

Program PROIECT EXPERIMENTAL DEMONSTRATIV (PED 2024)

Denumire proiect: *Creme solare revoluționare: dezvoltarea, caracterizarea și validarea emulsiei cosmeceutice inovative pe baza de collagen*

Acronim: COLL-ALLA-SUNPROTECT

Cod proiect: 26PED din 08/01/2025 (PN-IV-P7-7.1-PED-2024-2326)

Domeniu proiectului: Sănătate

Durață: 24 luni (2025 - 2025)

Finanțare totală proiect (inclusiv cofinanțarea): 840.500 LEI

Finanțare proiect: 750.000 LEI

Parteneri /directori proiect	Autoritatea finanțatoare	Suma finanțată, LEI
CO: INSTITUTUL NATIONAL DE CERCETARE-DEZVOLTARE PENTRU TEXTILE SI PIELARIE - INCDTP BUCURESTI Dr. Chim. Elena DĂNILĂ	UEFISCDI (România)	400.000
P1: EUROFINS EVIC PRODUCT TESTING ROMANIA SRL Dr. Ing. Cristina BORLESCU	UEFISCDI (România)	350.000 + 90.500 (cofinanțare)

Rezumat

Scopul acestui proiect este de a efectua validarea la scară de laborator pentru un nou produs cosmeceutic. Acest produs este formulat cu ingrediente naturale, inclusiv hidrolizat de collagen și amestecuri de uleiuri vegetale, care au fost dezvoltate și publicate anterior. Formularea este îmbunătățită cu un factor de protecție solară (ESSESOL pe bază de dioxid de titan) și un agent antimicrobian natural (ulei esențial de *Thuja* și/sau *Myrtus communis*). Pentru a încorpora extractul natural (ulei esențial) în produsul cosmeceutic vizat, se validează mai întâi eficacitatea terapeutică a acestuia prin efectuarea de teste asupra bacteriilor găsite pe piele, bazându-ne pe concluziile noastre dintr-un studiu anterior. Obiectivul este de a formula, caracteriza și valida un bioprodus hibrid sub forma unei emulsii ulei-în-apă (O/W) care poate servi ca înlocuitor pentru produsele cosmetice convenționale. Acest produs inovator, denumit COLL-ALLA-SUN-PROTECT, este conceput din ingrediente naturale, inclusiv collagen hidrolizat de pește pentru hidratare și regenerare a pielii, alantoină pentru stimularea producției naturale de collagen și uleiuri esențiale de tuia și mirt pentru efectul antimicrobian și antioxidant. Formularea urmărește să ofere protecție solară eficientă, regenerând simultan pielea deteriorată de soare. Rezultatele planificate includ un articol publicat și un articol trimis

spre publicare, depunerea unei cereri de brevet până la sfârșitul proiectului, împreună cu notificarea produsului și testarea clinică.

Obiective

Obiectivul principal al proiectului este de a formula, caracteriza și valida un bioprodus hibrid sub forma unei emulsii ulei-în-apă (O/W) care poate servi ca înlocuitor pentru produsele cosmetice convenționale. Acest produs inovator, denumit COLL-ALLA-SUN-PROTECT, este conceput să conțină ingrediente naturale, inclusiv collagen hidrolizat de pește pentru hidratarea și regenerarea pielii, alantoină pentru stimularea producției naturale de collagen și elastina și uleiuri esențiale de tuia și mirt pentru proprietățile sale antimicrobiene și antioxidante. Formularea își propune să ofere o protecție solară eficientă, regenerând simultan pielea deteriorată de soare.

Obiectivul 1 (O1): *Obținerea și caracterizarea ingredientelor cheie pentru proiectarea produsului COLLALLA-SUN-PROTECT*

Obiectivul 2 (O2): *Dezvoltarea și caracterizarea cosmeceuticului COLL-ALLA-SUN-PROTECT*

Obiectivul 3 (O3): *Validarea și notificarea produsului ca produs cosmeceutic cu protecție solară.*

Rezultate preconizate

Model experimental - Collagen de pește hidrolizat (Hcoll); Raport de caracterizare pentru Hcoll;

Produs - extracte naturale - uleiuri esențiale (EO); Raport de caracterizare pentru EO;

Raport preliminar privind compoziția optimă a COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

Model experimental al COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

Raport de caracterizare fizico-chimică pentru COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

Raport de caracterizare microbiologică pentru COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

Raport de testare a proprietăților reologice și texturale pentru COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

1 articol trimis spre publicare; 1 articol publicat;

2 rapoarte privind participarea la simpozioane/conferințe;

Site-ul web al proiectului;

1 Cerere de brevet trimisă la OSIM;

Produs validat la scară de laborator COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

Prototip pentru COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

Rapoarte cu date experimentale despre testarea clinică pentru siguranța COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

Rapoarte cu date experimentale despre testarea clinică pentru eficacitatea produsului de protecție solară COLL-ALLA-SUN-PROTECT;

1 produs notificat de CPNP (Cosmetic Products Notification Portal).

Etapă I / 2025 - Obținerea și caracterizarea ingredientelor cheie și proiectarea produsului COLL-ALLA-SUNPROTECT

Rezumat etapa I / 2025

Cercetările efectuate în cadrul etapei I au avut ca scop obținerea și caracterizarea ingredientelor cheie (hidrolizat de collagen din pește și extracte naturale - uleiuri esențiale) și proiectarea produsului COLL-ALLA-SUNPROTECT.

Hidrolizatul de collagen din pește a fost obținut din piele de fitofag. Pielea de fitofag autohton (Hypophthalmichthys molitrix) a fost decongelată, tăiată în bucăți de aproximativ 5 x5 cm și spălată cu o soluție de detergent organic timp de 4 ore. Pe tot parcursul procesului de extracție a collagenului din pielea de pește, extractele au fost menținute la o temperatură sub 10°C, deoarece temperatura de denaturare a collagenului din pește este mai mică decât al collagenului bovin. Apoi pielea de pește a fost supusă următoarelor proceduri: tratament acid (folosind acid lactic, citric și un amestec al acestora - acid lactic și citric) - pentru îndepărtarea cărnii, solzilor și a unora dintre grăsimile atașate pielii, timp de 72 h; tratament alcalin cu NaOH pentru a îndepărta proteinele necolagenice, timp de 24 h; tratament cu o soluție de etanol 3%, în vederea îndepărtării grăsimii, timp de 24 de ore; tratament cu apă oxigenată 1% timp de 24 ore, pentru a îndepărta pigmenții; hidroliză neutră timp de 6 ore la o temperatură de 135°C și o presiune de 315 kPa. Hidrolizatele lichide au fost separate prin filtrare; Liofilizarea: hidrolizatele lichide au fost liofilizate obținând pulberi de collagen de pește hidrolizat de culoare alb gălbui, ușor perlate, denumite Hcoll1 ÷ Hcoll 3. Hidrolizatele de collagen din pește, obținute așa cum s-a menționat au fost caracterizate prin metode chimice (conținutul de substanță uscată, de cenușă, azot total, substanță proteică, azot aminic și substanță grasă) și fizico-chimice (determinarea pH-ului). Rezultatele au demonstrat o puritate înaltă pentru hidrolizatele obținute, precum și eficiența metodei de extracție folosită. Analizele spectrometrice (FT-IR și CD) au confirmat prezența benzilor spectrale caracteristice collagenului denaturat sub formă de hidrolizat. Atât observațiile SEM, cât și microscopia optică au relevat distribuție uniformă aleatoriu și au confirmat absența agregatelor nedorite (resturi celulare, părți scheletice sau fibre de collagen nedisociate). Analiza EDX a confirmat prezența C, O, N (procent de proteină) și urme de S în toate probele de hidrolizat de collagen. Rezultatele testelor de tip test patch au demonstrat ca hidrolizatul de collagen obținut este sigur ca ingredient cosmetic și poate fi folosit în siguranță incorporat într-un produs cosmetic în concentrația testată.

Extracția uleiului esențial de tuia (Thuja occidentalis) s-a realizat atât din conuri cât și din frunze, proaspete și uscate, iar pentru uleiul esențial de mirt (Myrtus communis L.) extracția s-a realizat din frunze proaspete, folosind în ambele cazuri hidrodistilarea cu

vapori de apă. Caracterizarea prin GC-MS a permis identificarea componentelor principali din ambele uleiuri, datele obținute fiind similare cu cele prezentate în literatura, ceea ce demonstrează puritatea uleiurilor obținute. Evaluarea cantitativă și calitativă a activității antimicrobiene exprimată prin diametrul zonei de inhibiție (mm), concentrația minimă inhibitoare (CMI) și concentrația minimă microbicidă (CMM) a fost realizată pe 5 tulpini bacteriene (*S. Aureus*, *S. Epidermidis*, *P. Aeruginosa*, *E. Coli*, *C. Albicans*, *C. Parapsilosis*). Rezultatele au demonstrat o activitate antimicrobiană foarte bună pentru toate uleiurile testate, în special pentru cel de mirt. Rezultatele testelor de tip test patch au demonstrat ca atât uleiul de mirt cât și cel de tuia obținute sunt sigure ca ingrediente cosmetice și pot fi folosite în siguranță incorporate într-un produs cosmetic în concentrația testată.

Utilizând ingredientele cheie obținute, hidrolizatul de collagen (dintre cele 3 variante a fost selectată Hcoll 3 ținând cont de randamentul de extracție, caracteristicile fizico-chimice și gradul de hidroliză) și uleiurile esențiale de mirt și tuia (dintre variantele propuse a fost selectată Proba 3-ulei de tuia obținut din conuri proaspete), s-au formulat 4 variante de emulsii pe bază de ingrediente naturale (uleiuri vegetale și ape florale), folosind un factor de protecție solară pe bază de dioxid de titan (ESSESOL).

Lucrările vor continua cu caracterizarea emulsiilor obținute în vederea optimizării produsului ce urmează a fi validat la scară de laborator.

Rezultate etapa I / 2024

- Model experimental - Collagen de pește hidrolizat (Hcoll);
- Raport de caracterizare pentru Hcoll;
- Produs – extracte naturale – uleiuri esențiale (EO);
- Raport de caracterizare pentru EO;
- Raport preliminar privind compoziția optimă a COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
- Model experimental COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
- 1 articol trimis spre publicare; rapoarte pentru participarea la conferințe și site-ul web al proiectului.

Diseminarea rezultatelor pe scară largă prin participarea la manifestări științifice naționale/ internaționale și publicare articole în reviste cotate ISI

Articol:

E. Dănilă, M. G. Albu Kaya, M. M. Marin, A. M. Rosca, R. R. Constantinescu, I. Titorencu, Valorization of Northern pike (*Esox lucius*) Skin for collagen hydrogels: extraction and Characterization with potential application in wound healing, trimis spre publicare în Scientific Bulletin, Submission ID 16939.

Conferințe

E. Dănilă, I. C. Marinas, M. D. Gaboreanu, M. M. Marin, D. A. Kaya, M. A. Kaya, Chemical characterization and evaluation of antimicrobial/antibiofilm potential of Thuja occidentalis and Myrtus communis L. essential oils against diverse multidrug-resistant clinical pathogens, 55th International Symposium on Essential Oils (ISEO2025), Sarajevo, Bosnia și Herțegovina, 7-10 Septembrie 2025, prezentare poster cu bursa Young Scientist Fellowship Award (YSFA), book of abstracts, p.51.

CONTACT

E-mail: elena.danila23@yahoo.com; elena.danila@icpi.ro

Institutul Național de Cercetare Dezvoltare pentru Textile Pielărie - Sucursala Institutul de Cercetare Pielărie Încălțăminte, București

Adresa: Str. Ion Minulescu nr. 93, Sector 3, București, 031215, România, icpi@icpi.ro

Experimental - Demonstration project - 2024 Call

Project name: Revolutionizing sunscreen: development, characterization and validation of the innovative collagen cosmeceutical emulsion

Acronym: COLL-ALLA-SUNPROTECT

Project code: 26PED of 08/01/2025 (PN-IV-P7-7.1-PED-2024-2326)

Project area: Health

Duration: 24 months (2025 - 2025)

Total project funding (including co-funding): 840,500 LEI

Project funding: 750,000 LEI

Partners/project director	Funding authority	Funded amount, LEI
CO: THE NATIONAL RESEARCH AND DEVELOPMENT INSTITUTE FOR TEXTILES AND LEATHER Dr. Chem. Elena DĂNILĂ	UEFISCDI (Romania)	400.000
P1: EUROFINS EVIC PRODUCT TESTING ROMANIA SRL Dr. Eng. Cristina BORLESCU	UEFISCDI (Romania)	350.000 + 90.500 (co-financing)

Summary

The aim of this project is to conduct laboratory-scale validation for a new cosmeceutical product. This product is formulated with natural ingredients, including collagen hydrolysate and mixtures of vegetable oils, which have been previously developed and published. The formulation is enhanced with a sun protection factor (ESSESOL based on Titanium Dioxide) and a natural antimicrobial agent (*Thuja* and *Myrtus communis* essential oils). To incorporate the natural extract (essential oil) into the targeted cosmeceutical product, we have to validate firstly its therapeutic efficacy by conducting tests on bacteria found on the skin, building upon our findings from a previous study. The objective is to formulate, characterize and validate a hybrid bioproduct in the form of an oil-in-water (O/W) emulsion that can serve as a substitute for conventional cosmetic products. This innovative product, named COLL-ALLA-SUN-PROTECT, is designed to feature natural ingredients, including hydrolyzed fish collagen for hydration and skin regeneration, allantoin for stimulating the natural production of collagen and thuja and myrtus essential oils for its antimicrobial and antioxidant properties. The formulation aims

to provide effective sun protection while simultaneously regenerating sun-damaged skin. The planned results include filing a patent application by the end of the project, along with product notification and clinical trials.

Objectives

The main objective is to formulate, characterize and validate a hybrid bioproduct in the form of an oil-in-water (O/W) emulsion that can serve as substitute for conventional cosmetic products. This innovative product, called COLL-ALLA-SUN-PROTECT, is designed to contain natural ingredients, including hydrolyzed fish collagen for skin hydration and regeneration, allantoin to stimulate the natural production of collagen and elastin, and essential oils of thuja and myrtle for their antimicrobial and antioxidant properties. The formulation aims to provide effective sun protection, while simultaneously regenerating sun-damaged skin.

Objective 1 (O1): Obtaining and characterization the key ingredients for design of the product COLL-ALLA-SUN-PROTECT

Objective 2 (O2): Developing and characterization of COLL-ALLA-SUN-PROTECT cosmeceutical

Objective 3 (O3): Validate and notify the product as a cosmeceutical with sunscreen.

Expected Deliverable

Experimental model - Hydrolyzed fish collagen (Hcoll); Characterization report for Hcoll;
Product - natural extracts - essential oils (EO); Characterization report for EO;
Preliminary report on the optimal composition of COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
Experimental model of COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
Physico-chemical characterization report for COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
Microbiological characterization report for COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
Test report on rheological and textural properties for COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
1 article submitted for publication; 1 published article;
2 reports for participation in symposia/conferences;
Project website;
1 patent application submitted to OSIM;
Laboratory-scale validated product COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
Prototype for COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
Reports with experimental data on clinical testing for the safety of COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
Reports with experimental data on clinical testing for the efficacy of the sunscreen product COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
1 product notified on CPNP;

Stage I / 2025 - Obtaining and characterization of the key ingredients and designing of the product COLL-ALLA-SUNPROTECT

Summary of stage I / 2025

The research carried out within stage I aimed to obtain and characterize the key ingredients (fish collagen hydrolysate and natural extracts - essential oils) and design the COLL-ALLA-SUNPROTECT product.

The fish collagen hydrolysate was obtained from phytophagous skin. The autochthonous phytophagous skin (*Hypophthalmichthys molitrix*) was thawed, cut into smaller pieces of 5x5 cm and washed with an organic detergent solution for 4 hours. Throughout the collagen extraction process from fish skin, the extracts were maintained at a temperature below 10°C, since the denaturation temperature of fish collagen is lower than that of bovine. Then the fish skin was subjected to the following procedures: acid treatment (using lactic acid, citric acid and a mixture of lactic acid and citric acid) - to remove meat, scales and some of the fat attached to the skin, for 72 h; alkaline treatment with NaOH to remove non-collagenous proteins, for 24 h; treatment with 3% ethanol solution, in order to remove fat, for 24 h; treatment with 1% hydrogen peroxide for 24 h, to remove pigments; neutral hydrolysis for 6 h at a temperature of 135°C and a pressure of 315 kPa. The liquid hydrolysates were separated by filtration; Lyophilization: liquid hydrolysates were lyophilized to obtain yellowish-white, slightly pearly hydrolyzed fish collagen powders, named Hcoll 1÷Hcoll 3. Fish collagen hydrolysates obtained by different methods were characterized by chemical (dry matter, ash, total nitrogen, protein, amino nitrogen and fat content) and physicochemical (pH determination) methods. The results demonstrated a high purity for the hydrolysates obtained, as well as the efficiency of the extraction method used. Spectrometric analyses (FT-IR and CD) confirmed the presence of spectral bands characteristic of denatured collagen in the form of hydrolysate. Both SEM observations and optical microscopy revealed a uniformly randomly distribution and confirmed the absence of unwanted aggregates (cellular debris, skeletal parts or undissociated collagen fibers). EDX analysis confirmed the presence of C, O, N (percentage of protein) and traces of S in all collagen hydrolysate samples. The results of the patch test demonstrated that the obtained collagen hydrolysate is safe as a cosmetic ingredient and can be safely used incorporated into a cosmetic product in the tested concentration.

The extraction of the essential oil of thuja (*Thuja occidentalis*) was carried out from both cones and leaves, fresh and dried, and for the essential oil of myrtle (*Myrtus communis* L.) the extraction was carried out from fresh leaves, using in both cases hydrodistillation with water vapor. Characterization by GC-MS allowed the identification of the main components of both oils, the data obtained being similar to those presented in the

literature, which demonstrates the purity of the oils obtained. The quantitative and qualitative evaluation of the antimicrobial activity expressed by the diameter of the inhibition zone (mm), minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum microbicidal concentration (MMC) was carried out on 5 bacterial strains (S. Aureus, S. Epidermidis, P. Aeruginosa, E. Coli, C. Albicans, C. Parapsilosis). The results demonstrated very good antimicrobial activity for all tested oils, especially for myrtle. The results of the patch tests demonstrated that both the myrtle and thuja essential oils obtained are safe as cosmetic ingredients and can be safely used incorporated into a cosmetic product in the tested concentration.

Using the key ingredients obtained, collagen hydrolysate (among the 3 variants, Hcoll 3 was selected taking into account the extraction yield, physicochemical characteristics and degree of hydrolysis) and myrtle and thuja essential oils (among the proposed variants, Sample 3-thuja oil obtained from fresh cones was selected), 4 variants of emulsions based on natural ingredients (vegetable oils and floral waters) were formulated, using a titanium dioxide-based sunscreen factor (ESSESOL).

The work will continue with the characterization of the obtained emulsions in order to optimize the product to be validated at laboratory scale.

Results of stage I / 2025

- Experimental model - Hydrolyzed fish collagen (Hcoll);
- Characterization report for Hcoll;
- Product - natural extracts - essential oils (EO);
- Characterization report for EO;
- Preliminary report on the optimal composition of COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
- Experimental model COLL-ALLA-SUN-PROTECT;
- 1 article submitted for publication; reports for participation in conferences and the project website.

Widespread dissemination of results through participation in national/international scientific events and publication of articles in ISI-listed journals.

Article:

E. Dănilă, M. G. Albu Kaya, M. M. Marin, A. M. Rosca, R. R. Constantinescu, I. Titorencu, Valorization of Northern pike (Esox lucius) Skin for collagen hydrogels: extraction and Characterization with potential application in wound healing, sent for publication in Scientific Bulletin, Submission ID 16939.

Conference:

E. Dănilă, I. C. Marinas, M. D. Gaboreanu, M. M. Marin, D. A. Kaya, M. A. Kaya, Chemical characterization and evaluation of antimicrobial/antibiofilm potential of Thuja occidentalis and Myrtus communis L. essential oils against diverse multidrug-resistant clinical pathogens, 55th International Symposium on Essential Oils (ISEO2025), Sarajevo, Bosnia and Hertegovina, 7-10 September 2025, poster presentation with fellowship Young Scientist Fellowship Award (YSFA), book of abstracts, p.51.

CONTACT

E-mail: elena.danila23@yahoo.com; elena.danila@icpi.ro

National Research and Development Institute for Textiles and Leather – Division:

Leather and Footwear Research Institute, Bucharest

Address: 93 Ion Minulescu st., Sector 3, Bucharest, 031215, Romania, icpi@icpi.ro