SOFW JOURNAL

1/2-2014

English Edition

Международный журнал для прикладной науки

• Средства гигиены • Моющие средства • Специальные средства

W. Siegert

Усиление антимикробной эффективности многофункциональных добавок хелатирующими агентами

Антибактериальная стабилизация

W. siegert*

Усиление антимикробной эффективности многофункциональных добавок хелатирующими агентами

Вступление

Микробиологическая безопасность косметических средств является важным фактором. Это неотъемлемая часть обеспечения стабильности продукции в течение всего срока годности и предотвращения ущерба здоровью потребителей.
Продолжающиеся дискуссии вокруг консервантов в косметической ограничили количество утвержденных активных веществ, которые могут быть использованы. Чрезмерное дозирование антимикробных активных веществ становится более очевидным регуляторным делом, если оно приводит к неблагоприятной оценке риска.
Стимул делать биоциды более эффективными при более низких концентрациях становится все более и более важным. Эффективность ЭДТА общеизвестна (1), однако современные легко биоразлагаемые альтернативы могут заменить его (2).

Abstract

Продолжающиеся дискуссии вокруг консервантов в косметике ограничили количество активных веществ, которые могут быть использованы. В результате для повышения активности оставшихся приемлемых для микробной стабилизации веществ используется целый ряд различных методов и материалов. Повышение проницаемости микробных клеток для биоцидов с помощью EDTA помогает оптимизировать стабилизацию, однако для того, чтобы избежать дискуссий относительно экологичности хелатирующих агентов, необходимы легко биоразлагаемые альтернативы EDTA.
Антимикробная стабилизация многофункциональных добавок в сочетании с хелатирующими агентами была испытана в различных косметических препаратах.
Легко биоразлагаемый хелатирующий агент **тетранатрия глутамат диацетат** улучшает эффективность антимикробной добавки и, следовательно, позволяет снизить концентрации sensiva ® СК 10, sensiva ® PA 20 , sensiva ® PA 30 и sensiva ® PA 40 без потери антимикробной эффективности.

Использование хелатирующих веществ в косметике

Хелатный эффект описывает повышенное сродство хелатирующих лигандов к иону металла по сравнению со сродством набора аналогичных нехелатирующих (монодентатных) лигандов к тому же металлу. Ключевыми функциями хелатирующих агентов в косметике являются:

* Связывают ионы кальция и переходных металлов, что способствует увеличению срока годности кремов

* Помогают стабилизировать и избежать обесцвечивания

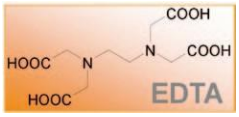
* Повышают эффективность антиоксидантов

* Повышают эффективность консервантов

Антибактериальная стабилизация

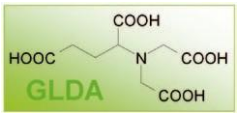
Обычно применяемые агенты

Этилендиамитетрауксусная кислота



(EDTA) и ее соли широко распространены, но их экологичность вызывает споры в Европейский странах.

Глутаминовая кислота, NN – диуксусная
Glutamic acid, N,N- diacetic acid



GLDA и её соли являются легко биоразлагаемыми хелатирующими агентами, которые могут быть использованы в качестве альтернативы EDTA. GLDA обладает исключительно высокой растворимостью как при высоком, так и при низком pH.

Тенденции в использовании хелатирующих агентов

Частота использования EDTA в косметических продуктах была исследована в Mintel GNPD (3). В период с января по декабрь 2012 года 13,8% продуктов содержли ЭДТА или соли ЭДТА. Анализ тенденции за последние три года показывает увеличение использования солей ЭДТА в косметических препаратах (Рис.1). 1).
Использование GLDA все еще незначительно, но также растет (рис. 2). Исходя из тенденции к более экологически чистым и натуральным соединениям замещение EDTA усилится.

Усиление консервантов – принцип действия

Хелатирующие агенты могут быть использованы для повышения эффективности антимикробных веществ. Хелаты удаляют многовалентные катионы из клеточной мембраны микробов, образуя комплексы, таким образом, ослабляют внешнюю оболочку микроорганизмов и за счет снижения устойчивости мембран делают их более уязвимыми для биоцидной атаки (рис. 3) (4)(5).

Влияние pH на усиливающий консерванты эффект.

В целом было обнаружено, что хелатирующие агенты лучше проявляют эффект усиления (консервантов) при pH 5.0 для *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. Для золотистого стафилококка *Staphylococcus aureus* результат был лучше при pH 7,0, особенно с GLDA. Наконец, эффективность для Candida albicans была хуже при pH 5,0 (6).

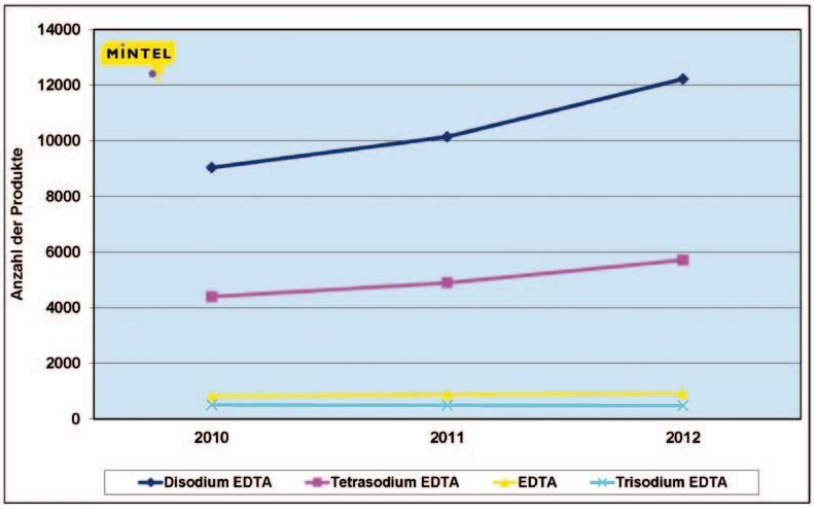


Рис. 1 Тренд на использование EDTA и ее солей в косметике (3)

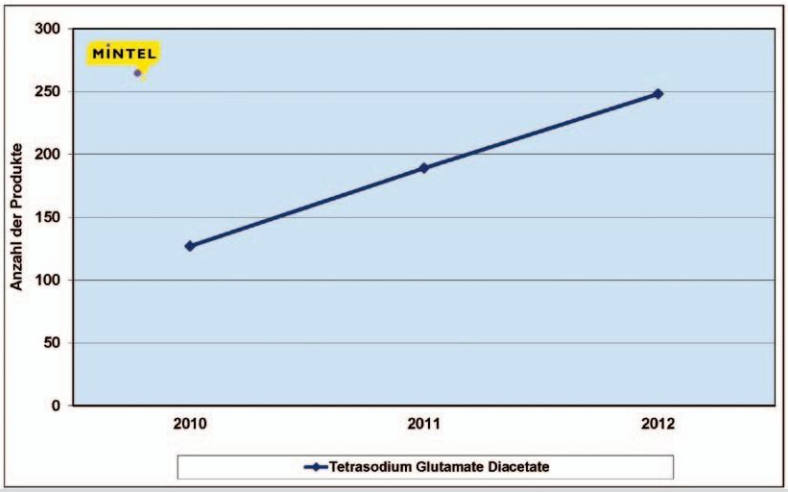


Рис. 2 Тренд на использование GLDA в косметике (3)

Fig. 3 Усиление консервантов – принцип действия (5)

Антибактериальная стабилизация

PEG-Free Emulsion for Baby Wipes (O/W)
WL-12-0082 *Based on: "Lubrizol Starting Point Formula W-0001(EU)"*

INCI Name	Trade Name	Function	% w/w
Phase A			
Aqua		Solvent	ad 100
Glycerin	Glycerol 85%	Humectant	5.00
Phase B			
Isostearyl Isostearate	Schercemol 1818 Ester	Emollient	5.00
Bisabolol	(-)Alpha-Bisabolol Natural	Soothing agent	0.20
Tocopheryl Acetate	Vitamin E Acetate	Antioxidant	0.20
Methyl Glucose Dioleate	Glucate DO Emulsifier	Co-Emulsifier	0.20
Acrylates/C10-30 Alkyl Acrylate Crosspolymer	Pemulen TR-2 Polymer	Rheology modifier / Emulsion stabiliser	0.12
Phase C			
Sodium Hydroxide	Sodium Hydroxide (5% aq. solution)	Neutraliser	0.25
Phase D			
Coco-Glucoside	Plantacare 818 UP (50% active matter)	Surfactant	2.0.
(see schülke KoKo Test results)		Antimicrobial stabiliser	q.s.
Aqua			50.00

Appearance: thin white lotion
pH Value: approx. 5.8 – 6.2
Viscosity (Brookfield RVT @20rpm, 25°C, #2 spindle, measured after 24h): 400 – 700Pas

Procedure:
Add glycerine to water (phase A). Add ingredients of phase B, except Pemulen TR-2 Polymer, in a separate vessel. Disperse PemulenTR-2 Polymer into oil phase. Add phase B to phase A and mix for 20 – 30 minutes to allow the polymer to swell. Neutralise batch with sodium hydroxide (5% aq. solution). Mix vigorously until uniform. Add coco-glucoside and preservative/antimicrobial stabiliser. Mix slowly to avoid air entrapment. Dilute with water and mix until uniform.

schülke KoKo Test results

	PEG-Free Emulsion for Baby Wipes (O/W)	pH	Sterility Control	Inoculation Cycles 1	2	3	4	5	6
0	unpreserved	5.9	-	+++ B,Y,M	+++ B,Y,M	./.			
A	+ 0.70% sensiva® PA 20[1)]		-	-	-	++ M	+++ M	+++ M	./.
B	+ 0.70% sensiva® PA 20[1)] + 0.50% Dissolvine GL 47 S[3)]	8.3→5.9	-	-	-	+ M	+ M	+ M	+ M
C	+ 1.00% sensiva® PA 20[1)]		-	-	-	-	-	-	-
D	+ 1.00% sensiva® PA 20[1)] + 0.50% Dissolvine GL 47 S[3)]	8.4 →5.9	-	-	-	-	-	-	-
E	+ 1.00% sensiva® SC 10[2)]		-	+++ M	+++ M	./.			
F	+ 1.00% sensiva® SC 10[2)] + 0.50% Dissolvine GL 47 S[3)]	8.3→5.9	-	-	+ M	++ M	++ M	++ M	++ M
G	+ 1.50% sensiva® SC 10[2)]		-	++ M	++ M	++ M	++ M	++ M	++ M
H	+ 1.50% sensiva® SC 10[2)] + 0.50% Dissolvine GL 47 S[3)]	8.3→5.9	-	-	-	-	-	-	-

Legend: B = Bacteria; M = Moulds; Sp = Spore-forming bacteria; Y = Yeasts
- = free of microbial growth; + = slight growth; ++ = moderate growth; +++ = massive growth

[1)] Phenethyl Alcohol (and) Ethylhexylglycerin [2)] Caprylyl Glycol (and) Ethylhexylglycerin
[3)] Tetrasodium Glutamate Diacetate

Natural O/W Cream
FL-11-0076 *Developed by Evonic*

INCI Name	Trade Name	Function	% w/w
Phase A			
Polyglyceryl-3 Stearate/Citrate	TEGO® Care PSC 3	Emulsifier	3.00
Glyceryl Stearate	TEGIN® M Pellets	Stabiliser	2.00
Stearyl Alcohol	TEGO® Alkanol 18	Stabiliser	1.00
Isoamyl Cocoate	TEGOSOFT® AC	Emollient	5.00
Decyl Cocoate	TEGOSOFT® DC	Emollient	2.90
Oleyl Erucate	TEGOSOFT® OER	Emollient	2.00
Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil	Sweet Almond Oil	Emollient	10.00
Ceramide NP	Ceramide III	Active ingredient	0.10
Phase B			
Aqua			ad 100
Glycerin	Glycerol 85%	Humectant	3.50
Phase C			
	Sodium Hydroxide (10% in water)	pH Adjuster	0.20
Phase D			
(see schülke KoKo Test results)		Antimicrobial stabiliser	q.s.[7)]

*) see schülke KoKo Test

pH Value: approx. 5.0 – 5.5

Procedure:
1. Heat phase A and phase B separately to 70 – 75°C.
2. Add phase A to phase B with stirring. Important: If phase A has to be charged into the vessel first, phase B must be added without stirring.
3. Homogenise.
4. Cool with gentle stirring and add phase C below 40°C.
5. Add phase D and adjust the pH to 5.0 – 5.5.

schülke KoKo Test results

	Natural O/W Cream	Sterility Control	Inoculation Cycles 1	2	3	4	5	6
0	without antimicrobial stabilisation	-	+++ B, Y, M	+++ B, Y, M	./.			
B	2.0% sensiva® PA 30[1)]	-	+++ B, Y, M	+++ B, Y, M	./.			
C*)	2.0% sensiva® PA 30[1)] 0.1% Dissolvine GL 47[2)]	-	-	-	-	-	-	-

Legend: B = Bacteria; M = Moulds; Sp = Spore-forming bacteria; Y = Yeasts
- = free of microbial growth; + = slight growth; ++ = moderate growth; +++ = massive growth

[7)] Recommended formulation
[1)] Propanediol (and) Phenethyl Alcohol (and) Undecyl Alcohol (and) Tocopherol
[2)] Tetrasodium Glutamate Diacetate

Рис. 4 PEG-Free для детских салфеток (O/W)

Рис. 5 Натуральный крем O/W

Тесты с базовыми составами

Чтобы оценить влияние хелатирующих агентов, косметические составы без микробной стабилизации были испытаны в сравнении с образцами с антимикробной добавкой и с хелатирующим агентом (GLDA). Микробиологические тесты были проведены в соответствии с протоколом KoKo Test (7) (8). Для готовой влажной салфетки был применен тест FeuTuKo (9). Результаты приведены на рис. 4–7.

Тест schülke KoKo

В этом тесте (schülke KoKo) смесь бактерий, дрожжей и плесени инокулируют 6 раз (один раз в неделю) в тестируемый материал с целью сохранения микробов тестируемого материала свободными в течение этого периода. Инокулят содержит патогенные микроорганизмы в виде микробов, которые хорошо известны как причина порчи продукта. Все виды должны культивироваться отдельно и смешиваться непосредственно перед добавлением, чтобы обеспечить постоянный состав и количество зародышей инокулята. Колония составляет приблизительно 10^7-10^8 КОЕ/мл, что означает примерно 10^5 КОЕ/мл в образце.

Образец продукта может считаться хорошо сохранившимся в соответствии с критерием А, если в течение шести недель в вышеописанных лабораторных условиях не проявляется микробного роста на исследуемых партиях. Это означает, что даже после шестой введения никакого микробного роста не должно наблюдаться. Исходя из многолетнего опыта использования этого метода испытаний, такие результаты можно уверенно приравнять к микробиологической стабильности (безопасности) в течение 30 месяцев, как и рекомендуется для косметических средств.

Критерий В выполняется, если образец показал незначительный микробный рост (+) в течение шести циклов инокуляции. Если состав соответствует критериям В, то анализ микробиологического риска должен продемонстрировать наличие контрольных факторов, не связанных с рецептурой; например, защитная упаковка, такая как спрей, обеспечивает более высокий уровень защиты, чем баночка, и /или соответствует строгим требованиям Надлежащей производственной практики (GMP).

Тест schülke FeuTuKo

В этом тесте влажные салфетки в гибкой пластиковой упаковке инокулируют смешанной культурой, содержащей 10^6-10^7КОЕ/мл. Инокулят содержит патогенные микроорганизмы в виде микробов, которые хорошо известны как вызывающие порчу косметического продукта.

Антибактериальная стабилизация

Все виды должны культивироваться отдельно и смешиваться непосредственно перед добавлением, чтобы обеспечить постоянный состав и количество (колонию) инокулята. После инокуляции вся упаковка должным образом разминается и затем инкубируется в течение трех недель при температуре 30°C. Оценка проводится путем размещения кусочков ткани (прим. 3 x 3 см, вырезанные из упаковки салфеток одним блоком) на TS и SA агар. В каждом случае делаются двойные определения. Рост на салфетках оценивают после трех дней инкубации при 30°C (для бактерий) и семи дней при 25°C (для плесени). Грибы подразделяются на дрожжи и различные типы плесени.

Образец можно считать хорошо сохранившимся, если в течение трехнедельного периода в вышеописанных лабораторных условиях на исследуемых партиях не проявляется микробный рост. Это означает, что даже после инокуляции никакого микробного роста не должно наблюдаться. Исходя из многолетнего опыта использования этого метода испытаний, эти результаты можно приравнять к микробиологической стабильности в течение 30 месяцев, что рекомендуется для косметических средств.

Выводы

Хелатирующие агенты могут повысить антимикробную эффективность многофункциональных добавок. С GLDA даже улучшается эффект против плесени (рис. 4). Эти выводы подтверждают результаты, достигнутые при комбинации GLDA с euxyl ® PE 9010 (феноксиэтанол (и) Этилгексилглицерин) (2).

Внутренние испытания показали преимущество хелатирующих агентов с euxyl ® PE 9010, sensiva ® SC 10, sensiva ® PA 20, а также sensiva ® PA 30 и sensiva ® PA 40 в несмываемых составах. Усиление консервантов хелатирующими агентами лучше всего работает в простых формулах. Положительные эффект был обнаружены при применения GLDA в:

- влажных салфетках (наилучшие результаты)
- гелях
- тониках
- других составах на водной основе

В сложных системах усиливающий консерванты эффект ограничен. Добавление хелатирующих агентов не может противодействовать инактивации консервантов путем миграции в масляную фазу или образования мицелл.

Литература

(1) *J. E. Finch and M. R. W. Brown*, The influence of nutrient limitation in a chemostat on the sensitivity of Pseudomonas aeruginosa to polymyxin and to EDTA, Journal of Antimicrobial Chemotherapy 1/1975

(2) *W. Siegert*, Can New Biodegradable Complexing Agents Replace Tetrasodium EDTA to boost Preservatives, SOFW Journal 1/2 2008

(3) Mintel's Global New Products Database (GNPD), Search criteria: »Household, Beauty & Personal Care, Global (49 countries)«, search for products where Ingredient Search matches one or more of »EDTA, Disodium EDTA, Tetrasodium EDTA, Trisodium EDTA« as the Ingredients and Date Published is between Jan 2010 and Dec 2012. www.mintel.com

Cosmetic Wipes - Self-Preserving
WL-10-0061 *(Developed by Unsworth Consulting Laboratories, UK)*

INCI Name	Trade Name	Function	Formula A % w/w	Formula B % w/w	Formula C % w/w
Aqua			ad 100	ad 100	ad 100
Propylene Glycol		Humectant	1.50	1.50	1.50
Caprylic/Capric Triglycerides	Tegosoft CT	Emollient	4.00	4.00	4.00
PEG-25 Hydrogenated Castor Oil	Jeechem CAH-25	Solubiliser	2.00	2.00	2.00
Polysorbate 20	Tween 20	Solubiliser	1.20	1.00	1.00
Citric Acid or Sodium Citrate		pH Adjuster	q.s.	q.s.	q.s.
Caprylyl Glycol, Ethylhexylglycerin	**sensiva® SC 10**	Skin care additive	1.00	0.50	0.50
Tetrasodium Glutamate Diacetate (47.4%)	Dissolvine GL 47 S	Chelating agent	-	-	0.50

pH Value: approx. 5.0

Procedure:
Combine ingredients in order listed, while slowly mixing. Mix at 20 – 30°C for 15 minutes or until clear and uniform. Adjust final pH to 5.0 with citric acid or sodium citrate.

An amount of 290% of the solution based on the dry weight of the wipe was applied for the substrate 45g/m² 40%/69% viscose/polyester spunlaced.

schülke FeuTuKo Test results

Cosmetic Wipes – Premium Formula self-preserving		Sterility Control	Germ count 3 weeks after inoculation CS-Agar	Germ count 3 weeks after inoculation Sa-Agar
A*)	1.00% sensiva® SC 10[1)]	-	-	-
B	0.50% sensiva® SC 10[1)]	-	+++B	+++B,M
C*)	0.50% sensiva® SC 10[1)] 0.50% Dissolvine GL 47 S[2)]	-	-	-

Legend: B = Bacteria; M = Moulds; Sp = Spore-forming bacteria; Y = Yeasts
- = free of microbial growth; + = slight growth; ++ = moderate growth; +++ = massive growth

*) Recommended formulation

1) Caprylyl Glycol (and) Ethylhexylglycerin 2) Tetrasodium Glutamate Diacetate

Рис. 6 Косметические салфетки – Self-Preserving

Tuttii Frutti Body Scrub
BR-13-0119 *(Develloped by Seppic, USA)*

INCI Name	Trade Name	Function	% w/w
Phase A			
Aqua (Water)			ad 100
Propylene Glycol		Humectant	3.00
Polyacrylate Crosspolymer-6	Sepimax™ ZEN	Thickener	2.00
Phase B			
Xylitylglucoside (and) Anhydroxylitol (and) Xylitol	Aquaxyl™	Moisturiser	2.00
Caprylyl/Capryl Glucoside	Oramix™ CG110	Surfactant	1.00
Decyl Glucoside	Oramix™ NS10	Surfactant	3.00
Phase C			
Persea Gratissima (Avocado) Fruit Powder	Avocado Powder	Scrub Agent	4.00
Prunus Cerasus (Bitter Cherry) Shell Powder	Cherry Powder	Scrub Agent	1.00
Phase C			
Chelating Agent		Chelating Agent	q.s.*)
Preservative/ Antimicrobial Stabiliser		Preservative/ Antimicrobial Stabiliser	q.s.*)
Citric Acid		pH- adjuster	q.s.

*) see schülke KoKo Test

Appearance: viscous brown gel
pH Value: 5.4

Procedure:
Mix water and propylene glycol on blade, then disperse SepimaxTM ZEN at 300 – 800 rpms for 10 to 15 mins. Premix phase B together until clear. Add phase B into A under anchor blade mixing at 100 rpms. Add phase C ingredients separately in portions. At the end add chelating agent and preservative/antimicrobial stabilizer and adjust the pH. Mix until uniform.

schülke KoKo Test result

	Tutti Frutti Body Scrub	Sterility Control	Inoculation Cycles 1	2	3	4	5	6	Assessment
0	without antimicrobial stabilisation	-	+++ B, Y	+++ B, M	./.				failed
B	1.0% sensiva® PA 40[1)]	-	+ M	++ M	+++ M	+++ M	./.		failed
C	1.0% sensiva® PA 40[1)] 0.2% active matter of Dissolvine GL 47[2)]	-	+ M	+ M	+ M	+ M	+ M	+ M	B
D	1.5% sensiva® PA 40[1)]	-	-	-	-	-	-	-	A

Legend: B = Bacteria; M = Moulds; Sp = Spore-forming bacteria; Y = Yeasts
- = free of microbial growth; + = slight growth; ++ = moderate growth; +++ = massive growth

1) Phenylpropanol (and) Propanediol (and) Caprylyl Glycol (and) Tocopherol
2) Tetrasodium Glutamate Diacetate

Рис. 7 Tutti Frutti скраб для тела

(4) *E. C. Hill*, Biocides for the future, International Biodeterioration Vol. 26/1990

(5) *J. Seetz*, New Environmental benign chelating agent GLDA, International Nonwovens Symposium, May 2013, St. Petersburg, Russia

(6) *W. Siegert*, Influence of pH on the Preservative Boosting Effect of Chelating Agents, http://www.cosmeticsandtoiletries.com /formulating/function/preservatives/102957044.html

(7) *H.Brill*, Prüfverfahren zur Bestimmung der mikrobiologischen Wirksamkeit von chemischen Konservierungsmitteln für Kosmetika, Jahrbuch für den Praktiker 1987

(8) *W. Siegert*, ISO 11930, Cosmetics – Microbiology – Evaluation of the antimicrobial protection of a cosmetic product, SOFW-Journal 7/2012

(9) *W. Siegert*, Microbiological quality management for the production of wet-wipes, Household and Personal Care Today 2/2008

**Адрес автора*
Wolfgang Siegert
Technical Support Manager, International
Schülke & Mayr GmbH
Special Additives International
Tel.: +49 40 52100 528
Email: wolfgang.siegert@schuelke.com
www.schuelke.com

Перевод выполнен ООО ПК «Девелопмент Групп» - поставка перекиси водорода и хелатов из Европы /
translated by IC Development Group LLC – hydrogen peroxide and green chelates supplier
www.dv-gr.ru 1@dv-gr.ru +7 831 216 23 00