

## TOXICOLOGICAL ASPECTS OF METAL IMPURITIES IN COSMETICS

(Oryg. Toksykologiczne aspekty zanieczyszczeń  
metalicznych w kosmetykach)

MONICZEWSKI Andrzej, STAREK Magdalena, RUTKOWSKA Anita

*Department of Toxicology, Faculty of Pharmacy, Jagiellonian University, Medical College, Medyczna 9, PL 30-688 Kraków.***Abstract**

*Heavy metal compounds are included in many cosmetics and dietary supplements. The most frequent metal contaminants of cosmetic products are mercury, lead, cadmium and arsenic. The contents of toxic metals in cosmetic products are mainly associated with the use of inadequately cleaned raw materials. Despite numerous inspections of the manufacturing process and keeping the production in line with the principles of Good Manufacturing Practice (GMP), these elements are still found even in products of the best quality. Metals contaminate cosmetics as a result of production processes. Heavy metal toxicity is the result of prolonged exposure which causes the appearance of many side effects. The mechanism of toxicity is mainly related to the impairment of ATP and the change of protein synthesis in enzyme activity, by inducing free radicals. Metals interfere with, among others, the proper functioning of organs, neurotoxic effects, cause problems in learning and behavior, adversely affect the proper functioning of the immune system and adversely affect the developing fetus. Metals have the ability to accumulate in certain organs, primarily in the kidneys and the liver. The European Union does not regulate the limits of metal concentrations in detail, but there is a list of substances prohibited for use in cosmetics in all Member States.*

**Keywords:** toxicity of metals, cosmetic products, lead, mercury, cadmium, arsenic**Corresponding author:** Andrzej Moniczewski, a.moniczewski@cm-uj.krakow.pl

Metale ciężkie, występujące w środowisku naturalnym (woda, gleba, skały), w śladowych ilościach znajdują się w surowcach stosowanych w branży kosmetycznej i farmaceutycznej. Mogą być składnikami pożądanymi (np. barwniki) lub niepożądanymi wielu kosmetyków i suplementów diety [1]. Do zanieczyszczeń metalicznych stwarzających zagrożenie dla zdrowia konsumentów należą głównie: rtęć, ołów, kadm, arsen. Do kontaminacji metalami ciężkimi preparatów kosmetycznych dochodzi w procesie wytwarzania lub nieodpowiedniego oczyszczania surowców naturalnych wykorzystywanych jako składniki np. kosmetyków kolorowych [2]. Mimo licznych kontroli procesu wytwarzania, prowadzenia produkcji zgodnie z zasadami Dobrej Praktyki Produkcyjnej (GMP) oraz kampanii na rzecz bezpiecznego stosowania kosmetyków, pierwiastki te nadal są obecne nawet w najlepszej jakości produktach. Jednorazowe zastosowanie kosmetyku zawierającego pierwiastek toksyczny nie wiąże się najczęściej z pojawieniem skutków ubocznych. Stężenia zanieczyszczeń są

zazwyczaj niskie i nie przekraczają dopuszczalnych poziomów, jednakże ze względu na sposób stosowania mogą stwarzać pewne zagrożenie. Dotyczy to głównie kosmetyków aplikowanych na powierzchnię skóry i wargi, takich jak preparaty do pielęgnacji ust (szminki, błyszczki), cienie do powiek, kohl oraz kremy wybielające. Jednym z głównych problemów jest obecność ołowiu w szminkach oraz w środkach barwiących. Niektóre z metali występujących w kosmetykach wywołują reakcje alergiczne (chrom, nikiel). Z kolei w kremach wybielających obecna jest w wysokich stężeniach rtęć. Konsumentom narażeni mogą być również na toksyczne związki kadmu i arsenu. Skutkiem długotrwałej ekspozycji na metale ciężkie jest ich kumulacja w organizmie, a w konsekwencji nasilone ryzyko wystąpienia różnorodnych problemów zdrowotnych.

**Rtęć**

Wchłanianie rtęci do organizmu zależy od postaci w jakiej ona występuje. Pary rtęci mogą być absorbowane przez drogi oddechowe natomiast

związki tego pierwiastka są wchłaniane przez przewód pokarmowy oraz skórę. Nieorganiczne i organiczne pochodne rtęci łatwo rozpuszczają się w tłuszczach, dlatego szybko penetrują przez błony biologiczne. Transportowane są również poprzez gruczoły potowe i łojowe. Szybkość wchłaniania ksenobiotyków zależna jest od stężenia aplikowanej substancji, stanu nawilżenia oraz integralności skóry, jak również obecności stanów chorobowych. Na proces ten wpływa także długi okres stosowania kosmetyków na dużej powierzchni ciała [3,4,5].

Jednym ze źródeł narażenia na rtęć jest przemysł kosmetyczny. Metal ten w produktach do pielęgnacji ciała występuje zarówno w postaci związków nieorganicznych jak i organicznych (tiomersal, sole fenylortęciowe). Tiomersal (mercaptol, vitaseptol, timerosal) jest pochodną kwasu tiosalicylowego i posiada właściwości antybakteryjne i przeciugrzybiczne. Działa bakteriostatycznie w stosunku do bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych oraz grzybów chorobotwórczych [6]. Z tego powodu dodawany jest w celach konserwujących do cieni do powiek, tuszów do rzęs, roztworów do soczewek kontaktowych i preparatów okulistycznych [7].

Nieorganiczne związki rtęci po raz pierwszy zastosowano w kosmetyce na początku XX wieku. Zyskały one popularność, jako substytuty kremów o działaniu rozjaśniającym skórę. Obecnie stosowane są również w mydłach, balsamach i kremach o działaniu antyseptycznym. Wykorzystywane są one m.in. do oczyszczania całego ciała, a w szczególności twarzy i ramion. Preparaty te zawierają zazwyczaj sole rtęci: rtęć amoniakalną (1-10% w kremach), jodek rtęci (1-3% w mydłach), chlorek oraz tlenek rtęci [4,8,9]. Kosmetyki zawierające nieorganiczne związki rtęci stosowane są także w celu niwelowania przebarwień. W wyniku starzenia się skóry, nadmiernej ekspozycji na promieniowanie słoneczne, zaburzeń hormonalnych, ciąży lub przyjmowania niektórych leków dochodzi do nadaktywności melanocytów. Stan ten skutkuje nadprodukcją melaniny, barwnika odpowiedzialnego za pigmentację skóry. Działanie soli rtęci i substancji aktywnych obecnych w tych preparatach (hydrochinon, dipalmitynian kojowy, arbutyna) prowadzi do inaktywacji cząsteczki tyrozynazy oraz do zahamowania syntezy melaniny [10,11].

Pomimo znanych właściwości toksycznych rtęci, nadal wykorzystywana jest ona w przemyśle kosmetycznym w wielu krajach. Według

raportów WHO, agencje ochrony konsumentów w Unii Europejskiej i Stanach Zjednoczonych zidentyfikowały rtęć w produktach pochodzących z terenów: Chin, Libanu, Pakistanu, Filipin, Tajlandii, Meksyku, Nigerii oraz RPA. Pomimo sankcji wprowadzonych w wielu krajach, kosmetyki te importowane są nielegalnie m.in. do Stanów Zjednoczonych, Kanady oraz Niemiec [7,12].

Toksyczne działanie rtęci po miejscowej aplikacji preparatów na skórę zaobserwowano po raz pierwszy w 1923 roku. Jej organiczne związki np. tiomersal mogą wywoływać zapalenie skóry, ucha lub spojówek. Alergia kontaktowa dotyczy nawet 18,5% młodych ludzi. Działania uboczne występują zarówno w postaci zatrucia ostrego jak i przewlekłego. Pierwsze z nich charakteryzuje się zapaleniem płuc i objawami żołądkowo-jelitowymi takimi jak: metaliczny posmak w ustach, nudności oraz ślinotok. Zatrucie przewlekłe manifestuje się objawami neurologicznymi oraz nefrotoksycznymi. Chociaż przenikanie przez barierę krew-mózg jest stosunkowo niewielkie, to jednak długotrwałe narażenie może powodować akumulację pierwiastka w układzie nerwowym, skutkując działaniem neurotoksycznym. Mogą wystąpić depresje, psychozy, neuropatie obwodowe oraz niepokój [3,4,6].

Użytkownicy preparatów, w których składnikiem rozjaśniającym są nieorganiczne związki rtęci narażają nie tylko własne zdrowie, ale również zdrowie swoich dzieci. U osób dorosłych przypadkowe spożycie może także nastąpić w wyniku miejscowej aplikacji wokół ust. Na związki rtęci narażone są również kobiety w ciąży oraz rozwijający się płód. Metal ten prowadzi do wielu wad rozwojowych, a przede wszystkim do uszkodzenia mózgu. Konsekwencją mogą być zaburzenia rozwoju umysłowego i obniżenie ilorazu inteligencji [13,14,15].

Sole rtęci mogą powodować wysypki skórne, oparzenia, podrażnienia, blizny oraz większą podatność na infekcje bakteryjne i grzybicze. Konsekwencją przewlekłego stosowania tych kosmetyków są przede wszystkim ciemnopopielate przebarwienia lokalizujące się najczęściej w obrębie fałdów skórnych. Powstają one w wyniku odkładania się związków rtęci w skórze właściwej. Proces wchłaniania odbywa się przez przydatki skóry tj. mieszki włosowe, gruczoły łojowe i potowe. Istnieją także przypadki hiperpigmentacji w obrębie dziąseł. Efekty niepożądane dotyczą również płytki paznokciowej. Odkładający się

w keratynie pierwiastek prowadzi do zmian zabarwienia oraz kruchości paznokci [16]. U dzieci częstym objawem chronicznego zatrucia rtęcią jest akrodyndia charakteryzująca się wzmożoną potliwością, czerwonym zabarwieniem skóry, rumieniem, wysypką oraz obrzękiem dłoni i stóp i nadmiernym złuszczeniem naskórka. Nierzadko chorobie towarzyszy bolesność i zwiększona wrażliwość na dotyk. Zmiany te są skutkiem działania związków nieorganicznych, szczególnie chlorku rtęci [9,16].

Głównym miejscem kumulacji toksycznych związków rtęci są nerki. Uszkodzenie ich bardzo często prowadzi do białkomoczu, zespołu nerczycowego oraz zapalenia kłębuszków nerkowych [17]. U osób stosujących preparaty zawierające rtęć obserwowano niekiedy bardzo wysokie wartości stężeń tego pierwiastka. Przeprowadzone przez Nowojorski Departament Zdrowia i Higieny Psychicznej badania, nad zawartością rtęci w moczu, wykazały u 13 kobiet stosujących kremy rozjaśniające stężenie 20 µg/L, natomiast u kilku poziom przekraczał wartość 50 µg/L [18].

Kosmetyki stwarzają również zagrożenie dla środowiska naturalnego. Do skażenia rtęcią dochodzi podczas nieodpowiedniej utylizacji stosowanych preparatów kosmetycznych, jak również w wyniku odprowadzania lokalnych ścieków.

## Ołów

Ołów jest najważniejszym pierwiastkiem toksycznym dla środowiska i jednym z najintensywniej badanych metali ciężkich. Wykazano istnienie różnych komórkowych oraz molekularnych mechanizmów leżących u podstaw jego toksyczności. Ołów wiążąc się z grupami tiolowymi białek inaktywując je. Metal ten jest również czynnikiem generującym tworzenie się wolnych rodników, które uszkadzają m.in.: DNA, enzymy, białka i prowadzą do peroksydacji lipidów, co jest przyczyną uszkodzenia błon komórkowych [19]. Obniża też aktywność glutaminy prowadząc do zaburzenia równowagi pomiędzy produkcją wolnych rodników i wytwarzaniem przeciwutleniaczy, potrzebnych do detoksykacji reaktywnych związków pośrednich lub naprawiania powstałych szkód. Efektem tego działania jest osłabienie systemu obrony antyoksydacyjnej, co doprowadza do wytworzenia stresu oksydacyjnego [20]. Wykazano także prozapalne właściwości ołowiu, który zwiększa aktywność m.in. cyklooksygenazy 2 (COX-2) oraz białka C-reaktywnego

(CRP). Metal ten powoduje dysfunkcję układu krwiotwórczego poprzez zaburzenie syntezy hemoglobiny. Hamuje aktywność enzymów biorących udział w syntezie hemu i zwiększa ilość nukleotydów pirymidynowych w elementach morfotycznych krwi prowadząc do wolniejszego dojrzewania krwinek czerwonych, a w konsekwencji do niedokrwistości [21].

Do zatrucia najszybciej dochodzi drogą pokarmową. Bezobjawowe gromadzenie się ołowiu w organizmie stwarza ryzyko rozwoju różnych problemów zdrowotnych np. podwyższone ciśnienie, uszkodzenie nerek, bezpłodność, zaburzenia hormonalne, anemia oraz zaburzenia neurotoksyczne i neurobehavioralne [22,23]. Najbardziej narażony na działanie ołowiu jest układ nerwowy, a do wczesnych objawów zatrucia należą ból głowy, trudności w koncentracji, drażliwość, utrata pamięci i ośpienie [24]. Wystąpienie działań niepożądanych wiąże się już z minimalną ekspozycją na ołów. W organizmie ulega on kumulacji przede wszystkim w tkance kostnej, w której jego stężenie wzrasta przez całe życie, a okres półtrwania wynosi ponad 20 lat. Z organizmu człowieka wydalanany jest głównie z moczem (76%), kałem (16%), potem (8%), jak również z mlekiem [25,26].

Na toksyczne działanie ołowiu szczególnie narażone są kobiety w ciąży. Ołów z łatwością przenika przez łożysko, a następnie do mózgu płodu zakłócając tym samym jego prawidłowy rozwój. Istnieje także niebezpieczeństwo przedwczesnego porodu, niskiej masy urodzeniowej u noworodków oraz ryzyko poronień. Szczególnie niebezpiecznym okresem jest pierwszy trymestr ciąży. Małe dzieci, zwłaszcza poniżej 6 roku życia absorbują go w największych ilościach. Drogą pokarmową wchłaniają do krwi nawet od 30 do 75% ołowiu, podczas gdy dorośli około 11%. Wiąże się to z mniejszą masą ciała, rozwijającym się układem nerwowym oraz większym poborem powietrza. Neurotoksyczność może wyrażać się zaburzeniami behawioralnymi w postaci obniżenia poziomu IQ, wzrostu agresji, trudnościami w nauce. Badania sugerują, że ołów zaburza rolę wapnia w rozwoju komórek mózgowych [27,28,29]. Może on również wpływać na gospodarkę innych pierwiastków metalicznych obecnych w organizmie. Wchodzi w interakcje z: żelazem, cynkiem, selenem oraz miedzią. Mechanizmy jonowe, w których uczestniczy ołów doprowadzają do deficytów neurologicznych. Wiąże się to z jego zdolnością do

zastępowania kationów tj.:  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  oraz  $\text{Na}^{2+}$  [21,30].

Stosowane w produktach do makijażu jako dodatki kolorystyczne barwniki i pigmenty są często zanieczyszczone ołowiem. Wiąże się to głównie z wykorzystaniem surowców, które w składzie zawierają ołów lub są nieodpowiednio oczyszczone. Istotnym źródłem skażenia mogą być także wykorzystywane w produkcji urządzenia wykonane z materiałów zawierających toksyczny metal [31].

Producenci kosmetyków zapewniają konsumentów, że zawartość ołowiu w produktach kosmetycznych jest na bezpiecznym poziomie, a dzienna dawka tego metalu znajdującego się np. w szminkach jest niewielka w porównaniu z jego stężeniem w żywności i środowisku. Niemniej jednak ze względu na zdolność do kumulowania się w organizmie wielokrotne stosowanie kosmetyków, zwłaszcza szminek kilka razy dziennie przez długi okres czasu, może przyczynić się do znacznego wzrostu poziomu ołowiu [32], co staje się coraz większym problemem. Może on znajdować się w importowanych kosmetykach [33]. Wykazano jego obecność w takich produktach jak: kredki do oczu, tusze do rzęs, szminki, błyszczki, cienie do powiek oraz eyelinery. Wykorzystywana w przemyśle kosmetycznym w celu uzyskania metalicznego i lśniącego wyglądu mika jest surowcem naturalnym, wydobywanym z ziemi i może zawierać śladowe ilości metali ciężkich. Istnieją doniesienia o obecności ołowiu w kohl (kohl, kajal), w Południowej Azji nazywanego „surma” [32,34]. Przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych przez Campaign for Safe Cosmetics testy wykazały, że 61% z 33 marek szminek zawierała ołów w ilości nawet do 0,65 ppm [35]. Kosmetyki te wytwarzane są w krajach, w których kontrola jakości i produkcji nie jest prawidłowo realizowana, a następnie importowane są m.in. do: USA, Francji, Włoch i Niemiec. Najwyższe stężenia ołowiu pochodzą z kosmetyków sprowadzanych z Indii, Iranu, Arabii Saudyjskiej oraz Chin [36,37].

## Arsen

Arsen jest jednym z najbardziej toksycznych metali występujących w środowisku naturalnym. Główną przyczyną skażenia jest arsen pochodzący z naturalnych źródeł geologicznych, działalności przemysłowej i rolniczej człowieka. Z uwagi na zanieczyszczenie środowiska szacuje się, iż miliony ludzi narażonych jest na zatrucie

nieorganicznymi związkami arsenu pochodzącymi z wody gruntowej [38]. Przyjęte drogą pokarmową łatwo wchłaniane są w przewodzie pokarmowym, ulegając dystrybucji w całym organizmie. Wywierają negatywny wpływ na nerki, wątrobę, płuca i śledzionę. Spożycie arsenu zwiększa ryzyko zachorowania na raka narządów wewnętrznych i nowotwory skóry. Długotrwała ekspozycja na ten pierwiastek przyczynia się także do zmniejszenia produkcji krwinek czerwonych [39].

Jedną z dróg zatrucia arsenem jest narażenie dermalne. Arsen ma wyraźne powinowactwo do struktur skóry i wywiera niekorzystny wpływ na jej wygląd. Wraz z innymi metalami obecnymi w preparatach do oczu może stanowić przyczynę alergicznego kontaktowego zapalenia skóry powiek i okolicy oczodołów. Objawy niepożądane obejmują różnorodne wykwity skórne, a nawet łysienie. Po wieloletniej ekspozycji może pojawić się wzmożona synteza melaniny, skutkując brązowymi przebarwieniami. Natomiast w obrębie dłoni i stóp stosunkowo często współistnieją ogniska hiperkeratozy. Arsen kumuluje się w tkankach bogatych w keratynę: włosach i paznokciach. Zmiany zlokalizowane na płytce paznokciowej przyjmują postać charakterystycznego prążkowania z liniami ułożonymi równoległe do obłóczka. Są to tzw. pasma Meesa [39,40,41].

Zatrucie ostre arsenem może doprowadzić do śmierci na skutek inhibicji enzymów, niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu. Jego toksyczność wiąże się z hamowaniem około 200 enzymów zaangażowanych w przemiany metaboliczne oraz procesy syntezy i naprawy DNA. W wyniku ekspozycji na arsen dochodzi do zablokowania kompleksów dehydrogenazy  $\alpha$ -ketoglutaranowej i pirogronianowej oraz zaburzeń w przebiegu cyklu Krebsa. Doprowadza to do nagromadzenia zewnątrz i wewnątrzkomórkowego mleczanu i pirogronianu, zatrzymaniu produkcji acetylo-CoA i szybko postępującej kwasicy. Efektem są zaburzenia neurologiczne, a w konsekwencji nawet śmierć [42,43]. Arsen działa poprzez niespecyficzne mechanizmy, do których należy stres oksydacyjny, prowadzący do powstania stanów zapalnych oraz apoptoza. Stymuluje również oksydazę fosforanu dinukleotydu nikotynoaminoadeninowego (NADPH), obecną w błonie plazmatycznej komórek śródbłonna oraz mięśniach gładkich. Efektem jest wytworzenie reaktywnych form tlenu np.: ponadtlenków i nadtlenu wodoru,

powodujących uszkodzenia białek, lipidów oraz DNA. Arsen kumuluje się w tkankach bogatych w keratynę oraz w wątrobie. Wydalany jest głównie z moczem w postaci kwasu metyloarsonowego (MMA), dimetyloarsenowego (DMA) oraz arsenu niezwiązanego [41,44].

Arsen zalicza się do głównych i jednych z bardziej toksycznych metali zanieczyszczających pigmenty kosmetyczne. Według badań przeprowadzonych w Arabii Saudyjskiej poziomy tego pierwiastka w tuszach do rzęs i cieniach do powiek były stosunkowo niskie i nigdy nie przekroczyły sugerowanych dla zanieczyszczeń limitów stężeń [45,46,47]. Jednakże w innych badaniach wykonanych w Kanadzie wykazano przekroczenie dopuszczalnych limitów [2]. Ze względu na kancerogenne właściwości zakazane jest celowe dodawanie arsenu do produktów kosmetycznych w UE, Kanadzie i Stanach Zjednoczonych, a także w innych państwach, które wykorzystują ustawodawstwa tych krajów [48].

### Kadm

Kadm jest metalem ciężkim często wykrywanym w niektórych naturalnych barwnikach stosowanych do wyrobu kosmetyków. Występuje w szminkach, cieniach do powiek oraz pudrach do twarzy jako pigment o barwie od głębokiej żółci do pomarańczowego. Kosmetyki zawierające w swoim składzie ten toksyczny pierwiastek produkowane są m.in. w: USA, Anglii, Francji, Korei, Chinach, Tajwanie [49,50]. Przeprowadzono szereg badań nad jego zawartością zarówno w preparatach do makijażu, jak również kosmetykach pielęgnacyjnych np. szampony, kremy, mydła. W Iranie poddano analizie 50 próbek, barwionych różnymi pigmentami, szminek i cieni do powiek najczęściej używanych marek. Badano szminki o kolorach: ciemny brąz, miedziany, pomarańczowy, różowy i fioletowy oraz cienie w kolorach: niebieskim, zielonym i złotym. We wszystkich badanych próbkach wykryto kadm w różnym zakresie stężeń. Największą ilość zawierały szminki barwy miedzianej. Natomiast w przypadku cieni najwyższe stężenie zaobserwowano w preparatach o kolorze złota. Z uzyskanych wyników można wywnioskować, iż rodzaj stosowanego pigmentu istotnie wpływa na poziom kadmu w kosmetykach kolorowych [36]. Stężenia kadmu zazwyczaj nie osiągają wysokich wartości. W badaniach prowadzonych na zlecenie amerykańskiej agencji FDA w 150

produktach kosmetycznych (cienie do powiek, róże do policzków, pomadki, tusze do rzęs, podkłady, pudry w proszku i kompaktowe, kremy do golenia i farby do twarzy) analizowano próbki na zawartość arsenu, kadmu, chromu, kobaltu, ołowiu, niklu i rtęci. Mediany wartości stężeń uzyskanych dla kadmu i rtęci mieściły się poniżej granicy wykrywalności stosowanych metod [51].

Zatrucie ostre kadmem charakteryzuje się przede wszystkim krótkim oddechem, gorączką i ogólnym osłabieniem. W ciężkich przypadkach pojawia się niewydolność oddechowa często prowadząca do zgonu. Objawy te występują najczęściej nawet po 24 godzinach od ekspozycji. Przypadkowe spożycie większych ilości kadmu prowadzi do podrażnienia żołądka charakteryzującego się wymiotami i biegunką. Natomiast zatrucie przewlekłe (około roku) przebiega często bezobjawowo. Początkowymi symptomami kadmicy są m.in.: metaliczny posmak oraz suchość w jamie ustnej, brak łaknienia, ogólne osłabienie [52]. Natomiast przy długiej ekspozycji może pojawić się działanie niepożądane w postaci podrażnienia skóry [49,53]. Ponieważ pierwiastek ten wykazuje działanie teratogenne oraz wpływa na opóźnienie wzrostu i utratę masy ciała, długoterminowe stosowanie kosmetyków przez kobiety w ciąży niesie za sobą poważne konsekwencje dla płodu. Absorpcja kadmu przez skórę jest niewielka, wynosi około 0,5%. Z badań wynika, iż w produktach kosmetycznych znajduje się niewielka ilość tego metalu, ale jego stopniowe uwalnianie wywiera niekorzystny wpływ na organizm człowieka.

Międzynarodowa Agencja Badań nad Rakiem (IARC) sklasyfikowała kadm(II), jako substancję rakotwórczą i zaliczyła do klasy I substancji kancerogennych. Zwyrodnienie jego oparów przez ludzi narażonych zawodowo przyczynia się do wystąpienia raka płuc, bądź gruczołu krokowego. Działa również toksycznie na naczynia krwionośne, serce, nerki, płuca, mózg oraz układ odpornościowy [54].

Kadm wpływa na metabolizm wapnia i fosforu w kościach. Wiąże się to z większym prawdopodobieństwem wystąpienia demineralizacji kości, osteoporozy, jak również zwiększoną łamliwością kości. Przykładem jest choroba Itai-Itai, która w 1964 roku występowała w dorzeczu rzeki Jinzu w Japonii. Charakteryzowała się bólem kości, ich nadmierną łamliwością oraz zniekształceniem kręgosłupa.

## Inne metale

Na jakość produktu, a tym samym na bezpieczeństwo konsumentów wpływa również wiele innych pierwiastków metalicznych. Do surowców zawierających metale dopuszczonych do stosowania w kosmetykach należy m.in. zielony tlenek i wodorotlenek chromu(III). Zdarza się, iż dodatkowo w kolorowych kosmetykach np. w cieniach do powiek może być obecny sześciowartościowy chromian i nikiel w stężeniach przekraczających normę [55]. Oba metale mogą być przyczyną alergicznego kontaktowego zapalenia powiek. Również kobalt przyczynia się do powstania reakcji alergicznych, wywołanych stosowaniem kosmetyków. Opisano przypadek wystąpienia wyprysku dłoni, spowodowanego obecnością kobaltu w kremach do masażu twarzy [56,57].

Obecnie coraz szersze zastosowanie w produktach kosmetycznych mają nanocząstki, struktury o wielkości do 100 nm. Ze względu na specyficzne właściwości bezpieczeństwo ich stosowania jest kontrowersyjne. Tlenki metali (tytanu i cynku) w skali nano- charakteryzują się znaczną aktywnością. Wykorzystywane są przy produkcji fizycznych filtrów przeciwsłonecznych, poprawiają skuteczność działania preparatów oraz zwiększają ich trwałość. Obok szeregu korzyści stosowanie nanocząstek obarczone jest pewnym ryzykiem. Ze względu na bardzo małe rozmiary niezauważalnie pokonują skórę i bariery ustrojowe człowieka, a następnie przenikają do różnych narządów, mogąc w konsekwencji doprowadzić do uszkodzenia struktur komórkowych i DNA [58,59].

Działanie toksyczne nanocząstek charakteryzuje się głównie wywoływaniem stanu zapalnego, będącego wynikiem najprawdopodobniej stresu oksydacyjnego. Badania *in vitro* wykazały także działania mutagenne. Źródłami nanomateriałów mogącymi przypadkowo przedostać się do przewodu pokarmowego są: kremy przeciwsłoneczne, szminki, kremy do twarzy, pasty do zębów. Pomimo szerokiego wykorzystania dwutlenku tytanu (TiO<sub>2</sub>) i tlenku cynku (ZnO) w produkcji kosmetyków, niewiele jest dostępnych badań na temat narażenia dermalnego. Zastosowanie nanocząstek w kosmetykach powinno być indywidualnie oceniane dla każdego przypadku, biorąc pod uwagę takie czynniki jak: wielkość, kształt, dyspersja, cechy fizyczne i chemiczne wykorzystywanych nanomateriałów oraz ich interakcje z komórkami [60,61]

## Limity zanieczyszczeń oraz wymagania dotyczące kosmetyków

Ostateczna odpowiedzialność za zapewnienie bezpieczeństwa i zgodności z normami danego kosmetyku leży po stronie podmiotu (producenta, dystrybutora lub importera) odpowiedzialnego za wyprodukowanie i wyroba na rynek. W celu zapewnienia bezpieczeństwa konsumentom konieczna jest odpowiednia kontrola śladowych ilości związków obecnych w kosmetykach. Należą do nich m.in. metale. Według prawnych uregulowań część z metali jest dopuszczona jako zanieczyszczenia produktów kosmetycznych, zgodnie z zasadami dobrej praktyki wytwarzania. Agencje rządowe ustaliły limity jedynie dla niektórych metali (np. kadmu, arsenu, ołowiu), natomiast dla innych, tj. kobalt, chrom, nikiel, regulacji tego typu nadal brakuje. Dopuszczalne limity zanieczyszczeń w postaci metali ciężkich różnią się w zależności od:

- ilości użytego kosmetyku,
- miejsca aplikacji (usta, dłonie),
- populacji zainteresowania (na przykład małe dzieci są bardziej podatne na toksyczność ze strony metali niż dorośli),
- częstotliwości z jaką nakładany jest preparat [56].

Ocena absorpcji przez skórę danego składnika produktu kosmetycznego jest jednak złożona i zależy od wielu czynników m.in. od: stężenia, ilości zastosowanego produktu, czasu pozostawienia na skórze, obecności środków modyfikujących [62].

Rodzaj i ilość związków metali i zanieczyszczeń w składzie preparatów kosmetycznych i jest regulowana odpowiednimi aktami prawnymi. Ustawodawstwo kosmetyczne UE oparte jest na Rozporządzeniu Parlamentu Europejskiego i Rady (WE) nr 1223/2009 z dnia 30 listopada 2009 r., które obowiązuje od 2013 roku, mówi m.in. o tym, iż producenci są odpowiedzialni za zapewnienie, że produkty kosmetyczne przed wprowadzeniem na rynek podlegają kontroli jakości zgodnie z prawem [1]. Przepisy prawne Unii Europejskiej nie regulują szczegółowo maksymalnych ilości metali, jakie można stosować w produktach kosmetycznych. Wyjątek stanowią m.in. organiczne związki rtęci, mogące wchodzić w skład kosmetyków do pielęgnacji oczu jako środki konserwujące. Należą do nich tiomersal (Thiomersal) oraz sole fenylortęciowe łącznie z boranem (Phenyl Mercuric Acetate, Phenyl

Mercuric Benzoate), które dopuszczono do stosowania w stężeniu równym, bądź mniejszym niż 0,007% w przeliczeniu na rtęć. Związki te mogą być zastosowane wyłącznie w preparatach do makijażu i demakijażu oczu. Produkty zawierające tego rodzaju konserwanty powinny mieć oznaczenia: „zawiera tiomersal” lub „zawiera związki fenylortęciowe”. Dopuszczono również używanie metali jako pigmentów np. niektórych związków chromu(III) pod warunkiem, że nie posiadają wolnych jonów. Rozporządzenie podaje także listę substancji, które UE zabroniła stosować w kosmetykach we wszystkich krajach członkowskich. Niedozwolone jest wykorzystywanie 1328 substancji chemicznych takich jak:

- arsen i jego związki,
- kadm i jego związki,
- nikiel i jego związki (siarczan nikielu, diwodortlenek nikielu, węglan nikielu),
- ołów i jego związki,
- rtęć i jej związki, z wyjątkiem konserwantów wymienionych na liście składników do stosowania w produktach kosmetycznych,
- chrom, kwas chromowy oraz jego sole,
- antymon oraz jego związki.

Prawo Wspólnoty Europejskiej jest odrębnym systemem prawnym, który ma charakter nadrzędny w stosunku do prawa obowiązującego w poszczególnych krajach członkowskich. Podana lista substancji niedozwolonych do stosowania w kosmetykach obowiązuje w Polsce i we wszystkich państwach Wspólnoty Europejskiej. W niektórych krajach istnieją dodatkowe uwarunkowania prawne. Jednym z krajów członkowskich, który ustalił limity zanieczyszczeń metali ciężkich w kosmetykach są Niemcy. Zostały ustalone na takich poziomach, które można technicznie uniknąć, a stężenia metali nie mogą być większe niż przedstawione w tabeli 1.

W Stanach Zjednoczonych kosmetyki podlegają Federalnej Ustawie o Żywności, Lekach

i Kosmetykach (Federal Food, Drug and Cosmetics Act – FD&C Act) [63]. Ustawa ta zabrania używania jakiegokolwiek produktu lub składnika, który jest trującą substancją, bądź wykazuje szkodliwe działanie w warunkach użytkowania określonych na opakowaniu. Przestrzeganie tych przepisów nadzoruje amerykańska agencja rządowa – Agencja Żywności i Leków (FDA), jednak w przeciwieństwie do leków, kosmetyki i ich składniki nie podlegają zatwierdzeniu przed wprowadzeniem na rynek. Wyjątek stanowią dodatki kolorystyczne, dla których podano limity zawartości metali obecnych w barwnikach dopuszczonych do stosowania w kosmetykach. FDA odnosi się do śladowych ilości zanieczyszczeń w kosmetykach na podstawie indywidualnego przypadku. W większości preparatów dla rtęci wyznaczyła limit 1 ppm. Natomiast zawartość związków rtęci obecnych w przeznaczonych do makijażu i demakijażu oczu kosmetykach nie może przekraczać wartości 65 ppm. Ponadto FDA ustanowiła specyfikacje dla ołowiu, arsenu i rtęci w większości dodatków kolorystycznych, będących pochodnymi ropy naftowej jak i otrzymywanych z minerałów, źródeł roślinnych i zwierzęcych [63,64].

Według FDA w warunkach dobrej praktyki wytwarzania – zanieczyszczenia śladowymi ilościami ołowiu są nieuniknione [50]. Ponieważ agencja ta nie ustaliła dopuszczalnej ilości ołowiu w szminkach, dlatego Kampania na rzecz Bezpiecznych Kosmetyków (Campaign for Safe Cosmetics; CSC) oceniała swoje wyniki badań, dotyczące zawartości ołowiu w markowych szminkach, na podstawie ustalonego przez FDA limitu dla słodczy (dopuszczalna zawartość – 0,1 ppm) [32]. Według FDA postępowanie takie jest nieuzasadnione, ponieważ słodczy jako środki spożywcze mogą być przyjmowane w sposób regularny. Natomiast szminka jest produktem stosowanym miejscowo i spożywana może być w znacznie mniejszych ilościach niż słodczy [33].

W Kanadzie z powodu ryzyka spowodowania szkód wiele metali ciężkich nie jest dopuszczonych do wykorzystania jako składniki produktów kosmetycznych. Zasady te są określone w podstawowym akcie prawnym Food and Drugs Act (F&DA) regulującym kwestie dystrybucji kosmetyków. Według głównych założeń nie można sprzedawać produktu, zawierającego jakiegokolwiek substancję, które mogłyby powodować podczas jego wykorzystywania szkody dla zdrowia użytkownika. Zabronione jest również

**Tabela 1. Limity zanieczyszczeń metalicznych w kosmetykach [62].**

Metal	Niemcy	Kanada
Arsen	5 ppm	3 ppm
Kadm	5 ppm	3 ppm
Rtęć	1 ppm	3 ppm
Antymon	10 ppm	5 ppm

wprowadzenie do dystrybucji preparatów mających w składzie jakiegokolwiek ciała obce, dużą lub niewielką część substancji ulegającej rozkładowi, bądź tych, które zostały wyprodukowane, przetwarzane, konserwowane, pakowane lub przechowywane w niehigienicznych warunkach [65]. Nacisk kontroli położony jest głównie na silnie toksyczne metale ciężkie. Według regulacji prawnych obowiązujących w Kanadzie zanieczyszczenia kosmetyków metalami, powinny być zmniejszane na tyle, na ile jest to technicznie wykonalne [62].

W Indiach obrót kosmetykami i lekami jest regulowany na podstawie ustawy o narkotykach i kosmetykach (Drugs and Cosmetics Act 1940 and Rules 1945), ustanowionej przez parlament. W 2013 roku wprowadzono poprawkę Drugs and Cosmetics (Amendment) Bill, 2013, która zawiera dodatkowo oddzielny rozdział dla przepisów prawnych dotyczących importu, produkcji, sprzedaży, dystrybucji oraz eksportu wyrobów medycznych w Indiach. Według artykułu 134 ustawy dozwolone syntetyczne i naturalne barwniki stosowane w kosmetykach nie mogą zawierać więcej niż:

- 2 ppm arsenu obliczonego jako trójtlenek arsenu,
- 20 ppm ołowiu obliczonego jako ołów,
- 100 ppm metali ciężkich innych niż ołów obliczonych jako suma poszczególnych metali.

Barwniki zawierające takie stężenia metali uważane są za bezpieczne. W artykule 135 ustawy zabroniono importu kosmetyków zawierających ołów lub związki arsenu. Zakazano również produkcji i importu kosmetyków zawierających związki rtęci [66].

Przyjęte w niektórych krajach regulacje prawne, dotyczące zanieczyszczeń metalami ciężkimi kosmetyków, obejmują zazwyczaj te najbardziej toksyczne: rtęć, ołów, arsen i kadm. Dla wielu innych, stwarzających potencjalne ryzyko dla zdrowia konsumentów, nie zostały jak dotąd ustalone normy i standardy postępowania. Biorąc pod uwagę niską świadomość konsumentów należy dążyć do właściwej oceny ekspozycji na te metale i do szerszej popularyzacji wśród społeczeństwa sposobów bezpiecznego stosowania produktów kosmetycznych.

## Resumo

Kombinajo de pezaj metaloj estas inkluditaj en multaj kosmetikajoj kaj dietaj suplementoj. La plej oftaj

metaloj, kiuj poluas kosmetikajn produktojn estas hidrargo, plumbo, kadmio kaj arsenio. La enhavo de toksaj metaloj en kosmetikaj produktoj ĉefe dependas de la uzo de krudmaterialoj netaŭge purigitaj. Malgraŭ multnombraj kontroloj de la produkta procezo faritaj laŭ produktad-sistemo konforme al la principo de Bona Produktada Praktiko (GMP), tiuj kemiaj elementoj oni trovas ankoraŭ eĉ en la plej bonakvalitaj produktoj. Metaloj poluadas kosmetikajojn kiel rezulto de produktadprocezo. Pezaj metaloj kaŭzas aperon de kromefikoj kiel la rezulto de ĝia longdaŭra ekspoziciado. La mekanismo de tokseco rilatas ĉefe al la difekto de ATP kaj proteina sintezo per ŝanĝo de enzima aktiveco, per stimulado de liberaj radikaloj. Metaloj malhelpas inter alie la bonan funkciadon de la organoj, efikas neŭrotoksike, kaŭzas problemojn en lernado kaj konduto, negative influas la bonan funkciadon de la imuna sistemo kaj negative influas la kreskanta fetoj. Ili havas la kapablon amasiĝi en iuj organoj, unuavice en la renoj kaj hepato. La Eŭropa Unio ne reguligas detale la limojn de metalaj koncentriĝoj, sed ekzistas en ĉiuj membroŝtatoj listoj de substancoj malpermesitaj por uzo en kosmetikajoj.

## Piŝmiennictvo

1. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council. November 30, 2009.
2. Bocca, B.; Pino, A.; Alimonti, A.; Forte, G. Regul. Toxicol. Pharmacol. RTP 2014, 68, 447–467.
3. Chan, T. Y. K. Clin. Toxicol. Phila. Pa 2011, 49, 886–891.
4. Olumide, Y. M.; Akinkugbe, A. O.; Altraide, D.; Mohammed, T.; Ahamefule, N.; Ayanlowo, S.; Onyekonwu, C.; Essen, N. Int. J. Dermatol. 2008, 47, 344–353.
5. Stejskal, V.; Hudecek, R.; Stejskal, J.; Sterzl, I. Neuro Endocrinol. Lett. 2006, 27 Suppl 1, 7–16.
6. Zukiewicz-Sobczak, W. A.; Adamczuk, P.; Wróblewska, P.; Zwoliński, J.; Chmielewska-Badora, B.; Krasowska, E.; Galińska, E. M.; Cholewa, G.; Piątek, J.; Koźlik, J. Postępy Dermatol. Alergol. 2013, 30, 307–310.
7. WHO, World Health Organization, 2011. Mercury in skin lightening products. Public Health and Environment, World Health Organization, Geneva, Switzerland.
8. Copan, L.; Fowles, J.; Barreau, T.; McGee, N. Int. J. Environ. Res. Public Health 2015, 12, 10943–10954.
9. Park, J.-D.; Zheng, W. J. Prev. Med. Pub. Health 2012, 45, 344–352.
10. Hu, Z.-M.; Zhou, Q.; Lei, T.-C.; Ding, S.-F.; Xu, S.-Z. J. Dermatol. Sci. 2009, 55, 179–184.
11. Peregrino, C. P.; Moreno, M. V.; Miranda, S. V.; Rubio, A. D.; Leal, L. O. Int. J. Environ. Res. Public.



- Health 2011, 8, 2516–2523.
12. Gbetoh, M. H.; Amyot, M. *Environ. Res.* 2016, 150, 403–410.
  13. Baum, C. R. *Clin. Pediatr. Emerg. Med.* 2012, 13, 324–330.
  14. Axelrad, D. A.; Bellinger, D. C.; Ryan, L. M.; Woodruff, T. J. *Environ. Health Perspect.* 2007, 115, 609–615.
  15. Al-Saleh, I. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 2016, 219, 468–474.
  16. Misterska, M.; Walkowiak, H.; Silny, W.; Czarnecka-Operacz, M.; Żaba, R. *Adv. Dermatol. Allergol. Dermatol. Alergol.* 2010, XXVII, 504–510.
  17. Miller, S.; Pallan, S.; Gangji, A. S.; Lukic, D.; Clase, C. M. *Am. J. Kidney Dis. Off. J. Natl. Kidney Found.* 2013, 62, 135–138.
  18. Washam, C. *Environ. Health Perspect.* 2011, 119, A80–A81.
  19. Jaishankar, M.; Tseten, T.; Anbalagan, N.; Mathew, B. B.; Beeregowda, K. N. *Interdiscip. Toxicol.* 2014, 7, 60–72.
  20. Flora, G.; Gupta, D.; Tiwari, A. *Interdiscip. Toxicol.* 2012, 5, 47–58.
  21. Dobrakowski, M.; Kiełtucki, J.; Wyparło-Wszelaki, M.; Kasperczyk, S. *Med. Śr. - Environ. Med.* 2013, 16, 42–46.
  22. WHO | Lead poisoning and health <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs379/en/> (accessed Nov 23, 2016).
  23. Mason, L. H.; Harp, J. P.; Han, D. Y. *BioMed Res. Int.* 2014, 2014, 1–8.
  24. Tchounwou, P. B.; Yedjou, C. G.; Patlolla, A. K.; Sutton, D. J. *EXS* 2012, 101, 133–164.
  25. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2010)- Toxic Substances - Lead <https://www.atsdr.cdc.gov/substances/toxsubstance.asp?tox-id=22> (accessed Nov 25, 2016).
  26. Wani, A. L.; Ara, A.; Usmani, J. A. *Interdiscip. Toxicol.* 2015, 8.
  27. World Health Organization. 2010.
  28. Horton, L. M.; Mortensen, M. E.; Iossifova, Y.; Wald, M. M.; Burgess, P. *Int. J. Pediatr.* 2013, 2013, 1–13.
  29. Kim, H.-C.; Jang, T.-W.; Chae, H.-J.; Choi, W.-J.; Ha, M.-N.; Ye, B.-J.; Kim, B.-G.; Jeon, M.-J.; Kim, S.-Y.; Hong, Y.-S. *Ann. Occup. Environ. Med.* 2015, 27.
  30. D'Souza, H. S.; Menezes, G.; Venkatesh, T. *Indian J. Clin. Biochem.* 2003, 18, 154–160.
  31. US EPA, O. Learn about Lead <https://www.epa.gov/lead/learn-about-lead> (accessed Nov 23, 2016).
  32. Al-Saleh, I.; Al-Enazi, S.; Shinwari, N. *Regul. Toxicol. Pharmacol. RTP* 2009, 54, 105–113.
  33. Al-Dayel, O.; Hefne, J.; Al-Ajyan, T. *Orient J Chem* 2011, 27, 01-11.
  34. Zakaria, A.; Ho, Y. B. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015, 73, 191–195.
  35. Nutrition, C. for F. S. and A. Products - Lipstick & Lead: Questions & Answers <http://www.fda.gov/cosmetics/productsingredients/products/ucm137224.htm#analyses> (accessed Nov 25, 2016).
  36. Nourmoradi, H.; Foroghi, M.; Farhadkhani, M.; Vahid Dastjerdi, M.; Nourmoradi, H.; Foroghi, M.; Farhadkhani, M.; Vahid Dastjerdi, M. *J. Environ. Public Health J. Environ. Public Health* 2013, 2013, 1–5.
  37. Piccinini, P.; Piecha, M.; Torrent, S. F. J. *Pharm. Biomed. Anal.* 2013, 76, 225–233.
  38. Uddin, R.; Huda, N. H. *Oman Med. J.* 2011, 26, 207.
  39. Ratnaik, R. N. *Postgrad. Med. J.* 2003, 79, 391–396.
  40. Kumar, S.; Diwan, S.; Dekate, M.; Goyal, S. *Our Dermatol. Online* 2013, 4, 382–382.
  41. Singh, A. P.; Goel, R. K.; Kaur, T. *Toxicol. Int.* 2011, 18, 87–93.
  42. Shen, S.; Li, X.-F.; Cullen, W. R.; Weinfeld, M.; Le, X. C. *Chem. Rev.* 2013, 113, 7769–7792.
  43. Zhao, F.; Severson, P.; Pacheco, S.; Futscher, B. W.; Klimecki, W. T. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2013, 271, 72–77.
  44. Bizoń, A.; Andrzejewska, A.; Milnerowicz, H. *Med. Śr. - Environ. Med.* 2013, 16, 47–54.
  45. Salama, A. K. *Environ. Monit. Assess.* 2016, 188, 553.
  46. Sainio, E. L.; Jolanki, R.; Hakala, E.; Kanerva, L. *Contact Dermatitis* 2000, 42, 5–10.
  47. Sneyers, L.; Verheyen, L.; Vermaercke, P.; Bruggeman, M. J. *Radioanal. Nucl. Chem.* 2009, 281, 259–263.
  48. IARC, International Agency for research on Cancer. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Arsenic, Metals, Fibres and Dusts; Vol. Volume 100C.
  49. Chauhan, A. S.; Bhadauria, R.; Singh, A. K.; Lodhi, S. S.; Chaturvedi, D. K.; Tomar, V. S. J. *Chem. Pharm. Res.* 2010, 2, 92–97.
  50. Ziarati, P.; Moghimi, S.; Arbabi-Bidgoli, S.; Qomi, M. *Int. J. Chem. Eng. Appl.* 2012, 450–452.
  51. Hepp, N. M.; Mindak, W. R.; Gasper, J. W.; Thompson, C. B.; Barrows, J. N. J. *Cosmet. Sci.* 2014, 65, 125–145.
  52. Czacot, H.; Majewska, M. *Farm. Pol.* 2010, 66, 243–250.
  53. Nnorom, I. C.; Igwe, J. C.; Oji-Nnorom, C. G. *Afr. J. Biotechnol.* 2005, 4, 1133–1138.
  54. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, No. 100C. Cadmium and cadmium compounds; No. 100C; International Agency for Research on Cancer, 2012.
  55. Ma'or, Z.; 'evi; Halicz, L.; Portugal-Cohen, M.;

- Russo, M. Z.; Robino, F.; Vanhaecke, T.; Rogiers, V. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2015, 73, 797–801.
56. Orisakwe, O. E.; Otaraku, J. O. *Sci. World J.* 2013, 2013, 1–7.
57. Sipahi, H.; Charehsaz, M.; Güngör, Z.; Erdem, O.; Soykut, B.; Akay, C.; Aydin, A. J. *Cosmet. Sci.* 2015, 66, 313–323.
58. Raj, S.; Jose, S.; Sumod, U. S.; Sabitha, M. J. *Pharm. Bioallied Sci.* 2012, 4, 186–193.
59. Wright, P. F. *Med. J. Aust.* 2016, 204, 369–370.
60. Fröhlich, E.; Roblegg, E. *Toxicology* 2012, 291, 10–17.
61. Guix, M.; Carbonell, C.; Comenge, J. *Contrib. Sci.* 2008, No. 4, 213–217.
62. Government of Canada, H. C. *Guidance on Heavy Metal Impurities in Cosmetics* [Health Canada, 2012] [http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/indust/heavy\\_metals-metiaux\\_lourds/index-eng.php#f17](http://www.hc-sc.gc.ca/cps-spc/pubs/indust/heavy_metals-metiaux_lourds/index-eng.php#f17) (accessed Jul 18, 2016).
63. Commissioner, Office of the Federal Food, Drug, and Cosmetic Act (FD&C Act) <http://www.fda.gov/regulatoryinformation/legislation/federalfooddrugandcosmeticactfdact/default.htm> (accessed Nov 27, 2016).
64. ICCR Working Group on Traces. 2011.
65. Branch, L. S. *Consolidated federal laws of Canada, Food and Drugs Act* <http://laws-lois.justice.gc.ca/eng/acts/f-27/page-2.html#h-7> (accessed Nov 21, 2016).
66. Government of India. *The Drugs and Cosmetics Rules, 1945* <https://indiankanon.org/doc/16293633/> (accessed Nov 27, 2016).