



Σχολή Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας
Τμήμα Βιοϊατρικών Επιστημών



Εργαστήριο Χημείας, Βιοχημείας, Κοσμητολογίας

ΠΡΟΠΤΥΧΙΑΚΗ ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ

Ανάπτυξη χρωματομετρικής αναλυτικής τεχνικής προσδιορισμού συστατικών καλλυντικών που βασίζεται στην χρήση κάμερας κινητού τηλεφώνου.

GRADUATE THESIS

Development of a colorimetric analytical technique for the determination of cosmetic ingredients based on the use of a mobile phone camera

ΟΝΟΜΑ ΦΟΙΤΗΤΗ/NAME OF STUDENT

ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΚΥΡΙΑΚΗ ΤΣΑΡΑ

ANASTASIA KYRIAKI TSARA

ΟΝΟΜΑ ΕΙΣΗΓΗΤΗ/NAME OF SUPERVISOR

ΓΕΩΡΓΙΑ ΕΛΕΝΗ ΤΣΟΤΣΟΥ

GEORGIA ELENI TSOTSOU

ΑΙΓΑΛΕΩ/AIGALEO 2023



Faculty of Health and Caring Professions
Department of Biomedical Sciences



Laboratory of Chemistry, Biochemistry, Cosmetology

GRADUATE THESIS

Development of a colorimetric analytical technique for the determination of cosmetic ingredients based on the use of a mobile phone camera

TSARA ANASTASIA KYRIAKI

bisc19678319

tsara.anastasia00@gmail.com

FIRST SUPERVISOR

GEORGIA ELENI TSOTSOU

SECOND SUPERVISOR

ATHANASIA VARVARESOU

THIRD SUPERVISOR

FOTINI MELLOU

AIGALEO 2023

Επιτροπή εξέτασης

Η ΠΤΥΧΙΑΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ ΕΞΕΤΑΣΘΗΚΕ ΚΑΙ ΕΓΚΡΙΘΗΚΕ ΑΠΟ:

Αθανασία Βαρβαρέσου, Καθηγήτρια, Μέλος ΔΕΠ

Φωτεινή Μέλλου, Χημικός, Ακαδημαϊκός Υπότροφος

Γεωργία Ελένη Τσότσου, Χημικός, Ακαδημαϊκός Υπότροφος

Ημερομηνία εξέτασης: 12/07/23

Αθανασία Βαρβαρέσου

Φωτεινή Μέλλου

**Γεωργία Ελένη
Τσότσου**

Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας

Η κάτωθι υπογεγραμμένη Τσάρα Αναστασία Κυριακή του Κωνσταντίνου με αριθμό μητρώου bisc19678319, φοιτήτρια του Τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας του Πανεπιστημίου Δυτικής Αττικής, δηλώνω ότι:

«Είμαι συγγραφέας αυτής της πτυχιακής/διπλωματικής εργασίας και ότι κάθε βοήθεια την οποία είχα για την προετοιμασία της είναι πλήρως αναγνωρισμένη και αναφέρεται στην εργασία. Επίσης, οι όποιες πηγές από τις οποίες έκανα χρήση δεδομένων, ιδεών ή λέξεων, είτε ακριβώς είτε παραφρασμένες, αναφέρονται στο σύνολό τους, με πλήρη αναφορά στους συγγραφείς, τον εκδοτικό οίκο ή το περιοδικό, συμπεριλαμβανομένων και των πηγών που ενδεχομένως χρησιμοποιήθηκαν από το διαδίκτυο. Επίσης, βεβαιώνω ότι αυτή η εργασία έχει συγγραφεί από μένα αποκλειστικά και αποτελεί προϊόν πνευματικής ιδιοκτησίας τόσο δικής μου, όσο και του Ιδρύματος. Παράβαση της ανωτέρω ακαδημαϊκής μου ευθύνης αποτελεί ουσιώδη λόγο για την ανάκληση του πτυχίου μου».



ΤΣΑΡΑ ΑΝΑΣΤΑΣΙΑ ΚΥΡΙΑΚΗ

Ευχαριστίες

Ευχαριστώ πολύ την κ. Τσότσου Γεωργία για την εμπιστοσύνη, την εξαιρετική συνεργασία και την πολύτιμη βοήθεια που μου πρόσφερε κατά την διάρκεια της εκπόνησης της πτυχιακής μου εργασίας. Επίσης, ευχαριστώ όλους τους καθηγητές του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, που κατά τη διάρκεια των σπουδών μου και παρά των αντίξων συνθηκών που επικράτησαν, έδωσαν τον καλύτερό τους εαυτό ώστε να μεταδώσουν την επιστημονική τους γνώση και να με βοηθήσουν να εξελιχθώ πάνω στο γνωστικό αντικείμενο της σχολής. Τέλος, δεν θα μπορούσα να παραλείψω να ευχαριστήσω τους φίλους και την οικογένειά μου που με στήριξαν καθ' όλη την διάρκεια της φοίτησής μου.

Αφιέρωσεις

Στους γονείς μου.

Πρόλογος

Η παρούσα πτυχιακή εργασία έχει τίτλο «Ανάπτυξη χρωματομετρικής αναλυτικής τεχνικής προσδιορισμού συστατικών καλλυντικών που βασίζεται στην χρήση κάμερας κινητού τηλεφώνου».

Σκοπός της έρευνας αυτής, ήταν η ανάπτυξη μιας χρωματομετρικής αναλυτικής τεχνικής, για τον προσδιορισμό συστατικών απευθείας μέσα σε ένα καλλυντικό προϊόν, με τη χρήση κάμερας κινητού τηλεφώνου. Η καταλληλότητα της μεθοδολογίας μελετήθηκε ως προς τον προσδιορισμό συγκεκριμένων συστατικών καλλυντικών συνθέσεων τα οποία παρουσιάζουν αναλυτικό ενδιαφέρον στα πλαίσια του ποιοτικού ελέγχου των καλλυντικών και ταυτόχρονα, των οποίων είναι δυνατός ο προσδιορισμός μέσω χρωμογόνου αντίδρασης.

Η έρευνα εκπονήθηκε κατά τη διάρκεια του τελευταίου έτους των σπουδών μου στο Προπτυχιακό Πρόγραμμα της Σχολής Επιστημών Υγείας και Πρόνοιας, του τμήματος Βιοϊατρικών Επιστημών, του τομέα Αισθητικής και Κοσμητολογίας στο Πανεπιστήμιο Δυτικής Αττικής.

Η έρευνα και συγγραφή πραγματοποιήθηκε κατά το ακαδημαϊκό έτος 2022-2023, μέσα σε ένα διάστημα επτά μηνών, σε συνεργασία με την κυρία Γεωργία Τσότσου. Έλαβε χώρα στο εργαστήριο κοσμητολογίας του ΠΑ.Δ.Α. καθώς και στα εργαστήρια της εταιρείας Cosmetic ΤΣΑΤΣΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ, ΙΩΑΝΝΟΥ ΜΕΤΑΞΑ 56, ΚΟΡΩΠΙ.

Περίληψη

Σκοπός της έρευνας αυτής, ήταν η ανάπτυξη μιας χρωματομετρικής αναλυτικής τεχνικής, για τον προσδιορισμό συστατικών απευθείας μέσα σε ένα καλλυντικό προϊόν, χωρίς την ανάγκη ενόργανης ανάλυσης, παρά μόνο με τη χρήση κάμερας κινητού τηλεφώνου. Η αποτελεσματικότητα της μεθοδολογίας αυτής διερευνήθηκε χρησιμοποιώντας ως συστατικό/μοντέλο τη γλυκόζη και το μέθυλ-παραβένιο, ο φωτομετρικός προσδιορισμός των οποίων σε υδατικό διάλυμα είναι εφικτός μέσω της μετατροπής τους σε έγχρωμο προϊόν.

Το μέθυλ παραβένιο αποτελεί ένα ευρέως χρησιμοποιούμενο συντηρητικό στα καλλυντικά, φάρμακα και τρόφιμα. Μέχρι πρόσφατα τα παραβένια θεωρούντουσαν ασφαλή χωρίς να απειλούν την υγεία του ανθρώπου όμως νέες μελέτες έχουν αναδείξει πως αυτό το ασφαλές προφίλ πρέπει να αναθεωρηθεί. Οι μέχρι τώρα γνωστές μέθοδοι ανάλυσης παραβενίων είναι χρονοβόρες και με μεγάλο κόστος, γεγονός που καταδεικνύει την ανάγκη εύρεσης νέων μεθόδων όπως αυτής που προτείνεται εδώ. Το σάκχαρο της γλυκόζης είναι ο πιο διαδεδομένος μονοσακχαρίτης στη φύση και αποτελεί πολύτιμη πηγή ενέργειας για την κυτταρική αναπνοή. Η γλυκόζη στα καλλυντικά, είτε προστίθεται απευθείας στα προϊόντα είτε έμμεσα ως συστατικό φυσικών εκχυλισμάτων και έχει υγροσκοπικές, ενυδατικές και μαλακτικές ιδιότητες για το δέρμα. Διαθέτει ασφαλές τοξικολογικό προφίλ με ένα μεγάλο εύρος διακύμανσης συγκεντρώσεων στα καλλυντικά προϊόντα. Μελέτες έχουν δείξει ότι η γλυκόζη διαπερνά το δερματικό φραγμό σε περιορισμένο βαθμό. Για τους διαβητικούς ασθενείς και αυτούς με ακνεϊκό δέρμα, η παρουσία της γλυκόζης στα καλλυντικά ενδεχομένως να ενέχει τον κίνδυνο επιδείνωσης της κατάστασής τους. Η μεθοδολογία υπό διερεύνηση εφαρμόστηκε σε προϊόντα με διάφορες δερμοκαλλυντικές μορφές και εφαρμογές. Για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων λήφθηκαν φωτογραφίες σε ειδικό φωτογραφικό θάλαμο, ο οποίος εξασφάλιζε σταθερές συνθήκες φωτισμού και απόστασης μεταξύ της επιφάνειας του προϊόντος προς ανάλυση και της κάμερας του κινητού τηλεφώνου. Οι φωτογραφίες που λήφθηκαν αναλύθηκαν στο πρόγραμμα imageJ. Δημιουργήθηκε πρότυπη καμπύλη έντασης χρώματος - συγκέντρωσης γλυκόζης. Η πρότυπη καμπύλη ήταν γραμμική ($R^2 \geq 0,991$) σε εύρος συγκεντρώσεων ($0,00 \cdot 10^{-3}$ - $6,37 \cdot 10^{-3}$ w/w) γλυκόζης. Κατά τη μελέτη επικύρωσης της μεθοδολογίας ο συντελεστής διακύμανσης (CV%) προσδιορίστηκε σε 11,56 και η μεροληψία ήταν έως +11,06. Έτσι αποδείχθηκε ότι η ένταση του χρώματος στο καλλυντικό προϊόν που καταγράφεται από την κάμερα, αποτελεί αξιόπιστο μέτρο της συγκέντρωσης της γλυκόζης στην καλλυντική σύνθεση. Τα παραπάνω αποτελέσματα αποτελούν ακρογωνιαίο λίθο για την περαιτέρω εφαρμογή της διαδικασίας αυτής και σε άλλα συστατικά καλλυντικών συνθέσεων, τα οποία έχουν την ικανότητα να παράγουν έγχρωμο προϊόν μέσω ειδικής αντίδρασης.

Λέξεις κλειδιά :

Γλυκόζη, μεθυλ-παραβένιο, διαβήτη, διαβητικό δέρμα, ακμή, δερμοκαλλυντικά με γλυκόζη, οξειδάση της γλυκόζης, χρωματομετρική τεχνική, κινητό τηλέφωνο.

Abstract

The aim of this research was to develop a chromatometric analytical technique for the determination of ingredients directly in a cosmetic product, without the need for instrumental analysis, using only a mobile phone camera. The effectiveness of this methodology was investigated using as ingredient/model glucose and methyl paraben, the photometric determination of which in aqueous solution is possible through their conversion into a colored product.

Methylparaben is a widely used preservative in cosmetics, pharmaceuticals and foodstuffs. Until recently, parabens were considered safe without threat to human health but new studies have shown that this safety profile needs to be revised. So far known methods of parabens analysis are time consuming, expensive which points to the need to find new methods such as the one proposed here.

Glucose is the most abundant monosaccharide in nature and is a valuable energy source for cellular respiration. Glucose in cosmetics, whether added directly to products or indirectly as a component of natural extracts, has hygroscopic, moisturizing and emollient properties for the skin. It has a safe toxicological profile with a wide range of concentration variation in cosmetic products. Studies have shown that glucose crosses the skin barrier to a limited extent. For diabetic patients and those with acneic skin, the presence of glucose in cosmetic products may pose a risk of worsening their condition.

This methodology was applied to products with different dermocosmetic forms and applications. To obtain the results, photographs were taken in a special photographic chamber, which ensured constant lighting conditions and distance between the surface of the product to be analyzed and the camera of the mobile phone. The photographs taken were analyzed in the imageJ program. A standard colour intensity - glucose concentration curve was generated. The model curve was linear ($R^2=0.991$) over a range of concentrations ($0,00 \cdot 10^{-3}$ - $6,37 \cdot 10^{-3}$ w/w) of glucose. In the methodology validation study the coefficient of variation (CV%) was determined to 11.56 and the bias was up to +11.06. Thus, it was shown that the intensity of the colour in the cosmetic product recorded by the camera is a reliable measure of the concentration of glucose in the cosmetic formulation.

The above results are a cornerstone for further application of this procedure to other ingredients of cosmetic formulations, which have the ability to produce a coloured product through a specific reaction.

Key words: Glucose, methyl paraben, diabetes, diabetic skin, acne, glucose skin cosmetics, glucose oxidase, colorimetric technique, mobile phone.

Περιεχόμενα

Επιτροπή εξέτασης	iii
Δήλωση συγγραφέα προπτυχιακής διπλωματικής εργασίας	iv
Ευχαριστίες.....	v
Αφιέρωσεις.....	vi
Πρόλογος.....	vii
Περίληψη.....	viii
Abstract	ix
Περιεχόμενα.....	x
1. Εισαγωγή	1
1.1. Χρήση κινητού τηλεφώνου στον ποσοτικό χρωματομετρικό προσδιορισμό	1
1.2. Επιλογή μορίων μοντέλων	2
1.2.1. Μέθυλ-Παραβένιο.....	2
1.2.1.1. Καλλυντικά και μέθυλ παραβένιο	3
1.2.1.2. Ανίχνευση μέθυλ παραβενίου.....	3
1.2.2. Γλυκόζη	3
1.2.2.1. Διαβήτης.....	4
1.2.2.2. Διαβητικό δέρμα	6
1.2.2.3. Καλλυντικά και γλυκόζη.....	7
1.2.2.4. Ανίχνευση γλυκόζης.....	10
2. Υλικά και Μέθοδοι.....	14
2.1. ΠΕΙΡΑΜΑ ΜΕΘΥΛ ΠΑΡΑΒΕΝΙΟΥ	14
2.2. ΠΕΙΡΑΜΑ I ΓΛΥΚΟΖΗΣ.....	15
2.3. ΠΕΙΡΑΜΑ II ΓΛΥΚΟΖΗΣ.....	16
2.4. ΠΕΙΡΑΜΑ III ΓΛΥΚΟΖΗΣ.....	18
2.5. ΠΕΙΡΑΜΑ IV ΓΛΥΚΟΖΗΣ	21
2.6. ΠΕΙΡΑΜΑ V ΓΛΥΚΟΖΗΣ	25
2.7. ΠΕΙΡΑΜΑ VI ΓΛΥΚΟΖΗΣ	29
3. Αποτελέσματα	32
3.1. ΠΕΙΡΑΜΑ I ΓΛΥΚΟΖΗΣ.....	32
3.2. ΠΕΙΡΑΜΑ II ΓΛΥΚΟΖΗΣ.....	39
3.3. ΠΕΙΡΑΜΑ III ΓΛΥΚΟΖΗΣ.....	39
3.4. ΠΕΙΡΑΜΑ IV ΓΛΥΚΟΖΗΣ	43
3.5. ΠΕΙΡΑΜΑ V ΓΛΥΚΟΖΗΣ	44

3.6. ΠΕΙΡΑΜΑ VI ΓΛΥΚΟΖΗΣ	45
4. Συζήτηση - Συμπεράσματα.....	47
Βιβλιογραφία.....	49
Παράρτημα.....	51

1. Εισαγωγή

1.1. Χρήση κινητού τηλεφώνου στον ποσοτικό χρωματομετρικό προσδιορισμό

Η επιστήμη της χρωματομετρίας μπορεί να χωριστεί σε δύο κατηγορίες: την οπτική χρωματομετρία και την φωτοηλεκτρική χρωματομετρία. Η οπτική χρωματομετρία στηρίζεται στην αντίληψη της αλλαγής χρώματος του στόχου με γυμνό μάτι για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων. Γίνεται κατανοητό ότι η μέθοδος αυτή δεν είναι ακριβής καθώς δεν είναι δυνατόν να γίνουν αντιληπτές λεπτές χρωματικές διαφορές. Από την άλλη πλευρά, η φωτοηλεκτρική χρωματομέτρηση, χρησιμοποιεί συσκευές όπως το φωτοηλεκτρικό χρωματόμετρο και το φασματοφωτόμετρο για τον προσδιορισμό των συγκεντρώσεων με ακρίβεια, μέσω ανάλυσης χρώματος. Οι ανάγκες της κοινωνίας επιτάσσουν την ανάγκη για έγκυρη απόκτηση δεδομένων. Η χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας είναι μία ιδιαίτερα επίκαιρη αναλυτική κατεύθυνση που στηρίζεται στην ψηφιοποίηση εικόνων από διάφορα εργαλεία, όπως είναι τα κινητά τηλέφωνα. Τα κινητά τηλέφωνα πλεονεκτούν σε σχέση με τα υπόλοιπα μέσα λήψης φωτογραφιών καθώς είναι συνδεδεμένα με την καθημερινότητα των ανθρώπων. Για την διαδικασία χρωματομετρίας ψηφιακής εικόνας απαιτείται λήψη εικόνας με κινητό τηλέφωνο και ποσοτικοποίηση των χρωμάτων με τη χρήση διάφορων λογισμικών επεξεργασίας εικόνας (Adobe Photoshop, imageJ, Matlab, Pantone Studio κ.ά.). Στην έρευνα αυτή το λογισμικό το οποίο χρησιμοποιήθηκε ήταν το imageJ (1).

Η χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας είναι μια πολλά υποσχόμενη μέθοδος η οποία προσελκύει όλο και μεγαλύτερη προσοχή. Τα πλεονεκτήματα της μεθόδου αυτής είναι ότι αποτελεί ένα ισχυρό, γρήγορο και χαμηλού κόστους εργαλείο ανεξάρτητα από την τοποθεσία που βρίσκεται ο αναλυτής(1). Οι κύριες αρχιτεκτονικές της χρωματομετρίας της ψηφιακής εικόνας περιλαμβάνουν χρωματικούς χώρους οι οποίοι αποτελούν το σύνολο των χρωμάτων που είναι ορατά από μια συσκευή, τα εργαλεία λήψης εικόνας που στη συγκεκριμένη περίπτωση είναι το κινητό τηλέφωνο, τις συνθήκες φωτισμού και την ποσοτικοποίηση των χρωμάτων(1).

Τα μοντέλα τα οποία χρησιμοποιούνται είναι:

- Μοντέλο RGB
- Μοντέλο CMYK
- Μοντέλο HSB/HSL
- Μοντέλο CIE 1931-XYZ
- Μοντέλο $L^*a^*b^*$
- Μοντέλο YUV

Στην χρωματομετρία ψηφιακής εικόνας βασίζεται και αναλυτική μεθοδολογία που αναπτύχθηκε στο εργαστήριο και υποβλήθηκε προς δημοσίευση βασιζόμενη στην χρήση κάμερας για τον ποσοτικό προσδιορισμό της ουρίας απευθείας σε καλλυντικά

(O/W γαλακτώματα και πηκτώματα), χωρίς την ανάγκη εκχύλισης. Στα πλαίσια της διερεύνησης του εύρους της εφαρμογής της συγκεκριμένης μεθοδολογίας στον ποσοτικό προσδιορισμό άλλων συστατικών καλλυντικών, ικανών να δώσουν έγχρωμο προϊόν, μελετήθηκε στην παρούσα διπλωματική, η εφαρμογή της σε δύο επιπλέον μόρια/μοντέλα.

1.2. Επιλογή μορίων μοντέλων

Ως μόρια/μοντέλα για τη διερεύνηση της καταλληλότητας της νέας προτεινόμενης μεθοδολογίας επιλέχθηκαν δύο μόρια με αναλυτικό ενδιαφέρον στα πλαίσια του ποιοτικού ελέγχου καλλυντικών και για τα οποία υφίστανται στη βιβλιογραφία φωτομετρικές μέθοδοι ποσοτικού προσδιορισμού, το μεθυλ παραβένιο και η γλυκόζη. Για την καλύτερη ένταξη στο θέμα παρατίθενται παρακάτω σχετικές πληροφορίες :

1.2.1. Μέθυλ-Παραβένιο

Τα παραβένια είναι αλειφατικοί εστέρες του π-υδροξυβενζοϊκού οξέος που χρησιμοποιούνται ευρέως ως συντηρητικά στα καλλυντικά, τα φάρμακα και τα τρόφιμα. Τα παραβένια που χρησιμοποιούνται κυρίως είναι το μεθυλο-, το αιθυλο-, το προπυλο- και το βουτυλο- παραβένιο. Τα παραβένια είναι χημικά σταθερά και αποτελεσματικά σε ένα ευρύ φάσμα pH, με ευρεία αντιμικροβιακή δράση, ιδιαίτερα έναντι των θετικών κατά Gram βακτηρίων και μυκήτων. Για να επιτευχθεί ικανοποιητική δραστηριότητα, τα parabens χρησιμοποιούνται συνήθως ως μείγματα ανάλογα με την αντιβακτηριακή συνεργιστική τους δράση. Μεταξύ όλων των parabens, το methylparaben και το propylparaben χρησιμοποιούνται συχνά μαζί (2) (3).

Σήμερα η χρήση των παραβενίων έχει αυξηθεί σημαντικά και αποτελούν τα πιο κοινά βιοκτόνα που υπάρχουν στα καλλυντικά, τα τρόφιμα και τα φαρμακευτικά προϊόντα. Το μεθυλ παραβένιο και το προπυλ παραβένιο είναι τα πιο διαδεδομένα και χρησιμοποιούμενα παραβένια. Χωρίς συντήρηση, τα καλλυντικά προϊόντα και τα φαρμακευτικά προϊόντα μολύνονται γρήγορα με μούχλα, μύκητες και βακτήρια, με αποτέλεσμα σε αλλοίωση και αυξημένο κίνδυνο μόλυνσης(4).

Το μεθυλ παραβένιο είναι ένα από τα πιο κοινά παραβένια (συμπεριλαμβανομένων των μεθυλο-, αιθυλο-, βουτυλο-, επτυλο- και βενζυλοπαραβενίων), που χρησιμοποιούνται είτε μεμονωμένα είτε σε συνδυασμό. Η αντιμικροβιακή δραστηριότητα των παραβενίων αυξάνεται όσο αυξάνεται το μήκος της αλυσίδας της ομάδας του εστέρα, αλλά επειδή η διαλυτότητα μειώνεται με την αύξηση του μήκους της αλυσίδας και για αυτό προτιμώνται το μέθυλ και το προπυλ παραβένιο. Το μεθυλ παραβένιο χρησιμοποιείται ως αντιμικροβιακό συντηρητικό σε τρόφιμα, φάρμακα και καλλυντικά για πάνω από 50 χρόνια. Έχουν προηγηθεί αρκετές αξιολογήσεις ασφάλειας για την ουσία αυτή από διάφορους οργανισμούς, συμπεριλαμβανομένων των FAO/WHO, FDA και FEMA(5).

1.2.1.1. Καλλυντικά και μέθυλ παραβένιο

Είναι ιδιαίτερα σημαντικό να αναφερθεί ότι τα παραβένια δεν έχουν χαρακτηριστεί ως αλλεργιογόνα ή καρκινογόνα, αν και έχουν αναφερθεί σποραδικές περιπτώσεις αντιδράσεων υπερευαισθησίας, όπως δερματίτιδα εξ επαφής, ενώ σπάνια έχουν εμφανιστεί άμεσες αντιδράσεις με κνίδωση και βρογχόσπασμο. Τα παραβένια δεν θεωρούνται τερατογόνα, μεταλλαξιογόνα και καρκινογόνα. Το γεγονός αυτό δε σημαίνει ότι τα παραβένια δεν υπόκεινται σε περιορισμούς(2).

Πιο συγκεκριμένα, η ρύθμιση της χρήσης των διαφόρων παραβενίων στα προϊόντα προσωπικής φροντίδας ρυθμίζεται από τον Κανονισμό για τα καλλυντικά του 2009. Το μεθυλο- και αιθυλο- παραβένιο είναι ασφαλή στις μέγιστες επιτρεπόμενες συγκεντρώσεις, οι οποίες είναι 0,4% για τους μεμωνομένους εστέρες και 0,8% για μείγμα εστέρων.

Ωστόσο, αρκετές πρόσφατες μελέτες έχουν αναφέρει ότι τα παραβένια μπορούν να τροποποιήσουν ή να διαταράξουν το ενδοκρινικό σύστημα και αυτό μπορεί να έχει επιβλαβείς συνέπειες στην υγεία των ζώων και του ανθρώπου. Αποδείχθηκε ότι τα παραβένια έχουν τη δυνατότητα να οδηγήσουν σε καρκίνο του μαστού λόγω της παρατεταμένης δερματικής έκθεσης σε αποσμητικά που τα περιείχαν. Ορισμένες πρόσφατες μελέτες έχουν επίσης αναφέρει δυσμενείς αναπαραγωγικές επιδράσεις των παραβενίων. Έτσι φαίνεται ότι η ανάλυση των παραβενίων γίνεται πολύ σημαντική και επιβεβλημένη υπό τέτοιες συνθήκες(7).

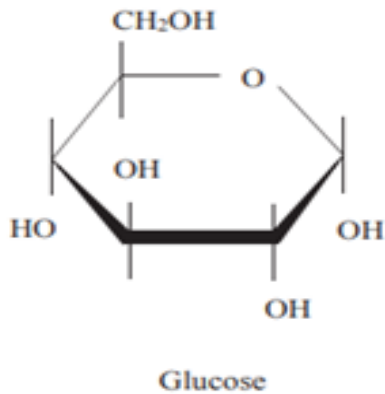
1.2.1.2. Ανίχνευση μέθυλ παραβενίου

Όπως έγινε αντιληπτό η ανάγκη ανίχνευσης παραβενίων κρίνεται ιδιαίτερα σημαντική. Οι πιο κοινές μέθοδοι προκατεργασίας των δειγμάτων πριν τον προσδιορισμό των παραβενίων περιλαμβάνουν την υποβοηθούμενη εκχύλιση με υπερήχους, την εκχύλιση υπερκρίσιμου υγρού, την εκχύλιση υγρού υπό πίεση, την (μικρο)εκχύλιση στερεάς φάσης, την (μικρο)εκχύλιση υγρού-υγρού. Η προκατεργασία του δείγματος είναι το πιο εντατικό και χρονοβόρο βήμα και είναι επίσης η κύρια πηγή σφάλματος μιας αναλυτικής μεθόδου.

Μέθοδοι χρωματογραφικής ανάλυσης, συμπεριλαμβανομένης της υγρής χρωματογραφίας, της αέριας χρωματογραφίας και της τριχοειδούς ηλεκτροφόρησης, έχουν αναφερθεί για την ακόλουθη ανάλυση των παραβενίων (7).

1.2.2. Γλυκόζη

Οι υδατάνθρακες αποτελούν τα πιο διαδεδομένα βιομόρια στη γη και είναι πολύ-υδροξυλιωμένα παράγωγα αλδεϋδών, κετονών ή ουσιών που παράγουν τέτοιες ενώσεις μέσω της υδρόλυσης. Στην φύση ο πιο διαδεδομένος μονοσακχαρίτης η αλλιώς σάκχαρο είναι η γλυκόζη (D- γλυκόζη) μια ένωση η οποία αποτελείται από 6 άτομα άνθρακα με χημικό τύπο $C_6H_{12}O_6$. (8)(9).



Σχήμα 1: Κυκλική αναπαράσταση Γλυκόζης

Η γλυκόζη είναι ένα σάκχαρο που οι οργανισμοί το χρησιμοποιούν ως πολύτιμη πηγή ενέργειας και είναι απαραίτητο για την τροφοδοσία της κυτταρικής αναπνοής (αερόβιας και αναερόβιας). Το σώμα μας αποθηκεύει την περίσσεια γλυκόζης ως γλυκογόνο (πολυμερές της γλυκόζης), το οποίο απελευθερώνεται σε περιόδους νηστείας. Η γλυκογένεση είναι μια διαδικασία που δίνει την δυνατότητα να παραχθεί γλυκόζη μέσω της διάσπασης των λιπών και των πρωτεϊνών. Είναι γεγονός ότι υπάρχει ένας πολύ μεγάλος αριθμός πηγών γλυκόζης για έναν οργανισμό και αυτό οφείλεται στην υψίστη σημασία που κατέχει η γλυκόζη στη διαδικασία της ομοιόστασης (10)(11).

Όπως φαίνεται από τα παραπάνω, η γλυκόζη είναι ένα πολύτιμο συστατικό που προσφέρει ενέργεια στους οργανισμούς μέσω της τροφής. Όμως υπάρχει ένα ποσοστό του πληθυσμού που πάσχει από διαβήτη, στο οποίο τα επίπεδα γλυκόζης δεν ρυθμίζονται αποτελεσματικά από τον οργανισμό με συνέπεια να απειλείται η ομοιόσταση του. Τι είναι όμως ο διαβήτης; Κρίνεται λοιπόν απαραίτητη μια σύντομη αναφορά για την καλύτερη κατανόηση του θέματος.

1.2.2.1. Διαβήτης

Παθολογικές καταστάσεις που σχετίζονται με την γλυκόζη κάνουν την εμφάνιση τους όταν παρατηρούνται ψηλά ή χαμηλά επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Κοινές παθολογικές καταστάσεις αποτελούν η υπεργλυκαιμία και η υπογλυκαιμία που σχετίζονται με μεταβολές στα επίπεδα της γλυκόζης.

Υπεργλυκαιμία

Η υπεργλυκαιμία μπορεί να εμφανιστεί με δύο μορφές τόσο οξεία όσο και χρόνια. Δύο παθολογικές καταστάσεις που χαρακτηρίζονται από χρόνια αυξημένα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα είναι ο σακχαρώδης διαβήτης τύπου I και II. Ο διαβήτης είναι μια σοβαρή, χρόνια πάθηση, η οποία συμβαίνει όταν το σώμα δεν μπορεί να παράξει καθόλου την απαιτούμενη ποσότητα ινσουλίνης, ή όταν δεν μπορεί να χρησιμοποιήσει αποτελεσματικά την ινσουλίνη που παράγει. Η ινσουλίνη είναι μια σημαντική ορμόνη που παράγεται στο πάγκρεας, επιτρέπει στη γλυκόζη να εισέλθει από το κυκλοφορικό σύστημα στα κύτταρα όπου μετατρέπεται σε ενέργεια ή

αποθηκεύεται. Η ινσουλίνη είναι επίσης απαραίτητη για τον μεταβολισμό των πρωτεϊνών και του λίπους(10)(11).

Υπολογίζεται ότι ένας αριθμός 537 εκ. ενηλίκων ηλικίας 20-79 ετών, παγκοσμίως, πάσχει από διαβήτη (τύπου I & II),. Ο αριθμός αυτός μέχρι το 2045 υπολογίζεται ότι θα αυξηθεί κατά 46% (12).

Διαβήτης τύπου I

Ο διαβήτης τύπου I αποτελεί το 5-10% των περιπτώσεων διαβήτη και προκαλείται επειδή το ανοσοποιητικό σύστημα προσβάλλει τα παγκρεατικά β- κύτταρα που ο ρόλος τους είναι να παράγουν ινσουλίνη. Ως αποτέλεσμα, το σώμα παράγει πολύ λίγη ή καθόλου ινσουλίνη. Σχετίζεται με γενετικούς, περιβαλλοντικούς και ανοσολογικούς παράγοντες και εμφανίζεται κυρίως σε παιδιά και εφήβους αλλά μπορεί να εμφανιστεί και στους ηλικιωμένους. Ο διαβήτης τύπου I είναι από τις πιο συχνές χρόνιες ασθένειες στην παιδική ηλικία (10) (11).

Διαβήτης τύπου II

Ο διαβήτης τύπου II είναι ο πιο κοινός τύπος διαβήτη και αφορά το 90% των ατόμων που πάσχουν παγκοσμίως. Στο διαβήτη τύπου II, η υπεργλυκαιμία είναι αποτέλεσμα της αδυναμίας των κυττάρων του σώματος να ανταποκριθούν πλήρως στην ινσουλίνη, μια κατάσταση που ονομάζεται αντίσταση στην ινσουλίνη.

Με την πάροδο του χρόνου, μπορεί να αναπτυχθεί ανεπαρκής παραγωγή ινσουλίνης ως αποτέλεσμα της αποτυχίας των β-κυττάρων του παγκρέατος να συμβαδίσουν με τις απαιτήσεις του οργανισμού. Η ακριβής αιτιολογία ανάπτυξης διαβήτη τύπου II δεν έχει κατανοηθεί πλήρως αλλά συνδέεται συχνά με την παχυσαρκία, την καθιστική ζωή, την αύξηση της ηλικίας καθώς και το οικογενειακό ιστορικό. Επίσης θα πρέπει να αναφερθεί ότι πολύ συχνά η εμφάνιση της νόσου καθορίζεται και από φυλετικούς παράγοντες.

Και στις δύο περιπτώσεις, το αποτέλεσμα είναι η ακατάλληλα αυξημένη γλυκόζη στο αίμα, η οποία προκαλεί παθολογία με διάφορους μηχανισμούς.

Αυτοί οι μηχανισμοί οδηγούν σε ποικίλες κλινικές εκδηλώσεις. Ορισμένες επιπλοκές περιλαμβάνουν περιφερικές νευροπάθειες, κακή επούλωση τραυμάτων/χρόνιες πληγές, αμφιβληστροειδοπάθεια, στεφανιαία νόσο, εγκεφαλική αγγειακή νόσο και χρόνια νεφρική νόσο(10)(11).

Υπογλυκαιμία

Η υπογλυκαιμία παρατηρείται συχνότερα σε διαβητικούς ασθενείς λόγω φαρμάκων που μειώνουν τη γλυκόζη. Η κατάσταση αυτή εμφανίζεται μετά από διαταραχή της συνήθους διαίτας που ακολουθεί ο ασθενής όταν βρίσκεται στο περιβάλλον του νοσοκομείου. Τα συμπτώματα της υπογλυκαιμίας μπορούν να περιγραφούν είτε ως νευρογλυκοπενικά (κόπωση, αλλαγές στη συμπεριφορά, επιληπτικές κρίσεις, κώμα και θάνατος), που έχουν άμεση επίδραση στο ΚΝΣ, είτε ως νευρογενή (άγχος, τρόμος και αίσθημα παλμών, παραισθήσεις, εφίδρωση και πείνα) (10).

Για την αντιμετώπιση της υπογλυκαιμίας κυκλοφορούν στο εμπόριο τζελ γλυκόζης, η ανάλυση των οποίων είναι απαραίτητη στα πλαίσια του ποιοτικού ελέγχου.

1.2.2.2. Διαβητικό δέρμα

Οι επιπλοκές του διαβήτη, είναι αποτέλεσμα μεταβολικών, περιβαλλοντικών, ορμονικών και γενετικών παραγόντων. Έχουν γίνει διάφορες μελέτες οι οποίες έδειξαν ότι ένα πολύ μεγάλο ποσοστό ασθενών με διαβήτη, εμφανίζουν τουλάχιστον μία δερματική επιπλοκή. Οι δερματικές εκδηλώσεις του διαβήτη παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλία ως προς τη σοβαρότητα, ως προς τον επιπολασμό καθώς και ως προς την ανταπόκριση στη θεραπεία. Τα δερματικά ευρήματα μπορεί να αποτελούν μια πρώτη ένδειξη αδιάγνωστου διαβήτη. Οι δερματικές επιπλοκές μπορούν να αποτελούν ενδείξεις τόσο για την τρέχουσα, όσο και για την προηγούμενη κατάσταση του οργανισμού.

Οι κατηγορίες αυτές είναι :

1. Ειδικό δερματικό δείκτης.
2. Μη ειδικές δερματικές παθήσεις που σχετίζονται με το διαβήτη.
3. Άλλα δερματολογικά ευρήματα στον διαβητικό ασθενή.
4. Επιλεγμένες δερματικές διαταραχές που συνδέονται με τον διαβήτη.
5. Δερματικές λοιμώξεις (13).

Ειδικό δερματικό δείκτης

- Λιποειδής νεκροβίωση (necrobiosis lipoidica).
- Γενικευμένο δακτυλοειδές κοκκίωμα (Generalized Granuloma Annulare).
- Διαβητικές βολίδες (Diabetic Bullae).
- Διαβητικό Σκληροείδημα (Scleredema Diabeticorum).
- Μελανίζουσα Ακάνθωση (Acanthosis Nigricans).
- Διαβητική Δερματοπάθεια (Diabetic Dermopathy).
- Διατρηταίσουσες Δερματοπάθειες (Acquired Perforating Dermatoses).
- Εκρηκτική Ξανθομάτωση (Eruptive Xanthomatosis).

Μη ειδικές δερματικές καταστάσεις που σχετίζονται με τον διαβήτη

- Ακροχορδώνες (Acrochordons - Skin Tags).
- Κίτρινο δέρμα και νύχια (Yellow skin and nails).
- Γενικευμένος κνησμός (Generalized pruritus).
- Κοκκινωπό πρόσωπο (Rubeosis Faciei).
- Ερύθημα στην παλάμη (Palmar Erythema).
- Ερύθημα νυχιών (Nailbed Erythema).
- Μελανχρωματική Πορφύρα (Pigmented Purpura).

Άλλα δερματολογικά στοιχεία στο διαβητικό ασθενή

- Δερματικές εκδηλώσεις διαβητικής αγγειακής νόσου

Ο σακχαρώδης διαβήτης προκαλεί προβλήματα τόσο στα μεγάλα όσο και στα μικρά αιμοφόρα αγγεία. Η αθηροσκλήρωση των αγγείων σε διαβητικούς ασθενείς οδηγεί συχνά σε αλλαγές των κάτω άκρων οι οποίες καταλήγουν σε κλασικά ευρήματα όπως είναι λαμπερό, άτριχο, ατροφικό δέρμα με κρύα δάκτυλα των ποδιών και δυστροφικά νύχια. Η νόσος των αγγείων συμβάλλει σημαντικά στην κακή επούλωση των πληγών καθώς και στην επανεμφάνιση δερματικών λοιμώξεων σε άτομα που πάσχουν από διαβήτη, αυξάνοντας έτσι τις πιθανότητες για γάγγραινα και ακρωτηριασμό. Οι νευροπαθητικές εκδηλώσεις που παρατηρούνται στο διαβήτη, επηρεάζουν σημαντικά το δέρμα. Αλλαγές στην εφίδρωση των κάτω άκρων οδηγούν σε σοβαρή ξηροδερμία και σε ρωγμές του δέρματος το οποίο αποτελεί πύλη εισόδου για παθογόνα. Η περιφερική νευροπάθεια είναι μια συχνή επιπλοκή του διαβήτη που χαρακτηρίζεται από απώλεια αίσθησης, γεγονός που προδιαθέτει περιστατικά τραυματισμού, κάτι το οποίο είναι ιδιαίτερα επικίνδυνο για τον διαβητικό ασθενή (13).

Οι εκδηλώσεις αυτού του τύπου σχετίζονται άμεσα με την αναγκαιότητα ανάπτυξης μεθόδου προσδιορισμού της γλυκόζης σε καλλυντικές συνθέσεις που απευθύνονται σε διαβητικούς ασθενείς.

- Δερματικές παθήσεις των χεριών (Skin Conditions of the Hands).
- Χοντρό Δέρμα (Thick skin).

Επιλεγμένες δερματικές διαταραχές που συνδέονται με τον διαβήτη.

- Ψωρίαση.
- Λεύκη.

Δερματικές λοιμώξεις

Οι δερματικές λοιμώξεις είναι ιδιαίτερα συχνές σε άτομα με διαβήτη. Τα διάφορα προβλήματα που αντιμετωπίζουν τα διαβητικά άτομα και οι επιπλοκές τους στο δέρμα, προδιαθέτουν τους διαβητικούς ασθενείς σε βακτηριακές και μυκητιασικές λοιμώξεις. Πολλές μελέτες έχουν δείξει ότι οι δερματικές λοιμώξεις είναι συχνότερες σε άτομα με διαβήτη από ό,τι στον γενικό πληθυσμό(13).

1.2.2.3. Καλλυντικά και γλυκόζη

Η γλυκόζη στα καλλυντικά έχει υγροσκοπική δράση και χρησιμοποιείται συχνά για τις ενυδατικές και μαλακτικές ιδιότητες που προσφέρει στο δέρμα. Η γλυκόζη είτε προστίθεται στο προϊόν απευθείας στη σύνθεση, είτε έμμεσα ως συστατικό φυσικών εκχυλισμάτων. Προϊόντα τα οποία περιέχουν γλυκόζη είναι συνήθως προϊόντα μπάνιου, καθαρισμού, περιποίησης δέρματος, μακιγιάζ καθώς και προϊόντα περιποίησης μαλλιών. Επιπλέον, έχει βρεθεί ότι χρησιμοποιείται σε αρκετά καλλυντικά σκευάσματα τα οποία προωθούν τη λεύκανση του δέρματος χάριν στην έμμεση αντιμελανογονική της δράση (14).

Οι συγκεντρώσεις γλυκόζης στα καλλυντικά προϊόντα έχουν μεγάλο εύρος διακύμανσης και κυμαίνονται από 0,0001% έως 91% σε προϊόντα που δεν αφαιρούνται μετά την εφαρμογή τους και από 0,0001% έως 84% σε προϊόντα που προορίζονται για απλή δερματική επαφή (15).

Τα καλλυντικά τα οποία περιέχουν γλυκόζη έχουν έναν ιδιαίτερα ευεργετικό ρόλο και ένα ευνοϊκό προφίλ ασφαλείας. Όμως, υπάρχουν κάποιες εφαρμογές όπου η τοπική χορήγηση γλυκόζης μπορεί να αποδειχτεί ανεπιθύμητη. Αυτές οι εφαρμογές αφορούν την περίπτωση των διαβητικών με ανεπαρκώς ελεγχόμενα επίπεδα σακχάρου στο αίμα, όπου οι δερματικές βλάβες είναι πάρα πολύ συχνές.

Έχει αποδειχθεί ότι η γλυκόζη μπορεί να διεισδύσει μέσω του ανέπαφου δέρματος όμως όχι σε τέτοιο βαθμό που να μπορεί να επηρεάσει τα επίπεδα γλυκόζης στο αίμα. Αναλυτικότερα έχουν διεξαχθεί δυο πειράματα ένα *in vivo* και ένα *in vitro* τα οποία εξέτασαν την διαπερατότητα του δέρματος από την γλυκόζη.

Ο συντελεστής διαπερατότητας για τη γλυκόζη προσδιορίστηκε *in vitro* χρησιμοποιώντας δέρμα ποντικού πλήρους πάχους αλλά και το χόριο του δέρματος του ποντικού. Γλυκόζη, 0,01 mol/L, χρησιμοποιήθηκε τόσο για το πλήρες δέρμα του ποντικού όσο και για το χόριο του δέρματος έτσι ώστε να κορεστεί η απορροφητική ικανότητα του κυτταρικού συστήματος. Μια συγκέντρωση $3,3 \times 10^{-6}$ mol/L d-[1,3-14C]-γλυκόζης τοποθετήθηκε στο κύτταρο-δότη. Μετά από 6 ώρες, ο συντελεστής διαπερατότητας της γλυκόζης ήταν $9,5 \times 10^{-5}$ cm/h μέσω του δέρματος πλήρους πάχους και 0,29 cm/h μέσω του χορίου. Ο ρυθμός διαπερατότητας συνέχισε να αυξάνεται σε συνάρτηση με το χρόνο, καθώς έγινε αντιληπτό ότι τόσο η φυσική όσο και χημική φθορά του διαδερμικού φραγμού φάνηκε να είναι υπεύθυνη για την αύξηση της διαπερατότητας (16).

Η διαδερμική διείσδυση της γλυκόζης μέσω του δέρματος των πιθήκων Rhesus μετρήθηκε με τη χρήση οπτικής τομογραφίας συνοχής (OCT). Για τον σκοπό αυτό οι τρίχες στο δεξιό πίσω πόδι τεσσάρων αναισθητοποιημένων πιθήκων ξυρίστηκαν, ένας καθετήρας τοποθετήθηκε στο ξυρισμένο δέρμα και 0,2 mL 20% συμπυκνωμένης γλυκόζης σε αποσταγμένο νερό εφαρμόστηκαν τοπικά μέσω της οπής της θήκης του καθετήρα κατά τη διάρκεια της απεικόνισης. Το δέρμα απεικονίστηκε με τη χρήση OCT για 8 λεπτά πριν από την εφαρμογή της γλυκόζης και στη συνέχεια για 2 ώρες μετά την εφαρμογή. Η διαδικασία διάχυσης παρακολούθηθηκε σε μια περιοχή πάχους 140 μm - 210 μm κάτω από την περιοχή του δέρματος. Ο μέσος ρυθμός διαπερατότητας της γλυκόζης 20% υπολογίστηκε σε $(4,41 \pm 0,28) \times 10^{-6}$ cm/s (17).

Είναι γνωστό ότι η γλυκόζη αποτελεί ένα εξαιρετικά κοινό συστατικό στην τροφή και η καθημερινή έκθεση από την κατανάλωση τροφίμων έχει ως αποτέλεσμα μια πολύ μεγαλύτερη συστηματική δόση από τη δόση που μπορεί να διαπεράσει το δέρμα εξαιτίας δερμοκαλλυντικών προϊόντων. Ωστόσο, το διαβητικό δέρμα διαφέρει από εκείνο του γενικού πληθυσμού. Όπως έγινε αντιληπτό από το παραπάνω κεφάλαιο, οι δερματικές βλάβες είναι πολλές, εκτεταμένες και ποικίλης σοβαρότητας. Αυτό

δημιουργεί ανησυχία καθώς οι διαβητικοί ασθενείς είναι τακτικοί καταναλωτές και συνεπείς χρήστες δερμοκαλλυντικών προϊόντων, τα οποία χρησιμοποιούνται για την καλύτερη διαχείριση των δερματικών βλαβών.

Πολλές μελέτες έχουν παράσχει σημαντικές ενδείξεις ότι η υψηλή συστηματική συγκέντρωση γλυκόζης στο αίμα εμποδίζει την επούλωση πληγών του δέρματος σε διαβητικούς ασθενείς (18). Όσον αφορά την επίδραση της τοπικής υπεργλυκαιμίας στην επούλωση πληγών, μελέτες έχουν προσφέρει αντιφατικά αποτελέσματα. Πιο συγκεκριμένα, έχει αναφερθεί απόπτωση κερατινοκυττάρων ή ανοχή τους σε γλυκόζη καθώς και αυξημένος πολλαπλασιασμός, αμετάβλητος πολλαπλασιασμός ή μειωμένος πολλαπλασιασμός ινοβλαστών σε συγκεντρώσεις υπεργλυκαιμικής γλυκόζης(19).

Πολλαπλές αναφορές τεκμηριώνουν την αντιμικροβιακή δράση της ζάχαρης και την ικανότητα μείωσης του εξιδρώματος του τραύματος, της οσμής και του οιδήματος. Ανασκόπηση σχετικών μελετών έχει δείξει ότι σε πολλές περιπτώσεις, η θεραπεία πληγών με ζάχαρη μετρίασε την εξασθενημένη επούλωση πληγών σε διαβητικούς ασθενείς(20). Ωστόσο η ανασκόπηση κατέληξε στο συμπέρασμα ότι απαιτείται περισσότερη έρευνα προς αυτή την κατεύθυνση πριν την εξαγωγή ασφαλών συμπερασμάτων. Σε αντίφαση με το παραπάνω, η αναστολή της επούλωσης τραυμάτων *in vivo* με τρόπο εξαρτώμενο από τη συγκέντρωση της γλυκόζης παρουσιάστηκε σε άλλη μελέτη(19).

Από τα παραπάνω γίνεται φανερό ότι καθώς η γλυκόζη αποτελεί συστατικό φόρμουλων για την περιποίηση του τραύματος (σε διαβητικούς ασθενείς ή μη) και καθώς μάλιστα υπάρχουν ενδείξεις ότι η συγκέντρωσή της μπορεί να επηρεάζει το θεραπευτικό αποτέλεσμα, η ανάπτυξη εύχρηστης μεθόδου για τον προσδιορισμό της στα πλαίσια του ποιοτικού ελέγχου είναι σημαντική.

Μια άλλη αντένδειξη των καλλυντικών που περιέχουν στην σύστασή τους γλυκόζη μπορεί να είναι σε δέρμα που πάσχει από ακμή όπου η γλυκόζη μπορεί να προάγει την ανάπτυξη ανεπιθύμητων μικροοργανισμών αποικισμού.

Αναλυτικότερα, είναι γνωστό ότι το δέρμα αποτελεί έναν φραγμό στην ανάπτυξη μικροοργανισμών παράγοντας πρωτεάσες, λυσοζύμια και αντιμικροβιακά πεπτίδια. Το pH, η θερμοκρασία και οι εκκρίσεις του δέρματος αποτελούν μέσα που συμβάλλουν στον αποικισμό των βακτηρίων. Τα πιο συνηθισμένα βακτήρια είναι τα εξής : actinobacteria, Proteobacteria, Bacteroidetes και Firmicutes. Σημεία του σώματος με πλούσια σμηγματογόνο έκκριση αποικίζονται από λιπόφιλα είδη Propionibacterium (actinobacteria) και σε υγρές θέσεις όπως πτυχές από Staphylococcus (Firmicutes) και Corynebacterium (actinobacteria). Οι σμηγματογόνοι αδένες παράγουν λιπίδια τα οποία σχηματίζουν ένα υδρόφοβο στρώμα πάνω στο δέρμα, που λιπαίνει τα μαλλιά αλλά και το δέρμα. Έχει βρεθεί ότι το σμήγμα έχει αντιβακτηριακές ιδιότητες, όμως το P. acnes υδρολύει τα τριγλυκερίδια που υπάρχουν στις διάφορες εκκρίσεις και απελευθερώνει ελεύθερα λιπαρά οξέα που προάγουν την βακτηριακή ανάπτυξη. Εκτός από το P. acnes

υπάρχουν και άλλοι μικροοργανισμοί που εμπλέκονται σε περιπτώσεις ακμής και περιλαμβάνουν *aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterobacter* και *Klebsiella pneumoniae*. Αν και το *P. acnes* είναι ο κυριότερος παράγοντας για την ανάπτυξη της ακμής υπάρχουν και άλλα βακτήρια τα οποία επιδρούν έμμεσα ως συντελεστές αυτής της φλεγμονώδους διαδικασίας (21).

Όπως γίνεται κατανοητό, το μικροβίωμα του δέρματος είναι αρκετά περίπλοκο και διάφορες τυχόν διαταραχές του μπορούν να οδηγήσουν στη δημιουργία ακμής, καθώς και άλλων παθολογικών καταστάσεων του δέρματος. Έτσι, θα πρέπει να δοθεί ιδιαίτερη προσοχή στα καλλυντικά που περιέχουν γλυκόζη, καθώς η γλυκόζη αποτελεί πηγή ενέργειας για τους μικροοργανισμούς. Έτσι γίνεται αντιληπτό ότι η ύπαρξη γλυκόζης στα καλλυντικά θα μπορούσε να προάγει την ανάπτυξη μικροοργανισμών και βακτηρίων που έχουν σημαντικό ρόλο στη δημιουργία της ακμής, καθώς η γλυκόζη αποτελεί αναπόσπαστη πηγή ενέργειας για αυτά (22).

Γίνεται επομένως σαφές ότι είναι απαραίτητη η ανάπτυξη μίας εύχρηστης μεθόδου προσδιορισμού της περιεκτικότητας των καλλυντικών σε γλυκόζη, καθώς η πληροφορία αυτή φαίνεται να είναι ιδιαίτερα σημαντική για ομάδες ασθενών όπως είναι οι διαβητικοί καθώς και σε συγκεκριμένες εφαρμογές όπως αυτή της ακμής.

1.2.2.4. Ανίχνευση γλυκόζης

Σήμερα υπάρχουν πάρα πολλές αναλυτικές μεθοδολογίες με τις οποίες μπορεί να προσδιοριστεί η γλυκόζη. Αρχικά αποτελούσε πρόκληση το πώς θα μπορούσε τόσο να αναγνωριστεί όσο και να ποσοτικοποιηθεί με σαφήνεια η γλυκόζη, δεδομένου της παρουσίας τόσων πολλών βιοχημικά παρόμοιων μορίων. Καθώς η τεχνολογία και η γνώση προχωρούσαν βρέθηκαν νέες μέθοδοι που ήταν ειδικές για συγκεκριμένο συνδυασμό μονοσακχαριτών ή ειδικών μόνο για τη γλυκόζη. Αξίζει να σημειωθεί ότι η προσπάθειες για την ανίχνευση της γλυκόζης αφορούν κυρίως τα τρόφιμα, καθώς από αυτά οι άνθρωποι την λαμβάνουν συστηματικά μέσω της τροφής τους. Σήμερα υπάρχει μια ποικιλία από σαφείς μεθόδους για την ανίχνευση και τον προσδιορισμό της γλυκόζης στα τρόφιμα. Αυτές οι μέθοδοι μπορούν να ομαδοποιηθούν σε δύο κατηγορίες: στις μεθόδους που βασίζονται στον φωτομετρικό προσδιορισμό έγχρωμων παραγώγων – προϊόντων ενζυμικής μετατροπής της γλυκόζης (στις μεθόδους αυτής της κατηγορίας βασίζονται και οι μετρητές γλυκόζης) και σε ενόργανες μεθόδους όπως είναι η HPLC και άλλες χρωματογραφικές μέθοδοι ή ηλεκτροχημικές μέθοδοι, βασιζόμενες σε εναλλακτικούς ανιχνευτές όπου δεν μεσολαβεί κάποια ενζυματική μετατροπή. Η πρώτη ομάδα είναι πολύ ειδική μόνο για την γλυκόζη ενώ η δεύτερη ομάδα μπορεί να χρησιμοποιηθεί τόσο για την ανίχνευση της γλυκόζης αλλά και για άλλους υδατάνθρακες(23).

Παρακάτω γίνεται μια σύντομη αναφορά στις μεθόδους ποσοτικού προσδιορισμού γλυκόζης που εφαρμόζονται στα τρόφιμα και δίνεται έμφαση σε αυτές που

βασίζονται στην οξειδάση της γλυκόζης, η οποία χρησιμοποιήθηκε και στα πειράματα που ακολουθούν .

Μέθοδοι ιωδομετρίας χαλκού

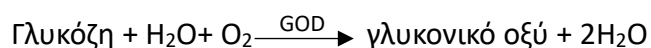
Οι πρώτες μέθοδοι για τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης στηρίχθηκαν στις αναγωγικές ιδιότητες της γλυκόζης μέσα σε διάλυμα. Αν και υπάρχει μια μεγάλη ποικιλία μεταλλικών ιόντων που μπορεί να οξειδώσει την καρβονυλική ομάδα της γλυκόζης, ο χαλκός προτιμήθηκε λόγω της ικανότητάς του να σχηματίζει τόσο σταθερά ιζήματα όσο και έγχρωμα τελικά προϊόντα. Ένα μειονέκτημα της μεθόδου αυτής ήταν η αδυναμία διαφοροποίησης της γλυκόζης από τα άλλα αναγωγικά σάκχαρα μέσα σε ένα σύνθετο διάλυμα. Για το σκοπό αυτό, χρησιμοποιήθηκε μέθοδος με την οποία η περίσσεια ιωδίου μειώνεται αρχικά με γλυκόζη και στη συνέχεια τιτλοδοτείται με θειοθειικό έτσι ώστε να προσδιοριστεί η ποσότητα της γλυκόζης. Έτσι, δεν θα υπήρχε σύγχυση με την φρουκτόζη, την σακχαρόζη και τις μαλτόζεις(23).

Ενζυματικές μέθοδοι

Σε διάλυμα η γλυκόζη μπορεί να υπάρχει με δύο πιθανές ανομερείς μορφές, που ορίζονται ως α- και β- ή ως αλδεϋδη γλυκόζης ανοιχτής αλυσίδας. Όταν αφήνεται να επέλθει ισορροπία σε pH 7 και 25 C, περίπου 63% της γλυκόζης θα υιοθετήσει τη διαμόρφωση της β-γλυκοκυρανόζης, με το 37% να υφίσταται ως α-γλυκοκυρανόζη και λιγότερο από 1% να υφίσταται είτε ως αλδεϋδη είτε ως γλυκοφουρανόζη. Τα περισσότερα ένζυμα δεσμεύουν είτε τη μορφή α- είτε τη μορφή β- και μόνο ένα πολύ μικρό ποσοστό είναι ικανό να χρησιμοποιήσει και τις δύο ανομερείς μορφές. Επειδή η γλυκόζη χρησιμοποιείται σε πολλές μεταγενέστερες μεταβολικές οδούς όπως είναι η γλυκόλυση και η γλυκογένεση, υπάρχει ένας μεγάλος αριθμός ενζύμων που την χρησιμοποιούν ως υπόστρωμα και μέσω της μετατροπής της παράγουν ένα ανιχνεύσιμο προϊόν ή υποπροϊόν. Ειδικότερα, η οξειδάση της γλυκόζης και η εξοκινάση της γλυκόζης έχουν χρησιμοποιηθεί σε διάφορες φασματοφωτομετρικές και χρωματομετρικές δοκιμές γλυκόζης(23).

- Οξειδάση της γλυκόζης(GOD)

Η οξειδάση της γλυκόζης είναι ένα διμερές ένζυμο που καταλύει τη μετατροπή της β-D-glucose σε D-glucono-1,5-lactone ως μέρος της φωσφορικής πεντόζης.



Κάθε υπομονάδα του ενζύμου περιέχει ένα άτομο σιδήρου και έναν συμπαράγοντα δινουκλεοτιδίου της αδενοσίνης φλαβίνης οι οποίοι απαιτούνται για την καταλυτική δραστηριότητα. Το ενεργό κέντρο είναι ειδικό για το β-ανομερές της γλυκόζης. Το

ένζυμο παραμένει δραστικό σε ένα μεγάλο εύρος pH με υψίστη δραστικότητα το όξινο περιβάλλον. Το ευρέως χρησιμοποιούμενο GOD το οποίο προέρχεται από *Aspergillus niger* έχει προτιμότερο εύρος pH 4-7 με το βέλτιστο να είναι το 5,5.

Ένα από τα τελικά προϊόντα που παράγονται είναι το H_2O_2 και για αυτό το λόγο οι αντιδράσεις GOD μπορούν να συνδεθούν με διάφορα συστήματα ανίχνευσης που έχουν ως στόχο την παρακολούθηση της συγκέντρωσης της γλυκόζης. Τα εμπορικά κιτ περιέχουν πλέον μια μεγάλη ποικιλία από φθορίζοντα και ορατού φωτός χρωμοφόρα και περιέχουν 10-acetyl 3,7-dihydroxyphenoxazine, phenol/4-aminoantipyrine and o-dianisidine/sulfuric acid.

Αυτά τα εμπορικά συζευγμένα συστήματα συχνά αναφέρονται ως αντιδράσεις GOD/POD (Glucose Oxidase Peroxidase), και η εξειδίκευση αυτών εξαρτάται από την καθαρότητα των ενζυμικών παρασκευασμάτων.

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι οι GOD αντιδράσεις απαιτούν οξυγόνο και για αυτό η ανίχνευση γλυκόζης είναι δυνατή μόνο σε αερόβιες και όχι αναερόβιες συνθήκες. Τέλος, η όλη μεθοδολογία έχει ευρεία χρήση και είναι αρκετά εκτεταμένη στο πεδίο των τροφίμων και της κλινικής ανάλυσης. (23)

- Εξοκινάση

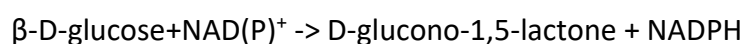
Η εξοκινάση σπάνια χρησιμοποιείται ως ένα τελείως ανεξάρτητο μέσο για την ποσοτικοποίηση της γλυκόζης. Το πιο σύνηθες είναι να χρησιμοποιείται ως το πρώτο ένζυμο σε μια μέθοδο ανίχνευσης δύο σταδίων η οποία συνδέεται με την αφυδρογόνωση της 6-φωσφορικής γλυκόζης.

- Αφυδρογόνωση γλυκόζης(GDH)

Υπάρχουν τρεις διαφορετικές αντιδράσεις αφυδρογόνωσης γλυκόζης.

- Γλυκόζη 1-αφυδρογόνωση

Η GDH είναι μια διμερής ή τετραμερής πρωτεΐνη η οποία βασίζεται στην εξωτερική οξειδωτική ικανότητα του NAD ή του NADP



- Κινοπρωτεϊνική αφυδρογόνωση της γλυκόζης

- Αφυδρογόνωση FAD γλυκόζης

Από μηχανική και δομική άποψη η FAD-GDH μοιάζει πολύ με την GOD. Ωστόσο υπάρχει μια πολύ σημαντική διαφορά: η GOD βασίζεται στο οξυγόνο για την αναγέννηση του συμπαραγόντά της ενώ η FAD-GDH δεν το κάνει και αντ' αυτού χρησιμοποιεί μια ποικιλία φυσικών και εισαγόμενων μεσολαβητών(23).

Μη ενζυματικοί αισθητήρες γλυκόζης

Οι μέθοδοι ενζυματικής ανίχνευσης γλυκόζης βασίστηκαν κυρίως στην καταλυτική δραστηριότητα των ενζύμων των GOx ή του GDH για την οξείδωση της γλυκόζης. Οι

μη ενζυματικοί αισθητήρες γλυκόζης (NEGS) χρησιμοποιούν εξ' ολοκλήρου μεταλλικά ηλεκτρόδια χωρίς την παρουσία βιολογικών συστατικών(23).

Υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC

Ένα από τα πιο χρήσιμα εργαλεία σήμερα τόσο για τον διαχωρισμό όσο και για την αναγνώριση χημικών συστατικών οργανικής ύλης είναι η υγρή χρωματογραφία υψηλής απόδοσης HPLC. Περιληπτικά η μέθοδος που βρίσκεται πίσω από την HPLC είναι ότι η αναλυόμενη ουσία τοποθετείται σε μία υγρή κινητή φάση που τη μεταφέρει μέσω μιας στήλης γεμάτης με μια στατική φάση. Ο διαχωρισμός της αναλυόμενης ουσίας εξαρτάται από τον τύπο της χρωματογραφίας που χρησιμοποιείται. Ο διαχωρισμός των υδατανθράκων και ιδιαίτερα της γλυκόζης μπορεί να πραγματοποιηθεί με διάφορους τύπους HPLC όπως είναι η χρωματογραφία ιόντων, η χρωματογραφία ανάστροφης φάσης, χρωματογραφία υδρόφιλης αλληλεπίδρασης καθώς χρωματογραφία μοριακού αποκλεισμού. Η χρωματογραφία ιόντων αποτελεί την πιο συχνή σε χρήση μορφή HPLC για τον διαχωρισμό μονοσακχαριτών(23).

Ηλεκτροφόρηση τριχοειδούς ζώνης

Η μέθοδος αυτή έχει ευρεία εφαρμογή και είναι ιδιαίτερα διαδεδομένη όσον αφορά την ανάλυση σε τρόφιμα. Τα όργανα αυτά μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε φαινόλες, λιπίδια, αμινοξέα καθώς και σε διάφορα άλλα μόρια και όχι μόνο για τον διαχωρισμό των υδατανθράκων(23).

Αέρια χρωματογραφία GC

Η αέρια χρωματογραφία GC έχει και αυτή ευρεία εφαρμογή και μπορεί να συμβάλει στον διαχωρισμό πολλών διαφορετικών τύπων ενώσεων όπως είναι τα λιπαρά οξέα, χηλικές ενώσεις μετάλλων, υδατάνθρακες και αμινοξέα. Επειδή η αέρια χρωματογραφία απαιτεί όλες οι αναλυόμενες ουσίες να είναι πτητικές και αφού οι υδατάνθρακες δεν είναι, δεν επιλέγονται για τον διαχωρισμό με αυτήν την τεχνική. Για αυτό το σκοπό αναπτύχθηκε μέθοδος που επέτρεψε τους μονοσακχαρίτες και τους ολιγοσακχαρίτες να εξατμίζονται, να ανιχνεύονται και να ποσοτικοποιούνται με δυνατότητα υψηλής ανάλυσης.(23)

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι η ανίχνευση γλυκόζης τόσο στα τρόφιμα όσο και στο αίμα, είχε καθοριστική σημασία και για αυτό ακριβώς το λόγο έχει βρεθεί μια τόσο μεγάλη ποικιλία μεθόδων. Εμπνευσμένοι από τη μέθοδο GOD/POD η οποία έχει το πλεονέκτημα ανίχνευσης γλυκόζης καθώς και την παραγωγή έγχρωμου προϊόντος, προτείνουμε παρακάτω μία μέθοδο η οποία χρησιμοποιεί το GOD/POD για την ανίχνευση γλυκόζης απ' ευθείας σε καλλυντικά σκευάσματα.

2. Υλικά και Μέθοδοι

2.1. ΠΕΙΡΑΜΑ ΜΕΘΥΛ ΠΑΡΑΒΕΝΙΟΥ

ΥΛΙΚΑ - ΟΡΓΑΝΑ – ΣΚΕΥΗ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν:

- Πιπέτες ακριβείας και tips
- Ουροσυλλέκτες
- Ογκομετρική φιάλη
- Ποτήρια ζέσεως
- Θερμόμετρο
- Ζυγός ακριβείας
- ΡΑΒΑ(p-aminobenzoic acid)
- Αιθανόλη
- Απιονισμένο νερό
- Διάλυμα Υδροξειδίου του Νατρίου (NaOH) 50%
- Νιτρώδες Νάτριο (NaNO²)
- Διάλυμα υδροχλωρικού οξέως (HCl) 1M
- Methyl paraben
- Θειικό οξύ H₂SO⁴

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

- Για τις ανάγκες του πειράματος αυτού παρασκευάστηκαν:
- Διάλυμα ΡΑΒΑ με την προσθήκη 11,9 mg ΡΑΒΑ + 8 ml ethanol + H₂O μέχρι τελικού όγκου 100 ml σε ογκομετρική φιάλη
- Διάλυμα NaOH 1M με την προσθήκη 800μL NaOH 50% +9,2 mL H₂O
- Διάλυμα NaNO₂ 1% W/V με την διάλυση 104.0 mg NaNO₂ σε10 mL H₂O
- Διάλυμα H₂SO₄ 0,5 M με την προσθήκη 0,28 ml πυκνού H₂SO₄ σε 9,72mL H₂O
- Διάλυμα εργασίας Methyl paraben 100 μg.ml⁻¹ με τη διάλυση 1gr methyl paraben σε10 ml αιθανόλης.

Τα παραπάνω διαλύματα μετά την παρασκευή τους τοποθετήθηκαν στο ψυγείο ώστε να φτάσουν σε θερμοκρασία 0-5 °C. Αφού ελέγχθηκε η θερμοκρασία των διαλυμάτων, σε ποτήρι ζέσεως προστέθηκαν 1 ml από το διάλυμα ΡΑΒΑ που είχε παρασκευαστεί, 1 ml HCl 1M και 1ml από το διάλυμα NaNO₂ 1% w/v, υπό ανάδευση Η διαδικασία αυτή έγινε σε πολύ σύντομο χρόνο και δόθηκε μεγάλη έμφαση το διάλυμα να μην ξεπεράσει τους 5 °C Στο διάλυμα που προέκυψε προστέθηκε στη συνέχεια 1 ml από το διάλυμα μεθυλ παραβενίου και 1 ml από το διάλυμα NaOH 1M υπό ανάδευση.

Η ίδια διαδικασία επαναλήφθηκε για το τυφλό, αντικαθιστώντας το 1 ml από το διάλυμα μεθυλ παραβενίου με 1 ml αιθανόλης.

2.2. ΠΕΙΡΑΜΑ Ι ΓΛΥΚΟΖΗΣ

ΥΛΙΚΑ - ΟΡΓΑΝΑ – ΣΚΕΥΗ-ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν:

- 50 εμπορικά προϊόντα από την COSMETIC ΤΣΑΤΣΟΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ
- erpendorf
- Μεταλλικές σπάτουλες
- Κιτ οξειδάσης γλυκόζης/υπεροξειδάσης (GOD/POD) από Biosis (Αθήνα, Ελλάδα) Το αντιδραστήριο εργασίας (WR) που παρέχεται σε αυτό περιείχε ένα ρυθμιστικό διάλυμα 0.2 M, pH 8.0, GOD > 18 IU/ml, POD > 2 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπαράγοντες.
- Πιπέτες ακριβείας
- Smartphone galaxy A52 with a 32-megapixel camera

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Αρχικά πραγματοποιήθηκε μια τυχαία δειγματοληψία καλλυντικών προϊόντων (στο σύνολο 50). Η δειγματοληψία έγινε με στόχο να βρεθεί κατά πόσο εμπορικά προϊόντα περιέχουν γλυκόζη ή όχι και ιδιαίτερα αν στα προϊόντα που περιέχουν γλυκόζη, αυτή αναφέρεται ως συστατικό της φόρμουλας ή βρίσκεται κρυμμένη χωρίς να αναφέρεται, πίσω από κάποιο φυσικό εκχύλισμα.

Αρχικά για τον σκοπό αυτό επιλέχθηκαν γαλακτώματα, τζέλ, λοσιόν, σέρουμ, σαμπουάν, αφρόλουτρα και οδοντόκρεμες και μια μικρή ποσότητα από το καθένα τοποθετήθηκε σε erpendorf. Χαρακτηριστική φωτογραφία της διάταξης του πειράματος αμέσως πριν την προσθήκη του αντιδραστηρίου WR φαίνεται στην Εικόνα 1. Για την καλύτερη αξιολόγηση των αποτελεσμάτων λήφθηκε φωτογραφία όλων των δειγμάτων σε οριζόντια θέση και με λευκό φόντο. Στην συνέχεια με πιπέτα ακριβείας προστέθηκε ποσότητα ίση με 400μL από το WR μέσα σε κάθε erpendorf. Κάθε δείγμα στο οποίο είχε προστεθεί ποσότητα αντιδραστηρίου WR ανακατεύτηκε σχολαστικά με μεταλλική σπάτουλα έτσι ώστε το αντιδραστήριο να διασπαρθεί ομοιόμορφα μέσα στο προϊόν και να υπάρξει πλήρης ανάπτυξη του χρώματος αν εντοπίζονταν γλυκόζη. Με την ολοκλήρωση της παραπάνω διαδικασίας λήφθηκε φωτογραφία των δειγμάτων μετά από 10 λεπτά υπό τις ίδιες συνθήκες δηλαδή τα δείγματα βρίσκονταν σε οριζόντια θέση και από πίσω τους υπήρχε λευκό φόντο.



Εικόνα 1. Φωτογραφία που λήφθηκε κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας όταν τοποθετούταν τα δείγματα των προϊόντων μέσα στα Eppendorf.

2.3. ΠΕΙΡΑΜΑ II ΓΛΥΚΟΖΗΣ

ΥΛΙΚΑ - ΟΡΓΑΝΑ - ΣΚΕΥΗ

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν:

- Οι οδοντόκρεμες με κωδικό 41 και 42 και το γαλάκτωμα 39 (οι κωδικοί των προϊόντων αναφέρονται στον πίνακα 9).
- Το γαλάκτωμα Β που χρησιμοποιήθηκε ως βάση με κωδικό 50 η σύσταση του οποίου δίνεται στον πίνακα 5.
- Ποτήρια ζέσεως.
- Μεταλλικές σπάτουλες.
- Κιτ οξειδάσης γλυκόζης/υπεροξειδάσης (GOD/POD) από Biosis (Αθήνα, Ελλάδα). Το αντιδραστήριο εργασίας (WR) που παρέχεται σε αυτό περιείχε ένα ρυθμιστικό διάλυμα 0.2 M, pH 8.0, GOD > 18 IU/ml, POD > 2 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπράγοντες.
- Πιπέτες ακριβείας.
- Smartphone galaxy A52 with a 32-megapixel camera.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε μια δεύτερη σειρά πειραμάτων κρίθηκε αναγκαίο να βρεθεί ένας τρόπος έτσι ώστε να είναι δυνατή η εξαγωγή αποτελεσμάτων ανεξάρτητα του χρώματος του προϊόντος. Για αυτό τον σκοπό τα 3 δείγματα, οι δυο οδοντόκρεμες που είχαν γαλάζιο – μπλε χρώμα και μια ενυδατική κρεμά που είχε έντονο καφέ χρώμα, από τα οποία δεν έγινε δυνατή η εξαγωγή αποτελέσματος κατά την διενέργεια του πρώτου πειράματος αναλυθήκαν περαιτέρω. Αναλυτικότερα η κρέμα με κωδικό 39 και οι δύο οδοντόκρεμες με κωδικούς 41 και 42 αραιώθηκαν 10 φορές με ένα λευκό γαλάκτωμα (γαλάκτωμα Β) μέσα σε ποτήρι ζέσεως. Η επιλογή του γαλακτώματος Β με κωδικό 50 ως βάση για την αραιώση έγινε καθώς στο πρώτο πείραμα όταν έγινε η προσθήκη του αντιδραστηρίου δεν φάνηκε να περιέχει γλυκόζη. Επίσης το λευκό χρώμα αποτέλεσε το κυριότερο πλεονέκτημα καθώς επέφερε το επιθυμητό αποτέλεσμα το οποίο ήταν να γίνει πιο ανοιχτό το χρώμα του προϊόντος προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί τυχόν αλληλεπίδραση κατά τον χρωματομετρικό προσδιορισμό. Στην συνέχεια στα αραιωμένα προϊόντα προστέθηκε από το αντιδραστήριο WR ποσότητα ίση με 400 μL. Τα τρία προϊόντα αφέθηκαν μέσα στα ποτήρια ζέσεως για 10 λεπτά έτσι ώστε να υπάρξει πλήρης ανάπτυξη του χρώματος σε περίπτωση εντοπισμού γλυκόζης. Η ίδια διαδικασία έγινε χωρίς στο τέλος να προστεθεί το WR αλλά αντί αυτού προστέθηκαν 400 μL νερό. Αυτό έγινε με σκοπό να υπάρχει ένα μέτρο σύγκρισης των αραιωμένων προϊόντων στα οποία έχει προστεθεί το WR με εκείνα στα οποία δεν έχει προστεθεί το αντιδραστήριο έτσι ώστε να είναι δυνατή η ξεκάθαρη εξαγωγή αποτελέσματος.

2.4. ΠΕΙΡΑΜΑ ΙΙΙ ΓΛΥΚΟΖΗΣ

ΥΛΙΚΑ - ΟΡΓΑΝΑ - ΣΚΕΥΗ

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν:

- Γαλάκτωμα Α. Η σύνθεση του γαλακτώματος Α περιγράφεται στο πίνακα 1:

Γαλάκτωμα Α	Σύνθεση
1	Aqua
2	Urea
3	Paraffinum liquidum
4	Glycerin
5	Cetearyl alcohol
6	Glyceryl stearate
7	Petrolatum
8	Panthenol
9	PEG-100 stearate
10	Dimethicone
11	Lactic acid
12	Phenoxyethanol
13	Sorbitan sesquioleate
14	Sodium citrate
15	Sorbitan stearate
16	Allantoin
17	Caprylyl glycol
18	Ethylexylglycerin
19	Hectorite
20	Sodium hydroxide
21	Hydroxyethylcellulose
22	Disodium edta
23	Bisabolol

Πίνακας 1. Σύνθεση γαλακτώματος Α

- D (+)- Glucose monohydrate puriss. της Riedel – de Haen.
- Κιτ οξειδάσης γλυκόζης/υπεροξειδάσης (GOD/POD) από Biosis (Αθήνα, Ελλάδα). Το αντιδραστήριο εργασίας (WR) που παρέχεται σε αυτό περιείχε ένα ρυθμιστικό διάλυμα 0.2 M, pH 8.0, GOD > 18 IU/ml, POD > 2 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπαραγοντες.
- Πλαστικοί ουροσυλλέκτες.
- Μεταλλικές σπάτουλες.
- Αναλυτικός ζυγός.
- Πιπέτες ακριβείας 100-1000 μL, 10-100 μL, 10-20 μL.
- Αποσπώμενα σκαφίδια πλάκας μικροτιτλοδότησης (Microtiter plate wells).
- Φωτογραφικός θάλαμος φωτιζόμενος από μία σειρά LED.
- Smartphone Galaxy A52 με κάμερα 32 Megapixel.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Ύστερα από αρκετές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν, κρίθηκε αναγκαία η διενέργεια ενός πειράματος ώστε να εξεταστεί η αναπαραγωγιμότητα και η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων. Για το σκοπό αυτό εμπορικό γαλάκτωμα Α (γαλάκτωμα Α) του οποίου η σύσταση δίνεται στον πίνακα 1. το οποίο επιβεβαιώθηκε κατά το πρώτο πείραμα ότι δεν περιείχε γλυκόζη, χρησιμοποιήθηκε σε αυτήν την περίπτωση. Αρχικά, 6 gr από το γαλάκτωμα Α, τοποθετήθηκαν σε πλαστικό ουροσυλλέκτη. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε σε ακόμη 10 δείγματα (σύνολο 11 δείγματα). Για τις ανάγκες του πειράματος παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα γλυκόζης 0,91% w/v. Στη συνέχεια, έγιναν επιπλέον αραιώσεις του διαλύματος αυτού, 1:2,5, 1:5 και 1:10. Στη συνέχεια, στο κάθε δείγμα προστέθηκε διάλυμα γλυκόζης με σκοπό να παρασκευαστούν πρότυπα δείγματα τα οποία είχαν γνωστή εκατοστιαία περιεκτικότητα σε γλυκόζη, όπως φαίνεται στον πίνακα 2. Στον πίνακα 2, αναγράφεται ακόμα η ακριβής ποσότητα από το διάλυμα γλυκόζης που προστέθηκε στο κάθε ένα δείγμα με την βοήθεια πιπέτας ακριβείας.

A/M	Γαλάκτωμα Α (gr)	% Glucose	μL διαλύματος γλυκόζης	μl of WR
1	6	0,000000	0 γλυκόζης	964
2	6	0,000909	60μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	964
3	6	0,001364	90μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	964
4	6	0,001818	120μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	964
5	6	0,002273	75μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	964
6	6	0,002727	90,17μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	964
7	6	0,003636	120μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	964
8	6	0,004545	75,08μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	964
9	6	0,005455	90,1μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	964
10	6	0,006364	105,12μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	964
11	6	0,007273	120,13μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	964

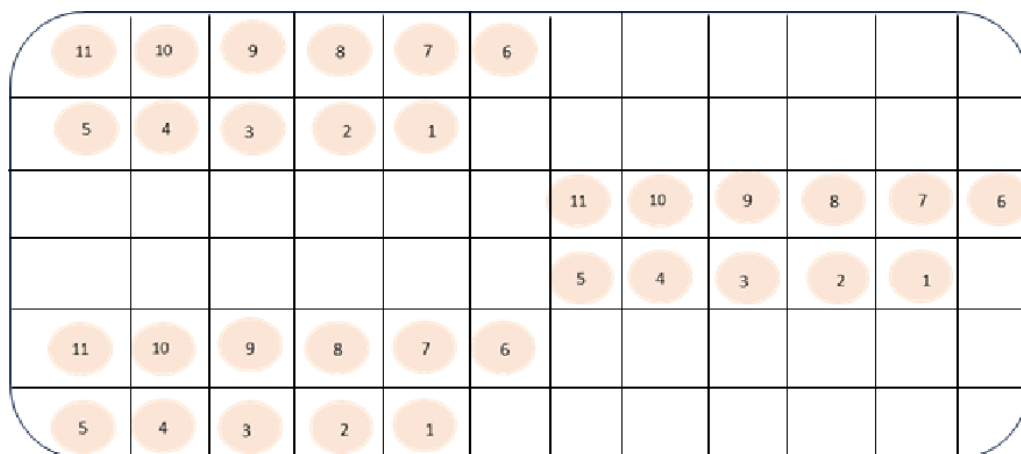
Πίνακας 2. Δεδομένα πειράματος III.

Στη συνέχεια, το περιεχόμενο του κάθε ουροσυλλέκτη που περιείχε το γαλάκτωμα Α και την ποσότητα της γλυκόζης ανακατεύτηκε σχολαστικά με μεταλλική σπάτουλα έτσι ώστε να υπάρχει πλήρης ομογενοποίηση. Από κάθε δείγμα 6 gr, λήφθηκαν 3 δείγματα του 1,5 gr και τοποθετήθηκαν σε ειδικά, αριθμημένα, σκαφίδια ζύγισης.

Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι από μια προηγούμενη σειρά πειραμάτων βρέθηκε ότι ανά 3,5 gr κρέμας, μπορεί να προστεθούν μέχρι 2.250 μL WR χωρίς να διαχωριστεί το γαλακτώμα. Έτσι, στο συγκεκριμένο πείραμα, στο κάθε σκαφίδιο που περιείχε 1,5 gr γαλακτώματος Α, προστέθηκαν 964 μL WR. Σε αυτό το στάδιο δόθηκε πολύ μεγάλη προσοχή καθώς χρειάστηκε γρήγορη και προσεκτική ανάδευση του κάθε δείγματος έτσι ώστε να επιτευχθεί πλήρης και ομοιόμορφη κατανομή του αντιδραστηρίου μέσα στο κάθε δείγμα. Η προσθήκη του αντιδραστηρίου ξεκίνησε από το μεγαλύτερο προς το μικρότερο σε περιεκτικότητα γλυκόζης, δείγμα. Λήφθηκε ποσότητα από το κάθε δείγμα και τοποθετήθηκε στα αποσπόμενα σκαφίδια πλάκας μικροτιτλοδότησης(wells) ώστε να πληρωθούν πλήρως. Με την βοήθεια σπάτουλας ισοπεδώθηκε η επιφάνεια του γαλακτώματος Α στα σκαφίδια, και τέλος, λήφθηκε φωτογραφία μέσα σε ειδικό φωτογραφικό θάλαμο. Χαρακτηριστική φωτογραφία του πειράματος δίνεται στην εικόνα 2, ενώ η διάταξη των δειγμάτων με αριθμό μητρώου που αντιστοιχεί στον πίνακα 2, φαίνεται στο σχήμα 2.



Εικόνα 2. Πανοραμική φωτογραφία της τριπλέτας.



Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 2 (Α/Μ) με την εικόνα 2.

2.5. ΠΕΙΡΑΜΑ IV ΓΛΥΚΟΖΗΣ

ΥΛΙΚΑ - ΟΡΓΑΝΑ - ΣΚΕΥΗ

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν:

- Σαμπουάν, η σύνθεση του οποίου αναγράφεται στον πίνακα 3.

Σαμπουάν	Σύσταση
1	Aqua
2	Disodium edta
3	Benzophenone 4
4	SLES 70
5	Tea-lauryl sulfate 40%
6	Didodium cocoamphodiacetate
7	Polyquaternium-7
8	Emanon HE
9	Imidazolidinyl urea
10	Phytexcell OAT
11	Phytexcell MALLOW
12	Phytoliquid IVY BG
13	Citric acid monohydrate
14	Cocamidopropyl betaine 30%
15	Nipaguard IPP2
16	Benzyl Alcohol
17	Rewoderm LI S 80
18	Nipacide PX
19	Sandal 13094/12
20	Tartrazin 85% E102
21	Colour D&C brown No 1
22	Sodium Chloride

Πίνακας 3. Σύνθεση σαμπουάν

- D (+)- Glucose monohydrate puriss. της Riedel – de Haen.
- Κιτ οξειδάσης γλυκόζης/υπεροξειδάσης (GOD/POD) από Biosis (Αθήνα, Ελλάδα). Το αντιδραστήριο εργασίας (WR) που παρέχεται σε αυτό περιείχε ένα ρυθμιστικό διάλυμα 0.2 M, pH 8.0, GOD > 18 IU/ml, POD > 2 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπαράγοντες.
- Πλαστικοί ουροσυλλέκτες.
- Μεταλλικές σπάτουλες.
- Αναλυτικός ζυγός.
- Πιπέτες ακριβείας 100-1000 μL, 10-100 μL, 10-20 μL.
- Φυγόκεντρος.
- Falcon σωλήνες.
- Αποσπώμενα σκαφίδια πλάκας μικροτιτλοδότησης (Microtiter plate wells).
- Φωτογραφικός θάλαμος φωτιζόμενος από μία σειρά LED.
- Smartphone Galaxy A52 με κάμερα 32 Megapixel.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

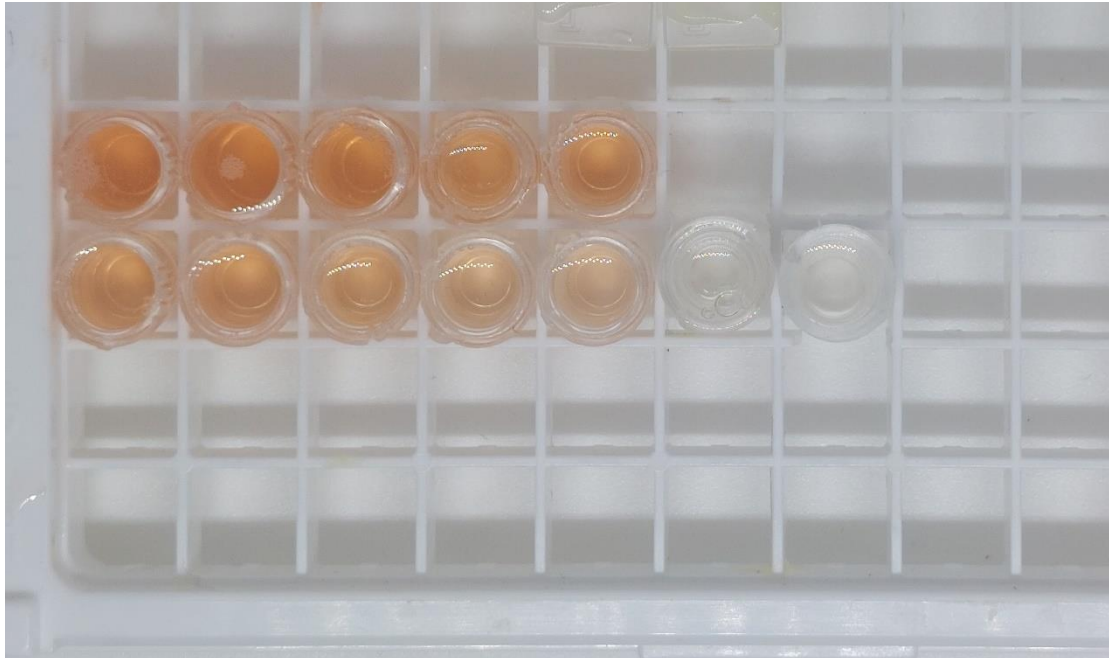
Σε αυτό το πείραμα εξετάστηκε η δυνατότητα εφαρμογής της μεθοδολογίας σε διαφορετικό τύπου προϊόν, με διακριτή σκοπούμενη χρήση και μακροσκοπικά χαρακτηριστικά από ένα γαλάκτωμα, προκειμένου να αποδειχθεί η ευρεία εφαρμογή της μεθόδου αυτής, σε μια μεγάλη ποικιλία προϊόντων. Έτσι στο πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκε σαμπουάν μαλλιών, το οποίο όπως διαπιστώθηκε στο πρώτο πείραμα, δεν περιείχε γλυκόζη. Αρχικά, ζυγίστηκαν με ακρίβεια 3,5 gr από το σαμπουάν και τοποθετήθηκαν μέσα σε ουροσυλλέκτη. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε στο σύνολό της 10 φορές. Για τις ανάγκες του πειράματος παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα γλυκόζης 0,91% w/v. Στη συνέχεια, έγιναν επιπλέον αραιώσεις του διαλύματος αυτού, 1:2,5, 1:5 και 1:10. Στη συνέχεια, στο κάθε δείγμα προστέθηκε ποσότητα διαλύματος γλυκόζης, όπως φαίνεται στον πίνακα 4.

A/M	shampoo(gr)	% Glucose	μL διαλύματος γλυκόζης	μL of WR
0	3.5	0,000000	0 μL	642 νερό
1	3,5	0,000909	0 μL	642
2	3,5	0,001364	35μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	642
3	3,5	0,001818	52,5μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	642
4	3,5	0,002273	70μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	642
5	3,5	0,002727	43,8μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	642
6	3,5	0,003636	52,6μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	642
7	3,5	0,004545	70μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	642
8	3,5	0,005455	43,8μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	642
9	3,5	0,006364	52,56μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	642
10	3,5	0,000000	61,32μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	642

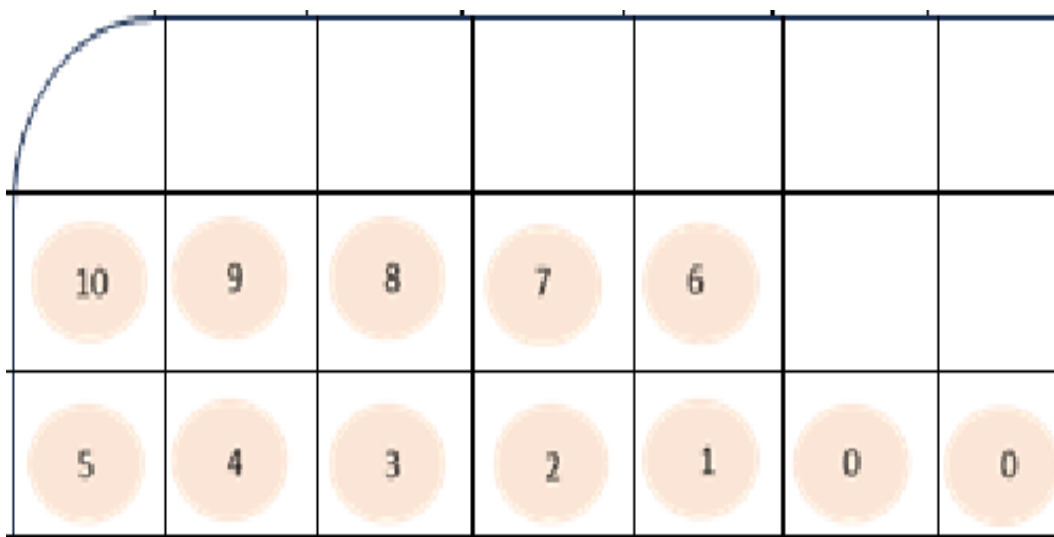
Πίνακας 4. Δεδομένα περάματος IV.

Μετά την προσθήκη της γλυκόζης έγινε πολύ καλή ανάδευση με τη βοήθεια μεταλλικής σπάτουλας, έτσι ώστε να επιτευχθεί πλήρης ομογενοποίηση. Κατόπιν, στο κάθε δείγμα προστέθηκαν 642 μL WR. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι η χρήση διαφορετικής ποσότητας WR στο συγκεκριμένο πείραμα, οφείλεται στο γεγονός ότι η σύσταση του σαμπουάν διαφέρει από τη σύσταση του γαλακτώματος και η επιλογή της ποσότητας αυτής δεν αλλοίωσε τη σύσταση του σαμπουάν. Μετά την προσθήκη του αντιδραστηρίου, πραγματοποιήθηκε πολύ καλή ανάδευση με σκοπό την ομοιόμορφη διασπορά του, μέσα στο σαμπουάν. Όμως, αφού είχαν προηγηθεί δύο έντονες αναδεύσεις, και καθώς το προϊόν που χρησιμοποιήθηκε είναι σαμπουάν και περιέχει αφριστικούς παράγοντες, δημιουργήθηκε ποσότητα αφρού η οποία θα παρεμβάλλονταν κατά το στάδιο της επεξεργασίας της φωτογραφίας. Έτσι, για το σκοπό αυτό τοποθετήθηκε ποσότητα σαμπουάν μέσα σε falcon και τοποθετήθηκαν μέσα στη φυγόκεντρο με σκοπό να απομακρυνθεί ο αφρός. Λήφθηκε ποσότητα από το κάθε δείγμα και τοποθετήθηκε στα αποσπόμενα

σκαφίδια πλάκας μικροτιλοδότησης (wells) ώστε να πληρωθούν πλήρως. Με την βοήθεια σπάτουλας ισοπεδώθηκε η επιφάνεια του σαμπουάν στα σκαφίδια, και τέλος, λήφθηκε φωτογραφία μέσα σε ειδικό φωτογραφικό θάλαμο. Χαρακτηριστική φωτογραφία του πειράματος δίνεται στην εικόνα 3, ενώ η διάταξη των δειγμάτων με αριθμό μητρώου που αντιστοιχεί στον πίνακα 4, φαίνεται στο σχήμα 3.



Εικόνα 3. Φωτογραφία μετά την ολοκλήρωση του πειράματος IV μέσα στο φωτογραφικό θάλαμο.



Σχήμα 3. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 4 (Α/Μ) με την εικόνα 3.

2.6. ΠΕΙΡΑΜΑ V ΓΛΥΚΟΖΗΣ

ΥΛΙΚΑ - ΟΡΓΑΝΑ – ΣΚΕΥΗ

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν:

- Γαλάκτωμα Β η σύνθεση του οποίου περιγράφεται στον πίνακα 5:

Γαλάκτωμα Β	Σύνθεση
1	Aqua
2	Panthenol
3	Cetearyl Alcohol
4	Glycerine
5	Octyl Stearate
6	Cyclomethicone
7	Paraffinum liquidum
8	Cetearyl
9	Isononanoate
10	Dicetyl Phosphate
11	Ceteth-10 Phosphate
12	Cetearyl Octanoate
13	Isopropyl Myristate
14	Allantoin
15	Sodium Caproyl / Lauroyl Lactylate
16	Stearic Acid
17	Acrylamide / Sodium Acrylate Copolymer
18	Linallol
19	Hydroxy Citronellal
20	Benzyl Alcohol
21	Eugenol
22	Imidazolidinyl Urea
23	Phenoxyethanol
24	Methylparaben
25	Ethylparaben
26	Butylparaben
27	Propylparaben
28	Parfum (Fragrance).

Πίνακας 5. Σύνθεση γαλακτώματος Β.

- D (+)- Glucose monohydrate puriss. της Riedel – de Haen.
- Κιτ οξειδάσης γλυκόζης/υπεροξειδάσης (GOD/POD) από Biosis (Αθήνα, Ελλάδα). Το αντιδραστήριο εργασίας (WR) που παρέχεται σε αυτό περιείχε ένα ρυθμιστικό διάλυμα 0.2 M, pH 8.0, GOD > 18 IU/ml, POD > 2 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπαράγοντες.
- Πλαστικοί ουροσυλλέκτες.
- Μεταλλικές σπάτουλες.

- Αναλυτικός ζυγός.
- Πιπέτες ακριβείας 100-1000 μL, 10-100 μL, 10-20 μL.
- Ποτήρια ζέσεως.
- Αποσπώμενα σκαφίδια πλάκας μικροτιτλοδότησης (Microtiter plate wells).
- Φωτογραφικός θάλαμος φωτιζόμενος από μία σειρά LED.
- Smartphone Galaxy A52 με κάμερα 32 Megapixel.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Σε αυτό το πείραμα εφαρμόστηκε η μέθοδος των σταθερών προσθηκών (standard addition). Αυτό σημαίνει ότι η οποιαδήποτε προσθήκη ποσότητας γλυκόζης, γινόταν μέσα σε γαλάκτωμα (γαλάκτωμα Β) το οποίο περιείχε ήδη γλυκόζη. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε γαλάκτωμα (γαλάκτωμα Β), το οποίο είχε ελεγχθεί στο πρώτο πείραμα ότι δεν περιέχει γλυκόζη. Στη συνέχεια σε ένα μεγάλο ποτήρι ζέσεως τοποθετήθηκε όλη η ποσότητα του σωληναρίου του γαλακτώματος Β με σκοπό την παρασκευή γαλακτώματος που να περιέχει 0.00091% γλυκόζη.

Ακολούθως, 3,5 gr από το γαλάκτωμα Β παρουσία γλυκόζης, τοποθετήθηκαν μέσα σε ουροσυλλέκτη. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε στο σύνολό της 12 φορές. Για τις ανάγκες του πειράματος παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα γλυκόζης 0,91% w/v. Στη συνέχεια, έγιναν επιπλέον αραιώσεις του διαλύματος αυτού, 1:2,5, 1:5 και 1:10. Στη συνέχεια στο κάθε δείγμα προστέθηκε ορισμένη ποσότητα διαλύματος γλυκόζης με τη βοήθεια πιπέτας ακριβείας όπως φαίνεται στον πίνακα 6. Στον πίνακα 6 αναγράφεται τόσο η προστιθέμενη ποσότητα διαλύματος γλυκόζης όσο και η τελική εκατοστιαία σύσταση σε γλυκόζη των επιμέρους προτύπων γαλακτώματος Β. Σε αυτό το πείραμα εφαρμόστηκε η μέθοδος των σταθερών προσθηκών (standard addition). Αυτό σημαίνει ότι η οποιαδήποτε προσθήκη ποσότητας γλυκόζης, γινόταν μέσα σε γαλάκτωμα (γαλάκτωμα Β) το οποίο περιείχε ήδη γλυκόζη. Για το σκοπό αυτό χρησιμοποιήθηκε γαλάκτωμα (γαλάκτωμα Β), το οποίο είχε ελεγχθεί στο πρώτο πείραμα ότι δεν περιέχει γλυκόζη. Στη συνέχεια σε ένα μεγάλο ποτήρι ζέσεως τοποθετήθηκε όλη η ποσότητα του σωληναρίου του γαλακτώματος Β με σκοπό την παρασκευή γαλακτώματος που να περιέχει 0.00091% γλυκόζη.

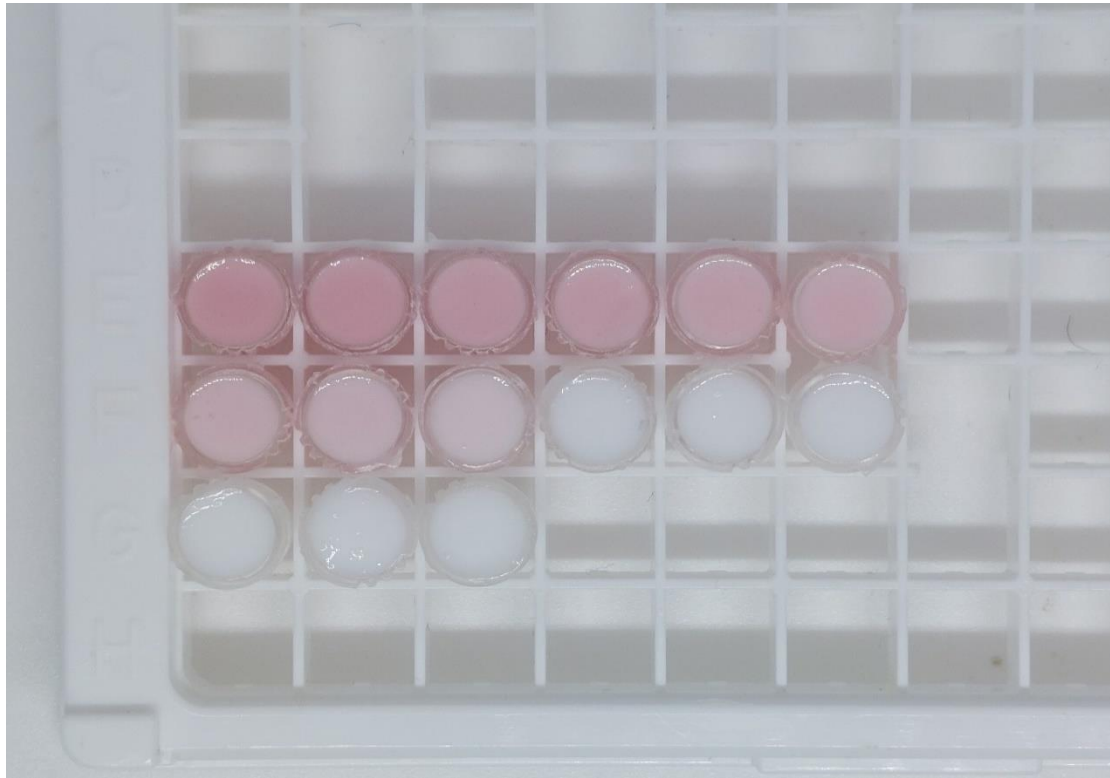
Ακολούθως, 3,5 gr από το γαλάκτωμα Β παρουσία γλυκόζης, τοποθετήθηκαν μέσα σε ουροσυλλέκτη. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε στο σύνολό της 12 φορές. Για τις ανάγκες του πειράματος παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα γλυκόζης 0,91% w/v. Στη συνέχεια, έγιναν επιπλέον αραιώσεις του διαλύματος αυτού, 1:2,5, 1:5 και 1:10. Στη συνέχεια στο κάθε δείγμα προστέθηκε ορισμένη ποσότητα διαλύματος γλυκόζης με τη βοήθεια πιπέτας ακριβείας όπως φαίνεται στον πίνακα 6. Στον πίνακα 6 αναγράφεται τόσο η προστιθέμενη ποσότητα διαλύματος γλυκόζης όσο και η τελική εκατοστιαία σύσταση σε γλυκόζη των επιμέρους προτύπων γαλακτώματος Β.

A/M	Γαλάκτωμα B	% Glucose addition	τελικό % glucose	μL διαλύματος γλυκόζης	μl of WR
1	3,5	0,000000	0,000909	0 γλυκόζη	2250
2	3,5	0,000909	0,001818	35μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
3	3,5	0,001364	0,002273	52,5μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
4	3,5	0,001818	0,002727	70μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
5	3,5	0,002273	0,003182	87,5μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
6	3,5	0,002727	0,003636	52,6μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	2250
7	3,5	0,003636	0,004545	70μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	2250
8	3,5	0,004545	0,005455	43,8μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	2250
9	3,5	0,005000	0,005909	52,56μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	2250
10	3,5	0,000000	0,000909	0 γλυκόζη	2250 νερό
11	3,5	0,000000	0,000909	0 γλυκόζη	2250 νερό
12	3,5	0,000000	0,000909	0 γλυκόζη	2250 νερό

Πίνακας 6. Δεδομένα πειράματος V.

Μετά την προσθήκη της γλυκόζης, πραγματοποιήθηκε ισχυρή ανάδευση, με τη βοήθεια σπάτουλας, έτσι ώστε να υπάρχει πλήρης ομογενοποίηση. Στο κάθε δείγμα προστέθηκε αντιδραστήριο WR ποσότητας 2.250 μL. Με σκοπό την πλήρη ομογενοποίηση του γαλακτώματος B με το αντιδραστήριο έγινε εξίσου καλή ανάδευση. Εδώ πρέπει να σημειωθεί ότι η προσθήκη WR έγινε από το υψηλότερο προς το χαμηλότερο σε περιεκτικότητα σε γλυκόζη, δείγμα. Λήφθηκε ποσότητα από το κάθε δείγμα και τοποθετήθηκε στα αποσπόμενα σκαφίδια πλάκας μικροτιλοδότησης (wells) ώστε να πληρωθούν πλήρως. Με την βοήθεια σπάτουλας

ισοπεδώθηκε η επιφάνεια του γαλακτώματος Β στα σκαφίδια, και τέλος, λήφθηκε φωτογραφία μέσα σε ειδικό φωτογραφικό θάλαμο. Χαρακτηριστική φωτογραφία του πειράματος δίνεται στην εικόνα 4, ενώ η διάταξη των δειγμάτων με αριθμό μητρώου που αντιστοιχεί στον πίνακα 6, φαίνεται στο σχήμα 4.



Εικόνα 4. Φωτογραφία που λήφθηκε στο τέλος του πειράματος V μέσα σε φωτογραφικό θάλαμο.

9	8	7	6	5	4
3	2	1	10	11	12
10	11	12			

Σχήμα 4. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 6 (Α/Μ) με την εικόνα 4.

2.7. ΠΕΙΡΑΜΑ VI ΓΛΥΚΟΖΗΣ

ΥΛΙΚΑ - ΟΡΓΑΝΑ - ΣΚΕΥΗ

Για το πείραμα αυτό χρησιμοποιήθηκαν:

- Αντισηπτικό χεριών, η σύνθεση αναγράφεται στον πίνακα 7.

Αντισηπτικό χεριών	Συστατικά
1	Aqua
2	Glycerine
3	Aloe vera 200X organic
4	Aristoflex AVC
5	Alcohol denaturated

Πίνακας 7. Σύνθεση αντισηπτικού.

- D (+)- Glucose monohydrate puriss. της Riedel – de Haen.
- Κιτ οξειδάσης γλυκόζης/υπεροξειδάσης (GOD/POD) από Biosis (Αθήνα, Ελλάδα). Το αντιδραστήριο εργασίας (WR) που παρέχεται σε αυτό περιείχε ένα ρυθμιστικό διάλυμα 0.2 M, pH 8.0, GOD > 18 IU/ml, POD > 2 U/ml, αμινοφαιναζόνη 0.25 mM, παράγωγο φαινόλης 10 mM, συμπαραγόντες.
- Πλαστικοί ουροσυλλέκτες.
- Μεταλλικές σπάτουλες.
- Αναλυτικός ζυγός.
- Πιπέτες ακριβείας 100-1000 μ L, 10-100 μ L, 10-20 μ L.
- Αποσπώμενα σκαφίδια πλάκας μικροτιτλοδότησης (Microtiter plate wells).
- Φωτογραφικός θάλαμος φωτιζόμενος από μία σειρά LED.
- Smartphone Galaxy A52 με κάμερα 32 Megapixel.

ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΗ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ

Στο πείραμα αυτό εφαρμόστηκε επίσης η μέθοδος των σταθερών προσθηκών (standard addition). Αυτή τη φορά το προϊόν που χρησιμοποιήθηκε για τη μέθοδο αυτή ήταν ένα αντισηπτικό χεριών το οποίο βρέθηκε ότι δεν περιείχε γλυκόζη, κατά την διενέργεια της πρώτης πειραματικής διαδικασίας. Είχε ιδιαίτερο ενδιαφέρον να δούμε κατά πόσο αυτή η μέθοδος μπορούσε να εφαρμοστεί και σε αραιά τζελ όπως είναι τα αντισηπτικά. Για το σκοπό αυτό τοποθετήθηκε μέσα σε ποτήρι ζέσεως ποσότητα αντισηπτικού, με σκοπό να παρασκευαστεί προϊόν το οποίο να περιέχει 0,001365% γλυκόζη. Έγινε σχολαστική ανάδευση με σκοπό την πλήρη ομογενοποίηση του προϊόντος του διαλύματος γλυκόζης με το αντισηπτικό τζελ. 3,5 gr από το προϊόν αυτό μεταφέρθηκαν σε ειδικό σκαφίδιο. Η διαδικασία αυτή επαναλήφθηκε στο σύνολο 11 φορές. Για τις ανάγκες του πειράματος παρασκευάστηκε μητρικό υδατικό διάλυμα γλυκόζης 0,91% w/v. Στη συνέχεια,

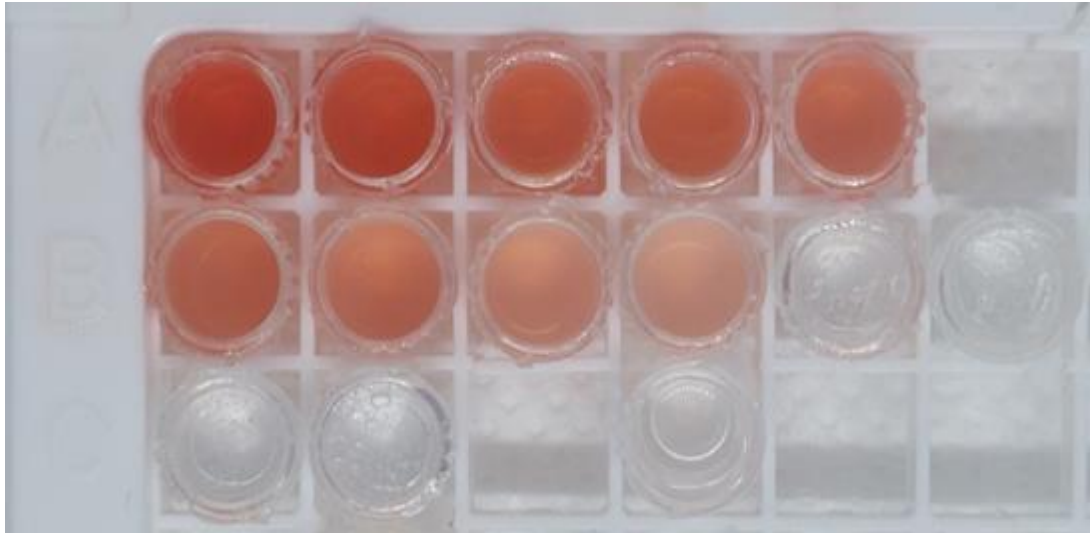
έγιναν επιπλέον αραιώσεις του διαλύματος αυτού, 1:2,5, 1:5 και 1:10 Στη συνέχεια, σε κάθε δείγμα προστέθηκε με τη βοήθεια πιπέτας ακριβείας ποσότητα διαλύματος γλυκόζης όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα. Στον παρακάτω πίνακα φαίνεται τόσο η εκατοστιαία ποσότητα διαλύματος γλυκόζης που προστέθηκε, όσο και η τελική εκατοστιαία περιεκτικότητα του κάθε προτύπου σε γλυκόζη.

A/M	Gel	% Glucose addition	τελικό % glucose	μL διαλύματος γλυκόζης	μL of WR
1	3,5	0,000000	0,001364	0 γλυκόζη	2250
2	3,5	0,000455	0,001818	17,5μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
3	3,5	0,000909	0,002273	35μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
4	3,5	0,001364	0,002727	52,5μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
5	3,5	0,001818	0,003182	70μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
6	3,5	0,002273	0,003636	87,5μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:10	2250
7	3,5	0,002727	0,004091	52,6μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	2250
8	3,5	0,003636	0,005000	70μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:5	2250
9	3,5	0,004545	0,005909	43,8μl μητρικού διαλύματος γλυκόζης 0.91% αραιωμένο 1:2,5	2250
10	3,5	0,000000	0,001364	0 γλυκόζη	2250 νερό
11	3,5	0,000000	0,001364	0 γλυκόζη	2250 νερό

Πίνακας 8. Δεδομένα πειράματος VI.

Έπειτα στο κάθε δείγμα προστέθηκε ποσότητα ίση με 2.250 μL από το αντιδραστήριο WR χωρίς να αλλοιωθεί η σύσταση του τζελ. Η προσθήκη του

αντιδραστηρίου έγινε από το δείγμα με την μεγαλύτερη προς το δείγμα με τη μικρότερη τελική περιεκτικότητα σε γλυκόζη μέσα στο προϊόν. Μετά την προσθήκη του αντιδραστηρίου WR στο κάθε δείγμα, ακολούθησε πολύ καλή ανάδευση. Λήφθηκε ποσότητα από το κάθε δείγμα και τοποθετήθηκε στα αποσπόμενα σκαφίδια πλάκας μικροτιτλοδότησης (wells) ώστε να πληρωθούν πλήρως. Με την βοήθεια σπάτουλας ισοπεδώθηκε η επιφάνεια του τζελ στα σκαφίδια, και τέλος, λήφθηκε φωτογραφία μέσα σε ειδικό φωτογραφικό θάλαμο. Χαρακτηριστική φωτογραφία του πειράματος δίνεται στην εικόνα 5, ενώ η διάταξη των δειγμάτων με αριθμό μητρώου που αντιστοιχεί στον πίνακα 8, φαίνεται στο σχήμα 5.



Εικόνα 5. Φωτογραφία που λήφθηκε μετά το τέλος του πειράματος VI, μέσα στο φωτογραφικό θάλαμο.

9	8	7	6	5	
4	3	2	1	10	11
10	11				

Σχήμα 5. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 8 (A/M) με την εικόνα 5.

3. Αποτελέσματα

Προεπισκόπηση πειραμάτων

Ο σκοπός της έρευνας αυτής είναι να αναπτυχθεί μια χρωματομετρική αναλυτική τεχνική προσδιορισμού συστατικών, απευθείας μέσα σε ένα καλλυντικό προϊόν. Για το σκοπό αυτό έγινε μια πληθώρα πειραμάτων και τα συστατικά τα οποία επιλέχθηκαν προς ανάλυση είναι το μεθυλ παραβένιο και η γλυκόζη. Παρακάτω γίνεται μια αναφορά των αποτελεσμάτων.

Η πρώτη προσπάθεια για την εφαρμογή της χρωμομετρικής αναλυτικής τεχνικής, έγινε για το μόριο του μέθυλ παραβενίου. Το μόριο αυτό εγκαταλείφθηκε καθώς κατά την προσθήκη καυστικού νατρίου (NaOH), τόσο το δείγμα ελέγχου, το οποίο περιείχε αιθανόλη αντί για το μόριο μεθυλ παραβένιο, όσο και το δείγμα που περιείχε μεθυλ παραβένιο, έδωσαν κίτρινο χρώμα. Πρέπει να σημειωθεί ότι το δείγμα ελέγχου είχε αρκετά πιο ανοιχτό κίτρινο χρώμα από αυτό με το μεθυλ παραβένιο.

Ο χρωματισμός του δείγματος ελέγχου οφείλεται στην έλλειψη ειδικότητας της αντίδρασης. Πιο συγκεκριμένα το ΡΑΒΑ ή 4-αμινο βενζοϊκό οξύ όταν αντιδρά με μεθανόλη παρουσιάζει ισχυρό οξύ, όπως το HCL τότε παράγεται μεθυλ-παραβένιο. Το γεγονός αυτό αποτέλεσε και την αιτία για την εγκατάλειψη του μορίου αυτού.

Η δεύτερη και επιτυχής προσπάθεια έγινε με το μόριο της γλυκόζης για το οποίο πραγματοποιήθηκε μεγάλος αριθμός πειραμάτων και παρακάτω παρουσιάζονται τα αποτελέσματά τους.

Τα πρώτα δύο πειράματα ανέδειξαν την ικανότητα εντοπισμού γλυκόζης απευθείας μέσα στο προϊόν με τη χρήση του εμπορικού κιτ οξειδάσης γλυκόζης. Τα πειράματα 3, 4, 5 και 6 έγιναν με στόχο τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης. Εδώ πρέπει να αναφερθεί ότι κατά την πορεία της έρευνας πραγματοποιήθηκαν αρκετές προσπάθειες μέχρι να καταλήξουμε στην τελική μέθοδο που ικανοποιεί το σκοπό του πειράματος. Στα τέσσερα αυτά πειράματα, ελέγχθηκαν η αναπαραγωγιμότητα και η επαναληψιμότητα των αποτελεσμάτων

3.1. ΠΕΙΡΑΜΑ Ι ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Η σύγκριση των φωτογραφιών έδωσε τη δυνατότητα εξαγωγής αξιόπιστων αποτελεσμάτων. Συγκρίνοντας, πριν και μετά, το κάθε προϊόν, φάνηκε αν το προϊόν περιέχει ή όχι γλυκόζη.

Για την καλύτερη κατανόηση των αποτελεσμάτων δημιουργήθηκε ο παρακάτω πίνακας (πίνακας 9) στον οποίο φαίνεται ο τύπος του προϊόντος, η ποσότητα του αντιδραστήριου που προστέθηκε καθώς και τα αποτελέσματα για την παρουσία ή όχι γλυκόζης.

Η ένδειξη θετικό **V** σημαίνει ότι στο προϊόν εντοπίστηκε γλυκόζη , η ένδειξη αρνητικό **V** σημαίνει ότι στο προϊόν δεν εντοπίστηκε γλυκόζη ενώ η ένδειξη **?** σημαίνει ότι δεν έγινε δυνατή η εξαγωγή κάποιου ασφαλούς αποτελέσματος

A/M	ΤΥΠΟΣ	μl WR	ΘΕΤΙΚΟ	ΑΡΝΗΤΙΚΟ
1	Λοσιόν σώματος	400	v	
2	Σαμπουάν μαλλιών για καθημερινή χρήση	400	v	
3	Λάδι μαλλιών	400		v
4	Τζέλ μαλλιών	400	v	
5	Λάδι σώματος και μαλλιών	400		v
6	Τονοτική λοσιόν	400	v	
7	Γαλάκτωμα για σπασμένη επιδερμίδα	400	v	
8	Γαλάκτωμα με ουρία	400	v	
9	Καθαριστικό Τζέλ χεριών	400		v
10	Μισελέρ προσώπου	400	v	
11	Υγρό σαπούνι με έντονη καθαριστική δράση	400	v	
12	Υγρό σαπούνι καθαρισμού	400	v	
13	Αναζωογονητικό αφρόλουτρο	400	v	
14	Αφρόλουτρο	400		v
15	Λευκό υγρό σαπούνι	400	v	
16	Κρεμοντούς	400		v
17	Γαλάκτωμα προσώπου για ξυρό και ευαίσθητο δέρμα	400	v	
18	Λοσιόν για ευαίσθητο δέρμα	400	v	
19	Λαδι προσώπου,σώματος και μαλλιών	400		v
20	Τζέλ δροσίσματος με αλόη	400	v	
21	Γαλάκτωμα προσώπου, σώματος και χεριών	400	v	
22	Τζέλ μετα το ξύρισμα	400	v	
23	Γαλάκτωμα για δέρμα μωρών	400		v
24	Λοσιόν σώματος με γάλα γαϊδουριού	400	v	
25	Ενυδατική και μαλακτική κρέμα	400	v	
26	Ανακουφιστικό Τζέλ	400	v	
27	Τζέλ απολέπισης	400		v

28	Τζέλ καθαρισμού προσώπου και σώματος	400	✓	
29	Γαλάκτωμα για αποπικά δέρμα	400	✓	
30	Γαλάκτωμα για την θεραπεία ποδιού	400	✓	
31	Γαλάκτωμα με ουρία 15%	400		✓
32	Κρεμοντούς	400		✓
33	Τζέλ καθαρισμού για ευαίσθητο δέρμα	400		✓
34	Σαμπουάν για μαλλιά, μούσι και σώμα	400	✓	
35	Ενυδατικό αλάκτωμα	400	✓	
36	Σέρουμ με κολλαγόνο	400	✓	
37	Γαλάκτωμα για κουρασμένα και βαριά πόδια	400	✓	
38	Γαλάκτωμα κατά των σημαδιών	400		✓
39	Γαλάκτωμα για πόδια και χέρια	400	?	?
40	Τζέλ για τις βλεφαρίδες	400		✓
41	Οδοντόκρεμα	400	?	?
42	Λευκαντική οδοντόκρεμα	400	?	?
43	Γαλάκτωμα για ακνειακό δέρμα	400	✓	
44	Λοσιόν σώματος	400	✓	
45	Γαλάκτωμα	400	✓	
46	Σαμπουάν κατά της τριχόπτωσης	400	✓	
47	Τζέλ χεριών κατά των μικροβίων	400		✓
48	Γαλάκτωμα σώματος	400	✓	
49	Τζέλ χεριών κατά των μικροβίων	400		✓
50	Γαλάκτωμα για καψίματα	400		✓

Πίνακας 9. Τα 50 καλλυντικά προϊόντα που ελέγχθηκαν για την παρουσία γλυκόζης. Αναφέρονται ο τύπος του προϊόντος, η ποσότητα του αντιδραστηρίου που προστέθηκε και τα αποτελέσματα σχετικά με την παρουσία ή όχι γλυκόζης.

Οι φωτογραφίες είχαν καθοριστικό ρόλο στην εξαγωγή ορθών αποτελεσμάτων. Σε κάποια προϊόντα τα οποία είχαν λευκό ή διάφανο χρώμα, η εκτίμηση για την ύπαρξη ή όχι γλυκόζης ήταν ιδιαίτερα εύκολη καθώς παρουσία γλυκόζης, εμφανίζονταν διακριτή ροζ απόχρωση μετά την προσθήκη του WR, χωρίς επίδραση του χρώματος του υποστρώματος. Όμως για προϊόντα τα οποία είχαν έναν κίτρινο και υποκίτρινο χρωματισμό η ένδειξη δεν ήταν τόσο εμφανής και ήταν απαραίτητη η σύγκριση με το προϊόν προτού την προσθήκη WR. Τέλος για τις δυο οδοντόκρεμες στις οποίες έγινε η ίδια διαδικασία με τα υπόλοιπα δείγματα, η εξαγωγή αποτελέσματος ήταν πρακτικά αδύνατη καθώς το γαλάζιο χρώμα δεν θα επέτρεπε την ανάπτυξη ροζ χρώματος ακόμα και παρουσία γλυκόζης. Το ίδιο πρόβλημα

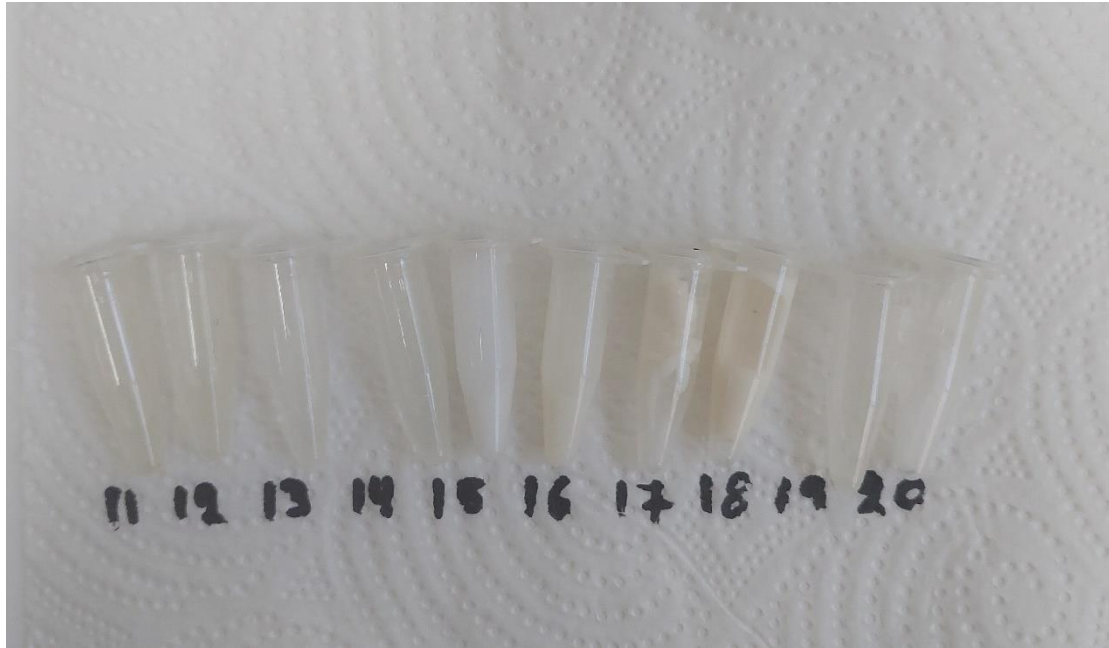
προέκυψε και με ένα γαλάκτωμα το οποίο είχε έντονο καφέ χρώμα, όπου η εξαγωγή αποτελέσματος υπήρξε εξίσου αδύνατη. Παρακάτω παρατίθενται και οι φωτογραφίες (EIKONA 1- EIKONA 8) σύμφωνα με τις οποίες εξήχθησαν τα αποτελέσματα και συμπληρώθηκε ο παραπάνω πίνακας.



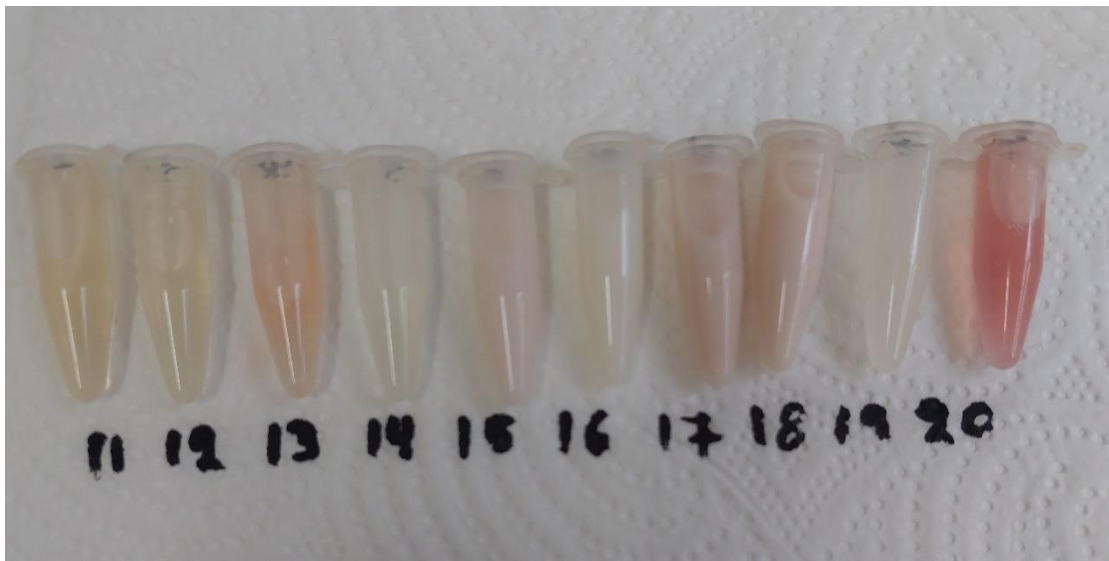
EIKONA 6. Φωτογραφία δειγμάτων 1-10 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.



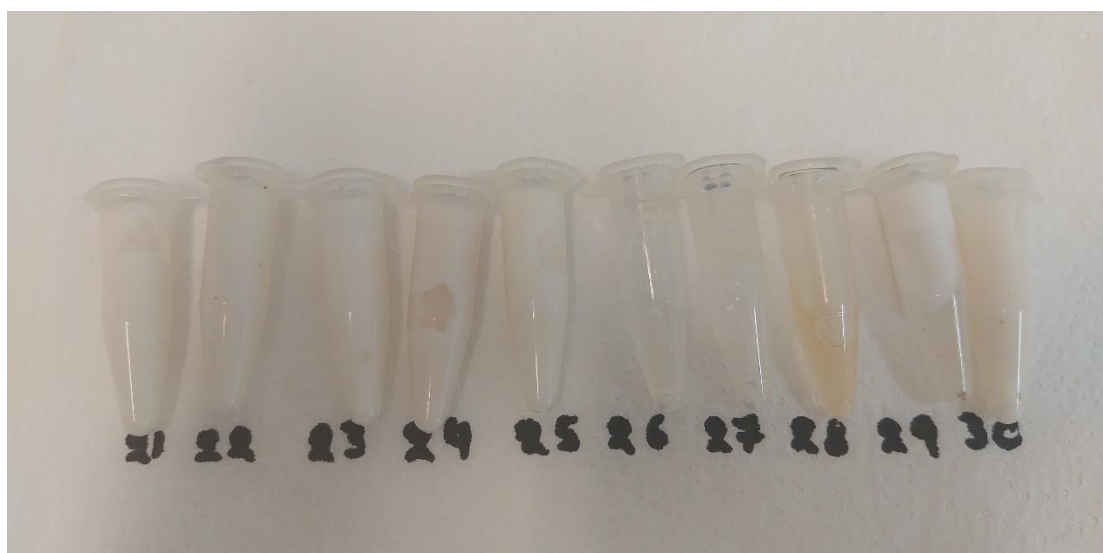
EIKONA 7. Φωτογραφία δειγμάτων 1-10 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.



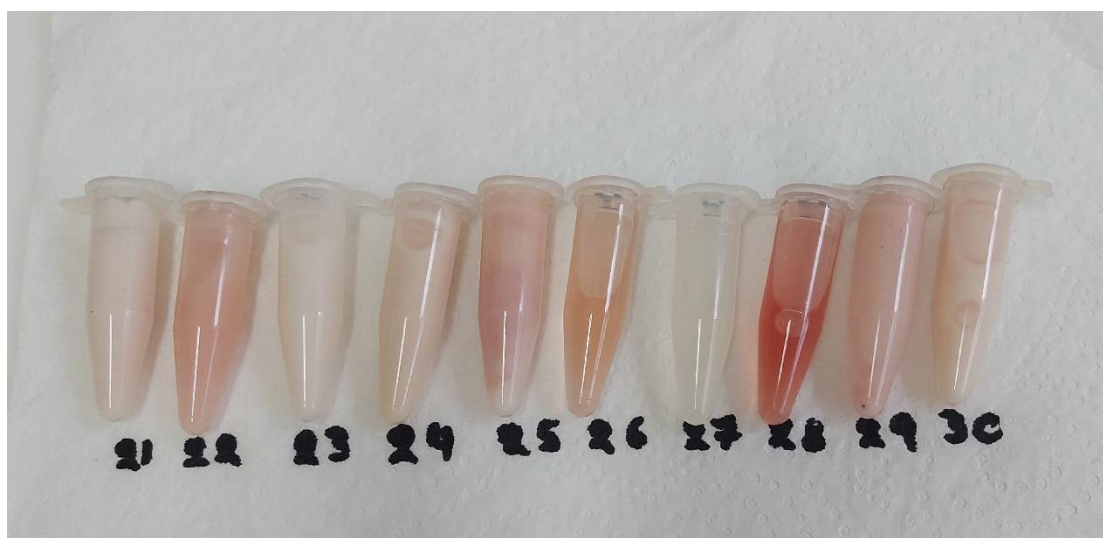
ΕΙΚΟΝΑ 8. Φωτογραφία δειγμάτων 11-20 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.



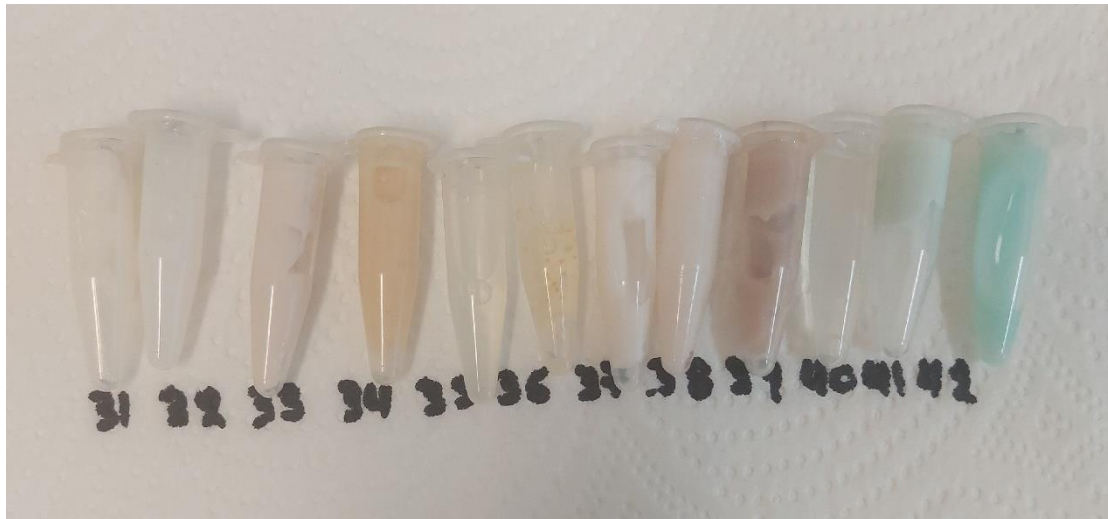
ΕΙΚΟΝΑ 9. Φωτογραφία δειγμάτων 11-20 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.



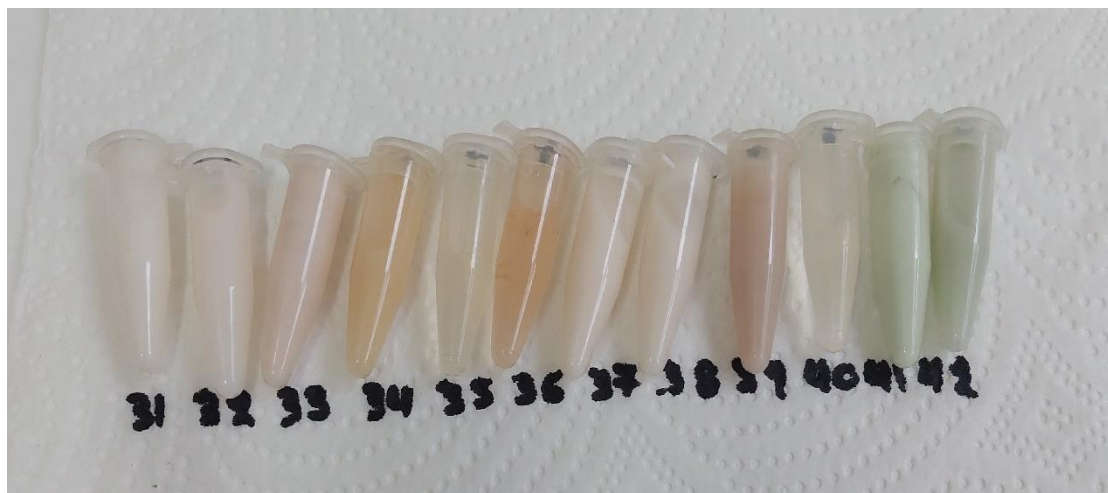
ΕΙΚΟΝΑ 10. Φωτογραφία δειγμάτων 21-30 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.



ΕΙΚΟΝΑ 11. Φωτογραφία δειγμάτων 21-30 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.



ΕΙΚΟΝΑ 12. Φωτογραφία δειγμάτων 31-42 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.



ΕΙΚΟΝΑ 13. Φωτογραφία δειγμάτων 31-42 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.

Για τα δείγματα 43-50 έγινε η ίδια διαδικασία δηλαδή σύγκριση του δείγματος στο οποίο είχε προστεθεί WR μετά από 10 λεπτά με εκείνο στο οποίο δεν είχε προστεθεί. Για την επαλήθευση της αλλαγής του χρώματος έγινε σύγκριση του δείγματος που περιείχε WR μέσα στο erpendorf με το προϊόν απευθείας μέσα στην συσκευασία του.

Από τον παραπάνω έλεγχο προέκυψαν τα παρακάτω συμπεράσματα:

1. Πληθώρα καλλυντικών προϊόντων (περίπου 70 % μεταξύ των τυχαίων 50 που εξετάστηκαν) περιέχει γλυκόζη. Η γλυκόζη στη μεγάλη πλειοψηφία αυτών των προϊόντων εισέρχεται στο καλλυντικό μέσω της προσθήκης εκχυλισμάτων. Η πληροφορία αυτή επιβεβαιώνει τη σημασία εύχρηστης μεθοδολογίας εκτίμησης της συγκέντρωσης της γλυκόζης στα καλλυντικά προϊόντα.

2. Εντοπίστηκαν συγκεκριμένες διαθέσιμες στο εργαστήριο καλλυντικές συνθέσεις που δεν περιέχουν γλυκόζη (τουλάχιστον άνω του ορίου ανίχνευσης της μεθοδολογίας). Αυτές οι φόρμουλες είναι κατάλληλες για να χρησιμοποιηθούν στα επόμενα στάδια της διπλωματικής για την παραγωγή συνθέσεων με γνωστή συγκέντρωση γλυκόζης (μετά από εξωγενή προσθήκη της) στα πλαίσια της μελέτης και επικύρωσης της προτεινόμενης αναλυτικής μεθοδολογίας.

3.2. ΠΕΙΡΑΜΑ II ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Τα τρία αραιωμένα δείγματα, οι δυο οδοντόκρεμες και το γαλάκτωμα παρατηρήθηκαν μετά από 10 λεπτά έτσι ώστε να έχει αναπτυχθεί πλήρως το χρώμα σε περίπτωση που εντοπιζόταν γλυκόζη. Πράγματι όταν έγινε ο έλεγχος του χρώματος βρέθηκε ότι και οι δυο οδοντόκρεμες με κωδικό 41 και 42 περιείχαν γλυκόζη ενώ το γαλάκτωμα με κωδικό 39 βρέθηκε αρνητικό σε γλυκόζη. Παρακάτω φαίνεται τμήμα του πίνακα μετά την διόρθωση που έγινε.

39	Γαλάκτωμα ποδιών/χεριών	400	?	?
39	Γαλάκτωμα για πόδια και χέρια	400		√
41	Οδοντόκρεμα	400	?	?
41	Οδοντόκρεμα	400	√	
42	Λευκαντική οδοντόκρεμα	400	?	?
42	Λευκαντική οδοντόκρεμα	400	√	

Πίνακας 10. Νέα αποτελέσματα του πίνακα 9, μετά την περαιτέρω διαλεύκανση της ύπαρξης γλυκόζης σε συγκεκριμένα έγχρωμα δείγματα, κατόπιν αραιώσης αυτών.

3.3. ΠΕΙΡΑΜΑ III ΓΛΥΚΟΖΗΣ

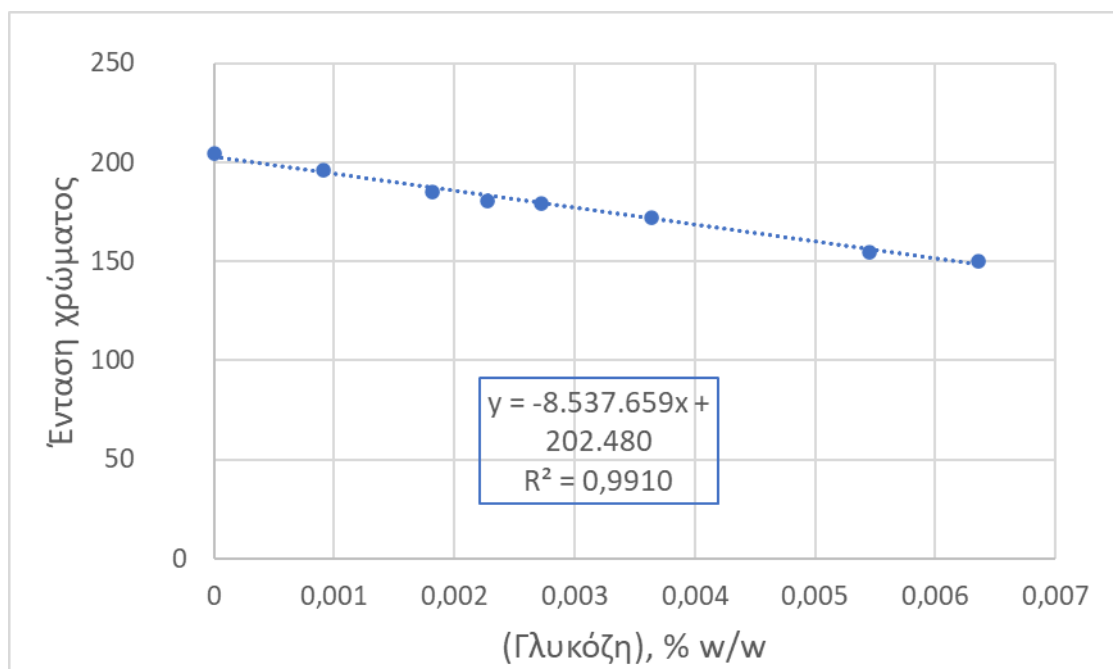
Η ανάλυση με το λογισμικό ImageJ των φωτογραφιών που λήφθηκαν στα πλαίσια αυτού του πειράματος (εικόνα 14,15,16) επέτρεψε την διερεύνηση της μορφής της εξάρτησης μεταξύ της έντασης του καταγραφόμενου χρώματος και της συγκέντρωσης της γλυκόζης στα πρότυπα δείγματα. Το πείραμα αυτό κατέδειξε τη γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης της μπλε συνιστώσας του χρώματος με την % w/w συγκέντρωση της γλυκόζης στα πρότυπα (διαγράμματα 1,2,3). Η καλή προσέγγιση της παρατηρούμενης συμπεριφοράς στο γραμμικό μοντέλο καταδεικνύεται από την υψηλή τιμή του συντελεστή συσχέτισης R^2 ($R^2 \geq 0,991$, 3 επαναλήψεις) και τις αποδεκτές τιμές μεροληψίας που λήφθηκαν για τα πρότυπα κατά τον ανάστροφο υπολογισμό της συγκέντρωσής τους (σε όλες τις περιπτώσεις $\leq 20.5\%$). Επίσης η διεξαγωγή του πειράματος εις τριπλούν επέτρεψε τον υπολογισμό ορισμένων τεχνικών χαρακτηριστικών της προτεινόμενης μεθοδολογίας, όπως αυτές αποτυπώνονται στον πίνακα 11.

Σύμφωνα με τον πίνακα 11, κατά τη μελέτη επικύρωσης της μεθοδολογίας ο συντελεστής διακύμανσης (CV%) προσδιορίστηκε σε $\leq 11,56$ και η μεροληψία ήταν έως $+11,06$.

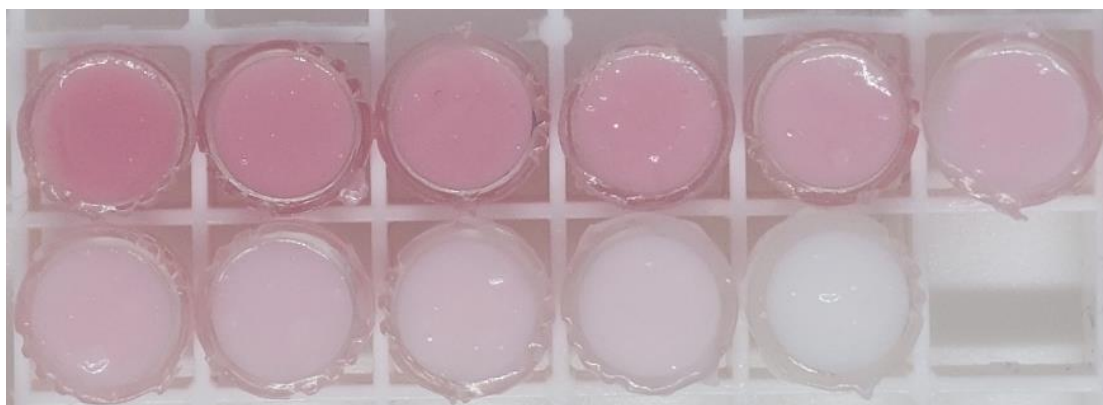
Έτσι αποδείχθηκε ότι η ένταση του χρώματος στο καλλυντικό προϊόν η οποία καταγράφεται από την κάμερα, αποτελεί αξιόπιστο μέτρο της συγκέντρωσης της γλυκόζης στην καλλυντική σύνθεση.



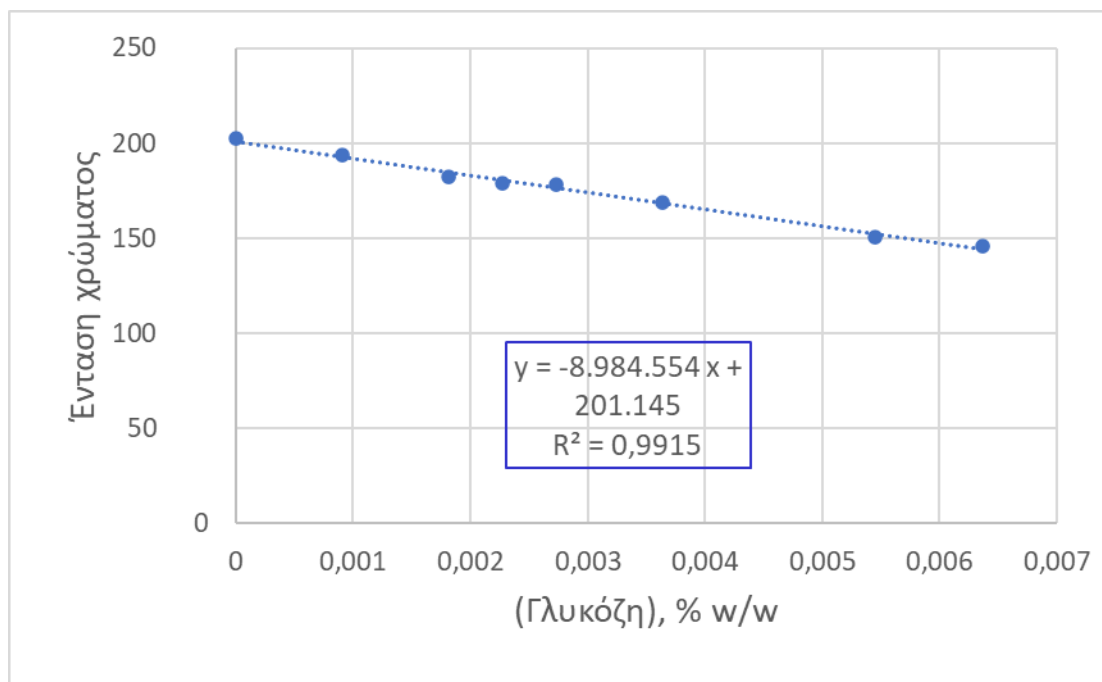
Εικόνα 14. Εικόνα τριπλέτας 1 από 3 κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα Α, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.



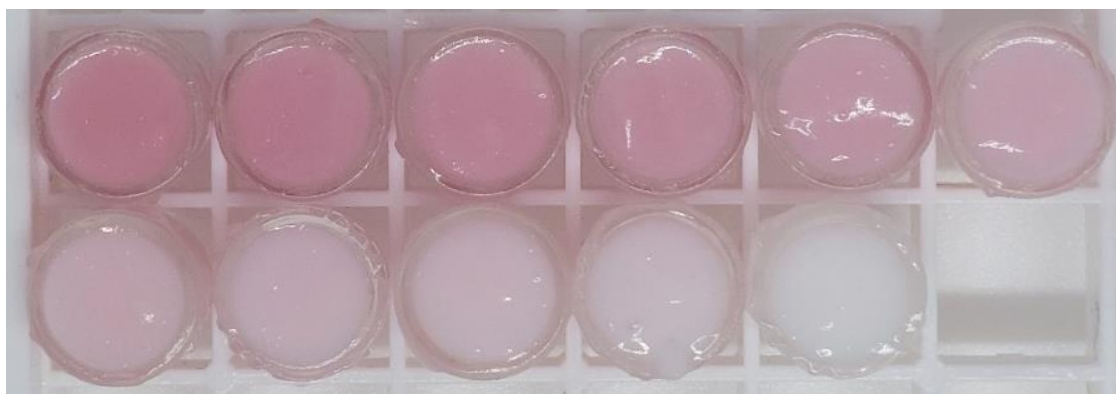
Διάγραμμα 1. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα Α στην πρώτη τριπλέτα.



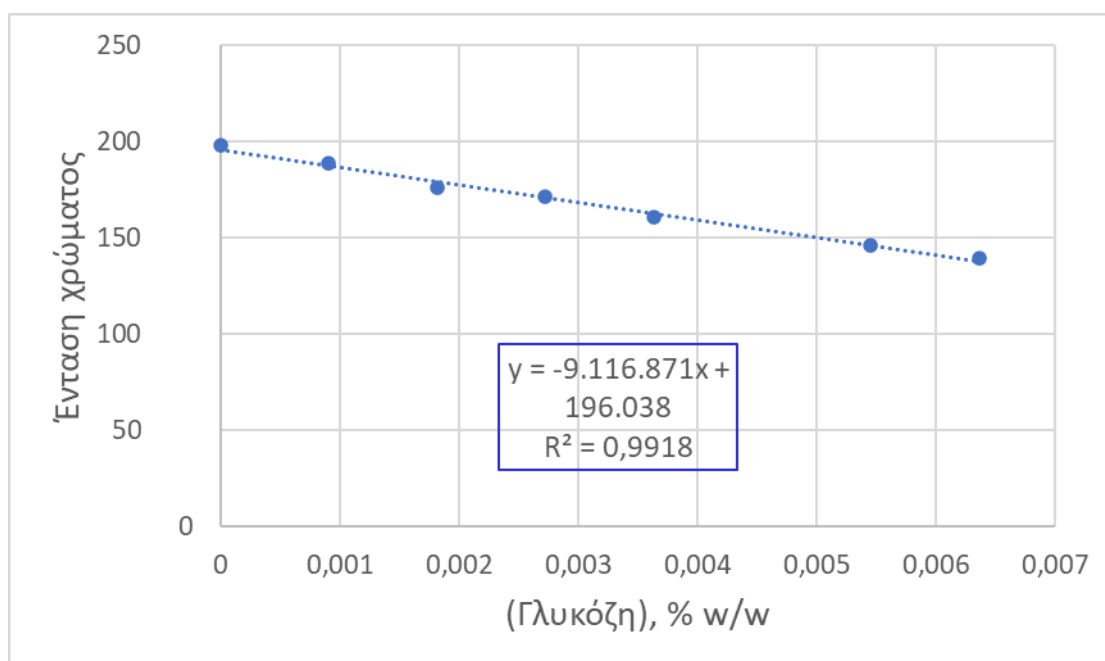
Εικόνα 15. Εικόνα τριπλέτας 2 από 3 κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα Α, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.



Διάγραμμα 2. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα Α στην δεύτερη τριπλέτα.



Εικόνα 16. Εικόνα τριπλέτας 3 από 3 κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα Α, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.



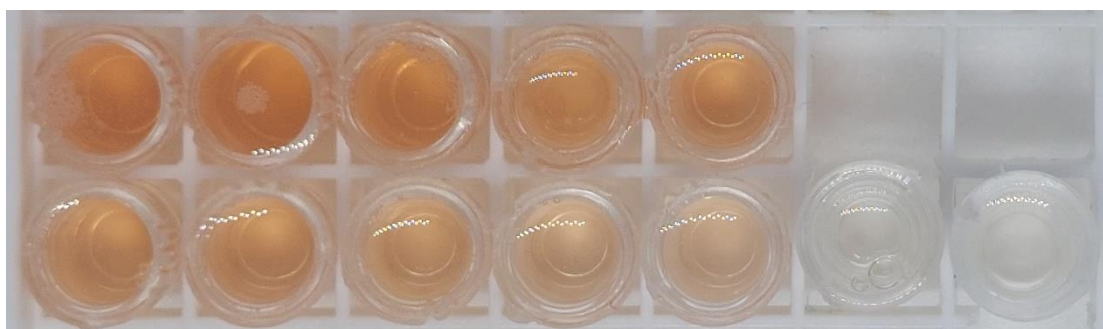
Διάγραμμα 3. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα Α στην τρίτη τριπλέτα.

Αναπαραγωγιμότητα		Ακρίβεια			Γραμμικότητα	
Μέση υπολογιζόμενη [Γλυκόζη], 10 ⁻³ % w/w	Σχετική τυπική απόκλιση (CV%)	Θεωρητική [Γλυκόζη], 10 ⁻³ % w/w	Μετρούμενη [Γλυκόζη], 10 ⁻³ % w/w	Μεροληψία (Bias) %	R2	Linear range, 10 ⁻³ % w/w
1,52	11,56	1,37	1,52	+11,06	≥ 0,991 (n=3)	0,00 - 6,37
4,75	1,68	4,55	4,75	+4,37		

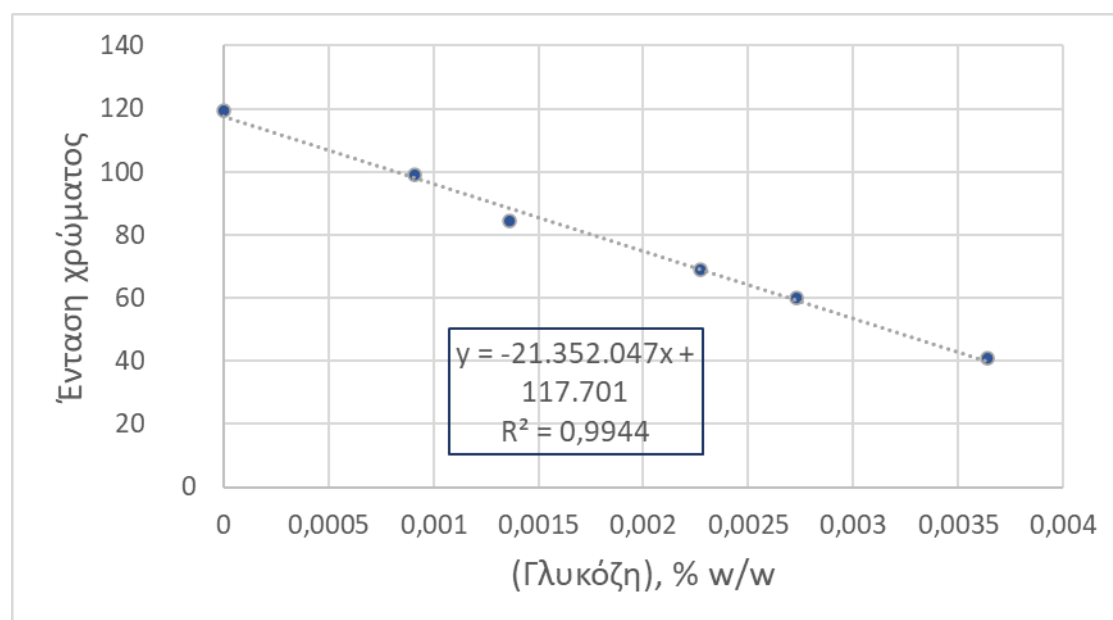
Πίνακας 11. Τεχνικά χαρακτηριστικά της προτεινόμενης μεθοδολογίας κατά τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης στο γαλάκτωμα Α.

3.4. ΠΕΙΡΑΜΑ IV ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Ομοίως με το προηγούμενο πείραμα, η ανάλυση φωτογραφιών (όπως αυτής της εικόνας 17) των δειγμάτων του σαμπουάν κατέδειξε τη γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης της μπλε συνιστώσας του χρώματος με την % w/w συγκέντρωση της γλυκόζης στα πρότυπα (Διάγραμμα 4). Η καλή προσέγγιση της παρατηρούμενης συμπεριφοράς στο γραμμικό μοντέλο καταδεικνύεται από την υψηλή τιμή του συντελεστή συσχέτισης R^2 ($R^2 \geq 0.994$, σε 1 επανάληψη) και τις αποδεκτές τιμές μεροληψίας που λήφθηκαν για τα πρότυπα κατά τον ανάστροφο υπολογισμό της συγκέντρωσής τους (σε όλες τις περιπτώσεις $\leq 14,12$).



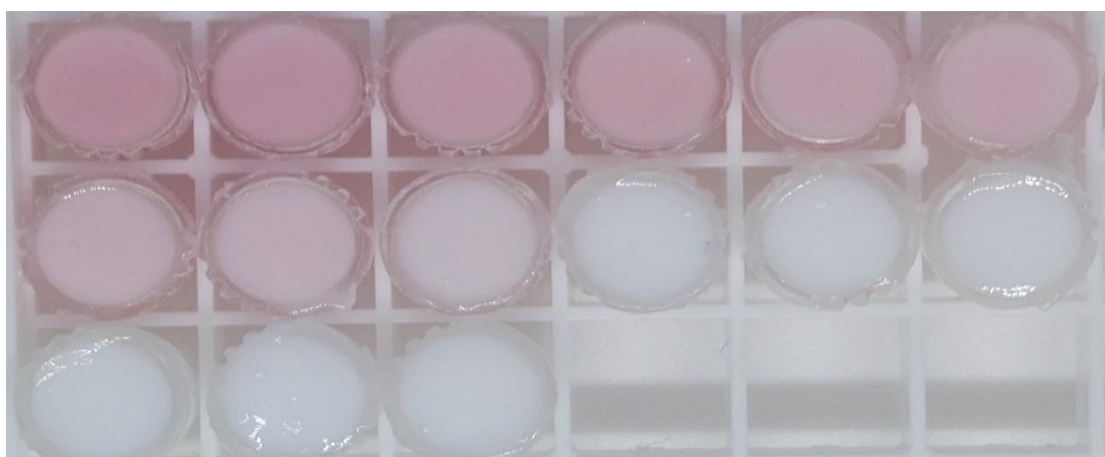
Εικόνα 17. Εικόνα της διάταξης κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε σαμπουάν, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.



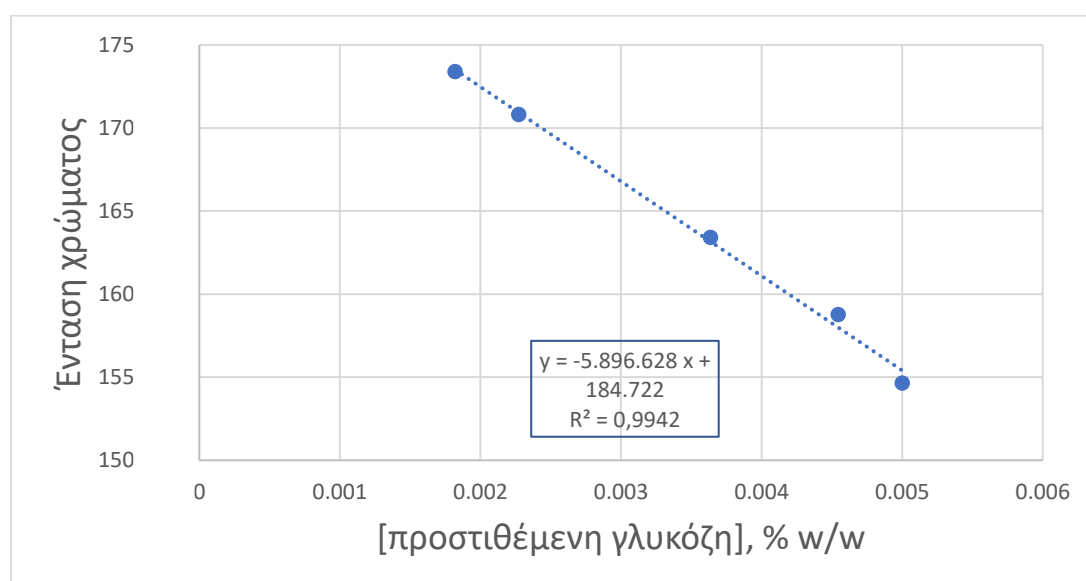
Διάγραμμα 4. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο σαμπουάν.

3.5. ΠΕΙΡΑΜΑ V ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Η ανάλυση φωτογραφιών (όπως αυτής της εικόνας 18) των προτύπων σε γαλάκτωμα Β, που προέκυψαν με τη μέθοδο σταθερών προσθηκών, κατέδειξε τη γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης της μπλε συνιστώσας του χρώματος με την % w/w συγκέντρωση της γλυκόζης στα πρότυπα (Διάγραμμα 5.). Η καλή προσέγγιση της παρατηρούμενης συμπεριφοράς στο γραμμικό μοντέλο καταδεικνύεται από την υψηλή τιμή του συντελεστή συσχέτισης R^2 ($R^2 \geq 0,993$, σε 1 επανάληψη) και τις αποδεκτές τιμές μεροληψίας που λήφθηκαν για τα πρότυπο κατά τον ανάστροφο υπολογισμό της συγκέντρωσής τους (σε όλες τις περιπτώσεις $\leq \pm 29\%$). Με βάση την πρότυπη καμπύλη αναφοράς προέκυψε ότι η άγνωστη συγκέντρωση στο γαλάκτωμα Β ήταν κατά 125% μεγαλύτερη της θεωρητικής, γεγονός που υποδεικνύει την περιορισμένη ακρίβεια της μεθοδολογίας καρά την εφαρμογή της μεθόδου των σταθερών προσθηκών.



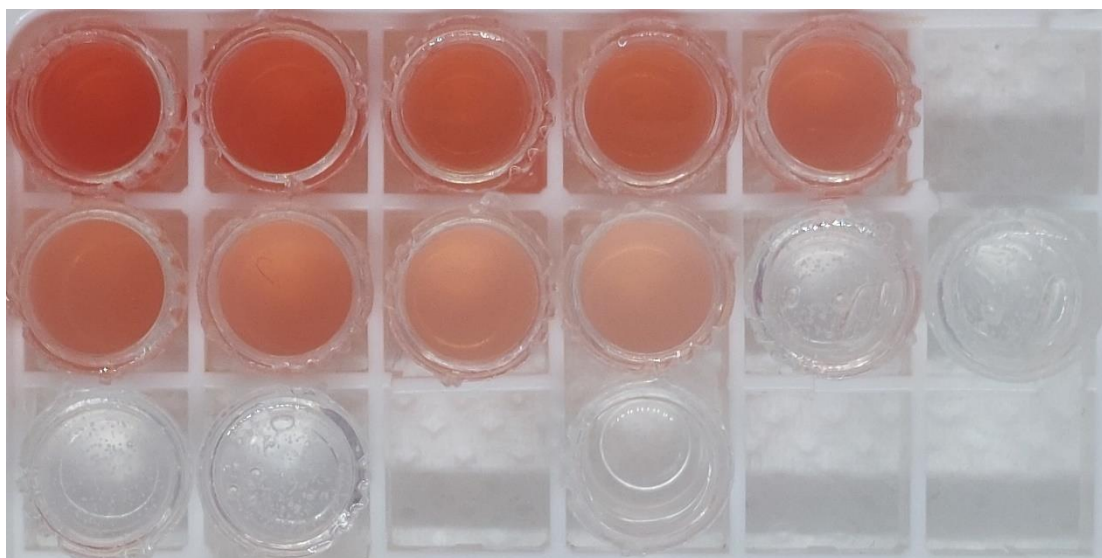
Εικόνα 18. Εικόνα της διάταξης κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα Β, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.



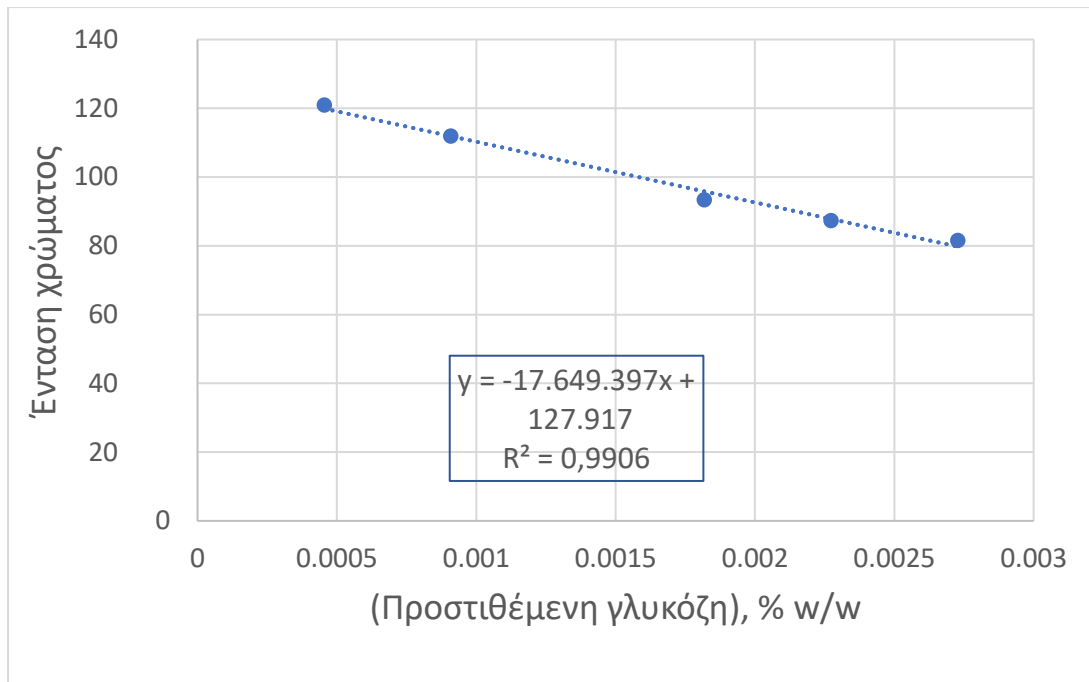
Διάγραμμα 5. Διάγραμμα έντασης μέσου όρου RGB συνιστωσών χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα Β .

3.6. ΠΕΙΡΑΜΑ VI ΓΛΥΚΟΖΗΣ

Ομοίως με το προηγούμενο πείραμα, η ανάλυση φωτογραφιών (όπως αυτής της εικόνας 19) των δειγμάτων του αντισηπτικού τζελ, κατέδειξε τη γραμμική συσχέτιση μεταξύ της έντασης της μπλε συνιστώσας του χρώματος με την % w/w συγκέντρωση της γλυκόζης στα πρότυπα (Διάγραμμα 6) που προέκυψαν με τη μέθοδο των σταθερών προσθηκών. Η μετρίως καλή προσέγγιση της παρατηρούμενης συμπεριφοράς στο γραμμικό μοντέλο καταδεικνύεται από την υψηλή τιμή του συντελεστή συσχέτισης R^2 ($R^2 > 0,989$ σε 2 επαναλήψεις) και τις αποδεκτές τιμές μεροληψίας που λήφθηκαν για τα πρότυπο κατά τον ανάστροφο υπολογισμό της συγκέντρωσής τους (σε όλες τις περιπτώσεις ≤ 15.5). Με βάση την πρότυπη καμπύλη αναφοράς προέκυψε ότι η άγνωστη συγκέντρωση στο αντισηπτικό τζελ ήταν κατά +48.8 % μεγαλύτερη της θεωρητικής, γεγονός που υποδεικνύει την περιορισμένη ακρίβεια της μεθοδολογίας καρά την εφαρμογή της μεθόδου των σταθερών προσθηκών.



Εικόνα 19. Εικόνα της διάταξης κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε τζελ η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.



Διάγραμμα 6. Διάγραμμα έντασης της πράσινης συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της προστιθέμενης γλυκόζης στο αντισηπτικό τζελ.

4. Συζήτηση- Συμπεράσματα

Η ταχεία ανάπτυξη της βιομηχανίας των καλλυντικών έχει δημιουργήσει την ανάγκη για γρήγορες, φθηνές, ακριβείς και αξιόπιστες μεθόδους ποσοτικοποίησης συστατικών καλλυντικών προϊόντων. Στην εργασία αυτή προτείνουμε μια μέθοδο ανίχνευσης και ποσοτικού προσδιορισμού συστατικών απευθείας μέσα στο προϊόν, μέσω ειδικής χρωματομετρικής αναλυτικής τεχνικής. Η προτεινόμενη μέθοδος βασίζεται αποκλειστικά στην χρήση κάμερας κινητού τηλεφώνου για την αποτύπωση του χρώματος έγχρωμου ειδικού παραγώγου της υπό προσδιορισμό ουσίας και δεν απαιτεί ενόργανη ανάλυση. Σε προηγούμενη εργασία αποδείχθηκε η εφαρμογή της συγκεκριμένης μεθόδου στον ακριβή και αναπαραγωγίμο προσδιορισμό της ουρίας σε ποικίλες καλλυντικές συνθέσεις (εργασία υπό δημοσίευση). Για την διερεύνηση της ευρύτερης εγκυρότητας/εφαρμοσιμότητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας δόθηκε στην παρούσα εργασία έμφαση στον προσδιορισμό δύο μορίων/μοντέλων του μεθυλ-παραβενίου και της γλυκόζης.

Καθώς η αντίδραση ανίχνευσης του μεθυλ-παραβενίου αποδείχθηκε μη ειδική, η μελέτη της εγκυρότητας της προτεινόμενης μεθοδολογίας περιορίστηκε στον προσδιορισμό της γλυκόζης σε διάφορες καλλυντικοτεχνικές μορφές.

Από την εισαγωγή της εργασίας αυτής αποκαλύφθηκε ότι η ανίχνευση/ποσοτικός προσδιορισμός της γλυκόζης στα πλαίσια του ποιοτικού ελέγχου έχει σημασία σε καλλυντικές/φαρμακευτικές συνθέσεις που προορίζονται για την περιποίηση και επούλωση εκτεταμένων πληγών (σε μετεγχειρητικούς ασθενείς και διαβητικούς ασθενείς). Επιπλέον μπορεί να είναι σημαντικός στα προϊόντα που απευθύνονται στην αντιμετώπιση της ακμής: Επάνω στο δέρμα ανιχνεύονται ποικίλοι μικροοργανισμοί οι οποίοι καθιστούν το μικροβίωμα του δέρματος ιδιαίτερα περίπλοκο, με τυχόν διαταραχές του να οδηγούν στην επιδείνωση της ακμής. Έτσι γεννάται το ερώτημα αν η τροφοδοσία του δέρματος με γλυκόζη λόγω της εντατικής εφαρμογής δερμοκαλλυντικών προϊόντων, διαταράσσει το μικροβίωμα αυτό αφού η γλυκόζη αποτελεί για αυτό σημαντική πηγή ενέργειας. Θα είχε πολύ μεγάλο ενδιαφέρον να γίνουν ανάλογες έρευνες, για την επιρροή που έχουν τα καλλυντικά προϊόντα με γλυκόζη, στο ακνεϊκό δέρμα. Όπως έχει προαναφερθεί η γλυκόζη μπορεί να βρίσκεται κρυμμένη στα συστατικά των καλλυντικών προϊόντων λόγω των φυτικών εκχυλισμάτων που αυτά περιέχουν και πολύ σπάνια να αναφέρεται με ακρίβεια στη σύνθεση του καλλυντικού προϊόντος, κάτι που καθιστά ακόμα πιο σημαντικό τον προσδιορισμό της στα πλαίσια του ποιοτικού ελέγχου.

Από τα δύο κιόλας πρώτα πειράματα αποκαλύφθηκε ότι 33 από τα 50 προϊόντα βρέθηκαν να είναι θετικά σε γλυκόζη. Τα προϊόντα αυτά δεν ήταν ειδικά, ούτε για διαβητικούς ούτε για ακνεϊκά δέρματα και για την συντριπτική πλειοψηφία αυτών η γλυκόζη δεν είχε προστεθεί ως διακριτό συστατικό στη σύνθεση, παρά ως πρόσμιξη φυσικών εκχυλισμάτων/συστατικών.

Η πτυχιακή εργασία κατέδειξε τη γραμμική συσχέτιση της έντασης του αποτυπωμένου στη φωτογραφία χρώματος από την κάμερα με τη συγκέντρωση της

γλυκόζης στην καλλυντική σύνθεση ($R^2 \geq 0,915$). Ανάλυση δύο δειγμάτων ελέγχου απέδειξε την ικανοποιητική ακρίβεια ($\text{bias} \leq \pm 11.06$) και αναπαραγωγιμότητα ($\text{CV} \leq 11.56\%$) της μεθόδου. Η γραμμική περιοχή της μεθόδου εκτείνεται εντός περιορισμένης περιοχής συγκεντρώσεων ($0.00-6,37 \cdot 10^{-3}$ w/w γλυκόζης) σε σχέση με την αναμενόμενη συγκέντρωση της γλυκόζης στα καλλυντικά, γεγονός που υποδεικνύει την ανάγκη αραιώσης των αναλυόμενων δειγμάτων πριν την ανάλυση. Η αραιώση μειώνει πολύ σημαντικά τη συνεισφορά του χρώματος του υποβάθρου, επιτρέποντας την εφαρμογή της μεθοδολογίας ακόμα και σε έγχρωμες καλλυντικοτεχνικές μορφές. Ανάλυση καλλυντικών δειγμάτων ελέγχου (αντισηπτικό τζελ και O/W γαλάκτωμα) με την μέθοδο των σταθερών προσθηκών παρείχε χαμηλή ακρίβεια προσδιορισμού ($\text{bias} +49\%$ και $+125\%$ αντίστοιχα) στις δύο μήτρες.

Μετάπειτα πειράματα, εκτός του πλαισίου αυτής της διπλωματικής, κατέδειξαν ότι η χαμηλή ακρίβεια οφείλεται στην μη διαθεσιμότητα του κατάλληλου (αντιπροσωπευτικού) μηδενικού δείγματος. Ανάλυση δειγμάτων ελέγχου με υψηλότερες συγκεντρώσεις γλυκόζης ($>1\%$) μετά από 1:1000 αραιώση σε «αραιωτικό γαλάκτωμα», επέτρεψαν τη δημιουργία αντιπροσωπευτικού μηδενικού δείγματος και τον ακριβή προσδιορισμό της περιεχόμενης γλυκόζης σε γαλάκτωμα ($\text{bias} < \pm 10\%$)

Η κατάργηση της ανάγκης για εκχύλιση των υπό προσδιορισμό ουσιών και της ενόργανης ανάλυσης στην ανάλυση καλλυντικών συνθέσεων είχε μεγάλα πλεονεκτήματα στην προτεινόμενη μέθοδο, μειώνοντας σημαντικά το κόστος, τη διάρκεια και την πολυπλοκότητα της ανάλυσης. Το εύρος της εφαρμοσιμότητας της προσέγγισης για τον ποσοτικό προσδιορισμό περαιτέρω καλλυντικών, γαληνικών ή ακόμη και συστατικών τροφίμων σε γαλακτώματα, ικανά να παράγουν ένα ειδικό έγχρωμο προϊόν αντίδρασης εντός της σύνθεσης, παραμένει προς μελέτη.

Βιβλιογραφία

1. Fan, Yajun et al. "Digital image colorimetry on smartphone for chemical analysis: A review." *Measurement* 171 (2021): 108829.
2. Petric Z., Ružić J. and Žuntar I. (2021) The controversies of parabens – an overview nowadays. *Acta Pharmaceutica*, Vol.71 (Issue 1), pp. 17-32.
<https://doi.org/10.2478/acph-2021-0001>
3. Piao, Chunying, Ligang Chen, and Yu Wang. "A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens." *Journal of Chromatography B* 969 (2014): 139-148.
4. Fransway AF, Fransway PJ, Belsito DV, Warshaw EM, Sasseville D, Fowler JF Jr, DeKoven JG, Pratt MD, Maibach HI, Taylor JS, Marks JG, Mathias CGT, DeLeo VA, Zirwas JM, Zug KA, Atwater AR, Silverberg J, Reeder MJ. Parabens. *Dermatitis*. 2019 Jan-Feb;30(1):3-31. doi: 10.1097/DER.0000000000000429. PMID: 30570578.
5. Soni MG, Taylor SL, Greenberg NA, Burdock GA. Evaluation of the health aspects of methyl paraben: a review of the published literature. *Food Chem Toxicol*. 2002 Oct;40(10):1335-73. doi: 10.1016/s0278-6915(02)00107-2. PMID: 12387298.
6. Brand, Walter & Boon, Polly & Hessel, Ellen & Meesters, Johannes & Weda, M. & Schuur, A.. (2018). Exposure to and toxicity of methyl-, ethyl- and propylparaben: A literature review with a focus on endocrine-disrupting properties. 10.21945/RIVM-2017-0028.
7. Piao C, Chen L, Wang Y. A review of the extraction and chromatographic determination methods for the analysis of parabens. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2014 Oct 15;969:139-48. doi: 10.1016/j.jchromb.2014.08.015. Epub 2014 Aug 15. PMID: 25173495.
8. David L. Nelson and Michael M. Cox, (1992), Βασικές Αρχές Βιοχημείας, σελ. 218, επιμέλεια Παπαβασιλείου Αθανάσιος Γ., έκδοση 2η, εκδόσεις Broken Hill & Π.Χ. Πασχαλίδης.
9. Marc Loudon, Jim Parise, (2016), Οργανική Χημεία, σελ. 987, επιμέλεια Θωμάς Μ. Μαυρομούστακος, έκδοση 1^η, εκδόσεις Broken Hill & Π.Χ. Πασχαλίδης.
10. Hantzidiamantis PJ, Lappin SL. Physiology, Glucose. [Updated 2022 Sep 19]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545201/>
11. Gurung P, Zubair M, Jialal I. Plasma Glucose. [Updated 2023 Jan 18]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK541081/>
12. International Diabetes Federation. IDF Diabetes Atlas, 10th edn. Brussels, Belgium: 2021. Available at: <https://www.diabetesatlas.org>
13. Murphy-Chutorian B, Han G, Cohen SR. Dermatologic manifestations of diabetes mellitus: a review. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 2013 Dec;42(4):869-98. doi: 10.1016/j.ecl.2013.07.004. PMID: 24286954.

14. Lee SH, Bae I-H, Lee E-S, Kim H-J, Lee J, Lee CS. Glucose Exerts an Anti-Melanogenic Effect by Indirect Inactivation of Tyrosinase in Melanocytes and a Human Skin Equivalent. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(5):1736. <https://doi.org/10.3390/ijms21051736>
15. Fiume MM, Bergfeld WF, Belsito DV, Hill RA, Klaassen CD, Liebler DC, Marks JG Jr, Shank RC, Slaga TJ, Snyder PW, Gill LJ, Heldreth B. Safety Assessment of Monosaccharides, Disaccharides, and Related Ingredients as Used in Cosmetics. *Int J Toxicol*. 2019 May/Jun;38(1_suppl):5S-38S. doi: 10.1177/1091581818814189. PMID: 31170840.
16. Ackermann, Chrisita, Flynn, Gordon L. (1987/04)."Ether-water partitioning and permeability through nude mouse skin in vitro. I. Urea, thiourea, glycerol and glucose." *International Journal of Pharmaceutics* 36(1): 61-66. <<http://hdl.handle.net/2027.42/26741>>
17. Ghosn MG, Sudheendran N, Wendt M, Glasser A, Tuchin VV, Larin KV. Monitoring of glucose permeability in monkey skin in vivo using Optical Coherence Tomography. *J Biophotonics*. 2010 Jan;3(1-2):25-33. doi: 10.1002/jbio.200910075. PMID: 19824024; PMCID: PMC2913417.
18. Diabetic Wound-Healing Science Jamie L. Burgess, W. Austin Wyant, Beatriz Abdo Abujamra, Robert S. Kirsner,* and Ivan Jozic*
19. (The effect of local hyperglycemia on skin cells in vitro and on wound healing in Euglycemic rats, Carla R. Kruse, M.D., Mansher Singh, MD, Jens A. Sørensen, M.D., Ph.D., Elof Eriksson, M.D., Ph.D., Kristo Nuutila, Ph.D)).
20. Use of Sugar on the Healing of Diabetic Ulcers: A Review September 2010 *Journal of Diabetes Science and Technology* 4(5):1139-45, DOI: 10.1177/).
21. Rocha MA, Bagatin E. Skin barrier and microbiome in acne. *Arch Dermatol Res*. 2018 Apr;310(3):181-185. doi: 10.1007/s00403-017-1795-3. Epub 2017 Nov 17. PMID: 29147769.
22. Nina Parker, Mark Schneegurt, Anh-Hue Thi Tu, Philip Lister, Brian M. Forster, 2016 , *Microbiology*, 1st edition, OpenStax, <https://openstax.org/books/microbiology/pages/7-2-carbohydrates>
23. A.L. Galant, R.C. Kaufman, J.D. Wilson, Glucose: Detection and analysis, *Food Chemistry*, Volume 188, 2015, Pages 149-160, ISSN 0308-8146, <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.071>.

Παράρτημα

Κατάλογος φωτογραφιών

Εικόνα 1. Φωτογραφία που λήφθηκε κατά την διάρκεια της πειραματικής διαδικασίας όταν τοποθετούταν τα δείγματα των προϊόντων μέσα στα Eppendorf.

Εικόνα 2. Πανοραμική φωτογραφία της τριπλέτας.

Εικόνα 3. Φωτογραφία μετά την ολοκλήρωση του πειράματος IV μέσα στο φωτογραφικό θάλαμο.

Εικόνα 4. Φωτογραφία που λήφθηκε στο τέλος του πειράματος V μέσα σε φωτογραφικό θάλαμο.

Εικόνα 5. Φωτογραφία που λήφθηκε μετά το τέλος του πειράματος VI, μέσα στο φωτογραφικό θάλαμο.

EIKONA 6. Φωτογραφία δειγμάτων 1-10 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.

EIKONA 7. Φωτογραφία δειγμάτων 1-10 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.

EIKONA 8. Φωτογραφία δειγμάτων 11-20 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.

EIKONA 9. Φωτογραφία δειγμάτων 11-20 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.

EIKONA 10. Φωτογραφία δειγμάτων 21-30 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.

EIKONA 11. Φωτογραφία δειγμάτων 21-30 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.

EIKONA 12. Φωτογραφία δειγμάτων 31-42 προτού προστεθεί αντιδραστήριο WR.

EIKONA 13. Φωτογραφία δειγμάτων 31-42 μετά από 10 λεπτά αφού προστέθηκε αντιδραστήριο WR.

Εικόνα 14. Εικόνα τριπλέτας 1 από 3 κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα A, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Εικόνα 15. Εικόνα τριπλέτας 2 από 3 κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα A, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Εικόνα 16. Εικόνα τριπλέτας 3 από 3 κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα A, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Εικόνα 17. Εικόνα της διάταξης κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε σαμπουάν , η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Εικόνα 18. Εικόνα της διάταξης κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε γαλάκτωμα Β, η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Εικόνα 19. Εικόνα της διάταξης κατά τον προσδιορισμό της γλυκόζης σε τζελ η οποία αναλύθηκε στο imageJ και χρησιμοποιήθηκε για την εξαγωγή των αποτελεσμάτων.

Κατάλογος Πινάκων

Πίνακας 1. Σύνθεση γαλακτώματος Α.

Πίνακας 2. Δεδομένα πειράματος ΙΙΙ.

Πίνακας 3. Σύνθεση σαμπουάν.

Πίνακας 4. Δεδομένα πειράματος ΙV.

Πίνακας 5. Σύνθεση γαλακτώματος Β.

Πίνακας 6. Δεδομένα πειράματος V.

Πίνακας 7. Σύνθεση αντισηπτικού.

Πίνακας 8. Δεδομένα πειράματος VI.

Πίνακας 9. Τα 50 καλλυντικά προϊόντα που ελέγχθηκαν για την παρουσία γλυκόζης. Αναφέρονται ο τύπος του προϊόντος, η ποσότητα του αντιδραστηρίου που προστέθηκε και τα αποτελέσματα σχετικά με την παρουσία ή όχι γλυκόζης.

Πίνακας 10. Νέα αποτελέσματα του πίνακα 9, μετά την περαιτέρω διαλεύκανση της ύπαρξης γλυκόζης σε συγκεκριμένα έγχρωμα δείγματα, κατόπιν αραίωσης αυτών.

Πίνακας 11. Τεχνικά χαρακτηριστικά της προτεινόμενης μεθοδολογίας κατά τον ποσοτικό προσδιορισμό της γλυκόζης στο γαλάκτωμα Α

Κατάλογος σχημάτων

Σχήμα 1. Κυκλική αναπαράσταση Γλυκόζης.

Σχήμα 2. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 2 (Α/Μ) με την εικόνα 2.

Σχήμα 3. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 4 (Α/Μ) με την εικόνα 3.

Σχήμα 4. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 6 (A/M) με την εικόνα 4.

Σχήμα 5. Σχηματική αναπαράσταση και αντιστοίχιση δεδομένων πίνακα 8 (A/M) με την εικόνα 5.

Κατάλογος διαγραμμάτων

Διάγραμμα 1. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα A στην πρώτη τριπλέτα.

Διάγραμμα 2. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα A στην δεύτερη τριπλέτα.

Διάγραμμα 3. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα A στην τρίτη τριπλέτα.

Διάγραμμα 4. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο σαμπουάν.

Διάγραμμα 5. Διάγραμμα έντασης μπλε συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της γλυκόζης στο γαλάκτωμα B.

Διάγραμμα 6. Διάγραμμα έντασης της πράσινης συνιστώσας του χρώματος σε συνάρτηση με την περιεκτικότητα της προστιθέμενης γλυκόζης στο αντισηπτικό τζελ.