

(19)



URZĄD
PATENTOWY
RZECZYPOSPOLITEJ
POLSKIEJ

(10) **PL 242260 B1**

(12)

Opis patentowy

(21) Numer zgłoszenia: **435281**

(22) Data zgłoszenia: **2020.09.14**

(43) Data publikacji o zgłoszeniu: **2022.03.21 BUP 12/2022**

(45) Data publikacji o udzieleniu patentu: **2023.02.06 WUP 06/2023**

(51) MKP:

A61K 8/9789 (2017.01)

A61K 8/19 (2006.01)

A61K 8/06 (2006.01)

(73) Uprawniony z patentu:

**ZACHODNIOPOMORSKI UNIWERSYTET
TECHNOLOGICZNY W SZCZECINIE,
Szczecin, PL**

(72) Twórca(-y) wynalazku:

**DANUTA KULPA, Szczecin, PL
PAULA JADCZAK, Szczecin, PL**

(74) Pełnomocnik:

Renata Zawadzka, Szczecin, PL

(54) Tytuł:

Emulsja kosmetyczna typu olej/woda i sposób konserwacji emulsji kosmetycznych typu olej/woda

PL 242260 B1

Opis wynalazku

Przedmiot wynalazku stanowi emulsja kosmetyczna typu olej/woda i sposób konserwacji emulsji kosmetycznych typu olej/woda pozwalający na ograniczenie rozwoju mikroorganizmów bez stosowania konserwantów chemicznych.

Przemysł kosmetyczny jest jedną z najszybciej rozwijających się gałęzi branży higieny osobistej na świecie. Bezpieczeństwo mikrobiologiczne produktów kosmetycznych to jeden z ważniejszych aspektów branych pod uwagę podczas produkcji kosmetyków. Rozwój drobnoustrojów w produkcie kosmetycznym prowadzi do jego degradacji, a bliski kontakt mikroorganizmów z podrażnioną lub uszkodzoną skórą zagraża zdrowiu konsumenta oraz przyczynia się do rozprzestrzenienia i rozwoju różnego rodzaju infekcji i chorób skóry. Skład nowoczesnych preparatów kosmetycznych i obecność w nich wody są idealnym środowiskiem do rozwoju różnego rodzaju mikroorganizmów. Etap produkcji kosmetyków oraz codzienne ich użytkowanie przez konsumenta przyczyniają się do występowania w nich kontaminacji. Z tych właśnie powodów niemożliwa jest masowa produkcja kosmetyków wolnych od substancji konserwujących. Za sprawą regulacji światowych organizacji zdrowia, lista dozwolonych substancji syntetycznych używanych podczas produkcji kosmetyków znacząco zmniejsza się. Dlatego też, w ostatnich latach wyraźnie wzrasta zainteresowanie kosmetykami naturalnymi, a wielu producentów poszukuje alternatyw dla chemicznych komponentów. Wiele badań naukowych potwierdza szkodliwość chemicznych konserwantów zabezpieczających produkty kosmetyczne. Wiele z nich uznaje się za powód alergii i chorób skórnych. Innym przypisuje się kancerogenność czy mutagenność (Robert i in., 2005). Powszechne wykorzystywanie chemicznych konserwantów w postaci izotiazolinonów prowadzi często do powstania ciężkich do wyleczenia egzem i innych alergicznych schorzeń skóry (Lorente-Lavirgen i in., 2019).

Innowacje oraz zmiany w branży kosmetycznej, która co roku wprowadza na rynek setki nowych produktów kosmetycznych, związane są z rosnącymi wymaganiami konsumentów. Konsumentom chcą mieć dostęp do skutecznych, bezpiecznych oraz naturalnych produktów, których wytwarzanie nie wpływa negatywnie na środowisko. Z tych właśnie powodów, w sektorze kosmetycznym wciąż poszukiwane są nowe rozwiązania prowadzące do pozyskiwania i wykorzystywania ekstraktów i substancji biologicznie czynnych z izolowanych roślin.

Roślinne kultury *in vitro* dają możliwość szybkiej hodowli roślin leczniczych w kontrolowanych warunkach laboratoryjnych, które są wolne od zanieczyszczeń i niezależne od pór roku. Technika ta zapobiega nadmiernej eksploatacji naturalnych populacji oraz nie wpływa negatywnie na ekosystem, umożliwia produkcję roślin bez stosowania pestycydów, czy herbicydów (Eibl i in., 2018). Wiele z nich jak np. szikonina, skopolamina, kwas rozmarynowy, czy polisacharydy, których produkcja prowadzona jest w roślinnych kulturach *in vitro*, zostały wprowadzone do produktów kosmetycznych między wczesnymi latami 80-tych, a późnymi 90-tych (Sato i Yamada, 1984; Deno i in. 1987; Hess, 1992). Szeroko rozwinięty trend produkcji kosmetyków w naturalny i zrównoważony sposób rozpoczął nową erę w zastosowaniu i popularyzacji technologii roślinnych kultur *in vitro*. W ciągu ostatnich 10 lat do przemysłu kosmetycznego trafiło ponad 50 produktów opartych na ekstraktach pochodzących z roślinnych kultur *in vitro*, przy czym większość z nich pozyskiwana jest z kultur zawieszinowych (Eibl i in., 2018). Składniki pochodzenia roślinnego pełnią w produkcie kosmetycznym rolę aktywnych składników (np. substancji nawilżających, surfaktantów, substancji o działaniu odmładzającym). Niektóre z nich zostały opisane poniżej.

Rośliną, którą powszechnie wykorzystywana jest w przemyśle kosmetycznym jest lawenda wąskolistna (*Lavandula angustifolia* Mili.). Szeroko opisuje się aktywność antymikrobiologiczną jej olejków eterycznych i ekstraktów, a także pozytywny ich wpływ na skórę (Brailko i in., 2017).

Produkcja metabolitów wtórnych nazywanych substancjami biologicznie czynnymi (w tym olejków eterycznych) odbywa się zwykle w niektórych momentach rozwojowych roślin. Może ona zostać pobudzona, zwielokrotniona lub zmodyfikowana pod wpływem czynników stresogennych zwanych elicytorami. Pod ich wpływem tkanki roślinne w kulturach *in vitro* produkują związki biologicznie czynne o właściwościach odmiennych od tych które produkowane są przez rośliny w warunkach naturalnych. Może to się wiązać na przykład ze zwiększeniem potencjału antymikrobiologicznego i antyoksydacyjnego, co ma szczególne znaczenie dla możliwości wykorzystania ich jako substancji konserwujących kosmetyki.

Z opisu patentowego PL 232759 znana jest emulsja typu olej/woda zawierająca olejek eteryczny, oleje roślinne, składniki nawilżające, która charakteryzuje się tym, że zawiera od 0,1 do 1% wagowego lawendowego olejku eterycznego z odmiany 'Munstead' lawendy wąskolistnej namnażanej w kulturach

tkankowych *in vitro* na pożywce MS wzbogaconej o $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ kinetyny, $0,2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ kwasu indolilo-3-octowego oraz elicytora biotycznego – $0,2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ kwasu jasmonowego, fazę wodną w ilości od 52,2 do 90% wagowych, fazę olejową w ilości od 9,5 do 46,8% wagowych.

Z opisu patentowego PL 225791 znana jest pożywka do namnażania roślin lawendy wąskolistnej odmiany Munstead w kulturach tkankowych zawierająca pożywkę standardową MS oraz regulator wzrostu, kinetynę, która charakteryzuje się tym, że na jeden dm^3 pożywki standardowej MS zawiera 2 mg kinetyny, 0,2 mg kwasu indolilo-3-octowego oraz 0,2 mg kwasu jasmonowego. Namnażanie roślin na pożywce według wynalazku pozwala zwiększyć produkcję lawendowego olejku eterycznego i uzyskać jego bogatszy skład, a co za tym idzie lepsze właściwości konserwujące, antymikrobiologiczne oraz antyoksydacyjne.

Jednym z najnowszych używanych w kulturach *in vitro* elicytorów są nanocząstki srebra. Nano-srebro używane jest powszechnie przy produkcji wielu kosmetyków oraz jest uznawane za bezpieczne dla konsumenta. Prowadzone ostatnio badania naukowe potwierdzają wpływ AgNPs na skład i zawartość olejków eterycznych lawendy wąskolistnej hodowanej w kulturach *in vitro* (Wesołowska i wsp. 2019).

Emulsja kosmetyczna typu olej/woda, według wynalazku, zawierająca oleje roślinne, składniki nawilżające, przy czym zawiera fazę wodną w ilości 52,2 do 90% wagowych, fazę olejową w ilości 9,5 do 46,8% wagowych, charakteryzuje się tym, że zawiera od 0,1 do 3% wagowych rozdrobnionych suchych tkanek roślin lawendy wąskolistnej namnażanej w kulturach tkankowych *in vitro* na pożywce MS wzbogaconej o od $0,5$ do $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ nanocząstek srebra o średnicy od 13 do 30 nm. Fazę olejową stanowi lanolina w ilości od 6 do 15% wagowych, воск pszczeli w ilości 3 do 10% wagowych, masło shea w ilości od 3 do 10% wagowych i olej jojoba w ilości od 20 do 50% wagowych. Fazę wodną stanowi D-pantenol w ilości od 1 do 5% wagowych, gliceryna w ilości od 1 do 5% wagowych oraz woda w ilości od 20 do 40% wagowych.

Sposób konserwacji emulsji kosmetycznej typu olej/woda, według wynalazku, zawierającej oleje roślinne, składniki nawilżające charakteryzuje się tym, że do emulsji dodaje się od 0,1 do 3% wagowych rozdrobnionych suchych tkanek roślin lawendy wąskolistnej namnażanej w kulturach tkankowych *in vitro* na pożywce MS wzbogaconej o od $0,5$ do $10 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ nanocząstek srebra o średnicy od 13 do 30 nm.

Zaletą rozwiązania według wynalazku jest to, że hodowla lawendy na pożywce MS zawierającej w swoim składzie AgNPs pozwala uzyskać lepsze właściwości konserwujące, antymikrobiologiczne oraz antyoksydacyjne ich tkanek. W związku z czym, susz pozyskany tą metodą, stanowi naturalny konserwant (pod względem antymikrobiologicznym i antyoksydacyjnym) oraz pozwala na wyeliminowanie wykorzystania konserwantów chemicznych. Jednocześnie tkanki roślin namnożonych w kulturach *in vitro*, ze względu na niższą zawartość ligniny i celulozy są łatwiejsze do rozdrobnienia. Przygotowana w ten sposób emulsja, przechowywana w lodówce może być używana przez konsumenta przez okres do 6 tygodni bez obawy rozwoju w nim mikroorganizmów. Jest to produkt atrakcyjny, który zawiera w swoim składzie naturalne składniki, bezpieczne dla użytkownika. Tkanki lawendy namnażanej w kulturach *in vitro* mogą być po rozdrobnieniu dodawane do emulsji kosmetycznych ponieważ są zbudowane z tkanek pozbawionych dużych ilości tyka i części zdrewniałych.

Rozwiązanie według wynalazku przedstawione jest w przykładach wykonania.

Przykład 1

W celu przygotowania medium hodowlanego użyto podstawową pożywkę MS (Murashige i Skoog, 1962) zawierającą składniki mineralne w postaci: azotan amonu (NH_4NO_3) w ilości 1650 mg/dm^3 , azotan potasu (KNO_3) w ilości 1900 mg/dm^3 , siarczan magnezu ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) w ilości 370 mg/dm^3 , diwodorofosforan potasu w ilości 170 mg/dm^3 (KH_2PO_4), chlorek wapnia ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) w ilości 440 mg/dm^3 , jodek potasu (KJ) w ilości $0,83 \text{ mg/dm}^3$, kwas borowy (H_3BO_3) w ilości $6,2 \text{ mg/dm}^3$, siarczan manganu (II) ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) w ilości $22,3 \text{ mg/dm}^3$, siarczan cynku ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) w ilości $8,6 \text{ mg/dm}^3$, molibdenian (VI) sodu ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) w ilości $0,25 \text{ mg/dm}^3$, siarczan żelaza (II) ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) w ilości $27,8 \text{ mg/dm}^3$, wersenian disodu ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) w ilości $37,3 \text{ mg/dm}^3$, siarczan miedzi (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) w ilości $0,025 \text{ mg/dm}^3$, chlorek kobaltu (II) ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) w ilości $0,025 \text{ mg/dm}^3$. Dodatkowe składniki organiczne zawarte w pożywce były następujące: niacyna w ilości $0,5 \text{ mg/dm}^3$, pirydoksyna HCl w ilości $0,5 \text{ mg/dm}^3$, tiamina HCl w ilości $0,1 \text{ mg/dm}^3$, glicyna w ilości 2 mg/dm^3 . Składniki po odważeniu zostały rozpuszczone w wodzie destylowanej. Następnie dodano roślinne regulatory wzrostu takie jak: cytokinę: kinetynę (KIN) w ilości $2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$, auksynę: kwas indoliloctowy (IAA) w ilości $0,2 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ oraz nanocząstki srebra o wielkości cząsteczki 13 nm w ilości $1 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$. Odczyn pożywek ustalono na poziomie 5,7 za pomocą stężonego HCl oraz NaOH. Składniki stałe w postaci inozytolu

w ilości 100 mg/dm³, sacharozy w ilości 30 g/dm³ i agaru w ilości 8 g/dm³ dodano do wcześniej przygotowanej bazy. Całość podgrzewano w wysokiej temperaturze do momentu zagotowania pożywki. Pożywkę w odmierzonych ilościach 30 ml umieszczano w naczyniach szklanych i zakręcano plastikowymi nakrętkami. Naczynia z pożywkami umieszczono w autoklawie i sterylizowano przez 19 minut w temperaturze 121°C przy ciśnieniu 1 atm. (0,1 MPa). Po wysterylizowaniu pożywki naczynia hodowlane wyjęto z autoklawy i pozostawiono do momentu zestalenia pożywki. Na przygotowane pożywki wykładano fragmenty roślin (eksplantaty). Zabieg ten odbył się w sterylnych warunkach laboratoryjnych przy użyciu komór laminarnych. Kultury roślinne umieszczono w fitotronie w temperaturze 24°C oraz wilgotności względnej powietrza 70–80%. Oświetlane były światłem fluorescencyjnym o natężeniu 40 PAR ($\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$) przez 16 h dziennie. Po 4 tygodniach wzrostu rośliny zebrano. Tkanki rozdrabniano, jednocześnie je susząc poprzez rozcieranie w ciekłym azocie.

Emulsję kosmetyczną wytwarza się powszechnymi metodami. Składa się ona z fazy wodnej w ilości od 52,2 do 90% wagowych oraz fazy olejowej w ilości od 9,5 do 46,8% wagowych. Do sporządzenia emulsji kosmetycznej wykorzystano składniki kosmetyczne opisane na międzynarodowej liście substancji przeznaczonych dla przemysłu kosmetycznego oraz perfumeryjnego (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients, w skrócie INCI). Faza olejowa składa się z 18 g lanoliny, 12 g wosku pszczelego, 14 g masła shea i 88 ml oleju jojoba. Do sporządzenia fazy wodnej użyto 6g D-Pantenolu 75%, 6,4 g gliceryny i 68 ml wody. Gotowy produkt uzyskuje się poprzez ogrzanie dwóch opisanych wcześniej faz w łaźni wodnej do temperatury 80°C i stapia się składniki. Następnie dodaje się fazę olejową do fazy wodnej i miesza się za pomocą homogenizatora przy obrotach 200 obrotów/minutę. Po schłodzeniu emulsji kosmetycznej do temperatury około 35°C dodaje się susz uzyskany poprzez rozcieranie w ciekłym azocie tkanek lawendy wąskolistnej namnażanej na pożywkach hodowlanych wzbogacanych w 1 mg·dm⁻³ 13 nm AgNPs.

Aktywność konserwującą tkanek lawendy potwierdzono przeprowadzając eksperyment. W tym celu gotowy krem rozdzielono w ilości po 5 ml do jałowych szalek Petriego, celem uzyskania wariantów badawczych. Kremy podzielono na grupy, które konserwowano: konserwantem chemicznym (DHA BA), tkankami roślinnymi uzyskanymi z hodowli na pożywkach bez dodatku nanocząstek i tkankami roślinnymi pochodzącymi z kultur prowadzonych na pożywkach wzbogacanych w nanocząstki srebra. Do wariantów z tkankami roślinnymi dodano po 0,1 g roztartych w ciekłym azocie, świeżych tkanek roślin, co w 5 gramach kremu stanowiło 2%. Kontrola negatywna zawierała 12,5 μl konserwantu DHA BA, co stanowiło 0,25%. Poddawane badaniom kremy przechowywano w lodówce, w temperaturze +4°C. Kontrolę ciepła inkubowano w temperaturze 24°C. Po okresie 4 tygodni wykonano rozcieńczenie 10⁻¹ każdej badanej próby. W tym celu pod komorą laminarną, 0,1 g kremu rozcieńczano 0,9 ml solą fizjologiczną i mieszano przy użyciu urządzenia Vortex. Następnie 0,1 ml każdego materiału badawczego umieszczono na podłożu Sabourauda z chloramfenikolem oraz podłożu BHI (Brain Heart Infusion Agar) po czym wykonano posiew powierzchniowy przy użyciu wymazówki. Każdy z posiewów wykonano w trzech powtórzeniach. Posiewy na podłożu BHI umieszczono w cieplarni w temperaturze 37°C, a posiewy na podłożu Sabourauda w temperaturze 25°C. Czas inkubacji ustalono na okres 48 godzin. Po okresie inkubacji zliczono wyrosłe kolonie bakteryjne i grzybowe.

W niniejszym badaniu jedynie dodatek syntetycznego konserwantu (DHA BA) powodował całkowite hamowanie rozwoju kolonii bakteryjnych i grzybowych niezależnie od czasu i temperatury przechowywania produktu. Najszybszy rozwój mikroorganizmów obserwowano w przypadku kremów, do których nie dodawano tkanek roślinnych i DHA BA. Stwierdzono istotny wpływ temperatury na pojawianie się kolonii mikroorganizmów. Przy temperaturze przechowywania 24°C obserwowano większą liczbę kolonii bakteryjnych i grzybowych niż przy temperaturze 4°C. W 8 tygodniu przechowywania kremów w temperaturze 24°C zaobserwowano trzykrotnie więcej kolonii bakteryjnych (62,3) niż w przypadku przechowywania w 4°C (20,9). Zaobserwowano 5,2 kolonii grzybowych w kremie przechowywanym w temperaturze 24°C, a przechowywanym w temp 4°C 5,8 kolonii i były to ilości nieróżniące się statystycznie. W kremach, do których dodawano materiał roślinny uzyskany z roślin hodowanych na pożywkach wzbogacanych w nanocząstki, zaobserwowano pojawianie się kolonii bakteryjnych i grzybowych dopiero po 6 tygodniach przechowywania.

Przykład 2

Przygotowano pożywkę i emulsję jak w przykładzie 1. W celu przygotowania medium hodowlanego użyto podstawową pożywkę MS (Murashige i Skoog, 1962) zawierającą składniki mineralne w postaci: azotan amonu (NH₄NO₃) w ilości 1650 mg/dm³, azotan potasu (KNO₃) w ilości 1900 mg/dm³, siarczan magnezu (MgSO₄·7H₂O) w ilości 370 mg/dm³, diwodorofosforan potasu w ilości 170 mg/dm³

(KH_2PO_4), chlorek wapnia ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) w ilości 440 mg/dm^3 , jodek potasu (KJ) w ilości 0,83 mg/dm^3 , kwas borowy (H_3BO_3) w ilości 6,2 mg/dm^3 , siarczan manganu (II) ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) w ilości 22,3 mg/dm^3 , siarczan cynku ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) w ilości 8,6 mg/dm^3 , molibdenian (VI) sodu ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) w ilości 0,25 mg/dm^3 , siarczan żelaza (II) ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) w ilości 27,8 mg/dm^3 , wersenian disodu ($\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) w ilości 37,3 mg/dm^3 , siarczan miedzi (II) ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) w ilości 0,025 mg/dm^3 , chlorek kobaltu (II) ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) w ilości 0,025 mg/dm^3 . Dodatkowe składniki organiczne zawarte w pożywce były następujące: niacyna w ilości 0,5 mg/dm^3 , pirydoksyna HCl w ilości 0,5 mg/dm^3 , tiamina HCl w ilości 0,1 mg/dm^3 , glicyna w ilości 2 mg/dm^3 . Składniki po odważeniu zostały rozpuszczone w wodzie destylowanej. Następnie dodano roślinne regulatory wzrostu takie jak: cytokinę: kinetynę (KIN) w ilości 2 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$, auksynę: kwas indoliloctowy (IAA) w ilości 0,2 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ oraz nanocząstki srebra o wielkości cząsteczek 30 nm w ilości 10 mg/dm^3 . Odczyn pożywek ustalono na poziomie 5,7 za pomocą stężonego HCl oraz NaOH. Składniki stałe w postaci inozytolu w ilości 100 mg/dm^3 , sacharozy w ilości 30 g/dm^3 i agaru w ilości 8 g/dm^3 dodano do wcześniej przygotowanej bazy. Całość podgrzewano w wysokiej temperaturze do momentu zagotowania pożywki. Pożywkę w odmierzonej ilości 30 ml umieszczano w naczyniach szklanych i zakręcano plastikowymi nakrętkami. Naczynia z pożywkami umieszczono w autoklawie i sterylizowano przez 19 minut w temperaturze 121°C przy ciśnieniu 1 atm. (0,1 Mpa). Po wysterylizowaniu pożywki naczynia hodowlane wyjęto z autoklawy i pozostawiono do momentu zestalenia pożywki. Na przygotowane pożywki wykładano fragmenty roślin (ekspantaty). Zabieg ten odbył się w sterylnych warunkach laboratoryjnych przy użyciu komór laminarnych. Kultury roślinne umieszczono w fitotronie w temperaturze 24°C oraz wilgotności względnej powietrza 70–80%. Oświetlane były światłem fluorescencyjnym o natężeniu 40 PAR ($\mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$) przez 16 h dziennie. Po 4 tygodniach wzrostu rośliny zebrano. Tkanki rozdrabniano, jednocześnie je susząc poprzez rozcieranie w ciekłym azocie.

Emulsję kosmetyczną wytwarza się powszechnymi metodami. Składa się ona z fazy wodnej w ilości od 52,2 do 90% wagowych oraz fazy olejowej w ilości od 9,5 do 46,8% wagowych. Do sporządzenia emulsji kosmetycznej wykorzystano składniki kosmetyczne opisane na międzynarodowej liście substancji przeznaczonych dla przemysłu kosmetycznego oraz perfumeryjnego (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients, w skrócie INCI). Faza olejowa składa się z 18 g lanoliny, 12 g wosku pszczelego, 14 g masła shea i 88 ml oleju jojoba. Do sporządzenia fazy wodnej użyto 6 g D-pantenolu 75%, 6,4 g gliceryny i 68 ml wody. Gotowy produkt uzyskuje się poprzez ogrzanie dwóch opisanych wcześniej faz w łaźni wodnej do temperatury 80°C i stapia się składniki. Następnie dodaje się fazę olejową do fazy wodnej i miesza się za pomocą homogenizatora przy obrotach 200 obrotów/minutę. Po schłodzeniu emulsji kosmetycznej do temperatury około 35°C dodaje się susz uzyskany poprzez rozcieranie w ciekłym azocie tkanek lawendy wąskolistnej namnażanej na pożywkach hodowlanych wzbogacanych w 10 $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ AgNPs o wielkości cząstek 30 nm.

Aktywność konserwującą tkanek lawendy potwierdzono przeprowadzając eksperyment. W tym celu gotowy krem rozdzielono w ilości po 5 ml do jałowych szalek Petriego, celem uzyskania wariantów badawczych. Kremy podzielono na grupy, które konserwowano: konserwantem chemicznym (DHA BA), tkankami roślinnymi uzyskanymi z hodowli na pożywkach bez dodatku nanocząstek i tkankami roślinnymi pochodzącymi z kultur prowadzonych na pożywkach wzbogacanych w nanocząstki srebra. Do wariantów z tkankami roślinnymi dodano po 0,1 g rozrzuconych w ciekłym azocie, świeżych tkanek roślin, co w 5 gramach kremu stanowiło 2%. Kontrola negatywna zawierała 12,5 μl konserwantu DHA BA, co stanowiło 0,25%. Poddawane badaniom kremy przechowywano w lodówce, w temperaturze +4°C. Kontrolę ciepła inkubowano w temperaturze 24°C. Po okresie 4 tygodni wykonano rozcieńczenie 10^{-1} każdej badanej próby. W tym celu pod komorą laminarną, 0,1 g kremu rozcieńczano 0,9 ml solą fizjologiczną i mieszało przy użyciu urządzenia Vortex. Następnie 0,1 ml każdego materiału badawczego umieszczono na podłożu Sabourauda z chloramfenikolem oraz podłożu BHI (Brain Heart Infusion Agar) po czym wykonano posiew powierzchniowy przy użyciu wymazówki. Każdy z posiewów wykonano w trzech powtórzeniach. Posiewy na podłożu BHI umieszczono w cieplarni w temperaturze 37°C, a posiewy na podłożu Sabourauda w temperaturze 25°C. Czas inkubacji ustalono na okres 48 godzin. Po okresie inkubacji zliczono wyrosłe kolonie bakteryjne i grzybowe.

W niniejszym badaniu jedynie dodatek syntetycznego konserwantu (DHA BA) powodował całkowite hamowanie rozwoju kolonii bakteryjnych i grzybowych niezależnie od czasu i temperatury przechowywania produktu. Najszybszy rozwój mikroorganizmów obserwowano w przypadku kremów, do których nie dodawano tkanek roślinnych i DHA BA – kolonie bakteryjne i grzybowe pojawiły się już po 2 tygodniach przechowywania kremów. Stwierdzono istotny wpływ temperatury na pojawianie się kolonii bakteryjnych. Po 8 tygodniach przechowywania zaobserwowano od 62,3 (temperatura 24°C) do 20,9

(temperatura 4°C) kolonii bakteryjnych. Liczba kolonii grzybowych w kremie przechowywanym 8 tygodni w temperaturze 24°C wynosiła 5,8, a przechowywanym w temp 4°C 5,2 kolonii i były to ilości nieróżniące się statystycznie. W kremach, do których dodawano materiał roślinny uzyskany z roślin hodowanych na pożywkach wzbogacanych w nanocząstki srebra o wielkości cząsteczki 30 nm w ilości 10 mg/dm³, zaobserwowano pojawianie się kolonii bakteryjnych po 6 tygodniach przechowywania, zaś grzybowych dopiero po 8 tygodniach przechowywania. Liczba kolonii bakteryjnych wynosiła jedynie 4,9, zaś grzybowych 1,1.

Zastrzeżenia patentowe

1. Emulsja kosmetyczna typu olej/woda zawierająca oleje roślinne, składniki nawilżające, przy czym zawiera fazę wodną w ilości 52,2 do 90% wagowych, fazę olejową w ilości 9,5 do 46,8% wagowych, **znamienna tym**, że zawiera od 0,1 do 3% wagowych rozdrobnionych suchych tkanek roślin lawendy wąskolistnej namnażanej w kulturach tkankowych *in vitro* na pożywce MS wzbogaconej o od 0,5 do 10 mg dm⁻³ nanocząstek srebra o średnicy od 13 do 30 nm.
2. Emulsja kosmetyczna według zastrz. 1, **znamienna tym**, że fazę olejową stanowi lanolina w ilości 6 do 15% wagowych, воск pszczeli w ilości 3 do 10% wagowych, masło shea w ilości 3 do 10% wagowych i olej jojoba w ilości 20 do 50% wagowych.
3. Emulsja kosmetyczna według zastrz. 1, **znamienna tym**, że fazę wodną stanowi D-Pantenol w ilości 1 do 5% wagowych, gliceryna w ilości 1 do 5% wagowych, woda w ilości od 20 do 40% wagowych.
4. Sposób konserwacji emulsji kosmetycznej typu olej/woda zawierającej oleje roślinne, składniki nawilżające **znamienny tym**, że do emulsji dodaje się od 0,1 do 3% wagowych rozdrobnionych suchych tkanek roślin lawendy wąskolistnej (*Lavandula angustifolia* Mili.) namnażanej w kulturach tkankowych *in vitro* na pożywce MS wzbogaconej o od 0,5 do 10 mg dm⁻³ nanocząstek srebra o średnicy od 13 do 30 nm.