

Evaluarea stabilității unor antioxidanți naturali și de sinteză utilizați în produse dermato-cosmetice cu efect antiîmbătrânire

CRISTINA BORLESCU¹, MARIA GIURGINCA^{**}, IOANA DEMETRESCU²

* SC Elmi Prodfarm SRL, Șoseaua Berceni, Nr. 8, 041914, București, România

** Universitatea Politehnica București, Str. Polizu, Nr. 1, 011061, București, România

Natural or synthetic antioxidants are used in the formula of dermatocosmetics, which contain components with different unsaturation degree and are exposed to auto oxidative / oxidative, to conserve the initial properties and maintain their stability in time. The paper presents the behavior of some common antioxidants – vitamin A, C, E and their derivatives (tocopherol acetate, ascorbyl phosphate), coenzyme Q₁₀ – in destructive conditions. The stability of the antioxidants, exposed at temperatures in the field 40 – 80°C and in the presence of peroxidic radicals, was evaluated based on the changes of antioxidant activity determined through chemiluminescence, on the structural changes determined through FT-IR and UV-VIS-NIR spectroscopy and, in some cases, on the changes of chromatic characteristics.

Keywords: antioxidants, vitamins, ageing, chemiluminescence, FT-IR, UV-VIS-NIR spectroscopy

Produsele dermato-cosmetice sunt compoziții complexe care conțin componente cu grade de nesaturare variabile. Astfel, ele sunt afectate de procese degradative cauzate de interacțiile cu oxigenul și derivații acestuia (oxigenul singlet, hidroperoxizii, alți radicali oxigenați). Cei mai afectați sunt acizii grași prezenți în uleiurile de diferite tipuri, reacția debutând în poziția α - metilenică față de dubla legătură și continuând prin intermediul radicalului format până când are loc întreruperea procesului [1]. Procesul este accelerat de temperatură, de intervenția - chiar și accidentală - a radiației solare, de prezența eventualelor urme de metale cu valență variabilă în materiile prime, ca și de interacția dintre componentele formulării.

Pentru asigurarea stabilității în timp a produselor dermato-cosmetice se folosesc antioxidanți naturali și / sau de sinteză, ultimii fiind din ce în ce mai evitați de cosmetologi din cauza semnelor de întrebare pe care le ridică în ceea ce privește siguranța pentru sănătatea umană [2].

Antioxidanții trebuie să prevină producerea reacțiilor de oxidare, împiedicând formarea radicalilor liberi care declanșează procesul și să nu permită desfășurarea în lanț a procesului, determinând dezactivarea radicalilor liberi formați [3].

Vitaminele A, C și E, flavonoidele obținute din diferite plante, uleiuri esențiale sunt folosite în principal ca antioxidanți naturali. Dintre antioxidanții de sinteză se folosesc derivați de tocoferol (acetat, palmitat) și acid ascorbic (fosfat și palmitat), sau în unele cazuri, în cantități reduse, derivați fenolici substituiți ca BHT (butil-hidroxitoluen) și BHA (butil-hidroxi-anisol).

Pentru potențarea efectului antioxidant și obținerea unor produse cu eficacitate deosebită în ceea ce privește menținerea îndelungată a elasticității și supleții pielii, îmbunătățirea hidratării pielii, refacerea pielii afectată de diferiți factori externi se mai folosesc vitamina F, provitamina B₅ (pantenol), precum și complecși activi, care includ mai multe substanțe, care acționează sinergic.

În lucrare se studiază comportarea la termooxidare și în prezența radicalilor peroxidici a unor antioxidanți

naturali (vitaminele A, C și E, coenzima Q₁₀) și de sinteză (acetat de tocoferol și fosfat de ascorbil), variația activității antioxidante și a culorii în aceste condiții, ca și unele modificări structurale evidențiate prin tehnici spectrale de absorbție (FT-IR și UV-VIS-NIR).

Partea experimentală

Materiale

- a-tocoferol și acetat de a-tocoferol (Merck)
- acid ascorbic (vitamina C) (Merck)
- fosfat de ascorbil (BASF)
- vitamină A (Sigma)
- pantenol (provitamina B₅) (BASF)
- coenzimă Q₁₀ (ubichinonă) (Merck)
- complex activ, cu structură originală, pe bază de vitamine

Reactivi

- KBr de puritate spectrală (Merck)
- MgO p.a. (Merck)
- DMSO p.a. (Merck)
- H₂O₂ p.a. (Merck)
- luminol (Sigma)
- TRIS - HCl, soluție 0,2 M

Tehnici de investigare

- spectroscopie în infraroșu (aparatură FT-IR 620, Jasco, Japonia) pentru caracterizare spectrală în domeniul 4000 -400 cm⁻¹
- spectroscopie în UV-VIS-NIR (aparatură V 570, Jasco, Japonia), cu dispozitiv de reflexie difuză ILN-472, pentru caracterizare spectrală în domeniul 200 -2500 nm
- chemiluminescență (chemiluminometru TD 20 / 20, Turner Design, USA) pentru determinarea activității antioxidante (AA) a probelor supuse termooxidării prin expunere la 25, 50 și 80°C
- etuvă de laborator (Caloris, România) cu temperatură reglabilă

Rezultate și discuții

Antioxidanții naturali și de sinteză sunt prezenți în aproape toate domeniile de activitate: în industria

* Tel.: (+40) 021 3154193

Tabelul 1
 CARACTERISTICILE CINETICE ALE PROCESULUI DE
 TERMOOXIDARE A VITAMINEI E

Produs	k (min ⁻¹)			E _a (kJ/mol)
	v 3500 cm ⁻¹	v 1760 cm ⁻¹	v 1576 cm ⁻¹	
α-tocoferol	k ₅₀ = 1,5 × 10 ⁻⁴	k ₅₀ = 4,0 × 10 ⁻⁴	k ₅₀ = 3,3 × 10 ⁻⁴	62,0 pt. v 3500 cm ⁻¹
	k ₈₀ = 1,7 × 10 ⁻³	k ₈₀ = 2,5 × 10 ⁻³	k ₈₀ = 2,4 × 10 ⁻³	58,5 pt. v 1760 cm ⁻¹ 63,4 pt. v 1576 cm ⁻¹
acetat de α-tocoferol	k ₅₀ = 2,3 × 10 ⁻⁴ k ₈₀ = 1,6 × 10 ⁻³	— —	— —	77,55

Tabelul 2
 VARIAȚIA ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE A VITAMINELOR E LA TERMOOXIDARE

Condiții termooxidante	Activitate antioxidantă (%)	
	α-tocoferol	acetat de α-tocoferol
25°C	75,90	62,80
5 h × 50°C	74,20	61,90
10 h × 50°C	72,80	60,20
25 h × 50°C	70,80	59,40
50 h × 50°C	68,90	58,00
5 h × 80°C	68,20	53,45
8 h × 80°C	67,90	51,80
12 h × 80°C	65,46	46,55

alimentară sunt utilizați pentru a preveni rânzezirea alimentelor (carne, unt, margarină, conserve), în industria materialelor plastice și elastomerilor pentru creșterea duratei de viață a produselor finite, în industria farmaceutică pentru creșterea stabilității în timp a medicamentelor, în industria cosmetică pentru menținerea calităților inițiale ale produselor finite timp îndelungat, în industria auto pentru protejarea uleiurilor minerale și sintetice.

Vitaminele sunt substanțe cu acțiuni de reglare a unor funcții celulare, asemănându-se cu enzimele și hormonii, și pe această proprietate se bazează utilizarea lor în produsele dermato-cosmetice. Ele favorizează hidratarea și catifelarea pielii, regularizează transformarea și migrarea celulelor spre stratul cornos superficial, contribuie la menținerea integrității morfologice și funcționale a membranelor, stimulează sinteza collagenului, protejează pielea de efectele agresive ale mediului (poluare, căldură, frig), inhibă formarea melaninei și apariția petelor pigmentare, au rol antiinflamator și imunostimulator [4].

Dintre antioxidanții naturali, se remarcă uleiurile esențiale cu acțiuni antistres, de stimulare a sintezei de collagen și uleiurile vegetale. Dintre acestea, uleiul din sâmburi de struguri, care conține oligomeri proantocianici cu efect antioxidant mult superior vitaminelor C și E, are efect antimutagenic la nivelul ADN-ului din piele și afecțiunilor degenerative, asigură elasticitatea și catifelarea pielii prevenind apariția ridurilor.

Între antioxidanții studiați nu există nici o înrudire structurală, de aceea ei vor fi discutați separat.

Au fost supuse distrucției termooxidante și peroxidării α-tocoferolului și acetatul de α-tocoferol, deoarece ambele forme se folosesc în formularea produselor dermato-cosmetice. Structural, tocoferolul este constituit dintr-o hidrochinonă substituită cu grupări metil și o catenă laterală poliizoprenică saturată.

Comportarea la peroxidare s-a stabilit prin chemiluminescență în prezența cuplului luminol + H₂O₂, la pH = 8,6. Comportarea la termooxidare a fost

determinată în domeniul de temperatură 40 – 80°C pentru timpi mai lungi decât cei tehnologici, urmărindu-se determinarea caracteristicilor cinetice ale procesului.

În spectrul IR al probelor nu au fost sesizate modificări semnificative; diminuarea ușoară a benzilor de la 3480 cm⁻¹ (v OH asociat) și 3610 cm⁻¹ (v OH liber) [5] din α-tocoferol s-a apreciat că este produsă de unele rearanjări structurale din moleculă. În cazul acetatului de α-tocoferol benzile de la 3500 cm⁻¹ (v OH asociat), 1760 cm⁻¹ (v C=O din acetat) și 1576 cm⁻¹ (δ C=O din acetat) suferă diminuări minore de intensitate. La temperatura de 80°C aceleași benzi suferă modificări de intensitate, aceste date fiind utilizate pentru determinări cinetice. Caracteristicile cinetice ale procesului de termooxidare a vitaminei E sunt prezentate în tabelul 1.

S-a constatat stabilitatea ridicată a ambelor produse, ale căror energii globale de activare prezintă același ordin de mărime.

Activitatea antioxidantă determinată inițial (la 25°C) și după diferite etape de îmbătrânire [6] indică pierderi comparabile la 50°C (de 7 și 8%) dar diferite la 80°C (12% pentru α-tocoferol și 26% pentru acetat de α-tocoferol), aspect de care trebuie să se țină seama dacă se produc dereglări tehnologice (tabelul 2).

Vitamina A (retinol)

Vitamina A are o structură de izopren cu duble legături conjugate de tip trans total, ceea ce îi asigură o mare rezistență la temperatură și față de oxigen. Această vitamină joacă un rol important în menținerea funcționalității celulelor epiteliale și integrității structurale a pielii.

În domeniul de temperatură 40 ÷ 80°C, în spectrul IR nu s-au sesizat nici un fel de modificări ale intensității benzilor de absorbție și nici deplasări ale acestora.

Crescând temperatura la 120 - 150°C, în scopuri analitice, s-a constatat diminuarea treptată a benzilor de la 1150 cm⁻¹ și de la 970 cm⁻¹ (–C=C– trans), ca și apariția unei benzi de mică intensitate la 910 cm⁻¹ (–CH=CH₂). Aceasta

Tabelul 3
 VARIAȚIA CARACTERISTICILOR CROMATICE ALE VITAMINEI C ȘI
 ALE FOSFATULUI DE ASCORBIL LA TERMOOXIDARE

Condiții termooxidante	Caracteristici de culoare			Variația luminozității ΔL^* (%)
	L*	C*	H ⁰	
Vitamina C				
25 ⁰ C	101,50	8,05	-88,65	-
1 h x 50 ⁰ C	98,20	7,22	-89,45	- 3,3
5 h x 50 ⁰ C	94,70	6,52	-90,30	- 6,8
1 h x 80 ⁰ C	88,20	5,43	-95,80	- 13,3
5 h x 80 ⁰ C	84,50	2,18	-99,85	- 17,0
Fosfat de ascorbil				
25 ⁰ C	87,30	1,91	101,60	-
1 h x 50 ⁰ C	88,20	2,00	100,80	+ 0,9
5 h x 50 ⁰ C	88,80	2,11	100,60	+ 1,5
1 h x 80 ⁰ C	88,90	2,25	100,80	+ 1,6
5 h x 80 ⁰ C	89,90	3,06	100,20	+2,6

L* = luminozitate; C* = cromă; H⁰ = unghi de nuanță

indică scindarea unității alcoolice -CH₂OH cu formarea structurii vinilice terminale, dovadă fiind și diminuarea benzii de la 3480 cm⁻¹ (ν OH asociat). Pentru calculele cinetice [7] s-a utilizat banda de la 1150 cm⁻¹, stabilindu-se că procesul termooxidant este de ordinul I, cu o energie de activare 73,1 kJ/mol.

Variația activității antioxidante a vitaminei A, în prezența cuplului chemiluminescent luminol + H₂O₂, indică scăderea activității antioxidante care este încă o dovadă a eliminării grupării alcoolice, implicată în captarea radicalilor oxigenați.

Pentru produsele dermato-cosmetice, remarcabilă este stabilitatea vitaminei A la termooxidare și peroxidare.

Vitamina C și sarea de sodiu a fosfatului de ascorbil

Vitamina C este un antioxidant care, alături de enzimele SOD și catalază, apără organismul; neutralizând speciile agresive, dar prezintă dezavantajul instabilității datorate reactivității ridicate. De aceea, s-a căutat introducerea în produsele dermato-cosmetice a altor forme -fosfatul sau palmitatul de ascorbil, care pe piele să pună în libertate vitamina C.

Structural, în condiții termooxidante, vitamina C suferă modificări semnificative, chiar și la 50⁰C, când benzile își diminuează intensitatea. Astfel, benzile de la 3550 - 3200 cm⁻¹ corelate cu cele din domeniul 1250 - 1000 cm⁻¹ (νOH respectiv δOH) indică transformări cu participarea grupărilor hidroxilice. De asemenea, banda de la 3010 cm⁻¹ (νC=C) din heterociclu își modifică intensitatea semnificativ, simultan cu lărgirea benzii de la 1670 cm⁻¹ (δC=O), ceea ce indică acumulare de structuri oxigenate. Acest aspect este evident și în domeniul UV-VIS, unde banda de la 272 nm se deplasează la 278 nm (tranziție π→π*, grupare -C=C- substituită), concomitent cu apariția unei noi benzi la 386 nm atribuită creșterii numărului de cromofori (grupe -C=O) și modificarea culorii, ceea ce într-o primă etapă poate corespunde formării acidului dihidroabietic. Calculele cinetice, efectuate pe banda de 1670 cm⁻¹ au indicat o energie de activare de 50,0 kJ/mol. Activitatea antioxidantă a variat de la 99,5% până la 52% după termooxidare la 80⁰C.

Spre deosebire de vitamina C, fosfatul de ascorbil nu suferă modificări sau variații cromatice [8, 9] semnificative nici la temperatura de 80⁰C.

Variația caracteristicilor cromatice ale vitaminei C și fosfatului de ascorbil în condițiile termooxidării este prezentată în tabelul 3.

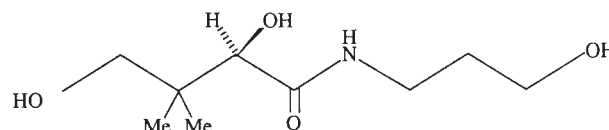
Din variația culorii celor două produse rezultă:

-în procesul termooxidant, vitamina C pierde din luminozitate, în timp ce fosfatul de ascorbil se decolorează ușor;

-modificările de luminozitate ale vitaminei C sunt de cca 6 ori mai mari față de cele ale fosfatului de ascorbil, ceea ce confirmă instabilitatea acesteia.

Provitamina B₅ (pantenol)

Structura chimică a provitaminei B₅ - (R)-2,4-dihidroxi-N-(3-hidroxipropil)-3,3-dimetilbutiramida - este:



Este o vitamină hidrosolubilă, ceea ce permite încorporarea ușoară în produsele dermato-cosmetice destinate îmbunătățirii elasticității și supleții pielii precum și menținerii sănătății părului. Produsul este stabil la temperatură în domeniul 40 - 70⁰C, dovadă pierderile scăzute (max. 0,1%). La temperatura de 80⁰C pierderile de masă ating valoarea de 0,3%; continuând încălzirea, peste 1 h, pierderile cresc treptat, dovadă a unor scindări care se produc. În spectrul FT-IR acest aspect se observă prin modificările benzilor de la 1645 cm⁻¹ (ν C=O, amidă I) și 1538 cm⁻¹ (δ NH, amidă II) și anume prin schimbarea raportului absorbanțelor acestora, ceea ce sugerează ruperea legăturilor carbon - azot.

Activitatea antioxidantă a provitaminei B₅ la 25⁰C este de 22,30%; după 1 h la 70⁰C este de 21,80%, iar după 1 h la 80⁰C este de 19,75%, pierderea de activitate fiind 2,55% la 80⁰C, ceea ce indică o bună stabilitate în cazul expunerii la temperaturi ridicate pentru un interval de timp limitat. Deși are activitate antioxidantă relativ scăzută, pantenolul poate fi asociat cu alte vitamine sau principii active în funcție de destinația finală a produsului dermato-cosmetic.

Ubichinona (coenzima Q₁₀)

Coenzima Q₁₀ este prezentă pe suprafața internă a membranei mitocondriale și are acțiune antioxidantă,

Tabelul 4
CARACTERISTICILE CINETICE ALE PROCESULUI DE TERMOOXIDARE A COENZIMEI Q₁₀

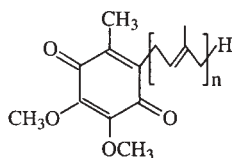
k (min ⁻¹)		E _a (kJ/mol)
λ 1647 nm	λ 1609 nm	
k ₅₀ = 3,2 × 10 ⁻⁴	k ₅₀ = 3,0 × 10 ⁻⁴	65,70 la 1647 nm
k ₈₀ = 2,5 × 10 ⁻³	k ₈₀ = 2,6 × 10 ⁻³	69,00 la 1609 nm

Tabelul 5
VARIAȚIA ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE A COENZIMEI Q₁₀ LA TERMOOXIDARE

Condiții termooxidante	Activitate antioxidantă (%)	Condiții termooxidante	Activitate antioxidantă (%)
25°C	88,90		
5h × 50°C	88,70	1h × 80°C	88,40
10h × 50°C	88,20	4h × 80°C	87,80
25h × 50°C	87,90	8h × 80°C	86,50
50h × 50°C	87,20	10h × 80°C	85,50
100h × 50°C	86,90	12h × 80°C	83,16

stabilizează funcțiile membranare și inhibă peroxidarea lipidelor [10].

Aceasta este o chinonă cu catenă laterală prezentând conjugare extinsă (4 ≤ n ≤ 10).



Este de așteptat ca această substanță să prezinte activitate antioxidantă ridicată și stabilitate la termooxidare. Spectrul coenzimei Q₁₀, deși stufos, prezintă două benzi caracteristice la 1647 și 1609 cm⁻¹ atribuite grupelor -C=O din pozițiile 3 și 6. Acestea au fost utilizate în scop analitic; ele, împreună cu toate celelalte benzi, prezintă în timp o diminuare treptată la încălzire, în special la 80°C, fără modificarea culorii. Caracteristicile cinetice ale procesului (ordinul I) sunt prezentate în tabelul 4.

Activitatea antioxidantă și evoluția ei se prezintă în (tabelul 5 și fig. 1 a și b).

Pierderea de activitate este de 2,25% la 50°C și de 6,46% la 80°C, ceea ce indică o stabilitate ridicată chiar la 80°C, în cazul expunerii pentru intervale scurte de timp.

Aceste caracteristici ale coenzimei Q₁₀ precum și beneficiile sale au fost principalele motive care au stat la baza folosirii sale pentru elaborarea unui **complex activ**, cu structură originală, ce mai include vitamina E și un ulei vegetal. Spectrul IR al acestuia conține benzi care indică prezența în compoziție a unor grupări acide (1744 cm⁻¹), alifatică cu catenă lungă (724 cm⁻¹ -CH₂-) și grad de nesaturare relativ scăzut (3010 cm⁻¹ și 967 cm⁻¹ -trans -C=C-) [11].

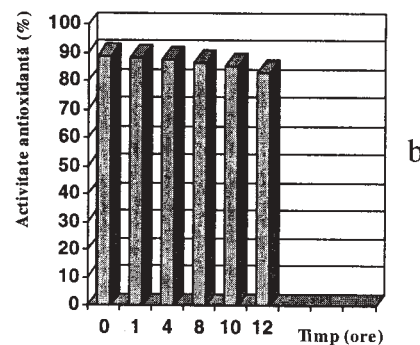
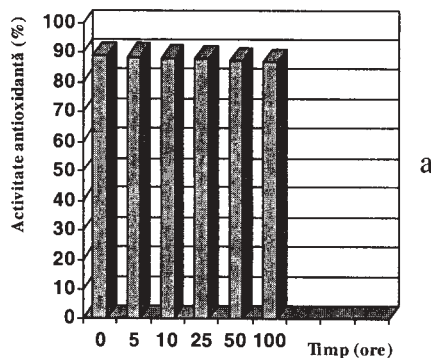


Fig. 1a Variația activității antioxidante a coenzimei Q₁₀ prin termooxidare la: a) 50°C; b) 80°C

k (min ⁻¹)		E _a (kJ/mol)
λ 3473 nm	λ 1744 nm	
k ₅₀ = 1,43 × 10 ⁻⁴	k ₅₀ = 9,60 × 10 ⁻⁴	63,81 la 3473 nm
k ₈₀ = 1,00 × 10 ⁻³	k ₈₀ = 1,70 × 10 ⁻³	43,46 la 1744 nm

Condiții termooxidare	AA (%)	Condiții termooxidare	AA (%)
25°C	76,60	1h × 80°C	76,20
5h × 50°C	76,00	4h × 80°C	66,80
10h × 50°C	76,10	8h × 80°C	56,14
12h × 50°C	75,00	12h × 80°C	50,00

Tabelul 6
CARACTERISTICILE CINETICE ALE PROCESULUI DE TERMOOXIDARE A COMPLEXULUI ACTIV

Tabelul 7
VARIAȚIA ACTIVITĂȚII ANTIOXIDANTE A COMPLEXULUI ACTIV LA TERMOOXIDARE

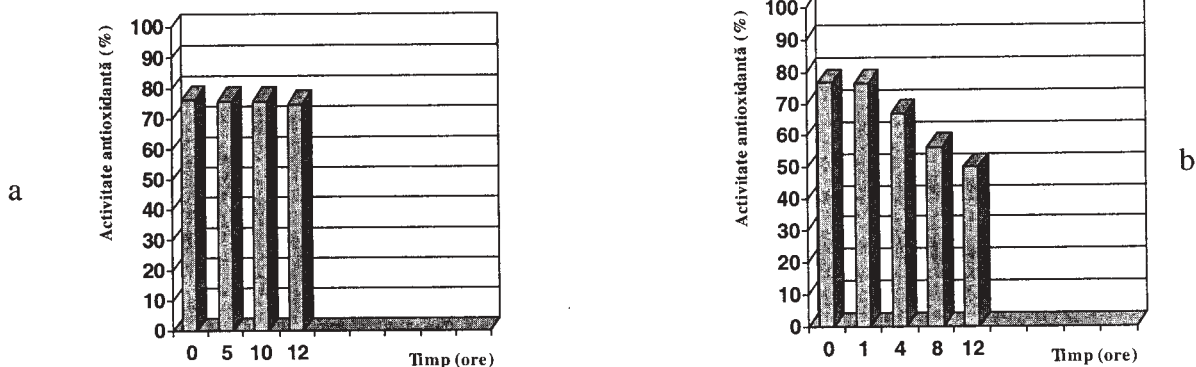


Fig. 2. Variația activității antioxidante a complexului activ prin termooxidare la: a) 50°C; b) 80°C

În procesul de termooxidare complexul activ nu și-a schimbat culoarea, iar principalele benzi de la 3473 și 1744 cm^{-1} , specifice structurii acide, au manifestat modificări minore. Acest aspect legat de rezistența ridicată la termooxidare se atribuie prezenței structurii nesaturate de tip trans, pe o catenă alifatică lungă.

Caracteristicile cinetice sunt prezentate în tabelul 6.

Activitatea antioxidantă și evoluția ei se prezintă în tabelul 7 figurile 2 a și b.

Pierderile de activitate sunt de 1,6% la 50°C și de 26,6% la 80°C, demonstrând că trebuie acordată o atenție deosebită respectării condițiilor tehnologice.

Concluzii

Antioxidanți naturali (vitamine și coenzima Q_{10}) se folosesc în formulările dermato-cosmetice pentru protejarea lor față de acțiunea distructivă a oxigenului și radicalilor liberi ai acestuia, a temperaturii și a altor factori externi.

Au fost supuse distrucției termooxidante și peroxidării principalele tipuri de vitamine (A, C, E și pro-vitamina B_5), derivații lor (acetat de α -tocoferol și fosfat de ascorbil) și coenzima Q_{10} , în domeniul 40 – 80°C și apoi determinate, prin tehnici spectrale de absorbție (FT-IR și UV-VIS-NIR), modificările structurale și de culoare. Determinarea activității antioxidante a evidențiat stabilitatea deosebită a vitaminelor A și E, a fosfatului de ascorbil și a pro-vitaminei B_5 , precum și a coenzimei Q_{10} .

S-a confirmat instabilitatea vitaminei C, dar și faptul că regimul termic tehnologic trebuie respectat cu strictețe.

Bibliografie

1. HERDAN, J. M., GIURGINCA, M., MEGHEA, A., Antioxidanți", Ed. Tehnică, București, 1995
- 2.*** 2006 Cosmetic Ingredient Review – Ingredient Review Priorities
- 3.SCHRADER, K., DOMSCH, A., Cosmetology – Theory and Practice", Verlag für Chemische Industrie, H. Ziolkowsky GmbH, 2005
- 4.MERICĂ, E., Tehnologia produselor cosmetice", I, Substanțe active și aditivi, Editura Kolüs, Iași, 2003
- 5.BALABAN, A. T., BANCUI, M., POGANY, I., Aplicații ale metodelor fizice în chimia organică", Ed. Științifică și Enciclopedică, București, 1983
- 6.MEGHEA, A., IFTIMIE, N., GIURGINCA, M., PAPADOPOULOS, K., Rev. Chim. (București), **54**, nr. 11, 2003, p. 885
- 7.COSTACHE, D., Analiza chimică prin metoda cinetică", Ed. Academiei RSR, București, 1974, p. 55
- 8.*** DIN 6174, CIE-Lab – 1976 – „Determinarea caracteristicilor cromatice”
- 9.*** STAS 6880 – 1988 – Evaluarea culorii în sistemul CIE-Lab”
- 10.CREMENESCU, E., GIURGINCA, M., IFTIMIE, N., TRANDAFIR, V., MEGHEA, A., U. P. B. Sci. Bull., Series B, **67**, nr. 3, 2005, p. 15
- 11.MEGHEA, A., BORLESCU, C., BADEA, N., DEMETRESCU, I., comunicare (T 20 – P 4758) la World Congress on Medical Physics and Biomedical Engineering 2006 (WC 2006), Seul, Korea, 27 Aug. – 1st Sept. 2006

Intrat în redacție: 26. 10.2006