



VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

ÚSTAV CHEMIE POTRAVIN A BIOTECHNOLOGIÍ

INSTITUTE OF FOOD SCIENCE AND BIOTECHNOLOGY

**CHARAKTERIZACE ŠVESTKOVÉHO OLEJE A JEHO
VYUŽITÍ V KOSMETICE**

CHARACTERIZATION OF PLUM OIL AND ITS USE IN COSMETICS

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Zuzana Kaňovská

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Martin Szotkowski, Ph.D.

BRNO 2021

Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1723/2020 Akademický rok: 2020/21
Ústav: Ústav chemie potravin a biotechnologií
Studentka: **Zuzana Kaňovská**
Studijní program: Chemie a technologie potravin
Studijní obor: Biotechnologie
Vedoucí práce: **Ing. Martin Szotkowski, Ph.D.**

Název bakalářské práce:

Charakterizace švestkového oleje a jeho využití v kosmetice

Zadání bakalářské práce:

1. Zpracujte literární přehled dané problematiky:
 - přehled olejů z peckovitých plodů, využitelných v potravinářství, farmacii a kosmetice
 - bližší specifikace vybraného oleje – jeho charakteristika, složení a vlastnosti s ohledem na oblasti použití
 - přehled analytických metod vhodných pro posouzení kvality oleje – stanovení mastných kyselin
2. Proved'te charakterizaci oleje za využití zvolených metod
3. Výstupy diskutujte a formulujte závěry práce.

Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu. Toto zadání je součástí bakalářské práce.

Zuzana Kaňovská
student(ka)

Ing. Martin Szotkowski, Ph.D.
vedoucí práce

prof. RNDr. Ivana Márová, CSc.
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.
děkan

ABSTRAKT

Cílem této bakalářské práce bylo charakterizovat švestkový olej a prozkoumat možnosti jeho využití v kosmetickém průmyslu. Teoretickou částí práce je rešerše o vlastnostech rostlinných olejů obecně, švestkovém oleji a dalších olejích z peckovitých plodů. V experimentální části byl olej charakterizován z hlediska profilu mastných kyselin, fenolických látek a tokoferolů. Ze švestkového oleje bylo dále připraveno tělové mléko, u nějž byly stanoveny hydratační a bariérové vlastnosti. Čistý švestkový olej i tělové mléko byly podrobeny testům antimikrobiální aktivity.

ABSTRACT

The aim of this bachelor thesis was to characterize plum kernel oil and to explore its possible use in the cosmetics industry. The theoretical part of the thesis is a research on the properties of vegetable oils in general, plum kernel oil and other kernel oils. In the experimental part, the oil was characterized in terms of the profile of fatty acids, phenolic compounds and tocopherols. Body lotion was also prepared, containing plum kernel oil, for which hydration and barrier properties were determined. Pure plum kernel oil and body lotion were tested for antimicrobial activity.

KLÍČOVÁ SLOVA

švestkový olej, rostlinný olej, kosmetika, mastné kyseliny, fenolické látky, tokoferoly, tělové mléko, antimikrobiální aktivita

KEYWORDS

plum kernel oil, vegetable oil, cosmetics, fatty acids, phenolic compounds, tocopherols, body lotion, antimicrobial activity

KAŇOVSKÁ, Zuzana. *Charakterizace švestkového oleje a jeho využití v kosmetice*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131348>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav chemie potravin a biotechnologií. Vedoucí práce Martin Szotkowski.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....

podpis studenta

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych moc poděkovala vedoucímu mé práce Ing. Martinu Szotkowskému, PhD. a konzultantce Ing. Monice Wikarské za skvělé vedení, pomoc a cenné rady při řešení práce. Poděkovat chci také prof. RNDr. Ivaně Márové CSc. za ochotu a vstřícný přístup.

OBSAH

1	ÚVOD	8
2	TEORETICKÁ ČÁST.....	9
2.1	Rostlinné oleje	9
2.1.1	Složení	9
2.1.2	Chemické a fyzikální vlastnosti	9
2.1.2.3	Bod tání	11
2.1.2.4	Obsah pevného tuku (SFC)	11
2.1.2.5	Rozpustnost	11
2.1.3	Tuková charakteristika	12
2.2	Přehled olejů z peckovitých plodů	13
2.2.1	Olivový olej	13
2.2.2	Avokádový olej	13
2.2.3	Meruňkový olej	14
2.2.4	Broskvový olej	14
2.2.5	Rakytníkový olej	14
2.3	Švestkový olej	16
2.3.1	<i>Prunus domestica</i> L.....	16
2.3.2	Výroba.....	17
2.3.3	Senzorické vlastnosti	18
2.3.4	Chemické složení	18
2.3.5	Využití švestkového oleje	19
2.4	Rostlinné oleje v kosmetice.....	19
2.5	Chromatografie.....	20
2.5.1	Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)	20
2.5.2	Plynová chromatografie s plamenově ionizační detekcí (GC-FID)	21
2.5.3	Srovnání HPLC a GC-FID	22

3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	23
3.1	Použité chemikálie	23
3.2	Přístroje a pomůcky	23
3.3	Stanovení tukových čísel.....	24
3.3.1	Číslo zmýdelnění	24
3.3.2	Číslo kyselosti	25
3.3.3	Peroxidové číslo	25
3.3.4	Jodové číslo	25
3.4	Stanovení mastných kyselin metodou GC-FID.....	26
3.5	Stanovení fenolických látek metodou HPLC	26
3.6	Stanovení tokoferolů metodou HPLC	27
3.7	Příprava tělového mléka	27
3.8	Stanovení antimikrobiální aktivity	28
3.9	Testy životaschopnosti buněk	29
3.9.1	Test založený na redukci resazurinu	29
3.9.2	Výsevový test	29
3.10	Analýza účinků tělového mléka	30
3.10.1	Hydratace pokožky	30
3.10.2	Transepidermální ztráta vody	30
4	VÝSLEDKY A DISKUZE	31
4.1	Stanovení tukových čísel.....	31
4.1.1	Číslo zmýdelnění	31
4.1.2	Číslo kyselosti	31
4.1.3	Peroxidové číslo	32
4.1.4	Jodové číslo	32
4.2	Stanovení mastných kyselin metodou GC-FID.....	33
4.3	Stanovení fenolických látek metodou HPLC	35

4.4	Stanovení tokoferolů metodou HPLC	35
4.5	Příprava tělového mléka	36
4.6	Stanovení antimikrobiální aktivity	37
4.7	Testy životaschopnosti buněk	39
4.7.1	Test založený na redukci resazurinu	39
4.7.2	Výsevový test	42
4.8	Analýza účinků tělového mléka	42
4.8.1	Hydratace pokožky	43
4.8.2	Transepidermální ztráta vody	43
5	ZÁVĚR.....	45
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	47
7	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ.....	53

1 ÚVOD

Plody slivoně švestky se ve střední Evropě tradičně využívají v potravinářství. Po zpracování však zůstává odpadní produkt – jádro. Právě zpracováním tohoto odpadu může být získáván švestkový olej, který je tak perspektivním produktem v souladu s konceptem zelených technologií. Díky bohatému profilu mastných kyselin, antioxidačním složkám a příjemným sensorickým vlastnostem nachází švestkový olej uplatnění zejména v kosmetickém průmyslu. V současnosti jde však o poměrně novou surovinu, proto je cílem této práce prozkoumat možnosti jeho využití. V práci je obsažena literární rešerše na dané téma, charakteristika švestkového oleje a praktická aplikace v podobě tělového mléka.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Rostlinné oleje

Tuky a oleje jsou nejdůležitějšími lipidy obsaženými ve stravě. Podle skupenství za laboratorní teploty rozlišujeme pevné tuky a kapalné oleje [1]. Z nutričního hlediska se jedná o významný zdroj esenciálních mastných kyselin, fosfolipidů, vitamínů a dalších biologicky aktivních látek [2]. Složení přírodních tuků a olejů je určeno geneticky, může ale být ovlivněno i faktory životního prostředí. V rostlinách jsou tuky a oleje uloženy zejména v semenech a dužině [3]. Množství oleje v rostlinách se pohybuje od stopového po 70–80 % objemu [4].

2.1.1 Složení

Téměř všechny významné oleje jsou složeny převážně z triacylglycerolů (97 %). V menším množství obsahují také diacylglyceroly a monoacylglyceroly [3]. Dalšími složkami jsou volné mastné kyseliny, fosfolipidy, fytosteroly, tokoferoly a tokotrienoly [5].

Struktura triacylglycerolů (TAG), tedy nasycení, délky řetězců a pozice navázaných mastných kyselin, určují chemické, fyzikální a biologické vlastnosti oleje. Teplota tání obecně roste se zvyšujícím se podílem mastných kyselin s dlouhým řetězcem nebo nenasycených mastných kyselin [3]. Obsažené TAG jsou opticky aktivní, protože vznikají procesem stereospecifické esterifikace. Pro vyjádření přesné struktury je proto nutné uvádět i sterickou strukturu obsažených látek [1].

Mastné kyseliny vázané v TAG přírodních olejů jsou nasycené i nenasycené alifatické monokarboxylové kyseliny se sudým počtem atomů uhlíku. Délky řetězců se pohybují od C₄ do C₂₄ [3]. Nevíce zastoupenými kyselinami v rostlinných olejích jsou kyselina palmitová (16:0), olejová (18:1) a linolová (18:2) [6]. Kyselina linolová je esenciální mastnou kyselinou, a rostlinné tuky a oleje jsou jejím významným zdrojem [1]. Nenasycené mastné kyseliny v těchto olejích na glycerol váží přednostně na pozici C₂ [6].

2.1.2 Chemické a fyzikální vlastnosti

Nejdůležitějšími chemickými vlastnostmi olejů jsou oxidační potenciál a míra autooxidace neboli žluknutí. Tyto vlastnosti jsou závislé na obsahu polynenasycených mastných kyselin v oleji, a s jejich zvyšujícím se obsahem rostou. Například kyselina linolová (18:2) se oxiduje

padesátinásobnou rychlostí oproti kyselině olejové (18:1), proto její obsah přispívá k rychlejšímu žluknutí, a je lze ji využít k indikaci [7].

Autooxidace je autokatalytická reakce se vzdušným kyslíkem, při níž se mění senzorické vlastnosti oleje [7]. Dochází k rozkladu esenciálních mastných kyselin a ke vzniku nízkomolekulárních a toxických sloučenin či oxidovaných polymerů, které činí olej méně hodnotným. Proces žluknutí je ovlivněn také dodaným světlem a teplem, kvalitou vzduchu a obsahem dalších sloučenin v oleji [8]. Z tohoto hlediska jsou významné zejména antioxidační tokoferoly [7].

Zatímco chemické vlastnosti jsou významné z pohledu stability, fyzikální vlastnosti jsou kritické pro posuzování využitelnosti olejů [4],[9]. Jsou proto přímo spojeny s chemickými procesy, ke kterým dochází při komerčním zpracování [10][11]. Tyto vlastnosti se odvíjí zejména od struktury obsažených TAG molekul, přednostně pozic mastných kyselin navázaných na glycerol [7]. Významný je také stupeň nenasycení, délky uhlíkatých řetězců a izomerické formy mastných kyselin [11][12].

Mnohé aplikace tuků a olejů závisí na jejich schopnosti vytvářet mazací filmy, povrchové aktivity, rozpustnosti, bodu tání a dalších vlastnostech. Také při analýze olejů se využívá zejména analýzy fyzikálních vlastností, která je rychlejší a poskytuje informace, které chemickou analýzou získat nelze [10]. Jsou pak často stanoveny jako rozsah hodnot, a ne jako konkrétní hodnota, jelikož oleje jsou směsmi [4]. V případě, že fyzikální vlastnosti oleje nejsou optimální pro požadované použití, lze je změnit smísením olejů či chemickou modifikací [7].

2.1.2.1 Hustota

Hustota oleje závisí na čísle zmydlnění, jodovém čísle, obsahu volných mastných kyselin, obsahu vody a teplotě [9]. Hustoty TAG v pevném stavu jsou přibližně o 10 % vyšší než hustoty kapných TAG. Proto při tání dochází ke zvětšování objemu, což je základem dilatometrické metody určení obsahu pevných TAG [13].

2.1.2.2 Viskozita

Oleje se chovají jako Newtonovské kapaliny. V blízkosti bodu tání může dojít k odchýlení od Newtonovského chování způsobenému obsahem krystalů tuku. Viskozity přírodních olejů a tuků se od sebe příliš neliší [10][14]. Viskozita roste s molekulovou hmotností, ale významně klesá s rostoucí teplotou a stupněm nenasycení [9].

2.1.2.3 Bod tání

Jelikož tuky jsou komplexními směsmi TAG, nemají jasné body tání. Každý typ TAG má vlastní bod tání, ale pro jejich směs to neplatí. Přírodní tuky proto vždy obsahují v různém poměru, v závislosti na teplotě, jak pevnou, tak kapalnou složku [7][9].

2.1.2.4 Obsah pevného tuku (SFC)

Jde o fyzikální veličinu stanovující obsah pevné složky v tuku. Významná je zejména v potravinářství [7].

2.1.2.5 Rozpustnost

Oleje jsou prakticky nerozpustné ve vodě, jsou hydrofobní. Lépe se rozpouštějí v nepolárních rozpouštědlech. Toto neplatí pro mastné kyseliny, které jsou velmi dobře rozpustné i v polárních rozpouštědlech, díky čemuž je lze z tuků a olejů vymýt. Rozpustnost ve vodě klesá s rostoucí délkou hydrofobního uhlíkového řetězce kyselin. S vodou jsou tedy neomezeně mísitelné jen kyselina octová a máselná, naopak kyselina laurová a vyšší kyseliny jsou pak ve vodě zcela nerozpustné. Pro rozpustnost TAG, potažmo tuků a olejů, platí, že klesá s rostoucí délkou řetězců obsažených mastných kyselin, a se zvyšující se teplotou roste [7][13].

2.1.2.6 Kouřový bod

Kouřový bod je teplota, při níž olej nebo tuk začne viditelně produkovat kouř. Je stanoven zejména obsahem volných mastných kyselin, s jeho nárůstem klesá. Kouřový bod je důležitým parametrem pro použití oleje na smažení a fritování [3][15].

2.1.2.7 Refrakční index

Refrakční index roste s narůstající délkou postranních řetězců a množstvím dvojných vazeb v obsažených mastných kyselinách. Přírodní tuky a oleje obsahují pigmenty absorbující charakteristické vlnové délky, které jsou ale většinou odstraněny při rafinaci. Nenasycené tuky a oleje absorbují vlnové délky ultrafialového spektra. Konjugované dvojné vazby mají charakteristické maximum absorpce [3].

2.1.3 Tuková charakteristika

Oleje jsou komplexními směsmi více složek a určit jejich přesné složení je obtížné. Často se proto k popisu jejich vlastností a jakosti využívá tuková charakteristika, jinak také tuková čísla. Tuková čísla jsou definována jako ekvivalentní množství reagentů, specificky reagujících se vzorkem oleje. Určování tukové charakteristiky umožňuje posoudit kvalitu oleje relativně rychle a s použitím základního laboratorního vybavení. Stále se tedy využívá, i když z velké části bylo nahrazeno modernějšími chromatografickými a spektrofotometrickými metodami [3].

2.1.3.1 Číslo zmýdelnění

Číslo zmýdelnění vyjadřuje množství hydroxidu draselného (mg) potřebné ke zmýdelnění (hydrolyze) 1 g oleje. Jelikož mastné kyseliny s hydroxidem draselným reagují v poměru 1:1, udává číslo zmýdelnění zároveň průměrnou molekulovou hmotnost TAG v oleji [3][16][17].

2.1.3.2 Číslo kyselosti

Kyselost oleje vychází z obsahu volných mastných kyselin (FFA), kyseliny olejové, laurové a palmitové. Číslo kyselosti vyjadřuje množství hydroxidu draselného (mg) potřebné k neutralizaci 1 g oleje, a tedy i obsah FFA. Tento obsah bývá vyjádřen v procentech [3][16][17].

2.1.3.3 Peroxidové číslo

Vyjadřuje obsah peroxidů ($\text{mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$; $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) v oleji. Peroxidy jsou produkty oxidace, peroxidové číslo tedy udává míru žluklosti oleje [3][16][17].

2.1.3.4 Jodové číslo

Jodové číslo vyjadřuje množství jódu (g), který se za daných podmínek naaduje na 100 g oleje. Jód se aduje na dvojné vazby obsažených nenasyčených mastných kyselin. Jodové číslo tedy vyjadřuje jejich obsah, a tedy i množství obsažených dvojných vazeb [3][16][17].

2.1.3.5 Esterové číslo

Vyjadřuje množství hydroxidu draselného (mg) potřebné na neutralizaci esterově vázaných kyselin v 1 g oleje [17].

2.2 Přehled olejů z peckovitých plodů

2.2.1 Olivový olej

Olivový olej je ve velkém množství využíván v potravinářství a kosmetice. Získává se lisováním předem namletých celých plodů oliv (*Olea europaea*). Olej se v plodech nachází v dužině i pecece, a jeho obsah je ve zralých plodech vysoký, pohybuje se mezi 12–50 % [18]. Olivovému oleji byly odedávna připisovány různé léčivé účinky. Výzkumy ale ukazují, že řada z nich je nepravdivá. Vyvrácen byl například jeho pozitivní vliv na udržení normální hladiny cholesterolu a cukru v krvi, nebo na prevenci či léčbu strií a dermatitid [19][20][21].

Olivový olej je tvořen zejména kyselinou olejovou (55–83 %), palmitovou (7,5–20 %) a linolovou (3,5–21 %). Dále obsahuje steroly, tokoferoly, uhlovodíky, alifatické alkoholy, těkavé a aromatické sloučeniny. Významný je vysoký obsah tokoferolů, zejména pak α -homologu, které mají antioxidační účinky a chrání buňky proti volným radikálům. Uhlovodík skvalen pak přispívá k pozitivnímu vlivu při prevenci různých typů rakoviny a ke zlepšení stavu pokožky [22].

Olivové oleje se rozdělují do několika kategorií. Nejvyšší kvalitou je extra panenský olej, získávaný mechanickým lisováním za studena. Při jeho výrobě nedochází ke ztrátě kvality vlivem zejména tepelných úprav. Obsah kyselin a dalších složek je přísně regulován, zejména pak při využití v potravinářství. Největším producentem olivového oleje jsou středomořské státy, vyrábějící přibližně 75 % světové produkce [18].

2.2.2 Avokádový olej

Avokádový olej se získává z plodů rostliny *Persea americana*, která obsahuje mezi 10–32 % oleje. Při jeho produkci se zpracovávají plody nevyhovující standardům kvality pro prodej k přímé konzumaci. Pro využití v kosmetickém průmyslu se dá použít i ovoce velmi nízké kvality.

Většina produkce avokádového oleje probíhá nešetrnou extrakcí a následnou rafinací. V poslední době je ale stále větší poptávka po oleji lisovaném za studena, který má vyšší kvalitu a je obdobou extra panenského olivového oleje. Chemickým složením jsou si avokádový a olivový olej velmi blízké.

Avokádový olej je kosmeticky významný pro svou stabilitu a vysoký obsah α -tokoferolu. Dále také pro vhodné zklidňující a změkčující vlastnosti, velmi dobrou vstřebatelnost a ochranu

proti ultrafialovému záření. Při produkci mýdel se využívá jeho pěnivého účinku. Také pro kulinářské využití je avokádový olej velmi vhodný. Má příjemné senzorické vlastnosti a vysoký kouřový bod (přes 250 °C), který ho činí vhodným pro smažení a fritování [23][24][25].

2.2.3 Meruňkový olej

Meruňkový olej se získává z jader semen meruněk (*Prunus armeniaca*), která jsou často likvidována jako odpad. Obsah oleje v jádrech se pohybuje mezi 27,7–66,7 %. Z těchto jader se mimo jiné produkuje také benzaldehyd.

Meruňkový olej má vysoký obsah nenasycených mastných kyselin, z nich jsou nejvíce zastoupeny kyselina olejová (60–71 %) a kyselina linolová (20–30 %). Olej dále obsahuje vitamíny, skvalen, velké množství tokoferolů, fenolické látky a karoteny.

Právě obsah nenasycených mastných kyselin a bioaktivních antioxidačních látek propůjčuje meruňkovému oleji antimikrobiální, antioxidační a antiseptické vlastnosti, díky nimž má potenciál pro využití v medicíně a farmacii. V kosmetickém průmyslu tvoří báze krémů a masť. Je zejména vhodný do výrobků určených pro stárnoucí a citlivou kůži, díky rychlé vstřebatelnosti a obsahu estradiolu, který napomáhá produkci kolagenu [26][27][28][29].

2.2.4 Broskvový olej

Broskvový olej se získává z jader semen plodů rostliny *Prunus persica* s obsahem oleje přibližně 30–45 %. Profil mastných kyselin je obdobný profilu oleje meruňkového, nejvíce zastoupené jsou tedy kyseliny olejová (61–70 %) a linolová (15–29 %). Podíl volných mastných kyselin je nízký v porovnání s ostatními zmíněnými typy olejů. V signifikantním množství jsou obsaženy tokoferoly, jejichž obsah je dokonce vyšší než v oleji avokádovém.

Broskvový olej je zdraví prospěšný při konzumaci, hlavně při problémech s krevním tlakem a při srdečních onemocněních. V kosmetice se přidává do všech typů výrobků (mýdla, šampóny, krémy a mléka), protože je lehký a má velmi dobrou vstřebatelnost. Je vhodný do produktů určených pro kůži suchou, stárnoucí a špatně prokrvenou [29][30].

2.2.5 Rakytníkový olej

Rakytníkový olej se získává z plodů rostliny *Hippophae rhamnoides*. Olej se získává jak z dužiny, tak ze semen. Třetí dostupnou často prodávanou formou je olej pokrutinový, který je směsí olejů ze semen, dužiny a také oleje vyextrahovaného z pevných zbytků plodů.

Tyto tři varianty se významně liší složením. V oleji z pokrutin jsou nejvíce zastoupeny kyseliny olejová (24,7 %), palmitová (23,5 %), palmitoolejová (20,8 %) a linolová (14,8 %). Zajímavý je vysoký obsah kyseliny α -linolenové (13,2 %), která pochází z oleje ze semen. Dále jsou v signifikantním množství zastoupeny vitamíny, karotenoidy a tokoferoly.

Rakytníkový olej má velkou škálu aplikací v medicíně a farmacii, díky složení a vysokému obsahu antioxidačních látek. Je významný při léčbě mnoha typů zánětů, například v oblasti dutiny ústní či ženského genitálu. Jeho protizánětlivé účinky jsou prospěšné také při léčbě proleženin, spálenin a omrzlin. Aplikován je také v léčbě rakoviny, jelikož inhibuje růst nádorů, napomáhá regeneraci buněk a posiluje imunitní systém. Příznivě působí zejména v trávicím traktu. Také v kosmetickém průmyslu je rakytníkový olej využíván ve velké míře díky antibakteriálním a analgetickým vlastnostem. Vysoký obsah kyseliny palmitoolejové napomáhá vyplňování vrásek a oddálení stárnutí pleti. Rakytníkový olej se přidává do výrobků sloužících k ochraně před ultrafialovým zářením a také do výrobků určených k léčbě lupů a podrážděné pokožky hlavy [29][31].

2.3 Švestkový olej



Obrázek 1: *Prunus domestica* L. [32]

2.3.1 *Prunus domestica* L.

Slivoň švestka neboli švestka domácí (*Prunus domestica* L.) je strom z čeledi růžovitých. Evropské odrůdy se vyznačují rovnými větvemi a matně hnědou kůrou. Listy jsou jednoduché a poměrně velké (3–10 × 1.8–6 cm), eliptického tvaru. Květy jsou bílé, velké (15–25 mm v průměru), často vyrůstající ve shluku dvou až tří [33].

Plodem slivoně švestky je švestka. Řadí se mezi peckovice, jsou 20–80 mm dlouhé, oválného tvaru [33]. V tvrdé pecce je umístěno světle hnědé semeno, a obklopuje ji šťavnatá dužina [29]. V Evropě pěstované švestky mají dužinu barvy žluté a zelené, pokožka je pak červená, až modrá. Jako všechny peckovice, obsahují i švestky, zejména jejich semena, sloučeniny produkující kyanidy, které jsou ve velkém množství toxické. V malém množství naopak mají terapeutické účinky využívané při léčbě nádorových onemocnění [33]. Švestky se konzumují syrové, v menší míře sušené a konzervované. Po zkvašení se z nich vyrábí ovocný destilát slivovice.

2.3.2 Výroba

Při výrobě nejen švestkového oleje, ale i dalších, jsou klíčovými faktory při volbě vhodné metody její výtěžnost a schopnost zachování přirozené kvality produktu. Nejčastěji se využívá extrakce organickými rozpouštědly a lisování za studena. Alternativními postupy jsou pak superkritická fluidní extrakce či enzymově asistovaná extrakce. Výhodou posledních tří zmíněných metod je nejen produkce bezpečných výrobků, ale i výroba v souladu s konceptem zelených technologií [29][34][35][36].

Výhodou klasické extrakce je vysoká výtěžnost, nevýhodami jsou složitá purifikace oleje, hořlavost a nepříznivý vliv organických rozpouštědel na zdraví člověka. V dnešní době se extrakce provádí za zvýšené teploty i tlaku v automatických extraktorech. Jako solvent se používá nejčastěji n-hexan. Semena se před samotnou extrakcí musí správně předupravit, aby došlo k narušení pletiv. Následně dochází k difúzi oleje do rozpouštědla. Rozpouštědlo se odstraňuje odpařením nebo rektifikací. Tento proces zabraňuje tepelné degradaci vůní a nejčastěji je využíván v kosmetickém průmyslu [2][29][37].

Lisování za studena je metoda poskytující vysoce kvalitní přírodní olej. Při prvním lisování není zvýšena teplota, získaný podíl má nejlepší vlastnosti a složení. Před druhým lisováním jsou semena zahřátá. Zahřátím sice dochází ke zhoršení senzorických vlastností, rozhodujícím faktorem je ale zvýšení výtěžnosti [29][38].

Poměrně nízký dopad na životní prostředí má metoda extrakce superkritickým oxidem uhličitým. Navíc práce za nepříliš vysokých teplot a kompletní odstranění rozpouštědla vedou k zachování původních vlastností produktu. I když touto cestou lze získat vysoce kvalitní produkt, technická náročnost zapříčiňuje vysokou cenu procesu, a tím snižuje možnosti jeho využití. Superkritický oxid uhličitý nacházející se vlastnostmi ve stavu mezi tekutou a plynnou fází se za určitého tlaku a teploty chová jako rozpouštědlo. Na konci procesu je tlak snížen na atmosférickou hodnotu, oxid uhličitý přechází do plynné fáze, a je uvolněn z produktu [37][39]. Za ekologicky nejčistší ze zmíněných metod je považována enzymově asistovaná extrakce. Jelikož proces probíhá zcela bez využití rozpouštědel, nejsou produkovány těkavé organické látky. Mezi hlavní výhody metody patří nižší ztráty kvality v průběhu extrakce a vyšší bezpečnost procesu. Hlavními nevýhodou je pak nižší výtěžnost oproti klasickým metodám [40][41].

2.3.3 Senzorické vlastnosti

Barva švestkového oleje je jasně žlutá, zlatě žlutá až žlutohnědá. Olej má výraznou, příjemnou vůni hořkých mandlí. Chuť je příjemná, s nádechem příchuti mandlí [29].

2.3.4 Chemické složení

2.3.4.1 Mastné kyseliny

Tabulka 1: složení mastných kyselin

Mastná kyselina		[29] (%)	[29] (%)	[42] (%)	[29] (%)	[29] (%)	[35] (%)
Olejová	C18:1	63,9–78,5	62	74,19	55–65	55–60	65,86–68,66
Linolová	C18:2	9,7–26,9	29,6	19,14	15–35	25–35	22,24–25,44
Palmitová	C16:0	5,4–7,3	6,3	6,03	6–12	6–8	5,78–5,80
Stearová	C18:0	1,3–1,4	1,4	-	4–9	4–6	1,62–1,92
Arachidonová	C20:4	0,1	0,3	0,13	-	-	0,11–0,13
α -Linolenová	C18:3	0,1–0,2	-	0,22	-	-	0,07–0,09

Ve švestkovém oleji jsou nejvíce zastoupeny kyselina olejová (65 %), linolová (24 %), palmitová (7 %) a stearová (3,5 %). Polynenasycená kyselina linolová se řadí mezi esenciální, a slouží mimo jiné jako prekurzor kyseliny arachidonové, která se v oleji také vyskytuje, i když v nižších koncentracích (0,15 %). Poslední obsaženou mastnou kyselinou je kyselina α -linolenová (0,14 %), která je také řazena k esenciálním mastným kyselinám.

Důležitým údajem z hlediska oxidační stability oleje je poměr obsahu kyselin olejové/linolové. Výrazně vyšší zastoupení kyseliny olejové ve švestkovém oleji přispívá k jeho oxidační stabilitě [34].

2.3.4.2 Bioaktivní látky

Švestkový olej je přírodním zdrojem nezanedbatelného množství tokoferolů, karotenů a fenolických látek. Z tokoferolů je nejvíce zastoupen γ -tokoferol. Z karotenů nejvýznamnější β -karoten je obsažen v množství 1,85–1,91 mg/100 g oleje [43]. Skvalen, kosmeticky

významná surovina, se ve švestkovém oleji nachází v množství 25,7–80,4 mg/100 g oleje. Nejvíce zastoupenou těkavou sloučeninou je benzaldehyd, díky němuž olej výrazně voní po hořkých mandlích [34].

Tabulka 2: složení tokoferolů

	[42] (mg/100 g oleje)	[34] (mg/100 g oleje)
α-tokoferol	24,1–27,1	5,7–19,9
β-tokoferol	2,3–4,0	0,1–0,7
γ-tokoferol	133,1–302,1	76,2–182,0
δ-tokoferol	11,4–18,9	2,9–11,6
celkový obsah	170,9–352,1	84,9–214,2

2.3.5 Využití švestkového oleje

Díky vhodnému chemickému složení může být švestkový olej využíván i v potravinářství, zejména jako olej určený k přímé spotřebě. Největší možnosti aplikace však leží v oblasti kosmetiky. Švestkový olej lisovaný za studena se používá samostatně, jako kosmetická surovina nebo báze kosmetických produktů. Často je součástí masážních a koupelových olejů. Je vhodný pro všechny typy pleti, zejména pro pleť suchou a stárnoucí. Lehce se roztírá, nezanechává mastný film a rychle se vstřebává do pleti. Může napomáhat hojení popálenin [29][44].

2.4 Rostlinné oleje v kosmetice

Oleje jsou spolu s tuky jedněmi z nejdůležitějších složek kosmetických přípravků. Buď tvoří základ receptury, nebo slouží jako aditiva, například jako nosiče vůně nebo vitamínů. Jakožto lipofilní látky jsou využívány k podpoře lipidového filmu pokožky, který má významné bariérové vlastnosti, snižuje transepidermální ztrátu vody (TEWL), a chrání tak kůži před vysycháním. Lipofilní látky také vyplňují volné mikroskopické prostory, a napomáhají tak redukci vrásek a vyhlazení pokožky. V mnoha olejích jsou obsaženy fytosteroly, které také podporují bariérové vlastnosti zejména stárnoucí kůže. Fyzikální vlastnosti a chemické složení obsaženého oleje významně ovlivňují vlastnosti konečného produktu. Například body tání a tuhnutí určují tekutost a roztíratelnost produktu. Významnými složkami z kosmetického

hlediska jsou v tucích rozpustné vitamíny, provitamíny a triacylglyceroly, respektive v nich vázané mastné kyseliny. Nenasycené mastné kyseliny činí olej tekutějším a lépe roztíratelným, proto jsou rostlinné oleje s vysokým obsahem kyseliny olejové často využívány v pleťové kosmetice. Polynenasycená kyselina linolová je jednou ze složek ceramidu, napomáhá tedy zlepšení stavu suché, šupinaté kůže. Kyselina γ -linolenová má protizánětlivé účinky, ulevuje svědění, a je tedy využívána v přípravcích určených pro léčbu velmi suché kůže a neurodermatitidy. Účinky rostlinných olejů mohou být výrazně zesíleny enkapsulací do nanočástic, což napomáhá penetraci kůže. Nevýhodou využití rostlinných olejů je jejich náchylnost k oxidaci, musí být tedy chráněny přidavkem antioxidantů. Protože oleje jsou hydrofobní, musí být před smícháním s ostatními surovinami emulgovány za využití emulgátorů [29].

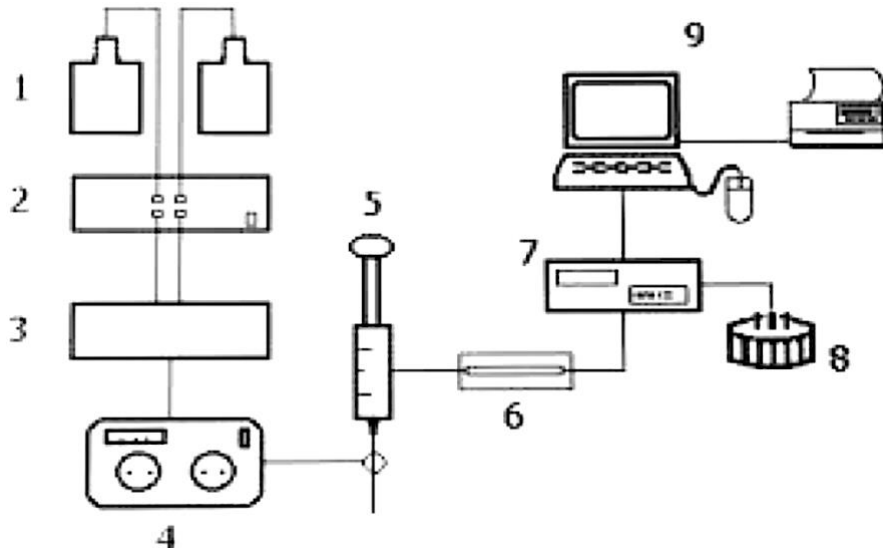
2.5 Chromatografie

Chromatografie je analytická separační metoda, při níž tedy dochází k oddělení složek vzorku. Je to metoda vhodná pro kvalitativní i kvantitativní analýzu. Principem chromatografie je interakce analytů směsi se dvěma vzájemně nemísitelnými fázemi, nepohyblivou stacionární a pohyblivou mobilní. Stacionární fází je buď pevný, porézní, povrchově aktivní materiál ve formě malých částic nebo tenká vrstva kapaliny na pevném podkladě či stěně kolony. Vzorek je soustavou unášen mobilní fází. Na základě afinity k fázi stacionární jsou pak jednotlivé složky zadržovány, přičemž v soustavě se nejdéle zdrží látky s největší afinitou. Takto se jednotlivé složky postupně separují a na konec kolony se první dostávají látky nejméně zadržované. Na základě skupenství použité mobilní fáze rozlišujeme chromatografii kapalinovou a plynovou [45][46].

2.5.1 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC)

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie poskytuje vynikající separační výsledky v krátkém čase. Principem je distribuce analytů mezi stacionární a mobilní fází, která je pod vysokým tlakem vháněna do kolony. Čas strávený ve fázi závisí na afinitě analytu k dané fázi, čím delší čas stráví analyt ve stacionární fázi, tím později je eluován. Hlavním hnacím mechanismem je opakovaná adsorpce analytu na rozhraní obou fází. Chromatogram získaný z HPLC obsahuje jak kvalitativní, tak kvantitativní informace. Eluční čas je kvalitativním údajem, zatímco plocha a výška peaku poskytují korespondující kvantitativní data. Pro analýzu tokoferolů a fenolických

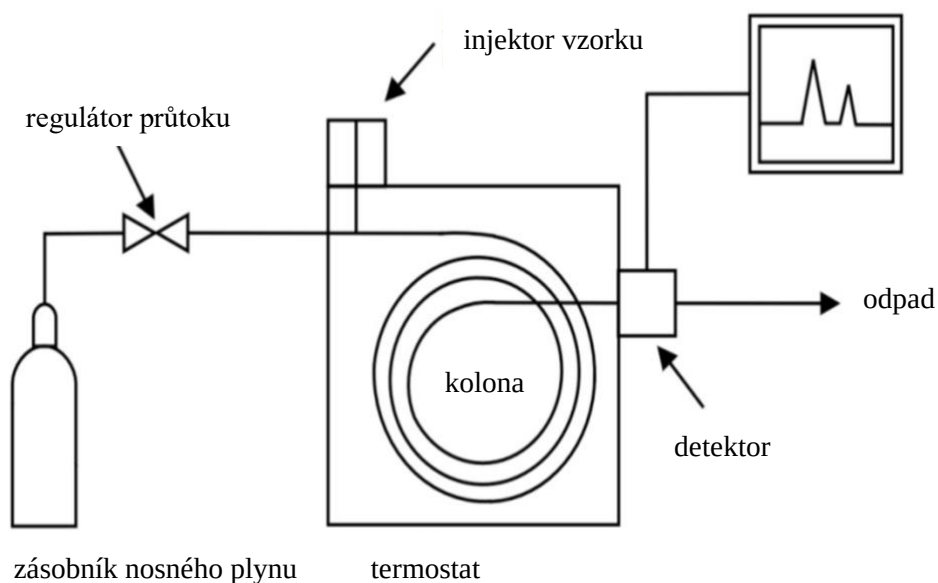
látek se nejčastěji využívá uspořádání, kdy stacionární fáze je nepolární a fáze mobilní je relativně polární [45][46].



Obrázek 2: Schéma HPLC: 1. zásobník mobilní fáze, 2. odplynovač, 3. směšovač, 4. vysokotlaké čerpadlo, 5. dávkovací smyčka, 6. kolona s termostatem, 7. detektor, 8. kolektor frakcí, 9. sběr dat [47]

2.5.2 Plynová chromatografie s plamenově ionizační detekcí (GC-FID)

V plynové chromatografii je mobilní fází inertní nosný plyn (vodík, dusík nebo helium). Separace je založena na různé afinitě analytů ke stacionární fázi. Vzorek je unášen nosným plynem kolonou, složky opouštějící kolonu jsou detekovány detektorem. Jelikož je nutné převést analyzovaný vzorek na plyn, není možné analyzovat látky s vysokou molekulovou hmotností a vysokým bodem varu. Častým prvním krokem v postupu je proto transformace analytů na deriváty, které mají nižší body varu (převod mastných kyselin na příslušné methylestery). Kolony v GC jsou náplňové, což jsou trubice naplněné stacionární fází, a kapilární, které jako nosič stacionární fáze využívají svou vnitřní stěnu. Plamenový ionizační detektor (FID) funguje na principu vedení elektřiny v plynech. Molekuly plynu se ionizují v plameni a vedou proud mezi elektrodami. Přítomnost analytu zvýší ionizaci a hodnota proudu se zvětší [45].



Obrázek 3: Schéma plynového chromatografu [48]

2.5.3 Srovnání HPLC a GC-FID

Hlavním rozdílem mezi těmito dvěma metodami je, že při využití plynové chromatografie je nutno převést vzorek do plynného stavu, zatímco u HPLC je potřeba analyzovanou látku pouze rozpustit v rozpouštědle. Pomocí HPLC tedy lze analyzovat, kromě téměř všech organických a iontových anorganických sloučenin, i látky tepelně nestálé. Plynová chromatografie je sice rychlejší metodou, analyzovat však lze jen látky těkavé, látky spolehlivě poskytující těkavé deriváty nebo látky, které po odpaření zůstanou beze změny. Pouze asi 20 % organických sloučenin splňuje tyto podmínky, proto je často nutné vzorky před analýzou upravit. Výhodou HPLC oproti GC je nižší stlačitelnost mobilní fáze, v celé délce kolony jsou tak ideální separační podmínky, a kapalina pod vysokým tlakem není nebezpečná [46].

3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

3.1 Použité chemikálie

- Aceton, p.a., PENTA, ČR
- Acetonitril pro HPLC, PENTA, ČR
- Ampicilin, Sigma-Aldrich, UK
- Brain Heart Infusion, Sigma-Aldrich, UK
- Emulsun®, Forateh, USA
- Etanol (96%), p.a., PENTA, ČR
- Etanol pro HPLC, Lach-Ner, ČR
- Ethylacetát pro HPLC, PENTA, ČR
- Euxyl® K 703, Schülke, Mayr, SRN
- Fenolftalein, Lachema, ČR
- Hexan pro HPLC, PENTA, ČR
- Hydroxid draselný, p.a., Lach-Ner, ČR
- Hydroxid sodný, p.a., Lach-Ner, ČR
- Chloroform, p.a., Lach-Ner, ČR
- Jodid draselný, p.a., PENTA, ČR
- Kyselina chlorovodíková (35%), Lach-Ner, ČR
- Kyselina octová (99%) p.a., ML CHEMICA, ČR
- Kyselina sírová (96%), Lach-Ner, ČR
- Lysogeny Broth, Himedia, Indie
- Metanol, p.a., Lachema, ČR
- Polysorbát 80, TWEEN® 80, Roth, SRN
- Resazurin, Sigma-Aldrich, UK
- Sorbitol práškový, Fichema, ČR
- Standardy Supleco FAME 37 mix, Sigma-Aldrich, SRN

3.2 Přístroje a pomůcky

- Analytické váhy Pioneer, Ohaus, CH
- Corneometer® CM 825, Courage-Khazaka, SRN
- Detektor Vanquish DAD, Thermo Fischer Scientific, USA

- Elektrický vařič, ETA, ČR
- Fixed speed vortex mixer, Ohaus, CH
- GC-FID chromatograf Trace 1300 TM, Thermo Fischer Scientific, USA
- HPLC chromatograf Dionex Ultimate, Thermo Fischer Scientific, USA
- Inkubovaná třepačka, Promax 1020, Heidolph, SRN
- Kolona Kinetex F5, Phenomenex, USA
- Kolona Zebron GC FAME, Phenomenex, USA
- Laminární box, Airstream, ESCO, SRN
- Liebherr Comfort, CH
- Mixér Faciclick 450 W, Moulinex, FR
- Multi-mode reader Synergy HTX, BioTek, USA
- Pipety Research Plus, Eppendorf, SRN
- Předvážky Scout, Ohaus, CH
- Standardní laboratorní sklo
- Termobox Dry block heater, Ohaus, CH
- Tewameter® TM 300, Courage-Khazaka, SRN
- Topné hnízdo, LTHS 500, Brněnská Drutěva, ČR

3.3 Stanovení tukových čísel

3.3.1 Číslo zmýdelnění

Olej je zmýdelněn varem s nadbytkem alkoholického roztoku hydroxidu draselného. Nadbytek hydroxidu draselného je následně zpětně titrován kyselinou chlorovodíkovou na fenolftalein.

Postup: Do kádinky byly odváženy 2 g vzorku švestkového oleje s přesností na 1 mg. Navážka byla kvantitativně převedena prostřednictvím 25 ml roztoku hydroxidu draselného do destilační baňky. Směs byla zmýdelňována po dobu 30 minut na topném hnízdě, pod zpětným chladičem. Po dosažení čirosti vzorku byly za horka přidány 3 kapky fenolftaleinu, a ihned byla za horka provedena titrace odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové do odbarvení indikátoru. Stanovení bylo provedeno třikrát, stejným postupem byl proveden slepý pokus.

3.3.2 Číslo kyselosti

Vzorek je za horka rozpuštěn v etanolu, a následně titrován alkoholickým roztokem hydroxidu sodného na fenolftalein.

Postup: Do kádinky byl odvážen 1 g vzorku švestkového oleje s přesností na 1 mg. Navážka byla kvantitativně převedena asi 100 ml etanolu do titrační baňky. Směs v titrační baňce byla zahřáta na elektrickém vařiči k varu, byly přidány 3 kapky fenolftaleinu, a za horka bylo titrováno odměrným roztokem hydroxidu sodného do růžového zbarvení stálého 30 s. Stanovení bylo provedeno třikrát, stejným postupem byl proveden slepý pokus.

3.3.3 Peroxidové číslo

Peroxidy obsažené v oleji oxidují přidaný jodid draselný na jód v prostředí kyseliny octové a chloroformu. Vyloučený jód je stanoven titrací thiosíranem sodným, za použití indikace škrobovým mazem.

Postup: Do kádinky byly odváženy přibližně 3 g švestkového oleje s přesností na 1 mg. Navážka byla kvantitativně převedena 50 ml směsi kyseliny octové a chloroformu do zábrusové Erlenmeyerovy baňky. Byl přidán 1 ml roztoku jodidu draselného, obsah baňky byl promíchán, baňka byla uzavřena zátkou a ponechána v temnu po dobu 20 minut. Poté bylo přidáno 100 ml destilované vody, a titrováno odměrným roztokem thiosíranu sodného do žlutého zbarvení. Následně bylo přidáno 3,5 ml škrobového mazu, a bylo dále titrováno do odbarvení horní vodné fáze. Stanovení bylo provedeno třikrát, stejným postupem byl prováděn slepý pokus.

3.3.4 Jodové číslo

Jódmonobromid se díky vhodné reaktivitě váže na dvojné vazby obsažené v oleji, bez průběhu nežádoucích substitucí. Nezreagovaný jódmonobromid se přidavkem jodidu draselného převede na jód. Jód se stanoví roztokem thiosíranu sodného za indikace škrobovým mazem.

Postup: Do kádinky bylo odváženo 0,3 g švestkového oleje s přesností na 1 mg. Navážka byla kvantitativně převedena do zábrusové Erlenmeyerovy baňky 10 ml chloroformu. Bylo přidáno 25 ml jódmonobromidového roztoku, baňka byla uzavřena zátkou navlhčenou v roztoku jodidu draselného. Obsah byl promíchán, baňka byla ponechána v temnu po dobu 1 h. Poté byla zátká spláchnuta do baňky, bylo přidáno 25 ml jodidu draselného, a po 1–2 min 100 ml destilované vody. Poté bylo titrováno odměrným roztokem thiosíranu sodného do žlutého zbarvení. Po přidavku 3,5 ml škrobového mazu, bylo dále titrováno do odbarvení vodné fáze.

3.4 Stanovení mastných kyselin metodou GC-FID

Plynová chromatografie je separační analytická metoda založená na různé afinitě látek ke stacionární fázi. Vzorek je unášen nosným plynem kolonou, složky opouštějící kolonu jsou detekovány detektorem. Z časového průběhu intenzity signálu se určí druh a kvantitativní zastoupení složek, v tomto případě mastných kyselin [45].

Postup: Do krimpovací zkumavky bylo naváženo 0,1 g švestkového oleje s přesností na 0,1 mg. Transesterifikační směs (15% kyselina sírová v metanolu, 0,494 mg·ml⁻¹ kyselina heptadekanová – interní standard) byla zahřáta na laboratorní teplotu, a poté bylo 1,8 ml přidáno do zkumavky ke vzorku oleje. Zkumavka byla zakrýmplována kleštěmi, a poté zahřívána v terboxu při 85 °C, po dobu 120 minut. Do čisté vialky bylo vloženo 0,5 ml hydroxidu sodného (0,05M), 1 ml hexanu, a poté i celý obsah původní zkumavky se vzorkem. Vialka byla protřepána na vortexu. Po oddělení fází bylo odebráno 100 µl horní fáze (obsahující vzorek oleje v hexanu), a převedeno spolu s dalšími 900 µl hexanu do čisté vialky se závitkem. Sada pěti takto připravených vzorků byla analyzována pomocí GC po dobu 48 hodin.

Podmínky: GC-FID chromatograf Trace 1300 TM (Thermo Fischer), kolona Zebron GC FAME (30 m; 0,25 mm; 0,20 µm) (Phenomenex, USA). Objem dávkovaného vzorku 1 µl v módu split. Split poměr 10. Nosný plyn: vodík o průtoku 0,5 ml/min. Vyhodnocení pomocí metody interního standardu a externí kalibrace pomocí standardů Supleco FAME 37 mix (Sigma Aldrich, SRN). Teplotní program: 60 °C, 10 minut, vzestupný gradient 12 °C/min do 200 °C s výdrží 10 min, vzestupný gradient 5 °C/min do 220 °C s výdrží 15 min, vzestupný gradient 10 °C/min do 240 °C s výdrží 7 min. Celková doba analýzy: 60 min.

3.5 Stanovení fenolických látek metodou HPLC

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je analytická separační metoda využívající distribuce analytu mezi stacionární a mobilní fázi. Čas strávený ve fázích závisí na afinitě analytu k dané fázi. Čím delší čas stráví analyt ve stacionární fázi, tím později je eluován. Hlavním hnacím mechanismem je opakovaná adsorpce analytu na rozhraní obou fází. Protože není nutné převádět vzorek na plyn, je tato metoda vhodná i pro analýzu tepelně nestálých sloučenin [45].

Postup: Do zkumavky bylo naváženo 100 mg švestkového oleje s přesností na 0,1 mg. Byl přidán 1 ml korekční směsi (etylacetát : acetonitril = 2:1). Směs byla přefiltrována přes injekční stříkačku a 0,45 µm filtr do čisté vialky, a následně analyzována.

Podmínky: Vzorky byly měřeny na chromatografu Dionex Ultimate HPLC s detektorem Vanquish DAD (Thermo Fischer Scientific, Waltham, MA, USA) na koloně Kinetex F5 150 mm x 4,6 mm x 2,6 μ m (Phenomenex, Washington, DC, USA) s průtokem 0,4 ml/min s použitím gradientové eluce. Separace byla provedena při 35 ° C. Fenolové sloučeniny byly identifikovány pomocí komerčních standardů (Merck, Burlington, MA, USA, USA). Chromatografická data byla vyhodnocena pomocí softwaru Chromeleon 7.2.

3.6 Stanovení tokoferolů metodou HPLC

Postup: Do zkumavky bylo naváženo 100 mg švestkového oleje s přesností na 0,1 mg. Byl přidán 1 ml korekční směsi (etylacetát : acetonitril = 2:1). Analýza byla provedena třikrát.

Podmínky: Vzorky jsou analyzovány na chromatografické sestavě Dionex UltiMate 3000 s DAD detektorem řady Vanquish (Thermo Fischer, USA) na koloně Kinetex C18 EVO (150 mm; 4,6 mm; 2,6 μ m) při průtoku 1,2 ml/min, teplotě separace 25 °C, v gradientové eluci s mobilními fázemi: MF A: ACN:TrisHCl pH = 8:MeOH 84:14:2, MF B: MeOH:EtAc = 60:40.

3.7 Příprava tělového mléka

Vhodné chemické složení švestkového oleje nabízí mnoho možností jeho využití v kosmetických přípravcích, zejména pro suchou a stárnoucí pleť. V této práci jsme se rozhodli formulovat tělové mléko. Volbou vhodné receptury jsme chtěli dosáhnout několika cílových vlastností: příjemné struktury a tekutosti mléka, rychlé vstřebatelnosti, dostatečné schopnosti hydratace bez zanechání pocitu mastnoty, a zachování původní vůně švestkového oleje.

Složky: Hlavní složkou tělového mléka je švestkový olej. Jako humektant byl zvolen sorbitol, jako emulgátor komerčně dostupný Emulsun®. Pro konzervaci byl vybrán také komerčně dostupný Euxyl® K 703, složený z fenoxyetanolu, kyseliny benzoové a kyseliny dehydrooctové. Podle doporučení výrobce [49] Emulsun® byl vypočítán poměr surovin a potřebné množství vody.

Postup: Při hledání vhodné receptury byly připraveny dvě varianty tělového mléka s různými poměry surovin, jejichž složení je uvedeno v tabulce 3. Do plastové uzavíratelné nádoby byl navážen švestkový olej. K navážce bylo přidáno přesně navážené množství Emulsunu. Do čisté kádinky byla navážena voda a sorbitol. Směsi v plastové nádobce i v kádince byly zahřáty na vodní lázni. Po úplném rozpuštění Emulsunu v oleji bylo zahřívání ukončeno. Směs v kádince byla přilita k olejové fázi, a vše bylo důkladně promícháno. Po vychladnutí byl přidán konzervant, a směs byla znovu promíchána. Obě varianty mléka byly podrobeny

pozorování po dobu pěti dní. Byla sledována barva, tekutost, vůně a roztíratelnost na pokožce. V den přípravy se obě mléka jevila jako příliš tekutá, proto jsme uvažovali o zahuštění xanthanovou gumou.

Tabulka 3: receptury tělového mléka

	Švestkový olej (hm %)	Emulsun® (hm %)	Sorbitol (hm %)	Euxyl K 703® (hm %)	Voda (hm %)
Receptura 1	10	6	5	1	78
Receptura 2	15	4	5	1	75

3.8 Stanovení antimikrobiální aktivity

Antimikrobiální aktivita byla měřena pomocí bujónové diluční metody. K analýze byl využit ELISA reader. Metoda je založena na sledování růstu mikroorganismů na 96-jamkové mikrotitrační destičce. K buněčné kultuře se přidá měřený vzorek, růst mikroorganismů se měří pomocí absorbance v čase 0 a po 24 hodinách kultivace.

Použité kmeny: *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*

Postup: Pro kultivaci a všechny další úkony spojené s *Escherichia coli* bylo využito médium Lysogeny Broth, pro *Staphylococcus epidermidis* a *Propionibacterium acnes* bylo využito médium Brain Heart Infusion. Ze zásobních kultur byla zaočkována vysterilovaná média. Kultura byla inkubována za stálého třepání po dobu 24 h při 37 °C. Kultury byly zředěny na 0,5 McFarland jednotek, a dále desítkově naředěny 1000x pro *Escherichia coli*, a 2000x pro *Staphylococcus epidermidis* a *Propionibacterium acnes*.

Byly připraveny dvě sady vzorků: tělové mléko a švestkový olej s emulgátorem. Třetím analyzovaným vzorkem byl čistý švestkový olej. Tělové mléko bylo rozetřeno v tenké vrstvě na Petriho misku a vysterilizováno ultrafialovým zářením. Následně bylo naředěno zvlášť oběma médii v poměru mléko:médiu = 3:1. Pro přípravu druhého vzorku bylo 200 mg oleje smícháno s 16 mg polysorbátu 80.

Na mikrotitrační destičku byla pipetována buněčná kultura a vzorek tak, aby koncová koncentrace vzorku byla 50 $\mu\text{l} \cdot \text{ml}^{-1}$ v celkovém objemu 2 ml. Jako kontrola byl využit ampicilin. Jako blank byla použita příslušná mikrobiální kultura v médiu. Růst mikroorganismů byl poprvé změřen v čase 0, podruhé po 24 hodinách inkubace při 37 °C. Absorbance byla měřena při 630 nm.

Tabulka 4: schéma pipetování

	Lysogeny Broth				Brain Heart Infusion							
	<i>Escherichia coli</i>				<i>Staphylococcus epidermidis</i>				<i>Propionibacterium acnes</i>			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
A												
B												
C												
D												
E	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓	↓
F	A1	A2	A3	KM	A1	A2	A3	KM	A1	A2	A3	KM
G	K	K	K	KM	K	K	K	KM	K	K	K	KM
H	MO	MO	MO	KM	MO	MO	MO	KM	MO	MO	MO	KM

1...čistý švestkový olej; 2... švestkový olej s emulgátorem; 3 ... tělové mléko; 4 ... ampicilin; ↓ ... klesající koncentrace, dvojkové ředění; K ... kontrola; KM ... kontrola média; MO ... kontrola pro daný mikroorganismus

3.9 Testy životaschopnosti buněk

3.9.1 Test založený na redukci resazurinu

Životaschopnost buněk byla stanovena pomocí metabolické redukce resazurinu na resofurin. Roztok resazurinu má tmavě modré zbarvení, po redukci prokazující metabolickou aktivitu přechází na růžový resofurin. Množství produkovaného resofurinu, úměrné metabolizujícímu počtu buněk, lze stanovit spektrofotometricky.

Postup: K mikrotitrační destičce použité pro stanovení antimikrobiální aktivity bylo po měření absorbance napipetováno 20 µl resazurinu do každé jamky. Destička byla inkubována 30 min při 37 °C. Poté byla měřena absorbance při 570 nm a 606 nm.

3.9.2 Výsevový test

Test založený na redukci resazurinu prokáže metabolickou aktivitu, buňky však mohou být neschopné dále se dělit a vytvářet kolonie. Přeočkováním jednotlivých jamek mikrotitrační

destičky na označený agar, kultivací a následným pozorováním, můžeme určit dlouhodobou životaschopnost buněk.

Postup: Znovu byla použita mikrotitrační destička použitá v testu založeném na redukci resazurinu. Dvě Petriho misky s médii Brain Heart Infusion a Lysogeny Broth byly označeny po vzoru mikrotitrační destičky. Poté byly sterilními párátky přeočkovány všechny jamky z destičky do příslušného pole na agaru. Proběhla inkubace po dobu 24 h při 37 °C. Poté byl pozorován růst kolonií.

3.10 Analýza účinků tělového mléka

3.10.1 Hydratace pokožky

Úroveň hydratace povrchu pokožky (vrstvy stratum corneum) byla měřena pomocí přístroje Corneometer®. Měření je založeno na principu měření kapacitance, kdy se zvyšující se úroveň hydratace se mění dielektrické vlastnosti pokožky [50].

Postup: Měřený povrch kůže byl suchý, čistý, neošetřený kosmetickými přípravky. Na označené místo byla přiložena sonda přístroje, byly zaznamenány naměřené hodnoty. Poté bylo aplikováno tělové mléko. Po uplynutí 15 minut a poté 24 hodin bylo měření na opakováno. Byla analyzována kůže vnitřní strany předloktí u tří dobrovolníků.

3.10.2 Transepidermální ztráta vody

Transepidermální ztráta vody vyjadřuje množství vody, které vyloučí organismus skrze pokožku, resp. stratum corneum. Pokud je poškozena bariérová funkce kůže, množství vyloučené vody se zvýší. K měření byl využit přístroj Tewameter®, který sondou s otevřenou komorou měří teplotu a relativní vlhkost, z nichž vyhodnotí výslednou hodnotu TEWL [51].

Postup: Měřený povrch kůže byl suchý, čistý, neošetřený kosmetickými přípravky. Na označené místo byla přiložena sonda přístroje, byly zaznamenány naměřené hodnoty. Poté bylo aplikováno tělové mléko. Po uplynutí 15 minut bylo měření na opakováno. Byla analyzována kůže vnitřní strany předloktí u tří dobrovolníků.

4 VÝSLEDKY A DISKUZE

4.1 Stanovení tukových čísel

4.1.1 Číslo zmýdelnění

Číslo zmýdelnění je ukazatelem obsahu volných i estericky vázaných mastných kyselin. Čím vyšší je číslo kyselosti, tím vyšší obsah mastných kyselin, které lze zneutralizovat a zmýdelnit hydroxidem draselným.

Tabulka 5: číslo zmýdelnění

	Stanoveno	[52]	[53]	[54]	[44]
Číslo zmýdelnění ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	193,40±0,71	190,3±1,5	192	188–190	180–198

V tabulce 5 je srovnáno stanovené číslo zmýdelnění s hodnotami uváděnými v literatuře. Je patrné, že hodnoty jsou odpovídající.

4.1.2 Číslo kyselosti

Číslo kyselosti vyjadřuje množství volných mastných kyselin v oleji. Při stárnutí oleje dochází ke štěpení obsažených triacylglycerolů, k nárůstu množství volných mastných kyselin, a také k nárůstu čísla kyselosti. Důvodem pro zvýšené číslo kyselosti tedy může být skladování oleje nebo surovin pro jeho výrobu, zejména pak v nevhodných podmínkách.

Tabulka 6: číslo kyselosti

	Stanoveno	[52]	[53]	[44]
Číslo kyselosti ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$)	1,126±0,012	0,28	1,3	1,41–2,81

U vzorku oleje bylo číslo kyselosti stanovené na 1,126±0,012 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$. Ve srovnání s čísly kyselosti uváděnými v literatuře (viz tabulka 6) je hodnota přibližně uprostřed rozpětí hodnot. Srovnání s literaturou je však problematické, jelikož často není uvedeno stáří oleje a přesná metoda výroby oleje. Stanovené číslo kyselosti může být zvýšené oproti hodnotě, která by byla stanovena pro čerstvě lisovaný olej, jelikož olej byl skladován.

4.1.3 Peroxidové číslo

Peroxidové číslo ukazuje míru oxidačních změn oleje skrze obsah oxidačních produktů, hydroperoxidů. Oxidační změny mohou mít za následek rozklad cenných složek oleje, a zhoršení senzorických vlastností.

Tabulka 7: peroxidové číslo

	Stanoveno	[44]	[52]
Peroxidové číslo (mmol·kg⁻¹)	7,31±0,15	3,64–8,58	2,8±1,4

Stanovená hodnota peroxidového čísla 7,31±0,15 mmol·kg⁻¹ se shoduje s rozpětím hodnot uváděným v literatuře [44], oproti hodnotě uvedené v literatuře [52] je hodnota vyšší. Stanovení mírně zvýšené hodnoty peroxidového čísla bylo předpokládáno, protože olej nebyl analyzován okamžitě po lisování a nebyl skladován v ideálních podmínkách.

4.1.4 Jodové číslo

Jodové číslo je mírou obsahu nenasycených mastných kyselin, tedy i obsahu násobných vazeb. Jelikož konzistence oleje přímo souvisí s obsahem nenasycených kyselin, tekutější tuky mají vyšší jodová čísla. Pomocí tohoto parametru lze také posoudit čistotu oleje, srovnáním s tabelovanou hodnotou. Jelikož jodové číslo ukazuje množství násobných vazeb, může být také považováno za ukazatel náchylnosti k oxidaci.

Tabulka 8: jodové číslo

	Stanoveno	[52]	[54]	[53]
Jodové číslo (g I₂/100 g)	88,55±0,35	102,4±4,9	91–104	108

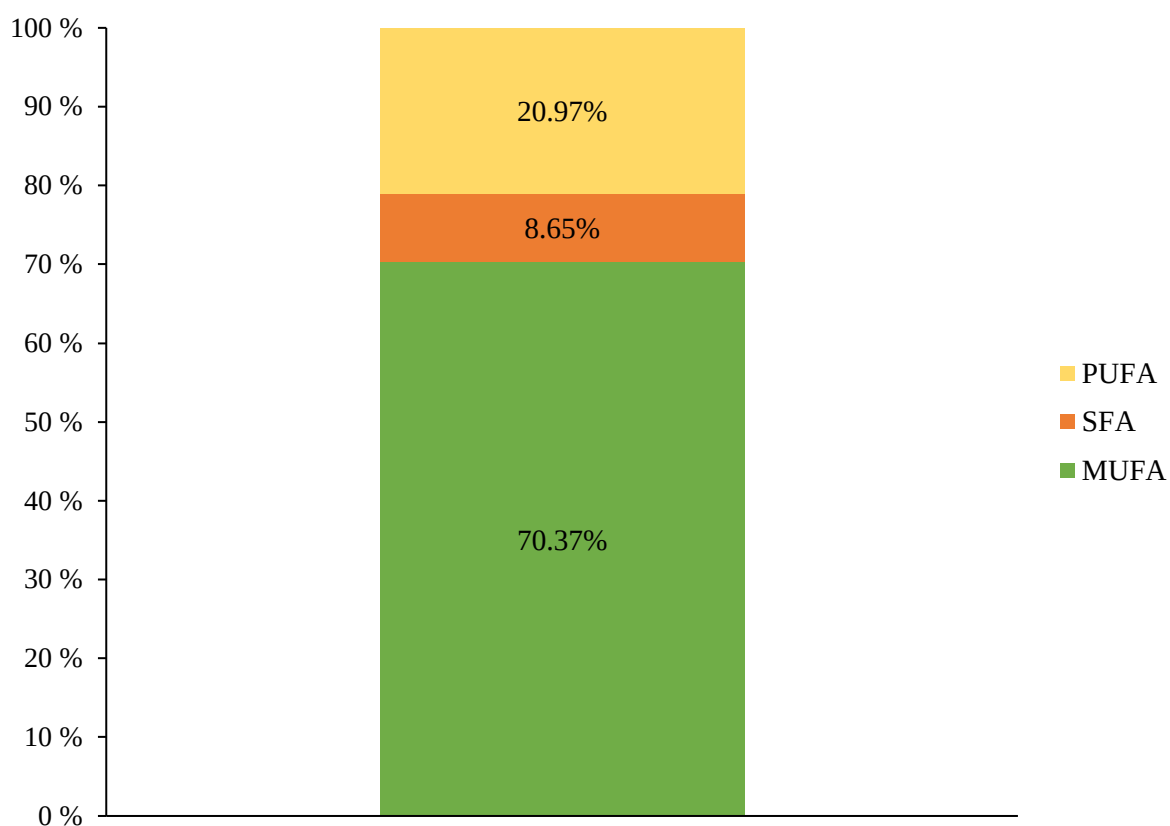
Stanovené jodové číslo 88,55±0,35 g I₂/100 g je ve srovnání s hodnotami uváděnými v literatuře (viz tabulka 8) nižší, analyzovaný vzorek oleje tedy obsahoval menší množství nenasycených mastných kyselin. Je tedy pravděpodobné že proběhla částečná oxidace oleje, což vyplývá i ze zvýšené hodnoty stanoveného peroxidového čísla.

4.2 Stanovení mastných kyselin metodou GC-FID

Stanovení proběhlo třikrát, vyhodnocení bylo provedeno pomocí programů Chromeleon a Microsoft Excel. Identifikace a složení mastných kyselin byly provedeny metodou plynové chromatografie GC-FID. V tabulce 9 a grafu (obrázek 4) je uvedeno procentuální zastoupení nasycených (SFA), mononenasycených (MUFA) a polynenasycených (PUFA) mastných kyselin. Detekované množství polynenasycených mastných kyselin (20,97 %) je v porovnání s literaturou [35] nižší. Množství nasycených (8,65 %) a mononenasycených (70,37 %) mastných kyselin jsou srovnatelná s hodnotami uváděnými v literatuře [35].

Tabulka 9: zastoupení skupin mastných kyselin

	Zastoupení (%)	[35] (%)
SFA	8,65	7,52–7,90
MUFA	70,37	66,97–69,76
PUFA	20,97	22,33–25,51



Obrázek 4: Profil mastných kyselin

V tabulce 10 je uveden procentuální obsah všech detekovaných mastných kyselin ve vzorku švestkového oleje. Nejvíce zastoupenými jsou kyselina olejová (69,93 %), linolová (20,64 %), palmitová (6,39 %) a stearová (1,66 %). Obsah všech těchto kyselin se shoduje s daty dostupnými v literatuře (viz Tabulka 1). V poměrně velkém množství byly detekovány také kyseliny palmitolejová (0,73 %), myristová (0,17 %) a významná polynenasycená kyselina α -linolenová (0,11 %). V některých zdrojích je uváděn obsah kyseliny arachidonové, ta však ve vzorku oleje detekována nebyla.

Tabulka 10: Obsah všech detekovaných mastných kyselin

Mastná kyselina	Zkrácený zápis	Obsah (%)
Olejová	C18:1c	69,93
Linolová	C18:2c	20,64
Palmitová	C16:0	6,39
Stearová	C18:0	1,66
Palmitolejová	C16:1	0,73
Myristová	C14:0	0,17
α -Linolenová	C18:3d3	0,11
Dokosaheptaenová	C22:6	0,07
Undecylová	C11:0	0,05
Behenová	C22:0	0,05
Eikosenová	C20:1	0,05
Pentadecylová	C15:0	0,05
Laurová	C12:0	0,03
Arachová	C20:0	0,03
Heptadecenová	C17:1	0,03

4.3 Stanovení fenolických látek metodou HPLC

Fenolické látky byly stanoveny ve třech paralelních stanoveních, poté byly výsledky vyhodnoceny programy Chromeleon a Microsoft Excel. V tabulce 11 jsou uvedeny identifikované fenolické látky a jejich obsah.

Tabulka 11: Složení fenolických látek

Kyselina gallová (mg·ml⁻¹)	1,242±0,058
Katechin (mg·ml⁻¹)	0,158±0,062
Resveratrol (mg·ml⁻¹)	0,08267±0,00045
Celkem (mg·ml⁻¹)	1,4832±0,0056

Všechny identifikované fenolické látky disponují antioxidačními, protizánětlivými, antimikrobiálními a protirakovinnými účinky, a jsou poměrně novými perspektivními surovinami na poli kosmetiky [55][56][57].

Nejvíce zastoupenou látkou byla kyselina gallová, která díky těmto vlastnostem nachází využití v léčivech nejen s kožním podáním, a také v kosmetice, kde je ceněna zejména pro zmírnění stárnutí pokožky [55].

Druhá identifikovaná fenolická sloučenina katechin má mnoho zdraví přínosných vlastností. Vychytává volné radikály, aktivuje syntézu kolagenu v kůži a zpomaluje degradaci extracelulární matrix způsobenou ultrafialovým zářením a znečištěním ovzduší. Pomáhá tak obnově kůže zejména po poškození sluncem [56].

V neposlední řadě byl ve švestkovém oleji zjištěn také resveratrol. Potenciál resveratrolu jakožto kosmetické suroviny tkví hlavně v jeho skvělé schopnosti penetrace pokožky a účinkům proti stárnutí pleti. Bylo dokázáno, že resveratrol stimuluje proliferaci fibroblastů, čímž napomáhá zvýšení produkce kolagenu v kůži. Je účinný také proti volným radikálům a ultrafialovému záření [57].

4.4 Stanovení tokoferolů metodou HPLC

Tokoferoly byly analyzovány ve třech paralelních stanoveních, poté byly výsledky vyhodnoceny programy Chromeleon a Microsoft Excel. Celkové množství tokoferolů bylo stanoveno na 18,90±1,46 mg/100 g. Nejvíce zastoupen byl α -tokoferol, který tvořil

63 % zjištěných tokoferolů. Výsledky se liší od dat uvedených v literatuře (viz Tabulka 2), kde celkový obsah tokoferolů je podstatně vyšší (84,9–352,1 mg/100 g) a nejvíce zastoupen je γ -tokoferol.

Snížená hodnota obsahu tokoferolů byla pravděpodobně zapříčiněna nevhodným skladováním oleje. Tokoferoly velmi výrazně podléhají degradaci při skladování, přičemž nejvíce degradují právě formy α a γ , které by v oleji měly být nejvíce zastoupeny [58]. Jsou také citlivé na vliv světla a vzduchu [59].

4.5 Příprava tělového mléka

V průběhu pětidenního pozorování testovacích receptur se struktura emulzí ustálila. S výslednou tekutostí obou mlék jsme byli spokojeni, a proto jsme žádné zahušťovaadlo nepřidali. Během pozorování nenastaly žádné negativní změny v ani jednom ze sledovaných parametrů. Vzhledem k příjemnější vůni, lepší struktuře a vyššímu obsahu švestkového oleje jsme dále pracovali s recepturou o obsahu 15 hm % švestkového oleje. Připravené tělové mléko bylo bílé až mírně nažloutlé barvy a intenzivně vonělo po hořkých mandlích.



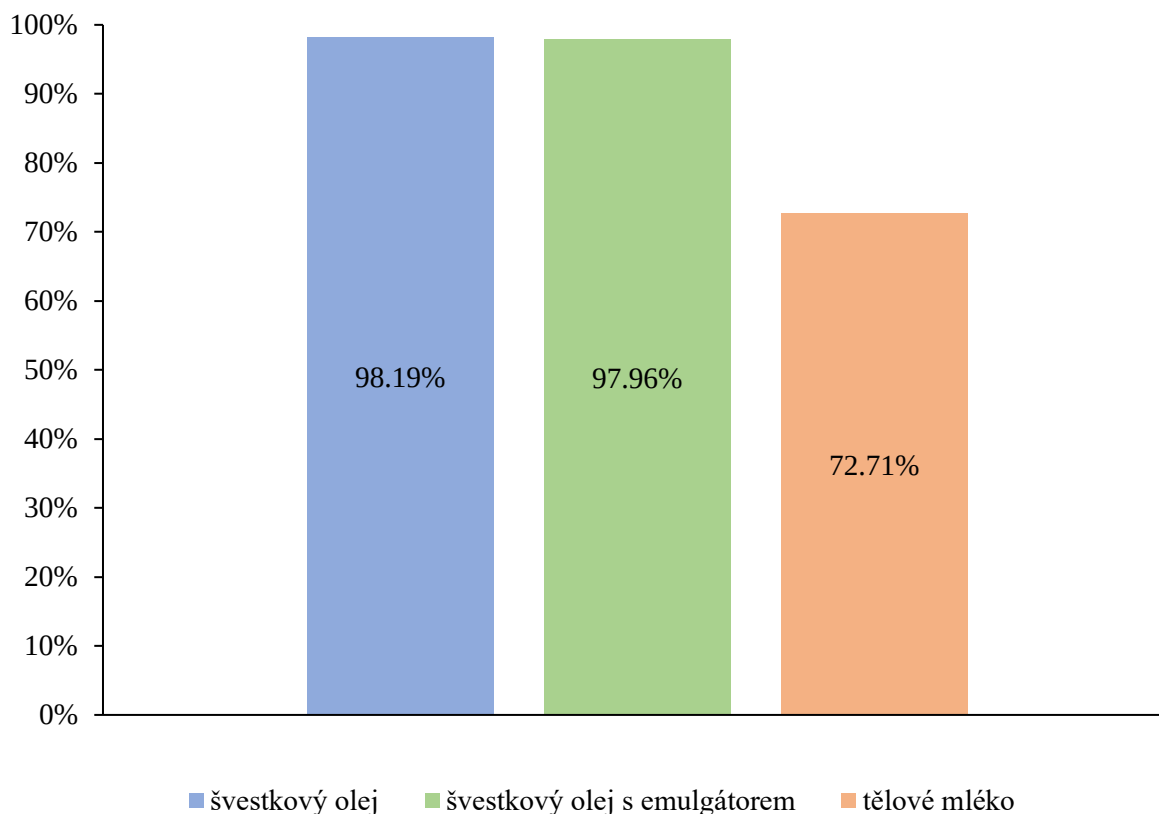
Obrázek 5: Tělové mléko ihned po emulgaci



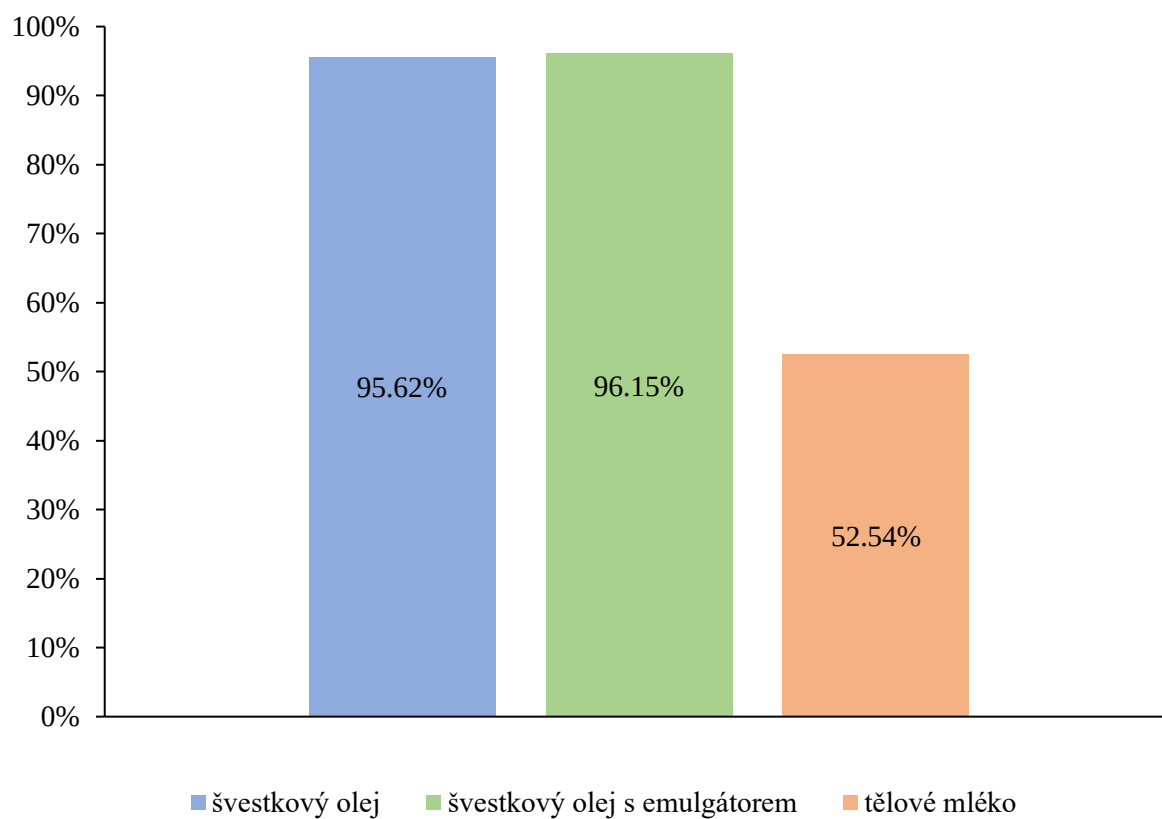
Obrázek 6: Tělové mléko po pěti dnech

4.6 Stanovení antimikrobiální aktivity

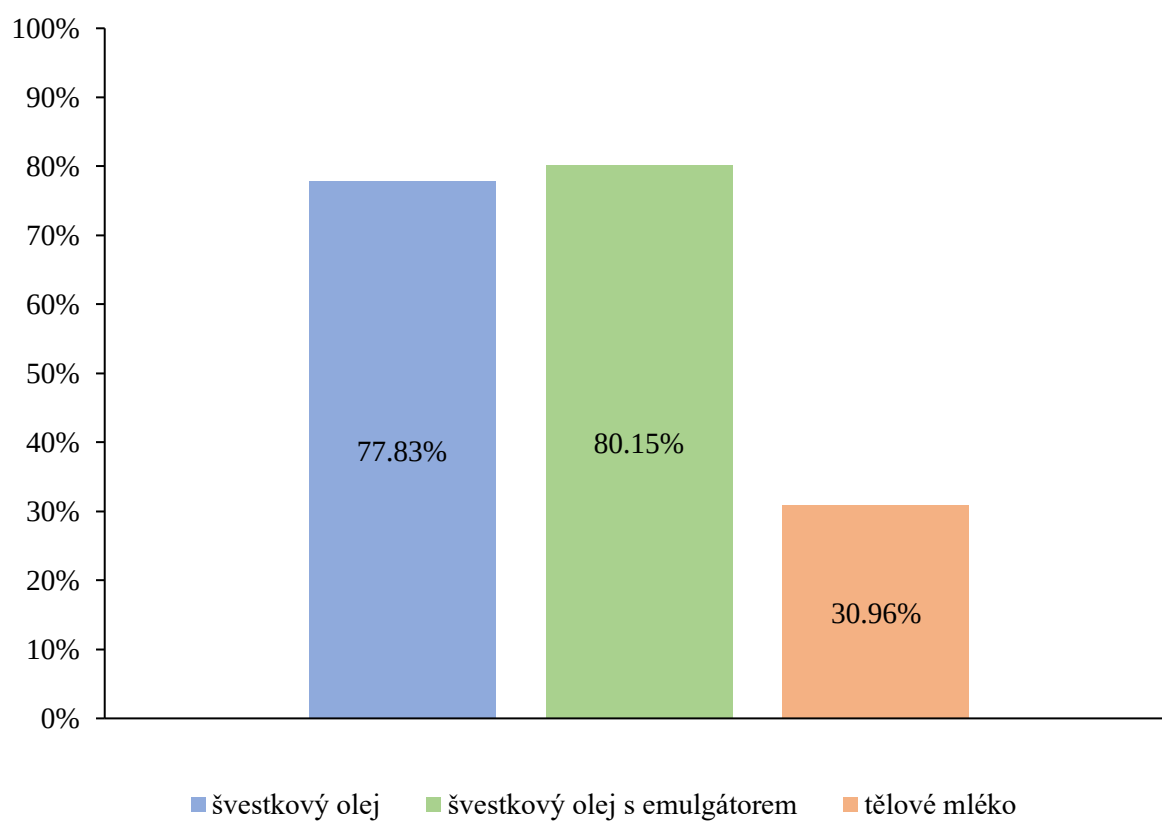
Zákal odpovídající růstu buněk byl měřen pomocí ELISA readeru v čase 0 a po 24 hodinách. Byl sledován účinek čistého švestkového oleje, švestkového oleje s emulgátorem a tělového mléka. Nárůst čistého mikroorganismu v kontrolních buňkách se bere jako 100 %. Antimikrobiální aktivita se tedy projevuje, pokud nárůst mikroorganismu smíchaného s testovaným vzorkem sahá pod hranici 100 %. Nejvyšší mikrobiální aktivita se projevila proti gram-pozitivnímu bakteriálnímu kmeni *Staphylococcus epidermidis*, proti ostatním kmenům byly antimikrobiální účinky nižší. Čistý olej měl výraznější antimikrobiální vliv pouze na kmen *Staphylococcus epidermidis*, u ostatních kmenů byl jeho vliv nízký. Velmi podobně účinkoval i olej s přídavkem emulgátoru. Vzorek tělového mléka vykazoval jasně nejvyšší účinky u všech kmenů, lišící se řádově o desítky procent od účinků čistého oleje a oleje s emulgátorem. Stanovená mikrobiální aktivita tělového mléka proti kmeni *Staphylococcus epidermidis* je ovšem zanesena chybou popsanou níže, nedá se proto považovat za platný výsledek. Při vyhodnocování výsledků byl zaznamenán nárůst mikrobiální kultury v kontrolních jamkách obsahujících bakterie *Escherichia coli* a ampicilin. Koncentrace antibiotika $25 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ již nebyla dostatečná k inhibici buněk.



Obrázek 7: Antimikrobiální aktivita u *Escherichia coli*



Obrázek 8: Antimikrobiální aktivita u *Propionibacterium acnes*

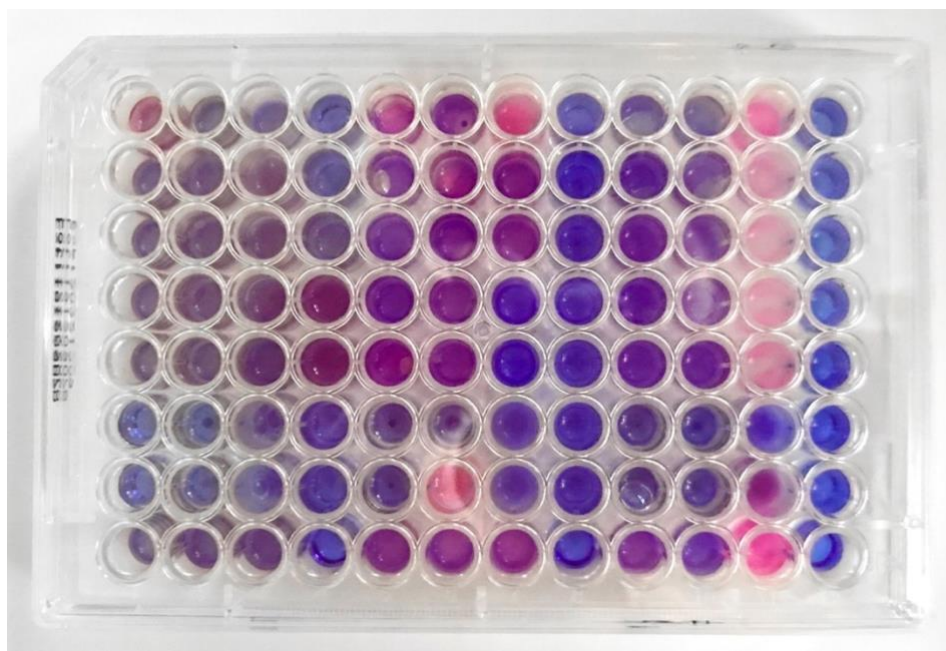


Obrázek 9: Antimikrobiální aktivita u *Staphylococcus epidermidis*

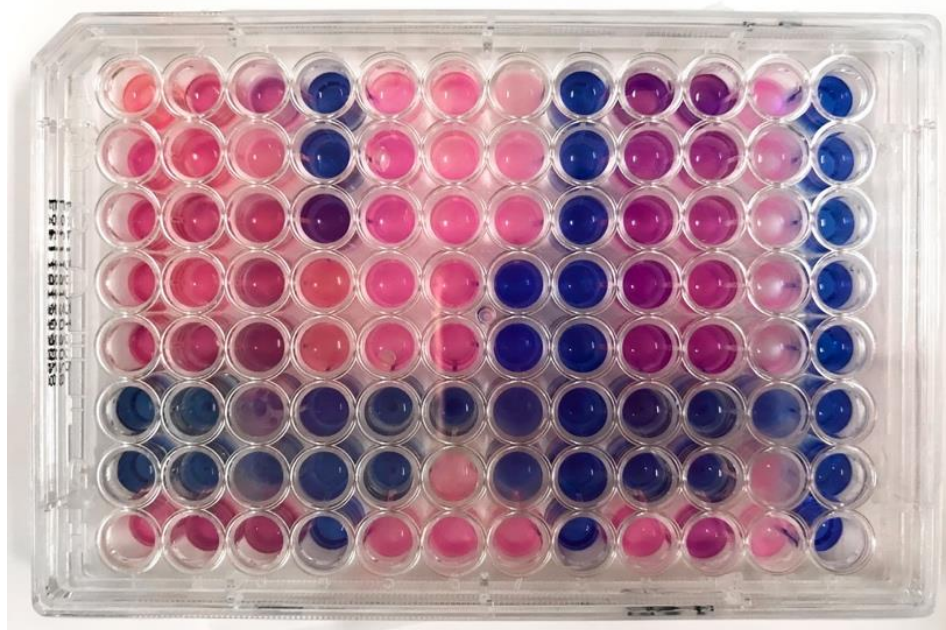
4.7 Testy životaschopnosti buněk

4.7.1 Test založený na redukci resazurinu

Všechny jamky mikrotitrační destičky byly ihned po napipetování roztoku resazurinu sytě modré. Po pěti minutách již bylo možné pozorovat barevné změny. Fialové až růžové zbarvení značilo probíhající metabolickou aktivitu. Po 30 min bylo provedeno měření absorbance.

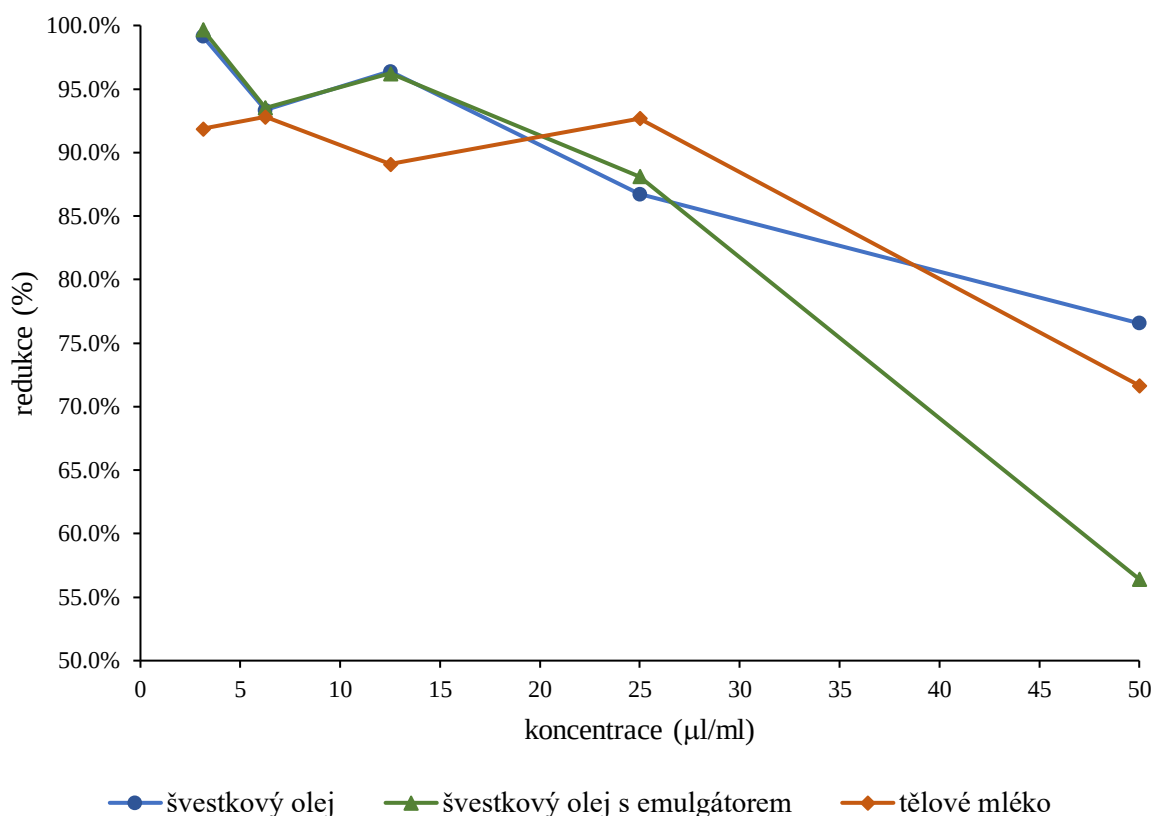


Obrázek 10: V čase 5 min

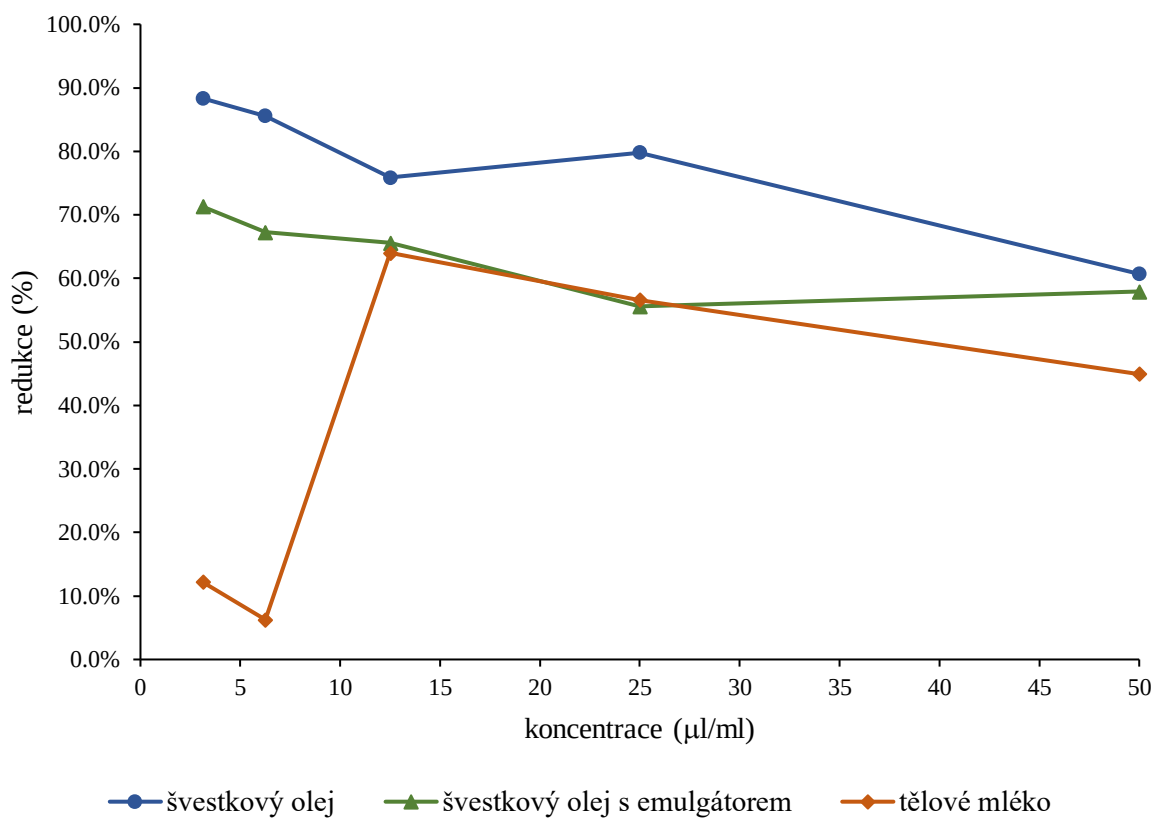


Obrázek 11: V čase 30 min

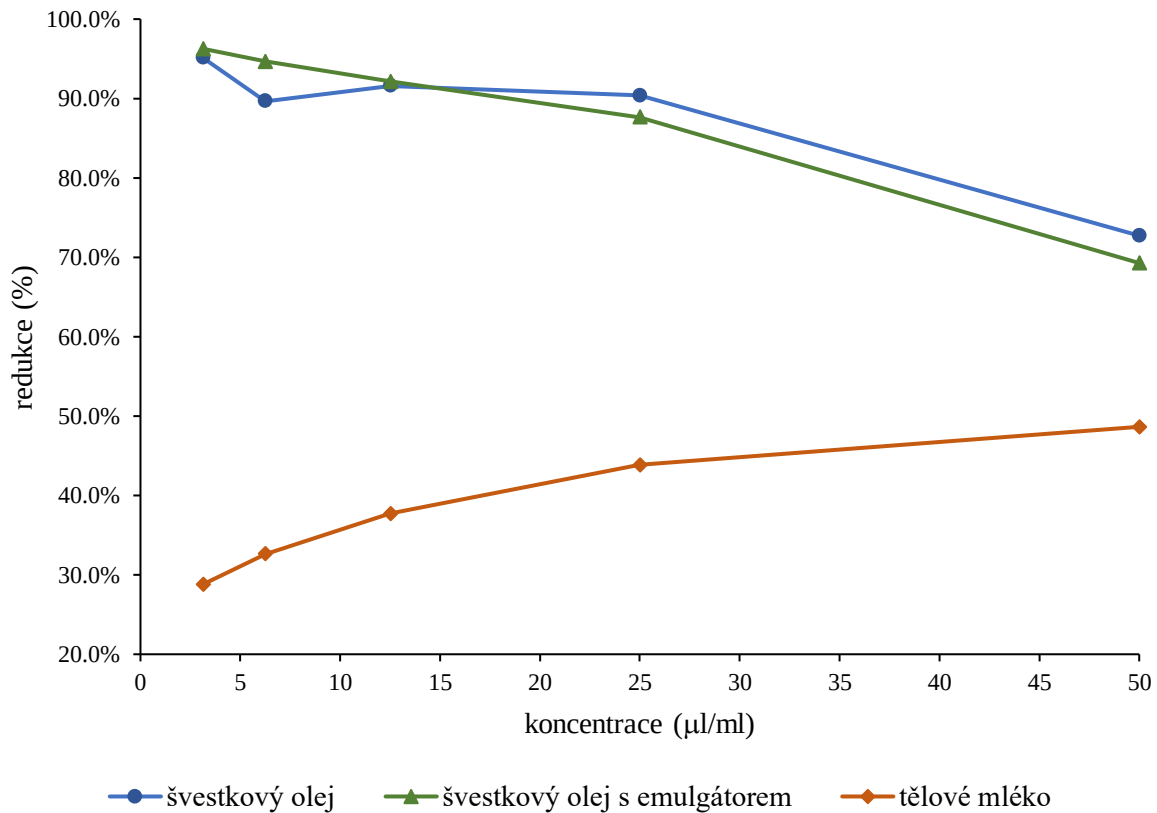
V grafech 12–14 je znázorněna míra redukce resazurinu (%) v závislosti na koncentraci vzorku v jamkách. Čím vyšší je míra redukce (%), tím vyšší je množství aktivních buněk. Z grafů je patrné, že vzorky čistého švestkového oleje a oleje s přídavkem emulgátoru vykázaly u všech testovaných mikroorganismů klesající míru redukce s rostoucí koncentrací vzorku. Tedy čím více vzorku bylo v jamkách, tím méně metabolicky aktivních buněk. Stejnou tendenci vykazoval i vzorek tělového mléka u kmene *Escherichia coli*. U kmene *Staphylococcus epidermidis* byl trend při vyšších koncentracích vzorku tělového mléka také klesající. Při koncentracích $3,125 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ a $6,25 \mu\text{l}\cdot\text{ml}^{-1}$ však byly zaznamenány velmi nízké hodnoty, které pravděpodobně vznikly chybou při pipetování. Naopak u kmene *Propionibacterium acnes* byl s rostoucí koncentrací vzorku zaznamenán nárůst míry redukce, tělové mléko tedy podporuje růst této bakterie, která je součástí kožního mikrobiomu.



Obrázek 12: Resazurinový test u *Escherichia coli*



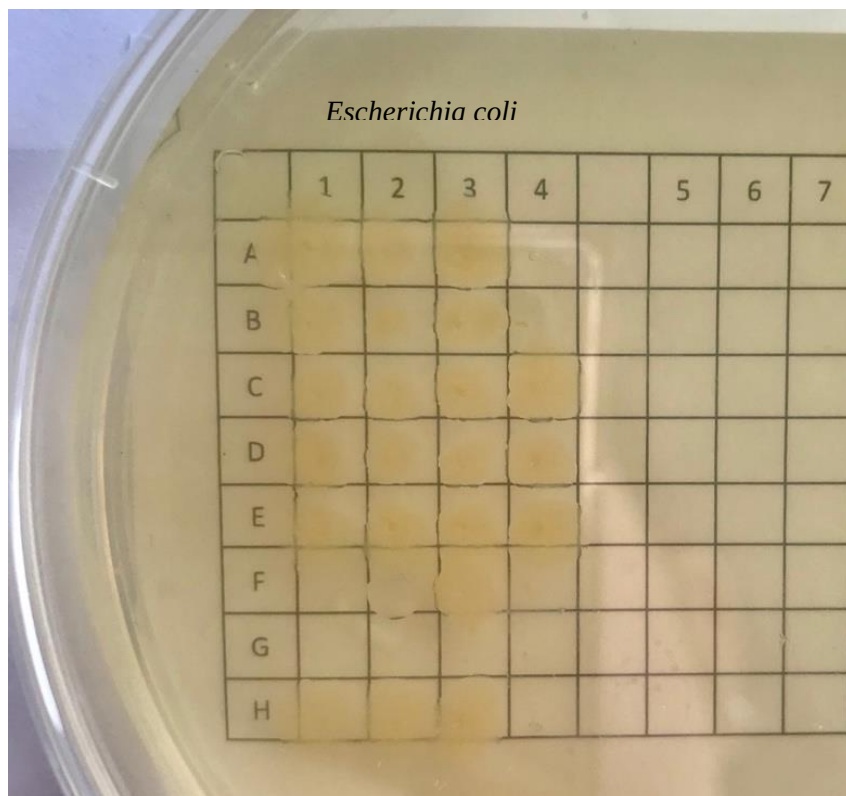
Obrázek 13: Resazurinový test u *Staphylococcus epidermidis*



Obrázek 14: Resazurinový test u *Propionibacterium acnes*

4.7.2 Výsevový test

Na obrázku 15 jsou zachyceny kolonie kmene *Escherichia coli*. Je patrné, že buňky byly schopny tvořit kolonie při všech testovaných koncentracích vzorků. V polích 4C–4E kultura také narostla, i přes přítomnost ampicilinu. Koncentrace antibiotika $25 \mu\text{l} \cdot \text{ml}^{-1}$ a nižší byly příliš nízké na to, aby došlo k inhibici, což se shoduje s výsledky stanovení antimikrobiální aktivity. U *Staphylococcus epidermidis* narostly kolonie ve všech polích kromě pole 7D, ve kterém se tedy nenacházely žádné množící se buňky. Právě tomuto poli odpovídá také velmi nízká míra redukce resazurinu, chyba tedy opravdu nejspíše vznikla při pipetování, přenesením ampicilinu do sousedních jamek. U *Propionibacterium acnes* byly ve všech polích životaschopné buňky.



Obrázek 15: Lysogeny Broth

4.8 Analýza účinků tělového mléka

Změny pokožky byly měřeny u tří dobrovolníků v časech 0, 15 min a 24 h. Všechny subjekty po dobu testování nepoužívaly žádné další kosmetické přípravky, dovoleno bylo pouze opláchnout testovanou oblast čistou vodou.

4.8.1 Hydratace pokožky

Po uplynutí 15 min od aplikace tělového mléka byl u všech dobrovolníků zaznamenán nárůst v úrovni hydratace pokožky. U dobrovolníka 1 byla pokožka o 25,41 % více hydratována, u dobrovolníka 2 o 22,80 % a u dobrovolníka 3 o 14,56 %.

Tabulka 12: Změna hydratace v čase 15 min

Dobrovolník	1	2	3
Změna hydratace	125,41 %	122,80 %	114,56 %

Po uplynutí 24 h od aplikace byly výsledky měření poměrně různorodé. U dobrovolníka 1 byla pokožka ještě více hydratována, byl zaznamenán celkový nárůst o 47,33 %. U dobrovolníka 2 byl stav pokožky srovnatelný se stavem před aplikací, hydratace narostla pouze o 1,76 %. U dobrovolníka 3 došlo k poklesu oproti počátečnímu stavu o 14,54 %.

Tabulka 13: Změna hydratace v čase 24 h

Dobrovolník	1	2	3
Změna hydratace	147,33 %	101,76 %	85,46 %

Z výsledků plyne, že krátkodobé hydratační schopnosti tělového mléka jsou velmi dobré. Výsledky měření po 24 hodinách jsou neprůkazné. Pro lepší posouzení dlouhodobých vlastností by bylo potřeba více testovaných subjektů a delšího časového úseku, aby bylo možné srovnat výsledky pro různé typy kůže při opakované aplikaci.

4.8.2 Transepidermální ztráta vody

Po 15 min od aplikace tělového mléka byla u všech tří dobrovolníků zaznamenáno snížení TEWL o 20 %. Pro potvrzení výsledků byla sonda znovu kalibrována, a měření bylo opakováno. Výsledky byly totožné.

Tabulka 14: Změna TEWL po 15 min

Dobrovolník	1	2	3
Změna hydratace	80 %	80 %	80 %

Po uplynutí 24 h od aplikace byla opět u všech dobrovolníků změřena snížená hodnota TEWL. Nejvýraznější snížení o 60 % se projevilo u dobrovolníka 1, u dobrovolníka 3 došlo k poklesu o 53 % a u dobrovolníka 2 o 40 %.

Tabulka 15: Změna TEWL po 24 h

Dobrovolník	1	2	3
Změna hydratace	40 %	60 %	47 %

U všech testovaných subjektů bylo zaznamenáno výrazné snížení hodnoty TEWL. Schopnost pokožky zadržet vlhkost je úzce spojena s integritou kožní bariéry. Zaznamenané snížení ztráty vody pokožkou tedy ukazuje, že tělové mléko výrazně podporuje bariérovou funkci kůže. Výsledky také naznačují možné anti-ageing vlastnosti tělového mléka [60][61].

5 ZÁVĚR

Předmětem této bakalářské práce je charakterizace švestkového oleje a možnosti jeho využití v kosmetice. Analyzován byl olej lisovaný za studena.

Při stanovení tukových čísel byly hodnoty čísel zmýdelnění a kyselosti v souladu s dosud publikovanými daty. Olej tedy obsahoval očekávané množství mastných kyselin, a neproběhly výrazné hydrolytické změny. Peroxidové číslo bylo mírně zvýšené, což ukazuje na obsah produktů oxidace, čemuž odpovídá i snížená hodnota jodového čísla. Množství obsažených nenasycených mastných kyselin, které jsou náchylné k oxidaci, bylo také sníženo, což potvrdila i analýza GC-FID. Vzhledem k hodnotám tukových čísel lze konstatovat, že olej vykazuje mírný stupeň oxidace, způsobený skladováním za ne zcela ideálních podmínek.

Pomocí plynové chromatografie byl stanoven i kompletní profil mastných kyselin, přičemž získaný obsah všech z nich odpovídal hodnotám uváděných v literatuře. Nejvíce obsaženými kyselinami byly olejová, linolová a palmitová.

V oleji byly identifikovány tři významné fenolické látky: kyselina gallová, katechin a resveratrol, které jsou poměrně novými perspektivními surovinami na poli kosmetiky. Tyto látky disponují antioxidačními, protizánětlivými, antimikrobiálními a protirakovinnými účinky. Podporují tvorbu kolagenu v kůži a napomáhají napravovat škody způsobené ultrafialovým zářením, čímž bojují se stárnutím pleti.

Stanovený obsah tokoferolů ve vzorku oleje je nízký oproti referenčním datům, rovněž jejich složení je odlišné. Tyto změny lze připsat rovněž degradaci oleje skladováním.

Z výsledků provedených testů antimikrobiální aktivity je patrné, že čistý švestkový olej měl výraznější vliv pouze na kmen *Staphylococcus epidermidis*, u kmenů *Escherichia coli* a *Propionibacterium acnes* byl vliv zanedbatelný. U všech tří mikrobiálních kmenů prokázal olej vliv na metabolickou aktivitu. Se zvýšením obsahu v objemu klesl počet metabolicky aktivních buněk, všechny aktivní buňky však byly životaschopné.

Po provedení charakterizace bylo z oleje úspěšně připraveno tělové mléko.

Vzorek tělového mléka vykazoval vyšší antimikrobiální účinky než čistý olej. U kmenů *Staphylococcus epidermidis* a *Escherichia coli* měl také obdobný vliv na metabolickou aktivitu. Naopak u kmene *Propionibacterium acnes* byl s rostoucí koncentrací vzorku zaznamenán nárůst metabolické aktivity, tělové mléko tedy podporuje růst této bakterie, která je součástí kožního mikrobiomu.

Z výsledků testování účinků tělového mléka na kůži plyne, že má velmi dobré krátkodobé hydratační schopnosti výrazný vliv na snížení hodnoty TEWL. Jelikož schopnost pokožky zadržet vlhkost je úzce spojena s integritou kožní bariéry, lze říct, že tělové významně mléko podporuje bariérovou funkci kůže.

Z výsledků provedených analýz plyne, že švestkový olej je perspektivní kosmetickou surovinou díky obsahu cenných fenolických látek, tokoferolů a antimikrobiálním účinkům.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] VELÍŠEK, Jan. *The Chemistry of Food*. 1. Chichester, UK: John Wiley, 2014. ISBN 9781118383810.
- [2] KADLEC, Pavel. *Technologie potravin II*. 1. vydání, Praha: VŠCHT, 2002. ISBN 80-7080-510-2.
- [3] THOMAS, Alfred. Fats and Fatty Oils. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, (Ed.). 2000, 69. Dostupné z: doi:10.1002/14356007.a10_173
- [4] BOCKISH, Michael. *Fats and Oils Handbook*. 1st edition. Champaign: AOCS Press, 1998. ISBN 09-353-1582-9.
- [5] *Encyclopedia Of Food Science And Nutrition*. 2nd edition. Cambridge (Massachusetts): Academic Press, 2003. ISBN 978-01-2227-055-0.
- [6] GUNSTONE, F.D. *An Introduction to the Chemistry and Biochemistry of Fatty Acids and their Glycerides*. 2. London: Chapman & Hall, 1967. ISBN 978-1-5041-2791-2.
- [7] HAMMOND, E.W. *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition 2*: Academic Press, 2003. ISBN 978-0-12-227055-0.
- [8] CHOE, Eunok a David B. MIN. Mechanisms and Factors for Edible Oil Oxidation. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2006, (Volume 5, 4), 169-186.
- [9] TIMMS, R.E. Physical properties of oils and mixtures of oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1985, 62, 241-249. ISSN 0003021X. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1007/BF02541385>
- [10] SWERN, Daniel. *Bailey's Industrial Oil and Fat Products*. 4th Volume 1. New York: John Wiley, 1979. ISBN 0471839574.
- [11] ALVARADO, JD. Mechanical properties of vegetable oils and fats. *Grasas y Aceites*. Seville, Spain: INST Grasa sus derivados, Anda-Padre García Tajero 4, 41012, 1995, 4-5, 264-269. ISSN 0017-3495.
- [12] JOHNSON, Arnold Harvey a Martin S. PETERSON. *Encyclopedia of food technology*. Volume 2. Westport: The AVI Pub. Co., 1974. ISSN 0149-8606
- [13] HANNEWIJK, J., A.J. HAIGHTON a P.W. HENDRIKSE. Editováno: H.A. Boekennoogen. *Analysis and Characterization of Oils, Fats and Fat Products*. London, 1964, 119-182.
- [14] KUBOTA, Kiyoshi, Shingo KURISU, Kanichi SUZUKI, Toshiya MATSUMOTO a Hideaki HOSAKA. Equation between viscosity or density and temperature of vegetable oils,

salad oil, and frying oil. *Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi*. 1982, 29(4), 195-201. ISSN 0369-5727.

[15] AOCS Official Method Cc 9a-48, Smoke, Flash and Fire Points Cleveland Open Cup Method. 6. Champaign III.: American Oil Chemists' Society, 2011.

[16] Analytical Methods. BOCKISH, Michael. *Fats and Oils Handbook*. 1. Champaign: AOCS Press, 1998, s. 803-808. ISBN 09-353-1582-9.

[17] HRSTKA, Miroslav a Milena VESPALCOVÁ. *Praktikum z analytické chemie potravin*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, fakulta chemická, 2006.

[18] LUCHETTI, Fausto. Importance and future of olive oil in the world market – an introduction to olive oil. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 2002, **104**(9-10), 559-563. Dostupné z: doi:10.1002/1438-9312(200210)104:9/10<559::AID-EJLT559>3.0.CO;2-Q

[19] EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to olive oil and maintenance of normal blood LDL-cholesterol concentrations (ID 1316, 1332), maintenance of normal (fasting) blood concentrations of triglycerides (ID 1316, 1332), maintenance of normal blood HDL cholesterol concentrations (ID 1316, 1332) and maintenance of normal blood glucose concentrations (ID 4244) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No 1924/2006. *EFSA Journal*. 2011, **9**(4), 19. Dostupné z: doi:10.2903/j.efsa.2011.2044

[20] DANBY, Simon G. a T. ALENEZI, A. SULTAN, T. LAVENDER, J. CHITTOCK, K. BROWN, M.J. CORK. Effect of Olive and Sunflower Seed Oil on the Adult Skin Barrier: Implications for Neonatal Skin Care. *Pediatric Dermatology*. 2013, **30**(1), 42-50. Dostupné z: doi:10.1111/j.1525-1470.2012.01865.x

[21] MOORE, J., G. KELSBERG a S. SAFRANEK. Clinical Inquiry: Do any topical agents help prevent or reduce stretch marks? *J Fam Pract*. 2012, **61**(12), 757-758.

[22] BOSKOU, Dimitros, Georgis BLEKAS a Maria TSIMIDOU. Olive Oil Composition. *Olive Oil*. 2. Greece: Academic Press and AOCS Press, 2006, s. 41-72. ISBN 978-1-893997-88-2.

[23] MOREAU, R. a A. KAMAL-ELDIN. *Gourmet and Health-Promoting Oils*. 1.: Academic Press and AOCS Press, 2009, s. 73-125. ISBN 978-1-893997-97-4.

[24] TAN, C.X.. Virgin avocado oil: An emerging source of functional fruit oil. *Journal of Functional Foods*. 2019, 54, 381-392. Dostupné z: doi:10.1016/j.jff.2018.12.031

- [25] SANTOS, V. da S. a G. D. FERNANDES. Cold pressed avocado (*Persea americana* Mill.) oil. *Cold Pressed Oils*. 2020, 405-428. Dostupné z: doi:10.1016/b978-0-12-818188-1.00037-2
- [26] BHANGER, M. I., F. ANWAR, N. MEMON a R. QADIR. Cold pressed apricot (*Prunus armeniaca* L.) kernel oil. *Cold Pressed Oils: Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality, and Applications*. Academic Press, 2020, s. 725-730. ISBN 978-0-12-818188-1.
- [27] LEE, H., J.H. AHN, A.R. KWON, E.S. LEE, J.H. KWAK a Y.H. MIN. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of Apricot Seed. *Phytotherapy Research*. 2014, **28**(12), 1876-1872. Dostupné z: doi:10.1002/ptr.5219
- [28] ALPASLAN, M. a M. HAYTA. Apricot Kernel: Physical and Chemical Properties. *Journal of the American Oil Chemists` Society*. 2006, **83**(5), 469-471.
- [29] KRIST, Sabine. *Vegetable Fats and Oils*. 1. Switzerland: Springer International Publishing, 2020. ISBN 978-3-030-30314-3.
- [30] Essential oil extracted from peach (*Prunus persica*) kernel and its physicochemical and antioxidant properties. *LWT - Food Science and Technology*. 2011, **44**(10), 2032-2039. Dostupné z: doi:10.1016/j.lwt.2011.05.012
- [31] KORAC, Radava R. a Kamil M. KHAMBHOLJA. Potential of herbs in skin protection from ultraviolet radiation. *Pharmacognosy Reviews*. 2011, **5**(10), 164-174. Dostupné z: doi:10.4103/0973-7847.91114
- [32] Plum Tree Branch. *Pixabay.com* [online]. Germany: Pixabay [cit. 2021-7-19]. Dostupné z: <https://pixabay.com/photos/plum-plums-fruit-violet-plum-tree-1690494/>
- [33] ROUSSOS, Peter A., N. EFSTATHIOS, B. INTIDHAR, N.-K. DENAXA a A. TSAFOUROS. Plum (*Prunus domestica* L. and *P. salicina* Lindl.). *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. 1. Academic Press, 2016, s. 639-666. ISBN 978-0-12-408117-8.
- [34] NATIĆ, M., D. DABIĆ ZAGORAC, I. ĆIRČIĆ, M. MELAND, B. RABRENOVIĆ a M. FORITIĆ AKČIĆ. Cold pressed oils from genus *Prunus*. *Cold Pressed Oils: Green Technology, Bioactive Compounds, Functionality, and Applications*. 1. Academic Press, 2020, s. 637-658. ISBN 978-0-12-818188-1.
- [35] Alternative to Conventional Edible Oil Sources: Cold Pressing and Supercritical CO₂ Extraction of Plum (*Prunus domestica* L.) Kernel Seed. *Acta Chimica Slovenica*. 2020, **67**(3), 778-784. Dostupné z: doi:10.17344/acsi.2019.5690
- [36] AZMIR, J., I. S. M. ZAIDUL, M. M. RAHMAN, K.M. SHARIF, A. MOHAMED, F. SAHENA a A. K. M. OMAR. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant

- materials: A review. *Journal of Food Engineering*. 2013, **117**(4), 426-436. Dostupné z: doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014
- [37] Emerging extraction processes of essential oils: A review. *Asian Journal of Green Chemistry*. 2018, **2018**(2), 246-267. Dostupné z: doi:10.22034/ajgc.2018.61443
- [38] SHARMA, P.C., P. KAMBOJ, B.B. LAL KAUSHAL a D. VAIDYA. Utilization of stone fruit kernels as a source of oil for edible and non-edible purposes. *ISHS Acta Horticulturae*. 2005, **696**, 551-557. Dostupné z: doi:10.17660/ActaHortic.2005.696.97
- [39] TYŚKIEWICZ, K., M. KONKOL a E. RÓJ. The Application of Supercritical Fluid Extraction in Phenolic Compounds Isolation from Natural Plant Materials. *Molecules*. 2018, **23**(10), 2625. Dostupné z: doi:10.3390/molecules23102625
- [40] ROSENTHAL, A., D. PYLE a K. NIRANJAN. Aqueous and enzymatic processes for edible oil extraction. *Enzyme and Microbial Technology*. 1996, **19**(6), 402-420. Dostupné z: doi:10.1016/s0141-0229(96)80004-f
- [41] PIĆURIĆ-JOVANOVIĆ, K. a M. MILOVANOVIĆ. Analysis of volatile compounds in almond and plum kernel oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*. 1993, **70**(11), 1101-1104. Dostupné z: doi:10.1007/bf02632149
- [42] ÖZCAN, M.M. A research on evaluation of some fruit kernels and/or seeds as a raw material of vegetable oil industry. *Quality assurance and safety of crops & food*. 2015, **7**(2), 187-191. ISSN 1757-8361. Dostupné z: doi:10.3920/QAS2013.0319
- [43] POPA, V.M., C. BELE, M.A. POIANA, D. DUMBRAVA, D.N. RABA a C. JIANU. Evaluation of bioactive compounds and antioxidant properties in some oils obtained from food industry by-products. *Romanian Biotechnological Letters*, 2011, **16**(3), 6234-6241.
- [44] SAVIC, Ivan, Ivana SAVIC GAJIC a Dragoljub GAJIC. Physico-Chemical Properties and Oxidative Stability of Fixed Oil from Plum Seeds (*Prunus domestica* Linn.). *Biomolecules*, 2020, **10**(2), 294. Dostupné z: doi:10.3390/biom10020294.
- [45] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- [46] MEYER, Veronika R. *Practical High-Performance Liquid Chromatography*. 4. Switzerland: John Wiley, 2004. ISBN 0-470-09377-3.
- [47] SWADESH, J.. *HPLC: practical and industrial applications*. 2. Boca Raton, Fla.: CRC Press, 2001. ISBN: 0849300037.
- [48] JAIN, Chaithanya, Harish GADHAVI, Lokesh SAHU a Jayaraman ACHUTHAN. Volatile Organic Compounds (VOCs) in the air, their importance and measurements. *Earth Science India Popular Issue*. 2017, **10**(2), 1-15.

- [49] Emulsun interactive brochure. *Floratech.com* [online]. USA: International Floratech Technologies, Ltd., All Rights Reserved., 2018 [cit. 2021-7-2]. Dostupné z: https://www.floratech.com/PDFs/Docs/Interactive_Emulsun_Brochure.pdf.
- [50] Corneometer® CM 825. *www.courage-khazaka.de* [online]. Germany: Courage+Khazaka electronic GmbH, 2021 [cit. 2021-7-4]. Dostupné z: https://www.courage-khazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_Corneometer.pdf
- [51] Tewameter® TM 300. *www.courage-khazaka.de* [online]. Germany: Courage+Khazaka electronic GmbH, 2020 [cit. 2021-7-4]. Dostupné z: https://www.courage-khazaka.de/images/Downloads/Brochures/Wissenschaftlich/Brochure_Tewameter%20TM300.pdf
- [52] SINKOVA, Aneta, Vladimír MASAN, Lukas VASTIK a Pavla BUKOVSKA. *The nature of virgin fruit seed oils and their oxidative stability after three months of storage*. Brno, Česká republika, 2020. Akademická práce. Mendelova univerzita v Brně.
- [53] KAMEL, B. S. a Y. KAKUDA. Physico-Chemical Properties and Oxidative Stability of Fixed Oil from Plum Seeds (*Prunus domestica* Linn.). *Journal of the American Oil Chemists Society*. 1992, 5(69), 492-494. Dostupné z: doi: 10.1007/BF02540957
- [54] ROTH, L. a K. KORMANN. *Atlas of Oil Plants and Vegetable Oils*. 1. Bergen, Germany: AgriMedia, 2005. ISBN 9783862630196.
- [55] KHAN B. A., T. MAHMOOD a F. MENAA. New Perspectives on the Efficacy of Gallic Acid in Cosmetics and Nanocosmeceuticals. *Curr Pharm Des*. 2018, 24(43), 5181–5187. Dostupné z: doi: 10.2174/1381612825666190118150614
- [56] BAE, Joonseo, Nayoung KIM, Yunyoung SHIN, Soo-Yeon KIM a You-Jeong KIM. Activity of catechins and their applications. *Biomed Dermatol*. 2020, 4(8). Dostupné z: doi: 10.1186/s41702-020-0057-8
- [57] RATZ-ŁYKO, A. a J. ARCT. Resveratrol as an active ingredient for cosmetic and dermatological applications: a review. *J Cosmet Laser Ther*. 2019, 21(2), 84-90. Dostupné z: doi:10.1080/14764172.2018.1469767
- [58] CAPITANI, M., C. M. MATEO a S. M. NOLASCO. Effect of temperature and storage time of wheat germ on the oil tocopherol concentration. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. 2011, 28(2), 10. Dostupné z: doi:10.1590/S0104-66322011000200008
- [59] GÜNÇ ERGÖNÜL, Pelin a Oya KÖSEOĞLU. Changes in α -, β -, γ - and δ -tocopherol contents of mostly consumed vegetable oils during refining process. *CyTA Journal of Food*. 2014, 12(1), 199-202. Dostupné z: doi:10.1080/19476337.2013.821672

- [60] SOTOODIAN, B. a H. I. MAIBACH. Noninvasive test methods for epidermal barrier function. *Clinics in Dermatology*, 2012, **30**(3), 301–310. Dostupné z: doi: 10.1016/j.clindermatol.2011.08.016
- [61] MILLER, T. Clinical Testing to Uphold an Anti-aging Claim. *Skin Aging Handbook*, 2009, 363–389. Dostupné z: doi: 10.1016/b978-0-8155-1584-5.50018-1

7 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

FCH – Fakulta chemická

VUT – Vysoké učení technické

TAG – Triacylglycerol

FFA – Volné mastné kyseliny

TEWL – Transepidermální ztráta vody

HPLC – Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

GC – Plynová chromatografie

FID – Plamenově ionizační detektor

SFA – Nasycené mastné kyseliny

MUFA – Mononenasycené mastné kyseliny

PUFA – Polynenasycené mastné kyseliny

ELISA – Enzyme-linked immunosorbent assay

UK – Spojené království Velké Británie a Severního Irska

ČR – Česká republika

USA – Spojené státy Americké

CH – Švýcarská konfederace

FR – Francouzská republika