

Fotoprotektivní přípravky s obsahem aktivních rostlinných složek

Bc. Vladimíra Šístková

Bakalářská práce
2020



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Vladimíra Šístková**
Osobní číslo: **T17070**
Studijní program: **B2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Forma studia: **Kombinovaná**
Téma práce: **Fotoprotektivní přípravky s obsahem rostlinných aktivních složek**

Zásady pro vypracování

1. V teoretické části vypracujte literární rešerši s důrazem na problematiku látek, které jsou součástí ochranného systému rostlin proti UV záření, a zhodnotte možnosti jejich využití v kosmetických přípravcích na opalování. Pozornost věnujte především ligninu.
2. V praktické části otestujte fotoprotektivní potenciál ligninu, popř. jeho forem.
3. Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.

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

Seznam doporučené literatury:

1. QIAN, Yong, Xueqing QIU a Shiping ZHU. Lignin. *Green Chemistry* [online]. 2015, 17(1), 320-324 [cit. 2019-04-11]. DOI: 10.1039/C4GC01333F. ISSN 14639262.
2. KORNIINA, Liudmila, Vladimir KOSTYUK, Alla POTAPOVICH, Wolfgang MAYER, Nigma TALIB a Chiara DE LUCA. Secondary plant metabolites for sun protective cosmetics. *Cosmetics* [online]. MDPI, 2018, 5(2), 32 [cit. 2019-04-11]. DOI: 10.3390/cosmetics5020032. ISSN 20799284.
3. GRUMEZESECU, Alexandru. *Surface Chemistry of Nanobiomaterials: Applications of Nanobiomaterials*. William Andrew Publishing, 2016. ISBN 0-323-42884-3.
4. SAEWAN, Nisakorn a Ampa JIMTAISONG. Natural products as photoprotection. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. WILEY, 2015, 14(1), 47-63 [cit. 2019-04-11]. DOI: 10.1111/jocd.12123. ISSN 14732130.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Veronika Mikulcová, Ph.D.**
Centrum polymerních systémů

Datum zadání bakalářské práce: **2. ledna 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **22. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlíně dne 20. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Deru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá možnostmi využití přírodních látek v roli UV protektorů v prostředcích na opalování. Stěžejní část práce je věnována ligninu. V teoretické části je popisován vliv UV záření na kůži a jsou specifikovány používané syntetické UV filtry. Literární rešerše je zakončena podrobnou charakteristikou ligninu. V praktické části byly roztoky ligninu hodnoceny z hlediska schopnosti pohlcovat záření v UV-VIS oblasti a jejich fotostabilita po expozici UV paprskům. Dále byla vyzkoušena příprava ligninových nanočástic v různých rozpouštědlech, jejich následné vyhodnocení analyzátozem částic, měření absorbance a mikroskopická analýza.

Klíčová slova: lignin, UV záření, nanočástice

ABSTRACT

The bachelor's thesis deals with the possibilities of using natural substances in the role of UV protectors in sunscreen products. The main part of the work is devoted to lignin. The theoretical part describes the effects of UV radiation on the skin and specifies the synthetic UV filters used. The literature review ends with a detailed description of lignin. In the practical part, lignin solutions were evaluated in terms of their ability to absorb radiation in the UV-VIS region and their photostability after exposure to UV rays. Furthermore, the preparation of lignin nanoparticles in various solvents, their subsequent evaluation by a particle analyzer, measurement of absorbance and microscopic analysis were tested.

Keywords: lignin, UV radiation, nanoparticles

Ráda bych touto cestou poděkovala především vedoucí mé bakalářské práce Ing. Veronice Mikulcové Ph.D. za podnět ke zpracování tématu a především za obětavé a inspirativní vedení práce a lidský přístup při zdolávání obtíží.

Také bych ráda poděkovala své rodině, která mě podporuje po celou dobu studia.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 UV ZÁŘENÍ A JEHO VLIV NA KŮŽI	11
1.1 UV ZÁŘENÍ – ROZDĚLENÍ	11
1.2 UVA A UVB ZÁŘENÍ A JEHO VLIV NA LIDSKÝ ORGANISMUS	12
1.2.1 Vliv UVA záření na kůži.....	13
1.2.2 Vliv UVB záření na kůži.....	14
2 DRUHY UV FILTRŮ	17
2.1 CHEMICKÉ UV FILTRY	17
2.2 FYZIKÁLNÍ UV FILTRY	18
2.3 ROSTLINNÉ UV FILTRY	19
3 ROSTLINNÉ UV FILTRY	20
3.1 VÝBĚR NĚKTERÝCH PŘÍRODNÍCH LÁTEK S FOTOPROTEKTIVNÍMI VLASTNOSTMI.....	20
4 LIGNIN	26
4.1 CHEMICKÁ STRUKTURA A VLASTNOSTI LIGNINU	26
4.2 ZPŮSOBY EXTRAKCE LIGNINU	28
4.3 MOŽNOSTI VYUŽITÍ LIGNINU	30
4.3.1 Lignin jako UV protektor.....	30
4.3.2 Lignin jako antioxidant	31
4.4 NEŽÁDOUCÍ ZBARVENÍ LIGNINU	32
4.5 CYTOTOXICITA LIGNINU.....	33
4.6 LIGNINOVÉ NANOČÁSTICE.....	34
4.7 SHRNTUÍ VÝHOD VYUŽITÍ LIGNINU V KOSMETICE	35
II PRAKTICKÁ ČÁST	36
5 POUŽITÁ METODIKA	37
5.1 TESTOVANÁ SUROVINA	37
5.2 POUŽITÉ POMŮCKY A CHEMIKÁLIE	37
5.3 POUŽITÉ PŘÍSTROJE	37
6 LABORATORNÍ POSTUPY	40
6.1 SPEKTROFOTOMETRICKÁ CHARAKTERISTIKA LIGNINU	40
6.2 PŘÍPRAVA LIGNINOVÝCH NANOČÁSTIC.....	41
6.3 CHARAKTERIZACE VZORKŮ A MĚŘENÍ.....	42
6.3.1 Fotonová korelační spektroskopie.....	43
6.3.2 Spektrofotometrická analýza ligninových nanočástic.....	44
6.3.3 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM).....	44
7 VÝSLEDKY A DISKUZE	45
7.1 MĚŘENÍ ABSORBANCE KALIBRAČNÍCH ROZTOKŮ	45
7.1.1 Závislost absorpance na vlnové délce kalibračních roztoků ligninu.....	45
7.1.2 Kalibrační křivky	46

7.2	ANALÝZA LIGNINOVÝCH NANOČÁSTIC	47
7.2.1	Velikost a distribuce velikostí částic	47
7.2.2	Spektrofotometrická charakteristika	50
7.2.3	Mikroskopická analýza pomocí TEM	52
	ZÁVĚR	55
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	56
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	63
	SEZNAM OBRÁZKŮ	65
	SEZNAM TABULEK.....	66

ÚVOD

Žádný organismus na planetě nemůže dlouhodobě existovat bez působení slunečního záření. Pro rostliny je nezbytným zdrojem energie v procesu fotosyntézy a většina živočichů, mezi něž patří i člověk, vytváří působením UV spektra v kůži provitamin D₃. Sluneční paprsky mají pozitivní vliv na psychiku a pomáhají i s léčbou řady kožních onemocnění. Avšak, tak jak každá mince má dvě strany, tak i sluneční záření, zejména jeho složka UV, má na organismy také negativní dopad. Od akutních spálenin kůže, přes tvorbu vrásek až po závažná kožní onkologická onemocnění. Nejúčinnějším prostředkem je preventivní ochrana kůže. Kromě zahalování pokožky oděvem se od raných dob lidé chránili nanášením olejů či jiných přírodních látek. Začátkem minulého století se módním trendem stala opálená pokožka jako znak mládí a fyzické krásy. Do popředí zájmu kosmetického průmyslu se tak dostávají opalovací prostředky k ochraně kůže.

V komerčních opalovacích prostředcích se používají především dva typy UV filtrů, chemické a fyzikální. Chemické (organické) UV filtry fotony absorbují, rozkládají a přeměňují na tepelnou energii. Fyzikální filtry UV paprsky odrážejí zpět do okolního prostředí. Kromě požadované ochrany mohou být syntetické UV filtry příčinou fotoalergických kontaktních dermatitid.

V důsledku znečištění životního prostředí a postupného snižování zásob neobnovitelných zdrojů se zájem obrací k výzkumu a vývoji produktů z obnovitelných a biodegradabilních surovin. V oblasti kosmetiky se v posledních letech velkým hitem stává tzv. zelená kosmetika. K ochraně před negativy UV záření jsou zkoumány přírodní látky, které mohou vykazovat fotoprotektivní účinky. Jako jeden z vhodných kandidátů s potenciálem nahradit nebo alespoň snížit množství používaných syntetických UV filtrů, představuje přírodní polymer lignin. Zvláště papírenský průmysl produkuje obrovská množství ligninu, která se obvykle spalují jako odpadní produkt. Přitom tato dosud opomíjená látka má díky svému složení a vlastnostem velký potenciál využití v mnoha oblastech průmyslu. Výzkumy prokázaly jeho schopnost absorbovat UV záření v širokém spektru. Disponuje rovněž antioxidačními a protizánětlivými vlastnostmi, je fotostabilní a nevykazuje cytotoxicitu v běžných koncentracích. V podobě nanočástic je schopen stabilizovat emulze a být nosičem aktivních látek v kosmetice i farmacii. V praktické části proto bude ověřen fotoprotektivní účinek ligninu v jeho alkalické formě a dále v podobě nanočástic.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 UV ZÁŘENÍ A JEHO VLIV NA KŮŽI

Přirozeným zdrojem elektromagnetického záření je slunce. Vyzařuje široké spektrum vlnových délek od nejkratších a nejtvrdějších (gama záření) přes rentgenové, ultrafialové, viditelné a infračervené. Záření, které dopadá na zemský povrch (terestriální), je filtrováno průchodem atmosférou a na rozdíl od extraterestriálního záření neobsahuje vlnové délky kratší 290 nm. Na lidskou kůži dopadá ultrafialové záření, viditelné (400-760 nm) a infračervené záření (760–3000 nm). Fotodermatologie se zabývá především ultrafialovým zářením, které je rozděleno podle vlnových délek do 3 pásem – UVA, UVB a UVC [1].

1.1 UV záření – rozdělení

Německý fyzik Johann Wilhelm Ritter objevil v roce 1801 neviditelné záření pomocí experimentů, které navazovaly na předchozí experimenty švédského chemika německého původu Carla Wilhelma Scheeleho. Scheele provedl pomocí optického hranolu rozklad světla a na různá místa pokládal proužky papíru namočené do roztoku chloridu stříbrného. Zjistil, že papírky černaly výrazněji směrem od červeného k modrému světlu. Ritter zaznamenal, že papírové proužky byly ještě tmavší, když byly vystaveny neviditelným vlnovým délkám kratším než viditelné modré světlo, a tak objevil UV spektrum [2].

Ačkoli byl objev UV paprsků důležitým krokem pro budoucí rozvoj fotodermatologie, trvalo mnoho let, než byl význam UV záření skutečně objasněn. Dlouhou dobu panovalo přesvědčení, že spálení kůže vystavené slunečním paprskům je způsobeno tepelným poškozením. Až během 1. světové války bylo prokázáno, že poškození kůže závisí na vlnových délkách UV záření, a to především záření kratšího než 320 nm [2].

Na druhém mezinárodním kongresu o světle (Congress Internationale de la Lumiere), který se konal v Kodani v srpnu 1932 navrhl William Coblentz rozdělit ultrafialové spektrum na 3 spektrální oblasti:

- 1) UVA záření – vlnová délka 315–400 nm
- 2) UVB záření – vlnová délka 280–315 nm
- 3) UVC záření – vlnová délka 100–280 nm [2].

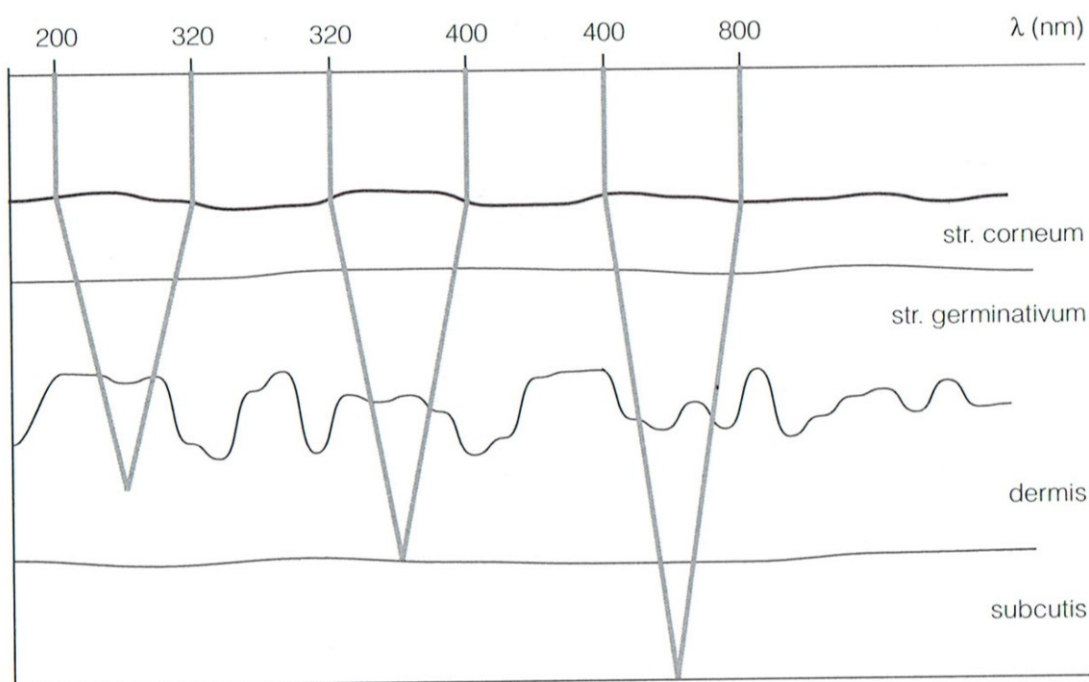
Pásmo UVC se běžně v terrestriálním záření nevyskytuje. Někdy je nazýváno germicidní, protože se používá k prostorové dezinfekci operačních sálů a laboratoří. Pásmo UVB představuje cca 1 % celkového energetického objemu slunečního záření dopadajícího na

zemský povrch. Pásmo UVA je zastoupeno v terestriálním slunečním záření více než 4 % [1].

Na zemský povrch dopadá z celkového množství jen velmi malé procento UV záření, neboť většina je pohlcena ve stratosféře ozónovou vrstvou. Pokud je v některých místech ozónová vrstva narušena, dochází ke zvýšení dopadu UV záření. V 70. letech byly v Austrálii a v USA zřízeny měřicí stanice a na počátku 80. let 20. století byla objevena antarktická ozónová díra, která vedla k intenzivnějšímu vědeckému zkoumání možných příčin ztráty ozónu. Jedním z prvních důsledků bylo podepsání tzv. Montrealského protokolu o látkách, které poškozují ozónovou vrstvu s cílem omezit emise těchto látek. Nicméně vědecké předpovědi nepředpokládají plné zotavení ozónové vrstvy před rokem 2060 [3].

1.2 UVA a UVB záření a jeho vliv na lidský organismus

Sluneční paprsky dopadající na kožní povrch jsou tvořeny ultrafialovým zářením UVB (280–315 nm) a UVA (315–400 nm), viditelnými paprsky (400–760 nm) a infračerveným zářením (760 nm a výše). Při dopadu na kůži je část paprsků přímo odražena, zbytek proniká do kůže, kde se v jednotlivých jejích vrstvách část paprsků dále odráží nebo absorbuje. Průnik paprsku je závislý na jeho vlnové délce (Obr. 1) [4].



Obr. 1 Vliv vlnové délky na penetraci paprsků kůží [5].

Kvalita a kvantita záření dopadajícího a působícího na kůži může být ovlivněna řadou okolních faktorů [4].

Základními faktory jsou:

- denní období,
- roční sezóna,
- zeměpisná šířka,
- přítomnost mraků a znečištění ovzduší,
- odraz UV paprsků od povrchů,
- nadmořská výška [5].

Z celkové denní dávky UV energie spadá až 50 % výdeje na období mezi 11. a 13. hodinou. Roční období je také velmi významný faktor. Erytemogenní působení UV radiace je více než stokrát vyšší uprostřed léta než na vrcholu zimy. Rovněž stoupající nadmořská výška o každých 300 m vede k nárůstu efektu UV záření o 4 %. Vliv na intenzitu odrazu UV paprsků mají také některé povrchy – např. sníh odráží až 80 %, písek asi 25 % [5].

UV paprsky mají také schopnost pronikat pod vodní hladinu. V hloubce 1,5 m pod vodou lze stále detekovat 40 % UVB a 70 % UVA záření [6].

1.2.1 Vliv UVA záření na kůži

Jelikož mají UVA paprsky delší vlnovou délku, jsou absorbovány buňkami až do oblasti dermis. Paprsky UVA způsobují pouze krátkodobou pigmentaci, která prakticky neposkytuje ochranu. Ke ztmavnutí dochází důsledkem oxidace prekurzorů melaninu, ale protože je reakce reverzibilní, dochází během několika dní k opětovnému vyblednutí [6].

Paprsky UVA zasahující v oblasti dermis až do fibroblastů zde spouštějí degradaci kolagenu, což zvyšuje syntézu elastických vláken. Tato vlákna však po krátké době degenerují a shlukují se dohromady. Dochází k elastóze snižující elasticitu pokožky, která vede k tvorbě hlubokých vrásek a vzhledu nepřírozně opálené pokožky. Vrásky vytvořené tímto procesem (tzv. photoaging) jsou výraznější než vrásky vznikající normálním procesem stárnutí v čase dle genetické dispozice. UVA záření v dermis zasahuje také krevní cévy a pokud jsou v krevním řečišti přítomny fotosenzibilní látky (některé léky, endogenní látky), mohou pod vlivem záření změnit své vlastnosti a vyvolat tak fototoxické reakce [6].

Tyto reakce jsou neimunologické, přímo závislé na dávce, ve své podstatě abnormálně nadsazené reakce na sluneční expozici. Kůže reaguje erytémem, otokem až puchýři. Klinický nástup reakce po 12 až 72 hodinách je individuálně časově omezený. K častým fototoxickým obtížím dochází při kontaktu s rostlinami nebo kosmetikou obsahující substance odpovědné za vznik fototoxické reakce, jedná se nejčastěji o furokumariny [1].

Další typ fotosenzitivity představují tzv. fotoalergické reakce, které vznikají jako imunologická akutní nebo chronická reakce z přecitlivělosti, jež má svůj původ v aktivaci chemické substance fotony (hlavně UVA záření) a její následné vazbě ve formě tohoto fotoproduktu na bílkovinu rozpustnou nebo vázanou na membránu, a tím ke vzniku antigenu. Po úvodní fázi dojde při další nejbližší expozici s chemickou substancí k vytvoření typické kontaktní dermatitidy. Senzibilizace na danou látku (kontaktní fotoalergen) je již trvalá a je nutné se jí vyvarovat v kombinaci s UV ozářením [1].

1.2.2 Vliv UVB záření na kůži

UVB záření proniká oproti UVA záření méně hluboko do kůže, ale je účinnější při vzniku slunečního spálení a tvorbě vitamínu D [4].

Kůže také hraje významnou úlohu v tvorbě cholesterolu. Derivátem cholesterolu je 7-dehydrocholesterol, který se po absorpci UVB záření kůže mění v provitamín D₃. Poté se po dekarboxylaci a izomerizaci metabolizuje ve vitamín D₃ a je následně vázán na specifické proteiny a transportován do oběhu [5].

Částečně je vitamín D získáván také z potravy, avšak tento zdroj je nedostačující. Vitamín D hraje velkou roli v organismu, od jeho podílu na správném vývoji kostí v kojeneckém a dětském věku, dále v prevenci vzniku osteoporózy ve vyšším věku až po jeho vliv na správnou funkci imunitního systému [7].

UVB záření stimuluje rovněž syntézu melaninu. Melanin je heteropolymerní pigment, produkováný v epidermálních melanocytech. Z nich se dendritickými výběžky dostává do keratinocytů. Množství melaninu v kůži podmiňuje různý stupeň pigmentace u jednotlivých lidských ras, projevujících se jako jejich fototyp (Tab. 1) [5].

Tab. 1 Reakce na oslunění v závislosti na fototypu kůže [5].

Fototyp kůže	Reakce na oslunění
I	vždy se spálí, nikdy se neopálí
II	obvykle se spálí, někdy se opálí
III	někdy se spálí, vždy se opálí
IV	hnědá rasa
V	černá rasa

Melanin působí jako určitý ochranný faktor před spálením kůže, ale tato přirozená ochrana je, zvláště u lidí se světlejším typem kůže, při delším pobytu na slunci velmi rychle překonána. Absorpce UVB záření poškozuje nebo dokonce zabíjí některé buňky v epidermis [6].

Po zvýšené expozici UVB záření vzniká pozdní erytémová odpověď většinou za několik hodin a dosahuje vrcholu mezi 12–24 hod. Větší expoziční dávky způsobí rychlejší a trvanlivější odpověď. Pozdní erytém zmizí v několika dnech (při vynechání další expozice) a často je doprovázen viditelnými změnami, jako je olupování a ztmavnutí. U méně pigmentovaných jedinců může erytém trvat řadu týdnů [1].

Při dlouhotrvajícím nebo bezprostředně opakovaném ozáření se mohou vyvinout na kůži puchýře a také se může objevit celková malátnost, totožná s popáleninami. Několik hodin po nadměrném slunění se erytém vyvíjí. Pokud k začervenání dochází již při opalování, je třeba očekávat silné popálení [6].

Nadměrná expozice UVB záření způsobuje abnormální ztlustění epidermis, čímž se pokožka snaží zvýšit odolnost vůči následujícím ozářením. Tato odpověď je výsledkem zvýšené mitotické aktivity v epidermis [1].

UVB i UVA záření vyvolávají na kůži i při nízkých dávkách radiace poškození Langerhansových buněk a tím je negativně ovlivněna jejich funkce. Místo nich se indukují jiné buňky kůže prezentující antigen a T-lymfocyty, čímž se zvyšuje míra imunosuprese [5].

Jak UVB, tak v menší míře i UVA záření, vyvolávají vznik aktinických keratóz a nemelanomových zhoubných kožních nádorů, např. bazaliomu a spinaliomu. Toto částečně platí i pro maligní melanom. Za vznik melanomu patrně zodpovídají změny DNA, které jsou způsobeny chybnou opravou poškození kůže, vyvolané UV zářením. Dále také dochází k poruše imunitních funkcí a tím následnému vzniku kožních nádorů [5].

2 DRUHY UV FILTRŮ

Začátek módy slunění se většinou datuje do 20. let 20. století. V důsledku socioekonomických změn se začala opálená kůže, spojená s fyzickou zdatností, stávat obecným ideálem. I v tomto trendu se přešlo z extrému do extrému, takže původně žádané opálení bylo často již spojeno se spálením kůže s nevídanými následky. Ukázala se tak potřeba fotoprotektivních prostředků, umožňujících pobývat déle na slunci bez rizika vzniku nežádoucích reakcí. Cesta se ubírala jednak směrem k vývoji chemických, jednak fyzikálních UV filtrů [5].

Tyto fotoprotektivní přípravky, tzv. sunscreens, jsou v Evropě považovány za kosmetiku a vztahují se na ně předpisy týkající se kosmetických přípravků. Konkrétní seznam filtrů ultrafialového záření povolených v kosmetických přípravcích je uveden v příloze č. VI Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích. Seznam obsahuje 27 povolených látek, z toho je 1 fyzikálního charakteru [8].

K objektivnímu posouzení fotoprotektivní účinnosti těchto preparátů se používá stanovení tzv. fotoprotektivního faktoru (SPF). Faktor je uveden číslem a vyjadřuje kvocient minimálních erytémových dávek (MED) na kůži s naneseným preparátem a bez něj. Fotoprotektivní faktor udává, kolikrát déle lze vystavit kůži s naneseným ochranným prostředkem slunci, aniž by došlo ke vzniku erytému. Stanovení SPF je upraveno v různých zemích řadou norem [5].

Metodiky stanovení SPF předepisují i přesná množství fotoprotektivního prostředku, která se nanášejí na kůži. Ta činí většinou 2 mg/cm^2 [5].

2.1 Chemické UV filtry

Chemické sunscreens (absorbéry) jsou látky, které pohlcují UV záření. Absorbovanou energii přeměňují na teplo nebo předávají do svých vazebných chemických struktur, čímž mění svou molekulu. To většinou vede k poklesu jejich absorpčních vlastností a ztrátě fotoprotekce. Je tedy nutné, aby použité chemické sloučeniny byly co nejvíce fotostabilní. Změněná struktura může navíc napomáhat ke zvýšení fotoalergizujících vlastností UV filtrů, které jsou nejčastější příčinou fotoalergické kontaktní dermatitidy [1].

Chemické UV filtry absorbují specifické fotony UV záření a přeměňují je na teplo. K absorpci by mělo primárně docházet v rohové vrstvě kůže, kde již nejsou přítomny živé buňky a příslušné chemické filtry tak mohou působit fotoprotektivně. V závislosti na

molekulárním uspořádání vykazují filtry aktivitu buď v oblasti UVA či UVB spektra nebo jsou širokospektrální. Každá látka má svůj charakteristický pík v absorpčním spektru. Aby bylo možné pokrýt celé UV spektrum mezi 280 a 400 nm, měl by opalovací krém s chemickými filtry obsahovat kombinaci několika látek pro úplnou ochranu UVA a UVB. Při zvýšeném dopadu ultrafialových paprsků mohou organické sloučeniny podléhat dekompozičním reakcím. Zejména UVA filtry mohou být fotosenzitivní a je proto nutné, aby byly stabilizovány vhodnými UVB filtry. Některé filtry, jako ethylhexylmethoxycinnamát, se za silného slunečního světla rozpadají a přítomnost sloučeniny může být detekována i v moči [5; 6].

Ačkoli je působení chemických filtrů cíleno na rohovou vrstvu kůže, v některých případech byla dokumentována jejich penetrace do nižších vrstev epidermálních buněk. V aktuální studii Hillerové et al. (2019), byla testována systémová odezva chemických filtrů aplikovaných dobrovolníkům přímo na kůži. Vzorky plazmy a moči testovaných byly analyzovány na obsah komerčně oblíbených UV filtrů oktokrylenu a avobenzonu. Při použití doporučených dávek opalovacích prostředků, koncentrace avobenzonu a oktokrylenu překročily v plazmě prahové hodnoty. Také byla popsána zvýšená exkrece specifických metabolitů oktokrylenu v moči. Výsledek studie tedy naznačuje, že v současnosti často používané sunscreensy s obsahem avobenzonu a oktokrylenu se mohou dostat do oběhového systému po expozici slunečního záření. Tyto UV filtry byly také detekovány v sedimentech, povrchové a mořské vodě, v rybách a mušlích [5; 9].

Nejpoužívanějšími chemickými filtry jsou sloučeniny z řad aminobenzoátů, benzofenonů, cinnamátů, salicylátů a dibenzoylmetanů [10].

2.2 Fyzikální UV filtry

Opalovací krémy na fyzikální bázi dodávají na povrch pokožky částice, které blokují a rozptylují UV záření. Hlavními aktivními složkami jsou chemicky inertní minerály – oxid titaničitý (TiO_2) a oxid zinečnatý (ZnO) [11].

Fyzikální UV filtry jsou pozoruhodné svou bezpečností a širokým ochranným spektrem. Jejich použití, i přes jejich účinnost, bylo ovšem dlouhou dobu omezené, zvláště kvůli tvorbě bílého filmu na povrchu kůže při vyšších koncentracích. To se změnilo s nástupem novějších výrobních postupů, které docílily zmenšení částic na mikro – až nanorozměry, což zvyšuje komfort při aplikaci. Zároveň s tím se ovšem dostává do popředí diskutované

téma vlivu nanočástic na zdraví a bezpečnost. Stanovení, zda nanočástice pronikají do *Stratum corneum*, má zásadní význam pro vyhodnocení toho, zda nanočástice způsobují buněčný stres. *In vitro* studie prokázaly zvýšení poškození DNA v buňkách vystavených nanočásticím ZnO v závislosti na čase expozice. Také buňky ošetřené TiO₂ nanočásticemi vykazovaly nižší životaschopnost buněk v závislosti na použitých rozměrech. Je ovšem nutné podotknout, že byla zkoumána pouze jednovrstevná linie lidské kůže a tak výsledky nemohou být extrapolovány pro chování TiO₂ a ZnO nanočástic v trojrozměrném homogenním prostředí kožních buněk [1; 10].

Přírodní kosmetika povoluje pouze částice s průměrem nad 100 nm. V komerční kosmetice je nutné při použití částic menších než 100 nm označení „nano“ v seznamu ingrediencí [6].

2.3 Rostlinné UV filtry

Přírodní produkty jsou sekundární metabolity produkované žijícími organismy v přírodě. Produkce těchto metabolitů je často specifická odezva organismu na prostředí, což přispělo k jejich úspěšnému růstu a přežívání druhu. Mnohé přírodní organismy, obzvláště ty vystavované intenzivnímu záření, vyvinuly různorodé fotoadaptivní mechanismy, včetně produkce antioxidantů a UV pohlcujících sekundárních metabolitů. Jako UV blokátory se chovají například fenolické kyseliny, ne-flavonoidy, lišejníkové polyfenoly, terpenoidy a aminokyseliny podobné mykosporinu. Tyto sloučeniny mohou bránit proniknutí záření do buněk, což vede ke snížení zánětu, oxidačního stresu a poškození buněčných DNA [12].

3 ROSTLINNÉ UV FILTRY

Mezi účinné UV filtry se řadí také mnohé přírodní látky, které se používají nejčastěji v kombinaci s fyzikálními nebo chemickými filtry s cílem snížení množství syntetických látek v opalovacích krémech. Jedná se o sekundární metabolity rostlin, které mají schopnost absorbovat UV záření. Kromě toho většina těchto látek působí také jako antioxidanty a má protizánětlivé a imunomodulační vlastnosti, což poskytuje další ochranu proti škodlivým účinkům UV záření [12].

Jedním z mechanismů, kterými mohou rostliny působit jako fotoprotektivní činidlo je absorpce fotonů UV energie a následná emise méně škodlivé energie. Bylinné extrakty představují směs molekul, které jsou schopny absorbovat viditelné i UV záření různých délek. Ve více studiích bylo prokázáno, že polyfenolické látky – flavony, flavonoidy, taniny a lipidové frakce z rostlin jsou schopny této absorpce [13].

3.1 Výběr některých přírodních látek s fotoprotektivními vlastnostmi

Propolis

K tvorbě propolisu sbírají včely z rostlin pryskyřičné látky, které mísí se svými sekrety. Propolis byl již od starověku využíván pro své antioxidační, antimikrobiální a protizánětlivé vlastnosti. Od 90. let 20. století byl intenzivně zkoumán například červený brazilský propolis, mj. i z důvodu jeho fotoprotektivity. Provedené testy prokázaly synergii mezi použitými chemickými UV filtry a extrakty z červeného brazilského propolisu. Hodnota SPF ve vzorku bez přidaného propolisu činila $10,22 \pm 3,16$ a po dodání propolisového extraktu se SPF zvýšil na $18,75 \pm 5,77$. Rovněž bylo také prokázáno, že tyto extrakty zvýšily výslednou antioxidační aktivitu. Test fotostability byl proveden pomocí UV lampy při vlnové délce 365 nm. Vzorky vykazovaly fotostabilitu i po dvouhodinovém UV ozařování. Předpokládá se, že za fotoprotekci byly v červeném propolisu zodpovědné především fenolové kyseliny a flavonoidy. Fenolické sloučeniny jsou také důležitými antioxidanty, které napomáhají eliminaci škodlivých volných radikálů [14].

Fonseca et al. (2011) zkoumali chemické složky a případné potenciální využití extraktů ze zeleného a hnědého brazilského propolisu v ochraně proti oxidačnímu stresu v pokožce vyvolanému UV zářením. Výzkum prokázal, že extrakt ze zeleného propolisu obsahoval větší množství aktivních složek, jako například kyselinu kumarovou, drupanin, baccharin a artemillin C, které vykazují vyšší antioxidační aktivitu [12].

Spirulina platensis

Jedná se o jednobuněčnou cyanobakterii, která je člověkem běžně konzumována jako dietní látka nebo potravinový doplněk z důvodu její vysoké nutriční hodnoty. Kromě toho se *S. platensis* vyznačuje také vysokým obsahem aminokyselin, mastných kyselin, polysacharidů a minerálů. Rovněž obsahuje širokou škálu fytochemických sloučenin, jako jsou fenolové kyseliny, tokoferoly a betakaroten, o kterých je známo, že mají silné antioxidační vlastnosti [15].

Ve vědecké studii Sariya Mapoung et al. (2020) byl ze suroviny *Spirulina platensis* získán extrakt, který obsahoval deriváty flavonoidů - katechin a kvercetin. SPF byl stanoven *in vitro* pro extrakt *S. platensis* spektrofotometrickou metodou v oblasti UVB. Absorpční spektra různých koncentrací extraktu *S. platensis* byla získána v rozmezí 290-450 nm. SPF byl vypočítán pomocí Mansurovy rovnice. Získaná data odhalila, že nejvyšší SPF extraktu *S. platensis* byl zaznamenán při koncentraci 3 mg/ml, a to v hodnotě $30,39 \pm 3,37$. Zároveň extrakt *S. platensis* v různých koncentracích nevykazoval žádné cytotoxické účinky a byl biokompatibilní s lidskou pokožkou. Ve výsledcích studie bylo rovněž zahrnuto zkoumání antioxidační aktivity extraktu. Přítomnost extraktu *S. platensis* inhibovala tvorbu reaktivních forem kyslíku ve fibroblastech, ozářených UVB zářením [15].

Biologické účinky extraktu *S. platensis* mohou souviset také s přítomností určitých fenolových sloučenin, především kyseliny chlorogenové, kyseliny kávové a kyseliny ellagové. Podobně Kwak et al. (2018) uvádí, že extrakty z broskvových květů, které mají vysoké množství kyseliny chlorogenové, zeslabily účinky photoagingu na kůži pomocí svých antioxidačních schopností [15].

Extrakty z olivovníku

Olivové listy obsahují větší množství polyfenolů než olivový olej a zároveň jsou odpadním produktem při sklizni oliv nebo po prořezávání olivovníků. Nejhojnější složkou v olivových listech je oleuropein [16].

V provedené studii (Anne da Silva et al., 2019) byl zkoumán fotoprotektivní potenciál extraktu z olivových listů standardizovaný pro oleuropein. Výsledky testů, které byly provedeny *in vitro*, vykazují potenciál využití extraktu z olivových listů jako účinného fotoprotektivního, antimutagenního a antioxidačního činidla, které má synergický účinek ve spojení s organickými UV filtry. Byly připraveny formulace opalovacích krémů za

použití diethylamino hydroxybenzoyl hexylbenzoátu (DHHB), ethylhexyl methoxycinnamátu (OMC) a oktokrylenu jako organických UV filtrů. Do formulace byly přidány různé koncentrace extraktu z olivových listů. Opalovací krém obsahující pouze organické UV filtry vykazoval SPF 22 ± 1 . Při 1% koncentraci přidaného extraktu nebylo zaznamenáno zvýšení hodnoty SPF. Avšak již při 3% koncentraci extraktu z olivových listů se hodnota SPF skokově zvýšila na 42 ± 5 a při 5% koncentraci dokonce dosáhl SPF hodnoty 56 ± 3 [16].

Příznivé účinky lokální aplikace oleuropeinu byly již dříve spojovány se snížením erytému a zánětu kůže při klinických studiích [16].

Extrakt z vinných hroznů

Réva vinná (*Vitis vinifera*) je prastará kulturní plodina, pocházející pravděpodobně ze Střední Asie a Blízkého východu. V současnosti se réva vinná pěstuje v subtropických a mírných oblastech celého světa a existuje celá řada odrůd [17].

Při výrobě vína zůstávají jako druhotná surovina výlisky ze slupek hroznů a semena, ve kterých se nachází ještě cca 70 % původních účinných látek, především fenolů (20-30 % ve slupkách a 60-70 % v semenech). Nejběžnějšími fenolovými sloučeninami získanými z hroznů jsou flavonoidy, jako jsou antokyany, flavanoly a flavonoly. Existuje velká variabilita fenolického obsahu v hroznech, která je dána odrůdou, způsobem pěstování, pěstebními a klimatickými podmínkami a také druhem a délkou macerace, lisování a kvašení při zpracování hroznů [18].

Flavonoidy svými protizánětlivými, antioxidačními, protinádorovými, antialergickými, antitrombotickými a jinými účinky působí proti poškození buněk a tkání. Tato jedinečná kombinace bioaktivity a zároveň absence cytotoxicity činí flavonoidy z hroznů, ale i jiných rostlin, potenciál k využití v kosmetických prostředcích proti stárnutí kůže a proti poškození UV zářením [18].

Ve studii Hubner et al. (2019) byly připraveny vzorky opalovacích krémů s použitím organických UV filtrů – ethylhexyl methoxy cinnamátu, ethylhexyl dimethylu (PABA) a butylmethoxy dibenzoylmethanu, přičemž k některým formulacím byl přidán ethanolový 10% extrakt z hroznových výlisků. Každý vzorek byl ještě upraven na 2 hodnoty pH – 5 a 7. Fotoprotektivní faktor byl stanoven *in vitro* pomocí difuzního spektrofotometru. Výsledky ukázaly, že formulace, která kombinovala organické UV filtry a extrakt

z hroznových výlisků, byla účinnější proti záření UVA a UVB než ostatní vzorky. Tato formulace dosáhla při kritické vlnové délce 380 nm a pH 5 hodnoty SPF nad 76. Také není bez zajímavosti, že nejvyšší hodnoty SPF bylo dosaženo při pH 5, přičemž při pH 7 SPF klesl na hodnotu cca 39. Ve vzorku, který obsahoval pouze extrakt z hroznových výlisků, ale žádné organické UV filtry, byl SPF pouze na hodnotě 2. Standardní vzorek, s obsahem výlučně UV filtrů vykázal cca SPF 15 [18].

Kvajáva (*Psidium guajava*)

Kvajáva je větší stálezelený keř nebo malý stromek dorůstající výšky až 10 m, který pochází z tropických oblastí Střední a Jižní Ameriky a Karibské oblasti [19].

Ovoce stromu *Psidium guajava* vykazuje významné množství fotoprotektivních a antioxidačních fenolických látek, jako jsou flavonoidy a taniny. Toto ovoce navíc neobsahuje fotosenzibilní metabolity – kumariny [20].

Studie provedená týmem Milleno Dantas Mota et al. (2019) se zaměřila na zhodnocení potenciálu použití extraktu z kvajávy jako fotoprotektivního aditiva při formulaci krémů na opalování [20].

Tab. 2 SPF stanovený spektrofotometricky *in vitro* u vzorků [20].

Vzorek	C₁	C₂	S₁	S₂	S₃	S₄
Extrakt z kvajávy c = % hm./hm.	0	0	7,5	1,0	5,0	7,5
EHM c = % hm./hm.	7,5	0	0	7,5	7,5	7,5
HMS c = % hm./hm.	0	8,0	0	0	0	0
SPF	8,1	4,0	1,0	9,1	16,2	18,9

pozn. EHM = 2-ethylhexylmethoxycinnamát, HMS = homomethyl salicylát

Základní testovaný krém byl doplněn organickým UV filtrem 2-ethylhexylmethoxycinnátem (EHM) ve třech formulacích s různými procentuálními přídávky extraktu z kvajávy. Další vzorek obsahoval pouze extrakt, ale žádné organické UV filtry. Kontrolní vzorky měly vždy pouze jeden druh organického UV filtru, a to EHM a homomethyl salicylát (HMS) [20].

Vzorek krému obsahující pouze extrakt z kvajávy měl nejnižší hodnotu SPF, a prokázal tedy nízkou schopnost absorbovat UV záření. Zaznamenané zvýšení fotoprotektivního faktoru u kombinací organického UV filtru a extraktu je pravděpodobně způsobeno interakcí EHM s fenolovými sloučeninami (katechin, kvercetin a myricetin) přítomnými v extraktu z kvajávy. Vzhledem k přítomnosti konjugovaných vazeb v chemické struktuře těchto látek jsou fenolové sloučeniny schopné absorbovat elektromagnetické záření na různých vlnových délkách, vč. UV záření.

Bambus

Bambusy jsou z botanického hlediska řazeny do čeledi lipnicovitých (*Poaceae*) a ačkoli se jedná vlastně o trávy, je pro většinu bambusů typické dřevnatění stonků [21].

O bambusech je známo, že vykazují antioxidační a antibakteriální účinky. Rovněž látky obsažené v bambusech potlačují tvorbu volných radikálů a působí v prevenci kardiovaskulárních chorob. Biologické účinky souvisí s přítomností různých fenolových sloučenin, jako jsou flavonoidy, cinnamáty, antokyany, polysacharidy, katechiny, deriváty lignofenolů a různé těkavé sloučeniny [22].

Ve studii prováděné Wróblevska et al. (2019) byla prostudována biologická aktivita a chemické složení původních brazilských druhů bambusů. Metodou *in vitro* byl hodnocen antioxidační a fotoprotektivní potenciál ethanolových extraktů z listů a stébel pěti druhů brazilských bambusů. Celkem bylo připraveno 11 vzorků. Do všech byly začleněny organické UVA a UVB filtry a do 10 z nich také 10% extrakty z bambusů, od každého botanického druhu vždy jeden z listů a jeden ze stébel. Jedenáctý vzorek byl ponechán jako kontrolní pouze s organickými UV filtry. Všechny vzorky byly vyhodnoceny na fotoprotekci a antioxidační aktivitu. Kontrolní vzorek obsahující pouze organické UV filtry vykázal SPF 13, zatímco u všech ostatních formulací s přidáním extraktů z bambusů došlo ke skokovému zvýšení SPF, a to od hodnoty 34,52 až po 86,15 [22].

Antioxidační aktivita extraktů z bambusu je spojována s vysokým obsahem polyfenolů, které mají potenciál vychytávat škodlivé volné radikály. Obecně, všechny původní brazilské bambusy vykazují přibližně 10x vyšší antioxidační potenciál než zkoumané asijské bambusy (Park a Jhon, 2010) [22].

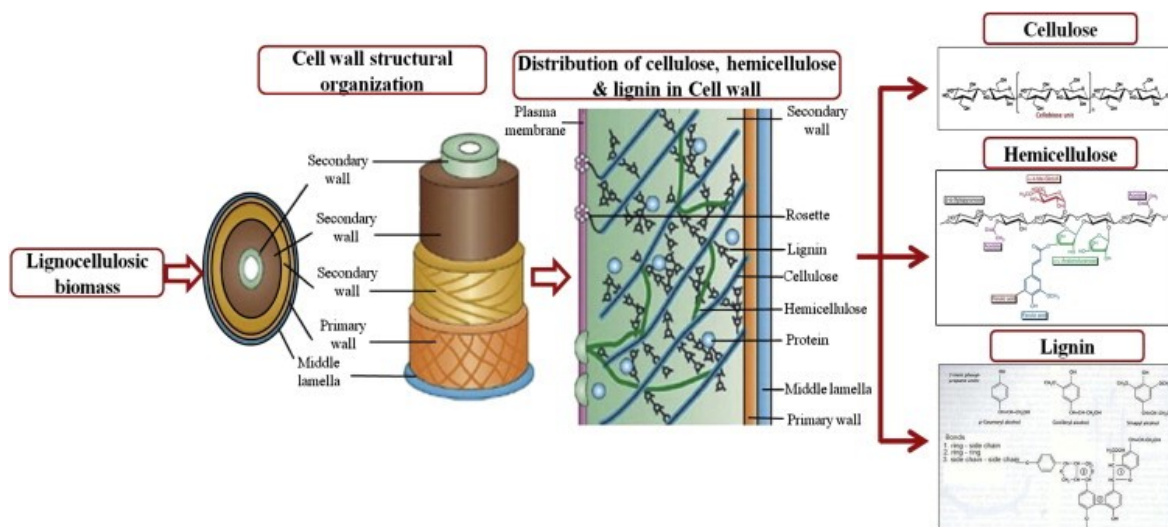
Přírodní extrakty také přispívají ke zvýšení fotostability opalovacích krémů, zejména těch, které obsahují polyfenolické sloučeniny kvůli jejich schopnosti reagovat s volnými radikály. Pozitivní korelace byla nalezena zejména u flavonoidů, které kromě své UV absorpce přispívají ke stabilizaci organických UV filtrů pomocí mnoha mechanismů, jako je například zachycování kyslíkových radikálů, inhibice peroxidace lipidů a chelatace kovových iontů [22].

4 LIGNIN

Jedním z přírodních zdrojů, který se ukazuje jako perspektivní širokospektrální blokátor UV záření je lignin [23].

4.1 Chemická struktura a vlastnosti ligninu

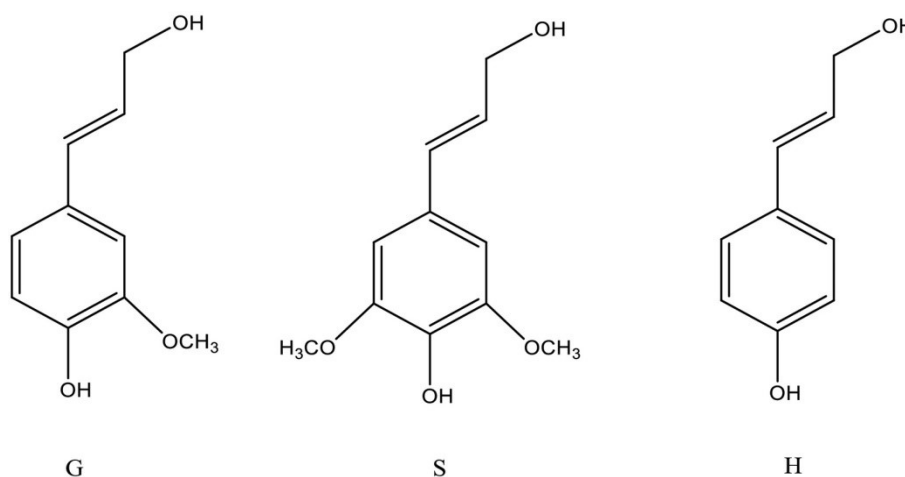
Biomasa, která je stavebním prvkem rigidních stěn rostlinných buněk, obsahuje tři základní biopolymery – celulózu, hemicelulózu a lignin. Celulóza je ve formě svazků fibril, které jsou spojeny hemicelulózou a ligninem, což dává buněčné stěně rostlin celkovou tuhost (Obr. 2). Lignin je druhou nejrozšířenější makromolekulou po celulóze. Tvoří 10-30 % rostlinné biomasy. Tvrdé dřevo obsahuje 27-33 % ligninu, měkké dřevo 18-25 % a travní rostliny 17-24 % ligninu. V rostlinách hraje lignin několik důležitých rolí. Mezi nejvýznamnější patří strukturální opora, ochrana před chemickými a biologickými útoky a slouží také jako účinný transport vody ve vaskulárních tkáních [23; 24; 28].



Obr. 2 Schématické znázornění struktury lignocelulózy [25].

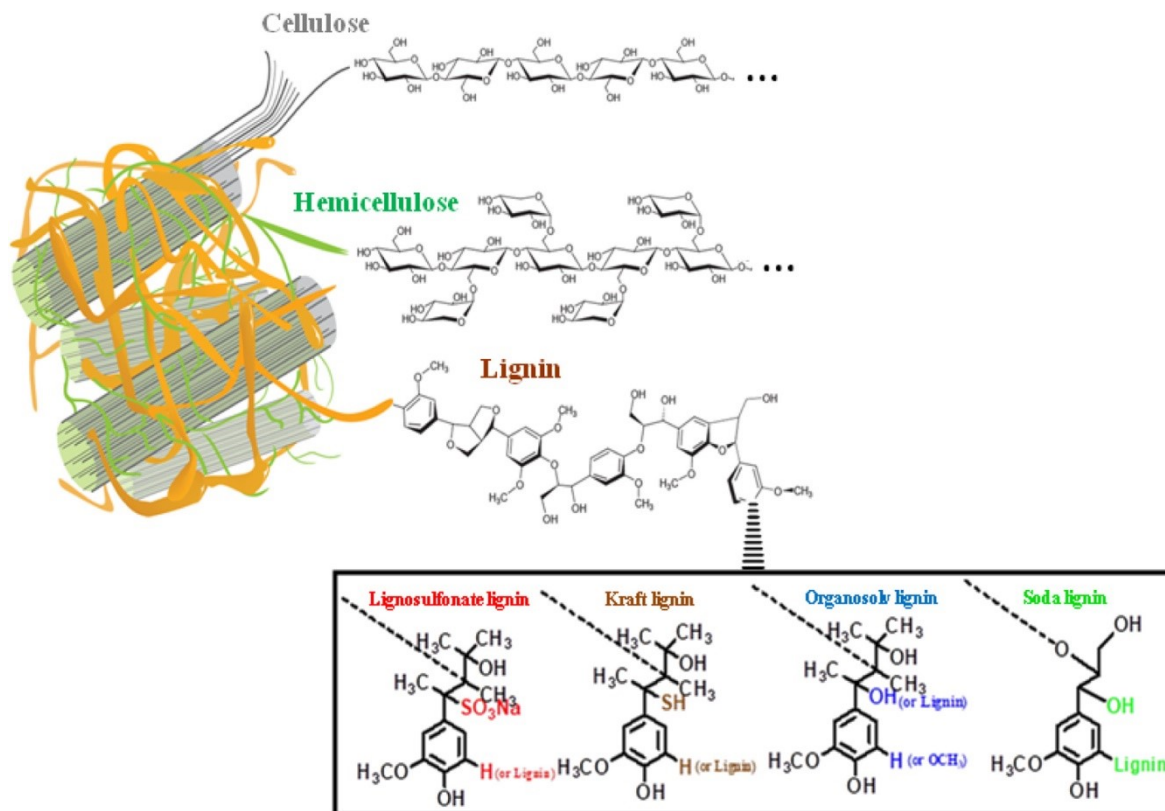
Z chemického hlediska je lignin trojrozměrná amorfní struktura složená z fenylypropanových jednotek odvozených z oxidačně kondenzačních reakcí zahrnujících aromatické alkoholy. Páteř ligninu je složena ze tří různých fenylypropanových monomerů, označovaných jako sinapylalkohol, koniferylalkohol a *p*-kumarylalkohol. Poměry těchto tří derivátů v ligninu určují typ konfigurace v molekule. Tyto prekurzory ligninu jsou

převedeny do tří podjednotek, a to syriugylu (S), guaiacylu (G) a *p* – hydroxyfenylu (H) (Obr. 3). Složení a poměry těchto podjednotek se v různých rostlinných druzích liší. Měkká dřeva, jako je borovice nebo smrk, se skládají převážně z guaiacylových jednotek. Zatímco tvrdá dřeva, jako je bříza nebo eukalyptus, obsahují guaiacylové jednotky v menším množství a ve větším množství syriugylové jednotky. Travní lignin obsahuje všechny tři podjednotky. Kromě rozdílů ve složení ligninu mezi taxony a druhy dochází k rozdílům i mezi jednotlivými typy buněk. Ligniny mohou být dokonce odlišné na úrovni jednotlivých vrstev buněčných stěn. Výše uvedené substrukтуры obsahují mnoho různých funkčních skupin, jako jsou hydroxyly, karboxyly, karbonyly a methoxyly, které jsou aktivními místy pro další chemickou modifikaci a využití ligninu. Vzhledem ke složitosti, heterogenitě a rozmanitosti, která je přítomná v ligninu různých rostlinných druhů, není objasnění jeho struktury a souvisejících vlastností snadným úkolem [23; 24; 26; 27].



Obr. 3 Substrukтуры monomerů ligninu [27].

Rozpouštění ligninu je často požadovaný první krok výrobních procesů při zpracování, což je vzhledem ke složitosti jeho makromolekulární stavby obtížný úkol. Způsoby extrakce ligninu ze dřevní hmoty vedou k různým typům technických ligninů, které se liší svou chemickou stavbou (Obr. 4). Tyto různé typy technických ligninů vedou k použití různých rozpouštědel. Lignosulfonát je rozpustný ve vodě, sulfátové ligniny jsou rozpustné v alkalicko-vodných roztocích a organosolv lignin se rozpouští v širokém spektru organických rozpouštědel [28].



Obr. 4 Schematické znázornění buněčné stěny dřevní hmoty se třemi hlavními složkami a různé typy technických ligninů získaných odlišnými způsoby extrakce [28].

4.2 Způsoby extrakce ligninu

Struktura ligninu se liší v závislosti na procesu extrakce a na přítomnosti různých funkčních skupin. K získání požadovaného produktu je nutné provést řízenou degradaci, aby se vytvořil jednotný strukturní lignin. Degradace ligninu je možná chemickou cestou, tepelně nebo enzymaticky. Pro další využití ligninu je žádoucí, aby při jeho získávání byly ve struktuře a vlastnostech provedeny co nejmenší změny tak, aby se co nejvíce podobal nativnímu ligninu. K tomu je třeba lignin izolovat takovým způsobem, kde při procesu nejsou použity reaktivní chemikálie a vysoké teploty. Metody izolace ligninu lze rozdělit do dvou hlavních tříd v závislosti na tom, zda je lignin předmětem separace nebo odpadním produktem [29; 30; 31].

Použití organických rozpouštědel

Nejznámější metodou izolace ligninu ze dřeva je tzv. organosolvný proces pomocí organických rozpouštědel. Lignin je extrahovaný přímo z dřevní biomasy směsí organických rozpouštědel a některých aditiv nebo katalyzátorů. Lze použít rozpouštědla s nízkou teplotou varu, jako je ethanol, methanol nebo aceton, nebo rozpouštědla s vysokou teplotou varu, např. glykoly. Alkoholy nebo dioxan jsou nejčastěji používanými organickými rozpouštědly pro tento proces a často se kombinují s vodou. K usnadnění delignifikace se využívají jako katalyzátory karboxylové kyseliny (octová a mravenčí) nebo anorganické kyseliny (H_2SO_4 , HCl). Lawther et al. (1996) zjistili, že směs ethanol/voda je nejúčinnějším extrakčním rozpouštědlem a studovali jak koncentrace, tak čas ovlivňující výtěžek extrakce [24; 31].

Sulfátová metoda

V současnosti představuje hlavní zdroj ligninu produkt, vzniklý jako odpad při výrobě buničiny, papíru a nanocelulózy alkalickou hydrolyzou dřevité masy při sulfátovém (kraft) procesu. Lignin odseparovaný tímto způsobem bývá označován jako sulfátový či kraft lignin. V průběhu procesu se naštěpkované dřevo při teplotě 155-175 °C ošetřuje roztokem sulfidu sodného a hydroxidu sodného. Tato metoda je schopna rozpustit asi 90-95 % veškerého ligninu přítomného ve výchozí látce. Celulóza se oddělí jako pevná látka od tzv. černého louhu, tekutiny bohaté na lignin. Kraft lignin se z ní izoluje srážením a neutralizací kyselým roztokem (kyselina octová, kyselina chlorovodíková aj.) a následným vysušením na pevnou formu. Tímto postupem se získá polymer s nižší molekulovou hmotností, který je ale značně modifikován od původního přírodního ligninu [30; 31].

Sulfitová metoda

Obvykle se sulfitový proces provádí při teplotách 140-170 °C s vodným roztokem oxidu siřičitého spolu s hořčnatými nebo vápenatými solemi. Během procesu rozvláknování dřeva dochází ke štěpení vazeb mezi ligninem a celulózou. Lignin zůstává ve formě sulfonových kyselin rozpustných ve vodě. Z tohoto louhu je nutné lignin vysrážet a odstranit vzniklé cukry. Získaný lignosulfonát je ale s ohledem na chemické složení heterogenní [31].

Alkalická hydrolýza

Tato metoda se používá pro zpracování surovin jako je sláma, cukrová třtina nebo len, které slouží jako zdroj pro výrobu papíru v mnoha rozvojových zemích. Biomasa se štěpí ve vodném roztoku s hydroxidem sodným při teplotách do 160 °C [31].

Enzymatická metoda

Enzymatická hydrolýza předem upravené biomasy využívá enzymů celulózy a hemicelulózy k degradaci polysacharidů na rozpustné monosacharidy a zbytky obohacené ligninem. Přímé enzymatické hydrolýze brání rigidní struktura lignocelulózy, a proto je obvykle nutná fyzikální nebo chemická předúprava. Běžnými metodami předúpravy je mletí suroviny, ošetření horkou vodou nebo částečná hydrolýza zředěnou kyselinou či zásadou. Enzymatická hydrolýza se obvykle provádí za mírných podmínek a výsledná čistota a strukturní modifikace ligninu závisí hlavně na metodě předúpravy [32].

4.3 Možnosti využití ligninu

V rámci snahy k dosažení udržitelného rozvoje společnosti je třeba pokročit v biorafinačních procesech, které využívají nestravitelnou biomasu pro výrobu potřebných produktů. V tomto ohledu je lignocelulóza slibnou surovinou pro výrobu biopaliv a biochemikálií. Protože lignin obsahuje fenolické skupiny a má některé další zajímavé vlastnosti, jako je termoplasticita, jeví se jako slibný produkt s přidanou hodnotou v různých oborech. Vývoj probíhá především v oblasti paliv, chemikálií, uhlíkových vláken, elektromateriálech, stavebních materiálech, náhradě plastů, výroby vanilinu, farmaceutických výrobků a kosmetiky [32, 33].

4.3.1 Lignin jako UV protektor

Lignin obsahuje funkční fenolické a ketonové skupiny a další chromofory absorbující UV záření. Skupiny, které mají dvojně vazby mezi uhlíky α a β , nebo atomy s volnými páry elektronů, vytvářejí rezonanční struktury, které umožňují absorpci UV záření [34, 35].

Studie Yong Qian et al. (2014) zkoumala možnosti využití ligninu při vývoji vysoce výkonných širokospektrálních krémů na opalování. Velikost částic použitého alkalického ligninu se pohybovala od nanometrů po mikrometry. Byly použity čisté krémy a dále opalovací krémy s organickými UV filtry s SPF 15, 30 a 50. Za použití spektrofotometru byla změřena absorbance jednotlivých vzorků v oblastech UVB a UVA (290–400 nm),

poté byly vzorky vystaveny UV záření po dobu dvou hodin a následně proběhlo nové měření absorbance. Nejvyšší hodnoty absorbance dosáhl vzorek s organickými filtry a přídavkem 10 % extraktu z ligninu (Tab. 3). Dalším krokem byl výpočet fotoprotektivního faktoru z naměřených hodnot. Tak jako u jiných přírodních látek je znám účinek zesílení aktivity komerčních opalovacích krémů s organickými UV filtry, může i lignin svým synergickým působením zlepšit výkon syntetických opalovacích krémů. Bylo zkoumáno posílení komerčního krému na opalování SPF 15 s přidaným ligninem o různých hmotnostních koncentracích a porovnávalo s výkonem komerčních krémů na opalování s SPF 30 a 50 [34].

Tab. 3 Hodnoty SPF komerčního krému s různými přídavky ligninu a porovnání s SPF krémů bez ligninu s organickými UV filtry SPF 30 a 50 [34].

Vzorky krémů	Lignin (hm. %)		
	0	2	10
č. 1 SPF 15 (SPF)	18,22 ± 0,92	35,32 ± 1,85	89,58 ± 12,15
č. 2 SPF 30 (SPF)	36,67 ± 1,36	--	--
č. 3 SPF 50 (SPF)	58,95 ± 5,09	--	--

Při hodnocení fotostability ligninem modifikovaných krémů na opalování došlo k překvapujícímu jevu. Po vystavení UV záření po dobu dvou hodin se absorbance v oblastech UVA a UVB několikrát zvýšila. Vysvětlením radikálního nárůstu absorbance u krémů, ve kterých byla kombinace UV filtrů a ligninu, by mohl být určitý synergický efekt. Během UV záření může lignin interagovat s některými aktivními složkami a vytvářet tak vysoce účinné UV blokátory [34].

4.3.2 Lignin jako antioxidant

Ultrafialové záření iniciuje fotooxidační reakci a zvyšuje hladinu volných kyslíkových radikálů v kůži. Aby se tomu zabránilo, je pokožka vybavena účinnými antioxidantními obrannými mechanismy. Nadměrné vystavení UV záření může narušit schopnost kůže chránit se před vytvářením oxidačního stresu volnými radikály, který v konečném důsledku

vede k poškození DNA, lipidů a proteinů. Fotochemickou prevencí k posílení funkce ochrany pokožky může být lokální nebo perorální podávání externích antioxidantů. Rostlinné fenoly a polyfenoly jsou často zkoumány pro své antioxidační vlastnosti, jako je vychytávání volných kyslíkových radikálů. Nejběžnější funkční skupiny přítomné v ligninu jsou hydroxylové skupiny a methoxyskupiny. Čím více aktivačních skupin má fenolová podjednotka, tím je reaktivnější a antioxidantnější. Z toho vyplývá, že ligniny bohatší na syriugyl jsou reaktivnější než ligniny obsahující spíše ostatní podjednotky G a H. Dle studie Tatiana Dizhbite et al. (2004) se ukázalo, že *o*-methoxylová substituce zvýšila účinnost zachycení radikálů, zatímco vysoká molekulová hmotnost, zvýšená heterogenita a polydisperzita patří mezi faktory snižující aktivitu vychytávání volných radikálů. Také sacharidové příměsy mohou snížit antioxidační aktivitu díky možnosti vodíkové vazby jejich polárních skupin s ligninovými fenolovými skupinami [36; 37; 38].

4.4 Nežádoucí zbarvení ligninu

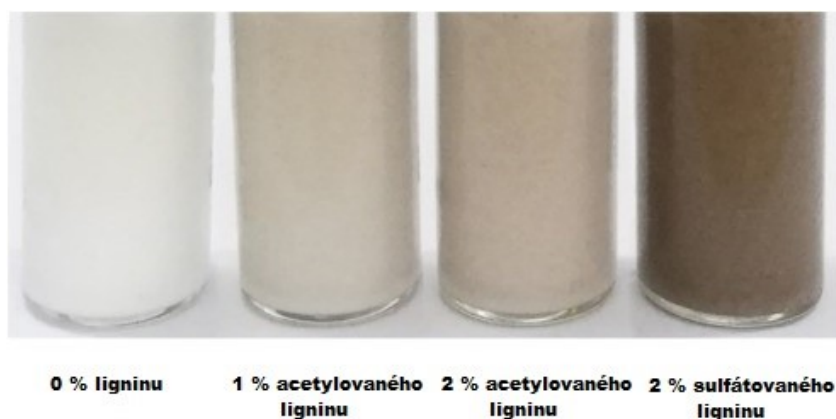
Přestože bylo prokázáno, že přídavek ligninu může výrazně zvýšit výkon komerčních opalovacích krémů, má jeho větší využití poměrně zásadní překážku, a tou je nežádoucí tmavá barva. Byl proveden pokus o redukci zbarvení ligninu, ale proces molekuly ligninu ničil, což nevyhnutelně vedlo ke snížení absorpce UV záření. Zajímavostí je, že lignin biosyntetizovaný v rostlinách, je téměř bezbarvý. Avšak během technického zpracování ligninu dochází k tvorbě tmavé barvy. Odstín je závislý na způsobu extrakce. Pokud je proces prováděn za šetrné nízké teploty s neutrálními rozpouštědly, je zbarvení světlejší než při použití vysokých teplot. Mechanismus tvorby barev není úplně znám, ale technické ligniny mají velké množství chromoforů a auxochromů, které zesilují barvu [39].

Tradiční chemické bělení ligninu není vhodné pro použití v opalovacích krémech, protože cílem takového procesu je co nejvíce narušit strukturu ligninu, aby se dala vyrobit buničina s vysokým stupněm bělosti. Takto degradovaný lignin není schopen absorbovat UV záření. Ve studii (Hui Zhang, 2019) prokázali, že není vhodné redukovat barvu ligninu sulfonací, neboť sulfonovaný lignin vykazuje silnou molekulární polaritu, která může narušit rovnováhu systému opalovacího krému a vést k deemulgaci. Vhodnější metodou se jeví acetylace. Původní kraftový lignin byl nejprve frakcionován pomocí směsi 80% methanolu s vodou, čímž byly získány světle zbarvené frakce. Poté byl acetylován anhydridem kyseliny octové pro další redukci barvy (Obr. 5) [40].



Obr. 5 Fotografické porovnání ligninu po chemických úpravách [40].

Přídavkem 2 hm. % acetylovaného ligninu byl krém lehce zbarven, avšak stále vykazoval přijatelné zbarvení pro spotřebitele. Při nižším 1% přídavku je ligninový opalovací krém ještě světlejší, ale současně je jeho hodnota SPF téměř 25 (Obr. 6) [40].



Obr. 6 Fotografie opalovacího krému s přídavkem ligninu [40].

4.5 Cytotoxicita ligninu

Potenciální aplikace ligninů v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu vyžaduje, aby dané sloučeniny byly co nejvíce biokompatibilní. Testy buněčné cytotoxicity patří mezi nejběžnější metody biologických zkoušek *in vitro* k predikci toxicity a následné možnosti aplikace. V současné době existuje jen málo údajů o možných cytotoxických účincích ligninů. Cytotoxicita ligninu byla zkoumána (Vanessa Ugartondo et al., 2007) za použití integrity buněčné membrány lidských keratinocytů a myších fibroblastů. Byla použita kolorimetrická zkouška, která měří schopnost živých buněk absorbovat neutrální červené

barvivo. Ligniny vykazovaly se zvyšující se expoziční dobou cytotoxické účinky, avšak pouze při velmi vysokých koncentracích. Nejnižší cytotoxickou aktivitu měl zkoumaný lignosulfonát. Rovněž byl vyhodnocen vztah mezi potenciálními cytotoxickými vlastnostmi a antioxidační kapacitou ligninů. Nejsilnější antioxidační produkty byly obecně také nejvíce cytotoxické. Nicméně účinné koncentrace antioxidantů jsou 5–10krát nižší než případná cytotoxická koncentrace. Tato data ukazují, že ligniny mohou být použity v účinném koncentračním rozmezí, které je bezpečné pro normální buněčné linie [41].

4.6 Ligninové nanočástice

Lignin je stále nedostatečně využívaným přírodním zdrojem navzdory jeho dostupnosti a vynikajícím vlastnostem. Jeho širší využití je často omezeno složitou makromolekulární strukturou, která je závislá na jeho zdroji a způsobu extrakce. Kromě toho špatná dispergovatelnost v kompozitním materiálu je další překážkou pro širší využití v průmyslové výrobě. Jedním ze způsobů, jak překonat tato omezení, je přeměna surového ligninu na nanočástice jednotné velikosti a tvaru. Ligninové nanočástice zlepšují vlastnosti polymerních směsí a mají vyšší antioxidační aktivitu v důsledku vyšších poměrů povrchové plochy k objemu. Jednu z dalších možností využití zkoumal tým Velev et al. (2015), který připravil nanočástice ligninu obohacené stříbrem a tento materiál vykazoval vyšší antibiotickou aktivitu a byl šetrnější k životnímu prostředí než samotné nanočástice stříbra. K výrobě ligninových nanočástic se používají různé postupy, jako je srážení antirozpouštědlem, mezifázové zesíťování nebo polymerizace. Nanočástice ligninu jsou biodegradabilní a tak vhodná výroba může produkovat jednoduché, levné a netoxické komponenty využitelné v mnoha oblastech. Jeden ze způsobů výroby je založen na srážení slabě sulfonovaného ligninu z roztoku ethylenglykolu za použití vodou zředěných kyselin. Takto vyrobené ligninové nanočástice jsou vysoce porézní a mají dobrou stabilitu i při vysokých hodnotách pH. Environmentálně kompatibilní ligninové nanočástice skýtají možnost použití jako vehikula pro dodávání léčiv, stabilizátory kosmetických a farmaceutických formulací či jako náhrada dražších a potencionálně toxických nanomateriálů. Nanočástice ligninu mají také obrovský potenciál v přípravcích na opalování nejen díky své UV absorpci, neoxidovatelnosti a netoxicitě, ale také pro lepší dispergovatelnost a světlejší barvu, která činí výrobek uživatelsky přijatelnější [42; 43; 31].

Mezi další možnosti využití ligninových nanočástic patří stabilizace emulzí v tzv. Pickeringových emulzích. Díky vysoké adsorpční energii částic na rozhraní olej/voda zvyšují nanočástice kinetickou stabilitu emulzí [23].

4.7 Shrnutí výhod využití ligninu v kosmetice

Lignin se tedy jeví jako velmi vhodná alternativa k alespoň částečnému nahrazení syntetických UV filtrů v opalovacích krémech. Vykazuje širokospektrální absorbovatelnost na rozdíl od klasických UV filtrů, které se aktivují jen při určitých vlnových délkách. Dále má vynikající synergii s organickými UV filtry a tím mnohonásobně zvyšuje hodnotu fotoprotektivního faktoru. Disponuje také skvělými antioxidačními vlastnostmi spočívajícími především v redukci volných radikálů a zabraňování jejich další tvorbě. Jeho velkou výhodou je také fotostabilita v čase, kdy se absorbance UV záření naopak zvyšuje. V posledních letech některé výzkumy prokázaly, že lignin z různých zdrojů je pro buňky bezpečný a netoxický. Vzhledem k tomu, že doposud byl především odpadním produktem při výrobě buničiny a papíru, kde se především spaluje, má velký potenciál využití jako obnovitelný zdroj v mnoha oblastech průmyslu [24; 40].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 POUŽITÁ METODIKA

V experimentální části si práce klade za cíl prověření schopnosti roztoků alkalického ligninu absorbovat UV záření. Dále byla zkoumána možnost tvorby nanočástic pomocí různých rozpouštědel a následné přístrojové vyhodnocení vzniklých nanočástic.

5.1 Testovaná surovina

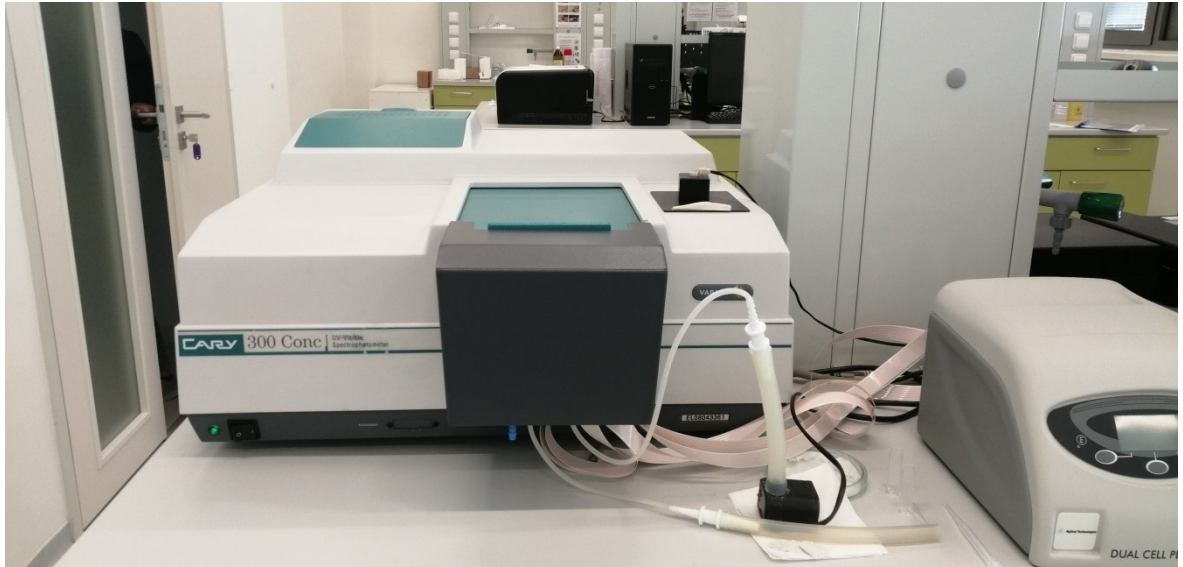
Jako výchozí surovina byl použit alkalický lignin, izolovaný sulfátovou metodou (kraft), s nízkým obsahem síry, od výrobce Sigma-Aldrich spol. s r.o.

5.2 Použité pomůcky a chemikálie

- Odměrné baňky o objemu 10 ml, 25 ml a 250 ml
- Kádinky
- Odměrné zkumavky
- Mikrostríkačky Hamilton o objemu 250 μ l a 500 μ l
- Pipety o objemu 10 μ l a 1000 μ l
- Pasteurovy pipety
- Kyvety z křemenného skla a z plastu
- Membránové stríkačkové mikrofiltry PTFE s velikostí pórů 0,45 μ m
- Injekční stríkačky
- Alobal
- Analytické váhy
- NaOH, granule, Penta chemicals
- Aceton od firmy Honeywell
- Ethanol 96% od firmy VWR Chemicals
- Dimethyl sulphoxide od firmy VWR Chemicals
- Ethylene Glycol od firmy Lach-Ner
- Ultra čistá demineralizovaná voda

5.3 Použité přístroje

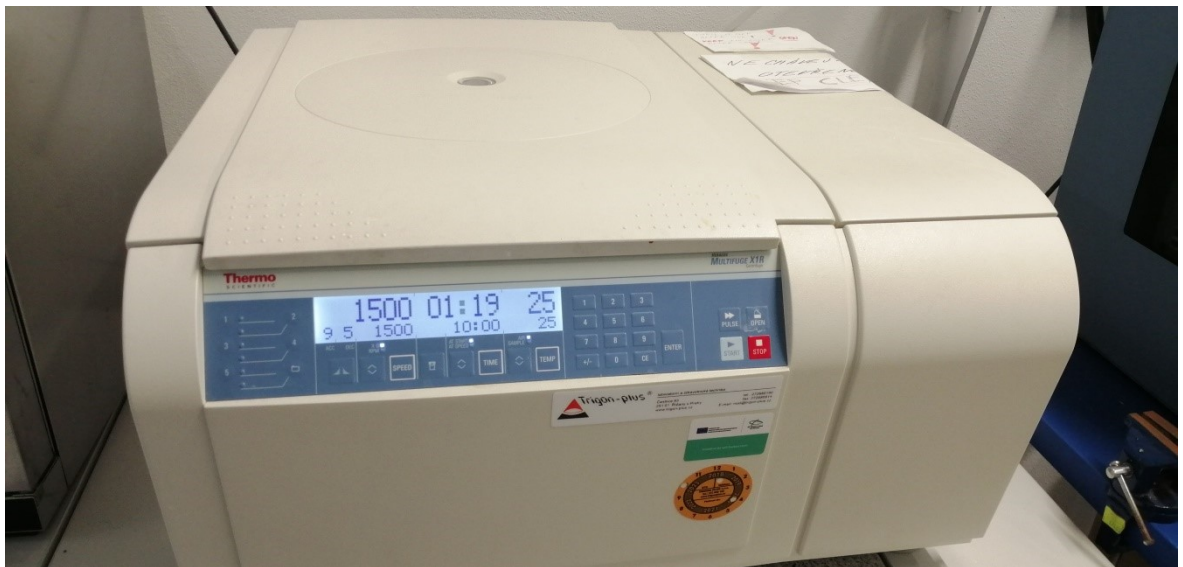
K měření absorbance byl použit spektrofotometr UV – Visible Cary 300 Conc (Obr. 7).



Obr. 7 Spektrofotometr UV – Visible Cary 300 Conc

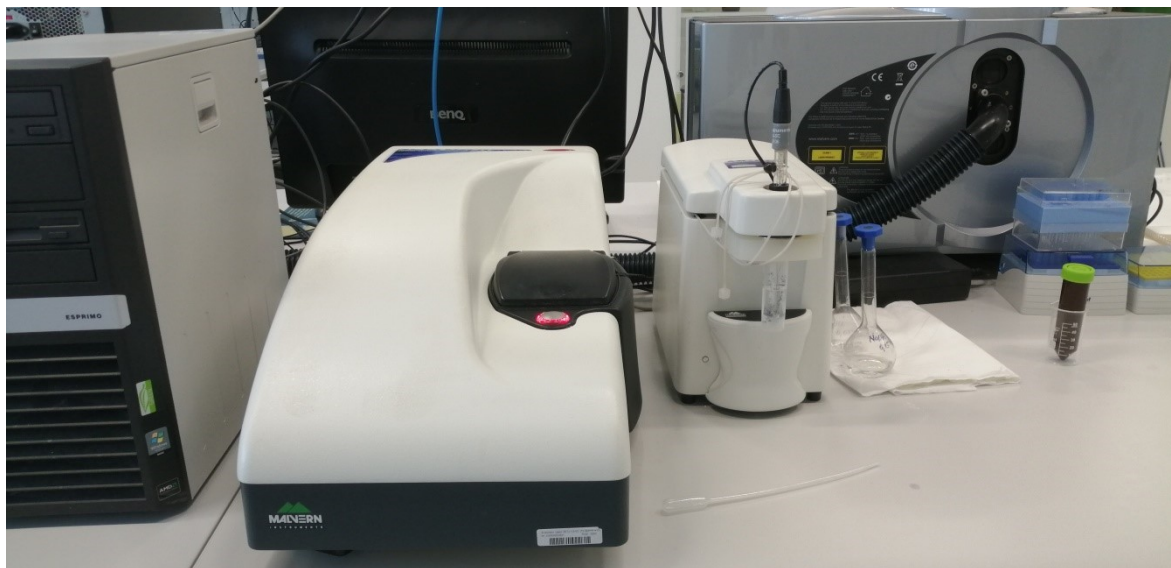
Dále byla k simulaci vystavení vzorků UV záření použita lampa Dymax ECE.

Odměrné baňky s roztoky byly pro vytvoření nanočástic centrifugovány v centrifuze Multifuge X1R od firmy TRIGON PLUS s.r.o. (Obr. 8).



Obr. 8 Centrifuga Multifuge X1R

Roztoky byly podrobeny měření v analyzátoru částic Zetasizer Nano ZS od firmy Malvern Panalytic Ltd. (Obr. 9).



Obr. 9 Analyzátor částic Zetasizer Nano ZS

Morfologie připravených částic byla studována vysokorozlišovacím transmisním elektronovým mikroskopem JEOL JEM 2100.

6 LABORATORNÍ POSTUPY

6.1 Spektrofotometrická charakteristika ligninu

Spektrofotometrie je založená na interakci elektromagnetického záření s analyzovaným roztokem, kdy je část záření absorbována částicemi vzorku. U některých látek se absorpcí fotonu mění energie molekuly a vzniká excitovaný atom (přechod elektronu do orbitalu s vyšší potenciální energií). Část záření projde roztokem a je následně detekována přístrojem. Množství světla propuštěného, odraženého nebo pohlceného jistou látkou je závislé na vlnové délce záření a na koncentraci zkoumané látky.

Schopnost molekul látky pohlcovat elektromagnetické záření určité vlnové délky se vyjadřuje bezrozměrnou fyzikální veličinou zvanou absorbance. Pokud absorbované záření leží ve viditelné části spektra, jeví se látka jako barevná.

Výsledkem spektrofotometrického měření je tzv. absorpční spektrum, které vyjadřuje závislost absorbance na vlnové délce.

Příprava kalibračních roztoků

Nejdříve byl připraven zásobní roztok NaOH o koncentraci 0,035 mol/l do odměrné baňky o objemu 250 ml. Následovala příprava standardu roztoku ligninu o koncentraci 0,5 mg/ml navážením 12,5 mg alkalického ligninu do odměrné baňky o objemu 25 ml.

Dále byly připraveny jednotlivé kalibrační roztoky ligninu o různých koncentracích do odměrných baněk o objemu 10 ml (Tab. 4).

Tab. 4 Koncentrace kalibračních roztoků ligninu

Kalibrační roztok č.	Koncentrace (mg/ml)
1	0,001
2	0,002
3	0,003
4	0,004
5	0,005

Do 10 ml odměrných baněk bylo odpipetováno vypočtené množství standardního roztoku ligninu a doplněno po rysku zásobním roztokem NaOH.

Všechny odměrné baňky s kalibračními roztoky byly obaleny alobalem, aby bylo zabráněno degradaci roztoků ligninu působením světla.

Vlastní měření absorbance

Z odměrných baněk jednotlivých kalibračních roztoků bylo odlito do kyvet z křemenného skla přiměřené množství. Každá kyveta, pokud s ní nebylo právě manipulováno za účelem experimentu, byla opatřena ochrannou vrstvou z alobalu. Pomocí spektrofotometru byla proměřena absorbance každého kalibračního vzorku v oblasti UV a VIS spektra od 800–200 nm.

Následovalo vystavení vzorků UV záření pod UV lampou po dobu 30 minut. A opět proběhlo nové proměření absorbance.

Další ozařování vzorků trvalo dalších 30 minut, poté bylo provedeno nové měření absorbance. Následující interval ozařování činil již 60 minut.

Do druhého dne byly kyvety opatřené alobalem uloženy v uzavíratelné krabici a uschovány ve skřínce, aby se zabránilo přístupu světla. Další den se vystavování působení UV paprskům pomocí laboratorní UV lampy zopakovalo dvakrát po 60 minutách. Po každé expozici proběhlo proměření absorbance.

Každé konkrétní měření absorbance určitého vzorku proběhlo z důvodu statistické chyby třikrát.

6.2 Příprava ligninových nanočástic

Použití materiálů s nanočásticemi umožnilo vývoj kosmetických výrobků lepší kvality s různými vlastnostmi a lepším výkonem díky malé velikosti jejich částic. Nanokosmetika představuje výhody ve srovnání s tradiční kosmetikou, jako je lepší penetrace aktivních látek do pokožky, možnost transdermálního řízeného uvolňování, ochranu před degradací labilních účinných látek, lepší senzorké vlastnosti a lepší stabilizaci formulace [44].

Příprava roztoků ligninu v organických rozpouštědlech

Pro přípravu roztoků byla použita různá rozpouštědla. Na analytických vahách bylo naváženo 100 mg alkalického ligninu s přesností $\pm 0,5$ mg (Tab. 5), rozmícháno v malém množství zvoleného rozpouštědla, kvantitativně převedeno do odměrné baňky o objemu 10

ml, pipetou přidán 1 ml ultra čisté demineralizované vody a doplněno rozpouštědlem po rysku. Vzniklý poměr voda : rozpouštědlo činil 1:9.

Tab. 5 Skutečné navážky ligninu v rozpouštědlech

Číslo roztoku	Rzpouštědlo	Skutečná navážka ligninu (mg)
1	Aceton	100,0
2	Ethanol 96%	100,3
3	Dimethylsulfoxid	99,7
4	Ethylenglykol	99,5

Roztoky ligninu v rozpouštědlech byly pro odstranění nerozpustných částic přefiltrovány přes membránové stříkačkové mikrofiltry PTFE 0,45 μm . Z přefiltrovaných roztoků bylo odlito 5 ml do odměrných zkumavek. Do čtyř kádinek bylo napipetováno po 10 ml ultra čisté demineralizované vody. Kádinka s vodou byla postavena na míchadlo. Za použití mikrostríkačky Hamilton o objemu 250 μl byl roztok ligninu přidáván po kapkách do vody za neustálého míchání. Přidání celého obsahu z odměrné zkumavky trvalo cca 10 – 15 minut. Roztok byl na míchadle míchán dalších 10 minut. Takto byly přeneseny všechny roztoky ligninu v rozpouštědlech do dvojnásobného množství demi vody. Pouze u ethylenglykolu byla použita mikrostríkačka Hamilton o objemu 500 μl z důvodu vysoké hustoty roztoku.

Následně byly tyto zředěné roztoky přelity do čistých odměrných zkumavek a posléze centrifugovány na centrifuze Multifuge X1R po dobu 10 minut pro odstranění agregátů. Poté byl supernatant přelit do zatmavených odměrných zkumavek.

6.3 Charakterizace vzorků a měření

Jednotlivé roztoky ligninu připravené v různých organických rozpouštědlech byly vyhodnoceny pomocí několika analytických metod. Detekce a stanovení velikosti částic bylo provedeno pomocí fotonové korelační spektroskopie. Dále byla proměřena

absorbance v oblasti UV-VIS záření a charakterizace částic byla vyhodnocena pomocí transmisní elektronové mikroskopie.

6.3.1 Fotonová korelační spektroskopie

Pro detekci částic v jednotlivých vzorcích a zhodnocení jejich homogenity byl použit analyzátor částic Zetasizer Nano ZS.

Fotonová korelační spektroskopie (PCS) nebo též dynamický rozptyl světla (DLS) je technika, která používá rozptýlené světlo k měření difúze částic pohybujících se Brownovým pohybem (neustálý náhodný pohyb) a pomocí Stokes – Einsteinova vztahu odvozuje jejich velikost a distribuci [45; 46].

Stokes – Einsteinova rovnice:

$$d(H) = \frac{kT}{3\pi\eta D} \quad (1)$$

kde $d(H)$ je hydrodynamický průměr částice, k je Boltzmannova konstanta, T je termodynamická teplota, η je viskozita a D je translační difúzní koeficient [47].

Hydrodynamický poloměr závisí na hmotnosti a tvaru částice. Metoda DLS je schopna analyzovat vzorky obsahující značně odlišné velikosti částic a agregátů, dokáže detekovat velmi malá množství druhů částic s vyšší hmotností a není potřeba provádět kalibraci. Technika DLS měří optický pohyb suspendovaných částic v tekutině o známé teplotě a viskozitě. Časově závislá poloha nebo rychlost suspendovaných částic způsobuje posuny frekvence v důsledku rozptylu světla od suspendovaných částic. Na základě zpracovaných dat je vyhodnocena distribuce velikostí částic ve vzorku [46].

Ze zatmavených odměrných zkumavek byl odpipetován 1 ml připravených suspenzí ligninu v konkrétním rozpouštědle do příslušné kyvety. Kyvety byly zakryty víčkem pro zachování termostability a postupně vloženy do přístroje. Roztok v ethylenglykolu musel být pro svou značnou hustotu naředěn v poměru 1:4 s destilovanou vodou. Každý vzorek byl proměřen třikrát a výsledky byly zprůměrovány.

Software přístroje umožňuje nastavit průběh měření s předem zadanými parametry, které byly následující: disperzní médium = H₂O, index lomu = 1,330; teplota = 25 °C, čas ustálení (ekvilibrace) = 120 s, měřicí úhel = 173°.

6.3.2 Spektrofotometrická analýza ligninových nanočástic

Vzorky nanočástic v rozpouštědlech byly vzhledem k jejich vysoké koncentraci naředěny. Roztoky s acetonem, ethylenem a ethylglykolem byly ředěny s destilovanou vodou v poměru 1:100, roztok s dimethylsulfoxidem v poměru 1:1 000. Naředěné vzorky byly napipetovány do kyvet z křemenného skla, vloženy do spektrofotometru a v oblasti UV-VIS proměřena jejich absorbance.

6.3.3 Transmisní elektronová mikroskopie (TEM)

Morfologie připravených částic v acetonu byla studována pomocí vysokorozlišovacího transmisního elektronového mikroskopu JEOL JEM 2100 se zdrojem z hexaboridu lanthalu (LaB6). Postup měření byl následující. Kapka neředěné suspenze částic byla v prvním kroku nanášena na střed rotující podložní měděné mřížky. Tímto způsobem připravený vzorek byl vysušen při laboratorní teplotě. Následně byl vzorek umístěn do držáku přístroje a pozorován při urychlovacím napětí 200 kV.

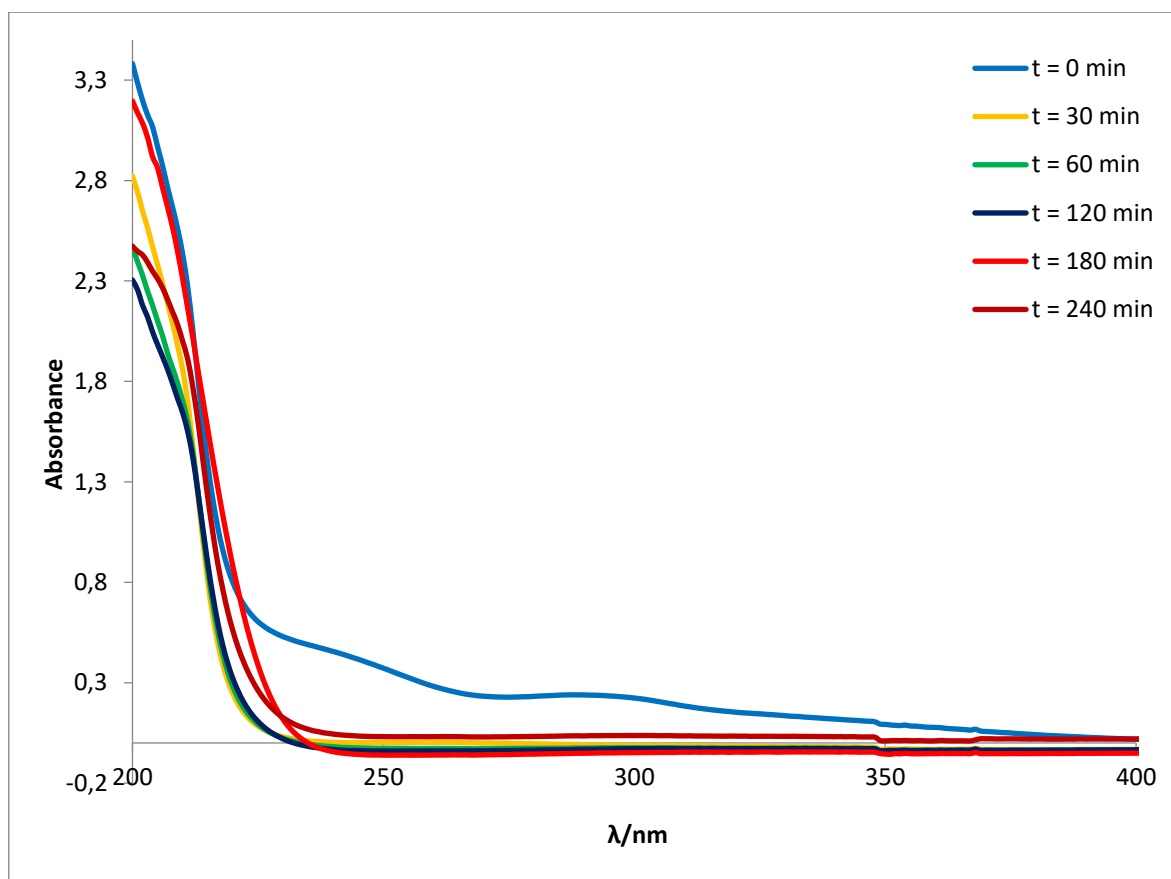
7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Měření absorbance kalibračních roztoků

Spektrofotometrie představuje jednoduchou metodu, která umožňuje zaznamenání UV-VIS spekter a jejich případnou absorbanci. Na přístroji UV-Visible Cary 300 Conc bylo zjišťováno, do jaké míry jsou jednotlivé koncentrace roztoků ligninu schopny absorbovat UV záření na různých vlnových délkách.

7.1.1 Závislost absorbance na vlnové délce kalibračních roztoků ligninu

Pro grafické zobrazení závislosti absorbance na vlnové délce v čase byl vybrán reprezentativní vzorek s koncentrací ligninu 0,004 mg/ml.



Obr. 10 Grafické znázornění závislosti absorbance na vlnové délce v čase u koncentrace 0,004 mg/ml

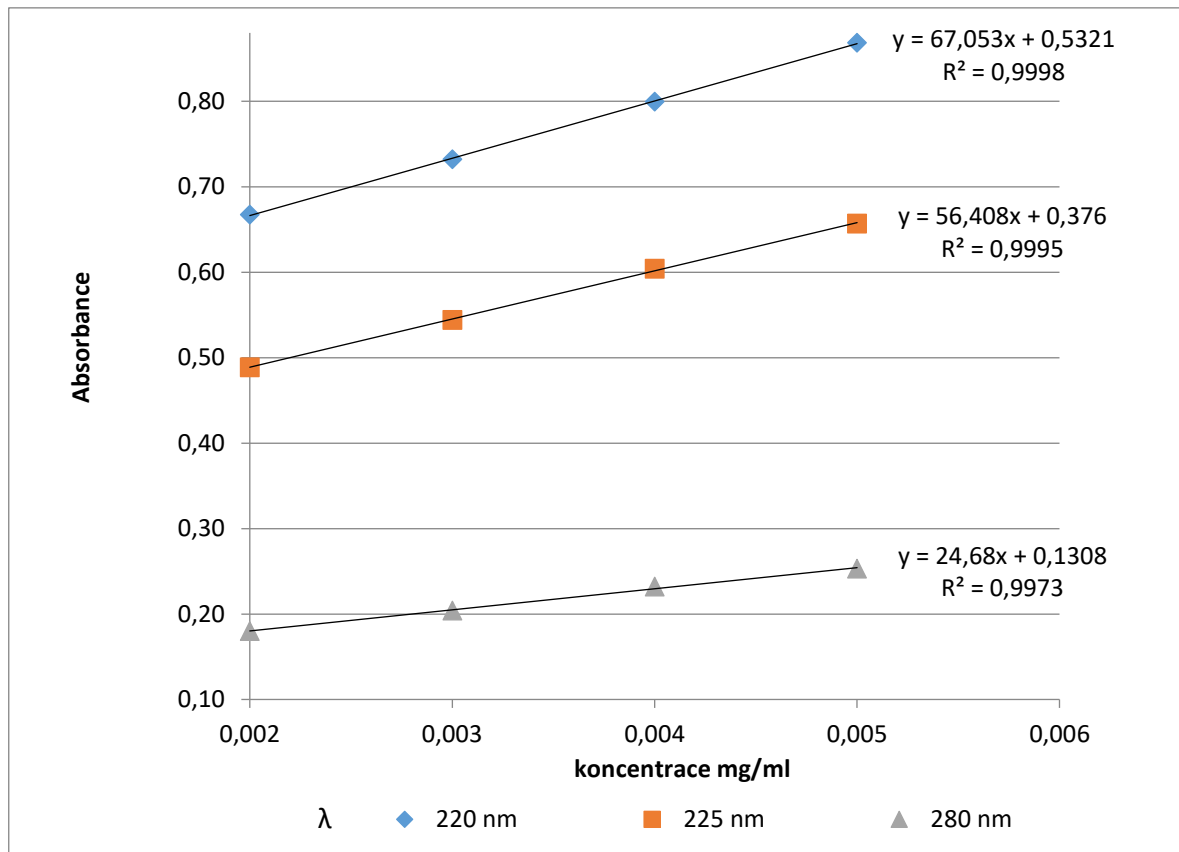
Jak je zmiňováno v teoretické části, lignin díky svým funkčním skupinám a struktuře disponuje schopností pohlcovat UV záření.

Z grafu (Obr. 10) je zřejmé, že před simulovanou expozicí UV světlem dosahoval roztok s koncentrací 0,004 mg/ml nejvyšších hodnot absorbance v celém spektru, neboť nejspíše ještě nedošlo k žádné významné degradaci jeho struktury. V následujících dvou hodinách pravidelného ozařování UV lampou se schopnost pohlcování UV záření postupně snižovala, nicméně neklesla pod hodnotu 2,3 při vlnové délce 200 nm. Po třech hodinách systematického vystavování UV paprskům v časových intervalech 30, 60, 120 a 180 minut došlo k překvapivému jevu. Absorbance se zvýšila již od vlnové délky 235 nm na rozdíl od předchozích měření a exponenciálně rostla až na hodnotu 3,2 při vlnové délce 200 nm. Tato jedinečná vlastnost ligninu byla popsána ve studii provedené Yong Qian et al. (2014), která zkoumala UV protekci ligninu a jeho fotostabilitu ve spojení s organickými UV filtry v opalovacích prostředcích – viz kap. 4.3.1 [34].

Po uplynutí 240 minut od počátku proměřování a opakovaných expozic UV záření se hodnota absorbance ještě zvýšila v rozmezí vlnových délek 230-800 nm. Dokonce mezi vlnovými délkami 406-800 nm byla naměřena absorbance v nejvyšších hodnotách ze všech měřených časů. Od 230-200 nm absorbance exponenciálně rostla, ale již v nižších hodnotách než v čase 180 minut.

7.1.2 Kalibrační křivky

Pro některé vlnové délky byly v čase nula, tj. před ozařováním UV lampou, vytvořeny kalibrační křivky pro koncentrace roztoků 0,002; 0,003; 0,004 a 0,005 mg/ml. Poskytnuté hodnoty z jednotlivých kalibračních křivek deklarují lineární závislost jednotlivých koncentrací ligninu na odezvě absorbance (Obr. 11).



Obr. 11 Kalibrační křivky roztoků ligninu různých koncentrací při vlnové délce 220, 225 a 280 nm

7.2 Analýza ligninových nanočástic

7.2.1 Velikost a distribuce velikostí částic

Měření velikosti a distribuce velikostí částic (Tab. 6, Obr. 12-15) bylo prováděno u nanočástic ligninu připravených v různých rozpouštědlech – acetonu, ethylenglykolu, dimethylsulfoxidu a ethanolu.

Tab. 6 Shrnutí velikosti a distribuce velikostí naměřených nanočástic

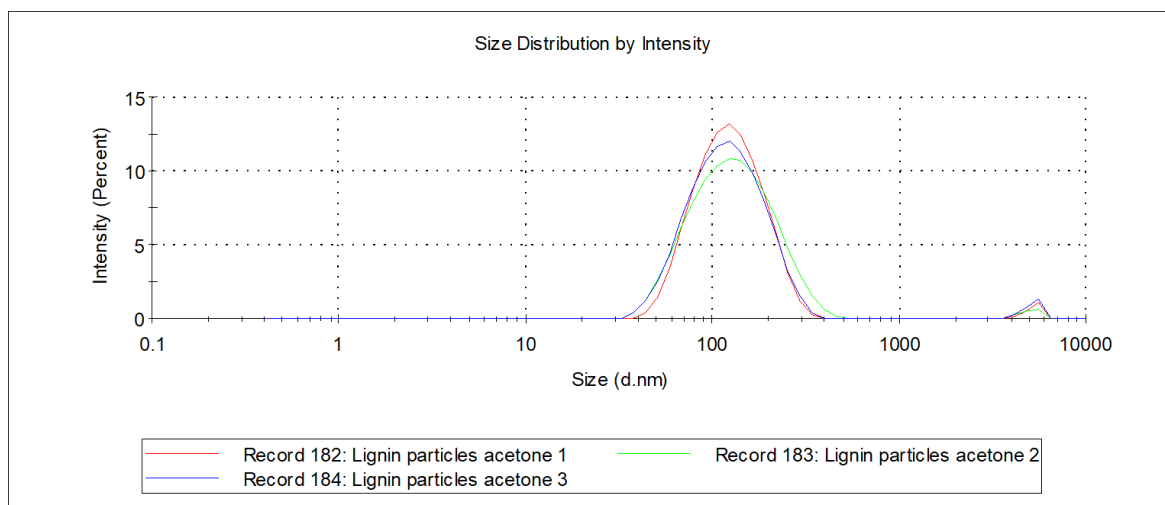
Vzorek	Pk 1 (nm)	Pk 2 (nm)	Pk 3 (nm)	Ø Pk všech částic (nm)	Pk 1 (%)	Pk 2 (%)	Pk 3 (%)	PdI
1	133,5	5 139	0	115,7	98,23	1,77	0	0,244
2	140,7	4 617	5 116	310,8	72,03	20,07	6,35	0,445
3	3 695,1	79,3	1 747	117,5	46,8	35,63	17,53	0,431
4	311,8	0	0	238,2	100,0	0	0	0,226

Použitá rozpouštědla:

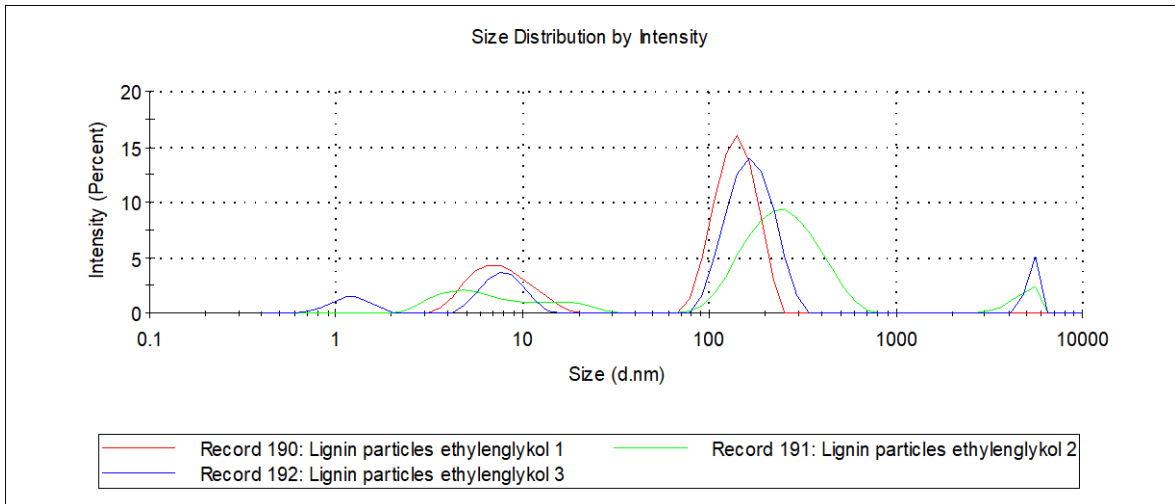
- vzorek 1 – aceton
- vzorek 2 – ethylenglykol
- vzorek 3 – dimethylsulfoxid
- vzorek 4 – ethanol

Pk = velikost částic a jejich procentuální zastoupení v suspenzích

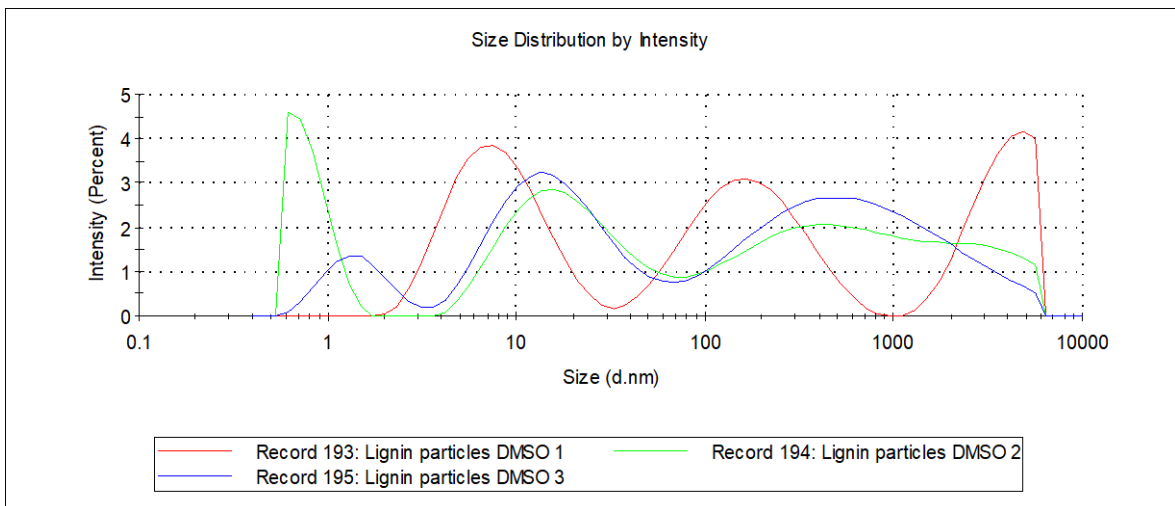
PdI = hodnota polydisperzity



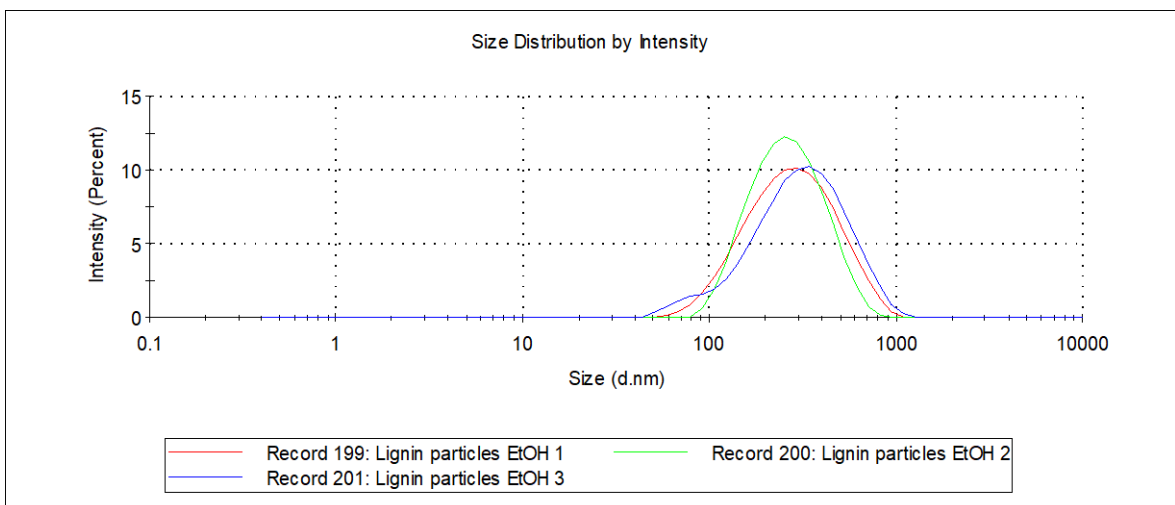
Obr. 12 Rozložení distribuce částic v roztoku s acetonem



Obr. 13 Rozložení distribuce částic v roztoku s ethylenglykolem



Obr. 14 Rozložení distribuce částic v roztoku s dimethylsulfoxidem



Obr. 15 Rozložení distribuce částic v roztoku s ethanolem

Částice detekované v acetonu (vzorek č. 1) prokázaly vysokou homogenitu, neboť byly shodného charakteru o průměrné velikosti 133,5 nm z 98,23 %. Menší množství detekovaných částic (1,77 % z celkového objemu) bylo na hranici měřitelnosti s průměrnými rozměry 5 139 nm. Celkově tato suspenze byla velmi homogenní s nízkým indexem polydisperzity z důvodu vysokého procentuálního zastoupení částic jednoho druhu.

Vzorky č. 2 a 3 (v ethylenglykolu a dimethylsulfoxidu) byly naopak velmi polydisperzní. Částice měly velmi rozdílné charakteristiky a rozměry. Detekovány byly tři druhy částic ve vysokém zastoupení. Hodnota polydisperzity byla významně vyšší než udávané indexy pro homogenní roztoky.

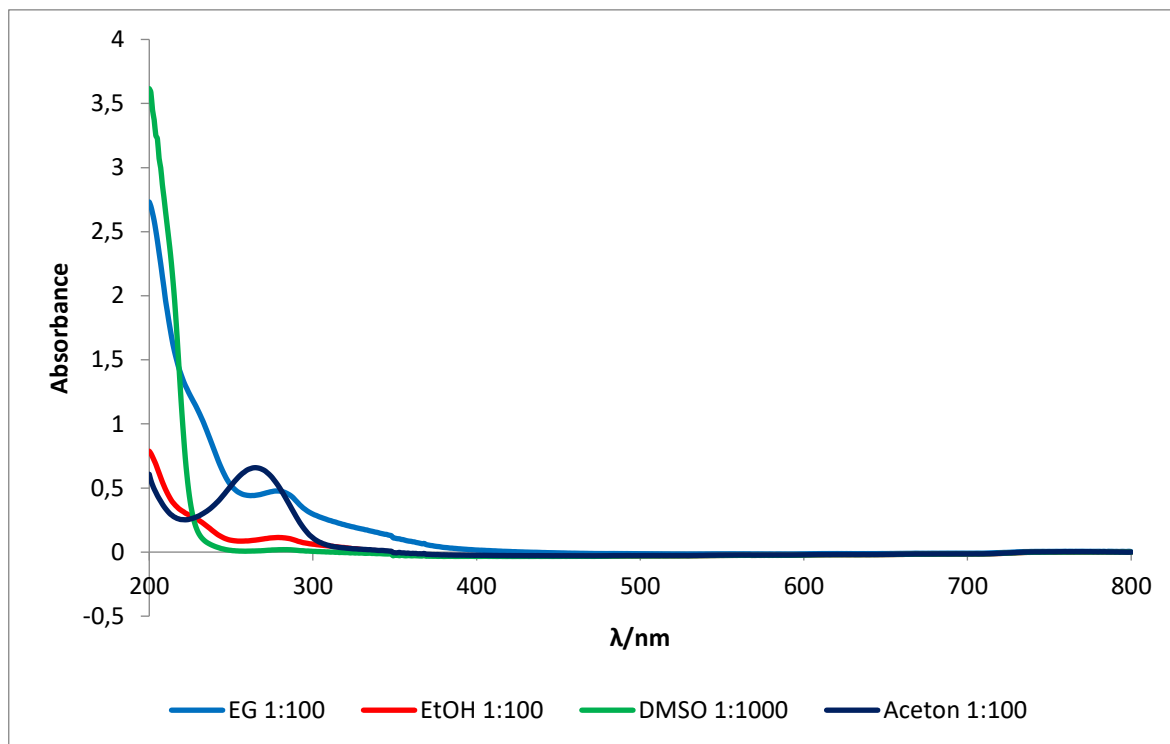
V suspenzi s ethanolem byly zastoupeny částice jen jednoho druhu s průměrnou velikostí 311,8 nm. Tento vzorek byl nejvíce homogenní.

Nejmenší částice oscilující v pásmu nanorozměrů byly ve velkém množství vytvořeny pomocí acetonu.

Ve studii Srinivasa Rao Yearla & Kollipara Padmasree (2016) byla pro výrobu nanočástic ligninu použita metoda nanoprecipitace, která spočívá v rychlém přidávání rozpuštěného polymeru v organickém rozpouštědle do vodné fáze za mírného míchání. Tato metoda byla také použita při výrobě nanočástic zde analyzovaných. Výše uvedená studie popisuje získávání polymerních nanočástic jako kompetitivní proces, při kterém se aceton obsahující ligninový polymer šíří do okolního vodného média a má tendenci vytvářet sférické nanočástice [48].

7.2.2 Spektrofotometrická charakteristika

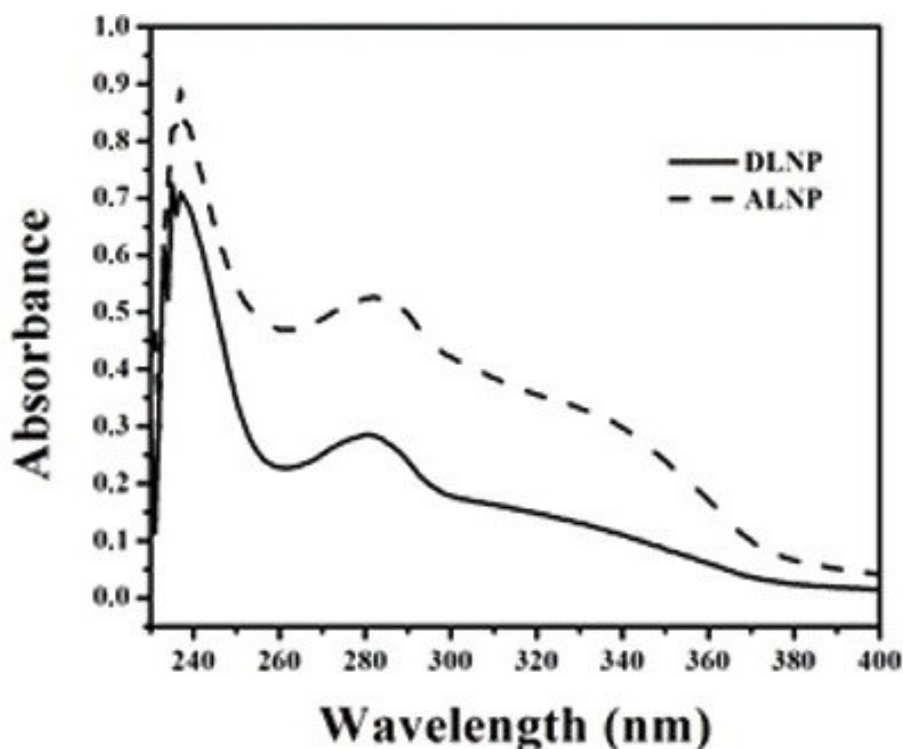
Ligninové nanočástice v různých typech rozpouštědel byly také podrobeny měření absorbance při vlnových délkách 200-800 nm. Vzorky vzhledem k jejich vysoké koncentraci musely být naředěny. Dimethylsulfoxid byl naředěn s destilovanou vodou v poměru 1:1 000, ostatní vzorky byly naředěny v poměru 1:100. Dle výsledků měření absorbance se jeví ligninové nanočástice rozpuštěné v ethylenglykolu a dimethylsulfoxidu stále vysoce koncentrované na to, aby byl výsledek relevantní.



Obr. 16 Závislost absorbance na vlnové délce u různých rozpouštědel

EG – ethanoldglykol s vodou v ředění 1:100, EtOH – ethanol s vodou v ředění 1:100, DMSO – dimethylsulfoxid s vodou v ředění 1:1000, Aceton s vodou v ředění 1:100

Křivka absorbance ligninových nanočástic v acetonu se projevila dvěma píky. První byl na vlnové délce 278 nm a druhý při 200 nm. Tato závislostní křivka absorbance na vlnové délce se shoduje s měřením uvedeným v literatuře. Ve studii Srinivasa Rao Yearla & Kollipara Padmasree (2016) se ukázala absorpční spektra alkalického ligninu a ligninu extrahovaného v dioxanu při 281 nm. Absorbance alkalického ligninu byla vyšší než dioxanovaného ligninu z důvodu vyššího obsahu guaiacylových podjednotek (Obr. 17) [48].



Obr. 17 Závislost absorbance na vlnové délce 2 typů ligninových nanočástic [48].

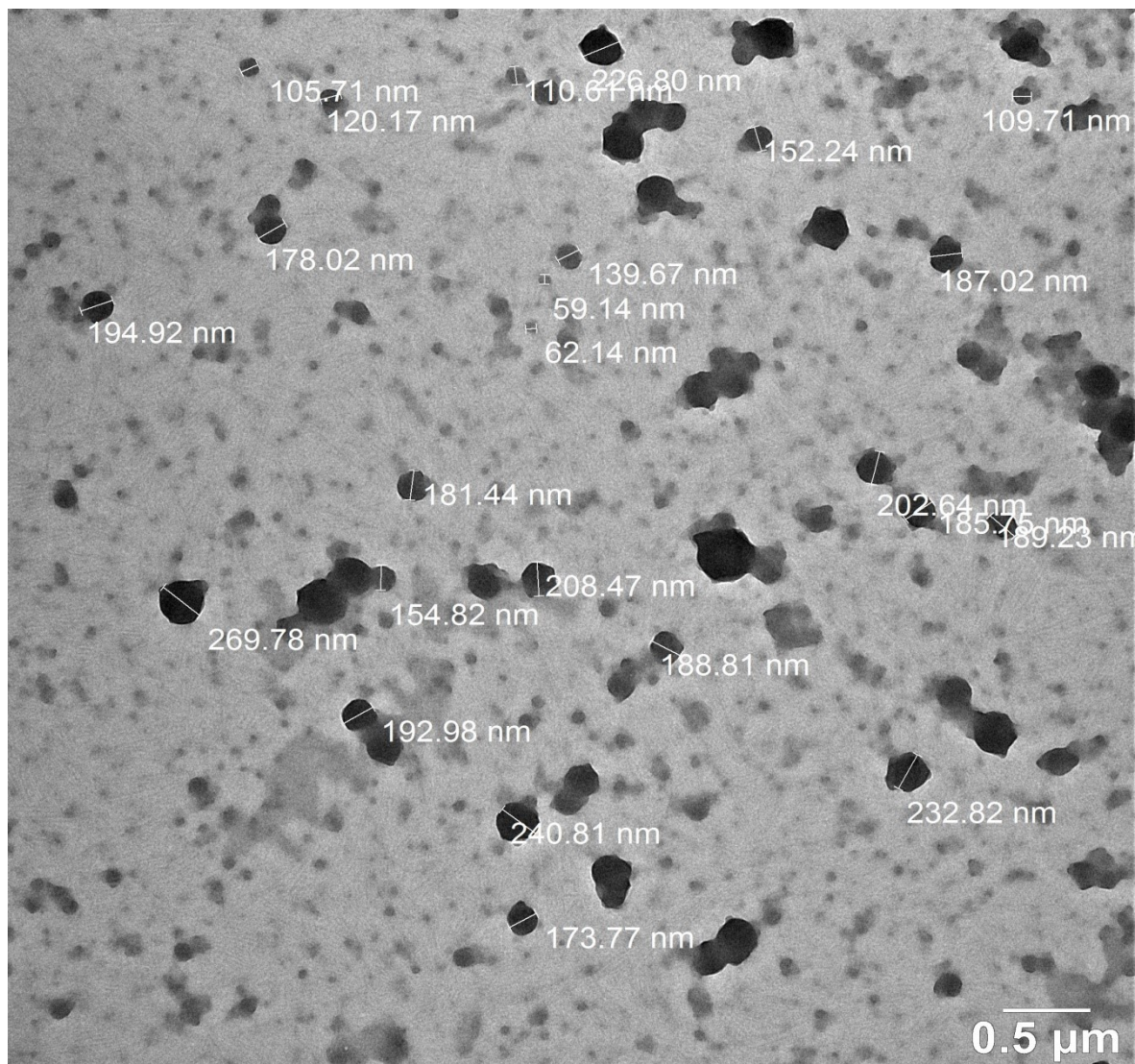
DLNP – lignin extrahovaný v dioxanu, ALNP – alkalický lignin

Také studie Colin Awungacha Lekelefac a Peter Czermak (2016) ukazuje časově závislá spektra s absorpčními píky při 203 a 280 nm. Absorpční píky se postupně snižují, což naznačuje rozklad ligninu a degradaci jeho chromoforových skupin podílejících se na absorpci UV-VIS záření. Vrcholy kolem 203 nm odpovídají částem nenasycených řetězců, zatímco hodnoty kolem 280 nm nekonjugovaným fenolickým hydroxyskupinám [49].

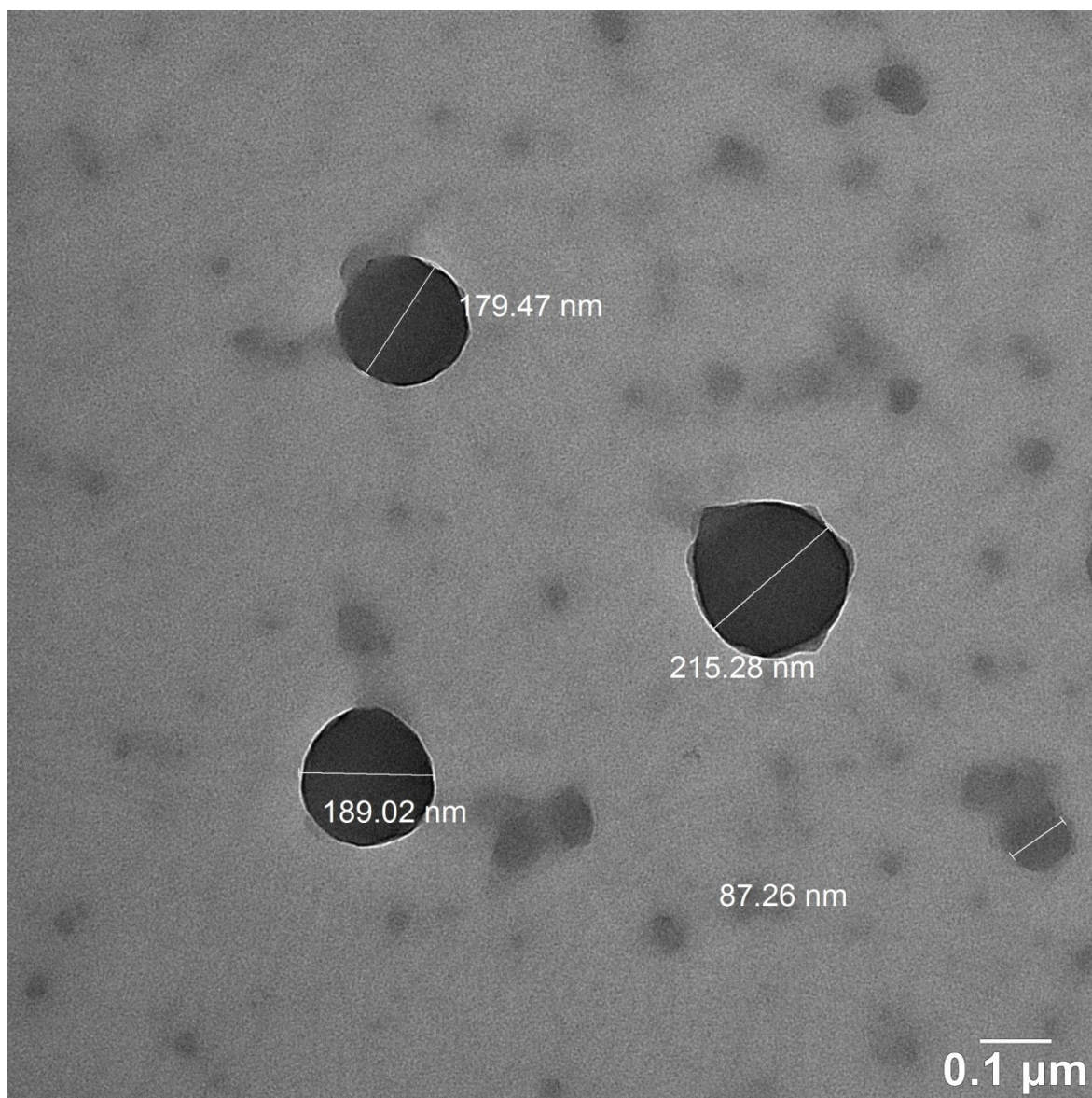
V této práci se absorpční pík alkalických ligninových nanočástic v acetonu projevil pouze v oblasti 278 nm, což odpovídá přítomnosti fenolových hydroxyskupin.

7.2.3 Mikroskopická analýza pomocí TEM

Morfologie připravených nanočástic byla studována pomocí transmisní elektronové mikroskopie. Na základě provedených experimentů byl jako nejvhodnější pro tento typ analýzy vyhodnocen vzorek nanočástic připravených v acetonu. Jak je zjevné z obrázků, pomocí TEM byla potvrzena přítomnost částic sférického tvaru v připraveném vzorku. Velikost částic byla metodou TEM vyhodnocena v rozmezí 59 až 270 nm, což se liší v porovnání s výsledky získané PCS. Nicméně je třeba podotknout, že PCS využívá k hodnocení velikosti jiný princip.



Obr. 18 Částice ligninu připravené pomocí rozpouštění v acetonu.



Obr. 19 Detail částic ligninu připravených v acetonu.

ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo posoudit možnost využití ligninu coby přírodního UV protektoru s případným uplatněním v opalovacích prostředcích.

Připravené roztoky ligninu o různých koncentracích byly vystavovány v čase expozici laboratorním UV paprskům a zároveň byla průběžně proměřována jejich schopnost pohlcovat UV–VIS záření. Dále byla zkoumána jejich fotostabilita v závislosti na délce ozařování.

Lignin se ukázal jako velmi stabilní polymerní látka, která nepodléhá po UV expozici rychlé degradaci. Měření bylo naopak prokázáno, že jeho absorbance po 3 až 4 hodinách ozařování vzrostla, což z něj činí dobrého kandidáta na podporu komerčních UV filtrů v opalovacích formulacích. V literatuře je také uváděn jeho pravděpodobný synergický efekt ve spojení s chemickými UV filtry, který vede k výraznému navýšení UV protekce [34]. Za nejpravděpodobnější příčinu schopnosti fotoprotekce ligninu je považována přítomnost chromoforů fenolických a ketonových skupin.

V další části práce byl lignin rozpuštěn ve čtyřech různých organických rozpouštědlech a po centrifugaci byly v suspenzích pomocí fotonové korelační spektroskopie detekovány nanočástice. Nejúčinnějším solventem při tvorbě sférických částic nano rozměrů byl vyhodnocen aceton. Nanočástice v acetonu také vykazovaly nejvyšší homogenitu ze zkoumaných vzorků. Sférický tvar částic byl posléze potvrzen prostřednictvím transmisní elektronové mikroskopie.

Vzhledem ke složitosti a komplexnosti molekuly ligninu a jeho modifikaci v závislosti na způsobu extrakce ze surové látky se může jeho schopnost rozpouštět značně lišit podle použitého rozpouštědla, od čehož se následně odvíjí i úspěšnost přípravy částic. V této práci bylo potvrzeno, že alkalický lignin je vhodným materiálem pro přípravu částic metodou precipitace pomocí různých rozpouštědel. Výsledky práce naznačují, že této problematice bude třeba věnovat další pozornost, zejména z hlediska možné aplikace připravených částic do opalovacích formulací, ať už samostatně nebo ve spojení s chemickými UV filtry.

Budoucnost využití ligninu díky jeho snadné dostupnosti, levné výrobě a biodegradabilitě z něj činí kandidáta zájmu vědeckých studií k prozkoumání dalších možností uplatnění v různých oblastech průmyslu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] ETTLER, Karel. *Fotoprotekce kůže: ochrana kůže před účinky ultrafialového záření*. Praha: Triton, 2004. ISBN 80-7254-463-2.
- [2] LIM, H., DRAELOS, W., Z. *Clinical guide to sunscreens and photoprotection*. New York: Informa Healthcare, c2009. Basic and clinical dermatology, 43. ISBN 978-142008084-1
- [3] SWABHA Takshak, S. B. AGRAWAL. Defense potential of secondary metabolites in medicinal plants under UV-B stress. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. Elsevier. Apr 2019, 51-88 [cit. 18.2.2020]. DOI: doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.02.002
- [4] JIRÁSKOVÁ, M., JIRÁSEK, L. Sluneční záření a jeho působení na kůži. *Pracovní lékařství*. 2000 (2), 90-95.
- [5] MALINA, Lubor. *Fotodermatózy*. Praha: Maxdorf, c1999. ISBN 80-85912-21-X.
- [6] RÄHSE, Wilfried. *Cosmetic Creams*. 2020. ISBN 978-3-527-34398-0.
- [7] RUPRICH, J. *Méně než 1 % osob má dostatek vitamínu D z obvyklé české stravy – v zimě to zakládá na problémy* [online]. Brno: Státní zdravotní ústav, 2017 [cit. 18.2.2020]. Ke stažení dostupné z: <http://www.szu.cz/tema/bezpecnost-potravin/mene-nez-1-osob-ma-dostatek-vitaminu-d-z-obvykle-ceske>
- [8] Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. In: *Úřední věstník Evropské unie* [online]. [cit. 27.2.2020]. Dostupné z: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/CS/TXT/PDF/?uri=CELEX:32009R1223&from=ET>
- [9] HILLER, J., KLOTZ, K., MEYER, S., UTER, W., HOF, K., GREINER, A., GÖEN, T., DREXLER, H. Systemic availability of lipophilic organic UV filters through dermal sunscreen exposure. *Environment International* [online]. Elsevier. Nov 2019, 132 [cit. 29.2.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.105068>
- [10] BAREL, A., PAYE, M., MAIBACH, H., ed. *Handbook of cosmetic science and technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare, c2009, xvi, 869 s. ISBN 9781420069631.

- [11] YAMADA, M., MOHAMMED, Y., PROW, T. Advances and controversies in studying sunscreen delivery and toxicity. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. Elsevier. Feb 2020, [cit. 20.2.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2020.02.001>
- [12] SAEWAN, N., JIMTAISONG, A. Natural products as photoprotection. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. Jan 2015, [cit. 29.2.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1111/jocd.12123>
- [13] RABINOVICH, L., KAZOUSKAYA, V. Herbal sun protection agents: Human studies. *Clinics in Dermatology* [online]. Elsevier. Jun 2018, [cit. 29.2.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2018.03.014>
- [14] ALMEIDA, W., ANTUNES, A., PENIDO, R., CORREA, H., NASCIMENTO, A., ANDRADE, A., SANTOS, V., CAZATI, T., AMPARO, T., SOUZA, G., FREITAS, K., SANTOS, O., SOUSA, L., SANTOS, V. Photoprotective activity and increase of SPF in sunscreen formulation using lyophilized red propolis extracts from Alagoas. *Revista Brasileira de Farmacognosia* [online]. Jun 2019, [cit. 29.2.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2019.02.003>
- [15] MAPOUNG, S., ARJSRI, P., THIPPRAPHAN, P., SEMMARATH, W., YODKEEREE, S., CHIEWCHANVIT, S., PIYAMONGKOL, W., LIMTRAKUL, P. Photochemoprotective effects of *Spirulina platensis* extract against UVB irradiated human skin fibroblasts. *South African Journal of Botany* [online]. Elsevier. Jan 2020, [cit. 3.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.01.001>
- [16] DA SILVA, A., PAIVA, J., DINIZ, R., ANJOS, V., SILVA, A., PINTO, A., SANTOS, E., LEITAO, A., CABRAL, L., RODRIGUES, C., PÁDULA, M., SANTOS, B. Photoprotection assessment of olive (*Olea europaea* L.) leaves extract standardized to oleuropein: In vitro and in silico approach for improved sunscreens. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. Elsevier. Apr 2019, [cit. 3.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.03.003>
- [17] KOVÁŘ, L. VITIS VINIFERA L. [online]. ©2008 [cit. 3.3.2020]. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/vitis-vinifera/>

- [18] HUBNER, A., SOBREIRA, F., VETORE NETO, A., PINTO, C.A.S.O., DARIO, M.F., DÍAZ, I.E.C., LOURENCO, F.R., ROSADO, C., BABY, A.R., BACCHI, E.M. The Synergistic Behavior of Antioxidant Phenolic Compounds Obtained from Winemaking Waste's Valorization, Increased the Efficacy of a Sunscreen System. *Antioxidants* [online]. 2019, 8, 530. [cit. 3.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox8110530>
- [19] GRULICH, V. PSIDIUM GUAJAVA L. [online]. ©2011 [cit. 5.3.2020]. Dostupné z: <https://botany.cz/cs/psidium-guajava/>
- [20] MOTA, M., COSTA, R., GUEDES, A., S., SILVA, L., CHINALIA, F. Guava-fruit extract can improve the UV-protection efficiency of synthetic filters in sun cream formulations. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* [online]. Elsevier. Dec 2019, [cit. 5.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.111639>
- [21] O bambusech [online]. ©2005 [cit. 5.3.2020]. Dostupné z: <http://www.bambusy.com/>
- [22] WRÓBLEWSKA, K., BABY, A., GUARATINI, M., MORENO, P. In vitro antioxidant and photoprotective activity of five native Brazilian bamboo species. *Industrial Crops and Products* [online]. Elsevier. Apr 2019, [cit. 5.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.12.081>
- [23] BERTOLO, M., DE PAIVA, L., NASCIMENTO, V., GANDIN, C., NETO, M., DRIEMEIER, C., RABELO, S. Lignins from sugarcane bagasse: Renewable source of nanoparticles as Pickering emulsions stabilizers for bioactive compounds encapsulation. *Industrial Crops and Products* [online]. Elsevier. Nov 2019, [cit. 26.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111591>
- [24] BERTELLA, S., LUTERBACHER, J. Lignin Functionalization for the Production of Novel Materials. *Trends in Chemistry* [online]. Elsevier. Apr 2020, [cit. 26.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trechm.2020.03.001>
- [25] MENON, V., RAO, M. Trends in bioconversion of lignocellulose: Biofuels, platform chemicals & biorefinery concept. *Progress in Energy and Combustion Science* [online]. Elsevier. Aug 2012, [cit. 28.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.peccs.2012.02.002>

- [26] VANHOLME, R., DEMEDTS, B., MORREEL, K., RALPH, J., BOERJAN, W. Lignin Biosynthesis and Structure. *Plant Physiology* [online]. Jul 2010, 153 (3) 895-905, [cit. 30.3.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1104/pp.110.155119>
- [27] MENG, Y., LU, J., CHENG, Y., LI, Q., WANG, H. Lignin-based hydrogels: A review of preparation, properties, and application. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. Elsevier. Aug 2019, [cit. 2.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.05.198>
- [28] MELRO, E., ALVES, L., ANTUNES, F., MEDRONHO, B. A brief overview on lignin dissolution. *Journal of Molecular Liquids* [online]. Elsevier. Sep 2018, [cit. 2.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.06.021>
- [29] BAJWA, D., POURHASHM, G., ULLAH, A., BAJWA, S. A concise review of current lignin production, applications, products and their environmental impact. *Industrial Crops and Products* [online]. Elsevier. Nov 2019, [cit. 11.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111526>
- [30] MARTÍN-SAMPEDRO, R., SANTOS, J., FILLAT, Ú., WICKLEIN, B., EUGENIO, M., IBARRA, D. Characterization of lignins from *Populus alba* L. generated as by-products in different transformation processes: Kraft pulping, organosolv and acid hydrolysis. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. Elsevier. Apr 2019, [cit. 11.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.158>
- [31] CALVO-FLORES, Francisco G., José A. DOBADO JIMÉNEZ, Joaquín I. GARCIA a Francisco J. MARTÍN-MARTÍNEZ. *Lignin and lignans as renewable raw materials: chemistry, technology and applications*. Chichester, West Sussex, UK: John Wiley and Sons, 2015. ISBN 9781118597866.
- [32] WANG, H., PU, Y., RAGAUSKAS, A., YANG, B. From lignin to valuable products—strategies, challenges, and prospects. *Bioresource Technology* [online]. Elsevier. Jan 2019, [cit. 16.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.09.072>
- [33] PARK, S., KIM, J., YOUN, H., CHOI, J. Utilization of lignin fractions in UV resistant lignin-PLA biocomposites via lignin-lactide grafting. *International*

- Journal of Biological Macromolecules* [online]. Elsevier. Oct 2019, [cit. 16.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.157>
- [34] QIAN, Y., QIU, X., ZHU, S. Lignin: a nature-inspired sun blocker for broad-spectrum sunscreens. *Green Chemistry* [online]. 2015, [cit. 19.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1039/C4GC01333F>
- [35] IZAGUIRRE, N., GORDOBIL, O., ROBLES, E., LABIDI, J. Enhancement of UV absorbance and mechanical properties of chitosan films by the incorporation of solvolytically fractionated lignins. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. Elsevier. Mar 2020, [cit. 19.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.162>
- [36] TABOR, A., BLAIR, R. Nutritional Cosmetics. In: ZAID, M., AFAQ, F., SYED, D., MUKHTAR, H. *Chapter 8 Botanical Antioxidants for Protection Against Damage from Sunlight* [online]. Elsevier. 2009, p. 161-183 [cit. 23.4.2020]. ISBN 978-0-8155-2029-0 DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-2029-0.50015-6>
- [37] BARAPATRE, A., MEENA, A., MEKALA, S., DAS, A., JHA, H. In vitro evaluation of antioxidant and cytotoxic activities of lignin fractions extracted from *Acacia nilotica*. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. Elsevier. May 2016, [cit. 28.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.01.109>
- [38] DIZHBITE, T., TELYSHEVA, G., JURKJANE, V., VIESTURS, U. Characterization of the radical scavenging activity of lignins—natural antioxidants. *Bioresource Technology* [online]. Elsevier. Dec 2004, [cit. 28.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.02.024>
- [39] LEE, S., TRAN, T., CHOI, J., WON, K. Lignin for white natural sunscreens. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. Elsevier. Feb 2019, [cit. 28.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.10.184>
- [40] ZHANG, H., LIU, X., FU, S., CHEN, Y. High-value utilization of kraft lignin: Color reduction and evaluation as sunscreen ingredient. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. Elsevier. Jul 2019, [cit. 28.4.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.092>

- [41] UGARTONDO, V., MITJANS, M., VINARDELL, M. Comparative antioxidant and cytotoxic effects of lignins from different sources. *Bioresource Technology* [online]. Elsevier. Sep 2008, [cit. 5.5.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.11.038>
- [42] FIGUEIREDO, P., LINTINEN, K., HIRVONEN, J., KOSTIAINEN, M., SANTOS, H. Properties and chemical modifications of lignin: Towards lignin-based nanomaterials for biomedical applications. *Progress in Materials Science* [online]. Elsevier. Apr 2018, [cit. 5.5.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2017.12.001>
- [43] WANG, B., SUN, D., WANG, H., YUAN, T., SUN, R. Green and Facile Preparation of Regular Lignin Nanoparticles with High Yield and Their Natural Broad-Spectrum Sunscreens. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [online]. Copyright © 2018 American Chemical Society 2019 7 (2), 2658-2666, [cit. 8.5.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.8b05735>
- [44] GRUMEZESCU, A. Nanoparticles in Pharmacotherapy In: CHIARI-ANDRÉO, B., DE ALMEIDA-CINCOTTO, M., OSHIRO, J., TANIGUCHI, C., CHIAVACCI, L., ISAAC, V. *Chapter 5 Nanoparticles for cosmetic use and its application* [online]. Elsevier. 2019, p. 113-146 [cit. 8.5.2020]. ISBN 978-0-12-816504-1 DOI: https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816504-1_00013-2
- [45] ZETASIZER NANO ZS. Malvern Panalytical.com [online]. [cit. 15.5.2020]. Dostupné z: <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/zetasizer-range/zetasizer-nano-range/zetasizer-nano-zs>
- [46] BRAR, S., VERMA, M. Measurement of nanoparticles by light-scattering techniques. *TrAC Trends in Analytical Chemistry* [online]. Elsevier. Jan 2011, [cit. 15.5.2020]. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.08.008>
- [47] Dynamický rozptyl světla. [online]. [cit. 17.5.2020]. Dostupné z: https://cs.wikipedia.org/wiki/Dynamick%C3%BD_rozptyl_sv%C4%9Btla
- [48] YEARLA, S., PADMASREE, K. Preparation and characterisation of lignin nanoparticles: evaluation of their potential as antioxidants and UV

protectants. *Journal of Experimental Nanoscience*, 11:4, 289-302, [online]. [cit. 20.5.2020]. DOI: 10.1080/17458080.2015.1055842

- [49] LEKELEFAC, C., CZERMAK, P. Degradation of Lignin Derivatives by Photocatalysts. *InTech* [online]. Aug 2016 [cit. 20.5.2020]. DOI: <http://dx.doi.org/10.5772/62585>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ALNP	alkalický lignin
<i>c</i>	koncentrace
<i>D</i>	translační difúzní koeficient
<i>D(H)</i>	hydrodynamický průměr částice
DHNB	diethylaminohydroxybenzoyl hexylbenzoát
DLNP	lignin extrahovaný v dioxanu
DLS	dynamický rozptyl světla
DMSO	dimethylsulfoxid
EG	ethylenglykol
EHM	2-ethylhexylmethoxycinnamát
EtOH	ethanol
G	guaiacyl – subjednotka prekurzorů ligninu
H	<i>p</i> -hydroxyfenyl – subjednotka prekurzorů ligninu
H ₂ SO ₄	kyselina sírová
HCl	kyselina chlorovodíková
HMS	homomethyl salicylát
<i>k</i>	Boltzmannova konstanta
MED	minimální erytémová dávka
NaOH	hydroxid sodný
nm	nanometr
OMC	ethylhexylmethoxycinnamát
PABA	ethylhexyl dimethyl
PCS	fotonová korelační spektroskopie
PdI	hodnota polydisperzity

Pk	velikost částic
S	syriugyl – subjednotka prekurzorů ligninu
SPF	fotoprotektivní faktor
T	termodynamická teplota
TEM	transmisní elektronová mikroskopie
TiO ₂	oxid titaničitý
UV	ultrafialové záření
UVA	ultrafialové záření v rozmezí 315-400 nm
UVB	ultrafialové záření v rozmezí 280-315 nm
UVC	ultrafialové záření v rozmezí 100-280 nm
ZnO	oxid zinečnatý
η	viskozita
μl	mikrolitr

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1 Vliv vlnové délky na penetraci paprsků kůží [5].....</i>	12
<i>Obr. 2 Schématické znázornění struktury lignocelulózy [25].....</i>	26
<i>Obr. 3 Substruktury monomerů ligninu [27].....</i>	27
<i>Obr. 4 Schematické znázornění buněčné stěny dřevní hmoty se třemi hlavními složkami a různé typy technických ligninů získaných odlišnými způsoby extrakce [28].....</i>	28
<i>Obr. 5 Fotografické porovnání ligninu po chemických úpravách [40].....</i>	33
<i>Obr. 6 Fotografie opalovacího krému s přídavkem ligninu [40].....</i>	33
<i>Obr. 7 Spektrofotometr UV-Visible Cary 300 Conc.....</i>	38
<i>Obr. 8 Centrifuga Multifuge X1R.....</i>	38
<i>Obr. 9 Analyzátor částic Zetasizer Nano ZS.....</i>	39
<i>Obr. 10 Grafické znázornění závislosti absorbance na vlnové délce v čase u koncentrace 0,004 mg/ml.....</i>	45
<i>Obr. 11 Kalibrační křivky roztoků ligninu různých koncentrací při vlnové délce 220, 225 a 280 nm.....</i>	47
<i>Obr. 12 Rozložení distribuce částic v roztoku s acetonem.....</i>	48
<i>Obr. 13 Rozložení distribuce částic v roztoku s ethylenglykolem.....</i>	49
<i>Obr. 14 Rozložení distribuce částic v roztoku s dimethylsulfoxidem.....</i>	49
<i>Obr. 15 Rozložení distribuce částic v roztoku s ethanolem.....</i>	49
<i>Obr. 16 Závislost absorbance na vlnové délce u různých rozpouštědel.....</i>	51
<i>Obr. 17 Závislost absorbance na vlnové délce 2 typů ligninových nanočástic [48].....</i>	52
<i>Obr. 18 Částice ligninu v acetonu.....</i>	53
<i>Obr. 19 Detail částic ligninu v acetonu.....</i>	54

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1 Reakce na oslunění v závislosti na fototypu kůže [5].....</i>	<i>15</i>
<i>Tab. 2 SPF stanovený spektrofotometricky in vitro u vzorků [20].....</i>	<i>23</i>
<i>Tab. 3 Hodnoty SPF komerčního krému s různými přísadami ligninu a porovnání s SPF krémy bez ligninu s organickými UV filtry SPF 30 a 50 [34].....</i>	<i>31</i>
<i>Tab. 4 Koncentrace kalibračních roztoků ligninu.....</i>	<i>40</i>
<i>Tab. 5 Skutečné navážky ligninu v rozpouštědlech.....</i>	<i>42</i>
<i>Tab. 6 Shrnutí velikosti a distribuce velikostí naměřených nanočástic.....</i>	<i>47</i>