

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 VONNÝCH LÁTEK S ALERGENNÍMI ÚČINKY

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

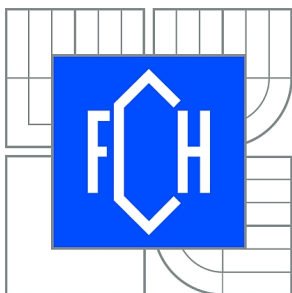
AUTHOR

BLANKA OBRDLÍKOVÁ

BRNO 2011



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 VONNÝCH LÁTEK S ALERGENNÍMI ÚČINKY

ASSESSMENT OF AROMATIC COMPOUNDS WITH ALLERGENIC EFFECT

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE
AUTHOR

BLANKA OBRDLÍKOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE
SUPERVISOR

Ing. EVA VÍTOVÁ, Ph.D.

BRNO 2011



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

Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce:	FCH-BAK0604/2010	Akademický rok: 2010/2011
Ústav:	Ústav chemie potravin a biotechnologií	
Student(ka):	Blanka Obrdlíková	
Studijní program:	Chemie a technologie potravin (B2901)	
Studijní obor:	Potravinářská chemie (2901R021)	
Vedoucí práce	Ing. Eva Vítová, Ph.D.	
Konzultanti:	Ing. Radka Divišová	

Název bakalářské práce:

Stanovení vonných látek s alergenními účinky

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární přehled o:
 - použití vonných látek v kosmetickém průmyslu
 - jejich možných biologických účincích v lidském organismu
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 bakalářské práce: 6.5.2011

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

Blanka Obrdlíková
Student(ka)

Ing. Eva Vítová, Ph.D.
Vedoucí práce

doc. Ing. Jiřina Omelková, CSc.
Ředitel ústavu

V Brně, dne 31.1.2011

prof. Ing. Jaromír Havlica, DrSc.
Děkan fakulty

ABSTRAKT

Práce se zabývá stanovením vonných látek s alergenními účinky v kosmetických přípravcích. Teoretická část je zaměřena na popis kosmetických přípravků, použití vonných látek při přípravě kosmetických přípravků, získávání vonných látek a jejich alergenní účinky na lidský organismus. V praktické části je využita metoda SPME-GC-FID ke stanovení vonných látek s alergenními účinky ve vybraných kosmetických přípravcích (přírodní krémy a toaletní vody).

ABSTRACT

The thesis deals with the determination of allergenic fragrances in cosmetics. The theoretical part is focused on the description of cosmetic products, the use of fragrances in the preparation of cosmetics, obtaining fragrances and their allergenic effects on the human body. In the practical part the SPME-GC-FID method is used for the determination of aromatic substances with allergenic potential in selected cosmetic products (natural creams and toilet water).

KLÍČOVÁ SLOVA

vonné látky, kosmetické prostředky, SPME, GC

KEYWORDS

aroma compounds, cosmetics, SPME, GC

OBRDLÍKOVÁ, B. *Stanovení vonných látek s alergenními účinky*, Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2011. 58 s. Vedoucí bakalářské práce Ing. Eva Vítová, Ph.D.

PROHLÁŠENÍ

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

.....
podpis studenta

Poděkování:

Tímto bych chtěla poděkovat paní Ing. Evě Vítové, Ph.D. a paní Ing. Radce Divišové za cenné rady, podnětné připomínky a pomoc při vypracování této práce.

OBSAH

1. ÚVOD	5
2. TEORETICKÁ ČÁST	6
2.1. Kosmetické výrobky	6
2.1.1. Funkční kosmetika	6
2.1.2. Dekorativní kosmetika	6
2.1.3. Parfémy	7
2.1.4. Formy kosmetických preparátů	7
2.2. Kosmetické suroviny	8
2.3. Vonné látky	9
2.3.1. Získávání vonných látek	9
2.3.2. Přírodní vonné látky	10
2.3.3. Synteticky vyrobené vonné látky	12
2.3.4. Testování kvality vonných látek	17
2.4. Kontaktní dermatitida	17
2.4.1. Kontaktní iritační dermatitida	17
2.4.2. Alergenní kontaktní dermatitida	18
2.4.3. Projevy alergické dermatitidy vyvolané kosmetikou	19
2.4.4. Testování alergenní kontaktní dermatitidy pomocí epikutánních testů	19
2.5. Alergenní účinky vonných látek	21
2.6. Legislativa	23
2.6.1. Regulace kosmetických přípravků	23
3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	28
3.1. Laboratorní vybavení	28
3.1.1. Chemikálie	28
3.1.1.1. Standardy použitých vonných alergenních látek	28
3.1.1.2. Rozpouštědla	29
3.1.2. Plyny	29
3.1.3. Přístroje a pracovní pomůcky	29
3.2. Podmínky SPME-GC-FID analýzy	30
3.3. Přehled vlastností standardů	31
3.4. Reálné vzorky kosmetických přípravků	39
3.5. Pracovní postupy	40
3.5.1. Příprava vzorků	40
3.5.2. Extrakce aromaticky aktivních látek	40
4. VÝSLEDKY A DISKUSE	41
4.1. Identifikace jednotlivých standardů	41
4.2. Reálné vzorky	41

5. ZÁVĚR	46
6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	47
7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	50
8. PŘÍLOHY	51
8.1. Příloha I	51
8.2. Příloha II.....	53

1. ÚVOD

Není snad nikdo, kdo by v dnešní době každý den nepoužíval nějaké kosmetické přípravky, ať jsou to třeba denní krémy, toaletní vody, vody po holení, šampóny či opalovací krémy aj. Kosmetické přípravky bereme i jako součást našich hygienických návyků a některé z nich řadíme už mezi léčivé (např.: krémy proti vráskám, krémy proti celulitidě, přípravky na popáleniny atd.).

Již ve starověkém Egyptě se lidé líčili, starali se o svoje tělo různými bylinnými koupelemi, oleji a vůněmi. V Evropě nebyl zájem o kosmetické přípravky tak velký. Postupem času však lidé začali stále více pečovat o své tělo. To vedlo k většímu zaměření na nové látky pro vyšší rozmanitost výrobků a tak upoutání zájmu zákazníků. Největší rozmach kosmetických přípravků byl v druhé polovině 19. století, kdy začali vědci vyrábět některé látky synteticky. Tento rozmach však neměl jen pozitivní stránku. Začaly se objevovat také alergické reakce na některé výrobky a zjistilo se, že přísady mohou být toxické. Proto se tyto látky začaly v kosmetice sledovat. Některé z nich zakazuje kosmetická direktiva Evropské unie a také uvádí 26 potenciálně alergenních látek, které po překročení určité koncentrace musí být výrobcem uvedené na obalu výrobku.

Tato práce je zaměřena na vonné látky v kosmetických výrobcích a to jak přírodně získaných, tak i synteticky vyrobených. Největší důraz je kladen na 26 potenciálních alergenů, které byly ve vybraných kosmetických přípravcích identifikovány a kvantifikovány. Pro identifikaci a kvantifikaci byla použita metoda SPME-GC-FID.

2. TEORETICKÁ ČÁST

2.1. Kosmetické výrobky

Kosmetické výrobky jsou přípravky určené pro přímý nebo nepřímý styk s vnějšími částmi těla, ústní dutinou za účelem čištění, umývání, parfemace, dezodorace, změny vzhledu, ochrany či ošetřování pleti [1]. Kosmetické přípravky mohou být tvořeny samostatnou látkou nebo směsí látek, které jsou nazývány kosmetické suroviny. Tyto látky jsou buď chemickým produktem, anebo mají přírodní charakter. Látky používané jako kosmetické suroviny jsou vybrány podle jejich vhodných vlastností. Ty posuzujeme z hlediska funkčního nebo z hlediska zajištění vzhledu a stavu přípravku v průběhu záruční doby. Dalším důležitým požadavkem je bezpečné používání a čistota, jak chemická tak mikrobiologická. Pokud se stane, že je přípravek znečištěn, nesmí jeho znečištění negativně ovlivnit finální výrobek.

Kosmetické výrobky a přípravky můžeme rozdělit podle použití na skupiny: [2]

- Funkční kosmetika
- Přípravky krášlící, resp. dekorativní kosmetika
- Parfémy

2.1.1. Funkční kosmetika

Funkční kosmetika má na základě svého složení na pokožku a orgány specifické účinky, které jsou prokazatelné a detekovatelné.

Dělíme ji do několika kategorií na základě vlastností a aplikačních schopností [2].

- přípravky pro čištění pokožky a vlasů
- přípravky na ošetření dutiny ústní
- přípravky na holení
- přípravky na ošetření vlasů

2.1.2. Dekorativní kosmetika

Dekorativní kosmetika mění vzhled pokožky obličeje nebo výraz obličeje, většinou podle toho co vyžaduje móda. Tato kosmetika může sloužit i ke korekci menších vad, zejména v oblastech pokožky, které jsou viditelné. Také při tom může plnit funkci ošetřující a ochraňující. V posledních letech se na tyto funkce klade největší důraz [2].

Do této skupiny patří:

- dekorativní kosmetika pro obličej
- pudr
- oční make-up
- rtěnky
- přípravky pro ošetření nehtů

2.1.3. Parfémy

Vůně je v kosmetickém výrobku důležitou složkou, protože z pohledu zákazníka je to hlavní ukazatel výběru výrobku [2].

Kosmetické výrobky rozdělujeme do dvou kategorií vzhledem k parfemaci výrobku:

- vůně (odorant) je hlavní složkou – parfémy, deodoranty, osvěžovače vzduchu aj.
- vůně (odorant) je vedlejší složkou – hlavní účel odorantu v těchto výrobcích je buď dekorativní anebo maskovací

2.1.4. Formy kosmetických preparátů

Kosmetický průmysl se značně přizpůsobuje potřebám zákazníka. Proto se dnes v praxi uplatňují kosmetické preparáty v následujících formách:

- roztoky (vody, tonika, lotiony) – bezbarvé nebo zbarvené, často jsou to parfémované nebo vodně alkoholické roztoky
- koloidní roztoky – gely
- suspenze
- oleje – často se označují podle druhu aplikace (např.: masážní oleje, oleje pro ošetření pokožky, koupelové oleje atd.)
- masti – jsou nejvíce využívanou formou v kosmetice
- emulze – po nanesení na pokožku se emulze rozbourá a vodná fáze se vypaří a zůstává pouze jemný tukový film, proto mají v péči o pokožku podřadné použití
- pasty – základními složkami jsou ve vodě nebo v rozpouštědlech nerozpustné práškovité komponenty
- mýdla – pomocí vhodného zvolení mastných kyselin a přídatných látek jsou mýdla schopná dobře pečovat o pokožku
- tyčinky – tužky (deodoranty, rtěnky, tužky na oči či obočí atd.)
- pudry – většinou mají práškovitou formu, ale vyskytují se i v tekuté a kompaktní formě
- granuláty – s vodou tvoří velmi dobře roztíratelné masti a suspenze (např.: prášky na čištění zubů)
- aerosoly
- laky – hlavní úlohou je vytvořit na pokožce, nehtech či vlasech plastický, nelepivý a odolný film, pro zlepšení vzhledu a mechanických vlastností [2]

2.2. Kosmetické suroviny

Použité druhy kosmetických surovin se pohybují okolo deseti tisíc. Kosmetické suroviny můžeme rozdělit do dvou základních skupin:

Do první skupiny se zařazují kosmetické suroviny pro přípravky se speciálními účinky například čistící přípravky pro pleť, pro depilaci, dekorativní účely, barvení vlasů, ošetřování nehtů, zábaly atd. Mezi suroviny pro přípravu těchto látek patří zejména biologicky aktivní látky, tenzidy, látky se speciálními účinky, nosiče zabezpečující optimální účinek nebo pigmenty a jejich nosiče v dekorativní kosmetice.. [3].

Do druhé skupiny patří kosmetické přípravky, které mají za úkol nahradit či doplnit přirozený kožní film. Tyto přípravky mají i bez pomoci aktivních látek pozitivní účinky na pleť a proto by měly být základem kosmetické péče [3].

Přehled nejběžnějších kosmetických surovin [3]:

- Parafinické uhlovodíky
- Organokřemičité sloučeniny
- Lipidy – tuky
 - vosky
 - fosfolipidy
 - sfingolipidy
 - isoprenoidy
- Mastné kyseliny
- Mastné alkoholy
- Tenzidy
- Regulátory viskozity
- Jedno- a vícesytné alkoholy
- Látky zvyšující stabilitu kosmetických přípravků – antioxidační činidla
 - konzervační činidla
 - bakteriostatická činidla
- Barviva v kosmetice
- Voda
- Anorganické pomocné látky
- Vonné kompozice

2.3. Vonné látky

2.3.1. Získávání vonných látek

Získávání vonných látek je závislé na fyzikálních vlastnostech surovin i na chemických vlastnostech samotné vonné látky [4]. Silice se po některých technologických postupech jejich získávání musí dále upravovat, protože většina jich je špatně rozpustná v lihu s nízkým obsahem etanolu. Tato nevhodná vlastnost silic je způsobena vysokým podílem terpenických a seskviterpenických uhlovodíků. Tyto látky nemají pro vůni silic podstatný význam a také se snadno oxidují anebo polymerují na vzdušném kyslíku, což způsobuje snižování kvality silic. Pro kosmetické výrobky s nižším obsahem ethanolu se silice zbavují terpenických uhlovodíků. Tyto látky se mohou odstraňovat různými způsoby. Jeden z nejúčinnějších a zároveň nejstarší způsob odstraňování je pomocí azeotropické destilace se zředěným lihem. Dalším (modernějším) způsobem se vonné látky zbavují terpenů na základě různých rozpustností ve dvou různých rozpouštědlech [5].

Základní a nejpoužívanější technologické postupy:

- Lisování
- Destilace
- Absorpce a extrakce
- Vyluhování pomocí těkavých rozpouštědel

Lisování

Lisování se používá při výrobě silic z oplodí (slupek) citrusových plodů. Postup je takový, že se nejprve ve speciálním zařízení uvolní silice, která se odplaví vodou a poté se odstředí. Následně se vysaje z plodu šťáva [5].

Destilace

Nejčastější způsob získávání silic je destilací vodní parou. Vodní pára při destilaci strhává s sebou z rostlinného materiálu uvolňující se silici [4]. Vodní pára se silicí poté zkapalní a vrací se zpět do vody [6]. Silice se usazuje v jímaném destilátu ve formě olejové vrstvy, která se pak vysušuje a dále zpracovává. K výrobě kolínských a toaletních vod se používají destilační vody po extrakci silice [5].

Absorpce a extrakce

Absorpce a extrakce patří k nejstaršímu způsobu izolace vonných látek z rostlinného materiálu. Získávání silic z květů se provádělo tak, že se vonné látky naadsorbovaly na tuk nebo do oleje. Tímto způsobem, který se nazývá anfleráž (z franc. enfleurage) se připravovaly vonné masti používané do kosmetických prostředků. Postup anfleráže je takový, že se na vrstvu tuku pokládají čerstvě natrhané květy tak dlouho, dokud se tuk nenasytí silicí. Získaný tuk nasycený silicí se nazývá pomáda. Dalším krokem při získávání silice je její extrakce lihem, který se následně vymrazí a filtruje. Tím se získává laváž (franc. lavage). Poté se oddestiluje etanol a zbytek se nazývá silice absolutní. Tato metoda je však velmi náročná a nákladná, proto se používá pouze při výrobě těch nejdražších silic [5].

V dnešní době se používá extrakce nízkovroucími organickými rozpouštědly, hlavně petroletherem. Po oddestilování rozpouštědla získáme polotuhou, voskovitou hmotu – konkrét neboli silice konkrétní. Z té se poté stejným způsobem jako u získávání z tuku získá silice absolutní [5].

Vyluhování pomocí těkavých rozpouštědel

Materiál, z kterého se mají získat vonné látky, se položí na kovové pláty do „extraktorů“. Přes ně prochází těkavé rozpouštědlo (např.: ether). To se poté dostává do destilační aparatury, kde kondenzuje do polotuhé hmoty. Tato hmota je směsí vonného oleje a voskové substance (stearopten). Tyto dvě látky se ze směsi oddělují pomocí alkoholu tak dlouho, dokud se nezíská olej v nejčistší a nejkoncentrovanější podobě zvané „absolut“ [6].

2.3.2. Přírodní vonné látky

Podle způsobu získávání přírodní vonné látky rozdělujeme do sedmi základních kategorií:

- Surové a absolutní oleje
- Esenciální (éterické) oleje získávané destilací
- Esenciální (éterické) oleje získávané lisováním
- Tinkтуры a infuse
- Balzámy, pryskyřice

Surové a absolutní oleje

Surové oleje jsou také někdy označovány jako přírodní květinové oleje, které se získávají extrakcí květů uhlovodíkovými rozpouštědly. Rozpouštědla se po extrakci odstraní za sníženého tlaku, takže teplota nepoškodí izolovaný olej. Takto získané oleje jsou nerozpustné ve vodě, ale snadno se rozpouštějí v alkoholech, mají žlutou až hnědou barvu, která má občas odstín do zelena. Hlavní složkou těchto olejů je květinový olej, který je odpovědný za charakteristikou vůni a vosk.

Absolutní olej, komerčně nazývaný olej éterického typu, se získává extrakcí surového oleje pomocí ethanolu při co nejnižší teplotě. Následně se za sníženého tlaku odstraní rozpouštědlo. Získaný produkt má medovitou konzistenci a je zcela rozpustný v alkoholu. Barvu mají podobnou jako surové oleje tj. žlutá až hnědá, někdy s odstíny do zelena. Odstraněním barvy se odstraňuje i část éterického oleje, což je nežádoucí. Kvůli nežádoucím změnám, které vznikají při zvýšené teplotě, se při přípravě absolutních olejů využívají upravené postupy získávání [2].

- květinová řada – růže, jasmín, hyacint, šeřík, pomerančové květy, tuberózy a narcisy, fialky, olej z *Boronia polygalifolia*, kasiový olej, olej z mimosy, reseda
- dřevná řada – santalový olej
- bylinná řada – levandule, čajový olej, olej z kapradin, olej z břečťanu, olej z vousatky
- balsamová řada – cypřišový olej, jedlový olej, vanilkový olej, heliotropový olej

- ovocná řada – olej z listů fíkovníků
- ambrová řada – ibiškový olej

Esenciální (éterické) oleje získávané destilací

Esenciální oleje získávané destilací jsou nejpoužívanější surovinou pro výrobu parfémů. Tato metoda je aplikována zejména na květiny, listy a kořeny rostlin, ovoce a další části rostlin. Kvalita esenciálních olejů je ovlivněna sběrem výchozího materiálu. Důležité je také, aby výchozí materiál nebyl kontaminován jinými částmi rostlin, které neobsahují požadovaný olej. Technika sběru se liší podle druhu rostliny, ze které olej získáváme. Před destilací se materiál většinou rozmělnuje pro vyšší účinnost destilace. V praxi využíváme tři způsoby destilace:

- destilace přímým plamenem
- destilace nepřímou vodní parou
- destilace přímou vodní parou

Nejvýznamnější typy esenciálních olejů získávaných destilací: olej z hořkých mandlí, olej z bazalky, heřmánkový olej, kafrový olej, kardamon, cedrový olej, koriandrový olej, skořicový olej, cypřišový olej, estragonový olej, eukalyptový olej, olej z jedle, olej z chmele, jalovcový olej, levandulový olej aj. [2]

Esenciální (éterické) oleje získávané lisováním

K získávání olejů pomocí lisování se používají různé citrusové plody (citrony, pomeranče, bergamoty aj.). Aby olej byl kvalitní, lisují se pouze slupky plodů kvůli kyselosti šťávy. Citrusové oleje mají vysoký obsah terpenů a mají větší náchylnost na oxidaci. Proto je uchováváme v hermeticky uzavřených skleněných nádobách v tmavých, suchých a dobře větraných místnostech.

Nejvýznamnější typy olejů získávané lisováním: bergamotový olej, citrónový olej, mandarinkový olej, pomerančový olej, grapefruitový olej [2]

Tinkтуры a infuse

Tinkтуры se vyrábí macerací 95% alkoholem nejdříve za studena. Materiál se jemně rozeleme a maceruje se. Doba macerace může trvat od několika týdnů až po několik měsíců. Infuse se vyrábí podobným způsobem jako tinkтуры, ale při zvýšených teplotách za použití refluxu. Infuse je méně používaná, protože při vyšší teplotě dochází k reakci s alkoholem. Z živočišných surovin vznikají extrakcí alkoholem a oddestilováním rozpouštědla absolutní odoranty. Tyto látky jsou až 20krát koncentrovanější než tinkтуры.

Nejvýznamnější látky: ambra, castroneum, cibet, musk – pižmo [2]

Balzámy, pryskyřice

Balzámy a pryskyřice vznikají v rostlinách jako přirozené produkty nebo jako patogeny. Balzámy mají tekutou konzistenci, mají aromatický charakter a můžeme je rozdělit na pravé balzámy a oleopryskyřice. Pravé balzámy jsou většinou složeny z esterů fenyylpropanového typu a dalších aromatických sloučenin jako je kyselina benzoová, skořicová či benzylalkohol. Oleopryskyřice jsou obsaženy v silicích jako roztoky pryskyřice. Pokud se oleopryskyřice zahřívají, mění svůj charakter. Je tedy možné pryskyřici oddělit destilací [4].

Pryskyřice mají oproti balzámům tuhou konzistenci, jsou křehké a průhledné. Také se vyznačují tím, že nemají stanoven přesný bod tání. Pryskyřice obsahují diterpenické a triterpenické kyseliny, alkoholy, fenoly, estery pryskyřičných alkoholů a kyselin a neutrální pryskyřičné látky [4].

Nejvýznamnější látky: benzoe, peruánský balzám, mertha aj.

2.3.3. Synteticky vyrobené vonné látky

Určení přesné hranice mezi synteticky vyrobenou vonnou látkou a vonnou látkou přírodního charakteru je velmi obtížné. Syntetické vonné látky se začaly rozvíjet, až když se analytičtí chemici začali zabývat izolací a rozvojem přírodních látek. Poté byly vypracovány jejich syntézy a postupy na výrobu podobných vonných sloučenin, i takových, které nebyly v přírodě nalezeny [7]. Izolace byla nejprve prováděna z éterických olejů přírodních látek fyzikálně chemickými postupy. Největším přínosem pro toto odvětví byla frakční destilace. Také se objevily i látky připravené čistě syntetickou cestou. Prvními látkami aplikovanými v parfémových kompozicích byly např. vanilin, benzaldehyd, salicylaldehyd a 2-fenyl-ethanol. V dnešní době je na trhu zhruba 5 000 různých parfémových kompozic, ale pouze asi 5 % z nich jsou přírodní vonné látky [2]. Tyto synteticky vyrobené látky můžeme nalézt skoro ve všech hlavních skupinách organických sloučenin. Z velké části mají vonné látky ve své molekule jeden nebo více atomů kyslíku (alkoholy, ethery, estery, laktony atd.). Častěji se začínají používat vonné látky, které obsahují ve své molekule dusík nebo síru. Tyto tři prvky se však spolu mohou vyskytovat v různých kombinacích. Synteticky vyrobené látky by měly mít vysokou čistotu a zvláště vyhraněnou, typickou vůni [8].

Synteticky vyrobené látky rozdělujeme většinou podle chemických funkčních skupin:

- uhlovodíky
- ethery
- aldehydy
- ketony
- acetaly
- estery
- laktony
- fenoly
- aromatické látky obsahující dusík

- aromatické látky obsahující síru
- látky s mošusovou vůní
- ostatní vonné látky

Uhlovodíky

Tyto látky obsahují pouze uhlík a vodík. Pro velký počet je dále rozděluje do tří větších skupin – alifatické, alicyklické a aromatické. Alifatické uhlovodíky neuzavírají svoje řetězce uhlíkových atomů do kruhu. Naproti tomu alicyklické uhlovodíky uzavírají svoje řetězce do kruhů. Kruhy také uzavírají aromatické uhlovodíky, které ještě obsahují benzenové jádro [9]. Uhlovodíky se jako vonné látky moc nepoužívají, ale jsou důležité jako výchozí suroviny pro syntézu vonných látek nebo jako rozpouštědla při výrobě jak syntetických tak přírodních látek. Terpenické uhlovodíky mají největší význam ze všech ostatních uhlovodíků. Stavební jednotkou pro tyto látky je isopren. V přírodě se terpenické uhlovodíky běžně vyskytují proto tvoří složky prakticky všech silic [8].

Do této skupiny patří např.: alloocimen, bisabolen, cedren, p-cymen, difenylmethan, fellandren, kamfen, karyofylen, limonen, myrcen, ocimen, α -pinen, β -pinen, styren atd.

Alkoholy

Organické látky obsahující funkční skupinu -OH nazýváme alkoholy. Mají obecný vzorec R-OH, kde R označuje radikál (např.: alkyl, substituovaný alkyl, aryl, arylalkyl aj.). Alkoholy dělíme podle jejich funkční skupiny v molekule na primární, sekundární a terciární. Čím víc je radikálů, tím je menší vaznost hydroxylové skupiny. Z tohoto vyplývá, že terciární alkoholy nejsnadněji odštěpují vodu. Dále máme alkoholy rozděleny podle radikálových řetězců na alifatické, alicyklické a aromatické [9]. Ve vonných látkách mají největší význam sloučeniny se dvěma hydroxylovými skupinami, které nazýváme glykoly. Ze sloučenin se třemi hydroxylovými skupinami je to pouze glycerol. V průmyslu jsou to hojně používané vonné látky, protože jsou stabilní. Jsou prakticky výchozími surovinami pro výrobu dalších vonných látek, hlavně esterů, aldehydů, ketonů, acetalů atd. Pokud chceme alkohol použít jako vonnou látku, měl by být co nejčistší, a měl by mít počet atomů uhlíku nejvýše 15 (resp. 18). Nečistoty v něm obsažené zastírají a modifikují charakter a jemnost vůně a alkoholy s vyšším počtem uhlíků se jako aromatické látky využívají velmi výjimečně [8].

Do této skupiny řadíme např.: amylalkohol, α -amylcinnamylalkohol, amylethylkarbinol, benzylalkohol, butanol, cedrol, cinnamylalkohol, citronellol, dekanol, dihyromyrcenol, farnesol, geraniol, hexanol, linalool, santalol atd.

Ethery

Ethery jsou organické deriváty sloučenin s hydroxylovou funkční skupinou. Mají vodík hydroxylové skupiny substituovaný radikálem. Nejčastěji se setkáváme s tím, že obě valence kyslíku jsou vázány na uhlíkové atomy radikálů. Pokud jsou radikály stejné, jedná se o symetrické ethery, v opačném případě jsou to ethery nesymetrické. Ethery se také řadí mezi heterocykly, jedná-li se o ether, který má kyslíkový atom vázaný v cyklu [8, 9]. Ethery jsou

poměrně nereaktivní látky, ale s některými solemi dávají komplexní sloučeniny (LiCl , SnCl_4 , MgCl_2). Jsou také stálé vůči alkáliím a kyselinám. Citlivé na kyslík, a to i vzdušný, jsou alkylethery. Alkylethery se oxidují pomocí kyslíku na peroxidy, což jsou nežádoucí látky při tvorbě kompozic a tak se musí hlídat jejich vznik [8].

Mezi vonné látky ze skupiny etherů patří: amylbenzylether, anethol, benzylbutylether, benzylfenylether, citronellylethylether, decylmethylether, difenylether, estragol, eugenylmethylether, hydrochinondimethylether, isoeugenylpentylether, isosfrol, p-kresylethylether atd.

Aldehydy

Aldehydy jsou jedny z nejdůležitějších vonných látek. Mají většinou velmi intenzivní charakteristickou vůni, která často připomíná vůni příslušného alkoholu. Aldehydy jsou hojně zastoupeny v přírodě a to zvláště v silicích [8]. Patří mezi karbonylové sloučeniny, protože ve své molekule obsahují karbonylovou skupinu $\text{C}=\text{O}$. Tato skupina je velmi reaktivní, a proto jsou tyto látky málo stabilní. Jsou snadno oxidovatelné vzdušným kyslíkem a polymerují. Díky těmto vlastnostem se snižuje jejich kvalita. Aby si aldehydy zachovaly svůj charakter uchovávají se rozpuštěné v 50% alkoholu. Jako nejčastější alkohol se používá ethanol, protože vytváří s aldehydy poloacetal, který skoro vůbec neovlivní základní charakter vůně aldehydu [8, 9].

Další negativní vlastností aldehydů je jejich reakce s alkáliemi. Dochází u nich ke kondenzaci a dalším reakcím. Jejich použití pro parfemaci mýdel a dalších výrobků s pH větším jak 7 je tedy velmi omezené [8, 9]. Nejpoužívanější aldehydy jsou aldehydy C_7 až C_{15} . Nejvýznamnějšími aldehydy jsou terpenické aldehydy (C_{10}), které se vyskytují hlavně v přírodě. Existuje však i skupina látek zvaných „takzvané aldehydy“, které nemají aldehydickou funkční skupinu, ale i přes to mají charakteristickou ovocnou vůni. Díky tomu se jim začalo říkat aldehydy s přídavným jménem označujícím příslušné ovoce [8].

Mezi nejpoužívanější aldehydy patří: acetaldehyd, aldehydy C_6 – C_{14} , α -amylcinnamaldehyd, anisaldehyd, benzaldehyd, cinnamaldehyd, citral, citronelal, 2-dodecenal, ethylvanilin, fenylacetaldehyd, lilial, lyral, oncidal, safranal, vanilin atd.

Ketony

Ketony mají stejně jako aldehydy karbonylovou skupinu, ale obě volné vazby uhlíku v karbonylové skupině mají obsazeny radikály. Podle toho, jestli jsou radikály stejné nebo různé, rozdělujeme ketony na symetrické a asymetrické. Mohou být také lineární nebo cyklické [9]. Karbonylová skupina u ketonů je méně reaktivní než u aldehydů, proto lépe odolávají vzdušnému kyslíku, záření, alkáliím a ostatním činidlům. Ketony s počtem uhlíků do 18 mají intenzivní a charakteristickou vůni. Radí se mezi nejdůležitější vonné látky, kvůli svému hojnému zastoupení i v přírodních surovinách [8].

Do této skupiny řadíme např.: acetanisol, acetofenon, acetoin, allyl- α -jonon, benzalaceton, benzylaceton, dibenzylkeon, ethylamylketon, fleuramore, iron, isodamescone, jasmon, jonony, menthon, methylhexylketon, methyljonony, neron, pulegon, vetinon atd.

Acetaly

Acetaly se řadí mezi dialkoxyalkyny, které vznikají reakcí aldehydů nebo ketonů s alkoholem. Jsou stálejší než aldehydy a ketony, hlavně v alkalickém prostředí, nepolymerují a také nereagují se vzdušným kyslíkem a slabšími oxidačními činidly. Ale při pH nižším jak 5, se štěpí za vzniku původní karbonylové sloučeniny [8, 9]. Acetaly mají většinou příjemnou vůni, která je slabší a jemnější než původní vůně karbonylové sloučeniny. Se zvyšujícím se počtem uhlíků klesá stabilita a snižuje se intenzita vůně acetalů. Mimo to mají výborné fixační vlastnosti [9].

Mezi acetaly řadíme např.: acetal, citraldiethylacetal, cycloctopal,floral, heridone, indolal, neofolial, syvertal, vertacetal atd.

Estery

Estery jsou sloučeniny karboxylových kyselin s alkoholy, které mají v molekule esterovou vazbu. Mohou vytvářet monokarboxylové a polykarboxylové kyseliny, monofunkční i více funkční alkoholy. Jejich struktura může být jak lineární tak i cyklická [9]. Estery v přírodě zastupují jednu z nejrozšířenějších skupin [8].

Estery kyselin s nejrůznějšími alkoholy jsou účinné komponenty většiny silic a přírodních aromat. Tato skupina se vyznačuje rozmanitými vůněmi podle toho, o jaké estery se jedná. Estery jsou důležité komponenty většiny vonných látek, které jsou dodávány v čistém stavu nebo jako přirozené složky přírodních vonných látek [8].

Do skupiny řadíme například tyto vonné látky: allylcinnamát, amylbenzoát, amylpropionát, anisylacetát, benzylacetát, benzylformiát, butylforomiát, butyllaurát, cinnamylpropionát, diethylsukcinát, ethylkaprylát atd.

Laktony

Laktony se považují za vnitřní estery hydroxykyselin. V přírodě je můžeme snadno. Asi největší pozornost si zaslouží α -karboxyderiváty laktonů (latentní aromatické látky), které se vyskytují například v mléce nebo v tucích. Po zahřátí α -karboxyderivátů laktonů dochází k dekarboxylaci a zároveň k uvolnění silně aromatických butyrolaktonů a nebo valerolaktonů. Za poměrně stálé, a také docela snadno vznikající, se považují laktony s pětičlennými a šestičlennými kruhy [8].

Mezi laktony patří např.: dekalaktony, dihydrokumarin, dodekalaktony, kumarin, lactoscatone, 6-methylkumarin, nonalakton, 3-propylidenftalid atd.

Fenoly

Fenoly s jednou či více hydroxylovými skupinami, které jsou značně rozšířeny v přírodě, zařazujeme do vonných látek. Z přírodních materiálů se dají snadno izolovat zředěnými alkalickými hydroxidy díky reakci s alkalickými kovy. Při reakci vznikají snadno rozpustné soli příslušných kovů. Některé fenoly snadno oxidují na vzdušném kyslíku či za přítomnosti

iontů železa. Při reakci s ionty železa vznikají barevné sloučeniny zvané chinony. Pokud se chinony vyskytují v pH vyšším než 7, dochází většinou k nežádoucímu zbarvení [8].

Mezi fenoly používané jako vonné látky řadíme: eugenol, isoeugenol, karvakrol, propenylguaethol, *p*-terc. butylfenol, thymol.

Aromatické látky obsahující dusík a síru

Aromatické látky obsahující dusík se v poslední době uplatňují stále častěji. V parfémových kompozicích se většinou setkáváme s deriváty kyseliny anthranilové, indolu, nitrily, chinolinové a pyridinové deriváty. Nitrily se vyznačují podobnou vůní, které připomínají vůni aldehydů odvozených ze stejných kyselin. Čím je vyšší počet uhlíků nitrilů, tím více vůně přechází z ostřejšího charakteru do ovocného až květinového či voskového odstínu vůně. V mírně alkalickém i v kyselém prostředí jsou nitrily oproti aldehydům stabilnější, proto jsou používány jako vůně do mýdel, detergentů a alkalických kosmetických přípravků (např.: ondulační vody) [8].

Dalšími významnými aromatickými látkami obsahujícími dusík jsou deriváty pyrrolu, pyrazinu a chinoxalinu, které byly objeveny s rozvojem analytické chemie. Tyto látky vznikají zejména při zpracování potravinářských výrobků. Reaktivita se vzdušným kyslíkem a světlem dusíkatých látek je velká, proto se musí uchovávat v dobře uzavřených tmavých nádobách [8].

Mezi aromatické látky obsahující dusík řadíme např.: cinnamylnitřil, geranonitřil, chinoxalin, indol, isobutylchinolin, palmanitřile, piperidin, pyrazin, pyrol, tonkavert atd.

Látky obsahující síru jsou většinou intenzivně vonící látky. V parfumerii se tyto látky moc nepoužívají. Jsou důležité v arómatech různých druhů masa a zeleniny [8]. Nejvíce jsou obsaženy v silicích česneku, hořčice, cibule, křenu, ananasu a v pražené kávě. V rostlinách jsou sirné sloučeniny vázány jako glykosidy, které nevoní, ale jejich štěpením vznikají sloučeniny s intenzivní vůní a chutí [10].

Mezi tyto látky patří např.: diallyldisulfid, fenylmethanthiol, methional, propan-1-thiol atd.

Látky s mošusovou vůní a ostatní vonné látky

Přírodní látky vonící mošusem anebo přírodní mošus byl velice drahý, proto se začaly hledat syntetické látky [6]. Tyto látky, přírodní i synteticky vyrobené, se někdy značně liší v chemické struktuře. Přes to jsou zařazeny do jedné skupiny díky jejich typické vůni. Důležitým společným znakem je jejich makrocyclický kruh, který tvoří hlavně methylenové skupiny. Charakteristická mošusová vůně je způsobena přítomností jedné či více polárních skupin a to nejčastěji karbonylovými skupinami. Pro své výborné fixační a vyrovnávací vlastnosti jsou velice oblíbeny zejména v parfumerii při výrobě parfémů. Mošusové látky se hojně vyskytují jak v rostlinné, tak i v živočišné říši [10]. Postupně byla popsána dlouhá řada sloučenin s mošusovou vůní [8].

Mezi tyto vůně patří např.: mošus ambret, mošus keton, mošus xylol, celestolide, tonalid, cyklopentadekanolid, ethylenbrasylát atd.

Ostatní vonné látky jsou většinou kyslíkaté cyklické vonné látky např.: cedrenepoxid, cineoly, ethylmaltol, furanem, maltol, neroloxid, oxaspiran atd. [8].

2.3.4. Testování kvality vonných látek

Jako rostliny s jiným léčivým účinkem, i vonné látky se musí testovat. Nejčastěji se provádí testování pomocí smyslového testu, fyzikálními a chemickými metodami. Nejdůležitější je však smyslová zkouška proto, aby byla dobře posouzena kvalita vůně případně i chuť. Fyzikální a chemické hodnocení je charakteristické pro jednotlivé silice, metody jsou stanoveny oficiálními tiskopisy a normami jednotlivých zemí. Z fyzikálních vlastností jsou nejvíce testovanými hustota, index lomu, optická aktivita, rozpustnost v (70%, 80% a 90%) lihu. Z chemických vlastností se testuje hlavně obsah kyselin, esterů, alkoholů, aldehydů a ketonů [11].

2.4. Kontaktní dermatitida

Dermatitida je neinfekční zánětlivé onemocnění povrchového typu a hlavní změny nastávají v epidermis. Vyvolání kontaktní dermatitidy způsobují látky iritační povahy nebo je vyvolána alergickou reakcí. Kontaktní dermatitida patří mezi exogenně způsobené dermatitidy. Akutní kontaktní fáze dermatitidy je histopatologicky charakterizována spongiózou s drobnými intraepidermálními puchýřky a edémem s dilatací kapilár v horním koriu. U chronické fáze převládají různé stupně akantózy, nadměrné zhuštění a zrohovatění kůže a povrchový perivaskulární infiltrát. Irritační kontaktní dermatitida je zhruba 4krát častější než alergenní dermatitida kontaktní, protože počet látek schopných vyvolat iritační reakci je mnoho násobně větší než u alergické kontaktní dermatitidy. U ní je počet chemických látek, jak přírodních tak synteticky vyrobených, vyvolávajících tuto reakci okolo 3 000 [12].

Většina alergických reakcí má specifický účinek, které potřebují předchozí senzibilizaci kůže. Také záleží na samotném jedinci. Pokud jeho rodiče jsou na určitou látku alergičtí, jedinec má 60% šanci vzniku stejné alergie. Oproti tomu jsou iritační alergie nespecifické. U exponovaných osob se mohou vyvolat iritační podněty, ty mají však široké spektrum odpovědí. Odlišení těchto dvou dermatid je velice obtížné, protože mají podobný klinický obraz [12]. Irritační kontaktní dermatitida se vyskytuje v 80 % případů onemocnění. Ve většině případů pro oba typy je přítomna ekzematózní léze na exponovaných částech těla, především rukou. [13].

2.4.1. Kontaktní iritační dermatitida

Irritační kontaktní dermatitida je termín daný komplexní skupinou lokalizovaných zánětlivých reakcí [16]. Je to nespecifická zánětlivá kožní reakce vznikající na základě kontaktu kůže s iritačními látkami. Irritační látky mají nealergický, dráždivý a převážně zevní charakter. Jsou povahy fyzikální, chemické či biologické [14]. Tato dermatitida není podmíněna imunologicky. Charakteristické znaky této dermatitidy jsou ostré ohraničení místa působení iritační látky a monomorfní obraz dermatózy. Pokud je dermatitida v akutním stádiu, vznikají na kůži puchýřky, edém, buly a erytém. Při chronickém stádiu kůže zhrubne a vznikají šupinky. Poleptání, nekrózy či vředy na kůži mohou být způsobeny podrážděním agresivní látkou [12].

Náchylnost na tyto látky je větší u dětí, které mají atopickou dermatitidu. Ovšem záleží zejména na vývinu a funkci kožní bariéry jednotlivého dítěte. V běžném životě se můžeme

setkat s látkami s iritačním potenciálem nejčastěji v domácnosti – dezinfekční látky, insekticidy, detergenty, rozpouštědla, vosky a leštidla[12].

Iritační látky se mohou vyskytovat i v kosmetických přípravcích např. v mýdlech, šampónech, deodorantech, pěnach na holení, voňavkách, kolínských vodách a výrobcích, které jsou příliš tučné, ve výrobcích proti stárnutí kůže s AHA, a/nebo s kyselinou vitamínu A [15].

2.4.2. Alergenní kontaktní dermatitida

Alergenní kontaktní dermatitida je zapříčiněna stykem kůže s látkami, které pronikají ochrannou bariérou kůže a poté v organismu navozují imunologickou reakci. Tento typ má při vývoji dvě fáze – aferentní (indukční) a eferentní (elicitální) [12].

Při první fázi (fáze senzibilizace) dochází k prvnímu kontaktu s alergenem a končí rozvinem přecitlivělosti na tento alergen. Druhá fáze (elicitální nebo-li efektorová) začíná dalším kontaktem s alergenem po rozvinu přecitlivělosti. Projevem této fáze je klinicky zjevná kontaktní dermatitida. Doba indukční fáze trvá v rozsahu od tří dnů po několik týdnů až měsíců. Za to efektorová fáze má dobu trvání dosažení vrcholu po opakovaném kontaktu s alergenem 24 – 48 hodin [12].

Za získání této zánětlivé reakce jsou zodpovědné T lymfocyty. Přecitlivělost může přetrvat několik let nebo i celý život. Pokud se zamezí kontaktu s alergenem, bude klesat počet senzibilizovaných specifických T lymfocytů v krvi, ale nikdy se nevrátí na počet, který byl před senzibilizací. Pro vyvolání ekzémových projevů není nutné větší množství alergenu. Také oblast, na které byla poprvé vyvolána alergická reakce, se nemusí shodovat s místy, kde proběhl další kontakt s alergenem[12].

Kosmetické přípravky, které mohou vyvolávat alergenní kontaktní dermatitidu: parfémy, kolínské vody a parfémované výrobky, konzervační látky, masťové základy (lanolín), barva na vlasy, odlakovače a jiné výrobky na nehty, krémy na opalování atd. [15].

Přecitlivělost na kosmetické přípravky, vyvolaná opakovaným stykem s kůží, může vzniknout několika cestami [15]:

- přímým kontaktem
- reakcí na výrobek v určité vzdálenosti od místa aplikace
- po dotyku rukou (např.: zbytky přípravku, určeného k použití na jinou část těla, na rukou)
- kontaktem se vzduchem (alergen, který se přenáší vzduchem)
- kontaktem s jinou osobou
- vystavením slunečnímu záření (po vystavení přímému slunci se může látka stát fotoalergenem)

2.4.3. Projevy alergické dermatitidy vyvolané kosmetikou

Svědění je prvním příznakem alergie. Většinou se projevuje v místě a v okolí naneseného kosmetického přípravku [15].

Erytém je nejčastější alergickou reakcí na kosmetiku. Projevuje se různým rozsahem zarudnutí, které pod tlakem prstů mizí. Nevyvolává změnu tloušťky a povrchu kůže [15].

Ekzém se projevuje v nejrůznějších formách. Základní rozdělení ekzému je na akutní a chronický. Akutní ekzém se většinou vyskytuje po aplikaci kosmetického přípravku s alergenem, který vyvolá imunologickou reakci odmítnutí. Po dlouhodobějším nanášení se přes svědění objeví zarudnutí kůže, edém, puchýře a mokvání. Pokud se nezamezí kontaktu s alergenem, může docházet k akutnějším následkům, kdy se projevy na alergen rozšíří i mimo místo aplikace. Poté je tedy obtížnější zjistit původ ekzému. Naopak při chronickém ekzému se povrch kůže stává suchým, zhrublým a popraskaným. Také je velmi svědivý [15].

Kopřivka je přirovnávána ke kožním projevům, které vznikají po kontaktu s kopřivou. Tyto kožní projevy jsou rudá, edematózní vyčnívající ložiska různých velikostí a vyskytují se nejčastěji v místě aplikace kosmetického přípravku. Výjimečně se vyskytují mimo místo aplikace. Je také doprovázena intenzivním svěděním. Kopřivka může spontánně zmizet do několika hodin, pokud se nepokračuje dále v aplikaci kosmetického přípravku. Řadí se mezi typ alergických reakcí, které jsou vyvolávány v menší míře [15].

Pigmentace je změna barvy kůže na tmavší, než je normální stav. Také se může vyskytovat i na nehtech po aplikaci různých kosmetických přípravků [15].

Alergeny

Alergeny jsou nízkomolekulární (<500 – 1 000 Da) látky schopné pronikat do kůže a vázat se na její bílkoviny, které můžou tvořit řadu různých antigenů. Ty mohou stimulovat alergické reakce u jednotlivce. Alergeny v kosmetických prostředcích jsou vonné a konzervační látky [16].

2.4.4. Testování alergenní kontaktní dermatitidy pomocí epikutánních testů

Ke zjišťování alergické kontaktní dermatitidy slouží epikutánní testy. Provádí se aplikací podezřelé alergenní látky na kůži zad na 48 hodin. Sledují se změny na kůži i po dalších 24 a 48 hodinách. Testy se provádí pomocí 10 kruhových papírových, plst'ových a hliníkových terčíků (komůrkové testy) s vnitřním průměrem 8 mm na hypoalergenní náplasti. Tyto testovací terčíky jsou připravovány průmyslově. Alergeny, které jsou nanášeny na kůži, jsou standardizovány. Proto je zajištěno přesné chemické složení jednotlivých alergenů a jejich čistota. Aplikace je jednoduchá díky dodávání v injekčních stříkačkách, kdy se jednotlivé alergeny aplikují přímo na testovací náplasti [17]. Důležitým faktorem při testování pomocí hypoalergenních náplastí je kvalita materiálu použitého pro toto testování. Stáří a podmínky skladování mohou mít významný dopad na jeho kvalitu (zejména u přírodních látek), včetně jeho potenciálu k indukci nebo schopnosti vyvolat senzibilizaci kůže [18].

Obrázek 1: Diagnostika epikutánním testem [17]



Tabulka 1: Evropská standardní řada alergenů [17]

	Název substance	Koncentrace
1.	Dvojchroman draselný	0,50%
2.	Parafenylendiamin	1%
3.	Thiuram mix	1%
4.	Neomycin sulfát	20%
5.	Chlorid kobaltnatý	1%
6.	Benzokain	5%
7.	Nikl sulfát	5%
8.	Clioquinol	5%
9.	Kalafuna	20%
10.	Parabeny mix	16%
11.	Isopropyl-fenyl-para-fenylendiamin	0,10%
12.	Lanolin	30%
13.	Merkapto mix	1%
14.	Epoxidová pryskyřice	1%
15.	Peruánský balzám	25%
16.	Butylfenolformaldehyd. Pryskyřice	1%
17.	Merkaptobenzothiazol	2%
18.	Formaldehyd	1%
19.	Fragrance mix	8%
20.	Sesquiterpenolacton mix	0,10%
21.	Quaternium 15	1%
22.	Primin	0,10%
23.	Cl+Me-isothiazolinon	0,01%
24.	Budesonid	0,01%
25.	Tixocortol pivalát	0,01%
26.	Methyldibromglutaronitril	0,50%

Fragrance mix I

Je směs 8 hlavních substancí vůní. Tyto látky patří mezi relativně silné senzibilizační látky a také mezi nejčastěji používané součásti směsí vonných přísad. Pro vytvoření dokonalé emulze je z technologického důvodu přidán emulgátor sorbitan sesquioleát, který se velmi často používá při výrobě mastí a krémů a to jak v kosmetice, tak i ve farmaceutickém průmyslu. Testovací přípravek je směsí následujících látek o 1,0% koncentraci ve stejném poměru: skořicový alkohol (cinnamylalkohol), skořicový aldehyd (cinnamaldehyd), eugenol, α -amyl-skořicový aldehyd (α -amyl-cinnamaldehyd), hydroxycitronellal, geraniol, isoeugenol, oak moss absolut a emulgátor sorbitan sesquioleát. Tato směs slouží jako vyhledávací testr na všeobecnou diagnostiku alergie na vonné přísady (voňavky obsahují více jak 100 komponentů). Pokud je test pozitivní, je vhodné začít testovat jednotlivé složky této směsi (individuální alergen) [19].

Fragrance mixII

Fragrance mix II je nová směs 6 vonných látek, které patří stejně jako látky ze směsi Fragrance mix I mezi relativně silné senzibilizační látky a v současnosti mezi nejčastěji používané součásti směsí vonných přísad. Směs se skládá z těchto látek: Lyrálu v 2,5% koncentraci, Citralu v 1,0% koncentraci, Farnesolu v 2,5% koncentraci, Dihydrogeraniolu v 0,5% koncentraci, Hexyl cinnamalu v 5,0% koncentraci a kumarinu v 2,5% koncentraci. Přípravek stejně jako předchozí směs je vyhledávacím testem na všeobecnou diagnostiku alergie na vonné přísady. Při pozitivním testu na parfémovou směs II je vhodné testování s jednotlivými složkami [20].

2.5. Alergenní účinky vonných látek

Parfémy a různé druhy kosmetiky mohou vyvolat kontaktní alergii, kterou způsobují vonné složky. Tato alergie je druhou nejčastější kontaktní alergií hned po alergii na nikl [21].

Obrázek 2: Alergická reakce na nikl [22]



Pro výrobu kosmetických výrobků nebo parfémů se používá zhruba 200 substancí přírodního charakteru z celkového počtu více jak 3 000 vonných látek. Tyto substance bývají v parfémeh v koncentraci kolem 20 % a kosmetických přípravcích okolo 0,5 – 1 %. Pro odhalování kontaktní alergie se používá sada osmi substancí pojmenovaná jako fragrance mix. Tato sada je zařazena do Evropské standardní sady. Pro testování se používá v 8% koncentraci. Zvýšená citlivost na směs je hlavně u žen, které používají více kosmetické

přípravky a parfémy. U mužů je 3krát větší citlivost na kolínské vody způsobena používáním žiletek než u těch, kteří používají elektrické strojky [22]. Projevem kontaktní alergie je většinou ekzém. U žen jsou nejvíce postiženy ruce a obličej nejčastěji po jemném parfému, kosmetickém krému, deodorantu, antiperspirantu [21].

Analýzou pomocí fragrance mix lze odhalit 15 – 100 % těchto alergenů přítomných v kosmetickém přípravku. Jedná se většinou o kombinaci 3 – 4 alergenů. Kromě těchto osmi alergenů je známo ještě nejméně 100 dalších kontaktních alergenů [21].

Obrázek 3: Kontaktní alergie na eugenol [22]



Obrázek 4: Epikutánní test – alergická reakce na eugenol (komponenta Fragrance mix) [22]



Obrázek 5: Epikutánní test - alergická reakce na extractum Chamomillae [22]



2.6. Legislativa

2.6.1. Regulace kosmetických přípravků

Regulace parfumérského průmyslu má zajistit bezpečné používání látek tím, že jsou stanoveny jejich kvalitativní a kvantitativní limity. Má docházet k zamezení jejich potenciálně nebezpečných účinků. Většina látek je využívána už mnoho desetiletí. Důležité jsou však nutné pravidelné kontroly všech látek bez ohledu na délku jejich používání. V Evropě provádí aktivně kontroly vonných látek Evropská komise (EC) [23]

Kosmetické přípravky jsou v EU primárně regulovány Evropskou kosmetickou direktivou (European Cosmetics Directive) a jejím 7. dodatkem (7th Amendment to the Cosmetics Directive), který nabyl platnosti 11. 3. 2005 [24].

Podle Evropskou unií publikovaného dodatku (Directive 2003/15/EC; z roku 2003) k Příloze III EU Evropské kosmetické direktivy (Council Directive 76/768/EEC; z roku 1976) v roce 2003 (v platnosti od 11. března 2005) mohou být veškeré vonné látky, vonné kompozice a materiály zahrnuté dohromady pod označením „parfume“ nebo také jako „aroma“. Je však známo 26 aromatických látek, které jsou deklarovány Přílohou III Evropské kosmetické direktivy jako potenciálně alergenní vonné látky (PASs) (**Tabulka 2**), které musí být uvedeny na etiketách výrobků, pokud překročí koncentraci $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ pro *rinse off* přípravky a $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ pro *leave on* přípravky. Tyto ingredience musí být uvedeny pod svými názvy dle Mezinárodní nomenklatury kosmetických ingrediencí (International Nomenclature for Cosmetic Ingredients; INCI) [25, 26, 27].

Názvy vonných látek podle INCI tvoří dohromady společnou nomenklaturu pro označování v celé EU. Název podle INCI se vztahuje ke společné nomenklatuře pro označování přísad na obalech kosmetických prostředků. Vztahuje se k novému názvosloví vytvořenému sdružením COLIPA vzhledem k nutnosti skutečně mezinárodního přístupu. Je třeba poznamenat, že se v článku 5a směrnice o kosmetických prostředcích hovoří o názvech podle CTFA, které bylo nahrazeno termínem INCI jako správným označením nomenklatury. Název podle INCI může zahrnovat několik chemických látek. Podle čl. 6 odst. 1 písm. g) směrnice o kosmetických prostředcích musí být k označování kosmetických barviv použito číslo podle colour indexu (CI). Číslo podle CI se tedy stává pro tyto přísady názvem podle INCI [28].

Seznam metod NRC pro kosmetiku a NRL pro experimentální imunotoxikologii Státní zdravotní ústav, Praha [29]

1. Metody pro hodnocení bezpečnosti kosmetických prostředků [29]

- jednorázový otevřený epikutánní test
- opakovaný otevřený epikutánní test
- jednorázový uzavřený epikutánní test
- opakovaný uzavřený epikutánní test

2. Metody pro hodnocení účinku kosmetických prostředků [29]

- hypoalergenní vlastnosti (nepřítomnost potenciálu sensibilizace - maximizační test)
- stanovení kožní snášenlivosti kosmetických prostředků určených pro citlivou pokožku (dlouhodobý epikutánní test)
- účinky hodnocené instrumentálními metodami:
 - hydratace kůže (corneometer)
 - promaštěnost kůže (sebumeter)
 - změny pH kůže (skin-pH-meter)
 - elasticita (cutometer)
 - hodnocení kožního reliéfu (stereomikroskopie)
 - účinek bariérových krémů (corneometer, sebumeter, skin-pH-meter)

3. Alternativní metody in vitro využitelné v procesu hodnocení bezpečnosti kosmetických prostředků [29]

- test cytotoxicity (test extraktu nebo přímým kontaktem)
- test fototoxicity (3T3 NRU Phototoxicity Test)
- test buněčné proliferace s použitím buněk 3T3 nebo A431; stanovení inkorporace 3H thymidinu

4. Metody pro hodnocení prostředků zdravotnické techniky [29]

- test cytotoxicity (zkouška extraktu nebo přímým kontaktem)
- test kožní dráždivosti
- test intrakutánní (intradermální) reaktivity
- test oční dráždivosti
- test sensibilizace

Tabulka 2: Přehled 26 vonných alergenních látek a některé jejich vlastnosti [30]

INCI jméno/synonymum	Potenciální alergen	Fragrance mix 1/2	Omezení podle směrnice o kosmetických prostředcích	Příklady použití a výskytu v kosmetice
Amyl cinnamal /2-(Phenylmethylene)-heptanal, 2-Benzylidene-heptanal	velmi slabý	1	-	mýdla, čisticí prostředky
Benzyl alkohol /3-Phenyl-2-Propen-1-ol, Styryl Carbinol	výjimečný	-	povoleno používat v rozpouštědlech, parfémeh a látky určené k aromatizaci s maximální koncentrací 1 %	konzervační činidla
Cinnamyl alkohol /3,7-Dimethyl-2,6-octadienal mixture of cis- and trans-isomers	nepříliš silný	1	maximální hodnota 0,8 % v konečném produktu	kosmetika, prací prostředky a mýdla
Citral /2-Methoxy-4-(2-propenyl)-phenol	velmi slabý	2	Pouze ve spojení s 25 % své hmotnosti D-Limonene nebo ve směsi s citrusovými terpeny či alfa- pinenem	
Eugenol	velmi slabý	1	-	zubní pasty, ústní vody, parfémy, mýdla, aseptika
Hydroxycitronellal / 7-Hydroxy-3,7-dimethyloctanal	nepříliš silný	1	maximální koncentrace 1 % v konečném výrobku	kosmetické výrobky, parfémy, mýdla, aseptika, insekticidy
Isoeugenol /2-Methoxy-4-(prop-1-enyl)phenol	silný	1	maximální koncentrace 0,02 % v konečném výrobku	esenciální oleje, parfémy, kosmetika, mýdla, detergenty

INCI jméno/synonymum	Potenciální alergen	Fragrance mix 1/2	Omezení podle směrnice o kosmetických prostředcích	Příklady použití a výskytu v kosmetice
Amylcinnamyl alkohol /2-Pentyl-3-phenylprop-2-en-1-ol	výjimečný	-	-	parfémy, mýdla, kosmetika
Benzyl salicylate /Benzyl-2-hydroxybenzoate	výjimečný	-	-	kosmetika, esenciální oleje
Cinnamal /3-Phenyl-2-propenal	silný	1	jen ve spojení s 50 % hmotnosti eugenolu nebo D- Limonene nebo jiných látek	kosmetika
Coumarin /1-Benzopyran-2-one, cis-o-Coumarinic acid lactone	výjimečný	2	-	kosmetika, parfémy, pesticidy
Geraniol /(E) 3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol	výjimečný	1	-	parfémy, přípravky pro péči o pleť
Hydroxy- methylpentyl- cyclohexene Carboxaldehyde / Lyrál	nepříliš silný	2	-	kosmetika
Anisyl alkohol /4-Methoxybenzyl alkohol, <i>p</i> -Anisyl alkohol	výjimečný	-	-	parfémy, chuťové látky
Benzyl cinnamate /Benzyl-3-Phenyl-2-propenoate	výjimečný	-	-	parfémy, kosmetika
Farnesol /3,7,11-Trimethyl-2,6,10-dodecatrien-1-ol	velmi slabý	2	nejméně 96 %	deodoranty
2-(4-tert- Butylbenzyl)propion aldehyde /Lilial	velmi slabý	-	-	kosmetika, mycí prostředky
Linalool / 3,7-Dimethyl-1,6-octadien-3-ol	výjimečný	-	-	parfémy

INCI jméno/synonymum	Potenciální alergen	Fragrance mix 1/2	Omezení podle směrnice o kosmetických prostředcích	Příklady použití a výskytu v kosmetice
Benzyl benzoate	výjimečný	-	maximálně povolená koncentrace v konečném produktu je 0,5 %	Antiparazitní insekticid, parfémy, plastifikátor
Citronellol /3,7-Dimethyl-6-octen-1-ol	výjimečný	2	-	esenciální oleje, deodoranty, spreje proti komárům
Hexylcinnamaldehyd /Alpha-Hexylcinnamaldehyde	výjimečný	2	-	esenciální oleje
D-Limonene /(R)-p-Mentha-1,8-diene	-	-	pokud je použit ve spojení s antioxidanty horní limit peroxidů je 20 mmol/l	kosmetika, aroma, botanické insekticidy, čisticí prostředky
Methyl heptin Carbonate /Methyl-2-octynoate	velmi slabý	-	maximální koncentrace 0,02 % v konečném produktu	mycí prostředky
3-Methyl-4-(2,6,6-trimethyl-2-cyclohexen-1-yl)-3-buten-2-one /Alpha-Isomethylionone	výjimečně	-	horní hranice 2 % pseudoionone a pseudo methylionone jako kontaminantů	kosmetika, parfémy
Oak moss extrakt /Evernia prunastri extract	silný	1	maximální úroveň 0,1 % v konečném produktu	holící přípravky, deodoranty
Tree moss extract /Evernia furfuracea extract	silný	-	maximální úroveň 0,1 % v konečném produktu	holící přípravky, deodoranty

3. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

Cílem praktické části bylo pomocí metody SPME-GC-FID analyzovat několik vzorků vybraných kosmetických prostředků a identifikovat a kvantifikovat v nich sledované vonné látky s alergenními účinky.

3.1. Laboratorní vybavení

3.1.1. Chemikálie

V této práci bylo celkem sledováno 18 z 26 legislativou stanovených alergenních vonných látek. Jejich retenční charakteristiky, nutné pro identifikaci a kvantifikaci, jsou převzaty z předchozích diplomových a bakalářských prací, které se zabývají stejnou problematikou [31, 32, 33].

3.1.1.1. *Standardy použitých vonných alergenních látek*

▪ Amylcinnamyl alkohol	Sigma-Aldrich
▪ Isomethylionone	Sigma-Aldrich
▪ Benzylalkohol	Sigma-Aldrich
▪ Cinnamyl alkohol	Sigma-Aldrich
▪ Kumarin	Alfa Aesar
▪ Limonen	Alfa Aesar
▪ α -Amylcinnamal, <i>cis</i> + <i>trans</i>	Sigma-Aldrich
▪ Linalool	Alfa Aesar
▪ Methyl-2-oktyonát	Sigma-Aldrich
▪ Citral, <i>cis</i> + <i>trans</i>	Alfa Aesar
▪ Citronellol	Alfa Aesar
▪ Geraniol	Alfa Aesar
▪ Hydroxycitronellal	Fluka Analytical
▪ Cinnamaldehyd	SAFC Supply Solution
▪ Eugenol	Alfa Aesar
▪ Isoeugenol, <i>cis</i> + <i>trans</i>	Alfa Aesar
▪ Anýzalkohol	Sigma-Aldrich
▪ Hexylcinnamaldehyd	SAFC Supply Solution

3.1.1.2. Rozpouštědla

- Heptan Sigma-Aldrich
- Ethanol Lach-Ner

3.1.2. Plyny

- Dusík 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem a kovovou membránou
- Vodík 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem
- Vzduch 5.0 SIAD v tlakové láhvi s redukčním ventilem pro kyslík

3.1.3. Přístroje a pracovní pomůcky

- Plynový chromatograf TRACE GC 2000 (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie)
- Vodní lázeň Julabo TW 12, LABORTECHNIK GMBH, Německo
- Analytické digitální váhy GR-202-EC, HELAGO, Itálie
- Počítač PC Intel Celeron CPU, systém Microsoft Windows XP Profesional 2002, program Chrom-Car
- Chladnička s mrazničkou Amica, model AD 250
- SPME vlákno se stacionární fází Carboxen/Polydimethylsiloxan (CARTM/PDMS) o tloušťce 85 µm, SUPELCO
- Automatické mikropipety: BIOHIT Proline, 100,0 – 1000,0 µl;
BIOHIT Proline, 10,0 – 100,0 µl;
GILSON Pipetman, 2,0 – 20,0 µl;
BIOHIT Proline Plus, 0,1 – 3,0 µl;
LABSYSTEMS Finnpipette, 0,2 – 2,0 µl
- Vialky o objemu 4 ml se šroubovacím uzávěrem a septem
- Držák, stojan
- Běžné laboratorní sklo
- Špičky, špachtle, lžíce, parafilm (injekční stříkačka)

3.2. Podmínky SPME-GC-FID analýzy

Pro extrakci vonných alergenních látek ze vzorku byla použita metoda Solid Phase Microextraction, pro následnou analýzu plynová chromatografie s plamenově ionizační detekcí (SPME-GC-FID). Podmínky pro analýzu – teplotní program GC, SPME vlákno, extrakční podmínky pro metodu SPME a ostatní parametry (Tabulky 3, 4, 5) byly převzaty z literatury a předchozích prací, které se zabývají stejnou problematikou [31, 32, 33].

- Plynový chromatograf TRACE GC 2000 (ThermoQuest Italia S. p. A., Itálie) s plamenově ionizačním detektorem a split/splitless injektorem
- Kapilární kolona DB-WAX (30 m × 0,32 mm × 0,5 μm), teplotní limit: 20 – 240 °C
- Nosný plyn: dusík – průtok 0,9 ml·min⁻¹
- Injektor: 250 °C, dávkování ručně, CT splitless injection (konstantní teplota v celém injektoru)

Tabulka 3: Teplotní program GC

Teplotní program GC		
Počáteční teplota	40 °C	1 min
Vzestupný gradient	4 °C·min ⁻¹ , do 200 °C	9 min
Celková doba analýzy	60 min	

Tabulka 4: Detektor

Plamenově ionizační detektor	
Teplota	220 °C
Průtok vodíku	350 ml·min ⁻¹
Průtok vzduchu	35 ml·min ⁻¹
Make-up dusíku	30 ml·min ⁻¹

Tabulka 5: Optimalizované podmínky metody SPME

Optimalizované podmínky metody SPME	
Typ SPME vlákna	Carboxen/Polydimethylsiloxan (CARTM/PDMS), tloušťka 85 μm
Extrakční postup	headspace (HS-SPME)
Extrakční teplota (teplota vodní lázně)	35 °C
Doba dosažení rovnováhy	20 min
Doba extrakce	15 min

3.3. Přehled vlastností standardů

K vypracování této bakalářské práce byly použity následující standardy vonných alergenních látek:

Amylcinnamyl alkohol

Synonyma: α -Amylcinnamic alkohol

Amyl cinnamic alcohol

3-Phenyl-2-pentylprop-2-en-1-ol

2-(Phenylmethylidene)heptan-1-ol atd.

Vzorec: $C_{14}H_{18}O$

Molární hmotnost: $202,30 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $>200 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $0,960 - 0,965 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: aromatická syntetická látka, bezbarvá, čirá kapalina s vůní „broskví“, „banánů“ a „hrušek“ a jasmínovou chutí, je nerozpustná ve vodě, ale rozpustná v alkoholu

Výskyt: v přírodě se nevyskytuje, v ovocných aromatizovaných čajích, cukrovinkách, nápojích, v parfémovaných kosmetických výrobcích aj. [34, 36]

Isomethylionone

Synonyma: 3-Methyl-4-(2,6,6-trimethyl-1-cyklohex-2-en-1-yl)but-3-en-2-on

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 atd.

Vzorec: $C_{14}H_{22}O$

Molární hmotnost: $206,32 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $266 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $0,940 - 0,950 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: aromatická syntetická látka květinového typu, v koncentrovaném stavu je to čirá, bezbarvá až žlutá kapalina, je nerozpustná ve vodě, ale rozpustná v alkoholu

Výskyt: v přírodě se nevyskytuje, v kosmetice se vyskytuje v mnoha parfémovaných výrobcích [34, 35, 36]

Benzyl alkohol

Synonyma: Fenylmethanol

Benzenemethanol

Phenylcarbinol

Phenylmethanol

α -Hydroxytoluene

Alcoholum benzylicum

Vzorec: C_7H_8O

Molární hmotnost: $108,13 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $138 - 145 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $1,110 - 1,125 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: čirá bezbarvá světlolámající olejovitá tekutina se slabou vůní organického rozpouštědla s anestetickými, antiseptickými a antipruriginózními účinky, je dobře rozpustný ve vodě, mísitelný s éterem, s chloroformem, s etanolem, s mastnými oleji a se silicemi

Výskyt: může se vyskytovat v léčivech, kosmetických přípravcích, v potravinářských výrobcích a v řadě technických výrobků. Také se může rovněž používat jako zalévací médium v mikroskopii [34, 35, 36]

Cinnamyl Alkohol

Synonyma: Cinnamic alkohol

Skořicový alkohol

3-Phenyl-2-propen-1-ol

Styron atd.

Vzorec: $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}$

Molární hmotnost: $134,18 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $142 - 145 \text{ }^\circ\text{C}$

Hustota: $1,044 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: přírodní aromatická látka s „fialkovou“ a „hyacintovou“ vůní, rozpustná ve vodě a glycerolu, snadno rozpustná v alkoholu, étheru a v dalších běžných rozpouštědlech

Výskyt: nachází se v oleji z hyacintových a narcisových květů, v oleji ze skořicových listů, v peruánském balzámu, ve styraxu a v běžné parfémované kosmetice [34, 35, 36]

Kumarin

Synonyma: Coumarin

Cumarin

Tonka bean camphor

2H-1-benzopyran-2-one

anhydrid kys. o-kumarové atd.

Vzorec: $\text{C}_9\text{H}_6\text{O}_2$

Molární hmotnost: $146,15 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $162 - 162 \text{ }^\circ\text{C}$

Hustota: $0,935 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: lesklá krystalická látka s vůní lučního sena (podobné vanilce), je rozpustný ve většině organických rozpouštědel a ve vodě

Výskyt: v přírodě je obsažen jako glykosid v některých rostlinách (např.: *Asperula odorata*-Mařinka vonná, *Melilotus officinalis*-Komonice lékařská, *Anthoxanthum odoratum* - Tomka vonná, *Dipterix odorata* - Tonga vonná, *Ruta graveolens* - Rouda vonná, *Orchis purpurea* - Vstavač nachový aj.), také se přidává do mnoha výrobků jako vonná látka (např.: kosmetika, alkoholické nápoje, potravinářství, antikoaguační léky atd.) [34, 35, 36]

Limonen

Synonyma: 1-Methyl-4-prop-1-en-2-yl cyclohexene

(R)-1-Methyl-4-(1-methyl ethenyl) cyclohexene

Cyclohexene 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (+)-4-Isopropenyl-1-methylcyklohex-1-en

(R)-1-Methyl-4-isopropenyl-1-cyklohexan aj.

Vzorec: $C_{10}H_{16}$

Molární hmotnost: $136,24 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = 176°C

Hustota: $0,840 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: látka s citrusovou vůní, rozpustná v alkoholu, v olejích, v kerosinu, v parafinovém oleji. Ve vodě se rozpouští pouze 14 mg/l, nerozpustná v propylen glykolu.

Výskyt: pro svou příjemnou citrusovou vůni je využíván především v kosmetice a také k parfemaci dalších výrobků. V přírodě se vyskytuje v grapefruitech, v citrónech, v limetkách, v pomerančích, v pepři, v australském tea tree oleji a v muškátovém oříšku. [34, 35, 36]

α -Amylcinnamal *cis* + *trans*

Synonyma: Amyl cinnamal (INCI)

Skořicový α -amylaldehyd

2-n-Amyl-3-phenyl-propen-2-al

2-(fenylmethylen)-heptanal aj.

Vzorec: $C_{14}H_{18}O$

Molární hmotnost: $202,30 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $287 - 290^{\circ}\text{C}$

Hustota: $0,970 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: přírodní látka s jasmínovou vůní, rozpustná v ethanolu a oleji

Výskyt: v přírodě se vyskytuje v silicích květů, hlavně v jasmínových. Díky své přirozené jasmínové vůni se používá k parfemaci různých výrobků chemického a potravinářského průmyslu např.: v kosmetice, v mýdlech, v jasmínovém čaji, čisticí prostředky, aviváže atd. [34, 35, 36]

Linalool

Synonyma: Linalyl alkohol

3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol

2,6-Dimethyl octa-2,7-dien-6-ol

Allo-ocimenol aj.

Vzorec: $C_{10}H_{18}O$

Molární hmotnost: $154,25 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $194 - 197^{\circ}\text{C}$

Hustota: $0,850 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: syntetická látka květinové vůně, se používá do směsných parfémů, především v kosmetice, v koncentrovaném stavu připomíná vůně květy citrusů nebo divoké růže rozpustná v olejích, parafinovém oleji, v propylen glykolu, ve vodě se rozpouští 1590 mg/l, nerozpustná v glycerinu.

Výskyt: látka byla zjištěna i v přírodě v jablečné, mandarinkové a pomerančové šťávě, v meruňkách, v broskvích, v jahodách, ve švestkách, v levanduli, v mrkvi, v bergamotovém oleji, v majoránce, v tymiánu, v kardamonu, v koriandru, v brusinkách aj. V kosmetických výrobcích se vyskytuje hlavně v pěnach do koupele, v šamponech, ve sprejích na vlasy a v tekutých i pevných mýdlech. [34, 35, 36].

Methyl-2-oktát

Synonyma: Methyl heptine carbonate

Methyl ester 2-octynoic acid

Methyl oct-2-yonate

Methyl pentyl acetylen ecarboxylate aj.

Vzorec: $C_9H_{14}O_2$

Molární hmotnost: $154,21 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $215 - 217 \text{ }^\circ\text{C}$

Hustota: $0,924 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: synteticky vyrobená vonná látka, bezbarvá nebo lehce nažloutlá, čirá tekutina, velmi dobře mísitelná s ostatními vonnými substancemi, proto se často používá jako součást vůně různých kosmetických výrobků, rozpustná v alkoholu, v dipropylen glykolu a v olejích, nerozpustná ve vodě a v glycerinu

Výskyt: je častou složkou zcela rozdílných vůní (od banánu, přes různé –berry, k jasmínu, nebo k zemitému humusu), proto je obtížné specifikovat nějakou skupinu kosmetických výrobků, kde by se tato látka nejčastěji vyskytovala. Může být přítomna v mnoha parfemovaných výrobcích [34, 35, 36].

Citral, *cis* + *trans*

Synonyma: 3,7-Dimethyl-2,6-octadienal

Geranialdehyde

3,7-dimethylokta-2,6-dienal

Lemonal

Geranial

Vzorec: $C_{10}H_{16}O$

Molární hmotnost: $152,24 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $229 \text{ }^\circ\text{C}$

Hustota: $0,893 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: nenasyčený terpenický aldehyd, olejovitá tekutina nažloutlé barvy příjemné citrónové vůně, vyskytuje se ve dvou izomerech, dobře mísitelná s etanolem a s éterem

Výskyt: je jednou z nejčastěji používaných aromatických látek v parfumerii nebo k syntéze retinolu (vitaminu A), obsažen v citrusových plodech (citrón, pomeranč, v citronové silici tvoří až 80 %), v olejích dalších rostlin rodu *Cymbopogon*, dále v mnoha druzích rostliny *Sporýš sp.*, čeledi *Verbenaceae*, v *Myrtovníku citronovém* – *Backhousia citriodora*, čeledi *Myrtaceae*, jehož listy se používají pod názvem „lemon myrtle“ jako přísada do čajových směsí, *Aloisie trojlisté-Lippia citriodora*, která se samostatně používá jako bylinný čaj zn. Dichi. [34, 35, 36].

Citronellol

Synonyma: Dihydrogeraniol

3,7-dimethyl-6-octen-1-ol

3,7-dimethylokt-6-en-1-ol

Cefrol aj.

Vzorec: $C_{10}H_{20}O$

Molární hmotnost: $156,27 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = 225°C

Hustota: $0,855 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: přírodní acyklický monoterpenoid, světle žlutá olejovitá tekutina se zajímavou nasládlou vůní květů, růže a s jemnou nuancí citrusů, mísitelná s etanolem a s petrolejem, nerozpustný ve vodě

Výskyt: přítomný ve více než 30 rostlinných olejích, v černém čaji a mnoha druzích ovoce (např. citrusy). V přírodním citronella oleji, známém ve dvou varietách jako Cejlonský nebo Jávský olej, se vyskytuje ve formě (+)citronellolu. Ve formě (-)citronellol je přítomen i v růžovém nebo garaniovém oleji, přidává se jako vonná látka do mnoha výrobků např.: přírodní oleje, kosmetika, čajové směsi, výrobky ke korekci zápachu atd. [34, 35, 36].

Geraniol

Synonyma: 6-cis-2,6-Dimethyloctadien-2,6-ol-8

2,6-Dimethyl-2,6-octadien-8-ol

3,7-Dimethyl-2,6-octadien-1-ol

Lemonol aj.

Vzorec: $C_{10}H_{18}O$

Molární hmotnost: $154,25 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = 229°C

Hustota: $0,889 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: nejčastěji používaná aromatická látka, přítomna ve většině rostlinných silic, poskytuje vůni “růže”, má také antiseptické účinky, mísitelná s etanolem a s éterem, prakticky nerozpustná ve vodě

Výskyt: přidává se jako vonná látka do mnoha výrobků např.: kosmetika, léčiva pro korekci zápachu atd. Pro svůj mírný antiseptický účinek bývá přidáván i k antiseptickým přípravkům např.: masti, stomatologické přípravky aj. [34, 35, 36].

Hydroxycitronellal

Synonyma: 3,7-Dimethyl-7-hydroxyoktanal
7-Hydroxy-3,7-dimethyloctan-1-al
3,7-Dimethyl-7-hydroxyoctanal
Lavrine

Vzorec: $C_{10}H_{20}O_2$

Molární hmotnost: $170,25 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $240 - 245 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $0,920 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: velmi silně aromatická syntetická látka, je součástí vůně “lípy” nebo “konvalinky”, je přidávána ke všem vůním “květů” pro zesílení jejich aroma

Výskyt: pro svoji výraznou vůni se používá zejména pro korekci vůní např.: v kosmetice (kolínské vody, parfémy, vody po holení, mýdla aj.), v čistících domácích prostředcích, v insekticidech a osvěžovačích vzduchu aj.[34, 35, 36].

Cinnamal

Synonyma: Cinnammic aldehyde
Skořicový aldehyd
3-Phenyl-2-propenal
3-Fenylprop-2-enal aj.

Vzorec: C_9H_8O

Molární hmotnost: $132,16 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $248 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $1,048 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: velmi běžná aromatická látka je součástí mnoha éterických rostlinných olejů, přítomna také v olejích z listů, čajovníku a vinné révy, ve velké míře je obsažena v kůře skořicovníku (koření) a v cassiovém oleji rozpustná ve vodě a v etanolu, mísitelná s éterem, s chloroformem a s olejem

Výskyt: široce používaná vonná látka a proto může být přítomna v mnoha výrobcích např.: v kosmetice, v zubních pastách, ústní vody, čistící prostředky, v potravinářství (žvýkačky aj.) atd. [34, 35, 36].

Eugenol

Synonyma: 2-Methoxy-4(2-propenyl)-phenol
4-Allyl-2-methoxyphenol caryophyllic acid
Allylguajacol
Eugenic acid aj.

Vzorec: $C_{10}H_{12}O_2$

Molární hmotnost: $164,21 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $256 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $1,060 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: patří mezi velmi rozšířené aromatické látky, má antiseptické, antibakteriální a bolest tišící účinky, je významnou součástí karafiátového a skořicového oleje, přítomna v muškátovém oříšku, rozpustná v etanolu, v chloroformu, v etheru a v oleji, prakticky nerozpustná ve vodě

Výskyt: můžeme s eugenolem setkat v mnoha parfémovaných výrobcích, je součástí komerčně vyráběných otiskových hmot ve stomatologii, mnoha insekticidů (hmyzích atraktantů) [34, 35, 36].

Isoeugenol, *cis* + *trans*

Synonyma: 4-Hydroxy-3-methoxy-1-propenylbenzene

2-Methoxy-4-propenylphenol

4-Hydroxy-3-methoxy-propenylbenzol

4-Propenylguajacol aj.

Vzorec: $C_{10}H_{12}O_2$

Molární hmotnost: $164,21 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $266 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $1,080 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: velmi rozšířená aromatická látka vyskytující se v mnoha rostlinách a v éterických olejích např. v hřebíčkovém oleji, meziprodukt při výrobě syntetického vanilínu, velmi málo rozpustná ve vodě, mísitelná s alkoholem a s etherem

Výskyt: používá ke korekci vůně např.: v dentálních materiálech, v aromatizovaných čajích a jiných výrobcích potravinářského průmyslu, např. v kořenících směsích aj. [34, 35, 36].

Anýzalkohol

Synonyma: 4-Methoxybenzyl alcohol

2 Anisyl alcohol

Para-anisol alcohol

4-Methoxybenzene methanol aj.

Vzorec: $C_8H_{10}O_2$

Molární hmotnost: $138,16 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $259 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $1,113 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: bílá lehce nažloutlá tekutinu, vyskytuje i v přírodě, např. v anýzových semínkách, v květech hyacintů, v medu, ve vanilkových luscích a v bourbonské whiskey, součást vůní anýzu, květů jabloní, meruněk, banánu, karafiátu, černého rybízu, třešní, hroznů a řady dalších, rozpustná benzyl alkoholu, nerozpustná v parafinových olejích a ve vodě.

Výskyt: vyskytuje se v kosmetice, je používanou přísadou vonných směsí např.: v krémech, pudrech, detergentech, šampónech, vonných svíčkách, vodách po holení, parfémeh aj. [34, 35, 36].

Hexylcinnamal

Synonyma: Hexyl cinnamic aldehyde

2-benzylidenoktanal

α -hexylcinnamalaldehyde

Jasmonal H aj.

Vzorec: $C_{15}H_{20}O$

Molární hmotnost: $216,35 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$

B.v. = $174 - 176 \text{ }^{\circ}\text{C}$

Hustota: $0,953 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$

Vlastnosti: čirá žlutá tekutina, je aromatický nenasycený aldehyd chemicky blízký α -amyl skořicovému aldehydu, ale s jemnější, více květinovou jasmínovou vůní delikátnějšího charakteru, je rozpustný ve vodě a v etanolu, mísitelný s éterem, s chloroformem a s olejem

Výskyt: látka je široce používaná v kosmetice a v mnoha parfemovaných výrobcích jako např.: v kosmetice (antiperspiranty, pěny do koupele, deodoranty, mýdla, šampony aj.), v čisticích prostředcích a dalších výrobcích chemického průmyslu a také ke korekci vůně detergentů [34, 35, 36].

3.4. Reálné vzorky kosmetických přípravků

Pomocí metody SPME-GC-FID byly stanoveny vonné alergenní látky v náhodně vybraných vzorcích (**Tabulka 6**).

Tabulka 6: Analyzované vzorky kosmetických přípravků

Název kosmetického přípravku	Popis kosmetického přípravku	Objem (hmotnost)	Výrobce	Vonné alergenní látky uvedené na etiketě
Měsíčkový krém	bylinný krém	60 ml	JUST International AG, Švýcarsko	fragrance, amyl cinnamal, cinnamyl alcohol, citral, eugenol, hydroxycitronellal, benzyl salicylate, coumarin, geraniol, buthylphenil methylpropional (lilial), linalool, benzyl benzoate, citronellol, hexyl cinnamal, limonene, alpha-isomethyl ionone, evernia furfuracea (treemoss) extract
Levandulový krém	bylinný krém	60 ml	JUST International AG, Švýcarsko	coumarin, geraniol, linalool, limonene
Tea Tree krém s manukou a rosalinou	bylinný krém všestranného použití a pro všechny typy pleti	60 ml	JUST International AG, Švýcarsko	fragrance, coumarin, linalool, benzyl benzoate
Tymiánový krém	bylinný protizánětlivý krém	60 ml	JUST International AG, Švýcarsko	fragrance, benzyl alcohol, citral, eugenol, benzyl salicylate, coumarin, geraniol, linalool, benzyl benzoate, citronellol, hexyl cinnamal
Jalovcový krém	bylinný masážní krém	60 ml	JUST International AG, Švýcarsko	fragrance, linalool, limonene
CITY Jungle	toaletní voda	30 ml	Oriflame Cosmetics S.A., Švédsko	parfum, linalool, butylphenyl methylpropional (lilial), limonene, alpha-isomethyl ionone, citronellol, citral

3.5. Pracovní postupy

3.5.1. Příprava vzorků

Kosmetické přípravky ve formě krémů byly po 1 ml pomocí injekční stříkačky převedeny do vialky se šroubovacím uzávěrem a plynotěsným septem. Z toaletní vody byl pomocí mikropipety odpipetován 1 ml do vialky se šroubovacím uzávěrem a plynotěsným septem.

3.5.2. Extrakce aromaticky aktivních látek

Do vodní lázně s teplotou 35 °C byla umístěna vialka s 1 ml vzorku, ve které se nechala po dobu 20 minut, aby se ustálila rovnováha mezi vzorkem a headspace prostorem. Po ustanovení rovnováhy byl umístěn do držáku na stojanu SPME extraktor a následně přes plynotěsné septum vsunuta ocelová jehla do headspace prostoru, která chrání SPME vlákno. SPME vlákno bylo vysunuto pomocí pístu z ocelové jehly tak, aby mohla začít absorpce aromaticky aktivních látek na jeho povrch. Extrakce probíhala po dobu 15 minut. Po uplynutí doby extrakce bylo SPME vlákno zasunuto zpět do ocelové jehly a odebráno ze stojanu. Okamžitě byla jehla přemístěna do nástřikové komory plynového chromatografu. Opět bylo SPME vlákno vysunuto pomocí pístu do nástřikové komory a vlivem vysoké teploty 250 °C došlo k desorpci naextrahovaných látek ze vzorku. Proces desorpce trval 20 minut.

4. VÝSLEDKY A DISKUSE

4.1. Identifikace jednotlivých standardů

Retenční časy a rozpouštědlo byly převzaty z diplomových prací, jejichž úkolem bylo optimalizovat a validovat metodu SPME-GC-FID pro jednotlivé standardy. V tabulkách jsou uvedeny standardy s jejich retenčními časy a s rozpouštědlem (**Tabulka 7**). V příloze I jsou příslušné chromatogramy směsí uvedených standardů (**Obrázek 6, 7**).

Tabulka 7: Standardy, jejich retenční časy a použité rozpouštědlo

Standart	Retenční čas (min)	Směs	Rozpouštědlo
Limonen	12,50	směs A	heptan
Amylcinnamyl alkohol	19,00	směs A	
Amylcinnamal I	21,15	směs B	
Linalool	21,34	směs A	
Methyl-2-oktyonát	23,87	směs B	
Citral I	24,78	směs A	
Citral II	25,88	směs A	
Citronellol	26,27	směs B	
Geraniol	28,14	směs A	
Isomethylionone	28,50	směs B	
Benzylalkohol	29,05	směs B	
Hydroxycitronellal	30,33	směs A	
Cinnamal	32,42	směs B	
Eugenol	34,68	směs B	
Isoeugenol I	36,88	směs A	
Amylcinnamal II	37,00	směs B	
Cinnamyl alkohol	37,80	směs A	
Anýzalkohol	37,85	směs B	ethanol
Isoeugenol II	39,72	směs A	heptan
Hexylcinnamal	40,16	směs B	
Kumarin	44,58	směs A	

4.2. Reálné vzorky

Pro stanovení vonných alergenních látek v kosmetických přípravcích pomocí metody SPME-GC-FID bylo vybráno 5 krémů z přírodní kosmetiky a toaletní voda. Podle výrobců je na obale uvedeno, že obsahují aroma a také jsou uvedeny některé další vonné alergenní látky, které by měly být v nadbytku, než stanovují normy.

Vonné alergenní látky ve vzorcích byly identifikovány pomocí retenčních časů standardů. Koncentrace byla vypočítána pomocí kalibračních přímek standardů a plochy píku příslušné vonné alergenní látky (**Tabulka 8, 9, 10, 11, 12, 13**). Jednotlivé chromatogramy reálných vzorků jsou uvedeny v příloze II (**Obrázek 8, 9, 10, 11, 12, 13**).

Měsíčkový krém patří mezi kosmetické přípravky, které se po nanesení na pokožku nesmývají, proto patří k *leave on* výrobkům. U těchto výrobků musí být na obalu uvedena vonná alergenní látka, pokud překročí legislativní hranice $1 \cdot 10^{-6} \text{ g} \cdot \text{ml}^{-1}$.

V tomto výrobku bylo potvrzeno pouze 7 látek z 16 vonných alergenních látek, které jsou uvedené na obalu. U Citronellolu nebyla detekovatelná jeho koncentrace. Dále byl identifikován amylcinnamyl alkohol, jeho koncentrace však nepřekročila legislativní hranici, proto nemusí být uveden na obalu. Také byl identifikován Cinnamal, který není uveden na obalu, ale jeho koncentrace přesahuje legislativní hranici. Může být však součástí některého éterického oleje, které jsou součástí krému. Limonene a Amylcinnamal I také překračují legislativní hranici, proto byly správně uvedeny na obalu kosmetického přípravku. Buthylphenil methylpropional (lilial), Benzyl benzoate, Evernia furfuracea (treemoss) extract a Benzyl salicylate nemohly být identifikovány, protože nejsou zatím k dispozici retenční charakteristiky. Koncentrace, identifikované a uvedené na obalu vonné alergenní látky jsou uvedeny níže (**Tabulka 8**) a chromatogram je uveden v příloze II (**Obrázek 8**).

Tabulka 8: *Měsíčkový krém*

Alergenní látky uvedené na etiketě přípravku	Identifikované alergenní látky v přípravku	Průměrná plocha píku ($\text{m} \cdot \text{V} \cdot \text{s}$)	Koncentrace [$\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$]
Limonene	Limonen	106692100	$9,97 \cdot 10^{-6}$
-	Amylcinnamyl alkohol	2939299,5	$7,89 \cdot 10^{-8}$
Amylcinnamal	Amylcinnamal I	694945,5	$8,35 \cdot 10^{-3}$
Linalool	Linalool	21748845,0	$3,20 \cdot 10^{-7}$
Citral	Citral II	14879500,0	$4,73 \cdot 10^{-7}$
Citronellol	Citronellol	1729053,5	Nedetekován
Alpha-Isomethyl ionone	Isomethylionone	1618928,5	$2,89 \cdot 10^{-7}$
-	Cinnamal	339991,5	$2,04 \cdot 10^{-6}$
Eugenol	Eugenol	772166,5	$2,32 \cdot 10^{-8}$
Cinnamyl alcohol	Nedetekovány		
Hydroxycitronellal			
Kumarin			
Geraniol			
Buthylphenil methylpropional (lilial)			
Benzyl benzoate			
Hexylcinnamal			
Evernia furfuracea (treemoss) extract			
Benzyl salicylate			

Levandulový krém se také řadí mezi přípravky, které se nesmývají ($1 \cdot 10^{-6}$ g·ml⁻¹). V přípravku bylo detekováno celkem 10 vonných alergenních látek (**Tabulka 9**); příloha II (**Obrázek 9**). Kumarin nebyl v přípravku detekován, nejspíše kvůli jeho malé koncentraci. U Limonenu nebylo možné detekovat jeho koncentraci. Linalool překročil legislativní hranici, a proto je správně uveden na obalu kosmetického přípravku. Naopak Amylcinnamyl alkohol, Methyl-2-oktanát, Hydroxycitronellal, a Anýzalkohol toto legislativní stanovení překročily a nebyly uvedeny na obale přípravku.

Tabulka 9: *Levandulový krém*

Alergenní látky uvedené na etiketě přípravku	Identifikované alergenní látky v přípravku	Průměrná plocha píku (m·V·s)	Koncentrace [g·ml ⁻¹]
Limonene	Limonen	3990948,5	Nedetekován
-	Amylcinnamyl alkohol	8328553,5	$1,78 \cdot 10^{-3}$
-	Amylcinnamal I	7191355,5	$1,15 \cdot 10^{-7}$
Linalool	Linalool	271108500,0	$3,88 \cdot 10^{-6}$
-	Methyl-2-oktanát	5693948,5	$1,82 \cdot 10^{-4}$
Geraniol	Geraniol	3267990,5	$1,67 \cdot 10^{-7}$
-	Isomethylionone	410639,5	$1,50 \cdot 10^{-7}$
-	Hydroxycitronellal	3278268,5	$1,03 \cdot 10^{-4}$
-	Eugenol	39900240,0	$6,75 \cdot 10^{-7}$
-	Anýzalkohol	617082,0	$6,90 \cdot 10^{-6}$
Kumarin	Nedetekován		

Tymiánový krém řadíme také mezi přípravky, které se po nanesení nesmývají ($1 \cdot 10^{-6}$ g·ml⁻¹). Ve vzorku bylo identifikováno celkem 9 vonných alergenních látek (**Tabulka 10**). Z toho byly na obale uvedeny: Limonene, Linalool, Citral, Geraniol a Benzylalkohol. Zbýlé látky uvedené na obalu nebyly ve vzorku detekovány. Legislativně stanovenou hranici překročil Citral I i Citral II, které jsou uvedeny na obale pod jednotným názvem Citral. Další látky, které překročily tuto hranici, nejsou uvedeny na obale: Methyl-2-oktanát, Cinnamal a Anýzalkohol. Benzyl benzoate a Benzyl salicylate nemohly být identifikovány, protože nejsou zatím k dispozici retenční charakteristiky. Chromatogram je uveden v příloze II (**Obrázek 10**).

Tabulka 10: *Tymiánový krém*

Alergenní látky uvedené na etiketě přípravku	Identifikované alergenní látky v přípravku	Průměrná plocha píku (m·V·s)	Koncentrace [g·ml ⁻¹]
Limonene	Limonen	8776588,5	$9,97 \cdot 10^{-6}$
Linalool	Linalool	149872100,0	$2,15 \cdot 10^{-6}$
-	Methyl-2-oktanát	2268351,0	$6,73 \cdot 10^{-5}$
Citral	Citral I	118785830,0	$2,99 \cdot 10^{-6}$
	Citral II	157094800,0	$5,21 \cdot 10^{-6}$
Geraniol	Geraniol	1417887,5	$7,36 \cdot 10^{-8}$

Alergenní látky uvedené na etiketě přípravku	Identifikované alergenní látky v přípravku	Průměrná plocha píku ($m \cdot V \cdot s$)	Koncentrace [$g \cdot ml^{-1}$]
Benzylalkohol	Benzylalkohol	1968524,0	$1,14 \cdot 10^{-9}$
-	Cinnamal	33598075,0	$1,79 \cdot 10^{-4}$
-	Anýzalkohol	1326710,5	$2,92 \cdot 10^{-5}$
Hexylcinnamal	Nedetekovány		
Benzyl salicylate			
Benzyl benzoate			
Citronellol			
Eugenol			
Kumarin			

Mezi nesmývatelné přípravky po nanesení se také řadí *Tea Tree krém s manukou a rosalinou* ($1 \cdot 10^{-6} g \cdot ml^{-1}$). Identifikováno bylo 8 vonných alergenních látek (**Tabulka 11**). Z těchto látek byl na obale uveden pouze Linalool, který legislativní hranici překročil a jeho označení na obalu je správné. Tuto normu překročily látky Limonen, Methyl-2-oktánat, Citral II a Hydroxycitronellal, které nejsou uvedeny na obalu kosmetického přípravku. Všechny identifikované látky jsou uvedeny v chromatogramu příloha II (**Obrázek 11**). Kumarin nebyl ve vzorku detekován. Benzyl benzoate nemohl být identifikován, protože nejsou zatím k dispozici retenční charakteristiky.

Tabulka 11: *Tea Tree krém s manukou a rosalinou*

Alergenní látky uvedené na etiketě přípravku	Identifikované alergenní látky v přípravku	Průměrná plocha píku ($m \cdot V \cdot s$)	Koncentrace [$g \cdot ml^{-1}$]
-	Limonen	97538455	$9,05 \cdot 10^{-6}$
Linalool	Linalool	91931235,0	$1,32 \cdot 10^{-6}$
-	Methyl-2-oktánat	727070,5	$1,54 \cdot 10^{-5}$
-	Citral I	1768915,5	$6,39 \cdot 10^{-8}$
-	Citral II	51620840,0	$1,70 \cdot 10^{-6}$
-	Isomethylinone	1015987,0	$2,20 \cdot 10^{-7}$
-	Benzylalkohol	2106428,5	$1,21 \cdot 10^{-9}$
-	Hydroxycitronellal	1062973,0	$3,57 \cdot 10^{-5}$
Benzyl benzoate	Neidentifikován		
Kumarin	Nedetekován		

Jalovcový krém patří mezi nesmývatelné přípravky po aplikaci ($1 \cdot 10^{-6} g \cdot ml^{-1}$). Na obale byly uvedeny pouze Limonene a Linalool. Limonene překročil hranici $1 \cdot 10^{-6} g \cdot ml^{-1}$, a proto je správně uveden na obale. Linalool tuto legislativní hranici nepřekročil. Ze zbylých identifikovaných látek ve vzorku překročily hranici Amylcinnamal I a Methyl-2-oktánat (**Tabulka 12**). Chromatogram identifikovaných látek je uveden v příloze II (**Obrázek 12**).

Tabulka 12: *Jalovcový krém*

Alergenní látky uvedené na etiketě přípravku	Analyzované alergenní látky v přípravku	Průměrná plocha píku (m·V·s)	Koncentrace [g·ml ⁻¹]
Limonene	Limonen	345453550	$3,38 \cdot 10^{-5}$
-	Amylcinnamal I	3210010,0	$4,98 \cdot 10^{-2}$
Linalool	Linalool	4787051,5	$7,76 \cdot 10^{-8}$
-	Methyl-2-oktanát	1358679,5	$3,67 \cdot 10^{-5}$
-	Citral II	1048012,5	$1,17 \cdot 10^{-8}$
-	Benzylalkohol	574881,5	$4,47 \cdot 10^{-10}$
-	Kumarin	10411919,0	$2,60 \cdot 10^{-8}$

Toaletní voda CITY Jungle se řadí mezi látky typu *leave on*, které mají omezenou koncentraci vonných alergenních látek na $1 \cdot 10^{-6}$ g·ml⁻¹. Pokud tuto koncentraci překročí, musí být uváděny na obalech. V tomto vzorku bylo identifikováno celkově 9 vonných alergenních látek (**Tabulka 13**). Pouze pět z nich se shodovalo s látkami uvedenými na obale. Limonen a Alpha-isomethyl ionone překročily koncentraci $1 \cdot 10^{-6}$ g·ml⁻¹ a také jsou uvedeny na obalu, což splňuje legislativní požadavky. U Citronelalu nebylo možné zjistit jeho koncentraci. Zbylé látky, které nebyly uvedeny na obale, tento legislativní požadavek nesplňují, protože také překročily koncentraci $1 \cdot 10^{-6}$ g·ml⁻¹ – Hydroxycitronellal, Cinnamal, Amylcinnamal II a Anýzalkohol. Butylphenyl methylpropional nemohl být identifikován, protože nejsou zatím k dispozici retenční data. Chromatogram vzorku a jeho identifikovaných vonných alergenních látek je uveden v příloze II (**Graf 13**).

Tabulka 13: *Toaletní voda CITY Jungle*

Alergenní látky uvedené na etiketě přípravku	Identifikované alergenní látky v přípravku	Průměrná plocha píku (m·V·s)	Koncentrace [g·ml ⁻¹]
Limonene	Limonen	66533930	$5,95 \cdot 10^{-6}$
Linalool	Linalool	23941170,0	$3,51 \cdot 10^{-7}$
Citral	Citral II	1255712,5	$1,86 \cdot 10^{-8}$
Citronellol	Citronellol	569741,0	Nedetekován
Alpha-isomethyl ionone	Isomethylionone	67113520,0	$7,79 \cdot 10^{-6}$
-	Hydroxycitronellal	4517947,0	$1,40 \cdot 10^{-4}$
-	Cinnamal	2726324,5	$1,47 \cdot 10^{-5}$
-	Amylcinnamal II	2216208,5	$3,34 \cdot 10^{-2}$
-	Anýzalkohol	19683430,0	$6,07 \cdot 10^{-4}$
Butylphenyl methylpropional (lilial)	Neidentifikován		

5. ZÁVĚR

Atraktivnost a příjemnost kosmetických přípravků určuje vždy samotná vůně. Proto se výrobci co nejvíce snaží upoutat něčím novým a neotřelým na kosmetickém trhu. Hledají stále nové vonné látky, ale tím také zvyšují řadu potenciálně alergenních látek.

Tato práce se zabývala hlavně těmi vonnými látkami, které mají potenciální charakter být alergenní a také jejich stanovením pomocí vhodné metody. Tyto látky mohou vyvolat na místě, kde byl přípravek aplikován různé alergické reakce, jako je kopřivka, svědění, pálení a zarudnutí či při akutnějších případech i výskyt puchýřků a zánětů.

V experimentální části bylo proměřeno 6 vybraných reálných vzorků, z toho 5 přírodních bylinných krémů a jedna toaletní voda. Ve všech vybraných vzorcích se vyskytovaly Limonen a Linalool, které taky v nich měly většinou největší zastoupení. U krémů se vyskytovaly i látky, které nebyly na obale uvedeny a překračovaly legislativně stanovenou hranici. Překročení mohlo být způsobeno použitím přírodních olejů, v kterých se tyto látky vyskytují. U toaletní vody se také vyskytly látky, které nebyly uvedeny na obalu. Látky, které byly identifikovány a nebyly konkrétně uvedeny na obalu, mohly být ukryty pod názvem „parfume“ nebo „fragrance“. Takto identifikované látky se většinou vyskytovaly ve výrobcích o vyšších koncentracích než jmenovitě uvedené. Některé látky nemohly být ve vzorcích identifikovány, protože nebyla k dispozici potřebná retenční data (bude náplní dalších prací).

Použitá metoda SPME s GC se prokázala jako velmi jednoduchá, rychlá a účinná pro stanovení vonných látek. Pomocí této metody byla zjištěna ve vzorcích většina potenciálně alergenních látek. Z toho je možné usoudit, že ani výrobky, které se představují jako přírodní nemusí být k našemu organismu citlivější, než synteticky vyrobené kosmetické přípravky. Proto je také velmi důležité v těchto přírodních výrobcích zjišťovat obsah alergenních látek stejně pečlivě jako u synteticky vyrobených přípravků.

6. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Lícha, V., a kol.: Technologie pro učební obor provozní chemik – provozní chemička, tukový průmysl a kosmetika pro 3. ročník. 1. vyd., Praha: Institut výchovy a vzdělání Mze ČR, 1992, 362 s.
2. Langmaier, F.: *Základy technologických výrob.* 1 vyd., Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2001, 157 s.
3. Feřteková, V., Feřtek, O., Šrámek, D., Stránský, P., Šedivý, Z.: *Kosmetika v teorii i praxi.* 3. vyd., Praha: MAXDORF, nakladatelství odborné literatury, 2000, 341 s.
4. *Balzámy a pryskyřice, kardioglykosidy.* [online] 2011 [cit. 1. 4. 2011] Dostupné z WWW: <<http://app.edu.cz/kvo/stahnout/553/?jsessionid=6B7FFAB5C09DE698EFF276554C20FECD.t1>>
5. Procházka, J.: *Voňavkářství a prostředky kosmetické,* 1 vyd., Praha: nakladatel I. L. Kober, 1924
6. Groom, N.: *Průvodce parfémy. Příručka pro znalce.* 1. vyd., Praha: nakladatelství Fortuna Print, 2000, 190 s.
7. Trepková, E., Vonášek, F.: *Vůně a parfémy. Tajemství přitažlivosti.* 1. vyd., Brno: Maxdorf, 1997, 73 s.
8. Vonášek, F., Trepková, E., Novotný, L.: *Látky vonné a chuťové.* 1. vyd., Praha: Nakladatelství technické literatury, 1987, 437 s.
9. Pečová D.: *Organická chemie.* 2. vyd., Olomouc: Nakladatelství olomouc, 2002, 127 s.
10. Jirát, E., Pflanzner, F., Trepková, E., Vonášek, F.: *Látky vonné a chuťové.* 1. vyd., Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1964, 223 s.
11. *Výrobní technologie, metody získávání vůní.* [online] 2011 [cit. 30. 3. 2011] Dostupné z WWW: <<http://www.parfemy.fm/content/10-technologie-vyroby>>
12. *Kontaktní dermatitidy.* [online] 2011 [cit. 7. 4. 2011] Dostupné z WWW: <<http://www.solen.cz/pdfs/ped/2006/02/01.pdf>>
13. *Occupation contact dermatitis* [online] 2008 [cit. 7. 4. 2011] Dostupné z WWW: <http://www.sciencedirect.com/science?_ob=ArticleURL&_udi=B6T1B-3RWMVH3-11&_user=10&_coverDate=04%2F12%2F1997&_rdoc=1&_fmt=high&_orig=gateway&_origin=gateway&_sort=d&_docanchor=&view=c&_searchStrId=1733799882&_rerunOrigin=scholar.google&_acct=C000050221&_version=1&_urlVersion=0&_userid=10&md5=d7e697c915fe3ff418a902c4687392f1&searchtype=a>

14. Benáková, N.: *Ekzémy a dermatitidy*. 1. vyd., Praha: nakladatelství Maxdorf s.r.o. nakladatelství odborné literatury, 2006, 121 s.
15. *Alergie a kosmetika*. [online] 2011 [cit. 7. 4. 2011] Dostupné z WWW: <<http://www.alergie.cz/edukacni-brozury>>
16. Paye, M., Barel, A. O., Malach, H. I.: *Handbook of cosmetic science and technology*. 2. vyd., London: CRC Press, 2006.
17. Machovcová, A.: Epikutánní testy. *Dermatologie pro praxi*, 2007, č. 2, s. 64-66.
18. *Identification of the causes of an allergic reaction to a fragranced consumer product* [online] 2011 [cit. 7. 4. 2011] Dostupné z WWW: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/ffj.2021/full>>
19. *Fragrance mix I*. [online] [cit. 15. 3. 2011] Dostupné z WWW: <www.epitest.cz>
20. *Fragrance mix II*. [online] [cit. 15. 3. 2011] Dostupné z WWW: <www.epitest.cz>
21. Machovcová, A.: Skryté a neočekávané alergen v kosmetických přípravcích. *Dermatologie pro praxi*, 2007, č. 1., s. 7–9.
22. Dastychová, E.: Kontaktní alergen jako příčiny vzniku ekzému. *Dermatologie pro praxi*, 2008, č. 2, s. 68 – 73.
23. Bridges, B.: *Fragrance: emerging health and environmental concerns*. Flavour and Fragrance Journal, 2002, vol. 17, č. 5, s. 361–371
24. Zeliger, H. I.: *Cosmetics: Toxicity and Regulatory Requirements in the US*. In Betton, C. I.: Global Regulatory Issues for the Cosmetics Industry. William Andrew, 2007, vol. 1, s. 63–70
25. Salvador, A., Chisvert, A.: *Perfumes in Cosmetics*. Regulatory Aspects and Analytical Methods for Fragrance Ingredients and other Related Chemicals in Cosmetics. In Salvador, A., Chisvert, A.: Analysis of Cosmetic Products. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2007. 506 s.
26. Storrs, F. J.: Alergen of the Year: Fragrance. *Dermatitis*, 2007, vol. 18, č. 1, s. 3–7.
27. Chaintreau, A.: *Analytical Methods to Determine Potentially Allergenic Fragrance-Related Substance in Cosmetics*. In Salvador, A., Chisvert, A.: Analysis of Cosmetic Products. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2007, s. 487.
28. *ROZHODNUTÍ KOMISE*, ze dne 9. února 2006 [online] [cit. 20. 4. 2011] Dostupné z WWW: <www.kosmetologie.cz>

29. *Seznam metod* [online] 2008 [cit. 20. 4. 2011] Dostupné z WWW:
<<http://www.szu.cz/tema/bezpecnost-potravin/seznam-metod>>
30. 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*. 2010, Corresponding Author Contact Information University of Applied Sciences Ulm, Prittwitzst, Germany
31. KOLÁČKOVÁ, A.: *Analýza vybraných alergenů ve vonných kompozicích*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 104 s. a 15 s. příloh.
32. FIDRICHOVÁ, I.: *Obsah alergenních vonných látek ve vybraných typech potravin*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2010. 67 s.
33. NOVOTNÁ, P. *Stanovení vybraných vonných látek v kosmetických prostředcích*. Brno: Diplomová práce na fakultě chemické VUT v Brně. 2011. 115 s.
34. 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, s. 8087-8094.
35. *Chemical Book* [online]. 2008 [cit. 20. 4. 2011]. Products. Dostupné z WWW:
<<http://www.chemicalbook.com/>>.
36. KRATOCHVÍL, F.: *Epikutánní testy* [online]. 2007 [cit. 20. 4. 2011]. Abecední seznam ICDRG autorizovaných alergenů. Dostupné z: <<http://www.epitesty.cz/default.asp?inc=sez&filtr=A>>.

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

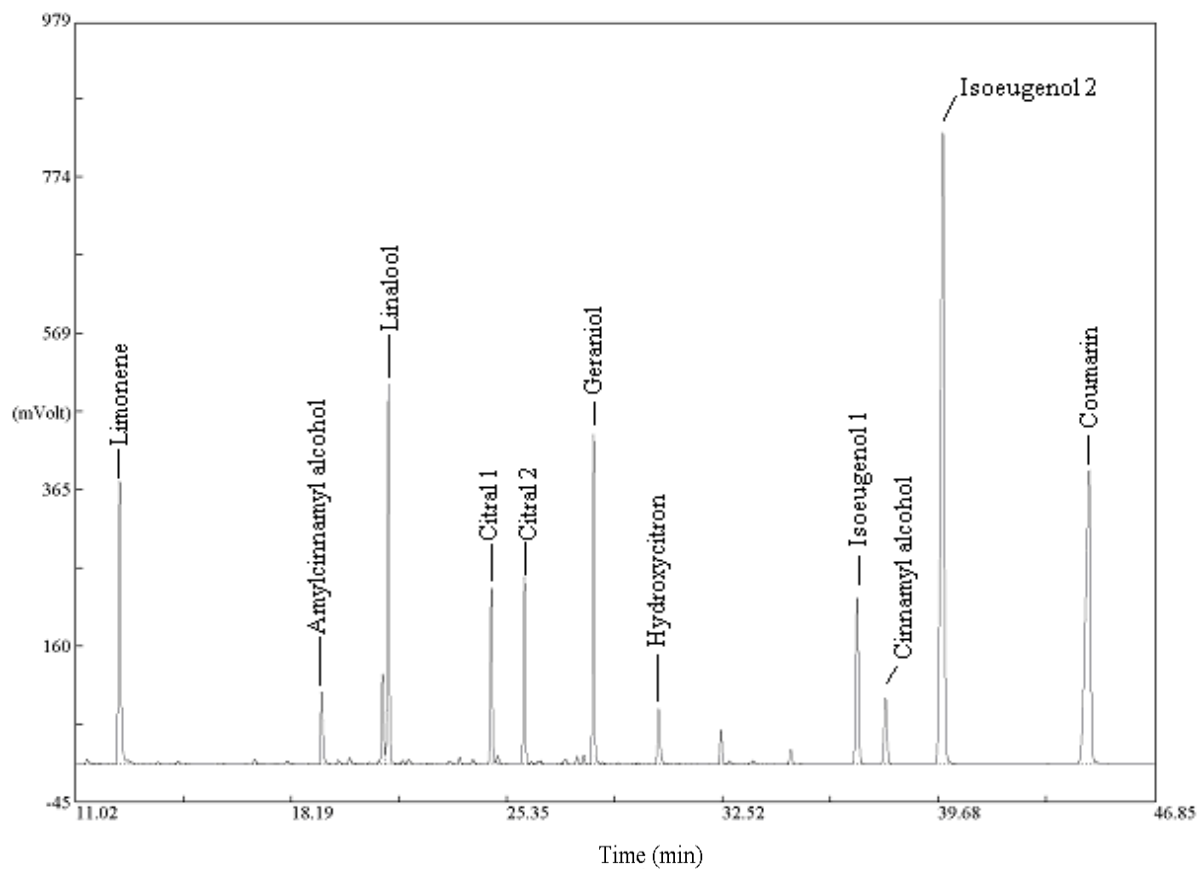
FID	plamenově ionizační detektor <i>Flame Ionization Detektor</i>
GC	plynová chromatografie <i>Gas Chromatography</i>
INCI	Mezinárodní názosloví složek kosmetických přípravků <i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredients</i>
NRC	Národní referenční centrum
NRL	Národní referenční laboratoř
SPME	mikroextrakce tuhou fází <i>Solid Phase Microextraction</i>
SPME-GC-FID	mikroextrakce tuhou fází s plynovou chromatografií s plamenově ionizačním detektorem <i>Solid Phase Microextraction-Gas Chromatography-Flame Ionization Detector</i>

8. PŘÍLOHY

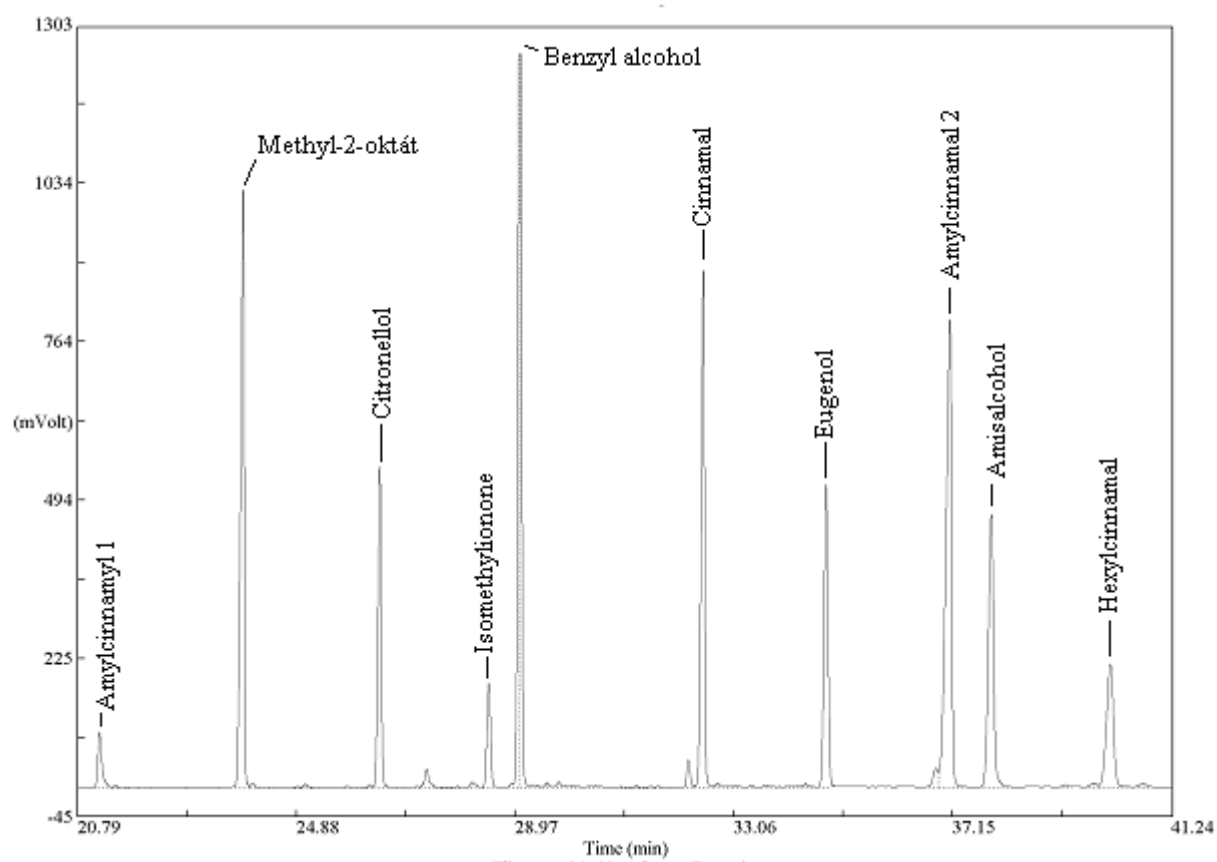
8.1. Příloha I

Chromatogramy směsí standardů pro stanovení vonných alergenních látek

Graf 6: Směs standardů – směs A



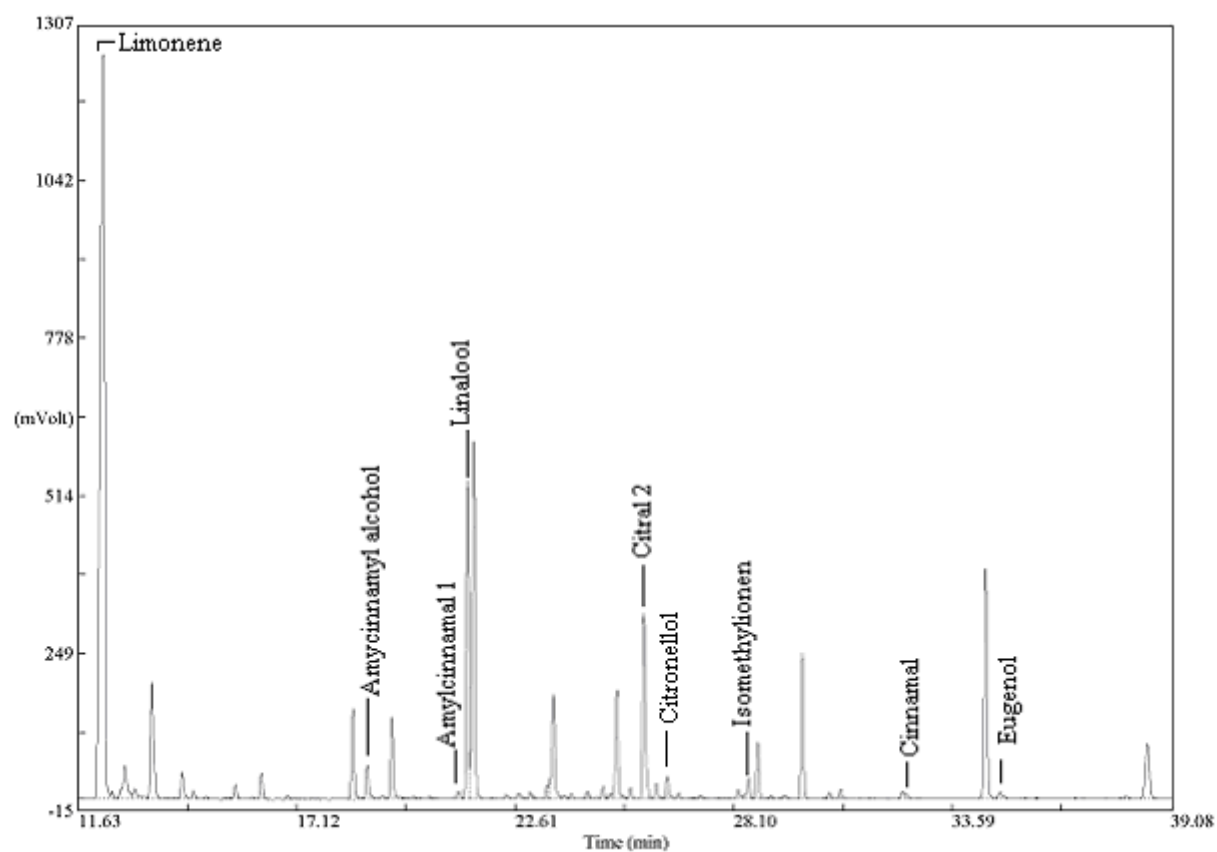
Graf 7: Směs standardů – směs B



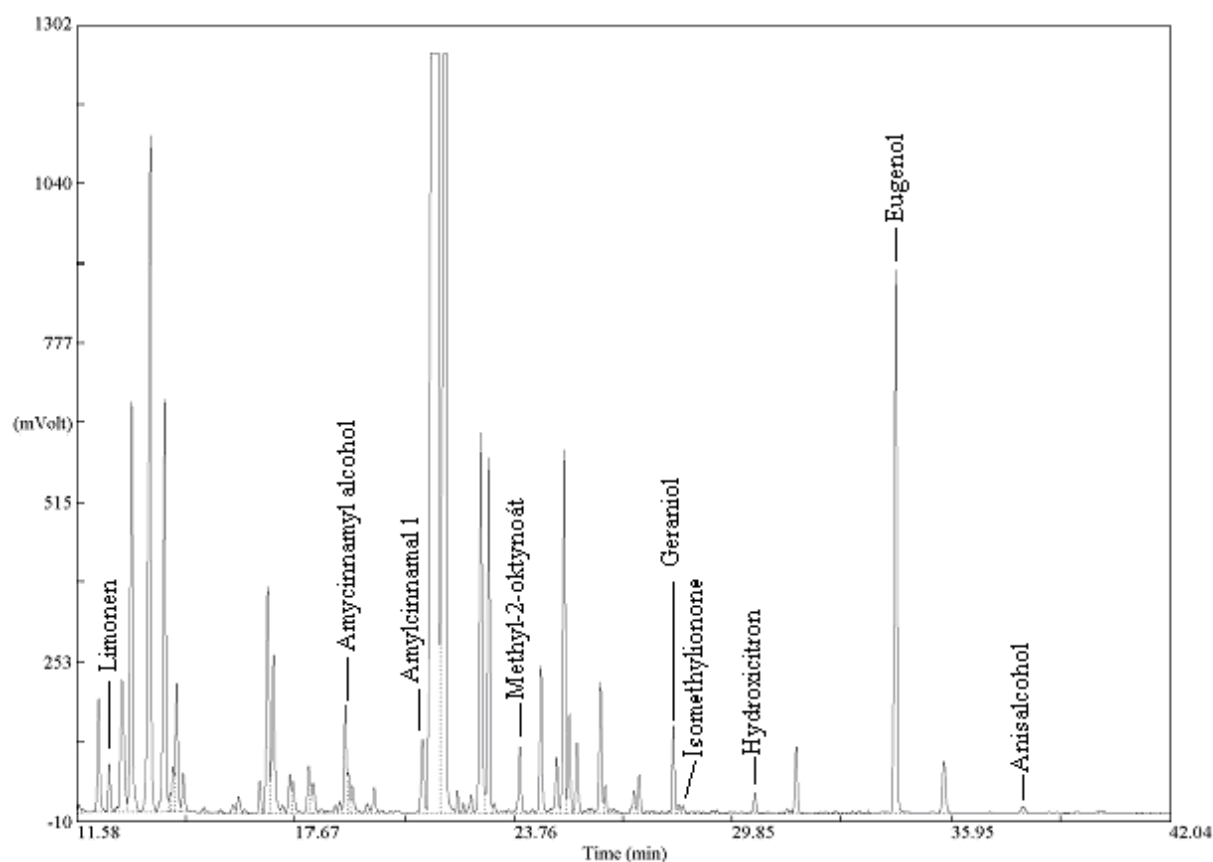
8.2. Příloha II

Chromatogramy reálných vzorků

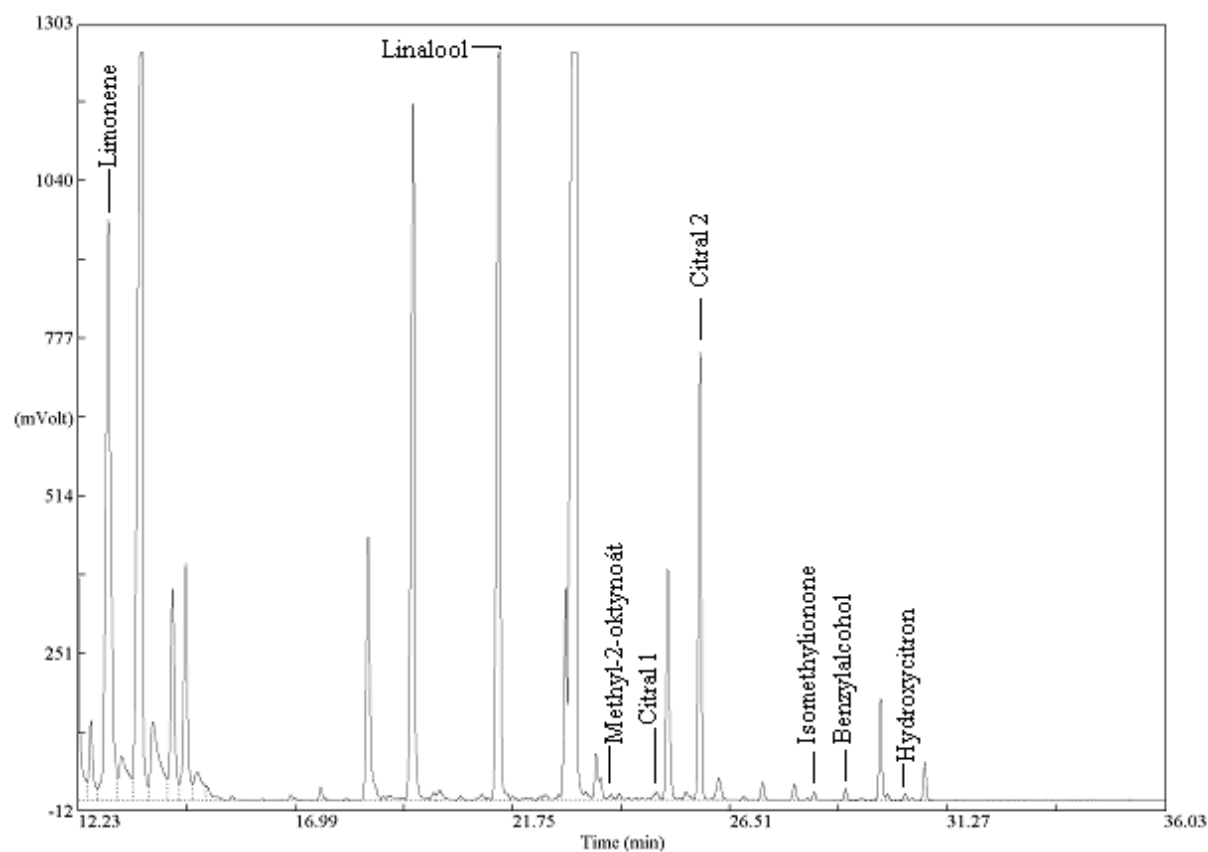
Graf 8 : *Chromatogram Měsíčkového krému*



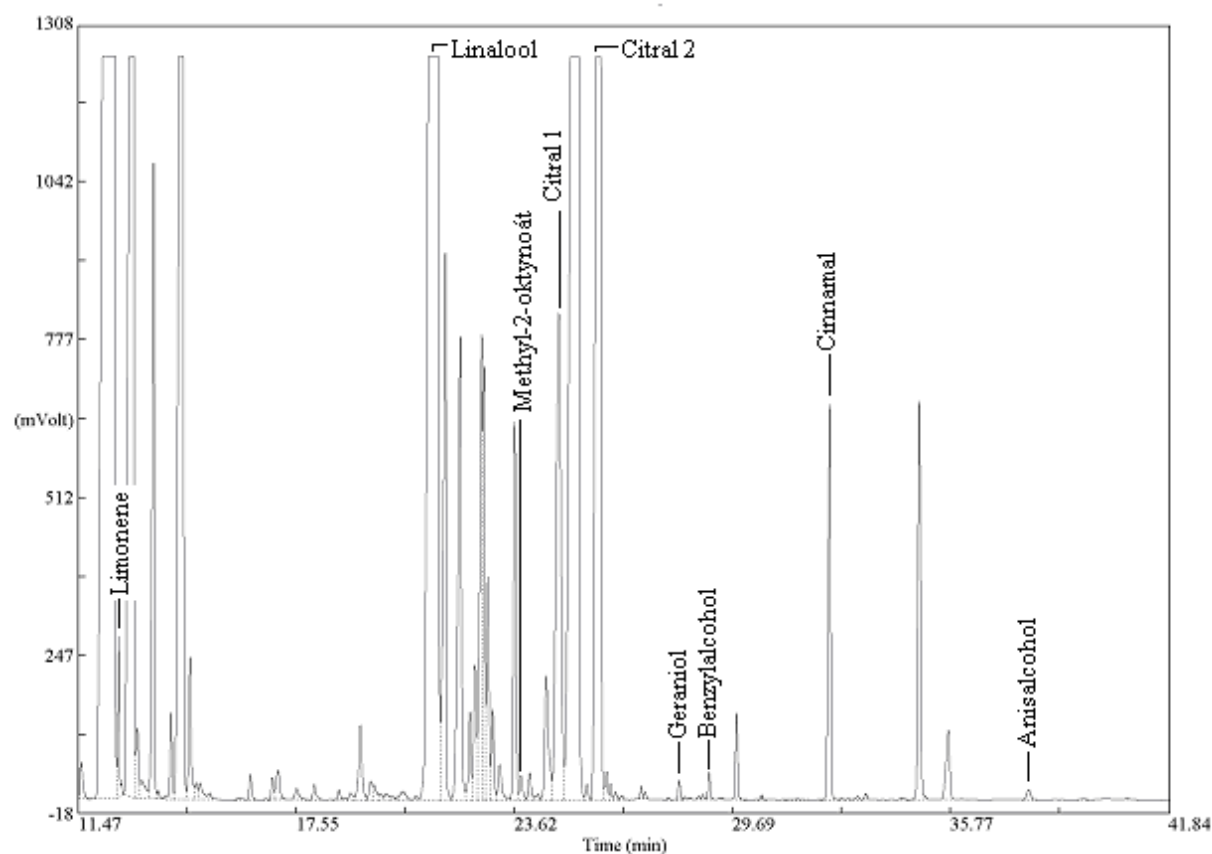
Graf 9: Chromatogram Levandulového krému



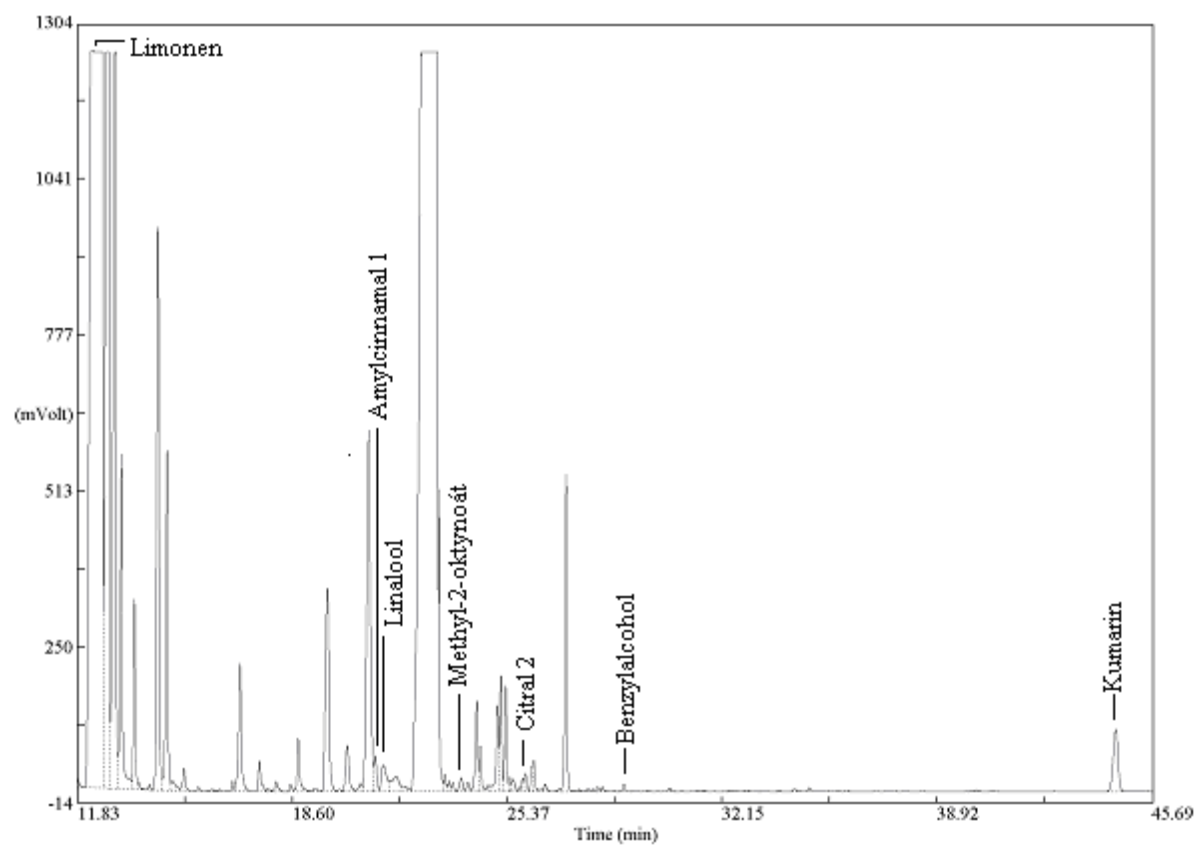
Graf 10: Chromatogram Tea Tree Manuca Rosalina krému



Graf 11: Chromatogram Tymiánového krému



Graf 12: Chromatogram Jalovcového krému



Graf 13: Chromatogram toaletní vody CITY Jungle

