

# Opterećenost teškim metalima i s njima povezani zdravstveni rizici potrošača ruževa za usne dostupnih na tržištu u Republici Hrvatskoj

## Metal Pollution Index and Related Health Risks of Consumers of Lipsticks Available on the Market in the Republic of Croatia

Dora Modrić<sup>1</sup>, Dijana Tomić Linšak<sup>2\*</sup>, Marin Glad<sup>3</sup>, Silvestar Mežnarić<sup>1</sup>, Željko Linšak<sup>3</sup>, Dalibor Broznić<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Rijeka, Hrvatska

<sup>2</sup> Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Katedra za zdravstvenu ekologiju, Rijeka, Hrvatska

<sup>3</sup> Nastavni zavod za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije, Zdravstveno-ekološki odjel, Rijeka, Hrvatska

<sup>4</sup> Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet, Zavod za medicinsku kemiju, biokemiju i kliničku kemiju, Rijeka, Hrvatska

**Sažetak. Cilj:** Budući da tragovi metala nisu deklarativno navedeni na kozmetičkim proizvodima, posebice ruževima za usne, nameće se potreba za utvrđivanjem njihove prisutnosti i analizom toksikoloških učinaka. Ovim istraživanjem analizirala se prisutnost i raspodjela metala Cr, Cd, Ni, Pb te Cu i Zn u ruževima za usne. **Materijali i metode:** Analizirano je 100 uzoraka ruževa za usne različitih proizvođača ovisno o zemlji proizvodnje (Europska unija – EU, Kina, Ujedinjeno Kraljevstvo – UK i nepoznato podrijetlo). Udjeli metala određeni su analitičkom tehnikom ICP-MS. **Rezultati:** Rezultati skupnih podataka ukazuju na dominaciju Pb u opterećenosti metalima (indeks IOM) uzoraka ruževa za usne, kod uzoraka proizvođača EU-a dominira utjecaj Pb i Zn, dok kod proizvođača s područja Kine najjači utjecaj na IOM ima Cr. Predloženi linearni prediktivni model ukazuje na to da u skupnim uzorcima i onima s različitih područja dominaciju ostvaruje Cd, iako i Pb ima znatnu ulogu kao opterećujući metal. Ni je prisutan kao toksikant u svim uzorcima osim onih s područja Kine, dok Cr znatnu ulogu ima jedino kod proizvođača iz EU-a. Uspoređujući sa zakonskom regulativom, udjeli analiziranih metala niži su od utvrđenih maksimalno dopuštenih koncentracija (MDK) za pojedine metale, osim uzoraka proizvođača s područja Kine gdje je detektiran viši udio Ni od propisanih vrijednosti MDK. **Zaključci:** Rezultati studije pokazuju da, bez obzira na sadržaj toksičnih metala u kozmetičkim proizvodima, treba obratiti pažnju na dugoročan period njihove primjene te slab indeks eliminacije iz organizma. Poradi sigurnosti primjene kozmetičkih proizvoda nameće se potreba za kontinuiranim praćenjem opterećenosti teškim metalima, kao i redovitom kontrolom generiranih zdravstvenih rizika pri uporabi takvih proizvoda.

**Ključne riječi:** faktori rizika; kozmetika; teški metali; trovanje teškim metalima

**Abstract. Aim:** Trace metals are not declaratively stated on cosmetic products, especially lipsticks, there is a need to determine their presence and analyze toxicological effects. This research analyzed the presence and distribution of the metals Cr, Cd, Ni, Pb and Cu and Zn in lipsticks. **Materials and methods:** 100 samples of lipsticks from different manufacturers were analyzed depending on the country of manufacture (European Union – EU, China, United Kingdom – UK and unknown origin). Metal content was determined using the ICP-MS analytical technique. **Results:** The results of the collective data indicate the dominance of Pb in the metal pollution index of lipstick samples. In samples from EU producers the influence of Pb and Zn is dominant, while in Chinese producers the strongest influence on IOM is Cr. The proposed linear predictive model indicates that Cd dominates in collective and samples from different areas, although Pb also plays a significant role as a burdening metal, Ni is present as a toxicant in all samples except from China, while Cr plays a significant role only in producers from the EU. By comparison with the legal regulations, the proportions of the analyzed metals are lower than the determined maximum allowed concentrations for certain metals, except for the sample of producers from China, where a

### \*Dopisni autor:

Doc. dr. sc. Dijana Tomić Linšak  
Sveučilište u Rijeci, Medicinski fakultet  
Braće Branchetta 20, 51000 Rijeka, Hrvatska  
E-mail: dijanat@uniri.hr; dtlinsak@gmail.com

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

higher proportion of Ni than the prescribed maximum allowed concentration values, was detected. **Conclusions:** The results of the study indicate that, regardless of the content of toxic metals in cosmetic products, attention should be paid to the long-term period of their application and the low index of elimination from the body. Due to the safety of the application of cosmetic products, there is a need for continuous monitoring of heavy metal content as well as regular control of health risks generated when using such products.

**Keywords:** Cosmetics; Heavy Metal Poisoning; Metals, Heavy; Risk Factors

## UVOD

Teški metali značajni su zagađivači okoliša uslijed njihove izrazite postojanosti i raspodjele u ekosustavima, čime postaju sastavni dio ciklusa kruženja tvari u okolišu<sup>1</sup>. Upravo postojanost metala u okolišu i njihova prirodna prisutnost u stijenama, tlu i vodi mogu uzrokovati da se ostatci metala mogu pronaći i u sirovinama koje se koriste u kozmetičkoj industriji. Upotreba kozmetičkih proizvoda datira još od početaka ljudske civilizacije, dok se u današnje vrijeme uočava njihova ekspanzivna primjena, što uzrokuje i konstantan rast kozmetičke industrije. Međutim, povećanjem upotrebe kozmetičkih proizvoda opažena je i sve veća učestalost neželjenih učinaka koje izazivaju sastojci samoga proizvoda<sup>2</sup>. Osim spojeva koji se koriste u proizvodnom procesu poput voska, boja, pigmentata, raznih mirisnih tvari i otapala, određeni kozmetički proizvodi sadrže i zabranjene sastojke poput teških metala<sup>3</sup>.

Teški metali dijele se u dvije skupine – esencijalne i neesencijalne. Esencijalni metali u niskim koncentracijama važni su za obavljanje biokemijskih i fizioloških procesa, dok se oni koji nemaju utvrđene biološke funkcije smatraju neesencijalnim metalima<sup>4</sup>.

Sjedinjene Američke Države, Europska unija i zemlje dalekog Istoka (Kina) uspostavile su propise koji reguliraju sigurnost kozmetičkih proizvoda. Međutim, u navedenim zemljama kozmetički proizvodi i većina njihovih sastojaka ne podliježu odobrenju prije stavljanja na tržište, a sigurnost proizvoda najčešće je odgovornost samoga proizvođača<sup>5</sup>. Brojne kemijski opasne tvari klasificirane kao nečistoće u sirovinama mogu biti prisutne u kozmetičkim proizvodima<sup>6-8</sup>, među koje se upra-

vo ubrajaju i teški metali. U posebno otrovne metale ubrajaju se: olovo (Pb), kadmij (Cd), nikal (Ni), arsen (As) i živa (Hg). Osim navedenih toksičnih metala, često su prisutni i oni biogeni metali kao što su krom (Cr), željezo (Fe), bakar (Cu) i kobalt (Co), koji mogu biti opasni kada se pojave u prevelikim količinama<sup>9,10</sup>. Iako se neki metali primjenjuju kao bojila, zakonodavstvo EU-a Uredbom o kozmetičkim proizvodima propisuje koje se vrste bojila i pigmentata mogu koristiti u kozmetičkim proizvodima te njihov način uporabe<sup>11</sup>.

Još od početaka ljudske civilizacije poznata je upotreba kozmetičkih proizvoda, dok se u današnje vrijeme uočava njihova ekspanzivna primjena, što uzrokuje i konstantan rast kozmetičke industrije. Upravo povećanjem upotrebe kozmetičkih proizvoda opažena je i sve veća učestalost toksičnih učinaka koje izazivaju sastojci kozmetičkih proizvoda.

Ipak, Uredbom nisu određene maksimalno dopuštene koncentracije (MDK) teških metala u gotovom proizvodu. Problematika prisutnosti metala u kozmetičkim proizvodima u Republici Hrvatskoj propisana je Zakonom o predmetima opće uporabe te Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje<sup>12,13</sup>. Iako koža sprječava prodor brojnih štetnih tvari, pojedini metali mogu se nakupljati u rožnom sloju, dok ostali mogu prodrijeti kroz kožu i putem krvotoka sustava dospjeti do unutarnjih organa<sup>14</sup>. Svakako, posebnu zabrinutost izazivaju proizvodi koji se nanose na sluznice poput ruževa za usne, gdje osim apsorpcije metala postoji i rizik od oralnog unosa. Koncentracija metala koja će se apsorbirati iz probavnog trakta ovisi o kemijskom obliku metala te nutritivnom statusu pojedinca<sup>15</sup>. Nakon apsorpcije slijedi raspodjela u ciljna tkiva i organe gdje metali mogu uzrokovati sustavne toksične učinke. Teški metali kao što su Cd i Pb imaju posebno štetne učinke na zdravlje. Nakupljanje Cd može utjecati na kosti i reproduktivni sustav, uzrokovati plućne bolesti te disfunkciju bubrega<sup>16</sup>. Povišena koncentracija Pb povezana je s bubrežnom insuficijencijom, oštećenjem jetre te prijevremenim porođima, a također i sa smanjenjem kognitivnih sposobnosti kod djece<sup>17</sup>. Ni je

**Tablica 1.** Broj analiziranih uzoraka ruževa za usne ovisno o području proizvodnje te zemlji proizvođača s područja EU-a

Zemlja proizvodnje	Broj uzoraka ruževa za usne
Europska unija	46 (Poljska, Njemačka, Irska, Italija, Austrija, Francuska, Španjolska)
Kina	11
Ujedinjeno Kraljevstvo	3
Nepoznato	40

kontaktni alergen koji uzrokuje preosjetljivost, dermatitis i alergije<sup>18</sup>. Budući da Cr nije naveden kao nečistoća u kozmetičkim proizvodima<sup>19</sup>, vrlo često se nalazi u oba svoja valentna oblika (III i VI) u kozmetičkim proizvodima i dokazan je kao kontaktni alergen<sup>20</sup>. Prema Uredbi Europskog parlamenta, pojedini spojevi koji sadrže Zn dozvoljeni su u propisanim granicama i koriste se za povećanje adhezivnih svojstava kozmetike, međutim izloženost visokim količinama uzrokuje neurološke i gastrointestinalne poremećaje<sup>21</sup>. Prisutnost Cu dopuštena je u kozmetici jer je on čest sastojak kozmetičkih pigmenta, no ipak je poznato da u povišenim količinama može izazvati kožnu preosjetljivost<sup>22</sup>. Budući da tragovi teških metala nisu deklarativno navedeni na kozmetičkim proizvodima, posebice ruževima za usne, brojne studije proučavale su upravo ovu problematiku širom svijeta<sup>5, 23-25</sup>. Specifičan cilj ovog istraživanja bio je odrediti prisutnost teških metala Cr, Cd, Ni i Pb te biogenih metala Cu i Zn u ruževima za usne te ustanoviti indeks opterećenosti navedenih kozmetičkih proizvoda teškim i biogenim metalima. Usprkos strogim pravilima proizvodnje kozmetičkih proizvoda pretpostavka je da će odabrani teški i biogeni metali ipak biti prisutni u niskim koncentracijama u prikupljenim uzorcima ruževa za usne. Nadalje, provedbom studije utvrditi će se i kvaliteta ruževa za usne koji se nalaze na tržištu u Republici Hrvatskoj.

## MATERIJALI I METODE

### Uzorci ruževa za usne

Za potrebe ovoga istraživanja sakupljeno je ukupno 100 uzoraka ruževa za usne različitih robnih marki, proizvođača, boje i zemlje podrijetla. Ruževi su prikupljeni od krajnjih potrošača te donirani za potrebe ovog istraživanja. Budući da ruževi nisu prikupljeni direktno iz prodajnog sek-

tora, pomoću deklaracije proizvoda uzete su informacije zemlje podrijetla kao kategorije za uspoređivanje. Radi zaštite prava proizvođača na naziv proizvoda u rezultatima se koriste nazivi proizvoda prema zemljama podrijetla odnosno proizvodnje. Zemlje proizvodnje podijeljene su u četiri kategorije: Europska Unija – EU, Kina, Ujedinjeno Kraljevstvo – UK i nepoznato podrijetlo. Ruževi kojima se nije mogla ustanoviti zemlja podrijetla zbog nedostatka deklaracije svrstani su u kategoriju nepoznato. U Tablici 1 prikazan je broj analiziranih uzoraka ruževa za usne ovisno o području proizvodnje te zemlje proizvođača s područja EU-a. Najveći broj analiziranih uzoraka bio je s područja EU-a (46), dok su samo 3 analizirana uzorka bila s područja UK.

### Priprema uzoraka

Za analizu metala (Cr, Cd, Ni, Pb, Cu i Zn) vagano je 2,5 g ( $\pm 0,5$  g) ruža za usne te su oni pomiješani s 50 mL 0,1 M klorovodične kiseline (Gram-Mol d.o.o. Zagreb, Hrvatska). Pripremljeni uzorci kuhani su 15 min na temperaturi od 110 °C uz povratno hladilo, nakon čega su hlađeni i filtrirani. Udjeli ciljanih metala određeni su analitičkom tehnikom induktivno spregnute plazme s masenom spektrometrijom (ICP-MS, NexION 300 x, PerkinElmer, Waltham, MA, SAD). Višeelementna otopina (NexION Setup Solution, Perkin Elmer, Waltham, MA, SAD) korištena je za pripremu standardnih otopina i umjeravanje. Udjeli svih metala izraženi su u mg/kg suhe tvari.

### Statistička analiza podataka

Indeks opterećenosti metalima (IOM) ruževa za usne izračunat je prema izrazu<sup>26</sup>:

$$IOM = \sqrt[6]{w(Cr) \times w(Cd) \times w(Ni) \times w(Pb) \times w(Cu) \times w(Zn)} \quad (1)$$

Deskriptivna analiza podataka i statistički izračuni provedeni su uporabom programske podrške Statistica® v. 14.0 na razini značajnosti  $p < 0,05$ . Normalnost razdiobe eksperimentalnih podataka testirana je Kolmogorov-Smirnovljevim testom. Budući da dobivena raspodjela nije normalna, u analizi su primijenjeni neparametrijski statistički testovi. Svi eksperimentalni podatci izraženi su kao medijan s pripadnim minimalnim, maksimalnim i ekstremnim vrijednostima. Razlike između udjela metala i IOM između zemalja proizvodnje ruževa za usne testirane su neparametrijskim Mann-Whitneyjevim U-testom. Učinak udjela metala na IOM u skupnom prikazu podataka proizvođača ruževa za usne te proizvođača iz EU-a, Kine, UK i nepoznatog podrijetla proučavan je neparametrijskim Kendall-Tauovim korelacijskim testom i testom višestruke linearne regresije. Raspodjela analiziranih metala u skupnom prikazu podataka, u ovisnosti o proizvođaču ruževa za usne iz različitih zemalja proizvodnje, provedena je testom analize glavnih komponenata (PCA).

## REZULTATI

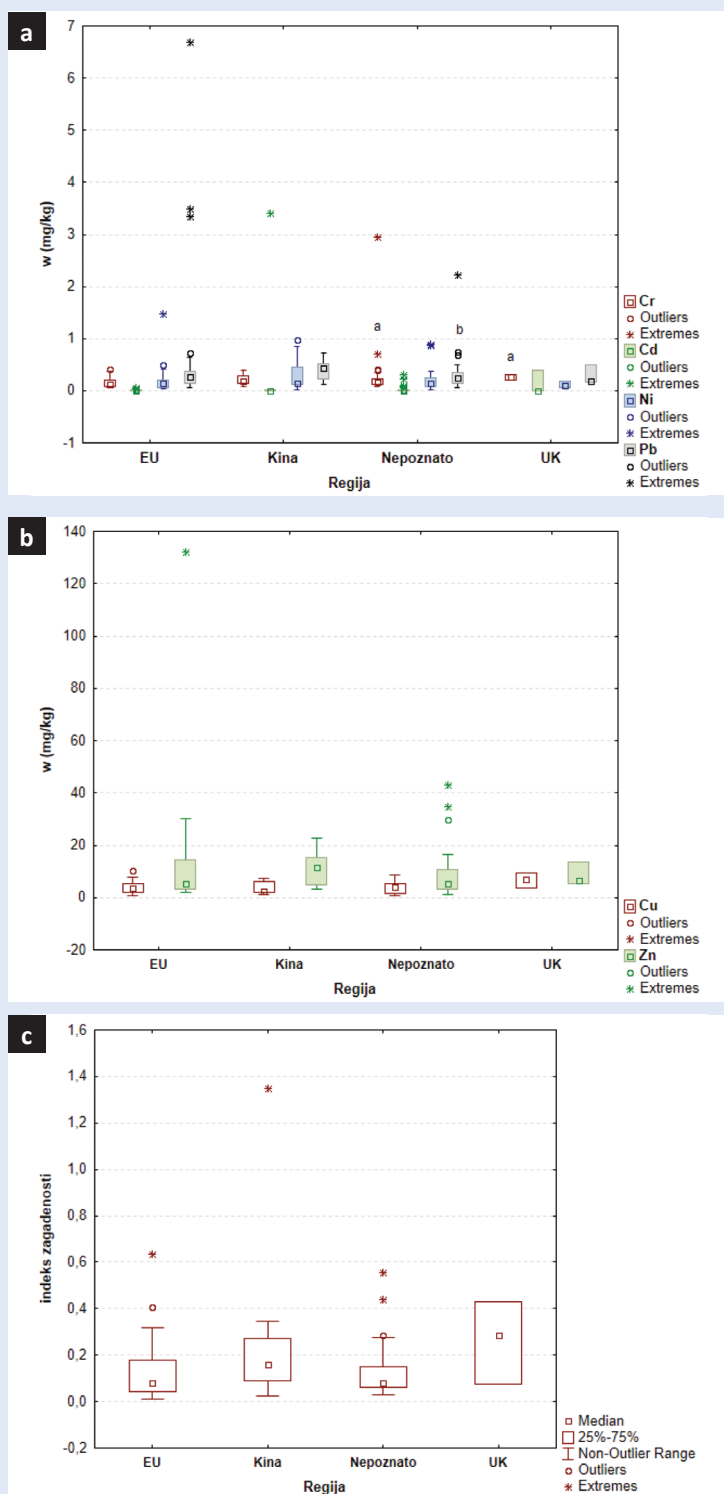
Na Slici 1a prikazana je raspodjela udjela teških metala: Cr, Cd, Ni i Pb izraženih u mg/kg u uzorcima ruževa za usne prema zemlji proizvodnje. Udjeli Cr u skupnim podacima ( $N = 100$ ) nalaze se u rasponu od 0,06 do 2,96 mg/kg. Najviše vrijednosti medijana udjela Cr pronađene su kod proizvođača ruža iz UK (0,28 mg/kg), a najniže kod proizvođača s područja EU-a (0,13 mg/kg). Ekstremi vrijednosti udjela Cr od 0,71 i 2,96 mg/kg utvrđeni su kod proizvođača ruževa nepoznatog podrijetla. Statistički značajne razlike u udjelu Cr postignute su između proizvođača s područja EU-a i onih nepoznatog podrijetla ( $p = 0,047$ ) te EU-a i UK ( $p = 0,039$ ). Udio Cd u uzorcima nalazio se u rasponu od vrlo niskih 0,001 mg/kg (proizvođači s područja EU-a) pa sve do znatnih 3,40 mg/kg (proizvođač s područja Kine). Vrijednosti medijana udjela Cd bile su približno iste ( $\approx 0,006$  mg/kg) kod svih proizvođača te između njih nisu ostvarene statistički značajne razlike u udjelima Cd. Nadalje, udjeli Ni bili su u rasponu od 0,02 do najviših 1,47 mg/kg pronađenih kod proizvođača s područja EU-a (Poljska). Najniže vrijednosti udjela medijana Ni detektirane su kod proizvođa-

ča s područja UK (0,11 mg/kg), dok su vrijednosti  $\approx 0,15$  mg/kg pronađene kod svih preostalih proizvođača ruževa. Visoke vrijednosti Pb u rasponu od 3,33 do 6,70 mg/kg pronađene su u četiri uzorka ruža proizvođača s područja EU-a (Italija), a nešto niža vrijednost od 2,21 mg/kg kod proizvođača nepoznatog podrijetla. Vrijednosti medijana udjela Pb bile su daleko niže i iznosile su od 0,06 do 0,72 mg/kg. Statistički značajne razlike u udjelu Pb utvrđene su jedino između uzoraka ruževa proizvođača s područja Kine i proizvođača nepoznatog podrijetla ( $p = 0,012$ ).

Najčešći kontaminanti u kozmetičkim proizvodima jesu pigmentna bojila koja mogu sadržavati organske ili mineralne tvari kao nečistoće. Aktualni zakonski propisi nedovoljno definiraju koncentracije nenamjerno prisutnih teških metala u kozmetičkim proizvodima. Sigurnost kozmetike i praćenje opterećenosti teškim metalima u kozmetičkim proizvodima zahtijeva kontrolu generiranih zdravstvenih rizika kod upotrebe takvih proizvoda.

Od biogenih elemenata u ruževima za usne analizirani su udjeli Cu i Zn čiji su rezultati prikazani u mg/kg na Slici 1b. Udjeli skupnih podataka Zn kretali su se u rasponu od 1,31 do 132,06 mg/kg. Visoke vrijednosti udjela Zn od 34,56 i 42,82 mg/kg utvrđene su kod ruževa iz zemalja nepoznatog podrijetla te je najviša od 132,06 mg/kg nađena u jednom uzorku podrijetlom iz EU-a (Njemačka). Najviše vrijednosti medijana udjela Zn detektirane su kod proizvođača ruževa s područja Kine (11,33 mg/kg), dok su kod preostalih proizvođača uočeni udjeli Zn  $\approx 5,50$  mg/kg. Raspon udjela Cu bio je od 0,66 do 10,38 mg/kg pri čemu su najviši udjeli Cu od 9,28 i 10,38 mg/kg zabilježeni u ruževima podrijetlom iz UK i EU-a (Poljska). Najniže vrijednosti medijana udjela Cu od 2,60 mg/kg utvrđene su kod uzoraka ruževa s područja Kine, dok su najviše vrijednosti od 7,14 mg/kg zabilježene kod proizvođača s područja UK. Kod ruževa proizvođača između različitih područja nisu pronađene statistički značajne razlike u udjelu biogenih elemenata Cu i Zn.

Poradi utvrđivanja opterećenosti analiziranih uzoraka ruževa za usne metalima izračunat je in-



**Slika 1.** Prikaz udjela metala: a) Cr, Cd, Ni i Pb i b) Cu i Zn (izražen u mg/kg) te c) indeks opterećenosti metalima (IOM) u uzorcima ruževa za usne (N = 100) prema zemlji proizvodnje (Europska unija – EU; Kina; Ujedinjeno Kraljevstvo – UK i nepoznate zemlje proizvodnje – nepoznato). Rezultati su prikazani kao medijan s pripadnim minimalnim, maksimalnim i ekstremnim vrijednostima. Vrijednosti medijana označene su malim slovom, a predstavljaju značajne razlike u udjelu Cr između EU-a i nepoznatog te EU-a i UK, dok malo slovo b predstavlja značajnu razliku u udjelu Pb između Kine i nepoznatog ( $p < 0,05$ ; neparametrijski Mann-Whitneyjev U-test).

deks opterećenosti metalima (IOM) (izraz 1), a rezultati su prikazani na Slici 1c. Vrijednosti indeksa IOM skupnih podataka kretale su se u širokom rasponu od 0,01 do 1,35, pri čemu su najviše vrijednosti indeksa utvrđene kod uzorka nepoznatog porijekla (0,55), zatim uzorka s područja EU-a – Poljska (0,63) te uzorka proizvođača s područja Kine (1,35). Više vrijednosti medijana indeksa IOM pronađene su kod proizvođača uzorka ruževa s područja UK (0,29) i Kine (0,16) u odnosu na proizvođače s područja EU-a i onih nepoznatog porijekla ( $\approx 0,08$ ). Proučavanjem indeksa IOM između proizvođača s različitih područja nisu utvrđene statistički značajne razlike u opterećenosti metalima uzorka ruževa za usne. Nadalje, kako bi se detaljnije procijenio utjecaj udjela analiziranih metala na indeks IOM, korištena je Kendall-Tauova korelacijska analiza čiji su rezultati prikazani u Tablici 2. Korelacijska analiza skupnih podataka (N = 100) ukazuje na jaku pozitivnu i statistički značajnu korelaciju između udjela Pb ( $\tau = 0,54$ ), Zn ( $\tau = 0,43$ ) i Cd ( $\tau = 0,35$ ) i indeksa IOM, dok je korelacija s Cr, Cu i Ni bila pozitivna i umjerena, što dokazuje dominantnu ulogu Pb u opterećenosti metalima uzorka ruževa za usne. Vrlo slično ponašanje, odnosno dominaciju utjecaja udjela Pb ( $\tau = 0,66$ ) i Zn ( $\tau = 0,60$ ) na opterećenost metalima uzorka ruževa proizvođača s područja EU-a. Utjecaj udjela Ni u uzorcima s područja EU-a na opterećenost metalima bio je zanemariv ( $\tau = 0,17$ ). Nešto drukčiji utjecaj zamijećen je na uzorcima ruževa proizvođača s područja Kine gdje je dominantan utjecaj na opterećenost metalima imao Cr ( $\tau = 0,53$ ) pa tek onda Cd ( $\tau = 0,49$ ) i Pb ( $\tau = 0,49$ ), a doprinos preostalih metala nije bio statistički značajan ( $\tau < 0,31$ ). Kendall-Tauovom korelacijom kod uzorka ruževa nepoznatog porijekla utvrđen je vrlo slab utjecaj Cr i Cu na indeks IOM ( $\tau < 0,22$ ). Isto tako umjeren utjecaj na opterećenost metalima postignut je s metalima Ni ( $\tau = 0,29$ ), Cd ( $\tau = 0,31$ ) i Pb ( $\tau = 0,38$ ). Kod proizvođača ruža s područja UK, korelacije umjerene jakosti između indeksa IOM s Pb ( $\tau = 0,33$ ), Cu ( $\tau = 0,33$ ) i Zn ( $\tau = 0,33$ ) ukazuju na znatan učinak udjela navedenih metala na opterećenost uzorka ruževa, dok su korelacije s preostalim analiziranim metalima bile zanemarljive ( $\tau < 0,13$ ), što potvrđuje njihov slab učinak na opterećenost metalima.

**Tablica 2.** Koeficijenti korelacije između analiziranih metala (Cr, Cd, Ni, Pb, Cu i Zn) i indeksa opterećenosti metalima (IOM) u skupnom prikazu podataka proizvođača ruževa za usne (N = 100), proizvođača iz EU-a (N = 46), proizvođača iz Kine (N = 11), proizvođača nepoznatog porijekla (N = 40) i proizvođača iz Ujedinjenog Kraljevstva (N = 3) prikazani neparametrijskim Kendall-Tauovim korelacijskim testom. Statistički značajne korelacije ( $p < 0,05$ ) prikazane su podebljanim brojevima.

Varijabla	Indeks opterećenosti metalima (IOM)				
	Skupno	EU	Kina	UK	Nepoznato
Cr	<b>0,29</b>	<b>0,24</b>	<b>0,53</b>	- 0,12	0,21
Cd	<b>0,35</b>	<b>0,29</b>	<b>0,49</b>	0,13	<b>0,31</b>
Ni	<b>0,23</b>	0,17	0,20	0,11	<b>0,29</b>
Pb	<b>0,54</b>	<b>0,66</b>	<b>0,49</b>	<b>0,33</b>	<b>0,38</b>
Cu	<b>0,29</b>	<b>0,41</b>	0,31	<b>0,33</b>	0,12
Zn	<b>0,43</b>	<b>0,60</b>	0,24	<b>0,33</b>	<b>0,27</b>

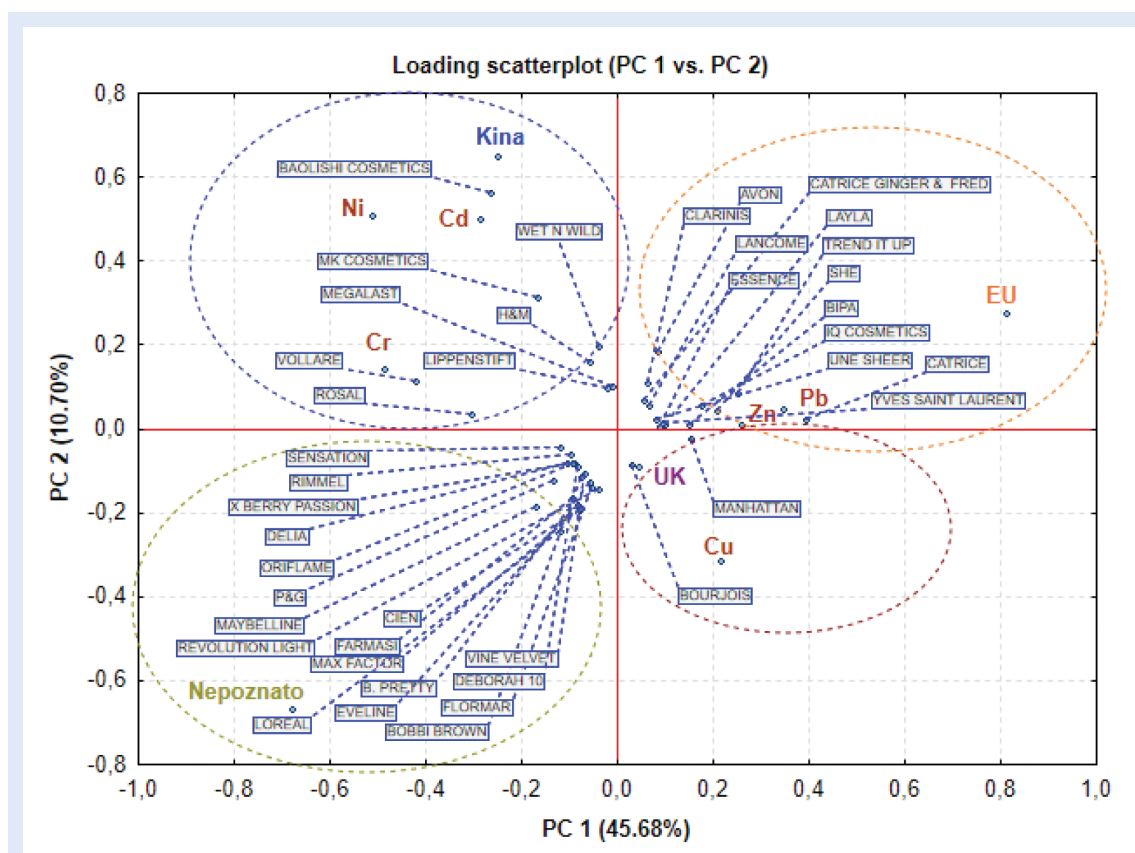
**Tablica 3.** Utjecaj udjela analiziranih metala (Cr, Cd, Ni, Pb, Cu i Zn) na indeks opterećenosti metalima (IOM) u skupnom prikazu podataka proizvođača ruževa za usne (N = 100), proizvođača iz EU-a (N = 46), proizvođača iz Kine (N = 11) i proizvođača nepoznatog porijekla (N = 40) prikazan testom višestruke linearne regresije. Statistički značajne korelacije ( $p < 0,05$ ) prikazane su podebljanim brojevima. Utjecaj analiziranih metala na indeks zagađenosti za proizvođača ruža za usne iz UK nije prikazan zbog malog broja uzoraka (N = 3).

Skupno	$IOM = 0,01 * Cr + \mathbf{0,34} * Cd + \mathbf{0,23} * Ni + \mathbf{0,03} * Cu + 0,01 * Zn + \mathbf{0,03} * Pb - 0,06$	$R^2 = 0,816$
EU	$IOM = \mathbf{0,47} * Cr + \mathbf{2,02} * Cd + \mathbf{0,17} * Ni + \mathbf{0,03} * Cu + 0,01 * Zn + \mathbf{0,03} * Pb - 0,14$	$R^2 = 0,812$
Kina	$IOM = 0,22 * Cr + \mathbf{0,35} * Cd + 0,13 * Ni + 0,02 * Cu + 0,01 * Zn + 0,07 * Pb - 0,11$	$R^2 = 0,997$
Nepoznato	$IOM = -0,01 * Cr + \mathbf{1,01} * Cd + \mathbf{0,20} * Ni + 0,02 * Cu + 0,01 * Zn + \mathbf{0,12} * Pb - 0,06$	$R^2 = 0,681$

IOM – indeks opterećenosti metalima

Budući da metalne nečistoće lako prodiru kroz posebno nježnu i osjetljivu kožu lica, nameće se ozbiljna potreba da se utvrde zajednički toksikološki učinci svih analiziranih metala u kozmetičkim proizvodima. Iz tog razloga pretpostavka prediktivnog modela koji prikazuje opterećenost ruževa za usne metalima preko indeksa IOM, može imati izrazit značaj toksikološkog opterećenja. Uz neparametrijske testove za utvrđivanje utjecaja opterećenosti metalima ruževa za usne preko indeksa IOM korišten je i test višestruke linearne regresije. Korišteni test istovremeno uspoređuje promjene u različitim varijablama, u ovom slučaju u analiziranim metalima, i njihov utjecaj na indeks IOM te na taj način pomaže u formiranju linearnog prediktivnog modela opterećenosti metalima uzoraka ruževa za usne. Višestruka linearna regresija rezultirala je korelacijama prikazanim u Tablici 3, gdje podebljani tip slova označava statistički značajne korelacije –  $p < 0,05$ . Iako je Kendall-Tauova korelacija skupnih podataka, ali i podataka proizvođača ruževa za usne s različitim područja pokazala dominaciju udjela Pb u

uzorcima ruževa za usne, višestrukom regresijskom analizom utvrđeno je da u svim uzorcima, i skupnim i uzorcima s različitih područja, dominaciju ostvaruje Cd. Nadalje, uočljivo je također da i Pb ima znatnu ulogu kao opterećujući metal, Ni je prisutan kao toksikant u svim uzorcima osim u uzorcima proizvođača s područja Kine, dok Cr znatnu ulogu ima jedino kod proizvođača iz EU-a. Poradi utvrđivanja raspodjele analiziranih metala (Cr, Cd, Ni, Pb, Cu i Zn) u skupnom prikazu podataka (N = 100) u ovisnosti o proizvođačima ruževa za usne iz EU-a, Kine, UK i nepoznatih zemalja proizvodnje korištena je statistička analiza glavnih komponenti (PCA) (Slika 2). Prije postupka utvrđivanja glavnih komponenti testiranje pretpostavki primjerenosti uporabe PC analize provedeno je testom prema Kasier-Meyer-Olkinu. Prema navedenom testu indeks podudarnosti iznosio je 0,623 te se njegova vrijednost može ocijeniti kao dobra, što je preduvjet da se provede PC analiza. U određivanju broja glavnih komponenti koje će se zadržati u analizi, korišteni su Cattellov scree test te Kasier-Gutmanovo pravilo.



Slika 2. Raspodjela analiziranih metala (Cr, Cd, Ni, Pb, Cu i Zn) u skupnom prikazu podataka (N = 100) u ovisnosti o proizvođaču ruževa za usne (Europska unija – EU; Kina; Ujedinjeno Kraljevstvo – UK i nepoznate zemlje proizvodnje – nepoznato) u prvim dvjema glavnim komponentama, prikazana testom analize glavnih komponenti (PCA).

Tablica 4. Doprinos varijabli analiziranih metala (Cr, Cd, Ni, Pb, Cu i Zn) u skupnom prikazu podataka (N = 100) proizvođača ruževa za usne (Europska unija – EU; Kina; Ujedinjeno Kraljevstvo – UK i nepoznate zemlje proizvodnje – nepoznato) u prve tri glavne komponente utvrđen testom analize glavnih komponenti (PCA).

Varijabla	Vrijednosti svojstvenih vektora		
	PC 1	PC 2	PC 3
Cr	-0,29	0,09	-0,18
Cd	-0,17	0,31	0,15
Ni	-0,30	0,32	-0,15
Pb	0,20	0,03	-0,01
Cu	0,12	-0,20	0,39
Zn	0,15	0,01	0,07
Varijabla	Pripadne vrijednosti varijabli		
	PC 1	PC 2	PC 3
Cr	-0,48	0,14	-0,26
Cd	-0,29	0,50	0,22
Ni	-0,51	0,51	-0,23
Pb	0,35	0,05	-0,01
Cu	0,21	-0,31	0,57
Zn	0,26	0,01	0,10

Prema navedenim testovima u analizi su zadržane tri glavne komponente (PC 1, PC 2 i PC 3) kojima je moguće objasniti 78,95 % ukupne varijance.

Prva glavna komponenta objašnjava 45,68 % ukupne varijance, druga 22,57 % i treća 10,70 %. Na Slici 2 prikazana je raspodjela analiziranih metala (Cr, Cd, Ni, Pb, Zn i Cu) ovisno o proizvođačima i o državama proizvođača ruževa za usne. Jedan dio analiziranih varijabli (Cu, Zn i Pb) nalazi se u prvom i drugom kvadrantu i definira pozitivnu stranu glavne komponente PC 1 (desna strana PC 1), dok su preostale analizirane varijable (Ni, Cd i Cr) raspodijeljene u trećem kvadrantu i definiraju negativnu stranu glavne komponente PC 1 (lijeva strana PC 1). U preostalom, četvrtom kvadrantu ne nalazi se niti jedna od analiziranih varijabli. Kako bi se razjasnila uključenost ili važnost pojedinih varijabli u definiciji modela glavnih komponenti, korišteni su sljedeći pokazatelji: pripadajući svojstveni vektori (Tablica 4), pripadne vrijednosti varijabli (Slika 2 i Tablica 4) i važnost varijabli.

Analizom vrijednosti svojstvenih vektora vidljivo je da tri varijable definiraju glavnu komponentu PC 1 (Tablica 4). Pozitivan učinak u definiciji komponente PC 1 pokazuju varijable Pb (0,20) i Zn (0,15), dok varijabla Cr (-0,29) ima negativan učinak na PC 1. Najjači utjecaj na definiciju komponente PC 1 pokazuje udio Cr, dok su utjecaji udjela Pb i Zn nešto slabije izraženi. Varijable Cd i Ni definiraju glavnu komponentu PC 2, s izraženom pozitivnom korelacijom podjednakog intenziteta (0,31 i 0,32). U definiciji glavne komponente PC 3 prisutna je samo varijabla Cu (0,39). Slično ponašanje u definiranju glavnih komponenti, kao i kod analize svojstvenih vektora, postignuto je također i analizom pripadnih vrijednosti za pojedine varijable (Tablica 3). Za utvrđivanje značajnosti i uključenosti pojedinih varijabli u definiciji glavnih komponenti korištene su apsolutne vrijednosti koeficijenta većeg od 0,3. Slijedom toga Ni, Cr i Pb definiraju PC1. Ova komponenta može se nazvati „otrovni metali s toksičnim utjecajem na bubrege i jetru“. PC 2 i PC3 definirane su s Cd i Cu te se ove komponente mogu nazvati „umjereno toksični metali kao kontaktni alergeni“. Vrijednosti indeksa za Zn bile su niže od 0,3 te on nije uzet u razmatranje u definiciji glavnih komponenti. I kao zadnji pokazatelj definicije modela, analizirana je važnost varijabli, pri čemu je utvrđeno da dominantnu ulogu u definiranju modela ima udio Cr (0,98), udjeli Pb, Cd, Cu i Ni imaju slabije izraženu važnost (0,80 – 0,84), dok je udio Zn varijabla najmanjeg doprinosa (0,70). Analizom raspodjele područja proizvođača ruževa za usne (UK, EU, Kina i nepoznato) na grafici glavnih komponenti PC 1 i PC 2 vidljivo je da su UK i EU raspoređene s desne strane glavne komponente PC 1. Pri tome je područje UK smješteno u prvi kvadrant zajedno s varijablom udjela Cu, što dovodi do pretpostavke da je varijabla Cu, odnosno prisutnost Cu bila dominantna kod proizvođača ruževa s ovog područja. Nadalje s desne strane, ali u drugom kvadrantu nalaze se proizvođači s područja EU-a i analizirane varijable Zn i Pb, što dovodi do zaključka da su u proizvodima s područja EU-a prisutni navedeni metali u višim koncentracijama i da mogu predstavljati potencijalni problem toksičnosti, pogotovo zbog prisutnosti teškog metala Pb. Na lijevoj

strani glavne komponente PC 1 raspoređeni su proizvođači ruževa s područja Kine i nepoznatog porijekla. Proizvođači ruževa s područja Kine grupirani su u trećem kvadrantu gdje su raspodijeljene i analizirane varijable Ni, Cd i Cr. Doprinos ove varijable u definiciji modela također je evidentan i iznosi 0,85. U četvrtom kvadrantu glavne komponente PC 1 grupirani su proizvođači ruževa nepoznatog podrijetla. Interesantno je da se u ovom kvadrantu ne nalazi niti jedna od analiziranih varijabli metala, odnosno pretpostavka je da proizvodi ruževa nepoznatog porijekla nisu sadržavali metale u znatnim količinama.

## RASPRAVA

Prisutnost metala kao sastojaka u kozmetičkim pripravcima nije dozvoljena, međutim u mnogim razvijenim zemljama primjese u obliku teških metala ne mogu se izbjeći, čak ni uz dobru proizvođačku praksu, jer one postoje i u prirodnom okolišu<sup>5</sup>. Uredbom Europskog parlamenta i vijeća o kozmetičkim proizvodima<sup>11</sup> nisu postavljena ograničenja za kontaminante u kozmetičkim proizvodima, ali ipak postoje specifikacije za primjese u nekim dodatcima boja koje se koriste u kozmetici i definirane su u Republici Hrvatskoj Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje<sup>13</sup>. Pored navedene Uredbe i Pravilnika kojim su regulirane granične vrijednosti teških metala u kozmetičkim proizvodima za uljepšavanje i bojenje usnica, rezultati dobiveni ovom studijom bit će tumačeni i usporedbom s rezultatima dostupnih znanstvenih studija.

Rezultati udjela Cr dobiveni ovim istraživanjem (0,06 do 2,96 mg/kg) bili su nižih vrijednosti u usporedbi sa studijom o teškim metalima u ruževima i lakovima za nokte, koju su proveli Olabanji i Oluyemi (2014. godine), gdje su udjeli Cr bili u rasponu od 6,6 do 28,4 mg/kg<sup>27</sup>. Naime, spojevi kroma pogotovo šesterovalentnog (Cr (VI)) vrlo su toksični i poznati kao ljudski karcinogeni, dok je krom (III) esencijalni nutrijent. Udisanjem visoke količine ovog teškog metala, može se pojaviti iritacija sluznice nosa, astma i otežano disanje. Dodir metala s kožom može izazvati alergijske reakcije u obliku jakog crvenila i otekline kože. Dugotrajna izloženost Cr može uzrokovati oštećenje krvožilnog i živčanog tkiva jetre, bubrega, kao i



nadraženost kože<sup>28</sup>. Koncentracije Cr dobivene ovim istraživanjem bile su daleko ispod maksimalno dozvoljenih koncentracija (MDK) definiranih Pravilnikom o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje u Republici Hrvatskoj, te za proizvode za uljepšavanje i bojenje usnica ne smiju sadržavati Cr u količinama višim od 50 mg/kg. Rezultati studije Khalid i sur. iz 2013. godine navode koncentracije Cr u analiziranim ruževima u rasponu od 0,22 do 5,43 mg/kg<sup>29</sup> i približno su slične koncentracijama dobivenim ovim istraživanjem. Cd je pronađen u mnogim kozmetičkim proizvodima, ali većinom u ruževima za usne. Boja mu je žuta do narančasta te se najčešće koristi kao pigment boje u kozmetičkoj industriji<sup>30</sup>. Za Ni je karakteristično da u dodiru s kožom uzrokuje alergiju koja se naziva alergijski kontaktni dermatitis<sup>31</sup> te je dokazano da koncentracije već od 0,5 mg/kg mogu izazvati promjene na koži<sup>32, 33</sup>. Udio Cd u analiziranim uzorcima nalazio se u rasponu od vrlo niskih 0,001 mg/kg pa sve do visokih 3,40 mg/kg, dok je Ni bio prisutan u rasponu od 0,02 do 1,47 mg/kg. Prethodno navedenom studijom Khalid i sur. izvijestili su o pronađenim udjelima u rasponu od 0,20 do 0,50 mg/kg za Cd te od 0,60 do 5,95 mg/kg za Ni. Maksimalno dozvoljene koncentracije za Cd i Ni definirane su prethodno spomenutim Pravilnikom i iznose 2 mg/kg za Cd te 50 mg/kg za Ni. Rezultati ovog istraživanja nalaze se ispod navedenih graničnih vrijednosti, osim jednog uzorka proizvođača s područja Kine gdje je detektiran udio Ni od 3,40 mg/kg. Nadalje, u 2 uzorka proizvođača iz EU-a (Poljska), 2 uzorka proizvođača s područja Kine i 3 uzorka nepoznatog porijekla detektirani su viši udjeli Ni od 0,5 mg/kg, što potencijalno predstavlja opasnost za izazivanje iritacija kože. Iako su količine Pb koje su prisutne u ruževima za usne vrlo niske u usporedbi s drugim ekosustavima kao što su voda, hrana i/ili zrak, njegovu prisutnost u ruževima za usne ne smije se zanemariti<sup>34</sup>. U Europskoj su uniji Pb i njegovi spojevi zabranjeni sastojci u kozmetici, ali nečistoće Pb mogu se nalaziti u sirovinama ili dospjeti u kozmetiku proizvodnim procesom<sup>35</sup>. Maksimalne vrijednosti Pb dobivene ovim istraživanjem iznosile su 6,70 mg/kg (proizvođač iz EU-a, Italija), što je daleko ispod graničnih vrijednosti definiranih zakonskom regulativom

u RH za proizvode za uljepšavanje i bojenje usnica, a za Pb iznose 20 mg/kg. Nadalje, udjeli Pb dobiveni ovim istraživanjem bili su znatno niži od utvrđenih vrijednosti u ruževima za usne u istraživanjima koje su proveli Zakaria i Ho (2015.) i Ackah (2015.) koji su dokazali prisutnost Pb u rasponu od 0,77 do 15,44 i od 10,9 do 15,25 mg/kg<sup>36, 37</sup>.

Analizom udjela Cu u ovoj studiji utvrđeni su maksimalni udjeli od 10,38 mg/kg koji su bili niži nego maksimalni udjeli koje su pronašli Chrušćićska i sur. 2018. godine u istraživanju provedenom na uzorcima ruževa s tržišta Poljske<sup>38</sup>. Naime, oni su izvijestili kako se koncentracije Cu u uzorcima ruževa za usne kreću od onih ispod detekcije pa sve do 459,54 mg/kg. Cinkom obogaćeni kozmetički proizvodi mogu djelovati zaštitno, antibakterijski ili antioksidativno, a soli Zn povećavaju prijanjanje i poboljšavaju primjenu kozmetičkog sredstva<sup>39</sup>. Međutim, prekomjerna izloženost, kao i povišene koncentracije Zn u organizmu mogu dovesti i do neželjenih učinaka. Zn može izazvati neurološke i gastrointestinalne poremećaje<sup>40</sup>. Prethodno objavljena studija opisala je da izloženost Zn u količini od 300 µM do 600 µM, tijekom 15 minuta može inducirati opsežnu neuronsku smrt u kulturi tkiva kortikalnih stanica<sup>41</sup>. Ovom studijom dobiveni su udjeli Zn u rasponu od 1,31 do 132,06 mg/kg, te su niži od rezultata Iwegbue i suradnika u istraživanju provedenom na uzorcima ruževa s nigerijskog tržišta koji su bili u rasponu od 18 do 320 mg/kg<sup>42</sup>.

Prema Uredbi br. 1223/2009 Europskog parlamenta<sup>11</sup>, prisutnost Cd, Pb, Ni i Cr u kozmetičkim proizvodima nije dozvoljena, dok aktualnom legislativom RH<sup>12, 13</sup> navodi granične vrijednosti. Kozmetički proizvodi s visokim koncentracijama navedenih teških metala, bilo da se primjenjuju jednom ili nekoliko puta dnevno, mogu dovesti do izloženosti ljudi štetnim utjecajima teških metala<sup>43</sup>.

Vrijedeći propisi nedovoljno definiraju koncentracije nenamjerno prisutnih teških metala u kozmetičkim proizvodima. Najčešći put kontaminacije kozmetičkih proizvoda jest dodavanje brojnih pigmenta korištenih kao bojila koja mogu sadržavati organske ili mineralne tvari kao nečistoće<sup>44</sup>. Stoga, provedena studija dobiva značaj jer pruža osnovne podatke opterećenosti odabranog koz-

metičkog proizvoda (ruž za usne) teškim metalima.

## ZAKLJUČAK

Koncentracije analiziranih teških i biogenih metala bile su puno niže od Pravilnikom definiranih maksimalno dozvoljenih koncentracija (MDK) za pojedine metale, osim jednog uzorka proizvođača s područja Kine gdje je detektiran viši udio Ni od propisanih vrijednosti MDK. Ova preliminarna studentska studija sadržaja metala u 100 uzoraka ruževa za usne ukazuje na to da, ma koliko nizak bio sadržaj toksičnih metala u kozmetičkim proizvodima, treba obratiti pažnju na dugoročan period primjene navedenih proizvoda te slab indeks eliminacije teških metala iz organizma. Podatci studije ukazuju na potrebu za daljnjim provođenjem ovakvih istraživanja za procjenu koncentracije metala u kozmetičkim proizvodima za usne, kao i ostaloj kozmetici. Sigurnost kozmetike i praćenje opterećenosti teškim metalima u kozmetičkim proizvodima neminovno upućuje na kontrolu generiranih zdravstvenih rizika kod upotrebe takvih proizvoda. Nažalost, nije pronađen niti jedan ruž za usne koji se može smatrati sigurnim za ljudsko zdravlje, tj. potpuno slobodan od istraživanih metala.

## Zahvala

Autori se zahvaljuju osoblju Nastavnog zavoda za javno zdravstvo Primorsko-goranske županije na pomoći pri analizi uzoraka. Istraživanje je potpomognuto potporom Sveučilišta u Rijeci (potpora br. Uniri-biomed-18-155-1304).

**Izjava o sukobu interesa:** Autori izjavljuju kako ne postoji sukob interesa.

## LITERATURA

- Fischer A, Brodziak-Dopierała B, Loska K, Stojko J. The assessment of toxic metals in plants used in cosmetics and cosmetology. *Int J Environ Res Public Health* 2017;24:1280.
- Bocca B, Pino A, Alimonti A, Forte G. Toxic metals contained in cosmetics: a status report. *Regul Toxicol Pharmacol* 2014;68:447-67.
- Arshad H, Mehmood MZ, Shah MH, Abbasi AM. Evaluation of heavy metals in cosmetic products and their health risk assessment. *Saudi Pharm J* 2020;28:779-90.
- Nordberg Gf, Fowle BA, Nordberg M. *Handbook on the Toxicology of Metals*. 4<sup>th</sup> Edition. Cambridge, Massachusetts: Academic press, 2014.
- Al-Saleh I, Al-Enazi S. Trace metals in lipsticks. *Toxicol Environ Chem* 2011;93:1149-65.
- Harada M, Nakachi S, Tasaka K, Sakashita S, Muta K, Yanagida K et al. Wide use of skin-lightening soap may cause mercury poisoning in Kenya. *Sci Total Environ* 2001;26:183-7.
- Lee SM, Jeong HJ, Chang IS. Simultaneous determination of heavy metals in cosmetic products. *J Cosmet Sci* 2008;59:441-8.
- Adepoju-Bello AA, Oguntibeju OO, Adebisi RA, Okpala N, Coker HAB. Evaluation of the concentration of toxic metals in cosmetic products in Nigeria. *Afr J Biotechnol* 2012;11:16360-4.
- Al-Dayel O, Hefne J, Al-Ajyan T. Human exposure to heavy metals from cosmetics. *Orient J Chem* 2011;27:1-11.
- Orisakwe OE, Otaraku JO. Metal concentrations in cosmetics commonly used in Nigeria *Sci World J* 2013;5:959637.
- European Union law [Internet]. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products [cited 2020 Jun 06]. Available from: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1223/2022-03-01>.
- Zakon o predmetima opće uporabe (Narodne novine, br. 39/13, 47/14,114/18).
- Pravilnik o zdravstvenoj ispravnosti predmeta široke potrošnje (Narodne novine br. 125/09, 23/13, 90/13).
- Ayenimo JG, Yusuf AM, Doherty WO, Ogunkule A. Iron, lead and nickel in selected consumer products in Nigeria: A potential public health concern. *Toxicol Environ Chem* 2010;92:51-59.
- Borowska S, Brzóska MM. Metals in cosmetics: implications for human health. *J App Toxicol* 2015;35: 551-72.
- Rebelo FM, Caldas ED. Arsenic, lead, mercury and cadmium: Toxicity, levels in breast milk and the risks for breastfed infants (review). *Environ Res* 2016;151:671-88.
- Patrick L. Lead toxicity, a review of the literature. Part 1: Exposure, evaluation, and treatment. *Altern Med Rev* 2006;11:2-22.
- Tuchman M, Silverberg JI, Jacob SE, Silverberg N. Nickel contact dermatitis in children. *Clin Dermatol* 2015;33: 320-6.
- Basketter DA, Angelini G, Ingber A, Kern PS, Menné T. Nickel, chromium and cobalt in consumer products: revisiting safe levels in the new millennium. *Contact Dermatitis* 2003;49:1-7.
- Iyer VJ, Banerje G, Govindram CB, Kamath V, Shinde S, Gaikwad A et al. Role of different valence states of chromium in the elicitation of allergic contact dermatitis. *Contact Dermatitis* 2002;47:357-60.
- Bartzatt R. Neurological Impact of Zinc Excess and Deficiency In vivo. *Eur J Nutr Food Saf* 2017;7:155-60.
- Ababneth FA, Abu-Sbeih KA, Al-Momani IF. Evaluation of Allergenic Metals and Other Trace Elements in Personal Care Products. *Jordan J Chem* 2013;8:179-90.
- Gao P, Liu S, Zhang Z, Meng P, Lin N, Lu B et al. Health impact of bioaccessible metal in lip cosmetics to female college students and career women, northeast of China. *Environ Poll* 2015;197:214-20.
- Gondal MA, Seddigi ZS, Nasr MM, Gondal B. Spectroscopic detection of health hazardous contaminants in lip-

- stick using Laser Induced Breakdown Spectroscopy. *J Hazard Mater* 2010;175:726-32.
25. Liu S, Hammond SK, Rojas-Cheatham A. Concentrations and potential health risks of metals in lip products. *Environ Health Perspect* 2013;121:705-10.
  26. Usero J, González-Regalado E, Gracia I. Trace metals in the bivalve molluscs *Ruditapes decussatus* and *Ruditapes philippinarum* from the Atlantic coast of Southern Spain. *Environ Int* 1997;23:291-298.
  27. Olabanji I, Oluyemi E. Lipsticks and Nail Polishes: Potential Sources of Heavy Metal in Human Body. *Int J Pharm Res Allied Sci* 2014;3:45-51.
  28. Wilbur S, Abadin H, Fay M, Yu D, Tencza B, Ingerman L et al. Toxicological Profile for Chromium. Atlanta (GA): Agency for Toxic Substances and Disease Registry (US), 2012.
  29. Khalid A, Bukhari IH, Riaz M, Rehman G, Ain QU, Bokhari TH et al. Determination of Lead, Cadmium, Chromium, and Nickel in Different Brands of Lipsticks. *Int J Biol Pharm Applied Sci* 2013;2:1003-9.
  30. Chauhan AS, Bhadauria R, Singh AK, Lodhi SS, Chaturvedi DK, Tomar VK. Determination of lead and cadmium in cosmetic products. *J Chem Pharm Res* 2010;6:92-7.
  31. Gangemi S, Ricciardi L, Minciullo PL, Cristani M, Saitta S, Chirafisi J et al. Serum levels of protein oxidation products in patients with nickel allergy. *Allergy Asthma Proc* 2009;30:552-7.
  32. Tanojo H, Hostynek JJ, Mountford HS, Maibach HI. In vitro permeation of nickel salts through human stratum corneum. *Acta Derm Venereol Suppl* 2001;212:19-23.
  33. Basketter DA, Angelini G, Ingbe RA, Kern PS, Merine T. Nickel, cadmium and cobalt in consumer products: Revisiting safe levels in new millennium. *Contact Dermat* 2003;49:1-7.
  34. Belurkar R, Yadawe M. Analysis of Heavy Metals in Lipstick by the Various PhysicoChemical and Instrumental Methods. *IOSR J App Chem* 2017;10:1-06.
  35. Bellinger DC. Very low lead exposures and children's neurodevelopment. *Curr Opin Pediatr* 2008;20:172-77.
  36. Zakaria A, Ho YB. Heavy metals contamination in lipsticks and their associated health risks to lipstick consumers. *Regul Toxicol Pharmacol* 2015;73:191-195.
  37. Ackah M. Status of some metals contained in imported nail polish and lipsticks on the Ghanaian market. *Proc Int Acad Ecol Environ Sci* 2015;5:142-147.
  38. Łodyga-Chruścińska E, Sykuła A, Więdołcha M. Hidden Metals in Several Brands of Lipstick and Face Powder Present on Polish Market. *Cosmetics* 2018;5:57.
  39. Szymanowski R, Zaporowska H. Zinc in cosmetics. *Pol J Cosmetol* 2014;17:192-96.
  40. Bartzatt R. Neurological Impact of Zinc Excess and Deficiency In vivo. *Eur J Nutr Food Saf* 2017;7:155-60.
  41. Yokoyama J, Koh J, Choi DW. Brief exposure to zinc is toxic to cortical neurons. *Neurosci Lett* 1986;71:351-55.
  42. Iwegbue CMA, Bassey FI, Obi G, Tesi GO, Martincigh BS. Concentrations and exposure risks of some metals in facial cosmetics in Nigeria. *Toxicol Rep* 2016;3:464-72.
  43. Navarro-Tapia E, Serra-Delgado M, Fernández-López L, Meseguer-Gilabert M, Falcón M, Sebastiani G et al. Toxic elements in traditional kohl-based eye cosmetics in Spanish and German markets. *Int J Environ Res Public Health* 2021;18:6109.
  44. Volpe MG, Nazzaro M, Coppola R, Rapuano F, Aquino RP. Determination and assessments of selected heavy metals in eye shadow cosmetics from China, Italy, and USA. *Microchem J* 2012;101:65-9.