

Netradiční ovoce jako zdroj aktivních látek pro výrobu kosmetiky

Karolína Poláková

Bakalářská práce
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2023/2024

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Karolína Poláková
Osobní číslo: T23584
Studijní program: B0711A130009 Materiály a technologie
Specializace: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Netradiční ovoce jako zdroj aktivních látek pro výrobu kosmetiky

Zásady pro vypracování

- Vypracujte literární rešerši na zadané téma.
- Zhodnoťte obsah některých aktivních látek ve vybraných druzích netradičního ovoce.
- Proveďte experiment, jehož součástí bude zhodnocení transdermální absorpce účinných látek z vybraných druhů ovoce.
- Zhodnoťte získané výsledky.

Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná/elektronická**

Seznam doporučené literatury:

- [1] CHERUBIM, D. J., Martins, C. V. B., Fariña, L. O., da Silva de Lucca R. A. Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2020, vol 19, Issue 1, p33-37, ISSN 1473-2130.
- [2] JURIKOVA T., SOCHOR J., ROP O., MLCEK J., BALLA S., SZEKERES L., ZITNY R., ZITKA O., ADAM V., KIZEK R. Evaluation of Polyphenolic Profile and Nutritional Value of Non-Traditional Fruit Species in the Czech Republic – A Comparative Study. *Molecules*. 2012a, roč. 17 (8), s. 8968–8981, ISSN 1420-3049.
- [3] MALUF, F. D., Gonçalves, M. M., D'Angelo, R. W. O., Girassol, A. B., Tulio, A. P., Pupo, Y., M., Farago, P. V. Cytoprotection of Antioxidant Biocompounds from Grape Pomace: Further Exfoliant Phytoactive Ingredients for Cosmetic Products. *Cosmetics*. 2018, vol. 5, Issue 3, ISSN 2079-9284.
- [4] AKBULUT M., ERCISLI S., JURIKOVA T., MLCEK J., GOZLEKCI S. Phenotypic and Bioactive Diversity on Medlar Fruits (*Mespilus germanica* L.) *Erwerbs-Obstbau*. 2016, vol. 58, Issue 3, p185-191, ISSN 0014-0309.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Martina Černeková, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **5. února 2024**
Termín odevzdání bakalářské práce: **17. května 2024**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORKY BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studentky: Karolína Poláková

.....
podpis studentky

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá možností využití netradičního ovoce v kosmetice. Jako varianty netradičního ovoce byl vybrán rakytník řešetlákový a aronie černá. Celkový obsah polyfenolů v tomto netradičním ovoci byl stanoven metodou Folin-Ciocalteu. Dále byl proveden transdermální prostup polyfenolů přes prasečí kůži in vitro. Po tomto prostupu byla měřena koncentrace polyfenolů v jednotlivých částech prasečí kůže opět metodou Folin-Ciocalteu. Těmito metodami byla prokázána koncentrace polyfenolů v jednotlivých fázích měření a částech prasečí kůže jako je oplach capu, odstřížek terčíku, první a druhý strip, epidermis a zbytku prasečí kůže.

Klíčová slova: kosmetika, transdermální prostup, polyfenoly, aktivní látky v kosmetice, netradiční ovoce, aronie černá, rakytník řešetlákový

ABSTRACT

The bachelor thesis deals with the possibility of using non-traditional fruits in cosmetics. Sea buckthorn and black chokeberry were selected as variants of non-traditional fruits. The total polyphenol content of this non-traditional fruit was determined by the Folin-Ciocalteu method. Furthermore, the transdermal penetration of polyphenols through porcine skin in vitro was conducted. After this permeation, the concentration of polyphenols in different parts of the pig skin was measured again by the Folin-Ciocalteu method. By these methods, the concentration of polyphenols in the different measurement stages and parts of the pig skin such as the cap rinse, the target snip, the first and second strip, the epidermis and the rest of the pig skin was demonstrated.

Keywords: cosmetics, transdermal penetration, polyphenols, active ingredients in cosmetics, non-traditional fruits, black chokeberry, sea buckthorn

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucí mé bakalářské práce Ing. Martině Černkové, Ph.D. za čas, který mi věnovala, odborné vedení, trpělivost, ochotu, vstřícnost a cenné rady. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Lence Fojtíkové za pomoc při práci v laboratoři. Závěrem bych chtěla poděkovat své rodině a nejbližším za oporu a podporu během celého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze bakalářské/diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD.....	8
I TEORETICKÁ ČÁST.....	9
1 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY (BAL).....	10
1.1 ÚČINNÉ LÁTKY V KOSMETICE.....	10
1.1.1 Allantoin.....	10
1.1.2 Arbutin	11
1.1.3 Beta–karoten	11
1.1.4 Retinol	11
1.1.5 Urea	12
1.1.6 Bisabolol a azulene	12
1.1.7 D–panthenol.....	12
1.1.8 Lecitin	13
1.1.9 Kyselina askorbová	13
1.1.10 Kyselina hyaluronová.....	14
1.1.11 Antioxidanty.....	14
1.1.12 Vitamín A.....	15
1.1.13 Vitamín B.....	15
1.1.14 Vitamín E	15
1.1.15 Vitamín K.....	15
1.1.16 Polyfenoly	15
1.2 APLIKACE KOSMETIK NA KŮŽI.....	16
2 NETRADIČNÍ OVOCE	17
2.1 ZIMOLEZ JEDLÝ	17
2.2 MORUŠE ČERNÁ	17
2.3 RAKYTNÍK.....	18
2.4 KDOULOŇ OBECNÁ.....	19
2.5 ARONIE ČERNÁ.....	19
2.6 PITAYA.....	20
3 ZÍSKANÉ ÚČINNÉ OLEJE Z NETRADIČNÍCH PLODIN OVOCE	21
3.1 AVOKÁDOVÝ OLEJ	21
3.2 BRUSNICOVÝ OLEJ.....	21
3.3 RAKYTNÍKOVÝ OLEJ.....	21
3.4 MERUŇKOVÝ OLEJ	22
3.5 OLEJ Z VINNÝCH HROZNŮ.....	22
3.6 OLIVOVÝ OLEJ.....	22
II PRAKTICKÁ ČÁST.....	23
4 CÍL PRÁCE	24
5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	25

5.1	MATERIÁL.....	25
5.2	PŘÍSTROJE A POMŮCKY	25
5.3	CHEMIKÁLIE A ROZTOKY.....	25
6	METODIKA STANOVENÍ	26
6.1	PŘÍPRAVA EXTRAKTŮ RAKYTNÍKU ŘEŠETLÁKOVÉHO A ARONIE ČERNÉ	26
6.2	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ.....	28
	STANOVENÍ POLYFENOLŮ BYLO PROVÁDĚNÉ V LABORATOŘÍCH ÚAČHP STANDARDIZOVANOU METODOU VE VŠECH ČÁSTECH EXPERIMENTU.....	28
6.2.1	V původním vzorku.....	28
6.2.2	V zahuštěném vzorku.....	29
6.2.3	Kalibrační křivka kyseliny gallové	30
6.3	TRANSDERMÁLNÍ PROSTUP AKTIVNÍCH LÁTEK IN VITRO	31
6.3.1	Příprava experimentu	32
6.3.2	Aparatura.....	34
6.3.3	Nanášení testovaných vzorků.....	34
6.3.4	Zpracování kůže	35
6.4	STANOVENÍ CELKOVÉHO OBSAHU POLYFENOLŮ PO TRANSDERMÁLNÍ ABSORPCI	35
6.4.1	V původním vzorku.....	35
6.4.2	V zahuštěném vzorku.....	36
6.5	NAMĚŘENÉ VÝSLEDKY	37
6.5.1	Pro původní vzorky	37
6.5.2	Pro zahuštěné vzorky	38
6.6	HODNOCENÍ	39
	ZÁVĚR	40
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	41
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	48
	SEZNAM OBRÁZKŮ	49
	SEZNAM TABULEK.....	50

ÚVOD

Lidé již odnedávna sbírali ovoce a používali je jako důležitou složku potravy. Postupem času se naučili ovoce pěstovat a plody zpracovávat. Začaly také vznikat další varianty zušlechťování ovocných rostlin. Ovoce se řadí svým obsahem vitamínů, minerálních látek, organických kyselin a dalších k nepostradatelným potravinám, a může přinést užitečné aktivní látky i do kosmetických produktů.

Toto téma jsem si vybrala, jelikož mě zajímalo, jak prokázat aktivní látky v kosmetických produktech a zda, či v jakém množství prostupují do kůže. Tato metoda byla zajímavá pracováním s transdermální absorpcí polyfenolů, se kterou jsem nikdy dřív nepracovala a mohla si vyzkoušet tento prostup aktivních látek metodou transtermálního prostupu in vitro. Myslím si, že je důležité vědět jak a v jakém množství prostupují aktivní látky přes kůži v kosmetických produktech a jsem ráda, že jsem to mohla vyzkoušet.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 BIOLOGICKY AKTIVNÍ LÁTKY (BAL)

Pojem „biologicky aktivní látky“ zahrnuje různorodou skupinu látek, které v organismu vykonávají nějakou základní regulační funkci. Jsou důležité pro správné fungování biochemických procesů organismu a kůže. BAL můžeme dělit na vnitřní tj. „tělu vlastní“ a vnější tj. „tělu nevlastní“. Vnitřní BAL si náš organismus syntetizuje sám v rámci běžných metabolických aktivit, důsledkem stresového zatížení či pomoci symbiotických organismů přítomných v gastrointestinálním traktu. Mohou to být např. vitamín A, vitamín B, vitamín D, hormony, enzymy, neuropřenašeče, malé molekuly RNA, ale i plyny a mnoho dalších. Tyto BAL se vytváří v mládí. Stárnutím se jejich produkce zpomaluje. Vnější BAL patří mezi ty, které si náš organismus neumí vytvořit. Tyto látky bychom tedy měly přijímat ve stravě. Jde o BAL jako např. vitamín C a vitamín E. Jejich nedostatek může být způsoben předčasným stárnutím, kouřením, pitím alkoholu, dietami nebo léky. Tyto a další faktory způsobují chybění BAL potřebné k fungování organismu již během 25 až 30 věku [1], [2].

1.1 Účinné látky v kosmetice

Obsažené látky v kosmetice mají buď pozitivní nebo nepříznivý účinek. Umělé sloučeniny vykazují určitý nepříznivý účinek, mohou být uvedené v příbalových letáčích, mohou to být například dusitany, které se využívají ke konzervaci [3]. Pozitivní účinek můžeme dodat kůži, vlasům, nehtům nebo zubům pomocí kosmetických přípravků. Projevy se však dostaví až po delší době. Účinnost těchto přípravků je dána kvalitní základní recepturou výrobku, optimálním množstvím BAL a správnou technologií výroby. Pro zvýšení účinku a snadnějšímu prostupu do kůže se tyto BAL zabudovávají do transmembránových systémů, jako např. lipozomů nebo tekutých krystalů [1].

1.1.1 Allantoin

Je to dusíkatá organická látka vyskytující se v rostlinách, jako např. v javoru, kostivalu, pšeničných klíčcích nebo červené řepě. Dále se také přirozeně vyskytuje v lidském organismu, kde je součástí nukleových kyselin. Řadíme ho mezi nejvýznamnější kosmeticky účinné látky a jeho obsah v kosmetických produktech bývá okolo 0,1–1,5 %. Zlepšuje stav pokožky díky svým regeneračním účinkům, podporuje dělení buněk, regeneruje pokožku po popálení slunečním zářením nebo mrazem. Revitalizuje zralou pokožku, zmírňuje také podráždění jinými vlivy např. dráždivými tenzidy. Má také deodorační a dezinfekční účinky,

proto jej můžeme využívat v kosmetice po opalování, po holení a dětské kosmetice. Najdeme jej také v zubních pastách a přípravcích určených ke zmírnění akné [1], [3], [4].

1.1.2 Arbutin

Arbutin je rostlinný extrakt z medvědice lékařské, borůvky, brusinky nebo hrušky. V melanocytech pokožky působí na enzym tyrozináza, který je zodpovědný za podporu produkce melaninu. Tímto zabraňuje nebo zpomaluje tvorbu pigmentu a pigmentových skvrn. Přírodní formou arbutinu je alfa–arbutin, který vzniká biosyntézou. Získává se z natě rostliny medvědice lékařské, ve které se nachází v množství 5–12 %. Považuje se za jednu z nejúčinnějších látek pro zesvětlování kůže. V kosmetice jej využijeme v přípravcích proti pihám a pigmentovým skvrnám, ve kterých se vyskytuje v množství 1–4 %. Výsledkem bývá jasnější a sjednocenější pleť [1], [5], [6].

1.1.3 Beta–karoten

Beta-karoten se řadí mezi karotenoidy a je to provitamin vitamínu A, ze kterého si organismus vytváří vitamín A. Chrání dýchací cesty proti infekcím, přispívá k udržení zdravého stavu pokožky, vlasů, zubů a dásní. Je obsažen v oranžovo–červené zelenině a ovoci jako je např. mrkev, rajče, paprika, meruňka, mango, papája, broskev. Dále je také obsažen v petrželi, špenátu, nebo hovězích játrech. Řadíme jej mezi významné antioxidanty, je nerozpustný ve vodě a málo rozpustný v tucích. V kosmetice se využívá např. v před opalovací a po opalovací kosmetice, díky jeho aktivaci kožních buněk k produkci melaninu v melanocytech pokožky a následnou redukcí volných radikálů po opalování. Také se využívá v přípravcích určených proti vráskám, kvůli jeho účinkům podporující dělení zárodečných buněk stárnoucí pokožky, dále se využívá i jako přírodní kosmetické barvivo. V kosmetických produktech bývá obsažen v 0,05–0,2 % [1].

1.1.4 Retinol

Retinol řadíme do skupiny retinoidů, což je účinná forma vitamínu A. Vitamín A se získává z živočišných zdrojů, jako např. ryby, játra, sýr, mléko, vaječný žloutek. V rostlinných zdrojích jej nenalezneme. Retinol bývá v kosmetice označován jako „vitamín krásy“. Retinol je látka, která pomáhá zvýšit obnovu a tvorbu buněk a vlasů, urychluje regeneraci pleti, je účinný proti vráskám, reguluje tvorbu mazu a snižuje rohovatění pokožky. Působí také proti hyperpigmentaci pokožky a červeným skvrnám. V kosmetice bývá využívána jeho

stálejší forma Retinylacetát a Retinylpalmitát. Uplatňuje se v pleťových přípravcích na regeneraci buněk a ve vlasové kosmetice proti tvorbě a k eliminaci lupů, kdy se jeho koncentrace v produktech pohybuje v rozmezí 0,5–1,0 %. Nadměrné používání přípravků s vysokým obsahem vitamínu A může vést k poškození kůže, a to zejména u dětí. Proto je vhodnější v dětské kosmetice použít beta–karoten, jehož vysoké dávky nejsou pro organismus škodlivé. Organismus si jej umí přeměnit na vitamín A dle potřeby [1], [7], [8].

1.1.5 Urea

Močovina, je organická látka, která vzniká z bílkovin. Tato látka je obsažená v potu a v přirozeném hydratačním faktoru (NMF) pokožky a snadno proniká do pokožky. Z hlediska kosmetiky se jedná o bezpečnou látku, která nezpůsobuje alergie a je vhodná pro citlivou a atopickou pleť, není však vhodná pro dětskou kosmetiku. Zvyšuje hydrataci pokožky, zlepšuje vstřebávání dalších biologicky aktivních látek, je antibakteriální a dokáže odstraňovat alergeny. V kosmetických produktech bývá využívána také jako změkčovaadlo. Ve vyšších koncentracích 5–10 % může degradovat keratin pokožky, a proto bychom tyto kosmetické přípravky s obsahem močoviny neměli používat každý den [1], [9], [10].

1.1.6 Bisabolol a azulene

Bisabolol spolu s azulénem je hlavní součástí silice z heřmánku a řebříčku. Působí zklidňujícími účinky na podrážděnou pokožku, dále jsou protizánětlivé a mají také dezinfekční účinky. Využívají se v dětské kosmetice a pleťové kosmetice v přípravcích pro citlivou pleť. Azulen, který je hlavní účinnou látkou heřmánku pravého se dále přidává do zubních past, mýdel, ústních vod a přípravků po opalování [1], [11].

1.1.7 D–panthenol

D–panthenol je provitamín vitamínu B5. V kosmetice se využívá k obnovení zárodečné vrstvy pokožky při poškození kožní tkáně a dále má také zklidňující a protizánětlivé účinky. Uplatňuje se zde např. v přípravcích po opalování, po holení a v přípravcích určené na podrážděnou pokožku. Dále je také obsažen v ochranných a regeneračních tyčinkách na rty, nebo se také využívá v dermálních lécích na popáleniny a odřeniny. Je určený také pro suchou zralou pleť a ve vlasové kosmetice dodává suchým roztřepeným vlasům lesk. Jeho množství obsažené v emulzích je 1,5–7 %, v šamponech 0,5–4 %, ale za dostatečnou koncentraci se považuje nejméně 1 % [2], [12], [13].

1.1.8 Lecitin

Lecitin je přírodní látka, která tvoří základ membrán živočišných a rostlinných buněk a tudíž i buněk kožních. Řadí se mezi fosfolipidy, mezi které patří fosfatidylcholin (lecitin), fosfatidylinositol a fosfatidylethanolamin. Získává se z živočišných zdrojů jako např. vejce, mléka, ale taky z rostlinných zdrojů jako např. sóji, slunečnice. V kosmetice se využívá jako přírodní emulgátor a dále jako zvláčňovadlo emulzí. Uplatnění najdeme ve vlasové, pleťové, tělové a dětské kosmetice. Je určený pro suchou a citlivou pokožku, suché a poškozené vlasy a také se využívá v regenerační nehtové kosmetice. Přidává se také do vlasových šamponů, kondicionérů a dětských mýdel [2], [14].

1.1.9 Kyselina askorbová

Kyselina askorbová, je organická sloučenina a bývá označována jako vitamín C. Vitamín C je nezbytný pro organismus, kvůli jeho řadě důležitým funkcím, jako např. zvyšování imunity, zmírnění stresu, podílení se na zajištění tvorby červených krvinek, regeneraci dásní, tvorby kolagenu a elastinu, urychlení hojení ran, a má také protinádorové účinky. Lidský organismus si jej neumí vytvořit sám, tudíž jej musíme přijímat v potravě. Je obsažen v citrusových plodech, černém rybízu, šípcech, kiwi, kysaném zelí, jahodách a dalších. Jeho účinnost v těchto plodinách zvyšují barevné bioflavonoidy, což jsou látky rostlinného původu obsažené téměř ve všech rostlinných buňkách. Vitamín C je nejnestabilnějším vitamínem, rozkládá se varem a dlouhým skladováním. V kosmetice se využívá kvůli požadované dlouhodobé trvanlivosti Ascorbil Palmitate, který je jeho stabilnější forma a připravuje se jeho syntézou. Je méně hydrofilní než vitamín C a tudíž snadněji proniká do pokožky. Vitamín C minimalizuje toxické účinky UV záření, zlepšuje pružnost krevních vlásečnic, snižuje hyperpigmentaci kůže a podporuje imunitu kůže. V kosmetických produktech je obsah derivátu vitamínu C v rozsahu 0,05–0,2 %. V kosmetických produktech na vodní bázi se vyskytují formy vitamínu C jako např. Sodium Ascorbil Phosphate a Magnesium Ascorbil Phosphate. Tyto látky mají mírně dezinfekční, bělicí a antioxidační účinky. V kosmetických přípravcích jsou v obsahu 0,1–0,2 %. Mohou se také přidávat do bělicích krémů a krémů proti akné, kde jejich množství je v koncentracích 2–3 % [2], [16], [12], [18].

1.1.10 Kyselina hyaluronová

Kyselina hyaluronová je přirozeně se vyskytující glykosaminoklykan, tj. polysacharid, běžně se nacházející v přírodě. Stejně jako kolagen tvoří jednu z hlavních součástí mezibuněčných hmot a tkání organismů. Má schopnost vázat na sebe vodu a v ní rozpuštěné minerální soli krevní bílkoviny a glukózu. Je velmi důležitá zejména pro oční sklivec, plíce, ledviny, mozek, tekutiny obklopující klouby a také pro spojovací tkáň. Dále také napomáhá k hojení jizev. Kyselina hyaluronová vzniká v buňkách lidského těla a přes buněčnou membránu se dostává do mezibuněčného prostoru, dále také může vznikat ve škáře ve fibrinoblastech. Deriváty kyseliny hyaluronové, tj. hyaluronany tvoří základ škáry, dále vyplňují prostory mezi fibroblasty, vazivovými vlákny a vedlejšími orgány. V kosmetice se kyselina hyaluronová využívá k hydrataci, snížení napětí a měkkosti pokožky. Dále také posiluje pevnost a pružnost pokožky, vyhlazuje a podporuje tvorbu nových kolagenových a elastinových vláken. Používá se také k výplni vrásek a zároveň má velmi pozitivní vliv na klouby, proto bývá také obsažena v doplňcích stravy. Bývá převážně obsažena v přípravcích na pleť jako např. krémy, séra, rtěnky, nebo make-upy. Se zvyšujícím se věkem množství hyaluronanu klesá, kvůli enzymu hyaluronidázy, která štěpí hyaluronany na menší fragmenty. Tím se snižuje množství vody ve škáře, zvyšuje se riziko bakteriálních infekcí (stafylokoky, streptokoky) a možné riziko růstu nádorů [2], [19], [20].

1.1.11 Antioxidanty

Antioxidanty jsou systémy, které mohou interagovat s volnými radikály a zastavovat řetězové reakce, než dojde k poškození molekul. Používají se v kosmetice, potravinářství, nebo farmacii, kde se používají jako zdravotní doplňky, stabilizátory nebo aktivní látky. Mohou být syntetické nebo přírodní a oba se využívají v kosmetických přípravcích. Syntetické antioxidanty jsou např. butylovaný hydroxyanisol (BHA), butylovaný hydroxytoulén (BHT) a propylgalát. Tyto látky jsou velmi využívány, jelikož jejich výroba je levná. Nadměrná konzumace syntetických antioxidantů může být nebezpečná a představovat zdravotní rizika. Přírodní antioxidanty se získávají z extraktů rostlin, ovoce, obilovin a jsou schopny snižovat oxidační stres, jako je stárnutí kůže. Molekuly antioxidantů mohou být enzymy a nízkomolekulární antioxidanty, které zabraňují radikálové reakci darováním elektronu. Antioxidanty při funkci jako stabilizátory využijeme u zabraňování žluknutí tuků oxidací [11].

1.1.12 Vitamín A

Vitamín A je látka rozpustná v tucích a patří do skupiny retinoidů. Z kosmetického hlediska vitamín A zlepšuje vzhled pokožky, je účinný proti vráskám a je používán v produktech proti stárnutí. Vlastnosti retinoidů proti vráskám podporují proliferaci keratinocytů a posilují ochranu funkci epidermis, omezují transepidermální ztrátu vody a zabraňují degradaci kolagenu. Jeho derivátem je beta-karoten jehož zdrojem jsou mrkev, rajčata a další žlutá zelenina. Nachází se také v živočišných zdrojích jako je vaječný žloutek a játra [4], [21], [22].

1.1.13 Vitamín B

Vitamín B je ve vodě rozpustný a nachází se zejména v celozrnných potravinách a zelené listové zelenině. Používá se v kosmetických výrobcích pro péči o vlasy, jelikož působí jako zvlhčovač. Zjemňuje také pokožku, jelikož je schopný přitahovat vodu do *stratum corneum*. Řadí se sem také niacinamid, který se v těle vytváří přeměnou kyseliny nikotinové a má protizánětlivé účinky [4], [22], [23].

1.1.14 Vitamín E

Vitamín E je rozpustný v tucích a nachází se zejména v sóji, ořechách, celozrnné mouce a olejích. Má schopnost snižovat peroxidaci lipidů a má dobrý vliv na kardiovaskulární systém a kůži. Nejdůležitější jeho vlastností je silná antioxidační schopnost. Může snižovat edém a erytém vyvolaný UV zářením. Snižuje také tvorbu vrásek a tvorby kožních nádorů [4], [22], [24].

1.1.15 Vitamín K

Největší zisk tohoto vitamínu je ze zelené listové zeleniny, dále může být obsažen v mléce, mase, vejcích nebo ovoci. Vitamín K zkracuje dobu krvácení, a proto se využívá k prevenci vaskulárních projevů stárnutí. Používá se tedy ke zmírnění viditelnosti modřin, nebo pro snížení tvorbu modřin [4], [22].

1.1.16 Polyfenoly

Polyfenoly jsou látky, obsahující ve své molekule více než jednu fenolickou hydroxylovou skupinu, která jsou vázána na jeden nebo více benzenových kruhů [5]. Fenoly jsou

sekundární metabolity rostlin syntetizované během jejich vývoje. Nerozpustné fenoly se nacházejí v buněčných stěnách rostlin, zatímco rozpustné fenoly se nachází ve vakuolách rostlinných buněk. Vnější vrstvy rostlin obsahují větší množství fenolických látek než její vnitřní části. Fenoláty buněčných stěn rostlin spolu s dalšími složkami přispívají k mechanické pevnosti buněčných stěn rostlin, mají také důležitou roli v růstu a morfogenezi. Těmi nejvýznamnějšími fenolickými látkami jsou kyselina ferulová a kyselina p-kumarová, které mohou být zasíťované na polysacharidy a tvořit mechanickou pevnost buněčné stěny buňky. Jejich obsah se může zvýšit za nepříznivých podmínek pro buňku, jako jsou stresové podmínky, UV záření, patogenní infekce, paraziti, vystavením extrémním teplotám apod. [4], [25].

V ovoci jsou fenoly hojně zastoupeny, v jablkách jako jsou deriváty kyseliny hydroxoskořicové, flavonoly, kyselina chlorogenová, dále flavonové glykosidy, jako je rutin, hyperin, kvercitrin. U plodů borůvek byla prokázána kyselina gallová, kyselina kávová, kyselina p-kumarová a další. Izolace a hodnocení aktivity fenolických látek, se nejčastěji provádí v kožních buňkách keratinocytech. Aktivita byla prokázána například v elastáze, hyaluronidáze a anti-MMP-1. Toto zjištění naznačuje, že by mohly vykazovat účinky proti stárnutí [17].

1.2 Aplikace kosmetik na kůži

Kůže je největším orgánem lidského těla. Chrání organismus před vnějším prostředím, mikroorganismy, slunečním zářením a také zajišťuje homeostázu. Nejsvrchnější vrstva *stratum corneum* je selektivně propustná heterogenní epidermální vrstva, která zajišťuje správnou funkci TEWL. Porucha této vrstvy vede k nadměrné ztrátě vody z organismu, a tedy snížení hydratace pokožky. Kosmetické přípravky obsahují aktivní látky, které dodávají potřebné látky pokožce. Mohou zlepšit texturu, stav a hydrataci pleti, nebo redukovat vrásky. Kosmetické přípravky jsou rychle se rozvíjející podskupinou odvětví přírodní osobní péče. Přírodní látky pocházejí z rostlinných nebo živočišných produktů, které vznikají nebo se vyskytují v přírodě. Zdrojem těchto rostlinných přírodních složek mohou být byliny, ovoce, květy, listy. Účinnost těchto složek v produktech v péči o pleť je prokázána in vivo a in vitro účinností [17].

2 NETRADIČNÍ OVOCE

Netradiční ovoce můžeme dělit podle druhu na bobulové, peckové nebo jádrové ovoce. Příkladem mohou být zimolez jedlý, zimolez modrý, zimolez kamčadský, moruše černá, kdouloň obecná, aronie černá, pitaya, rakytník a další. Tyto druhy ovoce jsou velice cenné a bohaté na potravní zdroje BAL. V netradičním ovoci jsou BAL především obsažena v čerstvé formě. Největší zastoupení těchto bioaktivních látek jsou např. antioxidanty, kde řadíme vitamíny C, E, provitamíny A. Také zde řadíme minerální látky s antioxidačními vlastnostmi, jako je zinek, selen, měď. V obsahu také najdeme fenolické sloučeniny a barviva, do kterých řadíme antokyany a karotenoidy [2], [26], [27].

2.1 Zimolez jedlý

Zimolez jedlý je nízký opadavý keř, který dorůstá do výšky 1,5–2 m. Je to mrazuvzdorná rostlina, která produkuje plody, které jsou zdraví prospěšné. Je zastoupen téměř 180 druhy a vyskytuje se v mírném pásmu severní polokoule. Tyto jedlé bobule rodu *Lonicera* z čeledi *Caprifoliaceae* jsou bohaté na bioaktivní látky a mají tmavě modrou barvu. Tento keř se pěstuje v mnoha zemích, jako je Česká republika, Polsko, Slovensko, Litva, Rusko, Japonsko, Kanada a další. Pěstuje se v mnoha odrůdách s různou dobou zrání, podmínkami pro pěstování a chutí. Zimolez kamčatský je další odrůda zimolezu a z ovocnářského hlediska jsou pěstované jeho „kamčatské borůvky“, které dominují sladkou, až mírně nahořklou chutí. V této rostlině nalezneme bioaktivní látky nejen v plodu, ale i v listech, květech a větvích. Plody zimolezu jsou složeny ze sušiny a rozpustné i nerozpustné vlákniny. Hlavními složkami jsou dále sacharidy, lipidy, proteiny, organické kyseliny a polyfenoly. Mezi minoritní složky řadíme rutin, kyselinu askorbovou, tokofenoly, karoten, vitamíny A a B, fenolové kyseliny a další. Tyto látky mají antioxidační, protirakovinné, antibakteriální, antivirové, protizánětlivé, antiseptické a antialergické účinky. Díky těmto vlastnostem jsou tyto produkty ze zimolezu široce využívány, jako např. v tradiční čínské medicíně, ve farmakologii, kosmetice, potravinářském průmyslu a také zemědělství [28].

2.2 Moruše černá

Moruše černá, též nazývaná morušovník černý, je druh rostliny z rodu *Morus* z čeledi *Moraceae* pěstovaná pro své plody, které mají lahodnou, sladkou, jemnou i nakyslou chuť. Je to opadavý strom dorůstající výšky 10 m schopný se velmi dobře adaptovat na přírodní

podmínky a prostředí. Má mnoho využití např. v potravinářství na výrobu džemů, džusů a koncentrovaných ovocných šťáv. Využívá se také pro léčebné účely např. při léčbě lézí v ústech. Bylo prokázáno, že antokyany nalezené v plodech moruše černé mají inhibiční účinek na nádorové jaterní buňky. Různé výzkumy prokazují, že výrobky z plodů moruše černé vykazují pozitivní výsledky při léčbě žaludečních a střevních onemocnění a koronárních problémech. V této rostlině najdeme řadu účinných látek jako např. antioxidanty, kyselinu askorbovou, flavonoidy, flavonové kyseliny a další. Z kosmetického hlediska bývá obsažena v rozjasňujících a regeneračních přípravcích [29].

2.3 Rakytník

Rakytník je rod vyšších dvouděložných rostlin z čeledi *Eleagnaceae*. Zahrnuje 6–7 druhů keřů a stromů. Je to rostlina rozšířená hlavně v Evropě a Asii. V České republice je pěstovaný rakytník řešetlákový, poskytující jedlé oranžové plody sladkokyselé chuti. Je to ekologicky i hospodářsky významná rostlina řazená do nejméně náročných mrazuvzdorných dřevin. Plody této dřeviny obsahují celou řadu lipofilních a hydrofilních biologicky aktivních látek jako jsou např. vitamíny (K, E, B, C), polyfenoly, karotenoidy, fytosteroly, organické kyseliny, aminokyseliny, esenciální mastné kyseliny a minerály. Důvodem, proč jsou jeho plody tak známé, je veliký obsah vitamínu C. Využívané jsou i další jeho části, jako jsou listy, větvičky nebo kořeny, které také obsahují aktivní látky a jsou využívány pro farmaceutické a kosmetické účely. Výtažky z jeho bobulí a listů mají antioxidační, protirakovinné, proti stárnoucí, protizánětlivé a antimikrobiální účinky. Dále také posilují imunitu a jsou zdrojem základních živin organismu [30].



Obrázek 1 Rakytník

(zdroj: vlastní)

2.4 Kdouloň obecná

Kdouloň obecná neboli kdouloň podlouhlá je jediný zástupce rodu *Cydonia*, pocházející ze střední Asie. Jde o keř nebo strom dorůstající výšky až 8 m. Řadíme ji do jádrovitého ovoce. Podle velikosti jejich žlutých plodů je můžeme rozdělit do dvou skupin, kdy v prvním případě jsou plody podobné jablkům a v druhém případě mají plody hruškovitý tvar. Plody ve tvaru jablka mají intenzivnější citrusovou aromatickou chuť, i když mají sušší a tvrdší dužinu. Zatímco plody ve tvaru hrušky mají dužinu jemnější a měkčí. Plody kdouloň nejsou určeny k přímé konzumaci, ale spíše ke konzervaci, kvůli jejich rychlému hnědnutí a postupné hnilobě. Proto tyto plody nejsou určeny k dlouhodobějšímu skladování. Dužina se skládá z rozpustné sušiny a minerálních látek, jako jsou vápník a jeho komplexy s kyselinou galakturonovou, dále taky hořčík, fosfor a draslík. Nutriční hodnoty této plodiny jsou velmi vysoké. Obsahuje celou řadu aktivních látek jako např. polyfenolické látky, kde řadíme rutin, flavonoidy a dále taky vitamín C. Také obsahují vysoký obsah pektinů, které jsou důležité pro konzervaci. Tyto plody lze také využít při výrobě vonných destilátů, kvůli jejich specifickému aroma [31].

2.5 Aronie černá

Aronie černá, tzv. černý jeřáb z rodu *Aronia* čeledi *Rosaceae* je známý okrasný keř pocházející z východní části Severní Ameriky a oblasti Velkých jezer s rozšířením do vysokých nadmořských výšek Appalačského pohoří. Plody aronie, které jsou černé až tmavě fialové barvy, používali již dávní domorodí Američané k léčbě nachlazení. Pěstování aronie v Evropě začalo v Rusku a poté se následně přesunulo i do ostatních evropských zemí, jako jsou státy východní Evropy např. Polsko, Německo, Finsko, Švédsko, Norsko a další. Aronie je významný ovocný druh především využívaný jako zdroj šťáv, protlaků, džemů, ale také se z něj vyrábí víno a v neposlední řadě i želé, potravinářská barviva nebo doplňky výživy. Toto ovoce je skvělým zdrojem antioxidantů, jako jsou polyfenoly, zejména fenolové kyseliny a flavonoidy. Dále obsahují vitamíny C a E, minerální složky jako jsou draslík, vápník, hořčík, také karotenoidy, pektiny, organické kyseliny a sacharidy. Mají také velmi pozitivní účinky díky přítomnosti mnoha aktivních složek, a to zejména léčivé a terapeutické, jako jsou např. protizánětlivé účinky a mnoho dalších. Můžou být také součástí k přispívání prevenci chronických onemocnění, metabolických poruch, cukrovky, kardiovaskulárního onemocnění a udržování správné hladiny krevního tlaku [32].

2.6 Pitaya

Pitaya, též označována jako „dračí ovoce“ z rodu *Hylocereus* z čeleni *Cactaceae* je nejprodukovanější druh tropického ovoce. Rod *Hylocereus* můžeme dále rozdělit do tří druhů *Hylocereus guatemalensis* (Hg), *Hylocereus polyrhizus* (Hp) a *Hylocereus undatus* (Hu). Pochází z jižního Mexika, tichomořské části Guatemaly a Kostariky. Dnes je dovážena i do Vietnamu, Kolumbie, USA a dalších. Pěstuje se již i v Austrálii, Thajsku, Filipínách, Izraeli, Turecku, Malajsii a Indii. Plody jsou bílé, karmínové, tmavě červené, nebo světle žluté dužiny s obsahem drobných černých semen. Toto zbarvení závisí druhu a odrůdě. Tyto plody se především konzumují čerstvé, nebo se z nich zpracovávají šťávy, želé, marmelády, džemy, víno a různé nápoje. Pitaya je téměř nenáročná plodina, spotřebovává málo vody a přizpůsobuje se vysokým teplotám. Toto ovoce je velmi kvalitní, jak už napovídá jeho vzhled, chuť, barva a nutriční hodnoty. Pitaya je velmi bohatá na aktivní látky, jako jsou např. betacyaniny, fenolové sloučeniny, polysacharidy a terpenoidy. Díky těmto látkám pitaya přispívá k prevenci proti rakovině, cukrovce, obezitě a metabolickým poruchám. Pomáhá také při regulaci krevního tlaku a udržování stálé hladiny cholesterolu, jelikož neobsahuje cholesterol ani nasycené tuky. Dále také odvádí z organismu toxické látky, kvůli vysokému obsahu vlákniny. Jejich aktivní látky mohou být také využité v lékařství a farmaceuticích. Pitaya obsahuje také vitamíny (B1, B2, B3, C), niacin, pyridoxin, minerální látky typu vápník, draslík, fosfor, sodík, železo a zinek, dále také sacharidy, bílkoviny, tuky, a těkavé látky. Obsahuje celou řadu antioxidantů, jako jsou např. polyfenoly, flavonoidy a betakyany. Tato plodina má významné antioxidační, protirakovinné, antimikrobiální, hepatoprotektivní účinky a také přispívá k hojení ran. Jeho dužina se navíc využívá i v potravinářském průmyslu např. při výrobě zmrzlin, jogurtů, marmelád a dalších [33].

3 ZÍSKANÉ ÚČINNÉ OLEJE Z NETRADIČNÍCH PLODIN OVOCE

Rostlinné oleje se získávají z olejnin. Tyto rostliny obsahují ve svých semenech, bobech, plodech a dalších částech tuk. Získáváme z těchto plodin různými způsoby. Některé oleje by se měly zpracovávat ihned po sběru, jako např. olej rakytníku, aby nepodléhal procesu rozkládání. Častým zpracováním oleje z plodů je také lisování, můžeme jej dělit na lisování za studena a za tepla. Dále se tyto oleje mohou získávat celou řadou hydraulických, nebo šnekových lisů. Většina olejů je vyrobená ze semen a bobů, jejichž části plodiny se po následném sušení mohou dlouhodobě skladovat [3].

3.1 Avokádový olej

Avokádový olej vzniká lisováním z dužiny hruškovce přelahného. Tento olej má nazelenalou barvu a nevýraznou chuť. Jeho obsahem jsou nenasycené mastné kyseliny, dále vitamíny (A, E, D, B) a steroly. Má hydratační a protizánětlivé účinky, a proto se v kosmetice využívá v přípravcích pro suchou, citlivou pleť. Výsledkem je poté hebká a vyživená pleť. Pomáhá též zlepšit ekzém, nebo také napomáhá zmírňovat příznaky lupénky [3], [34].

3.2 Brusnicový olej

Brusnicový olej vzniká lisováním klikvy velkoplodé, též nazývána jako „kanadská brusinka“. Tento olej má žlutozelenou barvu a charakteristickou chuť. Obsahuje velké množství nenasycených mastných kyselin. Také obsahuje rovnovážný poměr omega-3 a omega-6 mastných kyselin. Dále jsou v něm obsaženy stopové prvky a vitamín E. Vykazuje velmi dobré antioxidační vlastnosti. V kosmetice jej využíváme pro zlepšení stavu pokožky a její hydrataci. Posiluje její obranyschopnost a odolnost vůči vnějším vlivům. Je obsažen například v pleťových krémech, koupelových olejích, zubních pastách, vlasových přípravcích nebo antiperspirantech. Využívá se také při léčbě ekzému [3], [35].

3.3 Rakytníkový olej

Rakytníkový olej získáváme lisováním, nebo macerací semen rakytníku. Díky jeho vysokému obsahu karotenoidů má charakteristicky sytě oranžovou barvu. Kromě nich obsahuje celou řadu vitamínů jako např. vitamíny (A, B1, B2, B6, D, E, F, K, P), kyselinu listovou, organické kyseliny, minerální soli, trísloviny, esenciální mastné kyseliny (omega-3, 6, 7, 9), fytosteroly a řadu biologicky aktivních látek. V kosmetice je možné ho

využit ke zvláčnění, vyživení a ochraně pokožky proti vnějším vlivům. Je využíván především pro suchou, šupinatou, spálenou, podrážděnou nebo rychle stárnoucí pokožku. Dále má antimikrobiální vlastnosti, podporuje regeneraci a hojení ran, čímž se využívá v lékařství např. k ošetření popálenin či poškození pokožky radioaktivním zářením [3], [36].

3.4 Meruňkový olej

Meruňkový olej se lisuje z meruňkových jader. Má výraznou aromatickou chuť. Obsahuje nenasycené a polynenasycené mastné kyseliny, převážně kyselinu olejovou a kyselinu linolovou. Také obsahuje vitamíny typu A a E, kyselinu pangamovou a laetil. Tento olej dodává pokožce hydrataci, zvláčňuje ji a také regeneruje. Dále má antiseptické, antimikrobiální a protizánětlivé účinky. Je vhodný pro všechny typy pleti, a dokonce je obsažen i v dětské kosmetice. Můžeme ho využívat i jako masážní olej [3], [37].

3.5 Olej z vinných hroznů

Tento olej lisujeme z jader vinných hroznů a má žlutozelenou barvu. Je významným zdrojem kyseliny linolové, proanthokyanidinu, sterolů, flavonů, vitamínu E, slizů a dalších účinných látek. Je vhodný pro všechny typy pleti a má zmírňující, hydratační, zjemňující, hojící, antibakteriální a tišící účinky. Díky jeho tekuté konzistenci jej můžeme přidávat do hustších olejů. Využívá se v kosmetice nebo při aromaterapeutické léčbě. Při vnitřním užívání obsažené slizy zklidňují podrážděné sliznice trávicího ústrojí [3], [38].

3.6 Olivový olej

Olivový olej se lisuje z oliv a má nazelenalou a mírně pálivou chuť. Obsahuje převážně mononenasycené mastné kyseliny, jako např. kyselinu olejovou, polynenasycené mastné kyseliny, jako např. kyselinu linolovou a nasycené mastné kyseliny, jako např. kyselinu palmitovou. Dále také obsahuje celou řadu vitamínů, jako jsou např. vitamíny (A, E, D, K) a polyfenoly. Z kosmetického hlediska má zvláčňující, regenerační, protizánětlivé a prokrvující účinky. V kosmetických přípravcích je určen pro suchou, popraskanou pleť a také se využívá k ošetření podrážděné, problematické aknézní pleti. Zmírňuje také ekzém, lupénku a alergické reakce. Využívá se také díky svým účinkům k ochraně proti slunečnímu záření a využívá se i k ošetření popálenin [3], [39].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍL PRÁCE

Cílem mé práce bylo zhodnotit možnosti využití netradičního ovoce jako zdroj aktivních látek v kosmetických produktech. V rámci experimentu byly zkoumány benefity přidavku čerstvých plodů aronie černé a rakytníku řešetlákového do kosmetických produktů. Stanovení polyfenolů bylo provedeno metodou Folin-Ciocalteu. U těchto vzorků jsem dále testovala prostup polyfenolů pomocí metody transdermálního prostupu aktivních látek in vitro přes prasečí kůži ve Franzových komůrkách až do receptorové kapaliny. Poté byla koncentrace opět měřena metodou Folin-Ciocalteu u jednotlivých částech kůže.

5 MATERIÁL A PŘÍSTROJE

5.1 Materiál

Ke zpracování praktické části bakalářské práce byly využity čerstvé vzorky rakytníku řešetlákového a aronie černé. Vzorky byly získané ze soukromého pěstitelství.

5.2 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy Kern ABT 220-4NM
- Třecí miska s tloučkem
- Lékovky
- Mikropipety
- Filtrační aparatura
- Filtrační papíry KA4 (papírna Pernštejn s.r.o., ČR)
- Odměrné baňky
- Třepačka s lázní Memmert
- Spektrofotometr Specord 50 plus
- Laboratorní sklo
- Franzova difúzní komůrka (JM-GLASS s.r.o.)
- Termostatová lázeň se silikonovými hadičkami (Isotemp 4100 H5P)
- Magnetické nerezové míchadlo typ MIX 15 eco (Unimed)
- Elektrický vařič
- Skalpel
- Pinzety
- Transparentní lepicí páska – šíře cca 25 mm
- Mikrometr
- Vortex

5.3 Chemikálie a roztoky

- Ethanol
- Folin-Ciocalteu roztok (Penta, ČR)
- Uhličitan sodný
- Methanol
- Fosfátem pufovaný fyziologický roztok (Fluka)
- Gentamycin sulfát (Himedia)

6 METODIKA STANOVENÍ

6.1 Příprava extraktů rakytníku řešetlákového a aronie černé

Obsah celkových polyfenolických látek byl stanovován metodou Folin-Ciocalteu, dále byl stanovován celkový transdermální prostup kosmeticky a farmakologicky aktivních látek in vitro. K tomuto byly potřeba vodné extrakty čerstvých vzorků rakytníku řešetlákového a aronie černé.

Tyto vzorky byly nejprve rozmělněny v třecí misce s tloučkem a následně naváženy 2 g této homogenní směsi na analytických vahách do lékovek s přesností 0,0001 g. Dále bylo přidáno 20 ml extrakční směsi methanol/voda (30:70). Takto připravené vzorky byly vloženy do třepačky s lázní o teplotě 50 °C a zde nechány po dobu 1 h. Po ochlazení na laboratorní teplotu byly vzorky zfiltrány přes filtrační papír a použity k analýze.



Obrázek 2 Rozmělněný vzorek rakytníku řešetlákového (zdroj: vlastní)



Obrázek 3 Rozmělněný vzorek aronie
černé (zdroj: vlastní)



Obrázek 4 Třepačka s lázní (zdroj: vlastní)



Obrázek 5 Filtrační aparatura (zdroj: vlastní)

6.2 Stanovení celkového obsahu polyfenolů

Stanovení polyfenolů bylo prováděné v laboratořích ÚAČHP standardizovanou metodou ve všech částech experimentu.

6.2.1 V původním vzorku

Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem bylo prováděno s extrakty vzorků rakytníku řeštlákového a aronie černé připravených v kapitole 5.1. Na toto stanovení byly použity následující směsi:

- 5 ml destilované vody
- 1 ml vzorku rakytníku řeštlákového
- 0,5 ml vzorku aronie černé
- 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla
- 1,5 ml 20% uhličitanu sodného

Do 10ml odměrných baněk byla postupně pipetována destilovaná voda, filtrát vzorku příslušného ovoce, Folin-Ciocalteuovo činidlo a uhličitan sodný. Pořadí postupu přidávání těchto látek muselo být dodržováno, aby reakce proběhla správně. Poté byly odměrné baňky doplněny destilovanou vodou na objem 10 ml. Tato reakční směs byla zazátkována, promíchána a nechána reagovat po dobu 30 minut. Po skončení reakční doby byly měřeny absorbance jednotlivých vzorků na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm proti slepému vzorku.

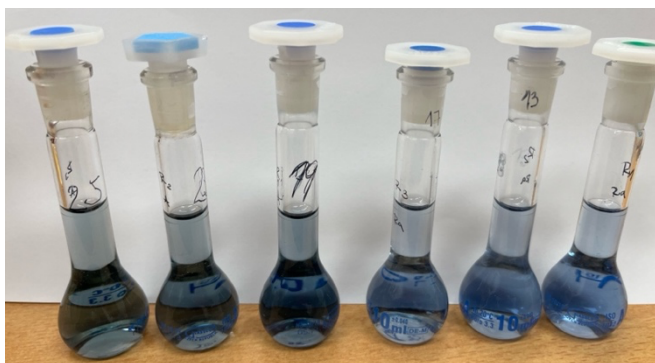
Slepý pokus byl připraven jako reakční směs, ale místo vzorku byla přidána destilovaná voda. Celkový obsah polyfenolů v extraktu byl přepočítán na standard, kterým byla kyselina gallová. Tato metoda byla provedena 2x a to jednou s původními vzorky a podruhé s koncentrovanějšími vzorky.

6.2.2 V zahuštěném vzorku

Stanovení celkového obsahu polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem bylo prováděno s extrakty vzorků rakytníku řešetlákového a aronie černé připravených v kapitole 6.1., u kterých bylo provedeno zahuštění odpařením na vařiči na poloviční objem. Na toto stanovení byly použity následující směsi:

- 5 ml destilované vody
- 0,5 ml vzorku rakytníku řešetlákového
- 0,5 ml vzorku aronie černé
- 0,5 ml Folin-Ciocalteuova činidla
- 1,5 ml 20% uhličitanu sodného

Do 10ml odměrných baněk byla postupně pipetována destilovaná voda, filtrát vzorku příslušného ovoce, Folin-Ciocalteuovo činidlo a uhličitan sodný. Pořadí postupu přidávání těchto látek muselo být dodržováno, aby reakce proběhla správně. Poté byly odměrné baňky doplněny destilovanou vodou na objem 10 ml. Tato reakční směs byla zazátkována, promíchána a nechána reagovat po dobu 30 minut. Po skončení reakční doby byly měřeny absorbance jednotlivých vzorků na spektrofotometru při vlnové délce 765 nm proti slepému vzorku. Slepý pokus byl připraven jako reakční směs, ale místo vzorku byla přidána destilovaná voda. Celkový obsah polyfenolů v extraktu byl přepočítán na standard, kterým byla kyselina gallová.



Obrázek 6 Připravené vzorky k měření absorbance.

(zdroj: vlastní)

6.2.3 Kalibrační křivka kyseliny gallové

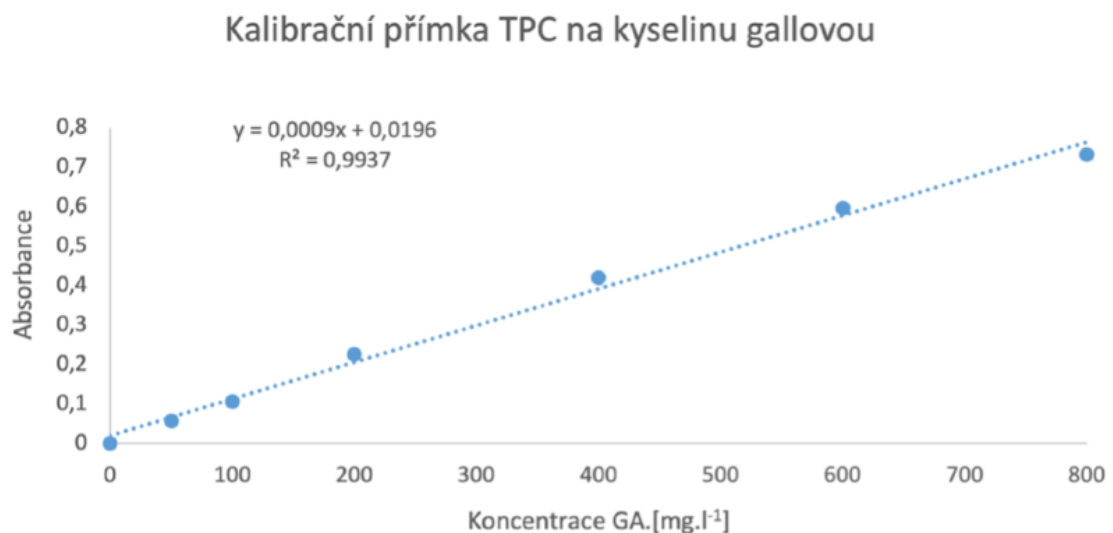
Z regresní rovnice kalibrační přímky pro kyselinu gallovou viz. obrázek 7 a absorbance jednotlivých vzorků byla vypočítána koncentrace polyfenolů v jednotlivých vzorcích takto:

$$c = \frac{(A - 0,0196)}{0,0009} [\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}] \quad (1)$$

Kde:

- A = absorbance
- c = koncentrace

U těchto hodnot byla poté provedena korekce na nadávkovaný objem viz. tabulka 1. Tyto výpočty byly provedeny i pro koncentrovanější vzorky viz. tabulka 2. Písmeny byly značeny vzorky ovoce aronie černé (A) a rakytníku řešetlákového (R). Čísly opakované měření vzorku.



Obrázek 7 Kalibrační přímka kyseliny gallové. (zdroj: vlastní)

Tabulka 1 Průměrné hodnoty polyfenolů vypočítané z regresní přímky kalibrační křivky kyseliny gallové.

Vzorek	Dávkovaný objem vzorku [μl]	Průměrná koncentrace PP na kyselinu gallovou [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
R1	100	263,06
R2		268,11
R3		290,94
A1		1066,89
A2		972,78
A3		1100,22

Tabulka 2 Průměrné hodnoty polyfenolů vypočítané z regresní přímky kalibrační křivky kyseliny gallové u zahuštěných vzorků.

Vzorek	Dávkovaný objem vzorku [μl]	Průměrná koncentrace PP na kyselinu gallovou [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]
R1	100	432,39
R2		411,67
R3		426,39
A1		2224,22
A2		2152,00
A3		2713,11

6.3 Transdermální prostup aktivních látek in vitro

Transdermální adsorpce látek řadíme k významným testům, které slouží k hodnocení bezpečnosti. Stratum corneum je hlavní část kůže, která slouží k průniku látek z vnějšího prostředí do organismu transdermální cestou. Chemické látky mohou pronikat do organismu několika způsoby, jako je intracelulární a transcelulární cesta, pomocí vlasových folikul,

nebo také vývody potních a mazových žláz. Pro testování přenosu těchto látek se často používají in vitro testy na lidské, zvířecí, nebo umělé kůži. Nejvhodnějším materiálem je lidská kůže získaná při chirurgických operacích, kdy je potřeba poskytnout informovaný souhlas dárce. Další možností kožních modelů je prasečí kůže, která se odebírá ze zad, boků, břicha, nebo ušního boltce zvířete. Také je možnost stanovit transdermální absorpci pomocí vypěstovaných keratinocitů in vitro na vodném podkladě. Samotné testování transdermální adsorpce chemických látek in vitro provádíme pomocí tzv. difuzních komůrek. Nejčastěji využívaná je Franzova komůrka, která se skládá ze dvou skleněných částí donorové horní části a spodní receptorové části. Při testování se receptorová kapalina umístí do receptorové části, mezi receptorovou a donorovou část se umístí předem připravený testovaný vzorek vždy tak, aby dermis směřovala nahoru. Na předpřipravený vzorek kůže o známém rozměru, tloušťce a hodnoty TEWL se aplikuje známé množství testované látky. Doba průběhu testu bývá různá, ale často doporučována 24 hodin. Po ukončení pokusu by se testovaná látka měla nacházet na povrchu kůže, v rohové vrstvě, ve zbývajících vrstvách pokožky, ve škáře a v konečné receptorové kapalině. Dalším krokem je oddělení jednotlivých vrstev kůže a následným stanovením množství obsažené testované látky v jednotlivých vrstvách kůže vhodnou analytickou technikou (např. HPLC, AAS) [40].

6.3.1 Příprava experimentu

Ke stanovování transdermálního prostupu aktivních látek in vitro byly použity extrakty z rakytníku řešetlákového a aronie černé připravené v kapitole 6.1.

Pro toto stanovení byla použita prasečí kůže z vnitřní části ucha prasete, která byla získána z jatek ihned po porážce zvířete. Tato kůže nebyla nijak spařena a pomocí skalpelu byla hřbetní část kůže opatrně oddělena od chrupavky. Dále byly jednorázovou žiletkou odstraněny chlupy ze získané kůže. Takto připravená kůže byla nastříhána na čtvercové terčíky o průměru cca 3 cm a tloušťka byla změřena pomocí mikrometru. Následně byla na každém terčíku změřena transdermální ztráta vody (TEWL). Terčíky byly vybrány podle tloušťky a hodnoty TEWL. Byly vyřazeny vzorky prasečí kůže s nejvyššími a nejnižšími hodnotami tloušťky a TEWL.



Obrázek 8 Příprava testované prasečí kůže (zdroj: vlastní)



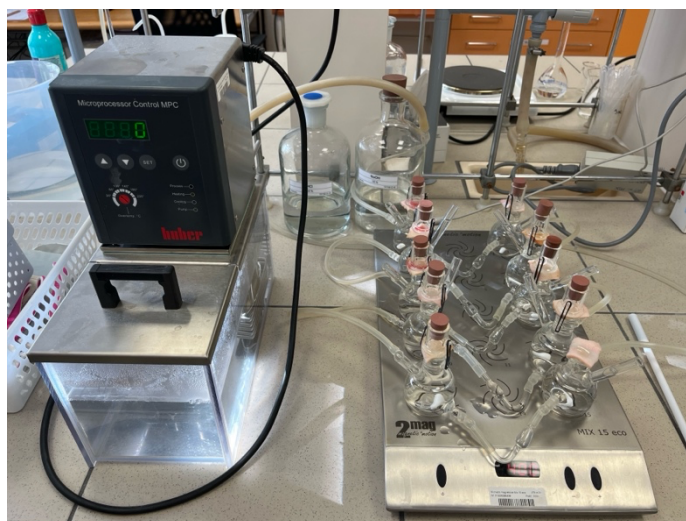
Obrázek 9 Připravené čtvercové terčíky k testování (zdroj: vlastní)

6.3.2 Aparatura

Na magnetické míchačce byla sestavena aparatura složená z Franzových difuzních komůrek, které se skládají z horní a spodní části. Komůrky byly vzájemně propojeny silikonovými hadičkami. Tento systém byl napojen na vodní lázeň s termostatem a teplota vody byla udržována na 32 °C. Do Franzových difuzních komůrek byla vložena míchadla a takto připravené komůrky byly doplněny receptorovou kapalinou až po jejich okraj bez vzduchových bublin. Receptorová kapalina byla připravena navážením 0,2555 g Gentamicin sulphateu a doplněním do 500 ml odměrné baňky PBS puftrem. Následně byla kapalina dána na odplynění do ultrazvukové lázně. Na povrch Franzovy difuzní komůrky byl přiložen terčík prasečí kůže rohovou vrstvou směrem vzhůru.

6.3.3 Nanášení testovaných vzorků

Na střed terčíku prasečí kůže bylo nadávkováno 150 μ l jednotlivých vzorků, které byly rozetřeny skleněnou hokejkou po celé ploše terčíku a poté přikryty horní částí difuzní komůrky. Díly každé jednotlivé komůrky byly vzájemně spojeny svorkami. Tento test byl proveden ve 3 paralelních stanoveních. Doba průběhu reakce činila 24 hodin. Po uplynutí této doby byla prasečí kůže dále zpracovávána.



Obrázek 10 Kompletní aparatura (zdroj: vlastní)

6.3.4 Zpracování kůže

Po skočení reakční doby byla vyjmuta prasečí kůže z Franzovy komůrky. Do mikrozkušavek byly rozděleny jednotlivé frakce. Do první mikrozkušavky byl proveden oplach capu. V dalším kroku byl do druhé mikrozkušavky odstřížen a poté rozstříhán na menší kousky zbytek prasečí kůže od terčíku. Do třetí mikrozkušavky byl vložen první a druhý strip svrchní části kůže *stratum corneum* z terčíku, stripování bylo provedeno lepicí páskou. Do čtvrté mikrozkušavky byl vložen třetí a čtvrtý strip terčíku svrchní části kůže *stratum corneum* prasečí kůže. V páté mikrozkušavce byla stanovována epidermis, v šesté mikrozkušavce byl stanovován zbytek kůže. Do všech těchto mikrozkušavek byl přidán 1 ml methanolu. Sedmá mikrozkušavka obsahovala 10 ml receptorové kapaliny.



Obrázek 11 Oddělování epidermis od zbytku prasečí kůže (zdroj: vlastní)

6.4 Stanovení celkového obsahu polyfenolů po transdermální absorpci

6.4.1 V původním vzorku

Po stanovení transdermálního prostupu aktivních látek v kapitole 6.3.1., byl opět stanoven celkový obsah polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem prošlých přes prasečí kůži. Toto stanovení bylo prováděno s extrakty vzniklými v kapitole 6.3. Všechny tyto vzorky, byly nejprve důkladně promíchány ve vortexu. Z každé mikrozkušavky bylo napipetováno 500 μ l vzorku do 10ml odměrné baňky s 5 ml destilované vody. Dále bylo přidáno 500 μ l Folin-Ciocalteuova činidla a 1,5 μ l uhličitanu sodného. Takto připravená směs byla doplněna destilovanou vodou na požadovaný objem 10 ml a byla ponechána 30 minut reagovat. Spouštědlem této reakce je uhličitan sodný. Po uplynutí reakční doby byla měřena

absorbance pouze u vzorků a2, b2, c2, d2, e2, f2, viz. tabulka 1. Písmeny byly značeny vzorky rakytníku řešetlákového a aronie černé, čísla byly značeny jednotlivé mikrozkušavky s příslušnými vzorky prasečí kůže, které obsahovaly odstřížek terčíku prasečí kůže. Ostatní vzorky byly neprůkazné, jelikož nedošlo k modrému zbarvení vzorku, tudíž byla absorbance neměřitelná. Z důvodu malého zbarvení vzorků byl pokus opakován.

6.4.2 V zahuštěném vzorku

Po stanovením transdermálního prostupu aktivních látek v kapitole 6.3.1., byl opět stanoven celkový obsah polyfenolů s Folin-Ciocalteuovým činidlem prošlých přes prasečí kůži. Toto stanovení bylo prováděno s extrakty vzniklými v kapitole 6.3., u kterých bylo provedeno zahuštění vypařením poloviny objemu vzorku na vařiči. Teplota byla hlídána, aby nepřesáhla 50 °C. Postup probíhal stejně jako v předchozí kapitole 6.4.1. V druhém pokusu byla naměřena absorbance u vzorků a2, a6, b2, b6, c1, c2, c3, viz. tabulka 4. Písmeny byly značeny vzorky rakytníku řešetlákového a aronie černé, čísla byly značeny jednotlivé mikrozkušavky s příslušnými vzorky prasečí kůže, které obsahovaly oplach capu, odstřížek terčíku, první a druhý strip, epidermis a zbytek prasečí kůže. V ostatních odměrných baňkách vzorků jednotlivých částech kůže nedošlo k žádné reakci s modrým zbarvením, a proto nebyla naměřena žádná další absorbance.



Obrázek 12 Jednotlivé vzorky pro měření (zdroj: vlastní)

6.5 Naměřené výsledky

6.5.1 Pro původní vzorky

V prvním postupu v kapitole 6.2 byl metodou Folin-Ciocalteu stanoven obsah polyfenolů v původních vzorcích čerstvého ovoce aronie černé (3 vzorky) a rakytníku řešetlákového (3 vzorky). Stanovená průměrná koncentrace polyfenolů ve vzorcích aronie černé byla $(10,2 \pm 0,2)$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a rakytníku řešetlákového $(2,70 \pm 0,06)$ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ vztažená k původním navážkám vzorku, která průměrně činila pro aronii černou 2,0580 g a pro rakytník řešetlákový 2,0296 g. V dalším postupu v kapitole 6.3 byl stanoven obsah polyfenolů v jednotlivých vrstvách kůže viz. tabulka 1. Bylo prokázáno u všech vzorků aronie černé a rakytníku měřitelný obsah polyfenolů pouze v odstrižku okraje terčíku prasečí kůže viz. tabulka 3. Tento výsledek byl pravděpodobně způsoben případným únikem vzorku do okrajových částí terčíku kůže, k čemuž patrně došlo kvůli malé viskozitě vzorku nebo kvůli nedokonalému těsnění komůrek.

Tabulka 3 Vypočítané hodnoty koncentrace původních vzorků, vypočítané hodnoty koncentrace polyfenolů v kůži a procentuální zastoupení obsahu polyfenolů v jednotlivých vrstvách kůže.

Původní vzorek	Průměr obsahu PP v původním vzorku [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	Vzorek kůže	Průměr obsahu PP v původním vzorku kůže [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	Procentuální obsah polyfenolů v jednotlivých vrstvách kůže [%]
A1	1066,89	a2	75,53	6,33
A2	972,78	b2	67,54	8,96
A3	1100,22	c2	87,19	6,69
R1	263,06	d2	73,57	12,76
R2	268,11	e2	33,56	25,74
R3	290,94	f2	69,00	23,72

6.5.2 Pro zahuštěné vzorky

Při opakování experimentu za použití zahuštěných vzorků byla jejich koncentrace pro aronii černou ($11,5 \pm 0,5$) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ a pro rakytník řešetlákový ($2,09 \pm 0,03$) $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ vztažených k navážkám vzorku uvedených v kapitole 6.5.1. V jednotlivých vrstvách kůže bylo prokázáno u všech vzorků aronie černé a rakytníku řešetlákového obsah polyfenolů opět v odstrižku terčíku prasečí kůže. Dále u aronie černé v prvním stripu jen u jednoho vzorku a ve zbytku kůže po odstranění epidermis u dvou vzorků. U rakytníku řešetlákový byl obsah polyfenolů prokázán pouze v okrajích terčíku prasečí kůže viz. tabulka 4.

Tabulka 4 Vypočítané hodnoty koncentrace zahuštěných vzorků, vypočítané hodnoty koncentrace polyfenolů v kůži a procentuální zastoupení obsahu polyfenolů v jednotlivých vrstvách kůže.

Zahuštěný vzorek	Průměr obsahu PP v zahuštěném vzorku [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	Vzorek kůže	Průměr obsahu PP v zahuštěném vzorku kůže [$\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$]	Procentuální obsah polyfenolů v jednotlivých vrstvách kůže [%]
A1	2224,22	a2	228,00	10,25
		a6	38,90	1,75
A2	2152,00	b2	127,41	5,92
		b6	34,73	1,61
A3	2713,11	c1	119,11	4,39
		c2	100,43	3,70
		c3	67,52	2,49
R1	432,39	d2	74,92	17,33
R2	411,67	e2	49,76	12,09
R3	426,39	f2	56,58	13,27

6.6 Hodnocení

Zkoušela se nová metoda průchodu aktivních látek polyfenolů z netradičního ovoce aronie černé a rakytníku řešetlákového přes prasečí kůži transdermální absorpcí in vitro. Touto metodou testujeme průchod aktivních látek kosmetických přípravků do dermis. Tato metoda se osvědčila pro zahuštěné vzorky, u méně viskózních vzorků se polyfenoly vyskytovaly jen v okrajových částech kůže. Navrhovala bych pokračovat v experimentu se zvýšením viskozity a koncentrace vzorku, nebo změnou metody měření, která prokazuje výsledky i u malých koncentrací.

ZÁVĚR

V této bakalářské práci byla teoretická část zaměřená na biologicky aktivní látky, které vykonávají v organismu nějakou regulační funkci. Tyto látky dělíme na vnitřní, které si organismus syntetizuje sám a vnější, které si organismus neumí sám vytvořit. Mezi vnitřní aktivní látky řadíme vitamín A, B, D, hormony a další. Mezi vnější aktivní látky řadíme vitamín C a E. Tyto aktivní látky můžeme dodat vlasů, nehtům, kůži nebo zubům pomocí kosmetických přípravků, avšak projevy se dostaví až po delší době. Dále se práce zabývá netradičním ovocem, které je v dnešní době v popředí zájmu. V netradičním ovoci jsou BAL obsaženy především v čerstvé formě. Bioaktivní látky mohou být např. antioxidanty, kam řadíme vitamíny C, E. Obsahují fenolické sloučeniny a barviva, do kterých řadíme antokyany a karotenoidy.

Praktická část této bakalářské práce se zabývá možností využití netradičního ovoce jako zdroj aktivních látek pro kosmetické přípravky. Jako varianty netradičního ovoce byl vybrán rakytník řešetlákový a aronie černá. Nejprve byl stanoven celkový obsah polyfenolů v tomto netradičním ovoci metodou Folin-Ciocalteu. Dále byl stanoven transdermální prostup polyfenolů přes prasečí kůži *in vitro* a poté byla opět měřena koncentrace polyfenolů v jednotlivých částech prasečí kůže metodou Folin-Ciocalteu. Tyto metody byly provedeny ve dvou sadách vzorků. Výsledky těchto metod byly průkaznější u zahuštěných vzorků, kde obsah polyfenolů byl stanoven v oplachu capu, odstřížku terčíku, prvním a druhém stripu, epidermis a ve zbytku kůže. U původního vzorku byly koncentrace polyfenolů průkazné jen u odstřížků terčíku u obou vzorků. Tyto výsledky byly pravděpodobně způsobeny případným únikem vzorku do okrajových částí terčíku kůže, k čemuž patrně došlo kvůli malé viskozitě vzorku nebo kvůli nedokonalému těsnění komůrek. Bylo by vhodné pro další stanovování najít způsob, jak zvýšit viskozitu vzorků. Také by bylo možné použít jinou analytickou metodu, která stanovuje i nízké koncentrace aktivních látek ve vzorcích.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] HOJEROVÁ, Jarmila a E. BOSKOVIČOVÁ. *Kozmetika-zdravie-krása: Ako si vybrať kozmetiku*. Bratislava: Metro Media, 2009. ISBN 978-80-89642-19-9.
- [2] MLČEK, Jiří. *Netradiční druhy potravin - jejich význam, vlastnosti a využití: Non-traditional types of food - their importance, properties and utilization*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2020. ISBN 978-80-7454-908-3.
- [3] SYROVÝ, Vít. *Tajemství kosmetiky*. [Praha]: Vít Syrový, [2015]. ISBN 978-80-903137-7-4.
- [4] SAQIB, Muhammad, Baohua LOU, Mohamed Ibrahim HALAWA, Shimeles Addisu KITTE, Zhongyuan LIU a Guobao XU. Chemiluminescence of Lucigenin–Allantoin and Its Application for the Detection of Allantoin. *Analytical Chemistry* [online]. 2017, 2017-02-07, **89**(3), 1863-1869 [cit. 2024-04-27]. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:10.1021/acs.analchem.6b04271
- [5] ZHANG, Fengjuan, Xinxiao SUN, Xiaolin SHEN, Yajun YAN, Jia WANG a Qipeng YUAN. Biosynthesis of allantoin in *Escherichia coli* via screening a highly effective urate oxidase. *Biotechnology and Bioengineering* [online]. 2022, **119**(9), 2518-2528 [cit. 2024-04-27]. ISSN 0006-3592. Dostupné z: doi:10.1002/bit.28126
- [6] FENG, Yifan, Xiang LI, Qiaoran YANG, Deliang GUO, Yangguang LI, Yanbin TONG a Bang-Ce YE. Dual-template molecularly imprinted electrochemical sensor based on foamed iron-based MOF for simultaneous and specific detection of α -arbutin and β -arbutin in cosmetics. *Journal of Electroanalytical Chemistry* [online]. 2023, **928** [cit. 2024-04-27]. ISSN 15726657. Dostupné z: doi:10.1016/j.jelechem.2022.117031
- [7] REPERT, Sarah, Sandra MATTHES a Wilfried ROZHON. Quantification of Arbutin in Cosmetics, Drugs and Food Supplements by Hydrophilic-Interaction Chromatography. *Molecules* [online]. 2022, **27**(17) [cit. 2024-04-27]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules27175673

- [8] KAWADA, Akira, Natsuko KONISHI, Tomoyuki MOMMA, Naoki OISO a Shigeru KAWARA. Evaluation of anti-wrinkle effects of a novel cosmetic containing retinol using the guideline of the Japan Cosmetic Industry Association. *The Journal of Dermatology* [online]. 2009, **36**(11), 583-586 [cit. 2024-04-27]. ISSN 0385-2407. Dostupné z: doi:10.1111/j.1346-8138.2009.00716.x
- [9] GIBIELLE, Clara, Lydia BOUSSEKSOU, Sabine GUÉHENNEUX a Katell VIÉ. In a Preliminary Study on Human Subjects, a Cosmetic Cream Containing a *Harungana madagascariensis* Plant Extract Induces Similar Anti-Aging Effects to a Retinol-Containing Cream. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology* [online]. 2023, **16**, 1051-1058 [cit. 2024-04-27]. ISSN 1178-7015. Dostupné z: doi:10.2147/CCID.S401290
- [10] EL MUBARAK, Mohamed Ahmed S., Fotini N. LAMARI a Christos KONTOYANNIS. Simultaneous determination of allantoin and glycolic acid in snail mucus and cosmetic creams with high performance liquid chromatography and ultraviolet detection. *Journal of Chromatography A* [online]. 2013, **1322**, 49-53 [cit. 2024-04-27]. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2013.10.086
- [11] STEBBINS, William, Andrew ALEXIS a Jacob LEVITT. Cosmetic Acceptability of Six 40–50% Urea Preparations. *American Journal of Clinical Dermatology* [online]. 2008, **9**(5), 319-322 [cit. 2024-04-27]. ISSN 1175-0561. Dostupné z: doi:10.2165/00128071-200809050-00006
- [12] MANKAR, S.D., S.B. BHAWAR, Mohini SHELKE, Pankaj SONAWANE a Shraddha PARJANE. Thyroid Disorder: An Overview. *Research Journal of Pharmacology and Pharmacodynamics* [online]. 43-46 [cit. 2024-04-27]. ISSN 2321-5836. Dostupné z: doi:10.52711/2321-5836.2022.00007
- [13] WANG, Lai-Hao a Shih-Wen TSENG. Direct determination of d-panthenol and salt of pantothenic acid in cosmetic and pharmaceutical preparations by differential pulse voltammetry. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2001, **432**(1), 39-48 [cit. 2024-04-27]. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/S0003-2670(00)01203-4

- [14] CHIN, Mei Fong, Thomas M. HUGHES a Natalie M. STONE. Allergic contact dermatitis caused by panthenol in a child. *Contact Dermatitis* [online]. 2013, **69**(5), 321-322 [cit. 2024-04-27]. ISSN 0105-1873. Dostupné z: doi:10.1111/cod.12116
- [15] ALHAJJ, Maria J., Nicolle MONTERO, Cristhian J. YARCE a Constain H. SALAMANCA. Lecithins from Vegetable, Land, and Marine Animal Sources and Their Potential Applications for Cosmetic, Food, and Pharmaceutical Sectors. *Cosmetics* [online]. 2020, **7**(4) [cit. 2024-04-27]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics7040087
- [16] LAVILLA, Isela, Vanesa ROMERO, Paula COSTAS a Carlos BENDICHO. Kinetic spectrophotometric assay for the determination of vitamin C in cosmetics following ultrasound-assisted emulsification. *Analytical Methods* [online]. 2023, 2023-02-16, **15**(7), 951-958 [cit. 2024-04-27]. ISSN 1759-9660. Dostupné z: doi:10.1039/D2AY01795D
- [17] HOANG, Hien Thi, Ju-Young MOON a Young-Chul LEE. Natural Antioxidants from Plant Extracts in Skincare Cosmetics: Recent Applications, Challenges and Perspectives. *Cosmetics* [online]. 2021, **8**(4) [cit. 2024-04-25]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics8040106
- [18] SHULTZ, Jemima Daniela, Gislaine Ricci LEONARDI, Silvana Raquel Alina BERTOLINO, et al. Design and development of raw clay-based formulations emulsions loaded with ascorbyl glucoside, in vitro evaluations on topical delivery and cell viability. *Journal of Dispersion Science and Technology* [online]. 2024, **45**(4), 731-742 [cit. 2024-04-27]. ISSN 0193-2691. Dostupné z: doi:10.1080/01932691.2023.2178452
- [19] HUANG, Yiming, Ping YANG a Nagamalai VASIMALAI. Application of Cross-Linked and Non-Cross-Linked Hyaluronic Acid Nano-Needles in Cosmetic Surgery. *International Journal of Analytical Chemistry* [online]. 2022, 2022-5-23, **2022**, 1-5 [cit. 2024-04-27]. ISSN 1687-8779. Dostupné z: doi:10.1155/2022/4565260

- [20] SAKULWECH, Sakhiran, Nattaya LOURITH, Uracha RUKTANONCHAI a Mayuree KANLAYAVATTANAKUL. Preparation and characterization of nanoparticles from quaternized cyclodextrin-grafted chitosan associated with hyaluronic acid for cosmetics. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2018, **13**(5), 498-504 [cit. 2024-04-27]. ISSN 18180876. Dostupné z: doi:10.1016/j.ajps.2018.05.006
- [21] TOZER, Sarah, Cian O'MAHONY, Jen HANNAH, John O'BRIEN, Seamus KELLY, Kirstin KOSEMUND-MEYNEN a Camilla ALEXANDER-WHITE. Aggregate exposure modelling of vitamin A from cosmetic products, diet and food supplements. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2019, **131** [cit. 2024-04-27]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2019.05.057
- [22] LUPO, Mary P. Antioxidants and vitamins in cosmetics. *Clinics in Dermatology* [online]. 2001, **19**(4), 467-473 [cit. 2024-04-27]. ISSN 0738081X. Dostupné z: doi:10.1016/S0738-081X(01)00188-2
- [23] VÁLLEZ-GOMIS, Víctor, Guillem PERIS-PASTOR, Juan L. BENEDÉ, Alberto CHISVERT a Amparo SALVADOR. Green determination of eight water-soluble B vitamins in cosmetic products by liquid chromatography with ultraviolet detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2021, **205** [cit. 2024-04-27]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2021.114308
- [24] VIÑAS, Pilar, Marta PASTOR-BELDA, Natalia CAMPILLO, María BRAVO-BRAVO a Manuel HERNÁNDEZ-CÓRDOBA. Capillary liquid chromatography combined with pressurized liquid extraction and dispersive liquid-liquid microextraction for the determination of vitamin E in cosmetic products. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* [online]. 2014, **94**, 173-179 [cit. 2024-04-27]. ISSN 07317085. Dostupné z: doi:10.1016/j.jpba.2014.02.001
- [25] F. MALUF, Daniela, Melissa GONÇALVES, Rebeca D'ANGELO, Ana GIRASSOL, Ana TULIO, Yasmine PUPO a Paulo FARAGO. Cytoprotection of Antioxidant Biocompounds from Grape Pomace: Further Exfoliant Phytoactive Ingredients for Cosmetic Products. *Cosmetics* [online]. 2018, **5**(3) [cit. 2024-04-25]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics5030046

- [26] LOBO, V, A PATIL, A PHATAK a N CHANDRA. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews* [online]. 2010, 4(8) [cit. 2024-04-25]. ISSN 0973-7847. Dostupné z: doi:10.4103/0973-7847.70902
- [27] LIMBERAKI, E., P. ELEFThERIOU, E. VAGDATLI, V. KOSTOGLou a C. PETROU. *Serum antioxidant status among young, middle-aged and elderly people before and after antioxidant rich diet* [online]. Hippokratia, 2012, 118-123 [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3738412/>
- [28] ORSAVOVÁ, Jana, Irena SYTAŘOVÁ, Jiří MLČEK a Ladislava MIŠURCOVÁ. Phenolic Compounds, Vitamins C and E and Antioxidant Activity of Edible Honeysuckle Berries (*Lonicera caerulea* L. var. *kamtschatica* Pojark) in Relation to Their Origin. *Antioxidants* [online]. 2022, 11(2) [cit. 2024-04-25]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox11020433
- [29] SKROVANKOVA, Sona, Sezai ERCISLI, Gursel OZKAN, Gulce ILHAN, Halil Ibrahim SAGBAS, Neva KARATAS, Tunde JURIKOVA a Jiri MLCEK. Diversity of Phytochemical and Antioxidant Characteristics of Black Mulberry (*Morus nigra* L.) Fruits from Turkey. *Antioxidants* [online]. 2022, 11(7) [cit. 2024-04-25]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox11071339
- [30] SYTAŘOVÁ, Irena, Jana ORSAVOVÁ, Lukáš SNOPEK, Jiří MLČEK, Łukasz BYCZYŃSKI a Ladislava MIŠURCOVÁ. Impact of phenolic compounds and vitamins C and E on antioxidant activity of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) berries and leaves of diverse ripening times. *Food Chemistry* [online]. 2020, 310 [cit. 2024-04-25]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2019.125784
- [31] ROP, Otakar, Josef BALÍK, Vojtěch ŘEZNÍČEK, et al. Chemical characteristics of fruits of some selected quince (*cydonia oblonga* mill.) cultivars. *Czech J. Food Sci.* [online]. Czech Journal of Food Sciences, 2011, 65-66 [cit. 2024-04-28]. ISSN 1212-1800. Dostupné z: <https://doi.org/10.17221/212/2009-CJFS>

- [32] JURIKOVA, Tunde, Jiri MLCEK, Sona SKROVANKOVA, Daniela SUMCZYNSKI, Jiri SOCHOR, Irena HLAVACOVA, Lukas SNOPEK a Jana ORSAVOVA. Fruits of Black Chokeberry *Aronia melanocarpa* in the Prevention of Chronic Diseases. *Molecules* [online]. 2017, **22**(6) [cit. 2024-04-25]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules22060944
- [33] ATTAR, Şule Hilal, Muhammet Ali GÜNDEŞLI, Ipek URÜN, et al. Nutritional Analysis of Red-Purple and White-Fleshed Pitaya (*Hylocereus*) Species. *Molecules* [online]. 2022, **27**(3) [cit. 2024-04-25]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules27030808
- [34] RYDLEWSKI, Adriela A., Jessica S. PIZZO, Luciana P. MANIN, Marília B. GALUCH, Patrícia D. S. SANTOS, Caroline ZAPIELLO, Oscar O. SANTOS a Jesuí V. VISENTAINER. Evaluation of possible fraud in avocado oil-based products from the composition of fatty acids by GC-FID and lipid profile by ESI-MS. *Chemical Papers* [online]. 2020, **74**(9), 2799-2812 [cit. 2024-04-27]. ISSN 2585-7290. Dostupné z: doi:10.1007/s11696-020-01119-z
- [35] GÓRSKA, Agata, Iga PIASECKA, Magdalena WIRKOWSKA-WOJDYŁA, Joanna BRYŚ, Kinga KIENC, Rita BRZEZIŃSKA a Ewa OSTROWSKA-LIGEŻA. Berry Seeds—A By-Product of the Fruit Industry as a Source of Oils with Beneficial Nutritional Characteristics. *Applied Sciences* [online]. 2023, **13**(8) [cit. 2024-04-27]. ISSN 2076-3417. Dostupné z: doi:10.3390/app13085114
- [36] KOSKOVAC, Marijana, Snezana CUPARA, Mihailo KIPIC, Ana BARJAKTAREVIC, Olivera MILOVANOVIC, Ksenija KOJICIC a Marija MARKOVIC. Sea Buckthorn Oil—A Valuable Source for Cosmeceuticals. *Cosmetics* [online]. 2017, **4**(4) [cit. 2024-04-27]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics4040040
- [37] PAWAR, Krantidip R. a Prabhat K. NEMA. Apricot kernel characterization, oil extraction, and its utilization: a review. *Food Science and Biotechnology* [online]. 2023, **32**(3), 249-263 [cit. 2024-04-28]. ISSN 1226-7708. Dostupné z: doi:10.1007/s10068-022-01228-3

- [38] GLAMPEDAKI, Pelagia a Victoria DUTSCHK. Stability studies of cosmetic emulsions prepared from natural products such as wine, grape seed oil and mastic resin. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2014, **460**, 306-311 [cit. 2024-04-28]. ISSN 09277757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2014.02.048
- [39] GORINI, Ilaria, Silvia IORIO, Rosagemma CILIBERTI, Marta LICATA a Giuseppe ARMOCIDA. Olive oil in pharmacological and cosmetic traditions. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2019, **18**(5), 1575-1579 [cit. 2024-04-28]. ISSN 1473-2130. Dostupné z: doi:10.1111/jocd.12838
- [40] KONTIGOVÁ, Lenka. *Kinetika vybraných látek při dermální expozici* [online]. Hradec Králové, 2015 [cit. 2024-04-25]. Dostupné z: <https://dspace.cuni.cz/bitstream/handle/20.500.11956/65477/140044048.pdf?sequence=5&isAllowed=y>. Disertační práce. Lékařská fakulta UK v Hradci Králové. Vedoucí práce Prof. Ing. Zdeněk Fiala, CSc.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

BAL	Biologicky aktivní látky
TEWL	Transepidermální ztráta vody
NMF	Přírozený hydratační faktor
BHA	Butylovaný hydroxyanisol
BHT	Butylovaný hydroxytoulén
Hg	<i>Hylocereus guatemalensis</i>
Hp	<i>Hylocereus polyrhizus</i>
Hu	<i>Hylocereus undatus</i>
HLPC	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie
AAS	Atomová absorpční chromatografie
PP	Polyfenoly
A1-3	Vzorek aronie černé
R1-3	Vzorek rakytníku řešetlákového
a2	Zbytek prasečí kůže odstřižený od terčíku u prvního vzorku aronie černé
a6	Zbytek prasečí kůže po odstranění epidermis u prvního vzorku aronie černé
b2	Zbytek prasečí kůže odstřižený od terčíku u druhého vzorku aronie černé
b6	Zbytek prasečí kůže po odstranění epidermis u druhého vzorku aronie černé
c1	Oplach capu u třetího vzorku aronie černé
c2	Zbytek prasečí kůže odstřižený od terčíku u třetího vzorku aronie černé
c3	První a druhý strip prasečí kůže u třetího vzorku aronie černé
d2	Zbytek prasečí kůže odstřižený od terčíku u prvního vzorku rakytníku řešetlákového
e2	Zbytek prasečí kůže odstřižený od terčíku u druhého vzorku rakytníku řešetlákového
f2	Zbytek prasečí kůže odstřižený od terčíku u třetího vzorku rakytníku řešetlákového

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Rakytník (zdroj: vlastní).....	18
Obrázek 2 Rozmělněný vzorek rakytníku řešetlákového (zdroj: vlastní).....	26
Obrázek 3 Rozmělněný vzorek aronie černé (zdroj: vlastní)	27
Obrázek 4 Třepačka s lázní (zdroj: vlastní)	27
Obrázek 5 Filtrační aparatura (zdroj: vlastní).....	28
Obrázek 6 Připravené vzorky k měření absorbance. (zdroj: vlastní).....	29
Obrázek 7 Kalibrační přímka kyseliny gallové. (zdroj: vlastní).....	30
Obrázek 8 Příprava testované prasečí kůže (zdroj: vlastní).....	33
Obrázek 9 Připravené čtvercové terčíky k testování (zdroj: vlastní).....	33
Obrázek 10 Kompletní aparatura (zdroj: vlastní)	34
Obrázek 11 Oddělování epidermis od zbytku prasečí kůže (zdroj: vlastní).....	35
Obrázek 12 Jednotlivé vzorky pro měření (zdroj: vlastní)	36

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Průměrné hodnoty polyfenolů vypočítané z regresní přímky kalibrační křivky kyseliny gallové.	31
Tabulka 2 Průměrné hodnoty polyfenolů vypočítané z regresní přímky kalibrační křivky kyseliny gallové u zahuštěných vzorků.	31
Tabulka 3 Vypočítané hodnoty koncentrace původních vzorků, vypočítané hodnoty koncentrace polyfenolů v kůži a procentuální zastoupení obsahu polyfenolů v jednotlivých vrstvách kůže.	37
Tabulka 4 Vypočítané hodnoty koncentrace zahuštěných vzorků, vypočítané hodnoty koncentrace polyfenolů v kůži a procentuální zastoupení obsahu polyfenolů v jednotlivých vrstvách kůže.	38