οποία αποδέχονται οι αρχές των φαρμάκων είναι η κλίβανοι σταθεροτήτων, που θα περιγράψουμε παρακάτω.

# Κεφάλαιο IV: Ανάλυση πειραματικών σχεδιασμών- Εξαγωγή συμπερασμάτων

## IV.1.1 Box Behnken σχεδιασμός: Αποτελέσματα μέτρησης μεγέθους της ελαιώδους φάσης, σε T=25 και χρόνους t=0, t=1 μήνας, και t=3 μήνες αλλά και κατά τους κύκλους ψύξης/απόψυξης.

Στον πίνακα που ακολουθεί φαίνονται οι εκαστοτε συνδυασμοί των επιπέδων των παραγόντων που χρησιμοποιήθηκαν κατά την εκτέλεση του καθενός πειράματος. Στη συνέχεια αναλύεται η απόκριση  $d(v,0.9)$  σε χρόνο t=0, t=1 μήνα και t=3 μήνες, και κατά την εκτέλεση του 2 και 4 κύκλου ψύξης/απόψυξης.

std	run	A:mass (g)	B:time (min)	C:speed (rpm)	D(v,0.9) T=0	D(v,0.9) 2 freeze/thaw	D(v,0.9) 4 freeze/thaw	D(v,0.9) T=1month	D(v,0.9) T=3months
1	11	600.00	9.00	1500.00	7.89	3	4	3	4
2	6	900.00	6.00	4500.00	3.92	2	3	2	2
3	12	600.00	6.00	3000.00	3.12	1	3	2	3
4	14	600.00	6.00	3000.00	3	1	3	2	3
5	8	600.00	9.00	4500.00	3.12	2	3	1	3
6	13	900.00	3.00	3000.00	5.46	2	3	4	4
7	10	600.00	6.00	3000.00	3.15	1	3	2	3
8	2	300.00	6.00	1500.00	9.05	4	4	3	4
9	9	600.00	3.00	1500.00	14.31	4	4	3	4
10	1	900.00	9.00	3000.00	4.55	2	4	2	3
11	15	300.00	6.00	4500.00	3.78	2	3	1	1
12	5	600.00	3.00	4500.00	4.04	2	3	2	3
13	4	300.00	3.00	3000.00	3.97	2	4	2	3
14	3	300.00	9.00	3000.00	3.4	2	3	1	2
15	7	900.00	6.00	1500.00	13.04	4	4	4	4

#### IV.2.1 Εισαγωγή και επεξήγηση των στατιστικών όρων που χρησιμοποιούνται κατά την ανάλυση των πειραμάτων του πειραματικού σχεδιασμού.

Προκειμένου να επεξεργαστούν τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν στον προηγούμενο πίνακα, χρησιμοποιείται το πρόγραμμα Design Expert. Συγκεκριμένα οι τιμές των αποκρίσεων κατά την εκτέλεση καθενός από τα πειράματα τοποθετήθηκαν στο πρόγραμμα και ακολούθησε στατιστική επεξεργασία αυτών με τη χρήση ANOVA (ανάλυση διασποράς).

Αποτέλεσμα της στατιστικής επεξεργασίας των δεδομένων ήταν η εξαγωγή εξισώσεων που συνδέουν τις αποκρίσεις με τους παράγοντες της διεργασίας. Αρχικά επιλέχθηκε το κατάλληλο μαθηματικό μοντέλο για προσαρμογή στα δεδομένα, διατηρώντας στην τελική εξίσωση μόνο τους όρους που είναι στατιστικά σημαντικοί. Έπειτα, δημιουργήθηκε ανάλυση διασποράς για το συγκεκριμένο μοντέλο, και μέσω των γραφημάτων τα οποία προέκυψαν, απεικονίσθηκε η μεταβολή της απόκρισης σε σχέση με τη μεταβολή των επιπέδων των παραγόντων του σχεδιασμού. Ακολούθησε αξιολόγηση και ερμηνεία των αποτελεσμάτων.

Σε αυτό το σημείο, θεωρείται χρήσιμο να επεξηγηθούν ορισμένα στατιστικά μεγέθη, τα οποία αποτελούν μέτρο της προσαρμογής των μαθηματικών μοντέλων στα δεδομένα:

**R-Squared:** Αποτελεί μέτρο της μεταβλητότητας των δεδομένων, η οποία μπορεί να εξηγηθεί από το προσαρμοζόμενο σε αυτά μοντέλο. Καθώς η τιμή του μεγέθους αυτού προσεγγίζει τη μονάδα, τόσο καλύτερη είναι η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα.

**Adjusted R-Squared:** Αποτελεί μέτρο της μεταβλητότητας των δεδομένων η οποία μπορεί να εξηγηθεί από προσαρμοζόμενο σε αυτά μοντέλο, λαμβάνοντας όμως υποψιν τους βαθμούς ελευθερίας που συνδέονται με τον υπολογισμό των όρων του μοντέλου. Η τιμή του συγκεκριμένου μεγέθους μειώνεται, καθώς αυξάνεται ο αριθμός των όρων που υπάρχουν στο μοντέλο, και τα οποία δεν προσθέτουν αξία σε αυτό. Όσο η τιμή του  $R^2_{adj}$  προσεγγίζει τη μονάδα, τόσο καλύτερη είναι η προσαρμογή του μοντέλου στα δεδομένα.

**Predicted R-squared:** Σχετίζεται με τη δυνατότητα πρόβλεψης του μοντέλου και εκτιμά τη μεταβλητότητα των νέων δεδομένων που μπορεί να εξηγήσει το μοντέλο. Το  $R^2_{pred}$  λαμβάνει τιμές από 0 έως 1, και καθώς η τιμή του προσεγγίζει τη μονάδα, τόσο καλύτερη γίνεται η δυνατότητα πρόβλεψης του μοντέλου. Επιπρόσθετα, αξίζει να σημειωθεί ότι η διαφορά των στατιστικών μεγεθών Adjusted R-squared και Predicted R-squared δε θα πρέπει να είναι μεγαλύτερη από 0,2 διότι

διαφορές μεγαλύτερες των 0,2 μονάδων υποδηλώνουν πρόβλημα με τα δεδομένα, ή το μοντέλο, ή την παρουσία εξωκείμενων παρατηρήσεων και εξέταση ανάγκης μετασχηματισμού της απόκρισης ή χρήση διαφορετικού βαθμού πολυωνύμου.

**Press (Predicted Residual Error Sum of Squares):** Αποτελεί μέτρο της προσαρμογής του μοντέλου στα δεδομένα και υπολογίζεται μέσω της διαφοράς της προβλεπόμενης από το μοντέλο τιμής και της πραγματικής. Επιλέγεται από τον ερευνητή το μοντέλο με τη χαμηλότερη τιμή PRESS <sup>i</sup>

**Adequate Precision:** Συγκρίνει το εύρος των προβλεπόμενων τιμών στα σημεία του σχεδιασμού με τη μέση τιμή του σφάλματος της πρόβλεψης. Η ακρίβεια του μοντέλου θεωρείται επαρκής για τιμές του μεγέθους αυτού μεγαλύτερες του 4.

## IV 2.2 Επεξήγηση διαγραμμάτων που χρησιμοποιούνται στους σχεδιασμούς διεργασίας.

### **Cube plot**

Τα διαγράμματα αυτής της κατηγορίας , αποτελούν γραφήματα κύβου όπου απεικονίζονται με κόκκινο όλα τα σημεία του σχεδιαστικού χώρου στα οποία έχουν εκτελεστεί πείραματα.

### **Perturbation plot**

Τα perturbation plot ή διαγράμματα μεταβολής της απόκρισης απεικονίζουν τη μεταβολή της μέσης απόκρισης κατά τη μετάβαση των παραγόντων από το χαμηλό τους επίπεδο προς το μεγάλο. Η εμφάνιση κλίσης στο διάγραμμα συνεπάγεται την ύπαρξη ευαισθησίας της απόκρισης προς τον συγκεκριμένο παράγοντα. Όσο μεγαλύτερη είναι η κλίση του ευθύγραμμου τμήματος στο διάγραμμα, τόσο μεγαλύτερη είναι η επίδραση του συγκεκριμένου παράγοντα. Σε περιπτώσεις όπου πέραν των ακραίων επιπέδων, μελετώνται και ενδιάμεσα σημεία, η γραφική παράσταση είναι δυνατόν να εμφανίζει καμπυλότητα.

### **Interaction graph ( γράφημα αλληλεπίδρασης παραγόντων)**

Αλληλεπίδραση εμφανίζεται όταν η απόκριση σε μια αλλαγή της μιας ανεξάρτητης μεταβλητής εξαρτάται από την τιμή μίας δεύτερης ανεξάρτητης μεταβλητής. Από τα γραφήματα αυτού του τύπου ανιχνεύεται εύκολα η παρουσία ή μη αλληλεπιδράσεων, καθώς όταν τα ευθύγραμμα τμήματα της μεταβολής των δύο παραγόντων είναι παράλληλα ή σχεδόν παράλληλα, τότε δεν εμφανίζεται αλληλεπίδραση μεταξύ των δυο παραγόντων. Σε αντίθετη περίπτωση, όταν τα ευθύγραμμα τμήματα τέμνονται εμφανίζεται αλληλεπίδραση.

## IV.2.2 Ανάλυση αποτελεσμάτων στην περίπτωση του Box Behnken σχεδιασμού, για την απόκριση $d(v,0.9)$ και χρόνο $t=0$ .

Έχοντας κατανοήσει τους παραπάνω όρους, και με τη χρήση του λογισμικού Design expert έγινε προσπάθεια επιλογής του μοντέλου εκείνου το οποίο μπορεί να περιγράψει καλύτερα τα δεδομένα μας. Πραγματοποιήθηκε λοιπόν έλεγχος της τιμής  $p$ , η οποία αντιστοιχεί πιθανότητα η τιμή  $F$  (λόγος της διαδειγματικής προς την ενδοδειγματική μεταβλητότητα) να είναι μεγαλύτερη από την κρίσιμη τιμή  $F_{crit}$ , η οποία προκύπτει από συγκεκριμένους στατιστικούς πίνακες. Εάν λοιπόν η τιμή  $p$  για το μοντέλο είναι μεγαλύτερη από 0,05, ισχύει δηλαδή ότι  $F < F_{crit}$ , το επιλεγμένο μοντέλο δεν είναι στατιστικά σημαντικό σε διάστημα εμπιστοσύνης 95%, ή με άλλα λόγια η ενδοδειγματική μεταβλητότητα είναι μεγαλύτερη από τη διαδειγματική μεταβλητότητα. Παράλληλα αξιολογήθηκε η τιμή  $F$  της έλλειψης προσαρμογής του μοντέλου στα δεδομένα (lack of fit), και η πιθανότητα αυτής να οφείλεται σε θόρυβο.

Ακολουθούν τα διαγράμματα και οι πίνακες που προέκυψαν μέσω του προγράμματος Design Expert για την επιλογή του κατάλληλου μοντέλου, για την περίπτωση του Box Behnken σχεδιασμού σε χρόνο  $t=0$  και  $T=25$ , για την απόκριση  $d(v,0.9)$ .

	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	0.0074	0.0009	0.5543	0.3583	
2FI	0.6658	0.0007	0.491	-0.0935	
Quadratic	0.004	0.0041	0.9318	0.6114	Suggested
Cubic	0.0041		0.9995		Aliased

Sequential Model Sum of Squares [Type I]						
	Sum of		Mean	F	p-value	
Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Mean vs Total	490.78	1	490.78			
Linear vs Mean	123.72	3	41.24	6.8	0.0074	
2FI vs Linear	11.3	3	3.77	0.54	0.6658	
Quadratic vs 2FI	50.75	3	16.92	18.25	0.004	Suggested
Cubic vs Quadratic	4.62	3	1.54	244.59	0.0041	Aliased
Residual	0.013	2	6.30E-03			
Total	681.17	15	45.41			

Lack of Fit Tests						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Linear	66.67	9	7.41	1175.8	0.0009	
2FI	55.37	6	9.23	1464.83	0.0007	
Quadratic	4.62	3	1.54	244.59	0.0041	Suggested
Cubic	0	0				Aliased
Pure Error	0.013	2	6.30E-03			

\* **"Lack of Fit Tests":** Want the selected model to have insignificant lack-of-fit.

Model Summary Statistics					
Source	Std. Dev.	R-Squared	Adjusted R-Squared	Predicted R-Squared	PRESS
Linear	2.46	0.6498	0.5543	0.3583	122.17
2FI	2.63	0.7091	0.491	-0.0935	208.2
Quadratic	0.96	0.9757	0.9318	0.6114	73.99
Cubic	0.079	0.9999	0.9995	+	

Με βάση λοιπόν τους παραπάνω πίνακες και τα όσα αναγράφηκαν ανωτέρω γίνεται κατανοητό ότι το μοντέλο που έχει επιλεγεί και προτείνεται στον Box Behnken σχεδιασμό είναι το Quadratic. Ακολουθεί Ανάλυση Διασποράς με τη βοήθεια του προγράμματος για  $t=0$  της απόκρισης  $d(v,0.9)$ .

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F	
Model	179,3	5	35,86	29,09	<0,0001	Significant
A-MASS	5,729	1	5,729	4,648	0,0595	
B-time	9,724	1	9,724	7,889	0,0204	
C-speed	108,3	1	108,3	87,84	6E-06	
BC	7,563	1	7,563	6,136	0,0352	
C^2	48,02	1	48,02	38,96	0,0002	
Residual	11,09	9	1,233			
Lack of Fit	11,08	7	1,583	251,3	0,004	Significant
Pure Error	0,013	2	0,006			
Cor Total	190,4	14				

Std. Dev.	1.11	R-Squared	0.9417
Mean	5.72	Adj R-Squared	0.9094
C.V. %	19.41	Pred R-Squared	0.8056
PRESS	37	Adeq Precision	16.651



Τιμές  $p < 0,05$ , όπως έχουμε προαναφέρει υποδεικνύουν στατιστικά σημαντικούς όρους. Όπως φαίνεται, στατιστικά σημαντικές είναι οι αλληλεπιδράσεις BC και  $C^2$ . Οι παράγοντες B και C, δηλαδή ο χρόνος και η ταχύτητα ομογενοποίησης φαίνεται να εμπλέκονται σε στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις. Είναι αξιοσημείωτο ότι ο παράγοντας A:μαζα του προς ομογενοποίηση υλικού, δε συμμετέχει σε στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις. Αντίθετα ο παράγοντας C: ταχύτητα ομογενοποίησης, φαίνεται να είναι ο πιο καθοριστικός παράγοντας στη διεργασία, όπως φαίνεται και από τον παραπάνω πίνακα ANOVA ( $p < 0,0001$ ). Σημειώνεται ότι σε ανάλογο πόρισμα είχε καταλήξει και προηγούμενη διπλωματική μελέτη, όπου οι παράγοντες ταχύτητα και χρόνος ομογενοποίησης ήταν στατιστικά σημαντικοί κατά τη διεργασία παραγωγής γαλακτωμάτων με ελαιώδη φάση αποτελούμενη από ελαιόλαδο. Επίσης, παρατηρούμε ότι η  $C^2$  αλληλεπίδραση εμφανίζει τιμή  $p = 0.0002$ , γεγονός που υποδεικνύει την μεγάλη επίδραση που ασκεί στη διεργασία.

Παρατηρούμε ότι η τιμή Adj R-squared βρίσκεται σε 'συμφωνία' με την τιμή Pred. R-squared, καθώς απέχουν λιγότερο από 0,2. Παράλληλα η τιμή του Adeq. Precision είναι  $16.651 > 4$ , γεγονός που υποδεικνύει την ακρίβεια του μοντέλου.

Ακολουθεί η εξίσωση που προκύπτει από το επιλεγμένο μαθηματικό μοντέλο, βάση της οποίας μπορεί να υπολογιστεί η τιμή της απόκρισης R1:  $d(v, 0.9)$  για συγκεκριμένα επίπεδα των παραγόντων.

**Final Equation in Terms of Actual Factors:**

$$\begin{aligned}
 R1 = & \\
 & +31.52357 \\
 & +2.82083E-003 * \text{MASS} \\
 & -1.28417 * \text{time} \\
 & -0.013850 * \text{speed} \\
 & +3.05556E-004 * \text{time} * \text{speed} \\
 & +1.59405E-006 * \text{speed}^2
 \end{aligned}$$

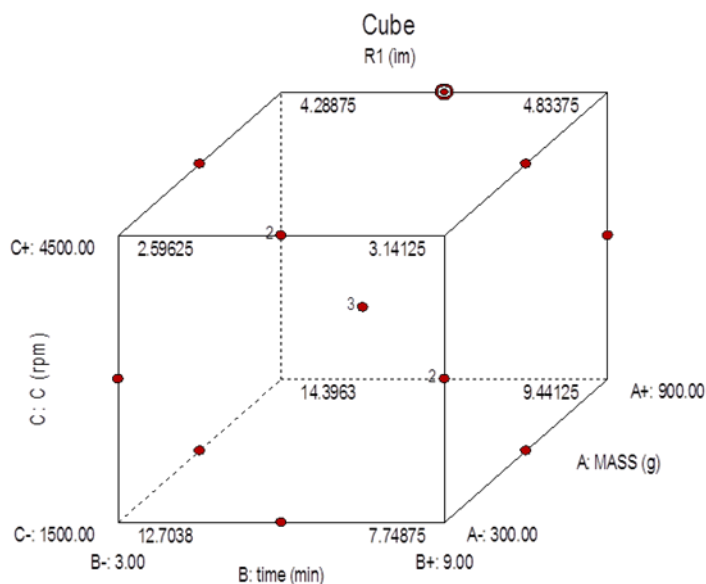
## IV 2.3 Επεξήγηση διαγραμμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στον Box Behnken σχεδιασμό για την απόκριση $d(v0,9)$ και χρόνο $t=0$ .

### Cube plot:

Design-Expert® Software  
Factor Coding: Actual  
R1 (m)

R1 (m) = 3.92  
Std#2 Run#6

X1 = B: time  
X2 = C: C  
X3 = A: MASS

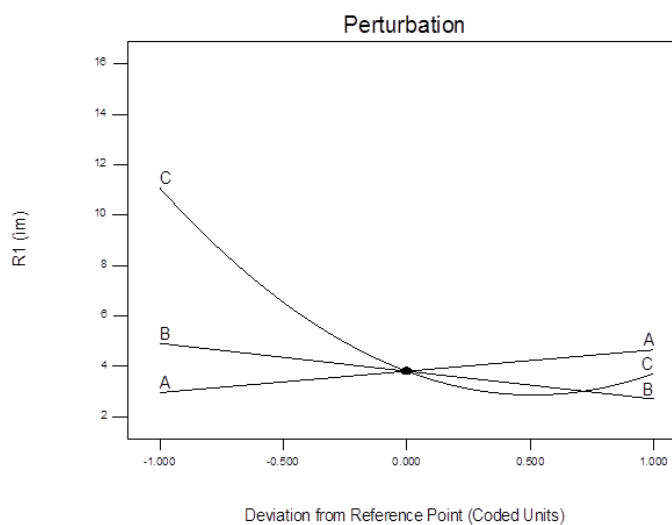


### Perturbation plot

Στην περίπτωση μας το Perturbation plot έχει την ακόλουθη μορφή:

Design-Expert® Software  
Factor Coding: Actual  
R1 (m)

Actual Factors  
A: MASS = 300.00  
B: time = 6.00  
C: C = 3000.00



Όπως φαίνεται στο παραπάνω διάγραμμα, καθώς αυξάνεται η μάζα του προς ομογενοποίηση μίγματος, αυξάνονται και οι τιμές της απόκρισης  $d(v,0.9)$ , άνω αντίθετα η αύξηση του χρόνου ομογενοποίησης και της ταχύτητας ομογενοποίησης, οδηγού, όπως είναι αναμενόμενο, σε μείωση των τιμών της απόκρισης  $d(v,0.9)$  και συνεπώς σε σταθερότερα γαλακτώματα. Αξίζει να σημειωθεί ότι στο ανωτατο οριο των ταχυτητων ομογενοποίησης μεγαλύτερες, εμφανίζεται καμπυλότητα στο ευθυγραμμο τμήμα που απεικονίζει την αποκριση  $d(v,0.9)$  σε συνάρτηση με τις τιμές που λαμβανει ο παραγοντας C: ταχυτητα ομογενοποίησης.

### Interaction graph ( γράφημα αλληλεπίδρασης παραγόντων)

Στην περίπτωση του Box Behnken σχεδιασμού, το γραφημα αλληλεπίδρασης για τους παραγοντες B: χρονος ομογενοποίησης και C: ταχύτητα ομογενοποίησης εμφανίζεται με την παρακάτω μορφή, όπου τα δύο ευθυγραμμο τμήματα τέμνονται, όπως άλλωστε αναμέναμε απο τον πινακα ANOVA, οπου η αλληλεπιδραση των παραγόντων B, C εμφανιζόταν ως στατιστικά σημαντική.

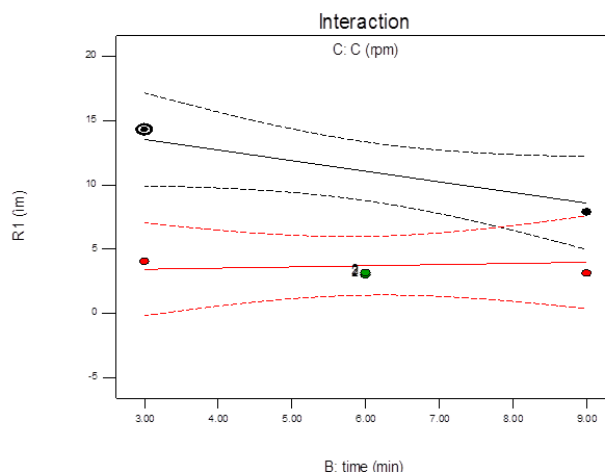
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 R1 (m)\*\*  
 ● Design Points  
 — 95% CI Bands\*

Std # 9 Run # 9  
 Y = R1 (m) = 14.31  
 X1 = B: time = 3.00  
 X2 = C: C = 1500.00

Actual Factor  
 A: MASS = 600.00

■ C- 1500.00  
 ▲ C+ 4500.00

\* Intervals adjusted for variation in the factors  
 \*\* Predictions adjusted for variation in the factors



#### IV.2.4 Μελέτη της σταθερότητας και Αναλυση διασποράς (ANOVA) των μοντέλων για την αποκριση $d(v,0.9)$ σε χρόνο $t=1$ μήνα με τη χρήση ιεραρχημένων μεταβλητών

Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	< 0.0001		0.8343	0.7377	Suggested
2FI	0.3944		0.8399	0.5817	
Quadratic	0.4785		0.8376	0.0722	
Cubic			1		Aliased

Model Summary Statistics						
	Std.		Adjusted	Predicted		
Source	Dev.	R-Squared	R-Squared	R-Squared	PRESS	
Linear	0.39	0.8698	0.8343	0.7377	3.39	Suggested
2FI	0.38	0.9085	0.8399	0.5817	5.41	
Quadratic	0.39	0.942	0.8376	0.0722	12	
Cubic	0	1	1		+	Aliased

Επιλέγεται όπως διαφαίνεται παραπάνω linear μοντέλο.

ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
	Sum of		Mean	F	p-value	
Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Model	11.25	3	3.75	24.5	< 0.0001	significant
A-MASS	3.13	1	3.13	20.42	0.0009	
B-time	2	1	2	13.07	0.0041	
C-C	6.13	1	6.13	40.02	< 0.0001	
Residual	1.68	11	0.15			
Lack of Fit	1.68	9	0.19			
Pure Error	0	2	0			
Cor Total	12.93	14				

Std. Dev.	0.39	R-Squared	0.8698
Mean	2.27	Adj R-Square	0.8343
C.V. %	17.26	Pred R-Square	0.7377
PRESS	3.39	Adeq Precs	14.851

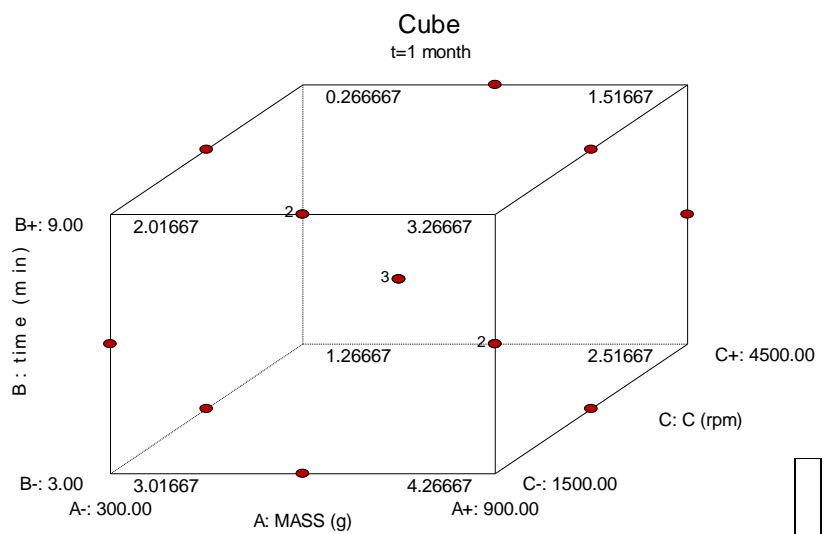
#### Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 t=1 \text{ month} = & \\
 & +3.76667 \\
 & +2.08333\text{E-}003 * \text{MASS} \\
 & -0.16667 * \text{time} \\
 & -5.83333\text{E-}004 * \text{speed}
 \end{aligned}$$

### IV.2.3 Επεξήγηση διαγραμμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στον Box Behnken σχεδιασμό για την απόκριση $d(v0,9)$ και χρόνο $t=0$ .

#### Cube plot :

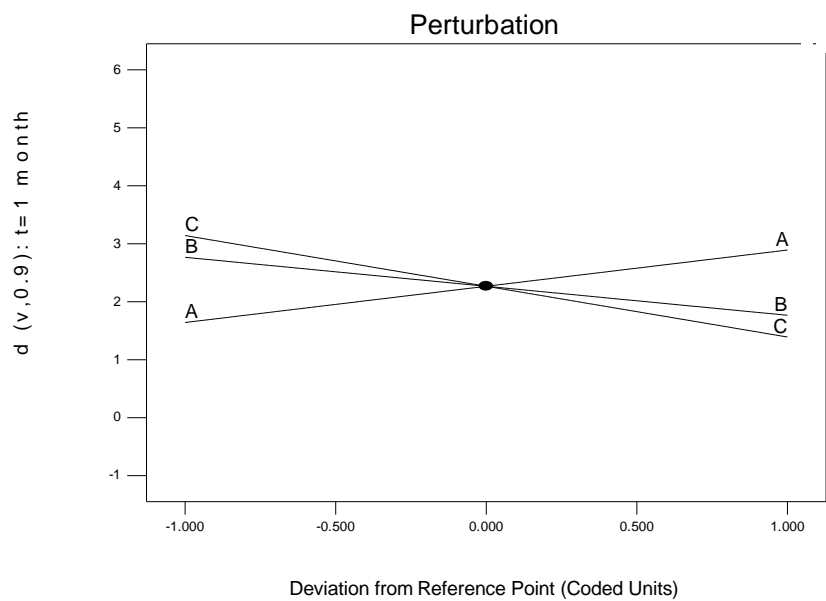
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=1 month  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: time  
 X3 = C: C



#### Perturbation plot:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 d (v,0.9): t=1 month

Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: time = 6.00  
 C: C = 3000.00



Γίνεται φανερό στο παραπάνω διάγραμμα πως αύξηση της μάζας του προς ομογενοποίηση γαλακτώματος οδηγεί σε μεγαλύτερες τιμές αποκρίσης  $d(v,0.9)$ , δηλαδή σε λιγότερο σταθερά γαλακτώματα. Αντίθετα αύξηση του χρόνου ομογενοποίησης οδηγεί σε μικρότερες τιμές  $d(v,0.9)$ . Το ίδιο συμβαίνει και με την ταχύτητα ομογενοποίησης, όπου φαίνεται ότι η διεργασία είναι περισσότερο ευαίσθητη στον παραγοντα C (μεγαλύτερη κλίση στο ευθυγραμμο τμήμα που απεικονίζει τη μεταβολή της αποκρίσης με τον παραγοντα C, από το αντίστοιχο με τον παραγοντα B.

#### IV.2.4 Μελέτη της σταθερότητας και Αναλυση Διασποράς (ANOVA) για t=1μήνας.

Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted R-Squared	Predicted R-Squared	
Source	p-value	p-value			
Linear	3,59E-05		0,834349	0,737653	Suggested
2FI	0,39441		0,839884	0,581656	
Quadratic	0,478483		0,837629	0,072165	
Cubic			1		Aliased

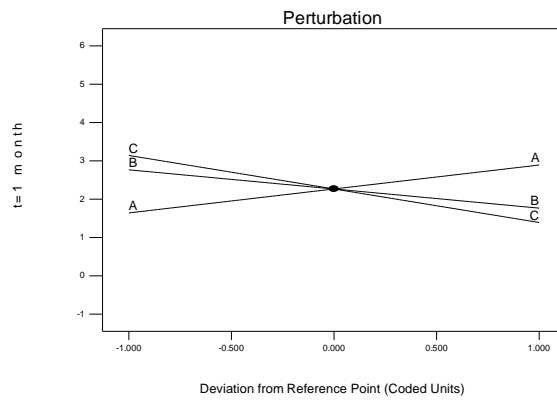
ANOVA for Response Surface Linear model					
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]					
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value Prob > F
Model	11,25	3	3,75	24,505	<0.0001
A-MASS	3,125	1	3,125	20,4208	0,0009
B-time	2	1	2	13,0693	0,0041
C-speed	6,125	1	6,125	40,0248	<0.0001
Residual	1,683333	11	0,15303		
Lack of Fit	1,683333	9	0,187037		
Pure Error	0	2	0		
Cor Total	12,93333	14			

Std. Dev.	0,39	R-Squared	0,87
Mean	2,27	Adj R-Squared	0,834
C.V. %	17,3	Pred R-Squared	0,738
PRESS	3,39	Adeq Precision	14,85

**Final Equation in Terms of Actual Factors:**

$$\begin{aligned} t=1 \text{ month} = & \\ & +3.76667 \\ & +2.08333\text{E-}003 * \text{MASS} \\ & -0.16667 * \text{time} \\ & -5.83333\text{E-}004 * \text{speed} \end{aligned}$$

Design-Expert® Software  
Factor Coding: Actual  
t=1 month  
Actual Factors  
A: MASS = 600.00  
B: time = 6.00  
C: speed = 3000.00





**IV.2.4 Μελέτη της σταθερότητας και Ανάλυση διασποράς (ANOVA) των μοντέλων για την αποκριση  $d(v,0.9)$  σε συνθηκες επιταχυνομενης γήρανσης κατα την εκτέλεση του δευτερου και του τεταρου κυκλου ψυξης/αποψυξης (freeze/thaw).**

**Δευτερος κυκλος ψυξης απόψυξης.**

Ολες οι τιμές της αποκρισης  $d(v,0.9)$  περιλαμβανουν ιεραρχημένες μεταβλητές. Οπως διαφαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί επιλεγεται μοντέλο Quadratic.

Summary (detailed tables shown below)					
Source	Sequential p-value	Lack of Fit p-value	Adjusted R-Squared	Predicted R-Squared	
Linear	0.1017		0.2599	0.075	
2FI	0.9696		0.0117	-0.661	
Quadratic	0.0003		0.9531	0.7321	Suggested
Cubic			1		Aliased

Response 2 2 freeze thaw						
ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
Model	14.68	7	2.1	58.73	< 0.0001	significant
A-MASS	0	1	0	0	1	
B-time	0.13	1	0.13	3.5	0.1036	
C-C	6.12	1	6.12	171.5	< 0.0001	
BC	0.25	1	0.25	7	0.0331	
A^2	1.44	1	1.44	40.38	0.0004	
B^2	0.52	1	0.52	14.54	0.0066	
C^2	6.98	1	6.98	195.46	< 0.0001	
Residual	0.25	7	0.036			
Lack of Fit	0.25	5	0.05			
Pure Error	0	2	0			
Cor Total	14.93	14				

Ακολουθεί ο πίνακας που περιγράφει όλους τους στατιστικούς ορους:

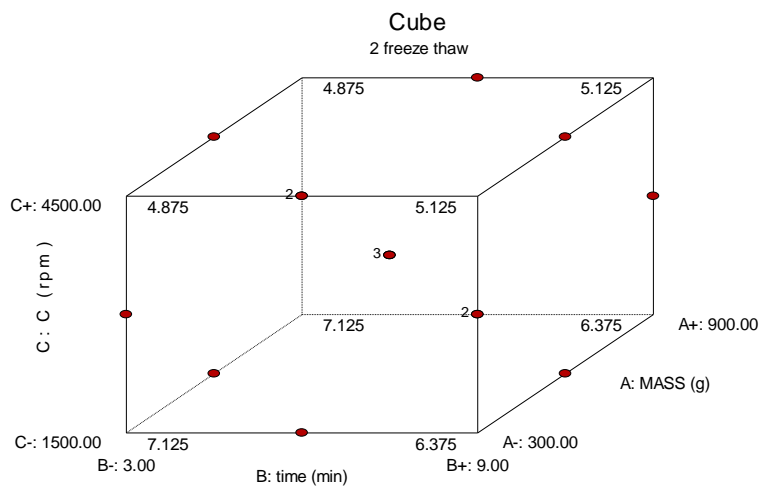
Std. Dev.	0.19	R-Squared	0.9833
Mean	2.27	Adj R-Squared	0.9665
C.V. %	8.34	Pred R-Squared	0.8326
PRESS	2.5	Adeq Precision	21.737

**Final Equation in Terms of Actual Factors:**

$$\begin{aligned}
 2 \text{ freeze thaw} = & \\
 & +13.50000 \\
 & -8.33333\text{E-}003 * \text{MASS} \\
 & -0.70833 * \text{time} \\
 & -4.58333\text{E-}003 * \text{speed} \\
 & +5.55556\text{E-}005 * \text{time} * \text{speed} \\
 & +6.94444\text{E-}006 * \text{MASS}^2 \\
 & +0.041667 * \text{time}^2 \\
 & +6.11111\text{E-}007 * \text{speed}^2
 \end{aligned}$$

**Cube diagram:**

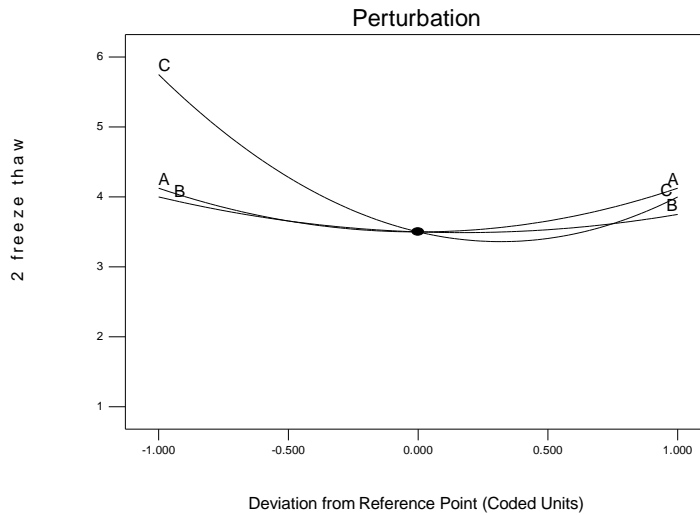
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 2 freeze thaw  
 X1 = B: time  
 X2 = C: C  
 X3 = A: MASS



Με κόκκινο απεικονίζονται όλα τα σημεία του πειραματικού χώρου, στα οποία εκτελέστηκαν πειράματα.

### Perturbation plot:

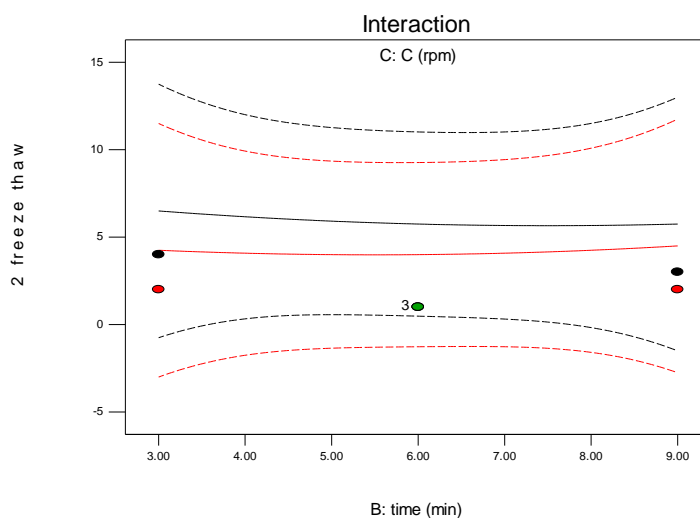
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 2 freeze thaw  
 Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: time = 6.00  
 C: C = 3000.00



Παρατηρούμε ότι, αύξηση του παραγοντα C: ταχύτητα ομογενοποίησης οδηγεί σε μείωση της απόκρισης  $d(v,0.9)$ , ενώ το αντίθετο συμβαίνει, όπως είναι αναμενόμενο, με την αύξηση του παράγοντα A: μάζα του προς ομογενοποίηση υλικού. Παράλληλα, η αύξηση του παράγοντα B: χρόνος ομογενοποίησης, οδηγεί αρχικά σε μείωση των τιμών της απόκρισης, και στη συνέχεια παρουσιάζει μια τάση σταθεροποίησης των τιμών  $d(v,0.9)$ .

### Interaction graph:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 2 freeze thaw\*\*  
 ● Design Points  
 --- 95% CI Bands\*  
 X1 = B: time  
 X2 = C: C  
 Actual Factor  
 A: MASS = 600.00  
 ■ C- 1500.00  
 ▲ C+ 4500.00  
 \* Intervals adjusted for variation in the factors  
 \*\* Predictions adjusted for variation in the factors



Διαφαίνεται η υπαρχη στατιστικά σημαντικής αλληλεπιδρασης μεταξύ των παραγόντων B, C όπως αλλωστε είχε παρατηρηθει απο τον πίνακα ANOVA προηγουμένως (ευθείες που τέμνονται).

### Τεταρτος κυκλος ψυξης/απόψυξης:

Ολες οι τιμές της αποκρισης  $d(v,0.9)$  περιλαμβανουν ιεραρχημένες μεταβλητές. Οπως διαφαίνεται στον πίνακα που ακολουθεί επιλεγεται μοντέλο 2 factors interaction (2FI).

Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	0.1455		0.2045	-0.2391	
2FI	0.0519		0.5625	0.0864	Suggested
Quadratic	0.0889		0.79	-0.2	
Cubic			1		Aliased

ANOVA for Response Surface Reduced 2FI model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
					Prob > F	
Model	2.25	4	0.56	5.19	0.0159	significant
A-MASS	0	1	0	0	1	
B-time	0.13	1	0.13	1.15	0.308	
C-C	1.12	1	1.12	10.38	0.0091	
AB	1	1	1	9.23	0.0125	
Residual	1.08	10	0.11			
Lack of Fit	1.08	8	0.14			
Pure Error	0	2	0			
Cor Total	3.33	14				

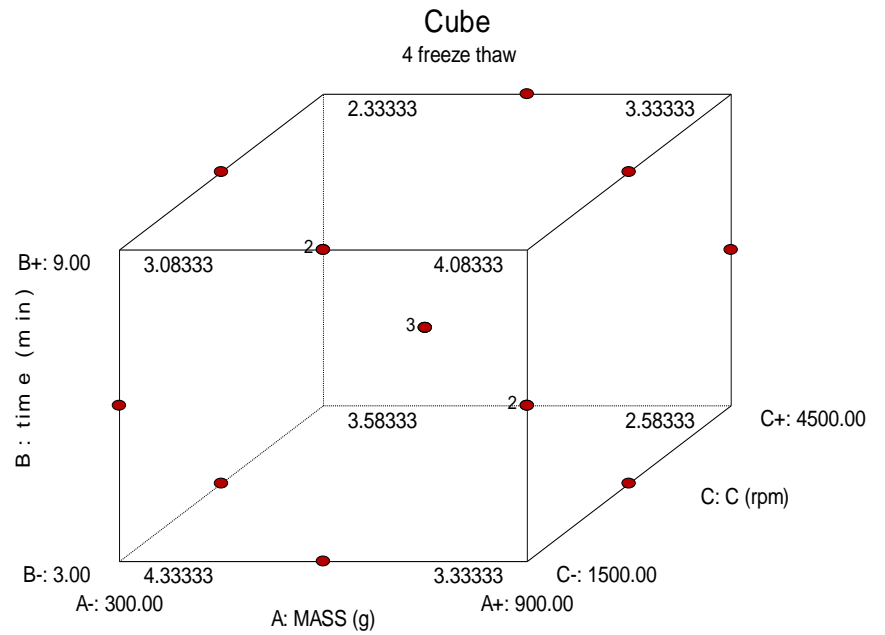
Std. Dev.	0.33	R-Squared	0.675
Mean	3.33	Adj R-Squared	0.545
C.V. %	9.87	Pred R-Squared	0.2375
PRESS	2.54	Adeq Precision	6.578

#### Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 4 \text{ freeze thaw} = & \\
 & +6.40000 \\
 & -3.33333\text{E-}003 * \text{MASS} \\
 & -0.33333 * \text{time} \\
 & -3.33333\text{E-}004 * \text{speed} \\
 & +5.55556\text{E-}004 * \text{MASS} * \text{time} \\
 & +5.25777\text{E-}036 * \text{MASS} * \text{speed} \\
 & -3.08395\text{E-}019 * \text{time} * \text{speed}
 \end{aligned}$$

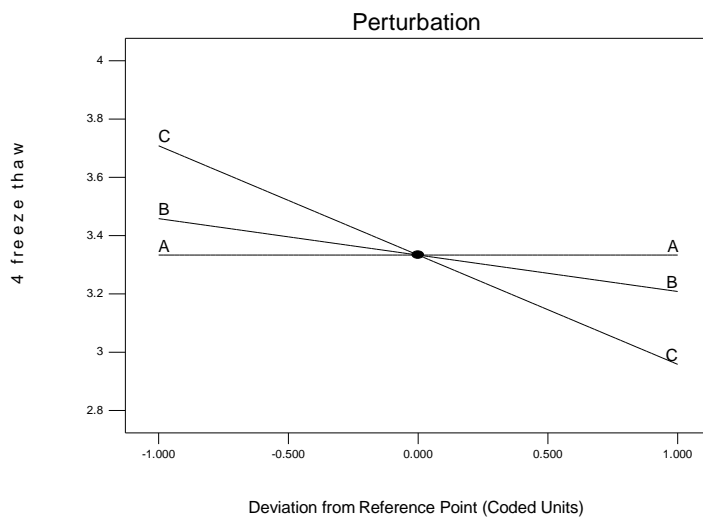
### Cube diagram:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 4 freeze thaw  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: time  
 X3 = C: C



### Perturbation diagram:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 4 freeze thaw  
 Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: time = 6.00  
 C: C = 3000.00



Όπως φαίνεται και στο διάγραμμα, τη μεγαλύτερη επίδραση ασκεί ο παραγοντας C: ταχύτητα ομεγενοποίησης (μεγαλύτερη κλίση στο διάγραμμα), όπου μικρή αύξηση των τιμών του C, οδηγούν σε σημαντική μείωση των τιμών της απόκρισης  $d(v,0.9)$ .

## Interaction diagram:

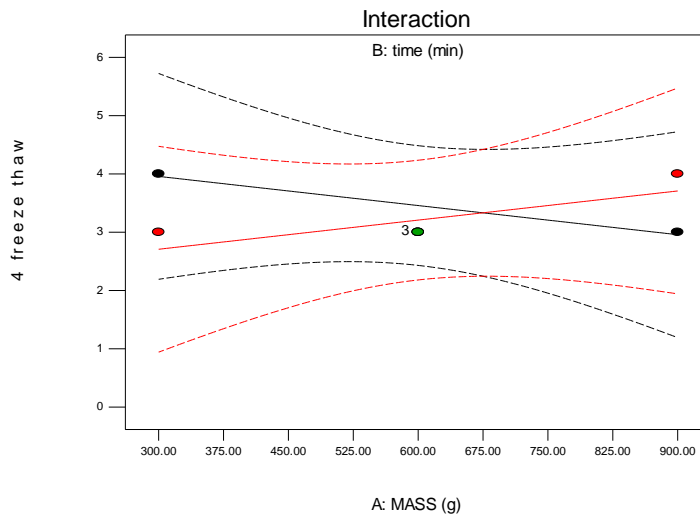
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 4 freeze thaw  
 ● Design Points  
 --- 95% CI Bands\*

X1 = A: MASS  
 X2 = B: time

Actual Factor  
 C: C = 3000.00

■ B- 3.00  
 ▲ B+ 9.00

\* Intervals adjusted for variation in the factors



Διαφαίνεται η ύπαρξη αλληλεπίδρασης, μεταξύ των παραγόντων A: μάζα του προς ομογενοποίηση υλικού και B: χρόνου ομογενοποίησης (ευθείες που τέμνονται).

## IV.2.5 Μελέτη της σταθερότητας και Ανάλυση διασποράς (ANOVA) των μοντέλων για την αποκριση $d(v,0.9)$ και χρόνο $t=3$ μήνες.

Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	0,002765		0,629435	0,377672	Suggested
2FI	0,874865		0,530488	-0,42368	
Quadratic	0,421775		0,551829	-1,56098	
Cubic			1		Aliased

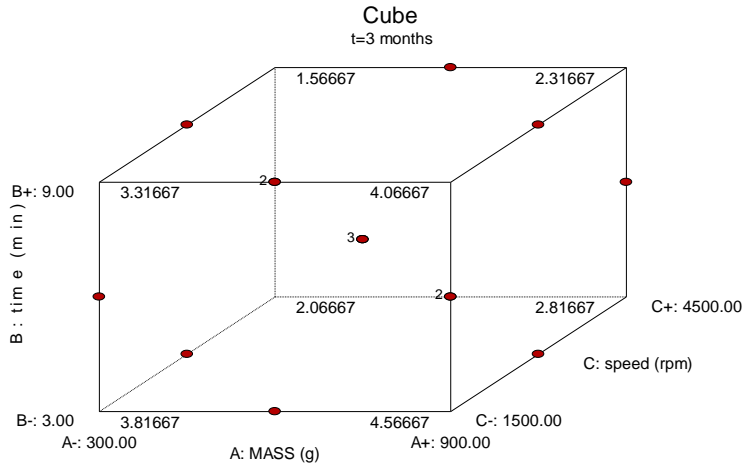
ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
Model	7,75	3	2,58	8,93	0,003	significant
A-MASS	1,125	1	1,13	3,89	0,074	
B-time	0,5	1	0,5	1,73	0,215	
C-speed	6,125	1	6,13	21,2	8E-04	
Residual	3,183333	11	0,29			
Lack of Fit	3,183333	9	0,35			
Pure Error	0	2	0			
Cor Total	10,93333	14				

Std. Dev.	0,53795	R-Squared	0,708841
Mean	3,06667	Adj R-Squared	0,629435
C.V. %	17,542	Pred R-Squared	0,377672
PRESS	6,80412	Adeq Precision	8,999346

**Final Equation in Terms of Actual Factors:**

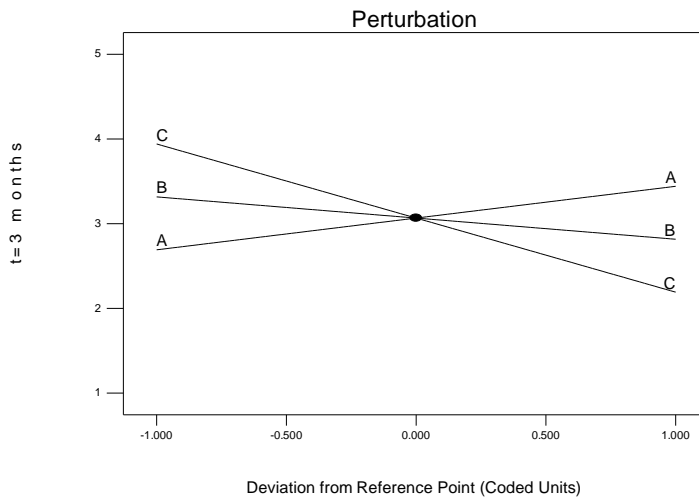
$$\begin{aligned}
 t=3 \text{ months} = & \\
 & +4.56667 \\
 & +1.25000\text{E-}003 * \text{MASS} \\
 & -0.083333 * \text{time} \\
 & -5.83333\text{E-}004 * \text{speed}
 \end{aligned}$$

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=3 months  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: time  
 X3 = C: speed



Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=3 months

Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: time = 6.00  
 C: speed = 3000.00



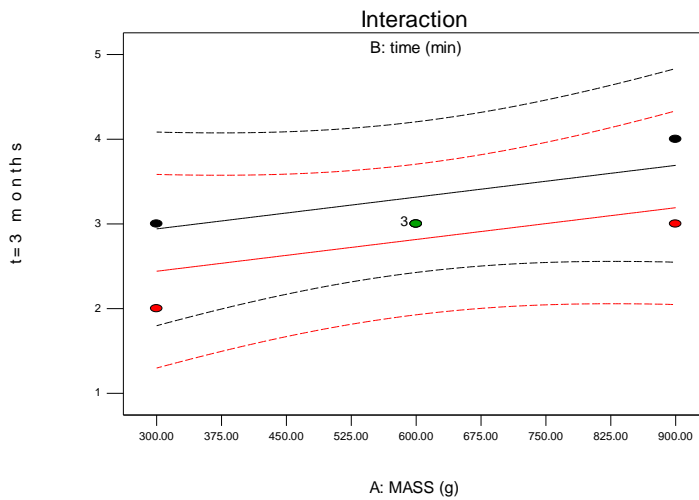
Design-Expert® Software

Factor Coding: Actual  
 t=3 months  
 ● Design Points  
 --- 95% CI Bands\*

X1 = A: MASS  
 X2 = B: time

Actual Factor  
 C: speed = 3000.00  
 ■ B- 3.00  
 ▲ B+ 9.00

\* Intervals adjusted for variation in the factors





### IV.3.1 ΠΛΗΡΗΣ ΠΑΡΑΓΟΝΤΙΚΟΣ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΣ.ΑΝΑΠΤΥΓΜΑ ΤΟΥ ΣΧΕΔΙΑΣΜΟΥ/ ΑΝΑΛΥΣΗ ΤΗΣ ΑΠΟΚΡΙΣΗΣ D(V,0.9) ΣΕ ΧΡΟΝΟ T=0.

Ο παρακάτω πίνακας αναλύει όλα τα πειράματα του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού που πραγματοποιήθηκαν, καθώς και τις αντίστοιχες τιμές των αποκρίσεων  $d(v,0.9)$ .

Std	Run	Factor 1 A:MAS	Factor 2 B:TIME	Factor 3 C:RPM	Response R1	Response 2 2 freeze thav	Response 3 4 freeze thav	Response 4 t=1 month	Response 5 t=3 month
		g	min	rpm					
1	10	600	9	4500	3,12	2	3	1	3
2	27	600	9	1500	7,89	3	4	3	4
3	25	300	6	4500	3,78	2	3	1	1
4	17	600	3	3000	5,58	2	3	4	4
5	12	900	9	1500	8,43	3	4	4	4
6	14	600	3	1500	14,31	4	4	3	4
7	19	600	6	3000	3	1	3	2	3
8	2	300	3	3000	3,97	2	4	2	3
9	4	900	6	3000	1,93	2	2	1	2
10	6	900	3	3000	5,46	2	3	4	4
11	3	600	6	3000	3,15	1	3	2	3
12	8	300	9	4500	3,84	1	3	2	2
13	23	300	3	1500	16,1	3	4	4	4
14	5	900	9	4500	4,01	2	3	2	2
15	7	600	6	1500	15,03	3	4	4	4
16	16	600	6	4500	3,56	1	3	3	3
17	24	900	6	1500	13,04	4	4	4	4
18	15	900	9	3000	4,55	2	4	2	3
19	18	300	9	3000	3,4	2	3	1	2
20	22	300	6	1500	9,05	4	4	3	4
21	21	300	3	4500	4	2	4	2	3
22	26	300	9	1500	10,87	3	4	4	4
23	13	900	6	4500	3,92	2	3	2	2
24	20	900	3	4500	4,31	2	3	3	4
25	28	600	3	4500	4,04	2	3	2	3
26	1	300	6	3000	3,86	3	3	1	4
27	11	600	9	3000	1,67	2	3	1	1
28	9	900	3	1500	11,55	4	4	4	4

Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	1,5E-05	0,024322	0,596285	0,525744	133
2FI	0,551298	0,02378	0,581632	0,447358	655
Quadratic	4,51E-05	0,040553	0,858039	0,768979	378 Suggested
Cubic	0,838673	0,035073	0,820992	0,409705	642 Aliased

Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Mean vs Total	1123,829	1	1123,83			
Linear vs Mean	311,4565	3	103,819	14,293	<0,0001	
2FI vs Linear	16,25445	3	5,41815	0,7198	0,5513	
Quadratic vs 2FI	112,0981	3	37,366	14,63	<0,0001	Suggested
Cubic vs Quadra	10,54702	7	1,50672	0,4678	0,8387	Aliased
Residual	35,4278	11	3,22071			
Total	1609,613	28	57,4862			

Επιλογή μοντέλου quadratic για την όσο δυνατή ακριβέστερη περιγραφή των δεδομένων από το μαθηματικό μοντέλο.

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
	Sum of		Mean	F	p-value	
Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Model	438,2369	5	87,647	40,55444	<0.0001	significant
A-MASS	0,154939	1	0,1549	0,07169	0,7914	
B-TIME	25,7762	1	25,776	11,92665	0,0023	
C-RPM	285,5253	1	285,53	132,1126	<0,0001	
BC	14,94101	1	14,941	6,913205	0,0153	
C^2	111,8394	1	111,84	51,7481	<0.0001	
Residual	47,547	22	2,1612			
Lack of Fit	47,5398	21	2,2638	314,4167	0,0444	significant
Pure Error	0,0072	1	0,0072			
Cor Total	485,7839	27				

Όπως φαίνεται στον παραπάνω πίνακα ANOVA, καθοριστική είναι η συμβολή του παράγοντα C: ταχύτητα ομογενοποίησης, αφού εμφανίζεται να λαμβάνει τιμή

$p < 0.0001$ . Παράλληλα στατιστικά σημαντική είναι η αλληλεπίδραση μεταξύ B: χρόνου ομογενοποίησης και C: ταχύτητα ομογενοποίησης, ενώ ο παράγοντας A: μαζα του προς ομογενοποίηση υλικού, δε συμμετέχει σε στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις. Αξιοσημείωτη είναι η επίδραση του  $C^2$  που διαθέτει τιμή  $p < 0,0001$ . Παρατηρείται όπως γίνεται αντιληπτό, αντιστοιχία των πορισμάτων που εξάγονται στον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό και στον Box Behnken, σε ότι αφορά στους παράγοντες λαμβάνουν μέρος στις στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις.

Std. Dev.	1,4701	R-Squared	0,902
Mean	6,3354	Adj R-Squared	0,88
C.V. %	23,205	Pred R-Squared	0,842
PRESS	76,542	Adeq Precision	17,41

Παρατηρούμε ότι η τιμή του R-Squared είναι 0,9021, καθώς επίσης ότι η διαφορά των στατιστικών μεγεθών Adjusted R-squared και Predicted R-squared δεν είναι μεγαλύτερη από 0,2

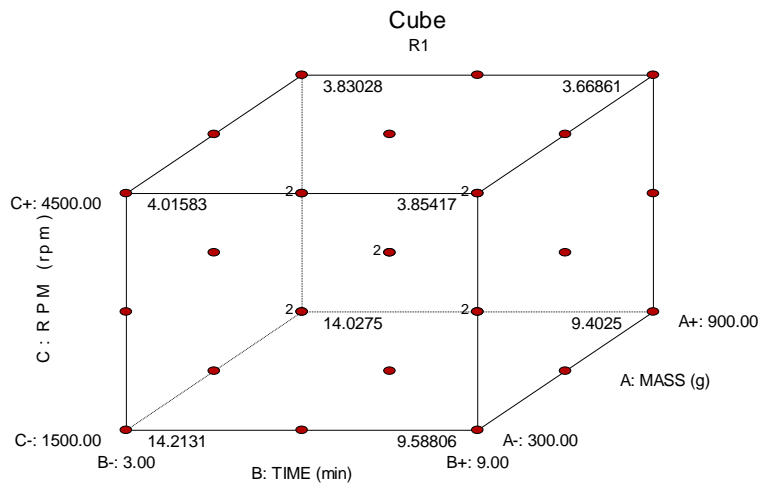
*Final Equation in Terms of Actual Factors:*

Final Equation in Terms of Actual Factors:

R1	=
35,345778	
-0,000309 * MASS	
-1,142778 * TIME	
-0,015266 * RPM	
0,000248 * TIME * RPM	
1,854E-06 * RPM^2	

## Cube graph:

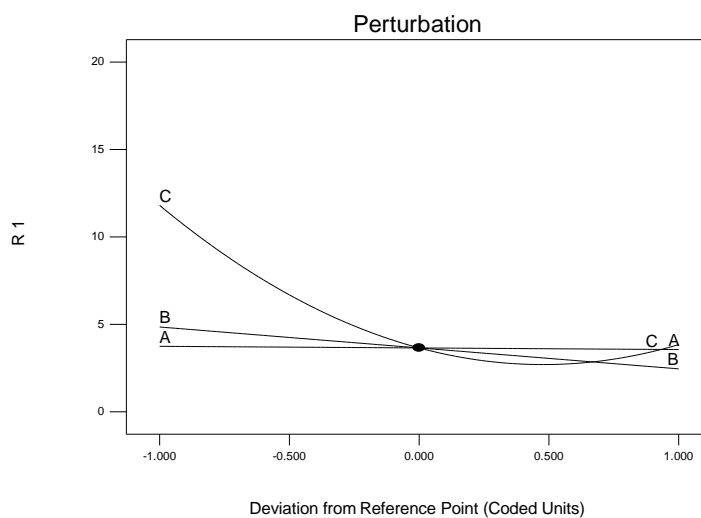
Design-Expert® Software  
Factor Coding: Actual  
R1  
X1 = B: TIME  
X2 = C: RPM  
X3 = A: MASS



## Perturbation graph:

Design-Expert® Software  
Factor Coding: Actual  
R1

Actual Factors  
A: MASS = 600.00  
B: TIME = 6.00  
C: RPM = 3000.00

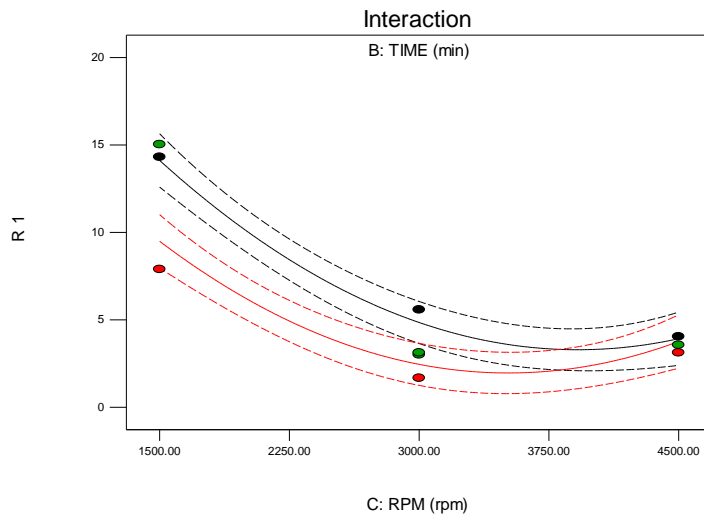


Όπως γίνεται φανερό και από το παραπάνω διάγραμμα, αύξηση του παράγοντα A: μάζα του προς ομογενοποίηση υλικού οδηγεί σε μικρή αύξηση, όπως είναι αναμενόμενο, της απόκρισης  $d(v,0.9)$  (μικρή κλίση του ευθύγραμμου τμήματος στο διάγραμμα). Αντίθετα, η αύξηση του παράγοντα B: χρόνος ομογενοποίησης οδηγεί σε μείωση των τιμών της απόκρισης  $d(v,0.9)$  και συνεπώς σε σταθερότερα γαλακτώματα. Παράλληλα, αύξηση του παράγοντα C: ταχύτητα ομογενοποίησης, οδηγεί σε μείωση των τιμών της μελετώμενης απόκρισης. Σημειώνεται το γεγονός ότι σε μεγάλες τιμές του παράγοντα C: ταχύτητα ομογενοποίησης (τιμές

μεγαλύτερες από C:3000 rpm), εμφανίζεται καμπυλότητα στο διάγραμμα και φαίνεται πως από μόνος του δεν είναι ικανός να αντιρροπίσει την αποσταθεροποίηση του γαλακτώματος, γεγονός που αποδίδεται και στη συμμετοχή του παράγοντα C στις στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις AC, BC, C<sup>2</sup>.

### Interaction graph:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 R1  
 ● Design Points  
 --- 95% CI Bands  
 X1 = C: RPM  
 X2 = B: TIME  
 Actual Factor  
 A: MASS = 600.00  
 ■ B- 3.00  
 ▲ B+ 9.00



Όπως είχε αναφερθεί και προηγουμένως, λαμβάνει χώρα η αλληλεπίδραση μεταξύ των παραγόντων B:χρόνος ομογενοποίησης και C:ταχύτητα ομογενοποίησης, και για αυτό το λόγο εμφανίζεται τομή μεταξύ των δυο καμπυλών στο διάγραμμα αλληλεπίδρασης.

### IV.3.2 Αναλυση αποκρισης για d(v,0.9) και t=1 μήνα.

Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Square	R-Squared	
Linear	0,00049		0,45595	0,35838	Suggested
2FI	0,80732		0,40581	0,162091	
Quadratic	0,072156		0,52522	0,28057	
Cubic	0,578935		0,49316	-0,30446	Aliased

Επιλέγεται το γραμμικό μοντέλο, καθώς αυτό περιγράφει όσο το δυνατόν με πιο καλό τρόπο τα δεδομένα.

Std. Dev.	0,839363		R-Squared	0,5164
Mean	2,535714		Adj R-Squared	0,45595
C.V. %	33,10164		Pred R-Squared	0,35838
PRESS	22,43378		Adeq Precision	10,15675

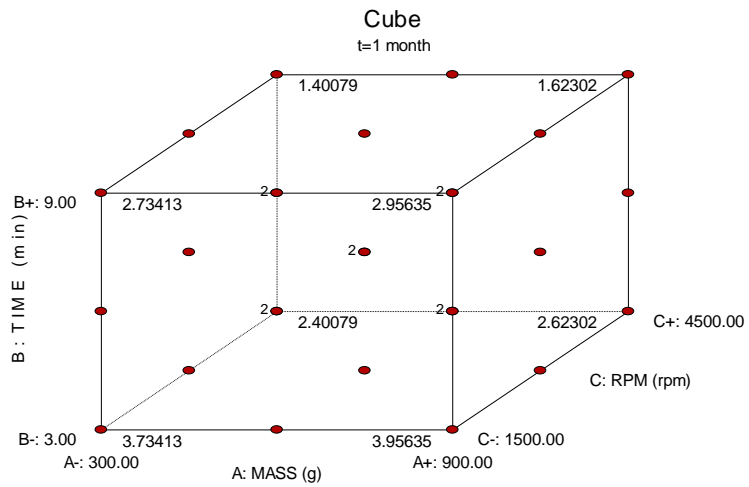
ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
	Sum of		Mean	F	p-value	
Source	Squares	df	Square	Value	Prob > F	
Model	18,0556	3	6,018519	8,5426	0,00049	significant
A-MASS	2	1	2	2,83877	0,104976	
B-TIME	3,55556	1	3,555556	5,0467	0,034143	
C-RPM	12,5	1	12,5	17,7423	0,000308	
Residual	16,9087	24	0,70453			
Lack of Fit	16,9087	23	0,735162			
Pure Error	0	1	0			
Cor Total	34,9643	27				

*Final Equation in Terms of Actual Factors:*

$$\begin{aligned}
 t=1 \text{ month} &= \\
 &+4.78968 \\
 &+3.70370E-004 \quad * \text{ MASS} \\
 &-0.16667 \quad * \text{ TIME} \\
 &-4.44444E-004 \quad * \text{ RPM}
 \end{aligned}$$

## Cube plot:

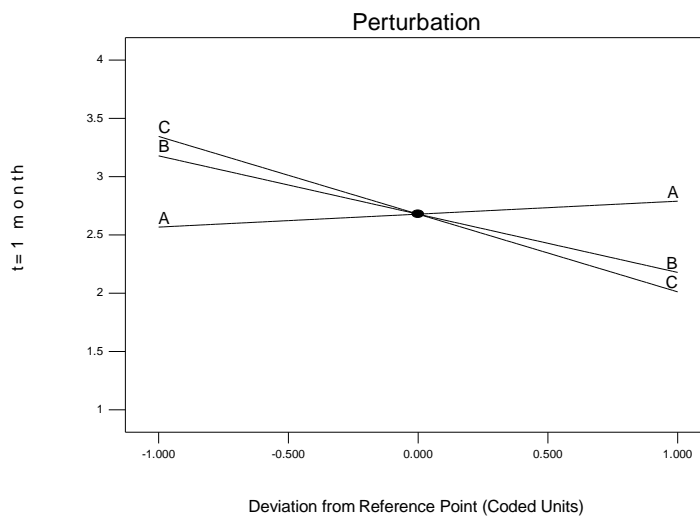
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=1 month  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: TIME  
 X3 = C: RPM



## Perturbation plot:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=1 month

Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: TIME = 6.00  
 C: RPM = 3000.00



Όπως γίνεται αντιληπτό και από το παραπάνω διάγραμμα, αύξηση του A:μάζα του προς ομογενοποίηση υλικού οδηγεί σε αύξηση των τιμών της απόκρισης, ενώ αντιθέτως αύξηση των τιμών των παραγόντων B:χρόνου ομογενοποίησης και C:ταχύτητα ομογενοποίησης, οδηγούν σε μειωμένες τιμές της απόκρισης. Διαφαίνεται η μεγαλύτερη κλίση του ευθύγραμμου τμήματος για τον παράγοντα C συγκριτικά με την κλίση του ευθύγραμμου τμήματος που αναφέρεται στον παράγοντα B, γεγονός το οποίο επαληθεύει τον πίνακα ANOVA και υποδηλώνει την

μεγαλύτερη επίδραση που ασκεί στη διεργασία ο παράγοντας C σε σχέση με τον παράγοντα B.

### IV.3.3 Ανάλυση αποκρίσης $d(n,0.9)$ κατά την εκτέλεση του 2 και 4 κυκλου freeze/thaw.

#### 2 κυκλος freeze/thaw:

Summary (detailed tables shown below)					
Sequential Lack of Fit Adjusted Predicted					
Source	p-value	p-value	R-Square	R-Squared	
Linear	8,96E-05		0,5299	0,47466	Suggested
2FI	0,978884		0,4675	0,34563	
Quadratic	0,01413		0,65	0,42051	Suggested
Cubic	0,546813		0,634	-0,061	Aliased

Γίνεται επιλογή του quadratic μοντέλου.

ANOVA for Response Surface Quadratic model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
Model	17,19491	9	1,9105	6,571	0,00037	significant
A-MASS	0,055556	1	0,0556	0,191	0,66723	
B-TIME	0,5	1	0,5	1,72	0,20622	
C-RPM	12,5	1	12,5	42,99	3,7E-06	
AB	3,55E-15	1	4E-15	1E-14	1	
AC	0	1	0	0	1	
BC	0,083333	1	0,0833	0,287	0,59896	
A^2	0,794118	1	0,7941	2,731	0,11574	
B^2	0,002451	1	0,0025	0,008	0,92786	
C^2	3,002451	1	3,0025	10,33	0,00482	
Residual	5,23366	18	0,2908			
Lack of Fit	5,23366	17	0,3079			
Pure Error	0	1	0			
Cor Total	22,42857	27				

Std. Dev.	0,539221	R-Squared	0,767
Mean	2,357143	Adj R-Squared	0,65
C.V. %	22,87603	Pred R-Squared	0,421
PRESS	12,99724	Adeq Precision	7,474

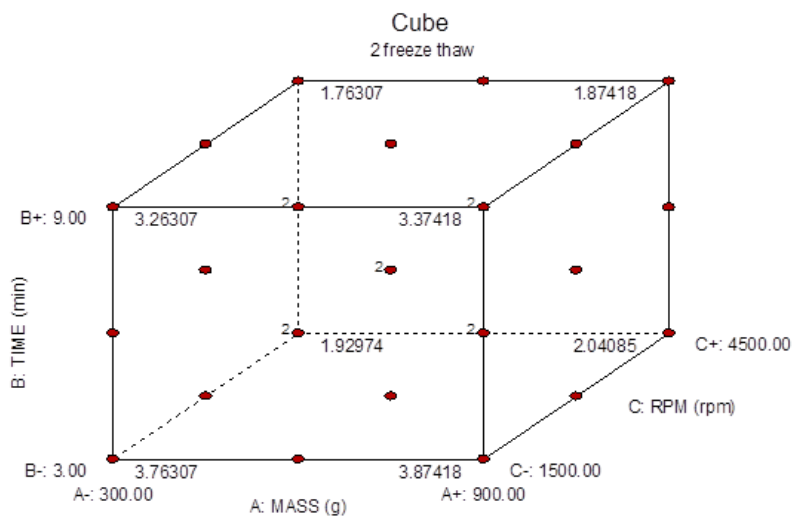


Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 2 \text{ freeze thaw} &= \\
 &6,63333333 \\
 &0,00018519 * \text{MASS} \\
 &-0,05555556 * \text{TIME} \\
 &-0,00245185 * \text{RPM} \\
 &3,1605E-07 * \text{RPM}^2
 \end{aligned}$$

**Cube plot:**

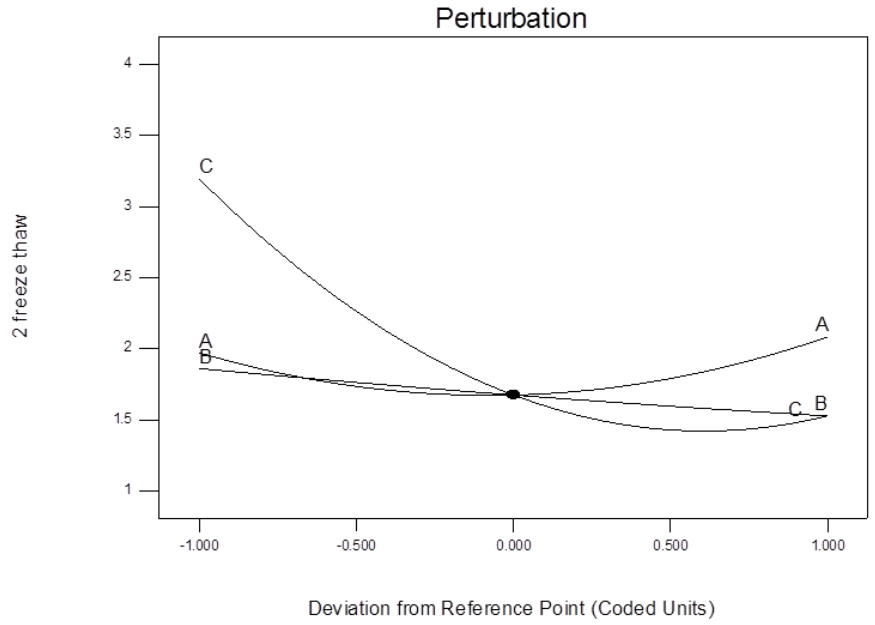
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 2 freeze thaw  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: TIME  
 X3 = C: RPM



**Perturbation plot:**

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 2 freeze thaw

Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: TIME = 6.00  
 C: RPM = 3000.00

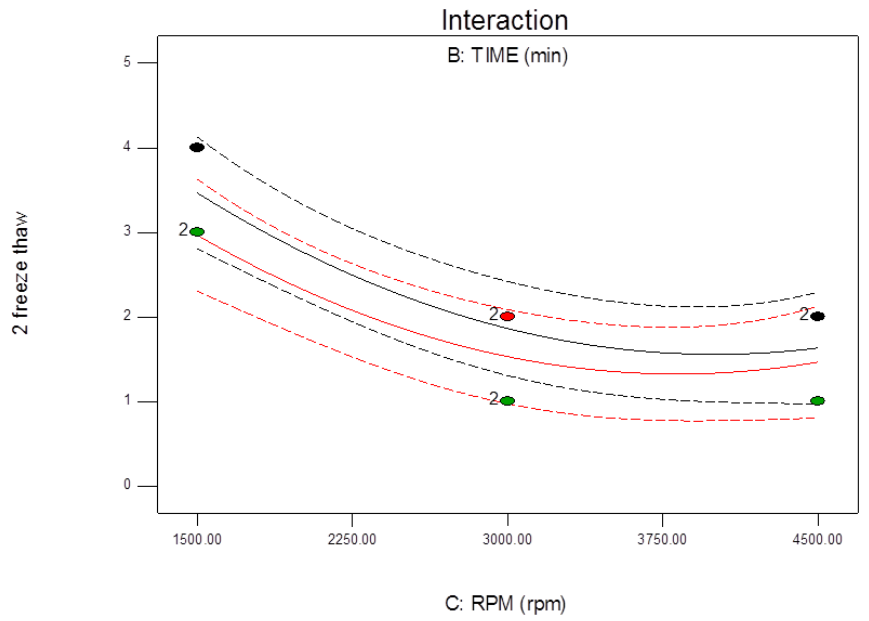


Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 2 freeze thaw  
 ● Design Points  
 ... 95% CI Bands

X1 = C: RPM  
 X2 = B: TIME

Actual Factor  
 A: MASS = 600.00

● B- 3.00  
 ▲ B+ 9.00



#### 4 κύκλος freeze/thaw:

Summary (detailed tables shown below)					
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	0,002571		0,371914	0,262622	
2FI	0,211833		0,417989	0,231458	
Quadratic	0,007787		0,643307	0,434755	Suggested
Cubic	0,958118		0,498812	-0,52898	Aliased

ANOVA for Response Surface Reduced Quadratic model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
Model	6,386905	6	1,0645	9,7545	3,51E-05	significant
A-MASS	0,222222	1	0,2222	2,0364	0,168277	
B-TIME	0,055556	1	0,0556	0,5091	0,483388	
C-RPM	3,555556	1	3,5556	32,582	1,15E-05	
AB	0,75	1	0,75	6,8727	0,015943	
B^2	0,469444	1	0,4694	4,3018	0,050559	
C^2	1,225	1	1,225	11,225	0,00303	
Residual	2,291667	21	0,1091			
Lack of Fit	2,291667	20	0,1146			
Pure Error	0	1	0			
Cor Total	8,678571	27				

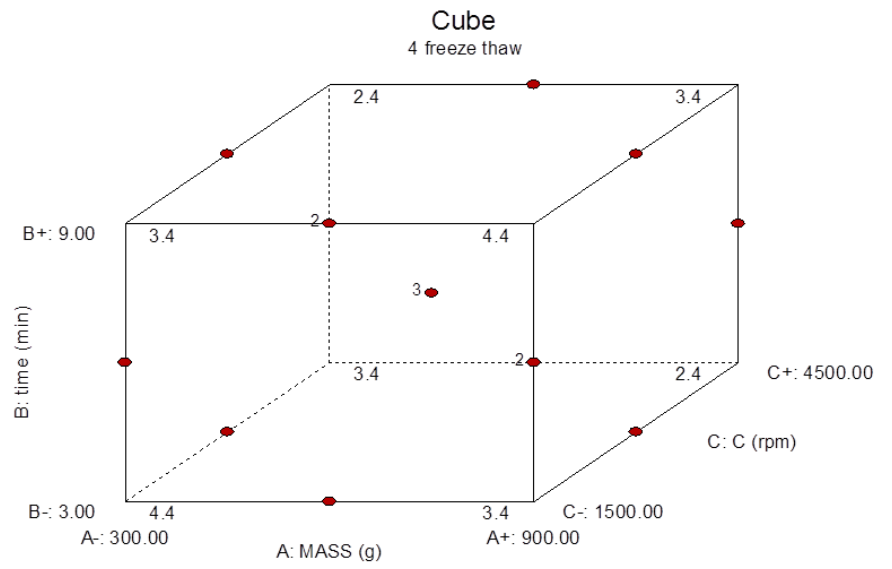
Std. Dev.	0,3303	R-Squared	0,7359
Mean	3,3929	Adj R-Squared	0,6605
C.V. %	9,7364	Pred R-Square	0,4972
PRESS	4,3636	Adeq Precision	10,217

#### Final Equation in Terms of Actual Factors:

$$\begin{aligned}
 4 \text{ freeze thaw} &= \\
 &7,99305556 \\
 &-0,00203704 * \text{MASS} \\
 &-0,5462963 * \text{TIME} \\
 &-0,00146296 * \text{RPM} \\
 &0,00027778 * \text{MASS} * \text{TIME} \\
 &0,03009259 * \text{TIME}^2 \\
 &1,9444\text{E-}07 * \text{RPM}^2
 \end{aligned}$$

### Cube plot:

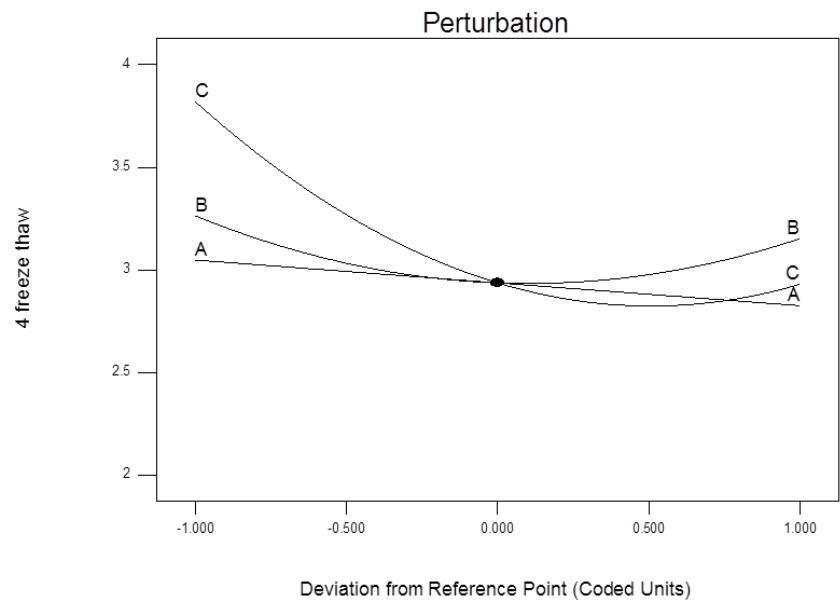
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 4 freeze thaw  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: time  
 X3 = C: C



### Perturbation plot:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 4 freeze thaw

Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: TIME = 6.00  
 C: RPM = 3000.00



#### IV.3.4 Αναλυση της απόκρισης $d(v,09)$ για $t=3$ μήνες

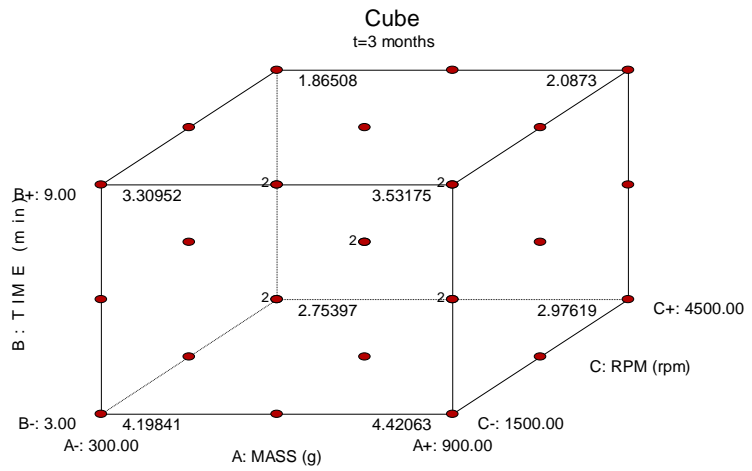
Summary (detailed tables shown below)					
	Sequential	Lack of Fit	Adjusted	Predicted	
Source	p-value	p-value	R-Squared	R-Squared	
Linear	0,000474		0,457514	0,35998	Suggested
2FI	0,542221		0,439005	0,322211	
Quadratic	0,522144		0,420522	0,207526	
Cubic	0,568261		0,385586	-0,79334	Aliased

Γίνεται επιλογή όπως φαίνεται παραπάνω, του γραμμικού μοντέλου (linear).

ANOVA for Response Surface Linear model						
Analysis of variance table [Partial sum of squares - Type III]						
Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F Value	p-value	
Model	13,16667	3	4,388889	8,590291	0,000474	significant
A-MASS	0,222222	1	0,222222	0,434951	0,515848	
B-TIME	3,555556	1	3,555556	6,959223	0,014407	
C-RPM	9,388889	1	9,388889	18,3767	0,000255	
Residual	12,2619	24	0,510913			
Lack of Fit	12,2619	23	0,533126			
Pure Error	0	1	0			
Cor Total	25,42857	27				
Std. Dev.	0,714782			R-Squared	0,51779	
Mean	3,142857			Adj R-Squared	0,457514	
C.V. %	22,74305			Pred R-Squared	0,35998	
PRESS	16,2748			Adeq Precision	9,459344	

### Cube plot:

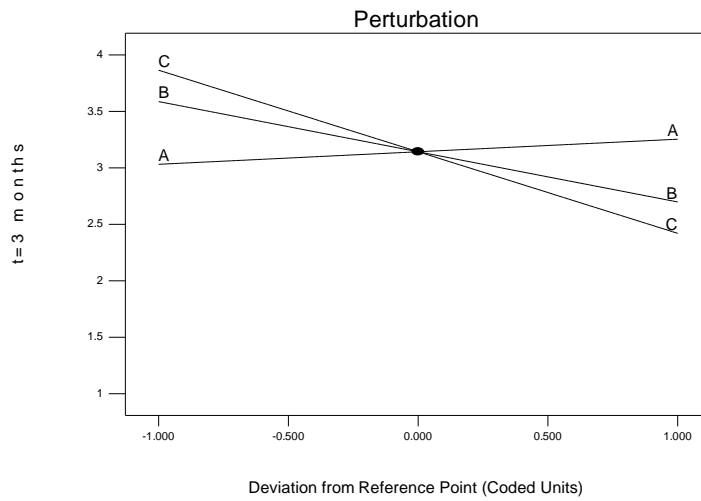
Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=3 months  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: TIME  
 X3 = C: RPM



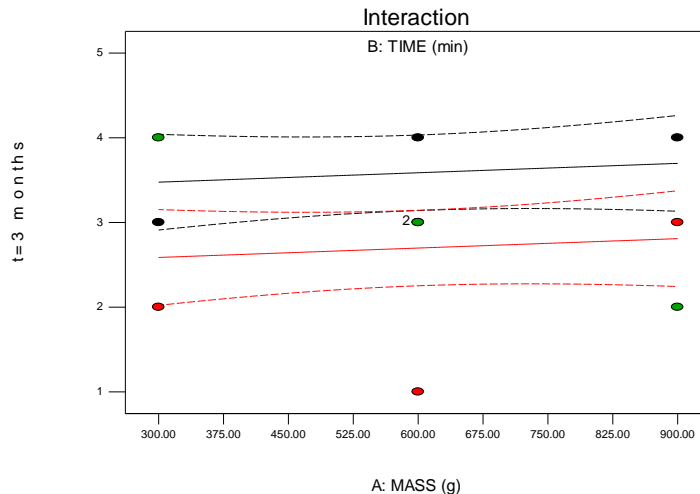
### Perturbation plot:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=3 months

Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: TIME = 6.00  
 C: RPM = 3000.00



Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 t=3 months  
 ● Design Points  
 --- 95% CI Bands  
 X1 = A: MASS  
 X2 = B: TIME  
 Actual Factor  
 C: RPM = 3000.00  
 ■ B- 3.00  
 ▲ B+ 9.00



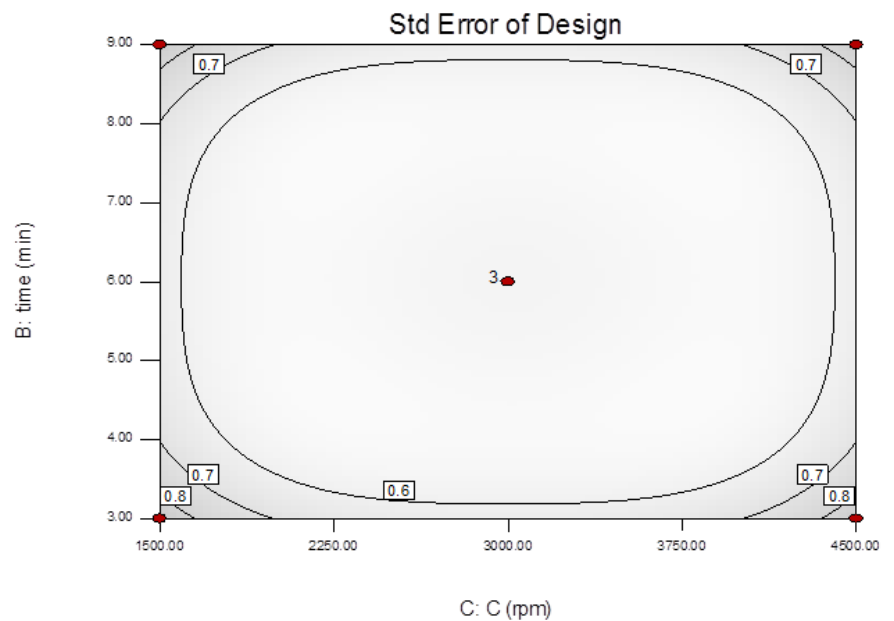
#### IV.3.5 Ανάλυση του σφάλματος πρόβλεψης του Box Behnken και πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού.

Συγκρίνοντας τους δυο πειραματικούς σχεδιασμούς (Box Behnken, Full Factorial Design) παρατηρούμε ότι ο δείκτης Pred R squared=0.8056 στην περίπτωση του Box Behnken σχεδιασμού και Pred R squared=0.8424 στον full factorial design. Είναι αντιληπτό ότι η δυνατότητα πρόβλεψης του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού είναι ισχυρότερη από αυτή του Box Behnken, και συνεπώς το εξαγόμενο μαθηματικό μοντέλο μπορεί να εκτιμήσει καλύτερα τη μεταβλητότητα των νέων δεδομένων. Το παραπάνω συμπέρασμα, μπορεί να αποδοθεί στο γεγονός ότι ο Box Behnken σχεδιασμός αποτελεί στην ουσία υποσύνολο του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού, και συνεπώς τα δεδομένα (inputs) που εισήχθησαν στον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό ήταν περισσότερα, και ακολούθως η ακρίβεια της εξαγόμενης πληροφορίας ήταν μεγαλύτερη στην περίπτωση του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού.

Όπως διαφαίνεται στα διαγράμματα που ακολουθούν, παρατηρούμε ότι το σφάλμα πρόβλεψης στην περίπτωση του Box Behnken σχεδιασμού είναι μεγαλύτερο από ότι στην περίπτωση του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού. Επιπρόσθετα, γίνεται φανερό ότι το τυπικό σφάλμα (Standard error) μεταβάλλεται ως αποτέλεσμα της αλλαγής των επίπεδων των παραγοντων. Παράλληλα, μέσω των παρακάτω διαγραμμάτων παρατηρούμε το χαρακτηριστικό της περιστροφικότητας που διαθέτει ο Box Behnken σχεδιασμός.

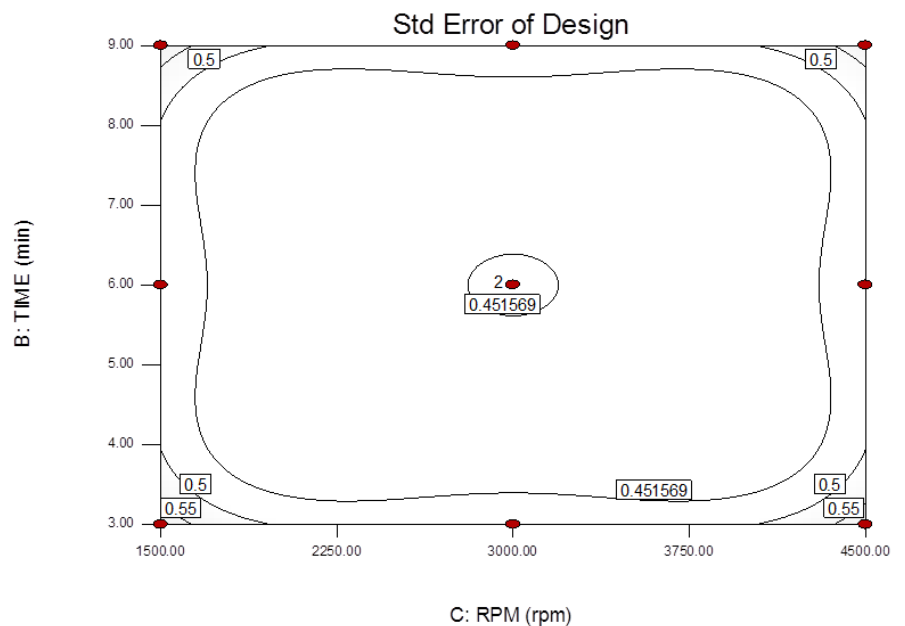
## Box Behnken σχεδιασμός:

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 Std Error of Design  
 • Design Points  
 Std Error Shading  
 1.500  
 0.500  
 X1 = C: C  
 X2 = B: time  
 Actual Factor  
 A: MASS = 600.00



## Full Factorial σχεδιασμός

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 Std Error of Design  
 • Design Points  
 Std Error Shading  
 1.5  
 0.5  
 X1 = C: RPM  
 X2 = B: TIME  
 Actual Factor  
 A: MASS = 600.00



Λαμβάνοντας υπόψιν λοιπόν όλες τις πληροφορίες που αναφέρονται παραπάνω, εκτελέσαμε στη συνέχεια κάποια επιπρόσθετα πειράματα επιβεβαίωσης (verification runs), μέσω των οποίων υπολογίσαμε την απόκριση  $d(v,0.9)$  που προβλέπεται από τον κάθε σχεδιασμό, και συγκρίναμε αυτές τις τιμές με τις πραγματικές τιμές  $d(v,0.9)$  που πρόεκυψαν από μετρήσεις στο Malvern Mastersizer και σε χρόνο  $t=0$ . Τα αποτελέσματα που εξήφθησαν είναι τα παρακάτω:



RUN	FACTOR A: MASS (g)	FACTOR B: TIME (min)	FACTOR C: SPEED (rpm)	RESPONSE: Actual value of d(v,0.9)	RESPONSE: Predicted value of d(v,0.9) from B.B design	RESPONSE: Predicted value of d(v,0.9) from F.F design
1	750	9	3000	3.01	2.95 <b>Std error of design:0.65</b>	2.89 <b>Std error of design:0.48</b>
2	750	6	3000	3.67	4.06 <b>Std error of design:0.54</b>	3.59 <b>Std error of design:0.43</b>
3	300	4	1500	13.9	11.87 <b>Std error of design:0.69</b>	13.59 <b>Std error of design:0.49</b>
4	750	6	1500	12.11	11.49 <b>Std error of design:0.64</b>	11.68 <b>Std error of design:0.48</b>

Γίνεται αντιληπτό ότι η διάφορα τόσο των τιμών που προβλέπονται από το κάθε μοντέλο μεταξύ τους, όσο και σε σύγκριση με τις πραγματικές τιμές είναι αρκετά κοντά, μολονότι ο πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός, όπως ήταν αναμενόμενο, πλησιάζει πιο ικανοποιητικά την πραγματική τιμή της απόκρισης  $d(v,0.9)$  και έχει μικρότερο standard error από αυτό του Box Behnken.

# V. ΑΝΑΛΥΣΗ ΙΚΑΝΟΤΗΤΑΣ ΤΗΣ ΔΙΕΡΓΑΣΙΑΣ

---

## V.1.1 Τεχνικές μελέτης και ανάλυσης ικανότητας διεργασίας.

Με τον όρο ικανή, χαρακτηρίζουμε μια διεργασία η οποία είναι υπό έλεγχο, δηλαδή εντός των επιθυμητών προδιαγραφών και επαναληψίμη. Με άλλα λόγια, θεωρείται ικανή εκείνη η διεργασία της οποίας η ενδογενής μεταβλητότητα είναι μικρότερη από το εύρος των προδιαγραφών. Η ανάλυση της ικανότητας της διεργασίας αποτελεί ένα αναπόσπαστο τμήμα ενός ορθά δομημένου προγράμματος βελτίωσης της ποιότητας. Αυτή επιτυγχάνεται με τη χρήση στατιστικών τεχνικών, και συσχετίζει τη 'φωνή της διεργασίας' μέσω της οποίας παράγονται τα προϊόντα με τη 'φωνή του πελάτη' που εκφράζεται μέσω των προδιαγραφών. Η συγκεκριμένη συσχέτιση πολιτικοποιείται με τις μελέτες ανάλυσης ικανότητας της διεργασίας ( Process Capability Analysis), ούτως ώστε να ελεγχθεί αν η υπό μελέτη διεργασία είναι ικανή να παράγει προϊόντα που ικανοποιούν τις προδιαγραφές.[3] Αξίζει να αναφερθεί η προσέγγιση του Pyzdek, ο οποίος περιγράφει την ανάλυση της ικανότητας μιας διεργασίας, ως μια διεργασία δύο σταδίων, η οποία διαθέτει διπλό στόχο :

- Αφενός την άρση των συστηματικών αιτιών, ώστε η διεργασία να βρίσκεται σε κατάσταση ελέγχου για επαρκές χρονικό διάστημα και
- Αφετέρου τη σύγκριση της μακροπρόθεσμης απόδοσης της διεργασίας σε σχέση με τις προδιαγραφές, τονίζοντας ότι αναγκαία και ικανή συνθήκη για τον προσδιορισμό της ικανότητας της διεργασίας είναι αυτή να βρίσκεται σε κατάσταση έλεγχου για μεγάλο χρονικό διάστημα.

Η ανάλυση της ικανότητας μια διεργασίας ως τμήμα ενός προγράμματος βελτίωσης ποιότητας διαθέτει τα ακόλουθα πλεονεκτήματα, τα οποία δικαιολογούν την αναγκαιότητα της χρήσης του [31] [32]:

- Ποσοτικοποίηση της κάλυψης των απαιτήσεων των πελατών
- Την πρόβλεψη της συμπεριφοράς της διεργασίας σε σχέση με τις ανοχές της και τη ρύθμιση της κεντρικής της θέσης σε σχέση με τις τιμές-στόχους (προδιαγραφές) ώστε να μειωθεί κατά το δυνατόν το λειτουργικό της κόστος.
- Την αναγνώριση προβλημάτων που λαμβάνουν χώρα κατά την παραγωγική διαδικασία, ώστε να αιτιολογηθούν οι προτεραιότητες στον προγραμματισμό βελτίωσης των διεργασιών. Κατά αυτό τον τρόπο μειώνεται το κόστος που σχετίζεται με την απόρριψη και ανακατεργασμένα

των μη συμμορφούμενων προϊόντων, ενώ ταυτόχρονα βελτιστοποιείται ο σχεδιασμός της παραγωγής.

- Την επιλογή της συχνότητας δειγματοληψίας στα διαγράμματα έλεγχου. Οι ικανές διεργασίες συνδέονται με μειωμένη συχνότητα δειγματοληψίας.

Οι βασικές τεχνικές που χρησιμοποιούνται σε μια μελέτη ανάλυσης ικανότητας διεργασίας, αναφέρονται παρακάτω :

- Ιστόγραμμα
- Δείκτες Ικανότητας διεργασίας
- Διαγράμματα Έλεγχου

Στην παρούσα διπλωματική εργασία έγινε προσπάθεια μελέτης της ανάλυσης ικανότητας διεργασίας μέσω του λογισμικού Design Expert 9.00 με τη χρήση των δεικτών ικανότητας διεργασίας. Εόνη αξιοσημείωτο το γεγονός ότι οι δείκτες ικανότητας διεργασίας εμφανίζουν ένα μοναδικό πλεονέκτημα έναντι των άλλων τεχνικών ανάλυσης της ικανότητας διεργασίας (PCA) : περιγράφουν την κατάσταση της διεργασίας με μόνο ένα αριθμό που αποτελεί μετρώ σύγκρισης της κατανομής του χαρακτηριστικού ποιότητας με τις προδιαγραφές. Οι δείκτες ανάλυσης ικανότητας μια διεργασίας διακρίνονται σε πρώτης γενιάς, δημοφιλέστερος των οποίων είναι ο  $C_p$ , και σε δείκτες δεύτερης γενιάς, όπως τον  $C_{pk}$  με τον οποίο θα ασχοληθούμε στην παρούσα εργασία.[3]

Ο δείκτης  $C_p$ , ο οποίος εισήχθη από τον Juran, αποτελεί τον πρώτο δείκτη που χρησιμοποιήθηκε και προκύπτει από τη σχέση:

$$C_p = \text{Engineering Tolerance} / \text{Actual Process spread}$$

$$= (\text{USL} - \text{LSL}) / \text{Natural Tolerance} = (\text{USL} - \text{LSL}) / 6\sigma$$

Όπου USL και LSL αποτελούν το ανώτερο και κατώτερο όριο των προδιαγραφών αντίστοιχα, ενώ η εκτίμηση της διασποράς γίνεται στην πλειονότητα των περιπτώσεων μέσω της τυπικής απόκλισης του δείγματος  $s$ . Η ερμηνεία του δείκτη είναι απλή, καθώς βασίζεται στο πηλίκο της προσδοκίας του πελάτη προς την πραγματικότητα, αφού συγκρίνει το εύρος των προδιαγραφών με το αντίστοιχο της διεργασίας. Αναφέρεται ότι η εκτίμηση του δείκτη  $C_{pk}$  απαιτεί την ύπαρξη αμφοτεροπλευρων ορίων προδιαγραφών, και ταυτόχρονα προϋποθέτει την κανονικότητα της υποκείμενης κατανομής. Παραλληλα, αναφέρεται ότι στους δείκτες πρώτης γενιάς, απαιτείται για την εφαρμογή τους ο μεσος της διεργασίας να είναι κεντραρισμένος στο μεσο του εύρους των προδιαγραφών. Άρση του ανωτέρω περιορισμού επετεύχθητε με τη χρήση των

δεικτών δεύτερης γενιάς. Ο δείκτης Cpk, εισήχθη από τον Kane το 1986 και δίνεται από τον εξής τύπο:

$$Cpk = \min(Cpu, Cpl) = \min(USL - \mu/3\sigma, \mu - LSL/3\sigma)$$

Όπου  $\mu$  και  $\sigma$  είναι ο μέσος και η τυπική απόκλιση της διεργασίας αντίστοιχα. Η διαφορά των δεικτών C<sub>p</sub> και C<sub>pk</sub> αποτελεί μέτρο της απόστασης της κεντρικής θέσης της κατανομής της διεργασίας από το μέσο των προδιαγραφών. Έτσι, όταν ο δείκτης C<sub>pk</sub> ταυτίζεται με το δείκτη C<sub>p</sub>, η διεργασία είναι κεντραρισμένη. Ο δείκτης C<sub>pk</sub> δηλώνει την πραγματική ενώ ο δείκτης C<sub>p</sub> τη δυνητική ικανότητα της διεργασίας, η ικανότητα δηλαδή που θα είχε η διεργασία εάν ο μέσος της ήταν κεντραρισμένος στο μέσο των ορίων των προδιαγραφών. Ο αριθμός των μη συμμορφωμένων προϊόντων ανά μονάδα στη χιλιάδα (non conforming parts per million, ppm), υπολογίστηκε για τις διάφορες τιμές C<sub>pk</sub> χρησιμοποιώντας τις κρίσιμες τιμές z από τους στατιστικούς πίνακες, και την επί τις εκατό επιφάνεια κάτω από την καμπύλη της κανονικής κατανομής. Ο πίνακας παρουσιάζεται παρακάτω :

Cpk Value	Sigma Value	Area under Normal Curve	Non Conforming ppm
0.1	0.3	0.235822715	764177.2851
0.2	0.6	0.451493870	548506.1299
0.3	0.9	0.631879817	368120.1835
0.4	1.2	0.769860537	230139.4634
0.5	1.5	0.866385542	133614.4576
0.6	1.8	0.928139469	71860.531
0.7	2.1	0.964271285	35728.7148
0.8	2.4	0.983604942	16395.0577
0.9	2.7	0.993065954	6934.0461
1.0	3.0	0.997300066	2699.9344
1.1	3.3	0.999033035	966.9651
1.2	3.6	0.999681709	318.2914
1.3	3.9	0.999903769	96.231
1.333	3.999	0.999936360	63.6403
1.4	4.2	0.999973292	26.7082
1.5	4.5	0.999993198	6.8016
1.6	4.8	0.999998411	1.5887
1.666	4.998	0.999999420	0.5802
1.7	5.1	0.999999660	0.3402
1.8	5.4	0.999999933	0.0668
1.9	5.7	0.999999988	0.012
2.0	6.0	0.999999998	0.002

Καθως συγκρίνουμε το εύρος της διακύμανσης της διεργασίας μας (voice of the process) με τις προδιαγραφές του χαρακτηριστικού ποιότητας που μελετάμε, τα παρακάτω πιθανά αποτελέσματα λαμβάνουν χώρα [3]:

- $C_{pk} > 1$  : Η διεργασία είναι ικανή.
- $C_{pk} < 1$ : Η διεργασία δεν είναι ικανή να παράγει συμμορφούμενα με τις προδιαγραφές προϊόντα.
- $C_{pk} < 0$ : Ο μέσος της διεργασίας βρίσκεται εκτός των ορίων των προδιαγραφών

## V.1.2 Πειραματικός Σχεδιασμός - Βελτιστοποίηση (Optimization).

Μέσω της βελτιστοποίησης επιδιώκεται ο καθορισμός ενός εύρους τιμών των σημαντικών παραγόντων που οδηγούν στις καλύτερες δυνατές τιμές απόκρισης. Ωστόσο, η βέλτιστη "κατάσταση", αυτή δηλαδή που οδηγεί στις επιθυμητές τιμές απόκρισης, είναι δυνατόν να βρίσκεται εντός ή εκτός του σχεδιαστικού χώρου. Στην πρώτη περίπτωση εφαρμόζεται η Μεθοδολογία Απόκρισης Επιφάνειας (Response Surface Methodology-RSM), μέσω της οποίας επιδιώκεται η εξεύρεση του καλύτερου δυνατού μαθηματικού μοντέλου ώστε να προβλέψουμε την απόκριση εντός του σχεδιαστικού χώρου ή ακόμα και στην περιφέρεια αυτού. Οι τιμές που υπολογίζονται με βάση το μαθηματικό μοντέλο είναι επαρκώς κοντινές με εκείνες που θα λαμβάναμε εάν πραγματοποιούσαμε τα πειράματα.

Με τη Μεθοδολογία Απόκρισης Επιφάνειας ο πειραματικός χώρος, ή η περιοχή ενδιαφέροντος εξετάζεται στα πλαίσια ενός "κέντρου" ενδιαφέροντος και της περιοχής που το περιβάλλει. Ο χώρος αυτός συχνά θεωρείται σφαιρικός, ακόμα και αν υπάρχουν επιτρεπτά εύρη για τον κάθε παράγοντα. Έτσι, αντί να εκτιμούμε άμεσα την επίδραση της κάθε μεταβλητής, επιθυμούμε να προσαρμόσουμε τις συμμεταβλητές στο μοντέλο της εξίσωσης της απόκρισης, και να χαρτογραφήσουμε την απόκριση σε όλο το σχεδιαστικό χώρο υπό μορφή επιφάνειας.

Από την άλλη πλευρά όταν η βέλτιστη "κατάσταση" βρίσκεται εκτός του πειραματικού χώρου χρησιμοποιούνται οι εξής μέθοδοι:[30]

- Steepest ascent: Σε αυτή την περίπτωση η κατεύθυνση αναζήτησης της βέλτιστης περιοχής, είναι μία ευθεία γραμμή. Αφού λοιπόν σχεδιαστεί η ευθεία γραμμή πραγματοποιούνται πειράματα σε κατάλληλες θέσεις πάνω σε αυτή, με ταυτόχρονη μέτρηση της απόκρισης. Εάν εντοπισθεί μια τιμή απόκρισης κοντά στον επιθυμητό μας στόχο, τότε αυτό το σημείο μπορεί να αποτελέσει το κέντρο ενός νέου πειραματικού σχεδιασμού. Σε αυτή τη μέθοδο βελτιστοποίησης περιλαμβάνονται μοντέλα πρώτης τάξης.
- Optimum path: Σε αυτή την περίπτωση η κατεύθυνση αναζήτησης δεν είναι ευθεία γραμμή όπως προηγουμένως, αλλά καμπύλη. Εδώ, περιλαμβάνονται μαθηματικά μοντέλα δεύτερης τάξης.

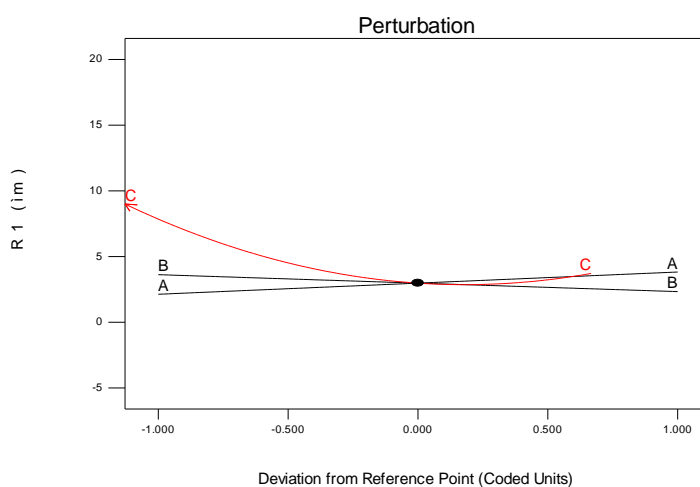
### V.1.3 Βελτιστοποίηση εντός του πειραματικού χώρου.

Θεωρήθηκε επιθυμητή η εύρεση του εύρους των τιμών της ανεξάρτητης μεταβλητής, τα οποία οδηγούν στις χαμηλότερες δυνατές τιμές απόκρισης  $d(v, 0.9)$ , και συνεπώς σε σταθερότερα γαλακτώματα. Με τη βοήθεια του λογισμικού Design Expert οδηγηθήκαμε στον παρακάτω πίνακα για τον Box Behnken σχεδιασμό.

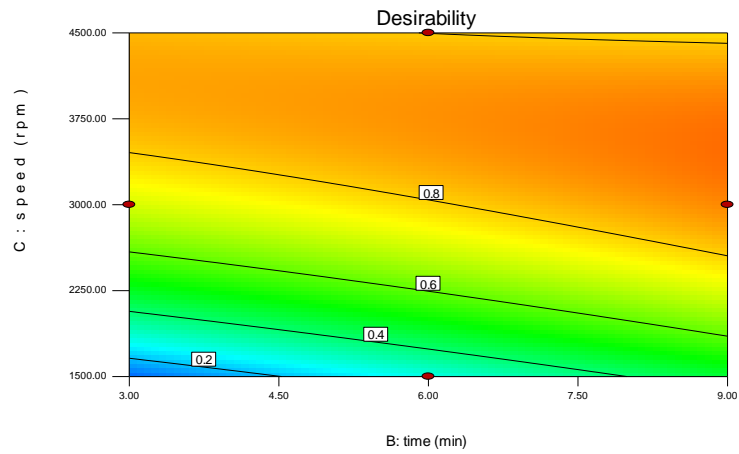
Number	MASS	time	speed	R1	Desirability
1	300	9	3483	1,49	0,895
2	300	9	3461	1,49	0,895
3	300	9	3518	1,49	0,895
4	300	9	3442	1,49	0,895
5	300	9	3533	1,49	0,895
6	300	9	3424	1,49	0,895
7	303	9	3479	1,5	0,895
8	303	9	3492	1,5	0,895
9	300	9	3558	1,5	0,895
10	304	9	3459	1,5	0,895

Παρατηρούμε ότι στο βελτιστο χώρο, επικρατούν οι χαμηλότερες τιμές του παράγοντα A:μαζα γαλακτώματος και οι υψηλότερες τιμές του παραγοντα B:χρόνου ομογενοποίησης, ενώ ο παράγοντας C κυμαίνεται σε τιμές κοντα στις 3500 rpm.

Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 R1 (lm)  
 Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: time = 6.00  
 C: speed = 3500.00



Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 Desirability  
 ● Design Points  
 1.000  
 0.000  
 X1 = B: time  
 X2 = C: speed  
 Actual Factor  
 A: MASS = 300.00



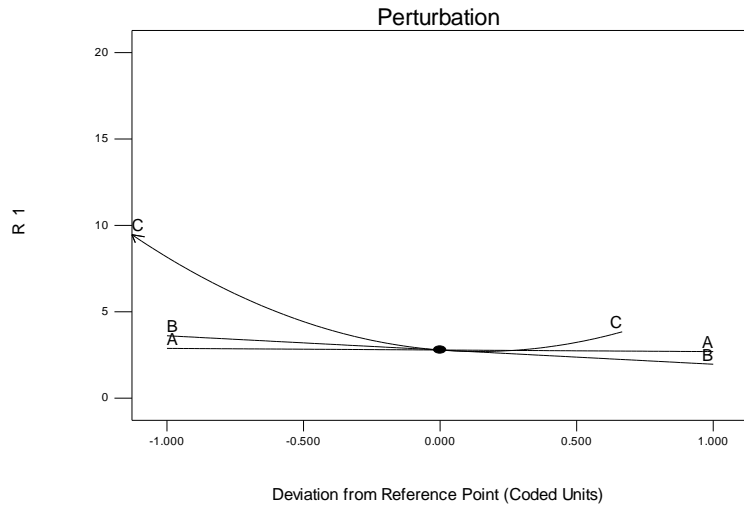
Ο αντίστοιχος πίνακας για τον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό είναι ο παρακάτω:

Number	MASS	time	speed	R1	Desirability
1	504	9	3526	1,99	0,982
2	470	9	3516	2	0,982
3	438	9	3532	2,02	0,982
4	407	9	3514	2,02	0,982
5	357	9	3507	2,04	0,982
6	361	9	3485	2,04	0,977
7	350	9	3488	2,04	0,974
8	307	9	3532	2,06	0,973
9	305	9	3511	2,06	0,973
10	302	9	3520	2,06	0,973



Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 R1

Actual Factors  
 A: MASS = 600.00  
 B: TIME = 6.00  
 C: RPM = 3500.00

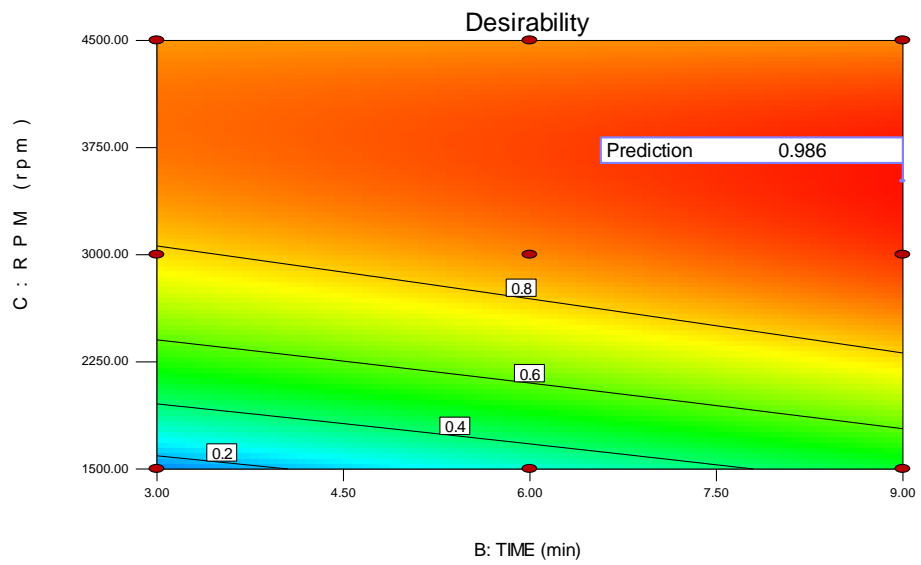


Design-Expert® Software  
 Factor Coding: Actual  
 Desirability

● Design Points  
 1.000  
 0.000

X1 = B: TIME  
 X2 = C: RPM

Actual Factor  
 A: MASS = 900.00



#### V.1.4 Γενικά Συμπεράσματα-Συζήτηση

Μετά από την ανάλυση και τη συγκριτική μελέτη των δύο πειραματικών σχεδιασμών, καταλήξαμε στα παρακάτω συμπεράσματα:

- Ο παράγοντας C: ταχύτητα ομογενοποιήσεως είναι αυτός ο οποίος ασκεί τη μεγαλύτερη επίδραση τόσο στον πλήρη παραγοντικό, όσο και στον Box Behnken σχεδιασμό. Η τιμή  $p$  είναι  $p < 0.0001$  για τον παράγοντα C τόσο στο Box Behnken, όσο και στον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό, κατά την ανάλυση της απόκρισης  $d(v, 0.9)$  για  $t=0$ .
- Στατιστικά σημαντικές εμφανίζονται οι αλληλεπιδράσεις των παραγόντων B: χρόνος ομογενοποίησης και C: ταχύτητα ομογενοποίησης, ενώ ο παράγοντας A: μάζα του προς ομογενοποιησής υλικού, δε συμμετέχει σε στατιστικά σημαντικές αλληλεπιδράσεις. Παράλληλα, ιδιαίτερα καθοριστικό ρόλο διαδραματίζει η αλληλεπίδραση  $C^2$  όπου και στους δύο σχεδιασμούς διαθέτει τιμή  $p < 0,0001$ .
- Η δυνατότητα πρόβλεψης από το εξαγόμενο μαθηματικό μοντέλο είναι μεγαλύτερη στην περίπτωση του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού, δεδομένου ότι η τιμή  $Pred. R-squared=0,84$  στον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό, και  $Pred. R-squared=0.80$  στον Box Behnken σχεδιασμό. Κατά συνέπεια, όπως είναι αναμενόμενο, το σφάλμα πρόβλεψης είναι μικρότερο στον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό.
- Τα πειράματα επιβεβαίωσης (verification runs) τα οποία εκτελεστήκαν, πιστοποίησαν το παραπάνω συμπέρασμα, καθώς οι τιμές της απόκρισης  $d(v, 0.9)$  που λάβαμε ήταν πλησιέστερες προς τις τιμές που είχε προβλέψει το μοντέλο του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού.
- Ο βελτιστός χώρος βρίσκεται σε υψηλές ταχυτητες ομογενοποίησης, και είναι ανεξάρητος του χρόνου ομογενοποίησης. Στις περιπτώσεις στις οποίες ο χρόνος έχει χαμηλές τιμές απαιτούνται οι υψηλότερες τιμές ταχύτητας ομογενοποίησης. Ενδιαφέρουσα θα ήταν η πρόταση να επεκταθεί σε επόμενο στάδιο ο πειραματικός χώρος σε υψηλότερους χρόνους ομογενοποίησης και κοντά σε ταχυτητες 3500 rpm.
- Δεδομένου ότι και οι δύο σχεδιασμοί μπορούν να θεωρηθούν ισοδύναμοι ως προς την αποτελεσματικότητά τους, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι ο Box Behnken σχεδιασμός υπερτερεί εναντι του πλήρους παραγοντικού σχεδιασμού καθώς εξασφαλίζει αξιόπιστα αποτελέσματα παρέχοντας ταυτόχρονα μεγάλη οικονομία χρόνου (υποδιπλάσιος αριθμός πειραμάτων) και χαμηλό κόστος σε σύγκριση με τον πλήρη παραγοντικό.

Γνωρίζοντας πως για την εκτέλεση του Box Behnken σχεδιασμού απαιτήθηκαν 15 πειράματα, ενώ για την εκτέλεση του πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού απαιτήθηκαν 28 πειράματα (δηλαδή αριθμός σχεδόν διπλάσιος), κατανοούμε ότι ο Box Behnken είναι ένας σχεδιασμός που διασφαλίζει οικονομία, τόσο από πλευρά χρόνου, όσο και από πλευρά των δαπανούμενων πόρων, γεγονός το οποίο αποκτά ολοένα και περισσότερη ζήτηση και αξία τη σημερινή εποχή.

Παράλληλα, η ικανοποιητική τιμή του  $R\text{-squared}=0.94$  και του  $\text{Pred. } R\text{-squared}=0.80$ , μας εξασφαλίζουν ότι ο Box Behnken είναι ένας σχεδιασμός ικανός για την πρώτη εξερεύνηση του πειραματικού μας χώρου, στην περίπτωση που επιθυμούμε να λάβουμε κάποια γρήγορα και ταυτόχρονα ασφαλή συμπεράσματα για τους παράγοντες και τις αλληλεπιδράσεις που επιδρούν σημαντικά στη διεργασία μας ή για να προβλέψουμε τιμές της απόκρισης σε σημεία του πειραματικού χώρου, στα οποία δεν εκτελέσαμε πειράματα. Ωστόσο, μια περισσότερο λεπτομερής και ακριβής εξέταση του πειραματικού χώρου πραγματοποιείται με τον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό, αφού στην περίπτωση αυτή τα δεδομένα που παρέχουμε είναι αρκετά περισσότερα, με αποτέλεσμα τα εξαγόμενα συμπεράσματα να είναι πιο ακριβή και να επιτυγχάνουμε καλύτερη διερεύνηση του πειραματικού χώρου. Παράλληλα, είμαστε σε θέση να προβλέψουμε με μεγαλύτερη ακρίβεια τιμές της απόκρισης όντος του πειραματικού χώρου.

Τέλος, οδηγηθήκαμε στο συμπέρασμα πως η διεργασία που προκύπτει από την εκτέλεση του Box Behnken σχεδιασμού είναι ικανή  $Cpk=1.17$  με  $\text{desirability}=0.886$  οδηγώντας με τρόπο επανηληψίμο στα ίδια συμπεράσματα κατά την εκτέλεση των πειραμάτων. Το ίδιο συμβαίνει και με τον πλήρη παραγοντικό σχεδιασμό με  $Cpk=1.50$   $\text{desirability}=1$  (καλύτερη δυνατοτητα πρόβλεψης του μοντέλου).

Ανακεφαλαιώνοντας, οδηγούμαστε στο συμπέρασμα ότι ο Box Behnken σχεδιασμός, μπορεί να χρησιμοποιηθεί σε περιπτώσεις όπου επιθυμείται να ληφθεί μια γρήγορη και ασφαλής σκιαγράφηση του πειραματικού χώρου, με ταυτόχρονο χαμηλό κόστος, και μικρή δαπάνη χρόνου.

## **ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ:**

- 1. Γεώργιος Θ.Παπαιωάννου, Κωνσταντίνος Ν.Δεμέτζος, Μαριλένα Βλάχου, Φαρμακευτική Τεχνολογία Ι.**
- 2.A. O’lenick, Jr. Properties of surfactants: Emulsions, Cosmetics and Toiletries magazine, Vol.120,No.12,Dec.2005**
- 3. Δημήτριος Μ.Ρέκκας, Φαρμακευτική Τεχνολογία ΙΙΙ, Αθήνα 2008.**
- 4. R.Rodford. Safety evaluation of preservatives, International Journal of Cosmetic Science 19, 281-289 (1997).**
- 5. Παρασκευάς Δάλλας, ιδιότητες και εφαρμογές εκδόχων (Σημειώσεις).**
- 6. J.White, A.Groot, I. White. Cosmetics and skin care products, Contact Dermatitis, 32, 591-605, 2011.**
- 7. Tatyana Hamilton, MD,PhD and Gillian C. De Gannes MD,FRCPC, Allergic Contact Dermatitis to Preservatives and Fragrances in Cosmetics, Department of Dermatology and Skin science, University of British Columbia, Vancouver,BC,Canada.**
- 8. A.Varvaresou, S.Papageorgiou et al., Self-preserving cosmetics, International Journal of Cosmetic Science,2009, 31, 163-175.**
- 9.Silvio M.Lavagna, Daniela Secci et al., Efficacy of Hypericum and Calendula oils in the epithelial reconstruction of surgical wounds in childbirth with caesarean section, Il Farmaco 56 (2001), 451-453.**
- 10. K. Zitterl-Eglseer, S. Sosa b et al., Anti-oedematous activities of the main triterpendiol esters of marigold (Calendula officinalis L.), Journal of Ethnopharmacology 57 (1997) 139–144.**
- 11. P.Pommier, F.Gomez et al., Phase III Randomized Trial of Calendula Officinalis Compared With Trolamine for the Prevention of Acute Dermatitis During Irradiation for Breast Cancer. Journal of clinical oncology , vol22,number 8, April 15 2004.**

12. Roopashree TS, Raman Dang, et al., Antibacterial activity of antipsoriatic herbs: Cassia tora, Momordica charantia and Calendula officinalis, International Journal of Applied Research in Natural Products, vol 1(3), pp.20-28, Sep/Oct 2008.

13. Joanne Barnes, Linda A.Anderson and J.David Phillipson. St John's wort (Hypericum perforatum L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2001, 53:583-600.

14. Helen Lavretsky, Complementary and alternative medicine use for treatment and prevention of late-life mood and cognitive disorders, Published in final edited form as: Aging health. 2009 February 1; 5(1): 61-78.

15. Elisa Tedeschi, Marta Menegazzi, Anti-Inflammatory Actions of St. John's Wort: Inhibition of Human Inducible Nitric-Oxide Synthase Expression by Down-Regulating Signal Transducer and Activator of Transcription-1\_

(STAT-1\_). Activation, journal of pharmacology and experimental therapeutics,2003 Oct ,307(1):254-261.

16. De Prati AC, Ciampa AR., et al., STAT1 as a new molecular target of anti-inflammatory treatment. Curr Med Chem, 2005;12(16):1819-28.

17. Albert D, Zundorf I et al., Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. Biochemical Pharmacology. Dec 2002, 64, 1767-1775.

18 Medina MA, Martinez-Poveda B, Amores-Sanchez MI, Quesada AR, Hyperforin: more than an antidepressant bioactive compound Life Sciences 79 (2006) 105-111.

19. Zeb Saddiqe, Ismat Naeem et al., A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum, Journal of Ethnopharmacology 131 (2010), 511-521

14. Helen Lavretsky, Complementary and alternative medicine use for treatment and prevention of late-life mood and cognitive disorders, Published in final edited form as: Aging health. 2009 February 1; 5(1): 61-78.

15. Elisa Tedeschi, Marta Menegazzi, Anti-Inflammatory Actions of St. John's Wort: Inhibition of Human Inducible Nitric-Oxide Synthase Expression by Down-Regulating Signal Transducer and Activator of Transcription-1\_

(STAT-1\_). Activation, journal of pharmacology and experimental therapeutics,2003 Oct ,307(1):254-261.

16. De Prati AC, Ciampa AR., et al., STAT1 as a new molecular target of anti-inflammatory treatment. *Curr Med Chem*, 2005;12(16):1819-28.
  17. Albert D, Zundorf I et al., Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochemical Pharmacology*. Dec 2002, 64, 1767-1775.
  - 18 Medina MA, Martinez-Poveda B, Amores-Sanchez MI, Quesada AR, Hyperforin: more than an antidepressant bioactive compound *Life Sciences* 79 (2006) 105–111.
  19. Zeb Saddiqe, Ismat Naeem et al., A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum*, *Journal of Ethnopharmacology* 131 (2010), 511-521
  20. Production of Emulsions in High-Pressure Homogenizers – Part I: Disruption and Stabilization of Droplets, S. Tesch, B. Freudig and H. Schubert, *Chemical Engineering & Technology*, Volume 26, (2003) Issue 5, pages 569–573.
  21. Methocel cellulose ethers Technical Handbook, DOW, 2010
  - 22 S. Farrokphay. A review of polymeric dispersant stabilization of titania pigment, *Advances in Colloid and Interface Science*, 151, 24-32, 2009.
  23. Abu Jamil Ferdous. Viscosity and stability studies of liquid Pafzaffin emulsions prepared by hydroxypropyl methylcellulose. *Drug development and industrial pharmacy*, 19(9), 1083-1088 (1993)
  24. D. Montgomery. *Experimental Design for product and process design and development*, *The statistician*, 48, Pt. 2, 159-177, 1999
  25. Box-Behnken design: An alternative for the optimization of analytical methods, *Analytica Chimica Acta*, Volume 597, Issue 2, Pages 179-186
  26. [www.silverson.com](http://www.silverson.com)
  27. Malvern instruments, *Getting started*, *Man 0101*, issue 1-3, August 1997
  28. [www.malvern.com](http://www.malvern.com)
  29. Christine M. Anderson-Cook<sup>1</sup>, et al., Mixture and mixture–process variable experiments for pharmaceutical applications, *pharmaceutical statistics*. *Pharmaceut. Statist.* 2004; 3: 247–260
- Published online in Wiley InterScience, ([www.interscience.wiley.com](http://www.interscience.wiley.com)). DOI: 10.1002/pst.138
30. βιβλίο Gareth A. Lewis

**31. Assessing process capability based on the lower confidence bound of Cpk for asymmetric tolerances, European Journal of Operational Research, Volume 191, Issue1, pages 205-227.**

**32. Measuring your process capability, Symphony Technologies, Planning, Design and Analysis, page: 13-25.**

**33. Process capability studies, Don Winton 1999,page: 1-16**

## Table of Contents

I.1.1 Ορισμός των γαλακτωμάτων και κατηγοριοποίηση τους.....	4
I.1.2 Διαδικασία σχηματισμού γαλακτωμάτων.....	5
I.1.3 Υδρόφιλη- Λιπόφιλη ταξινόμηση/ Hydrophil-Lipophil Balance (HLB).....	6
I.1.4 Συντήρηση γαλακτωμάτων-Ιδανικό συντηρητικό.....	8
I.1.5 Σύγχρονη τάση δημιουργίας δημιουργίας καλλυντικό-φαρμακοτεχνικών μορφών, αποτελούμενα από φυσικά προϊόντα.....	10
I.2.1 Calendula officinalis ως συστατικό ελαιώδους φάσης/Βιολογική δράση.....	13
I.2.2 Hypericum perforatum ως συστατικό ελαιώδους φάσης/Βιολογική δράση.....	15
I.2.3 Γαλακτωματοποιητές –Αιθέρες κυτταρίνης.....	17
I.2.4 Σταθερότητα γαλακτωμάτων/Καταστάσεις αποσταθεροποίησης.....	20
II.1.1 Ορισμός συστήματος και εισαγωγή στον πειραματικό σχεδιασμό.....	25
II.1.2 Σκοπός πειραματικού σχεδιασμού.....	29
II.2.1 Box Behnken Πειραματικός Σχεδιασμός- RSM.....	30
II.2.2 Παραγοντικοί σχεδιασμοί.....	33
III.1.1 Σκοπός της μελέτης.....	36
III.1.2 Εφαρμογή του πειραματικού σχεδιασμού.....	37
III.1.3 Αποκρίσεις που χρησιμοποιήθηκαν στην παρούσα εργασία.....	39
III.1.4 Παρασκευή γαλακτωμάτων.....	40
III.1.5 Malvern Mastersizer- Μέτρηση του μεγέθους και της κατανομής των σταγονιδίων.....	43
III.1.6 Θέσπιση Ιεραρχημένης Κλίμακας.....	45
III.1.7 Αξιολόγηση Σταθερότητας των γαλακτωμάτων.....	48
IV.1.1 Box Behnken σχεδιασμός: Αποτελέσματα μέτρησης μεγέθους της ελαιώδους φάσης, σε T=25 και χρόνους t=0, t=1 μήνας, και t=3 μήνες αλλά και κατά τους κύκλους ψύξης/απόψυξης.....	50
IV.2.1 Εισαγωγή και επεξήγηση των στατιστικών όρων που χρησιμοποιούνται κατά την ανάλυση των πειραμάτων του πειραματικού σχεδιασμού.....	51
IV 2.2 Επεξήγηση διαγραμμάτων που χρησιμοποιούνται στους σχεδιασμούς διεργασίας.....	53
IV.2.2 Ανάλυση αποτελεσμάτων στην περίπτωση του Box Behnken σχεδιασμού, για την απόκριση d(v,0.9) και χρόνο t=0.....	54
IV 2.3 Επεξήγηση διαγραμμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στον Box Behnken σχεδιασμό για την απόκριση d(v0,9) και χρόνο t=0.....	57
Perturbation plot.....	57
IV.2.4 Μελετη της σταθερότητας και Αναλυση διασποράς (ANOVA) των μοντέλων για την αποκριση d(v,0.9) σε χρόνο t=1 μήνα με τη χρήση ιεραρχημένων μεταβλητών.....	59



IV.2.3 Επεξήγηση διαγραμμάτων που χρησιμοποιήθηκαν στον Box Behnken σχεδιασμό για την απόκριση $d(v,0,9)$ και χρόνο $t=0$ .....	60
IV.2.4 Μελέτη της σταθερότητας και Ανάλυση Διασποράς (ANOVA) για $t=1$ μήνας.....	62
IV.2.4 Μελετη της σταθερότητας και Ανάλυση διασποράς (ANOVA) των μοντέλων για την αποκριση $d(v,0,9)$ σε συνθηκες επιταχυνομενης γήρανσης κατα την εκτέλεση του δευτερου και του τεταρου κυκλου ψυξης/αποψυξης (freeze/thaw).....	64
IV.2.5 Μελετη της σταθερότητας και Ανάλυση διασποράς (ANOVA) των μοντέλων για την αποκριση $d(v,0,9)$ και χρόνο $t=3$ μήνες.....	69
IV.3.1 Πλήρης παραγοντικός σχεδιασμός.Ανάπτυγμα του σχεδιασμού/ Ανάλυση της απόκρισης $D(V,0,9)$ σε χρόνο $T=0$ .....	72
IV.3.2 Ανάλυση αποκρισης για $d(v,0,9)$ και $t=1$ μήνα.....	77
IV.3.3 Ανάλυση αποκρισης $d(v,0,9)$ κατα την εκτελεση του 2 και 4 κυκλου freeze/thaw.....	79
IV.3.4 Ανάλυση της απόκρισης $d(v,0,9)$ για $t=3$ μήνες.....	84
IV.3.5 Ανάλυση του σφάλματος πρόβλεψης του Box Behnken και πλήρη παραγοντικού σχεδιασμού.....	86
V.1.1 Τεχνικές μελέτης και ανάλυσης ικανότητας διεργασίας.....	89
V.1.2 Πειραματικός Σχεδιασμός - Βελτιστοποίηση (Optimization).....	
<b>Error! Bookmark not defined.</b>	
V.1.3 Βελτιστοποίηση εντός του πειραματικού χώρου.....	92
V.1.4 Γενικά Συμπεράσματα-Συζήτηση.....	97