

ŠOLSKI CENTER VELENJE
SPLOŠNA IN STROKOVNA GIMNAZIJA VELENJE
Trg mladosti 3, 3320 Velenje
MLADI RAZISKOVALCI ZA RAZVOJ ŠALEŠKE DOLINE

RAZISKOVALNA NALOGA

**UGOTAVLJANJE VPLIVA IZVLEČKA BRAZILSKE KREŠE (*Acmella
oleracea*) NA GUBE**

Tematsko področje: KEMIJA

Avtorice:

Katarina Grazer, 3. letnik

Eva Hudournik, 3. letnik

Lara Goršek, 3. letnik

Mentorici:

doc. dr. Nina Kočever Glavač, mag. farm.

mag. kem. teh. Karmen Grabant

Velenje, februar 2017

Raziskovalna naloga je bila opravljena v laboratoriju Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani in na Šolskem centru Velenje, Gimnaziji Velenje.

Mentorici: doc. dr. Nina Kočever Glavač, mag. farm., in mag. kem. teh. Karmen Grabant

Datum predavitve:

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

ŠD Gimnazija Velenje, šolsko leto 2016/2017

KG brazilska kreša/gube/staranje/koža/emulzija/placebo

AV GRAZER, Katarina / HUDOURNIK, Eva / GORŠEK, Lara

SA KOČEVAR GLAVAČ, Nina / GRABANT, Karmen

KZ 3320 Velenje, SLO, Trg Mladosti 3

ZA Gimnazija Velenje

LI 2017

IN **UGOTAVLJANJE VPLIVA IZVLEČKA BRAZILSKE KREŠE (*Acmella oleracea*) NA GUBE**

TD Raziskovalna naloga

OP XII, 60 str., 5 pregl., 10 graf., 49 sl., 6 pril., 13 vir.

IJ SL

JI sl/en

AI Videz mlade kože je že od nekdaj ideal vsake ženske, kozmetični izdelki proti staranju pa so na trgu že mnogo let trend. Zanimalo nas je, ali lahko iz naravnih sestavin izdelamo kozmetični izdelek proti gubam in z njim dosežemo primerljive rezultate kot pri dragih kozmetičnih kremah. V literaturi smo poiskale domnevno najučinkovitejše rastline proti gubam. Med njimi je bila tudi nam nepoznana brazilska kreša (*Acmella oleracea*). Po svetu jo uporabljajo kot začimbo v kulinariki, v medicini kot anestetik, med mnogimi ugodnimi učinki pa navajajo tudi učinek proti staranju in jo celo enačijo z botoksom, a podrobnejših raziskav o tem še ni. Anketa, ki smo jo izvedle na začetku raziskovanja, je pokazala, da brazilske kreše ni poznal nihče od anketirancev. V okviru eksperimentalnega dela smo nato razvile in optimizirale formulacijo za emulzijo z izvlečkom brazilske kreše. Da bi se prepričale o njenem delovanju, smo izbrale 20 prostovoljcev, ki so na desni polovici obraza dva meseca uporabljali placebo emulzijo, na levi pa testno emulzijo z izvlečkom. Prostovoljce smo fotografirale pred začetkom, po enem mesecu ter po dveh mesecih raziskave in na koncu primerjale rezultate ter s pomočjo zunanjih ocenjevalcev ugotovile, da izvleček ne deluje proti gubam.

KEY WORDS DOCUMENTATION

ND Gimnazija Velenje, 2016/2017

CX Brazil cress/wrinkles/ageing/skin/emulsion/placebo

AU GRAZER, Katarina / HUDOURNIK, Eva / GORŠEK, Lara

AA KOČEVAR GLAVAČ, Nina / GRABANT, Karmen

PP 3320 Velenje, Trg Mladosti 3

PB Gimnazija Velenje

PY 2017

TI **IDENTIFYING THE EFFECT OF THE ACMELLA OLERACEA EXTRACT
ON WRINKLES**

DT RESHEARCH WORK

NO XII, 60 p., 5 tab., 10 graf, 49 fig., 6 ann., 13 ref.

LA SL

AL sl/en

AB The appearance of young skin has always been an ideal of every woman and the anti-ageing cosmetic products have been a trend on the market for many years. The aim of our study was to find out, if we could produce an anti-wrinkle cream made of natural ingredients and achieve comparable results to the expensive cosmetic products. We studied the literature about allegedly effective anti-wrinkle plants and among them found yet unknown Brazil cress (*Acmella oleracea*). It has been used throughout the world as a spice in cooking, an anesthetic in medicine and among many beneficial effects it is supposed to have an anti-ageing effect, sometimes even equivalent to Botox, although more elaborate studies have not been performed yet. The survey we conducted at the beginning of our research showed that none of the respondents is familiar with the anti-ageing effect of Brazil cress. In the experimental part of our work, we developed and optimized an emulsion formulation containing *Acmella oleracea* extract. To prove its anti-ageing effect, we selected 20 volunteers that were using a placebo cream on the right side of their face and a test cream containing the extract on the left side, for two months. We photographed the volunteers before the start of the research, after one month and after two months of the research. Ultimately we compared the results and with the assistance of external evaluators have found out, that the *Acmella oleracea* extract does not have an anti-wrinkle effect.

KAZALO VSEBINE

Kazalo vsebine

1	UVOD	1
1.1	Hipoteze.....	1
1.2	Cilji raziskovalne naloge	1
2	PREGLED OBJAV	2
2.1	Koža.....	2
2.1.1	Zgradba kože	2
2.1.2	Naloge kože	2
2.1.3	Zrela koža	3
2.2	Naravna kozmetika.....	3
2.3	Emulzija o/v.....	4
2.3.1	Sestavine izdelane emulzije.....	4
2.1	Brazilska kreša.....	6
2.1.1	Opis rastline.....	6
2.1.2	Delovanje in uporaba.....	7
3	METODOLOGIJA.....	8
3.1	Začetek raziskovanja	8
3.2	Anketa in zbiranje literature	8
3.3	Laboratorijsko delo – razvoj in optimizacija formulacije emulzije o/v.....	8
3.3.1	Laboratorijske naprave in pripomočki:.....	8
3.3.2	Sestavine za izdelavo emulzije:.....	9
3.3.3	Razvoj in optimizacija emulzije	9
3.3.3.1	Postopek izdelave vzorcev 1 in 2	11
3.3.3.2	Dodatek izvlečka brazilske kreše	11

3.3.3.3	Testna emulzija z izvlečkom brazilske kreše	13
3.3.3.4	Placebo emulzija brez izvlečka brazilske kreše	14
3.4	Testiranje emulzije na prostovoljcih.....	15
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	18
4.1	Rezultati ankete	18
4.2	Testiranje emulzije na prostovoljcih.....	24
4.2.1	Rezultati, pridobljeni iz samoocenitvenih obrazcev.....	24
4.2.1.1	Splošna ocena uporabljenih emulzij.....	24
4.2.1.2	Opažanja prostovoljcev ob uporabi testne emulzije.....	25
4.2.1.3	Opažanja prostovoljcev ob uporabi placebo emulzije.....	25
4.2.2	Rezultati, pridobljeni z vrednotenjem ocen zunanjih ocenjevalcev	25
4.2.3	Primer delovanja testne in placebo emulzije	26
4.2.3.1	Delovanje testne emulzije pri prostovoljcu 11 (slika 14).....	26
4.2.3.2	Delovanje placebo emulzije na prostovoljcu 14 (slika 15)	27
5	ZAKLJUČEK.....	28
6	POVZETEK	30
7	ZAHVALA.....	32
8	PRILOGE	33
8.1	Priloga A.....	33
8.2	Priloga B	35
8.3	Priloga C.....	37
8.4	Priloga D.....	38
8.5	Priloga E	40
8.6	Priloga F	43
8.6.1	Prostovoljec 1	43
8.6.2	Prostovoljec 2	44

8.6.3	Prostovoljec 3	45
8.6.4	Prostovoljec 4	46
8.6.5	Prostovoljec 5	47
8.6.6	Prostovoljec 6	48
8.6.7	Prostovoljec 7	49
8.6.8	Prostovoljec 8	50
8.6.9	Prostovoljec 9	51
8.6.10	Prostovoljec 11	52
8.6.11	Prostovoljec 12	53
8.6.12	Prostovoljec 13	54
8.6.13	Prostovoljec 14	55
8.6.14	Prostovoljec 15	56
8.6.15	Prostovoljec 17	57
8.6.16	Prostovoljec 18	58
8.6.17	Prostovoljec 20	59
9	VIRI IN LITERATURA	60

KAZALO SLIK

Slika 1: Prerez kože, na katerem so posebej prikazane sestavine usnjice (13)	2
Slika 2: Izvleček brazilske kreše (foto: L. Goršek)	6
Slika 3: Brazilska kreša (1).....	7
Slika 4: Spilantol (4).....	7
Slika 5: Centrifuga (foto: K. Grazer).....	10
Slika 6: Nestabilna emulzija (foto: L. Goršek).....	10
Slika 7: Netopen del izvlečka (foto: L. Goršek).....	12
Slika 8: Vakuumski homogenizator (foto: E. Hudournik)	14
Slika 9: Dodajanje sestavin v posodo vakuumskega homogenizatorja (foto: E. Hudournik) ..	14
Slika 10: Testna (levo) in placebo (desno) emulzija (foto: E. Hudournik)	15
Slika 11: Področje uporabe emulzije: desna polovica obraza – placebo stran (placebo emulzija brez izvlečka brazilske kreše) in leva polovica obraza – testna stran (emulzija o/v z izvlečkom brazilske kreše) (10)	16
Slika 12: Levi in desni lateralni periorbitalni del, označen z rdečimi pikami (10)	16
Slika 13: Primer slik, ki so ju vrednotili zunanji ocenjevalci. V prikazanem primeru je zunanji ocenjevalec ocenil, da so na desni sliki vidne večje gube.	17
Slika 14: Prostovoljec 11, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne emulzije, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	26
Slika 15: Prostovoljec 14, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo emulzije, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)	27
Slika 16: Prostovoljec 1, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)	43
Slika 17: Prostovoljec 1, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)	43
Slika 18: Prostovoljec 2, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)	44
Slika 19: Prostovoljec 2, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)	44

Slika 20: Prostovoljec 3, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	45
Slika 21: Prostovoljec 3, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	45
Slika 22: Prostovoljec 4, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	46
Slika 23: Prostovoljec 4, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	46
Slika 24: Prostovoljec 5, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	47
Slika 25: Prostovoljec 5, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	47
Slika 26: Prostovoljec 6, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	48
Slika 27: Prostovoljec 6, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	48
Slika 28: Prostovoljec 7, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	49
Slika 29: Prostovoljec 7, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	49
Slika 30: Prostovoljec 8, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	50
Slika 31: Prostovoljec 8, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	50
Slika 32: Prostovoljec 9, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	51
Slika 33: Prostovoljec 9, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)	51
Slika 34: Prostovoljec 11, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	52
Slika 35: Prostovoljec 11, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	52

Slika 36: Prostovoljec 12, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	53
Slika 37: Prostovoljec 12, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer).....	53
Slika 38: Prostovoljec 13, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	54
Slika 39: Prostovoljec 13, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer).....	54
Slika 40: Prostovoljec 14, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)	55
Slika 41: Prostovoljec 14, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)	55
Slika 42: Prostovoljec 15, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	56
Slika 43: Prostovoljec 15, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer).....	56
Slika 44: Prostovoljec 17, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	57
Slika 45: Prostovoljec 17, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer).....	57
Slika 46: Prostovoljec 18, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	58
Slika 47: Prostovoljec 18, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer).....	58
Slika 48: Prostovoljec 20, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)	59
Slika 49: Prostovoljec 20, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer).....	59

KAZALO GRAFOV

Graf 1: Delež anketirancev po spolu.	18
Graf 2: Število anketirancev po starosti	19
Graf 3: Metode oz. izdelki, ki jih ženske uporabljajo proti staranju kože.....	20
Graf 4: Priseganje na certificirano naravno ali klasično kozmetiko.....	21
Graf 5: Učinkovanje naravne v primerjavi s klasično kozmetiko po mnenju anketirancev.....	21
Graf 3: Rastlinski izvlečki, ki po mnenju anketirancev delujejo proti staranju kože.....	22
Graf 7: Kdaj se po mnenju anketirancev koža začne starati.....	22
Graf 8: Dejavniki, ki po mnenju anketirank vplivajo na staranje kože.	23
Graf 9: Dejavniki, ki po mnenju anketirancev vplivajo na staranje kože.....	23
Graf 10: Število oseb, ki bi oz. ne bi uporabljali kreme iz naravnih izvlečkov, narejene na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani.	24

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Količine sestavin vzorcev od 1 do 7.....	10
Preglednica 2: Vrednotenje vzorcev emulzije	11
Preglednica 3: Količina sestavin v 1500 g testne emulzije z izvlečkom brazilske kreše	13
Preglednica 4: Količina sestavin v 1500 g placebo emulzije	14
Preglednica 5: Razširjenost uporabe izdelkov proti staranju kože po starosti in spolu.....	19

SEZNAM KRATIC IN SIMBOLOV

- **itd.:** in tako dalje
- **oz.:** oziroma
- **UV-žarki:** ultravijolični žarki
- **o/v:** olje v vodi
- **v/o:** voda v olju
- **pH:** potential of hydrogen; potencial hidroksidnih ionov
- **SPF:** sun protection factor; faktor za zaščito pred soncem
- **INCI:** International Nomenclature of Cosmetic Ingredients; mednarodno poimenovanje kozmetičnih sestavin
- **q.s.:** quantum satis; kolikor je potrebno
- **et al.:** et alii; in drugi
- **doc. dr.:** docent doktor
- **mag. farm.:** magister farmacije
- **mag. kem. teh.:** magister kemijske tehnologije

1 UVOD

V današnjem času je videz mlade in napete kože ideal skoraj vsake ženske srednjih let, zato veliko časa in denarja vlagajo v razne posege in izdelke proti staranju kože, kot so kreme, serumi, maske, losjoni itd. Zaradi pomanjkanja znanja na tem področju svetovna kozmetična podjetja z lahkoto prepričajo ljudi o neverjetnih učinkih teh izdelkov, v resnici pa večinoma le kratkotrajno in navidezno izboljšajo videz starajoče se kože. Naravna kozmetika postaja vse aktualnejša, saj ljudje bolj zaupajo naravnim sestavinam, zato smo se odločile za izdelavo raziskovalne naloge na tem področju. V literaturi smo iskale domnevno najučinkovitejše rastline, ki delujejo proti staranju kože, in našle informacijo o čudežnih učinkih brazilske kreše, ki jo v člankih primerjajo z naravnim botoksom. To je pritegnilo naše zanimanje. Naše celotno raziskovanje je tako temeljilo na izdelavi in delovanju naravne kreme z izvlečkom brazilske kreše (*Acmella oleracea*) na gube.

1.1 Hipoteze

1. Večina žensk po 40. letu starosti uporablja izdelke proti staranju kože.
2. Več ljudi meni, da proti staranju kože bolj učinkuje klasična, ne naravna kozmetika.
3. Nihče od anketirancev ne pozna učinka brazilske kreše proti gubam.
4. Dodatek izvlečka poruši stabilnost emulzije.
5. Krema z izvlečkom brazilske kreše zmanjša videz gub v predelu oči.

1.2 Cilji raziskovalne naloge

Želele smo ugotoviti informiranost ljudi o temi staranja kože, njihove navade pri uporabi izdelkov proti staranju in poznavanje kozmetičnih učinkov brazilske kreše. Odgovore na ta vprašanja smo dobile s pomočjo ankete, ki smo jo izvedle v fizični in spletni obliki, s ciljno skupino nad 30. letom starosti. V laboratoriju je bil naš cilj ugotoviti primerno razmerje med sestavinami v kremi in izdelati stabilno formulacijo. Ugotoviti smo morale najustreznejšo količino emulgatorja, ki najbolj prispeva k stabilnosti emulzije, in najustreznejšo količino zgoščevala ksantana, da bi dobile ustrezno teksturo oz. viskoznost emulzije. Glavni cilj naše raziskovalne naloge je bil ugotoviti, ali izvleček brazilske kreše zmanjša število oz. videz gub na koži. Želele smo izdelati kremo, ki ustreza vsakemu tipu kože in ima obenem še učinek proti gubam, ter jo testirati na 20 prostovoljcih in dva meseca spremljati spremembe na njihovi koži v predelu oči.

2 PREGLED OBJAV

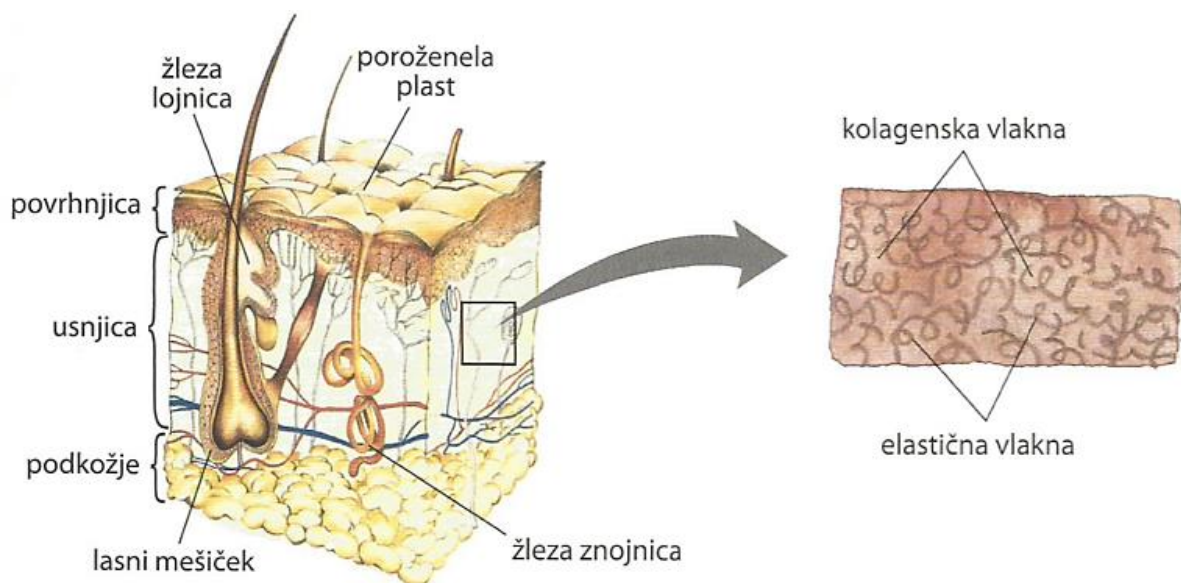
2.1 Koža

Koža (*cutis*) je prva obrambna plast našega telesa in varuje njegovo notranjost pred okoljem/zunanji vplivi (13). Je največji in najtežji organ ter hkrati čutilo (12). Zgrajena je slojevito, različni sloji pa imajo različne naloge (13).

2.1.1 Zgradba kože

Kožo sestavljajo povrhnjica (*epidermis*), usnjica (*dermis*) in podkožje (*subcutis*) (slika 1).

Povrhnjica je zunanja plast kože, ki se nenehno obnavlja. Sestavljata jo rožena in zarodna plast. Usnjico tvori vezivo tkivo, ki vsebuje elastin (vlakna, ki omogočajo, da je koža raztegljiva in voljna) in kolagen (vlakna, ki skrbijo za čvrstost kože). Usnjica vsebuje tudi številne krvne žile, lasne mešičke ter žleze lojnice in znojnice. Pod usnjico leži podkožje, ki je sestavljeno iz vezivnega tkiva in maščobe. Deluje kot izolacija telesa (5), ji daje videz napetosti in služi kot skladišče energije, lipofilnih vitaminov (A, D, E in K) ter hormonov (7).



Slika 1: Prerez kože, na katerem so posebej prikazane sestavine usnjice (13)

2.1.2 Naloge kože

Koža ima zaščitno, termoregulacijsko, čutilno in komunikacijsko vlogo, vlogo žleznega tkiva ter sodeluje pri izločanju nekaterih odvečnih snovi.

Telo varuje pred mehanskimi in kemičnimi vplivi, UV-žarki ter preprečuje vdor mikroorganizmov (13). S krčenjem žilnega sistema v usnjici in potenjem vzdržuje telesno temperaturo (12). Prek žlez znojnic izloča znoj, s katerim telo ohladi, žleze lojnice pa izločajo sebum (13). Hidrofilne sestavine znoja in lipidi sebuma so pomembne sestavine hidrolipidnega površinskega sloja kože, ki s svojim kislim pH vzdržuje fiziološko mikrofloro in zaščitno funkcijo rožene plasti (12).

Koža opravlja vlogo različnih vrst čutil, ki zaznavajo, kaj se dogaja v okolju, ter o tem prek čutilnih živčnih vlaken obveščajo osrednji živčni sistem. Za vsako vrsto dotika je razvit poseben tip čutila (13). Živčni končiči v koži omogočajo, da je koža občutljiva za pritisk, vibracije, bolečino in temperaturo (12).

Koža je tudi ogledalo telesnega in psihičnega ravnovesja ali bolezenskih motenj (9). Zunanji videz kože je pomemben psiho-socialni dejavnik, saj predvsem po videzu kože ocenjujemo starost človeka ter postavljamo lepota in estetska merila (2).

2.1.3 Zrela koža

Po približno 25. letu starosti se na koži pojavijo prvi znaki staranja. Proces v koži se upočasni, njena struktura pa postane šibkejša. Poleg tega se zmanjša količina snovi, ki kožo ohranjajo čvrsto in gladko (kolagen, elastin in hialuronska kislina). Koža postane suha, pogosto tudi srbeča in hrapava, na njej pa se pojavijo gube. Prve vidne drobne linije in gube se pojavijo okrog oči oz. v lateralnem periorbitalnem delu očesa (12). Pogost pojav so tudi podočnjaki in zabuhlost ob čeljustnem loku, na vratu, očeh in čelu. Izdelki za zrelo kožo naj bi vsebovali vitamina A in E, antioksidante, maščobne kisline omega, snovi, ki spodbujajo tvorbo kolagena, in peptide, saj so dokazali, da zavirajo nastanek gub in druge znake staranja (5).

Na hitrejše staranje kože vplivajo UV-sevanje, pogoste izrazite temperaturne spremembe, onesnažen zrak, kajenje, telesna neaktivnost, stres, pretirana in/ali napačna uporaba kozmetičnih sredstev, spol, bolezni, zdravila, nezdrava prehrana in pomanjkanje spanca (3,6).

2.2 Naravna kozmetika

Naravna kozmetika je alternativa klasičnim kozmetičnim izdelkom, v katerih navadno prevladujejo polysintezne in sintezne sestavine. V naravno kozmetiko sodijo tisti izdelki, ki

vsebujejo sestavine rastlinskega, mineralnega ali živalskega izvora in jih pridobivamo izključno s fizikalnimi, mikrobiološkimi in encimskimi metodami. Izjema so nekatere dišave in konzervansi (7).

2.3 Emulzija o/v

Naša raziskovalna naloga je temeljila na izdelavi emulzije o/v. Emulzije so heterogeni sistemi, sestavljeni iz dveh ne mešajočih se tekočin (lipidne oz. maščobne in vodne faze), od katerih je ena v obliki kapljic (kot notranja faza) enakomerno porazdeljena v drugi (zunanji fazi). Stabilnost porazdelitve faz dosežemo z dodatkom površinsko aktivne snovi oz. emulgatorja, ki se razporedi na mejni površini med obema fazama in zmanjša medfazno napetost. Je torej povezovalni člen vodne in lipidne faze. Stabilnost emulzije najenostavneje dokažemo, če se po centrifugiranju maščobna in vodna faza ne ločita. V odvisnosti od deleža posamezne faze (delež zunanje faze je navadno večji) in uporabljenega emulgatorja ločimo dve vrsti emulzij, in sicer emulzije tipa olje v vodi (o/v), pri čemer je voda zunanja faza, ter emulzijo tipa voda v olju (v/o), pri čemer je voda notranja faza. Naša formulacija je bila emulzija o/v (7).

2.3.1 Sestavine izdelane emulzije

Lipidna faza je bila sestavljena iz mandljevega olja in karitejevega masla.

Mandljevo olje deluje kot emolient in na koži ustvari polprepustno plast, ki kožo varuje pred vremenskimi vplivi, jo hrani in ohranja voljno (5). Je svetlo rumene barve in ima blago, sladkasto aromo po oreščkih (7).

Karitejevo maslo ima prav tako vlogo emolientne sestavine. Vsebuje tudi fitosterole, ki spodbujajo rast kožnih celic, zato je odličen dodatek izdelkom za nego kože (5).

V vlogi emulgatorja smo uporabili samoemulgirajoči glicerilstearat, ki je bela, vosku podobna snov šibkega vonja. Občutljiv je na kisel pH, zato mora biti ta med izdelavo emulzije v območju od 6,8 do 8,2. Šele naknadno ga nakisamo z dodajanjem mlečne kisline. Priporočena koncentracija za emulzijske sisteme je 5 %.

Voda in glicerol sta vlažila. Vlažila so kozmetične sestavine, ki povečajo vsebnost vode v koži, posnemajo vlogo kožnih lipidov in ponovno vzpostavijo normalno funkcijo lipidne bariere. Glicerol je viskozna, bistra, brezbarvna tekočina sladkega okusa. Ohranja tudi

vlačnost kozmetičnega izdelka. V izdelke za nego kože ga vgrajujemo v koncentracijah 2 do 5 %.

Ksantan je rastlinsko zgoščevalo – brez tega bi bila izdelana emulzija tekoča. Je v obliki belega prahu s šibkim vonjem. Na koži napravi tanko plast, ki zmanjša naravno izhlapevanje vode skozi roženo plast. Zato deluje kot vlažilo, v emulzijah pa ima tudi vlogo stabilizatorja. V emulzijah ga uporabljamo v koncentracijah od 0,1 do 0,3 %.

Vitamin E je antioksidant. Je viskozna, oranžna, olju podobna tekočina, skoraj netopna v vodi.

Glicerilkaprilat je konzervans in je bela, vosku podobna snov, ki je zelo lahko topna v vodi. Deluje proti bakterijam, kvasovkam in deloma tudi plesnim v koncentracijah 0,5 do 1 %.

Mlečna kislina je naravno vlažilo, fiziološko prisotno na koži. Uporabimo jo, da nakisa pH formulacije in ga približa pH-ju kože, ki je od 5 do 5,5. Previsok pH emulzije lahko draži kožo (18). Je brezbarvna do rumenkasta tekočina s koncentracijo 90 % (7).

Za kozmetično aktivno sestavino z domnevnim delovanjem proti gubam smo uporabile na trgu dostopen vodni izvleček brazilske kreše (slika 2), ki je glede na specifikacijo proizvajalca vseboval od 1 do 5 % maltodekstrina. Maltodekstrin je polnilo, ki ga pogosto dodajamo rastlinskim izvlečkom, da jim izboljšamo pretočne lastnosti (8).

Za odišavljenje smo uporabile eterično olje sivke, ki je brezbarvno do svetlo rumeno, pridobimo pa ga s parno destilacijo cvetov sivke (5).



Slika 2: Izvleček brazilske kreše (foto: L. Goršek)

2.1 Brazilska kreša

Znanstveno ime: *Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen

Družina: Asteraceae (nebinovke) (4)

Sinonimi: *Spilanthus oleracea*, *Spilanthus acmella*, Paracress, Eyeball Plant, Peek-A-Boo Plant, Toothache Plant, Spot Plant, Prickelblume, Alphabet Plant, Jambu, Australian Cress, Brazil Cress (1).

INCI: *Acmella Oleracea* Extract ali *Spilanthus Acmella* Extract

S pravimi krešami nima ničesar skupnega. Poimenovali so jo po brazilski provinci Para (1).

2.1.1 Opis rastline

Je enoletnica, ki zraste od 40 do 60 cm (11). Zgornja stran listov je temno zelena, spodnja pa bolj bleda. Listi so široki, jajčaste oblike z valovitimi robovi, krajši od 8 cm, rastejo v parih, ki so nasprotno nameščeni in prekriti z neopaznimi belimi lasi. Ovalen cvet nima cvetnih listov, namesto tega pa ima zlat popek z oranžnordečo sredino, ki daje rastlini videz očesnega zrkla (1). Brazilska kreša uspeva v vlažnih in toplih območjih tropskega in subtropskega pasu. Raste na Madagaskarju, Komorih, Mavriciju in Reunionu (4).

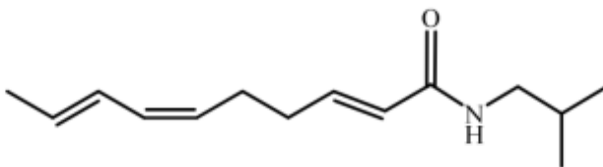


Slika 3: Brazilska kreša (1)

2.1.2 Delovanje in uporaba

Rastlino uporabljajo v kulinariki (1), v medicini pa največ za zdravljenje zobobolov, vnetij grla in dlesni. Izvleček deluje kot anestetik, preprečuje zobno gnilobo, zdravi grižo, malarijo in revmo, deluje pa tudi antibakterijsko (11).

Za delovanje proti gubam naj bi bil odgovoren spilantol (slika 4), ki ga je v cvetu 1,25 % (4). Med učinki, ki bi jih lahko izkoristili z vgradnjo izvlečka brazilske kreše v kozmetične izdelke, moramo omeniti protivnetno, protimikrobno in antioksidativno delovanje (11). Poleg tega navajajo, da zmanjšuje mišično napetost in pomaga pri odpravi videza obraznih linij in gub, ki so posledica napetih ali skrčenih obraznih mišic. Izvleček te rastline velja za naravno in cenejšo alternativo botoksu, a brez strupenih učinkov in potrebe po vbrizganju pod kožo (1).



Slika 4: Spilantol (4)

3 METODOLOGIJA

3.1 Začetek raziskovanja

Svoje raziskovanje smo začele septembra 2016 z obiskom podjetja Kozmetika Afroditia v Rogaški Slatini, kjer smo pridobile širše znanje o izdelkih proti gubam in starajoči se koži. Na osnovi pridobljenega znanja smo se odločile, da bi tudi same izdelale kozmetični izdelek proti gubam.

3.2 Anketa in zbiranje literature

Z anketnim vprašalnikom (priloga A) v spletni in fizični obliki smo želele ugotoviti splošno znanje ljudi o naravni kozmetiki, starajoči se koži, izdelkom proti staranju in gubah. Na vprašalnik je odgovorilo 150 ljudi, starejših od 30 let. Rezultati ankete sicer ne predstavljajo ključnega dela naše raziskovalne naloge, a so nas usmerili v nadaljnje delo. Ob pregledu rezultatov 7. vprašanja, v katerem smo izvedele, da nihče od anketirancev ne pozna učinka brazilske kreše proti staranju, smo se namreč odločile, da želimo ugotoviti, ali izvleček res deluje pri zmanjšanju obraznih gub. Pričele smo zbirati literaturo iz knjig, člankov in spletnih strani, nato pa v laboratoriju Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani opravile eksperimentalni del naše naloge.

3.3 Laboratorijsko delo – razvoj in optimizacija formulacije emulzije o/v

3.3.1 Laboratorijske naprave in pripomočki:

- zaščitni plašč,
- zaščitne rokavice,,
- tehtnica,
- električni palični mešalnik,
- vodna kopel,
- kuhalna plošča,
- centrifuga Centric200R, Laboratorijska oprema Kambič,
- vakuumski homogenizator, Stephan – machinery,
- čaše različnih velikosti,
- steklene palčke,
- spatule,
- žličke,

- lonec,
- epruvete,
- sterilni plastični vsebniki,
- pH lističi.

3.3.2 Sestavine za izdelavo emulzije:

- demineralizirana voda,
- mandljevo olje (INCI: *Prunus Amygdalus Dulcis Oil*), BaccaraRose, Nemčija,
- karitejevo maslo (INCI: *Butyrospermum Parkii Butter*), Afrikahandel CSR Projekt, Nemčija,
- glicerilstearat (INCI: *Glyceryl Stearate*), Caesar & Lorentz, Nemčija,
- glicerol (INCI: *Glycerin*), Farmalabor, Italija, transparentni ksantan (INCI: *Xanthan Gum*), Alexmo Cosmetics, Nemčija,
- vitamin E (INCI: *Tocopherol*), Dragonspice, Nemčija,
- glicerilkaprilat (INCI: *Glyceryl Caprylate*), Aliacura, Nemčija,
- mlečna kislina, 90-odstotna (INCI: *Lactic Acid*), Sigma-Aldrich, Nemčija,
- izvleček brazilske kreše (INCI: *Acmella Oleracea Extract*), Aliacura, Nemčija,
- eterično olje sivke (INCI: *Lavandula Angustifolia Oil*), Behawe, Nemčija.

3.3.3 Razvoj in optimizacija emulzije

Pri izdelavi kozmetičnih izdelkov moramo zagotoviti ustrezno higieno, s čimer preprečimo neželjeno mikrobiološko kontaminacijo, npr. razkuževanje rok in pribora z etanolom ter delo z zaščitnimi rokavicam. Za vodno fazo smo uporabile prevreto demineralizirano vodo. V okviru razvoja in optimizacije smo izdelale 7 vzorcev, pri katerih smo spreminjale količino emulgatorja (glicerilstearata), zgoščevala (ksantana), rastlinskega izvlečka in mlečne kisline, s katero smo uravnavali pH emulzije (preglednica 1). Glede na to smo prilagajale količino vode, da smo na koncu dobile 50 g emulzije. Vsem vzorcem smo s testom centrifugiranja 30 minut pri 3000 obratih/minuto preverjale stabilnost oz. razzslojitev vodne in lipidne faze (slika 5). Če je emulzija prenesla postopek centrifugiranja in se lipidna faza ni ločila od vode, je bila stabilna, količine sestavin pa so bile v pravem razmerju. Emulzija ni bila stabilna, če se je lipidna faza ločila od vodne (slika 6). Najustreznejšo formulacijo je predstavljal vzorec 7, na katerem je temeljila izdelava 1,5 kg testnega izdelka.



Slika 5: Centrifuga (foto: K. Grazer)



Slika 6: Nestabilna emulzija (foto: L. Goršek)

Preglednica 1: Količine sestavin vzorcev od 1 do 7

Sestavine	Vzorec 1	Vzorec 2	Vzorec 3	Vzorec 4	Vzorec 5	Vzorec 6	Vzorec 7
Mandljevo olje	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g	5 g
Karitejevo maslo	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g
Glicerilstearat	0,5 g	0,65 g	0,65 g	0,65 g	0,65 g	0,65 g	0,65 g
Voda	38,65 g	38,35 g	37,9 g	37,4 g	38 g	38,15 g	37,38 g
Glicerol	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g	2,5 g
Ksantan	0,1 g	0,25 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g	0,2 g
Vitamin E	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g	0,5 g
Glicerilkaprilat	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g	0,25 g
Izvleček	0 g	0 g	0,5 g	1 g	0,4 g	0,25 g	1,02 g
Mlečna kislina	1 kapljica	1 kapljica	50 μ L	0 μ L	25 μ L	25 μ L	20 μ L

3.3.3.1 Postopek izdelave vzorcev 1 in 2

V čašo smo postopoma dodajale in sproti tehtale sestavine: mandljevo olje, karitejevo maslo, emulgator, glicerol, ksantan in konzervans. Zmes smo segrevale na vodni kopeli, da so se trdne in poltrdne sestavine stalile, jo nato homogenizirale s paličnim mešalnikom, dodale vodo do 50 g in homogenizirale na hladni kopeli. Ohlajeni emulziji smo dodale še vitamin E, ki je temperaturno neobstoje. S pH lističi smo izmerile pH in ga z mlečno kislino poskušale uravnati na približno 5,5.

Preglednica 2 prikazuje najpomembnejše dejavnike, s katerimi smo vrednotile posamezne vzorce in spreminjale sestavo emulzije, da bi dobile optimalno formulacijo.

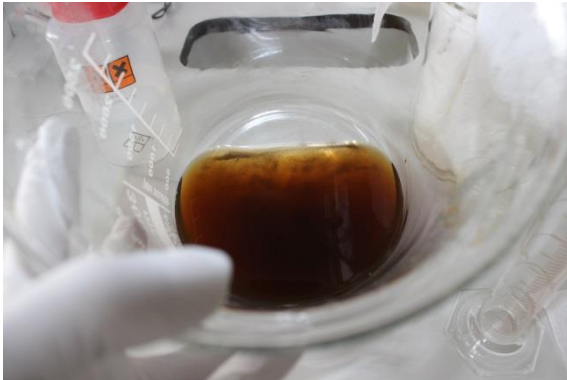
Preglednica 2: Vrednotenje vzorcev emulzije

Sestavine	Vzorec 1	Vzorec 2	Vzorec 3	Vzorec 4	Vzorec 5	Vzorec 6	Vzorec 7
pH	4 do 5	3 do 4	3 do 4	5 do 6	6	6	5
Konsistenca	preveč tekoča	pregosta	ustrezna	ustrezna	ustrezna	ustrezna	ustrezna
Test centrifugiranja	ločitev faz	stabilna emulzija	stabilna emulzija	stabilna emulzija	stabilna emulzija	stabilna emulzija	stabilna emulzija
Izvleček (%)	0	0	1	2	0,8	0,5	2*
Prisotnost netopnih delcev	/	/	da	da	da	da	ne

* Navedena vsebnost izvlečka v emulziji se neposredno nanaša na posebej izdelano vodno fazo in ne glede na končno emulzijo.

3.3.3.2 Dodatek izvlečka brazilske kreše

Med izdelavo vzorčnih emulzij 3 do 7 smo opazile, da so se po dodatku izvlečka v emulzijah pojavili drobni črni delci. Ker so bili prisotni tudi kljub postopnemu zmanjševanju deleža izvlečka, smo se odločile, da preverimo, ali je izvleček res popolnoma topen v vodi, kot navaja proizvajalec. Izvedle smo preprost test – v 100 mL vode smo poskusile raztopiti 0,1 g izvlečka. Opazile smo, da se je na dnu čaše pojavila usedlina, kar dokazuje, da naš izvleček kljub veliki količini vode ni popolnoma topen (slika 7).



Slika 7: Netopen del izvlečka (foto: L. Goršek)

Zato smo morale spremeniti postopek dodajanja vode in izvlečka med izdelavo emulzije. Vodno fazo z raztopljenim izvlečkom smo pripravile posebej, in sicer minimalno presežno količino, da smo v emulzijo vgradile le bistro vodno raztopino, del, ki je vseboval netopne delce, pa je ostal na dnu čaše v obliki usedline. Navedena vsebnost izvlečka v emulziji (preglednica 2) se zato neposredno nanaša na posebej izdelano vodno fazo in ne glede na končno emulzijo.

Vzorec 7 smo tako pripravile po naslednjem postopku. Za 50 g emulzije smo potrebovale 38,4 g 2-odstotne raztopine izvlečka. V 50 mL vode smo raztopile 1,02 g izvlečka in dobile 2-odstotno raztopino. V čašo smo postopoma dodale in sprti tehtale vse sestavine, razen vodne raztopine izvlečka. Zmes smo segrele na vodni kopeli, da so se stalile poltrdne in trdne sestavine, nato pa ob ohlajanju na vodni kopeli homogenizirale s paličnim mešalnikom. S pipeto smo iz čaše previdno odvzele 38,4 g 2-odstotne raztopine in pri tem pazile, da nismo zajele netopnih delcev z dna. Nato smo združile vodno in lipidno fazo ter dodale še vitamin E in izmerile pH 6. Z 20 μ L mlečne kisline smo uravnale pH na približno 5.

Odločile smo se, da kremi dodamo tudi eterično olje sivke (0,5 %), saj pripomore k prijetnejšemu vonju. Dodatek izvlečka ni porušil stabilnosti emulzije in po centrifugiranju ni prišlo do razslojevanja. Zato lahko ovržemo 4. hipotezo, ki trdi, da dodatek izvlečka poruši stabilnost emulzije. Izvleček je spremenil le pH formulacije, ki je bil nekoliko bolj kisel, zato smo zmanjšale količino mlečne kisline, ki je bila potrebna za nakisanje do vrednosti približno 5,5.

Vzorec emulzije 7 je bil končni vzorec, na osnovi katerega smo pripravile 1,5 kg testne emulzije z izvlečkom brazilske kreše.

3.3.3.3 Testna emulzija z izvlečkom brazilske kreše

Preglednica 3 prikazuje količinsko sestavo 1500 g emulzije, ki smo jo izdelale na osnovi optimiziranega vzorca 7. Tolikšno količino smo pripravile za potrebe izdelave testnih emulzij, ki so jih uporabljali prostovoljci v drugem delu raziskovalne naloge.

Preglednica 3: Količina sestavin v 1500 g testne emulzije z izvlečkom brazilske kreše

Sestavine za 1500 g emulzije	Masa (g)
Mandljevo olje	150
Karitejevo maslo	75
Glicerilstearat	19,5
Glicerol	75
Ksantan	6
Vitamin E	15
Glicerilkaprilat	7,5
2-odstotna vodna raztopina izvlečka	1152
Mlečna kislina (q. s.)	0,7
Eterično olje sivke (q. s.)	5,1

Najprej smo pripravile 2-odstotno vodno raztopino izvlečka brazilske kreše v 1500 mL prevrete demineralizirane vode. Ko se je posedla vsa oborina, smo bistro raztopino (1152 g) previdno odlile v drugo čašo.

V posodo vakuumskega homogenizatorja (slika 9) smo postopoma dodajale in sprti tehtale vse sestavine, vključno z vodno raztopino izvlečka.



Slika 8: Vakuumski homogenizator (foto: E. Hudournik)



Slika 9: Dodajanje sestavin v posodo vakuumskega homogenizatorja (foto: E. Hudournik)

Postopek izdelave emulzije v vakuumskem homogenizatorju je približek industrijski izdelavi kozmetičnih emulzij, saj poteka v vakuumu. Zmes smo v homogenizatorju segrele na 70 °C, da so se vse sestavine stalile (temperatura tališča glicerilstearata je 70 °C), mešale 5 minut pri obratih, nato pa smo zmes začele ohlajati na sobno temperaturo. Nato smo dodale vitamin E, eterično olje sivke in mlečno kislino ter ponovno homogenizirale. Izdelano emulzijo smo napolnile v 20 plastičnih sterilnih vsebnikov z volumnom 50 mL ter jih oštevilčile in označile s črko L.

3.3.3.4 Placebo emulzija brez izvlečka brazilske kreše

Priprava placebo emulzije je bila enaka pripravi testne emulzije, le da vodna faza ni vsebovala izvlečka. Izdelano emulzijo smo napolnile v 20 plastičnih sterilnih vsebnikov z volumnom 50 mL. Te smo oštevilčile in označile s črko D.

Preglednica 4: Količina sestavin v 1500 g placebo emulzije

Sestavine za 1500 g emulzije	Masa (g)
Mandljevo olje	150
Karitejevo maslo	75
Glicerilstearat	19,5
Glicerol	75
Ksantan	6

Vitamin E	15
Glicerilkaprilat	7,5
Voda	1152
Mlečna kislina (q. s.)	0,7
Eterično olje sivke (q. s.)	5,1



Slika 10: Testna (levo) in placebo (desno) emulzija (foto: E. Hudournik)

3.4 Testiranje emulzije na prostovoljcih

Emulzijo smo testirale na 20 prostovoljcih, starih od 33 do 55 let. Med prostovoljci s bili 4 moški in 16 žensk. Ustrezati so morali pogojem, ki smo jim jih podrobno predstavile pred začetkom raziskave v navodilih za uporabo emulzij.

Prostovoljce smo seznanile z navodili za uporabo emulzije, z njenimi sestavinami ter s pravicami in dolžnostmi, ki jim pripadajo kot prostovoljcem (priloga B). Prostovoljci med uporabo emulzij niso smeli uporabljati nobenih drugih izdelkov za nego obraza, menjati drugih kozmetičnih izdelkov (ličil) ter obiskovati profesionalne nege obraza v kozmetičnem salonu. Prostovoljcem smo dovolile uporabljati ličila in izdelke za čiščenje obraza in ličil, kot so bile njihove navade. Pred vsakim fotografiranjem so si morali z obraza odstraniti ličila, da ne bi prišlo do lažnih sprememb na koži s pomočjo optične prevare, ki nam jo uporaba takšnih izdelkov nudi. Podpisali so tudi informiran pristanek (priloga C), v katerem so potrdili, da so seznanjeni o izvajalcu, namenu, postopkih in metodah raziskovalne naloge ter da razumejo

vse svoje obveznosti. Prostovoljci so imeli tudi možnost odstopa od raziskave. Dva meseca so si levo polovico obraza mazali s testno emulzijo (emulzija z izvlečkom brazilske kreše), desno polovico pa s placebo emulzijo (emulzija brez izvlečka brazilske kreše) (slika 11). Raziskavo (št. 01-2016) je odobrila interna etična komisija Katedre za farmacevtsko biologijo (Fakulteta za farmacijo Univerze v Ljubljani).



Slika 11: Področje uporabe emulzije: desna polovica obraza – placebo stran (placebo emulzija brez izvlečka brazilske kreše) in leva polovica obraza – testna stran (emulzija o/v z izvlečkom brazilske kreše) (10)

Vsakemu prostovoljcu smo pred testiranjem, po enem mesecu testiranja ter po dveh mesecih fotografirale desno in levo polovico ter frontalni del obraza. Opazovale smo gube v predelu oči, in sicer na lateralnem periorbitalnem delu levega in desnega očesa prostovoljcev (slika 12).



Slika 12: Levi in desni lateralni periorbitalni del, označen z rdečimi pikami (10)

Po končanem testiranju smo s pomočjo neodvisnih zunanjih ocenjevalcev ovrednotile rezultate raziskave. Zunanji ocenjevalci so bili izbrani naključno in niso vedeli za praktično

izvedbo raziskave (tj. uporabo testne emulzije na levi in placebo emulzije na desni strani). Z opazovanjem fotografij prostovoljcev so morali oceniti, ali so se gube v predelu oči po enem in po dveh mesecih spremenile. Fotografije smo naključno podale v parih: začetno stanje in stanje po enem mesecu ter začetno stanje in stanje po dveh mesecih, za levo in za desno stran obraza. Ocenjevalci so morali določiti, na kateri od dveh fotografij prepoznajo večje gube. Za prikaz poteka ocenjevanja navajamo primer spodaj (slika 13).



Slika 13: Primer slik, ki so ju vrednotili zunanji ocenjevalci. V prikazanem primeru je zunanji ocenjevalec ocenil, da so na desni sliki vidne večje gube.

Rezultate ocenjevalcev smo statistično obdelale s programom Excel. Statistična obdelava nam je dala odgovor na glavno vprašanje, ali izvleček brazilske kreše vpliva na gube.

Prostovoljci so po enem in dveh mesecih testiranja izpolnili samoocenitveni obrazec (prilogi D in E), po katerem smo izvedele, kako jim emulziji ustrežata, ter jih povprašale po možnih pripombah, opombah, predlogih in komentarjih. Tako smo dobile od njih povratno informacijo in vsa opažanja ter njihove komentarje vključile v rezultate.

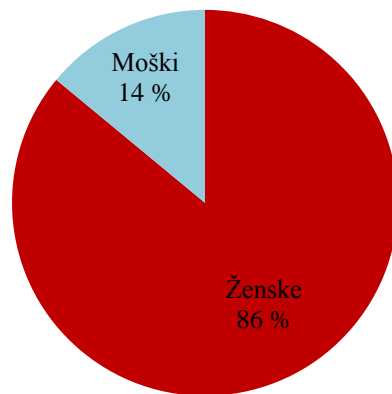
Izdelavo raziskovalne naloge smo zaključile februarja 2017.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 Rezultati ankete

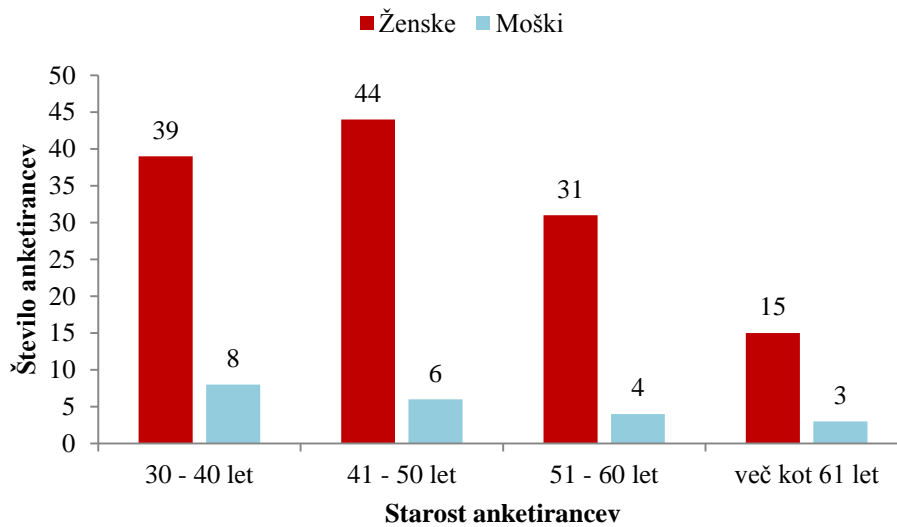
Vsa vprašanja, ki smo jih zastavile anketirancem, niso neposredno vezana na ožjo tematiko raziskovalne naloge, vendar pa osvetljujejo njeno širše ozadje.

Anketo smo izvedle v fizični in spletni obliki. Izpolnilo jo je 150 ljudi, od tega 129 žensk (86 %) in 21 moških (14 %). Podatki so navedeni v grafu št. 1. Opazile smo, da tema bolj kot moške privlači ženske. Med deljenjem fizične ankete smo bile bolj uspešne pri ženskah, saj je veliko moških ob omembi teme reševanje ankete zavrnilo, češ da jih to ne zanima. V nadaljevanju je zato opaziti velike razlike v številu odgovorov med spoloma.



Graf 1: Delež anketirancev po spolu.

Anketa je bila namenjena ženskam in moškim, starejšim od 30 let. V grafu št. 2 je natančno prikazana starostna udeležba vseh anketirancev po spolu. Največ žensk je bilo starih od 41 do 50 let (44), največ moških pa od 30 do 40 let (8).



Graf 2: Število anketirancev po starosti

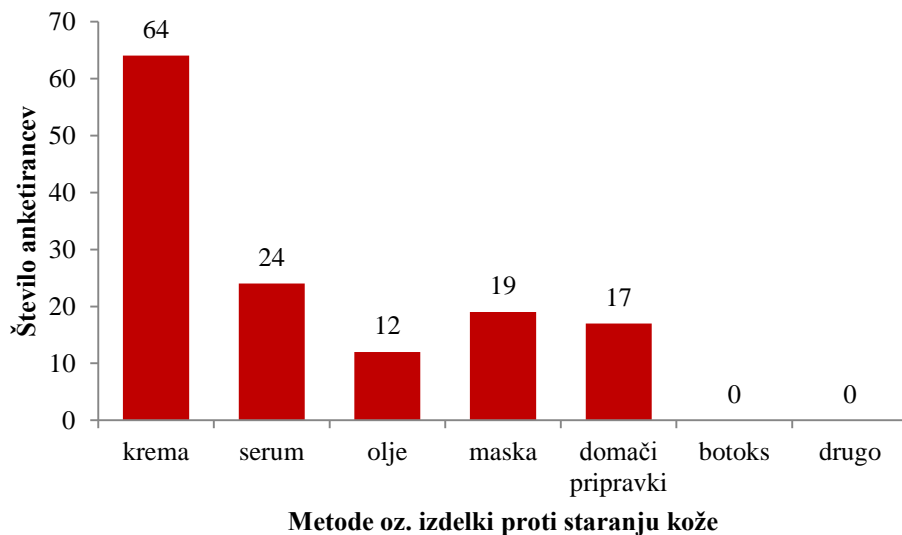
V preglednici 5 je prikazana razširjenost uporabe izdelkov proti staranju kože po starosti in spolu. Naša prva hipoteza trdi, da večina žensk po 40. letu starosti uporablja izdelke proti staranju kože. Hipotezo lahko na osnovi rezultatov ankete potrdimo, saj 56 od 90 žensk po 40. letu starosti (62,2 %) uporablja izdelke proti staranju kože. Vidimo tudi, da noben moški anketiranec ne uporablja izdelkov proti staranju, zato na 3. vprašanje niso odgovarjali. V grafu št. 6 so zato prikazani le odgovori ženskih anketirank.

Preglednica 5: Razširjenost uporabe izdelkov proti staranju kože po starosti in spolu

	30 do 40 let		41 do 50 let		51 do 60 let		več kot 61 let	
	ženske	moški	ženske	moški	ženske	moški	ženske	moški
DA	9	0	24	0	22	0	10	0
NE	30	8	20	6	9	4	5	3

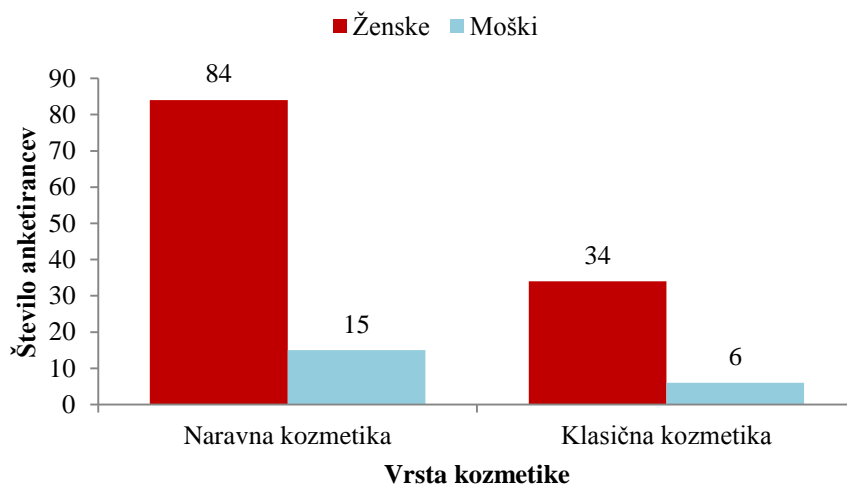
Graf št. 3 prikazuje uporabo različnih metod in izdelkov proti staranju kože med ženskami. Opazile smo, da je najbolj priljubljena uporaba krem proti staranju kože in gubam, zato smo se tudi sami odločile za izdelavo takšnega izdelka. Kreme so najbližje in tudi cenovno najdostopnejše uporabnikom. Imajo ustrezno teksturo, občutek, ki ga pustijo na koži, pa je prijeten in ne draži. Po pogostosti uporabe si za kremo sledijo še serum, maska, domači pripravki in olja. Nobena od anketirank ni navedla uporabe botoksa, saj je cenovno težko

dostopen, vendar pa edini zares začasno odpravi gube, medtem ko kreme in drugi izdelki gube na koži le na videz zmanjšajo, učinki pa so navadno kratkotrajni.

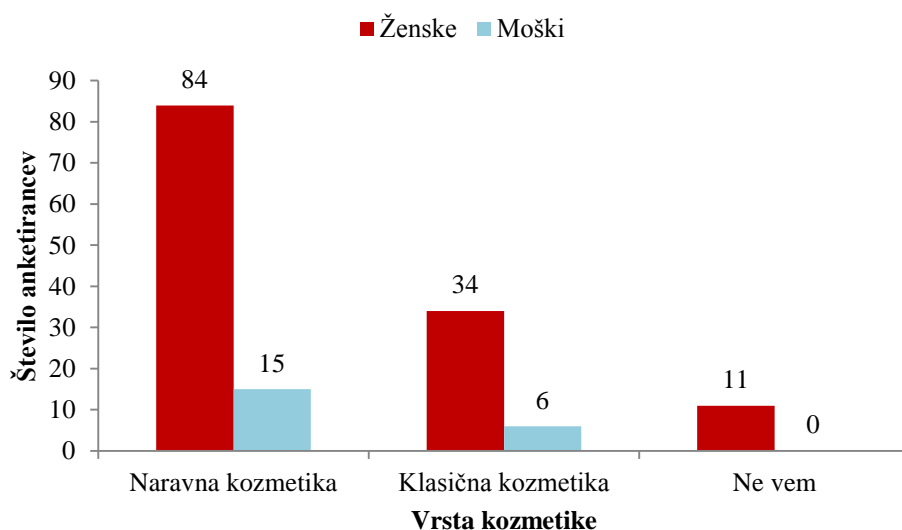


Graf 3: Metode oz. izdelki, ki jih ženske uporabljajo proti staranju kože.

Zanimalo nas je tudi, ali anketiranci bolj verjamejo učinkovanju naravne ali klasične kozmetike, zato smo v naši drugi hipotezi predvidevale, da večina ljudi meni, da proti staranju kože bolj učinkuje klasična kozmetika. Vendar pa so rezultati pokazali, da moramo hipotezo ovreči (graf 4). Pri odgovarjanju na vprašanja o priseganju na naravno oz. klasično kozmetiko ter o njenem učinkovanju je bilo veliko anketirancev neodločenih, saj zaradi cenovne ugodnosti posegajo po klasični kozmetiki, a se jim naravna zdi zanesljivejša, varnejša, učinkovitejša in bolj koži prijazna, zato jih večina prisega na naravno. To je odraz v naši družbi vedno bolj prisotnega razumevanja, da je naravno (npr. hrana, kozmetika in zdravila) boljše že samo zato, ker izvira iz narave. Zavedati pa se moramo, da tak koncept za sodobno družbo ne sme biti dovolj. Naravno mora imeti tudi dokazane učinke, zlasti pa dokazano varnost. Kozmetika, tudi naravna, s tega vidika uporabnike pogosto zavaja, saj proučevanju učinkov pogosto ne posveča posebne pozornosti, jih pa pretirano izkorišča za oglaševalske namene.

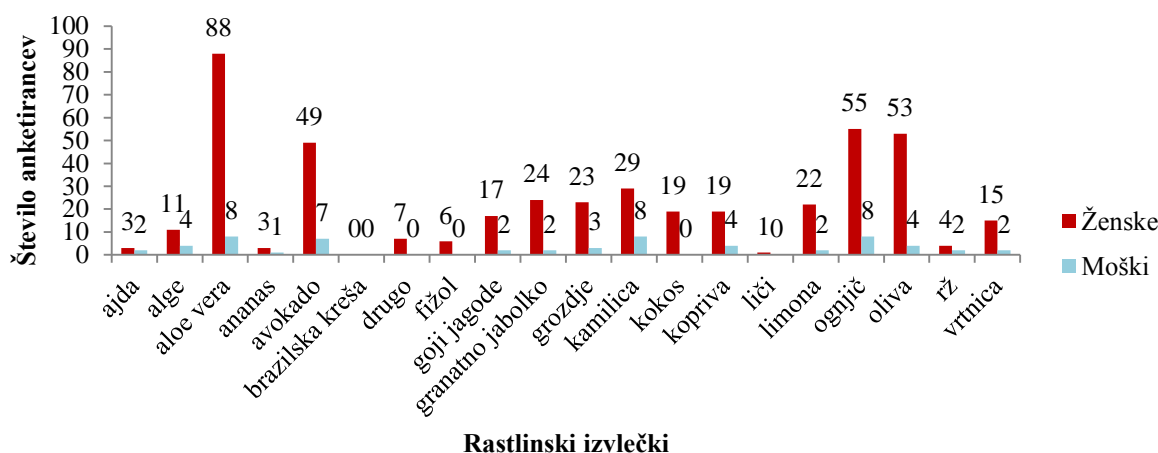


Graf 4: Priseganje na certificirano naravno ali klasično kozmetiko.



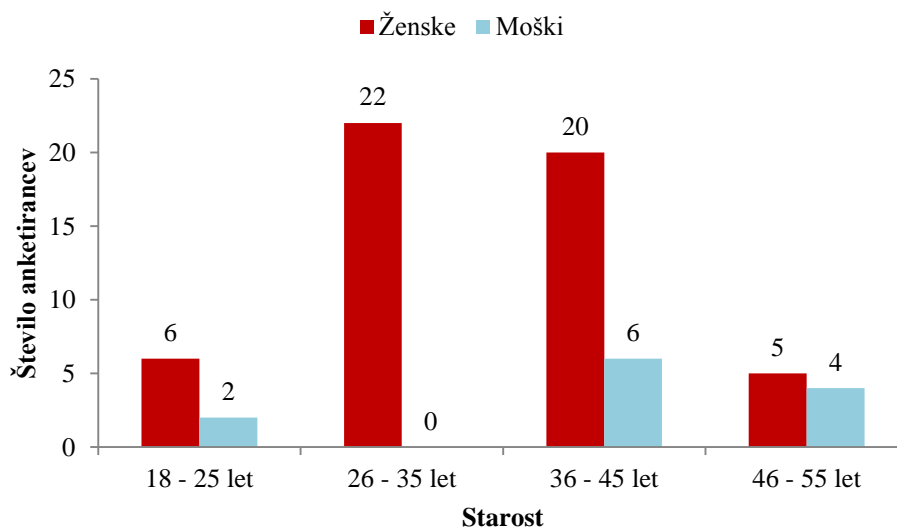
Graf 5: Učinkovanje naravne v primerjavi s klasično kozmetiko po mnenju anketirancev

Pri 7. vprašanju nas je najbolj zanimalo, če kdo od anketirancev pozna brazilsko krešo oz. če kdo pozna njeno učinkovanje proti gubam, zato smo v naši tretji hipotezi predvidevale, da nihče od anketirancev ne pozna učinka brazilske kreše proti gubam. Ob pregledu rezultatov smo to tudi potrdile. Naš namen kasneje je bil prostovoljce, ki so sodelovali pri testiranju krem, ter vsakega, ki bo prišel v stik z našo raziskovalno nalogo, seznaniti o spojinah v brazilski kreši in o sami rastlini, saj je med proučevanimi učinki ogromno koristnih.



Graf 6: Rastlinski izvlečki, ki po mnenju anketirancev delujejo proti staranju kože.

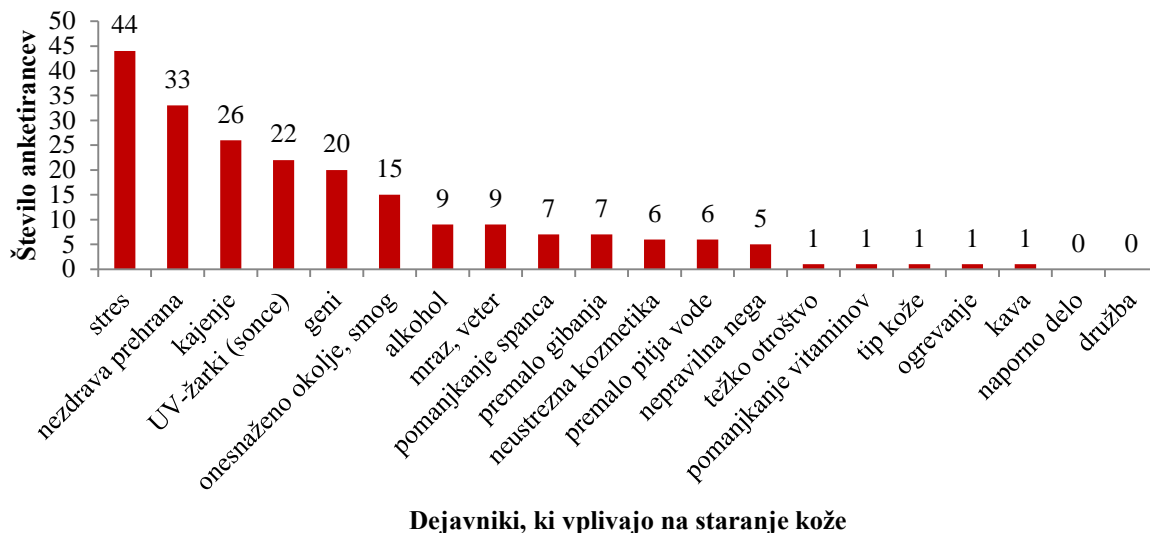
V naslednjem vprašanju ankete so anketiranci ugotavljali, kdaj se koža začne starati. Rezultati so prikazani v grafu št. 7. Večina žensk meni, da se koža začne stara že po 26. letu starosti, moški pa verjamejo, da šele po 36. letu. Koža se začne starati že po 25. letu starosti, a se od osebe do osebe razlikuje zaradi različnih genetskih dejavnikov in različnih načinov življenja.



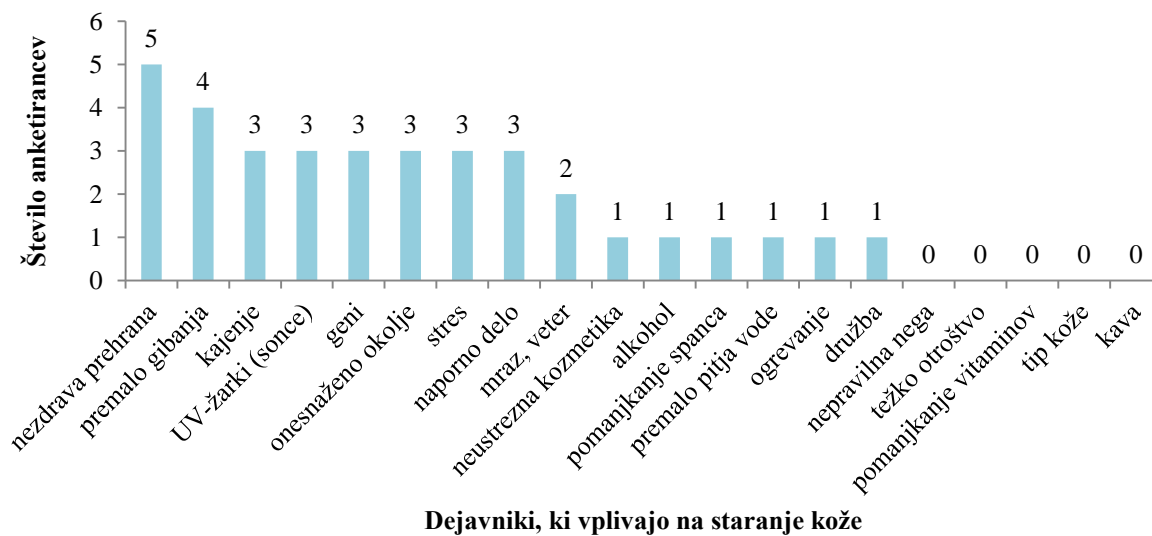
Graf 7: Kdaj se po mnenju anketirancev koža začne starati.

Anketiranke (graf št. 8) so med najpogostejše dejavnike, ki vplivajo na staranje kože, navedle stres, nezdravo prehrano, kajenje, prekomerno izpostavljenost UV-žarkom ter gene, moški pa

menijo (graf št. 9), da na staranje kože najbolj vpliva nezdrava prehrana, premalo gibanja, kajenje, prekomerna izpostavljenost UV-žarkom ter geni.



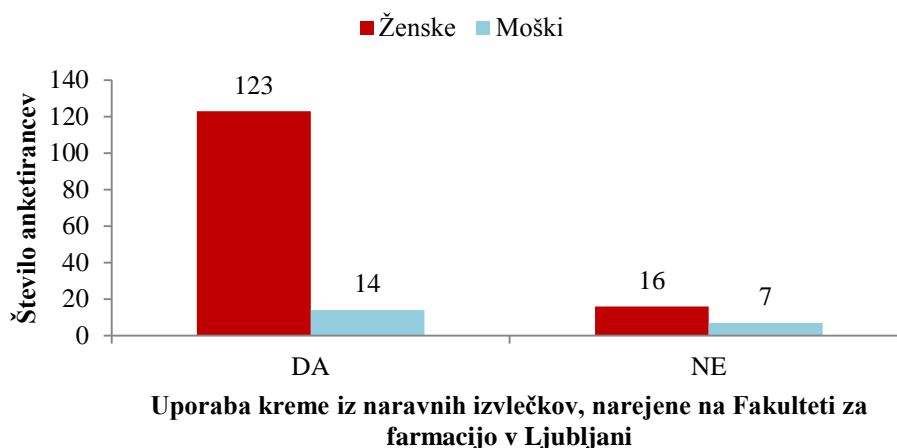
Graf 8: Dejavniki, ki po mnenju anketirank vplivajo na staranje kože.



Graf 9: Dejavniki, ki po mnenju anketirancev vplivajo na staranje kože.

Za konec nas je zanimalo še, če bi anketiranci uporabljali kremo, narejeno na Fakulteti za farmacijo Univerze v Ljubljani pod strokovnim vodstvom njihovih raziskovalcev. Večina anketirancev (86 %) bi kremo uporabljala (graf št. 10), saj zaupajo stroki, so radovedni o učinkih kreme, podpirajo slovenske proizvajalce kozmetike, menijo, da je na fakulteti

preverjena kakovost, prisegajo na naravno kozmetiko in ker bi bila krema cenovno ugodna. 21 anketirancev kreme ne bi uporabljalo, saj imajo težave s kožo, ne želijo poskusiti nove kreme oz. so zadovoljni s svojo trenutno kremo, ne uporabljajo izdelkov proti staranju kože, ker bi jim bil izdelek nedostopen, z izdelkom niso seznanjeni oziroma ne verjamejo v delovanje krem proti gubam.



Graf 10: Število oseb, ki bi oz. ne bi uporabljali kreme iz naravnih izvlečkov, narejene na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani.

4.2 Testiranje emulzije na prostovoljcih

Kremo smo testirale na 20 prostovoljcih, starih od 33 do 55 let. Med prostovoljci so bili 4 moški in 16 žensk, kar dokazuje, da so ženske bolj zainteresirane za izboljšavo videza gub na svoji koži kot pa moški. Podobno smo opazile tudi v anketi, saj večina žensk, v primerjavi z moškimi, uporablja kreme proti gubam. Prostovoljki 10 in 19 sta raziskavo predčasno zaključili, saj jima krema ni ustrezala, prostovoljko 16 pa smo morale izključiti iz raziskave, saj kreme 10 dni ni uporabljala. Fotografije vseh ostalih prostovoljcev, ki so dva meseca uporabljalo kremo, so priložene v prilogi F.

4.2.1 Rezultati, pridobljeni iz samoocenitvenih obrazcev

4.2.1.1 Splošna ocena uporabljenih emulzij

24 % prostovoljcev sta se emulziji zdeli premalo mastni, večinoma tistim s suho kožo. 18 % jih je menilo, da se kremi hitro vpijata v kožo. 29 % sta se zdeli kremi preveč tekoči. Vonj je

ustrezal 47 % prostovoljcev. Konsistenca testne emulzije je ustrezala 59 % prostovoljcev, konsistenca placebo emulzije pa 47 % prostovoljcev.

4.2.1.2 Opazanja prostovoljcev ob uporabi testne emulzije

82 % prostovoljcev se je po njihovi oceni izboljšala vlažnost kože, 65 % se je izboljšala gladkost kože, 59 % se je izboljšala čvrstost kože, 35 % prostovoljcev je opazilo zmanjšanje gub.

4.2.1.3 Opazanja prostovoljcev ob uporabi placebo emulzije

47 % prostovoljcem se je izboljšala vlažnost, 24 % se je izboljšala gladkost kože, 18 % se je izboljšala čvrstost. 12 % je opazilo zmanjšanje gub.

4.2.2 Rezultati, pridobljeni z vrednotenjem ocen zunanjih ocenjevalcev

Statistična obdelava podatkov, ki smo jih pridobile s pomočjo zunanjih ocenjevalcev, izračunana v programu Excel, je pokazala, da statističnih razlik v učinkih testne emulzije v primerjavi s placebo emulzijo ni ($p = 0,17$). Po dveh mesecih uporabe emulzij je bilo sicer vidno izboljšanje gub (pri placebo emulziji pri 71 % prostovoljcev, pri testni pa pri 61 %), a izboljšanje prav tako ni bilo statistično značilno ($p = 0,17$). Vrednost p je stopnja značilnosti oz. verjetnosti, ki jo uporabljamo v statistiki pri preverjanju hipotez. Če rezultati kažejo statistično značilno pomembne razlike pri stopnji značilnosti enaki ali manjši od 0,05, lahko zaupamo, da statistično značilne razlike res obstajajo.

Ker testna in placebo emulzija podobno delujeta na gube, sklepamo, da izvleček brazilske kreše nima vpliva na gube. Zato lahko ovržemo našo 5. hipotezo, ki trdi, da krema z izvlečkom brazilske kreše zmanjša videz gub v predelu oči. Ker pa je prišlo do izboljšanja gub (čeprav statistično neznačilnega) tako z uporabo testne kot placebo emulzije, lahko tudi sklepamo, da je za videz napete kože z manj gubami izjemno pomembna ustrezna navlaženost kože, ki sta jo zagotovili naši emulziji.

Pri vrednotenju rezultatov ne moremo mimo zanimivega dejstva, da so prostovoljci s svojimi opaznanji bistveno večji učinek pripisali testni emulziji. Za testno emulzijo je na primer 65 % prostovoljcev navedlo izboljšano gladkost kože in le 24 % za placebo emulzijo ter v primeru zmanjšanja gub 35 % prostovoljcev za testno emulzijo in le 12 % prostovoljcev za placebo

emulzijo. Prostovoljci so bili namreč seznanjeni s tem, katera emulzija je testna in katera placebo. Dejavnik placebo torej zelo močno vpliva na subjektivnost zaznavanja.

Omeniti velja tudi, da je na končne rezultate lahko vplivala možnost napak, do katerih je prišlo med fotografiranjem, saj vseh dejavnikov nismo mogle popolnoma poenotiti ob vsakem fotografiranju. Na videz kože na fotografijah namreč vpliva tudi zunanja svetloba in svetloba v prostoru, vremenske razmere (npr. zračna vlažnost), kot slikanja, sproščenost obraza, naspanost prostovoljca, zadostna hidracija in količina emulzije, ki jo je posamezni prostovoljec porabil v dveh mesecih. Poleg tega so prikazani statistični rezultati nastali kot rezultat opazovanja zunanjih ocenjevalcev. Kakovost raziskave bi pomembno nadgradili, če bi za merjenje vlažnosti in reliefa kože uporabili aparature, s katerimi bi pridobili zanesljivejše in natančnejše, bolj objektivne rezultate.

4.2.3 Primer delovanja testne in placebo emulzije

Z namenom čim boljše ponazoritve, kako smo ocenjevale delovanje obeh emulzij, v zaključnem delu izpostavljamo dva primera, v katerih so ocene zunanjih ocenjevalcev pokazale 100-odstotno izboljšanje gub pri uporabi testne ali placebo emulzije.

4.2.3.1 Delovanje testne emulzije pri prostovoljcu 11 (slika 14)

Starost: 47

Spol: ženski

Tip kože: mešana



Slika 14: Prostovoljec 11, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne emulzije, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

Prostovoljka je imela na začetku izraženi na levi vekci dve izraziti gubi, ki se po dveh mesecih nista bistveno spremenili. Na levem lateralnem periorbitalnem delu očesa je imela prav tako dve globoki gubi in nekaj drobnih. Po enem mesecu so drobne gube postale plitvejšje. Globoki gubi sta se po enem mesecu rahlo zmanjšali, po dveh mesecih pa ni bilo dodatnih sprememb.

4.2.3.2 Delovanje placebo emulzije na prostovoljcu 14 (slika 15)

Starost: 47

Spol: moški

Tip kože: mešana



Slika 15: Prostovoljec 14, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo emulzije, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)

Prostovoljec je imel pred uporabo placebo kreme na desni vekci in na desnem lateralnem periorbitalnem delu očesa izrazite gube, ki so po dveh mesecih postale bistveno manj izrazite. Do tako izrazite spremembe z uporabo placebo kreme je verjetno prišlo, ker prostovoljec pred tem ni uporabljal nobene druge kozmetike za nego obraza.

5 ZAKLJUČEK

Izdelava raziskovalne naloge je velik zalogaj, zato smo se je lotile zagnano in z veliko željo po uresničitvi ciljev. Začele smo z anketo in njeni glavni rezultati so pokazali, da nihče od anketirancev ni poznal brazilske kreše, rastline z domnevnim delovanjem proti gubam, da večina žensk po 40. letu starosti uporablja izdelke proti staranju kože in da večina anketirancev meni, da je naravna kozmetika bolj učinkovita kot pa klasična.

Idejo o izdelavi kozmetičnega izdelka z izvlečkom brazilske kreše smo prenesle v prakso in nalogo nadaljevale v laboratoriju, kjer smo razvile in optimizirale formulacijo za emulzijo o/v. Končna formulacija je vsebovala 0,4 % ksantana, 1,3 % glicerilstearata, testni kremi pa smo dodale še 2-odstotno vodno raztopino izvlečka brazilske kreše. To formulacijo smo nato uporabile za izdelavo testne in placebo emulzije.

Konsistenca emulzije je bila po mnenju večine prostovoljce nekoliko preveč tekoča. Če bi se še kdaj lotile izdelave te emulzije, bi dodale več ksantana, da bi bila gostejša. Rezultati so pokazali, da izvleček brazilske kreše v uporabljeni koncentraciji nima vpliva na gube. Zanima nas, če bi se ob dodatku večje koncentracije izvlečka v testno emulzijo pokazale vidnejše spremembe gub. Eden od naših ciljev je bil tudi, da bi naša emulzija o/v ustrezala vsem tipom kože, vendar vsak tip kože zahteva svojo ustrezno nego, zato je težko izdelati kremo, ki bi ustrezala vsem tipom. Prostovoljcem s suho kožo se emulziji nista zdeli dovolj mastni, prostovoljcem z mešano, normalno in mastno kožo pa sta ustrezali, saj sta jim kožo dobro navlažili.

Nalogo zaključujemo z ovrženo najpomembnejšo hipotezo, da brazilska kreša izboljša videz gub v predelu oči, kar ni nič presenetljivega, saj je v današnjem času odkriti novo, čudežno pomlajevalno sredstvo verjetno nemogoče. Čeprav literatura navaja, da ima brazilska kreša pomlajevalni učinek na kožo, tega v naši raziskovalni nalogi nismo mogle potrditi, saj so rezultati testiranja emulzij na prostovoljcih pokazali, da imata testna in placebo emulzija s statističnega vidika enak učinek na kožo. Pri obeh emulzijah je bilo po dveh mesecih sicer vidno izboljšanje gub v lateralnem periorbitalnem delu, pri placebo kremi pri 71 % prostovoljcih, pri testni pa pri 61 %, a izboljšanje ni bilo statistično značilno. Večini prostovoljcev pa je testna krema po njihovem mnenju bolj povečala vlažnost, gladkost,

čvrstost kože in izboljšala stanje gub kot pa placebo. Za spremembe v videzu gub je bila najverjetneje odgovorna navlaženost, ki sta jo zagotovili obe emulziji.

Menimo, da ima testna emulzija velik razvojni potencial. Nalogo bi z velikim veseljem izpopolnile, dopolnile in jo razširile. Rezultate testiranj emulzij na prostovoljcih bi preverile z aparaturami za merjenje vlažnosti in reliefa kože, do katerih tokrat nismo imele dostopa. Aparature bi objektivno pokazale proučevane dejavnike in rezultati bi bili zanesljivejši.

Z raziskovalno nalogo smo pridobile veliko novega in uporabnega znanja na področju kemije, biologije in kozmetologije ter se seznanile z raziskovalnimi metodami, ki jih bomo v prihodnje velikokrat potrebovale.

6 POVZETEK

Koža je naš največji in najtežji organ, ki ščiti notranjost telesa, vzdržuje telesno temperaturo in sodeluje pri izločanju nekaterih odvečnih snovi. S pomočjo živčnih končičev v koži zaznavamo tudi dražljaje okoli sebe, poleg čutilne pa ima tudi vloge žlez in komunikacijskega organa. Po približno 25. letu se na koži začnejo pojavljati prvi znaki staranja. Na staranje kože vplivajo genetika, bolezni, hormoni in presnovni procesi, UV-žarki, kajenje, temperaturne spremembe, neaktivno življenje, nezdrava prehrana, prekomerno uživanje alkohola itd. Proces v koži se takrat upočasni, zmanjša se tudi količina snovi, ki kožo ohranjajo čvrsto in gladko. Prve vidne drobne linije se navadno pojavijo okrog oči oz. na lateralnem periorbitalnem delu očesa.

Videz mlade kože je že od nekdaj ideal vsake ženske, kozmetični izdelki proti staranju pa so na trgu trend že mnogo let, a se po ceni, kakovosti in sestavi zelo razlikujejo. Vedno več ljudi je privrženih varovanju narave, zato so rastlinske sestavine tudi v kozmetiki zelo priljubljene, saj veliko ljudi ne želi na kožo nanašati umetnih snovi. Poleg tega uporabljamo rastline in njihove izvlečke v ljudski medicini že od prazgodovine. Zaradi dolge tradicije in relativno varne uporabe jih danes uspešno uporabljamo v kozmetičnih izdelkih. V literaturi smo zato poiskale domnevno najučinkovitejše rastline proti gubam. Med njimi je bila navedena tudi nam nepoznana brazilska kreša (*Acmella oleracea* (L.) R. K. Jansen). S pomočjo ankete, ki je bila namenjena moškim in ženskam, starejšim od 30 let, smo ugotovile, da se za to temo v večjem odstotku zanimajo ženske in da večina žensk po 40. letu starosti uporablja kozmetične izdelke proti staranju. Med uporabnicami je najbolj priljubljena uporaba krem. Poleg tega večina anketirancev verjame, da naravna kozmetika bolj učinkuje pri odpravi gub kot klasična, nihče pa ne pozna eksotične brazilske kreše in njenih učinkov.

Vsi ti razlogi so nas spodbudili, da smo v laboratoriju Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani naredile kremo proti gubam iz naravnih sestavin z namenom, da bi ustrezala vsem tipom kože, izboljšala stanje vlažnosti, čvrstosti in gladkosti na obrazu in hkrati pokazala rezultate v izboljšanju gub na obrazu, ki bi bili primerljivi z dragimi kozmetičnimi izdelki. Glavna komponenta naše kreme je bil izvleček brazilske kreše, ki jo v dozdajšnjih raziskavah primerjajo z botoksom. Zaradi vsebnosti spilantola, ki se nahaja v cvetu rastline, naj bi imela rastlina učinek proti staranju kože. Po svetu jo uporabljajo tudi kot začimbo za obogatitev

okusa v kulinariki, v medicini pa najbolj učinkuje kot anestetik, ki ublaži različne vrste bolečin, zlasti zobobol. Da bi se prepričale o delovanju izvlečka brazilske kreše na gube, smo izdelale še placebo kremo brez izvlečka.

V laboratoriju smo ugotovile najprimernejšo formulacijo za stabilno testno in placebo emulzijo. Kozmetične emulzije so pogosta osnova vlažilnih izdelkov. Sestavljene so iz lipidne in vodne faze, ki ju povežemo z dodatkom emulgatorja. Emulzije so lahko osnova izdelkov klasične ali naravne kozmetike, slednja pa za razliko od klasičnih kozmetičnih izdelkov vsebuje le izbrane sestavine rastlinskega, mineralnega ali živalskega izvora. Testno kremo smo izdelale iz naslednjih sestavin: demineralizirane vode, mandljevega olja, karitejevega masla, glicerilstearata, glicerola, transparentnega ksantana, vitamina E, glicerilkaprilata, mlečne kisline, izvlečka brazilske kreše in eteričnega olja sivke. Placebo krema ni vsebovala izvlečka. Najprej smo naredile 7 različnih vzorcev, v katerih smo spreminjale količino emulgatorja, zgoščevala, mlečne kisline in eteričnega olja sivke, dokler nismo dobile najustreznejše emulzije. Vse vzorce smo testirale s testom centrifugiranja. Nato smo se lotile izdelovanja končnih emulzij v vakuumskem homogenizatorju, te pa smo razdelile v 40 50-mililitrskih posodic.

Da bi se prepričale o delovanju emulzij, smo izbrale 20 prostovoljcev, ki so na desni polovici obraza dva meseca uporabljali placebo kremo, na levi polovici pa testno kremo z izvlečkom brazilske kreše. Tri prostovoljke testiranja niso zaključile. Ostale prostovoljce smo fotografirale pred začetkom, po enem mesecu ter po dveh mesecih raziskave in na koncu primerjale rezultate ter s pomočjo zunanjih ocenjevalcev ugotovili, da izvleček ne učinkuje proti gubam, saj sta imeli testna in placebo krema skoraj enak učinek na gube, a izboljšanje ni bilo statistično značilno. Sklepamo lahko, da je za videz napete kože z manj opaznimi gubami zelo pomembna ustrezna navlaženost kože, ki sta jo zagotovili naši emulziji.

7 ZAHVALA

Rade bi se zahvalile mentorici doc. dr. Nini Kočevar Glavač, mag. farm., in somentorici mag. kem. teh. Karmen Grabant za strokovno vodenje, delo in čas, ki sta ga delili z nami.

Zahvala gre tudi Fakulteti za farmacijo v Ljubljani, ki nam je omogočila uporabo laboratorija za izvedbo laboratorijskega dela.

Hvala tudi profesorici Alenki Šalej za lektoriranje celotne raziskovalne naloge ter profesorici Darji Joger Avberšek za lektoriranje angleške ključne dokumentacijske informacije.

Zahvalile bi se rade tudi vsem prostovoljcem, ki so sodelovali pri testiranju testne in placebo emulzije, ocenjevalcem, ki so nam pomagali priti do čim bolj objektivnega ocenjevanja sprememb na koži prostovoljcev, ter prof. dr. Samu Kreftu, mag. farm., za pomoč pri statistični obdelavi podatkov.

Na koncu se zahvaljujemo tudi staršem za pomoč, nasvete in spodbudo, brez katerih nam vsega tega ne bi uspelo izvesti.

8 PRILOGE

8.1 Priloga A

ANKETA

Smo dijakinje 3. letnika ŠC Gimnazije Velenje in pod mentorstvom doc. dr. Nine Kočever Glavač, mag. farm., s Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani, katedra za farmacevtsko biologijo, in mag. kem. teh. Karmen Grabant izdelujemo raziskovalno nalogo z naslovom Ugotavljanje vplivov rastlinskih izvlečkov na gube.

Vljudno bi Vas prosile, da si vzamete nekaj časa in izpolnite anketo, ki bi nam zelo pomagala pri izdelavi raziskovalne naloge. Anketa je anonimna, rezultati ankete in zaključki raziskovalne naloge pa bodo javno objavljeni.

Hvala za Vaš dragoceni čas,

Lara, Eva in Katarina

1. Spol: a) Ženski b) Moški

2. Starost: a) 30 – 40 let b) 41 – 50 let c) 51 – 60 let d) več kot 61 let

3. Ali uporabljate izdelke proti staranju kože? a) DA b) NE

4. Če ste na prejšnje vprašanje odgovorili z **DA**, katere metode oz. izdelke proti staranju kože uporabljate? Možnih je več odgovorov.
a) krema d) olje f) domači pripravki
b) serum e) maska g) botoks
c) drugo: _____

5. Ali prisegate na certificirano naravno ali klasično kozmetiko?
a) naravno b) klasično

6. Katera kozmetika je po Vašem mnenju bolj učinkovita?

- a) naravna b) klasična c) ne vem

7. Kateri naravni izvlečki po Vašem mnenju najbolj učinkovito delujejo proti staranju kože? (Obkrožite do 5 izvlečkov)

- | | | | |
|-------------|----------------|--------------------|---------------------|
| a) avokado | g) kopriva | l) vrtnica | r) liči |
| b) kamilica | h) aloe vera | m) liva | s) grozdje |
| c) ajda | i) rž | n) brazilska kreša | t) granatno jabolko |
| d) alge | j) fižol | o) ananas | u) limona |
| e) ognjič | k) goji jagode | p) kokos | |

f) drugo: _____

8. Pri kateri starosti se po Vašem mnenju koža začne starati?

- a) 18 – 25 let b) 26 – 35 let c) 36 – 45 let d) 46 – 55 let

9. Kaj po Vašem mnenju najbolj vpliva na staranje Vaše kože?

Odgovor: _____

10. Ali bi uporabljali kremo iz naravnih izvlečkov, narejeno na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani oz. da je izdelava pod njihovim strokovnim vodstvom?

- a) DA b) NE

Razlog: _____

8.2 Priloga B

NAVODILA ZA UPORABNIKE KREM

Smo dijakinja 3. letnika ŠC Gimnazije Velenje in pod mentorstvom doc. dr. Nine Kočever Glavač, mag. farm., Fakultete za farmacijo Univerze v Ljubljani, katedra za farmacevtsko biologijo, in mag. kem. teh. Karmen Grabant izdelujemo raziskovalno nalogo v sklopu Mladih raziskovalcev za razvoj Šaleške doline z naslovom Ugotavljanje vpliva izvlečka brazilske kreše (*Acmella oleracea*) na gube.

V laboratoriju Fakultete za farmacijo v Ljubljani smo pod strokovnim vodstvom doc. dr. Nine Kočever Glavač, mag. farm., pripravile dve kremi – eno z domnevnim delovanjem proti gubam, ki vsebuje izvleček brazilske kreše, in drugo brez izvlečka. Obe kremi sta primerni za občutljivo kožo, imata vlažilni učinek in prijeten vonj sivke, izdelani pa sta iz sestavin, dovoljenih za izdelavo certificirane naravne kozmetike, v skladu z evropskima certifikatoma Cosmos in Nature.

Namen: Namen raziskave je ugotoviti delovanje izvlečka brazilske kreše v kremi na gube.

NAVODILO ZA UPORABO KREM IN INFORMACIJE O MERITVAH:

Prosimo Vas, da v času raziskave **ne uporabljate drugih krem za obraz in izdelkov proti gubam**, razen izdelkov za čiščenje obraza in ličil. Kozmetičnih izdelkov in pripravkov med raziskavo **NE** menjajte. Prosimo Vas, da v času raziskovanja ne hodite na profesionalno nego v kozmetični salon.

V paketu ste prejeli dve kremi, označeni s črkama L in D. Na levo polovico obraza si **dva meseca dvakrat na dan** (zjutraj in zvečer) nanašajte kremo, označeno z L, na desno polovico obraza pa kremo, označeno z D. Kremi v tankem sloju nanesite na kožo po običajnem čiščenju (z vodo ali izdelki za čiščenje kože). Pri tem pazite, da ju ne zanesete na drugo polovico obraza. Krema se hitro vpije v kožo.

Če uporabljate ličila, po nanosu kreme normalno nadaljujte svojo rutino ličenja. Za raziskavo je pomembno, da kožo obraza in telesa negujete po svojih dosedanjih postopkih, opustite le uporabo negovalnih izdelkov (krem, serumov ...) na obrazu.

Kremo shranjujte pri sobni temperaturi.

Kremi sta podprti pri strokovnjakih, tako da do nevšečnosti ne bi smelo priti, a kot velja za vsak kozmetični izdelek, zlasti pri prvi uporabi, svetujemo nekaj dodatne pozornosti. **V primeru, da na svoji koži opazite znake draženja, ki sta jih povzročili naši kremi, nas obvestite in kremo prenehajte uporabljati.** Ker je Vaše sodelovanje v raziskavi prostovoljno, lahko od raziskave tudi odstopite.

Pred pričetkom raziskovanja, med uporabo krem (po približno enem mesecu) in po dveh mesecih uporabe moramo Vašo kožo v predelu okoli oči fotografirati. Fotografije so namenjene le za našo raziskovalno nalogo in jih bomo uporabili zgolj v raziskovalne namene in za javne predstavitve raziskave, vendar brez navajanja Vaših osebnih podatkov. O datumih fotografiranja boste v naprej obveščeni.

Na dan meritev očistite obraz (vključno z ličili) vsaj dve uri pred fotografiranjem. Lahko uporabite vlažilno kremo za obraz, da zaradi suhega zimskega ozračja ne bi prišlo do izsušitve Vaše kože.

SESTAVINE V KREMAH:

- demineralizirana voda
- karitejevo maslo
- glicerol (vlažilo)
- vitamin E (antioksidant)
- mlečna kislina (sestavina za uravnavanje pH)
- eterično olje sivke (sestavina za odišavljenje)
- mandljevo olje
- gliceril stearat (emulgator)
- ksantan (zgoščevalo)
- izvleček brazilske kreše(1e v kremi L)
- gliceril kaprilat (protimikrobno delovanje)

8.3 Priloga C

INFORMIRANI PRISTANEK

NASLOV RAZISKOVALNE NALOGE: Ugotavljanje vpliva izvlečka brazilske kreše (*Acmella oleracea*) na gube

IZVAJALKE RAZISKOVALNE NALOGE: Eva Hudournik, Lara Goršek in Katarina Grazer

Spodaj podpisani se prostovoljno vključujem v izvajanje raziskovalne naloge. Izjavljam, da sem seznanjen o izvajalcu, namenu, postopkih in metodah raziskovalne naloge in razumem vse svoje obveznosti. Prejel sem vse potrebne informacije o meritvah in navodila o uporabi kreme L in kreme D in jih bom tudi upošteval. Seznanjen sem z možnostjo, da se lahko v primeru nejasnosti vedno obrnem na izvajalke raziskave. Strinjam se, da bom izvajalke obveščal o svojih opažanjih, o delovanju krem in vseh neželenih težavah. Seznanjen sem tudi s tem, da lahko od raziskovalne naloge prostovoljno odstopim.

S podpisom pristajam na sodelovanje v raziskovalni nalogi in dovoljujem objavo rezultatov raziskave in fotografij v nalogi ter v javnih predstavitvah, vendar brez mojnih osebnih podatkov.

PODPIS PROSTOVOLJCA: _____

DATUM: _____

8.4 Priloga D

SAMOOOCENITVENI OBRAZEC PO ENEM MESECU

1. Ocenite stanje svoje kože na levi strani obraza po enem mesecu glede na začetno stanje pred izvedbo raziskave.

	LEVA POLOVICA OBRAZA				
	zelo izboljšano	izboljšano	se ni spremenilo	poslabšano	zelo poslabšano
Stanje vlažnosti kože na obrazu					
Stanje čvrstosti kože na obrazu					
Stanje gladkosti kože na obrazu					
Stanje gub na obrazu					

2. Ocenite stanje svoje kože na desni strani obraza po enem mesecu glede na začetno stanje pred izvedbo raziskave.

	DESNA POLOVICA OBRAZA				
	zelo izboljšano	izboljšano	se ni spremenilo	poslabšano	zelo poslabšano
Stanje vlažnosti moje kože na obrazu					
Stanje čvrstosti moje kože na					

obrazu					
Stanje gladkosti moje kože na obrazu					
Stanje gub na obrazu					

8.5 Priloga E

SAMOOOCENITVENI OBRAZEC PO DVEH MESECIH UPORABE EMULZIJE

1. Moj tip kože je (možna do 2 odgovora):

a) suha b) mastna c) mešana d) občutljiva e) normalna f) zrela

2. Ocenite stanje svoje kože na levi strani obraza po končani uporabi kreme glede na začetno stanje pred izvedbo raziskave.

	LEVA POLOVICA OBRAZA				
	zelo izboljšano	izboljšano	se ni spremenilo	poslabšano	zelo poslabšano
Stanje vlažnosti kože na obrazu					
Stanje čvrstosti kože na obrazu					
Stanje gladkosti kože na obrazu					
Stanje gub na obrazu					

3. Ocenite stanje svoje kože na desni strani obraza po končani uporabi kreme glede na začetno stanje pred izvedbo raziskave.

	DESNA POLOVICA OBRAZA				
	zelo izboljšano	izboljšano	se ni spremenilo	poslabšano	zelo poslabšano
Stanje vlažnosti kože					

na obrazu					
Stanje čvrstosti kože na obrazu					
Stanje gladkosti kože na obrazu					
Stanje gub na obrazu					

4. Kako ste zadovoljni z delovanjem kreme L in kreme D?

	Zelo zadovoljen	Zadovoljen	Nezadovoljen	Zelo nezadovoljen
Krema L				
Krema D				

Komentar: _____

5. Kakšen se Vam zdi vonj kreme L in kreme D?

	Zelo dober	Dober	Sprejemljiv	Slab	Zelo slab
Krema L					
Krema D					

Komentar: _____

6. Kakšna se Vam zdi tekstura kreme L in kreme D?

	Zelo dobra	Dobra	Sprejemljiva	Slaba	Zelo slaba
Krema L					
Krema D					

Komentar: _____

7. Ali bi kremo L in kremo D še naprej uporabljali?

	Da	Ne
Krema L		
Krema D		

Zakaj? _____

8. Ali imate še kakšne pripombe ali informacije o kremah in svoji koži, komentarje glede raziskovalne naloge in možna vprašanja?

8.6 Priloga F

FOTOGRAFIJE PROSTOVOLJCEV

8.6.1 Prostovoljec 1

Starost: 46 let

Spol: ženski

Tip kože: normalna



Slika 16: Prostovoljec 1, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)



Slika 17: Prostovoljec 1, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)

8.6.2 Prostovoljec 2

Starost: 52

Spol: moški

Tip kože: mastna



Slika 18: Prostovoljec 2, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)



Slika 19: Prostovoljec 2, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)

8.6.3 Prostovoljec 3

Starost: 46

Spol: ženski

Tip kože: mešana



Slika 20: Prostovoljec 3, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 21: Prostovoljec 3, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.4 Prostovoljec 4

Starost: 51

Spol: moški

Tip kože: mešana



Slika 22: Prostovoljec 4, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 23: Prostovoljec 4, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.5 Prostovoljec 5

Starost: 46

Spol: ženski

Tip kože: suha



Slika 24: Prostovoljec 5, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)



Slika 25: Prostovoljec 5, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)

8.6.6 Prostovoljec 6

Starost: 46

Spol: moški

Tip kože: mastna



Slika 26: Prostovoljec 6, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)



Slika 27: Prostovoljec 6, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)

8.6.7 Prostovoljec 7

Starost: 41

Spol: ženski

Tip kože: mešana



Slika 28: Prostovoljec 7, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)



Slika 29: Prostovoljec 7, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)

8.6.8 Prostovoljec 8

Starost: 55

Spol: ženski

Tip kože: zrela, mešana



Slika 30: Prostovoljec 8, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)



Slika 31: Prostovoljec 8, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)

8.6.9 Prostovoljec 9

Starost: 43

Spol: ženski

Tip kože: normalna



Slika 32: Prostovoljec 9, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)



Slika 33: Prostovoljec 9, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: L. Goršek)

8.6.10 Prostovoljec 11

Starost: 47

Spol: ženski

Tip kože: mešana



Slika 34: Prostovoljec 11, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 35: Prostovoljec 11, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.11 Prostovoljec 12

Starost: 52

Spol: ženski

Tip kože: zrela, suha



Slika 36: Prostovoljec 12, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 37: Prostovoljec 12, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.12 Prostovoljec 13

Starost: 41

Spol: ženski

Tip kože: mešana



Slika 38: Prostovoljec 13, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 39: Prostovoljec 13, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.13 Prostovoljec 14

Starost: 47

Spol: moški

Tip kože: mešana



Slika 40: Prostovoljec 14, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)



Slika 41: Prostovoljec 14, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: E. Hudournik)

8.6.14 Prostovoljec 15

Starost: 33

Spol: ženski

Tip kože: mešana



Slika 42: Prostovoljec 15, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



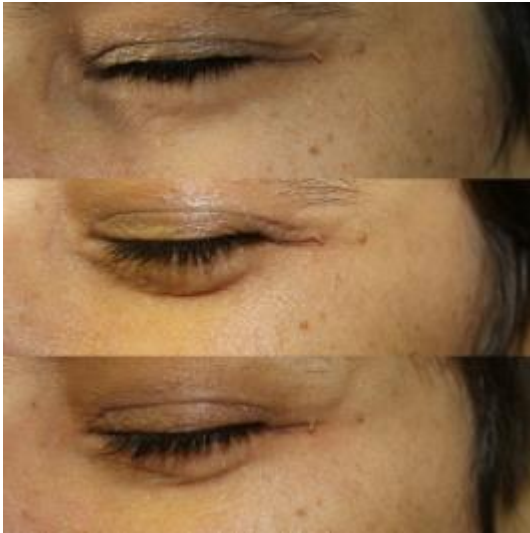
Slika 43: Prostovoljec 15, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.15 Prostovoljec 17

Starost: 42

Spol: ženski

Tip kože: občutljiva, suha



Slika 44: Prostovoljec 17, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 45: Prostovoljec 17, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.16 Prostovoljec 18

Starost: 42

Spol: ženski

Tip kože: mešana



Slika 46: Prostovoljec 18, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 47: Prostovoljec 18, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

8.6.17 Prostovoljec 20

Starost: 39

Spol: ženski

Tip kože: normalna



Slika 48: Prostovoljec 20, levi periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo testne kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)



Slika 49: Prostovoljec 20, desni periorbitalni del: zgoraj – pred uporabo placebo kreme, sredina – po enem mesecu uporabe, spodaj – po dveh mesecih uporabe (foto: K. Grazer)

9 VIRI IN LITERATURA

1. *Acmella oleracea* - Spilanthes - Better than Botox®?
<http://hermionesgarden.blogspot.si/2011/07/acmella-oleracea-paracress-better-than.html>
(27.12.2016)
2. Bilban, M. 2005. Zdrava poznejša leta: naj bodo tudi lepa. Društvo za zdravje srca in ožilja Slovenije, Ljubljana
3. Bolz, E. 1996. Lep obraz: pravilna nega, ustrezni kozmetični izdelki, pomoč pri težavah s kožo, lepota od znotraj. DZS, Ljubljana.
4. Bosch, C. H. *Acmella oleracea* (L.) R.K.Jansen, Prota
http://database.prota.org/dbtw-wpd/exec/dbtwpub.dll?AC=QBE_QUERY&BU=http://database.prota.org/search.htm&TN=PROTAB~1&QB0=AND&QF0=Species+Code&QI0=Acmella+oleracea&RF=Webdisplay (27.12.2016)
5. Curtis, S., Johnson, F., Thomas, P. 2016. Naravna lepota. Mladinska knjiga, Ljubljana
6. Despeghel-Schöne, M., Alamouti, D., Pütz, J. 2003. Ne dajte se letom!: načrt v petih korakih za takojšnji začetek. Založba KRES d.o.o., Ljubljana.
7. Kočevar Glavač, N., Janeš, D., Lupert, M., Stojilkovski, K., Kokalj, M., Tavčar Benković, E., Gosenca, M., Hendrychová, H., Gašperlin, M., Lunder, M., Baumgartner, S. 2015. Sodobna kozmetika: sestavine naravnega izvora. Širimo dobro besedo, d. o. o., Velenje.
8. Kočevar Glavač, N. Ustno sporočilo, 3.11.2016
9. Lange-Ernst, M. E. 1992. Lepota in naravna kozmetika: program blage nege za kožo in lase s številnimi napotki in recepti, ki jih lahko pripravimo sami. Mladinska knjiga, Ljubljana
10. Photo Gallery of Dream – Face
<http://weknowyourdreams.com/face.html> (12.11.2016)
11. Prachayasittikul, V., Prachayasittikul, S., Ruchirawat, S., Prachayasittikul, V. High therapeutic potential of *Spilanthes acmella*: A review. EXCLI Journal: april 2013, letnik 12, 291-312
12. Struktura in funkcija kože
<http://www.eucerin.si/o-kozi/osnovni-podaci-o-kozi> (11.10.2016)
13. Stušek, P., Škornik, S., Vodnik, D. 2014. Zgradba in delovanje organizmov: biologija v gimnaziji. DZS, založništvo in trgovina, d.d., Ljubljana.