

VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

STANOVENÍ VYBRANÝCH VONNÝCH LÁTEK V KOSMETICKÝCH PROSTŘEDCÍCH

ASSESSMENT OF CHOSEN AROMATIC COMPOUNDS IN COSMETICS

DIPLOMOVÁ PRÁCE

MASTER'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Bc. PETRA NOVOTNÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. EVA VÍTOVÁ, Ph.D.

BRNO 2011



Vysoké učení technické v Brně
Fakulta chemická
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

Zadání diplomové práce

Číslo diplomové práce:	FCH-DIP0509/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Bc. Petra Novotná	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (N2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie a biotechnologie (2901T010)	
Vedoucí práce	Ing. Eva Vítová, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. Radka Divišová	

Název diplomové práce:

Stanovení vybraných vonných látek v kosmetických prostředcích

Zadání diplomové práce:

1. Zpracujte literární přehled o:
 - použití vonných látek rostlinného původu v kosmetickém průmyslu
 - jejich možných biologických účincích v lidském organismu
 - metodách vhodných pro jejich stanovení
2. Vypracujte a validujte metodu stanovení vonných látek s použitím plynové chromatografie
3. Aplikujte ji na vybrané vzorky kosmetických prostředků
4. Zhodnoťte výhody této metody a její použitelnost

Termín odevzdání diplomové práce: 13.5.2011

Diplomová práce se odevzdává ve třech exemplářích na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu diplomové práce. Toto zadání je přílohou diplomové práce.

Bc. Petra Novotná
Student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 15.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá stanovením vybraných vonných látek v kosmetických prostředcích. Úvodem je popsán výskyt, metody získávání a využití těchto látek. Jsou nepostradatelnou součástí především kosmetických výrobků, avšak u citlivých jedinců mohou vyvolat alergickou reakci. O příčinách vzniku a průběhu těchto nežádoucích projevů je v teoretické části také pojednáno.

Je známo několik stovek až tisíc vonných látek používaných v parfumérském průmyslu, z nichž je 26 ustanoveno evropskými předpisy jako potenciálně alergenní vonné látky a jejich obsah je regulován. V práci je uveden stručný přehled legislativy v dané oblasti a zmapování metod vhodných pro stanovení těchto alergenních látek.

Experimentální část byla zaměřena na vypracování a validování separační metody pro stanovení vybraných potenciálně alergenních vonných látek. Jedná se o plynovou chromatografii spojenou s plamenově ionizačním detektorem a s mikroextrakcí tuhými fázemi, kde bylo použito vlákno se stacionární fází Carboxen/Polydimethylsiloxan (SPME-GC-FID). Mezi stanovovanými standardy alergenních látek byly amylcinnamyl alkohol, benzyl alkohol, cinnamyl alkohol, coumarin, lyral, α -isomethyl ionone. Metoda byla následně aplikována na spektrum deseti vybraných reálných vzorků kosmetických prostředků, ve kterých byly nejčastěji identifikovány linalool a geraniol.

ABSTRACT

This master thesis deals with the assessment of selected fragrant substances in cosmetic products. At the beginning the occurrence, methods of acquiring and application of these substances is described. They are essential components primarily in cosmetic products, however they can cause an allergic reaction in sensitive individuals. The theoretical part of this thesis also describes the cause and the progress of these undesirable effects.

There are several hundreds, up to thousands fragrant substances used in the perfume industry, from which 26 was designated by the European regulations as potential allergenic fragrant substances and their content is regulated. Legislative standards as well as the overview of the methods used to determine these fragrances are given here.

The experimental part is focused on the development and validation of the separation methods for determining of the selected and potentially allergenic fragrant substances. The method used was a solid phase microextraction using Carboxen/Polydimethylsiloxane fiber combined with a gas chromatography coupled to a flame ionization detector (SPME-GC-FID). Amylcinnamyl alcohol, benzyl alcohol, cinnamyl alcohol, coumarin, lyral, α -isomethyl ionone were among the determined allergenic substance. Consequently, this method was also applied on 10 selected cosmetic products specimens, in which the linalool and geraniol were identified as the most common allergenic substances.

KLÍČOVÁ SLOVA

vonné látky, kosmetické prostředky, SPME, GC

KEYWORDS

aroma compounds, cosmetics, SPME, GC

NOVOTNÁ, P. *Stanovení vybraných vonných látek v kosmetických prostředcích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 114 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Diplomová práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího diplomové práce a děkana FCH VUT.

.....
podpis studenta

Poděkování:

Děkuji Ing. Radce Divišové a Ing. Evě Vítové, Ph.D. za všestrannou pomoc při realizaci této diplomové práce.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
2.1	Vonné látky	9
2.1.1	Vonné látky rostlinného původu	9
2.1.2	Vonné látky živočišného původu	10
2.1.2.1	Ambra.....	10
2.1.2.2	Cibet	11
2.1.2.3	Kastoreum	11
2.1.2.4	Mošus	11
2.1.3	Vonné látky syntetického původu	11
2.1.3.1	Historický vývoj vonných látek syntetického původu	12
2.1.3.2	Suroviny pro výrobu syntetických látek.....	13
2.2	Metody získávání vonných látek.....	15
2.2.1	Destilace	15
2.2.2	Extrakce.....	16
2.2.2.1	Extrakce tuky.....	16
2.2.2.2	Extrakce organickými rozpouštědly.....	16
2.2.2.3	Extrakce kapalinami v superkritickém stavu	17
2.2.3	Lisování.....	17
2.3	Kosmetické prostředky.....	17
2.3.1	Pleťová kosmetika.....	18
2.3.2	Korekční kosmetika.....	19
2.3.3	Pleťové vody a mléka.....	19
2.3.4	Pleťové masky	19
2.3.5	Vlasová kosmetika	19
2.3.6	Kosmetika dutiny ústní.....	19
2.3.7	Parfémy	19
2.3.7.1	Resinoidy.....	20
2.3.7.2	Složení parfémů.....	20
2.4	Regulace vonných látek ve světě	21
2.4.1	Regulace v rámci EU.....	22
2.4.1.1	INCI.....	23
2.4.2	Regulace v Japonsku	27
2.4.3	Regulace v USA	27
2.4.3.1	FDA (Food and Drug Administration).....	27
2.4.3.2	EPA (Environmental Protection Agency)	28
2.4.3.3	CPSC (Consumer Product Safety Commission)	28
2.4.4	Regulace v Kanadě.....	29
2.4.5	Regulace parfumérského průmyslu.....	29
2.4.5.1	RIFM (Research Institute for Fragrance Materials).....	29
2.4.5.2	IFRA (International Fragrance Association).....	29
2.5	Regulace vonných látek v kosmetických výrobcích v rámci České republiky	30
2.5.1	Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví	30
2.5.2	Zákon č. 634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele	30

2.5.3	Vyhláška č. 26/2001 Sb., o kosmetických prostředcích.....	31
2.5.4	Vyhláška č. 268/2001 Sb.....	31
2.5.5	Vyhláška č. 444/2004 Sb.....	31
2.5.6	Vyhláška č. 126/2005 Sb.....	32
2.5.7	Vyhláška č. 104/2006 Sb.....	33
2.5.8	Vyhláška č. 260/2006 Sb.....	33
2.5.9	Vyhláška č. 474/2006 Sb.....	33
2.5.10	Vyhláška č. 448/2009 Sb.....	34
2.6	Alergické reakce na kosmetické prostředky.....	35
2.6.1	Kontaktní alergený	36
2.6.1.1	Fragrance Mix I (FM I)	36
2.6.1.2	Fragrance Mix II (FM II)	37
2.6.2	Kůže	37
2.6.3	Kontaktní dermatitidy	38
2.6.3.1	Alergická kontaktní dermatitida (Dermatitis contacta allergica, ACD)...	38
2.6.3.2	Iritáční kontaktní dermatitida (Dermatitis contacta irritativa, ICD)	41
2.6.4	Epikutánní testy	43
2.6.4.1	Hodnocení reakcí v ET	44
2.6.4.2	Komplikace ET	44
2.6.4.3	Klasický uzavřený ET	44
2.6.4.4	Skarifikační ET	45
2.6.4.5	Fotosenzibilizační ET.....	45
2.6.4.6	Otevřený ET	45
2.6.4.7	Iontoforetický ET	45
2.6.4.8	Bukální test.....	45
2.7	Analýza vonných látek	46
2.7.1	Plynová chromatografie	46
2.7.1.1	GC-FID.....	47
2.7.1.2	GC-MS	47
2.7.1.3	GC×GC.....	49
2.7.1.4	DC-STE-GC-MS	49
2.7.2	Mikroextrakce tuhou fází	49
2.7.2.1	SPME-GC-FID.....	51
2.7.2.2	HS-SPME-GC-MS.....	51
2.7.3	RP-HPLC-DAD	51
2.7.4	MEEKC.....	51
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	53
3.1	Laboratorní vybavení	53
3.1.1	Chemikálie	53
3.1.2	Přístroje a pomůcky.....	53
3.2	Podmínky HS-SPME-GC-FID.....	54
3.3	Souhrn vlastností vybraných standardů alergenních vonných látek	54
3.4	Reálné vzorky kosmetických výrobků	60
3.5	Pracovní postupy	61
3.5.1	Identifikace standardů alergenních vonných látek.....	61
3.5.2	Sorpce a desorpce analytu	61

3.5.3	Stanovení linearity.....	61
3.5.4	Stanovení opakovatelnosti.....	61
3.5.5	Stanovení meze detekce a meze stanovitelnosti.....	61
3.5.6	Příprava reálných vzorků	62
3.6	Validace analytických metod	62
3.6.1	Vybrané validované parametry analytické metody	62
3.6.1.1	Linearita	63
3.6.1.2	Mez detekce (Limit of detection, LOD).....	63
3.6.1.3	Mez stanovitelnosti (Limit of quantification, LOQ)	63
3.6.1.4	Opakovatelnost.....	63
3.7	Statistické parametry pro zpracování naměřených dat.....	63
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	65
4.1	Identifikace standardů alergenních vonných látek	65
4.2	Stanovení linearity.....	66
4.3	Stanovení opakovatelnosti.....	74
4.4	Stanovení meze detekce a meze stanovitelnosti.....	75
4.5	Stanovení alergenních vonných látek v kosmetických prostředcích.....	79
5	ZÁVĚR.....	86
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ	88
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	97
8	SEZNAM PŘÍLOH	100
9	PŘÍLOHY	101

1 ÚVOD

První informace o vonných látkách pocházejí již ze 4. století před naším letopočtem. Postupně lidé přicházeli na nové způsoby jejich získávání jak z rostlin, tak i z živočichů. Velký rozvoj nastal v 19. století, kdy začala výroba syntetických vonných látek. Jejich kombinace s přírodními složkami umožňuje obrovský rozkvět a rozmanitost parfumerského průmyslu.

Odedávna stále stoupá poptávka po dobře vonícím zboží. Aromatické látky člověk vnímá mezi prvními dojmy, a proto významně přispívají k vytvoření celkového obrazu o posuzovaném produktu. Působí na naše čichové, nervové ústrojí a vzbuzují příjemný pocit. Pokud jsou však používány ve větší míře, můžou naopak vyvolat u citlivých lidí různé kožní alergie, vyrážky, ekzémy, bolesti hlavy anebo dýchací potíže.

Dnes je známo již několik tisíc sloučenin, které mají určitou vůni nebo chuť a bývají při sestavování vonných a chuťových kompozic použity. Samy o sobě mohou některé v surovém stavu nepříjemně zapáchat, avšak kombinací vhodně vybraných látek lze vytvořit příjemně vonící esenci.

Vonné látky a kosmetika patří neodmyslitelně k sobě. Kosmetické prostředky se dělí na dvě skupiny – výrobky, kde je vůně stěžejní (deodoranty, parfémy) a druhá skupina, u níž parfemace není rozhodující (šampóny). Aniž bychom si to uvědomovali, tyto látky tvoří nedílnou součást našeho života. Patří ke každodenním potřebám každého člověka, a to jak v užívání různých druhů kosmetických výrobků, tak i ve spotřebě čistících prostředků v domácnosti.

Vzhledem k extrémnímu nárůstu spotřeby parfémovaných výrobků se zvyšuje i riziko vzniku různých alergií a nežádoucích projevů kůže zejména u citlivých jedinců. Nejvíce jsou postiženy ženy, protože kosmetické výrobky užívají ve větší míře než muži. Prevencí proti vzniku těchto problémů je omezení jejich užívání. Obsahují totiž konzervační a vonné látky, které zapříčiňují tvorbu alergií. Na základě toho bylo legislativou stanoveno 26 potenciálně alergenních látek. Z nich jsou 24 definované jako těkavé sloučeniny, zatímco další 2 jako přírodní výtažky mechu.

Záměrem současných výzkumů je vyvinout citlivé analytické metody, které jsou schopné identifikovat a kvantifikovat i nízké hladiny těchto alergenních vonných látek v kosmetických prostředcích. Jejich obsah je přesně stanoven legislativou a musí být striktně dodržován.

Cílem této diplomové práce byla validace analytické separační metody, a to plynové chromatografie s plamenově ionizačním detektorem. Poté následovala její aplikace na vybrané standardní alergenní vonné látky a na běžně užívané kosmetické prostředky. Identifikované alergeny byly porovnány s údaji uvedenými na obale každého výrobku. Kvantifikované množství jednotlivých vonných látek bylo posuzováno, zda je v souladu s legislativními předpisy.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Vonné látky

Prostředí, ve kterém žijeme, je naplněno velkým množstvím příjemných vůní i méně příjemných až nepříjemných zápachů. Parfemované výrobky jsou součástí každodenního života. Během posledních desetiletí rapidně vzrůstá řada výrobků každodenní potřeby, které jsou parfémovány nebo aromatizovány. Vonné látky jsou přítomny v parfémecích, kolínských a toaletních vodách, v parfémovaných mýdlech, v technických výrobcích, jako jsou prací a čisticí prášky, aviváže, dále ve výrobcích textilního, papírenského, potravinářského průmyslu, ale také v osvěžovačích vzduchu, vonných svíčkách [1, 2, 3, 4, 5].

Přestože trendem poslední doby je vůbec přípravky přírodní tělové kosmetiky neparfemovat, u převážné většiny kosmetických, pracích a čisticích prostředků se parfém významným způsobem podílí na dotvoření celkového příznivého vjemu výrobku [3].

Mnoho kosmetických přípravků musí být parfémováno za účelem maskování nežádoucí vůně detergentů a s tím související záruky jejich příjemnosti. Důležité je, aby látka působila na smyslové orgány v optimální koncentraci. Existují látky, které jsou příjemné jen ve velmi nízké koncentraci a dokonce velice nepříjemné v koncentraci vyšší [3].

Struktura vůně je považována za obchodní tajemství a komponenty, které ji tvoří ve výrobku, nejsou uváděny na jeho obalu. Mohou také vyvolávat alergie, astma, migrény. Některé vonné materiály byly nalezeny nahromaděné v tukové tkáni a jsou přítomny i v mateřském mléce [4].

2.1.1 Vonné látky rostlinného původu

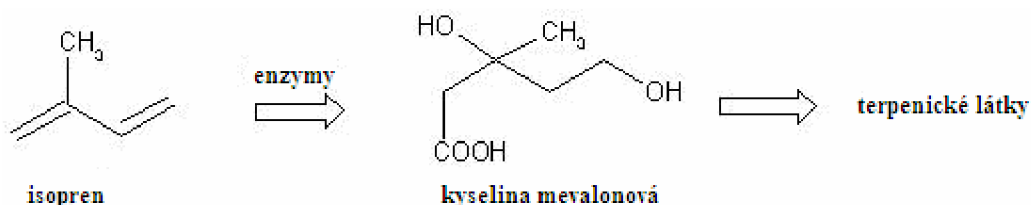
K nejdůležitějším surovinám pro výrobu parfémových kompozic patří silice (éterické oleje). Jsou to fyziologicky účinné rostlinné látky, kapaliny, zpravidla příjemně vonící, nerozpustné ve vodě, dobře rozpustné v ethanolu a v ostatních organických rozpouštědlech. Silice je pestrá směs látek, kde nejčastějšími složkami jsou terpeny a fenylypropany. Látek těchto typů bylo až dosud identifikováno více než 1 000, přičemž jeden druh silice jich může obsahovat až několik desítek. V rostlinách jsou uloženy ve zvláštních siličných buňkách. Vyskytují se v kořenech a oddencích, v kůře, listech, buňkách korunních lístků, v oplodí a semenech rostlin. Jsou zpravidla uloženy v nádržkách nebo kanálcích pletiv [1, 6, 7].

Silice obsahují vždy uhlovodíky a kyslíkaté látky. Většina z nich má skelet složený z isoprenových molekul, patří tedy mezi terpeny. Ty jsou zastoupeny hlavně nízkomolekulárními těkavými látkami, především monoterpeny s deseti uhlíkovými atomy, seskviterpeny s patnácti uhlíky a diterpeny s dvaceti uhlíkovými atomy v molekule. Dále obsahují alifatické cyklické i aromatické sloučeniny, které mají ve své molekule kromě uhlíkového atomu i atomy kyslíku, popřípadě dusíku nebo síry. Za laboratorní teploty je silice bezbarvá nebo charakteristicky zbarvená tekutina s hustotou většinou menší než $1 \text{ g}\cdot\text{cm}^{-3}$ [1, 7].

Rostliny aromatické (siličnaté) jsou takové druhy, které slouží k získávání vonných součástí, a to přímo nebo po určité úpravě, případně chemickém procesu. Vlivem světla, tepla a vlhkosti v nich nastávají chemické reakce, které mění jejich vzhled a kvalitu. Jsou to především nenasyčené uhlovodíky, které podléhají oxidaci a proto se z nich odstraňují, aby se tak zvýšila jejich stabilita a jakost [7].

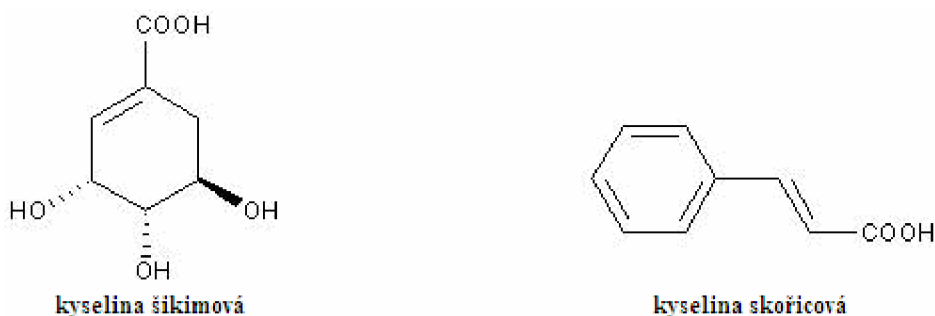
Vonné látky vznikají v rostlinách dvojným způsobem:

1. **Mevalonátový postup** – jedná se o kondenzaci isoprenových jednotek za přítomnosti enzymů (viz. **obr. č. 1**). Jedním z meziproductů je kyselina mevalonová. V dalších chemických reakcích vznikají prekuzory terpenů. Nakonec se vytváří terpenické látky vyskytující se v silicích např. uhlovodíky (limonen, pinen), aldehydy (citral) a z alkoholů např. geraniol, linaool [2, 6].



Obr. č. 1 – Mevalonátový postup [8]

2. **Šikimátový (fenylypropanový) postup** – u vonných látek, které mají jako základ aromatické jádro. Výchozím produktem tohoto procesu je glukosa. Meziproduct tvoří kyselina šikimová (viz. **obr. č. 2**). Na konec vzniká kyselina skořicová (viz. **obr. č. 2**), která je výchozí surovinou pro velké množství aromatických sloučenin, jako jsou kumariny a jejich deriváty, látky fenolické povahy např. eugenol [2, 6].



Obr. č. 2 – Kyselina šikimová a skořicová [8]

2.1.2 Vonné látky živočišného původu

V přírodě jsou někteří živočichové, kteří produkují zajímavé a v parfumerii použitelné látky. Je to především vorvaň, kabar pižmový, africká a asijská cibetka, bobr, ondatra, aligátor, zebu a brouk skarab [1, 6].

Při výrobě vonných kompozic se obvykle nepoužívají živočišné produkty přímo, ale jen resinoidy nebo tinktury z nich vyrobené. Ty se dále používají k fixování luxusních parfémů. Dnes se však do parfémovaných kompozic používají výhradně synteticky vyrobené vonné principy živočišných produktů [1].

2.1.2.1 Ambra

Vzniká jako patologický produkt v trávicím ústrojí vorvaňů. Je to voskovitá hmota, lehčí než voda, stříbřitě šedě zbarvená [1, 6].

Ambrová tinktura se z ambry vyrábí extrakcí lihem (90 % obj. ethanol) za přísady pemzy nebo laktosy (přispěje k rozmělnění voskovité ambry) a uhličitanu draselného. Nechává se zrát řadu měsíců za normální nebo mírně zvýšené teploty. Během této doby získá svoji typickou jemnou, sametovou vůni. Zrání lze urychlit přidáním zředěného peroxidu vodíku [1, 6].

Ambra slouží ke zjemnění nejdražších parfémů [2, 6].

2.1.2.2 Cibet

Cibet je silně páchnoucí výměšek, který se ukládá ve váčcích poblíž řitního otvoru cibetky. Syrový cibet lze vybrat, aniž by bylo třeba zvíře usmrtit. Je to mazlavá, hnědá až černá hmota [1, 6].

Přirozený cibet se extrahuje těkavými rozpouštědly (acetonem, lihem). Po vymrazení, filtraci a odpaření rozpouštědla se získá cibet absolutní. Lihový extrakt se někdy po dlouhodobém zrání používá přímo jako cibetová tinktura [1, 6].

Cibet se používá jen do luxusních parfémů [1].

2.1.2.3 Kastoreum

Získává se z bobřích strůjů (váčků), které se vykytují u obou pohlaví mezi řitním otvorem a pohlavními orgány [1, 6].

Extrakce rozkrájených váčků se provádí chlorovanými uhlovodíky nebo lihem. Po vymrazení kastoreové tinktury a odpaření rozpouštědla se získává absolutní kastoreum. Kastoreová tinktura pro přímé použití v parfumerii se připravuje macerací váčků mírně zředěným ethanolem po delší dobu (až několik měsíců) [1, 6].

Přírodní kastoreum se používá čím dál tím méně, protože silně zbarvuje parfémové kompozice. Na trhu jsou levnější kastoreové komplexy, které dokonale nahradí přírodní kastoreum [1, 6].

Používá se jako vynikající fixatér v pánské kosmetice [2, 6].

2.1.2.4 Mošus

Mošus je zrnitý obsah pachových váčků kabara pižmového. Nacházejí se na břišní straně zvířete v blízkosti pohlavních orgánů [1, 6].

Do lihu (90 až 95 % obj. ethanolu) se vnáší asi 3 % mošus, který je rozetřen se stejným množstvím pemzy nebo laktosy. Přidá se 0,5 % uhličitan draselný a stejné množství amoniaku (3%). Louhování probíhá několik měsíců (až půl roku) za občasného míchání. Tinktura poté dlouho zraje [1, 6].

Mošus je jedna z nejvíce užívaných vonných látek se silným fixačním účinkem. Přidává se přímo do luxusních parfémů [1, 2].

2.1.3 Vonné látky syntetického původu

Zatímco v dřívějších dobách byly zdrojem vonných a chuťových látek výhradně přírodní materiály, je dnes rozvoj této oblasti nemyslitelný bez látek vyrobených synteticky. Při aplikaci jde vždy o pestré směsi často několika desítek látek a to ryze přírodního, ryze syntetického nebo kombinovaného původu [3].

S rozvojem analytické chemie došlo k poznání chemické struktury nejznámějších vonných látek, a to byl první krok k jejich výrobě syntetickým způsobem [2].

Těžiště současné parfumerie spočívá právě v těchto látkách, jejichž kombinací lze docílit mnoha atraktivních vonných efektů, květinových, ovocných, zelených, dřevitých, sladce balzamických, kořenitých vůní [6].

Výroba některých klasických vonných látek je poměrně jednoduchá, avšak většina z nich vzniká složitými, víceúrovňovými chemickými syntézami. Každá nová surovina musí být podrobena náročným toxikologickým testům. V současnosti však již bývá běžné sledování biologické odbouratelnosti. Požadavkem je samozřejmě, aby vonná látka byla stálá v prostředí její aplikace [6].

Mnoho dnes synteticky vyráběných aromatických látek se nachází v přírodě, takže můžeme říci, že jsou to vlastně přírodní látky vyrobené synteticky z dostupnějších surovin. Hlavními složkami pro výrobu těchto sloučenin jsou především produkty ropného průmyslu a suroviny získávané při chemickém zpracování uhlí [6].

Dnes je vyráběno více než 10 000 látek, v normální praxi je používáno asi 2 000 látek a hromadně vyráběné kosmetické přípravky obsahují zhruba okolo 300 látek [2].

2.1.3.1 Historický vývoj vonných látek syntetického původu

Jednou z prvních syntetických látek byl v letech 1833 – 1834 izolován ze skořicové silice **skořicový aldehyd**. V roce 1856 byl vypracován postup jeho syntézy. Ve stejném období došlo k objevení **borneolu** v borovicové silici, **anetholu** v anýzové silici, **benzaldehydu** v hořkomandlové silici [2, 6].

Jednou z nejdůležitějších látek vůbec je **kumarin**, který byl jako derivát salicylaldehydu syntetizován v roce 1875. Byl použit do parfému *Fougere Royale*. Tento parfém stojí na počátku dlouhé řady velmi variabilních a dodnes neobyčejně úspěšné skupiny vůní, které se uplatňují zejména v pánské kosmetice [2, 6].

Následovala exploze výroby syntetických prekurzorů. Mezi nejdůležitější patří: **vanilin**, **heliotropin**, **chinolin**. Syntéza **heliotropinu** byla vypracována v roce 1869. Sladce vonící a chladící krystaly této látky jsou součástí četných květinových a orientálních typů kompozic. Syntéza **vanilinu** byla jedním z největších úspěchů v historii vonných látek. Byl získán z koniferinu v roce 1874 a v roce 1876 pak z guajakolu. Kolem roku 1885 se poprvé na trhu objevily pronikavě vonící deriváty **chinolinu**, které ve velmi silném zředění připomínají vůni surové vyčíněné kůže – juchty [2, 6].

Na konci 19. století byl vyroben uměle i jeden ze základních parfémových fixačérů, a to základní složka **mošusu**. Jedná se o nitrosloučeninu, známou jako *Baurovo pižmo*. Ještě lepší mošusovou vůni mají další nitrované benzenové deriváty, prodávané pod názvy **mošus amoret**, **mošus keton** a **mošus xylol** [2, 6].

Jinou skupinu vonných látek tvoří **jonony**, které byly syntetizovány v roce 1893 – látky s fialkovou notou – odvozené od řeckého pojmenování fialky – ionone. O několik let později byly připraveny i **methyljonony** a další deriváty [2, 6].

Rhodinol byl v roce 1891 objeven v růžové silici a o dva roky později v gerániové silici. Dodnes se používá v četných růžových a květinových parfémeh [6].

V roce 1898 byl poprvé syntetizován **amylsalicylát**, který má výraznou vůni připomínající jetel, seno a některé druhy orchidejí. Tvoří složku mnoha květinových parfémů a kompozic [6].

V roce 1900 byla vypracována syntéza látek intenzivně vonících po fialkových listech. Jsou to **methylheptinkarbonát** a **methylotinkarbonát**, které se začaly používat v tehdy módních fialkových parfémeh [6].

O tři roky později byl poprvé připraven *methylnonylacetaldehyd* a *fenylethylalkohol*, který se stal velmi používanou vonnou látkou pro květinové, zejména růžové kompozice [6].

Roku 1908 byl získán *hydroxycitronellal* z *citronellalu* objeveném v citronellové silici. Má sladkou a svěží květinovou vůni. Téhož roku byl syntetizován *gama-undekalakton*, který má broskvovou vůni a je znám jako *broskvový aldehyd* neboli *aldehyd C 14* [6].

První světová válka přerušila úspěšný rozvoj výroby syntetických aromatických látek. V roce 1923 začala francouzská firma vyrábět jako první *alfa-amylskořicový aldehyd*, s charakteristickou vůní připomínající květy pustomyru. Stala se součástí mnoha květinových kompozic, hlavně jasmínových [6].

Začátkem dvacátých let prof. Ruzicka provedl analýzu i syntézu významných látek z okruhu *terpenů*. Stanovil strukturu *seskviterpenického nerolidolu* a vypracoval syntézu jeho isomeru *farnesolu*. V roce 1924 určil strukturu vonného principu mošusu, *muskonu* a o čtyři roky později vypracoval jeho syntézu i syntézu dalších makrocyclických ketonů a laktonů, které mají vesměs mošusovou, případně sladce animální vůni (*civetton*) [2, 6].

V padesátých letech, po druhé světové válce, byly věnovány výzkumné práce studiu *mošusově vonících látek* [6]. Ty jsou pro svou příjemnou, měkkou a stabilní vůni používány pro luxusní parfémové výrobky, kompozice pro kosmetické přípravky a toaletní mýdla. Nejvíce se však využívají k parfemaci pracích prášků, avivážních přípravků, šamponů atd. [6].

Od poloviny 40. let byla vyřešena struktura vonných látek, např. vůně po *santalovém dřevu* a vůně *ambry* [2, 6]. *Santalová silice* má zvláštní sytou, hlubokou, nepříliš výraznou vůni. Patří k nejdražším přírodním surovinám. Ambrové látky již v malých koncentracích výrazně ovlivňují charakter parfémové kompozice, používají se v luxusních výrobcích [6].

Od počátku 21. století je znám *ethylmethylylfenylglycidát* neboli *aldehyd C 16*. Má ovocně sladkou vůni, připomínající jahody. Uplatňuje se hlavně pro kosmetické výrobky jako jsou rtěnky. *Para-hydroxyfenylbutanon* se svěží malinovou vůní je využíván v parfumerii a je součástí mnoha kompozic luxusních výrobků. Melounovou vůní se vyznačuje *helional* objeven v roce 1959. Tvoří součást řady parfémů [6].

Od počátku 60. let se vyrábí *lyral* a *lilial*. Oba tyto produkty mají svěží, konvalinkovou vůni využívanou hlavně pro parfemaci kosmetických přípravků a pracích prostředků [6].

V 70. letech se začal používat *dihydromyrcenol*, který pro svou svěží, chladivou a citronovou vůni je v poměrně vysokých koncentracích aplikován v pánské kosmetice. Dále byl syntetizován methylester kyseliny everniové, základ tzv. *irského mechu* [2, 6].

Počátkem 80. let bylo studováno složení bulharské *růžové silice*, která obsahuje *damaskon* a *damascenon*, jež mají neobyčejně jemnou a lehce ovocnou vůni [6].

2.1.3.2 Suroviny pro výrobu syntetických látek

Mnoho vonných látek, teoreticky odvozených od benzenu, se vyrábí z toluenu, fenolů a styrenu, případně jejich derivátů. Monoterpenické látky se syntetizují z isoprenů a pinenů. Četné vonné látky lze vyrobit také z ricinového oleje a mastných kyselin [6].

- × **Toluen** – s isobutylchloridem dává para-terciální butyltoluen, který je surovinou pro květinově vonící *lilial*, používaný do šeříkových a konvalinkových vůní
- s acetaldehydem vzniká *cinnamaldehyd* (skořicový aldehyd) – hlavní aromatická složka skořice, z něj lze vyrobit *cinnamylalkohol* (skořicový alkohol)

- chlorací vznikají chloridy, hlavně benzylchlorid, který se zpracovává na *benzylalkohol* a jeho estery – látky s květinovou nebo balzamickou vůní [6]
- × **Styren** – přes styrenoxid se vyrábí beta-fenylethanol. Používá se do mnoha květinových parfémových kompozic.
 - výroba dihydroskořicového alkoholu s růžověhyacintovou vůní [6]
- × **Fenoly** – estery a ethery mají vůni různých květin, bylin nebo koření a většinou jsou i dobrými fixátory vůní. Zvláště zajímavý je kořenitě vonící anisol.
 - z orto-kresolu se vyrábí *kumarin* – vonící po senu a tabáku
 - z dvojmocných fenolů je významný pyrokatechol, z něhož vzniká vanilin, ethylvanilin, jakož i *eugenol* s vůní hřebíčku a *isoeugenol* vonící po karafiátech [6]
- × **Isopren** – odvozují se od něj terpeny
 - reakcí isoprenu s acetonem se vyrábí methylheptenon a z něj dehydrolinalool, jehož částečnou dehydrogenací vzniká *linalool*, který je hlavní složkou silice z růžového dřeva a silice linaloové
 - přesmykem dehydrolinaloolu vzniká *citral* – podstatná složka citronové aromy
 - redukcí citralu nebo přesmykem linaloolu se vyrábí *geraniol* a *nerol*
 - hydrogenací citralu vznikají *citronellal* a *citronellol*
 - reakcí citralu s acetonem se vytváří pseudojonon, jehož cyklizací se vyrábějí *jonony* – pro fialkové a mnohé moderní vůně. Kondenzací citralu s ethylmethylketonem se získávají *methyljonony* s mnohem jemnější vůní [6].
- × **Terpentýn** – hlavní složkou jsou bicyklické terpenické uhlovodíky alfa-pinen a beta-pinen
 - různými chemickými postupy se z něj vyrábějí prakticky všechny látky jako z isoprenu [6]
- × **Ricinový olej** – je jednou z tukových surovin používaných k výrobě vonných látek. Jeho tepelným štěpením za sníženého tlaku se získává heptylaldehyd a undecylenová kyselina. Estery obou těchto látek jsou cennými aromatickými látkami, většinou se svěřými ovocně květinovými vůněmi [6].

Rozdělení alergenních vonných látek do různých tříd sloučenin s různou polaritou [1, 5]:

- × **Alkoholy** – amylcinnamyl alkohol, anisyl alkohol, benzyl alkohol, cinnamyl alkohol, citronellol, farnesol, geraniol, linalool
- × **Karboonylové sloučeniny** – amyl cinnamal, cinnamal, citral, hydroxycitronellal, hexyl cinnamal, α -isomethyl ionone, lilial, lyral
- × **Estery a laktony** – benzyl benzoát, benzyl cinnamát, benzyl salicylát, kumarin, methylheptin karbonát
- × **Cyklické uhlovodíky** – limonen
- × **Fenoly** – eugenol, isoeugenol

2.2 Metody získávání vonných látek

Silice se získávají pomocí řady metod, na kterých většinou závisí i jejich konečná kvalita a tím i využití [7].

2.2.1 Destilace

Nejběžnější je destilace vodní parou, díky níž se získá nejvíce silic. Provádí se čtyřmi způsoby [4, 6, 7]:

- 1) *Materiál se vaří s vodou* – destilační kotel je naplněn rostlinným materiálem a zalit vodou. Silice se nechá provlhnout. Potom se do směsi vhání horká pára, která strhává těkavé složky a v chladiči se odděluje silice od vody. Při tomto postupu však často dochází k částečnému rozkladu obsahových látek silice, proto je složení poněkud odlišné oproti přirozené skladbě. Používá se přímý ohřev.
- 2) *Bez odděleného zdroje páry* – destilační kotel je rozdělen děrovaným dnem na dvě části. Spodní slouží k vyvíjení páry, která prochází dnem a materiálem. Vodní pára pak s sebou strhává uvolňující se silici, která se v jímaném destilátu usazuje jako olejovitá vrstva. Ta se odděluje, vysušuje a dále zpracovává. Používá se přímý ohřev.
Při výrobě drahých silic (destilovaná růžová silice, silice z pomerančových květů) se zpravidla extrahují ještě destilační vody, čímž se získá další podíl silice, která je označovaná jako *silice z destilačních vod*. Těmito silicemi se ředí líh při výrobě kolínských a toaletních vod.
- 3) *S odděleným zdrojem páry* – tlaková pára se přivádí ke dnu nádoby se surovinou. Vytváří se tedy mimo kotel s destilovaným materiálem.
Proces je rychlý a nedochází k poškození suroviny nebo silice přehřátím.
- 4) *Pomocí organických rozpouštědel* – např. toluenem. Je to metoda používaná hlavně v kosmetickém průmyslu. Dosahuje se vyšší výtěžnosti, ale snižuje terapeutický účinek silice.

Kromě vlastního postupu izolace je nezbytné zajistit optimální vlastnosti suroviny [9]:

- 1) Zpracovávat surovinu sklizenou v optimální vegetační fázi \Leftrightarrow vzhledem k obsahu a složení silice
- 2) Zvolit vhodnou úpravu suroviny před destilací \Leftrightarrow čerstvá nebo fermentovaná mechanicky upravená – řezáním, mletím, drcením
- 3) Zajistit optimální podmínky pro destilaci \Leftrightarrow tlak, teplota

Destilát je obvykle vodný roztok s určitým podílem silice lehčí nebo těžší než voda. Další zkoncentrování obvykle spočívá v [9]:

- samovolném odsazení (v separátorech)
- odstředění
- opakované destilaci destilátu
- extrakci

Surová silice je dále upravována [9]:

- rafinací
- rektifikací
- frakcionací

2.2.2 Extrakce

Extrakce patří mezi nejstarší způsoby izolace vonných látek. Probíhá za nižších teplot než destilace. Kromě velmi těkavých látek přecházejí při tradičních postupech extrakce do extraktu i další látky. Extrahované silice mají hnědou nebo zelenou barvu [6, 9].

Tyto tradiční metody jsou nákladné, proto se používají zejména pro získávání hodnotnějších silic z květů rostlin např. z pomerančových květů nebo silice jasmínová [6, 9].

2.2.2.1 Extrakce tuky

Extrakce tuky se nejčastěji používá k získávání extraktů z květů rostlin. Metoda je však značně pracná, i když se získává silice s neporušenými obsahovými látkami. Provádí se za studena nebo za tepla [7, 9].

a) *Extrakce za studena neboli anfleráž* [6, 9, 10, 11]

Směs tuků a ceresinu (minerální tuk) se nanáší v tenké vrstvě na obě strany skleněných desek nebo plátna uchycených ve dřevěných rámech. Na vrstvy tuku se položí nebo nasypou květy určené k extrakci. Rámy jsou naskládány na sebe. Tuk postupně pohlcuje těkavé látky z květů, které žijí ještě několik hodin po utržení.

Tuku nasycenému silicí se říká *pomáda*. Tuk je po určitém počtu násad květů silicí nasycen a další těkavé látky se v něm nerozpouští. Pomáda je poté extrahována ethanolem. Alkoholický výluh se vymrazí a je odfiltrován rozpuštěný tuk. Výsledný produkt se nazývá *laváž*. Z laváže je oddestilován ethanol a výsledkem je tzv. *silice absolutní* neboli *absol*.

b) *Extrakce za tepla* [9]

K extrakci za normální teploty může být použit i rostlinný olej (např. olivový). Květy se macerují v oleji, jsou odfiltrovány a po opakování několika násad je postup stejný jako v případě anfleráže.

K extrakci olejem za vyšších teplot (např. 50 °C) dochází ke zrychlení procesu.

2.2.2.2 Extrakce organickými rozpouštědly

Provádí se častěji než extrakce tukem. Jako organická rozpouštědla se používají benzin, petrolether, benzen, chlorovaná rozpouštědla.

Extrakce je prováděna v různých typech extraktorů, jimiž prochází těkavé rozpouštědlo. Pak se vede do destilačního přístroje, kde se kondenzuje do polotuhé hmoty zvané *beton*. Beton je směs vonného oleje a voskové substance zvané *stearopten*. Po odpaření rozpouštědla obsahuje silice vosky a další v alkoholu nerozpustné složky, které jsou při výrobě vonných kompozic nežádoucí. Produkt se nazývá *konkrétní silice* neboli *konkrét*. Ty jsou zpracovány

na *absolutní silice* rozpuštěním v ethanolu. Směs se následně vymrazí a přefiltruje. Filtrát se poté zpracuje stejně jako při anfleráži [6, 9, 10, 11].

2.2.2.3 *Extrakce kapalinami v superkritickém stavu*

K extrakci kapalinami v superkritickém stavu se využívají nejčastěji CO₂, N₂O, propan nebo toluen.

V případě CO₂ probíhá extrakce zkapalněným plynem za podmínek nad kritickou teplotou a kritickým tlakem (pro CO₂ 31 °C, 73,8 bar). Díky snadnému odpaření rozpouštědla nehrozí rezidua jako v případě klasické extrakce organickými látkami.

Technologie je výhodná i při nanášení vonných a chuťových látek na různé nosiče. Na trhu jsou k dispozici přípravky nepolárních látek zakotvených na polysacharidických nosičích, které jsou snadno dispergovatelné ve vodě. Možností je tedy snadné a standardní dávkování (silice, extrakty koření, v tucích nerozpustná barviva) [9].

2.2.3 Lisování

Používá se výhradně k získávání silic z rostlin nebo těch částí, které jsou bohaté na olej (tj. kolem 2 %) např. z kůry citrusových plodů. Vnější vrstva slupky – *flavedo* – je před lisováním plodu ostrouhaná, spláchnuta proudem vody a po scezení je lisována. Slupky se drtí mezi válci. Olej se získává odstředivou silou. Ten lze čistit převedením do vhodného rozpouštědla a oddestilováním [9, 10, 11].

2.3 Kosmetické prostředky

Kosmetika znamená péči o zachování tělesné krásy nebo odstranění či zakrytí jejích nedostatků. Jde o množství nejrozmanitějších, navzájem se prolínajících a navazujících činností. Působení těchto přípravků má však své hranice, neboť je lze používat pouze na pokožku zdravou. S výjimkou čištění a líčení mají především funkci ochrannou nebo regenerační [7, 12].

Kosmetické prostředky jsou používány člověkem od nepaměti a tvoří neodmyslitelnou součást běžného života. Dříve byla krása vnímána spíše samostatně a odděleně od zdraví a výživy. V současnosti se při sestavení receptury kosmetických prostředků cíleně podporují přirozené mechanismy metabolismu kůže cestou výhodné nutriční nabídky aktivních ingrediencí. Kosmetické výrobky tak naplňují požadavek současných spotřebitelů, tj. cestou zdravé výživy a ochrany kůže prodloužit mládí, podporovat zdravý životní styl [13].

Funkcí kosmetického prostředku je korigovat lidské pachy, čistit, parfémovat, měnit vzhled, chránit, udržovat v dobrém stavu místa, pro které je určen. A nesmí plnit funkci léčiv, zdravotnických prostředků, biocidů. Smějí působit na kůži jen lokálně, a to v místě, kde jsou naneseny. Nesmí obsahovat látky, které by se kůží vstřebávaly a pak ovlivňovaly fyziologické funkce dalších orgánů nebo celého organismu [13].

Kosmetické výrobky mohou být z hlediska funkce vůně rozděleny do dvou kategorií. První skupinu tvoří přípravky, ve kterých je vůně klíčovým faktorem, například deodoranty, pěny do koupele, aviváže nebo osvěžovače vzduchu. Vůně těchto přípravků podléhají neustálé inovaci a v posledních letech jsou odvozovány od typů luxusních parfémových značek. Do druhé skupiny výrobků mohou být zařazeny šampóny, kondicionéry, krémy a prací prášky, tedy výrobky, jejichž vůně není při nakupování považována za rozhodující. U těchto přípravků se používá spíše klasických typů tradičních vůní [3].

Kosmetické prostředky obsahují celou řadu aktivních látek. Jsou vyvíjeny pro péči o určitý typ pleti, jednotlivé partie těla nebo obličej. Dominantní je obsah antioxidantů, minerálů, ovocných (AHA) kyselin, látek ochranných a zvláčňujících. Jsou přírodního, ale nejlépe rostlinného původu. Tyto látky našly své uplatnění jak v čistících, tak zvláčňujících a hydratačních přípravcích, jejichž pH se pohybuje v oblasti neutrální až slabě kyselá [13].

Dříve byly všechny kosmetické prostředky před uvedením na trh v ČR posuzovány z hlediska bezpečnosti a byly schvalovány hlavním hygienikem. To již neplatí. Nyní se uvedení na trh neschvaluje ani nepovoluje. Volný přístup platí na celý trh Evropského společenství (ES). Až po uvedení na trh jsou cíleně nebo namátkově kontrolovány odpovědným orgánem dozoru, v ČR hygienickou službou. Výjimkou v běžném dozoru jsou výrobky, u kterých bylo prokázáno, že představují zvlášť závažné riziko pro zdraví spotřebitelů. Pro tento případ je v zemích ES zaveden zvláštní systém rychlého varování o nebezpečných výrobcích s názvem RAPEX [13].

❖ **RAPEX (Rapid Alert System for Non-Food Products)** [14]

- jedná se o rychlý informační systém o nebezpečných nepotravinářských výrobcích
- varuje spotřebitele před výrobky, které mohou ohrozit jejich zdraví a bezpečnost
- informace o nebezpečných výrobcích jsou předávány z jednotlivých členských států EU do Bruselu a poté rozesílány do členských států
- každý pátek zveřejňuje Komise týdenní přehled nebezpečných výrobků oznámené vnitrostátními orgány

2.3.1 Pleťová kosmetika

Tento druh kosmetiky je nejrozsáhlejší a také nejpoužívanější [7, 12].

✱ **Mýdla**

- vyrábějí se neutralizací mastných kyselin louhem. Jakost je dána obsahem těchto kyselin. Ve vodě rozpustná část mýdla uvolňuje z pokožky nečistotu a nerozpustná část (pěna) odstraňuje prach a odumřelé buňky pokožky.
- k barvení a parfémování se používají jak přírodní, tak i syntetická barviva a kompozice

✱ **Krémy**

- mají za úkol zachovat, případně obnovit pružnost a vláčnost pokožky a tím zlepšit její vzhled
- vyrábějí se z tuků rostlinného původu (např. kakaové máslo, olivový olej) nebo živočišného původu (vepřové sádlo, lanolín). Mohou se používat i minerální tuky např. parafín.
- krémy se parfemují přírodními silicemi nebo vonnými kompozicemi
- podle obsahu tuků se krémy dělí na: mastné
polomastné
suché
- druhy krémů: hydratační, výživné, opalovací, masážní

2.3.2 Korekční kosmetika

Má funkci zakrývat kosmetické vady, např. vrásky, jizvy apod. [7, 12].

× *Pudry*

- vyrábějí se buď z materiálů rostlinného původu např. škrobu, nebo minerálních surovin, např. mastek
- pudry ve formě past nebo krémů tvoří *make-up*

× *Oční stíny, řasenky, rtěnky, laky na nehty, opalovací oleje*

2.3.3 Pleťové vody a mléka

Výrazně ovlivňují kvalitu pleti, neboť mají čistící a dezinfekční účinky. Základ pleťové vody tvoří ethanol o koncentraci 10–50% s přídavkem glycerínu. Přidávají se rovněž různé rostlinné výtažky s protizánětlivými a uklidňujícími účinky. Mohou se používat i diterpenové silice, případně jednoduché a lehké kompozice (0,25–1 %) [7, 12].

Pleťová mléka jsou emulzní přípravky s přídavkem rostlinných složek, např. azulénu. Jsou určeny k čištění suché, citlivé pokožky [7].

2.3.4 Pleťové masky

Zjemňují a osvěžují pleť, zvyšují pružnost kůže a zlepšují její výživu. Podle účinku se dělí na výživné, vysušující, zvlhčující apod.

Z hlediska použitého materiálu jsou známy masky parafínové, lanolínové, s použitím kvasnic, zeleniny, ovoce, medu atd. [7, 12].

2.3.5 Vlasová kosmetika

Tuto skupinu tvoří přípravky k ošetření a barvení vlasů, laky, tužidla, šampony, brillianty a oleje. Kromě silic se zde často používají i další přírodní látky, např. březová míza, výtažky z kopřivy, cibule, heřmánku apod. [7].

2.3.6 Kosmetika dutiny ústní

Do této skupiny přípravků patří zubní pasty a ústní vody. Obsahují přírodní látky s dezinfekčními, dezodoračními a protizánětlivými účinky např. menthol, thymol, silice z hřebíčku, skořice, eukalyptu apod. [7].

× *Ústní vody*

- obsahují ethanolové výtažky tzv. tinktury, např. myrhovou, z benzoové pryskyřice aj. Často se užívá přírodní zelené barvivo – chlorofyl [7].

2.3.7 Parfémy

Slovo parfém pochází z latiny a znamená „přes dým“ nebo „prostřednictvím kouře“. Používají se ve spotřebních výrobcích ke zpříjemnění jejich užívání anebo k maskování pachů některých složek produktů. Určité uplatnění nachází i v aromaterapii. Parfémy jsou roztoky, popř. tuhé přípravky vonných přírodních nebo syntetických látek a jejich kombinací, které jsou rozpuštěny ve vhodném rozpouštědle [7, 15, 16, 17, 18]. Rozpouštědla jsou nepostradatelnou přísadou všech parfémů a zabraňují znehodnocení vůně. Používají se – jojobový olej, frakce kokosového oleje, vosky, ale nejčastěji vysoce kvalitní alkohol (ethanol anebo směs ethanolu a vody) [15].

Vonná kompozice nesmí podléhat žádným nežádoucím změnám v charakteru, intenzitě a zabarvení nejen během doby, kdy je výrobek ještě v distribuční síti, ale i po celou dobu

spotřební fáze. K určitým změnám může docházet a také dochází jen v tzv. době zrání, trvající asi dva týdny od aplikace vůně do výrobku, poté by se již vonný vjem konečného produktu neměl měnit [3].

Parfémy jsou složeny průměrně z 20–30% koncentrované vonné esence rozpuštěné v 90–95% alkoholu. Jsou rozděleny do 5 skupin podle obsahu vonné kompozice v lihu (viz. *tabulka č. 1*) [15].

Tabulka č. 1 – Dělení parfémů a vůní podle obsahu vonné kompozice [15]

Parfémový koncentrát	20–40% kompozice
Parfém	15–30% kompozice
Parfémovaná voda (<i>Eau de parfum</i>)	8–15% kompozice
Toaletní voda (<i>Eau de toilette</i>)	4–8% kompozice
Kolínská voda (<i>Eau de cologne</i>)	3–5% kompozice

2.3.7.1 Resinoidy

Resinoidy se používají ke stabilizaci parfémových kompozic. Současně se však uplatňuje i jejich vůně, kterou poskytují vonné látky v nich obsažené. Surovinami pro jejich výrobu jsou rozmanité přírodní produkty např. některé balzámy (toluánský a peruánský) s příjemnou, sladce balzamičnou až vanilkovou vůní. Vyrábějí se extrakcí různými organickými rozpouštědly – ethanolem, acetonem, některými chlorovanými uhlovodíky a dále také z různých klejoprskyřic [6].

Vyrobené resinoidy jsou většinou polotuhé, pastovité hmoty, zbarvené podle výchozí suroviny od světle voskově nažloutlé po červenohnědou a čokoládově hnědou barvu. Vyznačují se příjemnou balzamičnou vůní [6].

Dalším zdrojem výroby jsou i některé druhy lišejníků, oddenky kosatce nebo produkty některých živočichů [6].

2.3.7.2 Složení parfémů

Existuje standardní systém (viz. *obr. č. 3*), podle kterého se parfémy hodnotí. Jeho východiskem je rychlost odpařování jednotlivých složek.

Dobrý parfém musí být sestavený tak, aby všechny vonné látky působily harmonicky ve všech fázích [15].

- 1) **Špička (hlava, začátek)** – nejlépe se pozná po několika vteřinách, když se vypaří ethanol. Je to nejtěkavější část parfému, kde se často nalézají akvatické, ozonické prvky, ale také aromatické přísady jako levandule, mentol.

K prchavým látkám ušlechtilého parfému, které tvoří špičku, patří také silice z květů růže, pomeranče, šeříku, lilie, bergamotu a zázvoru.

Špička je cítit maximálně 15 minut po nanesení na pokožku. Vytváří první dojem a je velmi důležitá. Definuje se jako směs svěžích, silných a výrazných vůní.

- 2) **Srdce (tělo, buket)** – představuje podstatnou část parfému, což je základní vůně umocněná bázovými tóny.

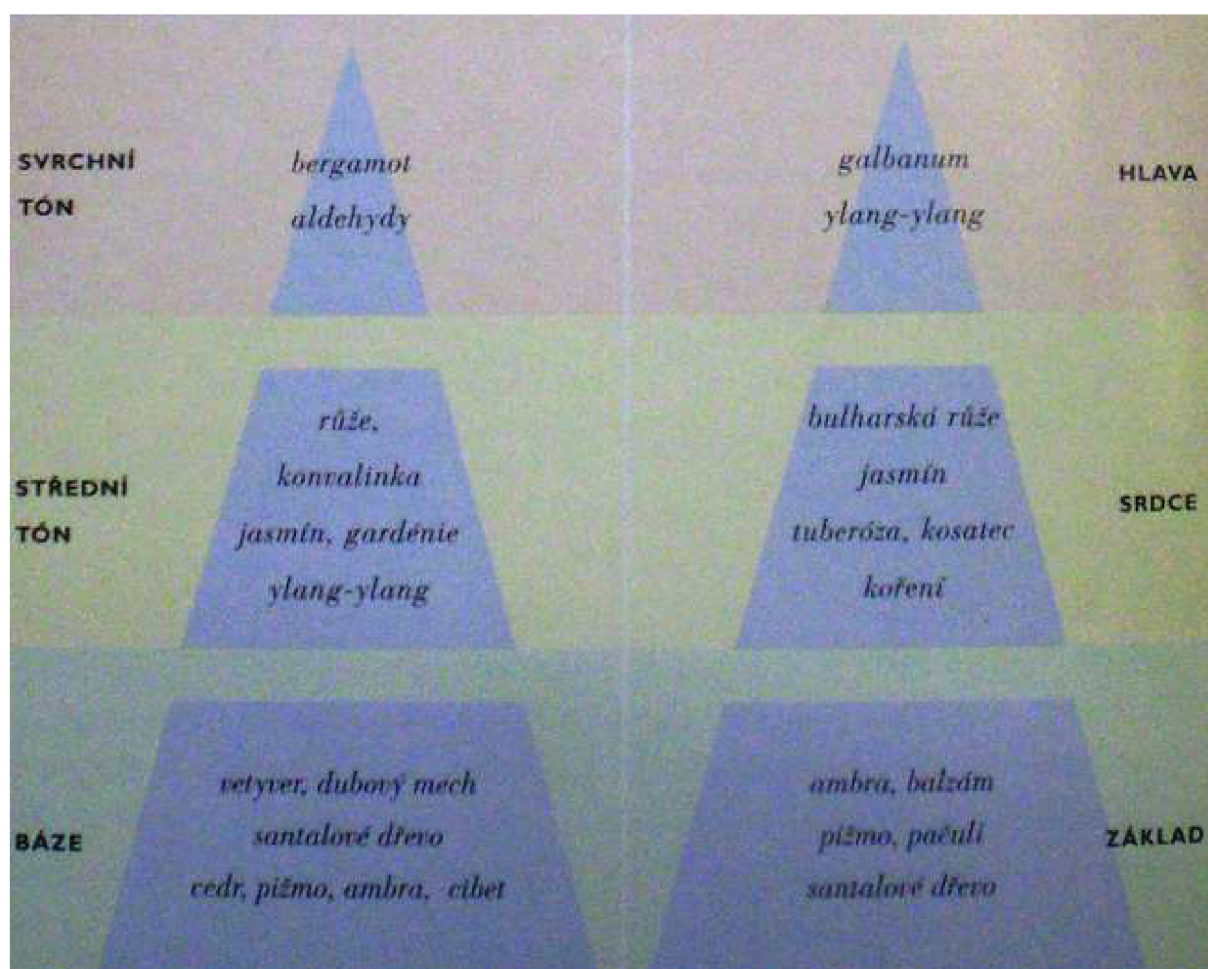
Rozpozná se za 5–15 minut po nanesení a vydrží až několik hodin.

Střední aromatické látky, jež určují charakter parfému jsou často popisovány jako kulaté, ucelené vůně. Patří k nim růže, jasmín, levandule, muškát a pačule.

3) **Základ (hluchý, bázový)** – je nejtrvanlivější a nejtěžší součást parfému.

Rozeznává se nejdříve 5–15 minut po nanesení a vůně by měla vydržet den i déle.

Do této kategorie patří komponenty dřeva, kůže, pryskyřice, pižma a vanilky, dále živočišné prvky – ambra, mošus, cibet. Tyto tóny vyprchávají velice dlouho a jejich význam spočívá v tom, že fixují a zpomalují rychlost vypařování středních a vrchních tónů.



Obr. č. 3 – Schéma třístupňového pyramidového systému [10]

2.4 Regulace vonných látek ve světě

V rámci Evropské unie dohlíží na právní legislativu týkající se vonných látek Evropská komise (EC). V USA patří mezi nejdůležitější orgán související s užíváním vonných ingrediencí FDA. Za bezpečnost kosmetických výrobků v Kanadě je odpovědná instituce *Health Canada* [4].

2.4.1 Regulace v rámci EU

Postup posouzení bezpečnosti kosmetických prostředků v Evropské unii (EU) se řídí směrnicí 76/768/EHS ze dne 27. července 1976. Toto nařízení je specifické pro finální kosmetické prostředky a jejich přísady. Podle čl. 1 této směrnice je kosmetický přípravek určený pro styk s různými vnějšími částmi lidského těla (pokožkou, vlasy, nehty, rty, vnějšími pohlavními orgány) nebo se zuby a sliznicí ústní dutiny, za účelem čištění, parfemace, změny vzhledu, regulace tělesných pachů a udržování dobrého stavu [19, 20].

V prosinci roku 1999 SCCPNFP (*Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products*), v současnosti známý jako SCCP (*Scientific Committee on Consumer Products*), publikoval recenzi na potenciálně alergenní látky (PASs). V tomto ohledu EU zveřejnila změny přílohy III směrnice 2003/15/ES, která jasně stanovuje 26 PASs. Z těchto 26 látek jsou 24 definované jako těkavé sloučeniny, zatímco další 2 jako přírodní výtažky mechu. Pro všechny testované látky jsou definované stejné limity (viz. kapitola 2.4.1.1 INCI). Pokud bude v kosmetickém prostředku vyšší koncentrace, než je povolena, musí být látka uvedena na obalu v sestupném pořadí podle hmotnosti [16, 18, 21, 22, 23, 24, 25, 26].

Mezi nejsilnější alergen se řadí cinnamal. Každá látka uvedená jako potenciální alergen má svou R-větu, jsou tedy označeny jako nebezpečné látky podle obecných zásad 67/548/EWG. Ne všechny jsou označeny R43 (může vyvolat senzibilizaci při styku s kůží). Extrakty z mechu patří mezi velmi silné alergeny, proto by měly nést ještě navíc symbol Xi (dráždivý) [26].

V seznamu SCCP je uvedeno 2 750 (k roku 2000) záznamů parfémovaných a aromatických surovin. Skutečný počet vonných látek ve výrobcích každodenního užívání je však mnohem větší. Množství stále roste, protože vůně hraje velmi důležitou roli v atraktivnosti výrobku [26].

Bezpečnostní požadavky na kosmetické ingredience jsou uvedeny v dokumentu s názvem: „Poznámky k pokynům pro testování kosmetických přísad a jejich hodnocení bezpečnosti.“ Na toto dohlíží vědecký výbor pro spotřební zboží SCCP. Obecnými požadavky na bezpečnost pro regulované přísady do kosmetických prostředků jsou [20]:

- fyzikální a chemické údaje
- kožní absorpce
- kožní dráždivost
- podráždění sliznice
- senzibilizace kůže
- sub-chronická toxicita
- fototoxicita a fotogenotoxicita

U perorálního užívání výrobku jsou nezbytné navíc tyto informace:

- toxikokinetika
- teratogenita, karcinogenita
- reprodukční toxicita a genotoxicita

V EU jsou výrobci a dovozci produktů osobní péče povinni generovat dokumentaci bezpečnosti každého kosmetického přípravku, včetně jeho složení. Posuzování musí provádět kvalifikovaný odborník [20].

Směrnice 93/35/EHS uvádí, že bezpečnost kosmetického přípravku musí být posouzena s přihlédnutím k toxikologickému profilu přísad, jejich chemické struktuře a úrovni expozice [19].

Podle směrnice 92/32/EHS se většina kosmetických přísad řadí k chemickým látkám. Je důležité vědět, zda posuzovaná látka patří do EINECS nebo ELINCS [19].

- ❖ EINECS (*European Inventory of Existing Chemical Substances*) [19]
 - Evropský inventář existujících chemických látek
 - je číslo registru každé chemické látky komerčně dostupné v EU mezi 1. lednem 1971 a 18. zářím 1981
 - byl vytvořen směrnicí 67/548/EEC
 - musí být uveden na balení
- ❖ ELINCS (*European List of Notified Chemical Substances*) [19]
 - Evropský seznam oznámených chemických látek
 - existuje od 19. září 1981
 - obsahuje všechny nové látky vyráběné nebo dovážené do EU
 - musí být uveden na balení

Z tisíce přísad používaných v kosmetice, 400 z nich jsou uvedeny v přílohách III až VI směrnice 76/768/EHS. Mezi nimi je většina konzervantů (příloha VI), také UV filtry (příloha VII), barviva (příloha IV). Před uvedením na trh nejnovějších barev na vlasy je vyžadováno zhodnocení jejich bezpečnosti. V příloze III jsou uvedeny látky a jejich povolená maximální koncentrace ve výrobku. Příloha II této směrnice obsahuje výpis zakázaných látek. Řada aromatických látek může být použita i v potravinářství. Některé povrchově aktivní látky se používají v pracích prostředcích. Výrobky pečující o pleť obsahují složky, které jsou používány jako pomocné látky v léčivech [19, 20, 26].

Směrnice 2003/15/ES platná od 11. března 2005 zakazuje provádět pokusy na zvířatech, proto tvrzení na obalu výrobku – „Netestováno na zvířatech“ – je neoprávněné. Dle platných předpisů může výrobce nebo dovozce využít možnosti uvést na obalu kosmetického prostředku nebo v jakémkoli dokumentu, poznámce, na etiketě, který je součástí balení, skutečnost, že nebyly prováděny pokusy na zvířatech, pouze tehdy, pokud výrobce ani jeho dodavatelé neprováděli, ani nezadali žádné pokusy na zvířatech u prototypu kosmetického prostředku, finálního výrobku nebo jeho ingrediencí, ani nepoužili ingredience, které byly na zvířatech testovány třetími osobami [13, 27].

SCCPNFP doporučila, aby známé senzibilizátory byly uváděny na obalu výrobku a tím se zabránilo vzniku alergií u citlivých osob. Je pravděpodobné, že jiné země, např. USA a Kanada, budou následovat Evropu a užívat stejné značení [4].

EU stanovuje kritéria pro označení čistících a mycích přípravků na nádobí jako ekologicky nezávadné, tedy „ekoznačkou“. Mezi další kritéria se řadí výrobky, které nesmí obsahovat *nitro-musk* nebo *polycyclic musk* [4].

2.4.1.1 INCI

Dne 9. února 2006 dochází ke změně rozhodnutí 96/335/ES, kterým se stanoví soupis a společná nomenklatura přísad používaných v kosmetických prostředcích, z důvodu aktualizace v souladu s informacemi poskytnutými průmyslem, také aby se zajistila vědecká správnost a platnost některých stávajících nebo i nových položek. Dále bylo nezbytně nutné

zrevidovat pravidla tvorby názvů uvedená v příloze rozhodnutí 96/335/ES, aby se stala srozumitelnější a přizpůsobila se změnám v Mezinárodní nomenklatuře kosmetických přísad (*International Nomenclature od Cosmetic Ingredients*, INCI) [13, 28].

Pro dosažení celosvětové harmonizace byla přijata nomenklatura (názvy INCI), jež byla vytvořena americkou asociací CTFA (*Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association*). Název podle INCI se vztahuje ke společné nomenklatuře pro označování přísad na obalech kosmetických prostředků a také k novému názvosloví vytvořenému sdružením COLIPA (*European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association*) [28, 29].

Pro všechny látky uvedené v rozhodnutí komise ze dne 9. února 2006 platí omezení závazné pouze pro EU. Tento údaj se týká přísad, na něž se vztahují přílohy směrnice o kosmetických prostředcích, a to ve zkrácené formě (např. „III/1,84“ znamená příloha III část I číslo 84). Seznam zahrnuje veškeré odkazy na přílohy až do směrnice Komise 2000/11/ES, kterou se přizpůsobují přílohy směrnice o kosmetických prostředcích technickému pokroku, včetně. Zakázané látky podle směrnice 2002/34/ES, 2004/93/ES, 2005/42/ES a 2005/80/ES však byly odstraněny [28].

Omezení zní: přítomnost látky musí být vyznačena v seznamu přísad podle článku 6 (1) g, pokud její koncentrace překračuje 0,001 % produktu, který je nesmývatelný (leave on) a 0,01 % v produktu, který je smývatelný (rinse off). Toto omezení je platné pro všechny níže uvedené alergenní látky pod určitým číslem např. III/1,67 pro amyl cinnamal [5, 18, 21, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38].

Následně je uveden seznam 26 alergenních vonných látek, zkrácené formy jejich omezení a využití v kosmetických prostředcích.

❖ ***Amyl cinnamal***

Amyl cinnamal se do přípravku přidává za účelem vonného efektu [28, 39].

✦ Omezení č.: III/1,67

❖ ***Amylcinnamyl alcohol***

Amylcinnamyl alcohol se do přípravku přidává k jeho aromatizaci [28, 39].

✦ Omezení č.: III/1,74

❖ ***Anise alcohol***

Anise alcohol v přípravku plní funkci vonné látky [28, 39].

✦ Omezení č.: III/1,80

❖ ***Benzyl alcohol***

Benzyl alcohol slouží jako konzervační přísada ⇨ zpomaluje růst mikroorganismů v kosmetických prostředcích, také jako regulátor viskozity ⇨ zvyšuje nebo snižuje viskozitu kosmetických prostředků, jako vonná látka a rozpouštědlo ⇨ rozpouští látky [28, 39].

✦ Oblast aplikace a použití: III/1,45 – rozpouštědlo

vůně/aromatické kompozice/suroviny

✦ Omezení č.: III/1,45

VI/1,34 – maximální povolená koncentrace v konečném kosmetickém prostředku činí 1 % [37]

❖ ***Benzyl benzoate***

Benzyl benzoate slouží jako antimikrobiální přísada ⇒ omezuje růst mikroorganismů na kůži, také jako vonná látka a rozpouštědlo ⇒ rozpouští látky [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,85

❖ ***Benzyl cinnamate***

Benzyl cinnamate se do přípravku přidává za účelem vonného efektu [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,76

❖ ***Benzyl salicylate***

Benzyl salicylate plní funkci vonné látky a UV absorbentu ⇒ chrání kosmetický prostředek před účinky UV záření [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,75

❖ ***Cinnamal***

Cinnamal slouží k maskování pachu ⇒ snižuje nebo potlačuje základní pach nebo chuť prostředku. Do kosmetického přípravku se přidává pro parfemaci a jako denaturační přísada ⇒ způsobuje nepoživatelnost kosmetických prostředků. Většinou se přidává do kosmetických prostředků obsahujících ethylalkohol [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,76

❖ ***Cinnamyl alcohol***

Cinnamyl alcohol se do přípravku přidává za účelem vonného efektu a maskování pachu ⇒ snižuje nebo potlačuje základní pach nebo chuť prostředku [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,69

❖ ***Citral***

Citral tvoří součást kosmetického výrobku z důvodu tvorby příjemné vůně anebo k maskování pachu ⇒ snižuje nebo potlačuje základní pach nebo chuť prostředku [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,70

❖ ***Citronellol***

Citronellol se do přípravku přidává k jeho aromatizaci [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,86

❖ ***Coumarin***

Coumarin se do přípravku přidává za účelem vonného efektu [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,77

❖ ***Eugenol***

Eugenol je přidáván z důvodu parfemace nebo jako denaturační přísada ⇒ způsobuje nepoživatelnost kosmetických prostředků. Většinou se přidává do kosmetických prostředků obsahujících ethylalkohol. Slouží i jako tonikum ⇒ vytváří pocit pohody a dobrého stavu pokožky a vlasů [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,71

❖ ***Farnesol***

Farnesol slouží jako deodorační přísada ⇒ omezuje nebo maskuje nepříjemné tělesné pachy, také jako vonná látka, přísada k uklidnění pokožky a rozpouštědlo ⇒ rozpouští látky [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,82

❖ *Geraniol*

Geraniol je přidáván za účelem parfemace a i jako tonikum ⇒ vytváří pocit pohody a dobrého stavu pokožky a vlasů [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,78

❖ *Hexyl cinnamal*

Hexyl cinnamal se do přípravku přidává z důvodu vytvoření vonného efektu [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,87

❖ *Hydroxycitronellal*

Hydroxycitronellal je přidáván jako vonná látka [28, 39].

✦ *Oblast aplikace a použití:* III/1,72 – produkty ústní hygieny
jiné prostředky

✦ *Omezení č.:* III/1,72

VI/1,72 – maximální povolená koncentrace v konečném kosmetickém prostředku činí 1 % [26, 34]

❖ *Hydroxyisohexyl 3-cyclohexene carboxaldehyde (Lyral)*

Lyral slouží k aromatizaci kosmetického prostředku [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,79

❖ *Isoeugenol*

Isoeugenol se do přípravku přidává jako vonná látka a za účelem maskování pachu ⇒ snižuje nebo potlačuje základní pach nebo chuť prostředku [28, 39].

✦ *Oblast aplikace a použití:* III/1,73 – produkty ústní hygieny
jiné prostředky

✦ *Omezení č.:* III/1,73

VI/1,73 – maximální povolená koncentrace v konečném kosmetickém prostředku činí 0,02 % [34]

❖ *α -Isomethyl ionone*

α -Isomethyl ionone se do přípravku přidává k vytvoření vonného efektu a jako denaturační přísada ⇒ způsobuje nepoživatelnost kosmetických prostředků. Většinou se přidává do kosmetických prostředků obsahujících ethylalkohol [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,76

❖ *Butylphenyl methylpropional (Lilial)*

Lilial je důležitý pro parfemaci výrobku [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,83

❖ *Limonene*

Limonene slouží jako deodorační přísada ⇒ omezuje nebo maskuje nepříjemné tělesné pachy, také jako vonná látka a rozpouštědlo ⇒ rozpouští látky [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,88

III/1, 167 – peroxidové číslo nižší než 20 mmol·l⁻¹

III/1, 168 – peroxidové číslo nižší než 20 mmol·l⁻¹

❖ *Linalool*

Linalool plní funkci deodorační přísady ⇒ omezuje nebo maskuje nepříjemné tělesné pachy a dále také jako vonná látka [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,84

❖ *Methyl 2-octynoate*

Methyl 2-octynoate se do přípravku přidává k jeho parfemaci [28, 39].

✦ *Oblast aplikace a použití:* III/1,89 – produkty ústní hygieny
jiné prostředky

✦ *Omezení č.:* III/1,89

VI/1,89 – maximální povolená koncentrace v konečném kosmetickém
prostředku činí 0,01 % [34]

❖ *Evernia prunastri extract*

Evernia prunastri extract v přípravku plní funkci vonné látky [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,91

❖ *Evernia furfuracea extract*

Evernia furfuracea extract se do přípravku přidává za účelem aromatizace [28, 39].

✦ *Omezení č.:* III/1,92

2.4.2 Regulace v Japonsku

Japonsko má nejpřísnější regulace týkající se vonných látek v rámci všech průmyslově vyspělých států. V roce 1980 bylo zakázáno používání *nitro-musk*, z důvodu ochrany životního prostředí. Dále bylo zamezeno užívání některých běžných senzibilizátorů. Tyto opatření mají za následek snížení alergických reakcí na vonné látky [4, 20].

Japonské předpisy stanovují další kategorii produktů tzv. *kvazi-drogy*, která zahrnuje barvy na vlasy, činidla proti vypadávání vlasů a podpory jejich růstu a produkty k bělení kůže. Dále látky, které jsou součástí úředního seznamu CLS (*Comprehensive Licensing Standards of Cosmetics by Category*), mohou být součástí kosmetických výrobků [20].

2.4.3 Regulace v USA

Orgán v USA zabývající se vonnými látkami je FDA (*Food and Drug Administration*). Bezpečnost spotřebních výrobků spadá pod Komisi (CPSC). Agenturu týkající se ochrany životního prostředí tvoří EPA (*Environmental Protection Agency*) [4].

PCPC (*Personal Care Products Council*) spolupracuje s americkou společností pro kontaktní dermatitidy. Na základě této spolupráce byl vydán adresář, který obsahuje seznam kontaktních osob zaměstnaných jednotlivými výrobci kosmetiky, kteří poskytují informace o výrobku a jeho přísadách. Sdružení zástupců výrobců kosmetických přípravků jsou [40]:

- v Evropě COLIPA (*The European Cosmetics Association*)
- v Japonsku JCIA (*Japan Cosmetic Industry Association*)

2.4.3.1 FDA (*Food and Drug Administration*)

Vonné látky a produkty spadají pod jurisdikci FDA: FD & C zákona (*Food, Drugs and Cosmetics Act*), který definuje kosmetický prostředek. Jeho funkcí je očista, zkrášlení lidského těla nebo změna jeho vzhledu. Každá složka použitá v kosmetickém prostředku a každý konečný výrobek musí být před uvedením na trh zhodnocen z hlediska bezpečnosti, pokud tomu tak není, je nutností uvést na obal: „Výstraha – bezpečnost tohoto výrobku nebyla stanovena.“ [4, 20, 41].

Opalovací krémy a antiperspiranty vyžadují další klinické testování k prokázání účinnosti na rozdíl od EU. Kosmetická barviva, ale ne barvy na vlasy, jsou rovněž upraveny podle

amerického zákona a vyžaduje se schválení FDA. U barev na vlasy musí být uvedena na etiketě výrobku určitá varování o zkušebních podmínkách. U všech ostatních kosmetických přípravků je za bezpečnost odpovědný výrobce. Pokud nedošlo k posouzení bezpečnosti některého z kosmetických prostředků ze strany výrobce, musí být uvedeno na etiketě upozornění. FDA také shromažďuje data o spotřebitelských a lékařských stížnostech a předává je výrobcům nebo mohou být použity k zahájení vyšetřování [20].

CIR (*Cosmetic Ingredient Review*), součást CTFA, poskytuje skupinu nezávislých odborníků, která přezkoumává příslušné údaje o kosmetických přísadách a rozhoduje o bezpečnosti jejich užití. Panel se skládá z toxikologů, dermatologů a chemiků z akademických institucí. Aktuální požadavky CIR na složky kosmetických prostředků jsou [20]:

- povolená maximální koncentrace
- obsah složek, nečistot
- kožní dráždivost
- údaje o absorpci kůže
- genetická toxicita

Panel dochází k závěru:

- výrobek je bezpečný podle podmínek používání
- výrobek je bezpečný na základě údajů o povolené koncentraci, místa aplikace
- výrobek je nebezpečný

Hlavním účelem vonné látky je předat výrobku aroma, maskovat zápach z jiných materiálů. Při aplikaci kosmetického prostředku je jeho účinkům vystavena jak kůže, tak i horní cesty dýchací, čich a plíce. Všechny tyto cesty jsou vstupními body do těla a míra expozice je stejná. Všeobecně přístupné jsou bezpečnostní údaje týkající se účinků na kůži, naopak respirační, neurologické a systémové údaje běžně dostupné nebývají [4].

Samostatné komponenty, které tvoří část vůně, nejsou na etiketě uvedeny jednotlivě, ale pod pojmem „*Parfum*“. Pod tímto pojmem rozumíme více jak 100 různých druhů materiálů, jež jsou přítomny pouze v malých množstvích [4].

2.4.3.2 EPA (*Environmental Protection Agency*)

Tato agentura se zabývá nejen vlivem vonných látek v ovzduší, ale také i snižováním organických a těkavých látek ve spotřebních výrobcích. Prakticky všechny vonné materiály jsou těkavé nebo polotěkavé a mají vliv při vývoji smogu.

Pesticidní a všechny ostatní složky, včetně vůně, musí být u EPA registrovány. Z přibližně 3 000 materiálů je 43 % látek, které nemají dostupné informace o toxicitě, 7 % mají kompletní soubor informací o toxicitě, které se týkají akutní, chronické, vývojové a reprodukční toxicity, mutagenity, ekotoxicity [4].

2.4.3.3 CPSC (*Consumer Product Safety Commission*)

Komise pro bezpečnost spotřebního zboží je zodpovědná za bezpečnost spotřebitelských produktů, které nejsou kosmetického charakteru. Neexistuje žádný program v rámci této komise, jehož prostřednictvím jsou posuzovány vonné látky z hlediska bezpečnosti [4].

2.4.4 Regulace v Kanadě

Kanadský zákon vyžaduje, aby byly umístěny na etiketě výrobku rady pro spotřebitele, jak předejít nebezpečí spojenému s použitím výrobku [4]:

- a) ohrožení zdraví spotřebitele může být předvídatelné na základě složení výrobku, toxikologických složek a místa aplikace
- b) nebezpečí může být eliminováno uvedením omezení týkající se použití kosmetického prostředku

Vonné látky jsou známy jako kožní senzibilizátory a příčiny alergií. Mohou také způsobit podráždění dýchacích cest, vznik astmatu. V Kanadě není obsah složek uveden na obalu, protože to legislativa nevyžaduje [4].

2.4.5 Regulace parfumérského průmyslu

V parfumérském průmyslu se používá více jak 2 000 látek. Je důležité jejich pravidelné monitorování bez ohledu na délku používání.

Cíl spočívá v zajištění bezpečného používání těchto surovin, stanovit jejich kvalitativní a kvantitativní limity a zamezit potenciálně nebezpečným účinkům [21].

2.4.5.1 RIFM (*Research Institute for Fragrance Materials*)

Tato nezávislá nezisková vědecká organizace byla založena v USA v roce 1966. Jejím cílem je studovat a testovat vonné látky běžně používané v parfumérském průmyslu. Zajistit jejich nezávadnost a maximální bezpečnost používání jak ve vonných směsích, tak i ve spotřebitelských výrobcích. RIFM vlastní největší databázi chuťových a vonných látek (kolem 5 000) na celém světě [21, 42].

Panel nezávislých expertů (vědců, dermatologů, toxikologů, ekologů) REXPAN (*RIFM's Expert Panel*) hodnotí výsledky výzkumu a podílí se na stanovení bezpečnostních limitů látek. Konečná rozhodnutí jsou základem pro stanovení tzv. standardů vydávaných IFRA [21, 42].

2.4.5.2 IFRA (*International Fragrance Association*)

Silice a vonné látky s výraznými antiseptickými účinky mnohdy dráždí pokožku. Dráždivost a nežádoucí senzibilizace pokožky se u vonných látek vyskytují častěji, což je třeba respektovat při výrobě kosmetických přípravků. Studium vlastností a vlivů těchto látek obsažených v kosmetických výrobcích na zdraví člověka studuje tato mezinárodní organizace [1].

IFRA byla založena v roce 1973 v Ženevě. Z výsledků testů RIFM ustanovuje závěry a doporučení ohledně používání látek ve formě tzv. standardů, které jsou předávány národním a regionálním asociacím. Ty o nich dále informují jednotlivé členské společnosti. Standardy jsou závazné pro všechny členy. Doporučení bývají neustále doplňována. Používání určité látky může být zpřísněno nebo naopak na základě testů doporučený limit zvýšen [16, 21, 26, 38].

Tato asociace vyhodnocuje data a formuluje hlavní směry pro bezpečné používání materiálů [4].

Možné závěry použití [21]:

- ✘ bez omezení
- ✘ s omezením
- ✘ zakázáno

2.5 Regulace vonných látek v kosmetických výrobcích v rámci České republiky

Alergenní vonné látky jsou opravdu všudypřítomny v našem prostředí, a to nejen v jemných vůních, ale také v řadě kosmetických a domácích produktech. Spolu s konzervačními látkami jsou hlavní příčinou alergických reakcí, proto musí být jejich obsah regulován zákony [43].

2.5.1 Zákon č. 258/2000 Sb., o ochraně veřejného zdraví

❖ *Další ustanovení pro výrobu a dovoz kosmetických prostředků (§ 27, § 28, § 29)*

§ 27

Povinnosti výrobce a dovozce kosmetického prostředku

Výrobce nebo dovozce je povinen před uvedením kosmetického prostředku do oběhu oznámit příslušnému orgánu obchodní jméno, sídlo, místo výroby, datum zahájení výroby nebo dovozu a seznam kosmetických prostředků, které hodlá dovážet [44].

Dále je povinen oznámit pro účely první pomoci informace o látkách obsažených v kosmetickém prostředku, které mohou ohrozit zdraví některých fyzických osob [44].

§ 28

Podmínky neuvedení ingrediencí na obalu kosmetického prostředku

Na žádost výrobce podanou z důvodu ochrany obchodního tajemství může příslušný orgán ochrany veřejného zdraví povolit ve značení kosmetického prostředku neuvedení jedné nebo více látek použitých v jeho složení („ingredience“). Je stanoveno registrační číslo, které výrobce uvede na obalu na místě značení ingredience [44].

§ 29

Podmínky výroby kosmetických prostředků a jejich uvedení do oběhu

Výrobce kosmetického prostředku je povinen určit výrobní metodu vyhovující správné výrobní praxi, která zajistí zdravotní nezávadnost výrobku, stanovit fyzickou osobu se vzděláním a praxí, odpovědnou za jejich výrobu [44].

Výrobce, dovozce je povinen před uvedením kosmetického prostředku na trh zajistit hodnocení bezpečnosti pro zdraví osob. K tomuto účelu musí vzít v úvahu všeobecný toxikologický profil ingrediencí, jejich chemickou strukturu, hladinu a místo expozice a také specifické expoziční charakteristiky populace, pro kterou je výrobek určen. Dále musí provést zhodnocení bezpečnosti u výrobků určených pro děti ve věku do 3 let a výrobků pro vnější intimní hygienu [27, 44].

2.5.2 Zákon č. 634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele

Platné znění zákona č. 634/1992 Sb., o ochraně spotřebitele, ve znění zákona č. 217/1993 Sb., zákona č. 40/1995 Sb., zákona č. 104/1995 Sb., zákona č. 110/1997 Sb., zákona č. 356/1999 Sb., zákona č. 64/2000 Sb., zákona č. 145/2000 Sb., zákona č. 258/2000 Sb., zákona č. 102/2001 Sb., zákona č. 452/2001 Sb., zákona č. 477/2001 Sb., zákona č. 151/2002 Sb., zákona č. 320/2002 Sb., zákona č. 227/2003 Sb., zákona č. 277/2003 Sb., zákona č. 439/2003 Sb., zákona č. 119/2004 Sb., zákona č. 186/2004 Sb., zákona č. 217/2004 Sb., zákona č. 444/2005 Sb., zákona č. 229/2006 Sb., zákona č. 36/2008 Sb., zákona č. 227/2009 Sb., zákona č. 281/2009 Sb., zákona č. 285/2009 Sb., zákona č. 298/2009 Sb., zákona č. 301/2009 Sb. a zákona č. 155/2010 Sb. [45].

Tento zákon zapracovává příslušné předpisy Evropských společenství a stanoví některé podmínky podnikání významné pro ochranu spotřebitele, úkoly veřejné správy v oblasti ochrany spotřebitele a oprávnění spotřebitelů, sdružení spotřebitelů nebo jiných právnických osob založených k ochraně spotřebitele [45].

Ustanovení zvláštních předpisů týkající se podmínek výroby, dovozu, prodeje a označování výrobků a poskytování služeb nejsou tímto zákonem dotčena [45].

Tento zákon se vztahuje na nabízení a prodej výrobků a na nabízení a poskytování služeb v případech, kdy k plnění dochází na území České republiky. Na ostatní případy se vztahuje tehdy, souvisí-li plnění s podnikatelskou činností provozovanou na území České republiky [45].

Nikdo nesmí vyrábět, dovážet, vyvážet, nabízet, prodávat a darovat výrobky nebezpečné svou zaměnitelností s potravinami. Prodávající nesmí odstraňovat ani měnit označení výrobků ani jiné údaje uvedené výrobcem, dovozcem nebo dodavatelem. Pokud jsou při značení použity symboly/piktogramy, musí být srozumitelné, čitelné, úplné a prodávající je povinen je na požádání vysvětlit. Nikdo nesmí neoprávněně používat „ekoznačku“, pro jejíž udělování byla stanovena závazná kritéria předpisem Evropského společenství [13].

Výrobce, dovozce ani distributor nesmí při značení kosmetických prostředků, jejich propagaci nebo nabízení k prodeji použít texty, názvy, obchodní značky, vyobrazení nebo symboly, které by přisuzovaly kosmetickým prostředkům vlastnosti, které nemají [13].

2.5.3 Vyhláška č. 26/2001 Sb., o kosmetických prostředcích

Vyhláška č. 26/2001 Ministerstva zdravotnictví ze dne 8. ledna 2001 o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku ve znění vyhlášky [46, 47]: č. 268/2001 Sb.,
č. 444/2004 Sb.,
č. 126/2005 Sb.,
č. 104/2006 Sb.,
č. 260/2006 Sb.,
č. 474/2006 Sb.

2.5.4 Vyhláška č. 268/2001 Sb.

Vyhláška ze dne 12. července 2001, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku [48].

2.5.5 Vyhláška č. 444/2004 Sb.

Vyhláška ze dne 16. července 2004, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku ve znění vyhlášky č. 268/2001 Sb. [49].

Na obalu příp. vnějším obalu kosmetického prostředku musí být ve srozumitelném, čitelném a nesmazatelném provedení mj. [49]:

- obchodní firma nebo název výrobce nebo dovozce a adresa jejího sídla;
- nominální obsah výrobku v době balení, udaný hmotností (g) nebo objemem (ml). U výrobků přebalených a prodávaných jako několik balení údaj nemusí být uveden;
- datum minimální trvanlivosti vymežující minimální dobu, po kterou si kosmetický prostředek při dodržování stanovených skladovacích podmínek zachovává svoji původní funkci a je bezpečný;
- identifikace výrobní šarže;
- funkce výrobku;
- seznam ingrediencí (přísad) v sestupném pořadí podle hmotnosti v době jejich přidání. Seznamu musí předcházet slovo „Ingredients“. Ingredience v koncentracích nižších než 1 % mohou být uvedeny v jakémkoliv pořadí po ingrediencích, jejichž koncentrace překračuje 1 %. Název musí být uveden v souladu se zvláštním právním předpisem (vyhláška č. 75/2003 Sb.) podle společného názvosloví INCI.
- zvláštní opatření, která je nutno dodržovat při použití kosmetického prostředku nebo jeho uchování např. bezpečnostní informace. Tyto údaje musí být uvedeny v českém jazyce.

O kosmetickém prostředku musí být uchovávány kromě dosavadních údajů i údaje o jakémkoliv zkoušení na zvířatech provedeném výrobcem, jeho zprostředkovateli nebo dodavateli, které má souvislost s vývojem nebo hodnocením bezpečnosti kosmetického prostředku nebo jeho ingrediencí [49].

V příloze č. 2 této vyhlášky je uveden seznam 451 látek, které nesmějí být součástí složení kosmetických prostředků [49].

2.5.6 Vyhláška č. 126/2005 Sb.

Vyhláška ze dne 16. března 2005, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku, ve znění vyhlášky č. 268/2001 Sb. a vyhlášky č. 444/2004 Sb., se v příloze č. 3 části 1 doplňují položky pod referenčními čísly 96 a 97 [50]:

- **Mošusový xylol** (ref. číslo 96)
 - 5-terc-butyl-1,3-dimethyl-2,4,6-trinitrobenzen
 - CAS 81-15-2
 - INCI: MUSK XYLENE
 - *oblast aplikace a/nebo použití:* všechny kosmetické prostředky kromě prostředků pro péči o dutinu ústní
 - *maximální povolená koncentrace (hmotn. %) ve finálním výrobku:*
 - a) 1,0 % v parfémeh
 - b) 0,4 % v toaletních vodách
 - c) 0,03 % v ostatních výrobcích

- **Mošusový keton** (ref. číslo 97)
 - 1-(4-terc-butyl-2,6-dimethyl-3,5-dinitrofenyl)ethan-1-on
 - CAS 81-14-1
 - INCI: MUSK KETONE
 - *oblast aplikace a/nebo použití:* všechny kosmetické prostředky kromě prostředků pro péči o dutinu ústní
 - *maximální povolená koncentrace (hmotn.%) ve finálním výrobku:*
 - a) 1,4 % v parfémeh
 - b) 0,56 % v toaletních vodách
 - c) 0,042 % v ostatních výrobcích

2.5.7 Vyhláška č. 104/2006 Sb.

Vyhláška ze dne 21. ledna 2006, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku, ve znění vyhlášky č. 268/2001 Sb., vyhlášky č. 444/2004 Sb. a vyhlášky č. 126/2005 Sb., zpracovává příslušné předpisy Evropského společenství. Upravuje hygienické požadavky na složení a vlastnosti kosmetických prostředků, jejich značení na obalu a vybavení návodem k použití, požadavky na rozsah uchovávaných údajů o kosmetických prostředcích, náležitosti žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a náležitosti žádosti o povolení přípustnosti jiných látek než těch, které jsou uvedeny v seznamech látek povolených [51].

Od 31. března 2006 je zakázáno uvádět na trh a prodej výrobků s obsahem látek, které se v příloze č. 2 doplňují pod referenčními čísly 1 133 až 1 136 a do kosmetických prostředků jsou přidávány jako vonné přísady [51, 52].

- **Olej z kořene rostliny costus, chrpovník** (ref. číslo 1 133)
 - CAS 8023-88-9
 - INCI: *Saussurea lappa Clarke*
- **7-ethoxy-4-methylkumarin** (ref. číslo 1 134)
 - CAS 87-05-8
- **Hexahydrokumarin** (ref. číslo 1 135)
 - CAS 700-82-3
- **Peruánský balzám** (ref. číslo 1 136)
 - CAS 8007-00-9
 - INCI: MYROXYLON PEREIRAE

2.5.8 Vyhláška č. 260/2006 Sb.

Vyhláška ze dne 19. května 2006, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku (vyhláška o kosmetických prostředcích), ve znění vyhlášky č. 268/2001 Sb., vyhlášky č. 444/2004 Sb. a vyhlášky č. 126/2005 Sb. a vyhlášky č. 104/2006 Sb. [53].

2.5.9 Vyhláška č. 474/2006 Sb.

Vyhláška ze dne 16. října 2006, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti

o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku (vyhláška o kosmetických prostředcích), ve znění vyhlášky č. 268/2001 Sb., vyhlášky č. 444/2004 Sb. a vyhlášky č. 126/2005 Sb. a vyhlášky č. 104/2006 Sb. a vyhlášky č. 260/2006 Sb. [54].

Kosmetické prostředky uvedené na trh, distribuované, prodávané nebo nabízené spotřebiteli přede dnem nabytí účinnosti této vyhlášky, na jejichž obalu je název ingredience uveden podle vyhlášky č. 75/2003 Sb., se považují za kosmetické prostředky, na nichž je název ingredience uveden v souladu s touto vyhláškou, a to až do doby vyprodání jejich zásob [54].

Vyhláška č. 75/2003 Sb., o stanovení názvosloví ingrediencí kosmetických prostředků, se ruší [54].

2.5.10 Vyhláška č. 448/2009 Sb.

Vyhláška ze dne 10. prosince 2009 o stanovení hygienických požadavků na kosmetické prostředky [55].

§ 2

Hygienické požadavky na vlastnosti a složení kosmetických prostředků

Kosmetický prostředek uváděný na trh musí být bezpečný pro lidské zdraví, je-li používán za obvyklých podmínek [55].

K výrobě kosmetických prostředků lze použít pouze látky, které svými vlastnostmi v koncentracích použitých v receptuře výrobku vedou k výrobě bezpečného kosmetického prostředku [55].

§ 3

Označování kosmetických prostředků a vybavené návodem k použití

Shodné s vyhláškou č. 444/2004 Sb. [55].

§ 4

Rozsah uchovávaných údajů o kosmetickém prostředku

- a) kvalitativní a kvantitativní složení výrobku [55],
- b) fyzikální, chemická a mikrobiologická specifikace surovin a konečného výrobku a kontrolní kritéria kvality a mikrobiologické čistoty kosmetického výrobku,
- c) doklady o výrobní metodě vyhovující správné výrobní praxi,
- d) zhodnocení bezpečnosti pro zdraví fyzických osob v obsahu stanoveném zákonem (§ 29. dost. 2 zákona č. 258/2000 Sb.),
- e) jméno, příjmení, adresa a kvalifikace osoby odpovědné za hodnocení bezpečnosti kosmetického prostředku,
- f) údaje o nežádoucích účincích na fyzické osoby plynoucí z používání kosmetického prostředku,
- g) důkaz o účincích, které jsou u kosmetického prostředku deklarovány, pokud to povaha účinků nebo výrobku vyžaduje,
- h) údaje o jakémkoliv zkoušení na zvířatech provedeném výrobcem, jeho zprostředkovateli nebo dodavateli.

§ 5

Náležitosti žádosti o neuvedení přísad na obalu kosmetického prostředku

V žádosti o neuvedení přísady musí být tyto údaje [55]:

- a) obchodní firma nebo název žadatele a adresa jeho sídla,

- b) přesná ingredience podle přímo použitelného předpisu Evropského společenství v oblasti klasifikace, označování a balení látek a směsí,
- c) zhodnocení bezpečnosti ingredience při použití v konečném výrobku pro lidské zdraví s uvedením toxikologického profilu ingredience, chemické struktury a hladiny expozice,
- d) předpokládané použití ingredience,
- e) podrobné zdůvodnění, proč se neuvedení požaduje,
- f) názvy všech výrobků, které obsahují danou ingredienci

§ 6

Náležitosti žádosti o povolení použití látek neuvedených v seznamech povolených látek

V žádosti o povolení použití jiných látek v kosmetickém prostředku bez těch, které jsou uvedeny v seznamech látek povolených v přílohách č. 3, 4, 6 a 7 k této vyhlášce, výrobce, dovozce uvede [55]:

- a), b), c), d) ⇒ shodné s § 5 této vyhlášky,
- e) dokumentaci obsahující skutečnosti nutné pro posouzení zdravotní nezávadnosti kosmetických prostředků, ve kterých bude navrhovaná látka použita, zejména údaje o toxicitě,
- g) technologické zdůvodnění použití látky v průběhu výroby kosmetického prostředku,
- h) množství látky použité ve výrobě a její množství v konečném kosmetickém prostředku,
- i) dostupnou tuzemskou i zahraniční dokumentaci k látce a ke kosmetickému prostředku.

2.6 Alergické reakce na kosmetické prostředky

Kontaktní precitlivělost na kosmetické přípravky je vyvolána jejich dlouhodobým a opakovaným používáním. Může být způsobena účinnou látkou i látkami pomocnými. Postiženy jsou převážně ženy, protože používají kosmetické přípravky ve větší míře než muži. Většina reakcí má povahu subjektivní sensorické iritace, ale objevují se i kontaktní iritační a alergické dermatitidy. Alergické reakce způsobují deodoranty a parfémy, tělové přípravky, vlasová, pesticí i dekorativní kosmetika, přípravky na nehty a další. Nejčastější příčinou precitlivělosti na kosmetické přípravky jsou konzervační látky a vonné složky [56, 57].

Mnohé sloučeniny nejsou samy o sobě alergenní. Jejich aktivace probíhá buď v kůži (metabolicky) nebo před stykem s kůží (autooxidace) a vznikají tak kožní senzibilizátory [58].

❖ *Nežádoucí reakce na kosmetiku* [59]

- *citlivá reaktivní kůže* – kůže nesnáší všechny druhy kosmetiky, pálí, je napjatá, bez viditelných příznaků
- *podrážděná kůže* – kůže je rudá, citlivá na dotek, na některých místech vrásčítá, ale nesvědčí
 - příčina: nevhodně zvolený výrobek (nevyhovující pro daný typ pleti)
- *alergická reakce* – kůže je rudá, na dotyk drsná, suchá nebo vlhká, intenzivní svědění

Vonné složky jsou u testovaných pacientů druhou nejčastější příčinou kontaktní alergie hned po solích niklu. Používá se více než 3 000 různých chemických látek a míra expozice je rozsáhlá. V posledních desetiletích se objevily nové vonné substance ve snaze nahradit

„klasické vonné látky“. S jejich masivnějším používáním se začíná častěji vyskytovat kontaktní senzibilizace. Navíc zavedení tzv. „*fragrance-free*“ přípravků neznámá, že přípravek neobsahuje vonné složky. Ty mohou být skryty buď ve formě konzervačního přípravku, maskovaného parfému nebo použitím rostlinných extraktů [17, 56, 60, 61].

V Evropě je 10–15 % populace citlivých na různé chemické látky. Kontaktní alergie je chronické onemocnění a je častým projevem poruchy imunitního systému. Proto je velmi důležité určit chemické alergen ve výrobcích užívaných v domácnosti, v práci [62].

2.6.1 Kontaktní alergen

Zjistit příčinu kontaktního ekzému, tj. určit kontaktní alergen, umožňují, po pečlivé anamnéze, zhodnocení klinického obrazu a průběhu, epikutánní testy. Včasná diagnostika kontaktního alergenu a jeho eliminace má pro pacienta rozhodující význam z hlediska další prognózy průběhu onemocnění. Není-li vyšetření epikutánními testy provedeno zavčas, ekzém může přejít do chronicity a mnohdy se komplikuje senzibilizací na další kontaktní alergen, resp. zpočátku monovalentní přecitlivělost přechází v oligo- či polyvalentní a často se přidává i superalergizace mikrobiální [63].

Senzibilizační potence chemikálií je různá. Ty, které senzibilizují častěji či po kratší expozici, se nazývají silné, agresivní alergen. Známé je i několik tzv. stoprocentních alergenů, které jsou schopny vyvolat alergickou reakci u každého zdravého člověka hned při prvním kontaktu. Mezi ně patří např. dinitrochlorbenzen, u něhož se uměle navozená kontaktní alergie používá jako terapeutický princip při léčbě nádorů, hlavně maligního melanomu. Dále je to difencypronem, primin, pikrylonitrit a další [64].

Spektrum kontaktních alergenů se mění v průběhu let v souvislosti se změnami technologie výroby, způsobem života apod. Mezi nejvýznamnější se řadí [63, 64, 65]:

- kovy (nikl, chrom, kobalt)
- plastické hmoty (epoxidové pryskyřice, akryláty)
- gumárenské chemikálie
- propolis
- čajovníkový olej (d-limonen a jeho oxidační produkty – carvon, limonenoxid)
- parfémy

K výrobě parfémů a k parfemaci kosmetických přípravků je využíváno kolem 200 substancí. Nejvýznamnější komponenty z dermatologického hlediska a hojně používané jsou součástí *fragrance-mix* [63, 66].

2.6.1.1 *Fragrance Mix I (FM I)*

FM I byl navržen v roce 1970. Je zařazen do Evropské standardní sady, testuje se v 8% koncentraci. Obsahuje 8 látek [17, 43, 57, 61, 63, 65, 66]:

- | | |
|----------------------|-------------|
| • cinnamyl alcohol | konc. 1,0 % |
| • cinnamal | konc. 1,0 % |
| • eugenol | konc. 1,0 % |
| • amyl cinnamal | konc. 1,0 % |
| • hydroxycitronellal | konc. 1,0 % |
| • geraniol | konc. 1,0 % |
| • isoeugenol | konc. 1,0 % |
| • Evernia prunastri | konc. 1,0 % |

❖ **Geraniol** [60, 65]

- slabý alergen, proto je hojně využíván k parfemaci výrobků
- snadno podléhá autooxidaci za vzniku alergenních produktů jako je geraniol, neral, 2,3-epoxygeraniol, 6,7-epoxygeraniol, tyto látky se řadí k mírným senzibilizátorům, naopak 6,7-epoxygeraniol je senzibilizátor silný
- lze jej nalézt ve stopovém množství v některých druzích ovoce (citrónová kůra)

❖ **Cinnamyl alcohol** [61, 65]

- mění se v kůži na cinnamal – dříve silný alergen
- dnes považován za slabý alergen
- + cinnamal – používají se jako aromatické látky, v parfémce
 - jsou obsaženy v nápojích, žvýkačkách, zubních pastách a ústních vodách

❖ **Eugenol** [65]

- obsažen v koření a hřebíčku
- používán do některých zubních past

2.6.1.2 **Fragrance Mix II (FM II)**

Skládá se ze 6 látek [43, 56, 61, 63, 67]:

• lyral	konc. 2,5 %
• citral	konc. 1,0 %
• farnesol	konc. 2,5 %
• hexyl cinnamal	konc. 5,0 %
• citronellol	konc. 0,5 %
• coumarin	konc. 2,5 %

Nejvýznamnějšími alergeny jsou lyral a farnesol [56].

❖ **Lylal** [56]

- patří mezi současné významné senzibilizátory
- jeho použití je široké – ve vodách po holení, toaletních vodách, deodorantech, antiperspirantech, pěnách do koupele, v toaletních a tekutých mýdlech, šamponech, dále v průmyslových změkčovadlech a odbarvovačích
- koncentrace v kosmetických přípravcích byla vyhodnocena IFRA jako příliš vysoká (vyšší než 3,8 %) a v dubnu 2003 byla doporučena v konečných kosmetických produktech koncentrace nižší 1,5 %
- cílová koncentrace doporučená Evropskou komisí je 0,02 %

❖ **Farnesol** [56]

- přírodní seskviterpenoalkohol, který je přítomen v řadě éterických olejů
- přidává se do deodorantů pro svoje antimikrobiální účinky a v kosmetických přípravcích bývá většinou schován pod názvem „*Parfum*“

2.6.2 **Kůže**

Kůže tvoří nejen obal lidského těla, ale i důležitý orgán s bezpočtem pro život nezbytných nebo významných funkcí. Její neporušenost představuje základní podmínku pro život všech savců. Z obecně biologického hlediska je kožní povrch předurčen k tomu, aby látky

ze zevního prostředí, působící na kůži, buď nepropustil, anebo propustil omezeně a selektivně podle jejich povahy, a to jen do úrovně bariéry. Jde tedy o omezení a zpomalení průniku do vitálních epidermálních vrstev a o ochranu kůže jako orgánu [68, 69].

Kůže vytváří na povrchu film označovaný jako „*linie prvního kontaktu*“ nebo „*první kožní bariéra*“. Je vytvářen produkty mazových, potních žláz i olupujícím a rozpadajícím se povrchem rohové vrstvy a tvoří specifické hraniční prostředí. Obsahuje aminokyseliny, volné mastné kyseliny, kyselé produkty látkové výměny, včetně kyseliny mléčné [68].

Přecitlivělost nastává při opakovaném používání výrobku na kůži, nevhodnou volbou přípravku pro daný charakter pleti. Může vzniknout různým způsobem [59]:

- a) *přímým kontaktem* – ekzém očních víček po nanesení masky
- b) *reakce na výrobek nanesený v určité vzdálenosti* – ekzém očních víček na základě použití kosmetického výrobku na jiném místě na obličeji než na očích
- c) *po dotyku rukou* – výrobek určen k používání na jiné části těla a je nechtěně aplikován na obličej nebo na krk (např. lak na nehty)
- d) *kontaktem se vzduchem* – alergen je přenášen vzduchem a dostane se do kontaktu s kůží
- e) *kontakt s jinou osobou* – reakce na výrobek nošený jinou osobou
- f) *při vystavení se slunečnímu záření* – v přítomnosti slunečního záření se molekuly, které jsou běžně dobře tolerovány, stávají „fotoalergenem“. Vyrážka vyvolaná výrobkem se vyskytuje jen v místě vystaveném slunci.

2.6.3 Kontaktní dermatitidy

Dermatitida je povrchové neinfekční zánětlivé onemocnění, u kterého se převážná většina změn odehrává v epidermis. Charakteristickými znaky bývá různě dlouhá doba trvání choroby, sklon k recidivám a pestrý klinický obraz. Významnou charakteristikou dermatitidy je polymorfie klinických projevů (makuly, papuly, vezikuly, buly aj.), jejich vývoj v čase (vývojový polymorfismus) a neostře ohraničení projevů [70].

Kontaktní dermatitidy jsou vyvolány látkami iritační povahy nebo alergickou reakcí. Patří mezi exogenně způsobené dermatózy [70].

Prevalence kontaktních dermatitid se pohybuje od 1 % do 10 %. Iritační kontaktní dermatitida (ICD) se vyskytuje asi 4krát častěji (80 %) než alergická kontaktní dermatitida (ACD) (20 %) [66, 70].

2.6.3.1 Alergická kontaktní dermatitida (*Dermatitis contacta allergica, ACD*)

Chemikálie, která navozuje alergickou imunologickou reakci, se nazývá alergenem. Při kontaktním alergickém ekzému jsou jimi většinou jednoduché anorganické a organické sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností (<1 000) a jen vzácně i cizorodé bílkoviny. Samy o sobě nejsou tyto látky imunogenní, jsou jen polovičními antigeny, tzv. hapteny. Plným alergenem schopným senzibilizace se stanou až po vazbě na příslušný bílkovinný nosič (Langerhansova buňka) histokompatibilního komplexu [58, 60, 64, 65, 68].

Organismus a kůže většinou kontakt s pronikajícími látkami toleruje a vše cizorodé je bez dalších následků přes mízní systém „odklizené“. Jedná se o *toleranci*. Teprve, když charakter cizorodé látky nebo reaktivita organismu je nepřiměřená, může dojít ke vzniku imunologicky podmíněných chorob, tedy i k alergické reakci. Teprve selhání supresorické funkce odbrzdí

celou kaskádu protilátkové odpovědi a rozvine alergickou reakci s jejími klinickými důsledky [64].

Klinický obraz kontaktního alergického ekzému je velmi pestrý a jeho intenzita a charakter změn závisí na stupni vzniklé alergie, na lokalizaci a míře expozice alergenu. Běžnou primární lokalizací jsou hřbety rukou a zápěstí, předloktí a obličej, odtud může být zanesen dotyky kontaminovaných prstů i na vzdálenější místa. Jen zcela vyjíměčně se objevuje na stranách a dlaňových partiích prstů a na dlaních [64, 70].

➤ Projevy alergie

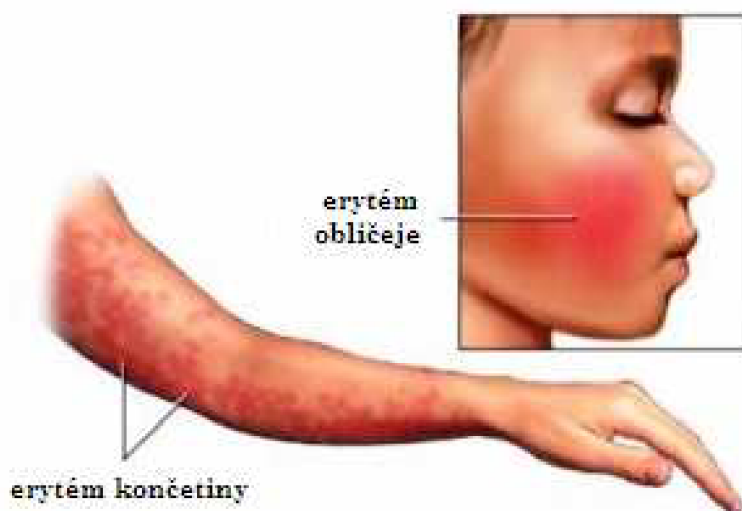
Alergické reakce vyvolané kosmetickými prostředky se může projevit různými formami [59, 64, 66]:

❖ Svědění

Svědění v místě a v okolí aplikace kosmetického výrobku ⇒ první příznak alergie.

❖ Erytém

Je to nejčastější reakce. Jedná se o zarudnutí různého rozsahu (viz. **obr. č. 4**), beze změny povrchu nebo tloušťky kůže, které mizí pod tlakem prstů.



Obr. č. 4 – Erytém [71]

❖ Ekzematid

Obvykle nazývané „lupy“, což jsou malá růžová ložiska, pokrytá značným množstvím jemných šupinek umístěných v limitovaných oblastech těla nebo jsou roztroušena po celém těle. Všeobecně příliš nesvědí a nejedná se o projev přecitlivělosti na kosmetický výrobek.

❖ Ekzém

Existuje mnoho forem ekzémů. Mezi akutním a chronickým ekzémem existují četné přechodné formy, které se někdy těžko diagnostikují.

Akutní ekzém: může se vyskytnout po aplikaci kosmetického výrobku obsahujícího molekulu zvanou „alergen“, která spustí imunologickou reakci. Po třetím nebo čtvrtém nanesení výrobku se může objevit svědění, po němž následuje vznik červené skvrny nebo plošné zarudnutí s rozvojem červených papulek velikosti špendlíkové hlavičky. U živějších postižení vznikají i papulovezikuly a na edematózním, zarudlém, horkém podkladu i vezikuly

a buly. Pokud se aplikování škodlivého produktu přeruší, na kůži se vytvoří strup, který se samovolně odloupne a zanechá novou, růžovou, jemnou ale zdravou kůži. V případě pokračující aplikace alergizujícího výrobku ekzém nabývá stále akutnější podobu, stále více mokvá, roste a šíří se i mimo místo aplikace.

Chronický ekzém: při novém kontaktu s alergenem může aktivizovat a zesílit svědění. Na rozdíl od akutního ekzému nikdy nemokvá, povrch kůže je suchý, zhrublý a popraskaný. Vyznačuje se červenohnědou, neostře ohraničenou plochou s hyperkeratózou. Je velmi svědivý, škrábání postižených částí kůže má za následek zhrubnutí označované jako „lichenifikace“.

❖ **Kopřivka**

Jedná se o rudá, edematózně vyčnívající ložiska různé velikosti (viz. **obr. č. 5**). Nejčastěji se vyskytují v místě aplikace kosmetického přípravku, málokdy jsou rozšířeny po celém těle. Kopřivku provází intenzivní svědění. Může zmizet spontánně v průběhu několika hodin, v případě pokračující aplikace se může dále rozšiřovat.



Obr. č. 5 – Kopřivka [72]

❖ **Pigmentace**

Charakteristická je změna barvy kůže, která ztmavne. Stejně tak se může vyskytnout i pigmentace nehtů.

↗ **Hodnocení ACD**

Alergická reakce má morfologický vzhled i dynamiku ekzému, postupně zesiluje od negativy při prvním čtení, svědí a šíří se do okolí testovaného pole. Hodnotí se takto (viz. **tabulka č. 2**) [64]:

Tabulka č. 2 – Hodnocení alergické kontaktní dermatitidy [64, 66]

+	++	+++	++++
erytém	papulky	papulovezikuly, drobné vezikuly a edém	puchýř a mokvání

➤ Léčba ACD

Základem léčby je eliminace kontaktu s příčinným alergenem. Doporučuje se při zahájení léčby jeho odstranění pečlivým osprchováním. Kůži je vhodné chránit před dráždivými nespécifickými vlivy – detergenty, slunečním zářením, chladem či sálavým teplem, pocením, zapařujícími obvazy. Indikovány jsou lokální kortikosteroidy, výběr je určen klinickým obrazem, lokalizací a stadiem choroby [70].

➤ Fotokontaktní alergický ekzém

Fotokontaktní alergický ekzém je zvláštní formou kontaktního alergického ekzému, který k rozvinutí imunologické či alergické reakce vyžaduje navíc i UV záření. Vyvolávající látka – fotoalergen – je prohaptenem, který se účinkem světla v kůži chemicky mění na haptén a teprve pak může navodit imunologický děj a senzibilizaci [64, 70].

K fotokontaktním alergenům patří: fenothiatinové deriváty, halogenované salicylanilidy, kyselina *p*-aminobenzoová a *p*-aminosalicylová, antihistaminika, sulfonamidy, blankofory (optické zjasňovací přísady přidávané do papíru), eosin, parfemace v kosmetických přípravcích, v pracích prostředcích a saponátech [64, 66, 70].

2.6.3.2 Iritační kontaktní dermatitida (*Dermatitis contacta irritativa, ICD*)

Je exogenním, toxicky vyvolaným, akutním, subakutním a chronickým, převážně epidermálním zánětem kůže, ohraničeným výlučně na místo působení škodliviny. Postihuje všechny oblasti lidské činnosti, všechny věkové skupiny [64].

Iritativní dermatitidu vyvolávají přímo a neimunologicky primární iritancia (buněčné jedy) fyzikální, chemické a biologické povahy se širokým rozmezím dráždivého účinku. Reakce závisí na řadě exogenních faktorů (koncentraci látky, době působení, chemických vlastnostech, pH atd.) a na stavu kůže. Přesto vzniklá ekzematoidní reakce je jednoduchou, morfologicky i patofyziologicky příliš nekomplikovanou dermatitidou (*dermatitis simplex*) [64, 66, 70].

Může působit akutně, subakutně i chronicky. Charakteristické je ostré ohraničení na místo působení škodliviny a monomorfní obraz dermatózy. Postižení pociťují píchání, bodání, spíše palčivost než svědění [64, 66, 70].

- ✦ **Akutní forma:** exsudativně zánětlivá složka – erytém, papulky, vezikuly, buly, edém [64,70].
- ✦ **Chronická forma:** projevy skvamózně-hyperkeratotické, lichenoidní, ragadiformní, hnědé až nafialovělé barvy, více či méně pigmentované [64, 66, 70].

Pokud je škodlivina velmi agresivní, na kůži může vyvolat poleptání, nekrózy a ulcerace. Mezi nejčastější primární iritancia zařazujeme [64, 66, 70]:

- ✦ **chemická** – organická rozpouštědla, minerální oleje, chladicí a řezné kapaliny při obrábění kovů, mýdla, detergenty, domácí, úklidovou a automobilovou kosmetiku, vnitřnosti zvířat, ovoce, zeleninu, enzymy, slabé kyseliny, zásady a další
- ✦ **fyzikální** – ultrafialové, infračervené, rentgenové záření, laser, práce ve vlhku, horku, chladu, silné proudění vzduchu

- ✘ **mechanická** – *mechanická dermatitida* – mikrotraumata, tlak, tření, vibrace, vlivy ze zaměstnání, domácího prostředí, zálib a faktory ekologické dermatitidy
- ✘ **biologická** – mikroby, rostlinné a živočišné šňávy

Primární iritancia penetrují do kůže, reagují přímo chemicky s keratinocyty, rozpouštějí, extrahují důležité složky povrchu epidermis a vcelku poškozují buněčné ekvilibrium a homeostázu [64].

↗ **Hodnocení ICD**

Iritační, toxická reakce vzniká nedostatečným ředěním některých hmot nebo zvýšenou dráždivostí kůže vyšetřovaného, pro vyhodnocení alergie je bezcenná. Má morfologii a dynamiku rozvoje jako každá akutní iritativní dermatitida. Vzniká záhy a v průběhu odečítání testů slábne a odeznívá. Zůstává omezena na místo aplikace testů a nešíří se. Slabá reakce nečiní nemocnému potíže, silnější pálí až bolí. Jednotlivé stupně jsou značeny takto (viz. *tabulka č. 3*) [64]:

Tabulka č. 3 – Hodnocení iritační kontaktní dermatitidy [64, 66]

+	++	+++	++++
erytém	erytém a edém	vezikula až bula	nekróza

↗ **Léčba ICD**

Léčení se neliší od ostatních dermatitid, základním předpokladem je odstranění zjevných i možných (potenciálních) příčin iritace, dodržovat zásady fyziologického čištění kůže, používat regenerační prostředky a ochranné pomůcky. K preventivnímu ošetřování vysušené, drsné a popraskané kůže jsou vhodné mastné krémy typu v/o [66, 70].

↗ **Akutní toxická dermatitida (*dermatitis toxica acuta*)**

Akutní poleptání je úrazový děj, kdy dochází k poleptání kůže silnými anorganickými kyselinami, nebo zásadami, které mohou vytvořit nekrózy a ulcerace. Jako první pomoc se doporučuje kromě okamžitého omytí také neutralizace vyvolávajících látek. Popáleniny z kyselin by se měly neutralizovat např. jedlou sodou, v případě poleptání alkáliemi ředěným octem [70].

↗ **Dermatitis fototoxica**

Patří mezi tzv. fotodermatózy. Je vyvolána látkami s fototoxickým (fotodynamickým) účinkem v kombinaci s ultrafialovým zářením. Pro reakci je typický výskyt v místě kontaktu vyvolávající látky vystavené UV záření (lokální působení) nebo při systémovém podávání následkem hematogenního rozsevu v solární lokalizaci (obličej, uši, krk, dekolt, hřbety rukou) [70].

Fotodynamický účinek (tzn. prosté, imunologicky nepodmíněné zvýšení citlivosti kůže na UV záření) projevuje celá řada zevně i vnitřně působících látek [70]:

- dehet, rivanol, éterické oleje, parfémy obsahující bergamotový olej, furokumariny, porfyriny, sulfonamidy, tetracyklinová antibiotika

2.6.4 Epikutánní testy

Epikutánní testy (ET) slouží ke zjišťování kontaktní alergické dermatitidy. Spočívají v aplikaci podezřelé substance na kůži zad na 48 hodin, odečítání probíhá ještě po dalších 24 a 48 hodin [66, 73].

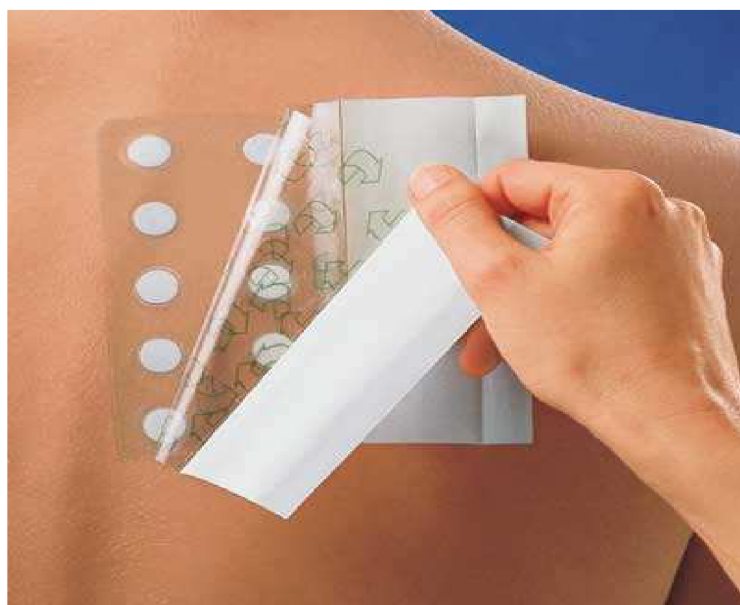
Testovací materiál je připravován průmyslově. Obsahuje celkem 10 kruhových papírových, plst'ových, hliníkových terčíků (komůrkové testy) s vnitřním průměrem 8 mm na hypoalergenní náplasti (viz. *obr. č. 6*). Obvyklý počet v jednom setu je 10 testovacích polí [73].

Standardní sady alergenů jsou dodávány v injekčních stříkačkách, což usnadňuje manipulaci s nimi. Aplikují se přímo na testoplast. Jejich koncentrace je obvykle udávaná v procentech. Každý alergen je rozpuštěn v inertním vehikulu, nejčastěji ve vazelině. Tekutými vehikuly bývají voda, olej, aceton, ethanol, užívají se obvykle pro alergy donesené pacienty. U komůrkových testů se aplikují na filtrační papír [73].

Každý pacient je testován standardní sadou, která obsahuje nejčastější alergy. Je revidována a průběžně doplňována mezinárodními komisemi pro kontaktní alergii o alergy, u kterých stoupá senzibilizace za určité období v určitém regionu. Evropská standardní sada se začala používat v České republice od roku 1994. Její poslední revize byla provedena ICDRG (*International Contact Dermatitis Research Group*) v roce 2006 [73].

Mix testy jsou směsi několika chemikálií podobné chemické struktury nebo použití. V současné standardní evropské sadě je 5 mix testů. Jedná se o součásti procesu vulkanizace gumy (thiuram mix, mercapto mix), parabeny mix, fragrance mix – voňavková směs obsahující 8 alergenů, a sesquiterpenelacton mix [73].

Je vždy nezbytné podrobně vědět, jakou látku a v jaké koncentraci lze testovat. Iničiální koncentrace se obvykle pohybuje mezi 0,1 do 1 %, ale někdy i níže. Některé látky běžného denního užití (např. kosmetika) se testují neředěné. Netestují se látky s extrémními hodnotami pH a látky neznámého složení (jedy), které se mohou vstřebat kůží a vyvolat intoxikaci [73].



Obr. č. 6 – Epikutánní testy [74]

2.6.4.1 *Hodnocení reakcí v ET*

V ET se můžou objevit dva základní typy reakcí, alergická a toxická (iritační). Někdy bývá obtížné je od sebe odlišit [73].

Doporučená odečítací škála je [73]:

?	nejasná reakce, lehký erytém
+	erytém, infiltrace, ojediněle papuly
++	předcházející + četné papuly a vezikuly
+++	předcházející + buly a mokvání
-	negativní reakce

Vyvolání alergické reakce je cílem vyšetření. Kromě uvedené odečítací škály pozitivní reakce se posuzují další charakteristiky reakce [73]:

- neostře ohraničení reakce v testovacím poli
- reakce „dobíhají“
- vývoj reakce je pomalejší, zesilují (crescendo typ) nebo přetrvávají ve stejné intenzitě (plateau) během odečítacích dnů.

Pozitivní reakce iritačního typu bývá způsobena zvýšenou dráždivostí kůže nebo příliš vysokou koncentrací testované látky a má následující typické znaky [73]:

- reakce je ostře ohraničená na testovací pole
- klinicky se jedná o decentní erytém, puchýř, nekróza
- reakce přetrvává krátkou dobu
- reakce zeslabuje, popř. vymizí (decrecendo typ) během odečítacích dnů.

2.6.4.2 *Komplikace ET*

Komplikace se vyskytují zřídka. Mezi nejzávažnější se řadí **anafylaktický šok** (po některých antibioticích – neomycin, gentamycin). Může se objevit krátce po přiložení ET [64, 73].

K častějším komplikacím patří **hyperergická reakce** např. po peruánském balzámu, propolisu apod., kdy se reakce značně šíří do okolí [64, 73].

Ložisková reakce znamená zhoršení nebo recidivu ekzémových projevů v místě klinických projevů ekzému po přiložení epikutánních testů a je důkazem toho, že testovací sada obsahovala příčinný alergen [64, 73].

2.6.4.3 *Klasický uzavřený ET*

Provádí se na klinicky zdravé kůži zad po jejím odmaštění etherem nebo alkoholem. Testy se přikládají cca 10 cm pod poslední krční obratel a místa nad hrudními obratli se vynechávají. Alergeny jsou obvykle ponechány v kontaktu s kůží 48 hodin (u očekávaných silných reakcí jen 24 hodin, u pevných látek a látek se špatným průnikem do kůže naopak až 72 hodin). První odečet reakcí následuje po 48 hodinách, další po 4–8 dnech od nalepení testů. Odečty musí být minimálně dva [64, 73].

Testoplasty – v centru mezikruží z celofánu nebo měkčeného PVC je na lepidlo náplastí upevněn vlastní nosič alergenu – vrstva plátna, netkaný textil, filtrační papír [64].

Komůrkové testy – neprodyšně uzavřené testy okrajovým vyvýšením kruhového výlisku z hliníkového plíšku nebo z polypropylenu. Centrální prohlubeň výlisku se vyplní alergenem [64].

Reakce jsou hodnoceny zrakem. Nesmí dojít k dotyku, aby alergen ulpěl na prstech nebyl přenesen na jiná místa zad a do dalších testů [64].

2.6.4.4 Skarifikační ET

Techniku tohoto testu vyžadují alergeny s velkou molekulou a zhoršenou pronikavostí do kůže. Jsou to sulfoamidy, neomycin, srst, maso, vejce, zelenina aj. ET se přiloží na místo, které bylo před tím lehce poškrábáno několika tahy hrotu injekční jehly [64, 73].

2.6.4.5 Fotosenzibilizační ET

U tzv. fotoalergického kontaktního ekzému nebo fotoalergického lékového exantému se rozvíjí alergická reakce až za účasti UV záření. Prostý ET bez následného ozáření by vedl k falešně negativnímu hodnocení. Test se provede dvojmo – jeden z testů slouží jako kontrolní, druhý se podrobí ozáření. Pozitiva obou testů značí prostou kontaktní alergii, pozitiva jen ozářeného testu fotoalergii [64, 73].

2.6.4.6 Otevřený ET

Je používán při testování látek neznámého složení a účinku, při vyšetřování osob s očekávanou silnou alergií či při hrozbě anafylaktického šoku [64, 66, 73].

Alergeny rozpuštěné nejlépe v těkavém rozpouštědle (aceton, líh, benzen) se kápnou na kůži břicha nebo zad a nechají se zaschnout. Kontroluje se časná reakce a dále pak ve stejných intervalech jako uzavřený test. Metoda umožňuje určit snadno práh alergologické koncentrace i toxické koncentrace a včas zasáhnout při narůstající toxické reakci či hrozbě anafylaxe [64, 73].

2.6.4.7 Iontoforetický ET

Metoda vychází z předpokladu, že při stejné intenzitě proudu a době aplikace se dostane do epidermis na standardní ploše stejné množství látky z roztoku o dané molární koncentraci [64].

Aktivní elektroda o rozměru 1 cm² se přikládá na kůži přes několik vrstev filtračního papíru napuštěného roztokem alergenu. Větší indiferentní elektrodu drží nemocný v gáze smočené vodovodní vodou ve dlaní. Doba aplikace je 20–90 sekund proudem o intenzitě 0,3–0,5 mA/cm² podle alergenu. Elektrický náboj alergenu rozhoduje o tom, zda se látka aplikuje z anody či katody [64, 73].

2.6.4.8 Bukální test

Používá se pro průzkum alergenu podezíraného z vyvolání kontaktního alergického ekzému v dutině ústní, pokud ET na zádech nedal pozitivní reakci a podezření na jeho působení stále trvá. Provádí se na bukání sliznici, na níž se přidrží malá částička podezřívajícího léku nebo tampón zvlhčený roztokem látky v alergologické koncentraci po dobu 20–30 minut. Pozitivní reakce se projeví do 24 hodin jako erytém, edém až puchýřky [64].

2.7 Analýza vonných látek

Způsob izolace stanovované látky závisí na jejím charakteru. Vzhledem k tomu, že je legislativou dána maximální možná koncentrace v kosmetickém prostředí (100 mg·kg⁻¹ u smývateľných výrobků, 10 mg·kg⁻¹ u nesmývateľných výrobků), je nutné vyvinout analytické metody, které jsou schopné identifikovat a kvantifikovat nízké hladiny těchto látek [53].

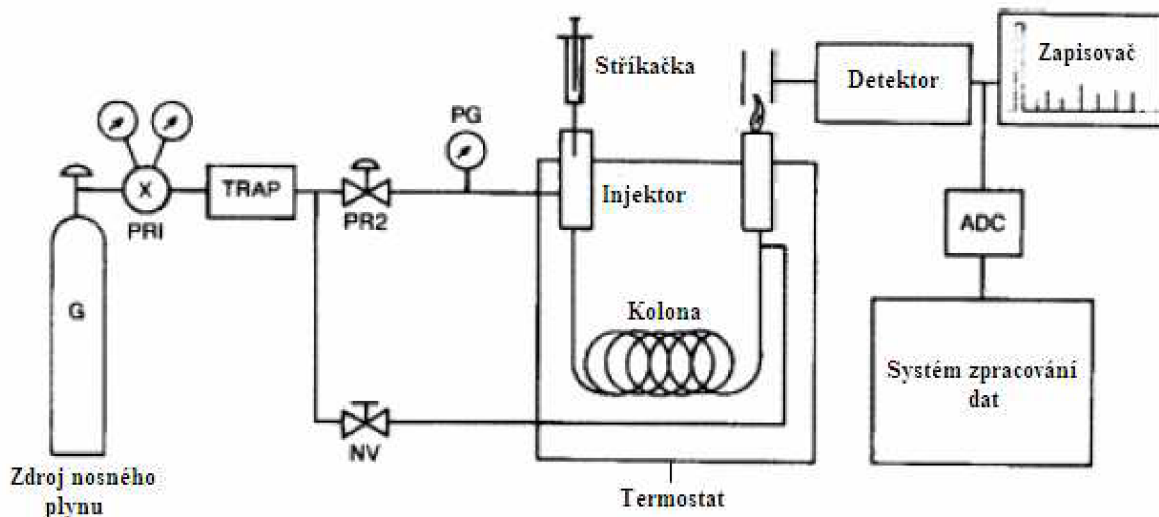
K analýze se používají metody klasické i vysoce účinné chromatografické, zvláště plynová chromatografie (GC), kapalinová chromatografie (HPLC). K vlastnímu důkazu či stanovení se používají spektroskopické metody, z nichž je nejvýznamnější nukleární magnetická rezonance (NMR) [1].

2.7.1 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie (viz. *obr. č. 7*) se používá ke stanovení složek v plynných, kapalných i pevných vzorcích. Pro nutnost přeměny analytů v plyny se mohou separovat takové látky, které mají dostatečný tlak syté páry, jsou tepelně stálé a mají relativní molekulovou hmotnost menší než 1 000. Aplikační oblast je široká. Obecně může být použita k separaci plynů, většiny nedisociovaných kapalin, pevných organických molekul a mnoha organokovových látek. Není použitelná pro separaci makromolekul, organických a anorganických solí. Dále je využívána při stanovení organických látek v potravinářském průmyslu, při analýze polutantů životního prostředí, při stanovení reziduí polychlorovaných bifenylnů, herbicidů, atd. [75, 76].

Principem je distribuce složek mezi dvě fáze – mobilní (plynou) fází a stacionární (pevnou nebo kapalnou) fází. Používá se k dělení a následnému stanovení plynů, kapalin a látek s bodem varu zhruba do 400 °C. Protože složky jsou vždy separovány v plynné fázi, musí být definovaným způsobem vypařovány. Při vypařování se látky nesmí rozkládat a teplota 400 °C představuje horní teplotní limit většiny běžných plynových chromatografů [75].

Mobilní fáze – nosní plyn stále prochází kolonou naplněnou sorbentem. Do nástřikové komory, do proudu nosného plynu se nastříkne injekční stříkačkou vzorek. Jednotlivé složky vzorku jsou separovány na základě rozdílných interakcí se stacionární fází a jsou postupně vymývány (eluovány) inertním nosným plynem. Ten slouží pouze k transportu složek kolonou, sám neinteraguje se separovanými složkami stacionární fáze (nerozpouští se v ní). Aby se dosáhlo rychlého odpařování vzorku, je nástřiková komora vyhřívána. Z ní jsou vzorky unášeny do kolony, která je umístěna v termostatu. V koloně dochází k separaci vzorku na jednotlivé složky a ty postupně vycházejí z kolony a vstupují do detektoru. Signál odpovídající jejich obsahu je samočinně registrován jako funkce času a objemu [75, 77].



Obr. č. 7 – Schéma plynového chromatografu [78]

K analýze vonných a chuťových látek se využívá zejména plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem (GC-FID), plynová chromatografie s hmotnostní detekcí (GC-MS) nebo orthogonální dvourozměrná plynová chromatografie (GC×GC) [1, 79].

2.7.1.1 GC-FID

Plamenově ionizační detektor má výhodnou mez postřehu pro organické sloučeniny (až 10^{-11} molu). Je velmi málo citlivý pro vzácné plyny, vodík, dusík, kyslík, chlor, amoniak, sulfan, vodu, sloučeniny uhlíku bez vazeb C-H (CO, COS, CS₂), ale také -CO- v ketonech. Mezi jeho výhody patří výborná stabilita signálu, rychlá odezva, malý efektivní objem [77].

Nedetekuje anorganické páry a plyny. Odezva detektoru roste s počtem uhlíkových atomů poskytujících ionty CHO⁺ a klesá s přítomností heteroatomů v molekule. Proto je velmi citlivý na uhlovodíky [76].

❖ Analýza alergenních vonných látek pomocí GC-FID:

✘ Rastogi a kol. identifikoval v *deodorantech* tyto látky [80]:

Linalool, Benzyl alcohol, Citronellol, Geraniol, Hydroxycitronellal, Cinnamal, Cinnamyl alcohol, Eugenol, α -Isomethyl ionone, Isoeugenol, Lilial, Coumarine, Lylal, Hexyl cinnamal, Benzyl benzoate, Benzyl salicylate, Amyl cinnamal, Piperonal, Linalyl acetate, Hedione, Benzyl acetate

2.7.1.2 GC-MS

Je obtížné postihnout skutečnou aplikační šíři této analytické techniky, jež pronikla snad do všech oblastí chemické analýzy. V zásadě je aplikovatelnost GC-MS omezena pouze požadavkem dostatečné těkavosti analyzovaných látek [81].

Metoda GC-MS se často používá pro objektivní hodnocení vůní a chutí, jejichž nositelem jsou velmi často právě těkavé látky. Největší rozšíření zaznamenala tato technika v analýze organických látek. Významné využití má i v medicíně, biochemii při sledování léků, drog a jejich metabolitů v tělních tekutinách. Proto tvoří v současnosti standardní analytickou metodu dopingových a toxikologických laboratoří. GC-MS je široce využívána v oblasti

analýzy životního prostředí – stanovení ropného znečištění ve vodách, určení obsahu pesticidů ve tkáních zvířat apod. [81, 82].

❖ **Analýza alergenních vonných látek pomocí GC-MS:**

- ✗ Niederer a kol. identifikoval v **krému na ruce** tyto látky [30]:
Limonene, Linalool, Benzyl alcohol, Citronellol, Methyl 2-octynoate, Geraniol, Citral, Hydroxycitronellal, Cinnamal, Anisyl alcohol, Cinnamyl alcohol, Eugenol, α -Isomethyl ionone, Isoeugenol, Lilial, Coumarine, Amylcinnamyl alcohol, Farnesol, Lyril, Hexyl cinnamal, Benzyl benzoate, Benzyl salicylate, Benzyl cinnamate, Amyl cinnamal
- ✗ Rastogi a kol. stanovil ve **vonném koncentrátu** následující látky [83]:
Geraniol, Hydroxycitronellal, Methyl eugenol, Linalool, Anisyl alcohol, Benzyl benzoate, γ -Methyl ionone
- ✗ Mondello a kol. zjistil v **parfému** níže uvedené látky [18]:
Limonene, Linalool, Citronellol, Geraniol, Citral (neral, geranial), Hydroxycitronellal, Cinnamyl alcohol, Eugenol, α -Isomethyl ionone, Coumarine, Hexyl cinnamal
- ✗ Lamas a kol. určil
 - v **hydratačním krému** tyto látky [35]:
Pinene, Limonene, Linalool, Citronellol, Geraniol, α -Isomethyl ionone, Lilial, Coumarine, Hexyl cinnamal, Benzyl salicylate
 - v **plet'ové vodě** následující látky [35]:
Pinene, Limonene, Linalool, Benzyl alcohol, Citronellol, Citral, Hydroxycitronellal, Cinnamyl alcohol, Eugenol, α -Isomethyl ionone, Coumarine, Hexyl cinnamal
 - v **krému proti vráskám** níže uvedené látky [35]:
Pinene, Limonene, Eugenol, Isoeugenol
 - v **krému na ruce** tyto látky [35]:
Limonene, Benzyl alcohol, Citronellol, Geraniol, Citral, Eugenol, Methyl eugenol, α -Isomethyl ionone, Isoeugenol, Lilial, Hexyl cinnamal, Benzyl benzoate
 - v **krému na opalování** tuto látku [35]:
Citral
- ✗ Steinemann a kol. identifikoval v **osvěžovači vzduchu** níže uvedené látky [84]:
Limonene, Acetaldehyde, Benzyl acetate, 2,7-dimethyl-2,7-octanediol, Acetone, Hexanal, 1-methyl-4-(1-methylethyl)-cyclohexane, *o*, *m* nebo *p*-Cymene, α -Pinene, Ethanol, 3-hexen-1-ol, 4-tert-butylcyclohexyl acetate, Carene isomer, Citronellyl acetate, Ethyl butanoate, 2,4-dimethyl-3-cyclohexene-1-carboxaldehyde, Allyl heptanoate
- ✗ Leijns a kol. stanovil v **parfému** následující látky [25]:
Limonene, Linalool, Benzyl alcohol, Citronellol, Methyl 2-octynoate, Geraniol, Citral, Hydroxycitronellal, Cinnamal, Anisyl alcohol, Cinnamyl alcohol, Eugenol,

α -Isomethyl ionone, Isoeugenol, Lilial, Coumarine, Amylcinnamyl alcohol, Farnesol, Lyrál, Hexyl cinnamal, Benzyl benzoate, Benzyl salicylate, Benzyl cinnamate, Amyl cinnamal

2.7.1.3 GC×GC

Orthogonální dvourozměrná plynová chromatografie (GC×GC) se skládá ze dvou dimenzí [83]:

1. dimenze – dlouhé nepolární kolony
– separace dle tenze par
2. dimenze – úzké krátké polární kolony
– separace dle polarity

Dobré uplatnění nachází ve spojení s hmotnostní detekcí (GC×GC-MS) anebo s plamenově ionizačním detektorem (GC×GC-FID) [83].

❖ *Analýza alergenních vonných látek pomocí GC×GC-MS:*

- ✦ Chaintreau a kol. identifikoval ve *vonném koncentrátu* tyto látky [83]:
Geraniol, Hydroxycitronellal, Methyl eugenol, Linalool, Anisyl alcohol, Benzyl benzoate, γ -Methyl ionone

❖ *Analýza alergenních vonných látek pomocí GC×GC-FID:*

- ✦ Shellie a kol. stanovil ve *vonném koncentrátu* níže uvedené látky [83]:
Linalool, Anisyl alcohol, Benzyl benzoate, γ -Methyl ionone
- ✦ Dunn a kol. určil v *osvěžovači vzduchu* následující látky [20]:
Limonene, Geraniol, Hydroxycitronellol, α -Isomethyl ionone, Eugenol, Cinnamyl alcohol

2.7.1.4 DC-STE-GC-MS

DC-STE-GC-MS (*Direct Contact Sorptive Tape Extraction–Gas Chromatography–Mass Spectrometry*) je metoda založená na přímém kontaktu sorpční pásky s kůží potřenou zkoumaným kosmetickým výrobkem např. krémem. Jde o extrakci daného prostředku na sorpční pásku a následnou tepelnou desorpci v plynovém chromatografu ve spojení s hmotnostní detekcí. Jedná se o účinnou techniku pro odběr vzorků z pevných biologických povrchů, pro přímé a nepřímé určení propustnosti kůže při kontaktu s kosmetickým prostředkem a jinými látkami [36].

❖ *Analýza alergenních vonných látek pomocí DC-STE-GC-MS:*

- ✦ Sgorbini a kol. identifikoval v *krému* tyto látky [36]:
Citronellol, Geraniol, Cinnamal, Anisyl alcohol, Eugenol, α -Isomethyl ionone, Isoeugenol, Lilial, Coumarine, Hexyl cinnamal, Amyl cinnamal, Neral, Methyl eugenol, Cinnamyl alcohol,

2.7.2 Mikroextrakce tuhou fází

Mikroextrakce tuhou fází (SPME) je jednoduchá a účinná sorpčně-desorpční technika zakoncentrování analytu, která nevyžaduje rozpouštědla nebo komplikované aparatury

(viz. **obr. č. 8**). Principem je expozice malého množství extrakční fáze nadbytkem vzorku. Analyty jsou sorbovány na SPME vlákne dokud není dosaženo rovnováhy. Ta je ovlivněna i typem a tloušťkou polymeru, který pokrývá křemenné vlákno. Nejčastěji se používají vlákna z divinylbenzenu (DVB), polydimethylsiloxanu (PDMS), carboxenu (CARTM) anebo jejich kombinace [79, 85].

Obecně platí, že těkavější látky vyžadují silnější vrstvu polymeru a slabší vrstva je účinnější pro sorbci středně těkavých látek. Množství extrahovaného analytu závisí na hodnotě rozdělovacího koeficientu. Doba extrakce je určena analytem s nejvyšší distribuční konstantou, která vzrůstá s jeho rostoucí molekulovou hmotností a bodem varu [85].

Metoda dává lineární výsledky v širokém koncentračním rozsahu. Volbou vhodného typu vlákna se dosáhne reprodukovatelných výsledků i pro nízké koncentrace analytů. SPME lze kombinovat s plynovou chromatografií, vysokouúčinnou kapalinovou chromatografií, kapilární elektroforézou nebo hmotnostní spektrometrií. Je hojně využívána v potravinářském průmyslu při stanovení chutí a vůní. V klinickém odvětví je vhodná pro určení reziduí drog v krvi, moči [79, 85, 86].

K výhodám této metody patří rychlost, jednoduchost, vysoká citlivost, selektivita, nízké náklady, reprodukovatelnost, naopak k nevýhodám se řadí omezená životnost, nevhodnost pro malé těkavé molekuly, křehkost SPME vlákna [79, 87, 88]



Obr. č. 8 – SPME [87]

Existují dva extrakční módy SPME [88]:

❖ **DI-SPME** (*Direct Immersion* – přímé ponoření)

- vlákno je ponořeno přímo do vzorku
- rovnováha se ustanovuje mezi množstvím analytu na vlákne a v roztoku
- vhodné pro netěkavé látky
- může docházet k poškození vlákna vlivem působení vysoké koncentrace NaCl nebo extrémního pH

❖ **HS-SPME** (*Headspace*)

- vlákno je umístěno v prostoru nad vzorkem ⇔ *headspace prostor*
- rovnováha se ustanovuje mezi množstvím analytu na vlákne, ve vzorku a plynnou fází nad ním
- vhodné pro středně těkavé až těkavé látky

Lze použít v kombinaci s hmotnostní detekcí, ale i s plamenově ionizačním detektorem.

2.7.2.1 SPME-GC-FID

❖ *Analýza alergenních vonných látek pomocí SPME-GC-FID:*

- ✦ Chen a kol. identifikoval v *šampónu* tyto látky [89]:
Linalool, Hedione, Benzyl acetate, Undercavertol, 2-Fenylethyl isobutyrate, Allyl heptanoate

2.7.2.2 HS-SPME-GC-MS

Pomocí headspace mikroextrakce tuhou fází a GC-MS (HS-SPME-GC-MS) lze identifikovat látky, které se uvolňují z obalového materiálu kosmetického výrobku. Studují se interakce mezi výrobkem a obalem, které mohou mít vliv na změny organoleptických vlastností prostředku a vlastností obalu [90].

❖ *Analýza alergenních vonných látek pomocí HS-SPME-GC-MS:*

- ✦ Ortiz a kol. stanovil
 - v *šampónu* následující látky [90]:
Methyl cyclopentene, Allyl hexanoate, 3,7-Dimethyl-3-octanol, β -Linalool, Limonene, *trans*-Rose-oxide, Isoterpinolene, *cis*-Geraniol, Phenylethyl alcohol, Cyclamal, *p*-Anisaldehyde, Lilial, Phenoxy ethanol, 4-Hexenyl benzene, Hexyl cinnamaldehyde, Benzoic acid, Benzyl-3-hydroxypropanoate, 4-Hexen-1-ol, Methoxy ethane, 2-Methyl-6-methylene-2-octanol
 - v *lubrikačním gelu* níže uvedené látky [90]:
Limonene, Eucalyptol, *p*-Cymene, *p*-Menthone, Menthofurane, α -Bourbonene, Menthol, Piperitone, Carvone, Carveol acetate, *trans*-Carveol, *p*-Anisaldehyde, Caryophyllene, Terpinene, Dihydrocarveol, *p*-Propenylanisole, *p*-Menthene

2.7.3 RP-HPLC-DAD

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie s obrácenými fázemi v kombinaci s detektorem diodového pole (RP-HPLC-DAD) účinně detekuje těkavé látky obsažené v parfémeh. Jedná se o jednoduchou, rychlou, ekonomicky výhodnou a spolehlivou metodu pro analýzu složitých matric kosmetických prostředků [5].

❖ *Analýza alergenních vonných látek pomocí RP-HPLC-DAD:*

- ✦ Villa a kol. identifikoval
 - v *repelentu* tyto látky [5]:
Linalool, Citronellol, Geraniol, Citral, Eugenol, Coumarine
 - v *masážním oleji* níže uvedené látky [5]:
Linalool, Citronellol, Geraniol, Citral, Benzyl benzoate
 - v *hydratačním krému* následující látky [5]:
Limonene, Linalool, Citronellol, α -Isomethyl ionone, Lilial, Benzyl salicylate
 - ve *vlasovém kondicionéru* tyto látky [5]:
Limonene, Linalool, Geraniol, Lilial, Hexyl cinnamal, Benzyl salicylate, Amyl cinnamal

2.7.4 MEEKC

Mikroemulzní elektrokinetická chromatografie (MEEKC) slouží k rychlému a selektivnímu stanovení 18 alergenních vonných látek z celkových 24 sloučenin

ustanovených evropskou směrnicí. Hlavní výhodou je levná instrumentace a užití malého množství rozpouštědel [24].

❖ **Analýza alergenních vonných látek pomocí MEEKC:**

✘ Furlanetto a kol. stanovil

- v *šampónu* tyto látky [24]:

Linalool, Benzyl alcohol

- ve *sprchovém gelu* níže uvedené látky[24]:

Linalool, Citronellol, Eugenol, Coumarine

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem experimentální části této diplomové práce bylo validovat metodu HS-SPME-GC-FID pro stanovení vybraných alergenních vonných látek a aplikovat ji na spektrum reálných vzorků kosmetických výrobků.

3.1 Laboratorní vybavení

3.1.1 Chemikálie

❖ **STANDARDY**

× ***Amylcinnamyl alcohol***

Čistota: $\geq 85 \%$

Výrobce: Fluka Analytical SIGMA-ALDRICH Chemistry, GERMANY

× ***Benzyl alcohol***

Čistota: 99 %

Výrobce: Alfa Aesar A Johnson Matthey Company, GERMANY

× ***Cinnamyl alcohol***

Čistota: 98 %

Výrobce: Alfa Aesar A Johnson Matthey Company, GERMANY

× ***Coumarin***

Čistota: 98 %

Výrobce: Alfa Aesar A Johnson Matthey Company, GERMANY

× ***Lylal***

Čistota: $\geq 97 \%$

Výrobce: ALDRICH Chemistry SIGMA-ALDRICH Chemistry, GERMANY

× ***α -Isomethyl ionone***

Čistota: $> 85 \%$

Výrobce: Fluka Analytical SIGMA-ALDRICH Chemistry, GERMANY

❖ **ROZPOUŠTĚDLO**

× ***Heptan***

Čistota: 99 %

Výrobce: SIGMA-ALDRICH Chemistry, GERMANY

3.1.2 Přístroje a pomůcky

- × Plynový chromatograf TRACE GC 2 000 (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie)
- × Vodní lázeň Julabo TW12
- × Analytické digitální váhy GR-202-EC, HELAGO, Itálie
- × Počítač PC Intel Celeron CPU, systém Microsoft Windows XP Profesional 2002
Program Chrom-Card
- × Chladnička Amica, model AD 250
- × SPME vlákno se stacionární fází Carboxen/Polydimethylsiloxan (CARTM/PDMS)
o tloušťce 85 μm , SUPELCO

- × Automatické mikropipety: Biohit Proline 0,5–10,0 μl
 Biohit Proline 10,0–100,0 μl
 Biohit Proline 100,0–1 000,0 μl
 Biohit Proline Plus 0,1–3,0 μl
 Labsystems Finnpiquette 0,2–2 μl
 Gilson Pipetman 2,0–20 μl
- × Vialky o objemu 4 ml se šroubovacím uzávěrem a septem
- × Držák, stojan
- × Běžné laboratorní sklo, špachtle, parafilm, injekční stříkačka

3.2 Podmínky HS-SPME-GC-FID

- × *Plynový chromatograf TRACE GC* (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem a split/splitless injektorem
- × *Kapilární kolona*: DB-WAX (30 m \times 0,32 mm \times 0,5 μm) s teplotním limitem od 20 $^{\circ}\text{C}$ do 240 $^{\circ}\text{C}$ (250 $^{\circ}\text{C}$)
- × *Nosný plyn*: dusík s konstantním průtokem 0,9 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$
- × *Injektor*: 250 $^{\circ}\text{C}$, dávkování pomocí splitless s konstantní teplotou v celém injektoru
- × *Detektor*: plamenově ionizační (FID), 220 $^{\circ}\text{C}$
 průtok vzduchu 350 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$
 průtok vodíku 35 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$
 make-up dusíku 30 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$
- × *Teplotní program*:
 počáteční teplota 40 $^{\circ}\text{C}$ po dobu 1 minuty
 vzestupný gradient 5 $^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$ do 200 $^{\circ}\text{C}$ s udržení teploty po dobu 14 minut
 celková doba analýzy 47 minut
- × *Optimalizované extrakční podmínky*:
 - tyto podmínky byly použity na základě optimalizace provedené již v předchozích diplomových pracích, na které tato práce dále navazuje [91, 92]

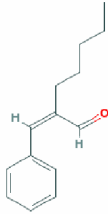
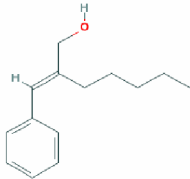
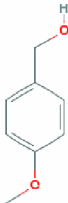
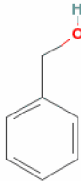
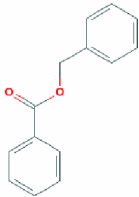
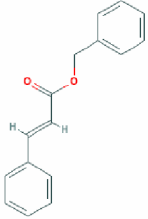
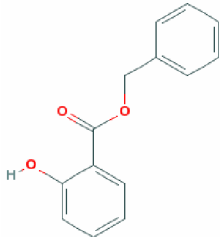
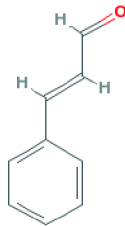
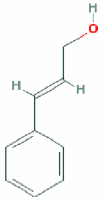
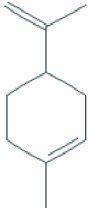
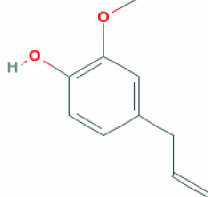
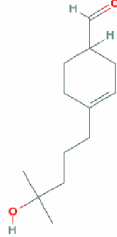
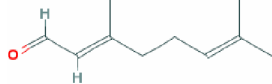
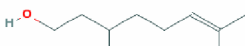
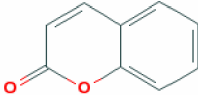

extrakční teplota	35 $^{\circ}\text{C}$
doba dosažení rovnováhy	20 minut
doba extrakce	15 minut

3.3 Souhrn vlastností vybraných standardů alergenních vonných látek

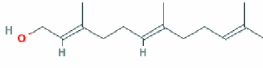

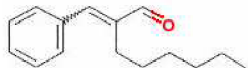
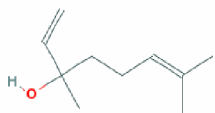
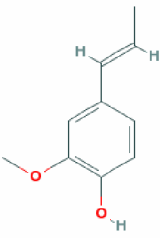
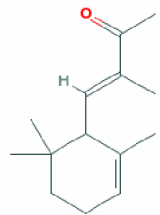
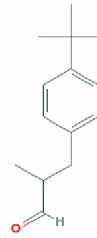
V této diplomové práci bylo identifikováno šest standardů (amylcinnamyl alcohol, benzyl alcohol, cinnamyl alcohol, coumarin, lylal, α -isomethyl ionone¹) z celkových 26 potenciálně alergenních látek (viz. *tabulka č. 4*). Popis vlastností jednotlivých látek je uveden v *tabulkách č. 5–10*. Z těchto šesti standardů bylo z časových důvodů dále validováno pouze pět látek. U lylalu byl tedy zjištěn pouze retenční čas. Jeho další stanovení bude předmětem navazujících diplomových prací.

¹ Názvy všech standardů jsou uváděny podle mezinárodní nomenklatury INCI

Tabulka č. 4 – Přehled potenciálně alergenních vonných látek ustanovených legislativou [26, 40, 93, 94, 95]

Názvy alergenních vonných látek, CAS číslo a jejich struktura			
<p>Amyl cinnamal 122-40-7</p> 	<p>Amylcinnamyl alcohol 101-85-9</p> 	<p>Anise alcohol 105-13-5</p> 	<p>Benzyl alcohol 100-51-6</p> 
<p>Benzyl benzoate 120-51-4</p> 	<p>Benzyl cinnamate 103-41-3</p> 	<p>Benzyl salicylate 118-58-1</p> 	<p>Cinnamal 104-55-2</p> 
<p>Cinnamyl alcohol 104-54-1</p> 	<p>Limonene 138-86-3</p> 	<p>Eugenol 97-53-0</p> 	<p>Lyral 31906-04-4</p> 
<p>Citral 5392-40-5</p> 	<p>Citronellol 106-22-9</p> 	<p>Coumarin 91-64-5</p> 	<p>Hydroxycitronellal 107-75-5</p> 

Tabulka č. 4 – Přehled potenciálně alergenních vonných látek ustanovených legislativou – pokračování [26, 40, 93, 94, 95]

<p>Farnesol 4602-84-0</p> 	<p>Geraniol 106-24-1</p> 	<p>Hexyl cinnamal 101-86-0</p> 	<p>Linalool 78-70-6</p> 
	<p>Isoeugenol 97-54-1</p> 	<p>α-Isomethyl ionone 127-51-5</p> 	<p>Lilial 80-54-6</p> 
Přírodní výtažky mechu a jejich CAS číslo			
Evernia prunastri extract		90028-68-5	
Evernia furfuracea extract		90028-67-4	

Následující tabulky (viz. **tabulky č. 5–10**) obsahují výčet vlastností šesti standardů, které byly v rámci této práce stanoveny.

Tabulka č. 5 – Vlastnosti benzyl alkoholu [1, 35, 94, 96]

<i>Benzyl alcohol</i>			
Synonyma	Fenylmethanol; α -hydroxytoluene; alcoholum benzylicum phenylmethanol; benzenemethanol; phenylcarbinol;		
Vzorec	C ₇ H ₈ O		
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> • čirá, bezbarvá, olejovitá tekutina se slabou vůní organického rozpouštědla • anestetické, antiseptické a antipruriginózní účinky 		
Výroba	z benzylchloridu		
Chemické vlastnosti			
CAS číslo	100-51-6	Hustota	1,043–1,046 g·cm ⁻³
Molekulová hmotnost	108,13 g·mol ⁻¹	Teplota varu	205 °C
Rozpustnost	<ul style="list-style-type: none"> • dobře rozpustný ve vodě • mísitelný s ethanolem, s chloroformem, s etherem, s mastnými oleji a se silicemi • může být příčinou vzniku pigmentací na tváři 		

Tabulka č. 5 – Vlastnosti *benzyl alkoholu* – pokračování [1, 35, 94, 96]

Výskyt a použití	
<p><i>Kosmetické výrobky</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - jako konzervační látka - rozpouštědlo pro želatinu, kasein aj. - parfémové kompozice typu jasmín, šeřík, hyacint, karafiát - rozpouštědlo pevných vonných látek <p><i>Potravinářství</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - aditivum v nápojích, bonbónech, sirupech proti kašli 	<p><i>Průmysl</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - jako rozpouštědlo - fotografický průmysl - výroba barev, inkoustů aj. <p><i>Konzervace léčiv</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - injekční roztoky (vitamin B₁₂) - oftalmologické roztoky - kloktadla - kortikosteroidy

Tabulka č. 6 – Vlastnosti *cinnamyl alkoholu* [1, 35, 94, 96]

<i>Cinnamyl alcohol</i>			
Synonyma	γ-Phenylallyl alcohol; styryl carbinol; 3-phenyl-2-propen-1-ol; styron; zimtalkohol; 3-fenylprop-2-en-1-ol; fenyl-2-propenol		
Vzorec	C ₉ H ₁₀ O		
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> • součást Fragrance mix I • velmi silný alergen • fialková, hyacintová až skořicová vůně • hořká chuť • může zapříčinit vznik pigmentací na tváři 		
Výroba	ze styrenu nebo redukce cinnamaldehydu		
Chemické vlastnosti			
CAS číslo	104-54-1	Hustota	1,044 g·cm ⁻³
Molekulová hmotnost	134,18 g·mol ⁻¹	Teplota varu	250 °C
Rozpustnost	<ul style="list-style-type: none"> • rozpustný ve vodě, glycerolu, v alkoholu, etheru 		
Výskyt a použití			
<p><i>Kosmetické výrobky</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - jako vonná látka - fixátor květinových a kořenitých parfémových kompozic - deodoranty aj. 	<p><i>Jiné</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - oleje z hyacintových květů a narcisových rostlin - oleje ze skořicových listů - peruánský balzám - styrax 		

Tabulka č. 7 – Vlastnosti coumarinu [1, 35, 94, 96]

<i>Coumarin</i>			
Synonyma	2H-1-benzopyran-2-one; anhydrid kys. <i>o</i> -kumarové; γ -laktón kys. 3-(2-hydroxyfenyl)-2-propenové; 2-oxo-1,2-benzopyran; 1,2-benzopyrone; 3-(2-hydroxyphenyl)-2-propenoic acid delta-lactone; O-coumaric acid laktone; 2H-benzo(beta)pyran-2-one; O-hydroxy-5,6-cinnamic acid delta-lactone; <i>cis</i> -O-coumaric acid anhydrite; O-hydroxycinnamic acid laktone; O-hydroxycinnamic lactone		
Vzorec	C ₉ H ₆ O ₂		
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> • součást Fragrance mix II • vůně lučňáka, podobné vanilce • lesklé krystalky • jako glykosid v některých rostlinách (<i>Asperula odkryta</i>, <i>Melilotus officinalis</i> aj.) 		
Výroba	z <i>o</i> -kresolu nebo salicylaldehydu		
Chemické vlastnosti			
CAS číslo	91-64-5	Hustota	0,935 g·cm ⁻³
Molekulová hmotnost	146,15 g·mol ⁻¹	Teplota varu	298 °C
Rozpustnost	<ul style="list-style-type: none"> • rozpustný ve vodě a ve většině organických rozpouštědel 		
Výskyt a použití			
<i>Kosmetika</i>		<i>Jiné</i>	
<ul style="list-style-type: none"> - jako fixativum vůně u parfémů - mýdla, deodoranty, vody po holení aj. 		<ul style="list-style-type: none"> - v antikoagulačních lécích (Warfarin) - výrobky ke korekci zápachu - k hubení hlodavců 	
<i>Potravinářství</i>			
<ul style="list-style-type: none"> - v aromatických alkoholických nápojích 			

Tabulka č. 8– Vlastnosti amylcinnamyl alkoholu [1, 35, 94, 96]

<i>Amylcinnamyl alcohol</i>	
Synonyma	α -Amylcinnamic alcohol; 3-phenyl-2-pentylprop-2-en-1-ol; 2-(phenylmethylidene)heptan-1-ol; amyl cinnamic alcohol; 2-benzylidene-1-heptanol; 2-amyl-3-phenyl-2-propen-1-ol; 2-pentyl cinnamyl alcohol; 2-(phenylmethyl)-1-heptanol; (2 <i>E</i>)-2-pentyl-3-phenyl-2-propen-1-ol; buxinol
Vzorec	C ₁₄ H ₁₈ O
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> • bezbarvá, čirá kapalina • vůně „broskví“, „banánů“, „hrušek“ • jasmínová chuť
Výroba	redukce α -amyl cinnamaldehydu

Tabulka č. 8 – Vlastnosti *amylcinnamyl alkoholu* – pokračování [1, 35, 94, 96]

Chemické vlastnosti			
CAS číslo	122-40-7	Hustota	0,960–0,965 g·cm ⁻³
Molekulová hmotnost	202,30 g·mol ⁻¹	Teplota varu	>200 °C
Rozpustnost	<ul style="list-style-type: none"> • nerozpustný ve vodě • rozpustný v alkoholu 		
Výskyt a použití			
<i>Kosmetický průmysl</i> - parfémované výrobky		<i>Potravinářství</i> - ovocná příchuť - v ovocných čajích, cukrovinkách, nápojích atd.	

Tabulka č. 9 – Vlastnosti *α-isomethyl iononu* [1, 35, 94, 96]

<i>α-Isomethyl ionone</i>			
Synonyma	3-Methyl-4-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohex-2-en-1-yl)but-3-en-2-on; Cetona alpha; 3-Buten-2-one; 3-methyl-4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-4E,6E)-7,11-dimethyldodeca-4,6,10-trien-3-one; Methyl ionone gamma coeur; 1-(2,6,6-Trimethyl-1-cyclohex-2-enyl)pent-1-en-3-one; 3-Methyl-4-(2,6,6-trimethyl-2-cyklohexen-1-yl)-3-buten-2-one		
Vzorec	C ₁₄ H ₂₂ O		
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> • synteticky vyrobená látka • součást vůní jako je „chypre“, „floral“, „kůže“, „paris“, „orientál“, „charlie“, „patchouli“ aj. • čirá, bezbarvá nebo žlutá tekutina 		
Výroba	z pseudoiononu řízenou cyklizací a frakcionací		
Chemické vlastnosti			
CAS číslo	127-51-5	Hustota	0,940–0,950 g·cm ⁻³
Molekulová hmotnost	206,32 g·mol ⁻¹	Teplota varu	266 °C
Rozpustnost	<ul style="list-style-type: none"> • nerozpustný ve vodě • rozpustný v alkoholu 		
Výskyt a použití			
<i>Kosmetický průmysl</i> - v mnoha parfémovaných výrobcích - složka zcela rozdílných vůní			

Tabulka č. 10 – Vlastnosti lyralu [1, 35, 94, 96]

<i>Lyrál</i>			
Synonyma	3-Cyclohexene-1-carboxaldehyde; 4-(4-hydroxy-4-methyl pentyl)-(8ci)(9ci); 4-(4-Hydroxy-4-methylpentyl)-3-cyklohexen-1-karboxaldehyd		
Vzorec	C ₁₃ H ₂₂ O ₂		
Vlastnosti	<ul style="list-style-type: none"> • součást Fragrance mix II • bezbarvá, olejovitě viskózní tekutina • sladká, květinová vůně lilií nebo cyklámenů 		
Chemické vlastnosti			
CAS číslo	31906-04-4	Hustota	0,980 0,993 g·cm ⁻³
Molekulová hmotnost	210,00 g·mol ⁻¹	Teplota varu	319 °C
Rozpuštnost	<ul style="list-style-type: none"> • dobře mísitelný se 70%–96% ethanolem 		
Výskyt a použití			
<p><i>Kosmetický průmysl</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - obohacovadlo parfémových směsí – dodává hluboký něžný tón - lotion na bázi alkoholu (pleťový kosmetický prostředek) - antiperspiranty, deodoranty - avivážní prostředky - šampóny, mýdla aj. 			

3.4 Reálné vzorky kosmetických výrobků

Pomocí metody HS-SPME-GC-FID byly identifikovány a kvantifikovány všechny doposud stanovené alergenní vonné látky ve vybraných kosmetických prostředcích. Výběr byl zaměřen jak na výrobky určené ženám, tak i mužům a dětem (viz. *tabulka č. 11*).

Tabulka č. 11 - Seznam použitých kosmetických výrobků

Název kosmetického výrobku	Výrobce
Balzám na ruce s pravou čokoládou	Bione Cosmetics
Emulze na intimní hygienu LACTACYD	GlaxoSmithKline Consumer Healthrace, Brentford
Odličovací mléko GARNIER	L'OREÁL
Balzám po holení NIVEA	Beiersdorf
Johnson's baby oil	Johnson & Johnson
Eau de toilette ADIDAS	COTY
Pěna do koupele PINA COLADA	Avon
Parfém PRECIOUS	Oriflame
AVIRIL dětský krém	Alpa
Tělové mléko Mango & Yoghurt	Oriflame

3.5 Pracovní postupy

3.5.1 Identifikace standardů alergenních vonných látek

Daný standard byl v určité koncentraci napipetován popř. kvantitativně převeden pomocí špachtle (u pevných látek jako je coumarin a cinnamyl alcohol) do 4 ml vialky. Jeho objem byl heptanem doplněn do 1 ml. Poté byla vialka uzavřena šroubovacím uzávěrem s plynotěsným septem a umístěna do vodní lázně vytemperované na 35 °C po dobu 20 minut (do ustanovení rovnováhy mezi koncentrací analytu ve vzorku, headspace prostorem nad vzorkem a polymerní vrstvou na křemenném vlákne). Následoval postup sorpce a desorpce analytu pomocí SPME extraktoru (viz. kapitola 3.5.2).

3.5.2 Sorpce a desorpce analytu

Před sorpcí analytu je vlákno zataženo dovnitř ocelové jehly, která ho chrání před mechanickým poškozením např. před strhnutím soprční vrstvy o septum v uzávěru. Jehla propíchně septum v zátce vialky. Posunutím pístu se vlákno vysune do prostoru nad hladinou analyzovaného vzorku. Analyt se sorbuje (viz. **PŘÍLOHA I. – Obr. I.**) do vrstvy pokrývající vlákno (CARTM/PDMS). Po dosažení sorpční rovnováhy (15 minut) se vlákno opět zasune dovnitř jehly a spolu s ní je vytaženo z vialky. Poté se SPME extraktor přenesse ihned do nástříkové komory plynového chromatografu. Zde dochází k desorpci nasorbovaného analytu (viz. **PŘÍLOHA I. – Obr. II.**) vlivem vysoké teploty a k následnému unášení proudem nosného plynu do kolony.

3.5.3 Stanovení linearity

U pěti standardů (kromě lyralu) došlo ke stanovení linearity. Do vialky se vždy napipetovalo či kvantitativně převedlo přesně množství stanovované látky a doplnilo do 1 ml heptanem. Jednalo se o pět různých koncentrací, které byly třikrát proměřeny. Dále je postup shodný s *kapitolou 3.5.1.*

Po vynesení závislosti plochy píku na koncentraci dané alergenní vonné látky je rozhodujícím parametrem korelační koeficient. Jeho hodnota nesmí klesnout pod 0,98, což signalizuje, že tato závislost je skutečně lineární. Také byly pomocí statistických parametrů vypočteny chybové úsečky pro jednotlivé body této lineární křivky.

3.5.4 Stanovení opakovatelnosti

Jedná se o další z validačních parametrů, který byl stanoven u pěti vybraných standardů (mimo lyralu). Šlo o proměření pětkrát stále stejné koncentrace standardu, která byla vždy pro další nové měření připravena znovu. Cílem bylo určení relativní směrodatné odchylky, která nesmí překročit 10 %. U výpočtů se vycházelo z průměru ploch píků. Postup přípravy je stejný jako v *kapitole 3.5.1.*

3.5.5 Stanovení meze detekce a meze stanovitelnosti

Pro určení meze detekce a meze stanovitelnosti byly jednotlivé standardy (s výjimkou lyralu) připraveny stejným způsobem jak při jejich identifikaci (viz. *kapitola 3.5.1.*). Dále byly postupně zředovány a stanoveny pomocí HS-SPME-GC-FID.

U separačních metod se používá k výpočtu meze detekce a meze stanovitelnosti velikost hodnoty signálu slepého pokusu (standard alergenní vonné látky) a vychází se z výšky píků –

z chromatogramu slepého pokusu se určí maximální kolísání základní linie v oblasti dané 20-ti násobkem pološířky píku stanovovaného analytu [87, 97].

Odezva meze detekce je definována takto [97]:

$$y_D = 3 \cdot h_{\max} \quad (1)$$

Pro koncentraci na mezi detekce platí [87, 97]:

$$x_D = \frac{y_D}{b_1} \quad (2)$$

Odezva meze stanovitelnosti je stanovena takto [97]:

$$y_S = 10 \cdot h_{\max} \quad (3)$$

Pro koncentraci na mezi stanovitelnosti platí [87, 97]:

$$x_S = \frac{y_S}{b_1} \quad (4)$$

Směrnice kalibrační přímky b_1 musí být z koncentrační závislosti $y = b_1 \cdot x$, kde y je výška chromatografického píku a ne plocha jak je obvyklé.

3.5.6 Příprava reálných vzorků

K odběru ze zásobní 10 ml vialky obsahující jednotlivé kosmetické vzorky bylo využito především injekční stříkačky vzhledem k husté konzistenci některých přípravků. Vždy se odebral 1 ml a nadávkoval do 4 ml vialky tak, aby nedošlo k ulpění vzorku na její stěně, důsledkem kterého by mohlo dojít k znečištění vlákna. V případě tekutých kosmetických přípravků byla použita mikropipeta, pomocí níž byl odebrán 1 ml vzorku a napipetován do 4 ml vialky. Opět následovalo umístění do vodní lázně na 20 minut (do ustanovení rovnováhy) a poté použití SPME extraktoru (viz. kapitola 3.5.2). Celková doba analýzy byla u všech vzorků 47 minut.

3.6 Validace analytických metod

Validace je proces, při němž se určuje vhodnost použití daného analytického systému pro získání relativních dat. Při validaci je posuzováno, zda jsou parametry metody (postupu) srovnatelné s požadavky na analytická data – výsledky [98].

Jde o získání důkazu ve formě dokumentace, který poskytuje vysoký stupeň jistoty, že určitý proces bude trvale poskytovat produkt odpovídající předem určené specifikaci. Jsou experimentálně prověřovány veškeré základní a potřebné výkonnostní parametry či charakteristiky metody [87, 99].

3.6.1 Vybrané validované parametry analytické metody

Kritický je výběr validačních parametrů – základní kritérium jak získat dostatek údajů, aby bylo možno posoudit, zda testovaná metoda či systém jsou vhodné pro zamýšlený účel [100].

3.6.1.1 Linearita

Linearita kalibračního vztahu je zajišťována analýzou vzorků s koncentracemi analytu, které pokrývají deklarovaný rozsah metody. Výsledky jsou použity pro výpočet regresní přímky metodou nejmenších čtverců [98, 101].

Linearita je chápána jako přímková závislost mezi dvěma náhodnými proměnnými, tj. odezvou instrumentace (analytickým signálem) a koncentrací analytu. Těsnost vzájemné závislosti dvou náhodných proměnných charakterizuje korelační koeficient (R^2). Při lineární závislosti nabývá hodnoty +1 a čím více se blíží jedné, tím je závislost obou proměnných těsnější [87, 97, 101].

3.6.1.2 Mez detekce (*Limit of detection, LOD*)

Mez detekce analytu je obecně nejnížší množství analytu ve vzorku, které je možno detekovat, ale které není nutně kvantifikované jako exaktní hodnota. Je obvykle stanovována opakovanou analýzou alikvotního podílu slepého pokusu. Její hodnota se odlišuje pro různé typy vzorků. Někdy se určuje též při zpracování lineární kalibrační křivky [87, 97, 98].

3.6.1.3 Mez stanovitelnosti (*Limit of quantification, LOQ*)

Mez stanovitelnosti je nejnížší koncentrace analytu, jež může být stanovena s přijatelnou mírou správnosti a přesnosti. Měla by být zjištěna s použitím vhodného etalonu či vzorku. Obvykle tvoří nejnížší bod kalibrační křivky (při vyloučení slepého pokusu). Nesmí být stanovena extrapolací [87, 97, 98].

3.6.1.4 Opakovatelnost

Opakovatelnost je míra těsnosti souhlasu mezi výsledky posloupnosti nezávislých měření stejného vzorku analytu provedených stejnou metodou, stejným pracovníkem, na stejném přístroji, na stejném místě, za stejných podmínek v krátkém časovém intervalu. Opakovatelnost je vlastností metody, ne výsledku. Statisticky představuje přesnost rozptylu výsledků kolem průměru, bez ohledu na to, jak správně průměr reprezentuje správnou hodnotu měřené veličiny [87, 97, 101].

3.7 Statistické parametry pro zpracování naměřených dat

Při statistickém zpracování naměřených hodnot byly využity tyto parametry:

❖ *Aritmetický průměr*

Aritmetický průměr je definován jako součet všech naměřených údajů vydělených jejich počtem. Označuje se pomocí symbolu \bar{x} a je definován [102, 103]:

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (5)$$

kde n je počet hodnot x .

❖ *Směrodatná odchylka*

Směrodatná odchylka s je odmocnina z rozptylu, který je definován jako průměrná kvadratická odchylka měření od aritmetického průměru. Uvádí se ve stejných jednotkách jako

veličina x . Vyjadřuje míru přesnosti série paralelních výsledků. Směrodatná odchylka je definována takto [102, 103]:

$$s = \sqrt{s^2} = \sqrt{\frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \quad (6)$$

❖ **Relativní směrodatná odchylka**

Relativní směrodatná odchylka udává procentuální rozptýlení od aritmetického průměru. Je uváděna v procentech a je definována tímto způsobem [102, 103]:

$$s_r = \frac{s}{x} \cdot 100 \quad [\%] \quad (7)$$

Výsledky byly zpracovány pomocí programu Microsoft Office Excel 2003.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Identifikace standardů alergenních vonných látek

V této diplomové práci bylo identifikováno celkem šest standardů, a to amylcinnamyl alcohol, benzyl alcohol, cinnamyl alcohol, coumarin, lyral, α -isomethyl ionone. Každý z nich byl proměřen individuálně. Jejich retenční časy, společně s retenčními časy ostatních alergenů, které byly již proměřeny v rámci předchozích diplomových prací a na které tato práce dále navazuje [102, 103], jsou shrnuty v *tabulce č. 12*. Celková doba analýzy činila 47 minut. Následně byly všechny doposud identifikované alergenní vonné látky (viz. *tabulka č. 12*) připraveny ve dvou směsích (viz. *tabulka č. 13*) a znovu proměřeny.

Tabulka č. 12 – Retenční časy doposud stanovených alergenů

	Standard	Retenční čas [min]
1	Limonen	12,50
2	Amylcinnamyl alcohol	19,00
3 ₁	Amyl cinnamal 1	21,15
4	Linalool	21,34
5	Methyl 2-octynoate	23,87
6 ₁	Citral 1	24,78
6 ₂	Citral 2	25,88
7	Citronellol	26,27
8	Geraniol	28,14
9	α -Isomethyl ionone	28,50
10	Benzyl alcohol	29,05
11	Hydroxycitronellal	30,33
12	Cinnamal	32,42
13	Lyrál	33,05
14	Eugenol	34,68
15 ₁	Isoeugenol 1	36,88
3 ₂	Amyl cinnamal 2	37,00
16	Cinnamyl alcohol	37,80
17	Anise alcohol	37,85
15 ₂	Isoeugenol 2	39,72
18	Hexyl cinnamal	40,16
19	Coumarin	44,58

* námi stanovené retenční časy jsou modře zvýrazněny

** čísla 1 a 2 u citralu, amyl cinnamalu a isoeugenolu označují *cis* a *trans* izomery

Tabulka č. 13 – Seznam alergenů použitých v jednotlivých směsích

Směs A	Směs B
Coumarin	Amyl cinnamal
Limonene	Methyl 2-octynoate
Amylcinnamyl alcohol	Citronellol
Linalool	α -Isomethyl ionone
Citral	Benzyl alcohol
Geraniol	Cinnamal
Hydroxycitronellal	Eugenol
Isoeugenol	Anise alcohol
Cinnamyl alcohol	Hexyl cinnamal

Cílem proměření těchto dvou směsí bylo ověření retenčních časů jednotlivých látek, zda nedošlo k jejich posunu vlivem výměny kolony v plynovém chromatografu, použitím nového vlákna během uplynulých let apod. Výsledné chromatogramy jsou v **PŘÍLOZE II. – Chromatogram I.–II.**

4.2 Stanovení linearity

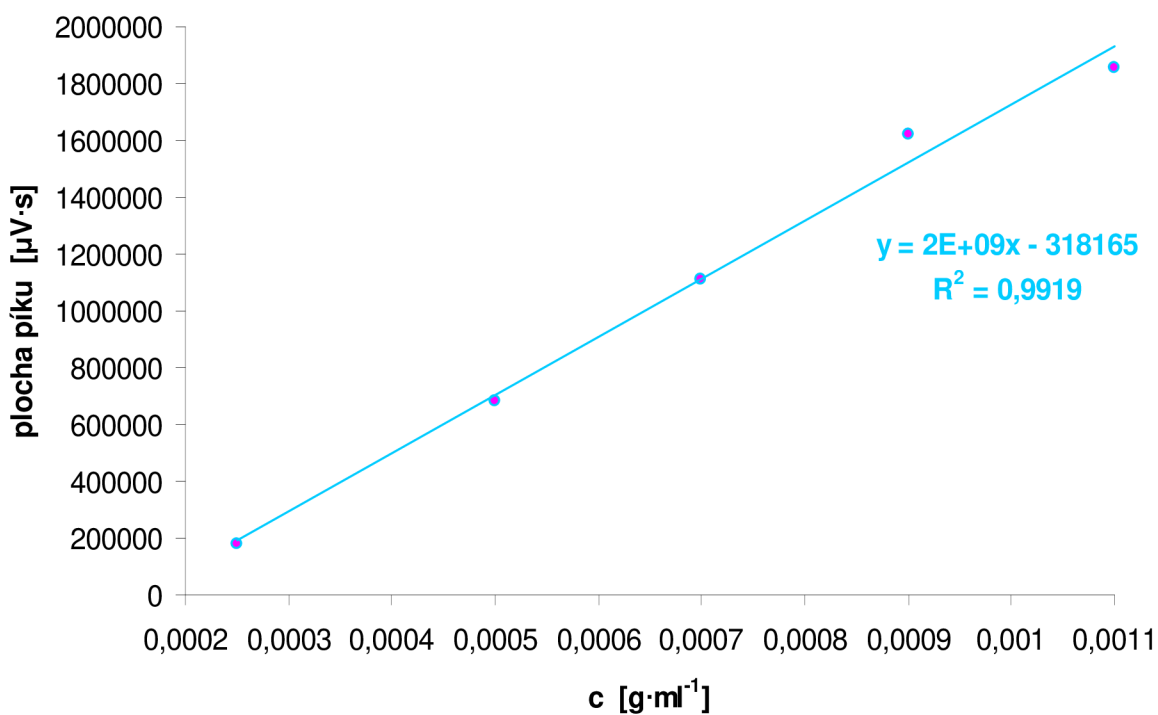
Postup přípravy vzorků pro stanovení linearity je popsán v kapitole 3.5.3. Proměřovaly se různé koncentrace jednotlivých standardů za účelem zjištění jejich lineárního rozsahu. Do grafu závislosti plochy píku na koncentraci byly zaneseny hodnoty vždy tak, aby byly na obou osách ekvidistantní rozdily.

Každá koncentrace byla proměřena třikrát. Na základě vícečetného měření a následných výpočtů (viz. *tabulka č. 14–18*) byly sestrojeny chybové úsečky. Jedná se o čárové označení vykazující pro grafovou řadu možné chybové hodnoty. Pro jejich výpočet byly použity statistické funkce (viz. kapitola 3.7 – vzorce (5), (6), (7)). Vzorec (5) slouží pro výpočet průměru (\bar{x}) ploch zjištěných třemi měřeními, vzorec (6) pro určení směrodatné odchylky (s) a vzorec (7) pro stanovení relativních směrodatných odchylek (s_r), které byly zaneseny do grafu jako chybové úsečky (viz. *graf č. 2, 4, 6, 7, 9, 11*). Jejich velikost by neměla přesáhnout 10 %.

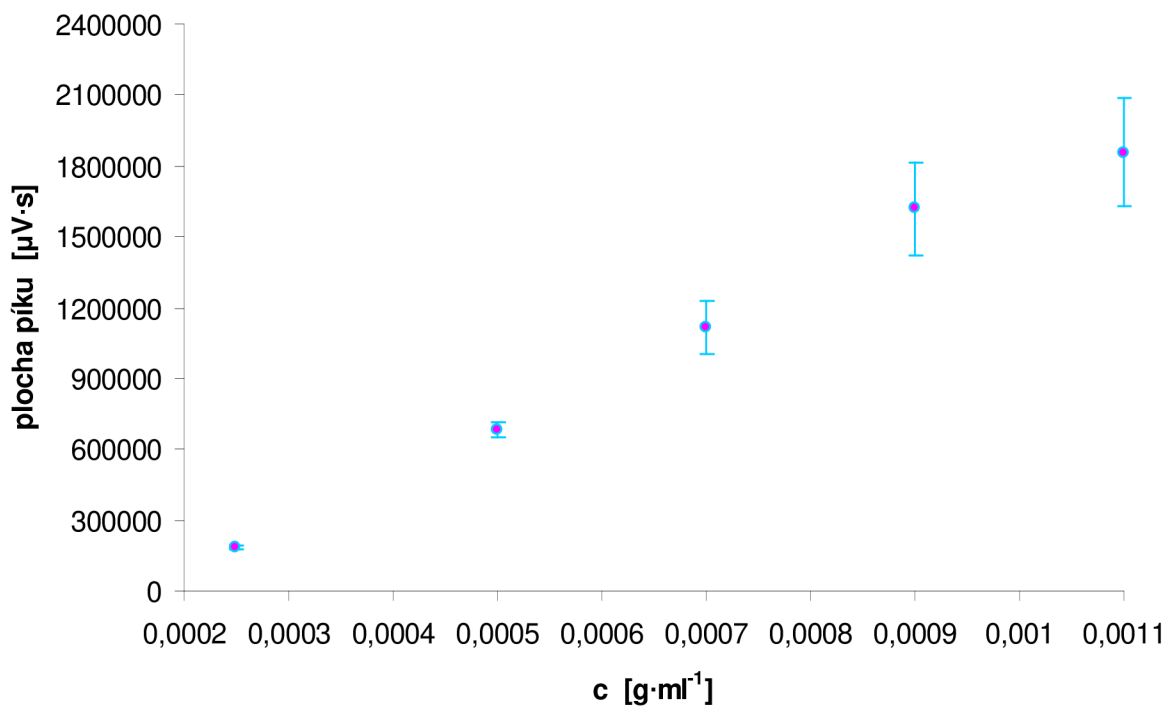
Linearita je dána hodnotou korelačního koeficientu (R^2), který je získán vnesením rovnice regrese v grafu (viz. *graf č. 1, 3, 5, 8, 10*). Jeho hodnota nesmí klesnout pod 0,98. Korelační koeficienty jednotlivých standardů jsou souhrnně uvedeny v *tabulce č. 19*.

Tabulka č. 14 – Naměřené hodnoty a výpočty pro benzyl alcohol

Benzyl alcohol				
koncentrace [g·ml ⁻¹]	plocha vynesena v grafu [μ V·s]	průměr ploch [μ V·s]	s [μ V·s]	s_r [%]
0,00025	182742	189587,5	6845,5	3,61
0,0005	682416	713577,5	31161,5	4,37
0,0007	1112584	995136,3	100503,7	10,10
0,0009	1617552	1641264,0	127198,2	7,75
0,0011	1857778	1655902,0	201876,0	12,19



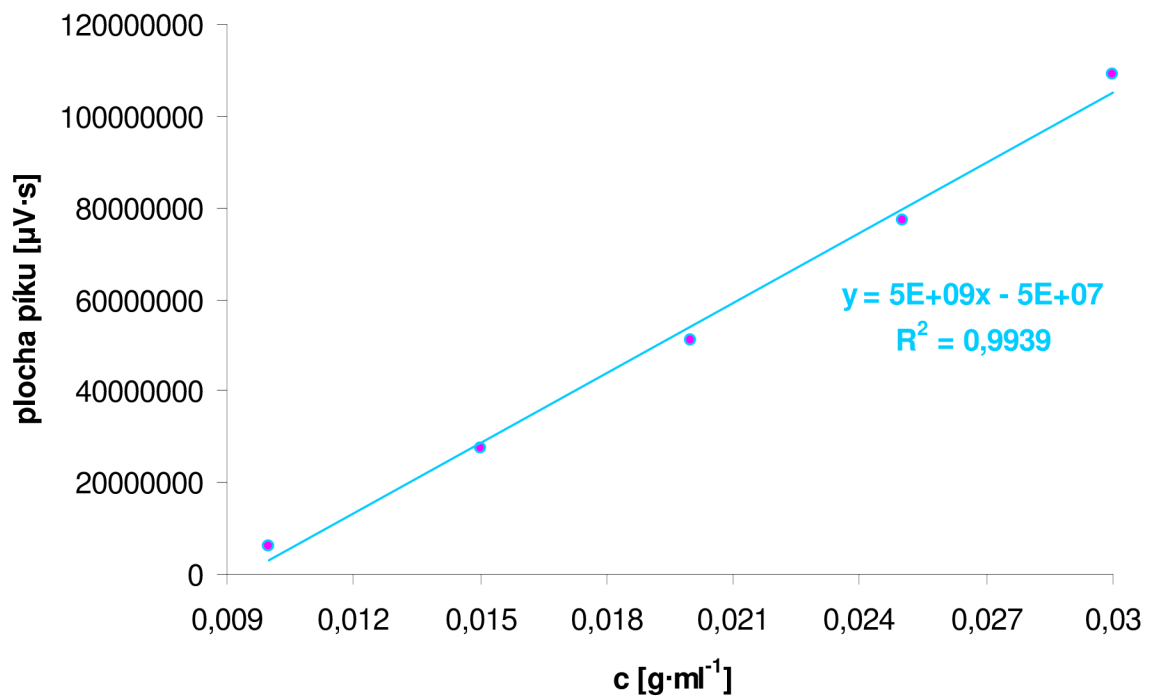
Graf č. 1 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – *benzyl alkoholu* s rovnicí regrese



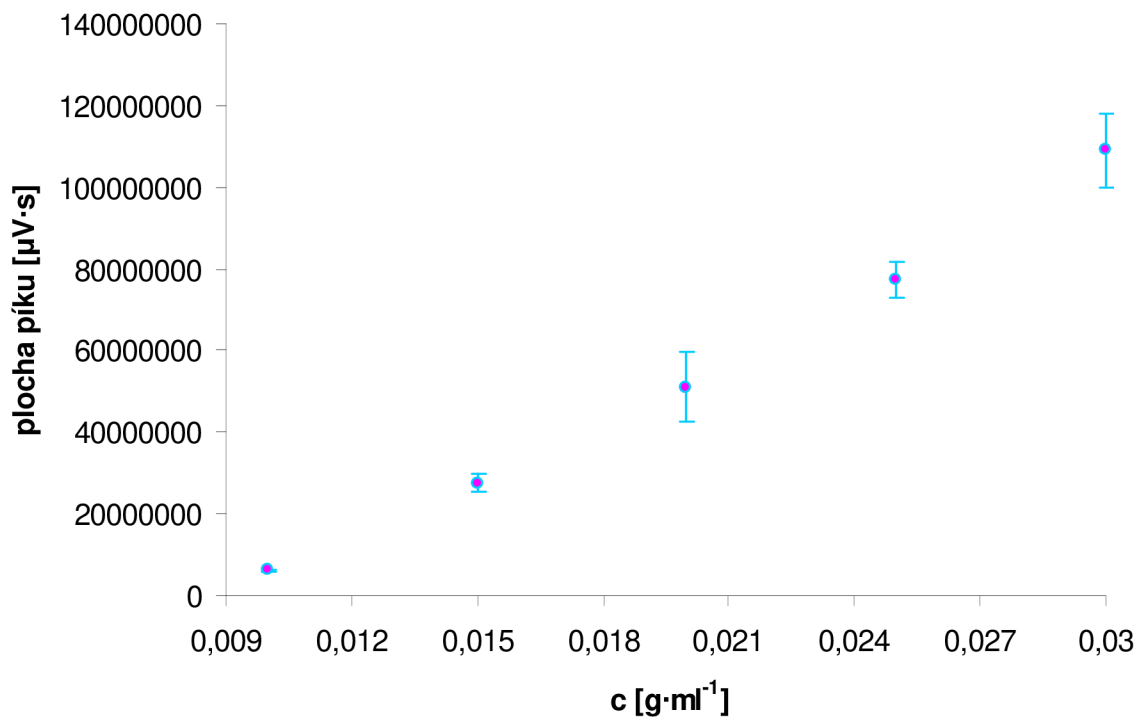
Graf č. 2 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – *benzyl alkoholu* s chybovými úsečkami

Tabulka č. 15 – Naměřené hodnoty a výpočty pro cinnamyl alcohol

Cinnamyl alcohol				
koncentrace [g·ml ⁻¹]	plocha vynesená v grafu [μV·s]	průměr ploch [μV·s]	s [μV·s]	s _r [%]
0,010	6189435	6610098,0	420663,0	6,36
0,015	27591470	26018456,7	2208481,4	8,49
0,020	51033130	48588010,0	2445120,0	5,03
0,025	77293490	83943720,0	4704128,2	5,60
0,030	108921300	115992400,0	9731110,4	8,39



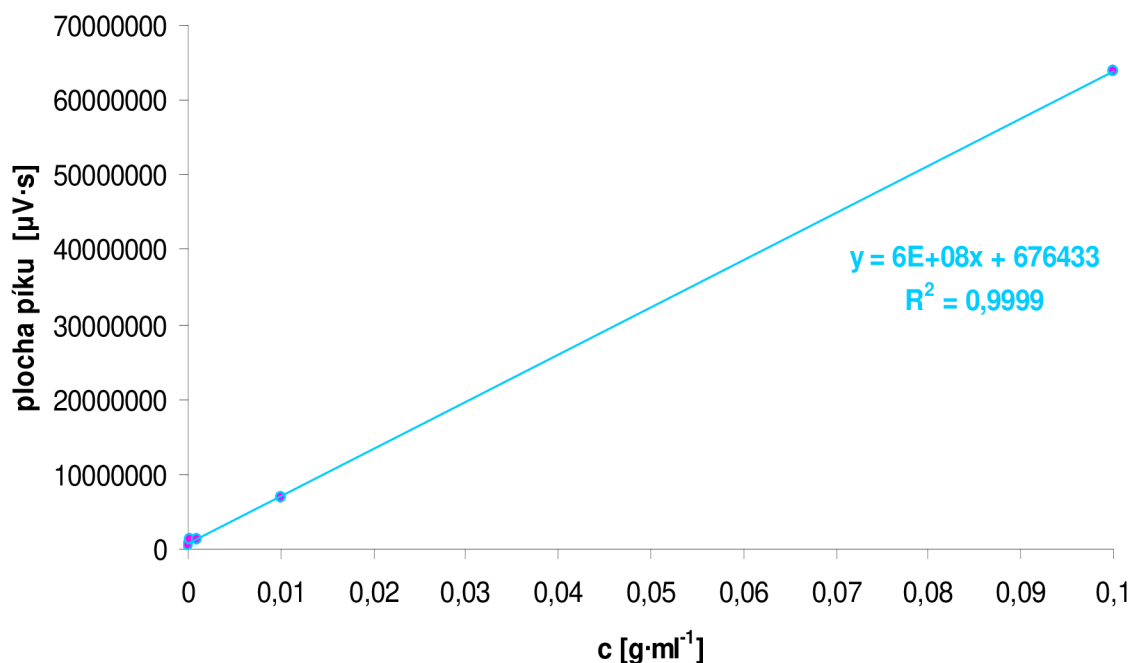
Graf č. 3 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – cinnamyl alcoholu s rovnicí regrese



Graf č. 4 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – cinnamyl alkoholu s chybovými úsečkami

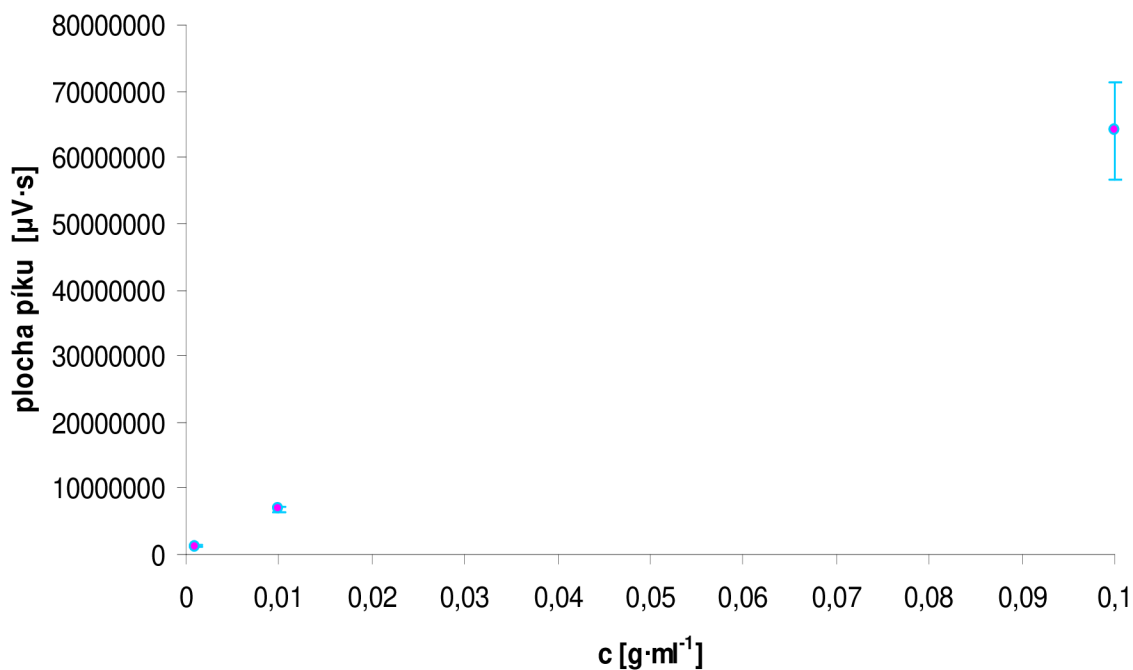
Tabulka č. 16 – Naměřené hodnoty a výpočty pro coumarin

Coumarin				
koncentrace [g·ml⁻¹]	plocha vynesená v grafu [µV·s]	průměr ploch [µV·s]	s [µV·s]	s_r [%]
0,00001	409451	436863,3	30885,3	7,07
0,0001	1213265	1260875,5	47610,5	3,78
0,001	1275812	1193464,0	82348,0	6,90
0,01	6818980	7111151,3	399731,5	5,62
0,1	63972870	46702853,3	5388986,8	11,54

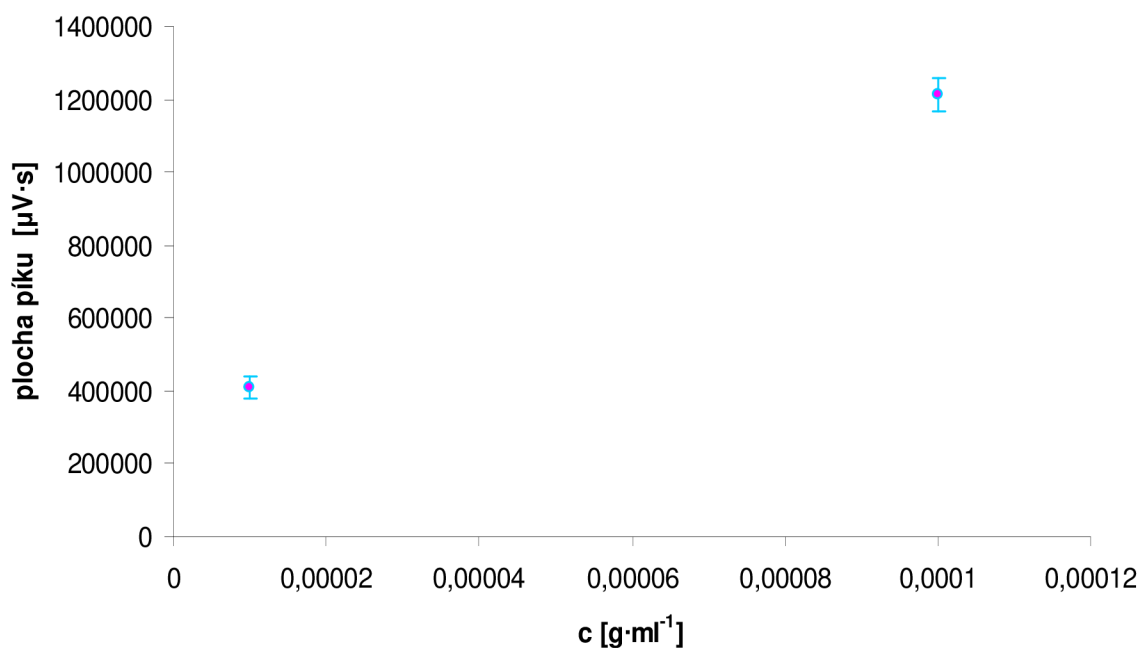


Graf č. 5 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – *coumarinu* s rovnicí regrese

Vzhledem k velkému lineárnímu rozsahu *coumarinu* a špatnému rozlišení hodnot v intervalu od 0 do 0,001 na ose x byl sestaven graf (viz. **graf č. 6**) s chybovými úsečkami a s detailním zaměřením na toto rozpětí. V druhém grafu (viz. **graf č. 7**) jsou vyneseny zbývající hodnoty i s chybovými úsečkami v rozmezí 0,01 až 0,1 na ose x.



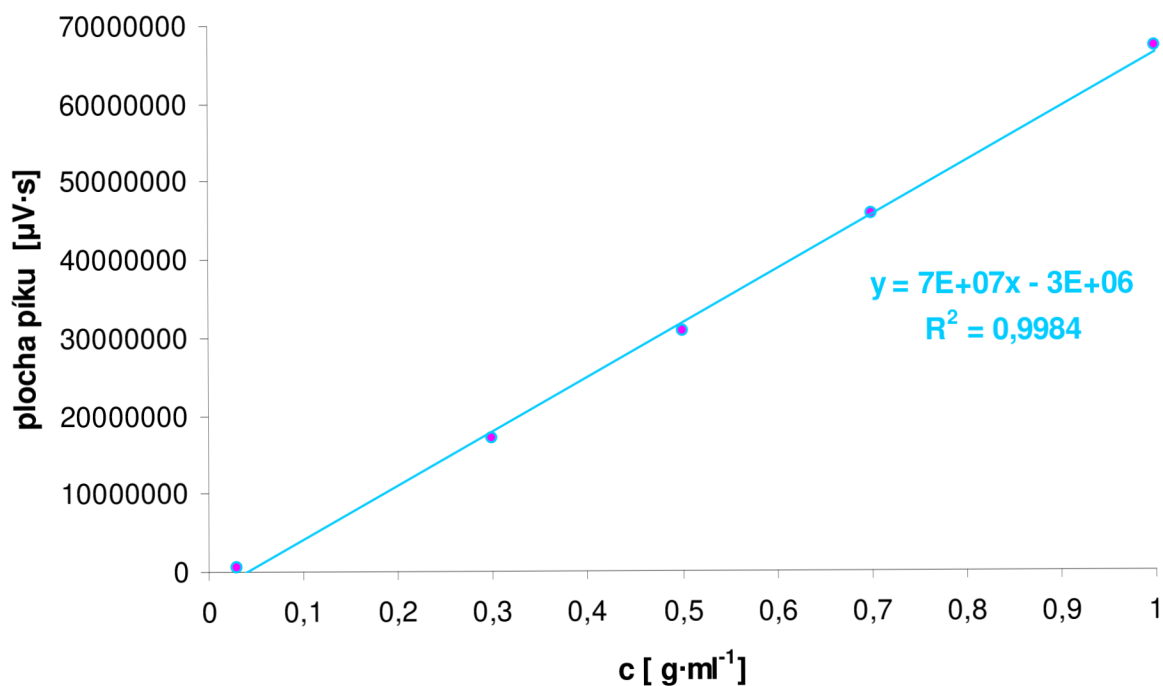
Graf č. 6 – Detail lineární závislosti plochy píku na koncentraci standardu – *coumarinu* s chybovými úsečkami



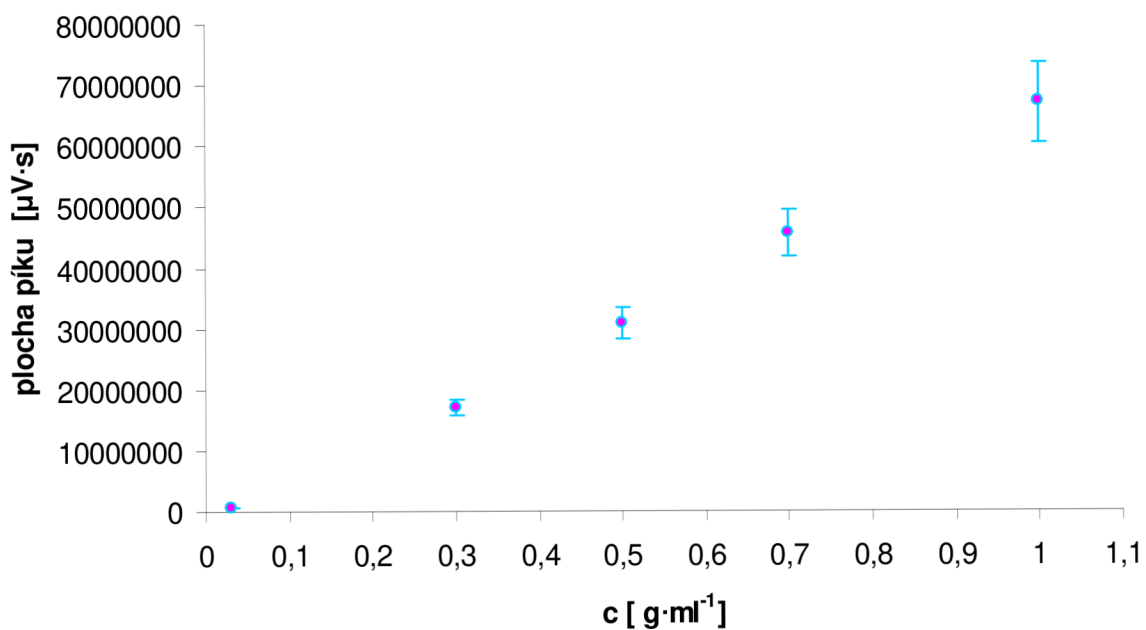
Graf č. 7 – Detail lineární závislosti plochy píku na koncentraci standardu – coumarinu s chybovými úsečkami

Tabulka č. 17 – Naměřené hodnoty a výpočty pro amylcinnamyl alcohol

Amylcinnamyl alcohol				
koncentrace [g·ml⁻¹]	plocha vynesená v grafu [μV·s]	průměr ploch [μV·s]	s [μV·s]	s_r [%]
0,03	541118	554038	12920	2,33
0,3	16925370	15685950	1239420	7,90
0,5	30844050	33471095	2627045	7,85
0,7	45736300	49971425	4235125	8,48
1	67118820	74440685	7321865	9,84



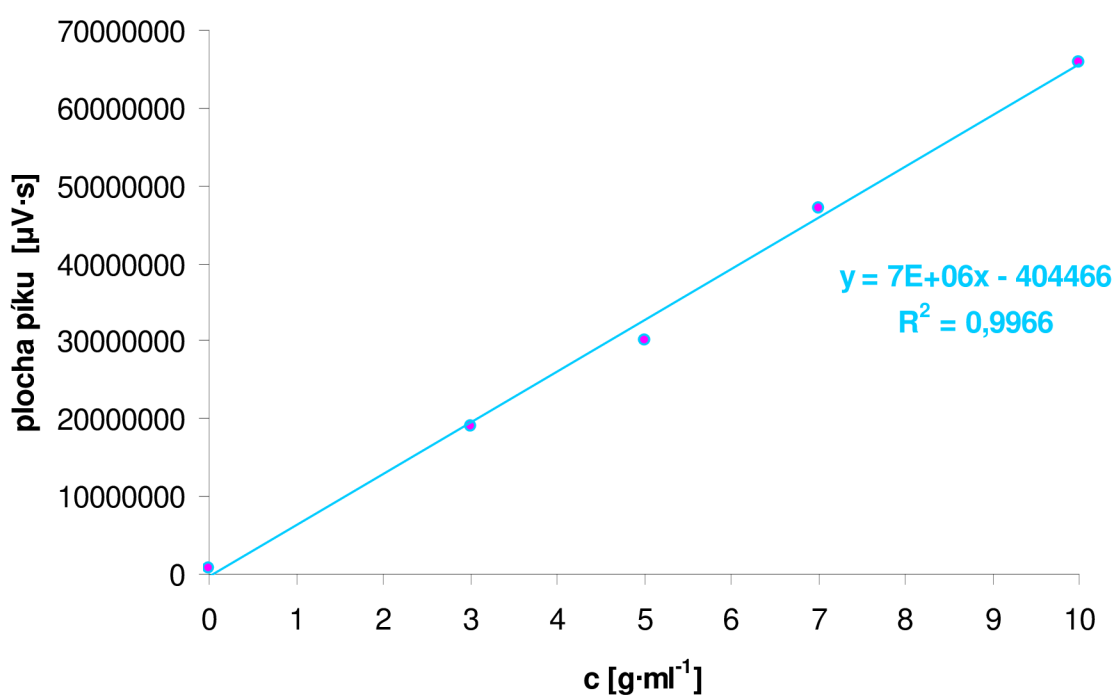
Graf č. 8 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – *amylcinnamyl alkoholu* s rovnicí regrese



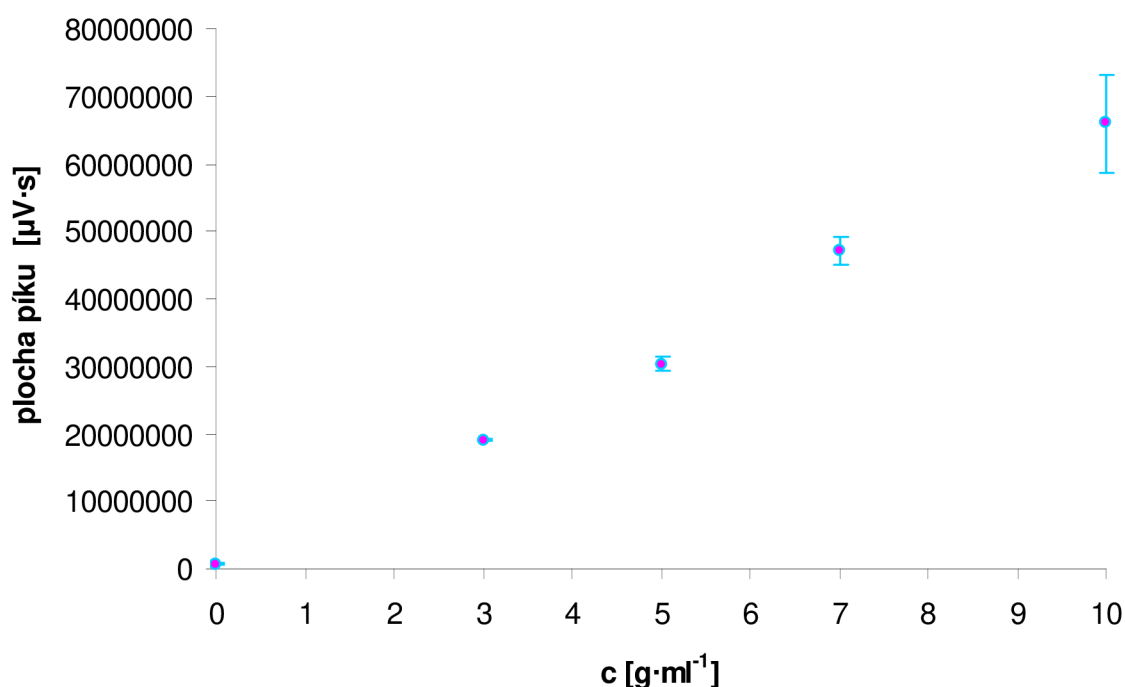
Graf č. 9 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – *amylcinnamyl alkoholu* s chybovými úsečkami

Tabulka č. 18 – Naměřené hodnoty a výpočty pro α -isomethyl ionone

<i>α-Isomethyl ionone</i>				
koncentrace [g·ml ⁻¹]	plocha vynesená v grafu [μ V·s]	průměr ploch [μ V·s]	s [μ V·s]	s _r [%]
0,01	727935	766270,5	38335,5	5,00
3	19017860	18848075,0	169785,0	0,90
5	30235730	29245520,0	990210,0	3,39
7	47087840	49383086,5	2295246,5	4,65
10	66006930	74153190,0	8146260,0	10,99



Graf č. 10 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – α -isomethyl iononu s rovnicí regrese



Graf č. 11 – Lineární závislost plochy píku na koncentraci standardu – α -isomethyl iononu s chybovými úsečkami

Tabulka č. 19 – Korelační koeficienty lineárních závislostí pro jednotlivé standardy

Alergen	Korelační koeficient (R^2)
Benzyl alcohol	0,9919
Cinnamyl alcohol	0,9939
Amylcinnamyl alcohol	0,9984
Coumarin	0,9859
α -Isomethyl ionone	0,9856

Výsledné hodnoty korelačních koeficientů by neměly klesnou pod hodnotu 0,9800, což splňují všechny stanovované alergenní vonné standardy \Rightarrow jsou tedy lineární v celém měřeném koncentračním rozsahu (viz. *tabulky č. 14–18*) a metodu lze použít pro jejich kvantifikaci.

4.3 Stanovení opakovatelnosti

Postup pro stanovení opakovatelnosti je podrobně popsán v kapitole 5.3.4. Byla tedy pětkrát proměřena stejná koncentrace u jednotlivých standardů. K vyhodnocení a výpočtu byly využity plochy píků, z nichž se pomocí statistických funkcí (viz. kapitola 3.7 – vzorce (5), (6), (7)) vypočítal průměr. Podle vzorce (6) byla určena směrodatná odchylka, na jejíž základě došlo ke stanovení i relativní směrodatné odchylky (vzorec (7)) (viz. *tabulka č. 20*). Tato odchylka je rozhodující hodnotou pro opakovatelnost. Nesmí přesáhnout hodnotu 10 %.

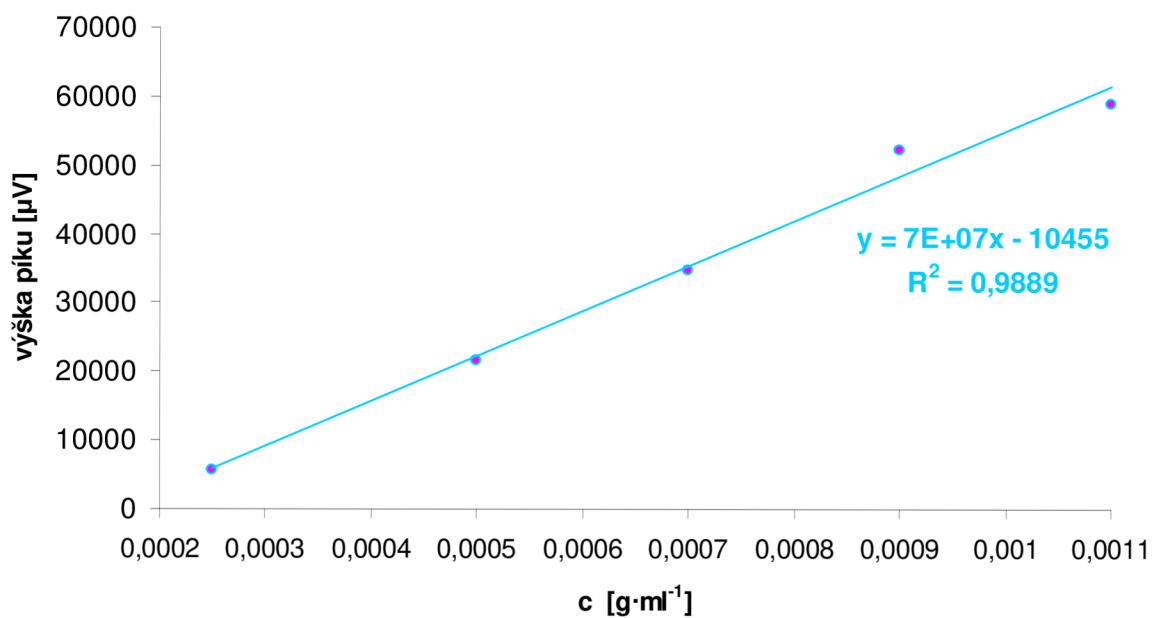
Tabulka č. 20 – Vypočtené hodnoty průměrů ploch, směrodatných odchylek a relativních směrodatných odchylek pro jednotlivé standardy

Standard	Benzyl alcohol	Cinnamyl alcohol	Amylcinnamyl alcohol	Coumarin	α -Isomethyl ionone
Koncentrace	0,001 g·ml ⁻¹	0,025 g·ml ⁻¹	0,03 g·ml ⁻¹	0,01 g·ml ⁻¹	3 g·ml ⁻¹
Počet měření	plocha [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	plocha [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	plocha [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	plocha [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	plocha [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]
1	41301790	89072320	14446530	7676349	17414500
2	43747100	87113710	12527620	7707805	17564580
3	40194520	87423960	14706560	8444695	15669020
4	42563040	77293490	15922490	6838125	18678290
5	39872910	96908210	12388750	6818980	19017860
\bar{x} [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	41535872	87562338	13998390	7497190,8	17668850
s [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	1453551,89	6249720,38	1353410,53	611319,53	1175898,23
s_r [%]	3,50	7,14	9,67	8,15	6,66

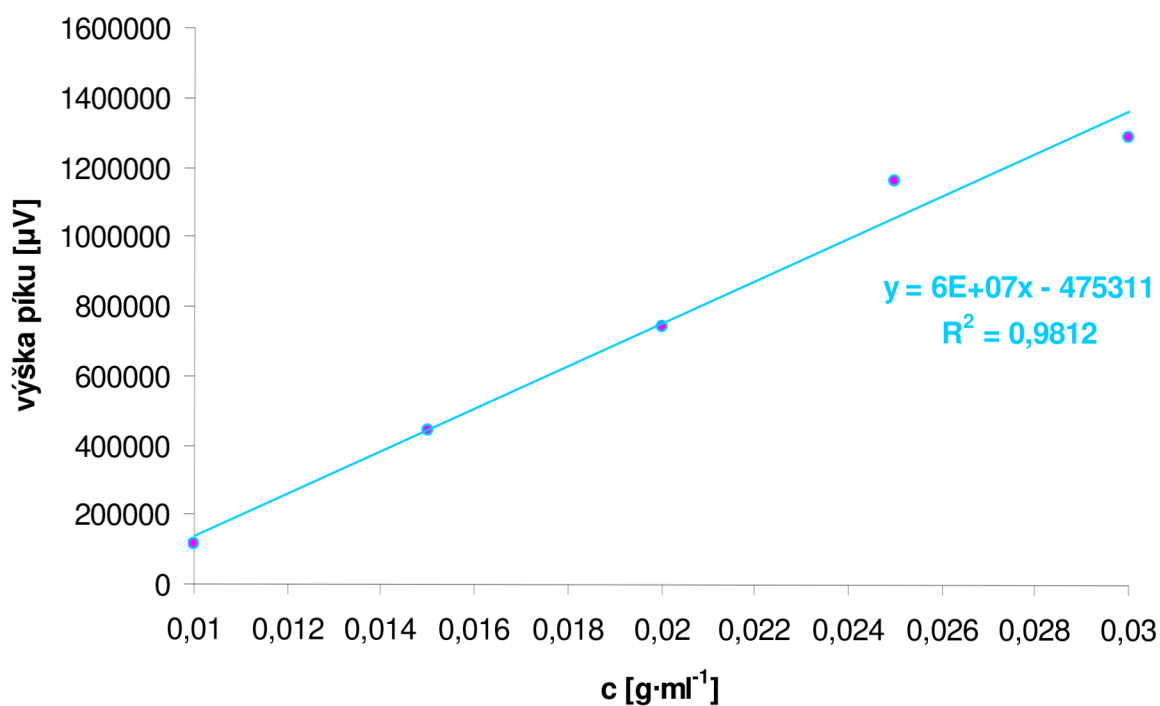
Hodnoty relativních směrodatných odchylek (s_r) u jednotlivých standardů nepřekračují hodnotu 10 %, metoda SPME-GC-FID je tedy dostatečně přesná a lze ji použít pro opakovatelná stanovení alergenních vonných látek ve vybraných kosmetických prostředcích.

4.4 Stanovení meze detekce a meze stanovitelnosti

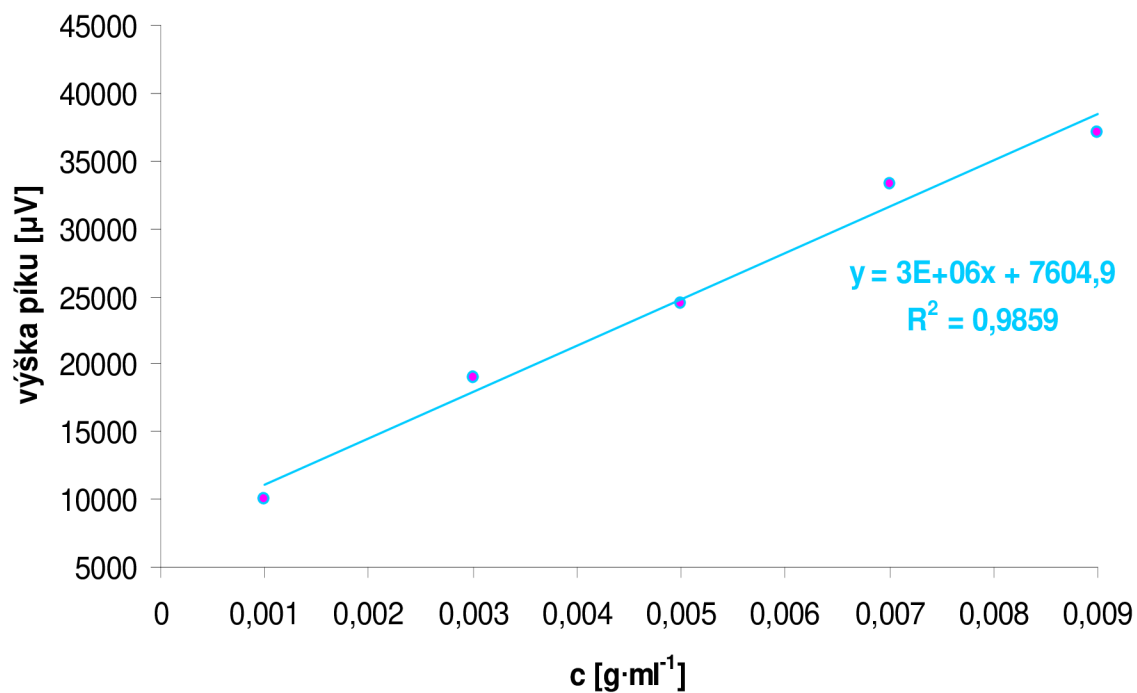
Kurčení meze detekce a meze stanovitelnosti byly využity výšky píků pro dané koncentrace jednotlivých standardů. Z těchto hodnot byly sestrojeny grafy s kalibračními přímkami závislosti výšky píku na koncentraci alergenu (viz. *graf č. 12–16*). Z výsledné rovnice regrese byla zjištěna směrnice kalibrační přímkou (b_1), která je potřebná pro výpočet meze detekce a meze stanovitelnosti. Z chromatogramu se určí maximální kolísání základní linie v oblasti dané 20-ti násobkem pološířky píku stanovovaného analytu (h_{max}). Pro výpočet odezvy meze detekce (y_D) a následně koncentraci na mezi detekce (x_D) jsou potřebné *vzorce (1),(2)*. Obdobné je to pro stanovení odezvy meze stanovitelnosti (y_S) a koncentraci na mezi stanovitelnosti (x_S), pro které jsou potřebné *vzorce (3),(4)*. Veškeré výsledky těchto výpočtů jsou shrnuty v *tabulce č. 21*.



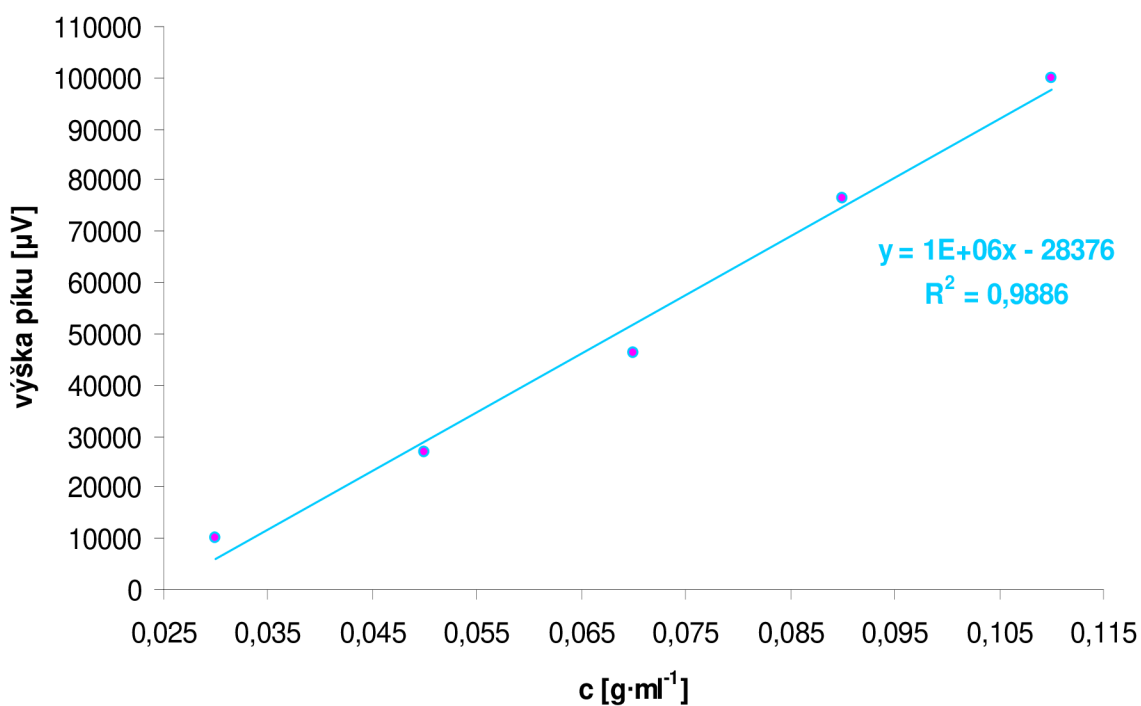
Graf č. 12 – Kalibrační závislost výšky píku na koncentraci standardu – *benzyl alkoholu*



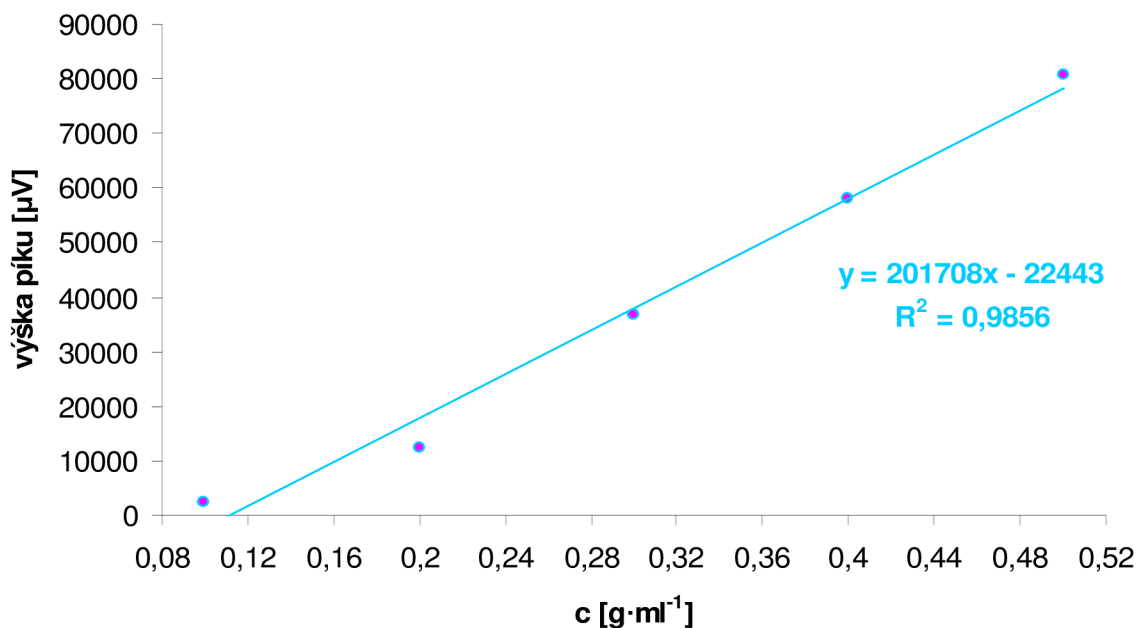
Graf č. 13 – Kalibrační závislost výšky píku na koncentraci standardu – *cinnamyl alkoholu*



Graf č. 14 – Kalibrační závislost výšky píku na koncentraci standardu – coumarinu



Graf č. 15 – Kalibrační závislost výšky píku na koncentraci standardu – amylcinnamyl alkoholu



Graf č. 16 – Kalibrační závislost výšky píku na koncentraci standardu – α -isomethyl iononu

Tabulka č. 21 – Vypočítané hodnoty meze detekce a meze stanovitelnosti pro jednotlivé standardy

Alergen	b_1	h_{max} [μV]	y_D [μV]	x_D [$g \cdot ml^{-1}$]	y_S [μV]	x_S [$g \cdot ml^{-1}$]
Benzyl alcohol	70000000	1780	5340	$7,63 \cdot 10^{-5}$	17800	$2,54 \cdot 10^{-4}$
Cinnamyl alcohol	60000000	63797	191391	$3,19 \cdot 10^{-3}$	637970	$1,06 \cdot 10^{-2}$
Amylcinnamyl alcohol	1000000	3101	9303	$9,30 \cdot 10^{-3}$	31010	$3,10 \cdot 10^{-2}$
Coumarin	3000000	4277	12831	$4,28 \cdot 10^{-3}$	42770	$1,43 \cdot 10^{-2}$
α -Isomethyl ionone	201708	1270	3810	$1,89 \cdot 10^{-2}$	12700	$6,29 \cdot 10^{-2}$

Obecně je mez stanovitelnosti (x_S) rovna hodnotě y_1 , tj. prvnímu kalibračnímu bodu kalibračního modelu a její odpovídající hodnotě x_1 [95]. Srovnání těchto hodnot je uvedeno v tabulce č. 22.

Tabulka č. 22 – Srovnání hodnot meze stanovitelnosti a prvního kalibračního bodu kalibračních křivek jednotlivých standardů

Alergen	x_S [$g \cdot ml^{-1}$]	x_1 [$g \cdot ml^{-1}$]
Benzyl alcohol	$2,54 \cdot 10^{-4}$	$2,5 \cdot 10^{-4}$
Cinnamyl alcohol	$1,06 \cdot 10^{-2}$	$1,0 \cdot 10^{-2}$
Amylcinnamyl alcohol	$3,10 \cdot 10^{-2}$	$3,0 \cdot 10^{-2}$
Coumarin	$1,43 \cdot 10^{-2}$	$1,0 \cdot 10^{-3}$
α -Isomethyl ionone	$6,29 \cdot 10^{-2}$	$10,0 \cdot 10^{-2}$

Z **tabulky č. 22** vyplývá, že se hodnoty x_S a x_I u všech standardů kromě coumarinu téměř shodují. Vyšší hodnota x_S u coumarinu může být způsobena jeho přenosem do dalších extrakcí.

Z uvedených výsledků lze usoudit, že metoda je dostatečně citlivá pro měření i nízkých koncentrací sledovaných látek ve vzorcích.

4.5 Stanovení alergenních vonných látek v kosmetických prostředcích

Byly analyzovány kosmetické prostředky běžně používané ženami, muži, ale i přípravky určené dětem. Pracovní postup přípravy je popsán v kapitole 5.3.6. Každý z deseti vzorků byl dvakrát proměřen. Cílem byla identifikace doposud stanovených alergenů a poté i jejich kvantifikace – retenční časy a kalibrační přímky standardů byly převzaty z předchozích diplomových prací [102, 103].

Identifikované alergenní vonné látky byly porovnány s údaji uvedenými výrobcí na obalu daného výrobku (viz. **tabulka č. 23–32**).

Ke kvantifikaci byly využity rovnice regresí kalibračních závislostí ploch píků na koncentracích standardů u devatenácti doposud stanovených alergenů. Ze dvou měření byl určen průměr plochy píku pomocí vzorce (5) v kapitole 3.7. Tento údaj byl dosazen do rovnice regrese každého standardu a tím byla zjištěna jejich koncentrace v analyzovaném kosmetickém prostředku.


Obsah v reálných vzorcích byl porovnán s povolenými hodnotami koncentrací udávanými evropskými předpisy, které zní [5, 18, 21, 24, 26, 28, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38]:

- ✦ přítomnost látky musí být vyznačena v seznamu přísad (ingredients), pokud její koncentrace překračuje – 0,001 % ($10 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; $1\cdot 10^{-5} \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$) v produktu, který je nesmývatelný (*leave on*)
- 0,01 % ($100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; $1\cdot 10^{-4} \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$) v produktu, který je smývatelný (*rinse off*)

Na štítku výrobku může být uvedeno slovo „Parfum“, které v sobě zahrnuje celou škálu látek určených k parfemaci, mimo jiné i námi zkoumané potenciálně alergenní vonné látky, nebo jsou vypsané názvy přítomných alergenů podle mezinárodní nomenklatury INCI v sestupném pořadí podle jejich obsahu.

❖ Reálný vzorek č. 1

Tabulka č. 23 – Dětský olej


Johnson's baby oil					
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenní vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	
	Parfum		Amylcinnamyl alcohol	881285,5	$4,13\cdot 10^{-2}$
			Citral 1	929249,5	$4,29\cdot 10^{-8}$
			Citral 2	6615183,5	$1,97\cdot 10^{-7}$
			Geraniol	2801091,0	$9,67\cdot 10^{-8}$
			α -Isomethyl ionone	282050,0	$1,36\cdot 10^{-1}$

Dětský olej – Johnson’s baby oil je bez intenzivní vůně. Kosmetické přípravky určené na dětskou pokožku by měly být bez jakékoliv parfemace, barviv a konzervačních látek. Kůže dětí je velmi citlivá, nezralá, propustná pro většinu látek, které se na ni nanášejí. Jednotlivé složky parfémovaného výrobku mohou prostoupit přes kožní bariéru dítěte, poškodit ji a vyvolat nepříjemnou alergickou reakci.

Patří k *leave on* produktům ($1 \cdot 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$). Etiketa tohoto výrobku obsahuje pouze „Parfum“, avšak bylo identifikováno 5 potenciálně alergenních vonných látek (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram III.**). Jejich koncentrace splňuje povolenou koncentraci v nesmývatelných výrobcích s výjimkou α -isomethyl iononu a amylcinnamyl alkoholu.

❖ **Reálný vzorek č. 2**

Tabulka č. 24 – Toaletní voda


<i>Eau de toilette ADIDAS</i>				
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenní vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V} \cdot \text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]
	Parfum	Methyl 2-octynoate	2057237,5	$6,02 \cdot 10^{-5}$
		Citral 1	535316,0	$3,30 \cdot 10^{-8}$
		Citral 2	782921,5	$2,86 \cdot 10^{-9}$
		Geraniol	5709529,5	$1,45 \cdot 10^{-7}$
		α -Isomethyl ionone	1674034,5	$2,95 \cdot 10^{-1}$
		Hydroxycitronellal	697146,0	$2,46 \cdot 10^{-5}$
		Cinnamal	2956457,5	$1,60 \cdot 10^{-5}$
		Amyl cinnamal 2	2813221,0	$9,96 \cdot 10^{-3}$
	Anise alcohol	16894304,0	$5,19 \cdot 10^{-4}$	
	Linalool	Linalool	31679875,0	$4,62 \cdot 10^{-7}$
Limonene	Limonene	215213850	$2,08 \cdot 10^{-5}$	
Coumarin	Coumarin	733988,0	$c < x_D$	

Toaletní voda – Eau de toilette ADIDAS pro muže má intenzivní vůni, kde základ tvoří dřevitá vůně pačuli a Tamboti doplněna o svěží vůni grapefruitu, mandarinky, bazalky, pepře a levandule. Parfémy jsou nejčastější příčinou alergických projevů kůže, protože obsahují velké zastoupení různých vonných látek.

Tento kosmetický výrobek spadá do kategorie *leave on* produktů ($1 \cdot 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$). Výrobce jsou v seznamu ingrediencí kromě „Parfum“ uvedeny ještě linalool charakteristický svou květinovou vůní, limonene s typickou pomerančově-citrusovou vůní a coumarine vonící po seně a marcipánu. Tyto látky jsou přítomny ve velmi nízkých koncentracích, proto by nemusely být na obalu vypsány. Coumarin je dokonce kvantifikován pod mezí detekce. Ostatní identifikované látky neuvedené jmenovitě na etiketě, jsou přítomny ve větších koncentracích, zejména α -isomethyl ionone, amyl cinnamal 2, methyl 2-octynoate, hydroxycitronellal, anise alcohol, cinnamal (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram IV.**). Tyto zmíněné látky mají být podle legislativy uvedeny v seznamu ingrediencí.

❖ Reálný vzorek č. 3

Tabulka č. 25 – Balzám po holení


Balzám po holení NIVEA					
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenní vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	
	Parfum		Amylcinnamyl alcohol	3501610,5	$8,92\cdot 10^{-2}$
			Amylcinnamyl 1	11559625,0	$1,87\cdot 10^{-1}$
			Methyl 2-octynoate	9171627,0	$2,99\cdot 10^{-4}$
			Citral 2	38102930,0	$1,25\cdot 10^{-6}$
			Citronellol	1911053,0	$c < x_D$
			Geraniol	4025130,5	$1,17\cdot 10^{-7}$
			Benzyl alcohol	773627,0	$5,46\cdot 10^{-4}$
			Cinnamal	3475485,5	$1,87\cdot 10^{-5}$
			Eugenol	1429231,0	$3,42\cdot 10^{-8}$
			Amylcinnamyl 2	768994,0	$4,62\cdot 10^{-3}$
		Linalool	Linalool	144491250,0	$2,07\cdot 10^{-6}$
	Limonene	Limonene	149003150	$1,42\cdot 10^{-5}$	

Balzám po holení NIVEA je určen mužům zejména pro zklidnění podrážděné pokožky po holení. Má velmi příjemnou vůni.

Řadí se k *leave on* produktům ($1\cdot 10^{-5}$ $\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$). V seznamu ingrediencí je uveden linalool a limonene, jejichž přítomnost byla identifikována a kvantifikována. Jejich obsah je však poměrně nízký a nemusely by být na etiketě uvedeny. Naopak některé látky zahrnuté pod údaj „Parfum“ se nacházejí ve větší koncentraci, a proto by měly být na obalu zaznamenány. Z celkových deseti identifikovaných (viz. PŘÍLOHA III. – Chromatogram V.) to jsou: amylcinnamyl alcohol, amylcinnamyl 1, methyl 2-octynoate, benzyl alcohol, cinnamal a amylcinnamyl 2. Citronellol byl stanoven pod mezí detekce.

❖ Reálný vzorek č. 4


Tabulka č. 26 – Tělové mléko

Tělové mléko Mango&Yoghurt					
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenní vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]	
	Parfum		Amyl cinnamal 1	108431,5	$9,0076\cdot 10^{-2}$
			Citral 1	191336,0	$3,8444\cdot 10^{-7}$
			Geraniol	6173,5	$7,9870\cdot 10^{-8}$
			α -Isomethyl ionone	5739,5	0,1397
			Hydroxycitronellal	9099,0	$2,2345\cdot 10^{-5}$

Tělové mléko Mango&Yoghurt vonící po sladkém mangu a jogurtu patří do *leave on* produktů ($1 \cdot 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$). Identifikováno bylo celkem 5 alergenů (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram VI.**) – amyl cinnamal 1, citral 1, geraniol, α -isomethyl ionone, hydroxycitronellal. Největší zastoupení má α -isomethyl ionone, poté amyl cinnamal 1 a hydroxycitronellal. Koncentrace těchto látek překračuje legislativně povolenou koncentraci, proto jejich obsah na etiketě výrobku je nezbytný, avšak výrobci výše identifikované látky zahrnují pod jednotný název „Parfum“.

❖ **Reálný vzorek č. 5**

Tabulka č. 27 – Dámský parfém


<i>Parfém PRECIOUS</i>				
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenní vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V} \cdot \text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]
	Parfum	Amylcinnamyl alcohol	10354644,0	$2,15 \cdot 10^{-1}$
		α -Isomethyl ionone	607556,5	$1,73 \cdot 10^{-1}$
		Hydroxycitronellal	784575,5	$2,73 \cdot 10^{-5}$
		Cinnamal	9250760,0	$4,95 \cdot 10^{-5}$
	Linalool	Linalool	31182870,0	$4,55 \cdot 10^{-7}$
	Limonene	Limonene	220835850	$2,14 \cdot 10^{-6}$
	Hexyl cinnamal	Hexyl cinnamal	5398200,0	$7,87 \cdot 10^{-5}$
	Geraniol	Geraniol	12076484,0	$2,51 \cdot 10^{-7}$
	Citronellol	Citronellol	1806444,5	$c < x_D$
	Coumarin	Coumarin	488087,0	$c < x_D$
	Eugenol	Eugenol	1151515,0	$2,96 \cdot 10^{-8}$
	Benzyl alcohol	Benzyl alcohol	19571187,0	$9,94 \cdot 10^{-3}$
	Citral	Citral 2	11859499,5	$3,72 \cdot 10^{-7}$
	Isoeugenol	Isoeugenol	1691653,5	$6,73 \cdot 10^{-8}$
	Cinnamyl alcohol	Cinnamyl alcohol	11532493,5	$1,23 \cdot 10^{-2}$

Dámský parfém PRECIOUS s ovocnými tóny sladké hrušky, šťavnaté broskve a čerstvé mandarinky s kombinací jasmínu a zázvoru vytváří velmi intenzivně vonící kompozici. Je součástí kategorie *leave on* produktů ($1 \cdot 10^{-5} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$).

Byla identifikována široká paleta potenciálně alergenických vonných látek, to je také důkazem, proč bývají parfémové výrobky považovány za nejčastější příčiny kožních alergií. Většina ze zjištěných alergenů (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram VII.**) byla na etiketě výrobku uvedena, avšak coumarin a citronellol byly stanoveny pod mezí detekce. Amylcinnamyl alcohol, α -isomethyl ionone, hydroxycitronellal a cinnamal jsou zahrnuty v údajích „Parfum“. První dva mají v tomto výrobku největší zastoupení, avšak ve výčtu ingrediencí by měly být všechny čtyři. Z látek uvedených v seznamu ingrediencí byly s největší koncentrací kvantifikovány hexyl cinnamal, benzyl alcohol a cinnamyl alcohol. Zbývajících 8 látek by nemusely být na etiketě výrobku vůbec vyobrazeny v důsledku jejich nízkým obsahům.

❖ Reálný vzorek č. 6


Tabulka č. 28 – Balzám na ruce

Balzám na ruce s pravou čokoládou				
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenické vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
	Parfum	Linalool	2024952,5	$3,82\cdot 10^{-8}$
		Citral 1	427201,0	$3,03\cdot 10^{-8}$
		Citral 2	461947,5	$c < x_D$
		Citronellol	519425,0	$c < x_D$
		Geraniol	798212,0	$6,33\cdot 10^{-8}$
		α -Isomethyl ionone	270046,0	$1,34\cdot 10^{-1}$
		Hydroxycitronellal	35818,5	$5,20\cdot 10^{-5}$

Balzám na ruce s pravou čokoládou má příjemnou a intenzivní vůni. Řadí se mezi *leave on* produkty ($1\cdot 10^{-5} \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Bylo identifikováno celkem 7 alergenických vonných látek (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram VIII.**). Všechny byly na etiketě zahrnuty pod pojem „Parfum“. Citral 2 a citronellol byly detekovány v záporných hodnotách, jejich obsah je tedy pod mezí detekce. α -isomethyl ionone a hydroxycitronellal překračují povolenou koncentraci a měly by být uvedeny v seznamu přítomných látek na etiketě výrobku.

❖ Reálný vzorek č. 7


Tabulka č. 29 – Pěna do koupele

Pěna do koupele PINA COLADA				
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenické vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V}\cdot\text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$]
	Parfum	Amyl cinnamal 1	2209455,0	$3,33\cdot 10^{-2}$
		Geraniol	1241300,5	$7,07\cdot 10^{-8}$
		Hydroxycitronellal	631944,5	$2,27\cdot 10^{-5}$
		Cinnamal	883162,0	$4,93\cdot 10^{-6}$
		Amyl cinnamal 2	1859842,0	$7,47\cdot 10^{-3}$
		Hexyl cinnamal	910608,5	$4,91\cdot 10^{-6}$
	Benzyl alcohol	Benzyl alcohol	42134020,0	$2,12\cdot 10^{-2}$

Pěna do koupele PINA COLADA s intenzivní vůni po kokosu patří k produktům *rinse off* ($1\cdot 10^{-4} \text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$). Výrobce udává vysoké zastoupení benzyl alkoholu, který je jako jediný uvedený v seznamu ingrediencí. Ostatních 6 identifikovaných látek - amyl cinnamal 1, geraniol, hydroxycitronellal, cinnamal, amyl cinnamal 2, hexyl cinnamal je shrnuto v názvu „Parfum“ (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram IX.**). Amyl cinnamal 1 a 2 jsou přítomny ve větších koncentracích, než je předpisy povoleno, proto by měly být uvedeny na etiketě.

❖ Reálný vzorek č. 8

Tabulka č. 30 – Dětský krém


AVIRIL dětský krém				
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenní vonné látky	Průměrná plocha píku [μV·s]	Koncentrace alergenu ve výrobku [g·ml ⁻¹]
	Parfum	Citral 2	12528800,0	$3,94 \cdot 10^{-7}$
	Benzyl alcohol	Benzyl alcohol	28298465,0	$1,43 \cdot 10^{-2}$
	Coumarin	Coumarin	3539,0	$c < x_D$
	Linalool	Linalool	36395175,0	$5,29 \cdot 10^{-7}$
	Hexyl cinnamal	Hexyl cinnamal	139961,0	$c < x_D$
	Cinnamal	Cinnamal	2013316,5	$1,09 \cdot 10^{-5}$
	Geraniol	Geraniol	1523405,0	$7,54 \cdot 10^{-8}$
	Citronellol	Citronellol	3795816,5	$c < x_D$

AVIRIL dětský krém je určen pro velmi citlivou pokožku dětí. Obsah jakýkoliv vonných a konzervačních látek by měl být minimální, protože dětská kožní bariéra není ještě dostatečně vyvinutá a propouští většinu látek.

Spadá do kategorie *leave on* produktů ($1 \cdot 10^{-5}$ g·ml⁻¹). Na etiketě tohoto výrobku bylo uvedeno „Parfum“ a následující látky: benzyl alcohol, coumarin, linalool, hexyl cinnamal, cinnamal, geraniol, citronellol (viz. PŘÍLOHA III. – Chromatogram X.). Všechny byly také identifikovány. Pod „Parfum“ spadala pouze jedna látka, a to citral 2. Coumarin, hexyl cinnamal a citronellol byly stanoveny pod mezí detekce.

❖ Reálný vzorek č. 9

Tabulka č. 31 – Emulze na intimní hygienu


Emulze na intimní hygienu LACTACYD				
	Alergenní vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergenní vonné látky	Průměrná plocha píku [μV·s]	Koncentrace alergenu ve výrobku [g·ml ⁻¹]
	Parfum	Amylcinnamyl alcohol	9073796,0	$1,91 \cdot 10^{-1}$
		Amyl cinnamal 1	4555214,5	$7,20 \cdot 10^{-2}$
		Linalool	18924125,0	$2,80 \cdot 10^{-7}$
		Citral 1	24969710,0	$6,44 \cdot 10^{-7}$
		Citral 2	31675050,0	$1,03 \cdot 10^{-6}$
		Geraniol	2782336,5	$9,64 \cdot 10^{-8}$
		α-Isomethyl ionone	7568646,5	$9,70 \cdot 10^{-1}$
		Benzyl alcohol	829032,0	$5,74 \cdot 10^{-4}$
		Cinnamal	18532280,0	$9,88 \cdot 10^{-5}$
Amyl cinnamal 2		4119519,5	$1,34 \cdot 10^{-2}$	

Emulze na intimní hygienu LACTACYD není charakteristická žádnou vůní. Tyto přípravky by měly být k pokožce intimních partií velmi šetrné, s určitým obsahem kyseliny mléčné upravující pH na mírně kyselé, tím se zamezí přemnožení škodlivých bakterií a vzniku nežádoucích infekcí. Užívání přípravků pro intimní hygienu by mělo být samozřejmostí pro každou ženu už jen z důvodu prevence proti vzniku různých infekčních chorob.

Patří mezi *rinse off* produkty, které se do 20 minut smývají ($1 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$). Na etiketě tohoto výrobku nebyla uvedena žádná z deseti zjištěných látek (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram XI.**). Vše bylo zahrnuto pod pojem „*Parfum*“. Podle evropských předpisů by měly být na obalu výrobku uvedeny látky překračující povolenou koncentraci. Z identifikovaných alergenů jsou to tyto: amylcinnamyl alcohol, amyl cinnamal 1, benzyl alcohol, α -isomethyl ionone a amyl cinnamal 2.

❖ Reálný vzorek č. 10

Tabulka č. 32 – Odličovací mléko

<i>Odličovací mléko GARNIER</i>				
	Alergení vonné látky uvedené na obalu výrobku	Identifikované alergení vonné látky	Průměrná plocha píku [$\mu\text{V} \cdot \text{s}$]	Koncentrace alergenu ve výrobku [$\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]
		Linalool	Linalool	34596915,0
	Parfum	Amylcinnamyl alcohol	2263064,5	$6,66 \cdot 10^{-2}$
		Citral 2	285758,0	$c < x_D$
		Geraniol	713079,5	$6,19 \cdot 10^{-8}$
		α -Isomethyl ionone	290334,5	$1,37 \cdot 10^{-1}$
		Hydroxycitronellal	324738,0	$1,34 \cdot 10^{-5}$
		Anise alcohol	1330203,5	$2,93 \cdot 10^{-5}$

Odličovací mléko GARNIER má svěží vůni připomínající hrozny. Je určen k odstranění make-upu v oblasti očí a obličeje, proto by měl být pro tyto partie obzvláště šetrný. Nesmí oči žádným způsobem dráždit (štípat, pálit).

Spadá do kategorie *rinse off* produktů ($1 \cdot 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$). Etiketa výrobku obsahuje linalool, který byl identifikován společně s dalšími šesti vonnými látkami (viz. **PŘÍLOHA III. – Chromatogram XII.**), které byly ovšem zařazeny pod souhrnný název „*Parfum*“. Největší koncentraci u zjištěných alergenů zaujímal α -isomethyl ionone, poté amylcinnamyl alcohol. Obě tyto látky by měly být udány v seznamu ingrediencí výrobku na rozdíl od linaloolu, jehož stanovená koncentrace byla pod limitní hodnotou. Citral 2 byl kvantifikován pod mezí detekce.

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo stanovení vybraných vonných látek v kosmetických prostředcích pomocí mikroextrakce tuhou fází ve spojení s plynovou chromatografií a plamenově ionizačním detektorem (SPME-GC-FID). Tato metoda byla validována a aplikována na deset reálných vzorků kosmetických prostředků.

Vůně a vonné látky jsou všude kolem nás. Mají značný vliv při výběru jakéhokoliv produktu, ovlivňují naši náladu, vzbuzují potěšující pocity. Důležité je, aby látka působila na smyslové orgány v optimální míře. Některé sloučeniny jsou příjemné jen ve velmi nízké koncentraci, naopak jejich nadměrné množství má účinek opačný.

Od 19. století začal rapidní rozvoj výroby syntetických vonných látek. Začaly nahrazovat přírodní látky, které jsou pro získávání a výrobu velmi drahé. S tím ale samozřejmě souvisí nárůst přítomnosti chemických sloučenin v parfemovaných kosmetických výrobcích i v aromatizovaných potravinách. U citlivých lidí může docházet ke vzniku alergických reakcí kůže, např. různé vyrážky, ekzémy, dermatitidy nebo přicházejí problémy s dýcháním, astma. Proto bylo Evropskou direktivou ustanoveno 26 sloučenin jako potenciální alergenní vonné substance (PASs). V kosmetických prostředcích je pro každou z nich povolena určitá koncentrace, která musí být striktně dodržována. Struktura vůně je považována za obchodní tajemství a komponenty, které ji tvoří ve výrobku, většinou nejsou jednotlivě uváděny na etiketě, ale jsou skryty pod jednotným pojmem „*Parfum*“.

Nejčastěji používanou metodou pro stanovení vonných látek je plynová chromatografie. Využívá se v kombinaci s mikroextrakcí tuhou fází (SPME), což je rychlá, citlivá, jednoduchá, izolační metoda, kde není zapotřebí přítomnost rozpouštědel, takže se vyznačuje šetrností k životnímu prostředí.

Experimentální část této práce využívá metody plynové chromatografie s mikroextrakcí tuhou fází. K detekci je použit plamenově ionizační detektor (SPME-GC-FID). Nejprve byla provedena identifikace šesti vybraných alergenních vonných látek (amylcinnamyl alkoholu, benzyl alkoholu, cinnamyl alkoholu, coumarinu, lyralu, α -isomethyl iononu) z celkových 26 alergenů.

Stěžejní částí byla validace této metody. Proběhlo stanovení následujících validačních parametrů – linearity opakovatelnosti, meze detekce a meze stanovitelnosti, ale z časových důvodů pouze u pěti standardů (amylcinnamyl alkoholu, benzyl alkoholu, cinnamyl alkoholu, coumarinu a α -isomethyl iononu).

Linearita je posuzována podle velikosti korelačního koeficientu, který nesmí klesnout pod 0,98. U stanovovaných alergenních látek byl v intervalu 0,9856–0,9984, takže požadované kritérium bylo splněno.

Parametrem pro hodnocení opakovatelnosti je relativní směrodatná odchylka, která nesmí přesáhnout 10 %. U všech analyzovaných standardů toho bylo docíleno. Hodnoty se pohybovaly v rozmezí 3,5–9,67 %.

Mez detekce byla stanovena v rozpětí $7,63 \cdot 10^{-5}$ – $1,89 \cdot 10^{-2}$ g·ml⁻¹ a mez stanovitelnosti v rozsahu $2,5 \cdot 10^{-4}$ – $6,3 \cdot 10^{-2}$ g·ml⁻¹.

Nakonec byla metoda SPME-GC-MS aplikována na deset vybraných kosmetických prostředků. Všechny doposud stanovené alergenní vonné látky i z minulých diplomových prací byly v těchto výrobcích identifikovány s využitím retenčních časů a poté i kvantifikovány. K určení přítomného množství byly zapotřebí plochy píků a regresní rovnice z kalibračních závislostí ploch píků na koncentracích pro jednotlivé standardy. Nejčastěji se

vyskytujícími alergeními látkami byly geraniol (přítomen ve všech analyzovaných kosmetických prostředcích), citral 2 (určen u 8 výrobků), linalool a α -isomethyl ionone (oba obsaženy v 7 vzorcích). α -Isomethyl ionone byl nalezen v nejvyšších koncentracích v rozmezí $1,34 \cdot 10^{-1}$ – $9,70 \cdot 10^{-1}$ g·ml⁻¹, poté amylcinnamyl alcohol v intervalu $3,33 \cdot 10^{-2}$ – $1,87 \cdot 10^{-1}$ g·ml⁻¹. Naopak v nejnižším množství se nacházely linalool ($3,81 \cdot 10^{-8}$ – $2,80 \cdot 10^{-7}$ g·ml⁻¹), geraniol ($5,56 \cdot 10^{-8}$ – $2,51 \cdot 10^{-7}$ g·ml⁻¹), citral 1 ($3,03 \cdot 10^{-8}$ – $6,44 \cdot 10^{-7}$ g·ml⁻¹), citral 2 ($2,86 \cdot 10^{-9}$ – $1,25 \cdot 10^{-6}$ g·ml⁻¹) a eugenol ($2,96 \cdot 10^{-8}$ – $3,42 \cdot 10^{-8}$ g·ml⁻¹).

Identifikované alergenní vonné látky byly srovnávány s údaji uvedenými na etiketách výrobků. Většina posuzovaných kosmetických prostředků obsahovala na svém obalu v seznamu ingrediencí pouze souhrnný název pro vonné látky – „Parfum“. Ale ukázalo se, že v sobě skrývá alergeny s mnohdy větší koncentrací než ty, které byly na etiketě vypsány. Proto by se měla věnovat tomuto údaji větší pozornost, zvláště z důvodu stále rostoucího počtu alergiků na parfémované výrobky, a to zejména na parfémy.

Uvedenou metodou SPME-GC-FID bylo doposud proměřeno 19 (viz. **tabulka č. 12**) z celkových 26 potenciálně alergenních vonných látek. Pro další navazující práci navrhuji stanovení validačních parametrů u zbývajících látek jakou jsou: benzyl benzoate, benzyl cinnamate, benzyl salicylate, farnesol, lilial, lylal a 2 přírodní extrakty mechu.

Dále by měl být ještě optimalizován teplotní program. Cílem je najít takový teplotní program, ve kterém by šlo všech 26 alergenů proměřit v jedné směsi bez toho, aby se jejich retenční časy překrývaly. V naší práci byla ztížena identifikace anise alkoholu a cinnamyl alkoholu, dále amyl cinnamylu 1 a linaloolu a také isoeugenolu 2 a hexyl cinnamalu a geraniolu s α -isomethyl ionone, protože zmíněné dvojice standardů vykazují téměř shodné retenční časy (viz. **tabulka č. 12**). Je pravděpodobné, že podobný problém se objeví i u některých dalších sloučenin.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] VONÁŠEK, F., TREPKOVÁ, E., NOVOTNÝ, L.: *Látky vonné a chuťové*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1987. 437 s.
- [2] KRS, V.: *Materiály I*. 1. vyd. Praha: INFORMATORIUM, 2001. 135 s. ISBN 80-86073-73-4.
- [3] ČERNÝ, L.: Syntetické vonné a chuťové látky. *Chemické Listy*, 1999, roč. 93, s. 412-420.
- [4] BRIDGES, B.: Fragrance: Emerging health and environmental concerns. *Flavour and Fragrance Journal*, 2002, vol. 17, no. 5, pp. 361–371.
- [5] VILLA, C., et al.: High-performance liquid chromatographic method for the simultaneous determination of 24 fragrance allergens to study scented products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2007, vol. 44, no. 3, pp. 755-762.
- [6] TREPKOVÁ, E., VONÁŠEK, F.: *Vůně a parfémy: Tajemství přitažlivosti*. Praha: Maxdorf, 1997. 173 s. ISBN 80-85800-48-9
- [7] VALÍČEK, P.: *Technické a siličnaté rostliny*. 1.vyd. Brno : Mendelova zemědělská lesnická univerzita, 2006. 95 s. ISBN 80-7157-936-X.
- [8] *Kozmetická chémia* [online]. 2008 [cit. 2011-02-09]. Dostupné z: <<http://kekule.science.upjs.sk/chemia/kuch/CHBZ3.html>>.
- [9] KADLEC, P.: *Technologie potravin II*. Praha: VŠCHT, 2002. 236 s. ISBN 80-7080-510-2.
- [10] GROOM, N.: *Parfémy: průvodce*. 1. vyd. Praha: Fortuna Print, 2000. 192 s. ISBN 80-86144-55-0.
- [11] ZAHRADNÍK, M.: *Materiály II*. 1. vyd. Praha: INFORMATORIUM, 2001. 103 s. ISBN 80-86073-83-1.
- [12] HLAVA, B., POSPÍŠIL, F., STARÝ, F.: *Rostliny v kozmetice*. 2. vyd. Bratislava: Priroda, 1988. 237 s.
- [13] JÍROVÁ, D., TRÁVNÍČKOVÁ, Z.: *Kozmetická a domácí chemie: Průvodce*. Praha: SOS - Sdružení obrany spotřebitelů, 2007. 42 s. ISBN 978-80-254-1330-2
- [14] *Consumer Affairs* [online]. 2004 [cit. 2011-03-13]. Rapex. Dostupné z: <http://ec.europa.eu/consumers/dyna/rapex/rapex_archives_en.cfm>.

- [15] *Mezinárodní kosmetologická konference: sborník*. Praha: Kosmetologická společnost ČR, 2007. 30 s. ISBN 978-80-254-0454-6.
- [16] JIROUSKOVÁ, J. (Aroma Praha a.s.): *Perfémové kompozice – limitující faktory při jejich tvorbě*. 91. kosmetologický seminář, 11.-12. dubna 2006, České Budějovice
- [17] RASTOGI, S. C.: Allergens in Perfumes: Gas Chromatography-Mass Spectrometry. *Encyclopedia of Separation Science*. 2007, pp. 1974-1981.
- [18] WALORCZYK, S., GNUSOWSKI, B.: Fast and sensitive determination of pesticide residues in vegetables using low-pressure gas chromatography with a triple quadrupole mass spectrometer. *Journal of Chromatography A*. 2006, vol. 1128, no. 1-2, pp. 236-243.
- [19] PAUWELS, M., ROGIERS, V.: EU legislations affecting safety data availability of cosmetic ingredients. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2007, vol. 49, no. 3, pp. 308-315.
- [20] NOHYNEK, G. J., et al.: Safety assessment of personal care products/cosmetics and their ingredients. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2010, vol. 243, no. 2, pp. 239-259.
- [21] KUBELOVÁ, J. (Aroma Praha a.s.): *Parfémové kompozice a současná diskuze kolem nich*. Kosmetologický seminář, 4.-6. dubna 2005, České Budějovice
- [22] CHAINATREAU, A.: Analytical Methods to Determine Potentially Allergenic Fragrance-Related Substances in Cosmetics. *Analysis of Cosmetic Products*. 2007, pp. 257-275.
- [23] DUNN, M. S., et al.: Targeted multidimensional gas chromatography for the quantitative analysis of suspected allergens in fragrance. *Journal of Chromatography A*. 2006, vol. 1130, no. 1, pp. 122-129.
- [24] FURLANETTO, S., et al.: Microemulsion electrokinetic chromatography: An application for the simultaneous determination of suspected fragrance allergens in rinse-off products. *Talanta*. 2010, vol. 83, no. 1, pp. 72-77.
- [25] LEIJS, H., et al.: Quantitative Analysis of the 26 Allergens for Cosmetic Labeling in Fragrance Raw Materials and Perfume Oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005, no. 53, pp. 5487-5491.
- [26] KLASCHKA, U.: Risk management by labelling 26 fragrances? Evaluation of Article 10 (1) of the seventh Amendment (Guideline 2003/15/EC) of the Cosmetic Directive. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 2010, no. 213, pp. 308-320.

- [27] JÍROVÁ, D. (Národní referenční centrum pro kosmetiku, Státní zdravotní ústav Praha): *Hodnocení bezpečnosti kosmetických prostředků v současnosti a dle nových požadavků bez testů na zvířatech*. Seminář Prokos, 14. 11. 2007, Praha
- [28] EU. ROZHODNUTÍ KOMISE ze dne 9. února 2006, kterým se mění rozhodnutí 96/335/ES, kterým se stanoví soupis a společná nomenklatura přísad používaných v kosmetických prostředcích. In *Úřední věstník Evropské unie*. 2006, II, s. 1-528.
- [29] BURCZYK, F., GIANNI, A.: *Lexikon kosmetiky od A do Z*. Praha: PRAGMA, 1999. 180 s. ISBN 80-7205-939-4.
- [30] NIEDERER, M., BOLLHALDERA, R., HOHL, Ch.: Determination of fragrance allergens term in previous cosmetics by size-exclusion chromatography followed by gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2006, vol. 1132, no. 1-2, pp. 109-116.
- [31] ADAHCHOUR, M., et al.: Recent developments in comprehensive two-dimensional gas chromatography (GC×GC): II. Modulation and detection. *Trends in Analytical Chemistry*. 2006, vol. 25, no. 6, pp. 540-553
- [32] CORDERO, Ch., et al.: Identification, quantitation and method validation for the analysis of suspected allergens in fragrances by comprehensive two-dimensional gas chromatography coupled with quadrupole mass spectrometry and with flame ionization detection. *Journal of Chromatography A*. 2007, vol. 1150, no. 1-2, pp. 37-49.
- [33] LAMAS, J. P., et al.: Solid-phase microextraction gas chromatography-mass spectrometry determination of fragrance allergens in baby bathwater. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*. 2009, vol. 394, pp. 1399-1411.
- [34] LAMAS, J. P., et al.: Determination of fragrance allergens in indoor air by active sampling followed by ultrasound-assisted solvent extraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2010, vol. 1217, no. 12, pp. 1882-1890.
- [35] LAMAS, J. P., et al.: Development of a solid phase dispersion-pressurized liquid extraction method for the analysis of suspected fragrance allergens in leave-on cosmetics. *Journal of Chromatography A*. 2010, vol. 1217, pp. 8087-8094.
- [36] SGORBINI, B., et al.: Quantitative determination of some volatile suspected allergens in cosmetic creams spread on skin by direct contact sorptive tape extraction–gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2010, vol. 1217, no. 16, pp. 2599-2605.

- [37] LAMAS, J. P., et al.: Sorbent trapping solid-phase microextraction of fragrance allergens in indoor air . *Journal of Chromatography A*. 2010, vol. 1217, no. 33, pp. 5307-5316.
- [38] BECERRIL-BRAVO, E., et al.: Ultrasound-assisted emulsification–microextraction of fragrance allergens in water . *Chemosphere*. 2010, vol. 81, no. 11, pp. 1378-1385
- [39] *SpecialChem* [online]. 2010 [cit. 2011-03-06]. INCI Directory. Dostupné z: <<http://www.specialchem4cosmetics.com/services/inci/index.aspx>>.
- [40] CADBY, P., et al.: Identification of the causes of an allergic reaction to a fragranced consumer product. *Flavour and Fragrance Journal*. 2010, no. 26, pp. 2-6.
- [41] NEWBURGER, A. E.: Cosmeceuticals: myths and misconceptions. *Clinics in Dermatology*. 2009, no. 27, pp. 446-452.
- [42] *RIFM - Research Institute for Fragrance Materials* [online]. cRIFM [cit. 2011-03-09]. Dostupné z: <<http://www.rifm.org/index.asp>>.
- [43] NARDELLI, A., et al.: Frequency of and trends in fragrance allergy over a 15-year period. *Contact Dermatitis*. 2008, no. 58, pp. 134-141
- [44] Zákon č. 258/2000 ze dne 14. července 2000 o ochraně veřejného zdraví a o změně některých souvisejících zákonů. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2000, strana 3 622-3 662.
- [45] Zákon č. 634/1992 Sb. ze dne 16. prosince 1992 o ochraně spotřebitele. Sbírka zákonů České republiky, ročník 1992.
- [46] Vyhláška č. 26/2001 Ministerstva zdravotnictví ze dne 8. ledna 2001 o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2001, strana 346–402.
- [47] Vyhláška č. 112/2007 ze dne 30. dubna 2007, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku, ve znění pozdějších předpisů. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2007, strana 1 344-1 345.
- [48] Vyhláška č. 268/2001 ze dne 12. července 2001, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku

a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2001, strana 6 441-6 442.

- [49] Vyhláška č. 444/2004 ze dne 16. července 2004, kterou se mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku ve znění vyhlášky č. 268/2001 Sb. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2004, strana 8 789–8 852.
- [50] Vyhláška č. 126/2005 ze dne 16. března 2005, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2005, strana 1 298-1 324.
- [51] Vyhláška č. 104/2006 ze dne 21. ledna 2006, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku, ve znění pozdějších předpisů. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2006, strana 1 228-1 229.
- [52] JÍROVÁ, D. (Národní referenční centrum pro kosmetiku, Státní zdravotní ústav Praha): *Kosmetické prostředky – novinky v legislativě ČR*, 31. 3. 2006.
- [53] Vyhláška č. 260/2006 ze dne 19. května 2006, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2006, strana 3 134-3 137
- [54] Vyhláška č. 474/2006 ze dne 16. října 2006, kterou mění vyhláška Ministerstva zdravotnictví č. 26/2001 Sb., o hygienických požadavcích na kosmetické prostředky, o náležitostech žádosti o neuvedení ingredience na obalu kosmetického prostředku a o požadavcích na vzdělání a praxi fyzické osoby odpovědné za výrobu kosmetického prostředku. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2006, strana 6 420-6 421.
- [55] Vyhláška č. 448/2009 ze dne 10. prosince 2009 o stanovení hygienických požadavků na kosmetické prostředky. Sbírka zákonů Česká republika, ročník 2009, strana 7 222-7 366.
- [56] MACHOVCOVÁ, A.: Skryté a neočekávané alergeny v kosmetických přípravcích. *Dermatologie pro praxi*, 2007, č. 1, s. 6-9. ISSN 1803-5337.

- [57] ORTIZ, K.J., YIANNIAS, J.A.: Contact dermatitis to cosmetics, fragrances, and botanicals. *Dermatologic therapy*. 2004, vol. 17, pp. 264-271. ISSN 1396-0296
- [58] KARLBERG, A.-T., et al.: Allergic Contact Dermatitis—Formation, Structural Requirements, and Reactivity of Skin Sensitizers. *Chemical Research in Toxicology*. 2008, vol. 21, no. 1, pp. 53-69.
- [59] PONS-GUIRAUD, A.: Alergie a kosmetika. Informační brožura. *UCB Institut pro alergie*, 2005, 12 s.
- [60] HAGVALL, L., et al.: Cytochrome P450-mediated activation of the fragrance compound geraniol forms potent contact allergens. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2008, vol. 233, no. 2, pp. 306-313.
- [61] OOSTEN, E.J., et al.: Clinical relevance of positive patch test reactions to the 26 EU-labelled fragrances. *Contact Dermatitis*. 2009, no. 61, pp. 217-223.
- [62] NILSSON, J., et al.: Evaluation of ionization techniques for mass spectrometric detection of contact allergenic hydroperoxides formed by autoxidation of fragrance terpenes. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*. 2008, no. 22, pp. 3593-3598.
- [63] DASTYCHOVÁ, E.: Kontaktní alergený jako příčiny vzniku ekzému. *Dermatologie pro praxi*, 2008, č. 2, s. 68-73.
- [64] NOVOTNÝ, F., NOVÁK, M., KALENSKÝ, J.: *Ekzémová onemocnění v praxi*. Praha: Grada: Avicenum, 1993. 268 s. ISBN 80-7169-067-8.
- [65] WHITE, J.M.L., et al.: Atopic dermatitis and allergic reactions to individual fragrance chemicals. *Allergy*. 2009, no. 64, pp. 312-316.
- [66] BENÁKOVÁ, N.: *Ekzémy a dermatitidy v lékařské praxi: průvodce ošetřujícího lékaře*. Praha: Maxdorf, 2006. 125 s. ISBN 80-7345-078-X.
- [67] HEISTERBERG, M.V., et al.: Fragrance mix II in the baseline series contributes significantly to detection of fragrance allergy. *Contact Dermatitis*. 2010, no. 63, pp. 270-276.
- [68] FEŘTEKOVÁ, V., a kol.: *Kosmetika v teorii a v praxi*. 2. vyd. Praha: MAXDORF, 1995. 288 s. ISBN 80-85800-29-2.
- [69] ZÁHEJSKÝ, J.: *Zevní dermatologická terapie a kosmetika: pohledy klinické, fyziologické a biologické*. 1. vyd. Bratislava: Grada, 2006. 133 s. ISBN 80-247-1551-1.
- [70] MACHOVCOVÁ, A.: Kontaktní dermatitidy. *Pediatric pro praxi*, 2006, č. 2, s. 68-73.

- [71] *ThirdAge.com* [online]. 1997 [cit. 2011-03-26]. What is Erythema a Infectiosum?. Dostupné z: <<http://www.thirdage.com/hc/c/what-is-erythema-infectiosum>>.
- [72] *Care New England Wellnes Center* [online]. 2009 [cit. 2011-03-26]. Urticaria. Dostupné z: <<http://www.cnewellnessctr.org/body.cfm?id=99&chunkiid=103643>>.
- [73] MACHOVCOVÁ, A.: Epikutánní testy. *Dermatologie pro praxi*, 2007, č. 2, s. 64-66
- [74] Medical Easy one-stop medical shop [online]. 2011 [cit. 2011-03-30]. Curatest F. Dostupné z: <<http://www.harrmed.com/index.php?kc=LOH30062>>.
- [75] JANČÁŘOVÁ, I., JANČÁŘ, L.: *Analytická chemie*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. 195 s. ISBN 80-7157-647-6.
- [76] KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.
- [77] SOMMER, L. a kol.: *Základy analytické chemie II*. Brno: Nakladatelství VUTIUM, 2000. 347 s. ISBN 80-214-1742-0.
- [78] ČÁSLAVSKÝ, J.: *Přenášky z instrumentální a strukturní analýzy*. Brno: Fakulta chemická VUT, 2010. Nepublikované
- [79] MAZIDA, M. M., SALLEH, M. M., OSMAN, H.: Analysis of volatile aroma compounds of fresh chilli (*Capsicum annum*) during stages of maturity using solid phase microextraction (SPME). *Journal of Food Composition and Analysis*. 2008, no. 18, pp. 427-437.
- [80] RASTOGI, S. C., et al.: Deodorants on the European market: quantitative chemical analysis of 21 fragrances. *Contact Dermatitis*. 1998, no. 38, pp. 29-35. ISSN 0105-1873.
- [81] ŠTULÍK, K. a kol.: *Analytické separační metody*. 1.vyd. Praha: Karolinum, 2004. 263 s. ISBN 80-246-0852-9.
- [82] CHURÁČEK, J.: *Analytická separace látek: celostátní vysokoškolská učebnice pro vysoké školy chemickotechnologické*. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1990. 384 s. ISBN 80-03-00569-8.
- [83] DEBONNEVILLE, Ch., CHAINTREAU, A.: Quantitation of suspected allergens in fragrances Part II. Evaluation of comprehensive gas chromatography–conventional mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2004, vol. 1027, pp. 109-115.
- [84] STEINEMANN, A. C.: Fragranced consumer products and undisclosed ingredients. *Environmental Impact Assessment Review*. 2008, no. 29, pp. 32-38.

- [85] *Sigma-Aldrich* [pdf dokument]. [cit. 2011-04-02]. SPME. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/etc/medialib/docs/Sigma-Aldrich/General_Information/spme_teorie.Par.0001.File.tmp/spme_teorie.pdf>.
- [86] PAWLISZYN, J. Solid Phase Microextraction (SPME). *The Chemical Educator*. 1997, vol. 2, no. 4, pp. 1-7. ISSN 1430-4171.
- [87] VESPALCOVÁ, M.: *Přednášky z jakosti v laboratorní a kontrolní praxi*. Brno: Fakulta chemická VUT, 2011. Nepublikované
- [88] KONING, S., JANSSEN, H.-G., BRINKMAN, U. A.: The Modern Methods of Sample Preparation for GC Analysis. *Chromatographia*. 2009, no. 69, pp. 33-78.
- [89] CHEN, Y., et al.: Quantification of perfume compounds in shampoo using solid-phase microextraction. *Flavour and Fragrance Journal*. 2006, no. 213, pp. 822-832.
- [90] ORTIZ, G., TENA, M. T.: Headspace solid-phase microextraction gas chromatography–mass spectrometry method for the identification of cosmetic ingredients causing delamination of packagings. *Journal of Chromatography A*. 2006, no. 1101, pp. 32-37.
- [91] KOLÁČKOVÁ, A.: *Analýza vybraných alergenů ve vonných kompozicích*. Brno, 2010. 119 s. Diplomová práce na Fakultě chemické VUT v Brně. Vedoucí diplomové práce Ing. Jana Zemanová, Ph.D.
- [92] MOKÁŇOVÁ, R.: *Analýza vonných látek v kosmetických prostředcích metodou plynové chromatografie*. Brno, 2009. 92 s. Diplomová práce na Fakultě chemické VUT v Brně. Vedoucí diplomové práce Ing. Jana Zemanová, Ph.D.
- [93] *EUROCHEM* [online]. 2002 [cit. 2011-04-20]. Chemické látky. Dostupné z: <<http://www.eurochem.cz/index.php?MN=Chemick%E9+l%E1tky&ProdID=00021B0608D7E8860002EC86&PHPSESSID=1887148abdf10e444a3f7f5036db0b0a>>.
- [94] *Chemical Book* [online]. 2008 [cit. 2011-04-20]. Products. Dostupné z: <<http://www.chemicalbook.com/>>.
- [95] *Pubchem* [online]. [cit. 2011-04-20]. Compound. Dostupné z: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>.
- [96] KRATOCHVÍL, F.: *Epikutánní testy* [online]. 2007 [cit. 2011-04-20]. Abecední seznam ICDRG autorizovaných alergenů. Dostupné z: <<http://www.epitesty.cz/default.asp?inc=sez&filtr=A>>.
- [97] *VŠCHT* [pdf dokument]. [cit. 2011-04-13]. Validační program pro statistické zpracování analytických dat. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/ktk/www_324/lab/texty/ana/validace.pdf>.

- [98] SUCHÁNEK, M.: *Kvalimetrie: 7. Validace analytických metod*. Praha: Eurachem-ČR, 1997. 137 s. ISBN 80-901868-2-3.
- [99] KRATOCHVÍLA, J., FRIEDECKÝ, B., PLZÁK, Z.: *Požadavky na validace z hlediska norem souvisejících s akreditačními procesy v klinické laboratoři*. Akademie věd České republiky, Seminář Poděbrady, duben 2004.
- [100] *HPLC* [online]. 1999 [cit. 2011-04-13]. Definice: Konfirmace - Kvantifikace - Validace. Dostupné z: <<http://www.hplc.cz>>.
- [101] *EffiChem* [online]. 2011 [cit. 2011-04-13]. Validace metod. Dostupné z: <<http://www.efficem.cz/produkty/effvalidation-3-0/moduly/validace-metod/>>.
- [102] HENDL, J.: *Přehled statistických metod zpracování dat*. Praha: Portál, 2004. 584 s. ISBN 80-7178-820-1.
- [103] BABÁK, L.: *Přednášky z biostatistiky*. Brno: Fakulta chemická VUT, 2010. Nепublikované

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

ACD	Dermatitis contacta allergica (<i>Alergická kontaktní dermatitida</i>)
CAR TM	Carboxene (<i>Carboxen</i>)
CIR	Cosmetic Ingredient Review (<i>Hodnocení kosmetických ingrediencí</i>)
CLS	Comprehensive Licensing Standards of cosmetics by category) (<i>Komplexní licenční standardy kosmetických kategorií</i>)
COLIPA	European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association (<i>Evropské sdružení výrobců kosmetiky a toaletního zboží</i>)
CPSC	Consumer Product Safety Commission (<i>Komise pro bezpečnost spotřebního zboží</i>)
CTFA	Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association (<i>Asociace pro kosmetické, toaletní potřeby a vonné látky</i>)
DC-STE-GC-MS	Direct Contact Sorptive Tape Extraction-Gas Chromatography-Mass Spectrometry. (<i>Extracce sorpční páskou ve spojení s plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometrem</i>)
DVB	Divinylchloride (<i>Divinylchlorid</i>)
EC	European Commission (<i>Evropská komise</i>)
EINECS	European Inventory of Existing Chemical Substances (<i>Evropský inventář existujících chemických látek</i>)
ELINCS	European List of Notified Chemical Substances (<i>Evropský seznam oznámených chemických látek</i>)
EPA	Environmental Protection Agency (<i>Agentura pro ochranu životního prostředí</i>)
ET	Patch Test (<i>Epikutánní test</i>)
FDA	Food and Drug Administration (<i>Úřad pro kontrolu potravin a léčiv</i>)
GC	Gas Chromatography (<i>Plynová chromatografie</i>)
GC-FID	Gas chromatography-Flame Ionization Detektor (<i>Plynová chromatografie s plamenově ionizačním detektorem</i>)
GCxGC	Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography (<i>Orthogonální dvourozměrná plynová chromatografie</i>)
GCxGC-MS	Comprehensive Two-Dimensional Gas Chromatography- Flame Ionization Detektor (<i>Orthogonální dvourozměrná plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem</i>)

GC-MS	Gas Chromatography-Mass Spektrometry (<i>Plynová chromatografie s hmotnostním spektrometrem</i>)
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (<i>Vysokoučinná kapalinová chromatografie</i>)
HS-SPME-GC-MS	Headspace-Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Mass Spektrometry (<i>Headspace mikroextrakce tuhou fází s plynovou chromatografií s hmotnostním spektrometrem</i>)
ICD	Dermatitis contacta irritativa (<i>Iritační kontaktní dermatitida</i>)
ICDRG	International Contact Dermatitis Research Group (<i>Mezinárodní skupina pro výzkum kontaktní dermatitidy</i>)
IFRA	International Fragrance Association (<i>Mezinárodní výzkumná asociace vonných látek</i>)
INCI	International Nomenclature for Cosmetic Ingredients (<i>Mezinárodní názvosloví pro označení ingrediencí na kosmetických prostředcích</i>)
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry (<i>Mezinárodní unie pro čistou a aplikovanou chemii</i>)
JCIA	Japan Cosmetic Industry Association (<i>Japonská asociace kosmetického průmyslu</i>)
LC-UV	Liquid Chromatography-UV Detector (<i>Kapalinová chromatografie s UVdetektorem</i>)
LC-MS	Liquid Chromatography-Mass Spectrometry (<i>Kapalinová chromatografie s hmotnostní detekcí</i>)
LOD	Limit of detection (<i>Mez detekce</i>)
LOQ	Limit of quantification (<i>Mez stanovitelnosti</i>)
MEEKC	Microemulsion Electrokinetic Chromatography (<i>Mikroemulzní elektrokinetická chromatografie</i>)
NMR	Nuclear Magnetic Resonance (<i>Nukleární magnetická rezonance</i>)
PASs	Potentially Allergenic Substance (<i>Potenciálně alergenní látky</i>)
PCPC	Personal Care Products Council (<i>Rada pro přípravky osobní péče</i>)
PDMS	Polydimethylsiloxane (<i>Polydimethylsiloxan</i>)
PVC	Polyvinylchloride (<i>Polyvinylchlorid</i>)
RAPEX	Rapid Alert System for Non-Food Products (<i>Rychlý výstražný informační systém pro výrobky nepotravinářského charakteru</i>)

REXPAN	RIFM's Expert Panel <i>(Panel nezávislých poradců výzkumného ústavu pro vonné materiály)</i>
RIFM	Research Institute for Fragrance Materials <i>(Výzkumný institut pro vonné materiály)</i>
RP-HPLC-DAD	High Performance Liquid Chromatography-Diode Array Detektor <i>(Rychlá vysoce účinná kapalinová chromatografie s detektorem diodového pole)</i>
SCCP	Scientific Committee on Consumer Products <i>(Vědecký výbor pro spotřební zboží)</i>
SCCPNFP	Scientific Committee on Cosmetic Products and Non-Food Products <i>(Vědecký výbor pro kosmetiku a nepotravinové výrobky)</i>
SPME	Solid-Phase Microextraction <i>(Mikroextrakce tuhou fází)</i>
v/o	Emulze voda v oleji

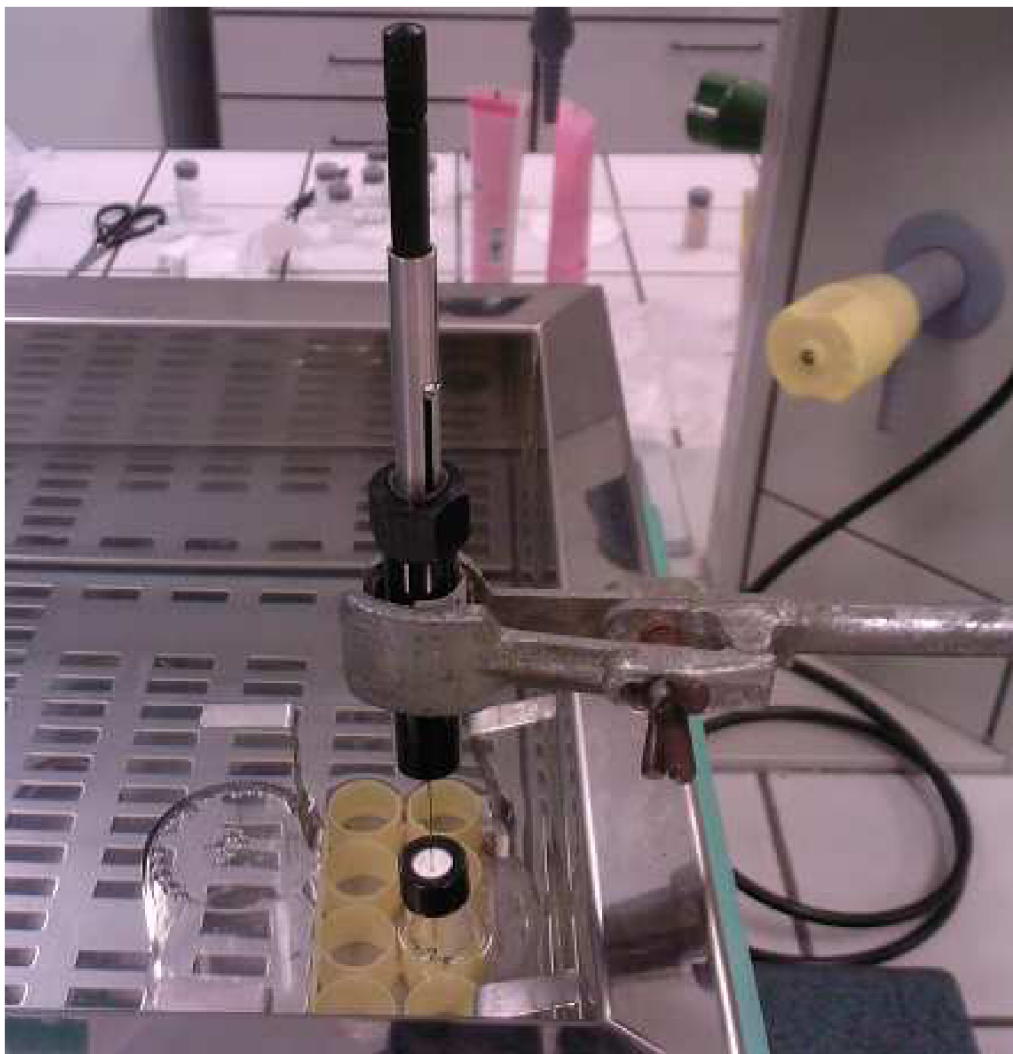
8 SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA I.	Aparatury pro sorpci a desorpci analytů (<i>Obr. I.–II.</i>)
PŘÍLOHA II.	Chromatogramy směsi A a směsi B (<i>Chromatogram I.–II.</i>)
PŘÍLOHA III.	Chromatogramy reálných vzorků kosmetických prostředků (<i>Chromatogram III.–XII.</i>)

9 PŘÍLOHY

PŘÍLOHA I. – Aparatury pro sorpci a desorpci analytů

Obr. I. – Aparatura pro sorpci analytů na SPME vlákno

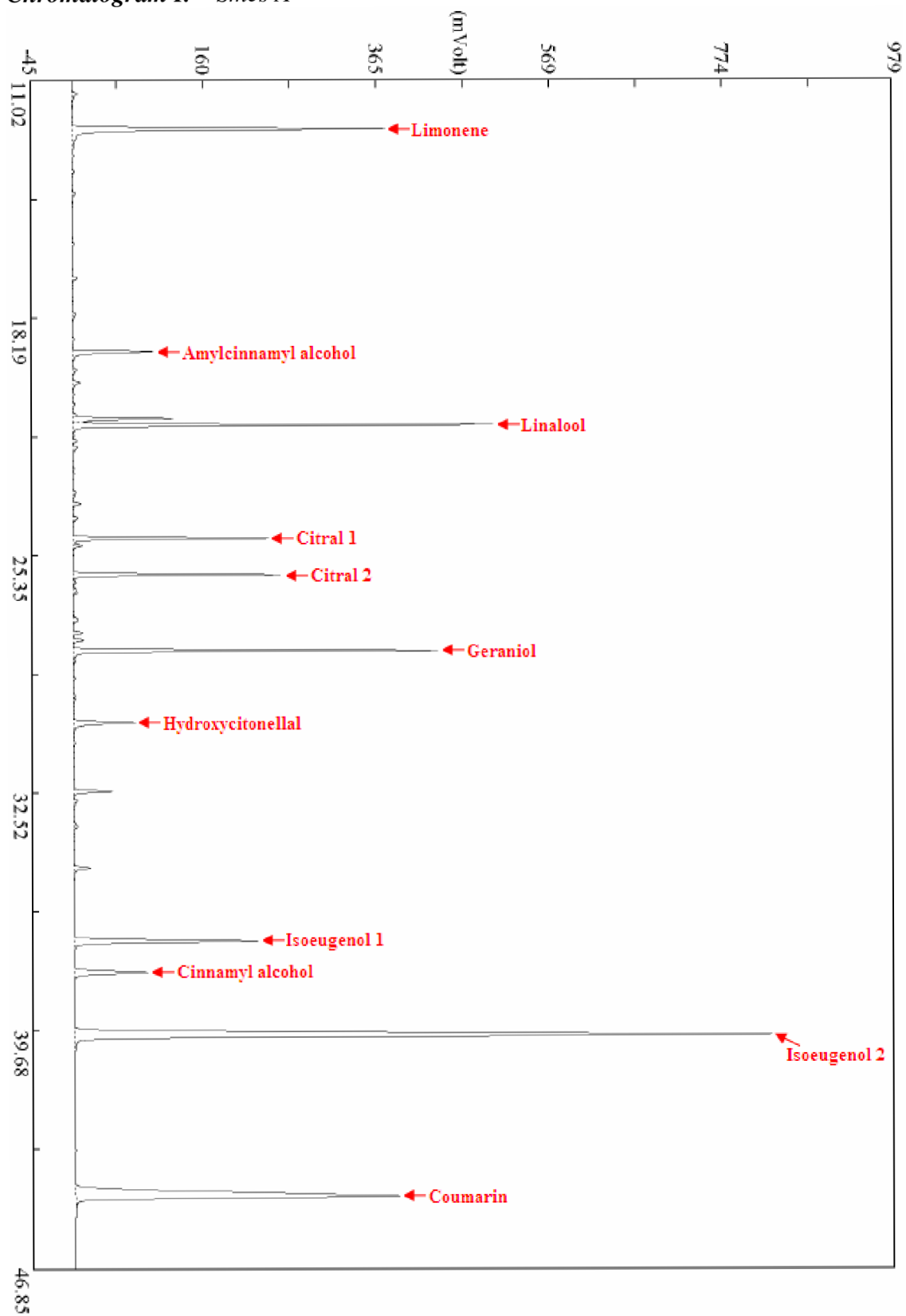


Obr. II. – Plynový chromatograf TRACE GC 2000 s plamenově ionizačním detektorem při probíhající desorpci analytů z SPME vlákna do GC

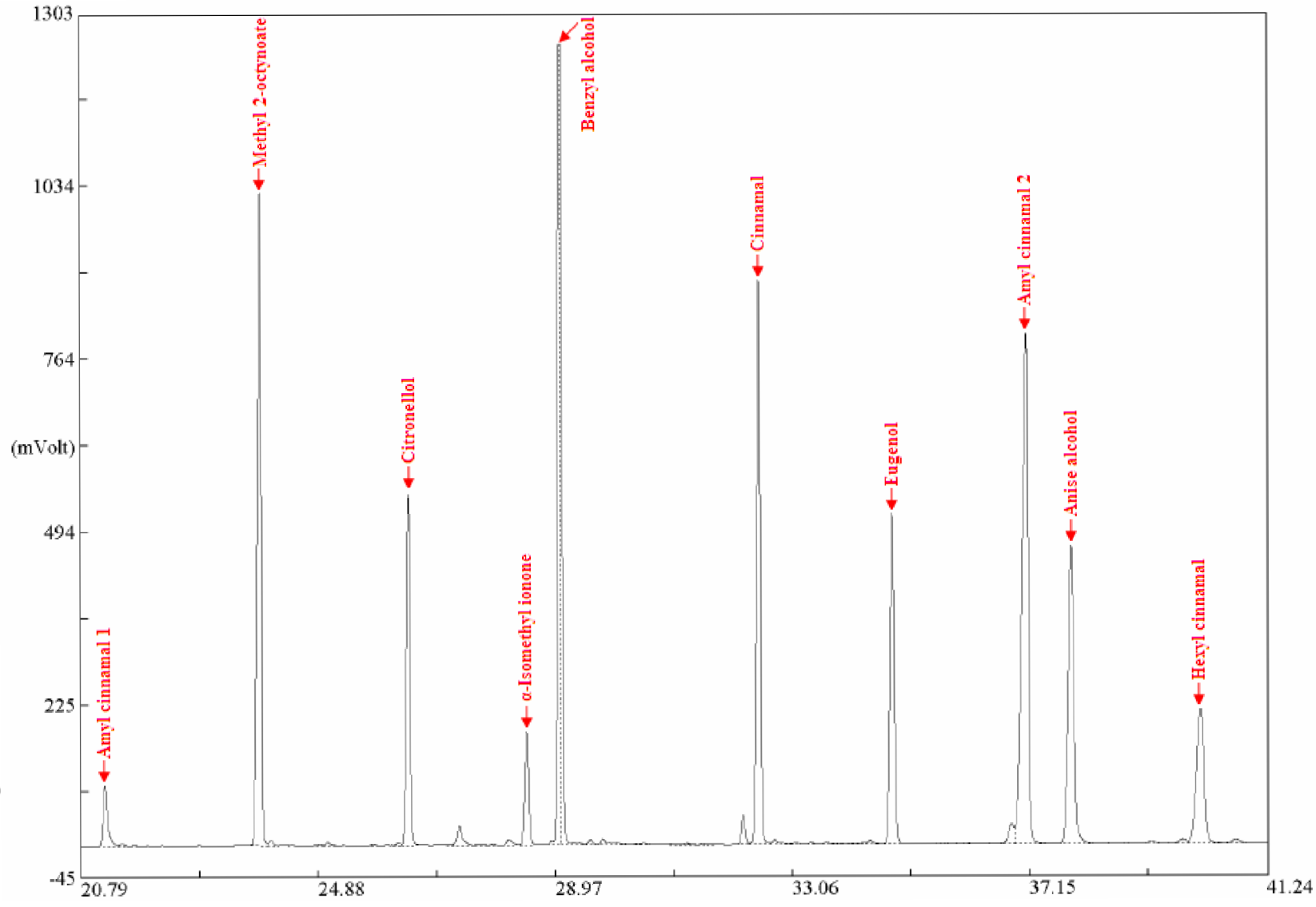


PŘÍLOHA II. – Chromatogramy směsí standardů (směs A a směs B)

Chromatogram I. – Směs A

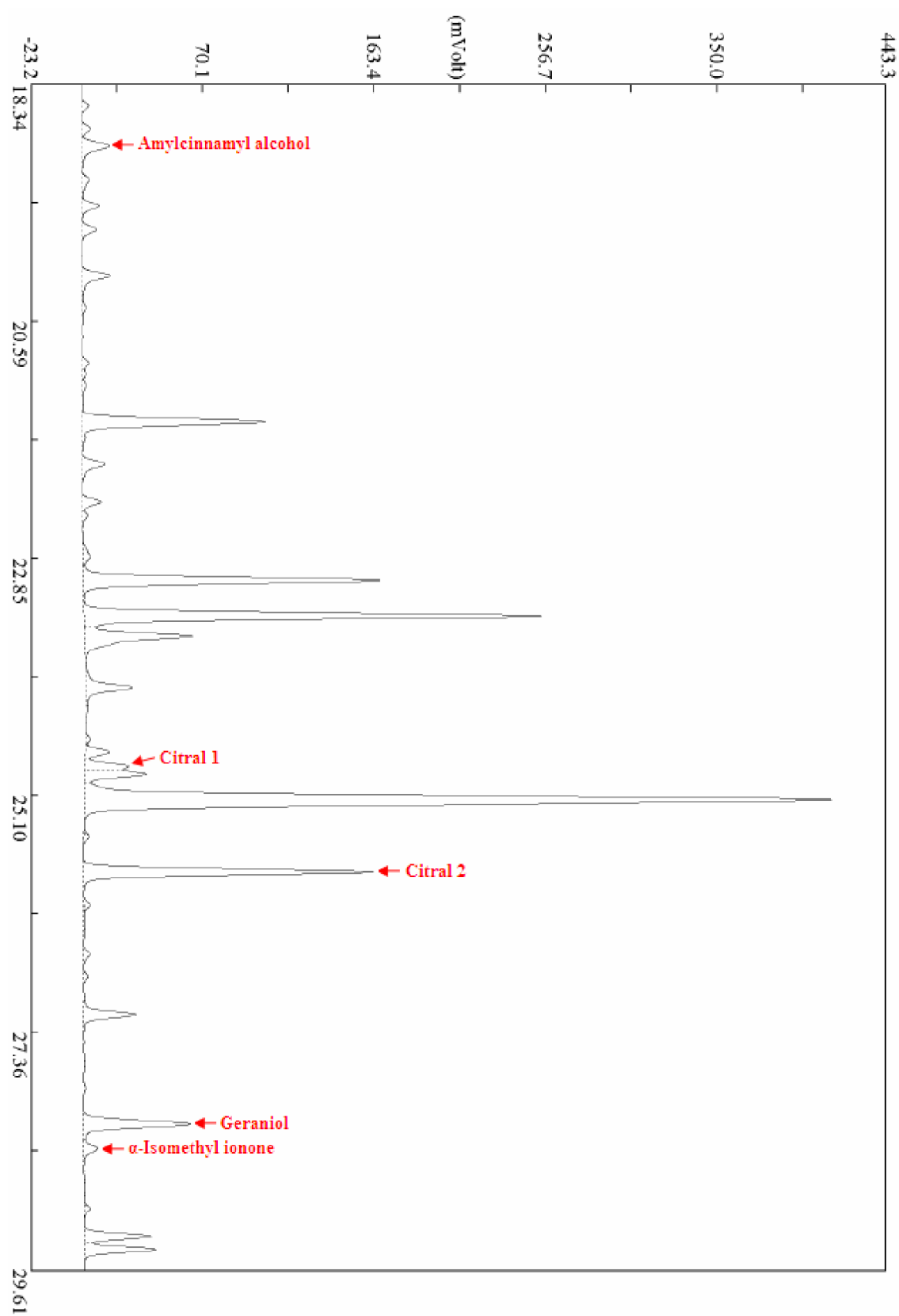


Chromatogram II. – Směs B

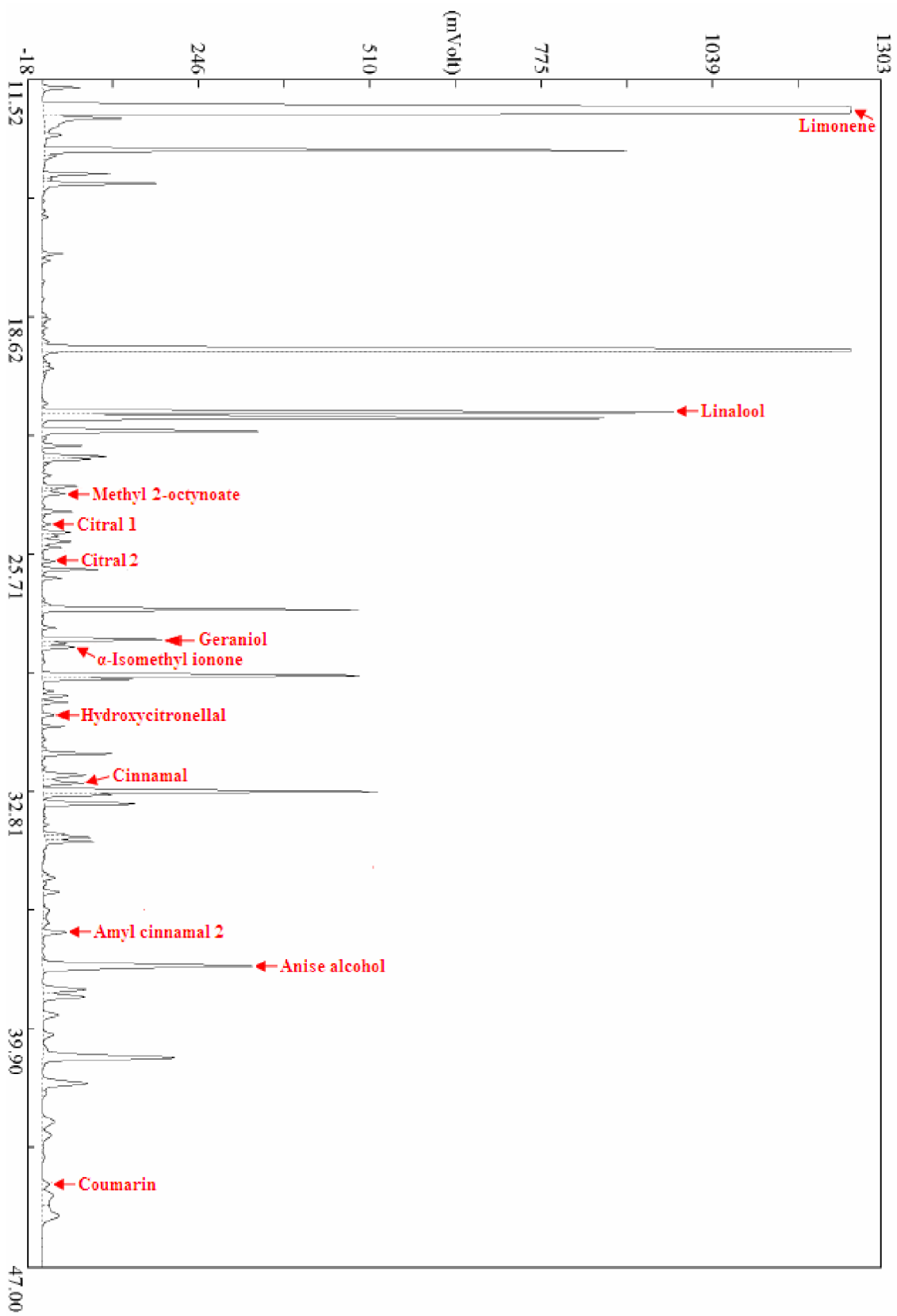


PRÍLOHA III. – Chromatogramy reálných vzorků kosmetických prostředků

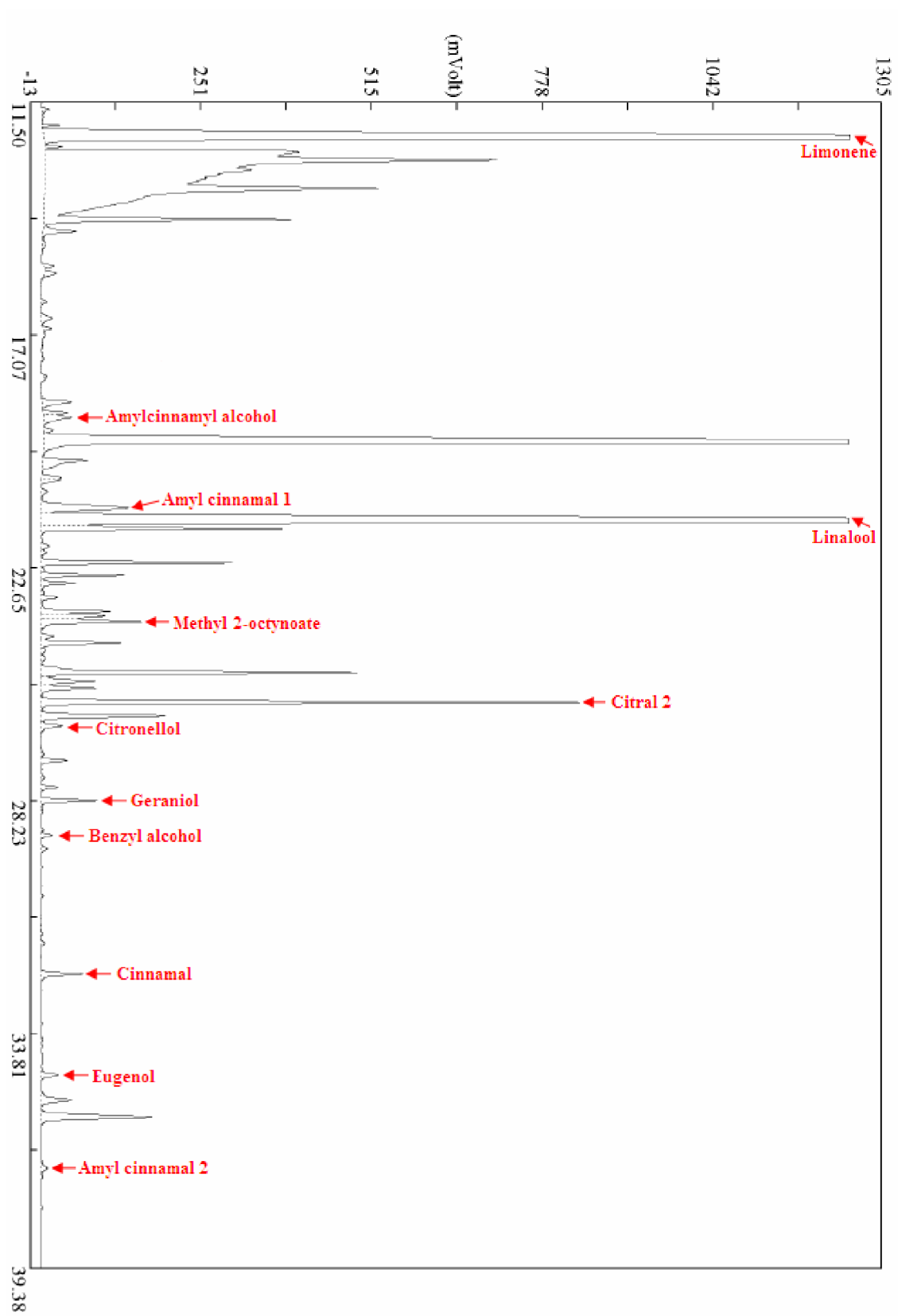
Chromatogram III. – Johnson's baby oil



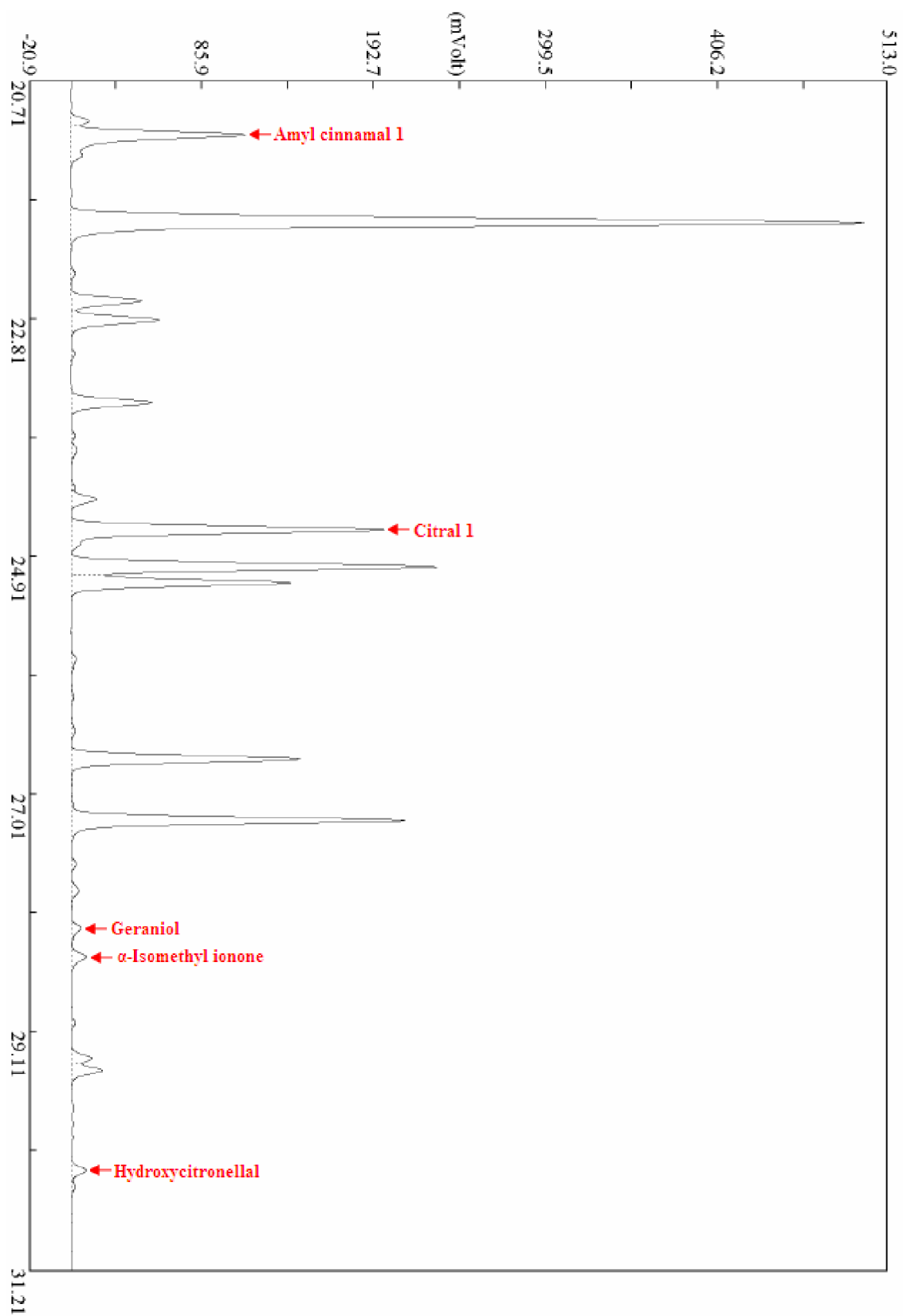
Chromatogram IV. – Eau de toilette ADIDAS



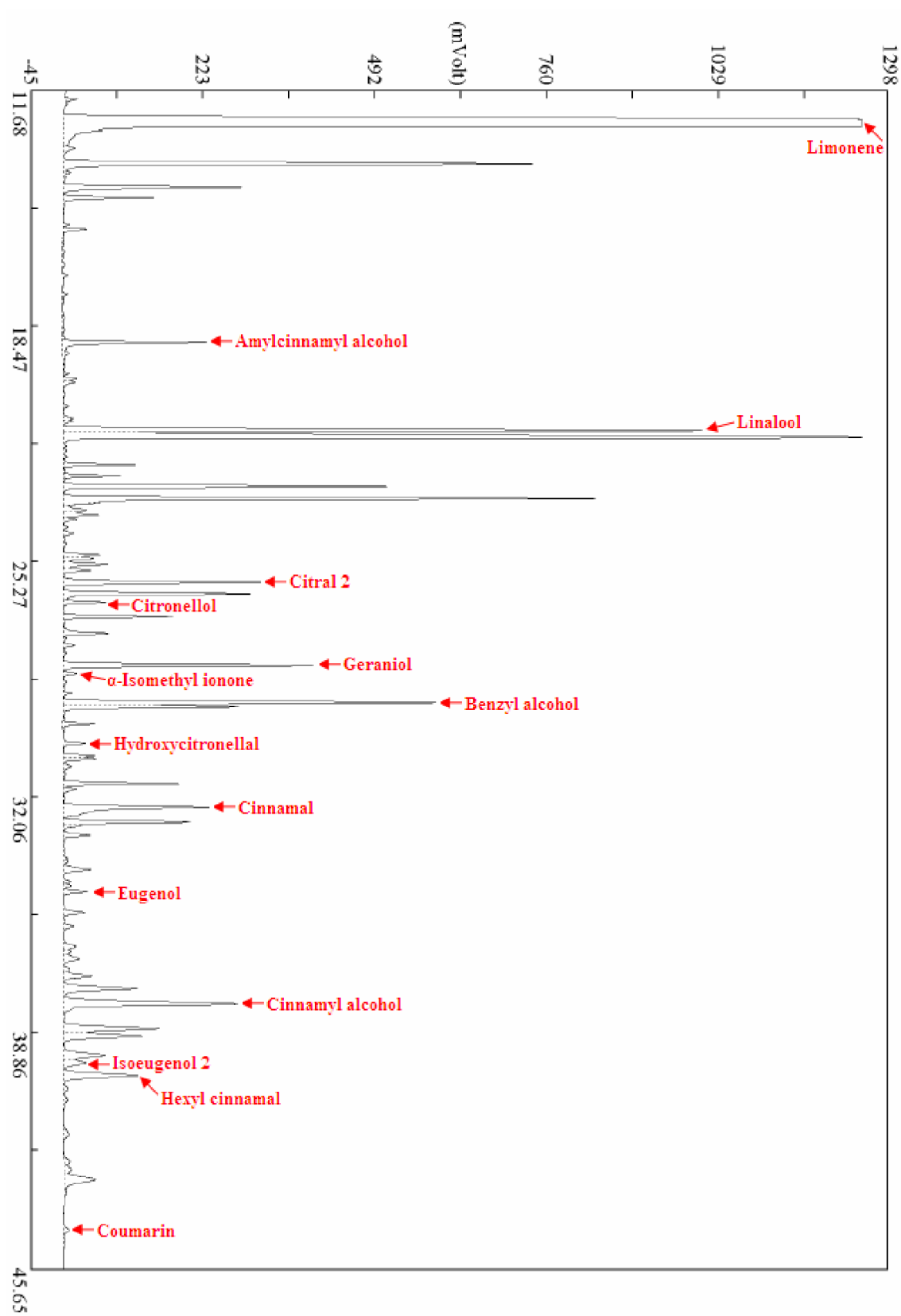
Chromatogram V. – Balzám po holení NIVEA



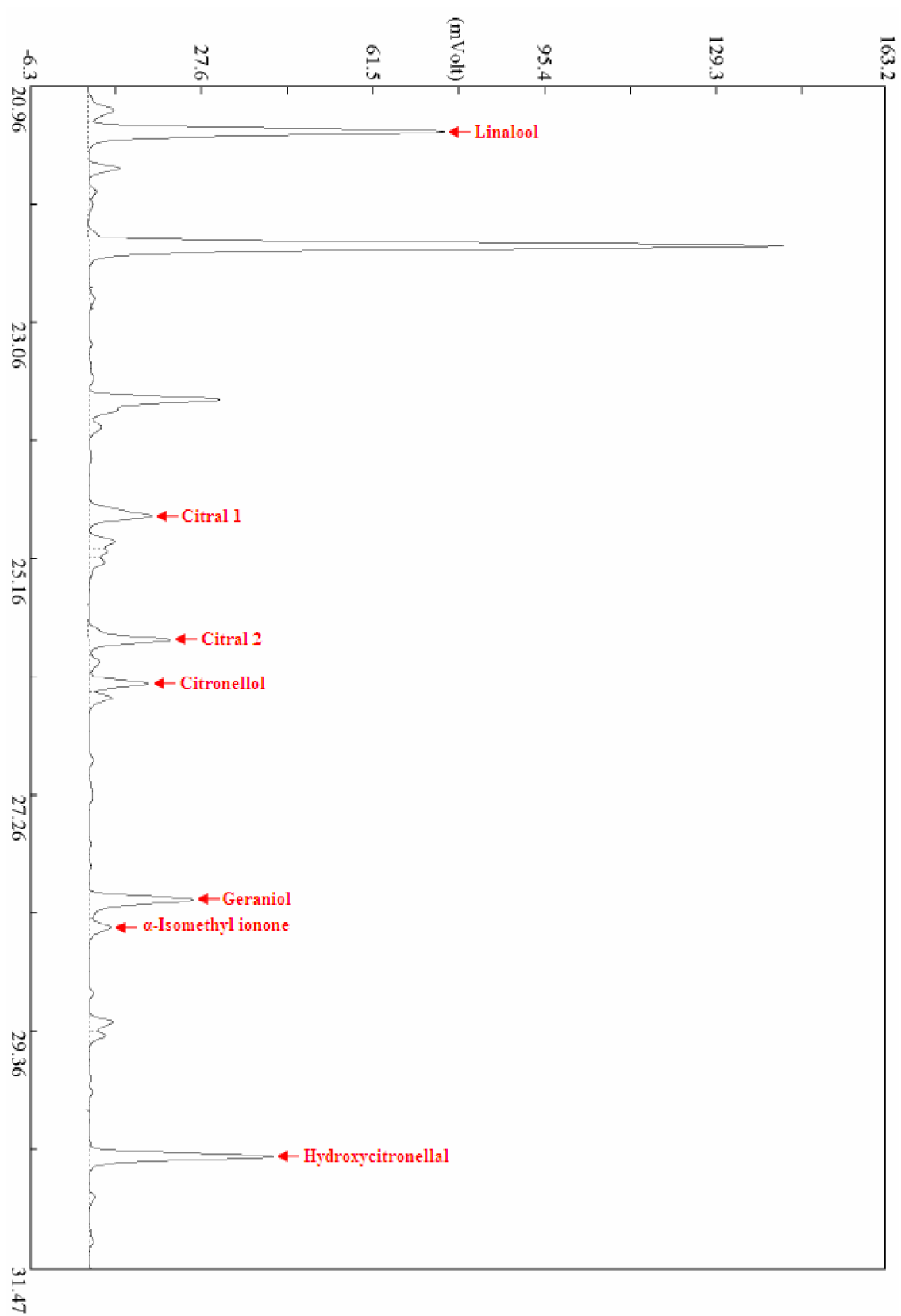
Chromatogram VI. – Tělové mléko Mango&Yoghurt



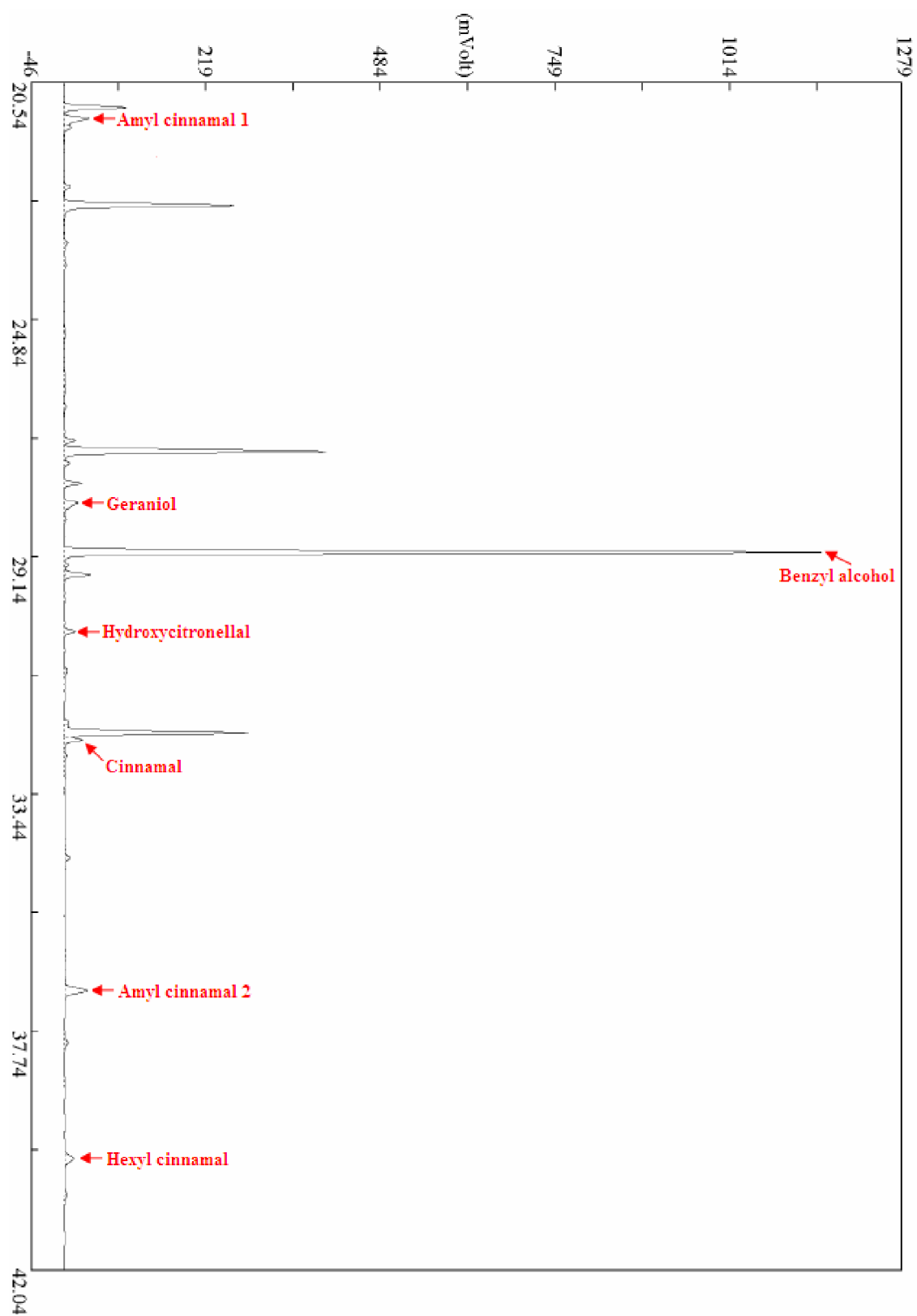
Chromatogram VII. – Parfém PRECIOUS



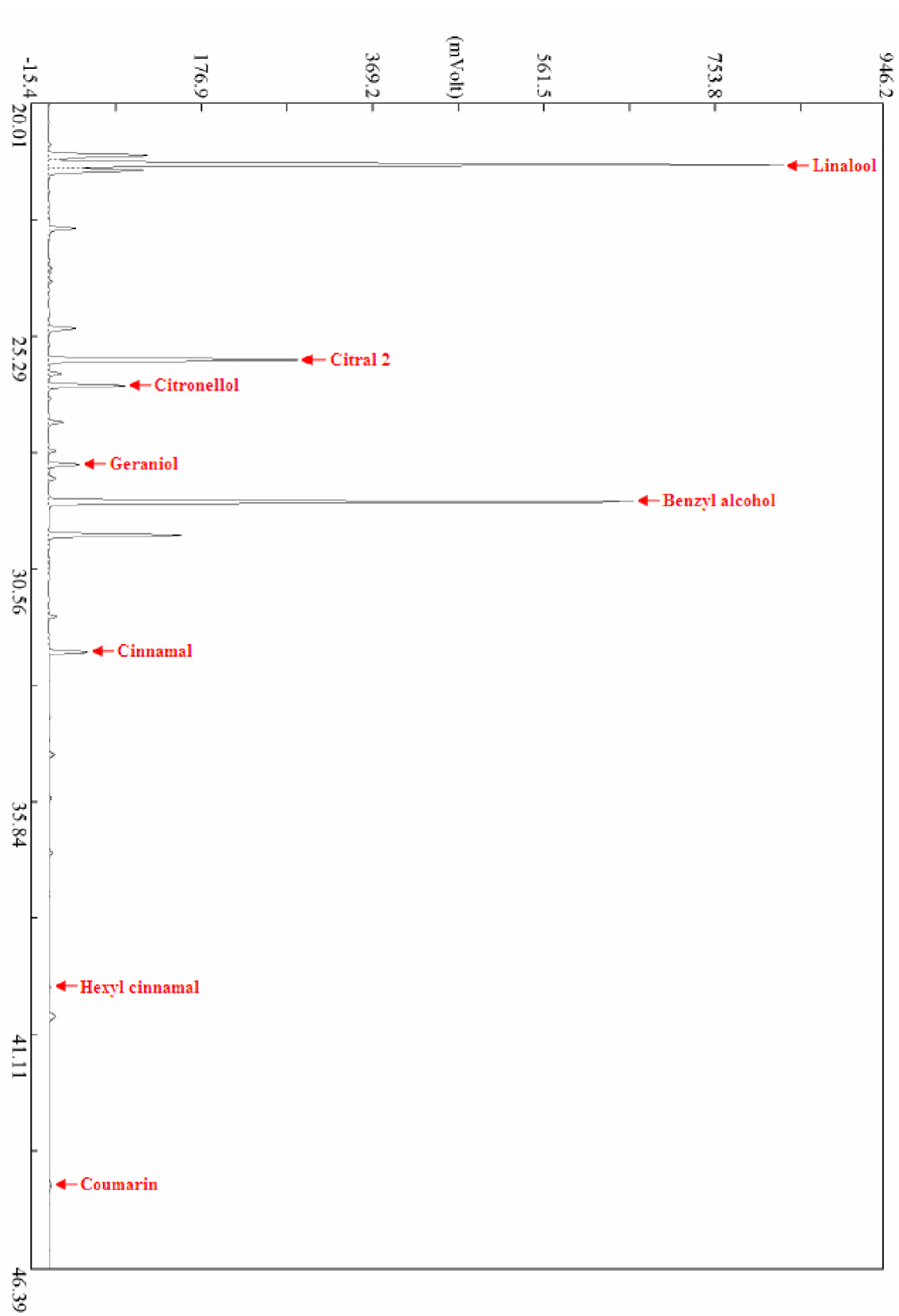
Chromatogram VIII. – Balzám na ruce s pravou čokoládou



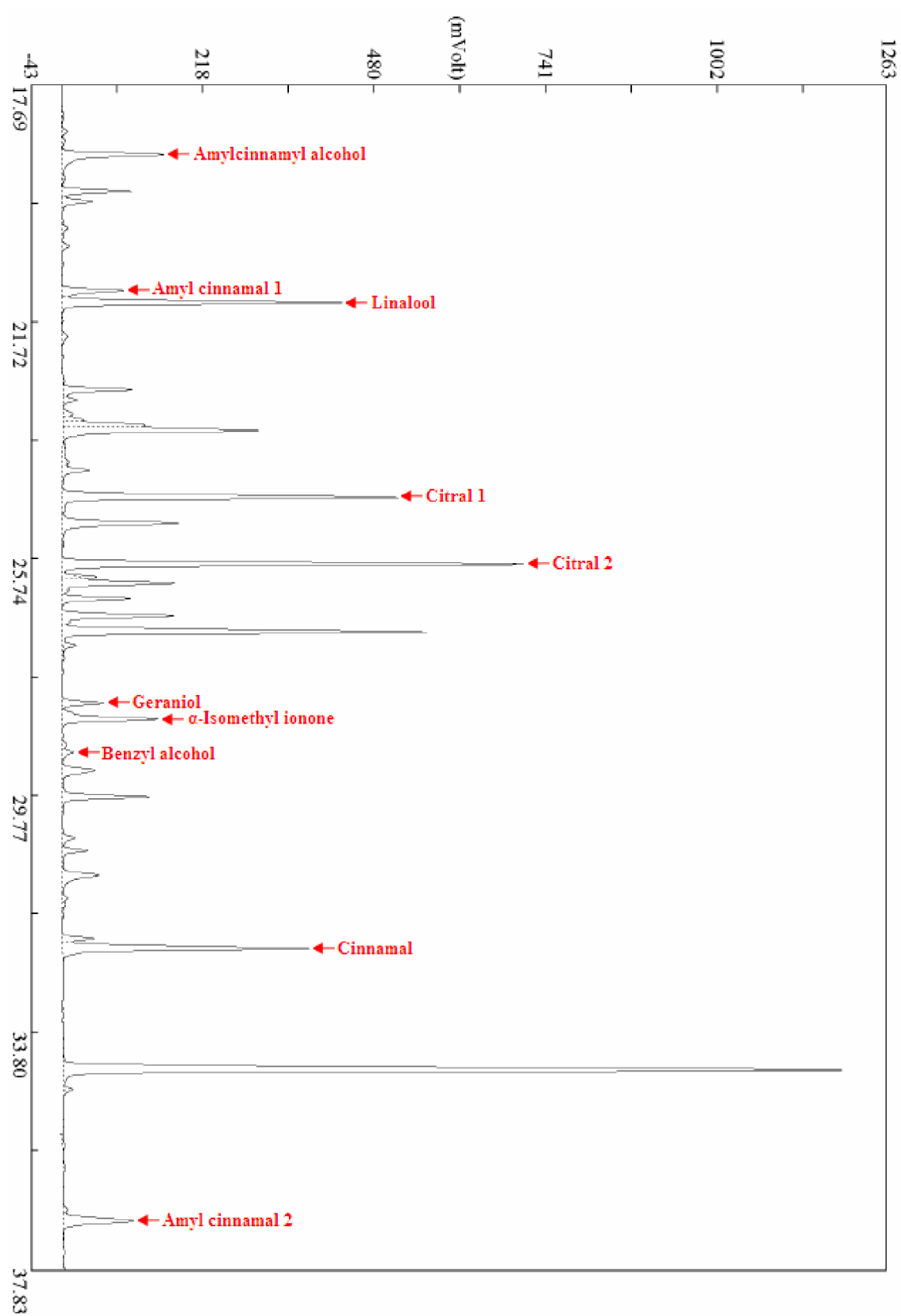
Chromatogram IX. – Pěna do koupele PINA COLADA



Chromatogram X. – AVIRIL dětský krém



Chromatogram XI. – Emulze na intimní hygienu LACTACYD



Chromatogram XII. – Odličovací mléko GARNIER

