

Chování chemických filtrů UV záření

Bc. Taťána Kožíková

Diplomová práce
2021



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Tatána Kožíková
Osobní číslo: T19458
Studijní program: N0711A130011 Biomateriály a kosmetika
Studijní obor: Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Chování chemických filtrů UV záření

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

Student postupně prostuduje a zpracuje tyto okruhy:

1. Vlastnosti UV světla a spojitost s kosmetikou.
2. Skupiny UV filtrů používaných v kosmetice.
3. Změny ve struktuře UV filtrů po ozáření.
4. Analytické metody pro stanovování UV filtrů.

II. Praktická část

Student provede:

1. Měření absorpčních spekter v UV oblasti v různých rozpouštědlech.
2. Vývoj chromatografických metod pro UV filtry.
3. Detekce změn UV filtrů po ozáření.

Seznam doporučené literatury:

- [1] BAREL, A. O., M. PAYE, H. I. MAIBACH. Handbook of cosmetic science and technology. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, c2009. ISBN 978-1-4200-6963-1.
- [2] AMPARO S., A. CHISVERT. Analysis of cosmetic products. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier, c2018. ISBN 978-0-444-63508-2.
- [3] PATTANAARGSON, S., T. MUNHAPOL, P. HIRUNSUPACHOT, P. LUANGTHONGARAM. Photoisomerization of octyl methoxycinnamate. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 2004, 161(2-3), 269-274. DOI: 10.1016/S1010-6030(03)00282-X.
- [4] HUONG, S. P., V. ANDRIEU, J.-P. REYNIER, E. ROCHER, J.-D. FOURNERON. The photoisomerization of the sunscreen ethylhexyl p-methoxy cinnamate and its influence on the sun protection factor. Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry. 2007, 186(1), 65-70. DOI: 10.1016/j.jphotochem.2006.07.012.
- [5] TARRAS-WAHLBERG, N., A. ROSEN, G. STENHAGEN, O. LARKO, A.-M. WENBERG, O. WENNERSTROM. Changes in Ultraviolet Absorption of Sunscreens After Ultraviolet Irradiation. Journal of Investigative Dermatology. 1999, 113(4), 547-553. DOI: 10.1046/j.1523-1747.1999.00721.x.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Ondřej Rudolf, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2021**
Termín odevzdání diplomové práce: **14. května 2021**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

Ve Zlíně dne 20. února 2021

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem na diplomové práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne: 11. 5. 2021

Jméno a příjmení studenta: Tat'ána Kožíková

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá chováním chemických filtrů ultrafialového záření. V teoretické části je charakterizováno UV záření, dále je zde uvedena klasifikace UV filtrů a jejich mechanismus absorpce záření. Převážná část teoretické části je poté věnována strukturálním změnám UV filtrů a analytickým metodám stanovení UV filtrů.

Praktická část byla věnována vývoji spektrofotometrických a chromatografických metod pro charakterizování a sledování vlastností UV filtrů. Převážná část praktické části je věnována plynové chromatografii, která byla využita k detekci jednotlivých UV filtrů a jejich pozměněných forem.

Klíčová slova: ultrafialové záření, UV filtry, fotodegradace, fotoizomerace, plynová chromatografie

ABSTRACT

The diploma thesis deals with the behaviour of chemical filters of ultraviolet radiation. In the theoretical part, UV radiation is characterized followed by the classification of UV filters and their mechanism of radiation absorption. The main part of theoretical part is devoted to structural changes of UV filters and to analytical methods for determining UV filters.

In the experimental part of the diploma thesis, the development of spectrophotometric and chromatographic methods for characterization and monitoring of UV filter properties was executed. The main part of the experimental part is devoted to the gas chromatography, which was used to detect individual UV filters and their altered forms.

Keywords: ultraviolet radiation, UV filters, photodegradation, photoisomerization, gas chromatography

Ráda bych na tomto místě poděkovala vedoucímu mé diplomové práce panu Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph.D., za jeho cenné rady, ochotu pomoci a čas, který mi věnoval při zpracování práce.

Dále bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za podporu a pevné nervy při psaní této diplomové práce.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 UV ZÁŘENÍ	11
1.1 UVA	11
1.2 UVB	12
1.3 UVC	12
2 UV FILTRY V KOSMETICE	14
2.1 ANORGANICKÉ UV FILTRY	15
2.2 ORGANICKÉ UV FILTRY	16
2.2.1 Mechanismus absorpce záření.....	17
2.2.2 Deriváty benzophenonu	20
2.2.3 Deriváty kyseliny skořicové/cinnamátý	20
2.2.4 Deriváty kyseliny salicylové	21
2.2.5 Deriváty dibenzoylmethanu	21
2.2.6 Deriváty kyseliny p-aminobenzoové.....	22
2.2.7 Deriváty kafru	22
2.2.8 Deriváty triazinu (triazone)	22
2.2.9 Deriváty benzotriazolu	22
2.2.10 Deriváty benzimidazolu	23
3 STRUKTURÁLNÍ ZMĚNY UV FILTRŮ PO OZÁŘENÍ	24
3.1 FOTOIZOMERACE.....	26
3.1.1 Degradace a fotoizomerace Octinoxate	28
3.2 FOTOLÝZA.....	29
3.3 DEGRADACE VYVOLÁNA DEZINFEKČNÍMI PROSTŘEDKY	30
3.4 STABILIZACE UV FILTRŮ.....	31
4 ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ UV FILTRŮ	34
4.1 KAPALINOVÁ CHROMATOGRRAFIE (LC).....	35
4.1.1 Screening UV filtrů v kosmetických přípravcích a kvantitativní stanovení pomocí HPLC EN 16344:2013	35
4.1.2 LC/UV metoda pro identifikaci a kvantitativní stanovení organických UV filtrů EN 17156:2018.....	36
4.2 PLYNOVÁ CHROMATOGRRAFIE (GC).....	36
4.3 SPEKTROSKOPICKÉ METODY.....	37
5 CÍL PRÁCE	39
II PRAKTICKÁ ČÁST	40
6 SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ABSORPČNÍCH SPEKTER V UV OBLASTI	41

6.1	POUŽITÝ MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	41
6.2	SAMOTNÉ MĚŘENÍ	42
6.3	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ MĚŘENÍ UV ABSORBANCE	42
7	DETEKCE UV FILTRŮ POMOCÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRFIE (GC)	51
7.1	POUŽITÝ MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	51
7.2	SAMOTNÉ MĚŘENÍ	53
7.3	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ	55
8	DETEKCE UV FILTRŮ POMOCÍ VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRFIE (HPLC)	70
8.1	POUŽITÝ MATERIÁL A PŘÍSTROJE.....	70
8.2	SAMOTNÉ MĚŘENÍ	70
8.3	VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ	71
	ZÁVĚR	75
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	77
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	85
	SEZNAM OBRÁZKŮ	88
	SEZNAM TABULEK.....	89
	SEZNAM PŘÍLOH.....	90

ÚVOD

V posledních letech se zvýšila poptávka po přípravcích, které ve svém složení obsahují filtry ultrafialového záření, zkráceně UV filtry. UV filtry jsou chemické látky chránící nejen uživatele, ale i různé materiály, obaly nebo kosmetické přípravky před negativními vlivy způsobenými UV zářením, které na naši zemi dopadá společně se slunečním zářením. Existují dva typy UV filtrů, které se od sebe liší mechanismem působení na UV záření. Jsou to anorganické filtry, které jsou schopny záření absorbovat, rozptylovat nebo reflektovat. Dále pak organické filtry, které UV záření absorbují a vyzáří jej jednak v jiné podobě, např. ve formě tepla, nebo projde molekula během absorbování UV záření konformační změnou. Konformační změny UV filtrů způsobené absorpcí záření mohou mít vliv na funkci těchto látek. Proto je nutné znát chemické chování filtrů po jejich vystavení UV záření.

Některé druhy UV filtrů prochází po vystavení UV záření změnami, např. fotodegradací, fotizomerizací, fototautomerizací, fotolýzou a dalšími chemickými reakcemi. Vedlejší produkty těchto reakcí mohou dále reagovat s dalšími složkami vyskytujícími se společně s filtry. Příkladem je Octinoxate (EHMC), který po vystavení záření podléhá fotoizomerizaci a přechází tak z komerčně používaného *E*-izomeru na *Z*-izomer, který má jiné fyzikálně-chemické vlastnosti. V dnešní době jsou stále vyvíjeny metody, jak UV filtry stabilizovat a chránit je před nepříznivými vlivy UV záření. Jedna z možností je kombinace více různých UV filtrů. Některé UV filtry jsou schopny stabilizovat ty méně stálé. Další možností je enkapsulace UV filtrů do lipidových částic nebo jejich kombinace s ovocnými extrakty, které zabraňují fotodegradaci.

Nezbytnou nutností je identifikace a sledování změn UV filtrů jak v životním prostředí, tak i v kosmetických přípravcích. Proto je důležité vyvíjet metody napomáhající k identifikaci a sledování vlastností UV filtrů. V dnešní době existují validované metody pro detekci UV filtrů v různých maticích/materiálech. Nejvyužívanější metodou detekce UV filtrů je kapalinová chromatografie (HPLC). Méně často se pak využívá plynová chromatografie. Absorpční vlastnosti UV filtrů jsou studovány pomocí spektroskopických metod.

V této diplomové práci byl proveden vývoj metod, spektrofotometrických i chromatografických, které jsou využívány k detekci UV filtrů v různých materiálech. Pomocí plynové a kapalinové chromatografie byla provedena detekce jak jednotlivých UV filtrů, tak i detekce pozměněné formy UV filtru EHMC. Rovněž byly sledovány vlivy UV filtrů na fotostabilizaci méně fotostabilního UV filtru.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 UV ZÁŘENÍ

Sluneční záření dopadající na zemský povrch je tvořeno více druhy záření, které jsou od sebe rozlišitelné dle jednotlivých vlnových délek. Zahrnuje ultrafialové záření, viditelné světlo a infračervené záření. Ultrafialové záření (UV) představuje část elektromagnetického záření s kratší vlnovou délkou než viditelné světlo, ale s delší vlnovou délkou než záření rentgenové. Jeho vlnová délka se pohybuje v rozmezí 100–400 nm. Jedná se o 10 % dopadajícího slunečního záření na zemský povrch. Dle vlnových délek je UV záření detailněji klasifikováno do tří kategorií: UVA, UVB a UVC záření. [1][2]

Intenzita dopadajícího UV záření v posledních letech stoupá, jelikož dochází k úbytku ozónové vrstvy. Ozónová vrstva má funkci částečné eliminace dopadajícího záření. Obdobnou funkci má i zvýšená prašnost prostředí. Na intenzitu záření má značný vliv i roční období, denní doba, zeměpisná šířka či nadmořská výška. [3]

Samotná expozice UV záření představuje v malé míře terapeutický efekt. UV záření se považuje za spouštěč produkce vitamínu D. Mimo to je s ním spjato také opálení pokožky, které je v dnešní době považováno za módní doplněk. Nicméně vysoká expozice tomuto záření bez ochranných pomůcek má negativní vliv na pokožku i zdraví člověka. Může se jednat o spálení pokožky s následnou tvorbou puchýřků, předčasné stárnutí kůže nebo tvorbu nádorových buněk vedoucích až k rakovině kůže. [2][4]

Zdrojem záření jsou horké předměty, jako je slunce. V dnešní době se vytváří i umělé zdroje, které jsou využívány v průmyslu nebo k rekreaci, jako například zdroje solárního zařízení. Ty využívají obloukové a plynové výbojky, které jsou naplněny plynem. Příkladem jsou rtuťové nebo xenonové výbojky tvořené křemenným sklem. [5][6][7]

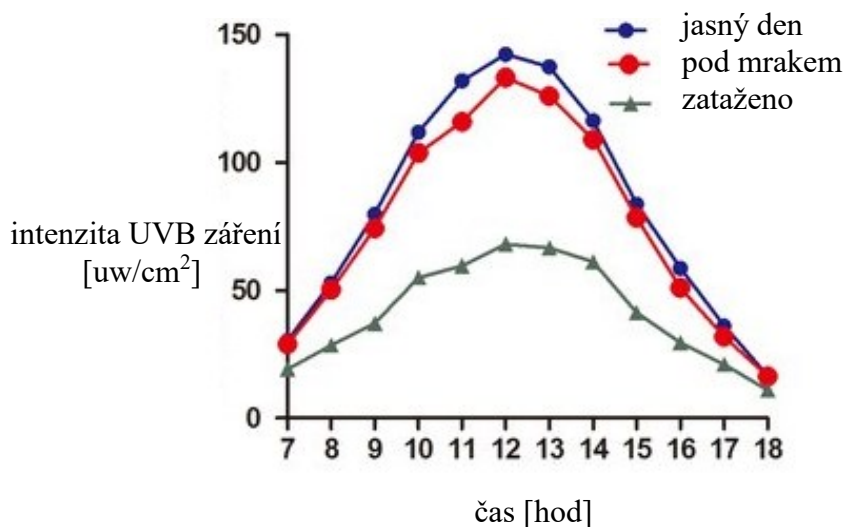
1.1 UVA

Představuje jednu ze tří kategorií, do kterých je UV záření děleno. Má nejdelší vlnovou délku, která se pohybuje v rozmezí 320–400 nm. Jedná se o vlnovou délku s nejnižší energií v UV spektru. Na zemský povrch dopadá nejvíc paprsků těchto vlnových délek v rozsahu UV záření. Záření tohoto typu snadno prochází sklem a mraky. Paprsky prostupují do hlubší vrstvy pokožky, konkrétně do dermis (obrázek 2). Vlivem těchto vlastností může docházet k předčasnému stárnutí kožních buněk. To souvisí s tím, že UV záření má vliv na degradaci elastinových a kolagenových vláken. UVA záření tak může podporovat tvorbu vrásek a také opálený vzhled pokožky. Při delším pobytu na tomto záření může docházet k poškození

DNA či buněk v těle a to mít za následek tvorbu nádorových buněk. Intenzita UVA záření bývá po většinu roku stabilní. [1][3][8]

1.2 UVB

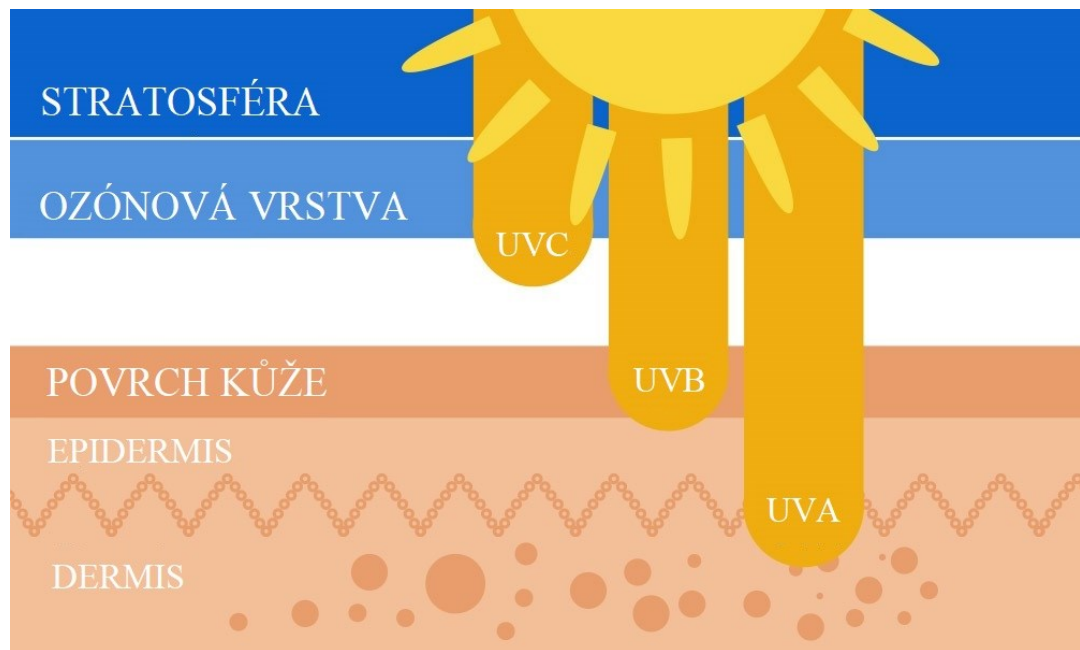
Další část UV záření se střední vlnovou délkou v rozmezí 280–320 nm. Značná část tohoto záření, až 90 %, je pohlcována ozónovou vrstvou. Zbylá část dopadá na zemský povrch. Středně dlouhá vlnová délka záření působí především na epidermis, svrchní část pokožky. To má za následek začervenání/spálení pokožky doprovázené tvorbou puchýřků nebo opálení pokožky. Jedná se o akutní účinek UVB záření. Začervenání se objevuje v rádech minut až hodin podle fototypu pokožky jedince. Záření typu UVB neproniká okenním sklem, může být pohlceno mraky (vodní párou). Během dne i ročního období intenzita záření kolísá. Nejsilnější intenzitu nabývá během jara a léta, dále pak ve vysokých nadmořských výškách a během dne mezi 10–16 hodinou, viz obrázek 1. [3][4][8]



Obrázek 1 Intenzita UVB záření během dne [upraveno dle [9]]

1.3 UVC

Ultrafialové záření C má nejkratší vlnové délky, ale zároveň nejvyšší energii. Jeho vlnová délka se pohybuje v rozmezí 100–280 nm. Tyto vlastnosti mohou poškodit jakýkoliv organismus. Naštěstí veškeré záření s touto vlnovou délkou je pohlcováno ozónovou vrstvou, tudíž nedochází k jeho dopadu na zemský povrch. Často se toto záření používá ke sterilizaci prostředí. [8]



Obrázek 2 Prostup UV záření [upraveno dle [10]]

2 UV FILTRY V KOSMETICE

Za filtry ultrafialového záření se v kosmetice využívají takové aktivní chemické látky, které se používají za účelem ochrany lidské pokožky před negativními vlivy ultrafialového záření. Dle Nařízení 1223/2009 Sb. o kosmetických přípravcích je UV filtr charakterizován jako: *„látko, která je výhradně nebo převážně určena k ochraně kůže před určitým ultrafialovým zářením prostřednictvím absorpce, odrazu nebo rozptýlení tohoto záření.“* [11][12]

Toto nařízení se týká všech zemí spadajících pod Evropskou unii a musí se jím řídit. V příloze VI nařízení 1223/2009 Sb. jsou uvedeny všechny povolené UV filtry v Evropské unii včetně jejich maximální koncentrace. V některých státech světa se UV filtry řadí do kategorie léků a léčiv. Jedná se především o USA, Austrálii či Nový Zéland. Zde spadají tyto látky pod asociace kontrolující léčiva. Ostatní státy jako Japonsko, Čína a především země Evropské unie řadí tyto látky do sekce kosmetických substancí. V různých státech světa mohou být povolené jiné druhy UV filtrů s rozdílnými koncentracemi. Příkladem nepovolených UV filtrů v EU, avšak povolených v jiných státech, může být kyselina p-aminobenzoová či Cinoxate. Ty jsou povoleny v USA i Japonsku. Dále pak třeba benzophenone-1 nebo benzophenone-2. Tyto dva jsou povoleny pouze v Japonsku. [4][11][13]

Jedná se o látky, které se přidávají do různých kosmetických formulací, nejčastěji označovaných jako sunscreensy či opalovací přípravky, které slouží převážně k ochraně spotřebitele před slunečním/ultrafialovým zářením. Kosmetický přípravek může být různé formulace, dle ní se také vybírají příslušné filtry. Jsou to různé emulze o/v či v/o, vodní spreje, krémy nebo oleje či balzámy na rty. Mělo by se jednat o látky fotostabilní, bez tvorby škodlivých meziproductů, schopné absorbovat světelnou energii. Látky by neměly pronikat do organismu. Přijatelné je jejich prostoupení do vyšších vrstev pokožky, kde mají plnit svou funkci. [2][4][14]

V dnešní době jsou UV filtry zakomponovány i do každodenní kosmetiky, ale ne v tak vysokém množství. Jedná se především o make-upy, vlasovou kosmetiku, rtěnky, denní krémy nebo báze pod make-up. Je důležité podotknout, že UV filtry se používají v kosmetice i za účelem ochrany samotného produktu, nikoliv jen ochrany spotřebitele. V tomto případě se UV filtry označují jako UV absorbéry. Jelikož působení UV záření má negativní vliv i na obalové materiály, a to především ty vyrobené z polymerů, jsou UV filtry přidávány do těchto materiálových směsí při výrobě. Jedná se o již zmíněné UV absorbéry, které chrání

polymerní látky před fotodegradací způsobenou UV zářením. Často jsou tyto absorbéry také přidávány do nátěrových barev, aby se zabránilo jejich podléhání nežádoucím změnám. Musí být voleny fotostabilní UV filtry, které samy vlivem působením UV záření nepodléhají fotodegradaci, příkladem je Homosalat nebo Octocrylen. [2]

Všechny chemické látky používané jako UV filtry musí projít testováním, o které se stará The Scientific Committee on Consumer Products (SCCP). Testuje se, zda jsou látky dostatečně účinné a zda nepředstavují riziko pro spotřebitele. [2]

V kosmetice se používají dvě skupiny UV filtrů, které se liší mechanismem působení a chemickým složením. Jedná se o organické a anorganické UV filtry. Dále je lze dělit podle rozpustnosti anebo dle toho, před kterým typem UV záření poskytují ochranu. V konečných kosmetických přípravcích se používá kombinace jak organických, tak anorganických filtrů a také kombinace filtrů chránících před UVA i UVB spektrem záření, tak aby byla zajištěna dostatečná ochrana spotřebitele. [2][11]

2.1 Anorganické UV filtry

Často nazývané a označované jako fyzikální UV filtry. Pracují na principu odrazu a rozptylu UV záření jak UVA, tak i UVB. Částice o menších rozměrech jsou schopny část záření absorbovat. Mechanismus funkce anorganických filtrů je vyobrazen na obrázku 3. Do skupiny anorganických filtrů spadají 2 typy, oxid titaničitý (TiO_2) a oxid zinečnatý (ZnO) a další oxidy kovů. Oba se mohou v kosmetice používat v nejvyšším přípustném množství a to 25 %. Mají vyšší ochrannou účinnost než organické filtry a nejsou rozpustné ve vodě. Vykazují menší toxický vliv na spotřebitele a po ozáření nepodléhají chemickým reakcím, proto jsou považovány za fotostabilní. Společností nejsou příliš vyhledávané, jelikož na pokožce vytváří bílý film. Kvůli tomuto problému došlo k převedení těchto látek na nanočástice, které na pokožce vytváří transparentní film, a proto jsou přijatelnější. [1][2][11][12]

- Oxid titaničitý (TiO_2) je látka vyskytující se ve třech krystalových modifikacích, jako anatas, rutil a brookit. Do kosmetických přípravků se používá nejčastěji forma anatasu a v menší míře rutilu. UV ochrana tohoto typu UV filtru je široká, pokrývá UVA i UVB oblast. Lze jej používat v kompozici samostatně. Často je však kombinován s oxidem zinečnatým. [15][16]

- Přírodní oxid zinečnatý (ZnO) je bílý, lehce nažloutlý prášek. V kosmetickém odvětví se používá synteticky připravený. Představuje nižší ochranu než oxid titaničitý. Vesměs se používá jako doplňkový UV filtr.[17]
- Nanočástice jsou částice s velikostí udávanou pod 100 nm. Kvůli své velikosti vykazují lepší vlastnosti lomu světla a na pokožce tak vytváří transparentní a lehce rozpustný povlak. Často jsou tyto rozměry částic spojovány s negativními účinky na lidský organismus, kdy hrozí proniknutí částic do organismu. To by mohlo vést k toxickému účinku. Značná část studií ukazuje, že jejich použití je bezpečné. Tyto látky se však nesmí používat ve sprejových kosmetických přípravcích. Jejich použití musí být na obalu vyznačeno příponou nano-. [13][15][16]

Nejčastěji se tato skupina filtrů přidává do dětské kosmetiky a do kosmetiky pro jedince s citlivou pokožkou, jelikož nevykazuje alergický potenciál a je šetrnější k pokožce. [15]

2.2 Organické UV filtry

Většinou známé jako chemické UV filtry, jelikož jsou vyráběny převážně synteticky. Pracují na principu pohlcení UV záření a konvertování tohoto záření na jiný druh energie, například teplo. Některé druhy chemických filtrů dokážou pracovat na principu rozptylu dopadajícího záření. Pro jejich vysokou molární absorptivitu se využívají k ochraně v širokém spektru UV záření. Používají se v kombinaci s více druhy UV filtrů, protože jeden druh neposkytne dostatečně vysokou ochranu SPF (sun protection factor) nebo absorpci širokého spektra UV záření. [1][18]

- Sun protection factor (SPF) určuje účinnost samotných opalovacích přípravků/sunscreenů. Hodnoty SPF udávají, jak dlouho je uživatel chráněn před UV zářením, než dojde k zarudnutí pokožky. Příklad: pokožka uživatele nechráněná UV filtry zčervená po 10 minutách vystavení slunečnímu záření. Při použití opalovacího přípravku s SPF 15 se tato doba prodlouží o 10×15 , tedy na dobu 150 minut. Nejedná se o přesnou teorii, navíc tyto časy jsou individuální a velmi záleží také na fototypu pokožky uživatele. SPF nesouvisí přímo s dobou sluneční expozice, ale s velikostí sluneční expozice tzn., kolik záření UV filtry absorbují při daném stupni ochrany. Aplikace přípravku na ochranu proti slunečnímu záření musí být opakována, aby došlo k zajištění dostatečné ochrany. [1][19]

Co se týče struktury organických UV filtrů, jedná se většinou o aromatické struktury s jedním nebo více aromatickými kruhy, které jsou konjugované dvojnými vazbami uhlík=uhlík (C=C), nebo karbonylovými skupinami. Tyto struktury jim umožňují absorbovat nebo rozptylovat UV záření. Do struktur jsou také zabudovány i elektrondonorní skupiny (amino- a methoxy-). Některé druhy jsou kvůli své struktuře fotonestabilní a při vystavení záření mění svoji strukturu. Fotonestabilita těchto filtrů může mít za následek produkci metabolitů, které nemají fotoprotektivní účinky, a ty mohou mít negativní vliv na organismus a vyvolávat alergické reakce. [11]

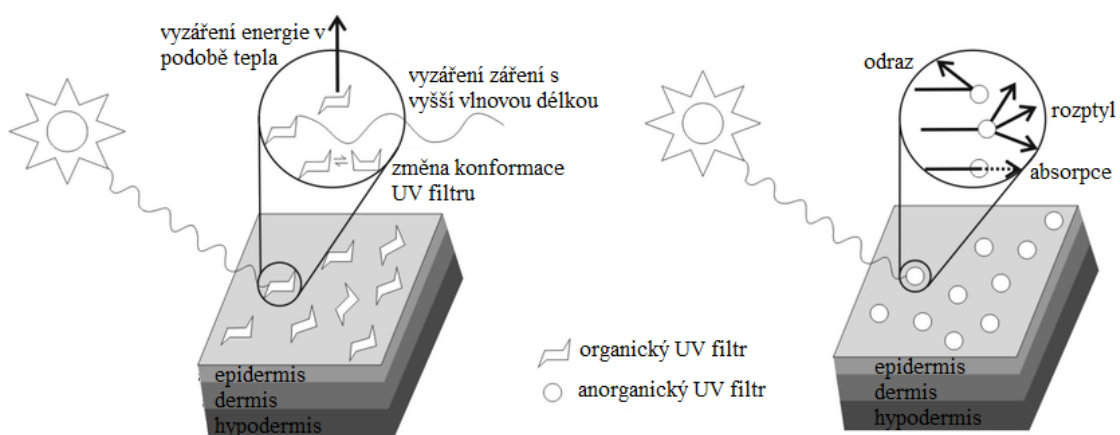
Většina chemických filtrů je rozpustná v tucích. Avšak některé látky, především ty obsahující sulfonové nebo karboxylové skupiny, jsou rozpustné ve vodě. Proto se UV filtry někdy dělí podle jejich rozpustnosti. Častěji se dělí podle spektra UV záření, které pohlcují, a to na UVA a UVB filtry nebo širokospektrální UV filtry, účinné proti UVA i UVB záření. Do skupiny organických UV filtrů spadají deriváty kafry, kyseliny salicylové, kyseliny skořicové, para-aminobenzoové kyseliny, deriváty benzofenonu a další. Celkový přehled UV filtrů používaných v EU je uveden v tabulce 1, kdy má jeden filtr více používaných názvů a zkratk, mnohdy záleží na autorovi literárního zdroje. [1][11][15]

Produkty obsahující chemické filtry by měly pronikat do určitých vrstev pokožky. Neměly by pronikat do krevního řečiště, ani lymfatického systému. [18]

2.2.1 Mechanismus absorpce záření

Pokud jsou sloučeniny vystaveny elektromagnetickému záření, absorbují jen záření o určitých vlnových délkách. Elektromagnetické paprsky interagují s UV filtry buď absorpcí, odrazem nebo rozptylem jejich energie. Anorganické UV filtry především odráží a rozptylují dopadající energii z paprsků, avšak mají částečnou schopnost pohlcení této energie. Organické UV filtry jsou aromatické sloučeniny s konjugovanými vazbami a se substituovanými skupinami v poloze „ortho“, které poskytují elektrony, anebo „para“, které naopak elektrony přijímají. Tyto struktury upřednostňují delokalizaci elektronů, a proto dochází po absorpci energie fotonů UV filtrem k přechodu z jeho základního stavu do stavu excitovaného. Jinak řečeno, organické UV filtry přijímají energii fotonů ze slunečního záření, respektive z UV záření. Když molekula absorbuje foton, elektrony v níže obsazeném molekulovém orbitalu přeskakují do vyšších molekulových orbitalů. Absorbovaná energie se tedy přenáší na elektrony, které přechází ze základního stavu do stavu excitovaného. Při návratu molekuly do základního stavu může docházet k několika reakcím, jak přeměnit

a vyzářit přebytečnou pohlcenou energii, viz obrázek 3. Zaprvé organické filtry mohou po příjmu energie z fotonu podstoupit konformační změnu. Další možností je emitovat záření s vyšší vlnovou délkou. Jednou z možností je také uvolnění energie v jiné podobě, například teplem. Poslední možností je přenesení energie na jinou molekulu vyskytující se v okolí. Mechanismu absorpce záření jednotlivých UV filtrů je důležitým parametrem, který je nutné znát při vývoji nových přípravků obsahující UV filtry, jelikož, jak již bylo zmíněno, určité UV filtry mohou podléhat různým chemickým reakcím, které změni jejich fyzikálně-chemické vlastnosti. [13][15][20][21]



Obrázek 3 Mechanismus působení UV filtrů na UV záření upraveno dle [15]

Tabulka 1 Přehled organických UV filtrů

Deriváty	INCI/USAN název	Zkratka	CAS	Maximální povolená koncentrace [%]	Molární hmotnost [g/mol]	Typ UV filtru
Benzophenone	Oxibenzone Sulisobenzone	BP3 BP4, BP5	131-57-7	6	228,25	UVA/UVB
			4065-45-6/ 6622-37-1	5	308,31	UVA/UVB
Kyseliny skořicové	Octinoxate Amitoxate	EHMC IMC	5466-77-3	10	290,4	UVA/UVB
			71617-10-2	10	248,32	UVB
Kyseliny salicylové	Homosalate Octisalate	HMS ES	118-56-9	10	262,36	UVB
			118-60-5	5	250,33	UVB
Dibenzoylmetanu	Avobenzone	BMDM	70356-09-1	5	310,39	UVA
Kyseliny p-aminobenzoové	p-aminobenzoová kyselina, PABA PEG-25 PABA Padimate O	PABA PDO	150-13-0		137,14	UVB
			116242-27-4	10	357,40	UVB
Kafru	Camphor benzalkonium methosulfate Ecamsule Benzylidene camphor sulfonic acid Polyacrylamidomethyl benzylidene camphor Enzacamene	CBM PDSA BCSA PBC 4MBC	52793-97-2	6	393,55	UVB
			92761-26-7/ 90457-82-2	10	562,70	UVA
Triazonu	Ethylhexyl triazone Isotrizinole Bemotrizinole	ET DBT BEMT	88122-99-0	5	823,07	UVB
			154702-15-5	10	766,00	UVB
Benzotriazolu	Drometrisole trisiloxane Bisotrizole	DRT MEBT	155633-54-8	15	501,80	UVA/UVB
			103597-45-1	10	658,88	UVA/UVB
Benzimidazolu	Ensulizole Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate	PBSA	27503-81-7	8	274,30	UVB
			180898-37-7	10	674,60	UVA
Ostatní	Octocrylene Polysilicone-15 Diethylamino hydroxybenzoyl hexyl benzoat Tris-biphenyl triazine	OCR TBT	6197-30-4	6	361,48	UVB
			20757-74-1	10	799,06	UVB
			302776-68-7	10	397,51	UVA
			31274-51-8	10	537,60	UVA/UVB

2.2.2 Deriváty benzophenonu

Do skupiny benzophenonů (BP) spadá široká škála UV filtrů (BP1, BP3, BP4, BP5, BP9 a BP12). Jsou to sloučeniny vyrobené z 2-hydroxybenzophenonu práškové/pudrové struktury. Mezi nejznámější a nejvíce používané filtry patří **Oxybenzone** (BP3), jinak známý jako benzophenone-3, a **Sulisobenzone** (BP4), známý jako **benzophenone-4**. Rozdíl v obou UV filtrech je v jejich substituentech, kdy BP4 má ve své struktuře zabudovanou sulfonovou skupinu. Pokud je ve struktuře BP4 zabudován sodný kationt, jedná se o sodnou sůl, jež je označována jako benzophenone-5 (BP5). Všechny tyto filtry jsou povoleny k použití v Evropské unii do koncentrace 6 % pro BP3 a 5 % pro BP4 i pro BP5. UV filtry benzophenového typu jsou široce používané v různých výrobcích osobní kosmetiky. Poskytují širokospektrální ochranu proti UV záření. Významnou pozitivní vlastností je jejich fotostabilita při dlouhodobém ozařování. To vede k jejich častému použití v ochranných opalovacích přípravcích či jiných kosmetických formulacích. Zvýšená spotřeba derivátů BP vede k jejich uvolňování do vodního prostředí, kde mají negativní dopad na mořský život. [4][12][16][22]

2.2.3 Deriváty kyseliny skořicové/cinnamáty

Tato skupina chemických filtrů je odvozená od kyseliny skořicové, a proto se často označují jako cinnamáty. V kosmetice, v přípravcích proti slunečnímu záření se jedná o jedny z nejvíce používaných látek. Spektrum absorpce UV záření této skupiny derivátů je v oblasti UVB záření. Proto jsou označovány jako UVB filtry. Často jsou spojovány s fotosenzibilizací pokožky, kdy po aplikaci a reakci se slunečním zářením vytváří podráždění na pokožce. V značné míře jsou využívány jako UV absorbéry, jež chrání ostatní kosmetické přípravky před UV zářením. [23]

- **Octinoxate**

Octinoxate je hlavním zástupcem skupiny derivátů kyseliny skořicové. Vzhledem k jeho vlastnostem patří k nejčastěji používaným filtrům v kosmetice. Dle INCI názvu se jedná o **Ethylhexyl methoxycinnamate** (EHMC). Celosvětově používaný chemický filtr, jehož maximální povolená koncentrace v EU činí 10 %. Jedná se o chemický filtr, který často podléhá fotodegradaci, přesněji fotoizomerizaci. To je způsobeno jeho strukturou, kdy *E*-izomer, komerčně používaný, prochází po ozáření transformací a mění se na *Z*-izomer (více v kapitole 3). [4][12][13]

- **Octocrylene**

UV filtr, který chemicky spadá do skupiny derivátů kyseliny skořicové (cinnamátů). Jedná se o ester, který vzniká reakcí 3,3,-difenylkyanoakrylátu s 2-ethylhexanolem, chemicky nazývaný jako 2-ethylhexyl 2-kyano-3,3-difenylalrylat. Díky své struktuře jde o hydrofobní látku, což představuje dobrou voděodolnost. Jedná se o UV filtr, který především absorbuje záření v oblasti UVB, méně pak krátké vlnové délky UVA. Do přípravků k ochraně proti slunečnímu záření se používá v koncentraci do 10 % a nejčastěji v kombinaci s Avobenzenem, kdy přispívá k jeho stabilizaci a zvýšení ochrany. Nejčastěji se používá do přípravků, které neslouží primárně k ochraně proti slunečnímu záření, ale spíše za účelem ochrany samotného přípravku před UV záření.

Octocrylen je často spojován s fotoalergickým potenciálem a s rizikem vlivu na endokrinní systém, a to kvůli prostupu této látky přes kůži do lymfatického systému. Studie v posledních letech však uvedly, že rizika spojována s vlivem na endokrinní systém jsou zanedbatelná, jelikož povolená maximální koncentrace není tak vysoká, aby došlo k značnému ovlivnění. [4][13][24]

2.2.4 Deriváty kyseliny salicylové

Skupinu derivátů kyseliny salicylové tvoří dva významné chemické UV filtry, **Octisalate (ES)**, dle INCI Ethylhexyl salicylate a **Homosalate**. Absorbují záření v oblasti od 300–310 nm a jsou považovány za slabé UVB filtry. Obvykle se používají k doplnění funkcí jiných UV filtrů. Jedná se o stabilní a ve vodě nerozpustné látky. ES je ester, vznikající reakcí kyseliny salicylové s 2-ethylhexanolem. Maximální povolená koncentrace v EU dle nařízení 1223/2009 činí 5 %. ES je s jeho dobrou fotostabilitou a značnou rozpustností jedním z často užívaných filtrů v opalovacích krémech. Homosalate vzniká reakcí kyseliny salicylové s 3,3,5-trimethylcyclohexanolem. Je jedním z nejvíce používaných chemických UV filtrů, jelikož se kumuluje ve svrchní vrstvě pokožky *Stratum corneum*. V Evropské unii činí jeho maximální možná použitelná koncentrace 10 %. [4][12][13][14]

2.2.5 Deriváty dibenzoylmethanu

Skupina UV filtrů, do které spadá jeden z nejvíce používaných filtrů, a to **Avobenzone (BMDM)**. Dle názvosloví INCI se jedná o **Butyl methoxydibenzoylmethan**. BMDM má vysoký účinek proti UVA záření. Maximální povolená koncentrace v EU je do 5 %. Fyzikální formu má v podobě bílých až nažloutlých krystalků. Uváděná maximální absorpce

nastává při vlnové délce 357 nm. Na slunci se jedná o ne příliš fotostabilní látku, proto se do konečných přípravků používá v kombinaci s jinými fotostabilními filtry. Často jsou s tímto filtrem spojovány alergické reakce a poškození kůže. [4][12][13]

2.2.6 Deriváty kyseliny p-aminobenzoové

Kyselina p-aminobenzoová (PABA) a její derivát **Padimate O** (octyl dimethyl PABA) jsou jedny z nejdéle používaných chemických UV filtrů. Další derivát, používaný v EU jako chemický UV filtr, je **PEG-25 PABA**. Dle nařízení 1223/2009 je jejich nejvyšší povolená koncentrace 5 % pro PABA, 8 % pro Padimate O a 10 % pro PEG-25 PABA. V kosmetice se především používají na ochranu proti UVB záření. Chemické složení jim zajišťuje rozpustnost ve vodě. V posledních letech kvůli tvorbě kožních iritací (kožní dermatitidě) využití kyseliny p-aminobenzoové klesá a místo toho je nahrazována výše zmíněnými deriváty. Samotná kyselina p-aminobenzoová byla ze seznamu povolených UV filtrů vyřazena kvůli její fotonestabilitě a vysoké tvorbě fotoalergických reakcí. [4][12][13]

2.2.7 Deriváty kafru

V Evropské unii se jedná o jednu z nejvíce zastoupených skupin chemických UV filtrů. Zatímco ve Spojených státech je jejich používání zakázáno, v nařízení 1223/2009 lze najít 5 derivátů. Jsou rozpustné v tucích či oleji a jsou vysoce fotostabilní díky jejich rigidní struktuře, což je i důvodem, proč jsou tak často využívány. Nejznámější a nejpoužívanější je **Enzacamene**, dle názvosloví INCI známý jako **4-Methylbenzylidene camphor**. Absorbuje záření v oblasti UVB a jeho maximální povolená koncentrace činí 4 %. Další deriváty s koncentracemi jsou uvedeny v tabulce 1. [4][12][13]

2.2.8 Deriváty triazinu (triazone)

Další skupina chemických UV filtrů absorbující záření především v oblasti UVB. Díky jejich struktuře jsou vysoce fotostabilní. Obvykle jsou využívány i v jiných kosmetických přípravcích pro jejich ochranu. V nařízení 1223/2009 jsou uvedeny deriváty **Iscotrizinol** a **Bemotrizinol**, komerčně označovaný jako Tinosorb S. Jednotlivé koncentrace uvedených filtrů jsou zaznamenány v tabulce 1.[4][12][13]

2.2.9 Deriváty benzotriazolu

Skupina se dvěma zástupci, **Dométrizole trisiloxane** a **Bisotrizole**, který je komerčně označován jako Tinosorb M. Tinosorb M se vyrábí ve formě mikro jemných částic. Pokud

dojde k použití těchto jemných částic, označuje se tento filtr příponou nano. Jedná se o další ze skupiny nano filtrů, jelikož jsou jeho částice menší než 100 nm. Oba filtry poskytují širokospektrální ochranu. Maximální povolené koncentrace v EU jsou uvedeny v tabulce 1. [12][25]

2.2.10 Deriváty benzimidazolu

Skupina UV filtrů, jež jsou rozpustné ve vodě. V nařízení 1223/2009, které platí pro Evropskou unii, je zde povoleno používat pouze 2 chemické **Ensulizole (PBSA)** a **Disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate**. Povolená koncentrace pro PBSA činí 8 %. Tento filtr poskytuje ochranu především proti UVB záření a v malé míře proti UVA. Zatímco disodium phenyl dibenzimidazole tetrasulfonate absorbuje záření v oblasti UVA. Maximální koncentrace tohoto filtru je dle nařízení 10 %. Oba UV filtry jsou relativně fotostabilní. [4][12][16]

3 STRUKTURÁLNÍ ZMĚNY UV FILTRŮ PO OZÁŘENÍ

Látky používané jako UV filtry, především ty chemické, by měly prokazovat fotostabilní účinky při vyšší intenzitě nebo delší době ozařování. Často bývá tvrzeno, že UV filtry jsou fotostabilní látky, což není zcela pravda. Fotostabilita je charakteristická vlastnost jednoho filtru. Jedná se o schopnost UV filtru absorbovat dopadající záření, aniž by došlo ke strukturálním a funkčním změnám. Fotostabilita UV filtru napomáhá zachování jeho fotoprotekčních účinků po expozici slunečnímu záření. Pokud dojde k poklesu těchto účinků, dochází ke snížení ochranné funkce pokožky před dopadajícím zářením.

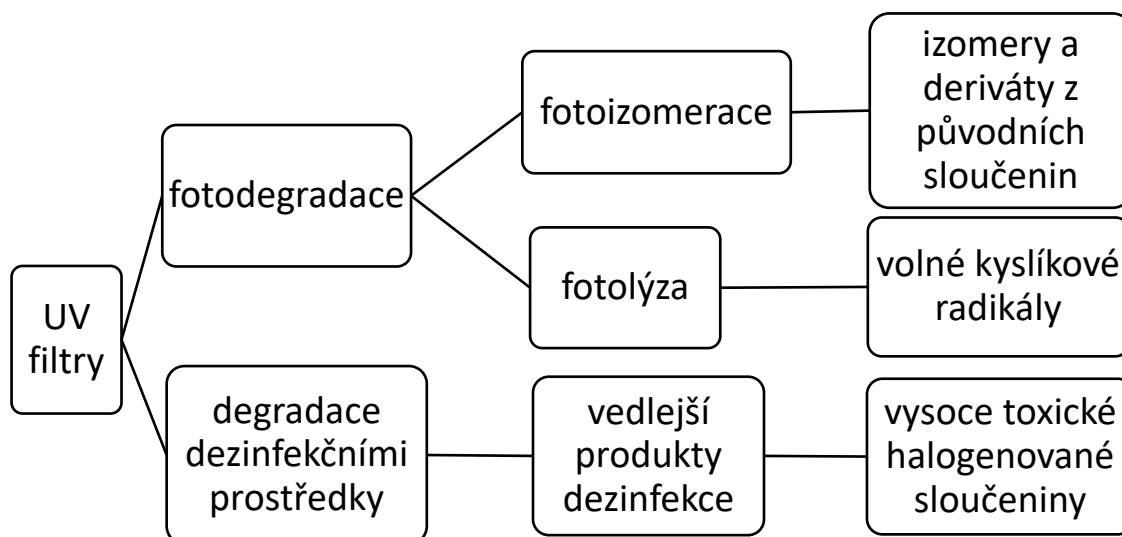
Organické UV filtry jsou většinou látky s jedním nebo více aromatickými kruhy s konjugovanými vazbami uhlík=uhlík ($C=C$) nebo s karbonylovými skupinami. Vlivem těchto struktur může docházet k útlumu energetického přenosu fotonů. Proto mohou chemické UV filtry podléhat fotochemickým/fotodegradačním změnám ve struktuře. Vedlejšími produkty těchto změn mohou být látky, které vznikají postupnou fotodegradací UV filtrů. Tyto vedlejší produkty mohou být nebezpečné, proto je důležité UV filtry stabilizovat další podpůrnou látkou. Někdy může docházet k reakci mezi UV filtry a fragmenty degradovaných UV filtrů. Fotochemické reakce mohou značně měnit fyzikálně-chemické vlastnosti UV filtrů. Jednou ze změn je snížení absorpčního koeficientu, nebo naopak jeho zvýšení. Dále je to tvorba nepříznivých produktů, které se hromadí na povrchu těla.

Ke všem těmto změnám dochází v momentě, kdy je UV filtr vystavený slunečnímu záření. Respektive v momentě, kdy absorbuje energii ze záření, anebo při kontaktu s dezinfekčními prostředky, např. chlórem v bazénech. Při absorbování UV záření UV filtrem dochází k excitaci molekuly, která absorbovala velké množství energie. UV filtry musí být schopné po vystavení slunečnímu záření nejen absorbovat energii, ale také ji zpětně uvolnit. Excitovaný UV filtr vybudí absorbovanou energii velmi rychle, v jiné formě, např. ve formě tepla, při přechodu do původního stavu. Pokud není UV filtr schopný přeměnit absorbovanou energii dostatečně rychle, zůstává molekula v excitovaném stavu a podléhá nežádoucím fotochemickým/fotodegradačním reakcím. Při těchto reakcích dochází ke vzniku tepla, které je způsobeno vibrací mezi sousedními molekulami. Čím větší teplo vzniká, tím je rychlost přeměny energie vyšší. S rychlostí přeměny energie roste samotná fotostabilita UV filtrů, tzn., že při vyšší rychlosti přeměny energie je UV filtr fotostabilnější. Absorpce UV záření chemickým filtrem může způsobit destrukci chromoforů a tím vést ke

snížení nebo ke ztrátě jeho schopnosti absorbovat energii prostřednictvím fotodegradačních procesů, fragmentací a tvorbou volných radikálů. [14][25][26][27][28][29]

Teoreticky by se proces absorpce, přechodu do excitovaného stavu a opětovného vyzáření energie, měl několikrát opakovat, ale existují i jiné formy rozptylování absorbované energie, které mohou být pro UV filtr destruktivní. Mezi možné fotochemické reakce, vznikající v důsledku neuvolnění pohlcené energie, patří např. fotoizomerace nebo fotolýza (obrázek 4). V některých případech se může jednat o reverzibilní reakce, které jsou ovšem ojedinělé. Spíše se jedná o nevratné změny chemické struktury. V lepším případě může docházet k eliminaci jeho schopnosti absorbovat energii ze záření. [27][28][30][31]

Fotostabilita konečných přípravků, ve kterých je použito více UV filtrů, se odvíjí od množství nestabilních UV filtrů a jejich kombinací. Fotostabilní vlastnost UV filtrů je dále ovlivněna i typem použitých rozpouštědel, intenzitou záření, pH prostředím, teplotou, koncentrací a dalšími složkami, využívanými v konečné formulaci. V současné době neexistuje žádná validovaná metoda pro hodnocení fotostability UV filtrů. Existují však metody, které umožňují odhadnout fotoprotektivní účinnost UV filtrů a jejich kombinací. [14][28][32]



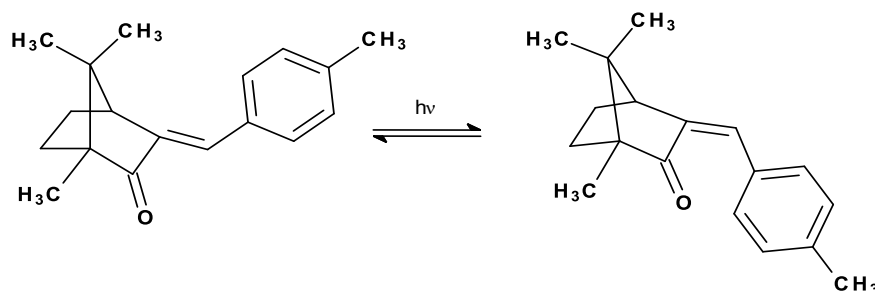
Obrázek 4 Schéma procesu degradace UV filtrů [upraveno dle [29]]

Samotná fotostabilita se posuzuje experimentálními pokusy, jako je ozařování UV filtrů speciální lampou, která simuluje sluneční záření. Jedná se o solární komoru, která produkuje potřebné záření ve zvolených vlnových délkách při určité teplotě. Jako zdroj záření je nejčastěji využívána xenonová lampa, která simuluje sluneční záření. Je bráno v potaz, že na fotostabilitu má vliv intenzita použitého záření, než samotná doba ozařování. [33]

3.1 Fotoizomerace

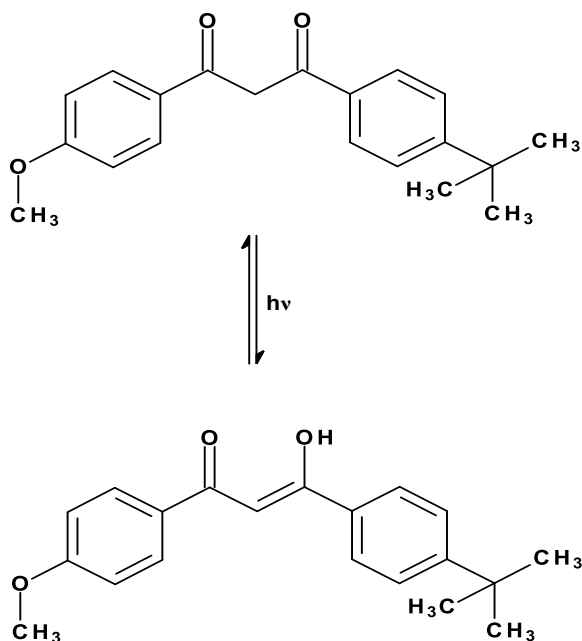
Jedná se o formu izomerace, ke které dochází po předchozím ozáření UV filtrů slunečním zářením. Při reakci dochází ke změně uspořádání atomů v molekule, avšak nemění se jejich počet. Vznikají příbuzné struktury, které mohou být potencionálně toxičtější a škodlivější. U fotoizomeračních změn dochází ke změně fyzikálně-chemických vlastností. Tento poznatek se týká především cinnamátů, salicylárů, derivátů kafru nebo dibenzoylmethanu. Do skupiny fotoizomeračních reakcí patří nejznámější izomerie a to *E/Z* izomerace a dále pak tautomerizace. [29]

Co se týče *E/Z* izomerů, nejčastěji se používají *E*-izomery chemických UV filtrů, jelikož vykazují vyšší molární absorpční koeficient oproti svým *Z*-izomerům. Nicméně vlastností některých druhů *E*-izomerů je, že jsou méně stabilní. Proto po absorpci dostatečného množství energie podléhají izomerizaci a přechází do své druhé formy, a to *Z*-izomeru. Studie prokázaly, že při vystavení slunečnímu záření některé druhy UV filtrů přechází ze svého účinnějšího *E*-izomeru na *Z*-izomer. Větší výskyt *Z*-izomerů snižuje účinnost daného filtru, dochází ke změně jeho fyzikálně-chemických vlastností. Jedním z UV filtrů vyskytujícím se v izomerii *E/Z* je Enzacamen (4MBC). Jedná se o izomery, které jsou chirální, a tvoří tak enantiomery, které se od sebe liší svým prostorovým uspořádáním, tzn., že spolu netvoří zrcadlové obrazy. Mohou se projevovat podobnými fyzikálně-chemickými vlastnostmi, ale mohou se lišit v biologických účincích. Po ozáření 4MBC a jeho izomeraci z *E*-izomeru na *Z*-izomer (obrázek 5) zůstává zachována celková koncentrace, která je součtem obou izomerů. [30][34][35][36]

Obrázek 5 Izomerace Z-4MBC na E-4MBC¹

Jak již bylo zmíněno, další možnou změnou struktury chemických UV filtrů je tautomerní přesmyk. Při této reakci dochází k tvorbě keto-enol tautomerii. Jedná se o rovnovážnou reakci, kdy z ketonu vzniká enol forma a opačně. K tomuto přesmyku dochází při použití UV filtru Avobenzon (BMDM). Komerčně se BMDM využívá v enol-formě, která je výhodná, jelikož absorbuje záření v oblasti UVA. Po ozáření enol-formy dochází k tautomerizaci této formy a k přechodu na keto-formu (obrázek 6). Přesněji dochází k přesunu elektronů vlivem nahromadění nadměrného množství energie ze záření. To představuje značnou ztrátu absorpce BMDM v oblasti UVA, jelikož keto-forma tohoto filtru absorbuje UVC záření. BDMD je jeden z UV filtrů, který je z 50–90 % fotodegradován po hodině vystavení UV záření. Aby tato reakce nebyla ještě více urychlena, neměl by se kombinovat s UV filtry, které mají taktéž nízkou fotostabilitu, např. Octinoxate. V tomto případě dochází ke vzniku nové sloučeniny, která ztrácí schopnost ochrany před UVA i UVB zářením. [25][32][37]

¹ Jednotlivé struktury byly vytvořeny v programu BIOVIA Draw 2019



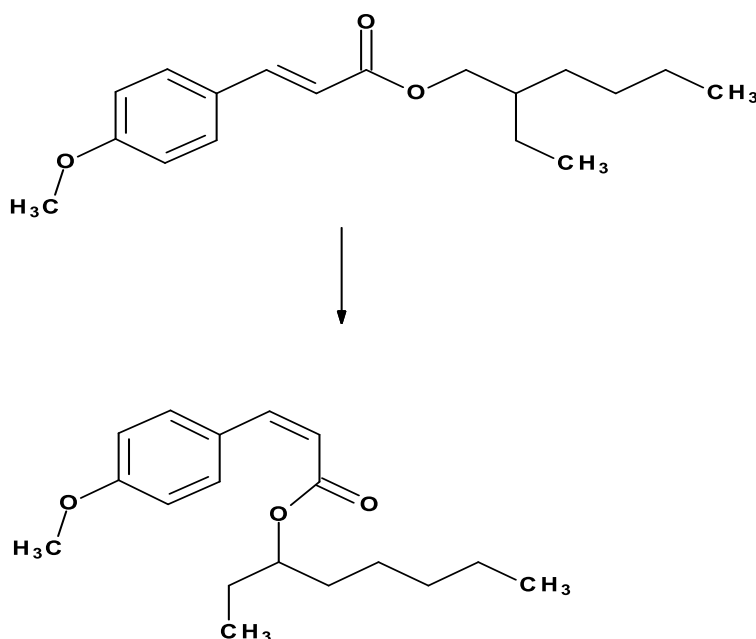
Obrázek 6 Keto-enol tautomerizace

BMDM

3.1.1 Degradace a fotoizomerace Octinoxate

Octinoxate (EHMC) je jeden z chemických UV filtrů, který se kvůli své struktuře vyskytuje ve dvou izomerech. Stabilnější *E*-izomer se používá jako UV filtr. Jeho *Z*-izomer, který vzniká po ozáření slunečním zářením z *E*-izomeru (obrázek 7), má nižší molární absorpční koeficient (molární absorpční koeficient pro *E*-EHMC je přibližně $22000\text{--}24000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$ a pro *Z*-EHMC přibližně $12000\text{ M}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$), proto jej lze využít do jiných kosmetických prostředků, než jsou opalovací přípravky. EHMC podstupuje fotoizomerizaci po vystavení vlnovým délkám delším než 300 nm. Oba izomery mají podobné až stejné vlnové délky, při kterých absorbují záření. Ovšem rozdíl je v jejich míře absorpce, jak již bylo zmíněno. Po vystavení slunečnímu záření a tvorbě izomerů, podléhá EHMC dále fotodegradaci a tvoří produkty jako 4-methoxybenzaldehyd (4MBA) a 2-ethylhexanol (2EH). Ty dále mohou dimerizovat v různé cyklodimery. Tyto produkty mají různé toxické účinky na buněčné úrovni. Dále mohou senzibilizovat singletový kyslík, ale tento mechanismus není zcela prozkoumán. Izomery mohou podléhat další degradaci a tvořit tak vedlejší produkty, které ztrácí svoji funkci. K tvorbě izomerů a snížení absorpce částečně dopomáhají i rozpouštědla, ve kterých je UV filtr rozpuštěný. Další možná fotodegradace EHMC je způsobována dezinfekčními prostředky, především chlórem v bazénech. [26][34][38][39][40]

Sharma a spol. se zabývali genotoxickými vlivy *E* a *Z*-EHMC. Izomer *Z*-EHMC představoval vyšší genotoxické účinky ve všech zkoumaných koncentracích. Prokázalo se i značné poškození DNA, které bylo vyvoláno tímto izomerem při koncentraci $2 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$. Z těchto poznatků lze odvodit, že *Z*-EHMC má negativní vliv na lidský organismus, proto je jeho použití v konečných přípravcích nežádoucí. [26]



Obrázek 7 Izomerace Octinoxate
z *E*-izomeru na *Z*-izomer

3.2 Fotolýza

Fotolýza je způsob strukturní změny, kdy molekula absorbující záření disociuje na reaktivní fragmenty, volné radikály, nebo reaktivnější meziproducty. Dochází k produkci reaktivních fotooxidantů, které obsahují reaktivní kyslíkové radikálky ROS (např. hydroxylový, peroxylový nebo volný kyslíkový radikál). Jedná se o reaktivní formy, které mohou napadat a interagovat s vysokou škálou biomolekul, především s kožními složkami (lipidy, proteiny a nukleonovými kyselinami). Tyto interakce mohou vést k tvorbě nových molekul s neznámými toxikologickými vlastnostmi. Fotolýza je poměrně složitá řada reakcí, které mohou být vyvolány přímými nebo nepřímými cestami. K přímé fotolýze dochází při absorpci záření specifickými částmi UV filtru, označující se jako chromofory. Zatímco k nepřímé fotolýze dochází po absorpci záření jinými strukturami nebo sloučeninami než UV filtrem, označující se jako fotosenzibilizátory. Ty následně vyvolávají transformaci nebo fotodegradaci UV filtrů. Rychlost fotolýzy a celkový průběh je ovlivněn podmínkami

prostředí, ve kterém ke změně dochází. K ovlivnění značně přispívají i další látky, které proces mohou urychlit nebo jej naopak zpomalit.

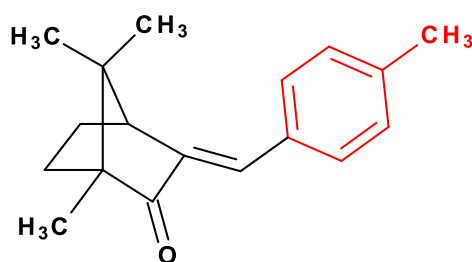
Přítomnost dusičnanů ve vodě, reaktivních forem dusíku (RNS), má také vliv na fotodegradaci benzophenonových derivátů. Fotolýza dusičnanu (NO_3^-) vede k tvorbě volných radikálů jako je hydroxylový radikál (OH^\bullet), radikál oxidu dusného (NO^\bullet) a radikál oxidu dusičitého (NO_2^\bullet). Jejich přítomnost má vliv na rychlost fotodegradace Benzophenonu-1 (BP1), kdy dochází k rychlejší fotodegradaci UV filtru. V přítomnosti dusičnanů může UV filtr podstoupit čtyři možné cesty degradace, v závislosti na přítomném radikálu. Jedná se o hydroxylaci, nitrosylaci, nitraci a dimerizaci. Různé cesty degradace mají vliv na produkci vedlejších produktů, které mohou mít negativní dopad. Na rychlost fotodegradace má vliv koncentrace dusičnanů, kdy se jedná o přímou úměru mezi těmito parametry. Dále pH prostředí, kdy v alkalických prostředích je fotodegradace rychlejší než v kyselých. Jednou z možností zpomalení nebo zamezení fotolýzy je přidavek látek, které vychytají reaktivní kyslíkové radikály (ROS). Jedná se o isopropylalkohol (IPA), jelikož jeho přítomnost v prostředí s BP1 snížila rychlost degradace tohoto UV filtru. Jeho účinnost byla vyšší i oproti *terc*-butylalkoholu (TBA), který také vychytává ROS. [28][29][31][34][41]

3.3 Degradace vyvolána dezinfekčními prostředky

Proces dezinfekce transformuje organické sloučeniny ve vodě a vytváří se tak vedlejší produkty dezinfekce, především chlorované vedlejší produkty. Uvádí se, že tyto sloučeniny jsou významně toxické, nejen v rozsahu karcinogenity, ale také genotoxicity a cytotoxicity. Kombinací UV filtrů a chlorovaných dezinfekčních prostředků ve vodním prostředí dochází vlivem UV záření k chemickým reakcím mezi těmito látkami. Po ozáření dochází k fotodegradaci látek, které následně spolu mohou reagovat a produkovat tak toxičtější vedlejší produkty. [29]

Jedním z možných příkladů je fotodegradace Enzacamenu (4MBC) v přítomnosti volného chlóru. Jelikož chlór absorbuje sluneční záření o vlnových délkách 300 nm, existuje zde spojitost, že sluneční záření spouští fotochemické reakce za vzniku degradačních produktů chlóru, jako jsou reaktivní druhy chlóru (např. Cl^\bullet a ClO^\bullet). Tyto látky mohou reagovat s UV filtry a jinými kontaminanty ve vodě. Do značné míry reaktivní druhy chlóru ovlivňují degradaci 4MBC. Lai a spol. [36] ve své práci zkoumali vliv těchto druhů chlóru na strukturu 4MBC. Výsledky srovnávali se samotným kafrem. To odhalilo, že kafrová struktura

v 4MBC nebude podstatným místem reakce s reaktivními druhy chlóru. K reakci nejspíš dochází na 4-methylstyrenové skupině (obrázek 8), která je ve struktuře 4MBC. Tyto reakce následně vedou k fotodegradaci 4MBC následujícími cestami: hydroxylací, substitucí chlóru, oxidací a demethylací. Rychlost fotodegradace 4MBC je ovlivněna podmínkami prostředí. V přítomnosti slunečního záření a volného chlóru je fotodegradace rychlejší. Dále je rychlost ovlivněna koncentrací přítomných látek, při vyšší koncentraci chlóru je rychlost fotodegradace vyšší. To je nejspíš způsobeno přítomností vyššího množství reaktivních látek. Tyto reakce také ovlivňuje pH prostředí, které má vliv především na disociaci volného chlóru. Rychlost fotodegradace klesá při zvyšování pH prostředí, tím pádem je rychlost fotodegradace v alkalických podmínkách pomalejší, než v kyselých podmínkách. Co dále ovlivňuje degradaci 4MBC v bazénech jsou složky vodního prostředí, jako je přítomnost HCO_3^- a rozpuštěné organické látky. Produkty těchto degradací mohou být toxické látky, které mohou mít negativní dopad na živé organismy přítomné v prostředí.



Obrázek 8 4MBC s výrazněnou 4-methylstyrenovou skupinou

3.4 Stabilizace UV filtrů

Jelikož je změna struktury chemických UV filtrů nežádoucím procesem při jejich ozáření, je potřeba tyto látky stabilizovat. Některé UV filtry prokazují v kombinaci s jinými UV filtry pozitivní synergický účinek ochrany a stabilizaci méně stabilních UV filtrů. Pod tyto UV filtry spadá Octocrylen, který například stabilizuje Avobenzon. Někdy dochází ke snížení stability kombinací UV filtrů, proto je doporučováno využít do formulace látky, které UV filtry stabilizují.[24]

Další možnou stabilizací chemických UV filtrů je použití extraktu z hroznových jader. Využitím tohoto extraktu se zabývali Martincigh a Ollengo ve své studii [42] o stabilizování tří chemických UV filtrů. Ve studii používají chemické filtry Octinoxate (EHMC), Oxybenzone (BP3) a Avobenzon (BMDM). Filtry byly vystaveny umělému slunečnímu

záření jako čisté látky v rozpouštědle, tak i s příměsí extraktu z hroznových jader. Doba ozařování byla od 30 minut do 240 minut. Ve stanovených časových intervalech byly odebrány vzorky, které byly spektrofotometricky měřeny. Všechny testované UV filtry vykazovaly lepší fotostabilitu s příměsí extraktu z hroznových jader. Při přimíchání extraktu došlo také k rozšíření absorpčního spektra. Při prvním přeměření UV filtrů s extraktem, po 30 minutách, docházelo k mírnému poklesu absorpce záření. Během dalších měření již nedocházelo k žádným dalším poklesům. Lze tedy předpokládat, že došlo ke stabilizaci UV filtrů a že extrakt z hroznových jader má značný vliv na stabilitu těchto UV filtrů. Je důležité podotknout, že měření bylo prováděno na čistých látkách, tím pádem nelze říci, že tato účinnost bude stejná při zařazení extraktu do finálního komerčního přípravku. Zde se to bude odvíjet od použité formulace samotného přípravku.

UV filtr se musí stabilizovat tak, aby nedošlo ke ztrátě jeho účinnosti. Jednou z možností je jeho enkapsulace do polymeru nebo jiných látek.[35] Scalia a Mezzena [43] ve svém výzkumu zkoumali, zda má enkapsulace UV filtru Avobenzonu (BMDM) do lipidových mikročástic vliv na jeho stabilitu. Zvolený UV filtr BMDM byl také kombinován s UVB filtrem Octocrylenem (OCR). Porovnávali mezi sebou několik kombinací, jak enkapsulaci BMDM a OCR do lipidových mikročástic, tak jen zabudování BMDM do lipidových mikročástic a OCR ponechán jako volný v připravené emulzi. Ověření stabilizačního účinku bylo srovnáno s UV filtry, které nebyly enkapsulovány do lipidových mikročástic. Podmínky experimentu byly pro obě stanovení stejné. Lipidové mikročástice byly připraveny z tristearinu, anebo glycerylbehenátu a povrchových aktivních látek (PAL), jako je hydrogenovaný fostatidylcholin a poloxamer 188. Nejpomalejší uvolňování BMDM a OCR bylo dosaženo v případě lipidových mikročástic připravených z glycerylbehenátu v kombinaci s poloxamerem 188. To naznačuje lepší zabudování UV filtrů do struktury mikročástic, proto byla většina výzkumu prováděna právě s těmito částicemi. Experimenty odhalily, že enkapsulovaný UV filtr BMDM v kombinaci s OCR podléhá nižší fotodegradaci, čímž se zajišťuje zlepšení jeho fotostability. Co se týče kombinace enkapsulovaného pouze BMDM a volného OCR, zde fotostabilita nebyla významně zvýšena, jako u dříve zmíněného. Důvodem je, že při společné enkapsulaci dochází k efektivnějšímu přenosu energie z BMDM na OCR. Také ověřili, zda má enkapsulace UV filtrů do lipidových mikročástic vliv na snížení ochranného slunečního faktoru (SPF). Stanovení probíhalo *in vitro* a nebylo pozorováno žádné významné snížení ochranného slunečního faktoru.

Další možností stabilizace UV filtru je použití antioxidantů, jelikož antioxidanty neutralizují účinky reaktivních forem kyslíku. Některé antioxidanty (vitamín C a E) prokazují fotoprotektivní účinky. [40]

Chaudhuri a spol. [44] se ve své práci zabývali možnou stabilizací UV filtru Avobenzonu (BMDM) pomocí antioxidantu Diethylhexyl syringylidenemalonátu (DESM). Jedná se o látku, která má značný vliv na eliminaci volných kyslíkových radikálů. Klíčovými vlastnostmi DESM je jednak hydroxylová skupina, která potlačuje vliv volných kyslíkových radikálů na UV filtr, a také benzyldenemalonátová funkční skupina, která činí molekulu chemicky stabilní a pomáhá stabilizovat fotocitlivé látky. Ve studii byl srovnán Avobenzon s DESM. Nejprve byla vzorkům změřena transmitance před ozáření. Vzorky byly vystaveny umělému záření a následně byla stanovena transmitance těchto vzorků. BMDM bez přídavku DESM měl sníženou transmitanci, zatímco BMDM s přídavkem DESM si zachoval značnou stabilitu transmitance v porovnání se vzorkem před ozáření. Proto je vhodné jej využít ke stabilizaci BMDM a snad i jiných fotonestabilních UV filtrů. DESM je dle toxikologických studií neškodný pro lidské zdraví, proto je bezpečný pro použití v kosmetických přípravcích.

Poslední studie se zabývají stabilizací UV filtru, především EHMC a jeho zabudováním do mikroemulzí olej ve vodě. Mikroemulze jsou transparentní a termodynamicky stabilní systémy, které mají velikost kapiček v rozmezí od 10 do 200 nm. Tyto emulze představují výhody, jako je dlouhotrvající uvolňování aktivních látek (UV filtrů), dále pak také ochranu méně stabilních látek před fotodegradací vyvolanou UV záření. Je nutné brát v úvahu, že stabilita UV filtrů je ovlivněna podmínkami skladování samotných UV filtrů nebo přípravků obsahující UV filtry. Doporučuje se UV filtry uchovávat v netransparentních obalech, nejlépe ve tmě a při nižších teplotách. Byly provedeny testy stability UV filtrů v závislosti na obalovém materiálu. Kompozice skladovány v kovových tubách vykazovaly dobrou stabilitu při skladování při pokojové teplotě. Podobné výsledky stability byly získány u kompozic skladovaných v plastových obalech, avšak při teplotách vyšších než 35 °C byly pozorovány změny. Nejčastěji jsou přípravky obsahující UV filtry uchovávány v plastových neprůhledných obalech, aby vlivem UV záření nedocházelo k jejich zbytečné fotodegradaci. Některé je možné nalézt v tmavých skleněných lahvích. [42][45][46]

4 ANALYTICKÉ METODY STANOVENÍ UV FILTRŮ

Pro stanovení a identifikaci UV filtrů musí být vhodně voleny analytické metody. Tyto metody musí být spolehlivé a znovu reprodukovatelné s obdobnými výsledky pro pozdější analýzy. Analytické metody pro stanovení UV filtrů jsou nezbytné ke kontrole množství používaných UV filtrů, stanovení jejich vedlejších produktů. Kvůli potenciální bioakumulaci UV filtrů v tkáních jsou tyto metody používány k jejich detekci ve tkáních.

UV filtry jsou ve svých formulacích kombinovány s dalšími látkami, což zapříčiňuje jejich stanovení přímým měřením bez předchozí separace. Jednou z možných metod izolace UV filtrů z různých formulací je extrakce. Nejčastěji se provádí extrakce na pevné fázi (SPE). Tato metoda se většinou používá při analýze UV filtrů ve vodě. Jako sorbenty, které zachycují analyt, se používají monomerně vázané sorbenty oxidu křemičitého, dále pak polymerní sorbenty. Při použití UV filtrů v přípravcích na opalování je potřeba zamezit jejich rychlému rozpuštění ve vodě. Proto jsou často do polárnějších molekul začleněny hydrofobnější struktury, které zamezují rozpuštění těchto látek ve vodě. Proto se pro jejich extrakci z vody často používá dichlormethan (DCM) nebo ethyl-acetát. Dále lze UV filtry získat extrakcí kapalina-kapalina (LLE). Nevýhodou těchto dvou extrakcí je vysoká spotřeba rozpouštědel. Další nevýhoda je časová náročnost těchto metod. V posledních letech dochází k náhradě těchto dvou metod metodou mikroextrakce. Při mikroextrakci dochází ke snížení množství zkoumaného vzorku i potřebného rozpouštědla. Taktéž by měla být snížena doba prováděné zkoušky. Takto extrahované analyty podstupují další analytické metody stanovení. Ke stanovení lze použít chromatografické metody, ať už kapalinovou (LC), tak i plynovou (GC) či tenkovrstvou kapalinovou chromatografii (TLC). Všechna tato stanovení jsou do značné míry ovlivňována molární hmotností a těkavostí samotné stanovené látky. [2][11][31][47][48]

Využívané metody pro stanovení UV filtrů jsou dle mezinárodní normy analytických metod pro kosmetiku EN 16344:2013 screening UV filtrů v kosmetických přípravcích a kvantitativní stanovení 10 UV filtrů pomocí vysoce účinné kapalinové chromatografie (HPLC). Dále pak EN 17156:2018 LC/UV metoda pro identifikaci a kvantitativní stanovení 22 organických UV filtrů používaných v kosmetických přípravcích v Evropské unii. Jedná se o evropské standardy. Mezi další možné metody stanovení UV filtrů patří i spektroskopické metody nebo elektrochemické techniky. [11]

4.1 Kapalinová chromatografie (LC)

Kapalinová chromatografie (LC) patří mezi nejčastěji používané chromatografické metody. Jedná se o techniku, která si poradí i s těkavými sloučeninami. Jelikož jsou UV filtry látky s relativně vysokými teplotami varu, je tato metoda upřednostňována oproti plynové chromatografii. Obvykle se u této metody používá reverzní fáze za použití modifikovaných silikagelových kolon, přičemž je silikagel pozměněn oktadecylem (C18). Jako mobilní fáze se používají směsi vody s acetonitrilem, methanolem nebo tetrahydrofuranem (THF) buďto s izokratickou nebo gradientovou elucí. Nověji jsou používány i směsi ethanol-voda, které přispívají k ekologičtějším (princip zelené chemie) analytickým metodám. Při použití LC s normální fází se jako mobilní fáze používají hexan, ethyl-acetát a aceton. Důležitým parametrem u LC s normální fází je teplota, která může ovlivnit retenční časy jednotlivých UV filtrů a jejich separaci. Kvůli vysoké schopnosti UV filtrů absorbovat UV záření se jako detektor používá nejčastěji spektrometrický UV/VIS detektor. Lze použít i detektor diodového pole (DAD), který umožňuje přehled o celém UV spektru pro každé maximum, především ve vodných roztocích. Rovněž lze použít i detektor hmotnostní spektrometr (MS). Ten je využíván při detekci vedlejších produktů UV filtrů, které vznikají jejich fotodegradací. Taktéž je vhodný pro detekci nízkých koncentrací UV filtrů. Jednou z rozšířených možností kapalinové chromatografie je tandemová s hmotnostní spektrofotometrií. Tato metoda se využívá k detekci kontaminantů v životním prostředí, např. zbytků UV filtrů ve vodě. [2][11][47][49]

4.1.1 Screening UV filtrů v kosmetických přípravcích a kvantitativní stanovení pomocí HPLC EN 16344:2013²

U této metody se používá HPLC s reverzní fází a s gradientovou elucí k detekci 10 UV filtrů, používaných především v kosmetických přípravcích na bázi emulzí a ve sprejích. Pro kvalitativní stanovení UV filtrů se jako detektor používá spektrofotometrický detektor (UV), nebo detektor diodového pole (DAD). Oba tyto detektory se využívají pro látky absorbující v oblasti UV záření. UV spektra jsou porovnávána se spektry v databázi. Měření je prováděno při vlnové délce 300 nm a 350 nm.

Nejprve jsou z kosmetického přípravku extrahovány UV filtry směsí aceton:methanol. Následně jsou připraveny kalibrační roztoky těchto filtrů dle jejich polarity. Polární filtry jsou rozpuštěné v methanolu, středně polární ve směsi aceton:methanol (1:1) a nepolární UV

² Veškeré detaily a podmínky analýzy nebylo možné dohledat, jelikož nejsou normy veřejně dostupné

filtry jsou rozpuštěny v THF. Následně je 100 mg vzorku převedeno do baňky a rozpuštěno směsí acetonu s methanolem. Různé kombinace UV filtrů mohou vyžadovat upravená rozpouštědla na jejich rozpuštění. Gradientová eluce mobilní fáze se skládá z vodného roztoku lauryl trimethyl amonium bromidu (LTAB), bromidu amonného a kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA) ve vodě. Organická fáze je složena z LTAB a bromidu amonného v ethanolu (EtOH). [11][50]

4.1.2 LC/UV metoda pro identifikaci a kvantitativní stanovení organických UV filtrů EN 17156:2018

Analytická metoda založená na kapalinové chromatografii (LC) se UV/VIS spektrometrickou detekcí pro kvantitativní stanovení 22 organických UV filtrů.

U této metody se kosmetický vzorek zváží a rozpustí v EtOH. U špatně rozpustných kompozic si lze pomoci ultrazvukovou lázní nebo vortex. Následně jsou odebrána potřebná množství vzorku, která se zředí příslušnými rozpouštědly v závislosti na jejich polaritě. Skupiny rozpustné ve vodě jsou smíchány se směsí EtOH s acetátovým pufr. Skupiny rozpustné v tucích a v EtOH a navíc polymerní skupiny (polysilikon-15) jsou rozpuštěny v THF. Následně jsou takto připravené roztoky měřeny pomocí LC s UV/VIS detektorem při ustanovení různých chromatografických podmínek. Jednou z podmínek je použití kolony. Pro vodou rozpustné systémy je používána kolona s reverzní fází a mobilní fáze EtOH acetátový pufr. Skupiny rozpustné v tucích jsou stanoveny také pomocí kolony s reverzní fází a s mobilní fází ze směsi EtOH a kyseliny mravenčí, která obsahuje hydroxypropyl- β -cyklodextrin. Pro polymerní skupiny jsou používány kolony, které eluují v závislosti na velikosti. Jako mobilní fáze je zde použitý THF. [11][51]

4.2 Plynová chromatografie (GC)

Plynová chromatografie (GC) je další z chromatografických metod, které lze využít ke stanovení nebo identifikaci UV filtrů. GC metoda je málo používaná, jelikož podmínkou pro stanovení je dostatečná těkavost a termostabilita. Pokud jsou UV filtry špatně těkavé, nebo by po nástřiku mohly být absorbovány, je potřeba je derivatizovat, tzn. upravit vlastnosti stanovovaného UV filtru, aby byla dosažena jeho lepší detekce či separace. Jedná se např. o zvýšení citlivosti detekce nebo usnadnění identifikace. Principem derivatizace za použití derivatizačních činidel je náhrada aktivního vodíku příslušnou částí činidla. Vlivem této reakce dochází k pozměnění fyzikálně-chemických vlastností cílené látky. Na derivatizaci

se používají derivatizační činidla, pro GC metodu se jedná o silylační, acylační a alkylační činidla. Silylační činidla reagují s látkami, které ve své molekule obsahují funkční skupiny s aktivním vodíkem (-SH, -OH). Acylační činidla reagují s vysoce polárními funkčními skupinami, proto jsou využívány převážně pro derivatizaci sacharidů nebo aminokyselin. Alkylační činidla jsou využívána převážně na úpravu těkavosti aminů, jelikož reagují s volným aktivním vodíkem a s volným aktivním vodíkem kyselých hydroxylových skupin. Metoda je doporučována pro látky s nízkou polaritou. Jako detektor se využívá plamen-ionizační detektor (FID) nebo detektor hmotnostní spektrometrie (MS). [2][48][49]

4.3 Spektroskopické metody

Spektroskopie je vědní disciplína zabývající se studiem interakce mezi hmotou a elektromagnetickým zářením. Jedná se o studium absorpčních charakteristik hmoty, když je vystavena záření. Do této vědní disciplíny se řadí spektrometrie či spektrofotometrie. Spektroskopické metody jsou méně často využívané metody. Nejčastěji se využívají jako detektory při chromatografických stanovení. [52]

Spektrometrie

Metoda studující měření konkrétního spektra, při které dochází po absorpci záření ke změně rotačně vibračních energetických stavů molekul. Jsou tak získána spektrální data, ze kterých lze vyčíst strukturální vlastnosti a informace o zkoumané látce. Spektrometrie je široce využívána pro spektroskopickou analýzu vzorků a materiálů. Jako nástroje se využívají spektrometry, které se používají k měření fyzikálních charakteristik v daném spektru. Spektrometr měří vlnovou délku a frekvenci světla. To nám umožní identifikovat a analyzovat atomy ve vzorku. Spadá sem hmotnostní spektrometrie (MS), chemiluminiscence (CL), nukleární magnetická rezonance (NMR), anebo Ramanův rozptyl. [2][11][52]

Spektrofotometrie

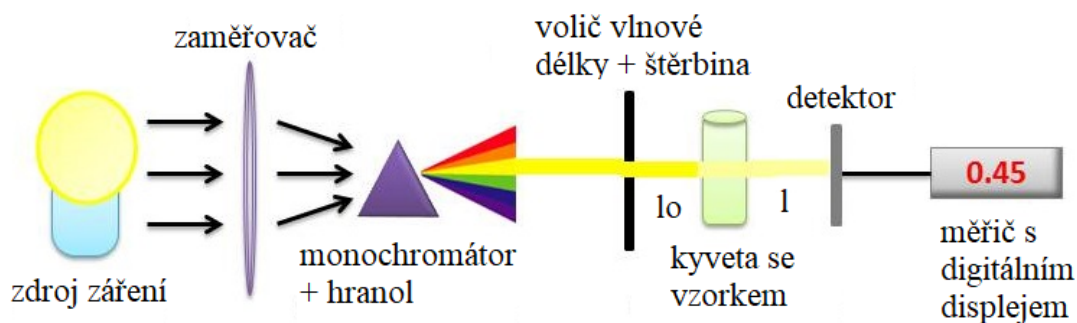
Spektrofotometrie je jeden z oborů spektroskopie. Zabývá se kvantitativním studiem spekter, tzn. měřením množství pohlceného, odraženého či propuštěného záření v závislosti na vlnové délce. Kvantitativní analýza u UV/VIS spektrofotometrii se řídí Lambert-Beerovým zákonem, který určuje míru absorpce záření studovaným vzorkem. [53]

U spektrofotometrického stanovení dochází k ozařování vzorku v kyvetě monochromatickým světlem (vybranou oblastí vlnových délek). Záření je vzorkem

absorbováno a detektor měří intenzitu záření, které nebylo vzorkem absorbováno. Množství absorbovaného záření je úměrné koncentraci látky zkoumaného vzorku. Tudíž se tato metoda zabývá převážně kvantitativním stanovením vzorků. Zdrojem záření spektrofotometru bývají nejčastěji halogenové výbojky nebo vhodné žárovky. Ty se ale využívají pro spektrum v oblasti infračerveného nebo viditelného záření. Pro oblast UV záření se využívají deuteriové nebo vodíkové výbojky.

Jedná se převážně o UV/VIS spektrofotometrii. Tato metoda se používá k měření absorbance světla v oblasti ultrafialového a viditelného záření (oblast vlnových délek od 185–400 nm pro UV a 400–700 nm pro VIS). Absorpce záření v této oblasti způsobí atomovou excitaci. UV/VIS spektrofotometr měří intenzitu procházejícího světla vzorkem a srovnává tuto intenzitu s referenčním vzorkem. [54]

Pro spektrofotometrickou metodu je podstatná volba oblasti vlnových délek, po kterou bude vzorek měřen. Pokud není známa maximální vlnová délka pro stanovovaný UV filtr, je vhodné zvolit takovou oblast vlnových délek, která zaznamenává celou UV oblast. Dále je nutno volit vhodné rozpouštědlo. Takové, které v dané oblasti neabsorbuje dopadající záření. [55]



Obrázek 9 Schéma spektrofotometru [upraveno dle [55]]

5 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši zaměřenou na vlastnosti UV záření, vypracovat přehled chemických UV filtrů, jejich vlastností a funkcí. Dále byly charakterizovány strukturální změny UV filtrů vznikající po ozáření. Cílem teoretické části byla taktéž charakteristika metod používaných při studiu a stanovování UV filtrů.

Cíle praktické části byly:

- spektrofotometrické stanovení absorpčních spekter pomocí UV/VIS spektrofotometru,
- vývoj metody kapalinové chromatografie (LC) pro detekci UV filtrů,
- vývoj metody plynové chromatografie (GC) pro detekci UV filtrů,
- sledování vlivu simulovaného slunečního záření na fotostabilitu UV filtrů s detekcí na GC,
- vyhodnocení dat s diskuzí.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 SPEKTROFOTOMETRICKÉ STANOVENÍ ABSORPČNÍCH SPEKTER V UV OBLASTI

Při spektrofotometrickém stanovení dochází k absorpci dopadajícího záření vzorkem. Pomocí spektrofotometrického stanovení lze stanovit kvantitativní množství vzorku. Při spektrofotometrickém stanovení námi zvolených UV filtrů byla získána absorpční spektra, kdy by maximální hodnota absorpance měla odpovídat hodnotě vlnové délky, při které UV filtr maximálně absorbuje UV záření. Pomocí získaných absorpčních spekter můžeme srovnat data z různých vědeckých prací, kde prováděli obdobná měření za použití např. jiných rozpouštědel.

6.1 Použitý materiál a přístroje

Pro stanovení bylo vybráno 11 chemických UV filtrů uvedených v tabulce 2.

Tabulka 2 Přehled použitých UV filtrů pro spektrofotometrickou analýzu

Název UV filtru	Zkratka	Výrobce – Dodavatel	Navážka [mg]
Avobenzone	BMDM	SynCare	100,1
Oxybenzone	BP3	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	99,9
Benzophenone-1	BP1	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	100,0
Octinoxate	EHMC	SynCare	110,0
Bemotrizinol	EMT		99,8
Octisalate	ES	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	100,0
Ethylhexyl triazon	ET		100,7
Enzacamene	4MBC	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	100,2
Bisotrizole	MBT	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	100,3
Padimate-O	PDO	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	102,7
Octocrylene	OCR	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	101,7

Laboratorní fotometr WTW photoLab® 6600 UV-VIS

Samotné měření probíhalo na laboratorním přístroji WTW photoLab® 6600 UV-VIS, který je majetkem univerzity.

Dále bylo použito laboratorní sklo jako odměrné baňky a pipety.



Obrázek 10 Přístroj WTW photoLab® 6600 UV-VIS

6.2 Samotné měření

Příprava roztoků

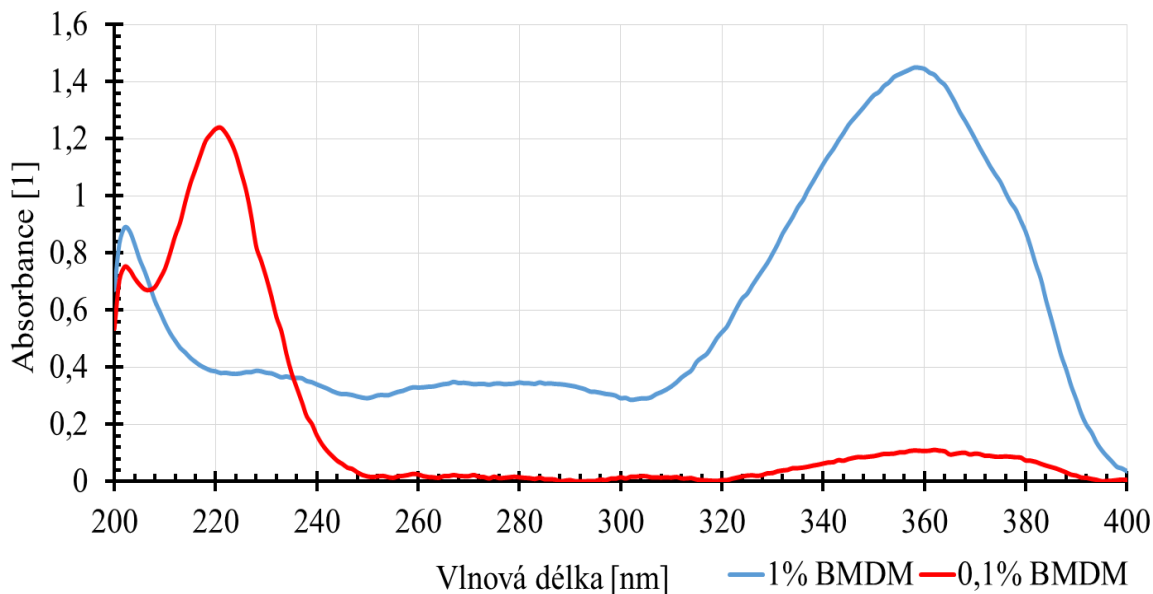
Nejdříve byly připraveny 1% roztoky jednotlivých UV filtrů jejich rozpuštěním v 96% EtOH. Do 10ml odměrné baňky bylo odváženo 100 mg UV filtru a doplněno EtOH. Špatně rozpustné látky byly zahřáty po krátkou dobu na elektrickém vařiči. Následně byly připravené 1% roztoky proměřeny na UV spektrometru. Poté byly z původního 1% roztoku připraveny další roztoky o nižší koncentraci postupným ředěním (0,1%, 0,01% a 0,001%). Důvodem byla výrazně vysoká absorbance více koncentrovaných roztoků.

Individuální vzorky jednotlivých koncentrací byly změřeny pomocí přístroje photoLab® UV-VIS s použitím křemenné kyvety. Křemenná kyveta byla zvolena z toho důvodu, že v oblasti UV-VIS neabsorbuje procházející záření. Oblast měření byla navolena od 200 do 400 nm.

6.3 Vyhodnocení výsledků měření UV absorbance

Na obrázku 11 lze vidět graf závislosti absorbance na vlnové délce. Jedná se o absorpční spektra pro dvě koncentrace (1% a 0,1% roztok) Avobenzonu (BMDM). V oblasti mezi 200 až 220 nm se objevuje pík, který patří rozpouštědлу EtOH, jelikož absorbuje záření v oblasti 210 nm, jedná se o tzv. cut off rozpouštědla. Maximální absorbance byla odečtena

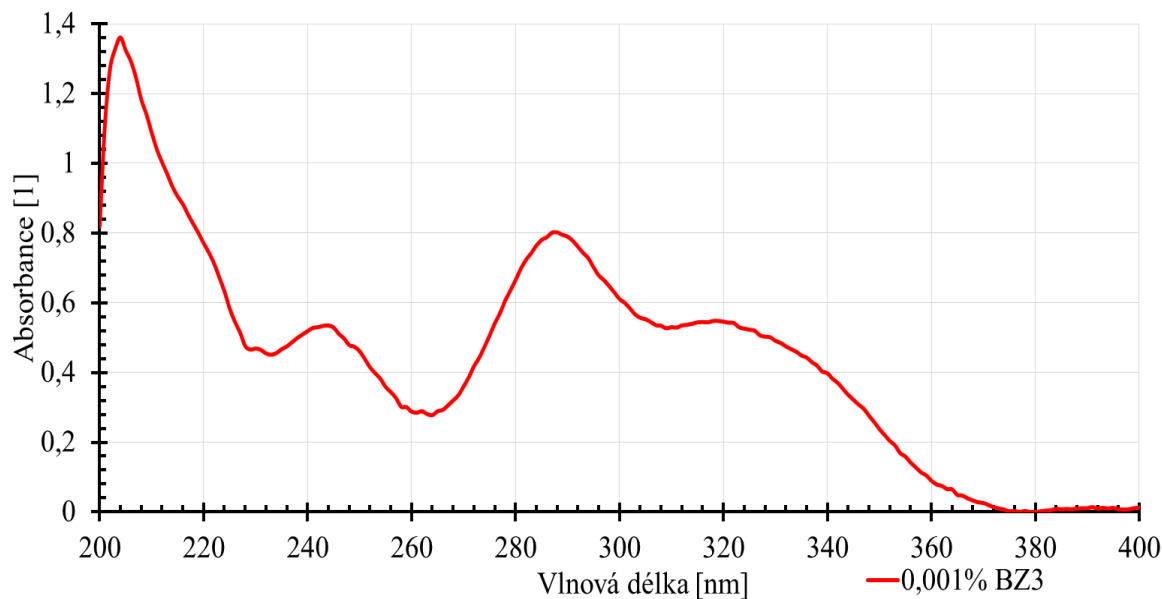
při vlnové délce $\lambda_{\max} = 358$ nm pro 1% roztok. Pro 0,1% roztok se maximální absorbance posunula k $\lambda_{\max} = 362$ nm.



Obrázek 11 Graf závislosti absorbance na vlnové délce BMDM

Ve vědecké práci [56] Dondi a spol. se uvádí, že při měření nastává jejich maximální absorbance při vlnové délce tohoto UV filtru v oblasti 350–360 nm. Tuto teorii jsme si potvrdili naším měřením, kdy se vlnová délka pohybovala v rozmezí 356–362 nm. Výsledná hodnota vlnové délky je do značné míry ovlivněna použitým rozpouštědlem.

Výsledky byly srovnány se starším měřením, které prováděl pan Rudolf z Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Pro své měření použil dva roztoky, THF a EtOH. Maximální absorbance nastala při 360 nm v rozpouštědle THF a při 359 nm v EtOH.

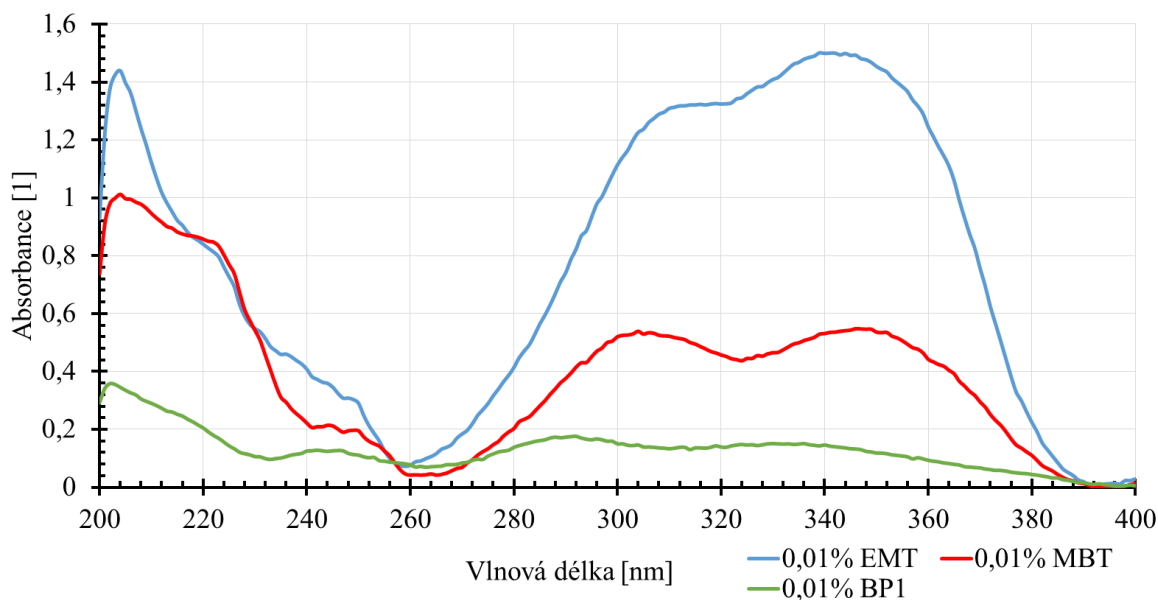


Obrázek 12 Graf závislosti absorpce BP3 na vlnové délce

U BP3 bylo vyhodnoceno pouze absorpční spektrum pro 0,001% roztok, jelikož u vyšších koncentrací byly hodnoty absorpce výrazně vyšší než 1, proto nebylo možné změřit absorpční spektrum. Jak je z grafu závislosti na obrázku 12 patrné, BP3 má dvě absorpční maxima. Jedno při vlnové délce $\lambda_{\max 1} = 288 \text{ nm}$ a $\lambda_{\max 2} = 319 \text{ nm}$. Důvodem je, že BP3 patří do skupiny širokospektrálních UV filtrů. Výsledky byly taktéž srovnány se starším měření, které prováděl pan Rudolf z Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně. Při svém měření použil jako rozpouštědlo opět EtOH. Maximální absorpce byla stanovena kolem 290 nm pro oblast UVB a 325 nm pro oblast UVA. Malé odchylky měření mohou být způsobeny kalibrací přístroje nebo čistotou rozpouštědla. Rozdíl v měření byl také v hodnotách absorpce, což není pro toto měření patrné, jelikož hodnoty absorpce jsou ovlivněny koncentrací měřeného roztoku.

Ve vědecké práci Gonzáleze-Arjona a spol. [57] uvádí, že maximální absorpce BP3 v oblasti UVB záření je při vlnové délce 288 nm. Jako rozpouštědla použili methanol, cyklohexan a dimethylsulfoxid. K podobnému výsledku jsme dospěli při našem měření v EtOH. Co se týče maximální absorpce v oblasti záření UVA, v práci Gonzáleze-Arjona a spol. k ní došlo v rozmezí vlnových délek od 320 do 330 nm. Ve srovnání s naším výsledkem jsme schopni si tuto teorii potvrdit, jelikož u nás k maximální absorpanci došlo při vlnové délce 319 nm a to při použití EtOH jako rozpouštědla.

Následující obrázek 13, graf závislosti absorpance na vlnové délce, srovnává UV spektra tří rozdílných UV filtrů o stejné koncentraci. Všechny tři uvedené UV filtry spadají do kategorie širokospektrálních UV filtrů a obsahují dvě absorpční maxima.



Obrázek 13 Graf závislosti absorpance EMT, MBT a BP1 na vlnové délce

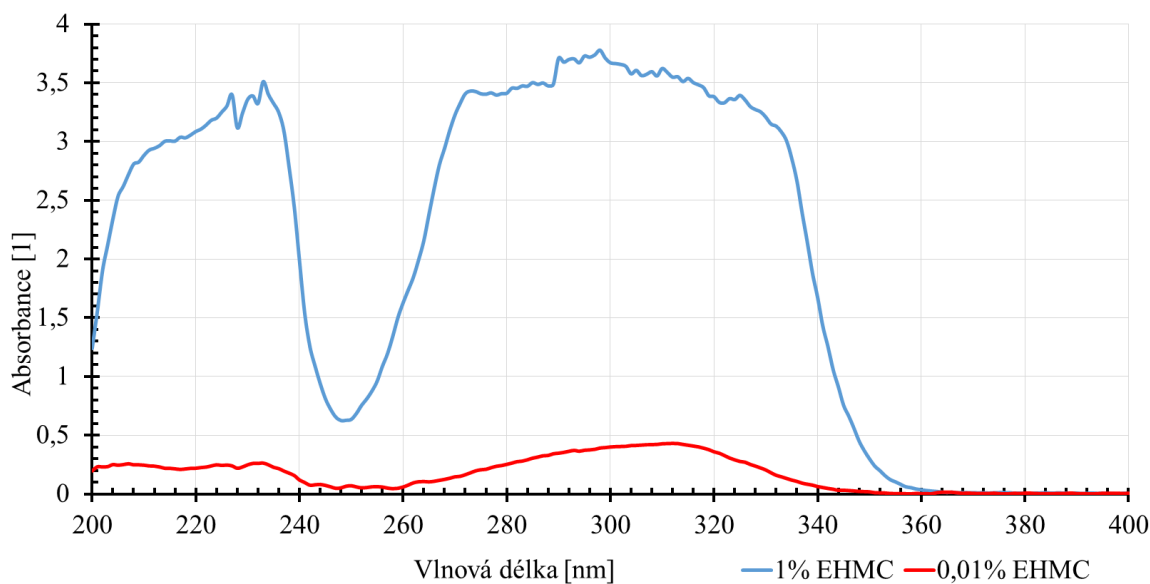
Jak je z grafu patrné, UV filtr Bemotrizinol (EMT) má při stejné koncentraci hodnoty absorpance daleko vyšší než další dva UV filtry. Tento fakt může být ovlivněn jeho množstvím absorpčních míst (chromoforů) v molekule. Maximální absorpance EMT v oblasti UVB nastala při vlnové délce $\lambda_{\max 1} = 316$ nm. Co se týče oblasti UVA, zde byla maximální absorpance stanovena při vlnové délce $\lambda_{\max 2} = 339$ nm. Pan Rudolf už dříve prováděl spektrofotometrické měření toho filtru. Jako rozpouštědlo použil EtOH. Hodnota vlnové délky v oblasti UVB se značně nelišila od námi stanovené. Avšak hodnota vlnové délky v oblasti UVA při jeho měření činila 363 nm. Zde při našem měření došlo k značnému posunu na nižší vlnovou délku. Tento posun může být způsoben stářím UV filtru nebo jeho špatným skladováním, během kterého došlo ke změně jeho fyzikálně-chemických vlastností.

Co se týče Bisotrizolu (MBT), maximální absorpance nastala při vlnové délce $\lambda_{\max 1} = 304$ nm v oblasti UVB. V oblasti UVA k tomu došlo při vlnové délce $\lambda_{\max 2} = 346$ nm. Při těchto vlnových délkách dochází k absorpci veškerého procházejícího záření vzorkem.

Stejně jako u BP3 představuje benzophenon-1 (BP1) dvě absorpční maxima. Co se týče oblasti UVB záření, zde dosahoval maximální absorpance při vlnové délce $\lambda_{\max 1} = 292$ nm.

V oblasti záření UVA maximální hodnota absorpance nastala při vlnové délce 330 nm. Oba parametry jsou zvýrazněny na obrázku 13.

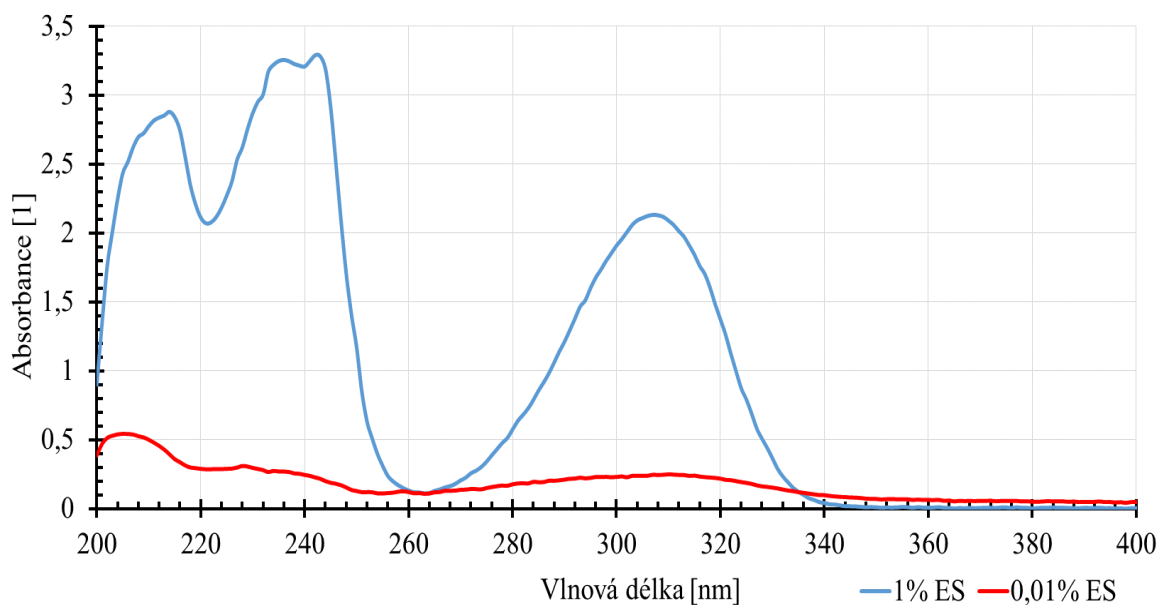
Ačkoliv se jedná o tři širokospektrální UV filtry, každý má svou charakteristickou maximální vlnovou délku pro oblast UVB i UVA. To, že se tyto hodnoty různých UV filtrů od sebe liší, je způsobeno samotnou strukturou UV filtrů.



Obrázek 14 Graf závislosti absorpance EHMC na vlnové délce

Na obrázku 14 je vyobrazena závislost absorpance na vlnové délce pro dvě koncentrace UV filtru EHMC. Jedná se o 1% a 0,01% roztoky daného filtru v EtOH. Jak je patrné, hodnoty absorpance pro 1% roztok jsou výrazně vyšší než 1, proto byl roztok dále ředěn. Co se týče maximální absorpance 0,01% roztoku EHMC, k té došlo při vlnové délce $\lambda_{\max} = 312$ nm.

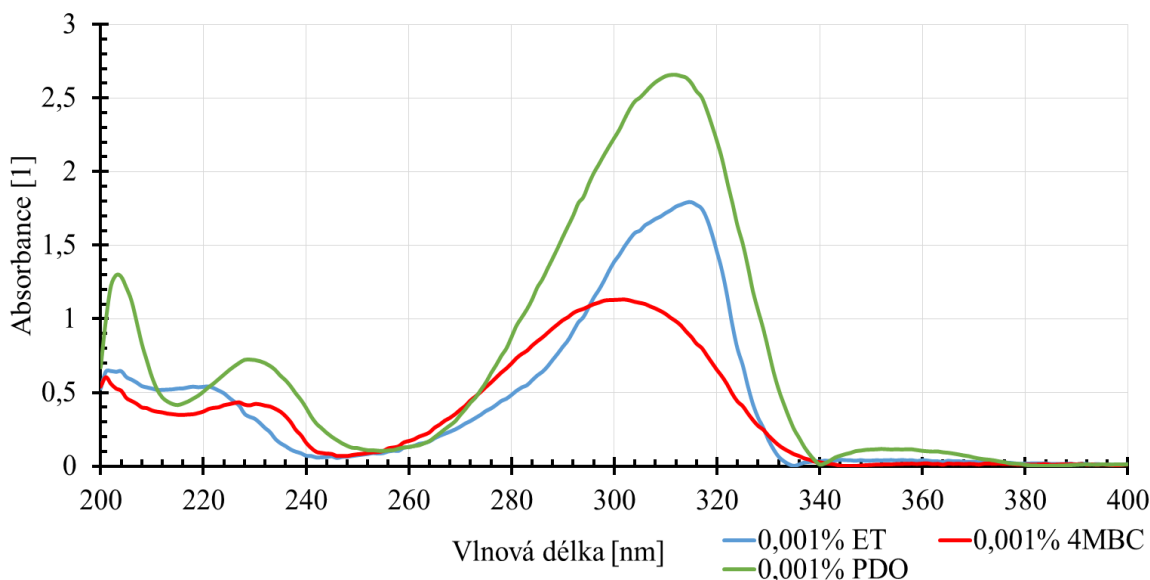
Po srovnání dat z vědecké práce [56], kdy zde byla maximální absorpance stanovena při vlnové délce 310 nm, lze potvrdit, že EHMC spadá do skupiny UVB filtrů. Rozpětí, při kterém může nastat maximální absorpance UV filtru EHMC, se pohybuje od 290 do 310 nm v závislosti na použitém rozpouštědle a dalších přidaných látkách. Pan Rudolf opět prováděl již dříve spektrofotometrické měření EHMC. Jako rozpouštědla použil THF a EtOH. Při použití obou rozpouštědel došel k závěru, že maximální absorpance nastává při vlnové délce 310 nm. K podobným závěrům došel i při použití acetonitrilu jako rozpouštědla. Zde byla stanovena maximální absorpance v rozpětí vlnových délek od 303 do 311 nm.



Obrázek 15 Graf závislosti absorbance ES na vlnové délce

Absorpční spektrum pro Octisalate (ES) bylo spektrofotometricky stanoveno pro dvě koncentrace, jak je patrné z obrázku 15. Pro 1% roztok ES v EtOH byla stanovena maximální absorbance při vlnové délce $\lambda_{\max} = 307$ nm. K podobné vlnové délce jsme dospěli i při stanovení 0,01% roztoku ES, rozdíl je pouze v poklesu hodnoty absorbance v závislosti na koncentraci. Zde byla maximální absorbance detekována při vlnové délce $\lambda_{\max} = 310$ nm. Na oficiálních stránkách SIGMA-ALDRICH s. r. o. uvádí, že rozpětí vlnové délky, při které má ES maximální absorbanci, se pohybuje v rozmezí 280–315 nm. Tato hodnota se bude odvíjet od použitého rozpouštědla. Jelikož analýza byla provedena u filtru od této společnosti, potvrdil se fakt, že ES absorbuje záření v této oblasti. [58]

Následující obrázek 16 srovnává závislost absorpce tří UV filtrů o stejné koncentraci, 0,001% roztoky. Jak je z grafu závislosti patrné, jedná se o UV filtry spadající do kategorie UVB filtry.



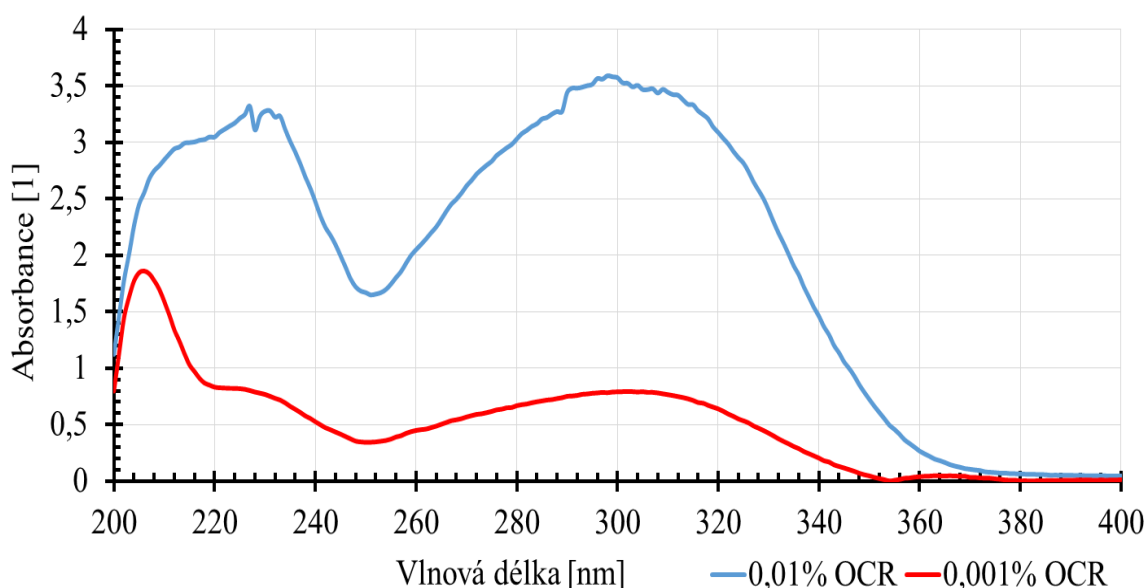
Obrázek 16 Graf závislosti absorpce ET, 4MBC a PDO na vlnové délce

UV filtr Ethylhexyl triazone (ET) měl maximální absorpci detekovanou při vlnové délce $\lambda_{\max} = 315$ nm. Při této vlnové délce absorbuje ET veškeré dopadající UV záření. Tsuchiya a spol. [59] taktéž stanovovali maximální absorpci ET. Jako rozpouštědlo použili methanol. K maximální absorpci v tomto případě došlo při vlnové délce 312 nm. Dalo by se tvrdit, že jsme si podobnými výsledky potvrdili vlastnost ET, jelikož měření může být ovlivněno použitým rozpouštědlem.

Při stanovení absorpčního spektra Enzacamenu (4MBC) nastala maximální absorpce při vlnové délce $\lambda_{\max} = 302$ nm. Tato vlnová délka odpovídá tomu, že 4MBC spadá do skupiny filtrů absorbujících UVB záření. Kockler a spol. [25] ve své práci uvádí, že k maximální absorpci 4MBC v EtOH dochází při vlnové délce 301 nm. Ke stejnému závěru jsme došli také, a to při použití stejného rozpouštědla. Hodnota byla rovněž srovnána s literaturou [60], kde v kapitole o UV filtrech uvádí, že maximální absorpce 4MBC nastává při vlnové délce 300 nm. Tato hodnota byla stanovena taktéž pro EtOH jakožto rozpouštědla.

Co se týče Padimatu O (PDO), činil mezi třemi srovnávanými nejvyšší absorpci, a to až přes 2,5. K této absorpci došlo při vlnové délce $\lambda_{\max} = 312$ nm. Jak je patrné z obrázku 16,

ET a PDO měli maximální absorpenci při stejné vlnové délce. Lze konstatovat, že ET a PDO mají podobné absorpční vlastnosti. González-Arjona a spol. [57] měřili absorpenci PDO rozpuštěného ve třech rozdílných rozpouštědlech (methanol, cyklohexan a dimethylsulfoxid). Maximální absorpence PDO nastala v závislosti na rozpouštědle v oblasti vlnových délek od 280 do 320 nm. U PDO rozpuštěného v methanolu nastala maximální absorpence při vlnové délce 310 nm. Použitím EtOH při našem měření nedošlo k značné změně hodnoty vlnové délky.



Obrázek 17 Graf závislosti absorpance OCR na vlnové délce

Na obrázku 17, grafu závislosti, jsou srovnány dvě koncentrace příslušné UV filtru Octocrylenu (OCR). Jak je patrné, jedná se o UV filtr absorbující v oblasti záření UVB. Při proměření UV spektra 0,01% roztoku OCR, maximální absorpence nastala při vlnové délce $\lambda_{\max} = 298$ nm. Hodnoty absorpance byly značně vysoké, proto byl roztok dále naředěn na 0,001%. U takto naředěného roztoku OCR bylo následně změřeno UV spektrum. Maximální absorpence nastala při hodnotě vlnové délky $\lambda_{\max} = 305$ nm.

Reena Rai [61] ve své práci uvádí, že absorpční rozpětí pro UV filtr OCR je od 290 do 360 nm, kdy k maximální absorpenci dochází při 307 nm. Tato skutečnost bude ovlivněna konečnou formulací, do které bude UV filtr zahrnut. Co se týče našeho stanovení v EtOH, dle uvedeného spektra (obrázek 17) jsme tuto skutečnost potvrdili.

Podle jednotlivých absorpčních spekter lze říci, že každý UV filtr má svoji typickou oblast UV záření, ve které absorbuje veškeré dopadající UV záření. Tyto vlastnosti je důležité brát v potaz při výrobě a zpracování nových přípravků na opalování. Některé hodnoty vlnových délek se od jiných prací liší. Tyto fakta mohou být ovlivněna použitým rozpouštědlem. V našem případě nebyly všechny UV filtry dobře rozpustné v EtOH, proto došlo k jejich zahřátí. Tento krok mohl vést k posunu naměřených hodnot.

7 DETEKCE UV FILTRŮ POMOCÍ PLYNOVÉ CHROMATOGRAFIE (GC)

Cílem práce byl vývoj chromatografické metody k analýze čistých UV filtrů i některých jejich pozměněných forem (např. EHMC). Pomocí plynové chromatografie byly získány retenční časy jednotlivých UV filtrů. Dále byla testována minimální koncentrace, při které lze UV filtry detektovat. Stanovení se provádělo za dvou rozdílných chromatografických podmínek, které se od sebe lišily zejména nastaveným gradientem teplot stanovení.

7.1 Použitý materiál a přístroje

K separaci UV filtrů pomocí plynové chromatografie byly použity UV filtry uvedené v tabulce 3. Byly voleny vzorky s dobrou rozpustností a nižší molární hmotností.

Tabulka 3 Přehled použitých UV filtrů pro GC analýzu

Název	Zkratka	Výrobce	Navážka [mg]
Avobenzone	BMDM	SynCare	102,9
Octocrylene	OCR	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	103,7
Octabenzone	BP12	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	100,4
Benzophenone-1	BP1	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	106,5
Padimate O	PDO	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	100,5
Oxybenzone	BP3	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	104,4
Octinoxate	EHMC	SynCare	103,6
Enzacamene	4MBC	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	103,0
Methyl anthranilate	MA	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	120,6
Octisalate	ES	SIGMA-ALDRICH s. r. o.	105,4

Plynová chromatografie (GC)

Jako přístroj byl použit plynový chromatograf, DANI Master GC Fast Gas Chromatograph, který byl vybaven nepolární kapilární kolonou GC Zebrnon™ ZB-5MS o parametrech 30 m × 0,25 mm × 0,5 μm a plameno-ionizačním detektorem (FID). Jako nosný plyn byl použit dusík. Data byla vyhodnocovaná pomocí programu Clarity, DataApex.



Obrázek 18 Přístroj DANI Master GC

- **Parametry pro GC metodu A**

Injektor: $T = 280\text{ °C}$, průtok = $1\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, split 1:50, oplach septa $5\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

Teplotní profil: počáteční teplota 80 °C (doba setrvání teploty 1 min) s teplotním gradientem $20\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ na 250 °C (doba setrvání teploty 1 min), následně s teplotním gradientem $6\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ do 280 °C (doba setrvání teploty 2 min), dále s teplotním gradientem $10\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ do 290 °C a setrvání 20 min.

Detektor: FID, $T = 310\text{ °C}$, průtok: $\text{N}_2\ 25\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $\text{H}_2\ 40\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; vzduch $280\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

Celkový čas analýzy: 38,50 min.

- **Parametry pro GC metodu B**

Injektor: $T = 250\text{ °C}$, průtok = $1\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$, split 1:8, oplach septa $5\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

Teplotní profil: počáteční teplota 110 °C , teplotní gradient $10\text{ °C}\cdot\text{min}^{-1}$ do 260 °C (doba setrvání teploty 17,5 min).

Detektor: FID, $T = 280\text{ °C}$, průtok: $\text{N}_2\ 25\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; $\text{H}_2\ 40\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$; vzduch $280\text{ ml}\cdot\text{min}^{-1}$.

Celkový čas analýzy: 52,5 min.

Solární komora SUNTEST CPS+

Pro přípravu změněných forem UV filtrů byl použit přístroj pro simulaci slunečního záření (jinak označován jako simulátor slunečního záření), SUNTEST CPS+ s příslušenstvím SunTray od firmy Atlas. Tento přístroj je na univerzitě zapůjčený od společnosti SynCare Plus s. r. o. Principem je produkce umělého slunečního záření v rozpětí vlnových délek dle nastavení. Zdrojem záření je xenonová lampa o výkonu 1500 W s možností regulace intenzity záření v rozsahu 250–765 W·m⁻² pro rozsah vlnových délek od 300 do 800 nm. Přístroj je složen ze solární komory, která obsahuje úložný prostor pro 6 vzorků. Veškerá nastavení jsou zadávána přes ovládací panel a displej přístroje. [33]

- **Parametry pro solární komoru SUNTEST CPS+**

Před zahájením samotného ozařování byly nastaveny parametry solární komory. V uživatelském testu byly nastaveny tyto parametry: Doba ozařování byla nastavena na 2 až 4 hodiny, dle prováděného testu, při teplotě 35 °C. Vlnová délka byla nastavena v rozpětí od 300 do 800 nm. Výkon byl nastaven dle výchozího nastavení (0; 250–765)W·m⁻². Energie ozařování činila pro 2 hodiny 3601 kJ·m⁻² a pro 4 hodiny 7201 kJ·m⁻².



Obrázek 19 Solární komora SUNTEST CPS+

7.2 Samotné měření

Čisté UV filtry byly podrobeny analýze. Byly voleny dvě metody stanovení, které se od sebe liší nastavenými parametry.

Byly připraveny 3 koncentrace UV filtrů v EtOH, 1%, 0,1% a 0,01% roztoky UV filtrů. Měření probíhalo od nejvyšší koncentrace po nejnižší. Vlivem snižování koncentrace roztoku docházelo ke snížení odezvy na detektoru (poklesu píků). Nástříkový objem připravených roztoků byl 1 μ l.

Pro analýzu pozměněných forem UV filtrů bylo připraveno 7 vzorků UV filtru EHMC o přibližné hmotnosti 500 mg. Takto připravené vzorky byly vloženy na hodinovém skle do přístroje SUNTEST CPS+ a ozařovány umělým světlem z xenonové lampy. Jednotlivé vzorky byly odebírány v časovém rozhraní 30, 60, 90, 120, 150, 180 a 240 minut.

Po samotném ozáření byl připraven roztok UV filtru + EtOH, kdy 10 mg UV filtru bylo rozpuštěno v cca 1,5 ml EtOH. Takto připravené roztoky byly analyzovány pomocí plynové chromatografie. Pro detekci byly využity dvě již zmíněné metody stanovení.

Analýza pozměněných forem UV filtrů byla provedena i u Octocrylenu (OCR). Jedná se o fotostabilní UV filtr, který po ozáření UV zářením nepodléhá fotodegradaci nebo jiné změně. Octocrylen byl také smíchán s méně stabilním EHMC. V této směsi bylo sledováno, zda kombinace fotostabilního UV filtru má vliv na fotodegradaci EHMC.

Na analýzu OCR byly připraveny vzorky o navážce cca 500 mg, které byly podrobeny ozáření. Z takto ozářených vzorků byly připraveny roztoky na plynovou chromatografii odebráním 10 mg vzorku a jeho rozpuštěním v cca 1,5 ml EtOH. Intervaly odběru vzorku byly po 30, 60, 90 a 120 minutách.

Obdobným způsobem byly připraveny vzorky směsi EHMC:OCR v poměru 1:1 (směs 1). Nejprve byla připravena směs o hmotnosti 10 g obsahující 5 g EHMC a 5 g OCR. Následně byly připraveny vzorky o hmotnosti cca 500 mg. Tyto vzorky byly ozařovány po dobu 30, 60, 90 a 120 minut. Následně byly připraveny roztoky UV filtru a EtOH, na plynovou chromatografii, odebráním 10 mg UV filtru a přidáním 1,5 ml EtOH.

Dále byla připravena nová směs dvou UV filtrů EHMC:OCR v poměru 4:1 (směs 2). Nejprve byla připravena směs o hmotnosti cca 8 g, navážením cca 6,4 g EHMC a 1,6 g OCR. Dále byla směs rozdělena po 500 mg a ozařována po dobu 30, 60, 90 a 120 minut. Po ozáření byly připraveny roztoky na GC navážením 10 mg vzorku rozpuštěného v cca 1,5 ml EtOH.

Dále byly připraveny dvě směsi UV filtrů EHMC:ES jednak v poměru 1:1 (směs 3) tak i v poměru 4:1 (směs 4). Celková navážka činila cca 4 g, kdy pro směs 3 to byly 2 g pro EHMC tak i 2 g pro ES. Pro směs 4 činily navážky UV filtrů 3,2 g pro EHMC a 0,8 g pro ES. Z takto připravených směsí byly naváženy vzorky na simulátor o hmotnosti cca 500 mg.

Tyto vzorky byly ozařovány po dobu dvou hodin a odebírány v 30minutových intervalech. Jako v předchozích případech byly z ozářených vzorků připraveny roztoky na GC rozpuštěním cca 10 mg v 1,5 ml EtOH.

7.3 Vyhodnocení výsledků

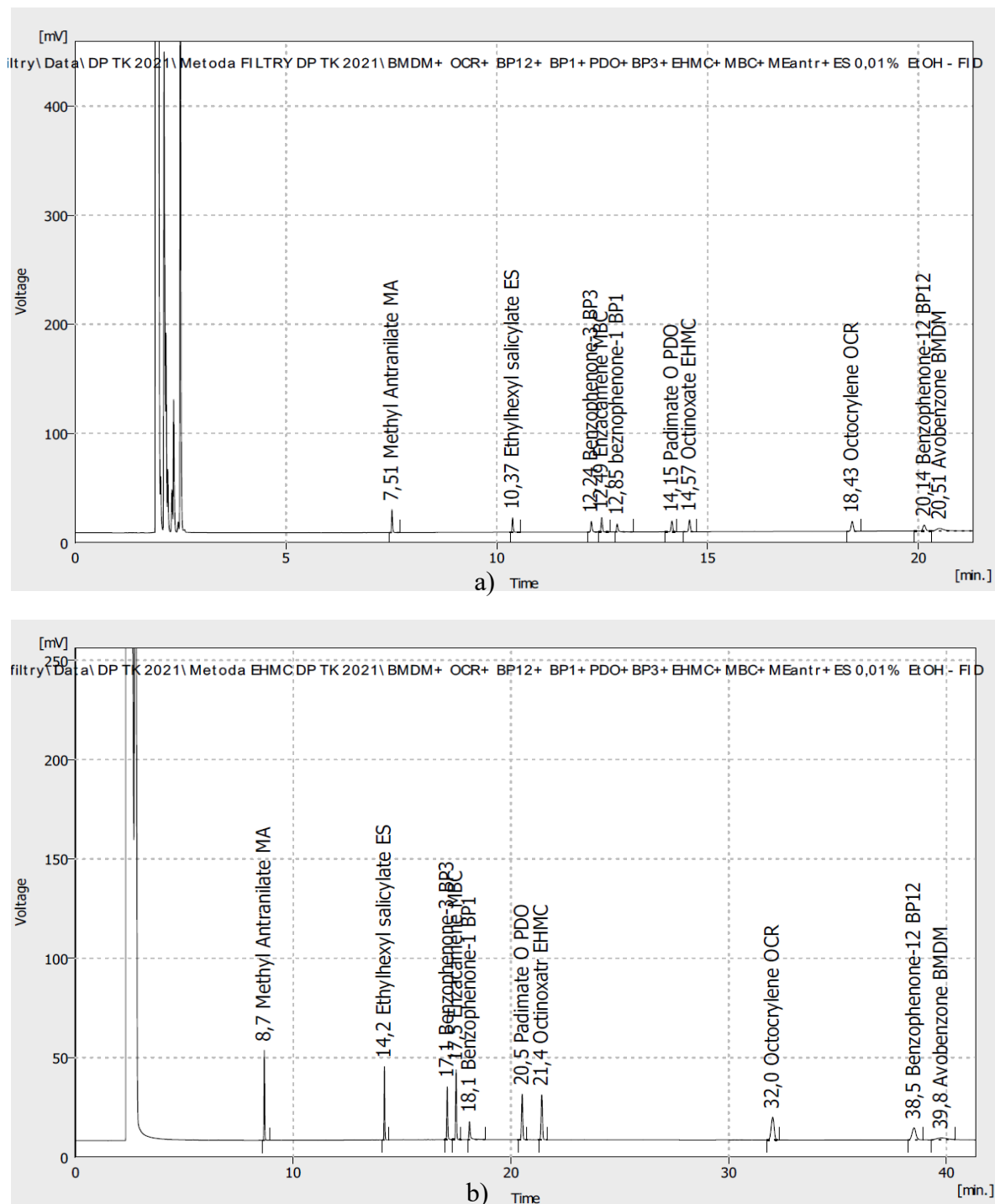
V tabulce 4 jsou uvedeny jednotlivé retenční časy pro zvolené druhy UV filtrů. Jedná se o retenční časy detekované při měření za již zmíněných podmínek metody A, tak i metody B. Retenční časy jednotlivých filtrů se v závislosti na zvolené metodě liší. Je to způsobeno podmínkami, při kterých daná metoda probíhá, především teplotou nástřiku a teplotním gradientem analýzy.

Tabulka 4 Přehled retenčních časů UV filtrů v 0,01% roztoku

UV filtr	Retenční čas [min]	
	Metoda A	Metoda B
MA	7,51	8,68
ES	10,37	14,19
BP3	12,24	17,07
4MBC	12,49	17,483
BP1	12,85	18,10
PDO	14,15	20,52
EHMC	14,57	21,41
OCR	18,43	32,02
BP12	20,14	38,51
BMDM	20,51	39,76

Retenční časy samotného UV filtru jsou ovlivněny molární hmotností, polaritou či typem kolony. Stanovením retenčních časů čistých UV filtrů získáme přibližný přehled pro budoucí analýzu těchto látek v různých formulacích. Na obrázku 20 jsou znázorněny chromatografické záznamy 0,01% směsi UV filtrů pro jednotlivé metody. Velikost odezvy je závislá na použité koncentraci vzorků a na použitých chromatografických podmínkách.

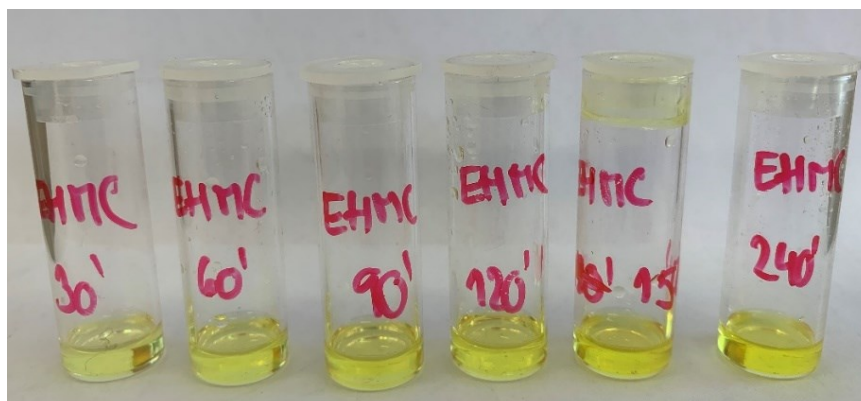
Podobnou analýzou se zabýval ve své práci Vila a spol. [62]. Ti použili k detekci 16 UV filtrů z kosmetických formulací GC-MS. Z použitých UV filtrů bylo 7 stejných, jako jsme použili i my. Jedná se o UV filtry ES, 4MBC, BP3, BP1 EHMC, MA a OCR. Analýza byla provedena pomocí plynového chromatografu spojeného s tandemovým hmotnostním spektrometrem. Pro separaci použili kapilární kolonu SLB-5ms a jako nosný plyn použili helium. Teplota pece byla gradientní, kdy na začátku analýzy byla teplota nastavena na 100 °C a konečná teplota na 290 °C. Teplota injektoru činila 260 °C. Data byla vyhodnocována pomocí softwaru TraceFrinder. Vzorky byly rozpuštěny v ethyl-acetátu. Jelikož po první analýze nedošlo k dostatečné separaci některých UV filtrů, byly proto UV filtry s hydroxylovými nebo aminoskupinami derivatizovány. Po další analýze byly odezvy těchto UV filtru lépe detekované a dokonce u těchto filtrů došlo k posunu jejich retenčního času. Ve srovnání s našimi daty se lišíme v pořadí eluce UV filtrů, které bývá ve většině případů stejné. Může to být ovlivněno použitou stacionární fází kolony nebo chromatografickými podmínkami. Vliv na to má derivatizace UV filtrů, která posunula jejich polaritu a následně i retenční časy. Z toho vyplývá, že jakákoliv změna podmínek analýzy bude mít vliv na její samotný průběh.



Obrázek 20 Chromatografický záznamy 0,01% směsi UV filtrů pro a) metodu A; b) metodu B

Cílem analýzy bylo studování fotostability EHMC v závislosti na době vystavení simulovanému slunečnímu záření. Po ozáření vzorků EHMC xenonovou lampou byla při odběru pozorována změna barvy vzorků. Z původního čirého roztoku došlo ke změně barvy až na zelenožlutou. Jedná se o typickou změnu barvy EHMC po ozáření. Sytost a intenzita

barvy vzorků se stupňovala v závislosti na době ozáření (obrázek 21). Tato změna může naznačovat, že EHMC prochází chemickými reakcemi, které mění jeho vlastnosti.



Obrázek 21 Změna barvy vzorku EHMC po ozáření

Vzorky byly analyzovány plynovou chromatografií. V tabulce 5 jsou uvedeny společně s časy odběru a retenčními časy, plochy chromatogramu (píků) dvou forem UV filtru EHMC. Analýza odhalila postupný nárůst plochy píku v relativních procentech pro *Z*-EHMC a pokles *E*-EHMC v závislosti na čase ozáření umělým slunečním zářením. Na obrázku 22 jsou znázorněny chromatografické záznamy EHMC při stanovení metodou A i B.

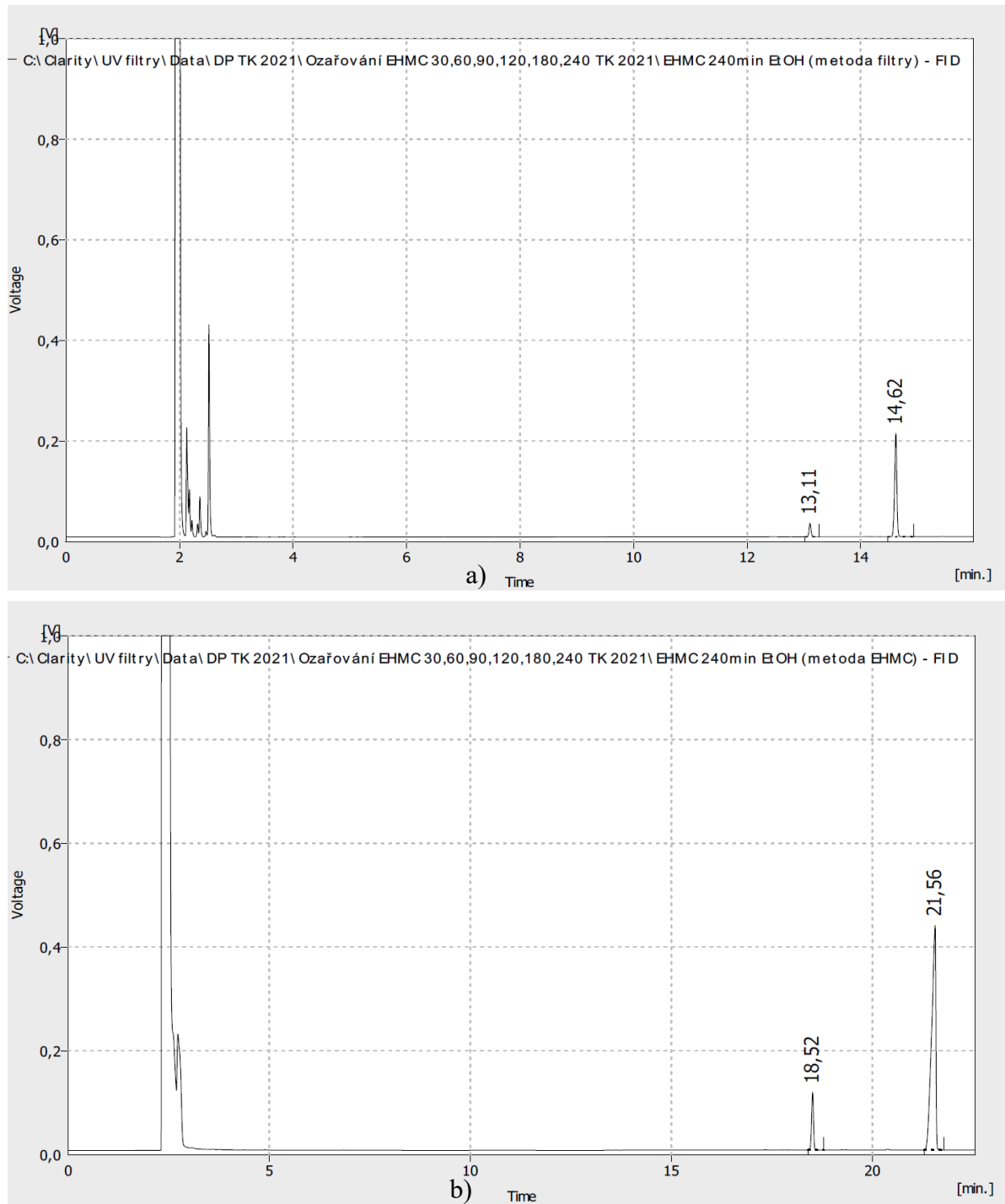
Tabulka 5 Přehled retenčních časů a ploch píků pro EHMC

Čas odběru [min]	Metoda A				Metoda B			
	Rt [min]		Plocha [%]		Rt [min]		Plocha [%]	
	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>
30			2,7	97,3			2,6	97,4
60			5,2	94,8			5,0	95,0
90			5,5	94,5			5,6	94,4
120	13,110	14,635	7,2	92,8	18,513	21,607	6,9	93,1
150			9,3	90,7			9,7	90,3
180			8,7	91,3			8,9	91,1
240			10,1	89,9			10,4	89,6

Intervaly odběru byly ze začátku po 30 minutách až do 180 minut. Poslední odběr byl proveden po 240 minutách ozařování. Analýza na GC odhalila, že již během prvních 30 minut došlo k nárůstu plochy píku Z-EHMC, a to přibližně o 2,5 % při retenčním čase cca 13,11 minut pro metodu A, a 18,51 minut pro metodu B. Došlo tedy k fotoizomeraci E-EHMC a tvorbě jeho Z-izomeru.

Po provedení analýzy vzorků v čase odběru 60 a 90 minut byly nárůsty ploch píků pro Z-EHMC podobné, a to přibližně 5,5 % jak pro metodu A, tak i metodu B. Nárůsty ploch píků pro jednotlivé časy odběru jsou uvedeny v tabulce 5, kde lze vidět, že s prodlužujícím se časem vystavení simulovanému záření dochází k nárůstu fotoizomerní formy EHMC. Po 240 minutách ozařování činila plocha píku Z-EHMC cca 10 %. Obecně se nejednalo o vysoké nárůsty ploch píků. Tento fakt mohl být ovlivněn nastavenou intenzitou záření na slunečním simulátoru. Je možné, že při použití vyšší intenzity záření, by docházelo k fotozomerizaci většího množství E-EHMC. Tyto nárůsty ploch píků naznačují, že dochází ke zvyšování koncentrace Z-EHMC, který vzniká po ozáření fotoizomerizací původního E-EHMC. Závěrem této analýzy jsme si ověřili, že s prodlužující se dobou vystavení UV filtrů simulovanému záření dochází k fotoizomerizaci většího poměru původního E-EHMC. S tím je spojena tvorba vedlejších produktů, které znehodnocují funkci UV filtrů.

Obdobným experimenty se zabýval Silva a spol. [63] Ti se zabývali izolací UV filtrů z vodných vzorků pomocí SPE a jako analytickou koncovku použili plynový chromatograf s hmotností detekcí (iontová past) s uspořádáním GC-MS/MS. Vyhodnocovací software použili Star Workstation software 6.9.2. Jako nosný plyn bylo použito hélium. Dále kapilární kolonu z taveného křemene ZB-5 MSi. Teplota injektoru byla gradientní, kdy počáteční teplota činila 60 °C a konečná 300 °C. Při jejich analýze docházelo stejně jako u nás nejprve k eluci Z-EHMC a následně k eluci E-EHMC.



Obrázek 22 Chromatografické záznamy EHC v čase 240 min a) metoda A, b) metoda B

Dále byla provedena analýza stability UV filtru OCR. UV filtr OCR byl podroben ozařování simulovaným slunečním zářením. Časy odběru byly po 30, 60, 90 a 120 minutách. Oproti UV filtru EHMC nedošlo po ozáření OCR ke změně barvy vzorků. Retenční čas UV filtru se pohybuje kolem 18,50 minuty pro metodu A. Jak je z obrázku 23 patrné, při chromatografické analýze nebyly detekovány žádné fotodegradační produkty UV filtru ani po vystavení 120 minutám záření. Dá se říci, že OCR je fotostabilní, nebo že námi zvolená analytická metoda nedokáže tyto změny rozpoznat.



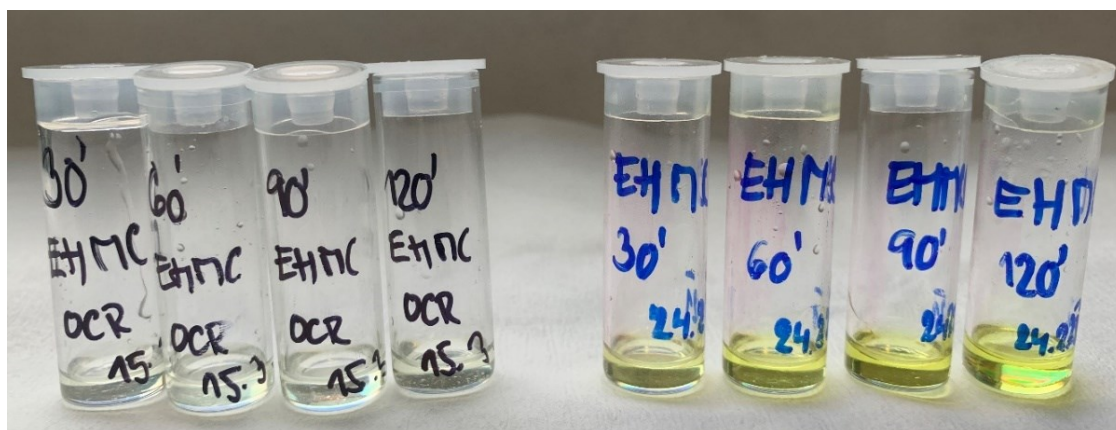
Obrázek 23 Chromatografické záznamy pro UV filtr OCR 120 min

Pro sledování fotostabilizačních účinků byly vybrány dva UV filtry. OCR, který má napomáhat stabilizaci UV filtru EHMC, jenž je známý pro svou nestabilitu. Připravená směs **1** byla po ozáření podrobena chromatografické analýze, která ukázala, zda v přítomnosti OCR dochází k fotoizomerizaci EHMC a o kolik je tento nárůst větší nebo menší v porovnání s nestabilizovaným EHMC.

V tabulce 6 jsou uvedeny plochy píků EHMC v této směsi pro jednotlivé časy odběru. Plocha píků pro OCR v tomto případně uvedena není, jelikož je zde sledován jeho stabilizační účinek UV filtrů. Při odběru vzorků z přístroje SUNTEST CPS+ byla sledována minimální změna barvy vzorků, oproti samotnému ozářenému EHMC, viz obrázek 24. Již u tohoto poznatku je zřejmé, že má určitý OCR vliv na fotostabilitu EHMC.

Tabulka 6 Přehled retenčních časů a ploch píků pro směs 1 a 2, metoda A

Čas odběru [min]	Plocha [%]		Plocha [%]		
	směs 1		směs 2		
	Z	E	Z	E	
1. měření	30	0,6	99,4	1,4	98,6
	60	1,2	98,8	2,3	97,7
	90	1,3	98,7	2,6	97,4
	120	2,0	98,0	3,9	96,1
2. měření	30	0,7	99,3	1,1	98,9
	60	1,1	98,9	2,4	97,6
	90	1,3	98,7	2,4	97,6
	120	1,8	98,2	4,5	95,5

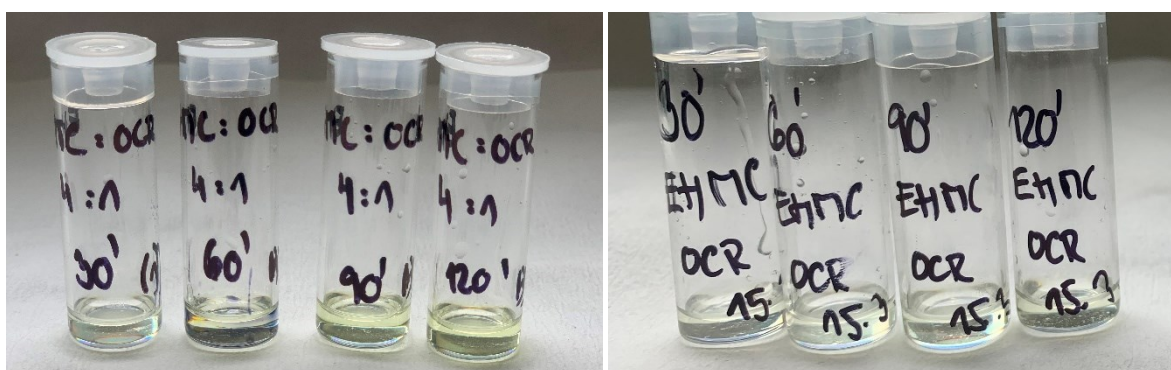


Obrázek 24 Srovnání změny barvy vzorků po ozáření, vlevo směs 1, vpravo samotný EHMC

Při chromatografické analýze byl v přítomnosti OCR detekovaný izomerní typ EHMC. Opět se s narůstajícím časem ozáření zvětšuje plocha píků Z-EHMC, který signalizuje nárůst koncentrace tohoto izomeru ve směsi. Po 30 minutách vystavení UV filtrů simulovanému záření docházelo k fotoizomerizaci a k nárůstu plochy píku Z-EHMC na 0,7 %. Po 60 a 90 minutách vystavení záření došlo k nárůstu plochy píků Z-EHMC na celkovou plochu 1,2 %. Jedná se o menší nárůst plochy než u nestabilizovaného EHMC. Po 120 minutách

plocha píků pro Z-EHMC činila přibližně 2 %. Ve srovnání s plochou píků samotného EHMC je plocha píku Z-EHMC ve směsi přibližně třikrát menší³. Lze tvrdit, že UV filtr OCR má značný vliv na fotostabilizaci EHMC, a brání tak jeho fotoizomerizaci. Na obrázku 26 jsou zobrazeny chromatografické záznamy této směsi. Neoznačený pík v čase 18,5 minut odpovídá UV filtru OCR.

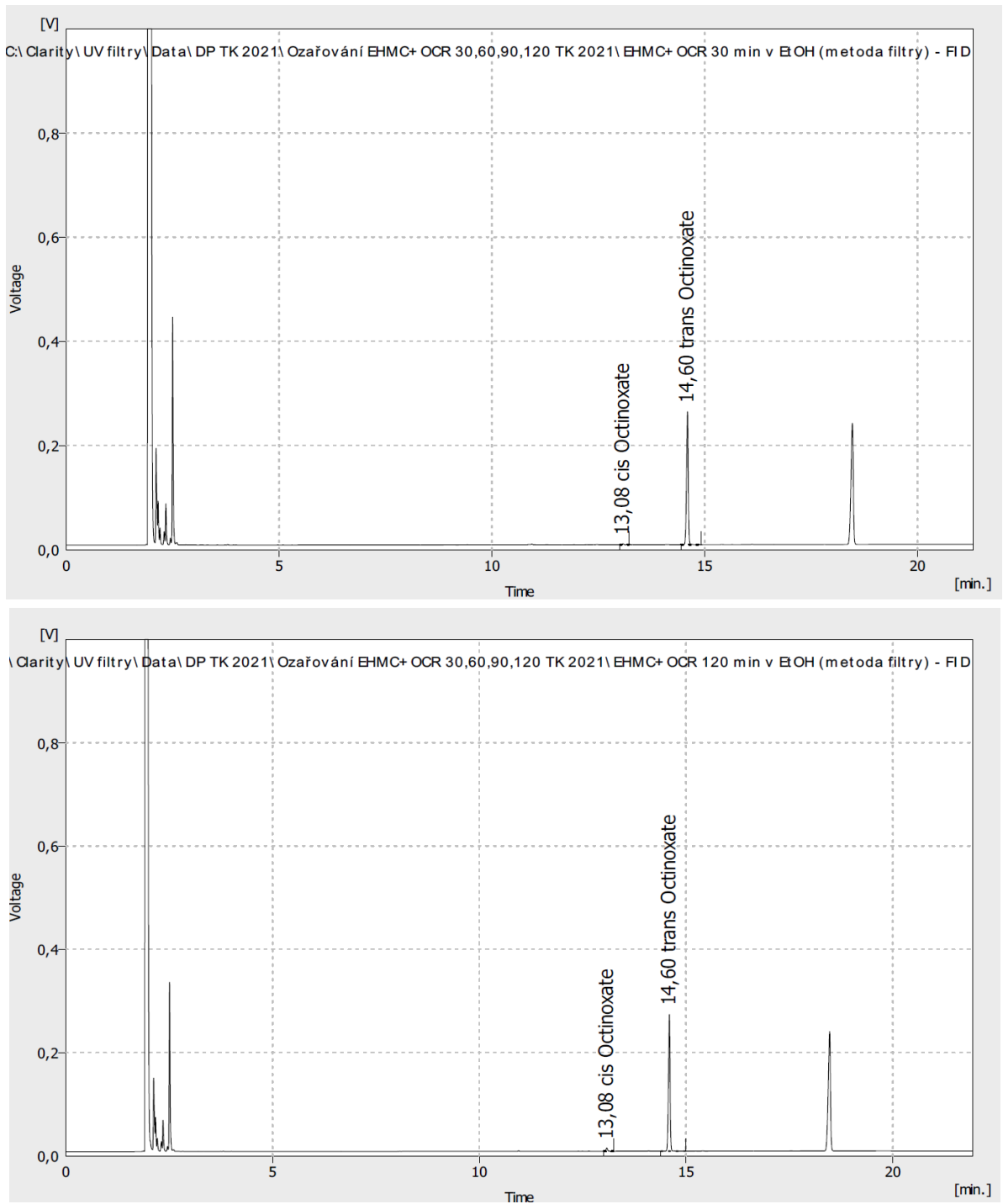
Pro ověření vlivu OCR na stabilitu EHMC byla připravena další směs těchto UV filtrů v rozdílném poměru (směs 2). Lze předpokládat, že snížení koncentrace OCR bude mít vliv na snížení fotostability EHMC, jelikož již při odběru vzorků ze slunečního simulátoru byla pozorována změna barvy vzorků, viz obrázek 25.



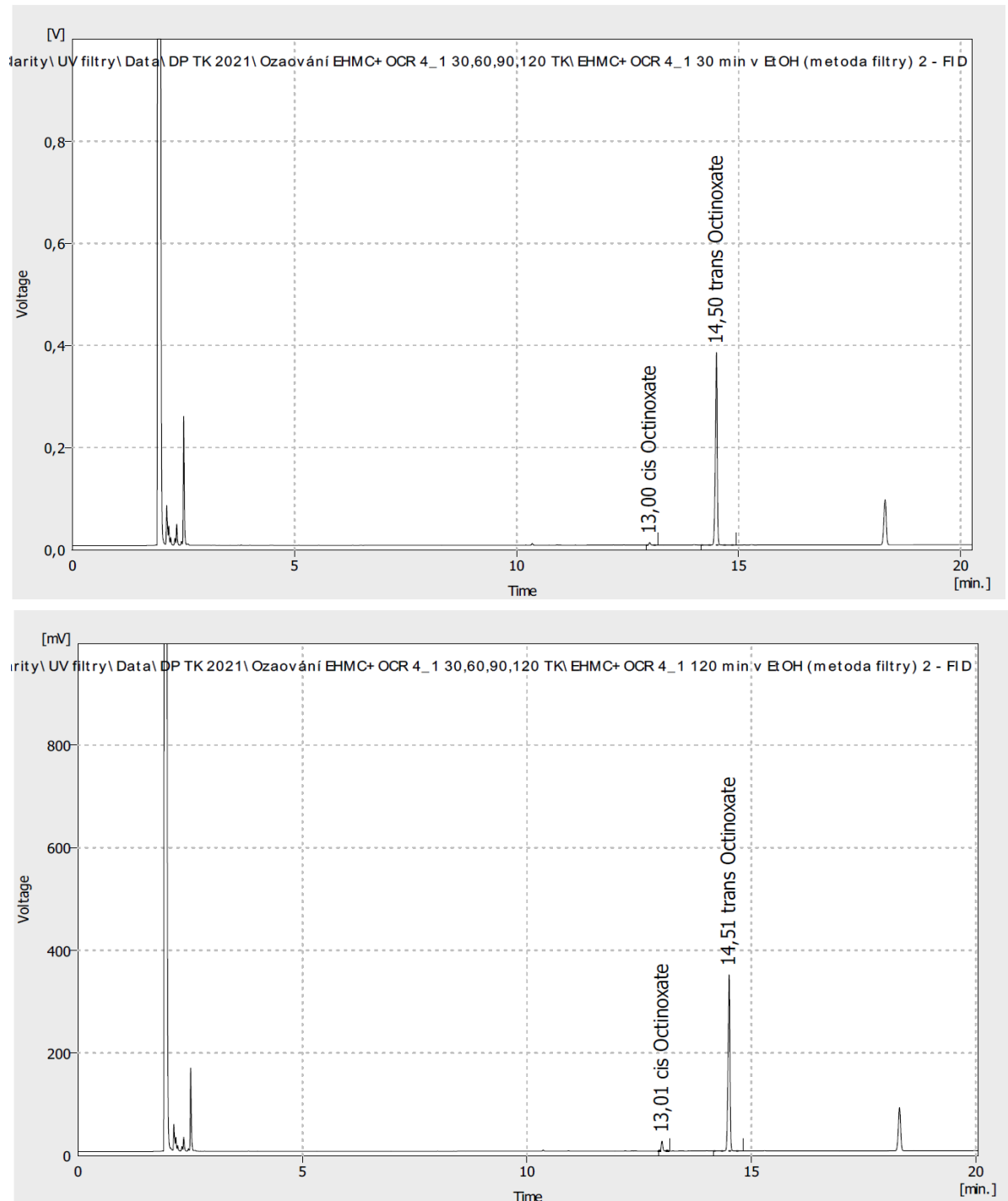
Obrázek 25 Srovnání změny barvy směsi 2 vlevo se směsí 1 vpravo

Oproti směsi 1 byly ve směsi 2 detekovány vyšší nárůsty ploch píků pro Z-EHMC (obrázek 27). Nárůsty ploch píků Z-EHMC byly v časových intervalech 30, 60 a 90 minut dvakrát větší než ve stejných časových intervalech směsi 1, viz tabulka 6. Po 120 minutách docházelo k nárůstu přibližně 4,5 % Z-EHMC. Jedná se o menší nárůst plochy píku Z-EHMC než u čistého vzorku ve stejném čase odběru. Po srovnání dat obou směsí dochází ve směsi 2 k vyššímu nárůstu plochy píku Z-EHMC. Ověřili jsme tím, že poměr použitých UV filtrů ve směsi má vliv na fotostabilizaci UV filtrů. Avšak v tomto případě, kdy byla koncentrace OCR nižší, nebyl nárůst plochy Z-EHMC o moc vyšší než u nestabilizovaného EHMC.

³ Pro lepší přehled je v příloze P I tabulka, která obsahuje přehled ploch píků izomerů EHMC pro jednotlivá stanovení



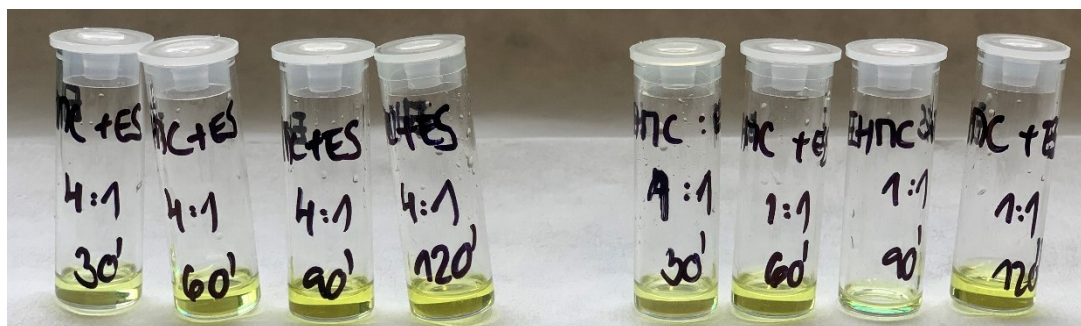
Obrázek 26 Chromatografické záznamy směsi 1 pro 30 a 120 min



Obrázek 27 Chromatografické záznamy směsi 2 pro 30 a 120 minut

Pro sledování vlivu jiných UV filtrů na fotostabilitu jiného typu UV filtru byly připraveny dvě směsi filtrů EHMC:ES, směs **3** a směs **4**, ve stejných poměrech jako předchozí směsi.

Již při odběru vzorků jak směsi **3**, tak i směsi **4** ze simulátoru, byla zřejmá změna barvy vzorků. Z čiré barvy došlo opět ke změně na zelenožlutou barvu. Tento poznatek naznačuje, že kombinací s ES dochází k výraznějším změnám oproti změnám v přítomnosti OCR.



Obrázek 28 Změna barvy směsi 4 vlevo a směsi 3 vpravo

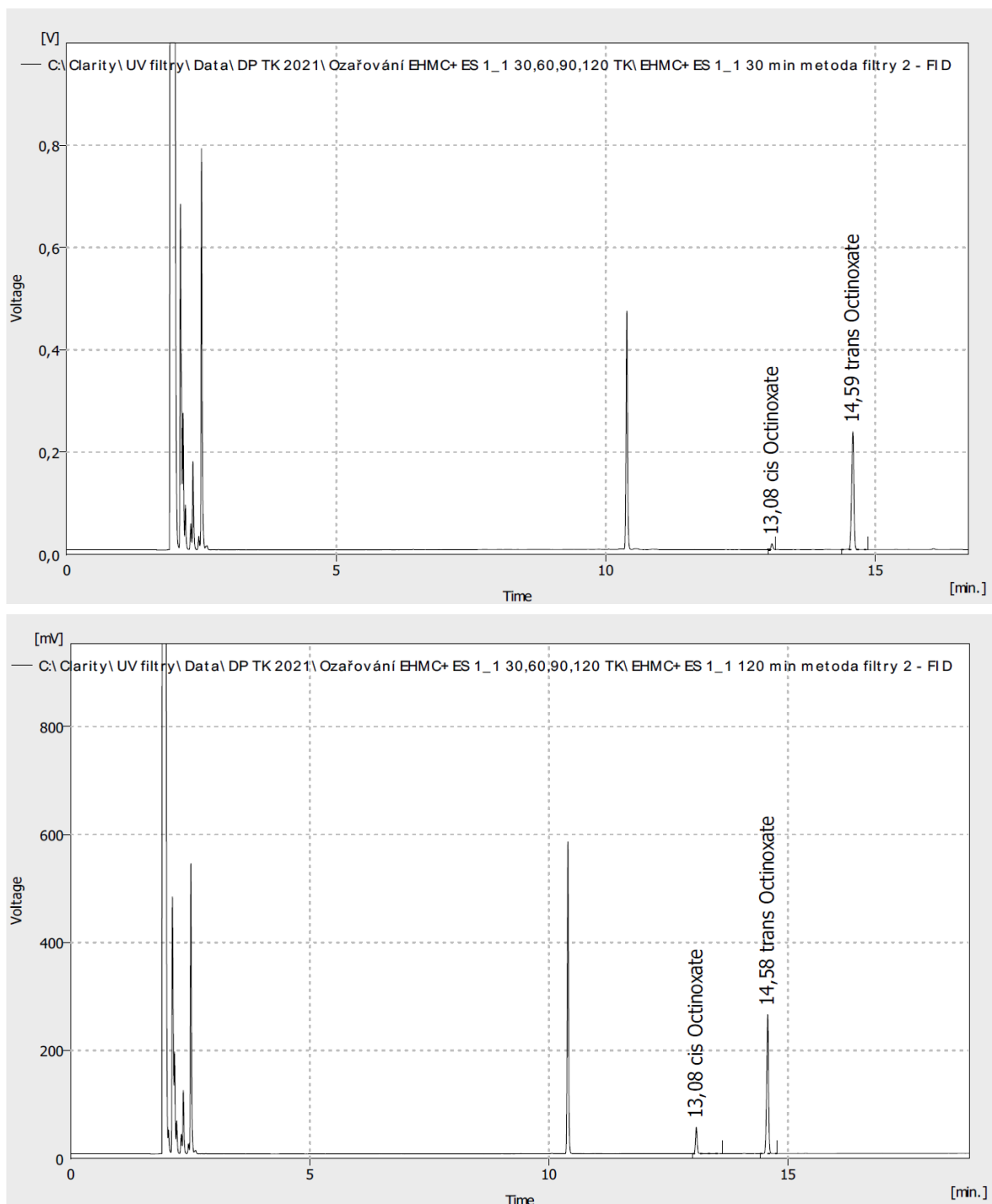
Při chromatografické analýze dochází k detekci UV filtru ES v retenčním čase 10,5 minut, jak je patrné z obrázku 29. Další odezvy na detektoru náleží izomerním formám EHMC. Ve směsi **3** docházelo k výraznému nárůstu plochy píku Z-EHMC již v prvních 30 minutách ozáření, a to až na hodnotu plochy 4,5 %, viz tabulka 7.

Ve srovnání s předchozími kombinacemi a se samotným EHMC se jedná o největší nárůst plochy píku po 30 minutách vystavení simulovanému záření. Analýza dalšího vzorku v čase odběru 60 minut opět odhalila výrazný nárůst u plochy píku na celkovou hodnotu přibližně 8 %. K dalšímu nárůstu plochy píku došlo i v dalším čase odběru. Po dvou hodinách ozáření činila plocha píku pro Z-EHMC 10–14 %. Jedná se o hodnotu plochy, která je větší než plocha píku čistého Z-EHMC po čtyřech hodinách ozáření. Výsledky naznačují tomu, že kombinace EHMC v ES není vhodná, co se týče fotostabilizace EHMC, a že v přítomnosti ES podléhá rychlejším změnám.

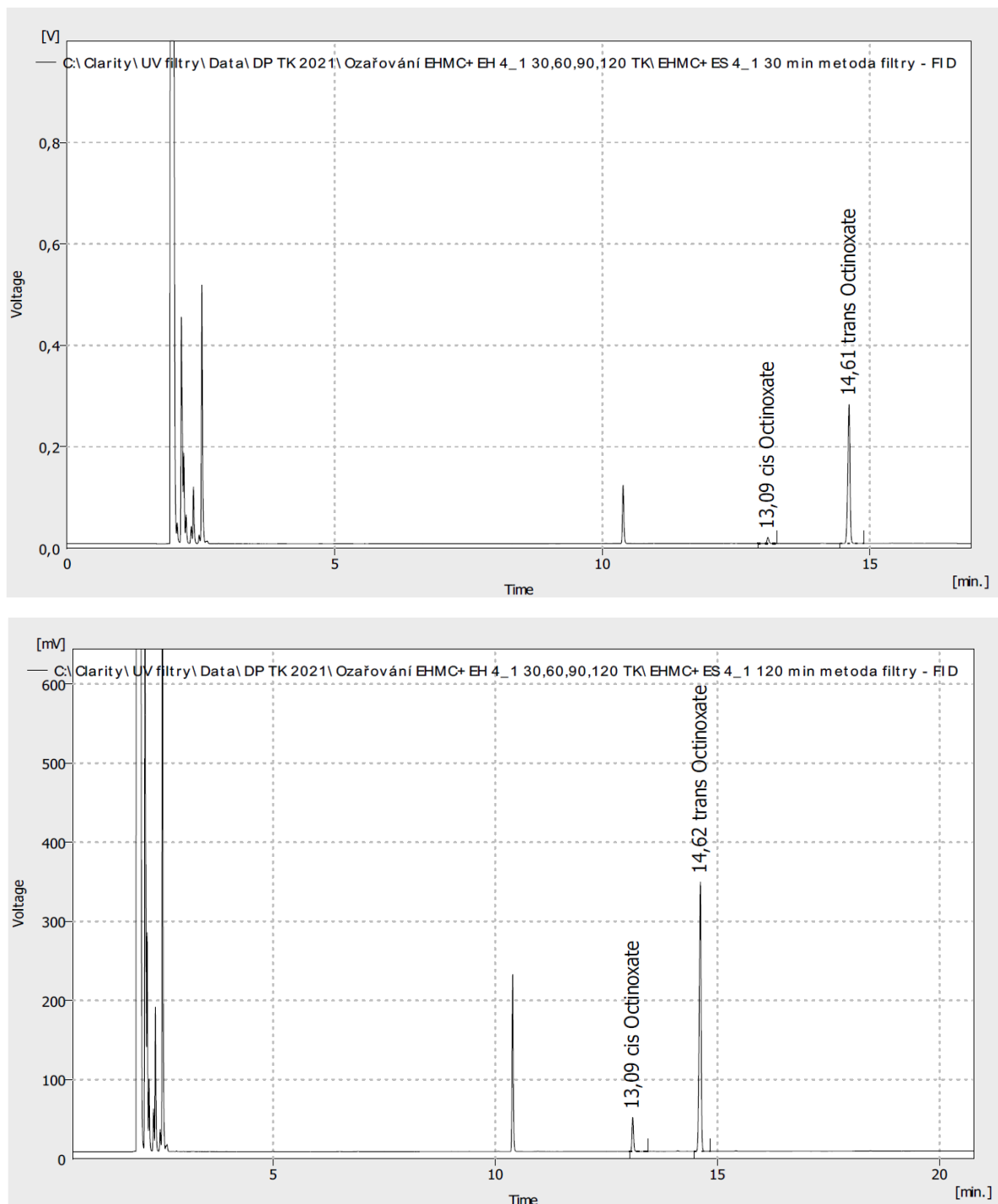
Tabulka 7 Přehled retenčních časů a ploch píků pro směs 3 a 4, metoda A

Čas odběru [min]	Plocha [%]		Plocha [%]		
	směs 3		směs 4		
	<i>Z</i>	<i>E</i>	<i>Z</i>	<i>E</i>	
1. měření	30	4,5	95,5	3,7	96,3
	60	8,7	91,3	6,1	93,9
	90	10,9	89,1	8,5	91,5
	120	10,6	89,4	9,5	90,5
2. měření	30	4,0	96,0	3,1	96,9
	60	7,0	93,0	5,6	94,4
	90	9,4	90,6	7,3	92,7
	120	14,4	85,6	8,8	91,2

Snížení poměru ES ve směsi 4 se projevilo tím, že došlo k mírnému zvýšení stabilizace EHMC oproti směsi 3. Avšak stabilizace není tak značná, naopak oproti samotnému EHMC dochází opět k výrazné fotoizomerizaci. Po prvních 30 minutách vystavení směsi simulátoru došlo ke změně 3,7 % původního *E*-EHMC. Během analýzy každého dalšího vzorku v daných časových intervalech docházelo k nárůstu plochy píku pro *Z*-EHMC. Nárůsty ploch píků jsou uvedeny v tabulce 7. Po 120 minutách, kdy byl vzorek vystaven simulovanému slunečnímu záření, došlo k nárůstu plochy píku *Z*-EHMC o 9,5 %. Tato hodnota je totožná s nárůstem plochy píku čistého vzorku EHMC, který byl záření vystaven po dobu 150 minut. Ze získaných dat analýzy vyplývá, že i snížená koncentrace ES má výrazný vliv na fotostabilitu UV filtru EHMC. Příčinou může být přítomnost reaktivnějších substituentů, které tvoří strukturu ES. Na obrázku 30 jsou porovnány chromatografické záznamy nárůstu plochy píku *Z*-EHMC ve vybraných časových intervalech.



Obrázek 29 Chromatografické záznamy směsi 3 pro 30 a 120 minut



Obrázek 30 Chromatografické záznamy směsi 4 pro 30 a 120 minut

8 DETEKCE UV FILTRŮ POMOCÍ VYSOKOÚČINNÉ KAPALINOVÉ CHROMATOGRAFIE (HPLC)

Cílem byl vývoj metody kapalinové chromatografie pro detekci vybraných UV filtrů. Metoda byla také využita k detekci pozměněných forem vybraných UV filtrů.

8.1 Použitý materiál a přístroje

Pro detekci UV filtrů pomocí HPLC byly vybrány tři UV filtry, Avobenzone (BMDM), Octocrylene (OCR) a Octinoxate (EHMC), u kterého byla HPLC použita i k detekci jeho pozměněných forem. Použitý vzorek pozměněné formy EHMC byl připraven již v předchozí kapitole při stanovení pomocí plynové chromatografie.

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Byla použita kapalinová chromatografie Waters 600E Systém Controller s UV detektorem UV200 DeltaChrom. Byla použita kvartérní pumpa s kvartérním odplynovačem mobilní fáze Vacuum Degasser VD 0040 DeltraChrom. Jako kolona byla použita reverzní kolona XSelect®CSH™ C18 s velikostí částic 5 μm a o rozměrech 4,6 \times 250 mm. Data byla vyhodnocena pomocí softwaru Clarity, DataApex.

- **Parametry pro HPLC**

Jako mobilní fáze (MF) byl použit vysoce čistý acetonitril (ACN) pro HPLC s izokratickou elucí. Tato mobilní fáze byla použita k separaci čistých UV filtrů, filtrů ve směsi a také pro separaci pozměněných forem EHMC. Při dalším stanovení čistých UV filtrů a jejich směsi byla použita MF acetonitril:voda (ACN:H₂O) v poměru 9:1 (90:10 (w/w)). Průtok MF činil 1 ml·min⁻¹, objem nástřiku 20 μl a doba měření 20 minut. Vlnová délka na UV detektoru byla nastavena na 310 nm.

8.2 Samotné měření

Byly připraveny roztoky UV filtrů nejprve o koncentraci 1 mg·ml⁻¹. Jako rozpouštědlo byla použita mobilní fáze dle probíhající analýzy. Roztoky o koncentraci 1 mg·ml⁻¹ měly vysoké až neměřitelné odezvy na detektoru, proto byly roztoky naředěny na koncentraci 0,1 mg·ml⁻¹ a 0,01 mg·ml⁻¹.

Směs tří uvedených UV filtrů byla připravena z nejvíce naředěných roztoků, a to v poměru pro MF ACN 3:1:1 pro BMDM:OCR:EHMC. Pro MF ACN:H₂O činil poměr UV filtrů 2:1:1 BMDM:OCR:EHMC.

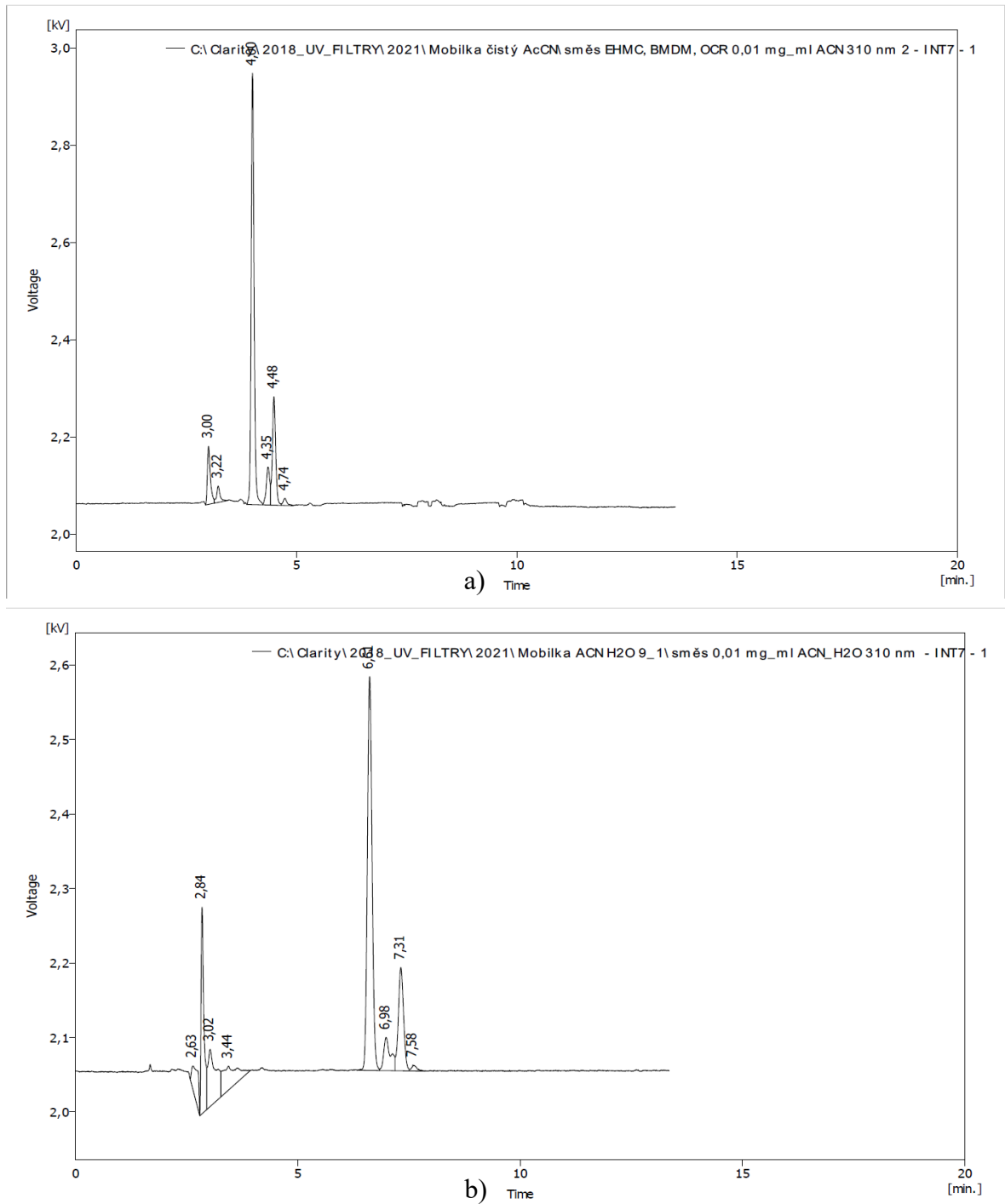
8.3 Vyhodnocení výsledků

Tabulka 8 Retenční časy UV filtrů v závislosti na MF

	Retenční čas [min]		
	MF ACN	MF ACN:H ₂ O (90:10 (w/w))	
UV filtry	OCR	4,00	6,61; 7,32
	BMDM	4,45; 4,48	6,61; 6,99; 7,32
	EHMC	4,4	6,60; 6,97; 7,13; 7,30

Nejprve byly pomocí kapalinové chromatografie analyzovány jednotlivé UV filtry. V tabulce 8 jsou uvedeny retenční časy UV filtrů, které byly detekovány při použití dvou mobilních fází. Jak je patrné, při použití acetonitrilu jako MF jsou retenční časy UV filtrů zkráceny, a navíc jsou pro jednotlivé filtry velmi blízké. U MF ACN:H₂O se při stanovení všech UV filtrů retenční časy prodlužují a píky jsou detekovány v podobných až stejných časech, viz tabulka 8. Navíc je detekováno více odezev na detektoru, než bylo očekáváno. Důvodem může být nedokonalá separace UV filtrů způsobená jak použitou MF, tak použitou kolonou. Dalším možným důvodem je zadržení předchozího vzorku v koloně a jeho následnou detekci s následujícím vzorkem nebo zadržení zbytku vzorků v dávkovacím ventilu se smyčkou. Také to může být způsobeno vyšší citlivostí detektoru, ale tato možnost je málo pravděpodobná, jelikož na GC byl viděn pouze jeden pík.

Na obrázku 31 jsou znázorněny chromatografy pro směs UV filtrů OCR, BMDM a EHMC při použití dvou zmíněných MF. Samotná separace UV filtrů na koloně nebyla dokonalá, jelikož se na detektoru objevují spojené píky s více vrcholy. Při použití MF jako rozpouštědel mohlo dojít k neočekávané reakci mezi UV filtrem a rozpouštědlem. To se na detektoru může projevit odezvou v rozdílném retenčním čase.



Obrázek 31 Chromatografy směsi UV filtru pro MF a) acetonitril, b) ACN:H₂O

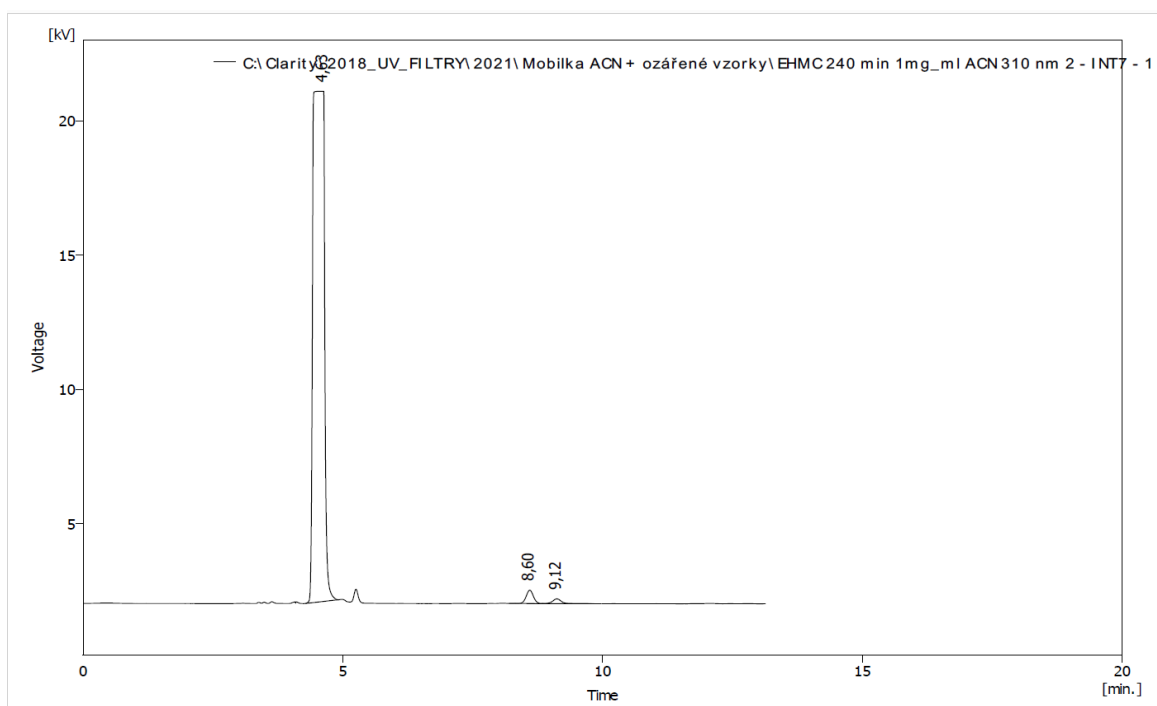
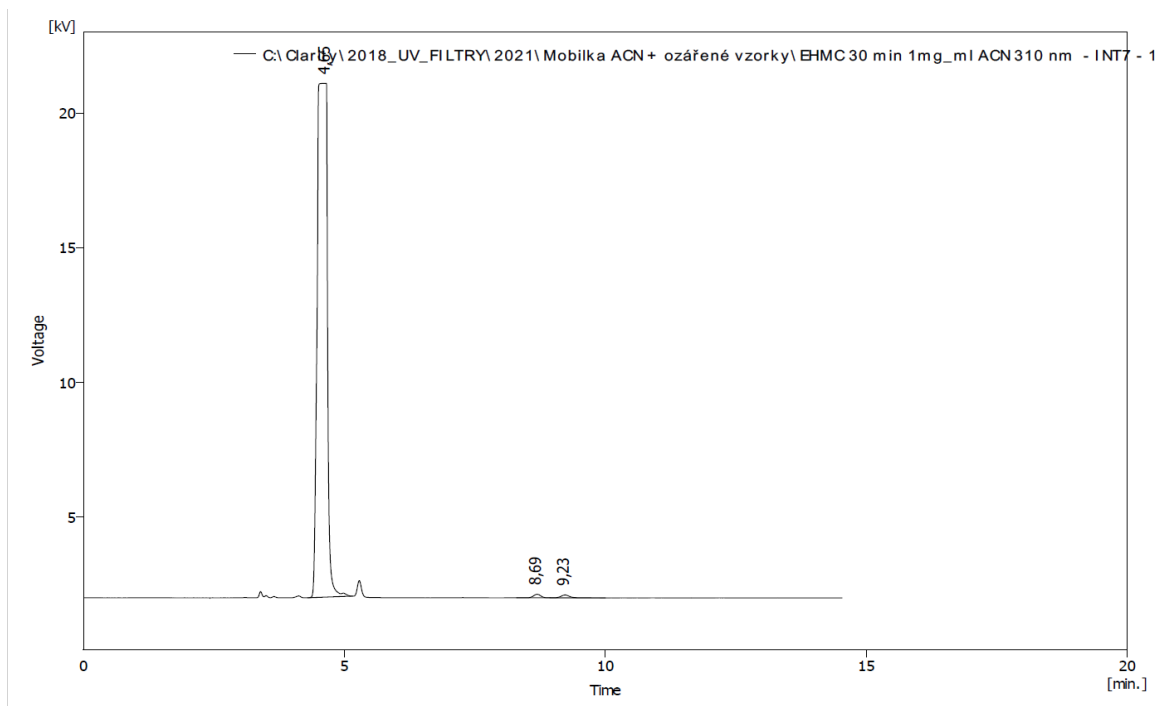
Data byla srovnána s jinými analýzami, které se od sebe lišily typem kolon, vybavením a nastavenými podmínkami analýzy. Nyeborg a spol. [64] se ve své práci zabývají ověřením metody HPLC pro kvantitativní stanovené UV filtrů. Používají 12 UV filtrů, z toho 3, které jsme ve své analýze použili i my (OCR, BMDM, EHMC). HPLC se skládala ze separačního modulu s automatickým injektorem a detektorem fotodiodového pole (DAD). Zpracování

dat probíhalo pomocí softwaru Empower. K separaci použili kolonu Symmetry Shield C18 o velikosti částic 5 μm , délce kolony 150 mm a vnitřním průměru 4,6 mm. Jako mobilní fázi použili směs ethanol:voda okyselenou přídatkem kyseliny trihydrogenfosforečné s gradientovou elucí a průtokem 1,2 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Maximální vlnová délka na detektoru byla nastavena na 312 nm. Data jsme srovnaly s daty z naší analýzy a dospěli jsme k závěru, že pořadí eluce UV filtrů je stejné.

To potvrzují i výsledky, které ve své práci uvádí Peruchi a Rath [21], kteří k detekci UV filtrů použili čtyři druhy kolon a dva druhy mobilní fáze. Zde je pořadí UV filtrů zachováno a mění se jen retenční časy. Pomocí rozdílných kolon se snažili dosáhnout co nejlepší separace všech UV filtrů při izokratické eluci. To se podařilo za použití kolony ACE C18 o velikosti částic 3,5 μm , délce 150 mm a vnitřním průměru 4,6 mm. Pro tuto kolonu byla volena MF methanol:voda (88:12 (w/w)) s průtokem 1 $\text{ml}\cdot\text{min}^{-1}$. Dále používali systém HPLC vybavený detektorem fotodiodového pole model PDA. Sběr a vyhodnocování dat probíhalo pomocí softwaru Millennium 32 4.0.

Při chromatografickém stanovení 0,01 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$ ozářeného (240 minut) vzorku EHMC, nebyly na detektoru zaznamenány významné odezvy/píky. Retenční čas 4,51 minut odpovídá nezměněné formě UV filtru *E*-EHMC. V čase 8,44 minut a 9,70 minut byly detekované minimální odezvy na detektoru. Proto byly pro další analýzy použity vyšší koncentrace (1 $\text{mg}\cdot\text{ml}^{-1}$). Při analýze vyšší koncentrace EHMC byly na detektoru detekované výrazné píky při časech 8,5 a 9 minut. Tyto píky se objevovaly i při analýze dalších dvou vzorků ozářeného EHMC (čas odběru 30 a 120 minut). Dalo by se předpokládat, že se jedná o fotodegradační produkty EHMC, jelikož s přibývajícím časem ozáření se zvětšuje jejich plocha píků, viz obrázek 32. Pro přesnou identifikaci by bylo potřeba podrobit vzorek identifikaci na hmotnostním spektrometru, aby se dalo přesně určit, o jaké struktury se jedná.

Nyeborg se také ve své práci [64] zabýval detekcí pozměněné formy EHMC. Použil stejné podmínky, které jsou uvedeny výše. K odezvě na detektoru došlo v retenčním čase 11 minut, kdy tento čas náležel právě *Z*-EHMC. Nepozměněná forma *E*-EHMC se eluovala v čase 12,5 minut. V závislosti na těchto datech bychom očekávali, že při naší analýze dojde k eluci *Z*-EHMC v kratším retenčním čase než pro jeho *E*-izomer. Možným důvodem, proč nejspíš nedocházelo k detekci *Z*-EHMC, jsou námi použité podmínky analýzy, a to nevhodná kolona, nevhodná MF nebo nedostatečný rozsah detekce detektoru.



Obrázek 32 Chromatografické záznamy EPMC v časech odběru 30 a 240 minut

ZÁVĚR

Hlavním tématem této diplomové práce byla analýza strukturálních změn chemických UV filtrů způsobených slunečním zářením. Teoretická část byla zaměřena na UV záření a jeho vlastnosti. V teoretické části byly především charakterizovány jednotlivé třídy a druhy UV filtrů. Detailněji byl popsán mechanismus působení UV filtrů a jejich strukturální změny způsobené interakcí se zářením nebo chemikáliemi. Také byly charakterizovány metody pro stanovení, identifikaci a charakterizaci vlastností UV filtrů.

Praktická část se věnovala především vývoji metod pro stanovení, identifikaci a sledování strukturálních změn a vlastností UV filtrů. U vybraných filtrů byly sledovány absorpční spektra v oblasti UV záření. Na základě získaných dat, které byly porovnány s literaturou, jsme si ověřili a potvrdili absorpční vlastnosti UV filtrů a získali jsme tak přehled o vlnových délkách, které jsou pro jednotlivé UV filtry charakteristické.

Další část byla věnována vývoji chromatografických metod pro analýzu UV filtrů. Pro analýzu byly zvoleny již nastavené a otestované chromatografické podmínky na plynovém chromatografu DANI MASTER. Jednalo se o metodu A a B. Při obou metodách docházelo k dostatečné separaci a detekci použitých UV filtrů. Pomocí metod bylo získáno pořadí UV filtrů ve směsi i s příslušnými retenčními časy. Příslušné metody (A, B) byly využity pro identifikaci pozměněných forem UV filtrů, které byly vystaveny simulovanému slunečnímu záření. Pro analýzu byl zvolen UV filtr Octinoxate (EHMC), o kterém je známo, že podléhá fotochemickým reakcím, především fotoizomerizaci. Ze získaných dat vyplývá, že již po 30 minutách, co byl vystaven slunečnímu záření, podléhá fotoizomerizaci. S přibývajícím časem ozáření narůstá koncentrace/plocha píku Z-EHMC. Jedná se o pozměněnou formu původně použitého E-EHMC.

Rovněž byl sledován vliv jiných druhů UV filtrů na chování EHMC. Pro analýzu byl zvolen Octocrylen (OCR) a Octisalate (ES). Byly připraveny směsi, které obsahovaly vždy EHMC a druhý příslušný UV filtr. Poměr UV filtrů ve směsi byl 1:1 (směs **1** a **3**) nebo 4:1 (směs **2** a **4**) EHMC a příslušného UV filtru. Z dat bylo zjištěno, že kombinace EHMC a OCR ve směsích **1** a **2** má značný vliv na fotostabilizaci EHMC, a že v této směsi dochází k menšímu nárůstu množství Z-EHMC. Při analýze směsí **3** a **4** s ES docházelo k opačnému případu. V těchto směsích docházelo k výraznému nárůstu množství Z-EHMC. Z toho vyplývá, že ES výrazně přispívá ke snížení fotostabilizačních účinků.

Na závěr byly tři UV filtry (BMDM, EHMC a OCR) analyzovány pomocí kapalinové chromatografie (HPLC). Pro analýzu byly použity dvě mobilní fáze, acetonitril a směs acetonitril:voda (90:10 (w/w)). Z výsledků vyplývá, že použitá MF má vliv na posun retenčních časů UV filtrů. Při analýze nedocházelo k dostatečné separaci vzorků na koloně, což může být způsobeno typem kolony a podmínkami analýzy. Kapalinová chromatografie byla také použita k analýze pozměněné formy EHMC. Při této analýze byly na detektoru detekovány odezvy, ale nelze potvrdit, zda tato odezva náleží pozměněné formě EHMC. Pro upřesnění by bylo potřeba použít detektor hmotnostní spektroskopie, který jsme neměli k dispozici.

Z výsledků analýz vyplývá, že zisk informací o UV filtrech z provedených analýz je do značné míry ovlivněn použitými přístroji a samotnou metodikou prováděného experimentálního výzkumu. Samotný vývoj metod pro studování chování a sledování vlastností chemických UV filtrů je nezbytnou součástí pro vývoj a aplikaci těchto látek v budoucnu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] NGOC, TRAN, MOON, CHAE, PARK a LEE. Recent Trends of Sunscreen Cosmetic: An Update Review. *Cosmetics*. 2019, **6**(4). ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics6040064.
- [2] SALVADOR, A. a CHISVERT, A. *Analysis of Cosmetic Products*. 1st. ed. Elsevier Science, 2007, s. 85-106. Kap. 5 Ultraviolets Filters in Cosmetics: Regulatory Aspects and Analytical Methods. ISBN 9780444522603.
- [3] *Ultraviolet (UV) radiation* [online]. -: American cancer society, 2019 [cit. 2020-10-06]. Dostupné z: <https://www.cancer.org/cancer/cancer-causes/radiation-exposure/uv-radiation>.
- [4] BAREL, A. O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, c2009, s. 311-321. Kap. 29 UV filters. ISBN 978-1-4200-6963-1.
- [5] *Ultraviolet radiation* [online]. World Health Organization, [cit. 2020-10-06]. Dostupné z: <https://www.who.int/health-topics/ultraviolet-radiation>.
- [6] *Ultraviolet radiation* [online]. Encyclopaedia Britannica, 2020 [cit. 2020-10-07]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/ultraviolet-radiation>.
- [7] HEERINF, W. UV SOURCES – Basics, Properties and Applications, [online]. [cit. 2021-02-24]. Dostupné z: https://uvsolutionsmag.com/stories/pdf/archives/060401Heering_2004.pdf
- [8] *What's the Difference Between UVA and UVB Rays?* [online]. Healthline, 2019 [cit. 2020-10-09]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/skin/uva-vs-uvb>.
- [9] LIU, J., ZHANG, W. a PICARDO, M. The Influence of the Environment and Clothing on Human Exposure to Ultraviolet Light. *PLOS ONE*. 2015, **10**(4). ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0124758.
- [10] *The ABCs of Sun Radiation: All About UVA, UVB and UVC Rays* [online]. The blog. Glasses direct, 2018 [cit. 2020-11-26]. Dostupné z: <https://blog.glassesdirect.co.uk/2018/07/18/the-abcs-of-sun-radiation-all-about-uva-uvb-and-uvc-rays/>.

- [11] SALVADOR, A. a CHISVERT, A. *Analysis of Cosmetic Products*. 2nd.ed. Elsevier Science, 2017, s. 83-120. Kap. 3.1 UV filters in Sunscreens and other Cosmetics. Regulatory Aspects and Analytical Methods. ISBN 978-0-444-63508-2.
- [12] Nařízení Evropského parlamentu a rady (ES) č. 1223/2009 Sb., ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. In: Úřední věstník Evropské unie. Brusel, 2009
Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:02009R1223-20190813&from=EN>.
- [13] STIEFEL, C. a W. SCHWACK. Photoprotection in changing times - UV filter efficacy and safety, sensitization processes and regulatory aspects. *International Journal of Cosmetic Science*. 2015, **37**(1), 2-30. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/ics.12165.
- [14] ROMANHOLE, R. C., ATAIDE, J. A., CEFALI, L. C., MORIEL, P. a Priscila Gava MAZZOLA. Photostability study of commercial sunscreens submitted to artificial UV irradiation and/or fluorescent radiation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2016, **162**, 45-49. ISSN 10111344. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotobiol.2016.06.011.
- [15] MANAIA, E. B., KAMINSKI, R. C. K., CORRÊA, M. A. a CHIAVACCI, L. A. Inorganic UV filters. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2013, **49**(2), 201-209. ISSN 1984-8250. Dostupné z: doi:10.1590/S1984-82502013000200002.
- [16] Kožíková, Taťána. UV filtry v kosmetice a vliv na životní prostředí. Zlín, 2019. bakalářská práce (Bc.). Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Fakulta technologická.
- [17] DE NAVARRE, M. G. a SCHLOSSMAN, M. L. *The chemistry and manufacture of cosmetics*. 4th ed. Carol Stream, IL: Allured Books, 2009. ISBN 978-1-932633-48-1.
- [18] SERPONE, N., DONDI, D. a ALBINI, A. Inorganic and organic UV filters: Their role and efficacy in sunscreens and skincare products. *Inorganica Chimica Acta*. 2007, **360**(3), 794-802. ISSN 00201693. Dostupné z: doi:10.1016/j.ica.2005.12.057.
- [19] *Sun Protection Factor (SPF)*. U.S. Food & Drug Administration [online]. 2017, 14. 7. 2017 [cit. 2020-10-16]. Dostupné z: <https://www.fda.gov/about-fda/center-drug-evaluation-and-research-cder/sun-protection-factor-spf>

- [20] *What is organic & inorganic sunscreen?* [online]. 2019 [cit. 2020-10-16]. Dostupné z: https://www.cosmeticsbusiness.com/news/article_page/What_is_organic_and_inorganic_sunscreen/153042.
- [21] PERUCHI, L. M. a S. RATH. Development and application of a HPLC method for eight sunscreen agents in suncare products. *International Journal of Cosmetic Science*. 2012, **34**(3), 226-233. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/j.1468-2494.2012.00703.x.
- [22] CANTRELL, A., MCGARVEY, D. J. a TRUSCOTT, T. G. Photochemical and photophysical properties of sunscreens. *Sun Protection in Man*. Elsevier, 2001, 2001, **3**(-), 495-519. Comprehensive Series in Photosciences. ISBN 9780444508393. Dostupné z: doi:10.1016/S1568-461X(01)80061-2.
- [23] GUNIA-KRZYŻAK, A., K. SŁOCZYŃSKA, J. POPIÓŁ, P. KOCZURKIEWICZ, H. MARONA a E. PEKALA. Cinnamic acid derivatives in cosmetics: current use and future prospects. *International Journal of Cosmetic Science*. 2018, **40**(4), 356-366. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/ics.12471.
- [24] BERARDESCA, E., T. ZUBERBIER, M. SANCHEZ VIERA a M. MARINOVICH. Review of the safety of octocrylene used as an ultraviolet filter in cosmetics. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2019, **33**(S7), 25-33. ISSN 0926-9959. Dostupné z: doi:10.1111/jdv.15945.
- [25] KOCKLER, J., OELGEMÖLLER, M., ROBERTSON, S. a GLASS, B. D. Photostability of sunscreens. *Journal of Photochemistry and Photobiology C: Photochemistry Reviews*. 2012, **13**(1), 91-110. ISSN 13895567. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochemrev.2011.12.001.
- [26] SHARMA, A., BÁNYIOVÁ, K., BABICA, P., EL YAMANI, N., COLLINS, A. R. a ČUPR, P.. Different DNA damage response of cis and trans isomers of commonly used UV filter after the exposure on adult human liver stem cells and human lymphoblastoid cells. *Science of The Total Environment*. 2017, **593-594**, 18-26. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2017.03.043.
- [27] NASH, J. F. a P. R. TANNER. Relevance of UV filter/sunscreen product photostability to human safety. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*. 2014, **30**(2-3), 88-95. ISSN 09054383. Dostupné z: doi:10.1111/phpp.12113.

- [28] KLIMOVÁ, Z., HOJEROVÁ, J. a PAŽOUREKOVÁ, S. Current problems in the use of organic UV filters to protect skin from excessive sun exposure. *Acta Chimica Slovaca*. 2013, **6**(1), 82-88. ISSN 1337-978X. Dostupné z: doi:10.2478/acs-2013-0014.
- [29] SANTOS, A. J. M. a J. C. G. Esteves DA SILVA, SHARP, Sean Henry, ed. UV filters, their degradation reactions and eco-toxicological effects. *Sunscreens: Properties, Role in Skin Cancer Prevention and Health Effects*. Nova Science Publishers, 2014, s. 80-93. ISBN 978-1-63482-160-5
- [30] DA SILVA, L. P., FERREIRA, P. J. O., MIRANDA, M. S. a J. C. G. ESTEVES DA SILVA. A theoretical study of the UV absorption of 4-methylbenzylidene camphor: from the UVB to the UVA region. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2015, **14**(2), 465-472. ISSN 1474-905X. Dostupné z:doi:10.1039/C4PP00392F.
- [31] RAMOS, S., HOMEM, V., ALVES, A. a SANTOS, L. Advances in analytical methods and occurrence of organic UV-filters in the environment — A review. *Science of The Total Environment*. 2015, **526**, 278-311. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2015.04.055.
- [32] MTURI, G. J. a B. S. MARTINCIGH. Photostability of the sunscreensing agent 4-tert-butyl-4'-methoxydibenzoylmethane (avobenzene) in solvents of different polarity and proticity. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2008, **200**(2-3), 410-420. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2008.09.007.
- [33] *Suntest CPS+*[online]. Kaitrade [cit. 2021-03-31]. Dostupné z:<https://kaitrade.cz/produkty/komory-pro-slunecni-simulaci/xenotest-suntest-cps>.
- [34] SILVIA DÍAZ-CRUZ, M., LLORCA, M., BARCELÓ, D. a BARCELÓ, D. Organic UV filters and their photodegradates, metabolites and disinfection by-products in the aquatic environment. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2008, **27**(10), 873-887. ISSN 01659936. Dostupné z: doi:10.1016/j.trac.2008.08.012.
- [35] LORIGO, M., MARIANA, M. a CAIRRAO, E. Photoprotection of ultraviolet-B filters: Updated review of endocrine disrupting properties. *Steroids*. 2018, **131**, 46-58. ISSN 0039128X. Dostupné z: doi:10.1016/j.steroids.2018.01.006.

- [36] LAI, W. W. P., CHEN, K. L. a LIN, A. Y. CH. Solar photodegradation of the UV filter 4-methylbenzylidene camphor in the presence of free chlorine. *Science of The Total Environment*. 2020, **722**. ISSN 00489697. Dostupné z: doi:10.1016/j.scitotenv.2020.137860.
- [37] KRYCZYK-POPRAWA, A., KWIECIEŃ, A. a OPOKA, W. Photostability of Topical Agents Applied to the Skin: A Review. *Pharmaceutics*. 2020, **12**(1). ISSN 1999-4923. Dostupné z: doi:10.3390/pharmaceutics12010010.
- [38] HUONG, S. P., ANDRIEU, V., REYNIER, J.P., ROCHER, E. a FOURNERON, J.D. The photoisomerization of the sunscreen ethylhexyl p-methoxy cinnamate and its influence on the sun protection factor. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*. 2007, **186**(1), 65-70. ISSN 10106030. Dostupné z: doi:10.1016/j.jphotochem.2006.07.012.
- [39] SHARMA, A., BÁNYIOVÁ, K., VRANA, B., JUSTAN, I. a ČUPR, P. Investigation of cis-trans isomer dependent dermatotoxicokinetics of UV filter ethylhexyl methoxycinnamate through stratum corneum in vivo. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017, **24**(32), 25061-25070. ISSN 0944-1344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-017-0172-2.
- [40] LORIGO, M. a CAIRRAO, E. Antioxidants as stabilizers of UV filters: an example for the UV-B filter octylmethoxycinnamate. *Biomedical Dermatology*. 2019, **3**(1), - . ISSN 2398-8460. Dostupné z: doi:10.1186/s41702-019-0048-9.
- [41] GE, J., HUANG, D., HAN, Z., WANG, X., WANG, X. a WANG, Z. Photochemical behavior of benzophenone sunscreens induced by nitrate in aquatic environments. *Water Research*. 2019, **153**(-), 178-186. ISSN 00431354. Dostupné z: doi:10.1016/j.watres.2019.01.023.
- [42] MARTINCIGH, B. S. a OLLENGO, B. A. The Photostabilizing Effect of Grape Seed Extract on Three Common Sunscreen Absorbers. *Photochemistry and Photobiology*. 2016, **92**(6), 870-884. ISSN 00318655. Dostupné z: doi:10.1111/php.12652.
- [43] SCALIA, S. a MEZZENA, M. Incorporation in Lipid Microparticles of the UVA Filter, Butyl Methoxydibenzoylmethane Combined with the UVB Filter, Octocrylene: Effect on Photostability. *AAPS PharmSciTech*. 2009, **10**(2), 384-390. ISSN 1530-9932. Dostupné z: doi:10.1208/s12249-009-9217-2.

- [44] CHAUDHURI, R. K., LASCU, Z., PUC CETTI, G., DESHPANDE A. A., a PAKNIKAR, S. K. Design of a Photostabilizer Having Built-in Antioxidant Functionality and Its Utility in Obtaining Broad-spectrum Sunscreen Formulations. *Photochemistry and Photobiology*. 2006, **82**(3), 2005-07-15-RA-612. ISSN 0031-8655. Dostupné z: doi:10.1562/2005-07-15-RA-612.
- [45] NASCIMENTO, D. S., INSAUSTI, M., BAND, B. S. F., a GRÜNHUT, M. Photolysis study of octyl p-methoxycinnamate loaded microemulsion by molecular fluorescence and chemometric approach. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2018, **191**, 277-282. ISSN 13861425. Dostupné z:doi:10.1016/j.saa.2017.10.025.
- [46] SANTORO, M., D. OLIVEIRA, E. KEDORHACKMANN a A. SINGH. The effect of packaging materials on the stability of sunscreen emulsions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005. ISSN 03785173. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijpharm.2005.03.021.
- [47] KU, P.-Ch., LIU, T.-Y., LEE, S. H., KUNG T.-A. a WANG W.-H. An environmentally friendly strategy for determining organic ultraviolet filters in seawater using liquid-phase microextraction with liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Environmental Science and Pollution Research*. 2020, **27**(9), 9818-9825. ISSN 0944-1344. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-020-07599-6.
- [48] JIMÉNEZ-DÍAZ, I., A. ZAFRA-GÓMEZ, O. BALLESTEROS a A. NAVALÓN. Analytical methods for the determination of personal care products in human samples: An overview. *Talanta*. 2014, **129**, 448-458. ISSN 00399140. Dostupné z: doi:10.1016/j.talanta.2014.05.052.
- [49] SALVADOR, A. a A. CHISVERT. Sunscreen analysis. *Analytica Chimica Acta*. 2005, **537**(1-2), 1-14. ISSN 00032670. Dostupné z: doi:10.1016/j.aca.2005.01.055.
- [50] EN 16344. *Cosmetics – Analysis of cosmetics product – Screening for UV-filters in cosmetics product and quantitative determination of 10 UV-filters by HPLC*. Brussels: European Committee for standardization, 2013. Dostupné on
- [51] EN 17156. *Cosmetics – Analysis of cosmetics products – LC/UV method for the identification and quantitative determination in cosmetic products of the 22 organic UV filters in use in the EU*. Brussels: European Committee for standardization, 2018.

- [52] *Spectrometry and spectroscopy: What's the difference?* [online]. ATA scientific instruments, 14. 1. 2021 [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: <https://www.atascientific.com.au/spectrometry/>
- [53] *Spektrofotometrie (2. LK UK)* [online]. WikiSKripta, 21. 10. 2020 [cit. 2021-03-08]. Dostupné z: [https://www.wikiskripta.eu/w/Spektrofotometrie_\(2._LF_UK\)](https://www.wikiskripta.eu/w/Spektrofotometrie_(2._LF_UK))
- [54] *What is a UV-Vis spectrophotometer?* [online]. Denovix, 16. 10. 2018 [cit. 2021-01-20]. Dostupné z: <https://www.denovix.com/blog/what-is-a-uv-vis-spectrophotometer/>
- [55] *Spectrophotometry* [online]. Chemistry, 15. 8. 2020 [cit. 2021-01-21]. Dostupné z: [https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_\(Physical_and_Theoretical_Chemistry\)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry](https://chem.libretexts.org/Bookshelves/Physical_and_Theoretical_Chemistry_Textbook_Maps/Supplemental_Modules_(Physical_and_Theoretical_Chemistry)/Kinetics/02%3A_Reaction_Rates/2.01%3A_Experimental_Determination_of_Kinetics/2.1.05%3A_Spectrophotometry)
- [56] DONDI, D., ALBINI, A., a N. SERPONE, N. *Interactions between different solar UVB/UVA filters contained in commercial suncreams and consequent loss of UV protection*. 2006, **5**(9). ISSN 1474-905X. Dostupné z: doi:10.1039/b606768a.
- [57] GONZÁLEZ-ARJONA, LÓPEZ-PÉREZ, DOMÍNGUEZ a CUESTA VAN LOOKEN. Study of Sunscreen Lotions, a Modular Chemistry Project. *Journal of Laboratory Chemical Education*. 2015, **3**(3), 44-52. Dostupné z: doi:10.5923/j.jlce.20150303.02.
- [58] *Octisalate* [online]. Merck [cit. 2021-02-01]. Dostupné z: <https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/phr1081?lang=en®ion=CZ>
- [59] TSUCHIA, T., KIKUCHI, A., OGUCHI-FUJIYAMA, N., MIYAZAWA, K., a YAGI, M. Photoexcited triplet states of UV-B absorbers: ethylhexyl triazone and diethylhexylbutamido triazone: ethylhexyl triazone and diethylhexylbutamido triazone. *The Royal Society of Chemistry: Photochemical & Photobiological Sciences*. 2013, 1-8. Dostupné z: doi:10.1039/x0xx00000x.
- [60] OGUCHI-FUJIWARA, N., M. HATAO a K. SAKAMOTO, Chapter 35 - Ultraviolet Care Cosmetics. *Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and*

- Applications*. Elsevier, 2017, 587-599. ISBN 9780128020050. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-802005-0.00035-5.
- [61] RAI, R., SHANMUGA, S. C. a CR. SRINIVAS. Update on photoprotection. *Indian Journal of Dermatology*. 2012, **57**(5), 335-342. ISSN 0019-5154. Dostupné z: doi:10.4103/0019-5154.100472.
- [62] VILA, M., LAMAS, J. P., GARCIA-JARES, C., DAGNAC, T., a LLOMPART, M.. Optimization of an analytical methodology for the simultaneous determination of different classes of ultraviolet filters in cosmetics by pressurized liquid extraction–gas chromatography tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2015, **1405**, 12-22. ISSN 00219673. Dostupné z: doi:10.1016/j.chroma.2015.05.061.
- [63] SILVA, C. P. da, E. S. EMÍDIO a M. R. R. de MARCHI. UV Filters in Water Samples: Experimental Design on the SPE Optimization followed by GC-MS/MS Analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. ISSN 0103-5053. Dostupné z: doi:10.5935/0103-5053.20130182.
- [64] NYEBORG, M., M. PISSAVINI, Y. LEMASSON a O. DOUCET. Validation of HPLC method for the simultaneous and quantitative determination of 12 UV-filters in cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science*. 2010, **32**(1), 47-53. ISSN 01425463. Dostupné z: doi:10.1111/j.1468-2494.2009.00544.x.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

2EH	2-ethylhexanol
4MBA	4-methoxybenzaldehyd
4MBC	Encazamene
ACN	acetonitril
BDMD	Avobenzone
BP	benzophenone
C18	oktadecyl
CL	chemiluminiscence
Cl [•]	radikál chlóru
ClO	oxid chlornatý
DAD	detektor diodového pole
DCM	dichlormethan
DESM	Diethylhexyl syringylidenemalonát
DNA	deoxyribonukleová kyselina
EDTA	kyselina ethylendiamintetraoctová
EHMC	Octinoxate
<i>E</i> -izomer	trans izomer
EMT	Bemotrizinol
ES	Ethylhexyl salicylate
ET	Ethylhexyl triazone
EtOH	ethanol
FID	plameno-ionizační detektor
GC	plynová chromatografie
HCO ₃ ⁻	hydrogen uhličitan
HOCl	kyselina chlorná

HPLC	vysokoúčinná kapalinová chromatografie
INCI	mezinárodní nomenklatura kosmetických přísad
IPA	isopropylalkohol
LC	kapalinová chromatografie
LLE	extrakce kapalina-kapalina
LTAB	lauryl trimethyl amonium bromid
MBT	Bisotrizole
MF	mobilní fáze
MS	hmotnostní spektrometr
NMR	nukleární magnetická rezonance
NO [•]	radikál oxidu dusnatého
NO ₂ [•]	radikál oxidu dusičitého
NO ₃ ⁻	dusičnan
OCl ⁻	chlornan
OCR	Octocrylene
OH [•]	hydroxylový radikál
PABA	kyselina p-aminobenzoová
PBSA	Ensulizole
PDO	Padimat O
RNS	reaktivní formy dusíku
ROS	reaktivní formy kyslíku
Rt	retenční čas
SCCP	The Scientific Committee on Consumer Products
SPE	extrakce na pevné fázi
SPF	sun protection factor
TBA	<i>terc</i> -butylalkohol

THF	tetrahydrogenfuran
TiO ₂	oxid titaničitý
UV	Ultrafialové záření
UV/VIS	detektor ultrafialového a viditelného záření
Z-izomer	cis izomer
ZnO	oxid zinečnatý
λ	vlnová délka

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Intenzita UVB záření během dne [upraveno dle [9]]	12
Obrázek 2 Prostup UV záření [upraveno dle [10]]	13
Obrázek 3 Mechanismus působení UV filtrů na UV záření upraveno dle [15].....	18
Obrázek 4 Schéma procesu degradace UV filtrů [upraveno dle [29]].....	25
Obrázek 5 Izomerace Z-4MBC na E-4MBC	27
Obrázek 6 Keto-enol tautomerizace BMDM.....	28
Obrázek 7 Izomerace Octinoxate z E-izomeru na Z-izomer.....	29
Obrázek 8 4MBC s výrazněnou 4-methylstyrenovou skupinou.....	31
Obrázek 9 Schéma spektrofotometru [upraveno dle [55]].....	38
Obrázek 10 Přístroj WTW photoLab® 6600 UV-VIS	42
Obrázek 11 Graf závislosti absorpance na vlnové délce BMDM.....	43
Obrázek 12 Graf závislosti absorpance BP3 na vlnové délce	44
Obrázek 13 Graf závislosti absorpance EMT, MBT a BP1 na vlnové délce.....	45
Obrázek 14 Graf závislosti absorpance EHMC na vlnové délce.....	46
Obrázek 15 Graf závislosti absorpance ES na vlnové délce.....	47
Obrázek 16 Graf závislosti absorpance ET, 4MBC a PDO na vlnové délce.....	48
Obrázek 17 Graf závislosti absorpance OCR na vlnové délce	49
Obrázek 18 Přístroj DANI Master GC	52
Obrázek 19 Solární komora SUNTEST CPS+	53
Obrázek 20 Chromatografický záznamy 0,01% směsi UV filtrů pro a) metodu A; b) metodu B.....	57
Obrázek 21 Změna barvy vzorku EHMC po ozáření	58
Obrázek 22 Chromatografické záznamy EHMC v čase 240 min a) metoda A, b) metoda B	60
Obrázek 23 Chromatografické záznamy pro UV filtr OCR 120 min.....	61
Obrázek 24 Srovnání změny barvy vzorků po ozáření, vlevo směs 1, vpravo samotný EHMC	62
Obrázek 25 Srovnání změny barvy směsi 2 vlevo se směsí 1 vpravo	63
Obrázek 26 Chromatografické záznamy směsi 1 pro 30 a 120 min	64
Obrázek 27 Chromatografické záznamy směsi 2 pro 30 a 120 minut	65
Obrázek 28 Změna barvy směsi 4 vlevo a směsi 3 vpravo.....	66
Obrázek 29 Chromatografické záznamy směsi 3 pro 30 a 120 minut	68
Obrázek 30 Chromatografické záznamy směsi 4 pro 30 a 120 minut	69
Obrázek 31 Chromatografy směsi UV filtru pro MF a) acetonitril, b) ACN:H ₂ O	72
Obrázek 32 Chromatografické záznamy EHMC v časech odběru 30 a 240 minut	74

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Přehled organických UV filtrů.....	19
Tabulka 2 Přehled použitých UV filtrů pro spektrofotometrickou analýzu	41
Tabulka 3 Přehled použitých UV filtrů pro GC analýzu	51
Tabulka 4 Přehled retenčních časů UV filtrů v 0,01% roztoku	55
Tabulka 5 Přehled retenčních časů a ploch píků pro EHMC.....	58
Tabulka 6 Přehled retenčních časů a ploch píků pro směs 1 a 2 , metoda A.....	62
Tabulka 7 Přehled retenčních časů a ploch píků pro směs 3 a 4 , metoda A.....	67
Tabulka 8 Retenční časy UV filtrů v závislosti na MF.....	71

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Přehled ploch píků pro ozáření EHMC v různých kombinacích

Příloha P II: Obrázek použitých UV filtrů v původních obalových materiálech

**PŘÍLOHA P I: PŘEHLED PLOCH PÍKŮ PRO OZÁŘENÝ EHMC
V DANÝCH KOMBINACÍCH**

		Plocha píkŮ [%]																		
Kombinace	EHMC	směs 1		směs 2		směs 3		směs 4												
		1. měření	2. měření	1. měření	2. měření	1. měření	2. měření	1. měření	2. měření	1. měření	2. měření	Z	E							
Izomerie	Z																			
	E																			
30	2,7	97,3	99,4	0,6	99,4	0,7	99,3	1,4	98,6	1,1	98,9	4,5	95,5	4,0	96,0	3,7	96,3	3,1	96,9	
60	5,2	94,8	98,8	1,2	98,8	1,1	98,9	2,3	97,7	2,4	97,6	8,7	91,3	7,0	93,0	6,1	93,9	5,6	94,4	
90	5,5	94,5	98,7	1,3	98,7	1,3	98,7	2,6	97,4	2,4	97,6	10,9	89,1	9,4	90,6	8,5	91,5	7,3	92,7	
120	7,2	92,8	98,0	2,0	98,0	1,8	98,2	3,9	96,1	4,5	95,5	10,6	89,4	14,4	85,6	9,5	90,5	8,8	91,2	
150	9,3	90,7																		
180	8,7	91,3																		
240	10,1	89,9																		

Čas odběru [min]

PŘÍLOHA P II: POUŽITÉ UV FILTRY

