

Potencijal eteričnih ulja u inhibiciji rasta patogenih mikroorganizama u prirodnoj kozmetici

Karaula, Dina

Master's thesis / Diplomski rad

2022

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Agriculture / Sveučilište u Zagrebu, Agronomski fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:204:392889>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-21**



Repository / Repozitorij:

[Repository Faculty of Agriculture University of Zagreb](#)



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

**POTENCIJAL ETERIČNIH ULJA U INHIBICIJI
RASTA PATOGENIH MIKROORGANIZAMA U
PRIRODNOJ KOZMETICI**

DIPLOMSKI RAD

Dina Karaula

Zagreb, rujan, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

Diplomski studij: Agroekologija

Mikrobna biotehnologija u poljoprivredi

**POTENCIJAL ETERIČNIH ULJA U INHIBICIJI
RASTA PATOGENIH MIKROORGANIZAMA U
PRIRODNOJ KOZMETICI**

DIPLOMSKI RAD

Dina Karaula

Mentor:

Izv. prof. dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka

Zagreb, rujan, 2022.

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZJAVA STUDENTA
O AKADEMSKOJ ČESTITOSTI

Ja, **Dina Karaula**, JMBAG 1003130189, rođen/a 31. kolovoza 1997. godine u Splitu, izjavljujem da sam samostalno izradila/izradio diplomski rad pod naslovom:

POTENCIJAL ETERIČNIH ULJA U INHIBICIJI RASTA PATOGENIH
MIKROORGANIZAMA U PRIRODNOJ KOZMETICI

Svojim potpisom jamčim:

- da sam jedina autorica ovoga diplomskog rada;
- da su svi korišteni izvori literature, kako objavljeni tako i neobjavljeni, adekvatno citirani ili parafrazirani, te popisani u literaturi na kraju rada;
- da ovaj diplomski rad ne sadrži dijelove radova predanih na Agronomskom fakultetu ili drugim ustanovama visokog obrazovanja radi završetka sveučilišnog ili stručnog studija;
- da je elektronička verzija ovoga diplomskog rada identična tiskanoj koju je odobrio mentor;
- da sam upoznata s odredbama Etičkog kodeksa Sveučilišta u Zagrebu (Čl. 19).

U Zagrebu, dana _____

Potpis studentice

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
AGRONOMSKI FAKULTET

IZVJEŠĆE

O OCJENI I OBRANI DIPLOMSKOG RADA

Diplomski rad studenta/ice **Dine Karaule**, JMBAG 1003130189, naslova

**POTENCIJAL ETERIČNIH ULJA U INHIBICIJI RASTA PATOGENIH
MIKROORGANIZAMA U PRIRODNOJ KOZMETICI**

obranjen je i ocijenjen ocjenom _____, dana _____.

Povjerenstvo:

potpisi:

1. Izv. prof. dr. sc. Mirna Mrkonjić Fuka mentor

2. Izv. prof. dr. sc. Martina Grdiša član

3. Doc. dr.sc. Nenad Jalšenjak član

Zahvala

Zahvaljujem se mentorici izv. prof. dr. sc. Mirni Mrkonjić Fuki za svoj pomoći koju mi je pružila prilikom realizacije ovog diplomskog rada i što je uvijek imala strpljenja, razumjevanja i vremena za sve moje upite.

Također, zahvaljujem se prijateljima i kolegama bez kojih ovo studentsko razdoblje ne bi bilo isto i sigurno ću ga pamtiti kao jedno od najljepših razdoblja u životu.

Osobito se zahvaljujem svojoj obitelji koja mi je pružila bezuvjetnu podršku tijekom studiranja te što nikada nije gubila vjeru u mene i moj uspjeh.

SADRŽAJ

1. UVOD	1
2. PRIMJENA ETERIČNIH ULJA U POVIJESTI	2
3. ETERIČNA ULJA I HIDROLATI	4
3.1. PROIZVODNJA ETERIČNIH ULJA.....	5
3.1.1. Metode destilacije.....	5
3.1.2. Mehaničke metode proizvodnje eteričnih ulja.....	7
3.1.3. Metode ekstrakcije.....	8
3.2. KEMIJSKI SASTAV ETERIČNIH ULJA	9
3.2.1. Terpeni i terpenoidi	9
3.2.2. Alkoholi i fenoli	10
3.2.3. Esteri.....	11
3.2.4. Ketoni	11
3.2.5. Aldehidi	11
3.2.6. Oksidi	12
3.3. UPORABA ETERIČNIH ULJA	12
3.3.1. Primjena u kozmetici	12
3.3.2. Uporaba eteričnih ulja u medicini	17
3.3.3. Aromaterapija.....	18
3.3.4. Prehrambena industrija.....	18
3.3.5. Poljoprivreda	19
4. UZROCI KVARENJA KOZMETIČKIH PROIZVODA	20
Fizikalno-kemijski uzroci kvarenja	20
Mikrobni uzročnici kvarenja	21
4.1. GRAM NEGATIVNE BAKTERIJE KONTAMINANTI U PRIRODNOJ KOZMETICI..	21
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21
<i>Escherichia coli</i>	22
<i>Enterobacter</i> spp.	22
<i>Klebsiella</i> spp.	23
4.2. GRAM POZITIVNE BAKTERIJE KONTAMINANTI U PRIRODNOJ KOZMETICI	23
<i>Staphylococcus aureus</i>	23

<i>Bacillus</i> spp.	24
<i>Clostridium</i> spp.	24
4.3. MIKROSKOPSKE GLJIVE KONTAMINANTI U PRIRODNOJ KOZMETICI	25
<i>Candida albicans</i>	25
<i>Aspergillus</i> spp.	25
<i>Penicillium</i> spp.	25
<i>Saccharomyces</i> spp.....	26
4.4. VIŠESTRUKO OTPORNE BAKTERIJE	26
Abiotička rezistencija	26
4.5. UPORABA ETERIČNIH ULJA KAO KONZERVANSA.....	28
5. ANTIMIKROBNI MEHANIZAM DJELOVANJA ETERIČNIH ULJA.....	30
6. ZAKONSKE REGULATIVE U RH	36
6.1. Zakon o predmetima opće uporabe	36
6.2. Pravilnik o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe	36
6.3. Norma HRN EN ISO 22716:2008.....	37
6.4. EU Uredba o kozmetičkim proizvodima	37
7. ZAKLJUČAK.....	39
8. LITERATURA	40
Životopis.....	51

SAŽETAK

Diplomskog rada studentice **Dine Karaule**, naslova

POTENCIJAL ETERIČNIH ULJA U INHIBICIJI RASTA PATOGENIH MIKROORGANIZAMA U PRIRODNOJ KOZMETICI

Upotreba prirodne kozmetike danas je sve češća budući da među potrošačima raste potražnja za takvom vrstom proizvoda. S porastom upotrebe prirodne kozmetike raste i potreba za korištenjem prirodnih konzervansa. Eterična ulja vrlo su se brzo profilirala kao jedna od glavnih zamjena za sintetičke konzervanse. Kompleksne su mješavine raznih kemijskih spojeva koje se dobivaju metodama destilacije i ekstrakcije iz različitih dijelova biljaka. Eterična ulja mogu djelovati protuupalno, analgetski i antimikrobno. Antimikrobni učinak eteričnih ulja ovisi o sastavu, koncentraciji i interakciji aktivnih kemijskih sastojaka kao i o vrsti mikroorganizma na koje djeluju. Ovaj rad za cilj ima pružiti pregled dosadašnjih spoznaja o antimikrobnim svojstvima i mehanizmima djelovanja eteričnih ulja, te procijeniti učinkovitost i sigurnost njihove uporabe, naročito u prirodnoj kozmetici.

Ključne riječi: *eterična ulja, konzervansi, antimikrobno djelovanje, abiotička rezistencija*

SUMMARY

Of the master's thesis – student **Dina Karaula**, entitled

THE POTENTIAL OF ESSENTIAL OILS IN INHIBITING THE GROWTH OF PATHOGENIC MICROORGANISMS IN NATURAL COSMETICS

The use of natural cosmetics is becoming more and more common today, as consumers' demand for this type of product is growing. With the increase in the use of natural cosmetics, the need for natural preservatives also increases. Essential oils quickly profiled themselves as one of the main substitutes for synthetic preservatives. Essential oils are very complex mixtures of various chemical compounds obtained by methods of distillation and extraction from different parts of plants. Essential oils can have anti-inflammatory, analgesic, and antimicrobial effects. The antimicrobial effect of essential oils depends on the composition, concentration, and interaction of the active chemical ingredients, as well as on the type of microorganism they act on. The aim of this paper is to provide an overview of the current knowledge about the antimicrobial properties and mechanisms of action of essential oils, and to evaluate the effectiveness and safety of their use, especially in natural cosmetics.

Keywords: *essential oils, preservatives, antimicrobial activity, abiotic resistance*

1. UVOD

Eterična ulja dobila su naziv po svojem sastavu, tj. mogućnosti ishlapljivanja u eter. Također se ponekad nazivaju i esencijalnim uljima, a ovaj naziv tako 'simbolički' pokazuje da se radi o jednoj od najvažnijih kombinaciji tvari iz određene biljke. Kozmetika (od grč. „Kosm tikos“, tj. „imati moć urediti“) je prisutna u društvu još od starog Egipta. Od tada pa sve do danas ostaje sastavni dio svakodnevnog života dok kozmetička industrija predstavlja značajnu industrijsku granu na svjetskoj razini. Porast zanimanja za prirodnu kozmetiku i prirodne sastojke stvorio je potrebu za korištenjem i razvojem novih spojeva koji bi očuvali mikrobiološku ispravnost proizvoda na prirodni(ji) način. Osim samog interesa za korištenje prirodnijih sastojaka za inhibiciju rasta mikroorganizama u kozmetici, javio se i dodatni interes u smislu alternativnih mogućnosti inhibicije bakterija rezistentnih na antibiotike, a koje predstavljaju globalan javnozdravstveni problem.

Cilj ovoga diplomskog rada je istaknuti važnost i širok potencijal uporabe eteričnih ulja te prezentirati načine na koje se ona koriste ili bi se mogla koristiti. Kroz rad su opisani proizvodni procesi pomoću kojih se dobivaju eterična ulja, vrste eteričnih ulja, najčešći mikroorganizmi koji se mogu naći u kozmetičkim preparatima, a mogu izazvati bolesti kod ljudi ili izazvati kvarenje proizvoda, te načini na koje se pomoću eteričnih ulja može suzbiti rast mikroorganizma. Iako je teško sumirati i prezentirati sve utjecaje eteričnih ulja na mikroorganizme, u radu su navedeni do sada najvažniji poznati mehanizmi djelovanja odabranih eteričnih ulja (EU citrusa, cimeta, eukaliptusa, lavande, origana, paprene metvice, ruže, ružmarina i smilja) koja inhibiraju rast i razvoj patogenih mikroorganizama s naglaskom na *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp., *Clostridium* spp., *Candida albicans*, *Aspergillus* spp. i *Penicillium* spp.

2. PRIMJENA ETERIČNIH ULJA U POVIJESTI

Prema najstarijim dostupnim podacima poznato je da su se eterična ulja, nastala procesom destilacije, prvo počela upotrebljavati na dalekom Istoku – najčešće u parfemima te kao dodatci u balzamiranju. Iz povijesti starog Egipta, Perzije i Indije također imamo niz podataka o proizvodnji i uporabi eteričnih ulja, no nažalost povijesni izvori uglavnom ne opisuju sam proces dobivanja ulja. Grčki povjesničar Herodot (484.-425. god.), rimski Plinij (23.-79. god.) i njegov suvremenik Dioscorides (40.-90. god.) (autora rasprave *De Materia Medica*) ostavili su nam tako neke od prvih, doduše šturih zapisa o načinu proizvodnje eteričnih ulja. Oni, naime, dobivanje eteričnih ulja povezuju s proizvodnjom terpentinskog ulja za čiju su proizvodnju korištene različite biljne smole. Katalonski liječnik Arnold od Villanove (1240.-1311. god.) popularizirao je destilaciju eteričnih ulja što je za posljedicu imalo i njegovu širu primjenu u srednjovjekovnoj i postsrednjovjekovnoj europskoj medicini. Paracelsus von Hohenheim (1493.-1541. god.) je razvio teoriju da je najsublimiranija tvar koja se dobije procesom destilacije tzv. *Quinta Essentia* – učinkoviti dio lijeka – i da je cilj ljekarnika upravo izolacija i ekstrakcija *Quinta Essentia*. Nadalje, treba imati na umu da pojam „destilirano“ u antičkim i srednjovjekovnim spisima nije imao jednako značenje koje ima danas. Točnije, destilacija se koristila kao zbirni izraz koji podrazumijeva pripremu biljnih i životinjskih ekstrakata prema određenim pravilima struke. Hieronymusa Brunschwiga (1450.-1534. god.), poznati je liječnik iz Strassburga koji je 1500. i 1507. godine napisao dvije važne knjige o destilaciji (*Liber De Arte Distillandi*), spominje tehniku proizvodnje samo četiri vrste eteričnih ulja. Točnije: ulje terpentina (dobiveno destilacijom smole raznih drveća), klekovine (*Juniperus communis* L.), ružmarina (*R. officinalis*) i šilje (*Cyperus* sp. L.). Sljedeću važnu razvojnu fazu možemo vidjeti u francuskoj industriji eteričnih ulja koja je prva na tržište stavila ulje lavande (*L. angustifolia*) o čemu, među ostalim, svjedoči i Walter Reiff u svojoj knjizi *New Gross Destillirbuch* iz 1556. godine opisujući ga kao skupo ulje u malim bočicama doneseno iz Francuske Provanse. Sredinom 15. stoljeća nastaje i *Krauterbuch* Adama Lonicera (1528.-1586. god.), djelo koje smatramo prekretnicom u samom razumijevanju prirode eteričnih ulja. Autor naglašava kako eterična ulja mogu poslužiti kao pravi lijek, mogu uništiti mikroorganizme poput virusa i bakterija, a posebno ističe i da cijeli ljudski organizam može imati koristi od eteričnih ulja. No, zanimljivo, jednako tako i da eterična ulja mogu ozbiljno narušiti zdravlje ako se s njima ne rukuje pravilno (Guenther 1948.).

Giovanni Battista della Porta (1537.-1615. god.) u svojoj *De Destillatione libri IX*, napisanoj oko 1563. godine, iscrpno opisuje eterična ulja, njihovu konzistenciju, miris, ali i najvažnije, njihovu pripremu, načine odvajanja hlapljivih sastojaka ulja iz vode i način funkcioniranja aparata koji su se koristili u tu svrhu. Službene farmakopeje uvijek su bile manje-više konzervativne. Do 17. stoljeća samo su oni lijekovi koji su naišli na opće prihvaćanje tadašnje vlasti i medicinske znanosti dobivali svoje mjesto u službenim farmaceutskim standardima. Dakle, i na policama ljekarni, a posljedično i primjenu u društvu. Stoga nije toliko iznenađujuće što Valerije Kordus, autor djela *Dispensatorium Pharmacopolarum* (Nürnbergu 1546. godine), unatoč opsežnom istraživanju raznih vrsta eteričnih ulja, navodi samo tri vrste – ulje terpentina, ulja lavande (*L.*

angustifolia) i ulje bobica smreke (*Picea mariana* Mill.). U 17. i 18. stoljeću farmaceuti su uglavnom poboljšali metode destilacije i izvršili vrijedna istraživanja koja su s nastavkom istraživanja u 19. i 20. stoljeću dovela do toga da je danas većina ljudi upoznata s eteričnim uljima, njihovim utjecajem na zdravlje ljudi i širokom mogućnosti uporabe (u kozmetici, kućanstvu, medicini itd.) (Guenther 1948.).

3. ETERIČNA ULJA I HIDROLATI

Kao što je navedeno u prethodnom poglavlju ulja i ekstrakti raznovrsnih biljaka imaju široku uporabu već tisućama godina. Eterična ili esencijalna ulja tekućine su koje se sastoje od raznih hlapljivih spojeva ekstrahiranih iz različitih dijelova biljke pa se, posljedično, imenuju po vrsti biljke iz koje su ekstrahirana. Dobivaju se iz dijelova biljke poput, primjerice, lista, cvijeta, korijena ili stabljika gdje kao produkti biljnog metabolizma nastaju u specijaliziranim biljnim tkivima unutar uljnih žlijezda. Jedinstveni aromatični spojevi koji variraju ovisno o vrsti biljke daju svakom eteričnom ulju karakterističnu esenciju. Većina biljaka sadrži eterična ulja u malim količinama, vrlo su malih molekulskih masa te se otapaju u biljnim uljima i voskovima (Falerio 2011., Ferenčić i sur. 2016.).

Znanstvenici još uvijek nisu definitivno i precizno dokazali, tj. ustanovili, koja je točno svrha eterična ulja u životnom ciklusu biljke. No neke činjenice ipak su nam poznate. Tako, primjerice, znamo da se biljka pomoću eteričnih ulja prilagođava novim uvjetima života, bilo da se radi o promjenama u okolišu poput zagađenja, privlačenju kukaca kako bi došlo do oprašivanja, zaštita od infekcija/grabežljivaca, gubitka vlage ili djelovanja herbicida (Vuković 2022.).

Eterična ulja iz različitih biljaka imaju širok spektar mirisa i okusa. No osim mirisa i okusa eterična se ulja razlikuju i po boji, a najčešće su u rasponu bijelih i žutih boja. Njihova svojstva ponajviše ovise o vrsti, količini, sastojcima i dijelu biljke od koje se proizvode. Eterična ulja dobar su izvor nekoliko važnih bioaktivnih spojeva koji posjeduju antioksidativna i antimikrobna svojstva. Količina eteričnog ulja koje se ekstrahira iz biljaka je različita i ovisi od biljke do biljke (Sell 2016., Aziz i sur. 2018.). Ovaj 'kapacitet' biljke posljedično određuje i cijenu svakog eteričnog ulja, a cijena dakako utječe i na potencijal i pristupačnost primjene ulja (Marković 2022a.).

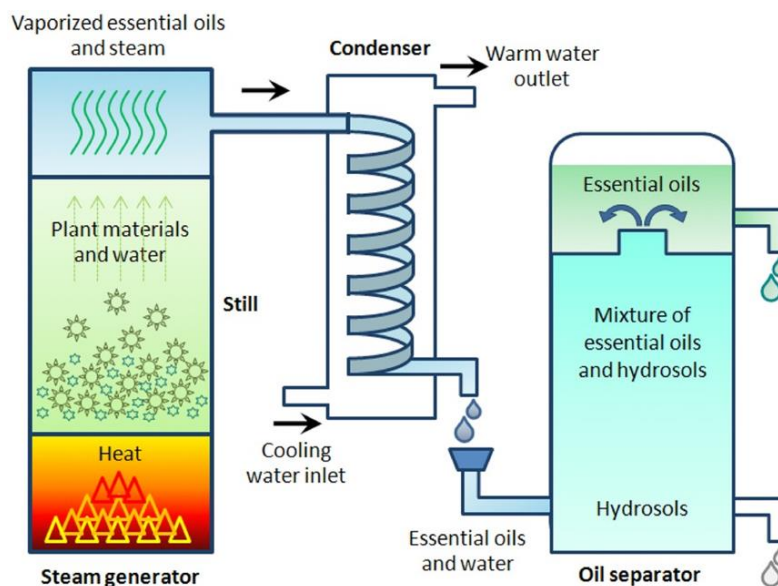
Tijekom procesa destilacije osim eteričnih ulja nastaju i **hidrolati**. Hidrolati su nusprodukti destilacije određene biljke. Sastav hidrolata čini kondenzirana voda te polarne, hidrofilne, hlapljive komponente eteričnih ulja koje, ponovno, variraju ovisno o vrsti i količini (D'Amato i sur. 2018.). Iako su eterična ulja netopiva u vodi, dio njihovih sastojaka može se otopiti pa tako tijekom destilacije dio aromatičnih tvari iz biljke ostane u smjesi s vodom. Hidrolati, kao i eterična ulja, u svom sastavu imaju kiseline, alkohole i aldehide, no za razliku od ulja imaju dosta manje terpena i seskviterpena što ih čini pogodnim za korištenje kod beba, alergičara, starijih osoba i sličnih osjetljivijih skupina. Danas se hidrolati najčešće koriste u kozmetici gdje su najpoznatiji pod nazivom „cvjetna vodica“ koji, doduše, nije najtočniji budući da se hidrolati (kao i eterična ulja) mogu dobiti iz raznih dijelova biljke (Ferenčić i sur. 2016.). Osim što su primjenjiva u kozmetici, hidrolati imaju i potencijal šire uporabe. Naime, budući da se hidrolati mogu piti i dodavati hrani postoji velika mogućnost uporabe u prehrambenoj industriji (D'Amato i sur. 2018.).

3.1. PROIZVODNJA ETERIČNIH ULJA

3.1.1. Metode destilacije

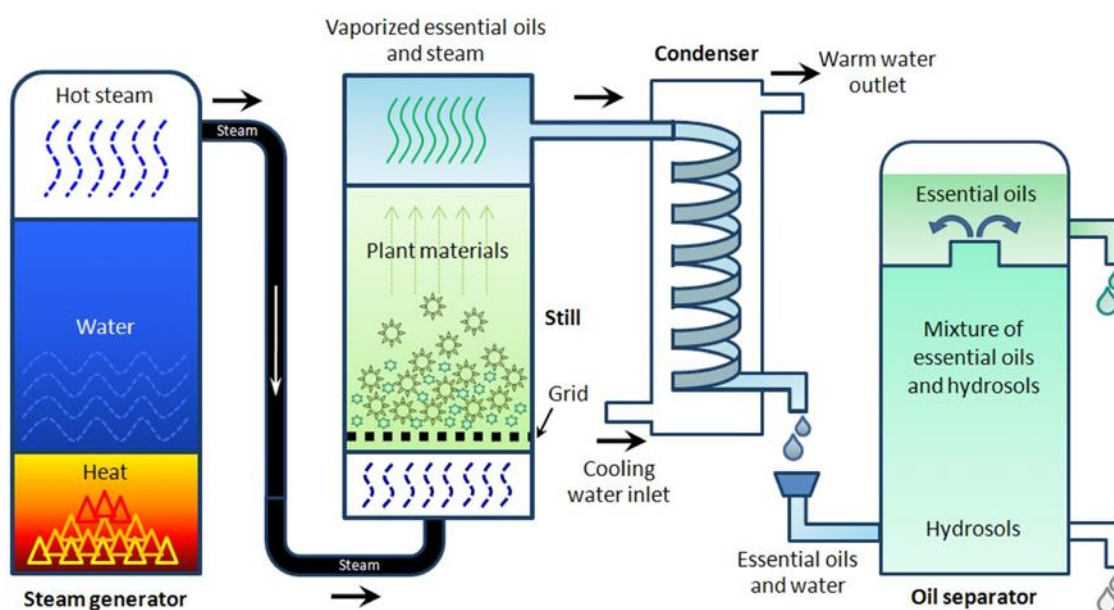
Da bi razumjeli najčešći način na koji se dobiva eterično ulje najprije je potrebno definirati proces destilacije. Destilacija je proces u kojem pomoću topline dolazi do razdvajanja hlapljivih smjesa dvaju ili više sastojaka na pojedinačne komponente željene čistoće na temelju različitih temperatura vrelišta. Uvjeti destilacije, poput tlaka vodene pare, vremena i brzine procesa, karakteristični su za svaku biljnu vrstu (Sander 2011.). Postoje različite varijante destilacije, a one najčešće, poput vodene destilacije, destilacije vodenom parom i hidrodifuzije, opisane su u nastavku.

3.1.1.1. Vodena destilacija (shematski prikaz na slici 1) najstariji je način destilacije, poznat još iz drevne Mezopotamije, a kroz povijest bio je najčešće korišten proces za dobivanje i proizvodnju eteričnih ulja. Tijekom procesa vodene destilacije, shematski prikazanog na slici 1, biljni se materijal direktno uroni i kuha u vodi, a para (zajedno s uljem) izlazi iz te mase. Iako su eterična ulja netopiva u vodi, takvim direktnim kuhanjem biljnog materijala u vodi dolazilo do velikih proizvodnih gubitaka. Temperatura vrelišta eteričnih ulja je visoka i često prelazi 100 °C, a nažalost proces vodene destilacije nema kontroliranu temperaturu te je teško prilagoditi temperaturu na razinu koja najviše odgovara određenom biljnom materijalu. Dakle, uvijek je prisutan rizik da vrijedno ulje izađe iz kotla s vodenom parom zbog velikih temperatura ili da pak dođe do hidrolize spojeva. Ovaj rizik najčešće vežemo uz eterična ulja bogata esterima, poput ružinog i lavandinog ulja (Marković 2022b). Vodena destilacija smatra se jedinstvenom metodom za izdvajanje eteričnog ulja iz biljnog materijala poput drveta ili cvijeta, a često se koristi za ekstrakcije koje uključuju hidrofobni prirodni biljni materijal s visokim vrelištem tj. onaj biljni materijal koji sa sobom nosi najmanje rizike proizvodnih gubitaka (Aziz i sur. 2018.).



Slika 1. Proces vodene destilacije (Izvor: Tongnuanchan i Benjakul 2014.).

3.1.1.2. Destilacija vodenom parom (shematski prikaz na slici 2) danas je najčešća i najučinkovitija metoda kojim se ekstrahira eterično ulje iz biljaka (Reverchon i Senatore 1992.). Udio eteričnih ulja ekstrahiranih parnom destilacijom iznosi čak 93 %, a preostalih 7 % može se dalje ekstrahirati drugim metodama. Proces destilacije vodenom parom shematski je prikazan na slici 2. Funkcionira tako da se u kotlu kuha voda, a dijelovi biljke se ne uranjaju direktno u vodu nego su položeni na mrežicu poviše vode u destilacijskom kotlu. Visoke temperature djeluju na pucanje staničnih veza i razgradnju biljnog materijala iz kojeg izlaze aromatični spojevi pomiješani s vodenom parom. Mješavina vodene pare i eteričnog ulja potom ulazi u kondenzator u kojem se nalazi hladna voda te dolazi do kondenzacije dobivene smjese, a dobivena tekućina u kapljicama izlazi iz cijevi. Zbog razlike u gustoći, ulje tada ostane plutati na vodi, a voda bude na dnu (Tongnuanchan i Benjakul 2014.).



Slika 2. Proces destilacije vodenom parom (Izvor: Tongnuanchan i Benjakul 2014.).

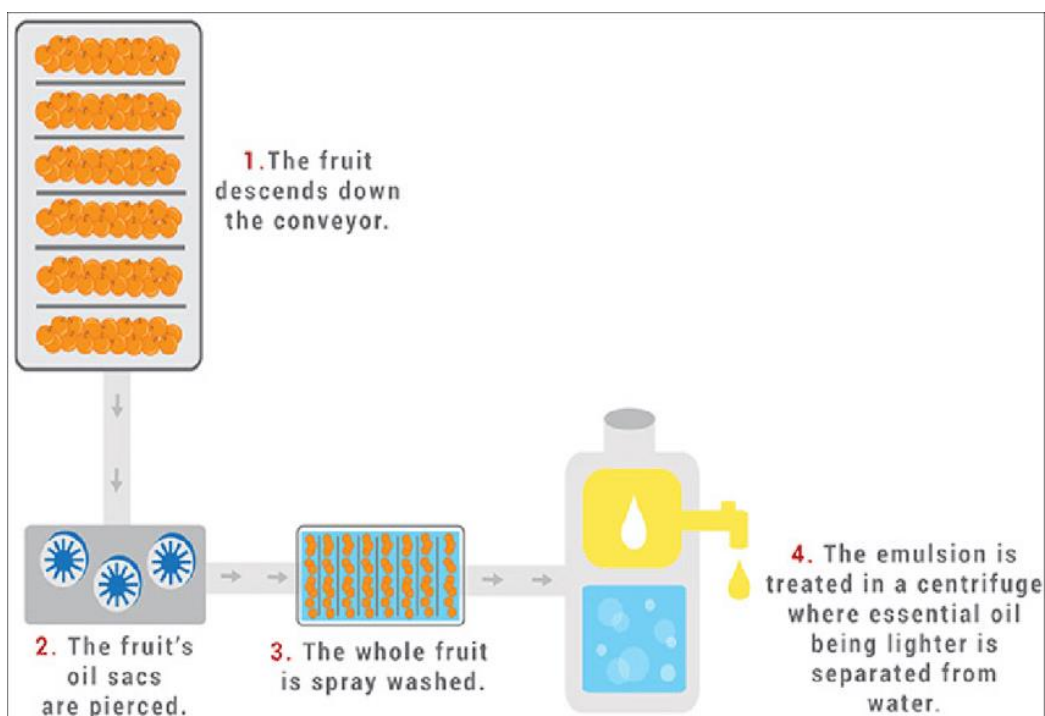
Nakon procesa destilacije dolazi do ključnog odvajanja vode i ulja. Voda se odvaja centrifugiranjem, raznim filterima i/ili sušenjem na bezvodnom natrijevom sulfatu. Nakon odvajanja vode izrazito je važno na koji se način skladište eterična ulja. Naime, iako se pojedina eterična ulja (poput limuna) mogu koristiti odmah nakon proizvodnje, dio njih mora odležati određeni period, čak i do šest mjeseci, kako bi bila što kvalitetnija (primjerice paprena metvica). Ako se ulja nepravilno skladište može doći do promjene u sastavu te do gubitka na kvaliteti te ovisno o njihovoj krajnjoj primjeni, učinkovitosti (Tongnuanchan i Benjakul 2014.).

3.1.1.3. Hidrodifuzija je proces koji usko vežemo uz proces parne destilacije. Razlika između hidrodifuzije i parne destilacije je u načinu ulaska pare u kotao. U slučaju hidrodifuzije suhi biljni materijal smješten je unutar kotla, a para ulazi s vrha kotla te se spušta i prolazi kroz sirovinu. Obrada biljnog materijala se odvija pod niskim tlakom, temperaturom nižom od 100 °C i u

kratkom vremenskom roku. Ovim načinom se najčešće obrađuju dijelovi biljke s visokom razinom vlakana poput kore i granja. Na kraju obrade dobije se visokokvalitetno ulje u malim količinama (Tongnuanchan i Benjakul 2014.).

3.1.2. Mehaničke metode proizvodnje eteričnih ulja

3.1.2.1. Hladno tiještenje (shematski prikaz na slici 3) je mehanički način dobivanja eteričnih ulja iz raznih vrsta agruma. Pri skidanju kore s agruma, primjerice naranče, limuna, mandarine itd., može se primijetiti kako iz pora na kori izlaze male količine mirisnih esencija. Stoga je uvedeno hladno tiještenje u svrhu proizvodnje eteričnih ulja koja kao dodatni benefit ima činjenicu da se ovom metodom sačuvaju citrusna ulja i iskoristi bio biljke koji bi postao biootpad. Eterično se ulje ovom metodom dobiva u hladnim uvjetima (oko 15 °C) nakon čega slijedi pročišćavanje (vodom, sedimentacija, filtriranje, centrifugiranje) radi dobivanja završnog proizvoda. Iako se zbog trenja stvara mala količina toplote, ulje se ne izlaže utjecajima vanjske toplote, a završetkom procesa nastaje hladno prešano ulje u nešto manjim količinama nego što bi nastalo metodom destilacije. U aromaterapiji, kozmetici i prehrambenoj industriji ulja dobivena tiještenjem preferiraju se budući da zadržavaju svoju hranjivu vrijednost, okus i miris tj. svojstva koja su inače „oštećena“ toplinskom obradom. Ovako dobivena ulja bogata su antioksidansima te sadrže protuupalna i ljekovita svojstva (Sawamura 2010.).



Slika 3. Proces hladnog tiještenja (Izvor: Bhadra i Parida 2011.).

3.1.3. Metode ekstrakcije

3.1.3.1. Ekstrakcija otapalom provodi se kod osjetljivih dijelova biljke, poput cvijeta i latica (jasmin), koji ne podnose visoke temperature i mehaničku obradu. Ekstrakciju se vrši različitim otapalima uključujući aceton, heksan, petrolej eter, metanol ili etanol. U ovoj metodi odabrano otapalo se pomiješa s biljnim materijalom i zagrijava kako bi se ekstrahiralo eterično ulje.. Nakon ekstrakcije slijedi filtracija i isparavanje otapala te miješanje koncentrata s alkoholom. Kada alkohol ispari preostaje čisto eterično ulje. Međutim, nedostatak metode je što se dio otapala može zadržati u proizvodu što onda, posljedično, može djelovati toksično i alergijski. Osim toga metoda je dugotrajna i skupa zbog čega su i eterična ulja dobivena ovom metodom skuplja i uglavnom se upotrebljavaju u proizvodnji parfema (Tongnuanchan i Benjakul 2014.).

3.1.3.2. Ekstrakcija superkričnim ugljičnim dioksidom proces je kojim se izbjegava korištenje štetnog otapala budući da je ugljikov dioksid ekološki prikladan i bez negativnog djelovanja, primjerice zapaljivosti, toksičnosti i negativnog utjecaja na okoliš. Zbog svoje niske kritičke temperature, najčešće se koristi za izdvajanje termolabilnih i izrazito hlapljivih supstancija niske relativne molekulske mase (Stanić i Senjković 1994.). Kritična točka predstavlja uvjete temperature i tlaka u kojoj ne postoje razlike između dvije faze (npr. plinovite i tekuće). U uvjetima visokog tlaka ugljični dioksid se pretvara u tekućinu koja se potom može koristiti kao vrlo inertan i siguran medij za ekstrakciju aromatičnih molekula iz sirovine. U gotovom proizvodu nema ostataka otapala jer se tekući CO₂ pod normalnim atmosferskim tlakom i temperaturom jednostavno vraća u plin i isparava (Tongnuanchan i Benjakul 2014.).

3.1.3.3. Ekstrakcija u mikrovalnoj pećnici proces je u kojem se koristi mikrovalna tehnologija nakon koje slijedi suha destilacija koja se odvija pri atmosferskom tlaku u odsutnosti bilo kakvog otapala ili tekućine. Neke od prednosti ekstrakcije u mikrovalnoj pećnici su kraće trajanje procesa (oko 30 minuta), izostanak nusproizvoda i otpada, bolji prinos i manji negativan utjecaj na okoliš. Sam proces također ne troši puno energije ni vode. Ulja dobivena ovim procesom imaju visoku antimikrobnu aktivnost (Aziz i sur. 2018.).

Proces koji će biti odabran za proizvodnju eteričnih ulja ponajviše ovisi od dijelu biljke koji će se koristiti za ekstrakciju te o primjeni eteričnog ulja. Neodgovarajući postupak ekstrakcije može dovesti do oštećenja ili promjene kemijskog sastava eteričnog ulja i načina na koji će ono djelovati. To rezultira gubitkom bioaktivnosti i prirodnih karakteristika. U pojedinim slučajevima može doći do promjene boje, neugodnog mirisa/okusa kao i fizičke promjene kao što je povećana viskoznost (Marković 2022b.). Parametri koje treba uzeti u obzir u novim tehnikama ekstrakcije su smanjenje vremena ekstrakcije, potrošnje energije, smanjene količine otapala koje ostaje u eteričnom ulju i povećanje prinosa (Aziz i sur. 2018.).

3.2. KEMIJSKI SASTAV ETERIČNIH ULJA

Eterična ulja složene su tvari koje se sastoje od višekomponentnih smjesa koje sadrže stotine kemikalija. Njihov sastav možemo podijeliti na dominantne kemijske tvari koje čine 20-95 % sastava, tvari u količini od 1-20 % i tvari koje su prisutne samo u tragovima (manje od 1 %) (Blažević 2009.). Sastav se razlikuje od biljke do biljke ovisno o metodi ekstrakcije, dijelu biljke koji se koristi za ekstrakciju, podrijetlu, načinu žetve itd. Najčešće korištena metoda za identifikaciju sastava eteričnih ulja je plinska kromatografija – masena spektrometrija (GC-MS) (Ćerić 2016.). Kao što je već rečeno, različiti dijelovi biljke mogu proizvoditi eterična ulja. Uzmemo li za primjer gorku naranču (*Citrus aurantium* L.) možemo vidjeti da se eterična ulja mogu ekstrahirati iz kore, cvijeta i lista. Takva eterična ulja dobivena od jedne biljke, ali njenih različitih dijelova, potpuno su drugačija po svom sastavu, što dokazuje i primjer eteričnih ulja iz gorke naranče naveden u tablici 1 (Marković 2022e.).

Tablica 1. Razlika u sastavu eteričnog ulja iz različitih organa gorke naranče (Izvor: Marković 2022e.).

LIST	CVIJET	USPLOĐE
linalil acetat 40-60%	linalol 28-44%	d-limonen 91,4-97%
linalol 15-30%	limonen 9-18%	B-mircen 0,03-4,3%
α -terpineol 3,2-6,8%	β -pinen 7-17%	α -pinen 0-1,4%
geranil-acetat 2-5%	linalil-acetat 2-15%	linalol 0,3-0,8%

Iako se u sastavu eteričnog ulja u malim količinama mogu pronaći razni spojevi, primjerice tvari poput metoksifenola, sterola, dugolančanih alkohola, voskova itd. (Marković 2022k.), u nastavku će se opisati one ključne, glavne ili najzastupljenije sastavnice eteričnih ulja.

3.2.1. Terpeni i terpenoidi

Dominantna i najveća skupina kemikalija koja se nalazi u eteričnim uljima su nezasićeni ugljikovodici, terpeni i terpenoidi. Terpeni i terpenoidi organski su kemijski spojevi koji se sastoje od atoma ugljika na koji se vežu atomi vodika (ali i drugih elemenata). Terpeni su polimeri nastali kondenzacijom izoprenskih molekula. Klasifikacija terpena vrši se prema broju broja izoprenskih jedinica u njihovom sastavu. Dijelimo ih na jednostavne ili monoterpene, koji su rezultat spajanja dviju izoprenskih jedinica ($C_{10}H_{16}$) te na složenije, tj. seskviterpene koji su nastali od tri izoprenske jedinice ($C_{15}H_{24}$) i diterpene nastale od četiri ($C_{20}H_{32}$) (Sell 2016.). Najčešći terpeni u eteričnim uljima su p-cimen, terpinen, limonen, sabinen i pinen. Terpenoidi su terpeni koji sadrže kisik, a u njih spadaju alkoholi, esteri, aldehidi, ketoni, eteri i fenoli. Terpeni i terpenoidi svakom eteričnom ulju daju miris, boju i okus. Zbog djelovanja na miris, okus i boju pomažu biljkama u obrani od biljojeda, bolesti te pomažu u privlačenju oprašivača (Aziz i sur. 2018.).

Monoterpeni i seskviterpeni općenito pokazuju slabije antimikrobno djelovanje od alkohola i fenola, ali jače od ostalih skupina terpena. Monotereni, posebno pineni, djeluju protuupalno, dok seskviterpen kamazulen daje plavu boju eteričnim uljima (npr. eteričnom ulju njemačke kamilice) i djeluje protuupalno u dermokožmetičkim proizvodima (Loza-Tavera 1999.).

3.2.2. Alkoholi i fenoli

Alkoholi i fenoli omogućuju eteričnim uljima da djeluju antiseptičko, antivirusno, antibakterijsko i germicidno. U eteričnim uljima mogu se pojaviti kao pojedinačna komponenta te u kombinaciji s terpenom ili esterom. Oba spoja sadrže hidroksilnu skupinu (-OH) koja je kod fenola izravno vezana na ugljikov atom aromatskog prstena. Hidroksilna skupina alkohola veže se pak na zasićeni ugljikov atom. Spojevi terpena s hidroksilnom skupinom nazivaju se monoterpenoli. Ovi spojevi u eteričnim uljima smatraju se sigurnima za korištenje u tijelu i na koži jer su njihove količine premale da bi izazvale toksično djelovanje. Monoterpeni alkoholi i fenoli imaju jača antimikrobna svojstva od seskviterpenskih i diterpenskih alkohola i fenola. Alkoholi i fenoli povezani u spoj sa seskviterpenima i diterpenima unutar eteričnih ulja zastupljeni su u manjim koncentracijama (Aziz i sur. 2018.).

U eteričnim uljima nalazimo monoterpeneske, seskviterpeneske i diterpenske alkohole. Od najčešćih monoterpenskih alkohola vrijedi istaknuti linalool koji daje slatkast/cvjetni miris, R-linalool koji sadrže lavanda (*L. angustifolia*) i bergamont (*Citrus bergamia* Risso), a daje drvenast miris, (-)-mentol koji se nalazi u paprenoj metvici (*M. x piperita*), terpinen-4-ol koji nalazimo u čajevcu (*M. alternifolia*) te borneol u timijanu (*T. vulgaris* L.). Seskviterpenski i diterpenski primjeri alkohola su farnezol koju nalazimo u naranči (*Citrus x sinensis* L.), elemol u elemijau (*Canarium luzonicum* A.Gray), karotol u mrkvi (*Daucus carota* L.) i sklareol u grčkoj kadulji (*Salvia fruticosa* Mill.). Osim alkohola također imamo monoterpeneske, seskviterpeneske i diterpenske fenole. Najčešći monoterpenski fenoli su timol, timokinon, eugenol, karvakrol, a seskviterpenski i diterpenski ksantorizol u kurkumi (*Curcuma longa* L.), feruginol u borovnici (*Juniperus communis*) i α -bisabolol u kamilici (*Chamomilla recutita* L.) (Štefanac 2018.).

Alkoholi eugenol i (-)-mentol imaju višegodišnju primjenu u stomatologiji i medicini kao analgetici koji djeluju na proteinske kanale u membrani te tako smanjuju upalu (Park i sur. 2009.). Seskviterpenski alkohol fernezol djeluje na razvoj biofilmova mikroorganizama te tako sprječava njihovo preživljavanje u nepovoljnim uvjetima (Jabra-Rizk i sur. 2006.). U odnosu na alkohole, fenoli imaju snažnije djelovanje na mikroorganizme. Međutim, fenoli isto tako mogu izazvati reakcije na sluznicama i kožu ako se ne upotrebljavaju u odgovarajućim koncentracijama. Ostavljajući po strani druge primjene, te fokusirajući se striktno na kozmetiku, možemo istaknuti kako se alkoholi i fenoli najčešće koriste u proizvodnji dezodoransa dok su u većini ostalih proizvoda zastupljeni u manjoj količini kako bi se izbjegla reakcija krajnjeg korisnika tj. preosjetljivost ili pak alergijska reakcija (Carson i sur. 2006.).

3.2.3. Esteri

Osim alkohola i fenola u sastavu eteričnih ulja u većoj koncentraciji su zastupljeni i ester. Nastaju zbog interakcije alkohola i kiselina, a smatra se da kao komponenta eteričnih ulja imaju sedativna i antifungalna svojstva te djeluju prvenstveno na živčani sustav. Često se nalaze u eteričnim uljima koja sadrže alkohol (iz kojeg onda nastaje i ester). Ulja s većom koncentracijom estera imaju slatkast i cvjetni miris (Marković 2022h.). Ulja bogata esterima imaju spazmolitičko, ankiolitičko djelovanje, regeneriraju kožu te imaju insekticidno djelovanje zahvaljujući benzil benzoatu koji djeluje na mikroorganizme kože koji uzrokuju svrab ili pak kroničnu progresivnu kožnu bolest rozaceu (Graham i sur. 2003.). Nemaju jaka antimikrobna svojstva, ali budući da ulja bogata esterima sadržavaju i alkohole oni djeluju antimikrobno. Nadalje ester se mogu metabolizirati i konvergirati na alkohole i kiseline unutar mikroorganizama kao jedan od mehanizama antimikrobnog djelovanja (Soković i sur. 2010.). Od poznatijih estera u eteričnim uljima postoje linalil-acetat (bergamot, lavanda, kadulja), metil-salicilat (zimzelene biljke) i neril-acetat (smilje) (Marković 2022h.).

3.2.4. Ketoni

Ketoni u svojoj strukturi sadrže karbonilnu ($-C=O$) skupinu. Naspram alkohola, fenola i estera koje možemo prepoznati po nastavcima, svijet ketona je izrazito širok i svaki djeluje na zasebni način. Eterična ulja koja sadrže ketone mogu biti vrlo toksična, što ovisi o količini ketona u njihovom sastavu i načinu primjene eteričnih ulja bogatih ketonima. Primjeri toksičnih ketona su α -tujon i β -tujon u ljekovitoj kadulji (*Salvia fruticosa*) te pulegon koji se nalazi u ulju mirisne metvice (*M. x piperita*) (European Commission 2002.). Kod ulja koja imaju veći sadržaj ketona u svom sastavu evidentirani su povoljni učinci na zacjeljivanje rana i ožiljaka te liječenja gornjih dišnih puteva (Aziz i sur. 2018.). Jedan od najstarijih i najpoznatijih ketona je kamfor koji ima antiseptičko djelovanje tj. hladi ozljede (Selescu i sur. 2013.). Keton verbenon koji je prisutan u eteričnom ulju ružmarina (*R. officinalis*) djeluje na probleme s dišnim sustavom, a S-karvon iz eteričnog ulja kima (*Carum carvi* L.) odličan je lijek protiv nadutosti te je pokazao antifungalno djelovanje na gljivice roda *Candida* jer sprječava stvaranja filamentoznih oblika koje djeluju patogeno (McGeady i sur. 2002.).

3.2.5. Aldehidi

Najpoznatiji aldehid je formaldehid koji se pokazao vrlo toksičan za žive organizme budući da djeluje na proteine i onemogućuje im normalno funkcioniranje i sintezu. Za razliku od formaldehida, većina ostalih aldehida u eteričnim uljima nisu niti približno toliko toksični, zbog čega se koriste u kozmetičkoj i prehrambenoj industriji. Primjeri aldehida u eteričnim uljima su:

citral (limunska trava), citronelal (eukaliptus), kuminal (kumin), mirtenal (mirta), cinamaldehyd (cimetovac) itd. (Marković 2022j.).

Svi aldehidi vrlo lako i brzo reagiraju s raznim molekulama. Većina ih ima jak, prodoran, citrusni miris. Eterična ulja u kojima dominira neka vrsta aldehida imaju dobar insekticidni, antivirusni i aromaterapijski učinak (Leite i sur. 1986.). Uz poželjne karakteristike, aldehidi mogu imati i negativan učinak poput izazivanja alergija i iritacija, zbog čega se neki od njih, primjerice cinamaldehyd, ne koristi u kozmetici (Cheung i sur. 2003.).

3.2.6. Oksidi

Oksidi najbolje funkcioniraju u kombinaciji s alkoholima. Točnije, alkoholi najprije djeluju direktno na stanice mikroorganizama, a potom oksidi smanjuju upale u organizmu domaćina izazvane djelovanjem mikroorganizama. Kao i monoterpenski alkoholi i fenoli, oksidi imaju sposobnost antivirusnog djelovanja što je važno kod dišnih tegoba i ozljeda na koži/sluznicama. Najpoznatiji primjeri oksida prema Yang i sur. (2010.) su eukaliptol (eukaliptus, timijan), linalol-oksidi (ružino drvo) te α -bisabolol oksid (njemačka kamilica) (Yang i sur. 2010.).

Eterično ulje eukaliptusa koje sadrži eukaliptol dokazano djeluje protuupalno kod dišnih tegoba te je priznato kao lijek od Svjetske zdravstvene organizacije (WHO-a). Ovaj proizvod se na hrvatskom tržištu nalazi pod nazivom Gelomyrtol forte (Worth i sur. 2009.).

3.3. UPORABA ETERIČNIH ULJA

3.3.1. Primjena u kozmetici

Poznato je da eterična ulja imaju široki raspon uporabe. Osim u kozmetičke svrhe primjenjuju se i u različitim drugim područjima zbog antimikrobnih, protuupalnih i antioksidativnih svojstava, ali isto tako i sve zanimljivijih psihogenih učinaka, primjerice ublažavanje stresa, liječenje depresije, anksioznosti i pružanja pomoći kod nesanic. Eterična ulja se nalaze u velikom spektru različitih kozmetičkih proizvoda poput aroma za hranu, sapuna, krema, šampona, proizvode za oblikovanje kose, parfema, deterdženta za pranje rublja, pa čak i repelenta za insekte (Mendoza-Yepes i sur. 2007.).

S obzirom na sva navedena svojstva, potencijale i mogućnosti, ne treba čuditi da su eterična ulja našla svoju primjenu i u jednoj od najvećih svjetskih industrija, onoj kozmetičkoj. Iako uporabu kozmetike pratimo još od dana starog Egipta gdje se koristila nevezano za spol, ipak je bio potreban dug razvoj kako bi se spoznala većina negativnih sastojaka i svojstava kozmetike. Točnije, kroz povijest su se koristili sastojci koji su dovodili do negativnih učinaka, no vremenom su ovi učinci svedeni na minimum te je danas upotreba kozmetičkih proizvoda i proizvoda za osobnu njegu postala dio svakodnevnice. U kozmetiku po definiciji spadaju razne vrste supstanci,

kako prirodnog tako i kemijskog podrijetla, kojima je glavna uporaba u osobnoj higijeni. Kozmetika obuhvaća proizvode poput krema, lakova, šampona, parfema, pasta za zube, balzama itd. Primarni zadatak svih kozmetičkih proizvoda je očistiti, poboljšati ili promijeniti određeni dio tijela (ovisno o ciljanoj svrsi primjene). Mnoga istraživanja pokazala su da prosječni potrošač koristi čak 25 različitih kozmetičkih proizvoda i proizvoda za osobnu njegu, koji kombinirano sadrže i više od 200 različitih kemijskih tvari. Prema jednom od istraživanja svega polovica potrošača potpuno je svjesna da će se do 60 % onoga što nanese na kožu, najveći organ našeg tijela, apsorbirati u krvotok (Walker-Love i sur. 2017.).

Prirodna kozmetika, odnosno ručno izrađeni i certificirani organski proizvodi, postaju sve popularniji zbog činjenice da sve više ljudi razvija alergije i osjetljivosti na kemijske sastojke unutar kozmetike, posebno konzervanse. Zbog zahtijevanja tržišta za novim prirodnijim proizvodima, moderna kozmetička industrija sve više ulaže u istraživanja i proizvodnju prirodnih kozmetičkih proizvoda. Na policama trgovina postoji već širok raspon certificiranih proizvođača koji se bave samo proizvodnjom kozmetike na prirodnoj bazi. Uz mogućnost nabavljanja prirodne kozmetike u trgovinama korisno je znati da vlastitu prirodnu kozmetiku možemo proizvesti i unutar svoja četiri zida. Prije upuštanja u proizvodnju dakako neophodno je prethodno informiranje o načinima proizvodnje, čuvanju i roku trajanja takvih proizvoda (Chen 2009.).

Popularni razlozi zbog kojih se prirodna kozmetika sve više etablira u svakodnevnoj uporabi jest i činjenica da uporaba prirodnih sastojaka smanjuje štetni utjecaj na okoliš te isto tako stav da se korištenjem prirodne kozmetike smanjuje mogućnost nuspojava do kojih može doći nakon uporabe proizvoda sa sintetičkim sastojcima. Uporabom eteričnih ulja u kozmetici želi se privući potrošače mirisom i njihovim dobrobitima te povećati vrijednost proizvoda (Chen 2009.).

Eterična ulja pokazala su se kao efikasan konzervans u prirodnoj kozmetici. Kada se ulja upotrebljavaju u kozmetici moraju biti što kvalitetnija i prirodnija da bi tijekom uporabe došlo do njihovog terapijskog djelovanja. Prije uporabe u proizvodnji kozmetike važno je razrijediti eterična ulja na razine prikladne svrsi za koju će se proizvod koristiti. Razrjeđenjem eteričnih ulja do koncentracije koja je prikladna za korištenje smanjujemo mogućnost oštećenja kože do kojih može doći zbog nanošenja čistog eteričnog ulja. Nadalje, isto tako onemogućen je brzi ulazak eteričnog ulja u organizam što daje više vremena za polaganu apsorpcija terapijskih tvari. Kod uporabe prirodne kozmetike (osobito one s velikom koncentracijom vode) preporučljivo je koristiti što efikasnije konzervanse jer mnoštvo vode znači i pogodno tlo za razvoj bakterija i gljivica koje prirodni konzervansi ne mogu u potpunosti spriječiti (Marković 2022.). Ako se pak teži proizvodima s antioksidativnim svojstvima, dokazano je da su najbolje formulacije za to emulzije vode i ulja. Dodatkom eteričnih ulja kozmetički bi proizvod ostao nepromijenjen te pružio antioksidativni učinak (Ziosi i sur. 2013.). Svako eterično ulje koje će se koristiti u proizvodnji kozmetike obavezno mora proći kontrolu kvalitete u certificiranom laboratoriju kako bi bilo dokazano da je ispravno za uporabu (Marković 2022.). U nastavku su navedena eterična ulja koja se često koriste u prirodnoj kozmetici.

Uskolisna lavanda (*Lavandula angustifolia* Miller)

Eterično ulje lavande jedno je od najstarijih poznatih ulja. Ima širok raspon uporabe, bilo u aromaterapiji, medicini (i dr.) ili pak kozmetici. Izrazito je blago zbog čega se na kožu može aplicirati čak i u 100 %-tnim koncentracijama (Marković 2022m.). U sastavu mu je dominantan alkohol linalol (31,01 %) i ester linalil antranilat (15,60 %). Ostatak kemijskog sastava čine lavandulil acetat (15,01 %), cis-linalol oksid (4,96 %), α -terpinol (4,02 %), lavandulol (2,49 %), dok su geraniol, borneol, neril acetat, eukaliptol i dr. spojevi koji su zastupljeni u manjim količinama (Rashed i sur. 2017.). Treba istaknuti kako je potrebno biti oprezan kod odabira eteričnog ulja lavande budući da se na tržište masovno pod naziv „ulje lavande“ stavljaju proizvodi koji nisu dobiveni iz lavande nego iz veoma slične biljke, lavandina (*Lavandula x hybrida* Reverchon). Razlike između dvaju eteričnih ulja mogu se iščitati iz kemijskog sastava. Naime, kod lavandina u sastavu prevladavaju ketoni, a takav omjer ne nalazimo u ulju „prave“ lavande (Marković 2022m.).

Postoje dvije vrste eteričnog ulja lavande:

- Eterično ulje iz cvjetova uskolisne lavande (*L. angustifolia*), cvjetnog mirisa. Djeluje umirujuće, protuupalno i dokazana mu je mogućnost smanjenja menstrualnih bolova.
- Eterično ulje iz cvjetova širokolisne lavande (*L. latifolia* Medikus) mirisa je na kamfor zbog njegovog visokog postotka u sastavu. Koristi se u farmaceutskim proizvodima i kozmetici (Sarkic i Stappen 2018.).

Sredozemno smilje (*Helichrysum italicum* Roth)

Nakon branja, biljke smilja moraju se destilirati u roku od 24 sata kako bi se sačuvali vrijedni sastojci. Nakon destilacije od otprilike tone svježje biljke, dobije se tek jedan kilogram eteričnog ulja što direktno utječe na njegovu cijenu. U sadržaju prevladavaju flavonoidi, iako se svaki kemotip razlikuje. Ulje smilja djeluje regenerativno te je jedan od najboljih sredstava za liječenje hematoma. Ipak njegova najraširenija uporaba upravo je u kozmetici zbog svojstva regeneracije, pomlađivanja i poticanja cirkulacije. Najčešće se koristi u proizvodnji takozvanih *anti-age* krema (tj. krema protiv starenja). Osim toga ulje ima antibakterijsko i antifungalno djelovanje koje je bitno za inhibiciju rasta mikroorganizama unutar kozmetičkog proizvoda (Sarkic i Stappen 2018.).

Čajevac (*Melaleuca alternifolia* Maiden & Betche)

Ulje čajevca veoma je poznato zbog svog djelovanja na virusne, bakterijske i gljivične infekcije. Eterično ulje čajevca dobiva se destilacijom listova biljke. Njegov najaktivniji sastojak je terpinen-4-ol koji omogućuje prodiranje drugih antimikrobnih komponenti u staničnu citoplazmu (Marcia i sur. 2022.). Ovo ulje ima važnu uporabu unutar kozmetike. Naime, dokazano

je da djelotvorno pomaže koži sklonoj aknama, prištićima, herpesu i slično. Uz to često se koristi za liječenje atletskog stopala i gljivica na noktima. Iako je iznimno pogodan za kožu, na nju se ipak može aplicirati tek nakon razrjeđivanja (Marković 2022m.).

Čajevac slabije djeluje na mikroorganizme koji su prirodno prisutni u tijelu poput laktobacila, a dobro djeluju na MRSA-e (meticilin-rezistentnog zlatnog stafilokoka). Takvo djelovanje poželjno je kod gljivičnih infekcija *Candidom* jer će eterično ulje djelovati samo na njih, a ne i na prirodno prisutne laktobacile (Carson i sur. 2006.).

Ružmarin (*Rosmarinus officinalis* Linne)

Eterično ulje ružmarina dobiva se vodenom destilacijom iz vrhova biljke. Boja ulja varira od bezbojne do žute, a ima karakterističan snažan miris. Ovu vrstu ulja vrlo je lako prepoznati po kemijskom sastavu. Miljanović i sur. (2020.) su proveli GC-MS analizu kemijskog sastava eteričnog ulja ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) i došli do zaključka da sadrži borneol (18,11 %), manool (13,47 %), berbenon (13,24 %), kamfor (12,77 %), eukaliptol (4,55 %) i linalool (4,02 %). Zbog tako postojanog i uvijek istog kemijskog sastava vrlo ga je teško kopirati. Poznata su tri kemotipa ovisno o klimi i okolišu, a svaki od njih međusobno se kemijski razlikuje (Miljanović i sur. 2020.). Znanstvena istraživanja potvrdila su antimikrobna i antioksidativna svojstva te protuupalna djelovanja ovog eteričnog ulja (Bajalan i sur. 2017.). U kozmetici je primjenu pronašao kao dodatak kremama za mješovitu i masnu kožu, šamponima protiv prhuti, sapunima, solima za kupanje itd. Ulje ružmarina (*Rosmarinus officinalis*) širi krvne žile i potiče cirkulaciju pa se tako dodaje i u kreme protiv celulita (Cutillas i sur. 2018.).

Njemačka kamilica (*Chamomilla recutita* Linne)

Cvijet kamilice nije bez razloga postao sinonim za nježnost budući da se u kozmetici koristi za izradu proizvoda za njegu djece, raznih balzama, gelova i krema za sunčanje. Tijekom destilacije cvjetova vodenom parom, iz roazulena nastaju matricin, matricarin, guajazulen i kamazulen koji ulju daju plavu boju (Groot i Schmidt 2016.). Zbog svoje karakteristične boje za očekivati je da će svi proizvodi s eteričnim uljem kamilice biti nešto malo tamnija. Eterično ulje njemačke kamilice sadrži β -farnezen, farnesol, kamazulen, α -bisabolol oksid A i B, a ovakav sastav daje mu antifungalna, antibakterijska, protuupalna, antiflogistička, spazmolitička i antiseptička svojstva (Groot i Schmidt 2016.). U kozmetici se najčešće koristi za liječenje dermatitisa, no iako rijetko kada izaziva infekcije i djeluje blagotvorno za kožu, ipak prije aplikacije mora biti razrijeđeno (Sarkic i Stappen 2018.).

Ruža (*Rosa* Linne)

Rod *Rosa* pripada obitelji *Rosaceae* i sastoji se od više od 100 vrsta. Prvenstveno se uzgaja kao izvor eteričnih ulja za kozmetičku industriju s naglaskom na parfeme te kao dodatak za poboljšavanje okusa u sladoledima, jogurtima i džemu u prehrambenoj industriji (Fukada i sur. 2012.). Objavljeno je kako eterično ulje ruže ima protuupalno, analgetsko, antioksidativno i antibakterijsko djelovanje (Ulusoy i sur. 2009.). Eterično ulje ruže dobiva se iz latica. Budući da je masa latica mala, za proizvodnju ulja potrebne su velike količine biljnog materijala što za posljedicu ima i veću cijenu gotovog proizvoda (Marković 2022m.). Kemijski sastojci iz eteričnog ulja ruže poput citronelola, geraniola i nerola eliminiraju slobodne radikale koji inače izazivaju oksidativni stres i prerano starenje kože. Među oštećenim stanicama mogu se nalaziti i stanice odgovorne za proizvodnju kolagena, elastina i hijaluronske kiseline, koje mladoj koži daju čvrstu strukturu. Zbog navedenog, eterično ulje ruže posebno je primjenu pronašlo u *anti-age* kozmetici (Fukada i sur. 2012.). Također u sastavu ulja prisutne su oleinske kiseline, linolne kiseline i likopen koji pomažu u sprječavanju stvaranja strija i djeluju na oštećenu kožu i ožiljke. Eterično ulje ruže koristi se i za njegu oštećene kose te čak sprječava njeno otpadanje. Kao konzervans najvažniji sastojak ulja je fenil-etilni alkohol koji je zaslužan i za miris ulja (Marković 2022m.).

Citrusi (*Citrus* sp. Linne)

Citrusi se ekstrahiraju mehaničkim procesom bez grijanja. Kada cijedimo citruse iz njihove kore izlazi ulje koje je mješavina raznih spojeva. Nusproizvodi su većinom netoksični i biorazgradivi te se iz tog razloga često koriste u prehrambenoj i farmaceutskoj industriji. U kozmetičkoj industriji se najčešće koriste u proizvodnji parfema. Sva citrusna eterična ulja u sastavu imaju terpen D-limonen, a oksidacijom na zraku nastaje R-limonen. Ulja grejpa i naranče u sastavu imaju keton nootkaton koji im daje sličan miris (Aburjai i Natsheh 2003.).

Osim iz kore ulje se može proizvesti i iz sjemenki ploda. Mihlin (2017.) je opisao sastav eteričnog ulja sjemenki grejpa koje sadržava flavonoide, limonoide, sterole, vitamin C i E i limunsku kiselinu, a kao konzervans komercijalno se naziva Citricidal. Iako je prirodan, Citricidal nije kompatibilan s anionskim organskim spojevima što dovodi do destabilizacija nekih emulzijskih sustava. Posljedično dolazi do smanjenja viskoznosti, kreme postaju tekuće, a može se i narušiti struktura mnogih gelova (Mihlin 2017.).

Eukaliptus (*Eucalyptus globulus* Labillardiere)

Eterično ulje eukaliptusa se ekstrahira iz listova, plodova, pupoljaka i kore biljke. Od kemijskog sastava važno je navesti da je eukaliptol (1,8-cineol) glavni i najvažniji sastojak koji se nalazi u eukaliptusu. Eukaliptus je vrlo važan izvor antioksidansa te je uspješan u borbi protiv bakterija i gljivica. Zbog svog snažnog i specifičnog mirisa ističe se od ostalih ulja. Nekoliko

istraživanja, na koja se pozivaju i oslanjaju Vecchio i sur. (2016.), opisalo je prednosti ekstrakta eukaliptusa na zdravlje i integritet kože te je zaključeno da odlično djeluje na problematičnu masnu kožu sklonu aknama i nepravilnostima i na kožu sklonu dermatitisu i suhoći. Osim toga ulje eukaliptusa može povećati razinu ceramida u površinskom sloju kože te na taj način poboljšati funkcije zadržavanja vode i barijere kože (Vecchio i sur. 2016.).

Paprena metvica (*Mentha x piperita* Linne)

Eterično ulje ove biljke proizvodi se parnom destilacijom. Po svom sastavu najviše sadrži dva spoja: (-)-mentol (33-55 %) i (-)-menton (14-33 %). Ostali prisutni kemijski spojevi su eukaliptol, metil acetat, metofuran, izomenton, limonen, β -pinen, α -pinen, germakren, trans-sabinen hidrat i pulegon. Budući da ima svjež, rashlađujući miris najčešće se koristi u proizvodnji sapuna i krema. No vrijedi istaknuti kako je zbog izraženog mirisa poznato i dosta slučajeva alergijskih reakcija na ovo ulje. Ima jako antivirusno, antibakterijsko, protuupalno i analgetsko djelovanje (Sarkic i Stappen 2018.).

3.3.2. Uporaba eteričnih ulja u medicini

Uporaba eteričnih ulja u medicini sve je češća zbog povećane rezistencije bakterija na poznate antibiotike. Antibakterijski učinak eteričnih ulja može biti bakteriostatski ili bakteriocidni. Budući da se bakterijska membrana sastoji od lipidnog dvosloja, eterična ulja (zahvaljujući svojoj lipofilnosti i niskoj molekularnoj težini) imaju mogućnost nesmetanog ulaska u stanicu i djelovanja na unutarnje procese. Neka od eteričnih ulja koja se obično koriste dolaze iz češnjaka (*Alium sativum* L.), đumbira (*Zingiber officinale* R.), klinčića (*Syzygium aromaticum* L.), crnog papra (*Piper nigrum* L.), zelenog čilija (*Capsicum annum* L.), cimeta (*Cinamomum varum* J. Presl), pimenta (*Pimenta racemosa* Mill.), timijana (*Thymus vulgaris*), origana (*Origanum vulgare* L.) i ružmarina (*Rosmarinus officinalis*). Osim upotrebe zbog svojih antibakterijskih svojstava pojedina se eterična ulja koriste i za suzbijanje raznih vrsta patogenih gljivica tj. djeluju fungistatično i fungicidno (Souza i sur. 2005.).

Potencijalna primjena ulja na virusnim stanicama još je u procesu istraživanja, no pojedine dosadašnje spoznaje polažu nade u djelovanje eteričnih ulja (posebno čajevca) i njihovih molekula (eugenola) na zreli virus poput Herpesa i virusa gripe (Souza i sur. 2005.). Russo i sur. (2015.) proveli su *in vivo* i *in vitro* istraživanja potencijala citotoksičnog djelovanja eteričnih ulja na stanice raka. Zbog njihovog složenog kemijskog sastava, koji se razlikuje ovisno o vrsti eteričnog ulja, još uvijek nam nisu poznati točni mehanizmi djelovanja. Budući da se ulja toliko razlikuju od vrste do vrste vrlo je teško osmisliti univerzalnu dozu koja bi se primjenjivala za liječenje bolesti. Ipak vrijedi istaknuti kako se aktivno potiču dodatna istraživanja te da se ulažu napor da se na ovom za medicinu važnom području (onkologiji) omogući šira uporaba eteričnih ulja kao lijekova (Russo i sur. 2015.).

U otorinolaringologiji biljke poput limunskog eukaliptusa (*Eucalyptus citriodora* H.) , eukaliptusa (*E. globulus*), paprene metvice (*M. x piperita*), *Origanum syriacum* L., grčke kadulje (*Salvia fruticosa*) i ružmarina (*R. officinalis*) koriste se za liječenje respiratornog trakta za smanjenje refleksa kašlja i olakšavanja prolaska zraka kroz nos i sinuse (inhalacije) (Rakover i sur. 2008.).

3.3.3. Aromaterapija

Aromaterapija je vrsta alternativne medicine koja koristi eterična ulja i hidrolate za poboljšavanje cjelokupnog zdravlja organizma (tj. psihičkog i fizičkog zdravlja). Dosadašnja istraživanja dokazuju brojne pozitivne učinke aromaterapije u terapiji kronične boli, depresije, anksioznosti, umora, infekcije, migrene, poremećaja koncentracije i spavanja. U aromaterapiji eterična se ulja primjenjuju oralno, putem kože ili inhalacijom, no najčešći način primjene upravo je inhalacijom. Molekule eteričnih ulja ulaze kroz nos te prolaze njušnim živcem do temporalnog režnja u mozgu koji je povezan s osjetom mirisa te dolazi do otpuštanja kemikalija koje djeluju opuštajuće i ugodno. Još jedan široko rašireni način primjene eteričnih ulja u aromaterapiji je putem kože masažama. Ulja se ne nanose direktno na kožu (osim ulja lavande i čajeveca), nego u obliku otopina ili krema (Martinec 2013.). Ako su eterična ulja dobivena ekstrakcijom različitim otapalima često dolazi do problema nemogućnosti potpunog uklanjanja otapala iz ulja (kao što je navedeno u prethodnom poglavlju) te se takva ulja smatraju neprikladnima za uporabu u aromaterapiji već se cijene kako sirovina za industriju parfema – posebno ulje jasmina (*Jasminum sambac* L.) (Vuković 2022.). Za regeneraciju kože u aromaterapiji se koriste eterična ulja sjemena mrkve (*D. carota*) i njemačke kamilice (*C. recutita*) koja su bogata seskviterpenskim alkoholima (Marković 2022d.).

3.3.4. Prehrambena industrija

Trendovi izbjegavanja pretjeranog unosa šećera, soli te umjetnih konzervansa i aditiva u hranu uzrokovali su dodatni interes za uporabu eteričnih ulja kao zamjene za konzervanse (tj. za produljenje roka trajanja proizvoda i sprječavanje kontaminacije hrane mikroorganizmima). Glavna prepreka za korištenje eteričnog ulja kao konzervansa u hrani je to što ono najčešće nije dovoljno efikasno kao njegove pojedinačne komponente, a kada se dodaje u dovoljnim količinama za postizanje antimikrobnog učinka uzrokuje i negativne organoleptičke učinke (Hyldgaard i sur. 2012.). Budući da se teško kombiniraju sa sastojcima hrane poput škroba, masti i proteina, potencijal eteričnih ulja kao konzervansa veći je ako se koriste u pakiranjima hrane, a ne u samim proizvodima. Sinergija više vrsta ulja mogle bi se inkapsulirati u pakiranja te bi se ulje polagano otpuštalo unutar pakiranja i na površinu hrane bez mijenjanja njenih organoleptičkih svojstava (Hyldgaard i sur. 2012.). Opisani proces doveo je i do pojave novog tipa pakiranja tzv. aktivnog

pakiranja, u kojem se antimikrobna sredstva dodaju u foliju pakiranja ili kao jastučić te se tako s vremenom otpuštaju (Macwan i sur. 2016.).

3.3.5. Poljoprivreda

Eterična se ulja mogu koristiti i kao „zeleni pesticidi“ u obliku fumiganata, granulata ili sprejeva protiv glodavaca, štetnika i fitopatogenih gljiva. Ulja se posebno često koriste u ekološkoj proizvodnji hrane budući da imaju značajno niži negativan utjecaj na okoliš od kemijskih pesticida (Sharma i sur. 2011.). Zbog svoje hlapljivosti na tretiranom usjevu djeluju par dana te se trebaju upotrebljavati u većoj količini ili više puta tijekom uzgoja. Za suzbijanje štetočina koriste se ulja ružmarina (*R. officinalis*), klinčića (*S. aromaticum*) i timijana (*T. vulgaris*). Razne metvice i citrusi koriste se za suzbijanje muha, moljaca, krpelja, uši itd. (Sharma i sur. 2011.). Budući da kemijski sastav ulja varira postoji manja mogućnost da će štetnici razviti otpornost na „zelene pesticide“ (Koul i sur. 2008.). Razne filamentozne gljive proizvode mikotoksine od kojih je aflatoksin jedan od najčešćih te je opasan po zdravlje ljudi. Alfatoksine mogu inhibirati određeni ekstrakti biljaka koji su toksični za gljive i mogu biti korisni u kontroli rasta gljivica i proizvodnje mikotoksina. Napokon, ekstrakti biljaka kao što su češnjak (*A. sativa*), kurkuma (*C. longa*) i luk (*Allium cepa* L.) učinkovito usporavaju rast i proizvodnju aflatoksina (Macwan i sur. 2016.).

4. UZROCI KVARENJA KOZMETIČKIH PROIZVODA

Kozmetički proizvodi koji dolaze na tržište mogu se nalaziti u raznim formulacijama i pakiranjima te s različitim ciljem djelovanja. Zajedničko svim kozmetičkim proizvodima je da moraju odgovarati visokim standardima koje propisuje Europska Unija. Finalni pakirani kozmetički proizvodi koji dolaze na tržište moraju imati jasno obilježen rok valjanosti ili period u kojem se nakon prvog otvaranja mora potrošiti. Do tog roka proizvod bi po zakonu trebao biti ispravan i siguran za korištenje. Na proizvode ne smije utjecati promjena uvjeta poput temperature i skladištenja. Nakon što proizvod dođe u ruke potrošača očekivano je da najčešće dolazi do mikrobiološke promjene sastava zbog načina korištenja samog proizvoda, dodavanjem vode, kontakta s zrakom, čuvanje u vlažnim/toplim prostorijama, dijeljenja s drugima, uporabom četkica i spužvica itd. Proizvodi tekućih i kremastih tekstura najosjetljiviji su na promjene te se najčešće kvare (Geis 2006.).

Kao što je već navedeno, u procesu proizvodnje, pakiranja, prijevoza, skladištenja ili korištenja može doći do nepredviđenih propusta koja uzrokuju kvarenje proizvoda. Ako je došlo do kvarenja i kontaminacije proizvoda potrebno je identificirati gdje je nastao izvor te se radi (Halla i sur. 2018.):

1. kontrola sirovina korištenih za proizvodnju
2. kontrola proizvodnog procesa
3. kontrola isporuke i skladištenja
4. kontrola načina uporabe od strane potrošača

Uzroci kvarenja mogu biti fizikalno-kemijski i mikrobn.

Fizikalno-kemijski uzroci kvarenja

Fizikalno-kemijske uzroke kvarenja možemo podijeliti na unutarnje i vanjske. Unutarnji uzroci dovode do kvarenja proizvoda najčešće zbog nekompatibilnosti kemijskih sastojaka od kojih je građen proizvod. Dolazi do aktivacije procesa poput kristalizacije, percipitacije, odvajanje faza, promjene pH, oksidacijsko-redukcijskih procesa, hidrolize estera i/ili amina itd. Za razliku od unutarnjih, vanjski uzroci kvarenja djeluju na proizvode preko pakiranja poput promjena temperatura, neadekvatna ambalaža (staklo, plastika, metal), vibracije koje dovode do odvajanja faza ili istek roka valjanosti (Geis 2006.). Proizvodna oprema također je važan izvor kontaminacije – od materijala za održavanje (ulja, masti), lošeg čišćenja i/ili neredovite dezinfekcije (Halla i sur. 2018.).

Mikrobni uzročnici kvarenja

Mikroorganizmi su prisutni svuda oko nas. Zbog visokog sadržaja vode i prisutnosti i organskih i anorganskih tvari, pojedini kozmetički preparati su izrazito pogodni za mikrobiološku kontaminaciju. Mikroorganizmi iz kozmetike mogu ući u ljudski organizam prvenstveno preko kože i sluznica. Ulaskom u organizam patogeni mikroorganizmi mogu izazivati upalne procese u obliku iritacija, crvenila, izraslina na koži itd., te čak dovode i do ozbiljnijih stanja kod kojih je potrebna hospitalizacija. Iako je potrošačevo zdravlje primarna briga proizvođača, funkcionalnost i estetika proizvoda također su ugroženi mikrobim kvarenjem. Kontaminacija mikroorganizmima može bit primarna (tijekom proizvodnog procesa) i puno češća, sekundarna ili naknadna (tijekom potrošačeve upotrebe (Halla i sur. 2018.). Tijekom proizvodnog procesa veliki udio proizvoda čini voda. Mikroorganizmi poput *E. coli*, *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Aeromonas*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Actinobacter* i *Aerobacter* spp. mogu bit uneseni vodom u kozmetički preparat (Halla i sur. 2018.). Kontaminacija proizvoda mikroorganizmima može se dogoditi i preko sirovina za proizvodnju kozmetike. Kod sekundarne kontaminacije kozmetički proizvod može se kontaminirati preko kože ruku, kose, oralne mikrobiote, sluznice nosa te crijevnom mikrobiotom (Halla i sur. 2018.). Kako bi se izbjegla mikrobna kontaminacija potreban je cijeli proces proizvodnje voditi pod aseptičnim uvjetima. Kontrolirana obrada vode, sirovina, dezinfekcija te educiranje zaposlenika temelj su preventive kod kvarenja (Dobler i sur. 2019.).

Tablica 2. Najčešći mikroorganizmi u kozmetičkim preparatima (Izvor: Geis P.A. (2006.).

Gram negativne bakterije	Gram pozitivne bakterije	Gljive
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus</i> spp.	<i>Aspergillus</i> spp.
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Clostridium</i> spp.	<i>Penicillium</i>
<i>Klebsiella</i> spp.		<i>Saccharomyces</i>

U tablici br. 2 prikazani su najčešći kontaminanti u prirodnoj kozmetici. Po zastupljenosti u kozmetici mogu biti Gram pozitivne i Gram negativne bakterije te gljive u koje spadaju kvasci i plijesni. U nastavku su opisani pojedini značajniji mikroorganizmi.

4.1. GRAM NEGATIVNE BAKTERIJE KONTAMINANTI U PRIRODNOJ KOZMETICI

Pseudomonas aeruginosa

Riječ je o Gram negativnoj aerobnoj bakteriji koja se lako prilagođava na nove uvjete u okolišu i brzo razmnožava. Ima sposobnost preživljavanja u vodi tretiranoj klorom, na visokim temperaturama (42 °C), mineralnoj vodi, destiliranoj vodi te čak mogu stvarati biofilmove (Kovačić i sur. 2018.). Najčešće je široko rasprostranjena u vodama preko kojih dolazi u kozmetičke proizvode. Kod ljudi koji dođu u kontakt s bakterijskom stanicom dolazi do inficiranja

rana, opekline i upala pluća, a kod imunološki oslabljenih ljudi može doći do sepse. Kada se nađu u kozmetici najčešće inficiraju oči i sluznice. Kada dođe do infekcije *P. aeruginosa* ima sposobnost razgradnje ugljikohidrata, kloriranih pesticida i biocida uz pomoć toksina i enzima koje izlučuje (proteaza, elastaza). Egzotoksin A je enzim koji djeluje inhibitory na sintezu proteina, mukoidni sojevi *P. aeruginosa* proizvode ekstracelularnu sluz koja posjeduje antifagocitno djelovanje te enzim fosfolipaza hidrolizira emulgator lecitin. *P. aeruginosa* visoka je rezistentna bakterija na antibiotike i različita eterična ulja (Mihlin 2017.).

Escherichia coli

E. coli je Gram negativna štapičasta bakterija koja je prirodni stanovnik ljudskog probavnog sustava, ali ujedno može izazvati infekcije (daleko najčešće su urinarne infekcije). Pokreće se pomoću trepeteljki, fakultativno je anaerobna, mezofilna te može živjeti u paru ili pojedinačno. U organizmu razgrađuje laktozu i pritom stvara plin. Može preživjeti u raznim uvjetima te je zato znanstvenici koriste kao tvornicu DNK i/ili proteina u biotehnologiji. Prisutnost *E. coli* može biti znak nedavne kontaminacije otpadnom vodom. MDRB (eng. Multidrug-resistant bacteria) je primjer vrste *E.coli* koja je razvila rezistenciju na amoksisilin, tetraciklin, piperacilin, ofloksacin i oksacilin (Cui i sur. 2020.).

Enterobacter spp.

Rod *Enterobacter* pripada porodici *Enterobacteriaceae* i obuhvaća četiri vrste: *E.aerogenes*, *E.cloacae*, *E.georgoviae* i *E.sakazaki*. Sve vrste spadaju u Gram negativne bakterije. Štapičastog su oblika, pokreću se bičevima, fakultativno anaerobni, široko rasprostranjeni u prirodi (voda, tlo, namirnice) i mogu prebivati u probavnom traktu ljudi i životinja (Périamé i sur. 2014.). Za rast im odgovara mezofilna sredina te najčešće inficiraju gastrointestinalni (GI) i urinarni trakt te uzrokuju cerebralni apsces, upalu pluća, meningitis i infekciju rana. Infekcije se najčešće događaju prijenosom bakterija na sluznice s onečišćenih površina ili fekalno-oralnim putem. *E. cloacae* i *E. aerogenes* mogu nastanjivati GI trakt ljudi i životinja.

E. georgoviae je sporadično detektiran u kozmetičkim proizvodima. Otkriveno je da je *E. georgoviae* otporan na konzervanse koji se koriste u kozmetičkoj industriji poput parabena, metilizotiazolinona-klorometilizotiazolinona (MIT-CMIT) i triklosana (Périamé i sur. 2015.). Otpornost se javlja zbog prisutnosti enzima PrbA i mehanizam efluksa o kojem će više biti pisano u nastavku. Osjetljivi su na alkohole što je važno prilikom odabira eteričnog ulja za pokušaj inhibicije (Périamé i sur. 2015.). Kozmetika kontaminirana *E. gergoviae* često se proizvodi od biljnih ekstrakata poput verbene (*Lippia citriodora* Kunth), lavande (*L. angustifolia*), anđelike (*Angelica archangelica* L.), naranče (*C. sinensis*) i smilja (*H. italicum*). Budući da je *Enterobacter* raširen u prirodi ne zna se točno koji dio proizvodnog procesa je izvor kontaminacije, ali zbog uzastopne prisutnosti bakterije unutar proizvoda jasno je da predstavlja veliku prijetnju za zdravlje

(Périamé i sur. 2015.). Određeni dokazi upućuju na to da u kozmetiku ulazi preko otvorenih rana djelatnika i u njoj se razmnožava (proizvodi za pranje kože, kozmetičke kreme i losioni). Primarno nije opasna za zdrave potrošače, ali kod imunokompromitiranih osoba i novorođenčadi može izazvati ozbiljne infekcije (Périamé i sur. 2015.).

***Klebsiella* spp.**

Vrste roda *Klebsiella* spp. su Gram negativne, štapičaste bakterije koje imaju sposobnost stvaranja kapsula. Prirodno se nalaze u površinskim vodama, tlu i biljkama. Kod ljudi prirodno se može nalaziti u probavnom sustavu i nazofarinksu. Veći problem stvaraju kod infekcija unutar bolničkih sustava, naročito kod imunokompromitiranih osoba. Danas se infekcije uzrokovane bakterijama roda *Klebsiella* spp. sve teže liječe zbog njihove široke rezistencije na antibiotike (Nirwati i sur. 2019.). Oportunistički su patogeni od kojih je najpoznatija *K. pneumoniae* te *K. oxytoca* i *K. variicola* čija je prisutnost dokazana i unutar kozmetike u kojoj najčešće završe preko sirovih biljnih materijala koji se koriste za proizvodnju ili pak preko vode korištene u proizvodnom procesu. Uzrokuju upale pluća, infekciju mokraćnog sustava i septikemiju (Fellenberg i Muller 2021.).

4.2. GRAM POZITIVNE BAKTERIJE KONTAMINANTI U PRIRODNOJ KOZMETICI

Staphylococcus aureus

S. aureus spada u Gram pozitivno fakultativno anaerobne bakterije. Naziv mu dolazi od oblika koje tvore skupine stanica tj. grozda. Uz život u nakupinama mogu prebivati pojedinačno, u parovima ili u lancima. Kao što im samo ime kaže okruglog su oblika (koki), veličine 0,5 - 1,5 µm, nepokretne i nesporogene. Stafilikoki su prirodno prisutni u okolišu i na površini kože/sluznica, ali ako uđu u tkivo preko ozljeda na koži mogu izazvati lokalne infekcije, sepsu, upalu pluća, infekciju krvotoka te trovanje hranom (Taylor i Unakal 2022.). Prirodno su prisutni u ljudskom organizmu od rođenja jer su izolirani iz ždrijela i sluznice nosa novorođene djece. Stafilokokni stvaraju enterotoksine koji preživljavaju na temperaturu od 100°C te na njoj mogu preživjeti do 135 minuta. Tipovi stafilokoknih enterotoksina podijelili su se u skupine: A, B, C1, C2, D i E (Marinculić i sur. 2009.). Enterotoksini A i D odgovorni su za otrovanja putem hrane i izazivanje stafiloenterotoksikoze i stafiloenterotoksemije. Inkubacija traje 2 do 6 sati, bolest nastupa naglo i kratko sa simptomima poput mučnine, dijareje, grčeva, povišena temperatura i malaksalost. Ako je prisutan unutar kozmetike *Staphylococcus aureus* može uzrokovati infekcije na koži i sluznicama. Kada bakterija izazove upalu ona se reflektira u obliku bubuljica, akni, apscesa, a ako preko otvorenih rana na koži dospije i u krv može doći do razvoja sepse, pneumonije, endokarditisa i osteomijelitisa (Mihlin 2017.).

***Bacillus* spp.**

Bacillus spp. su Gram pozitivne štapićaste, fakultativno anaerobne ili aerobne bakterije. Sveprisutne su u prirodi te se pojavljuju u sirovinama i prehrambenim proizvodima, a imaju mogućnost stvaranja spora u nepovoljnim životnim uvjetima. Glavni patogeni ovog roda je *B. anthracis* koji izaziva antraks, dok se *B. cereus* svrstava u oportunistički patogen. *B. cereus* može doći u kozmetiku tijekom proizvodnog procesa ili u procesu korištenja (osobito kod proizvoda koji se koriste duži vremenski period poput maskare) (Thorne 1993.). *B. cereus* stvara spore koje mogu preživjeti na različitim temperaturama i uvjetima skladištenja. Bakterija prvenstveno izaziva probavne tegobe zbog gutanja toksina nastalih neadekvatnim kuhanjem ili podgrijavanjem hrane. U kozmetici je također dokazano njihovo prisustvo kod krema i seruma koji se koriste oko očiju, te je poznato da mogu izazvati očnu infekciju. Nije poznato kolika je količina bakterija potrebna za početak infekcije u ljudi, no testiranja na životinjama dokazala su da otprilike 100 CFU izaziva infekciju, ali bez većih komplikacija (Pitt i sur. 2014.).

Zanimljivo, za vrstu *B. subtilis* postoji potencijal uporabe u prirodnoj kozmetici. *B. subtilis* sadrži cikličke lipopeptide koji se izoliraju iz različitih sojeva bakterije te se nazivaju sufraktin, fengicin i iturin. Zbog niske toksičnosti, aktivnosti i biorazgradivosti primjena bakterija u prehrambenoj i kozmetičkoj industriji primarno se razmatra upravo u okviru prirodne kozmetike. Određena istraživanja dokazala su da lipopeptidi *B. subtilis* djeluju antibakterijski, daje stabilnost emulzijama i pomaže kod akni. Nažalost, uporaba u kozmetici ograničena je na luksuznu kozmetiku zbog visokih troškova proizvodnje (Ganesan i Rangarajan 2021.).

***Clostridium* spp.**

Clostridium spp. su aerobne, sporogene, Gram pozitivne bakterije koje su široko rasprostranjene u okolišu. Postoji oko 100 vrsta, od kojih je 25 do 30 vrsta patogeno za čovjeka. Patogeni *Clostridium* spp. odgovorni su za ljudske bolesti kao što su tetanus, botulizam, plinska gangrena i pseudomembranozni kolitis. *Clostridium botulinum* i *Clostridium perfringens* dva su najčešća patogena koja se prenose hranom (Wells 1996.).

C. botulinum otpušta osam različitih toksina (A, B, C1, C2, D, E, F i G), a svi djeluje tako da paraliziraju mišiće sprječavajući otpuštanje acetilkolina iz presinaptičkog neurona na neuromuskularnom spoju (no ovisno o tipu razlikuju se ciljna mjesta i učinkovitost). Osim što se koriste u kozmetičkim kremama (Lueangarun i sur. 2018.), toksini se koriste i u medicinskim tretmanima za određene mišiće i kozmetičko uklanjanje bora privremeno paralizirajući mišiće. U kozmetici su danas veoma popularni toksini tipa A i B (Rohrich i sur. 2003.).

4.3. MIKROSKOPSKE GLJIVE KONTAMINANTI U PRIRODNOJ KOZMETICI

Candida albicans

C. albicans je predstavnik kvasaca koji se prirodno nalaze u ljudskom organizmu, tlu, zraku i otpadnim vodama. Možemo ih naći u probavnom sustavu, sluznicama usta, vagini, koži itd. Kada dođe do pada imunosti *Candida* može izazvati opasne sustavne i kože infekcije – dermatomikoze. Samo trajanje infekcije može biti jako dugo jer u početku uopće ne bude znakova infekcije dok se gljivice ne prošire. Ako uđe u probavni sustav gljivica se zahvaća na crijeva i buši sitne rupice kroz koje, osim nje same, mogu proći i neprobavljeni proteini i toksini te tako ući u cirkulaciju i proširiti po cijelom tijelu – sistemska kandidijaza. Može izlučivati estrogen i tako remetiti endokrini sustav, šteti jetri, ometa proizvodnju kolagena, slabi imunološki sustav i živčane funkcije (Mayer i sur. 2013.). Ono što je posebno važno za kozmetiku jest da većina gljivica zahvaća sirove biljne materijale koji su sirovina za proizvodnju i vlažna mjesta poput krema/losiona (Obrębska i sur. 2008.). Kada se nalazi u vlažnim zatvorenim područjima može živjeti godinama, dok joj sunčana područja ne odgovaraju. Kod liječenja infekcija na koži uzrokovanih ovom gljivicom efikasnost su pokazala eterična ulja čajevca (*M. alternifolia*), češnjaka (*A. sativum*) i cimeta (*C. varum*) (Lenković i sur. 2008.).

Aspergillus spp.

Aspergillus spp. imaju razgranati micelij s hifama na čijim završecima se nalaze konidiospore. Često se nalaze na vegetaciji, u zraku (većinom unesena uređajima za klimatizaciju), u odvodima za toplinu te na raznim ostalim površinama. Većinom inficiraju organizam udisanjem spora ili ulaskom kroz ranu na koži. Kada dođu u kontakt s kožom izazivaju alergijske reakcije s crvenilom, svrbežom i oteklinama (Mousavi i sur. 2016.). Kao sekundarni produkt metabolizma proizvode alfatoksin koji ima dokazano kancerogeno djelovanje te djeluje primarno na jetru. Patogeni ovog roda koji se mogu naći u kozmetici su *A. fumigatus*, *A. flavus* i *A. niger* (Mihlin 2017.).

Penicillium spp.

Penicillium spp. je rod zelenih i plavih plijesni koje spadaju u carstvo gljiva. Prirodno su široko rasprostranjeni u okolišu i imaju veliku primjenu tijekom proizvodnje hrane i lijekova. Dio pripadnika roda *Penicillium* proizvodi penicilin koji se koristi kao vrlo važan antibiotik. *Penicillium* spp. su dominantni u kućnoj prašini i stoga su rasprostranjeni svuda u okolišu. Zbog prisustva u zraku javlja se veliki rizik kontaminacije kozmetičkih proizvoda koji se svakodnevno koriste, točnije otvaraju i izlažu okolišu u kojem može biti prisutan *Penecillium* spp. (de Oliveira i sur. 2020.). Kvarenje kozmetike *Penicillium* spp. rezultat je djelovanja njihovih različitih enzima, kao što su: egzo- β -1, 4-glukanaza, endo- β -1,4-glukanaza i β -glukozidaza (Babalola i Eze 2015.).

Određene vrste *Penicillium* predstavljaju rizike za zdravlje, budući da su povezane s proizvodnjom mikotoksina (okratoksina A i citrinina) koji djeluju neurotoksično (Edwards i sur. 2015.).

***Saccharomyces* spp.**

Saccharomyces spp. spadaju u carstvo gljiva i obuhvaćaju veliki broj kvasaca. Rastu u kolonijama koje su glatke, plosnate, pravilnih rubova i krem bijele boje. Kvasci roda *Saccharomyces* ponajviše se koriste u prehrambenoj industriji, a vjerojatno je najpoznatiji *S. cerevisiae* koji se koristi u proizvodnji kruha, vina i piva. Ekstrakt *S. cerevisiae* ima važnu ulogu kao biotehnološka sirovina jer je bogat aminokiselinama koje mogu imati hidratantna svojstva, peptidima, proteinima i polisaharidima koji mogu imati učinak zacjeljivanja rana i obnavljanja stanica (Parapouli i sur. 2020.). *S. cerevisiae* prilagođava se novonastalim uvjetima okoliša i odgovora na oksidativni stres, npr. promjena medija ili prisutnost reaktivnih vrsta kisika, što može dovesti do proizvodnje mnogih poželjnih tvari u kozmetici kao što su vitamini B6 i B12, minerali (cink, bakar i mangan), fitosteroli i fenoli (Gaspar i sur. 2008.). Kvasci se aktivno koriste u proizvodnji kozmetike za njegu kože i kose. Prvenstveno se koriste u hidrataciji kože i smanjenju sebuma kod masne kože. Prema Uredbi Europske unije, optimalna koncentracija ekstrakta kvasca u gotovim kozmetičkim proizvodima je 2-4 % (proizvodi za njegu kože), a 0,5 % u kozmetici za kosu. Ako se nađu u vrijednostima većim od propisanih, znači da je došlo do prekomjerne kolonizacije u proizvodu te postoji mogućnost od kvarenja (Uredba (EZ) br. 1223/2009.).

4.4. VIŠESTRUKO OTPORNE BAKTERIJE

Abiotička rezistencija

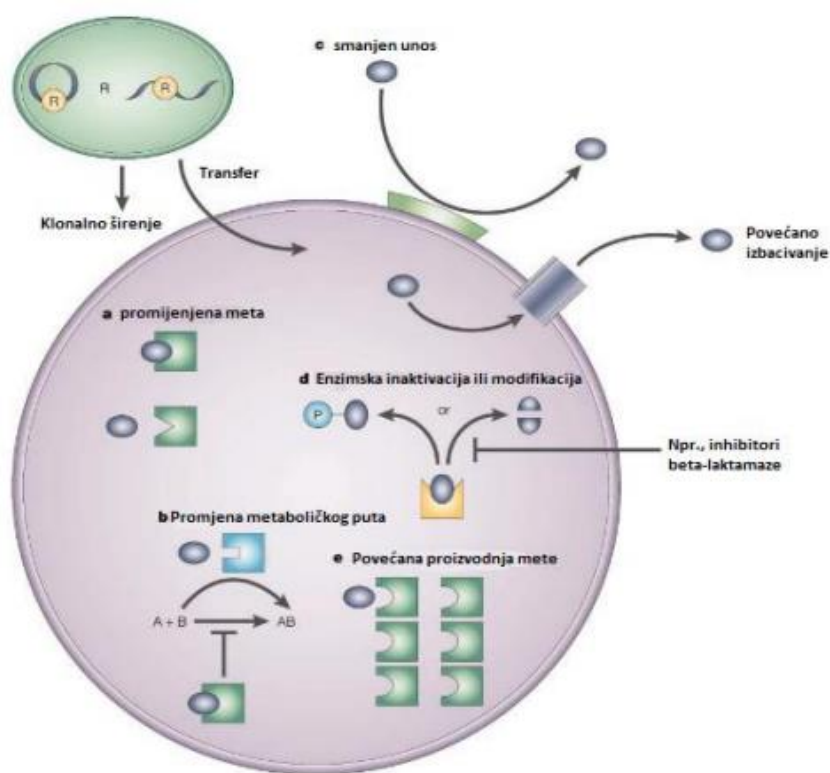
Zbog aktivne uporabe antibiotika za liječenje svih vrsta bakterijskih infekcija došlo je do alarmantnog porasta globalne rezistencije bakterija na antibiotike. Bakterije rezistenciju mogu steći mutacijama nakon kontakta s antibioticima ili prijenosom gena. Abiotička rezistencija može biti urođena (tzv. unutarnji otpor) zbog prisutnosti prirodnih barijera kao kod npr. Gram negativnih bakterija otpornih na penicilin ili vankomicin kod kojih antibiotik ne prolazi kroz vanjsku bakterijsku membranu te rezistencija enterokoka na cefalosporine, koja je rezultat ekspresije proteina niskog afiniteta koji vežu penicilin, ili stečena koja se prenosi horizontalno genima koji se nalaze u plazmidima, transpozonomima i integronima (Bhattacharjee 2016.).

Plazmidi su male kružne molekule izvankromosomske DNK. Brojni plazmidi sadrže gene za rezistenciju na više antibiotika. Transpozoni su mali dijelovi molekule DNK koji se mogu nasumično ugraditi u kromosom ili pak izrezati iz kromosoma i ugraditi na neko drugo mjesto. Ako transpozoni sadrže gen za rezistenciju i ugrade se u određenu regiju kromosoma, doći će do ekspresije tog gena. S druge strane ako transpozon ne sadrži gen za rezistenciju, ali se ugradi u gen koji je neophodan za djelovanje antibiotika, stanica će postati rezistentna. Integroni su, kao i

transpozoni, pokretljivi genetički elementi i mogu sadržavati gene za rezistenciju na velik broj antibiotika (Bhattacharjee 2016.).

Mehanizmi i primjeri djelovanja stečene otpornosti na antibiotike vidljivi su na shematskom prikazu u nastavku (slika 4), tj. oni su:

- Enzimi koji inaktiviraju antibiotike (b-laktamaze, adeniltransferaza itd.)
- Efluksne pumpe koje istiskuju antibiotik iz stanice aktivnim transportom preko proteina koji se nalaze u citoplazmatskoj membrani
- Smanjeni unos lijeka
- Promjena meta ili povećana proizvodnja istih (Faleiro i Miguel 2013.).



Slika 4. Mehanizam djelovanja stečene otpornosti (Izvor: Coates i sur. 2002.).

Zbog porasta monogobrojnih mehanizama rezistencije na antibiotike teži se pronalasku alternativnih rješenja za inhibiciju rasta patogenih mikroorganizama. Činjenica da eterična ulja sadrže stotine različitih spojeva i njihovih mogućih kombinacija, znači da je mikroorganizmima teže razviti rezistenciju. To, dakako, posljedično znači da postoji mogućnost za uporabu eteričnih ulja kao alternativne metode inhibicije rasta patogenih mikroorganizama. Bakterije koje su razvile otpornost na više klasa antibiotika nazivamo višestruko otporne bakterije (eng. *multi drug resistant* (MDRB)) i infekcije ovim bakterijama su izrazito problematične za liječenje. Gadisa i Usman (2021.) proveli su studiju na odabranim vrstama MDR bakterija (eng. *multi drug resistant* tj. višestruko otpornih bakterija), *P. aeruginosa*, *E. coli* i *K. pneumoniae* koje su inhibirane

djelovanjem eteričnih ulja štavolja i kužnjaka. Eterična ulja nisu djelovala na sve vrste jednako te je njihova efikasnost ovisila o dozi i vrsti eteričnog ulja koje se koristilo, kao i količini prisutnih bakterija. Kombinirana tehnika eteričnih ulja i komercijalnih antibiotika (1:1) pokazala je učinkovito baktericidno djelovanje na navedene bakterije (Gadisa i Usman 2021.).

Prema Lister i sur. (2009.) najznačajnije skupine MDR bakterija su:

- Meticilin rezistentni *Staphylococcus aureus* (MRSA) – proizvodi penicilinazu, sojevi rezistentni na azitromicin, klindamicin, ciprofloksacin, gentamicin, rifampicin itd.
- Vankomicin rezistentni *E. faecalis* (VRE)
- Karbapenem rezistentni *Enterobacteriaceae* (CRE)
- *Acinetobacter baumannii* – u membrani sadrži veliki broj efluks pumpi, multirezistentan na cefalosporine, fluorokinolone, tigeciklin i aminoglikozide
- Penicilin-rezistentni *Streptococcus pneumoniae*
- Treće generacije cefalosporina rezistentni *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae* – stvaraju beta-laktamaza proširenog spektra, multirezistentni na aminoglikozide, tetracikline, kloramfenikol i sulfametoksazol + trimetoprim (ESBL ili beta laktamaze proširenog spektra)
- *Pseudomonas aeruginosa* – pokazuje najveću otpornost na fluorokinolone, ciprofloksacin, gentamicin i netilmicin, a 20-35 % sojeva na ciprofloksacin i levofloksacin

4.5. UPORABA ETERIČNIH ULJA KAO KONZERVANSA

Za početak je potrebno objasniti što su uopće konzervansi i kakve vrste razlikujemo. Konzervansi su tvari kojima je glavni cilj inhibicija mikrobnog rasta te produljenje trajanja i očuvanje kvalitete proizvoda. Korišteni konzervansi trebaju biti netoksični, učinkoviti i kompatibilni s ostalim sastojcima kozmetike (ili drugog proizvoda kojeg konzerviraju). Svaki konzervans kao primarnu zadaću ima produljiti trajnost gotovog proizvoda kroz proces otpreme u stajanje na polici u trgovina dok ne dođe u ruke kupca i to bez promjene organoleptičkih osobina, kvalitete i zdravstvene ispravnosti. Najvažnije čimbenik kod biranja vrste konzervansa za proizvod jest širina spektra djelovanja, tj. da može djelovati inhibirajuće na više vrsta mikroorganizama odjednom. U kozmetičkoj industriji koriste se sintetički i prirodni konzervansi. Trenutno najčešće korišteni kozmetički konzervansi su: metilizotiazolinon, jodopropinil butilkarbamat, etilheksilglicerol, metilparaben, etilparaben i fenoksietanol (Wang i sur. 2019.). Dokazani su i negativni učinci nekih konzervansa, primjerice parabena, koji je jedan od uzroka ljudskih reproduktivnih problema zbog svoje estrogenske aktivnosti i poremećaja endokrina. Drugi poznatiji primjer jest natrijev benzoat koji može utjecati na majku i fetus uzrokujući oštećenje DNK i povećanje stvaranja mikronukleusa (Cui i sur. 2020.).

Potražnja za prirodnim spojevima koji mogu djelovati kao konzervansi u kozmetici u stalnom je rastu. U posljednjih 20 godina niz studija, uglavnom potaknutih problemom antibiotske rezistencije mikroorganizama, dokazao je učinkovitost eteričnih ulja i njihovih aktivnih komponenti u inhibiciji mikrobnog rasta (Jong i sur. 2007.). Uporaba prirodnih konzervansa, eteričnih ulja i ekstrakata biljaka, kao alternativa popularnim sintetičkim konzervansima prisutna je u kozmetici zbog njihovih antioksidativnih, protuupalnih, antimikrobnih i antimutagenih svojstava (European Commission 2021.).

Dakako, svi kemijski spojevi unutar eteričnih ulja nemaju jednako antimikrobno djelovanje. Najjače djelovanje pokazuju fenoli, zatim aldehidi, ketoni, alkoholi, eteri i ugljikovodici. Od svih svojstava eteričnih ulja za antimikrobno djelovanje najvažniji su lipofilni karakter njihovog ugljikovodičnog skeleta i hidrofolni karakter funkcionalnih skupina kako bi mogli ući u stanicu mikroorganizama (Patil i sur. 2013.).

Način na koji će eterično ulja antimikrobno djelovati ponajprije ovisi o međuinterakciji komponenti od kojih je sastavljeno. Interakcija između spojeva eteričnih ulja može proizvesti četiri vrste učinka:

- indiferentni – spojevi ne utječu jedan na drugi
- aditivni – kada je zbroj pojedinačnih učinaka jednak zajedničkom učinku
- antagonistički – primjećuje se kada je učinak jednog ili oba spoja manji nego kada se primjenjuju pojedinačno
- sinergijski – učinak kombiniranih tvari je bolji nego zbroj učinaka svake tvari pojedinačno (Chouhan i sur. 2017.).

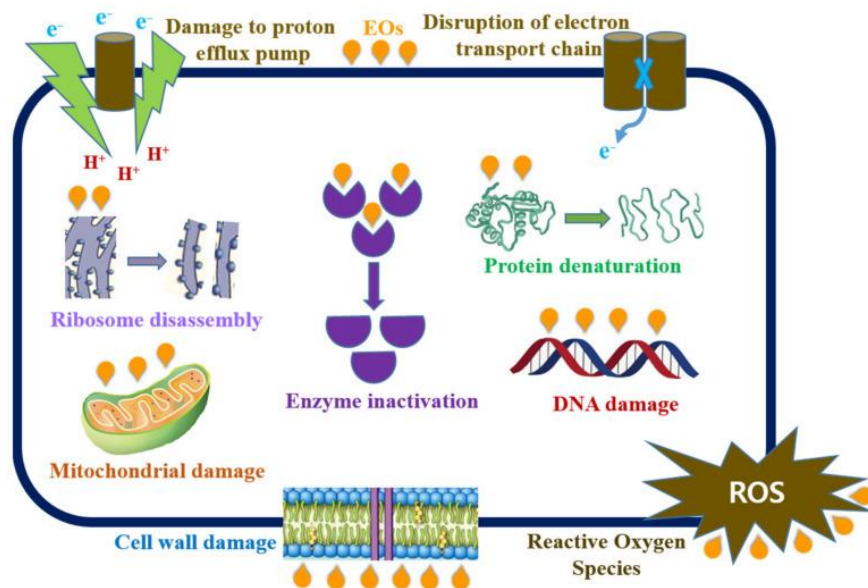
Na djelovanje eteričnih ulja kao konzervansa može djelovati cijeli spektar uvjeta, primjerice sadržaj masti, interakcija terpenoidnih fenola s enzimima te varijabilnosti u sastavu samog proizvoda. Učinkovitost eteričnih ulja kao konzervansa ovisi i o vrsti, rodu, soju i broju ciljanih mikroorganizama te uvjetima okoliša (Macwan i sur. 2016.). Nadalje, uporaba konzervansa, bilo prirodnih ili sintetskih, u bakteriostatskim koncentracijama mogla bi povećati rizik razvitka otpornost. U bakteriostatskim uvjetima, ravnoteža između učinkovitosti konzervansa i sposobnosti rasta bakterija može se lako okrenuti na stranu bakterije zbog njihove velike mogućnosti prilagodbe (Fellenberg i Muller 2021.).

Osim uporabe konzervansa postoje i drugi čimbenici koji utječu na inhibiciju rasta patogena, primjerice reduciranje aktivnosti vode sa solima, poliolima, aminokiselinama itd. te kontroliranje pH izvan uvjeta koji su pogodni za rast mikroorganizama (pH 4,2-7). Kao način obrane od kontaminacije živim patogenima razvijen je različit broj pakiranja, a kao najbolja tj. najmanje izložena pakiranja pokazala su se ona s uskim grlom i pakiranja na pumpice (Halla i sur. 2018.).

5. ANTIMIKROBNI MEHANIZAM DJELOVANJA ETERIČNIH ULJA

Budući da se kemijski sastav eteričnih ulja znatno razlikuje od vrste do vrste, ne postoji jedan specifičan mehanizam djelovanja eteričnih ulja na mikroorganizme. Antimikrobni mehanizmi eteričnih ulja ovise uglavnom o njihovim strukturama, kemijskim sastojcima, funkcionalnim skupinama i vrsti interakcijama između sastojaka. Način na koji će eterično ulje djelovati na patogene određen je nizom biokemijskih procesa u stanici i raznolikosti kemijskih sastojaka (Basavegowda i Baek 2021.). Kao što različiti sastojci eteričnih ulja imaju drugačije djelovanje na mikrobnu stanicu, tako je i tijekom istraživanja načina djelovanja eteričnih ulja na mikroorganizme uočeno različito djelovanje na Gram pozitivne i na Gram negativne stanice. Gram negativne bakterije otpornije su na antibiotike od Gram pozitivnih bakterija zbog svoje dvostruke membrane, a istraživanja su pokazala jednak trend veće otpornosti i na djelovanje eteričnih ulja (Lewis 2013.). Gram negativne bakterije imaju hidrofilne lipopolisaharide u vanjskoj membrani koje stvaraju barijeru ili ograničavaju difuziju makromolekula i hidrofobnih spojeva. Ova karakteristika ujedno otežava ulaz molekula eteričnih ulja koje zbog svoje hidrofobnosti teže ulaze u periplazmatski prostor i inhibiraju stanicu (Hyldgaard i sur. 2012.).

Općenito, eterična ulja djeluju na bakterijsku stanicu tako da se vežu za površinu stanice te prodiru u fosfolipidni dvosloj stanične membrane i oštećujući staničnu stjenku i membranu što rezultira curenjem unutarstaničnog sadržaja, nepovratno oštećenje te, konačno, izaziva i smrt stanice (Štefanac 2018.). Nakon što eterično ulje dođe u kontakt sa staničnom stjenkom ona postaje popusna za protone te dolazi do ometanja sinteze ATP-a i ravnoteže u stanici. Eterična ulja na stanicu patogena mogu djelovati kao blage kiseline jer snižavaju pH stanice propuštanjem protona kroz membranu. Fenol karvakrol, prisutan u eteričnom ulju origana, pokazao se izrazito učinkovit kod poremećaja pH unutar stanice. Naravno, varijacije u djelovanju eteričnih ulja na stanične stjenke može se objasniti raznolikosti eteričnih ulja (Faleiro i Miguel 2013.). Ukratko, možemo sumirati kako eterična ulja inhibiraju stanične cikluse, inhibiraju sintezu proteina, lipida, replikaciju DNK, koagulaciju staničnog sadržaja i blokiranje stvaranje toksina (Štefanac 2018.). Svi navedeni mehanizmi shematski su prikazani na slici 5.



Slika 5. Antimikrobni mehanizam eteričnih ulja (Basavegowda i Baek 2021.).

Bakterije su razvile i sustav međusobne komunikacije između stanica, poznat kao Quorum sensing (QS) koji im omogućava da „izmjenjuju“ informacije putem autoinduktora. Bitni stanični procesi poput odgovora na stres, stvaranja biofilma, smrtnosti stanica i virulencije regulirani su QS-om. Pojedina eterična ulja tj. ono klinčića (*S. aromaticum*), geranije (*Pelargonium graveolens* L'Her), lavande (*L. angustifolia*), ruže (*Rosa*) i ružmarina (*R. officinalis*) ima dokazan anti-QS učinak te je ovo svakako jedno od područja koje ima značajan prosperitet za buduća istraživanja (Faleiro i Miguel 2013.).

Istraživanja su suzila popis eteričnih ulja s najvećim antimikrobnim potencijalom uporabe u kozmetici na nekoliko kandidata, eterična ulja ružmarina (*R. officinalis*), lavande (*L. angustifolia*), čajevca (*M. alternifolia*), timijana (*T. vulgaris*), eukaliptusa (*E. globulus*) i paprene metvice (*M. x piperita*) (Marcia i sur. 2022.). Eterična ulja eukaliptusa (*E. globulus*) i paprene metvice (*M. x piperita*) imaju slabije antimikrobno djelovanje, ali su pokazali aktivnost naspram *S. aureus* i *P. aeruginosa*. Eterično ulje čajevca (*Melaleuca alternifolia*) djeluje antimikrobno prema većini patogena prezentiranih u ovom radu, *S. aureus*, *E. coli*, *C. albicans*, *A. niger* i, posebno zanimljivo, za vrlo otporni *P. aeruginosa*. Ostala eterična ulja djelovala su minimalno na jednu vrstu patogena što je svakako pozitivan rezultat (Herman i sur. 2013.).

Gledajući detaljnije strukturu eteričnih ulja i načine antimikrobnog djelovanja, ključan faktor je omjer aktivnih kemijskih komponenti. Spojevi koji sadrže hidroksilnu skupinu (-OH) izrazito su antimikrobni i učinkovitiji od spojeva s karbonilnom skupinom. Hidroksilna skupina ima sposobnost vezanja za aktivno mjesto na enzimu te mijenjanja njegovog djelovanja. Položaj hidroksilne skupine također utječe na inhibitorna svojstva eteričnog ulja. Alkilna supstitucija (alkan kojem nedostaje jedan H atom) u fenolnom spoju povećava antimikrobno djelovanje (Macwan i sur. 2016.). Kao što je prethodno navedeno, fenoli poput karvakrola, eugenola, linalola i timola

imaju najjače antimikrobno djelovanje (Burt 2004.). Pri nižim koncentracijama fenolni spojevi djeluju na enzime koji sudjeluju u proizvodnji energije za stanicu, a pri višim koncentracijama denaturiraju stanične proteine (Tiwari i sur. 2009.). Spojevi poput cimethnog aldehyda, citrala, timola, triciklena, flavesona, mircena, karvakrola, p-cimena, eugenola, c-terpinena, fenilpropanoide, β -selinena i kalamenina inhibiraju rast i uništavaju biofilmove patogena (Gadisa i sur. 2019.). Česti sastojci raznih eteričnih ulja koja su pokazala baktericidno djelovanje su: eugenol, cimethni aldehyd i karvakrol, dok inhibicijski djeluju timol i (+)-karvon (Ebani i Mancianti 2020.). U tablici 3. prikazani su najpoznatiji kemijski sastojci koji djeluju inhibitorno na mikrobe. Njihova MIC (minimalna inhibitorna koncentracija) prema odabranim bakterijama prikazana je u trećem stupcu u tablici 3.

Tablica 3. Primjer MIC (minimalna inhibitorna koncentracija) najčešćih kemijskih komponenti u *in vitro* testovima na odabranim bakterijama (Izvor: Chouhan i sur. 2017.).

Kemijski sastojak	Vrsta bakterije	MIC (Minimalna inhibitorna koncentracija) / $\mu\text{L}/\text{mL}$
Karvakrol	<i>Escherichia coli</i>	0,225 – 5
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,175 – 0,450
Timol	<i>Escherichia coli</i>	0,225 – 0,45
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0,140 – 0,225
	<i>Bacillus cereus</i>	0,450
Eugenol	<i>Escherichia coli</i>	1,0

Većina istraživanja je pokazala da se između fenola i alkohola najviše javljaju aditivne i sinergističke interakcije. Od svih načina interakcije sastojaka eteričnih ulja prezentiranih ranije u radu, najpoželjnija je sinergija između sastojaka. Jedan od boljih primjera sinergije jest ona između karvakrola i p-cimena koji ima slaba antimikrobna svojstva te olakšava ulaz karvakrola u stanicu bubrenjem stjenke *B. cereus* (Ultee i sur. 2000.). Timol i karvakrol mogu djelovati sinergički i antagonistički, ovisno o tome u kojim eteričnim uljima se nalaze prema *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp., *Bacillus* spp. i *Enterobacter* spp. Također kombinacija karvakrola i eugenola djeluje sinergički i antagonistički prema *E. coli*, *S. aureus* i *B. cereus* (Bassolé i Juliani 2012.). Primjena enzima s karvakrolom i/ili timolom imala je dobar inhibitorni učinak na *B. cereus*, dok je primjena s eteričnim uljem ružmarina (*R. officinalis*) potakla njegovo baktericidno djelovanje. Karvakrol i/ili timol također djeluju sinergijski s cinamaldehydima stvarajući pore na membranama stanice koje olakšavaju ulaz eteričnog ulja (Shaaban 2020.). Sinergija eteričnog ulja timijana (*T. vulgaris*) i antibiotika ima antimikrobni efekt na sljedeće bakterije: *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. te *Klebsiella pneumoniae*. Također je sinergija eteričnog ulja timijana (*T. vulgaris*) s eteričnim uljem origana (*O. vulgare*) i ružmarina (*R. officinalis*) učinkovito su inhibirala rast vrsta *Bacillus*

cereus, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* i *Listeria monocytogenes* (Macwan i sur. 2016.). Ako se primjenjuje zasebno, utjecaj eteričnog ulja timijana (*T. vulgaris*) na Gram-pozitivne bakterije jači je nego na Gram-negativne, a prvenstveno djeluju na efluks pumpu i strukturu lipopolisaharida (Fadli i sur. 2012.). Kombinacija eteričnih ulja klinčića (*S. aromaticum*) i ružmarina (*R. officinalis*) proizvela je inhibitorski učinak prema Gram-pozitivnim i Gram-negativnim bakterijama, odnosno prema *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* i *Proteus aeruginosa* (Faleiro 2011.). U radu Bozin i sur. (2016.) istraživalo se djelovanje eteričnog ulja timijana (*T. vulgaris*) i origana (*O. vulgare*) dobivenih vodenom destilacijom (20 i 50 %) na višestruko otporne bakterije *P. aeruginosa* i *E. coli*. Zabilježeno je antibakterijsko djelovanje eteričnih ulja pri kojem je inhibicijska zona eteričnog ulja timijana (*T. vulgaris*) za *P. aeruginosa* bila u rasponu 12.0 ± 1.41 do 12.2 ± 0.45 , dok je za *E. coli* iznosila 21.0 ± 1.00 do 29.4 ± 0.89 . Eterično ulje origana (*O. vulgare*) stvorilo je inhibicijsku zonu kod *P. aeruginosa* u rasponu između 14.2 ± 0.45 do 20.0 ± 0.71 , a kod *E. coli* 28.0 ± 1.87 do 50.0 ± 0.71 .

Kombinacija eteričnih ulja eukaliptusa (*E. globulus*) i paprene metvice (*M. x piperita*) povećava efikasnost djelovanja metilparabena i propilparabena prema *P. aeruginosa*, a ista studija dokazala je da je kombinacija eteričnog ulja ružmarina (*R. officinalis*), paprene metvice (*M. x piperita*) i origana (*O. vulgare*) povećala aktivnost diazolidinil uree koja se koristi kao česti konzervans u kozmetici (Patrone i sur. 2010.). Slično povećanje efikasnosti uočeno je i kod eteričnog ulja limuna (*C. limon* L.) i čajevca (*M. alternifolia*) koja su učinkovitija prema *P. aeruginosa* u kombinaciji s *L. officinalis* i/ili sintetičkim konzervansima (Kunicka-Styczyńska i sur. 2011.). Eterično ulje ruže (*Rosa*) je na *in vitro* istraživanjima pokazalo antimikrobno djelovanje prema *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* i *S. aureus* s MIC već od $0,25 \mu\text{L/mL}$ (Ulusoy i sur. 2009.).

Eterična ulja klinčića (*S. aromaticum*) i cimeta (*C. varum*) dobivena destilacijom vodenom parom sadrže eugenol koji djeluje bakteriostatično i baktericidno na stanice *E. coli* i *K. pneumoniae* stvaranjem perforacija u membrani bakterija. Eterično ulje klinčića (*S. aromaticum*) (40 %, 20 % i 10 %) bilo je učinkovito protiv *E. coli*, *K. pneumoniae* i ESBL (beta laktamaze proširenog spektra) *E. coli* s inhibicijskim zonama od 15.0 ± 1.00 do 24.3 ± 0.57 mm. Eterično ulje cimeta (*C. varum*) (koncentracije 40 %, 20 % i 10 %) aktivno je protiv istih bakterija s rasponom zone inhibicije od 15.6 ± 2.08 do 25.3 ± 0.57 mm. Također na *E. coli* inhibitorno djeluju ulja paprene metvice (*M. x piperita*), bosiljka (*Ocimum basilicum* L.), origana (*O. vulgare*) itd. (Ginting i sur. 2021.). Eugenol i cimetni aldehid, koji se nalaze u sastavu raznih vrsta eteričnih ulja, djeluju inhibitorno i na Gram pozitivne bakterije. Eugenol je pokazao inhibitorno djelovanje prema vrstama *L. monocytogenes* i *L. sakei*, dok je cimetni aldehid inhibirao rast *L. monocytogenes* (Gill i Holley 2006.).

Nakon tretmana s eteričnim uljem origana (*O. vulgare*) i klinčića (*S. aromaticum*), višestruko rezistentne Gram pozitivne i Gram negativne bakterije pokazuju različite vrste ozljeda na površini stanice. Tako su, primjerice, kod bakterija *E. coli* nakon izlaganja eteričnim uljima, evidentirane perforacije na površini stanice, dok je istovremeno bakterija *B. subtilis* pokazala samo malformaciju stanične površine što je potvrda da ista ulja djeluju različito na različite

mikroorganizme (Chouhan i sur. 2017.). Nadalje, kao primjer možemo navesti i višestruko rezistentnu *S. aureus* koja kod djelovanja eteričnih ulja prelazi u fiziološko stanje smanjenog transporta hranjive tvari i usporenog staničnog disanja i biosinteze (Hyltdgaard i sur. 2012.). U takvom stanju patogen ne raste niti se razmnožava, ali može dugo preživjeti i kada dođe u okoliš gdje su mu povoljni uvjeti za rast može ponovno izazvati infekciju. Stoga treba imati na umu da kontakt s eteričnim uljem može aktivirati navedeno stanje kod patogena što predstavlja značajan problem za kozmetičku i prehrambenu industriju te zdravstvo. Ulja origana (*O. vulgare*) i cimeta (*C. varum*) zabilježeno uzrokuju intracitoplazmatske promjene na MDRB *E. coli* i *S. aureus* (Faleiro i Miguel 2013.). Još jedan način djelovanja eteričnih ulja na stanice MDRB je poremećaj u sintezi proteina. Prema jednoj od studija (Burt i sur. 2007.) stanice *E. coli* tretirane karvakrolom doživjele su temperaturni šok te se sinteza proteina flagelina, koji je zaslužan za gibanje stanice, blokira i stanice postaju nepomične. Mnogi autor navode da se korištena sintetskih konzervansa može uvelike smanjiti ako se kombiniraju s eteričnim uljima. Takav način kombiniranja konzervansa svakako bi smanjio udio sastojaka kozmetičkom proizvodu koji izazivaju alergije kod dijela potrošača (Dreger i Wielgus 2013.). Ovim pregledom radova možemo zaključiti da kombinacija eteričnih ulja sa sintetičkim konzervansima, aditivima i/ili drugim eteričnim uljima povećava antimikrobnu aktivnost, čak i do razina da utječu na mikroorganizme koji su inače otporni na tradicionalne konzervanse i različite antibiotike (Marcia i sur. 2022.).

Utjecaj eteričnih ulja zabilježen je i prema patogenim gljivama. Micelij koji je inače mekan i elastičan, očvrstne i postane lomljiv, s izbočinama poput vezikula. Može doći do pojačanog granjanja hife i varijacija u njezinu promjeru (Bozin i sur. 2006.). Isto tako, pojavljuju se poremećaji unutar sustava gljivičnih stanica. Dolazi do inhibicije aktivnosti sinteze ergosterola, malat dehidrogenaze, mitohondrijske ATPaze i sukcinat dehidrogenaze što se povezuje s antifungalnim djelovanjem eteričnog ulja dobivenog iz kurkume (*C. longa*) protiv *A. flavus* (Hua i sur. 2017.). Također, uočeno je i fungicidno djelovanje eteričnih ulja prema *C. albicans* (Bozin i sur. 2006.). Eterična ulja cimeta (*C. varum*), papra (*P. nigrum*) i mrkve (*D. carota*) pokazala su jače djelovanje na gljivice nego na bakterije (Kalemba i Kunicka 2003.).

Budući da je većina istraživanja bazirana na kulturama stanica u kontroliranim uvjetima ne može se sa sigurnošću potvrditi hoće li ovi rezultati biti jednaki u „stvarnoj“ kozmetičkoj primjeni (Herman i sur. 2013.). Budući da proizvod ima varijabilan kemijski sastav, konzervansna aktivnost eteričnog ulja također će biti različita. Djelovanje proizvoda na kemijski sastav eteričnog ulja može biti pozitivan i negativan te će njegovo djelovanje biti rezultat sinergističkog i antagonističkog djelovanja aktivnih komponenti (Kunicka-Styczyńska i sur. 2011.). Studija Hermana i sur. (2018.) dobar je primjer analiziranja razlike u rezultatima *in vivo* i *in vitro*. Rezultati antimikrobne aktivnosti eteričnog ulja lavande (*L. angustifolia*), paprene metvice (*M. x piperita*) i cimeta (*C. varum*) pokazali su se, zbog interakcija između kemijskih sastojaka, učinkovitiji prema mikroorganizmima testiranim *in vitro*, nego u kozmetičkoj emulziji. S druge strane imamo pozitivne interakcije s drugim komponentama u formulaciji kozmetičkih proizvoda. Kunicka-Styczyńska i sur. (2011.) uočili su da kombinacija eteričnih ulja čajevca (*M. alternifolia*), lavande (*L. angustifolia*) i citrusa (*Citrus* sp.) s emulgatorom i stabilizatorom solubilizirajućim

polisorbatom-80, povećava inhibitornu aktivnost eteričnih ulja. Konačno, možemo zaključiti da ne možemo unaprijed znati koliko će pojedino eterično ulje efikasno djelovati. Ova činjenica predstavlja otežavajući aspekt za njihovo buduće korištenje, no očekuje se da će se provođenjem više *in vivo* studija potvrditi značajna učinkovitost eteričnih ulja kao konzervansa u kozmetičkim (i drugim) proizvodima, tijekom proizvodnje i skladištenja ili tijekom konačne primjene (Marcia i sur. 2022.).

6. ZAKONSKE REGULATIVE U RH

Da bi se neki kozmetički proizvod plasirao na tržište potrebno je da usklađen prema nizu regulativa koje Europska unija i Republika Hrvatska zahtijevaju. Načini proizvodnje kozmetičkih proizvoda u Hrvatskoj regulirani su „Zakonom o predmetima opće uporabe“ („Narodne novine“, br. 39/13, 47/14 i 114/18), „Pravilnikom o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe“ („Narodne novine“, br. 80/18) i primjenom norme „HRN EN ISO 22716:2008 Kozmetika – Dobra proizvođačka praksa (DPP) – Smjernice za dobru proizvođačku praksu (Norma ISO 22716.)“.

6.1. Zakon o predmetima opće uporabe

Prema „Zakonu o predmetima opće uporabe“ (NN 39/13, 47/14, 114/18, 53/22) „*Predmeti opće uporabe* su materijali i predmeti koji dolaze u neposredan dodir s hranom i predmeti široke potrošnje“ (igračke, ambalaža, posuđe, kozmetika, duhan, deterdženti, predmeti za ukrašavanje tijela). Člankom 4. navedeno je da se „na tržište smije staviti samo zdravstveno ispravan, odnosno sukladan predmet opće uporabe, tj. ispravan glede senzoričkih svojstava, vrste i sadržaja štetnih tvari, obavijesti o proizvodu, sastava i mikrobiološke ispravnosti tamo gdje je potrebno i koji ne može prouzročiti štetne utjecaje na zdravlje ljudi i okoliš, a sve sukladno ovome Zakonu i propisima donesenim na temelju ovoga Zakona“. Isti Zakon regulira da je „Zabranjeno reklamirati proizvode na način koji bi potrošače mogao dovesti u zabludu glede stvarnog sastava, svojstva i namjene predmeta opće uporabe“.

Pri stavljanju natpisa na pakiranja, deklaracije ili reklamiranja proizvoda nikako se ne smije isticati da proizvod ima terapijska svojstva jer time proizvod pravno definirano postaje lijek ili tradicionalni biljni lijek (fitoterapeutski pripravak). Za registraciju takvih proizvoda zadužena je „Agencija za lijekove i medicinske proizvode“ (HALMED) („Zakon o predmetima opće uporabe, NN 39/13, 47/14, 114/18, 53/22.“).

6.2. Pravilnik o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe

„Ovim se Pravilnikom propisuju sanitarno-tehnički i higijenski uvjeti objekata, prostorija i postrojenja te drugi posebni uvjeti koje moraju ispunjavati subjekti u poslovanju s predmetima opće uporabe za obavljanje djelatnosti proizvodnje i stavljanja na tržište predmeta opće uporabe. Ovaj se Pravilnik primjenjuje na sve faze proizvodnje i stavljanja na tržište predmeta opće uporabe“. Nadalje, potrebno je osigurati odvojene prostorije za „proizvodnju, skladištenje sirovina, skladištenje ambalaže, skladištenje gotovih proizvoda, radnike te pripremu, završnu obradu i pakiranje proizvoda kako bi se održali što viši standardi higijene i spriječile križne kontaminacije.“ Pravilnikom su regulirani i sami prostori za proizvodnju, tj. oni nikako „ne smiju biti u stambenim

zgradama, štetno djelovati na zdravlje okolnog stanovništva te sa svojim otpadom moraju postupati na ekološki prihvatljiv način, koji je definiram drugim pravilnicima“ („Pravilnik o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe, NN 80/2018-1614.“).

6.3. Norma HRN EN ISO 22716:2008

„Norma HRN EN ISO 22716:2008“ već se nalazi unutar zakonodavstva Republike Hrvatske. Certificirana tijela od Hrvatskog zavoda za norme mogu preuzeti normu prema kojoj mogu certificirati proizvode koji odgovaraju svim smjernicama unutar iste. Norma sadrži smjernice koje govore o tome na koji bi se način kozmetički proizvodi trebali proizvoditi, kontrolirati, skladištiti i otpremati. Uz dio koji se bavi proizvodima, norma sadrži i smjernice za održavanje prostora, opreme i posebno ističe važnost educiranja osoblja (Hrvatski zavod za norme 2021.).

6.4. EU Uredba o kozmetičkim proizvodima

Unutar Zakona i Pravilnika utvrđena je i provedba uredbi raznih akata Europske unije od kojih je za kozmetiku specifično vezana „Uredba (EZ) br. 1223/2009“ o kozmetičkim proizvodima koja propisuje da se za „sve kozmetičke proizvode mora izraditi Izvješće o sigurnosti kozmetičkog proizvoda (*Cosmetic Product Safety Report*), koje se sastoji od podataka o sigurnosti kozmetičkih proizvoda (podaci o sastavu proizvoda, fizikalno-kemijski podaci, mikrobiološka čistoća, procjena mikrobiološke stabilnosti, toksikološki profil i dr.) i Procjene sigurnosti (*Safety assessment*).“ Za procjenu sigurnosti, procjenitelj sigurnosti kozmetičkih proizvoda ili Hrvatski zavod za javno zdravstvo (HZJZ) propisuju laboratorijske testove za određeni proizvod ovisno o njegovom sastavu i namjeni. Kontrola kvalitete gotovih proizvoda osigurava se analizom u akreditiranom laboratoriju. Kriteriji i granične vrijednosti jasno su definirane i prema njima se ocjenjuje senzorika, mikrobiološka čistoća, pH i sadržaji teških metala. Ako nakon analize dio proizvoda ne odgovara zadanim vrijednostima potrebno je utvrditi koji je razlog odstupanja kako bi se mogao ukloniti rizik kod sljedeće proizvodnje te je potrebno proizvod propisano zbrinuti u otpad (Uredba (EZ) br. 1223/2009.).

Kao što definira i sama Uredba glavni cilj dokumenta jest „pojednostaviti način izrade, uskladiti terminologiju te aktivnije kontrolirati cijeli proizvodni proces kozmetike od sirovina do finalnog proizvoda s ciljem postizanja visoke razine zaštite zdravlja ljudi i uspostaviti zajedničko tržište kozmetičkih proizvoda.“ Problemi vezani uz okoliš koji mogu nastati zbog tvari upotrjebljenih u kozmetičkim proizvodima, rješavaju se primjenom „Uredbe o registraciji, evaluaciji, autorizaciji i ograničavanju kemikalija (REACH)“, a jednako su tako regulirani i osnivanjem „Europske agencije za kemijske tvari“, koja je omogućila međusektorsko ocjenjivanje sigurnosti za okoliš. Važno je istaknuti da Uredba regulira samo kozmetičke proizvode te se ne odnosi na „lijekove, medicinske proizvode i biocidne proizvode“ („Uredba (EZ) br. 1223/2009.“).

Na razini EU postoje i preporučene granice prisutnih mikroorganizama u kozmetici koje se mogu pronaći u smjernicama SCCS-a (*Scientific Committee on Consumer Safety*). Kozmetički proizvodi su podijeljeni u dvije skupine:

1. kozmetički proizvodi namijenjeni djeci do tri godine te proizvodi za korištenje na očnom području i sluznicama
2. ostali kozmetički proizvodi (Uredba (EZ) br. 1223/2009.).

Prema toj kategorizaciji donesena je odluka da broj živih aerobnih mezofilnih bakterija u prvoj skupini ne smije prelaziti 10^2 CFU/g i 10^2 CFU/ml pakiranog proizvoda. Za drugu kategoriju granice su neznatno više i iznose 10^3 CFU/g i 10^3 CFU/ml proizvoda. Od ovih su granica izuzeti *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* i *Candida albicans* koji se smatraju glavnim patogenima u kozmetici te ne smiju biti prisutni u 0,1g i 0,1ml proizvoda u prvoj skupini niti 1g i 1ml u drugoj skupini (Bernauer i sur. 2016.).

Od eteričnih ulja u Uredbi se pod popisom tvari koje su zabranjene u kozmetičkim proizvodima navode eterična ulja somine (*Juniperus sabina* L.) i mirisne lobode (*Dysphania ambrosioides* L.) (Uredba (EZ) br. 1223/2009.).

Sva eterična ulja koja se planiraju koristiti u proizvodnji kozmetike ili kao sirovina za kemikaliju trebaju se registrirati i pribaviti potrebu dokumentaciju od „Hrvatskog zavoda za javno zdravstvo“ (HZJZ):

1. „Sigurnosno-tehnički list (STL) za kemikalije – Mora biti odobren od strane Zavoda za toksikologiju pri HZJZ prije stavljanja eteričnog ulja na tržište (Zakon o kemikalijama, Narodne novine br. 37/20). Ukoliko se eterična ulja ne bi razvrstala kao opasne kemikalije potrebno je uskladiti deklaraciju s člankom 6. Zakona o zaštiti potrošača“ („Narodne novine, br. 41/14 i 110/15“);
2. „Deklaracija u skladu sa zakonskim zahtjevima“;
3. „Testiranje alergena (*screening alergena*) koji, između ostaloga, definira glavne alergene“;
4. „Određivanje sastavnice eteričnog ulja pomoću plinskog kromatografa/spektrometra masa (GC/MS analiza)“;
5. „Norma za utvrđivanje kvalitete eteričnih ulja propisana Europskom farmakopejom (opće monografije za ispitivanje kvalitete i zahtjeve za kakvoću eteričnih ulja)“ (Krapljan, Magdić 2022.).

Kod zakonodavstva kozmetike postoji dokument koji je priznaje kozmetička industrija, a tiče se specifično prirodne/ekološki proizvedene kozmetike. Riječ je o COSMOS standardu koji se provodi od 2016. godine. Kozmetika može imati oznaku Cosmos Natural u kojoj ekološko podrijetlo sastojaka nije obavezno, ali ako se u njoj pojavljuju trebaju biti iskazani u postocima (%) na poleđini pakiranja. Također postoje i proizvodi s oznakom Cosmos Organic koja mora biti izrađena od najmanje 95 % sastojaka ekološkog podrijetla što istodobno čini 20 % finalnog proizvoda (Bernauer i sur. 2016.).

7. ZAKLJUČAK

Na temelju pregleda ključne literature i niza podataka iznesenih u ovome radu, možemo zaključiti kako su eterična ulja obećavajući prirodni alat za borbu protiv patogenih mikroorganizama, primjenjena samostalno ili u kombinaciji s drugim eteričnim uljima, sintetičkim konzervansima ili aditivima. Eterična ulja pokazala su se i kao dobro sredstvo u borbi protiv patogenih bakterija otpornih na jednu ili više klasa antibiotika, a koje predstavljaju rastući i alarmantan problem svuda u svijetu. Potencijal primjene eteričnih ulja širok je i raznovrstan. Svoju primjenu eterična ulja su našla (ili će tek naći) u raznim poljima, od prehrambene industrije preko medicine i poljoprivrede pa sve do, dakako, kozmetičke industrije. S rastom potražnje i popularnosti prirodne kozmetike postoji sve izraženiji interes za pronalaženjem i primjenom što prirodnijih sastojaka koji bi bili implementirani u konačni proizvod i inhibirali mikroorganizme koji izazivaju kvarenje i/ili koji mogu naštetiti ljudskom zdravlju. Ovaj je trend, dakako, pozitivan, jer znači da se interes za eterična ulja, kao i interes za financiranje i provedbu istraživanja potencijala njihove primjene, povećava.

Ipak, treba istaknuti kako dostupna relevantna literatura uglavnom opisuje *in vitro* istraživanja. Iako su rezultati *in vitro* studija na kozmetičkim proizvodima pokazali antimikrobno djelovanje na široki spektar mikroorganizama, istraživačima sada predstoji sustavnija provedba *in vivo* istraživanja. Trenutno ne postoje standardizirane metode pomoću kojih bi se moglo doći do konačnog zaključka o djelovanju eteričnih ulja na sve mikroorganizme te je stoga potrebno provesti dodatna istraživanja, no dosadašnji rezultati svakako su ohrabrujući i poticajni. Stoga možemo zaključiti kako je proizvodnja prirodne kozmetike uz uporabu prirodnih konzervansa poput eteričnih ulja svakako nešto čemu bismo trebali težiti, budući da sa sobom donosi niz koristi, kako za krajnjeg konzumenta, tako i za naš planet.

8. LITERATURA

1. Aburjai T., Natsheh F.M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytother Res.* 17(9): 987-1000. doi: 10.1002/ptr.1363.
2. Aziz Z.A.A., Ahmad A., Setapar S.H.M., Karakucuk A., Azim M.M., Lokhat D., Rafatullah M., Ganash M., Kamal M.A., Ashraf G.M. (2018). Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential – A Review. *Curr Drug Metab.* 19(13): 1100-1110. doi: 10.2174/1389200219666180723144850.
3. Bajalan I., Rouzbahani R., Pirbalouti A.G., Maggi F. (2017). Antioxidant and antibacterial activities of the essential oils obtained from seven Iranian populations of *Rosmarinus officinalis*. *Ind. Crops Prod.* 107: 305–311. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.05.063.
4. Basavegowda N., Baek K.H. (2021). Synergistic Antioxidant and Antibacterial Advantages of Essential Oils for Food Packaging Applications. *Biomolecules.* 11(9): 1267. doi: 10.3390/biom11091267.
5. Bassolé I.H., Juliani H.R. (2012). Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules.* 17(4): 3989-4006. doi: 10.3390/molecules17043989.
6. Bernauer U., Chaudhry Q., Coenraads P.J., Degen G.H., Dusinska M. Lilienblum W., Nielsen E., Platzeck T. Rousselle C., van Benthem J. (2016). Revision of the SCCS Notes of Guidance for the Testing of Cosmetic Ingredients and their Safety Evaluation. Deveto izdanje. European Commission.
https://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_o_190.pdf – pristup 04.07.2022.
7. Bhadra P., Parida S. (2011). *Aromatherapy and Its Benefits*. Renu Publishing. New Delhi.
8. Blažević I. (2009). Slobodni, glukozinolatno i glikozidno vezani hlapljivi spojevi biljaka porodice Brassicaceae. Doktorski rad. Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno matematički fakultet. Zagreb.
9. Bozin B., Mimica-Dukic N., Simin N., Anackov G. Characterization of the volatile composition of essential oils of some lamiaceae spices and the antimicrobial and antioxidant activities of the entire oils. *J Agric Food Chem.* 54(5):1822-1888. doi: 10.1021/jf051922u.
10. Burt S.A., van der Zee R., Koets A.P., de Graaff A.M., van Knapen F., Gaastra W., Haagsman H.P., Veldhuizen E.J. (2007). Carvacrol induces heat shock protein 60 and inhibits synthesis of flagellin in *Escherichia coli* O157:H7. *Appl Environ Microbiol.* 73(14): 4484-4490. doi: 10.1128/AEM.00340-07.

11. Carson C.F., Hammer K.A., Riley T.V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) Oil: a Review of Antimicrobial and Other Medicinal Properties. *Clinical Microbiology Reviews*. 19(1): 50-62. doi: 10.1128/CMR.19.1.50-62.2006.
12. Chen Q. (2009). Evaluate the Effectiveness of the Natural Cosmetic Product Compared to Chemical-Based Products. *International Journal of Chemistry*. 1(2): 57-59. doi: 10.5539/ijc.v1n2p57.
13. Cheung C., Hotchkiss S.A., Pease C.K. (2003). Cinnamic compound metabolism in human skin and the role metabolism may play in determining relative sensitisation potency. *J Dermatol Sci*. 31(1): 9-19. doi: 10.1016/s0923-1811(02)00139-1.
14. Chouhan S., Sharma K., Guleria S. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils- Present Status and Future Perspectives. *Medicines (Basel)*. 8/4(3): 58. doi: 10.3390/medicines4030058.
15. Coates A., Hu Y., Bax R. Page C. (2002). The future challenges facing the development of new antimicrobial drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 1(11): 895-910. doi: 10.1038/nrd940.
16. Cui S.M., Li T., Wang Q., Ke He K., Mei Zheng Y., Yun Liang H., Ya Song L. (2020). Antibacterial Effects of *Schisandra chinensis* Extract on *Escherichia coli* and its Applications in Cosmetic. *Curr Microbiol*. 77: 865-874. doi: 10.1007/s00284-019-01813-6.
17. Cutillas A.B., Carrasco A., Martinez-Gutierrez R., Tomas V., Tudela J. (2017). *Salvia officinalis* L. Essential Oil from Spain: Determination of Composition, Antioxidant Capacity, Antienzymatic and Antimicrobial Bioactivities. *Chem. Biodivers*. 14(8). doi: 10.1002/cbdv.201700102.
18. Čerić J. (2016). *Kemijski sastav i antimikrobno djelovanje eteričnih ulja biljnih vrsta iz rodova Salvia L. i Thymus L.* Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet. Zagreb.
19. D'Amato S., Serio A., Lopez C. C., Paparella A. (2018). Hydrosols: Biological activity and potential as antimicrobials for food applications. *Food Control*. 86: 126-137. doi: 10.1016/j.foodcont.2017.10.030.
20. De Groot A.C., Schmidt E. (2016). *Essential Oils: Contact Allergy and Chemical Composition*. CRC Press. Boca Raton (FL).
21. de Oliveira J.F., Zenaide-Neto H., de Sousa A.C.B., Arruda R.R.A., Vasconcelos U. (2020). Presence of Filamentous Fungi in Powder And Semiaqueous Makeup. *Brazilian Journal of Development*. 6(7): 54029-54039. doi: 10.34117/bjdv6n7-884.
22. Dobler D., Schmidts T., Wildenhain S., Seewald I., Merzhäuser M., Runkel F. (2019). Impact of Selected Cosmetic Ingredients on Common Microorganisms of Healthy Human Skin. *Cosmetics*. 6(3): 1-13. doi: 10.3390/cosmetics6030045.

23. Dreger M., Wielgus K. (2013). Application of essential oils as natural cosmetic preservatives. *Herba Polonica*. 59(4): 142-156.
24. Ebani V.V., Mancianti F. (2020). Use of Essential Oils in Veterinary Medicine to Combat Bacterial and Fungal Infections. *Vet Sci*. 7(4): 1-35. doi: 10.3390/vetsci7040193
25. Edwards S.M., Megantara I., Dwiyana R.F. (2015). Detection of fungi in hair-brushes in beauty salons at Jatinangor. *Althea Med J*. 2(4): 516–520.
26. European Commission (2002). Opinion of the Scientific Committee on Food on pulegone and menthofuran. ec.europa.eu. https://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out133_en.pdf.
27. European Commission (2021). Preservatives. ec.europa.eu. https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/cosmetic-products-specific-topics/preservatives_en – pristup 04.07.2022.
28. Fadli M., Saad A., Sayadi, S. (2012). Antibacterial activity of *Thymus maroccanus* and *Thymus broussonetii* essential oils against nosocomial infection – bacteria and their synergistic potential with antibiotics. *Phytomedicine*. 19(5): 464-471. doi: 10.1016/j.phymed.2011.12.003.
29. Faleiro M.L. (2011). The Mode of Antibacterial Action of Essential Oils. U: *Science against Microbial Pathogens: Communicating Current Research and Technological Advances* (Ur. Mendez-Vilas A.). Formatex Research Center. Badajoz. 1143-1156.
30. Faleiro M.L., Miguel M.G. (2013). Use of Essential Oils and Their Components against Multidrug-Resistant Bacteria. U: *Fighting Multidrug Resistance with Herbal Extracts, Essential Oils and Their Components* (Ur. Faleiro M.L., Miguel M.G.). Elsevier Science Publishing Co Inc. San Diego. 65-94.
31. Fellenberg B., Muller L-A. (2021). Microorganisms in cosmetics and raw materials. *Euro Cosmetis*. 5/6: 14-17.
32. Ferenčić D., Gluhic D., Dudaš S. (2016). Eterična ulja i nusproizvodi kore mandarine (*Citrus reticulata* Blanco). *Glasnik Zaštite Bilja*. 39(5): 44-49.
33. Fukada M., Kano E., Miyoshi M., Komaki R., Watanabe T. (2012). Effect of “Rose Essential Oil” Inhalation on Stress-Induced Skin-Barrier Disruption in Rats and Humans. *Chemical Senses*. 37(4): 347-356. doi: 10.1093/chemse/bjr108.
34. Gadisa E. Usman H. (2021). Evaluation of Antibacterial Activity of Essential Oils and Their Combination against Multidrug-Resistant Bacteria Isolated from Skin Ulcer. *International Journal of Microbiology*. 1-8. doi: 10.1155/2021/6680668.
35. Gadisa E., Weldearegay G., Desta K., Tsegaye G., Hailu S., Jote K., Takele A. (2019). Combined antibacterial effect of essential oils from three most commonly used Ethiopian

traditional medicinal plants on multidrug resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 19(24): 1-9. doi: 10.1186/s12906-019-2429-4.

36. Ganesan N.G., Rangarajan V. (2021). A kinetics study on surfactin production from *Bacillus subtilis* MTCC 2415 for application in green cosmetics. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 33. doi: 10.1016/j.bcab.2021.102001.
37. Gaspar L.R., Camargo Jr. F.B., Gianeti M.D., Maia Campos P.M.B.G. (2008). Evaluation of dermatological effects of cosmetic formulations containing *Saccharomyces cerevisiae* extract and vitamins. *Food and Chemical Toxicology*. 46(11): 3493-3500. doi: 10.1016/j.fct.2008.08.028.
38. Geis P.A. (2006). Preservation strategies. U: *Cosmetic Microbiology: A Practical Approach* (Ur. Geis P.A.). 2. izdanje. CRC Press, Taylor & Francis. New York. 163-181.
39. Gill A.O., Holley R.A. (2006). Disruption of *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Lactobacillus sakei* cellular membranes by plant oil aromatics. *Int J Food Microbiol*. 108(1): 1-9. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2005.10.009.
40. Ginting E.V., Retnaningrum E., Widiasih D.A. (2021). Antibacterial activity of clove (*Syzygium aromaticum*) and cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) essential oil against extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria. *Vet World*. 14(8): 2206-2211. doi: 10.14202/vetworld.2021.2206-2211.
41. Graham P.H., Browne L., Cox H., Graham J. (2003). Inhalation Aromatherapy During Radiotherapy: Results of a Placebo-Controlled Double-Blind Randomized Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 21(12): 2372-2376.
42. Guenther E. (1948). *The Essential Oils*. Sv. 1, History – Origin in plants production – Analysis. D. Van Nostrand Company, Inc. Toronto, New York, London.
43. Halla N., Fernandes I.P., Heleno S.A., Costa P., Boucherit-Otmani Z., Boucherit K., Rodrigues A.E., Ferreira I.C.F.R., Barreiro M.F. (2018). Cosmetics Preservation: A Review on Present Strategies. *Molecules*. 23(7): 1-41. doi: 10.3390/molecules23071571.
44. Herman A., Herman A.P., Domagalska B.W., Młynarczyk A. (2013). Essential oils and herbal extracts as antimicrobial agents in cosmetic emulsion. *Indian J Microbiol*. 53(2): 232-237. doi: 10.1007/s12088-012-0329-0.
45. Hrvatski zavod za norme (2021). Objavljena norma o smjernicama za dobru proizvođačku praksu iz područja kozmetike na hrvatskome jeziku. hzn.hr. <https://www.hzn.hr/print.aspx?id=1952> – pristup 04.07.2022.

46. Hua Y., Zhang J., Kong W., Zhao G., Yang M. (2017). Mechanisms of antifungal and anti-aflatoxigenic properties of essential oil derived from turmeric (*Curcuma longa* L.) on *Aspergillus flavus*. *Food Chem.* 220: 1-8. doi: 10.1016/j.foodchem.2016.09.179.
47. Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R.L. (2012). Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology.* 3(12): 1-24. doi: 10.3389/fmicb.2012.00012.
48. Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R.L. (2012). Essential oils in food preservation: Mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Front. Microbiol.* 3: 12. doi: 10.3389/fmicb.2012.00012.
49. Jabra-Rizk M.A., Meiller T.F., James C.E., Shirliff M.E. (2006). Effect of Farnesol on *Staphylococcus aureus* Biofilm Formation and Antimicrobial Susceptibility. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy.* 50(4): 1463-1469. doi: 10.1128/AAC.50.4.1463-1469.2006.
50. Jong C.T., Statham B., Green C.M., King C.M., Gawkrödger D.J. (2007). Contact sensitivity to preservatives in the UK, 2004-2005: results of multicentre study. *Contact Dermatitis* 57(3): 165-168.
51. Kalembe D., Kunicka A. (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem.* 10(10): 813-829. doi: 10.2174/0929867033457719.
52. Koul O., Walia S., Dhaliwal G.S. (2008). Essential Oils as Green Pesticides: Potential and Constraints. *Biopestic. Int.* 4(1): 63-84.
53. Kovačić A., Tafra D., Hrenović J., Goić-Barišić I., Dumanić T. (2018). Preživljavanje bakterije *Pseudomonas aeruginosa* u destiliranoj vodi. *Hrvatske vode.* 26(105): 181-186.
54. Krapljan V., Magdić Lj. (2022). Koraci do proizvoda prerade ljekovitog i aromatičnog bilja na OPG-u. Ministarstvo poljoprivrede Republike Hrvatske. Zagreb. https://www.savjetodavna.hr/wp-content/uploads/2020/05/KORACI-DO_PROIZVODA-PRERADE-LJEKOVITOG-I-AROMATI%C4%8CNOG-BILJA.pdf – pristup 04.07.2022.
55. Kunicka-Styczyńska A., Sikora M., Kalembe D. (2011). Lavender, tea tree and lemon oils as antimicrobials in washing liquids and soft body balms. *Int J Cosmet Sci* 33(1): 53-61.
56. Leite J.R., Seabra Mde L., Maluf E., Assolant K., Suchecki D., Tufik S., Klepacz S., Calil H.M., Carlini E.A. (1986). Pharmacology of lemongrass (*Cymbopogon citratus* Stapf). III. Assessment of eventual toxic, hypnotic and anxiolytic effects on humans. *J Ethnopharmacol.* 17(1): 75-83. doi: 10.1016/0378-8741(86)90074-7.
57. Lenković M., Gruber F., Kaštelan M. (2008). Ekologija gljivičnih infekcija kože. *Medicina.* 44(1): 62-70.

58. Lewis K. (2013). Platforms for antibiotic discovery. *Nature Reviews Drug Discovery*. 12: 371-387.
59. Loza-Tavera H. (1999). Monoterpenes in essential oils – Biosynthesis and properties. *Adv Exp Med Biol*. 464: 49-62. doi: 10.1007/978-1-4615-4729-7_5.
60. Lueangarun S., Sermsilp C., Tempark T. (2018). Topical Botulinum Toxin Type A Liposomal Cream for Primary Axillary Hyperhidrosis: A Double-Blind, Randomized, Split-Site, Vehicle-Controlled Study. *Dermatol Surg*. 44(8): 1094-1101. doi: 10.1097/DSS.0000000000001532.
61. Macwan S.R., Dabhi B.K., Aparnathi K.D., Prajapati J.B. (2016). Essential Oils of Herbs and Spices: Their Antimicrobial Activity and Application in Preservation of Food. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 5(5): 885-901. doi: 10.20546/ijcmas.2016.505.092.
62. Marcia G.M., Bello N.S., Antunes F.T.T. (2022). Essential Oils as Preservatives in Cosmetics: An Integrative Review. *Open Access Journal of Biomedical Science*. 4(1): 1511-1516. doi: 10.38125/oajbs.000387.
63. Marinculić A., Habrun B., Barbić Lj., Beck R. (2009). Biološke opasnosti u hrani. Hrvatska agencija za hranu. Osijek. Dostupno online na: <https://www.hah.hr/pdf/Prirucnik%20bioloske%20opasnosti.pdf> – pristup 29.08.2022.
64. Marković S. (2022a). Eterična ulja. *Plantagea.hr*. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/etericna-ulja/> – pristup 04.07.2022.
65. Marković S. (2022b). Dobivanje eteričnih ulja. *Plantagea.hr*. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/dobivanje-etericnih-ulja/> – pristup 04.07.2022.
66. Marković S. (2022c). Postupak destilacije i obrada. *Plantagea.hr*. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/postupak-destilacije-i-obrada/> – pristup 04.07.2022.
67. Marković S. (2022d). Seskviterpenski i diterpenski alkoholi i fenoli. *Plantagea.hr*. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/seskviterpenski-i-diterpenski-alkoholi-i-fenoli/> – pristup 04.07.2022.
68. Marković S. (2022e). Biljni organi. *Plantagea.hr*. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/biljni-organ/> – pristup 04.07.2022.
69. Marković S. (2022f). Ugljikovodici. *Plantagea.hr*. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/ugljikovodici/> – pristup 04.07.2022.
70. Marković S. (2022h). Esteri. *Plantagea.hr*. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/esteri/> – pristup 04.07.2022.

71. Marković S. (2022i). Ketoni. Plantagea.hr. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/ketoni/> – pristup 04.07.2022.
72. Marković S. (2022j). Aldehidi. Plantagea.hr. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/aldehidi/> – pristup 04.07.2022.
73. Marković S. (2022k). Drugi spojevi u biljnim uljima. Plantagea.hr. <https://www.plantagea.hr/aromaterapija/drugi-spojevi-u-biljnim-uljima/> – pristup 04.07.2022.
74. Marković S. (2022l). Sigurnost uporabe eteričnih ulja u kozmetici. Plantagea.hr. <https://www.plantagea.hr/prirodna-kozmetika/sigurnost-uporabe-etericnih-ulja-u-kozmetici/> – pristup 04.07.2022.
75. Marković S. (2022m). Pregled važnijih eteričnih ulja u kozmetici. Plantagea.hr. <https://www.plantagea.hr/prirodna-kozmetika/pregled-vaznijih-etericnih-ulja-u-kozmetici/> – pristup 04.07.2022.
76. Martinec, R. (2013). Aromaterapija kao komplementarna metoda u terapiji i rehabilitaciji. Hrvatska revija za rehabilitacijska istraživanja. 49(1): 181-193.
77. Mayer F.L., Wilson D., Hube B. (2013). Candida albicans pathogenicity mechanisms. Virulence. 4(2):119-128. doi: 10.4161/viru.22913.
78. McGeady P., Wansley D.L., Logan D.A. (2002). Carvone and perillaldehyde interfere with the serum-induced formation of filamentous structures in Candida albicans at substantially lower concentrations than those causing significant inhibition of growth. J Nat Prod. 65(7): 953-955. doi: 10.1021/np010621l.
79. Mendoza-Yepes M.J., Sanchez-Hidalgo L.E., Maertens G., Marin-Iniesta F. (2007). Inhibition of Listeria Monocytogenes And Other Bacteria by a Plant Essential Oil (Dmc) in Spanish Soft Cheese. Journal of Food Safety. 17(1): 47-55. doi: 10.1111/j.1745-4565.1997.tb00175.x.
80. Mihlin K. (2017). Primjena konzervansa u proizvodnji krema. Završni rad. Veleučilište u Karlovcu. Karlovac.
81. Miljanović A., Bielen A., Grbin D., Marijanović Z., Andlar M., Rezić T., Roca S., Jerković I., Vikić-Topić D., Dent M. (2020). Effect of Enzymatic, Ultrasound, and Reflux Extraction Pretreatments on the Chemical Composition of Essential Oils. Molecules. 25(20): 4818. doi: 10.3390/molecules25204818.
82. Mousavi B., Hedayati M.T., Hedayati N., Ilkit M., Syedmousavi S. (2016). Aspergillus species in indoor environments and their possible occupational and public health hazards. Curr Med Mycol. 2(1): 36-42. doi: 10.18869/acadpub.cmm.2.1.36.

83. Nirwati H., Sinanjung K., Fahrnunissa F., Wijaya F., Napitupulu S., Hati V.P., Hakim M.S., Meliala A., Aman A.T., Nuryastuti T. (2019). Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. *BMC Proc.* 13(11): 20. doi: 10.1186/s12919-019-0176-7.
84. Norma ISO 22716 (kozmetički proizvodi). svijet-kvalitete.com. <https://www.svijet-kvalitete.com/indeks.php/normizacija/1626-norma-iso-22716-kozmeticka-industrija> – pristup 04.07.2022.
85. Obrębska K.B., Szczygła A., Matejczyk M. (2008). Microbiological contamination of raw materials and cosmetic products. *Postepy Mikrobiologii.* 47(1): 65-71.
86. Parapouli M., Vasileiadis A., Afendra A.S., Hatziloukas E. (2022). *Saccharomyces cerevisiae* and its industrial applications. *AIMS Microbiol.* 6(1): 1-31. doi: 10.3934/microbiol.2020001.
87. Park C.K., Kim K., Jung S.J., Kim M.J., Ahn D.K., Hong S.D., Kim J.S., Oh S.B. (2009). Molecular mechanism for local anesthetic action of eugenol in the rat trigeminal system. *Pain.* 144(1-2): 84-94. doi: 10.1016/j.pain.2009.03.016.
88. Patil S.D., Sharma R., Srivastava S., Navani N.K., Pathania R. Downregulation of *yidC* in *Escherichia coli* by antisense RNA expression results in sensitization to antibacterial essential oils eugenol and carvacrol. *PloS One.* 8(3): 1-9. doi: 10.1371/journal.pone.0057370.
89. Patrone V., Campana R., Vittoria E., Baffone W. (2010). In vitro synergistic activities of essential oils and surfactants in combination with cosmetic preservatives against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. *Curr Microbiol.* 60(4): 237-41. doi: 10.1007/s00284-009-9531-7.
90. Périamé M., Pagès J-M., Davin-Regli A. (2014). *Enterobacter gergoviae* membrane modifications are involved in the adaptive response to preservatives used in cosmetic industry. *Journal of Applied Microbiology.* 118(1): 49-61. doi: 10.1111/jam.12676.
91. Périamé M., Pagès J-M., Davin-Regli A. (2015). *Enterobacter gergoviae* membrane modifications are involved in the adaptive response to preservatives used in cosmetic industry. *J Appl Microbiol.* 118(1): 49-61. doi: 10.1111/jam.12676
92. Pitt T.L., McClure J., Parker M.D., Amézquita A., McClure P.J. (2014). *Bacillus cereus* in personal care products: risk to consumers. *International Journal of Cosmetic Science.* 37(2): 165-174. doi: 10.1111/ics.12191.
93. Pravilnik o posebnim uvjetima za proizvodnju i stavljanje na tržište predmeta opće uporabe, NN 80/2018-1614. https://narodne-novine.nn.hr/clanci/sluzbeni/2018_09_80_1614.html – pristup 04.07.2022.

94. Rakover Y., Ben-Arye E., Goldstein L.H. (2008). The treatment of respiratory ailments with essential oils of some aromatic medicinal plants. *Harefuah* 147(10): 783-788, 838.
95. Rashed M. M. A., Tong Q., Nagi A., Li J., Khan N. U., Chen L., Bakry A. M. (2017). Isolation of essential oil from *Lavandula angustifolia* by using ultrasonic-microwave assisted method preceded by enzymolysis treatment, and assessment of its biological activities. *Ind. Crops Prod.* 100: 236–245. doi: 10.1016/j.indcrop.2017.02.033.
96. Reverchon E., Senatore F. (1992). Isolation of rosemary oil: Comparison between hydrodistillation and supercritical CO₂ extraction. *Flavour and Fragrance Journal.* 7(4): 227-230. doi: 10.1002/ffj.2730070411.
97. Rohrich R.J., Janis J.E., Fagien S., Stuzin J.M. (2003). The cosmetic use of botulinum toxin. *Plast Reconstr Surg.* 112(5): 177S-88S, 189S-191S. doi: 10.1097/01.PRS.0000082208.37239.5B.
98. Russo R., Corasaniti M.T., Bagetta G., Morrone L.A. (2015). Exploitation of Cytotoxicity of Some Essential Oils for Translation in Cancer Therapy. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 6(1): 1-9. doi: 10.1155/2015/397821.
99. Sander A. (2011). Jedinične operacije u ekoinženjerstvu I dio, interna skripta. Sveučilište u Zagrebu, Fakultet kemijskog inženjerstva i tehnologije. Zagreb. 2011.
100. Sarkic A., Stappen I. (2018). Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. *Cosmetics.* 5(1): 1-21. doi: 10.3390/cosmetics5010011.
101. Sawamura M. (2010). *Citrus Essential Oils: Flavor and Fragrance.* A John Wiley & Sons. New Jersey.
102. Selescu T., Ciobanu A.C., Dobre C., Reid G., Babes A. (2013). Camphor activates and sensitizes transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) to cooling and icilin. *Chem Senses.* 38(7): 563-575. doi: 10.1093/chemse/bjt027.
103. Sell C. (2016). *Chemistry of Essential Oils.* U: *Handbook of Essential Oils* (ur. Can Baser K.H., Buchbauer G.). 2. izdanje. CRC Press, Taylor & Francis. New York. 165-195.
104. Shaaban, H. A. (2020). Essential Oil as Antimicrobial Agents: Efficacy, Stability, and Safety Issues for Food Application. U: *Essential Oils – Bioactive Compounds* (ur. de Oliveira M.A., Costa W.A., Silva S.G.). *New Perspectives and Applications.* IntechOpen. 1-33.
105. Sharma M.M., Haider S.Z., Andola H., Purohit V.K. (2011). Essential Oils as Green Pesticides: For Sustainable Agriculture. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences.* 2(4): 100-106.

106. Soković M., Glamočlija J., Marin P.D., Brkić D., Griensven L.J.L.D.v. (2010). Antibacterial Effects of the Essential Oils of Commonly Consumed Medicinal Herbs Using an In Vitro Model. *Molecules*. 15(11): 7532-7546. doi: 10.3390/molecules15117532.
107. Souza I E.L., Stamford I T.L.M., Lima II E.O., Trajano II V.N., Filho J.M.B. (2005). Antimicrobial effectiveness of spices: an approach for use in food conservation systems. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 48(4): 549-558. doi: 10.1590/S1516-89132005000500007.
108. Stanić Z., Senjković R. (1994). Ekstrakcija sa superkritičkim ugljik-dioksidom. *Farmaceutski glasnik*. 50: 123-128.
109. Štefanac D. (2018). Kemijski sastav i biološka aktivnost eteričnih ulja. Diplomski rad. Sveučilište u Splitu, Medicinski fakultet. Split.
110. Taylor T.A., Unakal C.G. (2022). *Staphylococcus Aureus*. U: StatPearls (internetsko izdanje). StatPearls Publishing. Treasure Island (FL). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/> – pristup 29.08.2022.
111. Thorne C.B. (1993). *Bacillus anthracis*. U: *Bacillus subtilis and Other Gram-Positive Bacteria: Biochemistry, Physiology, and Molecular Genetics* (ur. Sonenshein A.L., Hoch J.A., Losick R.). Amer Society for Microbiology. New York. 113-124.
112. Tiwari V.M., Wahr J., Swenson S. (2009). Dwindling groundwater resources in northern India, from satellite gravity observations. *Geophysical Research Letters* 36: 18. doi: 10.1029/2009GL039401.
113. Tongnuanchan P., Benjakul S. (2014). Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. *Journal of Food Science*. 79(7): R1231-R1249. doi: 10.1111/1750-3841.12492.
114. Ultee A., Slump R.A., Steging G., Smid E.J. (2000). Antimicrobial Activity of Carvacrol toward *Bacillus cereus* on Rice. *Journal of Food Protection*. 63(5): 620-624. doi: 10.4315/0362-028X-63.5.620.
115. Ulusoy S., Boşgelmez-Tınaz G., Seçilmiş-Canbay H. (2009). Tocopherol, Carotene, Phenolic Contents and Antibacterial Properties of Rose Essential Oil, Hydrosol and Absolute. *Curr Microbiol*. 59: 554-558. doi: 10.1007/s00284-009-9475-y.
116. Uredba (EZ) br. 1223/2009 Europskog Parlamenta i Vijeća od 30. studenoga 2009. o kozmetičkim proizvodima. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/HR/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1223&from=SL> – pristup 04.07.2022.

117. Vecchio M.G., Loganes C., Minto C. (2016). Beneficial and Healthy Properties of Eucalyptus Plants: A Great Potential Use. *Open Agriculture Journal*. 10(1): 52-57. doi: 10.2174/1874331501610010052.
118. Volar M. (2017). Prekomjerna upotreba antibiotika i problemi rezistencije: stavovi i mišljenja pacijenata. Diplomski rad. Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet. Zagreb.
119. Vuković T. (2022). O eteričnim uljima. Lavanda-vukovic.com. <https://www.lavanda-vukovic.com/o-etericnim-uljima> – pristup 04.07.2022.
120. Walker-Love A., Creek M., Lescrauwaet R., Bowman-Busato J. (2017). Consumer Insights 2017 by Cosmetics Europe. *Cosmetics Europe*. https://www.cosmeticseurope.eu/files/6114/9738/2777/CE_Consumer_Insights_2017.pdf – pristup 04.07.2022.
121. Wang Q., Cui S., Zhou L., He K., Song L., Liang H., He C. (2019). Effect of cosmetic chemical preservatives on resident flora isolated from healthy facial skin. *J Cosmet Dermatol*. 18(2): 652-658. doi: 10.1111/jocd.12822.
122. Wells C.L., Wilkins T.D. (1996). *Clostridia: Sporeforming Anaerobic Bacilli*. U: *Medical Microbiology* (ur. Baron S.). 4. izd. University of Texas Medical Branch at Galveston. Galveston (TX).
123. Worth H., Schacher C., Dethlefsen U. (2009). Concomitant therapy with Cineole (Eucalyptole) reduces exacerbations in COPD: a placebo-controlled double-blind trial. *Respir Res*. 10(1): 69. doi: 10.1186/1465-9921-10-69.
124. Yang Z., Wu N., Fu Y., Yang G., Wang W., Zu Y., Efferth T. (2010). Anti-infectious bronchitis virus (IBV) activity of 1,8-cineole: effect on nucleocapsid (N) protein. *J Biomol Struct Dyn*. 28(3): 323-330. doi: 10.1080/07391102.2010.10507362.
125. Zakon o predmetima opće uporabe, NN 39/13, 47/14, 114/18, 53/22. <https://www.zakon.hr/z/574/Zakon-o-predmetima-op%C4%87e-uporabe> – pristup 04.07.2022.
126. Ziosi P., Manfredini S., Vertuani S., Ruschetta V., Radice M., Sacchetti G., Bruni R. (2013). Evaluating Essential Oils in Cosmetics: Antioxidant Capacity and Functionality. *Cosmetics & Toiletries*. <https://www.cosmeticsandtoiletries.com/testing/method-process/article/21835184/evaluating-essential-oils-in-cosmetics-antioxidant-capacity-and-functionality> – pristup 04.07.2022.

Životopis

Dina Karaula rođena je 31. 08. 1997. u Splitu. Osnovnu školu „Ostrog“ pohađala je od 2004. do 2012. godine. Nakon završene osnovne škole, upisuje Srednju školu braće Radić u Kaštel Štafiliću te završava četverogodišnje obrazovanje za veterinarskog tehničara. U srednjoj školi sudjelovala je na Erasmus+ projektu u Poljskoj, gdje stječe certifikat iz engleskog jezika. Srednju školu završava 2016. godine te iste godine upisuje preddiplomski studij sanitarnog inženjerstva na Zdravstvenom veleučilištu u Zagrebu. Studij završava obranom završnog rada na *temu Promjene u incidenciji i prevalenciji odabranih zaraznih bolesti u RH u 21. stoljeću*. Godine 2019. nastavlja fakultetsko obrazovanje na Agronomskom fakultetu u Zagrebu na diplomskom studiju (MS) Agroekologija – mikrobna biotehnologija u poljoprivredi. Stručnu praksu odradila je u laboratoriju Sample control d.o.o. u Zagrebu.