

UNIVERZITA PARDUBICE

Fakulta chemicko-technologická

Elektrochemické detekce chemických UV filtrů

v opalovacích přípravcích

DIPLOMOVÁ PRÁCE

2025

Katka Primásková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Elektrochemické detekce chemických UV filtrů v opalovacích přípravcích

Diplomová práce

2025

Katka Primásková

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Katka Primásková**
Osobní číslo: **C23257**
Studijní program: **N0531A130028 Analytická chemie**
Téma práce: **Elektrochemické detekce chemických UV filtrů v opalovacích přípravcích**
Téma práce anglicky: **Electrochemical detection of chemical UV filters in sunscreen preparations**
Zadávací katedra: **Katedra analytické chemie**

Zásady pro vypracování

- Uvedte, které chemické UV filtry se vyskytují v opalovacích přípravcích a jaké mají fyzikálně-chemické vlastnosti. Z odborných publikací zpracujte literární rešerši na téma elektrochemické detekce chemických UV filtrů. Popište elektrochemické chování těchto látek na různých elektrodách ve vodném a organickém prostředí.
- V praktické části studujte elektrochemické vlastnosti vybraných UV filtrů (jako např. oktokrylen, benzofenon, organické estery kyseliny salicylové atd.) pomocí cyklické voltametrie a určete optimální pracovní podmínky pro jejich elektrochemickou detekci včetně výběru elektrody, složení a pH základního elektrolytu a parametrů pulzních voltametrických technik.
- Při optimálních podmínkách zjistěte základní analytické parametry elektrochemické detekce a proveďte testy výtěžnosti na modelových vzorcích. Pokuste se aplikovat navrženou metodu pro stanovení vybraných chemických UV filtrů v opalovacích přípravcích.

Rozsah pracovní zprávy:
Rozsah grafických prací:
Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:
Podle pokynů vedoucího práce.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Radovan Metelka, Ph.D.**
Katedra analytické chemie

Konzultant diplomové práce: **Assoc. prof. Sylwia Smarzewska**
Department of Inorganic and Analytical Chemistry,
University of Lodz, Poland

Datum zadání diplomové práce: **7. února 2025**
Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

prof. Ing. Petr Němec, Ph.D. v.r.
děkan

L.S.

doc. Ing. Petr Česla, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 20. února 2025

Prohlašuji:

Práci s názvem Elektrochemická detekce chemických UV filtrů v opalovacích přípravcích jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne

Katka Primásková (v.r.)

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych vyjádřila své upřímné poděkování všem, kteří mě během tvorby této diplomové práce podporovali a pomáhali mi.

Především děkuji svému vedoucímu práce, Ing. Radovanu Metelkovi, Ph.D., za jeho neocenitelné vedení, odborné rady, podporu a hlavně trpělivost během celého průběhu výzkumu i psaní diplomové práce. Jeho vstřícnost a ochota byly pro mě klíčové.

Poděkování patří též celé Katedře analytické chemie a zvláště pak Skupině elektroanalýzy za vytvoření inspirativního prostředí, které mě motivovalo k usilovné práci. Děkuji za sdílené znalosti, ochotu pomoci a podnětné diskuse.

Mé upřímné poděkování patří také mému partnerovi, za jeho neustálou podporu, povzbuzení a trpělivost. Jeho víra ve mě a pomoc v těžkých chvílích byly klíčové pro dokončení této práce. Děkuji, že jsi byl vždy po mém boku.

Dále děkuji celé své rodině za podporu během celého mého studia. Jejich láska a povzbuzení byly pro mě velkou oporou.

ANOTACE

Tato diplomová práce se zabývá stanovením vybraných chemických UV filtrů, konkrétně oktokrylenu a benzofenonu, v opalovacích přípravcích pomocí elektrochemické metody voltametrie. Práce zahrnuje literární rešerši zaměřenou na elektrochemickou detekci UV filtrů, optimalizaci analytických podmínek pro stanovení oktokrylenu a benzofenonu, a aplikaci vyvinuté metody na reálné vzorky opalovacích krémů. Cílem práce je přispět k vývoji a validaci analytických metod pro stanovení UV filtrů a k posílení kontroly kvality opalovacích krémů.

KLÍČOVÁ SLOVA

Opalovací krémy, UV filtry, oktokrylen, benzofenon, voltametrie, elektrochemická analýza, optimalizace, validace metody.

TITLE

Electrochemical detection of chemical UV filters in sunscreen preparations

ANNOTATION

This thesis focuses on the determination of selected chemical UV filters, specifically octocrylene and benzophenone, in sunscreen products using the electrochemical method of voltammetry. The work includes a literature review on the electrochemical detection of UV filters, optimization of analytical conditions for the determination of octocrylene and benzophenone, and application of the developed method to real sunscreen samples. The aim of the thesis is to contribute to the development and validation of analytical methods for the determination of UV filters and to strengthen the quality control of sunscreen products.

KEYWORDS

Sunscreens, UV filters, octocrylene, benzophenone, voltammetry, electrochemical analysis, method optimization, method validation.

OBSAH

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK.....	9
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK	11
1. Úvod.....	13
2. Teoretická část	13
2.1. Opalovací krémy.....	13
2.2. Druhy opalovacích krémů.....	19
2.3. Mechanismus účinku UV filtrů.....	21
2.4. Přehled běžně používaných UV filtrů.....	25
2.5. Bezpečnostní aspekty používání opalovacích krémů	30
2.6. Analytické metody pro stanovení oktokrylenu a benzofenonu	32
2.6.1. Popis vybrané analytické metody – Voltametrie	38
2.6.2. Validace analytické metody.....	39
3. Experimentální část.....	40
3.1. Chemikálie a materiály	40
3.1.1. Seznam použitých chemikálií a rozpouštědel	40
3.1.2. Seznam použitého vybavení	40
3.2. Postup analýzy	43
3.2.1. Podrobný popis přípravy standardů	43
3.2.2. Podrobný popis přípravy vzorků.....	43
3.2.3. Voltametrické techniky.....	44
3.3. Výsledky	45
3.3.5. Výpočet citlivosti, limitu detekce a limitu kvantifikace	57
3.3.6. Výpočet výtěžnosti	59
3.3.7. Analýza reálných vzorků	62
3.4. Diskuse.....	63
3.5. Limity metody a návrhy na zlepšení.....	66
4. Závěr	67
4.1. Shrnutí dosažených výsledků.....	67

4.2.	Doporučení pro další výzkum.....	67
5.	Literatura.....	68
5.1.	Seznam použité literatury	68

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1-	Znázornění průniku UV záření přes atmosféru.....	16
Obrázek 2-	Znázornění ochrany kůže v závislosti na úrovni SPF ochrany.....	17
Obrázek 3-	Znázornění ochrany kůže v závislosti na úrovni PA ochrany.....	18
Obrázek 4-	Delokalizace elektronu v molekule PABA.....	22
Obrázek 5-	Delokalizace elektronu v molekule salicylátu.....	22
Obrázek 6-	Delokalizace elektronu v molekule benzofenonu.....	23
Obrázek 7-	Keto–enol tautomerismus butyl methoxy dibenzoylmethanu.....	23
Obrázek 8-	Delokalizace elektronu v molekule cinamátu.....	24
Obrázek 9-	Fotoizomery derivátů kafru.....	24
Obrázek 10-	2D stuktura oktokrylenu.....	29
Obrázek 11-	Struktura benzofenonu, benzofenonu-1, benzofenonu-2 a benzofenonu-3.....	30
Obrázek 12–	Porovnání elektrochemických metod. Upraveno dle [38].....	39
Obrázek 13-	Cela upravená pro možnost analýzy v bezkyslíkatém prostředí.....	41
Obrázek 14 -	SWV voltamogram blanku před (sken nahoře) a po (sken dole) probulání argonem.....	42
Obrázek 15-	Cyklický voltamogram redukce benzofenonu.....	45
Obrázek 16-	Cyklický voltamogram oxidace benzofenonu.....	46
Obrázek 17-	Cyklický voltamogram redukce oktokrylenu.....	46
Obrázek 18-	Cyklický voltamogram oxidace oktokrylenu.....	47
Obrázek 19-	DPV voltamogram benzofenonu.....	47
Obrázek 20-	DPV voltamogram oktokrylenu.....	48
Obrázek 21-	Grafické znázornění kalibrace na základní parametry DPV podle výšky píků, pro oktokrylen a benzofenon.....	48
Obrázek 22-	SWV voltametrie benzofenonu.....	49
Obrázek 23-	SWV voltametrie oktokrylenu.....	49
Obrázek 24 -	Grafické znázornění kalibrace na základní parametry SWV podle výšky píků, pro oktokrylen a benzofenon.....	50
Obrázek 25-	DPV voltamogramy po změně amplitudy 10-100 mV pro směs oktokrylenu (-1,2 V) a benzofenon (-1,55 V). Amplitudě 10 mV odpovídá nejnižší položený voltamogram a 100 mV tomu nejvýše položenému. Oranžové označení má amplituda 25 mV, nad ním je 50 mV a 75 mV.....	50
Obrázek 26-	Grafické znázornění vlivu změny amplitudy na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.....	51
Obrázek 27 -	DPV voltamogramy po změně modulačního času 25 ms – oranžová, 50 ms – červená, 75 ms- růžová a 100 zelená barva, pro oktokrylen (-1.2 V) a benzofenon (-1,55 V).....	51
Obrázek 28-	Grafické znázornění vlivu změny modulačního času na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.....	51

Obrázek 29- Grafické znázornění kalibrace pro optimální parametry DPV podle výšky píků pro oktokrylen a benzofenon.	52
Obrázek 30 -SWV voltamogramy po změně potenciálu kroku 1 mV– vínově červená, 2 mV – sytě rudá, 3 mV – oranžová, 4 mV – svítivě zelená, 5 mV – šedá, 6 mV – tmavě zelená, 7 mV – svítivě tyrkysová, 8 mV – tmavě modrá, 9 mV – blankytně modrá a 10 mV – tmavě fialová pro oktokrylen (-1.2 V) a benzofenon (-1,55 V).....	52
Obrázek 31-Grafické znázornění vlivu změny potenciálu kroku na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.	53
Obrázek 32- SWV voltamogramy po změně modulace amplitudy pro 10 mV, 20 mV, 25 mV (šedá), 40 mV, 50 mV, 75 mV a 100 mV pro směs oktokrylenu (-1,2 V) a benzofenonu (-1,55 V). Záznamy jdou od spodu nahoru (10 mV nejniž položený sken a 100 mV nejvyšší sken). 53	53
Obrázek 33 – Grafické znázornění vlivu změny modulace amplitudy na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.....	53
Obrázek 34- SWV voltamogramy po změně frekvence pro 10Hz, 15Hz, 25Hz(šedá), 50Hz, 75Hz a 92,5Hz, pro oktokrylen (na pozici -1.2V) a benzofenon (na pozici -1,55V). Pozice skenu jde od spodu nahoru (10 Hz nejniž položený sken a 92,5 Hz nejvyšší sken).....	54
Obrázek 35- Grafické znázornění vlivu změny frekvence na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.....	54
Obrázek 36- Grafické znázornění kalibrace pro optimální parametry SWV podle výšky píků, pro oktokrylen a benzofenon.	54
Obrázek 37- Kalibrace oktokrylenu a benzofenonu pro nastavené výchozí parametry a následně určené optimální parametry pro DPV.....	55
Obrázek 38- Kalibrace oktokrylenu a benzofenonu pro nastavené výchozí parametry a následně určené optimální parametry pro SWV.....	56
Obrázek 39- Grafické znázornění vlivu doby akumulace u DPV pro oktokrylen (oranžové čtverce) a benzofenon (modré body).	57
Obrázek 40- Grafické znázornění vlivu doby akumulace u SWV pro oktokrylen (oranžové čtverce) a benzofenon (modré body).	57

Tabulka 1- Záření emitované sluncem, jeho vlnové délky a schopnost absorpce z pohledu člověka, upraveno dle Hamisha Salih: Sunscreens: A Narrative Review; Skin Health and Disease, Volume 4, Issue 6, December 2024.	15
Tabulka 2- Přehled běžně používaných UV filtrů, upraveno dle Dr. Selda Pelin Kartal – Are Sunscreens Safe? Publikováno v periodiku Cosmetic Industry – Trends, Products and Quality Control.	25
Tabulka 3- Úbytek ethanolu při probublávání v neutěsněné nádobce.....	41
Tabulka 4- Úbytek ethanolu při probublávání v utěsněné nádobce.....	42
Tabulka 5- Citlivosti zjištěné měřením za různých podmínek.	58
Tabulka 6- LOD zjištěné měřením za různých podmínek.	58
Tabulka 7- LOQ zjištěné měřením za různých podmínek.....	59
Tabulka 8- Výťažnost analýzy oktokrylenu a benzofenonu. Použité zkratky Okt (oktokrylen) a Bfe (benzofenon).	59
Tabulka 9- Výťažnost analýzy oktokrylenu a benzofenonu s přídavkem CTAB. Použité zkratky Okt (oktokrylen) a Bfe (benzofenon).....	61
Tabulka 10- Stanovení koncentrací v analyzovaných vzorcích.....	63
Tabulka 11- Stanovení množství oktokrylenu a benzofenonu v analyzovaných vzorcích.....	63

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

AChE - Acetylcholinesteráza

CV - Cyklická voltametrie

(DI) μ -SPE - Disperzní mikroextrakce na pevné fázi

DLLME - Disperzní kapalinově-kapalinová mikroextrakce

DPV - Diferenčně-pulzní voltametrie

ECHA - (European Chemicals Agency) Evropská agentura pro chemické látky

FDA - (U.S Food and Drug Administration) Úřad pro kontrolu potravin a léčiv

FPSE - Sorpční extrakce na textilní fázi

GC-MS - Plynová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií

HOMO - Nejvyšší obsazený molekulární orbital

HPLC - Vysokovýkonná kapalinová chromatografie

HPLC-MS - Vysokoúčinná kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií

IR - Infračervené

LLE - Kapalinově-kapalinová extrakce

LOD - Limit detekce

LOQ - Kvantifikační limit

LSV - Lineární-sweep voltametrie

LUMO - Nejnižší neobsazený molekulární orbital

MEPS - Mikroextrakce pomocí sorbentu

MWCNTs - Modifikované uhlíkové pastové elektrody

NMPA - (National Medical Products Administration) Národní protidrogová správa

PA – Faktor UVA ochrany

PABA - Para-amino benzoát

PLE - Extrakce za zvýšeného tlaku

ROS – (Reactive Oxygen Species) Reaktivní formy kyslíku

SBSE - Sorpční extrakce pomocí míchací tyčinky

SPF – (Sun Protector Factor) Faktor ochrany UVB

SPE - Extrakce na pevné fázi

SPME - Mikroextrakce na pevné fázi

SBSD_μE - Sorpčně-disperzní extrakce pomocí míchací tyčinky

SWV - Square wave voltametrie

TGA - (Therapeutics Good Administration) Správa léčebných přípravků

TLC - Tenkovrstvá chromatografie

UV - Ultrafialové

UVA - Ultrafialové záření A

UVB - Ultrafialové záření B

USAN – (United States Adopted Name) Název k identifikaci látky v USA

1. Úvod

Opalovací přípravky jsou nedílnou součástí nejen letní sezóny, u stále více lidí se stávají nedílnou součástí každodenní péče o pleť. Z tohoto důvodu jsou na trhu v široké škále forem, které se liší v aplikaci a preferencích uživatelů. UV filtry slouží k ochraně před UV zářením, je proto důležité sledovat jejich účinnost, možný vliv na spotřebitele a zároveň i možný vliv na prostředí. Právě kvůli tomu monitorujeme přesné složení přípravků, jejich účinných látek. V této diplomové práci se zaměřuji na možnost stanovení dvou stále ještě čteně používaných UV filtrů benzofenonu a oktokrylenu za pomoci elektrochemické metody voltametrie. Oktokrylen a benzofenon jsou široce používané UV filtry s odlišnými absorpčními vlastnostmi, které společně poskytují širokospektrální ochranu před UVA a UVB zářením. Přesné stanovení jejich koncentrací je nezbytné pro ověření hodnot deklarovaných na obalech opalovacích krémů a pro zajištění jejich efektivity. Výsledky této práce mohou přispět k rozšíření dostupných analytických metod pro stanovení UV filtrů a k posílení kontroly kvality opalovacích krémů na trhu. V rámci této práce bude popsána optimalizace a základní validace vybrané metody, a to včetně přípravy vzorků, optimalizace analytických podmínek a vyhodnocení výsledků. Dále budou prezentovány výsledky analýzy reálných vzorků běžně dostupných opalovacích krémů a provedena jejich diskuse v kontextu legislativy.

2. Teoretická část

2.1. Opalovací krémy

Kůže, jakožto největší orgán lidského těla a první obranná bariéra proti různým druhům vnějších faktorů, má mnoho nezbytných funkcí. Bariérovou funkcí u kůže zajišťuje nejsvrchnější vrstva stratum corneum. Její struktura se skládá z lipidů uspořádaných jako lamelární dvouvrstvy, které se primárně skládají ze tří hlavních skupin lipidů – ceramidů, volných mastných kyselin a cholesterolu. Jejich hlavní funkcí je přispět (spolu s keratinocyty) k redukci ztráty vody skrze epidermální vrstvu, protože úroveň ztráty vody kůží hraje důležitou roli v její schopnosti chránit lidské tělo.

UV záření je nezbytné pro produkci vitamínu D, ale také vykazuje řadu škodlivých vlastností. Mezi ně patří především fotostárnutí kůže, poškození a malignity vedoucí k rakovině kůže. Expozice UV zářením dramaticky snižuje ochrannou funkci kožní bariéry. Specifické důsledky této expozice závisí na různých faktorech a účinek na kůži stále není dobře pochopen. Nicméně studie ukazují, že po expozici UV zářením dochází k zřejmému zvýšení poškození a snížení

přirozené schopnosti kůže odolávat vnějším faktorům, což ovlivňuje její podstatnou bariérovou funkci [1; 2].

Opalovací krém je přípravek používaný na kůži, který obsahuje složky chránící pokožku před ultrafialovým zářením ze slunce. Ve starověkých egyptských a řeckých kulturách se k ochraně před sluncem používaly různé látky přírodního původu, jako třeba rýžových otrub, jasmínu, olivového oleje a lupiny. UV záření poprvé objevil Johann Wilhelm Ritter v roce 1801. O více než 100 let později, v roce 1920, vytvořili dva němečtí vědci Karleilham Hausser a Wilhelm Vahle první komerční opalovací krém obsahující benzylsalicylát a benzylcinamát, které účinně absorbovaly UVB záření. Na počátku dvacátého století již bylo nesporně jasné, že UV záření je zodpovědné za spálení a opálení, což podnítilo vývoj opalovacích krémů určených k blokování UVB záření. V roce 1969 Albert Kligman identifikoval fenomén „fotostárnutí“ (předčasné stárnutí kůže vlivem světla, z angličtiny známý termín „photoaging“), což vedlo k vytvoření opalovacích krémů, které filtrují UVA paprsky. Prvními UVB filtry byly benzylsalicylát a benzylcinamát, zatímco prvním UVA filtrem byl avobenzon. Ve druhé polovině dvacátého století pracoval Rudolf Schulze na standardizaci měření sluneční ochrany a v roce 1978 zavedl Franz Greiter ochranný sluneční faktor (SPF), jak jej známe dnes. Ideální opalovací krém by měl účinně blokovat škodlivé účinky slunce tím, že absorbuje UV paprsky a zároveň si udržovat stabilitu. Degradace aktivních molekul může vést ke snížení účinnosti a potenciální toxicitě. Dále by měl být voděodolný, bezpečný při nízkých koncentracích, inertní a nedráždivý pro pokožku. Fyzikální filtry rozptylují a odrážejí UV paprsky a chemické filtry tyto paprsky absorbují. Na trhu jsou k dispozici opalovací krémy, které obsahují organické, anorganické a přírodně odvozené UV filtry. Organické filtry v topických opalovacích krémech absorbují UV světlo, zatímco anorganické filtry odrážejí UV paprsky od pokožky. Ačkoli se v opalovacích formulacích běžně používá kombinace organických a anorganických filtrů, může to vést ke katalytickým procesům, které degradují jejich strukturu, což nakonec snižuje jejich účinnost [3; 4].

I přes neustále rostoucí frekvenci používání opalovacích krémů po celém světě se prevalence některých patologií souvisejících s expozicí slunci zvyšuje, a to zejména maligních melanomů, tedy typu rakoviny, který je způsoben převážně slunečním zářením. Spolu s narůstající snahou o ochranu, narůstají i důkazy o rostoucích hladinách těchto látek v životním prostředí, což vede k nepřímé expozici nejen volně žijících živočichů ale i lidí. Některé studie naznačují toxikologickou povahu určitých druhů látek. Přehledy o roli těchto látek ve vývojových a endokrinních poruchách jsou založeny jak na studiích na zvířatech, tak i na lidech, přičemž jsou

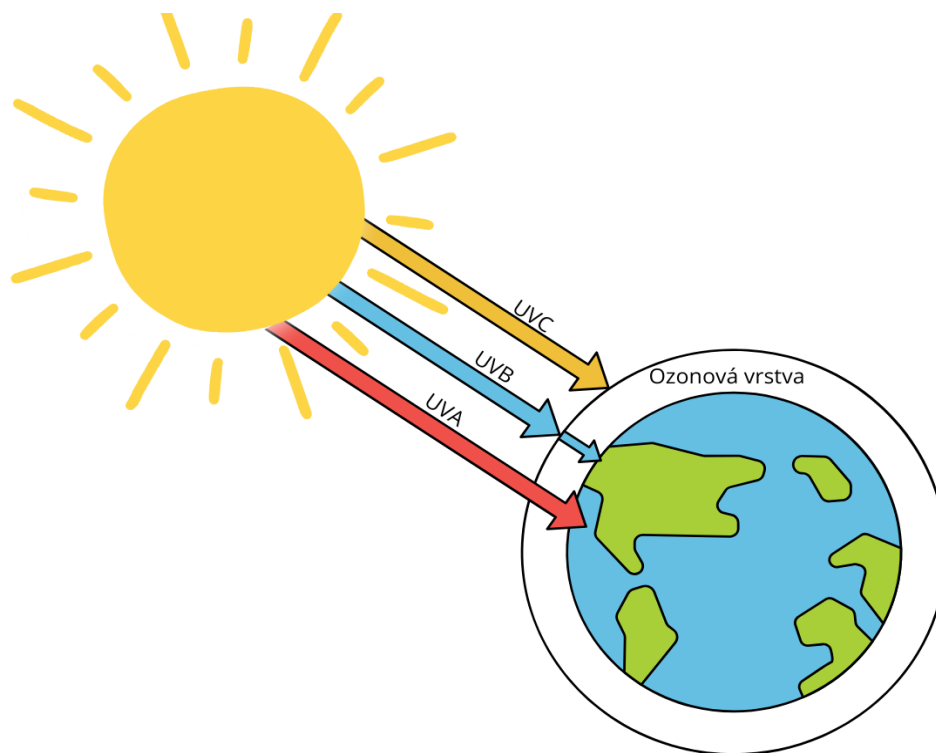
ale informace o potenciální neurotoxicitě těchto látek nedostatečné. Kromě své diskutabilní účinnosti se v posledních letech objevují otázky týkající se hlavních složek různých opalovacích krémů, zejména o prevalenci těchto složek v životním prostředí a o jejich potenciální toxicitě.

Existuje několik typů elektromagnetického záření emitovaného sluncem, jak je uvedeno v Tabulce číslo 1.

Tabulka 1- Záření emitované sluncem, jeho vlnové délky a schopnost absorpce z pohledu člověka, upraveno dle Hamisha Salih: Sunscreens: A Narrative Review; Skin Health and Disease, Volume 4, Issue 6, December 2024.

Procenta slunečního záření	Typ záření		Vlnová délka	Absorpce
45 %	Infračervené	IR-C	3000 nm–1 mm	Subcutis (podkoží)
		IR-B	1400–3000 nm	
		IR-A	700–1400 nm	
50 %	Viditelné	Červená	625–700 nm	Dermis (škára)
		Oranžová	590–625 nm	
		Žlutá	565–590 nm	
		Zelená	500–565 nm	
		Modrá	485–500 nm	
		Indigo	450–485 nm	
5 %	Ultrafialové	UVA	400–315 nm	Dermis (škára) Epidermis (pokožka)
		UVB	315–280 nm	
		UVC	280–100 nm	Stratosféra (druhá vrstva zemské atmosféry)

Při řešení problematiky opalovacích přípravků se soustředíme na jeden typ, konkrétně ultrafialové (UV) záření. To se skládá ze tří vlnových délek označovaných UVA, UVB a UVC. UVA paprsky se pohybují v rozmezí vlnových délek 320–400 nm a nejsou absorbovány ozonovou vrstvou, UVB paprsky se nachází v rozmezí 290–320 nm a jsou částečně absorbovány ozonovou vrstvou, a UVC paprsky, které jsou zastaveny ozonovou vrstvou, což je znázorněno na obrázku číslo 1.

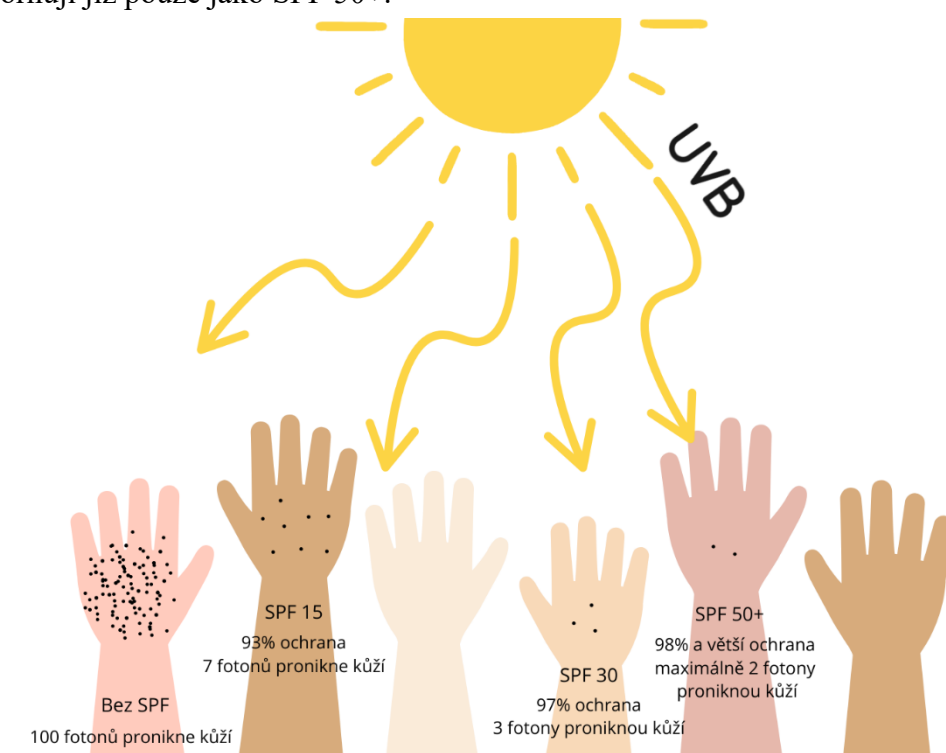


Obrázek 1- Znázornění průniku UV záření přes atmosféru.

Účinky expozice UVA a UVB záření, jenž může proniknout skrze epidermis, byly přezkoumány a bylo konstatováno, že taková expozice vede k tvorbě reaktivních forem kyslíku ROS. Tím dochází nejen například k poškození DNA, proteinů a lipidů, aktivaci různých signálních transdukčních drah, oslabení obranných systémů pleti, změně růstu, diferenciaci, senescence buněk a degradaci tkání, ale i ke spoustě dalších degenerativních procesů [5].

Přestože osoby s tmavším odstínem pleti mají vyšší odolnost vůči UV záření a jsou méně náchylné ke spálení než osoby se světlejší pokožkou, stále u nich může docházet k poškození způsobenému UV zářením, včetně rakoviny kůže. Ve skutečnosti bývá kvůli méně zřetelným projevům opálení a spálení u tmavší pleti rozšířený názor, že tyto jedinci nemusí dodržovat zásady bezpečného pobytu na slunci, což může vést k pozdějším diagnózám rakoviny a horším zdravotním výsledkům. Z tohoto důvodu se doporučuje používání opalovacích krémů pro všechny osoby bez ohledu na barvu pleti [6].

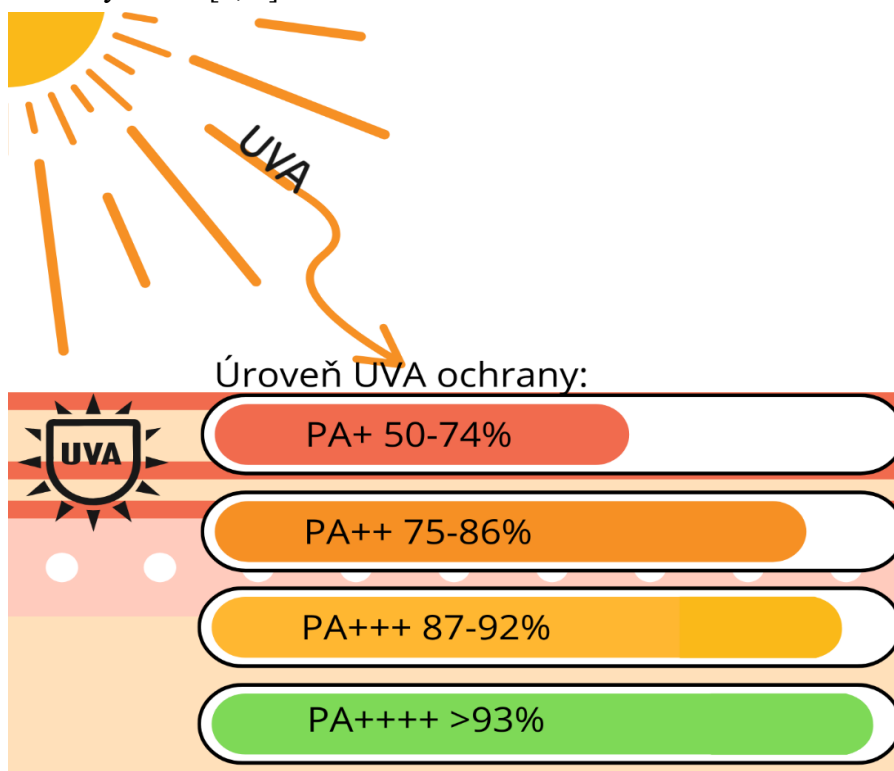
Opalovací krém se hodnotí podle dvou ukazatelů: SPF a PA. Konkrétně index SPF určuje schopnost blokovat UVB záření a index PA určuje schopnost blokovat UVA záření. Index SPF sleduje, za jak dlouho způsobí UVB záření zčervenání pokožky v porovnání se stavem, kdy filtr aplikován není. To si v praxi můžeme představit tak, že pokud půjde na slunce člověk bez ochrany, tak kůže zčervená, tedy dojde k jejímu popálení po deseti minutách, ale když se namaže SPF 15, tak kůže zčervená až po 150 minutách. Pokud budou dodrženy perfektní podmínky, jako třeba správná aplikace, tak SPF 15 zajistí 93,4% ochranu před UVB zářením, SPF 30 ochranu okolo 96.7 % a SPF 50 okolo 98 % ochrany, což je znázorněno na obrázku číslo 2. V Evropské unii je maximální hodnota SPF indexu 50, vyšší stupně ochrany se znázorňují již pouze jako SPF 50+.



Obrázek 2- Znázornění ochrany kůže v závislosti na úrovni SPF ochrany.

Opalovací krém s SPF 30 aplikovaný správně poskytne lepší ochranu než opalovací krém s SPF 50 aplikovaný příliš tenkou vrstvou nebo nedostatečně často. Reaplikace je důležitá nejen kvůli smytí vodou nebo potem, ale opalovací přípravky by se měli znovu nanášet i pokud žádnou činnost neprovádíme, jejich účinnost totiž s časem klesá. Doporučuje se opakovaná aplikace každé 2–3 hodiny, zejména v případech, kdy je pravděpodobné, že dojde k odstranění krému, např. pocením, třením o oděv, kontaktem s pískem nebo vodou [7]. Doporučuje se správná aplikace opalovacích prostředků s faktorem SPF 50+, protože v Evropských zemích musí jedna třetina SPF faktoru znamenat ochranu před UVA zářením.

V některých případech ochranu proti UVA označuje PA index. Ten se používá především v Japonsku, avšak kosmetika z asijských zemí se stává čím dál více populární a japonské i korejské opalovací krémy, které označení PA indexu nesou, můžeme již dnes najít v drogeriích. PA index je ukazatel měřící schopnost opalovacího krému chránit tělo před UVA paprsky, jak jej stanovila Japonská kosmetická asociace. Na obrázku číslo 3 je znázorněna ochrana kůže v závislosti na úrovni PA ochrany. Neexistuje shoda na tom, jak přesně hodnotu PA určit, protože metoda měření spočívá v posuzování, jak UVA paprsky nerovnoměrně ztmavují pokožku. Ve skutečnosti se pokožka u různých lidí opaluje různou rychlostí. Jinými slovy, nikdo přesně neví, jak dlouho ochrana vyjádřená hodnotou PA skutečně vydrží při běžném používání u různých lidí [4; 8].



Obrázek 3- Znárodnění ochrany kůže v závislosti na úrovni PA ochrany.

Nařízení (ES) č. 1223/2009 o kosmetických přípravcích stanovuje soubor pravidel týkajících se kosmetických přípravků dostupných na evropském trhu. Toto nařízení má nadřazenou právní sílu vůči národním zákonům jednotlivých členských států EU, čímž brání státům upravovat legislativu podle vlastních potřeb. Nařízení definuje UV filtry jako látky, které jsou výlučně nebo převážně určeny k ochraně kůže před určitým ultrafialovým zářením prostřednictvím jeho absorbování, odrazu nebo rozptylu. Tím je jednoznačně vymezena hlavní funkce UV filtrů. Příloha VI tohoto nařízení obsahuje seznam všech UV filtrů povolených v kosmetických přípravcích, včetně maximálních koncentrací povolených pro použití ve formulacích [9].

2.2. Druhy opalovacích krémů

Různé typy opalovacích krémů a jejich formulace lze v první řadě rozdělit na organické a anorganické UV filtry, dále záleží na stabilitě a účinnosti formulací a inovativních ingrediencí a technologii. UV filtry též dělíme na ty přírodního původu a syntetické. Mezi přípravky je obrovská rozmanitost aktivních složek používaných v opalovacích krémech. Inovacemi v tomto odvětví jsou důraz na důležitost stability formulace za různých podmínek a neustále se vyvíjí nové látky pro zlepšení ochrany před sluncem [10]. UV filtry působí různými mechanismy, například absorpcí UV záření, inhibicí elastázy a kolagenázy a eliminací volných kyslíkových radikálů.

Mezi filtry přírodního původu patří například kyselina rozmarýnová, karotenoidy, výtažky z malin a borůvek, silymarin, lignin a kvercetin, jejich používání jako náhrada za ty syntetické může být problematické, vzhledem k jejich nestálé účinnosti. Účinnost a trvanlivost složek opalovacích krémů se může lišit v závislosti na typu pleti jednotlivce a podmínkách prostředí, což vede k potřebě používat více druhů filtrů v jednom přípravku. Filtr opalovacího krému však může být schválený v jedné zemi, ale považován za nebezpečný v jiné. Například zatímco Tinosorb, širokospektrální filtr je široce používán v Evropě, není schválen u FDA. Podobně jsou avobenzon a oktinoxát zakázány na Havaji, kvůli jejich environmentálním rizikům pro korálové útesy. V důsledku toho jsou na trhu uvedeny opalovací krémy s různými kombinacemi složek přizpůsobenými konkrétním zemím či regionům. S ohledem na dostupná vědecká data převyšují zdravotní rizika spojená s nepoužíváním opalovacího krému potenciální vedlejší účinky. Pro ty, kteří mají obavy o organické UV filtry, mohou sáhnout po produktech obsahující anorganické filtry jako ZnO a TiO₂ nabídnout alternativu [3]. Anorganické a organické UV filtry jsou běžně označovány jako fyzikální a chemické filtry. Toto rozlišení se však jeví zásadně mylné, jelikož všechny UV filtry jsou chemické látky, zatímco jejich mechanismy účinku, tedy absorpce, odraz a rozptyl jsou fyzikálními jevy, proto by toto často používané rozdělení na „chemické“ a „fyzikální“ opalovací krémy mělo být považováno za nepřesné a jako takové by mělo být z terminologie odstraněno, přesto se s ním ve spoustě článků stále setkáváme [6].

2.2.1. Anorganické UV filtry

Všechny UV filtry mají společnou schopnost absorbovat, odrážet a/nebo rozptylovat ultrafialové (UV) záření. Ty anorganické většinou působí na mechanismu rozptylu světla. Mezi

nejběžněji používané patří TiO_2 a ZnO . Jelikož jsou anorganické UV filtry částicového charakteru, mohou se vyskytovat v různých tvarech a velikostech. Jejich různé formy nejsou v rámci regulace UV filtrů rozlišovány, což vede k větší variabilitě jejich chování v životním prostředí ve srovnání s organickými UV filtry. V některých výrobcích jsou přítomny jako nanometrové částice, jejichž výhodou je, že se při jejich použití vyhneme „bělicímu“ efektu při aplikaci na pokožku; tento efekt je známý též jako bílý film a jde čistě o estetický problém. Reálná problematika těchto látek nastává v jejich chemické podstatě. ZnO a TiO_2 jsou polovodiče a když jsou vystaveny UV záření, mohou se stát škodlivými fotokatalyzátory. Ty degradují organické složky kosmetické formulace a zvyšují šanci poškození DNA, a tím i samotných buněk v in vitro systémech [11; 10; 12; 13]. Maximální koncentrace oxidu zinečnatého (ZnO) a oxidu titaničitého (TiO_2) ve formě nanočástic je v současnosti dle evropské legislativy stanovena na 25 %. Kromě těchto dvou jsou v nano formě aktuálně povoleny ještě další dva organické nerozpustné pigmenty, a to metylen bis-benzotriazolyl tetramethyl butylfenol a tris-bifenyl triazin [9].

2.2.2. Organické UV filtry

Chemické organické filtry v opalovacích krémech působí na principu absorpce molekul. Složky opalovacích krémů však nejsou vždy schopny zcela blokovat všechny tři druhy UV záření se stejně vysokou účinností. Navíc jejich účinky nejsou u každého typu pleti jako je suchá pleť, mastná pleť a pleť s akné, stejné. Kromě toho se stabilita sloučenin liší také vlivem prostředí, takže přípravky na ochranu proti slunečnímu záření jsou kombinací různých chemických sloučenin fungujících jako UV filtry. Fyzikálně-chemické vlastnosti organických látek výrazně ovlivňují jejich chování v životním prostředí (tedy jejich osud a účinky), a proto jsou tyto informace obecně vyžadovány před provedením hodnocení environmentálního rizika. Rozpustnost chemické látky se používá k odhadu relevantních dávkovacích hladin v testech toxicity ve vodním prostředí, protože ve většině případů je expozice látek v životním prostředí nižší než její rozpustnost, tedy látky bývají ve vodě plně rozpuštěny s výjimkou určitých situací, jako jsou havárie nebo úniky. Rozpustnost se liší v mořské a sladké vodě a neexistují standardizované protokoly pro její měření v těchto prostředích. Může také záviset na pH vody nebo na pK_a dané látky.

Hydrofobicita popisuje tendenci látky přecházet z vody nebo se z ní vylučovat, např. vázáním na sedimenty nebo organickou hmotu. Často se hodnotí pomocí rozdělovacího koeficientu oktanol/voda neboli $\log K_{ow}$, tj. látky s vysokým K_{ow} jsou lipofilní a hydrofobní.

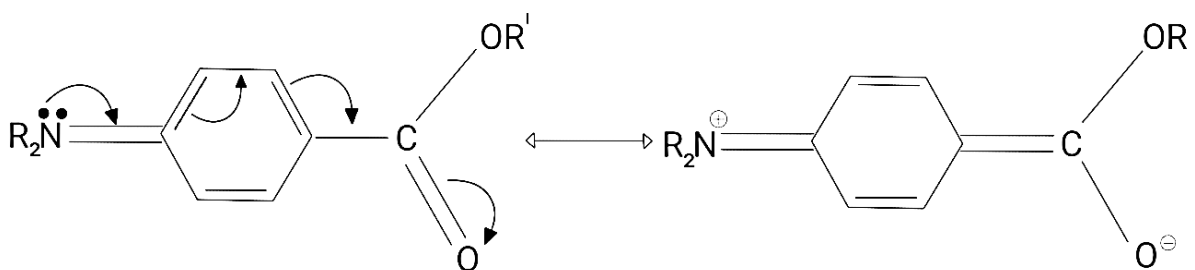
Těkavost je vlastnost určující, jak snadno organická látka přechází z kondenzované fáze (pevné či kapalné) do plynné fáze. Tendence látky přecházet z vody do vzduchu je popsána Henryho zákonem, který udává rovnovážný poměr koncentrací látky ve vodě a v plynu.

Tyto vlastnosti dohromady určují, kam se látka po uvolnění do prostředí může nakonec přesunout, jestli do ovzduší, vody nebo sedimentu. [4; 8; 13]

2.3. Mechanismus účinku UV filtrů

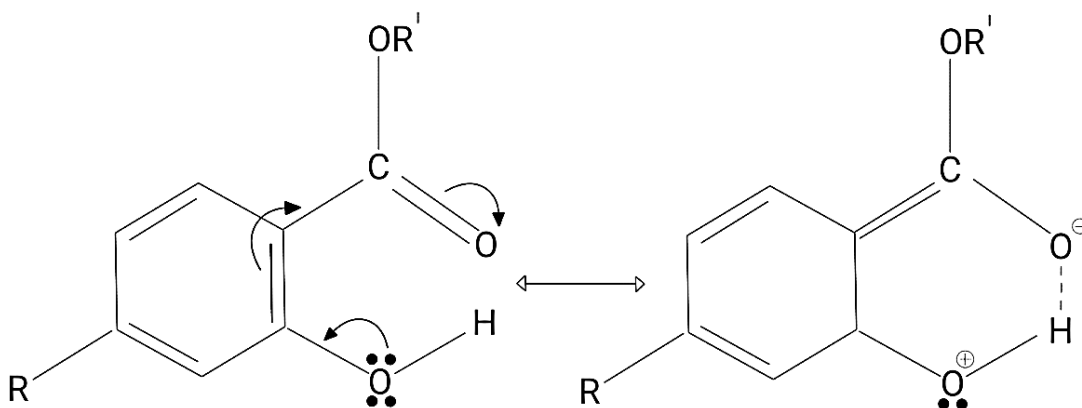
Elektromagnetické paprsky interagují s UV filtry buď absorpcí nebo rozptylem jejich energie. Disperze anorganických částic rozptyluje a odráží škodlivé paprsky. Některé organické, ale i anorganické částice mají schopnost absorbovat UV záření. Když molekula absorbuje UV foton, elektrony v jejím nejvyšším obsazeném molekulárním orbitalu (HOMO) jsou excitovány do jejího nejnižšího neobsazeného molekulárního orbitalu (LUMO). Tento singletový stav může být deaktivován jednoduchou vibrační relaxací, fluorescencí molekuly nebo fotochemickými reakcemi zpět do základního stavu. Na druhou stranu může za určitých podmínek excitovaný stav podstoupit inter-systémový přechod, který vede k tripletnímu stavu. Energie v tripletovém stavu se může rozptýlit mnoha způsoby: emisí fotonu (fosforescence), přenosem energie na jiné receptorové molekuly (T–T přenos) nebo fotochemickými reakcemi.

Anorganické částice buď rozptylují, nebo absorbují UV záření. Tyto částice jsou polovodiče s vysokou energií zakázaného pásma (band gap energy) mezi valenčním a vodivostním pásem (mezi 380 a 420 nm). „Band gap“ je minimální množství energie potřebné k tomu, aby se elektron uvolnil ze svého vázaného stavu. Když je energie zakázaného pásu splněna, elektron je excitován do volného stavu, a může se proto podílet na vedení. Vlnová délka absorpce se mění s velikostí anorganických částic. Čím menší je velikost primární částice, tím vyšší je energie zakázaného pásma. Přesný mechanismus absorpce UV záření je závislý na struktuře molekuly. Jako první příklad absorpce použijeme molekulu *para*-aminobenzoátu (PABA). Tato základní molekula byla jedním z prvních UV filtrů, které se objevily na americkém trhu. Má λ_{\max} přibližně 290 nm. Tato molekula má skupinu uvolňující elektrony (R_2N), která je *para* substituována na skupinu přijímající elektrony (COOR), což umožňuje efektivní delokalizaci elektronů, kterou vidíme na obrázku číslo 4. Energetické požadavky na tuto delokalizaci odpovídají UV absorpci kolem 290 nm. Tato PABA jednotka je základní část v mnoha UV filtrech, včetně dříve populárního ethylhexyldimethyl PABA (název USAN: Padimate-O) a současných UV filtrů ethylhexyltriazonu a diethylhexylbutamidotriazonu. Popsané jevy vidíme na obrázku níže (Obrázek 4).



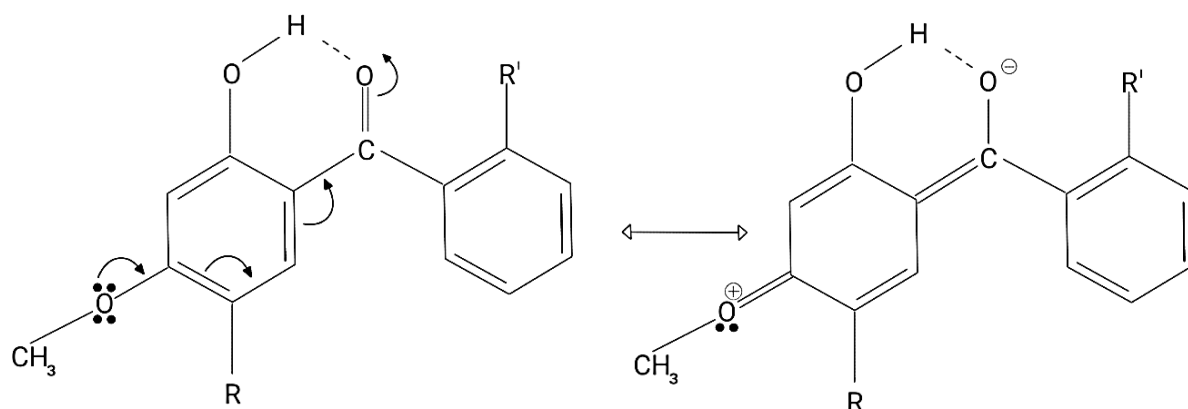
Obrázek 4- Delokalizace elektronu v molekule PABA.

Dalším příkladem jsou salicyláty, které byly jedním z prvních UV filtrů používaných v opalovacích krémech v 50. letech 20. století. Představují velmi zajímavou skupinu *ortho*-disubstituovaných molekul s prostorovým uspořádáním, které umožňuje vnitřní vodíkové vazby uvnitř samotné molekuly (jejich energetické požadavky produkují UV absorpci kolem 300 nm). Delokalizaci elektronu v molekule salicylátu vidíme na následujícím obrázku (Obrázek 5). Oproti například *para*-hydroxybenzoátu s λ_{\max} při 260 nm, kde není možná žádná vnitřní vodíková vazba, *ortho*-salicylát má λ_{\max} při 300 nm, protože vnitřní vodíková vazba výrazně snižuje energetické požadavky, čímž zvyšuje vlnovou délku absorpčního maxima, jelikož vztah mezi energií a vlnovou délkou je nepřímo úměrný ($\lambda = \frac{c}{f}$, kde λ je vlnová délka, c je rychlost světla a f je frekvence). Tohoto jevu bylo úspěšně využito při návrhu mnoha nových UV filtrů, které se objevily na trhu.



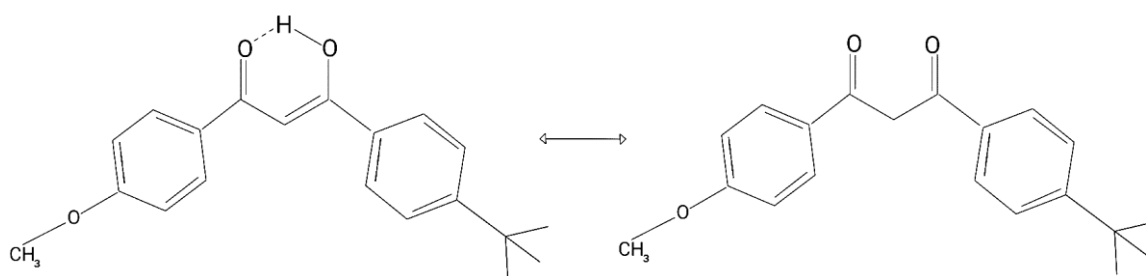
Obrázek 5- Delokalizace elektronu v molekule salicylátu.

Delokalizace elektronů v benzofenonech (Obrázek 6), je podpořena přítomností skupiny uvolňující elektrony v *ortho* nebo *para* pozici, případně v obou. Výsledkem je, že molekula má dvě absorpční maxima λ_{\max} při 286 nm (UVB) a 324 nm (UVA). Je třeba poznamenat, že benzofenony jsou aromatické ketony, tím se liší od většiny ostatních UV filtrů, které obsahují esterovou nebo amidovou vazbu.



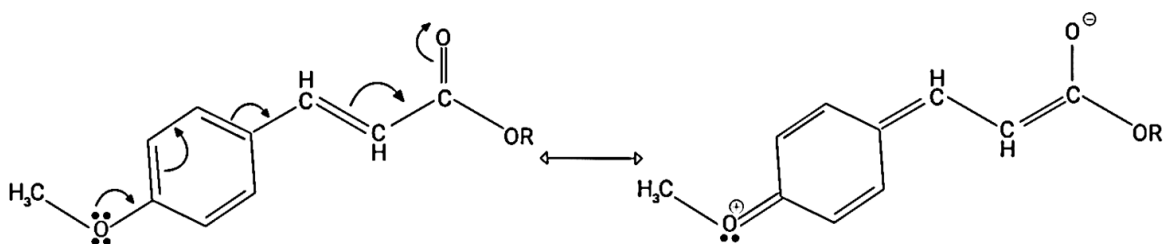
Obrázek 6- Delokalizace elektronu v molekule benzofenonu.

Butylmethoxydibenzoylmetan (USAN název avobenzon) s maximem absorpce λ_{\max} při 357 nm je v současnosti jednou z nejpoužívanějších molekul absorbujících UVA záření v průmyslu. Molekuly dibenzoylmetanu mají výjimečně vysoké molární absorpční koeficienty a absorbují převážně v oblasti UVA. Molekula podléhá keto–enol tautomerismu (Obrázek 7). Bohužel je tato molekula fotolabilní, a proto je její kombinace s mnoha jinými UV filtry omezená.



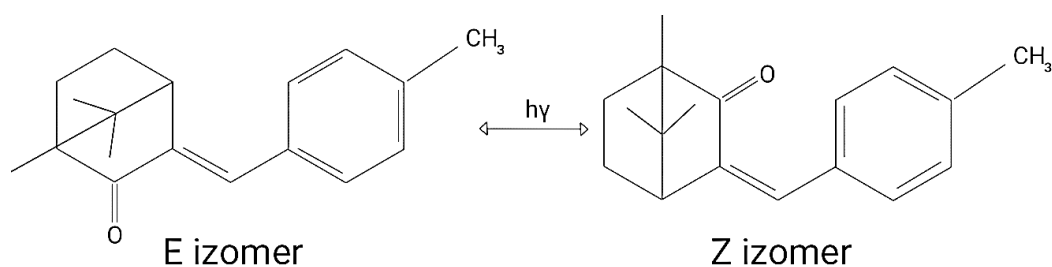
Obrázek 7- Keto–enol tautomerismus butyl methoxy dibenzoylmetanu.

Molekuly cinamátu mají strukturu podobnou salicylátům, aromatická molekula je disubstituována jak skupinou uvolňující elektrony (OCH_3), tak skupinou přijímající elektrony (esterová skupina, která je dále konjugována s dvojnou vazbou). To umožňuje rozšířenou delokalizaci elektronů (Obrázek 8), díky čemuž tyto molekuly absorbují záření v oblasti kolem 310 nm. Cinamáty jsou však náchylné k fotoizomerizaci mezi svými *cis* (*Z*) a *trans* (*E*) izomery. Převládá *E* izomer, který má maximální absorpci λ_{\max} při 310 nm a molární absorpční koeficient $19500 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Působením slunečního záření dochází k vyrovnání poměru *E* a *Z* izomerů přibližně na stejnou úroveň. *Z* izomer má λ_{\max} při 312 nm, ale s výrazně nižším molárním absorpčním koeficientem $10000 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. To vede ke snížení účinnosti cinamátů jako UV filtru.



Obrázek 8- Delokalizace elektronu v molekule cinamátu.

4-Methylbenzyliden kafr (USAN název enzacamem) je spolu s níže popsaným benzofenonem často celosvětově detekován v povrchových vodách a existují studie o jejich toxicitě pro vodní živočichy, ve kterých vykazují i schopnost bioakumulace. Toxicita pravděpodobně spočívá v jejich schopnosti vyvolat oxidační stres a zároveň působit jako endokrinní disruptory, například inhibicí spermatogeneze, narušením osy HPG, ovlivněním štítné žlázy a estrogenového systému, což vede k negativním dopadům na schopnost reprodukce. Tyto látky obecně vykazují vysoké molární absorpční koeficienty a za svou fotostabilitu vděčí reverzibilní fotoizomerizaci. Výsledky studie ukázaly, že při vystavení pouze slunečnímu záření dochází u sloučeniny pouze k fotoizomerizaci z *E* na *Z* (Obrázek 9). Při degradaci kombinací slunečního záření a volného chloru však byla rychlost rozkladu významně zvýšena. Současné působení slunečního záření a volného chloru se vyskytuje nejen ve vodním prostředí, ale také v procesech úpravy vody. V poslední době jsou procesy založené na kombinaci slunečního záření a volného chloru považovány za slibnou alternativu k UV-založeným pokročilým oxidačním procesům, protože tato metoda je energeticky úsporná a nákladově efektivní pro účinnou degradaci různých organických kontaminantů[14; 15].



Obrázek 9- Fotoizomery derivátů kafru.

2.4. Přehled běžně používaných UV filtrů

Tabulka 2- Přehled běžně používaných UV filtrů, upraveno dle Dr. Selda Pelin Kartal – Are Sunscreens Safe?
Publikováno v periodiku *Cosmetic Industry – Trends, Products and Quality Control*.

Typ	Název	Efektivní pro UV spektrum	Organizace, která filtr autorizovala	Nejvyšší povolená koncentrace
Organický	Avobenzon (Butyl methoxy-dibenzoylmethan)	UVA	FDA, ECHA, NMPA	3 % u FDA, 5 % u ECHA, TGA, NMPA
	Kyselina aminobenzoová (kyselina para-amino-benzoová)	UVB	FDA, TGA	15 %
	Bemotrizinol (Tinosorb S)	UVA, UVB	ECHA, TGA	10 %
	Bisoktrizol (Tinosorb M)	UVA, UVB	ECHA, NMPA, TGA	10 %
	Cinoxát	UVB	FDA, TGA	3 % u FDA, 6 % u TGA
	Enzakamin (4-methylbenzyliden kafr)	UVA, UVB	ECHA, NMPA, TGA	4 %
	Homosalát (homomethyl salicylát)	UVB	ECHA, FDA, NMPA, TGA	15 % u FDA, 10 % u ECHA, NMPA, TGA
	Meradimát (menthylantranilát)	UVA, UVB	FDA, TGA	5 %
	Mexoryl SL (benzylidenová kyselina kafrosulfonová)	UVB	ECHA, NMPA, TGA	6 %
	Mexoryl SX (Ekamsule)	UVA, UVB	ECHA, NMPA, TGA	10 %
	Mexoryl XL (DromeTRIZol trisiloxan)	UVA, UVB	ECHA, NMPA, TGA	10 % u TGA, 15 % u ECHA, NMPA
	Mexoryl 400 (methoxypropylamino cyklohexenylidenethoxyethylkyanoacetát)	UVA	ECHA	3 %
	NeoHeliopanAP (bisdisulizol disodný)	UVA	ECHA, NMPA, TGA	10 %
	Oktinoxát (oktylmethoxycinamát)	UVB	ECHA, FDA, NMPA, TGA	7.5 % u FDA, 10 % u ECHA, NMPA, TGA
	Octisalát (oktylsalicylát)	UVB	ECHA, FDA, NMPA, TGA	5 %
	Oktokrylen (Uvinul N539)	UVB	ECHA, FDA, NMPA, TGA	10 %
	Oxybenzon (benzofenon-3)	UVA	ECHA, FDA, NMPA, TGA	6 % u ECHA, FDA, 10 % u NMPA, TGA
	Padimát O (ethylhexyl dimethyl PABA)	UVB	FDA, HC, NMPA	8 %
	Piperazín	UVA	ECHA	
	Uvinul T150 (ethylhexyl triazon)	UVB	ECHA, NMPA, TGA	5 %
Anorganický	Titanium dioxide (TiO ₂)	UVA, UVB	ECHA, FDA, NMPA, TGA	25 %
	Tris-bifenyl triazin (TBPT)	UVB	ECHA, TGA	10 %
	Trolamin salicylát (Aspergel)	UVB	FDA, TGA	12 %
	Oxid zinečnatý (ZnO)	UVA, UVB	ECHA, FDA, NMPA, TGA	25 % u ECHA, FDA a NMPA, bez limitu u TGA

Tabulka 2 je výčtem používaných UV filtrů, které budou v této kapitole dále komentovány. Mezi oblíbené filtry v Evropě patří Tinosorb S a Tinosorb M. Tinosorb S chrání před UVA i krátkým UVB zářením. Stává se tak jednou z nejideálnějších složek pro prevenci poškození slunečním zářením. Stabilizuje také další opalovací filtry a je schválen pro použití v koncentraci až 10 %. Americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) však tuto složku zatím z určitých důvodů neschválil. V Austrálii, Japonsku a Evropě k jejímu schválení došlo, a tak může být v kosmetickém průmyslu využívána. Dalším z modernějších filtrů je Mexoryl SX. Jde o UV filtr, který se celosvětově používá v opalovacích krémech a pleťových vodách. Má schopnost blokovat paprsky UVA1, které způsobují převážně stárnutí pokožky. Přestože se tato složka v Evropě prodává od roku 1993, Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) schválil Mexoryl SX pro společnost L'Oréal až roku 2006. V současné době je Mexoryl SX schválen pro použití u dospělých a dětí starších 6 měsíců. Kombinace s avobenzenem zvyšuje úroveň schopnosti ochrany proti UVA záření u obou složek a zároveň i jejich účinnost a stabilitu.

Tradičnějším a starším filtrem je oxybenzon ((2-hydroxy-4-methoxyfenyl)fenylmethanon), což je derivát benzofenonu, který se také uvádí pod názvem benzofenon-3. Běžně se vyskytuje v širokospektrálních opalovacích krémech, které filtrují jak UVB, tak UVA záření. Konkrétně oxybenzon funguje jako filtr krátkých UVA vln. Jedná se také o jednu z nejběžnějších složek, která se nachází ve většině opalovacích krémů na americkém trhu, a to v koncentracích až 6 %. Tato složka byla zakázána na Havaji poté, co studie zjistily, že tato složka přispívá k bělení korálů, čímž působí ničení korálových útesů a škodí životnímu prostředí. Z těchto ekologických důvodů se mnoho lidí rozhodlo výrobky obsahující oxybenzon vyřadit z běžně používaných výrobků, místo toho hledají ekologičtější varianty opalovacích krémů, které jsou šetrnější k životnímu prostředí.

Vliv chemických látek na náš život je důležité téma a poslední dobou přibývá studií, které zkoumají vliv složek opalovacích krémů na zdraví člověka. Byla provedena studie, která zjistila, že naše kůže absorbuje některé složky opalovacích krémů, jednou z nich je právě oxybenzon. Výzkumy ukazují, že oxybenzon použitý samostatně, tedy mimo směs s jinými látkami, může vykazovat některé potenciální negativní zdravotní účinky. Problémem zjištění je, že UV filtry jsou téměř vždy používány v směsích. I nenarozené lidské plody a děti bývají tomuto filtru vystaveny, protože tato látka byla nalezena i v lidském mléce a může se dostávat přes hematoencefalickou bariéru. Dlouhodobé vystavení vyvíjejícího se organismu směsi chemikálií obsažených v UV filtrech, které mohou působit jako endokrinní disruptory nebo neurotoxiny, by mohlo mít důsledky pro jeho zdraví v dospělosti [16]. Zpráva

Centra pro kontrolu a prevenci nemocí o expozici lidí environmentálními chemikáliím ukázala, že přibližně 97 % testovaných osob mělo v moči přítomný oxybenzon. Novější metaanalýza z roku 2023 ukázala, že Evropané jsou vystaveni zdánlivě nízké průměrné koncentraci oxybenzonu, přesto nalezneme mírné koncentrace látek v moči populace, část populace ve vyšších percentilových pásmech expozice může být i přesto ohrožena [17]. Též bylo zjištěno ovlivnění nádorových onemocnění, to však neznamená, že by látka přímo nádory způsobovala [18]. V roce 2008 byla publikována jedna z prvních studií, která implikovala, že oxybenzon má negativní dopad na korály, způsobuje jejich bělení a úhyn při koncentracích 33 a 50 částic na milion (ppm). Další výzkum, publikovaný v roce 2015, identifikoval oxybenzon jako fototoxickou, genotoxickou látku a narušitele skeletálního endokrinního systému u korálů. Zároveň byl oxybenzon označen za jednoho z nejčastějších alergenů v opalovacích krémech [19]. To vyvolalo zvýšený zájem o bezpečné opalovací krémy, výsledky ale nenaznačují, že by lidé měli omezit používání opalovacích krémů, je však vhodná zvýšená opatrnost ohledně použitých filtrů.

Oblíbeným a silným UVB filtrem je oktinoxát. Kombinace oktinoxátu s avobenzenem poskytuje vynikající univerzální ochranu proti spálení a stárnutí pleti. Tato složka je v přípravcích povolena až do koncentrace 7,5 %, ale opět je oktinoxát zakázán na Havaji z důvodu ekologických rizik pro korálové útesy. Posledním zmíněným v této části práce je avobenzon, který se běžně používá k blokování všech UVA paprsků a uvádí se, že je ve fyzikálních opalovacích krémech nestabilní. Přirozeně se tato složka při vystavení světlu destabilizuje. Aby se proti tomuto jevu bojovalo, často se kombinuje s dalšími složkami (jako je například mexoryl). V mnoha zemích se avobenzon používá v kombinaci s oxidem zinečnatým a titaničitým, což jsou fyzikální filtry. Ve Spojených státech však tato kombinace není povolena. Přestože se nachází v širokospektrálních opalovacích přípravcích a často se kombinuje s dalšími sloučeninami, avobenzon ztrácí 50 až 90 % své filtrační schopnosti během několika hodin po vystavení světlu. V USA považuje Úřad pro kontrolu potravin a léčiv tuto složku za bezpečnou, ale omezuje její koncentraci pro používání v opalovacích přípravcích na 3 % [4; 20].

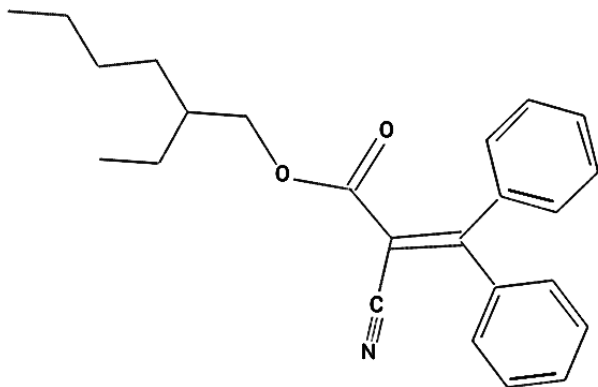
Studie prokázaly, že právě v oblasti UVA může docházet k významnému poškození – včetně tvorby časově opožděného poškození DNA, tedy ne přímému, konkrétně tvorbě cyklobutanových pyrimidinových dimerů (CPD), oxidačnímu stresu a aktivaci markerů fotostárnutí. Dosavadní fotoprotekce však v tomto spektrálním rozsahu selhává, což potvrzují i dřívější výzkumy ukazující, že současné formulace nejsou schopny tomuto poškození zabránit.

BDBP (bis-(diethylaminohydroxybenzoyl benzoyl)piperazin) je organický UV filtr se schopností filtrovat i v oblasti viditelného světla vyvinutý společností BASF Grenzach GmbH (Německo), který byl nedávno schválen Evropskou komisí (EK) a Vědeckým výborem pro bezpečnost spotřebitele (SCCS). Tento filtr se do opalovacích přípravků přidává jako organický pigment ve vodné disperzi s velikostí částic přibližně 75 nm. Má maximální absorpci v oblasti přechodu mezi UV a viditelným světlem ($\lambda_{\max} = 394 \text{ nm}$) a byl navržen za účelem posílení ochrany vůči UVA záření a modrému světlu.

Oxidační stres má negativní dopad na zdraví pokožky. Reaktivní formy kyslíku (ROS) mohou poškozovat klíčové makromolekuly, jako jsou proteiny, DNA a lipidové membrány. Oxidace DNA je spojována s mutacemi a rozvojem nádorových onemocnění. Nové studie navíc prokázaly souvislost mezi expozicí viditelnému světlu a oxidací proteinů, která následně snižuje schopnost opravy DNA. ROS jsou také považovány za činitele podílející se na expresi metaloproteináz (MMP) a procesu fotostárnutí. Jednou ze strategií prevence oxidačního poškození je přidávání antioxidantů do opalovacích přípravků, nicméně jejich účinnost *in vivo* dosud nebyla jednoznačně prokázána [21].

2.4.1. Oktokrylen

Alternativní názvy: 2-ethylhexyl 2-kyano-3,3-difenylakrylát; a další, sumární vzorec je $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{NO}_2$ (Obrázek 10). Molární hmotnost má $361,5 \text{ g mol}^{-1}$. Oktokrylen je sloučenina diarylmetanu. Je to žlutá velmi viskózní kapalina nerozpustná ve vodě. Oktokrylen je sloučenina diarylmetanu. Je to žlutá velmi viskózní kapalina nerozpustná ve vodě. Oktokrylen je běžná složka opalovacích prostředků, která se používá k ochraně pleti před škodlivými UV paprsky. V přípravcích obsahujících oktokrylen se často nachází i benzofenon jakožto nečistota, je to totiž výchozí materiál používaný při syntéze oktokrylenu. Zároveň v přípravcích může oktokrylen degradovat na benzofenon [22]. Oktokrylen se používá v různých tělových přípravcích nejen pro dosažení potřebného ochranného faktoru proti slunci, ale také pro ochranu samotných přípravků před degradací UV zářením. Kromě toho zvyšuje fotostabilitu dalších UV filtrů, například avobenzonu, a tím zajišťuje širší spektrum ochrany. V poslední době však byl oktokrylen označen za látku s potenciálním rizikem narušení endokrinního systému. Rovněž se zvyšuje počet případů kontaktních a fotokontaktních alergických reakcí, což vedlo k jeho zařazení mezi nově se objevující alergeny. Navzdory tomu zůstává cennou složkou díky své synergické funkci ve fotoprotekci. Evropská agentura pro chemické látky (ECHA) průběžně hodnotí bezpečnostní profil oktokrylenu, stejně jako u všech látek registrovaných v kosmetice podle evropské legislativy [23].

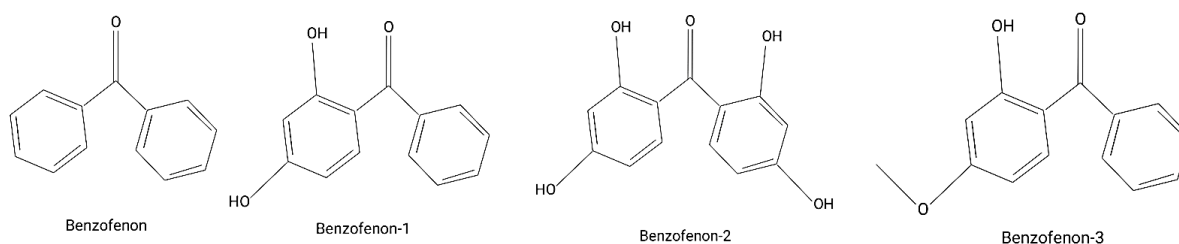


Obrázek 10- 2D struktura oktokrylenu.

Oktokrylen se, jak již bylo zmíněno často kombinuje s avobenzonem, další běžnou složkou opalovacích přípravků, kterou lze často najít na seznamu ingrediencí. Díky své účinnosti je schválen k použití v kosmetice a produktech péče o pleť po celém světě, přičemž jeho koncentrace bývá obvykle limitována na maximálně 10 až 12 %. Použití oktokrylenu však není omezeno pouze na opalovací krémy na obličej a tělo – nachází se také v celé řadě dalších výrobků, jako jsou laky na vlasy, oleje na opalování, kondicionéry nebo make-up a jeho nejruznější alternativy [24].

2.4.2. Benzofenon

Benzofenon je nejjednodušší zástupce skupiny benzofenonů. Jedná se o sloučeninu, která vzniká z formaldehydu nahrazením obou atomů vodíku fenylovými skupinami. Působí jako fotosenzibilizační látka a je také rostlinným metabolitem. Ve svém nejnižším excitovaném tripletovém stavu je benzofenon silně elektrofilní sloučeninou. Díky této vlastnosti sehrává klíčovou úlohu v celé řadě fotochemických reakcí. Uplatňuje se nejen jako důležitý meziprodukt, ale také jako univerzální hostitelský materiál ve fosforeskujících organických světelně vyzařujících diodách (OLED) a jako iniciátor při syntéze pokročilých nanomateriálů, které nacházejí využití jako heterogenní katalyzátory v různorodých aplikacích. Znalost elektrochemických vlastností molekul je zásadní v oblasti koordinační chemie, protože elektronové vlastnosti ligandů obvykle ovlivňují reaktivitu kovu, ke kterému se vážou. Benzofenon se na kovy váže prostřednictvím atomu kyslíku a v případě 2-hydroxybenzofenonu prostřednictvím dvou kyslíkových atomů. Kinetika a mechanismus elektrochemické redukce benzofenonu v různých rozpouštědlech byly v uplynulých letech předmětem zájmu řady výzkumníků. Tento proces vedl k objevu prvního známého radikálového aniontu, jenž se využívá jako redukční činidlo v přípravné chemii [25].



Obrázek 11- Struktura benzofenonu, benzofenonu-1, benzofenonu-2 a benzofenonu-3.

Benzofenon je organická sloučenina. Některé jeho deriváty, jako například oxybenzon a dioxybenzon (Obrázek 11), se používají v opalovacích krémech jako ochrana proti UV záření. Zároveň slouží jako inhibitory, které chrání polymery a pigmenty před degradací, například v plastech, obalových materiálech, skle, textilu a dalších materiálech. Syntetické i přírodní benzofenony byly spolu s dalšími novými chemickými sloučeninami identifikovány v rámci průlomového výzkumu v oblasti medicínální chemie. Tyto látky vykazují široké spektrum biologických účinků, včetně protirakovinné aktivity (zejména při léčbě rakoviny prsu a prostaty) a dále působí protizánětlivě, antimikrobiálně a antivirotický.

Benzofenon je organická sloučenina se vzorcem $(C_6H_5)_2CO$, běžně označovaná zkratkou Ph_2CO . Patří do skupiny benzofenonů – organických látek obsahujících ketonovou skupinu navázanou na dvě fenylové skupiny. V přírodě se vyskytuje například v ovoci, včetně hroznů. Benzofenon se používá jako dochucovadlo a v organické chemii slouží jako důležitý stavební blok, přičemž je základním zástupcem diaralketonů. V oblasti fotochemie je známý jako účinný fotosenzibilizátor – téměř se 100% výtěžkem přechází ze singletového do tripletového stavu, kde vzniklý diradikál snadno váže atom vodíku z vhodného donoru a vytváří ketyllový radikál. Kromě toho byl benzofenonu přisuzován i protizánětlivý účinek.

Benzofenon působí toxicky jako inhibitor cholinesterázy, konkrétně acetylcholinesterázy (AChE). Inhibitory cholinesterázy potlačují aktivitu enzymu acetylcholinesterázy, který má zásadní úlohu v nervovém systému. Tento enzym rozkládá neurotransmitter acetylcholin na nervosvalových spojích, čímž umožňuje uvolnění svalů a ukončení nervového signálu. Pokud je enzym blokován, acetylcholin se hromadí, signál se nepřetržitě přenáší a dochází k nekontrolovaným svalovým kontrakcím. Výsledkem může být nadměrné slinění, slzení, křeče svalů, a ve vyšších dávkách i smrt [26].

2.5. Bezpečnostní aspekty používání opalovacích krémů

Každodenní používání opalovacího krému se ukázalo jako účinné při snižování výskytu rakoviny kůže a ochraně před předčasným stárnutím pokožky. Proto opalovací krémy dlouhodobě přitahují značnou pozornost jak ve vědecké sféře, tak i mezi širokou veřejností. Je

důležité si uvědomit, že lidé s různou barvou pleti mají odlišnou citlivost na UV záření [6]. Chemická složitost směsí opalovacích krémů brání výzkumníkům v adekvátním modelování jejich dopadů na životní prostředí. Možnost antagonistických účinků mezi kombinovanými UV filtry a neaktivními složkami ve složení výrobku snížila toxicitu každého testovaného výrobku s ohledem na předpovědi založené na toxicitě každého jednotlivého UV filtru. Lze vyvodit závěr, že komplexní interakce směsí mají potenciál výrazně ovlivnit toxicitu UV filtrů, proto by studie, které se snaží modelovat hrozby, jež pro životní prostředí představuje kontaminace opalovacími přípravky, měly zahrnovat úvahy o vlivech složek opalovacích přípravků i mimo UV filtry. Vzhledem k nesčetným chemickým interakcím, které se mohou vyskytovat v prostředí s komplexními profily kontaminace, nemusí být další používání testů jednotlivých UV filtrů k modelování kontaminace opalovacími krémy reprezentativní pro výsledky v životním prostředí. Pokud chceme pochopit dopady kontaminace opalovacích krémů na životní prostředí pomocí testů jednotlivých chemických látek, je zapotřebí dalšího výzkumu, aby bylo možné porozumět interakcím mezi aktivními a neaktivními složkami opalovacích krémů [27].

Nežádoucí reakce na používání opalovacích krémů mohou být např. kontaktní dermatitida, alergická dermatitida, fototoxické a fotoalergické reakce, a to zejména na obličeji, přední části krku a hřbetech rukou. Závažnost klinické reakce částečně závisí na rozsahu použití krému. Studie prokázala, že aktivní složky čtyř komerčně dostupných opalovacích přípravků (avobenzon, oxybenzon, oktokrylen a ekamsul) mohou způsobovat vyrážku, milia, otok rtů, svědění, popraskané rty a podráždění očí. V období pandemie COVID-19, kdy bylo nošení roušek pro zdravotníky povinné, bylo upozorněno na to, že opalovací krémy mohou působit jako iritanty a vyvolávat kontaktní dermatitidu kvůli jejich chemickému složení. Kromě toho mohou měnit kožní mikroflóru a pH pokožky, což může zhoršovat stávající dermatózy, jako je atopická dermatitida, a přispívat ke vzniku bakteriální folikulitidy. Pravidelné používání opalovacích krémů na obličej může být problematické také kvůli podráždění očí, přičemž stále chybí dostatek produktů určených přímo k ochraně očního okolí. Proto je důležité dbát na složení a účinnost přípravků, jelikož při správné formulaci s použitím organických nebo nízcé rizikových složek mohou mít výrazné benefity [28].

Opalovací krémy však nepředstavují riziko jen pro uživatele, ale i pro životní prostředí. V tomto odvětví existuje riziko nejen u organických, ale i anorganických UV filtrů. Anorganické UV filtry pocházející z opalovacích krémů jsou často rozptýleny, agregovány, rozpouštěny ve vodě a usazují se v sedimentech. Mají tendenci být absorbovány a bioakumulovány organismy, což způsobuje nepříznivé účinky na různé organismy ve vodním prostředí. Tyto účinky jsou přímo

ovlivněny různými environmentálními faktory, což vede k odlišnému chování a toxicitě. Zejména při rekreačních aktivitách v horkých dnech se může velké množství opalovacích krémů přímo uvolnit do mořské vody, ale pro používání těchto přípravků v pobřežních oblastech dosud existuje jen velmi málo specifických doporučení [13].

2.6. Analytické metody pro stanovení oktokrylenu a benzofenonu

Tato kapitola se věnuje popisu analytických metod aplikovaných pro stanovení dvou UV filtrů, oktokrylenu a benzofenonu, jejichž analýza byla hlavním předmětem této diplomové práce. Obsah UV filtrů v kosmetických výrobcích ovlivňuje jejich účinnost. To znamená, že je nezbytné provádět analytickou kontrolu formulací opalovacích krémů. Koncentrace UV filtrů nesmí překročit legislativou stanovené limity, aby byla zajištěna bezpečnost spotřebitelů. Všechny tyto důvody podtrhují potřebu důkladné analýzy produktů obsahujících UV filtry. Existuje mnoho metod, které lze použít pro jejich stanovení, přičemž některé jsou v praxi preferovány více než jiné. Níže jsou stručně popsány nejčastěji používané metody.

Při stanovení UV filtrů se používají spektroskopické metody, a to buď jako samostatné metody, nebo jako detekční nástroje po separaci UV filtrů pomocí jiných analytických technik, jako je například HPLC. UV-Vis spektrometrie je analytická technika, jejíž princip spočívá v tom, že molekuly absorbují světlo určité vlnové délky, čímž dochází k excitaci jejich elektronů na vyšší energetické hladiny. Míra této absorpce je měřena jako absorbance, která je přímo úměrná koncentraci látky podle Lambertova-Beerova zákona [29; 30].

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie je analytická metoda používaná k analýze jednotlivých složek zkoumaného vzorku. Je to jedna z nejpoužívanějších chromatografických technik používaných pro kvalitativní i kvantitativní stanovení UV filtrů v kosmetických produktech. Princip metody spočívá v separaci složek vzorku, které se pohybují s mobilní fází uvnitř chromatografické kolony. Separace je založena na jejich interakci se stacionární fází. Následovně je stanoveno množství nebo koncentrace na základě plochy retenčního píku. Preferovanou metodou pro separaci UV filtrů je chromatografie na reverzních fázích, což znamená, že se používá kolona s oktadecyl modifikovaným silikagelem jako stacionární nepolární fáze a mobilní fáze je polární, např. methanol nebo acetonitril. Mnohem méně se používá separace na normálních fázích s polárním silikagelem a nepolárním rozpouštědlem jako hexan, ethylacetát nebo aceton. Teplota v koloně má pak přímý dopad na retenční čas některých UV filtrů a tím i na jejich separaci, a proto její změna může být užitečná pro zlepšení rozlišení mezi koelujícími sloučeninami [29; 31].

Tenkovrstvá chromatografie (TLC) je metoda používaná k separaci jednotlivých sloučenin na základě jejich afinity k polární stacionární fázi. Mobilní fázi tvoří nepolární směs rozpouštědel. TLC byla dříve převážně využívána k účelům izolace a identifikace sloučenin. Po seškrábnutí skvrn z destičky je možné měření IR a UV spekter a kvantifikace pomocí gravimetrických a fotometrických metod, dnes již však máme běžně dostupné modernější metody analýzy [29; 30; 31].

Plynová chromatografie a vysokoúčinná kapalinová chromatografie v kombinaci s hmotnostní spektrometrií (GC-MS, HPLC-MS) jsou nejběžnější metody, které umožňují přesné stanovení UV filtrů ve vzorcích vody. Obsah benzofenonů ve vzorcích z vodného prostředí se vyskytuje ve stopových množstvích, a proto je před jejich chromatografickou analýzou nutný krok zakoncentrování. K tomuto účelu se nejčastěji využívají běžné techniky přípravy vzorku, jako je kapalinově-kapalinová extrakce (LLE) a extrakce na pevné fázi (SPE). Dále se uplatňují také mikroextrakční techniky, například mikroextrakce na pevné fázi (SPME), mikroextrakce s jednou kapkou, disperzní kapalinově-kapalinová mikroextrakce (DLLME), sorpční extrakce pomocí míchané tyčinky (SBSE), mikroextrakce pomocí sorbentu (MEPS) a sorpčně-disperzní extrakce pomocí míchané tyčinky (SBSD μ E). Používají se také techniky jako disperzní mikroextrakce na pevné fázi ((DI) μ -SPE), sorpční extrakce na textilní fázi (FPSE) a extrakce za zvýšeného tlaku (PLE) [32]. Plynová chromatografie je analytická metoda, která se často pro stanovení UV filtrů v kosmetických produktech nepoužívá, protože většina těchto sloučenin má vysoký bod varu a nesplňuje tak běžná kritéria, jako je volatilita (prchavost) a termostabilita, které jsou pro tuto metodu nezbytné. Existují však studie, které popisují využití plynové chromatografie pro identifikaci a kvantifikaci ionizovatelných UV filtrů. V těchto případech může být plynová chromatografie použita ve spojení s detektorem hmotnostní spektrometrie nebo s plamenovým ionizačním detektorem (FID) [29].

Elektrochemické techniky nejsou pro stanovení UV filtrů typické, přesto však mohou být využity. K tomuto účelu lze použít voltametrii s využitím skelné uhlíkové elektrody, rtuťové filmové elektrody anebo epoxid-uhlíkové kompozitní elektrody [29].

Pro stanovení oktokrylenu byla již v minulosti vyvinuta adsorpčně katodická stripping voltametrická metoda založená na square wave voltametrii (SWV) pro stanovení jak samostatně, tak současně s 2-hydroxy-4-methoxybenzofenonem a oktylmethoxycinamátem. Tyto voltametrické experimenty byly prováděny ve směsi 0,04 mol·l⁻¹ Britton-Robinsonova pufru a ethanolu (80:20, v:v), přičemž jako pracovní elektroda byla použita HMDE. Navrženou

metodu je možné úspěšně použít pro analýzu komerčních opalovacích přípravků obsahujících oktokrylen samostatně i v kombinaci s výše uvedenými molekulami. Tato voltametrická metoda umožňuje rychlé, jednoduché a spolehlivé stanovení těchto UV filtrů s minimálními nároky na předúpravu vzorku [33].

Další studie optimalizovala metodu SWV pro detekci oktokrylenu v kosmetických produktech. Nejlepších výsledků bylo dosaženo použitím Brittonova-Robinsonova pufru pro vytvoření pH 6.0 s ethanolem. Odezva pro oktokrylen byla lineární v rozmezí od $5,0 \cdot 10^{-6}$ do $8,0 \cdot 10^{-5}$ mol/l ($R^2 = 0,9995$), s mezí detekce $2,8 \cdot 10^{-6}$ mol/l. Metoda vykázala vysokou citlivost a byla úspěšně aplikována na vzorky kosmetických produktů [34].

Ferreira a kol. (2023) vyvinuli voltametrickou metodu pro simultánní stanovení pěti běžných UV filtrů (oktokrylenu, avobenzonu, EHMC, homosalátu a oktisalátu) s využitím skelné uhlíkové elektrody (GCE) modifikované kompozitem tyrosinu a uhlíkových nanotrubic (Tyr-CNT/GCE). Tato modifikace výrazně zlepšila elektrochemické vlastnosti elektrody, zejména vodivost a selektivitu k analyzovaným látkám. Optimalizace podmínek voltametrie byla provedena s použitím Brittonova-Robinsonova pufru při pH 3. Při měření byly využity optimalizované parametry SWV. Výsledné LOD byly $0,06 \mu\text{mol/l}$ pro oktokrylen a $0,09 \mu\text{M}$ pro benzofenon-3 a LOQ $0,21 \mu\text{mol/l}$ a $0,29 \mu\text{mol/l}$ ve stejném pořadí. Linearity bylo dosaženo v rozmezí $0,276\text{--}1,38 \mu\text{mol/l}$ u oktokrylenu a $0,483\text{--}2,19 \mu\text{mol/l}$ u benzofenonu. Výsledky ukazují, že elektrochemická detekce může představovat citlivou, přesnou a ekologicky šetrnou alternativu k tradičním chromatografickým metodám při určování UV filtrů v kosmetických produktech [35].

Molekulárně imprintované polymery (MIP) představují perspektivní přístup k selektivní detekci organických UV filtrů, jako jsou benzofenon-3 a oktokrylen. Ve studii z roku 2025 byly navrženy a charakterizovány dva elektrochemické senzory využívající MIP vrstvy, připravené elektropolymerací polyanilinu na zlaté elektrodě. Tyto senzory vykazují vysokou selektivitu k cílovým analytům díky přítomnosti specifických vazebných míst vytvořených otiskem molekul benzofenonu a oktokrylenu. Opakovatelnost výroby senzorů byla ověřena pomocí cyklické voltametrie, kde senzory vykazovaly konzistentní oxidační proudy. Tyto senzory tak vykazují potenciál pro monitorování UV filtrů ve složitých maticích, jako jsou třeba odpadní vody, s mezí detekce 6 nmol/l pro benzofenon-3 a 16 nmol/l pro oktokrylen a výtěžnostmi 77 % a 101 %, což spadá do akceptovaného rozmezí evropských směrnic, a představují atraktivní alternativu k chromatografickým metodám díky jejich jednoduchosti, selektivitě a možnosti

použití i v prostředí mimo laboratoř, na rozdíl od tradičních chromatografických metod, které vyžadují komplexní laboratoře a časově náročné analýzy [10].

V neposlední řadě stojí za zmínku pro stanovení spektroelektrochemie, studie z roku 2022 se zaměřuje na elektrochemické chování UV filtrů, včetně oktokrylenu a benzofenonu-3 pomocí voltabsorptometrie, která kombinuje absorpční a elektrochemická měření. Využívá měření změn v absorbanci při elektrochemické oxidaci nebo redukci látek, což umožňuje detekci a analýzu molekul v reálném čase. Při aplikaci potenciálu na elektrodu dochází k změnám v absorpčním spektru analyzovaných látek, což se využívá k určení jejich koncentrace nebo bližšímu pochopení jejich reakčních mechanismů. Bylo zjištěno, že změny absorbance byly nejvýznamnější při pozitivních potenciálech pro benzofenon-3. U oktokrylenu nebyly zaznamenány změny v absorbanci při změnách potenciálu. Při kvantifikaci ve standardních roztocích v rozmezí 10–40 $\mu\text{mol/l}$ byly výsledky pro benzofenon-3 mírně nadhodnocené, s průměrnými výtěžnostmi 120 % a 122 %. Oktokrylen měl průměrnou výtěžnost 98 %, avšak zároveň vykazoval nejvyšší směrodatnou odchylku. I přestože hodnoty benzofenonu byly mírně nadhodnoceny, korelace mezi vypočtenými a nominálními koncentracemi byla dobrá $R^2 = 0,92$. Naopak oktokrylen vykazoval nejnižší přesnost v přítomnosti dalších UV filtrů s $R^2 = 0,88$ a sklonem přímky 1,29. Přesto lze výsledky považovat za použitelný orientační údaj, neboť průměrná relativní chyba činila 25,8 %. Metoda vykazovala velmi dobrou shodu s referenční metodou HPLC. Metoda by mohla být v budoucnu užitečná pro detekci UV filtrů v reálných vzorcích [36].

Většina studií na stanovení benzofenonu se zabývá stanovením jeho substituovaných forem, tedy benzofenon-1, benzofenon-2, benzofenon-3, neboli oxybenzon, benzofenon-4 anebo benzofenon-6. Existuje velmi málo studií zabývajících se analýzou benzofenonu.

Při studii na elektrochemické chování benzofenonu bylo zjištěno pomocí cyklické voltametrie, že redukce benzofenonu v iontových kapalinách probíhá ve dvou krocích. Reverzibilita druhého kroku je silně ovlivněna dostupností protonů, ať už z vody nebo z kationtu samotné iontové kapaliny, zatímco standardní redoxní potenciál je na typ iontové kapaliny relativně necitlivý. Reverzibilní potenciály pro redukci benzofenonu byly nezávislé na typu iontové kapaliny, což naznačuje buď slabé interakce s iontovými kapalinami nebo relativně nevýznamné rozdíly v míře tvorby iontových párů. Zároveň se ukázalo, že redukční píky se při vyšší koncentraci vody výrazně posouvají směrem k méně záporným potenciálům, což znamená, že redukce benzofenonu probíhá snáze [37]. Benzofenon může být elektrochemicky

redukován na radikálový anion a dále na dianion. Oba meziproducty mohou reagovat s vodou nebo mezi sebou, což ovlivňuje tvar a intenzitu voltametrických křivek. Přítomnost vody v rozpouštědle může vést ke ztrátě zpětné oxidace, protože produkty těchto reakcí nejsou zpětně elektroaktivní. Reakční mechanismy, které při elektrochemické detekci mohou nastat je zaprvé redukce benzofenonu na radikálový anion, tzv. ketylový radikál. Tento krok je elektrochemicky vratný. Radikálový anion je však velmi reaktivní a může podléhat dalším vedlejším reakcím, zejména dimerizaci nebo reakci s vodou za vzniku alkoholového derivátu, čímž se snižuje koncentrace původního produktu a tím i intenzita zpětného oxidačního píku. Při přijetí druhého elektronu vzniká dianion, který může rovněž reagovat s molekulami vody, což opět vede ke vzniku nevratného produktu. Tyto chemické reakce mohou být příčinou menšího oxidačního píku při zpětném skenování. Poznatky ze studie z roku 2016 ukazují, že volba rozpouštědla a elektrolytu zásadně ovlivňuje kvalitu voltametrických měření a umožňuje spolehlivější kvantitativní analýzu benzofenonu [38].

Již v roce 2008 vyšla studie na stanovení benzofenonu-3 vedle dalších UV filtrů pomocí kapkové rtuťové elektrody s použitím surfaktantu CTAB. Metoda se ukázala jako rychlá, přesná a snadno proveditelná, náklady na výsledky jsou nízké. Podle všeho se jedná o první studii, která se zabývá simultánním stanovením tří UV filtrů za použití tenzidu a polarografie. Ve srovnání s referenční metodou HPLC poskytovala elektrochemická metoda srovnatelné nebo dokonce přesnější výsledky. Měření bylo prováděno v rozsahu 1–7 $\mu\text{mol/l}$, limit detekce byl 0,51 $\mu\text{mol/l}$ a limit kvantifikace 1,7 $\mu\text{mol/l}$. Linearita byla vysoká s hodnotou $R^2 = 0,999$.

Stanovení benzofenonu-3 bylo zkoumáno na tištěných uhlíkových elektrodách. Redukční cyklické voltamogramy organické sloučeniny obsahující karbonylovou skupinu poskytly cenné informace a srovnání elektrochemické redukce funkční skupiny C=O u modelových molekul různé velikosti a rozpustnosti. Měření probíhala v argonové atmosféře. Studie potvrdila vhodnost použití tištěných elektrod pro elektroanalytická měření v nevolatilních iontových kapalinách [39].

V roce 2019 vyšla práce, ve které stanovení koncentrace UV filtrů v extrakčních roztocích bylo provedeno pomocí zlaté elektrody a GCE, přičemž obě elektrody byly modifikovány tenkou vrstvou rtuti. Jednou z analyzovaných látek byl benzofenon-3, jehož výsledný detekční limit byl 0,47 mg/l a kvantifikační limit 1,56 mg/l, výtěžnosti se u reálných vzorků pohybovali v rozmezí 83–98 % [40].

Studie z roku 2019 studuje nemodifikované a MWCNTs-modifikované uhlíkové pastové elektrody pro stanovení benzofenonu. Ukazuje, že modifikovaná elektroda z uhlíkové pasty ve spojení s tenzidem může být využita k demonstraci zvýšené citlivosti elektrochemické odezvy UV filtru benzofenonu-4 a to až na limit detekce 3,3 nmol/l. Vliv změny experimentálních parametrů – pH roztoku, rychlosti skenování a typu tenzidu na elektrochemickou odezvu vyvinuté elektrody prokázal, že elektrochemická analýza je vhodná pro stanovení tohoto opalovacího činidla v kosmetických přípravcích bez nutnosti předúpravy vzorku, a to s uspokojivými výsledky. Klíčovými výhodami modifikovaného senzoru, které přispívají k jeho přesnosti a citlivosti při kvantifikaci benzofenonu, jsou nízké meze detekce a kvantifikace, srovnatelné s metodami dříve uváděnými v literatuře. Obnovitelný povrch této elektrody z ní dělá ekonomicky výhodný senzor, který může nahradit nákladné a sofistikovanější metody, jako je HPLC, s použitím cenově dostupného vybavení [41].

Studie z roku 2014 měla za cíl stanovit benzofenon-3 na borem dopované diamantové elektrodě pomocí adsorpční stripping voltametrie za přítomnosti CTAB. Oxidace benzofenonu-3 byla nevratná, přičemž výška vrcholu rostla s koncentrací boru. Cetyltrimethylamoniumbromid zlepšil citlivost, posunul potenciál maxima píku na méně pozitivní hodnoty a zlepšil mez detekce o řád na 0,1 $\mu\text{mol/l}$ [42].

Použití uhlíkových nanočástic funkčně modifikovaných tosylovými skupinami umožňuje účinnou extrakci polyaromatických fenolů, jako je triklosan a benzofenon-3, z vodných roztoků. Ve starší studii z roku 2008 byly prozkoumány dvě metody: extrakce na nanočástice následovaná depozicí na elektrody a přímá adsorpce na imobilizované nanočástice. Metody byly navrženy s lineárním rozsahem přibližně 1–120 $\mu\text{mol/l}$. Obě metody poskytly uspokojivé detekční limity, přičemž nejúčinnější byla metoda s imobilizovanými nanočásticemi na pyrolytickém grafitu, kde byla odhadovaná mez detekce zlepšena na cca 5 $\mu\text{mol/l}$ oproti druhé metodě, kde se mez detekce pohybovala okolo 10 $\mu\text{mol/l}$. Vlastnosti byly testovány za pomoci adsorpční stripping voltametrie, tato technika zahrnovala adsorpci analytu na povrch elektrody následovanou jeho redukcí při záporném potenciálu, což umožnilo kvantitativní detekci [43].

V práci z roku 2024 byl vyvinut nanokompozit využívající vícevrstvý grafen jako vodivou matici (V-POSS:MLG). V-POSS:MLG byl fyzikálně-chemicky charakterizován za účelem potvrzení své struktury a schopnosti podporovat elektrochemickou výkonnost při detekci 2-hydroxybenzofenonu. Senzor na bázi V-POSS:MLG byl optimalizován a bylo dosaženo

detekčního limitu 0,2 nmol/l a kvantifikačního limitu 0,66 nmol/l s lineárním dynamickým rozsahem 1 nmol/l–100 μ mol/l. Dále byl senzor testován na reálných vodních vzorcích, kde prokázal svou schopnost detekce, a jeho přesnost a spolehlivost byla ověřena metodou HPLC-UV [44].

V jiné práci ze stejného roku byla provedena detekce benzofenonu-3 a avobenzonu pomocí uhlíkové pastové elektrody modifikované iontovou kapalinou na bázi pyridinia. Měření cyklickou voltametrií naznačilo, že nevratná elektrochemická reakce je v případě obou UV filtrů řízena adsorpcí. Dále byla metoda optimalizována. Lineární kalibrační křivka pro benzofenon-3 byla získána v rozmezí 0,05 až 0,89 μ g/ml při pH 3,0. Vyhodnocený limit detekce činil 0,015 μ g/ml a směrodatná odchylka byla nižší než 1,5 % [45].

Z uvedených studií a výsledků vyplývá, že elektrochemické techniky, přestože nejsou standardně využívány pro analýzu UV filtrů, představují účinnou, citlivou a ekonomicky výhodnou alternativu k tradičním metodám, jako je HPLC-UV nebo HPLC-MS/MS. Často používanou technikou je square wave voltametrie (SWV), přičemž použití elektrod je různé od skelné uhlíkové elektrody (GCE), přes rtuťové kapkové elektrody až po pokročilé materiály jako uhlíkové nanotrubičky, grafenové kompozity či molekulárně imprintované polymery (MIP), zároveň je časté i použití nejrůznějších modifikací.

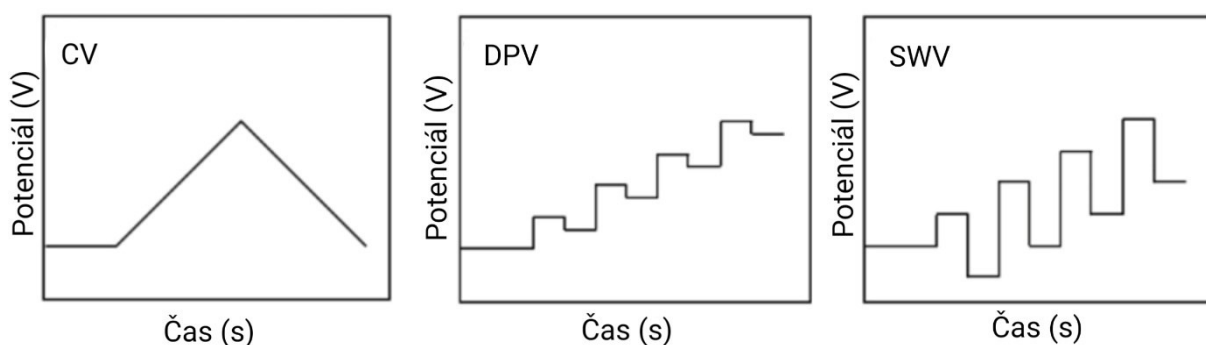
U benzofenonu a jeho derivátů, zejména benzofenonu-3 i oktokrylenu byla prokázána dobrá linearita, citlivost a selektivita elektrochemických metod, a to i ve složitých maticích, jako jsou kosmetické produkty nebo odpadní vody. Například detekční limity se u moderních senzorů pohybují v řádu nanomolů až mikromolů, což odpovídá požadavkům na environmentální i kosmetickou analýzu.

2.6.1. Popis vybrané analytické metody – Voltametrie

Voltametrie je analytická metoda zkoumající a vyhodnocující vztah mezi proudem a potenciálem získaným na dané pracovní elektrodě. Pokud je jako pracovní elektroda použita kapající rtuťová elektroda, metoda se nazývá polarografie. Rok 2022 byl 100. výročí objevu polarografie českým chemikem Jaroslavem Heyrovským. Za tento objev a jeho přínos vědě obdržel v roce 1959 Nobelovu cenu za chemii. Během uplynulého století došlo díky rozvoji mikroelektroniky a výpočetní techniky k téměř revolučním změnám v konstrukci a využití elektrochemických zařízení, což výrazně ovlivnilo i samotnou voltametrii. Vedle těchto technických pokroků se voltametrie, zejména od počátku 21. století, začala intenzivně

uplatňovat také v neurovědách, protože oxidačně-redukční děje jsou zásadní pro životní pochody. Stala se tak mocným nástrojem při studiu biomolekul s fyziologickým a genetickým významem v mozkové tkáni. [46]

Elektroanalytické pulzní techniky se široce používají pro studium různých analytů, např. kontaminantů jako jsou pesticidy, hormony, léky a další. Square wave a diferenční pulzní voltametrie jsou nejběžnější pulzní techniky používané pro kvantifikaci látek v různých matricích pomocí různých elektrodových materiálů [47]. Voltametrie je nejčastěji používanou metodou při elektrochemických měřeních a spočívá ve zkoumání, jak se proud na elektrodě mění v závislosti na aplikovaném potenciálu během elektrochemické reakce. Podle různých režimů řízení potenciálu lze voltametrii rozdělit na lineární voltametrii (LSV), cyklickou voltametrii (CV), diferenční pulzní voltametrii (DPV) a square wave voltametrii (SWV) (Obrázek 12). LSV spočívá v aplikaci lineárně se měnícího potenciálu mezi pracovní a pomocnou elektrodou. Tato metoda se však obvykle používá pouze pro kvalitativní analýzu, protože je náchylná k vlivu celé řady faktorů. Hlavní rozdíl mezi CV (cyklickou voltametrií) a LSV spočívá v řízení potenciálu – u LSV se jedná o jednosměrný lineární průběh potenciálu, zatímco u CV se používá cyklická změna potenciálu. Reverzibilitu elektrochemické reakce lze určit na základě symetrie mezi křivkami. Pro zvýšení citlivosti detekce se v DPV řídí vstupní potenciál nahrazením původního lineárního průběhu pulzním. U SWV se průběh potenciálu skládá ze dvou pulzů v opačných směrech [48].



Obrázek 12– Porovnání elektrochemických metod. Upraveno dle [38].

2.6.2. Validace analytické metody

Validace je aplikovaný přístup k ověření, že je metoda vhodná pro použití jako nástroj kontroly kvality. Cílem každého analytického měření je získat konzistentní, spolehlivá a přesná data. Validované analytické metody hrají klíčovou roli při dosažení tohoto cíle. Analytická metoda se skládá z technik, metodiky, postupu a protokolu. Validace analytické metody zahrnuje stanovení přesnosti (accuracy), preciznosti (precision), limitu detekce (LOD), kvantifikačního

limitu (LOQ), linearity a rozsahu. Výsledky validace metody lze použít ke sledování kvality, spolehlivosti a konzistence analytických výsledků, což je nedílnou součástí každé správné analytické praxe. Validace analytických metod je rovněž vyžadována většinou předpisů a norem kvality, které se vztahují na laboratoře [49].

3. Experimentální část

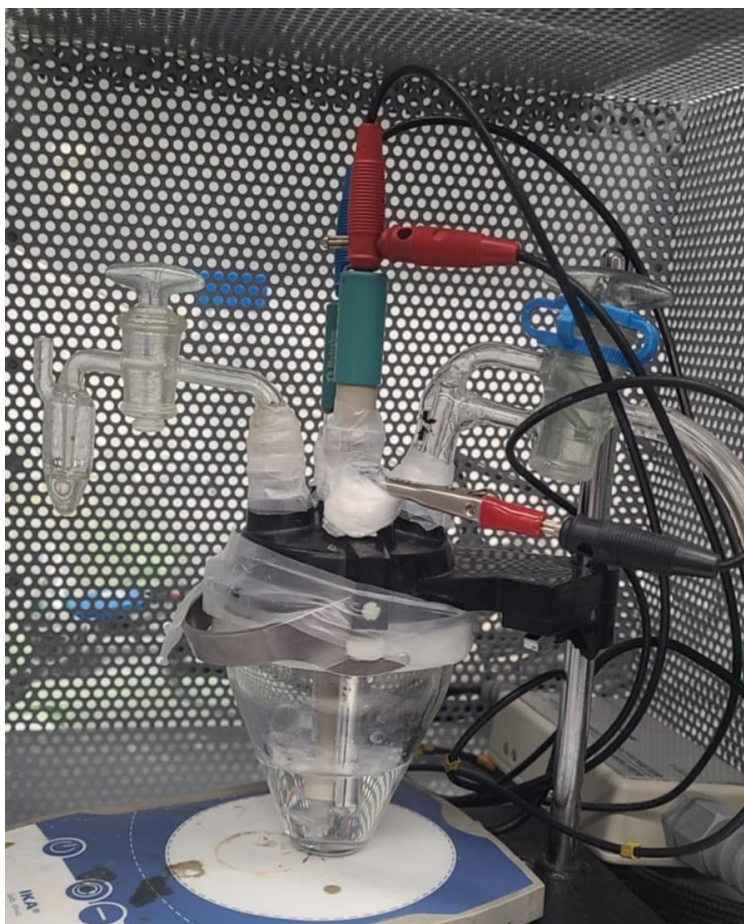
3.1. Chemikálie a materiály

3.1.1. Seznam použitých chemikálií a rozpouštědel

Látka	Výrobce
Ethanol pro analýzu 99,9%	Sigma-Aldrich s.r.o.
Lithium perchlorate 99.99%	Sigma-Aldrich s.r.o.
Cetyltrimethylammonium bromid (CTAB)	Chemapol
Standard oktokrylenu 98%	TCI
Standard benzofenonu 91%	

3.1.2. Seznam použitého vybavení

Přístoj	Výrobce
Elektrochemický analyzátor AUTOLAB PGSTAT30, AUT71586	EcoChemie
Elektrody	Výrobce
Ag/AgCl referentní elektroda, 6.0726.100	Metrohm
Elektroda ze skelného uhlíku, 6.1204.300 GC s držákem 6.1241.060	Metrohm
Platinová elektroda OP-600	Radelkis
Další vybavení: běžné vybavení laboratoře (laboratorní sklo, pipety, špičky atd.).	
Elektrochemická cela byla speciálně upravená pro možnost měření v bezkyslíkatém prostředí viz detaily níže.	



Obrázek 13- Cela upravená pro možnost analýzy v bezkyslíkatém prostředí.

Součástí měřicí cely (Obrázek 13) je dvoucestný ventil pro přívod argonu buď nad vzorek anebo přímo do vzorku pro probublávání k odstranění rozpuštěného kyslíku. Dále speciální tvarovka principiálně podobná sifonu; plyn unikající ven ze vzorku po vytvoření přetlaku uvnitř nádoby uniká ven přes viskózní kapalinu. Díky tomu nedojde k vracení se kyslíku zpět do nádoby. Zároveň je třeba celu dostatečně utěsnit. Bez této úpravy dochází k velkému odpařování ethanolu, a to i o více než 2 g za čtvrt hodiny u 25 ml měřeného roztoku, tedy během 10 min probublávání a samotné analýzy (Tabulka 2). Toto ovlivňuje analýzu, protože po úbytku rozpouštědla dochází k zakoncentrování rozpuštěné látky. Po zavedení upravené utěsněné cely byl již úbytek ethanolu zanedbatelný a pravděpodobně způsoben přenosem vzorku k vahám.

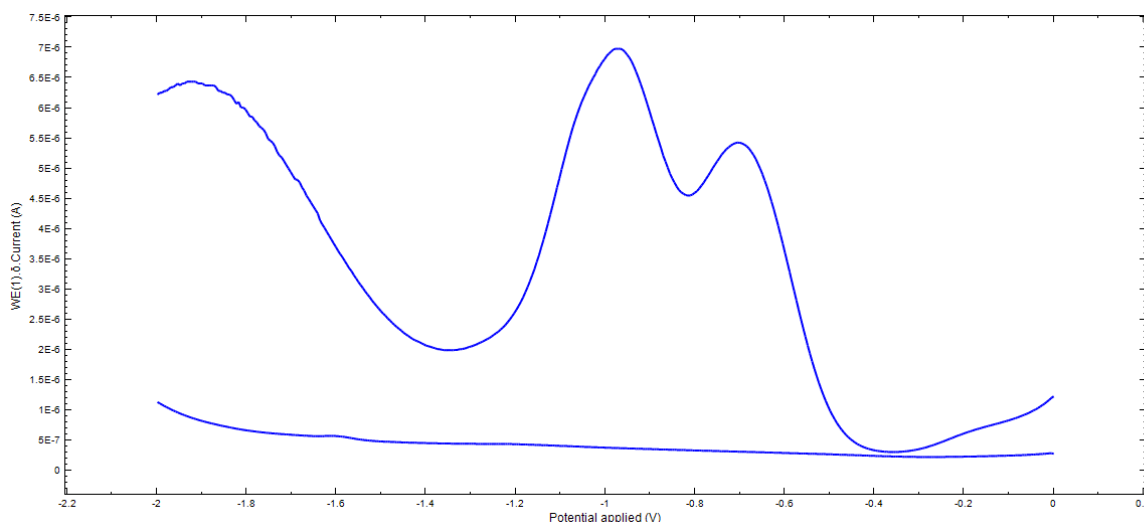
Tabulka 3- Úbytek ethanolu při probublávání v neutěsněné nádobce.

Vážení	Doba probublávání	Navážka (g)	Úbytek (%)
1	0	19,72	—
2	10 minut	17,49	-11,4
3	10 minut	15,84	-9,4
4	10minut	15,14	-4,4

Tabulka 4- Úbytek ethanolu při probublávání v utěsněné nádobce.

Vážení	Doba probublávání	Navážka (g)	Úbytek (%)
1	0	19,75	
2	10 minut	19,65	-0,5
3	10 minut	19,45	-1
4	10minut	19,32	-0,7

V tabulce číslo 3 je znázorněn úbytek váhy při probublávání bez utěsnění nádobky. Celkový úbytek v jednotlivých váženích je značný, pohybující se mezi -11,4 % až -4,4 %. Tabulka číslo 4 obsahuje číselné hodnoty o úbytku váhy po probublání v utěsněné nádobce. Celkový úbytek v jednotlivých váženích je velmi nízký: -0,5 % až -1 %. Utěsněná nádobka významně omezuje ztráty ethanolu při probublávání. To potvrzuje, že těsnění nádoby hraje klíčovou roli při udržení těkavého ethanolu a minimalizuje jeho odpar.



Obrázek 14 - SWV voltamogram blanku před (sken nahoře) a po (sken dole) probublání argonem.

Jak již bylo psáno výše, při elektrochemické redukci výrazně ruší intenzivní redukce kyslíku, který se do vodných i organických roztoků dostává z atmosférického vzduchu. Pro správný průběh analýzy je proto nezbytné před měřením odstranit rozpuštěný kyslík vybubláním inertním plynem. Pro tyto účely byl při analýze použit argon. Pomocí DPV byly naměřeny voltamogramy základního elektrolytu bez a s vybubláním kyslíku (Obrázek 14). Lze vidět, že přítomnost kyslíku se projevuje velkými redukčními signály v pracovním rozsahu potenciálů.

3.2. Postup analýzy

3.2.1. Podrobný popis přípravy standardů

Pro přípravu standardních roztoků byl připraven zásobní roztok o koncentraci 2 mmol l^{-1} . Při přípravě byl použit standard oktokrylenu a benzofenonu. Oktokrylen je vysoce viskózní kapalina, kvůli tomu je její pipetování velice obtížné, proto se pro přípravu roztoků s oktokrylenem osvědčila jako přesnější jeho vážení místo pipetování. $0,074 \text{ g}$ 98% oktokrylenu bylo kvantitativně převedeno do 100 ml baňky a ta doplněna roztokem $0,1 \text{ M LiClO}_4$ v 99,9% ethanolu po rysku. Stejný postup byl dodržen i pro přípravu zásobního roztoku se surfaktantem: 100 ml baňka byla doplněna $0,1 \text{ M LiClO}_4$ a 6 mM CTAB v 99,9% ethanolu. Benzofenon je bílá krystalická látka, její příprava proto nenese žádné problémy. Navážka $0,04 \text{ g}$ 91% benzofenonu byla převedena do 100 ml baňky a doplněna roztokem $0,1 \text{ M LiClO}_4$ v 99,9% ethanolu. Stejný postup byl dodržen i pro přípravu zásobního roztoku se surfaktantem: 100 ml baňka byla doplněna $0,1 \text{ M LiClO}_4$ a 6 mM CTAB v 99,9% ethanolu. Postup přípravy zmíněných roztoků LiClO_4 a CTAB je popsán níže v kapitole 3.2.2.

3.2.2. Podrobný popis přípravy vzorků

Vzorky byly bez jakékoliv úpravy naváženy s přesností na 4 desetinná místa. Pro optimální rozpustnost a zároveň zachování vhodné koncentrace pro analýzu se ukázala být vhodná navážka okolo $0,2 \text{ g}$ vzorku pro rozpuštění v 50 ml baňce v $0,1 \text{ M LiClO}_4$ a 6 mM CTAB v 99,9% ethanolu. Konkrétně byly použity navážky $0,0101 \text{ g}$ pro vzorek A, který byl následně převeden do 25 ml baňky, $0,0271 \text{ g}$ pro vzorek B a $0,0392 \text{ g}$ pro vzorek C. Vzorky B a C byly následně kvantitativně převedeny do 50 ml baňky a ta byla naplněna roztokem $0,1 \text{ M LiClO}_4$ v 99,9% ethanolu přibližně ze dvou třetin. Tato směs se rozpouští v závislosti na povaze vzorku; pokud se vzorek nerozpouští pouhým třepáním, je třeba jej rozpustit pomocí ultrazvuku, v takovém případě je však třeba dát zvýšené pozornosti uzávěru baňky. Takto rozpuštěný vzorek již může být v baňce doplněn po rysku opět roztokem $0,1 \text{ M LiClO}_4$ v 99,9% ethanolu. Pro přípravu roztoku $0,1 \text{ M LiClO}_4$ v 99,9% ethanolu byla navážka $2,66 \text{ g LiClO}_4$ do 250 ml baňky.

Pro analýzu se surfaktantem byl postup obdobný: 50 ml baňka však byla doplněna roztokem $0,1 \text{ M LiClO}_4$ a 6 mM CTAB v 99,9% ethanolu. Příprava roztoku se surfaktantem probíhala s navážkou $0,5467 \text{ g CTAB}$ a $2,66 \text{ g LiClO}_4$. Nejprve byla navážka CTAB převedena do 250 ml baňky s malým množstvím ethanolu. Poté byla přidána navážka LiClO_4 a přidán další ethanol, avšak ne tolik, aby sahal po rysku a v něm byl LiClO_4 rozpuštěn. Pro urychlení rozpouštění je

možné roztok lehce zahřát proudem teplé vody, ale před doplněním ethanolem po rysku je nutné nechat roztok vychladnout zpět na laboratorní teplotu. Při rozpouštění obou látek najednou je příprava obtížnější a časově náročnější. Po ustálení teploty a obou látek v roztoku byla baňka doplněna po rysku.

Pro analýzu reálných vzorků byly vybrány tři přípravky, dále označeny jako vzorky A, B a C. Složení jednotlivých vzorků napsané na etiketě bylo následovné:

Vzorek A: voda, oktokrylen, glycerin, C12-15 alkyl benzoát, ethylhexylsalicylát, butyl-methoxydibenzoylmetan, fosforečnan cetyl draselný, myristylalkohol, fenoxylethanol, xanthanová guma, tokoferylacetát, kyselina stearová, kyselina palmitová, kyselina fenylbenzimidazolsulfonová, diethylhexyl butamido triazon, parfém, slída, oxid titaničitý, hydroxid draselný, kaprylhydroxamová kyselina, sklerotium guma, oxid železitý (žlutý), oxid železitý (červený), oxid železitý (černý), arabská guma, žluť SY (barvivo CI 15985).

Vzorek B: voda, oktokrylen, glycerin, alkohol denaturát, butyl-methoxydibenzoylmetan, ethylhexylsalicylát, dibutyladipát, coco-kapryl, tris-bifenyl triazin (nano), undecan, fenylbenzimidazolsulfonová kyselina, diethylhexylbutamidotriazon, tokoferylacetát, triakontanyl pvp, vp/hexadecen kopolymer, tridekan, dietylaminohydroxybenzoylhexylbenzoát, hydroxid sodný, akrylátový/C10-30 alkylakrylátový zesíťovaný polymer, parfém, decylglukosid, xanthanová guma, decylenglykol, karbomer, disodná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové (EDTA), maltodextrin, kaprylylglykol, limonen, alfa-isomethylionon, kaprylhydroxamová kyselina, butylenglykol, disodný fosfát, extrakt z listů čajovníku čínského (*camellia sinensis*), benzylalkohol, tokoferol, olej ze semen slunečnice roční (*helianthus annuus*).

Vzorek C: alkohol denaturát, butylen glykol dikaprát, C12-15 alkyl benzoát, kapryl triglycerid, dibutyladipát, dikaprylkarbonát, butyl-methoxydibenzoylmetan, ethylhexylsalicylát, ethylhexyltriazon, dietylaminohydroxybenzoylhexylbenzoát, kopolymer akrylátů (octylakrylamidu), bis-ethylhexyloxyfenol-methoxyfenyltriazin, glycerin, tokoferol, voda, limonen, linalool, benzylalkohol, alfa-isomethylionon, citronelol, geraniol, ethylbenzoát, methylbenzoát, parfém.

3.2.3. Voltametrické techniky

Při měření v negativní části potenciálového okna pro cyklickou voltametrii byl nastaven rozsah 0,3 V až -1,7 V, při měření v pozitivní části pak -0,3 V až +1,7 V.

Před optimalizací byla všechna měření diferenční pulzní voltametrií prováděna za následujících podmínek: počáteční potenciál 0 V, konečný potenciál až $-2,2$ V (vzhledem k analyzovaným látkám obvykle jen do $-1,7$ V), délka pulzu 50 ms a amplituda 25 mV.

Před optimalizací byla měření pomocí square wave voltametrie prováděna za těchto podmínek: počáteční potenciál 0 mV, konečný potenciál do $-2,2$ V (obvykle však do $-1,7$ V vzhledem k analyzovaným látkám), potenciál kroku 5 mV, amplituda 20 mV a frekvence 25 Hz.

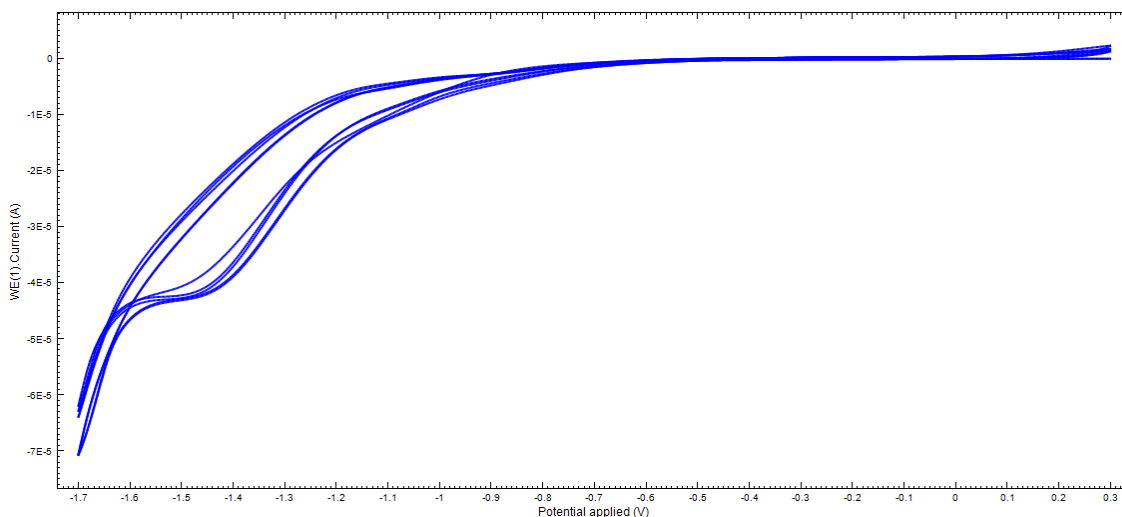
Pokud není v kapitole stanoveno jinak, byla všechna měření prováděna na elektrodě ze skelného uhlíku (GCE).

Všechna měření byla opakována 10x. A směrodatné odchylky zobrazované v grafech jsou vypočítány právě z těchto deseti měření.

3.3. Výsledky

3.3.1. Cyklická voltametrie benzofenonu a oktokrylenu

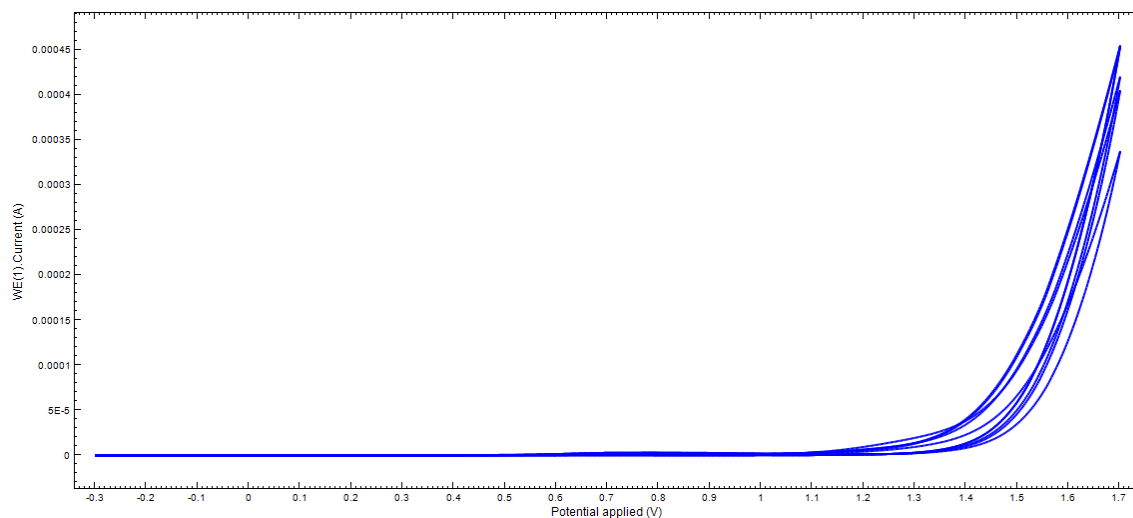
Cyklickou voltametrií zjišťujeme elektrochemické chování látek, jestli se na elektrodě redukují či oxidují a podle charakteru proudových signálů nastavujeme parametry další analýzy. Pro analýzu látek byla zvolena koncentrace $30 \mu\text{mol/l}$ pro oktokrylen i benzofenon.



Obrázek 15- Cyklický voltamogram redukce benzofenonu.

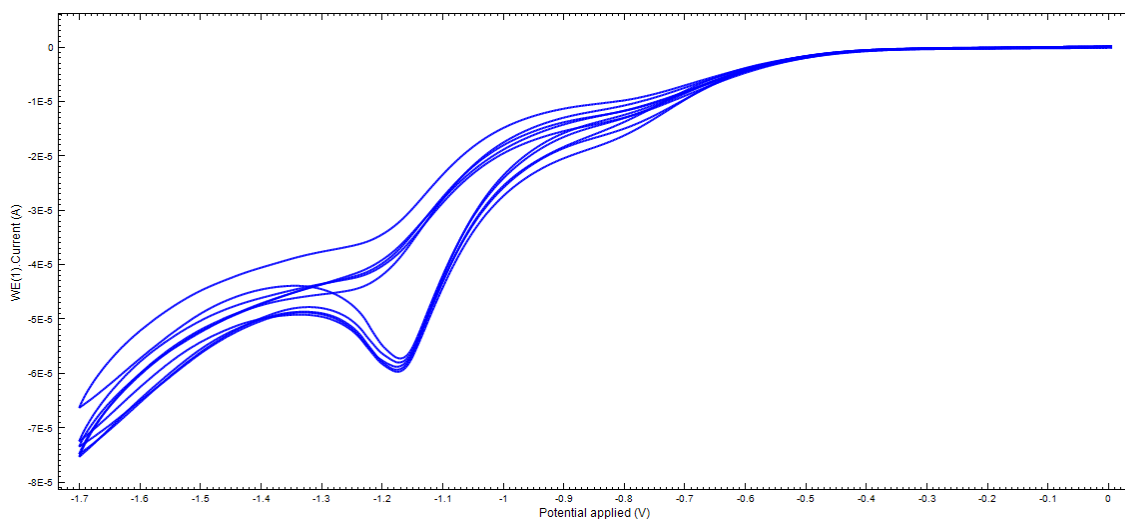
Na voltamogramu zaznamenaném při analýze benzofenonu byl patrný široký redukční pík v rozmezí $-1,3$ až $-1,6$ V, přičemž intenzita signálu rostla s počtem cyklů (Obrázek 15). Absence odpovídajícího oxidačního píku opět potvrzuje ireverzibilní charakter

elektrochemické redukce. Průběh odpovídá redukcí karbonylové skupiny, která je pro benzofenon typická [25].



Obrázek 16- Cyklický voltamogram oxidace benzofenonu.

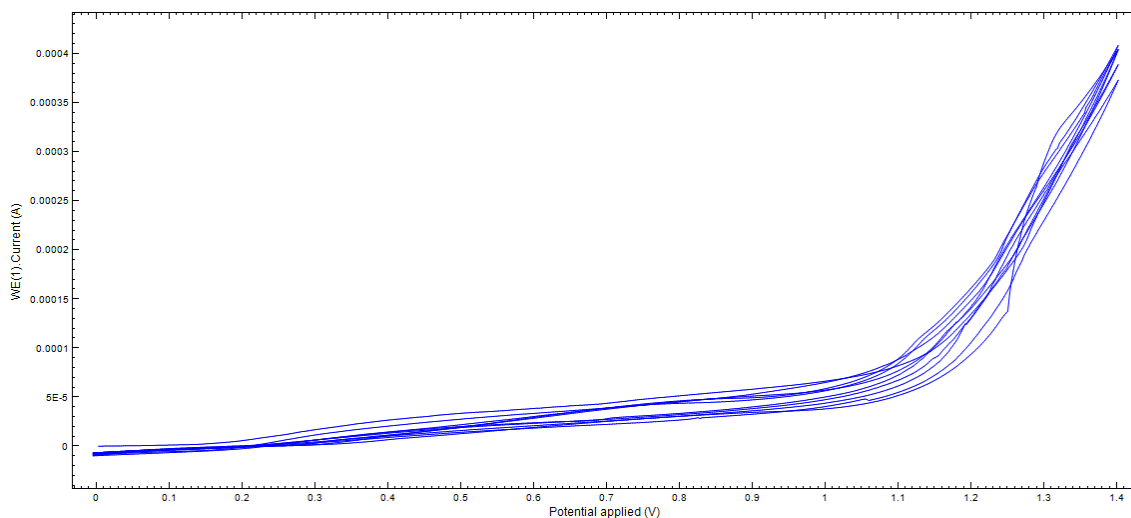
Naopak při kladných hodnotách potenciálu látka nijak nereaguje, není proto možné pro analýzu oxidaci použít (Obrázek 16). Na voltamogramu není patrný žádný pík. Postupný nárůst proudu s cykly může být způsoben interakcí analytu s elektrodou nebo změnami na povrchu elektrody po aplikaci potenciálu.



Obrázek 17- Cyklický voltamogram redukce oktokrylenu.

Na cyklickém voltamogramu je patrná výrazná redukční vlna v oblasti potenciálů přibližně od -1,0 až -1,3 V, která vykazuje rostoucí intenzitu s počtem cyklů (Obrázek 17). Toto chování naznačuje, že dochází k elektrochemické redukcí oktokrylenu na elektrodě. Absence výrazného

oxidačního píku při návratu ke kladnějším potenciálům ukazuje, že reakce je elektrochemicky ireverzibilní.

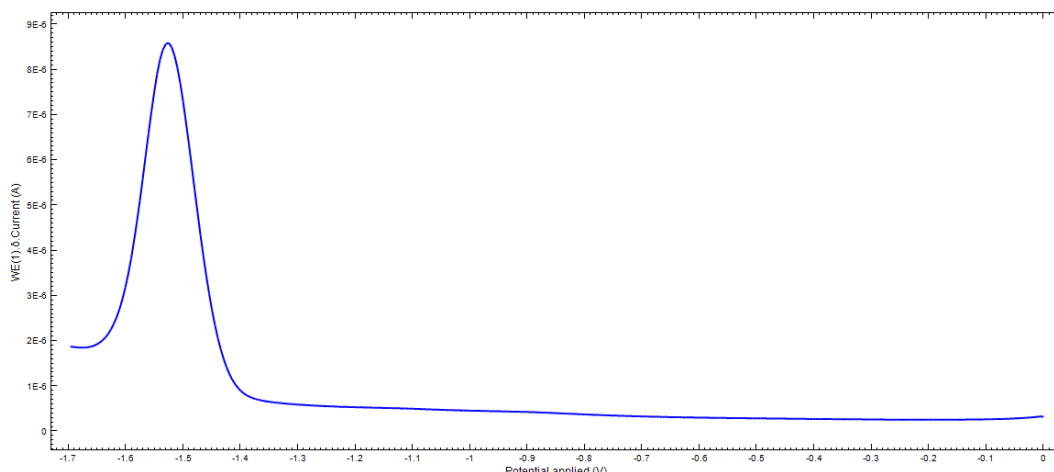


Obrázek 18- Cyklický voltamogram oxidace oktokrylenu.

Při kladných hodnotách potenciálu oktokrylen nijak nereaguje, stejně jako benzofenon, není proto možné pro analýzu oxidaci použít (Obrázek 18). Na voltamogramu není patrný žádný pík.

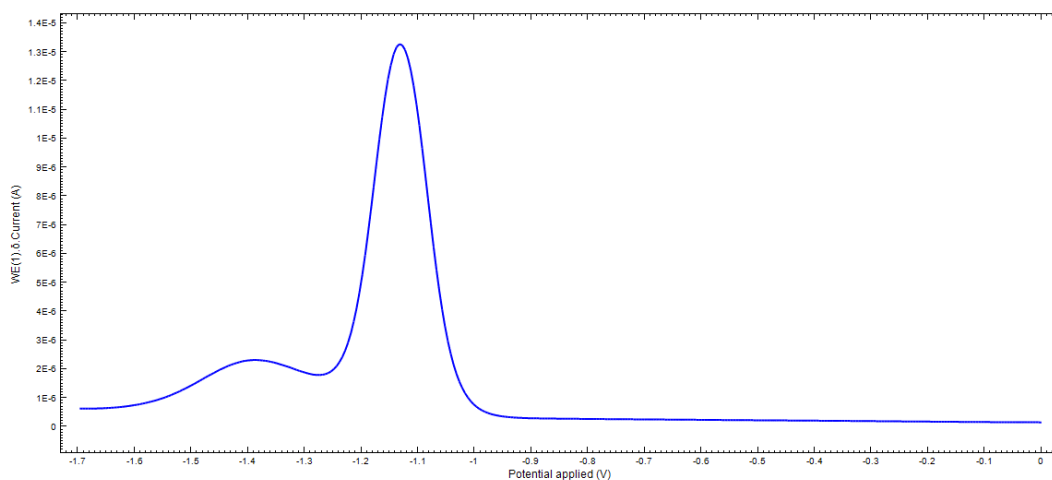
3.3.2. Diferenční pulzní voltametrie benzofenonu a oktokrylenu

DPV měření provedené při koncentraci 30 $\mu\text{mol/l}$ pro obě stanovované látky. DPV benzofenonu poskytovalo jeden výrazný redukční pík. Tento pík se nachází přibližně při potenciálu $-1,55$ V (Obrázek 19).



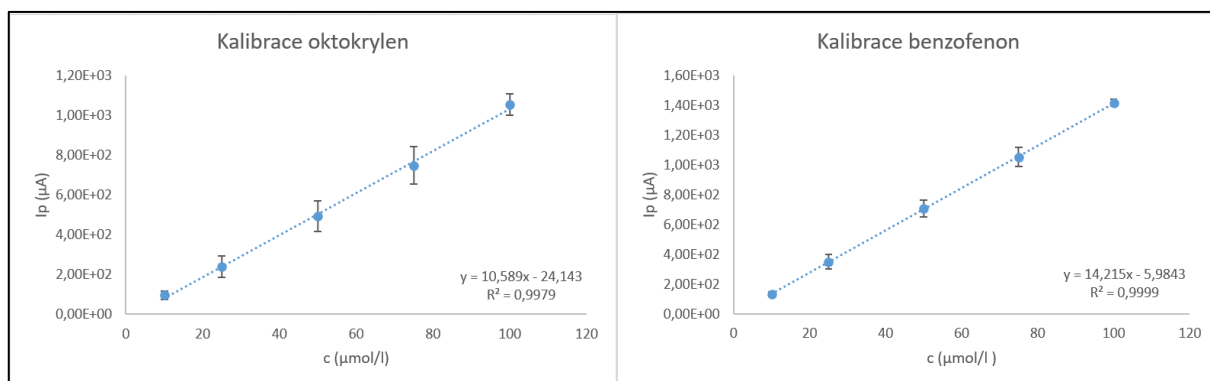
Obrázek 19- DPV voltamogram benzofenonu.

Redukční signál pro oktokrylen se nachází přibližně při potenciálu $-1,15$ V (Obrázek 20). Rozmezí maxim píků je zhruba 400 mV, což umožňuje jejich společné stanovení v jednom roztoku.



Obrázek 20- DPV voltamogram oktokrylenu.

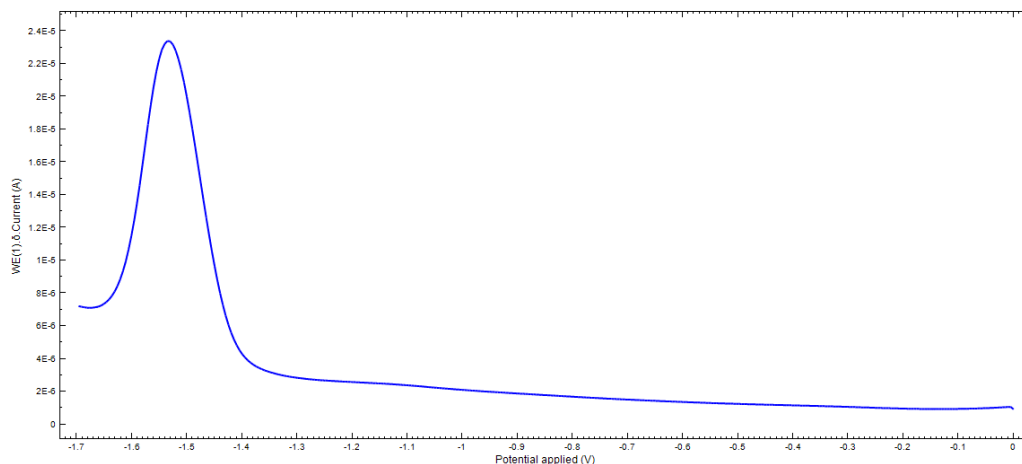
Obrázek 21 zobrazuje dvě kalibrační křivky získané pomocí DPV voltmetrie při základních parametrech v rozmezí koncentrací obou látek 10 – 100 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Kalibrační křivky jsou získány z měření obou látek v roztoku. Obě kalibrační křivky vykazují velmi dobrou linearitu v daném rozsahu koncentrací. To znamená, že elektrochemická metoda použitá v tomto experimentu by byla vhodná pro kvantitativní stanovení oktokrylenu i benzofenonu v těchto koncentračních rozmezích.



Obrázek 21- Grafické znázornění kalibrace na základní parametry DPV podle výšky piků, pro oktokrylen a benzofenon.

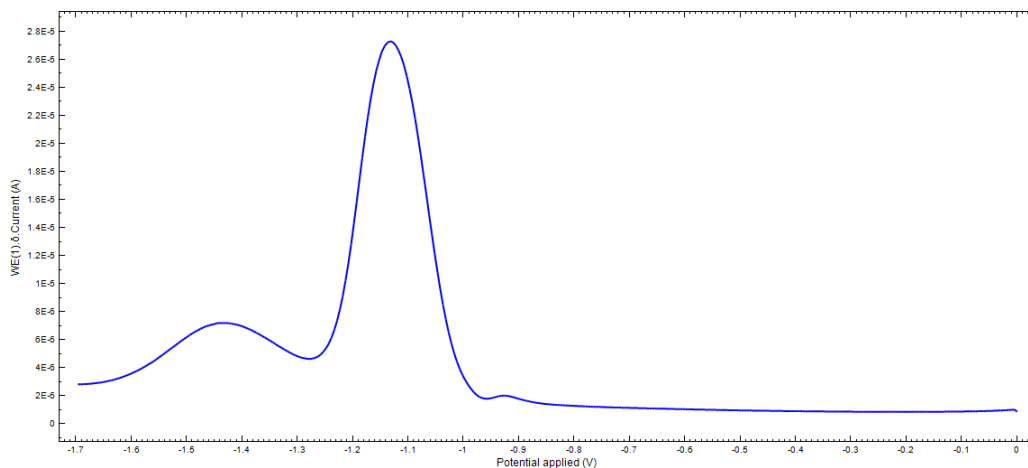
3.3.3. Square-wave voltametrie benzofenonu a oktokrylenu

Měření SWV bylo provedeno stejně jako u DPV při koncentraci 30 $\mu\text{mol/l}$ pro obě stanovované látky. V případě benzofenonu je na záznamu ze SWV voltametrie patrný jeden výrazný a relativně ostrý pík podobně jako u DPV voltametrie. Maximum píku se nachází přibližně při potenciálu $-1,55\text{ V}$ (Obrázek 22).



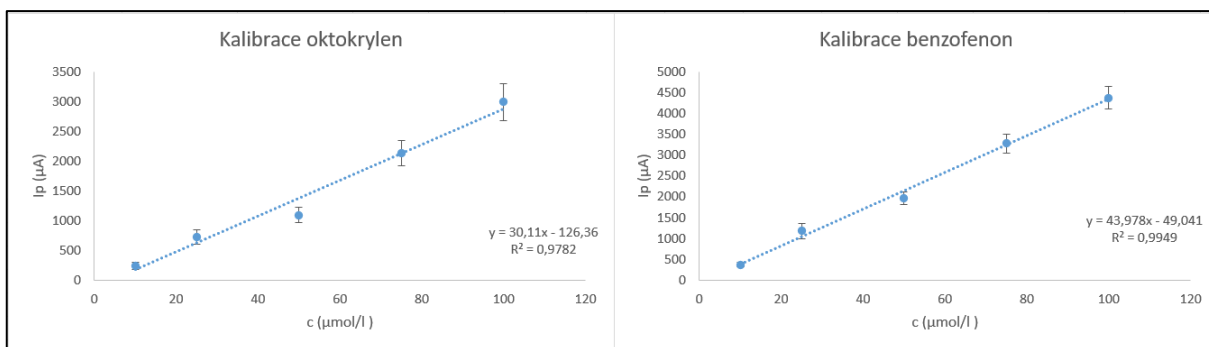
Obrázek 22- SWV voltametrie benzofenonu.

Pro oktokrylen byl při SWV voltametrii zjištěn výrazný pík při potenciálu $-1,15\text{ V}$ a další menší pík s maximem při $-1,45\text{ V}$ (Obrázek 23). Podle umístění píku by mohlo jít o benzofenon, který může vznikat rozkladem oktokrylenu. Tato hypotéza však nebyla dále testována.



Obrázek 23- SWV voltametrie oktokrylenu.

Obrázek 24 zobrazuje dvě kalibrační křivky získané pomocí SWV voltametrie při základních parametrech v rozmezí koncentrací obou látek 10 – 100 $\mu\text{mol l}^{-1}$. Obě složky vykazují dobrou lineární závislost mezi proudem redukčního píku a koncentrací látky.



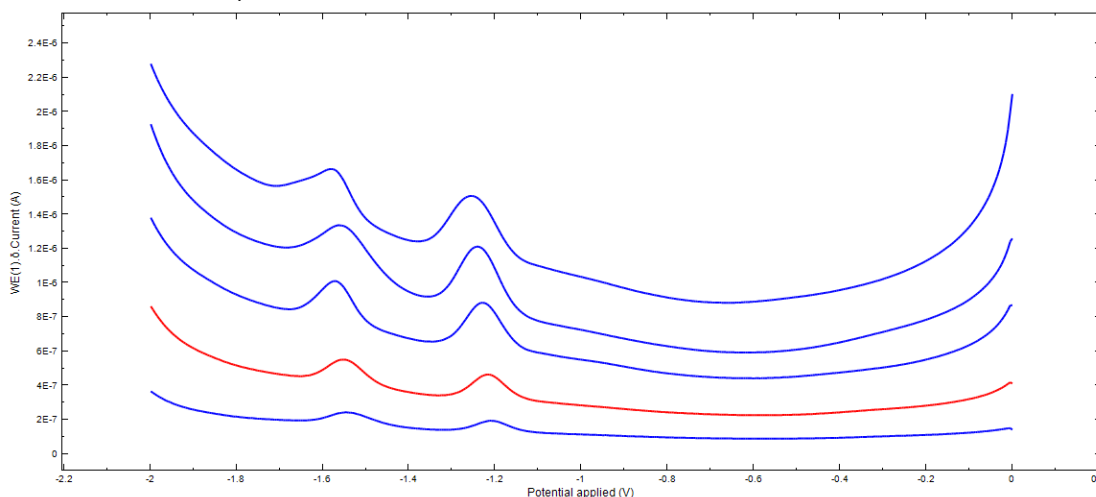
Obrázek 24 -Grafické znázornění kalibrace na základní parametry SWV podle výšky píků, pro oktokrylen a benzofenon.

3.3.4. Optimalizace parametrů voltametrické detekce

Na počátku práce proběhla rešerše tématu. Prvním problémem byla volba vhodného rozpouštědla. Jako vhodné rozpouštědlo byl zvolen ethanol a byla ověřena rozpustnost analyzovaných látek v tomto rozpouštědlu.

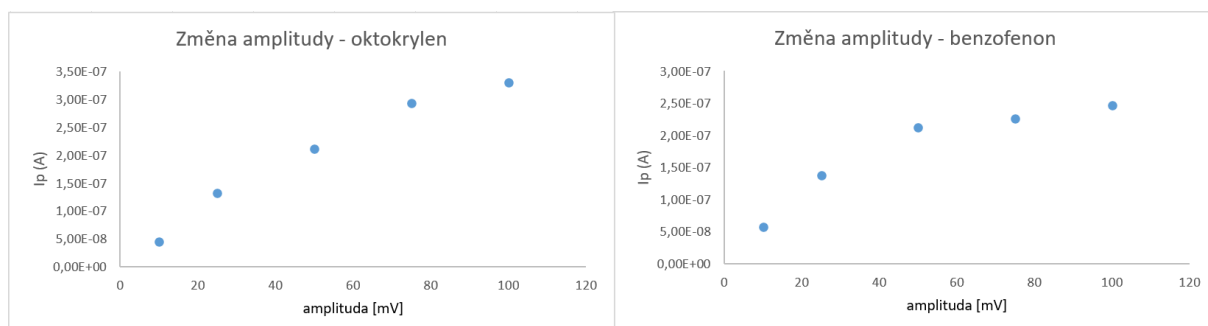
3.3.4.1. Optimalizace parametrů pro DPV

Dále byla provedena optimalizace parametrů DPV pro co největší píky redukce obou látek. Zároveň však stoupá i pozadí, což je nechtěný děj, protože nemusí být možné zaznamenat malé proudové odezvy pro nízké koncentrace. Proto je třeba zvolit takové hodnoty parametrů, aby zvýšení píku bylo dostatečné, avšak nebylo zároveň doprovázeno příliš vysokým pozadím. Současně vzhledem k tomu, že stanovujeme dvě látky vedle sebe, je důležité zvolit parametry výhodný pro obě tyto látky. Pro všechna měření optimalizace DPV byla zvolena nižší koncentrace a to 10 $\mu\text{mol/l}$.



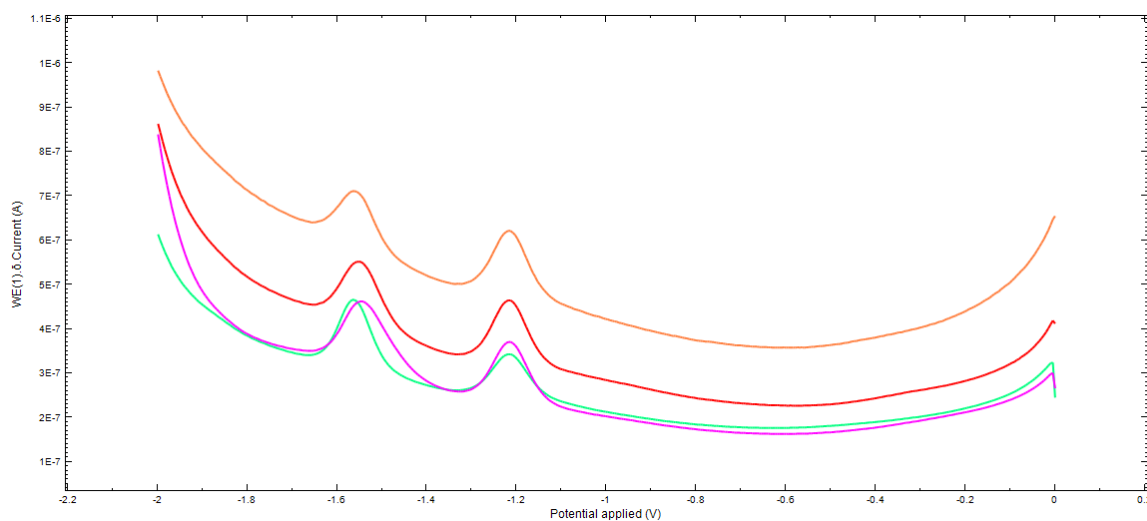
Obrázek 25- DPV voltamogramy po změně amplitudy 10-100 mV pro směs oktokrylenu (-1,2 V) a benzofenon (-1,55 V). Amplitudě 10 mV odpovídá nejnižše položený voltamogram a 100 mV tomu nejvýše položenému. Oranžové označení má amplituda 25 mV, nad ním je 50 mV a 75 mV.

Nejprve byla měněna amplituda pulzu. Na obrázcích 25 a 26 vidíme, že výška píku stoupá nepřímě úměrně k zvyšování amplitudy. Po zohlednění vzrůstu píků na úkor rostoucího pozadí byla zvolena za ideální parametr amplituda 50 mV.

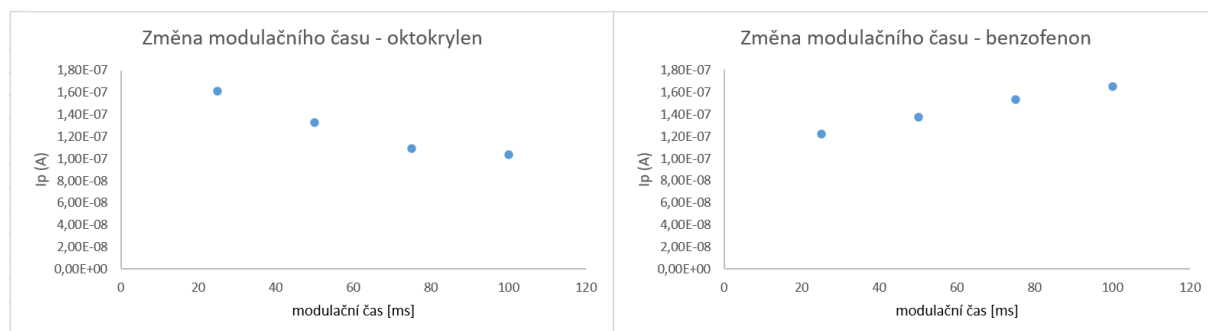


Obrázek 26- Grafické znázornění vlivu změny amplitudy na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.

Další z parametrů k optimalizaci byl modulační čas (doba trvání pulzu). Vzhledem ke klesajícímu pozadí, které vidíme na obrázku číslo 27 a zároveň rostoucí výšce píku u benzofenonu, která je znázorněna na obrázku 28, byl i přes malý pokles výšky píku u oktokrylenu zvolen jako ideální modulační čas 100 ms pro potřeby této analýzy.



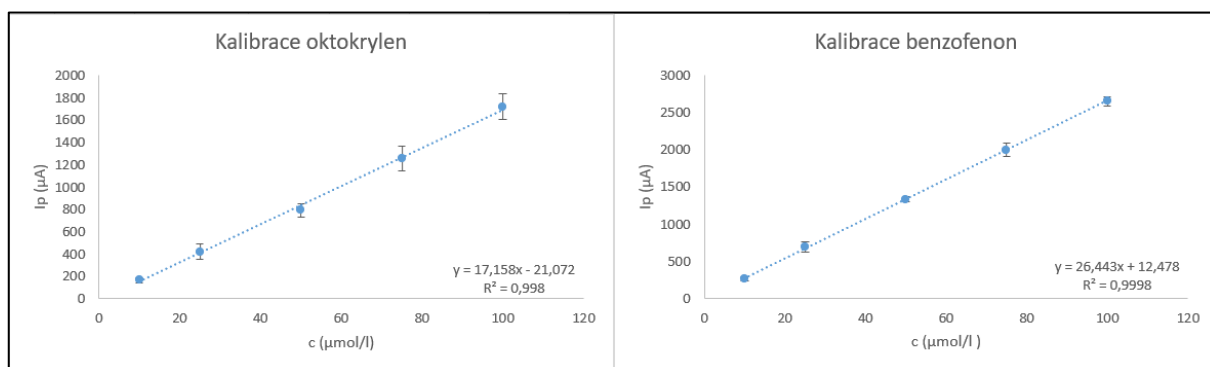
Obrázek 27 - DPV voltamogramy po změně modulačního času 25 ms – oranžová, 50 ms – červená, 75 ms- růžová a 100 zelená barva, pro oktokrylen (-1.2 V) a benzofenon (-1,55 V).



Obrázek 28- Grafické znázornění vlivu změny modulačního času na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.

Z těchto zjištění došlo k nastavení nových parametrů optimálních pro potřeby analýzy DPV, tedy modulační čas 100ms a amplituda 50mV. Z měření s těmito parametry byla vytvořena nová kalibrace, která je na obrázku číslo 29.

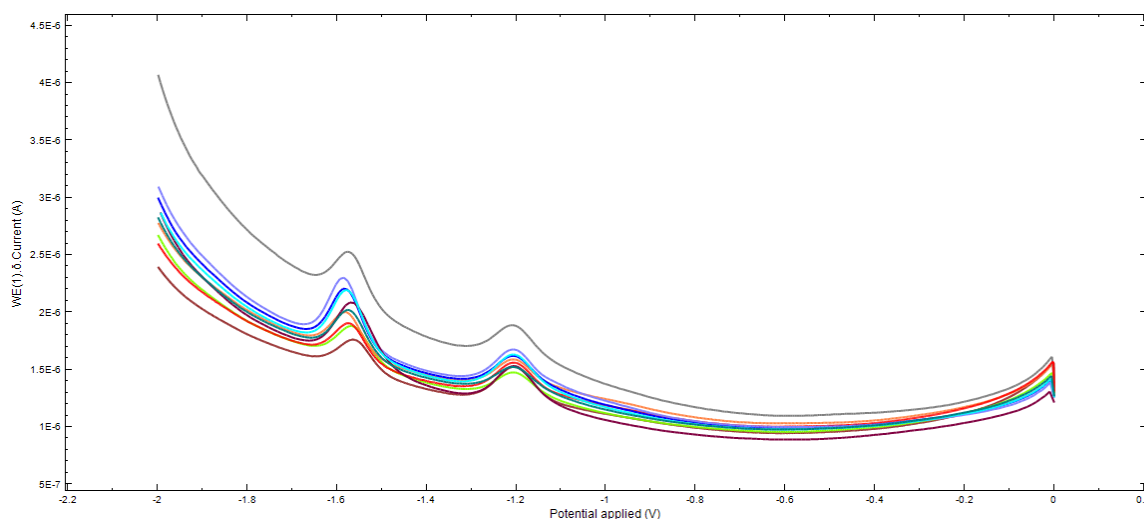
Optimalizace parametrů vedla k výraznému zvýšení citlivosti pro oba analyty (oktokrylen i benzofenon). U benzofenonu je nárůst citlivosti markantnější. Linearita zůstala velmi dobrá až vynikající pro obě látky i po optimalizaci, i když došlo k mírnému snížení hodnoty R^2 . Ohledně přesnosti se zdá být srovnatelná nebo mírně horší u oktokrylenu s optimálními parametry, zatímco u benzofenonu zůstává vysoká.



Obrázek 29- Grafické znázornění kalibrace kalibrace pro optimální parametry DPV podle výšky píků pro oktokrylen a benzofenon.

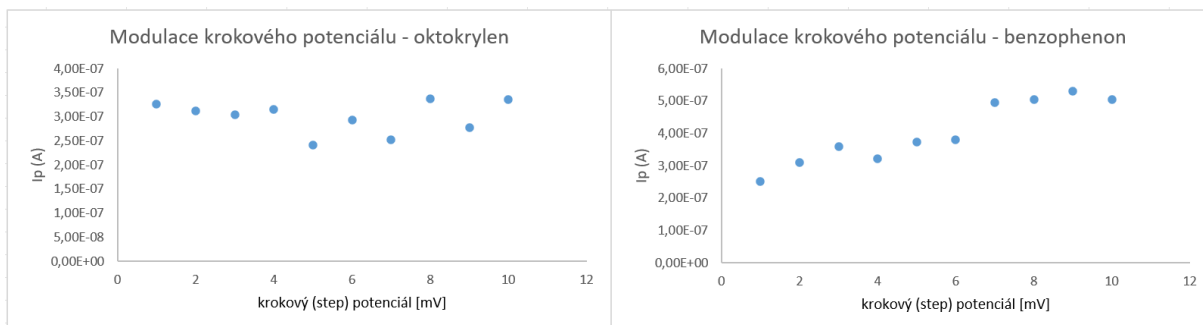
3.3.4.2. Optimalizace parametrů pro SWV

V další části experimentální práce byly optimalizovány parametry SWV voltametrie. Nejprve byl měněn potenciál kroku.



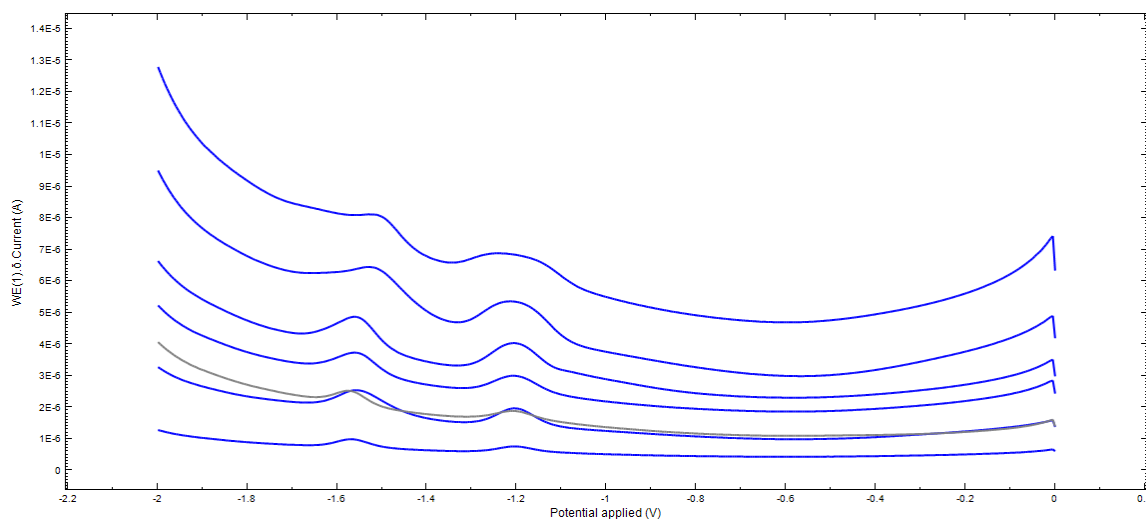
Obrázek 30 -SWV voltamogramy po změně potenciálu kroku 1 mV – vínově červená, 2 mV – sytě rudá, 3 mV – oranžová, 4 mV – svítivě zelená, 5 mV – šedá, 6 mV – tmavě zelená, 7 mV – svítivě tyrkysová, 8 mV – tmavě modrá, 9 mV – blankytně modrá a 10 mV – tmavě fialová pro oktokrylen (-1.2 V) a benzofenon (-1,55 V).

Vzhledem k ne tak významnému zvýšení pozadí (Obrázek 30) a zároveň zvětšení píku benzofenonu (Obrázek 31) byl jako ideální parametr potenciálu kroku zvolena hodnota 9 mV. Stejně jako u DPV byla pro optimalizaci SWV parametrů použita koncentrace 10 $\mu\text{mol/l}$.

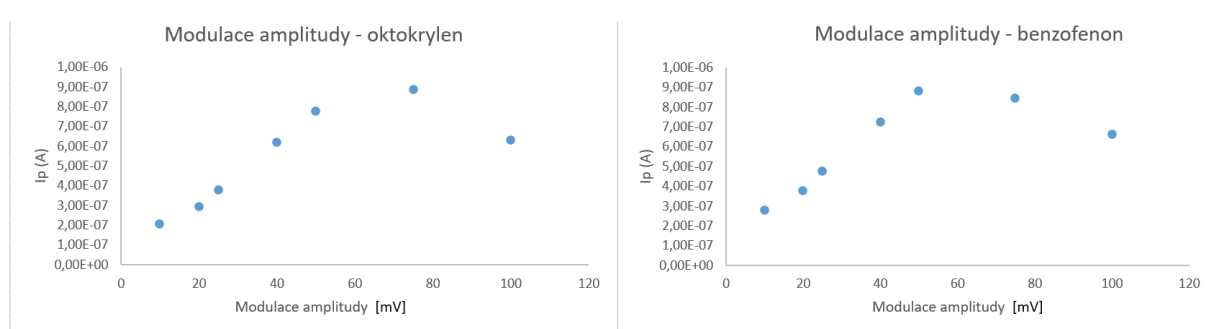


Obrázek 31- Grafické znázornění vlivu změny potenciálu kroku na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.

Dále byla optimalizována modulace amplitudy (amplituda pulzu). Zvyšující se amplituda způsobovala růst píků až do hodnoty 75 mV pro oktokrylen, ale jen do 50 mV pro benzofen; při vyšších hodnotách pak píky klesaly a hodně se rozšiřovaly (Obrázek 32 a 33). Vzhledem k velkému nárůstu pozadí spolu s rostoucí amplitudou byla nakonec jako optimální zvolena hodnota 40 mV.

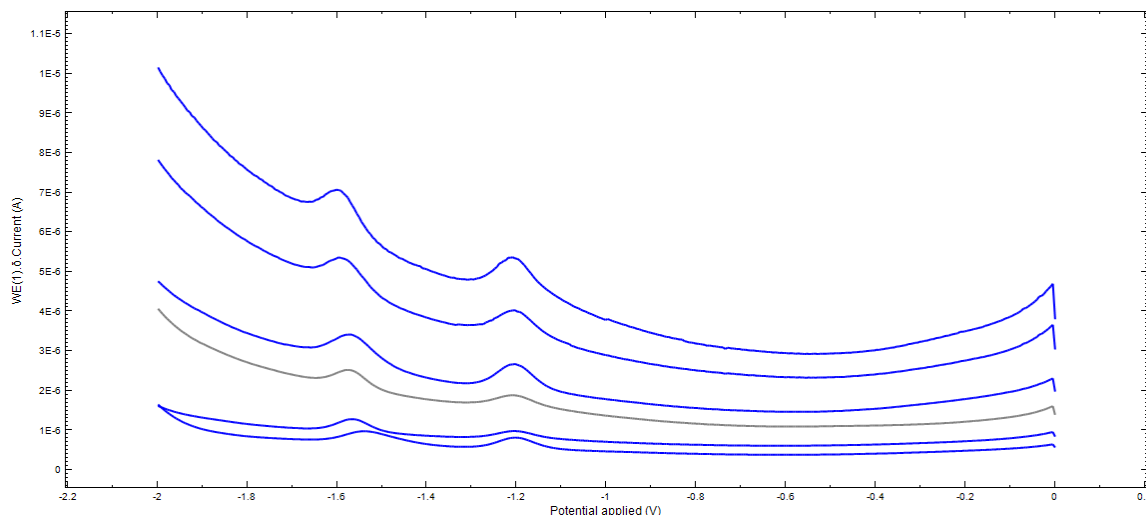


Obrázek 32- SWV voltamogramy po změně modulace amplitudy pro 10 mV, 20 mV, 25 mV (šedá), 40 mV, 50 mV, 75 mV a 100 mV pro směs oktokrylenu (-1,2 V) a benzofenonu (-1,55 V). Záznamy jdou od spodu nahoru (10 mV nejniž položený sken a 100 mV nejvyšší sken).

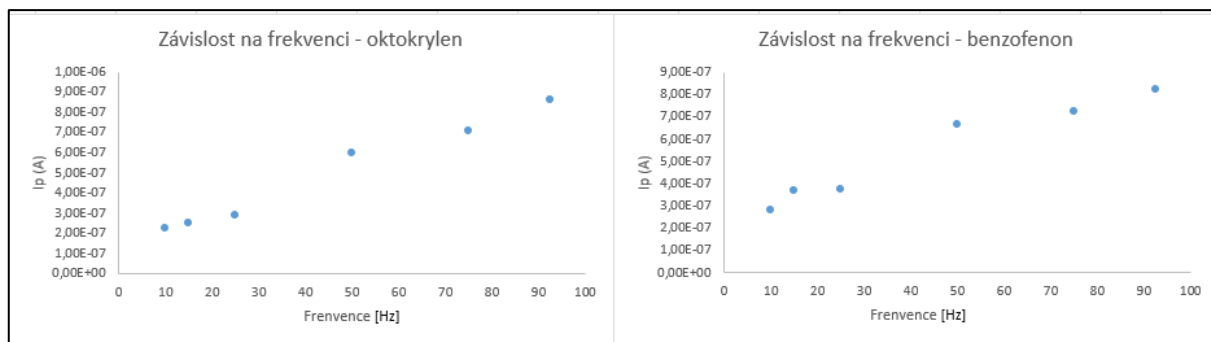


Obrázek 33 – Grafické znázornění vlivu změny modulace amplitudy na výšku píku pro oktokrylen a benzofenon.

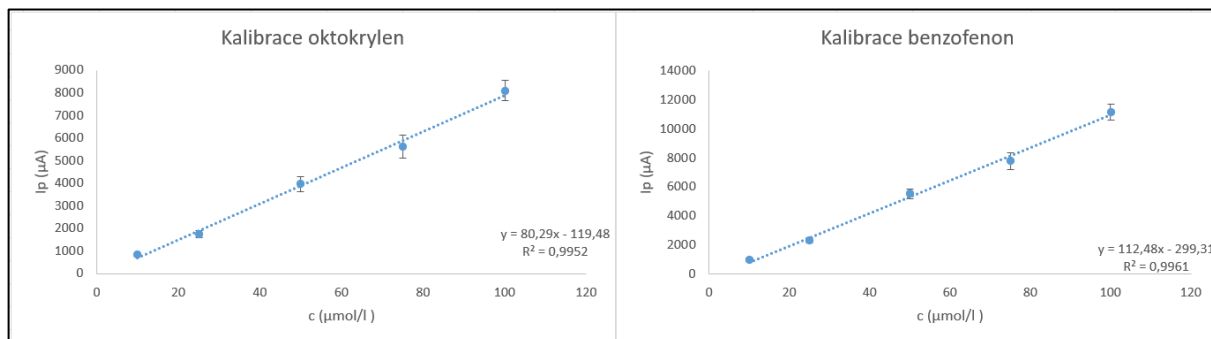
Poslední parametr SWV voltametrie k optimalizaci byla frekvence. Při vyšších frekvencích se píky nedeformovaly tolik, jako v případě změny amplitudy (Obrázek 34 a 35). Narůstalo ale pozadí, zvláště při zápornějších potenciálech. Jako optimální byla proto zvolena hodnota 50 Hz.



Obrázek 34- SWV voltamogramy po změně frekvence pro 10Hz, 15Hz, 25Hz(šedá), 50Hz, 75Hz a 92,5Hz, pro oktokrylen (na pozici -1.2V) a benzofenon (na pozici -1,55V). Pozice skenů jde od spodu nahoru (10 Hz nejniž položený sken a 92,5 Hz nejvyšší sken).



Obrázek 35- Grafické znázornění vlivu změny frekvence na výšku píky pro oktokrylen a benzofenon.



Obrázek 36- Grafické znázornění kalibrace pro optimální parametry SWV podle výšky píků, pro oktokrylen a benzofenon.

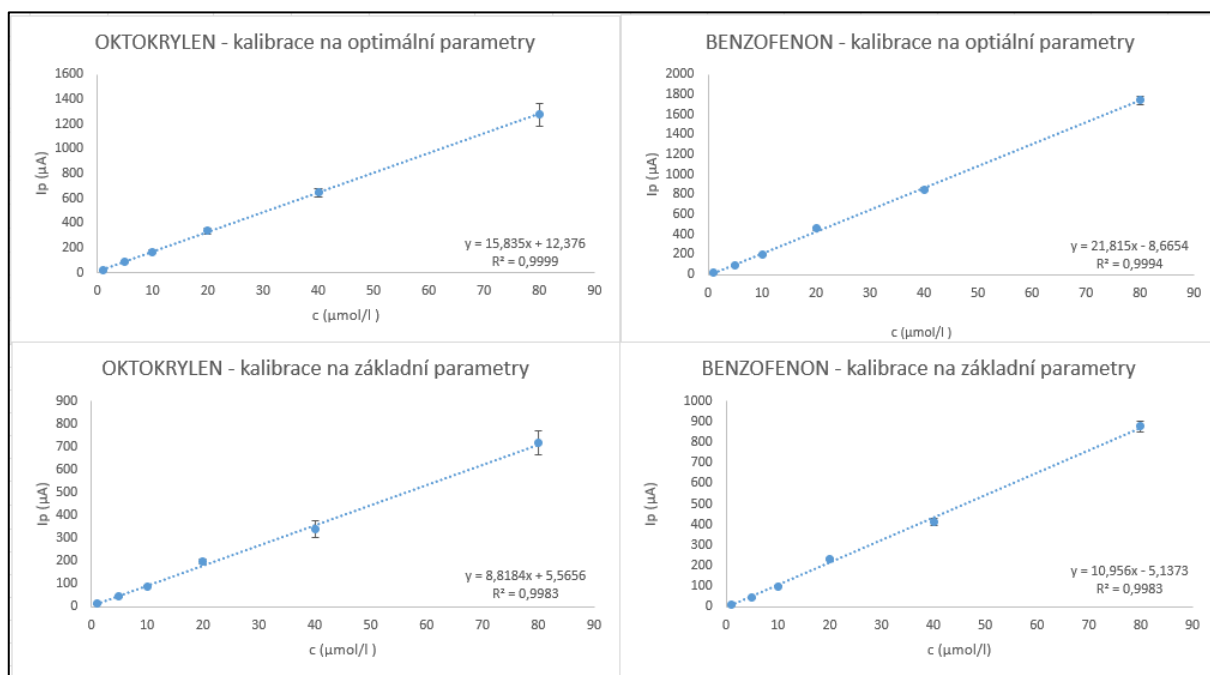
Z těchto zjištění došlo k nastavení nových parametrů optimálních, tedy pro potenciál kroku hodnota 9 mV, amplituda pulzu 40 mV a frekvence 50 Hz, pro potřeby analýzy oktokrylenu a benzofenonu v jejich směsi pomocí SWV.

Z měření s těmito parametry byla vytvořena nová kalibrace v rozmezí koncentrací obou látek 10–100 $\mu\text{mol/l}$, kterou vidíme na obrázku 36. Oproti kalibraci se základními parametry vidíme výrazné zlepšení linearity.

3.3.4.3. Vliv přidání surfaktantu

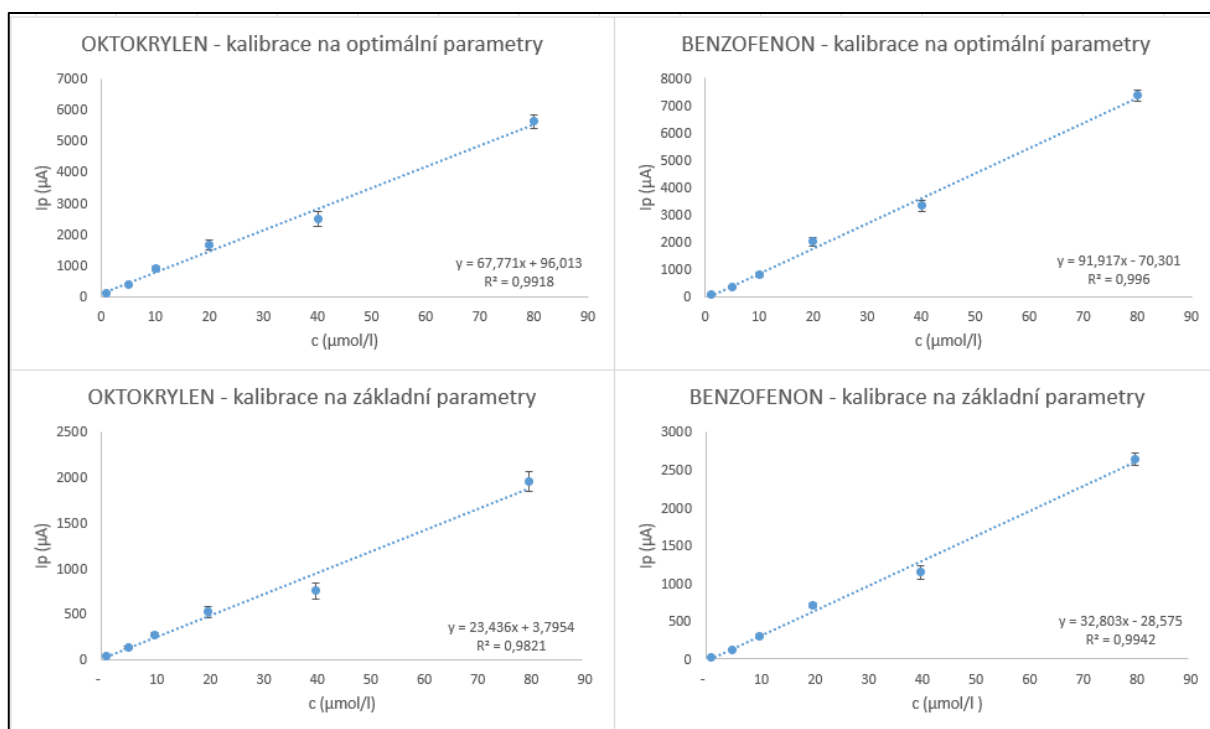
Podle studie z roku 2019 bylo zjištěno, že přidání surfaktantu výrazně zlepšuje výšku píků při analýze ve vodě s methanolem v poměru 20:80 při pH 4 [50]. Tento předpoklad byl testován i v této práci, a to po rozpouštění analyzovaných látek v čistém ethanolu. Vliv surfaktantu byl zkoumán jak pomocí diferenční pulzní voltametrií, tak i square wave voltametrií. Měření byla provedena jak při základních parametrech, tak při těch optimálních pro vzájemné srovnání.

Grafy (Obrázek 37) ukazují lineární vztah mezi koncentracemi oktokrylenu a benzofenonu vůči výšce píku měřené pomocí DPV. Obě kalibrační křivky vykazují dobrou linearitu a jsou vhodné pro kvantifikaci těchto látek. Grafy s optimálními parametry DPV poskytují lepší odhad přesnosti, protože mají menší chybové úsečky. Použití optimálních parametrů by mohlo vést k přesnějším výsledkům. Citlivost i linearita se s přidavkem CTAB zlepšují nebo zůstávají stejné. Zároveň chybové úsečky mají po přidavku CTAB menší hodnoty.



Obrázek 37- Kalibrace oktokrylenu a benzofenonu pro nastavené výchozí parametry a následně určené optimální parametry pro DPV.

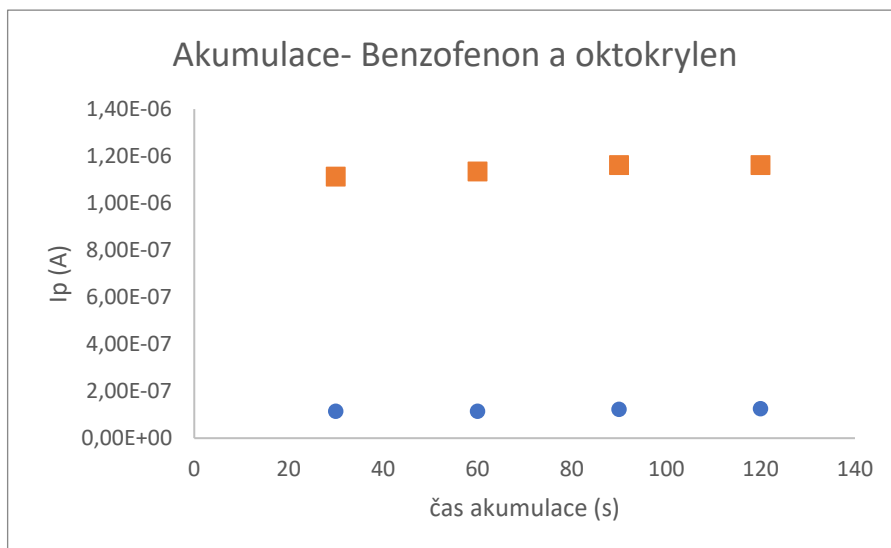
V případě SWV oba grafy pro každou látku ukazují dobrou linearitu v daném rozsahu koncentrací. Hodnoty R^2 jsou vysoké (nad 0.99), což naznačuje, že lineární model dobře popisuje data. Při měření s optimálními parametry je linearita ještě lepší (R^2 je blíže k 1). Při nastavení optimálních parametrů byly větší chybové úsečky v hodnotách s vyšší koncentrací. Metoda se zdá být vhodná pro kvantifikaci těchto látek. Použití optimálních parametrů vede k přesnějším výsledkům. Kalibrace s CTAB vykazuje oproti kalibracím bez CTAB menší chybové úsečky, lepší linearitu i citlivost.



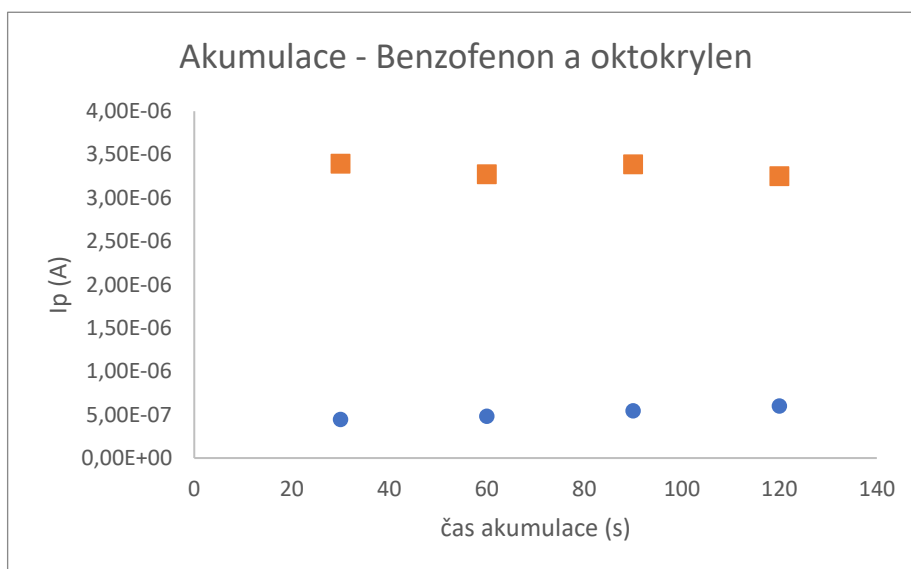
Obrázek 38- Kalibrace oktokrylenu a benzofenonu pro nastavené výchozí parametry a následně určené optimální parametry pro SWV.

3.3.4.4. Vliv akumulace látek na elektrodě

Jelikož se organické látky mohou adsorbovat na povrch GCE, což by se dalo využít pro zvýšení citlivosti elektrochemické detekce, byl sledován také vliv akumulace na signály oktokrylenu a benzofenonu (Obrázky 39 a 40). Akumulace byla měřena pro koncentraci 30 μmol/l. pro obě látky. Vliv akumulace se ukázal být nevýznamný, proudy píků se jen mírně zvyšovaly pro oktokrylen a zůstaly prakticky stejné pro benzofenon při DPV a opačný trend byl pozorován při SWV. Pro optimalizaci tedy nebylo třeba tento jev brát v potaz.



Obrázek 39- Grafické znázornění vlivu doby akumulace u DPV pro oktokrylen (oranžové čtverce) a benzofenon (modré body).



Obrázek 40 - Grafické znázornění vlivu doby akumulace u SWV pro oktokrylen (oranžové čtverce) a benzofenon (modré body).

3.3.5. Výpočet citlivosti, limitu detekce a limitu kvantifikace

Určení citlivosti: Citlivost odpovídá směrnici lineární části kalibrační křivky. Tuto hodnotu určíme tak, že na body v lineárním rozsahu grafu aplikujeme lineární regresi. Směrnice této přímky pak představuje citlivost dané metody.

Vysvětlení zkratk z tabulek číslo 5, 6 a 7: Okt – oktokrylen (organický UV filtr), Bfe – benzofenon, DPV – diferenční pulzní voltametrie, SWV – square wave voltametrie, CTAB – cetyltrimethylamonium bromid, kationtový tenzid (surfaktant), který může zvyšovat citlivost elektrochemického stanovení.

Tabulka 5- Citlivosti zjištěné měřením za různých podmínek.

Citlivost ($\mu\text{A}/\mu\text{M}$)	DPV základní parametry		DPV optimální parametry		SWV základní parametry		SWV optimální parametry	
	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe
S CTAB	8,8184	10,956	15,835	21,815	23,436	32,803	67,771	91,917
Bez CTAB	10,589	14,215	17,158	26,443	30,11	43,978	80,29	112,48

Přítomnost CTAB významně zvyšuje citlivost u všech měření, a to jak pro oktokrylen, tak benzofenon.

Výpočet LOD (meze detekce): Hodnoty potřebné pro následující výpočty byly získány pomocí analýzy naměřených dat v programu Statistica 14. . Pro výpočet LOD byl použit vzorec: $\text{LOD} = \frac{3 \cdot s}{k}$, kde s je směrodatná odchylka měřeného úseku kalibrace a k je směrnice dané kalibrace.

Tabulka 6- LOD zjištěné měřením za různých podmínek.

LOD ($\mu\text{mol/l}$)	DPV základní parametry		DPV optimální parametry		SWV základní parametry		SWV optimální parametry	
	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe
S CTAB	7,08	3,72	0,20	0,17	4,87	7,63	0,83	0,42
bez CTAB	4,19	2,47	4,67	3,60	6,14	4,21	2,07	1,05

V tabulce číslo 6 vidíme, že nejnižší LOD, tedy nejlepší detekce bylo dosaženo pro benzofenon s přídavkem CTAB pomocí DPV s optimalizovanými parametry (0,17 $\mu\text{mol/l}$), což svědčí o vysoké selektivitě. Naopak nejvyšší LOD byly dosaženy u DPV s běžnými parametry a CTAB, což naznačuje, že optimalizace metod významně zlepšuje detekční schopnost.

Výpočet LoQ (meze kvantifikace): Podobně jako u LOD byl pro výpočet použit vzorec: $LOQ = \frac{10 \cdot s}{k}$, kde s je směrodatná odchylka měřeného úseku kalibrace a k směrnici dané kalibrace. Vypočtená data můžeme vidět v tabulce číslo 7.

Tabulka 7- LOQ zjištěné měřením za různých podmínek.

LOQ (μmol/l)	DPV základní parametry		DPV optimální parametry		SWV základní parametry		SWV optimální parametry	
	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe
S CTAB	23,59	12,41	0,67	0,57	16,33	25,00	2,68	1,42
bez CTAB	13,98	8,23	15,58	12,00	20,47	14,03	2,77	1,25

Použití optimálních parametrů vede k výrazně nižším hodnotám LOD a LOQ ve srovnání se základními parametry pro obě látky a obě voltametrické metody. To naznačuje, že optimalizace analytických podmínek významně zlepšuje citlivost metod a je klíčová pro dosažení vysoké citlivosti pro stanovení oktokrylenu a benzofenonu. Metoda DPV s ideálními parametry a přídavkem CTAB se jeví jako nejvhodnější pro účely této analýzy.

3.3.6. Výpočet výtěžnosti

Výtěžnost byla vyhodnocena jako relativní odchylka mezi teoretickou a experimentálně zjištěnou koncentrací a je vyjádřena v procentech (R [%]). Výtěžnost stanovení oktokrylenu a benzofenonu byla vypočtena podle následujícího vzorce: $R = \frac{\text{vypočtená koncentrace}}{\text{změřená koncentrace}} \cdot 100$ [%]. Pro ověření výtěžnosti byly testovány dvě elektroanalytické metody – diferenční pulzní voltametrie (DPV) a square wave voltametrie (SWV) – při stanovení oktokrylenu (Okt) a benzofenonu (Bfe), bez přídavku CTAB. Měření byla provedena za základních a optimálních parametrů ve třech úrovních – nižší 10 μmol l⁻¹, střední 50 μmol l⁻¹ a vyšší 80 μmol l⁻¹ v rámci koncentračního rozmezí kalibrace obou látek.

Tabulka 8- Výtěžnost analýzy oktokrylenu a benzofenonu. Použité zkratky Okt (oktokrylen) a Bfe (benzofenon).

Molekula	DPV základní parametry		DPV optimální parametry		SWV základní parametry		SWV optimální parametry	
	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe
1.Teoretická koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	10	10	10	10	10	10	10	10
1. Naměřená koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	10,12	9,36	8,75	9,37	9,22	8,92	8,68	8,47
1.R [%]	101 %	94 %	88 %	94 %	92 %	89 %	87 %	85 %
2.Teoretická koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	50	50	50	50	50	50	50	50
2.Naměřená koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	38,2	46,4	39,3	41,67	50,14	47,88	41,23	44,71
2.R [%]	76 %	92 %	79 %	83 %	100 %	96 %	82 %	89 %
3.Teoretická koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	80	80	80	80	80	80	80	80
3.Naměřená koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	70,3	74,4	72	69	92,09	78,4	82,45	87,98
3.R [%]	88 %	93 %	90 %	86 %	115 %	98 %	103 %	110 %

SWV vykazuje ve většině případů vyšší přesnost než DPV, zvláště u vyšších koncentrací (80 $\mu\text{mol/l}$). Ideální parametry ne vždy vedly ke zlepšení přesnosti, zejména u nízké koncentrace 10 $\mu\text{mol/l}$ došlo u oktokrylenu dokonce ke zhoršení (z 101 % na 88 %). U DPV byl největší rozdíl mezi základními a ideálními podmínkami patrný u koncentrace 50 $\mu\text{mol/l}$, kde se přesnost u oktokrylenu zvýšila z 76 % na 79 %. SWV vykazuje vyšší přesnost u vyšších koncentrací než DPV, ale často i nadhodnocuje. Výsledky s DPV jsou konzervativnější, většinou podhodnocuje.

Tabulka 9- Výtěžnost analýzy oktokrylenu a benzofenonu s přidavkem CTAB. Použité zkratky Okt (oktokrylen) a Bfe (benzofenon).

Molekula	DPV základní parametry		DPV optimální parametry		SWV základní parametry		SWV optimální parametry	
	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe	Okt	Bfe
1.Teoretická koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	7	7	7	7	7	7	7	7
1. Naměřená koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	7,33	6,41	5,8	6,45	5,55	5,7	6,01	5,9
1.R [%]	105 %	92 %	83 %	92 %	79 %	81 %	86 %	84 %
2.Teoretická koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	30	30	30	30	30	30	30	30
2.Naměřená koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	27,778	36,1	23,75	31,1	31,5	33,9	26,43	30,11
2.R [%]	93 %	120 %	79 %	104 %	105 %	113 %	88 %	100 %
3.Teoretická koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	60	60	60	60	60	60	60	60
3.Naměřená koncentrace [$\mu\text{mol. l}^{-1}$]	66,3	61,1	55,25	62,55	73,8	66,33	63,7	61,78
3.R [%]	111 %	102 %	92 %	104 %	123 %	111 %	106 %	103 %

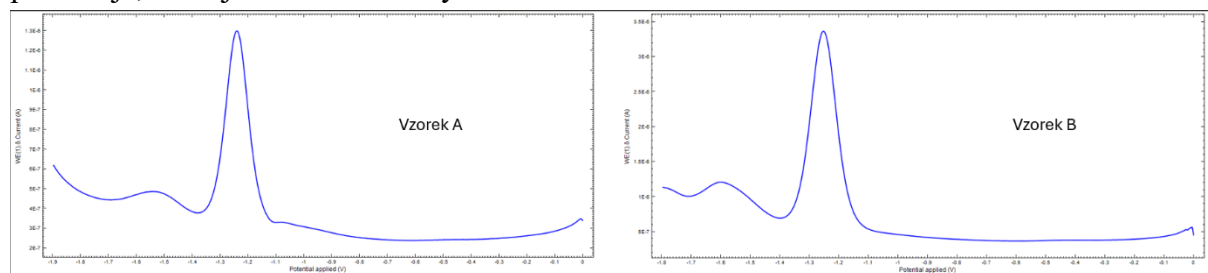
Tabulka číslo 9 zobrazuje obdobná měření výtěžnosti jako tabulka 8, avšak tentokrát byl ke vzorkům přidán CTAB. U nízké koncentrace vykazuje metoda DPV se základními parametry vyšší přesnost než SWV. Při koncentraci 30 $\mu\text{mol/l}$ byly výsledky značně kolísavé. U koncentrace 60 $\mu\text{mol/l}$ měly všechny metody výsledky mírně nadhodnocené, ale v přijatelném rozsahu, největší nadhodnocení nalezneme opět u SWV základních parametrů.

Rozsahy koncentrací se liší, což ztěžuje přímé srovnání pro stejné koncentrace. Nicméně můžeme porovnat chování při nízkých, středních a vysokých koncentracích. Při nízkých koncentracích se zdá, že CTAB může vést k mírnému zlepšení přesnosti u DPV (101 % -> 105 %), ale u SWV se přesnost zhoršila (92 % -> 79 % pro základní parametry). U benzofenonu se přesnost při nízkých koncentracích s přidáním CTAB mírně zhoršila. CTAB má významný vliv

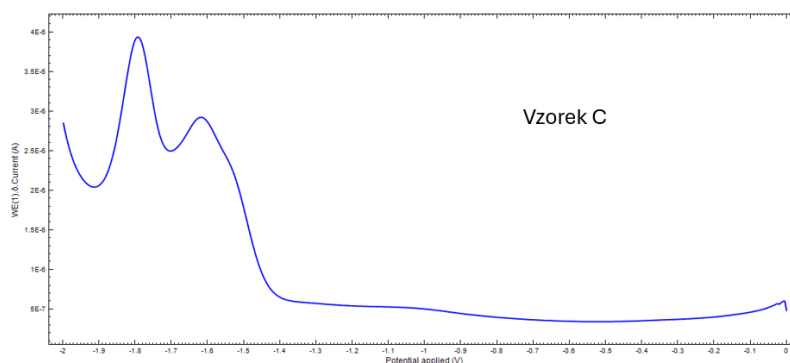
na výtěžnost analýzy. Tento vliv není jednoduchý a závisí na analytu, koncentraci a použité voltametrické technice.

3.3.7. Analýza reálných vzorků

Vzorky A a B (Obrázek 41) obsahují oktokrylen a vzhledem ke stáří produktů je u nich očekávatelný i obsah benzofenonu z důvodu rozkladu právě oktokrylenu. Vzorek C (Obrázek 42) podle složení od výrobce neobsahuje žádnou z hledaných látek, slouží tedy jako kontrola. Po průběhu analýzy bylo ověřeno, zda se jedná o dané látky tím, že se ke vzorku přidalo 200 μl standardů o koncentraci 30 $\mu\text{mol/l}$ pro obě látky. Píky po tomto přidavku znatelně narostly, což prokazuje, že se jedná o dané látky.



Obrázek 41- DPV voltamogramy vzorků A a B. Analýza proběhla za předem stanovených ideálních parametrů s přidavkem CTAB.



Obrázek 42- DPV voltamogram vzorku C. Analýza proběhla za předem stanovených ideálních parametrů.

Ve vzorku C jeden z píků by odpovídal stanovovanému benzofenonu. Jestli se opravdu jedná o tuto látku bylo opět ověřeno standardním přidavkem. Nedošlo ale k nárůstu píku, pouze k jeho rozšíření. Z toho vyplývá, že se nejedná o stanovovanou látku, ale o jinou. K určení látky by byla nutná další analýza.

Pro výpočet koncentrací byla použita metoda s nejvyšší citlivostí. Z měření vyplývá, že nejvhodnější metodou pro účely analýzy je DPV s optimálními parametry a s přidavkem surfaktantu CTAB. Bylo provedeno 10 opakovaných měření vzorků. Z těchto měření vyšla

průměrná výška píku $1,93 \cdot 10^{-7}$ A pro benzofenon a $1,85 \cdot 10^{-6}$ A pro oktokrylen ve vzorku A. U vzorku B pak $3,57 \cdot 10^{-7}$ A pro benzofenon a $2,77 \cdot 10^{-6}$ A pro oktokrylen.

Výpočet byl proveden pomocí regresních rovnic, které byly vypočteny (Tabulka 10) z kalibrace pro oktokrylen: $y = 15,835x + 12,376$, pro benzofenon: $y = 21,815x - 8,6654$. Pro vzorek C nebyl výpočet proveden vzhledem k tomu, že v něm nebyla nalezena analyzovaná látka.

Tabulka 10- Stanovení koncentrací v analyzovaných vzorcích.

Vzorek	Koncentrace oktokrylenu ($\mu\text{mol l}^{-1}$)	Koncentrace benzofenonu ($\mu\text{mol l}^{-1}$)
A	116,05	9,24
B	174,15	16,76

Právní legislativa stanovuje maximální použití oktokrylenu v opalovacích krémech na koncentraci nižší, než je 10 %. Pro analýzu byla pro vzorek A použita navážka 0,0101 g a následně převedena do 25 ml baňky a pro vzorek B byla navážka 0,0271 g, která byla převedena do 50 ml baňky. Z toho plyne nejprve přepočtení na hmotnost a následně na procenta.

Tabulka 11- Stanovení množství oktokrylenu a benzofenonu v analyzovaných vzorcích.

Vzorek	Hmotnost oktokrylenu (mg)	% oktokrylenu ve vzorku	Hmotnost benzofenonu (mg)	% benzofenonu ve vzorku
A	1,0953	10,84	0,0421	0,42
B	3,2873	12,13	0,1527	0,56

Dle tabulky 11 procento oktokrylenu ve vzorku B 12,13 % je jen o něco vyšší než ve vzorku A 10,84 %. Podle změřených hodnot překračují oba vzorky Evropskou legislativu. Procenta vyšší než 10 % mohou být způsobena chybou měření. Procentuální rozdíl u benzofenonu 0,52 % ve vzorku B oproti 0,42 % ve vzorku A může být způsoben horším zacházením s produktem, čímž se rozumí, že byl vystaven světlu nebo teplu anebo je jev založen pouze na jeho větším stáří. Zároveň však hodnota není o moc vyšší, takže může být způsobena i jinými vlivy. Toto měření však především potvrzuje předešlou tezi o degradaci oktokrylenu na benzofenon, protože benzofenon ve složení není uveden.

3.4. Diskuse

Vyvíjení analytických metod pro stanovení organických UV filtrů obsažených v opalovacích krémech je velmi důležité nejen z důvodů ochrany spotřebitele, ale i v environmentálních

analýzách [51]. Opalovací krémy jsou stále více žádaným artiklem díky většímu povědomí široké veřejnosti o nebezpečí UV záření. V této práci byly úspěšně stanoveny koncentrace UV filtrů oktokrylenu a benzofenonu v komerčně dostupných kosmetických přípravcích pomocí voltametrie, která se ukázala jako vhodná metoda. Její hlavní výhodou je vysoká citlivost při detekci elektroaktivních látek, což umožňuje stanovit i velmi nízké koncentrace těchto sloučenin. Zároveň se jedná o časově nenáročnou a ekonomicky výhodnou metodu, jelikož nevyžaduje drahá rozpouštědla, kolony nebo rozsáhlou přípravu vzorků. Tyto vlastnosti z voltametrie činí atraktivní alternativu k tradičně používaným technikám, jako je například kapalinová chromatografie [52].

Pro stanovení oktokrylenu a benzofenonu byly testovány dvě voltametrické techniky, diferenční pulzní voltametrie (DPV) a square wave voltametrie (SWV), a to s obecně nastavenými (základními) a optimalizovanými (ideálními) parametry. Optimalizace parametrů neměla vždy pozitivní vliv na analytické charakteristiky. Příkladem je zhoršení výtěžnosti u oktokrylenu při nízké koncentraci, kdy se po optimalizaci parametrů DPV snížila z 101 % na 88 %, což můžeme vidět v tabulce číslo 8. Pozorovaným trendem je, že DPV spíše podhodnocovala naměřené koncentrace, poskytovala konzervativnější výsledky, zatímco SWV často vedla k nadhodnocení, zejména při vyšších koncentracích. Tyto hodnoty však mohou být zatíženy chybou a pro přesnější odhad by bylo třeba pokusy vícekrát opakovat.

Pro ověření teze o zlepšení kvality analýzy byl k roztokům UV filtrů přidán surfaktant CTAB a analýza byla provedena za stejných podmínek. Přidání CTAB obecně vedlo ke zlepšení výtěžnosti i opakovatelnosti, zejména u nízkých koncentrací, kde DPV se základními parametry vykazovala vyšší hodnotu než SWV (na rozdíl od výsledků bez CTAB). To můžeme pozorovat v tabulce číslo 9. Například při koncentraci $7 \mu\text{mol l}^{-1}$ dosáhla DPV se základními parametry pro oktokrylen výtěžnosti 105 %, zatímco SWV se základními parametry pouze 79 %. Pozornost je třeba věnovat kolísavým výsledkům při koncentraci $30 \mu\text{mol l}^{-1}$ s přídavkem CTAB. Možným důvodem je vliv micel CTAB na elektrochemický signál v této koncentrační oblasti. CTAB je kationtový tenzid, který se adsorbuje na povrch skleněné uhlíkové elektrody, čímž vytváří vrstvu s pozitivním nábojem. Tato vrstva elektrostaticky přitahuje aniontové analyty, což vede ke zvýšení jejich koncentrace na povrchu elektrody a následně ke zvýšení elektrochemického signálu. Tento efekt je zvláště výrazný u analytů, které existují v aniontové formě při daném pH. Výhody přídavku CTAB do vzorku jsou jednoduchost, jelikož není potřeba žádná úprava elektrody, výrazné zvýšení elektrochemického signálu analytů a možnost aplikace na různé analytické systémy a typy vzorků [53; 54].

Přestože předchozí specifické studie kombinující CTAB s GCE pro analýzu oktokrylenu a benzofenonu nebyly nalezeny, práce ukazuje, že přídavek CTAB zlepšuje elektrochemickou detekci. Tento princip je tedy aplikovatelný i na oktokrylen a benzofenon [55].

Výsledky ukazují, že použití CTAB v kombinaci s DPV a SWV metodami výrazně zlepšuje citlivost detekce obou analyzovaných látek. Například u oktokrylenu se LOD snížil z 23,59 $\mu\text{mol/l}$ (základní parametry s CTAB u DPV) na 0,57 $\mu\text{mol/l}$ (optimální parametry s CTAB). Navržené elektrochemické metody s přídavkem CTAB dosahují lepších detekčních limitů než běžné HPLC-UV metody, což je významné zejména vzhledem k jednoduššímu a levnějšímu vybavení potřebnému pro elektrochemické analýzy. Ačkoliv HPLC-MS/MS metody stále poskytují nižší LOD a LOQ, navržené optimalizované elektrochemické metody se jim přibližují, což je vzhledem k rozdílům v náročnosti a nákladech mezi těmito technikami velice dobrý výsledek. Hodnoty jsou výrazně nižší než u běžně používaných HPLC-UV metod, kde se uvádí LOD 2,5 $\mu\text{mol l}^{-1}$ pro oktokrylen a 1,5 $\mu\text{mol l}^{-1}$ pro benzofenon [56; 52; 57; 58]. Zároveň se přibližují i citlivosti náročnějších HPLC-MS/MS technik, jejichž detekční limity se pohybují v řádu 0,07 $\mu\text{mol l}^{-1}$ pro oktokrylen a 0,041 $\mu\text{mol l}^{-1}$ pro benzofenon [59; 60]. Z toho vyplývá, že správná optimalizace parametrů voltametrické analýzy a přídavek CTAB mohou výrazně zvýšit analytickou výkonnost této jednoduché a nákladově efektivní metody, a učinit ji konkurenceschopnou vůči složitějším instrumentálním přístupům.

Ve srovnání s dřívějšími metodami, tato metoda po optimalizaci nabízí vyšší nebo alespoň srovnatelné limity detekce i kvantifikace, a to pro obě stanovované látky [56; 61].

Analýza reálných vzorků je klíčová pro posouzení praktické použitelnosti vyvinuté metody. Pro ověření použitelnosti vyvinuté voltametrické metody byla provedena analýza dvou komerčně dostupných opalovacích přípravků (označených jako A a B) na obsah oktokrylenu a benzofenonu. Vzorek A obsahoval 10,84 % hmotnostních oktokrylenu a 0,42 % hmotnostních benzofenonu. Vzorek B vykazoval obsah 12,13 % hmotnostních oktokrylenu a 0,52 % hmotnostních benzofenonu. V Evropské unii jsou stanoveny přísné regulace pro používání UV filtrů v kosmetických přípravcích, včetně maximálních povolených koncentrací. Tyto normy jsou stanoveny s cílem zajistit bezpečnost spotřebitelů. Hlavním regulačním rámcem je Nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 1223/2009 ze dne 30. listopadu 2009 o kosmetických přípravcích. Příloha VI tohoto nařízení obsahuje seznam povolených UV filtrů, jejich maximální koncentrace v kosmetických přípravcích připravených k použití a další podmínky jejich používání. Oktokrylen je povolen jako UV filtr v kosmetických přípravcích a

jeho maximální povolená koncentrace v kosmetickém přípravku připraveném k použití je 10 % hmotnostních. Podle této analýzy tuto hodnotu překročili oba vzorky. Pro závěry bychom museli provést více měření a srovnat hodnoty s jinou již validovanou metodou, zároveň by bylo potřeba stanovit rozsah, ve kterém se tato hodnota může pohybovat. Benzofenon (CAS č. 119-61-9) není v EU povolen jako UV filtr v kosmetických přípravcích. Je zakázán z důvodu potenciálních účinků jako endokrinní disruptor a dalších bezpečnostních obav. Benzofenon může být přítomen v kosmetických přípravcích jako nežádoucí kontaminant v důsledku degradace jiných složek, například právě oktokrylenu nebo jako nečistota v používaných surovinách. V takových případech se jeho přítomnost reguluje jako stopové množství a neměla by překročit limity stanovené pro nežádoucí látky v kosmetických přípravcích. Tyto limity jsou obecně velmi nízké a zaměřují se na zajištění bezpečnosti spotřebitelů. Neexistuje univerzální číselná hodnota pro povolené stopové množství benzofenonu v kosmetických přípravcích. Jeho přítomnost jako kontaminantu je regulována obecnými principy bezpečnosti. Ve dřívějších studiích byla prokázána schopnost benzofenonu pronikat skrz kůži a jeho přítomnost v moči populace, proto je důležité sledovat koncentrace tohoto kontaminantu [62; 63]. Naměřené hodnoty oktokrylenu jsou v rámci právní legislativy v povolených koncentracích. U benzofenonu se v povolených normách mluví o stopovém množství, pokud se bavíme o stopovém množství, obvykle se jedná o koncentrace menší než 1 mg/kg (ppm) nebo dokonce <1 µg/kg (ppb). Pokud bychom se pohybovali v tomto rozmezí, tak je koncentrace benzofenonu v testovaných přípravcích mnohonásobně převyšují. Tento fakt je však pravděpodobně způsoben stářím testovaných produktů, které již překročilo doporučenou dobu používání. V případě takových koncentrací benzofenonu není doporučeno přípravky nadále používat. Z toho vyplývá, že je nezbytné sledovat doporučení ohledně skladování a doby spotřeby na výrobcích.

Fakt, že metoda je schopna detekovat a kvantifikovat oktokrylen a benzofenon v komerčních opalovacích přípravcích, naznačuje, že metoda má potenciál pro reálné aplikace v kontrole kvality těchto produktů.

3.5.Limity metody a návrhy na zlepšení

Velkou nevýhodu tohoto stanovení můžeme najít v nutnosti vzorky nechávat probublát argonem před samotnou analýzou. Tento aspekt stanovení má vliv nejen na složitost instrumentace, kde, jak už bylo zmíněno výše je třeba buď vlastnit celu, která probublání umožňuje anebo si celu speciálně pro tyto účely upravit. Zároveň je tímto analýza o něco cenově méně příznivá, cena argonu je vysoká a má velké využití, tudíž nelze předpokládat že by ceny

měly klesat. Dalším návrhem pro zlepšení optimalizace metody by bylo najít ideální koncentraci CTAB v analyzovaných vzorcích. Zároveň by pro zlepšení byla vhodná kontrola pH, abychom se ujistili, že pH roztoku je vhodné pro existenci analytu v aniontové formě, aby bylo dosaženo maximálního efektu CTAB. Budoucí výzkum by se měl více zaměřit na testování metody na reálných vzorcích a na potenciální vliv matrice, případně jeho minimalizaci, toho můžeme dosáhnout například pomocí metody standardního přídatku.

Analýza pouze dvou vzorků je pilotní. Pro plné zhodnocení použitelnosti metody na reálných vzorcích by bylo vhodné provést analýzu většího souboru různých typů opalovacích přípravků s různým složením. Bez srovnání naměřených hodnot s deklarovaným obsahem na obalech produktů je obtížné plně posoudit přesnost a správnost metody na reálných vzorcích. Složení produktů sice je na obalech uvedeno, nejsou však uvedeny přesné koncentrace látek. Odchylky by mohly být způsobeny jak metodou, tak i nepřesnostmi v deklarovaném obsahu nebo degradací UV filtrů v produktu. Pro rutinní použití metody by byla nezbytná její validace podle mezinárodních standardů. To zahrnuje stanovení různých parametrů, jako je linearita, limit detekce a kvantifikace, přesnost (opakovatelnost a reprodukovatelnost), správnost (recovery), robustnost a selektivita vůči složkám matrice.

4. Závěr

4.1. Shrnutí dosažených výsledků

Dosažené výsledky této práce prokazují potenciál voltametrických technik, konkrétně diferenční pulzní voltametrie a square wave voltametrie, pro stanovení UV filtrů oktokrylenu a benzofenonu. Významným zjištěním bylo potvrzení hypotézy, že přidání surfaktantu CTAB může zlepšit kvalitu analýzy, a to zejména při nižších koncentracích analytů. Porovnání obou technik ukázalo, že ideální metodou by měla být DPV s přídatkem CTAB za optimalizovaných podmínek. Aplikace vyvinuté metody na reálné vzorky komerčních opalovacích přípravků prokázala její použitelnost pro stanovení cílových UV filtrů v komplexní matrici. Nicméně, výsledky také naznačily potenciální vliv složení reálných vzorků na elektrochemickou odezvu, což implikuje potřebu dalšího výzkumu zaměřeného na optimalizaci postupu úpravy vzorků a komplexní validaci metody, včetně srovnání s deklarovanými obsahy a zohlednění platných evropských norem pro tyto látky.

4.2. Doporučení pro další výzkum

V rámci práce byl proveden pokus s pastovou elektrodou. Byl smíchán uhlíkový prášek na bázi skelného uhlíku (glassy-carbon), konkrétně typ Sigradur G s parafínem a surfaktantem CTAB.

Tento pokus vykazoval podobné vlastnosti analýzy, navíc se jeví výhodné přidání surfaktantu přímo do materiálu elektrody, čímž klesne spotřeba pro přídavek do vzorků. Za další výzkum by stála též možnost stanovit více UV filtrů vedle sebe. Oktokrylen a benzofenon nejsou jediné látky používané v opalovacích přípravcích, které jsou schopny redukce. Jako další látky pro analýzu by přicházel v úvahu například oxybenzon. Zároveň je nezbytné uplatnit analýzu s větším počtem reálných vzorků a ideálně porovnat s měřením stejných vzorků jinou již validovanou metodou.

5. Literatura

5.1. Seznam použité literatury

- [1] PIROT, Fabrice a Françoise FALSON. Skin Barrier Function. In: *Agache's Measuring the Skin: Non-invasive Investigations, Physiology, Normal Constants: Second Edition*. 2017/04/28, s. 1079-1090. ISBN 978-3-319-32381-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-319-32383-1_139
- [2] SHA, Jingfeng, Joshua ARBESMAN a Marian L. HARTER. Premature senescence in human melanocytes after exposure to solar UVR: An exosome and UV-miRNA connection: An exosome and UV-miRNA connection. *Pigment Cell & Melanoma Research*. John Wiley & Sons, 2020/09/01, **33**(5), 671-684. ISSN 1755-1471. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1111/pcmr.12888
- [3] ÖZASLAN, Metin. *Are Sunscreens Safe?* In: . Rijeka: IntechOpen, 2025. ISBN 978-1-83634-775-0. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.1009608
- [4] HAU, Tan. Uses and mechanism of action of main ingredients in sunscreen products. *Middle East Journal of Applied Science & Technology*. 2024/01/01, **07**, 108-116. Dostupné z: doi:10.46431/MEJAST.2024.7210
- [5] RUSZKIEWICZ, Joanna A., Adi PINKAS, Beatriz FERRER, Tanara V. PERES, Aristides TSATSAKIS a Michael ASCHNER. Neurotoxic effect of active ingredients in sunscreen products, a contemporary review. *Toxicology Reports*. 2017, **4**, 245-259. ISSN 2214-7500. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2017.05.006
- [6] ZOU, Wenyue, Rajesh RAMANATHAN, Sylvia URBAN, Craig SINCLAIR, Kerry KING, Rick TINKER a Vipul BANSAL. Sunscreen testing: A critical perspective and future roadmap: A critical perspective and future roadmap. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2022, **157**, 116724. ISSN 0165-9936. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.trac.2022.116724
- [7] SAGINALA, Kalyan, Adam BARSOUK, John S. ALURU, Prashanth RAWLA a Alexander BARSOUK. Epidemiology of Melanoma. *Medical Sciences* [online]. 2021, **9**(4) [cit. 2025-05-06]. ISSN 2076-3271. Dostupné z: doi:10.3390/medsci9040063

- [8] SALIH, Hamisha, Cristina PSOMADAKIS a Susannah M. C. GEORGE. Sunscreens: A Narrative Review: A Narrative Review. *Skin Health and Disease*. 2024, **4**(6), ski2.432. ISSN 2690-442X. Dostupné z: doi:10.1002/ski2.432
- [9] *EU. Regulation (EC) No 1223/2009 of the European Parliament and of the Council of 30 November 2009 on cosmetic products*. In: . 2009. Dostupné z: <http://data.europa.eu/eli/reg/2009/1223/oj>.
- [10] SARTI, Chiara, Lea FALCON, Alessandra CINCINELLI, Tania MARTELLINI a Iva CHIANELLA. Development of molecularly imprinted polymer-based electrochemical sensors for the detection of UV filters in aquatic ecosystems. *Talanta* [online]. 2025, **285**(127375), 11 [cit. 2025-04-07]. ISSN 0039-9140. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.127375>
- [11] ZACCARIELLO, Gloria, Michele BACK, Marta ZANELLO, Patrizia CANTON, Elti CATTARUZZA, Pietro RIELLO, Alessandro ALIMONTI a Alvisse BENEDETTI. Formation and Controlled Growth of Bismuth Titanate Phases into Mesoporous Silica Nanoparticles: An Efficient Self-Sealing Nanosystem for UV Filtering in Cosmetic Formulation: An Efficient Self-Sealing Nanosystem for UV Filtering in Cosmetic Formulation. *ACS Applied Materials & Interfaces*. American Chemical Society, 2017/01/18, **9**(2), 1913-1921. ISSN 1944-8244. Dostupné z: doi:10.1021/acsami.6b13252
- [12] VIDAL, Lorena, Alberto CHISVERT, Antonio CANALS, et al. Chemically surface-modified carbon nanoparticle carrier for phenolic pollutants: Extraction and electrochemical determination of benzophenone-3 and triclosan. *Analytica Chimica Acta* [online]. 2008, **616**(1), 28-35 [cit. 2025-04-07]. ISSN 0003-2670. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.04.011>
- [13] YUAN, Shengwu, Jingying HUANG, Xia JIANG, Yuxiong HUANG, Xiaoshan ZHU a Zhonghua CAI. Environmental Fate and Toxicity of Sunscreen-Derived Inorganic Ultraviolet Filters in Aquatic Environments: A Review: A Review. *Nanomaterials* [online]. 2022, **12**(4) [cit. 2025-04-30]. ISSN 2079-4991. Dostupné z: doi:10.3390/nano12040699
- [14] PICONE, Marco, Silvia DEL VECCHIO, Maria PIRVU, Marco VECCHIATO a Annamaria VOLPI GHIRARDINI. Effects of ultra-violet filters oxybenzone (benzophenone-3) and 4-methylbenzylidene camphor on different life-history traits of the copepod *Acartia tonsa* Dana. *Marine Pollution Bulletin*. 2025, **216**, 117952. ISSN 0025-326X. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2025.117952>
- [15] LAI, Webber Wei-Po, Kuen-Lin CHEN a Angela Yu-Chen LIN. Solar photodegradation of the UV filter 4-methylbenzylidene camphor in the presence of free chlorine. *Science of The Total Environment*. 2020, **722**, 137860. ISSN 0048-9697. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137860>
- [16] WNUK, Weronika, Klaudia MICHALSKA, Anna KRUPA a Krystyna PAWLAK. Benzophenone-3, a chemical UV-filter in cosmetics: *Advances in Dermatology and*

Allergology/Postępy Dermatologii i Alergologii. 2022, **39**(1), 26-33. ISSN 1642-395X. Dostępny z: doi:10.5114/ada.2022.113617

- [17] MUSTIELES, Vicente, Ria K. BALOGH, Marta AXELSTAD, et al. Benzophenone-3: Comprehensive review of the toxicological and human evidence with meta-analysis of human biomonitoring studies: Comprehensive review of the toxicological and human evidence with meta-analysis of human biomonitoring studies. *Environment International*. 2023, **173**, 107739. ISSN 0160-4120. Dostępny z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.107739>
- [18] MORIN, Stephanie M., Kelly J. GREGORY, Brenda MEDEIROS, et al. Benzophenone-3 exposure alters composition of tumor infiltrating immune cells and increases lung seeding of 4T1 breast cancer cells. *Advances in Cancer Biology - Metastasis*. 2023, **7**, 100080. ISSN 2667-3940. Dostępny z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.adcanc.2022.100080>
- [19] DINARDO, Joe a Craig DOWNS. Dermatological and environmental toxicological impact of the sunscreen ingredient oxybenzone/benzophenone-3. *Journal of Cosmetic Dermatology*. 2017/10/01, **17**. Dostępny z: doi:10.1111/jocd.12449
- [20] SHAATH, Nadim A. Ultraviolet filters. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2010, **9**(4), 464-469. ISSN 1474-9092. Dostępny z: doi:10.1039/b9pp00174c
- [21] LAWRENCE, Karl, Thierry DOUKI, Robert SARKANY, Stephanie ACKER, Bernd HERZOG a Antony YOUNG. Improved photoprotection in the UVA/visible radiation boundary region is essential to prevent DNA damage, oxidative stress and gene expression changes in human skin. *JEADV Clinical Practice*. 2024/11/19, n/a-n/a. Dostępny z: doi:10.1002/jvc2.586
- [22] EJAZ, Sadaff, Clive ROPER, Zoe FINLAYSON, Kyle S. SAITTA, Timothy MCCARTHY, Frank SUN a Michael D. SOUTHALL. A comparative study of the in vitro dermal absorption of radiolabeled benzophenone through human skin. *Toxicology in Vitro*. 2024, **98**, 105835. ISSN 0887-2333. Dostępny z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.tiv.2024.105835>
- [23] MEDICI, Antonio, Lorenzo SAVIANO, Antonietta SICILIANO, Giovanni LIBRALATO, Marco GUIDA, Lucio PREVITERA, Giovanni DI FABIO a Armando ZARRELLI. Octocrylene: From Sunscreens to the Degradation Pathway during Chlorination Processes: Formation of Byproducts and Their Ecotoxicity Assessment: From Sunscreens to the Degradation Pathway during Chlorination Processes: Formation of Byproducts and Their Ecotoxicity Assessment. *Molecules* [online]. 2022, **27**(16) [cit. 2025-04-30]. ISSN 1420-3049. Dostępny z: doi:10.3390/molecules27165286
- [24] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (2025). *PubChem Compound Summary for CID 22571, Octocrylene* [online]. 2025 [cit. 2025-04-30]. Dostępny z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Octocrylene>

- [25] CHIYINDIKO, Emmie a Jeanet CONRADIE. An electrochemical and computational chemistry study of substituted benzophenones. *Electrochimica Acta*. 2021/02/01, **373**, 137894. Dostupné z: doi:10.1016/j.electacta.2021.137894
- [26] NATIONAL CENTER FOR BIOTECHNOLOGY INFORMATION (2025). *PubChem Compound Summary for CID 3102, Benzophenone* [online]. 2025 [cit. 2025-04-30]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/benzophenone>
- [27] BOYD, A., S. MARTIN, A. LEGGE a T.A. BLEWETT. Are UV filters better together? A comparison of the toxicity of individual ultraviolet filters and off-the-shelf sunscreens to *Daphnia magna*. *Environmental Pollution*. 2024, **362**, 124953. ISSN 0269-7491. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124953>
- [28] MALIYIL, Binu Thomas, Rowyna Reji KOSHY, Adithya Thilakan MADHAVAN a Naga Harika KORRAPATI. Trust your sunscreen with caution: A literature review on the side effects of sunscreen: A literature review on the side effects of sunscreen. *Cosmoderma*. **3**, 62. ISSN 2769-5085. Dostupné z: doi:10.25259/CSDM_52_2023
- [29] SALVADOR, A. a A. CHISVERT. Sunscreen analysis: A critical survey on UV filters determination: A critical survey on UV filters determination. *Analytica Chimica Acta*. 2005, **537**(1), 1-14. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.01.055>
- [30] AMBRUSO, Kelly, Hee-Yon PARK a Kathryn R. RILEY. Analysis of the Active Ingredients in Sunscreen: A Multiweek Experiment for the Analytical Chemistry Laboratory: A Multiweek Experiment for the Analytical Chemistry Laboratory. *Journal of Chemical Education*. American Chemical Society, 2023/12/12, **100**(12), 4845-4852. ISSN 0021-9584. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jchemed.3c00808
- [31] CARSTENSEN, Lale, Rene ZIPPEL, Ron FISKAL, et al. Trace analysis of benzophenone-type UV filters in water and their effects on human estrogen and androgen receptors. *Journal of Hazardous Materials*. 2023, **456**, 131617. ISSN 0304-3894. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131617>
- [32] WEJNEROWSKA, Grażyna a Izabela NARLOCH. Determination of Benzophenones in Water and Cosmetics Samples: A Comparison of Solid-Phase Extraction and Microextraction by Packed Sorbent Methods: A Comparison of Solid-Phase Extraction and Microextraction by Packed Sorbent Methods. *Molecules* [online]. 2021, **26**(22) [cit. 2025-04-30]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26226896
- [33] FERREIRA, Valdir S., João B.G. JÚNIOR, Célia Maria S.C. OLIVEIRA, Regina M. TAKEUCHI, André L. SANTOS a Magno A.G. TRINDADE. Voltammetric analysis of sun-block preparations containing octocrylene and its association with 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone and octyl methoxycinnamate. *Microchemical Journal*. 2013, **106**, 378-383. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.microc.2012.10.002>
- [34] JÚNIOR, J. B. G., T. A. ARAUJO, M. A. G. TRINDADE a V. S. FERREIRA. Electroanalytical determination of the sunscreen agent octocrylene in cosmetic products.

International Journal of Cosmetic Science. John Wiley & Sons, 2012/02/01, **34**(1), 91-96. ISSN 0142-5463. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2011.00686.x>

- [35] INAUDI, Paolo, Miryam PERRUCCI, Francesco VELOCCI, et al. Portable Voltammetry: A Rapid and Efficient Technique for Determining UV Filters in Cosmetics: A Comparative Study with HPLC-PDA and HPLC-MS/MS: A Rapid and Efficient Technique for Determining UV Filters in Cosmetics: A Comparative Study with HPLC-PDA and HPLC-MS/MS. *Analytical Chemistry*. American Chemical Society, 2024/08/27, **96**(34), 14004-14010. ISSN 0003-2700. Dostupné z: doi:[10.1021/acs.analchem.4c02892](https://doi.org/10.1021/acs.analchem.4c02892)
- [36] GANDAR, Aude, Thierry NOGUER, Vitalys MBA EKOMO, Alice M.S. RODRIGUES, Didier STIEN a Carole CALAS-BLANCHARD. Spectroelectrochemistry as a new tool for the quantification of UV filters in sun creams. *Talanta*. 2022, **250**, 123728. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2022.123728>
- [37] ZHAO, Shu-Feng, Jia-Xing LU, Alan M. BOND a Jie ZHANG. Remarkable Sensitivity of the Electrochemical Reduction of Benzophenone to Proton Availability in Ionic Liquids. *Chemistry – A European Journal*. John Wiley & Sons, 2012/04/23, **18**(17), 5290-5301. ISSN 0947-6539. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/chem.201103365>
- [38] BROWN, Jay H. Analysis of Two Redox Couples in a Series: An Expanded Experiment To Introduce Undergraduate Students to Cyclic Voltammetry and Electrochemical Simulations: An Expanded Experiment To Introduce Undergraduate Students to Cyclic Voltammetry and Electrochemical Simulations. *Journal of Chemical Education*. American Chemical Society, 2016/07/12, **93**(7), 1326-1329. ISSN 0021-9584. Dostupné z: doi:[10.1021/acs.jchemed.6b00052](https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.6b00052)
- [39] GOMIS-BERENGUER, Alicia, Maria GÓMEZ-MINGOT, Vicente MONTIEL, Antonio CANALS, Thies THIEMANN, Rashid O. KADARA, Craig E. BANKS a Jesús INIESTA. Exploring the electrochemical behavior of screen printed graphite electrodes in a room temperature ionic liquid. *RSC Advances* [online]. 2012, **2**(20) [cit. 2025-05-01]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:[10.1039/c2ra20927f](https://doi.org/10.1039/c2ra20927f)
- [40] LOPES NEVES, Raiane Aparecida, Fausto MOREIRA ARAUJO, Felipe SIQUEIRA PACHECO, Gustavo CHEVITARESE AZEVEDO, Maria Auxiliadora COSTA MATOS a Renato CAMARGO MATOS. Electrochemical Determination of Sunscreens Agents in Cosmetic Using Square Wave Voltammetry. *Electroanalysis*. John Wiley & Sons, 2019/03/01, **31**(3), 496-503. ISSN 1040-0397. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.1002/elan.201800747>
- [41] ELWY, Hanan M., Rana S. SHERIF, Sawsan M. AMER a G.A. SEDIK. Modification of Carbon Paste Electrode with MWCNTs and Benzethonium chloride and its Application as a Novel Sensor for Determination of Benzophenone-4 in Cosmetic Preparations. *International Journal of Electrochemical Science*. 2020, **15**(5), 4308-4325. ISSN 1452-3981. Dostupné z: doi:<https://doi.org/10.20964/2020.05.21>

- [42] ZAVAZALOVA, Jaroslava, Katerina , PROCHAZKOVA a Karolina AND SCHWARZOVA-PECKOVA. Boron-doped Diamond Electrodes for Voltammetric Determination of Benzophenone-3. *Analytical Letters*. Taylor & Francis, 2016/01/02, **49**(1), 80-91. ISSN 0003-2719. Dostupné z: doi:10.1080/00032719.2014.1003425
- [43] VIDAL, Lorena, Alberto CHISVERT, Antonio CANALS, et al. Chemically surface-modified carbon nanoparticle carrier for phenolic pollutants: Extraction and electrochemical determination of benzophenone-3 and triclosan: Extraction and electrochemical determination of benzophenone-3 and triclosan. *Analytica Chimica Acta*. 2008, **616**(1), 28-35. ISSN 0003-2670. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.04.011
- [44] KANNAN, Aarthi, Abinaya MAYAVAN a Sakthivel GANDHI. Polyhedral oligomeric silsesquioxane-based hydrophobic hybrid composite for the electrochemical detection of a benzophenone derivative. *Microchemical Journal*. 2024, **203**, 110798. ISSN 0026-265X. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.110798
- [45] MUTIĆ, Sanja, Jasmina ANOJČIĆ, Milan VRANEŠ, Jovana PANIĆ a Snežana PAPOVIĆ. Voltammetric determination of organic UV filters by carbon paste electrodes modified with pyridinium-based ionic liquids. *Talanta*. 2024, **266**, 125103. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.talanta.2023.125103
- [46] ŞENTÜRK, Zühre. A Journey from the Drops of Mercury to the Mysterious Shores of the Brain: The 100-Year Adventure of Voltammetry: The 100-Year Adventure of Voltammetry. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. Taylor & Francis, 2024/07/03, **54**(5), 1342-1353. ISSN 1040-8347. Dostupné z: doi:10.1080/10408347.2022.2113760
- [47] SIMÕES, Fábio Ruiz, Lúcia CODOGNOTO, Thays de Souza LIMA a Calixto FERNANDES-FILHO. *Pulsed voltammetry for monitoring of emerging contaminants*. In: . Oxford: Elsevier, 2024, s. 450-460. ISBN 978-0-323-85670-6. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85669-0.00015-5
- [48] NING, Qihong, Shaoqing FENG, Yuemeng CHENG, Tangan LI, Daxiang CUI a Kan WANG. Point-of-care biochemical assays using electrochemical technologies: approaches, applications, and opportunities: approaches, applications, and opportunities. *Microchimica Acta*. 2022/08/02, **189**. Dostupné z: doi:10.1007/s00604-022-05425-z
- [49] CHAVAN, Sushila a Deepa DESAI. Analytical method validation: A brief review: A brief review. *World Journal of Advanced Research and Reviews*. 2022/11/30, **16**, 389-402. Dostupné z: doi:10.30574/wjarr.2022.16.2.1165
- [50] SUNYER, Adrià, Ainoa GONZÁLEZ-NAVARRO, M. Pau SERRA-ROIG, Núria SERRANO, M. Silvia DÍAZ-CRUZ a José Manuel DÍAZ-CRUZ. First application of carbon-based screen-printed electrodes for the voltammetric determination of the organic UV filters oxybenzone and octocrylene. *Talanta*. 2019, **196**, 381-388. ISSN 0039-9140. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.12.092
- [51] WEJNEROWSKA, Grażyna a Izabela NARLOCH. Determination of Benzophenones in Water and Cosmetics Samples: A Comparison of Solid-Phase Extraction and

- Microextraction by Packed Sorbent Methods: A Comparison of Solid-Phase Extraction and Microextraction by Packed Sorbent Methods. *Molecules* [online]. 2021, **26**(22) [cit. 2025-05-07]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules26226896
- [52] SUNGTHONG, Bunleu, Ruchilak RATTAROM, Vilasinee Hirunpanich SATO a Hitoshi SATO. Development and validation of a new RP-HPLC-UV method for the simultaneous determination of phenytoin impurities, benzophenone, and benzil. *Acta Chromatographica*. Budapest, Hungary: Akadémiai Kiadó, 2019, **31**(4), 241-245. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1556/1326.2018.00447
- [53] LEVENT, Abdulkadir, Ahmet ALTUN, Yavuz YARDIM a Zühre ŞENTÜRK. Sensitive voltammetric determination of testosterone in pharmaceuticals and human urine using a glassy carbon electrode in the presence of cationic surfactant. *Electrochimica Acta*. 2014, **128**, 54-60. ISSN 0013-4686. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.10.024
- [54] SONG, Xin-Yan, Xin MENG, Bao-Lin XIAO, Yang-Yang LI, Xin-Xin MA, Ali A. MOOSAVI-MOVAHEDI a Jun HONG. MWCNTs-CTAB and HFs-Lac Nanocomposite-Modified Glassy Carbon Electrode for Rutin Determination. *Biosensors* [online]. 2022, **12**(8) [cit. 2025-05-07]. ISSN 2079-6374. Dostupné z: doi:10.3390/bios12080632
- [55] GOWDA, Dr. Jayant, Danavva GUNJIGANVI, Nagaveni SUNAGAR, Manjushree BHAT a Sharanappa NANDIBEWOR. MWCNT-CTAB modified glassy carbon electrode as a sensor for the determination of paracetamol. *RSC Adv*. 2015/05/26, **5**. Dostupné z: doi:10.1039/C5RA05802C
- [56] QU, Baocheng, Haitao BIAN, Xiqin MAO a Jin LI. Measurement of 11 benzophenone ultraviolet-filters in cosmetics by high performance liquid chromatography. *Chinese Journal of Chromatography*. 2015/12/01, **33**, 1327. Dostupné z: doi:10.3724/SP.J.1123.2015.06042
- [57] BERKMAN, Murat a Yasemin YAZAN. A validated HPLC method for the determination of octocrylene in solid lipid nanoparticle systems. *Die Pharmazie*. 2011/02/01, **66**, 105-10. Dostupné z: doi:10.1691/ph.2011.0222
- [58] TIWARI, Sumit, Vishal SAREEN, YAMINI SHARMA, DEEPALI PRASHAR, S.K. LUTHRA, Prasun BANDYOPADHYAY a Ranjan MITRA. Development and Validation of HPLC Method for Determination of Four UV Filters in Sunscreen Products. *Journal of Cosmetic Science*. 2022/06/19, **73**, 166-177.
- [59] PAFILI, Anastasia, Thomas MEIKOPOULOS, Eleni KONTOGIANNIDOU, et al. Development and validation of LC-MS/MS method for the determination of UV-filters across human skin in vitro. *Journal of Chromatography B*. 2021, **1167**, 122561. ISSN 1570-0232. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2021.122561
- [60] KUNISUE, Tatsuya, Qian WU, Yuko TAJIMA a Kenneth ALDOUS. Analysis of five benzophenone-type UV filters in human urine by liquid chromatography-tandem mass

spectrometry. *Analytical Methods - ANAL METHODS*. 2010/06/01, **2**. Dostupné z: doi:10.1039/b9ay00324j

- [61] RASCÓN, Andrés J., Priscilla ROCÍO-BAUTISTA, Laura PALACIOS-COLÓN a Evaristo BALLESTEROS. Easy determination of benzophenone and its derivatives in sunscreen samples by direct-immersion solid-phase microextraction and gas chromatography–mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2023, **236**, 115711. ISSN 0731-7085. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.jpba.2023.115711
- [62] DO, Le H.D., Rebecca M. LAW a Howard I. MAIBACH. Dose response effect of chemical surface concentration on percutaneous penetration in human: In vivo + in vitro: In vivo + in vitro. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2022, **132**, 105186. ISSN 0273-2300. Dostupné z: doi:https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2022.105186
- [63] WANG, Siqu, Zhuhao HUO, Wenyan SHI, Hongyong WANG a Gang XU. Urinary benzophenones and synthetic progestin in Chinese adults and children: concentration, source and exposure: concentration, source and exposure. *Environmental Science and Pollution Research*. 2021, **28**(36), 50245-50254. ISSN 1614-7499. Dostupné z: doi:10.1007/s11356-021-13943-1