

Mikroorganismy kontaminující kosmetické přípravky

Ivana Stachoňová

Bakalářská práce
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ivana Stachoňová**
Osobní číslo: **T15097**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **kombinovaná**

Téma práce: **Mikroorganismy kontaminující kosmetické přípravky**

Zásady pro vypracování:

1. Vypracujte literární rešerši na zadané téma.
2. Věnujte se charakteristice kosmetických přípravků z hlediska jejich možné kontaminace mikroorganismy
3. V další části se věnujte prokaryotickým i eukaryotickým mikroorganismům, které kosmetické přípravky mohou kontaminovat.
4. Zmapujte možné dopady mikrobiální kontaminace na kosmetické přípravky.

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

1. **GOLDMAN, E., GREEN, L. H. Practical Handbook of Microbiology. Boca Raton: CRC Press, 2009. 852 p. ISBN 978-0-8493-9365-5.**
2. **ORTH, D. S., DENYER, S. P., KABARA, J. J. Cosmetic and Drug Microbiology. New York: Informa Health Care, 2006. 375 p. ISBN 978-0-8493-7266-7.**
3. **GEIS, P. A. Cosmetic Microbiology: A Practical Approach. New York: Taylor & Francis Group, 2006. 295 p. ISBN 978-0-8493-1453-7.**

Vedoucí bakalářské práce:

RNDr. Iva Čermáková, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce:

5. února 2018

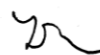
Termín odevzdání bakalářské práce:

18. května 2018

Ve Zlíně dne 5. února 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ...STACHONŮVÁ IVANA.....

Obor: TVT KD.....

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 9. 5. 2008

.....Stachonová.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpisy vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Bakalářská práce je zaměřena na problematiku mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků. Popisuje možné zdroje kontaminace, stejně jako její důsledky a vliv na vlastnosti přípravku a bezpečnost jeho použití. V práci je uveden přehled nejčastějších mikrobiálních kontaminantů kosmetiky a jejich charakteristika. Dále se práce věnuje konzervačním látkám, předpisům a opatřením, která mohou rizika spojená s mikrobiologickou kontaminací kosmetických přípravků snížit.

Klíčová slova: mikroorganismy, kosmetické přípravky, kontaminace, konzervační přísady

ABSTRACT

The Bachelor thesis focuses on microbial contamination of cosmetic products. Possible sources of contamination, as well as its effect on the properties and safety of products, are described. The thesis presents an overview of the most common microbial contaminants in cosmetics and their characteristics. Furthermore, the work is devoted to preservatives, legislation and safety rules, that can reduce the risks associated with the microbiological contamination of cosmetic products.

Keywords: microorganisms, cosmetic products, contamination, preservatives.

Poděkování:

Děkuji vedoucí mé bakalářské práce RNDr. Ivě Čermákové za trpělivost, pomoc a ochotu. Velké poděkování patří i celé mojí rodině, která se mnou prožívala mé studijní úspěchy i neúspěchy a měli se mnou trpělivost a také mému zaměstnavateli, který mi umožnil studovat.

„Každý neúspěch člověka něčemu naučí, pokud se chcete nechat poučit.“

Charles Dickens

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	12
1 KOMETICKÉ PŘÍPRAVKY A JEJICH BEZPEČNOST	13
1.1 SYSTÉM DOZORU NA TRHU S KOSMETIKOU	13
1.1.1 Nařízení č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích	14
1.2 MIKROBIÁLNÍ BEZPEČNOST KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	14
1.3 OBECNÁ OCHRANA KŮŽE VŮČI MIKROORGANISMŮM	15
2 MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	18
2.1 ZDROJE MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	18
2.1.1 Voda	19
2.1.2 Vzduch	19
2.1.3 Výrobní procesy a personál	19
2.2 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ RŮST A MNOŽENÍ MIKROORGANISMŮ V KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVCÍCH	20
2.2.1 Voda a vodní aktivita	21
2.2.2 Teplota.....	22
2.2.3 Hydrostatický a osmotický tlak	24
2.2.4 Koncentrace vodíkových iontů pH.....	24
2.2.5 Oxidačně redukční potenciál	25
2.2.6 UV záření	25
2.2.7 Povrchové napětí	26
2.3 DŮSLEDKY MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	26
2.3.1 Jak správně uchovávat kosmetické přípravky	27
2.3.2 Změna vlastností kosmetického přípravku.....	28
2.3.2.1 Oxidace kosmetických přípravků.....	28
2.3.2.2 Stabilita emulzí	28
2.3.3 Infekce pokožky a zdravotní rizika	29
3 MIKROORGANISMY KONTAMINUJÍCÍ KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY	30
3.1 GRAMNEGATIVNÍ BAKTERIE	30
3.1.1 Gramnegativní tyčinky	31
Rod Pseudomonas.....	31
3.2 GRAMPOZITIVNÍ BAKTERIE	32
3.2.1 Grampozitivní nesporulující tyčinky.....	32
3.2.2 Grampozitivní sporulující tyčinky.....	33
3.2.3 Grampozitivní koky.....	34
3.3 VLÁKNITÉ MIKROSKOPICKÉ HOUBY A MYKOTOXINY	35
4 KONZERVACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ	37
4.1 ORGANICKÉ KYSELINY A JEJICH ESTERY	38
4.1.1 Kyselina benzoová	38

4.1.2	Kyselina salicylová.....	39
4.1.3	Kyselina sorbová.....	39
4.1.4	Estery kyseliny p-hydroxybenzoové.....	40
4.2	ALKOHOLY.....	41
4.2.1	Fenoxyethanol.....	41
4.3	HALOGENOVÉ DERIVÁTY.....	41
4.3.1	Triclosan.....	42
4.3.2	Euxyl K.....	42
4.4	OSTATNÍ KONZERVAČNÍ PŘÍSADY.....	43
4.4.1	Deriváty isothiozolinonu.....	43
4.4.2	Donory formaldehydu.....	43
ZÁVĚR.....		44
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....		45
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....		49
SEZNAM OBRÁZKŮ.....		50
SEZNAM TABULEK.....		51

ÚVOD

Nelze pochybovat o tom, že kosmetický průmysl patří k odvětvím, která jsou na vzestupu. Nároky na vzhled, zdraví, a kondici každého jedince neustále rostou, a kosmetické přípravky mohou na pomoci jejich dosažení. Proto také kosmetické firmy intenzivně investují do výzkumu a vývoje nových kosmetických ingrediencí a formulací s cílem dodat na trh co nejučinnější kosmetické přípravky, které by mohly splňovat přání a požadavky zákazníků. V posledních letech je také kladen velký důraz na bezpečnost kosmetických přípravků. Legislativa, která upravuje bezpečnost kosmetických přípravků, prošla četnými změnami, které často souvisejí se vznikem volného obchodního prostoru v zemích Evropské unie. V současné legislativě je jasně stanoveno, co může kosmetický přípravek obsahovat, jaké parametry musí splňovat a jaké látky jsou nebezpečné. Zákony a nařízení týkající se bezpečnosti kosmetických přípravků zajišťují ochranu spotřebitele a řeší například i způsob včasného varování spotřebitele před nebezpečným přípravkem nebo stažení takového přípravku z obchodní sítě.

Téma bakalářské práce jsem si vybrala, neboť patnáct let pracuji jako kosmetička. Setkávám se denně se svými zákaznicemi, se kterými neustále konzultuji, jak vhodně a správně používat kosmetické přípravky. Většina žen nakupuje neuvěřitelné množství kosmetických přípravků, aniž by je doužívali, nakoupí další. Skladují je nejčastěji v koupelnách, tedy ve vlhkém a teplém prostředí. Velmi často se setkávám s ženami, které mají vleklé dermatitidy, alergické reakce nebo citlivou pokožku. To vše mohou způsobovat kosmetické přípravky kontaminované mikroorganismy. Spotřebitelé kosmetických přípravků neznají základní pravidla při používání kosmetických přípravků a často netuší, že lze přípravky před kontaminací chránit nebo míru kontaminace alespoň významně snížit.

Kontaminace kosmetických přípravků může být primární nebo sekundární. K primární kontaminaci kosmetických přípravků dochází při výrobních procesech. Firmy vyrábějící kosmetické přípravky by měli dodržovat poměrně přísná bezpečnostní opatření, tak aby při výrobě ke kontaminaci mikroorganismy nedocházelo. Součástí správné výrobní praxe je i rutinní mikrobiologická kontrola výrobních zařízení, prostor, vzduchu, vody a samozřejmě i surovin a hotových výrobků. Všechny tyto faktory výrazně snižují rizika primární kontaminace. Velmi problematická je ale sekundární kontaminace kosmetických přípravků, tedy kontaminace spotřebitelem. Nevhodným skladováním, nebo používáním může docházet ke kontaminaci mikroorganismy.

Kosmetické přípravky, stejně jako většina potravin, nejsou sterilní a nějaké mikroorganismy obsahují. Jejich druhové složení a množství by však nemělo přesáhnout určité standardy zajišťující bezpečnost použití pro spotřebitele. Proto se také do kosmetických přípravků přidávají konzervační přísady. Téměř každý kosmetický přípravek dokonce i ten s velmi nízkým obsahem vody, nějaké konzervační látky obsahuje. Volba těchto látek by měla být provedena s vědomím, že konzervanty musí chránit přípravek před nežádoucí mikrobiální kontaminací po celou dobu trvanlivosti. Konzervační přísady se tedy do těchto přípravků přidávají především právě kvůli možné kontaminaci spotřebitelem při používání. Kosmetické přípravky velmi často spotřebitel používá denně a spousta přípravků se ani neoplachuje, zůstává celý den v kontaktu s pokožkou např.: make-up nebo oční stíny. Proto považují mikrobiologickou jakost kosmetických přípravků za velmi důležitou a ráda bych se této problematice věnovala ve své bakalářské práci.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOMETICKÉ PŘÍPRAVKY A JEJICH BEZPEČNOST

Kosmetické přípravky (KP) patří od nepaměti k součásti běžného života. Receptury kosmetických přípravků se sestavují cíleně, tak aby podporovaly přirozené mechanismy metabolismu kůže. Naplňují potřeby současných spotřebitelů.

Obecnou definici kosmetických přípravků najdeme v Nařízení č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. Jedná se o jakoukoliv látku nebo směs látek určenou pro styk s vnějšími částmi lidského těla (pokožkou, vlasovým systémem, nehty, rty, vnějšími pohlavními orgány) nebo se zuby a sliznicemi ústní dutiny, výhradně nebo převážně za účelem jejich čištění, parfemace, změny jejich vzhledu, jejich ochrany, jejich udržování v dobrém stavu nebo úpravy tělesných pachů [1]. Kosmetický přípravek je určen k používání na nepoškozenou a zdravou pokožku. Nařízení o kosmetických přípravcích se nevztahuje na léčivé přípravky, což vyplývá z výše uvedené definice, která upravuje oblast aplikace a účel použití. Pokud jsou přesto pochybnosti, zda má být určitý výrobek zařazen mezi kosmetické nebo mezi léčebné přípravky, určí tak Státní ústav pro kontrolu léčiv [2].

1.1 Systém dozoru na trhu s kosmetikou

V souladu se zákonem o státní kontrole je ustanoven zdravotní dozor, tedy kontrolní orgány v oblasti bezpečnosti kosmetických přípravků. Ta spočívá v dozoru nad hygienickými požadavky při výrobě, dovozu i prodeji. Dozorové orgány jsou povinny informovat dostupnými prostředky o nebezpečných výrobcích na trhu, činit všechna opatření, aby zamezily dalšímu oběhu těchto přípravků. Kontrolními orgány jsou v České republice, Krajské hygienické stanice a Česká obchodní inspekce [3]. V případě, že české orgány dozoru naleznou nebezpečný výrobek, jsou povinny to oznámit Ministerstvu průmyslu a obchodu. Pro bezpečné fungování vnitřního trhu Evropské Unie, bezpečného nakupování zboží bez ohledu na hranice mezi státy, byl ustanoven systém včasného varování RAPEX (Rapid Alert System for Non-Food Products), který funguje v oblasti nepotravinářského zboží. Má za úkol co nejrychleji informovat o potenciálním nebezpečí a zároveň přípravek identifikovat a popřípadě stáhnout ze sítě maloobchodního prodeje [4].

1.1.1 Nařízení č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích

Původně problematiku kosmetiky na území EU upravovala Směrnice Rady 76/768/EHS ze dne 27. Července 1976 o sbližování právních předpisů členských států týkajících se kosmetických přípravků, ta byla přepracována v nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. V České republice před tímto nařízením o KP byla problematika kosmetiky upravena vyhláškou 448/2009 Sb., o stanovení hygienických požadavků na kosmetické přípravky. Pokud by byly porovnány změny právní úpravy, oproti předchozím nařízením o KP, dochází ke stále se zpřísňujícím bezpečnostním požadavkům na přípravky. Berou se v úvahu nové technologie, např. nanomateriály, také se nově zavádí Odpovědné osoby a přesně se definují jejich povinnosti. Zavádí se notifikace veškerých kosmetických přípravků, které jsou nabízeny na evropském trhu, díky tomu nemusejí výrobci notifikaci výrobku provádět v každé zemi zvlášť. Klasifikuje se správná výrobní praxe u kosmetických přípravků [5].

Posouzení bezpečnosti kosmetického přípravku zajistí odpovědná osoba, před uvedením kosmetického přípravku na trh, aby bylo na základě příslušných informací provedeno posouzení jeho bezpečnosti a byla vypracována zpráva o bezpečnosti kosmetického přípravku v souladu se zákonem.

Nařízení omezuje používání některých látek. Určuje přesně vymezené zakázané látky podléhající omezení, barviva, konzervační přísady, filtry ultrafialového záření, které lze do kosmetických přípravků přidávat.

Kosmetický přípravek dodávaný na trh musí být bezpečný pro lidské zdraví, je-li používán za obvyklých nebo rozumně předvídatelných podmínek použití [6].

1.2 Mikrobiální bezpečnost kosmetických přípravků

Mikrobiologické testování kosmetických přípravků se provádí v souladu s analýzou mikrobiologického rizika tak, aby byla zajištěna kvalita výrobků a bezpečnost spotřebitele. Kosmetický přípravek musí být bezpečný pro lidské zdraví, proto je vhodné provádět běžné mikrobiologické analýzy každé u šarže výrobku, který je distribuován na trh. Odběr vzorků a

mikrobiologické analýzy kosmetických přípravků se provádějí spolehlivým a opakovatelným způsobem.

Mikrobiologické analýzy rizika závisí na těchto faktorech: možnost mikrobiologické zkázy výrobku, patogenita mikroorganismů, místo aplikace kosmetického výrobku (vlasy, pokožka, oči), druh uživatele (dospělí, děti do 3 let). Sledování kožních patogenů má velký význam u kosmetických přípravků, neboť se používají místně, velmi často opakovaně a dlouhodobě. Přítomnost mikroorganismů *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* mohou po aplikaci na vlasy nebo na pokožku způsobit infekci [7].

Mikrobiologickou bezpečnost upravuje soubor norem pro kosmetiku a směrnice pro správnou výrobní praxi, které obsahují:

ČSN EN ISO 22716:2008 Kosmetika – Správná výrobní praxe (SVP) – Směrnice na správnou výrobní praxi

ČSN EN ISO 22717:2010 Kosmetika – Mikrobiologie – průkaz *Pseudomonas aeruginosa*

ČSN EN ISO 21149:2010 Kosmetika – Mikrobiologie – průkaz *Staphylococcus aureus*

ČSN EN ISO 21149:2010 Kosmetika – Mikrobiologie – Stanovení počtu a průkaz aerobních a mezofilních bakterií

ČSN ISO 18415:2009 Kosmetika – Mikrobiologie – Průkaz specifických a nespecifických mikroorganismů

ČSN ISO 21148 + Z1:2009 Kosmetika – Mikrobiologie – Všeobecné pokyny pro mikrobiologické vyšetřování [8]

1.3 Obecná ochrana kůže vůči mikroorganismům

Kůže je největší orgán lidského těla. Kůže má funkci ochranou, sensorickou (vnímání dotyku a tlaku, vnímání tepla a chladu, hluboké čítí – propriorecepce) metabolickou, termoregulační, resorpční, exkreční, energetickou a zásobní, komunikační a regenerační.

Ochranou funkcí kůže proti mikroorganismům je především pot (velké potní žlázy a malé potní žlázy) a **maz**.

Malé potní žlázy (endokrinní žlázy) – jde o nejrozšířenější kožní adnexa. Nejsou rozmístěny pravidelně po celém těle. Největší hustotu mají na ploskách dlaní a chodidel. Jejich hlavní funkcí je odvod vlhkosti z těla. Největší množství je však vyloučeno močí, pokožkou jen přibližně 0,5 l. Pot obsahuje především vodu, dalšími složky jsou chloridy (NaCl), močovina, menší množství volných mastných kyselin, glykoproteiny a mukopolysacharidy. Jeho pH leží v mírně kyselé oblasti (4,5 - 6,5) a proto brání růstu mikroorganismu na pokožce.

Velké potní žlázy (apokrinní žlázy) – na rozdíl od malých potních žláz jsou situovány v určitých místech pokožky, zejména v podpaží, v okolí pohlavních orgánů a anální oblasti. Produkce sekretu těchto žláz je spojena s vlasovými folikuly. Velké potní žlázy jsou aktivní až v době dospívání. Složení potu produkovaného velkými potními žlázami je odlišné od potu malých potních žláz. Kromě vody obsahují prizmatické buňky epitelů žláz, především bílkoviny a malé množství lipidů. Apokrinní pot je téměř bezbarvý a bez výraznějších pachů. Až při rozkládání na povrchu kůže může vzniknout výrazný odér. Je závislý převážně na mikrobiálním rozkladu přítomných bílkovin a lipidů.

Mazové žlázy – nachází se prakticky na celém těle kromě dlaní a chodidel. Většinou jsou v sousedství vlasového folikulu, mohou se vyskytnout i mimo. Největší koncentrace je ve střední části obličeje a na horní polovině zad. Mazové žlázy jsou hroznovitého tvaru a jsou umístěny ve škáře. Vylučují sekret nazývaný kožní maz, nebo sebum. Kožní maz je lipidní povahy a uvolňuje se rozpadem buněk mazové žlázy. Složení seba dominují především triacylglyceroly pokožky, které se mísí s dalšími lipidy vznikajícími uvolňováním z korneocytů.

Dále se ochrany proti mikroorganismům účastní **kyselé pH** (4-6) a přítomnost **saprofytických mikroorganismů**. Rozkládají bílkoviny na amonné soli. Jsou to především různé kvasinky či některé bakterie.

V hlubších vrstvách kůže obranu zajišťují **Langerhansovy buňky**. Jsou to dendritické buňky hvězdicovitého tvaru monocytové řady. Nacházejí se na pokožce, zejména ve vrstvě *stratum spinosum* a celkem tvoří asi 2-8 % buněk lidské pokožky. Patří mezi antigen prezentující buňky a jako takové jsou složkou imunitního systému, vystavují antigeny T-lymfocytům. Pomáhají tím bránit tělo před patogeny vstupujícími do těla přes pokožku. Langerhansovy buňky se vyvíjí v kostní dřeni, do pokožky se dostávají krevním oběhem.

Kožní imunitní systém je důležitý pro ochranu před vnějším prostředím, zároveň však odstraňuje odumřelé, poškozené nebo nádorové buňky. Pro správnou funkci je nutný zachova-

ný nepoškozený povrch kůže. K složkám kožního imunitního systému patří i **granulocyty, cévní endotelové buňky, lymfatické kapiláry a lymfatické uzliny**. Všechny složky pracují na základě těsné spolupráce s dočasnou možností náhrady jedné složky za druhou. Spolupráce je zajišťována **adhezivními molekulami a cytokiny**.

Cytokiny – jsou to molekuly, které přenášejí důležitou informaci mezi buňkami a mají vliv na regulaci růstu a dělení buňky. Jsou zároveň základními regulátory imunitního systému. Cytokiny se v těle nacházejí buď rozpuštěny v tekutině (plazma, tkáňová tekutina), nebo vázané na membránu (membránové formy).

Na ochraně kůže proti mikroorganismům se dále podílejí lymfocyty a makrofágy.

Lymfocyty – jsou bílé krvinky, které řadíme mezi agranulocyty. Lymfocyty představují funkčně různorodou skupinu imunitních buněk. Morfologicky jsou lymfocyty kulaté mononukleární buňky s malým množstvím cytoplazmy. V krvi zdravého dospělého člověka tvoří lymfocyty 24 – 40% z celkového počtu všech bílých krvinek.

Makrofágy - jsou buňky imunitní soustavy, které vznikají z monocytů. Jsou tvořeny v kostní dřeni a jsou vyplavovány do krevního oběhu. Monocyty kolují v krvi, poté vstupuje dotčení a mění se na makrofágy. Jejich základní funkcí je fagocytóza, prezentace antigenu T- lymfocytům, řízení hemopoézy a hojení ran, regulace zánětu, destrukce mikroorganismů, odstraňování mrtvých buněk. [9,10,11].

Kůže je orgán, který je neustále v kontaktu se zevním prostředím. Proto povrch pokožky tvoří ochranný kožní film a také kožní mikroflóra. Mikroflóra je tvořena mikroorganismy, které jsou součástí přirozeného kožního povrchu.

Ochranným mechanismem pokožky je i její značná suchost, která vytváří pro mikroorganismy nehostinné prostředí. Pokud se některé mikroorganismy na povrchu pokožky i přesto zachytí, neustálé se olupující *stratum corneum* tyto mikroorganismy odstraní. Pro množení mikroorganismů jsou náchylnější místa vlhké zapáčky [12].

2 MIKROBIÁLNÍ KONTAMINACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ

Skutečnost, že mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků může způsobit jejich kažení, je známá již několik desetiletí. V poslední době je však uvažováno i o nebezpečí kontaminující mikroflóry pro zdraví člověka. Kosmetické přípravky a přípravky osobní hygieny jsou většinou, vzhledem k přítomnosti vysokého procenta vody a organických živných látek vhodným prostředím pro přežívání a množení mikroorganismů. Při používání přicházejí přípravky do bezprostředního styku s pokožkou a v některých případech i se sliznicemi. Proto je přítomnost mikroorganismů obecně nežádoucí, přítomnost patogenních, podmíněně patogenních a toxinogenních mikroorganismů pak představuje vážné riziko ohrožení zdraví.

2.1 Zdroje mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků

Zdrojem kontaminace kosmetických přípravků jsou především suroviny, obaly a všechny plochy, s nimiž přichází otevřený výrobek do styku. Dále pak personál ve výrobě a vzduch v provozních místnostech. Velkým potencionálním zdrojem kontaminace je voda, která je nejčastěji používanou surovinou při výrobě kosmetických preparátů. Při používání deionizované vody se toto riziko ještě zvyšuje. Suroviny z přírodních zdrojů bývají také silně mikrobiálně znečištěny, zejména vinnou hygienicky závadného získávání a zpracování. Naproti tomu synteticky vyráběné suroviny zpravidla obsahují velmi málo mikroorganismů. I u nich ale může docházet k sekundární kontaminaci nevhodným zpracováním, dopravou a skladováním. Dalším možným zdrojem kontaminace výrobku jsou obaly. Mikroorganismy mohou z obalového materiálu proniknout do výrobku a ovlivnit jeho kvalitu. Významným zdrojem mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků jsou lidé zaměstnaní při jejich výrobě. I při postupující automatizaci výroby stále existují pracovní úkony, během kterých se lidé dostávají do přímého styku s výrobkem. Přitom i saprofytické mikroorganismy, které jsou autochtonní flórou zdravé lidské pokožky, mohou nepříznivě ovlivňovat svým metabolismem složení kosmetického přípravku a vyvolat v něm chemické a fyzikální změny.

Základním předpokladem hygienicky nezávadného výrobku jsou čisté pracovní plochy, většina kontaminantů kosmetiky je totiž velmi nenáročná na živiny. V těžko dostupných, obtížně čistitelných a dezinfikovatelných míst vedení, čerpadel, filtrů, těsnění se mohou mikroor-

ganismy silně namnožit a vytvoří zde ložisko kontaminace, které pak znehodnocuje velké množství vyráběných přípravků [13,14].

2.1.1 Voda

Voda je velmi častým zdrojem kontaminace KP, a to jak voda použitá coby surovina a součást formulace daného přípravku, tak i voda používaná při úklidu výrobních zařízení a prostor. Při výrobě je proto nutné neustále kontrolovat kvalitu vody a množství bakterií ve vodě. Voda, která je používaná jak při výrobě, nebo k mytí výrobních linek nesmí být kontaminována, proto se odebírají vzorky a kontroluje se počet mikroorganismů. Pokud se zvýší množství bakterií, musí dojít k dezinfekci [13,14].

Mezi nejčastější skupiny mikrobiálních kontaminant pocházejících z vody patří koliformní bakterie a pseudomonády. Při výrobě kosmetiky se používá různě upravená voda, měkčená, deionizovaná, destilovaná nebo voda upravená reverzní osmózou. Riziko kontaminace mikroorganismy závisí způsobu úpravy a také na způsobu skladování, chlazení a distribuce. Problematické je také množství tvorby biofilmu v tancích trubkách vodovodního systému.

2.1.2 Vzduch

Pro šíření mikroorganismů představuje ovzduší vhodné transportní medium. Díky proudění vzduchu se mikroorganismy mohou šířit i na poměrně velké vzdálenosti. Hlavním zdrojem mikroorganismů ve vzduchu je půda. Větretem se přenáší prach z půdy, který obsahuje značné množství bakterií. Množství bakterií ve vzduchu závisí na aktivitě v dané oblasti a na množství prachu. Ve vzduchu v místnostech se nejčastěji vyskytují saprofytické bakterie, avšak mohou být přítomny i patogenní bakterie, plísňe a spory. Ve výrobních procesech by měly být vhodné podmínky, dobře větratelné prostory. Důležité je provádět pravidelné kontroly kvality ovzduší ve výrobních procesech [14].

2.1.3 Výrobní procesy a personál

Zdrojem a rezervoárem kontaminace může být pochopitelně i výrobní zařízení, které je nutné pravidelně a vhodným způsobem dezinfikovat a čistit. Procesy dezinfekce a sanitace jsou součástí správné výrobní praxe. Nastavením a dodržováním vhodných pravidel ve výrobě lze předejít primární kontaminaci výrobku [26].

Mezi pravidla a postupy správné výrobní praxe patří například využití filtrů pro eliminaci prašnosti, odvlhčování vzduchu, instalace dvojíých dveří, nebo přetlakového systému. Samotné čištění a údržba vybavení, prostor a strojů by měly být prováděny ve vhodných intervalech a pravidelně, postup by měl být zdokumentován a měly by být jasně stanovena pravidla zodpovědnosti a kontroly.

Nejrizikovější jsou z pohledu možné kontaminace špatně přístupné plochy, vedení, čerpadla a podobně. Velmi důležitý bezpečnostní prvkem jsou pravidelné mikrobiologické kontroly surovin, meziproductů a konečných výrobků [14, 25]

Důležitá je i osobní hygiena zaměstnanců ve výrobě. Zaměstnanci ve výrobě kosmetických přípravků musí mít platný zdravotní průkaz, pracovat ve vhodném pracovním oděvu, mít na hlavě pokrývku, síťku. Mytí a desinfekce rukou je často nejdůležitějším aspektem osobní hygieny zaměstnanců. Každý zaměstnanec by měl projít školením a měl by být veden k postupům, které zajišťují hygienickou výrobu. Zaměstnanci by také měly vědět, jak ke kontaminaci dochází a jakých návyků se vyvarovat.

2.2 Faktory ovlivňující růst a množení mikroorganismů v kosmetických přípravcích

Intenzita a rychlost růstu mikroorganismů je dána množstvím a dostupností živin. Stejně jako ostatní živé organismy, i pro mikroorganismy platí, že vyžadují určité podmínky prostředí. Nároky na prostředí se liší u jednotlivých druhů mikroorganismů. Všeobecně platí, že růst mikroorganismů ovlivňují následující faktory:

- Voda a vodní aktivita
- Teplota
- Hydrostatický a osmotický tlak
- Koncentrace vodíkových iontů (- pH)
- Oxidačně redukční potenciál
- UV záření

- Povrchové napětí

2.2.1 Voda a vodní aktivita

Přítomnost vody je pro růst mikroorganismů nezbytnou podmínkou. Faktor ovlivňující růst mikroorganismů je označován termínem vodní aktivita a_w , tedy veličina která nevyznačuje jen obsah vody, ale zohledňuje její využitelnost. Aktivita vody vyjadřuje množství vody, která není v daném prostředí chemicky vázána a je tedy pro mikroorganismy dostupná. Obecně lze říct, že snížená vodní aktivita, snižuje růst a množení bakterií, plísní, kvasinek v některých případech i virů a parazitů. Bakterie vyžadují vyšší hodnoty vodní aktivity prostředí než plísně. Gramnegativní bakterie mají větší nároky na množství vody než bakterie grampozitivní, což je dáno odlišnou stavbou buněčné stěny. Tabulka 1 uvádí různá rozmezí hodnot vodní aktivity prostředí. Těmto hodnotám odpovídá určité skupiny mikroorganismů, které jsou za těchto podmínek schopné růst. Pokud dojde ke snížení vodní aktivity pod tyto hranice, růst mikroorganismů se velmi snižuje. Je nutné ale uvést, že mikroorganismy i přes snížení vodní aktivity většinou přežívají, jen nerostou [15].

Tabulka 1. : Hodnoty vodní aktivity nutné pro růst mikroorganismů

Vodní aktivita	Schopnost růstu mikroorganismů
0,1 – 0,2	Mikroorganismy se nerozmnožují, přežívají, postupně jejich počet klesá
< 0,60	Mikroorganismy se nerozmnožují, jejich počet neklesá ani za delší dobu
0,60 – 0,85	Plísně ($a_w < 0,80$ nedochází k produkci mykotoxinů) mikroorganismy přežívají
0,85 – 0,93	<i>Staphylococcus aureus</i> se rozmnožuje, ale netvoří toxiny, plísně se rozmnožují a tvoří mykotoxiny.
0,93 – 0,98	<i>Staphylococcus aureus</i> se rozmnožuje a tvoří toxiny, kvasinky a bakterie se rozmnožují pomaleji, se snižující se vodní aktivitou, některé ukončují růst
0,98 – 0,99	Všechny mikroorganismy rostou a rozmnožují se

Nejmenší možná hodnota vodní aktivity, při které se konkrétní mikroorganismy množí, závisí i na dalších faktorech. Nejvýznamnější je teplota a pH nebo přítomnost podpůrných či inhibičních látek [16].

Kontaminací jsou více ohroženy kosmetické přípravky s vyšší hodnotou aktivity vody. Platí zásada, čím vyšší je teplota, a čím vyšší je relativní vlhkost tím i vodní aktivita, tak pravděpodobnost kontaminace kosmetických přípravků se zvyšuje. Doporučení pro spotřebitele je dlouhodobě neskladovat kosmetické přípravky ve vlhkém a teplém prostředí jako je např. koupelna.

2.2.2 Teplota

Teplota je pro růst mikroorganismů významným faktorem. Pro množení mikroorganismů je příznivé především rozhraní teplot mezi 15°C - 50°C. U velkého množství mikroorganismů je tohle rozmezí ideální pro množení a to i včetně patogenních. Teplotní rozmezí pro růst konkrétního mikroorganismu můžeme definovat hodnotami minima, optima, maxima. Minimální růstová teplota je u patogenních bakterií několik stupňů pod optimem. Při nízkých teplotách dochází k podobným fyzikálním změnám jak při vysušení. Generační doba může být velmi dlouhá. Optimální růstová teplota je nejvhodnější pro nejrychlejší růst mikroorganismů, generační doba je nejkratší v logaritmické části růstu. Maximální růstová teplota je nejvyšší teplota při, které jsou mikroorganismy schopné se rozmnožovat.

Podle teploty lze mikroorganismy rozdělit na tři hlavní kategorie:

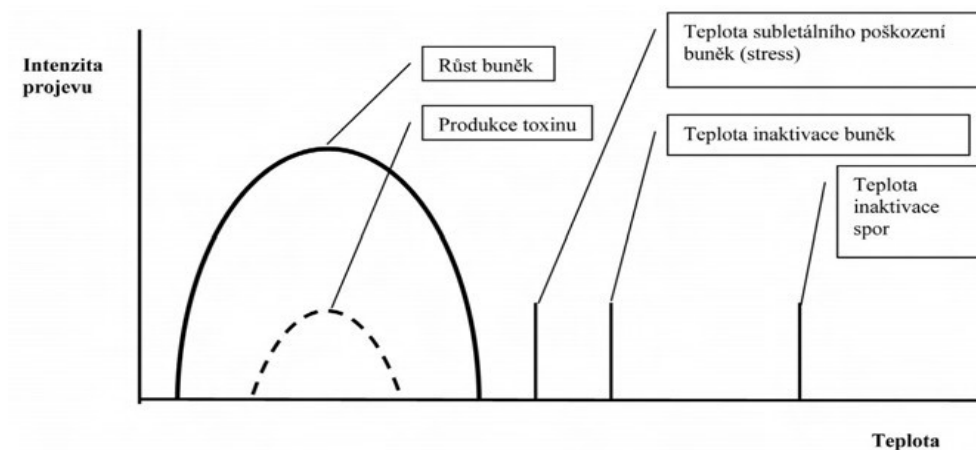
Psychrotrofní mikroorganismy – jsou schopné rozmnožovat i při velmi nízkých teplotách od 0°C do 5°C. Optimální teplota pro množení je od 10°C do 30°C. Mezi psychrotrofní mikroorganismy patří plísně, kvasinky a mnoho gramnegativních bakterií rodu *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Yersinia* z grampozitivních jsou to rody *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Clostridium*.

Mezofilní mikroorganismy – tyto mikroorganismy mají ideální růst v rozmezí mezi 20°C do 40°C. Jsou to tedy mikroorganismy, které rostou při běžných pokojových teplotách. Mezi tyto mikroorganismy patří většina saprofytických bakterií.

Termofilní mikroorganismy – jsou to teplomilné bakterie. Mohou být dvojího druhu, a to striktně termofilní nerostoucí pod 30°C, s teplotou optimálního růstu 55°C do 80°C; fakulta-

tivně termofilní optimem růst 45°C do 75°C. Většina termofilních mikroorganismů jsou schopny tvořit spory. Mezi termofilní mikroorganismy patří aktinomycey. [17].

Obrázek 1.: Vliv teploty na projevy mikroorganismů



Vysoké teploty působí v buňkách mikroorganismů nejčastěji denaturaci bílkovin, tím pádem dochází i ke zničení enzymů, s čímž souvisí zastavení metabolismu a smrt mikroorganismů. Vysoká teplota poškozuje cytoplazmatickou membránu, zvyšuje její propustnost. Pokud dojde k určitému překročení hranice propustnosti, může docházet k vytlíčení cytoplazmy do okolního prostředí.

Působení nižších teplot je složitější a obvykle není letální. Většina mikroorganismů je schopna přežít dlouhou dobu při teplotách nižších než je jejich minimální teplota růstu. Působení teplot pod bodem mrazu závisí na rychlosti ochlazení. Čím pomalejší chlazení, tím vznikají větší krystaly ledu a tím větší je poškození buněčné struktury. I přes velmi pomalé ohlazování nemusí vždy dojít k usmrcení všech mikroorganismů. Ohlazování není proto vhodná sterilizační metoda. Pokud provedeme i hluboké zmrazení přípravku, můžou některé mikroorganismy přežít. Toho se taky využívá při dlouhodobém uchovávání mikrobiologických kultur. Negativní působení nízkých teplot také závisí na fázi buněčného cyklu a metabolické aktivitě. Aktivnější buňky jsou zranitelnější.

Při výrobě kosmetických přípravků se musí dávat pozor na teplotní adaptaci mikroorganismů. V případě, že sterilizujeme nebo snižujeme počet mikroorganismů při výrobě, shlazováním nebo zahříváním. Adaptace mikroorganismů na teplotu je jednak genetická, která předurčuje mikroorganismy k životu v prostředí s určitou teplotou, a jednak fyziologická, která mu předurčuje přizpůsobit se lokálním změnám teploty.

2.2.3 Hydrostatický a osmotický tlak

Mikroorganismy se většinou rozmnožují za normálního atmosférického tlaku. Zvýšením tlaku na 10 až 20 MPa se rozmnožování mikroorganismů zpomaluje a při tlaku 30 až 40 MPa se rozmnožování u většiny mikroorganismů zcela zastaví. Účinky vysokého tlaku lze poněkud zmírnit zvýšením teploty z 30 na 40 °C. Vysoký tlak působí nepříznivě především na syntézu buněčné stěny. Pro usmrcení všech mikroorganismů je zapotřebí obrovského tlaku, asi kolem 600 až 700 MPa, přičemž doba jeho působení musí být v rozmezí několika minut až hodin. Spory rodu *Bacillus* však nejsou usmrceny ani po hodině působení tlaku 1700 MPa. Tlaky několika desítek MPa však indukují klíčení spor, jenž jsou pak usmrceny již teplotou 55 až 65 °C [18].

2.2.4 Koncentrace vodíkových iontů pH

Růst mikroorganismů i jejich biochemická činnost jsou silně ovlivněny koncentrací vodíkových iontů v prostředí. Každý mikrobiální druh se může rozmnožovat pouze v určitém rozmezí pH. Pro růst většiny bakterií a kvasinek je toto rozmezí poměrně úzké, zatím co u většiny plísní je podstatně širší. Extremní pH může mikroorganismy usmrtit. pH prostředí ovlivňuje také odolnost buněk ke zvýšeným teplotám. Odolnost mikroorganismů k vysokým teplotám je tím menší, čím větší je odchylka od optimálního pH, což platí jak pro vegetativní buňky, tak i pro spory. U bakteriálních spor rodu *Bacillus* a *Clostridium* zabraňuje kyselé prostředí pH klíčení spor a jejich proměně ve vegetativní formy [18].

Tabulka 2: Minimální, optimální a maximální pH pro růst mikroorganismů

Mikroorganismus	Minimální pH	Optimální pH	Maximální pH
<i>Escherichia coli</i>	4,3	6,0 – 8,0	9,5
<i>Bacillus subtilis</i>	4,5	6,7- 7,5	8,5
<i>Clostridium botulinum</i>	4,7	6,5 – 7,2	9,0
<i>Lactobacillus</i>	3,8	5,4 – 6,4	7,2
<i>Thiobacillus thioparus</i>	4,5	6,6 -7,2	7,8

<i>Aspergillus niger</i>	1,2	3,0 – 8,0	11,0
--------------------------	-----	-----------	------

2.2.5 Oxidačně redukční potenciál

Každé prostředí vykazuje určitý oxidačně redukční potenciál, který je dán přítomností oxidačního nebo redukčního činidla. K nejdůležitějším oxidačním činidlům patří kyslík, dusičnany, železité ionty, peroxidy. Nejčastěji se vyskytujícím redukčním činidlům patří železnaté ionty, vodíky, sloučeniny sulfhydrilovou skupinou nebo s reaktivními dvojnými vazbami. Oxidačně redukční potenciál prostředí (E_H) vyjadřujeme jako rozdíl potenciálů mezi platínovou elektrodou umístěnou do daného prostředí a normální vodíkovou elektrodou. Silně oxidační látky vyjadřují pozitivní oxidoredukční potenciál, kdežto silné redukující látky vedou negativnímu potenciálu. Mikroorganismy se značně liší svým vztahem ke kyslíku, a proto také vyžadují různé oxidačně redukční potenciál.

Aerobní mikroorganismy vyžadují přítomnost rozpuštěného kyslíku, a tedy pozitivní oxidačně redukční potenciál. Rozpustnost kyslíku v kapalinách je poměrně nízká a klesá se stoupající teplotou.

Anaerobní mikroorganismy působí kyslík a pozitivní oxidačně redukční potenciál škodlivě, v některých případech má dokonce letální účinek [19].

2.2.6 UV záření

Ultrafialové záření má silně mutagenní a letální účinky na mikroorganismy. Největší mutagenní a letální účinky má UV záření o vlnové délce, jež je nejvíce absorbována nukleovými kyselinami (265 nm). Vlnové délky germicidních UV lamp se pohybuje obvykle v oblasti 210 až 310 nm. Intenzita účinku UV světla je závislá na množství pohlceného záření, jenž je úměrné síle zdroje a době ozařování a klesá se vzdáleností od zdroje záření. Pronikavost UV záření je velmi malá, a proto se toto záření používá pouze pro sterilizaci vzduchu, povrchovou sterilizaci předmětů, pracovních ploch a provozních zařízení. Hlavní nežádoucí účinek působící na mikroorganismy je tvorba kovalentních vazeb mezi sousedními pirimidiny nukleových kyselin. Mikroorganismy se vzájemně značně liší svou odolností k účinkům UV světla. Poměrně odolné jsou spory rodu *Bacillus*, *Clostridium*. Ještě odolnější

jsou buňky bakterií nebo kvasinek, obsahující karotenoidní barviva. Také černé zbarvení spor plísní absorbují méně UV světla a jsou tedy odolnější. Vyšší odolnosti těchto barevných mikroorganismů k UV složce slunečního světla způsobuje, že se nacházejí jako častá vzdušná kontaminace [18,19].

2.2.7 Povrchové napětí

Povrchově aktivní sloučeniny se hromadí na rozhraní dvou fází a tedy také na povrchu buněk mikroorganismů v kapalném prostředí. Tenzidy neboli povrchově aktivní látky dělíme na anionaktivní a kationaktivní tenzidy. **Anionaktivní tenzidy** ve vyšších koncentracích poškozují cytoplazmatickou membránu, a tím usmrcují buňky. Jejich vyšší koncentrace také rozděluje bílkoviny na jednotlivé podjednotky a denaturují je. Koncentrace, které cytoplazmatickou membránu vážně nepoškozují, pronikají do buněk a ovlivňují jejich metabolismus. Anionaktivní tenzidy, především alkylsulfáty a alkylsulfonáty, jsou také intenzivní smáčedla, a proto zvyšují účinnost roztoků dezinfekčních prostředků. Na této skutečnosti je založeno použití mýdel a jiných čisticích prostředků, využívaných při čištění a dezinfekci zařízení v kosmetickém průmyslu. **Kationaktivní tenzidy** mají již ve velmi nízkých koncentracích silné mikrobicidní účinky. Nejčastěji se používají kvarterní a pyridiniové soli. Antimikrobiální účinnost i velmi příbuzných tenzidů není v přímém vztahu k míře snížení povrchového napětí kapaliny, neboť toto snížení je výsledkem jejich hromadění na rozhraní kapalina – plynná fáze, kdežto hromadění těchto látek na rozhraní kapalina – povrch mikrobiální buňky je odlišné [20,21].

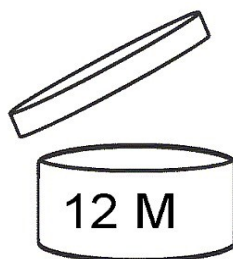
2.3 Důsledky mikrobiální kontaminace kosmetických přípravků

Při kontaminaci kosmetických přípravků mikroorganismy může dojít k ovlivnění a nežádoucí změně vlastností výrobku (např.: ke změně barvy, konzistence, vůně). Druhým možným důsledkem mikrobiální kontaminace je ohrožení zdraví spotřebitele. Kosmetický přípravek nesmí obsahovat patogenní nebo toxinogenní mikroorganismy. Při dlouhodobém používání přípravků ve, kterých dochází k přemnožení mikroorganismů, může docházet na pokožce k alergickým reakcím nebo infekcím.

2.3.1 Jak správně uchovávat kosmetické přípravky

Datum minimální trvanlivosti na kosmetickém přípravku vymezuje dobu, po kterou si kosmetický přípravek při dodržení správných podmínek skladování zachová svoji původní funkci a je bezpečný. Většinou je doba trvanlivosti na kosmetickém přípravku uvedena slovy „Spotřebujte nejlépe do ...“ za kterým následuje datum nebo údaj, kde je datum uvedeno na obalu. Datum musí být uvedený zřetelně a musí obsahovat, buď měsíc a rok, nebo den, měsíc a rok. Platí to pro přípravky s kratší expirační dobou než 30 měsíců. Datum spotřeby nemusí být uveden na kosmetických přípravcích s delší minimální trvanlivostí než 30 měsíců. U těchto přípravků se uvádí údaj o době, po kterou můžeme produkt po otevření bezpečně používat. Tato informace se vyznačuje tzv. PAO symbolem, což je zkratka anglických slov Period After Opening. Jde o symbol otevřeného kelímku (obrázek 2), ve kterém uvnitř, nebo v jeho blízkosti, je uvedený číselný údaj v měsících nebo v rocích. Tento údaj značí po jakou dobu je možné přípravek používat po jeho otevření.

Obrázek 2.: Symbol doba spotřeby po otevření kosmetického přípravku



Důležité je dodržovat správné skladování a zacházení s kosmetickými přípravky. Nevystavovat kosmetické přípravky příliš vysokým nebo nízkým teplotám. Nejlepší je uchovávat kosmetické přípravky při pokojové teplotě v rozmezí od 15 do 20 °C na suchém a tmném místě. Vhodné je také kosmetické přípravky nikomu nepůjčovat, do kelímku se nedoporučuje sahat prsty, pouze špachtlí, které již velmi často bývají součástí kvalitních krémů. Špachtli je potřeba pravidelně čistit a dezinfikovat. Přípravky by se neměl předělávat do jiného obalu, než ve kterém byl pořízen. Kosmetické přípravky nenecháváme na přímém slunci. Na přípravky, které jsou používány dlouho, je vhodné si lihovým fixem poznačit datum otevření [22].

2.3.2 Změna vlastností kosmetického přípravku

Při nesprávném používání nebo při kontaminaci kosmetického přípravku, může docházet ke změnám v konzistenci, barvě a vůni. U emulzních kosmetických by nemělo docházet k oddělování vodné a tukové fáze. U dekorativní kosmetiky je změna vůně nejčastějším znamením, že došlo ke změně a mohlo dojít ke kontaminaci kosmetického přípravku. Pokud dochází ke změně konzistence nebo barvy kosmetického přípravku, změna může být důsledkem mikrobiálních metabolických procesů, které způsobily rozklad složek tukového základu přípravku.

2.3.2.1 Oxidace kosmetických přípravků

Při dlouhodobé skladování kosmetických přípravků může docházet k zhoršování vlastností a sensorické jakosti. Proces, při kterém dochází k reakčním změnám, nejčastěji v tukovém základu, bývá označován jako žluknutí. Žluknutí může být podpořeno kontaminací mikroorganismy. Podle různých reakčních procesů bývají děleny na žluknutí hydrolytické, oxidační, ketonové a na chuťovou reverzi.

Hydrolytické žluknutí – hydrolýzou triacylglyceroly vznikají mastné kyseliny s malým počtem uhlíků, které dodávají tuku i v malých koncentracích nepříjemný zápach. K hydrolýze může dojít přítomnosti enzymů plísní.

Oxidační žluknutí – za sensoricky nevhodné změny může přítomnost sekundárních produktů oxidace. Způsobují to uhlovodíky, deriváty furanu a zejména aldehydy, které způsobují zápach někdy i změnu barvy.

Ketonové žluknutí – je typické u tukových základů s obsahem nižších mastných kyselin. Ketonové žluknutí vzniká často působením mikrobiálních enzymů. Výsledkem jsou methylketony, nejčastěji 2-pentanon a 2-heptanon.

Chuťová reverze – jsou typické pro oleje s vyšším obsahem kyseliny linoleové. Rozkladem snadno vzniklých peroxidů vznikají sloučeniny zapáchající po trávě a fazolích [23].

2.3.2.2 Stabilita emulzí

Kosmetické přípravky jsou velmi často emulze. Emulze jsou velmi složité systémy obsahující spousty látek jak ve vnitřní, tak ve vnější fázi. Jsou to systémy obsahující dvě nemísitelné

kapaliny. Pokud dojde, ke kontaminaci emulze mikroorganismy, může nastat rozpad emulze, který se projevuje postupnou separací vodné a olejové fáze.

Separáčnící procesy můžeme rozdělit na několik typů:

Krémování a **sedimentace** jsou založeny na separaci pomocí gravitačních sil. Krémování je charakterizováno shromažďováním dispergovaných částic v horní části kosmetického přípravku z důvodu jejich nižší hustoty, než je hustota disperzního prostředí. Sedimentace je děj opačný, dispergované částice se shromažďuje ve spodní části kosmetického přípravku, které je zapříčiněné vyšší hustotou, než je hustota spojité fáze.

Flokulace a **koalescence** jsou dány agregací částic vnitřní fáze. Flokulace je agregace částic do větších celků při zachování jejich individuálního charakteru. Koalescence je proces při kterém se dvě nebo víc kapek spojí a vytvoří novou s větším průměrem.

Také může nastat **fázová inverze** proces, při kterém dochází k výměně fází. Emulze typu olej/voda se může změnit na emulzi voda/olej a naopak [24].

2.3.3 Infekce pokožky a zdravotní rizika

Kosmetický přípravek kontaminovaný mikroorganismy může být příčinou různě závažných zdravotních obtíží spotřebitele. Mezi nejčastější potíže lze zařadit ekzémy, dermatitidy alergické reakce. Kosmetické přípravky mohou být kontaminovány i patogenními či oportunně patogenními mikroorganismy. Nebezpečná může být například kontaminace bakteriemi rodu *Staphylococcus*. Některé druhy tohoto rodu jsou součástí běžné kožní mikroflóry a jsou v podstatě neškodné. Některé druhy, např. *Staphylococcus aureus*, jsou původci hnisavých kožních infekcí (pyodermií). Dalším příkladem potíží způsobených kosmetickými přípravky kontaminovanými mikroorganismy mohou být kožní mykózy, mykózy nehtů nebo třeba oční infekce způsobené bakteriemi rodu *Pseudomonas*. Kontaminovaná kosmetika může také přispívat ke zhoršení průběhu *acne vulgaris* [25].

3 MIKROORGANISMY KONTAMINUJÍCÍ KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY

Mikroorganismy se vyskytují na všech místech na Zemi. Nejvíce je jich v půdě a ve vodě. Mnoho se jich vyskytuje v tělech jiných organismů a také se mikroorganismy nacházejí ve vzduchu, jehož prostřednictvím se šíří.

Většina mikroorganismů se v kontaktu s vnějším povrchem makroorganismů chová pasivně, neboť nenachází vyžadované specifické podmínky ke svému růstu a množení. Některé mikroorganismy dokážou makroorganismus kolonizovat. Pronikají do vnitřních prostor makroorganismu a pomnoží se v něm, vzniká infekce. Vzniklý vztah mezi dvěma organismy může být v součinnosti (symbióza), nebo jeden organismus parazituje na druhém. Parazitické mikroorganismy, nemají schopnost vytvořit s hostitelem rovnováhu a nazývají se patogenní. Patogenní mikroorganismy vyvolávají nerovnováhu a onemocnění hostitele.

Mnohé kosmetické přípravky svým složením a vlastnostmi představují vhodné prostředí pro množení mikroorganismů. Konkrétní přípravek s určitou formulací, obsahem vody, hodnota pH, obsahem živin atd. může být kontaminován skupinou mikroorganismů, kterým dané podmínky vyhovují. Mezi mikrobiální kontaminanty kosmetiky patří grampozitivní i gramnegativní bakterie, kvasinky i plísně. [27].

3.1 Gramnegativní bakterie

Gramnegativní bakterie jsou prokaryotické mikroorganismy, které mají buněčnou stěnu tvořenou tenkou vrstvou peptidoglykenu, liposacharidy a vnější buněčnou membránou s obdobnou stavbou jako má membrána cytoplazmatická. Většinou tvoří spory a množí se příčným dělením. Některé druhy tvoří pouzdra nebo pochvy. Pohybují se pomocí bičíku nebo plazivě po substrátu, nebo jsou nepohyblivé. V kosmetice se setkáváme především s gramnegativními tyčinkami rodu *Pseudomonas*, *Acinetobacter* a enterobakteriemi [28].

3.1.1 Gramnegativní tyčinky

Rod Pseudomonas

Rod *Pseudomonas* je z hlediska své morfologie přímé nebo mírně zakřivené tyčinky, pohybující se polárně situovaným bičíkem. Nevytváří spory ani jiné klidové formy. Jeho zástupci jsou heterotrofně aerobní a nikdy nedisponují fermentativním metabolismem. Lze je izolovat s různých přírodních materiálů. Vhodné prostředí pro růst *Pseudomonas* je prostředí neutrální, nebo mírně kyselé pH 4,5. Teploty vhodné pro množení 4°C až 42°C. Mají širokou škálu pro svůj růst, proto se mohou vyskytovat i v kosmetických přípravcích. Rod *Pseudomonas* je nutričně nenáročný. Při kontaminaci kosmetického přípravku se může změnit vůně přípravku, nebo zbarvení (žluté, do zelena) v důsledku fenazिनových barviv. Některé druhy jsou řazeny mezi rostlinné a živočišné patogeny, vykazují značnou rezistenci proti běžným druhům antibiotik [29].

Rod Escherichia

Escherichia fakultativně anaerobní spory netvořící tyčinkovitá bakterie pohybující se pomocí bičíků. Je to nejvíce prozkoumaný druh mikroorganismů. Využívá kvasný i respirační metabolismus pro přísun energie. *E. coli* je jednou s nejčastěji se vyskytujícími bakteriemi v klinických vzorcích. Přirozeně se vyskytuje u člověka jako součást střevní mikroflóry v tlustém střevě a dolní části tenkého střeva. Nejčastěji se objevuje ve vodě a vodních zdrojích. Léčba je běžnými antibiotiky. Je častým původcem infekce, zejména pokud se dostane mimo střivo. Kontaminace kosmetických přípravků escherichiemi indikuje špatné hygienické podmínky ve výrobě. [30].

Rod Serratia

Jsou to mikroorganismy, které rozkládají cukry na pyrit, ten je dále redukován na butandiol, ethanol nebo oxid uhličitý. Nejčastěji se vyskytuje v kontaminovaných dezinfekčních prostředcích v povrchově aktivních látkách, tedy i v různých emulgátorech, které se mohou vyskytovat v kosmetických přípravcích. Příčinou kontaminace může být nedostatečná sanitace. Také se mohou vyskytovat v potrubí výrobních zařízeních, ve slepých ramenech potrubí, kde může docházet k usazování produktu [31].

Rod *Enterobacter*

Mikroorganismy patřící do tohoto typu jsou produkující butandiol, ethanol nebo oxid uhličitý. Je to nejčastější kontaminant v domácnostech. Nejčastěji se množí v slabě konzervovaných kosmetických přípravcích. Mezi druhy, které kontaminují kosmetické přípravky, mohou být *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter gergoviae* a *Enterobacter cloacae*. Mohou způsobovat infekci horních cest dýchacích, kožní infekce nebo infekce měkkých tkání [31].

Rod *Klebsiella*

Velmi rozšířený mikroorganismus. Jsou nepohyblivé, patří mezi lidské patogeny. *Klebsiella pneumoniae* způsobuje u lidí pneumonii, nejčastěji u oslabených jedinců nebo u osob s nadměrným příjmem alkoholu. Běžně se vyskytují v domácnostech, proto ke kontaminaci kosmetických přípravků dochází nejčastěji až u spotřebitele během používání [32].

Rod *Acinetobacter*

Mikroorganismus rodu *Acinetobacter* se vyskytují velmi často na kůži zdravých osob. Jde o striktně aerobní krátké tyčinky, někdy kokoidního tvaru vyskytujících se ve dvojicích. Můžeme je nalézt také na sliznicích dýchacího ústrojí. Mohou způsobovat lokální infekci při oslabení organismu, např. po popáleninách nebo při transplantacích. Jsou přirozeně rezistentní vůči některým druhům antibiotik [32].

3.2 Grampozitivní bakterie

Jako grampozitivní jsou označovány bakterie, které mají na konci diagnostického barvení podle Gramovy metody pod mikroskopem modro fialovou barvu. To je zapříčiněno vysokým obsahem peptidoglykenů v buněčné stěně a absencí vnější membrány a lipopolysacharidové vrstvy. Grampozitivní mikroorganismy obsahují deset a méně aminokyselin. Tvary mohou být tyčinky nebo koky. Některé grampozitivní mikroorganismy mohou tvořit spory.

3.2.1 Grampozitivní nesporeující tyčinky

Rod *Actinomyces*

Buňky mají rovné nebo mírně zakřivené tyčinky různých délek. Krátké tyčinky mohou mít kyjovitě zvětšený konec. Vyskytují se také i ve tvaru dlouhých vláken se skutečným větvením. Netvoří endospory ani exospory, jsou fakultativně anaerobní. Pro maximální růst vyžadují oxid uhličitý. Optimální teplotou pro růst je 30 – 37 °C. Vyskytují se přirozeně na sliznicích u teplokrevných živočichů, tedy i u člověka. Mohou způsobovat infekce, především měkkých tkání a dutina ústní [33].

Rod *Arcanobacterium*

Jako potenciální patogen vyvolávají hnisavá onemocnění nebo podkožní abscesy. Léčí se antibiotiky nejčastěji penicilinem [33].

Rod *Dermatophilus*

Dermatophilus congolensis Grampozitivní vláknité tyčinky vykazující větvení v pravém úhlu. Jsou to aerobní bakterie, kataláza pozitivní. Jako potenciální patogen může způsobovat různé druhy dermatóz, na celém těle nebo i ve vlasech. V chronickém stavu může docházet až k vypadávání vlasů a tvoří se lisiny. U nás se vyskytuje jen zřídka [12].

3.2.2 Grampozitivní sporulující tyčinky

Rod *Bacillus*

Bakterie tohoto rodu jsou jedny z největších. Mají tyčinkovitý tvar, tvoří dlouhé řetězce. Při sporulaci nemění tvar sporulující buňky. Spory bývají lokalizované v různých částech sporangia. Při barvení Gramovou metodou, tak k obarvení dochází jen v časných fázích růstu, ale v místě endospory zůstávají nezbarveny. Mikroorganismy jsou anaerobní nebo fakultativně anaerobní. Většinou kataláza pozitivní a oxidáza variabilní. Sporulace probíhá za přítomnosti kyslíku. Nejčastější kontaminací kosmetických přípravků je *Bacillus cereus*. *Bacillus cereus* může způsobovat hnisavé onemocnění očí. Pokud se tato bakterie dostane do trávicího ústrojí, může způsobit průjmové onemocnění [32, 12].

Rod *Clostridium*

Jsou to tyčinky s oblým koncem, rovné nebo zahnuté. Tvoří oválné nebo sférické spory, které obvykle zvětšují šířku vegetativní buňky. Grampozitivně se obvykle zbarvují při raných sta-

diích růstu. Většina druhů bakterií rodu *Clostridium* se řadí mezi obligátní anaeroby, některé však vykazují různou toleranci vůči kyslíku. Cukry štěpí fermentativně. Rostou v širokém teplotním rozmezí s optimem 37 °C. Běžně se vyskytují v tlejících organismech živočišného nebo rostlinného původu, nebo v kanalizačním zařízení. Vyskytují se také jako saprofytické bakterie ve střevní mikroflóře lidí. *Clostridium botulinum* je původcem botulismu u člověka, který vzniká následkem intoxikace jeho toxinem s charakterem neurotoxinu. *Clostridium tetani* se jako saprofyt vyskytuje v půdě a v lidském organismu. Způsobuje velmi vážné onemocnění tetanus. Projevuje se zvýšenou motorickou dráždivostí a tonickými křečemi svalstva. Tetanus nejčastěji vniká do organismu předešlou oděrkou, kde dochází ke klíčení spor [34].

3.2.3 Grampozitivní koky

Rod *Staphylococcus*

Bakterie rodu *Staphylococcus* jsou sférického tvaru, vyskytují se jednotlivě po dvojicích, nebo ve větších nepravidelných shlucích. Fakultativně anaerobní bakterie, cukry štěpí oxidativně i fermentativně, tvoří karotenoidní pigmenty. Jsou kataláza pozitivní a nepohyblivé. Většina kmenů roste v rozmezí teplot 18 – 40 °C, s optimální teplotou růstu 30 – 37 °C, rostou v přítomnosti 10 % NaCl. Vyskytují se na kůži a na sliznicích člověka i zvířat. Některé druhy mohou být potencionálními patogeny, způsobují nejčastěji hnisavé infekce. *Staphylococcus aureus* je to saprofyt a epifyt vyskytující se přirozeně na kůži. Jako potencionální patogen způsobuje hnisavé onemocnění kůže a sliznic. *Staphylococcus epidermidis* nebo *Staphylococcus saprophyticus* jsou saprofytické bakterie nacházející se na povrchu kůže a na sliznicích [18].

Rod *Streptococcus*

Jsou to kulaté nebo oválné bakterie o průměru menším než 2 μm. Jsou grampozitivní nesporelující, některé druhy tvoří příležitostně pouzdra. Fakultativně anaerobní bakterie, které pro svůj růst někdy potřebují CO₂. Cukry fermentují bez tvorby plynu za vzniku kyseliny mléčné, jsou kataláza negativní a nepohyblivé. Rostou při teplotách s optimem 37°C. Většina z nich se řadí mezi komenzály a parazity člověka nebo zvířat. Přirozenými místy člověka jsou sliznice trávicího ústrojí a pohlavního ústrojí, dýchací ústrojí a tkáně. K streptokokovým infekcím je člověk velmi vnímavý. Vznik a průběh těchto infekcí souvisí především s kolonizací

povrchu sliznic asymptomatických hostitelů. Pokud dojde k oslabení organismu, může docházet k lokálním zánětlivým reakcím. Po průniku může docházet k šíření lymfatickou nebo cévní cestou a za určitých podmínek může dojít k infekcím jednotlivých orgánů, v konečném stádiu i k sepsi [18].

Rod *Enterococcus*

Bakterie rodu *Enterococcus* jsou sférického nebo oválného tvaru, o rozměrech menších než 2 μm . Vyskytuje se jednotlivě, v páru nebo v nepravidelných řetězcích. Barví se grampozitivně a netvoří endospory. Jsou fakultativně anaerobní, cukry štěpí fermentativně, bez tvorby plynu. Katalázová reakce je negativní. Teplota růstu je v širokém rozmezí od 10°C do 45°C, s optimem při 37°C. Většina kmenů přežívá zahřátí 60°C po dobu 30 minut. Vyskytují se jako saprofyti a komenzálové trávicího ústrojí člověka. Ve velkém množství se vyskytují v tenkém tlustém střevě. Pokud dochází ke kontaminaci, je to nejčastěji od zaměstnanců s výrobního procesu nebo z vody, která se používá při výrobě. Ojedinele mohou vyvolávat infekci [18].

3.3 Vlákňité mikroskopické houby a mykotoxiny

Vlákňité mikroskopické houby jsou vícebuněčné mikroorganismy, které se zařazují do samostatné říše hub. Mikroskopické houby definujeme jako organismy eukaryontní (mají pravé jádro buněčné), pokročile heterotrofní, jsou saprofytické a parazitické organismy, dekompozitoři organické hmoty, jsou vázané na prostorově určité místo, žijí většinou v suchozemském prostředí, mají buněčnou stěnu, mají vakuoly, mitochondrie, Golgiho aparát, endoplazmatické retikulum, nemají lysozomy.

V kosmetických přípravcích za určitých podmínek může dojít ke kontaminaci. Nebezpečné jsou především toxinogenní mikromycety. Toxinogenní mikromycety jsou mikroorganismy, které mají schopnost produkovat mykotoxiny. Toxinogenní mikromycety a jejich metabolické produkty mykotoxiny patří k významným faktorům, které mohou negativně ovlivnit zdravý člověka. Významná je i schopnost toxinogenních mikromycetů produkovat, v potravinách i v kosmetických přípravcích, mykotoxiny. Ty mohou způsobovat mykotoxikózu poškozující zdraví člověka. Toxinogenní mikromycety jsou díky svému enzymatickému vybavení velmi adaptabilní, proto mohou kontaminovat jakoukoliv látku nebo substrát. Jsou rozšířené po celém světě. Velká morfologická rozmanitost umožňuje osídlení v podstatě různé biotopy,

tak i domácnost, výrobní procesy a jiné. Na základě různých výzkumů je dost nepravděpodobné akutní toxický účinky mykotoxinů. Největší nebezpečí působení mykotoxinů je imunosupresivní účinek, tedy snížení obranyschopnosti organismu a náchylnost na některé onemocnění. Další nebezpečí může být riziko pozdních toxických účinků, tedy zejména karcinogenní riziko a vývojová toxicita. Mykotoxiny mohou být také obsaženy ve sporách mikromycetů, které kontaminují životní prostředí a pracovní prostředí člověka [34].

Pokud dojde ke kontaminaci kosmetického přípravku je to nejčastěji mikroskopickými houbami rodu *Aspergillus*, *Fusarium* nebo *Mucorales*. *Aspergillus* je druh plísně, která se vyskytuje všude kolem nás ve vzduchu, půdě, v prachu nebo ve vodě. Nejčastější vstupní cestou je dýchací trakt. Po inhalaci se dostávají do plic konidiosory, které zde dozrávají a mohou se dostávat do dalších orgánů a způsobovat řadu infekcí. U zdravého člověka jsou onemocnění tohoto druhu minimální, neboť na konidie má člověk přirozenou imunitu [36]. Plísně rodu *Fusarium* nejčastěji napadají nejrůznější druhy rostlin a obilovin. Nejčastější toxiny jsou trichotheceny, fumonosiny a zearalenony. V kosmetických přípravcích se mohou vyskytnout a kontaminovat právě rostliny, které se do přípravků přidávají [35]. Rod *Mucorales* patří mezi vláknité mikromycety a zygomycety. Také se mohou nazývat jako pravé plísně. Jsou původci četných systematických mykóz [12].

4 KONZERVACE KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ

Téměř do všech kosmetických přípravků se přidávají konzervační přísady. Konzervační přísady jsou složky nebo také látky, které jsou schopny zabránit růstu mikroorganismů nebo snížit jejich počet. Konzervační přísady ochrání kosmetické přípravky proti mikrobiální kontaminaci bakteriemi nebo houbami, během skladování nebo používání spotřebitelem. Mohou prodloužit dobu použitelnosti kosmetického přípravku. Konzervační přísady zajišťují použitelnost a bezpečnost kosmetického přípravku po celou dobu používání. Pokud by nebyli, použity konzervační látky, mohlo by dojít k znehodnocení kosmetického přípravku, ztrátu jeho účinnosti a případně také podráždění pokožky, různé infekce nebo další nežádoucí účinky pro spotřebitele. Konzervační přísady jsou různorodé, stejně jako jejich konzervační vlastnosti. Liší se podle spektra účinnosti na mikroorganismy. Některé konzervační látky působí jen proti houbám nebo jen proti bakteriím, zastavují jejich růst a množení. Konzervační přípravky mohou účinně působit jen v určitých typech kosmetických přípravků podle jejich chemických vlastností a složení. Účinnost konzervačních přípravků může být také závislé na pH kosmetického přípravku. Široká škála konzervačních přípravků zajišťuje vhodný výběr podle typu kosmetického přípravků.

Konzervační látky, které se mohou přidávat do kosmetických přípravků, jsou velmi přísně kontrolovány, včetně bezpečnosti a kontroly kvality, podléhají regulaci Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích.

Při tom jaké konzervační přísady zvolit se zvažuje řada faktorů. Záleží na složkách přípravku, jeho požadovaném účinku, jeho obalu, na tom na jakou část těla má být přípravek aplikován i na tom jak spotřebitel bude přípravek používat. Aby byl přípravek bezpečný a optimálně účinný, kompatibilní s ostatními složkami kosmetického přípravku, dobře rozpustný a rovnoměrně rozptýlený [38].

Konzervační přísady musí obsahovat kosmetické přípravky s vysokým obsahem vody, jako jsou krémy a kosmetické vody, řasenky, tekuté oční linky a další kosmetické přípravky, které přicházejí do kontaktu s pokožkou. I přípravky které mají malou pravděpodobnost, že by se v nich mohli rozmnožit mikroorganismy, se konzervují z důvodu sekundární kontaminace, tedy při používání spotřebitelem[39].

Nejčastější konzervační přísady v kosmetických přípravcích jsou organické kyselina a jejich estery, alkoholy a halogeny[38].

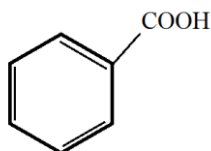
4.1 Organické kyseliny a jejich estery

Organické kyseliny jsou organické sloučeniny s vlastnostmi kyselin. Nejběžnějšími organickými kyselinami jsou karboxylové kyseliny jejich kyselost je způsobena karboxylovou skupinou – COOH, sulfonové kyseliny obsahující skupinu – OSO₂H.

Kyseliny s menší molekulovou hmotností jako kyselina mléčná nebo kyseliny mravenčí jsou dobře rozpustné ve vodě, zatím co kyseliny s vyšší molekulovou hmotností jsou v molekulární (neutrální) formě ve vodě nerozpustné např. kyselina benzoová. Většina organických kyselin se, ale velmi dobře rozpouští v organických rozpouštědlech.

Organické kyseliny využívané jako konzervační přísady se nejčastěji využívají kyselina benzoová, kyselina salicylová nebo kyselina sorbová. Nejčastěji využívané estery organické kyseliny jako konzervanty jsou tzv. parabeny, což jsou estery kyseliny p- hydroxybenzoové [40].

4.1.1 Kyselina benzoová

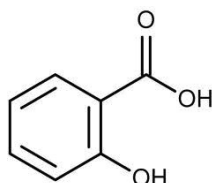


Obrázek 3.: Chemický vzorec kyseliny benzoové

Je nejjednodušší aromatická jednosytná karboxylová kyselina. Za normálních podmínek je bezbarvou až bílou krystalickou látkou. Jedná se o slabou kyselinu, velmi často využívanou jako konzervační přípravek, jako léčivo proti kožním infekcím a je velmi důležitým prekurzorem v organické syntéze.

Kyselina benzoová je často využívána jako konzervant v potravinářském průmyslu. V kosmetických přípravcích se využívá jako širokospektré antimikrobikum, účinné proti bakteriím, kvasinkám i plísním. Účinnost je závislá na pH, která by měla být <5 [37].

4.1.2 Kyselina salicylová

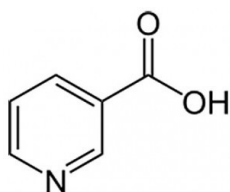


Obrázek 4.: Chemický vzorec kyselina salicylové

Kyselina salicylová je beta-hydroxykyselina s chemickým vzorcem $C_6H_4(OH)COOH$, kde OH skupina přiléhá ke karboxylové skupině. Je to bezbarvá krystalická organická kyselina široce využívaná v organické syntéze a účinkuje jako rostlinný hormon. Vzniká při metabolismu salicinu. Je velmi špatně rozpustná ve vodě.

Kyselina salicylová je hojně využívána v kožním lékařství, v nízkých koncentracích se využívá pro chemické peelings jako exfoliant nebo ve vyšších koncentracích má keratoleptické účinky (odstranění bradavic, odstranění šupin u lupénky), využívá se k léčbě akné. Využití má také jako konzervační přísada do kosmetických přípravků [40]

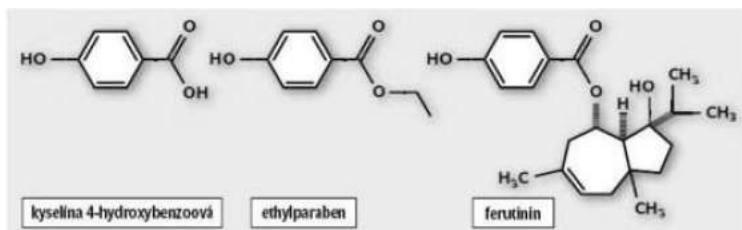
4.1.3 Kyselina sorbová



Obrázek 5.: Chemický vzorec kyseliny sorbové

Kyselina sorbová je nenasycená karboxylová kyselina, jejíž název je odvozen od Jeřábu ptačího lat.: *Sorbus aucuparia*, z jehož plodu byla poprvé kyselina sorbová izolována v roce 1859. Velmi často se používá jako konzervant v potravinářském průmyslu i v kosmetickém průmyslu. Působí proti kvasinkám, plísním i některým druhům bakterií. Jako konzervant se využívají především soli kyseliny sorbové – sorbany. Kyselina sorbová a její soli jsou optimálně účinné při pH 6. Může být používána v maximální koncentraci do 0,8%. Při vyšších koncentracích může způsobovat především na sliznicích podráždění [40].

4.1.4 Estery kyseliny p-hydroxybenzoové



Obrázek 6.: Chemické vzorce kyseliny 4-hydroxybenzoové, ethylparabenu a ferulic acidu

Estery kyseliny p-hydroxybenzoové nebo také parabeny. Jsou to velmi diskutované konzervanty. Parabeny jsou konzervační látky s velmi dobrým antibakteriálním účinkem, používané více jak 60 let v kosmetické a potravinářském průmyslu. Parabeny jsou dobře účinné i při velmi malých koncentracích, do kosmetických přípravků se většinou přidávají ve směsích. Mezi nejběžnější parabeny patří methylparaben, buthylparaben a propylparaben. Do prostředí se parabeny mohou uvolňovat při výrobě, spotřebě a likvidaci. Jejich chování v prostředí je závislé na jednotlivých konkrétních látkách. Bioakumulace ve vodních organizmech je velmi nízká.

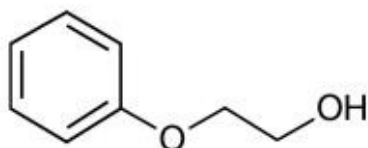
Člověk je parabenům vystaven především kožním kontaktem, popřípadě požitím. Tělem jsou většinou dobře přijímány, podléhají rychlé metabolizaci a následnému vyloučení. Při kontaktu s pokožkou, mohou způsobovat alergickou reakci. Parabeny mají v našem těle při vyšší koncentraci podobný účinek jako hormon estrogen. Při posledních výzkumech parabenů bylo zjištěno, že určité množství je vstřebáváno přes pokožku bez následné metabolizaci. Dále se pak prověřuje studie o negativním působení parabenů, které se přidávají do deodorantů a antiperspirantů a jejich vliv na rakovinu prsu. Prozatím se provádějí velké výzkumy tohoto tvrzení, ale studie zatím přímý vliv parabenů na tvorbu rakoviny prsu nepotvrdily. Reakcí na tyto nežádoucí účinky parabenů je, že od 30. 6. 2015 v EU dle regulace 358/214, stanoven maximální obsah parabenů v kosmetických přípravcích na jednotlivou látku 0,4% , a na směs látek parabenů 0,8%.

Všechny průmyslově využívané parabeny jsou vyráběny synteticky. Parabeny jsou teplotně i chemicky stálé látky. Náklady pro jejich výrobu jsou velmi nízké. Využití parabenů v kosmetickém průmyslu je stále velmi využíváno. Spoustu firem se snaží parabeny nahradit jinými konzervanty a vyrábějí kosmetické přípravky bez parabenů [37].

4.2 Alkoholy

Jako konzervační přísady mohou také působit jak alifatické tak aromatické alkoholy. Jako antimikrobika se z alifatických alkoholů používají pouze ethanol popřípadě isopropanol. Jeho použití je omezeno v tom, že pokud se používá jako konzervant musí být ve vysoké koncentraci tedy až 60%. Praktické využití má tedy pouze v parfémtech, kde alifatické alkoholy slouží také rozpouštědlo vonných látek [40]. Z aromatických alkoholů se používají nejčastěji deriváty fenolu. Především fenoxylethanol.

4.2.1 Fenoxylethanol



Obrázek 7.: Chemický vzorec fenoxylethanolu

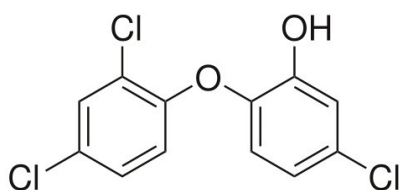
Fenoxylethanol je velmi rozšířená konzervační přísada v kosmetických přípravcích. Zpomaluje růst nežádoucích bakterií, používá se jako fixační činidlo na vonné esence, zabraňuje rychlé odpařování vonné esence. Tím chrání kosmetický prostředek před znehodnocením a prodlouží jeho trvanlivost. Je to bezbarvá mírně viskózní olejovitá kapalina. Dobře se rozpouští ve vodě i v oleji. Přirozeně se vyskytuje v některých druzích zeleného čaje a v čekance. Do kosmetických přípravků se využívá pouze syntetická forma fenoxylethanol. Maximální povolené množství do 1%. Využívá se jako konzervační přísada do šampónů, pleťových krémů, podkladové báze a do dekorativní kosmetiky. Někdy může způsobovat alergické reakce na pokožce, může zhoršovat stavy u dermatitidy a jiných kožních podráždění. V tomto případě je potřeba se kosmetickým přípravků s obsahem fenoxylethanolu vyhýbat [38].

4.3 Halogenové deriváty

Tento druh konzervačních přísad obsahuje ve své molekule nejčastěji atomy chloru, někdy pak i atomy jodu a bromu. Všechny halogenové deriváty se vyznačují výborným působením proti plísním, některé jsou i širokospektrým působením. Halogenová konzervační přísada je

používán především Triclosan, chlorovaný derivát fenoxifenolu. Velmi často se lze setkat v kosmetických přípravcích i s Euxylem K [37].

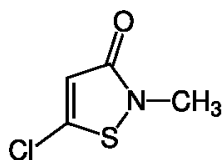
4.3.1 Triclosan



Obrázek 8.: Chemický vzorec triclosanu

Triclosan je syntetická konzervační přísada odolná vůči vnějším podmínkám, velmi stála při teplotních změnách. Zastavuje a omezuje růst mikroorganismů, především plísní. Kromě toho, že se používá jako konzervant může mít i využití jako biocid a pesticid. Pro tyto jeho účinky se kromě kosmetického průmyslu využívá také ve farmacii a zemědělství. Nejčastěji se využívá v antibakteriálních mýdlech, v přípravcích na nádobí a zubních pastách. Bezpečná koncentrace Triclosanu v kosmetických přípravcích je do 0,3% celkového obsahu. Triclosan má negativní vliv na pokožku především na její mikroflóru. Vysušuje pokožku. Při vyšších koncentraci je nevhodný i na zdraví člověka. Špatně se odbourává a může se usazovat v různých organech a nepříznivě působit na jejich funkce. I přes možná nebezpečí na naše zdraví je stále používán jako součást kosmetických přípravků [37].

4.3.2 Euxyl K



Obrázek 9.: Chemický vzorec Euxylu K

Euxyl K nebo také Methylchlorisothiazolinon je tekutá konzervační přísada. Využívá se do oplachových kosmetických přípravků. Nedoporučuje se přidávat do kosmetických přípravků, které mohou přijít do kontaktu za sliznicemi. Nedoporučuje se tedy přidávat do rtěnek a zubních past. Euxyl K je velmi širokospektrý konzervant působící na bakterie, kvasinky a plísně. Do kosmetických přípravků se přidává jen ve velmi nízkých koncentracích. Jeho účinnost je vysoká. Maximální koncentrace v kosmetických přípravcích je 0,15% [38].

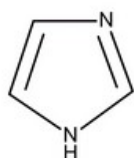
4.4 Ostatní konzervační přísady

4.4.1 Deriváty isothiozolinonu

V posledních několika letech se využívá jako konzervační přísada deriváty isothiozolinonu. Z derivátů jsou nejvyužívanější methyl a chlormethyl. Pro své nepříliš dobré působení na pokožku, mohou způsobovat iritaci pokožky, proto se využívají jen v nízkých koncentracích. Používají se především pro své dobré antimikrobiální účinky. Využívají se výhradně jako konzervační přísada oplachové kosmetiky, a vždy v kombinaci s jinými antimikrobiky [39].

4.4.2 Donory formaldehydu

Konzervační přísady tohoto typu jsou schopné v přítomnosti vody uvolňovat formaldehyd ve velmi nízkém množství. Formaldehyd je schopen se navázat na bílkovinu mikroorganismu a způsobit jeho denaturaci. Tyto konzervační přísady jsou velmi často používané v kosmetických přípravcích, společně s dalšími antimikrobiky působícími proti plísním a kvasinkám. Až na výjimky jsou typy konzervačních přísad odvozeny od imidazolu.



Obrázek 10.: Chemický vzorec imidazolu

Imidazol působí na buněčné membrány mikroorganismů a tím způsobují jejich usmrcení. Využívá se jako širokospektrální antimikrobikum. Je dobře účinné vůči bakteriím, kvasinkám i plísním. Nejpoužívanějším derivátem imidazolu je DMD hydantoin. Je velmi dobře rozpustný ve vodě a ze všech ostatních derivátů imidazolinu má nejnižší iritaci vůči pokožce. Používají se především do vlasových šampónů [40].

ZÁVĚR

Mikroorganismy jsou všude kolem nás, člověk s nimi žije v přirozeném souladu. Pokud se mikroorganismy přemnoží nebo se dostanou ze svého původního stanoviště na místa kam „nepatří“, mohou způsobit řadu negativních reakcí. Kosmetický průmysl proto klade velký důraz na mikrobiologickou bezpečnost kosmetických přípravků. Kosmetické přípravky jako oleje, sprchové gely i pleťové krémy jsou mnohdy vhodným prostředím pro mikroorganismy, neboť obsahují velké množství vody a dostatek živin. Proto se při výrobě těchto přípravků dbá na čistotu a zdravotní nezávadnost přísad, které se přidávají, kontrolují se výrobní procesy, dezinfekce výrobního zařízení a kontroluje se zdravotní stav zaměstnanců.

Pro potlačení růstu a množení nežádoucích mikroorganismů se do kosmetiky přidávají nej-různější konzervační přísady. Jen velmi malé procento kosmetických přípravků tyto antimikrobiální ingredience neobsahuje. Jsou to takové přípravky, které svou formou nebo složením neumožňují růst mikroorganismů, příkladem mohou být kosmetické přípravky s příliš vysokým nebo nízkým pH jako jsou různé chemické peelinky. V podstatě každá firma, která vyrábí kosmetické přípravky má své receptury a je na jejich uvážení jakou konzervační přísadu použijí. Legislativou je pouze omezeno jaké konzervační přísady a v jak vysoké koncentraci se mohou přidávat.

Všeobecně platí, že pokud dojde ke změně konzistence, barvy nebo vůně kosmetického přípravku tak pravděpodobně došlo ke kontaminaci mikroorganismy. Takové přípravky by dále neměli být používány. Pokud by spotřebitel i nadále požíval kontaminované kosmetické přípravky, může dojít k nežádoucím reakcím na pokožce. Viditelné může být podráždění pokožky, zarudnutí nebo výskyt pyodermií.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] Nařízení Evropského parlamentu a Rady č. 1223/2009 ze dne 30 listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. Kapitola 1 č. 1. 2 bod 1 a) nařízení o KP.
- [2] *Česká právní norma* § 13 a následně zákon č.378/2007 Sb. o léčivech ve znění pozdějších předpisů
- [3] Zákon č. 102/2001 Sb., o obecné bezpečnosti výrobku a o změně některých zákonů ve znění pozdějších předpisů § 7
- [4] European Commission. Statistics and reports [online] čet.[2.2.2018]. Dostupné z: http://ec.europa.eu/consumers/consumets/safetyproducts/rapex/report/index_en.m
- [5] European Commission. Cosmetics [online], cit.[4.2.2018]. Dostupné z: http://ec.europam.eu/growth/sectors/cosmetic/index_en.htm
- [6] European Commission. Cosmetics [online], cit.[4.2.2018]. Dostupné z: http://ec.europa.eu/health/ph_usk/committees/04-secp/docs/secp_0_123pdf
- [7] European Commission. Cosmetics [online] cit. [25.2.2018]. Dostupné z: <http://www.alsglobal.cz/aktuality/Analyzy-v-kosmetickychpripravcich670>.
- [8] Odbor obrany veřejného zdraví MZ ČR. *Notifikace kosmetických přípravků* [online], 23. 7. 2012 [citované 1. 3. 2018] Dostupné na : http://www.mzce.cz/verejnedokum/notifikace-kosmetickych-pripravku-evropskyportal_6571_1096_5html.
- [9] RÉDEI G. P., *Encyklopedia of Genetics, Genamics, Proteonics, and Informatics*. 3rd Edition. vyd. [s.l.] Springer, 2008 ISBN 978-1-4020-6753-2.
- [10] KITTNAR, O. *Lékařská fyziologie* 1 vydání Praha: 1 vydání. Praha: vyd. Grada, 2011 ISBN 978-80-247-3068-4.
- [11] PETROVICKÝ, P. *Anatomie s topografií a klinickými aplikacemi*. 1. Vydání Martin: Osvěta 2002 542 s. sv. 3. ISBN 80-8063-048-8.
- [12] VOTAVA, M., *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2. Přepřacované vyd. Brno: Neptun, 2005, 351.1

- [13] GROSSMANN, M., *Mikrobiologie v hygieně* vydání první vydavatelství. VVŠ PV Vyškov, 1998, ISBN 80-7231-037-2.
- [14] ORTH, D. S. *Insights into cosmetic mikrobiology coral stream*: Allured books 2010c, ISBN 978-1-932633-62-7
- [15] MACHÁČKOVÁ M., 2004: *Vodní aktivita a růst mikroorganismů*. [on-line].
Dostupné na: <http://www.agronavigator.cz/default.asp?ch158by=18wol=292598.=0>
- [16] ADAMS, M.R., MOOS, M.O., 2008: *Food Microbiology*. Thud edition. Royal of chemistry, 463.s. ISBN 0854042849
- [17] AMBROŽOVÁ, J., *Mikrobiologie v technologii* vydaná 1 vych, Vysoká škola chemicko technologická v Praze, Praha 2004 ISBN 80-7080-534-x
- [18] ŠILHÁNKOVÁ, L., *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnolgy*. 1 vyd., naklad. Victoria Publishing A.S. s. 172 ISBN 80-85605-71-6
- [19] GORNER, F., *Aplikovaná mikrobiologie poživatin*, nakl. A vydání nakl. Malé Centrum Bratislava 2004 str 89, ISBN 80-967064-9-7
- [20] SALVADOR, A., CHISVERT, A. *Analysis of cosmetics*. Volume 68. USA: Press, 1997 635s. ISBN 0-8247-9847-9805-8 Dostupný na:
<http://www.potravinyinfo.cz/33/factory-ovlivnujici-rust-mikroorganismu-uniqueidmRRWSBk196FN18-jvuh4eig64bod1nixie0019i-bAScm06veftQmfg/>
- [21] HOCHEL, I., DEMNEROVÁ K., *Antimikrobiální látky* [online]. [cit.2018-03-05]
Dostuné z: <http://biomikro.vseht.cz>
- [22] European Commission. *Cosmetics* [online] dostupné na [cit.2018-03-07]
<http://kosmeticketrendy.cz/jako-dlouho-vydrzi-kosmetika-trvanlivost/cz>.
- [23] VELÍŠEK, J.: *Chemie potravin 1*, Tábor: Nakladatelství OSSIS, 2002. 344s. ISBN 80-86659-00-3
- [24] SCHUELLER R., ROMANOWSKI P., *Beginning cosmetic chemistey: an overview for chemist, formulators, suppliers and others interested in the cosmetic industry*. Carol streams, IL: Allured Pnb. Lorp. C 1999, 177s. ISBN 09-317-1068-5.

- [25] RESL, V., *Dermatovenerologie: přehled nejdůležitějších znalostí a zkušeností pro bakalářské a magisterské studium nelékařských oborů*. Vyd. 1. V Plzni: Západočeská univerzita, 2014, 350 s. ISBN 978-80-261-0385-5.
- [26] LITNER, By K., *Global regulatory issues for the cosmetics industry* norwich, NY; Wiliam Andrew, 2007 ISBN 978-081-5515-692
- [27] VOTAVA, M., *Lékařská mikrobiologie speciální*, Brno: Neptun, 2003. ISBN 80-902896-6-5
- [28] BUSSE, H-J. DENNER, E. B. LUBITZ, M. v. 1996, *Classification and identification of bacteria, currint approaches to an old problen overview of mehods unsed in bacterial systematic*. J. Biotechnolog 47:3-38
- [29] SEDLÁČEK I., *Taxonomie prokaryot*. Brno Masarykova univerzita, 2007. ISBN 80-210-4207-9.
- [30] LEE, SANG Y UP, *Systems biology andbiotechnology of escherichia coli*, springer 2009, ISBN 978-1-4020-9393-7
- [31] JULÁK, J. *Úvod do lékařské bakteriologie* 1. vyd. Praha: Karolinum 2006, ISBN 8024612704
- [32] ROBINSON, R. K. *Encyklopedia of food mikrobiology* vol. 1-3. Elsevier, 2000, 2405 s. ISBN 978-0-12-227070-3
- [33] ZÁVODOVÁ, M. *Anaerobní bakteri a anaerobní infekce*, 1. Vydání vyd. Avicenum, zdravotnické nakladatelství, Praha 1986 str. 45, ISBN 08-063-86
- [34] OSTRÝ, V. *Vláknité mikroskopické houby, plísně, mykotoxiny a zdraví člověka*, vyd. Státní zdravotní ústav, Praha 1998, ISBN 80-7071-102-7
- [35] GOERING, R. DOCKRELL, H. M. *Mimsova lékařská mikrobiologie*, 5 vydání, Praha Trilon, 2016 ISBN 978-80-7387-928-0
- [36] DESJARDINS, A. E. : *Fusaruims mycotoxins, chemistey, genetics, and biology*. The american phytopathological soccenty Minnesota 2006
- [37] LANGMAIER, F. *Základy kosmetických výrob*. UTB – Academia Centrum Zlín. Zlín 2001 ISBN 7318-016-2

-
- [38] The Chemistry and Manufacture of Cosmetics. Volume I – Science. Fourth Edition. Schlossman M.L., ed. Allured Publishing Corporation, 2009 ISBN 978-1-932633-47-4.
- [39] Determination of parabens in cosmetic products by supercritical fluid extraction and capillary zone electrophoresis *Analytica Chimica Acta*, December 1998, Volume 3, pages 85-93
- [40] STEINBERG, D. C. *Preservatives for cosmetics*, 3rd. Ed. Carol Stream, IL: Allured Books, c 2012, ISBN 978-1-932633-94-8

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

KP	Kosmetický přípravek
RAPEX	Systém včasného varování o nebezpečném kosmetickém přípravku
EU	Evropská unie
SVP	Správná výrobní praxe
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
R	Alkylový radikál
μm	Mikrometr
a_w	Aktivita vody

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1.: Vliv teploty na projevy mikroorganismů

Obrázek 2.: Symbol doba spotřeby po otevření kosmetického přípravku

Obrázek 3.: Chemický vzorec kyseliny benzoové

Obrázek 4.: Chemický vzorec kyseliny salicylové

Obrázek 5.: Chemický vzorec kyseliny sorbové

Obrázek 6.: Chemické vzorce kyseliny 4-hydroxybenzoové, ethylparabenu a furucininu

Obrázek 7.: Chemický vzorec fenoxylethanolu

Obrázek 8.: Chemický vzorec triclosanu

Obrázek 9.: Chemický vzorec euxylu K

Obrázek 10.: Chemický vzorec imidazolu

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1. : Hodnoty vodní aktivity nutné pro růst mikroorganismů

Tabulka 2: Minimální, optimální a maximální pH pro růst mikroorganismů

