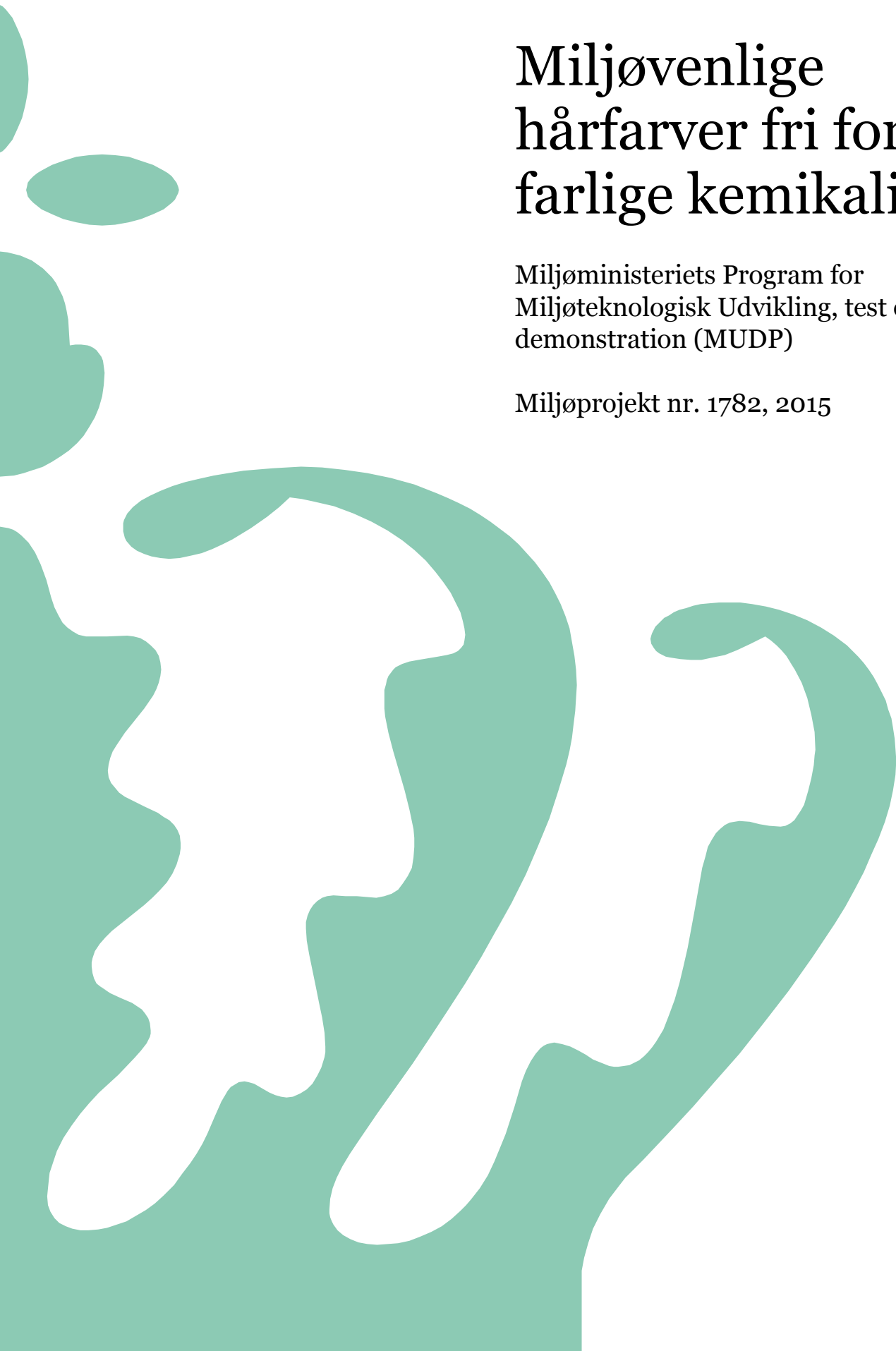


Miljøvenlige hårfarver fri for farlige kemikalier

Miljøministeriets Program for
Miljøteknologisk Udvikling, test og
demonstration (MUDP)

Miljøprojekt nr. 1782, 2015



Titel:

Miljøvenlige hårfarver fri for farlige kemikalier

Redaktion:

Sie Woldum Tordrup, Teknologisk Institut
Jens Bomholdt Ravnsbæk, Teknologisk Institut
Karen Krzywkowski, Teknologisk Institut
Dorte Falengreen, By Falengreen
Lene Rishede, Aarhus Tech

Udgiver:

Miljøstyrelsen
Strandgade 29
1401 København K
www.mst.dk

Foto:

Teknologisk Institut

Illustration:

Teknologisk Institut

År:

2015

ISBN nr.

978-87-93352-62-9

Ansvarsfraskrivelse:

Miljøstyrelsen vil, når lejligheden gives, offentliggøre rapporter og indlæg vedrørende forsknings- og udviklingsprojekter inden for miljøsektoren, finansieret af Miljøstyrelsens undersøgelsesbevilling. Det skal bemærkes, at en sådan offentliggørelse ikke nødvendigvis betyder, at det pågældende indlæg giver udtryk for Miljøstyrelsens synspunkter. Offentliggørelsen betyder imidlertid, at Miljøstyrelsen finder, at indholdet udgør et væsentligt indlæg i debatten omkring den danske miljøpolitik.

Må citeres med kildeangivelse.

Indhold

Forord	5
Konklusion og sammenfatning	6
Summary and Conclusion	9
1. Indledning	12
1.1 Baggrund	12
1.2 Projektets partnere	13
1.3 Formål	13
2. Teknologier til farvning af hår	14
2.1 Teknologien bag traditionelle hårfarver på markedet.....	14
2.2 Reaktive farver	15
2.3 In situ-dannelse af farvestoffer	16
2.4 Opsummering af udvalgte teknologier, farvestoffer og katalysatorer	18
3. Toksikologiske overvejelser	19
3.1 Induktion af kontaktallergi.....	19
3.2 Toksikologiske overvejelser i forbindelse med reaktive hårfarver	20
3.2.1 Toksikologisk vurdering af to reaktive molekyler til syntese af reaktive hårfarver	20
3.2.2 Toksikologisk vurdering af tre farvermolekyler til syntese af reaktive hårfarver	21
3.2.3 Sammenfatning af den toksikologiske vurdering af reaktive hårfarver.....	22
3.3 Toksikologiske overvejelser i forbindelse med in situ-dannelse af hårfarve.....	22
3.3.1 Toksikologiske overvejelser vedrørende katalysatorerne.....	22
3.3.2 Toksikologiske overvejelser vedrørende farvestoffer	23
3.3.3 Sammenfatning af den toksikologiske vurdering af in situ-dannelse af hårfarve	25
4. Teknologisk udvikling af nye miljøvenlige hårfarver	26
4.1 Teknologisk udvikling.....	26
4.2 Prototype og formuleringsmuligheder	32
4.3 Fagteknisk evaluering af in situ-katalyseret hårfarve	33
4.3.1 Sammenfatning af fagteknisk vurdering.....	36
4.4 Forsøg med forpigmentering med henblik på øget intensitet.....	36
4.5 Fagteknisk evaluering af forpigmenterede tresser farvet med in situ- farvedannende hårfarver	38
4.6 Toksikologiske overvejelser omkring prototypeformulering til in situ-dannelse af hårfarve	39
4.7 Sammenfatning og konklusion på udvikling af in situ-dannelse af hårfarve.....	40
5. Konklusion og perspektivering af projektets resultater	41
5.1 Mulighed for udbygning af farvespektret inden for in situ-farvning.....	41
5.2 Næste trin i produktudviklingen	42
5.3 Overordnet konklusion på projektets resultater	44
Liste over forkortelser	45

Referencer46

Forord

I denne rapport redegøres for resultaterne af udviklingsprojektet ”Miljøvenlige hårfarver fri for farlige kemikalier”.

Projektet er gennemført i perioden februar 2013- april 2015 og har i 2012 modtaget tilskud under Miljøministeriets Program for Miljøteknologisk Udvikling, test og demonstration (MUDP).

I rapporten anvendes efter ønske fra den deltagende virksomhed en kodning af udvalgte stoffer, som er vurderet under udviklingsforløbet. De kemiske strukturer af disse er kendt af projektets partnere og Miljøstyrelsen, men hemmeligholdes med henblik på at beskytte det forretningsmæssige potentiale af de udviklede prototyper.

Projektets fremdrift er fulgt af en følgegruppe bestående af:

Lærke Ambo Nielsen, Miljøstyrelsen (nu fratrådt)
Heidi Søsted, Videncenter for Frisører og Kosmetikere (nu fratrådt)
Jeanne Duus Johansen, Videncenter for Allergi
Marianne Klitgaard Würtz, Aarhus Tech
Dorte Falengreen, By Falengreen
Sie Woldum Tordrup, Teknologisk Institut
Karen Krzywkowski, Teknologisk Institut (nu fratrådt)
Jens Bomholdt Ravnsbæk, Teknologisk Institut
Bettina Ørsnes Larsen, Miljøstyrelsen

Konklusion og sammenfatning

Udvikling af en ny hårfarve med færre problematiske kemikalier

Teknologisk Institut har i perioden 2012-2015 i samarbejde med By Falengreen og AarhusTech arbejdet med en ny hårfarveteknologi. Den teknologiske udvikling gennemført i projektet har vist, at dannelse af hårfarve ved anvendelse af én udvalgt katalysator samt tre farvestoffer er mulig såvel i opløsning som på afklippet, afbleget menneskehår. Baseret på en gennemgang af klassificeringer og videnskabelig litteratur omkring de toksikologiske egenskaber af de anvendte kemikalier anses anvendelsen af den nye teknologi for at være en forbedring i forhold til anvendelsen af eksisterende produkter med indhold af para-phenylendiamin (PPD) og para-toluendiamin (PDT). Der er dog behov for mere dybdegående vurdering af datamaterialet samt en videreudvikling af produktet, men de opnåede resultater i indeværende projekt virker lovende.

Baggrund

Hårfarver er en gruppe af kosmetiske produkter, som jævnligt er i fokus, da de ofte indeholder problematiske kemikalier, herunder flere potente allergener. Disse problematiske kemikalier kan påvirke de frisører, som dagligt arbejder med dem, kunderne i frisørsalonerne, privatpersoner, som farver hår hjemme, og det omgivende miljø.

Formål

Projektets formål har været at udvikle allergivenlige alternativer til eksisterende hårfarveprodukter, som er helt eller delvis fri for sundheds- og miljøskadelige stoffer. Specielt har der været fokus på at substituere stoffer, som allerede er bekræftede allergener med mindre problematiske stoffer. Særligt fokus er lagt på substitutionen af para-phenylendiamin (PPD) og para-toluendiamin (PDT), da disse stoffer i faglitteraturen anses for at kunne udløse allergiske reaktioner. Målet er at udvikle en hårfarve, som potentielt kan nedsætte såvel professionelle frisørers som privatpersoners eksponering for problematiske kemikalier og samtidig sikre mindre udledning af skadelige stoffer til vandmiljøet i forbindelse med hårfarvning.

Kendte teknologier til farvning af hår og valg af udviklingsfokus

Baseret på litteraturstudiet af alternative teknologier til hårfarvning er der identificeret en lang række undersøgte teknologier inden for området. Ud fra dette studie er to teknologier udvalgt til nærmere undersøgelse. Disse bygger på idéerne inden for hhv. in situ-dannelse af hårfarve og farvning med reaktive hårfarver. Begge teknologier virker ifølge litteraturen lovende, men ikke uden udfordringer.

In situ farve: Dannelsen af farvestoffer i håret (in situ) minder i udgangspunktet om den proces, der anvendes i dag, hvor udgangsstofferne reagerer og danner uopløselige farvestoffer, som fanges i eller på håret. In situ dannelse af hårfarve kan ifølge litteraturen opnås ved at anvende udgangsstoffer som er mindre problematiske kemikalier end PPD og PDT som anvendes i dag. Endvidere kan anvendes forskellige katalysatorer til at accelerere farvedannelsen under hårfarvning.

Reaktiv farve: En reaktiv farve er et farvestof, som ved en kemisk reaktion sættes fast på et substrat via en kovalent binding. Fordelen ved reaktive farver er, at farven danner en stærk kemisk binding til hårets proteiner, hvorved farven får en god farvebestandighed. Reaktive farver har i en årrække været anvendt inden for tekstilindustrien til farvning af fx bomuld og uld, og der er tidligere gjort

forsøg på at anvende teknologien til farvning af hår, dog uden at det har resulteret i kommercielle hårfarver.

En række kemiske stoffer er udvalgt inden for hver af de to teknologier, som anses for anvendelige i afprøvning af teknologiens potentiale. To reaktive funktionelle grupper som forventes at være anvendelige til syntese af reaktive farvestoffer er valgt. Disse kan teoretisk set kobles med udvalgte naturligt forekommende farvestoffer. Til in situ-dannelse af hårfarve blev fem farvestoffer samt tre katalysatorer, som fremmer dannelsen af hårfarven, valgt. De udvalgte stoffer blev derefter gennemgået med hensyn til viden omkring de toksikologiske effekter i relation til hårfarvning.

Toksikologiske overvejelser om anvendelse af ny teknologi

Generelt vurderes katalysatorerne anvendt til in situ-dannelse af hårfarve at have et meget lavt toksikologisk potentiale, ud over en mulig inhalatorisk sensibilisering. Der er endvidere udført en række forsøg med katalysatorerne, der samlet set viser en lav akut oral, dermal, og inhalatorisk toksicitet i rotter. I kaniner er katalysatorerne fundet ikke at være hud- eller øjenirriterende. Det sensibiliserende potentiale af katalysatorerne vurderes lavt ud fra humane forsøg (HRIPT). Katalysatorerne er desuden ikke fundet at være genotoksiske. Fire af de fem vurderede farvestoffer har umiddelbart meget begrænset toksicitet med et enkelt farvestof som undtagelse, hvorfor denne ikke indgår i det eksperimentelle arbejde. De fire farvestoffer, der arbejdes videre med, har en væsentlig forbedret toksikologisk profil sammenlignet med PPD og PTD.

En anbefalet strategi for syntese af reaktive hårfarver er, at generere molekyler med en molekylvægt >1000 Da for at minimere risikoen for, at stoffet kan trænge gennem huden og efterfølgende initiere hudsensibilisering. Synteseudvikling, karakterisering og eventuel oprensning af nye molekyler er dog en omkostningstung og langvarig proces, som det ikke anses for realistisk at gennemføre tilfredsstillende inden for dette projekts rammer. Derfor arbejdes udelukkende videre med udvikling indenfor in situ-dannelse af hårfarve.

Udvikling af ny hårfarve og fagteknisk vurdering

Ved anvendelse af den valgte katalysator og de tre udvalgte farvestoffer er to prototypeformuleringer til farvning af menneskehår udviklet. Parametrene temperatur, pH, tid, koncentration af katalysator og farvestof er undersøgt og optimeret indledningsvis i opløsning, hvor en tydelig farveudvikling er set. Efterfølgende er en brun og rød formulering testet på afklippet menneskehår, hvor der er foretaget yderligere optimering af hhv. påføringsmetode og formuleringsegenskaber.

Prototypeformuleringerne er anvendt til farvning af en række afklippede, afblegede hårtrenser. Disse er bestandighedstestet mod hhv. op til 10 gange vask med vand og mod udsættelse af op til fire ugers sollys. Prøverne er før og efter bestandighedstest blevet fagteknisk vurderet i samarbejde med Aarhus Techs faglærere i forhold til relevante evalueringsparametre. Den overordnede konklusion på vurderingen er, at prototypeformuleringerne ikke anses for at give håret en tilstrækkelig farveintensitet og dybde i forhold til kommercielle formuleringer, og en videreudvikling anbefales. Den kemiske påvirkning af håret ved anvendelse af prototypeformuleringerne vurderes dog at være minimal, hvilket er positivt.

Forpigmentering eller gentagne farvninger vil være almindelig praksis, når farvning af et afbleget hår til en langt mørkere nuance, såsom dyb rød eller dyb brun, ønskes. Test med forpigmentering i tre nuancer (gylden, rød og orange) med efterfølgende farvning med de udviklede prototypeformuleringer (brun og rød) har bekræftet, at en forpigmentering kan foretages med eksisterende forpigmenteringsprodukter, og at dette giver en mørkere og dybere farvning af håret.

I forhold til de toksikologiske overvejelser er der ikke inkluderet yderligere stoffer i udviklingen i forhold til den indledende teoretiske undersøgelse. Generelt vurderes katalysatorerne at have et

meget lavt toksikologisk potentiale, ud over en mulig inhalatorisk sensibilisering, som der bør tages højde for i den videre udvikling (fx ved at øge viskositeten af formuleringen og/eller binde katalysatoren til et bærestof). De udvalgte farvestoffer har umiddelbart meget begrænset toksicitet og har en forbedret toksikologisk profil sammenlignet med PPD og PTD. Derfor vurderes in situ-farvning med de udvalgte katalysatorer og farvestoffer på nuværende tidspunkt og ud fra viden gennemgået i projektet (toksikologisk profil, såvel som formuleringens opbygning og anvendelse) at udgøre en forbedring i forhold til farvning med PPD og PTD mht. både allergi, sundhed og miljø.

Mulighederne for at udvide farvespektret ved anvendelse af andre farvestoffer inden for den samme type som de testede anses for realistiske fra et teknisk perspektiv, men vil kræve yderligere produktudvikling, inden målet kan nås.

Konklusion på projektet

Farvning på menneskehår er muligt med den nye in situ farve teknologi, men resultatet ikke så intens og dyb som ønsket, og der ses forskelle bl.a. i forhold til bestandigheden afhængig af de anvendte farvestoffer. Kombination af eksisterende forpigmenteringer på markedet med de nyudviklede farver er mulig og forbedrer intensiteten og dybden af de udviklede farver. Yderligere produktudvikling er anset for nødvendig for at opnå et mere optimalt produkt, særligt med hensyn til farveegenskaber.

En række andre barrierer skal også overvindes for at anvende teknologien kommercielt. Disse omfatter dybere toksikologisk vurdering af de valgte farvestoffer og katalysatorer og eventuelt test af de toksikologiske egenskaber inden en godkendelse af stofferne til brug i hårfarver og endelig sikkerhedsvurdering af produktet, inden det sendes på markedet. Processen forventes at være omfattende, tidskrævende og omkostningstung, men det teknologiske perspektiv på projektets resultater anses for lovende.

Summary and Conclusion

Development of a new hair dye with fewer problematic chemicals

From 2012-2015 and in collaboration with *By Falengreen* and *Aarhus Tech*, Danish Technological Institute worked on the development of a new hair dye technology. The technological development that was carried out in the project showed that it is possible to make a hair dye by using one catalyst and three dye molecules in a solution as well as on cut-off, bleached human hair. Based on a review of classifications and scientific literature regarding the toxicological properties of the chemicals used, the application of the new technology is considered an improvement compared to the use of existing products that have a content of para-phenylenediamine (PPD) and para-toluene diamine (PDT). However, an in-depth assessment of the toxicological data as well as a further technical development of the product are necessary, although the results obtained in this project seem promising.

Background

Hair dyes belong to a group of cosmetic products that frequently are in focus, as they often contain problematic chemicals, including potent allergens. The problematic chemicals can affect the hairdressers who work with the products on a daily basis, their customers, individuals who dye their hair at home and the surrounding environment.

Purpose

The objective of the project was to develop allergy-friendly alternatives to existing hair dyes that are completely or partially free of health and environmentally hazardous substances. Emphasis has been on substituting substances that already are confirmed allergens with less problematic substances. Special focus was on the substitution of para-phenylenediamine (PPD) and para-toluene diamine (PDT) as those substances according to the scientific literature are believed to trigger allergic reactions. The goal is to develop a hair dye that potentially can reduce the exposure of professional hairdressers as well as private individuals to problematic chemicals, and at the same time ensure lower emissions of harmful substances into the aquatic environment when dyeing hair.

Known technologies for hair dyeing and choice of development focus

Based on the literature study of alternative technologies for hair dyeing a wide range of examined technologies were identified in the field. Two technologies were selected for further study. They are based on the concepts of *in situ* formation of hair dye and dyeing with reactive dyes. Both technologies seem promising according to the literature, but challenges exist.

In situ dye: The formation of colour in the hair (*in situ*) in some ways resembles the process used today as the initial substances react and form insoluble dyes that are caught in or on the hair. According to literature, *in situ* formation of hair dye can be obtained by using initial substances that are considered less problematic than the chemicals PPD and PDT that are used today. Furthermore, various catalysts can be used to accelerate the formation of colour during hair dyeing.

Reactive dye: A reactive dye is a dye that through a chemical reaction is attached to a substrate via a covalent bond. The advantage of reactive dyes is that the dye forms a strong chemical bond to the proteins of the hair giving good colour resistance. Reactive colours have been used in the textile industry to dye cotton and wool for a number of years and previous attempts have been made to use the technology for dyeing hair, however, without resulting in commercial hair dyes.

A number of chemical substances were selected for each of the two technologies, which are considered applicable for testing the potential of the technology. Two reactive functional groups, which are expected to be applicable for the synthesis of reactive dyes, were selected. Theoretically, they can be coupled with selected natural dyes. For the *in situ* formation of hair dye, five colours and three catalysts that promote the formation of the dye were chosen. Then the selected substances were evaluated on the basis of the literature knowledge on the toxicological effect related to hair dyes.

Toxicological considerations on the use of new technology

In general, the catalysts used for the *in situ* formation of hair dye are considered to have a very low toxicological potential, in addition to a possible inhalatory sensitization. Moreover, a number of tests were performed on the catalysts, which, overall, show a low acute oral, dermal and inhalatory toxicity in rats. In rabbits, the catalysts were not irritating to the skin or eyes. The sensitizing potential of the catalysts is ranked low from human trials (HRIPT). In addition, the catalysts are not geno toxic. Four out of the five assessed dyes have limited toxicity except for one dye, which is why it does not form part of the experimental work. Further work was carried out on four dyes as they have a significantly improved toxicological profile compared to PPD and PTD.

A recommended strategy for the synthesis of reactive dyes is to generate molecules with a molecular weight > 1000 Da to minimize the risk of the substance penetrating the skin and subsequently leading to skin sensitization. However, synthesis development, characterization and possible purification of new molecules is a costly and lengthy process and it is not considered feasible that it can be performed satisfactorily within the framework of this project. Therefore, only development within the *in situ* formation of hair dye was continued.

Development of new hair dye and specialist assessment

Using the selected catalyst and the three selected dyes, two prototype formulations for dyeing human hair were developed. The following parameters: temperature, pH, time, concentration of catalyst and dye were investigated and optimized initially in a solution, in which a distinct colour formation was seen. Subsequently, a brown and a red formulation were tested on human hair clippings, and further optimization of the application method and formulation properties, respectively, has been carried out.

Prototype formulations were applied to dye a number of bleached hair clippings. The durability of the dye was tested by washing the hair up to 10 times with water and by exposing it to the sun for up to four weeks of sunlight, respectively. Before and after the durability tests, the samples were evaluated in cooperation with teachers at Aarhus Tech on relevant evaluation parameters. The overall conclusion of the assessment is that the prototype formulations do not give the hair a sufficient colour intensity or depth of colour compared to commercial formulations, and further development is recommended. The chemical effect of the hair when using prototype formulations is assessed to be minimal, which is positive.

Pre-pigmentation or repeated dyeing is common practice when the aim is to dye bleached hair to a darker shade, such as deep red or deep brown. Pre-pigmentation tests in three shades (golden, red and orange) with subsequent dyeing with the developed prototype formulations (brown and red) confirmed that pre-pigmentation can be carried out with existing pre-pigmentation products which give a darker and deeper colouring of the hair.

Regarding the toxicological considerations, no additional substances are included in the development compared to the initial theoretical study. Generally, the catalysts are considered to have a very low toxicological potential, in addition to a possible inhalatory sensitization, which should be taken into account in the further development (e.g. by increasing viscosity of the formulation and/or immobilizing the catalyst on a carrier). Immediately, the selected dyes have

very limited toxicity and an improved toxicological profile compared to PPD and PTD. Therefore, *in situ* dyeing with the selected catalyst and dyes and in the light of the knowledge discussed in the project (toxicological profile, as well as the composition of formulation and application) is currently believed to have improved in relation to dyeing with PPD and PTD when allergy, health and the environment are considered.

From a technical perspective, it is believed to be realistic that the colour spectrum can be expanded by using other dye molecules comparable to those that were tested, but further product development is required before the goal can be reached.

Conclusion of the project

Dyeing human hair is possible with the new *in situ* dye technology, but the result is a less intense and less deep colour than desired and differences are observed with respect to the durability of the colour, depending on the dyes used. It is possible to combine existing pre-pigmentations on the market with newly developed dyes, which improves the intensity and the depth of the developed colours. Further product development is considered necessary in order to achieve a more optimal product, particularly with regard to colour properties.

A number of other barriers must be overcome before the technology can be used commercially. They include an in-depth toxicological evaluation of selected dyes and catalysts, possible testing of toxicological properties before the substances can be approved for use in hair dyes, and finally a safety assessment of the product before it is put on the market. The process is expected to be extensive, time-consuming and expensive, but the technological perspective of the project results are considered to be promising.

1. Indledning

1.1 Baggrund

Hårfarver er en gruppe af kosmetiske produkter, som jævnligt er i fokus, da de ofte indeholder problematiske kemikalier, herunder flere potente allergener. Disse problematiske kemikalier kan påvirke de frisører, som dagligt arbejder med dem, kunderne i frisørsalonerne, privatpersoner, som farver hår hjemme, og det omgivende miljø.

De mest problematiske kemikalier findes i permanente hårfarver, men en del af kemikalierne anvendes også i semipermanente farver, dog ofte i lavere koncentrationer. EU's Videnskabelige Komite for Forbrugersikkerhed (VKF) har i 2006 undersøgt 46 hårfarvestoffer og vurderet 10 af dem til at være ekstremt allergifremkaldende, 13 til at være stærkt allergifremkaldende og fire til at være moderat allergifremkaldende (1).

På baggrund af de sundheds- og miljømæssige problemer med stofferne i permanente hårfarver er der et stort behov for at få udviklet mere allergi- og miljøvenlige hårfarver. Samtidig er det meget vigtigt for produkternes markedspotentiale, at der er fokus på at bibeholde funktionalitet og sikre brugervenligheden. De fleste permanente hårfarver på markedet er oxidative farver, hvor tre forbindelser (en developer, en farvecoupler og et oxidationsmiddel) blandes kort før brug. Oxidative farver kan bl.a. indeholde de skadelige forbindelser para-phenylendiamin (PPD) og para-toluendiamin (PTD), se i øvrigt Figur 1. I Tabel 1 findes de harmoniserede klassificeringer for PPD og PDT.

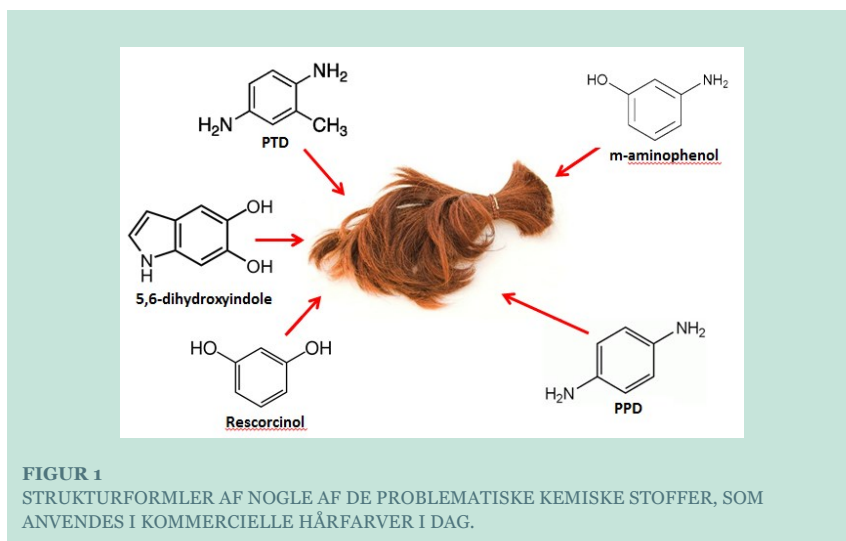
PPD	PTD
Akut toksicitet, oral (kategori 3); H301	Akut toksicitet, oral (kategori 3); H301
Akut toksicitet, dermal (kategori 3); H311	Akut toksicitet, dermal (kategori 4); H312
Akut toksicitet, inhalation (kategori 3); H331	Akut toksicitet, inhalation (kategori 4); H332
Øjenirritation (Kategori 2); H319	Hudsensibilisering (Kategori 1); H317
Hudsensibilisering (Kategori 1); H317	
Farlig for vandmiljøet (Kategori 1); H400, H410	Farlig for vandmiljøet (Kategori 2); H411

TABEL 1
HARMONISERET KLASSIFICERING AF DE TRADITIONELLE HÅRFARVESTOFFER PPD OG PTD.

En kortlægning gennemført for Miljøstyrelsen i 2013 peger på, at de to stoffer PPD og PTD samt deres salte og derivater stadig findes i langt de fleste hårfarveprodukter på markedet, kun 18 % af de undersøgte permanente hårfarver indeholdt ikke disse stoffer (2). I dette projekt er arbejdet centreret omkring substitution af disse forbindelser ved brug af nye, lovende farveteknologier. Udviklingen tager udgangspunkt i den nyeste viden om farveteknologier til brug i hårfarver, med fokus på stoffernes sikkerhed ved anvendelse.

Ved at indlede projektet med at undersøge flere forskellige mulige teknologier på et teoretisk niveau sikres et solidt teknologisk vidensgrundlag for udvikling af en prototype på en ny type hårfarve. Fokus i projektet har været på udvikling af produkter med høj kvalitet til permanent hårfarvning,

hvis kemiske sammensætning sikrer en reduceret negativ effekt for mennesker (og miljø) i forhold til de eksisterende produkter på markedet indeholdende PPD og PTD.



FIGUR 1
STRUKTURFORMLER AF NOGLE AF DE PROBLEMATISKE KEMISKE STOFFER, SOM ANVENDES I KOMMERCIELLE HÅRFARVER I DAG.

1.2 Projektets partnere

Projektet blev gennemført i et samarbejde mellem By Falengreen, Center for klip og stil ved Aarhus Tech og Teknologisk Institut, Kemi- og Bioteknik. By Falengreen er en dansk virksomhed, der udvikler, producerer og markedsfører miljøvenlige hårprodukter. By Falengreen har udviklet en række Svanemærkede og allergivenlige produkter, som bærer Astma-Allergi Danmarks Blå Krans, fx hårsampoo, hårbalsam, hårserum og voks, som sælges til både professionelle frisører og til private. Det er By Falengreens strategi at udvikle produkter, som er miljø- og allergivenlige. Aarhus Tech, Center for klip og stil uddanner frisører på den fireårige frisøruddannelse, som veksler mellem praktik- og skoleforløb. Aarhus Tech har skarpt fokus på at ruste de nyuddannede frisører bedst muligt til arbejdet i frisørbranchen bl.a. ved at informere om miljøvenlige produkter og gode arbejdsforhold under klipning, farvning og permanent. Teknologisk Institut, Kemi- og Bioteknik har omfattende viden om forskning og udvikling inden for organisk kemi og om substitution af uønskede stoffer i forbrugerprodukter. Kemi- og Bioteknik har derudover indgående viden om syntesekemi og kendskab til de reaktioner, som foregår i de enkelte hårstrå ved farvning, og Teknologisk Instituts rolle er således at sikre det nødvendige faglige niveau for opnåelse af et succesfuldt resultat af projektet.

1.3 Formål

Projekts formål har været at udvikle allergivenlige alternativer til eksisterende hårfarveprodukter, som er helt eller delvis fri for sundheds- og miljøskadelige stoffer. Specielt har der været fokus på at substituere stoffer, som allerede er bekræftede allergener, med mindre problematiske stoffer. Særligt fokus er lagt på substitutionen af PPD og PTD. Målet er at udvikle en prototype på en ny permanent hårfarve, som potentielt kan nedsætte såvel professionelle frisørers som privatpersoners eksponering for problematiske kemikalier og samtidig sikre mindre udledning af skadelige stoffer til vandmiljøet i forbindelse med hårfarvning.

2. Teknologier til farvning af hår

2.1 Teknologien bag traditionelle hårfarver på markedet

Hårfarveprodukter inddeles typisk i tre kategorier ud fra deres farvebestandighed: Midlertidige farver, semipermanente farver og permanente farver. En beskrivelse af de tre typer kan ses i Tabel 2. Dette projekt er afgrænset til udvikling inden for typen permanente farver, dvs. hårfarver som er bestandige over for vask, da det oftest er i de permanente hårfarver, at niveauet af para-phenylen diamin (PPD) og para-toluendiamin (PTD) er højest.

Hårfarvetyper	
Midlertidige farver	Håret farves typisk ved, at et farvestof med en høj molekylvægt aflejres på overfladen af hårstrået uden at trænge ind. Derfor bindes farven ikke permanent og vil blive skyllet ud ved hårvask.
Semipermanente farver	Håret farves typisk ved, at et farvestof med lav molekylvægt trænger ind i det yderste lag af hårstrået, men farvestoffet vil gradvist opløses og farven falme ved gentagen hårvask.
Permanente farver	Håret farves ved en oxidativ proces, hvor farvestoffet dannes direkte på og i hårstrået ud fra farvekomponenter i hårfarven under tilstedeværelsen af et oxidationsmiddel, oftest hydrogenperoxid. Farven er bestandig over for vask.

TABEL 2
HÅRFARVETYPEN. INDELING AF HÅRFARVER EFTER BESTANDIGHED SAMT DEN TYPISKE TEKNOLOGI BAG FARVEMETODEN (3).

Teknologien bag de fleste permanente hårfarver, som findes på markedet i dag, er baseret på en 150 år gammel observation. Permanente hårfarver er oftest oxidative farver, som består af tre komponenter (4):

- En **developer**, som danner farven, fx PPD eller PTD
- En **farvecoupler**, som modificerer farven, så den får den ønskede nuance, fx meta-phenylen diamin eller resorcinol
- Et **oxidationsmiddel**, som oxiderer developer og lysner håret, oftest hydrogenperoxid (H_2O_2).

Hårfarven består ofte af to blandinger, som kombineres umiddelbart inden anvendelse. Den første blanding indeholder typisk flere developere og farvecouplere samt ammoniak. Den anden blanding er en hydrogenperoxidopløsning. Ved blanding af de to opnås en pH på ca. 9,5. Ved denne pH udvider håret sig (kvælder), og de kemiske stoffer kan trænge dybere ind i håret, hvor de i en oxidativ proces reagerer og danner større molekyler (polymerer). Når håret efterfølgende skylles i vand, sænkes pH, håret trækker sig sammen igen, og de dannede farvemolekyler fanges inde i håret.

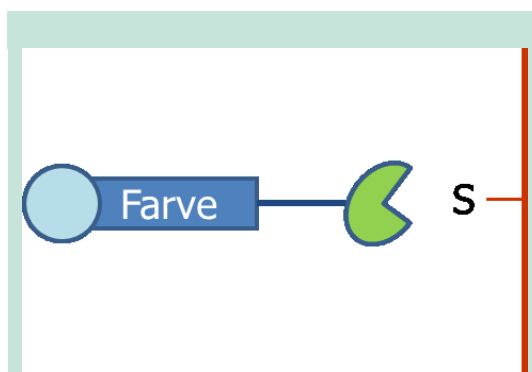
Som udgangspunkt er målet i projektet at substituere PPD og PTD, men som beskrevet ovenfor indgår disse i en kompleks reaktionsblanding, hvor de kemisk kobles til andre stoffer i hårfarven. En substitution af enten PPD eller PDT med andre kemiske stoffer forventes at ændre på hele systemet, og en enkel 1:1-substitution vil være vanskelig. For at undgå anvendelsen af PPD og PTD er der derfor i dette projekt søgt en løsning inden for alternative teknologier til den konventionelle oxidative hårfarvning. Sideløbende foretages en mindre undersøgelse af direkte substitutions- og reduktionsmuligheder. To teknologier er fundet relevante at undersøge i relation til farvning af hår i den eksperimentelle del af projektet:

- Reaktive farver
- In situ-dannelse af farvestoffer.

I de følgende afsnit gennemgås de enkelte teknologier og de overordnede overvejelser, der er gjort i forbindelse med valg af teknologi, farvestoffer, katalysatorer og hjælpestoffer til det videre arbejde i projektet.

2.2 Reaktive farver

En reaktiv farve er et farvestof, som ved en kemisk reaktion sættes fast på et substrat via en kovalent binding, hvorved farven bliver en del af substratet. Reaktive farver er kemiske stoffer, som består af fire elementer: en farvegruppe, som giver stoffet farve; en vandopløselig gruppe, som gør, at stoffet kan opløses i vand; en reaktiv gruppe, der er i stand til at binde sig kemisk til et substrat; samt en bro, der binder den reaktive gruppe til farven, se Figur 2. Reaktive farver har i en årrække været anvendt inden for tekstilindustrien til farvning af fx bomuld og uld. Som gennemgået af Morel og Christie (4) er der også tidligere gjort flere forsøg på at anvende teknologien bag reaktive farver til farvning af hår, dog uden at det har resulteret i kommercielle hårfarver.



FIGUR 2
GRAFISK PRÆSENTATION AF REAKTIV FARVE SOM
BINDER TIL ET SUBSTRAT (S).

Fordelen ved reaktive farver er, at farven danner en stærk kemisk binding til håret, hvorved farven får en god farvebestandighed. Den permanente hårfarvning sker ved nukleofil substitution med passende nukleofiler i håret. Disse nukleofiler er lokaliseret i fx proteiner og består af thiol (Cystein), alkoholer (Serin, Threonin og Tyrosin), carboxylsyrer (Aspartat og Glutamat) og sekundære amider (Aspargin og Glutamin). Det vil sige, at den reaktive farve bindes kovalent til proteiner i håret.

Farvning af hår med en reaktiv farve vil have en række fordele i forhold til den teknologi, der anvendes i dag. Farven bindes kemisk til håret, og antallet af bindingssteder på allerede farvet hår vil være reduceret, hvilket forventes at gøre genfarvning med samme farvenuance lettere, da den nyudgroede del af hårstrået vil have flere ledige bindingssteder og dermed være mest modtagelig for

farvning. Forskellen i antal ledige bindingssteder vil derimod være en ulempe i forhold til farvning med en anden farvenuance, da den her vil give en større forskel i indfarvning af allerede farvet hår og nyudgroet hår. Den iboende reaktivitet af denne type farver vil også overflødig gøre hydrogenperoxid, der i dag anvendes som oxidationsmiddel i de kommercielle oxidative hårfarver. Hydrogenperoxid er en kraftig oxidant og er i koncentreret form klassificeret irriterende eller ætsende for hud og øjne afhængigt af koncentrationen (harmoniseret klassificering, ECHA).

Strategien for anvendelse af reaktive farver til hårfarvning er at syntetisere nye reaktive farvemolekyler i laboratoriet (ikke i håret) ud fra reaktive grupper og farvemolekyler udvalgt med særlig henblik på deres toksikologiske profil og egnethed til hårfarvning.

Der findes flere forskellige reaktive grupper, som anvendes til reaktive farver fx i tekstiler. I projektet er udvalgt to kandidater til videre undersøgelse, R1 og R2, som har hver deres unikke kemiske struktur og egenskaber^a. De reaktive grupper vil i projektet blive koblet til udvalgte farvemolekyler, betegnet F1-F3, ved kemisk syntese. F1-F3 er valgt inden for naturlige farvestoffer ud fra parametre som stabilitet, opløselighed, kemisk struktur (syntesemuligheder), farver (de mest relevante nuancer er foretrukket), toksikologisk profil samt eksempler på tidligere anvendelse inden for farvning. F1-F3 er farver i det gule/orange/røde farvespektrum. F1 og F3 er stofgrupper bestående af stoffer med sammenlignelig kemisk struktur, mens F2 er et enkelt stof. Der eksisterer en lang række farvemolekyler, der muligvis vil kunne anvendes til dannelsen af reaktive farver.

En mulig syntesevej er identificeret for kobling af de udvalgte farvestoffer til en eller flere af de reaktive grupper ud fra tilgængelig videnskabelig litteratur. Afhængigt af reaktionsbetingelser og kombination af udgangsstoffer (farvestof og reaktiv gruppe) kan synteseproduktet bestå af en blanding af reaktive farvemolekyler. Stoffer under betegnelsen F3 indeholder flere nukleofile områder, som R1 eller R2 vil kunne reagere med. Synteseproduktet forventes derfor at være mere komplekst for F3 end for de andre udvalgte farvestoffer. I alle tilfælde vil en efterfølgende oprensning være påkrævet for at opnå et ensartet produkt.

2.3 In situ-dannelse af farvestoffer

Dannelsen af farvestoffer inde i håret (*in situ*) minder i udgangspunktet om den proces, der anvendes i dag, hvor udgangsstofferne reagerer og danner uopløselige farvestoffer, som fanges i eller på håret.

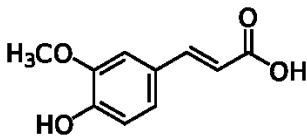
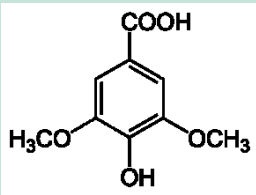
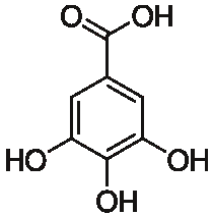
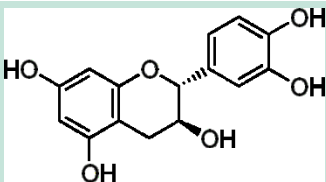
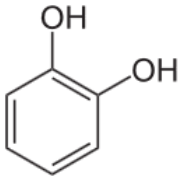
Azofarver er i litteraturen foreslået som farvestof inden for denne teknologi, idet azofarver i dag har en bred kommerciel anvendelse, giver lyse og intense nuancer i et bredt spektrum af farver kombineret med ofte gode tekniske egenskaber (4). Denne teknologi med azofarver som farvestof vurderes dog ikke som anvendelig på nuværende tidspunkt, da diazonium-saltene som anvendes som developer ofte er meget ustabile og potentielt eksplosive under opbevaring.

En anden gren af *in situ*-dannelse af farvestoffer omhandler polymerisering af planteafledte fenoler, hvor polymeriseringen kan katalyseres af enzymer, fx enzymet Laccase (5). Ved denne teknologi erstatter de planteafledte fenoler PPD eller PTD, mens Laccase erstatter hydrogenperoxid. Laccaser er oxidase enzymer, som findes naturligt i mange planter, svampe og mikroorganismer. Enzymet udbydes kommercielt og findes i forskellige typer. Ved at kombinere forskellige fenoler er det demonstreret, at der kan opnås et farvespektrum, som anses for anvendeligt inden for hårfarvning.

^a Der er efter ønske fra den deltagende virksomhed anvendt en kodning af udvalgte stoffer med henblik på at beskytte det forretningsmæssige potentiale af de udviklede prototyper. De kemiske strukturer er kendt af projektets partnere og Miljøstyrelsen.

Den enzymkatalyserede polymerisering af fem fenoler i forskellige kombinationer er undersøgt med hensyn til farveudvikling i hår af Jeon *et al.* (2009) (5). De anvendte fenoler ses i Tabel 3.

I artiklen af Jeon *et al* blev fenol-monomererne undersøgt parvis og tre parvise kombinationer resulterede i farvenuancer, der er relevante i forbindelse med hårfarvning: rød (Ferulasyre + Syringasyre), brun (Gallussyre + Syringasyre) og sort (Catechin+Catechol). Den røde farve resulterede i den svageste farveintensitet af de tre kombinationer. Farveudviklingen sker imidlertid langsomt (reaktionstid på op til 22 timer) under de anvendte forsøgsbetingelser (pH 5 og 28 °C samt ved brug af 0,25 mg/mL Laccase fra *T. versicolor* samt 10 mg/mL fenoler til 3 g hår) (5). Det forventes dog, at en optimering af udvalgte parametre som koncentration af fenol, valg af type samt koncentration af enzym, pH og temperatur vil kunne reducere behandlingstiden. Særligt kan andre isozymer (enzymmer som katalyserer den samme kemiske reaktion, men som har forskellig kemisk sammensætning) med et mere optimalt pH-optimum til hårfarvning testes. Enzymer, som virker godt ved en højere pH, har særlig interesse, da håret kvælder ved højere pH, og farvemolekylerne nemt kan trænge ind i håret og give en hurtigere og mere bestandig hårfarvning.

Fenol	Strukturformel	Oprindelse
Ferulasyre		Findes fx i kaffe, æbler, artiskok, peanut og appelsiner samt i ris, hvede, havre og kinesisk vandkastanje
Syringasyre		Findes fx i vin og eddike
Gallussyre		Findes fx i brombær, hindbær, mango, hvid te, vin
Catechin		Findes fx i ikke-fermenteret grøn te, kakao, ferskner, eddike
Catechol		Findes fx i små mængder i frugt og grøntsager samt i olien fra frugten på argantræet (<i>Argania Spinosa</i>)

TABEL 3
OVERSIGT OVER PLANTEAFLEDTE FENOLER ANVENDT TIL FARVNING AF HÅR.

Der findes en række planteafledte fenoler, som potentielt kan anvendes inden for denne teknologi. Det gælder fx rutin (fra plantearten *Carpobrotus edulis*), curcumin og forskellige andre flavonoider. Blandt de mange fenoler, som har et teoretisk potentiale til at udvikle farve ved hjælp af denne teknologi, kan de fenoler vælges, som har den mest positive vurdering af de toksikologiske egenskaber i forbindelse med anvendelse som hårfarve ud fra tilgængelig viden.

2.4 Opsummering af udvalgte teknologier, farvestoffer og katalysatorer

Baseret på litteraturstudiet af alternative teknologier til hårfarvning er udvalgt to teknologier, der bygger på idéerne inden for hhv. *in situ*-dannelse af hårfarve og farvning med reaktive hårfarver. Begge teknologier virker ifølge litteraturen lovende, men ikke uden udfordringer.

En række kemiske stoffer er udvalgt inden for hver af de to teknologier, som anses for anvendelige i afprøvning af teknologiens potentiale. To reaktive funktionelle grupper er udvalgt (R1, R2) til syntese af reaktive farvestoffer. Disse kobles med udvalgte naturligt forekommende farvestoffer (F1-F3). Til *in situ*-dannelse af hårfarve peges indledningsvist på fem farvestoffer (F4-F8) samt tre katalysatorer (K1-K3), som fremmer dannelsen af hårfarven.

De udvalgte kemiske stoffer gennemgås i det følgende med hensyn til viden omkring de enkelte stoffers toksikologiske profil i relation til hårfarvning.

3. Toksikologiske overvejelser

3.1 Induktion af kontaktallergi

Som beskrevet i indledningen, er det dominerende sundhedsmæssige problem ved permanent hårfarvning i dag det allergifremkaldende potentiale, hvor særligt to hyppigt forekommende farvestoffer, PPD og PTD, er kendt som potente kontaktallergener.

Hudsensibilisering og medfølgende kontaktallergi er en immunologisk proces (type IV-allergi), der består af to faser: Induktion (også kendt som sensibilisering) og den efterfølgende elicitering. I den første asymptomatiske fase sker der en påvirkning af immunsystemet, mens der ved efterfølgende eksponering for tilstrækkelige mængder af det allergene stof vil udvikles en immunologisk reaktion med eksemsymptomer.

Mekanistisk opstår kontaktallergi ved, at små kemiske forbindelser trænger gennem overhudens yderste lag, hornlaget, og at forbindelsen (eller et metabolit/transformationsprodukt) binder kovalent til nukleofile centre i proteiner i kroppen, typisk aminosyrerne cystein og lysin. Denne reaktion resulterer i en såkaldt haptendannelse. Haptenerne opfanges herefter af dendritiske celler fra immunsystemet, såkaldte Langerhans-celler, der aktiveres og migrerer til den nærmeste lymfeknude under påvirkning af proinflammatoriske forbindelser udskilt fra keratinocytter. Her præsenteres haptenet for andre celler i immunsystemet, T-cellerne, der aktiveres, så de kan genkende den fremmede forbindelse, hvis de skulle støde på det. Cellerne deler sig og effektorceller er nu dannet, som er i stand til at genkende og reagere på den allergifremkaldende forbindelse, hvis huden igen kommer i kontakt med stoffet (6). Haptendannelsen og dermed de proteinbindende egenskaber af en kemisk forbindelse vurderes at være en af de væsentligste faktorer i sensibiliseringsprocessen og er direkte relateret til forbindelsens sensibiliseringspotentiale og potens (7).

En anden væsentlig parameter for, at en kemisk forbindelse kan udløse et type IV-immunologisk respons, er, at forbindelsen vil være i stand til at krydse hudens beskyttende barriere, der som nævnt primært udgøres af hornlaget (*stratum corneum*).

Med baggrund i den farmaceutiske verden, hvor Lipinski opstillede "the rule of five" for vurdering af absorptionen af et oralt indtaget lægemiddel, er der søgt opstillet tilsvarende parametre for at forudsige den transdermale absorption. Den hudsensibiliserende effekt for en forbindelse er afhængig af en række faktorer, herunder den dermale absorption. Magnusson *et al.* (8) opstillede i 2004 nogle simple regler baseret på fysisk-kemiske egenskaber til vurdering af den hastighed, hvormed en forbindelse ville kunne trænge igennem huden. På baggrund af en analyse af publicerede data for 87 stoffers hudgennemtrængelighed (J_{max} , mol per cm^2 per time) blev centrale parametre identificeret som molekylvægt (MW), smeltepunkt (MP, °K), fordelingskoefficient mellem oktanol og vand (K_{ow}), vandopløselighed (S, molaritet) samt atomer tilgængelige for hydrogenbindinger (HB). Forbindelser med langsom hudgennemtrængelighed ($\log J_{max} < -8,84$ mol per cm^2 per time) var karakteriseret ved følgende parametre: MW >213; $\log S < -1,6$; HB ≥ 4 ; $\log K_{ow} > 1,2$ og MP ≥ 223 . Molekylvægten synes at være den væsentligste af parametrene (9). Det er alment accepteret, at molekyler typisk skal være mindre end 1000 Da og måske endda mindre end 500 Da for at kunne trænge gennem huden (10).

Det skal nævnes, at der nyligt er publiceret en artikel, der stiller spørgsmålstegn ved, om der findes en specifik grænse for molekylvægten, over hvilken en forbindelse ikke forventes at kunne gennemtrænge huden og dermed virke hudsensibiliserende; samme artikel betvivler også en sammenhæng mellem et stofs K_{ow} og dets sensibiliseringspotentiale (11). Ud fra en database med ca. 700 sensibiliserende stoffer var der kun 13 med en molekylvægt >500 Da, og heraf var de fem sensibiliserende (505-642 Da). Artiklen refererer desuden til fem andre forbindelser, der er kendt fra litteraturen som hudsensibiliserende, hvor fire ligger i intervallet 513-659 Da, og et enkelt stof er på 898 Da. Ingen af de identificerede sensibiliserende stoffer er således >1000 Da.

En skarp grænse for, om et stof kan inducere kontaktallergi, eksisterer givetvis ikke, da en række andre egenskaber ved molekylet også spiller ind (som tidligere nævnt S, HB, MP i tillæg til K_{ow}), og den tredimensionelle struktur kunne også meget vel tænkes at påvirke et stofs hudgennemtrængende evne. Ud fra den i litteraturen identificerede viden er der dog en forventning om, at jo større molekylet er, desto mindre er risikoen for, at stoffet vil kunne have et hudsensibiliserende potentiale.

3.2 Toksikologiske overvejelser i forbindelse med reaktive hårfarver

Med udgangspunkt i den ovenstående mekanistiske beskrivelse af induktion af kontaktallergi må det forventes, at reaktive farvestoffer kan have et hudsensibiliserende potentiale, da netop deres evne til at binde til tekstil eller keratin i uld/hår også vil muliggøre deres binding til proteiner i huden. En væsentlig parameter for initiering af en type IV-immunologisk respons er dog som nævnt, at forbindelsen er i stand til at trænge igennem hudens hornlag. De iboende egenskaber vil således blive søgt imødekommet ved hensyntagen til ovennævnte parametre, der er af betydning for sensibiliseringspotentialet. En af de simpleste og formodentlig også mest effektive muligheder er at generere så store molekyler, at deres evne til at trænge igennem hudens barriere (hornlaget) begrænses mest muligt. De reaktive farvers molekylvægt kan øges gennem valg af store farvemolekyler samt kobling af flere farvemolekyler til det reaktive molekyle. Ydermere kan molekylet modificeres ved kobling af vandopløselighedsøgende grupper og/eller grupper, der alene vil øge molekylvægten, såsom glycolkæder eller simple kulbrintekæder. Disse typer af vægtøgende grupper forventes ikke at være problematiske ud fra et toksikologisk synspunkt.

Det tilstræbes derfor at generere reaktive farvestoffer med en molekylvægt omkring 1000 Da, altså dobbelt så stort som den debatterede og typisk forventede grænse for molekylvægtens betydning for sensibiliseringspotentialet.

3.2.1 Toksikologisk vurdering af to reaktive molekyler til syntese af reaktive hårfarver

For indeværende overvejes to forskellige typer af reaktive molekyler, i det følgende benævnt R1 og R2. Molekylvægten for begge forbindelser ligger i intervallet 100-200 Da. I Tabel 4 er listet den harmoniserede klassificering hhv. industriens egen klassificering af de to stoffer samt offentligt tilgængelige registreringsdata under REACH vedrørende stoffernes eventuelle hudsensibiliserende egenskaber.

Klassificeringerne gælder for udgangsstofferne for syntesereaktionerne og repræsenterer derfor worst case, da stofferne inden kobling til farvemolekylerne har alle reaktive grupper intakte. Molekylerne, der indgår i syntesen, vil ikke komme i direkte kontakt med hår, idet syntesen af det reaktive molekyle foregår i laboratoriet. Det er altså først det endelige (oprensede) reaktive farvemolekyle, som håret eksponeres for.

En risikovurdering er ikke mulig alene ud fra en klassificering, da koncentrationer og relevant eksponering spiller en central rolle. Imidlertid vurderes klassificering som akut toksisk ved indånding og oral indtagelse at være af mindre betydning i forhold til en flydende

hårfarveformulering. Endvidere påtænkes hudsensibiliseringspotentialet håndteret ved generering af en høj molekylvægt for det endelige reaktive farvestof, som beskrevet ovenfor.

R1 (MW 100-200 Da)	R2 (MW 100-200 Da)
<u>Harmoniseret klassificering</u> Akut toksicitet, Oral (Kategori 4), H302 Hudætsning (Kategori 1B), H314 Hudsensibilisering (Kategori 1), H317 Akut toksicitet, Inhalation (Kategori 2), H330 <u>REACH-data</u> Positiv LLNA & maksimeringstest	<u>Industriens selvklassificering</u> Akut toksicitet, Oralt (Kategori 4), H302 Hudirritation (Kategori 2), H315 Hudsensibilisering (Kategori 1), H317 Alvorlig øjensskade (Kategori 1), H318 Specifik målorgantoksicitet - enkelt eksponering (Kategori 3), H335

TABEL 4
 KLASSIFICERING AF TO MULIGE REAKTIVE MOLEKYLER TIL SYNTSE AF REAKTIVE HÅRFARVER. R1 HAR EN HARMONISERET KLASSIFICERING, MENS R2 ER SELVKLASSIFICERET.

3.2.2 Toksikologisk vurdering af tre farvemolekyler til syntese af reaktive hårfarver

Der er en række interessante farvestoffer, der potentielt vil kunne anvendes i syntesen af reaktive hårfarvemolekyler. I dette afsnit gennemgås kort tre forskellige farvemolekyler, F1-F3. Stofferne er naturligt forekommende og udvalgt ud fra pH-stabilitet (ændrer farven sig ved forskellig pH og/eller nedbrydes den), opløselighed, reaktivitet (syntesemuligheder), farver (mest relevante hårfarvenuancer) og endelig deres lave toksicitet. I Tabel 5 er listet industriens selvklassificering af stofferne. Et af farvestofferne F2 er opført på listen over farvestoffer, som må forekomme i kosmetiske produkter (Bilag IV til Kosmetikforordningen EF Nr. 1223/2009(12)) og er endvidere godkendt som fødevarefarvestof.

F1 (MW ~200 Da)	F2 (MW ~500 Da)	F3 (MW ~800 Da)
Hudirritation (Kategori 2), H315	Hudætsning (Kategori 1A), H314	Hudirritation (Kategori 2), H315
Øjenirritation (Kategori 2), H319	Alvorlig øjensskade (Kategori 1), H318	Øjenirritation (Kategori 2), H319
Specifik målorgantoksicitet - enkelt eksponering (Kategori 3), H335		Farlig for vandmiljøet (Kategori 3), H412

TABEL 5
 INDUSTRIENS SELVKLASSIFICERING AF TRE MULIGE FARVEMOLEKYLER TIL SYNTSE AF REAKTIVE HÅRFARVER.

De tre farvestoffers klassificering giver ikke umiddelbart anledning til bekymring i forhold til det toksiske potentiale af et muligt reaktivt hårfarvestof. Fx er F2-molekylet godkendt som farvestof i både kosmetiske produkter og i fødevarer, til trods for en klassificering som hudætsende, hvilket igen understreger, at mængde og eksponering er centrale elementer i forbindelse med risikovurdering.

3.2.3 Sammenfatning af den toksikologiske vurdering af reaktive hårfarver

Strategien for syntese af reaktive hårfarver er, som beskrevet ovenfor, at generere molekyler med en molekylvægt på >1000 Da for at minimere risikoen for, at stoffet kan trænge gennem huden og efterfølgende initiere hudsensibilisering. Et udgangspunkt vil derfor være at syntetisere et farvemolekyle, der består af to molekyler af det allerede kosmetikgodkendte farvestof F2 koblet til fx det reaktive molekyle R1; herved opnås en samlet molekylvægt på minimum 1000-1300 Da. Synteseudvikling, karakterisering og eventuel oprensning af nye molekyler er dog en omkostningstung og langvarig proces, som det ikke anses for realistisk at gennemføre tilfredsstillende inden for dette projekts rammer.

3.3 Toksikologiske overvejelser i forbindelse med *in situ*-dannelse af hårfarve

I vurderingen af eventuelle toksikologiske problemstillinger ved en *in situ*-baseret teknologi til hårfarvning lægges der størst vægt på de udvalgte katalysatorer, idet der findes flere hundrede stoffer, der ofte danner farvede produkter (mono-, di- og polyfenoler, quinoler, aminofenoler, methoxyfenoler m.fl.), der potentielt vil kunne anvendes sammen med katalysatorerne.

3.3.1 Toksikologiske overvejelser vedrørende katalysatorerne

Ifølge et dokument fra 2010 vedrørende argumenter for dataafvisning anses katalysatorer af den udvalgte type generelt som havende lav toksicitet, dog med undtagelse af et allergisk potentiale ved inhalation og en begrænset irritationseffekt af visse typer katalysatorer i høje koncentrationer. Industrien har dokumenteret, at respiratorisk irritation fremkaldt af lignende katalysatorer er et meget sjældent fænomen, som ikke vil forekomme ved de lave koncentrationer, der typisk forekommer i forbrugerprodukter. Risikoen for forbrugeren vurderes derfor meget lille og toksikologisk ikke signifikant. Endvidere forventes katalysatoren til hårfarvning at være i en tyktflydende formulering, således at inhalationsrisikoen er minimeret.

Der findes mange varianter af katalysatorerne med typisk molekylvægt i størrelsen 60-100 kDa. Katalysatorerne er registreret under det Europæiske Kemikalieagentur (ECHA), og af ECHA's hjemmeside fremgår det, at de alle har en harmoniseret klassificering alene som sensibiliserende ved indånding i kategori 1 (Resp. Sens. 1) med faresætning H334: Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. Alle katalysatorer af denne type tildeles denne klassificering.

Fra den offentligt tilgængelige del af REACH-registreringen findes forsøgsdata vedrørende akut oral toksicitet, akut hud- og øjenirritation samt mutagenicitet. Ingen af studierne giver anledning til klassificering. Data vedrørende hudsensibilisering er ikke genereret, da forsøget ikke vurderes videnskabeligt retfærdiggjort (hvilket er i overensstemmelse med ERC's konklusioner og anbefalinger, da store molekyler ikke vil kunne optages over huden).

Forsøg med en lignende katalysator vedrørende blandt andet den hudsensibiliserende effekt er imidlertid publiceret af producenten i forbindelse med dokumentation for sikker anvendelse af katalysatoren i en række mundhygiejniske produkter (såsom mundskyl, tandpasta, tyggetabletter og tyggegummi). En potentiel hudsensibiliserende effekt af en særlig variant af katalysatoren blev undersøgt på 100 frivillige forsøgspersoner i en såkaldt human repeat insult patch test (HRIPT). Forsøgspersonerne blev lappetestet med 0,5 mL af en 10 % (w/v) vandig opløsning i 24 timer på et tildækket areal på 2 x 2 cm. Eksponeringen blev gentaget tre gange om ugen i tre uger, dvs. i alt ni gange. To uger efter den sidste induktion blev hver forsøgsperson udsat for katalysatoren gennem en ny applikation af en 10 % (w/v) opløsning i 24 timer. Hudreaktioner blev vurderet efter 48 og 96 timer. Tre af de 100 forsøgspersoner udviste tegn på mulig sensibilisering, men ved en efterfølgende test en måned senere reagerede ingen af de tre på re-eksponering over for 1 % (w/v)- og 10 % (w/v)-opløsninger. Ud fra disse resultater konkluderes det, at katalysatorer af denne type (K1-K3) har et

lavt hudsensibiliserende potentiale. Koncentrationen, der blev anvendt til den hudsensibiliserende test, er endvidere ca. 400 gange højere end koncentrationerne, der er anvendt i forbindelse med hårfarvning.

Der er desuden foretaget yderligere toksikologiske forsøg: akutte (oral - LD₅₀ >12 mL/kg lgv; dermal - LD₅₀ >12 mL/kg lgv, inhalatorisk - LC₅₀ >5,16 mg/L, hud- og øjenirritation – ingen reaktioner), korttidsforsøg (13-ugers forsøg med rotter og oral indgift af katalysatoren, hvor NOEL sættes til den højest testede dosis, i.e. 10 mL/kg lgv/dag), genotoksicitetsforsøg (to Ames-tests og to kromosomafvigelsesforsøg, der alle er negative). Disse forsøg er evalueret af WHO som en del af en sikkerhedsvurdering af en katalysatoremeglet lig K1-K3 til anvendelse som fødevaretilsætningsstof.

3.3.2 Toksikologiske overvejelser vedrørende farvestoffer

Fem farvestoffer er udvalgt som potentielle farvestoffer til den tekniske udvikling af in situ katalyseret hårfarvning; F4-F8. Fareklassificering og uddrag af tilgængelige toksikologiske data for de fem farvestoffer er summeret i Tabel 6.

Ud fra de toksikologiske data for F8, som inkluderer rapporterede tilfælde af eksematøs dermatitis/kontaktallergi, akut hudtoksicitet og et muligt carcinogent potentiale, er F8 forbudt at anvende i kosmetiske produkter og fravælges derfor ved udvikling af et sundere hårfarveprodukt. De øvrige farvestoffer har meget sammenlignelige og umiddelbart ikke-problematiske toksikologiske profiler. Alle fire er selvklassificeret af industrien som hud- og øjenirriterende i kategori 2 (H315: Forårsager hudirritation og H319: Forårsager alvorlig øjenirritation) og med specifik målorgantoksicitet ved enkeltexponering i kategori 3 (H335: Kan forårsage irritation af luftvejene). Der er ikke fundet yderligere indikationer på, at disse skulle være kendte hudsensibiliserende stoffer eller være carcinogene, mutagene eller reproduktionstoksiske (CMR-stoffer). Fareklassificeringen for de udvalgte stoffer bør også sammenholdes med klassificeringen for PPD og PTD (se Tabel 1), som ud over at være potente kontaktallergener bl.a. også er akut toksiske (dermal, oral, inhalatorisk) samt farlige for vandmiljøet.

Substrat (CAS-nummer)	Klassificering og faresætninger (CLP)	Toksikologiske forsøg
F4	Selvklassificering (hyppigst): Hudirritation (Kategori 2); H315 Øjenirritation (Kategori 2); H319 Specifik målorgantoksicitet - enkelt eksponering (Kategori 3); H335	HSDB: Ingen bekymrende toksikologiske data CCRIS: Ingen indikation på mutagenicitet/carcinogenicitet SCCS: Ingen vurdering CosIng: Angivet som antimikrobiel substans EFSA: Godkendt aromastof
F5	Selvklassificering (hyppigst): Hudirritation (Kategori 2); H315 Øjenirritation (Kategori 2); H319 Specifik målorgantoksicitet - enkelt eksponering (Kategori 3); H335	HSDB: Ingen data SCCS: Ingen vurdering CosIng: - EFSA: Godkendt aromastof
F6	Selvklassificering (hyppigst): Hudirritation (Kategori 2); H315 Øjenirritation (Kategori 2); H319 Specifik målorgantoksicitet - enkelt eksponering (Kategori 3); H335 Undertiden også: Alvorlig øjenskade (Kategori 1); H318	SCCS: Ingen vurdering CosIng: Angivet som antioxidant EFSA: Godkendt aromastof
F7	Selvklassificering (hyppigst): Hudirritation (Kategori 2); H315 Øjenirritation (Kategori 2); H319 Specifik målorgantoksicitet - enkelt eksponering (Kategori 3); H335	SCCS: Ingen vurdering CosIng: -
F8	Harmoniseret klassificering: Akut toksicitet, Oralt (Kategori 4); H302 Akut toksicitet, Hud (Kategori 4); H312 Øjenirritation (Kategori 2); H319 Hudirritation (Kategori 2); H315	HSDB/NTP: potentielt carcinogen samt rapporter om kontaktallergi CosIng: Fjernet fra listen som hårfarve i 1994 (Bilag II, Kosmetikdirektiv 408) CIR: "Use not supported" EFSA: Godkendt aromastof

TABEL 6
KLASSIFICERING AF OG TOKSIKOLOGISKE INFORMATIONER OM FEM FARVESTOFFER, DER SANDSYNLIGVIS KAN
BENYTTES TIL IN SITU DANNELSE AF HÅRFARVE.

3.3.3 Sammenfatning af den toksikologiske vurdering af in situ-dannelse af hårfarve

Generelt vurderes katalysatorerne at have et meget lavt toksikologisk potentiale, ud over en mulig inhalatorisk sensibilisering. Der er endvidere udført en række forsøg med katalysatorerne, der samlet set viser en lav akut oral, dermal, og inhalatorisk toksicitet i rotter. I kaniner er katalysatorerne fundet ikke at være hud- eller øjenirriterende. Det sensibiliserende potentiale af katalysatorerne vurderes lavt ud fra humane forsøg (HRIPT). Katalysatorerne er desuden ikke fundet at være genotoksisk.

De fire af de fem vurderede farvestoffer har umiddelbart meget begrænset toksicitet med F8 som undtagelse, hvorfor denne ikke vil indgå i det eksperimentelle arbejde. De fire farvestoffer (F4-F7), der arbejdes videre med, har en væsentlig forbedret toksikologisk profil sammenlignet med PPD og PTD.

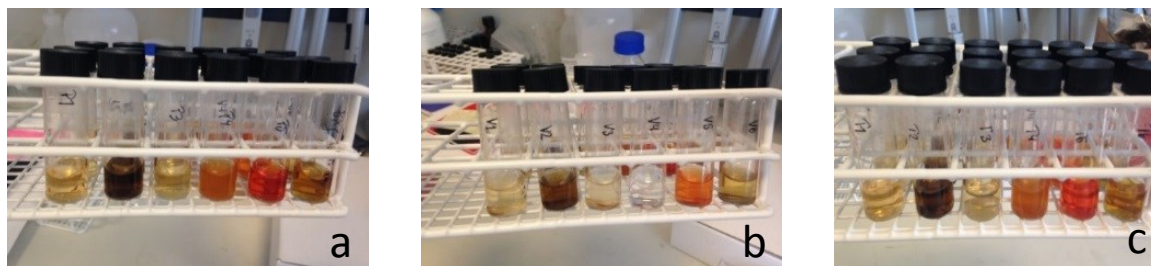
4. Teknologisk udvikling af nye miljøvenlige hårfarver

4.1 Teknologisk udvikling

Med udgangspunkt i de to tidligere beskrevne nye metoder til mere allergi- og miljøvenlige hårfarver er der i arbejdsplanen 2 arbejdet fokuseret med den teknologiske udvikling af en ny formulering af en mere allergi- og miljøvenlig hårfarve. Ud fra en faglig vurdering af teknisk gennemførlighed inden for projektets rammer blev det besluttet at fokusere udviklingsarbejdet på in situ-dannelse af hårfarve. Denne beslutning er baseret på to faktorer; 1) den direkte kommercielle adgang til de vigtigste kemiske stoffer og 2) den potentielle sikkerhedsmæssige risiko hæftet ved fremstillingen af de nødvendige diazonium-molekyler krævet til brugen af reaktive farver.

I de indledende laboratorieforsøg med in situ-dannelse af farvede molekyler blev der anvendt tre forskellige typer af katalysatorer; K1, K2 og K3. Der blev anvendt tre forskellige katalysatorer for at undersøge forskelle med hensyn til reaktionen af forskellige farvestoffer og optimale katalysebetingelser ved forskellige temperaturer og pH.

I Figur 3 er vist resultater fra de indledende forsøg, hvor den tekniske fremgangsmåde er inspireret af den tilgængelige litteratur på området. Således blev tre serier af test udført, hvor de tre katalysatorer K1-K3 blev udnyttet til reaktion af fire forskellige farvestoffer F4-F7 og disses kombinationer, F4+F6 og F5+F6, i alt seks forsøg.



FIGUR 3
POLYMERISERING AF FORSKELLIGE FARVESTOFFER. PRØVERNE HAR REAGERET NATTEN OVER. A) REAKTIONER MED KATALYSATOR K1, B) REAKTIONER MED KATALYSATOR K2 OG C) REAKTIONER MED KATALYSATOR K3

Disse indledende forsøg bekræfter resultaterne beskrevet i litteraturen, og ydermere bekræfter de, at de tre udvalgte katalysatorer, kan benyttes til in situ-dannelse af farvede molekyler. Farverne observeret i disse indledende forsøg spænder fra gullig over rød til mørk brun, hvilket er yderst ønskeligt for anvendelsen i hårfarver. Det blev dog vurderet, at en øget farvestyrke sandsynligvis ville være nødvendig til hårfarvning, hvorfor endnu tre serier af forsøg med samme stofkombinationer, men med øget farvestofmængde, blev udført. Resultaterne kan ses i Figur 4. Ved en forøgelse af farvestofmængden med en faktor 10 blev der observeret en signifikant forøgelse i

farvestyrke til et niveau, hvor det blev vurderet, at farvning af hår er muligt inden for en realistisk tidsramme.



FIGUR 4
FORSØGSRÆKKER MED FORØGELSE AF FARVESTOFMÆNGDE FOR AT OPNÅ ØGET FARVESTYRKE. REAKTIONERNE ER FOTOGRAFERET EFTER 3,5 TIME FOR DE TRE KATALYSATORER. A) K₁, B) K₂ OG C) K₃

Med udgangspunkt i de lovende indledende forsøg blev det besluttet at udføre en række forsøg for at undersøge polymerisering ved forskellige reaktionstider. Farvetiden for en mulig ny teknologisk skal være sammenlignelig med eksisterende alternative hårfarver, såsom Elumen, hvor en farvning kan tage mellem 2 og 4 timer.

Der blev derfor udført en række forsøg med forskellige farvestoffer (F4-F7) og de tre udvalgte katalysatorer (K1-K3), hvor reaktionerne blev fulgt over tid. Nedefor ses et eksempel på et sådant forsøg med F4+F6 for de tre katalysatorer. In situ-dannelsen af farve giver en hurtig farvereaktion, hvor der efter 60 min observeres en tydelig farvning af opløsningen (se Figur 5). Der blev dog observeret en signifikant forskel i reaktionshastighed af F4+F6 mellem de tre katalysatorer. Det skal dog påpeges, at alle tre katalysatorer medførte en dyb mørkebrun farve, efter at reaktionerne havde stået over en weekend. Dette resultat blev vurderet som positivt, idet det forventes at reaktionshastigheden kan forøges ved at ændre reaktionstemperaturen, således at tilfredsstillende farvestyrke kan opnås indenfor 1-2 timer.



FIGUR 5.
FORSØG MED REAKTIONSTID. PRØVERNE ER FOTOGRAFERET I TIDSINTERVALLERNE A) LIGE TILFØRT KATALYSATOR, B) EFTER 1 TIME OG C) WEEKENDEN OVER.

Med baggrund i reaktionstidsforsøgene blev der efterfølgende udført en række eksperimenter med varieret temperatur med henblik på at teste hypotesen om øget reaktionshastighed som funktion af temperatur. Det blev besluttet at undersøge reaktionerne ved tre forskellige temperaturer. Disse temperaturer blev udvalgt, da det i samarbejde med fage eksperter fra By Falengreen og Aarhus Tech blev vurderet, at temperaturerne er realistiske for produktet og opnåelige i en frisørsalon. Forsøgene blev igen udført med de tre forskellige katalysatorer og forskellige farvestoffer. I nedenstående figur ses resultaterne fra et sådant forsøg udført med F6.



FIGUR 6
TEMPERATURFORSØG MED KATALYSATOR K_3 OG FARVESTOF F6 VED TRE FORSKELLIGE TEMPERATURER EFTER HENHOLDSVIS A) 0 MINUTTER, B) 30 MINUTTER OG C) 60 MINUTTER.

Resultaterne viser, at hypotesen om øget reaktionshastighed med stigende temperatur holder for denne reaktion, og at det ved forøgelse af temperaturen er muligt at opnå signifikant farvedannelse efter 30 min. reaktionstid. Ydermere observeres der en dyb mørkebrun farve efter en times reaktionstid, hvilket blev vurderet som egnet til hårfarvning.

I klassiske hårfarver benyttes der, som tidligere nævnt, ofte en høj pH for at sikre effektiv kvælning af håret, hvorved farven kan indlejres dybere i hårstrået og en forberedt holdbarhed af hårfarven derved opnås. Det blev derfor besluttet at teste in situ-hårfarvedannelse ved forskellig pH fra lav til høj inden for et pH-område, som vil være realistisk for farvning af hår.



FIGUR 7
FORSØG MED FORSKELLIG PH. A) INDEN TILFØRSEL AF KATALYSATOR K_3 , B) LIGE TILFØRT OG C) EFTER 1 TIME.

I Figur 7 ses resultaterne fra et af disse forsøg udført med F6. Det ses, at der ved høj pH sker en reaktion, allerede inden katalysatoren er tilsat. Denne reaktion antages at være en homopolymerisering af farvestoffet via en alternativ reaktionsvej end den, som katalysatoren accelererer. Dette fører til, at der dannes et andet produkt, og dette produkt har en svag blå farve. Efter tilsætning af katalysator og reaktion i op til en time er dette alternative produkt stadig dominerende resulterende i en blåfarvning ved høj pH. Dette fænomen observeres ikke for reaktioner udført ved lavere pH. Det blev vurderet, at denne pH-følsomhed af farvestoffet ikke tillader behandling ved klassiske kvælningsystemer, men alternativer kan overvejes i den videre udvikling af et produkt baseret på denne teknologi, hvis det findes nødvendigt. Der vil med fordel også kunne undersøges et bredere udsnit af farvestoffer med mindre pH-følsomhed. Dette blev dog vurderet for tidskrævende inden for rammerne af dette projekt.

På baggrund af den opnåede viden omkring stoffkoncentration, reaktionstid og temperatur samt pH-optimum blev det besluttet at udvælge én katalysator til brug i det videre, tekniske udviklingsarbejde. Der blev derfor foretaget et sidste forsøg med de tre katalysatorer ved de tidligere bestemte optimale reaktionsbetingelser (pH, reaktionstid, koncentration af katalysator og farvestof).



FIGUR 8

FORSØG MED DE TRE KATALYSATORER VED OPTIMALE BETINGELSER. REAKTIONERNE ER FOTOGRAFERET EFTER HENHOLDSVIS A) 5 MINUTTER, B) 30 MINUTTER OG C) 60 MINUTTER.

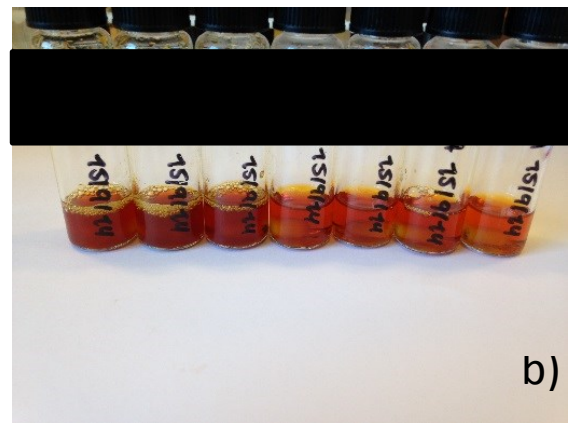
I Figur 8 ses et sammenligningsstudie af de tre katalysatorer ved de tidligere bestemte, optimale reaktionsbetingelser. Det ses tydeligt, at K2 giver en langsommere reaktion og ikke når den ønskede dybe brune farve selv efter en reaktionstid på en time. K1 og K3 fører til sammenlignelige farvestyrker, dog blev der observeret en smule hurtigere farvedannelse for reaktionen med K3. Det blev derfor besluttet at fortsætte udviklingen med K3 med henblik på de indledningsvise forsøg med farvning af afklippet afbleget menneskehår.

Igennem det beskrevne udviklingsarbejde har der været fokus på fremstillingen af to forskellige farver ved anvendelsen af den udvalgte teknologi, hvor en brun og en rød nuance er udvalgt som mål. Det er dog ønskeligt at undersøge mulighederne for at opnå et bredere farvespektrum. For at undersøge farvemulighederne ved brug af de fire udvalgte farvestoffer blev en række kombinationsforsøg udført, hvor kombinationer i forskellige forhold blev testet. Resultaterne er vist i Figur 9, 10 og 11 nedenfor.

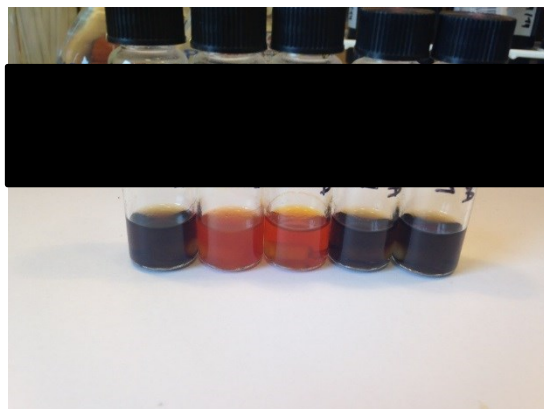


FIGUR 9

FORSØG MED KOMBINATIONER AF FARVESTOFFER I FORSKELIGE FORHOLD. A) F4+F6 1:1 OG 4:1, B) F5+F6 1:1 OG 4:1 OG C) F4+F5 FRA 1:4 TIL 4:1.



FIGUR 10.
 FORSØG MED KOMBINATIONER AF FARVESTOFFER I FORSKELLIGE FORHOLD. A) F5+F7 FRA 1:4 TIL 4:1 OG B) F4+F7 FRA 1:4 TIL 4:1.



FIGUR 11
 FORSØG MED KOMBINATIONER MED 3 FORSKELLIGE
 FARVESTOFFER

Resultaterne fra disse kombinationsforsøg sandsynliggør, at et bredere farvespektrum kan opnås ved kombination af de fire udvalgte farvestoffer. Der blev således observeret kombinationer, der gav anledning til farver fra gullige, orange, rød over brun til dybbrun. Ydermere ses det, at nuancerne af de forskellige farver kan ændres ved at ændre i forholdet mellem komponenterne.

For at karakterisere produktet af in situ-farvedannelsen, blev en række forsøg udført under optimerede betingelser for at fremstille et brunt produkt (F4+F6-kombination) og et rødt produkt (F4+F5-kombination). Disse to produkter blev isoleret og undersøgt ved hjælp af *gel permeation chromatography* (GPC), en metode, der adskiller molekyler efter størrelse og typisk benyttes til at bestemme molekylvægten af makromolekyler og polymerer. Ud fra disse analyser blev det estimeret, at molekylvægten af de dannede polymerer er i intervallet fra 600-30.000 Da for den brune og den røde farve.

Med baggrund i de positive resultater fra optimerings- og kombinationsforsøgene blev det besluttet at teste teknologien videre i hårfarvningseksperimenter. Til forsøg med farvning af menneskehår blev anvendt afklippet, afbleget hår bundet op i trenser. Disse er tilgængelige kommercielt og sikrer et ensartet udgangspunkt for alle farvninger. Resultaterne af et sådant forsøg er vist i Figur 12.



FIGUR 12

HÅRFARVNING MED K3 OG F4+F5 (RØD) OG F4+F6 (BRUN) HENHOLDSVIS A) FØR VASK OG B) EFTER VASK

I disse indledende hårfarveforsøg blev hårtotterne tilsat en reaktionsbeholder indeholdende katalysator og farvestof i opløsning og farvet under magnetisk omrøring. Fra resultaterne vist i figur 12 ses, at hårtotterne farves i de ønskede farver baseret på de udvalgte kombinationer. Dog blev en kraftig filtrering af håret observeret, hvilket tilskrives omrøring af reaktionsblandingen. Denne filtrering medfører ujævn farvning af håret, hvorfor det blev besluttet at ændre påføringsmetoden. Ved brug af en ikke-omrørt reaktionsbeholder blev hårtotter således farvet med tilsvarende betingelser, som vist ovenfor.



FIGUR 13

HÅRFARVNING I REAKTIONSBEHOLDER UDEN OMRØRING. HER SES F4+F5 (RØD) OG F4+F6 (BRUN) HENHOLDSVIS A) FØR VASK MED VAND OG B) EFTER VASK MED VAND

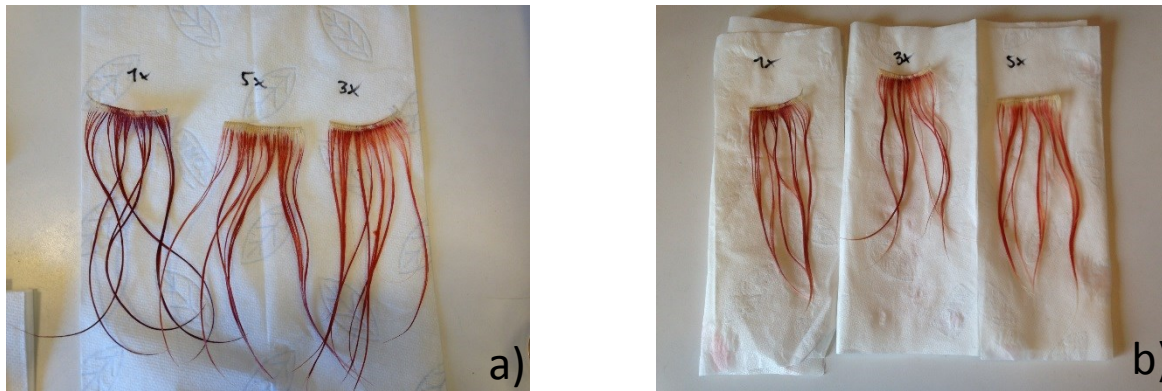
I Figur 13 er resultaterne af dette forsøg vist. Det observeres, at en mere jævn farvning af håret opnås ved denne metode. Ydermere simulerer denne metode et mere realistisk scenarie i forhold til anvendelsen af teknologien i et farveprodukt til en frisørsalon.

På baggrund af de lovende resultater med in situ-dannelse af farve blev det tekniske udviklingsarbejde afgrænset til denne teknologi, en beslutning taget i samarbejde med projektgruppen og miljøstyrelsen. Det blev derfor besluttet at gå videre med denne teknologi og arbejde mod en prototype af et hårfarvningsprodukt gennem eksperimenter med formuleringen.

4.2 Prototype og formuleringsmuligheder

For at opnå en ensartet farvning samtidig med en mere praktisk påføringsmetode, der er sammenlignelig med den, der benyttes ved hårfarvning i frisørsaloner i dag, blev en række forsøg med forskellige påføringsmetoder udført. Det blev således fundet, at en mere ensartet hårfarvning kunne opnås ved at benytte en pensel til påføring af skiftevis katalysator og farvestof.

Et eksempel på hårfarvning ved denne påføringsmetode er vist nedenfor i figur 14.

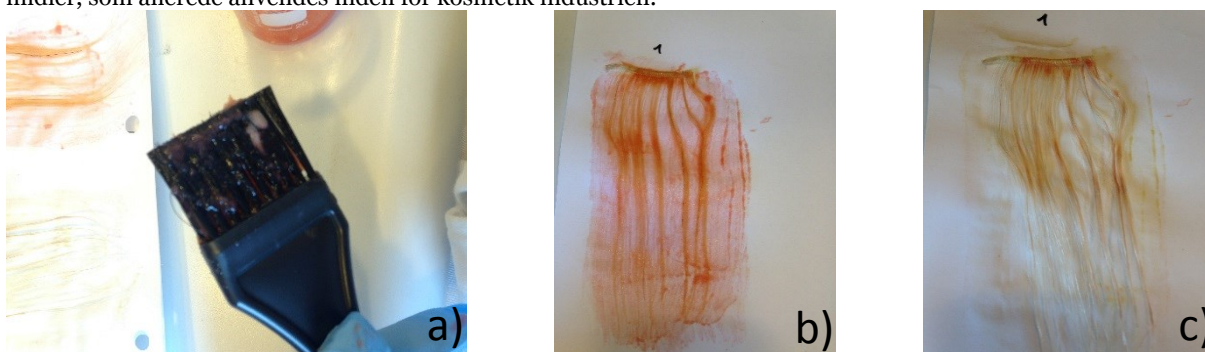


FIGUR 14

HÅRFARVNING VED IN SITU-DANNELSE AF FARVE VED PÅFØRING AF KATALYSATOR OG FARVESTOF A) 1, 5 OG 3 GANGE FRA VENSTRE FØR VASK MED VAND OG B) 1, 3 OG 5 GANGE FRA VENSTRE EFTER VASK MED VAND.

Det skal dog bemærkes, at der ikke observeres yderligere forøgelse af farvestyrken ved flere påføringer af farvestof efter den første påføring af katalysator. Det antages, at dette kan skyldes forsøgsdesignet, og en senere optimering af dette vil sandsynligvis kunne føre til en kraftigere farvning.

En tynd opløsning til påføring kan lede til stænk og spild af produktet under brug, og der gennemførtes forsøg med fortykning af opløsningerne. I en række forsøg med fortykning af både katalysator- og farvestofopløsningen med henblik på at opnå et hårfarveprodukt med en tykkere konsistens, blev flere forskellige fortykningsmidler testet. Fortykningsmidlerne er valgt inden for midler, som allerede anvendes inden for kosmetik industrien.



FIGUR 15.

PÅ BILLEDERNE SES A) KLUMPER PÅ PENSEL EFTER FORTYKNING AF KATALYSATOROPLØSNING, B) LIGE EFTER PÅFØRING AF FORTYKNING AF OPLØSNING MED KATALYSATOR OG FARVESTOF SAMT C) 1 TIME EFTER PÅFØRING AF FORTYKKET OPLØSNING

Det blev fundet, at en acceptabel konsistens kunne opnås med kendte fortykningsmidler. Dog viste efterfølgende forsøg, at fortykning førte til signifikant forværringer i hårfarvens evne til effektivt at binde til håret, sandsynligvis som følge af en uønsket udtørring af det fortykkede produkt. Gennem forsøg med additiver for at forhindre denne uønskede udtørring har det været muligt at udvikle en formulering indeholdende additiver og fortykningsmiddel, som kan benyttes til

hårfarvning. Det skal dog nævnes, at denne formulering fører til en svagere farvning og at yderligere optimering af formulering vil være nødvendig.

Det blev således vurderet, at de bedste farvninger af hår med henblik på vurdering af bestandighed over for vask og sollys ville blive opnået ved brug af den simple påføringsmetode med pensel uden yderligere additiver.

4.3 Fagteknisk evaluering af in situ-katalyseret hårfarve

En fagteknisk vurdering af hårtrener farvet med in situ-katalyseret hårfarve er foretaget af hhv. fem frisørfaglærere fra Aarhus Tech (november 2014) og 19 frisørelever fordelt på tre grupper (marts 2015) i samarbejde med Teknologisk institut. Der er vurderet på 18 prøver: 9 røde og 9 brune. Der er foretaget bestandighedstest på prøverne inden vurderingen, så de er hhv. vasket i vand og opbevaret i sollys, se nedenstående Tabel 7. Prøverne er sammenlignet med en ubehandlet referenceprøve. Der er vurderet på fem parametre: intensitet, ujævnhed, kemisk påvirkning, glans og dybde. Vurderingen er foretaget som en relativ vurdering ud fra det nuværende trin i udviklingsprocessen.

Behandling	Kode	Prøvenummer	
		Røde	Brune
Farvet	Nul	1	2
1 x vask	V1	3	4
3 x vask	V3	5	6
5 x vask	V5	7	8
10 x vask	V10	9	10
1 ugers sollys	UV1	11	12
2 ugers sollys	UV2	13	14
3 ugers sollys	UV3	15	16
4 ugers sollys	UV4	17	18

TABEL 7 OVERSICHT OVER PRØVER TIL FAGTEKNISK VURDERING AF AARHUS TECH. UV ANGIVER, AT PRØVERNE HAR VÆRET PLACERET I SOLLYS I 1-4 UGER EFTER FARVNING, MENS V ANGIVER, AT PRØVERNE ER VASKET I VAND 1-10 GANGE EFTER FARVNING.

De fem parametre samt den anvendte skala (1-10) beskrives i det følgende:

Intensitet: Intensitet er et mål for styrken af et fænomen, hvorfor intensiteten her vurderes på baggrund af styrken i farven. Intensiteten vurderes på en skala fra 1-10 med 1 = lav intensitet og 10 = høj intensitet.

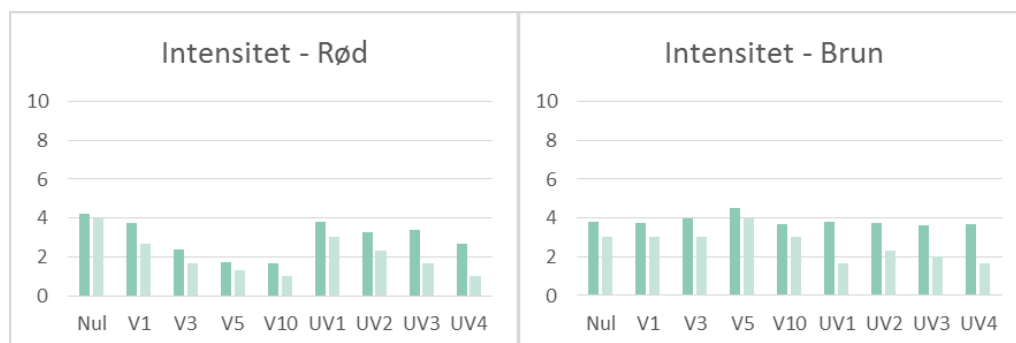
Ujævnhed: Her vurderes, om håret har taget ens imod farven, eller om der opstår ujævnheder langs hårstrået, og i så fald hvor ujævnhederne er opstået. En farve skal helst dække jævnt og ensartet fra bund til spids. Ujævnhed vurderes på en skala fra 1-10 med 1 = meget ujævn og 10 = meget jævn.

Kemisk påvirkning: Her vurderes ud fra, hvor meget skællaget på hårstrået er påvirket af behandlingen. Et skællag, som bliver påvirket udefra, vil ofte synes og mærkes mere ru eller mat end før behandlingen. Kemisk påvirkning vurderes på en skala fra 1-10 med 1 = lav påvirkning og 10 = høj påvirkning.

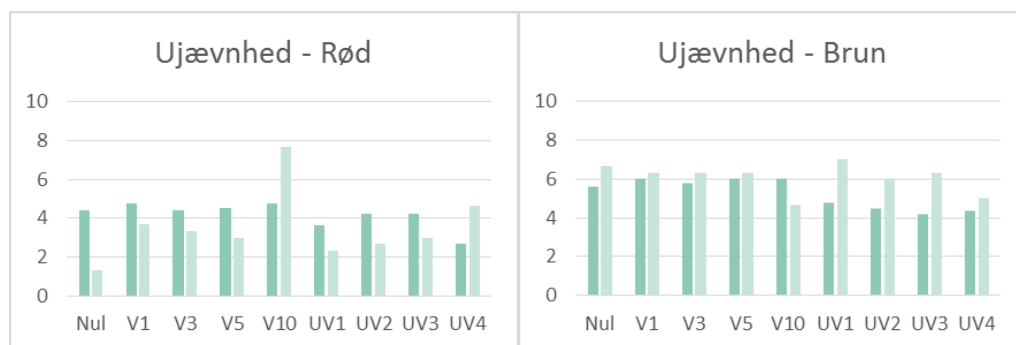
Glans: Her vurderes blankheden af håret. Er blankheden ensartet, reflekteres farven i lyset, syner farven mat bestemte steder på hårdelen. Glans vurderes på en skala fra 1-10 med 1 = lav glans og 10 = høj glans.

Dybde: Dybden vurderes ud fra, hvor mørk eller lys farven syner. Hvis farven er transparent og gennemsigtig mangler den dybde. Det går hånd i hånd med intensitet, men vurderes individuelt alt efter tonehøjden. De mørke farver betragtes som de dybeste. Vurderingen er foretaget ud fra de erfaringer, som faglærerne har med de farvekort, der anvendes i branchen. Her taler man meget om kolde og varme nuancer, som er basis for al indfarvning, og som kan påvirke håret i forskellige retninger. Farvestjernen bruges ofte som værktøj ved en farvediagnose. Dybden vurderes på en skala fra 1-10 med 1 = kold og transparent og 10 = varm og dyb.

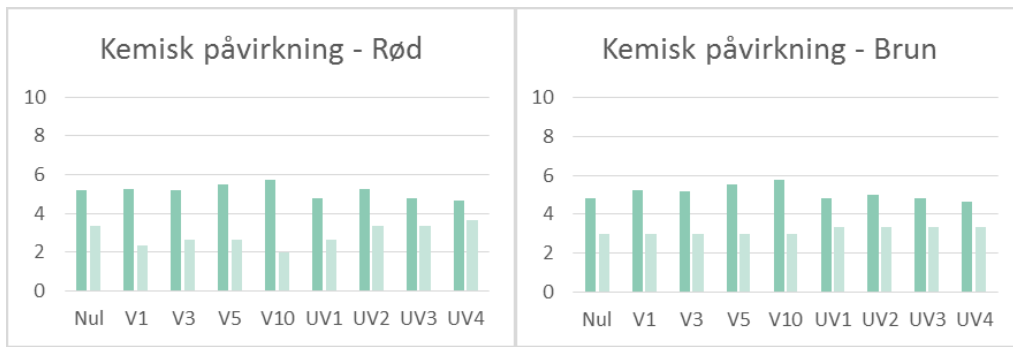
Den gennemsnitlige vurdering af hver parameter foretaget af hhv. faglærerne og frisøreleverne er for de enkelte prøver vist i Figur 16-20.



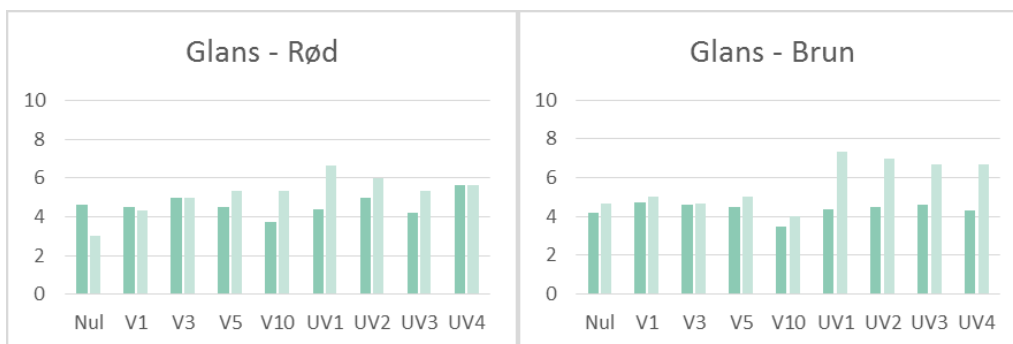
FIGUR 16
FAGTEKNISK VURDERING AF INTENSITETEN AF HÅRTRENSER FARVET HHV. RØD (TIL VENSTRE) OG BRUN (TIL HØJRE) MED DEN UDVIKLEDE TEKNOLOGI. DE MØRKEGRØNNE SØJLER REPRÆSENTERER DEN GENNEMSITLIGE VURDERING FORETAGET AF FAGLÆRERNE (3-5 VURDERINGER), OG DE LYSEGRØNNE REPRÆSENTERER GENNEMSITTET AF ELEVGRUPPERNES VURDERINGER (3 GRUPPER).



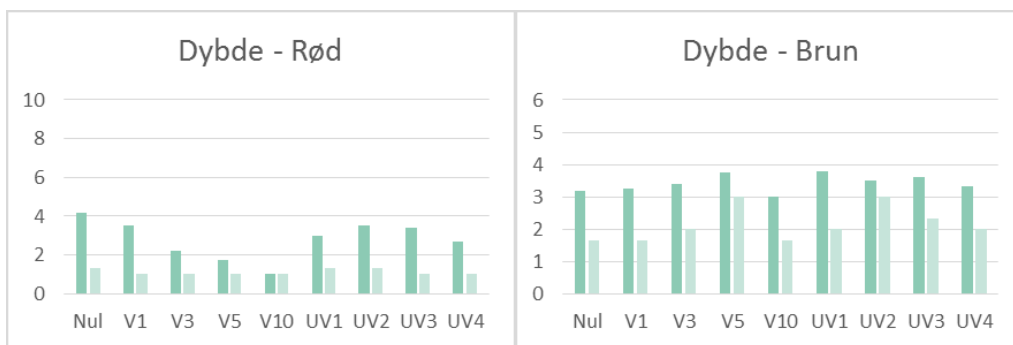
FIGUR 17
FAGTEKNISK VURDERING AF UJÆVNHEDEN AF HÅRTRENSER FARVET HHV. RØD (TIL VENSTRE) OG BRUN (TIL HØJRE) MED DEN UDVIKLEDE TEKNOLOGI. DE MØRKEGRØNNE SØJLER REPRÆSENTERER DEN GENNEMSITLIGE VURDERING FORETAGET AF FAGLÆRERNE (3-5 VURDERINGER), OG DE LYSEGRØNNE REPRÆSENTERER GENNEMSITTET AF ELEVGRUPPERNES VURDERINGER (3 GRUPPER).



FIGUR 18
FAGTEKNISK VURDERING AF DEN KEMISKE PÅVIRKNING AF HÅRTRENSER FARVET HHV. RØD (TIL VENSTRE) OG BRUN (TIL HØJRE) MED DEN UDVIKLEDE TEKNOLOGI. DE MØRKEGRØNNE SØJLER REPRÆSENTERER DEN GENNEMSNITLIGE VURDERING FØRETAGET AF FAGLÆRERNE (3-5 VURDERINGER), OG DE LYSEGRØNNE REPRÆSENTERER GENNEMSNITTET AF ELEVGROPPERNES VURDERINGER (3 GRUPPER).



FIGUR 19
FAGTEKNISK VURDERING AF GLANSEN AF HÅRTRENSER FARVET HHV. RØD (TIL VENSTRE) OG BRUN (TIL HØJRE) MED DEN UDVIKLEDE TEKNOLOGI. DE MØRKEGRØNNE SØJLER REPRÆSENTERER DEN GENNEMSNITLIGE VURDERING FØRETAGET AF FAGLÆRERNE (3-5 VURDERINGER), OG DE LYSEGRØNNE REPRÆSENTERER GENNEMSNITTET AF ELEVGROPPERNES VURDERINGER (3 GRUPPER).



FIGUR 20
FAGTEKNISK VURDERING AF DYBDEN AF HÅRTRENSER FARVET HHV. RØD (TIL VENSTRE) OG BRUN (TIL HØJRE) MED DEN UDVIKLEDE TEKNOLOGI. DE MØRKEGRØNNE SØJLER REPRÆSENTERER DEN GENNEMSNITLIGE VURDERING FØRETAGET AF FAGLÆRERNE (3-5 VURDERINGER), OG DE LYSEGRØNNE REPRÆSENTERER GENNEMSNITTET AF ELEVGROPPERNES VURDERINGER (3 GRUPPER).

4.3.1 Sammenfatning af fagteknisk vurdering

I sammenligning med de farver, Aarhus Techs faglærere og elever arbejder med i deres daglige arbejde, vurderes intensitet af farverne generelt ikke som værende særlig høj. Dette kan bl.a. skyldes påføringsmetoden, farvens konsistens, prøvehårets kvalitet og farvegrundlag (farvning af afbleget hår). Bedste sammenligning kan være med allerede eksisterende skyllefarver, som også vaskes af lidt efter lidt. Faldet i intensitet efter vask ses særligt tydeligt på den røde farve. Generelt ses stor ujævnhed i farverne, især for den røde farve. Til gengæld er den kemiske påvirkning på håret minimal.

Glansen på hårtrenerne var stabil. Dybden var mangelfuld, men dybde vurderes individuelt i forhold til tonehøjden på grund- og refleksfarven og er generelt en svær parameter at vurdere på en 10-trins skala som her.

Frisørfaglærerne påpegede under den fagtekniske vurdering, at intensiteten af farverne sandsynligvis vil kunne intensiveres ved enten forpigmentering før påføring af farven, eller ved påføring af farven flere gange. Dette er en normal praksis ved farvning af meget lyst hår til en markant mørkere tone. Den brune farve viser sig mere stabil, og mere dækkende end den røde, hvilket ikke er et ukendt fænomen i frisørbranchen.

4.4 Forsøg med forpigmentering med henblik på øget intensitet

Betingelserne, for at en farve bliver vellykket, er et ensartet grundlag med det rigtige underliggende pigment på håret. Det underliggende pigment, også kaldet lysningsgrundlaget, går fra meget dyb mørkerød til meget lys gul, afhængigt af tonehøjden på håret (om håret er mørkt eller lyst). Hvis håret ikke besidder de nødvendige pigmenter, tilføres de, inden håret farves i den ønskede farve. Dette kaldes forpigmentering. Forpigmentering blev foreslået af frisørfaglærerne i forbindelse med den fagtekniske vurdering (november 2014), og der blev gennemført enkle forsøg med forpigmentering af hårtrener i projektets sidste fase. Forpigmenteringen er gennemført med tre farver: gylden, rød og orange med produktet "Toningsfarve Dia Light" fra L'Oréal. Hårtrenerne blev forpigmenteret med en toningsfarve. Toningsfarver er ammoniakfrie og blandes med en meget lav beize styrke (stabiliseret brintoverilte), hvilket påvirker hårets struktur minimalt. Toningsfarver åbner ikke skællaget, men lægger sig på overfladen. Toningsfarver er ikke 100 % dækkende og er derfor velegnet til forpigmentering, da ønsket er en mere transparent pigmentering af håret, før den egentlige farve påføres. Er forpigmenteringen for dækkende og tæt i farven, kan den dominere det færdige resultat, hvilket ikke er formålet her.

Farvenuancer brugt på afklippet, afbleget hår (løse hårdele) under følgende betingelser:

Gul: Lys gylden blond med 6 volume (1,8 %) beize

Orange: ½ Kobber gylden blond + ½ Clear 6 volume (1,8 %) beize. Clear er en toningsfarve uden farvepigment, som kan minimere intensiteten på farven.

Rød: ½ Lys dyb rød brun ½ Clear 6 volume (1,8 %) beize.

Trækketid: 15-minutter uden varme.

Herefter er trenerne tørret og farvet med de to udviklede farver i rød og brun (se Figur 21). En af to farvede trendser er vasket med en almindelig hårshampoo for at teste bestandigheden af den udførte farvning.



FIGUR 21
 FORPIGMENTERET HÅR FARVET MED IN SITU-DANNENDE HÅRFARVE FØR OG EFTER VASK MED VAND. FOROVEN:
 BRUN IN SITU-FARVNING UDEN FORPIGMENTERING (A). BRUN FARVNING MED GYLDEN FORPIGMENTERING FØR
 (B) OG EFTER VASK (C). BRUNFARVNING MED RØD FORPIGMENTERING FØR (D) OG EFTER VASK (E).
 BRUNFARVNING MED ORANGE FORPIGMENTERING FØR (F) OG EFTER VASK (G). FORNEDEN: RØD IN SITU-
 FARVNING UDEN FORPIGMENTERING (H). RØDFARVNING MED GYLDEN FORPIGMENTERING FØR (I) OG EFTER
 VASK (J). BRUNFARVNING MED RØD FORPIGMENTERING FØR (K) OG EFTER VASK (L). BRUNFARVNING MED
 ORANGE FORPIGMENTERING FØR (M) OG EFTER VASK (N).

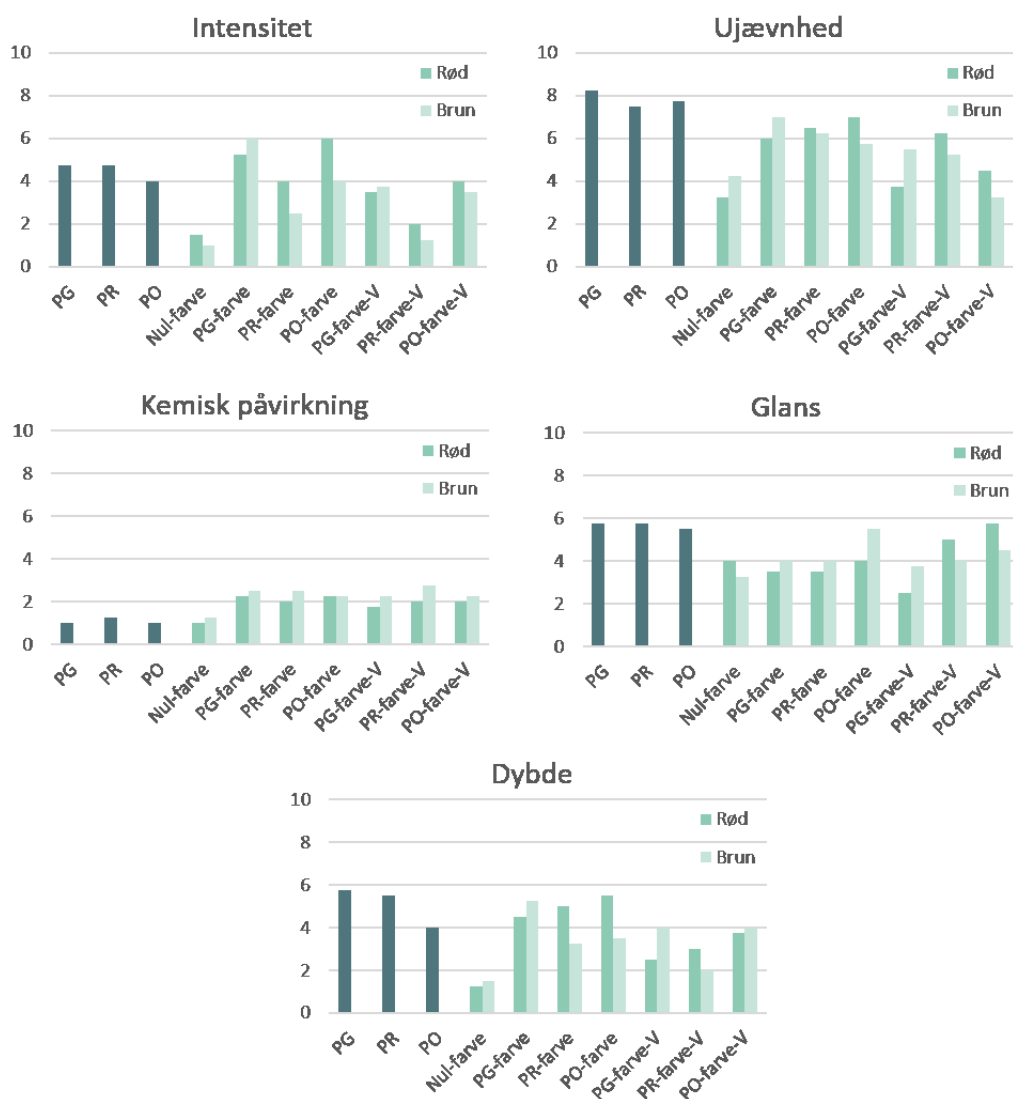
Prøverne er efterfølgende vurderet af faglærerne på de fem parametre: intensitet, ujævnhed, kemisk påvirkning, glans og dybde. Vurderingen er foretaget som en relativ vurdering ud fra det nuværende trin i udviklingsprocessen.

Behandling	Prøvenummer			
	Kode	Forbehandlet	Rød	Brun
Farvet	Nul		1	2
Gylden forpigmentering	PG	19	20	21
Rød forpigmentering	PR	22	23	24
Orange forpigmentering	PO	25	26	27
Gylden forpigmentering – vask med shampoo	PG-V		28	29
Rød forpigmentering – vask med shampoo	PR-V		30	31
Orange forpigmentering – vask med shampoo	PO-V		32	33

TABEL 8: OVERSIGT OVER PRØVER TIL FAGTEKNISK VURDERING AF AARHUS TECH. P ANGIVER FORPIGMENTERING MED HHV. GYLDEN (G), RØD (R) ELLER ORANGE (O), MENS V ANGIVER, AT PRØVERNE ER VASKET MED SHAMPOO EN GANG EFTER FARVNING.

4.5 Fagteknisk evaluering af forpigmenterede trenser farvet med in situ-farvedannende hårfarver

Med den rette forpigmentering får den røde og den brune in situ-hårfarve en mere dækkende og ensartet farve. Den brune nuance bliver nu mere varm og har ikke længere en grønlig undertone, som var tydelig inden forpigmentering. Med den gule forpigmentering er den brune farve meget naturlig. Med den orange forpigmentering synes den brune farves evne til at dække mindre end ved den gyldne og den røde. Med den røde forpigmentering synes den røde farve brunlig i nuancen på gyldent grundlag, men meget dækkende. Den røde farve er ikke stærk nok til at dominere den orange forpigmentering. Den røde bliver derimod meget jævn ved den røde forpigmentering, hvilket er logisk. Ens for dem alle er, at begge de udviklede in situ-farver bliver mindre intense efter hårvask, hvilket til en vis grad kan sammenlignes med de skyllefarver, som findes på markedet i dag.



FIGUR 22 FAGTEKNISK VURDERING AF DE FEM VURDERINGSPARAMETRE FOR HÅRTRENSER FARVET HHV. RØD (TIL VENSTRE) OG BRUN (TIL HØJRE) MED DEN UDVIKLEDE TEKNOLOGI EFTER PREPIGMENTERING. GENNEMSNIT AF FIRE VURDERINGER FORETAGET AF FAGLÆRER FRA AARHUS TECH.

4.6 Toksikologiske overvejelser omkring prototypeformulering til in situ-dannelse af hårfarve

Som beskrevet i kapitel 4.1 og 4.2, omfatter in situ-dannelse af hårfarve på det nuværende udviklingsstadium en trinvis behandling af håret med først en katalysatorblanding og dernæst en farvestofblanding. Tilsætning af en række andre additiver er undersøgt under udvikling af prototypeformuleringen med henblik på optimering af produkttegenskaberne. Forsøgene tyder på, at de ønskede egenskaber sandsynligvis kan opnås ved anvendelse af additiver, som allerede anvendes i branchen i dag. Formuleringens udvikling anses dog ikke for afsluttet, og toksikologiske overvejelser omkring formuleringen baseres derfor på resultaterne af den nuværende tekniske udvikling med udgangspunkt i en simpel formulering og under antagelse af, at de kritiske komponenter er hhv. katalysatoren og farvestofferne. En fuldstændig sikkerhedsvurdering af et færdigudviklet produkt ligger uden for rammerne af indeværende projekt.

Katalysatorblandingen: Generelt vurderes katalysatorerne at have et meget lavt toksikologisk potentiale, ud over en mulig inhalatorisk sensibilisering (se detaljeret gennemgang i kapitel 3). Til in situ-dannelse af hårfarve anvendes en flydende formulering, og forsøg har i dette projekt vist, at en fortykning af formuleringen ved anvendelse af konventionelle fortykningsmidler er mulig. Det antages at være mindre sandsynligt at højviskøse formuleringer danner stabile aerosoler (13) og eksponeringen for katalysatoren via indånding forventes derfor at være lavere fra højviskøse formuleringer. I det videre arbejde bør der derfor sigtes mod at øge formuleringens viskositet for at reducere risiko for eksponering ved indånding. Under den teknologiske udvikling er det endvidere set, at en forøgelse af katalysatorkoncentrationen i forhold til de niveauer, som er angivet i tidligere studier resulterer i et mere acceptabelt produkt med en hurtigere farveudvikling og en dybere, mere intens farve. En højere koncentration af katalysatoren i formuleringen vil øge forbrugerens eksponering for stoffet.

Farvestofblanding: Ud af de fire farvestoffer F4-F7, som blev udvalgt i arbejdsplanen 1, anvendes tre i de udviklede prototypeformuleringer til fremstilling af hhv. en brun og en rød hårfarve: F4, F5, F6. Der er ikke anvendt yderligere farvestoffer end disse, som allerede er gennemgået i kapitel 3. Farvestoffernes klassificering viser, at ingen af de valgte substrater, i modsætning til PPD og PDT, er klassificeret som hudsensibiliserende (allergifremkaldende) eller farlige for vandmiljøet (jf. den hyppigste selvklassificering, der findes ved opslag i C&L inventory, ECHA), hvilket anses for at være en forbedring i forhold til anvendelsen af PPD og PDT. Koncentrationen anvendt i prototypeformuleringerne er sammenlignelige med de niveauer, som er angivet i tidligere studier, og sammenholdes de anvendte koncentrationer i prototypeformuleringerne med typiske koncentrationer af PPD og PDT fundet i hårfarver (2) (2013), er disse også sammenlignelige. I forbindelse med den teknologiske udvikling er der kun foretaget farvning af afklippet hår, men et groft estimat baseret på enkle forsøg med afvejning af anvendte farvemængder tyder endvidere på, at der vil skulle anvendes nogenlunde sammenlignelige mængder af hhv. konventionel hårfarveformulering og de udviklede prototypeformulering (g formulering/g hår). Set ud fra dette perspektiv forventes farvestofferne at opfylde projektets mål med hensyn til erstatning af PPD og PDT med mindre sundhedsskadelige alternativer. For at sikre tilstrækkelig opløsning af farvestoffet og derved sikre en optimal reaktion tilsættes prototypeformuleringen dog ethanol (som er brandfarlig og i henhold til den harmoniserede klassificering af kemikalier skal mærkes med *H225 - Meget brandfarlig væske og damp*). Det er ikke undersøgt inden for projektets rammer, om opløseligheden af de anvendte substrater kan sikres uden eller med et lavere indhold af ethanol.

4.7 **Sammenfatning og konklusion på udvikling af in situ-dannelse af hårfarve**

Ved anvendelse af katalysator K3 og tre udvalgte farvestoffer, F4-F6, er to prototypeformuleringer til farvning af menneskehår udviklet. Parametrene temperatur, pH, tid, koncentration af katalysator og farvestof er undersøgt og optimeret indledningsvis i opløsning, hvor en tydelig farveudvikling er set. Efterfølgende er en brun og rød formulering testet på afklippet menneskehår, hvor der er foretaget yderligere optimering af hhv. påføringsmetode og formuleringsegenskaber. Prototypeformuleringerne er afsluttende anvendt til farvning af en række afklippede hårtrener. Disse er bestandighedstestet mod hhv. op til 10 gange vask med vand og mod udsættelse af op til fire ugers sollys. Prøverne er før og efter bestandighedstest blevet fagteknisk vurderet i samarbejde med Aarhus Techs faglærere i forhold til relevante evalueringsparametre. Den overordnede konklusion på vurderingen er, at prototypeformuleringerne ikke anses for at give håret en tilstrækkelig farveintensitet og dybde i forhold til kommercielle formuleringer, og en videreudvikling anbefales. Den kemiske påvirkning af håret ved anvendelse af prototypeformuleringerne vurderes dog at være minimal, hvilket er positivt. Aarhus Tech samt By Falengreen påpeger endvidere, at en forpigmentering eller gentagne farvninger vil være almindelig praksis, når farvning af et afbleget hår til en langt mørkere nuance, såsom dyb rød eller dyb brun, ønskes. Test med forpigmentering i tre nuancer (gylden, rød og orange) med efterfølgende farvning med de udviklede prototypeformuleringer (brun og rød) har bekræftet, at en forpigmentering kan foretages med eksisterende forpigmenteringsprodukter, og at dette giver en mørkere og dybere farvning af håret.

I forhold til de toksikologiske overvejelser er betragtningerne angivet i kapitel 3 gældende, da der ikke er inkluderet yderligere stoffer i udviklingen i forhold til den indledende fase af projektet. Generelt vurderes katalysatorerne at have et meget lavt toksikologisk potentiale, ud over en mulig inhalatorisk sensibilisering, som der bør tages højde for i den videre udvikling. De udvalgte farvestoffer har umiddelbart meget begrænset toksicitet og har en forbedret toksikologisk profil sammenlignet med PPD og PTD. Derfor vurderes in situ-farvning med de udvalgte katalysatorer og farvestoffer på nuværende tidspunkt og ud fra den tilgængelige viden (toksikologisk profil, såvel som om formuleringens opbygning og anvendelse) at udgøre en forbedring i forhold til farvning med PPD og PTD mht. både allergi, sundhed og miljø.

5. Konklusion og perspektivering af projektets resultater

5.1 Mulighed for udbygning af farvespektret inden for in situ-farvning

I det udførte tekniske udviklingsarbejde har der været fokuseret på udviklingen af en rød og en brun hårfarve. Dog er et meget bredere udsnit af farvespektret relevant i forhold til en endelig produktlinje af nye hårfarver baseret på den udviklede teknologi.

Der er gennem et teoretisk udviklingsarbejde identificeret en række potentielle farvestoffer, der vurderes som kemisk kompatible med den udviklede teknologi. Disse nye potentielle farvestoffer er blevet fundet ved gennemgang af relevant videnskabelig litteratur. Der har været specielt fokus på at identificere farvestoffer med komplementære farveegenskaber, hvorved det vurderes, at farvespektret for den udviklede in situ-farvedannelse kan udvides til at inkludere lysere farver mellem gul og rød. Herudover vil inkludering af disse potentielle farvestoffer og kombinationer heraf både alene og i kombination med allerede testede farvestoffer sandsynligvis muliggøre et bredere farvespektrum ud fra et teknisk synspunkt.

De identificerede farvestoffer er listet i Tabel 9.

Farvestof	Forventet farve	Selvklassificering	Oprindelse
F9	Gul	Ingen (23/27)*	Naturlig forbindelse, sekundær metabolit fra planter
F10	Orange	Hudirritation, kat. 2, H315 Øjenirritation, kat. 2, H319 STOT SE, kat. 3, H335 (23/35)*	Syntetisk forbindelse, benyttes til kemisk analyse
F11	Rød	Akut toks, kat. 3, H301, H331 Akut toks, kat 2, H310 (23/32)*	Naturlig forbindelse
F12	Let lyserød	Hudirritation, kat. 2, H315 Øjenirritation, kat. 2, H319 STOT SE, kat. 3, H335 (23/29)*	Naturlig forbindelse, findes i planter
F13	Gul	Hudirritation, kat. 2, H315 Øjenirritation, kat. 2, H319 STOT SE, kat. 3, H335 (23/23)*	Naturlig forbindelse, findes i planter
F14	Gul-grøn	Hudirritation, kat. 2, H315	Naturlig forbindelse,

Farvestof	Forventet farve	Selvklassificering	Oprindelse
		Øjenirritation, kat. 2, H319 STOT SE, kat. 3, H335 (34/47)*	findes i planter
F15	Gul	Akut toks, kat. 3, H301 (51/58)*	Naturlig forbindelse, findes i planter

TABEL 9 OVERSIGT OVER TEORETISKE IDENTIFICEREDE FARVESTOFFER TIL UDVIDELSE AF FARVESPEKTRET TIL DEN UDVIKLEDE HÅRFARVETEKNOLOGI. *HYPPIGSTE SELVKLASSIFICERING AF STOFFET EFTER CLP, TALLENE I PARENTES ANGIVER ANTAL NOTIFIKATIONER I FORHOLD TIL TOTALT ANTAL NOTIFIKATIONER (C&L DATABASEN, ECHA, BESØGT 2015.04.13).

Størstedelen af de identificerede farvestoffer er naturlige forbindelser, som for de flestes vedkommende kan findes i planter. Farvestofferne spænder i forventet farve fra gul-grøn til orange, og det vurderes sandsynligt, at kombinationer af disse farvestoffer sammen med tidligere identificeret farvestoffer vil resultere i en signifikant udvidelse af det nuværende farvespektrum.

Samtidig er samtlige forbindelser kommercielt tilgængelige kemikalier, hvorfor det vurderes, at disse relativt nemt vil kunne testes som komponenter i den udviklede in situ-farvedannelsesteknologi.

De nødvendige eksperimenter til udvidelse af farvespektret vil med fordel kunne udføres i forlængelse af udviklingen af den endelige formulering med additiver til forbedring af formuleringstekniske egenskaber af produktet.

For de foreslåede stoffer findes ingen harmoniseret CLP-klassificering, men stofferne er selvklassificerede af industrien efter CLP som angivet i Tabel 9. Et enkelt stof, F9, har ingen klassificering i henhold til CLP ud fra den hyppigste selvklassificering af industrien. Fire stoffer (F10, F12, F13, F14) klassificeres som hud- og øjenirriterende i kategori 2 (H315: Forårsager hudirritation og H319: Forårsager alvorlig øjenirritation) og som specifik målorgantoksicitet ved enkeltexponering i kategori 3 (H335: Kan forårsage irritation af luftvejene). To af stofferne (F11, F15) er vurderet af industrien til at være akut toksiske (H301: Giftig ved indtagelse, H310: Livsfarlig ved hudkontakt og H331: Giftig ved indånding). Yderligere litteratur omkring toksikologiske effekter for stofferne er ikke undersøgt inden for projektet.

5.2 Næste trin i produktudviklingen

Teknologisk udvikling. Den teknologiske udvikling gennemført i projektet har vist at in situ-dannelse af hårfarve har potentiale som en ny teknologi til farvning af hår, men at der stadig er lang vej i produktudviklingen inden de tekniske egenskaber af produktet er fuldt ud dokumenterede og acceptable for en frisør. Muligheden for at udvide farvespektret er til stede, men arbejde med bare fire forskellige farvestoffer har vist, at disse opfører sig vidt forskelligt, hvorfor en optimering af hver enkelt ny farve vil være tidskrævende, men nødvendig.

Råderum og rettigheder. For at undersøge råderummet i forhold anvendelsen af in situ-dannelse af hårfarve kommercielt er der foretaget en overordnet søgning på patenter, som kan være relevante og begrænsende for anvendelsen af den teknologi, som er udviklet i projektet. På et dialogmøde med Patent- og Varemærkestyrelsen, februar 2015, er der identificeret relevante patentdokumenter. Undersøgelsen af disse viser, at der findes en række ældre patenter på området, men også en del af nyere dato med prioritetsdatoer i intervallet 1994-2000. Ni patentdokumenter er udvalgt af projektgruppen og gennemgået nærmere. Af disse er otte fra samme virksomhed. Fem af de ni er kun patentansøgninger. Dokumenterne går primært på modifikation af katalysatorerne

med henblik på at opnå mere optimale egenskaber, fx bedre stabilitet. Anvendelse som katalysator til hårfarvning er specifikt nævnt i nogle patenter, men er ikke nærmere beskrevet. Undersøgelsen har ikke været dybdegående, og det er bl.a. ikke undersøgt, om de identificerede patenter er vedligeholdte (altså gældende), eller om ansøgningerne har resulteret i patenter. Det kan på denne baggrund ikke afgøres, om der er fuldt råderum for anvendelse af teknologien, men den fremskredne alder på identificerede patenter og patentansøgninger virker lovende. Endvidere anses det for lovende at opfinder/rettighedshaver for langt størstedelen af de gennemgåede patentdokumenter er leverandører af katalysatorer og ikke konkurrerende kosmetik virksomheder.

Godkendelse af nye farvestoffer i henhold til kosmetikforordningen. Kosmetik er reguleret under kosmetikforordningen på EU-niveau (16). Forordningen fastsætter krav til visse typer af ingredienser, fx må man kun anvende de farvestoffer, der fremgår af forordningens positivliste (bilag 4 til forordningen). Hårfarvestoffer er i den sammenhæng noget særligt, da de farvestoffer, som anvendes i dag, fx PPD, typisk findes på listen over stoffer, som kun må anvendes med begrænsninger, dvs. de kun må anvendes til særlige formål og i bestemte koncentrationer (bilag 3 til forordningen). Det forventes, at alle tilladte hårfarver i fremtiden skal optages på bilag 4 til forordningen. Under udviklingsarbejdet er der anvendt katalysatorer og farvestoffer, som ikke anvendes i kosmetik og hårfarveprodukter i dag. Dette betyder, at det ud over den tekniske produktudvikling også vil være nødvendigt at få tilføjet de nye stoffer til anvendelse som farvestoffer i hårfarve under kosmetikforordningen, inden teknologien kan udnyttes kommercielt i EU. Bilagene til forordningen bliver løbende opdateret, men godkendelse af et nyt farvestof kan være længere proces. Processen omfatter udarbejdelse og indlevering af et sikkerhedsdossier til den Videnskabelige Komite for Forbrugersikkerhed. Komiteen foretager derefter en vurdering af samtlige data, der er indleverede i dossiet. Vurderingen skal vise, at stoffet sikkert kan anvendes til det konkrete formål og i den konkrete koncentration, for at stoffet kan godkendes. Hvis ikke der er tilstrækkelige data tilgængelige til vurderingen, kan konklusionen blive, at sikkerheden ikke kan vurderes. Når der er opnået en positiv vurdering, vil EU-Kommissionen herefter fremlægge et forslag til en ændring af reglerne, dvs. foreslå, at stoffet optages på et relevant bilag til forordningen. Forslaget diskuteres i en arbejdsgruppe, og der stemmes efterfølgende i den stående komité (SC) på samme måde som ved et forslag om forbud eller begrænsning. Ifølge SPT, den danske brancheforening for kosmetik, kan denne proces tage flere år. Et eksempel på en langvarig godkendelsesproces er ifølge SPT den gennemført for et UV-filter til kosmetik som var under proces fra 2006-2014, dvs. op mod 8 år^b inden optagelse i forordningen. Behandlingstiden forventes dog at kunne forkortes og vil bl.a. afhænge af kvaliteten af det indsendte sikkerhedsdossier og de tilgængelige toksikologiske data.

Sikkerhedsdossier. En positiv vurdering af sikkerheden ved anvendelse af de nye stoffer af VKF kræver, som beskrevet, at tilstrækkelige toksikologiske data er til rådighed. VKF har i den forbindelse udgivet en vejledning til test og sikkerhedsvurdering af kosmetiske stoffer (14). Inden for dette projekts rammer er der foretaget en screening af de toksikologiske egenskaber af de anvendte katalysatorer og farvestoffer baseret på identificerede kilder. Vejledningen stiller krav til, at der som minimum inkluderes information om akut toksicitet, irritation og ætsning, sensibilisering, absorption over hud, toksicitet ved langvarig udsættelse, mutagenicitet og genotoksicitet (14). Det kan således blive nødvendigt at supplere de allerede tilgængelige data med yderligere studier for at give VKF et tilstrækkeligt vurderingsgrundlag. Studier skal udføres efter specifikke retningslinjer angivet i vejledningen, men der må ikke udføres dyreforsøg på kosmetiske ingredienser. Alternative metoder som vil være i stand til at identificere og karakterisere fx hudsensibiliserende stoffer, som er særligt interessant for hårfarver, hvor det er et hyppigt problem, er under udvikling. Cosmetics Europe (tidligere Colipa) og deres medlemmer har bl.a. deltaget i udviklingen af tre in vitro-tests: Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA), Myeloid U937 Skin Sensitisation Test (MUSST) og human Cell Line Activation Test (hCLAT))^c. DPRA er nu valideret af

^b Informationsdag om kosmetikforordningen 2015.03.03 afholdt af Miljøstyrelsen og SPT

^c <https://www.cosmetics-europe.eu/safety-and-science-cosmetics-europe/alternative-methods/priorities-for-research-on-alternative-methods-.html#skinsensitisation>

det europæiske center for validering af alternative metoder (ECVAM) og er accepteret af OECD (Test guideline 442c). hCLAT er også valideret hos ECVAM, og deres anbefalinger forventes offentliggjort inden længe. For at få klarlagt behovet for og accepten af udførsel af studier efter de nyudviklede metoder er der taget kontakt til Cosmetics Europe for at igangsætte dialog med deres specialister samt andre relevante fagfolk på området.

Sikkerhedsvurdering. Kosmetiske produkter skal ikke godkendes, men skal være sikre for menneskers sundhed, når produkterne anvendes under normale betingelser eller betingelser, som med rimelighed kan forudses. Dvs. de skal følge reglerne i kosmetikforordningen, hvor der også er krav om at udarbejde en sikkerhedsvurdering, som inkluderer en beregning af en sikkerhedsmargin (Margin of Safety – MoS) af de forskellige stoffer inden markedsføring af produktet. Sikkerhedsvurderingen skal foretages af en specialist i henhold til kosmetikforordningens bilag I, og i vejledningen fra VKF omkring sikkerhedsvurdering af hårfarve findes retningslinjer til parametre, der kan anvendes i sikkerhedsvurderingen (fx typiske produktmængder, eksponeringstider og eksponeringsarealer). Denne vurdering skal foretages ud fra den endelige produktformulering, når denne er færdigudviklet.

5.3 Overordnet konklusion på projektets resultater

Den teknologiske udvikling har vist, at in situ-dannelse af hårfarver ved anvendelse af den udvalgte katalysator K3 samt de tre farvestoffer F4, F5 og F6 er mulig såvel i opløsning som på afklippet, afbleget menneskehår. Resultatet af farvning på menneskehår er dog ikke så intens og dyb som ønsket. Der ses en forskel imellem de to farver, der er arbejdet med i dette projekt, bl.a. i forhold til bestandigheden, hvor den brune farve holder bedre i vask. Kombination af eksisterende forpigmenteringer på markedet med de to nyudviklede farver er fundet mulig og forbedrer intensiteten og dybden af de to farver, men yderligere produktudvikling er anset for nødvendig for at opnå et mere optimalt produkt, særligt med hensyn til farveegenskaber.

Mulighederne for at udvide farvespektret ved anvendelse af andre farvestoffer inden for den samme type som de testede anses for realistiske fra et teknisk perspektiv, men vil kræve yderligere produktudvikling, inden målet kan nås. Andre barrierer, som skal overvindes for at anvende teknologien kommercielt, omfatter dybere toksikologisk vurdering af de valgte farvestoffer og katalysatorer. Test af de toksikologiske egenskaber inden en godkendelse af stofferne til brug i hårfarver og endelig sikkerhedsvurdering af produktet skal eventuelt også udføres, inden det sendes på markedet. Processen forventes at være omfattende, tidskrævende og omkostningstung, men det teknologiske perspektiv på projektets resultater anses for spændende.

Liste over forkortelser

CAS	Chemical Abstracts Service
CCRIS	Chemical Carcinogenesis Research Information System
CIR	Cosmetic Ingredient Review
CMR	Carcinogen, Mutagen og Reprotoksisk
CosIng	European Commission database with information on cosmetic substances and ingredients
Da	Dalton
DPRA	Direct Peptide Reactivity Assay
ECHA	European Chemicals Agency
ECVAM	European Centre for the Validation of Alternative Methods
EFSA	European Food Safety Authority
HB	Hydrogen bond (hydrogenbinding)
hCLAT	Human Cell Line Activation Test
HRIPT	Human repeat insult patch test
HSDB	Hazardous Substances Data Bank
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients
Kow	Fordelingskoefficient mellem oktanol og vand
LLNA	Local lymph node assay
MP	Melting point (smeltepunkt)
MUSST	Myeloid U937 Skin Sensitization Test
MW	Molecular weight (molekylvægt)
NOEL	No Observed Effect Level
NTP	National Toxicology Program
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals
S	Solubility (opløselighed)
SCCS	Scientific Committee on Consumer Safety (=VKF)
VKF	EU's Videnskabelige Komite for Forbrugersikkerhed (=SCCS)

Referencer

1. SCCS MEMORANDUM ON HAIR DYE SUBSTANCES AND THEIR SKIN SENSITISING PROPERTIES; 2006.
2. Poulsen, P. B.; Strandesen, M. Kortlægning af forekomst af PPD, PTD samt andre allergifremkaldende hårfarvestoffer i hårfarver. Kortlægning af kemiske stoffer i forbrugerprodukter nr. 121, 2013; 2013.
3. SCCP Opinion on Review of the SCCNFP opinion on Hair Dye Strategy in the light of additional information; 2006.
4. Morel, O. J. X.; Christie, R. M., Current Trends in the Chemistry of Permanent Hair Dyeing. *Chemical Reviews* 2011, 111 (4), 2537-2561.
5. Jeon, J. R.; Kim, Eun-Ju; Murugesan, Kumarasamy; Park, Hyo-Keun; Kim, Young-Mo; Kwon, Jung-Hee; Kim, Wang-Gi; Lee, Ji-Yeon; Chang, Yoon-Seok. Laccase-catalysed polymeric dye synthesis from plant-derived phenols for potential application in hair dyeing: Enzymatic colourations driven by homo- or hetero-polymer synthesis. *Microb Biotechnol.* 2010, 3 (3), 324-35. doi: 10.1111/j.1751-7915.2009.00153.x. Epub 2009 Nov 11.
6. OECD; The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins. Part 1: Scientific Evidence, Series on Testing and Assessment No. 168; May 2012; OECD
7. Roberts, D. W.; Aptula, A. O., Determinants of skin sensitisation potential. *Journal of Applied Toxicology* 2008, 28 (3), 377-387.
8. Magnusson, B.; Pugh, W. J.; Roberts, M., Simple Rules Defining the Potential of Compounds for Transdermal Delivery or Toxicity. *Pharm Res* 2004, 21 (6), 1047-1054.
9. Magnusson, B. M.; Anissimov, Y. G.; Cross, S. E.; Roberts, M. S., Molecular Size as the Main Determinant of Solute Maximum Flux Across the Skin. *J Investig Dermatol* 2004, 122 (4), 993-999.
10. Bos, J. D.; Meinardi, M. M. H. M., The 500 Dalton rule for the skin penetration of chemical compounds and drugs. *Experimental Dermatology* 2000, 9 (3), 165-169.
11. Roberts, D. W.; Mekenyan, O. G.; Dimitrov, S. D.; Dimitrova, G. D., What determines skin sensitization potency—myths, maybes and realities. Part 1. The 500 molecular weight cut-off. *Contact Dermatitis* 2013, 68 (1), 32-41.
12. Kosmetikforordningen. EUROPA-PARLAMENTETS OG RÅDETS FORORDNING (EF) Nr. 1223/2009 af 30. november 2009 om kosmetiske produkter.
13. HSE (2012) *Investigation of determinants of dermal exposure to enable development of a Dermal Advanced REACH Tool (DART)*. <http://www.hse.gov.uk/research/rrpdf/rr949.pdf>
Prepared by the Institute of Occupational Medicine for the Health and Safety Executive (HSE). Report RR949

14. VKF (2012) *THE SCCS'S NOTES OF GUIDANCE FOR THE TESTING OF COSMETIC SUBSTANCES AND THEIR SAFETY EVALUATION, 8TH REVISION*. Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS), 11. December 2012.

Miljøvenlige hårfarver fri for farlige kemikalier

Teknologisk Institut har sammen med By Falengreen og AarhusTech udviklet en ny type hårfarve. Udviklingen gennemført i projektet har vist, at dannelse af hårfarve ved anvendelse af én udvalgt katalysator samt tre farvestoffer er mulig såvel i opløsning som på afklippet, afbleget menneskehår. De kemikalier som anvendes i den type hårfarve anses for at være en forbedring i forhold til anvendelsen af eksisterende produkter med indhold af para-phenylendiamin (PPD) og para-toluendiamin (PDT). Der er dog behov for mere dybdegående vurdering af datamaterialet samt en videreudvikling af produktet, men de opnåede resultater i indeværende projekt virker lovende.

Miljø- og Fødevareministeriet
Miljøstyrelsen

Strandgade 29
1401 København K
Tlf.: (+45) 72 54 40 00

www.mst.dk