

**»Mladi za napredek Maribora 2016«  
33. srečanje**

# **VPLIV TEMPERATURE NA ANTIOKSIDANTE V KREMAH**

BIOTEHNOLOGIJA, KMETIJSTVO, ŽIVILSTVO

Raziskovalna naloga

PROSTOR ZA NALEPKO

Avtor: ALJA MAJCENOVICH  
Mentor: ANITA MUSTAC  
Šola: II. GIMNAZIJA MARIBOR

2016, Maribor

»Mladi za napredek Maribora 2016«  
33. srečanje

# VPLIV TEMPERATURE NA ANTIOKSIDANTE V KREMAH

BIOTEHNOLOGIJA, KMETIJSTVO, ŽIVILSTVO

Raziskovalna naloga

PROSTOR ZA NALEPKO

2016, Maribor

## Kazalo

1. UVOD .....	1
1.1 Namen raziskovalne naloge.....	1
1.2 Hipoteze.....	1
2. TEORETIČNO OZADJE.....	2
2.1 Antioksidanti .....	2
2.1.1 Antioksidanti v Kozmetiki .....	4
2.1.2 Izbira antioksidantov .....	5
2.1.3 Najpogostejši antioksidanti v kozmetiki.....	5
2.1.3.1 Vitamin C (Askorbinska kislina).....	5
2.1.3.2 Vitamin E .....	6
2.1.3.3 Vitamin A.....	6
2.1.3.4 Zeleni čaj .....	7
2.1.3.5 Cink .....	8
2.1.3.6 Maline.....	8
2.2 Kreme .....	9
2.2.1 Hidrofilne kreme .....	10
2.2.2 Lipofilne kreme .....	11
2.2.3 Tehnologija izdelave krem .....	12
2.3 Merjenje antioksidativnega potenciala za radikalom DPPH .....	12
2.4. FCR .....	13
2.5. Galna kislina.....	13
3. RAZISKOVALNO DELO .....	14
3.1 Materiali .....	14
3.2 Potek dela .....	14
3.2.1 FCR raztopina.....	17
3.2.2 Raztopina galne kisline.....	17
4. REZULTATI.....	17
4.1 Umeritvena krivulja.....	17
4.2 Koncentracija ekstrakta v kremi z zelenim čajem.....	18
4.3 Koncentracija ekstrakta v kremi z malinami .....	19

4.4 Koncentracija ekstrakta v kremi z vitaminom C .....	20
5. RAZPRAVA .....	21
5.1 Primerjava krem pri temperaturi 3 °C.....	21
5.2 Primerjava krem pri temperaturi 22,5 °C.....	22
5.3 Primerjava krem pri temperaturi 53,2 °C.....	23
6. ZAKLJUČEK.....	24
6.1 Možne izboljšave.....	26
7. DRUŽBENA ODGOVORNOST.....	27
8. VIRI IN LITERATURA .....	28
8.1 Viri slik.....	29

Okrajšave uporabljene v nalogi:

DPPH - 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil

FCR – Folin-Ciocalteu fenol reagent

ROS – reaktivne kisikove zvrsti

HLB – ravnovesje med hidrofilnostjo in hidrofobnostjo

O/V – emulzija olje v vodi

V/O – emulzija voda v olju

$EC_{50}$  – polovična maksimalna učinkovita koncentracija

## POVZETEK

V raziskovalni nalogi smo preučevali učinek temperature na antioksidante v kremah. Ker se v današnji družbi vedno bolj viša povpraševanje po naravnih izdelkih, smo kreme, uporabljene za pridobitev rezultatov, naredili sami iz popolnoma naravnih in neškodljivih snovi. Kremam smo v vodni fazi dodali tri različne antioksidante: zeleni čaj, malino in vitamin C. Kremam smo izmerili absorbanco, nato pa jih postavili v prostor, s tremi različnimi temperaturami: 3 °C, 22,5 °C in 53,2 °C. Posameznim kremam smo v določenih časovnih obdobjih izmerili absorbanco, na podlagi katere smo nato s pomočjo prej pripravljene umeritvene krivulje, izračunali koncentracijo antioksidantov v kremah. Ugotovili smo, da so se koncentracije antioksidantov spremenile ne glede na to, kje je bila krema shranjena. Na osnovi pridobljenih rezultatov lahko sklepamo, da je kreme z antioksidanti za daljšo in učinkovitejšo uporabnost potrebno shranjevati v hladnejših prostorih ali vsaj pri sobni temperaturi.

## ZAHVALA

Zahvaljujem se mentorici, ki me je pri delu usmerjala, mi pomaga pridobiti ves potreben material in omogočila delo v laboratoriju. Prav tako se ji zahvaljujem za vso pomoč pri oblikovanju in pisanju raziskovalne naloge ter pridobivanju in analizi rezultatov.

## **1. UVOD**

Kozmetična industrija danes proizvaja številne različne izdelke. Tako lahko potrošniki na trgovskih policah najdemo številne produkte, med katerimi moramo izbirati. Pri tem zaupamo različnim oglasom in drugim virom, za katere menimo, da so zanesljivi. Vedno večji trend predstavljajo predvsem naravni kozmetični izdelki. Vendar pa večina potrošnikov večine sestavin, ki so označene na izdelkih sploh ne pozna, kar pomeni da ne poznajo tudi njihovih učinkov na organizem. Kako lahko potem pri tako velikem številu kozmetičnih izdelkov in vseh njihovih sestavinah sploh ugotovimo, kateri izdelki so pravi za nas? Vedno večji trend prav zato predstavljajo predvsem naravni kozmetični izdelki. Razlog za to je predvsem bolj zdrav življenjski slog, ki naj bi ga izboljšala tudi naravna kozmetika, saj naj ne bi imela negativnega učinka na organizem. Prav tako naj bi imeli naravni izdelki višjo kvaliteto kot umetni produkti. (Market research world, povzeto 19.12.2015). Največji del lepotne naravne lepotne industrije predstavljajo izdelki za nego kože. Sem spadajo tudi kreme, pa naj bodo to kreme za telo, obraz, roke..., ki jih uporabljamo, da bi kožo nahranili, ji povrnili mladosten in svež videz, ter pridobimo nekatere vitamine, ki jih koža potrebuje. Ena izmed najpomembnejših sestavin v kremah so seveda antioksidanti, ki pa se razlikujejo glede na to, kakšen namen ima krema. Poznamo seveda različne antioksidante z različnimi funkcijami, vendar pa nismo vedno prepričani kateri so najbolj učinkoviti oz. kateri od njih so najbolj vzdržljivi glede na shranjevanje.

### **1.1 Namen raziskovalne naloge**

Z raziskovalno nalogo smo želeli za vsaj nekatere od teh antioksidantov ugotoviti, kako dolgo se lahko obdržijo v kremah pri najbolj pogostih oblikah shranjevanja. Ker pa se čedalje večja uporaba naravne kozmetike, smo želeli spremembo koncentracije antioksidantov izmeriti v povsem naravni kremi, saj naj ta ne bi vsebovala organizmu škodljivih snovi. Da bi natanko vedeli, kakšne sestavine so v kremi, ter da bi zagotovo vedeli da so uporabljene sestavine naravne, smo kremo z antioksidanti naredili sami.

### **1.2 Hipoteze**

Pred začetkom eksperimentalnega dela smo si zadali naslednje hipoteze:

H1: Antioksidanti v kremah se bodo ne glede na čas shranjevanja ohranili.



H2: Enaka koncentracija antioksidanta se bo dlje časa ohranila pri shranjevanju v hladilniku in pri sobni temperaturi kot pri shranjevanju kreme na ogrevanem prostoru.

H3: Ker naj bi rdeči sadeži vsebovali veliko količino antioksidantov, bo koncentracija antioksidanta v kremi z ekstraktom maline v celotnem poskusu najvišja, koncentracija v kremi z zelenim čajem pa najnižja.

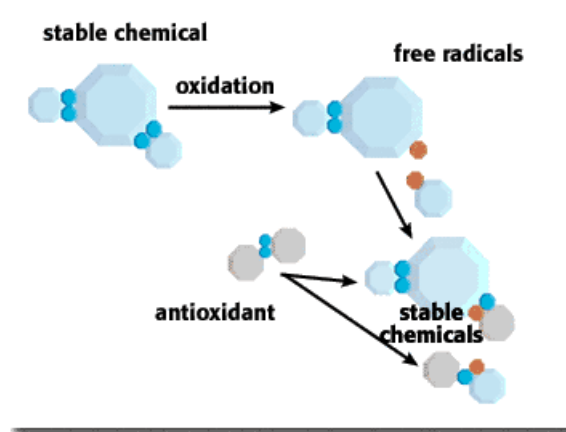
H4: Koncentracije antioksidantov v kremah bodo večinoma sovpadale z umeritveno krivuljo.

## **2. TEORETIČNO OZADJE**

### **2.1 Antioksidanti**

Antioksidanti so snovi oz. spojine, ki organizme varujejo pred poškodbami, ki jih povzročajo prosti radikali. Antioksidanti upočasnijo, lahko pa tudi popolnoma zaustavijo oksidacijo molekul, saj »lovijo« proste radikale, ki povzročajo oksidativni stres. Ta povzroča poškodbe DNK, kar lahko vodi do nastanka različnih bolezni. V manjših količinah lahko prosti radikali pospešujejo staranje kože, zmanjšujejo telesno sposobnost, slabijo imunski sistem ter vplivajo na živčni sistem. Če pa je v organizmu prisotna večja količina prostih radikalov, ta poveča tveganje za razvoj rakastih obolenj, bolezni srca in ožilja, motenega možganskega delovanja ter podobnih težjih obolenj. Prosti radikali so tako vpleteni v nastanek vsaj 50 obolenj (Lekarnar.com, 23.1.2016).

Prosti radikali imajo prost elektron, zato neprestano privlačijo elektrone drugih molekul oz. atomov, s čimer se nevtralizirajo. Vendar pa so prosti radikali nevarni, ker se v procesu njihove nevtralizacije pojavi nov prosti radikal. Tako lahko v tem procesu nastane več tisoč prostih radikalov v nekaj sekundah. Vendar pa se ta neprekinjen proces zaustavi z antioksidanti, ki stabilizirajo ali celo deaktivirajo proste radikale, še preden lahko napadejo celice.



Slika 1:Reakcijski mehanizem radikalov (povzeto 19.1.2016)

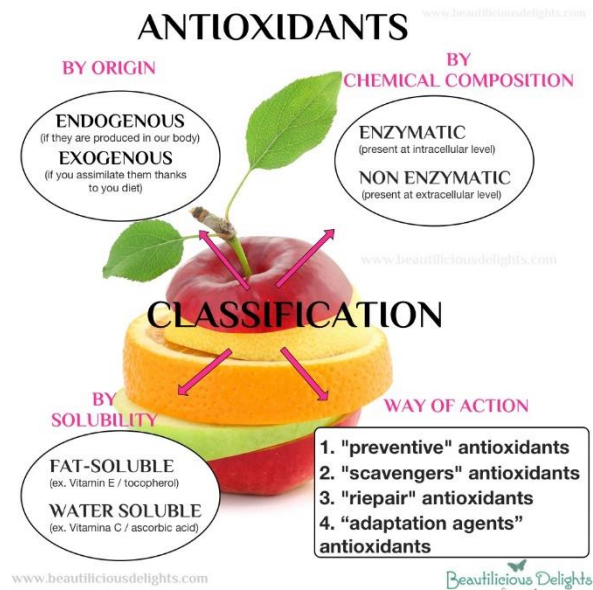
Eden najpomembnejših elementov za žive organizme je kisik, saj se porablja pri razgradnji maščob, beljakovin, ogljikovih hidratov in proizvodnjo energije za preživetje. Prav tako je ključnega pomena za dihanje oz. obnavljanje celic. Vendar pa ima kisik tudi slabo stran. Ker je zelo reaktiven, lahko postane del prej omenjenih prostih radikalov, ki napadajo zdrave telesne celice, ter s tem povzročajo izgubo celične strukture in njihove funkcije (Percival, 1996).

Proste radikale uvrščamo med reaktivne kisikove zvrsti (ROS), torej zelo reaktivne molekule, ki vsebujejo kisik. Vse molekule, ki jih uvrščamo v ROS lahko reagirajo z nukleinskimi kislinami, proteini, membranskimi lipidi, encimi in drugimi majhnimi molekulami in povzročajo celične poškodbe. Nastanejo lahko na različne načine:

- Kot posledica aerobnega metabolizma oz. porabe kisika za mitohondrij
- Kot oksidativni pok fagocitov, za obrambo pred bakterijami in virusi
- Kot razstrupljanje strupenih snovi
- Tako lahko vse aktivnosti, ki pospešujejo delovanje metabolizma, povišajo delež reaktivnih kisikovih spojin v organizmu (Percival, 1996).

Prav tako lahko prosti radikali nastanejo zaradi onesnaženega zraka, UV svetlobe, vnosa škodljivih snovi, stresa, staranja...

Antioksidante delimo na nepolarne, lipofilne in polarne, hidrofилne, encimske, neencimske, endogene in eksogene.



Slika 2: Delitev antioksidantov (Povzeto 30.1.2016)

Antioksidanti se vežejo na proste radikale in s tem preprečijo vezavo kisika in drugih škodljivih snovi.

- Najpomembnejši antioksidanti:

- Endogeni antioksidanti (Bilirubin, tioli, NADPH in NADH, koencim Q10, sečna kislina, encimi – baker, cink, mangan, železo, selen)
- Prehranski antioksidanti (Vitamin C, vitamin E, karotenoidi in oksikarotenoidi, polifenoli)
- Kovinske vezavne beljakovine (baker – ceruloplazmin, metallothionein, albumin; železo – ferritin, myoglobin, transferrin) (Percival, 1998).

### 2.1.1 Antioksidanti v Kozmetiki

Koža je naš največji in najbolj izpostavljen organ, ker pomeni tudi da je zelo izpostavljena oksidativnemu stresu.

Oksidativni stres je stanje, pri katerem oksidacija preseže količino antioksidantov v telesu zaradi sekundarne izgube ravnovesja med njimi (Yoshikawa, 2002). Do oksidativnih poškodb prihaja zaradi zunanjih in notranjih procesov oz. organizmov, skupaj pa sta glavni vzrok za staranje kože. Za zaščito pred staranjem, torej pred prostimi radikali, koža oz. organizem uporablja različne lastne antioksidante. Prav tako so se kot zelo dobra zaščita pred prostimi radikali izkazali tudi naravni zunanji antioksidanti. (Palmer, 2010) Vendar pa se moč antioksidantov s staranjem manjša, zato se tudi koža z leti hitreje stara in guba.

### 2.1.2 Izbira antioksidantov

Antioksidant naj bi imel, če ga želimo uporabiti v kozmetičnih ali farmacevtskih izdelkih ali hrani, poleg antioksidativne dejavnosti tudi določene fizikalne in fiziološke lastnosti:

- Antioksidant naj v produkt ne doda kakršnegakoli vonja ali okusa
- Reakcije naj bodo skoraj nevtralne
- Antioksidant mora biti lahko oz. enostavno in dobro topen v substratu
- Mora biti farmakološko varen in ne sme biti strupen za organska oz. živalska tkiva (Junca, 2011, povzeto po Boehm in Williams).

### 2.1.3 Najpogostejši antioksidanti v kozmetiki

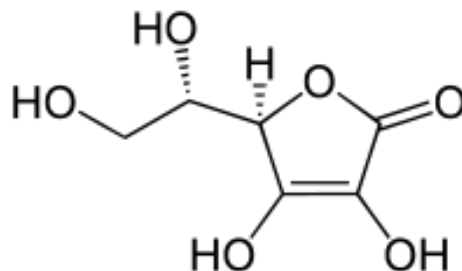
V kozmetiki se poleg snovi oz. sestavin ki imajo antioksidativne elemente pojavljajo tudi antioksidanti, ki imajo tudi druge pozitivne lastnosti, npr. delujejo protivnetno ali preprečujejo rakotvornost.

#### 2.1.3.1 Vitamin C (Askorbinska kislina)

Vitamin C je vodotopen vitamin, ki ga moramo v telo vnašati sami, saj ga naše telo samo ni sposobno sintetizirati. Najdemo ga v hrani, predvsem v citrusih in zelenjavi (npr. brokoli, paradižnik). Vitamin C je potreben za rast, obnavljanje tkiv in nastanek kolagena. Ta je pomemben za kožo, kite, hrustanec, vezi in krvne žile. Vitamin C je potreben tudi za obnovo kosti in zob, celjenje ran ter pomaga telesu absorbirati železo.

Prav tako je vitamin C tudi najmočnejših antioksidantov (Ehrlich, 2013). Ko se vitamin C uporabi na koži, ta stimulira nastanek kolagena, deluje kot zaščita pred soncem, zmanjšuje število prostih radikalov. Prav tako izboljšuje teksturo kože in njeno barvo, saj zmanjšuje rjave lise in gube na koži ter pomaga preprečiti njihov ponoven nastanek.

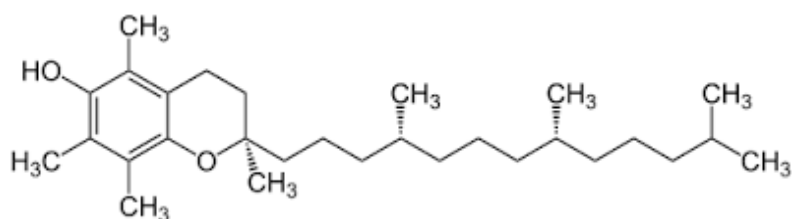
Vendar pa je največji problem vitamina C, da hitro oksidira, sploh če je izpostavljen zraku ali UV žarkom (svetlobi), ter tako izgubi svojo učinkovitost (Samuels, 2012).



Slika 3: Skeletna formula vitamina C (povzeto 17.1.2016)

### 2.1.3.2 Vitamin E

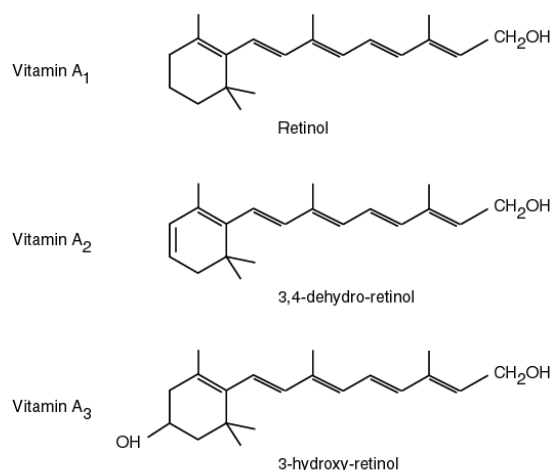
Vitamin E je antioksidant topen v maščobi. Sestavlja ga skupina molekul, ki imajo podobne strukture in imajo posebne lastnosti v koži. Za svojo aktivacijo potrebuje celični metabolizem. Najpogostejša oblika vitamina E so tokotrienoli, ki jih lahko v telesu zasledimo v manjši meri in štirih oblikah ( $\alpha, \beta, \gamma$  in  $\delta$  tokotrienol). Reagira z aktivnimi kisikovimi snovmi, prav tako pa lahko absorbira energijo iz UV svetlobe. Raziskave so pokazale, da vitamin E deluje protivnetno, zaščiti kožo pred gubanjem in jo vlaži, saj ima sposobnost vezave vode (Michels, 2012). Najdemo ga lahko v oreščkih (npr. mandlji, arašidi), oljih in zeleni zelenjavi (Bradford, 2015).



Slika 4: Skeletna formula vitamina E (Povzeto 21.1.2016)

### 2.1.3.3 Vitamin A

Vitamin A zajema več sorodnih spojin, kamor spadajo tudi retionodi in retinoidi. Najbolj uporabna oblika vitamina A je retinol, ki se lahko pretvori v retinal, ter se nato oksidira do retanojske kisline. Spojine vitamina A so izjemno pomembne maščobne molekule, ki jih večinoma najdemo v jetrih kot retilne estre. Vitamin A in naravni retinoidi so pomembni pri predrojstnim in poporodnem razvoju, regulaciji genskega izražanja, vidu, imunskem sistemu, produkciji rdečih krvnih celic... Retinole najdemo v živalskih virih (jatra, jajca, mleko...), v rastlinah, predvsem rumenih in oranžnih (sladki krompir, korenje, buče...), pa najdemo karotenoide (Higdon, 2000).

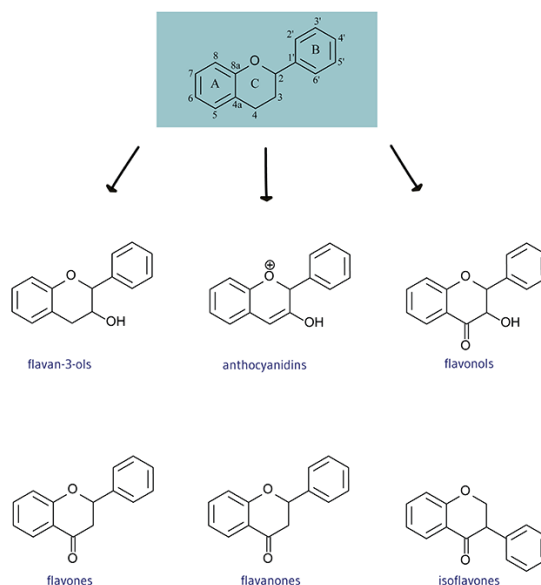


Slika 5: Vrste vitamina A (Povzeto 19.1.2016)

### 2.1.3.4 Zeleni čaj

Zeleni čaj je pridobljen iz listov čajevca, vendar zaradi različnih metod predelave, dobim različne vrste čajev. Sveži listi čajevca vsebujejo veliko flavonoidov, ki jih delimo v šest podskupin.

Figure 1. Basic Structures of Flavonoid Subclasses



Slika 6: Osnovna struktura delitev flavonoidov (Povzeto 23.1.2016)

Zeleni čaj je narejen iz zrelih listov in imajo visoko vrednost katehinov<sup>1</sup> (antioksidativni polifenolski sekundarni rastlinski metabolit), vendar se te razlikujejo glede na vrsto in vir (Higdon, 2005). Poznamo štiri glavne polifenolne katehine, med katerimi je najbolj bogat in aktiven Epigalokatehin 3-galat (EGCG). Polifenoli zelenega čaja (GTP) so antioksidanti,

<sup>1</sup> Z izrazom pogosto pomenjemo tudi družino flavonoidov in podskupino flavan-3-olov.

delujejo protivnetno in proti rakotvorno. Raziskave so pokazale da GTP preprečuje UV poškodbe, zniža število celic, ki so bile opečene zaradi sonca, imunosupresijo in DNA poškodbe (Allemann, 2015).

#### **2.1.3.5 Cink**

Cink je zelo pomemben element pri vseh organizmih, kar pa je bilo prepoznano šele pred kratkim. Pomemben je pri rasti in razvoju, imunskih in nevroloških odzivih ter reprodukciji. Glede na vlogo cinka na celičnem nivoju pa njegov namen delimo na:

- Katalitsko vlogo: cink vpliva na sposobnost izvajanja katalitskih kemijskih reakcij pri več kot 300 encimih
- Strukturna vloga pri beljakovinah in celičnih membranah
- Regulacijska vloga: cink kot transkripcijski faktor regulira izražanje genov, vpliva na sprostitvev hormonov in prenos živčnih impulzov. Prav tako ima pomembno vlogo pri apoptozi<sup>2</sup>.

Cink najdemo v morskih sadežih (školjkah), govedini in drugem rdečem mesu, oreščkih, stročnicah in jajcih (Higdon, 2001).

Cink lahko zmanjša celične poškodbe in poškodbe različnih tkiv ter organov, varuje pred zgodnjim staranjem kože in slabljenjem telesnih mišic (Powell, 2000).

#### **2.1.3.6 Maline**

Maline so sadeži vijolično rdeče barve, ki imajo številne pozitivne učinke na organizem. Vsebujejo vitamin C, antociane<sup>3</sup>, delujejo pa tudi kot antioksidanti, katerih vzrok je vsebnost elagitanina. Njegova vsebnost v malinah daje približno 50% antioksidativnega učinka. Z raziskavami so strokovnjaki dokazali, da do vsakršnih koristnih učinkov malin, prihaja zaradi hitrih kemijskih reakcij med antioksidanti in ciljnim molekulami v organizmu. Maline se zelo hitro pokvarijo, vendar so strokovnjaki odkrili, da se pri shranjevanju v tekočem dušiku ali pri -20 °C sicer uniči veliko vitamina C, vendar se zato kapaciteta antioksidanta ohrani. Prav tako se velika količina antioksidantov v malinah ohrani tudi pri njihovi predelavi, npr. v marmelado. Med drugim so odkrili tudi, da imajo nekatere vrste malin višjo kapaciteto antioksidantov kot druge (EUFIC, 21.1.2016, povzeto po Beekwilder).

---

<sup>2</sup> Genetsko kontrolirana celična smrt.

<sup>3</sup> Vodotopna rastlinska barvila, ki pripadajo flavonoidom.

Maline glede na strukturo spadajo med flavonoide. To so spojine, ki jih sintetizirajo rastline in krepijo zdravje, ter preprečujejo bolezni (rak, oksidativni stres, parkinsonova bolezen, alzheimerjeva bolezen...). Čeprav so zelo učinkoviti pri »lovljenju« prostih radikalov, imajo v primerjavi z drugimi antioksidanti (npr. vitaminom C) veliko nižji antioksidativni učinek (Higdon, 2005).

## 2.2 Kreme

Kreme so poltrdne večfazne oblike, ki jih fizikalno opredeljujemo kot emulzijske gele. Priljubljene so tako med izdelovalci kot uporabniki, saj so preproste za uporabo in združujejo lipofilne in hidrofilne sestavine. Emulzijski geli nastanejo tako, da lipogelom ali gelom ogljikovodikov dodamo vodo ali hidrogel ter emulgator. Če dodamo hidrogel so emulzijski geli fizikalno stabilnejši in imajo ugodne senzorične lastnosti.

Emulzijske kreme delimo na hidrofilne in lipofilne. Hidrofilne kreme imajo zunanjo fazo vodno, kar pomeni, da vsebujejo emulgatorje tipa O/V (olje-v-vodi), vendar pa vsebujejo tudi druge snovi, ki so odvisne od namena uporabe kreme. Lipofilne kreme pa se od hidrofilnih razlikujejo po tem, da imajo zunanjo fazo lipofilno, torej vsebujejo emulgatorje V/O (voda-v-olju), zato imajo tudi zelo zapleteno sestavo.

Za kreme je značilna poltrdna oblika, kar je razlog da pod vplivom gravitacije ne stečejo same, kot je to značilno za tekoče emulzije. Emulzijski sistemi so strukture, v katerih so kapljice tekočine dispergirane v tekočini. Dispergirana ali notranja faza je lahko lipofilna in je dispergirana v zunanji hidrofilni vodni fazi. Tako nastane emulzija tipa O/V. Emulzije tipa V/O pa nastanejo tako, da je hidrofilna vodna faza dispergirana v zunanji lipofilni fazi. Ker se lipofilna in hidrofilna faza ne mešata, je za stabilizacijo emulzijskih sistemov nujno potreben dodatek emulgatorjev.

Emulzijski sistemi poleg emulgatorjev vsebujejo tudi druge sestavine:

- Emoliente (olja, voski, izopropil miristat, silikonsko olje...): Omogočajo boljšo mazljivost, mehčajo, gladijo in izboljšajo videz kože, jo zaščitijo in preprečujejo njeno izsušitev
- Vlažilce (npr. glicerol, sečnina...): Zagotavljajo hidratacijo zgornjih plasti kože in preprečujejo izhlapevanje vode iz izdelka
- Zgoščevala (npr. celulozni etri, hidrofilni polimeri, anorganske snovi...): So snovi, ki povečujejo viskoznost zunanje faze
- Konzervansi: preprečujejo kontaminacijo izdelkov z mikroorganizmi
- Kozmetično aktivne sestavine, npr. vitamini, eterična olja, antioksidanti...



- Parfumi in barvila: izboljšanje estetskega videza (Baumgartner, 2013).

Delitev krem glede na njihovo uporabo:

- Vsakodnevne kreme
- Specifične kreme
- Intenzivne kreme
- Zaščitne kreme
- Učvrstitvene kreme
- Sončne kreme
- Potemnjevalne kreme
- Anti-wrinkle kreme (Lipušek, 2013, povzeto po Romanowski, 2009).

### **2.2.1 Hidrofilne kreme**

Hidrofilne kreme so zelo pogosto uporabljene, predvsem zaradi nemastnega občutka na koži, dobre mazljivosti in prodiranja v kožo (zagotovitev hidriranosti), vendar imajo glede na kreme V/O manjši učinek pri zaščiti suhe kože.

Hidrofilne kreme so sestavljene iz:

- Lipofilnih zgoščeval: tvorijo gelska ogrodja (10-40%)
- Zmesi emulgatorjev (5%) z optimalno HLB<sup>4</sup> vrednostjo (med 9 in 10)
- Koemulgatorjev (2%)
- Konzervansov in antioksidantov
- Hidrofilnih zgoščeval: tvorijo hidrogele.

V kremah oz. njihovi formulaciji se uporabljajo različne vrste lipidov (npr. polarni, nepolarni). Vendar pa je njihov izbor in izbor pomožnih snovi odvisen od uporabljenega emulgatorskega sistema in drugih pomožnih snovi. Danes se v kozmetiki večinoma uporabljajo kompleksni emulgatorji, sestavljeni iz enega ali več emulgatorjev in koemulgatorjev (kombiniranje vsaj dveh površinsko aktivnih snovi z različnima HLB vrednostma).

Izbira koemulgatorja je odvisna od:

Enak lipofilni del: povečevanje viskoznosti, če se povečuje stopnja etoksilacije

---

<sup>4</sup> Vrednosti se gibljejo med 0 in 20. Visoko vrednost HLB imajo emulgatorji z visoko hidrofobnostjo, nizko pa tisti emulgatorji, ki imajo visoko hidrofilnost.

Enaka etoksilna stopnja: povečevanje viskoznosti, če se podaljšuje lipofilna ogljikovodikova veriga

Stopnja viskoznosti je odvisna od:

- Volumskega razmerja med notranjo in zunanjo fazo
- Vrste uporabljene lipofilne faze
- Prisotnosti zgoščeval v lipidni fazi
- Uporaba zgoščeval v zunanji fazi

### **2.2.2 Lipofilne kreme**

Lipofilne kreme so, ne glede na napredek formuliranja, težke, mastne in lepljive. Včasih so bile uporabljene kot podlaga za vodoodporne kreme za zaščito pred soncem, za otroške kreme in nočne kreme, vendar jih danes v kozmetiki izdelujejo kot zaščitne dnevne kreme.

Njihove prednosti:

- Podobnost z zaščitno lipidno plastjo v roženi plasti kože
- Zaščita kože (tvorba neprekinjenih plasti lipidov na koži po nanosu)
- Dolgotrajno vlaženje kože
- Izboljšana penetracija v lipofilno roženo plast
- So bolj mikrobiološko stabilne kot hidrofilne kreme

Lipofilne kreme so sestavljene iz:

- Lipidnih sestavin (20%)
- Lipofilnih zgoščeval (1%)
- Zmesi emulgatorjev z optimalno HLB vrednostjo (od 3 do 8) (7-10%)
- Konzervansov in antioksidantov
- Vode in hidrofilnih zgoščeval

Da so lipofilne kreme manj mastne in jih lažje nanese, moramo izbrati pomožnih snovi. Za boljšo razmaznost se danes v kozmetiki uporabljajo polarna olja z visokim koeficientom razmaznosti (npr. izopropil izostearat, olje oreščkov makadamije...). Za dobro razmaznost je pomembna tudi izbira kombinacije emulgatorjev.

### 2.2.3 Tehnologija izdelave krem

Na kakovost izdelanih krem vplivata izbira sestavin in tehnologija izdelave, torej zaporedje faz izdelave, energija, potrebna za izdelavo ter način in hitrost mešanja in ohlajanja. Za nastanek krem tipa O/V je potrebno veliko manj energije.

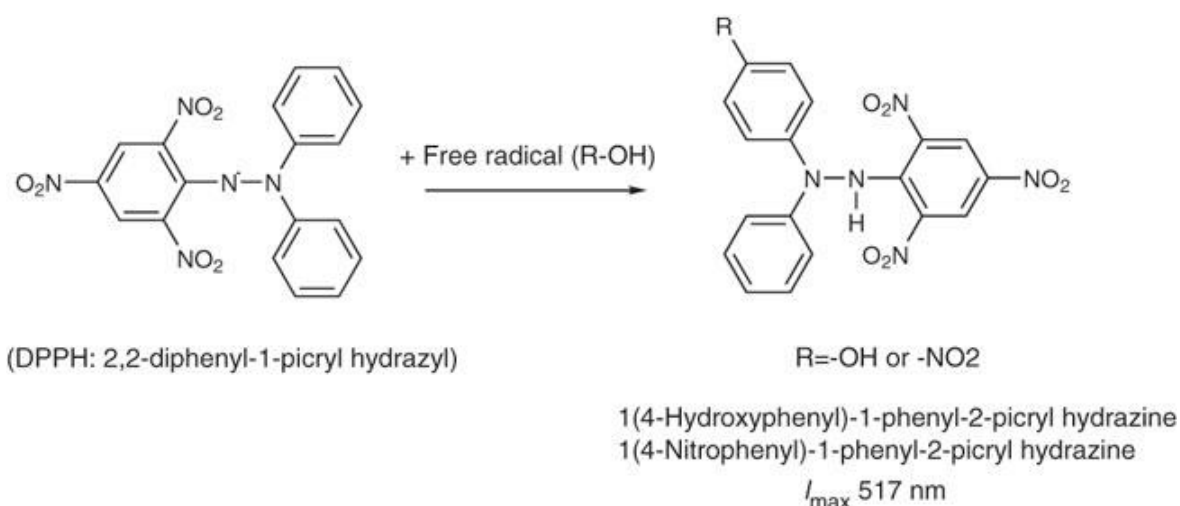
Lipofilne kreme se izdelajo tako, da staljeni lipofilni fazi z emulgatorjem počasi dodamo vodno fazo (višja temperatura za 2-5 °C) in mešamo do ohladitve. Če kremi dodajamo vodotopne aktivne snovi, jih raztopimo v vodni fazi, lipofilne pa v oljni fazi.

Hidrofilne kreme se izdelajo tako, da lipofilne sestavine emulgiramo v vodno fazo, pri čemer smo pozorni, da to naredimo pri temperaturi njihovega tališča. Lipofilno fazo segrejemo do največ 75 °C, ji med mešanjem dodamo vodno fazo ter mešamo dokler se ne ohladi.

Da se kremam poveča stabilnost, jim dodamo homogenizatorje, saj z njim poenotimo velikost kapljic v notranji fazi (Baumgartner, 2013).

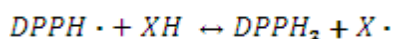
### 2.3 Merjenje antioksidativnega potenciala za radikalom DPPH

DPPH oz. 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil je stabilen organski prosti radikal, zaradi delokalizacije prostega elektrona okoli cele molekule. Delokalizacija je tudi razlog za temno vijolično barvoraztopine DPPH in etanola. Največja UV absorbcija je izmerjena pri valovni dolžini okoli 520 nm. Pri tej metodi se torej meri spektrofotometrična sprememba koncentracije DPPH. Zmanjšanje koncentracije je posledica reakcije med radikalom DPPH in antioksidantom. Ko raztopino DPPH zmešamo s snovjo, ki lahko odda vodikov atom, nastane reducirana oblika DPPH -  $DPPH_2$  (difenilpikrilhidrazin). Njegov nastanek lahko opazimo tudi z spremembo barve raztopine, in sicer iz vijolične v svetlo rumeno, zaradi prisotnosti akrilne skupine.



Slika 7: Reakcijski mehanizem DPPH (Povzeto 20.1.2016)

Reakcija DPPH z antioksidantom:



Za interpretacijo rezultatov z DPPH se najpogosteje uporablja parameter  $EC_{50}$  (koncentracija učinkovitosti). Definiran je kot koncentracija antioksidanta, potrebna za 50% redukcijo prvotne koncentracije oz. absorbance radikala DPPH (Molyneux, 2004).

#### 2.4. FCR

FCR je mešanica fosfomolibdata in fosfotungstata, ki se uporablja za barvno in vitro testiranje fenolnih in polifenolnih antioksidantov. (Wikipedia, povzeto dne 30.1.2016). FCR se je najprej uporabljal za merjenje proteinov, kasneje pa so ga uporabljali za številne analizne postopke, kot npr. določanje proteinov v antigen-protitelesnih izločkih. Je pogosto uporabljen, predvsem zaradi svoje občutljivosti in enostavnega postopka izvajanja (Lowry, 1951).

#### 2.5. Galna kislina

Galna kislina je bela oz. rahlo rumena, trdna kristalinična spojina. Uporablja se v fotografiji, farmaciji in kot reagent v analizni kemiji (Pubchem, Povzeto dne: 30.1.2016).

### **3. RAZISKOVALNO DELO**

#### **3.1 Materiali**

Pri raziskavi smo uporabili naslednje materiale in pripomočke:

- Karitejevo maslo (Tovarna Organika)
- Glicerol (Sigma-Aldrich)
- Sečnina (Tovarna Organika)
- Borova kislina (Tovarna Organika)
- Voda
- Lanolin (Tovarna Organika)
- Maline
- Zeleni čaj
- Vitmin C
- DPPH (Aldrich Chemistry)
- Metanol (99,8%, Sigma Aldrich)
- Kloroform
- Spektrometer (Vernier – SpectroVis) in program LoggerPro
- Kern analitska tehtnica ( $\pm 0,00001$ )
- Palični mešalnik
- Čaše (200mL, 500mL)
- Bireta (5mL)
- Galna kislina (Sigma; koncentracije: 0.00, 0.01, 0.02, 0.04, 0.06)
- FCR (Sigma)

#### **3.2 Potek dela**

Recept za pripravo kreme:

- Vodna faza:
  - 40mL vode z ekstrakti antioksidantov (maline, zeleni čaj, vitamin C)
  - 2,5g glicerola
  - 0,5g sečnine
  - 1,5g borove kisline
- Oljna faza:
  - 6,25g emulgatorja (lanolin)
  - 10g maščobe (karitejevo maslo)

Pripravo kreme smo začeli z tehtanje sestavin in razkuževanjem vseh pripomočkov. V prvo čašo smo glicerol, sečnino, borovo kislino in vodo, v kateri je bil tudi ekstrakt enega izmed antioksidantov (maline, zeleni čaj, vitamin C). V drugo čašo smo natehtali vse maščobne snovi, torej karitejevo maslo in lanolin. Nato smo obe čaši postavili v toplo kopel, v kateri je voda morala imeti manj kot 100 °C (ni smela zavreti). Vsebino obeh čaš smo počasi mešali, dokler se ta ni popolnoma raztopila. Nato smo počakali dokler se snovi v čašah niso segrele do približno enake temperature kot jo je imela vodna kopel. Obe čaši smo previdno vzeli iz kopeli in ju postavili na ravno površino. V prvo čašo (vodni del) smo začeli počasi vlivati vsebino druge čaše (maščobni del) in ob tem počasi in previdno mešali s paličnim mešalnikom. S tem smo nadaljevali dokler se zmes ni začela strjevati oz. je postala pol trdna. Tako smo dobili kremo O/V, ki smo jo prelili v prej razkužene posodice. Enak postopek smo ponovili z vsakim antioksidantom. Posodice smo nato označili in jih postavili oz. shranili na tri različna mesta: v hladilnik, na sobno temperaturo in na ogrevano površino.



Slika 8: Segrevanje oljne in vodne faze (Lasten vir)



Slika 9: Ekstrakti antioksidantov (Lasten vir)

Pred tem smo v kremi v posameznih posodicah izmerili tudi koncentracijo antioksidantov, in sicer z metodo DPPH. Raztopino smo pripravili tako, da smo v bučko dali 2,36 mg DPPH in 100 mL etanola ter s stresanjem vse dobro premešali. Da smo s spektrometrom lahko določili koncentracijo antioksidantov v kremi, smo najprej stehtali 30 mg ekstrakta (krema z antioksidantom), temu dodali 4 mL raztopine DPPH in 1 kapljico kloroforma, da se je maščoba v kremi raztopila. Raztopina DPPH, ki je bila pred dodatkom ekstrakta temno vijolična, se je spremenila v svetlo rumeno barvo. Vse smo dobro premešali in vlili v epruveto za spektrometer. Preden smo začeli z meritvami, smo spektrometer skalibrirali z destilirano vodo. Posamezne epruvete smo pred meritvami obrisali, da na njih ne bi bilo prisotnih kakršnihkoli odtisov, saj bi ti lahko vplivali oz. motili žarke UV svetlobe, kar pa bi vplivalo na rezultate meritev. Meritve smo opravljali pri valovni dolžini 560,3 nm. Enak postopek smo ponovili za vsak ekstrakt. Nato smo posamezne meritve opravljali v določenem časovnem obdobju, z prej opisanim postopkom.

Prav tako smo s pomočjo galne kisline, naredili tudi umeritveno krivuljo, s katero smo nato določali koncentracijo antioksidantov pri različnih absorbancah. S pipeto smo v 5 bučk (10mL) odmerili različne volumne galne kisline (0mL, 0.25mL, 0.5mL, 1.0mL in 1.5mL). To smo nato razredčili z vodo, in sicer dokler nismo dosegli 10mL ter raztopino dobro pretresli. 0.5mL posamezne raztopine smo zmešali z 2.5mL FCR in 2mL raztopine  $Na_2CO_3$  ter vse dobro premešali. Posameznim raztopinam smo nato izmerili absorbanco in narisali umeritveno krivuljo.



Slika 10: Meritev absorbanc s spektrometrom (Lasten vir)

### 3.2.1 FCR raztopina

Da smo dobili raztopino, smo FCR razredčili z vodo, in sicer v razmerju 1:10 (4mL FCR + 36mL vode) in dobili 40mL raztopine FCR.

### 3.2.2 Raztopina galne kisline

Koncentracija galne kisline pred razredčitvijo je bila 0.392 mg/mL (11,48 mg 98% galne kisline). To smo razredčili z 28,7mL vode.

## 4. REZULTATI

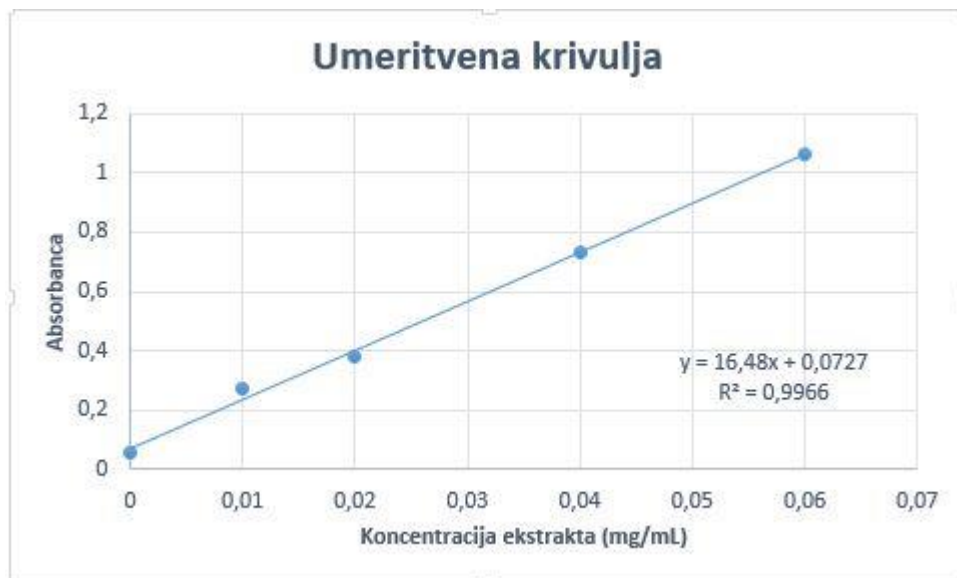
### 4.1 Umeritvena krivulja

Umeritveno krivuljo smo uporabili kot primerjavo oz. kontrolo dobljenih rezultatov pri merjenju koncentracije antioksidantov. Preverjali smo torej ujemanje rezultatov absorbance pri določeni koncentraciji antioksidanta v ekstraktu z absorbanco galne kisline pri enaki koncentraciji.

Tabela 1: Koncentracija za določeno absorbanco pri umeritveni krivulji

Koncentracija	Absorbanca $\pm$ negotovost
0,00	0,055 $\pm$ 0,001
0,01	0,275 $\pm$ 0,005
0,02	0,385 $\pm$ 0,004
0,04	0,734 $\pm$ 0,012
0,06	0,061 $\pm$ 0,011





Enačba za določitev koncentracije antioksidanta glede na njegovo absorbanco:

$$Y = 16,48X + 0,0727$$

X – Koncentracija

Y – Absorbanca

## 4.2 Koncentracija ekstrakta v kremi z zelenim čajem

Tabela 2: Absorbanca kreme z zelenim čajem

T [ °C]	3	22,5	53,2
Število dni po začetku merjenja			
Takoj	0,021	0,021	0,021
Po 14 dnevih	0,032	0,028	0,050
Po 20 dnevih	0,081	0,031	0,601 <sup>5</sup>
Po 29 dnevih	0,209	0,065	0,182
Po 36 dnevih	0,208	0,063	0,179

V kremi z ekstraktom zelenega čaja se je absorbanca pri 3 °C in 22,5 °C višala, nato pa je po 29 dnevih začela upadati. Pri 53 °C se je absorbanca prav tako višala in nato po 29 dnevih začela upadati, če ne upoštevamo rezultata 0,601. Po dveh tednih se je pri kremi, ki je bila shranjena na ogrevanem prostoru, zgoraj naredila trdna plast, pod njo pa je nastala tekočina. S tega sklepamo, da sta se oljna in vodna plast zaradi visoke temperature ločili. Raztopina z

<sup>5</sup> Rezultata nismo upoštevali, saj se raztopina iz vijolične ni spremenila v rumeno barvo, prav tako je bilo odstopanje rezultata preveliko.

DPPH pri meritvah krem, shranjenih pri 22,5 °C in 53,2 °C, je potrebovala vedno dalj časa, da je spremenila svojo barvo.

Tabela 3: Koncentracija kreme z zelenim čajem

T [ °C]	3	22,5	53,2
Število dni po začetku merjenja			
Takoj	0 <sup>6</sup>	0	0
Po 14 dnevih	0	0	0
Po 20 dnevih	0,0006	0	/
Po 29 dnevih	0,0083	0	0,0067
Po 36 dnevih	0,0083	0	0,0066

Koncentracije so ne glede na prostor, kjer je bila shranjena krema izjemno nizke (negativne) v primerjavi z rezultati iz umeritvene krivulje. Vendar se tudi koncentracije po določenem času povišajo, čeprav so še vedno izjemno nizke.

#### 4.3 Koncentracija ekstrakta v kremi z malinami

Tabela 4: Absorbanca kreme z malinami

T [ °C]	3	22,5	53,2
Število dni po začetku merjenja			
Takoj	0,035	0,035	0,035
Po 14 dnevih	0,036	0,023	0,91 <sup>7</sup>
Po 20 dnevih	0,424	0,536	0,332
Po 29 dnevih	0,724	0,750	0,562
Po 36 dnevih	0,718	0,741	0,543

V kremi z ekstraktom malin se je v zelo kratkem času pokazalo, da kreme ne vsebujejo več antioksidantov oz. njihovih ekstraktov. V tabeli so ti rezultati obarvani rdeče, pri njihovih meritvah pa je bilo to opazno v tem, da se barva raztopine DPPH in ekstrakta ni spremenila (ostala je vijolične barve). Pri kremi, ki je bila shranjena na ogrevani površini, sta se ločili maščobna in vodna plast, del kreme (vodni) pa je tudi izhlapel.

<sup>6</sup> Izmerjena absorbanca je bila manjša od najnižje absorbance na umeritveni krivulji, zato je bil rezultat koncentracije glede na enačbo negativen (velja za vse koncentracije 0).

<sup>7</sup> Rezultata zaradi prevelikega odstopanja nismo upoštevali.

Tabela 5: Koncentracija kreme z malinami

T [ °C]	3	22,5	53,2
Število dni po začetku merjenja			
Takoj	0	0	0
Po 14 dnevih	0	0	/
Po 20 dnevih	/	/	/
Po 29 dnevih	/	/	/
Po 36 dnevih	/	/	/

Koncentracije, ki smo jih dobili z izračunom glede na umeritveno krivuljo so zelo majhni oz. negativni. Vendar so bile meritve, opravljene v kremi z malinami večinoma neveljavne, saj raztopina DPPH ni spremenila svoje barve.

#### 4.4 Koncentracija ekstrakta v kremi z vitaminom C

Tabela 6: Absorbanca kreme z vitaminom C

T [ °C]	3	22,5	53,2
Število dni po začetku merjenja			
Takoj	0,025	0,025	0,025
Po 14 dnevih	0,012	0,006	0,041
Po 20 dnevih	0,029	0,027	0,034
Po 29 dnevih	0,065	0,057	0,084
Po 36 dnevih	0,063	0,052	0,075

V kremi z vitaminom C se je absorbanca ne glede na prostor shranjevanja višala (izjema: 3 °C in 22,5 °C po 2 tednih), nato pa po 29 dnevih začela upadati. Krema, ki je bila shranjena na ogrevani površini se je iz bele barve spremenila v rjavo, prav tako sta se maščobna in vodna plast ločili. Del vodne plasti je po 20 dneh izhlapel. Pri vseh meritvah se je raztopina DPPH takoj obarvala rumeno.

Tabela 7: Koncentracija kreme z vitaminom C

T [ °C]	3	22,5	53,2
Število dni po začetku merjenja			
Takoj	0	0	0
Po 14 dnevih	0	0	0
Po 20 dnevih	0	0	0
Po 29 dnevih	0	0	0,0008
Po 36 dnevih	0	0	0,0002

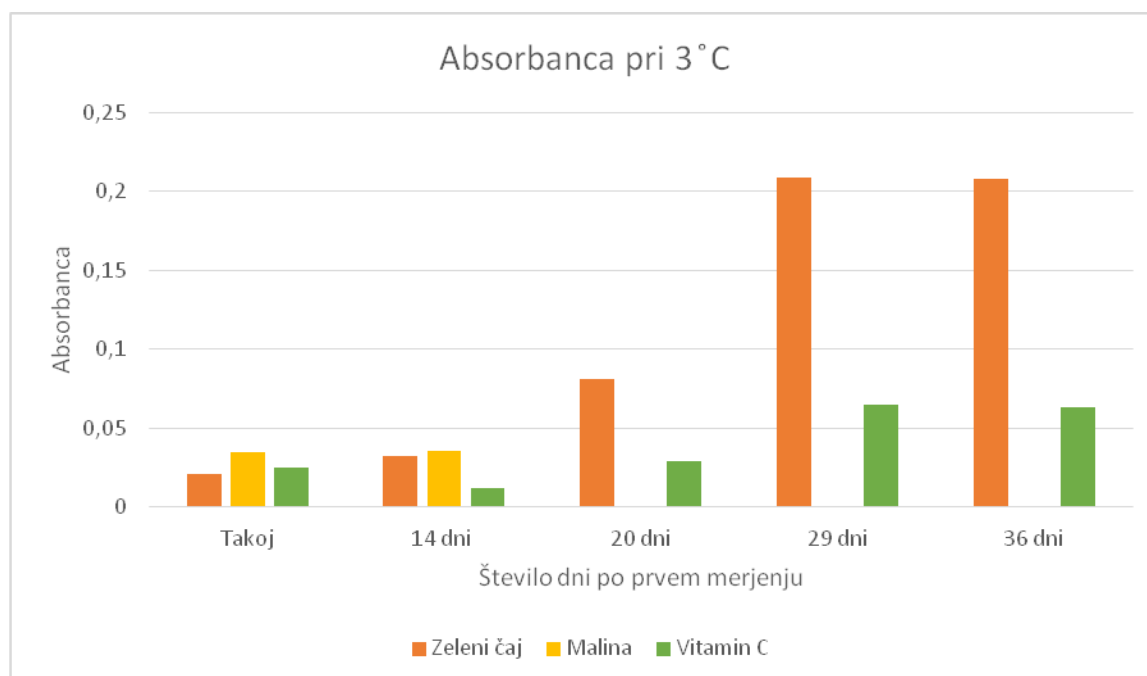
Tudi v kremi z vitaminom C so bile koncentracije zelo nizke (negativne), vendar so se počasi zviševale. Kljub njihovem povečanju pa so še vedno ostale zelo nizke. Največja sprememba v koncentraciji se je zgodila pri shranjevanju kreme na ogrevani površini.

## 5. RAZPRAVA

Ker so bile vrednosti koncentracij zelo nizke, smo se odločili, da bomo primerjavo med različnimi kremami naredili z rezultati absorbance.

### 5.1 Primerjava krem pri temperaturi 3 °C

Graf 1: Absorbanca krem v odvisnosti od časa pri 3 °C

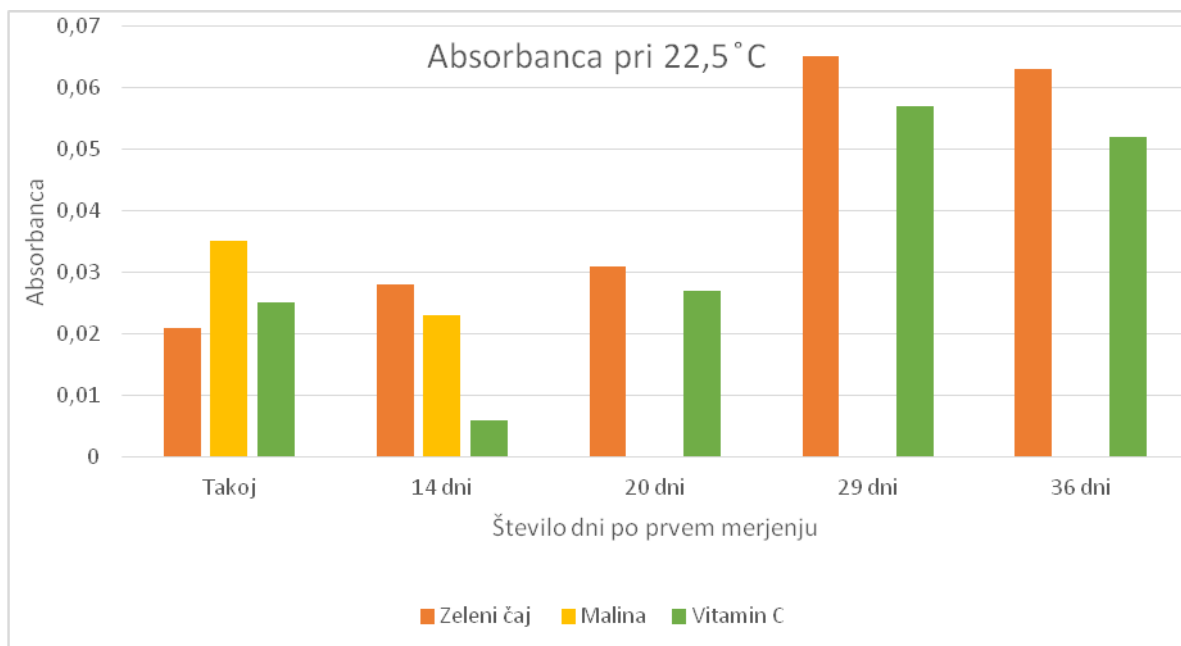


V prvem grafu smo primerjali spremembo absorbance različnih krem (zeleni čaj, maline in vitamin C) pri temperaturi 3 °C. Iz grafa je razvidno, da se absorbance višajo, nato pa pri meritvi po 36 dnevih upadejo. Na grafu niso prikazane meritve malin po drugem merjenju, saj

raztopina DPPH z ekstraktom ni spremenila barve iz vijolične v rumeno. To pomeni, da v kremi ni bilo več prisotnega antioksidanta (malin), saj radikal DPPH ni reagiral, kar je razvidno iz nespremenjene barve. Iz tega lahko sklepamo, da je pri uporabi krem z ekstraktom malin, čeprav jih shranjujemo v ohlajenih prostorih, le-te potrebno zelo hitro porabiti. Najvišja absorbanca in posledično tudi koncentracija je pri tej temperaturi vidna pri kremi z zelenim čajem. Iz tega sklepamo, da je od preizkušenih antioksidantov pri temperaturi 3 °C najbolj obstojen zeleni čaj. Pri kremi z vitaminom C smo dobili rezultate, ki se v času merjenja niso spreminjali tako drastično kot pri kremi z zelenim čajem. Vitamin C kot antioksidant je torej obstojen tudi pri nižjih temperaturah, in njegova koncentracija v daljšem časovnem obdobju ne niha tako močno.

## 5.2 Primerjava krem pri temperaturi 22,5 °C

Graf 2: Absorbanca krem v odvisnosti od časa pri 22,5 °C

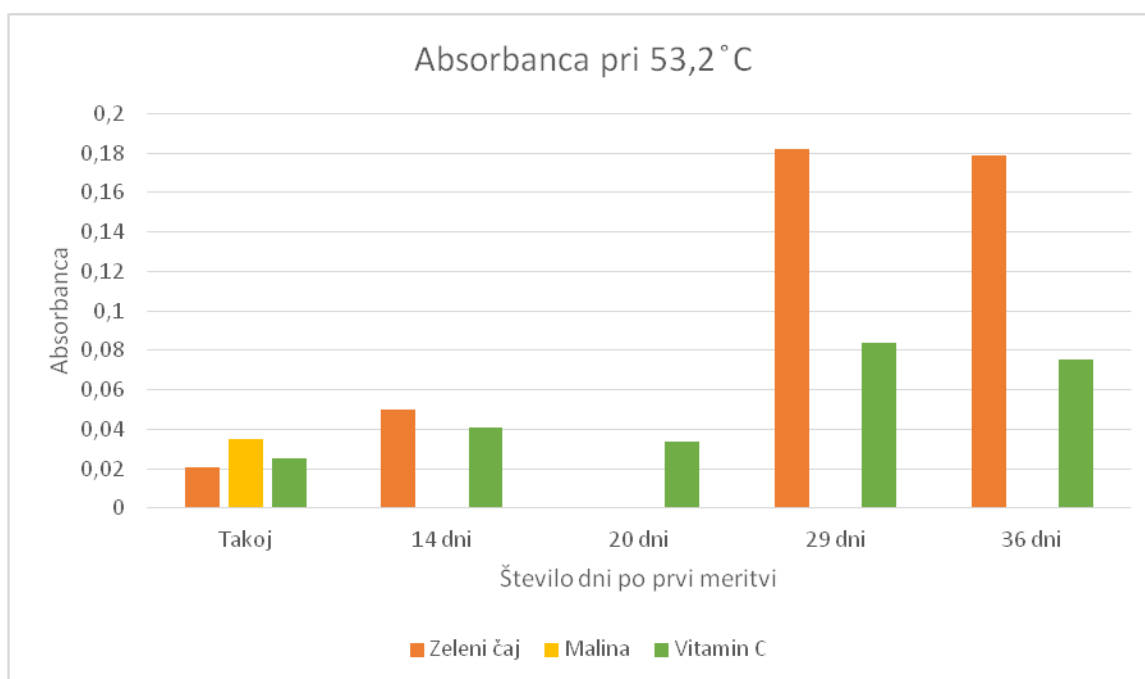


Iz grafa lahko razberemo spreminjanje absorbance krem (zeleni čaj, malina, vitamin C) pri temperaturi 22,5 °C. Absorbanca pri kremi z ekstraktom malin se je pri prvih dveh merjenjih znižala, nato pa je bila meritev absorbance oz. koncentracije antioksidanta nemogoča, saj tega v kremi ni bilo več. To je bilo razvidno iz nespremenjene barve raztopine DPPH in ekstrakta kreme, saj bi moral DPPH v stiku z antioksidantom spremeniti barvo. Tudi tukaj je najvišje

vrednosti, z izjemo meritve takoj dosegla krema z zelenim čajem. Rezultati absorbanc, in s tem tudi koncentracij pri kremah z zelenim čajem in vitaminom C, pa sta bili zelo podobni pri meritvah opravljenih po 20 dnevih. Iz tega lahko sklepamo, da sta tako zeleni čaj kot vitamin C zelo dobro vzdržljiva, če ju hranimo pri sobni temperaturi, vendar ne na direktno osvetljeni površini. Tako lahko kreme s tema ekstraktoma mirno shranjujemo pri sobni temperaturi tudi dalj časa, saj bodo še vedno ohranili svoje antioksidativne lastnosti.

### 5.3 Primerjava krem pri temperaturi 53,2 °C

Graf 3: Absorbanca krem v odvisnosti od časa pri 53,2 °C



Graf predstavlja spremembo absorbanc različnih krem shranjenih pri temperaturi 53,2 °C. Pri kremi z ekstraktom maline je bila veljavna samo prva meritev. Druge meritve zaradi prevelikega odstopanja nismo upoštevali. Zadnje tri meritve (20, 29 in 36 dni) pa so pokazale, da v kremi ni bilo več antioksidantov, saj se raztopina DPPH ni spremenila iz vijolične v rumeno barvo. Absorbanca se je pri kremi z ekstraktom zelenega čaja povečevala in nato pri meritvi po 36 dneh začela upadati, s tem pa je upadla tudi koncentracija. Izjema pri tej kremi je bila meritev, opravljena 20 dni po izdelavi kreme, saj se raztopina DPPH ni obarvala rumeno. To pomeni, da v kremi ni bilo več antioksidanta (zelenega čaja). Edina meritev, ki je bila v celoti opravljena pri tej temperaturi, je bila narejena s kremo z vitaminom C. Ta se je po prvi meritvi zvišala, pri tretji je bil opazen rahel upad absorbacije, ki se je nato po 29 dneh spet zvišala, ter nato spet začela upadati. Iz tega lahko sklepamo, da se ne glede na višje

temperature najbolj oz. najdlje ohrani vitamin C. To pomeni da lahko kreme ki ga vsebujejo, shranjujemo tudi pri višjih temperaturah, pa se bodo lastnosti vitamina C ohranile.



Slika 11: Izgled krem shranjenih na ogrevani površini (Lasten vir)

## 6. ZAKLJUČEK

Osnovni cilj raziskovalne naloge je bilo ugotoviti, kako se spreminjajo koncentracije izbranih antioksidantov v kremah, ki smo jih imeli shranjene pri različnih temperaturah. Pri samem raziskovanju smo se odločili uporabiti naravno kremo, ki smo jo izdelali sami iz naravnih sestavin. To pomeni, da krema vsebuje le snovi, ki bi jih lahko tudi zaužili, vendar se zato ne bi zastrupili. Za takšno kremo smo se odločili, ker ni pomembno samo kaj zaužijemo ali kako se gibamo, vendar na naše zdravje vplivajo tudi produkti, ki so namenjeni zunanji uporabi. S tem ko smo kremi dodali ekstrakte snovi (maline, zeleni čaj) oz. snov samo smo želeli ugotoviti, katera izmed njih bo svoje antioksidativne lastnosti obdržala najdlje neglede na temperaturo pri kateri bo krema z antioksidantom shranjena. To smo želeli ugotoviti z meritvami absorbanc, na podlagi katerih smo nato izračunali koncentracijo le-teh v kremi.

Na podlagi dobljenih rezultatov lahko delno potrdimo prvo hipotezo. Ta pravi, da se bodo izbrani antioksidanti v kremah ohranili, ne glede na to kako dolgo bomo imeli shranjene kreme. Hipoteza ne drži predvsem za kremo z ekstraktom malin, pri kateri smo ugotovili, da se je antioksidant uničil že po dveh tednih. Potrdimo pa jo lahko glede na dobljene rezultate pri kremi z zelenim čajem in vitaminom C, saj se je pri njih antioksidant v kremi ohranil.

Drugo hipotezo lahko prav tako le delno potrdimo, saj se je absorbanca oz. koncentracija res najboljše ohranila pri shranjevanju krem v hladilniku (3 °C) in pri sobni temperaturi (22,5 °C). Vendar pa koncentracija ni ostala enaka, temveč se je spreminjala ne glede na to, kje so bile kreme shranjene. Glede na rezultate pa lahko trdimo, da so se absorbance pri shranjevanju na ogrevani površini (53,2 °C) spreminjale bolj kot pri drugih temperaturah. To je vidno predvsem pri kremah z ekstraktom malin in zelenega čaja.

Tretjo hipotezo, ki pravi da bo najvišje rezultate dosegla krema z ekstraktom malin, najnižje pa krema z ekstraktom zelenega čaja, smo ovrgli. Kreme z malino so, neskladno z našimi pričakovanji, sicer na začetku dosegle najvišje rezultate, vendar so se ti hitro spremenili, saj se je že pri tretji meritvi (ne glede na prostor shranjevanja) izkazalo, da se antioksidanti niso ohranili v kremi. Tudi drugega dela hipoteze nismo potrdili, saj se je izkazalo, da so imele kreme z ekstraktom zelenega čaja večinoma najvišje vrednosti. To kaže na veliko sposobnost ohranjanja koncentracije zelenega čaja, kar pomeni tudi ohranjanje antioksidativnih značilnosti.

Tudi četrte hipoteze ne moremo potrditi, saj so bili rezultati koncentracij, ki smo jih pridobili z izračunom po enačbi, pridobljeni z umeritveno krivuljo, večinoma negativni. S tega lahko sklepamo, da umeritvena krivulja, s katero smo določili koncentracije antioksidantov, ni najbolj primerna za njihov izračun oz. je imela umeritvena krivulja prevelike absorbance pri določenih koncentracijah, glede na izmerjene absorbance v kremah.

Pri opravljanju meritev smo opazili, da se je veliko krem, sploh tistih z ekstraktom zelenega čaja in malin, razdelilo na dve plasti (zgoraj trdna oz. maščobna plast, spodaj ta tekoča oz. vodna plast). Prav tako smo pri kremi z malinami opazili, da je del kreme (tekoči del) pri temperaturi 53,2 °C izhlapel. To je mogoče tudi razlog, da se barva radikala DPPH ni spremenila, ko smo ga zmešali s kremo. Pri opravljanju meritev z vitaminom C pri 53,2 °C pa smo opazili, da se je krema iz bele barve spremenila v rjavo, ter da je del kreme po opravljeni tretji meritvi izhlapel. Izhlapitev lahko razložimo s tem, da je povišana temperatura povzročila spremembo agregatnega stanja v kremi, zato je ta izhlapela.

Na osnovi dobljenih rezultatov in študija literature lahko zaključimo, da je kreme s kakršnimikoli antioksidanti najboljše shranjevati na ohlajenem prostoru in pri sobni temperaturi, vsekakor pa se izogibamo shranjevanju na prostorih z visokimi temperaturami.



Če se osredotočimo na same antioksidante, lahko potrdimo učinkovitost oz. ohranitev lastnosti zelenega čaja in vitamin C, tudi v daljšem časovnem obdobju. Vitamin C je primeren predvsem za produkte, ki jih nameravamo shraniti pri višjih temperaturah, saj ne izgubi svojih antioksidativnih lastnosti.

### **6.1 Možne izboljšave**

Raziskovalni del naloge je bil narejen v daljšem časovnem obdobju, kar je vplivalo tudi na temperaturo v okolju, kjer so bile shranjene kreme. Težko je bilo vzdrževati stalno sobno temperaturo in temperaturo v radiatorju, saj se prostor ves čas ni ogreval enakomerno, kar je verjetno vplivalo na rezultate.

Rezultate bi lahko izboljšali z več zaporednimi meritvami oz. tako, da bi naredili več krem s posameznimi antioksidanti in jih shranili na enak prostor.

Prav tako bi lahko rezultate lažje interpretirali, če bi jih merili z enakim časovnim zamikom (npr. en teden) in pogosteje, vendar je bilo to zaradi drugih dejavnikov težje izvedljivo.

Da bi dobili bolj natančne rezultate, bi lahko naredili večjo količino kreme s posameznim antioksidantom. Tako bi lažje izmerili njegovo koncentracijo, prav tako pa bi jo tudi lažje primerjali z kremami ki jih uporabljamo v vsakdanjem življenju, saj so po količini veliko večje kot kreme, ki smo jih naredili za izvedbo raziskovalne naloge.

## **7. DRUŽBENA ODGOVORNOST**

Z raziskovalno nalogo smo želeli ugotoviti spremembe v koncentraciji antioksidantov v kremah. Raziskovalna naloga je bila narejena v skladu z osnovnimi načeli družbene odgovornosti.

Družbena odgovornost se v naši raziskovalni nalogi kaže predvsem v uporabi materialov za izdelavo kreme. S tem smo želeli opozoriti oz. poudariti, da je lahko tudi kozmetika, narejena iz naravnih sestavin, učinkovita. Ne samo, da so imele izdelane kreme značilnosti kupljenih krem z umetnimi primesmi, temveč so tudi za človeka varnejše in ne onesnažujejo okolja. Z meritvami absorbance pri različnih temperaturah, pa smo želeli izvedeti kako dolgo antioksidanti v kremah sploh zdržijo. S tem smo želeli dokazati, da lahko ti ohranijo svoje lastnosti veliko dalj časa, če so kreme pravilno shranjene, s tem pa bi kreme lahko uporabljali dalj časa.

## 8. VIRI IN LITERATURA

1. Allemann B., Baumann L. 2015. Antioxidants used in skin care formulations. Cosmetic Medicine and Research Institute. Prevezeto 21.1.2016. Dostopno na:  
<http://www.skintherapyletter.com/2008/13.7/2.html>
2. Baumgartner S., Zvonar A. 2013. Kozmetični izdelki I.: vaje in teoretične osnove. Ljubljana. Fakulteta za farmacijo.
3. Bradford A. 2015. Vitamin E: Sources, benefits and risks. Live Science. Povzeto 19.1.2016. Dostopno na: <http://www.livescience.com/51543-vitamin-e.html>
4. Ehrlich D. S. 2013. Vitamin C (Ascorbic acid). University of Maryland Medical center. Prevezeto dne 15.1.2016. Dostopno na: <https://umm.edu/health/medical/altmed/supplement/vitamin-c-ascorbic-acid>
5. EUFIC. Raspberries – a better source of antioxidants. Prevezeto 21.1.2016. Dostopno na: <http://www.eufic.org/page/en/show/latest-science-news/ftid/raspberries-antioxidants/>
6. Euromonitor International. Natural ingredients drive growth in cosmetics and toiletries. Prevezeto 19.12.2015. Dostopno na: <http://www.marketresearchworld.net/content/view/348/77/>
7. Higon J. 2005. Flavonoids. Oregon State University. Prevezeto 17.1.2016. Dostopno na: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/flavonoids>
8. Higon J. 2005. Tea. Oregon State University. Prevezeto 20.1.2016. Dostopno na: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/food-beverages/tea>
9. Higon J. 2001. Zinc. Oregon State University. Prevezeto 17.1.2016. Dostopno na: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/minerals/zinc>
10. Higon J. 2000. Vitamin A. Oregon State University. Prevezeto 20.1.2016. Dostopno na: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/vitamins/vitamin-A>
11. Juncan A. 2011. Analysis of some antioxidants used in cosmetics by chromatographic methods. “Babes-Bolyai” university. Dostopno na:  
[http://doctorat.ubbcluj.ro/sustinerea\\_publica/rezumate/2011/chimie/JUNCAN\\_ANCA\\_MARIA\\_EN.pdf](http://doctorat.ubbcluj.ro/sustinerea_publica/rezumate/2011/chimie/JUNCAN_ANCA_MARIA_EN.pdf)
12. Lekarnar.com. Antioksidanti in prosti radikali. Prevezeto 23.1.2016. Dostopno na: <http://www.lekarnar.com/clanki/antioksidanti-in-prosti-radikali>
13. Lipušček J. 2013. Antioksidanti v kozmetičnih izdelkih – v kremah. Pedagoška fakulteta Ljubljana. Dostopno na: <http://pefprints.pef.uni-lj.si/1504/>
14. Lowry O. H., Rosebrough N., Farr Lewis A., Randal R. J. 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. Washington University of Medicine. Dostopno na: <http://www.jbc.org/content/193/1/265>

15. Michels A. J. 2012. Vitamin E and skin health. Oregon State University. Povzeto 19.1.2016.  
Dostopno na: <http://lpi.oregonstate.edu/mic/micronutrients-health/skin-health/nutrient-index/vitamin-E>
16. Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin J. Sci. Technologies. Dostopno na: <http://rdo.psu.ac.th/sjstweb/journal/26-2/07-DPPH.pdf>
17. Palmer D.M., Kitchin J.S. 2010. Oxidative damage, skin aging, antioxidants and a novel antioxidant rating system. Prevezeto 13.1.2016. Dostopno na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20120419>
18. Percival M. 1996. Antioxidants. Advanced Nutrition Publications. Prevezeto 23.1.2016. Dostopno na: <http://acudoc.com/Antioxidants.PDF>
19. Powell S. R. 2000. The antioxidant properties of zinc. The journal of nutrition. Prevezeto 19.1.2016. Dostopno na: <http://jn.nutrition.org/content/130/5/1447S.full>
20. PubChem Compound. Povzeto 30.1.2016. Dostopno na: [https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gallic\\_acid#section=Information-Sources](https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gallic_acid#section=Information-Sources)
21. Samuels L. 2012. Key of unlocking the benefits of vitamin C. Skin Inc. Magazine. Prevezeto 19.1.2016. Dostopno na: <http://www.skininc.com/skinscience/ingredients/Keys-to-Unlocking-the-Benefits-of-Vitamin-C-181434171.html>
22. Wikipedia. Prevezeto 30.1.2016. Dostopno na: [https://en.wikipedia.org/wiki/Folin%E2%80%93Ciocalteu\\_reagent](https://en.wikipedia.org/wiki/Folin%E2%80%93Ciocalteu_reagent)
23. Yoshikawa T., Naito Y. 2002. Journal of Japan Medical Association. Dostopno na: [http://www.med.or.jp/english/pdf/2002\\_07/271\\_276.pdf](http://www.med.or.jp/english/pdf/2002_07/271_276.pdf)

## 8.1 Viri slik

Slika 1: Reakcijski mehanizem radikalov. Povzeto 19.1.2016. Dostopno na:

<http://www.thehorse.com/images/content/0104/antioxidants.gif>

Slika 2: Delitev antioksidantov. Povzeto 30.1.2016. Dostopno na:

[http://cdn.shopify.com/s/files/1/0447/0177/files/What\\_antioxidants\\_are\\_the\\_most\\_effective\\_in\\_protecting\\_skin\\_from\\_free\\_radicals.jpg?5931381609396064884](http://cdn.shopify.com/s/files/1/0447/0177/files/What_antioxidants_are_the_most_effective_in_protecting_skin_from_free_radicals.jpg?5931381609396064884)

Slika 3: Skeletna formula vitamina C. Povzeto 17.1.2016. Dostopno na:

[https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e7/L-Ascorbic\\_acid.svg/200px-L-Ascorbic\\_acid.svg.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e7/L-Ascorbic_acid.svg/200px-L-Ascorbic_acid.svg.png)

Slika 4: Skeletna formula vitamina E. Povzeto 21.1.2016. Dostopno na: [https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRe\\_Sz8kktEQOjOvZ9TPcIAdLKXVUMGASnCjkXj8V4-AJdFIMOj](https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRe_Sz8kktEQOjOvZ9TPcIAdLKXVUMGASnCjkXj8V4-AJdFIMOj)

Slika 5: Vrste vitamina A. Povzeto 19.1.2016. Dostopno na:

<http://www.neuronresearch.net/vision/pix/vitaminAs.gif>

Slika 6: Osnovna strukturna delitev flavonoidov. Povzeto 23.1.2016. Dostopno na:

<http://lpi.oregonstate.edu/sites/lpi.oregonstate.edu/files/tea-figure1v4-700px.png>

Slika 7: Reakcijski mehanizem DPPH. Povzeto 20.1.2016. Dostopno na:

[https://www.researchgate.net/profile/Ruangelie\\_Edrada-Ebel/publication/23456470/figure/fig3/Figure-12-Principle-of-antioxidant-DPPH-assay.png](https://www.researchgate.net/profile/Ruangelie_Edrada-Ebel/publication/23456470/figure/fig3/Figure-12-Principle-of-antioxidant-DPPH-assay.png)

Slika 8: Segrevanje oljne in vodne faze. Lasten vir.

Slika 9: Ekstrakti antioksidantov. Lasten vir.

Slika 10: Meritve absorbance s spektrometrom. Lasten vir.

Slika 11: Izgled krem shranjenih na ogrevani površini. Lasten vir.