

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ELIZABETA JEVNIKAR

DIPLOMSKA NALOGA

UNIVERZITETNI ŠTUDIJSKI PROGRAM KOZMETOLOGIJA

Ljubljana, 2015

UNIVERZA V LJUBLJANI
FAKULTETA ZA FARMACIJO

ELIZABETA JEVNIKAR

PROUČEVANJE VPLIVA MIL NA BARIERNO FUNKCIJO KOŽE

**EXAMINING THE IMPACT OF SOAP ON SKIN BARRIER
FUNCTION**

UNIVERZITETNI ŠTUDIJSKI PROGRAM KOZMETOLOGIJA

Ljubljana, 2015

Diplomsko nalogo sem opravljala na Fakulteti za farmacijo pod mentorstvom doc. dr. Pegi Ahlin Grabnar.

Mentorici doc. dr. Pegi Ahlin Grabnar se zahvaljujem za vso prijaznost, dostopnost ter strokovno pomoč pri izdelavi diplomskega dela. Prav tako se zahvaljujem strokovni sodelavki Maji Bjelošević, dipl. ing. lab. biomed. ter tehničnima sodelavkama Mojci Keržan, ing. kem. teh. in Tatjani Hrovatič, ing. kem. teh. za pomoč pri delu v laboratoriju.

Posebna zahvala je namenjena Maši, Jasmini, Anji, Maruši, Hani, Neji, Urški, Lari in Saši za sodelovanje pri izvedbi eksperimentalnega dela.

Iskrena hvala Rosani Vukojević, dipl. slov. (un) in dipl. špa. j. in knjiž. (un) za lektoriranje diplomskega dela. Najlepše se zahvaljujem tudi Zali Završnik za lektoriranje angleškega besedila.

Navsezadnje pa se zahvaljujem še svoji družini in najbližjim, ki so me tekom študija ter pisanja diplomskega dela spodbujali ter brezpogojno verjeli vame.

Izjava

Izjavljam, da sem diplomsko nalogo samostojno izdelala pod mentorstvom doc. dr. Pegi Ahlin Grabnar.

Elizabeta Jevnikar

VSEBINA

POVZETEK.....	IX
ABSTRACT	X
SEZNAM OKRAJŠAV	XI
1 UVOD.....	1
1.1 KOZMETIČNI IZDELKI ZA ČIŠČENJE KOŽE.....	1
1.1.1 TRDNI KOZMETIČNI IZDELKI ZA ČIŠČENJE KOŽE	1
1.1.2 TEKOČI KOZMETIČNI IZDELKI ZA ČIŠČENJE KOŽE.....	2
1.2 BARIERNA FUNKCIJA KOŽE	2
1.2.1 TRANSEPIDERMALNA IZGUBA VODE (TEWL)	3
1.2.2 HIDRATACIJA KOŽE	4
1.2.3 pH KOŽE.....	5
1.3 VPLIV MIL NA BARIERNO FUNKCIJO KOŽE	6
1.3.1 ODNOS DO UČINKOV MILA SKOZI ČAS	6
1.3.2 VPLIV MIL NA TRANSEPIDERMALNO IZGUBO VODE	8
1.3.3 VPLIV MIL NA HIDRATACIJO KOŽE	9
1.3.4 VPLIV MIL NA pH KOŽE.....	10
2 NAMEN DELA.....	12
3 MATERIALI IN METODE	13
3.1 MATERIALI.....	13
3.2 LABORATORIJSKI PRIBOR	13
3.3 APARATURE.....	13
3.4 METODE.....	14
3.4.1 MERJENJE pH VREDNOSTI MIL.....	14
3.4.2 ŠTUDIJA UGOTAVLJANJA VPLIVA MIL NA pH KOŽE, HIDRATACIJO KOŽE TER TEWL.....	14
3.4.2.1 Predštudija.....	15

3.4.2.2	Študija: Testiranje izbranih mil na testnih osebah	17
4	REZULTATI IN RAZPRAVA	19
4.1	PREDŠTUDIJA	19
4.1.1	MERJENJE pH VREDNOSTI MIL.....	19
4.1.2	VPLIV TEMPERATURE GREJNIKA ZA SONDO NA IZMERJENE TEWL VREDNOSTI.....	21
4.1.3	ODVISNOST POSAMEZNIH PARAMETROV OD ČASA PO ODSTRANITVI OBLIŽA Z MILOM	22
4.1.4	VPLIV KONCENTRACIJE DISPERZIJE MILA NA PROUČEVANE PARAMETRE	24
4.1.5	VPLIV ČASA TRAJANJA NANOSA OBLIŽA Z MILOM NA PROUČEVANE PARAMETRE	26
4.1.6	KONTROLA – VPLIV OBLIŽA Z VODO NA PROUČEVANE PARAMETRE	28
4.1.7	TESTIRANJE CELOTNEGA NABORA MIL NA ENI TESTNI OSEBI... 30	
4.2	ŠTUDIJA: TESTIRANJE IZBRANIH MIL NA TESTNIH OSEBAH	34
4.2.1	VPLIV MIL NA HIDRATACIJO KOŽE	34
4.2.2	VPLIV MIL NA TEWL	39
4.2.3	VPLIV MIL NA pH KOŽE.....	43
5	SKLEP	48
6	VIRI.....	49
7	PRILOGA I: SEZNAM UPORABLJENIH MIL	55

KAZALO SLIK

Slika 1: Nastanek mila v procesu saponifikacije oz. umiljenja (prilagojeno po (6)).....	1
Slika 2: Shematski prikaz barierne funkcije <i>stratum corneum</i> pri a) zdravi koži in b) poškodovani koži (prirejeno po (24)).	3
Slika 3: Število publikacij po letih za iskalni profil TITLE: ((soap* OR cleans*) AND skin AND (barrier OR TEWL OR hydration OR pH)) v podatkovni bazi Web of Science (49). 8	
Slika 4: Odvisnost TEWL vrednosti od temperature grelnika za sondo v primerjavi s TEWL, izmerjeno brez segrevanja sonde.	21
Slika 5: Odvisnost hidratacije kože od časa po odstranitvi obliža z milom v primerjavi s hidratacijo pred nanosom obliža.	22
Slika 6: Odvisnost TEWL od časa po odstranitvi obliža z milom v primerjavi s TEWL pred nanosom obliža.	23
Slika 7: Odvisnost pH vrednosti kože od časa po odstranitvi obliža z milom v primerjavi s pH vrednostjo pred nanosom obliža.	23
Slika 8: Hidratacija kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od koncentracije nanosene disperzije mila.	25
Slika 9: TEWL (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od koncentracije nanosene disperzije mila	25
Slika 10: Vrednost pH kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od koncentracije nanosene disperzije mila.	26
Slika 11: Hidratacija kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od časa trajanja nanosa obliža z milom.	26
Slika 12: TEWL (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od časa trajanja nanosa obliža z milom.	27
Slika 13: Vrednost pH kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od časa trajanja nanosa obliža z milom.	27
Slika 14: Hidratacija kože pred nanosom obliža z vodo in 30 ter 70 min po odstranitvi obliža.	28
Slika 15: TEWL pred nanosom obliža z vodo in 30 ter 70 min po odstranitvi obliža.	29
Slika 16: Vrednost pH kože pred nanosom obliža z vodo in 30 ter 70 min po odstranitvi obliža.	29
Slika 17: Hidratacija pred nanosom obliža z milom ter 30 in 70 minut po odstranitvi obliža za 12 različnih mil.	30

Slika 18: Sprememba hidratacije kože 30 in 70 minut po odstranitvi obliža v primerjavi s hidratacijo pred nanosom za 12 različnih mil.....	31
Slika 19: TEWL pred nanosom obliža z milom ter 30 in 70 minut po odstranitvi obliža za 12 različnih mil.....	31
Slika 20: Sprememba TEWL 30 in 70 minut po odstranitvi obliža v primerjavi s TEWL pred nanosom za 12 različnih mil.....	32
Slika 21: Vrednost pH kože pred nanosom obliža z milom ter 30 in 70 minut po odstranitvi obliža za 12 različnih mil.....	32
Slika 22: Sprememba pH kože 30 in 70 minut po odstranitvi obliža v primerjavi s pH kože pred nanosom za 12 različnih mil.....	33
Slika 23: Trdo alkalno milo št. 3 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	35
Slika 24: Trdo alkalno milo št. 4 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	35
Slika 25: Trdi sindet št. 7 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	35
Slika 26: Trdi sindet št. 8 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	36
Slika 27: Tekoče milo št. 11 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	36
Slika 28: Tekoče milo št. 12 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	36
Slika 29: Povprečne spremembe v hidrataciji (30 minut po nanosu obliža z milom v primerjavi z začetnim stanjem) za posamezna mila.....	37
Slika 30: Trdo alkalno milo št. 3 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	39
Slika 31: Trdo alkalno milo št. 4 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	40
Slika 32: Trdi sindet št. 7 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	40
Slika 33: Trdi sindet št. 8 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.....	40

Slika 34: Tekoče milo št. 11 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	41
Slika 35: Tekoče milo št. 12 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	41
Slika 36: Povprečne spremembe v TEWL (30 minut po nanosu obliža z milom v primerjavi z začetnim stanjem) za posamezna mila.	41
Slika 37: Trdo alkalno milo št. 3 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	43
Slika 38: Trdo alkalno milo št. 4 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	44
Slika 39: Trdi sindet št. 7 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	44
Slika 40: Trdi sindet št. 8 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	44
Slika 41: Tekoče milo št. 11 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	45
Slika 42: Tekoče milo št. 12 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.	45
Slika 43: Povprečne spremembe v pH kože (30 minut po nanosu obliža z milom v primerjavi z začetnim stanjem) za posamezna mila.	45

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica I: Vrednosti pH 12 mil, izmerjene s pH metrom SevenCompact pH/Ion ter Skin-Ph-Metrom® PH 905.....	19
Preglednica II: Povprečne vrednosti hidratacije kože pred nanosom mila in 30 min po nanosu mila s podanimi povprečnimi spremembami. Pri vseh vrednostih je zapisana tudi standardna deviacija.....	37
Preglednica III: Povprečne vrednosti TEWL pred nanosom mila in 30 min po nanosu mila s podanimi povprečnimi spremembami. Pri vseh vrednostih je zapisana tudi standardna deviacija.....	42
Preglednica IV: Povprečne vrednosti pH kože pred nanosom mila in 30 min po nanosu mila s podanimi povprečnimi spremembami. Pri vseh vrednostih je zapisana tudi standardna deviacija.....	46
Preglednica V: Seznam mil, uporabljenih v eksperimentalnem delu diplomskega dela.....	55

POVZETEK

Pogled na koristi oziroma škodljive učinke kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože se je skozi čas precej spreminjal. Danes so mila široko uporabljana in uveljavljena, vendar še vedno obstaja dilema glede intenzitete vpliva teh izdelkov na barierno funkcijo kože. Kakovost barierne funkcije se najpogosteje ugotavlja preko merjenja transepidermalne izgube vode, lahko pa tudi preko merjenja pH ter hidratacije kože.

Glavni namen diplomskega dela je bil primerjati učinek širokega nabora mil različnih tipov na barierno funkcijo kože zdravih ljudi. Z nadzorovano aplikacijo obličev disperzij mil na zunanji strani dlani smo proučili vpliv izbranih mil na hidratacijo in pH kože ter transepidermalno izgubo vode. V prvem delu smo načrtovali protokol za študijo, pri čemer smo eksperimentalno določili najustreznejše časovne točke merjenja, najbolj primerno koncentracijo disperzij izdelkov, čas trajanja nanosa obliža ter optimalno temperaturo grelnika za sondo za merjenje transepidermalne izgube vode. Na eni testni osebi smo testirali 12 mil, ki smo jih s pomočjo proučevanja sestavin ter merjenja pH vrednosti razvrstili v kategorije: klasična alkalna mila, trdi sindeti, trda kombinirana mila ter tekoča mila. Glede na rezultate smo za študijo na 9 prostovoljcih izbrali 6 kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože. Hidratacijo kože, transepidermalno izgubo vode ter pH kože smo merili pred nanosom obliža z milom ter 30 minut po nanosu. Vsa proučevana mila so izkazala statistično značilen vpliv na hidratacijo kože ter pH kože. Trdi alkalni mili sta povzročili najbolj intenzivno zmanjšanje hidratacije kože in najbolj intenzivno povišanje pH vrednosti kože, medtem ko sta bila ta dva pojava blažja pri trdih sindetih ter tekočih milih. Spremembe v pH vrednosti kože po nanosu mila so bile sorazmerne s pH vrednostmi samih izdelkov. Pri obstoječih pogojih merjenja ni nobeno od proučevanih mil izkazalo statistično značilnega učinka na transepidermalno izgubo vode.

Dokazali smo, da mila vplivajo na hidratacijo in pH kože na zunanji strani dlani. Ta učinek pa se razlikuje med posameznimi tipi izdelkov in je predvsem odvisen od pH in sestave izdelka.

Ključne besede: kozmetični izdelki za čiščenje kože, barierna funkcija kože, hidratacija kože, pH kože, transepidermalna izguba vode

ABSTRACT

The attitude towards benefits and damaging effects of skin-cleansing products has changed considerably over time. Today, these products are widely used and well established, but a dilemma remains, regarding the intensity of the impact of these products on the barrier function of the skin. The quality of the skin barrier function is most commonly assessed by measuring the transepidermal water loss as well as measuring skin pH and skin hydration.

The main purpose of the thesis was to compare the impact of a wide range of different types of skin cleansers on the skin barrier function of healthy people. The effect of the selected products on skin hydration, skin pH, and transepidermal water loss was examined through controlled application of soap dispersions patches on the dorsal surface of the hand. In the first part, the protocol for the study was planned by an experimental determination of the most appropriate measurement time points, the most suitable concentration of soap dispersions, the duration of the patch, and the optimum temperature of the probe heater for transepidermal water loss measurement. Ingredients and pH values of 12 cleansers were examined and the products were classified into categories: classic alkaline soap bars, syndet bars, combination bars, and liquid soaps. All of the products were tested on one volunteer. Based on the results, 6 products were selected for the study in which 9 volunteers participated. Skin hydration, transepidermal water loss, and skin pH were measured before the application of the soap patch and 30 minutes after application. All of the examined products were proved to have a statistically significant effect on skin hydration and skin pH. Alkaline soap bars caused the highest decrease in skin hydration and most intense increase in the skin pH, while these two phenomena were milder after application of syndet bars and liquid soaps. Changes in skin pH values after skin-cleansing product application were proportional to the pH values of the products themselves. For existing measurement conditions, none of the examined products proved a statistically significant effect on transepidermal water loss.

We have proven the impact of skin-cleansing products on skin hydration and skin pH on the dorsal surface of the hand. This effect, however, differs among different types of products and is primarily dependent on the pH and composition of the product.

Key words: *skin-cleansing products, skin barrier function, skin hydration, skin pH, transepidermal water loss*

SEZNAM OKRAJŠAV

FCAT	<i>angl. forearm controlled application test</i>
NIR	<i>angl. near-infrared</i>
NMF	<i>angl. natural moisturizing factor</i>
PAS	površinsko aktivna snov
TEWL	<i>angl. transepidermal water loss</i>
TFM	<i>angl. total fatty matter</i>

1 UVOD

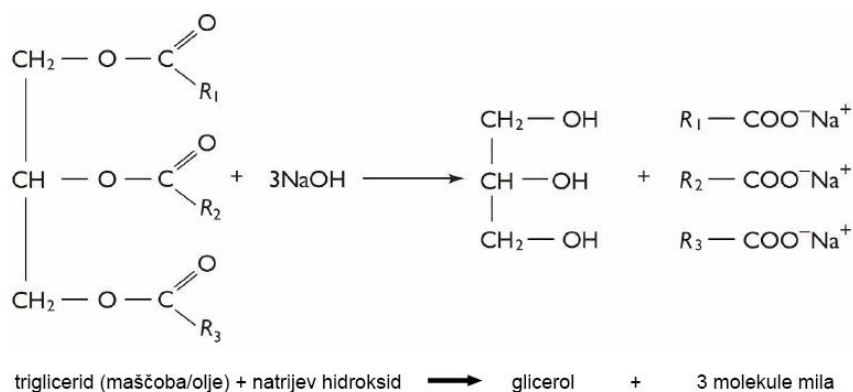
1.1 KOZMETIČNI IZDELKI ZA ČIŠČENJE KOŽE

Kozmetični izdelki za čiščenje kože so lahko v trdni, tekoči ali poltrdni obliki (1).

1.1.1 TRDNI KOZMETIČNI IZDELKI ZA ČIŠČENJE KOŽE

V skupino trdnih kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože sodijo klasična mila, mila z nizko vsebnostjo maščob oziroma maščobnih kislin (1, 2), transparentna mila (1), mila s presežkom neumiljenih maščob (*angl. superfatted soaps*) (1, 3) ter trdi sindeti (1).

V slovenskem jeziku je izraz *milo* zelo splošen in tako pogosto označuje sredstvo za odstranjevanje umazanije (4). Kemijsko pa so mila alkalijske in zemljoalkalijske soli višjih maščobnih kislin. V procesu saponifikacije oziroma umiljenja, ki je prikazan na sliki 1, pride do reakcije močne baze (NaOH ali KOH) s trigliceridom, pri čemer nastaneta glicerol ter milo (1, 4, 5).



Slika 1: Nastanek mila v procesu saponifikacije oz. umiljenja (prilagojeno po (6)).

Pri različnih tipih trdih mil lahko prihaja do variacij v postopku izdelave oziroma v vsebnosti določenih sestavin.

Skupna vsebnost maščob (*angl. total fatty matter, TFM*), predvsem maščobnih kislin, je ena najpomembnejših lastnosti, ki govorijo o kakovosti mila. Mila z nizko vsebnostjo maščob vsebujejo precejšen delež polnil, ki jim povečajo trdoto. Taka mila so manj kakovostna (2). Transparentna mila so podobna klasičnim trdim milom, s to razliko, da imajo dodan glicerol, ki deluje kot vlažilo in pripomore k manjši dražilnosti mila (7). Mila s presežkom neumiljenih maščob lahko izdelamo tako, da v formulacijo dodamo večjo količino maščob,

kot se jo lahko umili z bazo, ki je na voljo (3). Možna pa je tudi uporaba kemikalij, ki preprečijo umiljenje določenega deleža maščob. To imenujemo nepopolno umiljenje (7).

Največja izjema med trdimi kozmetičnimi izdelki za čiščenje kože pa so trdi sindeti. Beseda sindet je kombinacija besed »sintezen« (angl. *synthetic*) ter »detergent« (angl. *detergent*) (8). Sindeti ne vsebujejo mil v kemijskem pomenu besede, njihove aktivne sestavine so sintezne površinsko aktivne snovi (PAS). Te so lahko pridobljene iz naravnih olj in maščob, s kemijsko modifikacijo maščobnih kislin omenjenih olj in maščob, možno pa je tudi koriščenje petrokemične industrije (9, 10).

Možna je kombinacija trdih sindetov ter nekaterih drugih omenjenih tipov trdih kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože, pri čemer naj bi bila vsebnost mila vsaj 10 % (9). Cilj takih produktov je čim manjše draženje kože ob čim večji sposobnosti čiščenja (10).

1.1.2 TEKOČI KOZMETIČNI IZDELKI ZA ČIŠČENJE KOŽE

V skupino tekočih kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože uvrščamo izdelke za umivanje telesa ter rok, gele za prhanje ter protibakterijska tekoča mila (1). Začetki uporabe tekočih izdelkov za čiščenje kože segajo v 60. oziroma 70. leta prejšnjega stoletja, ko so služila predvsem umivanju rok v bolnišnicah in drugih ustanovah. Kmalu zatem so postala splošno dostopna in uporabljana tudi med širšo množico. Izjemna priljubljenost tovrstnih izdelkov je sprožila nadaljnji razvoj izdelkov za čiščenje telesa oziroma gelov za prhanje. V zadnjem desetletju so se proizvajalci tekočih mil za roke začeli osredotočati na dodatne funkcije izdelkov, kot sta npr. vlaženje kože ter protimikrobna zaščita (11). Najpomembnejše sestavine tekočih izdelkov za čiščenje kože so PAS, emolienti in vlažila, posebne sestavine za zagotavljanje določene funkcije izdelka, dišave, barvila in konzervansi. Tekoči izdelki za čiščenje kože lahko sicer temeljijo na milih (največkrat gre pri tem za kalijeve soli nižjih maščobnih kislin, pridobljenih iz kokosovega olja), vendar pa dandanes večina formulacij vsebuje sintezne PAS kot aktivne sestavine (1).

1.2 BARIERNA FUNKCIJA KOŽE

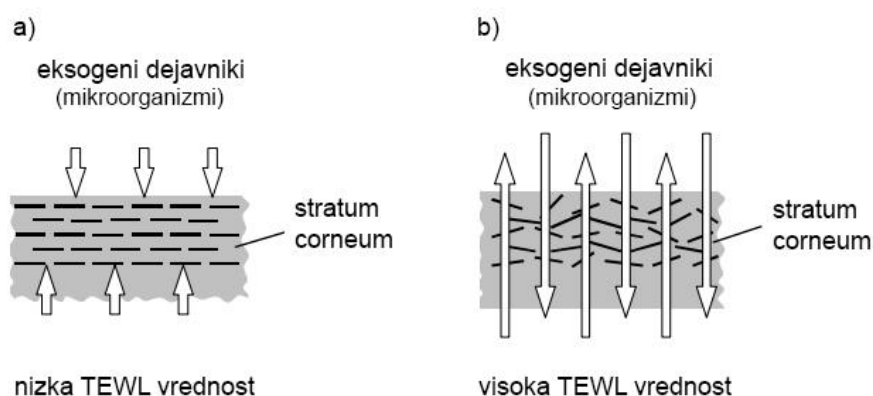
Epidermis oz. povrhnjica kože ima številne zaščitne oziroma obrambne funkcije, pri čemer ima najpomembnejšo vlogo najbolj zunanja plast kože, tj. rožena plast oziroma *stratum corneum*. Gre za večplastno strukturo, sestavljeno iz sploščenih korneocitov, obkroženih z lipidi (ceramidi, holesterol in proste maščobne kisline). Izraz *barierna funkcija* največkrat

povezujemo s permeabilnostno bariero, ki je posledica lokalizacije omenjenih lipidov in preprečuje izhlapevanje vode in izgubo elektrolitov skozi kožo (12, 13, 14). Prav tako pomembna funkcija rožene plasti je protimikrobna bariera, ki preprečuje vstop mikroorganizmov v telo. Za vzdrževanje te bariere so poleg lipidov (med njimi predvsem prostih maščobnih kislin) pomembni tudi protimikrobni peptidi, npr. beta-defenzini in katelicidini. Protimikrobne peptide in lipide, ki tvorijo permeabilnostno bariero, izločajo lamelarna telesca (14).

Kakovost barierne funkcije se pogosto ugotavlja preko merjenja transepidermalne izgube vode skozi kožo (*angl. transepidermal water loss, TEWL*) (15-18), na barierno funkcijo pa vplivata tudi hidracija kože (19) ter pH vrednost kože (20). Tako tudi merjenje teh dveh parametrov predstavlja učinkovit način za oceno barierne funkcije kože (21).

1.2.1 TRANSEPIDERMALNA IZGUBA VODE (TEWL)

Transepidermalna izguba vode oz. TEWL je parameter, ki govori o stopnji izhlapevanja vode iz telesa skozi kožo (22). Merjenje transepidermalne izgube vode je uveljavljena neinvazivna metoda za *in vivo* oceno integritete kožne bariere. Če je koža poškodovana, je barierna funkcija okvarjena in izguba vode je večja (22, 23). Primerjava TEWL zdrave in poškodovane kože je prikazana na sliki 2.



Slika 2: Shematski prikaz barierne funkcije *stratum corneum* pri a) zdravi koži in b) poškodovani koži (prirejeno po (24)).

Najpogostejši instrumenti za ugotavljanje TEWL temeljijo na principu »evaporimetra«. TEWL enačimo z difuzijo tekoče vode skozi *stratum corneum*, le-te pa ni mogoče

neposredno izmeriti. Instrumenti tako merijo gostoto toka vodnih par v zraku nad kožno površino, ki je definiran kot kvocient mase vodnih par ter produkta površine in časa (najpogosteje uporabljena enota je $\text{gm}^{-2}\text{h}^{-1}$). Le-tega nato pretvorijo v stopnjo difuzije, ki naj bi bila dalje sorazmerna z integriteto kožne bariere (25, 26). TEWL je sicer vedno del tega toka vodnih hlapov, vendar lahko na rezultate vplivajo še hlapi, ki so rezultat znojenja ali pa izhlapevanja vode na površini kože. Ti namreč niso povezani s kakovostjo kožne bariere. Pri merjenju je zato pomembno vzdrževati take razmere, da lahko z gotovostjo trdimo, da je izmerjen tok vodnih hlapov enak le transepidermalni izgubi vode (25), pomembno je tudi, da vsa voda, ki pride do površine kože, izhlapi (26). Ločimo dve glavni metodi merjenja TEWL, to sta metoda z zaprto celico ter metoda z odprto celico. Metoda z zaprto celico ne omogoča kontinuiranega merjenja, ker pride na koži do okluzije oz. povišanja vlažnosti. Med posameznimi meritvami na istem delu telesa je tako potreben določen čas za povrnitev kože v prvotno stanje. Pri metodi z odprto celico pa je kontinuirano merjenje mogoče, izhlapevanje vode ni moteno. Čeprav je ta metoda zelo občutljiva na gibanje zraka, je vseeno priporočljiva in bolj pogosto uporabljana (24, 27).

1.2.2 HIDRATACIJA KOŽE

Vsebnost vode v *stratum corneum* je povezana s permeabilnostjo ter fleksibilnostjo te plasti, in sicer preko uravnavanja encimske aktivnosti ter vedenja lipidne faze (28). Hidratacija kože je odvisna od stopnje, s katero voda doseže *stratum corneum* s spodnje strani, od stopnje, s katero voda izhlapeva skozi kožo, ter od sposobnosti *stratum corneum*, da zadrži vodo (29). Zadrževanje vode v *stratum corneum* oziroma vzdrževanje optimalne hidratacije je odvisno od številnih dejavnikov. Prvi so intercelularni lamelarni lipidi, ki s svojo urejenostjo ustvarjajo učinkovito bariero za prehajanje vode. Prisotnost zrelih s korneodezmosomi povezanih korneocitov je še en dejavnik, ki otežuje vodi pot skozi kožo na površino. Zadnji, a enako pomemben dejavnik, je naravni vlažilni dejavnik (*angl. natural moisturizing factor, NMF*), kompleksna zmes vodotopnih spojin z majhno molekulsko maso (29, 30). V kolikor je vsebnost vlage v koži previsoka ali prenizka, pride do okvare barierne funkcije kože (31). Vzrok za suho kožo so lahko klimatizirani prostori z nizko vlago, zimsko vreme, vroče prhanje, prekomerna uporaba mil ali razkužilnih sredstev, uživanje določenih zdravil itd. Velik vpliv imajo tudi genetska zasnova, starost ter splošno zdravje posameznika. Suha koža je groba, zadebeljena in se lušči. To vodi do zmanjšanja elastičnosti kože ter razpokanja. Tudi prekomerna hidratacija kože (npr. zaradi daljšega stika kože z vodo,

znojenja pod rokavicami, uporabe plenice itd.) je vzrok za porušenje bariere, ki povzroči izhlapevanje vode, posledica je zopet suha koža (31, 32, 33).

Obstajajo različne neinvazivne metode za neposredno *in vivo* merjenje vsebnosti vode v *stratum corneum*. Večina jih temelji na merjenju električnih parametrov, kot so npr. kapacitivnost, prevodnost, impedanca in trenutna napetost stabilnega stanja (28). Sprememba vsebnosti vode namreč povzroči spremembo omenjenih parametrov, ki jih lahko merimo (34). Različni instrumenti uporabljajo različne principe merjenja ter podajajo rezultate v specifičnih arbitrarnih enotah (28). Slabost teh metod je ta, da ne poznamo neposredne povezave s količino vode v *stratum corneum*. Nekateri avtorji zato iščejo načine za povezavo merjenih električnih parametrov z vsebnostjo vode, npr. preko uporabe testa sorpcije oziroma desorpcije (35). Vendar pa je treba upoštevati, da na meritve vplivajo še dejavniki, ki niso povezani s hidratacijo kože, na primer prisotnost ionov v izdelku, ki lahko izzovejo električni potencial (28). Poleg metod, ki temeljijo na merjenju električnih parametrov, lahko hidratacijo kože merimo še z uporabo bližnje infrardeče (*angl. near-infrared, NIR*) spektroskopije in Ramanove spektroskopije (28), z analizo toka vode, preko določanja prevodnosti toplote, s fluorescentnimi tehnikami, z uporabo topografije itd. (29).

1.2.3 pH KOŽE

Vrednost pH kože je navadno nekje med 4 in 6 (36). Kisel značaj površine kože je pomemben za obrambno funkcijo epidermalne bariere in za tvorbo ter vzdrževanje kožne integritete (37). Kisel pH kože ohranja stalno mikrobno floro pritrjeno na kožo, medtem ko alkalni pH povzroči odstranitev le-te s kože (38). Najpomembnejši zunanji mehanizmi, ki vzpostavljajo ter vzdržujejo primerno pH vrednost kože, so metaboliti mikrobne kožne flore, snovi, ki izvirajo iz sebuma, ter sekretorna aktivnost žlez znojnic. Notranji mehanizmi za vzpostavitev in vzdrževanje pH pa so razgradnja histidina do *cis*-urokanske kisline, proizvodnja maščobnih kislin iz epidermalnih fosfolipidov ter transmembranski transport Na^+ ter H^+ ionov (37). Na pH kože vplivajo še nekateri drugi endogeni (npr. vlažnost kože, anatomsko mesto, genetska zasnova, starost, spol) in eksogeni (pralna sredstva, mila, aplikacija kozmetičnih izdelkov ter topikalnih antibiotikov itd.) dejavniki (36, 38, 39).

Spremenjen pH kože povzroči spremembe v organizaciji in metabolizmu lipidov v *stratum corneum*. To lahko privede do okvare barierne funkcije, ki pa se lahko kaže v obliki različnih kožnih bolezni. Danes vemo, da ima lahko nenormalen pH kože pomembne klinične

posledice, npr. pri luskavici, ihtiozi, atopijskem dermatitisu ter tudi nekaterih redkejših dermatozah (40).

Površina kože je hidrofobna, ne vsebuje tekoče vode, temveč zlasti lipide. Princip merjenja pH kože je, da proste maščobne kisline v dodano vodo sproščajo H^+ , v tej vodni raztopini na površini kože pa lahko merimo koncentracijo H^+ ionov. Le-ta govori o pH vrednosti površine kože (17). Najpogostejši metodi za merjenje pH kože sta trenutno kolorimetrijska metoda ter potenciometrijsko merjenje s stekleno elektrodo (41). Barvni indikatorji so manj zanesljivi, zato jih je že skoraj v celoti zamenjalo merjenje s stekleno ravninsko elektrodo, ki je danes najbolj univerzalna metoda na tem področju. Temelji na razliki v potencialu na vsaki strani tanke plasti stekla, ki je linearno povezana z razliko v koncentraciji H^+ ionov. Referenčna ter aktivna elektroda sta lahko ločeni ali združeni (17).

1.3 VPLIV MIL NA BARIERNO FUNKCIJO KOŽE

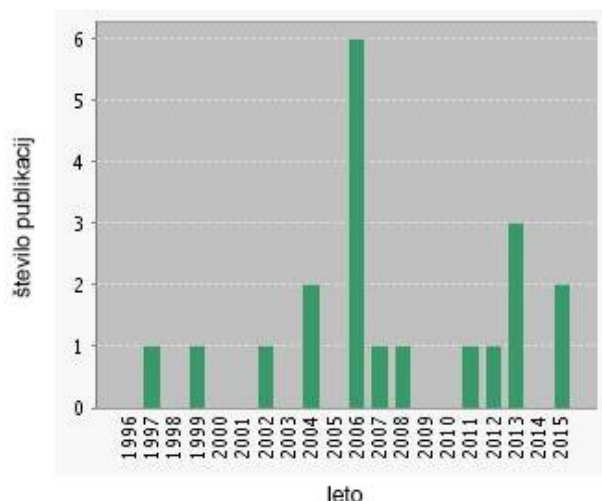
1.3.1 ODNOS DO UČINKOV MILA SKOZI ČAS

Feničani so odkrili milo pred približno 2300 leti. Od takrat se je pogled na koristi oziroma škodljive učinke mila skozi čas precej spreminjal. V prvih desetletjih prejšnjega stoletja so potrošniki nad milom izkazovali precejšnjo mero navdušenosti, v času 2. svetovne vojne pa se je to spremenilo. Nekateri ugledni dermatologi so namreč izdelke za čiščenje kože označili kot koži škodljive. V tistem času so zato ljudje za številne kožne bolezni okrivili mila ter gospodinjske detergente. Do neke mere so dermatologi z označevanjem mil za škodljive sicer pretiravali (42), vendar ne gre zanemariti dejstva, da so bili v tistem času dejansko v uporabi določeni izdelki, ki jih zaradi toksičnosti danes ni več na trgu. Tako so bila npr. med leti 1920 in 1970 pogosto uporabljana karbolna mila, ki vsebujejo fenol. Taka mila lahko povzročajo draženje kože, saj je fenol v visokih koncentracijah toksičen, deluje korozivno in se lahko absorbira skozi kožo (43, 44). Nekje istočasno, v poznih 40. in zgodnjih 50. letih prejšnjega stoletja, pa so že postali širše dostopni izdelki s sinteznimi PAS, tj. sindeti (45).

Do naslednje prelomne točke je prišlo leta 1979, ko sta Frosch in Kligman predstavila preizkus mila s komoro (*angl. soap chamber test*), metodo za oceno dražilnosti mil (46). Temu so sledili številni drugi testi za oceno sprememb v barierni funkciji kože po stiku z mili (42). Večjo občutljivost oz. večje razlike med izdelki so pokazali rezultati testa, bolj učinkovit in uporaben je bil le-ta. V izdaji revije *Clinics in Dermatology* iz leta 1996 je bilo

predstavljenih več deset metod za oceno dražilnosti mil, za oceno sposobnosti čiščenja mil pa so bile istočasno predstavljene le 3 metode. Zdi se, da so v nekaterih primerih dermatologi preveč pod vplivom različnih testov, kjer so pogoji skrajni in nefiziološki. Že pred več kot 40 leti so namreč številni priznani dermatologi izpostavili dejstvo, da bo pri navadni uporabi sredstev za osebno higieno večina potrošnikov tolerirala vsakršno vrsto mila brez škodljivih učinkov (45). Zaradi številnih izpostavljenih slabosti klasičnih alkalnih mil ter pojava koži prijaznejših sindetov je uporaba klasičnih mil v zadnjih desetletjih močno padla (47, 48).

Glede na kronološki pregled odnosa do učinkov mil na kožo nas je zanimalo, če je proučevanje vpliva uporabe mil na barierno funkcijo kože še vedno aktualno ter kako se je razvijalo tekom zadnjih dveh desetletij. V podatkovni bazi Web of Science smo zato za iskalni profil *TITLE: ((soap* OR cleans*) AND skin AND (barrier OR TEWL OR hydration OR pH))* proučili število objavljenih del po letih. Rezultati za obdobje od leta 1996 dalje so prikazani na sliki 3. Število publikacij za zadnjih 10 let je 15, kar je bistveno več v primerjavi z obdobjem med letoma 1996 in 2005, ko je bilo objavljenih 5 publikacij (49). Vzrok je verjetno v razvoju novih formulacij, boljšem razumevanju nekaterih bolezni oziroma stanj kože in pomembnosti povezave le-teh z barierno funkcijo kože ter v napredku na področju merjenja kožnih parametrov, ki govorijo o kakovosti barierne funkcije kože. Danes osveščenost uporabnikov glede neželenih učinkov kozmetičnih izdelkov na kožo narašča, pričakovanja so večja, prav tako tudi potreba po dokazovanju trditev s strani proizvajalcev. V prihodnje gre tako verjetno pričakovati še dodaten porast v zanimanju za področje proučevanja vpliva uporabe mil na barierno funkcijo kože.



Slika 3: Število publikacij po letih za iskalni profil TITLE: ((soap* OR cleans*) AND skin AND (barrier OR TEWL OR hydration OR pH)) v podatkovni bazi Web of Science (49).

1.3.2 VPLIV MIL NA TRANSEPIDERMALNO IZGUBO VODE

Znane so številne raziskave, v katerih so avtorji proučevali vpliv uporabe različnih mil na transepidermalno izgubo vode skozi kožo. Izvedba študij oziroma protokoli testiranja se med seboj razlikujejo in jih je treba upoštevati pri interpretaciji rezultatov.

Postrzech in sodelavci so v svoji študiji proučevali vpliv treh različnih trdih mil na TEWL. Vsa proučevana mila so povzročila približno enako intenzivno povišanje TEWL vrednosti na zunanji strani dlani, 30 minut po enominutnem umivanju (50). Povišanje TEWL po uporabi mila na notranji strani podlakti je dokazal tudi Voegeli, ki je v študiji uporabil milo s pH vrednostjo 9 ter različne metode umivanja. V primerjavi z umivanjem samo z vodo, je umivanje z milom povzročilo bolj intenzivno povišanje TEWL. Prav tako je bilo opaziti dodatno povišanje transepidermalne izgube vode po drugem zaporednem umivanju, barierna funkcija kože pa se še več ur po umivanju ni povrnila v prvotno stanje. Uporabljene so bile tudi različne tehnike sušenja kože, pri čemer je drgnjenje z brisačo povzročilo najbolj intenzivno povišanje TEWL, tako pri uporabi mila, kot pri uporabi same vode (51).

Velik poudarek obstoječih študij je tudi na dokazovanju razlik med povzročenimi učinki na barierno funkcijo kože klasičnih trdih mil ter sindetov. Večina študij podaja podobne rezultate – sindeti naj bi bili koži prijaznejši, v manjši meri naj bi porušili barierno funkcijo oziroma povzročili manj intenzivno povišanje TEWL v primerjavi s klasičnimi mili (1, 52, 53). Zanimive in odstopajoče rezultate pa podajajo Lee in sodelavci, ki so s prilagojenim

preizkusom mila s komoro dokazali bolj intenzivno povišanje TEWL pri sindetu v primerjavi z dvema klasičnima miloma (54). Da bi razumeli rezultate posameznih študij, je treba podrobno proučiti protokol študije, sestavo uporabljenih izdelkov ter druge spremenljivke, ki lahko vplivajo na rezultate meritev. Barel in sodelavci so na primer dokazali, da so spremembe v TEWL zelo opazne pri preizkusu mila s komoro, ki je precej občutljiv in ločuje med dražilnostjo različnih izdelkov. Znotraj iste raziskave pa po drugi strani pri normalni uporabi mila skozi obdobje 10 tednov instrumentalne meritve niso dokazale nobenih sprememb v TEWL. To dokazuje, da so pogoji nekaterih testov lahko včasih pretirani in na podlagi njih ne moremo neposredno sklepati o učinkih pri normalni uporabi. Za proučevanje draženja, ki ga na koži povzročajo različni izdelki za čiščenje kože, se tako svetuje uporaba več različnih testnih metod (53). Med njimi je danes pogost preizkus nadzorovane aplikacije na podlakti (*angl. forearm controlled application test, FCAT*) (1, 52), ki omogoča preizkušanje relativnega dražilnega potenciala več izdelkov za čiščenje na vsakem testirancu ter zagotavlja veliko mero natančnosti in občutljivosti (55).

1.3.3 VPLIV MIL NA HIDRATACIJO KOŽE

Številni avtorji so v svojih raziskavah proučevali vpliv mil na hidracijo kože. Voegeli, ki je vrednotil vpliv mila s pH vrednostjo 9 na hidracijo kože na notranji strani podlakti, je sicer dokazal rahlo zmanjšanje hidracije po umivanju z milom, vendar so bile te spremembe premalo intenzivne oz. značilne, da bi iz njih lahko sklepali o pomembnem učinku mila na hidracijo kože (51). Podobne rezultate navajajo Gfatter in sodelavci, ki so proučevali vpliv različnih izdelkov za čiščenje na hidracijo kože dojenčkov. Hidracija je bila po umivanju sicer zmanjšana, vendar so bile spremembe zopet tako majhne, da niso bile statistično pomembne. Še največjo spremembo je, v primerjavi z navadno vodo in tekočim ter trdnim detergentom, povzročilo umivanje z alkalnim milom (56). Dahlgren in sodelavci poročajo o bolj intenzivnem zmanjšanju hidracije že po navadni uporabi mila. Pri tem izpostavljajo pomen sestave produkta, klasična mila so namreč povzročila precejšnjo izsušitev kože v primerjavi z blagim sinteznim izdelkom, ki je služil kot kontrola (57). Dodatek glicerola, ki ima v kozmetičnem izdelku vlogo vlažila (58), je sicer glede na oceno uporabnikov ter strokovnjakov pripomogel k mehkejši in bolj gladki koži, vendar pa ni vplival na rezultate merjenja hidracije kože (57). Kozmetični izdelki so kompleksnih sestav in zato se nekateri avtorji, raje kot testiranja končnih produktov, poslužujejo testiranja posameznih sestavin. Clarys in Barel sta proučevala vpliv določenih anionskih oziroma

neionogenih PAS na hidratacijo kože, pri čemer sta uporabila postopek preizkusa mila s komoro. Rezultati kažejo na začetno zmanjšanje hidratacije pri vseh PAS ter delno obnovo hidratacije kože po določenem časovnem obdobju (59). Zmanjšanje hidratacije po uporabi treh trdih mil so dokazali tudi Postrzech in sodelavci, ki so izpostavili tudi razlike v času trajanja učinka izsušitve, ki je bil pri najbolj agresivnem milu 4 ure, pri najbolj blagem pa le 30 minut (50). Izrazito izsušitev kože po uporabi mil navajajo tudi avtorji preizkusa nadzorovane aplikacije na podlakti, ki so vrednotili učinke mila po petih dneh uporabe, dvakrat dnevno. Znotraj iste študije pa so zabeležili velike razlike v učinkih klasičnih mil in sindetov, slednji so po petih dneh uporabe namreč povzročili rahlo povišanje v hidrataciji kože (52). Pri večini omenjenih študij so se avtorji posluževali ocene hidratacije kože preko merjenja električnih parametrov. Možen način za vrednotenje sprememb v hidrataciji kože pa je tudi slikovna analiza slik kože v bližnjem infrardečem območju, iz katerih lahko s primerno obdelavo generiramo sliko intenzitet hidroksilnih funkcionalnih skupin, kar dalje enačimo s sliko hidratacije. Taka metoda je primerna za dokazovanja razlik med učinki klasičnih trdih mil (izsušitev kože) ter učinki sindetov (skoraj nespremenjena hidratacija) na hidratacijo kože v okviru preizkusa nadzorovane aplikacije na podlakti (60).

1.3.4 VPLIV MIL NA pH KOŽE

Izdelki za čiščenje kože, ki temeljijo na milu, imajo v primerjavi s sindeti višji pH ter večjo sposobnost draženja kože. Tako umivanje rok s klasičnim milom kot s sindetom povzroči povišanje pH vrednosti kože, vendar je le-to bolj izrazito pri klasičnem milu. Spremembe v pH kože naj bi ostale prisotne do 90 minut, glede na nekatere avtorje pa do 2 uri po umivanju (38, 61). Intenzivno povišanje pH vrednosti kože po dvakratnem umivanju notranje strani podlakti z alkalnim milom je dokazal tudi Voegeli (51). Rezultati meritev avtorja Gunathilake in sodelavcev so pokazali, da 5 minut po umivanju rok alkalna mila povzročijo bolj izrazito povišanje pH vrednosti kože v primerjavi s kislimi izdelki za čiščenje. Pri uporabi alkalnega mila je bila počasnejša tudi obnova kožnega pH, spremembe pa so bile večje pri večkratnem zaporednem umivanju (62). Kar pa se tiče dolgotrajne izpostavljenosti milom, so Barel in sodelavci ugotovili, da je imela 10-tedenska normalna uporaba klasičnega mila za posledico rahlo, a značilno povišanje pH vrednosti kože na nadlakti, vratu ter spodnjem delu noge (53). Duncan in sodelavci so proučevali vpliv 4-tedenskega umivanja s klasičnim milom oziroma kislim izdelkom za čiščenje na pH kože pri pacientih na oddelku za intenzivno nego. Dnevne meritve pH kože podlakti in nog so izkazale nižje pH vrednosti

pri pacientih, ki so bili umivani s kislim izdelkom za čiščenje (63). V študiji Kortinga in sodelavcev so si prostovoljci najprej 4 tedne dvakrat dnevno umivali čelo in podlakti s klasičnim milom oziroma sindetom, nato pa še 4 tedne z drugim izdelkom. Pri testirancih, ki so na začetku uporabljali klasično milo, so bile pH vrednosti kože sprva povišane, nato pa so pri prehodu na umivanje s sindetom padle. Pri testirancih, ki so začeli z umivanjem s sindetom, so bile pH vrednosti kože stabilne oziroma rahlo zmanjšane, po prehodu na klasično milo pa so se povečale (61). Večkratna dnevna uporaba mil povzroči majhna, a trajna povišanja pH vrednosti kože, ki naj bi negativno vplivala na popravljalne mehanizme kožne bariere (36). Po drugi strani pa Takagi s sodelavci dokazuje, da dolgotrajna kontinuirana uporaba mil ne vpliva na mehanizme za vzdrževanje pH kože (64).

Poudarek številnih študij je tudi na ugotavljanju najbolj primerne tehnike umivanja kože dojenčkov. Alkalno milo povzroči najbolj intenzivno povišanje pH vrednosti kože dojenčkov (56, 65), koža pa za povrnitev v prvotno stanje potrebuje vsaj eno uro, v primeru nedonošenčkov pa tudi do več dni (65). Idealen izdelek za čiščenje kože dojenčkov naj bi bil tekoč, blag, brez mil in dišav, z nevtralnim ali rahlo kislim pH. Tak izdelek naj ne bi spreminjal zaščitnega kislega plašča površine kože. Določene študije dokazujejo, da je uporaba tekočih izdelkov za čiščenje kože bolj primerna od zgolj umivanja z vodo (66).

2 NAMEN DELA

Glede na opravljen pregled stanja raziskav o vplivu mil na barierno funkcijo kože lahko zaključimo, da avtorji predstavljajo številne različne protokole študij, rezultati pa se posledično precej razlikujejo. Opazili smo tudi, da se večina študij osredotoča na majhno število različnih kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože, katerih sestava v mnogih primerih ni podana in je tako onemogočeno proučevanje odvisnosti učinka na kožo od sestavin izdelka. Prav tako nismo zasledili veliko raziskav, ki bi proučevale hkraten vpliv določenih mil na hidratacijo, pH kože in TEWL.

Prvi cilj eksperimentalnega dela je načrtovati čim bolj natančen in enoten protokol, ki bo zagotovil izključitev čim več spremenljivk. Glavni namen diplomske naloge pa je primerjati učinek širokega nabora mil različnih tipov na barierno funkcijo kože zdravih ljudi.

V okviru eksperimentalnega dela diplomske naloge bomo s tržišča izbrali 12 različnih kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože, ki jih bomo po pregledu sestavin ter merjenju pH vrednosti razvrstili v naslednje kategorije: klasična alkalna mila, trdi sindeti, trda kombinirana mila ter tekoča mila. Z nadzorovano aplikacijo obličev disperzij mil na zunanji strani dlani bomo nato proučili vpliv izbranih mil na hidratacijo in pH kože ter transepidermalno izgubo vode.

Najprej bomo s poskusi na eni osebi v okviru predštudije načrtovali protokol za študijo na prostovoljcih. S spremljanjem spreminjanja posameznih parametrov v odvisnosti od časa po odstranitvi obliža bomo določili optimalne časovne točke merjenja. Nato bomo proučili vpliv koncentracije disperzij mil ter časa trajanja nanosa obliža na izmerjene parametre. V okviru merjenja transepidermalne izgube vode bomo raziskali tudi vpliv temperature grelnika za sondo na izmerjene vrednosti TEWL. Na eni osebi bomo testirali vpliv vseh 12 mil na proučevane parametre, ki jih bomo merili pred in po nanosu obliža z disperzijo določenega mila.

Glede na rezultate opisanih postopkov bomo določili optimalne parametre za izvedbo študije, v okviru katere bomo izvajali meritve na devetih testnih osebah. Cilj študije je ugotoviti vpliv šestih mil različnih tipov na pH kože, hidratacijo kože ter TEWL. Omenjene parametre bomo merili pred nanosom obliža z disperzijo mila ter v določeni optimalni časovni točki po nanosu. Zanima nas, kako intenzivne bodo spremembe v proučevanih parametrih ter kako se bodo le-te razlikovale med posameznimi mili. Rezultate bomo podprli s statistično analizo podatkov. Omogočeno bo tudi ugotavljanje morebitnega vpliva sestavin izdelkov in pH vrednosti izdelka na dokazan učinek na kožo.

3 MATERIALI IN METODE

3.1 MATERIALI

- 12 kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože (Priloga I)
- bidestillirana voda (Fakulteta za farmacijo)
- navadna, pitna voda (Fakulteta za farmacijo)

3.2 LABORATORIJSKI PRIBOR

- stekleni inventar: čaše, steklene palčke, merilni valj
- plastične Pasteurjeve pipete
- 50 mL centrifugirke (TPP)
- živosrebrov termometer
- alkoholni flomaster
- nož, spatula, plastična žlička
- kompresna iz gaze 5 x 5 cm (Tosana)
- lepilni trak (Micropore)
- električni grelnik (Končar)

3.3 APARATURE

- pH meter SevenCompact pH/Ion (Mettler Toledo, Schwarzenbach, Švica)
- analizna tehtnica XS205 DualRange (Mettler Toledo, Schwarzenbach, Švica)
- centrifuga Centric 322A (Tehtnica, Železniki, Slovenija)
- Cutometer® MPA 580 (Courage & Khazaka GmbH, Köln, Nemčija)
- Tewameter® TM 300 (Courage & Khazaka GmbH, Köln, Nemčija)
- Probe Heater® PR 100 (Courage & Khazaka GmbH, Köln, Nemčija)
- Corneometer® CM 825 (Courage & Khazaka GmbH, Köln, Nemčija)
- Skin-Ph-Meter® PH 905 (Courage & Khazaka GmbH, Köln, Nemčija)

3.4 METODE

3.4.1 MERJENJE pH VREDNOSTI MIL

Izbranim milom smo najprej izmerili pH vrednosti po postopku, ki ga navaja Pravilnik o metodah za določanje pH vrednosti ter količine toksičnih kovin in nekovin v sredstvih za vzdrževanje osebne higiene, nego in lepšanje obraza in telesa ter o metodah dokazovanja mikrobiološke neoporečnosti teh sredstev (*srbohrv. Pravilnik o metodama za određivanje ph vrednosti i količine toksičnih metala i nemetala u sredstvima za održavanje lične higijene, negu i ulepšavanje lica i tela i za utvrđivanje mikrobiološke ispravnosti tih sredstava*) Zveznega odbora za delo, zdravje in socialno zaščito (*srbohrv. Savezni komitet za rad, zdravstvo i socijalnu zaštitu*) Socialistične federativne republike Jugoslavije iz leta 1983 (67).

Natehtali smo 2,631 g posameznega izdelka in dodali 50 mL navadne mrzle vode. Postopek smo nato priredili in disperzije trdih mil rahlo segrevali na električnem grelniku in mešali s stekleno palčko, da se je milo v celoti dispergiralo. Nato smo disperzije ohladili nazaj na sobno temperaturo in jim izmerili pH s pH metrom SevenCompact pH/Ion. Postopek iz omenjenega pravilnika navaja tudi centrifugiranje pripravljenih disperzij. Centrifugiranje s centrifugo Centric 322A (15 minut na 3500 obratov/minuto oz. 1986g, 30 minut na 3500 obratov/minuto oz. 1986g ter 30 minut na 4000 obratov/minuto oz. 2594g) smo izvedli pri disperzijah štirih izdelkov, glede na rezultate merjenja pH vrednosti dobljenih supernatantov pa smo pri nadaljnjih meritvah ta korak izpustili.

Rezultate opisanega postopka merjenja pH vrednosti mil smo v nadaljevanju primerjali še z rezultati merjenja pH mil s Skin-pH-metrom® PH 905 neposredno na površini mila. To metodo smo uporabili le pri trdih milih, upoštevali pa smo povprečno vrednost treh meritev.

3.4.2 ŠTUDIJA UGOTAVLJANJA VPLIVA MIL NA pH KOŽE, HIDRATACIJO KOŽE TER TEWL

V okviru ugotavljanja vpliva mil na pH kože, hidratacijo kože in TEWL smo najprej izvedli predštudijo na eni testni osebi. V predštudiji smo želeli določiti primerno temperaturo grelnika za sondo na izmerjene vrednosti TEWL, optimalne časovne točke merjenja ter optimalno koncentracijo naneseane disperzije mila ter ustrezen čas trajanja nanosa obliža z milom na koži. Testirali smo celotni nabor mil in na podlagi rezultatov smo nato za študijo izbrali 6 mil za testiranje na 9 testnih osebah.

3.4.2.1 Predštudija

Testna oseba in testno mesto

V predštudiji je sodelovala ena testna oseba ženskega spola, belka, in starosti 22 let. Pred izvedbo meritev smo izvedli ustrezno aklimatizacijo. Meritve so se izvajale na zunanji strani dlani. Testno mesto velikosti 2 cm x 2 cm smo označili z alkoholnim flomastrom.

Priprava, nanos in odstranitev vzorcev

Disperzije trdih mil smo pripravili z uporabo navadne, vroče vode ter jih segrevali na električnem grelniku in mešali s stekleno palčko do homogenosti. Nato smo jih ohladili nazaj na sobno temperaturo. Disperzije tekočih mil smo prav tako pripravili z uporabo navadne, vroče vode, vendar jih nismo dodatno segrevali, saj ni bilo težav z raztapljanjem. Na gaze velikosti 2,5 x 2,5 cm smo nanесли približno 1 mL proučevane disperzije mila, obliž z milom pa na kožo pritrdili z lepilnim trakom. Po odstranitvi obliža smo proučevano mesto sprali pod curkom vode, da smo odstranili preostanek mila in nato rahlo osušili s papirnato brisačo.

Merjenje pH kože, hidratacije kože ter TEWL

TEWL smo merili s Tewametrom® TM 300, hidratacijo kože s Corneometrom® CM 825, pH kože pa s Skin-Ph-Metrom® PH 905. Pri vseh meritvah TEWL v okviru predštudije (razen pri proučevanju vpliva temperature grelnika na izmerjeno TEWL) smo sondo za merjenje TEWL predhodno segreli v grelniku, nastavljenem na temperaturo 30 °C.

Pri merjenju vseh parametrov smo upoštevali povprečje treh meritev znotraj označenega mesta. Če so bili vsi parametri proučevani hkrati, je bil vrstni red merjenja vedno sledeč: hidratacija, TEWL, pH. Cikel treh zaporednih meritev vseh treh parametrov je trajal nekje od 8 do 15 minut.

Vpliv temperature grelnika za sondo na izmerjene TEWL vrednosti

Pri merjenju TEWL smo uporabljali grelnik za sondo Probe Heater® PR 100, ki omogoča nastavitve temperature v območju 20 do 42 °C. Z uporabo tega grelnika naj bi bile meritve hitrejše ter bolj stabilne, glavni cilj pa je temperaturo sonde približati temperaturi kože (68). Izvedli smo 6 serij merjenja TEWL na istem testnem mestu – brez uporabe grelnika ter z uporabo grelnika pri temperaturah 20 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C in 40 °C.

Odvisnost posameznih parametrov od časa po odstranitvi obliža z milom

Za določitev najbolj ustreznih časovnih točk merjenja smo ločeno proučili odvisnost TEWL ter hidratacije in pH kože od časa po odstranitvi obliža z milom. Pri tem smo uporabili trdo alkalno milo št. 1 (Priloga I). Pripravili smo 10-odstotno disperzijo mila (natehtali smo 1,00 g mila in dodali 10 mL navadne, vroče vode). Na označenih območjih smo izmerili hidratacijo, TEWL in pH kože. Nato smo na označena mesta za 5 minut nanесли obliž z milom. Proučevane parametre smo merili takoj po odstranitvi obliža in nato v intervalih po 10 minut do 70 minut po odstranitvi obliža.

Vpliv koncentracije disperzije mila na proučevane parametre

Želeli smo ugotoviti, kako koncentracija pripravljene disperzije mila vpliva na izmerjene parametre. Pripravili smo disperzije trdega alkalnega mila št. 1 (Priloga I) naslednjih koncentracij: 1 %, 5 %, 10 %, 15 %. Na označenih mestih smo izmerili hidratacijo, TEWL in pH kože. Obliže z mili posameznih koncentracij smo na ustrezna mesta nanесли za 5 minut ter cikel meritev vseh treh parametrov ponovno izvedli 30 minut ter 70 minut po odstranitvi obliža.

Vpliv časa trajanja nanosa obliža z milom na proučevane parametre

Za ugotovitev vpliva časa trajanja nanosa obliža z milom na izmerjene parametre smo pripravili 10-odstotno disperzijo trdega alkalnega mila št. 1 (Priloga I). Na štirih označenih mestih smo izmerili vse tri proučevane parametre, nato pa nanесли obliže za 1, 2, 5 oziroma 10 minut. Cikel meritev vseh treh parametrov smo ponovno izvedli 30 minut in 70 minut po odstranitvi obliža.

Kontrola – vpliv obliža z vodo na proučevane parametre

Zanimal nas je morebitni vpliv gaze, alkoholnega flomastra in same vode na izmerjene parametre. Na označenem mestu smo izvedli cikel meritev vseh treh parametrov, nato pa nanесли obliž z 1 mL vode sobne temperature, ki smo ga na koži pustili 5 minut. Da bi se izognili spremenljivkam, smo tudi to mesto po odstranitvi obliža dodatno sprali pod curkom vode. Hidratacijo kože, TEWL in pH kože smo izmerili 30 minut in 70 minut po odstranitvi obliža.

Testiranje celotnega nabora mil

Na eni testni osebi smo proučili vpliv vseh 12 mil (Priloga I) na hidratacijo kože, TEWL in pH. Na označenih mestih smo izmerili proučevane parametre. Nato smo pripravili 10-odstotne disperzije mil, obliže s posameznimi mili pa smo na koži pustili 5 minut. Cikel meritev vseh treh parametrov smo izvedli 30 minut ter 70 minut po odstranitvi obliža.

3.4.2.2 Študija: Testiranje izbranih mil na testnih osebah

Testne osebe in testno mesto

V študiji je sodelovalo devet testnih oseb ženskega spola, belk in starosti 21–23 let. Testne osebe smo pred prvo meritvijo aklimatizirali pol ure. Meritve smo izvajali na zunanji strani dlani. Testno mesto velikosti 2 cm x 2 cm smo označili z alkoholnim flomastrom.

Izbira, priprava, nanos in odstranitev vzorcev

Glede na rezultate, pridobljene v predštudiji, smo za testiranje izbrali šest mil: trdi alkalni mili št. 3 in št. 4, trda sindeta št. 7 in št. 8 ter tekoči mili št. 11 in št. 12 (Priloga I). 10-odstotne disperzije trdih mil smo pripravili z uporabo navadne, vroče vode ter jih segrevali na električnem grelniku in mešali s stekleno palčko do homogenosti. Nato smo jih ohladili nazaj na sobno temperaturo. 10-odstotne disperzije tekočih mil smo prav tako pripravili z uporabo navadne, vroče vode, vendar jih nismo dodatno segrevali, saj ni bilo težav z raztapljanjem. Na gaze velikosti 2,5 x 2,5 cm smo nanесли približno 1 mL proučevane disperzije mila, obliž z milom pa na kožo pritrdili z lepilnim trakom in pustili na koži 5 minut. Po odstranitvi obliža smo proučevano mesto sprali pod curkom vode, da smo odstranili preostanek mila in nato rahlo osušili s papirnato brisačo.

Merjenje pH kože, hidratacije kože ter TEWL

Cikel meritev proučevanih parametrov smo na označenih mestih izvedli pred nanosom obliža ter 30 minut po odstranitvi obliža.

TEWL smo merili s Tewametrom® TM 300, hidratacijo kože s Corneometrom® CM 825, pH kože pa s Skin-Ph-Metrom® PH 905. Pri vseh meritvah TEWL v okviru študije smo sondo za merjenje TEWL predhodno segreli v grelniku, nastavljenem na temperaturo 30 °C.

Pri merjenju vseh parametrov smo upoštevali povprečje treh meritev znotraj označenega mesta. Vrstni red merjenja je bil vedno sledeč: hidratacija, TEWL, pH. Cikel treh zaporednih meritev vseh treh parametrov je trajal nekje od 8 do 15 minut.

Statistična analiza podatkov

Statistično analizo podatkov smo izvedli z uporabo programskega paketa SPSS (verzija 22, IBM). Uporabili smo metodo analize variance (ANOVA) enega faktorja (vrsta mila). Za post hoc primerjavo med posameznimi pari smo uporabili test po Bonferoniju. Za statistično značilne smo opredelili tiste razlike, pri katerih je bila značilnost testa (p) manjša od 0,05.

4 REZULTATI IN RAZPRAVA

4.1 PREDŠTUDIJA

4.1.1 MERJENJE pH VREDNOSTI MIL

V preglednici I so prikazani rezultati merjenja pH vrednosti vseh 12 mil.

Preglednica I: Vrednosti pH 12 mil, izmerjene s pH metrom SevenCompact pH/Ion ter Skin-Ph-Metrom® PH 905

	pH meter SevenCompact pH/Ion		Skin-pH-Meter® PH 905 (SD)
	brez centrifugiranja	po centrifugiranju	
trdo alkalno milo št. 5	9,74	9,61	9,82 (0,09)
trdo kombinirano milo št. 6	6,95	7,09	7,21 (0,01)
trdi sindet št. 7	6,07	6,04	5,16 (0,02)
trdi sindet št. 8	6,64	6,48	5,61 (0,11)
trdo alkalno milo št. 1	9,88	/	10,62 (0,01)
trdo alkalno milo št. 2	9,82	/	10,86 (0,17)
trdo alkalno milo št. 3	9,64	/	10,11 (0,05)
trdo alkalno milo št. 4	9,95	/	10,92 (0,23)
tekoče milo št. 9	6,62	/	/
tekoče milo št. 10	6,03	/	/
tekoče milo št. 11	6,62	/	/
tekoče milo št. 12	5,72	/	/

Primerjali smo izmerjene pH vrednosti štirih disperzij mil pred in po centrifugiranju. Po centrifugiranju 15 minut pri 3500 obratih na minuto pri pripravljenih disperzijah nismo opazili nobenih vidnih sprememb. Zato smo centrifugirali še 30 minut pri 3500 obratih na minuto, kar je povzročilo rahlo zaznavno spremembo pri eni disperziji. Izvedli smo še 30-minutno centrifugiranje pri 4000 obratih na minuto. Sediment smo opazili pri trdih sindetih št. 7 in št. 8. Vsem disperzijam smo nato izmerili pH vrednost v območju supernatanta oziroma nekaj centimetrov pod vrhom vsebnika za centrifugiranje. Izmerjene pH vrednosti pa se niso bistveno razlikovale od tistih, ki so bile izmerjene pred centrifugiranjem, zato smo

ta korak pri drugih milih izpustili. Sklepamo namreč lahko, da proučevana mila ne vsebujejo takih sestavin, ki bi motile merjenje pH vrednosti.

Z merjenjem pH vrednosti 12 mil s pH metrom smo potrdili začetno razvrstitev mil v kategorije glede na sestavine. Trdi sindet št. 7 ima med trdimi mili najnižjo izmerjeno pH vrednost, 6,07. Trdi sindet št. 8 ima, čeprav ne vsebuje soli višjih maščobnih kislin, rahlo višji pH (6,64). Oba sindeta v svoji sestavi vsebujeta citronsko kislino, ki ima v izdelku vlogo uravnavanja pH vrednosti (69). Trdi sindet št. 7 pa poleg citronske kisline vsebuje še diamonijev citrat, ki je pufrsko sredstvo (69) in bi lahko pripomoglo k nižji pH vrednosti.

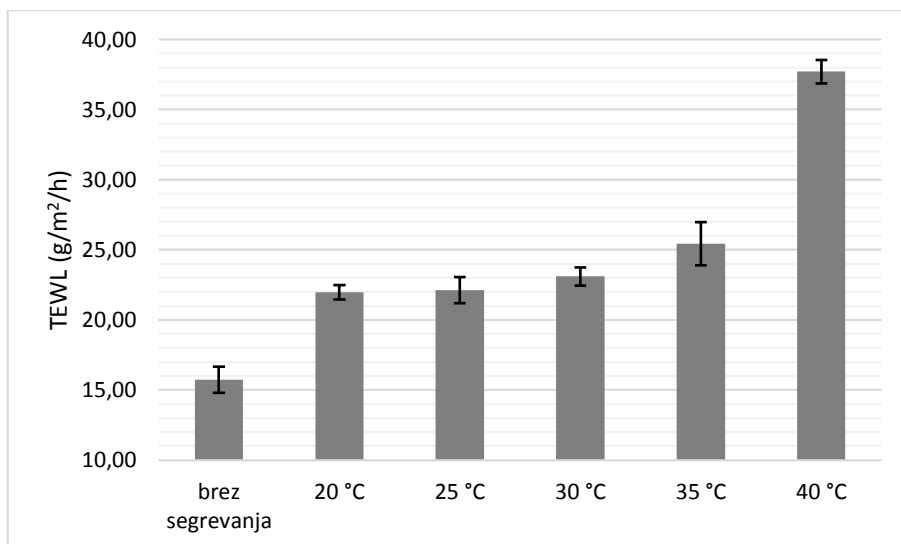
Kombinirano trdo milo št. 6 vsebuje največ sintezne PAS natrijevega kokoilizetionata, ki je pomembna sestavina sindetov (70). Vendar pa to milo vsebuje tudi precejšen delež natrijevega lavrata, stearata in miristata, zato ga prištevamo h kombiniranim milom. To potrjuje tudi pH vrednost 6,95, ki je višja od pH vrednosti sindetov in nižja od pH vrednosti klasičnih alkalnih mil. Vseeno pa je ta pH vrednost bolj podobna pH vrednosti sindetov, saj so kombinirana mila po videzu ter lastnostih bolj podobna sindetom, ker so sintezne aktivne sestavine bolj učinkovite kot milo (9).

Tudi trda mila št. 1–5 lahko vsebujejo posamezne sintezne PAS, vendar glede na vsebnost prevladujejo soli višjih maščobnih kislin, zato jih uvrščamo med klasična trda alkalna mila. To pa potrjujejo tudi izmerjene pH vrednosti, ki so v območju 9,6–10,0. Soli višjih maščobnih kislin oz. mila dajejo v vodi alkalno reakcijo, saj tvorijo hidroksidne ione (71). Tekoča mila št. 9–12 imajo izmerjene pH vrednosti med 5,7 in 6,7. Med njimi ima najnižji pH (5,72) tekoče milo št. 12, kar bi lahko bila posledica sestave, saj edino to milo vsebuje tako citronsko kot mlečno kislino. Obe imata v izdelku funkcijo uravnavanja pH vrednosti (69).

Za primerjavo smo pH vrednost trdih mil izmerili še s Skin-pH-Metrom® PH 905, ki omogoča neposredno merjenje pH vrednosti trdnih površin. Vrednosti se niso razlikovale za več kot $\pm 1,1$. S Skin-pH-Metrom® PH 905 izmerjena pH vrednost sindetov je bila manjša od tiste, izmerjene s pH metrom. Pri drugih milih pa je bilo opaziti ravno nasprotno, Skin-pH-Meter® PH 905 je podal višje vrednosti. Lahko bi rekli, da je pri merjenju s Skin-pH-Metrom® PH 905 prišel bolj do izraza kisel značaj sindetov oziroma bazični značaj drugih mil.

4.1.2 VPLIV TEMPERATURE GRELNIKA ZA SONDO NA IZMERJENE TEWL VREDNOSTI

Na sliki 4 je prikazana odvisnost izmerjenih TEWL vrednosti od temperature grelnika za sondo.



Slika 4: Odvisnost TEWL vrednosti od temperature grelnika za sondo v primerjavi s TEWL, izmerjeno brez segrevanja sonde.

Senzorji sonde Tewametra so navadno sobne temperature, kar ne sovpada s temperaturo kože, ki je 30 °C ali več. Ker gre pri merjenju vode, ki izhlapi skozi kožo, za zelo majhne količine, je priporočljivo, da se temperatura senzorjev v sondi približa temperaturi kože. Tako so meritve točne in stabilne (68). Želeli smo določiti optimalno temperaturo grelnika za sondo, ki bi omogočala najbolj zanesljive rezultate.

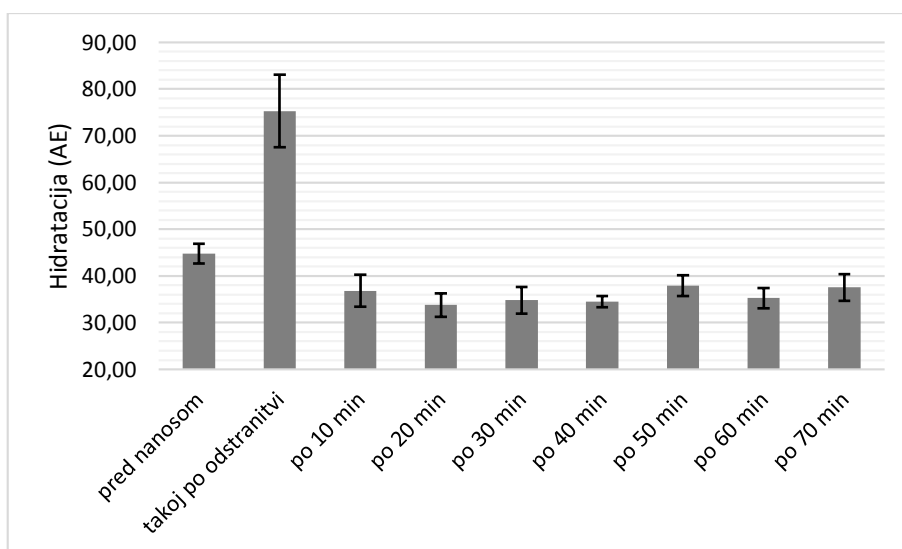
Pri merjenju TEWL brez predhodnega segrevanja sonde so izmerjene vrednosti precej nižje v primerjavi z rezultati meritev, izvedenih s termostatisirano sondo. Ti rezultati so v skladu z ugotovitvami, ki jih navajajo Thoma in sodelavci (72).

Pri temperaturi grelnika 40 °C opazimo intenzivno povišanje TEWL vrednosti. To lahko povežemo z aktivnostjo žlez znojnic, ki so motile meritev in lažno povišale izmerjeno TEWL. Pojav in obseg znojenja sta namreč močno odvisna od lokalne temperature kože. Vaneauumont in Bullard navajata, da je ta vpliv očiten pri temperaturah kože, višjih od 33 °C (73). Možna razlaga za močno povišano TEWL pri temperaturi grelnika 40 °C in v manjši meri tudi pri temperaturi grelnika 35 °C bi lahko bila ta, da je temperatura sonde vplivala na

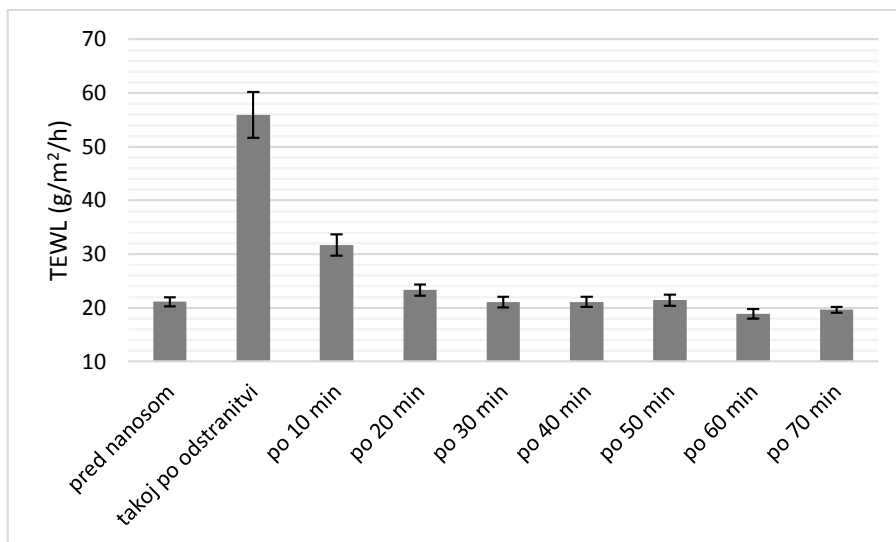
lokalno temperaturo kože, kar je dalje sprožilo odziv žlez znojnic v bližini. Izločen znoj je tako povišal izmerjene vrednosti in ti dve temperaturi nista primerni za merjenje TEWL. Pri temperaturah 20 °C, 25 °C in 30 °C so bile izmerjene vrednosti precej podobne, zato smo se odločili za temperaturo 30 °C, saj je le-ta najbližje temperaturi človeške kože (74). V vseh nadaljnjih meritvah smo zato sondo za merjenje TEWL predhodno segreli v grelniku, nastavljenem na temperaturo 30 °C.

4.1.3 ODVISNOST POSAMEZNIH PARAMETROV OD ČASA PO ODSTRANITVI OBLIŽA Z MILOM

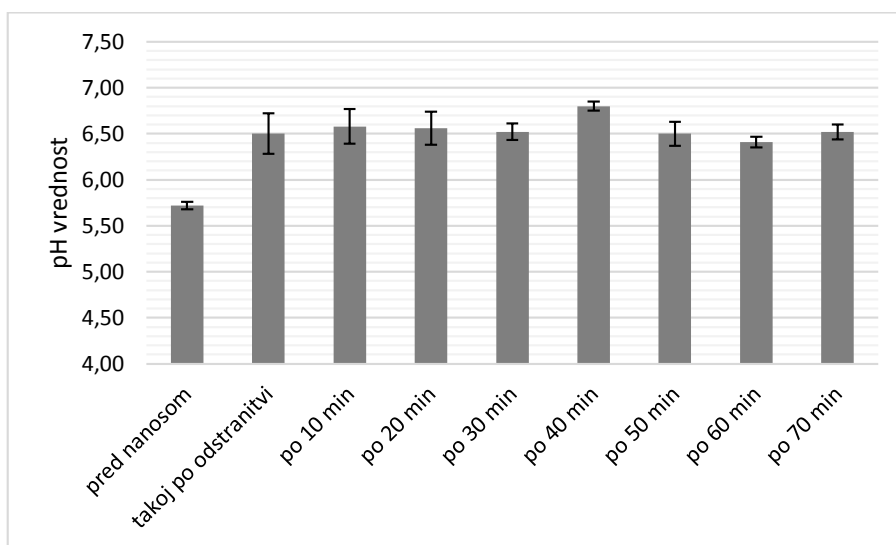
Na slikah 5, 6 in 7 so prikazani rezultati merjenja posameznih parametrov (hidracija kože, TEWL, pH kože) pred nanosom obliža z milom, takoj po odstranitvi obliža ter v časovnih intervalih na vsakih 10 minut do 70 minut po odstranitvi.



Slika 5: Odvisnost hidracije kože od časa po odstranitvi obliža z milom v primerjavi s hidracijo pred nanosom obliža.



Slika 6: Odvisnost TEWL od časa po odstranitvi obliža z milom v primerjavi s TEWL pred nanosom obliža.



Slika 7: Odvisnost pH vrednosti kože od časa po odstranitvi obliža z milom v primerjavi s pH vrednostjo pred nanosom obliža.

Na ta način smo želeli določiti optimalne časovne točke merjenja. Iz slik 5 in 6 je razvidno, da merjenje hidratacije in TEWL takoj po odstranitvi obliža ni smiselno. Na površini kože je namreč takrat še prisotna voda, ki po umivanju še ni v celoti izhlapela, kljub rahli osušitvi s papirnatimi brisačami. Ta odvečna voda moti meritve hidratacije in TEWL, saj lažno poviša izmerjene vrednosti. Po 10 minutah po odstranitvi obliža vpliv preostale vode na izmerjeno hidratacijo ni več prisoten, saj je izmerjena hidratacija nižja od tiste, izmerjene pred nanosom obliža. 10 minut po odstranitvi obliža se torej že pokažejo učinki mila na

hidratacijo kože. Drugače pa je s TEWL, ki je po 10 minutah po odstranitvi obliža še vedno povišana. Glede na nizko hidratacijo v tej točki bi sicer sklepali, da je izhlapela že vsa voda s površine kože, vendar obstaja možnost, da so meritve TEWL bolj občutljive na morebitne minimalne količine preostale vode, ki jih z merjenjem hidratacije ne moremo zaznati. Lahko pa je povišana TEWL 10 minut po odstranitvi obliža že posledica učinka mila na barierno funkcijo kože, vendar bi v tem primeru verjetno povišanje TEWL ostalo prisotno dlje časa. 20 minut po odstranitvi obliža je bila namreč vrednost TEWL že precej nižja, še bolj pa po 30 minutah. Da bi se zagotovo izognili vplivu preostale vode na površini kože, smo se tako odločili, da bomo prvi cikel meritev izvajali 30 minut po odstranitvi obliža. To je ustrezno tudi s stališča merjenja pH vrednosti, ki pa ni občutljivo na preostalo vodo. Vrednosti pH kože so približno enake v vseh časovnih točkah merjenja do 70 minut po odstranitvi obliža. Meritve, katerih rezultati so prikazani na slikah 5–7, ne kažejo, da bi se koža po 70 minutah po odstranitvi obliža povrnila v začetno stanje, vendar smo v nadaljevanju to želeli potrditi s testiranjem več mil na 1 osebi. Izbrani časovni točki za nadaljnje meritve sta torej 30 oziroma v nekaterih primerih tudi 70 minut po odstranitvi obliža z milom.

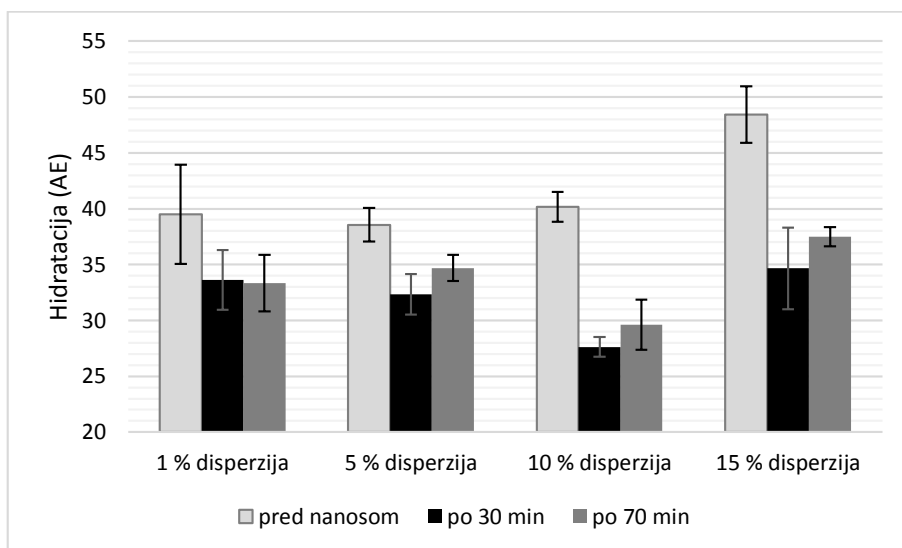
4.1.4 VPLIV KONCENTRACIJE DISPERZIJE MILA NA PROUČEVANE PARAMETRE

Na slikah 8, 9 in 10 so prikazane odvisnosti proučevanih parametrov (hidratacija kože, TEWL, pH kože) od koncentracije disperzije nanesenega mila.

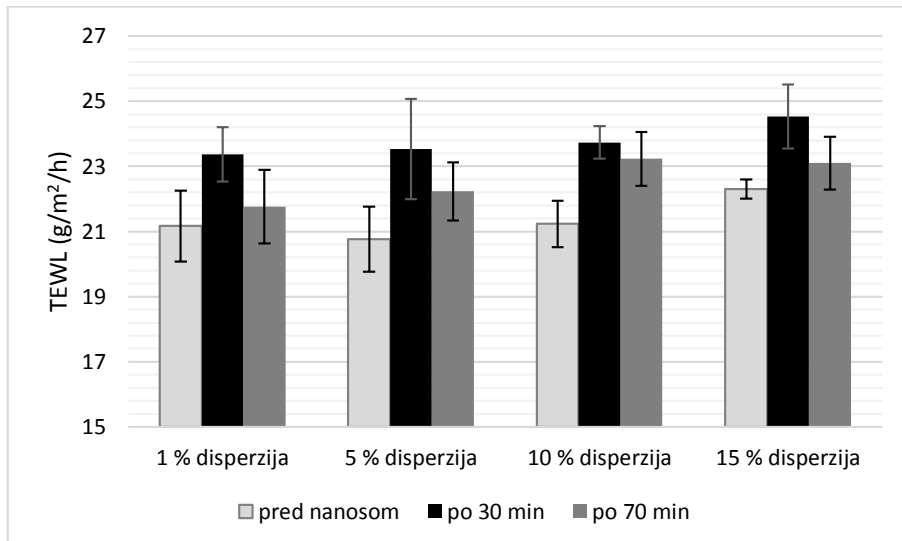
Z meritvami, katerih rezultati so prikazani na slikah 8–10, smo želeli določiti najbolj primerno koncentracijo disperzije mila za nanos na kožo. Pričakovali smo, da se bodo učinki povečevali s povečevanjem koncentracije. S slike 8 je razvidno, da je učinek 1-odstotne in 5-odstotne disperzije na zmanjšanje hidratacije kože podoben. Pri 10-odstotni in 15-odstotni disperziji je ta pojav bolj izrazit, vendar zopet podoben pri obeh koncentracijah. Glede na rezultate, prikazane na sliki 9, ni bilo možno sklepati o vplivu koncentracije disperzije nanesenega mila na izmerjene TEWL vrednosti. Kar pa se tiče izmerjenih pH vrednosti kože, je s slike 10 razvidno, da rahlo izstopa le 15-odstotna disperzija, ki je povzročila bolj intenzivno povišanje pH kože. Druge koncentracije disperzij so povzročile približno enako močno spremembo pH vrednosti kože.

Glede na rezultate sklepamo, da ima koncentracija nanesene disperzije mila manjši vpliv na izmerjene parametre, kot smo sprva pričakovali. Morda bi bile te razlike bolj opazne, če bi

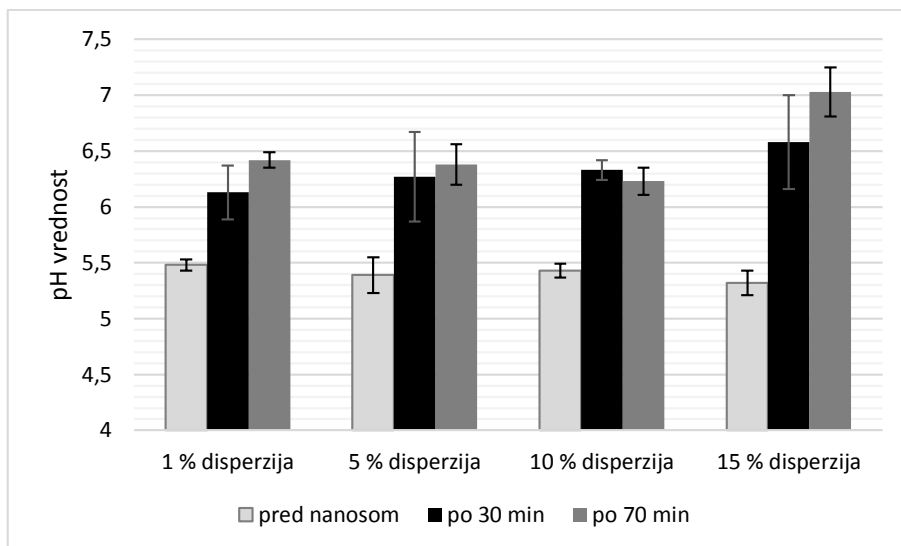
proučili vpliv disperzij s še manjšimi oz. s še večjimi koncentracijami. Glede na rezultate izvedenega poskusa smo se odločili, da bomo v nadaljevanju uporabljali 10-odstotne disperzije mil.



Slika 8: Hidracija kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od koncentracije nanesene disperzije mila.



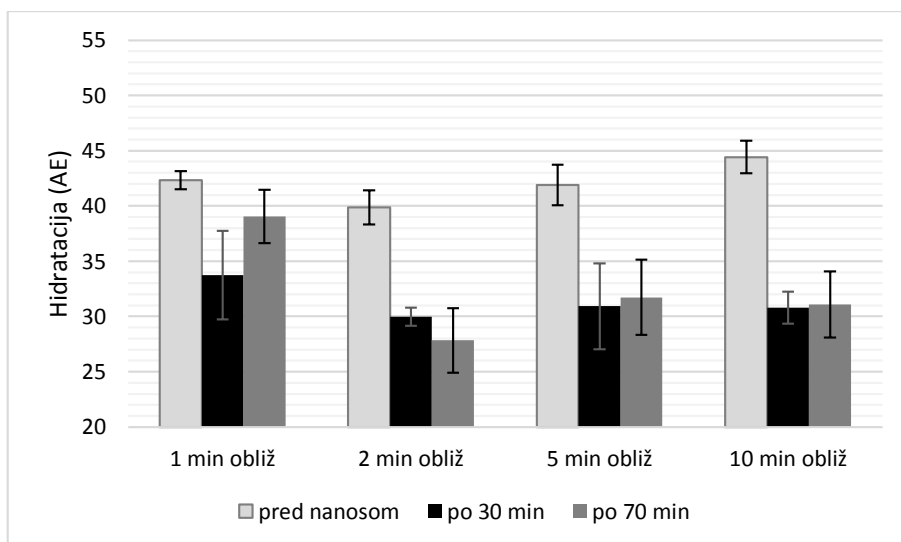
Slika 9: TEWL (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od koncentracije nanesene disperzije mila .



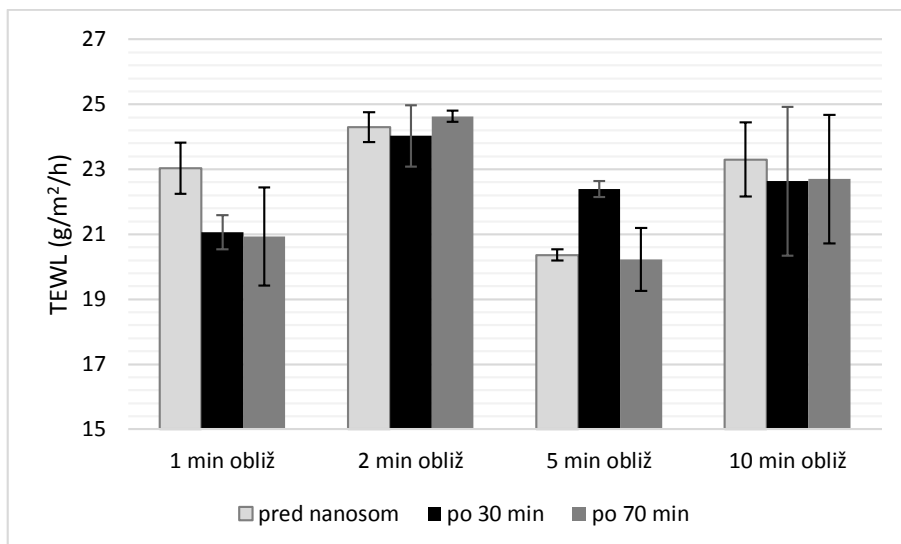
Slika 10: Vrednost pH kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od koncentracije nanesene disperzije mila.

4.1.5 VPLIV ČASA TRAJANJA NANOSA OBLIŽA Z MILOM NA PROUČEVANE PARAMETRE

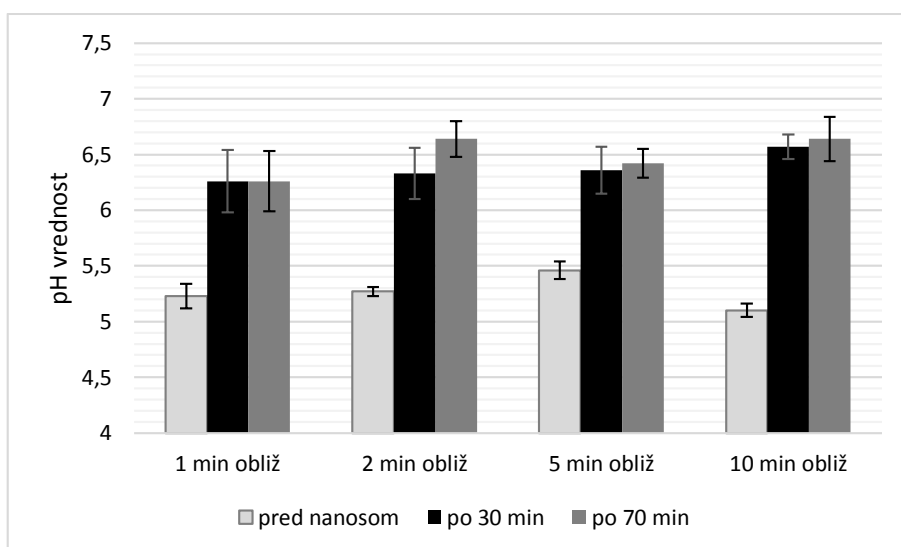
Na slikah 11, 12 in 13 so prikazane odvisnosti posameznih parametrov (hidratacija kože, TEWL, pH kože) od časa trajanja prisotnosti obliža z milom na koži.



Slika 11: Hidratacija kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od časa trajanja nanosa obliža z milom.



Slika 12: TEWL (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od časa trajanja nanosa obliža z milom.



Slika 13: Vrednost pH kože (pred nanosom obliža z milom in po 30 ter 70 minutah po odstranitvi obliža) v odvisnosti od časa trajanja nanosa obliža z milom.

Tudi vpliv časa trajanja nanosa obliža z milom se je izkazal za manj pomembnega, kot smo pričakovali. S slike 11 je razvidno, da je 1-minutni obliž povzročil najmanj intenzivno zmanjšanje hidratacije, le-ta pa se je po 70 minutah deloma tudi povrnila nazaj v prvotno stanje. Spremembe hidratacije pri časih trajanja nanosa obliža 2 minuti, 5 minut in 10 minut so se z daljšanjem časa sicer rahlo povečevale, vendar glede na standardne deviacije posameznih vrednosti ne moremo zagotovo sklepati o tej povezavi.

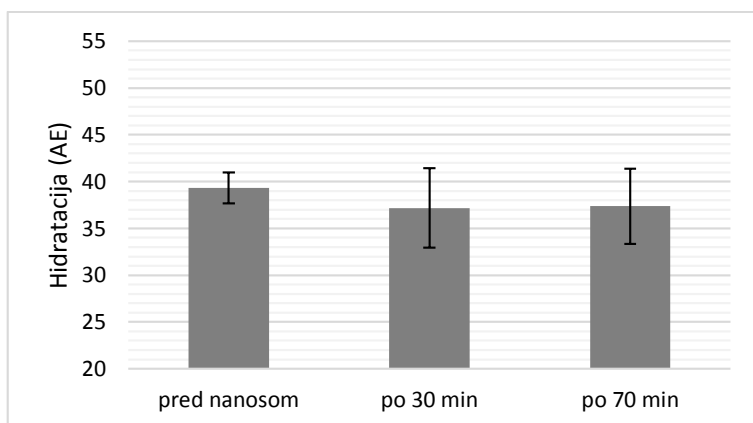
Rezultati, prikazani na sliki 12, ne kažejo nobene odvisnosti TEWL od časa trajanja nanosa obliža z milom. TEWL se je po 1-minutnem, 2-minutnem in 10-minutnem obližu z milom zmanjšala, po 5-minutnem obližu pa povečala. Visoke standardne deviacije posameznih vrednosti pa zopet onemogočajo posploševanje rezultatov.

S slike 13 je razvidno, da čas trajanja nanosa obliža z milom ni bistvenega pomena tudi za spremembe v pH vrednosti kože. Le-te so podobne pri vseh časih trajanja nanosa obliža. Rahlo intenzivnejše povišanje vrednosti je opaziti pri času trajanja nanosa obliža 10 minut, vendar je bila na tem mestu začetna vrednost pH kože nižja kot na drugih mestih in je morda tako sprememba bolj izrazita.

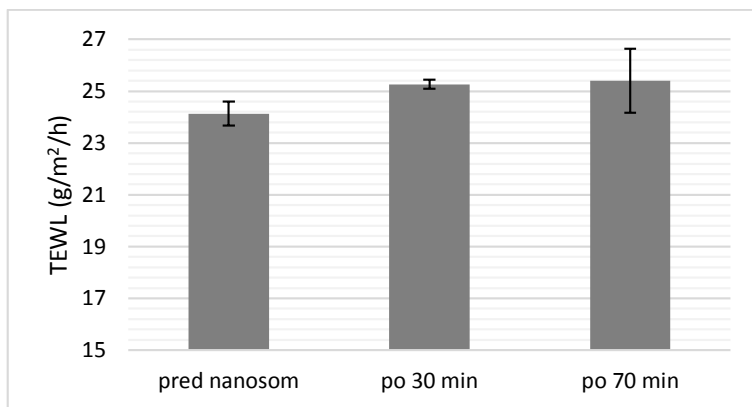
Na podlagi rezultatov, opisanih v tem poglavju, smo za prihodnje meritve določili čas trajanja nanosa obliža 5 minut.

4.1.6 KONTROLA – VPLIV OBLIŽA Z VODO NA PROUČEVANE PARAMETRE

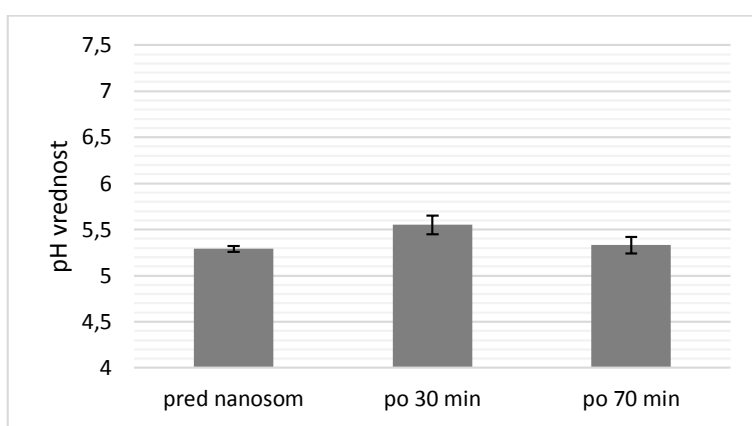
Na slikah 14, 15 in 16 so prikazani rezultati merjenja proučevanih parametrov (hidratacija kože, TEWL, pH kože) pred nanosom obliža z vodo ter 30 in 70 minut po nanosu obliža z vodo.



Slika 14: Hidratacija kože pred nanosom obliža z vodo in 30 ter 70 min po odstranitvi obliža.



Slika 15: TEWL pred nanosom obliža z vodo in 30 ter 70 min po odstranitvi obliža.



Slika 16: Vrednost pH kože pred nanosom obliža z vodo in 30 ter 70 min po odstranitvi obliža.

Želeli smo se prepričati, da so spremembe v proučevanih parametrih resnično posledica nanosa mila, zato smo izvedli kontrolni poskus z obližem z vodo.

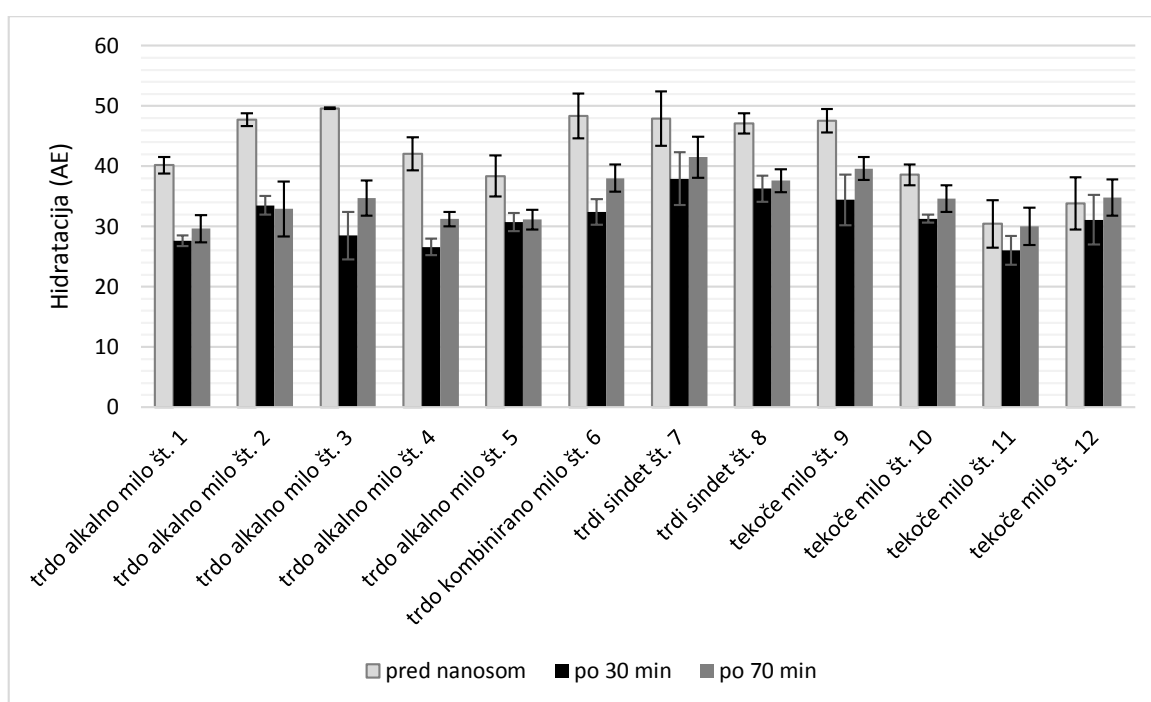
S slike 14 lahko razberemo, da obliž z vodo ni povzročil bistvenih sprememb v hidrataciji kože. Povprečna vrednost merjenih mest je sicer po odstranitvi obliža rahlo padla, vendar visoka standardna deviacija onemogoča sklepanje, da bi voda znižala hidratacijo kože. Ta ugotovitev je v skladu z rezultati Voegelija. Le-ta pa je po umivanju z vodo zabeležil povišanje TEWL (51), kar smo potrdili tudi v okviru naših meritev. Rezultati merjenja TEWL so prikazani na sliki 15.

Kar pa se tiče spremembe v pH vrednosti kože, je s slike 16 razvidno, da se je pH kože po obližu z vodo rahlo povišal. Lambers in sodelavci so zapisali, da lahko uporaba navadne vode s pH vrednostjo 8 poviša pH kože tudi na 6, ta sprememba pa lahko ostane prisotna tudi do 6 ur po umivanju (75). V našem primeru ni šlo za tako drastično povišanje pH vrednosti, po 70 minutah pa je bila pH vrednost kože zopet primerljiva z začetnim stanjem.

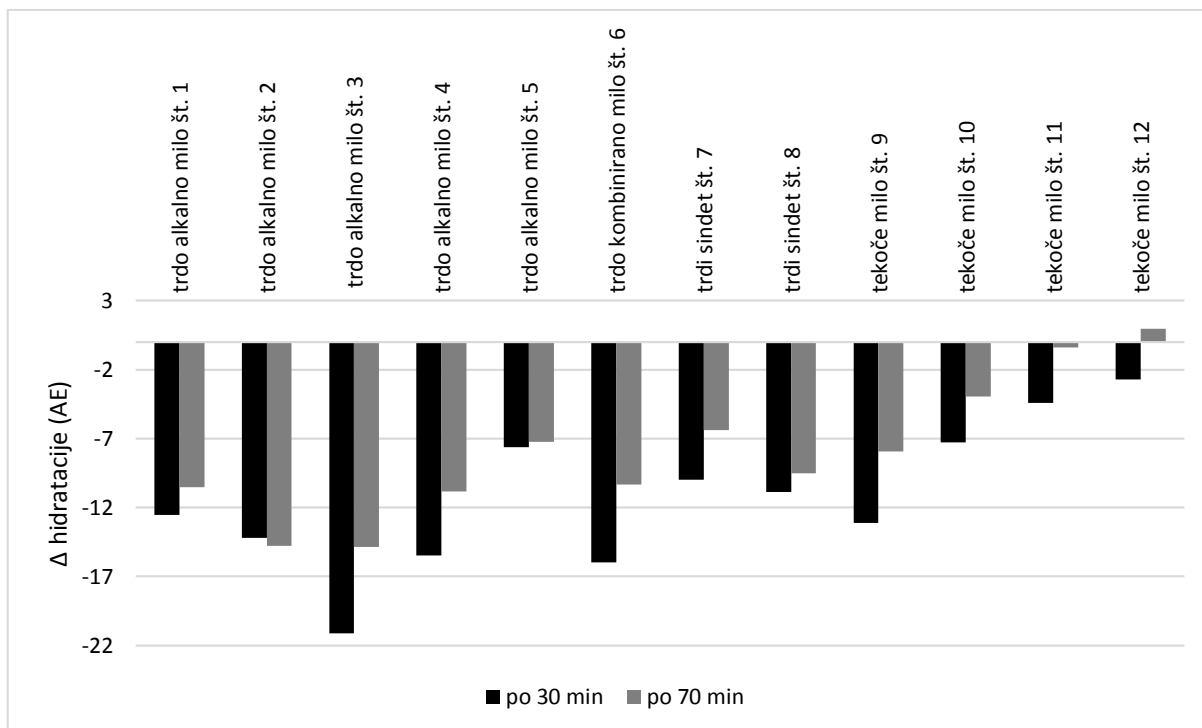
Zaključimo lahko, da voda, gaza ali alkoholni flomaster ne vplivajo bistveno na proučevane parametre. Če bodo po obližu z milom spremembe bolj intenzivne, jih bomo lahko pripisali milu.

4.1.7 TESTIRANJE CELOTNEGA NABORA MIL NA ENI TESTNI OSEBI

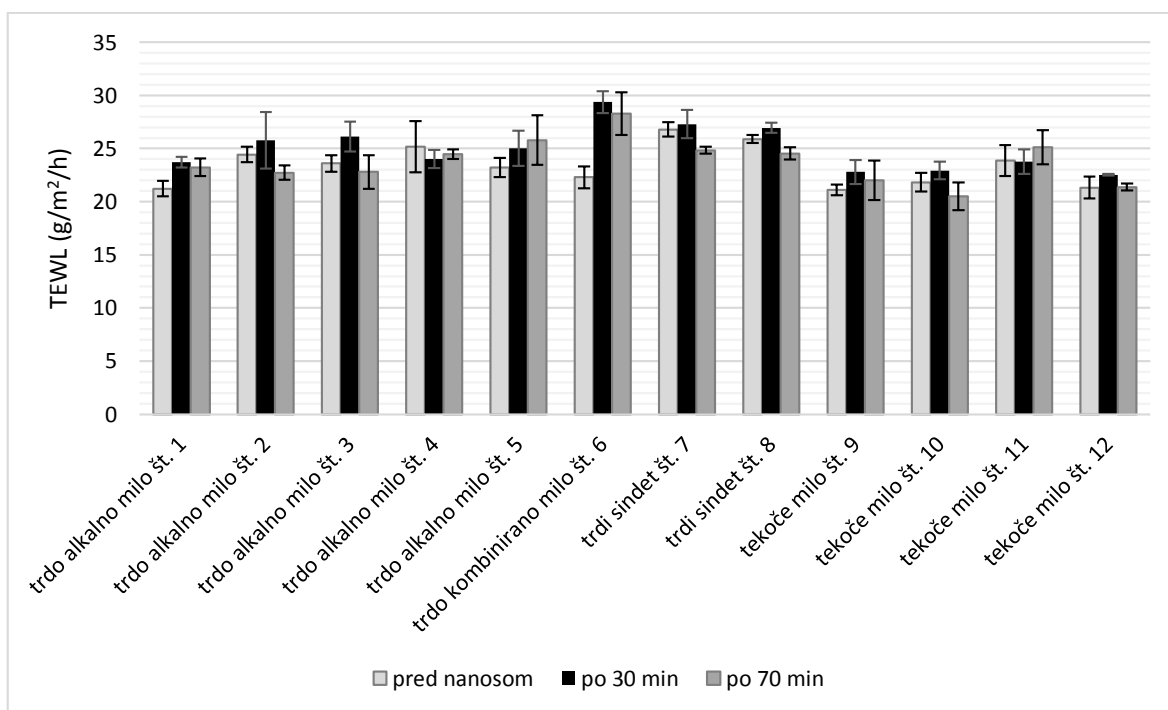
Na slikah 17, 19 in 21 so prikazani rezultati meritev proučevanih parametrov (hidratacija kože, TEWL, pH kože) pred nanosom obliža z milom ter 30 in 70 minut po odstranitvi obliža za 12 različnih mil, slike 18, 20 in 22 pa prikazujejo spremembe proučevanih parametrov kot posledice nanosa 12 različnih mil.



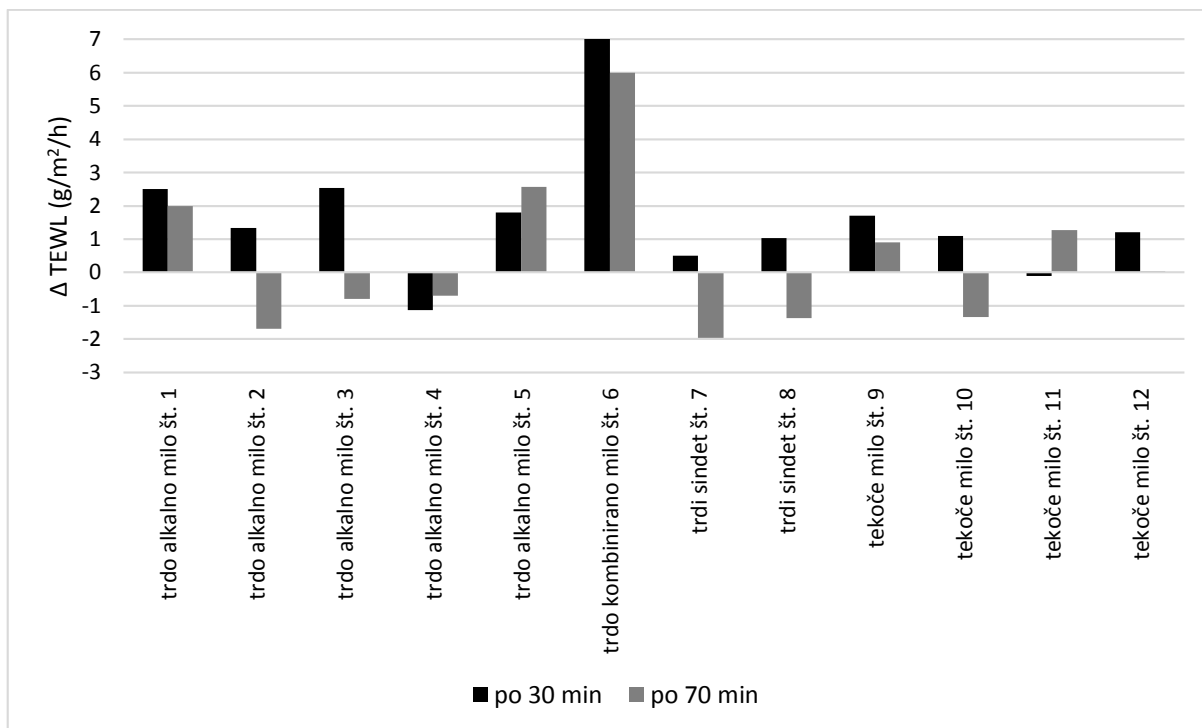
Slika 17: Hidratacija pred nanosom obliža z milom ter 30 in 70 minut po odstranitvi obliža za 12 različnih mil.



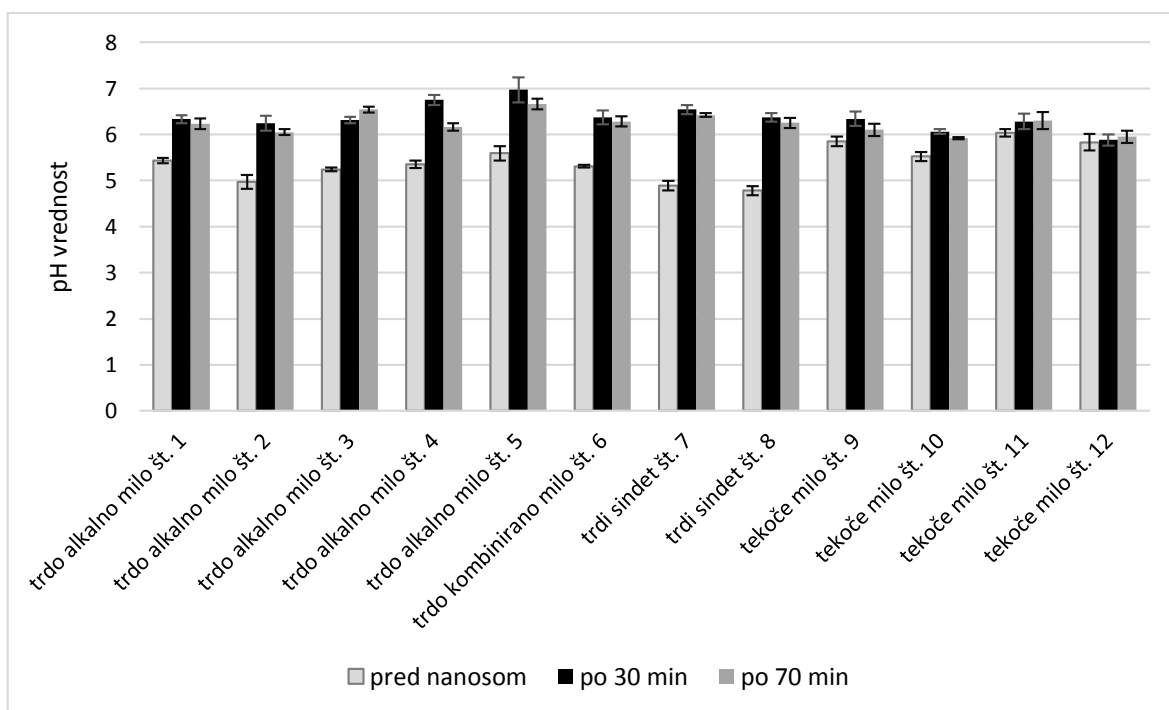
Slika 18: Sprememba hidratacije kože 30 in 70 minut po odstranitvi obliža v primerjavi s hidratacijo pred nanosom za 12 različnih mil.



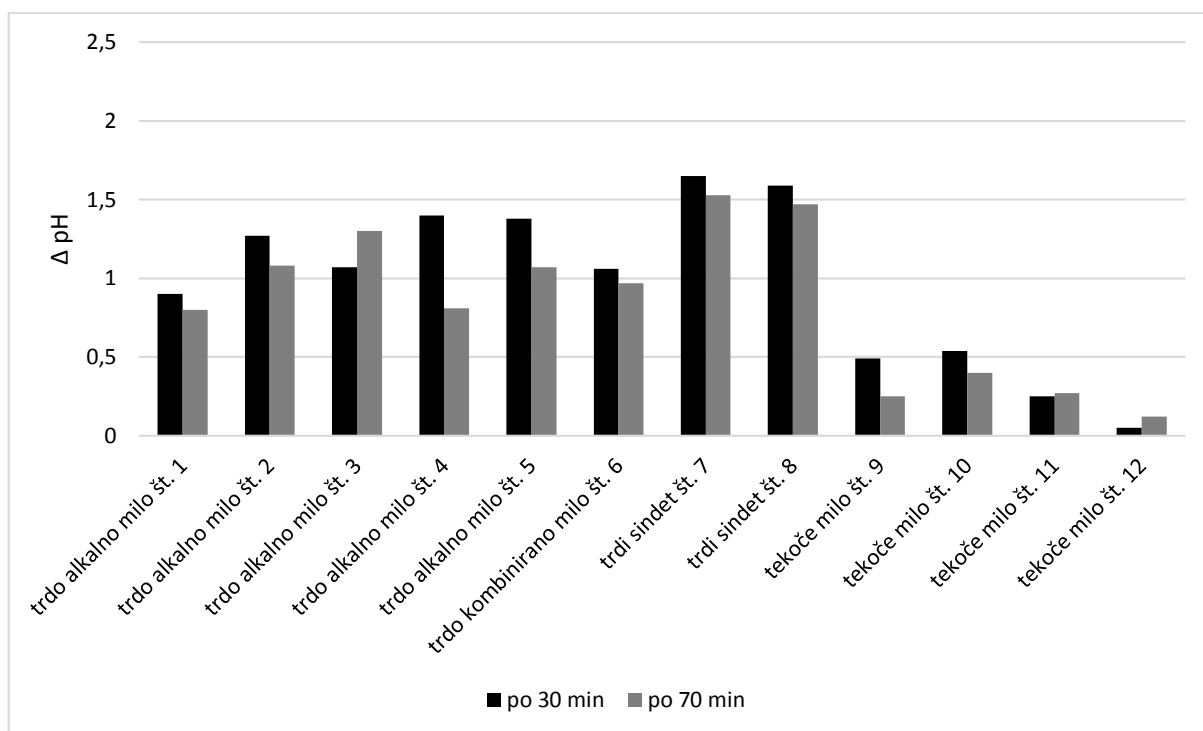
Slika 19: TEWL pred nanosom obliža z milom ter 30 in 70 minut po odstranitvi obliža za 12 različnih mil.



Slika 20: Sprememba TEWL 30 in 70 minut po odstranitvi obliža v primerjavi s TEWL pred nanosom za 12 različnih mil.



Slika 21: Vrednost pH kože pred nanosom obliža z milom ter 30 in 70 minut po odstranitvi obliža za 12 različnih mil.



Slika 22: Sprememba pH kože 30 in 70 minut po odstranitvi obliža v primerjavi s pH kože pred nanosom za 12 različnih mil.

Kot je razvidno s slik 17 in 18, so vsa proučevana mila povzročila zmanjšanje hidratacije kože 30 minut po odstranitvi obliža z milom. Ta učinek je bil najbolj izrazit pri trdih alkalnih milih št. 1–4, pri trdem kombiniranem milu št. 6 ter pri tekočem milu št. 9. Manj intenzivno zmanjšanje hidratacije po 30 minutah sta povzročila trda sindeta št. 7 in 8, še manj učinka na hidratacijo sta imela trdo alkalno milo št. 5 ter tekoče milo št. 10, najmanj izrazito znižanje hidratacije po 30 minutah pa je bilo opaziti po nanosu tekočih mil št. 11 in 12. Glede na raziskave drugih avtorjev (52, 56, 57) smo pričakovali, da bo največjo spremembo hidratacije opaziti pri klasičnih trdih milih. To se je izkazalo za resnično za klasična trda mila št. 1–4, izstopalo pa je klasično alkalno milo 5, ki je v primerjavi z drugimi povzročilo manj intenzivno zmanjšanje hidratacije. Vzrok bi morda lahko bil v relativno visoki vsebnosti lipidov, s katerimi je obogateno omenjeno milo. Vsebuje namreč olje sončničnih semen in karitejevo maslo (Priloga I), ki upočasni izgubo vode iz kože preko tvorbe bariere na površini kože, izboljšata pa tudi videz suhe in poškodovane kože z zmanjšanjem luščenja in obnavljanjem voljnosti kože (58). Po 70 minutah po odstranitvi obliža se je pri skoraj vseh milih hidratacija izboljšala oziroma vsaj do neke mere približala prvotnemu stanju. Izjemi sta trdi alkalni mili št. 2 in 5, katerih učinki so bili po 70 minutah precej podobni tistim, izmerjenim po 30 minutah. Najbolj pa je izstopalo tekoče milo št. 12, kjer je bilo po 70

minutah po odstranitvi obliža opaziti večjo hidratacijo v primerjavi s prvotnim stanjem. Pričakovali bi, da to milo vsebuje številne vlažilne sestavine, vendar glede na vsebnost vlažilcev tekoče milo št. 12 ni posebej izstopalo. Vsebuje namreč le glicerol, tako kot tudi nekatera druga proučevana mila (Priloga I).

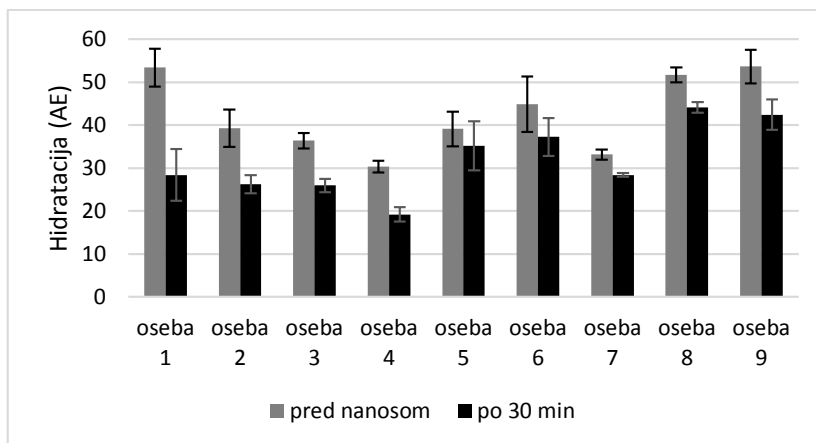
Iz rezultatov, prikazanih na slikah 19 in 20, ne moremo sklepati o bistvenem vplivu mil na izmerjene TEWL vrednosti. Rahlo izstopa le trdo kombinirano milo št. 6, kjer je bilo opaziti precejšnje povečanje TEWL po 30 in 70 minutah v primerjavi z začetnim stanjem. Za potrditev tega učinka bi bilo potrebno milo testirati na več osebah.

Skoraj vsa proučevana mila so izkazala vpliv na pH vrednost kože, kar potrjujeta sliki 21 in 22. Najbolj intenzivno povišanje pH je bilo opaziti pri trdih sindetih št. 7 in 8, sledila pa so trda alkalna mila št. 1–5 in trdo kombinirano milo št. 6. To je v nasprotju z ugotovitvami nekaterih avtorjev (61–63), ki navajajo bolj intenzivno spremembo pH kože po uporabi klasičnih trdih mil. S slike 21 je razvidno, da je bil ravno na mestih nanosa trdih sindetov št. 7 in 8 bazalni pH kože zelo nizek. Možno je, da je zaradi tega prišlo do bolj izrazite spremembe pH vrednosti. Vprašanje je, kakšna bi bila ta sprememba, če bi bil pH kože pred nanosom mila višji. Najmanj izrazito povišanje pH vrednosti kože so povzročila tekoča mila št. 9–12, med njimi je imelo najmanjši učinek tekoče milo št. 12, ki je imelo tudi najnižjo pH vrednost med vsemi mili (Preglednica I). Po 70 minutah po odstranitvi obliža z milom je bil pH kože pri skoraj vseh milih nižji kot 30 minut po odstranitvi obliža. Mehanizmi kože za obnavljanje so se torej v tem času v večini primerov že aktivirali.

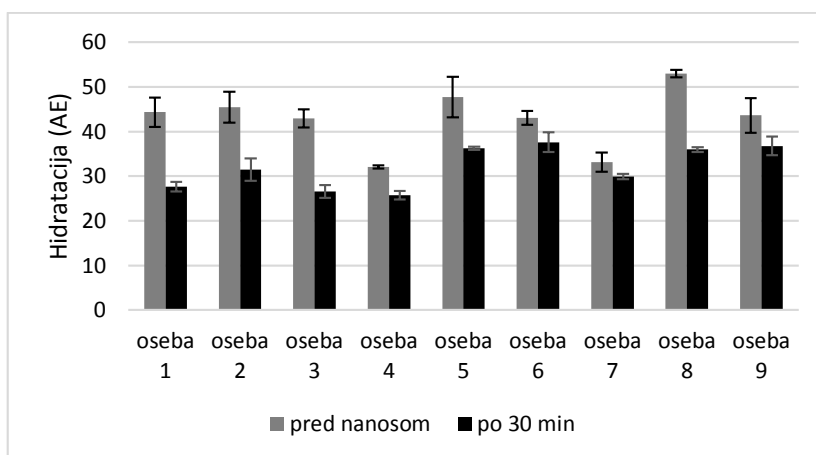
4.2 ŠTUDIJA: TESTIRANJE IZBRANIH MIL NA TESTNIH OSEBAH

4.2.1 VPLIV MIL NA HIDRATACIJO KOŽE

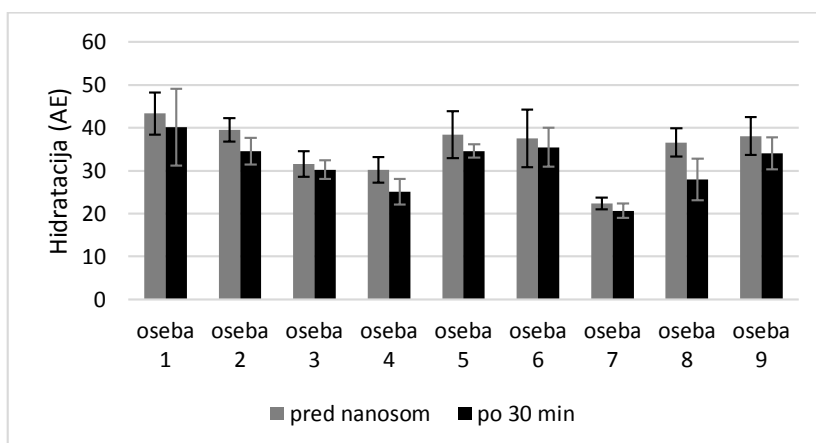
Na slikah 23–28 so prikazane izmerjene vrednosti hidratacije pred nanosom obliža z milom ter 30 minut po nanosu za 6 izbranih mil, ki smo jih testirali na 9 prostovoljcih. Za posamezne osebe smo izračunali spremembe v hidrataciji kot posledice učinkov mil. Povprečne spremembe v hidrataciji vseh 9 prostovoljcev za posamezna mila so prikazane na sliki 29. Izvedli smo tudi statistično analizo podatkov, katere rezultati so zbrani v preglednici II.



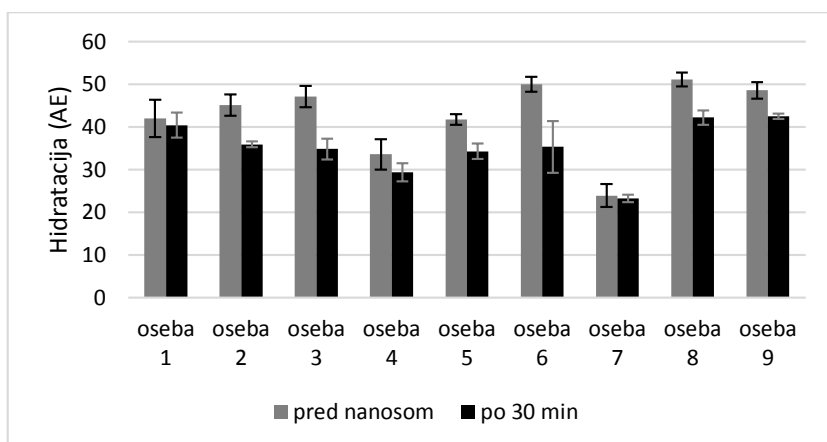
Slika 23: Trdo alkalno milo št. 3 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



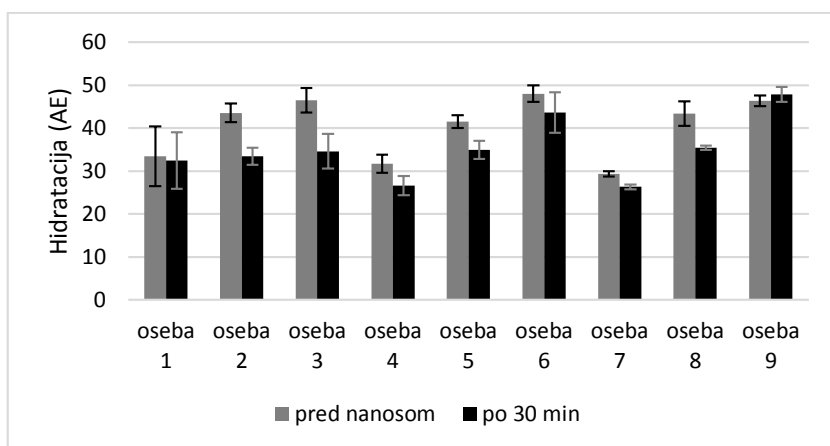
Slika 24: Trdo alkalno milo št. 4 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



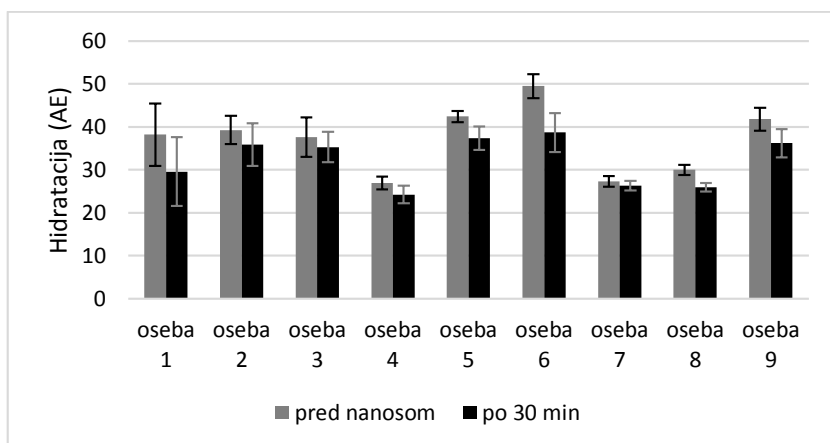
Slika 25: Trdi sindet št. 7 (Priloga I): hidratacija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



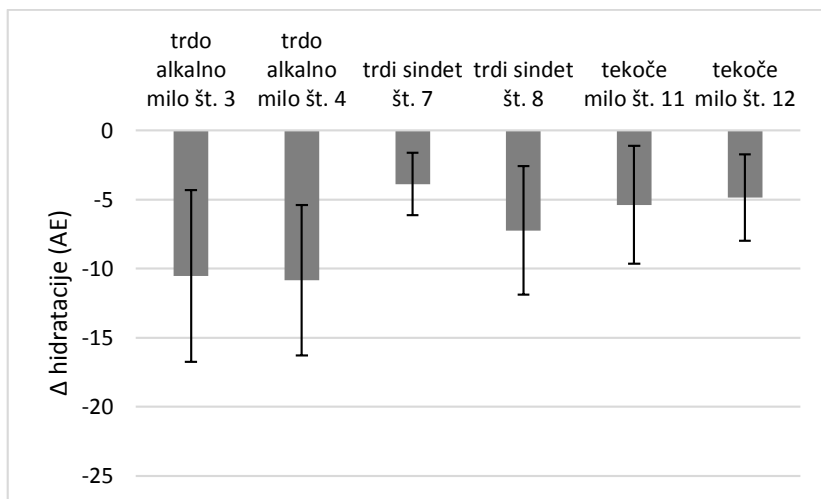
Slika 26: Trdi sindet št. 8 (Priloga I): hidracija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 27: Tekoče milo št. 11 (Priloga I): hidracija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 28: Tekoče milo št. 12 (Priloga I): hidracija kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 29: Povprečne spremembe v hidrataciji (30 minut po nanosu obliža z milom v primerjavi z začetnim stanjem) za posamezna mila.

Preglednica II: Povprečne vrednosti hidratacije kože pred nanosom mila in 30 min po nanosu mila s podanimi povprečnimi spremembami. Pri vseh vrednostih je zapisana tudi standardna deviacija.

	Hidratacija pred nanosom (SD)	Hidratacija 30 min po nanosu (SD)	Δ Hidratacija (SD)	p
trdo alkalno milo št. 3	42,46 (8,85)	31,94 (8,32)	-10,52 (6,23) ^a	0,001
trdo alkalno milo št. 4	42,82 (6,59)	31,98 (4,75)	-10,84 (5,44) ^b	0,000
trdi sindet št. 7	35,29 (6,27)	31,41 (6,00)	-3,88 (2,26) ^{a, b}	0,001
trdi sindet št. 8	42,58 (8,80)	35,36 (6,18)	-7,23 (4,65)	0,002
tekoče milo št. 11	40,40 (7,03)	35,02 (7,03)	-5,38 (4,27)	0,005
tekoče milo št. 12	37,02 (7,57)	32,18 (5,62)	-4,84 (3,13)	0,002
p-ANOVA			0,005	

p-vrednost opredeljuje značilnost razlike v vrednosti hidratacije kože pred nanosom in po nanosu posameznega mila (parni t-test).

p-ANOVA podaja značilnost razlike med posameznimi mili (ANOVA enega faktorja).

Nadpisane male črke označujejo značilne razlike med pari (post hoc test po Bonferoniju, $p < 0,05$).

Kot je razvidno s slik 23–29, so vsa proučevana mila povzročila zmanjšanje hidratacije kože v primerjavi z začetnim stanjem, izjema je bilo le tekoče milo št. 11 pri osebi 9. Bazalne vrednosti hidratacije so se v okviru 9 testnih oseb gibale med 20 in 55 arbitrarnih enot, kar

kaže na širok razpon različnih stopenj hidratiranosti kože med osebami. Največjo spremembo hidratacije smo opazili po nanosu trdega alkalnega mila št. 3 pri osebi 1, ko se je hidratacija zmanjšala kar za 25 arbitrarnih enot. Visoka bazalna vrednost hidratacije pri osebi 1 bi sicer lahko bila posledica okluzije zaradi uporabe rokavic pred izvedbo meritev, vendar gre v vsakem primeru za zelo intenzivno zmanjšanje hidratacije. S slike 29 je razvidno, da sta obe trdi alkalni mili povzročili najbolj izrazito zmanjšanje hidratacije kože. Sledijo jima trdi sindet št. 8, tekoči mili št. 11 in 12, najmanj pa je kožo izsušil trdi sindet št. 7. To je v nasprotju z rezultati meritev, prikazanimi na sliki 17, ki so bile izvedene na eni osebi. Za ustrezno primerjavo učinkov različnih mil je tako potrebno izvajanje meritev na čim več testnih osebah.

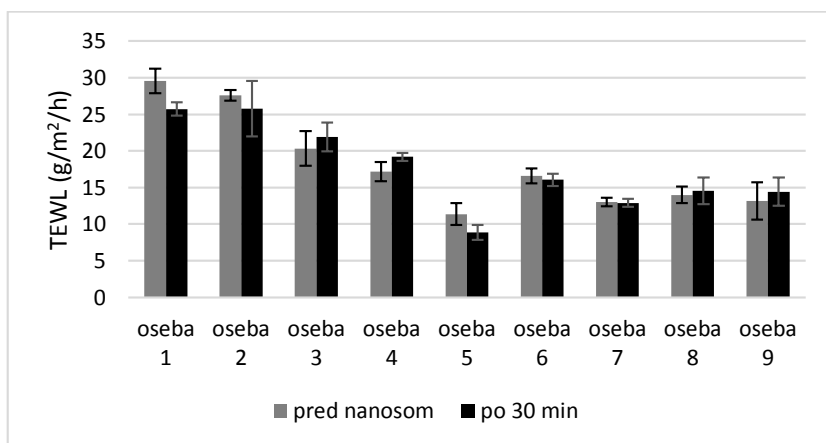
Pomembnost zmanjšanja hidratacije kože po nanosu mil smo preverili tudi s parnim t-testom, s katerim smo potrdili, da gre v vseh primerih za statistično značilne razlike v vrednostih pred in po nanosu posameznega mila ($p < 0,05$). Statistično značilne razlike pa obstajajo tudi med posameznimi mili (p -ANOVA $< 0,05$), zlasti med trdim alkalnim milom št. 3 in trdim sindetom št. 7 ter trdim alkalnim milom št. 4 in trdim sindetom št. 7 (preglednica II).

PAS v izdelku prehajajo *stratum corneum* do živega epidermisa in spremenijo proces celične diferenciacije. Posledica te interakcije je primarno draženje, ki se kaže z rdečico kože, spremembo kompozicije lipidov *stratum corneum* ter morda tudi s še nezaznavnimi spremembami v samih korneocitih. Zaradi omenjenih sprememb je okvarjena barierna funkcija *stratum corneum*. PAS zato tekom umivanja lažje prehajajo do epidermisa, vsebnost vode v koži pa se zmanjša zaradi povečane transpiracije. Luskasta in groba površina kože vodi v nepopolno deskvamacijo suhih, neplastičnih korneocitov. Sposobnost PAS, da povzroči izsušitev in grobost kože, je torej odvisna od sposobnosti penetriranja skozi *stratum corneum* ter od toksičnosti, ki jo PAS predstavlja za epidermalno tkivo (57). Poleg tega pa so za kapaciteto zadrževanja vode ter stanje hidratacije kože zelo pomembni površinski lipidi (ki izvirajo iz lojnic) ter lipidi *stratum corneum* (ki izvirajo iz lamelarnih teles). Pri uporabi kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože se s površine kože odstrani določen delež teh lipidov, kar bi lahko vplivalo na hidratacijo kože (56). Glavna dejavnika, ki vplivata na lastnost kozmetičnega izdelka za čiščenje kože, da izsuši in draži kožo, sta tip PAS in sposobnost izpiranja le-te (76). Do neke mere pa na omenjene lastnosti vpliva tudi pH izdelka (76, 77), kar smo potrdili tudi z našimi meritvami. Trdi alkalni mili št. 3 in 4, ki sta v največji meri izsušili kožo, sta namreč imeli najvišji izmerjeni pH vrednosti. Po drugi strani pa izboljševalci blagosti ter vlažilna sredstva, kot so npr. lipidi, okluzivna sredstva ter

humektanti, zmanjšajo škodljive interakcije med PAS in kožnimi proteini ter lipidi, posledično tako zmanjšajo tudi škodljive učinke za kožo (77, 78). Trdi sindet št. 7 v svoji sestavi vsebuje PEG-150, lanolinske alkohole (vlažilci), parafin (okluzivno sredstvo, emolient) ter oktildodekanol (emolient) (58, 69), ki zmanjšajo negativne učinke na kožo in morda pripomorejo k manj intenzivni izsušitvi kože.

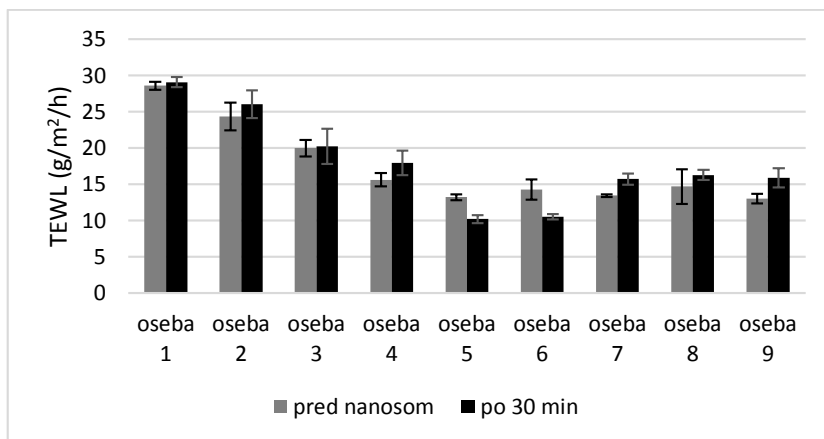
4.2.2 VPLIV MIL NA TEWL

Slike 30–35 prikazujejo izmerjene vrednosti TEWL pred nanosom obliža z milom ter 30 minut po nanosu za 6 izbranih mil, ki smo jih testirali na 9 prostovoljcih. Na sliki 36 so prikazane povprečne spremembe v TEWL po nanosu posameznega mila v primerjavi z začetnim stanjem za 9 prostovoljcev.

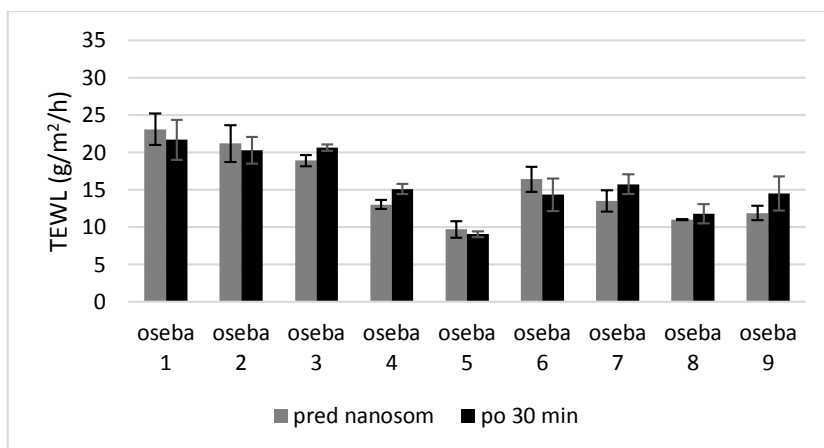


Slika 30: Trdo alkalno milo št. 3 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.

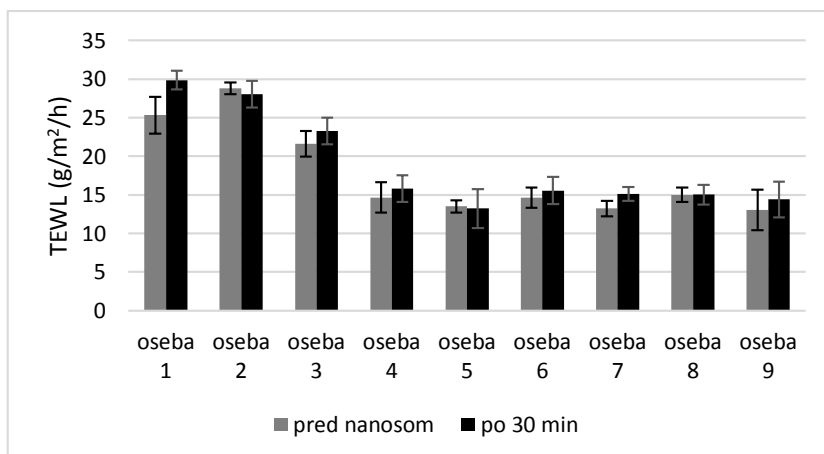
S slik 30–35 je razvidno, da so se bazalne vrednosti TEWL pri 9 osebah gibale v območju 8–31 g/m²/h. Z najvišjimi vrednostmi TEWL izstopata osebi 1 in 2. Pri osebi 1 bi šlo lahko za posledico okluzije zaradi uporabe rokavic na dan pred izvedbo meritev, pri osebi 2 pa je zelo visoka temperatura (tudi do 28 °C) v laboratoriju morda povzročila aktivacijo žlez znojnic in je izločen znoj lažno povišal izmerjene vrednosti. Obstaja pa tudi možnost, da imata omenjeni dve osebi že v osnovi okvarjeno barierno funkcijo kože in so bile izmerjene vrednosti TEWL realne.



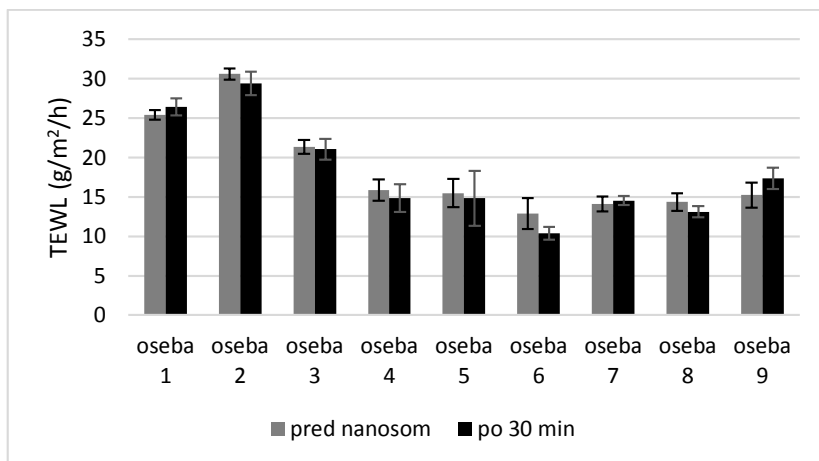
Slika 31: Trdo alkalno milo št. 4 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



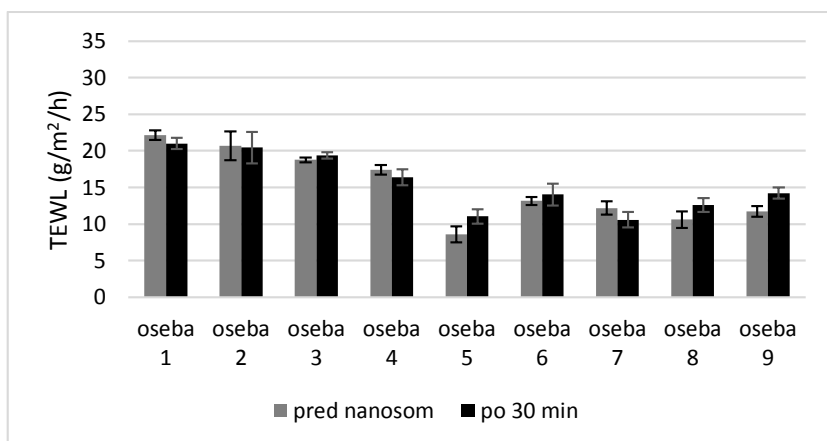
Slika 32: Trdi sindet št. 7 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



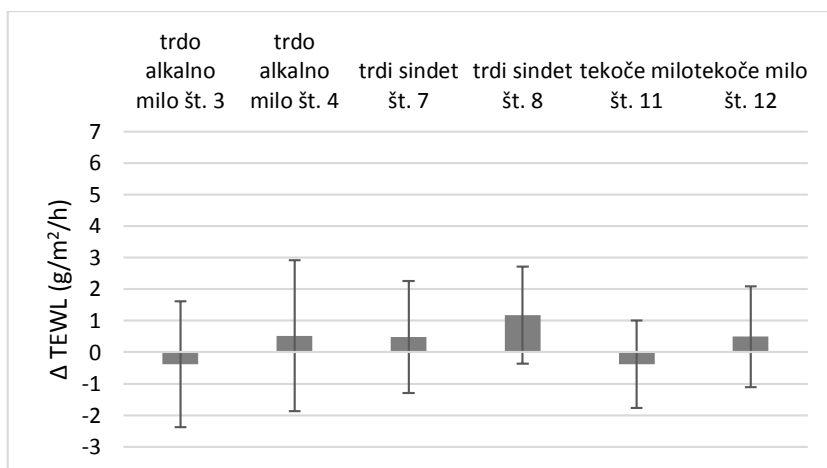
Slika 33: Trdi sindet št. 8 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 34: Tekoče milo št. 11 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 35: Tekoče milo št. 12 (Priloga I): TEWL pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 36: Povprečne spremembe v TEWL (30 minut po nanosu obliža z milom v primerjavi z začetnim stanjem) za posamezna mila.

Preglednica III: Povprečne vrednosti TEWL pred nanosom mila in 30 min po nanosu mila s podanimi povprečnimi spremembami. Pri vseh vrednostih je zapisana tudi standardna deviacija.

	TEWL pred nanosom (SD)	TEWL 30 min po nanosu (SD)	Δ TEWL (SD)	p
trdo alkalno milo št. 3	18,09 (6,54)	17,71 (5,85)	-0,38 (1,99)	0,586
trdo alkalno milo št. 4	17,48 (5,62)	18,00 (6,35)	0,52 (2,40)	0,531
trdi sindet št. 7	15,42 (4,74)	15,90 (4,24)	0,48 (1,77)	0,438
trdi sindet št. 8	17,76 (5,94)	18,93 (6,38)	1,17 (1,55)	0,052
tekoče milo št. 11	18,38 (6,09)	18,00 (6,37)	-0,38 (1,39)	0,433
tekoče milo št. 12	15,03 (4,82)	15,53 (3,99)	0,49 (1,60)	0,382
p-ANOVA			0,435	

p-vrednost opredeljuje značilnost razlike v vrednosti TEWL pred nanosom in po nanosu posameznega mila (parni t-test).

p-ANOVA podaja značilnost razlike med posameznimi mili (ANOVA enega faktorja).

Nadpisane male črke označujejo značilne razlike med pari (post hoc test po Bonferoniju, $p < 0,05$).

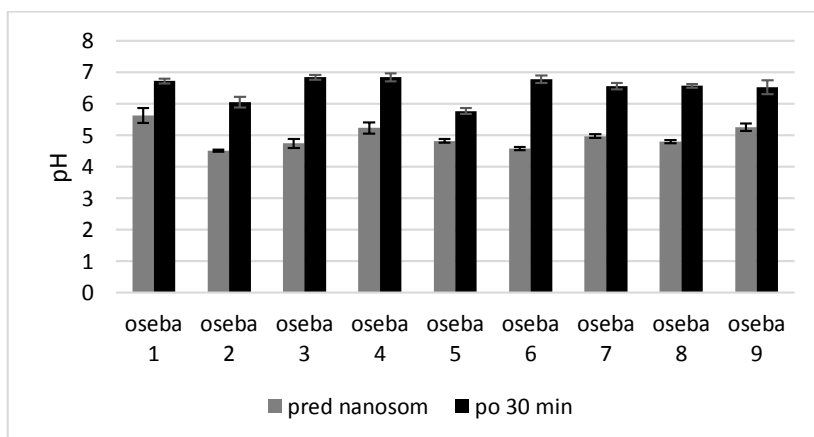
Glede na dosedanje ugotovitve nekaterih avtorjev (50, 51) smo pričakovali, da bomo tudi v okviru naših meritev opazili povišanje TEWL po stiku kože z milom. Vendar iz rezultatov, prikazanih na slikah 30–36, ne moremo sklepati o pomembnem vplivu kateregakoli mila na transepidermalno izgubo vode. Vrednosti so po 30 minutah po odstranitvi obliža ostale približno enake kot pred nanosom ali pa so se le rahlo povečale/zmanjšale. Še najbolj izstopa trdi sindet št. 8, ki je pri večini prostovoljcev povzročil povišanje TEWL (slika 33), vendar glede na majhne razlike in relativno visoke standardne deviacije posameznih meritev (slika 30) ne moremo posplošiti ugotovitev glede učinka tega mila. Za zanesljivejše podatke bi bilo potrebno meritve izvesti na več testnih osebah. Glede na naše rezultate tudi statistična analiza podatkov s parnim t-testom v nobenem primeru ni pokazala statistično značilnih razlik v vrednostih pred in po nanosu posameznega mila ($p > 0,05$), kar je razvidno iz preglednice III. Tudi med posameznimi mili ni bilo statistično značilnih razlik v vplivu na TEWL (p -ANOVA $> 0,05$) (preglednica III).

Zaključimo lahko, da proučevana mila niso vplivala na barierno funkcijo kože do te mere, da bi se to odražalo v povišanju TEWL. Pomembno pa je poudariti, da obstajajo številni

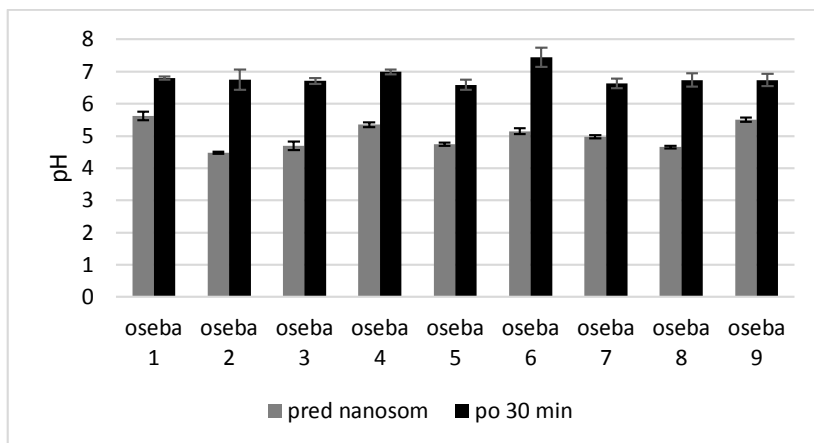
dejavniki, ki lahko vplivajo na meritve, npr. temperatura kože in okolja, vlaga v zraku, znojenje, konvekcija zraka, neposredna svetloba, letni čas, cirkadiani ritem itd. (79). Če bi lahko vpliv teh dejavnikov izključili, bi morda do izraza prišel tudi vpliv kozmetičnih izdelkov za čiščenje kože na TEWL. Največjo težavo je predstavljala temperatura okolja, ki se je v večini primerov gibala nad priporočeno temperaturo, ki je glede na EEMCO nekje med 20 in 22 °C (80). Naši rezultati ne pomenijo nujno, da proučevani izdelki nimajo vpliva na TEWL. Vplivi drugih dejavnikov so bili v danih pogojih preprosto preveč intenzivni ter so onemogočili pridobitev realnih rezultatov merjenja TEWL.

4.2.3 VPLIV MIL NA pH KOŽE

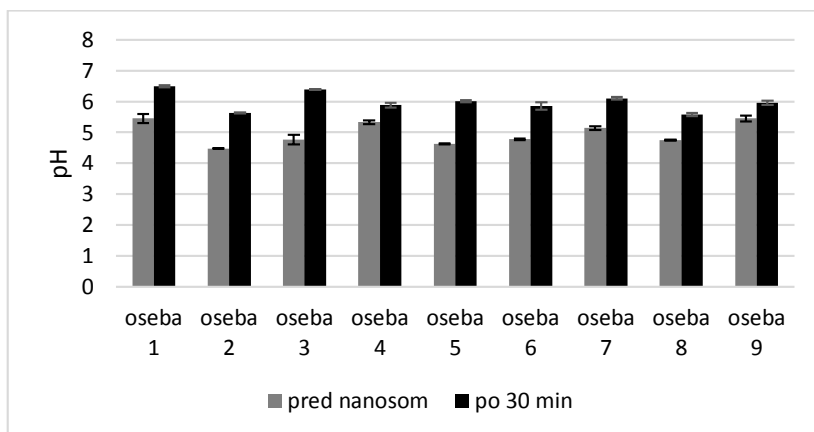
Rezultati na slikah 37–42 prikazujejo izmerjene vrednosti pH kože pred nanosom obliža z milom ter 30 minut po nanosu za 6 izbranih mil, ki smo jih testirali na 9 prostovoljcih. Slika 43 pa prikazuje povprečne spremembe v pH kože po nanosu posameznega mila v primerjavi z začetnim stanjem za 9 prostovoljcev.



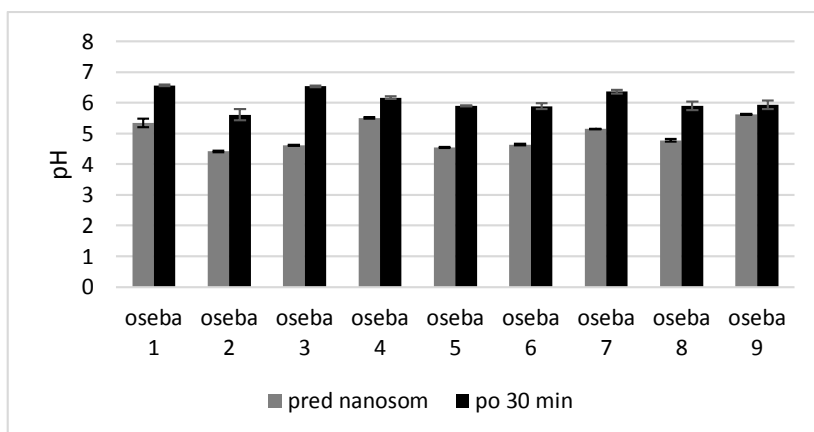
Slika 37: Trdo alkalno milo št. 3 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



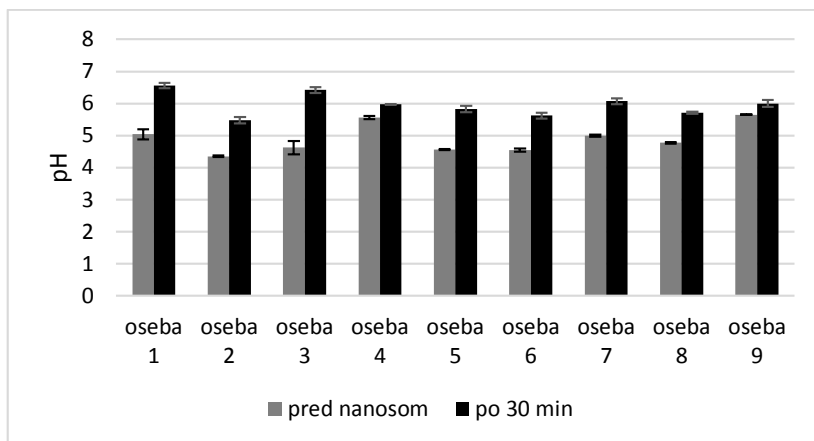
Slika 38: Trdo alkalno milo št. 4 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



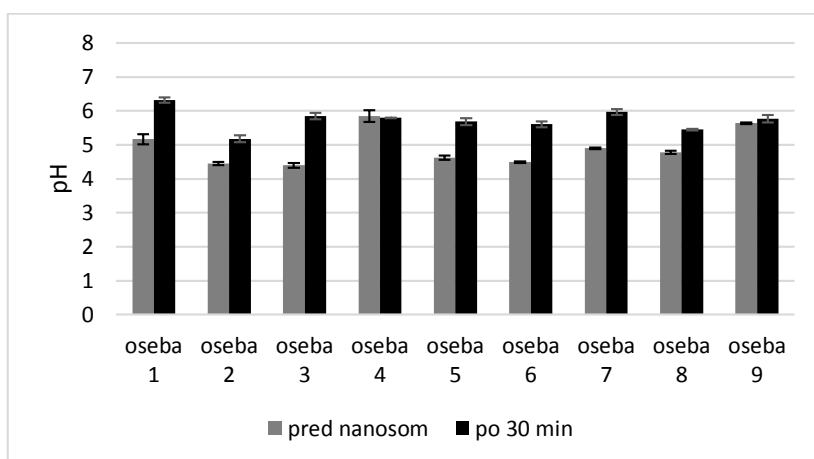
Slika 39: Trdi sindet št. 7 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



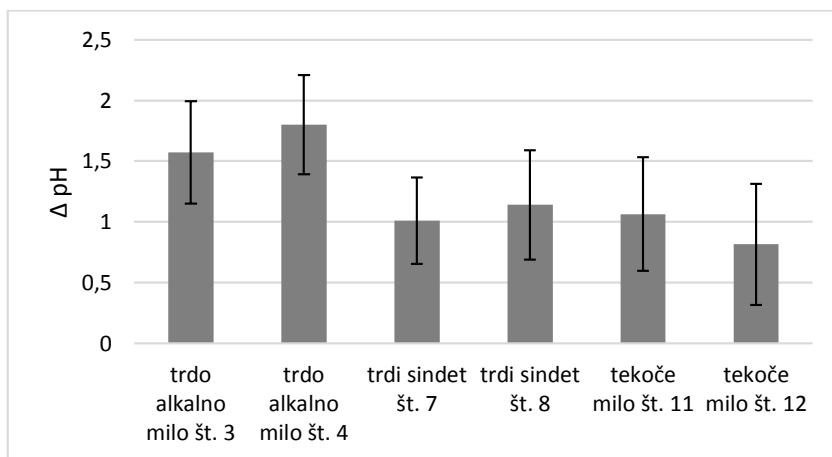
Slika 40: Trdi sindet št. 8 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 41: Tekoče milo št. 11 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 42: Tekoče milo št. 12 (Priloga I): pH kože pred nanosom obliža z milom in 30 minut po nanosu za 9 testnih oseb.



Slika 43: Povprečne spremembe v pH kože (30 minut po nanosu obliža z milom v primerjavi z začetnim stanjem) za posamezna mila.

Vrednosti pH, ki smo jih na proučevanih mestih izmerili pred nanosom obličev z mili, so bile pri vseh osebah nekje med 4 in 6. Gre za navadne pH vrednosti kože (36), kar dokazuje, da je bila koža vseh prostovoljcev v normalnem stanju. Najbolj intenzivno povišanje pH vrednosti kože po 30 minutah po odstranitvi obliča sta povzročili klasični trdi alkalni mili št. 3 in 4 (slike 37, 38 in 43). To je bilo pričakovano, saj je pH teh mil zaradi njune sestave najvišji med vsemi (9,64 za alkalno milo št. 3 in 9,95 za alkalno milo št. 4). Druga mila (oba trda sindeta in obe tekoči mili) so tudi povzročila povišanje pH vrednosti kože, vendar v manjši meri. Glede na statistično analizo podatkov, katere rezultati so prikazani v preglednici IV, so spremembe v pH pri vseh milih statistično značilne ($p < 0,05$). Prisotna je tudi značilna razlika v učinku med posameznimi mili (p -ANOVA $< 0,05$). Test po Bonferroniju je dokazal statistično značilne razlike med učinkom trdega alkalnega mila št. 4 in učinkom vseh drugih mil (razen trdega alkalnega mila št. 3). Statistično značilna razlika je bila tudi med trdim alkalnim milom št. 3 in tekočim milom št. 12 (preglednica IV).

Preglednica IV: Povprečne vrednosti pH kože pred nanosom mila in 30 min po nanosu mila s podanimi povprečnimi spremembami. Pri vseh vrednostih je zapisana tudi standardna deviacija.

	pH pred nanosom (SD)	pH 30 min po nanosu (SD)	Δ pH (SD)	p
trdo alkalno milo št. 3	4,95 (0,36)	6,52 (0,37)	1,57 (0,42) ^a	0,000
trdo alkalno milo št. 4	5,02 (0,41)	6,82 (0,26)	1,80 (0,41) ^{b, c, d, e}	0,000
trdi sindet št. 7	4,98 (0,37)	5,99 (0,31)	1,01 (0,36) ^b	0,000
trdi sindet št. 8	4,96 (0,45)	6,10 (0,33)	1,14 (0,45) ^c	0,000
tekoče milo št. 11	4,90 (0,46)	5,96 (0,36)	1,06 (0,47) ^d	0,000
tekoče milo št. 12	4,92 (0,53)	5,74 (0,32)	0,82 (0,50) ^{a, e}	0,001
p-ANOVA			0,000	

p-vrednost opredeljuje značilnost razlike v vrednosti pH kože pred nanosom in po nanosu posameznega mila (parni t-test).

p-ANOVA podaja značilnost razlike med posameznimi mili (ANOVA enega faktorja).

Nadpisane male črke označujejo značilne razlike med pari (post hoc test po Bonferroniju, $p < 0,05$).

Tekoče milo št. 12 je imelo med proučevanimi mili najnižjo izmerjeno pH vrednost (5,72), sledil je trdi sindet št. 7 s pH vrednostjo 6,07. Tekoče milo št. 11 je imelo izmerjeno pH

vrednost 6,62, pH trdega sindeta št. 8 pa je bil 6,64. Sodeč po sliki 43 je pH vrednost samega izdelka sorazmerna s spremembo pH, ki jo izdelek povzroči na koži. Najbolj kislo milo (tekoče milo št. 12) je tako povzročilo najmanj intenzivno spremembo v pH kože, najbolj alkalno milo (trdo alkalno milo št. 4) pa najbolj intenzivno povišanje. Izmerjene pH vrednosti kože so bile na mestih stika s sindeti ter tekočimi mili le redko nad 6,00 (slike 39–42), medtem ko smo po odstranitvi obližev z alkalnimi mili v večini primerov izmerili pH vrednosti blizu 7,00 ali celo nad 7,00 (slike 37 in 38).

Rezultate meritev pH kože lahko povežemo tudi z izmerjeno hidratacijo kože. Mili, ki sta povzročili najbolj intenzivno povišanje pH kože, sta imeli hkrati za posledico tudi najbolj močno izsušitev kože (slika 29). Mili s kože odstranijo naravne lipide in tako zmotijo zaščitno funkcijo kislega plašča, kar ima za posledico draženje in izsušitev kože (56, 81), ta učinek pa je očitno bolj intenziven pri bolj alkalnih milih.

Pri merjenju pH kože po odstranitvi obližev s trdim alkalnim milom št. 3 ter trdim alkalnim milom št. 4 smo ugotovili, da je bila vsaka izmerjena vrednost (vedno smo izvajali po tri zaporedne meritve znotraj območja 2 cm x 2 cm) višja. Pri eni osebi smo zato preverili, ali bi morda večje število meritev pomenilo višjo povprečno vrednost pH kože na mestu, kjer je bila koža v stiku z alkalnim milom. Na mestu stika s trdim alkalnim milom št. 3 so tri zaporedne meritve pH podale povprečno vrednost 6,53, šest zaporednih meritev pa je podalo povprečno vrednost 6,72. Pri merjenju pH kože, ki je bila v stiku s trdim alkalnim milom št. 4, je bila povprečna vrednost treh meritev 6,74, povprečna vrednost šestih meritev pa 6,88. Po protokolu, ki smo ga oblikovali za študijo, smo sicer v vseh primerih upoštevali povprečno vrednost treh meritev, vendar je iz navedenih rezultatov razvidno, da je večje število ponovitev imelo za posledico višjo pH vrednost. Tega pojava pa ni bilo opaziti pri merjenju bazalnih vrednosti pH ali pri merjenju pH kože, ki je bila v stiku s trdimi sindeti ter tekočimi mili. Možna razlaga bi bila, da so na koži kljub zadostnemu spiranju z vodo ostali alkalni ostanki mila, ki so se med meritvijo pH začeli počasi raztapljati v kapljici vode, zato so vrednosti potrebovale več časa za ustalitev in doseganje stabilne pH vrednosti. Za potrditev te hipoteze bi bilo v prihodnjih raziskavah potrebno podrobneje proučiti učinkovitost izpiranja nanesenega mila ter vpliv števila zaporednih meritev na izmerjene vrednosti.

5 SKLEP

Po izvedenem eksperimentalnem delu diplomskega dela lahko zaključimo, da so vsi proučevani kozmetični izdelki za čiščenje kože vplivali na barierno funkcijo le-te. Ta učinek pa se je razlikoval med posameznimi izdelki in je bil predvsem odvisen od pH in sestave izdelka.

Vrednosti TEWL, merjene s termostatisirano sondo, so bile višje od vrednosti TEWL, ki so bile izmerjene z neogreto sondo. Temperatura grelnika za sondo 40 °C se je izkazala za previsoko in je povzročila nenavadno višje izmerjene vrednosti TEWL.

Po umivanju z vodo je, glede na rezultate naših meritev, z merjenjem hidracije smiselno počakati vsaj 10 minut, za merjenje TEWL pa 20–30 minut, da se izniči vpliv vode na površini kože, ki še ni izhlapela. Voda na površini kože pa ne vpliva na izmerjeni pH kože. Koncentracija nanese disperzije mila ter čas trajanja nanosa obliža z milom na koži nista izkazala pomembnega vpliva na spremembe v hidraciji kože, pH kože in TEWL.

V okviru študije so vsa proučevana mila izkazala statistično značilen vpliv na hidracijo kože in pH kože. Trdi alkalni mili sta povzročili najbolj intenzivno zmanjšanje hidracije kože in najbolj intenzivno povišanje pH vrednosti kože, medtem ko sta bila ta dva pojava blažja pri trdih sindetih ter tekočih milih. Pri merjenju pH vrednosti kože po stiku z milom smo opazili, da so spremembe sorazmerne s pH vrednostmi samih izdelkov. Bolj alkalno milo tako povzroči bolj intenzivno povišanje pH kože, bolj kislo milo pa manj intenzivno. Nobeno od proučevanih mil ni izkazalo statistično značilnega učinka na transepidermalno izgubo vode. Pri izvedbi meritev smo se srečevali s težavo zagotavljanja ustreznih pogojev, predvsem temperature okolja. V prihodnje svetujemo proučevanje vpliva mil na TEWL pri bolj standardiziranih pogojih, ki bodo izključili vpliv nekaterih zunanjih dejavnikov na izmerjene vrednosti. Prav tako bi bilo potrebno natančno določiti odvisnost med rezultati testov s pretiranimi pogoji ter posledicami vsakdanje, navadne uporabe mil.

6 VIRI

1. Zoller U (ed.): Handbook of Detergents, Part E: Applications, CRC Press, Boca Raton, 2008: 139–146.
2. http://en.wikipedia.org/wiki/Total_fatty_matter (6. 6. 2015)
3. Dunn KM: Scientific Soapmaking: The Chemistry of the Cold Process, Clavícula Press, 2010: 152, 159, 287.
4. <http://sl.wikipedia.org/wiki/Milo> (6. 6. 2015)
5. Texter J (ed.): Reactions And Synthesis In Surfactant Systems, Marcel Dekker, New York; Basel, 2001: 2.
6. <http://nsb.wikidot.com/c-9-5-5-1> (6. 6. 2015)
7. http://dermatology.about.com/od/skincareproducts/a/bar_soaps.htm (6. 6. 2015)
8. <http://www.thehealthyskinblog.org/syndets-soapfree-soaps/> (6. 6. 2015)
9. Zoller U (ed.), Sosis P (ed.): Handbook of Detergents, Part F: Production, CRC Press, Boca Raton, 2008: 172.
10. http://dermatology.about.com/od/skincareproducts/a/bar_soaps.htm (6. 6. 2015)
11. Lai K-Y (ed.): Liquid Detergents, 2nd Edition, CRC Press, Boca Raton, 2005: 11.
12. Elias PM: Skin Barrier Function. Curr Allergy Asthma Rep 2008; 8(4): 299–305.
13. Elias PM: Stratum Corneum Defensive Functions: An Integrated View. Jour Invest Derm 2005; 125: 183–200.
14. Feingold KR. Lamellar Bodies: The Key to Cutaneous Barrier Function. Jour Invest Derm 2012; 132: 1951–1953.
15. Roskos KV, Guy RH: Assessment of skin barrier function using transepidermal water loss: effect of age. Pharm Res 1989; 6(11): 949–53.
16. Lodén M (ed.), Maibach HI (ed.): Treatment of Dry Skin Syndrome: The Art and Science of Moisturizers. Springer Science & Business Media, Berlin, 2012: 297
17. Agache PG, Agache P, Humbert P, Maibach HI: Measuring the Skin. Springer Science & Business Media, Berlin, 2004: 513, 84.
18. Elias PM (ed.), Feingold KR (ed.): Skin Barrier. CRC Press, Boca Raton, 2005: 571.
19. Tfayli A, Jamal D, Vyumvuhore R, Manfait M, Baillet-Guffroy A: Hydration effects on the barrier function of stratum corneum lipids: Raman analysis of ceramides 2, III and 5. Analyst 2013; 138(21): 6582–8.
20. Schmid-Wendtner MH, Korting HC: The pH of the skin surface and its impact on the barrier function. Skin Pharmacol Physiol 2006; 19(6): 296–302.

21. Knor T, Meholjić-Fetahović A, Mehmedagić A: Stratum corneum hydration and skin surface pH in patients with atopic dermatitis. *Acta Dermatovenerol Croat* 2011; 19(4): 242–7.
22. Gioia F, Celleno L: The dynamics of transepidermal water loss (TEWL) from hydrated skin. *Skin Res Technol* 2002; 8(3):178–86.
23. Netzlaff F, Kostka KH, Lehr CM, Schaefer UF: TEWL measurements as a routine method for evaluating the integrity of epidermis sheets in static Franz type diffusion cells in vitro. Limitations shown by transport data testing. *Eur J Pharm Biopharm* 2006; 63(1): 44–50.
24. Mündlein M, Valentin B, Chabicoovsky R, Nicolics J, Weremczuk J, Tarapata G, Jachowicz R: Comparison of transepidermal water loss (TEWL) measurements with two novel sensors based on different sensing principles. *Sensors and Actuators A: Physical* 2008; 142(1): 67–72.
25. Barel AO (ed.), Paye M (ed.), Maibach HI (ed.): *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 4th Edition, CRC Press, Boca Raton, 2014: 131.
26. <http://www.biox.biz/Downloads/PDFs/Skin%20Forum%202005%20-%20TEWL%20and%20the%20Skin%20Barrier.pdf> (11. 6. 2015)
27. Serup J (ed.), Jemec GBE (ed.), Grove GL (ed.): *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin*, Second Edition, CRC Press, Boca Raton, 2006: 384.
28. Zhang G, Papillon A, Ruvolo Jr. E, Bargo PR, Kollias N: In vivo Comparative Documentation of skin hydration by confocal Raman microscopy, Skin Sensor, Skicon and NovaMeter. *Proc. of SPIE* 2010; 7548: 75480M-1-75480M-7.
29. <http://www.draddaky.dk/sites/draddaky.no/files/Skin%20barrier%20function%20and%20SC%20hydration%20-%20Pre-congress%20day%20ICF.pdf> (12. 6. 2015)
30. Rawlings AW, Harding CR: Moisturization and skin barrier function. *Dermatol Ther* 2004; 17: 43–48.
31. <http://www.dermnetnz.org/reactions/mechanics.html> (13. 6. 2015)
32. Fader M, Clarke-O'Neill S, Wong WKR, Runeman B, Farbroth A, Cottenden A: Review of methods used for quantifying excess water in over-hydrated skin using evaporimetry. *Skin Res Tech* 2010; 16: 1–8.
33. http://www.medicinenet.com/dry_skin/page2.htm (13. 6. 2015)
34. Chilcott R (ed.), Price S (ed.): *Principles and Practice of Skin Toxicology*, John Wiley & Sons, West Sussex, 2008: 210.

35. Agache P, Mary S, Muret P, Matta AM, Humbert P: Assessment of the water content of the stratum corneum using a sorption-desorption test. *Dermatology* 2001; 202(4): 308–13.
36. Ali SM, Yosipovitch G: Skin pH: from basic science to basic skin care. *Acta Derm Venereol* 2013; 93: 261–267.
37. Darlenski R, Kazandjieva J, Tsankov N: Skin barrier function: morphological basis and regulatory mechanisms. *J Clin Med* 2011; 4(1): 36–45.
38. Farage MA, Miller KW (ed.), Maibach HI (ed.): *Textbook of Aging Skin*, Springer Science & Business Media, Berlin, 2010: 814.
39. Schmid-Wendtner M-H, Korting HC: The pH of the Skin Surface and Its Impact on the Barrier Function. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol* 2006; 19: 296–302.
40. Schmid-Wendtner M-H, Korting HC: The pH of the Skin Surface and Its Impact on the Barrier Function. *Skin Pharmacol Physiol* 2006;19: 296–302.
41. Mani R, Romanelli M, Shukla V: *Measurements in Wound Healing: Science and Practice*, Springer Science & Business Media, London, 2012: 203.
42. Wolf R, Parish LC: Effect of soaps and detergents on epidermal barrier function. *Clin Dermatol* 2012; 30(3): 297–300.
43. https://en.wikipedia.org/wiki/Carbolic_soap (21. 8. 2015)
44. Rappoport Z (ed.): *The Chemistry of Phenols (Part 2)*, John Wiley & Sons, West Sussex, 2004: 8.
45. Wolf R, Wolf D, Tüzün B, Tüzün Y: Soaps, shampoos, and detergents. *Clin Dermatol* 2001; 19(4): 393–397.
46. Frosch PJ, Kligman AM: The soap chamber test. A new method for assessing the irritancy of soaps. *J Am Acad Dermatol* 1979; 1(1): 35–41.
47. Baki G, Alexander KS: *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*, John Wiley & Sons, Hoboken, 2015: 165.
48. Subramanyan K, Hawkins S, Johnson A: Cosmetic benefits of mild cleansing syndet bars versus soap. *J Am Acad Dermatol* 2005; 52(3): P88.
49. http://apps.webofknowledge.com/UA_GeneralSearch_input.do?product=UA&search_mode=GeneralSearch&SID=W12dA3nQbCeTJwaHToR&preferencesSaved= (14. 6. 2015)
50. Postrzech K, Pióro E, Kopyra J, Korfanty K, Reich A: Influence of washing agents on epidermis barrier. *Clin Dermatol* 2009; 11(2): 75–78.

51. Voegeli D: The effect of washing and drying practices on skin barrier function. *J Wound Ostomy Continence Nurs* 2008; 35(1): 84–90.
52. Draelos ZD (ed.): *Cosmetic Dermatology: Products and Procedures*, John Wiley & Sons, West Sussex; Hoboken, 2010: 83.
53. Barel AO, Lambrecht R, Clarys P, Morrison, Jr. BM, Paye M: A comparative study of the effects on the skin of a classical bar soap and a syndet cleansing bar in normal use conditions and in the soap chamber test. *Skin Res Technol* 2001; 7: 98–104
54. Lee E, An S, Im MS, Kim HK, Lee TR: An improved method for measurement of change in skin roughness caused by cleansing products under mild application conditions. *Skin Res Technol* 2011;17(3): 320–5.
55. Ertel KD, Keswick BH, Bryant PB: A forearm controlled application technique for estimating the relative mildness of personal cleansing products. *J Soc Cosmet Chem* 1995; 46: 67–76.
56. Gfatter R, Hackl P, Braun F: Effects of soap and detergents on skin surface pH, stratum corneum hydration and fat content in infants. *Dermatology* 1997; 195(3): 258–62.
57. Baldwin AR (ed.): *Second World Conference on Detergents: Looking Towards the 90's : Proceedings*, The American Oil Chemists Society, Urbana, 1987: 130-134.
58. <http://www.cosmeticsinfo.org/> (16. 6. 2015)
59. Clarys P, Barel AO: Comparison of three detergents using the patch test and the hand/forearm immersion test as measurements of irritancy. *J Soc Cosmet Chem* 1997; 48: 141–149.
60. Wilhelm K-P (ed.), Elsner P (ed.), Berardesca E (ed.), Maibach HI (ed.): *Bioengineering of the Skin: Skin Imaging & Analysis*, CRC Press, Boca Raton, 2006: 408–409.
61. Schmid-Wendtner M-H, Korting HC: *PH and Skin Care*, ABW Wissenschaftsverlag, Berlin, 2007: 33–34.
62. Gunathilake HM, Sirimanna GM, Schürer NY: The pH of commercially available rinse-off products in Sri Lanka and their effect on skin pH. *Ceylon Med J* 2007; 52(4): 125–9.
63. Duncan CN, Riley TV, Carson KC, Budgeon CA, Siffleet J: The effect of an acidic cleanser versus soap on the skin pH and micro-flora of adult patients: a non-

- randomised two group crossover study in an intensive care unit. *Intensive Crit Care Nurs* 2013; 29(5): 291–6.
64. Takagi Y, Kaneda K, Miyaki M, Matsuo K, Kawada H, Hosokawa H: The long-term use of soap does not affect the pH-maintenance mechanism of human skin. *Skin Res Technol* 2015; 21(2):144–8.
 65. Hoath SB (ed.), Maibach HI (ed.): *Neonatal Skin: Structure and Function*, Marcel Dekker, New York; Basel, 2003: 31.
 66. Sarkar R, Inamadar AC, Palit A: *Advances in Pediatric Dermatology - 2: Neonatal Dermatology*, JP Medical Ltd, New Delhi; London; Philadelphia; Kathmandu; Panama City; Dhaka, 2014: 5.
 67. Pravilnik o metodama za određivanje pH vrednosti i količine toksičnih metala i nemetala u sredstvima za održavanje lične higijene, negu i ulepšavanje lica i tela i za utvrđivanje mikrobiološke ispravnosti tih sredstava, 1983, Sl. list SFRJ, br. 46, 1329–1330.
 68. <http://www.courage-khazaka.de/index.php/en/products/scientific/139-tewameter> (27. 6. 2015)
 69. <http://www.ewg.org/skindeep/> (27. 6. 2015)
 70. Ghosh S, Blankschtein D: Why is sodium cocoyl isethionate (SCI) mild to the skin barrier? - An in vitro investigation based on the relative sizes of the SCI micelles and the skin aqueous pores. *J Cosmet Sci* 2007; 58(3): 229–44.
 71. http://chemwiki.ucdavis.edu/Physical_Chemistry/Acids_and_Bases/Acid (27. 6. 2015)
 72. Thoma S, Welzel J, Wilhelm K-P: Relationship between transepidermal water loss and temperature of the measuring probe. *Skin Res Technol* 1997; 3(1): 73–80.
 73. Vanbeaumont W, Bullard RW: Sweating: direct influence of skin temperature. *Science* 1965; 147(3664):1465–7.
 74. <http://hypertextbook.com/facts/2001/AbantyFarzana.shtml> (27. 6. 2015)
 75. Lambers H, Piessens S, Bloem A, Pronk H, Finkel P: Natural skin surface pH is on average below 5, which is beneficial for its resident flora. *Int J Cosmet Sci* 2006; 28(5): 359–70.
 76. Mukhopadhyay P: Cleansers and their role in various dermatological disorders. *Indian J Dermatol* 2011; 56(1): 2–6.

77. Ananthapadmanabhan KP, Moore DJ, Subramanyan K, Misra M, Meyer F: Cleansing without compromise: the impact of cleansers on the skin barrier and the technology of mild cleansing. *Dermatol Ther* 2004; 17(1): 16–25.
78. Rudikoff D (ed.), Cohen SR (ed.), Scheinfeld N (ed.): *Atopic Dermatitis and Eczematous Disorders*, CRC Press, Boca Raton, 2014: 162.
79. Darlenski R, Sassning S, Tsankov N, Fluhr JW: Non-invasive in vivo methods for investigation of the skin barrier physical properties. *Eur J Pharm Biopharm* 2009; 72(2): 295–303.
80. du Plessis J, Stefaniak A, Eloff F, John S, Agner T, Chou TC, Nixon R, Steiner M, Franken A, Kudla I, Holness L: International guidelines for the in vivo assessment of skin properties in non-clinical settings: Part 2. transepidermal water loss and skin hydration. *Skin Res Technol* 2013; 19(3): 265–78.
81. <http://skincarerx.com/article-ph> (3. 7. 2015)

7 PRILOGA I: SEZNAM UPORABLJENIH MIL

Preglednica V: Seznam mil, uporabljenih v eksperimentalnem delu diplomskega dela.

Oznaka v besedilu	Proizvajalec in ime mila	Sestavine	Tip mila
št. 1	Fa Soap + Lotion Cream Soap Pomegranate	Sodium Tallowate, Talc, Aqua (Water, Eau), Sodium Cocoate, Glycerin, Parfum (Fragrance), Coconut Acid, Tallow Acid, Cetearyl Isononanoate, Ceteareth-20, Cetearyl Alcohol, Glyceryl Stearate, Ceteareth-12, Cetyl Palmitate, Hexyl Salicylate, Linalool, Sodium Chloride, Limonene, Benzyl Alcohol, Citronellol, BHT, Butylphenyl Methylpropional, Tetrasodium EDTA, CI 77891 (Titanium Dioxide)	trdo alkalno milo
št. 2	Nivea Creme Soap Rich Almond Oil	Sodium Tallowate, Sodium Cocoate, Aqua, Glycerin, Parfum, Prunus Amygdalus Dulcis Oil, Lanolin Alcohol (Eucerit®), Glyceryl Glucoside, Octyldodecanol, Sodium Thiosulfate, Sodium Chloride, Tetrasodium Etidronate, Distearidimonium Hectorite, Benzyl Alcohol, Limonene, Methyl Benzoate, CI 77891	trdo alkalno milo
št. 3	Palmolive Naturals Moisture Care with Olive	Sodium Palmate *A, Aqua, Sodium Tallowate *B, Sodium Palm Kernelate, Talc, Glycerin, Stearic Acid, Sodium Chloride, Parfum, Pentasodium Pentetate, Pentaerithrityl Tetra-di-t-Butyl Hydroxyhydrocinnamate, Olea Europaea Fruit Oil, Aloe Barbadensis Leaf Juice Powder, Sine Adipe Lac, Benzyl Salicylate, Butylphenyl Methylpropional, Citronellol, Coumarin, Limonene, Linalool, CI 77891, CI 47005, CI 61570	trdo alkalno milo
št. 4	Olana Cremeseife Sea Breeze	Sodium Tallowate, Sodium Cocoate, Aqua, Glycerin, Cocos Nucifera Oil, Parfum, Sodium Chloride, Sodium Thiosulfate, Tetrasodium Etidronate, Prunus Amygdalus Dulcis Oil, Cellulose Gum, CI 77891, CI 74160	trdo alkalno milo
št. 5	La Roche-Posay Lipikar	Sodium Palmate, Sodium Palm Kernelate, Aqua/water, Sodium Cocoyl Amino Acids, Peg-7 Glyceryl Cocoate, Helianthus Annuus Seed Oil/sunflower	trdo alkalno milo

	Surgras Lipid-enriched cleansing bar	Seed Oil, Butyrospermum Parkii Butter/shear Butter, Etidronic Acid, Niacinamide, Parfum/fragrance, Glycerin, Palm Kernel Acid, Palmitic Acid, Pentasodium Pentetate, Sodium Chloride, Tetrasodium Etidronate	
št. 6	Avene Cold Cream Ultra rich cleansing bar	Sodium Cocoyl Isethionate, Stearic Acid, Sodium Laurate, Sodium Stearate, Paraffin, Sodium Myristate, Water (Aqua), Fragrance (Parfum), PEG-45 Palm Kernel Glycerides, Avene Thermal Spring Water (Avene Aqua), Beeswax (Cera Alba), BHT, C20-40 Pareth-10, Cetyl Alcohol, Cetyl Phosphate, Glyceryl Stearate, Methylparaben, Mineral Oil (Paraffinum Liquidum), Sodium Hydroxide, Titanium Dioxide, Triethanolamine.	trdo kombinirano milo
št. 7	Eucerin pH5 Seifenfreies Waschstück	Disodium Lauryl Sulfosuccinate, Sodium Cocoyl Isethionate, Cetearyl Alcohol, Glyceryl Stearate, Paraffin, Triticum Vulgare Starch, Aqua, Cocamidopropyl Betaine, Citric Acid, PEG-150, Octyldodecanol, Lanolin Alcohol, Diammonium Citrate, Benzyl Alcohol, Benzyl Salicylate, Hydroxyisohexyl 3-Cyclohexene Carboxaldehyde, Hexyl Cinnamal, Linalool, Parfum, CI 77891	trdi sindet
št. 8	A-Derma Dermatological Bar	Disodium Lauryl Sulfosuccinate, Maltodextrin, Sodium Cocoyl Isethionate, Stearic Acid, Avena Sativa (Oat) Kernel Flour (Avena Sativa Kernel Flour)*, Water (Aqua), Cetearyl Alcohol, Paraffin, Ceteareth-6, Prunus Amygdalus Dulcis (Sweet Almond) Oil (Prunus Alygdalus Dulcis Oil), PEG-45 Palm Kernel Glycerides, Citric Acid, Microcrystalline Wax (Cera Microcristallina), Polyethylene, Titanium Dioxide (CI 77891)	trdi sindet
št. 9	Palmolive Naturals Delicate Care with Almond Milk Liquid Hand Wash	Aqua, Sodium C12-13 Pareth Sulfate (*A)/ Sodium Laureth Sulfate (*B), Cocamidopropyl Betaine, Sodium Chloride, Cocamide MEA, Sodium Salicylate, Parfum, Sodium Benzoate, Styrene/Acrylates Copolymer, Citric Acid, Polyquaternium-7, Tetrasodium EDTA, Prunus Amygdalus Dulcis Extract, Sine Adipe Lac, Aloe Barbadensis Leaf	tekoče milo

		Extract, Prunus Amygdalus Dulcis Oil, Benzyl Benzoate, Hexyl Cinnamal, Hydroxyisohexyl 3-Cyclohexene Carboxaldehyde, Linalool	
št. 10	Balea Creme Seife Milch & Honig	Aqua, Sodium Laureth Sulfate, Cocamidopropyl Betaine, Glycerin, Cocamide Dea, Sorbitol, Urea, Sodium Lactate, Whey Protein, Mel, Parfum, Potassium Sorbate, Coco-glucoside, Lactose, Styrene/Acrylates Copolymer, Sodium Chloride, Citric Acid, Sodium Benzoate, Tetrasodium Glutamate Diacetate, CI 47005, CI 16035	tekoče milo
št. 11	Alverde Flüssigseife Lavendel Malve	Aqua, Glycerin, Alcohol*, Lauryl Glucoside, Sodium Coco-Sulfate, Xanthan Gum, Lavandula Angustifolia Flower Water*, Malva Sylvestris Flower Extract*, Lavandula Hybrida Oil*, Parfum**, Linalool**, Limonene**, Benzyl Salicylate**, Geraniol** * ingredients from certified organic agriculture ** from natural essential oils	tekoče milo
št. 12	Fa Hygiene & Care Grapefruit & Milk Protein	Aqua, Sodium Laureth Sulfate, Sodium Chloride, Cocamidopropyl Betaine, Lactic Acid, Hydrolized Milk Protein, Niacinamide, Glycerin, Parfum, PEG 7 Glyceryl Cocoate, Citric Acid, Limonene, Linalool, Citronellol, Hexyl Cinnamal, Benzophenone-4, Tetrasodium EDTA, Sodium Benzoate, Sodium Salicylate, CI 16035, CI 14700	tekoče milo