

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ANJA VRHOVEC

## **MAGISTRSKO DELO**

MAGISTRSKI ŠTUDIJSKI PROGRAM INDUSTRIJSKA FARMACIJA

Ljubljana, 2019

UNIVERZA V LJUBLJANI  
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ANJA VRHOVEC

Opis razvoja kozmetičnega izdelka in priprava  
dokumentacije v skladu z zakonodajo

Description of cosmetic product development and  
preparation of documentation in accordance with legislation

Ljubljana, 2019

Magistrsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo v Ljubljani pod mentorstvom prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

*Zahvaljujem se svoji mentorici prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm., ki mi je s strokovnimi nasveti in koristnimi informacijami, kljub časovni stiski bila v veliko pomoč. Zahvaljujem se tudi družini in fantu, ki so mi ob času študija in nastajanju magistrskega dela spodbujali in podpirali.*

Izjavljam, da sem magistrsko delo samostojno izdelala pod vodstvom prof. dr. Mirjana Gašperlin, mag. farm.

Anja Vrhovec

## Vsebina

POVZETEK .....	iii
ABSTRACT .....	v
SEZNAM OKRAJŠAV .....	vii
1 UVOD .....	1
1.1 KOŽA - MESTO DELOVANJA KOZMETIČNIH IZDELKOV .....	2
1.1.1 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA KOŽNO BARIERO .....	3
1.2 NAČRTOVANJE KOZMETIČNEGA IZDELKA .....	5
1.2.1 IZBOR SESTAVIN .....	7
1.2.2 DOKUMENTACIJA Z INFORMACIJAMI O KOZMETIČNEM IZDELKU .....	10
1.2.3 POROČILO O VARNOSTI KOZMETIČNEGA IZDELKA .....	10
1.2.4 VSEBINA ETIKETE .....	15
1.2.5 PRIGLASITEV NA CPNP .....	15
2 NAMEN DELA .....	16
3 MATERIALI IN METODE .....	17
4 EKSPERIMENTALNO DELO .....	19
4.1 NAČRTOVANJE FORMULACIJE .....	19
4.2 IZDELAVA FORMULACIJE .....	20
4.3 UMERJANJE pH .....	21
4.4 STABILNOSTNE ŠTUDIJE .....	21
4.5 MIKROBIOLOŠKA ŠTUDIJA .....	23
5 REZULTATI .....	26
5.1 IZBOR SESTAVIN .....	26
5.2 DOKUMENATACIJA Z INFORMACIJAMI O KOZMETIČNEM IZDELKU .....	33
5.2.1 OPIS KOZMETIČNEGA IZDELKA .....	33
5.2.2 OPIS PROIZVODNJE IN IZJAVA O PROIZVODNJI V SKLADU Z DOBRO PROIZVODNO PRAKSO (DPP) .....	34
5.2.3 DOKAZILA O UČINKIH .....	35
5.2.4 TESTIRANJE NA ŽIVALIH .....	35
5.2.5 POROČILO O VARNOSTI KOZMETIČNEGA IZDELKA .....	35
6 RAZPRAVA .....	50
7 SKLEP .....	52
8 VIRI IN LITERATURA .....	53

## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Kriterij za doseg mikrobiološke ustreznosti kozmetičnih izdelkov .....	12
Preglednica II: Pregled polysinteznih emulgatorjev in koemulgatorjev, ki se uporabljajo v naravni kozmetiki .....	17
Preglednica III: Izbor sestavin za izdelavo kreme za nego telesa .....	19
Preglednica IV: Formulacija kozmetičnega izdelka .....	20
Preglednica V: Sestava arganovega olja in pregled delovanja maščobnih kislin .....	26
Preglednica VI: Sestava karitejevega masla in pregled delovanja maščobnih kislin .....	27
Preglednica VII: Rezultati fotostabilnostne študije .....	30
Preglednica VIII: Izhlapevanje vode/vsebine izdelka iz embalaže .....	31
Preglednica IX: Rezultati študije mikrobiološke kakovosti izdelka .....	31
Preglednica X: Rezultati izzivnega preskusa učinkovitosti konzervansa .....	32
Preglednica XI: kvalitativna in kvantitativna sestava kreme za telo CVET .....	35
Preglednica XII: Sestava eteričnega olja pelargonije .....	38
Preglednica XIII: Alergeni prisotni v eteričnem olju pelargonije .....	38
Preglednica XIV: Izpostavljenost kozmetičnem izdelku povzeta po smernicah ZOVPT .....	40
Preglednica XV: Izpostavljenost sestavinam v kozmetičnem izdelku .....	41
Preglednica XVI: Koncentracija alergenov v kozmetičnem izdelku .....	41
Preglednica XVII: Vsebnost alergenov v eteričnem olju pelargonije in toksikološki parametri .....	45
Preglednica XVIII: Pretvorba peroralnega NOAEL v sistemski NOAEL .....	46
Preglednica XIX: Meja varne uporabe (MoS) .....	47

## POVZETEK

Trend v kozmetični industriji narekujejo potrošniki. Zaradi svoje vedno večje ozaveščenosti o varovanju okolja in zdravja, potrošniki vedno bolj posegajo po kozmetiki iz naravnih sestavin (t.j. naravni kozmetiki). Kozmetični trg kljub neugodnim gospodarskim razmeram v preteklih letih še vedno izkazuje dobro rast. Zaradi dobrih ekonomskih kazalcev in povečanega povpraševanja po naravni kozmetiki veliko ljudi vidi v tem zanimivo podjetniško izkušnjo. V zadnjih letih se je tako v Sloveniji razvilo kar nekaj butičnih proizvajalcev naravne kozmetike. V Evropi največji tržni delež predstavljajo kozmetični izdelki za nego kože, kjer med tehnološkimi oblikami prevladuje emulzija.

Emulzija je sestavljena iz treh osnovnih komponent – notranje faze, zunanje faze in emulgatorja, vendar to nikakor ni dovolj, da izdelamo varen, učinkovit in stabilen kozmetični izdelek. Za izboljšanje učinka se lahko dodajo kozmetično aktivne sestavine. Pospeševalce penetracije uporabimo za izboljšanje prehoda aktivne kozmetične sestavine v kožo. Fizikalno stabilnost izboljšamo z uporabo zgoščeval. Da bo kozmetični izdelek mikrobiološko neoporečen, moramo obvezno uporabiti ustrezen konzervans.

Namen magistrske naloge je opisati postopek načrtovanja izdelave kozmetičnega izdelka ter predstaviti obveznosti in dolžnosti odgovorne osebe (v našem primeru proizvajalca), ki daje izdelek v promet. Izdelali smo kremo za nego kože z učinkom vlaženja (emulzija O/V) in težili k uporabi čim bolj naravnih sestavin. Za zunanjo fazo smo uporabili destilirano vodo, za notranjo fazo pa karitejevo maslo in arganovo olje. Kot emulgator smo uporabili Olivem® 1000, ki tvori tekoče kristale. Glicerol, allantoin in koko kaprilat smo dodali kot vlažila. Allantoin ima poleg svojih vlažilnih lastnosti tudi keratoplastično delovanje (mehča poroženelo plast). Koko kaprilat pa dodatno izboljša tudi mazljivost emulzije. Emulzijo smo mikrobiološko zaščitili s konzervansom Cosgard in kalijevim sorbatom. Mikrobiološko zaščito smo dokazali s testom mikrobiološke kakovosti izdelka in izzivnim preskusom učinkovitosti konzervansa. Za izboljšanje vonja smo uporabili eterično olje pelargonije. Končna formulacija je imela pH v alkalnem območju, zato smo uporabili raztopino citronske kisline in ga znižali na 5,5.

Končni izdelek pa mora biti učinkovit in varen za uporabo skozi daljši čas. Varnost kozmetičnega izdelka dokažemo z izdelavo poročila o varnosti. Poročilo je sestavljeno iz dveh delov: A in B. Del A je sestavljen iz 10 točk. Za varnost kozmetičnega izdelka je bistvena točka 8, kjer smo pregledali toksikološke profile za vse uporabljene sestavine in izračunali mejo varne uporabe. Vse uporabljene sestavine so v skladu z Uredbo 1223/2009/ES in so varne oziroma

uporabljene v varnih koncentracijah. V drugem delu smo obrazložili svoj zaključek ocene na podlagi informacij iz dela A. Ugotovili smo, da je izdelek varen za zdravje ljudi in ustrezen za prodajo na slovenskem trgu. Poročilo o varnosti kozmetičnega izdelka je del dokumentacije z informacijami o kozmetičnem izdelku, kar mora proizvajalec hraniti še 10 let po tem ko je zadnja serija izdelkov bila dana na trg.

Ko imamo urejeno vso dokumentacijo, moramo izdelek še priglasiti na CPNP portalu. To lahko opravimo preko spleta in je brezplačno.

Izdelana emulzija je fizikalno stabilna in ustreza mikrobioloških kriterijem. Varnost izdelka smo dokazali z izdelavo poročila o varnosti. Zaključimo lahko, da je izdelek varen za uporabo in se lahko prodaja na slovenskem trgu. Dodatno bi lahko analizirali še učinkovitost kozmetičnega izdelka (izboljšanje hidratacije kože na podlagi kapacitivnosti ali prevodnosti) ter pridobili certifikat za naravno kozmetiko.

Ključne besede: kozmetičen izdelek, formulacija, dokumentacija z informacijami o kozmetičnem izdelku, poročilo o varnosti kozmetičnega izdelka

## ABSTRACT

The trend in the cosmetics industry is dictated by consumers themselves. Due to the increasing consumer awareness of environmental and health protection, consumers are increasingly resorting to cosmetics made from natural ingredients (i.e. natural cosmetics). Despite the adverse economic conditions, the cosmetic market is still showing strong growth in recent years. Due to good economic indicators and increased demand for natural cosmetics, many people see this as an interesting entrepreneurial experience. In recent years Slovenia got quite a few boutique manufacturers of natural cosmetic. Skin care products have the largest European market share, where emulsion is the dominant technological form.

The emulsion is made up of three basic components - the inner phase, the outer phase and the emulsifier, but this is by no means sufficient to produce a safe, effective and stable cosmetic product. Cosmetically active ingredients may be added to enhance the effect of cosmetic product. Penetration enhancers are used to enhance the penetration of the active cosmetic ingredient and improve skin feel. Stability is improved by using thickeners. Cosmetic product must be microbiologically safe, so the appropriate preservative must be used.

In our formulation of moisturizing skin care cream (O / V emulsion), we tended to use as many natural ingredients as possible. Distilled water was used for the outer phase and shea butter and argan oil for the inner phase. Olivem® 1000 was used as the emulsifier. Glycerol, allantoin and coco caprylate were used as moisturizers. In addition to its moisturizing properties, allantoin has also a keratoplastic action (softens the stratum corneum). In addition to the moisturizing effect, coco caprylate also improves the lubricity of the emulsion. The emulsion was microbiologically protected with Cosgard preservative and potassium sorbate. Microbiological protection was proven by testing the microbiological quality and challenge test. Pelargonium essential oil was used to improve the smell. The final formulation had a pH in the alkaline range, so a citric acid solution was used and reduced its pH to 5.5.

However, the finished product must be effective and safe to use over time. The safety of a cosmetic product is proven by safety report of cosmetic product. The report consists of two parts: A and B. Part A consists of 10 points. The point 8 is essential for the safety of the cosmetic product, where we have examined the toxicological profiles for all ingredients used and calculated the margin of safety. All ingredients used are in accordance with Regulation 1223/2009 / EC and are safe or used in safe concentrations. The calculated margin of safety of each ingredient was above 100, which is sufficient to ensure that the ingredient is safe. In the



second part, we explain our conclusion of the assessment based on the information in part A. We have determined that the product is safe for human health and suitable for sale on the Slovenian market. The cosmetic product safety report is part of the cosmetic product information file and must be retained by the manufacturer for 10 years after the last batch of products has been placed on the market.

Once we have all the documentation in order, we have to notify the product on the cosmetic product notification portal. This can be done online and is free of charge.

The emulsion produced is physically stable and meets microbiological criteria. Product safety was proven by making a safety report. We can conclude that the product is safe to use and can be sold on the Slovenian market. We could further analyze the effectiveness of the cosmetic product (improving skin hydration based on capacitance or conductivity) and obtain certification for natural cosmetics.

Key words: cosmetic product, formulation, product information file, cosmetic product safety report

## SEZNAM OKRAJŠAV

BMD (Benchmark Dose)- primerjalni odmerek

CIR (Cosmetic Ingredient Review) – pregled kozmetičnih sestavin

CPNP (Cosmetics Products Notification Portal) – portal za obveščanje o kozmetičnih izdelkih

DPP – dobra proizvodna praksa

ECHA – evropska agencija za kemikalije

FDA (Food And Drug Administration) - Agencije za hrano in zdravila

GRAS (Generally Recognized As Safe) – splošno priznано kot varno

KI – kozmetičen izdelek

LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) - najnižja raven, pri kateri je mogoče opaziti neželen učinek

LOEL (Lowest Observed Effect Level) - najnižja raven, pri kateri so opazni učinki

MO – mikroorganizem

MOS (Margin of Safety) - meja varne uporabe

NOAEL (No Observed Effect Level) - odmerek brez opaznega škodljivega učinka

NOEL (No Observed Effect Level) - raven, pri kateri ni opaznih učinkov

SED (Systemic Exposure Dosage) - odmerek sistemske izpostavljenosti

VSD - skoraj varen odmerek

ZOVP (Scientific Committee on Consumer Safety- angl. SCCS) – znanstveni odbor za varstvo potrošnikov

TEWL (Tranepidermal Water Loss) – tranepidermalna izguba vode

NMF (Natural Moisturizing Factor) – naravni vlažilni faktor

# 1 UVOD

Kozmetični izdelki so namenjeni stiku z zunanjimi deli človeškega telesa (povrhnjico, lasiščem, nohti, ustnicami in zunanjimi spolnimi organi) ali z zobmi in sluznico ustne votline zaradi izključno ali predvsem njihovega čiščenja, odišavljenja, spreminjanja njihovega videza, njihovega varovanja, ohranjanja v dobrem stanju ali korekcije telesnega vonja (1). V Evropi kozmetične izdelke dnevno uporablja skoraj vsak Evropejec in imajo bistveno vlogo v vseh življenjskih obdobjih ter vplivajo na našo samopodobo.

Evropski potrošnik naj bi po podatkih spletnega portala Cosmetics Europe na leto v povprečju porabil 132 EUR za nakup kozmetičnih izdelkov. Ugotovili so tudi, da obstaja tesna povezava med zneskom, ki ga potrošnik porabi za nakup kozmetičnih izdelkov, in bruto domačim proizvodom (BDP) na prebivalca. BDP je najobsežnejše merilo celotne ekonomske aktivnosti določene države. Visok BDP pomeni bolj razvito državo in gospodarsko rast. Zanimivo je, da starejše osebe porabijo več denarja za kozmetične izdelke kot mlajše. V Evropi ženske starejše od 65 let pripravijo kar trikrat več za kozmetične izdelke kot osebe mlajše od 25 let (2).

Svetovni kozmetični trg je v letu 2018 znašal 450,97 milijarde EUR, po ocenah pa naj bi do leta 2025 dosegel 673,64 milijarde EUR, kar pomeni 5,9 % stopnjo rasti na leto (3). Evropa je v svetovnem merilu vodilna na področju kozmetičnih izdelkov. Največji tržni delež v Evropi predstavlja Nemčija (13,8 milijarde EUR), sledijo pa Francija, Združeno kraljestvo in Španija. Največji delež na evropskem kozmetičnem trgu predstavljajo izdelki za nego kože, sledijo izdelki za osebno nego, izdelki za nego las, dišave in parfumi ter dekorativna kozmetika (4).

Evropska kozmetična industrija vsako leto prispeva vsaj 29 milijard EUR dodane vrednosti evropskemu gospodarstvu. Neposredni prispevek proizvodnje kozmetičnih izdelkov znaša 11 milijard EUR in 18 milijard EUR posredno preko dobavne verige (4).

Trende v kozmetični industriji narekujejo potrošniki. Zaradi vedno večje ozaveščenosti o varovanju okolja in zdravju posameznika potrošniki vedno bolj posegajo po kozmetiki iz naravnih sestavin. Kozmetični trg se prilagaja potrebam potrošnika, zato lahko danes na policah najdemo široko paleto naravne kozmetike. Ocenjena tržna vrednost svetovnega trga naravne kozmetike je bila v letu 2018 30,28 milijarde EUR in naj bi do leta 2027 dosegla 47,77 milijarde EUR. To pomeni, da je stopnja rasti 5,2 % na leto (5).

Kozmetični trg izkazuje dobro rast kljub neugodnim gospodarskim razmeram v preteklih letih. Zaradi pozitivnih ekonomskih kazalcev in porasta zanimanja za naravno kozmetiko veliko ljudi

vidi v tem zanimivo podjetniško izkušnjo. V Sloveniji se je v zadnjih letih razvilo kar nekaj domačih, butičnih proizvajalcev kozmetike. Pri izdelavi in prodaji kozmetičnih izdelkov pa moramo v Sloveniji upoštevati veljavno zakonodajo. Leta 2009 je v Sloveniji stopila v veljavo zakonodaja, ki je enotna na celotnem področju Evropske unije. Implementirana je v Uredbi (ES) št. 1223/2009 evropskega parlamenta in sveta z dne 30. novembra 2009 o kozmetičnih izdelkih (v nadaljevanju Uredba 1223/2009/ES) (1) .

Trditve, navedene na kozmetičnem izdelku ali promocijskem letaku morajo biti resnične in v skladu z Uredbo komisije (EU) št. 655/2013 o določitvi skupnih meril za utemeljitev navedb, uporabljenih v zvezi s kozmetičnimi izdelki (v nadaljevanju Uredba 655/2013/EU). Za lažje razumevanje Uredbe 655/2013/EU je podskupina za navedbe v okviru Evropske komisije pripravila smernice in jih poimenovala Tehnični dokument za navedbe na kozmetičnih izdelkih. Prepovedano je oglaševati funkcije ali lastnosti, ki jih kozmetični izdelki nimajo (6).

Načrtovanje kozmetičnega izdelka zahteva veliko znanja iz različnih področij: kozmetologije, farmacije, medicine, dermatologije, toksikologije, biologije, ... Končni izdelek pa mora biti učinkovit in varen za uporabo skozi daljši čas. Večina kozmetičnih izdelkov je zasnovanih tako, da za dosego učinka ni potrebno prodiranje skozi plasti kože, kar pomeni, da ostanejo na površini kože. Primer takih izdelkov so kozmetični izdelki, namenjeni vlaženju kože. Nekateri kozmetični izdelki pa so učinkoviti le, če prodrejo skozi vrhnje plasti kože vse do podkožja. Primer takih izdelkov so izdelki proti celulitu (7). V nobenem primeru pa sestavine v kozmetičnem izdelku ne smejo prehajati v sistemski krvni obtok. Razvoj kozmetičnih formulacij, ki omogočajo, da aktivne sestavine prodrejo v globlje plasti kože, hkrati pa ne dosežejo sistema krvnega obtoka, še danes predstavljajo izziv (8). Pri načrtovanju kozmetičnega izdelka je v prvem koraku potrebno dobro poznavanje mesta delovanja kozmetičnega izdelka – kože.

## 1.1 KOŽA - MESTO DELOVANJA KOZMETIČNIH IZDELKOV

Koža prekriva celotno telo in je naš največji organ. Njena glavna naloga je, da ščiti naše notranje telo pred zunanjimi vplivi iz okolja. Deluje kot pregrada za eksogene molekule in mikroorganizme ter vzdržuje homeostazo telesa. Poleg tega pa uravnava tudi telesno temperaturo (skrbi za termoregulacijo telesa) in zaznava dražljaje iz okolice (deluje kot čutilni organ).

Sestavljena je iz treh glavnih plasti. Na površju je povrhnjica (epidermis), sledi usnjica (dermis), spodnja plast pa se imenuje podkožje (subcutis). Povrhnjica je najtanjša plast kože in odločilno

vpliva na zunanji videz. Sestavljena je iz več podplastí, z usnjico pa je povezana preko bazalne membrane. Spodnja plast v povrhnjici se imenuje bazalna plast, kjer nastajajo najštevilčnejše celice povrhnjice, imenovane keratinociti. Keratinociti nato potujejo skozi plasti povrhnjice proti površju kože, kjer zorijo. Med potovanjem proti površju se morfološko spreminjajo, kar daje značilno podobo vsaki plasti. Ta proces imenujemo roženenje (keratinizacija). Na površju se keratinociti preoblikujejo v korneocite in izgubijo jedro. Ta proces poteče v najbolj zunanji plasti povrhnjice, ki se imenuje rožena plast. Rožena plast je sestavljena iz največjih celic epidermisa, korneocitov, ki so obdani z medceličnimi lipidi. Korneociti so mrtve celice in so napolnjeni s keratinom, maščobnimi kislinami, lipidi in ceramidi. S časom se povezave med korneociti prekinejo, kar se kaže z luščenjem manjših skupkov celic ali posameznih celic. Ta proces imenujemo deskvamacija (9).

Rožena plast je odgovorna, da varuje notranje telo pred nekontrolirano, čezmerno izgubo vlage v okolje. Do neke razumne meje pa štíti organizem tudi pred kemičnimi in fizikalnimi mikro poškodbami ter kozmičnem sevanjem. Sestava rožene plasti vpliva tudi na stopnjo hidratacije (10). Optimalna vsebnost vode v zdravi roženi plasti je med 13 do 20 %; v kolikor ta vrednost pade pod 10 % govorimo o suhi koži. Klinični znaki se kažejo v pojavu suhih belih lusk, razpok, koža je na otip hrapava ter groba (9). Stopnja hidratacije je odvisna od hitrosti proteolize filagrina v korneocitih, kar vodi do nastanka aminokislin, ki so sestavni del naravnega vlažilnega faktorja (ang. natural moisturizing factors, NMF). Na sposobnost vezave vode v roženi plasti torej močno vpliva NMF v korneocitih in medcelični lipidi. Medcelični lipidi so sestavljeni iz ceramidov (50 %), holesterola (25 %), maščobnih kislin (10 %), trigliceridov, glikosfingolipidov ter holesterol sulfata v sledovih (10). Pomanjkanje ceramidov, holesterola ali maščobnih kislin v roženi plasti se kaže s povečano transepidermalno izgubo vode (TEWL), kar vodi do dobro opaznih sprememb na koži – suha in hrapava koža (8).

### 1.1.1 DEJAVNIKI, KI VPLIVAJO NA KOŽNO BARIERO

Pri prepogostem ali pretiranem čiščenju kože lahko delno ali v celoti odstranimo zgoraj naštete lipidne snovi na površini kože in s tem izpostavimo kožo prekomerni izgubi vlage in posledično nastanku suhe kože. V tem primeru je priporočljiva uporaba izdelkov za vlažilno nego z namenom ponovne vzpostavitve normalnega lipidnega ravnovesja (11). Razlog za nastanek suhe kože je lahko tudi premajhen vnos vode v telo ali neugodne vremenske razmere (nizka vlažnost in temperatura, veter, klimatske naprave) (9). Poleg zunanjih dejavnikov, kot so

pretirano umivanje kože, neugodne vremenske razmere pa lahko na kožno bariero vplivajo tudi dejavniki, na katere nimamo neposrednega vpliva (starost, anatomsko mesto in kožne bolezni).

Lastnosti kože so lahko spreminjajo s starostjo. Na osnovi instrumentalnega vrednotenja TEWL in merjenja pH-ja na različnih predelih telesa so ugotovili, da je koža dojenčkov bolj prepustna kot koža odrasle osebe. Razlog za to je izboljšana sposobnost zadrževanja vode v koži pri odraslih, kar se kaže v izboljšani barierni funkciji kože (12). Pri osebah starejših od 70 let, pa so ugotovili, da je značilna zmanjšana perfuzija krvi v koži, zmanjšana debelina epidermisa in signifikantno povečanje pH-ja rožene plasti. Starost pa naj ne bi vplivala na debelino rožene plasti ali njeno morfologijo ter sestavo (8).

Debelina rožene plasti se spreminja po telesu in je odvisna tudi od dela telesa in ne le od starosti ali spola osebe. Najtanjša je v genitalnem področju, medtem ko je najdebelejša na dlaneh, podplatu in peti. Debelina rožene plasti nedvoumno vpliva na funkcijo kožne bariere in njeno občutljivost na uporabljene kozmetične izdelke (8). Rougier je testiral permeabilnost benzojske kisline na različnih delih telesa. Ugotovil je, da je bilo čelo najbolj permeabilno za penetracijo (vstop snovi v roženo plast) benzojske kisline, sledil je trebuh, stegno in roka, medtem ko je bil hrbet najmanj permeabilen (13). Permeabilnost lahko povežemo z debelino rožene plasti na določenih delih telesa. Rožena plast je na čelu tanjša kot na stegnu. Permeabilnost pa ni odvisna le od debeline rožene plasti, ampak tudi od vehikla in same lipofilnosti snovi.

Koža je prekrita s kislinskim plaščem, katerega pH vrednost je med 4 in 6. Sestavljen je iz sebuma, znoja in lipidov. Površina kože ni sterilna in v njej je veliko mikroorganizmov, ki uspevajo v kislem okolju. Ti mikroorganizmi nas ščitijo pred škodljivimi mikroorganizmi iz okolja. Spremembe v kislinskem plašču kože lahko vodijo do povišanega pH-ja kože, kar vodi do zmanjšane zaščite kože pred patogeni. Vse to pa lahko prispeva tudi k nastanku kožnih bolezni, kot so kontaktni dermatitis, ihtioza, luskavica in atopični dermatitis. Za nastanek kožnih bolezni je lahko odgovoren tudi poklic, ki ga oseba opravlja. Tako imenovane poklicne kožne bolezni so druga najpogostejša poklicna obolenja na svetu. Najpogostejši je kontaktni dermatitis, ki se lahko pojavlja v obliki alergijskega kontaktnega dermatitisa, kontaktne urtikarije, iritativnega kontaktnega dermatitisa ali proteinskega kontaktnega dermatitisa. Med zunanji dejavniki, ki prispevajo k razvoju bolezni, je nenehna izpostavljenost kemikalijam in alergenom. To vpliva na strukturo in sestavo rožene plasti, kar povzroča motnje v kožni barieri. Poklici, ki so najbolj izpostavljeni, so zdravstveni delavci, frizerji in gradbeni delavci (8).

Dobro poznavanje mesta aplikacije kozmetičnega izdelka in uporabnika, ki mu je uporaba kozmetičnega izdelka namenjena, je ključnega pomena pri načrtovanju kozmetičnega izdelka in doseganju učinka.

## 1.2 NAČRTOVANJE KOZMETIČNEGA IZDELKA

Pri načrtovanju kozmetičnega izdelka si moramo najprej odgovoriti na naslednja vprašanja: kaj želimo z njim doseči, kje bo mesto nanosa in komu je izdelek namenjen?

Učinek kozmetičnega izdelka je velikokrat odvisen tudi od njegove dermalne absorpcije. Dermalno absorpcijo lahko razdelimo glede na načine prehoda v tri skupine:

- Penetracijo – vstop snovi v določeno plast kože (npr. v roženo plast).
- Permeacijo – prehod snovi med strukturno in funkcionalno različnimi plastmi.
- Absorpcijo – prehod snovi v sistemski krvni obtok (14).

Kozmetične izdelke v večini primerov nanesemo na kožo, zato je pomembno, da se zavedamo kako globoko v kožo želimo, da prehajajo sestavine v kozmetično izdelku. Sestavine ne smejo prehajati v krvni obtok, zato pri kozmetičnih izdelkih največkrat govorimo o penetraciji in v nekaterih primerih tudi permeaciji (kozmetični izdelki proti celulitu ali proti staranju kože). Stopnja penetracije in permeacije kozmetično aktivnih učinkovin v kozmetičnem izdelku so odvisne od izbire vehikla. Vehikel je osnovna podlaga, v katero vgrajujemo kozmetično aktivne učinkovine. Pri nanosu na kožo pride v stik z roženo plastjo, kar lahko vpliva na prepustnost rožene plasti. Poznamo tri različne načine prehoda snovi v kožo: transcelularno (skozi celice povrhnjice), intracelularno (skozi lipidni matriks) in preko lasnih/dlačnih foliklov, znojnic in lojnic (14).

Napredni dostavni sistemi, ki jih uporabljamo pri kozmetičnih izdelkih, so lahko vezikularni (liposomi, silikonski vezikli), emulzijski (mikroemulzije, tekoči kristali, multiple emulzije, nanoemulzije in pickering emulzije) ali partikularni (porozni polimerni sistemi, nanodelci, kompleksi ciklodekstrinov) (15). Kot smo že omenili, predstavljajo največji tržni delež izdelki za nego kože, med katerimi je najpogostejša tehnološka oblika emulzija. Emulzija ima sposobnost raztapljanja tako hidrofilnih kot tudi lipofilnih sestavin ter dobre senzorične lastnosti (16). Glede na viskoznost, emulzije delimo na tekoče (losjoni, mleka, fluid) ali poltrdne (krema) sisteme.

Klasične emulzije so sestavljene iz dveh ne mešajočih tekočin in nastanejo z vnosom mehanske sile (mešanje). So termodinamsko nestabilne, kar pomeni, da prehajajo v energijsko stabilnejše

stanje, ki vodi do ločitve ne mešajočih tekočin. Stabiliziramo jih lahko z dodatkom površinsko aktivnih snovi (emulgatorjev). Emulgatorji se zaradi svoje kemijske zgradbe razporedijo na mejo med obema fazama, kjer zmanjšajo medfazno napetost, kar vodi do stabilizacije emulzije. Emulzije se lahko delijo glede na tip oziroma razporeditev zunanje in notranje faze. Kadar je zunanja faza voda, govorimo o emulziji olje v vodi (O/V), v obratnem primeru pa govorimo o emulziji tipa voda v olju (V/O). Poznamo tudi multiple emulzije – voda v olju v vodi (V/O/V) ali olje v vodi v olju (O/V/O). Glede na mikro sestavo pa jih lahko delimo na mikroemulzije, nanoemulzije in tekoče kristale. Posebnost pa so pickering emulzije, ki se razlikujejo po tem, da ne potrebujejo emulgatorja, saj so stabilizirane s trdnimi delci, ki preprečujejo koalescenco emulzijskih kapljic. Pri mikroemulzijah je za razliko od klasičnih emulzij velikost dispergiranih kapljic v nanometerskem področju (do 140 nm), kar daje emulziji bister videz. Nastanek mikroemulzij je spontan in so termodinamsko stabilne. Nanoemulzije so emulzije tipa O/V, kjer je premer oljne kapljice manjši od 100 nm in je obdana s plastjo fosfolipidov. Za nastanek je potreben velik vnos mehanske energije, kot je na primer homogeniziranje pod visokim tlakom. Tekoči kristali pa so vmesno stanje med tekočim in trdnim. Pogoj za njihov nastanek je, da ima vsaj ena izmed faz glede urejenosti lastnosti tekočine in kristala. Tekoči kristali tvorijo večslojne plasti okoli kapljic emulzije, kar zmanjša van der Waalsovo energijo in poveča viskoznost. Te večslojne plasti okoli kapljic delujejo kot reološka ovira, ki preprečuje koalescenco. Pri emulziji, stabilizirani s tekočimi kristali, se gradniki emulzije organizirajo vzporedno v več plasti, kar je enako strukturi kristalov (pravilna razporeditev) (15).

Izbira vehikla ali dostavnega sistema je odvisna od lastnosti aktivne kozmetične učinkovine, kar je ključnega pomena za njeno dostavo do ciljnega mesta. Število sestavin, ki lahko pasivno prehajajo roženo plast, je zelo majhno, zato moramo uporabiti pospeševalce penetracije. Pospeševalci penetracije so snovi, ki lahko spremenijo barierne lastnosti kože. Mehanizmi, ki vodijo do takšnih sprememb lastnosti kože so:

1. spremembe v strukturi lipidnega dvosloja,
2. ekstrakcija lipidov v roženi plasti,
3. povečanje topnosti kozmetične učinkovine v roženi plasti, kar olajša porazdelitev učinkovine iz vehikla v kožo,
4. spremembe v hidrataciji rožene plasti in
5. interakcije s keratinom v korneocitih (8).

Penetracijo sestavin v kožo pa lahko povečamo tudi s fizikalnim, mehanskimi ali električnimi pristopi.



### 1.2.1 IZBOR SESTAVIN

Emulzije so v osnovi sestavljene iz treh osnovnih delov – zunanje faze, notranje faze in emulgatorja. Najpogostejše so emulzije tipa olje v vodi (O/V), kar pomeni, da je zunanja faza hidrofilna. Pri naravni kozmetiki pa se kot zunanja faza najpogosteje uporablja destilirana voda ali hidrolat oziroma mešanica različnih hidrolatov. Pri izbiri notranje faze pa je zelo priljubljena uporaba olj in masla, saj so v naravi široko zastopana. Uporabljamo jih že tisočletja in so bogat vir fiziološko aktivnih snovi. Njihovo delovanje je lahko emolientno ali okluzivno. Okluzivi naredijo hidrofobno bariero, ki preprečuje transepidermalno izgubo vode iz rožene plasti. Emolienti pa mehčajo kožo, tako da polnijo prazne prostore med korneociti in s tem nadomestijo izgubljene maščobe v roženi plasti (11, 17).

#### *EMULGATORJI*

Emulgatorji so glavni povezovalni členi med lipidno in vodno fazo kozmetičnega izdelka. Spadajo med površinsko aktivne snovi in imajo vodotopno glavo ter lipofilen rep. Glede na naboj jih delimo na ionske in neionske emulgatorje. Neionski emulgatorji v vodi ne tvorijo ionov, ionski pa v vodi ionizirajo. Glede na ion, ki deluje kot emulgator, jih delimo na anionske, kationske in amoferne emulgatorje (9). Neionski emulgatorji so lahko nevtralni ali kisli in so bolj prilagodljivi glede pH-ja (16). Malo manj znani so polimerni emulgatorji, ki se lahko uporabljajo posamezno ali pa v kombinaciji s tradicionalnimi emulgatorji. Delujejo tako, da se lipofilna komponenta adsorbira na vmesno plast med vodo in oljem, vodotopni del molekule pa nabrekne in tvori gelsko mrežo okoli kapljice olja. Slabost teh emulgatorjev je, da lahko emulgirajo zelo majhne količine olj (količina olj je manjša od količine emulgatorja), so občutljivi na elektrolite in strižno silo (18, 19).

Glede na izbor emulgatorjev na trgu pa jih lahko delimo na enostavne in sestavljene. Enostavni emulgatorji vsebujejo le eno snov, medtem ko so sestavljeni emulgatorji sestavljeni iz več snovi. Prva sestavina je emulgator, druge pa so lahko koemulgatorji ali zgoščevala maščobne faze. Sestavljeni emulgatorji po naših izkušnjah tvorijo bolj stabilne emulzije in je z njimi lažje rokovati, medtem ko je enostavne emulgatorje priporočljivo kombinirati z dodatnim emulgatorjem ali koemulgatorjem. Pri izbiri ustreznega emulgatorja je lahko v pomoč tudi hidro-lipofilno ravnotežje, ki ga imenujemo HLB sistem. Odkril ga je Griffin leta 1949 in velja le za neionske emulgatorje. Deluje na principu razmerja vodotopnega in lipofilnega deleža emulgatorja, ki nam da HLB vrednost. Hidrofilni emulgatorji dajo višjo HLB vrednost (10-20), medtem ko imajo lipofilni emulgatorji nižjo HLB vrednost (0-10). HLB sistem se poslužujejo

večinoma na industrijski ravni za razvoj novih emulgatorskih sistemov ali pa optimizacijo formulacije (18).

Zgoraj so opisane glavne sestavine, ki jih potrebujemo za nastanek osnovne emulzije. Poleg teh sestavin pa lahko uporabimo še ostale sestavine s katerimi h končnemu kozmetičnemu izdelku dodamo funkcijo, izboljšamo organoleptične lastnosti in podaljšamo rok uporabnosti. Te sestavine so: zgoščevala vodne ali maščobne faze, vlažila in kozmetične sestavine za ohranjanje vlažnosti, snovi za uravnavanje pH-ja, kozmetično aktivne sestavine (s toničnim delovanjem, protivnetnim delovanjem, za povečanje prekrvavitve kože, za posvetlitev kože, za samoporjavitev kože, ...), barvila, konzervansi in/ali dišave.

### *ZGOŠČEVALA*

Zgoščevala so steber, na katerem temelji struktura kozmetičnega izdelka. Najpogosteje jih uporabljamo za prilagoditev viskoznosti, ki je pomembna za enostavno uporabo končnega izdelka (20). Delimo jih na zgoščevala vodne faze in zgoščevala maščobne faze. Najpogosteje uporabljamo prve, med katerimi so najpomembnejši gumiji (arabski gumi, gvarjev gumi, konjakov gumi, ksantan, tragakant), pektini (citrusni in jabolčni pektin) in sluzi (agar, karagenan, alginska kislina in njene soli) (9).

Kemijsko so polisaharidi in so rastlinskega izvora. Pektini in sluzi so prisotni v rastlinah kot strukturne molekule celic, zaloga hrane in snovi, ki vežejo vodo. Gumi je viskozen izloček, ki nastane, če rastlino poškodujemo. Iz poškodovanega mesta začne teči gumi, ki se na zraku strdi v prožno maso in varuje rastlino pred izhlapevanjem vode in vdorom mikroorganizmov. Gumiji, pektini in sluzi imajo v emulzijskih sistemih tudi vlogo stabilizatorjev in koemulgatorjev. Vlogo stabilizatorja opravljajo tako, da polimerne molekule tvorijo tridimenzionalni sistem mreže, ki zaradi steričnih ovir upočasni ali prepreči združevanje dispergiranih kapljic ali posedanje suspendiranih delcev. Zgoščevala zaradi visoke molekulske mase ne prodirajo skozi globlje plasti kože, ampak na njej ustvarijo tanko plast, ki zmanjša transepidermalno izgubo vode. Delujejo kot vlažila, saj koži vračajo vlago. Gumiji tvorijo lepljive raztopine ali disperzije, sluzi sluznate, pektini pa gelirajo (9).

### *VLAŽILA*

Vlažila lahko razdelimo v tri skupine: okluzive, emoliente in humektante. Okluzive in emoliente smo že omenili pri oljih in maslu. Okluzivi so vodoodporne sestavine, ki na koži naredijo neprepusten film, ter tako preprečijo izgubo vode iz kože v okolico. Emolienti so

podobni okluzivom (ne mešajo z vodo), vendar imajo nižjo molekulska maso, zato ne tvorijo neprepustnega filma na koži. Humektanti so higroskopne sestavine, ki lahko povečajo absorpcijo vode iz usnjice v povrhnjico in s tem povečajo delež vode v njej (21). Obstajajo tudi domneve, da lahko humektanti vežejo vodo iz zunanje okolice in s tem hidrirajo roženo plast. V kolikor je v ozračju nizek delež vlage, lahko humektanti povzročijo izgubo vode v ozračje. V tem primeru je priporočljivo uporabiti mešanico humektantov in okluzivov, da se prepreči ta pojav (22). S humektanti lahko preprečimo tudi izhlapevanje vode iz kozmetičnega izdelka. Največkrat gre za sestavine, ki so prisotne v naravnem vlažilnem faktorju kože, lahko pa so tudi druge sestavine, ki nase vežejo vodo (hialuronska kislina, gumiji, sluzi, proteini, ...) (9). Najpogosteje uporabljen humektant je glicerol, ki deluje na različnih prijemališčih: učinkovito vlaži kožo, pospeši zorenje korneocitov, zmanjša suhost kože in poveča kohezivnost medceličnih lipidov (17). Naloga vlažil je, da črpajo vodo iz področja z višjim deležem (usnjica) v področje z nižjim deležem (povrhnjica).

### *KONZERVANSI*

Za zagotavljanje mikrobiološke ustreznosti skozi celoten rok uporabnosti moramo uporabiti konzervanse. To so sestavine s protimikrobnim delovanjem, ki preprečijo, da bi se meja dovoljenih mikroorganizmov v skladu z zakonodajo prekoračila. Konzervansi, ki so dovoljeni za uporabo v kozmetičnih izdelkih, so navedeni v Prilogi V Uredbe 1229/2009/ES. Trend naravne kozmetike je, da kemijske konzervanse nadomestimo s protimikrobnimi sestavinami, ki niso opredeljeni kot konzervansi v skladu z veljavno zakonodajo, ampak imajo v kozmetičnem izdelku drugo vlogo. Med najpogosteje uporabljenimi so eterična olja in rastlinski izvlečki. Številni med njimi imajo odlične protimikrobne lastnosti, vendar je lahko pomanjkljivost le teh specifično delovanje, ozek spekter mikroorganizmov ali zmanjšano delovanje zaradi hlapnosti. Možni so tudi neželeni učinki (preobčutljivost ali fototoksične reakcije) in premočen vonj v koncentracijah, pri katerih so protimikrobno učinkoviti (9).

### *DIŠAVA*

Vonj kozmetičnega izdelka je eden izmed najpomembnejših dejavnikov, ki prepriča kupca v nakup. Izdelek ima lahko vrhunske lastnosti in delovanje, vendar če potrošniku vonj ne ustreza, se verjetno ne bo odločil za nakup. Na voljo je ogromno sestavin, s katerimi lahko odišavimo kozmetični izdelek. Izbiramo lahko med naravnimi eteričnimi olji in absoluti ter sintezno pridobljenimi dišavami. V končnem kozmetičnem izdelku morajo biti alergeni iz Uredbe 1229/2009/ES navedeni, v kolikor njihova koncentracija presega 0,01 % pri izdelkih, ki se

sperejo iz telesa ter 0,001 % pri izdelkih, ki se ne izperejo (1). Priporočena zgornja koncentracija naravnih dišav je 0,5 % v izdelkih za nego obraza, 1 % v izdelkih za nego telesa in 5 % v masažnih oljih ali izdelkih, ki se sperejo (9).

Ko so nam vse lastnosti kozmetičnega izdelka jasne in izberemo ustrezne sestavine, moramo izbrati še primerno ovojnino. Izbira ovojnine je odvisna od viskoznosti, mesta in frekvence aplikacije vsebine kozmetičnega izdelka. Poznamo več vrst ovojnin. Razlikujejo se glede na izbor materiala in obliko ter način odmerjanja. Ovojnino, ki je neposredno v stiku z vsebino izdelka, imenujemo primarna ovojna. Vloga ovojnine je ustrezna zaščita vsebine kozmetičnega izdelka, omogočiti mora enostavno uporabo ter ustrezno odmerjanje vsebine. Pri sami prodaji je močno pomemben tudi zunanji izgled ovojnine.

### 1.2.2 DOKUMENTACIJA Z INFORMACIJAMI O KOZMETIČNEM IZDELKU

Pred lansiranjem kozmetičnega izdelka na trg moramo zagotoviti varnost kozmetičnega izdelka in pripraviti ustrezno dokumentacijo, kot določa člen 11 Uredbe 1223/2009/ES. Dokumentacija z informacijami o izdelku, ki je obvezna za vsakega proizvajalca, je navedena v III. poglavju Uredbe 1229/2009/ES. Vsebovati mora najmanj opis kozmetičnega izdelka, poročilo o varnosti kozmetičnega izdelka in opis metode izdelave ter izjavo o dobri proizvodni praksi (DPP).

V kolikor na kozmetičnem izdelku navajamo nek učinek, potem moramo priložiti dokazila o tem učinku. V primeru, da so bila izvedena kakršna koli testiranja uporabljenih sestavin ali končnega izdelka na živalih, mora dokumentacija z informacijami o kozmetičnem izdelku vsebovati podatke o testiranjih. Testiranja na živalih so prepovedana v Evropski uniji od leta 2004, od leta 2009 pa je prepovedano tudi trženje sestavin, ki so bile testirane na živalih (23). Dokumentacija z informacijami o izdelku se mora hraniti še 10 let po datumu, ko je bila zadnja serija kozmetičnega izdelka dana na trg (1).

### 1.2.3 POROČILO O VARNOSTI KOZMETIČNEGA IZDELKA

Poročilo o varnosti kozmetičnega izdelka je najpomembnejši del dokumentacije z informacijami o kozmetičnem izdelku. Sestavljeno iz dela A in dela B. V delu A so zbrane informacije o varnosti kozmetičnega izdelka, v delu B pa je podana ocena varnosti kozmetičnega izdelka, glede na informacije podane v delu A. Oceno varnosti lahko izvede oseba, ki ustreza kriterijem navedenim v drugem odstavku člena 10 Uredbe 1229/2009/ES. Poročilo o varnosti kozmetičnega izdelka je omenjeno v členu 10 Uredbe 1229/2009/ES, v prilogi I Uredbe 1229/2009/ES pa so opisane smernice za ustrezno izdelavo ocene varnosti kozmetičnega izdelka.

V delu A, kjer so zbrane informacije o varnosti kozmetičnega izdelka moramo navesti natančno kvalitativno in kvantitativno sestavo. V kolikor so v izdelku prisotna sredstva za uravnavanje viskoznosti ali pH-ja, pa so dovoljena koncentracijska območja. Priporočljiva je navedba dobavitelja, v primeru uporabe dišavnih ali aromatičnih zmesi pa je le-ta obvezna. Pri sestavi poročila, mora ocenjevalec upoštevati najpomembnejše fizikalno kemijske parametre sestavin, kot so kemijska identiteta, agregatno stanje, molekulska masa, topnost, ... in fizikalno kemijske lastnosti končnega izdelka. Fizikalno kemijske lastnosti sestavin so pomemben del informacij, saj nam lahko pomagajo določiti nekatere toksikološke lastnosti. Majhna molekulska masa (MM) hidrofobne spojine bo bolj verjetno prodrla skozi kožo, kot hidrofilna spojina z visoko MM. Pri zelo hlapnih spojinah moramo upoštevati inhalacijsko izpostavljenost, kadar jih nanese na kožo (24). Pri uporabi nanomaterialov je potrebno vključiti porazdelitveno krivuljo velikosti delcev snovi, pri UV filtrih pa absorpcijske spektre (25).

Kozmetičen izdelek mora biti fizikalno stabilen, kar zagotavlja, da med transportom, skladiščenjem ali rokovanjem ne pride do sprememb v fizičnem stanju formulacije (koalescenca, ločitev faz, kristalizacija, ...). V ta namen moramo izvesti študijo stabilnosti, ki jo prilagodimo na namen uporabe kozmetičnega izdelka, predvidljivo uporabo in pogoje shranjevanja. V primeru, da je stabilnost kozmetičnega izdelka odvisna od pogojev shranjevanja, moramo informacije o pogojih posredovati skozi celotno dobavno verigo ter jih navesti na ovojninah. Na podlagi stabilnostnih študij lahko določimo tudi minimalni rok uporabe kozmetičnega izdelka. Označimo ga s simbolom peščene ure ali napisom »uporabno najmanj do konca«. Če je rok trajanja daljši od 30 mesecev, potem lahko navedemo rok uporabnosti po odprtju, ki je označen s simbolom odprtega lončka..

Kozmetični izdelki, ki vsebujejo vodo, so dovzetni za mikrobiološko kontaminacijo. Za določanje mikrobiološkega tveganja se izvajata dva preskusa – mikrobiološka kakovost in izzivni preskus učinkovitosti konzervansa. Pri mikrobiološki kakovosti izdelka preverjamo ali kozmetični izdelek ustreza zahtevam iz Uredbe o izvajanju Uredbe 1223/2009/ ES, ki so navedene v Preglednica I: Kriterij za doseg mikrobiološke ustreznosti kozmetičnih izdelkov .. V Uredbi o izvajanju Uredbe 1223/2009/ES so kozmetični izdelki glede na zahteve za mikrobiološko kakovost razdeljeni v dve skupini. V Skupini 1 so kozmetični izdelki, namenjeni otrokom do 3 leta ter kozmetični izdelki namenjeni uporabi okoli oči in na sluznicah, v Skupini 2 pa vsi ostali kozmetični izdelki (26).

Preglednica I: Kriterij za dosego mikrobiološke ustreznosti kozmetičnih izdelkov (26).

	Skupno število živih aerobnih mezofilnih MO v 1 g ali 1 ml	Ne sme vsebovati
SKUPINA 1	< 100	Pseudomonas aeruginosa Staphylococcus aureus Candida albicans
		v 0,5 g ali v 0,5 ml vzorca
SKUPINA 2	< 1000	Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus Candida albicans
		v 0,1 g ali v 0,1 ml vzorca

Za preverjanje učinkovitosti delovanja konzervansa pa se uporablja izzivni preskus učinkovitosti konzervansa. Navodila za izvedbo preskusa so navedena v mednarodnem standardu: Kozmetika – Mikrobiologija – Vrednotenje protimikrobne zaščite kozmetičnih izdelkov (ISO 11930). V tem standardu sta navedena dva kriterija. Če izdelek ustreza strožjemu kriteriju A, to pomeni, da je izdelek zelo dobro zaščiten in lahko izberemo katerokoli ovojnino. V primeru, da izdelek ne zadostuje temu kriteriju, zadostuje pa manj strogemu kriteriju B, moramo izbrati primerno ovojnino, s katero zmanjšamo tveganje za vnos mikroorganizmov. Primer takih ovojnin je dozirnik na pumpico ali brez zračna ovojnina (airless).

Nekateri kozmetični izdelki lahko zapadejo pod kategorijo »kozmetični izdelki z nizkim tveganjem« (»low risk products«). Za te izdelke ni nujno, da opravijo izzivni preskus učinkovitosti konzerviranja, saj ne obstaja nevarnosti kontaminacije. Najpogostejši izdelki z nizkim tveganjem za mikrobiološko kontaminacijo so:

- izdelki, katerih pH je zelo visok ali zelo nizek (pH < 3 ali pH > 10), primer teh izdelkov so lahko naravna rastlinska mila ali pa kemični kislinski piling za kožo,
- Brezvodni izdelki in izdelki z zelo nizko aktivnostjo vode (zelo malo proste vode v izdelku), prav tako ne predstavljajo tveganja za mikrobiološko kontaminacijo, saj ne vsebujejo vode, ki bi omogočala razvoj in razmnoževanje mikroorganizmov. Primer teh izdelkov so olja za telo, mazila, barvice za okoli oči.
- Izdelki z visoko vsebnostjo etanola ali drugih alkoholov (< 20 %) prav tako ne omogočajo razvoja mikroorganizmov.

Izpostavili smo le najpogostejše kozmetične izdelke, ki zapadejo v kategorijo izdelkov z nizkim tveganjem. Dodatni kriteriji za oceno izdelka kot izdelka z nizkim tveganjem so navedeni v standardu ISO 29621.

V sklopu poročila o varnosti kozmetičnega izdelka sledi opredelitev količine izdelka, ki pride v stik s telesom ob razumno predvidljivi in normalni uporabi. Upoštevati moramo vrsto izdelka (ali se izpere s telesa ali ne), mesto uporabe, količino izdelka, ki ga nanese na posamezno uporabo pri normalni in razumno predvidljivi uporabi, trajanje in pogostost, mogoče dodatne načine izpostavljenosti (inhalacijsko in peroralno), ciljno skupino za uporabo ter v primeru nanomaterialov tudi vpliv velikosti delcev (24). V ta namen so nam v veliko pomoč smernice Znanstvenega odbora za varstvo potrošnikov (ZOVP, angl. SCCS) za testiranje kozmetičnih sestavin in oceno varnosti. Na podlagi izračunane zunanje izpostavljenosti kozmetičnem izdelku nato izračunamo še izpostavljenost posamezni sestavini ali sistemsko izpostavljenost posamezni sestavini (SED) v izdelku. Upoštevati moramo tudi možno nastajanje oziroma sproščanje snovi med uporabo (25). SED lahko izračunamo glede na absorpcijo po dermalni izpostavljenosti, vendar ne smemo zanemariti tudi ostalih možnih načinov izpostavljenosti, kot sta peroralna in inhalacijska. Dermalno absorpcija je lahko odvisna od samih fizikalno kemijskih lastnosti sestavine ( $\log P_{ow}$  in molekulske mase) in izbora ostalih snovi v izdelku (pospeševalci penetracije). Če podatkov o dermalni absorpciji ni na voljo, je potrebno za izračun sistemske izpostavljenosti uporabiti 100 % absorpcijo. V primeru, da je molekulska masa večja od 500 Da in je  $\log P_{ow}$  nižji od -1 ali pa višji od 4, je dermalna absorpcija 10 % (25).

Upoštevati moramo tudi možnost, da kozmetični izdelek ni edini vir vnosa te sestavine v telo. Če obstajajo dokazi, da velik delež te učinkovine pride v telo tudi iz drugih virov (okolje, hrana, ...), moramo ob zadostni količini dokazov to tudi upoštevati. SED se izračuna na podlagi spodnje enačbe.

$$SED = \text{izpostavljenost kozmetičnem izdelku} \times \text{koncentracija sestavine v izdelku} \times \text{absorpcija}$$

Za vsako sestavino, uporabljeno v kozmetičnem izdelku, moramo pripraviti toksikološki profil. Toksikološki profil mora obsegati vse relevantne toksikološke učinke uporabljene snovi brez poseganja v člen 18 Uredbe 1229/2009/ES. Odločitev, katere končne točke so relevantne, sprejme ocenjevalec varnosti za vsak primer posebej, pri čemer upošteva izpostavljenost, uporabo izdelka, fizikalno - kemijske značilnosti snovi. Kjer je ustrezno, je potrebno nameniti pozornost tudi lokalnim učinkom (npr. draženje in fototoksičnost).

Iz literaturnih virov moramo pridobiti podatke o odmerku brez opaznega škodljivega učinka (NOAEL – No Observed Effect Level). Vrednost NOAEL največkrat pridobimo iz ponavljajočih (90- dnevni) študij na živalih pri ponavljajočih odmerkih ali pa študije razvojne toksičnosti na živalih. V primeru, da so testni osebki v študiji prejeli odmerek le 5 dni v tednu, moramo pri izračunu MoS uporabiti korekcijski faktor 5/7 (24).

V kolikor imamo na voljo več vrednosti NOAEL, pridobljenih iz različno dolgih študij, moramo dati prednost vrednosti NOAEL pridobljeni iz 90- dnevne študije. Za uporabljeno vrednost moramo vzeti najnižjo vrednost NOAEL, pridobljena z najustreznejšo študijo (25).

V večini primerov so na voljo NOAEL vrednosti pridobljene s peroralno aplikacijo. Kozmetične izdelke pa nanašamo dermalno, kar pomeni da moramo NOAEL vrednost pridobljeno s peroralno aplikacijo pretvoriti v tako imenovan sistemski NOAEL. Pri kozmetičnih sestavinah se upošteva, da je sistemsko na voljo največ 50 % peroralno danega odmerka. To pomeni, da če želimo uporabiti sistemski NOAEL, moramo NOAEL pridobljen s peroralno aplikacijo deliti s številom 2.

$$NOAEL (sistemski) = \frac{NOAEL (peroralni)}{2}$$

Ker imamo tukaj podatek o sistemski NOAEL vrednosti, moramo tudi pri izračunu meje varne uporabe (MoS) uporabiti sistemsko izpostavljenost sestavini (SED). MoS v tem primeru izračunamo po spodnji enačbi (24).

$$MoS = \frac{NOAEL (sistemski)}{SED}$$

Le v redkih primerih pa so na voljo NOAEL vrednosti pridobljene z dermalno aplikacijo. V tem primeru pa je izračun MoS lažji. Uporabimo NOAEL vrednost pri dermalni aplikaciji in jo delimo z izpostavljenostjo sestavini. Izpostavljenost sestavini lahko izračunamo iz koncentracije sestavine v kozmetičnem izdelku in izpostavljenosti kozmetičnem izdelku. MoS izračunamo po naslednji enačbi (24).

$$MoS = \frac{NOAEL (dermalna aplikacija)}{\text{izpostavljenost sestavini}}$$

V primeru odsotnosti NOAEL vrednosti lahko uporabimo druge referenčne toksikološke vrednosti, kot so raven, pri kateri ni opaznih učinkov (NOEL), najnižja raven, pri kateri je mogoče opaziti neželen učinek (LOAEL) ali najnižja raven, pri kateri so opazni učinki (LOEL)



(25). Določitev NOAEL in SED za posamezne snovi je obvezen del poročila o varnosti kozmetičnega izdelka. V primeru izpustitve podatkov o teh snoveh, je potrebno dano odločitev ustrezno utemeljiti. Do tega lahko pride v primeru zelo nizke prisotnosti snovi v KI, katera pričakovana stopnja izpostavljenosti v najslabšem primeru je nižja od ustreznih vrednostih praga toksikološkega tveganja (27). Vrednost MoS, ki se izračuna na podlagi podatkov NOAEL in SED mora biti večja od 100, da govorimo o varni sestavini za uporabo v končnem izdelku. V primeru, da imamo dokaze, da se sestavina ne absorbira v krvni obtok, potem izračun meje varne uporabe, za to sestavino ni potreben. Priporočljivo pa je preučiti mogoče lokalne učinke na koži in sluznicah (25).

Del A poročila o varnosti kozmetičnega izdelka, se zaključi z navodili za normalno in razumljivo uporabo, v kolikor le ta ni razvidna iz samega izdelka. V primeru, da se po izdaji izdelka na trg pojavijo neželeni učinki, mora proizvajalec po potrebi sprejeti korektivne ukrepe. (25).

V drugem delu poročila o varnosti, delu B ocenjevalec obrazloži zaključek ocene, ki je bil sprejet v skladu z delom A poročila o varnosti kozmetičnega izdelka. Za oblikovanje končne ocene varnosti kozmetičnega izdelka je potrebno oceniti varnost posameznih snovi ali zmesi ter kozmetičnega izdelka kot celote (25).

#### 1.2.4 VSEBINA ETIKETE

Po pridobljeni ustrezni dokumentaciji za kozmetični izdelek, ki ga želimo prodajati na trgu, moramo zagotoviti ustrezno etiketo kozmetičnega izdelka, ki vsebuje vse zakonsko predpisane informacije. Na primarni ali sekundarni embalaži kozmetičnega izdelka morajo biti navedene najmanj informacije o proizvajalcu, nominalna vsebina, rok trajanja, morebitni varnostni ukrepi, serijska številka, namen uporabe in seznam sestavin (6).

#### 1.2.5 PRIGLASITEV NA CPNP

Priglasitev kozmetičnega izdelka poteka elektronsko na portalu CPNP (ang. Cosmetic Products Notification Portal) in velja za vse države članice. Na portalu CPNP si ustvarimo račun, kamor moramo vnesti podatke odgovorne osebe, ki izdelke daje na trg. Za priglasitev izdelka moramo na portalu CPNP klikniti *Izdelki* in nato *Priglasiti izdelek*. Izberemo ali gre za *enodelni izdelek* (npr. šminka) ali *večdelni izdelek* (npr. barve za lase), nato pa vpišemo vse zahtevane informacije. Ob priglasitvi moramo posredovati še sliko etikete ter končnega kozmetičnega izdelka.

## 2 NAMEN DELA

Namen magistrske naloge je opisati postopek načrtovanja izdelave kozmetičnega izdelka ter predstaviti obveznosti in dolžnosti odgovorne osebe (v našem primeru proizvajalca), ki daje izdelek v promet. Osredotočili se bomo na naravno kozmetiko in izdelali zahtevnejšo obliko kozmetičnega izdelka - emulzijo. Izdelati želimo kremo za nego celotnega telesa z učinkom vlaženja kože. Pri izbiri sestavin bomo upoštevali namen kozmetičnega izdelka in se osredotočili na sestavine naravnega izvora.

Hipoteze, ki si jih bomo postavili so:

- Nabor emulgatorjev, ki so naravnega izvora, je velik.
- Izdelana emulzija je mikrobiološko stabilna, kar potrjuje mikrobiološki preskus in izzivni preskus konzervansa.
- Izdelek zaradi majhne vsebnosti eteričnih olj ne vsebuje alergenov.
- Izdelan kozmetični izdelek se lahko prodaja na slovenskem trgu.
- Vse uporabljene sestavine so v skladu z Uredbo 1223/2009/ES.

Na podlagi literaturnih podatkov bomo izdelali dokumentacijo z informacijami o kozmetičnem izdelku, ki je obvezna za vsak kozmetični izdelek, ki ga želimo dati na trg v Evropski uniji in tako odgovorili na zadnji dve hipotezi.

### 3 MATERIALI IN METODE

Osredotočili se bomo na izdelavo emulzije O/V iz naravnih sestavin. Sestavine, ki jih bomo uporabili, morajo biti pretežno naravnega izvora ali pa dovoljene za uporabo v naravni kozmetiki. Sestavine, ki so primerne za izdelavo naravne kozmetike, bomo poiskali s pomočjo spleta in literarnih podatkov.

Zunanja faza emulzije bo hidrofilna in na izbiro imamo destilirano vodo in veliko različnih vrst hidrolatov, medtem ko bo notranja faza lipofilna. Pri naravni kozmetiki se kot lipofilna faza večinoma uporabljajo olja in masla.

Osnovne komponente zunanje in notranje faze smo določili, zato sledi izbira primerne emulgatorja. Na osnovi literarnih virov smo naredili povzetek emulgatorjev, ki so primerni za uporabo v naravni kozmetiki in so predstavljeni v preglednici II.

*Preglednica II: Pregled polysinteznih emulgatorjev in koemulgatorjev, ki se uporabljajo v naravni kozmetiki (9)*

<i>Ime</i>	<i>Druga/trgovska imena</i>	<i>INCI</i>	<i>Tip emulgatorja</i>	<i>Drugo</i>
<b>C<sub>14-22</sub> alkohol in C<sub>12-20</sub> alkilglukozid</b>	<b>Montanov™ L</b>	<b>C<sub>14-22</sub> Alcohol (and) C<sub>12-20</sub> Alkyl Glucoside</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>
Cetearilalkohol	Lanette® O	Cetearyl Alcohol	koemulgator	zgoščevalo, emolient
<b>Cetearilalkohol in cetearilglukozid</b>	<b>Montanov™ 68</b>	<b>Cetearyl Alcohol (and) Cetearyl Glucoside</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>
<b>Cetearilglukozidi pšenične slame in cetearilalkohol</b>	<b>Xylance®</b>	<b>Cetearyl Wheat Straw Glycosides (and) Cetearyl Alcohol</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>
<b>Cetearilglukozid</b>	<b>TEGO® Care CG 90</b>	<b>Cetearyl Glucoside</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>
Cetilalkohol	Lanette® 16	Cetyl Alcohol	koemulgator	zgoščevalo, emolient
Cetilpalmitat	Cutina® CP	Cetyl Palamitate	koemulgator	zgoščevalo
<b>Glicerilstearat SE (samoemulgirajoči)</b>	<b>Cutina® GMS SE, E471, Imwitor® 960K, Tegin®, Tegomuls® 90 S</b>	<b>Glyceryl Stearate (and) Potassium Stearate</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>Zmes anionskega in neionogenega</b>
<b>Glicerilstearatcitrat</b>	<b>Lamecreme®, Tegomuls®</b>	<b>Glyceryl Stearate (and) Glyceryl Stearate Citrate</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>

<b>Hidrogeniran lecitin</b>	<b>Emulmetik® 320, Phospholipon® 80 H</b>	<b>Hydrogenated Lecithin</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>amfoteren</b>
Hidroliziran lecitin	Lizolecitin	Lysolecithin	O/V ali V/O emulgator	amfoteren
<b>Metilglukozil-seskvistearat</b>	<b>Emulsan® II HT, TEGO® Care PS</b>	<b>Methyl Glucose Sesquistearate</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>
Miristilmiristat	Cetiol® MM	Myristil Myristate	koemulgator	zgoščevalo, emolient
<b>Natrijev stearoillaktilat</b>	<b>E481, Polsgaard® SSL 3426, Softex™ 74, SSL</b>	<b>Sodium Stearoyl Lactylate</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>anionski</b>
Poligliceril-3-čebelji vosek	Cera bellina, Ceralan™, Ceralan TH	Polyglyceryl-3 Beeswax	koemulgator	zgoščevalo
<b>Poligliceril-3-dicitrat/stearat</b>	<b>Triglicerildicitrat/ stearat</b>	<b>Polyglyceryl-3 Dicitrate/Stearate</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>anionski</b>
<b>Poligliceril-3-palmitat</b>	<b>Dermofeel® PP,</b>	<b>Polyglyceryl-3 Palmitate</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>
Poligliceril-3-poliricinoleat	Dermofeel® PR,	Polyglyceryl-3 Polyricinoleate	V/O emulgator	neionogen
<b>Saharozilstearat</b>	<b>TEGO® PSE 414 G</b>	<b>Sucrose Stearate</b>	<b>O/V emulgator</b>	<b>neionogen</b>
Sorbitanolivat	Olivem® 900	Sorbitan Olivat	V/O emulgator	neionogen
<b>Cetearilolivat</b>	<b>Olivem® 1000</b>	<b>Cetearyl Olivat, Sorbitan Olivat</b>	<b>O/V emulgator</b>	neionogen
<b>Stearamidopropil-dimetilamin</b>	<b>TEGO® Amid S 18</b>	<b>Stearamidopropyl Dimethylamine</b>	<b>O/V emulgator, koemulgator</b>	kationski

Pri izbiri sestavin moramo biti pozorni na združljivost sestavin. Anionske sestavine lahko uporabljamo v kombinaciji z neionskimi, anionskimi ali amfoternimi. V primeru sočasne uporabe z kationskimi sestavinami lahko pride do obarjanja. Sledi še izbira vlažil, konzervansa in dišave.

Po izdelani formulaciji bomo naš izdelek še stabilnostno in mikrobiološko testirali. Na koncu bomo s pomočjo literaturnih virov in podatkov proizvajalca izdelali še dokumentacijo z informacijami o kozmetičnem izdelku, ki je v skladu z členom 11 Uredbe 1223/2009/ES.

## 4 EKSPERIMENTALNO DELO

### 4.1 NAČRTOVANJE FORMULACIJE

Glede na našete zahteve za kozmetičen izdelek v prejšnjem poglavju, se bomo odločili za izdelavo emulzije tipa O/V, saj so le te hitreje vpijejo, kar nam omogoči, da se brez težav po nanosu kreme še oblečemo. Sledi izbira primernih sestavin glede na funkcijo izdelka.

Uporabljene sestavine so navedene v preglednici III.

*Preglednica III: Izbor sestavin za izdelavo kreme za nego telesa*

	Sestavina	Vloga
VODNA FAZA	Destilirana voda	Zunanja faza
OLJNA FAZA	Karitejevo maslo Arganovo olje	Oljna faza
EMULGATOR	Olivem® 1000	Emulgator
VLAŽILA	Glicerol Alantoin Koko kaprilat	Vlažilec
KONZERVANS	Cosgard (Geogard® 221) Kalijev sorbat	Konzervans
URAVNAVANJE pH	Citronska kislina	Uravnavanje pH
DIŠAVA	Eterično olje pelargonije	Dišava

Formulacije vedno podajamo v % in končni seštevek sestavin mora biti vedno 100 %. Količino posamezne sestavine pa podajamo v gramih in jo vedno tehtamo. Nikoli jih ne smemo podajati v mililitrih, saj imajo sestavine različne gostote, kar pomeni, da imajo pri isti prostornini različno maso.

Glede na lipofilno oziroma hidrofilno naravo smo sestavine razdelili na dve fazi – A in B. V fazo C pa smo umestili termolabilne sestavine, katere moramo dodati naši formulaciji na koncu.

V fazo A smo umestili destilirano vodo in glicerol, ki sta hidrofilni sestavini. V fazo B pa arganovo olje, karitejevo olje, koko kaprilat in emulgator Olivem® 1000. Alantoin smo zaradi možnosti pojava rekristalizacije umestili v fazo C. Prav tako smo v to fazo umestili tudi konzervansa, Cosgard in kalijev sorbat, da preprečimo izhlapevanje le tega med samim

postopkom izdelave. Iz citronske kisline smo pripravili 50 % raztopino in jo na koncu uporabili za uravnavanje pH-ja končnega izdelka. Celotna formulacija z določenimi masnimi deleži je predstavljena v Preglednica IV: Formulacija kozmetičnega izdelka

*Preglednica IV: Formulacija kozmetičnega izdelka*

<b>Faza A</b>	<b>Faza B</b>	<b>Faza C</b>
Destilirana voda (razlika do 100 %)	Arganovo olje (6 %)	Alantoin (0,3 %)
Glicerol (5 %)	Karitejevo maslo (8 %)	Cosgard (0,5 %)
	Olivem <sup>®</sup> 1000 (5 %)	Kalijev sorbat (0,2 %)
	Koko kaprilat (5 %)	Eterično olje pelargonije (0,15 %)

\*Citronsko kislino dodamo po potrebi.

## 4.2 IZDELAVA FORMULACIJE

V čisto čašo natehtamo Olivem 1000, karitejevo maslo, arganovo olje in koko kaprilat (FAZA B). Sestavine segrejemo na temperaturo 70 °C, občasno premešamo s stekleno palčko in počakamo, da se popolnoma stalijo. V drugi časi zavremo destilirano vodo (FAZA A), jo pustimo vreti 10 minut in nato počakamo, da se ohladi na enako temperaturo kot druga časa – 70 °C. Odljemo ustrezno količino prevrete destilirane vode v novo čisto čašo. Tej količini destilirane vode nato odvzamemo še 4 ml vode, kar bomo uporabili kot topilo za alantoin in 5 ml za pripravo raztopine kalijevega sorbata.

Ko sta FAZA A in B obe ohlajeni na 70°C, počasi ob konstantnem mešanju dodamo FAZO B k FAZI A. S paličnim mešalnikom mešamo do nastanka popolne emulzije (približno 3 minute). Pustimo, da se emulzija nekoliko ohladi. Med postopkom ohlajanja emulzijo občasno premešamo.

Vmes pripravimo raztopino kalijevega sorbata. Ko temperatura ohlajene emulzije doseže 55 °C, ji med konstantnim mešanjem dodamo še raztopino kalijevega sorbata ter Cosgard. Ponovno dobro premešamo in počakamo, da se ohladi na 45 °C, medtem pa pripravimo še raztopino alantoina. Alantoin natehtamo in ga prelijemo z vodo, ki smo jo prevreli in ohladili na 30°C. Dobro premešamo, da se alantoin popolnoma raztopi. Ko emulzija doseže temperaturo 45°C, ji dodamo raztopino alantoina ter dobro premešamo s paličnim mešalnikom. Na koncu dodamo še eterično olje pelargonije in z raztopino citronske kisline uravnamo pH.

### 4.3 UMERJANJE pH

Pripravimo 10 % raztopino našega kozmetičnega izdelka ter izmerimo pH. Ker je pH bazičen, moramo dodati citronsko kislino. Za namen umerjanja pH-ja končnega izdelka pripravimo 50 % raztopino citronske kisline. Citronsko kislino dodajamo počasi po kapljicah med konstantnim mešanjem v kozmetičen izdelek. Med dodajanjem raztopine citronske kisline večkrat vzamemo vzorec, iz katerega naredimo 10 % raztopino ter preverimo pH. Z dodajanjem raztopine citronske kisline prenehamo, ko dosežemo zelen pH 5,5. Želen pH smo dosegli, ko je bila koncentracija citronske kisline v končnem izdelku 0,1 %.

### 4.4 STABILNOSTNE ŠTUDIJE

Kozmetičen izdelek je stabilen takrat, ko je zmožen ohraniti svoje želene fizikalno - kemijske, mikrobiološke in organoleptične lastnosti ter funkcionalnost pod normalnimi pogoji uporabe. Cilj stabilnostnih študij je določiti rok trajanja izdelka, ki bo ustrezal zgoraj naštetim zahtevam. Pod pogoje uporabe niso vključeni le pogoji med uporabo pri končnem kupcu, ampak tudi distribucija in skladiščenje izdelka, preden pride do kupca. Stabilnost kozmetičnega izdelka je ključnega pomena za doseg kakovosti.

Smernice za stabilnostne študije kozmetičnih izdelkov so navedene v standardu (ISO) 18811:2018. Standard ne navaja točno določenih pogojev, parametrov ali meril za preskušanje stabilnosti kozmetičnega izdelka. Služi le kot okvir, za opredelitev najprimernejših metod za oceno stabilnosti kozmetičnega izdelka.

Proizvajalec mora sam določiti in utemeljiti protokol uporabljen za preskušanje stabilnosti. Zaradi široke palete kozmetičnih izdelkov, različnih pogojev shranjevanja in uporabe je nemogoče določiti enoten način preskušanja stabilnosti kozmetičnega izdelka (29).

Pri določevanju protokola za oceno stabilnosti si lahko pomagamo z naslednjimi ključnimi točkami:

- Določitev »pospešenih« pogojev, ki nam lahko pomagajo pri oceni stabilnosti (temperatura, stres, svetloba),
- Določitev kritičnih parametrov, ki jih bomo testirali:
  - organoleptične lastnosti: barva, vonj in izgled
  - fizikalno kemijske lastnosti: pH, viskoznost, gostota
  - mikrobiološka stabilnost: izzivni test in preskus mikrobiološke kakovosti.
- Vključitev variacij v pogojih preskusa (spremembe temperature),

- Vpliv ovojnine na vsebino kozmetičnega izdelka in vpliv kozmetičnega izdelka na ovojnino (30).

## FIZIKALNO KEMIJSKA STABILNOST

Fizikalno kemijska stabilnost kozmetičnega izdelka je pomembna za predvidevanje odpornosti kozmetičnega izdelka na ekstremne pogoje, kot sta temperatura in svetloba. V sklopu fizikalno kemijske stabilnosti se spremlja barva, vonj, pH vrednost, viskoznost, tekstura, pretočnost in stabilnost emulzije. Testi se prilagodijo glede na kritične parametre preskušane kozmetičnega izdelka, ki ga spremljajo med transportom, shranjevanjem in uporabo. Izvedli smo naslednja testiranja:

- Obremenilni (centrifugalni) test

Prvi test, ki ga izvedemo v okviru stabilnostnih študij, je obremenilni test. Emulzije, ki so sestavljene iz vodnih in oljnih kapljic imajo težnjo, da se ločijo in se oljne kapljice naberejo na vrhu emulzije. Test izvedemo tako, da vzorec segrejemo na 50 °C (v primeru termolabilnih sestavin lahko segrejemo na 40 °C (30)) in ga centrifugiramo. Centrifugiramo ga 30 minut pri 3000 rpm na centrifugirki Centric 322A podjetja Domel.

- Temperaturni test

Test smo izvedli pri sobni temperaturi in je trajal 8 mesecev. Med uporabo smo konstantno spremljali obnašanje emulzije.

- Fotostabilnost

Na kozmetičnih izdelkih, kjer ovojnina ne ščiti pred svetlobo, moramo dodatno izvesti še fotostabilnostne preskuse. Naš kozmetičen izdelek ni namenjen, da bi bil izpostavljen sončni svetlobi, vendar smo vseeno izvedli študijo. Pripravili smo dva vzorca našega kozmetičnega izdelka, enega smo napolnili v prvotno embalažo, kontrolo pa smo napolnili v steklen kozarec. Oba vzorca smo neposredno izpostavili dnevni UV svetlobi za 6 mesecev. Sočasno pa smo spremljali še vzorec v prvotni embalaži in testni vzorec v steklenem kozarcu, ki niso bili izpostavljeni UV svetlobi.

Izpostavljene vzorce smo primerjali z vzorci, ki niso bili izpostavljeni UV svetlobi in ocenili spremembe, katerih vzrok je vpliv svetlobe. Opažene spremembe smo beležili prve tri mesece in šesti mesec na 1, 3, 8 in 14 dan (31).



Največkrat pride do razbarvanja kozmetičnega izdelka, kdaj celo do razbarvanja ovojnine. Do razbarvanja lahko pride zaradi vsebnosti dišav ali drugih občutljivih sestavin (32).

#### STABILNOST OVOJNINE

Ovojnina lahko neposredno vpliva na stabilnost končnega kozmetičnega izdelka in obratno. Sestavine kozmetičnega izdelka se lahko absorbirajo v ovojnino ali pa z njo kemijsko reagirajo. Z neustrezno izbiro ovojnine kozmetični izdelek ni popolnoma zaščiten pred zunanjimi okoliškimi dejavniki (vlaga ali kisik), kar pospeši kvarjenje izdelka. V nekaterih primerih lahko pride tudi do izhlapevanja vsebine ali dišave skozi ovojnino, kar vodi do odstopanj od deklarirane mase ali volumna izdelka (32).

V ta namen smo izmerili težo izdelka na dan polnitve in nato še čez 8 mesecev, da bi ugotovili ali je prišlo do izhlapevanja vsebine skoti ovojnino.

#### 4.5 MIKROBIOLOŠKA ŠTUDIJA

Za zagotavljanje mikrobiološke kakovosti in učinkovitosti konzervansa je moral izdelek opraviti mikrobiološki preskus kakovosti in izzivni preskus učinkovitosti konzervansa. Oba preskusa je opravilo podjetje J.S. Hamilton.

#### POSTOPEK DOKAZOVANJA MIKROBIOLOŠKE KAKOVOSTI

Za namen dokazovanja mikrobiološke kakovosti izdelka moramo dokazati, da kozmetični izdelek v 0,1 g ali v 0,1 ml vzorca ne vsebuje naslednjih mikroorganizmov: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* in *Candida albicans*. Skupno število živih aerobnih mezofilnih mikroorganizmov v 1 g ali 1 ml vzorca ne sme biti večje kot 1000. Preskus so izvedli tako, da so pripravili ustrezne redčite vzorca emulzije, ki so ga nanесли na primerno gojišče. Gojišče so inkubirali do 5 dni in preverjali razrast kolonij. Natančne smernice in pogoje za izvajanje testov so navedeni v naslednjih standardih:

- SIST EN ISO 22717:2016: Kozmetika - Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti bakterije *Pseudomonas aeruginosa*
- SIST EN ISO 22718:2016:Kozmetika - Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti bakterije *Staphylococcus aureus* (ISO 22718:2015)
- SIST EN ISO 18416:2016: Kozmetika - Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti kvasovke *Candida albicans* (ISO 18416:2015)
- SIST EN ISO 21149:2009: Kozmetika - Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti in števila aerobnih mezofilnih bakterij (ISO 21149:2006)

## POSTOPEK DOKAZOVANJA UČINKOVITOSTI KONZERVANSA

S tem testom dokažemo učinkovitost našega konzervansa v kozmetičnem izdelku. Test se izvede v prvotnem vsebniku in pri normalnih pogojih shranjevanja. Vzorec našega kozmetičnega izdelka se razdeli na 5 delov. Vsak del našega vzorca se inokuliramo z znano koncentracijo sevov mikroorganizmov. Sevi mikroorganizmov, ki se jih uporabi so:

- *Pseudomonas aeruginosa*,
- *Staphylococcus aureus*,
- *Escherichia coli*,
- *Candida Albicans in*
- *Aspergillus brasiliensis*.

Koncentracijo sevov se meri naslednjih 28 dni v določenih časovnih intervalih (7 dan, 14 dan in 28 dan). Za vsak interval merjenja in vsak sev se izračuna logaritemsko zmanjšanje števila bakterij in jih primerjamo z minimalnimi vrednostmi navedenim v prilogi B standarda ISO 11930. V prilogi B standarda ISO 11930 so navedeni kriteriji, ki testiran vzorec kozmetičnega izdelka razdeli v dve skupini (33).

Kriterij A:

- Pri bakterijah mora priti do zmanjšanja števila bakterij za vsaj 3 logaritemske enote od dneva inokulacije do 7 dneva. Pri 7, 14 in 28 dnevu ne sme priti do povišanja števila bakterij.
- Pri *Candidi Albicans* mora priti do zmanjšanja števila kvasovk za najmanj eno logaritemsko enoto od dneva inokulacije do 7 dneva. V 14 in 28 dnevu ne sme priti do povišanja števila kvasovk.
- Pri *Aspergillus brasiliensis* ne sme priti do povišanja števila glivic od dneva inokulacije in do 14 dneva. Pri 28 dnevu mora priti do zmanjšanja glivic za najmanj eno logaritemsko enoto.

Kriterij B:

- Pri bakterijah mora priti do zmanjšanja števila bakterij za vsaj 3 logaritemske enote od dneva inokulacije do 14 dneva. V 14 in 28 dnevu ne sme priti do povišanja števila bakterij.

- Pri *Candidi Albicans* mora priti do zmanjšanja števila kvasovk za najmanj eno logaritemsko enoto od dneva inokulacije do 14 dneva. V 14 in 28 dnevnu ne sme priti do povišanja števila kvasovk.
- Pri *Aspergillus brasiliensis* ne sme priti do povišanja števila glivic od dneva inokulacije in do 14 dneva ter 28 dneva.

Če izdelek ustreza kriteriju A, potem to pomeni, da je kozmetičen izdelek ustrezno zaščiten in ne predstavlja mikrobiološkega tveganja za zdravje uporabnika. V primeri, ko pa izdelek ustreza kriteriju B, moramo izdelek dodatno zaščititi pred mikrobiološko kontaminacijo z izbiro ustrezne ovojnine. Lonček ali drugi vsebniki, pri katerih lahko posegamo v samo vsebino kozmetičnega izdelka in s tem vnašamo bakterije, niso ustrezna izbira. Odločiti se moramo za vsebnike s pumpico ali brezračne (airless) vsebnike, pri katerih je vnos mikroorganizmov v vsebino kozmetičnega izdelka onemogočen (33).

V kolikor se ne odločimo za izvajanje mikrobioloških študij kozmetičnega izdelka, moramo le to ustrezno znanstveno utemeljiti. V standardu ISO 29621 so navedeni kriteriji za kozmetične izdelke, ki zapadajo v kategorijo z nizkim mikrobiološkim tveganjem. Pri teh izdelkih lahko mikrobiološke študije izpustimo.

Rezultati preskusov so priloženi v Prilogi I (mikrobiološka kakovost) in Prilogi II (izzivni preizkus konzervansa) k tej magistrski nalogi.

## 5 REZULTATI

Za načrtovanje formulacije kozmetičnega izdelka je bilo pomembno, da smo razumeli zahteve oziroma lastnosti končnega kozmetičnega izdelka. Določiti smo morali, na kateri del telesa bomo nanašali kozmetični izdelek, kdaj ga bomo nanašali, kaj želimo z njim doseči ali se bomo po nanosu oblekli ter ostale bistvene lastnosti, ki so pomembne za samo uporabo in funkcionalnost kozmetičnega izdelka.

Naš kozmetični izdelek je namenjen vsakemu, ki si želi negovati svojo kožo in nima kožnih bolezni ali drugih bolezenskih težav, povezanih s kožo. Izdelek je namenjen negi kože po celem telesu in se uporablja z namenom dodatnega vlaženja kože ter dobrega občutka na koži. Po nanosu izdelka se bomo oblekli, zato ne želimo, da je izdelek masten ali da se dolgo vpija. Glede na te zahteve smo izbrali primerne sestavine.

### 5.1 IZBOR SESTAVIN

Pri izbiri zunanje faze, smo se odločili za destilirano vodo, ker je največkrat uporabljena v tovrstnih sistemih in je tudi iz ekonomskega vidika najugodnejša. Sledi izbira notranje faze. Ker smo se odločili, da želimo izdelati kremo iz naravnih sestavin, lahko izbiramo med olji in masli. Olja, ki so bogata z večkrat nenasičenimi maščobnimi kislinami, kot sta linolna in linolenska kislina, niso stabilna in so podvržena relativno hitrim oksidativnim spremembam. Teh olj ne smemo izpostavljati visokim temperaturam, UV sevanju in kisiku, kar lahko vpliva na stabilnost in kakovost emulzije (9).

Izbrali smo arganovo olje in karitejevo maslo. Arganovo olje se pridobiva iz semen arganije, ki vsebujejo 55 % olja (9). Olje je rumenkaste barve, zelo obstojno in ima vonj po oreščkih. Sestavljeno je 99 % iz trigliceridov. Preostali 1 % pa predstavljajo neumiljive snovi, (karoteni – 37 %, tokoferoli – 8 %, triterpenski alkoholi – 20 %, steroli – 29 %). V ekstra deviškem arganovem olju je lahko vsebnost tokoferolov med 600 in 900 mg/kg. Glavni tokoferol, ki se nahaja v arganovem olju je gama tokoferol (81 – 92 %). Tokoferoli so antioksidanti, kar pomeni, da olje varujejo pred žarkostjo, v kozmetičnih izdelkih pa pomagajo v boju proti radikalom. Zaradi svojih lastnosti se arganovo olje v kozmetiki uporablja za nego suhe kože, nego zrele kože in nego las (34). Sestava arganovega olja je navedena v preglednici V.

*Preglednica V: Sestava arganovega olja in pregled delovanja maščobnih kislin. (9) (34)*

Maščobna kislina	%	Delovanje
Oleinska kislina	43-49	regenerativno <sup>1</sup> , pospešuje prodiranje v kožo <sup>1,2</sup>

Linolna kislina	29-36	protivnetno <sup>1</sup> , regenerativno <sup>1</sup>
Palmitinska kislina	11-15	-
Stearinska kislina	4-7	-
Palmitoeleinska kislina	0,3-3	protimikrobno <sup>1</sup> , pospešuje prodiranje v kožo <sup>2</sup>

<sup>1</sup>Delovanje je dokazano za izolirano sestavino

<sup>2</sup>Delovanje je dokazano za izolirano sestavino kot del kozmetičnega izdelka

<sup>3</sup>Delovanje je dokazano za sestavino kot del rastlinskega masla ali olja

Karitejevo maslo se pridobiva iz drevesa karitejevca. Pri sobni temperaturi je v trdnem agregatnem stanju, tali pa se pri temperaturi 35 °C (9). V sestavi prevladujeta stearinska (45 %) in oleinska kislina (> 40 %). Karitejevo maslo ima veliko neumljivih spojin, katerih delež lahko doseže tudi do 10 %. Neumljiv del sestavljajo triterpenski alkoholi, tokoferoli in steroli. Vsebnost tokoferolov je lahko od 29 do 805 mg/kg, prevladuje pa alfa tokoferol (64 %) (35). Sestava karitejevega masla je navedena v preglednici VI.

*Preglednica VI: Sestava karitejevega masla in pregled delovanja maščobnih kislin (35)*

Maščobna kislina	%	Delovanje
Oleinska kislina	44	regenerativno <sup>1</sup> , pospešuje prodiranje v kožo <sup>1,2</sup>
Stearinska kislina	43	-
Linolna kislina	6	protivnetno <sup>1</sup> , regenerativno <sup>1</sup>
Palmitinska kislina	4	-

<sup>1</sup>Delovanje je dokazano za izolirano sestavino

<sup>2</sup>Delovanje je dokazano za izolirano sestavino kot del kozmetičnega izdelka

<sup>3</sup>Delovanje je dokazano za sestavino kot del rastlinskega masla ali olja

Karitejevo maslo smo izbrali zaradi domnevnega regenerativnega delovanja, ki je posledica velikega deleža neumljivih spojin in protivnetnega delovanja, katerega vzrok je vsebnost triterpenskih spojin. Karitejevo maslo ima visok delež oleinske kisline, ki pospešuje prodiranje v kožo in posledično da občutek manjše mastnosti na koži. Je stabilno in enostavno za vključitev v emulzijske sisteme (35).

Za emulgator smo izbrali neionski emulgator Olivem<sup>®</sup> 1000. Emulgator Olivem<sup>®</sup> 1000 je priznan tudi s strani COSMOS. Pridobiva se iz olivnega olja in izhaja iz kompleksne kombinacije maščobnih kislin, ki je kemično podobna sestavi hidro-lipidnega sloja kože. Olivem<sup>®</sup> 1000 ima sposobnost ustvariti strukture s tekočimi kristali. Takšna struktura je po

obliki zelo podobna strukturi korneocitov v naši koži, zaradi česar učinkovito zmanjša izhlapevanje vode preko kože (TEWL).

Proizvajalec je naredil študijo, s katero je želel oceniti dostavo kofeina v kožo. V študiji je kot kontrolo uporabil kofein <sup>14</sup>C-Caffeine, med sestavinami z emulgirajočim delovanjem pa je preučil Olivem<sup>®</sup> 1000 (cetearil olivat, sorbitan olivat), emulgirajoči vosek (cetareth 20, cetearil alkohol) in Montanov 68 oziroma Vegetal (cetearil alkohol in cetearil glukozid). Penetracijo kofeina je meril 6 ur, rezultate pa beležil na vsako uro. Rezultati so pokazali, da je bila stopnja penetracija po šestih urah najvišja pri Olivem<sup>®</sup> 1000 (65 000 ppm), sledi Montanov 68 (50 000 ppm), kontrola kofeina <sup>14</sup>C-Caffeine (40 000 ppm) in na zadnjem mestu emulgirajoči vosek (35 000 ppm). Proizvajalec je zaključil, da Olivem<sup>®</sup> 1000 klinično dokazano spodbuja dostavo hidrofилnih aktivnih sestavin v kožo. Olivem<sup>®</sup> 1000 ima tudi dobre senzorične lastnosti, saj pri emulzijah tipa O/V daje lahkoten občutek na koži in se hitro vpije (36).

Za namen dodatnega vlaženja kože smo uporabili glicerol, koko kaprilat in alantoin. Glicerol sodi med najpogosteje uporabljena vlažila in veže vodo iz globlje ležeče bazalne plasti povrhnjice v roženo plast ter jo tako ohranja navlaženo. Kokosov kaprilat je ester maščobnega alkohola, pridobljenega iz kokosovega olja ter kaprilne kisline in kaprinske kisline. Uporablja se kot naravni nadomestek silikonov z namenom vlaženja in izboljšanja mazljivosti emulzij. Alantoin pa ima poleg svojih vlažilnih lastnosti tudi keratoplastično delovanje, kar pomeni da mehča poroženelo plast kože (9). Po navedbah proizvajalca smo morali paziti, da ne pride do rekristalizacije alantoina v končnem kozmetičnem izdelku. Če želimo vključiti 0,5 % alantoina ali več, ga moramo dodati v zadnji fazi (fazi hlajenja) pri temperaturi pod 50 °C. Pri višjih temperaturah v vodnih sistemih lahko pride do raztapljanja in rekristalizacije po padcu temperature (37).

Pri izdelavi kreme je pri prvem poskusu prišlo do rekristalizacije alantoina. To se je čutilo kot prisotnost drobnih zrn v sami emulziji. V drugem poskusu smo zmanjšali vsebnost alantoina v formulaciji iz 0,5 % na 0,3 %, ga raztopili v topli vodi ter ga dodali, ko se je emulzija ohladila na 45 °C.

Dodali smo še konzervans ter tako zaščitili izdelek proti gram pozitivnim in gram negativnim bakterijam ter plesni. Po navadi en konzervans ne zaščiti izdelka pred vsemi mikroorganizmi, zato je priporočljiva uporaba dveh ali več konzervansov. Uporabili bomo Cosgard (Geogard<sup>®</sup> 221) v kombinaciji s kalijevim sorbatom. Cosgard je sestavljen iz benzil alkohola in dehidroocetne kisline.

Za namen izboljšanja vonja emulzije smo uporabili eterično olje pelargonije.

Ko smo izbrali ustrezne sestavine ter jih umestili v ustrezno fazo (preglednica IV), smo morali določiti še optimalno koncentracijo posamezne sestavine v formulaciji. Začeli smo s koncentracijo emulgatorja. Proizvajalec navaja, da se Olivem® 1000 lahko uporablja kot samostojen emulgator pri koncentraciji od 3 do 5 %. Tali se pri temperaturi 70 °C in tvori stabilne emulzije v pH območju od 3 do 12. Pri 3 % daje bolj viskozne emulzije, medtem ko pri 5 % daje bolj kompaktne emulzije. Odločili smo se za zgornjo koncentracijo, saj si želimo izdelati bolj kompaktno kremo, s čimer smo olajšali nanos kreme po telesu. Olivem® 1000 je sposoben emulgirati do 20 % olj, kar pomeni da skupna koncentracija arganovega olja, karitejevega masla in koko kaprilata ne sme preseči 20 %. V naši formulaciji smo uporabili 6 % arganovega olja, 8 % karitejevega masla in 5 % koko kaprilata.

Količino glicerola smo omejili na 5 %, saj pri višjih koncentracijah lahko daje lepljiv občutek, česar pa ne želimo. Alantoin se lahko uporablja v koncentraciji do 2 %. Ker ga bomo uporabili le kot podporo glicerola in kokokaprilatu in naš izdelek ni namenjen osebam, ki imajo zelo izsušeno kožo ter smo imeli težave z rekristalizacijo smo se odločili le za koncentracijo 0,3 %.

Cosgard in kalijev sorbat delujeta kot konzervansa. Priporočljive koncentracije konzervansa Cosgard s strani proizvajalca so od 0,2 do 1,0 % za različne kozmetične izdelke, ki se lahko sperejo ali pa ostanejo na koži (38). Odločili smo se za koncentracijo 0,5 % Cosgarda, kateri bo v podporo za širši spekter zaščite še kalijev sorbat v koncentraciji 0,2 %. Kalijev sorbat pri koncentraciji nad 0,5 % lahko povzročil draženje kože.

Eterično olje pelargonije smo uporabili z namenom odišavljenja formulacije. Maksimalna varna koncentracija eteričnega olja pelargonija za dermalno uporabo je 17,5 % (39). Ta koncentracija je absolutno previsoka za naš kozmetični izdelek, saj jo želimo dodati le za namen izboljšanja vonja formulacije. Omejili se bomo na 0,15 % koncentracijo eteričnega olja pelargonije.

Destilirano vodo uporabimo v taki koncentraciji, da je končni seštevnik vseh sestavin sestavin 100 %.

## REZULTATI STABILNOSTI KOZMETIČNEGA IZDELKA

Stabilnost kozmetičnega izdelka smo dokazali s centrifugiranjem. Po centrifugiranju ni prišlo do ločitve faz, s čimer lahko zaključimo, da je naša emulzija stabilna pri testnih pogojih.

Za namen določevanja roka uporabnosti lahko uporabimo različne teste. Lahko bi se odločili za pospešene teste, ki se izvajajo krajši čas, vendar smo zaradi ekonomskega vidika odločili, da

bomo test izvedli pri sobni temperaturi. Preliminarni rok uporabnosti smo določili na podlagi pregleda roka uporabnosti sorodnih formulacij. Rok uporabnosti smo preverili tako, da smo 8 mesecev opazovali našo formulacijo pri sobni temperaturi. V 8 mesecih ni bilo opaznih nobenih sprememb, zato smo zaključili, da je rok uporabnosti 8 mesecev.

Za naš izdelek se predvideva, da ne bo podvržen UV svetlobi, vendar smo vseeno izpeljali študijo fotostabilnosti. Za ovojnino smo izbrali PET (polietilentereftalat) lonček bele barve. Rezultati so podani v preglednici VII. Iz rezultatov lahko zaključimo, da izbrana ovojnina učinkovito varuje kozmetični izdelek pred UV žarkom:

*Preglednica VII: Rezultati fotostabilnostne študije*

	UV svetloba		Brez UV svetlobe
	Kozmetičen izdelek v prvotnem vsebniku	Kozmetičen izdelek v steklenem lončku	Kozmetičen izdelek v prvotnem vsebniku
Mesec 1			
dan 1	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 3	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 8	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 14	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
Mesec 2			
dan 1	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 3	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 8	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 14	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
Mesec 3			
dan 1	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 3	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 8	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
dan 14	ni sprememb	ni sprememb	ni sprememb
Mesec 6			



dan 1	ni sprememb	blaga sprememba v barvi	ni sprememb
dan 3	ni sprememb	blaga sprememba v barvi	ni sprememb
dan 8	ni sprememb	blaga sprememba v barvi	ni sprememb
dan 14	ni sprememb	blaga sprememba v barvi	ni sprememb

Za namen ugotavljanja prepustnosti embalaže smo izvedli še test stabilnosti ovojnine. Stehtali smo ovojnino skupaj z vsebino izdelka na dan polnjenja in nato ponovno čez 8 mesecev. Meritve so predstavljene v preglednici VIII. Povzamemo lahko, da med shranjevanjem ni prišlo, do izhlapevanja vode iz izdelka.

*Preglednica VIII: Izhlapevanje vode/vsebine izdelka iz embalaže*

	Teža izdelka skupaj z ovojnino
Dan 0 (dan polnjenja)	220,02 g
8 mesec	219,83 g

## REZULTATI MIKROBIOLOŠKE KAKOVOSTI

Z mikrobiološko študijo smo dokazali mikrobiološko kakovost končnega izdelka in učinkovitost konzervansa. Rezultati mikrobiološke študije so podani s preglednico IX.

*Preglednica IX: Rezultati študije mikrobiološke kakovosti izdelka*

Metoda/test	Enota	Rezultat	Kriterij	Ustreza/neustreza
SIST EN ISO 21149:2009: Kozmetika; Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti in števila aerobnih mezofilnih bakterij	Cfu/g	$5,0 \times 10^1$	$\leq 1,0 \times 10^3$	Ustreza

SIST EN ISO 18416:2016: Kozmetika; Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti kvasovke <i>Candida albicans</i>	-	Odsotno v 1 g vzorca	Odsotno v 1 g vzorca	Ustreza
SIST EN ISO 22717:2016: Kozmetika; Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti bakterije <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	Odsotno v 1 g vzorca	Odsotno v 1 g vzorca	Ustreza
SIST EN ISO 22718:2016: Kozmetika; Mikrobiologija - Ugotavljanje prisotnosti bakterije <i>Staphylococcus aureus</i>	-	Odsotno v 1 g vzorca	Odsotno v 1 g vzorca	Ustreza

Kozmetičen izdelek ustreza mikrobiološkim kriterijem navedenim v Uredbi o izvajanju uredbe 1223/2009/ES, kar pomeni, da v 0,1 g ali v 0,1 ml vzorca ne vsebuje naslednjih mikroorganizmov: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* in *Candida albicans*. Skupno število živih aerobnih mezofilnih mikroorganizmov v 1 g ali 1 ml vzorca ni večje kot 1000.

## REZULTATI IZZIVNEGA PRESKUSA UČINKOVITOSTI KONZERVANSA

V preglednici X Preglednica IX: Rezultati študije mikrobiološke kakovosti izdelka so predstavljeni rezultati mikrobiološke kakovosti izdelka.

Preglednica X: Rezultati izzivnega preskusa učinkovitosti konzervansa

Mikroorganizmi	Logaritemsko zmanjšanje						
	No	N <sub>x</sub>	Kriterij	N <sub>x</sub>	Kriterij	N <sub>x</sub>	Kriterij

	(dan inokulacije)	(dan 7)		(dan 14)		(dan 28)	
E. Coli	<b>7,1 x 10<sup>5</sup></b>	<b>4,85</b>	$\geq 3$	<b>4,85</b>	$\geq 3$ in NI	<b>4,85</b>	$\geq 3$ in NI
S. Aureus	<b>6,7 x 10<sup>5</sup></b>	<b>4,83</b>	$\geq 3$	<b>4,83</b>	$\geq 3$ in NI	<b>4,83</b>	$\geq 3$ in NI
P. Aeruginosa	<b>7,4 x 10<sup>5</sup></b>	<b>4,87</b>	$\geq 3$	<b>4,87</b>	$\geq 3$ in NI	<b>4,87</b>	$\geq 3$ in NI
C. Albicans	<b>6 x 10<sup>4</sup></b>	<b>3,78</b>	$\geq 1$	<b>3,78</b>	$\geq 1$ in NI	<b>3,78</b>	$\geq 1$ in NI
A. Brasiliensis	<b>5,7 x 10<sup>4</sup></b>	<b>3,76</b>	-	<b>3,76</b>	$\geq 0$	<b>3,76</b>	$\geq 1$

$N_0$  – število mikroorganizmov ob inokulaciji

$N_x$  – število mikroorganizmov

NI – ni povečanja števila mikroorganizmov v primerjavi s prejšnjim časom merjenja

Iz preglednice X lahko razberemo, da naš izdelek ustreza kriteriju A v standardu ISO 11930, kar pomeni, da je izdelek ustrezno zaščiten in ne predstavlja mikrobiološkega tveganja za zdravje uporabnika. Bolj podrobni rezultati pa so v prilogi 1 in prilogi 2 k tej magistrski nalogi.

## 5.2 DOKUMENTACIJA Z INFORMACIJAMI O KOZMETIČNEM IZDELKU

Za ugotavljanje, če so vse sestavine v skladu z Uredbo 1223/2009/ES in je izdelek varen za uporabo ter posledično za prodajo na slovenskem trgu, smo izdelali dokumentacijo z informacijami o kozmetičnem izdelku, kot zahteva člen 11 Uredbe 1223/2009/ES.

### 5.2.1 OPIS KOZMETIČNEGA IZDELKA

Ime izdelka je krema za telo CVET z vonjem pelargonije. Krema se lahko nanaša na celotno telo. Pakirana je v 200 ml bel plastičen lonček.

## 5.2.2 OPIS PROIZVODNJE IN IZJAVA O PROIZVODNJI V SKLADU Z DOBRO PROIZVODNO PRAKSO (DPP)

Opis proizvodnje:

Faza A:

- Destilirana voda
- Glicerol

Faza B:

- Olivem 1000
- Arganovo olje
- Karitejevo maslo
- Koko kaprilat

Faza C:

- Alantoin
- Cosgard
- Kalijev sorbat
- Eterično olje pelargonije
- Citronska kislina

Fazo A in fazo B ločeno segrejemo. Združimo ju pri temperaturi 70 °C, tako da fazo B prilijemo k fazi A. Nastalo zmes mešamo s paličnim mešalnikom približno 3 minute.

Pustimo, da se emulzija nekoliko ohladi in dodamo še raztopino kalijevega sorbata ter Cosgard. Dobro premešamo in počakamo, da se nekoliko ohladi. Ko emulzija doseže temperaturo 45°C ji dodamo raztopino alantoina ter dobro premešamo s paličnim mešalnikom. Na koncu dodamo še eterično olje pelargonije in z raztopino citronske kisline uravnamo pH.

Dobra proizvodna praksa:

Izvajanje proizvodnih postopkov v skladu z načeli dobre proizvodne prakse (DPP) je ob izbiri varnih sestavin ključnega pomena za minimiziranje tveganosti kozmetičnega izdelka za zdravje ljudi. Standardi dobre proizvodne prakse omogočajo popolno sledljivost proizvodnega procesa, vse tja do neposrednega začetka proizvodnje. To zagotavlja varen odpoklic kozmetičnega izdelka, če je le ta potreben. Izvajanje proizvodnega postopka po načelih DPP prispeva k zaščiti kozmetičnega izdelka pred procesno in mikrobiološko kontaminacijo, napakami pri proizvodni

in označevanju. Sklicevanja na standarde DPP so objavljena v Uradnem listu Evropske unije v standardu ISO 22716

### 5.2.3 DOKAZILA O UČINKIH

Dokazila, trditve in navajanja, ki se nanašajo na namen in vplive na kožo, izhajajo iz izbire sestave, značilnosti in funkcije posameznih sestavin.

Posebnih učinkov, za katere bi potrebovali dokazila ne navajamo na sami ovojnini izdelka.

### 5.2.4 TESTIRANJE NA ŽIVALIH

Testiranja na živalih povezana z izdelkom se ne izvajajo. Prav tako, se ne uporabljajo sestavine, ki so bile testirane na živalih.

### 5.2.5 POROČILO O VARNOSTI KOZMETIČNEGA IZDELKA

#### *DEL A – INFORMACIJE O VARNOSTI KOZMETIČNEGA IZDELKA*

#### **KVANTITATIVNA IN KVALITATIVNA SESTAVA**

V preglednici XI je sestava naše formulacije kreme za telo CVET.

*Preglednica XI: kvalitativna in kvantitativna sestava kreme za telo CVET*

INCI (EU) IME	CAS	% (m/m)	Vloga (Cosing)	Proizvajalec	Omejitve
Aqua	7732-18-5	68,75%	Topilo, zunanja faza	-	-
Glycerin	56-81-5	5,00%	vlažilec	-	-
Olivem® 1000	-	6,00%	emulgator/ stabilizator	-	-
Cetearyl olivate	85116-80-9		-	-	-
Sorbitan olivate	223706-40-9		emulgator	-	-
Butyrospermum parkii butter	194043-92-0 / 91080-23-8	8,00%	emolient, nega kože	-	-
Argania Spinosa Kernel Oil	223747-87-3	6,00%	emolient,	-	-

			nega kože		
Coco-caprylate	107525-85-9	5,00%	emolient, nega kože	-	-
Allantoin	97-59-6	0,30%	aktivna učinkovina, nega kože	-	-
Cosgard (Geogard® 221)	-			-	-
Benzyl alcohol	100-51-6			-	III/45, V/34
Dehydroacetic acid	520-45-6	0,50%		-	V/13
Potassium sorbat	24634-61-5 / 590-00-1	0,20%			
Citric Acid	77-92-9 / 5949-29-1	0,10%			
Pelargonium Graveolens Flower Oil	90082-51-2 / 8000-46-2%	0,15%	dišava	Podjetje XY	-

### Destilirana voda

Destilirana voda je bistra, brezbarvna, prozorna tekočina. Varna je za dermalno uporabo. Kemijska formula je H<sub>2</sub>O, molekulska masa pa 18 g/mol.

### Glicerol

Glicerol je viskozna, bistra, brezbarvna tekočina sladkega okusa. Kemijsko je poliol (sladkorni alkohol) s tremi ogljikovimi atomi. Je topen v vodi (9). Kemijska formula je C<sub>3</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>, molekulska masa pa 92 g/mol. (40) Porazdelitveni koeficient LogP<sub>o/w</sub> je -1,76. (41)

### **Olivem®1000**

Olivem 1000 je zmes cetearil olivata (55 - 65 %) in sorbitan olivata (35 - 45 %). Tali se pri temperaturi od 65 do 75 °C. Pri sobni temperaturi je v trdnem agregatnem stanju in je bele barve.

Vir podatkov: varnostni list proizvajalca

### **Karitejevo maslo**

Karitejevo maslo se pridobiva iz karitejevca. V sestavi prevladujeta stearinska (45 %) in oleinska kislina (> 40 %). Karitejevo maslo ima velik delež neumljivih spojin, ki lahko doseže tudi do 10 % delež. Pri sobni temperaturi je v trdnem agregatnem stanju, tali pa se pri temperaturi 35 °C (9).

### **Arganovo olje**

Arganovo olje se pridobiva iz semen arganije, ki vsebujejo 55 % olja. V olju prevladujejo nenasičene maščobne kisline (oleinska kislina – 45 % in linolna kislina – 35 %), vsebuje pa tudi tokoferol, skvalen in fitosterole. Olje je rumenkaste barva, zelo obstojno in ima vonj po oreščkih (9).

### **Kokosov kaprilat**

Kokosov kaprilat je vlažilec pridobljen iz kokosovega olja. Izboljšuje mazljivost kozmetičnega izdelka in ne pušča mastnega občutka na koži. Relativna gostota je 0,86 g/ml.

### **Alantoin**

Alantoin je heterociklična organska spojina (diureid glioksalne kisline). Uporablja se v koncentraciji do 2 %. Je nestabilen v alkalnem okolju, kjer hidrolizira v sečnino in glioksilno kislino.

Alantoin je v obliki belega prahu, molekulska masa je 158,12 g/mol, kemijska formula pa  $C_4H_6N_4O_3$ . Je slabo topen v hladni vodi (0,57 g/100 ml) in dobro topen v topli vodi (37).

### **Cosgard (Geogard® 221)**

Cosgard je konzervans sestavljen iz benzil alkohola (87,2 %), dehidroocetne kisline (8 %) in vode (4,8 %). Pri sobni temperaturi je rumenkasta tekočina, s specifičnim vonjem in je slabo topen v vodi.

Vir podatkov: varnostni list proizvajalca

### **Kalijev sorbat**

Kalijev sorbat je kalijeva sol sorbinske kisline. Ima vlogo konzervansa in je prisoten v obliki belih granul, ki so topne v vodi. Njegova kemijska formula je  $C_6H_7KO_2$ , molekulska masa pa 150,22 g/mol. (42)

### **Citronska kislina**

Citronska kislina se uporablja za uravnavanje pH končnega izdelka. Po sestavi je podobna vitaminu C. Topna je v vodi in sicer pri 20 °C je topnost 147,76 g/100 ml. Porazdelitveni koeficient je logP – 1,65. Pri sobni temperaturi je v obliki belih kristalov, ki so dobro topni v vodi. Topnost pri 20 °C je 147,76 g/100 ml. Molekulska formula je  $C_6H_8O_7$ , molekulska masa pa znaša 192,12 g/mol. (43)

### **Eterično olje pelargonije**

Eterično olje pelargonije se pridobiva z destilacijo cveta, ki vsebuje 0,1 do 0,2 % eteričnega olja. Gostota pri 20 °C je od 0,890 do 0,896 g/ml. Po izgledu je rumenkasta tekočina z izrazito močnim cvetličnim vonjem. Sestava eteričnega olja pelargonije je predstavljena v preglednici XII, alergeni, ki so prisotni v eteričnem olju pelargonije pa v preglednici XIII.

*Preglednica XII: Sestava eteričnega olja pelargonije (vir: varnostni list proizvajalca)*

Citronellol	30 – 60 %
Geraniol	10 – 30 %
Menthone	5 – 10 %
Linalool	5 – 10 %
Citral	< 1 %
Pinenes	1 – 5 %
Limonene	< 1 %

*Preglednica XIII: Alergeni prisotni v eteričnem olju pelargonije (vir: varnostni list proizvajalca)*

Ime alergena	Prisotnost v dišavi (%)
Citronellol	37
Geraniol	20
Linalool	10
Citral	2,5



Limonene	0,5
----------	-----

## **FIZIKALNO KEMIJSKE ZNAČILNOSTI KONČNEGA KOZMETIČNEGA IZDELKA**

Krema za telo CVET z vonjem pelargonije je pri pogojih normalne uporabe in shranjevanja, stabilen hidrofilni (O/V) emulzijski sistem.

Izgled: homogena bela do blago rumenkasta krema

pH: 5,5

Vonj: cvetličan, po pelargoniji

## **STABILNOST KONČNEGA IZDELKA**

Fizikalna stabilnost končnega izdelka je utemeljena s pravilno izbiro sestavin, koncentracije sestavin in pravilno izvedbo tehnološkega postopka, ki zagotavlja, da ne prihaja do ločitve faz, koalescence emulzije, kristalizacije ali precipitacije sestavin in spremembe barve, kar je tudi dokazano z stabilnostnimi študijami.

Krema za telo CVET je emulzijski sistem tipa O/V. Kot O/V emulgator je uporabljen Olivem® 1000. Olivem® 1000 je samostojni emulgatorski sistem, ki je sestavljen iz cetearil olivata in sorbitan olivata.

## **MIKROBIOLOŠKA KAKOVOST**

Krema za telo CVET je zaščitena pred mikrobiološko kontaminacijo z konzervansom Cosgard in kalijevim sorbatom.

Krema za telo CVET je učinkovito zaščitena pred mikrobiološko kontaminacijo najmanj v času uporabnosti izdelka označenem na ovojnini, to je 8 mesecev. Rezultati preskusa mikrobiološke kakovosti kozmetičnega izdelka so predstavljeni v Prilogi 1. Izdelek ustreza kriterijem, ki jih določa Uredba o izvajanju uredbe 1223/2009/ES glede mikrobiološke kakovosti. V prilogi 2 pa so predstavljeni rezultati izzivnega preskusa učinkovitosti konzervansa. Poskus je bil izveden po ISO standardu 11930. Rezultati preskusa so pokazali, da konzervans učinkovito ščiti izdelek pred mikrobiološko kontaminacijo.

## **NEČISTOTE, SLEDI, PODATKI O EMBALAŽNEM MATERIALU**

V skladu s specifikacijami varnostnega lista proizvajalca, sestavine uporabljene pri izdelavi kozmetičnega izdelka ne vsebujejo nečistoč ali sledi prepovedanih snovi za uporabo v kozmetičnih izdelkih v skladu z Uredbo 1229/2009/ES.

Proizvodni postopek in vsi drugi postopki povezani s proizvodnjo se izvajajo tako, da ni možnosti, da se pojavijo sledi v končnem izdelku.

Krema za telo CVET je pakirana v plastičen lonček. Na podlagi certifikata o neoporečnosti omenjene embalaže za kozmetične izdelke s strani proizvajalca ter spreminjanja obnašanja v tej embalaži lahko ocenimo, da je izdelek zaščiten in ne spreminja svojih lastnosti.

Embalažni material je PET (polietilentereftalat) plastika.

#### **NORMALNA IN RAZUMNO PREDVIDLJIVA UPORABA**

Krema za telo CVET je namenjena negi telesa. Do dvakrat dnevno jo nanesemo na kožo telesa in je ne izperemo. Namenjena je odraslim osebam za nanašanje na zdravo kožo. V primeru stika z očesno sluznico, takoj sprati z vodo. Hraniti izven dosega otrok..

#### **IZPOSTAVLJENOST KOZMETIČNEMU IZDELKU**

V preglednici XIV je predstavljena izpostavljenost kozmetičnem izdelku povzeta po smernicah ZOVPT.

*Preglednica XIV: Izpostavljenost kozmetičnem izdelku povzeta po smernicah ZOVPT*

Mesto uporabe:	Telo
Se /se ne izpere:	Se ne izpere
Frekvenca nanosa:	2.28/dan
Druge poti izpostavljenosti:	ni
Predvidena površina izpostavljene kože (cm <sup>2</sup> ):	15670
Predvidena dnevna količina uporabljenega izdelka (ZOVP) (g/dan):	7.82
Uporabljena relativna količina (ZOVP) (mg/kg tt/dan):	123.2
Retencijski faktor (ZOVP):	1
Ciljna skupina:	Odrasli
Izračunana relativna dnevna izpostavitvev izdelku (ZOVP) (mg/kg tt/dan):	123.2

Na podlagi podatkov iz preglednice XI in XIV smo lahko izračunali še izpostavljenost posameznim sestavinam v kozmetičnem izdelku, kar je predstavljeno v preglednici XV.

## IZPOSTAVLJENOST SNOVEM

*Preglednica XV: Izpostavljenost sestavinam v kozmetičnem izdelku*

INCI (EU) IME	% (m/m)	A (mg/kg tt/dan)	SED (mg/kg tt/dan)
Aqua	68,75%	123,2	84,7
Glycerin	5,00%	123,2	6,16
Olivem® 1000		123,2	0
Cetearyl olivate	3,60%	123,2	4,4352
Sorbitan olivate	2,40%	123,2	2,9568
Butyrospermum parkii butter	8,00%	123,2	9,856
Argania Spinosa Kernel Oil	6,00%	123,2	7,392
Coco-caprylate	5,00%	123,2	6,16
Allantoin	0,30%	123,2	0,3696
Cosgard (Geogard® 221)		123,2	0
Benzyl alcohol	0,45%	123,2	0,5544
Dehydroacetic acid	0,04%	123,2	0,04928
Potassium sorbat	0,20%	123,2	0,2464
Citric Acid	0,10%	123,2	0,1232
Pelargonium Graveolens Flower Oil	0,15%	123,2	0,1848
Citronellol	0,06%	123,2	0,068376
Geraniol	0,03%	123,2	0,03696
Linalool	0,02%	123,2	0,01848
Citral	0,00%	123,2	0,00462
d-Limonene	0,00%	123,2	0,000924

### Izpostavljenost alergenom:

Alergeni, ki se nahajajo v kozmetičnem izdelku in njihove koncentracije so navedene v preglednici XVI.

*Preglednica XVI: Koncentracija alergenov v kozmetičnem izdelku*

Ime alergena	Prisotnost v dišavi (%)	Prisotnost v KI
Citronellol	37	0,0555%
Geraniol	20	0,0300%
Linalool	10	0,0150%
Citral	2,5	0,0038%

Limonene	0,5	0,0008%
----------	-----	---------

**Vrednost SED izračunamo po formuli (24):**

$$SED(\text{mg/kg tt/dan}) = A(\text{mg/kg tt/dan}) \frac{B(\%)}{100} \times \frac{C(\%)}{100}$$

\*A - Izračunana relativna dnevna izpostavitve izdelku povzeta po smernicah ZOVP

Vedno uporabimo najslabši pristop (angl. Worst case approach), kar pomeni, da pri sestavinah, kjer so koncentracije v razponu, uporabimo najvišjo možno.

\*B – koncentracija v izdelku

\*C – dermalna absorpcija – v kolikor ni podatka, uporabimo 100 %.

## **TOKSIKOLOŠKI PROFIL SNOVI**

### **Destilirana voda**

Destilirana voda je popolnoma varna za dermalno uporabo. Uporablja se v večini emulzijskih sistemov O/V kot topilo oziroma zunanja faza.

### **Glicerol**

Glicerol ima status GRAS (Generally Recognized As Safe), kar pomeni, da je s strani ameriške Agencije za hrano in zdravila (FDA, Food And Drug Administration) priznan kot varna sestavina za uporabo. Na podlagi poročila o pregledu kozmetičnih sestavin (CIR – Cosmetic Ingredient Review) ni podatkov o absorpciji, porazdelitvi, presnovi in izločanju glicerina v primeru dermalnega nanosa glicerina.

V 90 dnevni študiji, kjer so 30 % celotne površine kože zajcev izpostavili 99,5 % glicerol ni bilo opaznih sprememb povezanih z dermalnim nanosom glicerola. Odmerek je bil od 0.5 do 4 ml na testni subjekt, nanašali pa so ga petkrat na teden. V študiji so uporabili vzporedno naravno in sintezno pridobljeni glicerol. Rezultati se niso razlikovali (40).

V naslednji študiji je deset moških in štiri ženske peroralno uživalo glicerol 50 dni. Odmerek glicerola, ki so ga prejeli v obliki pomarančnega soka skupaj z obrokom je znašal od 1,3 do 2,2 g/kg tt/dan. V študiji niso opazili znakov toksičnosti in so zaključili, da je NOAEL za glicerol enak ali večji 2200 mg/kg tt/dan (40).

Glicerol ni razvrščen kot reproduktivno ali razvojno toksičen, genotoksičen ali kancerogen. Ne povzroča draženja kože ali oči. Prav tako ne povzroča preobčutljivostne reakcije kože.

### **Olivem 1000**

Olivem je sestavljen iz cetearil olivata (55 - 65 %) in sorbitan olivata (35 - 45 %).

Cetearil olivat je ester cetearilnega alkohola in maščobnih kislin, pridobljenih iz olivnega olja. Na voljo ni veliko informacij o varnosti same sestavine. Vključen je v poročilo CIR v sklopu ocene varnosti alkilnih estrov za uporabo v kozmetiki. Alkilni estri so hidrofobne sestavine. V poročilu te sestavine na podlagi strukturnih in funkcionalnih podobnosti obravnavajo skupaj. Odbor strokovnjakov je v poročilu CIR zaključil, da je cetearil olivat varen za uporabo v kozmetiki (44).

Sorbitan olivat je monoester maščobnih kislin, pridobljenih iz olivnega olja in heksitolnega anhidrida, pridobljenih iz sorbitola. Vključen je v poročilo CIR v sklopu ocene varnosti estrov sorbitana za uporabo v kozmetiki. V poročilu je ocenjenih še 20 estrov sorbitana, ki imajo enako strukturno jedro in se razlikujejo le v številu verig maščobnih kislin in dolžine le teh verig. Večina estrov sorbitana imajo v kozmetičnih izdelkih funkcijo emulgatorja. Uporabljajo se v koncentraciji do 10 %. V tem območju lahko glede na strukturno podobnost z ostalimi estri sorbitana lahko sklepamo, da sorbitan olivat ne draži kože ali oči in ne povzroča preobčutljivostnih reakcij. Prav tako ni reproduktivno ali razvojno toksičen, mutagen ali kancerogen. Na podlagi podatkov iz tega poročila o varnosti lahko izračunamo, da je najvišja možna koncentracija sorbitan olivata v naši formulaciji 2,7 % (45).

### **Karitejevo maslo**

Na podlagi vseh zbranih podatkov je strokovni odbor, ki je sestavil oceno CIR zaključil, da karitejevo maslo ne povzroča draženja ali preobčutljivostnih reakcij in je popolnoma varen za kozmetično uporabo (46).

### **Arganovo olje**

Arganovo olje je skupaj še z ostalimi 244 olji vključeno v CIR oceno z dne 4. marec 2011 z naslovom Olja, pridobljena iz rastlinskih maščobnih kislin, ki se uporabljajo v kozmetiki. Na podlagi vseh zbranih podatkov je strokovni odbor, ki je sestavil oceno CIR zaključil, da sestavine iz te skupine ne povzročajo draženja ali preobčutljivostnih reakcij in so popolnoma varne za kozmetično uporabo (47).

### **Kokosov kaprilat**

Kokosov kaprilat je mešanica estrov dobljenih z reakcijo maščobnih alkoholov pridobljenih iz kokosovega alkohola in kaprilne kisline. Na voljno ni veliko informacij o varnosti same sestavine. Vključen je v poročilo CIR v sklopu ocene varnosti alkilnih estrov za uporabo v kozmetiki. Alkilni so hidrofobne sestavine. V poročilu sestavine na podlagi strukturnih in funkcionalnih podobnosti obravnavajo skupaj. Odbor strokovnjakov je v poročilu CIR zaključil, da je kokosov kaprilat varen za uporabo v kozmetiki. (44)

### **Alantoin**

Podatki o varnosti alantoina so pomanjkljivi. Dermalna absorpcija alantoina je ocenjena na 16 % v kozmetičnih izdelkih in se po absorpciji hitro izloči iz organizma. Na podlagi evropske agencije za kemikalije (ECHA) je LD50 za alantoin 5000 mg/kg tt. Ne draži kože, očne sluznice in ne povzroča preobčutljivostnih reakcij (48).

### **Cosgard (Geogard® 221)**

Cosgard je sestavljen iz benzil alkohola (87,2 %), dehidroocetne kisline (8 %) in vode (4,8 %). Ima vlogo konzervansa in ščiti izdelek pred mikrobiološko kontaminacijo. V prilogi V (Seznam dovoljenih konzervansov v kozmetičnih izdelkih) k Uredbi 1223/2009 veljajo omejitve za benzil alkohol (1 %) in dehidroocetno kislino (0,6 %, prepovedana uporaba v aerosolnih razpršilcih).

Benzil alkohol se v organizmu metabolizira v benzojsko kislino, ki se hitro absorbira iz gastrointestinalnega trakta in reagira z glicinom v jetrih. Nato pa se v obliki hipurične kisline izloči iz organizma. Celoten metabolizem je hiter in traja do 24 h. Pri študiji pri ponavljajočih odmerkih (peroralna aplikacija) so ugotovili, da znaša NOAEL za benzil alkohol > 400 mg/kg tt dan za podgane in >200 mg/kg tt/dan za miši. Opazili so, da je prišlo do sprememb v telesni teži, lezij v možganih, timusu, skeletnih mišicah in ledvicah. Benzil alkohol ne povzroča reproduktivne ali razvojne toksičnosti, mutagenosti ali kancerogenosti. Benzil alkohol se je izkazal za iritanta očne sluznice v 4 % vodni raztopini, prav tako pa draži kožo v nerazredčeni obliki. Pri študiji z obliži na ljudeh (human patch test) je benzil alkohol v koncentraciji 1 % povzročil preočitljivostne reakcije. Za izračun MoS bomo uporabili nižjo vrednost NOAEL 200 mg/kg tt/dan (49).

Dehidroocetna kislina se dobro absorbira preko kože. Na koži kuncev ne povzroča iritacije ter minimalno iritira očesno sluznico. Kronične in subkronične študije kažejo različne toksične učinke, primarno pomanjkanje apetita in zmanjšanje telesne teže. Podatkov o mutagenosti in kancerogenosti ni. Zaključimo lahko, da je dihidroocetna kislina ne draži kože, očne sluznice

in ni fototoksična (50). NOAEL pridobljen s peroralno aplikacijo na podlagi eno letne študije na opicah znaša 100 mg/kg tt/dan. Neželeni učinki so se kazali v obliki zmanjšanja telesne teže in pomanjkanju apetita (51).

### **Kalijev sorbat**

Kalijev sorbat se je izkazal za netoksičnega pri podganah in zajcih pri akutni peroralni študiji. Pri koncentraciji do 0.5 % ne draži kože ali očesne sluznice, prav tako pa tudi ne povzroča preobčutljivostnih reakcij (52). NOAEL za kalijev sorbat znaša 1000 mg/kg tt/dan pri 90 dnevni študiji na psih pri peroralni aplikaciji (53).

### **Citronska kislina**

Citronska kislina spada med alfa hidroksi kisline. Uporabljamo jo za uravnavanje pH-ja emulzije. Uporablja se v koncentraciji do 4 % za izdelke, ki ostanejo na koži. Citronska kislina se po peroralni aplikaciji dobro absorbira in metabolizira. Citronska kislina je v nerazredčeni obliki dražila kožo, medtem ko pri uporabi 30 % raztopine ne draži kože. Pri uporabljeni koncentraciji v naši formulaciji citronska kislina ne draži kože ali očesne sluznice in ne povzroča preobčutljivostnih reakcij. Dermalna vrednost LD<sub>50</sub> za citronsko kislino je > 5g/kg tt pri zajcih, kar pomeni, da sestavina ni akutno toksična (54).

### **Eterično olje pelargonije**

Eterično olje pelargonije je pri višjih koncentracijah dražilno za kožo in očesno sluznico. Lahko povzroči sensitizacijo, pri občutljivih posameznikih pa alergijski dermatitis. Maksimalna priporočena koncentracija je 17,5 %. (na podlagi 30,3 % vsebnosti geraniola, za katerega velja dermalna omejitev 5,3 %). Ni razpoložljivih podatkov o kancerogenosti, mutagenosti, razvojni ali reproduktivni toksičnosti. Pri študiji za dermalno akutna toksičnost za eterično olje pelargonije so ugotovili, da je odmerek LD<sub>50</sub> 2,5 g/kg tt (39).

Alergeni prisotni v eteričnem olju pelargonije in njihovi toksikološki parametri so predstavljeni v preglednici XVII.

*Preglednica XVII: Vsebnost alergenov v eteričnem olju pelargonije in toksikološki parametri*

Alergen	Koncentracija v eteričnem olju	Toksikološki parametri
Citronellol	37 %	NOAEL (peroralno, zajci, 84 dni) 50 mg/kg tt/dan (55)
Geraniol	20 %	NOAEL (peroralno, podgane, 112 dni) 78,3 mg/kg tt/dan (56)

Linalool	10 %	NOAEL (peroralno, podgane, 90 dni) 50 mg/kg tt/dan (56)
Citral	2,5 %	NOAEL (peroralno, podgane, 2 leti) 50 mg/kg tt/dan (55)
d-Limonene	0,5 %	NOAEL 250 mg/kg tt/dan (57).

Kjer je bilo možno smo povzeli informacije o vrednosti NOAEL. Vsi vrednosti NOAEL so bile pridobljene s peroralno aplikacijo. Pri kozmetičnih sestavinah se upošteva, da je sistemsko na voljo največ 50 % peroralno danega odmerka. To pomeni, da če želimo uporabiti sistemski NOAEL, moramo NOAEL pridobljen s peroralno aplikacijo, deliti s številom 2. V preglednici XVIII so navedene pretvorbe peroralnega NOAEL v sistemski NOAEL.

$$NOAEL (sistemski) = \frac{NOAEL (peroralni)}{2}$$

Preglednica XVIII: Pretvorba peroralnega NOAEL v sistemski NOAEL

INCI (EU) IME	NOAEL peroralni (mg/kg tt/dan)	NOAEL sistemski (mg/kg tt/dan)
Aqua	-	-
Glycerin	2200	1100
Olivem® 1000	-	-
Cetearyl olivate	-	-
Sorbitan olivate	-	-
Butyrospermum parkii butter	-	-
Argania Spinosa Kernel Oil	-	-
Coco-caprylate	-	-
Allantoin	-	-
Cosgard (Geogard® 221)	-	-
Benzyl alcohol	200	100
Dehydroacetic acid	100	50
Potassium sorbat	1000	500
Citric Acid	-	-
Pelargonium Graveolens Flower Oil	-	-
Citronellol	50	25
Geraniol	78,3	39,15
Linalool	50	25
Citral	50	25
d-Limonene	250	125



## IZRAČUN MEJE VARNE UPORABE (MoS)

V preglednici XIX so navedeni izračuni MoS, kjer je bilo to mogoče.

Preglednica XIX: Meja varne uporabe (MoS)

INCI (EU) IME	SED (mg/kg tt/dan)	NOAEL (mg/kg tt/dan)	MoS
Aqua	84,700	-	-
Glycerin	6,160	1100	179
Olivem® 1000	-	-	-
Cetearyl olivate	4,435	-	-
Sorbitan olivate	2,957	-	-
Butyrospermum parkii butter	9,856	-	-
Argania Spinosa Kernel Oil	7,392	-	-
Coco-caprylate	6,160	-	-
Allantoin	0,370	-	-
Cosgard (Geogard® 221)	-	-	-
Benzyl alcohol	0,554	100	180
Dehydroacetic acid	0,049	50	1015
Potassium sorbat	0,246	500	2029
Citric Acid	0,123	-	-
Pelargonium Graveolens Flower Oil	0,185	-	-
Citronellol	0,068	25	366
Geraniol	0,037	39,15	1059
Linalool	0,018	25	1353
Citral	0,005	25	5411
d-Limonene	0,001	125	135281

Za vse sestavine, pri katerih so bili razpoložljivi toksikološki parametri smo izračunali mejo varne uporabe (MoS). Pri sestavinah, kjer toksikološki podatki niso na voljo, izračun MoS ni bil potreben, saj so bile sestavine določene kot varne za uporabo.

Izdelek ne izkazuje neželenih in resnih neželenih učinkov. V kolikor se bodo le ti pojavili, bomo ponovno pregledali in popravili poročilo o varnosti kozmetičnega izdelka.

### Informacije o kozmetičnem izdelku

Krema za telo CVET se uporablja za nego telesa. Namažemo jo po celem telesu in počakamo, da se vpije. Izdelek je namenjen zunanji uporabi. Ni primeren za uživanje. Ni primeren za otroke mlajše od 3 let. Izdelek se hrani v zaprti posodici in pri sobni temperaturi.

Neto: 200 ml

Rok uporabnosti: 8 mesecev

Proizvajalec: Ana Novak s.p., Naslov 8, 1000 Ljubljana, [info@spletnatrgovina.si](mailto:info@spletnatrgovina.si)

Sestavine: Aqua, Butyrospermum parkii butter, Argania Spinosa Kernel Oil, Glycerin, Cococaprylate, Cetearyl olivate, Sorbitan Olivates, Allantoin, Benzyl Alcohol, Dehydroacetic acid, Potassium sorbat, Citric Acid, Pelargonium Graveolens Flower Oil, Citronellol\*, Geraniol\*, Linalool\*, Citral\*

\*sestavine, ki so naravno prisotne v eteričnem olju

## **DEL B – OCENA VARNOSTI KOZMETIČNEGA IZDELKA**

### **ZAKLJUČEK OCENE**

Pravni okvir za izdelavo tega Poročila o varnosti je Uredba 1223/2009.

Ime izdelka: Krema za telo CVET

CPNP številka: izdelek še ni vnesen

Sestavine: Aqua, Butyrospermum parkii butter, Argania Spinosa Kernel Oil, Glycerin, Cococaprylate, Cetearyl olivate, Sorbitan Olivates, Allantoin, Benzyl Alcohol, Dehydroacetic acid, Potassium sorbat, Citric Acid, Pelargonium Graveolens Flower Oil, Citronellol\*, Geraniol\*, Linalool\*, Citral\*

\*sestavine, ki so naravno prisotne v eteričnem olju

*Na podlagi vseh podatkov in informacij, ki se nanašajo na izdelek krema za telo CVET, lahko zaključimo, da gre za varen kozmetičen izdelek pri pogojih normalne ali razumljivo predvidljive uporabe.*

### **OZNAČENA OPOZORILA IN NAVODILA ZA UPORABO**

Izdelek je namenjen zunanji uporabi. Ni primeren za uživanje. Ni primeren za otroke mlajše od 3 let. Krema shranjujemo pri sobni temperaturi.

Navodila za uporabo: Krema za telo CVET namažemo na celo telo. Krema dobro vtremo in počakamo, da se vpije. Uporabljamo jo lahko večkrat dnevno.

## **OBRAZLOŽITEV**

Vsak kozmetični izdelek, ki je ali pa vstopa na trg, mora biti varen za zdravje ljudi. V Republiki Sloveniji oziroma Evropski skupnosti je to pravno regulirano z Uredbo 1223/2009 in Uredbo o izvajanju Uredbe (ES) o kozmetičnih izdelkih.

Krema za telo CVET uporablja dobro poznane in široke uporabljene sestavine. Nekatere sestavine so v svojem osnovnem stanju zdravju škodljive, toda v izdelku so v mejah dovoljenih koncentracij, ki so varne za zdravje ljudi. Pričakovana uporaba kreme je na zdravi koži.

Izdelek ima usklajeno sestavo. Količine posameznih sestavin (%) ne izstopajo iz območja varnosti za zdravje ljudi.

Povzetek tveganja na podlagi lokalnih in sistemskih učinkov:

Ocenjena dnevna količina uporabljenega izdelka je 7,8 g na dan, faktor retencije je 1, in je potem izračunana relativna dnevna izpostavitvev izdelku na podlagi smernic ZOVP 123,2 mg/kg tt/dan. MoS sestavin je z opisano NOAEL vrednostjo večji od 100, kar ustreza meji varne uporabe.

Krema za telo CVET vsebuje sestavine, ki pri uporabljenih koncentracijah v izdelku ne povzročajo iritacije kože. Krema vsebuje alergene, tako da je možen pojav alergij. Vsi alergeni, katerih koncentracija presega 0,001 % morajo biti navedeni na obojnini pod oddelkom sestavine. Alergeni, ki so prisotni v kremi so citronellol (0,0555 %), geraniol (0,0300 %), linalool (0,0150 %) in citral (0,0038 %).

Podatka o dermalni absorpciji sestavin iz samega izdelka ni, vendar ne pričakujemo signifikantnega vpliva.

Na podlagi kvalitativnih in kvantitativnih podatkov, ki se nanašajo na sestavo izdelka krema za telo CVET, podatkov o toksikološkem profilu posameznih sestavin ter razpoložljivih podatkov o dermalni absorpciji, ni za pričakovati nikakršnih sistemskih toksičnih učinkov izdelka – razvojne toksičnosti, reproduktivne toksičnosti, toksičnosti pri ponavljajočih odmerkih, mutagenosti, genotoksičnosti in kancerogenosti.

Kritični sestavini, za katero veljajo zakonske omejitve sta benzil alkohol (dovoljen največ 1 % v končni formulaciji) in dehidroocetna kislina (dovoljeno največ 0,6 % v končni formulaciji, prepovedana uporaba v aerosolnih razpršilih).

## 6 RAZPRAVA

Emulzija je zahtevnejša tehnološka oblika izdelka, ki je primerna za napredne izdelovalce domače kozmetike. Emulzije so lahko destabilizirajo in so dovzetne za mikrobiološko kontaminacijo, zato je zelo pomembna ustrezna izbira sestavin. Osredotočili smo se na izdelavo naravne kreme za nego telesa z učinkom vlaženja kože. Pri izbiri zunanje in notranje faze smo imeli ogromno sestavin naravnega izvora na voljo. Težava se je pojavila pri izbiri ustreznega emulgatorja. Izbor emulgatorjev, ki so naravnega izvora je zelo skromen ter iz tehnološkega in fiziološkega vidika težaven. V naravni kozmetiki jih zato velikokrat nadomeščamo z emulgatorji polsinteznega izvora.

Trend naravnih izdelkov in uporabe naravnih sestavin se povečuje, čemur pospešeno sledi tudi industrija in posamezniki, ki se ukvarjajo z izdelavo kozmetičnih izdelkov. Leta 2009 je prišla v veljavo Uredba 1223/2009/ES, ki zahteva strožje predpise za kozmetične izdelke. Tako je z letom 2009 postalo obvezno, da ima vsak kozmetični izdelek, preden je dan na trg izdelan dosje z informacijami o kozmetičnem izdelku. V sklopu tega dosjeja je tudi poročilo o varnosti kozmetičnega izdelka, s katerim smo ugotovili, da je izdelek v skladu z Uredbo 1223/2009 in je varen za zdravje ljudi. Za namen zagotavljanja varnosti in učinkovitosti kozmetičnega izdelka smo naredili še mikrobiološko študijo, s katero smo dokazali mikrobiološko kakovost kozmetičnega izdelka v skladu z Uredbo o izvajanju Uredbe 1223/2009/ES. Pri izbiri ovojnine pa nam je bil v pomoč izzivni preskus učinkovitosti konzervansa. Ker je kozmetičen izdelek emulzija tipa O/V je dovzeten za mikrobiološko kontaminacijo. Vloga konzervansa je, da ga ščiti skozi celoten rok uporabe. Ugotovili smo, da naš izdelek ustreza kriteriju A iz priloge B standarda ISO 11930, kar pomeni, da je konzervans dovolj učinkovit, da zaščiti izdelek pred mikrobiološko kontaminacijo. V kolikor rezultati izzivnega preskusa učinkovitosti konzervansa ne bi ustrezali kriteriju A, ustrezali pa bi kriteriju B, potem bi morali spremeniti primarno ovojnino. Ovojnina bi morala biti taka, da mi zmanjšala tveganje vnosa mikroorganizmov med samo uporabo kozmetičnega izdelka. Primer takih vsebnikov so vsebniki s pumpico ali brezračni vsebniki.

Po uspešno zaključenem dosjeju o kozmetičnih izdelkih sledi še elektronska priglasitev izdelka na CPNP portalu. Priglasitev je zelo enostavna. Najprej je potrebno ustvariti uporabniški račun, ki ga administratorji v nekaj dneh potrdijo. Nato vpišemo nekaj bistvenih informacij v portal in tako je registracija izdelka zaključena. Vpis kozmetičnega izdelka v CPNP portal še ne pomeni, da je naš izdelek v skladu z Uredbo 1223/2009. Če nas obiše inšpektor, mu moramo pokazati

dosje o kozmetičnem izdelku. Zelo pomembno vlogo ima tudi vsebina etikete, ki je predpisana v Uredbi 1223/2009/ES.

Zaključimo lahko, se naš kozmetičen izdelek Krema za telo CVET lahko prodaja na slovenskem trgu.

## 7 SKLEP

Ugotovitve, do katerih smo prišli tekom izdelave naše formulacije in ugotavljanja, kako pravilno izdelek lansirati na trg.

- Izbor emulgatorjev, ki so naravnega izvora je zelo skromen ter iz tehnološkega in fiziološkega vidika težaven. V naravni kozmetiki jih zato velikokrat nadomeščamo z emulgatorji polsinteznega izvora, ki so predstavljeni v preglednici II.
- pH izdelane kreme je bil v alkalnem območju, kar pomeni, da smo morali znižati pH na 5,5 z uporabo raztopine citronske kisline.
- Pomembna je dobra izbira konzervansa. S kombinacijo 0,5 % Cosgarda in 0,2 % kalijevega sorbata smo zagotovili mikrobiološko ustreznost izdelka.
- Rezultati izzivnega preskusa učinkovitosti konzervansa, so pokazali, da konzervans učinkovito opravlja svoje delo, tako da je primerna izbira ovojnine tudi lonček.
- Kozmetičen izdelek je stabilen pod pogoji normalne uporabe, ki so definirani na sami etiketi izdelka.
- Izdelek je izdelan v skladu z Uredbo 1223/2009/ES in ima izdelano dokumentacijo z informacijami o kozmetičnemu izdelku (člen 11, Uredba 1223/2009/ES).
- Kremo za telo nanašamo na kožo telesa v količini 7,8 g na dan oziroma 123,2 mg/kg tt/dan.
- Na podlagi informacij, ki smo jih pridobili iz poročila o varnosti kozmetičnega izdelka je krema iz toksikološkega vidika varna za uporabo.
- Krema vsebuje alergene, ki se navedeni na seznamu sestavin. Osebe, ki se preobčutljive na navedene alergene, naj se uporabi kreme izogibajo
- Opozorila: Izdelek je namenjen zunanji uporabi. Ni primeren za uživanje. Ni primeren za otroke mlajše od 3 let. Kremo shranjujemo pri sobni temperaturi.

Dodatno bi lahko še naredili:

- Analizirali učinkovitost kozmetičnega izdelka (merjenje izboljšanja hidracije kože na podlagi kapacitivnosti (Corneometer) ali prevodnosti (Skicon, Dermalab).
- Pridobili certifikat za naravno ali ekološko kozmetiko
- Naredili študijo stabilnosti pri ekstremnih pogojih (zelo visoka temperatura, zelo nizka temperatura) in tako ugotovili, kako se izdelek odziva na ekstremne pogoje

## 8 VIRI IN LITERATURA

1. Evropska zakonodaja (UREDBA (ES) št. 1223/2009 EVROPSKEGA PARLAMENTA IN SVETA z dne 30. novembra 2009 o kozmetičnih izdelkih (prenovitev)) skupaj s prilogami I, II, III, IV, V in VI. s.l. : Uradni list Evropske unije, 2009.
2. [https://www.cosmeticseurope.eu/files/2214/6582/1941/Cosmetics\\_Europe\\_Socio-economic\\_Contribution\\_of\\_the\\_European\\_Cosmetics\\_Industry\\_2016.pdf](https://www.cosmeticseurope.eu/files/2214/6582/1941/Cosmetics_Europe_Socio-economic_Contribution_of_the_European_Cosmetics_Industry_2016.pdf), dostopano 15. junij 2019.
3. [https://finance.yahoo.com/news/global-cosmetics-market-2018-2025-092700514.html?guccounter=1&guce\\_referrer=aHR0cHM6Ly93d3cuZ29vZ2xlLmNvbS8&guce\\_referrer\\_sig=AQAAADKV-oZJ2SsSb9tGnwSwK4buXma-9iIhFmFGv0eW-cUP8f6IM0jOA4O1C8Uto2f24mxesE\\_IjWJdMAOLTYnOpQ5C-EIph4](https://finance.yahoo.com/news/global-cosmetics-market-2018-2025-092700514.html?guccounter=1&guce_referrer=aHR0cHM6Ly93d3cuZ29vZ2xlLmNvbS8&guce_referrer_sig=AQAAADKV-oZJ2SsSb9tGnwSwK4buXma-9iIhFmFGv0eW-cUP8f6IM0jOA4O1C8Uto2f24mxesE_IjWJdMAOLTYnOpQ5C-EIph4), dostopano 14. junij 2019.
4. <https://www.cosmeticseurope.eu/cosmetics-industry/>, dostopano 14. junij 2019.
5. <https://www.futuremarketinsights.com/reports/natural-cosmetics-market>, dostopano 15. junij 2019.
6. [http://www.uk.gov.si/si/delovna\\_podrocja/kozmeticni\\_proizvodi/oglasovanje\\_kozmeticnih\\_proizvodov/](http://www.uk.gov.si/si/delovna_podrocja/kozmeticni_proizvodi/oglasovanje_kozmeticnih_proizvodov/), dostopano 15. junij 2019.
7. Farris PK, Krol Y: Under Persistent Assault: Understanding the Factors that Deteriorate Human Skin and Clinical Efficacy of Topical Antioxidants in Treating Aging Skin. *Cosmetics* 2015; 2: 355-367.
8. Machado A, Lopes, P, Raffier C, Haridass I, Roberts M, Grice J, Leite-Silva V: Skin Penetration. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications*, Elsevier, Netherlands, 2017: 741-755.
9. Kočevar Glavač N, Janeš D, Lumpert M, Stojilkovski K, Kokalj M, Tavčar Benković E, Gosenca M, Hendrychová H, Gašperlin M, Lunder M, Baumgartner S: *Sodobna kozmetika: Sestavine naravnega izvora, Širimo dobro besedo d.o.o., Velenje, 2015.*
10. Kristl J: *Koža – zgradba in dogajanja v njej*. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Fakultata za Farmacijo.

11. Baki G, Alexander KS: Introduction to cosmetic formulation and technology, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 2015.
12. Mack MC: Water-holding and transport properties of skin stratum corneum of infants and toddlers are different from those of adults: studies in three geographical regions and four ethnic groups. *Pediatric Dermatology* 2016; 33: 275 – 278.
13. Rougier A: Regional variation in percutaneous absorption in man: measurement by the stripping method. *Archives of Dermatological Research* 1986; 278: 465-169.
14. <https://www.aroma-akademija.si/koza-blog/koza-dermalna-absorpcija/>, dostopano 24. junij 2019.
15. Patravale VB, Mandawgade SD: Novel cosmetic delivery systems: an application update. *International Journal of Cosmetic Science* 2008; 30: 19 – 33.
16. Barel P, Maibach HI: *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, Third edition, Informa Healthcare, USA, New York, 2009.
17. Nolan, K, Marmur E: Moisturizers: reality and the skin benefits. *Dermatologic Therapy*, 2012; 25(3): 229-33.
18. <http://moja-kozmetika.blogspot.com/2014/02/teorija-emulgatorjev-2-del-izbira-in.html>, dostopano 24. avgust 2018
19. <http://makingskincare.com/emulsions-stability/>, dostopano 15. junij 2019
20. Mitsui T: *New Cosmetic Science*. Elsevier, Amsterdam, 1998.
21. <https://www.aocs.org/stay-informed/read-inform/featured-articles/an-introduction-to-cosmetic-technology-april-2015>, dostopano 27. avgust 2018
22. Draelos Z: Active agents in common skin care products. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 2010; 125: 719-724.
23. [https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/animal-testing\\_sl](https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/animal-testing_sl), dostopano 10. avgust 2018.
24. The SCCS notes of guidance for the testing of cosmetics ingredients and their safety evaluation. 9th revision. European Commission, 29.9.2015.



25. Smernice v zvezi s prilogo I k uredbi (ES) št. 1223/2009 o poročilu o varnosti kozmetičnega izdelka.: Uradni list Evropske Unije. Izv. (2013/674/EU).
26. Uredba o izvajanju Uredbe (ES) o kozmetičnih izdelkih 1223/2009.
27. ZOVP, ZOZOT in ZONNUZT. Opinion on Use of the Threshold of Toxicological Concern (TTC) Approach for Human Safety Assessment of Chemical Substances with focus on Cosmetics and Consumer Products. SCCS/1171/8.
29. ISO/TR 18811:2018. Cosmetics -- Guidelines on the stability testing of cosmetic products.
30. <https://oxfordbiosciences.com/stability-testing/>, dostopano 22. september 2018
31. <http://microchemlab.com/test/photostability-testing>, dostopano 23. september 2018
32. [https://www.makingcosmetics.com/Stability-Testing-of-Cosmetics\\_ep\\_59.html](https://www.makingcosmetics.com/Stability-Testing-of-Cosmetics_ep_59.html), dostopano 27. september 2018
33. SIST EN ISO 11930:2012. Kozmetika - Mikrobiologija - Vrednotenje protimikrobne zaščite kozmetičnih izdelkov. s.l. : SIST EN.
34. Guillaume D, Zoubida C: Argan oil: Occurrence, composition and impact on human health. European Journal of lipid science and technology 2008; 110: 632-636.
35. Honfo FG: Nutritional Composition of Shea Products and Chemical Properties of Shea Butter: A Review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 2014; 54: 673–686.
36. [https://www.hallstar.cn/webfoo/wp-content/uploads/FN\\_Olivem1000\\_Brochure\\_ENG\\_Outined\\_FINAL.pdf](https://www.hallstar.cn/webfoo/wp-content/uploads/FN_Olivem1000_Brochure_ENG_Outined_FINAL.pdf), dostopano 10.7.2019
37. [http://www.lotioncrafter.com/reference/tech\\_data\\_allantoin.pdf](http://www.lotioncrafter.com/reference/tech_data_allantoin.pdf), dostopano 27. avgust 2018
38. [://glenncorp.com/wp-content/uploads/2018/02/2017\\_03\\_Geogard-221\\_TDS\\_d5\\_lowres.pdf](://glenncorp.com/wp-content/uploads/2018/02/2017_03_Geogard-221_TDS_d5_lowres.pdf), dostopano 17. avgust 2018
39. Tisserand R, Young R: Essential Oil Safety: A guide for health care professionals, Churchill Livingstone, 2014.
40. [www.cir-safety.org/sites/default/files/Glycer\\_062014\\_SLR.pdf](http://www.cir-safety.org/sites/default/files/Glycer_062014_SLR.pdf), dostopano 26. oktober 2019
41. <http://www.inchem.org/documents/sids/sids/56815.pdf>, dostopano 26. oktober 2018

42. [https://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev\\_sorbat](https://sl.wikipedia.org/wiki/Kalijev_sorbat), dostopano 26. oktober 2018
43. [https://sl.wikipedia.org/wiki/Citronska\\_kislina](https://sl.wikipedia.org/wiki/Citronska_kislina), dostopano 26. oktober 2018
44. [www.cir-safety.org/sites/default/files/alkyle032013rep.pdf](http://www.cir-safety.org/sites/default/files/alkyle032013rep.pdf), dostopano 26. oktober 2018
45. [www.cir-safety.org/sites/default/files/sorbes092014TAR.pdf](http://www.cir-safety.org/sites/default/files/sorbes092014TAR.pdf), dostopano 26. oktober 2018
46. <http://www.cir-safety.org/sites/default/files/shear032016slr.pdf>, dostopano 6. maj 2019
47. <http://www.beauty-review.nl/wp-content/uploads/2014/05/Plant-Derived-Fatty-Acid-Oils-as-Used-in-Cosmetics.pdf>, dostopano 26. oktober 2018
48. <https://echa.europa.eu/sl/registration-dossier/-/registered-dossier/13641/7/2/1>, dostopano 6. maj 2019
49. [https://www.cir-safety.org/sites/default/files/119\\_draft\\_benzyl.pdf](https://www.cir-safety.org/sites/default/files/119_draft_benzyl.pdf), dostopano 6. maj 2019
50. <https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.3109/10915818509078671>, dostopano 6. maj 2019
51. [https://www.nicnas.gov.au/chemical-information/imap-assessments/imap-group-assessment-report?assessment\\_id=1141#cas-A\\_16807-48-0](https://www.nicnas.gov.au/chemical-information/imap-assessments/imap-group-assessment-report?assessment_id=1141#cas-A_16807-48-0), dostopano 6. maj 2019
52. <https://pdfs.semanticscholar.org/bbbe/1de833dfb7ebaf3959eaace0762e9b9ffb9b.pdf>, dostopano 6. maj 2019
53. [https://echa.europa.eu/documents/10162/13626/clh\\_potassium\\_sorbate\\_en.pdf](https://echa.europa.eu/documents/10162/13626/clh_potassium_sorbate_en.pdf), dostopano 2. junij 2019
54. <http://www.cir-safety.org/sites/default/files/citric032012FR.pdf>, dostopano 6. maj 2019
55. <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.175.5171&rep=rep1&type=pdf>, dostopano 6. marec 2019
56. <https://www2.mst.dk/udgiv/publications/2005/87-7614-656-1/pdf/87-7614-658-8.pdf>, dostopano 6. maj 2019
57. Kim YW, Kim MJ, Chung BY, Bang du Y, Lim SK, Choi SM, Lim DS, Cho MC, Yoon K, Kim HS, Kim KB, Kim YS, Kwack SJ, Lee BM.: Safety evaluation and risk assessment of d-Limonene. *Journal of Toxicological and Environmental Health Part B Critical Reviews* 2013; 16(1): 17-38.