

# Niskotemperaturna eutektička otapala i razvoj kozmetičkih proizvoda

---

**Dropulja, Barbara**

**Undergraduate thesis / Završni rad**

**2022**

*Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj:* **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

*Permanent link / Trajna poveznica:* <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:705622>

*Rights / Prava:* [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

*Download date / Datum preuzimanja:* **2024-07-14**



*Repository / Repozitorij:*

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



**Sveučilište u Zagrebu**  
**Prehrambeno-biotehnološki fakultet**  
**Preddiplomski studij Biotehnologija**

**Barbara Dropulja**  
0058210780

# **NISKOTEMPERATurna EUTEKTIČKA OTAPALA I RAZVOJ KOZMETIČKIH PROIZVODA**

**ZAVRŠNI RAD**

**Naziv znanstveno-istraživačkog ili stručnog projekta:** Ovaj završni rad napisan je u sklopu projekta „Održivo gospodarenje otpadom od proizvodnje vina“ kao dio operativnog programa „Konkurentnost i kohezija 2014.- 2020., Jačanje kapaciteta za istraživanje, razvoj i inovacije KK.01.1.1.07.0007“, sufinanciranog od strane Europske Unije iz Europskog fonda za regionalni razvoj.

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Kristina Radošević

**Zagreb, 2022.**

*Zahvaljujem svojoj mentorici izv.prof.dr.sc. Kristini Radošević na razumijevanju, uloženom trudu i savjetima prilikom izrade rada.*

*Hvala mojoj dragoj obitelji na strpljenju i podršci tijekom cijelog dosadašnjeg školovanja.*

# TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu  
Prehrambeno-biotehnološki fakultet  
Preddiplomski sveučilišni studij Biotehnologija

Zavod za biokemijsko inženjerstvo  
Laboratorij za tehnologiju i primjenu stanica i biotransformacije

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti  
Znanstveno polje: Biotehnologija

**Niskotemperaturna eutektička otapala i razvoj kozmetičkih proizvoda**

**Barbara Dropulja, 0058210780**

## **Sažetak:**

Tijekom posljednjeg desetljeća u kozmetičkoj industriji raste interes za proizvodnjom prirodne kozmetike. Prisutan je naglasak na održivosti kada je u pitanju način odabira sastojaka, kao i način proizvodnje. Upotreba otapala neizostavan je dio u proizvodnji kozmetičkih proizvoda. Niskotemperaturna eutektička otapala smatraju se zelenom alternativom za trenutna organska otapala. U radu su predstavljena njihova svojstva, opisano je zašto se koriste u postupcima ekstrakcije biljnog materijala te kakav je njihov utjecaj na pripravljene biljne ekstrakte. Na kraju rada su opisani trenutni regulatorni okviri za kozmetičke proizvode.

**Ključne riječi:** biljni ekstrakti, kozmetička industrija, niskotemperaturna eutektička otapala, regulatorna

**Rad sadrži:** 27 stranica, 13 slika, 24 literaturna navoda

**Jezik izvornika:** hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb.

**Mentor:** izv. prof. dr. sc. Kristina Radošević

**Datum obrane:** 19.09.2022.

## BASIC DOCUMENTATION CARD

Undergraduate thesis

University of Zagreb  
Faculty of Food Technology and Biotechnology  
University undergraduate study Biotechnology

Department of Biochemical Engineering  
Laboratory for Cell Culture Technology and Biotransformations  
Scientific area: Biotechnical Sciences  
Scientific field: Biotechnology

**Deep eutectic solvents and development of cosmetic products**

**Barbara Dropulja, 0058210780**

### **Abstract:**

Over the past decade the interest of the cosmetic industry to produce natural cosmetics has been on the rise. There has been an emphasis on sustainability which refers to the way ingredients are sourced, as well as the way of producing the product. The use of solvents is inevitable in production of many cosmetic products. Deep eutectic solvents are considered as green alternative solvents for current organic ones. In the thesis are presented their characteristics, as well as the explanation for their usage in plant extraction and their impact on prepared plant extracts. At the end of the thesis are explained the current regulatory frameworks for cosmetic products.

**Keywords:** plant extracts, cosmetic industry, deep eutectic solvents, regulations

**Thesis contains:** 27 pages, 13 figures, 24 references

**Original in:** Croatian

Thesis is deposited in printed and electronic form in the Library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb.

**Mentor:** Associate Professor Kristina Radošević, PhD

**Thesis defended:** 19.09.2022.

## Sadržaj

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1. NISKOTEMPERATurna EUTEKTIČKA OTAPALA.....	2
2.1.1. SINTEZA I SVOJSTVA NISKOTEMPERATURNIH EUTEKTIČKIH OTAPALA..	2
2.1.2. PRIMJENA NISKOTEMPERATURNIH EUTEKTIČKIH OTAPALA.....	5
2.2. EKSTRAKCIJA SPOJEVA IZ BILJAKA .....	5
2.2.1. KLASIČNA EKSTRAKCIJA IZ BILJNOG MATERIJALA.....	6
2.2.2. NISKOTEMPERATurna EUTEKTIČKA OTAPALA ZA ODRŽIVU EKSTRAKCIJU BILJAKA.....	7
2.3. PRIMJENA I DIZAJNIRANJE NISKOTEMPERATURNIH EUTEKTIČKIH OTAPALA ZA KOZMETIČKU PRIMJENU.....	14
2.3.1. BIOLOŠKA AKTIVNOST I DODANA VRIJEDNOST EKSTRAKTA U DES-U..	14
2.3.2. OD LABORATORIJSKOG MJERILA DO DOKAZA KONCEPTA ZA TRŽIŠTE	18
2.3.3. REGULATORNI ZAHTJEVI I DEKLARIRANJE KOZMETIČKIH PROIZVODA.....	19
3. ZAKLJUČCI.....	24
4. POPIS LITERATURE .....	25

## 1. UVOD

Razvoj znanstvene spoznaje i bolja informiranost potrošača utječu na povećanje svijesti javnosti o važnosti smanjenja negativnih učinaka na okoliš. Pred mnoge industrijske grane postavljeni su novi zahtjevi koji za cilj imaju smanjenje upotrebe štetnih i neodrživih sirovina te povećanje sigurnosti proizvoda. Percepcija javnosti utječe na odabir proizvoda koji će se plasirati na tržište. Stručnjaci stoga nastoje pronaći inovativna rješenja koja će zadovoljiti kriterije tržišta u okvirima postojeće regulative.

Kozmetička industrija važna je industrijska grana koja bilježi porast inovacija u posljednjih desetak godina u dizajnu i razvoju kozmetičkih proizvoda. Razvoj novih formulacija sve više se počinje temeljiti na načelima zelene kemije. Koncept zelene kemije obuhvaća 12 principa koji za cilj imaju smanjenje količine industrijskog otpada i ispuštanje štetnih kemikalija u okoliš te poticanje primjene obnovljivih izvora. Usklađenost s načelima zelene kemije u kozmetičkoj industriji, između ostalog, podrazumijeva prilagodbu korištenja otapala. Otapala su neizostavan dio ekstrakcijskog postupka, a za kozmetičku industriju od velike je važnosti razvoj ekstrakcije biljaka koje predstavljaju izvor vrijednih komponenti.

Niskotemperaturna eutektička otapala intenzivno se istražuju kao moguća ekološka zamjena za organska otapala. Pokazala su se učinkovitima u različitim kemijskim procesima. Moguće ih je dizajnirati za razne namjene kombiniranjem različitih komponenti i upotrebom različitih metoda. Prirodna niskotemperaturna eutektička otapala su podvrsta ove skupine otapala i posebno su zanimljiva kada je u pitanju kreiranje kozmetičkih formulacija. Naime, smjese sličnih svojstava sastavni su dio biljnih tkiva što daje naslutiti da bi prirodna eutektička otapala mogla imati izvrsna svojstva za ekstrakciju bioaktivnih komponenata iz biljaka. U ovom radu dan je pregled literature o svojstvima niskotemperaturnih eutektičkih otapala i njihovoj potencijalnoj primjeni u kozmetičkoj industriji u usporedbi s konvencionalnim otapalima.

## 2. TEORIJSKI DIO

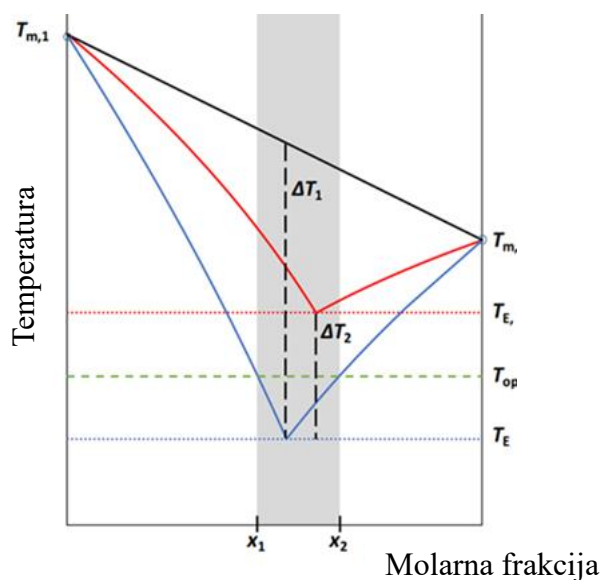
### 2.1. NISKOTEMPERATURNA EUTEKTIČKA OTAPALA

#### 2.1.1. SINTEZA I SVOJSTVA NISKOTEMPERATURNIH EUTEKTIČKIH OTAPALA

Niskotemperaturna eutektička otapala (engl. *deep eutectic solvents*, DES) definirana su kao smjese čije je talište mnogo niže od tališta spojeva koji su u sastavu otapala. Za niskotemperaturna eutektička otapala specifičan je veliki pad temperature tališta u odnosu na izvorne komponente od kojih su sastavljena i može iznositi i do 100-200 °C. Razlog tome leži u njihovoj supramolekularnoj strukturi. Ova otapala sadrže različite anionske i kationske spojeve koji se ponašaju kao Lewisove ili Brønstedove baze i kiseline. Znatno sniženje tališta otapala posljedica je delokalizacije naboja uslijed stvaranja vodikovih veza između donora i akceptora vodikove veze. Primjer takvog otapala je smjesa kolin klorida (talište=302°C, 2-hidroksietil-trimetilamonijev klorid) i uree (talište=133°C) u molarnom omjeru 1:2 što rezultira kapljevinom pri sobnoj temperaturi ( $T_f = 12^\circ\text{C}$ ) (Cvjetko Bubalo i sur., 2015).

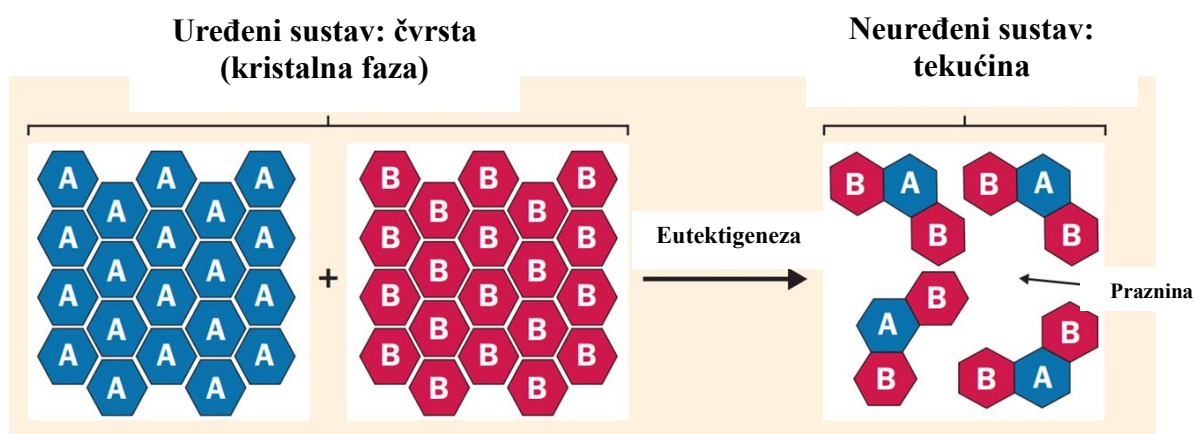
U radu Martins i sur. (2019) istaknuta je razlika između niskotemperaturnih eutektičkih otapala i ostalih eutektičkih otapala. Naime, kod niskotemperaturnih otapala pad tališta definiran je kao razlika ( $\Delta T_2$ ) između idealne ( $T_{E,idealna}$ ) i realne ( $T_E$ ) eutektičke točke, odnosno pad tališta nije razlika ( $\Delta T_1$ ) između linearne kombinacije točaka taljenja čistih sastojaka smjese i realne točke taljenja (Slika 1.).





**Slika 1.** Usporedba ravnoteže čvrste i tekuće faze jednostavne idealne eutektičke smjese (crvena linija) i niskotemperaturne eutektičke smjese (plava linija) (Preuzeto iz Martins i sur., 2019).

Priprema ovih otapala temelji se na kombiniranju različitih vrsta spojeva pri čemu dolazi do disrupcije kristalne rešetke spojeva i povećanja volumena praznog prostora. Povećanje praznog prostora omogućuje svim molekulama olakšano kretanje stoga smjesa postaje kapljevina (Laguerre i Lavaud, 2016). Proces se naziva eutektigeneza. Disrupcija kristalne rešetke prikazana je na Slici 2.



**Slika 2.** Pojednostavljeni prikaz eutektigeneze na supramolekularnoj razini (Preuzeto iz Laguerre i Lavaud, 2016)

Niskotemperaturna eutektička otapala uglavnom se pripremaju miješanjem krutih komponenata (akceptor i donor vodikove veze) u različitim molarnim omjerima (obično je to 1:1, 1:2, 1:3). Priprema se odvija u uvjetima povišene temperature (obično od 50 °C do 60 °C) uz neprestano miješanje nekoliko sati. Po potrebi se dodaje voda zajedno s ostalim komponentama ili u pripremljeno otapalo (Radović i sur., 2021; Laguerre i Lavaud, 2016). Metode pripreme otapala su raznolike. U radu Radović i sur. (2021) navode se sljedeće metode: (1) metoda usitnjavanja uz homogenizaciju (usitnjavanje čvrstih komponenata uz miješanje pri sobnoj temperaturi); (2) metoda pripreme vodene otopine komponenata (komponente se otapaju u vodi koja se naknadno uklanja iz otapala); (3) metoda primjenom alternativnih izvora energije (homogenizacija pomiješanih komponenata se provodi ultrazvukom i/ili mikrovalnim zračenjem). Odabir metode ovisi o svojstvima zasebnih komponenti (npr. termostabilnosti), željenoj čistoći otapala i ostalim čimbenicima. Svojstva komponenata, pak, proizlaze iz njihove strukture.

Osim utjecaja na odabir metode, sastav komponenata DES-a i njihov omjer određuje njihove fizikalno-kemijske karakteristike. Naime, o strukturi DES-a, ali i molarnom omjeru ovisi način formiranja vodikovih veza što utječe na viskoznost, gustoću, polarnost, talište, pH i druga svojstva. Odabirom komponenata možemo, dakle, kreirati DES-ove različitih svojstava.

Niskotemperaturna eutektička otapala uglavnom su veće gustoće od vode i ostalih konvencionalnih otapala. Karakterizira ih i visok stupanj viskoznosti. Na gustoću i viskoznost možemo, između ostalog, utjecati i dodatkom vode. Obzirom da velike vrijednosti viskoznosti i gustoće uglavnom nisu poželjna svojstva otapala, dodatkom vode možemo smanjiti spomenute vrijednosti, no u onoj mjeri koja ne narušava znatno mrežu vodikovih veza (Radović i sur., 2021). Pripravljena su otapala različitih polariteta, ali i različitih pH vrijednosti. Raznolikost u pogledu svojstava sintetiziranih DES-ova, kao i velika mogućnost utjecaja na konačna svojstva otapala predstavlja veliki potencijal za njihovu primjenu u budućnosti budući da mogu biti dizajnirana za točno određenu namjenu.

Podvrstom niskotemperaturnih eutektičkih otapala smatraju se prirodna niskotemperaturna eutektička otapala (engl. *natural deep eutectic solvent*, NADES). Ova otapala izučavana su kao alternativa u ekstrakciji biljaka (Laguerre i Lavaud, 2016). Njihove

sastavnice su prirodnog porijekla, stoga nemaju štetan učinak na okoliš. Karakterizira ih nekoroziivnost, niska cijena i niska zapaljivost. Visoka selektivnost u ekstrakciji također je iznimno poželjno svojstvo NADES-a. Najčešće komponente za sintezu su kolin klorid, kao akceptor vodikove veze i neki od donora vodikove veze poput šećera, alkohola, aminokiselina, organskih kiselina/baza i vitamina. Njihova svojstva omogućuju izravnu primjenu u formulacijama proizvoda, a moguće ih je modulirati, kao i kod DES-ova (Grillo i sur., 2020).

### 2.1.2. PRIMJENA NISKOTEMPERATURNIH EUTEKTIČKIH OTAPALA

Velik broj znanstvenih radova navodi DES-ove kao potencijalna otapala pogodna za korištenje u kemijskoj sintezi raznih spojeva, biokatalizi, elektrokemiji, sintezi nanomaterijala i drugim procesima što upućuje na njihovu potencijalnu primjenu u cijelom nizu znanstvenih područja poput kemijskog inženjerstva, prehrambene tehnologije, biomedicine, metalurgije, nanotehnologije, agronomije, tekstilne tehnologije i ostalih područja.

Kada je u pitanju konkretna primjena NADES-a, unatoč učinkovitosti, potrebna su daljnja unaprjeđenja za primjenu u industrijskom mjerilu (Laguerre i Lavaud, 2016). Ipak, tvrtka Naturex uspjela je odgovoriti na zahtjeve tržišta i plasirati kolekciju od šest biljnih ekstrakata pripremljenih NADES-om. Ekstrakcijski proces priprave ovih botaničkih ekstrakata patentiran je pod nazivom *Eutectigenesis*. Kolekcija uključuje, između ostalog, ekstrakte lišća masline, cvijeta šafrana i preslice. Ekstrahirani spojevi poznati su po svojem obnavljajućem učinku na stanice što ih čini atraktivnim za primjenu u formulaciji kozmetičkih proizvoda za kožu i kosu. Tvrtka Naturex, kao globalni lider u proizvodnji prirodnih sastojaka, zajedno sa tvrtkom Scionix najavljuje daljnja istraživanja u ovom području (Naturex, 2016).

## 2.2. EKSTRAKCIJA SPOJEVA IZ BILJAKA

U kozmetičkoj, farmaceutskoj, kemijskoj, prehrambenoj i ostalim sektorima industrije neophodna je primjena bioaktivnih komponenata. Ekstrakcija je jedan od najvažnijih procesa dobivanja ovih važnih spojeva. Radi iskoristivosti procesa, odnosno što boljeg prinosa, važno je optimizirati proces ekstrakcije. Stoga je važno uzeti u obzir sve čimbenike koji utječu na

proces.

Temeljni proces koji se događa prilikom ekstrakcije je čvrsto-tekućinski prijenos mase, odnosno prijenos spojeva iz biljnog materijala u ekstrakcijsko otapalo. Na prijenos komponenti utječe sličnost polarnosti komponente i otapala. Slične polarnosti povećavaju ekstrakcijski učinak. Na bolji ekstrakcijski učinak utječe i povećanje kemijskog afiniteta ekstrahirane komponente za otapalo. Uz spomenute čimbenike koji utječu na prijenos mase iz čvrste faze u tekuću, važno je i povećanje dodirne površine materijala i otapala, temperatura, metode zagrijavanja itd. (Benoit i sur., 2021). Iznimno je važan i odabir otapala s obzirom na njegova svojstva. Ukoliko se prilikom odabira otapala u obzir uzmu načela zelene kemije raspon dostupnih otapala značajno se smanjuje. Niz je kriterija koja "zelena" otapala moraju zadovoljavati. Kriteriji koji se navode u literaturi uključuju: biorazgradivost, održivost, sigurnost za okoliš te sigurnost prilikom rada s njima (Radović i sur., 2021).

Moderne metode ekstrakcije nameću se kao alternativa upotrebi organskih otapala. Organska otapala porijeklom su iz neobnovljivih izvora stoga je potrebno pronaći alternativu kao dugoročno rješenje. Moderne metode ekstrakcije uključuju primjenu superkritičnih i subkritičnih fluida, superkritičnog CO<sub>2</sub>, ionskih kapljevina te otapala iz prirodnih i obnovljivih izvora (voda, DES, glicerol, metanol, etanol, esteri itd.). Iako su zabilježeni dobri rezultati, za njihovu primjenu i dalje postoje određena ograničenja, npr. visoka cijena superkritičnog CO<sub>2</sub>, manjak podataka o toksičnosti ionskih kapljevina, hlapivost, zapaljivost i otežani transport etanola, nekompatibilnost sa zahtjevima potrošača kada je u pitanju primjena glikola u kozmetičkoj industriji itd. (Cvjetko Bubalo i sur., 2015; Benoit i sur., 2021). Kada su u pitanju vodeni ekstrakti, otežano je osiguravanje njihove mikrobiološke sigurnosti odnosno nužna je naknadna filtracija što povećava cijenu konačnog proizvoda (Benoit i sur., 2021). Zbog spomenutih ograničenja i problema koji se javljaju kod primjene modernih metoda, u industriji su i dalje najzastupljenije klasične metode ekstrakcije o kojima će biti riječi u sljedećem poglavlju.

### 2.2.1. KLASIČNA EKSTRAKCIJA IZ BILJNOG MATERIJALA

Tradicionalne metode za ekstrakciju biljnog materijala uključuju Soxletovu ekstrakciju, maceraciju i hidrodestilaciju. Kao najčešća ekstrakcijska metoda za ekstrahiranje bioaktivnih

komponentata koristi se Soxhletova metoda (Azmir i sur., 2013). Ekstrakcija se provodi u Soxhletovom ekstraktoru pri povišenoj temperaturi. Proces započinje pripremom uzorka biljnog materijala, potom se zagrijava otapalo, a nastala para otapala se kondenzira. Kondenzat natapa uzorak pri čemu se komponente ekstrahiraju iz uzorka. Otapalo kruži sustavom, a proces se ponavlja više puta. Metoda je vrlo jednostavna i veliki su prinosi mase ekstrakta. Iako se metoda smatra učinkovitom i primjenjiva je za raznovrsne biljne materijale, potrebno ju je unaprijediti. Naime, u usporedbi s ostalim metodama, proces ekstrakcije traje relativno dugo, a zaostaje i velika količina organskog otapala što predstavlja problem obzirom na ekološki i financijski aspekt zbrinjavanja organskih otapala. Osim toga, moguća je degradacija termolabilnih komponentata prilikom ekstrahiranja pri visokim temperaturama (De Castro i Garcia-Ayuso, 1998).

Maceracija je još jedna od tradicionalnih metoda za ekstrakciju koja je relativno jeftina i jednostavna. Proces obuhvaća usitnjavanje materijala kako bi se povećala dodirna površina s otapalom i prešanje tropa ukoliko je to moguće. Povećanje prinosa može se postići mućkanjem sadržaja ne bi li se povećala difuzija i uklonila koncentrirana otopina s površine (Azmir i sur., 2013). U industriji se maceracija provodi kontinuiranom cirkulacijom otapala u ekstraktoru uz pomoć pumpe ili višestupanjskom ekstrakcijom. Kao i kod Soxletove metode nedostaci su dugo trajanje procesa i zaostajanje velikih količina organskih otapala (Hreštak, 2018).

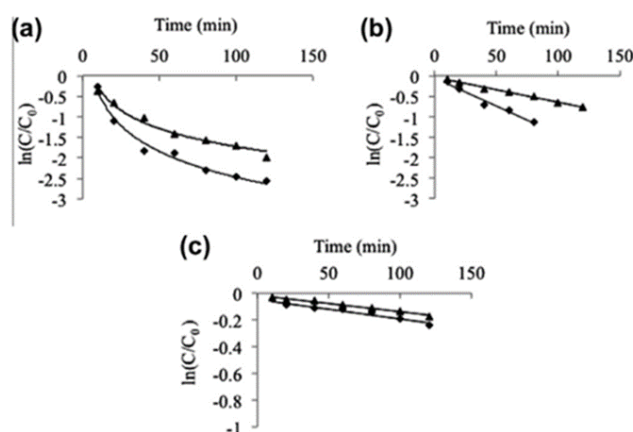
Pojam hidrodestilacije obuhvaća destilaciju vodom, destilaciju vodenom parom i direktnu destilaciju parom. U svim spomenutim metodama ekstrakcija se provodi vrućom vodom ili parom zbog čega se ne mogu koristiti za ekstrakciju termolabilnih komponentata. Visoka temperatura je, pak, nužna za oslobađanje bioaktivnih komponentata iz uzorka koje se potom kondenziraju u kondenzoru. Zadnji koraci uključuju razdvajanje željene komponente i uljne faze od vodene faze u separatoru. Glavni fizikalno-kemijski procesi na kojima se metode temelje su: vodena difuzija, hidroliza i razgradnja pod utjecajem temperature (Azmir i sur., 2013). Prednost ove metode je što se ne primjenjuju organska otapala, već je glavno otapalo voda. Međutim, topljivost organskih i organometalnih spojeva je vrlo slaba u vodi zbog razlika u polarnosti otapala i komponente. Osim toga, primjena ovih metoda u industrijskom mjerilu podrazumijeva veliki utrošak energije u procesima uklanjanja viška vode iz konačnog proizvoda (Cvjetko Bubalo i sur., 2015).

## 2.2.2. NISKOTEMPERATURNA EUTEKTIČKA OTAPALA ZA ODRŽIVU EKSTRAKCIJU BILJAKA

### 2.2.2.1. Procjena učinkovitosti u DES-u u usporedbi s konvencionalnim otapalima

Kao jedno od otapala za održivu zelenu ekstrakciju biljaka razmatraju se niskotemperaturna eutektička otapala. U radu Dai i sur. (2013) spominju se kao moguća alternativa konvencionalnim organskim otapalima zbog visokog ekstrakcijskog potencijala i dobre stabilnosti. Dosadašnja istraživanja i podaci ukazuju na veliki potencijal primjene DES-ova upravo u području ekstrakcije biološki aktivnih tvari iz biljaka, što je ujedno i najviše istraženo područje njihove primjene. U mnogim studijama istražena je topljivost određenih bioaktivnih komponenta, a rezultati su pokazali 10 do 100 puta bolju topljivost u DES-u nego u vodi i lipidima. Obećavajući rezultati upućuju na potencijalnu primjenu DES-a u proizvodnji biljnih ekstrakata u kozmetičkoj, ali i prehrambenoj, farmaceutskoj i agrokemijskoj industriji (Cvjetko Bubalo i sur., 2015).

U radu Dai i sur. (2014) istraživana je stabilnost kartamina u NADES-u. Naime, obzirom da su NADES prisutni u membranama biljnih stanicama gdje se skladište razni metaboliti od kojih su mnogi nestabilni u stanici, pretpostavka je da bi mogli biti izvrstan stabilizirajući medij. U studiji je zabilježen pad stabilnosti kartamina u NADES-u ksilitol-kolin kloridu (XoCH) povećanjem temperature, kao i u slučaju gdje je kao otapalo korištena voda. No, pad stabilnosti je mnogo sporiji u otapalu XoCH u usporedbi s vodom kao otapalom (Slika 3.).



**Slika 3.** Stabilnost kartamina u ksilitol-kolin kloridu (označeno trokutom) i voda (označeno rombom) pri različitim temperaturama 80 °C(a), 60 °C (b) i 40 °C (c). (preuzeto iz Dai i sur.,

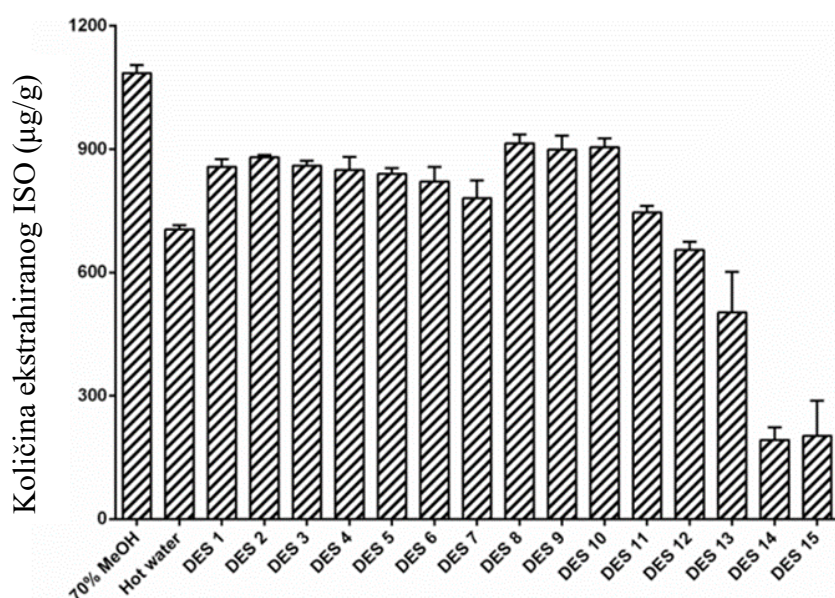
2014)

Osim temperature, u istoj studiji praćena je stabilnost kartamina u različitim otapalima tijekom vremena pri  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Prvih tjedan dana kartamin je bio potpuno stabilan u svim otapalima. Nakon 15 dana potpuna stabilnost zadržana je u saharoza-kolin kloridu (SuCH), a u ostalim NADES-ima je degradirano manje od 10% kartamina. Za usporedbu, značajnija degradacija zabilježena je u vodi i 40%-tnom etanolu. Kao najbolje otapalo za očuvanje stabilnosti pokazao se SuCH gdje je kartamin ostao stabilan preko mjesec dana pri temperaturi od  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Autori stabilizacijski učinak NADES-a dovode u vezu s viskoznošću samog otapala. Naime, viskozija otapala pokazuju bolji stabilizacijski učinak. Porastom temperature pada viskoznost medija što objašnjava i posljedičan pad stabilnosti kartamina. Visoka viskoznost pri niskoj temperaturi omogućava stabilne interakcije između molekula otapala i bioaktivne komponente što smanjuje njenu degradaciju (Dai i sur., 2014).

Godine 2018. Jablonsky i suradnici objavili su rezultate testiranja stotine različitih smjesa NADES-a kojima su iz biootpada drvne industrije uspješno ekstrahirali spojeve poput flavonoida, tanina, proteina, nukleinskih kiselina, flavona, tokoferola, fenolnih kiselina i drugi. Bitno je naglasiti da je riječ o spojevima različite polarnosti. Neki od dobivenih ekstrakata su sadržavali vrijedne spojeve koji primjenu nalaze u kozmetičkoj industriji poput aminokiselina, bioaktivnih peptida, kolagenskih peptida, albumina itd. Međutim, otapala primijenjena u ovoj studiji većinski sadrže kolin-klorid koji prema Uredbi Europske komisije 1223/2009 nije dozvoljen sastojak u kozmetičkoj industriji stoga je očita potreba za dizajnom novih NADES-a čija su svojstva kompatibilna sa zahtjevima kozmetičke industrije (Benoit i sur., 2021)

U kozmetičkoj industriji prisutna je rastuća potreba za proizvodima koji sadrže bioaktivne sastojke. Kao stalno rastuće tržište kozmetičkih proizvoda ističe se azijsko područje gdje kozmetička industrija bilježi porast inovacija u području razvoja kozmetičkih proizvoda. Inovativnost se ogleda i u istraživanju novih izvora bioaktivnih komponenata (Juhász i sur., 2018) kao i načina njihovog dobivanja. Primjerice, u studiji Jin i sur. (2019) istraživani su ekstrakti dugoživućih vrsta stabala azijskoga područja kao potencijalnih izvora bioaktivnih sastojaka za kozmetičke proizvode. Pripremljeni su ekstrakti biljaka *Ginkgo biloba* L., *Cinnamomum camphora* (L.), J. Presl. i *Cryptomeria japonica* (L.f.), a za njihovu pripremu korištena su odabrana niskotemperaturna eutektička otapala. Ekstrakti spomenutih vrsta poznati su po svojem

blagotvornom učinku na ljudski organizam poput antimikrobnog, antifungalnog, antiupalnog, antioksidativnog te ostalih učinaka, stoga je pretpostavka u studiji da bi smjesa ekstrakata spomenutih vrsta imala pozitivan sinergistički učinak na kožu. Na Slici 4. prikazana je usporedba količine ekstrahiranog flavonoida izokvercetina raznim otapalima. Gotovo sva DES otapala su se pokazala značajno učinkovitijima u ekstrakciji polifenola izokvercetina (prinos od 746–915  $\mu\text{g g}^{-1}$ ) od vruće vode (705  $\mu\text{g g}^{-1}$ ), no manje efikasna u odnosu na 70%-tni metanol (1086  $\mu\text{g g}^{-1}$ ). Kao najbolje niskotemperaturno eutektičko otapalo u ekstrakciji izokvercetina iz lišća pokazalo se otapalo u čijem je sastavu glicerol i ksilitol.

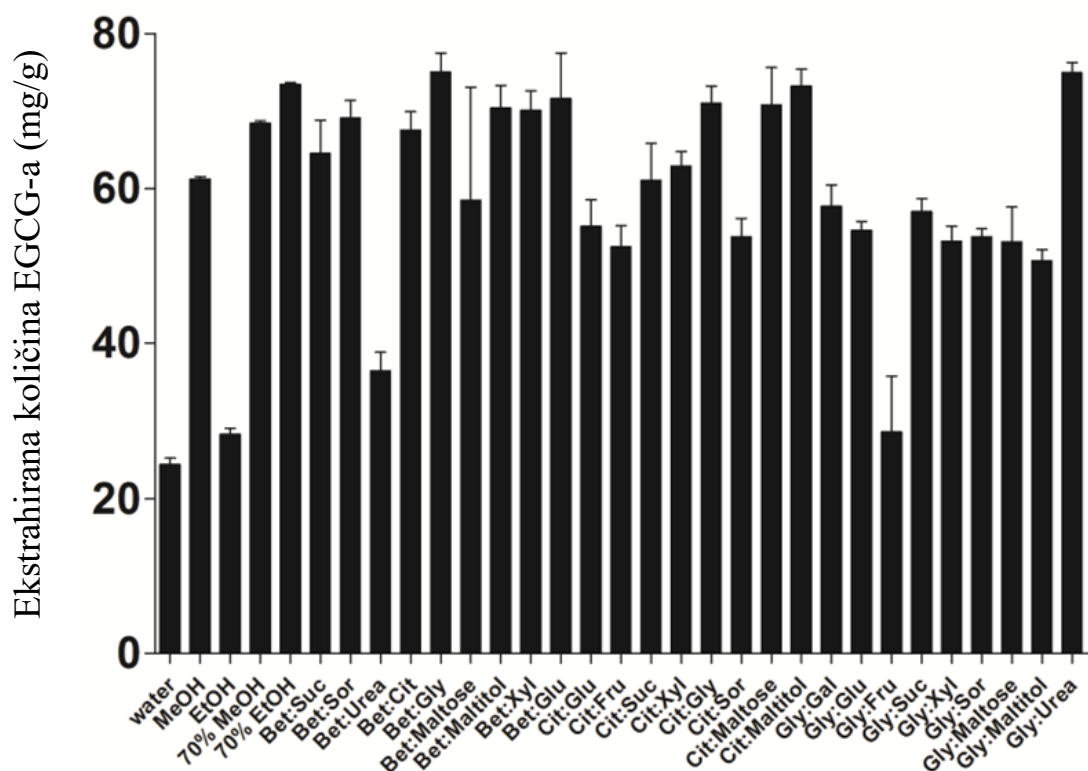


**Slika 4.** Usporedba razine izokvercetina nakon ekstrakcije DES-om u odnosu na ekstrakciju 70%-tnim metanolom i vodom. Udio vode u svim testiranim DES-ovima iznosi 30% w/w. (Preuzeto iz Jin i sur., 2019)

U studiji Jeong i sur. (2017) iz lišća zelenog čaja (*Camellia sinensis*) ekstrahirani su katehini, bioaktivni spojevi iz skupine polifenola koji svoju primjenu nalaze, između ostalog, i u kozmetičkim pripravcima zbog antioksidativnog i anti-aging djelovanja (Cerbin-Koczorowska i sur., 2021). Od 26 sintetiziranih DES-a najveću efikasnost u ekstrakciji pokazalo je otapalo BGG-4 čiji su sastojci betain, glicerol i D-(+)-glukoza. Otapalo BGG-4 pokazalo se znatno efikasnijim u ekstrakciji katehina i u usporedbi s vodom i organskim otapalima. Veća efikasnost DES-a u odnosu na ostala otapala može se objasniti mikrostrukturnim promjenama na lišću uslijed djelovanja BGG-4. Pretpostavlja se da je promjena morfologije lista rezultirala

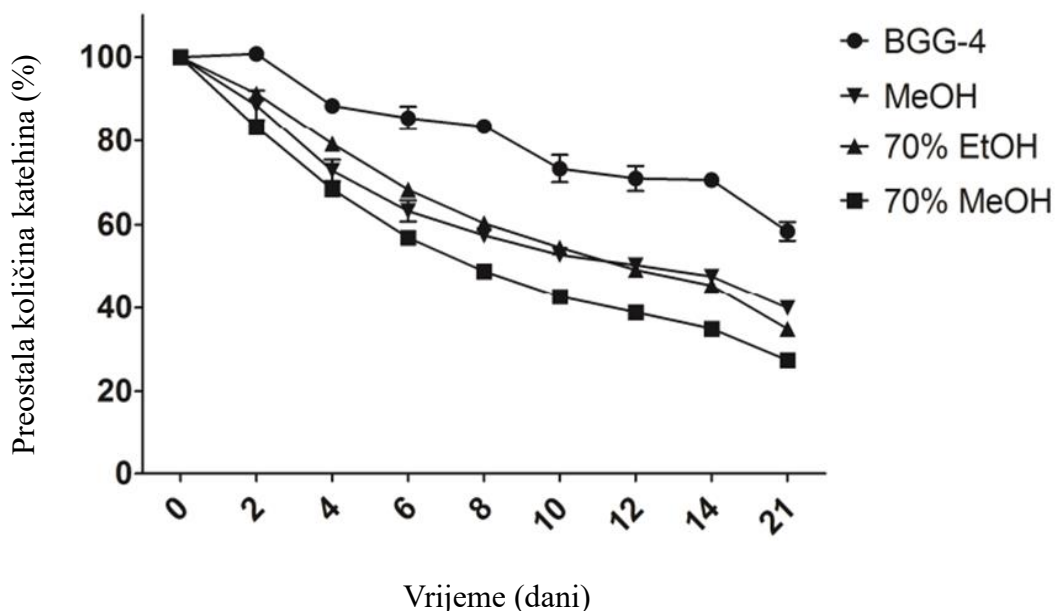


bržim otapanjem katehina prilikom ekstrakcije (Slika 5.)



**Slika 5.** Usporedba ekstrakcijskog prinosa katehina u 26 ispitanih DES-ova i 5 referentnih otapala. (Preuzeto iz Jeong i sur., 2017)

Osim većeg prinosa katehina u ekstraktu, u otapalu BGG-4 je zabilježena i dugotrajnija stabilnost katehina. Naime, katehini su skloni degradaciji pod utjecajem temperature i tijekom vremena skladištenja. Rezultati ispitivanja stabilnosti ekstrakta su pokazali da katehin u EGCG bilježi najveći pad koncentracije tijekom vremena, a ima najsporiji pad koncentracije u otapalu BGG-4 u odnosu na ostala otapala (Slika 6.).

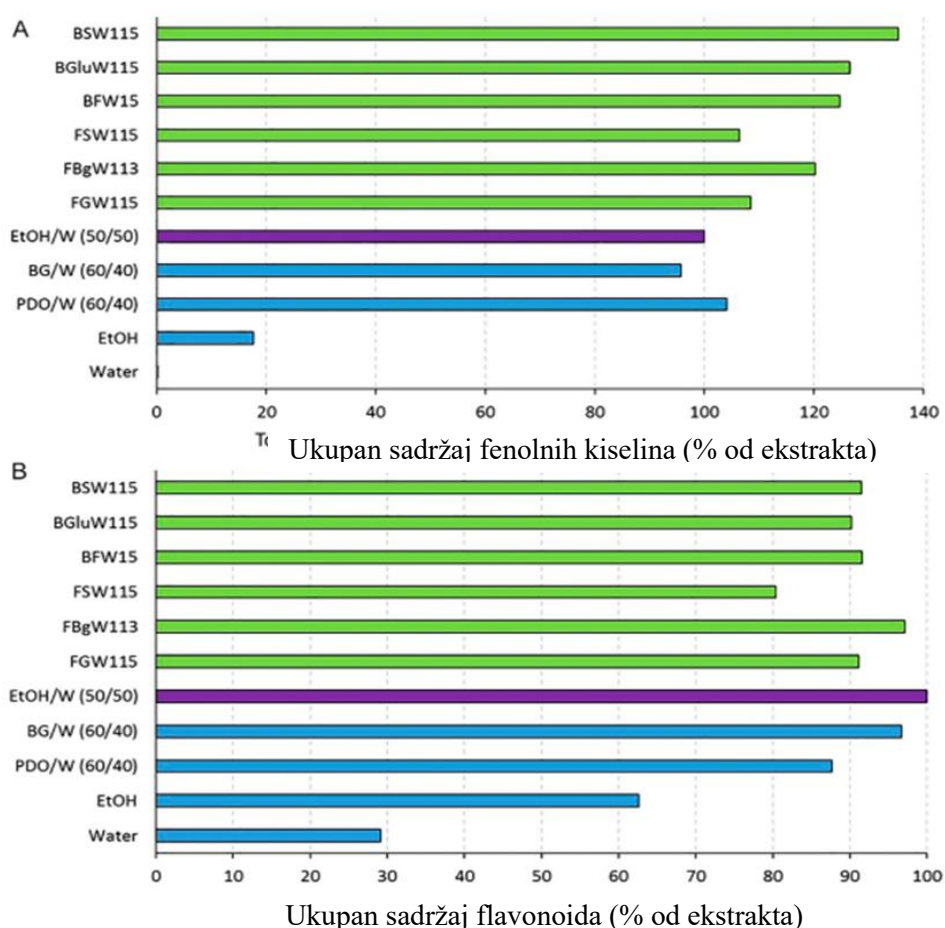


**Slika 6.** Stabilnost EGCG-a u ekstraktu zelenog čaja u uvjetima temperaturnog stresa (pri 60 °C). Ekstrakti su pripremljeni u optimiziranim uvjetima ovisno o upotrijebljenom otapalu. (Preuzeto iz Jeong i sur., 2017)

Važno je naglasiti da su sastojci svih sintetiziranih DES-ova korištenih u ovom istraživanju dozvoljeni za upotrebu u kozmetičkoj industriji. Korišteni sastojci uključuju betain, ureu, šećere (glukoza, fruktoza, galaktoza, saharoza, maltoza i dr.) i šećerne alkohole (glicerol, ksilitol, sorbitol, manitol i dr.). Sve spomenute komponente se već primjenjuju kao aktivni sastojci u proizvodnji kozmetičkih proizvoda za hidrataciju. K tome, odabrani sastojci su jeftini, sigurni i dostupni na tržištu. Obzirom da se otapalo BGG-4 sastoji od komponenata koje same po sebi, zasebno, imaju pozitivno djelovanje, moglo bi biti korišteno za izravnu primjenu u formulaciji kozmetičkog proizvoda. Osim toga, primjenom otapala spomenutih svojstava u industrijskoj proizvodnji ne bi bile potrebne određene procedure koje su inače nužne u *downstream* procesima, kako bi se izolirao i pročistio katehin nakon ekstrakcije (Jeong i sur., 2017). Autori navode da je moguće primijeniti metode iz provedene studije za dobivanje ekstrakata katehina u velikom industrijskom mjerilu, doduše uz mnogo duže vrijeme procesa.

U radu Benoit i sur. (2021) također je provedeno istraživanje s NADES-ima čiji su sastojci u okvirima kozmetičke regulative. Uz šest sintetiziranih NADES-a napravljena je i usporedba s pet konvencionalnih otapala (voda, etanol, etanol:voda 50:50 (w/w), propandiol:voda

60:40 (w/w) i butilen glikol:voda 50:50 (w/w)). Upotrebom navedenih otapala pripremljeni su ekstrakti cvijeta ljekovite biljke nevena, *Calendula officinalis*. NADES otapala pokazala su se jednako ili čak više učinkovita u ekstrakciji fenolnih kiselina u odnosu na konvencionalna otapala, a zabilježeni su i izvrsni rezultati u ekstrakciji flavonoida (Slika 7.). Činjenica da otapala slične polarnosti nisu imala jednak ekstrakcijski kapacitet navodi na zaključak da slična polarlost otapala i sastojka koji se ekstrahira nije jedini faktor koji poboljšava ekstrakciju. Autori pretpostavljaju da na efikasnost ekstrakcije utječu i viskoznost, gustoća, dielektrična konstanta otapala i ostali parametri koji se tiču supramolekularne strukture NADES-a.



**Slika 7.** Relativni ekstrakcijski učinak NADES-a i konvencionalnih otapala za ekstrakciju fenolnih kiselina (A) i flavonoida (B) iz nevena (*Calendula officinalis*) u usporedbi sa smjesom etanol:voda

## 2.3. PRIMJENA I DIZAJNIRANJE NISKOTEMPERATURNIH EUTEKTIČKIH OTAPALA ZA KOZMETIČKU PRIMJENU

### 2.3.1. BIOLOŠKA AKTIVNOST I DODANA VRIJEDNOST EKSTRAKTA U DES-U

U istraživanjima sinteze i primjene NADES-a važno je uključiti i provjeru njihove biološke aktivnosti. Naime, definiranje biološke aktivnosti NADES-a ključan je korak koji prethodi njihovoj konkretnoj primjeni u industriji. Ispitivanje biološke aktivnosti podrazumijeva provjeru toksičnosti na raznim modelnim sustavima uključujući i *in vitro* testiranje na kultura životinjskih stanica te određivanje antioksidativne, antimikrobne i ostalih mogućih aktivnosti (Radošević i sur., 2018).

Kada je toksičnost u pitanju, NADES otapala smatraju se netoksičnima jer su njihove sastavnice netoksične, no uzevši u obzir mogući synergistički učinak komponenata i dalje je prisutna potreba za provjerom njihove toksičnosti (Radošević i sur., 2015). U radu Radošević i sur. (2018) ispitana je toksičnost deset odabranih NADES-a na humane stanične linije i na neke od najčešćih patogena iz skupine bakterija i kvasaca. Sedam NADES-a pokazalo je inhibirajući učinak na testne mikroorganizme pri čemu zasebne ishodne komponente za sintezu NADES-a (betain, kolin, šećeri, šećerni alkoholi) nisu imale utjecaj na antimikrobnu aktivnost. Najveći inhibitori učinak imala su otapala koja su sadržavala limunsku kiselinu. U još nekoliko studija su se NADES-i sa udjelom organskih kiselina pokazali efikasnijima u antimikrobnom djelovanju što otvara mogućnost njihove potencijalne upotrebe kao antimikrobnih agensa. Antimikrobno djelovanje NADES-a na stanice bakterija može se objasniti interakcijom kolin-kationa iz NADES-a i polisaharida peptidoglikana što dovodi do disrupcije stanične stijenke (Wen Q i sur., 2015). To ujedno objašnjava jači inhibirajući učinak na Gram pozitivne bakterije koje su permeabilnije za NADES zbog manjeg udjela lipopolisaharida u membrani. Kada su u pitanju eukariotske stanice, NADES i DES utječu na povećanje permeabilnosti njihovih lipidnih membrana (Radošević i sur., 2018) što objašnjava antimikrobnu aktivnost.

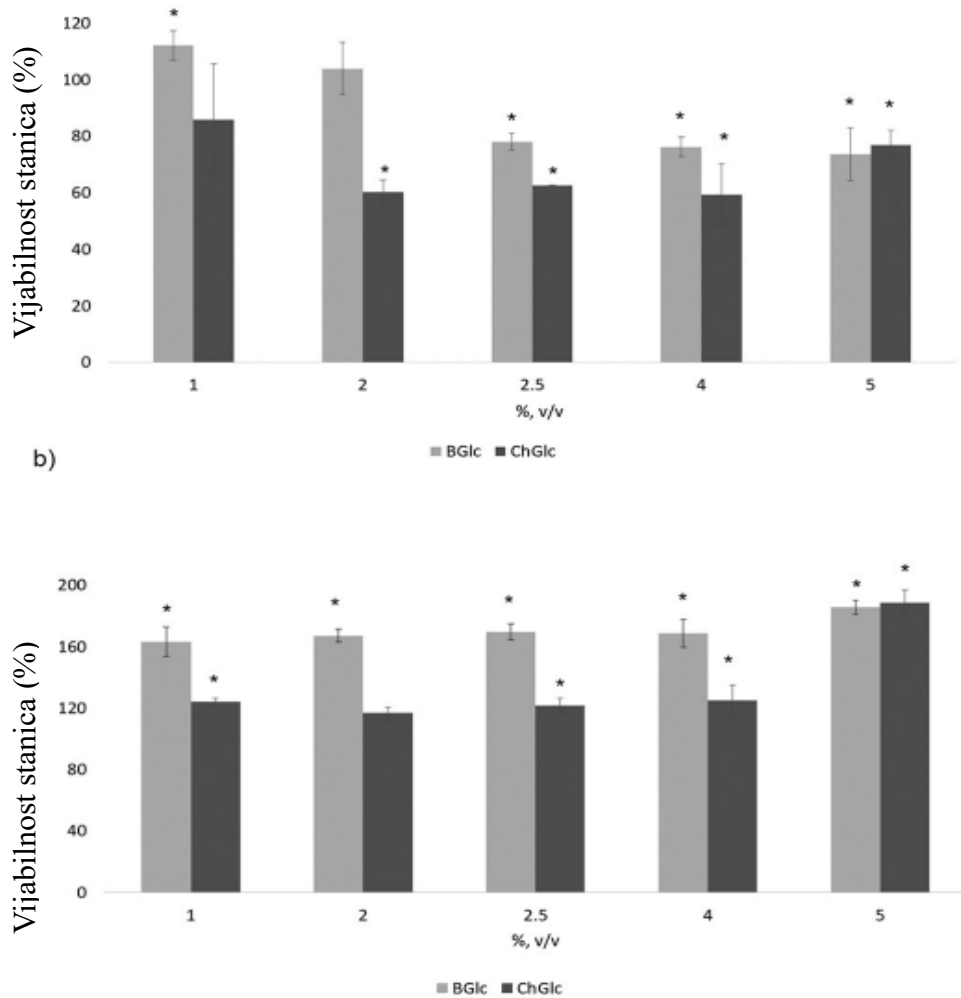
U istoj studiji primijećeno je da, za razliku od antimikrobne aktivnosti, antioksidativna aktivnost potječe izravno od komponenata NADES-a. Otapala koja u svom sastavu imaju antioksidativne komponente imaju antioksidativno djelovanje, a otapala poput kolin klorid:kситola, kolin klorid:sorbitola i kolin klorid:uree čije komponente same po sebi nemaju antioksidativno djelovanje, ni sama nisu pokazivala takav učinak (Radošević i sur., 2018).

U radu Grillo i sur. (2020) ispitana je antiproliferativna aktivnost ekstrakata antocijanina koji su dobiveni ekstrahiranjem konvencionalnim otapalima i NADES-om kolin-klorid:mliječna kiselina. Napravljena je usporedba djelovanja tih ekstrakata na HeLa i HaCaT stanične linije, a rezultati su pokazali značajno jači antiproliferativni učinak NADES ekstrakata u odnosu na konvencionalne ekstrakte. Osim toga, zabilježen je i jači inhibicijski učinak na stanice tumora u odnosu na stanice kože. Jači inhibitori učinak na tumorskim stanicama u odnosu na normalne stanične linije primijećen je i u studiji Radošević i sur. (2018). Najveću antiproliferativnu aktivnost na tumorske stanice pokazalo je otapalo kolin klorid:oksalna kiselina (ChOX). Autori rezultate objašnjavaju formacijom kristala kalcijevog oksalata u stanicama što dovodi do štetnih učinaka na stanice. Obzirom da tumorske stanice apsorbiraju veću količinu okolnog medija zbog visoke potrebe za energijom, pretpostavka je da je to razlog njihove veće osjetljivosti na djelovanje spomenutog NADES-a. U studiji je potvrđeno djelovanje organske kiseline kao jednog od faktora koji utječe na toksičnost NADES-a (Radošević i sur., 2018)

U radu Panić i sur. (2020) provedena je ekstrakcija polifenola iz nusproizvoda u proizvodnji kakaa NADES-om. Biootpad koji zaostaje prilikom proizvodnje kakaa sadrži značajne udjele polifenola i predstavlja sirovinu za dobivanje ekstrakata koji se mogu koristiti za obogaćivanje čokoladnog mlijeka polifenolima. Osim što su pripremljeni NADES ekstrakti morali imati odgovarajuće senzorske karakteristike, bilo je potrebno istražiti i njihovu biološku aktivnost. Antiproliferativna aktivnost kolin-klorid:glukoze (ChGlc) i betain:glukoze (BGlc) NADES ekstrakata ispitana je *in vitro* na dvije HeLa i HaCat stanične linije. Odabrani ekstrakti utjecali su na vijabilnost HeLa stanica. Otapalo s kolin-kloridom je već pri 1% (v/v) pokazalo pad vijabilnosti tumorskih stanica, a pri koncentraciji 2–5% (v/v) pad vijabilnosti se povećao i do 40%. Otapalo s betainom utjecalo je na pad vijabilnosti tumorskih stanica od 30% pri koncentraciji 2,5–5% (v/v) (Slika 8.). Antiproliferativni učinak može se pripisati različitim komponentama ekstrakta obzirom da pad vijabilnosti nije proporcionalan povećanju koncentracije ekstrakta.

Zanimljivo je da su dobiveni ekstrakti u radu Panić i sur. (2020) pokazali pozitivan učinak na *in vitro* rast stanica normalne stanične linije kože (HaCat). Porast koncentracije NADES ekstrakata pratilo je poboljšanje stope rasta stanica. U prilog dobivenim rezultatima studije ide i istraživanje Macario i sur. (2019) koji su istraživali citotoksičnost NADES-a na dvije HaCat

stanične linije. Rezultati su pokazali da otapala sa kolin-kloridom i tetrametilamonijevim kloridom nisu toksična za normalne stanice, a neka od njih čak poboljšavaju vijabilnost stanica. Ovakav učinak na rast stanica, konkretno keratinocita, predstavlja potencijal u smislu moguće primjene NADES ekstrakata u kozmetičkoj industriji, primjerice u proizvodnji regenerativne kozmetike (Panić M. i sur., 2020)



**Slika 8.** Učinak pripremljenih ekstrakata na HeLa (a) i HaCat (b) stanične linije postignut je u volumnim omjerima 1%-5% (v/v), a određen je upotrebom MTS analize. Stanična vijabilnost (%) je izražena kao postotak tretiranih stanica u odnosu na kontrolne (Preuzeto iz rada Panić i sur., 2020)

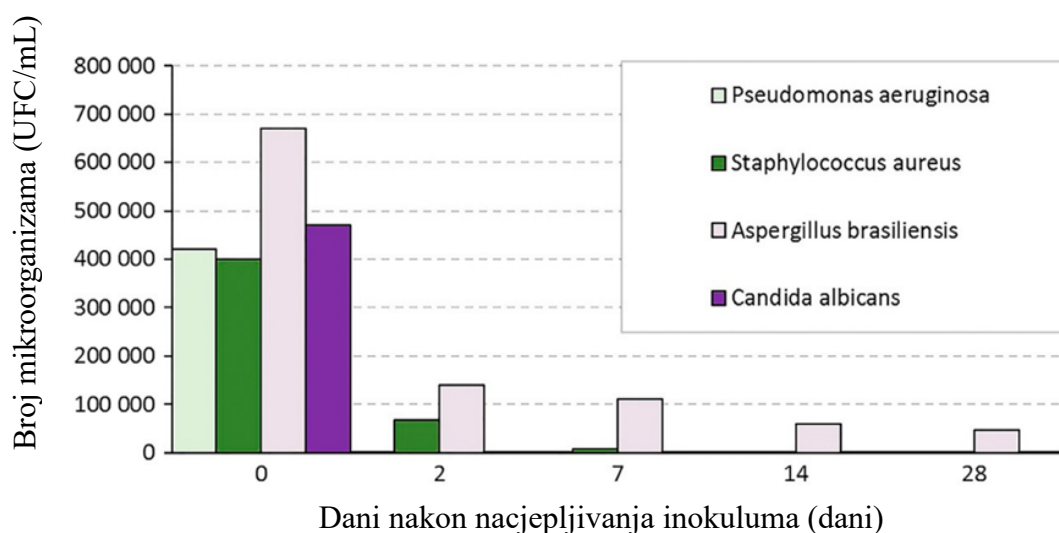
*In vivo* i *in vitro* učinak niskotemperaturnih eutektičkih otapala na bazi amonijaka ispitan

je u studiji Hayyan i sur. (2015). Na temelju rezultata kreiran je toksikološki profil DES-ova i napravljena je usporedba sa toksičnosti zasebnih komponenata. U radu se navodi da je *in vitro* citotoksični učinak varirao ovisno o staničnim linijama. DES-ovi su se u *in vivo* istraživanjima pokazali toksičnima u odnosu na zasebne sastojke smjese. Autori navode da citotoksičnost otapala može ovisiti o kombinaciji soli i donora vodikove veze te njihovom molarnom omjeru, odnosno da je moguć sinergistički učinak te je zbog toga uvijek potrebno odrediti toksikološki profil novosintetiziranog otapala, osobito prije njegove moguće veće proizvodnje i šire primjene

Biološka aktivnost zasebnih komponenata NADES-a može se iskoristiti u njihovom dizajniranju za dobivanje ekstrakata s poželjnim svojstvima. Primjerice, NADES-i na bazi kolina imaju poboljšanu biološku aktivnost zbog kolina koji ima važnu ulogu kao donor metilne skupine te sudjeluje u sintezi acetilkolina i fosfolipida u ljudskom organizmu (Panić i sur., 2020). Međutim, kao što je već spomenuto, kolin klorid je na popisu zabranjenih sastojaka za kozmetičku primjenu, premda je najčešći akceptor vodikove veze u DES-ovima i upravo su DES-ovi na bazi kolin klorida do sada najviše istraživani. Kao svojevrsna zamjena kolin kloridu zbog slične strukture može se koristiti betain. Betain je intermedijarni metabolit u metabolizmu kolina te, između ostalog, smanjuje rizik od razvoja vaskularnih bolesti (Panić i sur. 2020; Radošević i sur., 2018). Pojačavanje učinaka dobivenog ekstrakta u smislu veće antioksidativne ili druge biološke aktivnosti može se postići upravo sinergističkim djelovanjem otapala s ekstrahiranim sastojkom (Radošević i sur., 2016). U studiji Grillo i sur. (2020) potvrđeno je svojstvo pojačavanja pozitivnih bioloških učinaka ekstrahiranih sastojaka, konkretno fitokemikalija iz pokožice borovnice. Antioksidativno djelovanje antocijanina iz borovnica opada tijekom procesa proizvodnje i skladištenja, a provedeno istraživanje upućuje na potencijalnu primjenu NADES-a kao otapala za ekstrakciju antocijanina koji svoju primjenu nalaze kao farmakološki aktivne komponente.

U studiji koju su proveli Benoit i suradnici (2021) provedeno je testiranje pripremljenih ekstrakata NADES-a FGW115 (fruktoza:glicerol:voda) upotrebom takozvanih *challenge* testova. *Challenge* testovi provode se tako da se na preparat koji se ispituje nacijepi inokulum mikroorganizama (Slika 9.). Tako pripremljeni preparat se čuva pri određenoj temperaturi na tamnom mjestu, a tijekom vremena se uzimaju uzorci preparata i određuje se broj poraslih kolonija. Preparat ima odgovarajuća konzervirajuća svojstva ako nije bilo porasta broja

mikroorganizama ili ako je zabilježen pad nakon 2, 7, 14 i 28 dana. *Challenge* test u navedenoj studiji proveden je s NADES-om FGW115, koji su autori odabrali kao najbolji po pitanju ostalih kriterija, a koje između ostalog, sadrži sve sastojke dozvoljene za primjenu u kozmetičkoj industriji. Pad broja mikroorganizama zabilježen je u drugom danu od naciepljivanja što je nedovoljno brzo prema zadanim kriterijima (Slika 7.) Kao rješenje za buduću primjenu otapala FGW115 u ekstrakciji autori predlažu dodatnu filtraciju ne bi li se osigurala mikrobiološka ispravnost ekstrakta.



**Slika 9.** Istraživanje mikrobiološke aktivnosti otapala FGW115 prema *challenge* test metodi Europske farmakopeje (Preuzeto iz rada Benoit i sur. (2021))

### 2.3.2. OD LABORATORIJSKOG MJERILA DO DOKAZA KONCEPTA ZA TRŽIŠTE

Selekcija najpovoljnijih otapala za konkretnu primjenu u industriji najprije se provodi u laboratorijskom mjerilu. Potrebno je provesti niz istraživanja i napraviti evaluaciju na temelju dobivenih rezultata. Kreiranje formulacije proizvoda zahtjevan je proces, s obzirom na to da konačan proizvod mora zadovoljiti niz kriterija u okviru postojeće regulative. U okvirima zakonske regulative mora biti sam proces proizvodnje koji obuhvaća pripremu, obradu, doradu, pakiranje i čuvanje kod proizvođača kozmetičkih proizvoda. Na Slici 10. prikazan je niz koraka koji se provode prije stavljanja kozmetičkog proizvoda na tržište.



Prije stavljanja kozmetičkog proizvoda na tržište...

SIGURNOST PROIZVODA I USKLAĐENOST SA REGULATORNIM ZAHTJEVIMA su najvažniji kriteriji koji se uzimaju u obzir prilikom odabira sastojaka i konačne formulacije te odabira pakiranja kako bi se osigurala sigurnost za potrošače.

OCJENA UČINKOVITOSTI se provodi kako bi se osiguralo da proizvod zadovoljava tvrdnje i koristi koje potrošač očekuje.

MIKROBIOLOŠKA ISPITIVANJA provode se kako bi se odredio najbolji sustav konzervansa s ciljem sprječavanja rasta gljivica, bakterija i kvasaca koji bi mogli uzrokovati kvarenje kozmetičkih proizvoda.

RAZVOJ PROCESA uključuje prijenos formulacije kozmetičkog proizvoda iz laboratorijskog mjerila u industrijsko pri čemu je osigurano zadržavanje kontrole kvalitete neovisno i mjestu proizvodnje u svijetu.

LANAC NABAVE osigurava materijale za proizvodnju konačnog kozmetičkog proizvoda koji uključuju sirovine, ambalažu i deklaracije tako da proizvod može biti odgovarajuće kvalitete i u potrebnim količinama sukladno zahtjevima tržišta.

**Slika 10.** Prikaz koraka koji prethode stavljanju kozmetičkog proizvoda na tržište (Prilagođeno prema Cosmetics Europe, 2022)

### 2.3.3. REGULATORNI ZAHTJEVI I DEKLARIRANJE KOZMETIČKIH PROIZVODA

Radi osiguravanja jedinstvenosti tržišta EU, odnosno olakšavanja kretanja robe, kapitala, ljudi i usluga unutar Europske unije, sve države članice EU podliježu sličnoj legislativi. Zakonodavstvo je usklađeno i kada je u pitanju deklariranje, pakiranje i sigurnost kozmetičkih proizvoda. Godine 1976. usvojena je Direktiva vijeća 76/768/EEZ o usklađivanju zakonodavstava država članica za kozmetičke proizvode, a od tada je više puta izmijenjena. Na temelju provedene reevaluacije spomenute Direktive sastavljena je nova Uredba (EZ) br. 1223/2009 Europskog parlamenta i vijeća od 30. studenoga 2009. o kozmetičkim proizvodima (Cosmetics Europe 2022). Pravila određena Uredbom onemogućavaju različito prenošenje u nacionalno zakonodavstvo čime se postiže usklađenost pravila i osigurava kvalitetan nadzor

tržišta, a sve s ciljem osiguravanja visoke razine zaštite zdravlja ljudi.

Spomenuta Uredba odnosi se na proizvode koji se mogu definirati kao kozmetički proizvodi. Definiranje kategorija kozmetičkih proizvoda provodi ovlaštena Komisija. Uredba nudi sljedeću definiciju: „kozmetički proizvod je svaka tvar ili smjesa koja je namijenjena dodiru s vanjskim dijelovima ljudskog tijela (koža, kosa i vlasište, nokti, usnice i vanjski spolni organi) ili sa zubima i sluznicom usne šupljine isključivo ili prvenstveno radi njihova čišćenja, parfimiranja, i/ili zaštite i održavanja u dobrom stanju, mijenjanja njihova izgleda i/ili korekcije tjelesnih mirisa.“

Jedno od glavnih načela Uredbe je povezivanje kozmetičkog proizvoda sa odgovornom osobom. Odgovorna osoba ili tvrtka mora osigurati sigurnost proizvoda koji zadovoljava sve kriterije Uredbe. Odgovornom osobom može se, primjerice, smatrati uvoznik koji stavlja kozmetički proizvod na tržište, distributer pod određenim uvjetima itd. U Uredbi (EZ) br. 1223/2009 sektor kozmetike naveden je kao jedna od industrijskih djelatnosti koja je najviše podložna krivotvorenju. Iz tog razloga uspostavljeni su mehanizmi i mjere postupanja u slučaju kršenja prava intelektualnog vlasništva koji mogu povećati opasnost za zdravlje ljudi.

Uz spomenutu Uredbu (EZ) br. 1223/2009 regulacija proizvodnje kozmetičkih proizvoda uređena je i Uredbom (EZ) br. 1907/2006 Europskog parlamenta i Vijeća od 18. prosinca 2006. o registraciji, evaluaciji, autorizaciji i ograničavanju kemikalija (REACH). Ovom Uredbom uređena su pravila kojima se postiže potrebna razina zaštite ljudskog zdravlja, ali i zaštite okoliša. U Uredbi se, između ostalog, predlažu alternativne metode koje za cilj imaju smanjenje uporabe opasnih kemikalija (Cosmetics Europe, 2022).

Uredba se osvrće i na Protokol o zaštiti i dobrobiti životinja s naglaskom na poštivanje zahtjeva o dobrobiti životinja. Također je istaknuta potreba za donošenjem odredbi kojima se zabranjuje ispitivanje gotovih kozmetičkih proizvoda na životinjama. Također, zabranjeno je stavljati proizvod na tržište čiji su sastojci ispitani na životinjama ukoliko je postojala alternativna metoda za ispitivanje usvojena na razini Zajednice. Komisija svake godine dostavlja izvješće o napretku i pravnoj prihvatljivosti alternativnih metoda stoga je potrebno praćenje regulatornih promjena.

Prema Uredbi dozvoljene su zabranjene tvari u proizvodima, ali samo u tragovima i pod uvjetom da su tehnološki neizbježne te da je pri tome proizvod i dalje siguran. Uredbom je regulirano i korištenje nanomaterijala u proizvodnji kozmetičkih proizvoda. Nanomaterijali u kozmetičkim proizvodima često se koriste kao bojila, konzervansi i UV filtri. Obzirom da njihova primjena može povećati rizik za zdravlje ljudi, Uredba navodi potrebu za njihovim jasnim definiranjem, specifikacijom, profiliranjem te označavanjem na samom proizvodu.

Unutarnji nadzor nad tržištem obuhvaća mehanizme kojima se provjeravaju kozmetički proizvodi na tržištu. Oni uključuju provjeru uzoraka putem fizičkih i laboratorijskih ispitivanja te putem dokumentacije koja sadržava podatke o proizvodu. Upravo iz tog razloga Uredba navodi potrebu za osiguravanjem sljedivosti duž čitavog lanca nabave s ciljem povećanja efikasnosti nadzora tržišta.

Prije stavljanja kozmetičkog proizvoda na tržište odgovorna osoba mora sastaviti izvješće o sigurnosti kozmetičkog proizvoda u kojem su navedene sljedeće stavke:

- Kvantitativni i kvalitativni sastav kozmetičkog proizvoda
- Fizikalno - kemijska svojstva i stabilnost kozmetičkog proizvoda
- Mikrobiološka kakvoća
- Nečistoće, tragovi, podaci o ambalažnom materijalu
- Uobičajeni i razumno predvidljivi uvjeti uporabe
- Podaci o izloženosti kozmetičkom proizvodu
- Podaci o izloženosti tvarima koje sadrži kozmetički proizvod
- Toksikološki profil tvari
- Neželjeni učinci i ozbiljni neželjeni učinci
- Ostali primjenjivi podaci o kozmetičkom proizvodu

Navedena je i potreba za transparentnošću kada su u pitanju sastojci proizvoda. Oni moraju biti navedeni na ambalaži proizvoda ili dostupni potrošaču na neki drugi način. Podaci koji uključuju kvalitativni i kvantitativni sastav proizvoda, ime i šifre spojeva, identitet dobavljača te postojeći podaci o neželjenim učincima moraju biti javno dostupni. Podaci za potrošače koji se nalaze na ambalaži proizvoda (ili u neposrednoj blizini proizvoda) moraju biti čitljivi, a uključuju sljedeće stavke:

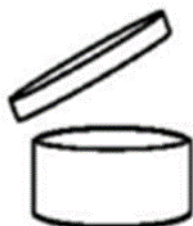
- ime ili registrirano ime i adresu odgovorne osobe
- nominalni sadržaj u trenutku pakiranja, naveden u obliku mase ili obujma
- datum do kojeg će kozmetički proizvod u odgovarajućim uvjetima skladištenja zadržati svoju prvotnu funkciju
- posebne mjere opreza koje je potrebno poštovati prilikom uporabe
- serijski broj proizvodnje ili referentni broj za identifikaciju kozmetičkog proizvoda
- funkciju kozmetičkog proizvoda, osim ako nije jasna iz izgleda proizvoda
- popis sastojaka

Svaka od gore navedenih stavki detaljnije je razjašnjena u Uredbi u članku 19.

Primjena simbola na ambalaži u određenim okolnostima može biti opcionalna ili nužna. Primjerice, ako iz praktičnih razloga nije moguće navesti podatke o posebnim mjerama opreza i popisu sastojaka, ti podaci se navode u skraćenom obliku ili putem simbola (Slika 11.) Izraz na ambalaži „najbolje upotrijebiti prije kraja” može se zamijeniti simbolom (Slika 13.) Nužna je upotreba simbola (Slika 12.) kod deklariranja proizvoda s najkraćim rokom trajanja duljim od 30 mjeseci.



**Slika 11.** Uputa na priložene informacije (preuzeto iz Uredbe (EZ) br. 1223/2009)



**Slika 12.** Rok trajanja nakon otvaranja (preuzeto iz Uredbe (EZ) br. 1223/2009)



**Slika 13.** Najkraći rok trajanja (preuzeto iz Uredbe (EZ) br. 1223/2009)

### 3. ZAKLJUČCI

Na temelju iznesenih činjenica u teorijskom završnom radu doneseni su sljedeći zaključci:

1. Razvoj proizvodnje kozmetičkih proizvoda ide u smjeru poštivanja načela zelene kemije, stoga se nastoje pronaći nova rješenja za zamjenu sveprisutnih organskih otapala.
2. Niskotemperaturna eutektička otapala zbog svojih svojstava i raznolikih mogućnosti dizajniranja predstavljaju inovativno "zeleno" rješenje za unaprjeđenje kozmetičkih proizvoda, a iz ove skupine otapala osobito su zanimljiva prirodna niskotemperaturna eutektička otapala.
3. Pažljivim odabirom komponenata i metoda sinteze moguće je pripremiti raznovrsna niskotemperaturna eutektička otapala za specifičnu namjenu.
4. Istraživanja određenih DES-a i NADES-a pokazuju njihovu povoljnu biološku aktivnost. Dokazana su njihova antimikrobna i antioksidativna svojstva te dobar stabilizirajući učinak na ekstrahirane komponente. Ova otapala povećavaju ukupnu biološku aktivnost ekstrakta. Daljnja istraživanja su potrebna kako bi se utvrdio profil toksičnosti ovih otapala.
5. Iako je prvi biljni ekstrakt dobiven primjenom NADES-om plasiran na tržište, DES-ovi još nisu široko zastupljeni u proizvodnji kozmetičkih proizvoda. Potrebna su daljnja istraživanja njihovih svojstava te prenosa postupka ekstrakcije iz laboratorijskog mjerila u industrijsko.
6. Regulativom Europske unije određeni su kriteriji koje kozmetički proizvod mora zadovoljavati prije plasiranja na tržište, koje treba slijediti pri pripravi biljnih ekstrakata primjenom niskotemperaturnih eutektičkih otapala. Također, potrebno je provoditi niz koraka provjere proizvoda kako bi se smatrao sigurnim za uporabu.

#### 4. POPIS LITERATURE

Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F. i sur. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *J. Food Eng.* **117**(4), 426-436.

Benoit, C., Virginie, C., & Boris, V. (2021) The use of NADES to support innovation in the cosmetic industry. *Adv. Bot. Res.* **97**, 309-332. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2020.09.009>

Cerbin-Koczorowska, M., Waszyk-Nowaczyk, M., Bakun, P., Goslinski, T. i Koczorowski, T. (2021) Current view on green tea catechins formulations, their interactions with selected drugs, and prospective applications for various health conditions. *Appl. Sci.* **11**(11), 4905.

Cosmetics Europe (2022). Brussels: Cosmetics Europe the personal care association, <https://cosmeticseurope.eu/cosmetics-industry/understanding-cosmetics-regulation>. Pristupljeno 5. rujna 2022.

Cosmetics Europe (2022). Brussels: Cosmetics Europe the personal care association, <https://cosmeticseurope.eu/cosmetics-industry/cosmetics-industry-and-reach/> Pristupljeno 5. rujna 2022.

Cvjetko Bubalo, M., Vidović, S., Radojčić Redovniković, I. i Jokić, S. (2015). Green solvents for green technologies. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* **90**(9), 1631-1639.

Dai, Y. (2013). Natural deep eutectic solvents and their application in natural product research and development (Ph.D. Thesis). Faculty of Science, Leiden University (The Netherlands).

Dai, Y., Verpoorte, R., & Choi, Y. H. (2014). Natural deep eutectic solvents providing enhanced stability of natural colorants from safflower (*Carthamus tinctorius*). *Food Chem.* **159**, 116-121.

De Castro, M. L., i Garcia-Ayuso, L. E. (1998). Soxhlet extraction of solid materials: an outdated technique with a promising innovative future. *Analytica chimica acta*, **369**(1-2), 1-10.

Hrestak, D. (2018). Biološka aktivnost ekstrakta komine grožđa pripravljenog primjenom eutektičkog otapala (Doctoral dissertation, University of Zagreb. Faculty of Food Technology and Biotechnology. Department of Biochemical Engineering. Laboratory for Cell Technology, Application and Biotransformations).

Grillo, G., Gunjević, V., Radošević, K., Redovniković, I. R. i Cravotto, G. (2020). Deep eutectic solvents and nonconventional technologies for blueberry-peel extraction: Kinetics, anthocyanin stability, and antiproliferative activity. *Antioxidants*, **9**(11), 1069.

Hayyan, M., Looi, C. Y., Hayyan, A., Wong, W. F. i Hashim, M. A. (2015). In vitro and in vivo toxicity profiling of ammonium-based deep eutectic solvents. *PloS one*, **10**(2), e0117934.

Jablonský, M., Škulcová, A., Malvis, A., & Šima, J. (2018). Extraction of value-added components from food industry based and agro-forest biowastes by deep eutectic solvents. *J. Biotechnol.*, **282**, 46-66.

Jeong, K. M., Ko, J., Zhao, J., Jin, Y., Han, S. Y., i Lee, J. (2017). Multi-functioning deep eutectic solvents as extraction and storage media for bioactive natural products that are readily applicable to cosmetic products. *J. Clean. Prod.*, **151**, 87-95.

Juhász, M. L., Levin, M. K., i Marmur, E. S. (2018). The use of natural ingredients in innovative Korean cosmeceuticals. *J. Cosmet. Dermatol.*, **17**(3), 305-312.

Laguerre, M., & Lavaud, A. (2016). The rise of deep eutectics from nature to cosmetics. *Naturex.*, 45-47.

Macário, I. P. E., Oliveira, H., Menezes, A. C., Ventura, S. P. M., Pereira, J. L., Gonçalves, A. M. M. i sur. (2019). Cytotoxicity profiling of deep eutectic solvents to human skin cells. *Sci. Rep.* **9**(1), 1-9.



Manuela, P., Drakula, S., Cravotto, G., Verpoorte, R., Hruškar, M., Redovniković, I. R. i Radošević, K. (2020). Biological activity and sensory evaluation of cocoa by-products NADES extracts used in food fortification. *Innov. Food Sci. Emerg. Technol.* **66**, 102514.

Martins, M. A., Pinho, S. P., i Coutinho, J. A. (2019). Insights into the nature of eutectic and deep eutectic mixtures. *J. Solut. Chem*, **48**(7), 962-982.

Naturex, (2016). Naturex, <https://www.naturex.com/Media2/Press-releases/Eutectys-haircare-actives-and-superhoneys-Naturex-brings-the-best-of-Nature-to-the-Cosmetagora-show>. Pristupljeno 8. rujna 2022.

Radošević K., Cvjetko Bubalo M., Gaurina Srček V., Grgas D., Landeka Dragičević T., Redovniković R. I. (2015) Evaluation of toxicity and biodegradability of choline chloride based deep eutectic solvents. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* **112**, 46–53.

Radošević, K., Čanak, I., Panić, M., Markov, K., Bubalo, M. C., Frece, J. i sur. (2018). Anti-microbial, cytotoxic and antioxidative evaluation of natural deep eutectic solvents. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **25**(14), 14188-14196.

Radović, M., Panić, M., Radošević, K., Cvjetko Bubalo, M., i Radojčić Redovniković, I. (2021). Niskotemperaturna eutektička otapala–racionalnim dizajnom do zelenog otapala budućnosti. *Kemija u industriji: Časopis kemičara i kemijskih inženjera Hrvatske*, **70**(9-10), 551-562.

Uredba (EZ) br. 1223/2009 Europskog parlamenta i Vijeća od 30. studenoga 2009. o kozmetičkim proizvodima <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/?uri=celex:32009R1223> Pristupljeno 4. rujna 2022.

Wen Q, Chen JX, Tang YL, Wang J, Yang Z (2015) Assessing the toxicity and biodegradability of deep eutectic solvents. *Chemosphere* **132**, 63–69

## Izjava o izvornosti

Ja Barbara Dropulja izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mog rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio/la drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

*Barbara Dropulja*  
Vlastoručni potpis