

# Ověřování kosmetického potenciálu *Pongamia pinnata*

Bc. Denisa Zápecová

---

Diplomová práce  
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2015/2016

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Denisa Zápecová**  
Osobní číslo: **T14510**  
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Ověřování kosmetického potenciálu Pongamia Pinnata (L.)**

Zásady pro vypracování:

1. V literární rešerši charakterizujte rostlinu Pongamia Pinnata (L.) z botanického hlediska, uveďte její ekonomický a biologický potenciál využitelný také v oblasti kosmetiky. Získané poznatky kriticky zhodnoťte.
2. V praktické části formulujte přípravky s obsahem této aktivní látky. Dále proveďte in vivo hodnocení jejich účinnosti pomocí neinvazivních metod a in vitro hodnocení jejich ochrany před slunečním zářením.
3. Dosažené výsledky diskutujte a formulujte patřičné závěry.



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

Vědecké články z databází Web of Science, Scopus a další; databáze elektronických knih (např. Knovel)

Ronald Ross Watson, Sherma Zibadi. Bioactive Dietary Factors and Plant Extracts in Dermatology. Springer Science+Business Media New York 2013

Perumal Kumar, S. Suresh Ramanan, Velusamy Saravanan. Compendium on Pongamia Pinnata. Lap Lambert Academic Publishing GmbH KG, 2013

Ettler Karel. Fotoprotekce kůže, Triton, Praha, 2004

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Jana Pavlačková, Ph.D.**

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

**20. ledna 2016**

Termín odevzdání diplomové práce:

**18. května 2016**

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



Ing. Martina Černeková, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: ZÁPĚCOVÁ DENISA

Obor: ITDK

### PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby<sup>1/</sup>;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/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<sup>2/</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60<sup>3/</sup> odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60<sup>3/</sup> odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/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);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 10.5.2016

Zápěcová

<sup>1)</sup> zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

<sup>2)</sup> 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, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacího zařízení (školní dílo).

<sup>3)</sup> 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, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpirá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce je zaměřena na ověřování kosmetického potenciálu rostliny *Pongamia pinnata*. V teoretické části je tato rostlina charakterizována z botanického hlediska, dále jsou uvedeny možnosti jejího ekonomického a biologického využití nejen v oblasti kosmetiky.

Praktická část je zaměřena na *in vitro* stanovení SPF a UVA-PF u topických přípravků formulovaných na přírodní bázi s obsahem UV filtru – karanja oleje a ZnO. V *in vivo* studii byla provedena biocharakterizace testovaných formulací na souboru dobrovolnic pomocí dostupných neinvazivních metod. Organoleptické vlastnosti přípravků byly v dalším kroku podrobeny sensorické analýze. Míra ochrany přípravků před slunečním zářením byla závislá na množství použitých UV filtrů, zlepšovala se s jejich rostoucí koncentrací. Vlastnosti formulací nevykazovaly výrazný vliv na zlepšení biofyzikálních parametrů pokožky. Přítomnost použitých filtrů se významně projevila na organoleptických vlastnostech formulací.

Klíčová slova: *Pongamia pinnata*, karanjový olej, UV ochrana, TEWL, hydratace, sensorická analýza

## **ABSTRACT**

This thesis is focused on verifying the cosmetic potential of the plant called *Pongamia pinnata*. In the theoretic part, the plant is characterised from botanical aspects; further, there are mentioned possibilities of its economic and biological usage, not only in the area of cosmetics. The practical part deals with *in vitro* assesment of SPF a UVA-PF of natural topical sunscreen products containing a UV filter – Karanja oil and ZnO. In *in vivo* studies, the bio-characterisation of tested formulations was also performed on a group of women volunteers by means of accessible, non-invasive methods. Organoleptic properties of topical sunscreen products were then submitted to sensory analysis. The protection size of topical sunscreen products was dependent on the amount of used UV filters and increased with its growing concentration. The properties of formulations did not show any outstanding influence on the improvement of biophysical parameters of the skin. The presence of used filters manifested significantly in organoleptic properties of formulations.

Key words: *Pongamia pinnata*, karanja oil, UV protection, TEWL, hydration, sensory analysis

Na tomto místě bych chtěla upřímně poděkovat Ing. Pavlačkové, Ph.D. za cenné rady, odborné vedení a celkovou ochotu projevenou v průběhu celého procesu tvorby mé diplomové práce. Můj dík patří i firmě Nobilis Tilia, která poskytla pro testování kosmetické přípravky. Dále bych chtěla poděkovat všem probandům za jejich ochotu. Bez nich bych experiment nemohla uskutečnit. Mé nejhlubší poděkování patří rodině, která po celou dobu mého studia neztrácela trpělivost a podporovala mě.

*Motto:*

Úspěch není cíl, je to cesta, je to směr, kterým jdete.

Prohlašuji, že jsem na diplomové práci *Ověřování kosmetického potenciálu *Pongamia pinnata** pracovala samostatně pod vedením Ing. Jany Pavlačkové, Ph.D. a uvedla v seznamu literatury všechny použité literární a odborné zdroje.

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

# OBSAH

ÚVOD.....	10
<b>I TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>11</b>
<b>1 CHARAKTERISTIKA <i>POGNAMIA PINNATA</i> .....</b>	<b>12</b>
1.1 BOTANICKÁ KLASIFIKACE.....	14
1.2 BOTANICKÝ POPIS.....	15
1.3 VÝSKYT ROSTLINY .....	16
1.4 PODMÍNKY PĚSTOVÁNÍ .....	17
1.5 CHEMICKÉ SLOŽENÍ .....	18
1.5.1 Chemické složení oleje z <i>Pongamia pinnata</i> .....	20
1.6 ÚČINKY A VYUŽITÍ <i>PONGAMIA PINNATA</i> .....	20
1.6.1 Dermatologické a kosmetické aplikace.....	20
1.6.2 Farmakologické účinky .....	21
1.6.2.1 Protizánětlivá aktivita .....	21
1.6.2.2 Protiprůjmová aktivita .....	22
1.6.2.3 Antibakteriální aktivita .....	22
1.6.2.4 Antivirová aktivita .....	23
1.6.2.5 Antidiabetická aktivita .....	23
1.6.3 Antioxidační aktivita .....	23
1.6.4 Zdroj bionafty .....	23
1.6.5 Využití filtračního koláče.....	25
1.6.6 Mazivo do dieselových motorů .....	25
1.6.7 Přírodní insekticid .....	26
1.6.7.1 Účinnost přípravků na bázi oleje na housenky <i>Plutella xylostella</i> L. ...	27
1.6.8 Další možnosti využití.....	28
<b>2 VLASTNOSTI A FUNKCE KŮŽE .....</b>	<b>29</b>
2.1 FUNKCE <i>STRATUM CORNEUM</i> .....	29
2.2 HYDRATAČE.....	30
2.2.1 Přirozený hydratační faktor .....	31
2.2.2 Humektanty .....	32
2.2.3 Emolienty .....	32
2.2.4 Okluziva .....	32
2.3 PH KŮŽE .....	33
2.4 TRANSEPIDERMÁLNÍ ZTRÁTA VODY.....	33
<b>3 ULTRAFIALOVÉ ZÁŘENÍ .....</b>	<b>35</b>
3.1.1 Typy ultrafialového záření .....	35
3.1.2 Fotoprotekce.....	36
3.1.3 Sluneční ochranný faktor.....	36
3.1.4 Kožní fototypy.....	37
3.1.5 Dostupné kosmetické přípravky na ochranu před ultrafialovým zářením .....	37



3.1.6	Využití aktivní složky <i>Pongamia pinnata</i> v přípravcích proti slunění .....	38
<b>4</b>	<b>CÍLE PRÁCE .....</b>	<b>40</b>
<b>II</b>	<b>PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>41</b>
<b>5</b>	<b>METODIKA PRÁCE.....</b>	<b>42</b>
5.1	TESTOVANÉ KOSMETICKÉ FORMULACE.....	42
5.2	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A POMŮCKY .....	44
5.3	PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ .....	44
5.3.1	Spektrofotometr UV-VIS Cary 100.....	44
5.3.2	Solární simulátor Atlas SUNTEST CPS +.....	45
5.3.3	Stanice MPA .....	46
5.3.4	Korneometr CM 825 .....	46
5.3.5	Tewametr TM 300.....	47
5.3.6	pH metr 905.....	47
5.4	ORGANIZACE MĚŘENÍ – STANOVENÍ FOTOSTABILITY TESTOVANÝCH PŘÍPRAVKŮ .....	48
5.4.1	Měření vzorků kosmetických přípravků proti slunění .....	48
5.4.2	Určení doby ozařování .....	49
5.5	ORGANIZACE MĚŘENÍ – <i>IN VIVO</i> ÚČINNOST TESTOVANÝCH FORMULACÍ .....	50
5.5.1	Soubor probandů .....	50
5.6	SENZORICKÁ ANALÝZA EMULZNÍCH FORMULACÍ.....	52
5.6.1	Postup senzorické analýzy.....	52
5.7	ZPRACOVÁNÍ ZÍSKANÝCH DAT.....	54
5.7.1	Matematické zpracování dat pro stanovení SPF a UVA-PF .....	54
5.7.2	Zpracování dat pro biocharakterizaci pokožky .....	55
5.7.3	Zpracování dat pro senzorickou analýzu.....	56
<b>6</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>57</b>
6.1	VYHODNOCENÍ FOTOSTABILITY TESTOVANÝCH PŘÍPRAVKŮ .....	57
6.2	VYHODNOCENÍ HYDRATAČNÍHO ÚČINKU KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ .....	63
6.3	VYHODNOCENÍ ÚČINNOSTI KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ NA TEWL.....	65
6.4	VYHODNOCENÍ ÚČINNOSTI KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ NA pH POKOŽKY .....	67
6.5	VÝSLEDKY A DISKUSE SENZORICKÉ ANALÝZY KOSMETICKÝCH PŘÍPRAVKŮ S OBSAHEM <i>PONGAMIA PINNATA</i> .....	70
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>73</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....</b>	<b>74</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>82</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>84</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>86</b>
	<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>87</b>

## ÚVOD

Tato práce je věnována ověřování kosmetického potenciálu *Pongamia pinnata* (*P. pinnata*), jehož český název zní kaleda lysá. Jde o strom, který patří do čeledi bobovitých. *Pongamia pinnata* je rozšířen v tropických a subtropických zemích jako jsou Asie, Indie, Thajsko, Jižní Japonsko, Malajsie, Filipíny. Vyskytuje se i na pacifických ostrovech v Mikronésii, na Fidži a Samoi [1], [2].

*Pongamia pinnata* má široké aplikační možnosti, nejdříve se začal využívat v lidovém léčitelství, postupně našel pro svoji protizánětlivou, protiprůjmovou a antibakteriální aktivitu svoje místo také ve farmacii a celé řadě dalších oblastí, kde má například uplatnění jako alternativní zdroj bionafty nebo přírodní insekticid v boji proti škůdcům. V neposlední řadě je znám i jeho kosmetický potenciál. V kosmetickém průmyslu je často pro svoje protektivní vlastnosti součástí přípravků proti působení slunečního záření.

V současné odborné literatuře se nenachází studie věnované kvantifikované účinnosti *P. pinnata* využívané v kosmetické oblasti. Proto se budu ve své práci zabývat ověřováním hydratačních účinků, bariérových vlastností a také vlastností protektivních této perspektivní rostliny. Tuto unikátní kosmetickou ingredienci využívá ve svých formulacích firma Nobilis Tilia, ve spolupráci s kterou toto téma vzniklo.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 CHARAKTERISTIKA *POGNAMIA PINNATA*

*Pongamia pinnata* je středně velký strom, který se nachází zejména v Indii. Jak lze vidět na Obr. 1, jde o středně velký stálezelený a rychle rostoucí strom dosahující výšky až 25 m. Je znám jako jeden z nejbohatších stromů Indie. Název tohoto stromu je odvozen od "*pinnata*", což znamená zpeřené listy [2], [3, s. 495].

Rostlině se velmi dobře daří v tropických oblastech s teplým a vlhkým klimatem s častými srážkami. Vyskytuje se hlavně při březích řek do nadmořské výšky 1200 m a může dosáhnout stáří nad 90 až 100 let [2], [4, s. 76].

Listy *P. pinnata* jsou střídavé, mladé listy jsou růžově červené, zralé listy lesklé a tmavě zelené. Listy tento strom shazuje v dubnu a nové listy se objevují v květnu. Jak můžeme vidět na Obr. 2, květy jsou šestikvité, bílé až narůžovělé v páru podél stonků, svěšené v hroznech nebo latách, kvetení začíná obvykle po 3–4 letech od výsadby. Květy se ukazují od května až června. Semeno v květu je obvykle jedno, zřídka dvě, eliptického tvaru 1,7–2 cm široké, vrásčité s hnědonačervenalým povrchem. Semena dozrávají během března až května [1], [3, s. 495], [5, s. 14].



Obr. 1. *Pongamia pinnata* [6, s. 1]



*Obr. 2. Květy Pongamia pinnata [6, s. 1]*

*Pongamia pinnata* je považován za poměrně tolerantní druh vzhledem k sušším podmínkám podnebí. Velmi dobře snáší slané i alkalické podmínky. Optimální pH půdy leží mezi 6,5–8,5. Na Obr. 3 lze vidět vzrůst 15měsíční rostliny [1].



*Obr. 3. Vzrůst 15měsíční rostliny [6]*

## 1.1 Botanická klasifikace

V Tab. 1 je uvedena botanická klasifikace *P. pinnata*.

Tab. 1. Botanická klasifikace *P. pinnata*, [1]

Český název	Kaleda lysá
Říše	Rostliny
Oddělení	Magnolyophyta
Třída	Magnolyopsida
Řád	Bobovité
Čeleď	Leguminoseae
Rod	<i>Pongamia</i>
Druh	<i>Pinnata</i>
Botanické jméno	<i>Pongamia pinnata</i> (L.) Pierre
Synonyma	<i>Derris indica</i> (Lam.) Bennett <i>Pongamia glabra</i> Vent. <i>Pongamia pinnata</i> Merr.
Obecné názvy:	V hindštině: Karanja, v angličtině: indický buk, v urijštině: Koranjo

## 1.2 Botanický popis

Všechny botanické popisné znaky této rostliny jsou uvedeny v Tab. 2. Obr. 4 ukazuje jednotlivé části *P. pinnata* [1].

Tab. 2. Botanický popis [1]

Rostlinný typ	Střední velikost, stálezelený, víceletý, trvalý, listnatý strom Výška až 25 m Tempo růstu – rychlé Střední struktura Chromozomové číslo – 22
Podmínky pěstování	Světelné podmínky – strom roste na plném slunci Typ půdy – písčité, mírně zásadité, dobře odvodněné Tolerance sucha – vysoká Tolerance soli – střední
List	Střídavý, lichý, 2 až 5 palců, stálezelený, hladký
Květy	Levandulové, růžové, bílé, 2 až 4 společné, 15–18 mm dlouhé
Lusky	3 až 6 cm dlouhé a 2 až 3 cm široké, hladké, hnědé, silnostěnné, tvrdé
Semeno	Stlačené, vejčité nebo eliptické, 10–15 cm dlouhé, tmavě hnědé, olejnaté
Kořen	Štíhlý a dlouhý, četné a dobře rozvinuté boční kořeny
Kůra	Tenká, šedá až šedavě hnědá, vevnitř žlutá



a)



b)



c)



d)



e)



f)



g)

Obr. 4. Jednotlivé části *P. pinnata*: a) zdravá rostlina b) list; c) květ; d) lusk; e) semena; f) kořen; g) kůra [1]

### 1.3 Výskyt rostliny

*Pongamia pinnata* patří mezi indomalajské druhy stromů, které lze nalézt téměř po celé Indii až do nadmořské výšky 1200 m, a dále je rozšířen na východ, především v přímořských oblastech jihovýchodní Asie, Srí Lanky, Barmy, Austrálie, Floridy, Havaje, Malajsie, Oceánie, Filipín, Polynésie, Seychel. Strom se vyskytuje hlavně podél břehů, potoků, řek, nebo blízko mořského pobřeží. Je dobře adaptován na všechny půdní typy a klimatické podmínky, roste na suchých místech daleko ve vnitrozemí, a to až do výšky 1000 m nad



mořem. Je také vhodný pro zalesňování, a to zejména v povodí a v oblastech sušší části země. Oblasti Andhra Pradesh, Tamil Nadu a Karnataka poskytují většinu semen tohoto stromu. V průběhu posledních dvou desetiletí byl velký počet stromů vysazen i podél silnic, dálnic, v zahradách i v městských oblastech, kde se stal jedním z nejobdivovanějších stromů [2], [3, s. 495], [7, s. 1].

#### 1.4 Podmínky pěstování

Rostliny mohou být snadno množeny přímo semeny nebo výsadbou mateřských sazenic, či kmenovými řízků o výšce 1–2 cm. Na Obr. 5 lze vidět výsadbu *P. pinnata*. V Indii probíhá setí v období měsíce dubna až června. Výnos semen ze stromů se pohybuje zhruba od 10 do 50 kg. Semena nevyžadují žádné zvláštní ošetření před setím, zůstávají životaschopné po dobu asi jednoho roku při skladování ve vzduchotěsných obalech. Semínko klíčí do dvou týdnů od výsevu. Sazenice mohou dosahovat výšky 25–30 cm během jejich první vegetační sezóny. Nejvhodnějším obdobím k přesazení vzrostlých sazenic (až 60 cm výšky) je začátek dalšího období dešťů. Počet sazenic závisí na druhu pole, v kterém je rostlina vysazována a na zemědělské praxi v tamních oblastech. Jelikož se jedná o rostlinu s poměrně nízkými nároky na pěstování, je vhodné plné slunce nebo i částečný stín na dobře odvodněné půdě. Pokud jsou tyto podmínky splněny, stává se strom odolný proti silným větrům a suchu [1], [4, s. 71], [7, s. 187–188], [8].

Rostlině se daří, je-li roční úhrn srážek v rozmezí 500 až 2500 mm v přírodním stanovišti s maximální teplotou v rozsahu 27 až 38 °C a s minimální teplotou 16 °C. Starší stromy mohou vydržet podmáčení a mírný mráz. Rostlině se daří ve všech typech půdy od kamenité až písčité, jílovité, nesnáší suché písky [1], [9].

Dlouhý hustý kořenový systém umožňuje růst i v sušších oblastech, může ale také přežívat zaplavení po dobu několika měsíců. Postranní kořeny jsou schopné odnožovat, což může vést k invazivnímu růstu. Květy s výraznou vůní mohou při dotyku s pokožkou vyvolat její podráždění. Semena jsou nestravitelná pro býložravce, při požití vyvolávají zvracení [5, s. 14], [10].

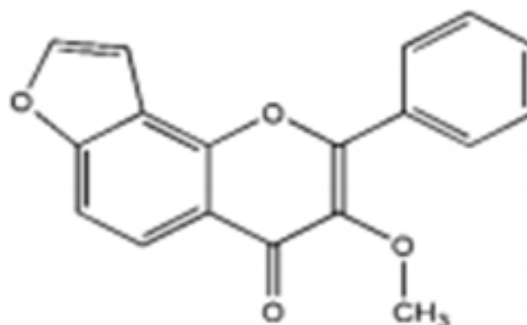


Obr. 5. Výsadba *P. pinnata* [6, s. 12]

## 1.5 Chemické složení

*Pongamia pinnata* obsahuje alkaloidy: demethoxy-kanugin, gamatay, glabrin, glabrosaponin, kaempferol, kankone, kanugin, karangin, neoglabrin, pinnatin, pongamol, pongapin, quercitin, saponin,  $\beta$ -sitosterol a tannin. Semena obsahují 19 % vody, 27,5 % mastného oleje, 17,4 % bílkovin, 6,6 % škrobu, 7,3 % hrubé vlákniny a 2,4 % popela. V Tab. 3 jsou uvedeny nutriční hodnoty stromu v listech a plodu [1].

Karangin, jehož chemickou strukturu popisuje Obr. 6, je hlavním bioaktivním furanoflavonoidem semen *P. pinnata* a je označován jako antioxidant.



Obr. 6 Struktura karanginu, [11, s. 10]

Tab. 3. Nutriční hodnoty *P. pinnata* v listech a plodu [1]

Hodnota	List	Plod (lusk a semeno)
Bílkovina	–	17,4 %
Mastný olej	–	27,5 %
Dusíkový extrakt	–	55,40 %
Hrubá vláknina	–	5,04 %
Popel	–	2,4 %
Tannin	–	2,24 g/100g
Lignin	–	6,67 %
Trypsin	–	6,2 g/100g
Fosfor	0,14 %	0,61 %
Vápník	1,54 %	0,65 %
Hořčík	–	–
Draslík	0,49 %	1,3 %
Hrubá bílkovina	18 %	19,5 g/100
Dusík	1,16 %	5,1 %
Voda	–	19 %
Škrob	–	6,6 %
Klíh	–	13,5 %
Sodík	–	0,8 %

### 1.5.1 Chemické složení oleje z *Pongamia pinnata*

Semena *P. pinnata* obsahují 30 až 40 % oleje. Tento olej je hustý, žlutooranžovo až načervenalé hnědý známý jako pongam, pongamol nebo hongay olej. Má hořkou chuť, nepříjemný zápach a není jedlý. Zpracovává se na bionaftu transesterifikací methanolem v přítomnosti KOH. Olej obsahuje 20,5 % nasycených a 79,4 % nenasycených mastných kyselin s dlouhým řetězcem s majoritním zastoupením mononenasycené mastné kyseliny olejové (46 %), linolové (27,1 %) a kyseliny linolenové (6,3 %). Mastné kyseliny, jako kyseliny laurová a kaprinová se vyskytují ve velmi malém množství přibližně 0,1 % [8, s. 187].

## 1.6 Účinky a využití *Pongamia pinnata*

Od nepaměti byly rostliny široce používány jako léčebné prostředky pro řadu onemocnění. V Ajurvédě se kořen a kůra *P. pinnata* používá při onemocnění očí, pokožky a pochvy. Dále je *P. pinnata* uplatňován při léčení svědění, nádorů, vředů a ran. Olej pomáhá při léčení revmatismu a také kožních chorob, jako jsou ekzémy, lupénka a lupy. Užívá se k hojení ran, jelikož má protizánětlivé účinky. Bylo zjištěno, že pongamol a karanjin izolované z *P. pinnata* disponují protektivními vlastnostmi před působením ultrafialového (UV) záření [1], [2].

### 1.6.1 Dermatologické a kosmetické aplikace

V kosmetických a dermatologických aplikacích je uplatňován olej, který je za studena lisovaný ze semen stromu *P. pinnata*. Olej se pro své mírnější aroma používá ve výrobcích, jako jsou mýdla, vlasové oleje a šampony. Dalším využitím tohoto oleje se zabývá kapitola 3.1.6 o UV filtrech [2], [12, s. 7].

Olej podporuje zdravý růst vlasů a napomáhá při problémech lupovité pokožky hlavy. Z tradiční medicíny je známo přikládání listů rostliny na kožní defekty z důvodů rychlejšího hojení. Olej je vhodný pro problematickou pleť náchylnou ke kožním infekcím, obsahuje vysoký obsah omega-3 mastných kyselin, snadno se vstřebává do škůry, má schopnost dodat pokožce zdravý a světlý vzhled. Bylo prokázáno, že látky izolované z *P. pinnata* jsou velmi dobré absorbenty UV paprsků v UVA a UVB oblasti. Extrakty tohoto rostlinného oleje mohou být použity spolu s jinými zavedenými standardními látkami, které posilují a účinně přispívají k UV ochraně [5, s. 14], [13].

Olej hraje též majoritní roli při léčbě pokožky zvířat, kdy je součástí veterinární kosmetiky. Olej je vmícháván do šamponů nebo lotionů určených pro domácí zvířata, které jsou efektivní při odstraňování klíšů a roztočů, jež se drží v jejich srsti. Olej s ořechovým aroma je tedy ceněn i pro své insekticidní a antiseptické vlastnosti [14, s. 982], [15, s. 1].

### 1.6.2 Farmakologické účinky

Příroda byla zdrojem léčivých látek po tisíce let a velké řady moderních léků byly izolovány z přírodních zdrojů. Mnoho z těchto izolací bylo založeno na použití přípravků v tradiční medicíně. Tyto rostlinné tradiční přípravky mají neustálé uplatnění, jsou vyhledávány asi 80 % obyvatel celého světa. Proto je důležité znát jejich vlastnosti, pochopit jejich účinnost a také znát jejich bezpečnost. Rostlinné produkty a jejich aktivní složky hrají důležitou roli v oblasti boje proti chorobám, růstu a rozvoji patogenů. Přírodní složky z rostlin mohou být získávány z kterékoliv části rostliny – kůry, listů, květů, kořenů, plodů a semen. Poptávka léků, léčivých přípravků, doplňků stravy a kosmetiky na bázi rostlin je stále rozšířenější ve vyspělých zemích vzhledem k tomu, že jsou tyto přírodní látky netoxické, mají méně vedlejších účinků a jsou snadno dostupné za přijatelné ceny [14, s. 982].

*Pongamia pinnata* je jednou z mnoha rostlin s různými léčivými vlastnosti. Všechny části rostliny byly použity v tradiční medicíně při léčbě a prevenci několika druhů kožních onemocnění a poranění. Studie [16, s. 395] popisuje současné znalosti o tradičním použití, biologické aktivitě a toxicitě tohoto druhu. Několik typů sloučenin, včetně terpenů, steroidů, a mastných kyselin byly izolovány ze všech částí této rostliny. Tyto látky vykazují široké spektrum biologických aktivit, jako je aktivita antioxidační, antimikrobiální, protiprůjemová, antidiabetická a protizánětlivá.

#### 1.6.2.1 Protizánětlivá aktivita

Protizánětlivá účinnost byla zaznamenána v různých fázích (akutní, subakutní i chronická) zánětů u 70% ethanolickeho extraktu z listu *P. pinnata* [14, s. 982].

Ve studii [2] byl prezentován účinek extraktů *P. pinnata* na záněty pokusných zvířat, konkrétně potkanů. Perorální podání vodného extraktu kůry a stonků *P. pinnata* (800 mg/kg) prokázal významnou protizánětlivou aktivitu v akutním edému zadní končetiny potkana. Mast připravená z methanolickeho extraktu listu *P. pinnata* disponovala významnou aktivitu při hojení ran. Po 16denní aplikaci bylo pozorováno úplné zahojení rány. Při zkoušení

hojení řezné rány bylo zjištěno, že v testované skupině se stav rány podstatně zlepšil od 1. do 10. dne od aplikace masti až po úplné zhojení rány ve srovnání s placebem.

### 1.6.2.2 Protiprůjmová aktivita

Ve studii [14] byl prokázán antimikrobiální účinek surového extraktu z listů *P. pinnata* a jeho vliv na produkci a působení enterotoxiny. Tento extrakt snižuje produkci toxinu cholery a bakteriální invaze do epitelových buněk [14, s. 982].

### 1.6.2.3 Antibakteriální aktivita

U produktů z rostlin je známo, že vlastní různé sekundární metabolity, které vykazují významný inhibiční účinek proti růstu patogenů, což předurčuje využití takových rostlin a jejich produktů k boji proti nemocem, které způsobují patogeny. Široké spektrum antimikrobiálního výzkumu je zaměřeno na objevování a rozvoj antibakteriálních látek a antimykotik [7, s. 1], [14, s. 982].

Ve studii [17, s. 131] byl zjištěn antibakteriální potenciál květinových extraktů *P. pinnata*. Květinové pigmenty byly extrahovány 80% acetonem, vodou a petroletherem, které inhibovaly růst šesti možných patogenních bakterií *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus* a *Enterobacter aerogenes*. Maximální zóna inhibice byla zaznamenána při testování *Staphylococcus aureus* (24 mm), *Bacillus cereus* (23 mm) a pak u *Escherichia coli* (22 mm), *Bacillus subtilis* (19 mm), *Enterobacter aerogenes* (19 mm) a *Klebsiella pneumoniae* (17 mm).

Z různých částí rostlin *P. pinnata* byla provedena *in vivo* a *in vitro* studie [14, s. 981] zkoumající antimikrobiální aktivitu *P. pinnata*. Všechny extrakty byly testovány proti různým grampozitivním a gramnegativním bakteriím a houbám s použitím agaru. Maximální antimikrobiální aktivita extraktu z kořene byla pozorována u *Escherichia coli* a *Fusarium oxysporum*, zatímco u extraktu z listu antimikrobiální aktivita byla pozorována proti *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* a *Alternaria solani*. Extrakty ukázaly mírné až středně těžké inhibiční účinky proti *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus flavus* a *Rhizopus stolonifer*. Maximální antimikrobiální aktivita extraktu ze stonku byla pozorována pouze proti *Aspergillus niger*.

#### 1.6.2.4 Antivirová aktivita

Akutní a recidivující infekce herpes simplex virus (HSV) jsou po celém světě. Příliš vysoké náklady na léčbu této infekce v rozvojových zemích si vyžádaly vyhledávání alternativních léků. *Pongamia pinnata* byl hodnocen na antivirové vlastnosti proti viru herpes simplex typu 1 (HSV-1) a typu 2 (HSV-2). Hrubý vodný výluh semen *P. pinnata* zcela inhibuje růst HSV-1 a HSV-2 v koncentraci 1 a 20 mg/ml [18, s. 262, 264].

#### 1.6.2.5 Antidiabetická aktivita

Při orálním podávání (300 mg/kg tělesné hmotnosti) ethanolickeho extraktu z květu *P. pinnata* byl prokázán významný antihyperglykemický účinek, který výrazně snižuje koncentraci glukózy v krvi. Antidiabetická aktivita byla prokázána také z extraktu listu, lusku, kořenu, stonku a kůry této rostliny. Výsledky vykazují, že tento extrakt by mohl být použit jako bezpečné alternativní léčivo pro diabetiky [3, s. 498], [16, s. 405].

#### 1.6.3 Antioxidační aktivita

V současné době existuje celosvětově zvýšený zájem identifikovat antioxidační sloučeniny, které jsou farmakologicky účinné a mají nízké nebo žádné vedlejší účinky. Pátrání po přírodních antioxidantech pro dietní, kosmetické a farmaceutické účely se stalo hlavním průmyslovým a vědecko – výzkumným úkolem v posledních dvou desetiletích. Různé volné radikály jsou zachycovány antioxidanty existujícími v těle, v němž mnohé jsou původem z potravinových zdrojů, jako je ovoce, zelenina, čaje atd. Při léčbě onemocnění jako *diabetes mellitus*, artritidy a rakoviny získává antioxidační terapie mimořádný význam stejně jako v přípravcích proti stárnutí. *Pongamia pinnata* byl uznán v systému tradičních léčiv pro léčbu různých lidských chorob. Obsahuje několik účinných látek patřících do kategorie flavonoidů. Ve studii [19, s. 1] je uvedeno, že extrakt vykazoval procentuální inhibici volných radikálů. Antioxidační působení poskytují přítomné flavonoidy nacházející se v tomto extraktu. Bylo jasně prokázáno, že *P. pinnata* lze účinně použít proti volným radikálům.

#### 1.6.4 Zdroj bionafty

V souvislosti se změnami klimatických a půdních podmínek jsou zkoumány další možnosti využití rostlinných olejů coby alternativy nafty. Jde především o sójový olej v USA, olej z řepky a slunečnice pěstovaný Evropě, palmový olej v jihovýchodní Asii a kokosový olej

z Filipín. Odhaduje se, že potenciální dostupnost nejedlých olejů např. v Indii je okolo 1 milionu tun ročně. Mezi další rostliny využitelné pro výrobu bionafty v blízké budoucnosti patří sal, mahua, neem, pongamia a jatropha. V Tab. 4 je uvedena produkce nejedlých olejů v Indii [8, s. 184].

Tab. 4. Srovnání produkce nejedlých olejů v Indii [8, s. 186]

Botanický název	Lokální název	Roční produktivita [t]
<i>Jatropha curcas</i>	Ratanjyot	15 000
<i>Pongamia pinnata</i>	Karanja	55 000

Soběstačnost v oblasti energetiky je zásadní pro celkové ekonomické dění v rozvojových zemích. Roste potřeba hledat nové alternativní obnovitelné, neznečišťující zdroje. Dále nejisté dodávky a časté zvýšení cen fosilních paliv na mezinárodním trhu jsou také vážné ekonomické hrozby pro rozvojové země. Různé nejedlé olejniny, jatropha a pongamia jsou považovány jako jediné zdroje, které mohou uspokojit rostoucí poptávku bionafty v Indii vzhledem k jejich vysoké výtěžnosti. *Pongamia pinnata* je prokazatelně jeden z nejvhodnějších nejedlých druhů olejin v Indii [8, s. 186].

Sazenice *P. pinnata* je možné uchovávat v 1,5 m hluboké vodě po dobu pěti až šesti měsíců nepřetržitě. V Indii existuje téměř 30 000 km<sup>2</sup> takových vodních nádrží. Odhadovaná roční produkce oleje ze semen je asi 50 000 t.

Indie patří na 6. místo v oblasti spotřeby energie, přičemž energetická poptávka neustále roste. Vzniká obrovský rozdíl mezi nabídkou a poptávkou, který je třeba kompenzovat zvýšeným dovozem paliv, nebo zvýšením produkce bionafty bez obětování a zachování potravinové bezpečnosti země [20, s. 2].

Jelikož má *P. pinnata* vysoký obsah oleje a může růst na podvyživených půdách s nízkou hladinou dusíku a vysokým obsahem soli, stal se rychle středem pozornosti řady výzkumných programů zaměřených na výrobu bionafty. Další výhodou je vyšší kvalita oleje, než je tomu u jiných plodin. A jelikož tento olej není požitelný, nemůže konkurovat jiným potravinářským plodinám [10].



V současné době jsou světové energetické potřeby plněny prostřednictvím neobnovitelných zdrojů, jako je ropa, zemní plyn a uhlí. Poptávka a náklady na ropné palivo rychle rostou takovým tempem, že mohou být tyto zdroje vyčerpány během několika let. Proto je vyvíjeno značné úsilí najít nové alternativní zdroje energie. Získání alternativního paliva musí být technologicky možné, ekonomicky konkurenceschopné, z hlediska životního prostředí přijatelné a snadno dostupné. Methylestery mastných kyselin připravené z rostlinných olejů nabývají na významu jako alternativní palivo pro vznětové motory [21, s. 1258], [22, s. 16].

Poptávka po bionaftě velmi rychle roste, protože se jedná o levné, obnovitelné a kapalné palivo vyrobené z rostlinných olejů. Má několik výhod, není toxické, je biologicky rozložitelné, v podstatě bez síry a karcinogenních komponent. Všechna tato uvedená fakta hovoří i pro *P. pinnata* jako potenciální zdroj bionafty [1], [8, s. 184].

#### 1.6.5 Využití filtračního koláče

Z procesu extrakce oleje ze semen *P. pinnata* je jako vedlejší produkt získáván filtrační koláč. Tento koláč byl testován jako organický zdroj živin pro rostliny, protože obsahuje 4,0 % N, 1,0 % P a 1,0 % K. Předběžné pokusy jasně ukázaly, že použití filtračního koláče posílí úrodnost půdy a zvýší dostupnost živin při pěstování dalších plodin jako sója či kukuřice [20, s. 8], [22, s. 17].

#### 1.6.6 Mazivo do dieselových motorů

Maziva jsou nezbytná pro mazání, přenos energie a ochranu proti korozi u strojů. Nahrazení maziv na bázi ropy mazivami získanými z rostlinných olejů zmírní závislost na neobnovitelných zdrojích, sníží se emise skleníkových plynů, což jsou aspekty zajímavé pro mnoho zemí [23, s. 436].

Rostlinné oleje jsou vnímány jako alternativa minerálních olejů díky technickým vlastnostem a jejich biologické rozložitelnosti. Rostlinné oleje s vysokým obsahem kyseliny olejové, která je obsažena i v semenech *P. pinnata*, jsou považovány jako nejlepší alternativa k náhradě mazacích olejů vyrobených z konvenčních minerálních a syntetických esterů [23, s. 435], [24, s. 16598].

Minerální oleje nejen vzhledem k jejich vlastní toxicitě, biologické rozložitelnosti, ale i vyčerpatelnosti představují pro přírodu a ekologii hrozbu. Tyto obavy směřují k použití rostlinných olejů coby alternativy obnovitelného zdroje nahrazující zdroje stávající. Např. v Indii se nachází řada bohatých lesních zdrojů obsahujících olejnatá semena: babassový (*Attalea speciosa*), mahua (*Madhuca indica*), neem (*Azadirachta indica*) atd. Tyto oleje jsou velmi levné ve srovnání s jedlými oleji a jsou potenciálními zdroji i z hlediska ochrany životního prostředí, především díky biologické rozložitelnosti, nízké toxicitě a obnovitelnosti. Je možné je využívat jako maziva v různých aplikacích nebo jako nátěry povrchů či plastů [24, s. 16598].

### 1.6.7 Přírodní insekticid

V současném moderním zemědělství se používá široká škála chemikálií k ochraně rostlin před škůdci. Většina z nich není zničena enzymovými systémy rostlin, nebo vnějšími přírodními vlivy a to je příčinou jejich akumulace v plodinách. Následně se tyto látky dostávají též do lidského a zvířecího organismu.

Botanické insekticidy jsou přírodní chemické látky izolované z rostlin. Tyto přípravky mohou být alternativou syntetických chemických sloučenin. Jejich výhodou je, že se snadno rozkládají v půdě a nebudou uloženy v tkáních rostlin a živočichů.

Jedním z nejzajímavějších předmětů studia v nedávných letech se stal také olej z *P. pinna-ta*. Podle výsledků publikovaných v dostupné literatuře [25, s. 1] má tato rostlina insekticidní aktivitu k některým škůdcům a hmyzu.

Tato aktivita je základní vlastností pro výrobu širokospektrých přípravků. Působí kontaktně na savé škůdce (mšice, molice, třásněnky, svlušky i červce), které zahubí. Na ostatní škůdce účinkuje protipožerově (rostlinky škůdcům nechutnají). U jehličnanů působí na korovnici. Zároveň však neohrožuje žádné užitečné organismy, domácí zvířata a především lidské zdraví. Neuvolňuje se do ovzduší. Přípravky se snadno aplikují a během aplikace není potřeba žádný ochranný oděv. Tento unikátní koncentrát na bázi přírodních látek s insekticidními účinky nachází všestranné využití v zahradě proti škůdcům na okrasných rostlinách, zelenině, drobném ovoci i vzrostlých ovocných stromech. Přípravek nelikviduje jen škůdce, ale má také fungicidní schopnosti, působí tedy i na častou houbovou chorobu [25].

Výhodou je, že nemůže dojít k poškození plodin a tím ke snížení produkce. Přítomný hořký flavonoid, způsobuje, že hmyz ztrácí chuť k jídlu, je paralizován jejich střevní trakt a tím je přerušen jejich růst a vývoj [26].

#### **1.6.7.1 Účinnost přípravků na bázi oleje na housenky *Plutella xylostella* L.**

Zápředníček polní – *Plutella xylostella* je celosvětově vyskytující se škůdce brukvovitých rostlin, především pak košťálové zeleniny. Chemická ochrana proti tomuto škůdci je často málo účinná, protože je tento škůdce schopen ve velmi krátké době vyvinout rezistentní populace k jedné nebo více účinným látkám současných syntetických insekticidů. V literatuře [27] jsou popsány rezistentní populace vůči skupině insekticidů na bázi carbamátů, organofosfátů, organochlorinů, pyrethroidů, růstových inhibitorů, pyrazolů, abamectinu, oxadiazinů, neonicotinoidů, ale i přípravků na bázi *Bacillus thuringiensis* a dalších.

Kromě toho intenzivní používání pesticidů vede k dalším environmentálním problémům, včetně zdravotních rizik spojených se zabudováváním pesticidních látek do potravinového řetězce. Tyto a další problémy nás nutí snižovat chemizaci zemědělské výroby a hledat tak nové cesty v ochraně rostlin, které budou šetrnější jak k životnímu prostředí, tak i k našemu zdraví. Rostlinné pesticidy (resp. insekticidy) včetně rostlinných extraktů, které obsahují biologicky aktivní látky obranného charakteru, jsou dnes na celém světě považovány za jednu z ekologicky a zdravotně bezpečných alternativ ochrany kulturních plodin. Jedním z příkladů rostlinných insekticidů je olej ze semen *P. pinnata* z čeledi *Leguminosae*. Celá rostlina obsahuje řadu biologicky aktivních látek, které se po staletí používaly a dosud používají v lékařství. Semena obsahují 28–34 % oleje, který kromě mastných kyselin obsahuje i 5–6 % flavonoidů, z nichž největší podíl patří do skupiny furano-flavonoidů, jako je například pongamol a diketone. Majoritním je karanjin, jehož obsah je 1–3 %. Všechny furanoflavonoidy obsažené v oleji mají významné insekticidní, fungicidní a baktericidní účinky. Tyto pesticidní účinky a environmentální a zdravotní bezpečnost předurčují užití tohoto oleje jako rostlinného insekticidu pro ochranu rostlin v systémech biologického zemědělství.

V České republice je velmi málo přípravků vhodných pro ekologické zemědělství, navzdory tomu je v současnosti v systému ekologického zemědělství zařazeno více jak 10 % zemědělské půdy a zájem o ekologicky pěstované plodiny rok od roku stoupá. Proto byl vládou České republiky podpořen výzkum, který si vytyčil za cíl vyvinout nové rostlinné in-

sekticidy, které by byly environmentálně a zdravotně bezpečné a byly vhodné do systému ekologického zemědělství. V rámci řešení projektů byly vyvinuty 3 nové formulace na bázi emulgovaného oleje z plodů *P. pinnata*. První formulace byla na bázi samotného emulgovaného oleje získaného lisováním semen. Z literatury [27, s. 16] je známé, že pongamový olej může synergicky působit s dalšími rostlinnými insekticidy, například na bázi azadirachtinu, nebo zvyšuje účinnost některých syntetických pesticidů, takže mohou být použity menší dávky. Při vývoji dalších formulací potenciálních přípravků jsme se zaměřili na možnost zvýšit účinnost využitím synergického účinku pongamového oleje s vybranými esenciálními oleji, u kterých byla známá jejich velmi dobrá insekticidní účinnost a jejichž použití je možné v ekologickém zemědělství. Esenciální oleje získané z rostlin *Thymus vulgaris* L. a *Foeniculum vulgare* Mill. vykazaly v předchozích testech velmi dobrou insekticidní účinnost a zároveň mají předpoklad zdravotní bezpečnosti, proto byly formulace dalších dvou přípravků připraveny s přidavkem těchto esenciálních olejů.

#### 1.6.8 Další možnosti využití

Listy z *P. pinnata* se používají také jako krmivo pro dobytek, při skladování zrn k odpuzování hmyzu a dále jako hnojivo pro rýži. Dále se listy používají jako projímadlo při zažívacích obtížích. Olej ze semen se používá jako hnojivo, je bohatý na bílkoviny a dusík [1], [22, s. 17].

Kůra stromu *P. pinnata* se používá pro výrobu buničiny. Květy rostliny jsou jedlé a jsou dobrým zdrojem pylu pro včely. Kmen se používá jako palivo, při výrobě stožárů a okrasných řezbářských prací, v truhlářství a pro výrobu zemědělského nářadí. Šťáva z kořenů s kokosovým mlékem a vápenou vodou se používá k léčbě kapavky. Dále se šťáva z kořene používá pro čištění dásní a zubů. Kořen je hořký a používá se při vaginálních a kožních onemocnění [1], [3, s. 494].

## 2 VLASTNOSTI A FUNKCE KŮŽE

Kůže je složena z těchto částí: *epidermis* (pokožka), *corium* (škára) a *tela subcutanea* (podkožní vazivově tuková tkáň). Směrem od koria k povrchu se *epidermis* skládá z těchto vrstev: *stratum basale*, *stratum spinosum*, *stratum granulosum*, *stratum lucidum*, *stratum corneum* (SC) [28], [29].

Buňky vnitřní vrstvy migrují směrem nahoru z bazální vrstvy zrnité až do dosažení vnější vrstvy SC. Prostřednictvím této migrace se buňky mění, ztratí svá jádra (vnitřní část obsahující DNA) a stávají se keratinizované. Tvoří vnější ochrannou vrstvu SC. Tato vnější vrstva má bariérovou funkci. Udržuje důležité látky, jako jsou buněčné tekutiny a krev v těle a napomáhá držet dostatek vody. Tvoří ochranu kůže před napadajícími mikroorganismy a toxiny, které by mohly poškodit vnitřní organismus, pokud by tyto látky prošly přes kůži. Nakonec jsou buňky vnější rohové vrstvy odloučeny v procesu deskvamace [30, s. 1 ].

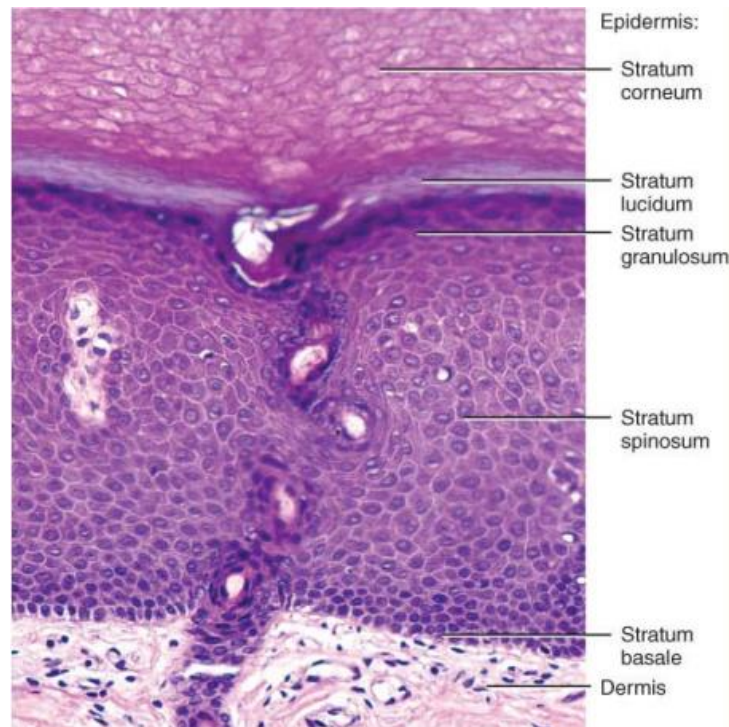
### 2.1 Funkce *stratum corneum*

Kůže člověka představuje obecně ochranný integument vytvářející předěl a kontakt mezi zevním prostředím a organismem. Svým epidermálním povrchem organismus od vlivů zevního prostředí (hlavně nepříznivých) „odděluje“ (chrání).

Tuto významnou biologicky ochrannou funkci zastávají povrchové vrstvy *epidermis*, především SC [31].

Epidermální bariéra SC zabraňuje úniku vlhkosti a vstupu infekčních nebo toxických látek do vnitřního prostředí organismu [32, s. 1150].

*Stratum corneum* neboli vrstva rohová, jak ukazuje Obr. 7, je složena z několika vrstev bezjaderných zcela oploštělých keratinizovaných buněk, které se na povrchu stále odlučují. Je nejsilnější na chodidlech a dlaních. Keratin je hydrofobní a velmi odolný proti mechanickým, fyzikálním a chemickým vlivům [31].



Obr. 7. Epidermis [33, s. 4]

## 2.2 Hydratace

Lidská kůže vyžaduje každodenní pozornost a péči. Její celkový vzhled a stav plní důležitou roli, pokud jde o fyzické i duševní zdraví. Její dobrý stav závisí zejména na její čistotě a optimální hydrataci. V současné době se pro její udržování v dobrém stavu užívá kosmetika, která má hydratační účinky, jde zejména o přípravky, které zvyšují obsah vody ve SC, kterou tvoří zrohovatělé udumřelé buňky, jimiž se kůže zbavuje suchého a šupinatého vzhledu, nežádoucího z kosmetického i dermatologického hlediska. Nejvíce žádoucí jsou přípravky, které poskytují změkčující účinek emolientů, humektantů vázajících vodu a okluziv, které nanášením na kůži zpomalují vypařování vody. Všechny tyto přípravky působí proti ztrátě vlhkosti z kůže, kůže je díky nim měkká, hebká a hladká. Hydratace zdravé kůže závisí zejména na stavu SC, tvorbě a kvalitě jejího povrchového lipidního filmu. U nemocné kůže se projevuje snížená bariérová funkce a změna ve složení lipidů a jejich organizaci. Kůže optimálně hydratovaná, jejíž rohová vrstva je souvislá a ohebná obsahuje 7 až 10 % vody [34], [35, s. 2080].

Vrstva SC (korneocyty) chrání před vysušováním tím, že reguluje tok vody a retenci. Udržování optimálního stupně hydratace je závislé na několika okolnostech. Za prvé, intercelulární lamelové lipidy poskytují účinnou bariéru pro průchod vody přes tkáň. Za druhé,

délka cesty difúze rovněž zpomaluje ztrátu vody, protože voda musí procházet klikatou dráhou vytvořenou vrstvami SC. Třetí úlohu hraje přirozený hydratační faktor (Natural Moisturizing Factor – NMF), komplexní směs látek s nízkou molekulovou hmotností, ve vodě rozpustných sloučenin [36, s. 3].

### 2.2.1 Přirozený hydratační faktor

Přirozený hydratační faktor se podílí na udržení optimálního obsahu vody v rohové vrstvě. Jedná se především o lipidy mezibuněčné hmoty a kožního ochranného pláště a hygroskopické látky, které se nachází hlavně uvnitř korneocytů. Přirozený hydratační faktor je tvořen látkami, jako jsou aminokyseliny, pyrrolidonkarboxylová, kyselina, močovina, močová kyselina, glukosamin, kreatinin, fosfáty, laktáty, chloridy, citráty, cukry, peptidy a další. Koncentrace těchto látek činí 10 % suché hmotnosti rohové vrstvy. Optimální hydratace rohové vrstvy lze dosáhnout aplikací hydratačních kosmetických přípravků s obsahem pomocných látek ze skupiny humektantů, emolientů, popř. okluziv [34].

Běžně pokožka obsahuje 15–30 % vody v horních vrstvách SC. U suché pokožky činí obsah vody <10 % [33, s. 9].

Voda a NMF představují biofyzikální účel, kdy se uplatňuje plasticita, nedochází k praskání a odlupování pokožky při mechanickém namáhání. Další účel vody a NMF je biochemický, je usnadněna degradace korneodesmosomů deskvamací odumřelých kožních buněk. Při nízké koncentraci vody mají korneocyty tendenci ztrácet svůj objem a velikost. Mezi hlavní faktory, které snižují produkci NMF, patří stárnutí, oplachování při běžné hygieně, působení ultrafialového (UV) záření a nízká vlhkost vzduchu [33, s. 11,12].

#### Urea jako součást NMF

Funkční schopnost kožního povrchu a jeho bariérová funkce je primárně závislá na obsahu vody a na hydrataci povrchových epidermálních struktur. Jednou z nejvýznamnějších součástí zmíněných NMF je urea. Urea je látkou s významným uplatněním v trvalé fyziologické hydrataci kůže člověka. Lze ji využít v léčbě a úpravě řady chorobných projevů postihujících kůži. Obsah urey v *epidermis* odpovídá asi 1 % váhového množství odtučněné sušiny tkáně *epidermis*. Její koncentrace v séru je 0,03 % a v potu 0,4 %. Podle literárních údajů [37] obsahuje 100 g sušiny tkáně 1,5 g event. 1,42 g urey. V mezibuněčných prostorech bariérové – spodní rohové vrstvy se podílí v komplexu s kyselinou alfa-pyrro-

lidinkarbonovou a kyselinou mléčnou, jako tzv. moisturizér – na trvalejší vazbě vody. Při rozsáhlejším odpařování potu se zvyšuje koncentrace urey na kožním povrchu, kde se kromě účinků hydratačních podílí též na úrovni pH kožního povrchu [37, s. 28–29].

### 2.2.2 Humektanty

Humektanty jsou látky používané v kosmetických přípravcích ke zvýšení obsahu vody v horních vrstvách kůže, především v rohové vrstvě, a doplnění látek NMF, které se průběžně odstraňují z kožního povrchu např. mytím.

Používají se především organické sloučeniny ze skupiny polyolů, a to glycerol, propylen-glykol a sorbitol. Dále jsou to látky NMF, jako je např. močovina a kyselina mléčná. Z polysacharidů je to kyselina hyaluronová, její sodná sůl a chitosan.

Mezi další hydratační látky působící v kosmetických přípravcích patří např. allantoin, kyselina arachidonová, kyselina askorbová, kolagen, želatina, glukóza, hydrolyzovaný keratin, mléčné proteiny, medový extrakt, minerální soli a mořská sůl [34].

### 2.2.3 Emolienty

Emolienty jsou látky používané v kosmetice pro svoji schopnost dodat kůži měkký, hladký, hebký vzhled. Jedná se o hydrofobní látky, které po aplikaci pokrývají kožní povrch a doplňují tak úbytek kožního lipidního filmu. Kůži změkčují, zvláčňují a též hydratují, neboť obnovením lipidního filmu se omezí pasivní transepidermální ztráta vody (Transepidermal Water Loss – TEWL), čímž se zlepší hydratace rohové vrstvy a celkový vzhled pleti. Mezi emolienty patří vazelína, tekutý a tuhý parafin, dále rostlinné oleje, tuky a vosky, tuk z ovčí vlny (lanolin) [34].

### 2.2.4 Okluziva

Okluziva jsou další skupinou látek používanou v kosmetických přípravcích ke zvýšení obsahu vody v rohové vrstvě, které nanesené na kůži zpomalují vypařování vody [34].



## 2.3 pH kůže

Hodnota pH je definována jako záporný logaritmus koncentrace volných vodíkových iontů ve zředěném vodném roztoku. V současné době se k měření pH pokožky používají ploché skleněné elektrody [38].

Přirozený lidský povrch kůže má pH v průměru nižší než 5. Lidská kůže bez jakéhokoliv kontaktu s vodou anebo kosmetickým produktem má hodnotu pH ~ 4,7. Kyselé pH na vrstvě SC je důležité pro optimální stav kůže. Nezdravá kůže, zvláště kožní poruchy, jako jsou různé dermatitidy, jsou obvykle spojovány s vyšším pH [39].

Kyselost kožního pláště je ovlivněna velkým množstvím endogenních faktorů, mezi které patří např. vlhkost pokožky, pot, maz, genetická predispozice a věk. Významnou roli hrají též exogenní faktory, jako jsou detergenty, aplikace kosmetických výrobků na kůži, okluzivní obvazy i užívání antibiotik mohou ovlivnit pH pokožky. Ke změnám pH, dochází při onemocnění, jako je dráždivá kontaktní dermatitida, atopická dermatitida, ichthyóza, *acné vulgaris* atd. [38].

## 2.4 Transepidermální ztráta vody

Transepidermální ztráta vody je definována jako tok kondenzované vody difundujícího přes kůži. Jde o měření množství vody, které prochází skrze epidermální vrstvy kůže do okolní atmosféry pomocí difuze a odpařovacích procesů. Hlavním cílem měření TEWL je charakterizovat bariérové vlastnosti kůže, která spočívá v jeho nejzevnější vrstvě SC. Bariéra je nezbytná k životu proto, že nás chrání před dehydratací a od perkutánní absorpce xenobiotik. U stabilních podmínek tento difuzní proces může být dostatečně popsán pomocí vztahu (1) neboli Fickova zákona [40, s. 5–6].

$$J = -D \frac{dc}{dz} \quad (1)$$

Kde:

J – hustota toku [ $\text{kg m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ],

– D – difuzní koeficient [ $\text{m}^2 \text{s}^{-1}$ ],

c – koncentrace [ $\text{kg m}^{-3}$ ],

z – vzdálenost kolmo k povrchu kůže [m].

Protože bariéra SC není dokonalá, část vody může z hlubších vrstev pronikat na povrch. Část vody se rozptýlí na povrchu SC v závislosti na klimatických podmínkách, část pak zůstává v *epidermis* a stává se součástí NMF [41].

Transepidermální ztráta vody souvisí s bariérovou funkcí SC, která do značné míry závisí na neporušenosti lipidové dvojvrstvy, která je obklopena korneocyty. V případě kdy je bariérová funkce narušená, voda může z pokožky lehce uniknout a dochází ke zvýšení TEWL. Naopak, čím je bariérová funkce kůže dokonalejší, tím nižší jsou hodnoty TEWL. Měření TEWL je nejdůležitějším parametrem pro vyhodnocení účinnosti kožní bariéry, a to proto, že i nejmenší poškození kožní bariéry lze určit již v rané fázi, kdy změny ještě nejsou viditelné. Za běžných podmínek má kůže normální ztráty vody pouze v malých množstvích, zatímco v případě atopické pokožky je ztráta vody o mnoho vyšší [41], [42].

Ztráta transepidermální vody informuje o propustnosti kožní bariéry pro odpařování vody a také pro látky, které se mohou penetrací dostat do kůže zvenčí. Suchá kůže vykazuje nízkou hydrataci pokožky a vysokou odpařovací intenzitu. Ztrátu vody lze okamžitě měřit na kůži použitím tewametru. Nevýhodou měření je, že může být ovlivněno faktory jako okolní teplota a vlhkost, proto je měření těžko proveditelné při vysokých letních teplotách [43, s. 1], [44, s. 1].

### 3 ULTRAFIALOVÉ ZÁŘENÍ

Kůže je vnější a největší orgán těla. Když je kůže vystavena dlouho UV záření, indukuje oxidační stres, který vyvolává různé biologické reakce od spálení, zarudnutí, otok, nebo dokonce rakovinu kůže. V posledních letech výskyt poruch a chorob v souvislosti s vystavením kůže UV záření neustále roste [45, s. 1554], [46, s. 1].

Intenzita UV záření je ovlivňována ozónovou vrstvou atmosféry, ročním obdobím, nadmořskou výškou, vzdáleností od rovníku, denní dobou, intenzitou oblačnosti, intenzitou znečištění ovzduší, okolními povrchy – sníh a písek odrážejí až 85 % UV záření, do hloubky 1 m vodního sloupce proniká téměř 80 % UV záření [47, s. 204].

#### 3.1.1 Typy ultrafialového záření

Hlavní exogenní zdroj UV záření je sluneční světlo skládající se z různých vlnových délek v rozsahu od UV světla přes viditelné světlo až po světlo infračervené. Ultrafialové světlo vykazuje nejvíce škodlivé účinky na kůži. Ultrafialové záření ze Slunce se dělí do tří kategorií dle vlnové délky na dlouhé vlny UVA (320–400 nm), střední vlny UVB (280–320 nm) a krátké vlny UVC (200–280 nm). Kromě negativních účinků na kůži se UV záření podílí také na syntéze vitamínu D, usmrcuje patogeny a léčí poruchu, jako je lupénka. [46, s. 2], [48, s. 134].

Expozice UVA záření zasahuje hlubší vrstvy *epidermis* a *dermis* a má za důsledek předčasné stárnutí. UVA paprsky jsou méně aktivní a méně erytemogenní než UVB paprsky, ale jelikož pronikají kůží hlouběji než UVB paprsky, jsou schopné způsobit hlubší poškození kožní tkáně. UVB záření s vlnovou délkou 320–280 nm vede k akutnímu zánětu (spálení sluncem). UVB záření není zcela odfiltrováno ozónovou vrstvou a je zodpovědné za poškození pokožky v důsledku úžehu. Existuje i záření UVC, s vlnovou délkou nižší než 280 nm, které je prokazatelně zhoubné (karcinogenní) pro živé organismy, ale díky tomu, že je filtrováno atmosférou před dosažením země, nemá na živé organismy vliv. Poškození kůže stoupá exponenciálně s klesající vlnovou délkou. UV světlo při 280 nm je 1000krát škodlivější než světlo při 340 nm, proto je důležitá schopnost opalovacího krému blokovat UVB, aby se zabránilo negativnímu účinku slunečního záření [45, s. 1555, 1563], [49, s. 199].

### 3.1.2 Fotoprotekce

Hlavním cílem fotoprotekce je ochrana kůže před poškozením UV zářením. Používání opalovacích krémů s UV filtry, nošení ochranných oděvů, vyhledávání stínu a ochranné brýle patří mezi základní metody fotoprotekce. Podmínkou účinnosti opalovacích krémů je výběr správného ochranného faktoru SPF [47, s. 204].

### 3.1.3 Sluneční ochranný faktor

Účinnost proti slunečnímu záření se obvykle vyjadřuje slunečním ochranným faktorem (SPF – Sun Protection Factor), udávající stupeň ochrany před slunečním zářením a je definován jako UV energie potřebná pro výrobu minimální erytérové dávky (MED) na chráněné kůži, děleno UV energií potřebnou pro výrobu minimální erytérové dávky na nechráněné kůži. Minimální erytérová dávka je definována jako nejnižší časový interval světelného záření dostatečného k vytvoření erytému na nechráněné kůži [45, s. 1555].

Sluneční ochranný faktor tedy udává, kolikrát déle můžeme být exponováni slunečnímu záření, aniž by došlo ke spálení či zarudnutí pokožky. Pokud je  $SPF = 10$ , můžeme strávit na slunci 100 minut po použití tohoto krému (bez něj pouze 10 minut). Číslo je ale pouze orientační. Je nutné brát v úvahu také typ pokožky uživatele, aplikované množství a opakovanou aplikaci krému, činnost, kterou uživatel během expozice slunci provozoval, množství krému, které je absorbováno pokožkou [50, s. 17].

Úroveň ochrany slunečního ochranného faktoru popisuje Tab. 5.

Tab. 5. Úroveň ochrany SPF [47, s. 204].

SPF	Úroveň ochrany
6, 10	nízká
15, 20, 25	střední
30, 50	vysoká
50 +	velmi vysoká

### 3.1.4 Kožní fototypy

Reakce na oslunění není u každého člověka zcela stejná. Lidská kůže vykazuje určité rasové odchylky, které se projevují zejména odlišnou barvou. Tendence kůže ke zrudnutí a schopnost ztmavnout dovoluje rozdělit lidi všech barev do tzv. kožních fototypů, jak ukazuje Tab. 6, existuje jich celkem šest, pro hodnocení bílé kůže se uplatňují první čtyři.

Tab. 6. Kožní fototypy [51, s. 135]

Fototyp	Reakce kůže
I	vždy zrudne, nepigmentuje
II	zrudne, pigmentuje mírně
III	zrudne zřídka, pigmentuje
IV	nerudne, pigmentuje dobře
V	tmavší kůže
VI	černoši

### 3.1.5 Dostupné kosmetické přípravky na ochranu před ultrafialovým zářením

Sunscreeny jsou látky, které ochraňují lidskou kůži před UV poškozením. Tyto přípravky jsou dodávány v podobě roztoků, gelů, krémů, popř. rtěnek [51, s. 135].

Nejběžnější používanou ochranou proti UV záření jsou krémy, ve kterých se užívají fyzikální a chemické UV filtry. Opalovací krémy nejen chrání proti rakovině kůže, ale také zabraňují rozvoji dalších nepříjemných změn jako je předčasné stárnutí, tvorba vrásek, vznik nežádoucích pigmentací a ztráta kolagenu [52, s. 3], [53, s. 3].

Fyzikální opalovací krémy obsahují částice, které odrážejí fotony od pokožky. Obsahují 10 až 100 nm inertní částice, jako je například oxid zinečnatý, nebo oxid titaničitý a chrání proti UVA i UVB záření. Jejich předností je, že jsou chemicky inertní a tudíž nezpůsobují alergické senzibilizace. Nevýhodou je, že jdou vidět na pokožce, a proto jsou pro některé uživatele kosmeticky nežádoucí. Chemické UV blokátory používané v opalovacích krémech mohou vyvolat v některých případech nežádoucí účinky. Mezi chemické UV blokátory používané v opalovacích krémech patří např. kyselina aminobenzoová a její estery, cinnamáty a oxybenzon. Tyto látky mohou u citlivých jedinců způsobit kontaktní dermati-

tidu a fotosenzitivní reakce. Proto získávají pozornost v posledních letech fotoprotektivní látky z přírodních zdrojů. Použití aktivního fotoprotektivního vlivu z přírodních sloučenin se ukazuje jako velmi prospěšné v boji proti škodlivým účinkům UV záření. Výhodou je, že jde o látky přirozeně produkované rostlinami. Důležitou skupinou přírodních sloučenin působících jako UV blokátory jsou fenolové kyseliny, flavonoidy a polyfenoly s vysokou molekulovou hmotností. Tyto látky nacházejí uplatnění jako antioxidanty, stejně tak jako dobré UV filtry [45, s. 1555], [46, s. 7].

### 3.1.6 Využití aktivní složky *Pongamia pinnata* v přípravcích proti slunění

Bylinné formulace na ochranu proti slunečnímu záření jsou důležitou kategorií přípravků vyvíjených v kosmetickém průmyslu. Tyto formulace mohou být bezpečnější a vhodnější pro hyperalergenní kůži především díky nižším dráždivým účinkům [45], [54].

V poslední době publikované studie [55] prokázaly prospěšné účinky antioxidačních látek rostlinného původu, zejména karotenoidů a flavonoidů, v opalovacích krémech, protože chrání před poškozením sluncem. Sloučeniny s aromatickými kruhy, mezi které patří i *P. pinnata* mohou absorbovat UV paprsky, zejména UVA a UVB v rozmezí vlnových délek 200–400 nm [42]. Z tohoto důvodu, fenolické sloučeniny, jako jsou flavonoidy, mohou být použity jako sluneční filtry [55, s. 7].

Extrakt z *P. pinnata* vykazuje dobrou účinnost při ochraně organismu během slunění. Ve studii [45] byl použit opalovací krém s obsahem 5 % a 10 % aktivní složky, která byla tvořena extraktem z *P. pinnata* a extraktem z kůry z *Punica granatum* (granátové jablko) v poměru 3:2. Účinnost krému s těmito extrakty byla stanovena pomocí absorpční spektroskopie a metody COLIPA, což je standardní metoda pro stanovení ochranného slunečního faktoru. Studie ukázala zvýšení aktivity ochrany proti slunečnímu záření s nárůstem procentuálního podílu aktivní složky a zároveň také její dobrou účinnost jak v oblasti UVA, tak i UVB záření.

Granátové jablko vykazuje antioxidační aktivitu, která pomáhá snížit škodlivé účinky UV záření a inhibuje růst kožních nádorů, pomáhá při hojení spáleniny od slunce, a je známo, že může zvrátit poškození sluncem.

Kombinace těchto dvou rostlinných extraktů ve formulaci může být účinnější, než syntetické přípravky na ochrany proti slunečnímu záření a mohou zvýšit komerční využití *P.*

*pinnata*. Bylo také zjištěno, že methanolový extrakt z *P. pinnata* má 88,5% UV absorbující účinek. Jde o extrakt bohatý na fenolické látky jako je bioflavonoid karanjin a pongamol, které mají vynikající antioxidační vlastnosti. Dalším argumentem pro použití takové formulace je její přírodní původ a bezpečnost, má méně vedlejších účinků ve srovnání se syntetickými kosmetickými přípravky, které jsou k dostání na trhu. Mezi další příznivé účinky patří také antimikrobiální, protinádorové a antioxidační vlastnosti [45].

## 4 CÍLE PRÁCE

Cílem teoretické části diplomové práce bylo vypracování literární studie zabývající se představením a charakterizací rostliny *P. pinnata* z botanického hlediska, uvedením jejího ekonomického a biologického potenciálu využitelného v oblasti kosmetiky a také v dalších oblastech.

Cílem praktické části bude *in vitro* stanovení účinnosti testovaných přípravků vyvinutých v Nobilis Tilia proti účinkům slunečního záření. Dále bude provedena realizace *in vivo* hodnocení účinnosti aktivních látek této rostliny použitých do kosmetických formulací na pokožku pomocí neinvazivních metod, které bude doplněno senzoricou analýzou.



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 METODIKA PRÁCE

První část se zabývá *in vitro* stanovením SPF a UVA-PF vyvinutých topických formulací. Druhá část je věnována hodnocení *in vivo* účinnosti aktivních látek *P. pinnata* obsažených v těchto formulacích. Poslední část je věnována provedení sensorické analýzy těchto přípravků.

### 5.1 Testované kosmetické formulace

Kosmetické formulace byly vyvinuty ve firmě Nobilis Tilia (Česká republika). Byly připraveny ve formě emulzí v/o na zcela přírodním základě. Primárně byla namíchána základní emulze, do které byly vhomogenizovány UV filtry – oxid zinečnatý a karanjový olej v různém poměru. Bližší specifikace je uvedena v Tab. 7–8.

Tab. 7. Použité UV filtry a jejich množství ve formulacích

Označení formulace	V1223	V1218	V1220	V1219	V1221	V1222
Odhad SPF faktoru	základ	5	6	10	14	16
UV filtr	Obsah [%]					
oxid zinečnatý	–	–	2	2	4	4
karanjový olej	–	2	–	2	2	3

Tab. 8. Ingredience použité v testovaných formulacích dle International nomenclature of cosmetic ingredients (INCI) a jejich funkce.

Ingredience	Funkce
Olejová fáze	
Caprylic/Capric Triglycerides	Tuková složka
Polyglyceryl-4 Diisostearate/ Polyhydroxystearate/ Sebacate	Emulgátor
Zinc Oxide	UV filtr
Pongamia Glabra Seed Oil	UV filtr
Cera alba	Zahušťovadlo
Magnesium Stearate	Zahušťovadlo/ Stabilizátor
Hydrogenated Castor Oil	Zahušťovadlo
Tocopherol Acetate	Antioxidant
Vodná fáze	
Aqua	Rozpouštědlo
Magnesium Sulphate	Stabilizátor
SHARON BIOMIX FREE I (Phenethyl Alcohol, Glycerin, Citrus, Reticulata Fruit Extract, Citrus Aurantium Amara Fruit Extract, Citrus Sinensis Peel Extract, Ascorbic Acid, Citric Acid, Lactic Acid, Aqua)	Konzervant

## 5.2 Použité chemikálie a pomůcky

Pro stanovení fotostability testovaných formulací byly použity tyto chemikálie a pomůcky: buničina, fixy, kádinka o objemu 50 ml, injekční stříkačky Tuberkulin 0,01–1 ml (BRAUN, Německo), injekční jehly na jedno použití Sterican 0,9 x 25 mm (BRAUN, Německo), glycerol p. a. (PENTA, Česká republika), PMMA desky SB6 (HELIOSCREEN LABS, Francie), analytické váhy KERN (OHAUS, Švýcarsko).

Pro uskutečnění experimentální části – stanovení biofyzikálních vlastností testovaných přípravků byly použity tyto chemikálie a pomůcky: destilovaná voda, chlorid sodný (Penta, Chrudim, ČR), dodecylsulfát sodný čistota 95 %, (Sigma-Aldrich s.r.o.), laboratorní váhy (OUHAUS, Švýcarsko), odměrná kádinka (objem 250 ml), skleněná odměrná baňka (objem 250 ml), laboratorní lžička, filtrační papír, pinzeta, odměrné kádinky (objem 100 ml), Petriho miska, nůžky, 2ml injekční stříkačky (Chirana, Slovensko), náplast (Omnifix, Hartmann-RICO a.s.), lednice, exsikátor, plastové tyčinky, buničina (Pur-Zellin, Hartmann), lihové fixy, váženka, skleněná tyčinka, pufrovací roztoky.

Pro provedení senzorické analýzy byly připraveny tyto pomůcky: plastové kelímky s víčky, fixy, papírové ubrousky, injekční stříkačky, tyčinky a sklíčka.

## 5.3 Přístrojové vybavení

Přístrojové vybavení pro jednotlivé části experimentu bude popsáno v níže uvedených subkapitolách (5.3.1–5.3.6).

### 5.3.1 Spektrofotometr UV-VIS Cary 100

Spektrofotometr UV-VIS Cary Obr. 8 americké firmy Agilent Technologies, který byl použit pro měření transmitance, dokáže měřit v rozmezí vlnových délek 180–900 nm. Jako světelný zdroj slouží halogenová žárovka a deuterium umožňující spojitě spektrum záření. Při rozkladu světla, spektrum, které prochází vzorkem, dopadá na senzor. Energie ze senzoru je převedena do číselné podoby, která je vyhodnocena speciálním softwarem Cary WinUV.



Obr. 8. Spektrofotometr UV-VIS Cary 100 [vlastní zdroj]

### 5.3.2 Solární simulátor Atlas SUNTEST CPS +

Jako zdroj slunečního záření byl použit solární simulátor SUNTEST CPS + (viz Obr. 9) od americké firmy Atlas. Přístroj obsahuje ve spodní části zařízení SunTray, umožňující vyměnit nebo odebrat vzorky ze zkušební komory bez toho, aby bylo zastaveno testování. Díky tomu je zamezeno nebezpečné vystavování se světelnému záření z xenonové výbojky. Další bezpečnost zajišťuje také křemenný a skleněný filtr, díky kterému je chráněna UV výbojka.

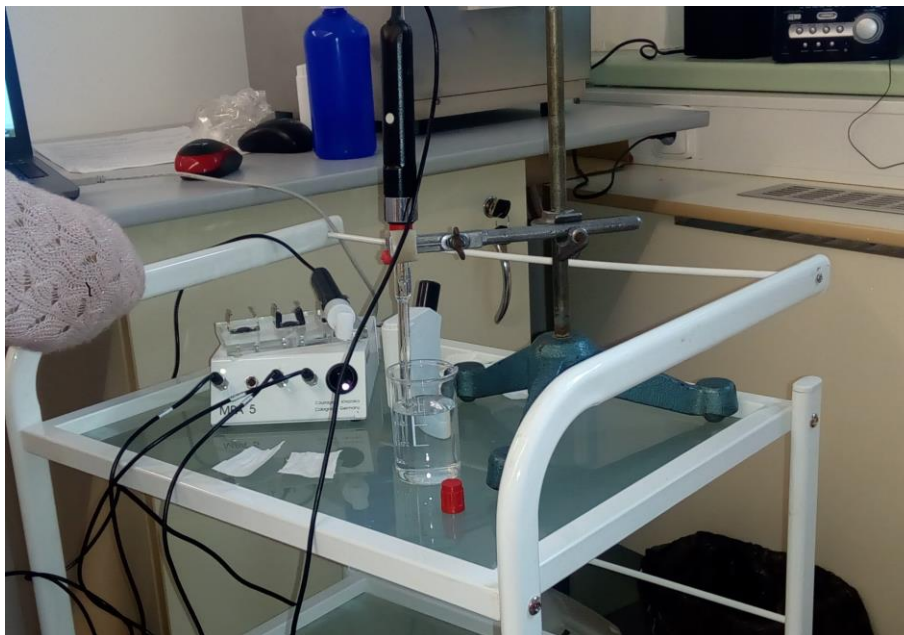


Obr. 9. Solární simulátor SUNTEST CPS + [vlastní zdroj]

### 5.3.3 Stanice MPA

Pro *in vivo* ověření biofyzikálních vlastností testovaných kosmetických přípravků byla použita MPA stanice (Courage & Khazaka, Německo) se sondami (Obr. 10):

- korneometr CM 825 – Courage & Khazaka electronic GmbH, Německo,
- tewametr TM 300 – Courage & Khazaka electronic GmbH, Německo,
- skin-pH-Meter 905 – Courage & Khazaka electronic GmbH, Německo,
- vlhkoměr a teploměr – Greisinger elektronik electronic GmbH, Německo,
- počítač se softwarem – Courage & Khazaka electronic GmbH, Německo.



*Obr. 10. Měřicí stanice MPA [vlastní zdroj]*

### 5.3.4 Korneometr CM 825

K měření hydratace pokožky byl použit korneometr. Jedná se o sondu propojenou s MPA stanicí, na jejímž konci je plocha, která se přikládá na měřenou oblast. Hodnoty, které sonda naměří, se ihned zobrazují na monitoru počítače. Na každém měřeném místě včetně odmaštění a kontroly se sonda přikládá pětkrát. Jakmile jsou na měřená místa nanесeny vzorky kosmetických přípravků, je nutno sondu uchovávat v čistotě ošetřením buničinou, tak aby na sondě nezůstávaly zbytky vzorku. Stupnici korneometru uvádí Tab. 9.

Tab. 9. Stupnice korneometru [56]

Kožní typ	Extrémně suchý	Suchý	Normální
Hydratace [c. j.]	<30	30–45	>45

### 5.3.5 Tewametr TM 300

Pro zjištění TEWL byl použit tewametr. Princip měření spočívá v otevřené komůrce nacházející se na konci sondy. V otevřené komůrce se nachází senzory pro měření vlhkosti. Stejně jako korneometr i tewametr je propojen s MPA stanicí. Hodnoty, které tato sonda naměří, jsou rovněž zobrazovány na monitoru počítače. Jakmile je tewametr přiložen na kůži, je pomocí tlačítka iniciováno měření. Na každém místě bylo naměřeno patnáct hodnot. V Tab. 10 je uvedena stupnice tewametru.

Tab. 10. Stupnice tewametru [57]

Stav kůže	Velmi dobrý	Dobrý	Normální	Napjatý	Kritický
TEWL [g/h.m <sup>2</sup> ]	0–10	10–15	15–25	25–30	>30

### 5.3.6 pH metr 905

Pro stanovení pH pokožky byl použit pH metr. Před měřením byl pH metr kalibrován pufrovacími roztoky. Během měření je elektroda ponořena do kádinky s destilovanou vodou. Po měření je sonda uchovávána v roztoku KCl, aby nedocházelo k jejímu vyschnutí. Měření probíhá tak, že je sonda přikládána k měřené pokožce. Na každém měřeném místě se jednoduše stiskne tlačítko na straně sondy. Naměřené hodnoty lze ihned vidět na monitoru počítače. Přístroj měří hodnoty pH v rozmezí 0–12. Stupnici pH hodnot znázorňuje Tab. 11.

Tab. 11. Stupnice pH hodnot [58]

Žena	Kyselé				Neutrální				Zásadité				
pH	3,5	3,8	4,0	4,3	4,5	5,0	5,3	5,5	5,7	5,9	6,2	6,5	nad 6,5
Muž	Kyselé				Neutrální				Zásadité				

## 5.4 Organizace měření – stanovení fotostability testovaných přípravků

Testování kosmetických přípravků určených k ochraně před slunečním zářením bylo provedeno podle normy z roku 2012 Stanovení ochranného slunečního faktoru UVA in vitro [59]. Tento postup je založen na měření transmitance UV paprsků procházejících přes tenkou vrstvu vzorku na straně zdrsňeného substrátu SB6.

### 5.4.1 Měření vzorků kosmetických přípravků proti slunění

Stěžejním bylo roztírání vzorku přípravku na SB6 desky. Kdyby došlo k nesprávnému roztření na SB6 deskách, byla by patrná viditelná místa v středové oblasti s nežádoucím větším množstvím vzorku. Během roztírání vzorku bylo nezbytné také otřít koncové hrany SB6 desek takovým způsobem, aby v nich nebyl zachycen nepotřebný vzorek přípravku, který by mohl ovlivnit jeho konečnou nanesenou hmotnost.

Důležité bylo i použití stejné přitlačné síly, kterou bylo nezbytné vtírat vzorek přípravku do zdrsňeného horního povrchu desky. Při nedodržení této metodiky měření by došlo k ovlivnění hodnot transmitance měřené pomocí spektrofotometru i koeficient rozptylu hodnot rovnoměrnosti nanesení (CV %) by mohl být nepoužitelný pro jeho vysokou hodnotu, SB6 deska se vzorkem by musela být připravena znova.

Aby k tomu nedocházelo, bylo nezbytné si nejdříve osvojit techniku nanášení přípravku na SB6 desku, a to do té doby, než byl rozptyl naměřených hodnot transmitance minimální. Až poté bylo přistoupeno k měření vzorků.



Pro stanovení SPF a UVA-PF testovaných kosmetických přípravků byly připraveny tři SB6 desky.

Na analytických vahách byl na popsané SB6 desky postupně v množství  $1,3 \text{ mg/cm}^2$  navážen vzorek kosmetického přípravku. Takto přichystané SB6 desky byly uloženy na 15 minut do tmy pro stabilizaci povrchového filmu. Po uplynutí této doby, byly vzorky na deskách proměřeny spektrofotometrem na dvanácti různých místech. Data, která byla naměřena, byla vyhodnocena pomocí speciálního softwaru Cary WinUV a poté byla převedena k dalšímu zpracování v programu Microsoft Excel – tzv. COLIPA sešit, který byl vytvořen na návrh normy ISO/WD 244443. Do první záložky s názvem  $\text{mAF}_0$  byly vloženy naměřené hodnoty a vypočítány hodnoty  $\text{SPF}_0$ ,  $\text{UVAPF}_0$ , kritická vlnová délka před ozáření ( $\lambda_{c0}$ ), rozptyl hodnot nanesení (koeficient CV %) a doba nutná k expozici vzorku solárním simulátorem o intenzitě  $63,9 \text{ W/m}^2$  vyzařující UVA a UBA záření. Poté byly SB6 desky vloženy do solárního simulátoru SUNTEST CPS + a ozářeny UV paprsky po stanovenou dobu ozařování. V solárním simulátoru byla teplota ozařování nastavena na  $40 \text{ }^\circ\text{C}$ . Jakmile uplynula doba ozařování, desky se ponechaly opět 15 minut ve tmě. Následně byla znova změřena na spektrofotometru jejich transmitance. Ve druhé výsledkové záložce COLIPA sešitu pojmenované  $\text{mAF}(D_x)$  byly vloženy hodnoty transmitance po ozáření a vypočteny hodnoty  $\text{SPF}(D_x)$ ,  $\text{UVAPF}(D_x)$  a kritická vlnová délka po ozáření ( $\lambda_{c(D_x)}$ ). V páté záložce COLIPA sešitu označené jako Results byla znázorněna grafická závislost absorbance před a po expozici na vlnové délce. Tyto absorpční křivky slouží především pro zobrazení fotostability použitého sunscreenu. Kalkulaci tvořila šestá záložka sešitu, kde se nacházela naměřená data transmitance, která byla korigována s hodnotami stanovenými metodou *in vivo* uvedenými v normě ISO/WD 244443 [59].

#### 5.4.2 Určení doby ozařování

Pro zjištění doby ozařování přípravků proti slunění, bylo třeba nejprve SB6 desky s nanesenými vzorky přípravků proměřit spektrofotometrem, tím byly zjištěny hodnoty transmitance. Poté byly zmíněné hodnoty přeneseny do výpočtového sešitu COLIPA, na jejichž základě byla určena doba jejich ozáření. Pomocí zařízení SUNTEST CPS +, byly pak jednotlivé SB6 desky se vzorky ozařovány po vypočtenou dobu.

## 5.5 Organizace měření – *in vivo* účinnost testovaných formulací

### 5.5.1 Soubor probandů

Experimentu se celkem zúčastnilo 19 žen ve věku od 23–48 let. Všem zúčastněným ženám byl předložen dotazník na vyplnění informací o aktuálním zdravotním stavu (Příloha I.). Následně všichni probandi podepsali informovaný souhlas (Příloha II.). Všechny dobrovolnice byly instruovány, aby během třídenního měření používaly na oblast volárního předloktí, na kterou byly aplikovány testované přípravky, pouze čistou vodu. Měření bylo prováděno celkem čtyřikrát, vždy ve třech po sobě jdoucích dnech jednou na čtyřčlenné a třikrát na pětičlenné skupině v teplotních a vlhkostních podmínkách laboratoře Fakulty technologické uvedených v Tab. 12.

Tab. 12. Termíny měření a klimatické podmínky v laboratoři

Měření	Datum	Relativní vlhkost [%]	Teplota [°C]
1.	1.–3. 3. 2016	33,5 ± 3,6	22,4 ± 1,4
2.	7.–9. 3. 2016	33,5 ± 1,7	22,8 ± 0,6
3.	8.–10. 3. 2016	33,2 ± 1,23	23,0 ± 0,9
4.	14.–16. 3. 2016	29,1 ± 2,2	22,9 ± 0,8

Na volární straně předloktí bylo ponecháno místo bez ošetření, které sloužilo jako kontrola. Toto místo plnilo úlohu srovnání s případně vzniklou iritační reakcí pokožky po aplikaci testovaných kosmetických přípravků. Další místa byla ošetřena 0,5% roztokem SDS, z nichž jedno zůstalo bez aplikace testovaných přípravků.

#### Příprava 0,5% roztoku SDS

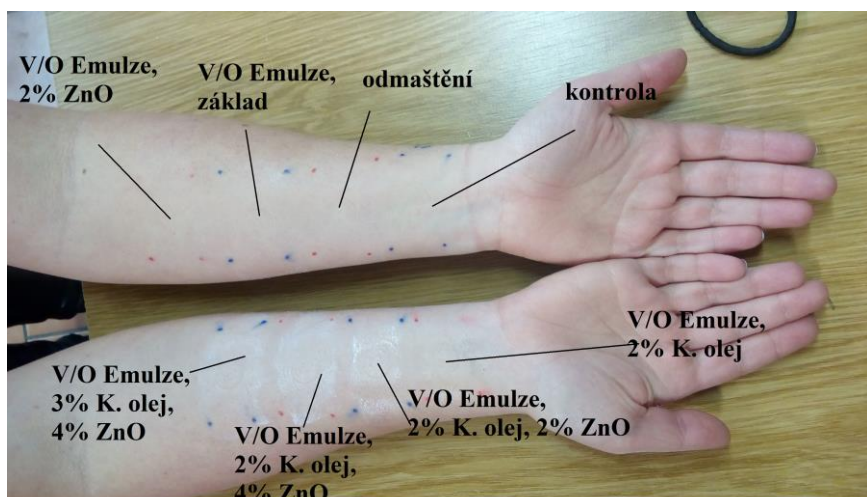
Pro tento roztok byl nejdříve připraven 0,85% fyziologický roztok NaCl. Na laboratorních vahách se odvážílo 2,125 g NaCl, které bylo rozpuštěno v destilované vodě a doplněno po rysku do 250 ml odměrné baňky.

Pro přípravu 250 ml 0,5% roztoku SDS bylo naváženo 1,25 g této látky. SDS bylo odváženo na laboratorních vahách a následně rozpuštěno v předem nachystaném roztoku NaCl.

Takto připravený 0,5% roztok SDS byl převeden do skleněné Petriho misky. Dále bylo nutné připravit proužky filtračního papíru, které byly nastříhány na obdélníky o rozměrech 4 x 2 cm. Připraveny byly také náplasti o velikosti 7 x 2 cm.

Do 0,5% roztoku SDS byly ponořeny proužky filtračního papíru, které byly přiloženy na levou a pravou ruku volárního předloktí. Na levé ruce byly ponechány pro srovnání dvě místa na kontrolu a odmaštění. Poté byly filtrační papíry zafixovány náplastí. Předúprava pokožky roztokem SDS trvala čtyři hodiny, během kterých byly připraveny injekční stříkačky s šesti testovanými vzorky. Injekční stříkačky byly popsány a ponechány v exsikatoru. Po čtyřech hodinách byly proužky filtračních papírů z obou rukou odstraněny a tato místa byla vyznačena lihovým fixem.

Před vlastním nanesením vzorků byla na všech označených místech změřena hydratace, TEWL a pH. Následovala aplikace 0,1 ml vzorků testovaných emulzí pomocí injekčních stříkaček, jak demonstruje Obr. 11. Vzorky emulzí byly rovnoměrně rozetřeny plastovými tyčinkami.



Obr. 11. Nanosení připravených formulací [vlastní zdroj]

Poté měření probíhalo v intervalu čtyř hodin, přičemž každou hodinu byl proměřen jeden proband sondou na hydrataci, TEWL i pH. Po čtyřech hodinách byli probandi propuštěni a měření pokračovalo následující dva dny po 24. a 48. hodinách.

## 5.6 Senzorická analýza emulzních formulací

### 5.6.1 Postup sensorické analýzy

Vzorky emulzních formulací krémů byly hodnoceny pořadovými preferenčními testy a párovými porovnávacími zkouškami (Příloha III.).

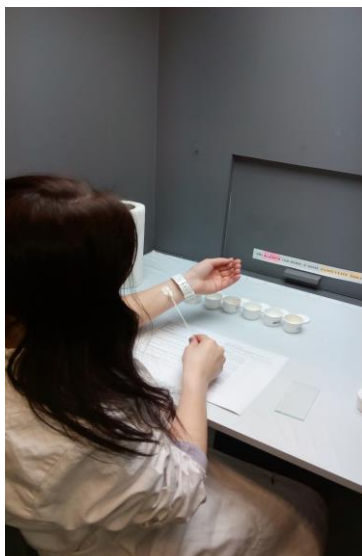
Senzorická analýza byla provedena v sensorické laboratoři dle podmínek, které podléhají ČSN ISO 6658 [60]. Hodnotící panel se skládal z 12 hodnotitelů na úrovni laický posuzovatel, přičemž všichni byli seznámeni se způsobem hodnocení přípravků. Hodnotitelům bylo předloženo 6 vzorků krémů, které byly zakódovány v plastových kelímcích s víčky. Pro zapsání odpovědí v rámci zvolených zkoušek, byl hodnotitelům předložen dotazník. Jednotlivé vzorky emulzních formulací byly pomocí injekčních stříkaček odebrány do malých plastových kelímků a zavřeny víčkem. Kelímky byly popsány kódy.

Vzorky přípravků s různým obsahem ZnO a karanjového oleje včetně formulace označené jako základ byly hodnoceny v charakteristikách barva, konzistence, roztíratelnost, vstřebatelnost, celková preference. Poté byly vzorky podrobeny párovým porovnávacím zkouškám na tyto znaky: textura, roztíratelnost, vstřebatelnost a kterému vzorku hodnotitel dává přednost.

Výsledky získané v rámci sensorické analýzy byly statisticky vyhodnoceny. Obr. 12 a 13 demonstruje předložené vzorky pro sensorickou analýzu a samotné posuzování vzorků.



Obr. 12. Předložené vzorky pro sensorickou analýzu



*Obr. 13. Posuzování vzorků*

## 5.7 Zpracování získaných dat

### 5.7.1 Matematické zpracování dat pro stanovení SPF a UVA-PF

Pro získání hodnot SPF a UVA-PF byly aplikovány výpočty uvedené v rovnicích (2) a (3). Uvedené rovnice byly součástí výpočtového sešitu COLIPA tzn., že hodnoty SPF a UVA-PF před a po expozici UV zářením byly automaticky vypočteny po vložení naměřených hodnot transmitance. Stejným způsobem byly získány hodnoty koeficientu CV % charakterizujícího rovnoměrnost naneseného vzorku, hodnoty kritické vlnové délky před a po ozáření i doby nutné k expozici solárního simulátoru.

$$UVAPF_0 = \frac{\int_{\lambda=320 \text{ nm}}^{\lambda=400 \text{ nm}} P(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot d\lambda}{\int_{\lambda=320 \text{ nm}}^{\lambda=400 \text{ nm}} P(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot 10^{-A_o(\lambda)} \cdot c \cdot d\lambda} \quad (2)$$

Kde:

$P(\lambda)$  – účinky spektrálního pásma zdroje pro vznik trvalé pigmentace,

$I(\lambda)$  – spektrální záření ze solárního simulátoru,

$A_o(\lambda)$  – absorbance ve vrstvě vzorku před UV expozicí,

$d\lambda$  – vlnová délka po kroku 1 nm.

$$SPF = \frac{\int_{\lambda=320 \text{ nm}}^{\lambda=400 \text{ nm}} E(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot d\lambda}{\int_{\lambda=320 \text{ nm}}^{\lambda=400 \text{ nm}} E(\lambda) \cdot I(\lambda) \cdot 10^{-A_o(\lambda)} \cdot c \cdot d\lambda} \quad (3)$$

Kde:

$E(\lambda)$  – erytérové spektrum při každé vlnové délce,

$I(\lambda)$  – spektrální záření ze solárního simulátoru,

$A_o(\lambda)$  – absorbance ve vrstvě vzorku před UV expozicí,

$d\lambda$  – vlnová délka po kroku 1 nm.

### 5.7.2 Zpracování dat pro biocharakterizaci pokožky

V rámci realizace *in vivo* hodnocení hydratačního účinku, bariérové účinnosti a vyhodnocení pH kosmetických přípravků byla získaná data zpracována v programu Microsoft Office Excel. Pro zpracování naměřených dat byl použit aritmetický průměr (rovnice 4) a směrodatná odchylka (rovnice 5).

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (4)$$

Kde:

$\bar{x}$  – aritmetický průměr,

n – počet měření,

$x_i$  – hodnota měření.

$$s_x = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} = \sqrt{s_x^2} \quad (5)$$

Kde:

$s_x$  – směrodatná odchylka,

$x_i$  – počet měření,

n – počet měření,

$\bar{x}$  – aritmetický průměr.

Pro vyhodnocení hydratace bylo naměřeno 5 hodnot, kdy nejnižší a nejvyšší hodnota byla opomenuta. Aritmetický průměr pro hydrataci byl tedy vypočítán ze tří naměřených hodnot. V případě vyhodnocení TEWL bylo naměřeno patnáct hodnot, přičemž prvních pět hodnot bylo zanedbáno z důvodu času potřebného na vyrovnání teploty sondy s teplotou měřené pokožky. Aritmetický průměr byl vypočítán z následujících deseti hodnot. Jakmile byly získány průměry pro všechny probandy, byly vypočítány i směrodatné odchylky. Z naměřených hodnot pH byly rovněž vypočítány aritmetické průměry a směrodatné odchylky. Z aritmetických průměrů a odchylek byly sestrojeny grafy (Obr. 19–21).

### 5.7.3 Zpracování dat pro senzorickou analýzu

Zpracovány byly i výsledky ze senzorického posuzování emulzních formulací. Pořadové testy byly hodnoceny na hladině  $\alpha = 0,05$ . Pro získání výsledků byl použit Friedmanův test na 95% hladině významnosti. Dále bylo postupováno podle Neményiho metody. U párových porovnávacích zkoušek byla zvolena rovněž 95% hladina spolehlivosti, výsledky byly vyhodnoceny pomocí Fisherovy statistiky.



## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

V této kapitole budou zpracovány a komentovány výsledky *in vitro* účinnosti u topických přípravků proti slunění. Následovat bude vyhodnocení hydratačního účinku, bariérových vlastností a kyselosti kožního pláště po aplikaci přípravků na pokožku. Na závěr budou prezentovány výsledky senzorické analýzy kosmetických přípravků s obsahem *karanja oleje*.

### 6.1 Vyhodnocení fotostability testovaných přípravků

U přípravků proti slunění s deklarovaným SPF 5, 6, 10, 14, 16 byly proměřeny 3 vzorky. Základ neobsahoval žádný účinný UV filtr.

Pro stanovení fotostability testovaných kosmetických přípravků bylo postupováno podle kapitoly 5.4.1.

V Tab. 13 jsou uvedeny vypočítané průměrné hodnoty a směrodatné odchylky parametrů charakterizujících účinnost přípravků před nepříznivým vlivem slunečního záření.

Tab. 13a. Parametry testovaných formulací s SPF 5, 6, 10, 14, 16

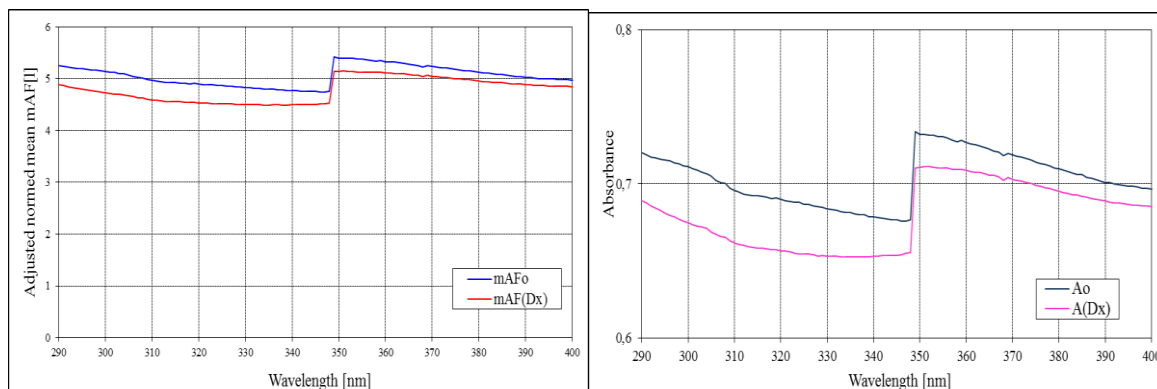
Vzorek	SPF	SPF <sub>0</sub>	SPF(D <sub>x</sub> )	UVAPF <sub>0</sub>	UVAPF(D <sub>x</sub> )	CV [%]	$\lambda_{c0}$	$\lambda_{c(Dx)}$
V1218	5	4,7	5,9	4,9	4,8	0,3	388,8	389,0
	5	4,7	5,9	4,9	4,9	0,3	388,8	389,0
	5	4,6	6,1	5,1	4,9	0,2	388,9	389,0
$\bar{x}$		4,7	5,9	4,9	4,9	0,3	388,9	389,0
s <sub>x</sub>		± 0,1	± 0,1	± 0,1	± 0,1	± 0,1	± 0,1	± 0,0
V1220	6	5,5	7,6	6,3	5,9	0,4	388,4	388,6
	6	5,6	6,3	5,3	5,1	0,3	387,2	387,4
	6	5,8	7,4	6,2	5,9	0,3	388,3	388,4
$\bar{x}$		5,6	7,1	5,9	5,6	0,3	387,9	388,1
s <sub>x</sub>		± 0,1	± 0,6	± 0,4	± 0,4	± 0,1	± 0,5	± 0,5
V1219	10	8,8	11,7	9,8	9,0	0,6	387,9	388,4
	10	9,1	11,9	9,9	9,5	0,2	388,1	388,5
	10	9,3	11,7	9,8	9,5	0,7	388,1	388,4
$\bar{x}$		9,1	11,8	9,8	9,3	0,5	388	388,4
s <sub>x</sub>		± 0,2	± 0,1	± 0,1	± 0,2	± 0,2	± 0,1	± 0,1

Tab. 13b. Parametry testovaných formulací s SPF 5, 6, 10, 14, 16

Vzorek	SPF	SPF <sub>0</sub>	SPF(D <sub>x</sub> )	UVAPF <sub>0</sub>	UVAPF(D <sub>x</sub> )	CV [%]	$\lambda_{c0}$	$\lambda_{c(Dx)}$
V1221	14	10,9	16,6	13,8	11,8	0,4	387,7	388,2
	14	11,6	16,5	13,8	12,3	0,5	387,6	388,0
	14	12,7	15,2	12,7	12,0	0,3	386,8	387,1
$\bar{x}$		11,7	16,1	13,4	12,0	0,4	387,4	387,8
s <sub>x</sub>		± 0,7	± 0,6	± 0,5	± 0,2	± 0,1	± 0,4	± 0,5
V1222	16	13,0	18,1	15,1	12,8	0,6	387,2	387,8
	16	13,1	18,0	15,0	13,0	0,3	387,1	387,6
	16	12,0	18,2	15,2	12,2	0,3	387,2	387,9
$\bar{x}$		12,7	18,1	15,1	12,7	0,4	387,2	387,8
s <sub>x</sub>		± 0,5	± 0,1	± 0,1	± 0,3	± 0,1	± 0,1	± 0,1

## Přípravek s deklarovaným SPF 5

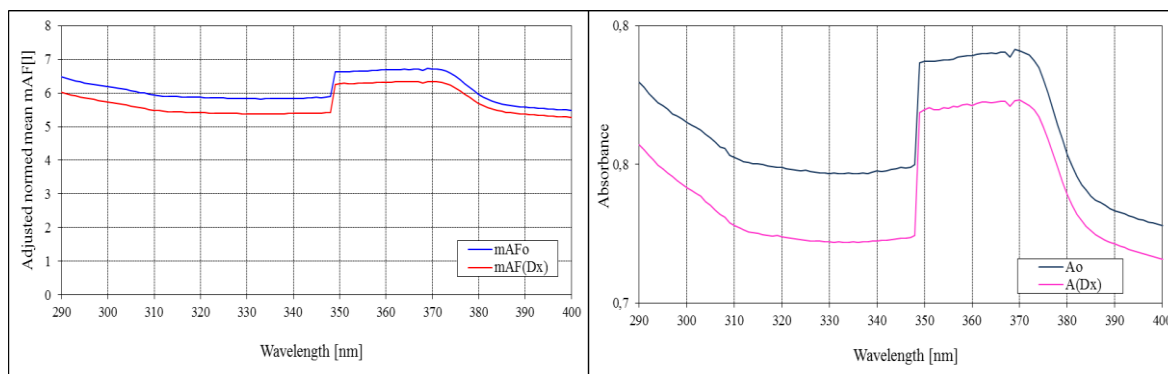
U přípravku s deklarovaným SPF 5 byly v receptuře použity 2 % karanjového oleje. Získané výsledky jsou zobrazeny na Obr. 14, kde je znázorněna závislost normalizovaného upraveného průměru absorbance (mAF) na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce. Absorpčního maxima bylo dosaženo u vlnové délky 349 nm. Dle vypočtených hodnot UVA-PF před a po ozáření je zřejmé, že tento přípravek s obsahem karanjového oleje není zcela fotostabilní, avšak hodnota kritické vlnové délky byla splněna.



Obr. 14. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 5

#### Přípravek s deklarovaným SPF 6

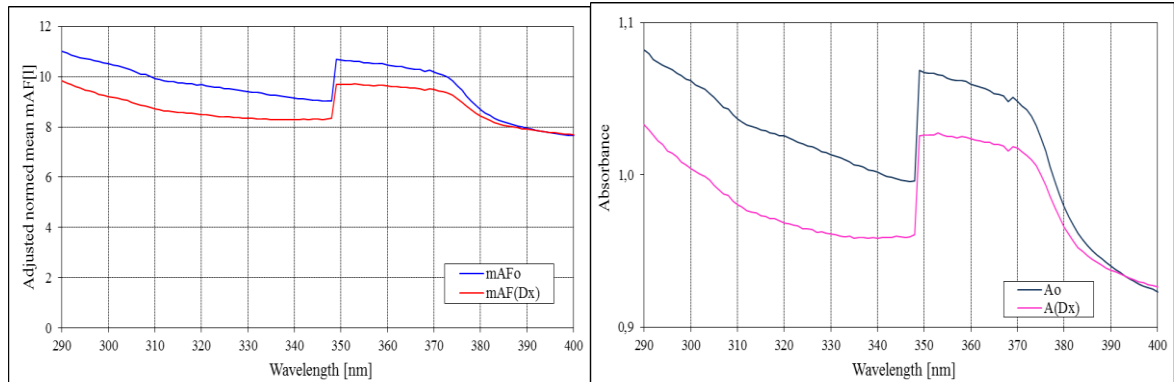
Přípravek s deklarovaným SPF 6 obsahoval fyzikální filtr – 2 % ZnO. Z Obr. 15 lze vidět, že absorpčního maxima bylo dosaženo při vlnové délce 370 nm. Podle zjištěných hodnot UVA před a po ozáření je zřejmé, že tento přípravek i přes použití blokátoru ZnO, u kterého bylo předpokládáno posílení fotoprotekčních vlastností přírodní emulze o/v, není zcela fotostabilní.



Obr. 15. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 6

#### Přípravek s deklarovaným SPF 10

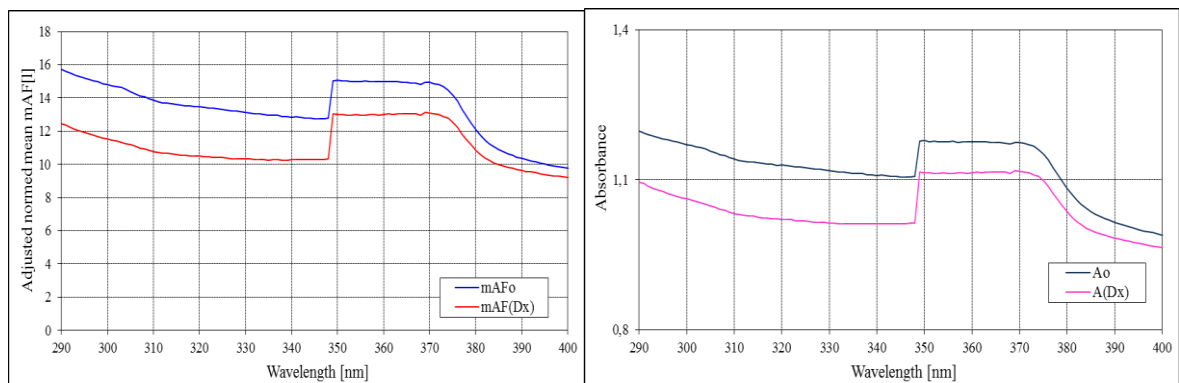
Přípravek obsahoval kombinaci 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO. Jak lze vidět na Obr. 16, testovaný přípravek s obsahem 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO má absorpční maximum při 349 nm v UVA oblasti. Účinnost karanjového oleje v této receptuře byla podpořena ZnO, ale podle parametru UVA-PF před a po ozáření lze vidět, že tento přípravek není rovněž zcela fotostabilní.



Obr. 16. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 10

#### Přípravek s deklarovaným SPF 14

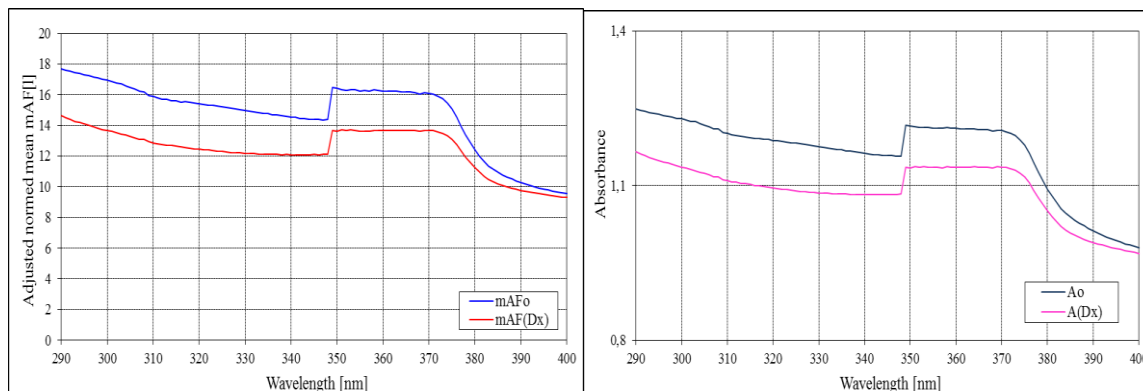
U tohoto přípravku byl 2% obsah karanjového oleje doplněn zvýšeným obsahem ZnO – 4 % oproti receptuře s odhadovaným SPF 10. Obr. 17 zobrazuje závislost mAF na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce. Naměřené hodnoty spíše odpovídají hodnotám SPF 10 než očekávaným SPF 14. Z toho lze usuzovat na probíhající radikálové reakce díky přítomnosti rostlinného oleje z *P. pinnata*, které vedou ke vzniku degradačních produktů, které mají absorpční spektrum právě v UV oblasti. Avšak hodnota kritické vlnové délky byla splněna.



Obr. 17. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 14

Přípravek s deklarovaným SPF 16

Receptura přípravku obsahovala 3 % karanjového oleje a 4 % ZnO. Ani v tomto případě nebylo dosaženo očekávaných hodnot parametru SPF 16. Získané výsledky jsou zobrazeny na Obr. 18, kde je znázorněna závislost mAF na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce. Průběh závislostí je obdobný jako v předchozích případech, dochází k degradaci přítomné olejové složky a tím k nárůstu hodnot UVA-PF před i po ozáření.



Obr. 18. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 16

U všech testovaných formulací byl proveden odborný odhad parametru SPF. Z výsledků vyplývá, že žádná z formulací nedosáhla při kombinaci různých koncentrací použitých filtrů – karanjového oleje a ZnO očekávaných hodnot SPF. Studie prokázala, že použití přírodního základu a rostlinného oleje pro kosmetické přípravky určené k ochraně před slunečním zářením nedosahuje takových kvalit jako přípravky syntetické ověřované v práci [61], [62]. Testované formulace vykazovaly značnou nestabilitu, se zvyšujícím obsahem karanjového oleje se náchylnost k degradačním reakcím stupňovala, což je patrné z narůstajících hodnot UVA-PF před i po ozáření oproti SPF.

## 6.2 Vyhodnocení hydratačního účinku kosmetických přípravků

Hydratační účinek přípravků studovaný na souboru dobrovolnic je uveden v Tab. 14, doplněný pro lepší názornost sloupcovým grafem, viz Obr. 19. Pro lepší názornost velikosti hydratačního účinku je stav po úpravě pokožky 0,5% roztokem SDS prezentován linií.

V první hodině až na výjimku krému s 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO – 30,3 c. j. byly naměřeny nižší hodnoty hydratace než na odmaštěné pokožce. Tento pokles byl pravděpodobně zapříčiněn vytvořením mastného filmu, který ovlivňoval hydratační mechanismus.

V hodině druhé nejlépe hydratoval opět krém s 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO – 36,7 c. j. Hned za ním vykazoval dobré hydratační účinky přípravek označený jako základ – 36,5 c. j. Dále následoval krém s 2 % karanjového oleje – 35,5 c. j. a krém s 2 % ZnO – 34,8 c. j.

Hydratační efekt všech přípravků byl velmi podobný i ve 3. hodině, kdy nejvyšší hydratační vlastnosti vykazoval základ – 43,7 c. j., následně krém s 2 % oleje 2 % ZnO – 42,2 c. j.

Přípravek označený jako základ – 44,1 c. j., krém s 2 % ZnO – 40,8 c. j. a krém s 2 % karanjového oleje – 40,8 c. j. se ve 4. hodině jeví jako hydratačně neaktivnější.

Nejvyšší hydratace v 24. hodině byla monitorována u základu s hodnotou hydratace 39,2 c. j., následoval přípravek s 2 % oleje a 4 % ZnO – 38,9 c. j. U pokožky ošetřené přípravkem obsahujícím kombinaci filtrů 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO byla naměřena hodnota 38,7 c. j.

Po 48. hodinové aplikaci testovaných formulací měl nejvyšší hydratační účinek krém 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO – 37,4 c. j. a základ – 36,4 c. j.

Hydratační aktivitou disponovaly všechny krémy. Z výsledků vyplývá, že nejlepší hydratační účinek po celou dobu trvání experimentu vykazoval krém s 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO a formulace označená jako základ.

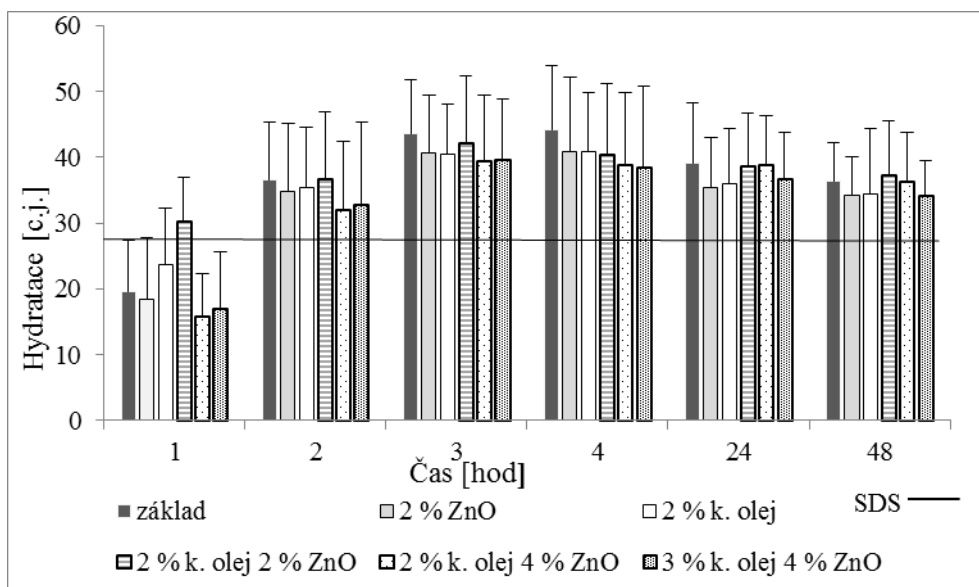
I odeznívající hydratační účinek nanesených formulací krémů ve 24. a 48. hodině lze označit dle zaznamenaných hodnot stavu pokožky za dostatečný od 34,2 c. j. do 42,6 c. j., jelikož naměřené hodnoty jsou vyšší než na kontrolním a odmaštěném místě. U všech formulací bylo zaznamenáno vytvoření mastného filmu na pokožce předloktí. Film se dokonale vstřebal až po 4 hodinách, ale již po druhé hodině došlo k nárůstu množství vody v rohové vrstvě pokožky. Podle Tab. 9 kategorizující úroveň hydratace je nutno říci, že přípravky

pokožku výrazně nehydratovaly, což odpovídá skutečnosti, že složení přípravků nebylo primárně formulováno na podporu hydratace, ale na ochranu před slunečním zářením.

Tab. 14. Průměrné hodnoty hydratace se směrodatnými odchylkami po aplikaci přípravků

Hydratace [c. j.]							
$\bar{x} \pm s$							
Čas [hod]	Kontrola	Základ	2 % ZnO	2 % k. olej	2 % k. olej 2 % ZnO	2 % k. olej 4 % ZnO	3 % k. olej 4 % ZnO
1	44,9 ± 7,3	19,6 ± 7,9	18,4 ± 9,3	23,6 ± 8,7	30,3 ± 6,6	15,9 ± 6,4	17,0 ± 8,7
2	46,9 ± 9,2	36,5 ± 8,9	34,8 ± 10,3	35,5 ± 9,1	36,7 ± 10,3	32,1 ± 10,4	32,9 ± 12,4
3	47,5 ± 6,6	43,7 ± 8,1	40,6 ± 8,8	40,5 ± 7,6	42,2 ± 10,1	39,5 ± 9,9	39,6 ± 9,2
4	46,9 ± 8,8	44,1 ± 9,9	40,8 ± 11,4	40,8 ± 9,1	40,5 ± 10,8	38,9 ± 10,9	38,6 ± 12,2
24	40,6 ± 16,7	39,2 ± 9,0	35,5 ± 7,5	35,9 ± 8,4	38,7 ± 8,1	38,9 ± 7,5	36,8 ± 7,1
48	42,6 ± 15,2	36,4 ± 5,8	34,2 ± 5,9	34,5 ± 9,8	37,4 ± 8,2	36,3 ± 7,5	34,2 ± 5,4





Obr. 19. Hydratační účinek testovaných formulací

### 6.3 Vyhodnocení účinnosti kosmetických přípravků na TEWL

V jakém stavu se nachází kožní bariéra, udávají hodnoty TEWL. Zjištěné průměrné hodnoty TEWL a směrodatné odchylky jsou uvedeny v Tab. 15. Grafické znázornění závislosti TEWL na čase ukazuje Obr. 20. Podobně jako u hydratace byla pro výchozí stav pokožky po odmaštění před aplikací přípravků zvolena linie.

Transepidermální ztráta vody byla měřena celkem na osmi místech včetně kontroly a odmaštění roztokem SDS stejně jako hydratace pokožky.

Hodnoty TEWL se během 48hodinové aplikace testovaných formulací příliš neměnily.

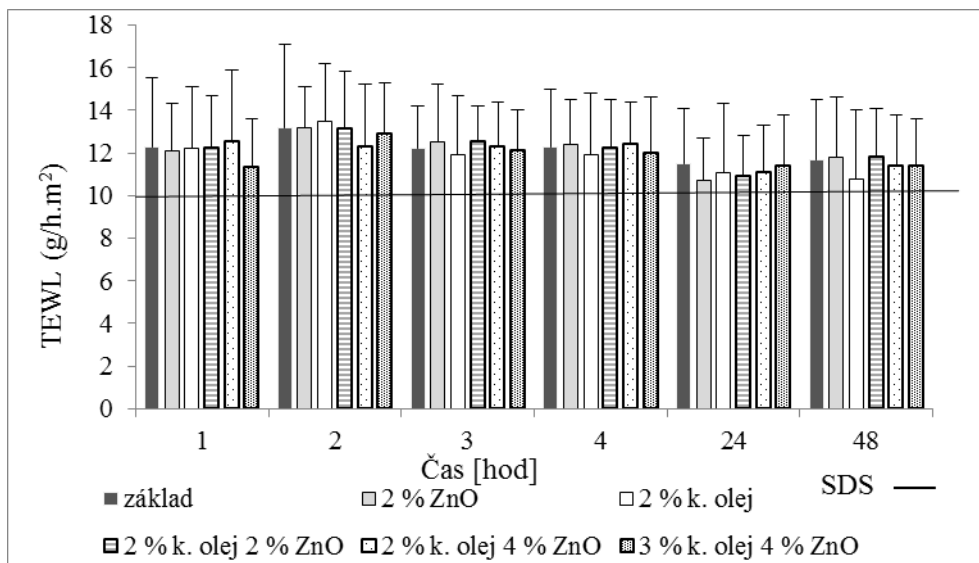
Během 4hodinového působení vykazoval nejvyšší ztrátu vody z pokožky krém s 2 % karanja oleje a to v 2. hodině po jeho aplikaci s hodnotou TEWL  $13,5 \text{ g/h.m}^2$ , naopak na nejnížší ztrátu vodu z pokožky měl vliv krém s 3 % karanja oleje a 4 % ZnO, kde hodnota TEWL dosáhla  $11,3 \text{ g/h.m}^2$ .

Nejvíce ztrátu vody zvyšovaly přípravky v 2. hodině. Nejnížší ztráta vody z pokožky byla naměřena po 24 hodinách trvání experimentu.

Všechny krémy dokázaly zadržovat epidermální vodu a to i po 48 hodinách od jejich nanesení. Dle stupnice uvedené v Tab. 10, lze konstatovat, že množství odpařované vody odpovídá stavu, který popisuje pokožku jako velmi dobrou až dobrou.

Tab. 15. Průměrné hodnoty TEWL se směrodatnými odchylkami po aplikaci přípravků

TEWL [g/h.m <sup>2</sup> ]							
$\bar{x} \pm s$							
Čas [hod]	Kontrola	Základ	2 % ZnO	2 % k. olej	2 % k. olej 2 % ZnO	2 % k. olej 4 % ZnO	3 % k. olej 4 % ZnO
1	10,3 ± 2,8	12,3 ± 3,2	12,1 ± 2,2	12,2 ± 2,9	12,2 ± 2,5	12,5 ± 3,4	11,3 ± 2,3
2	11,9 ± 3,4	13,2 ± 3,9	13,2 ± 1,9	13,5 ± 2,7	13,1 ± 2,7	12,3 ± 2,9	12,9 ± 2,4
3	12,3 ± 4,2	12,2 ± 2	12,5 ± 2,7	11,9 ± 2,8	12,5 ± 1,7	12,3 ± 2,1	12,1 ± 1,9
4	12,4 ± 2,5	12,3 ± 2,7	12,4 ± 2,1	11,9 ± 2,9	12,2 ± 2,3	12,4 ± 2	12,0 ± 2,6
24	12,2 ± 4,8	11,5 ± 2,6	10,7 ± 2	11,1 ± 3,2	10,9 ± 1,9	11,1 ± 2,2	11,4 ± 2,4
48	12,1 ± 3,9	11,7 ± 2,8	11,8 ± 2,8	10,8 ± 3,2	11,8 ± 2,3	11,4 ± 2,4	11,4 ± 2,2



Obr. 20. Bariérový účinek testovaných formulací

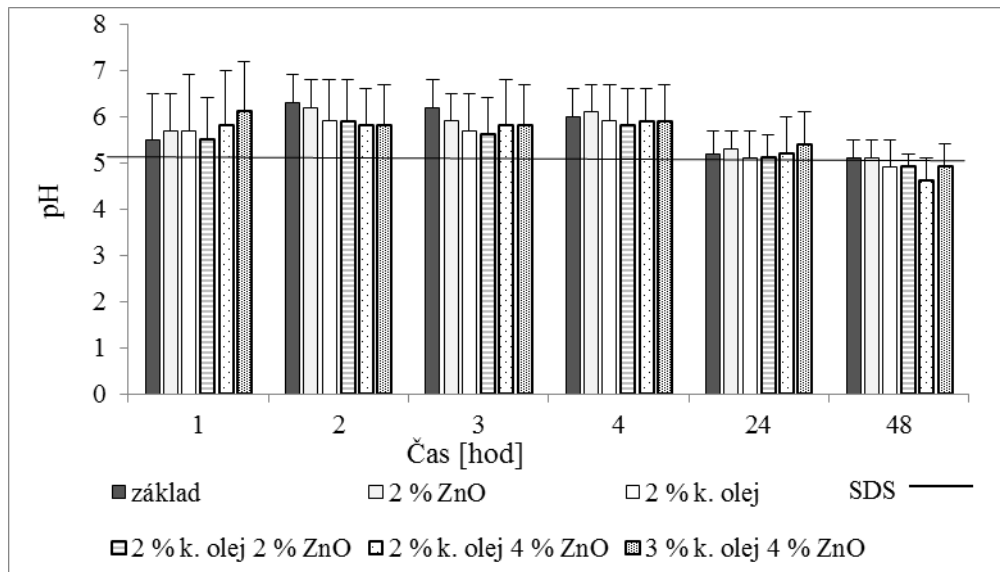
#### 6.4 Vyhodnocení účinnosti kosmetických přípravků na pH pokožky

Hodnoty pH pokožky stanovené na sledovaných místech volárního předloktí jsou tabelizovány v Tab. 16 a graficky znázorněny na Obr. 21. Linie zkonstruovaná v obrázku představuje stav pokožky po odmaštění roztokem SDS.

Kožní plášť na jednotlivých kontrolních místech, jak lze vidět v Tab. 16, vykazoval pH od 5,2–6,2. Všechny kosmetické přípravky mírně zvyšovaly pH pokožky přibližně do monitorované 4. hodiny k hodnotám kolem 6,0. Po uplynutí 24 hodin došlo k posunutí kyselosti kožního pláště směrem do neutrální oblasti (viz Tab. 16) od 5,1 do – 5,4.

Tab. 16. Průměrné hodnoty pH se směrodatnými odchylkami po aplikaci přípravků

pH							
$\bar{x} \pm s$							
Čas [hod]	Kontrola	Základ	2 % ZnO	2 % k. olej	2 % k. olej 2 % ZnO	2 % k. olej 4 % ZnO	3 % k. olej 4 % ZnO
1	5,4 ± 0,9	5,5 ± 1,0	5,7 ± 0,8	5,7 ± 1,2	5,5 ± 0,9	5,8 ± 1,2	6,1 ± 1,1
2	6,2 ± 0,9	6,3 ± 0,6	6,2 ± 0,6	5,9 ± 0,9	5,9 ± 0,9	5,8 ± 0,8	5,8 ± 0,9
3	5,7 ± 0,8	6,2 ± 0,6	5,9 ± 0,6	5,7 ± 0,8	5,6 ± 0,8	5,8 ± 1,0	5,8 ± 0,9
4	5,7 ± 0,6	6,0 ± 0,6	6,1 ± 0,6	5,9 ± 0,8	5,8 ± 0,8	5,9 ± 0,7	5,9 ± 0,8
24	5,3 ± 0,7	5,2 ± 0,5	5,3 ± 0,4	5,1 ± 0,6	5,1 ± 0,5	5,2 ± 0,8	5,4 ± 0,7
48	5,2 ± 0,6	5,1 ± 0,4	5,1 ± 0,4	4,9 ± 0,6	4,9 ± 0,3	4,6 ± 0,5	4,9 ± 0,5



Obr. 21. Účinnost testovaných formulací na pH pokožky

## 6.5 Výsledky a diskuse senzorické analýzy kosmetických přípravků s obsahem *Pongamia pinnata*

Pomocí pořadové zkoušky byly testované emulzní formulace hodnoceny v charakteristikách barva, konzistence, roztíratelnost, vstřebatelnost, celková preference. Pomocí Friedmanova testu bylo zjištěno, že mezi posuzovanými vzorky je ve výše uvedených deskriptorech na 95% hladině významnosti statisticky významný rozdíl.

Statisticky významné rozdíly v barvě byly nalezeny mezi vzorky V1218 a V1220; V1219 a V1220; V1218 a V1221; V1220 a V1222; V1218 a V1223; V1219 a V1223; V1222 a V1223. Tyto statisticky významné rozdíly byly pravděpodobně způsobené obsahem karanjového oleje. Součet pořadí jednotlivých vzorků je uveden v Tab. 17.

Tab. 17. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na barvu vzorků

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Součet pořadí	67	58	19	40	49	19

Statisticky významné rozdíly v konzistenci byly zjištěny mezi vzorky V1222 a V1223, díky přidavku karanjového oleje a ZnO. Součet pořadí jednotlivých vzorků je uveden v Tab. 18.

Tab. 18. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na konzistenci vzorků

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Součet pořadí	42	35	44	51	53	27

Při hodnocení roztíratelnosti bylo zjištěno, že mezi testovanými vzorky existují statisticky významné rozdíly v roztíratelnosti mezi vzorky V1218 a V1221; V1218 a V1222; V1219 a V1222; V1222 a V1223, způsobené přidavkem karanjového oleje a ZnO. Součet pořadí jednotlivých vzorků je uveden v Tab. 19.

Tab. 19. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na roztíratelnost vzorků

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Součet pořadí	22	36	45	52	66	31

U hodnocení vstřebatelnosti byly nalezeny mezi vzorky V1218 a V1221; V1218 a V1222; V1219 a V1222 statisticky významné rozdíly způsobené přidavkem karanjového oleje a ZnO. Součet pořadí jednotlivých vzorků je uveden v Tab. 20.

Tab. 20. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na vstřebatelnost vzorků

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Součet pořadí	25	32	46	53	61	35

Dalším úkolem bylo, aby posuzovatelé seřadili vzorky podle celkové preference. Statisticky významné rozdíly mezi testovanými vzorky byly u V1220 a V1222; V1222 a V1223 díky obsahu karanjového oleje a ZnO. Součet pořadí jednotlivých vzorků je uveden v Tab. 21.

Tab. 21. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na celkovou preferenci vzorků

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Součet pořadí	46	48	28	49	57	24

Po pořadových zkouškách následovala párová porovnávací zkouška. Sledovanými deskriptory byly textura, roztíratelnost, vstřebatelnost. Nakonec měli posuzovatelé vybrat, kterému vzorku dávají přednost. Na základě párové porovnávací zkoušky na 95% hladině významnosti byly nalezeny statisticky významné rozdíly. Rozdíl byl nalezen v roztíratelnosti a vstřebatelnosti mezi vzorky V1218 a V1220, jako lépe roztíratelný i jako lépe vstřebatelný hodnotitelé označili vzorek V1218. Další statisticky významné rozdíly byly zjištěny

mezi vzorky V1223 a V1221 ve vstřebatelnosti, lépe vstřebatelný podle posuzovatelů byl vzorek V1223, tomuto vzorku dávali hodnotitelé přednost. Poslední statisticky významné rozdíly v roztíratelnosti a vstřebatelnosti byly nalezeny mezi vzorky V1219 a V1222, jako lépe vstřebatelný i roztíratelný hodnotili posuzovatelé vzorek V1219. Tomuto vzorku dávali hodnotitelé přednost, jelikož šlo o vzorek s nejnižším obsahem oleje (2 %) a ZnO (2 %).



## ZÁVĚR

Diplomová práce se zabývá ověřováním kosmetického potenciálu *Pongamia pinnata*. Cílem teoretické části diplomové práce bylo vypracování literární studie zabývající se charakterizací rostliny *P. pinnata* z botanického hlediska, uvedením jejího ekonomického a biologického potenciálu využitelného jak v oblasti kosmetiky, tak také v dalších oblastech.

Praktická část byla zaměřena na *in vitro* stanovení SPF a UVA-PF přípravků vyvinutých na zcela přírodní bázi s UV filtry – karanjovým olejem a ZnO. Dále pomocí neinvazivních instrumentálních metod byly u těchto formulací zjišťovány biofyzikální vlastnosti na skupině dobrovolníků. Přijatelnost vyvinutých přípravků pro konečného spotřebitele byla posuzována také ze sensorického hlediska.

Sluneční ochranný faktor vyjadřuje kvantitativní měření účinnosti přípravků proti slunečnímu záření. Aby tyto přípravky byly efektivní, měly by pokrýt jeho široké spektrum. Ze získaných výsledků vyplývá, že žádná z formulací nedosáhla při kombinaci různých koncentrací použitých filtrů – karanjového oleje a ZnO očekávaných hodnot SPF. Byl zjištěn velmi nízký efekt při nízkých koncentracích použitých filtrů. Studie prokázala, že použití přírodního základu a rostlinného oleje pro kosmetické přípravky určené k ochraně před slunečním zářením nedosahuje takových kvalit jako u přípravků syntetických.

Dále byly zjišťovány hydratační, bariérové a pH účinky testovaných formulací na pokožku dobrovolnic během čtyřhodinového působení, dále pak po 24. a 48. hodinách. Z výsledků vyplývá, že nejlepší hydratační účinek po celou dobu trvání experimentu vykazoval krém s 2 % karanjového oleje a 2 % ZnO a formulace označená jako základ. Přípravky pokožku výrazně nehydratovaly, což odpovídá skutečnosti, že složení přípravků nebylo primárně formulováno na podporu hydratace. Během *in vivo* studie nedošlo k výskytu žádných iritačních reakcí na pokožce dobrovolnic. Všechny krémy dokázaly zadržovat epidermální vodu a to i po 48 hodinách od jejich nanesení. Stejně tak neutralizovaly pokožku volární strany předloktí jednotlivých dobrovolnic.

Senzorickou analýzou byl prokázán také vliv přítomnosti použitých UV filtrů na organoleptické vlastnosti formulací. Projevil se v barvě, konzistenci, roztíratelnosti, vstřebatelnosti a preferenci jednotlivých vzorků.

## SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] SANGWAN, S., D. V. RAO a R. A. SHARMA. A Review on *Pongamia pinnata* (L.) Pierre: A Great Versatile Leguminous Plant. *Nature and Science*. Jaipur: Biotechnology lab, lab no. 5, Department of Botany, University of Rajasthan. 2010, vol. 8, no. 11, s. 130 – 139. ISSN 1545–0740.
- [2] WATSON, R. R. a S. ZIBADI. *Bioactive dietary factors and plant extracts in dermatology: Pongamia pinnata (Linn) Used in Skin Disease*. [online] © 2016 [cit. 2016–05–05] ISBN 978–1–62703–167–7. Dostupné z: <https://books.google.cz/books?id=kzKqMAkJw3UC&pg=PA473&dq=Pongamia+pinnata&hl=cs&sa=X&ved=0CB4Q6AEwADgKahUKEwioxu7Z38PHAhXFPhQKHfc1BCU#v=onepage&q=Pongamia%20pinnata&f=false>
- [3] DEO YADAV, R., S. K. JAIN, S. ALOK, S. K. PRAJAPATI a A. VERMA. *Pongamia pinnata: An Overview*. *International Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research*. India: Department of Pharmacognosy, Institute of Pharmacy, Bundelkhand University, Jhansi, Uttar Pradesh, 2011–02–12, vol. 2, no. 3, s. 494 – 500. ISSN 0975–8232.
- [4] CHANDRASHEKAR, L. A., N. S. MAHESH, B. GOWDA a W. HALL. Life cycle assessment of biodiesel production from pongamia oil in rural Karnataka. *CIGR Journal*. Bangalore: M. S. Ramaiah School of Advanced Studies. 2012–07–23, vol. 14, no. 3, s. 67 – 77.
- [5] SAKSULE, A. S. a P. A. KUDE. Adsorbents from Karanja Seed Oil Cake and Applications. *International Journal of Chemical Engineering and Applied Sciences*. Jalgaon: Department of Chemical Engineering, NBA Re–Accredited SSBT’S College of Engineering & Technology, Bambhori, 2012–09–07, vol. 2, no. 3, s. 13 – 23. ISSN 2278–1266.
- [6] GRESSHOFF, P. M. A Biotechnology–Genetics–Genomics Science Platform for *Pongamia pinnata* ARC Centre of Excellence for Integrative Legume Research, The University of Queensland, St Lucia AUSTRALIA Peter M. Gresshoff Aviation Biofuel. *Avalon* [online]. ARC Centre of Excellence for Integrative Legume Research: The University of Queensland, St Lucia AUSTRALIA, 2011, 1 – 23 [cit. 2016–03–05].

- [7] KUMAR, P., M. KUMAR. A. TEIXEIRA DA SILVA. Pharmacognostic and Phytochemical Investigation of Pongamia pinnata. *Open Access Scientific Reports*. India: Department of Pharmaceutical Sciences, H. N. B. Garhwal University, Srinagar, Garhwal, Uttarakhand, 2013, vol. 2, no. 2, s. 2 – 5. DOI: 10.4172/scientificreports.634Page 2 of 5.
- [8] Duke, A. Pongamia. ARC CENTRE OF EXCELLENCE FOR INTEGRATIVE LEGUME RESEARCH: The University of Queensland, The University of Newcastle, The Australian National University, The University of Melbourne, 2008.
- [9] DWIVEDI, G., S. JAIN a M. P. SHARMA. Pongamia as a Source of Biodiesel in India. *Journal SGRE*. India: Alternate Hydro Energy Centre, IIT Roorkee, Roorkee, 2011–06–09, vol. 2, s. 184 – 189. DOI: 10.4236/sgre.2011.23022.
- [10] SVOBODOVÁ, V. *PONGAMIA PINNATA (L.) Pierre - kaleda lysá* [online]. In: 2014 [cit. 2016–03–05]. Dostupné z: <http://botany.cz/cs/pongamia-pinnata/>
- [11] SHEJAWAL, N., S. MENON a S. SHAILAJAN. Bioavailability of karanjin from Pongamia pinnata L. in Sprague dawley rats using validated RP–HPLC method. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. India: Therapeutic Drug Monitoring Laboratory, Sion, 2014–03–30, vol. 4, no. 3, s. 10 – 14. ISSN 2231–3354.
- [12] JANARDHANAN, K. R. *SOAPS AND DETERGENTS*. [online] Dostupné z: [http://www.vigyanprasar.gov.in/chemistry\\_application\\_2011/briefs/soaps\\_and\\_detergents.pdf](http://www.vigyanprasar.gov.in/chemistry_application_2011/briefs/soaps_and_detergents.pdf)
- [13] BASWA, M. Deodorized Organic Pongamia Glabra Seed Oil. *COSMACT*. Karunaweera ND: Center of post graduate studies in microbiology: Kumarasinghe SP, 2015, vol. 2, s. 1 – 2.
- [14] SAVITA, S., D. V. RAO a R. A. SHARMA. IN vivo and in vitro Proportional Anti-microbial Activity Karanj (Pongamia pinnata): An Imperative Leguminous Tree. *International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied science*. Jaipur: Department of Botany, University of Rajasthan, 2012, vol. 2, no. 6, s. 981 – 985. ISSN 2249–1236.

- [15] CYCLONE PHARMACEUTICALS: *Natural Pure Herbal Essential Oils* [online]. [cit. 2016–03–05]. Dostupné z: <http://www.cycloneindiagroup.com/cyclonepharma/Essensial%20Oil%20Prices.pdf>
- [16] AL MUQARRABUN, L. M. R., N. AHMAT, S. A. S. RUZAINA, N. H. ISMAIL a I. SAHIDIN. Medicinal uses, phytochemistry and pharmacology of *Pongamia pinnata* (L.) Pierre: A review. *Journal of Ethnopharmacology*. Malaysia: Faculty of Applied Sciences, Universiti Teknologi MARA (UiTM), 40450 Shah Alam, Selangor, 2013–09–07, s. 395 – 420.
- [17] KAGITHOJU, S., GODISHALA, V., PABBA, S. K., KURRA, H. B., SWAMY. Antibacterial Activity of Flower Extract of *Pongamia pinnata* Linn. – An Elite Melicinal Plant. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. India: Department of Biotechnology Kakatiya University, 2016–03–05, vol. 4, no. 3, s. 130–132. ISSN 0975–1491.
- [18] ELANCHEZHIAN, M. S. RAJARAJAN, P. RAJENDRAN, S. SUBRAMANIAN a S. P. THYAGARAJAN. Antiviral properties of the seed extract of an Indian medicinal plant, *Pongamia pinnata*, Linn., against herpes simplex viruses: in–vitro studies on Vero cells. India: Department of Microbiology, Dr A. L. M. Post Graduate Institute of Basic Medical Sciences, Taramani, Madras–600 113 and \*Department of Botany, Presidency College, Madras–600 005. 1993–01–02, vol. 38, s. 262 – 264.
- [19] SAIPRASANNA, B., S. M. BABU a Y. R. RAMANI. Phytochemical Investigation and Study on Antioxidant Properties of *Pongamia pinnata* Hydro–Alcoholic Leaf Extract. *PLANT SCIENCES FEED*. India: Department of Pharmacology, Royal College of Pharmacy and Health Sciences, Berhampur, Odisha. 2012, vol. 2, s. 74 – 78. ISSN 2231–1971.
- [20] WANI, S. P. a T. K. SREEDEVI. *Pongamia's Journey from Forest to Micro-enterprise for Improving Livelihoods*. *International Crops Research Institute for the Semi–Arid Tropics Patancheru 502 324: Andhra Pradesh, India*, s. 1–11.
- [21] VENKATESAN, M., C. J. VIKRAM a P. NAVEENCHANDRAN. Performance and Emission Analysis of *Pongamia* Oil Methyl Ester with Diesel Blend. *Middle-East Journal of Scientific Research*. India: P. G. Student, Department of Automobile Engi-

- neering, Bharath Institute of Science and Technology, Bharath University, Chennai, 2012–12–12, s. 1758 – 1765. ISSN 1990–9233.
- [22] BOBADE, S. N. a V. B. KHYADE. Detail study on the Properties of Pongamia pinnata (Karanja) for the Production of Biofuel. *Research Journal of Chemical Sciences*. India: Indian Biodiesel Corporation, Baramati, above Sh. Malojiraje Co-op. Bank, Tal-Baramati, Dist – Pune, MS, 2012–04–24, vol. 2, no. 7, s. 16 – 20. ISSN 2231–606X.
- [23] NIRMAL, V. P. a D. DINESHBABU. Performance and Emission of Pongamia pinnata Oil as a Lubricant in Diesel Engine. *International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology*. India: Velammal Engineering College, Surapet, Chennai, 2015–02–28, vol. 4, no. 2, s. 435 – 441. ISSN 2319–8753.
- [24] GORLA, G., S. M. KOUR, K. V. PADMAJA. Preparation and Properties of Lubricant Base Stocks from Epoxidized Karanja Oil and Its Alkyl Esters. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. India: Centre for Lipid Research, Indian Institute of Chemical Technology, Hyderabad 500–007, 2013–10–31, vol. 52, s. 16598–16605.
- [25] STEPANYCHEVA, E. A., M. O. PETROVA, T. D. CHERMENSKAYA a R. PAVELA. Prospects for the Use of Pongamia pinnata Oil–Based Products against the Green Peach Aphid *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). *HINDAWI*. Russia: All–Russian Institute of Plant Protection, Podbelsky Shosse 3, St. Petersburg, Pushkin 196608, 2014–04–07, s. 1 – 6.
- [26] Vegetable protection general catalogue. [online] Dostupné z: <http://mafa.es/Imagenes/Descargas/ceesdkcGeneral%20catalogue.pdf>
- [27] PAVELA, R. Účinnost přípravků na bázi oleje ze semen *Pongamia glabra* Vent. na housenky *Plutella xylostella* L.: *Efficacy of botanical insecticides based on seed oil from Pongamia glabra* Vent. against *Plutella xylostella* L. larvae. Praha 6 – Ruzyně, Czech Republic: Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507, 161 06, 2010, s. 16 – 22 ISSN 978–80–7427–048–2.
- [28] JIRÁSKOVÁ, M. Dermatovenerologie: pro stomatology: učebnice pro lékařské fakulty. 1. vyd. Praha: Professional Publishing, 2001, 268, 16 s. ISBN 80–864–1907–X.
- [29] ŠTORK, J. Dermatovenerologie. 1. vyd. Praha: Galén, 2008, xy, 502 s. ISBN 978–80–7262–371–6.

- [30] DEHAVEN, Ch. *The Biochemistry of Dry Skin* [online]. 2007 Science of Skincare, 2007, s. 1 – 4, [cit. 2016–03–05]. Dostupné z: [www.iSCLINICAL.com](http://www.iSCLINICAL.com)
- [31] ZÁHEJSKÝ, J. BARIÉROVÁ FUNKCE KŮŽE Z POHLEDU KLINICKÉ PRAXE. *Dermatol. prax 2007* [online]. I. dermatovenerologická klinika LF MU a FN u sv. Anny, Brno, 2007, 124 – 127 [cit. 2016–03–05].
- [32] SEGRE, J. A. Epidermal barrier formation and recovery in skin disorders. *The Journal of Clinical Investigation* [online]. Genetics and Molecular Biology Branch, National Human Genome Research Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, 2006, s. 1150 – 1158 [cit. 2016–03–05]. Dostupné z: <http://www.jci.org>
- [33] BANDOW, A. Natural Moisturizing Factors and hydration of the Stratum Corneum. *Cosmetical Symposium* [online]. CLR – Chemisches Laboratorium Dr. Kurt Richter GmbH Berlin – Germany: Budapest – Nov. 18, 2010, 1 – 24 [cit. 2016–03–05].
- [34] CHALUPOVÁ, Z. a R. MASTEIKOVÁ. *Hydratace kůže a kosmetické prostředky: Farmaceutická technologie* [online]. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno, Farmaceutická fakulta, Ústav technologie léků Palackého 1/3, 612 42 Brno, 2006, 192 – 194 [cit. 2016–03–05].
- [35] BOUWSTRA, J. A. a M. PONEC. The skin barrier in healthy and diseased state. *Science Direct* [online]. Leiden/Amsterdam Center for Drug Research, Gorlaeus Laboratories, Leiden University, P. O. Box 9502, 2300 RA Leiden, The Netherlands, 2006, 2080 – 2095 [cit. 2016–03–05]. DOI: 10.1016/j.bbamem.2006.06.021.
- [36] RAWLINGS, A. V. a C. R. HARDING. *Moisturization and skin barrier function* [online]. 2004, 1–19 [cit. 2016–03–05]. DOI: 10.1111/j.1396-0296.2004.04S1005.x.
- [37] ZÁHEJSKÝ, J. UREA – STÁLE AKTUÁLNÍ A DISKUTOVANÁ UREA – ALWAYS ACTUAL AND DISCUSSED. *DERMATOLOGIE PRO PRAXI* [online]. I. dermatovenerologická klinika LF MU a FN Brno, 2008, 28 – 30 [cit. 2016–03–05].
- [38] WENDTNER, M. H. a H. C. KORTING. *The pH of the Skin Surface and Its Impact on the Barrier Function*. Skin Pharmacology And Physiology [online]. Departments of Dermatology and Allergology, Rheinische Friedrich Wilhelm University, Bonn; Lud-

- wig Maximilians University, Munich , Germany, 2006, 296 – 302 [cit. 2016–03–05]. DOI: 10.1159/000094670.
- [39] LAMBERS, H., H. PRONK, S. PIESSENS a E. VOSS. *Natural human skin surface pH is on average below 5*. Sara Lee [online]. Sara Lee Household & Body Care Research, The Hague, The Netherlands, 1 [cit. 2016–03–06].
- [40] IMHOF, R. E. *In-vivo and in-vitro applications of closed–chamber TEWL measurements*. Intensive Course in Dermato–cosmetic Sciences [online]. Photophysics Research Centre, South Bank University, London SE1 0AA, UK; Biox Systems Ltd, Southwark Campus, 103 Borough Road, London SE1 0AA, UK. Abstract, 2007, 1 – 29 [cit. 2016–03–06].
- [41] FREUDLOVÁ, M. *Bioengineering testing of the human skin and the use of cosmetic products*. Brno, 2008. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně. Vedoucí práce Ing. Jana Zemanová, Ph.D.
- [42] MUDLEIN, M., B. VALENTIN, R. CHABICOVSKY, J. NICOLICS, J. WEREMCZUK, G. TARAPATA a R. JACHOWICZ. *Transepidermal water loss (TEWL) measurement with two novel sensors based on different sensing principles*.
- [43] LAUTENSCHLÄGER, H. *Skin diagnosis – based on measuring results*. Kosmetik International [online]. 2007, 54 – 56 [cit. 2016–03–06]. Dostupné z: [www.dermaviduals.com](http://www.dermaviduals.com)
- [44] Tewameter ® TM 300 – Assessing the Skin Barrier Function: The Measuring Principle [online]. 2 [cit. 2016–03–06].
- [45] PATIL, S., B. FEGADE, U. ZAMINDAR a V. H. BHASKAR. DETERMINATION OF SUN PROTECTION EFFECT OF HERBAL SUNSCREEN CREAM. *WORLD JOURNAL OF PHARMACY AND PHARMACEUTICAL SCIENCES* [online]. Gahlot Institute of Pharmacy, Koparkhairane, Navi Mumbai, 2015, 1554 – 1565 [cit. 2016–03–25]. ISSN 2278–4357.
- [46] BALAKRISHNAN, K. P. a N. NARAYANASWAMY. Botanicals as sunscreens: Their role in the prevention of photoaging and skin cancer. *International Journal of Research in Cosmetic Science* [online]. Personal Care Division, ITC R&D Centre, Pe-

- enya Industrial Area, Bangalore – 560 058, India., 2011, 1 – 12 [cit. 2016–03–06]. Dostupné z: <http://www.urpjournals.com>
- [47] KRAJSOVÁ, J. Fotoprotekce u dětí [online]. Kožní klinika VFN a 1. LF UK, Praha; 2012(13), 204 – 205 [cit. 2016–03–06]. Dostupné z: [www.pediatriepropraxi.cz](http://www.pediatriepropraxi.cz)
- [48] BUDDEPU, M., K. SABITHADEVI, V. ASHOK a M. V. RAMPRASAD. Determination of In -VitroSunscreen Activity of Pongamia pinnata (L.) Essential Oil. *Drug Invention Today* [online]. Vivimed Labs Ltd., Veeranag Towers, Habsiguda, Hyderabad, AP; Department of Biotechnology, Krishna College, Andhra University, Visakhapatnam; Department of Microbiology, GITAM University, Rushikonda , 2011(3), 197 – 199 [cit. 2016–03–06]. ISSN 0975–7619. Dostupné z: [www.ditonline.info](http://www.ditonline.info)
- [49] ETTLER, K. *Prostředky k ochraně kůže před UV zářením* [online]. Klinika nemocí kožních a pohlavních FN a LF UK v Hradci Králové; Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové, 2009 (5), 135–138 [cit. 2016–03–06]. Dostupné z: [www.praktickelekarenstvi.cz](http://www.praktickelekarenstvi.cz)
- [50] CEFALI, L. C., J. A. ATAIDE, P. MORIEL, M. A. FOGGIO a P. G. MAZZOLA. *PLANT COMPOUNDS AS ACTIVE PHOTO PROTECTANTS IN SUNSCREENS* [online]. Faculty of Medical Sciences and Faculty of Pharmaceutical Science, University of Campinas (Unicamp), Rua Sérgio Buarque de Holanda, 250, CB –II – sala E06 – 2º Piso CEP: 13083-859 – Campinas – SP, 2016, 2016, 1 –29 [cit. 2016–03–11].
- [51] DUALE, N., A. K. OLSEN, T. CHRISTENSEN, S. T. BUTT a G. BRUNBORG. *Octyl methoxycinnamate modulates gene expression and prevents cyclobutane pyrimidine dimer formation but not oxidative DNA damage in UV–exposed human cell lines*. *Toxicol. Sci.* 114, 2, 272 – 284 (2010).
- [52] SEITE, S., COLIGE, A., VIVENOT, P. P., MONTASTIER, C., FORTANIER, A., LAPIÈRE, C. a NUSGENS B. *A full–UV spectrum absorbing daily use cream protects human skin against biological changes occurring in photoaging*. *Photodermatol. Photoimmunol. Photomed.* 16, 4, 147 – 155 (2000).
- [53] COOMAN, L., EVERAERT, E. a DE KEUKELEIRE, D. *Quantitative analysis of hop acids, essential oils and flavonoids as a clue to the identification of hop varieties*. *Phytochem. Anal.*, 9, 1, 145 – 150 (1998).



- [54] POLEFKA, T. G., T. A. MEYER, P. P. AGIN a R. J. BIANCHINI. *Effects of Solar Radiation on the Skin*. Journal of Cosmetic Dermatology [online]. Life Sciences Solutions, LLC, Somerset, New Jersey, USA; Merck Consumer Care, Memphis, Tennessee, USA; Merck Consumer Care, Summit, New Jersey, USA, 2011, 134 – 143 [cit. 2016–03–11].
- [55] NEČASOVÁ, A. *Hodnocení genotoxického potenciálu UV filtru*. [online] Brno, 2013 [cit. 2016–03–09]. Diplomová práce. Masarykova Univerzita Přírodovědecká Fakulta. Centrum pro výzkum toxických látek v prostředí. RNDr. Pavel Čupr, Ph.D.
- [56] The Corneometr CM 825: Technical Charges. 2013
- [57] The Tewametr TM 300: Technical charges. 2013.
- [58] The Skin – pH – metr PH 905: Technical charges. 2013.
- [59] ČSN ISO 24443. Stanovení ochranného slunečního faktoru UVA in vitro – Česká technická norma. Praha: Úřad pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví, 2012. 27 s.
- [60] ČSN ISO 6658. Senzorická analýza – Metodologie – Všeobecné pokyny. Praha: Český normalizační institut, 2009. 24 s.
- [61] VEČEŘOVÁ, V. *Optimalizace metody stanovení SPF a UVA in vitro*. [online] Zlín. 2015 [cit. 2016–05–04]. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická. Ústav technologie výroby tuků, kosmetiky, detergentů Ing. Pavlína Egner, Ph.D.
- [62] HOJEROVÁ, J., MEDOVČÍKOVÁ, A., MIKULA, M. Photoprotective efficacy and photostability of fifteen sunscreen products having the same label SPF subjected to natural sunlight. *International Journal of Pharmaceutics*. Bratislava: Laboratory of Cosmetology, Department of Food Science, Faculty of Chemical and Food Technology, Slovak University of Technology, 2011–01–26, s. 27–38. DOI 10.1016/j.ijpharm.2011.01.040.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

c. j.	Korneometrická jednotka
cm	Centimetr
COLIPA	Metoda pro stanovení ochranného slunečního faktoru
CV	Koeficient rovnoměrnosti nanesení
°C	Stupeň Celsia
g	Gram
HSV	Herpes simplex virus
INCI	Názvosloví (International nomenclature of cosmetic ingredients)
K	Draslík
kg	Kilogram
KOH	Hydroxid draselný
KCl	Chlorid draselný
km <sup>2</sup>	Kilometr čtvereční
m	Metr
mg	Miligram
mm	Milimetr
N	Dusík
NaCl	Chlorid sodný
NHF	Natural hydrophilic factor
nm	Nanometr
NMF	Přirozený hydratační faktor
P	Fosfor
SC	<i>Stratum corneum</i>
SDS	Dodecylsírán sodný

---

SPF	Sluneční ochranný faktor
$s_x$	Směrodatná odchylka
t	Tuna
TEWL	Transepidermal water loss (transepidermální ztráta vody)
USA	Spojené státy americké
UV	Ultrafialové záření
UVA	Dlouhovlnné záření
UVB	Středněvlnné záření
UVC	Krátkovlnné záření
UVAPF <sub>0</sub>	Ochranný faktor UVA před expozicí ultrafialovým zářením
UVAPF <sub>(Dx)</sub>	Ochranný faktor UVA po expozici ultrafialovým zářením
$\lambda$	Kritická vlnová délka
$\lambda_{co}$	Kritická vlnová délka před ozáření ultrafialovými paprsky
$\lambda_{C(Dx)}$	Kritická vlnová délka po ozáření ultrafialovými paprsky
$\bar{x}$	Aritmetický průměr

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

<i>Obr. 1. Pongamia pinnata [6, s. 1]</i> .....	12
<i>Obr. 2. Květy Pongamia pinnata [6, s. 1]</i> .....	13
<i>Obr. 3. Vzdělání 15měsíční rostliny [6]</i> .....	13
<i>Obr. 4. Jednotlivé části P. pinnata [1, s. 132]</i> .....	16
<i>Obr. 5. Výsadba P. pinnata [6, s. 12]</i> .....	18
<i>Obr. 6. Struktura karanjinu [11, s. 10]</i> .....	18
<i>Obr. 7. Epidermis [33, s. 4]</i> .....	30
<i>Obr. 8. Spektrofotometr UV–VIS Cary 100</i> .....	45
<i>Obr. 9. Solární simulátor SUNTEST CPS +</i> .....	45
<i>Obr. 10. Měřicí stanice MPA</i> .....	46
<i>Obr. 11. Nanesení připravených formulací</i> .....	51
<i>Obr. 12. Předložené vzorky pro senzorickou analýzu</i> .....	52
<i>Obr. 13. Posuzování vzorků</i> .....	53
<i>Obr. 14. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 5</i> .....	60
<i>Obr. 15. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 6</i> .....	60
<i>Obr. 16. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 10</i> .....	61
<i>Obr. 17. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 14</i> .....	61
<i>Obr. 18. Závislost upraveného normalizovaného průměru absorbance na vlnové délce a závislost absorbance na vlnové délce pro přípravek s SPF 16</i> .....	62
<i>Obr. 19. Hydratační účinek testovaných formulací</i> .....	65

<i>Obr. 20. Bariérový účinek testovaných formulací.....</i>	<i>67</i>
<i>Obr. 21. Účinnost testovaných formulací na pH pokožky.....</i>	<i>69</i>

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tab. 1. Botanická klasifikace P. pinnata, [1, s. 133]</i> .....	14
<i>Tab. 2. Botanický popis [1, s. 131]</i> .....	15
<i>Tab. 3. Nutriční hodnoty P. pinnata v listech a plodu [1, s. 133]</i> .....	19
<i>Tab. 4. Srovnání produkce nejedlých olejů v Indii [9, s. 186]</i> .....	24
<i>Tab. 5. Úroveň ochrany SPF [49, s. 204]</i> .....	36
<i>Tab. 6. Kožní fototypy [51, s. 135]</i> .....	37
<i>Tab. 7. Použité UV filtry a jejich množství ve formulacích</i> .....	42
<i>Tab. 8. Ingeredience použité v testovaných formulacích dle International nomenclature of cosmetic ingredients (INCI) a jejich funkce</i> .....	43
<i>Tab. 9. Stupnice korneometru [56]</i> .....	47
<i>Tab. 10. Stupnice tewametru [57]</i> .....	47
<i>Tab. 11. Stupnice pH hodnot [58]</i> .....	48
<i>Tab. 12. Termíny měření a klimatické podmínky v laboratoři</i> .....	50
<i>Tab. 13. Parametry testovaných formulací s SPF 5, 6, 10, 14, 16</i> .....	58
<i>Tab. 14. Průměrné hodnoty hydratace se směrodatnými odchylkami po aplikaci přípravků</i> .....	64
<i>Tab. 15. Průměrné hodnoty TEWL se směrodatnými odchylkami po aplikaci přípravků</i> .....	66
<i>Tab. 16. Průměrné hodnoty pH se směrodatnými odchylkami po aplikaci přípravků</i> .....	68
<i>Tab. 17. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na barvu vzorků</i> .....	70
<i>Tab. 18. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na konzistenci vzorků</i> .....	70
<i>Tab. 19. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na roztíratelnost vzorků</i> .....	71
<i>Tab. 20. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na vstřebatelnost vzorků</i> .....	71
<i>Tab. 21. Součet pořadí u pořadové zkoušky zaměřené na celkovou preferenci vzorků</i> .....	71

## **SEZNAM PŘÍLOH**

**P I: Dotazník pro účastníka měření**

**P II: Individuální informovaný souhlas**

**P III: Dotazník pro sensorické hodnocení emulzních formulací**

**P I: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ****Dotazník pro účastníka měření**

Jméno:

Příjmení:

Věk:

Pohlaví:

Kód pokusné osoby (evidenční číslo):

**Současný zdravotní stav:**

<b>Vyskytuje se u Vás nyní:</b>	<b>ano</b>	<b>ne</b>	<b>jaké</b>
lupénka			----- -----
ekzém			----- -----
rakovina kůže			----- -----
jiné kožní problémy a onemocnění			
jizvy, mateřská znaménka, jiné vady kůže v místě testu			----- -----
zarudnutí kůže po slunění nebo z jiného důvodu v místě testu			----- -----
astma vyžadující denní příjem léků			----- -----
jiné chronické respirační onemocnění			
diabetes vyžadující léčbu inzulínem			----- -----
onemocnění imunitního systému			

**Zdravotní stav v minulosti**

<b>Prodělal (a) jste:</b>	<b>ano</b>	<b>ne</b>
transplantaci orgánů		
léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících		

**Užívání léků**

<b>Berete či používáte pravidelně:</b>	<b>ano</b>	<b>ne</b>	<b>jaké</b>
protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

**Alergologická léčba**

<b>Probíhá u vás v současné době:</b>	<b>ano</b>	<b>ne</b>	<b>jaká</b>
alergologická léčba (kapky, injekce, apod.)			
dostali jste poslední dávku během minulého týdne			----- ----- ---
očekáváte další dávky v průběhu studie			----- ----- ---



**Pouze pro ženy**

<b>Jste:</b>	<b>ano</b>	<b>ne</b>
těhotná nebo kojící		

**Alergie**

<b>Projevila se u vás někdy alergie na:</b>	<b>specifikujte:</b>
detergenty a čisticí prostředky	
kosmetické přípravky a vůně parfémů	
přípravky do koupele a na mytí (šampón, mýdlo)	
pleťové krémy a mléka, lotiony	
antiperspiranty a deodoranty	
léky	
jiné materiály	

**Doplňující údaje**

<b>Zdravotní stav:</b>	<b>specifikujte:</b>
používáte pravidelně jakýkoliv přípravek pro léčbu kůže	
používáte pravidelně jakékoliv léčivo (na předpis, či volně prodejné)	
navštěvujete v současné době lékaře kvůli:	
alergiím	
kožním problémům	
z jiného důvodu	
máte nějaké jiné zdravotní potíže	

**Účast v dalších studiích**

<b>Studie:</b>	<b>Typ studie:</b>	<b>Datum poslední studie:</b>
účastnil(a) jste se někdy kožního testu	-----	
účastníte se v současné době jiné studie jakéhokoliv druhu		

podpis účastníka měření:

datum:

**Pouze pro účely organizátora měření**

Na základě zjištěných údajů je účastník a) přijat  
b) nepřijat

Zdůvodnění:

Datum:

Podpis organizátora

## P II: INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

### Individuální informovaný souhlas

V rámci realizace experimentální části diplomové práce budou na Vaši kůži aplikovány různé testované výrobky. U všech výrobků byla posouzena dokumentace z hlediska jejich bezpečnosti. Všechny známé informace o zkoumaných výrobcích dovolují testování na dobrovolnících.

#### Cíl studie

Cílem práce je zjistit odezvu Vaší pokožky na aplikovaný přípravek pomocí exaktně změřených veličin.

#### Podmínky účasti

Před zahájením vlastního experimentu je nutno vyplnit dotazník. Součástí dotazníku jsou údaje o Vašem zdravotním stavu, alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných studiích. Na základě Vašich pravdivých odpovědí bude rozhodnuto o účasti v daném cvičení.

#### Metodika testu

Experiment bude prováděn diplomantkami pod dohledem kvalifikovaných pracovníků Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky a dermatologa. Plánovaná práce zahrnuje: - jednorázový otevřený kožní test (epikutánní test na vnitřní straně předloktí).

#### Odstoupení z laboratorní práce

Z práce je možno odstoupit při výskytu závažnějších potíží po dohodě s vedoucím diplomové práce.

#### Rizika a nepříjemnosti

Během práce může dojít k podráždění odpovídající lehkému připálení sluncem. Místo aplikace může zrudnout nebo zčervenat, dočasně pálit, svědit nebo se vysušit. Nejsilnější očekávanou reakcí je zrudnutí, které může být doprovázeno místním otokem. Nejsou očekávány žádné trvalé následky.

### P III: DOTAZNÍK PRO SENZORICKÉ HODNOCENÍ EMULZNÍCH FORMULACÍ

Dotazník pro senzoričnou analýzu kosmetických přípravků s obsahem *Pongamia pinnata*

Jméno a příjmení:

Datum a čas:

Podpis:

Pořadové preferenční testy

#### Barva

**Úkol 1.** Seřad'te předložené vzorky podle barvy od nepříjemnější (1) po nejmíň příjemnou (6). Pozn. 2 a více vzorků nesmí mít stejné pořadí.

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Pořadí						

#### Konzistence

**Úkol 2.** Seřad'te předložené vzorky podle konzistence od nejpříjemnější (1) po nejmíň příjemnou (6). Pozn. 2 a více vzorků nesmí mít stejné pořadí.

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Pořadí						

Pořadové testy podle intenzity znaků

#### Roztíratelnost

**Úkol 3.** Seřad'te předložené vzorky podle roztíratelnosti od nejlépe roztíratelného (1) po nejhůře roztíratelný (6). Pozn. 2 a více vzorků nesmí mít stejné pořadí.

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Pořadí						

**Vstřebatelnost**

**Úkol 4.** Seřadte předložené vzorky podle vstřebatelnosti od nejlépe vstřebatelného (1) po nejhůře vstřebatelný (6). Pozn. 2 a více vzorků nesmí mít stejné pořadí.

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Pořadí						

**Pořadový test celkové preference**

**Úkol 5.** Seřadte předložené vzorky podle celkové preference od nejpřijatelnějšího (1) po nejmíň přijatelný (6). Pozn. 2 a více vzorků nesmí mít stejné pořadí.

Vzorek	V1218	V1219	V1220	V1221	V1222	V1223
Pořadí						

**Párová porovnávací zkouška**

Vzorky V1218 a V1223: Který vzorek má lepší texturu?

Vzorky V1218 a V1223: Který vzorek je lépe roztíratelný?

Vzorky V1218 a V1223: Který vzorek je lépe vstřebatelný?

Vzorky V1218 a V1223: Kterému vzorku dáváte přednost?

Vzorky V1218 a V1220: Který vzorek má lepší texturu?

Vzorky V1218 a V1220: Který vzorek je lépe roztíratelný?

Vzorky V1218 a V1220: Který vzorek je lépe vstřebatelný?

Vzorky V1218 a V1220: Kterému vzorku dáváte přednost?

Vzorky V1220 a V1223: Který vzorek má lepší texturu?

Vzorky V1220 a V1223: Který vzorek je lépe roztíratelný?

Vzorky V1220 a V1223: Který vzorek je lépe vstřebatelný?

Vzorky V1220 a V1223: Kterému vzorku dáváte přednost?

Vzorky V1223 a V1221: Který vzorek má lepší texturu?

Vzorky V1223 a V1221: Který vzorek je lépe roztíratelný?

Vzorky V1223 a V1221: Který vzorek je lépe vstřebatelný?

Vzorky V1223 a V1221: Kterému vzorku dáváte přednost?

Vzorky V1219 a V1222: Který vzorek má lepší texturu?

Vzorky V1219 a V1222: Který vzorek je lépe roztíratelný?

Vzorky V1219 a V1222: Který vzorek je lépe vstřebatelný?

Vzorky V1219 a V1222: Kterému vzorku dáváte přednost?

