Kosmetické gely s hydratačními účinky

Lenka Pučálková

Bakalářská práce
2012

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení:	**Lenka PUČÁLKOVÁ**
Osobní číslo:	**T09164**
Studijní program:	**B 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor:	**Technologie výroby tuků, kosmetiky a detergentů**
Téma práce:	**Kosmetické gely s hydratačními účinky**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. **V teoretické části práce zpracujte literární rešerši na zadané téma. Charakterizujte typy kosmetických vehikul a soustřeďte se na gelové formy. Dále se zaměřte na látky s hydratační povahou používané v kosmetice.**

II. Praktická část

1. **V praktické části připravte modelové vzorky hydrogelů se zastoupením vybraných hydratačních činidel, proveďte jejich charakterizaci a ze získaných výsledků formulujte závěry.**

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] BAREL, André O, Marc PAYE a Haward I MAIBACH. Handbook of cosmetic science and technology. 1. New York: Marcel Dekker, Inc., 2001. ISBN 0-8247-0292-1.
[2] ZÁHEJSKÝ, Jiří. Zevní dermatologická terapie a kosmetika. 1. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1551-1.
[3] LEYDEN, James J a Anthony V RAWLINGS. Skin Moisturization. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002. ISBN 0-8247-0643-9.
[4] BAUMANN, Leslie, Sogol SAGHARI a Edmund WEISBERG. Cosmetic dermatology: principles and practice. 2. New York: McGrav-Hill Medical, 2009. ISBN 978-0-07-164128-9.

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **24. února 2012**

Termín odevzdání bakalářské práce: **21. května 2012**

Ve Zlíně dne 24. února 2012

L.S.

doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: PUČÁLKOVÁ LENKA Obor: CHTP - KK

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby [1];
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 [2];
- beru na vědomí, že podle § 60 [3] odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 [3] odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 7. 5. 2012

Pučálková Lenka

---

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

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

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

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

[2] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

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

[3] zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

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

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

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

ABSTRAKT

Bakalářská práce se věnuje kosmetickým gelům jako možným nosičům aktivních hydratačních látek. Zabývá se hydratací pokožky, suchou kůží a hydratačními látkami, které se běžně vyskytují v kosmetických přípravcích. Praktická část je zaměřena na vliv těchto hydratačních látek na viskozitu gelových vehikul a jejich účinnost při hydrataci pokožky. K měření hydratace byly zvoleny dvě metody, a to korneometrická metoda a metoda měření transepidermální ztráty vody (TEWL). Byly porovnány hydratační účinky jednotlivých látek obsažených ve stejném gelovém základu a zároveň bylo zhodnoceno, zda jsou gely vhodnými nosiči studovaných hydratačních látek.

Klíčová slova: gel, hydratace, humektanty, emolienty, okluziva, korneometrie, TEWL

ABSTRACT

The thesis deals with cosmetic gels as potential carriers of active moisturizing agents. It also deals with the hydration of the skin, dry skin and moisturizing agents that are commonly found in cosmetic products. The experimental part is focused on the investigation of the influence of these substances on the gel viscosity and on their efficacy in skin hydration. For hydration measurements, the two methods were chosen; the corneometry and measurement of transepidermal water loss (TEWL). Hydration effects of each of the substances used in the same gel base were compared and suitability of the gels to serve as the moisturizing substance carrier was evaluated.

Keywords: gel, hydration, humectants, emollients, occlusives, corneometry, TEWL

Ráda bych poděkovala paní doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc., která navrhla a odborně vedla bakalářskou práci, jejíž zpracování pro mne bylo zajímavé a užitečné. Děkuji za její rady, veškerou pomoc, velkou trpělivost a čas, který mi věnovala. Dále bych chtěla poděkovat paní Ing. Daniele Veselé za cennou zkušenost pracovat na přípravě kosmetických gelů v laboratorních prostorech Technologického parku. Děkuji za její nesmírnou ochotu a pomoc s následným zpracováním výsledků. V neposlední řadě děkuji Ing. Janě Poláškové za spolupráci a předání zkušeností při měření hydratace a taky všem kolegyním, které se účastnily klinických testů.

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

Motto: *Až na konci poznáš, jak jsi měl začít.*

OBSAH

ÚVOD

Kůže je složitý orgán lidského těla a její stav je úzce spojen s fyzickým i duševním zdravím člověka. Je vystavována mnoha nepříznivým vlivům při každodenních činnostech a problémy se suchou kůži se, za určitých podmínek, týkají každého z nás. Chceme-li kůži zachovat dobře hydratovanou, tedy zdravou, musí jí být zajištěna vhodná péče, přísun hydratačních látek, regenerace a ochrana. Kosmetické přípravky s hydratačním účinkem obsahují takové aktivní a pomocné látky, které jsou schopny zvýšit a udržet množství vody v nejsvrchnější části kůže. Tyto hydratační složky mohou kůži hydratovat různými způsoby. Mohou vodu vázat, a to jak ze samostatného přípravku, tak z povrchu kůže (humektanty), okluzivním účinkem mohou zpomalit její vypařování (okluziva) nebo mohou doplňovat úbytek kožního lipoidního filmu (emolienty). Důležitým krokem je také vhodný výběr kosmetického vehikula, které hydratační schopnosti rovněž ovlivňuje. Měřením hydratace po aplikaci hydratačních látek přítomných v různých typech kosmetických vehikul je možno zjistit jejich skutečnou účinnost a schopnost dodávat pokožce ztracenou vlhkost. Mezi nejčastěji používané instrumentální metody vhodné k hodnocení hydratace patří korneometrická metoda, založená na měření elektrických vlastností kůže, které se mění v závislosti na obsahu vody a metoda měření transepidermální ztráty vody (TEWL), pomocí které je hodnocena bariérová funkce kůže.

Bakalářská práce se zabývá přípravou kosmetických gelů s obsahem vybraných hydratačních látek, a to glycerolu, močoviny, kyseliny hyaluronová a sericinu. Hydratační schopnosti připravených gelů byly testovány *in vivo*, pomocí výše uvedených instrumentálních metod.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 NEJDŮLEŽITĚJŠÍ KOSMETICKÁ VEHIKULA

Termín vehikulum je používán jak ve farmacii, tak i v kosmetice v oblasti formulace [1]. Jedná s o pomocné látky nebo směsi látek s konstitutivní funkcí. Vehikula vytvářejí, konstituují strukturu a formu přípravku. Přípravek přizpůsobují tvarem, konzistencí, fyzikálně-chemickými vlastnostmi pro aplikační cestu nebo místo aplikace [1, 2].

Vehikulum slouží jako nosič aktivních látek, které jsou uloženy do jeho matrice. Tato kapitola se bude krátce zabývat vehikuly typu roztok, suspenze a emulze. Gelům pak bude věnována celá další kapitola.

1.1 Klasifikace vehikul

V literatuře je možné nalézt mnoho způsobů, jak kosmetická vehikula rozdělovat. Ve většině případů je však problematické vyjasnit rozdíly pro jejich správné a jednoznačné zařazení. Existují totiž různá hlediska a charakteristiky použitých kritérií [1].

1.1.1 Klasifikace podle vzhledu přípravku

Klasifikační systém podle vzhledu přípravku je nejjednodušší. Na základě makroskopického a fyzikálního složení se rozlišují tři typy přípravků, a to přípravky tekuté, polotuhé a tuhé [1].

1.1.2 Klasifikace podle fyzikálně-chemických vlastností

Klasifikace založená na fyzikálně-chemických vlastnostech je v mnoha ohledech velmi praktická. Vehikula rozděluje podle:

- polarity
  - hydrofilní
  - lipofilní
- skupenství
  - tuhé
  - polotuhé
  - tekuté
  - plynné

- velikosti / rozměrů částic rozptýlených ve směsi:
    - pravý roztok, molekulární disperze / velikost částic < 1nm
    - koloidní disperze / velikost částice je 1 nm – 500 nm
    - hrubé disperze / velikost částic > 500 nm
- rozpustnosti
- reologie a viskozity
- složení a fyzikálně-chemická charakterizace hlavních složek [1].

1.1.3 Klasifikace se vztahem ke skupenství a optické rozlišnosti

Další možná klasifikace vehikul souvisí se skupenstvím a optickou rozlišnosti; vehikula mohou být rozlišována na jednofázové izotropní systémy nebo na anizotropní vícefázové systémy. Většina kosmetických vehikul jsou anizotropní vícefázové směsi. U vícefázových systémů je tedy potřeba vyhovujícím způsobem popsat a klasifikovat různorodost možných forem vehikul [1].

1.2 Roztoky

Roztoky jsou homogenní disperzní systémy skládající se z rozpouštědla a rozpuštěné látky. V užším slova smyslu můžeme termín „roztok“ použít pro popis pravého roztoku, tedy molekulární disperze. V širším slova smyslu termín může zahrnovat také koloidní roztoky, tj. více nebo méně průhledné kapaliny [1].

Předpokladem pro vznik roztoku, jako fyzikální formy kosmetického přípravku, je dostatečně vysoká rozpustnost látky, která má být do něj převedena. Rozpustnost látky se posuzuje podle množství rozpouštědla potřebného k rozpuštění 1 gramu látky, přičemž obsah rozpuštěné látky v roztoku lze vyjádřit procentuálně (% w/w, w/V) nebo koncentrací (g/l) [3].

1.2.1 Příklady roztoků

Nejklasičtějším příkladem roztoků v kosmetice jsou parfemované a toaletní vody. Solubilizaci lipofilních fragrantů, tedy začleňování těchto fragrantů do micel, umožňují alkoholové a vodně alkoholové roztoky. Přídavek alkoholu nebo jiného hydrofilního, avšak méně polárního rozpouštědla (glycerol, polyethylenglykol), snižuje polaritu roztoku a tím zvyšuje rozpustnost lipofilních látek [3].

Jiným případem roztoku jsou ústní vody. Obvykle obsahují esenciální oleje nebo rostlinné extrakty, jako například extrakt máty. Ty jsou v roztoku udržovány přídavkem etanolu (cca 70 %). Při použití pro aplikaci jsou tyto koncentráty obvykle ředěny vodou. Následný zákal, který po zředění může vzniknout, se projevuje v důsledku překroční limitu rozpustnosti. Zákalu se zabraňuje přídavkem solubilizačních činidel, surfaktantů. Lze např. použít PEG-40 nebo hydrogenovaný ricinový olej [1].

1.2.2 Příprava roztoků, vlastnosti roztoků a jejich úprava

Příprava roztoku je jednoduchá a provádí se mícháním, popř. mícháním a zahříváním. Roztok je také možné připravit chemickou reakcí nebo solubilizací [1]. Pravé roztoky jsou průhledné, mají „čirý“ vzhled, jsou vhodné pro vyplachování a čištění povrchu těla [1]. Mezi jejich nevýhody patří náchylnost k bakteriální kontaminaci, zvláště u vodných roztoků, proto je nutná konzervace zvýšeným obsahem alkoholu, konzervačními látkami nebo kombinací obou způsobů [3].

Rozpustnost může být zlepšena přizpůsobením polarity rozpouštědla polaritě rozpuštěné látky, přítomností solí, nastavením pH, použitím směsi vhodných rozpouštědel a kosolventů či solubilizací s pomocí surfaktantů. Například přídavek hydroxidu sodného může zlepšit rozpustnost kyseliny hyaluronové nebo konzervačních látek jako je kyselina sorbová a benzoová [1].

Lze tedy konstatovat, že pro přípravu roztoku musí být použito optimální rozpouštědlo, které garantuje dostatečnou rozpustnost aktivní látky, stabilitu a zároveň zaručuje bezpečnost aplikace na těle [1].

1.3 Suspenze

Suspenze patří mezi hrubé disperze, jejichž dispergovaná fáze má charakter pevných částic, jež lze pozorovat optickým mikroskopem. Disperzním prostředím je v kosmetických suspenzích nejčastěji voda. Podmínkou vhodného disperzního prostředí je u kosmetických prostředků dobrá snášenlivost s pokožkou [3, 4]. Příkladem jsou opalovací prostředky nebo perleťové laky na nehty obsahující pigmenty [1].

Stabilita suspenzí je závislá na použité receptuře. Při přípravě se preferují částice koloidních rozměrů (0.1 μm až 100 μm), protože čím menší jsou částice, tím pomaleji proběhne jejich sedimentace, např. při skladování. Sedimentaci může zabránit i přídavek povrchově aktivní látky nebo zahušťovadla, které zvýší viskozitu disperzního prostředí [3, 4].

Nejčastější způsob přípravy suspenze je rozptýlení drobných částeček pevné látky v kapalném vehikulu [3].

1.4 Emulze

Emulze jsou heterogenní disperzní soustavy navzájem nemísitelných kapalin, kdy jedna kapalina tvoří disperzní podíl rozptýlený na drobné částečky (kapky) v kapalném, disperzním prostředí druhé kapaliny. Průměr rozptýlených částic je obvykle větší než 0.1 μm. Systém stabilizuje emulgátor [5].

Emulze jsou tedy tvořeny nejméně dvěma vzájemně omezeně mísitelnými nebo vůbec nemísitelnými kapalinami. Jedna z nich bývá složena z látek, jako jsou tuky, vosky a uhlovodíky, má tedy charakter lipofilní (hydrofobní), nazývá se „olej“ nebo „olejová fáze“ a pro označení se používá písmeno „o“. Druhá fáze je prakticky vždy tvořena vodou a látkami ve vodě rozpustnými. Její charakter je hydrofilní, stručně se nazývá „voda“ nebo vodná fáze“ a označuje se jako „v“ [3].

U emulzí se rovněž běžně setkáme s pojmem vnější a vnitřní fáze. Jako vnější fáze se označuje disperzní prostředí a dispergovaná kapalina jako vnitřní fáze. Tyto dvě fáze mohou tvořit tři základní typy emulzí [7].

1.4.1 Emulze typu voda v oleji

Emulze typu voda v oleji je případem, kde disperzním prostředím je olejová fáze, v níž jsou rozptýleny kapičky fáze vodné. Kosmetické emulze typu v/o mají polotuhou konzistenci a na kůži se chovají jako masti [6, 7].

1.4.2 Emulze typu olej ve vodě

U tohoto typu emulzí je disperzním prostředím vodná fáze s kapičkami fáze olejové. Emulze typu o/v jsou základem většiny hydrofilních krémů. Pokožkou jsou dobře přijímány, působí lehce, rychle se vstřebávají do povrchových epidermálních vrstev (včetně účinných látek v nich obsažených) [6, 7].

1.4.3 Směsné emulze

Směsné emulze (někdy nazývané též násobné emulze) vznikají z emulzí primárně dvoufázových, ve kterých je možné utvořit v původních zevních fázích ještě jednu ohraničenou fázi

opačného charakteru. Existovat mohou dva typy smíšených emulzí a to v/o/v nebo o/v/o [3, 7].

1.5 Mikro a nanoemulze

Mikroemulze a nanoemulze jsou typy emulzí lišící se velkostí dispergovaných částic [8].

Termín mikroemulze vychází z velkosti částic emulze, která se pohybuje v rozmezí 10 až 100 nm. Mikroemulze se skládají z velkého množství nabobtnalých micel přítomných ve vnější fázi. Vznikají spontánně při vysokých koncentracích surfaktantu a velkém obsahu solubilizátu v micele. Pro jejich tvorbu je důležitá přítomnost kosurfaktantu, kterým bývá alkohol o střední délce řetězce. Obdobně jako klasické emulze mohou být typu o/v nebo v/o. Na rozdíl od emulzí jsou transparentní a termodynamicky stabilní. Mikroemulze vykazují řadu unikátních vlastností, s nimiž jsou žádoucí v mnoha odvětvích průmyslu [1, 8].

Velikost částic nanoemulzí leží v rozsahu 50 – 200 nm, a může se tedy překrývat s velikostí částic pozorovaných u mikroemulzí. Principiální rozdíl mezi těmito dvěma systémy je však ve stabilitě. Zatímco mikroemulze jsou rovnovážné systémy, které jsou termodynamicky stabilní, nanoemulze jsou nerovnovážné, termodynamicky nestabilní systémy se spontánní tendencí k separaci na základní složky, tedy olejovou a vodnou fázi [9].

2 GELY

Gely jsou přechodnou soustavou mezi koloidní a hrubou disperzí. Dispergovaná fáze vytváří v disperzním prostředí trojrozměrnou síťovou strukturu, která v závislosti na koncentraci prostupuje celým disperzním prostředím a mechanicky tento systém zpevňuje. Přestože je disperzní prostředí kapalné, gely vykazují vlastnosti, charakteristické pro tuhý stav [3, 10].

Soudržnost síťovité struktury zabezpečují fyzikální nebo chemické vazby. V případě gelace vlivem chemických vazeb se jedná o gel připravený chemickou reakcí. Spoje fyzikální povahy vznikají v gelu snížením afinity vysokomolekulární látky k rozpouštědlu a to přídavkem rozpouštědla, v němž je makromolekula málo rozpustná nebo snížením teploty [10].

Každý gel je charakterizován kritickou koncentrací gelace, pod níž se gel neutvoří. Tato koncentrace je určena hydrofilně-lipofilní rovnováhou polymeru, stupněm pravidelnosti struktury polymeru, interakcí mezi polymerem a rozpouštědlem, molární hmotností polymeru a ohebností jeho řetězce. Čím je řetězec ohebnější, tím je kritická koncentrace gelace vyšší. Charakteristickými vlastnostmi gelů je značné zvýšení viskozity nad bodem gelace, vzhled podobný gumě, elasticita a při vysokých koncentracích polymeru mez deformace. Při malém napětí si gel zachovává svůj tvar, je-li však působící napětí vyšší, dochází k jeho značné deformaci [11].

Gely se při kontaktu s kožním povrchem rychle transformují do tekuté konzistence a rychle se vstřebávají. Odpařováním vody dochází k ochlazování povrchu kůže. Účinek gelových extern je podmíněn obsahem účinných látek, které se uvolňují a resorbují rychleji než z mastí, avšak jejich působení je více povrchové [7].

Gely můžeme připravit rozpouštěním nebo nabobtnáním gelotvorných látek v rozpouštědle na dostatečně koncentrovaný roztok. Speciálním případem je příprava tzv. carbomerových či carbopolových gelů, kde gelace nastává po úpravě pH roztoku [3].

2.1 Klasifikace gelů

Gely můžeme rozdělit do dvou hlavních skupin v závislosti na chování po vysušení. Reverzibilní gely při vysoušení zmenšují svůj objem a přecházejí na kompaktní *xerogely*. Při styku s disperzním prostředím přechází zpět do původního stavu tzv. bobtnáním, tj. schopností přijímat molekuly disperzního prostředí. Tyto vlastnosti vykazují makromolekulární gely, jejichž makromolekulární vazby, jako jsou např. vazby vodíkové, mohou být přemostěny doplňkovými molekulami.

Ireverzibilní gely při vysoušení prakticky nemění svůj objem, jsou však porézní a při styku s disperzním prostředím nepřecházejí do původního stavu. Ireverzibilní gely vznikají gelací lyofobních solů, kde síť tvoří vazby kovalentní [10, 11].

Další možné rozdělení gelů je na základě síly vytvořeného gelu. Želatina, agar, pektiny, algináty a κ-karagenany tvoří za příhodných podmínek velmi silné gely. Příkladem silného charakteru gelové formulace s použitím karagenanů jsou pevné osvěžovače vzduchu. Slabé gely, které mohou představovat tělové krémy, holící gel nebo gely na vlasy mohou být tvořeny například solemi kyseliny polyakrylové, ι-karagenanů a etherů celulózy [12].

2.2 Gelační činidla

Gelačním činidlem jsou ve vodě rozpustné polymery, které mohou být jak původu přírodního, tak syntetického. Polymery představují jednu z nejširších skupin kosmetických ingrediencí a jejich používání je vysoce rozvinuté [10].

Na gely může být pohlíženo jako na systémy polymeru a rozpouštědla, které kvůli interakcím polymerních řetězců v trojrozměrné síti, vykazují velmi vysokou viskozitu. Na gelaci má značný vliv iontová síla a teplota. Zvýšením koncentrace vysokomolekulární látky roste četnost srážek makromolekul a zvětšuje se počet spojů mezi makromolekulami. Naopak zvýšením teploty roste intenzita tepelných pohybů segmentů makromolekuly, což brání vzniku permanentních vazeb a gel nevzniká. Gelace se tedy může dosáhnout snížením teploty. V případě amfoterních vysokomolekulárních látek (například proteinů) má na gelaci zásadní vliv pH prostředí. Nejlépe vznikají gely při hodnotě pH odpovídající izoelektrickému bodu [10]. Volba gelačních činidel pro farmaceutické i kosmetické účely není snadná díky rozmanitosti dostupných polymerů [12]. Některá gelační činidla používaná v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu jsou uvedena v Tabulce 1.

Tabulka 1 - Vybraná gelační činidla používaná v kosmetice [13]

Neionogenní
Hydroxyethylcelulóza, hydroxymethylethylcelulóza Methylhydroxyethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza Hydroxypropylmethylcelulóza Guma guar Maltodextrin, Dextran
Anionická
Kyselina akrylová Carbomery Karagenany (κ, ι, λ) Xanthanová guma, arabská guma

2.2.1 Deriváty celulózy

Deriváty celulózy (polysacharidy) a přírodní substituované polysacharidy jsou nejčastěji používané přírodní polymery. Celulóza sama o sobě je prakticky nerozpustná ve vodě. Částečně rozpustnou se stává po methylaci či karboxymethylaci [12].

2.2.1.1 Methylcelulóza a hydroxypropylmethylcelulóza

Methylcelulóza (MC) se připravuje reakcí methylchloridu s alkalicelulózou za přesně kontrolovaných podmínek. Výsledný neionogenní polymer se čistí, suší a mele na jemný bílý prášek. Na řetězec MC je možné naroubovat hydroxypropyl skupinu, čímž vzniká další významný polymer, hydroxypropylmethylcelulóza (HPMC). Oba polymery jsou hydrofilní a snadno rozpustné ve studené vodě a vykazují tepelně podmíněnou gelaci. Jakmile začne teplota vody stoupat, dojde k agregaci hydrofobních skupin těchto polymerů, což má za následek rychlý růst viskozity roztoků a zakalení. MC a HPMC se používají v celé řadě aplikací osobní péče a kosmetiky, např. jsou součástí šamponů, pěn do koupele a tekutých mýdel. Zejména HPMC je vyhledávána pro své pěnotvorné vlastnosti; vede k tvorbě bublin a efektu bohaté, dlouhotrvající pěny [14].

2.2.1.2 Hydroxypropylcelulóza

Hydroxypropylcelulóza (HPC) je neionogenní polymer, bílé či téměř bílé barvy. Vyrábí se reakcí alkalicelulózy s propylenoxidem. Výsledný polymer se čistí, suší a mele. HPC je unikátní velmi dobrou rozpustností v širokém rozsahu rozpouštědel. Vznik zákalu popsaného v kapitole 2.2.1.1 se projevuje pouze u vodných systémů a je zcela reverzibilní při ochlazení roztoku. Vzhledem k jedinečné rozpustnosti, velmi vysoké viskozitě vodných roztoků a filmotvorné schopnosti je HPC používána v gelech a pěnách po holení, fixačních vlasových přípravcích a stylingových gelech [14].

2.2.1.3 Hydroxyethylcelulóza

Hydroxyethylcelulóza (HEC) je neionogenní, ve vodě rozpustný polymer ve formě sypkého, zrnitého prášku. Vyrábí se reakcí etylenoxidu s alkalicelulózy za přísně kontrolovaných podmínek. Pro kosmetické aplikace se obvykle prodává v 96.0 % čistotě, pro farmaceutické účely ještě čistší. Běžně je využíván pro zahuštění vlasových kondicionérů, sprchových gelů, tekutých mýdel, zubních past, make-upu, očního make-upu a lubrikačních gelů. Roztoky HEC jsou pseudoplastické, což vede k tomu, že kosmetické prostředky s obsahem HEC vytékají z obalu husté a plné, ale snadno se roztírají na pokožce nebo aplikují na vlasy [14].

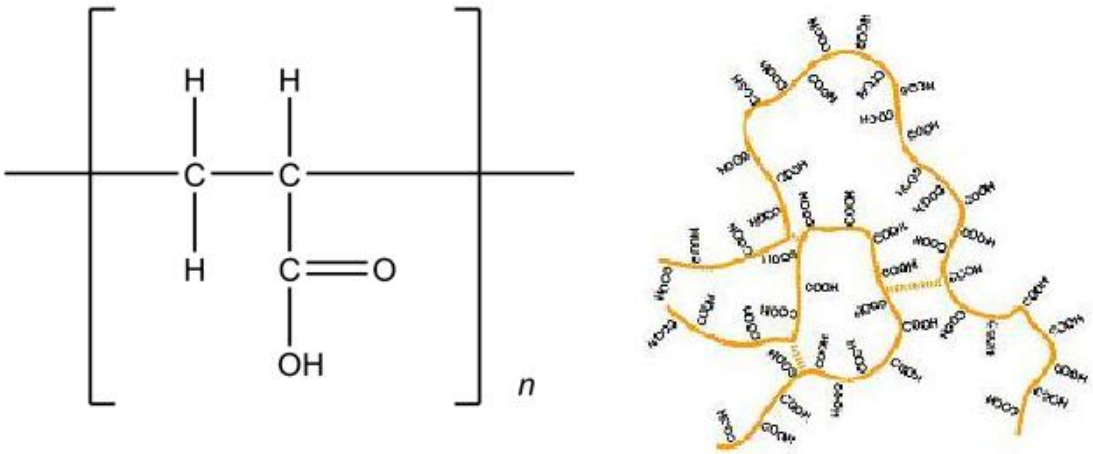
2.2.1.4 Karboxymethylcelulóza

Karboxymethylcelulóza (CMC) nebo sodná sůl karboxymethylcelulózy, vzniká reakcí sodné soli kyseliny monochloroctové s alkalicelulózou. Výsledný anionický polymer se čistí a suší. Vyčištěná CMC splňuje všechny požadavky pro kosmetické aplikace a lze ji najít v tekutém a očním make-upu, pudrech, pastách apod. Kromě zahušťování vodných systému je CMC schopna vázat vodu a synergicky spolupůsobit na udržení pigmentů a aktivních složek v roztocích [14].

2.2.2 Carbomery

Carbomery jsou v kosmetickém průmyslu široce používaná zahušťovadla a gelační činidla. Často se můžeme setkat s nejasnou nomenklaturou týkající se názvů carbomer a carbopol. Jsou-li porovnány CAS čísla těchto látek, jedná se o totožné látky, přičemž se oba pojmy používají pro syntetický vysokomolekulární polymer kyseliny akrylové, obsahující vysoký podíl karboxylových skupin [12]. Záleží na tom, z čeho jsou látky vyrobené, popřípadě, zda jsou zesíťované. Carbomery mohou mít různé kódy (910, 934, 940, 941 a 934P), což jsou

údaje o molekulové hmotnosti polymeru. Carbomery jsou na trhu pod celou řadou komerčních názvů, např. carbomer Polygel CA [12, 16].



Obrázek 1 – Strukturní jednotky carbomeru a schématické znázornění jeho polymerního řetězce [15]

Carbomer je na trhu dostupný jako bílý, jemný prášek se schopností absorbovat, zadržovat vodu a bobtnat. Je vhodný pro přípravu průsvitných gelů a obvykle se používá v koncentračním rozmezí mezi 0.1 a 1.5 hm.%. Množství se volí podle typu formulace a požadované viskozity. Lze jej použít i pro přípravu disperzí. Ty vznikají pomalým přídavkem carbomeru do vody tak, aby se netvořily shluky nebo agregáty. Vodné roztoky carbomerů jsou kyselé. Pro dosažení maximální viskozity carbomerových gelů je potřebné upravit pH do rozmezí 6 – 11, a proto je nutné systém neutralizovat. Neutralizace se může provést anorganickými zásadami (NaOH, KOH, NH_4OH) nebo organickými aminy. Během nebo po neutralizaci není doporučováno dlouhodobé smykové namáhání z důvodu ztráty viskozity. Viskozitu dále snižují elektrolyty nebo UV záření. Vodorozpustné UV absorbéry, jako např. benzofenon-4, zabraňují degradaci polymeru v gelu [16].

Carbomery nepodporují mikrobiální růst, zároveň mu ale nejsou schopny zabránit a pro jejich mikrobiální stabilitu je vhodné použít konzervační činidlo [16].

3 KŮŽE A ZTRÁTA VODY

Lidská kůže je důležitým, hraničním orgánem, který zprostředkovává kontakt organismu s vnějším prostředím [7]. Funkce kůže jsou regulační a ochranné, a to jak vůči zevnějšku, tak z hlediska ochrany vnitřního prostředí organismu. Pro vzhled kůže jsou významné především ty funkce, kterou jsou současně ochrannými mechanismy proti zevním vlivům. Jedná se o keratinizaci, funkci mazových a potních žláz. Tyto tři faktory se podílení na tvorbě kožního filmu, tedy i na vlastní hydrataci epidermis. Hydratace má zase významnou úlohu v uchování kvality pokožky a optimální funkčnosti jejích bariérových funkcí [3, 17]. Pouze zdravá kůže, dostatečně hydratovaná, zajistí správný chod všech fyziologických funkcí [18].

Kůže je složena ze dvou hlavní vrstev – epidermis a dermis. Spodní část, dermis, je tvořena fibroblasty a extracelulárním matrix. Je bohatě inervována a zásobena krevními kapilárami. Epidermis se skládá z vrstev *stratum bazale, stratum spinosum, stratum granulosum,* kde těsné spoje mezi buňkami *strata granulosa* lze označit za první linii obrany před ztrátou vody a *stratum corneum*, která společně s povrchovým kožním filmem tvoří hlavní biologický bariérový orgán [19, 20].

3.1 Přirozený způsob hydratace pleti

Epidermální bariéra je tvořená vrstvou *stratum corneum* a lipoidním filmem na jejím povrchu. Její kvalita je dána výsledkem komplexního diferenciačního procesu v celé epidermis [21].

Lipoidní film, neboli kyselý kožní plášť s pH 4.5 – 5.5, je tvořen mazem, potem a rozpadajícími zbytky zrohovatělých buněk *strata cornea*. Jeho hlavní funkcí je udržovat konstantní kyselost, což souvisí se schopností bránit organismus před bakteriální infekcí [3, 21].

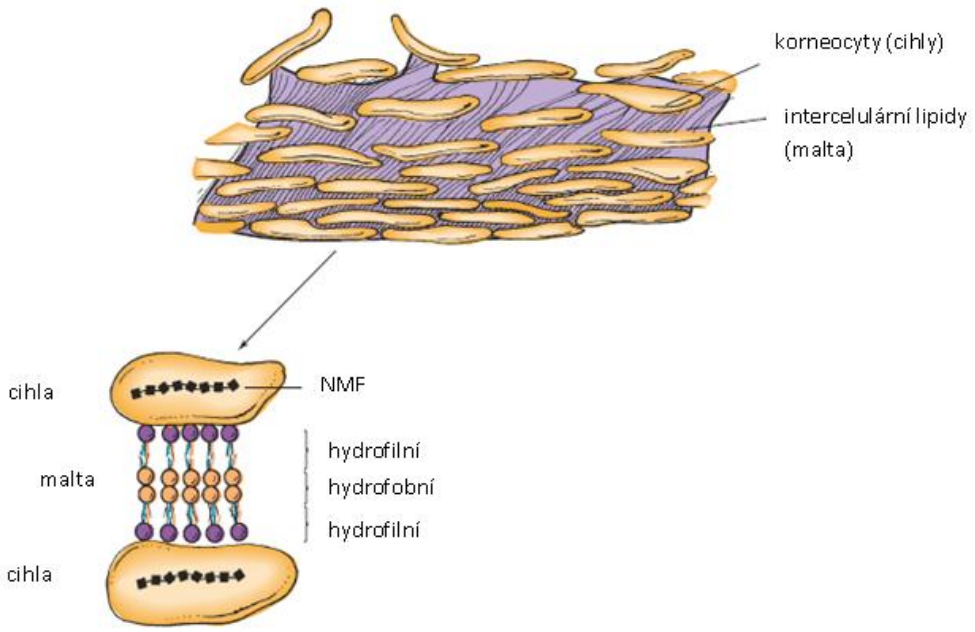
Stratum corneum je dynamická struktura a zároveň konečný produkt diferenciace epidermálních buněk. Skládá se ze 75 - 80 % proteinů, 5 – 15 % lipidů, organických sloučenin, přirozeně zvlhčujícího faktoru a vody [19]. Voda je v kůži hlavním změkčujícím činidlem a pro vzhled a pocit zdravé kůže by obsah vody ve *stratum corneum* měl být vyšší než 10 % [22].

Struktura *strata cornea* je často přirovnávána k cihlové zdi. Cihlami jsou míněny korneocyty, jež jsou vzájemně propojeny desmozomy (desmoglein-1, desmokolin-1) [21]. Korneocyty jsou bezjaderné ploché buňky, které prošly směrem vzhůru všemi vrstvami epidermis, od bazální membrány až po povrch, kde seschly a vytváří 18 - 21 vrstev zrohovatělých buněk

[18]. Jsou přibližně 1 μm široké a mají 50 – 80 μm v průměru [23]. Jsou tvořeny proteiny α a β-keratinem, vodou a hygroskopickými látkami. Pokryty jsou obalem strukturálních proteinů a následně lipidovým obalem z ceramidů [18]. Hlavní strukturální protein se nazývá loricrin, dále například involucrin, proteiny bohaté na prolin, desmoplakin a periplakin, které jsou zesíťovány vápenatými kationty [22, 24].

Prostor mezi korneocyty je vyplněn lamelárně uspořádanou lipidovou dvojvrstvou. Ta představuje „maltu“ mezi „cihlami“ [21]. Skládá se z ceramidů (až 50 %), cholesterolu a nenasycených mastných kyselin [21, 18].

Všechny 3 typy lipidů ve *stratum corneum* jsou bipolární. Tvoří spontánně lamely, složené z několika dvojvrstev, které jsou uspořádány tak, že směřují svou hydrofobní částí dovnitř a hydrofilní, tvořenou hydroxylovými a karbonylovými skupinami vně, do vodného prostředí. Tyto střídavé dvojvrstvy řídí pohyb vody skrz *stratum corneum* čili představují jeden ze dvou mechanismů pro udržení vlhkosti [21, 23].



Obrázek 2 – Uložení korneocytů v lipidovém matrix připomínající „cihly“ a „maltu“; přirozený hydratační faktor NMF uvnitř korneocytů a lipidová dvojvrstva bránící dehydrataci pokožky [22]

3.1.1 Natural miosturizing factor

Natural moisturizing factor (NMF) je konkrétní kombinace hygroskopických nízkomolekulárních sloučenin, které jsou v kůži schopné efektivně vázat vodu a podmiňují tak stav optimální hydratace. Téměř polovinu NMF tvoří volné mastné kyseliny, dále kyselina urokánová, mléčná a pyrolidonkarboxylová, urea, kreatinin, sacharidy, peptidy, elektrolyty a další [21, 18]. Část NMF, např. kyselina pyrolidonkarboxylová a citrulin, vzniká degradací proteinu filagrinu, přesněji řečeno deaminací hygroskopických aminokyselin histidinu, glutaminu a argininu, které vznikají z filagrinu ve vyšších vrstvách kůže. V nižších vrstvách kůže hraje filagrin pouze strukturální roli [22].

Množství NMF je přímo závislé na obsahu vody ve *stratum corneum* a jeho koncentrace činí 10 % suché hmotnosti rohové vrstvy [18, 21].

Jako zajímavost je možné uvést fakt, že složky NMF jsou závislé na sezónních podmínkách. Bylo prokázáno, že množství aminokyselin je vyšší v zimě, zatímco množství kyseliny mléčné, draslíku, sodíku a chloridů v letním období [25].

3.2 Suchá kůže

Suchá kůže je nejčastějším problémem, se kterým se setkává běžná dermatologická praxe. Odhaduje se, že různé projevy suché kůže má 20 – 50 % populace. Nejčastěji se s touto problematikou setkáváme u atopických pacientů, u žen v domácnosti a u některých profesí, seniorů, ale také u lidí vystavených nadměrné hygieně [21].

Při dehydrataci kůže je redukováno množství mezibuněčných lipidů, mění se charakter hydrolipoidního filmu nebo NMF [21]. Poškození ochranné bariéry se projevuje zvýšením transepidermálních ztrát vody, zvýšenou citlivostí a snadnějším podrážděním [26].

V poměrně nejednotné terminologii se setkáváme s různým pojmenováním tohoto symptomu. *Xeróza* (řecky *xéros* – suchý) je všeobecně používaný termín pro suchou kůži, *ichtyóza* (řecky *ichtys* - ryba) značí genetickou poruchu keratinizace. *Asteatóza* (řecky *steatos* – tuk) znamená stav suché kůže jako důsledek snížené produkce kožních lipidů a *eksikace* (latinsky *exsiccare* - vysušovat) míní samotný proces, jehož výsledkem je suchá kůže [21].

Příčina vzniku poruch bariérové funkce může být vrozená nebo získaná. V prvém případě se klinicky jedná o kůži ichtyotickou a atopickou. Získaná porucha v důsledku stavu suché kůže může být zapříčiněna faktory fyzikálními (extrémní chlad, teplo, nadměrný kontakt

s vodou), chemickými (opakované působení povrchově aktivních látek), biologickými (stárnutí kůže) a metabolickými (v případě inertních chorob, jako je např. hypotyreóza) [7, 21].

Charakteristickým projevem snížení obsahu vody v rohové vrstvě je hrubý, drsný povrch pokožky s různým stupněm zarudnutí a deskvamace, neboli olupující se šupiny [21, 22]. Z důvodu snížené elasticity kůže se tvoří bolestivé ragády. Subjektivně je tento stav provázen svěděním, pocity pnutí a stahování. Při delším trvání se zvyšuje riziko vzniku aktivace latentních dermatóz, vzniku kontaktních dermatitid, bakteriálních, mykotických a virových infekcí [22].

S pojmem suchá kůže se také setkáváme v souvislosti snížené tvorby mazu mazovými žlázami, k čemuž dochází většinou ve starším věku. Omezená produkce mazu je doprovázena ztrátou svalového tonu, což vyvolává vznik vrásek, kůže praská a ztrácí pružnost [18].

4 HYDRATACE A HYDRATAČNÍ LÁTKY

Jako kosmetika s hydratačním účinkem se používají přípravky, které zvyšují množství vody v rohové vrstvě a tak zbavují kůži suchého, šupinatého a zarudlého vzhledu, neakceptovatelného z hlediska kosmetiky a dermatologie [18]. Ovlivnit aktuální stav hydratace je snadné, problematické je navození trvalé optimální hydratace. Zatím se spíše ukazuje, že s odezněním vnějšího působení se hydratace v krátkém čase vrací opět k normám určeným regulačními faktory vnitřního prostředí [3].

Optimální hydratace rohové vrstvy docílíme aplikací kosmetických hydratačních prostředků. Pojmem hydratační prostředky, *moisturizers*, bývají označovány látky zvláčňující, změkčující, lubrikanty, oleje a tuky. Protože jsou termíny vzájemně zaměnitelné, látky rozdělujeme do skupiny humektantů, emolientů, a okluziv. Hydratační látka je navržena tak, aby ve správném poměru činila pokožku měkčí a poddajnější vlivem zvýšení hydratace [18, 27]. S tímto cílem pracují všechny mechanismy hydratace, jako je zamezení odpařování vody, zvýšení celistvosti kožní bariéry, posilování schopnosti udržet vodu a zvyšování absorpce hydratačních látek [22].

4.1.1 Humektanty

Humektanty jsou látky používané k přímému zvýšení obsahu vody v horních vrstvách kůže, nebo k doplnění či posilnění látek NMF, které jsou z pokožky průběžně odstraňovány mytím [29]. Jedná se o látky hygroskopické, rozpustné ve vodě [18]. Jsou to málo prchavé látky schopné čerpat vodu z atmosféry v případě, je-li vlhkost vzduchu vyšší než 80 %. V podmínkách nižší vzdušné vlhkosti váží vodu z hlubších vrstev epidermis a dermis, což může vést ke zvýšenému vysoušení. Z toho důvodu jsou kombinovány s látkami s okluzivním efektem [18, 30].

Schopnost čerpat vodu do pokožky se projevuje mírným „otokem“, což dává pocit vyhlazené pokožky. Humektanty proto můžeme nalézt v přípravcích proti vráskám [18, 30].

Humektanty hrají rovněž důležitou roli ve složení přípravků. Schopností vázat vodu chrání výrobek proti vypařování vlivem změn teploty a vlhkosti a následnému nechtěnému zahušťování, popř. vykrystalizování aktivních látek z vnější hydrofilní fáze. Prodlužují tak životnost výrobku [18, 30]. Používají se především organické sloučeniny ze skupiny polyolů, a to glycerol, propylenglykol a sorbitol [31]. Dále jsou to látky přirozeného hydratačního faktoru, jako je např. urea a kyselina mléčná. Z polysacharidů je to kyselina hyaluronová, její

sodná sůl a chitosan [32]. Mezi další látky patří např. alantoin, kyselina arachidonová, kyselina askorbová, azulen, bisabolol, kolagen, želatina, glukóza, hydrolyzovaný keratin, hydrolyzovaný sójový škrob, maltodextrin, mléčné proteiny, minerální soli a mořská sůl [23].

4.1.2 Emolienty

Emolienty jsou látky používané v kosmetice pro svoji schopnost dodat kůži měkký, hladký a hebký vzhled [18]. Na zvýšení obsahu vody ve *stratum corneum* mají nepřímý účinek (zanedbatelný ve srovnání s humektanty). Pouze některé z emolientů mají ve své molekule polární skupiny (např. lanolin), které vzhledem k možným interakcím s vodou umožňují částečné zvyšování jejího obsahu v horní vrstvě epidermis. Větší část emolientů, zejména na bázi triacylglycerolů, proniká do *strata cornea* a díky své hydrofobní povaze brání pasivnímu transepidermálnímu úniku vody, čímž pomáhá udržovat vodu v bariérových vrstvách. Emolienty zároveň po aplikaci pokrývají kožní povrch a doplňují úbytek kožního lipoidního filmu. Kůži změkčují, zvláčňují, lubrikují a též hydratují, neboť obnovením lipoidního filmu se omezí pasivní transepidermální ztráta vody [18, 33].

Protože vlastnosti emolientů a okluziv se projevují především dle typu a složení kosmetického prostředku, uvádí například Zuzana Chalupová v publikaci [18] jednotlivé zástupce společně. Klasickými emolienty jsou rostlinné oleje, tuky a vosky. Můžeme mezi ně zařadit tuk z ovčí vlny – lanolin, isopropyl-myristát, isopropyl-palminát, glyceryl-dioleát, glyceryl-ricinoleát, glyceryl-stearát, acetylovaný tuk z ovčí vlny, acetylovaný ricinový olej, hydrogenovaný ricinový olej, hydrogenovaný tuk z ovčí vlny, cholesterol, dimethikon a další [23].

4.1.3 Okluziva

Okluziva jsou další skupinou látek používaných v kosmetických prostředích ke zvýšení obsahu vody v rohové vrstvě [22]. Principem jejich působení je schopnost vytvořit na povrchu kůže film nepropustný pro vodní páru. Do *strata cornea* neproniknou díky svému složení a hydrofobitě. Okluzivní činidla působí pouze po dobu, kdy jsou přítomna na kůži. Po jejich odstranění se TEWL vrací do původního stavu [18, 30].

Řadí se sem například látky na bázi ropných produktů. Nejlepšími okluzivy, které jsou v současné době k dispozici, jsou vazelína a minerální oleje. Vazelína například vykazuje 170 krát větší neprodyšnost pro vodní páru než olivový olej. Nicméně vazelína vytváří na kůži mastný pocit, což nemusí být vždy nepřijatelné. Mezi ostatní běžné okluzivní složky

patří parafín, skvalen, dimethikon, sójový olej, olej z hroznových klíčků, propylenglykol, lanolin a včelí vosk [30].

4.2 Přehled hydratačních látek v kosmetických přípravcích

4.2.1 Glycerol (INCI: Glycerin)

Glycerol je alkohol typu polyolu a je považován za nejúčinnější a nejstarší humektant. Je to čirá, bezbarvá, sirupovitá kapalina bez zápachu, asi 0.6 krát sladší než třtinový cukr. Je rozpustný ve vodě a alkoholu, špatně rozpustný v acetonu a prakticky nerozpustný v chloroformu [34]. Glycerol vykazuje silně hygroskopické účinky, které se velmi podobají účinkům přirozeného zvlhčujícího faktoru NMF [30]. Glycerol je populární, levný a snadno dostupný. Poprvé byl vyroben z hydrolyzátu olivového oleje švédským vědcem C.W. Scheelem v roce 1779 [34].

4.2.1.1 Efekt na kůži

Jako zvlhčující látka zajišťuje vlhkost v kůži, pokožku udržuje hydratovanou a vyživenou. Běžně se používá v koncentracích 5 - 10 %. Vyšší koncentrace zvyšuje hydratační účinek, např. Neutrogena mast (Johnson and Johnson) obsahuje 40 % glycerolu. Je to všestranná složka kosmetických přípravků, protože neztrácí svou stabilitu smícháním s jinými složkami [21].

Glycerol zlepšuje a chrání kůži vyplněním mezibuněčné hmoty a pomáhá při budování struktury pokožky. V nedávných studiích *in vitro* bylo potvrzeno, že glycerol dokáže modulovat chování lipidů *strata cornea* a to tak, že brání krystalizaci lipidových lamel. Začlenění glycerolu do směsi modelových lipidů za nízké relativní vlhkosti zachovalo jejich krystaly tekuté. Tyto vlastnosti mohou mít vliv na aktivitu hydrolytických enzymů důležitých při deskvamaci [35].

4.2.1.2 Použití přípravku

Glycerol může být použit parenterálně a perorálně i ve velkých dávkách. Další využití může nalézt jako rozpouštědlo, změkčovadlo, sladidlo, mazivo a konzervační látky, používá se pro snížení nitroočního tlaku, změkčení ušního mazu nebo v podobně čípků [35].

4.2.2 Urea (INCI: Urea)

Urea (močovina, synonymum karbamid) je látka s vysokou vazebnou kapacitou vody [26, 36]. Jedná se o netoxickou, tělu vlastní látku, která se přirozeně vyskytuje v potu, moči, krevním séru i v slzách. Urea je přirozeným hydratačním faktorem rohové vrstvy epidermis a běžně se používá v hydratačních přípravcích, neboť vytváří podmínky pro vyšší vazbu vody ve *stratum corneum*. Zvyšuje tak její lehkost a plastičnost [36, 37].

V epidermis je urea syntetizována během procesu rohovatění ve vrstvách *stratum spinosum* a *stratum granulosum* odbouráváním aminokyseliny argininu [38].

Po chemické stránce jde o diamid kyseliny uhličité, který tvoří bezbarvé, průhledné, hranolovité krystalky či krystalický prášek [36]. Z moči byla poprvé získána v roce 1821 Proustem. Urea je bez zápachu nebo téměř bez zápachu [35]. Je snadno rozpustná ve vodě a v glycerolu, mírně rozpustná v alkoholu a prakticky nerozpustná v éteru, chloroformu, tucích a olejích. V roztoku se urea postupně hydrolyzuje na kyanatan amonný, následně na amoniak a oxid uhličitý. Tuto reakci urychluje jak kyselé, tak alkalické prostředí [35, 36]. Problém pro ureu tedy přestavuje stabilita ve vodném roztoku. Stabilní optimum se nachází při hodnotě pH 6.2, tedy slabě kyselé. V dermatologických externech se připouští rozmezí hodnot pH 4 - 8. Kyselejší a zásaditější pH než tento interval způsobuje rozklad urey. Je-li v přípravku navíc obsažena voda, dochází k postupnému rozkladu urey a rozkladné produkty posunují pH do alkalické oblasti, která podporuje její další rozklad. Proto by měla být v přítomnosti urey uvažována doba použitelnosti, typ použitého základu či užití vhodného tlumivého systému [36]. Správně zvolené vehikulum výrazně ovlivňuje i její uvolnění a penetraci [38].

4.2.2.1 Efekt na kůži

V nižších koncentracích (méně jak 10 %) se urea používá k léčbě suché kůže [35]. Urea při zevním podání navíc zklidňuje podrážděnou kůži, zvyšuje její odolnost vůči možné iritaci a tlumí svědění [26]. Externa obsahující ureu ve velmi nízké koncentraci (0.5 - 3 %) vytváří určitý náhradní systém na poškozené kůži (např. atopická dermatitida). Systém je schopný zvyšovat vazbu vody, pozvolna hydratovat a zvláčňovat [38]. Dále urea vykazuje účinky keratoplastické (koncentrace do 10 %), proteolytické (koncentrace nad 20 %), keratolytické (koncentrace nad 20 %, zřetelně 40 - 50 %), antipruriginózní (koncentrace nad 20 %), antibakteriální (koncentrace nad 10 %, např. na růst *Escherichia coli* a *Pseudomonas aeruginosa*) a také mírné anestetické (koncentrace nad 20 %) [36, 38].

4.2.2.2 Použití přípravku

Jelikož nebylo prokázáno žádné nežádoucí působení, urea se jeví jako vhodná alternativa k používání kyseliny salicylové v dermatologických prostředcích u novorozenců, kojenců a malých dětí [36]. Její využití v hydratačních prostředcích je vhodné u suché kůže provázející například atopický ekzém, psoriázu nebo ichtyózu, preventivně ji lze využít i u zdravých jedinců k zabránění vysušení kůže nadměrným mytím nebo jinou nešetrnou péčí o pokožku [26]. Naopak přípravky obsahující ureu nejsou doporučovány na akutní, zánětlivé a mokvající léze, kde může docházet k iritaci pokožky [36].

4.2.3 Kyselina hyaluronová (INCI: Sodium hyaluronate)

Kyselina hyaluronová (hyaluronic acid, HA) nebo její sůl, hyaluronan sodný, je součástí mezibuněčné hmoty pojivové tkáně [31]. V dermis tvoří HA součást intercelulární vazebné hmoty, jejíž mimořádnou vlastností je velká adsorpční afinita k molekulám vody. Navíc má výraznou schopnost blokovat působení volných radikálů a podporuje hojení. Uvažovány jsou i její antimikrobiální účinky [39].

Chemicky se jedná o glykosaminoglykan, tedy polysacharid, který se skládá ze stále se opakujících disacharidových jednotek N-acetyl-D-glukosaminu a kyseliny D-glukuronové [31]. Molekulová hmotnost kyseliny se nachází v rozmezí $5 \cdot 10^4$ - $8 \cdot 10^6$ g/mol [34]. Čím vyšší je molekulová hmotnost HA, tím větší pevnější je viskoelastický film, který vytváří na povrchu kůže. Vzhledem k vysoké molekulové hmotnosti však neproniká hlouběji než mezi štěrbiny olupujících se buněk suché kůže [35].

V přírodě kyselina hyaluronová existuje pouze v podobně sodné soli. Původně byl hyaluronan sodný extrahován z kohoutích hřebínků, dnes je však primárně vyráběn fermentací [31].

4.2.3.1 Efekt na kůži

V kosmetických formulacích je HA široce využívána jako humektant. Udržuje vlhkost pokožky, má vysokou vodní kapacitu a vynikající lubrikační a změkčující vlastnosti [31]. Velice oblíbenou se HA stala v posledních letech díky mezoterapii, injekčnímu podání do dermis [39].

4.2.4 Sericin (INCI: Sericin)

Sericin je makromolekulární protein produkovaný Bourcem morušovým (*Bombyx mori)* z čeledi *Bombycida* [41]. Druhým význačným hedvábným proteinem je fibroin. Fibroin a

sericin jsou vylučovány slinnými žlázami tohoto nočního motýla během vývojové fáze larvy. Metamorfóza larvy probíhá v kokonu, který je vytvořen z hedvábných vláken, která mohou být dlouhá až 1200 m. Sericin zaujímá 20 - 30 % celkové hmotnosti kokonu [40, 41]. Obsahuje 18 aminokyselin, včetně esenciálních aminokyselin a obsahuje 32 % serinu [40]. Jeho hlavní úlohou je obalovat a spojovat vlákna fibroinu. Je lepkavý a bývá označován za druh klihu a je při výrobě hedvábí odstraňován. Dodává se ve formě bílo-nažloutlého, opaleskujího prášku nebo roztoku [40, 41].

4.2.4.1 Efekt na kůži

Sericin vykazuje pozitivní vliv na pružnost pokožky, působí tedy proti vráskám a stárnutí kůže. Jeho složení je velmi podobné složení přirozeného hydratačního faktoru. Na povrchu kůže tvoří hydratační, semi-okluzivní ochranný film, který se rychle vstřebává do pokožky a na buňky působí revitalizačním účinkem [41].

4.2.4.2 Použití přípravku

Sericin má široké využití v medicíně, farmacii a kosmetice. V přípravcích pro péči o kůži se doporučuje použít v množství 3 - 7 %. Používá se samostatně nebo v kombinaci s fibroinem. Má značnou afinitu ke keratinu. Jako velmi jemný prášek se používá při výrobě očního make-upu, pudrů či rtěnek [41].

4.2.5 Kyselina mléčná (INCI: Lactic acid)

Kyselina mléčná je bezbarvá až nažloutlá sirupovitá kapalina, mísitelná s vodou, alkoholem a glycerolem, avšak nerozpustná v chloroformu. Jedná se o zástupce α-hydroxy-kyselin (AHA), což jsou organické karboxylové kyseliny, které mají vodík v poloze α substituovaný hydroxylovou skupinou. Laktát je rovněž součástí NMF. Účinek kyseliny mléčné na kůži je hydratační, zároveň však i antibakteriální a protizánětlivý, jelikož formulace obsahující kyselinu mléčnou mají kyselé pH. V mnoha přípravcích se pH zvyšuje neutralizací [35].

4.2.6 Propylenglykol a butylenglykol (INCI: Propylene glycol and Butylene glycol)

Propylenglykol je bezbarvá, viskózní kapalina bez zápachu mající sladkou, lehce štiplavou chuť připomínající glycerol. V kosmetice je široce používán jako rozpouštědlo a vehikulum, zejména pro látky nestabilní nebo nerozpustné ve vodě. Oblíbený je coby dostupné zvlhčovadlo a okluzivum, zároveň je vyhledáván pro své keratolytické, antibakteriální a antimykotické působení při léčbě řady kožních onemocnění [30, 35].

Butylenglykol je rovněž bezbarvá, viskózní kapalina sladké chuti s trpkou pachutí. Je to humektant odolný proti vysoké vlhkosti, čehož se využívá např. v lacích na vlasy nebo tužidlech. Klinické údaje prokázaly možnou iritaci kůže a alergické reakce po použití obou typů glykolů [35].

4.2.7 Proteiny

Proteiny používané v kosmetice pochází z různých přírodních zdrojů. Klasickým a oblíbeným kosmetickým proteinem je kolagen, jehož komplexní trojitá spirálovitá struktura je zodpovědná za vysoké zvlhčující a retenční vlastnosti. Proteiny a aminokyseliny jsou součástí NMF [35].

V kosmetice lze proteiny využít v nativním stavu, přesto jsou kvůli vyšší rozpustnosti rozšířenější proteinové hydrolyzáty. Rovněž různé modifikace a kombinace umožní získat lepší vlastnosti proteinů v porovnání s jejich původním stavem. Přírodní proteiny mohou v kosmetických prostředcích vyžadovat silnější konzervační látky, protože u nich často nastává během skladování problém se změnou vůně nebo konzistence [35].

5 METODY PRO STANOVENÍ HYDRATACE A ZTRÁTY VODY

Metody umožňující měření hydratace pokožky a ztráty vody se opírají o studium fyziologických a patologických stavů. Zároveň sledují léčebné účinky extern i kosmetiky. Metody můžeme rozdělit na přímé a nepřímé. Přímé metody pracují na principu měření elektrické kapacity, impedance a konduktivity. Nepřímé metody potom měří elasticitu kůže, transepidermální ztrátu vody a tomuto účelu lze použít například kolorimetrii, spektrofotometrii, gravimetrii, echografii, profilometrii a magnetickou rezonanci. Jednotlivá měření se mohou vzájemně doplňovat. Nejběžnější metody využívají tyto typy přístrojů: Corneometer CM 820, Skin Diagnostic ® SD 27, Skicon-100, Nova ™ Dermal Phase Meter a DermaLab- Cortex Technology [42].

5.1 Korneometrie

Nejvhodnější i komerčně nejdostupnější jsou metody založené na měření elektrických vlastností kůže. Korneometrické měření hydratace využívá změn hodnot permitivity (dielektrické konstanty) v závislosti na obsahu vody ve *stratum corneum*. Přístroj dokáže určit obsah vody v *stratum corneum* do hloubky 10 - 20 µm. Hydratace epidermis není ovlivněna hlubšími vrstvami epidermis. Výsledky měření jsou vyjádřeny v relativních jednotkách, jelikož odpor pokožky není absolutní hodnota, ale závisí na řadě faktorů. Jednotky a způsob vyhodnocení pro každý přístroj uvádí manuál. Příklad pro korneometr typu MPA uvádí Tabulka 2.

Tabulka 2 – Parametry měření hydratace korneometrické sondy korneometru MPA [45]

Interpretace	Korneometrické jednotky
velmi suchá	< 30
suchá	40 - 45
dostatečně hydratovaná	> 45

Měřící sonda funguje jako kondenzátor, jehož kapacita je ovlivněna změnou relativní permitivity. Protože voda má, v porovnání s ostatními materiály, vysokou hodnotu relativní permitivity (voda 81, ostatní materiály < 7), zvýšením obsahu vody v kůži dojde současně ke zvýšení kapacity. Pokud tedy dojde k hydrataci pokožky, kapacita se změní a tato změna se zaznamená. Vyhodnocení kapacitního odporu kondenzátoru je provedeno podle rovnice (1):

$$C = e_0 \cdot e_r \cdot (A/d) \quad (1)$$

kde e_0 je permitivita vakua,

e_r relativní permitivita,

A je povrch destičky kondenzátoru a

d je vzdáleností mezi destičkami kondenzátoru.

Vztah mezi elektrickou vodivostí kůže a obsahem vody závisí na vodíkových vazbách mezi molekulami vody a keratinovými řetězci. Podle toho, jak je tato vazby silná rozlišujeme v těle vodu pevně vázanou (0 - 7 %), vodu vázanou (7 - 35 %) a vodu volnou (< 35 %) [20].

5.2 TEWL

Transepidermální ztráta vody (Transepidermal Water Loss – TEWL) je metoda určená ke zkoumání bariérové funkce kůže. Protože kožní bariéra není souvislá, dochází k difúzi vody ze spodních, lépe hydratovaných vrstev ke kožnímu povrchu. Tento tok vody se nazývá transepidermální ztráta vody. Rychlost difúze je dána difúzním tokem, který je definován jako množství vody prošlé plochou 1 m^2 za jednotku času, čemuž odpovídá 1. Fickův zákon. Princip měření transepidermální ztráty vody je tedy založen na měření difúze v otevřené komoře přístroje a lze jej vyjádřit rovnicí (2):

$$\frac{dm}{dt} = -D \cdot A \cdot \frac{dp}{dx} \quad (2)$$

kde A je povrch [m^2],

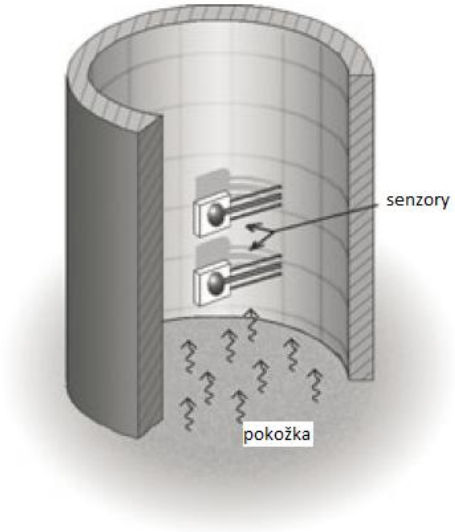
m je množství transportované vody [g],

t je čas [h],

D je konstanta difúze; 0.0877,

p je tenze par ve vzduchu [mm] a

x je vzdálenost od povrchu pokožky k měřícímu bodu [m].



Obrázek 3 - Schématické znázornění otevřené hlavy měřící sondy [43]

Měření metodou TEWL probíhá v uzavřené komoře, kterou představuje mikroskener umístěný v pouzdře. Pouzdro po dotyku s kůží tvoří uzavřený měřící prostor. Vodní pára vypouštěná z kůže vyplňuje měřící komoru a způsobí uvnitř zvýšení relativní vlhkosti [43].

Měření ztráty transepidermální vody umožní odhalit defekty ochranné funkce kůže v počátečním stadiu, ještě před tím, než jsou poruchy viditelné. Zdravá kůže umožňuje ztráty vody pouze v malých množstvích, zatímco kůže atopická má ztráty daleko vyšší. Typické oblasti použití tohoto měření se nacházejí na pracovištích alergologie, kontroly hojení kožních poškození nebo popálení, sledování novorozenců nebo testování účinnosti a biokompatibility kosmetických přípravků [43].

Tabulka 3 – Příklady měření hydratace metodou TEWL na korneometru typu MPA [45]

Interpretace	**Hodnoty TEWL (g/h/m^2)**
velmi dobrý stav	0 - 9
dobrý stav	10 - 14
normální stav	15 - 25
napjatý stav	25 - 29
kritický stav	> 30

6 CÍL PRÁCE

Cíle bakalářské práce byly stanoveny takto:

- zpracovat rešerši na téma kosmetická vehikula se zaměřením na gely, hydrataci pokožky, aktivní hydratační látky a způsoby měření hydratace;
- připravit kosmetické gely na bázi carbomeru s obsahem vybraných hydratačních látek;
- popsat reologické chování gelů v závislosti na obsahu hydratačních složek;
- srovnat vzájemně viskozitu čerstvě připravených gelů a určit vliv přítomnosti vybraných hydratačních látek;
- sledovat hydratační účinky účinných látek v gelovém vehikulu po aplikaci *in vivo,* za využití metody korneometrického měření hydratace a měření TEWL;
- stanovit pH pokožky po aplikaci připravených gelů;
- zpracovat a statisticky vyhodnotit naměřené výsledky.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 METODIKA

7.1 Použité materiály a chemikálie

Carbomery

- Polygel CA, Míča a Harašta s.r.o., Česká republika

Aktivní látky

- Urea (močovina) ČL 2009, Penta Ing. Petr Švec, Česká republika
- Glycerin bezvodný p.a., Ing. Petr Lukeš, Česká republika
- Hyaluronan sodný M = 50.28 kDa, Contipro Group, Česká republika
- Hyaluronan sodný M = 2.38 MDa, Contipro Group, Česká republika
- Sericin, Sigma-Aldrich

Chemikálie

- Hydroxid sodný p.a., Ing. Petr Lukeš, Česká republika
- Dodecylsulfát sodný (dále SDS), Sigma-Aldrich
- Demineralizovaná voda

7.2 Používané přístroje a zařízení

- Analytické váhy Denver, typ SI - 64A, Denver Instruments GmbH, Německo
- Přístroj na výrobu demineralizované vody typ MB profi, Aqual, Česká republika
- Magnetická míchačka MR Hei-Standard, Heidolph Instruments, Německo
- Magnetická míchačka Schott SLR, Schott Instruments, Německo
- Hřídelová míchačka Heidolph RZR 2052 Control, Heidolph Intruments, Německo
- pH-metr GPH 014 GL, Greisinger Electronic GmbH, Německo
- Konduktometr LAB 960, Schott Instruments, Německo
- Rotační vizkozimetr Myr, Viscotech Hispania, Španělsko
- Vřetena (spindle) typu PB, PD, PF, Viscotech Hispania, Španělsko
- Korneometr MPA, CK electronic GmbH, Německo

- Korneometrická sonda ® CM 825, CK electronic GmbH, Německo
- Sonda na měření TEWL ® TM 300, CK electronic GmbH, Německo
- pH-metr ® PH 905, CK electronic GmbH, Německo
- Počítač s programem CK eletronic DP pro měření hydratace
- Počítač s programem Viscosoftplus pro měření viskozity
- Fotoaparát Olympus, Japonsko
- Digitální hydro-termometr, Greisinger Electronic GmbH, Německo

7.2.1 Běžné laboratorní pomůcky

Během přípravy gelů, měření viskozity a hydratace byly použity tyto laboratorní pomůcky: laboratorní sklo (kádinky, tyčinky, odměrné baňky, pipety), laboratorní plast (lžičky, lodičky, kuchyňské stěrky, kelímky, injekční stříkačky), parafínová fólie, filtrační papír, pinzeta, nůžky, fixy, náplast, buničina, exsikátor, teploměr.

Podrobnější popis pomůcek s fotodokumentací poskytuje práce [42].

7.3 Příprava gelů

Pro bakalářskou práci byly připraveny gely obsahující hydratační látky uvedené v části 6.1 a carbomer s komerčním názvem Polygel CA. Každá hydratační látka byla použita ve dvou koncentracích. Nominální obsahy aktivních látek v připravovaných gelech jsou uvedeny v Tabulce 4. Před vlastní přípravou byla proměřena vodivost použité demineralizované vody, která se pohybovala v rozmezích 1.1 - 1.5 µS/cm.

Tabulka 4 – Aktivní látky používané ve studovaných kosmetických gelech

Hydratační složka	**Množství 1 [%]**	**Množství 2 [%]**
glycerol	5	10
urea	5	10
kyselina hyaluronová (HA) M = 50.28 kDa	0.05	0.1
kyselina hyaluronová (HA) M = 2.38 MDa	0.05	0.1
sericin	1	5

K neutralizaci 1 g Polygelu CA bylo nutné, dle doporučení, použít 0.4 g NaOH. 10% roztok NaOH byl potom použit v množství 4.0 g, čili 3.6 ml ($\rho_{NaOH} = 1.11273$ g/ml) [16].

Hydratující látka byla rozpuštěna ve vypočítaném množství demineralizované vody. Carbomer byl do systému přidáván po malých dávkách, aby jednotlivé přídavky mohly postupně zbobtnat. Přídavky byly prováděny tak, že carbomer byl do roztoku proséván pomocí nerezového síta. V případě vzorku, kde hydratační látkou byla urea a hyaluronan sodný (obě molekulové hmotnosti) musel být carbomer proséván za průběžného míchání, jinak zůstával zbobtnalý na hladině. Poté byl systém ponechán ještě 1 hodinu při laboratorní teplotě v klidu, aby došlo k důkladnému zbobtnání carbomeru. Gel byl homogenizován mícháním pomocí laboratorního míchadla, nejprve po dobu 1.5 hodiny při 160 ot./min., a v závěru při 360 ot./min. po dobu 5 - 10 minut.

Za míchání byla provedena neutralizace 10% roztokem NaOH. Množství hydroxidu bylo během přípravy jednotlivých gelů upraveno tak, by konečná hodnota pH připraveného gelu byla cca 6.5. pH bylo dále ještě proměřeno po dokončení přípravy gelů.

Stejným způsobem byl připraven i referenční vzorek, který obsahoval stejné složky jako hydratační gely, kromě hydratující látky.

Při přípravě gelů s 0.05 % a 0.1 % HA s molekulovou hmotností 2.38 MDa byla metoda přípravy gelů vzhledem k obtížné rozpustnosti vysokomolekulární HA modifikována. Hydratující látka byla v demineralizované vodě rozpuštěna za konstantního míchání a záhřevu na 50 °C. Takto připravené vzorky byly přikryty fólií a ponechány bez přístupu světla při laboratorní teplotě do druhého dne. Následující den byl do směsí přidán výše popsaným způsobem carbomer a dále příprava gelu postupovala podle standardního postupu.

Gely byly připraveny v množství 200 ml s výjimkou hydratačního gelu s obsahem sericinu v obou koncentracích, který byl připraven v objemu 80 ml.

7.4 Rámcové složení gelů

V následující části práce jsou ve formě tabulek uvedena složení jednotlivých gelů a výsledná hodnota pH. Koncentrace jednotlivých hydratačních látek v gelech byly voleny na základě doporučení uvedených v literatuře (viz. teoretická část práce).

Hydratační gel s 5% glycerolem

Tabulka 5 – Hydratační gel s 5% glycerolem

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
glycerol	hydratační látka	5.0 %	10.0 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.6 %	2.9 ml
demi	-	93.0 %	186.3 ml

- pH 6.88

Hydratační gel s 10% glycerolem

Tabulka 6 – Hydratační gel s 10% glycerolem

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
glycerol	hydratační látka	10.0 %	20.0 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.5 %	2.7 ml
demi	-	88.1 %	176.5 ml

- pH 6.88

Hydratační gel s 5% ureou

Tabulka 7 – Hydratační gel s 5% ureou

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
urea	hydratační látka	5.0 %	10.0 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.5 %	2.7 ml
demi	-	93.1 %	186.5 ml

- pH 6.94

Hydratační gel s 10% ureou

Tabulka 8 – Hydratační gel s 10% ureou

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
urea	hydratační látka	10.0 %	20.0 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.5 %	2.7 ml
demi	-	88.1 %	176.5 ml

- pH 6.79

Hydratační gel s 0.05% HA 50.28 kDa

Tabulka 9 – Hydratační gel s 0.05% HA 50.28 kDa

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
HA 50,28 kDa	hydratační látka	0.05 %	0.1 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.3 %	2.3 ml
demi	-	98.3 %	196.9 ml

- pH 6.50

Hydratační gel s 0.1% HA 50.28 kDa

Tabulka 10 – Hydratační gel s 0.1% HA 50.28 kDa

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
HA 50,28 kDa	hydratační látka	0.1 %	0.2 g

10% roztok NaOH	neutralizátor	1.3 %	2.3 ml
demi	-	98.2 %	196.7 ml

- pH 6.52

Hydratační gel s 0.05% HA 2.38 MDa

Tabulka 11 – Hydratační gel s 0.05% HA 2.38 MDa

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
HA 2,38 MDa	hydratační látka	0.05 %	0.1 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.3 %	2,3 ml
demi	-	98.3 %	196.8 ml

- pH 6.33

Hydratační gel s 0.1% HA 2.38 MDa

Tabulka 12 – Hydratační gel s 0.1% HA 2.38 MDa

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
HA 2,38 MDa	hydratační látka	0.1 %	0.2 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.3 %	2.34 ml
demi	-	98.2 %	196.7 ml

- pH 6.11

Hydratační gel s 1% sericinem

Tabulka 13 – Hydratační gel s 1% sericinem

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.3 g
sericin	hydratační látka	1.0 %	0.8 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.4 %	1.0 ml
demi	-	97.2 %	77.9 ml

- pH 6.42
- přítomnost velkého množství bublin v gelu ihned po jeho přípravě

Hydratační gel s 5% sericinem

Tabulka 14 – Hydratační gel s 5% sericinem

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.3 g
sericin	hydratační látka	5.0 %	4.0 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.4 %	1.0 ml
demi	-	93.2 %	74.7 ml

- pH 6.43
- žluté zbarvení připraveného gelu

Referenční vzorek gelu bez hydratační látky

Tabulka 15 – Referenční vzorek

Rámcové složení	Funkce	Obsah	
carbomer	zahušťovadlo	0.4 %	0.8 g
10% roztok NaOH	neutralizátor	1.4 %	2.5 ml
demi	-	98.2 %	196.7 ml

- pH 6.56

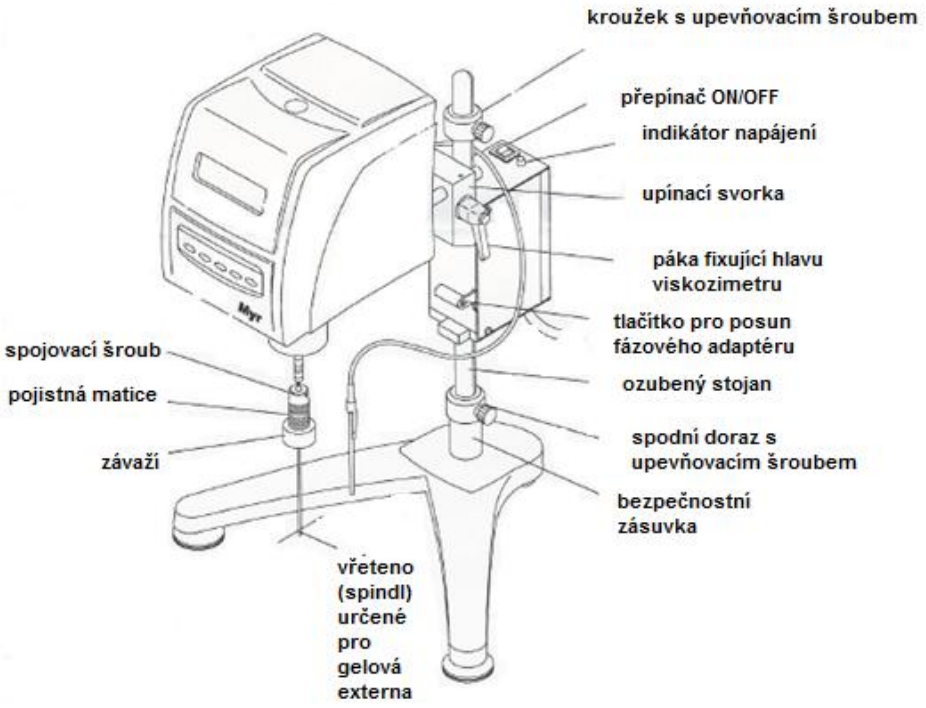
7.5 Měření viskozity

Kromě hodnoty pH byla další měřenou fyzikální charakteristickou připravených gelů viskozita, která byla stanovena pomocí rotačního viskozimetru Myr. Jedná se o klasický rotační viskozimetr vhodný pro rychlé stanovení viskozity, jehož schéma je uvedeno na Obrázku 4.

Princip měření je u všech rotačních viskozimetrů obdobný. Pomocí vřetena (spindle) ponořeného do testovaného vzorku se měří síla, která je nutná k překonání odporu toku kapaliny. Výsledkem odklonu vřetena od pružiny a rychlosti rotace je otáčivý moment, který je přímo odečítán jako hodnota viskozity v mPa·s [44].

Vřetena zajišťují spolehlivé měření podle specifikací daného přístroje. Pro měření gelů byly použity speciální vřetena křížového tvaru s označením PB, PD a PF. Pomocí vřetena PB, které bylo použito pro gel s obsahem 5% sericinu je možno stanovit viskozitu v rozmezí $3.79 \cdot 10^5$ – $3.12 \cdot 10^3$ mPa·s, vřeteno PD použité u gelu s 1 % sericinu měří viskozitu v rozmezí $1.9 \cdot 10^6$ - $15.6 \cdot 10^3$ mPa·s a vřeteno PF, použité pro všechny ostatní gely měří viskozitu v rozmezí $9.4 \cdot 10^6$ – $78.0 \cdot 10^3$ mPa·s [44].

Před měřením viskozity byly gely vytemperovány na teplotu laboratoře. Vřeteno bylo do měřeného vzorku ponořeno tak, aby na jeho spodní části nevznikaly bubliny, které by měření mohly zkreslit. Ustálené podmínky proudění byly dosaženy rychle, takže během několika vteřin bylo možno v závislosti na zvolené rychlosti a viskozitě odečítat hodnoty.

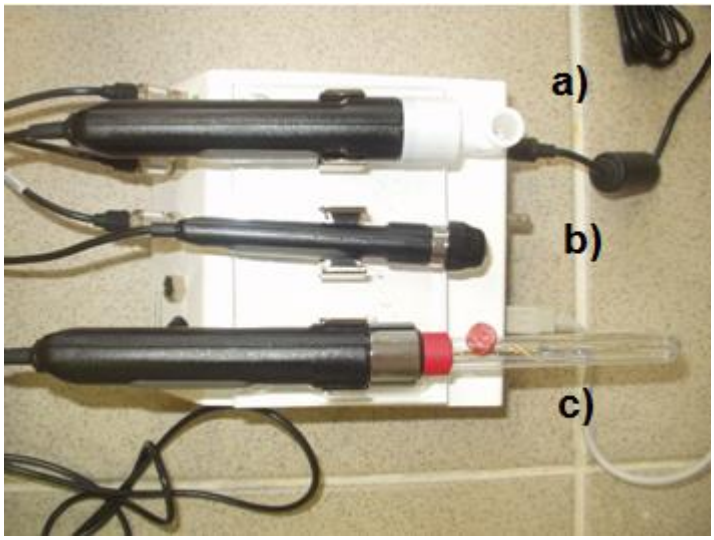


Obrázek 4 – Schéma rotačního viskozimetru Myr [44]

7.6 Měření hydratace

Hydratační účinnost připravených gelů byla hodnocena pomocí *in vivo* metod, a to pomocí korneometrické metody a metody TEWL (transepidermální ztráta vody). Spolu s těmito testy bylo ještě měřeno pH pokožky (Tabulka 16).

Korneometr MPA (Multi Probe Adapter), který byl pro měření použit (Obrázek 5) se skládal ze sondy na měření TEWL, pomocí které lze společně s měřením transepidermální ztráty vody měřit i hodnoty okluze, korneometrické sondy a pH-metru. Interpretaci výsledků měření hydratace a TEWL popisuje Tabulka 3 a Tabulka 2 v teoretické části práce. Výsledky měření pH budou diskutovány pomocí údajů v Tabulce 16.



Obrázek 5 – Korneometr MPA: a) sonda TEWL, b) korneomterická sonda, c) pH-metr

Tabulka 16 – Interpretace hodnot pH pokožky [45]

pH	**<3.5**	**3.8**	**4.0**	**4.3**	**4.5**	**5.0**	**5.3**	**5.5**	**5.7**	**5.9**	**6.2**	**6.5**	**>6.5**
ženy	+	kyselé		-	normální				+	zásadité			-
muži	+	kyselé		-	normální				+	zásadité			-

7.6.1 Příprava materiálů pro měření hydratace

K odmaštění pokožky probandů byl použit 0.5% roztok SDS ve fyziologickém roztoku, který byl připraven rozpuštěním 1.25 g SDS v roztoku NaCl. Roztok NaCl byl připraven rozpuštěním 2.125 g NaCl v demineralizované vodě.

Filtrační papír byl nastříhán na obdélníky o velikosti 2 x 4 cm. Náplast na zafixaci filtračních papírků na kůži byla nastříhána na délku cca 5 cm.

Testované gely, vytemperované na teplotu laboratoře, byly naplněny do injekčních stříkaček a ponechány v exsikátoru.

7.6.2 Soubor probandů

Skupina probandů byla složena z 5 osob, avšak složení skupiny bylo v průběhu experimentu rozdílné. Ve skupině byly zastoupeny pouze ženy. Věkové rozmezí se pohybovalo mezi 21 - 25 lety. Údaje o testované skupině jsou uvedeny v Tabulce 17.

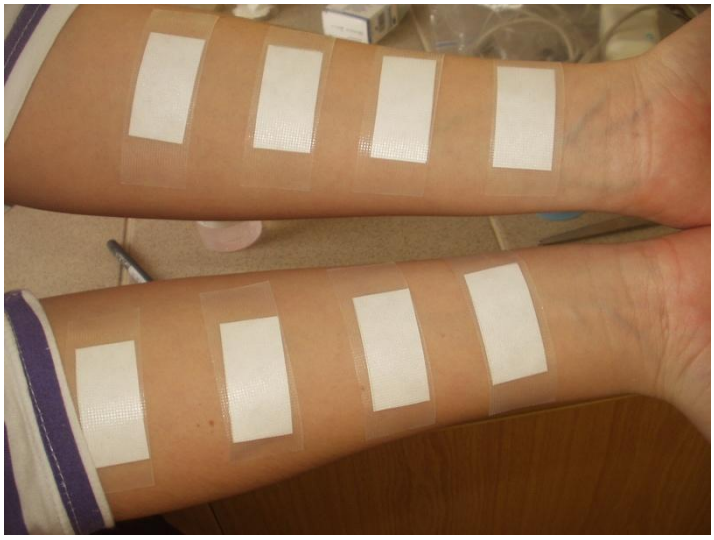
Tabulka 17 – Údaje o testované skupině

Charakteristika	**Věk** [**rok**]	**Hmotnost** [**kg**]	**Výška** [**cm**]
$\bar{x} \pm s$	22.3 ± 0.5	57.4 ± 2.8	164.3 ± 2.5

7.6.3 Organizace měření

Měření probíhalo dvakrát, ve dvou po sobě následujících dnech, a to vždy ve stejné laboratoři. Teplota místnosti byla stanovena na 23 – 25 °C a relativní vlhkosti 30 – 35 %. Před začátkem testu všechny účastnice podepsaly formulář „Informovaný souhlas“ a vyplnily dotazník o svém zdravotním stavu (viz. Přílohy P I, P II).

Na volární předloktí probandů byly přiloženy filtrační papírky napuštěné 0.5% roztokem SDS, které byly následně překryty náplastí. Rozmístění filtračních papírků znázorňuje Obrázek 6. Na zápěstí levé ruky bylo ponecháno místo, které nebylo odmaštěno roztokem SDS, které dále sloužilo pro měření přirozené (vlastní) hydratace pokožky. To je dále označováno jako kontrola. Iritace roztokem SDS probíhala po dobu čtyř hodin. Po této době byly papírky sejmuty a odmaštěná místa byla označena.

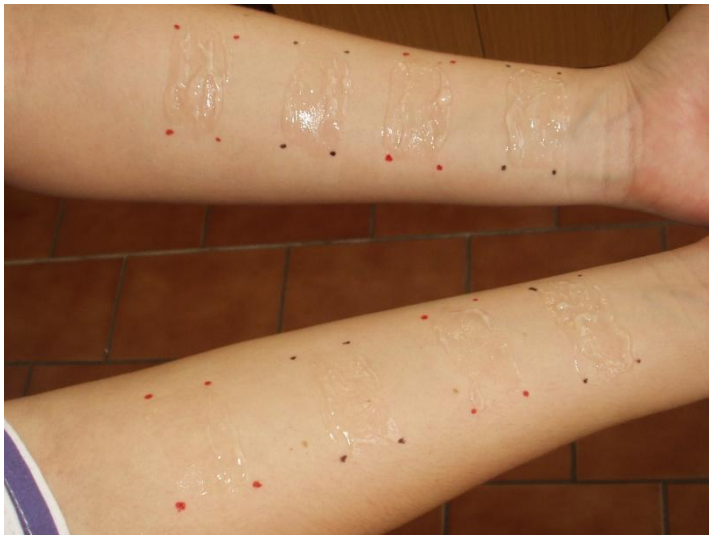


Obrázek 6 – Filtrační papírky napuštěné roztokem SDS přelepené náplastí na předloktí probanda

Pokožka předloktí byla proměřena následovně:

- korneometrickou sondou pětkrát v rámci jednoho odmaštěného místa,
- sondou na měření transepidermální ztráty vody patnáctkrát na každém odmaštěném místě
- sondou na měření pH; v každém odmaštěném místě.

Po tomto změření byly na označená místa naneseny gely, mimo prvního místa, kde byla měřena přirozená hydratace pokožky po odmaštění. Na druhé označené místo byl nanesen referenční vzorek (gel bez aktivní hydratační složky) a dále byly podle stanoveného pořadí nanášeny gely (Obrázek 7). Gely byly nanášeny injekční stříkačkou v množství 0.1 ml a rozetřeny skleněnou tyčinkou. První den měření byl hydratační účinek měřen každou hodinu po nanesení, po dobu 4 hodin. Druhý den potom třikrát, v čase 24, 25 a 26 hodin po odmaštění. Mezi prvním a druhým dnem nesměla být předloktí probandů ošetřena přípravky oplachové kosmetiky, o čemž byly účastnice testů poučeny.



Obrázek 7 – Předloktí probanda po nanesení gelů

7.6.4 Metody zpracování naměřených dat

Všechny naměřené výsledky byly statisticky zpracovány a to následovně:

1) byly vypočítány aritmetické průměry a) z 5 hodnot korneometrického měření, b) z 15 hodnot transepidermální ztráty vody stanovených u každého probanda;

2) od průměrné hodnoty hydratace stanovené korneometricky po aplikaci gelů byly odečteny průměrné hodnoty hydratace po odmaštění pokožky. Tímto odečtem byly zajištěny stejné počáteční podmínky pro všechny probandy. Jelikož je pokožka každého jednotlivce individuální, nemusí být hydratace po odmaštění stejná;
3) vyhodnocení bylo provedeno pro hodnoty hydratace stanovené 4 hodiny po aplikaci gelů a 24 hodin po odmaštění pokožky;
4) hodnoty hydratace přepočtené podle postupu uvedeného v bodě 2) všech probandů pro každý z 11 vzorků gelů byly zprůměrovány tak, aby každému časovému údaji odpovídala pouze jedna hodnota hydratace. Byla stanovena rovněž směrodatná odchylka stanovení.

Výsledky dalších stanovení (TEWL, pH) byly zpracovány tak, že ze získaných průměrů (bod 1) byl dále vypočítán průměr hodnot stanovených pro všechny probandy a každý z 11 gelů.

Výsledky byly graficky znázorněny.

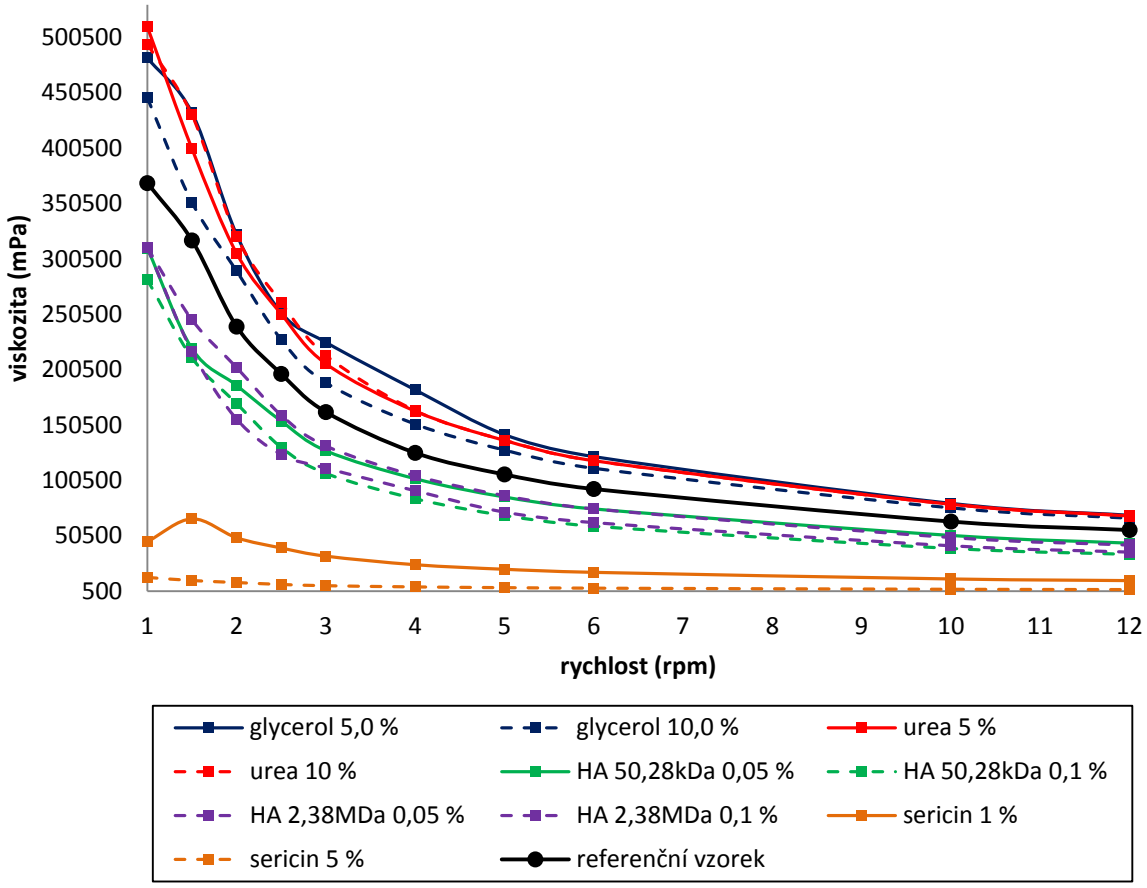
Pro zpracování naměřených hodnot hydratace (korneometrie) neexistuje jednoznačný postup ani jednotné doporučení, dané například normou. Výše uvedená metoda je standardně používána při testech prováděných na ÚTTTK a byla zvolena proto, aby bylo možno získané výsledky srovnat s měřením hydratační účinnosti dalších přípravků studovaných na tomto pracovišti, stejnou instrumentální metodou.

8 VÝSLEDKY A DISKUSE

8.1 Výsledky měření viskozity - srovnání viskozity jednotlivých gelů

Tabulka 18 – Výsledky viskozity

rychlost [rpm]	Viskozita [mPa · s]										
	reference	glycerol 5%	glycerol 10%	urea 5%	urea 10%	HA 0.05% 50.28 kDa	HA 0.1% 50.28 kDa	HA 0.05% 2.38 MDa	HA 0.1% 2.38 MDa	sericin 5%	sericin 10%
1	368986	482055	446050	510135	494621	310003	281946	310830	252255	45374	12932
1.5	317226	432502	351585	399945	430544	219473	211337	245720	216964	65900	10135
2	239421	322448	289754	305479	320876	186283	170063	202597	155949	48832	8312
2.5	196692	251987	227557	250680	261187	154042	130400	159498	123887	39614	6571
3	162259	225241	188846	205768	213610	127296	106875	131746	111684	32242	5437
4	125428	182325	151448	163000	163632	102074	83951	104871	91225	24535	4360
5	105955	141979	128002	136617	136979	85605	68819	86970	71876	20412	3696
6	92785	122105	111567	118267	118415	74837	59206	74950	62415	17657	3220
10	63406	79899	75820	78877	79170	50895	39109	49116	41511	11697	2219
12	55762	69135	66499	68382	68921	43945	33750	42303	35767	10200	1954



Obrázek 8 – Grafická závislost viskozity na rychlosti otáček vřetena

Připravené gely byly charakterizovány pomocí jednoduchého reologického měření. Výsledky jsou v Tabulce 18 a na Obrázku 8.

Viskozity gelů se nacházely v poměrně širokém rozmezí a jejich hodnoty byly závislé na množství a typu přidané hydratační složky. Nejvyšší viskozitu měl kosmetický gel s obsahem 5 % urey a nejnižší gel s obsahem 10 % sericinu. Hodnoty viskozity referenčního vzorku, bez aktivní hydratační složky, se nacházely uprostřed mezi hodnotami stanovenými pro gely obsahujícími hydratační látku. Při dané rychlosti otáček ležela jejich hodnota v rozmezí 36 – 55 Pa·s. Viskozita vyšší, než pro referenční vzorek byla stanovena pro gely s oběma obsahy glycerolu a urey. Pro všechny ostatní připravené gely byla stanovena viskozita nižší.

Ze závislosti viskozity na rychlosti otáček je zřejmé, že kosmetické gely se chovaly jako nenewtonské materiály. Průběh závislosti viskozity na rpm byl typický pro pseudoplastické látky, jejichž viskozita je smykem řídnoucí a snižuje se tedy se zvyšující rychlostí otáček.

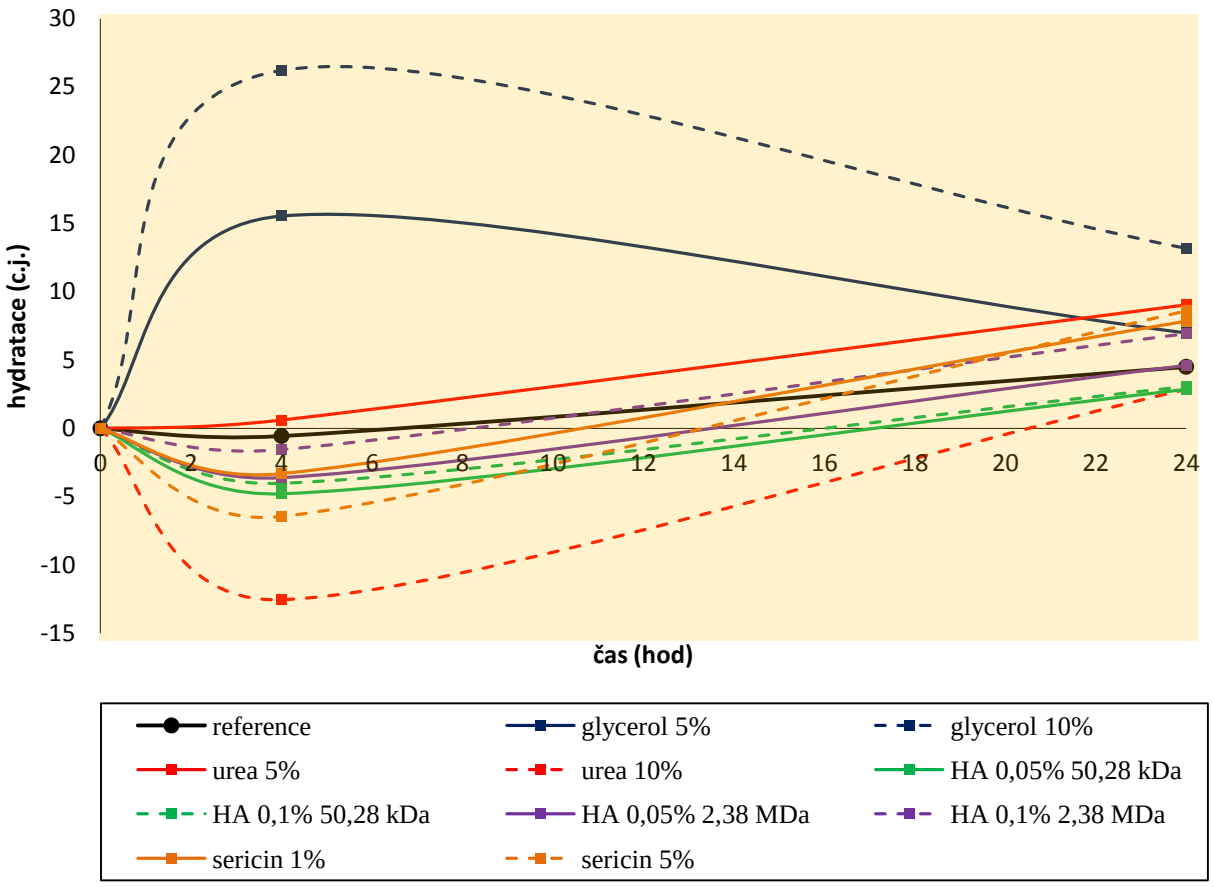
8.2 Výsledky jednotlivých měření účinnosti aktivních hydratačních látek v gelovém vehikulu

8.2.1 Výsledky měření hydratačních účinků korneometrickou metodou

Účinek kosmetických gelů s obsahem sledovaných aktivních látek na hydrataci pokožky, stanovený postupem popsaným v kapitole 7.6.4, je shrnut v Tabulce 19 a na Obrázku 9. Z grafu je patrné, že všechny naměřené hodnoty hydratace se, podle hodnocení uvedeného v Tabulce 2, nacházely v rozmezí 0 – 30 c.j., což odpovídá stavu velmi suché pokožky. Záporné hodnoty korneometrických jednotek, uvedené v tabulce i grafu byly důsledkem použité metody vyhodnocení, tj. odečtem průměrných hodnot hydratace odmaštěné pokožky od průměrných naměřených hodnot hydratace po nanesení kosmetických gelů. Neznamená to tedy, že by gel pokožku odmašťoval či dehydratoval. Tento odečet sloužil k nastavení podmínek pro porovnání hydratační účinnosti aktivních hydratačních složek mezi sebou, což by bez zohlednění odmaštění pokožky nebylo možné, protože vlastní hydratace každého probanda byla odlišná a výsledky by ovlivnila.

Tabulka 19 – Výsledky hydratace měřené pomocí korneometrického měření

čas [hod]	**Korneometrické měření [c. j.]** *(± SD)*										
	reference	**glycerol 5%**	**glycerol 10%**	**urea 5%**	**urea 10%**	**HA 0.05% 50.28 kDa**	**HA 0.1% 50.28 kDa**	**HA 0.05% 2.38 MDa**	**HA 0.1% 2.38 MDa**	**sericin 1%**	**sericin 5%**
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	- 0.6 *(± 1.6)*	15.5 *(± 1.3)*	26.2 *(± 4.1)*	0.6 *(± 1.4)*	- 12.5 *(± 2.5)*	- 4.8 *(± 1.4)*	- 4.0 *(± 1.4)*	- 3.6 *(± 1.4)*	- 1.6 *(± 2.3)*	- 3.3 *(± 1.6)*	- 6.5 *(± 3.2)*
24	4.5 *(± 1.9)*	7.0 *(± 2.4)*	13.2 *(± 3.6)*	9.0 *(± 3.1)*	2.9 *(± 3.1)*	2.9 (± 1.1)	3.1 (± 2.0)	4.6 *(± 2.9)*	6.9 (± 2.6)	7.8 *(± 2.2)*	8.6 *(± 2.7)*



Obrázek 9 – Grafická závislost korneometrického měření hydratace na čase

Z Obrázku 9 je zřejmé, že nejlepší hydratační schopnosti byly pozorovány u gelů obsahujících glycerol. Ve srovnání s referenčním vzorkem způsobily tyto gely, v obou koncentracích, prudký nárůst hydratace již během prvních hodin. Po 4 hodinové aplikaci dosáhl gel s obsahem 10 % glycerolu hodnoty 26 c.j., což byl vůbec nejlepší dosažený výsledek. Přestože se hydratace gelů s glycerolem s časem snižovala, zachovala si nejlepší výsledky i při aplikaci přes noc.

Ostatní vzorky gelů, včetně vzorku referenčního, hydratovaly pokožku méně a jejich chování bylo obdobné. Téměř všechny gely po 4 hodinové aplikaci nedosahovaly hodnot, které odpovídaly hydrataci odmaštěné pokožky (přímka rovnoběžná s osou x, procházející nulou). S postupem času se hydratace zvyšovala a při měření 24 hodin po odmaštění pokožky bylo průměrně dosaženo hydratace v rozmezí 3 - 9 c.j. a došlo tedy k mírnému zvýšení hydratace oproti hodnotám stanoveným po iritaci SDS.

Kosmetické gely obsahující ureu byly probandy shledány jako špatně vstřebatelné s mírně dráždivým účinkem. Hydratace po nanesení gelu s obsahem 5 % urey pozvolně rostla až na hodnotu 9 c.j. při aplikaci přes noc. Naměřené hodnoty hydratace gelu obsahujícího 10 % urey byly překvapivě výrazně nižší, než hodnoty naměřené po odmaštění pokožky roztokem SDS. Po aplikaci přes noc byla rovněž zaznamenána velmi slabá hydratace.

Hydratační účinky kosmetických gelů s kyselinou hyaluronovou s molekulovou hmotností 50.28 kDa o koncentraci 0.05 % a 0.1 % jsou téměř identické. Po 4 hodinové aplikaci dosahovaly nižších hodnot než odmašťující roztok. S časem hydratace stoupala a při aplikaci přes noc dosahovala hodnot okolo 3 c.j. Vyšší molekulová hmotnost (2.38 MDa) kyseliny hyaluronové v kosmetickém gelu vykazovala lepší účinek. U gelů s kyselinou hyaluronovou bylo dosaženo lepší hydratace při použití koncentrace 0.1 % bez ohledu na molekulovou hmotnost použité kyseliny.

Hodnoty hydratace kosmetických gelů se sericinem byly po 4 hodinové aplikaci nižší než hydratace po odmaštění. Po 4 hodinové aplikaci byly výsledky lepší při použití 1% sericinu v gelu, po aplikaci přes noc byly hodnoty hydratace u obou koncentrací vyrovnány.

Porovnáním výsledků s údaji uvedenými v Tabulce 2 v předchozí části textu lze vyvodit, že gely jako kosmetická vehikula nejsou pro hydrataci pokožky nejvhodnější. Ani nejlepší hydratační účinky použitého glycerolu nedosahovaly hodnot, které se blížily hodnotám dobře hydratované pokožky. Pokožka byla po celou dobu nanesení gelu suchá a na jejím povrchu se vytvořil po zaschnutí gelu tenký film.

Z výše uvedené diskuse vyplývá, že skutečnost, aby daný kosmetický prostředek dobře hydratoval pokožku, nezáleží pouze na účinnosti aktivní hydratační složky, ale i na zvoleném kosmetickém vehikulu a celkové formulaci kosmetického prostředku. Jako příklad lze uvést poznatek z laboratorního cvičení k předmětu Analýza hodnocení tuků a kosmetických prostředků, kde byla měřena hydratace různých komerčních přípravků, mezi nimiž byly i krémy značek Eucerin a Scholl, které obsahovaly jako aktivní hydratační složku ureu. Ta byla v obou přípravcích obsažena ve větším množství než ostatní použité hydratační ingredience. Složení uvádí Tabulka 20, kde jsou veškeré hydratační látky zvýrazněny tučně. Přestože oba krémy obsahovaly 10 % urey, výsledky měření hydratace korneometrickou metodou prokázaly u krému Eucerin výborné hydratační vlastnosti, zatímco krém Scholl prakticky hydrataci pokožky vůbec neovlivnil.

Tabulka 20 – Složení testovaných krémů značky Eucerin a Scholl

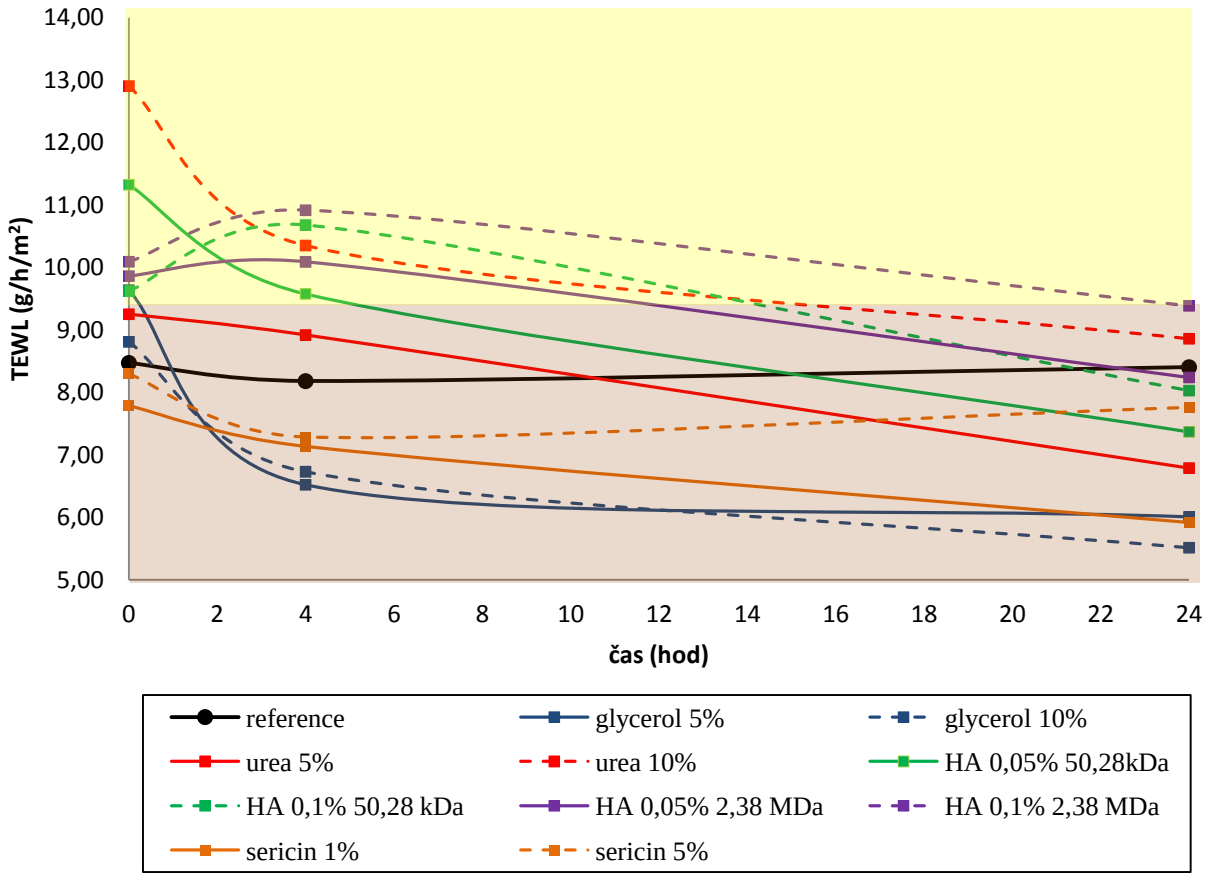
Značka krému	**Složení**
Eucerin	*Aqua, **Glycerin**, **Urea**, **Cetearyl Alcohol**, **Sodium Lactate**, **Caprylic/Capric Triglyceride**, **Ethylhexyl Cocoate**, **Hydrogenated Coco-Glycerides**, **Octyldecanol**, Cera Microstristallina, **Paraffinum Liquidum**, **Dimethicone**, Sorbitan Stearate, Aluminium Starch Octenylsuccinate, **Lactic Acid**, Phenoxyethanol, PEG-40 Castor Oil, Sodium Cetearyl Sulfate, Carbomer*
Scholl	*Aqua, **Urea**, **Dimethicone**, **Decyl Oleate**, **Petrolatum**, **Lanolin**, **Dicocoyl Pentaerythrityl Distearyl Citrate**, Cera Microcristallina, **Glyceryl Oleate**, Paraffin Keratin Hydrolyzed Kerain, **Panthenol**, Aluminium Stearate, **Propylene Glycol**, Phenoxyethanol, Carbomer, Chlorphenesin, Bisabolol, Tocopheryl Acetate, **Sorbitol**, Methylparaben, Butylparaben, Ethylparaben, Propylparaben, Isobutylparaben, BHA, Citric acid, Sodium Phospate, Feax, Potassium sorbate*

8.2.2 Výsledky měření hydratačních účinků metodou transepidermální ztráty vody

Výsledky měření transepidermální ztráty vody jsou uvedeny v Tabulce 21 a na Obrázku 10. Hodnoty transepidermální ztráty vody se pohybovaly v rozmezí hodnot 5.5 - 10.7 g/h/m^2. Fialovým zvýrazněním oblasti grafu jsou znázorněny hodnoty, které byly interpretovány jako velmi dobrý stav kůže; žlutým zvýrazněním zase dobrý stav kůže (Tabulka 3).

Tabulka 21 – Výsledky měření transepidermální ztráty vody

čas [hod]	**Transepidermální ztráta vody [g/h/m^2]** *(± SD)*										
	reference	**glycerol 5%**	**glycerol 10%**	**urea 5%**	**urea 10%**	**HA 0.05% 50.28 kDa**	**HA 0.1% 50.28 kDa**	**HA 0.05% 2.38 MDa**	**HA 0.1% 2.38 MDa**	**sericin 1%**	**sericin 5%**
0	8.5 *(± 1.5)*	9.6 *(± 1.1)*	8.8 *(± 0.5)*	9.3 *(± 0.6)*	12.9 *(± 3.0)*	11.3 *(± 2.0)*	9.6 *(± 0.7)*	9.9 *(± 0.3)*	10.1 *(± 0.5)*	7.8 *(± 1.0)*	8.3 *(± 0.7)*
4	8.2 *(± 0.8)*	6.5 *(± 1.0)*	6.7 *(± 0.9)*	8.9 *(± 1.2)*	10.4 *(± 0.5)*	9.6 *(± 0.3)*	10.7 *(± 0.7)*	10.1 *(± 0.8)*	10.9 *(± 0.9)*	7.1 *(± 0.5)*	7.3 *(± 0.5)*
24	8.4 *(± 1.5)*	6.1 *(± 1.0)*	5.5 *(± 0.9)*	6.8 *(± 0.9)*	8.9 *(± 0.6)*	7.4 *(± 0.9)*	8.0 *(± 0.7)*	8.2 *(± 0.6)*	9.4 *(± 0.6)*	5.9 *(± 0.8)*	7.8 *(± 2.1)*



Obrázek 50 – Grafická závislost transepidermální ztráty vody na době od nanesení připravených gelů

Obdobně jako v případě korneometrického stanovení i v tomto případě byl nejlepší výsledek pozorován u gelů s glycerolem, který transepidermální ztrátu vody výrazně snížil, čímž podpořil zadržení vody v kůži. Po 4 hodinové aplikaci vykazoval lepší výsledek gel s nižší koncentrací glycerolu, po aplikaci přes noc se jako účinnější jevil gel s vyšší koncentrací této aktivní látky.

Kosmetický gel s 5% obsahem urey mírně snižoval hodnotu TEWL po celou dobu experimentu. Gel s 10% obsahem urey rapidně snížil vypařování po 4 hodinové aplikaci, dále hodnoty klesaly pozvolně.

Kosmetický gel obsahující 0.05% kyseliny hyaluronové o molekulové hmotnosti 50.28 kDa snížil vypařování po 4 hodinách na hraniční hodnotu dobrého a velmi dobrého stavu, tedy na přibližně 9.5 g/h/m^2. Dále byla hydratace snížena až na 7.4 g/h/m^2. U gelu obsahujícího vyšší koncentraci kyseliny hyaluronové téže molekulové hmotnosti bylo pozorováno nejprve navýšení hodnot vypařování s následným pozvolným klesáním na hodnotu 8.0 g/h/m^2. Obdobný tvar křivky jako gel s 0.1% obsahem kyseliny hyaluronové o molekulové hmotnosti 50.28 kDa měly

i gely s obsahem 0.05% a 0.1% kyseliny o vyšší molekulové hmotnosti. Lepších výsledků z těchto dvou koncentrací dosáhl gel s obsahem 0.05% kyseliny.

Po 4 hodinové aplikaci dosahovaly gely s 1% a 5% množstvím sericinu prakticky stejných hodnot, s prodlužujícím se časem působení byla lepší účinnost pozorována u vzorku s menší koncentrací této aktivní látky. Je zajímavé, že gel obsahující 1 % sericinu snižoval po dlouhodobé aplikaci hodnotu TEWL na úroveň glycerolu a vykazoval tedy příznivý vliv na zachování vlhkosti v pokožce.

Hodnoty transepidermální ztráty vody stanovené pro referenční vzorek bez aktivní hydratační látky byly po celou dobu měření téměř konstantní. Tímto výsledkem bylo dokázáno, že jednotlivé aktivní látky ve stejném základu stav hydratace pokožky ovlivnily, přestože metoda měření transepidermální ztráty vody vypovídá především o stavu bariérové funkce pokožky a její schopnosti zadržovat vodu.

V souvislosti s měřením transepidermální ztráty vody i měřením hydratace korneometrickou metodou je třeba zmínit, že carbomer, jako polymerní látka má na pokožce sklon k tvorbě filmu. Tento film byl, po nanesení a zaschnutí gelu, na pokožce předloktí probandů viditelný. Mezi použitou měřící sondou a pokožkou byla tedy během měření tenká polymerní vrstva, která především při měření provedeném 4 hodiny po aplikaci ovlivnila výsledky hydratace.

V případě gelu s obsahem kyseliny hyaluronové byl tento efekt navíc zesílen tím, že i kyselina hyaluronová tvoří na pokožce tenký film, a tak hydratuju pouze hlavní vrstvu *strata cornea* [46].

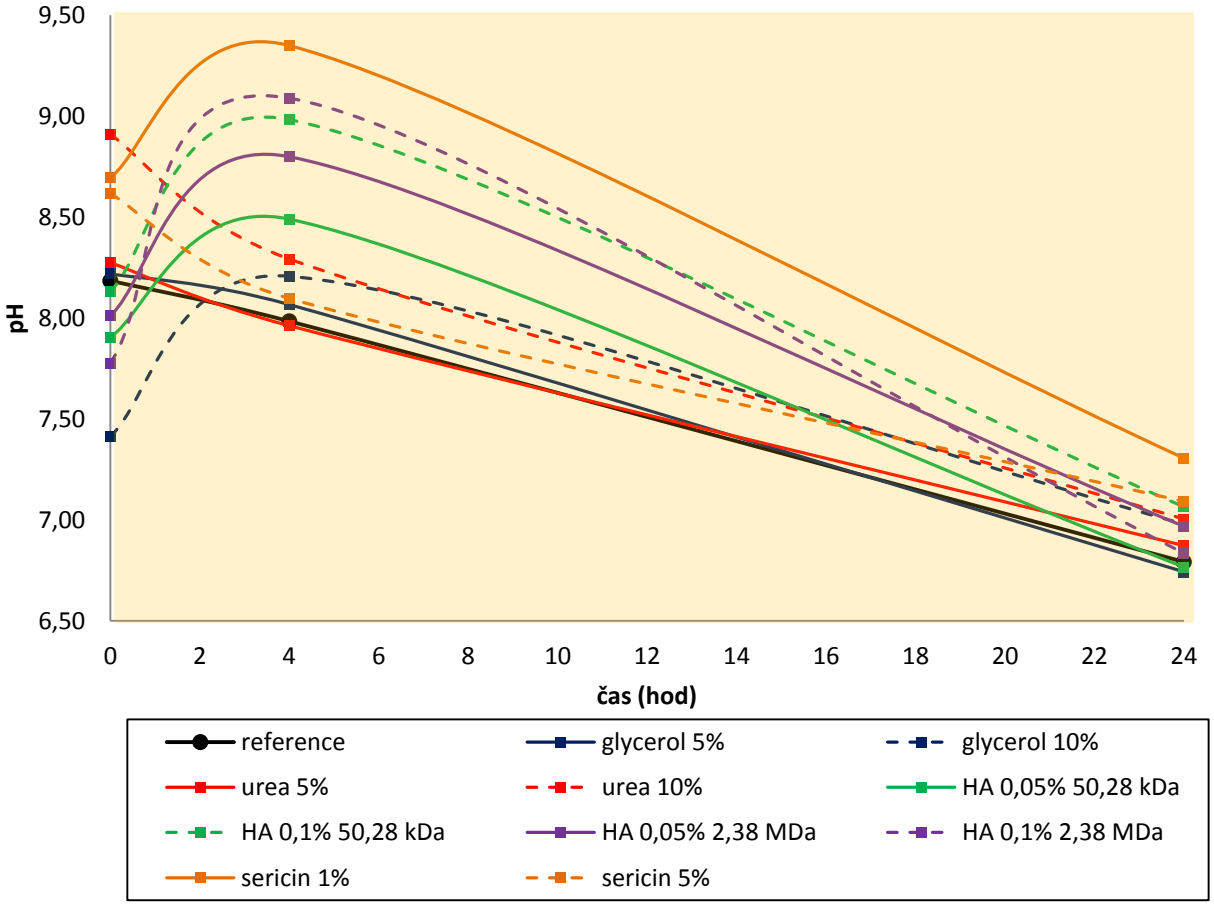
Kosmetické gely vykazovaly značný okluzivní účinek, což by mohlo být náplní dalšího studia účinků kosmetických gelů s obsahem hydratačních složek na hydrataci pokožky.

8.2.3 Výsledky měření pH

Hodnoty pH pokožky stanovené na sledovaných místech předloktí po nanesení gelu se pohybovaly v rozmezích 6.7 – 9.6. Výsledky jsou shrnuty v Tabulce 22 a na Obrázku 11.

Tabulka 22 – Výsledky měření pH pokožky

čas [hod]	**pH** *(± SD)*										
	reference	**glycerol 5%**	**glycerol 10%**	**urea 5%**	**urea 10%**	**HA 0.05% 50.28 kDa**	**HA 0.1% 50.28 kDa**	**HA 0.05% 2.38 MDa**	**HA 0.1% 2.38 MDa**	**sericin 1%**	**sericin 5%**
0	8.2 *(± 0.8)*	8.2 *(± 0.5)*	7.4 *(± 1.3)*	8.3 *(± 1.1)*	8.9 *(± 1.0)*	7.9 *(± 0.9)*	8.1 *(± 0.4)*	8.0 *(± 0.2)*	7.8 *(± 0.4)*	8.7 *(± 0.4)*	8.6 *(± 0.3)*
4	8.0 *(± 0.4)*	8.1 *(± 0.1)*	8.2 *(± 0.2)*	8.0 *(± 0.2)*	8.3 *(± 0.1)*	8.5 *(± 0.5)*	9.0 *(± 0.9)*	8.8 *(± 0.6)*	9.1 *(± 0.7)*	9.4 *(± 0.5)*	8.1 *(± 0.3)*
24	6.8 *(± 0.3)*	6.7 *(± 0.3)*	7.0 *(± 0.3)*	6.9 *(± 0.5)*	7.0 *(± 0.2)*	6.8 *(± 0.6)*	7.1 *(± 0.6)*	7.0 *(± 0.8)*	6.8 *(± 0.8)*	7.3 *(± 0.5)*	7.1 *(± 0.3)*



Obrázek 6 – Grafické znázornění pH na čase

Světle oranžové zvýraznění celé oblasti grafu značí, že veškeré naměřené hodnoty se nacházely v oblasti zásaditého pH pokožky (Tabulka 21). pH odmaštěné pokožky před nanesením gelů se pohybovalo mezi hodnotami 7.4 – 8.9. Tyto počáteční hodnoty pH jsou poměrně vysoké a mohly být způsobeny častým používáním kosmetických přípravků, oplachové kosmetiky nebo

přítomností některých bakterií či sníženým odpařováním potu. Aktuální hodnoty pH kožního povrchu jsou individuální a mohly být ovlivněny i momentální dispozicí probandů.

Referenční vzorek snížil pH o hodnotu 0.2 po 4 hodinové aplikaci a o hodnotu 1.4 po aplikaci přes noc. Všechny vzorky gelů hodnotu pH pokožky ve výsledku snížily. Na Obrázku 14 je možno pozorovat, že část zkoumaných gelů pH nejprve prudce zvýšila a až potom pH začalo klesat. Nejprudší zvýšení pH bylo pozorováno u gelu s obsahem 0.1 % kyseliny hyaluronové o molekulové hmotnosti 2.38 MDa, kdy hodnota vzrostla na 9.6.

U gelů, které obsahovaly glycerol a sericin bylo pozorováno rozdílné chování v závislosti na použité koncentraci aktivní látky. Gel s 5% glycerolem pH pokožky po nanesení vzorku pomalu snižoval, zatímco zvýšená koncentrace způsobila nejprve nárůst pH následovaný strmým poklesem. Podobný prudký nárůst pH byl pozorován u vzorku s 1% sericinem, zatímco u gelu s vyšší koncentrací sericinu pH klesalo od počátku jeho aplikace.

Kosmetické gely s oběma koncentracemi urey pH od počátku snižovaly. Vzorek s jejím 10% obsahem způsobil nejprudší pokles pH po jeho nanesení.

Kyselina hyaluronová jako aktivní hydratační látka v obou molárních hmotnostech a všech koncentracích způsobila zvýšení pH, které dosahovalo maxima přibližně před 4 hodiny po aplikaci a dále se s časem hodnota pH snižovala.

ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo připravit a charakterizovat gelové formulace s obsahem vybraných hydratačních látek. K tomuto účelu byly použity následující metody: viskozimetrie, korneometrie, měření transepidermální ztráty vody a pH.

Měřením viskozity bylo zjištěno, že téměř všechny gelové formulace, obsahující různé aktivní hydratační látky, se projevovaly jako nenewtonské kapaliny s pseudoplastickým chováním. Vzorek gelu obsahující jako aktivní látku makromolekulární hedvábný protein sericin, se od ostatních gelů odlišoval významně nízkou viskozitou. Rovněž vzhled gelu, zvláště s aktivní látkou ve vyšší koncentraci, byl odlišný.

Korneometrickou metodou měření hydratace byla porovnána hydratační schopnost jednotlivých aktivních látek. Nejlepší hydratační látkou byl glycerol, jehož schopnost zvýšit obsah vody v pokožce byla znatelná bezprostředně po aplikaci gelu. Výsledky účinnosti ostatních hydratačních látek byly pozitivní až 24 hodin po odmaštění pokožky, tedy při aplikaci kosmetických gelů přes noc.

Kosmetická vehikula gelového typu nebyla shledána jako optimální nosič aktivních hydratačních látek. Naměřená hydratace v obou aplikačních režimech, tedy 4 hodiny po nanesení vzorku a 24 hodin od odmaštění pokožky, se u všech vzorků pohybovala v rozmezí hodnot, které byly korneometrem MPA hodnoceny jako nízké a manuál je interpretoval jako suchý stav pokožky.

Měřením transepidermální ztráty vody byl zjišťován stav bariérové funkce kůže, která může být rovněž ovlivněna použitím kosmetických přípravků s aktivními látkami. Stav bariérové funkce byl na základě naměřených dat vyhodnocen jako dobrý nebo velmi dobrý. Nejlepší výsledek byl zjištěn opět u gelu obsahujícího glycerol, který TEWL nejvíce snížil.

Fyziologická hodnota pH pokožky by se měla pohybovat v rozmezí 5.5 – 6.5. Vlivem různých podmínek se hodnoty pH mohou pohybovat i v oblasti zásadité, což potvrdilo měření před vlastní aplikací gelu, kdy se hodnoty pH pokožky všech probandů pohybovaly mezi 7.5 – 8.5. Hodnoty pH pokožky se při aplikaci kosmetických gelů přes noc mírně snížily.

Výsledky studie prokázaly, že mezi jednotlivými použitými hydratačními látkami existují rozdíly ve schopnosti hydratovat pokožku a ty jsou závislé nejen na typu a koncentraci použité látky, ale i na typu použitého nosiče. Zajímavé bude srovnat účinnost sledovaných látek obsažených v jiném typu vehikula, například v masťovém základu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] BUCHMANN, Stephan. Main Cosmetic Vehicles. In: BAREL, André, Marc PAYE a Haward I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*: *Principles and practise*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2001, s. 145-168. ISBN 0-8247-0292-1.

[2] CHALUPOVÁ, Zuzana et al. Lipidy v technologii léčivých a kosmetických přípravků. *Praktické lékárenství*. [online]. 2008, 4(1) [cit. 2012-03-11]. Dostupné z: http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2008/01/07.pdf

[3] FEŘTEKOVÁ, Vlasta et al. *Kosmetika v teorii a praxi*. Praha: Maxdort, nakladatelství odborné literatury, 1994. ISBN 80-85800-20-9.

[4] LANGMAIER, Ferdinand. *Základy kosmetických výrob*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. 2001. ISBN 80-7318-016-2.

[5] JACHOWICZ, Renata. *Farmacja Praktycna*. Warzsawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2007. ISBN 978-83-200-3400-4.

[6] RUSS, Monika. *Emulze používané v kosmetice*. Zlín: 2011. Bakalářská práce. Technologická fakulta na UTB ve Zlíně. Vedoucí bakalářské práce Pavlína Vltavská.

[7] ZÁHEJSKÝ, J. *Zevní dermatologická terapie a kosmetika*. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1551-1.

[8] KŘÍŽOVÁ, Markéta. *Příprava stabilních mikroemulzí 1-monoacylglycerolů a antimikrobiálními účinky*. Zlín: 2011. Diplomová práce. Technologická fakulta na UTB ve Zlíně. Vedoucí bakalářské práce Věra Kašpárková.

[9] TADROS, T., P. IZQUIERDO et al. Formation and stability of nano-emulsions. *Nation Center of Biotechnology Information*. [online]. 2004[cit. 2012-03-11]. Dostupné z: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15072948.

[10] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. Olomouc: katedra fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého, 2007.

[11] FLORENCE, Alexander T. a David ATTWOOD. *Physicochemical Principles of Pharmacy*. 4. vyd. London-Chicago: Pharmaceutical Press, 2006. ISBN 0-85369-608.

[12] EKONG, Ekong A. et al. Rheological Additives and Stabilizers. In: BAREL, André, Marc PAYE a Haward I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*: *Principles and practise*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2001, s. 377-387. ISBN 0-8247-0292-1.

[13] LOCHHEAD, Robert Y. The Role of Polymers in Cosmetics: Recent Trends. In: MORGAN, S. et al. *Cosmetics Nanotechnology*. Washington, D.C.: ACS Symposium Series, 2007, s. 3-56. DOI: 10.1021/bk-2007-0961.ch001.

[14] ISO 15930-1. *Aqualon polymers for personal care*: *rheology and conditiong solutions*. USA: Ashland Aqualon Funcitonal Ingredients A Commercial Unit of Ashland Inc., 2010.

[15] HOSMANI, Avinash H. Carbopol and its Pharmaceutical Significance: A Review. [online]. 2006[cit. 2012-03-28]. Dostupné z: http://www.pharmainfo.net/reviews/carbopol-and-its-pharmaceutical-significance-review.

[16] Polygel CA: Thickening agent. M+H, Míča a Harašta s.r.o. Bezpečnostní listy [online]. 2005 [cit. 2012-04-20]. Dostupné z: http://www.mah.cz/katalog.php?kid=3&lang=cz.

[17] JABLONSKI, Nina G. Skin: a natural history [online]. [cit. 2012-03-05]. Dostupné z: http://books.google.cz/.

[18] CHALUPOVÁ, Zuzana a Ruta MASTEIKOVÁ. Hydratace a kosmetické prostředky. *Praktické lékárenství.* [online]. 2006, č. 4 [cit. 2012-03-11]. Dostupné z: http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2006/04/09.pdf.

[19] HRABÁLEK, Alexandr a Kateřina VÁVROVÁ. Lze překonat kožní bariéru?. *Praktické lékárenství.* [online]. 2005, č. 1 [cit. 2012-03-05]. Dostupné z: http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2005/01/02.pdf.

[20] NACHÁZELOVÁ, Lucie. *Recovery of Skin Protective and Barrier Function*. Zlín: 2010. Diplomová práce. Technologická fakulta na UTB ve Zlíně. Vedoucí diplomové práce Pavlína Vltavská.

[21] OBSTOVÁ, Iva a Sladjana ILIČOVÁ. Každodenní péče o suchou a citlivou pokožku. *Medicína pro praxi.* [online]. 2010 [cit. 2012-03-09]. Dostupné z: http://www.medicinapropraxi.cz/pdfs/med/2010/88/08.pdf.

[22] BAUMANN, Leslie. Dry Skin. In: BAUMANN, Leslie, Sogol SAGHARI a Edmund WEISBERG. *Cosmetic dermatology*: *Principle and practise*. 2. vyd. New York: McGrey-Hill Medical, 2000, s. 83-93. ISBN 978-0-07-164128-9.

[23] JOHNSON, Anthony W. The Skin Moisturizer Marketplace. In: LEYDEN, James J., Anthony V. RAWLINGS. *Skin Moisturization*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2002, s. 1-30. ISBN 0-8247- 0643-9.

[24] KALININ, A., L.N. MAREKOV a P.M. STEINERT. Assembly of the epidermal cornified cell envelope. *Journal of cell science*. [online]. 2001 [cit. 2012-03-10]. Dostupné z: http://jcs.biologists.org/content/114/17/3069.full.

[25] NAKAGAWA, Noriaki et al. Relatioinship Between NMF (Lactate and Potassium) Contect and the Physical Properties of the Stratum Corneum in Healthy Subject. *Journal of Investigative Dermatology*. [online]. 2004, č. 122 [cit. 2012-03-10]. DOI: 10.1111/j.0022-202X.2004.22317.x. Dostupné z: http://www.nature.com/jid/journal/v122/n3/full/5602243a.html.

[26] KRAJSOVÁ, Ivana. Suchá kůže a urea. *Dermatologická praxe.* [online]. 2008, č. 2 [cit. 2012-03-14]. Dostupné z: http://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2008/01/07.pdf.

[27] SCHWARTZ, Robert A. Moisturizers. In: *Medscape: Medical News*. [online]. 2011 [cit. 2012-03-11]. Dostupné z: http://emedicine.medscape.com/article/1067211-overview.

[28] WENNINGER, John A. a Gerald N. MCEWEN. *Interantional Cosmetic Ingredient Dictionary and Handbook*. Washington, DC: The Cosmetic, Toiletry, and Fragrance Association, 1997. ISBN 1-8826-2122-0.

[29] HARDING, Clive R. a Ian R. SCOTT. Stratum Corneum Mosturizing Factors. In: LEYDEN, James J, Anthony V RAWLINGS. *Skin Moisturization*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2002, s. 61 - 80. ISBN 0-8247- 0643-9.

[30] BAUMANN, Leslie. Moisturizing Agents. In: BAUMANN, Leslie, Sogol SAGHARI a Edmund WEISBERG. *Cosmetic dermatology: Principles and practise*. 2. vyd. New York: McGrey-Hill Medical, 2009, s. 273-278. ISBN 978-0-07-164128-9.

[31] SCHLOSSMAN, Mitchell L. *The chemistry and manufacture of cosmetics*: *Volume III - Ingridients : [book one and two]*. 3. vyd. Carol Stream: Allured, 2002. ISBN 0-931710-77-4.

[32] SCHUBERT, CH. a T. TASSOPOULOS. Ointments, creams, and lotion used as topical drug delivery vehicles. In: *Topical absorption of dermatological pruducts*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2002, s. 511-517. ISBN 0-8247-0626-9.

[33] FLUHR, Joachim, Walter M. HOLLERAN a Enzo BERARDESCA. Clinical Effect of Emollients on Skin. In: LEYDEN, James J. a Anthony V. RAWLINGS. *Skin Moisturization*. New York: Marcel Dekker, Inc, 2002, s. 223-243. ISBN 0-8247- 0643-9.

[34] *The Merck Index*: *an encyklopedia of chemicals, drugs and biologicals*. 13. vyd. USA: Merck & Co., Inc., 2001. ISBN 0-9119-1013-1.

[35] LODÉN, Marie. Hydrating Substances. In: BAREL, André, Marc PAYE a Haward I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*: *Principles and practise*. New York: McGrey-Hill Medical, 2001. ISBN 0-8247-0292-1.

[36] SKLENÁŘ, Zbyněk. Močovina - vlastnosti, použití a praktické zapracování do topických polotuhých základů. *Praktické lékárenství*. [online]. 2007, č. 4 [cit. 2012-03-14]. Dostupné z: http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2007/04/07.pdf.

[37] RAWLINGS, Anthony V. a Clive R. HARDING. Humectants. In: LEYDEN, James J. a Anthony V. RAWLINGS. *Skin Misturizition*. New York: Marcel Dekker, Inc., 2002, s. 245-266. ISBN 0-8247- 0643-9.

[38] ZÁHEJSKÝ, Jiří. Urea - Stále aktuální a diskutovaná. *Dermatologická praxe*. [online]. 2008, č. 2 [cit. 2012-03-14]. Dostupné z: http://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2008/01/08.pdf.

[39] SVOBODA, Petr a Jarmila RULCOVÁ. Aktuální přehled mezoterapie z pohledu estetické dermatologie. *Dermatologická praxe*. [online]. 2009, č. 3 [cit. 2012-03-14]. Dostupné z: http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2007/04/07.pdf.

[40] PADAMWAR, M. N. a A. P. PAWAR. Silk sericin and its application: A review. *Journal of Scientific g Industrial Research*. [online]. 2004, č. 63 [cit. 2012-03-15]. Dostupné z: http://nopr.niscair.res.in/bitstream/123456789/5393/1/JSIR%2063(4)%20323-329.pdf.

[41] MONDAL, M., K. TRIVEDY a S. NIRMAL KUMAR. The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, Bombyx mori Linn., - a review. *Caspian Journal of Environmental Science*. [online]. 2007, č. 2 [cit. 2012-03-15]. Dostupné z: http://research.guilan.ac.ir/cjes/.papers/751.pdf.

[42] JANÍRKOVÁ, Gabriela. *Ochranná bariérová funkce kožního povrchu nohy*. Zlín: 2011. Diplomová práce. Technologická fakulta na UTB ve Zlíně. Vedoucí diplomové práce Jana Pavlačková.

[43] IMHOF, R. E. Closed-chamber transepidermal water loss measurement: Microclimate, calibration and performance. *International Journal of Cosmetic Science*. [online]. 2009[cit. 2012-03-15]. Dostupné z: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19175433 č. 31, 97–118. DOI: 10.1111/j.1468-2494.2008.00476.x.

[44] Maneko. Myr rotační viskozimetr. Na Pískách 71, Praha 6: Laboratorní potřeby a technika.

[45] C + K Multi probe adapter system MPA: Modular skin testing system. [online]. Koln: CK electronic [cit. 2012-04-25]. Dostupné z: http://www.courage-khazaka.de/download/pdf/scientific_mpa.pdf.

[46] Hyaluronic-Acid. Antiaging-all.com [online]. [cit. 2012-05-09]. Dostupné z: http://www.antiaging-all.com/Hyaluronic-Acid.html.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AHA	alfa-hydroxy-kyseliny
BHA	butylhydroxyanisol
CMC	karboxylmethylcelulóza
COOH	karboxylová skupina
HA	kyselina hyaluronová
HEC	hydroxyethylcelulóza
HPC	hydroxypropylcelulóza
HPMC	hydroxypropylmethylcelulóza
INCI	mezinárodní nomenklatura kosmetických přísad
MC	methylcelulóza
NMF	přirozený hydratační faktor
o/v	emulze olej ve vodě
o/v/o	směsná emulze typu olej/voda/olej
PEG-40	polyethylenglykol
SD	směrodatná odchylka
SDS	dodecylsulfát sodný
SSWL	ztráta vody z povrchu kůže
t_0	čas odečtu hydratace bezprostředně po odmaštění, tedy před aplikací kosmetických gelů
TEWL	transepidermální ztráta vody
v/o	emulze voda v oleji
v/o/v	směsná emulze typu voda/olej/voda

SEZNAM OBRÁZKŮ

SEZNAM TABULEK

SEZNAM PŘÍLOH

PŘÍLOHA P I: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ

Dotazník pro účastníka měření

Jméno:

Příjmení:

Věk:

Pohlaví:

Kód pokusné osoby (evidenční číslo):

Současný zdravotní stav:

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

Zdravotní stav v minulosti

Prodělal(a) jste:	**ano**	**ne**
transplantaci orgánů		
léčbu maligního nádoru v posledních 6 měsících		

Užívání léků

Berete či používáte pravidelně:	**ano**	**ne**	**jaké**

protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

Alergologická léčba

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

Pouze pro ženy

Jste:	**ano**	**ne**
těhotná nebo kojící		

Alergie

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

Doplňující údaje

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

Účast v dalších studiích

Studie:	**Typ studie:**	**Datum poslední studie:**
účastnil(a) jste se někdy kožního testu	----------	
účastníte se v současné době jiné studie		

podpis účastníka měření:

datum:

Pouze pro účely organizátora měření

Na základě zjištěných údajů je účastník a) přijat

b) nepřijat

Zdůvodnění:

Datum: Podpis organizátora:

PŘÍLOHA P II: INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

Individuální informovaný souhlas

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

Cíl studie

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

Podmínky účasti

Před zahájením vlastního experimentu je nutno vyplnit dotazník (viz. příloha č. 3). Součástí dotazníku jsou údaje o Vašem zdravotním stavu, alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných studiích. Na základě Vašich pravdivých odpovědí bude rozhodnuto o účasti v daném cvičení.

Metodika testu

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

Odstoupení z laboratorní práce

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

Rizika a nepříjemnosti

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

PŘÍLOHA P III: KRITÉRIA PRO ZAŘAZENÍ DO SOUBORU POKUSNÝCH OSOB

Kriteria pro zařazení do souboru pokusných osob

Předpokladem pro zařazení do souboru pokusných osob pro epikutánní testy jsou následující kriteria:

- nepřítomnost jakéhokoliv onemocnění (i nachlazení) minimálně 1 týden před zahájením testu
- nepřítomnost jakéhokoliv kožního onemocnění (např. psoriasis, ekzém, rakovina kůže, jiné dermatitidy)
- nepřítomnost kožních abnormalit v místě testu (např. jizvy, mateřská znaménka, zarudnutí kůže po slunění)
- osoba nesmí mít astma, ani jiné chronické respirační choroby
- osoba nesmí mít diabetes, který je léčený inzulinem
- osoba nesmí být léčena pro imunodeficienci nebo autoimunitní onemocnění a neužívá léky s vlivem na imunitní systém
- osoba nesmí mít v anamnéze transplantaci orgánů a léčbu zhoubných onemocnění
- osoba nesmí užívat pravidelně léky s lokálním i celkovým protizánětlivým účinkem (např. aspirin, ibuprofen, kortikoidy)
- osoba musí být bez alergologické anamnézy
- vyloučeny jsou ženy těhotné nebo v laktaci
- vyloučena je osoba, která se současně zúčastňuje jakékoli jiné klinické studie nebo tato studie byla ukončena v době kratší než 14 dní před zahájením testu

Kriteria pro vyřazení pokusných osob

Ze souboru pokusných osob pro epikutánní testy je vyřazena osoba, pokud:

- nedodržuje podmínky práce
- na vlastní žádost ukončí svou účast ve cvičení
- změní se její zdravotní stav natolik, že by tím mohl být ovlivněn výsledek práce
- dojde u ní k navození takové situace a podmínek, které mohou ovlivnit výsledek experimentu