

# sofw journal

Home & Personal Care Ingredients & Formulations

powered by **SOFW**



## Eine neue synergetische Antioxidantienmischung zum Schutz von Produkten

D. Hauck

# Eine neue synergetische Antioxidantienmischung zum Schutz von Produkten

D. Hauck

## Abstract

Kosmetische Produkte sind im Laufe ihres Lebenszyklus Sauerstoff ausgesetzt. Dies bringt verschiedene Probleme mit sich, so etwa die Bildung von Allergenen und Sensibilisatoren wie Peroxiden, Gerüchen und Ranzigkeit, die Zersetzung von Wirkstoffen durch Oxidation, Änderungen der olfaktorischen Duftstoffe oder auch die Auslösung pathologischer Hauptprobleme wie Mallorca-Akne. Das fertige Produkt muss folglich mit dem richtigen Antioxidans-Verfahren geschützt werden, um diese Probleme zu minimieren. Diese Studie belegt, dass StoppOx® – eine neuartige, synergetische Antioxidantienmischung – im Vergleich zum üblicherweise verwendeten BHT gut oder sogar besser abschneidet. Bewertet wurden das antioxidative und das Radikal-Potential bei Exposition gegenüber UV-Strahlen, Sauerstoff und Wärme.

## Einleitung

Hersteller von Kosmetika müssen für die Oxidationsstabilität von Parfüm, Ölen und Kosmetikwirkstoffen sorgen. Gelingt das, steigt die Haltbarkeit der Produkte und die Marke erfreut sich mehr Beliebtheit unter den Verbrauchern. Eine weitere Herausforderung, mit der sich die Herstellerfirmen konfrontiert sehen, ist die Bildung von reizenden Substanzen und Allergenen aufgrund oxidierender Duftstoffverbindungen. (Abb. 1)

Duftstoffallergene, die beim Menschen Immunreaktionen hervorrufen, sind teilweise bereits Bestandteil des pflanzlichen Ausgangsmaterials. Andere Allergene hingegen bilden sich im Laufe des Produktlebens aufgrund von Oxidation. Das Hauptziel bei der Entwicklung von StoppOx®, einem neuen, natürlichen Antioxidationsmittel des deutschen Herstellers All Organic Treasures, bestand darin, die Bildung von aus Oxida-

tion entstehenden Allergenen und reizenden Substanzen wie Peroxid (die, anders als Allergene, bei Hautkontakt lediglich negative, nicht aber mit dem Immunsystem in Zusammenhang stehende Reaktionen hervorrufen) zu verhindern.

Doch auch ein Nebeneffekt hat sich als für die Schönheitsindustrie höchst interessant herausgestellt: dass nämlich StoppOx® dazu in der Lage ist, die Produkthaltbarkeit zu verlängern. Es besteht aus einer Vitamin E-Zusammensetzung (nicht etwa isoliertem  $\alpha$ -Tocopherol, sondern einer Mischung verschiedener Tocopherole) und aus Reisschalen gewonnenem Ethylferulat sowie Hopfenextrakt (INCI: Sonnenblumenöl, Humulus lupulus, Tocopherol, Ethylferulat).

Das SCCS GUTACHTEN [1] zu Duftstoffallergenen in Kosmetikprodukten von 2012 besagt: „Experimentelle und klinische Studien haben gezeigt, dass bestimmte Duftstoffe Prehaptene sind, d.h. ihr Sensibilisierungspotential erhöht sich aufgrund von Oxidation (Autoxidation) an der Luft merklich. Die klinischen Studien belegen, dass durch Autoxidation gebildete Allergene beim Menschen schwere Kontaktallergien auslösen können“.

„Die Oxidation von Prehaptenen durch Luft kann bis zu einem gewissen Grad verhindert werden, indem durch bestimmte Maßnahmen bei Umgang und Lagerung mit den Inhaltsstoffen und Endprodukten deren Kontakt mit der Luft weitgehend verhindert wird und/oder man geeignete Antioxidationsmittel zufügt“.

Eine weitere Herausforderung in Zusammenhang mit der Bildung von Peroxiden in (Sonnenschutz-)Produkten ist die Tatsache, dass sie Mallorca-Akne auslösen können [2]. In diesem Fall reagieren die Peroxide über die Lichtenergie mit im Sonnenschutzmittel enthaltenen oder gelegentlich auch hauteigenen Lipiden.

Äußerst gut dokumentiert ist, dass der Duftstoff Teebaumöl unter Oxidation Sensibilisatoren wie das Endoperoxid Asca-

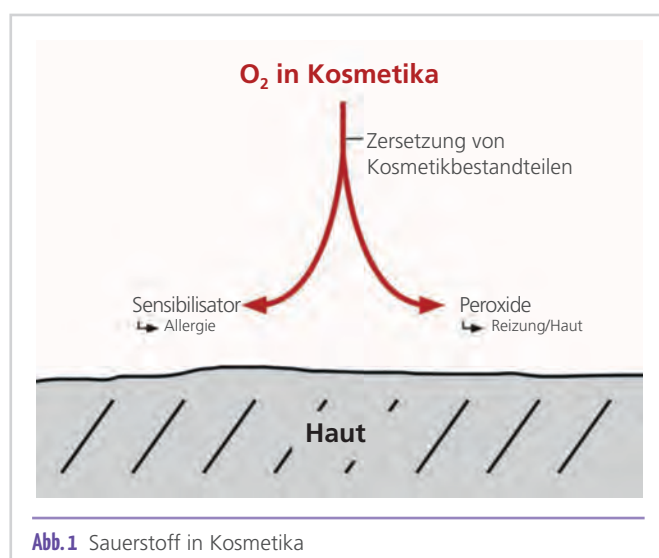


Abb. 1 Sauerstoff in Kosmetika

ridol bildet [3,4]. Aus diesem Grund haben wir für die vorliegende Untersuchung Teebaumöl verwendet. Wenn es um die Kontrolle freier Radikale in von vielen Branchen genutzten Materialien geht, gilt BHT (Butylhydroxytoluol) noch immer als die effizienteste Bezugsgröße. Von daher wurde auch BHT in die Testszenarien einbezogen.

Bewertet wurden das antioxidative und das Radikal-Potential bei Exposition gegenüber UV-Strahlen, Sauerstoff und Wärme.

## Material und Verfahren

### Die antioxidative Power (AP) [5,6]

Mit Hilfe des neuen Verfahrens der antioxidativen Power (AP) lässt sich die gesamte antioxidative Power der Wirkstoffe (d.h. der enthaltenen Pflanzenextrakte Vitamine usw.) durch Überwachung der Reduzierung gegenüber einem stabilen Prüfradikal – Diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) – mit ESR-Spektroskopie bestimmen. Das AP-Verfahren nutzt die bewährte DPPH-Methode, tut dies jedoch mit dem großen Unterschied, dass sowohl die antioxidative Kapazität als auch die antioxidative Aktivität dazu dienen, die untersuchte Antioxidans zu charakterisieren. Zu diesem Zweck werden verschiedene Konzentrationen der Wirkstoffe in Echtzeit mit Hilfe der ESR-Spektroskopie untersucht und der Rückgang der Spins der Prüfradikale entsprechend für jeden Satz aufgezeichnet. Mit dieser innovativen Technik lassen sich zusätzlich wichtige kinetische Informationen gewinnen, denen die meisten anderen Prüfverfahren keinerlei Beachtung schenken. So fließen sowohl die Reaktionszeit als auch das Reduktionspotential der Antioxidantien in die Berechnung der AP ein.

$$AP = x^{\circ} \text{ freie Radikale/mg*min}$$

Die errechnete AP wird in antioxidativen Einheiten (AE) ausgedrückt, wobei 1 AE der Aktivität von einer 1 ppm Lösung reinem Vitamin C (Ascorbinsäure) als Richtwert entspricht.

Diese Methode stellt ein schnelles und allgemein anwendbares Verfahren zur Berechnung der AP für zahlreiche sehr unterschiedliche Arten von Substanzen dar.

Das AP-Verfahren bietet:

- (1) eine standardisierte Analysemethode mit referenzierten Ergebnissen
- (2) einen aussagekräftigen Vergleich der Wirkstoffe hinsichtlich ihrer Fähigkeit zum Einfangen freier Radikale und/oder Beenden radikaler Kettenreaktionen
- (3) ein System zur Kontrolle von Abweichen innerhalb von oder zwischen Produkten und zum Bereitstellen von Qualitätsstandards, die im Hinblick auf Qualitätskontrolle und Wirksamkeitsansprüche referenziert sind.

Das AP-Verfahren ermöglicht eine funktionsfähige Qualitätskontrolle während des gesamten Produktionsprozesses. Dank ihm können die Rohstoffe ausgewählt werden, die die höch-

ste antioxidative Aktivität aufweisen. Somit ist es von grundlegender Bedeutung für Qualitätskontrollen bei der Überprüfung von langfristiger Stabilität und Lagerbedingungen und stellt ein wichtiges neues Instrument bei der Entwicklung neuartiger Produkte von hoher antioxidativer Aktivität dar.

### Radikales Potential (RP)

Dieses Verfahren basiert auf der Reaktion zwischen Peroxiden und lipiden Radikalen und UV-Strahlung. Werden lipidische Radikale dem UV-Licht ausgesetzt, kommt es zu radikalen Kettenreaktionen. Diese Radikale können mit Hilfe der Elektronenspinresonanz (ESR) bestimmt werden.

Mit dem RP-Verfahren können unter anderem Fette, Öle, Emulsionen oder auch Geschmacksstoffe untersucht werden. Um die unterschiedlichen Rohstoffe zu vergleichen und verschiedene Arten von Radikalen ausfindig zu machen, müssen die Prüfsubstanzen in einer Emulsion verflüssigt werden. Diese Emulsion selbst darf keinerlei chemischen Bestandteile enthalten, die die Bildung von Radikalen beeinflussen oder mit dem UV-Licht reagieren könnten (wie etwa ungesättigte Lipide, PEG-Emulgatoren oder Metallionen). So entschied man sich für eine neutral Kosmetikcremebasis (Physiogel hypoallergene Feuchtigkeitscreme). Diese Emulsion kann hydrophile und lipophile Ausgangsmaterialien aufnehmen.

### Messung des antioxidativen Potentials

Die antioxidative Kapazität und Reaktivität wurden mit Hilfe der Elektronenspinresonanz-Spektroskopie (ESR) gemessen. Da mit diesem spektroskopischen Verfahren freie Radikale quantifiziert werden und es auch auf opake, zähflüssige und farbige Proben anwendbar ist, eignet es sich besonders gut zur Untersuchung von Antioxidationsmitteln in Kosmetikprodukten. Die hier erörterten Messungen wurden mit dem X-Band ESR Spektrometer Miniscope MS 300 (Magnetech, Deutschland) unter Anlegung folgender technischer Parameter durchgeführt: Schwingbreite 60 G, Verstärkungsgrad 100, Aussteuerung 1 G, Dämpfung 7 mW, zentraler Bereich 3365 G, Zeitkonstante 0,14 Sek. Mit Hilfe der Bestimmungsgröße der antioxidativen Power (AP) können sowohl die Reaktionsfähigkeit als auch die Geschwindigkeit von Antioxidantien gemessen werden. Das Prüfradikal DPPH (2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, Sigma-Aldrich, München, Deutschland) dient als Detektormolekül. Mindestens 3 Konzentrationen der Messprobe wurden in EtOH (99%) aufbereitet und dem DPPH zugegeben, um eine Ausgangsradikalkonzentration von 0,1 mM zu erhalten. Der Rückgang der Signalintensität der verschiedenen konzentrierten Messproben wurde in unterschiedlichen zeitlichen Intervallen während der Reaktion aufgezeichnet, bis eine Sättigung erreicht war und alle antioxidativ aktiven Moleküle mit dem Prüfradikal reagiert hatten.

Aus diesen Intensitäten wurde für jeden Satz Konzentrationen eine erste kinetische Ordnung abgeleitet. Die kinetischen Parameter dienen zur Berechnung der Reaktionszeit  $t_r$ , wohingegen die statischen Parameter Anwendung finden bei der Berechnung des charakteristischen Gewichts  $w_c$ . Beide

Parameter werden schließlich eingesetzt, um mit Hilfe der folgenden Gleichung die AP zu bestimmen:

$$AP = RA \times N \text{ (DPPH)} / tr \times wc$$

Um verschiedene Antioxidantien direkt vergleichen zu können, wurde das AP-Verfahren auf die Aktivitäten von Vitamin C (Ascorbinsäure, geliefert von Sigma-Aldrich, München, Deutschland, in höchstem Reinheitsgrad) genormt. Die antioxidative Aktivität einer Lösung von 1 ppm Vitamin C entspricht einer antioxidativen Einheit (AE).

### Messung des radikalen Potentials

#### Aufbereitung der Proben

Die Teebaumöle wurden bis zu einer endgültigen Konzentration von 10 % (w/w) in die neutrale Emulsion (hypoallergene Physiogel Creme) eingebracht.

Die so erhaltenen Rezepturen wurden anschließend im Verhältnis 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnt.

Den Proben wurden eine semistabile PCA-Spin-Sonde (2,2,5,5-Tetramethylpyrrolidin-N-oxyl) mit einer Endkonzentration von 0,01 mM zugefügt, sie wurden in Quarz-Kapillarröhrchen gegeben und die Konzentration des Spin-Markers vor und nach definierten UV-Strahlungsdosen mit Hilfe der ESR-Spektroskopie überwacht. Die PCA-Spin-Sonde ist

lichtbeständig und resistent gegenüber Antioxidantien, reagiert jedoch prompt mit den durch das UV-Licht in den Proben gebildeten freien Radikalen (vorrangig Lipidperoxide und lipidische Radikale). Die Anzahl der durch das UV-Licht gebildeten freien Radikalen kann quantitativ aus einer Kalibrierkurve abgelesen werden. HC-AP-RP-01-2017 5.

#### UV-Bestrahlung

Die UV-Bestrahlung der Proben erfolgte mittels eines UV-So-larsimulators 300 W Oriol (Newport). Die Bestrahlungsstärke als ganzheitlicher Wert über die Spektralbereiche hinweg betrug  $E \text{ (UVB=280-320)} = 23,5 \text{ W/m}^2$  bzw.  $E \text{ (UVA = 320-400nm)} = 180 \text{ W/m}^2$ . Um die Auswirkungen unterschiedlicher UV-Dosen zu überprüfen, wurde die Bestrahlungsdauer verändert.

Vor jeder Messung wurde die Abstrahlintensität kontrolliert.

#### Geräteausstattung

Die Messungen wurden mit Hilfe eines handelsüblichen, hochempfindlichen X-Band Labor Elektronenspinresonanz-Spektrometers MiniScope MS300 der Firma Magnettech GmbH Berlin, Deutschland, durchgeführt.

Die UV-Bestrahlungszeit sowie die entsprechende UV-Dosis und die mittlere Erythemdosis (MED) sind in **Tab. 1** dargestellt.

Die Öle wurden in einer Konzentration von 10 % (w/w) in die Basisemulsion (Physiogel) eingebracht. Unmittelbar nach der Einbringung wurde gemessen und die Proben dann bei 40 °C gelagert. Einmal pro Woche wurden die Fläschchen geöffnet und durchgerührt. Nach 3 und nach 6 Wochen wurde der RP-Wert erneut bestimmt.

## Ergebnisse und Erörterung

### Antioxidative Power (Tab. 2)

Alle Daten sind Mittelwerte, die einer Standardabweichung von < 5 % unterliegen.

Bestrahlungszeit	UV-Dosis (J/cm <sup>2</sup> )
30 s	0,696
60 s	1,392
120 s	2,784
180 s	4,176
300 s	6,960

**Tab. 1** UV-Dosis und Bestrahlungszeit

Zeit	Produkt	Antioxidative Power	
		AP	t <sub>r</sub> (min)
<b>T = 0</b> 24.02.17	Teebaumöl	0	–
	Teebaumöl + 1 % BHT Lsg.	3	13,77
	Teebaumöl + 2 % StoppOx® Lsg.	278	0,70
<b>T = 3 Wochen</b> 17.03.17	Teebaumöl	0	–
	Teebaumöl + 1 % BHT Lsg,	2	17,90
	Teebaumöl + 2 % StoppOx® Lsg.	136	1,27
<b>T = 6 Wochen</b> 13.04.17	Teebaumöl	0	–
	Teebaumöl + 1 % BHT Lsg,	0	–
	Teebaumöl + 2 % StoppOx® Lsg.	95	1,99

**Tab. 2** Ergebnisse der Messung der antioxidativen Power

Die antioxidative Power bestimmt die Aktivität von Antioxidantien und Radikalfängern. Je größer die Fähigkeit einer Prüfsubstanz ist, freie Radikale zu neutralisieren und je höher die entsprechende Reaktionsgeschwindigkeit ist, desto größer ist auch die AP:

$$AP = x^{\circ} \text{ freie Radikale/wc*tr} \quad [1]$$

Geringe wc- und tr-Werte führen folglich zu hohen AP-Werten. Beide Parameter können als Indikatoren für jedes beliebige antioxidative System verwendet werden.

Die AP-Werte werden gegenüber Acorbinsäure (Vitamin C) referenziert und in antioxidativen Einheiten (AE) ausgedrückt.

### T = 0

Das Teebaumöl (TBO) zeigte keinerlei antioxidative Aktivität, obwohl das Prüfradikal aufgrund von Peroxidreaktionen im reinen Öl instabil ist.

Nach Zugabe von 1 % der BHT-Lösung zeigte sich lediglich eine äußerst geringe antioxidative Aktivität. BHT kann als schwaches und wenig reaktives Antioxidationsmittel betrachtet werden.

Die Zugabe von 2 % der StoppOx®-Lösung führte zu hoher antioxidativer Leistung. Die Reaktionszeit von Ethylferulat wurde ermittelt.

### T = 3 Wochen

Keine antioxidative Aktivität in reinem TBO.

Äußerst geringe Kapazität und Reaktivität in den TBO- + BHT-Proben.

Ein geringerer AP-Wert in der TBO+StoppOx®-Probe (49 % des ursprünglichen Wertes). Beobachtet wurde eine geringere Reaktivität.

### T = 6 Wochen

Keine antioxidative Aktivität im reinen TBO und in den TBO- + BHT-Proben.

Ein geringerer AP-Wert in der TBO+StoppOx®-Probe (34 % des ursprünglichen Wertes). Die Werte der entsprechenden Kapazitäten blieben unverändert. Beobachtet wurde eine geringere Reaktivität. Die Zugabe von 2 % der StoppOx®-Lösung führte zu hoher antioxidativer Leistung.

## Radikales Potential

Gemessen wurde die Menge UV-induzierter freier Radikale in den verdünnten Proben. Die Ergebnisse sind in **Tab. 3** dargestellt.

Ist die Konzentration der Spin-Falle PCA in der Probe bekannt (0,01 mM), kann die Reduzierung der PCA berechnet werden. Da zur Reduzierung eines Moleküls der PCA ein Elektron erforderlich ist, kann die Konzentration an Radikalen im Inneren der Probe mit Hilfe einer Kalibrierkurve ermittelt werden. Anhand der Untersuchung der Fläche unter der Kurve wurden folgende Radikalkonzentrationen errechnet.

### T = 0

In der Placebo-Probe zeigte sich keine Zunahme der durch UV-Licht induzierbaren freien Radikalen.

Die Zugabe von 10 % der Öle führte zur Bildung einer höheren Anzahl der durch UV-Licht induzierbaren freien Radikalen.

Die Zugabe der antioxidativen Lösungen (BHT und StoppOx®) reduzierte die Anzahl der induzierbaren freien Radikale auf 57 % bzw. 58 % im reinen TBO. Die Proben wurden bei 40 °C gelagert und werden nach einigen Wochen erneut analysiert.

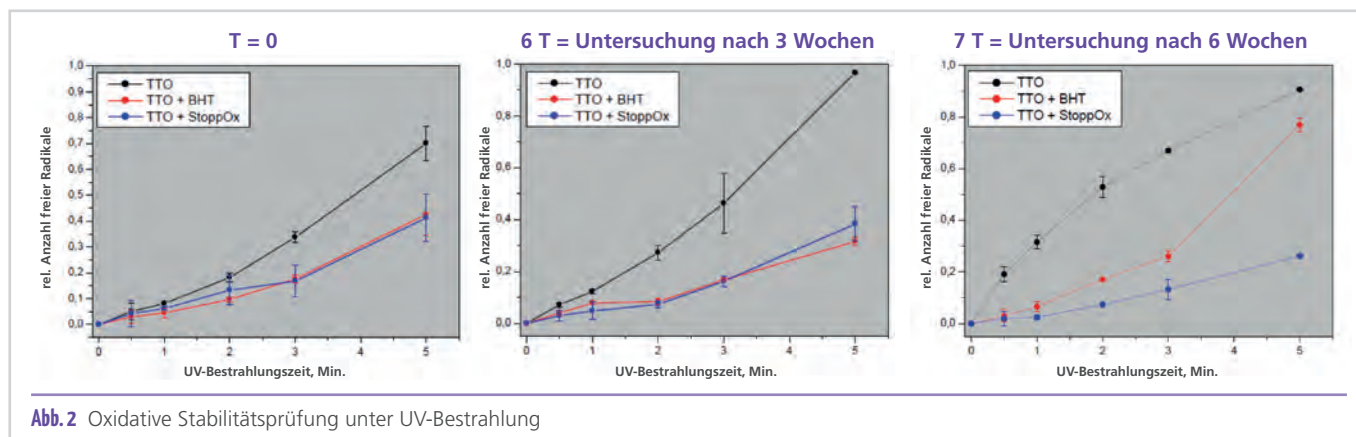
### T = 3 Wochen

Im reinen TBO zeigte sich ein Anstieg der induzierbaren freien Radikale von 29,4 auf 55,5 %.

Eine Zugabe der Antioxidationsmittel (BHT und StoppOx®) führte zu denselben geringen Werten an freien Radikalen, wie sie zum Zeitpunkt t=0 beobachtet wurden. Nur 35 %-36 % der freien Radikale im reinen TBO wurden nachgewiesen.

Zeit	Produkt	Abbreviation	Induzierte freie Radikale (%)	induzierte freie Radikale (mM)	± sd
T = 0 24.02.17	Placebo (Physiogel)		0	0	–
	Teebaumöl	TTO	29,4	$2,94 \times 10^{-3}$	$0,18 \times 10^{-3}$
	Teebaumöl + 1 % BHT Lsg.	TTO + BHT	16,8	$1,68 \times 10^{-3}$	$0,18 \times 10^{-3}$
	Teebaumöl + 2 % StoppOx® Lsg.	TTO + StoppOx®	17,2	$1,72 \times 10^{-3}$	$0,22 \times 10^{-3}$
T = 3 Wochen 17.03.17	Teebaumöl	TTO	41,3	$4,13 \times 10^{-3}$	$0,40 \times 10^{-3}$
	Teebaumöl + 1 % BHT Lsg.	TTO + BHT	14,6	$1,46 \times 10^{-3}$	$0,02 \times 10^{-3}$
	Teebaumöl + 2 % StoppOx® Lsg.	TTO + StoppOx®	15,1	$1,51 \times 10^{-3}$	$0,25 \times 10^{-3}$
T = 6 Wochen 13.04.17	Teebaumöl	TTO	55,5	$5,55 \times 10^{-3}$	$0,14 \times 10^{-3}$
	Teebaumöl + 1 % BHT Lsg.	TTO + BHT	27,9	$2,79 \times 10^{-3}$	$0,16 \times 10^{-3}$
	Teebaumöl + 2 % StoppOx® Lsg.	TTO + StoppOx®	11,3	$1,13 \times 10^{-3}$	$0,17 \times 10^{-3}$

Tab. 3 Ergebnisse der Untersuchung des radikalen Potentials



### T = 6 Wochen

Im reinen TBO zeigte sich ein Anstieg der induzierbaren freien Radikale von 29,4 auf 41,3 %.

Eine Zugabe der Antioxidationsmittel (BHT und StoppOx®) führte zu einer deutlichen Reduzierung der Anzahl induzierbarer freier Radikale. Die Unterschiede zwischen bei Zugaben von Antioxidationsmitteln waren klar ersichtlich: mit BHT ergab sich ein RP-Wert von 27,9 % während die Zugabe von StoppOx® zu einem äußerst geringen RP-Wert von nur 11,3 % führte.

In **Abb. 2** ist die Anzahl der Radikale als Funktion der UV-Bestrahlungsdosen dargestellt:

### Zusammenfassung

Die Ergebnisse zeigen, dass das StoppOx®-System empfindliche Bestandteile wie Duftstoffe oder Lipide bei längerer Exposition gegenüber Wärme, Sauerstoff und UV-Strahlung vor kurz- und langfristiger Oxidation zu schützen vermag. Da es sich dabei um eine natürliche Komponente handelt, wird die Leistungsfähigkeit des synthetischen BHT zumindest erreicht, wenn nicht sogar übertroffen.

### Danksgungen

Ein besonderer Dank geht an Dr. *K. Jung* von der Gematria Test Lab GmbH in Berlin für die Durchführung der Tests und die Unterstützung bei der Entwicklung des Versuchsaufbaus.

### Literatur

- [1] SCCS GUTACHTEN zu Duftstoffallergen in Kosmetikprodukten 2012
- [2] *Tronnier, H., Heinrich, U.* Die polymorphen Lichtdermatosen: Studie zur Pathogenese, Prophylaxe und Therapie. *Akt. Dermatol.* 20: 220-226 (1994)
- [3] *Wabner D, Geier K., Hauck D.* For a deeper understanding of tea tree oil: Fresh is best – why we should only use fresh oil at any concentration; *The International Journal of Aromatherapy* (2006) 16, 109–115
- [4] *Hausen BM, Reichling J, Harkenthal M.* *Am J Contact Dermat.* 1999 Jun; 10(2):68-77
- [5] *Jung K, Richter J, Kabrodt K, Lucke IM, Schellenberg I, Herrling T.* The antioxidative power AP--A new quantitative time dependent (2D) parameter for the determination of the antioxidant capacity and reactivity of different plants. *Spectrochim Acta A Mol Biolum Spectrosc.* 63(2006):846-50.
- [6] *Jung K, Sacher M, Blume G, Janßen F, Herrling T.* How Active are Biocosmetic Ingredients? *SÖFW-Journal* 133 1/2 – 2007.

### Kontakt

Korrespondenzautor:  
**Dr.rer.med. David Hauck**  
 Dipl.-Ing.(FH) Pharm. Chemie  
 E-Mail: RD@aot.de

Herstellung und Vertrieb:  
**All Organic Treasures GmbH**  
 Am Mühlbach 38  
 87487 Wiggensbach | Germany  
 www.aot.de