



Research Article

Formulation of Moisturizing Cream Containing Collagen and Argan Oil: An *in vivo* Evaluation

Abdolhossein Miri¹, Sara Daneshmand^{2*}, Fereshteh Sohrabi³, Mostafa Heidari Majd⁴

¹ Professor, Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

² Assistant Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

³ Pharmacist, Faculty of Pharmacy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

⁴ Associate Professor, Department of Medicinal Chemistry, Faculty of Pharmacy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran

*Corresponding author: Sara Daneshmand, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Zabol University of Medical Sciences, Zabol, Iran. E-mail: sdmehrpooya@gmail.com

DOI: [10.32592/nkums.15.1.1](https://doi.org/10.32592/nkums.15.1.1)

How to Cite this Article:

Miri A, Daneshmand S, Sohrabi F, Heidari Majd M. Formulation of Moisturizing Cream Containing Collagen and Argan Oil: An *in Vivo* Evaluation. J North Khorasan Univ Med Sci. 2023;15(1):1-9. DOI: 10.32592/nkums.15.1.1

Received: 26 June 2022

Accepted: 21 December 2022

Keywords:

Argan oil

Collagen

Hydration

Moisturizing

Abstract

Introduction: Natural oils, including argan oil, are used to moisturize the skin. Collagen is one of the body's proteins that plays an important role in the structure of the skin. Therefore, in this study, the moisturizing effect of creams containing collagen and argan oil was studied.

Method: Using Design Expert statistical software, 13 formulations were designed and synthesized. They were evaluated for spreadability and viscosity, and the optimized formulation was selected. The formulations underwent physicochemical control experiments, such as uniformity of products, thermal stress, centrifugal force resistance, and pH measurements. The moisturizing effect was investigated with *in-vitro* and *in-vivo* studies.

Results: Cream containing 5% collagen and 5% argan oil was selected as the optimal formulation. The blocking factor of the cream containing collagen and argan oil was higher than the negative control 48 h after the study ($P < 0.05$). The amount of hydration of the cream containing collagen and argan oil on the skin of the hand was higher than the negative control 5 h after the study ($P < 0.05$). The optimal formulation showed good stability against physicochemical control experiments.

Conclusion: Moisturizing cream containing collagen and argan oil had a more moisturizing effect than cream without collagen and argan oil and increased skin hydration.



فرمولاسیون کرم مرطوب کننده حاوی کلاژن و روغن آرگان و بررسی اثر مرطوب کنندگی آن به روش درون تنی

عبدالحسین میری^۱، سارا دانشمند^{۲*}، فرشته سهرابی^۳، مصطفی حیدری مجد^۴

^۱ استاد، گروه فارماکونوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

^۲ استادیار، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

^۳ داروساز، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

^۴ دانشیار، گروه شیمی دارویی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران

* نویسنده مسئول: سارا دانشمند، گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی زابل، زابل، ایران. ایمیل:

sdmehrpooa@gmail.com

DOI: 10.32592/nkums.15.1.1

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۴/۰۵	چکیده
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۹/۳۰	مقدمه: روغن های طبیعی از جمله روغن آرگان از موادی هستند که برای مرطوب کنندگی پوست استفاده می شوند. کلاژن نیز از پروتئین های بدن است که نقش مهمی در ساختار پوست ایفا می کند. از این رو، در این مطالعه، اثر مرطوب کنندگی کرم حاوی کلاژن و روغن آرگان بررسی شد.
واژگان کلیدی:	روش کار: با استفاده از نرم افزار آماری Design Expert، ۱۳ فرمولاسیون طراحی و سنتز شد. تست های پخش پذیری و ویسکوزیته به عنوان پاسخ، ارائه و فرمولاسیون بهینه انتخاب شد. آزمایش های کنترل فیزیکوشیمیایی نظیر یکنواختی فرآورده ها، تغییرات دمایی، پایداری در برابر نیروی گریز از مرکز، بررسی فرمولاسیون از نظر عدم ایجاد کریمینگ و کوالانس و در پایان، اندازه گیری pH فرمولاسیون ها انجام و اثر مرطوب کنندگی آن بررسی شد.
روغن آرگان	یافته ها: کرم حاوی ۵ درصد کلاژن و روغن آرگان، به عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد. فاکتور مسدود کنندگی کرم حاوی کلاژن و روغن آرگان، ۴۸ ساعت پس از مطالعه بیشتر از کنترل منفی بود ($P < 0.05$). میزان هیدراتاسیون کرم حاوی کلاژن و روغن آرگان روی پوست دست، ۵ ساعت پس از مطالعه بیشتر از کنترل منفی بود ($P < 0.05$). فرمولاسیون بهینه پایداری خوبی در برابر آزمایش های کنترل فیزیکوشیمیایی از خود نشان داد.
کلاژن	نتیجه گیری: کرم مرطوب کننده حاوی کلاژن و روغن آرگان اثر مرطوب کنندگی بیشتری در مقایسه با کرم بدون کلاژن و روغن آرگان دارد و هیدراتاسیون پوست را افزایش می دهد.
مرطوب کنندگی	
هیدراتاسیون	

مقدمه

پوستی شکایت دارند. شدت این علائم با عوامل بیرونی متعددی مانند آب و هوای خشک، دمای هوا و شست و شوی زیاد، به خصوص همراه با استفاده از شوینده های صنعتی مرتبط است [۱]. از طرف دیگر، عوامل متعدد فیزیوپاتولوژیکی مانند اختلالات کراتینه شدن SC، تغییر در چربی های بین سلولی و فیلم هیدرولپیدی، اختلال در متابولیسم آب و تغییرات pH منجر به خشکی پوست می شوند [۲]. افزایش چربی پوست یکی از روش هایی است که باعث کاهش سرعت تبخیر آب پوست و نگهداری آب در لایه شاخی پوست می شود.

روغن آرگان یکی از مواد طبیعی است که باعث کاهش خشکی پوست و مو و کاهش چین و چروک پوست می شود و خاصیت کنترل سبوم دارد. روغن آرگان با هدف کاهش ترشح سبوم، به شامپوها و نرم کننده های مو اضافه می شود و باعث ترمیم پوست سر و نرمی و ابریشمی شدن مو می شود [۳].

پوست یکی از مهم ترین اعضای بدن است که به عنوان اولین سد دفاعی در مقابل عوامل خارجی در نظر گرفته می شود. از طرف دیگر، این عضو عامل زیبایی است و زندگی اجتماعی افراد را به شدت تحت تأثیر قرار می دهد. لذا، محافظت از پوست و داشتن پوست سالم، طبیعی و شاداب اولویت دارد. آب از عوامل مهم موجود در پوست است که وجود آن برای عملکرد طبیعی پوست ضروری است. آب نقش کلیدی در انعطاف پذیری لایه های فوقانی، فرایند تمایز، پوسته ریزی و ظاهر نهایی پوست دارد. مطالعات نشان داده است که محتوای آب اپیدرم بیش از ۷۰ درصد است و در محل اتصال بین استراتوم گرانولوزوم (SG) و استراتوم کورنئوم (SC)، به ۱۰ تا ۳۰ درصد می رسد [۱].

افزایش سن یکی از عواملی است که باعث خشکی پوست می شود و افراد درگیر معمولاً از علائمی نظیر ترک خوردگی سطحی، خارش و سوزش

را تأیید کردند [۹].

با توجه به اهمیت سلامت پوست و حفاظت آن از آسیب‌های محیطی، و با عنایت به خواص روغن آرگان و کلاژن، در این مطالعه تلاش شد تا فرمولاسیون بهینه‌ای از مرطوب‌کننده‌ای با مواد فوق طراحی شود و تأثیر آن بر رطوبت پوست به‌روش مسدودکنندگی و خواص فیزیکی‌شیمیایی کرم حاوی کلاژن و روغن آرگان بررسی شود.

روش کار

مواد استفاده‌شده

در این پژوهش از پارافین مایع (Merck، آلمان)، استئاریک اسید (Scharlab، اسپانیا)، لانولین (فارابی، ایران)، تری اتانول آمین (Acros، آمریکا)، متیل پارابن (Merck، آلمان)، روغن آرگان (شرکت روغن طلای آسیا، ایران) و کلاژن (BASF، آلمان) استفاده شد.

طراحی و فرمولاسیون کرم پایه

به‌منظور طراحی فرمولاسیون کرم‌ها، از نرم‌افزار Design Expert نسخه ۹، روش سطح پاسخ (RSM Response Surface Methodology) انتخاب شد و طرح ترکیب مرکزی (Central Composite Design) CCD با سطح احتمال ۵ درصد و آلفای برابر ۱، با ۴ نقطه مرکزی برای آن برگزیده شد. متغیرهای مستقل شامل درصد کلاژن (X_1) و درصد روغن آرگان (X_2) بود. ویسکوزیته و میزان پخش‌پذیری فرمولاسیون‌ها، به‌عنوان پاسخ در این طراحی در نظر گرفته شد (جدول ۱). برای افزایش دقت در تحلیل آماری، تمام تست‌ها با سه تکرار انجام و میانگین سه تکرار در طرح سطح پاسخ گزارش شد. اطلاعات ارائه‌شده در این بخش کمک می‌کند تا تأثیر میزان ماده اولیه بر ویژگی‌های کرم تولیدشده بررسی و تحلیل شود تا بهترین روش و شرایط برای تولید کرم حاوی کلاژن و روغن آرگان به‌دست آید. در این روش، برای هر متغیر وابسته، مدلی تعریف شد که آثار اصلی و متقابل فاکتورها را در هر متغیر جداگانه بیان می‌کند. پس از تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار، مدلی پیشنهاد شد که ضریب همبستگی بیشتری داشته باشد [۱۰، ۱۱].

مصرف موضعی روغن آرگان با بهبود عملکرد الاستیسیته و هیدراتاسیون پوست، باعث حفظ عملکرد حفاظتی و حفظ ظرفیت نگهداری آب در پوست می‌شود. در تحقیقی که بوستا و همکاران انجام دادند، تأیید شد که مصرف روزانه روغن آرگان، باعث بهبود قابلیت ارتجاعی پوست می‌شود و اثرات ضدپیری دارد [۴]. Sarkar و همکاران در تحقیقاتشان، با استفاده از روغن‌های گیاهی در درماتولوژی، بیان کردند که روغن آرگان اثر تنظیمی بر ترشح سبوم دارد و در درمان آکنه مؤثر است. علاوه بر این، روغن آرگان خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی دارد و به‌عنوان محصول ضدپیری استفاده می‌شود [۵].

اخیراً، نشان داده شده است که روغن آرگان خوراکی-موضعی، پوست بدن را در دوران یائسگی آب‌رسانی می‌کند و باعث حفظ خاصیت ارتجاعی پوست می‌شود. همچنین، موجب افزایش قابل توجهی در محتوای آب اپیدرم و کاهش معناداری در از دست دادن آب ترانس اپیدرمی می‌شود [۴، ۵]. Carmen و همکاران، در پژوهشی به بررسی استفاده از روغن آرگان در کرم دور چشم و کرم تغذیه‌کننده پوست پرداختند و نشان دادند که استفاده ۲۸ روزه از این کرم‌ها، باعث کاهش سطح و تعداد چین‌وچروک‌ها شده است [۶]. همچنین، Budiasih و همکاران در تحقیق خود روی سرم آرایشی حاوی روغن آرگان، به بررسی اثر مرطوب‌کنندگی سرم در درصدهای مختلف از روغن آرگان پرداختند [۷].

کلاژن فراوان‌ترین پروتئین بدن حیوانات و ماده اصلی بافت همبند، تاندون‌ها، رباط‌ها و قریه است و ماتریکس استخوان‌ها و دندان‌ها را تشکیل می‌دهد. ساختار کلاژن نشان‌دهنده نقش اساسی آن در تأمین سفتی و یکپارچگی پوست است. Stefano و همکاران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که کرم کلاژن تهیه‌شده، سبب بهبود قابل توجهی در رطوبت مخاط واژن و پوست شکم شده است و بیان کردند که استفاده از کرم کلاژن، هیدراتاسیون موضعی را در پوست شکم افزایش می‌دهد [۸]. مکمل‌های کلاژن با ایجاد چین‌وچروک و پیری پوست مقابله و رطوبت پوست را حفظ می‌کنند و انعطاف‌پذیری پوست را بهبود می‌بخشند. Borumand و همکاران نیز در تحقیقات خود، اثرات کلاژن

جدول ۱. فرمولاسیون‌های حاوی درصدهای مختلف کلاژن و روغن آرگان

ردیف	کلاژن X_1 درصد وزنی/وزنی	روغن آرگان X_2 درصد وزنی/وزنی	پاسخ ۱ ویسکوزیته/سانتی پواز	پاسخ ۲ پخش‌پذیری / گرم، سانتی‌متر / ثانیه	پاسخ ۳ pH
۱	۵	۳	۳۳۰۰۰	۱۵/۸۷	۵/۲
۲	۷	۳	۳۷۰۰۰	۱۵	۵/۳
۳	۵	۳	۳۴۰۰۰	۱۵/۹۳	۵/۳
۴	۳	۳	۳۰۰۰۰	۱۶/۵۵	۵/۴
۵	۵	۳	۳۴۰۰۰	۱۶/۴۱	۵/۵
۶	۳	۵	۲۷۰۰۰	۱۸	۵/۴
۷	۳	۱	۲۹۰۰۰	۱۳/۷۱	۵/۲
۸	۵	۱	۳۰۰۰۰	۱۳/۶۲	۵/۳
۹	۷	۱	۴۰۰۰۰	۱۳/۲۱	۵/۲
۱۰	۵	۳	۳۳۰۰۰	۱۶/۳۲	۵/۵
۱۱	۵	۵	۳۱۰۰۰	۱۹/۶۷	۵/۵
۱۲	۵	۳	۳۴۰۰۰	۱۶/۵۵	۵/۴
۱۳	۷	۵	۳۹۰۰۰	۱۷/۸۷	۵/۲

اندازه‌گیری pH فرمولاسیون

بررسی فرمولاسیون از نظر تغییرات pH نیز اهمیت دارد؛ زیرا این تغییرات نشان‌دهنده فعالیت عوامل قارچی یا میکروبی است که به‌نوعی سبب تخریب فرمولاسیون می‌شود. لذا، pH فرمولاسیون طی یک دوره زمانی، از ۴۸ ساعت بعد از تهیه فرمولاسیون تا ۳ ماه بعد، با استفاده از pH متر (Metrohm pH Lab ۸۲۷، سوئیس) اندازه‌گیری شد [۱۴].

بررسی فرمولاسیون از نظر عدم ایجاد کرمینگ و کوالانس

پدیده کرمینگ به این مفهوم است که ذرات و قطرات معلق در امولسیون، در اثر نیروی ثقل، به سمت بالا یا پایین حرکت کنند. اگر در کرمینگ، لخته‌های سخت به‌وجود نیاید، با به‌هم زدن، به‌راحتی به حالت اول خود برمی‌گردد. کوالانس نیز به‌معنای پیوستن قطرات درشت است. این دو پدیده از علائم ناپایداری امولسیون‌ها هستند. بدین علت، بررسی فرآورده‌ها از نظر ایجاد این دو حالت لازم است [۱۴].

آزمایش تغییرات دمایی

برای بررسی پایداری فرآورده‌ها در فصول مختلف و شرایط گوناگون آب‌وهوایی، از آزمایش تغییرات دمایی استفاده می‌شود. تغییرات دمایی با تسریع واکنش‌های داخلی فرآورده‌ها، باعث کاهش پایداری می‌شود. لذا، یک فرمولاسیون مطلوب باید بتواند در دوره‌های معین و در دماهای گوناگون، کیفیت خود را از نظر خواص ارگانولپتیک مانند رنگ، بو، ویسکوزیته و یکنواختی حفظ کند. در این آزمایش، پس از رسیدن فرمولاسیون‌ها به تعادل، ۳ نمونه ۱۵ گرمی از فرمولاسیون انتخاب شد. یکی از نمونه‌ها در دمای ۴ تا ۶ درجه سانتی‌گراد، دیگری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و سومی در دمای ۴۵ تا ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. فرمولاسیون از نظر خصوصیات ظاهری به‌ترتیب ۲۴ ساعت، ۱ هفته، ۱ ماه و ۳ ماه بعد بررسی شد [۱۴].

اندازه‌گیری فاکتور مسدودکنندگی به‌روش برون‌تنی

۵۰ میلی‌لیتر آب در بشرهای ۱۰۰ میلی‌لیتری، ریخته و با صافی سلولز استات، روی بشر کاملاً پوشانده شد. نمونه‌ها روی صافی به‌مقدار ۲ میلی‌گرم در سانتی‌متر مربع پخش و به‌دقت توزین شدند. بشرها در دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۵۰ تا ۵۵ درصد، برای ۴۸ ساعت نگهداری و در زمان‌های ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت توزین شدند. فاکتور مسدودکنندگی با استفاده از معادله ۲ محاسبه شد:

$$\text{معادله ۲: فرمول مسدودکنندگی } F = 100 \times ((A-B)/A)$$

A = میزان آب ازدست‌رفته وقتی نمونه روی غشا قرار ندارد =

B = میزان آب ازدست‌رفته وقتی نمونه روی غشا قرار دارد =

محاسبه میزان نمونه لازم برای سطح هر بشر

سطح دهانه هر بشر با استفاده از معادله ۳ محاسبه شد:

$$\text{معادله ۳: } A = \pi r^2$$

A = مساحت دهانه بشر و سلولز استات =

r = شعاع دهانه بشر =

برای تهیه کرم، فاز چربی (پارافین مایع، استئاریک اسید، لائولین و روغن آرگان) در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد آماده شد و در حال هم‌زدن، به‌آرامی به فاز آبی (تری اتانول آمین، متیل پارابن و آب مقطر) افزوده شد که با فاز چربی هم‌دم شده بود. سپس، کلاژن اضافه و هم زده شد تا هم‌وزن شود [۱۰].

پخش‌پذیری (Spreadability)

برای جذب بهتر و مناسب و همچنین پذیرش بهتر کرم نزد مصرف‌کننده، کرم باید پخش‌پذیری مناسبی داشته باشد. از این رو، برای بررسی تست پخش‌پذیری کرم‌های تهیه‌شده، از لام شیشه‌ای با ابعاد و وزن استاندارد استفاده شد. برای این کار، ۲ گرم از کرم برداشته و در مرکز، بین دو خط با فاصله ۴ سانتی‌متر گذاشته شد که در وسط صفحه شیشه‌ای معین شده بود. سپس، صفحه استاندارد دوم که وزن آن ۱۱۰ گرم بود، به‌آرامی به‌طوری که حبابی زیر آن نباشد، روی کرم قرار داده شد (کرم بین دو صفحه قرار گرفت). سپس، منتظر ماندیم تا کرم به‌آرامی زیر صفحه پخش شود. زمان پخش‌پذیری از زمانی که شیشه دوم قرار داده شد تا زمانی که کرم پخش شد و به دو خط معین شده رسید، محاسبه شد. طبق فرمول پخش‌پذیری (معادله ۱)، هرچه زمان پخش‌پذیری کمتر باشد، کرم پخش‌پذیری بیشتر و بهتری دارد و این نشان‌دهنده کرم باکیفیت‌تر است [۱۲].

$$\text{معادله ۱: پخش‌پذیری } S = M.L/T$$

(گرم.سانتی‌متر/ثانیه) S =

M = وزن صفحه رویی (گرم)

L = طول (سانتی‌متر)

T = زمان (ثانیه)

اندازه‌گیری ویسکوزیته

برای تعیین ویسکوزیته کرم‌ها با نسبت‌های مختلف، مخلوط آن‌ها در تنش‌های برشی (Shear rates) متفاوت، با استفاده از ویسکومتر چرخشی Brookfield مدل R/S، اسپیندل ۲۵ سی‌سی در محدوده سرعت برش ۱۵۰/۱-۱۰-۱ در دمای آزمایشگاه اندازه‌گیری شد [۱۳].

یکنواختی فرمولاسیون

برای مطالعه یکنواختی فرمولاسیون، ۲۴ ساعت بعد از تهیه فرمولاسیون، لایه نازکی از کرم روی لام قرار داده و یکنواختی فرمولاسیون با میکروسکوپ بررسی شد. این آزمایش به‌ترتیب ۴۸ ساعت بعد از زمان تهیه، ۱ هفته، ۱ ماه و ۳ ماه بعد نیز انجام شد. فرآورده‌ای قابل قبول است که پراکندگی و یکنواختی مناسبی داشته باشد [۱۴].

پایداری در برابر نیروی گریز از مرکز

۲۴ ساعت بعد از تهیه فرمولاسیون، مقداری از کرم وارد یک لوله فالکون شد و عمل سانتریفیوژ (Hettich، آلمان) با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه روی آن انجام شد. پس از گذشت ۵، ۱۵، ۳۰ و ۶۰ دقیقه از زمان سانتریفیوژ، پایداری فرمولاسیون بهینه بررسی شد [۱۴].

نمونه‌های استفاده‌شده

۳ عدد بشر برای حالتی که هیچ نمونه‌ای روی سطح سلولزاستات قرار ندارد.
۳ عدد بشر برای حالتی که کرم بدون روغن آرگان و کلاژن، روی سطح سلولزاستات قرار دارد.

۳ عدد بشر برای حالتی که کرم حاوی کلاژن و بدون روغن آرگان، روی سطح سلولزاستات قرار دارد.

۳ عدد بشر برای حالتی که کرم حاوی روغن آرگان و بدون کلاژن، روی سطح سلولزاستات قرار دارد.

۳ عدد بشر برای حالتی که فرمولاسیون بهینه روی سطح سلولزاستات قرار دارد (کنترل منفی).

۳ عدد بشر برای حالتی که کرم انتخاب‌شده به‌عنوان کنترل مثبت (کرم مرطوب‌کننده حاوی کلاژن برند Espanol) روی سطح سلولزاستات قرار دارد.

نمونه‌ها پس از توزین دقیق، در انکوباتور CO_2 ، با دما و رطوبت مدنظر، به‌مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و در زمان‌های ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت، توزین شدند. اختلاف وزن آن‌ها با وزن اولیه محاسبه و درنهایت، فاکتور مسدودکنندگی محاسبه شد [۱۵].

تعیین اثر مرطوب‌کنندگی به‌روش درون‌تنی

در این روش، مقدار هدایت الکتریکی و درنتیجه، میزان رطوبت پوست با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج (SK-8، چین) اندازه‌گیری شد. از داوطلبان خواسته شد که از یک هفته قبل از انجام آزمایش، از استعمال هرگونه فرآورده روی موضع مورد بررسی خودداری کنند. داوطلبان ۶ نفر و در محدوده سنی ۲۰ تا ۳۰ سال بودند. داوطلبان از نیم ساعت قبل از انجام آزمایش، در شرایط محیطی نرمال (دما و رطوبت اتاق معمولی) قرار گرفتند. همچنین، طی مدت بررسی، داوطلبان زیر نور مستقیم خورشید یا لامپ قرار نگرفتند. طی ۳۰ دقیقه اول بعد از استعمال فرآورده‌ها، رطوبت پوست نامطمئن و رطوبت سنجیده‌شده بیشتر مربوط به خود فرآورده است. بنابراین، اولین اندازه‌گیری، ۳۰ دقیقه پس از استعمال انجام شد. قبل از استعمال فرآورده نیز رطوبت پوست به‌عنوان زمان صفر اندازه‌گیری شد.

بررسی مرطوب‌کنندگی فرمولاسیون‌های مختلف روی ۶ داوطلب به‌صورت زیر انجام شد:

بعد از قرارگیری داوطلبان در شرایط محیطی و سازگاری با شرایط محیط، روی قسمت داخلی ساعد هر دو دست داوطلبان، مستطیلی به ابعاد 10×2 سانتی‌متر رسم شد. قبل از استعمال نمونه، با دستگاه رطوبت‌سنج، میزان رطوبت دست بدون نمونه اندازه‌گیری شد (در تمام مراحل، اندازه‌گیری در سه نقطه متفاوت داخل مستطیل انجام شد). سپس، از نمونه‌های مختلف، ۲ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع به‌طور جداگانه روی دست افراد مالیده و در تمام نواحی داخلی مستطیل به‌طور یکسان و کامل پخش شد. با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج، در زمان‌های ۰/۵، ۱، ۳ و ۵ ساعت بعد از مالیدن نمونه، رطوبت پوست در

سه نطقه مختلف و مشخص اندازه‌گیری و ثبت شد. از کناره‌های مستطیل ترسیم‌شده روی هر دست به‌عنوان کنترل منفی (که هیچ فرمولی روی آن استعمال نشده است) برای همان نمونه استفاده شد. طی بررسی، از داوطلبان خواسته شد تا حد امکان از برخورد هرگونه جسم خارجی به محل استعمال، به‌خصوص در ۱ ساعت اول جلوگیری کنند. همچنین، از داوطلبان خواسته شد تا اتمام مراحل آزمایش، در همان محیط باشند و از انجام اموری که باعث افزایش تعریق پوست می‌شود، اجتناب کنند تا شرایط دقیق‌تری حاصل شود. مقدار پخش‌شده نمونه‌ها ۲ میلی‌گرم بر سانتی‌متر مربع بود که روی پوست ساعد دست به‌طور یکنواخت توزیع و اثر مرطوب‌کنندگی فرآورده با استفاده از دستگاه رطوبت‌سنج اندازه‌گیری شد [۱۶].

نتایج به‌صورت میانگین و انحراف استاندارد گزارش شد. آزمون‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۶ USA تجزیه و تحلیل شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از آزمون آنوای یک‌طرفه انجام شد. $P > 0/05$ به مفهوم اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

طراحی و تحلیل فرمولاسیون‌های مختلف کرم با نرم‌افزار Design Expert انجام شد که مطابق جدول ۱ است. در همه فرمولاسیون‌ها، پارافین مایع (۲/۵ درصد)، استئاریک اسید (۷/۲۵ درصد)، لانولین (۱/۵ درصد)، تری اتانول آمین (۰/۷۵ درصد)، متیل پارابن (۰/۰۵ درصد) و آب مقطر تا ۱۰۰ گرم مقادیر ثابت است. طبق جدول ۱، مقدار کلاژن و روغن آرگان برای هر فرمول تغییر می‌کند. داده‌های حاصل از نتایج آزمایشگاهی با داده‌های پیش‌بینی‌شده توسط نرم‌افزار مقایسه و درصد خطا محاسبه شد. به این صورت که، در فرمولاسیون بهینه، پخش‌پذیری و ویسکوزیته اندازه‌گیری‌شده به‌ترتیب $19/67$ و 31000 بود و اعداد پیش‌بینی‌شده برای پخش‌پذیری و ویسکوزیته توسط نرم‌افزار به‌ترتیب $18/98$ و 30000 بود. برای به‌دست آوردن درصد خطا، درصد نسبت اختلاف مقدار واقعی و پیش‌بینی‌شده به‌مقدار واقعی برای هرکدام از متغیرها با استفاده از معادله ۴ محاسبه شد (جدول ۲).

جدول ۲. درصد خطای داده‌ها

پاسخ‌ها	داده‌های آزمایشگاهی	پیش‌بینی‌شده با نرم‌افزار	داده‌های درصد خطا
پخش‌پذیری	۱۹/۶۷	۱۸/۹۸	۳/۵
ویسکوزیته	۳۱۰۰۰	۳۰۰۰۰	۳/۲۲

معادله ۴: محاسبات مربوط به درصد خطا

$$100 \times \left| \frac{\text{داده‌های پیش‌بینی‌شده-داده‌های آزمایشگاهی}}{\text{داده‌های آزمایشگاهی}} \right|$$

پخش پذیری (Spreadability)

نتایج حاصل از تحلیل داده‌های مربوط به آزمون پخش پذیری مطابق شکل ۱ است. در شکل ۱، با توجه به نمودار سه بعدی پخش پذیری حاصل از تحلیل داده‌های نرم افزار Design Expert، با افزایش میزان روغن آرگان، میزان پخش پذیری افزایش می‌یابد. بهینه سازی شامل تخمین ضرایب در مدل ریاضی و پیش بینی پاسخ و بررسی صحت مدل است که با توجه به ضرایب به دست آمده از تحلیل رگرسیون، بهترین معادله برای پخش پذیری به صورت زیر است (معادله ۵):

معادله ۵: بهترین معادله برای پخش پذیری

$$Y = 18.73 + 0.846X_2 + 15.37X_1X_2$$

Y=پخش پذیری

X_1 =مقدار کلاژن

X_2 =مقدار روغن آرگان

توانایی پیش بینی کلی مدل که معمولاً با R^2 شرح داده می‌شود و معیاری از میزان اندازه گیری تطبیق پذیری مدل است، حدود ۹۸/۳۴ درصد بود. عدم انطباق (Lack of fit) که معیاری از ناکارآمدی مدل در داده‌های موجود در دامنه آزمایش و بیانگر مقایسه خطای خالص و خطای باقی مانده در آزمایش‌های تکراری است، حدود ۰/۱۳ به دست آمد که نشان دهنده انطباق مناسب داده‌ها با مدل بود.

ویسکوزیته

محدوده استاندارد ویسکوزیته کرم ۲۵۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰ سانتی پواز است که برای همه فرمولاسیون‌ها در این محدوده است [۱۷]. نتایج حاصل از تحلیل داده‌های مربوط به آزمون ویسکوزیته، مطابق شکل ۲ است. در شکل ۲، با توجه به نمودار سه بعدی ویسکوزیته که از تحلیل داده‌ها در نرم افزار Design Expert به دست آمد، با افزایش میزان کلاژن، ویسکوزیته افزایش می‌یابد. با توجه به ضرایب به دست آمده از تحلیل رگرسیون، بهترین معادله برای مدل رگرسیون چندجمله‌ای برای ویسکوزیته، به صورت معادله ۶ است. معادله ۶: بهترین معادله برای یک مدل رگرسیون چندجمله‌ای برای ویسکوزیته

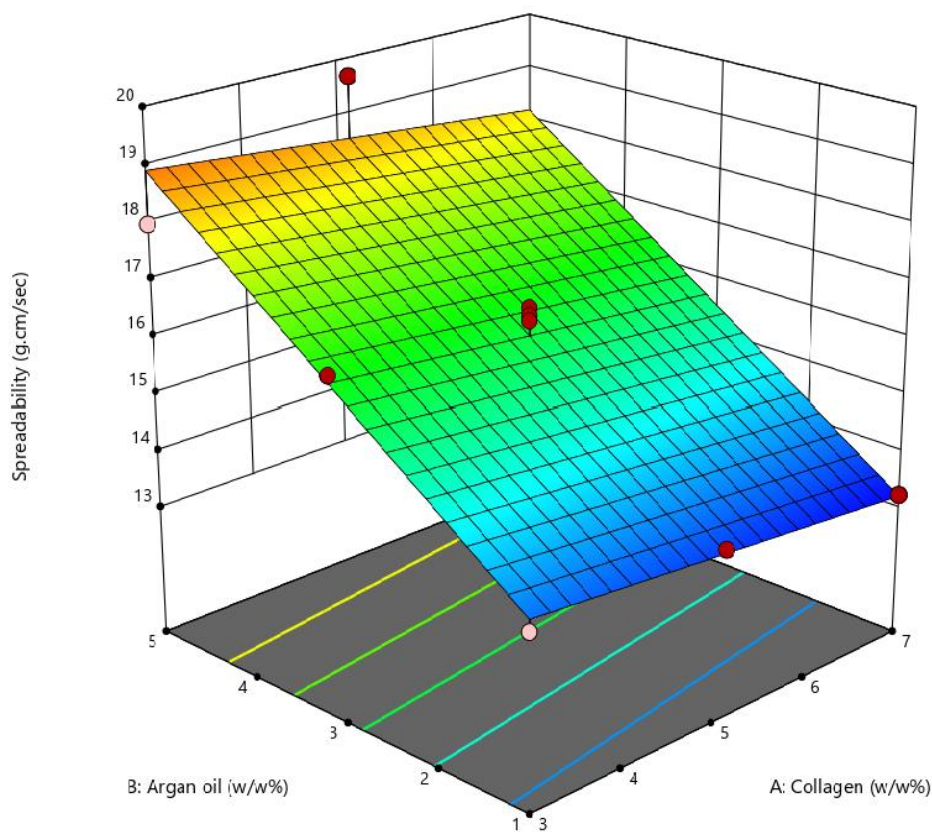
$$Y = 30000 + 0.931X_1$$

Y=ویسکوزیته

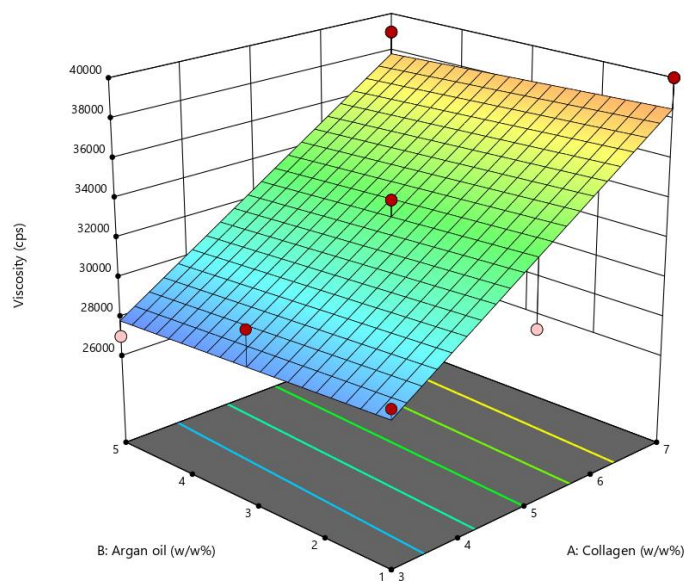
X_1 =مقدار کلاژن

X_2 =مقدار روغن آرگان

توانایی پیش بینی کلی مدل R^2 حدود ۹۸/۸۶ درصد بود. عدم انطباق (Lack of fit) حدود ۰/۱۲ به دست آمد که نشان دهنده انطباق مناسب داده‌ها با مدل بود. با توجه به داده‌های به دست آمده از تست‌های ویسکوزیته و پخش پذیری و تحلیل داده‌ها در نرم افزار Design Expert، نمونه شماره ۱۱ در جدول ۱ با درصد مطلوبیت (desirability) ۰/۹۸، به عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد که حاوی ۵ درصد کلاژن و ۵ درصد روغن آرگان است.



شکل ۱. نمودار سه بعدی پخش پذیری در برابر غلظت کلاژن و غلظت روغن آرگان



شکل ۲. نمودار سه بعدی ویسکوزیته در برابر غلظت کلاژن و غلظت روغن آرگان

یکنواختی فرمولاسیون
فرمولاسیون بهینه پس از تهیه، با میکروسکوپ بررسی شد و تا پایان دوره سه ماهه، یکنواختی خود را حفظ کرد.

بررسی فاکتور مسدودکنندگی به روش برون تنی

شکل ۳. مقایسه‌ای بین میانگین درصد فاکتور مسدودکنندگی در زمان‌های ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت پس از قرار گرفتن فرمولاسیون‌ها روی سطح سلولز استات را نشان می‌دهد. ۶ ساعت پس از شروع مطالعه، میانگین درصد فاکتور مسدودکنندگی در همه فرمولاسیون‌ها با تفاوت معنی‌داری، بیشتر از کنترل منفی بود ($P < 0.05$). ۲۴ ساعت پس از شروع مطالعه، میانگین درصد فاکتور مسدودکنندگی در همه فرمولاسیون‌ها با تفاوت معنی‌داری، بیشتر از کنترل منفی بود ($P < 0.05$). ۴۸ ساعت پس از شروع مطالعه، میانگین درصد فاکتور مسدودکنندگی فرمولاسیون‌ها به بقیه فرمولاسیون‌ها بیشتر از کنترل منفی بود ($P < 0.05$).

بررسی فرمولاسیون از نظر عدم ایجاد کرمینگ و کوالسانس

فرمولاسیون بهینه تهیه شده طی ۳ ماه نگهداری در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، کیفیت خود را به خوبی حفظ کرد.

پایداری در برابر نیروی گریز از مرکز

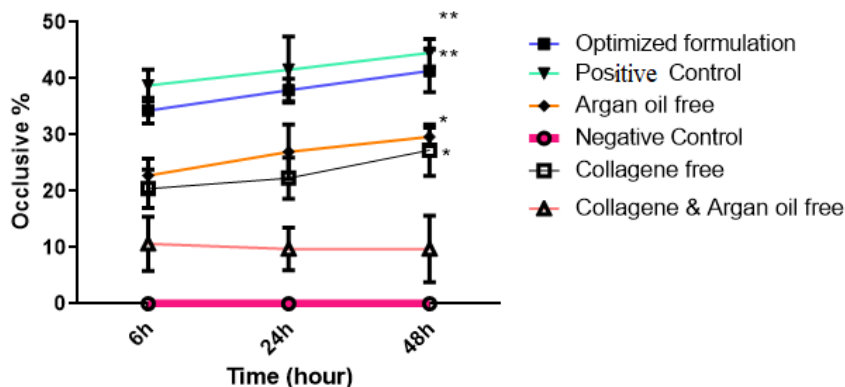
فرمولاسیون بهینه توانست پایداری خود را در برابر نیروی گریز از مرکز حفظ کند و جدا شدن فازها دیده نشد.

نتایج آزمایش تغییرات دمایی

فرمولاسیون بهینه تا ۱ ماه پس از قرار گرفتن در دماهای گوناگون، هیچ تغییری نداشت.

نتایج مربوط به اندازه‌گیری pH فرمولاسیون

pH فرمولاسیون بهینه 5.0 ± 0.3 تعیین شد. تغییرات بسیار اندک



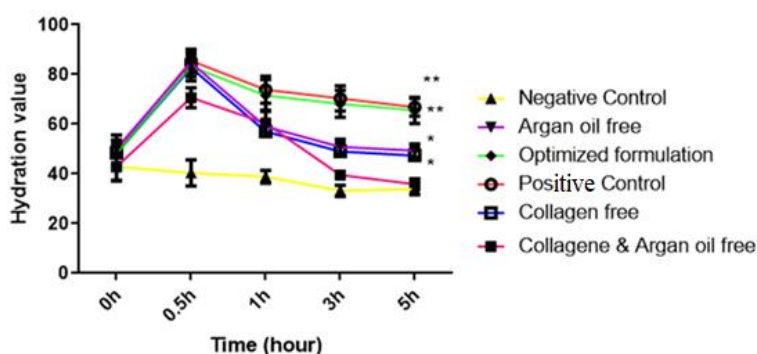
شکل ۳. نمودار درصد فاکتور مسدودکنندگی فرمولاسیون بهینه، کنترل مثبت، فرمولاسیون بدون آرگان، فرمولاسیون بدون کلاژن، فرمولاسیون بدون آرگان و کنترل منفی در زمان‌های ۶، ۲۴ و ۴۸ ساعت (تعداد: ۳) (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) در شکل. علامت * بیانگر $P < 0.05$ و ** بیانگر $P < 0.01$ است و نسبت به کنترل منفی سنجیده شده‌اند.

نتایج حاصل از اثر مرطوب‌کنندگی فرمولاسیون‌های مختلف

روی پوست دست

شکل ۴، مقایسه‌ای بین اثر مرطوب‌کنندگی فرآورده‌ها را در ساعت‌های مختلف بعد از استعمال روی پوست دست نشان می‌دهد. با توجه به نمودار، مشخص می‌شود که همه فرآورده‌ها در نیم ساعت اول، بیشترین جهش را از نظر میزان مرطوب‌کنندگی در مقایسه با کنترل منفی داشتند. ۱ ساعت پس از شروع مطالعه، میانگین میزان هیدراتاسیون در همه فرمولاسیون‌ها با اختلاف معنی‌داری، بیشتر از گروه کنترل منفی بود ($P < 0.05$). ۳ ساعت پس از شروع مطالعه، میانگین میزان

هیدراتاسیون در فرمولاسیون بهینه، کنترل مثبت، کرم بدون آرگان و کرم بدون کلاژن با اختلاف معنی‌داری، بیشتر از گروه کنترل منفی بود ($P < 0.05$). ۳ ساعت پس از شروع مطالعه، میانگین میزان هیدراتاسیون در فرمولاسیون بدون کلاژن و آرگان، با کنترل منفی تفاوت معناداری نداشت ($P > 0.05$). میانگین میزان هیدراتاسیون، ۵ ساعت پس از شروع مطالعه روی پوست دست در فرمولاسیون بهینه و کنترل مثبت، با اختلاف معنی‌داری نسبت به بقیه فرمولاسیون‌ها بیشتر از کنترل منفی بود ($P < 0.05$) و در فرمولاسیون بهینه، با اختلاف معنی‌داری بیشتر از کنترل مثبت بود.



شکل ۴. نمودار میزان هیدراتاسیون پوست توسط فرمولاسیون بهینه، کنترل مثبت، فرمولاسیون بدون آرگان، فرمولاسیون بدون کلاژن، فرمولاسیون بدون کلاژن و آرگان و کنترل منفی در زمان‌های ۰/۵ و ۱ و ۳ و ۵ ساعت (تعداد: ۳) (میانگین $\pm$ انحراف استاندارد) در شکل، علامت * بیانگر $P < 0.05$ و ** بیانگر $P < 0.01$ است و نسبت به کنترل منفی سنجیده شده‌اند.

بحث

استفاده از محصولات موضعی مراقبت از پوست مانند مرطوب‌کننده‌ها و محافظ‌های پوستی برای مدیریت جمعیت‌های آسیب‌پذیر توصیه می‌شود. پوست سالم ۱۰ درصد آب در لایه شاخی دارد. شست‌وشوی مکرر، قرار گرفتن در معرض محیط و افزایش سن، pH و عملکرد حفاظتی پوست را کاهش می‌دهند. استفاده از پاک‌کننده پوست به‌جای صابون و آب و سپس، استفاده از محصول حاوی مرطوب‌کننده، برای مدیریت مراقبت از پوست ترجیح داده می‌شود [۱۸].

روغن آرگان نوعی روغن طبیعی است که به دلیل اثرات آنتی‌اکسیدانی، آبرسانی، ضدپیری و محافظتی در لوازم آرایشی استفاده می‌شود. روغن آرگان به دلیل طیف غنی مواد تشکیل‌دهنده مانند اسیدهای چرب اشباع‌نشده، توکوفرول‌ها، کاروتنوئیدها، ترکیبات فنلی، استرول‌ها و اسکوالن، خواص بسیار ارزشمندی دارد. وجود توکوفرول‌ها و پلی‌فنول‌ها با اثر آنتی‌اکسیدانی، از پوست در برابر اثرات مضر آفتاب محافظت می‌کند. اسیدهای چرب اشباع‌نشده، مواد اولیه تغذیه‌ای هستند و تأثیر مثبتی بر سلامت پوست دارند و نقش مهمی در حفظ وضعیت مناسب اجزای لیپیدهای غشای سلولی ایفا می‌کنند [۷].

در سال‌های اخیر، استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها به‌عنوان یک عنصر کاربردی در رژیم غذایی مردم افزایش قابل توجهی یافته است. کلاژن هیدرولیز شده ماده محبوبی است که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در نظر

گرفته می‌شود. کلاژن نوعی پروتئین فیبری است که به دلیل مزایای آن بر پوست، سازگاری زیستی و ایمنی‌زایی ضعیف، در صنایع زیست‌پزشکی و آرایشی بسیار مورد توجه است [۱۹].

در این مطالعه، کرم حاوی کلاژن و روغن آرگان طراحی و فاکتورهای فیزیکی‌شیمیایی فرمولاسیون و مرطوب‌کنندگی آن بررسی شد. برای تعیین تعداد نمونه‌ها با غلظت‌های مختلف کلاژن و روغن آرگان، از نرم‌افزار Design Expert استفاده شد. نتایج تست پخش‌پذیری و ویسکوزیته به‌دست‌آمده به‌عنوان پاسخ در نرم‌افزار قرار گرفت. محدوده استاندارد ویسکوزیته برای کرم موضعی بر اساس مقالات ۲۵۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰ سانتی پواز در نظر گرفته می‌شود. نمودار سه‌بعدی ویسکوزیته که از تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار به‌دست آمد، نشان می‌دهد که با افزایش میزان کلاژن، ویسکوزیته محصول افزایش می‌یابد (شکل ۲). Li و همکاران نیز در مطالعه‌ای، به نتایج مشابهی دست یافتند [۱۷].

با توجه به نتایج مربوط به ویسکوزیته، با افزایش Shear rate، میزان ویسکوزیته کاهش می‌یابد که این اتفاق، حالت تیکسوتروپ را در فرمولاسیون مشخص می‌کند و با استعمال کرم روی پوست و پخش شدن آن و اعمال shear با دست، ویسکوزیته کاهش می‌یابد. در نتیجه، جذب کرم بهتر انجام می‌شود و رضایت‌مندی مصرف‌کننده را به‌همراه دارد. در این راستا، Albu و همکاران نیز به این نتیجه دست یافتند [۲۰].

با توجه به نمودار سه‌بعدی پخش‌پذیری حاصل از تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار Design Expert (شکل ۱)، با افزایش میزان روغن آرگان، میزان

بقیه فرمولاسیون‌ها و کنترل منفی اختلاف معنی‌داری داشت ($P < 0.05$). همین‌طور، فرمولاسیون بهینه اختلاف معنی‌داری با کنترل مثبت داشت. در این خصوص، گل‌محمدزاده و همکاران به نتایج مشابهی دست یافتند [۱۸].

نتیجه‌گیری

با در نظر گرفتن مطالعات انجام‌شده در گذشته و نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه، دریافتیم که فرمولاسیون حاوی کلاژن و روغن آرگان، راه‌حل مناسبی برای هیدراتاسیون پوست است که با استفاده از آن، می‌توان اثر حفاظتی پوست را ارتقا بخشید.

سپاسگزاری

نویسندگان این مقاله از معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی زابل به‌خاطر تصویب این طرح با شناسه اخلاقی IR.1400.003 ZBMU.REC و تأمین منابع مالی این پژوهش، و همچنین، یاری در اجرای این طرح، تشکر و قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

نویسندگان تعارض منافع ندارند.

References

- Budiasih S, Masyitah I, Jiyauddin K, Kaleemullah M, Samer A, Fadli AM, et al. Formulation and characterization of cosmetic serum containing argan oil as moisturizing agent. Proceedings of the BROMO Conference, Surabaya, Indonesia; 2018.
- Trookman NS, Rizer RL, Ford R, Ho E, Gotz V. Immediate and long-term clinical benefits of a topical treatment for facial lines and wrinkles. *J Clin Aesthet Dermatol*. 2009;**2**(3):38-43. PMID: 20729942
- Xhaufaire-Uhoda E, Fontaine K, Piérard G. Kinetics of moisturizing and firming effects of cosmetic formulations. *Int J Cosmet Sci*. 2008;**30**(2):131-138. DOI: 10.1111/j.1468-2494.2008.00436.x PMID: 18377622
- El Abbassi A, Khalid N, Zbakh H, Ahmad A. Physicochemical characteristics, nutritional properties, and health benefits of argan oil: A review. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2014;**54**(11):1401-1407. DOI: 10.1080/10408398.2011.638424 PMID: 24580537
- Boucetta KQ, Charrouf Z, Aguenau H, Derouiche A, Bensouda Y. The effect of dietary and/or cosmetic argan oil on postmenopausal skin elasticity. *Clin Interv Aging*. 2015;**10**:339-349. DOI: 10.2147/CIA.S71684 PMID: 25673976
- Sarkar R, Podder I, Gokhale N, Jagadeesan S, Garg VK. Use of vegetable oils in dermatology: an overview. *Int J Dermatol*. 2017;**56**(11):1080-1086. DOI: 10.1111/ijd.13623 PMID: 28421610
- Popescu C, Manea S, Vladut V, Olah N, Morgovan C, Salman D, et al. Study on effectiveness of two cosmetic creams with argan oil and their subjective and instrumental evaluation. *Eur J Pharm Sci*. 2014;**64**(7):315-342.
- Di Stefano AF, Radicioni MM, Vele A, Eberhardt A, Caccia G, Focanti F, et al. Tolerability and hydrating effects of an anti-aging gynaecological collagen cream in women in menopause. *Open J bstet Gynecol*. 2014;**4**(3):130-138. DOI: 10.4236/ojog.2014.43023
- Borumand M, Sibilla S. Daily consumption of the collagen supplement Pure Gold Collagen® reduces visible signs of aging. *Clin Interv Aging*. 2014;**9**:1747-1758. DOI: 10.2147/CIA.S65939 PMID: 25342893
- Hasri NM, Zebua N. Test of burn wounds healing effects of

پخش‌پذیری نمونه نیز افزایش می‌یابد. این نتایج با گزارش César و همکارانش مطابقت دارد [۱۹].

درنهایت، با توجه به همه متغیرها، پاسخ‌ها و تحلیل داده‌ها، فرمولاسیون شماره ۱۱ با درصد مطلوبیت ۰/۹۸، به‌عنوان فرمولاسیون بهینه انتخاب شد. این فرمولاسیون با توجه به تحلیل داده‌ها در نرم‌افزار، از نظر ویسکوزیته در محدوده استاندارد قرار دارد و از نظر پخش‌پذیری نیز بهترین فرمولاسیون محسوب می‌شود.

بعد از مشخص شدن فرمولاسیون بهینه، آزمون‌هایی نظیر یکنواختی، تغییرات دمایی، پایداری در برابر نیروی گریز از مرکز، ایجاد کرمینگ و کوالسانس و اندازه‌گیری pH روی فرآورده انجام شد. فرمولاسیون بهینه از نظر آزمون‌های فیزیکوشیمیایی مطلوب بود که نشان‌دهنده پایداری مناسب فرمولاسیون است.

آزمون فاکتور مسدودکنندگی و مرطوب‌کنندگی بر روی پوست با فرمولاسیون بهینه انجام شد. میانگین درصد فاکتور مسدودکنندگی، ۴۸ ساعت پس از شروع مطالعه *in vitro* در فرمولاسیون بهینه و کنترل مثبت، اختلاف معنی‌داری نسبت به سایر فرمولاسیون‌ها و کنترل منفی داشت ($P < 0.05$). میانگین میزان هیدراتاسیون پوست دست، ۵ ساعت پس از شروع مطالعه، در فرمولاسیون بهینه و کنترل مثبت، نسبت به

collagen from snakehead fish (channa striata) bone in the preparation of cream on male white rats (rattus norvegicus). *Indones J Pharm*. 2020;**3**(1):62-75.

- Kamali H, Farzadnia P, Movaffagh J, Abbaspour M. Optimization of curcumin nanofibers as fast dissolving oral films prepared by emulsion electrospinning via central composite design. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2022;**75**:103714. DOI: 10.1016/j.jddst.2022.103714
- Gupta A, Mishra A, Singh A, Gupta V, Bansal P. Formulation and evaluation of topical gel of diclofenac sodium using different polymers. *Drug Discov Today*. 2010;**2**(5):250-253.
- Kumari A, Sharma N, Sharma P, Goyal N. Rheological evaluation of thermoreversible and mucoadhesive nasal gels of Zolmitriptan. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2012;**16**(8):1022-1027.
- Poucher WA. Poucher's perfumes, cosmetics and soaps. Volume 3: Cosmetics: Springer Science & Business Media; 2012.
- Hamishehkar H, Same S, Adibkia K, Zarza K, Shokri J, Taghaee M, et al. A comparative histological study on the skin occlusion performance of a cream made of solid lipid nanoparticles and Vaseline. *Res Pharm Sci*. 2015;**10**(5):378-387. PMID: 26752986
- Golmohammadzadeh S, Imani F, Hosseinzadeh H, Jaafari MR. Preparation, characterization and evaluation of sun protective and moisturizing effects of nanoliposomes containing safranal. *Iran J Basic Med Sci*. 2011;**14**(6):521-533. PMID: 23493792
- Zhang M, Chen Y, Li G, Du Z. Rheological properties of fish skin collagen solution: Effects of temperature and concentration. *Korea Aust Rheol J*. 2010;**22**(2):119-127.
- Khameneh B, Halimi V, Jaafari MR, Golmohammadzadeh S. Safranal-loaded solid lipid nanoparticles: evaluation of sunscreen and moisturizing potential for topical applications. *Iran J Basic Med Sci*. 2015;**18**(1):58-63. PMID: 25810877
- César FC, Maia Campos PM. Influence of vegetable oils in the rheology, texture profile and sensory properties of cosmetic formulations based on organogel. *Int J Cosmet Sci*. 2020;**42**(5):494-500. DOI: 10.1111/ics.12654 PMID: 32696456
- Albu MG, Minodora L, Trandafir V. Rheological behavior of some collagen creams. *Leather Footwear J*. 2012;**12**(4):257-270.