

**UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„CAROL DAVILA”, BUCUREȘTI
ȘCOALA DOCTORALĂ
FARMACIE**

**PRODUSE COSMETICE OBȚINUTE PRIN VALORIFICAREA UNOR
ULEIURI GRASE VEGETALE OBȚINUTE PRIN PRESARE LA RECE**

REZUMATUL TEZEI DE DOCTORAT

**Conducător de doctorat:
Prof.univ.dr.farm. DUMITRU LUPULEASA**

**Farmacist-doctorand:
AL JOURDI HANADI**

INTRODUCERE – COSMETICE CU INGREDIENTE ACTIVE DE ORIGINE VEGETALĂ

A. PARTEA GENERALĂ

CAPITOLUL I: ULEIURI GRASE DE ORIGINE VEGETALĂ OBȚINUTE PRIN PRESARE LA RECE, CU EFECTE BENEFICE PENTRU INDUSTRIA COSMETICĂ

- 1.1. Uleiul de in (*Linum usitatissimum* L.)
- 1.2. Uleiul de cânepă (*Canabis sativa* L.)
- 1.3. Uleiul de argan (*Argania spinosa* L.)
- 1.4. Uleiul de măsline (*Olea europaea* L.)

B. PARTEA EXPERIMENTALĂ - CERCETĂRI PERSONALE SCOPUL ȘI OBIECTIVELE

CAPITOLUL II: CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ ȘI MICROBIOLOGICĂ A ULEIURILOR GRASE VEGETALE OBȚINUTE PRIN PRESARE LA RECE DE: IN, CÂNEPĂ, ARGAN ȘI MĂSLINE

- 2.1. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de in
 - 2.1.1. Caracterizarea fizico-chimică a uleiului de in
 - 2.1.1.1. Descrierea uleiului de in
 - 2.1.1.2. Determinarea solubilității
 - 2.1.1.3. Identificarea uleiului gras prin cromatografie în strat subțire (CSS)
 - 2.1.1.4. Determinarea indicelui de iod
 - 2.1.1.5. Identificarea componentelor uleiului prin profil cromatografic
 - 2.1.1.6. Determinarea densității relative
 - 2.1.1.7. Determinarea indicelui de refracție
 - 2.1.1.8. Determinarea indicelui de aciditate
 - 2.1.1.9. Determinarea indicelui de peroxid
 - 2.1.1.10. Determinarea indicelui de saponificare
 - 2.1.1.11. Determinarea conținutului în materii nesaponificabile
 - 2.1.1.12. Determinarea limitei pentru metale grele (Plumb)
 - 2.1.1.13. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de in
 - 2.1.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de in
 - 2.1.2.1. Determinarea contaminării microbiene a uleiului de in
 - 2.1.2.1.1. Determinarea numărului total de microorganisme aerobe (TAMC)
 - 2.1.2.1.2. Determinarea numărului total combinat de levuri și fungi filamentoși (TYMC)
 - 2.1.2.1.3. Izolarea și identificarea bacteriilor gram-negative tolerante la sărurile biliare
 - 2.1.2.1.4. Controlul microorganismelor specifice
 - 2.1.2.1.4.1. Izolarea și identificarea *Escherichia coli*
 - 2.1.2.1.4.2. Izolarea și identificarea *Salmonella* sp.
 - 2.1.2.1.5. Rezultate și discuții privind determinarea contaminării microbiene a uleiului de in
- 2.2. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de cânepă
 - 2.2.1. Caracterizarea fizico-chimică a uleiului de cânepă
 - 2.2.1.1. Descrierea uleiului de cânepă
 - 2.2.1.2. Identificarea componentelor prin profil cromatografic
 - 2.2.1.3. Determinarea indicelui de refracție
 - 2.2.1.4. Determinarea indicelui de aciditate

- 2.2.1.5. Determinarea indicelui de peroxid
- 2.2.1.6. Determinarea densității relative
- 2.2.1.7. Determinarea conținutului în impurități alcaline
- 2.2.1.8. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de cânepă
- 2.2.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de cânepă
 - 2.2.2.1. Determinarea contaminării microbiene a uleiului de cânepă
 - 2.2.2.1.1. Determinarea numărului total de microorganisme aerobe (TAMC)
 - 2.2.2.1.2. Determinarea numărului total combinat de levuri și fungi filamentoși (TYMC)
 - 2.2.2.1.3. Izolarea și identificarea bacteriilor gram negative tolerante la sărurile biliare
 - 2.2.2.1.4. Controlul microorganismelor specifice
 - 2.2.2.1.4.1. Izolarea și identificarea Escherichia coli
 - 2.2.2.1.4.2. Izolarea și identificarea Salmonella sp.
 - 2.2.2.1.5. Rezultate și discuții privind determinarea contaminării microbiene a uleiului de cânepă
- 2.3. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de argan
 - 2.3.1. Caracterizarea fizico-chimică a uleiului de argan
 - 2.3.1.1. Descrierea uleiului de argan
 - 2.3.1.2. Determinarea indicelui de refracție
 - 2.3.1.3. Determinarea densității relative
 - 2.3.1.4. Determinarea indicelui de saponificare
 - 2.3.1.5. Determinarea indicelui de aciditate
 - 2.3.1.6. Determinarea indicelui de peroxid
 - 2.3.1.7. Determinarea conținutului în materii nesaponificabile
 - 2.3.1.8. Determinarea indicelui de iod
 - 2.3.1.9. Identificarea componentelor prin profil cromatografic
 - 2.3.1.10. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de argan
 - 2.3.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de argan
 - 2.3.2.1. Determinarea contaminării microbiene a uleiului de argan
 - 2.3.2.1.1. Determinarea numărului total de microorganisme aerobe (TAMC)
 - 2.3.2.1.2. Determinarea numărului total combinat de levuri și fungi filamentoși (TYMC)
 - 2.3.2.1.3. Izolarea și identificarea bacteriilor gram negative tolerante la sărurile biliare
 - 2.3.2.1.4. Controlul microorganismelor specifice
 - 2.3.2.1.4.1. Izolarea și identificarea Escherichia coli
 - 2.3.2.1.4.2. Izolarea și identificarea Salmonella sp.
 - 2.3.2.1.5. Rezultate și discuții privind determinarea contaminării microbiene a uleiului de argan
- 2.4. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de măsline
 - 2.4.1. Caracterizarea fizico-chimică a uleiului de măsline
 - 2.4.1.1. Identificarea componentelor prin profil cromatografic
 - 2.4.1.2. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de măsline
 - 2.4.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de măsline
 - 2.4.2.1. Determinarea contaminării microbiene a uleiului de măsline
 - 2.4.2.1.1. Determinarea numărului total de microorganisme aerobe (TAMC)
 - 2.4.2.1.2. Determinarea numărului total combinat de levuri și fungi filamentoși (TYMC)
 - 2.4.2.1.3. Izolarea și identificarea bacteriilor gram negative tolerante la sărurile biliare
 - 2.4.2.1.4. Controlul microorganismelor specifice

2.4.2.1.4.1. Izolarea și identificarea Escherichia coli

2.4.2.1.4.2. Izolarea și identificarea Salmonella sp.

2.4.2.1.5. Rezultate și discuții privind determinarea contaminării microbiene a uleiului de măsline

CAPITOLUL III: OBȚINEREA UNOR PRODUSE COSMETICE CU INGREDIENTE NATURALE DE ORIGINE VEGETALĂ – ULEIURI GRASE

3.1. Fazele procesului tehnologic

3.1.1. Pregătirea echipamentelor

3.1.2. Pregătirea materiilor prime

3.1.3. Prepararea fazei A (faza grasă)

3.1.4. Prepararea fazei B (faza apoasă)

3.1.5. Emulsionarea celor două faze

3.1.6. Adăugarea fazei C

3.1.7. Adăugarea fazei D

3.1.8. Depozitarea produsului vrac

3.1.9. Analiza produsului vrac

3.1.10. Specificarea echipamentelor folosite la fabricarea produselor cosmetice cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase

3.2. Ambalarea primară, secundară și colectivă a produselor cosmetice

3.2.1. Pregătirea echipamentelor în vederea ambalării

3.2.2. Pregătirea produsului vrac și a ambalajelor

3.2.3. Ambalarea primară și secundară a produsului

3.2.4. Ambalarea colectivă a produsului finit

3.2.5. Analiza produsului finit

3.2.6. Specificarea echipamentelor folosite la ambalarea produselor cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase

3.3. Formulele de fabricație ale produselor cosmetice cu uleiuri grase

3.3.1. Formula de fabricație a produsului Cremă cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase de in (*Linum usitatissimum* L.) și argan (*Argania spinosa* L.) – Cremă I + A

3.3.2. Formula de fabricație a produsului Cremă cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase de cânepă (*Canabis sativa* L.) și argan (*Argania spinosa* L.) – Cremă C + A

3.3.3. Formula de fabricație a produsului Cremă cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase de măsline (*Olea europaea* L.) și argan (*Argania spinosa* L.) – Cremă M+A

CAPITOLUL IV: CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ A PRODUSELOR COSMETICE OBȚINUTE

4.1. Caracterizarea fizico-chimică a produselor cosmetice obținute

4.1.1. Descrierea produselor cosmetice obținute

4.1.2. Determinarea indicelui de peroxid

4.1.3. Determinarea densității relative

4.1.4. Determinarea pH-ului

4.1.5. Identificare azulene

4.1.6. Determinarea conținutului în minerale prin spectrometrie de absorbție atomică (AAS)

4.1.7. Identificarea componentelor prin profil cromatografic

4.1.8. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale produselor cosmetice obținute

CAPITOLUL V: STUDIUL EFICACITĂȚII ANTIMICROBIENE A PRODUSELOR COSMETICE OBȚINUTE

5.1. Scop

5.2. Materiale și metode

5.2.1. Materiale utilizate

5.2.2. Metoda de lucru

5.2.2.1. Controlul contaminării microbiene

5.2.2.2. Controlul microorganismelor specifice

5.2.2.2.1. Teste pentru Staphylococcus aureus

5.2.2.2.2. Teste pentru Pseudomonas aeruginosa

5.2.2.2.3. Teste pentru Escherichia coli

5.2.2.2.4. Teste pentru Salmonella spp.

5.2.2.3. Controlul eficacității antimicrobiene

5.3. Rezultate și discuții privind controlul eficacității antimicrobiene a unor produse cosmetice obținute

CAPITOLUL VI: STUDIUL TOLERANȚEI CUTANATE A PRODUSELOR COSMETICE OBȚINUTE

6.1. Principiul metodei dozei fixe

6.2. Materiale și metode

6.2.1. Descrierea animalelor de testat

6.2.2. Condițiile de microclimat

6.2.3. Descrierea aplicării materialului

6.2.4. Numărul expunerilor și intervalul dintre expuneri

6.2.5. Înregistrarea observațiilor

6.3. Rezultate și discuții privind studiul toleranței cutanate al unor produse cosmetice cu ulei de in, ulei de cânepă, ulei de argan și ulei de măsline

CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

BIBLIOGRAFIE

INTRODUCERE – COSMETICE CU INGREDIENTE ACTIVE DE ORIGINE VEGETALĂ

Produsele cosmetice pe bază de plante sunt definite ca produsele care au fost preparate sau incluse în plante și / sau componente din plante, care sunt combinații ale multor molecule sau compuși naturali. În acest context, parametrii critici care afectează calitatea finală și stabilitatea produselor cosmetice pe bază de plante sunt specificațiile intrărilor pe bază de plante, structura formulei și procesul de fabricație. În plus față de producerea în conformitate cu bunele practici de fabricație a produselor cosmetice (ISO 22716), în cazul în care sunt produse cosmetice naturale sau organice, trebuie să respecte standardul internațional referitor la definițiile și criteriile tehnice ale ingredientelor și produselor cosmetice naturale și organice (ISO 16128). Sistemele noi de livrare a medicamentelor sunt utilizate în produsele cosmetice pe bază de plante și între acestea sistemele de administrare veziculare, speciale și pe bază de emulsie sunt cele mai preferate sisteme de administrare. Avantajele unor astfel de sisteme pentru produsele cosmetice pe bază de plante pot fi enumerate următoarele: eficiența sporită, stabilitatea îmbunătățită și scăderea potențialului alergic al unor substanțe pe bază de plante. Ca urmare, alegerea unui sistem corespunzător de livrare a medicamentelor pentru un produs cosmetic pe bază de plante este capabil să asigure o eficacitate sporită, o stabilitate și o siguranță sporită a produsului final. Pe lângă aceste avantaje menționate mai sus, deoarece produsele cosmetice pe bază de plante au devenit mai complicate, îndeplinirea cerințelor de calitate fie în timpul producției, fie după ambalare, cât și în timpul perioadei de valabilitate ar fi critică deoarece trebuie să îndeplinească stabilitatea pe termen lung și siguranța dermatologică. [Herbal_Cosmetics_and_Novel_Drug_Delivery_Systems, <https://www.researchgate.net/publication/318718493>, August 2018]

Scopul lucrării a fost acela de a obține produse cosmetice (creme) cu uleiuri grase de origine vegetală obținute prin presare la rece și de a demonstra atât calitatea cât și siguranța ca materii prime vegetale a acestora: ulei de in (*Linum usitatissimum L.*), ulei de cânepă (*Canabis sativa L.*), ulei de argan (*Argania spinosa L.*) și ulei de măslin (*Olea europaea L.*).

În realizarea studiului au fost urmărite următoarele obiective:

- Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiurilor grase de origine vegetală obținute prin presare la rece: ulei de in (*Linum usitatissimum L.*), ulei de cânepă (*Canabis sativa L.*), ulei de argan (*Argania spinosa L.*) și ulei de măslin (*Olea europaea L.*).
- Obținerea unor produse cosmetice cu uleiuri grase de origine vegetală obținute prin presare la rece (cele enumerate mai sus).
- Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a produselor cosmetice obținute, cu uleiuri grase de origine vegetală obținute prin presare la rece.
- Studiul eficacității antimicrobiene a produselor cosmetice obținute.
- Studiul toleranței cutanate a produselor cosmetice obținute.

B. PARTEA EXPERIMENTALĂ

II. CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ ȘI MICROBIOLOGICĂ A ULEIURILOR GRASE VEGETALE OBȚINUTE PRIN PRESARE LA RECE DE: IN, CÂNEPĂ, ARGAN ȘI MĂSLINE

2.1. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de in (*Linum usitatissimum L.*)

Lichid uleios limpede de culoare galben sau brun - gălbuie, care prin expunere la aer devine negricios și treptat se îngroașă, cu gust și miros caracteristic.

2.1.1.13. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de in

Pentru efectuarea studiului au fost luate în lucru 6 probe de ulei din semințe de in (*Linum usitatissimum L.*), produse de S.C. AROMA PLANT S.R.L. Furculești (situată în sud-estul României) și provenite din 6 serii diferite de ulei gras, obținute în aceleași condiții, la scară pilot și anume:

- I1 = probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de in (*Linum usitatissimum*), Seria 007.05.17, Expiră 05.2019;
- I2 = probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de in (*Linum usitatissimum*), Seria 008.05.17, Expiră 05.2019;

- I3= probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de in (*Linum usitatissimum*), Seria 009.05.17, Expiră 05.2019;
- I4= probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de in (*Linum usitatissimum*), Seria 010.05.17, Expiră 05.2019;
- I5 = probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de in (*Linum usitatissimum*), Seria 011.05.17, Expiră 05.2019;
- I6 = probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de in (*Linum usitatissimum*), Seria 012.05.17, Expiră 05.2019.

Rezultatele obținute în cadrul analizelor fizico-chimice ale probelor de ulei gras de in (*Linum usitatissimum*) sunt prezentate în tabelele de mai jos:

Tabelul II.4. Rezultatele obținute la analiza fizico-chimică a uleiului gras din semințe de in (*Linum usitatissimum*)

	Caracteristici	Limite de admisibilitate	Rezultate obținute
1	Descriere: - aspect - culoare - miros - gust	- lichid uleios, limpede, care la -20°C devine o masă vâscoasă. - culoare galbenă sau brun-gălbuie, care prin expunere la aer devine negricios și treptat se îngroașă. Prin răcire la- 20 ⁰ C devine o masă moale -caracteristic -caracteristic	corespunde corespunde corespunde corespunde
2	Solubilitate	- foarte ușor solubil în etanol, miscibil cu petrolul ușor	corespunde
3	Identificare, A: - uleiuri grase (CSS) B: - indice de iod C: - profil cromatografic	pozitiv 160-200 pozitiv	corespunde 176 corespunde
4	Densitate relativă, d ₂₀ ²⁰	0,900 – 0,940	0,916
5	Indice de refracție	1,470-1,490	1,479
6	Indice de aciditate, max.	4,5	1,5
7	Indice de iod	160-200	176
8	Indice de peroxid, max.	15,0	0,92
9	Indice de saponificare,	188-195	192
10	Substanțe nesaponificabile, % max.	1,5	0,3
11	Compoziția acizilor grași: - acizi grași saturați cu lanțul de C mai mic de 16 atomi, % max. - acid palmitic, %. - acid palmitoleic, %, max. - acid stearic, %, - acid oleic, %. - acid linoleic, % - acid linolenic, % - acid arachidic, %, max.	1,0 3,0-8,0 1,0 2,0-8,0 11,0-35,0 11,0-24,0 35,0-65,0 1,0	<0,01 6,0 <0,01 4,27 24,16 11,64 51,47 0,1
12	Metale grele -plumb (Pb), ppm, max.	5,0	< 5,0

Reprezentarea grafică a rezultatelor obținute în cadrul analizelor fizico-chimice ale uleiului gras din semințe de in (*Linum usitatissimum*) este prezentată mai jos:

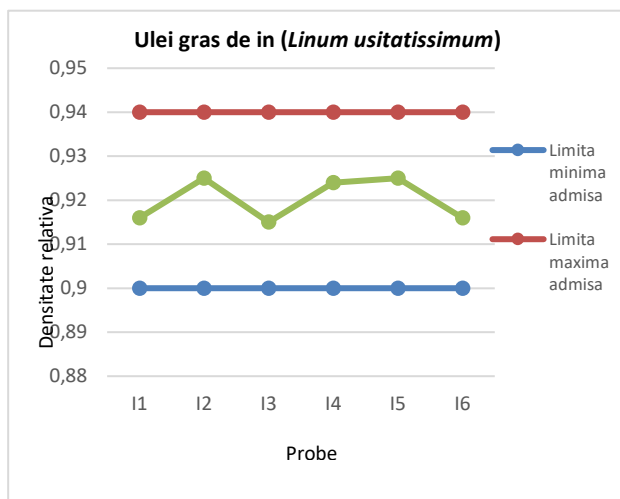


Figura 2.1. Reprezentarea grafică a parametrului „Densitate relativă”

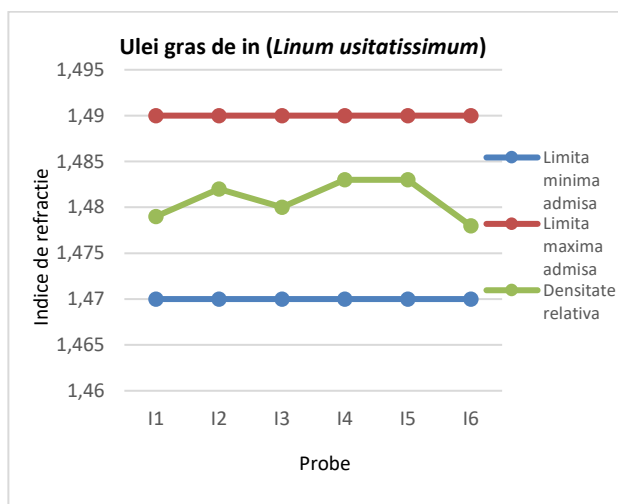


Figura 2.2. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de refracție”

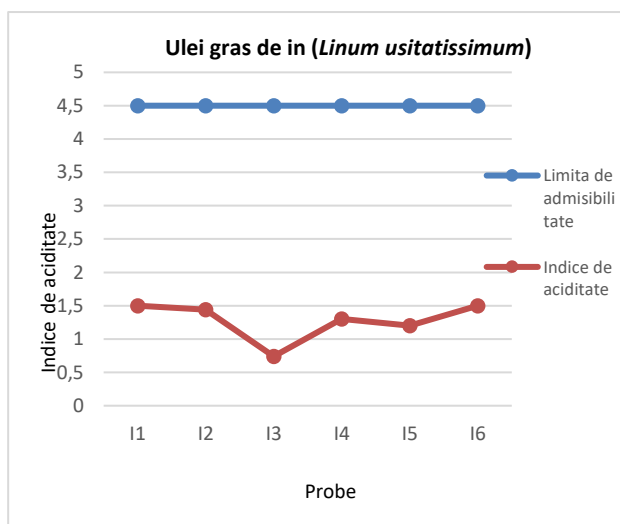


Figura 2.3. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de aciditate”

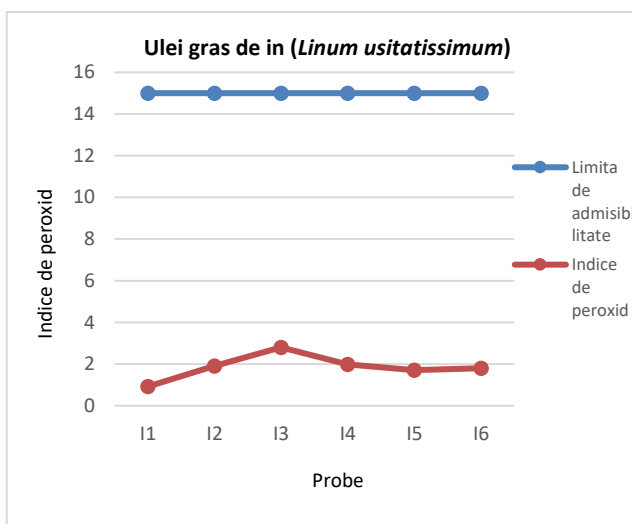


Figura 2.4. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de peroxid”

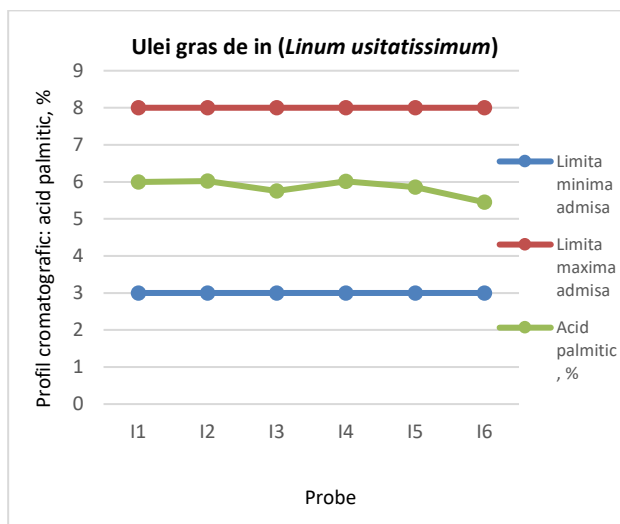


Figura 2.5. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic- acid palmitic”

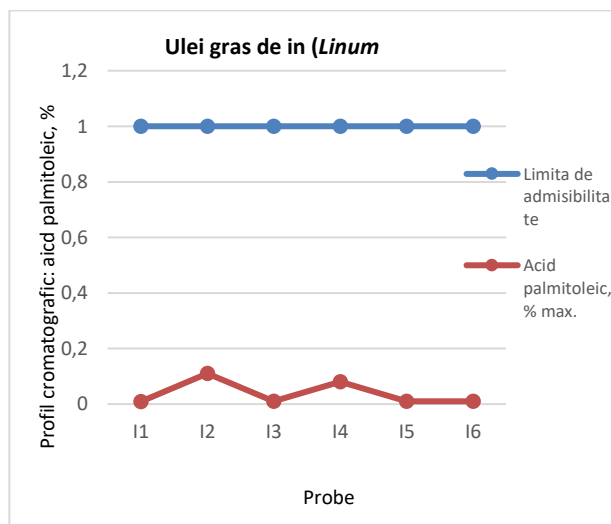


Figura 2.6. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic- acid palmitoleic”

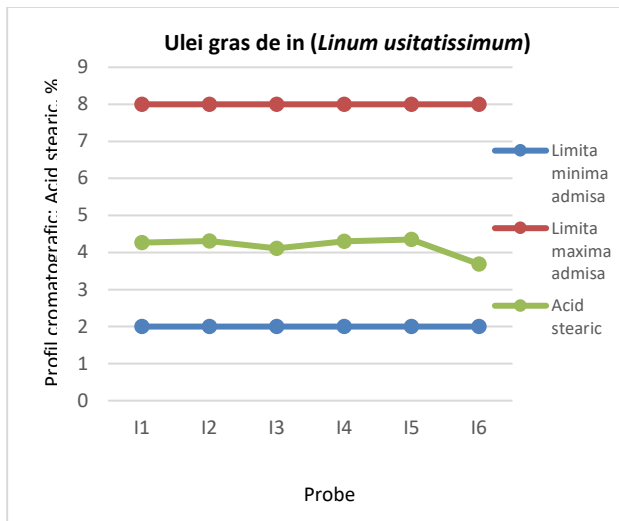


Figura 2.7. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic- acid stearic”

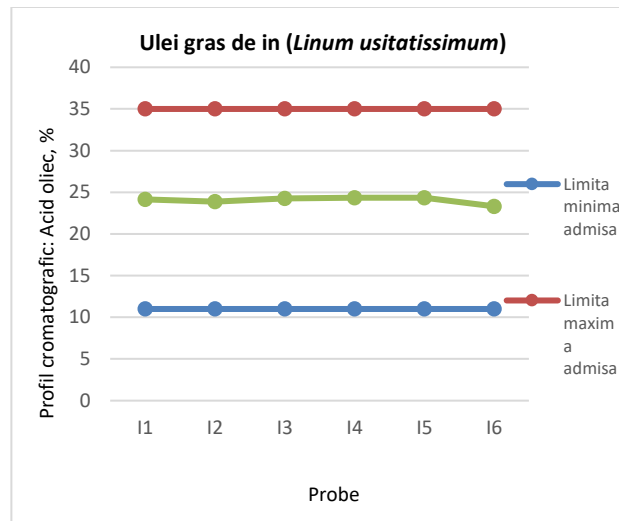


Figura 2.8. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic- acid oleic”

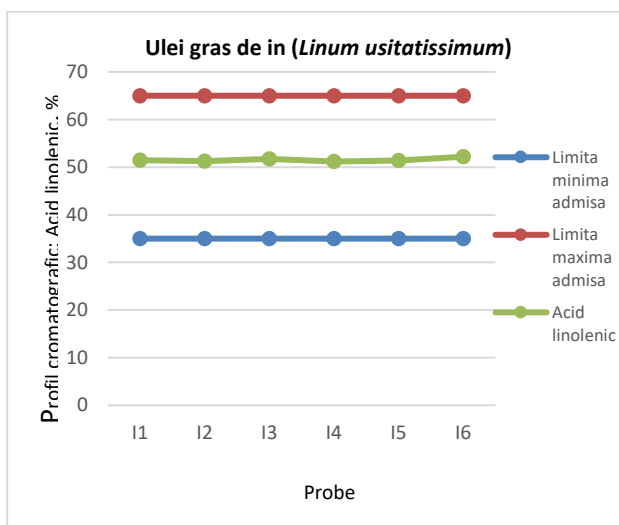


Figura 2.9. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic- acid linolenic”

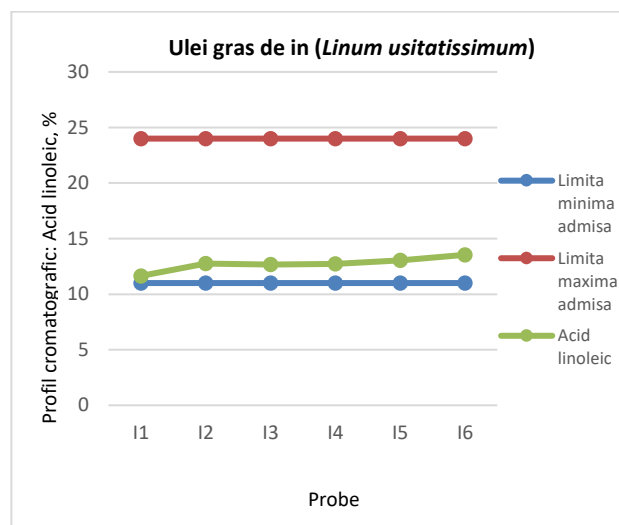


Figura 2.10. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic- acid linoleic”

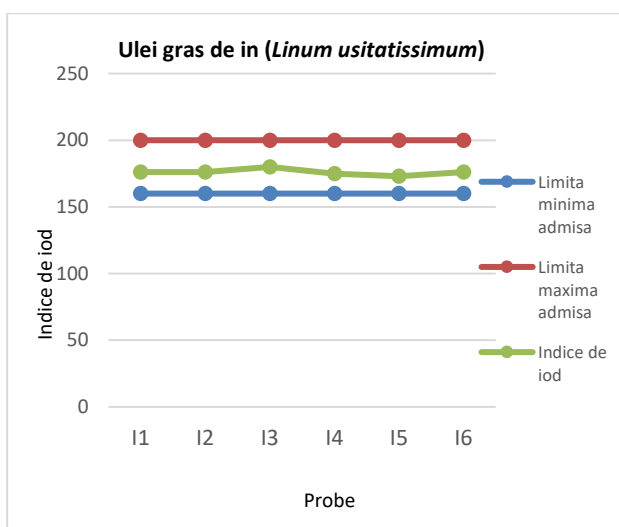


Figura 2.11. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de iod”

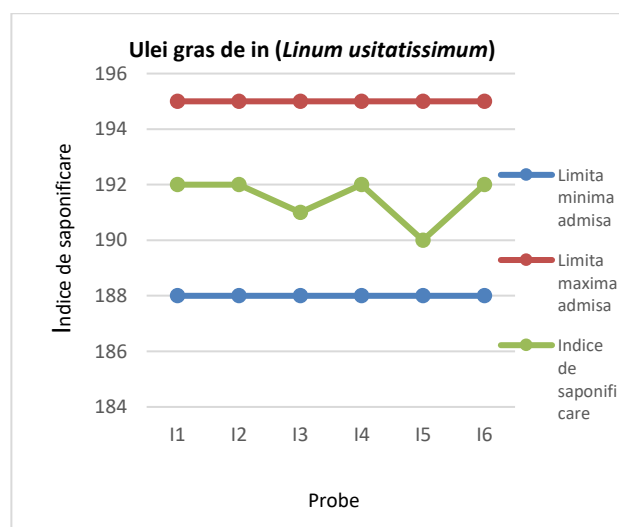


Figura 2.12. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de saponificare”

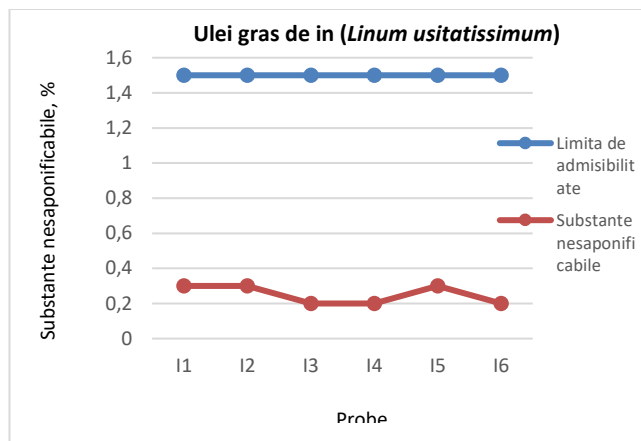


Figura 2.13. Reprezentarea grafică a parametrului „Substanțe nesaponificabile”

Cromatograma: Inulei0070517Furc

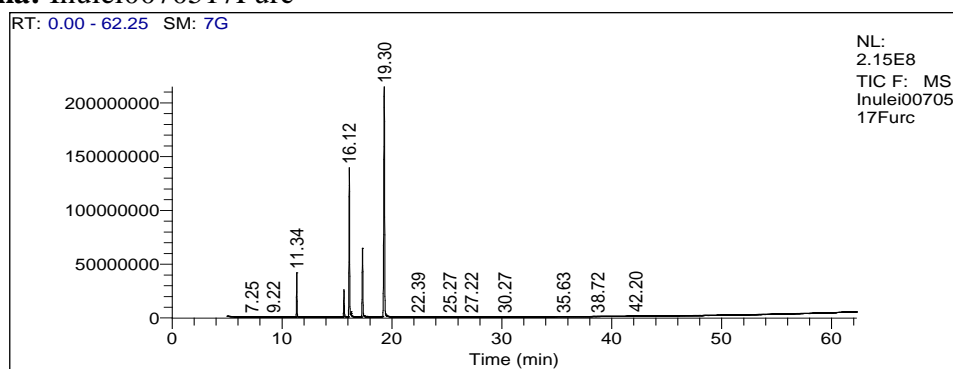


Figura 2.14. Cromatograma ulei gras obținut prin presarea la rece a semințelor de in (*Linum usitatissimum*), Seria 007.05.17

Comentarii:

După cum se poate observa din tabelele și reprezentările grafice de mai sus, toate cele 6 probe de ulei gras din semințe de in, obținut prin presare la rece, se încadrează în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția 9.0. Parametrii „indice de aciditate”, „indice de peroxid” și „substanțe nesaponificabile” înregistrează valori situate sub limitele de admisibilitate. Parametrii „indice de saponificare”, „indice de iod”, „indice de refracție” și „densitate relativă” prezintă valori oscilante între cele două limite de admisibilitate.

În ceea ce privește profilele cromatografice ale probelor analizate, uleiul de in prezintă un conținut scăzut în acid linoleic (de exemplu, proba I1, aferentă Seriei 007.05.17, prezintă un procent de 11,64% acid linoleic, care este apropiată de limita minimă admisă). Acidul stearic prezintă de asemenea un procentaj scăzut (de exemplu, proba aferentă Seriei 012.05.17 prezintă un procent de 3,69% acid stearic).

De remarcat este faptul că probele analizate de ulei obținut din semințe de in prezintă un conținut mare în acid linolenic, acesta fiind apropiat de limita maximă admisă (cel mai ridicat procent se înregistrează pentru proba I6 – Seria 012.05.17, de 52,19%, în condițiile în care limita maxima admisă este de 65%). Întrucât literatura de specialitate prevede că uleiul din semințe de in este format în proporție de 50% din acid alfa-linolenic, de cinci ori mai mult decât uleiul de nucă sau canola (alte surse importante de acid alfa-linolenic) și probele analizate depășesc acest procent, aceasta demonstrează că uleiul de in analizat reprezintă o sursă excelentă de acid alfa-linolenic. Această proprietate conferă uleiului de in analizat oportunitatea de a fi valorificat ca materie primă în obținerea cremelor propuse în această teză, fiind de calitate intenționată.

2.1.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de in

Se efectuează în conformitate cu Europeană, Ediția 9.0 capitolul 2.6.12. „Microbiological Examination of non-Sterile Products : Microbial Enumeration Tests” și capitolul 2.6.13. „Microbiological Examination of non-Sterile Products : Tests for Specified Micro-organisms”. [European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) “*European Pharmacopeia*”, Ediția 9.0, 2016]

2.1.2.1.5. Rezultate și discuții privind determinarea contaminării microbiene a uleiului de in

Reprezentarea grafică a rezultatelor obținute în cadrul analizelor microbiologice ale probelor de ulei gras din semințe de in (*Linum usitatissimum*) luate în studiu, este prezentată mai jos:

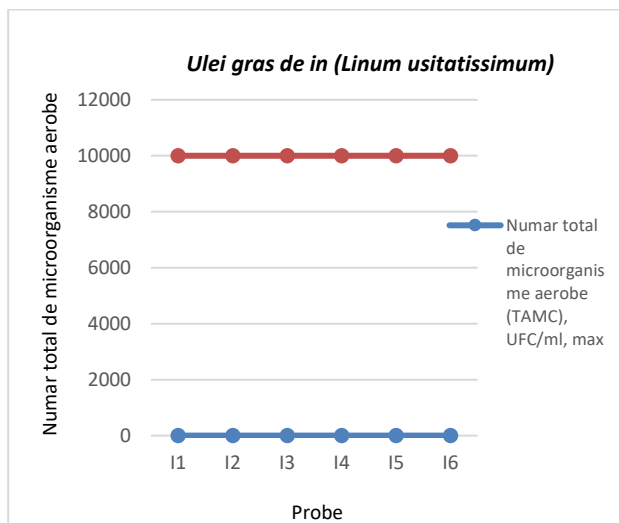


Figura 2.20. Reprezentarea grafică a parametrului „Număr total de microorganisme aerobe”

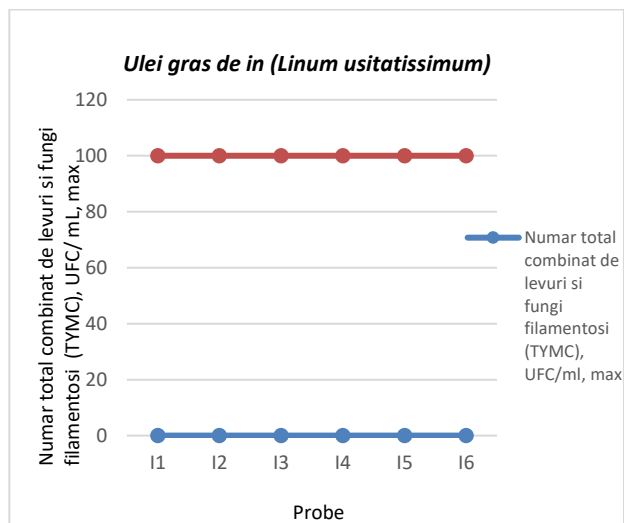


Figura 2.21. Reprezentarea grafică a parametrului „Număr total combinat de levuri și fungi filamentoși”

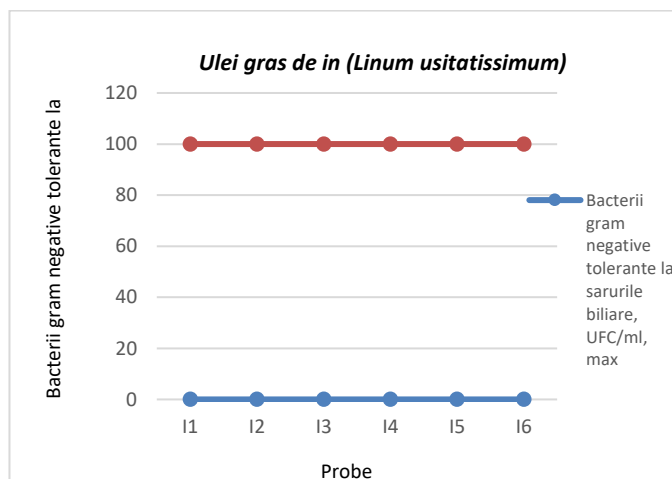


Figura 2.22. Reprezentarea grafică a parametrului „Bacterii gram-negative tolerante la sărurile biliare”

Comentarii: Valorile obținute la analiza microbiologică a uleiului gras obținut din semințe de in atestă faptul că acesta este de calitate și siguranța intenționată, încadrându-se în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția în vigoare, referitoare la calitatea produsului natural de origine naturală vegetală, din punct de vedere al contaminării microbiene.

2.2. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de cânepă

Lichid uleios, slab opalescent, de culoare galben - verzui, cu miros caracteristic și gust ușor amarui. [European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) “*European Pharmacopeia*”, Editia 9.0, 2016]

2.2.1.8. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de cânepă

Pentru efectuarea studiului au fost luate în lucru 2 probe de ulei din semințe de cânepă ecologică (*Cannabis sativa*), produse de S.C. AROMA PLANT S.R.L. Furculești (situată în sud-estul României) și provenite din 2 serii diferite de ulei gras, obținute în aceleași condiții, la scara pilot și anume:

- C1= probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de cânepă ecologică (*Cannabis sativa*), Seria 007.04.17, Expiră 04.2019;
- C2 = probă de ulei gras vegetal obținut prin presare la rece din semințe de cânepă ecologică (*Cannabis sativa*), Seria 008.04.17, Expiră 04.2019.

Tabelul II.22. Rezultatele obținute la analiza fizico-chimică a uleiului gras din semințe de cânepă ecologică (*Cannabis sativa*)

	Caracteristici	Limite de admisibilitate	Rezultate obținute
1	Descriere: - aspect - culoare - miros - gust	- lichid uleios, slab opalescent - galben – verzui - caracteristic - ușor amăru	corespunde corespunde corespunde corespunde
2	Identificare A: profil cromatografic (GC)	pozitiv	corespunde
3	Indice de refracție n_D	1,465-1,480	1,475
4	Indice de aciditate, max.	6,0	0,75
5	Indice de peroxid, max.	10,0	1,2
6	Densitate relativă d_{20}^{20}	0,900-0,930	0,910
7	Profilul cromatografic: - acid oleic (Omega 9), % - acid linoleic (Omega 6), % - acid linolenic α (Omega 3), %	10,0-25,0 50,0-70,0 5,0-25,0	13,63 57,43 15,67
8	Impurități alcaline: - volum HCL 0,01M, mL, max.	0,1	0,03

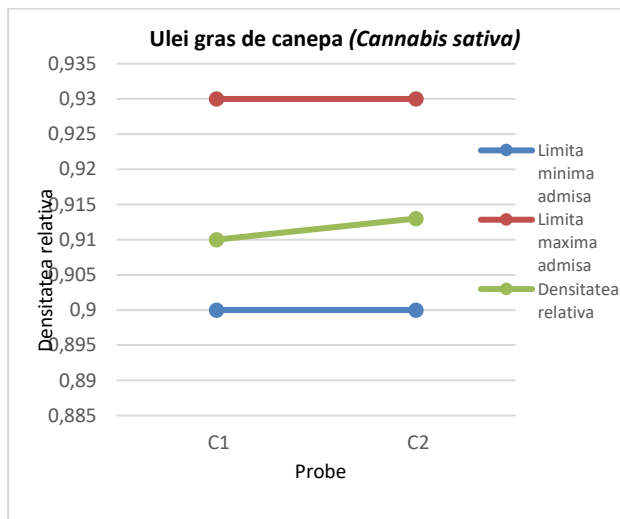


Figura 2.23. Reprezentarea grafică a parametrului „Densitate relativă”

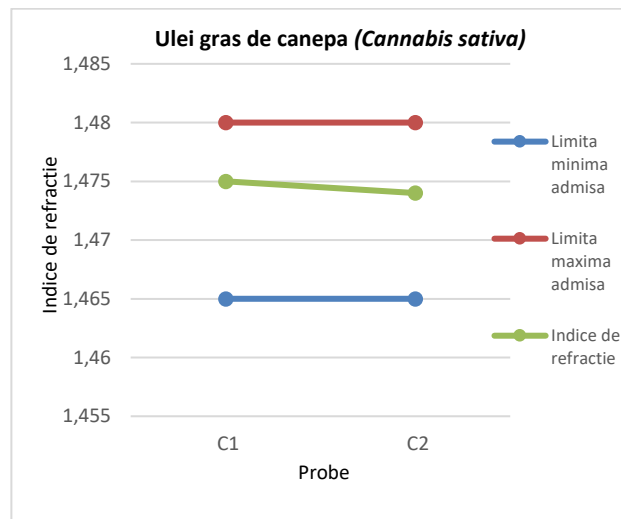


Figura 2.24. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de refracție”

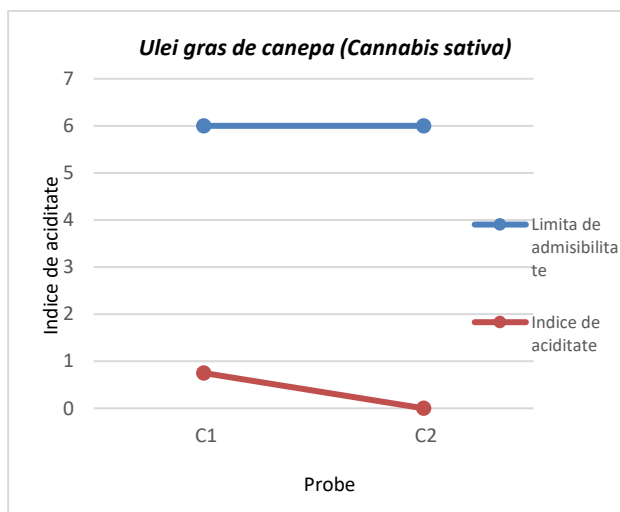


Figura 2.25. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de aciditate”

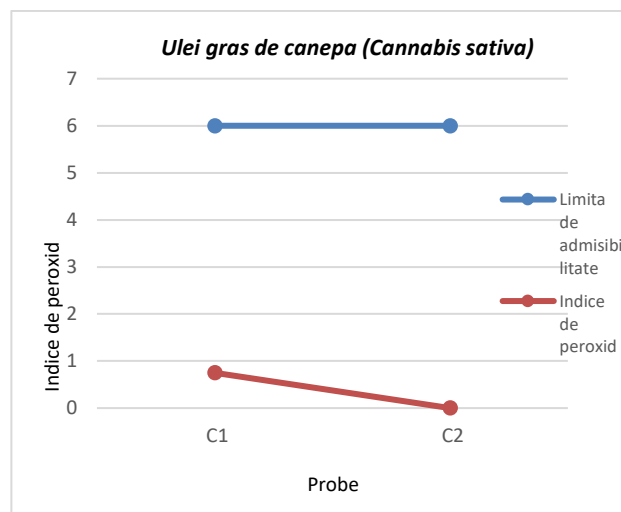


Figura 2.26. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de peroxid”

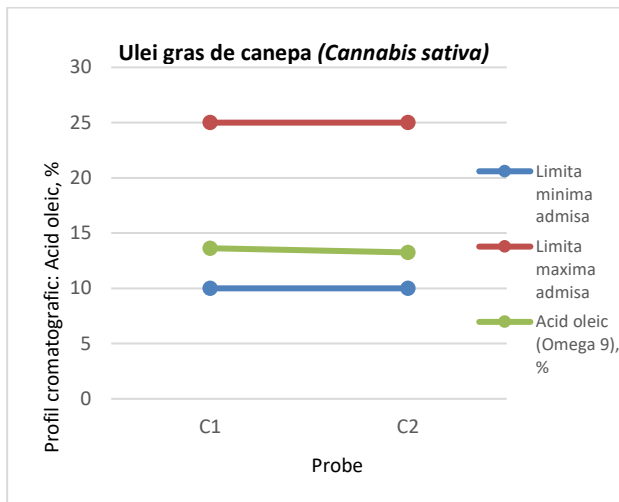


Figura 2.27. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid oleic”

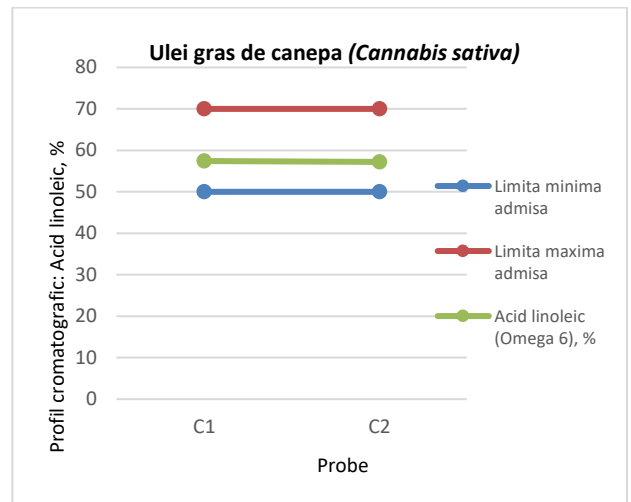


Figura 2.28. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid linoleic”

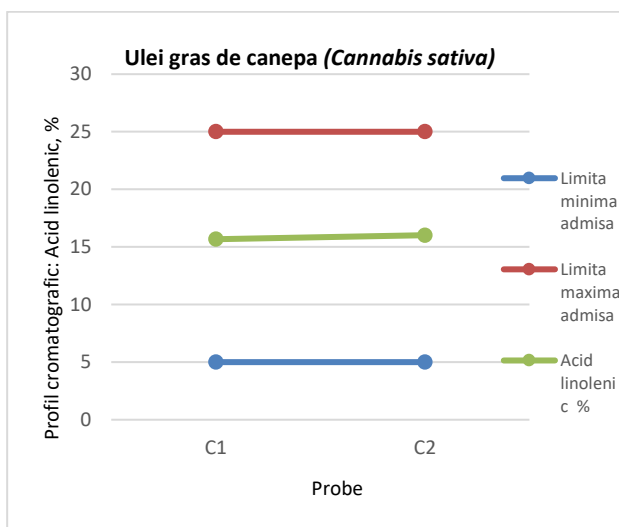


Figura 2.29. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid linolenic”

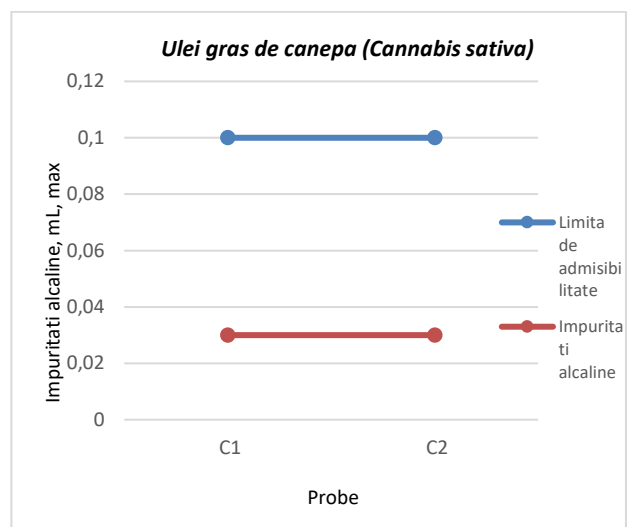
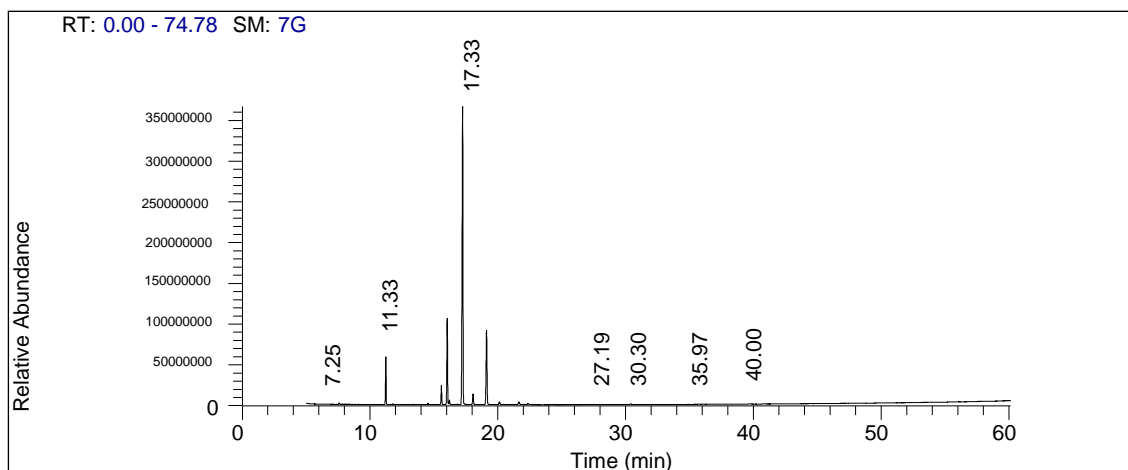


Figura 2.30. Reprezentarea grafică a parametrului „Impurități alcaline”

Cromatograma: CanepaUleiFurc0070417



Comentarii:

După cum se poate observa din tabelele și reprezentările grafice de mai sus, ambele probe de ulei gras din semințe de cânepă ecologică, obținut prin presare la rece, se încadrează în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția 9.0.

Parametrii „indice de aciditate”, „indice de peroxid” și „impurități alcaline” înregistrează valori situate sub limitele de admisibilitate. Parametrii „indice de refracție” și „densitate relativă” prezintă valori oscilante între cele două limite de admisibilitate.

În ceea ce privește profilele cromatografice ale probelor analizate, în uleiul de cânepă analizat au fost identificați atât acid oleic - Omega 9 (13,63% pentru proba C1 și 13,25% pentru proba C2), cât și acid linoleic – Omega 6 (57,43% pentru proba C1 și 57,21% pentru proba C2) și acid linolenic -Omega-3 (15,67% pentru proba C1 și 16,02% pentru proba C2). De asemenea, de remarcat este faptul că procentul celor 3 acizi grași esențiali menționați mai sus este de aproximativ 86% pentru ambele probe analizate, depășind astfel procentajul specificat în literatura de specialitate, respectiv 80%, întărind în acest sens convingerea conform căreia uleiul din semințe de cânepă conține cea mai mare concentrație de acizi grași esențiali deținută vreodată de vreo plantă. Nu numai că are în compoziția sa Omega-3 și Omega-6, însă conține și Omega-9 – fapt care contribuie la menținerea nivelului de hidratare optim, dar și al sănătății pielii, fiind astfel ideal pentru utilizarea sa ca materia primă în obținerea cremelor intenționate în aceasta teză.

2.2.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de cânepă

Se efectuează în conformitate cu Europeană, Ediția 9.0 capitolul 2.6.12. „Microbiological Examination of non-Sterile Products: Microbial Enumeration Tests” și capitolul 2.6.13. „Microbiological Examination of non-Sterile Products: Tests for Specified Micro-organisms”. [European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) “*European Pharmacopeia*”, Ediția 9.0, 2016]

2.2.2.1.5. Rezultate și discuții privind determinarea contaminării microbiene a uleiului de cânepă

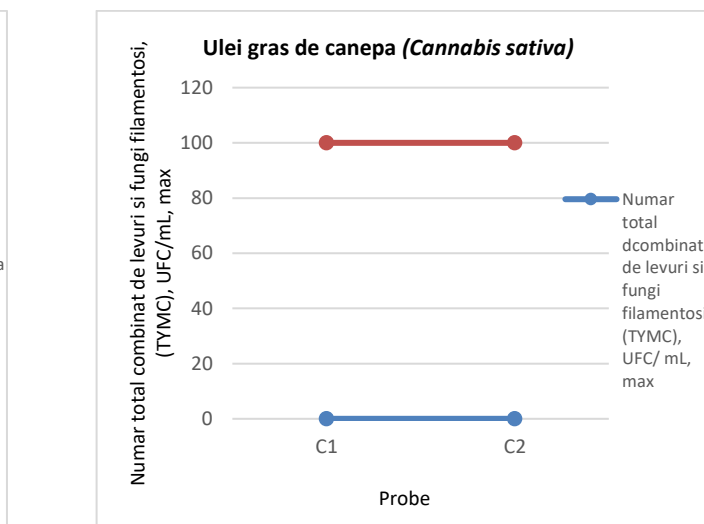
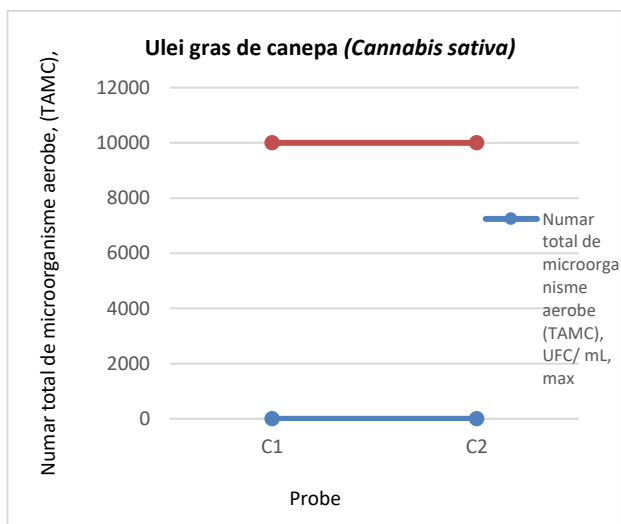


Figura 2.33. „Număr total de microorganisme aerobe”

Figura 2.34. „Număr total combinat de levuri și fungi filamentoși”

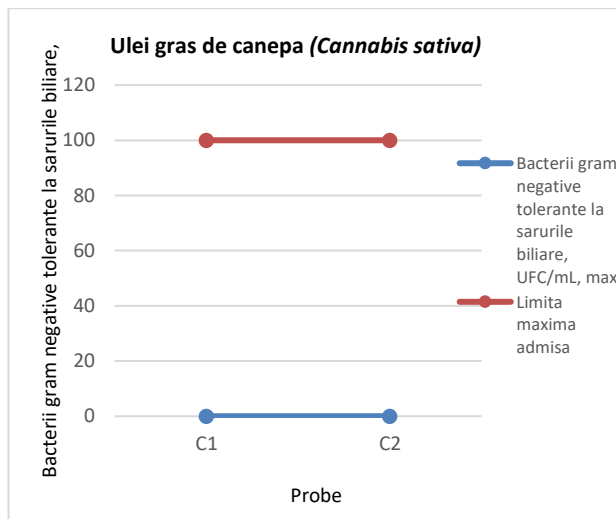


Figura 2.35. „Bacterii gram-negative tolerante la sărurile biliare”

2.3. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de argan

Lichid uleios, limpede, de culoare galben - verzui, cu miros plăcut, agreabil, caracteristic.
[European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) "European Pharmacopeia",
Editia 9.0, 2016]

2.3.1.10. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de argan

Pentru efectuarea studiului au fost luate în lucru 3 probe de ulei de argan (*Argania spinosa L.*), produse de AFER Maroc și provenite din 3 serii diferite de ulei gras, obținute în aceleași condiții, la scara pilot și anume:

- A1 = probă de ulei gras vegetal de argan (*Argania spinosa L.*) obținut prin presare la rece, Seria P₁- uz cosmetic;
- A2 = probă de ulei gras vegetal de argan (*Argania spinosa L.*) obținut prin presare la rece, Seria 64003/ HAC1 (cosmetic);
- A3 = probă de ulei gras vegetal de argan (*Argania spinosa L.*) obținut prin presare la rece, Seria 64003/ HAC2 (cosmetic);

Rezultatele obținute în cadrul analizelor fizico-chimice ale probelor de ulei gras vegetal de argan (*Argania spinosa L.*) obținut prin presare la rece, sunt prezentate în tabelele de mai jos:

Tabelul II.28. Rezultatele obținute la analiza fizico-chimică a gras vegetal de argan (*Argania spinosa L.*)

	Caracteristici	Limite de admisibilitate	Rezultate	Observatii
1.	Aspect	lichid uleios limpede	corespunde	-
2.	Culoare	galben - verzui	corespunde	-
3.	Miros	placut, agreabil, caracteristic	corespunde	-
4.	Indice de refractie	1,4600 – 1,4700	1,4695	-
5.	Densitate relativa	0,9100 – 0,9200	0,9147	-
6.	Indice de saponificare	189,0-195,0	192,8	-
7.	Indice de aciditate	1,3-3,0	1,87	-
8.	Indice de peroxid, max	3,0	2,64	-
9.	Materii nesaponificabile	0,3 - 1,1	0,99	-
10.	Indice de iod	92, 0 - 102 ,0	98,9	-
11.	Acid Palmitic, %	13,5 – 16,4	15,61	Proba a fost analizata prin gaz-cromatografie cuplata cu spectrometrie de masa.
12.	Acid Stearic, %	4,2 -5,6	4,24	
13.	Acid Oleic, %	43,1- 46,9	44,20	
14.	Acid Linoleic, %	31,6 – 36,4	32,74	
15.	Acid Linolenic, %, max.	0,1	0	
16.	Acid Arachidic, %, max.	0,4	0,36	
17.	Acid Gadoleic, %, max.	0,5	0,39	

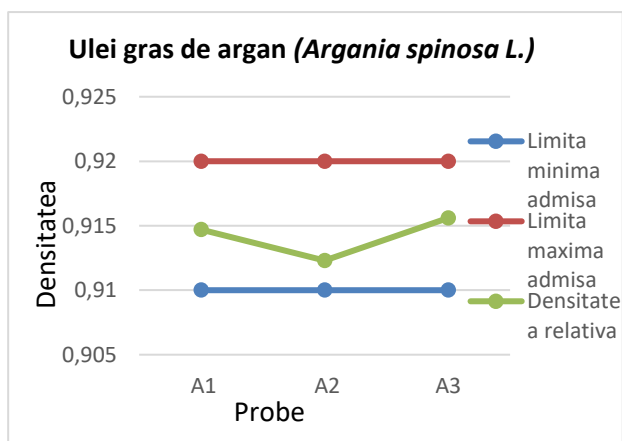


Figura 2.36. Reprezentarea grafică a parametrului „Densitate relativă”

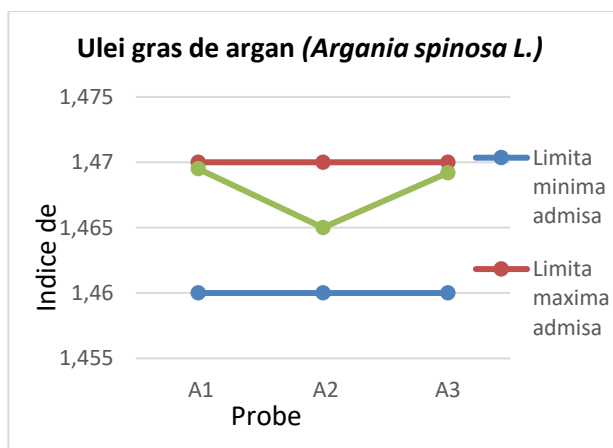


Figura 2.37. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de refracție”

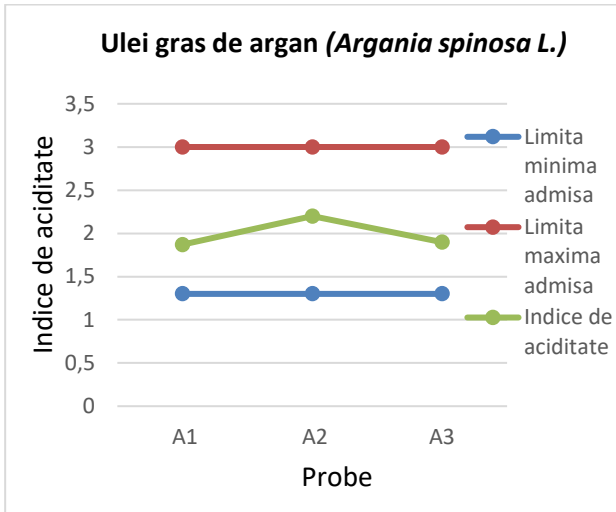


Figura 2.38. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de aciditate”

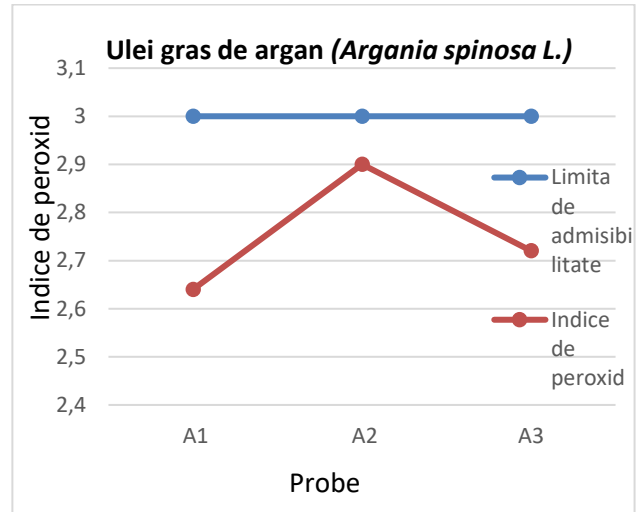


Figura 2.39. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de peroxid”

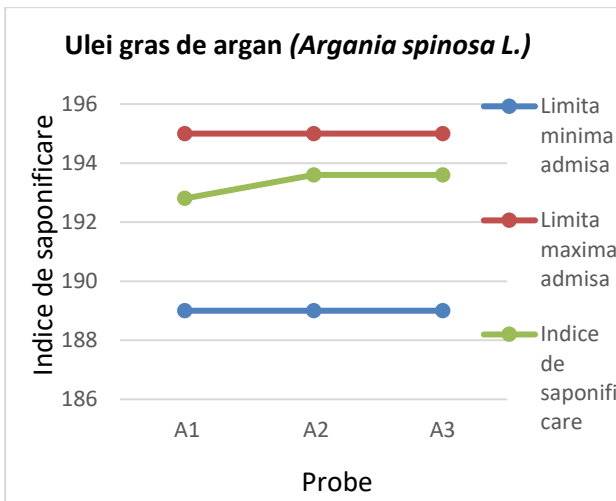


Figura 2.40. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de saponificare”

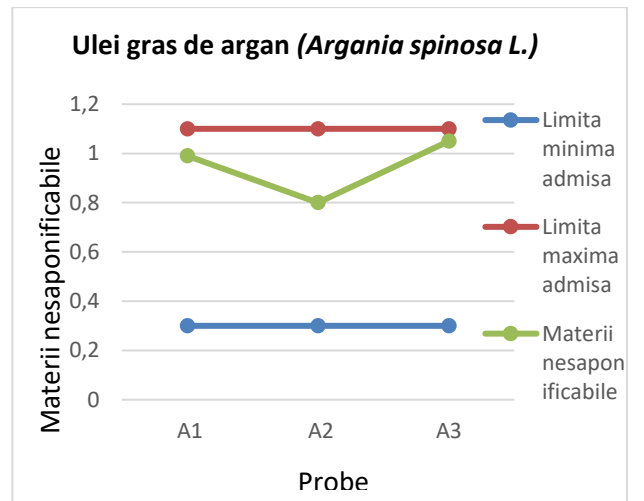


Figura 2.41. Reprezentarea grafică a parametrului „Materii nesaponificabile”

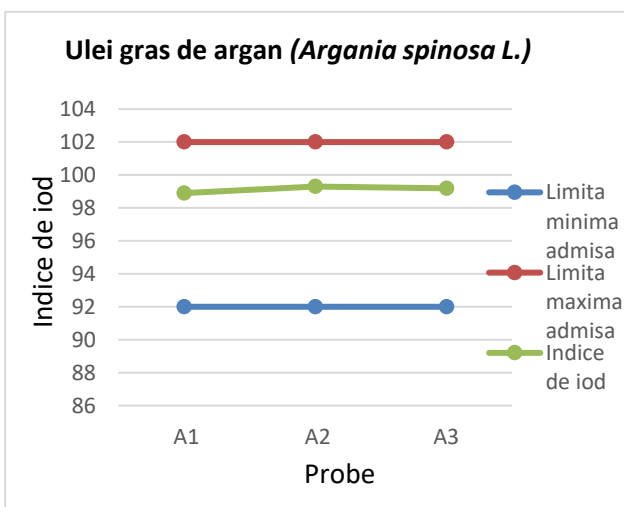


Figura 2.42. Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de iod”

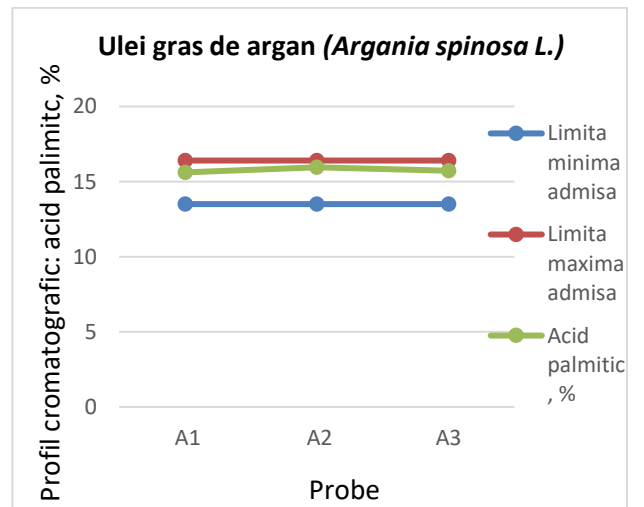


Figura 2.43. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid palmitic”

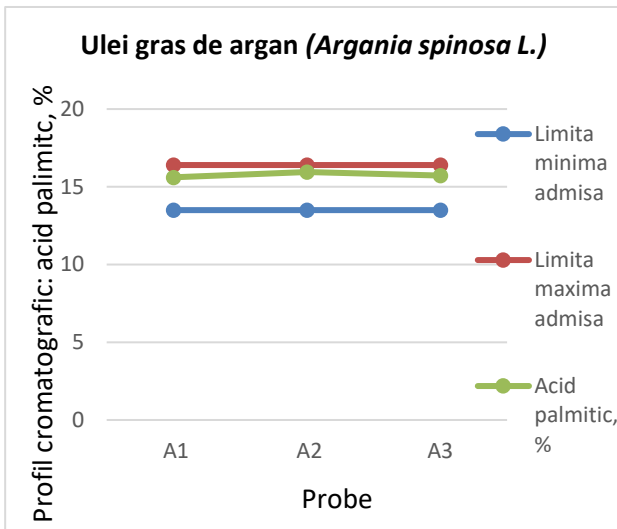


Figura 2.44. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: acid stearic”

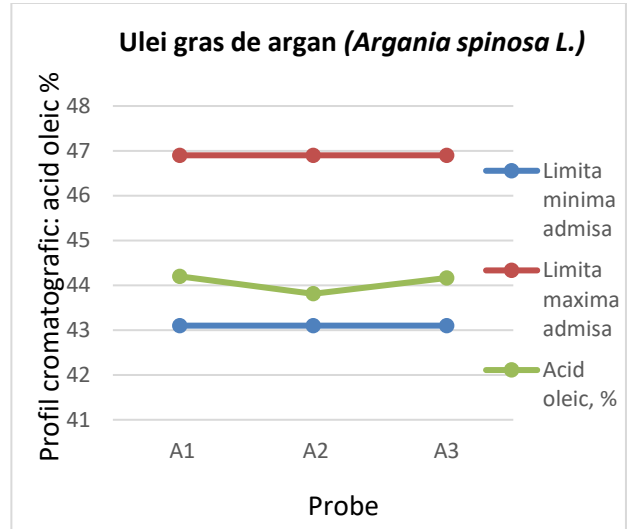


Figura 2.45. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid oleic”

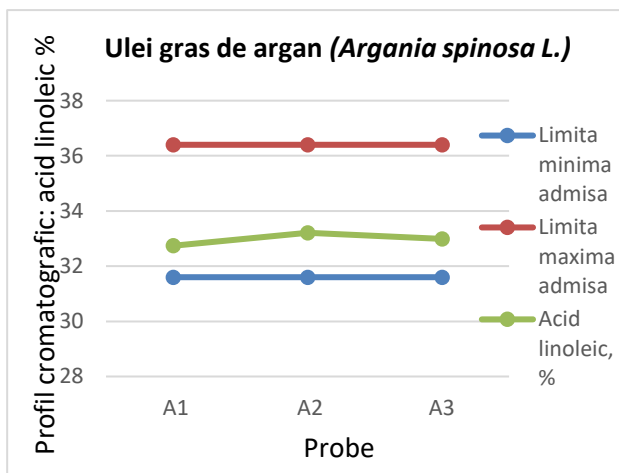


Figura 2.46. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: acid linoleic”

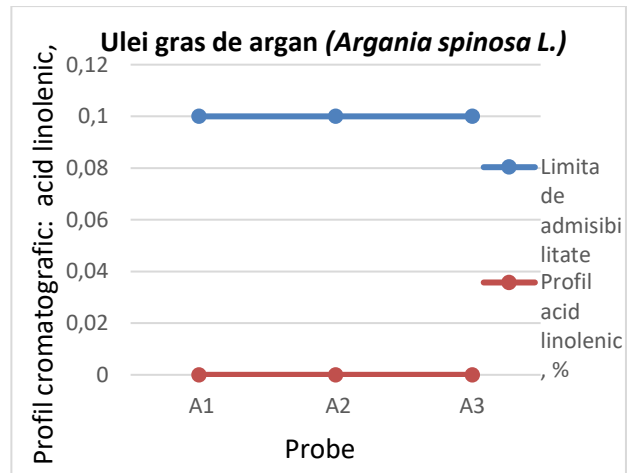


Figura 2.47. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid linolenic”

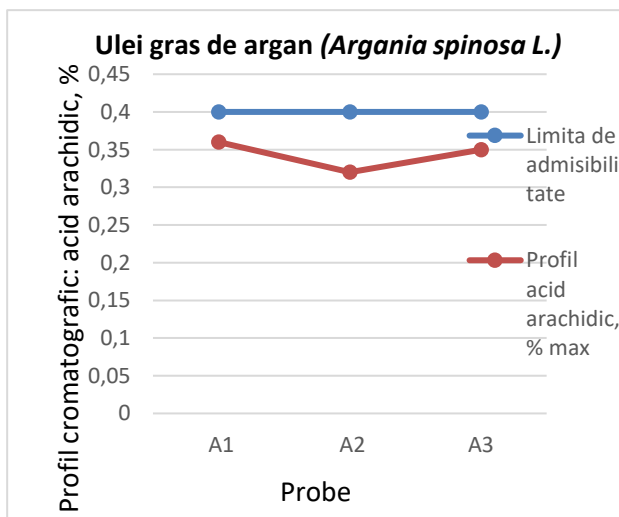


Figura 2.48. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: acid arachidic”

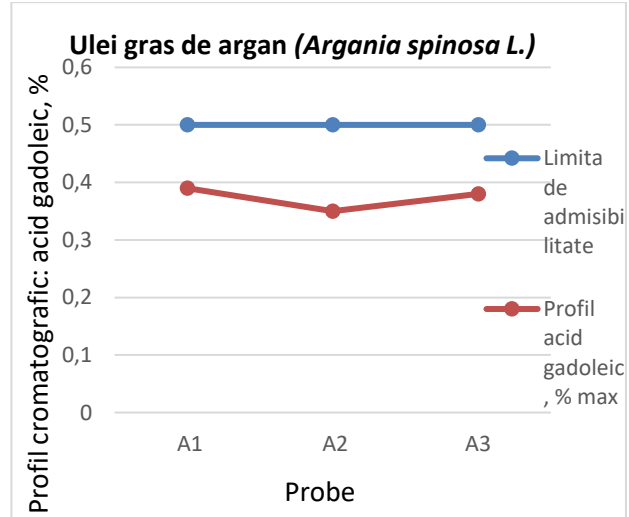


Figura 2.49. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid gadoleic”

Comentarii:

După cum se poate observa din tabelele și reprezentările grafice de mai sus, toate cele 3 probe de ulei gras de argan, obținut prin presare la rece, se încadrează în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția 9.0.

În ceea ce privește profilele cromatografice ale probelor analizate, toate cele 3 probe de ulei de argan, conțin aproximativ 77% acizi grași nesaturați, înregistrând astfel un procent apropiat de cel stabilit prin literatura de specialitate (80%). Conținutul în acizi grași mononesaturați (acid oleic – Omega 9) variază foarte puțin – 44,2% pentru proba A1, 43,81% pentru proba A2, cel mai mare procent înregistrându-se pentru proba A3, respectiv 44,16%, fiind aproape egal cu cel citat în studiile de specialitate (43%). De asemenea, conținutul în acid linoleic – Omega 6 este apropiat de 36%, acesta fiind binecunoscut pentru tratarea unor boli inflamatorii ale pielii, așa cum prevăd articolele studiate. Valorile înregistrate pentru cele 3 probe de ulei de argan analizate, îl recomandă în vederea utilizării ca materie primă pentru obținerea cremelor intenționate în această teză.

2.3.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de argan

Se efectuează în conformitate cu Europeană, Ediția 9.0 capitolul 2.6.12. „Microbiological Examination of non-Sterile Products: Microbial Enumeration Tests” și capitolul 2.6.13. „Microbiological Examination of non-Sterile Products: Tests for Specified Micro-organisms”. [European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) “European Pharmacopeia”, Ediția 9.0, 2016]

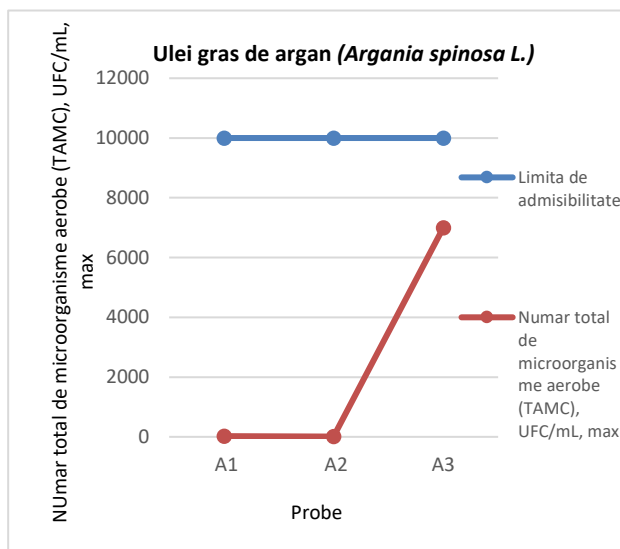


Figura 2.53. Reprezentarea grafică a parametrului „Număr total de microorganisme aerobe”

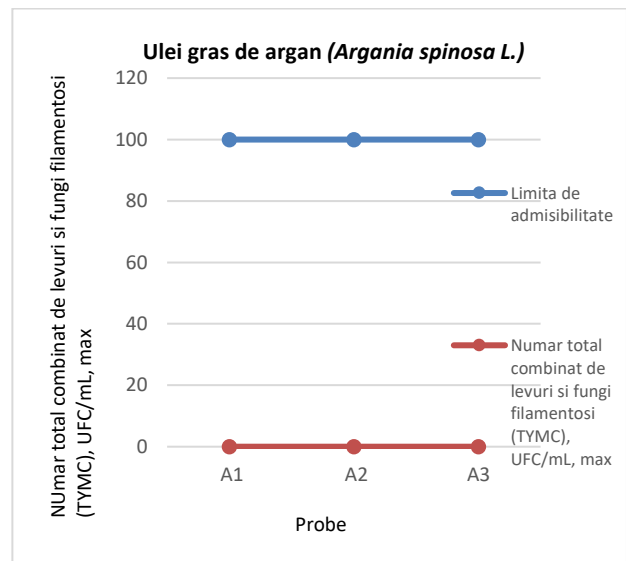


Figura 2.54. Reprezentarea grafică a parametrului „Număr total combinat de levuri și fungi filamentosi”

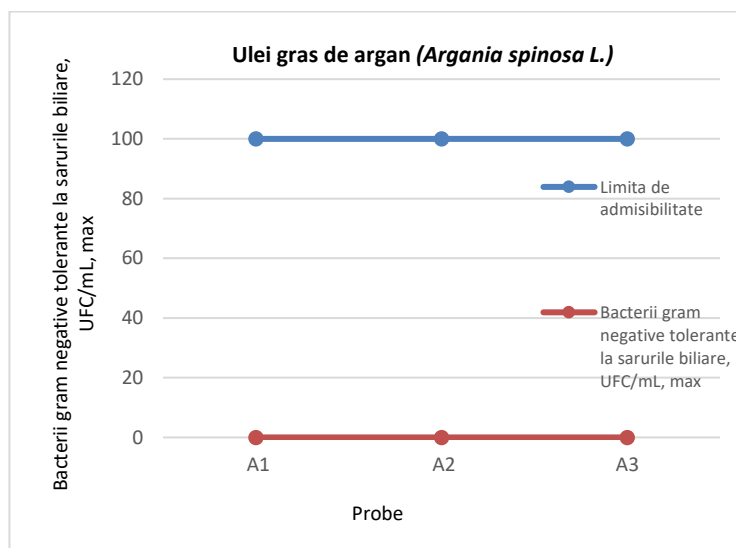


Figura 2.55. Reprezentarea grafică a parametrului „Bacterii gram-negative tolerante la sărurile biliare”

Comentarii: Valorile obținute la analiza microbiologică a uleiului gras de argan atestă faptul că acesta este de calitate și siguranța intenționată, încadrându-se în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția în vigoare, referitoare la calitatea produsului natural de origine naturală vegetală, din punct de vedere al contaminării microbiene. Am selectat proba A2, fiind cu valoarea cea mai bună din punct de vedere a contaminării microbiene cu bacterii nepatogene și absența patogenilor.

2.4. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiului de măsline

2.4.1.2. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale uleiului de măsline

Pentru efectuarea studiului au fost luate în lucru 3 probe de ulei de măsline (*Olea europaea*), produse de HACENDADO Spania (proba M1) și COSTA D'ORO (probele M2 și M3) și provenite din 3 serii diferite de ulei gras, obținute în aceleași condiții, la scara pilot și anume:

- M1= probă de ulei gras vegetal de măsline (*Olea europaea L.*) obținut prin presare la rece;
- M2= probă de ulei gras vegetal de măsline (*Olea europaea L.*) obținut prin presare la rece, Lot L 00004;
- M3= probă de ulei gras vegetal de măsline (*Olea europaea l.*) obținut prin presare la rece, Lot L 00005;

Tabelul II.37. Rezultatele obținute la analiza fizico-chimică a uleiului gras vegetal de măsline (*Olea europaea L.*)

Caracteristici	Limite de admisibilitate	Rezultate obținute
Profil cromatografic:		
Acizi grași saturați cu lanțul de C < 16 atomi, %	< 0,1	< 0,01
Palmitic C16:0 %	7,5-20,0	11,37
Palmitoleic C16:1%	< 3,5	0,65
Stearic C18:1%	0,5-5	2,95
Oleic C18:1%	56-85,0	73,05
Cis Vaccenic C18:1%	-	1,98
Linoleic C18:2%	3,5-20	8,85
Linolenic C18:3%	< 1,2	0,63
Arachidic C20:0%	< 0,7	0,24
11-Eicosenoic C20:1%	< 0,4	0,16
Behenic C22:0%	< 0,2	< 0,01
Lignoceric %	< 0,2	< 0,01

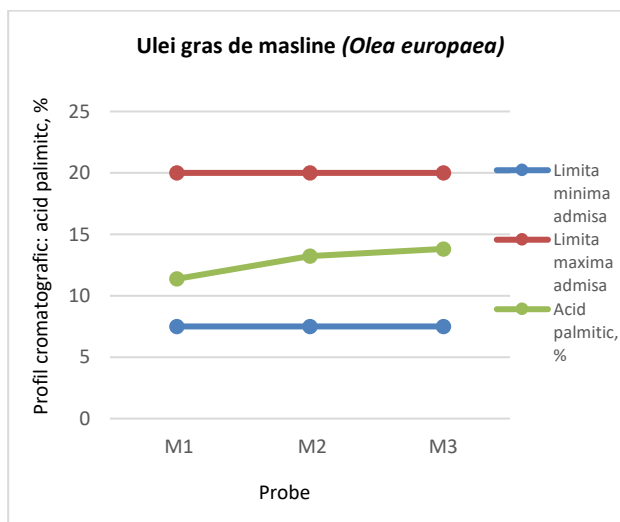


Figura 2.56. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: acid palmitic”

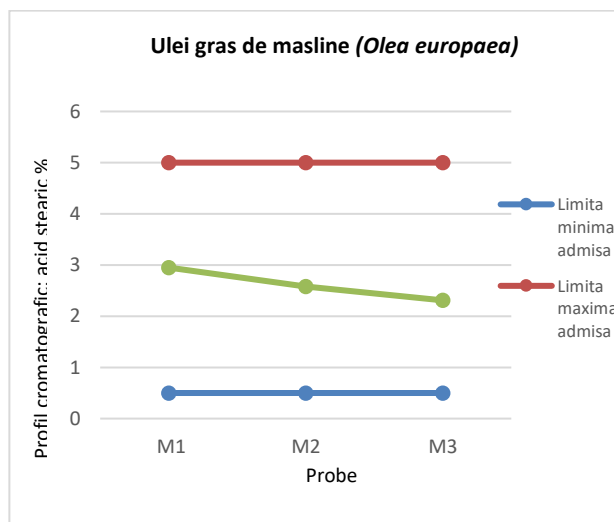


Figura 2.57. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid stearic”

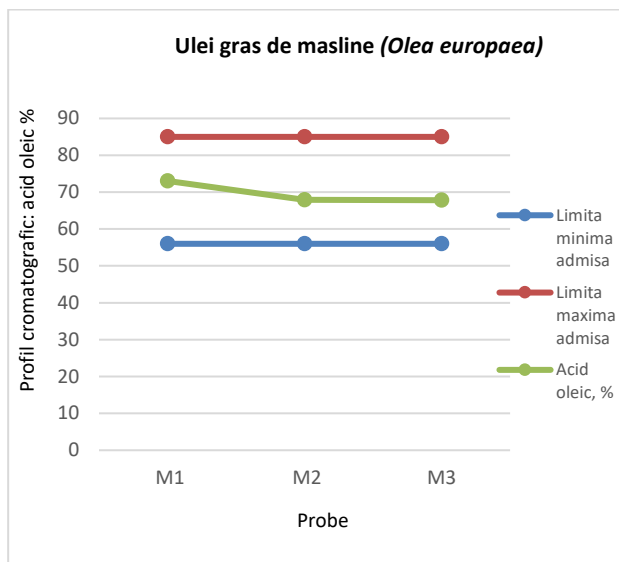


Figura 2.58. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: acid oleic”

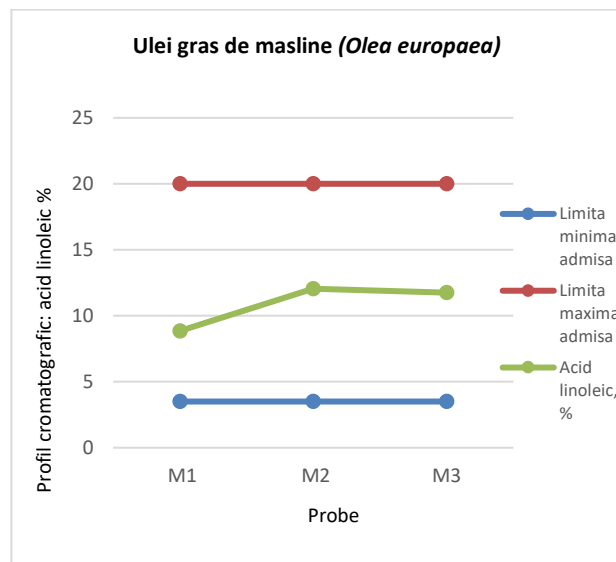


Figura 2.59. Reprezentarea grafică a parametrului „Profil cromatografic: Acid linoleic”

Comentarii:

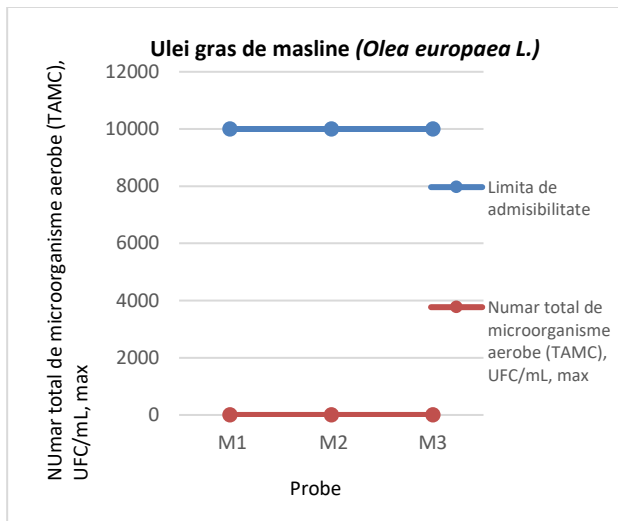
După cum se poate observa din tabelele și reprezentările grafice de mai sus, referitor la profilele cromatografice ale probelor analizate de ulei de măsline :

- conținutul în acid palmitic variază, cea mai mare valoare înregistrându-se pentru proba M3 – ulei de măsline produs de COSTA D`ORO, Lot L 0005 (13,83%, limitele de admisibilitate fiind cuprinse între 7,5 și 20%);
- cel mai mare conținut în acid oleic s-a identificat în proba M1 – ulei de măsline produs de HACENDADO Spania (73,05%, limita maximă admisă fiind de 85%);
- cel mai mare conținut în acid linoleic s-a înregistrat pentru proba M2 - ulei de măsline produs de COSTA D`ORO, Lot L 0004 (12,5%).

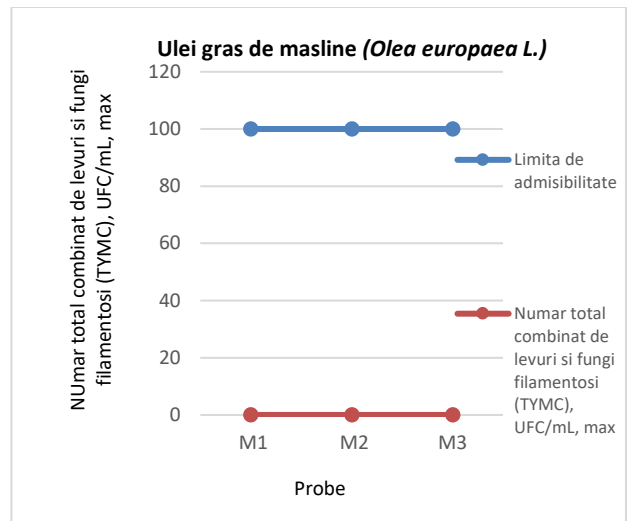
Astfel, toate cele 3 probe de ulei de măsline analizate se încadrează în procente prevăzute în literatura de specialitate. Datorită conținutului ridicat în acid linoleic, un compus care nu este produs de către organism, uleiul de măsline analizat este un foarte bun hidratant, aceasta întărind convingerea de a fi utilizat ca materie primă în obținerea cremelor intenționate în această teză. De altfel, acesta este adăugat în majoritatea produselor cosmetice.

2.4.2. Caracterizarea microbiologică a uleiului de măsline

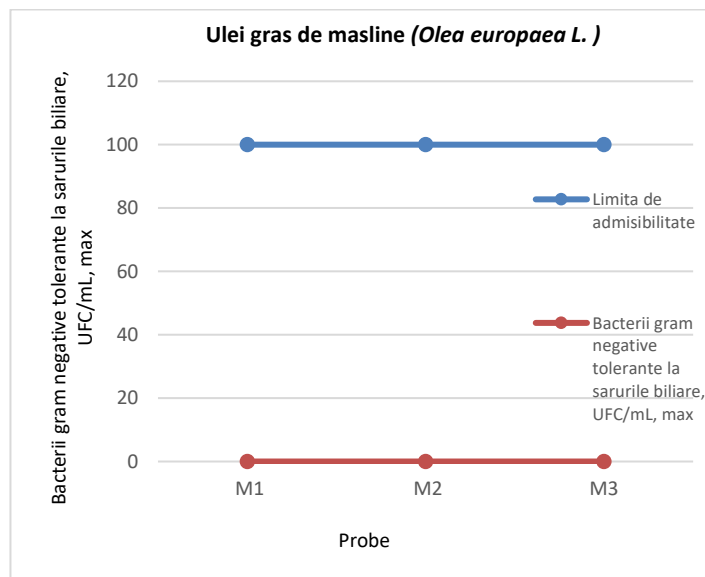
Se efectuează în conformitate cu Europeană, Ediția 9.0 capitolul 2.6.12. „Microbiological Examination of non-Sterile Products: Microbial Enumeration Tests” și capitolul 2.6.13. „Microbiological Examination of non-Sterile Products: Tests for Specified Micro-organisms” [European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) “*European Pharmacopeia*”, Ediția 9.0, 2016].



„Număr total de microorganisme aerobe”



„Număr total combinat de levuri și fungi filamentoși”



„Bacterii gram-negative tolerante la sărurile biliare”

Comentarii: Valorile obținute la analiza microbiologică a uleiului gras de măsline atestă faptul că acesta este de calitate și siguranța intenționată, încadrându-se în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția în vigoare, referitoare la calitatea produsului natural de origine naturală vegetală, din punct de vedere al contaminării microbiene.

III. OBȚINEREA UNOR PRODUSE COSMETICE CU INGREDIENTE NATURALE DE ORIGINE VEGETALĂ – ULEIURI GRASE

3.2. Formulele de fabricație ale produselor cosmetice cu uleiuri grase

3.3.1 Formula de fabricație a produsului *Cremă cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase de in (Linum usitatissimum) și argan (Argania spinosa) – Cremă I + A*

Faza	Denumire materie primă (INCI)	Cantitate %
Faza A	Acid stearic/ <i>Stearic Acid</i>	2.00
Faza A	Ceară/ <i>Bees Wax</i>	2.00
Faza A	Alcool cetilic/ <i>Cetyl Alcohol</i>	5.00
Faza A	Capric/ <i>Caprylic/capric trigliceride</i>	5.00
Faza A	Vitamina E/ <i>Tocopherol oil</i>	0.50
Faza A	Glicerină/ <i>Glycerine</i>	3.00
Faza A	Benzoat de sodium/ <i>Sodium Benzoate</i>	0.40
Faza B	Apă/ <i>Water</i>	qs. ad 100.00
Faza C	Ulei de in/ <i>Linum usitatissimum Seed Oil</i>	5.00
Faza C	Ulei de argan/ <i>Argania Spinosa Seed Oil</i>	5.00
Faza D	Euxyl K 900/ Benzyl Alcohol and Ethylhexylglicerin and Tocopherol	1.00

3.3.2 Formula de fabricație a produsului *Cremă cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase de cânepă (Cannabis sativa) și argan (Argania spinosa) – Cremă C+A*

Faza	Denumire materie primă (INCI)	Cantitate %
Faza A	Acid stearic/ <i>Stearic Acid</i>	2.00
Faza A	Ceară/ <i>Bees Wax</i>	2.00
Faza A	Alcool cetilic/ <i>Cetyl Alcohol</i>	5.00
Faza A	Capric/ <i>Caprylic/capric trigliceride</i>	5.00
Faza A	Vitamina E/ <i>Tocopherol oil</i>	0.50
Faza A	Glicerina/ <i>Glycerine</i>	3.00
Faza A	Benzoat de sodium/ <i>Sodium Benzoate</i>	0.40
Faza B	Apă/ <i>Water</i>	qs. ad 100.00
Faza C	Ulei de argan/ <i>Argania Spinosa Seed Oil</i>	5.00
Faza C	Ulei de cânepă/ <i>Cannabis Sativa seed Oil</i>	5.00
Faza D	Euxyl K 900/ Benzyl Alcohol and Ethylhexylglicerin and Tocopherol	1.00

3.3.3 Formula de fabricație a produsului *Cremă cu ingrediente naturale de origine vegetală – uleiuri grase de măsline (Olea europaea) și argan (Argania spinosa) – Cremă M+A*

Faza	Denumire materie primă (INCI)	Cantitate %
Faza A	Acid stearic/ <i>Stearic Acid</i>	2.00
Faza A	Ceară/ <i>Bees Wax</i>	2.00
Faza A	Alcool cetilic/ <i>Cetyl Alcohol</i>	5.00
Faza A	Capric/ <i>Caprylic/capric trigliceride</i>	5.00
Faza A	Vitamina E/ <i>Tocopherol oil</i>	0.50
Faza A	Glicerina/ <i>Glycerine</i>	3.00
Faza A	Benzoat de sodium/ <i>Sodium Benzoate</i>	0.40
Faza B	Apă/ <i>Water</i>	qs. ad 100.00
Faza C	Ulei de argan/ <i>Argania Spinosa Seed Oil</i>	5.00
Faza C	Ulei de măsline/ <i>Olea europaea</i>	5.00
Faza D	Euxyl K 900/ Benzyl Alcohol and Ethylhexylglicerin and Tocopherol	1.00

IV. CARACTERIZAREA FIZICO-CHIMICĂ A PRODUSELOR COSMETICE OBȚINUTE

4.1.8. Rezultate și discuții privind determinările fizico-chimice ale produselor cosmetice obținute

Tabelul IV.3. Rezultatele obținute la analiza fizico-chimică a produsului CREMĂ I + A

Nr. crt.	Caracteristici	Limite de admisibilitate	Rezultate obținute pentru proba CREMĂ I + A
1	Descriere: - aspect - culoare - miros	-omogen -alb - albăstruie -caracteristic	corespunde corespunde corespunde
2	Indice de peroxid, max.	5,0	0,73
3	Densitate relativa, d_{20}^{20}	0,9400 – 0,9900	0,9624
4	pH	5,0 – 7,0	6,64
5	Identificare, C: - profil cromatografic	pozitiv	corespunde
6	Compoziția acizilor grași: - acid palmitic, % - acid stearic, % - acid oleic, % - acid linoleic, % - acid linolenic,	3,0-8,0 2,0-8,0 11,0-35,0 11,0-24,0 35,0-65,0	4,8 3,6 12,8 12,66 37,5

Tabelul IV.4. Rezultatele obținute la analiza fizico-chimică a produsului CREMĂ C + A

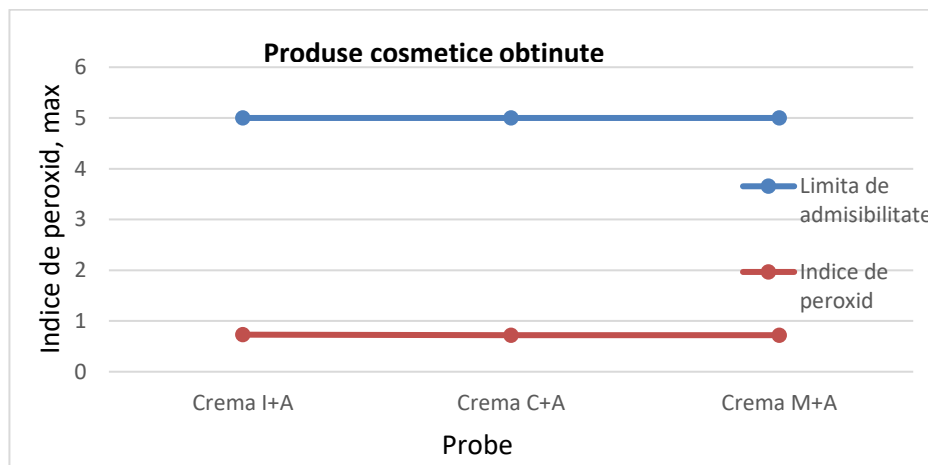
Nr. crt.	Caracteristici	Limite de admisibilitate	Rezultate obținute pentru proba CREMĂ C+ A
1	Descriere: - aspect - culoare - miros	-omogen -alb - albăstruie -caracteristic	corespunde corespunde corespunde
2	Indice de peroxid, max.	5,0	0,72
3	Densitate relativa, d_{20}^{20}	0,9400 – 0,9900	0,9626
4	pH	5,0 – 7,0	6,68
5	Identificare, C: - profil cromatografic	pozitiv	corespunde
6	Compoziția acizilor grași: - acid oleic, % - acid linoleic, % - acid linolenic α , %	10,0 – 25,0 50,0-70,0 5,0-25,0	12,02 56,91 6,89

Tabelul IV.5. Rezultatele obținute la analiza fizico-chimică a produsului CREMĂ M + A

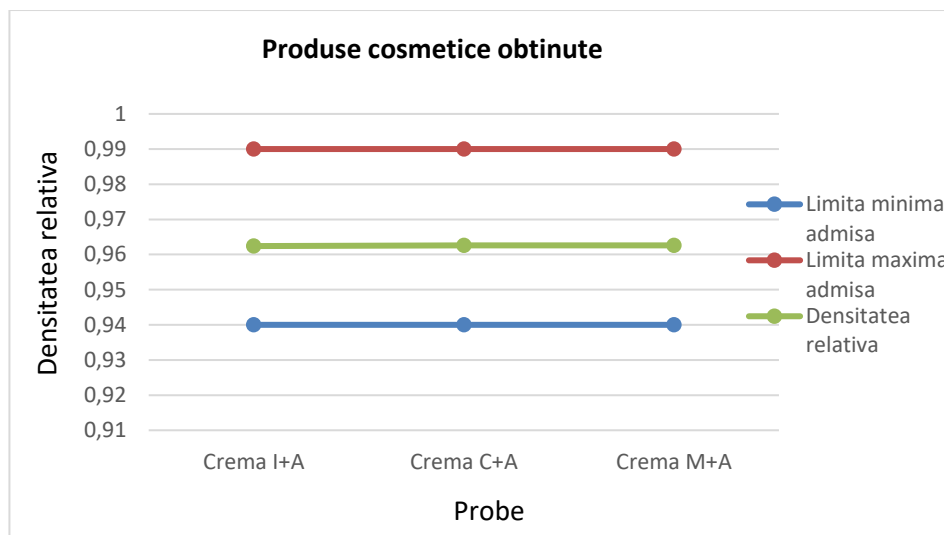
Nr. crt.	Caracteristici	Limite de admisibilitate	Rezultate obținute pentru proba CREMĂ M+ A
1	Descriere: - aspect - culoare - miros	-omogen -alb - albăstruie -caracteristic	corespunde corespunde corespunde
2	Indice de peroxid, max.	5,0	0,72
3	Densitate relativa, d_{20}^{20}	0,9400 – 0,9900	0,9626
4	pH	5,0 – 7,0	6,07
5	Identificare, C: - profil cromatografic	pozitiv	corespunde
6	Compoziția acizilor grași: - acid palmitic, % - acid linoleic, % - acid linolenic, % - acid stearic, % - acid arachic, % - acid behenic, %	7,5-20,0 3,5-20 < 1,2 0,5-5 < 0,7 < 0,2	8,16 8,61 0,59 2,02 0,17 < 0,01

Tabelul IV.6. Rezultatele obținute privind determinarea conținutului în minerale ale celor 3 produse

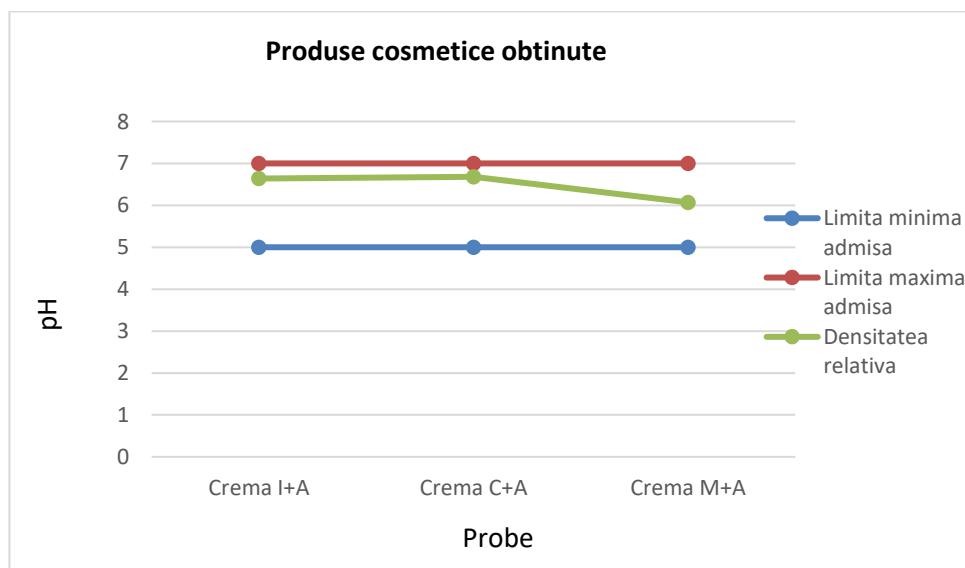
Nr. crt.	Denumire probă	Parametri analizați mg/100g									
		Ca	Mg	K	Na	Mn	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
1	Crema I+A	10	12	300	110	ND	5,0	1,5	ND	ND	ND
2	Crema C+A	5	10	370	50	ND	3,0	0,5	ND	ND	ND
3	Crema M+A	11	5	390	50	ND	<2	<0.5	ND	ND	ND



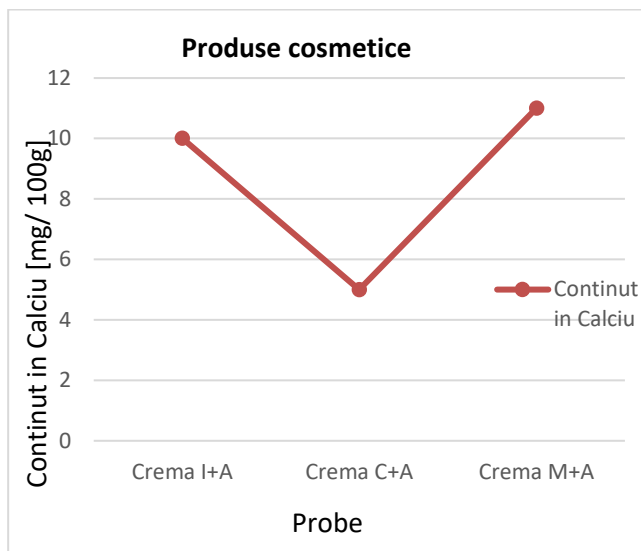
Reprezentarea grafică a parametrului „Indice de peroxid” pentru produsele cosmetice obtinute (Crema I+A, Crema C+A și Crema M+A)



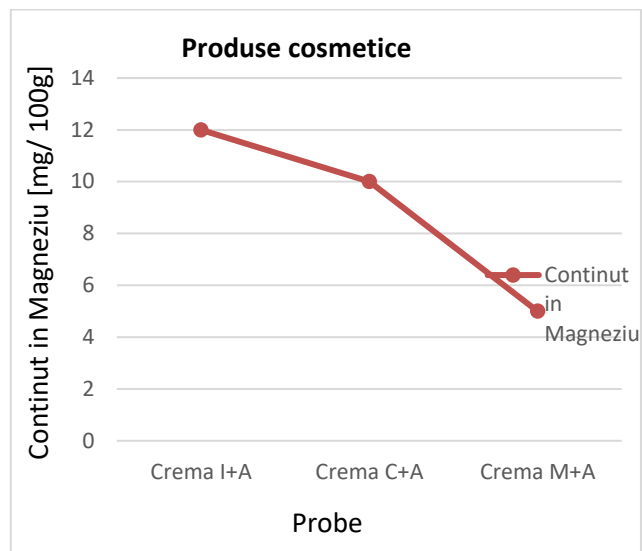
Reprezentarea grafică a parametrului „Densitate relativa” pentru produsele cosmetice obtinute (Crema I+A, Crema C+A și Crema M+A)



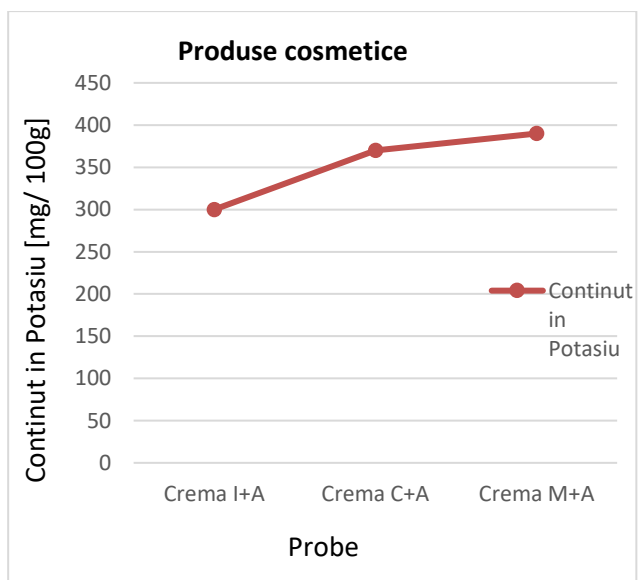
Reprezentarea grafică a parametrului „Densitate relativa” pentru produsele cosmetice obtinute (Crema I+A, Crema C+A și Crema M+A)



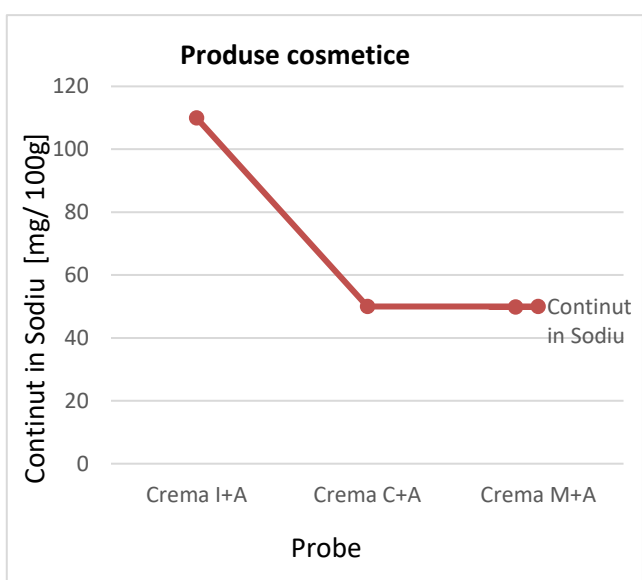
Reprezentarea grafică a parametrului „Conținut în Calciu”



Reprezentarea grafică a parametrului „Conținut în Magneziu”



Reprezentarea grafică a parametrului „Conținut în Potasiu”



Reprezentarea grafică a parametrului „Conținut în Sodiu”

Concluzii:

Toate cele 3 probe de creme obținute care conțin diverse combinații de uleiuri grase de origine vegetală (care au fost fabricate prin presare la rece), respectiv ulei de in (*Linum usitatissimum*) și ulei de argan (*Argania spinosa*) - Crema I+A, ulei de cânepă (*Canabis sativa*) și ulei de argan (*Argania spinosa*) - Crema C+A, și ulei de măsline și ulei de argan (*Argania spinosa*) - Crema M+A se încadrează în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția 9.0.

pH-ul prezintă valori apropiate de 7 (pH neutru), cea mai ridicată valoare, respectiv 6,68 înregistrându-se pentru crema C+A.

Parametrul „densitate relativă” prezintă valori situate aproximativ la jumătatea intervalului dintre cele două limite de admisibilitate.

Parametrul „indice de peroxid” prezintă valori apropiate de 0, în condițiile în care limita maximă admisă este de 5, acesta reprezentând o caracteristică de calitate a uleiurilor grase situate în compoziția celor trei creme (conținutul de peroxid și alte substanțe oxidante dintr-o cantitate anumită de ulei, care oxidează iodura de potasiu, punând în libertate iodul).

În ceea ce privește conținutul în minerale al cremelor obținute:

- cel mai mare conținut în Calciu (Ca) îl prezintă crema M+A;
- cel mai mare conținut în Magneziu (Mg) îl prezintă crema I+A;

- cel mai mare conținut în Potasiu (K) îl prezintă crema M+A;
- cel mai mare conținut în Sodiu (Na) îl prezintă crema I+A

Prezența diverșilor acizi grași în cremele analizate demonstrează faptul că acestea sunt de calitate intenționată, formulele de fabricație adoptate reușind să mențină principiile active existente în uleiurile grase de origine vegetală obținute prin presare la rece. De altfel, din literatura de specialitate, este binecunoscut faptul că aceștia mențin sănătatea pielii în stare optimă.

V. STUDIUL EFICACITĂȚII ANTIMICROBIENE AL PRODUSELOR COSMETICE OBȚINUTE

5.3. Rezultate și discuții privind controlul eficacității antimicrobiene a produselor cosmetice obținute

Tabelul V.6. Rezultatele obținute la contaminarea microbiană a produselor cosmetice

	TAMC (UFC)/g	TYMC (UFC)/g	<i>S. aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella abony</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
Limita de admisibilitate (F.E.)	1 x 10²	1 x 10¹	absent /g	absent /g	absent/ 25g	absent /g	absent /g
Cremă I+A+ Euxyl 0,75 %	<10	<10	absent	absent	absent	absent	absent
Cremă I+A+ Euxyl 1 %	<10	<10	absent	absent	absent	absent	absent
Cremă M+A+ Euxyl 0,75 %	<10	<10	absent	absent	absent	absent	absent
Cremă M+A+ Euxyl 1 %	<10	<10	absent	absent	absent	absent	absent
Cremă C+A+ Euxyl 0,75 %	<10	<10	absent	absent	absent	absent	absent
Cremă C+A+ Euxyl 1 %	<10	<10	absent	absent	absent	absent	absent

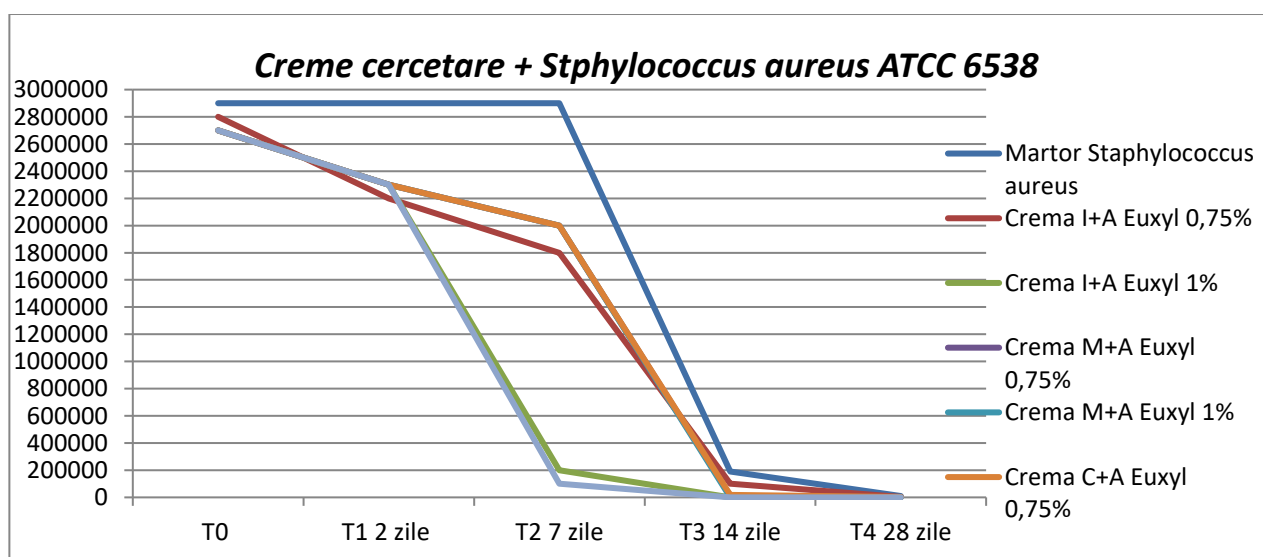


Figura 5.84. Reprezentarea grafică a creșterii microorganismului martor *Staphylococcus aureus* și probele – produsele CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului

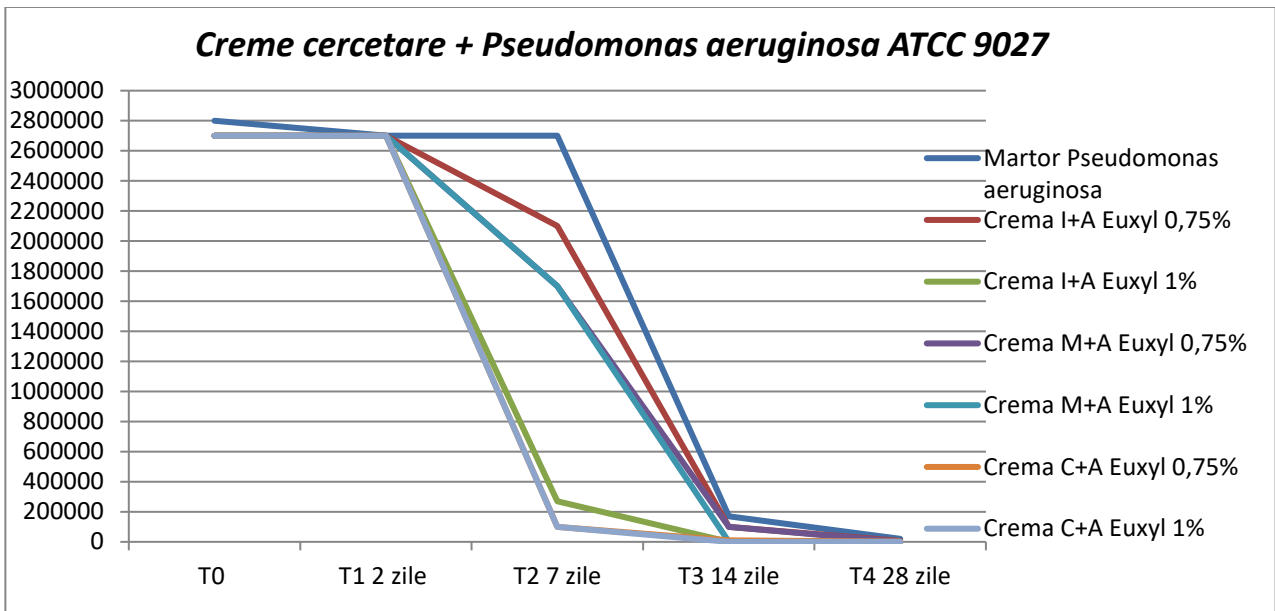


Figura 5.85. Reprezentarea grafică a creșterii microorganismului martor *Pseudomonas aeruginosa* și probele – produsele CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului

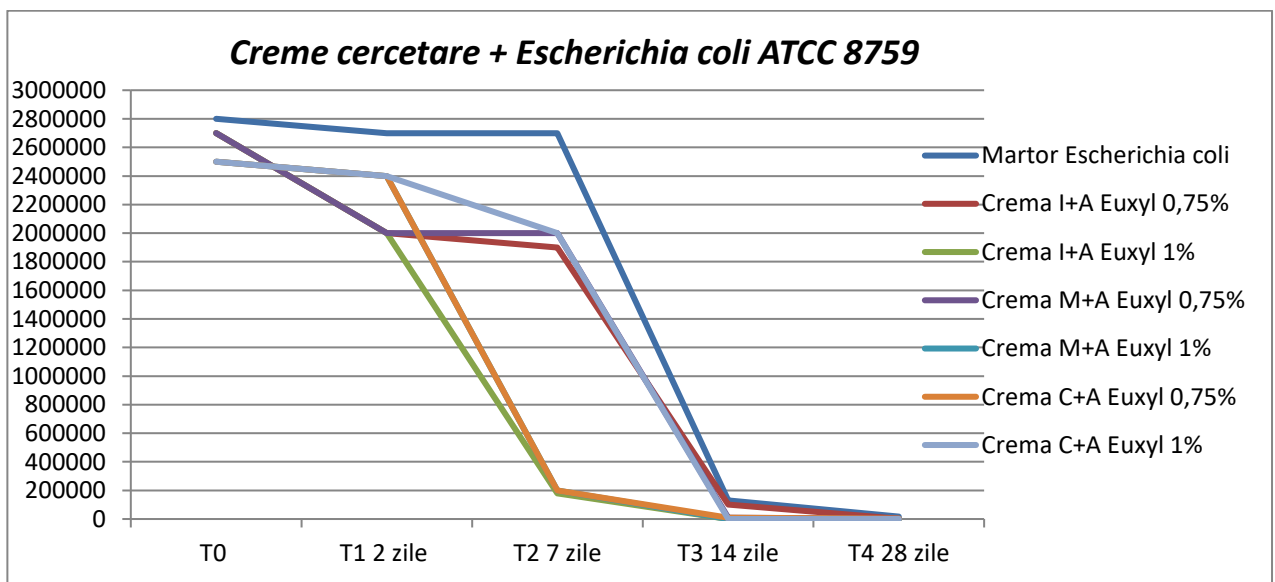


Figura 5.86. Reprezentarea grafică a creșterii microorganismului martor *Escherichia coli* și probele – produsele CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului

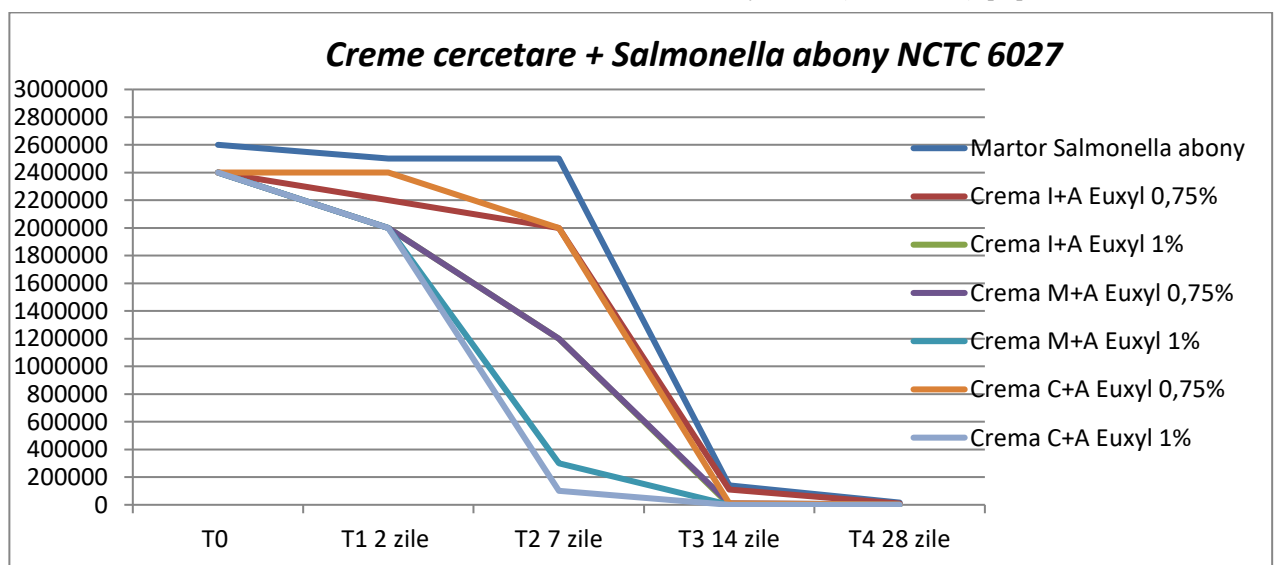


Figura 5.87. Reprezentarea grafică a creșterii microorganismului martor *Salmonella abony* și probele – produsele CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului

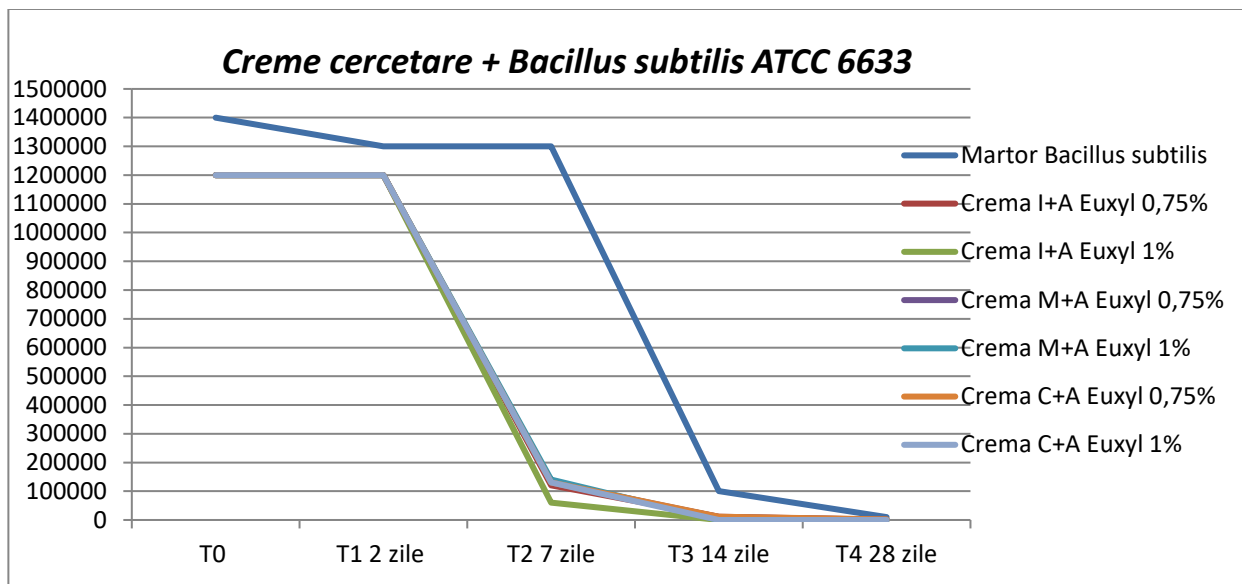


Figura 5.88. Reprezentarea grafică a creșterii microorganismului martor *Bacillus subtilis* și probele – produsele CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului

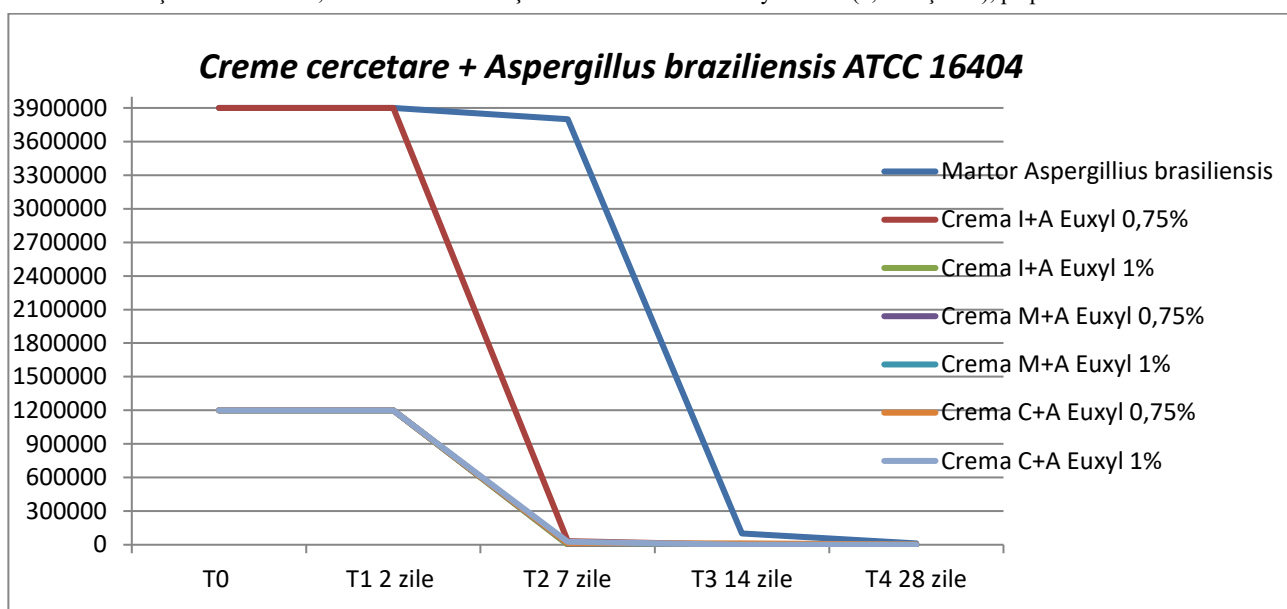


Figura 5.89. Reprezentarea grafică a creșterii microorganismului martor *Aspergillus brasiliensis* și probele – produsele CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului

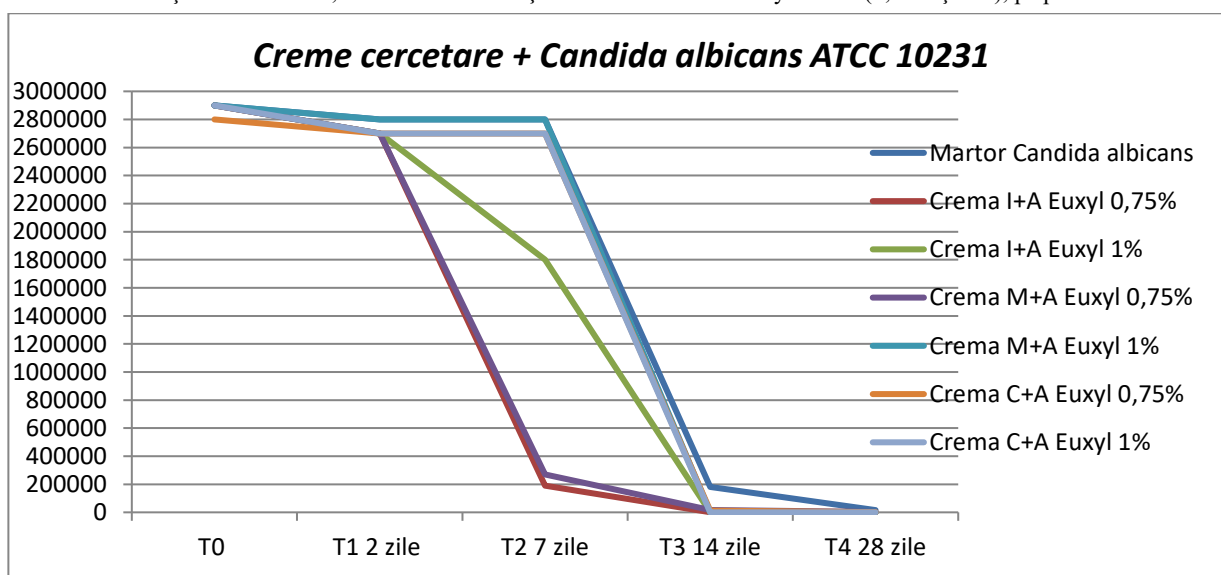


Figura 5.90. Reprezentarea grafică a creșterii microorganismului martor *Candida albicans* și probele – produsele CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului

Concluzii:

Ca o sinteză a rezultatelor obținute la controlul eficacității antimicrobiene a produselor CREMĂ I+A, CREMĂ M+A și CREMĂ C+A, cu cele 2 concentrații ale conservantului Euxyl K 900 (0,75% și 1%), pe parcursul studiului, se pot desprinde următoarele concluzii privind comportamentul microorganismelor față de care produsele menționate mai sus au prezentat sau nu eficacitate antimicrobiană:

- produsul CREMĂ I+A+Euxyl 0,75% a prezentat eficacitate antimicrobiană față de două microorganisme, respectiv *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404 și *Candida albicans* ATCC10231, neprezentând eficacitate față de restul microorganismelor testate: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Escherichia coli* ATCC 8739, *Salmonella abony* NCTC 6017 și *Bacillus subtilis* ATCC 6633;
- produsul CREMĂ I+A+ Euxyl 1% a prezentat eficacitate antimicrobiană față de toate cele șapte microorganisme testate;
- produsul CREMĂ M+A+ Euxyl 0,75% nu a prezentat eficacitate antimicrobiană față de niciunul dintre cele șapte microorganisme testate;
- produsul CREMĂ M+A+ Euxyl 1% a prezentat eficacitate antimicrobiană față de toate cele șapte microorganisme testate;
- produsul CREMĂ C+A+ Euxyl 0,75% nu a prezentat eficacitate antimicrobiană față de niciunul dintre cele șapte microorganisme testate;
- produsul CREMĂ C+A+ Euxyl 1% a prezentat eficacitate antimicrobiană față de toate cele șapte microorganisme testate.

VI. STUDIUL TOLERANȚEI CUTANATE AL PRODUSELOR COSMETICE OBȚINUTE

6.1. Principiul metodei dozei fixe

Obiectivul acestui studiu a fost testarea eficacității toleranței cutanate a celor trei creme cu uleiuri grase de origine vegetală, ce prezintă culoare alb-galben citrin și care au fost ambalate în cutii de plastic cu peliculă și capac cu filet.

Metoda dozei fixe furnizează informații privind siguranța la expunerea la trei substanțe de testat lichide sau solide prin aplicarea cutanată. Prezenta orientare de testare recomandă strategii de testare secvențiale, care includ efectuarea testelor validate și acceptate in vitro sau ex vivo pentru coroziune / iritație.

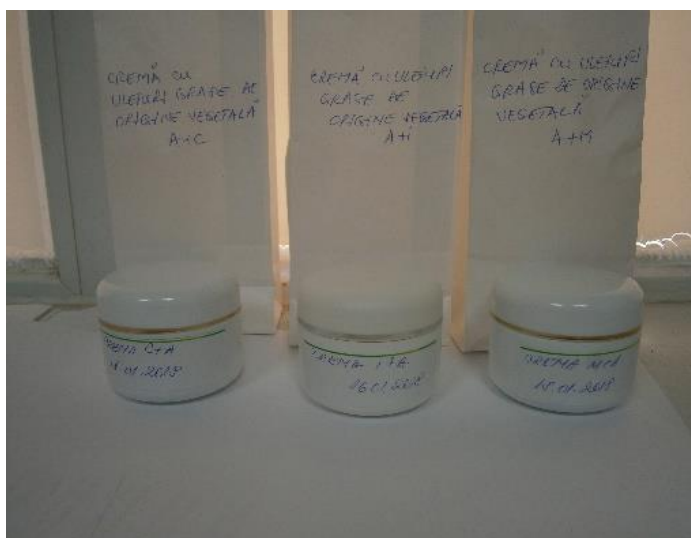


Figura 6.1. Modul de ambalare a cremelor cu uleiuri grase de origine vegetală naturală a căror iritație tegumentară a fost testată

6.3. Rezultate și discuții privind studiul toleranței cutanate al unor produse cosmetice cu ulei de in, ulei de cânepă, ulei de argan și ulei de măsline

După încheierea perioadei de expunere și citire a reacțiilor cutanate, conform tipurilor de reacții cutanate și cuantificării lor (tabel nr. I), a fost determinat Scorul de Iritație Primară (SIP) (tabel nr. III).

Ulterior se obține Scorul de Iritație pe Animal (SIA) (tabel nr. IV) prin însumarea Scorului de Iritație Primară al fiecărui moment de observație, împărțit la numărul observațiilor (4 observații). Suma Scorurilor de Iritație pe animal se împarte la numărul de animale (3 animale- A1, A2, A3) rezultând, în final, Indexul Cumulat de Iritație (tabelul nr. V), a cărui valoare încadrează produsul testat într-o categorie de răspuns iritativ, conform tabelului nr. II.

Tabelul VI.1. Tipuri de reacții cutanate și cuantificarea lor

Reacții	Scorul iritației primare
Eritem și escare	
Fără eritem	0
Slab eritem (abia perceptibil)	1
Eritem perceptibil	2
Eritem moderat	3
Eritem intens (cu tendința de formare escarelor)	4
Edem	
Fără edem	0
Slab edem (abia perceptibil)	1
Edem perceptibil	2
Edem moderat	3
Edem intens (de peste 1 mm -extins în afara zonei de contact)	4
Scorul maxim posibil al iritației	8
Alte modificări importante de semnalat	

Tabelul VI.2. Categoriile de răspuns iritativ

Indici de iritație	Categorie de răspuns
0 la 0,4	Neglijabil
0,5 la 1,9	Slab
2 la 4,9	Moderat
5 la 8	Sever

Tabelul VI.3. Scorul de Iritație Primară - Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+C, Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+I și Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+M

Număr de observații		1	2	3	4	TOTAL SIP
Moment de observație (ore)		4+1	24	48	72	
		Scor de iritație primară (SIP)				
Animal 1 (A1)	Cremă A+C	0	0	0	0	0
	Cremă A+I	0	0	0	0	0
	Cremă A+M	0	0	0	0	0
Animal 2 (A2)	Cremă A+C	0	0	0	0	0
	Cremă A+I	1	0	0	0	1
	Cremă A+M	0	0	0	0	0
Animal 3 (A3)	Cremă A+C	0	0	0	0	0
	Cremă A+I	0	0	0	0	0
	Cremă A+M	0	0	0	0	0

Tabelul VI.4. Scorul de Iritație pe Animal (SIA) - *Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+C*, *Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+I* și *Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+M*

Nr. animalului	Tipul de cremă								
	Cremă A+C			Cremă A+I			Cremă A+M		
	SIP	SIA	TOTAL SIA	SIP	SIA	TOTAL SIA	SIP	SIA	TOTAL SIA
Animal 1 (A1)	0	0	0	0	0	0,25	0	0	0
Animal 1 (A2)	0	0		1	0,25		0	0	
Animal 1 (A3)	0	0		0	0		0	0	

Tabelul VI.5. Indexul Cumulat de Iritație pentru produsul de testat

Tipul de cremă	Indexul Cumulat de Iritație
Cremă A+C	0
Cremă A+I	0,08
Cremă A+M	0

Concluzii

În condițiile prezentului experiment privind testarea potentialului iritant la expunere cutanată unică în cadrul evaluării conform OECD test 404 Acute Dermal Irritation/ Corrosion, rezultă că produsele de testat - *Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+C*, *Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+I* și *Cremă cu uleiuri grase de origine vegetală A+M*, prezentate de Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București - sunt încadrate în categoria de răspuns iritativ “Neglijabil”.

CONCLUZII

Ca obiectiv primordial în teza de doctorat mi-am propus obținerea produse cosmetice (creme) cu uleiuri grase de origine vegetală realizate prin presare la rece și de a demonstra atât calitatea cât și siguranța ca materii prime vegetale a acestora: ulei de in (*Linum usitatissimum*), ulei de cânepă (*Canabis sativa*), ulei de argan (*Argania spinosa*) și ulei de măsline (*Olea europaea*).

Pentru realizarea scopului final al lucrării, am parcurs următoarele etape:

1. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a uleiurilor grase de origine vegetală obținute prin presare la rece: ulei de in, de cânepă, de argan și ulei de măsline.
2. Obținerea unor produse cosmetice cu uleiuri grase de origine vegetală obținute prin presare la rece.
3. Caracterizarea fizico-chimică și microbiologică a produselor cosmetice realizate, cu uleiurile grase de mai sus.
4. Studiul eficacității antimicrobiene a cremelor cosmetice preparate.
5. Studiul toleranței cutanate a acestor produse.

Atât analiza fizico-chimică cât și microbiologică a probelor enumerate mai sus au fost efectuate în conformitate cu prevederile Farmacopeei Europene, Ediția 9.0.

Ca urmare a efectuării analizelor fizico-chimice și microbiologice, s-a concluzionat că toate probele de uleiuri grase de in, cânepă, argan și măsline se încadrează în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția 9.0. Valorile obținute la analiza microbiologică a uleiului gras de in, cânepă, argan și măsline atestă faptul că acesta este de calitate și siguranța intenționată, încadrându-se în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția în vigoare, referitoare la calitatea produsului natural de origine naturală vegetală, din punct de vedere al contaminării microbiene.

Întrucât s-a dovedit că uleiurile grase analizate mai sus sunt de calitate intenționată, dar sunt și sigure ca materii prime vegetale, acestea au fost utilizate în diverse combinații pentru fabricarea celor 3 produse.

Astfel, s-au folosit combinații cu ulei de argan deoarece acest ulei conține un procent foarte ridicat de acizi grași nesaturați (aproximativ 77%), după cum urmează:

- CREMĂ I+A = ulei gras de in și ulei gras de argan;
- CREMĂ C+A= ulei gras de cânepă și ulei gras de argan;

- CREMĂ M+A = ulei gras de măsline și ulei gras de argan.

Formulele calitative și cantitative ale celor trei produse au fost stabilite după mai multe încercări la nivel de laborator până să fie trecute la stadiul de pilot, iar fazele procesului tehnologic sunt descrise în detaliu în capitolul III al tezei.

Toate cele 3 probe de creme obținute care conțin diverse combinații de uleiuri grase de origine vegetală (care au fost fabricate prin presare la rece au fost analizate din punct de vedere fizico-chimic, constatându-se că acestea se încadrează în limitele de admisibilitate prevăzute de Farmacopeea Europeană, ediția 9.0.

Determinarea conținutului în minerale și oligoelemente al produselor finite a reliefat că toate cremele conțin mineralele esențiale pentru buna funcționare a pielii și anume saruri de calciu, magneziu, potasiu, sodiu și oligoelemente esențiale: fier și zinc.

Prezența acestor macro și microelemente în produsele finite proiectate, induc proprietăți în ceea ce privește îmbunătățirea aspectului fin al pielii, reducerea ridurilor cu până la 40% și reducerea aspririi pielii.

De asemenea, prezența diverșilor acizi grași esențiali în cremele analizate demonstrează faptul că acestea sunt de calitate intenționată, formulele de fabricație decise și studiate reușind să mențină principiile active existente în uleiurile grase de origine vegetală obținute prin presare la rece.

Pentru 3 cele creme obținute s-a testat eficacitatea antimicrobiană a conservantului Euxyl K900, folosit ca ingredient în compoziția acestora. Ca o sinteză a rezultatelor obținute la controlul eficacității antimicrobiene a celor 3 creme studiate în teză, ambalate în recipiente (ambalaje primar) cu deschidere multiplă, repetată, au asigurată calitatea din punct de vedere al contaminării microbiene pe toată perioada utilizării, fără risc de contaminare multiplă.

La toate aceste protocoale de studiu proiectate, prezentate și efectuate, alături de rezultatele care demonstrează calitatea fizico-chimică și microbiologică a cremelor realizate, am procedat și la efectuarea unui studiu din punct de vedere al eficacității toleranței cutanate.

Pentru cele trei produse cosmetice obținute s-a testat eficacitatea toleranței cutanate, fiind aplicată metoda dozei fixe, care furnizează informații privind siguranța la expunere la trei substanțe de testat lichide sau solide prin aplicarea cutanată.

În condițiile prezentului experiment privind testarea potențialului iritant la expunere cutanată unică în cadrul evaluării, a rezultat că cele 3 produse de testat sunt încadrate în categoria de răspuns iritativ "Neglijabil", ceea ce demonstrează că acestea pot fi utilizate cu încredere pentru scopurile intenționale.

Modul cum a fost condus studiul, rezultatele obținute prin caracterizarea și analizarea fiecărei materii prime active dar și a combinației lor în cele trei finite cosmetice, lipsa toxicității, a iritabilității cutanate a acestora, a condus la concluzia utilizării cu încredere a tuturor celor trei produse, în funcție de caracteristicile lor senzoriale, de acceptabilitate, de gradul de confort al utilizatorului, studiul lor fizico-chimic, microbiologic și de toleranță, asigurând calitatea și siguranța lor la utilizare.

Bibliografie selectivă

1. Günther Schneider, Sven Gohla, Jörg Schreiber, Waltraud Kaden, Uwe Schönrock, Hartmut Schmidt-Lewerkühne, Annegret Kuschel, Xenia Petsitis, Wolfgang Pape, Hellmut Ippen and Walter Diembeck." *Skin Cosmetics*". Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry 2005, Wiley-VCH, Weinheim.
2. κοσμητικός, Henry George Liddell, Robert Scott. "A Greek-English Lexicon", on Perseus.
3. historyofcosmetics.net.<<http://www.historyofcosmetics.net/cosmetic-history/history-of-cosmetics/>>. N.p., n.d. Web. 2013.
4. Lesley Adkins, Roy A. Adkins. "Handbook to life in Ancient Greece", Oxford University Press, 1998.
5. Bruno Burlando, Luisella Verotta, Laura Cornara, and Elisa Bottini-Massa. "Herbal Principles in Cosmetics". CRC Press, 2010.
6. Reshetnikov SV, Wasser SP, Duckman I, Tsukor K. "Medicinal value of the genus *Tremella Pers. (Heterobasidiomycetes)* (review)". *International Journal of Medicinal Mushrooms*". 2 (3): 345–67. doi:10.1615/IntJMedMushr.v2. i3.10., 2000.
7. Pallington, J, "Lipstick: A Celebration of the World's Favorite Cosmetic". St. Martin's Press. ISBN 0-312-19914-7, 1998.
8. The Council of the European Communities. "Council Directive of 27 July 1976 on the approximation of the Laws of the Member States relating to cosmetic products" 76/768/EEC. Off J Eur Comm 1976, No. L 262/170.
9. Mitsui T. "New Cosmetic Science". Elsevier Science B.V., Amsterdam, The Netherlands, , pp. 121- 146, 1997.
10. Muhammed HJ. "Bacterial and fungal contamination in three brands of cosmetic marketed in Iraq". *Iraqi J Pharm Sci* 2011, 20:38-42.
11. Dr. Claudia Juliano, Special Issue "Plants Used in Cosmetics", Dipartimento di Chimica e Farmacia, Università degli Studi di Sassari, Sassari, Italy). ISSN 2079-9284, 2018.

12. AgronoMag, Digital Magazine for Farmers & Agricultors, <https://agronomag.com/top-10-plants-used-in-the-beauty-industry>, May 2017.
13. Herbal_Cosmetics_and_Novel_Drug_Delivery_Systems, <https://www.researchgate.net/publication/318718493>, August 2018.
14. Mahmud Raffiean, Abdollah Shakiba, Mehrnoosh Sedighi. "The Analgesic and Anti-Inflammatory Activity of *Linum usitatissimum* in Balb/c Mice". Journal of Evidence-Based Integrative Medicine, 2017.
15. Gabr AMM, Mabrok HB, Abdel-Rahim EA, El-Bahr MK, Smetanska I. "Determination of lignans, phenolic acids and antioxidant capacity in transformed hairy root culture of *Linum usitatissimum*", Nat Prod Res., 2017.
16. Paul-Victor C, Dalle Vacche S, Sordo F, Fink S, Speck T, Michaud V, Speck O. "Effect of mechanical damage and wound healing on the viscoelastic properties of stems of flax cultivars (*Linum usitatissimum* L. cv. Eden and cv. Drakkar)". PLoS One., 2017.
17. Akin DE. "Linen most useful: perspectives on structure, chemistry, and enzymes for retting flax", SRN Biotechnol., 2012.
18. Ibrahim EA, Gul W, Gul SW, Stamper BJ, Hadad GM, Abdel Salam RA, Ibrahim AK, Ahmed SA, Chandra S, Lata H, Radwan MM, ElSohly MA. "Determination of Acid and Neutral Cannabinoids in Extracts of Different Strains of *Cannabis sativa* using GC-FID", Planta Med., 2017.
19. Bowen LL, McRae-Clark AL. "Therapeutic Benefit of Smoked Cannabis in Randomized Placebo-Controlled Studies", Pharmacotherapy., 2017.
20. Hakkarainen P, Frank VA, Barratt MJ, Dahl HV, Decorte T, Karjalainen K, Lenton S, Potter G, Wense B. , "Growing medicine: small-scale cannabis cultivation for medical purposes in six different countries", Int J Drug Policy, 2015.
21. www.biorigine.ro – Biorigine Cosmetice Naturale.
22. Heuzé V., Tran G. "Argan (*Argania spinosa*)". Feedipedia, a programme by INRA, CIRAD, AFZ and FAO, 2015.
23. Z. Charrouf and S. Dubé. "Helping Moroccan Women Preserve the Argan Tree at the Gateway to the Sahara", 2010.
24. Bennani H, Drissi A, Giton F, Kheuang L, Fiet J, Adlouni A. "Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines", Cancer Detect Prev. , 2007.
25. Drissi A, Bennani H, Giton F, Charrouf Z, Fiet J, Adlouni A. "Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exert an antiproliferative effect on human prostate cancer", Cancer Invest., 2006.
26. Khallouki F, Younos C, Soulimani R, Oster T, Charrouf Z, Spiegelhalder B, Bartsch H, Owen RW. "Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile of fatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects", Eur J Cancer Prev., 2003.
27. Micolini L, Protti M, Saracino MA, Mandrone M, Antognoni F, Poli F. "Analytical Profiling of Bioactive Phenolic Compounds in Argan (*Argania spinosa*) Leaves by Combined Microextraction by Packed Sorbent (MEPS) and LC-DAD-MS/MS", Phytochem Anal., 2016.
28. El Adib S, Aissi O, Charrouf Z, Ben Jeddi F, Messaoud C. "Arganiaspinosa var. mutica and var. apiculata: variation of fatty-acid composition, phenolic content, and antioxidant and α -amylase-inhibitory activities among varieties, organs, and development stages". Chem Biodivers., 2015.
29. Klika D, Khallouki F, Owen RW. "Amino phenolics from the fruit of the argan tree *Argania spinosa* (Skeels L.)", Z Naturforsch C, 2014.
30. Citti C, Pacchetti B, Vandelli MA, Forni F, Cannazza G. "Analysis of cannabinoids in commercial hemp seed oil and decarboxylation kinetics studies of cannabidiolic acid (CBDA)", J Pharm Biomed Anal., 2017.
31. Khallouki F, Eddouks M, Mourad A, Breuer A, Owen RW. "Ethnobotanic, Ethnopharmacologic Aspects and New Phytochemical Insights into Moroccan Argan Fruits", Int J Mol Sci., 2017.
32. Davidson, s.v. "Olives", 2015.
33. "International Olive Council", 2015.
34. North American Olive Oil Association: "About Olive Oil", 2015.
35. "<http://www.aboutoliveoil.org/consumption.html>", 2015.
36. "http://www.sfatulmedicului.ro/Remedii-naturiste/uleiul-de-masline-beneficii-si-utilizare_8053", 2015.
37. "<http://www.medicalnewstoday.com>", 2018.
38. European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) "European Pharmacopeia", Editia 9.0, 2016.
39. V. Istudor „FARMACOGNOZIE, FITOCHIMIE, FITOTERAPIE, vol. II”, Editura Medicală București 2001.