



IZDELAVA NAJOPTIMALNEJŠE FORMULACIJE KREME ZA OBRAZ Z DODATKOM HMELJA

RAZISKOVALNA NALOGA



Avtorice:

Eva Nograšek, 3. c

Tjaša Jecl, 3. c

Lara Gobec, 3. c

Mentorja:

doc. dr. Iztok Prislan

Biotehniška fakulteta Univerze v
Ljubljani

mag. Mojca Alif

I. gimnazija v Celju

Področje: kemija

Mestna občina Celje, Mladi za Celje

Celje, 2019

Vsebina

Zahvala	3
Povzetek	4
Abstract	5
1 UVOD	6
Namen dela, cilji	6
Hipoteze	6
2 TEORETIČNI DEL.....	7
2.1 NARAVNA KOZMETIKA	7
2.2 KREME	7
2.2.1 OSNOVNE SESTAVINE KREM	9
2.2.2 DODATKI	12
2.3 DELOVANJE RANCIMATA.....	15
3 EKSPERIMENTALNI DEL.....	17
3.1 Priprava ekstrakta hmelja.....	17
3.2 Priprava krem za obraz.....	19
3.3 Preverjanje antioksidativnih lastnosti vzorcev krem z napravo Rancimat.....	24
3.4 Preverjanje protimikrobnih lastnosti preučevanih snovi	25
3.4.1 Priprava inokuluma bakterije <i>E. coli</i>	25
3.4.2 Inokulacija krem z bakterijo <i>E. coli</i>	25
3.4.3 Redčenje po Kochu	26
3.5 Anketa	28
4 REZULTATI.....	29
4.1 Rezultati naprave Rancimat.....	29
4.2 Rezultati mikrobioloških testiranj.....	30
4.3 Rezultati ankete.....	33
5 DISKUSIJA.....	36
6 VIRI IN LITERATURA	39
7 PRILOGE	41

Kazalo slik

Slika 1: Rancimat (17)	15
Slika 2: Že vnaprej pripravljen ekstrakt hmelja (Vir: osebni arhiv).....	17
Slika 3: Celoten ekstrakt hmelja v epici na napravi Vortex; fazi ekstrakta sta ločeni (Vir: osebni arhiv)	18
Slika 4: Priprava krem v laboratoriju podjetja Alefi (Vir: osebni arhiv)	20
Slika 5: Naprava Rancimat (Vir: osebni arhiv)	24
Slika 6: Petrijevka, v kateri so se na fiziološki raztopini razvile kolonije bakterij	32
Slika 7: Petrijevka, v kateri so se na supernatantu razvile kolonije bakterij	32

Kazalo grafov

Graf 1: Časovno spreminjanje električne prevodnosti vzorcev krem	29
Graf 2: Število posameznih ocen pri posamezni kremi glede na vonj.....	33
Graf 3: Število posameznih ocen pri posameznih kremah glede na vsečnost barve	33
Graf 4: Število ocen pri posameznih kremah glede na občutek na koži	34
Graf 5: Prikaz posameznih ocen pri posameznih kremah glede na mnenje uporabnic o njihovi strukturi	34
Graf 6: Mnenje uporabnic o naših kremah v primerjavi s sintetičnimi kremami.....	35

Kazalo tabel

Tabela 1: Sestavine v kremah s konopljinim oljem	21
Tabela 2: Sestavine v kremi z arganovim in jojobinim oljem	22
Tabela 3: Sestavine v kremi z olji oreščkov	22
Tabela 4: Sestavine v kremah z odvzetimi posameznimi komponentami	23
Tabela 5: Mase vzorčkov za mikrobiološko testiranje.....	25
Tabela 6: Rezultati mikrobioloških testiranj za prve štiri kreme in oba hmeljeva ekstrakta	30
Tabela 7: Rezultati mikrobioloških testiranj krem z odvzetimi posameznimi komponentami	31

Zahvala

Zahvalili bi se radi doc. dr. Iztoku Prislanu, ker nam je omogočil eksperimentalno delo v laboratorijih Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani in nam bil v veliko pomoč s svojim znanjem, prilagodljivostjo in podporo.

Zahvaljujemo se naši mentorici mag. Mojci Alif za pomoč in podporo pri izdelavi naloge.

Zahvaljujemo se dr. Rebeki Prislan (podjetje Alefi) za pomoč pri izdelavi krem.

Zahvala gre tudi profesorici Juani Robida za lektoriranje naloge.

Zahvaljujemo se profesorici Metki Rems Pilko za lektoriranje angleškega povzetka.

Zahvaljujemo se vsem družinskim članom in prijateljem, ki so nam med izdelavo naloge stali ob strani.

Povzetek

V naši raziskovalni nalogi smo želeli izdelati kremo, ki bo vsebovala dodatek hmelja in bo dovolj kvalitetna in konkurenčna za prodajo v trgovini ob fontani piv v Žalcu. Na osnovi lanske raziskovalne naloge smo si zastavili cilj, da pripravimo ekstrakt hmelja, ki bo z drugimi komponentami kreme tvoril stabilno homogeno zmes in na kremo vplival antioksidacijsko in antibakterijsko.

Pripravili smo šest krem z različnimi oljnimi osnovami in različnimi dodatki. Supernatant ekstrakta hmelja je tvoril homogeno zmes z drugimi sestavinami krem. Oksidacijsko stabilnost krem smo merili z napravo Rancimat. Rezultati so pokazali, da je oksidacijska stabilnost odvisna predvsem od sestave oljne faze in ne hmelja. Preverili smo tudi mikrobiološko stabilnost vzorcev krem, kjer smo varirali dodatke. Izkazalo se je, da drugi dodatki bistveno bolj vplivajo na mikrobiološko stabilnost kot hmelj.

Ankete, v katerih so uporabnice ocenjevale lastnosti krem, so pokazale, da so kreme po všečnosti primerljive s komercialnimi, a dodatek hmelja ni pozitivno vplival na oceno.

Kljub temu da se dodatek hmelja v nobenem od preučevanih snovi parametrov ni izkazal kot utemeljen, menimo, da bi bilo vseeno smiselno izdelati kremo iz surovin, ki so se izkazale kot najprimernejše, dodatek hmelja pa bi dodal kremi le lokalni pečat.

Abstract

For our research, we wanted to make a cosmetic cream, that would contain a hop extract. We wanted the cream's quality to be suitable for selling in a shop by the beer fountain in Žalec. Based on last year's research our goal was to make a hop extract that would form a stable homogenous compound and would impact on the cream's microbiological and oxidation stability.

We made 6 creams with different oils and different additives. The hop extract supernatant did form a homogenous compound with other components of the cream. We tested the oxidation stability of the creams with "The 892 Professional Rancimat". The results showed that the components of the oil phase have much more influence on the oxidation stability than the hop. We tested the antimicrobial abilities of the creams, where we were changing the components of the cream. The results showed that the other components influence the antimicrobial abilities of the creams more than the hop's extract.

The surveys, where the consumers were evaluating the properties of creams, showed that the creams can be compared with commercial creams, but the hop's extract did not have a positive effect on that.

Despite the fact that the hop additive did not prove useful in any of the studied substances, we believe that it would be worth producing a cream from the raw materials that proved to be the most suitable, and the addition of hops would only add the "local touch".

1 UVOD

Namen dela, cilji

V bližini naše gimnazije ležijo hmeljišča Savinjske doline. Hmeljarstvo tako pokrajini daje značilen pečat. V Žalcu, hmeljarskem središču Slovenije, so leta 2016 odprli fontano piv, imenovano Fontana piv Zeleno zlato, ki je zelo obogatila turistično podobo Savinjske doline. V bližini fontane so pozneje odprli tudi trgovino z bio izdelki, ki vsebujejo hmelj.

Ker je bila lansko leto na naši šoli izdelana raziskovalna naloga, v kateri so raziskovalke ugotovile, da ima dodatek hmelja v kremah verjetno antioksidativni in protimikrobni učinek, nas je zanimalo, če bi bilo mogoče hmelj uporabiti tudi kot sestavino kozmetičnih izdelkov in s tem obogatiti ponudbo v trgovini ob fontani. Tako smo se odločili, da poskusimo v sodelovanju s podjetjem Alefi izdelati bio kremo, ki bo vsebovala hmelj in bo obogatila lokalno obarvano linijo kozmetičnih izdelkov.

Hipoteze

1. Predvidevamo, da obstaja takšna oblika ekstrakta hmelja, da bo z drugimi sestavinami kreme tvoril stabilno homogeno zmes.
2. Izbrane sestavine bodo kremi dajale antioksidacijske in protimikrobne lastnosti, ključno vlogo pri tem pa bo igral ekstrakt hmelja.
3. Naša krema bo po lastnostih primerljiva s komercialnimi kremami.

2 TEORETIČNI DEL

2.1 NARAVNA KOZMETIKA

Naravna kozmetika je alternativa kozmetičnim izdelkom, ki vsebujejo polysintezne in sintezne sestavine. Osnovno vprašanje, ki se pri tem pojavlja, je, kdaj lahko neko snov oziroma neki izdelek označimo za naravnega. Precej enostavno je definirati sestavino kot naravno, vendar je zato težje kot naraven definirati celoten izdelek. Pojem naraven pomeni snov, pridobljeno iz narave, to je rastlinskega, mineralnega ali živalskega izvora, ali iz njihovih zmesi brez kemičnih sprememb. Področje naravne kozmetike v Evropski uniji še ni zakonsko urejeno, zato nimamo enotnih kriterijev, ki bi jih morali izdelki izpolnjevati, da dobijo oznako naravno, tako marsikdaj lahko pride do zavajanja potrošnikov. (1)

Naravna kozmetika se vedno pogosteje pojavlja na javnih tržiščih, kar je odraz življenjske filozofije vračanja k naravi. Popularnost naravnih sestavin v kozmetiki izhaja iz človekove želje, da na svojo kožo ne nanaša tujih snovi, pa tudi iz dejstva, da se rastline in njihovi izvlečki že od prazgodovine uporabljajo kot zdravilne sestavine. Zaradi dolge tradicije in relativno varne uporabe so še danes sestavina številnih zdravil in kozmetike. Čeprav ima veliko naravnih sestavin dokazane fiziološke in zdravilne učinke, je posploševanje koncepta, da so naravne sestavine boljše za kožo samo zato, ker so iz narave, brez znanstvene podlage. Pri rastlinskih sestavinah moramo poudariti, da sta sestava in posledično kakovost pogosto odvisni od vrste rastline, časa nabiranja, dozorelosti rastline ... Zaradi vseh teh dejavnikov so lahko te sestavine manj kakovostne, ker ne moremo natančno vedeti, kaj vse se je dogajalo med spravilom rastline. (4)

2.2 KREME

Kreme so tekoče emulzije vode in olja, ki jih navadno nanašamo na kožo.

Pri izdelavi kreme se uporabljajo številne sestavine. Voda se v kozmetiki uporablja kot topilo, hkrati pa tvori emulzije z olji. (16)

Melisin hidrolat blaži in mehča kožo. Pomaga pri razdraženi koži in uveli koži brez sijaja. Ima protivnetno in antiseptično (protimikrobno) delovanje. (15)

Emulgator omogoča nastanek stabilnih emulzij lipofilnega in hidrofilnega dela kreme. (4)

Glicerin je v kozmetiki močno higroskopičen in ščiti, obnavlja pregradne funkcije kože ter tako ohranja elastičnost kože. (8)

Vitamin E je močan antioksidant, saj regulira oksidacijsko-redukcijske procese in s tem ščiti nenasičene maščobne kisline pred oksidacijo. Kot antioksidant pomaga stabilizirati celične membrane in pred škodljivimi vplivi prostih radikalov ščiti tkiva, ki so še posebej občutljiva na oksidacijo, torej tkiva oči, kože, jeter, prsi in testisov. (21)

Konzervansi so snovi, ki jih dodajajo različnim izdelkom, da bi preprečili razvoj mikroorganizmov. (6)

Ekstrakt hmelja je snov, katere antioksidativne in protimikrobne lastnosti smo želeli raziskovati. Eterično olje sivke je primerno za sprostitvev, pri glavobolu in stresu ter za nego aknaste kože, opeklín, pikov mrčesa in glivičnih obolenj. (11)

Eterično olje limonske trave zožuje kapilare in neguje kožo z razširjenimi porami. (10)

2.2.1 OSNOVNE SESTAVINE KREM

OLJA

Konopljino olje

Konopljino olje je podobno lipidom v naši koži, zato lahko vlaži prostor med našimi celicami in vnaša esencialne maščobne kisline v telo. Tako vzdržuje ravnovesje vlage v koži in preventivno deluje pri preprečevanju staranja kože. Konopljino olje pomaga pri težavah z aknami, pri manjših odrgninah, ekcemu in psoriazii. Je tudi edino rastlinsko olje, ki vsebuje vitamin D, ta pa je nujno potreben pri absorpciji kalcija. Ima veliko vitaminov B-kompleksa, ki hranijo našo kožo in upočasnjujejo njeno staranje. (20)

Arganovo olje

Arganovo olje ima visoko vsebnost vitamina E in ga zaradi tega uporabljamo za vlaženje kože. Vitamin E je antioksidant, topen v maščobah, zato pripomore k zadrževanju vode v koži. Arganovo olje regulira količine sebuma oz. loja na koži, kar lahko izboljša zdravljenje aken. Hkrati je uporabno pri kožnih vnetjih, saj deluje antibakterijsko in fungicidno. Zaradi vsebnosti antioksidantov in vitamina E pomaga pri celjenju ran in ureznin. (14)

Jojobino olje

Po kemični sestavi je jojobino olje tekoči vosek, ki je po lastnostih zelo podoben kožnemu sebumu, naravnemu izločku kože, in se lepo porazdeli in vpije v kožo. Velja za eno najčistejših naravnih snovi. Ni občutljivo na oksidacijo in visoko temperaturo, kar močno zmanjša kvarljivost in ni treba dodajati antioksidantov. Olje namreč vsebuje vitamin E, ki je sam po sebi močan antioksidant. Uporablja se v izdelkih ali samostojno za nego celotnega telesa, blagodejno vpliva tudi na lasišče pri prhljaju in izpadanju las, pomaga pa tudi pri cepljenju las. Kožo mehča, uravnava vlažnost, vzdržuje njeno kislost in stimulira obnavljanje celic. Prav tako pomirja razdraženo kožo in ne povzroča alergij. Kože ne masti, zato je priporočljivo za aknasto in mastno kožo. Prav tako hitro prodre v globlje plasti kože. (12)

Mandljevo olje

Olje vsebuje veliko rudninskih snovi, vitamine A, B in E, esencialne kisline in beljakovine. Primerno je za suho, občutljivo in razdraženo kožo, za nego novorojenčkov, odstranjevanje ličil in za masaže, saj

se ne vpija prehitro. Blaži občutek srbečice in razdraženosti kože, mehča in pospešuje cepljenje in obnavljanje razpokane kože, daje občutek mehkoobe ter jo vlaži. Mandljevo olje je zelo primerno tudi za nego krhkih nohtov, izsušeno in razpokano obnohtno kožico. Neguje suhe in poškodovane lase. Med nosečnostjo ob redni uporabi tudi preprečuje nastanek strij. (19)

Lešnikovo olje

Spada med najdragocenejša olja. Je užitno, vendar se v kulinariki zaradi visoke cene uporablja redkeje. Vsebuje maščobne kisline, pomembne minerale (kalcij, kalij, magnezij), flavonoide – pomembne skupine antioksidantov. Skrbi za izdatno navlažitev kože in jo mehča zaradi linolenske kisline. Za mehčanje kože je pomembna vsebnost rastlinskih sterolov in vitamina E. Skrbi tudi za elastičnost kože. Zaradi obilja antioksidantov je primerno za upočasnitev staranja kože, prepreči prezgodnje nastajanje gubic in blaži izrazitost že nastalih. Velja za eno najbolj »suhih« olj, saj se izredno hitro vpija. (10)

Orehovo olje

Orehovo olje vsebuje vitamine A, C in E ter nenasičene maščobe, ki jih telo samo ne more proizvesti, omega-3-maščobne kisline in omega-6-maščobne kisline. Uporablja se tako v kulinariki kot tudi v kozmetiki. Izboljšuje cirkulacijo, kar vpliva na hitrejše obnavljanje kože, zaščiti kožo pred staranjem in pomaga proti celulitu. Uporablja se tudi pri negi las. Čisti vse plasti kože. Uporablja se na suhi, poškodovani in oboleli koži. Izboljša sposobnost učenja in zmanjša pozabljivost. Orehovo olje povečuje produkcijo melatonina v krvi, ki je odgovoren za dober spanec, prav tako pomaga pri zmanjšanju stresa, depresije in anksioznosti. Pomembno je tudi za srce in ožilje. V kulinariki se uporablja hladno, saj je občutljivo na oksidacijo. (7)

EMULGATORJI

Emulgatorji so povezovalni člen vodne in lipidne faze kozmetičnih izdelkov. Razporedijo se po mejnih površinah in omogočajo nastanek stabilnih emulzij. (4)

Molekule emulgatorjev tvorijo na mejni fazi med lipidi in vodo plast, na katero se hidrofilno vežejo molekule vode in hidrofobno molekule lipidov. Zaradi nastanka te plasti se močno zmanjša medfazna površinska napetost med omenjenima fazama.

Poznamo dve osnovni vrsti emulzij:

- O/V – emulzija olja v vodi (mleko, sladoled),
- V/O – emulzija vode v olju (maslo, margarina).

Kompleksnejši tipi emulzij (O/V/O, V/O/V) se vedno bolj uporabljajo v prehrabni industriji, še posebej v izdelkih z manj kalorijami (smetana, ki vsebuje manj olja). Takšne emulzije so bolj stabilne, saj raztopijo trdne delce, ki se nahajajo v vodnih kapljicah. (9)

Glede na strukturo molekule so površinsko aktivne snovi:

- neionogene – v vodi ne tvorijo ionov,
- ionogene – v vodi ionizirajo.

Ionogene površinsko aktivne snovi delimo glede na ion, ki deluje kot površinsko aktivna snov, na:

- anionske,
- kationske,
- amfoterne.

Površinsko aktivne snovi razdelimo tudi glede na njihovo HLB-število (*hydrophilic-lipophilic balance*). To je razmerje med relativno molekulsko maso hidrofilnega dela molekule in relativno molekulsko maso celotne molekule, ki ga pomnožimo z 20. Emulgatorji V/O imajo HLB od 3 do 6, emulgatorji O/V pa od 8 do 16. HLB-število navadno ugotavljamo eksperimentalno, saj se dejanske vrednosti zaradi variabilne sestave na trgu dostopnih površinskih snovi pogosto zelo razlikujejo od teoretičnih.

Naravnih emulgatorjev ni veliko. Lanolin je učinkovit emulgator V/O, a je zelo okluziven in na koži daje masten in lepljiv občutek. Je živalskega izvora, izločajo ga ovce iz žlez lojnic. Manj lepljiv občutek na koži dajejo lanolinski alkoholi, ki so prav tako okluzivni in neprimerni za nego nečiste in aknaste kože. Uporabljajo se tudi čisti holesterol in drugi steroli, npr. fitosteroli, vendar so navadno primerni le kot koemulgatorji (povečajo stabilnost emulzije in so navadno šibko površinsko aktivne snovi, ki delujejo tudi kot zgoščevala in s povečanjem viskoznosti izboljšajo stabilnost sistema). Emulzije O/V lahko naredimo z lecitinom, ki ni idealen emulgator, saj ni kemijsko stabilen. Njegova okluzivnost je manjša, a na obrazu daje neprijeten občutek maske. Vsi omenjeni emulgatorji so odlični za nego zelo suhe kože in kože s porušeno barierno funkcijo.

Emulgatorji sodijo med najtežavnejše kozmetične sestavine s tehnološkega in fiziološkega vidika, zato jih tudi v naravni kozmetiki nadomeščamo s polsinteznimi sestavinami. (4)

2.2.2 DODATKI

ANTIOKSIDANTI

V kozmetičnih izdelkih so snovi, kot so lipofilne sestavine (trigliceridi, eterična olja in vitamini), močno podvržene oksidaciji, s katero nastanejo aldehidi, ketoni in peroksidi. Pri tem pride v kozmetičnih izdelkih do mnogo nezaželenih učinkov, kot je izguba vitaminov A in C, maščoba postane žarka, spremenita se vonj in barva, učinkovitost delovanja je manjša. Da bi se temu izognili, izdelkom dodajamo antioksidante – snovi, ki imajo antioksidacijski učinek ali tak učinek okrepijo. Izdelke varujejo pred oksidacijo in s tem podaljšajo njihovo obstojnost. (3)

Kakovost izdelkov, ki vsebujejo maščobe, je odvisna od prisotnosti naravnih in sintetičnih antioksidantov. Večino antioksidantov, ki jih je dovoljeno dodajati živilom in kozmetičnim izdelkom, pridobijo umetno, a je njihova sestava identična naravnim, zato zdravju niso škodljivi. (3)

Glavni cilj delovanja antioksidantov je, da za določen čas preprečijo kvarjenje maščob, tako da:

- prestrežejo in nase vežejo kisik iz zraka, preden ta pride do snovi, ki bi drugače oksidirale;
- svoj elektron oddajo radikal, ki tako postane nereaktiven, antioksidant, ki se pri tem pretvori v radikal, pa je stabilnejši in manj agresiven do okolice;
- nase v kombinaciji z antioksidanti prvih dveh skupin vežejo prehodne kovine, ki drugače delujejo kot katalizator v procesu oksidacije. (1, 3)

HMELJ

Navadni hmelj ali *Humulus lupulus L.* je večletna dvodomna rastlina vzpenjalka, ki spada v družino konopljevok.

Hmelj se že več kot 500 let uporablja kot aroma in stabilizator v pivu. V storžku je lupulin, ta vsebuje snovi, ki dajejo pivu grenek okus, vonj in obstojnost. V kitajski medicini ga uporabljajo za zdravljenje gobavosti in pljučne tuberkuloze, v sodobni fitoterapiji (veda, ki za lajšanje zdravstvenih težav ali za preventivo pred določenimi boleznimi uporablja dele zdravih rastlin oz. njihove izvlečke) pa sta med njegove pomembnejše lastnosti šteta anksiolitično (anksiolitiki so zdravila za lajšanje občutka strahu in vznemirjenosti) in sedativno delovanje. Pomirja strah in živčno napetost, umirja pospešen srčni utrip in depresijo.

Pridelek hmelja so storžki, ki predstavljajo vir hmeljnih smolnih kislin (npr. humulon: alfa-kislina, lupulon: beta-kislina; obe sta nosilki grenkega okusa piva) in flavonoidov (derivati 1,3-difenilpropana, npr. ksantohumol, ki je pomemben antioksidant). Hmelju ravno zaradi snovi, ki jih vsebujejo storžki, pripisujejo protibakterijske, protirakave, antioksidativne in protivnetne učinke. (2)

ETERIČNA OLJA

Eterična olja so zmesi hlapnih aromatičnih spojin, ki nastajajo v rastlinskih cvetovih, listih, steblih, koreninah, plodovih in semenih. Pridobivamo jih z destilacijo ali s hladnim stiskanjem, ki ga uporabljamo za pridobivanje eteričnih olj agrumov. Najpogostejša je destilacija z vodno paro, pri kateri vodna para prehaja skozi rastlinski material, nameščen na luknjičasti pregradi v aparaturi za destilacijo. Pri tem se segrevajo stene rastlinskih celic, v katerih je shranjeno eterično olje. Stene celic počijo in eterično olje se izloči, izhlapi in se pomeša z vodno paro. Mešanica nato teče skozi cev, ki jo hladi voda, in ob tem kondenzira. Mešanica potem kaplja v posodo, tam pa se loči zaradi razlike v relativni gostoti vode in eteričnega olja. Pri tem nastaneta eterično olje in hidrolat. Eterična olja sicer delujejo kot konzervansi, a v kozmetičnih izdelkih te vloge večinoma ne igrajo, saj je njihova količina premajhna (0,5 % v izdelkih za nego obraza, 1 % v izdelkih za nego telesa). Ob prekomerni koncentraciji lahko povzročijo draženje ali celo preobčutljivost kože. (1, 13)

Limonska trava

Eterično olje limonske trave pridobivamo z destilacijo z vodno paro iz južnoafriške rastline tropskih predelov, limonskega cymbopogona. Barva olja je rumena ali rdečkasta, njegov vonj pa ima močan pridih vonja agrumov, zelišči in trave. Rezek in osvežujoč vonj je razlog, da eterično olje limonske

trave velja za eterično olje, ki poživlja. Pripisujejo mu protimikrobne lastnosti, zato je priljubljen pri negi mastne kože z aknami. V tradicionalni kitajski medicini se uporablja kot sredstvo proti prehladu, glavobolu, bolečinam v želodcu in proti revmatičnim obolenjem. Eterično olje limonske trave je močno sredstvo za uničevanje bakterij, zato se uporablja v sredstvih za razkuževanje zraka. Prav tako predstavlja eno izmed sestavin v mešanica za zdravljenje športnih poškodb. Deluje tudi kot sredstvo, ki sprošča vetrove, uravnava delo prebavil in blaži krče. Deluje proti depresiji in znižuje povišano telesno temperaturo, uničuje glivice in ima antioksidativni učinek. Uporaba v večjih količinah ni zaželena, saj velika količina aldehida, ki ga vsebuje, razdraži kožo. (1, 5)

Eterično olje sivke

Eterično olje sivke, ki ga poznamo tudi pod vzdevkom mati vseh eteričnih olj, pridobivamo z destilacijo z vodno paro. Njeno eterično olje je brez barve ali pa je ta rahlo rumena, njegov vonj pa je cvetlično-zeliščni, z lesno-balzamičnim podtonom. Njegova uporaba je zelo široka, od izdelkov za čiščenje kože do izdelkov za nego, za mlado ali zrelo kožo, za žensko ali moškega. Njegovemu nežnemu vonju pripisujejo sposobnost pomirjanja in s tem ustvarjanja zadovoljnega razpoloženja. (1)

GEOGARD 221

Geogard 221 je konzervans, sestavljen iz dehidroocetne kisline in benzilnega alkohola. Lahko ga uporabljamo v širokem razponu, od pH = 2 do pH = 7, in je kemijsko in fizikalno stabilen. Ni testiran na živalih. Lahko ga uporabljamo za nego dojenčkov, v maslu za telo, v šamponih, kremah za obraz. Je svetle barve in nima vonja. (13)

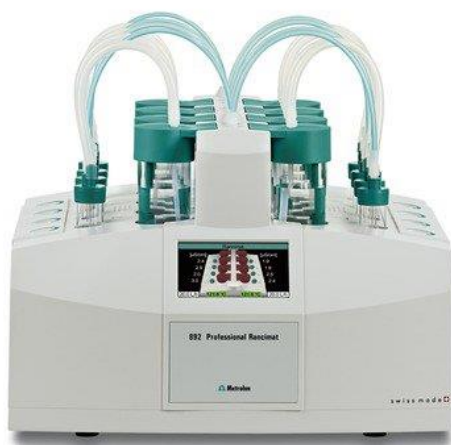
Učinkovit je proti bakterijam in glivam. Ne vsebuje parabenov in molekul, ki sproščajo formaldehid. Za večino aplikacij zadostuje 1 % konzervansa, pri izdelkih, ki so laže pokvarljivi, je smiselno dodati še 0,5 % natrijevega benzoata. Čez približno šest mesecev benzil alkohol oksidira v benzaldehid, ki ima močan vonj po mandljih. Dehidroocetna kislina, ki je učinkovita proti plesnim, lahko izdelek obarva rumeno. Da se izognemo omenjenim neželenim učinkom, izdelkom dodamo ustrezne antioksidante. (13)

2.3 DELOVANJE RANCIMATA

Rancimat (The 892 Professional Rancimat) je moderen, računalniško podprt analitični instrument za določanje oksidacijske stabilnosti olj in maščob, imenovane tudi indeks stabilnosti olja. Programska oprema obsega avtomatsko pridobivanje podatkov kot tudi zbirko podatkov in omogoča priročno upravljanje velikih količin podatkov. Reakcijske posode za enkratno uporabo zmanjšajo količino čiščenja pripomočkov na najnižjo možno raven. GLP-komplet s certificiranim temperaturnim senzorjem omogoča natančno in reproducirano nastavitve temperature, kar izboljša ponovljivost rezultatov.

Rancimat ima osem merilnih postaj. Vsaka postaja je sestavljena iz merilne posode z elektrodama in reakcijske postaje, ki vsebuje vzorec. Med merjenjem se v vzorec dovaja zrak. Vzorec je izpostavljen visokemu segrevanju. Ta obdelava povzroči oksidacijo molekul olja ali maščob v vzorcu, pri čemer se najprej tvorijo peroksidi kot primarni oksidacijski produkti, nato pa s sekundarno oksidacijo oksidirajo v organske kisline. Te so zaradi visokih temperatur v plinastem stanju, zato se prenašajo po cevkah v drugo posodo, ki vsebuje destilirano vodo. Kisline so elektroliti, zato v vodi razpadejo na ione, kar omogoča prevodnost, ki jo računalnik ves čas meri. Ko se prevodnost začne povečevati, je to znak prisotnosti organskih kislin. Čas, ki preteče, dokler se ti sekundarni produkti reakcije ne pojavijo, je znan kot čas indukcije, indukcijskega obdobja oziroma indeks stabilnosti olj (ISO). Daljši kot je ta čas, boljša je stabilnost kreme oziroma olja. Z inštrumentom je mogoče tudi opredeliti učinkovitost antioksidantov – daljši kot je indukcijski čas, boljši je antioksidant.

Rancimat je povezan z računalnikom in s tem s programom StabNet. Računalnik spremlja spremembe prevodnosti in to zapisuje v obliki tabel in grafov. Električno prevodnost meri v $\mu\text{S cm}^{-1}$, čas pa v sekundah. (17)



Slika 1: Rancimat (17)

2.4 PROTIMIKROBNO DELOVANJE PREUČEVANIH SNOVI

Vzorci kreme za preučevanje protimikrobnih učinkov snovi se inokulirajo z bakterijo *E. coli*. Po 24-urni inkubaciji vzorcev pri 37 °C se pripravi matična raztopina. Sledi priprava razredčitve po Kochu, nato pa je treba ustrezne razredčitve prenesti na petrijevke z agarjem in po 24 urah inkubacije pri dani temperaturi prešteti število kolonij. Rezultat se izrazi kot število kolonijskih enot (KE)/g vzorca kreme.

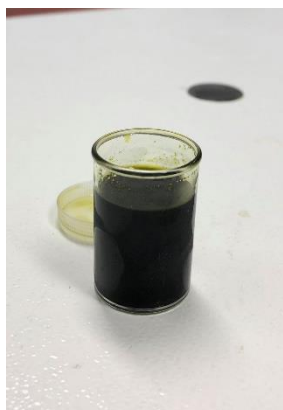
E. coli je bakterija, ki živi v črevesju ljudi in živali, razširjena pa je tudi povsod, kjer pride do onesnaženja z iztrebki (fekalno onesnaženje). Gre za paličasto, gramnegativno, gibljivo aerobno bakterijo, ki povzroča hude zastrupitve s hrano in posledično črevesne nalezljive bolezni. Morebitna prisotnost *E. coli* v živilih ali pitni vodi je zanesljiv pokazatelj fekalnega onesnaženja, zato jo pogosto uporabljajo v mikrobioloških in genetskih raziskavah za preverjanje protimikrobnega delovanja izdelkov. V sodobni tehnologiji se *E. coli* uporablja za industrijsko biosintezo inzulina in drugih biotehnoloških proizvodov. (1)

3 EKSPERIMENTALNI DEL

3.1 Priprava ekstrakta hmelja

Hmelj v naši raziskovalni nalogi predstavlja ključni element preučevanja, zato smo ga vključili v testirane kreme. Narediti smo morali ekstrakt, ki se je z drugimi sestavinami kreme povezal v homogeno snov. Pri izdelavi ekstrakta pa je bilo pomembno, da se znebimo etanola, ki deluje protimikrobno in s tem zakrije dejanski učinek hmelja.

Zatehtali smo 30,0 g že vnaprej pripravljenega ekstrakta hmelja (proizvajalčev opis ekstrakta je v prilogi), pridobljenega z ekstrakcijo z diatomejsko zemljo. Ekstraktu hmelja smo dodali 1,5 L etanola in zmes mešali 12 ur na magnetnem mešalniku. Nastalo zmes smo trikrat prefiltrirali, ostanek posušili na filtrirnem papirju ter ga stehtali. Masa je znašala 24,8 g. Glede na to, da smo v 1,5 L etanola dodali 30,0 g hmelja, 24,8 g pa ga je ostalo na filtrirnem papirju, lahko trdimo, da je v etanolu ostalo še 5,2 g ekstrakta. Ker je etanol sam po sebi konzervans in draži kožo, smo ga odparili z napravo Rotavapor. Ta z vrtenjem poveča površino vzorca in izboljša prenos toplote, s pomočjo vakuuma pa omogoča destilacijo pri nižji temperaturi. Smolnat preostanek smo nato postrgali iz bučke in ga zmešali z vodo. Pridobljeno mešanico smo dali v epice, kmalu pa se sta se izoblikovali dve plasti, supernatant zgoraj, v spodnji plasti pa je nastala usedlina. Celotnega ekstrakta zaradi velikosti delcev v usedlini v kremah nismo mogli uporabiti, saj bi bil naš produkt tako bolj podoben pilingu. Zato smo pri nadaljnjem delu uporabljali le supernatant.



Slika 2: Že vnaprej pripravljen ekstrakt hmelja (Vir: osebni arhiv)



Slika 3: Celoten ekstrakt hmelja v epici na napravi Vortex; fazi ekstrakta sta ločeni (Vir: osebni arhiv)

3.2 Priprava krem za obraz

Za preučevanje vpliva antioksidativnih in protimikrobnih lastnosti ekstrakta hmelja smo najprej izdelali kreme v laboratoriju podjetja Alefi.

Uporabljene kemikalije

- voda Mili Q (ustekleničena 8. 12. 2018)
- melisin hidrolat (MEC04, 4/2019)
- naravni emulgator (Plantec OP2, Herbana)
- glicerin (HM13-117, 4/2019)
- vitamin E (Tovarna Organika, BI4259907)
- konzervans (Geogard 221, Tovarna Organika)
- ekstrakt hmelja na diatomejski zemlji (Hopsteiner, 761009)
- eterično olje sivke (LOT FLE, 04812600916F/3)
- eterično olje limonske trave (LOT FLE 050B, 090916IN1/1)

Pripomočki

- kovinske posode, očiščene z etanolom
- plastične kapalke, očiščene z etanolom
- kovinska metlica, očiščena z etanolom
- analitska tehtnica Axis, Intertech.si
- indukcija kuhalna plošča Silvercrest
- digitalni termometer
- plastični lončki za kozmetično uporabo, očiščeni z etanolom

Postopek priprave kreme za obraz

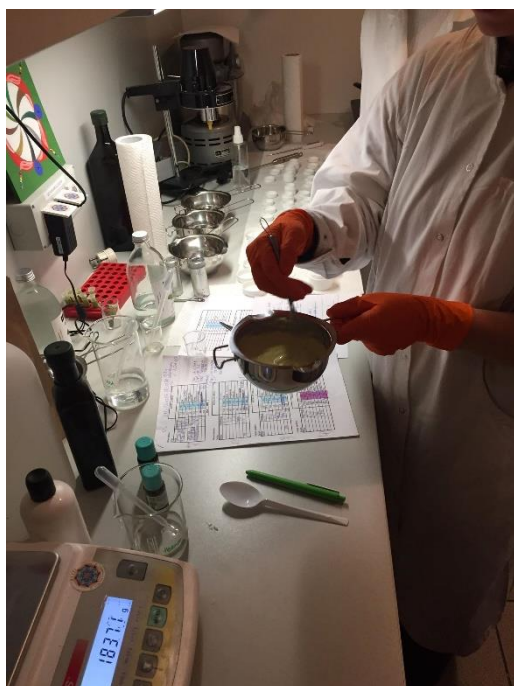
1. Priprava vodne faze

V očiščeno kovinsko posodo smo zatehtali 35,00 g prečiščene vode (destilirana in deionizirana) in 17,00 g melisinega hidrolata.

2. Priprava oljne faze

V drugo očiščeno kovinsko posodo smo zatehtali 33,50 g konopljinega olja in 7,60 g emulgatorja.

3. Vsako fazo posebej smo segrevali nad vodno kopeljo. Z digitalnim termometrom smo merili temperaturo obeh faz, in ko sta obe dosegli 65 °C, smo vodno fazo prelili v oljno in začeli mešati z očiščeno kovinsko metlico, dokler nismo dobili homogene zmesi oz. osnovne kreme.
4. Naredili smo tri osnovne kreme in jim dodali različne dodatke, prikazane v tabelah 1, 2, 3. V tabeli 1 so kreme, pri katerih smo uporabili konopljino olje, v tabeli 2 jojobino in arganovo olje, v tabeli 3 pa mandljevo, lešnikovo in orehovo olje. Ko smo naredili osnovne kreme, smo jim lahko dodali vitamin E, glicerin in dva različna ekstrakta hmelja (supernatant in celoten ekstrakt). Na koncu smo v vsako kremo dodali še eterično olje sivke in limonske trave. Za naše raziskovanje smo izdelali sedem krem.



Slika 4: Priprava krem v laboratoriju podjetja Alefi (Vir: osebni arhiv)

Pri izdelavi krem za obraz smo želeli uporabiti dva ekstrakta hmelja, in sicer supernatant, tekočino, ki leži nad trdnimi delci po centrifugiranju, in celoten ekstrakt hmelja. Pri izdelavi kreme 3 smo ugotovili, da so v njej z dodanim celotnim ekstraktom hmelja še vedno prisotni delci, ki tudi ob vtiranju kreme ostajajo na koži. Zaradi prisotnosti delcev hmelja (slabe topnosti celotnega ekstrakta hmelja, krema 3) krem s celotnim ekstraktom nismo več izdelovali, saj takšne kreme niso komercialno zanimive.

Oznaka kreme	1	2	3	4	5
Mase sestavin					
voda (g)	35,09	35,04	35,04	69,99	70,03
melisin hidrolat (g)	17,15	17,49	17,03	34,04	34,02
konopljino olje (g)	33,71	33,78	33,45	66,99	67,13
emulgator (g)	7,61	7,60	7,56	15,30	15,25
glicerin (g)	4,58	4,60	4,65	9,19	9,20
vitamin E (g)	0,98	1,00	0,99	2,03	1,98
Dodatki					
konzervans (g)	/	/	/	2,00	1,99
ekstrakt hmelja, supernatant (g)	/	1,00	/	/	0,92
ekstrakt hmelja, celoten (g)	/	/	1,51	/	/
eterično olje sivke (kapljice)	2	2	2	4	4
eterično olje limonske trave (kapljice)	6	6	6	12	12

Tabela 1: Sestavine v kremah s konopljinim oljem

Oznaka kreme	6
Mase sestavin	
voda (g)	69,93
melisin hidrolat (g)	33,99
arganovo olje (g)	16,49
jojobino olje (g)	49,87
emulgator (g)	15,18
glicerin (g)	9,23
vitamin E (g)	2,00
Dodatki	

konzervans (g)	1,99
ekstrakt hmelja, supernatant (g)	1,09
eterično olje sivke (kapljice)	4
eterično olje limonske trave (kapljice)	12

Tabela 2: Sestavine v kremi z arganovim in jojobinim oljem

Oznaka kreme	7
Mase sestavin	
voda (g)	70,00
melisin hidrolat (g)	34,05
mandljevo olje (g)	30,29
lešnikovo olje (g)	16,93
orehovo olje (g)	19,94
emulgator (g)	15,29
glicerin (g)	9,21
vitamin E (g)	2,00
Dodatki	
konzervans (g)	2,01
ekstrakt hmelja, supernatant (g)	1,02
eterično olje sivke (kapljice)	4
eterično olje limonske trave (kapljice)	12

Tabela 3: Sestavine v kremi z olji oreščkov

Oznaka kreme	11	12	13	14
Mase sestavin				
voda (g)	26,05	26,05	26,06	26,04
melisin hidrolat (g)	/	/	/	/
konopljino olje (g)	16,75	16,84	16,75	16,74
emulgator (g)	3,80	3,91	3,80	3,80
glicerin (g)	2,33	2,40	2,32	2,33
vitamin E (g)	0,51	/	/	/
Dodatki				
konzervans (g)	/	/	/	/
eterično olje sivke (kapljice)	1	1	/	/
eterično olje limonske trave (kapljice)	3	3	3	/

Tabela 4: Sestavine v kremah z odvzetimi posameznimi komponentami

1. Osnovna krema 1 ne vsebuje ekstrakta in konzervansa.
2. Osnovna krema 1 ima dodan supernatant ekstrakta hmelja.
3. Osnovna krema 1 ima dodan celoten ekstrakt hmelja.
4. Osnovna krema 1 ima dodan sintetični konzervans Geogard, njegova uporaba je dovoljena v naravni kozmetiki.
5. Osnovna krema 1 ima dodan sintetični konzervans Geogard in ekstrakt hmelja (supernatant).
6. Osnovna krema 2 ima dodan sintetični konzervans Geogard in ekstrakt hmelja (supernatant).
7. Osnovna krema 3 ima dodan sintetični konzervans Geogard in ekstrakt hmelja (supernatant).

Zaradi mikrobiološke analize smo izdelali še štiri dodatne kreme. Pri njih smo izključevali posamezne komponente, da bi preverjali, kako zavirajo rast bakterij.

11. Osnovna krema 1 ne vsebuje melisinega hidrolata.
12. Osnovna krema 1 ne vsebuje melisinega hidrolata in vitamina E.
13. Osnovna krema 1 ne vsebuje melisinega hidrolata, vitamina E in eteričnega olja sivke.
14. Osnovna krema 1 ne vsebuje melisinega hidrolata, vitamina E, eteričnega olja sivke in eteričnega olja limonske trave.

3.3 Preverjanje antioksidativnih lastnosti vzorcev krem z napravo Rancimat

V raziskovalni nalogi smo uporabljali napravo Rancimat za določanje oksidativne stabilnosti kozmetičnih izdelkov, v našem primeru krem. Primerjali smo indukcijski čas sedmih krem in s tem posledično ugotavljali tudi antioksidativne lastnosti ekstrakta hmelja. Testiranje smo izvajali v laboratorijih Biotehniške fakultete UL.

Preverjali smo sedem krem. V sedem izmed postaj, iz katerih je sestavljena naprava Rancimat, smo v reakcijske posode natehtali približno 7 g vzorca (vsak vzorec je predstavljal eno izmed narejenih krem). V merilno posodo smo s pomočjo merilnega valja nalili 60,0 mL destilirane vode.

Reakcijske posode, napolnjene z vzorcem, in merilne posode smo vstavili v napravo Rancimat, tako da je bila na vsaki postaji ena reakcijska in ena merilna posoda. Reakcijsko posodo smo s silikonsko cevko povezali z merilno posodo, ki vsebuje elektrode, in s cevko za dovod zraka, po kateri je prehajal zrak in prepiloval vzorec. Po silikonski cevki so po določenem času prehajali nastali produkti, organske kisline, ki so bile zaradi visokih temperatur v plinastem stanju.

Ko smo vse vzorce pripravili in jih namestili na aparat, smo nastavili temperaturo na 115,0 °C, prepilovanje z zrakom pa na 20 L/h. Aparat smo pustili delovati 20 ur. Program je ves čas spremljal prevodnost v merilni posodi in zapisoval rešitve. Začetna temperatura je bila 25,5 °C. Prevodnost destilirane vode je znašala 1,8 $\mu\text{S}/\text{cm}$.

Naslednji dan smo preverili rezultate izmerjenih indukcijskih časov posameznih vzorcev krem.



Slika 5: Naprava Rancimat (Vir: osebni arhiv)

3.4 Preverjanje protimikrobnih lastnosti preučevanih snovi

3.4.1 Priprava inokuluma bakterije *E. coli*

Bakterijo *E. coli* shranjujemo pri temperaturi $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ v 20-odstotni raztopini glicerola, ki deluje kot kiroprotektant (tj. sredstvo, ki preprečuje okvaro organizmov, tkiv ali celic pri zelo nizki temperaturi). V takšnih pogojih bakterija ne more uspevati, zato smo jo morali revitalizirati. Delo s kulturo je moralo potekati v aseptičnem okolju, zato je bilo opravljeno v laminariju. To je komora, ki jo razkužujejo z ultravijolično svetlobo in v kateri laminarni tok filtriranega zraka preprečuje vstopanje prahu, tako da je mogoče delo v sterilnih razmerah. Na sobni temperaturi smo celično suspenzijo bakterij odtajali in jo odpipetirali v hranljivi bujon. Hranljivi bujon sestavlja 1 % peptona (produkt presnove beljakovin zlasti pod vplivom pepsina), 0,5 % NaCl in 0,5–1 % mesnega ekstrakta. Erlenmajerico smo z brozgo (gojišče in kultura) pritrdili na stresalnik in jo 24 ur stresali pri 160 obratih na minuto. Stresali smo pri $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ pod anaerobnimi pogoji. Krem nismo prepigovali, kot bi običajno, saj so v kremah, ki so zaprte, pogoji anaerobni. S tem smo omogočili optimalne pogoje za rast bakterij *E. coli*, da so prišle do pozne eksponentne faze rasti in s tem postale pripravljene za nadaljnje delo.

Protimikrobno stabilnost vzorcev smo preverjali v laboratorijih Biotehniške fakultete UL.

3.4.2 Inokulacija krem z bakterijo *E. coli*

V falkonke smo zatehtali po približno 10 g posameznega vzorca kreme in 10 mL posameznega vzorca obeh ekstraktov (supernatant in celoten ekstrakt). Pri kremah smo si pomagali z dvema spatulama, ki smo ju dezinficirali z etanolom, pri ekstraktih hmelja pa z merilno pipeto.

	1	3	4	5	11	12	13	14
Masa (g)	10,00	9,99	10,00	10,07	10,00	10,00	10,00	10,00

Tabela 5: Mase vzorčkov za mikrobiološko testiranje

V laminarij smo postavili že prej pripravljene vzorce krem in odmašili zamaške vseh vzorcev. V vsakega posebej smo nacepili $100\ \mu\text{L}$ suspenzije *E. coli*. Inokuliran vzorec smo nato hitro zmešali s sterilno palčko, da bi preprečili lokalno reakcijo.

Enako smo storili tudi pri inokulaciji snovi, katerih protimikrobno delovanje smo preverjali. Edina razlika je, da smo te vzorce po inokulaciji zmešali s tresenjem in pri tem pazili, da tekočina ni prišla v stik s pokrovčkom.

Med samim postopkom smo suspenzijo *E. coli* redno mešali, da se celice ne bi posedle.

Falkonke, ki so vsebovale inokulirane vzorce, smo za inkubacijsko dobo 24 ur namestili na stresalnik pri 160 obratih/minuto. Vzorci so se na stresalniku mešali predvsem zaradi ekstraktov hmelja, da se ne bi posedli na dno falkonk. Temperaturo smo nastavili na 37 °C, da so imele bakterije optimalne pogoje za rast. Če bi bili vzorci izpostavljeni sobni temperaturi, bi to z vidika našega poskusa vzelo preveč časa.

Naslednji dan smo falkonke, v katerih so bakterije rasle čez noč, pripravili na nanašanje vzorcev na plošče. Iz falkonk z inokuliranimi kremami smo s sterilno spatulo v nove sterilne falkonke natehtali po 1 g vsakega vzorca. Spatulo smo sterilizirali s flambiranjem (pomočili smo jo v etanol in nesli skozi plamen). Pred tehtanjem smo vzorce s spatulo dobro premešali. V falkonke smo nato dodali 9 mL fiziološke raztopine. Vse to smo naredili ob gorilniku, da bi preprečili kontaminacijo pribora in vzorcev z mikroorganizmi iz zraka. Tako smo dobili štiri matične raztopine.

Opomba: V testiranje protimikrobnih lastnosti smo vključili le naslednje vzorce krem:

1 (krema brez dodatkov), 3 (krema z dodanim celotnim ekstraktom hmelja), 4 (krema z dodanim sintetičnim konzervansom Geogard), 5 (krema z dodanim supernatantom ekstrakta hmelja in sintetičnim konzervansom Geogardom).

Izključili smo kreme 2, 6 in 7. Kremi 6 in 7 sta namreč vsebovali supernatant ekstrakta hmelja ter sintetični konzervans Geogard in sta se od kreme 5 razlikovali le v oljih, ki smo jih uporabili za oljno fazo.

Za mikrobiološko analizo smo uporabili tudi dva ekstrakta hmelja, supernatant in celoten ekstrakt hmelja.

Za namene mikrobiološke analize smo izdelali še štiri dodatne kreme brez komponent, za katere smo želeli ugotoviti, ali vplivajo na rast *E.coli*: 11 (brez melisinega hidrolata), 12 (brez melisinega hidrolata in vitamina E), 13 (brez melisinega hidrolata, vitamina E, eteričnega olja sivke), 14 (brez melisinega hidrolata, vitamina E, eteričnega olja sivke, eteričnega olja limonske trave).

3.4.3 Redčenje po Kochu

V petih falkonkah je bilo po 1 g kreme ali po 1 mL ekstrakta hmelja, ki smo mu dodali 9 mL fiziološke raztopine. To pomeni, da je bila redčitev desetkratna (10^{-1}).

V tej redčitvi bi na ploščah petrijevk zraslo preveč kolonij, da bi jih lahko natančno šteli, zato smo matično raztopino še nekajkrat razredčili, da smo si zagotovili števne plošče.

Odpipetirali smo 100 μ L matične raztopine in dodali 900 μ L fiziološke raztopine. Dobili smo stokratno razredčitev (10^{-2}). Iz te smo odpipetirali 100 μ L in jih dali v 900 μ L fiziološke raztopine, da smo dobili

tisočkratno razredčitev (10^{-3}). Postopek smo ponovili še trikrat, dokler nismo dobili milijonkratne razredčitve (10^{-6}).

Potem smo nanesti različne razredčitve na plošče s hranljivim agarjem. Vsako ploščo smo razdelili na štiri dele, če smo preverjali posamezno kremo, ekstrakt ali pa samo fiziološko raztopino, saj smo preverjali štiri redčitve (10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}). Za kontrole (neinokulirane redčitve) pa smo eno petrijevko razdelili na tri dele (oba ekstrakta in fiziološka raztopina), eno pa na štiri (vsi štirje vzorci krem). Za kontrole smo vzeli tisočkratno redčitev.

Na vsak del plošče smo s pipeto nanesti po tri kapljice razredčenega vzorca po $10 \mu\text{L}$ – tri zato, da smo imeli več ponovitev. Prej smo vsak vzorec premešali na vrtinčnem mešalniku. Pri nanašanju smo pazili, da kapljice nismo nanesti preblizu druga drugi. Ko smo na vsak kvadrant nanesti tri kapljice, smo petrijevko zaprli. S petrijevkami smo ravnali zelo previdno, da se tekočina ne bi razlila po agarju. Nacepljene petrijevke smo odnesli v inkubator s temperaturo $37 \text{ }^\circ\text{C}$ in v 24 urah so na agarju zrastle bakterije *E. coli*.

Kolonije smo nato prešteli in po spodnji formuli izračunali število kolonij/mL vzorca (kreme, supernatanta ali celotnega ekstrakta).

$$\frac{CFU}{mL} = \sum ke \div (n_1 + n_2 \times 0,1) \times R$$

$\sum ke$... vsota kolonij, prešteti na ploščah

n_1 ... število števni petrijevih plošč (3–30 kolonij) prve razredčitve

n_2 ... število števni petrijevih plošč (3–30 kolonij) druge razredčitve

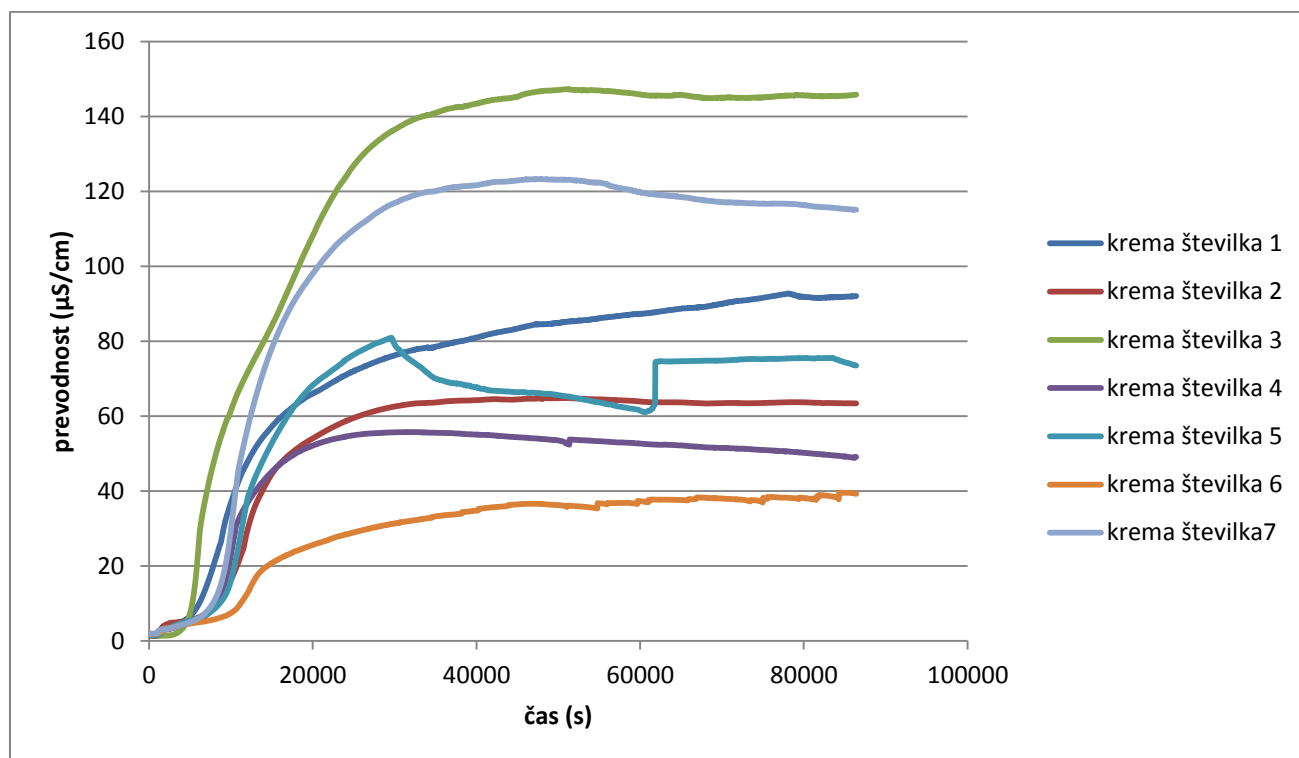
R ... razredčitveni faktor prve razredčitve, ki smo jo šteli (pri računanju smo šteli faktor 10^5)

3.5 Anketa

Kot del raziskovalnega dela smo izvedli tudi anketo, da bi preverili, kako uporabnice dojemajo različne lastnosti naših krem (videz, vonj ...). Rešilo jo je 22 deklet, starih med 17 in 19 let. Vsaka je predse dobila vse štiri vzorce kreme in si vsako nanesla na drugo mesto na podlakti. Na vsako izmed krem je bilo strukturiranih pet vprašanj, na katera so anketiranke odgovorile z ocenami med 1 in 5.

4 REZULTATI

4.1 Rezultati naprave Rancimat



Graf 1: Časovno spreminjanje električne prevodnosti vzorcev krem

Naprava Rancimat temelji na merjenju prevodnosti destilirane vode, kamor prehajajo produkti razpada snovi, ki jo želimo preverjati pri določeni temperaturi in količini zraka, ki prepihuje vzorec v odvisnosti od časa. Vsi rezultati so zato izraženi v količini električne prevodnosti. Da so rezultati zanesljivejši, smo vse meritve opravili dvakrat. Rezultati so bili med seboj primerljivi, zato smo v raziskovalno nalogo vključili le rezultate druge meritve.

Kot je razvidno iz grafa številka 1, je pri vseh kremah prišlo do približno enakega indukcijskega časa, približno 4.000 s, kar je 1,1 ure. Najnižji indukcijski čas ima krema 3, katere indukcijski čas je meril približno 3.800 s, kar je približno 1 ura. Najvišji indukcijski čas je imela krema 6. Znašal je 10.000 s, kar je 2,8 ure.

4.2 Rezultati mikrobioloških testiranj

<i>E. coli</i> inokulirana					Števno 3–30 kolonij
Pogoj\Redčitev	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	CFU/ml
K1	–	–	–	–	–
K3	–	–	–	–	–
K4	–	–	–	–	–
K5	–	–	–	–	–
ES	N	N	50	9	5,7 x 10 ⁶
	N	N	33	3	
	N	N	41	5	
EC	N	N	21	0	2,0 x 10 ⁶
	N	N	18	0	
	N	N	20	1	
FR	N	N	20	3	1,9 x 10 ⁶
	N	N	18	2	
	N	N	18	3	

Tabela 6: Rezultati mikrobioloških testiranj za prve štiri kreme in oba hmeljeva ekstrakta

K1 ... krema 1

K3 ... krema 3

K4 ... krema 4

K5 ... krema 5

ES ... ekstrakt supernatant

EC ... celoten ekstrakt

FR ... fiziološka raztopina

Kreme 11, 12, 13 in 14 so bile narejene naknadno, da bi preverili, ali imajo druge komponente kreme (melisin hidrolat, vitamin E, eterično olje sivke in eterično olje limonske trave) vpliv na živost bakterij *E. coli*.

<i>E. coli</i> inokulirana						Števno 3–30 kolonij	Znižanje št. celic (neupoštevanje sinergije)
Pogoj\Redčitev	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶	10 ⁷	CFU/ml	
K11	2	–	–	–	–	3 x 10 ³	vsaj 33,33 %
	3	–	–	–	–		
	2	–	–	–	–		
K12	18	3	–	–	–	1,3 x 10 ⁴	76,92 %
	7	1	–	–	–		
	13	1	2	–	–		
K13	32	4	–	–	–	3,5 x 10 ⁴	62,85 %
	38	4	–	–	–		
	31	3	3	–	–		
K14	N	14	–	–	–	1,8 x 10 ⁵	80,50 %
	N	18	–	–	–		
	N	20	4	–	–		
FR	N	N	N	24	1	2,3 x 10 ⁷	99,20 %
	N	N	N	16	3		
	N	N	N	24	5		

Tabela 7: Rezultati mikrobioloških testiranj krem z odvzetimi posameznimi komponentami

K11 ... krema 11

K12 ... krema 12

K13 ... krema 13

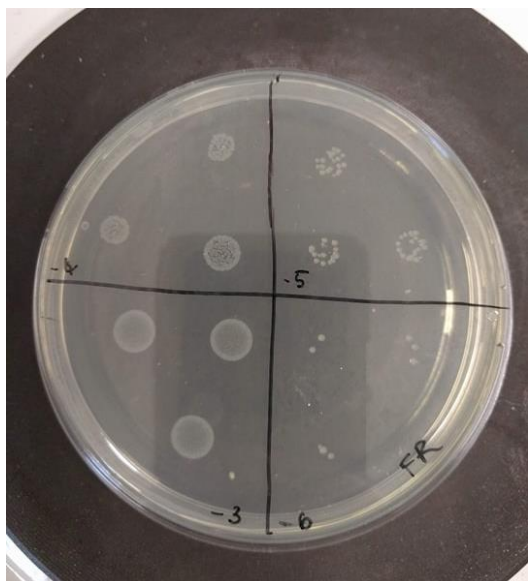
K14 ... krema 14

Največ kolonij je zraslo na gojišču z vzorcem, ki je vseboval supernatant ekstrakta hmelja, sledi celoten ekstrakt hmelja.

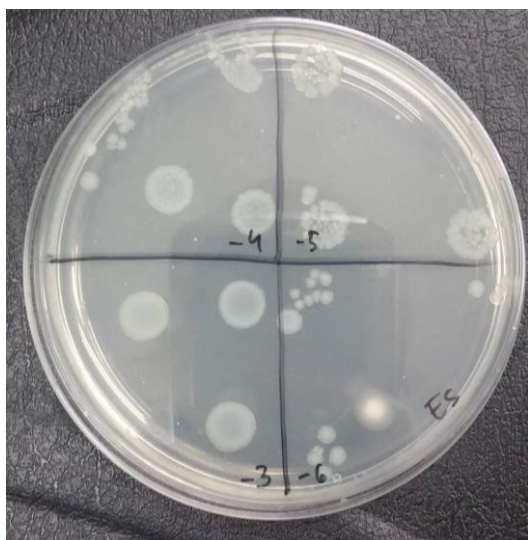
Med kremami je bila živost *E.coli* največja pri kremi 14 (brez hidrolata melise, brez vitamina E, brez eteričnega olja sivke, brez eteričnega olja limonske trave). Sledila je krema 13 (brez hidrolata melise, brez vitamina E, brez eteričnega olja sivke). Sledili sta krema 12 (brez melisinega hidrolata in vitamina E) in krema 11 (brez melisinega hidrolata). Na kremah 1, 2, 3, 4 ni zraslo nič.

Rezultati mikrobiološkega testiranja so pokazali, da posamično ekstrakta hmelja nimata protimikrobnih učinkov. Rezultati mikrobiološkega testiranja so pokazali, da protimikrobno delujejo

predvsem učinkovine v kremah (melisin hidrolat, vitamin E, eterično olje sivke, eterično olje limonske trave), ne pa ekstrakt hmelja.



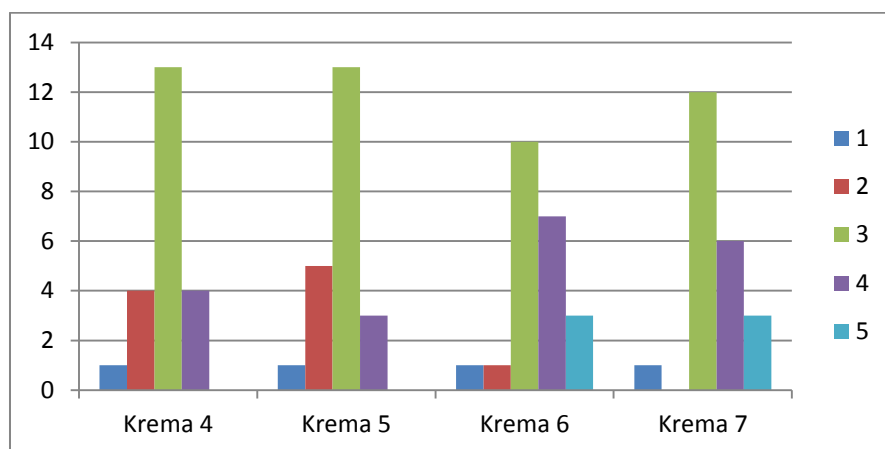
Slika 6: Petrijevka, v kateri so se na fiziološki raztopini razvile kolonije bakterij



Slika 7: Petrijevka, v kateri so se na supernatantu razvile kolonije bakterij

4.3 Rezultati ankete

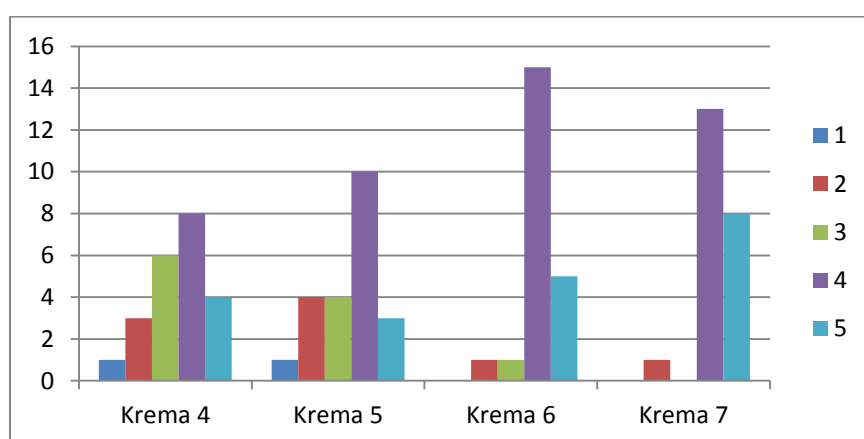
Vonj



Graf 2: Število posameznih ocen pri posamezni kremi glede na vonj

Pri prvem vprašanju so dekleta ocenila vonj krem. Vse vonjave so bile ocenjene kot povprečne, med njimi pa so bile vseeno velike razlike. Najbolj dišeča se jim je zdela krema 7, katere oljna faza je temeljila na mandljevem, lešnikovem in orehovem olju. Tej je sledila krema 6, ki je vsebovala jojobino in arganovo olje. Neprimerljive ocene pa sta dobili kremi 4 in 5, ki sta vsebovali konopljinu olje. Najslabše je bila ocenjena krema 5, s kombinacijo konopljininega olja in ekstrakta hmelja, ki večini uporabnic ni bila všeč, vonj jih je odvrčal.

Barva

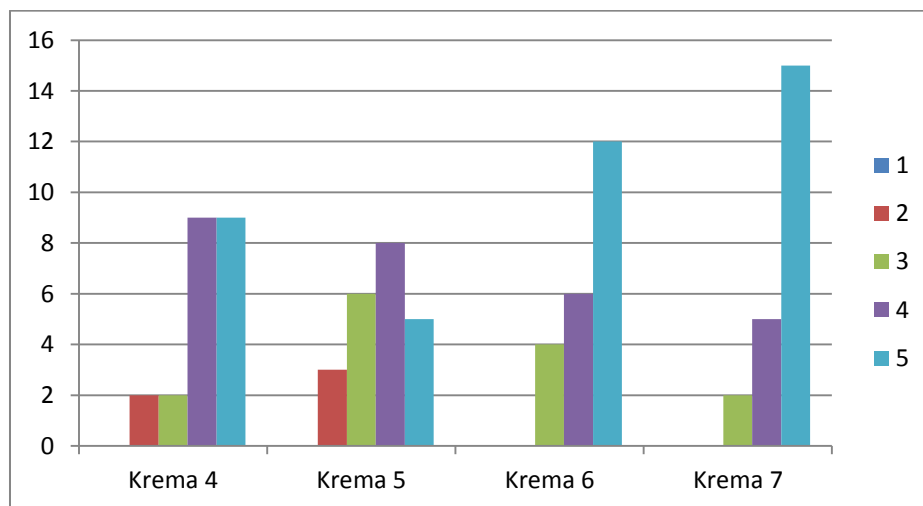


Graf 3: Število posameznih ocen pri posameznih kremah glede na všečnost barve

Podobno kot vonj so iste komponente vplivale tudi na všečnost barve. Uporabnicam se je privlačnejša zdela bledikasta barva olj oreščkov, arganovega olja in jojobinega olja. Barvi krem 6 in 7

sta jim bili nadpovprečno všeč, medtem ko sta bili zaradi zelene barve, ki sta jo povzročila konopljinolje in ekstrakt hmelja, kremi 4 in 5 ocenjeni slabše; dekleta so ju uvrstila na predzadnje in zadnje mesto.

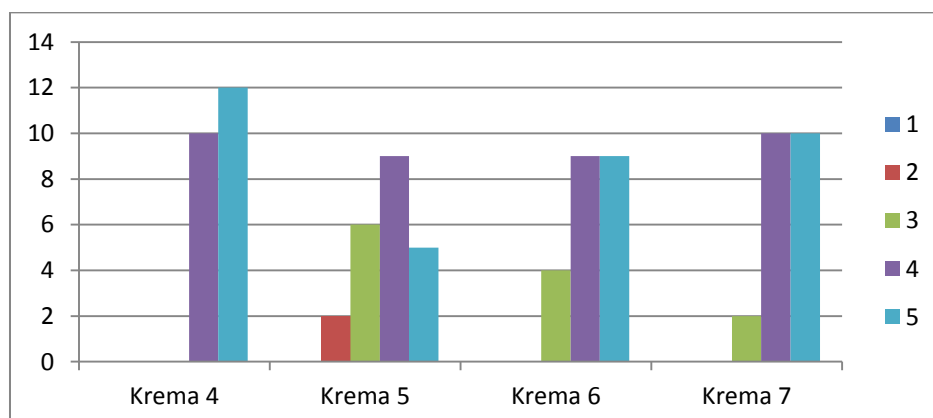
Občutek na koži



Graf 4: Število ocen pri posameznih kremah glede na občutek na koži

Anketiranke smo povprašali po občutku kreme na koži. Najprijetnejša se jim je zdela mazljivost kreme 7, ki jo je povzročilo mandljevo, lešnikovo in orehovo olje, za odtenek slabše pa je bila ocenjena krema 6, ki je vsebovala arganovo in jojobino olje. Najnižje ocene je dobila krema 5, ki je vsebovala konopljinolje in ekstrakt hmelja.

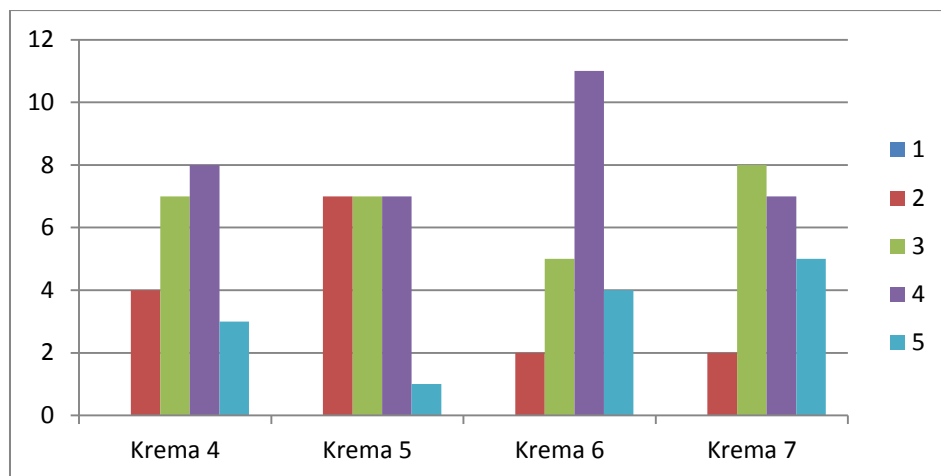
Struktura



Graf 5: Prikaz posameznih ocen pri posameznih kremah glede na mnenje uporabnic o njihovi strukturi

Uporabnice so povedale svoje mnenje tudi o strukturi kreme. Najbolj jim je bila vseč struktura kreme 4, ki je temeljila na konopljinem olju. Tej je sledila krema 7, ki je bila zaradi arganovega in jojobinega olja čvrstjša. Najnižje se je uvrstila krema, ki je vsebovala ekstrakt hmelja in konopljino olje – krema 5.

Primerjava s sintetičnimi kremami



Graf 6: Mnenje uporabnic o naših kremah v primerjavi s sintetičnimi kremami

Naše kreme, ki vsebujejo večino naravnih snovi, so anketiranke primerjale tudi s sintetičnimi kremami, ki jih uporabljajo vsak dan. Tri izmed štirih krem so se jim zdele boljše kot sintetične, vsakdanje kreme.

Najbolje so bile ocenjene kreme 4, 6, 7 (po padajočem vrstnem redu). Anketirankam so se zdele nekoliko boljše kot tiste, ki jih uporabljajo vsakodnevno. Krema 5 pa se jim je zdela primerljiva s sintetičnimi kremami.

5 DISKUSIJA

V zadnjih letih postajajo v kozmetiki vse bolj priljubljeni naravni nadomestki sintetičnih kemikalij. S tem področjem se ukvarjajo številni raziskovalci. Tudi na naši gimnaziji je bila lani izdelana raziskovalna naloga, ki je preučevala protimikrobne in antioksidativne sposobnosti vitamina C, ekstrakta hmelja in ekstrakta granatnega jabolka. Rezultati so pokazali, da sta oksidacijo maščob v kremah najuspešneje preprečila ekstrakta granatnega jabolka in hmelja.

Ker je hmelj na področju Savinjske doline zanimiv in priljubljen produkt, smo se odločili, da nadaljujemo lansko raziskovalno nalogo, tako da podrobneje preučimo možnosti uporabe hmelja oziroma njegovega ekstrakta kot enega izmed potencialnih dodatkov kremam.

Želeli smo ugotoviti, ali je možno izdelati tak ekstrakt hmelja, ki bo z drugimi sestavinami kreme tvoril stabilno homogeno emulzijo. Da bi se izognili alkoholu v kremi, smo izdelali vodni ekstrakt. Ta se je ločil v dve fazi: spodnjo oborino in zgornji supernatant. Če smo v kremi uporabili celoten ekstrakt, zmes ni bila homogena. Veliki delci oborine so delovali v kremi kot piling in takšna krema komercialno ne bi bila zanimiva. Le z uporabo samo zgornje faze, supernatanta ekstrakta hmelja, smo lahko izdelali stabilno homogeno kremo. Prvo hipotezo lahko torej potrdimo le delno.

V drugi hipotezi smo predvidevali, da bo imel ekstrakt hmelja antioksidativne lastnosti in bo hkrati zaviral rast mikroorganizma. V ta namen smo izdelali različne matrikse krem, v katerih smo uporabili različne osnove, konopljinu olje, kombinacijo jojobinega in arganovega olja ter kombinacijo orehovega, mandljevega in lešnikovega olja in različna eterična olja ter druge dodatke, kar bi skupaj tvorilo komercialno zanimiv izdelek.

Meritve stabilnosti krem na napravi Rancimat so pokazale, da imajo kreme z različno sestavo tudi različne indukcijske čase, torej različno odpornost na oksidacijo. Indukcijski čas pa je bolj odvisen od osnovnih sestavin kreme (vrste olja, uporabljenega v oljni fazi) kot od dodatka hmelja. Najstabilnejša je bila krema 6, ki je imela za osnovo arganovo in jojobino olje. Po podatkih iz literature je jojobino olje zelo odporno na segrevanje in oksidacijo, arganovo olje pa vsebuje precej vitamina E, ki je antioksidant. Najmanj stabilni sta bili kremi 3 in 7. Krema 7 vsebuje olja oreščkov (mandljevo, orehovo in lešnikovo), za katere lahko prav tako v literaturi najdemo podatke, da so občutljivi na oksidacijo in segrevanje, še posebej to velja za orehovo olje.

Pri mikrobiološkem testiranju smo skušali najprej ugotoviti vpliv dodatka hmelja (celotnega ekstrakta in supernatanta) na mikrobiološko stabilnost krem. Na teh kremah kolonije *E. coli* sploh niso zrasle, saj so sestavine krem (melisin hidrolat, vitamin E, eterično olje sivke in eterično olje limonske trave) delovale protimikrobno. Zato smo izdelali še štiri kreme, pri katerih smo izločali posamezne komponente. Pri prvi smo izločili melisin hidrolat, pri drugi melisin hidrolat in vitamin E, pri tretji

melisin hidrolat, vitamin E in eterično olje sivke ter pri četrti kremi melisin hidrolat, vitamin E, eterično olje sivke in eterično olje limonske trave. Izmed vseh vzorcev je največ kolonij zraslo na vzorcu, v katerem smo izključili vse štiri dodatke, najbolj pa rast bakterij zavira eterično olje limonske trave. Sledile so krema, ki ni vsebovala melisinega hidrolata, vitamina E in eteričnega olja sivke, krema, ki ni vsebovala melisinega hidrolata in vitamina E, ter krema, ki ni vsebovala melisinega hidrolata. Na vzorcu samega ekstrakta hmeljevega je zraslo primerljivo število kolonij kot na kontroli s fiziološko raztopino. Pri uporabi supernatanta pa je zraslo celo več kolonij kot na kontroli s fiziološko raztopino, torej ne le da ekstrakt hmelja ni pokazal protimikrobnih učinkov, ampak je tudi deloval kot gojišče. To je mogoče pojasniti s tem, da so lahko bili v vodnem ekstraktu prisotni saharidi iz hmelja, ki so bakterijam služili kot hranilo. Ekstrakt hmelja v uporabljenih koncentracijah ni izkazal protimikrobnih lastnosti. Tako moramo drugo hipotezo v celoti zavreči.

Tretjo hipotezo smo potrdili le delno. Vse izdelane kreme so bile po mnenju anketirank primerljive, če ne še bolj všečne od komercialnih krem. Kljub temu pa je pri določenih lastnostih, kot sta barva in vonj, prišlo do velikih odstopanj med kremami z različnimi komponentami. Ker so vse kreme imele enako sestavo, z razliko v izbiri olja in prisotnosti ekstrakta hmelja, sklepamo, da všečnost različnih lastnosti vzorcev temelji na izbranem olju in prisotnosti hmelja. Gledano s komercialnega vidika je po rezultatih uporabnicam najbolj všeč krema 7, ki temelji na oljih oreščkov, takoj pa ji sledi krema 6. Na vseh ocenjevanih področjih je najnižje ocene dobila krema 5, zato bi bila najmanj primerna za prodajo. Po splošnem vtisu je uporabnicam najmanj ustrezala ravno kombinacija ekstrakta hmelja in konopljinega olja. To bi lahko pripisali dejstvu, da je kombinacija eteričnih olj sivke in limonske trave prekrila nežen vonj hmelja. Kreme, ki so imele zelenkast odtenek, so bile ocenjene slabše. Verjetno je bila to posledica nespretne predstavitve. Hmelj smo uporabili v tako majhnih količinah, da se je primerna zelena barva izgubila in so jo zakrile barve olj. Predvidevamo, da bi ob drugačni predstavitvi zelen odtenek kreme uporabniki bolj povezali s hmeljem, naravno oz. bio kozmetiko.

V naši raziskovalni nalogi smo izdelali različne osnove krem z različnimi dodatki. Zaključimo lahko, da je oksidativna stabilnost krem v prvi vrsti odvisna od olj, ki sestavljajo oljno fazo, mikrobiološka stabilnost pa od dodatkov, a za nobeno od njiju nismo uspeli dokazati, da bi bila izrazito povezana z dodatkom ekstrakta hmelja. Vsaj ne pri uporabi v tako majhnih koncentracijah, kot smo jih uporabili v naši raziskavi.

Nekateri izdelani vzorci krem so imeli lastnosti, ki so popolnoma primerljive s komercialnimi kremami, bili so oksidacijsko in mikrobiološko stabilni, anketiranke pa so jih dobro ocenile tudi po izgledu in občutku na koži.

Najoptimalnejša formulacija kreme bi torej bila, na podlagi naših raziskav, z jobobinim in arganovim oljem, hidrolatom melise, konzervansom Geogard 221 in z dodatki eteričnih olj sivke in limonske

trave ter vitamina E. Dodatek hmelja na lastnosti kreme po naših ugotovitvah sicer nima bistvenega vpliva, bi ga pa lahko v obliki supernatanta vključili v kremo in ji s tem dodali lokalni pečat in jo naredili komercialno zanimivo.

6 VIRI IN LITERATURA

1. Baumgartner S., Zvonar A.; *Kozmetični izdelki I: vaje in teoretične osnove*. Ljubljana: Fakulteta za farmacijo. 2013.
2. Čeh B.; *Hmelj od sadike do storžkov: zbirka vsebin za izobraževanje za Nacionalno poklicno kvalifikacijo (NPK) Hmeljar/hmeljarka*. Žalec : Inštitut za hmeljarstvo in pivovarstvo Slovenije. 2012.
3. Elmadfa I., Muskat E., Fritzsche, D.; *Številna E : aditivi v naših živilih*. Ljubljana: Mladinska knjiga. 2007.
4. Kočevar Glavač N., idr.; *Sodobna kozmetika: Sestavine naravnega izvora*. 1. Velenje: Širimo dobro besedo. 2015.
5. Poštić S.; *A kot aromaterapija: priručnik za uporabo eteričnih olj*. Izola: Meander. 2006.
6. Svolljšak Mežnaršič I.; *Kozmetologija: Učbenik za predmet Kozmetologija v 2. letniku programa kozmetični tehnik*. Ljubljana: Tehniška založba Slovenije. 2005.
7. *Bodi eko*: <https://www.bodieko.si/orehovo-olje>, dostop 23. 1. 2019.
8. *Ecoverde*: https://www.ecco-verde.si/info/sestavine/glicerin?fbclid=IwAR1yC8cb-QDq_8rKorjmV2OBSFU7t9nOorbAtFF-OKtHwWxCBNqTndsCxhs, dostop 8. 3. 2019.
9. *Emulgator*: <https://sl.wikipedia.org/wiki/Emulgator>, dostop 16.1.2019.
10. *Favn*: <https://www.favn.si/naravna-etericna-olja/limonska-trava-cymbopogon-flexuosus?fbclid=IwAR054pWRSJ-0cxQD5iMYZvesHiqExfBbym0tCrObNzvtjgXDVHVR9FrtKi4>, dostop 8. 3. 2019.
11. *Favn*: https://www.favn.si/naravna-etericna-olja/sivka-lavendula-angustifolia?fbclid=IwAR20mDHcMsmGTAemx09KnAfRO0j4XGbiS6XokO9PsD_QslwSbRPCw7p4Dck, dostop 8. 3. 2019.
12. *Flora zelišča Rogatec*: <http://www.flora-zelisca.si/jojoba-olje.html>, dostop 30. 1. 2019.
13. *Glenncorp. Geogard 221*: <https://glenncorp.com/>, dostop 10. 2. 2019.
14. *Healthline*: <https://www.healthline.com/health/argan-oil-for-skin#benefits-of-argan-oil-for-skin>, dostop 28. 1. 2019.

16. *Magnolija*: <https://www.magnolija.si/trgovina/hidrolat-melise-ekoloski/?fbclid=IwAR13jLctxLZbHy05GBT7JTYh4tk68p5jsvF9dD3sDM9IS3W2bOalEdgiOrs>, dostop 8. 3. 2019.
17. *Metrohm: 743 Rancimat*:
https://www.labmakelaar.com/fjc_documents/fl02_rancimat_6925571.pdf, dostop 13. 1. 2019.
18. *NIJZ. E. coli v živilih*: http://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/ecoli_05082015.pdf, dostop 17. 2. 2019.
19. *Planet lepote*: <https://www.planet-lepote.com/mandljevo-olje-za-naravno-nego-koze-in-las>, dostop 30. 1. 2019.
20. *Tovarna Organika*: <http://www.tovarnaorganika.si/trgovina/olja/konopljinno-olje-devisko-bio/>, dostop 28. 1. 2019
21. *Tovarna Organika*: <http://www.tovarnaorganika.si/trgovina/kozmeticne-surovine/vitamin-e-tekoci-brez-gmo/?fbclid=IwAR2QHB9U6q1hIJVPDJKjI4ApUx0zByjKCxV1cf7a35xlfq4nvycnNMnP8U>, dostop 8. 3. 2019.

7 PRILOGE

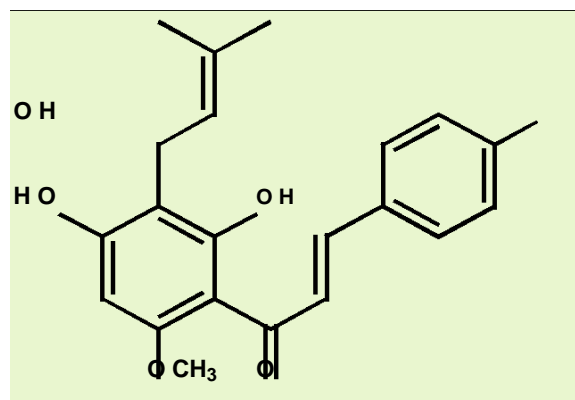


Xantho-Flav Extract on Diatomaceous Earth

❖ Overview

- **Xantho-Flav Extract on D.E.** is a natural product produced from hops.
- The active ingredient in **Xantho-Flav Extract on D.E.** is the hop polyphenol xanthohumol.
- **Xantho-Flav Extract on D.E.** can be used as an ingredient in food, cosmetics or pharmaceutical applications.

Molecular Structure of Xanthohumol



❖ Specification

- **Description:** Olive green colored powder.
- **Bitter compounds:** 20 %
- **Xanthohumol:** 1.8 – 2.0 % (9 – 10 % without carrier material)
- **Density:** ~ 0.55 g / ml
- **Solubility:** Very soluble in ethanol, nearly insoluble in water.
Further information on solubility:
J. Agric. Food Chem. 1999, 2421 – 2428.

Rev. 4.30.10

S.S.Steiner, Inc.
New York, USA
Tel: (1) 212 838 8900
Fax: (1) 212 593 4238
E-mail: sales@hopsteiner.com

Simon H. Steiner, Hopfen, GmbH
Mainburg, Germany
Tel: (49) 8751 8605-0
Fax: (49) 8751 8605-80
E-mail: info@hopsteiner.de

Steiner Hops Ltd.
Epping, England
Tel: (44) 1992 572331
Fax: (44) 1992 573780
E-mail: enquiries@hopsteiner.co.uk

Hopsteiner Trading (Zhuhai) Co., Ltd.
Zhuhai, PRC
Tel: (86) 756 322 3340
Fax: (86) 756 322 3345
E-mail: info@hopsteiner.com.cn



❖ Properties

❑ Physiological Properties

Xantho-Flav Extract on D.E. contains a high concentration of the prenylated flavonoid Xanthohumol. As demonstrated in numerous “in-vitro”-tests Xanthohumol shows a wide range of potentially beneficial effects, among which is its high degree of antioxidative activity. Its bioavailability, impact on metabolism, and pharmacokinetics have all been examined in animal testing. A dose rate of 100 mg of Xanthohumol per kg of animal weight showed no toxic effect. (*Molecular Nutrition and Food Research Edition 9/05*)

❑ Orac Test Results

Peroxy Radical Scavenging Capacity

	µmol Trolox/g
Xanthohumol (> 98%)	23447
Isoxanthohumol (> 98%)	19073
*Quercetin-Dihydrate (90%)	21779

Hydroxyl Radical Scavenging Capacity

	µmol/g Trolox
Xanthohumol (> 98%)	72245
Isoxanthohumol (> 98%)	29600
*Quercetin-Dihydrate (90%)	5610

* Quercetin-Dihydrate (90%) was used as a reference standard.

❑ Storage stability

Xantho-Flav Extract on D.E. is stable for two years from the date of production. The product should be stored < 5° C and be protected from light.

❑ Safety

Xantho-Flav Extract on D.E. is classified in GHS category 5. If **Xantho-Flav Extract on D.E.** comes in contact with the eyes wash off with plenty of water and seek medical attention.

For full safety information please see the relevant Steiner material safety data sheet.

❑ Quality

All Hopsteiner® products are produced in plants accredited to internationally accepted quality standards. **Xantho-Flav Extract on D.E.** is Food Grade and Kosher.

❖ Packaging

Xantho -Flav Extract on D.E. is packaged in various types of containers depending on custom requirements.

❖ Analytical methods

Xanthohumol and iso-xanthohumol can be quantified by HPLC using Analytica-EBC 7.8 using external calibration standards of pure xanthohumol (370 nm) and pure iso-xanthohumol (290 nm).

❖ Technical Support

We will be pleased to offer help and advice on the full range of Hopsteiner® products:

- ❑ Copies of all relevant analytical procedures
- ❑ Material Safety Data Sheets (MSDS)
- ❑ Assistance with pilot or commercial trials
- ❑ Specialist analytical services

❖ Remarks

We take great care in preparing **Xantho-Flav Extract on D.E.** from hops, however, the use or application is the sole responsibility of the buyer.

Rev. 4.30.10

S.S.Steiner, Inc.
New York, USA
Tel: (1) 212 838 8900
Fax: (1) 212 593 4238
E-mail: sales@hopsteiner.com

Simon H. Steiner, Hopfen, GmbH
Mainburg, Germany
Tel: (49) 8751 8605-0
Fax: (49) 8751 8605-80
E-mail: info@hopsteiner.de

Steiner Hops Ltd.
Epping, England
Tel: (44) 1992 572331
Fax: (44) 1992 573780
E-mail: enquiries@hopsteiner.co.uk

Hopsteiner Trading (Zhuhai) Co., Ltd.
Zhuhai, PRC
Tel: (86) 756 322 3340
Fax: (86) 756 322 3345
E-mail: info@hopsteiner.com.cn

ANKETA

Smo dijakinje I. gimnazije v Celju in pripravljamo raziskovalno nalogo na področju biokemije, pri kateri preučujemo vplive različnih komponent v kremah na kemijski in ekonomski ravni. Pred tabo so 4 kreme, vsako nanesi na svoje mesto na podlakti.

Za vsako spodaj navedeno vprašanje obkroži odgovor s katerim se najbolj strinjaš, pri čemer je: 1-mi ni všeč in 5-mi je zelo všeč, če vprašanje ne zahteva drugače.

KREMA 4:

1. Vonj

1 2 3 4 5

2. Barva:

1 2 3 4 5

3. Občutek na koži:

1 2 3 4 5

4. Struktura kreme:

1 2 3 4 5

5. Kakšna se ti je zdela krema v primerjavi s sintetičnimi kremami, ki jih navadno uporabljamo (1-splah mi ni bila všeč, 2-bila mi je všeč, a so mi sintetične bolj, 3-ni razlike, 4-za odtenek boljša, 5-neprimerljivo boljša):

1 2 3 4 5

KREMA 5:

1. Vonj

1 2 3 4 5

2. Barva:

1 2 3 4 5

3. Občutek na koži:

1 2 3 4 5

4. Struktura kreme:

1 2 3 4 5

5. Kakšna se ti je zdela krema v primerjavi s sintetičnimi kremami, ki jih navadno uporabljamo (1-splah mi ni bila všeč, 2-bila mi je všeč, a so mi sintetične bolj, 3-ni razlike, 4-za odtenek boljša, 5-neprimerljivo boljša):

1 2 3 4 5

KREMA 7:

1. Vonj

1 2 3 4 5

2. Barva:

1 2 3 4 5

3. Občutek na koži:

1 2 3 4 5

4. Struktura kreme:

1 2 3 4 5

5. Kakšna se ti je zdela krema v primerjavi s sintetičnimi kremami, ki jih navadno uporabljamo (1-sploh mi ni bila všeč, 2-bila mi je všeč, a so mi sintetične bolj, 3-ni razlike, 4-za odtenek boljša, 5-neprimerljivo boljša):

1 2 3 4 5

KREMA 9:

1. Vonj

1 2 3 4 5

2. Barva:

1 2 3 4 5

3. Občutek na koži:

1 2 3 4 5

4. Struktura kreme:

1 2 3 4 5

5. Kakšna se ti je zdela krema v primerjavi s sintetičnimi kremami, ki jih navadno uporabljamo (1-sploh mi ni bila všeč, 2-bila mi je všeč, a so mi sintetične bolj, 3-ni razlike, 4-za odtenek boljša, 5-neprimerljivo boljša):

1 2 3 4 5