

Sericin a jeho využití v kosmetice

Bc. Vendula Tlašková

Diplomová práce
2013



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2012/2013

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Vendula Tlašková**
Osobní číslo: **T11569**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů
a kosmetiky**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Sericin a jeho využití v kosmetice**

Zásady pro vypracování:

1. Při vypracování literární rešerše se tématicky zaměřte na problematiku hydratace a využití účinků sericinu v kosmetice a příbuzných odvětvích.
2. Navrhněte a proveďte experiment – příprava koncentrační řady s různým obsahem sericinu, – ověřování bariérových vlastností in vivo pomocí neinvazivních technik.
3. Získané výsledky vyhodnoťte a vyvodte patřičné závěry.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. LEYDEN J. J., RAWLINGS A. V. Skin Moisturization. New York: Marcel Dekker, 2002. Cosmetic Science and Technology Series, 25. ISBN 0-8247-0643-9.
2. GODDARD E. D., GRUBER J. V. Principles of Polymer Science and Technology in Cosmetics and Personal Care. New York: Marcel Dekker, 1999.
3. BAUMAN L. Cosmetic Dermatology Principles and Practice. 2nd ed. US: The McGraw-Hill Companies, 2009. ISBN 978-0-07-164128-9.
4. DRAELOS Z. D. Cosmetic Dermatology Products & Principles. 1st ed. UK: Blackwell Publishing, 2010. ISBN 9781405186353.
5. PADAMWAR, M. N., et al. Silk sericin and its applications: A review. J. Sci. Ind. Res., 2004, vol. 63, p. 323329.
6. PATEL, R. J., et al. Sericin: Pharmaceutical Applications. Int. J. Res Pharm Biom Sci, 2011, vol. 2, no. 3, p. 913917.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Jana Pavlačková, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

11. února 2013

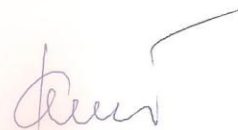
Termín odevzdání diplomové práce:

22. května 2013

Ve Zlíně dne 11. února 2013



doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan



doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno:

Obor:

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

.....

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 nevydělečně 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 vzdělávacímu 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). Odpirá-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

Práce je zaměřena na hodnocení kosmetických účinků hedvábné bílkoviny sericinu. Byly zkoumány vlastnosti krémů s různou koncentrací látky sericinu bioinženýrskými neinvazivními metodami *in vivo* na pokožku. Bylo zjištěno, že sericin předurčuje používání kosmetických prostředků ke zlepšení bariérové funkce kůže.

Klíčová slova: Kůže, hydratace, bariéra, humektant, fibroin, sericin.

ABSTRACT

The work is focused on evaluating the cosmetic effects of silk protein sericin. Were examined moisturizing properties creams with different concentrations of a substance sericin bio-engineering non-invasive methods *in vivo*. It was found that sericin determines use of cosmetic products for improving skin barrier function.

Keywords: Skin, hydration, barrier, humectant, fibroin, sericin.

Chtěla bych poděkovat především paní Ing. Janě Pavlačkové, PhD. za cenné rady a pomoc při psaní této diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat Ing. Janě Poláškové za spolupráci při zpracování výsledků. V neposlední řadě děkuji všem probandům, kteří se účastnili měření praktické části a také mé rodině za trpělivost a pomoc v průběhu celého studia.

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

OBSAH

ÚVOD.....	10
I TEORETICKÁ ČÁST.....	11
1 HYDRATACE KŮŽE.....	12
1.1 MECHANIZMY PODÍLEJÍCÍ SE NA UDRŽOVÁNÍ OPTIMÁLNÍ HYDRATACE.....	13
1.2 MĚŘENÍ HYDRATACE KŮŽE	14
1.3 TRANSEPIDERMÁLNÍ ZTRÁTA VODY	14
1.4 PŘIROZENÝ HYDRATAČNÍ FAKTOR	15
1.5 KOSMETICKÉ HYDRATAČNÍ PROSTŘEDKY.....	16
1.5.1 Humektanty	17
1.5.2 Emolienty	17
1.5.3 Okluzíva	18
2 ZPRACOVÁNÍ HEDVÁBÍ	19
2.1 HISTORIE A SOUČASNOST HEDVÁBNICTVÍ.....	19
2.2 BOUREC MORUŠOVÝ.....	20
2.3 ŽIVOTNÍ CYKLUS BOURCE MORUŠOVÉHO	21
2.4 TVORBA HEDVÁBNÉHO ZÁMOTKU	22
2.5 VÝROBA HEDVÁBÍ.....	23
2.6 CHARAKTERISTICKÉ VLASTNOSTI HEDVÁBÍ	24
2.7 POUŽITÍ HEDVÁBÍ	25
2.8 CHEMICKÉ SLOŽENÍ HEDVÁBÍ.....	25
2.8.1 Struktura fibroinu	26
2.8.2 H-fibroin – těžký řetězec fibroinu.....	26
2.8.3 L-fibroin – lehký řetězec fibroinu.....	27
2.8.4 N-glykoprotein	27
2.8.5 Nízkomolekulární bílkoviny hedvábí.....	27
3 SERICIN	28
3.1 FORMY SERICINU	29
3.2 PŘÍPRAVA SERICINU	30
3.3 VLASTNOSTI SERICINU	30
3.4 VYUŽITÍ SERICINU	31
3.4.1 Biodegradabilní materiály	31
3.4.2 Membránové materiály	31
3.4.3 Funkční biomateriály	32
3.4.4 Lékařské biomateriály.....	33
3.4.5 Funkční vlákna, tkaniny a výrobky.....	34
3.5 VYUŽITÍ SERICINU V KOSMETICE	34
3.5.1 Komerční kosmetické prostředky s obsahem sericinu	35
3.6 DALŠÍ VYUŽITÍ SERICINU	36
4 CÍLE PRÁCE	38

II PRAKTICKÁ ČÁST	39
5 METODIKA.....	40
5.1 POUŽITÉ MATERIÁLY A CHEMIKÁLIE	40
5.2 PŘÍSTROJE	40
5.2.1 Platforma MPA	40
5.2.2 Visioscope	42
5.3 POMŮCKY.....	42
5.4 PŘÍPRAVA MATERIÁLU PRO EXPERIMENT.....	43
5.4.1 Příprava fyziologického roztoku	43
5.4.2 Příprava 0,5% roztoku SLS.....	43
5.4.3 Příprava krémů s obsahem sericinu.....	43
5.5 SOUBOR DOBROVOLNIC A PODMÍNKY MĚŘENÍ.....	47
5.6 POSTUP MĚŘENÍ <i>IN VIVO</i>	48
5.7 METODY ZPRACOVÁNÍ DAT	50
6 VÝSLEDKY A DISKUZE	52
6.1 VYHODNOCENÍ HYDRATAČNÍHO ÚČINKU SERICINU	52
6.2 VYHODNOCENÍ TEWL	57
6.3 VYHODNOCENÍ PH	63
6.4 POROVNÁNÍ NAMĚŘENÝCH VÝSLEDKŮ S PRACEMI JINÝCH AUTORŮ	65
6.5 VYHODNOCENÍ STAVU POKOŽKY VISIOSCOPEM.....	66
ZÁVĚR	71
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	73
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	80
SEZNAM OBRÁZKŮ.....	81
SEZNAM TABULEK	83
SEZNAM PŘÍLOH.....	84

ÚVOD

Přírodní hedvábí je produktem činnosti snovacích žláz motýla bource morušového latinsky zvaného *Bombyx mori*. Housenky bource morušového vytváří hedvábné kokony, ze kterých se poté odvíjí hedvábné vlákno. Hedvábné vlákno je složeno z bílkoviny fibroinu a sericinu. Dále se zde vyskytují v minoritním množství vosky, sacharidy, anorganické látky a pigment. Sericin obklopuje vlákna fibroinu a vytváří tzv. lepidlo. Skládá se z různých aminokyselin, přičemž největší zastoupení má aminokyselina serin.

Přesto, že sericin představuje v současné době spíše odpad při zpracování hedvábí, rozsáhlý výzkum dokazuje jeho unikátní vlastnosti a z tohoto důvodu se jeho použití v průmyslových aplikacích neustále zvyšuje.

Pro své unikátní vlastnosti našel využití i v kosmetice. Zde se využívá v prostředcích k péči o pokožku, nehty i vlasy.

Vzhledem k tomu, že studií sericinu v kosmetických prostředcích je málo a nejsou zveřejněny informace účinných koncentrací, budu se v diplomové práci zabývat experimentem pomocí studií *in vivo*, biocharakterizací vlastností emulzních prostředků s různým obsahem sericinu na pokožku dostupnými instrumentálními metodami, které jsou k dispozici v našich školních laboratořích.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 HYDRATAČE KŮŽE

Hydratace v obecném slova smyslu vyjadřuje podíl vody v daném médiu např. ve tkáních, v mezibuněčné hmotě, ale i v jiných strukturách. Hydratace v kosmetickém slova smyslu je pojem pro podíl vody v kůži, především v rohové vrstvě. Hydratace má významnou úlohu v uchování kvality *epidermis* a optimální funkčnosti její bariérové funkce [1].

Obsah vody v jednotlivých vrstvách pokožky je různý. V úrovni vnitřních partií rohové vrstvy je lokalizována tzv. vodní bariérová zóna, která vytváří hranici mezi zrohovatělými vrstvami *epidermis*, které jsou dehydratované a vrstvami neúplně zrohovatělými, které obsahují intracelulární vodu. Obsah vody na úrovni této bariérové zóny je výslednicí rovnováhy mezi množstvím vody, která sem z hlubších vrstev proniká difuzí, a obsahem vody v okolní atmosféře nad kožním povrchem. Vodní bariéra udržuje stabilní hydrataci vnitřních partií kůže i organismu na rovnovážné úrovni. Je závislá na několika faktorech, jako jsou genetický vliv, stáří, pohlaví, výživové zvyklosti, pitný režim apod. Selhání této vodní bariéry je s životem neslučitelné [1].

U velmi dobře hydratované kůže, kde je rohová vrstva ohebná a koherentní, se obsah vody pohybuje mezi 7 – 10 %. Při sníženém obsahu vody vzniká klinický obraz suché kůže, projevující se suchostí, zčervenáním, šupinatostí, popř. popraskáním. Voda se ztrácí nejen pocením (perspirací), ale i fyziologickou a transepidermální ztrátou vody (TEWL). S pojmem suchá kůže je možné se setkat i při snížené tvorbě mazu mazovými žlázami. K tomu dochází většinou ve starším věku, kdy omezená produkce mazu spolu se ztrátou svalové elasticity vyvolává vznik vrásek a kůže je náchylná k praskání [2].

Na udržení optimálního obsahu vody v rohové vrstvě se podílí především lipidy mezibuněčné hmoty a kožního ochranného pláště a hygroskopické látky, které se nachází hlavně uvnitř korneocytů a označují se souhrnně jako přirozený hydratační faktor (NMF) [3].

K dokonalé funkci kůže je nutné, aby byla hydratace optimální. Nadbytek i nedostatek se na kůži projevuje nepříznivě. Hydratovat kůži je velmi jednoduché, docílit optimální hydratace a tuto hydrataci udržet je náročné a složité. Ve vnitřních partiích kůže a organismu hydrataci zevními prostředky ovlivnit nelze [1].

Hydratace pokožky je jeden z nejvýznamnějších faktorů v rezistenci, ale i v zevním vzhledu kůže, tedy v její signální a společenské funkci. Zevními vlivy ji lze vyčerpat, stačí k tomu opakované mytí, práce s detergenty apod. [1].

1.1 Mechanizmy podílející se na udržování optimální hydratace

Mezi mechanismy podílející se na udržování nezbytného „hydratačního profilu“ kožního povrchu patří [4]:

- a) Povrchový ochranný film (mírně kyselý) trvale se obnovující emulze složená z lipidů mazu, z potu a olupujících se buněk *stratum corneum*.
- b) Rohová vrstva složená ze zrohovatělých epidermálních buněk nesoucích na svých površích omega hydroxy-alkylceramidy, které spolu s proteiny buněčných struktur rohových buněk vytvářejí velmi pevná spojení jednotlivých keratinocytů. Uplatňuje se zde hydratační vliv hyaluronanu sodného syntetizovaného v horních partiích vrstvy zrnité.
- c) Přirozené hydratační faktory lokalizované v mezibuněčných prostorech vrstvy rohové. Jsou syntetizované v průběhu rohovatění z proteinu filagrinu. Jedná se např. o aminokyseliny, močovinu a pyrrolidon karboxylovou kyselinu.
- d) Lipoidní dvojvrstvy jsou dvojvrstevné struktury lipoidní povahy složené z ceramidů, cholesterolu a volných mastných kyselin, které jsou utvářeny v průběhu procesu rohovatění a lokalizovány v horní části vrstvy zrnité a v mezibuněčných prostorech vrstvy rohové. Tyto lipoidní látky, syntetizované v průběhu rohovatění, jsou dále enzymaticky upravovány a na úrovni povrchové rohové vrstvy se podílí na pevném spojení jednotlivých keratinocytů, které tak vytváří „pevnost a neproniknutelnost“ kožního povrchu.
- e) Dosud nepřilíš objasněná, ale nesporná je přítomnost epidermální lymfy (mezibuněčného tkáňového moku) prostupující zřejmě skrze bazální membránu z papilární vrstvy koria.

Takto vzniká neustále se obnovující epidermální bariéra, která má funkci mechanické ochrany a zabezpečuje správnou hydrataci kůže zabráněním TEWL. Kvalita epidermální bariéry je výsledkem komplexního diferenciačního procesu v celé *epidermis*.

Při poruše epidermální diferenciace je redukováno množství mezibuněčných lipidů, mění se charakter hydrolipoidního ochranného filmu nebo NMF, tím se zvyšuje TEWL a dochází k dehydrataci kůže. Hydrolytické enzymy, které rozrušují keratinocytární vazby, působí při nižším obsahu vody nedostatečně, dochází k abnormální deskvamaci a hromadí se keratinocyty tvoří na kožním povrchu šupiny [5].

1.2 Měření hydratace kůže

Měření hydratace *in vivo* patří k základním neinvazivním postupům, které jsou využívány ve fyziologických i patologických šetřeních, při diagnostice onemocnění a zejména při testování účinnosti kosmetických a dermatologických prostředků. Objektivní vyhodnocení hydratace je možné docílit přímým i nepřímým přístupem, měřením pomocí řady fyzikálních metod. Ty mohou využívat elektrické i neelektrické způsoby. Funkce a vlastnosti kůže lze posoudit přímým měřením kapacity, impedance (odporu) a vodivosti (konduktivity) a dále nepřímo měřením elasticity, pomocí kolorimetrie, gravimetrie, echografie, nukleární magnetické rezonance, blízkého infračerveného záření (NIR), Fourierovy infračervené transformační spektroskopie (FTIR), přičemž se jednotlivá měření doplňují [2].

Nejběžněji dostupnými přístroji jsou korneometr, Nova Dermal Phase Meter a DermaLab. Princip měření je založen na kapacitním měření dielektrického média. Měřením lze detekovat i nepatrné změny v hydrataci. Reprodukovatelnost měření je velmi vysoká a doba měření je krátká (1 s). Konstrukce měřící hlavy je taková, že měřená hloubka je velmi malá (asi 10 – 20 μm). Vysoce kvalitní sonda poskytuje stabilitu teploty. Pružina v hlavě sondy zajišťuje konstantní tlak na kůži, což umožňuje přesné a reprodukovatelné měření. Nízká hmotnost sondy a malá měřící plocha (49 mm^2) umožňují snadnou manipulaci a jednoduché čištění po měření [2, 6].

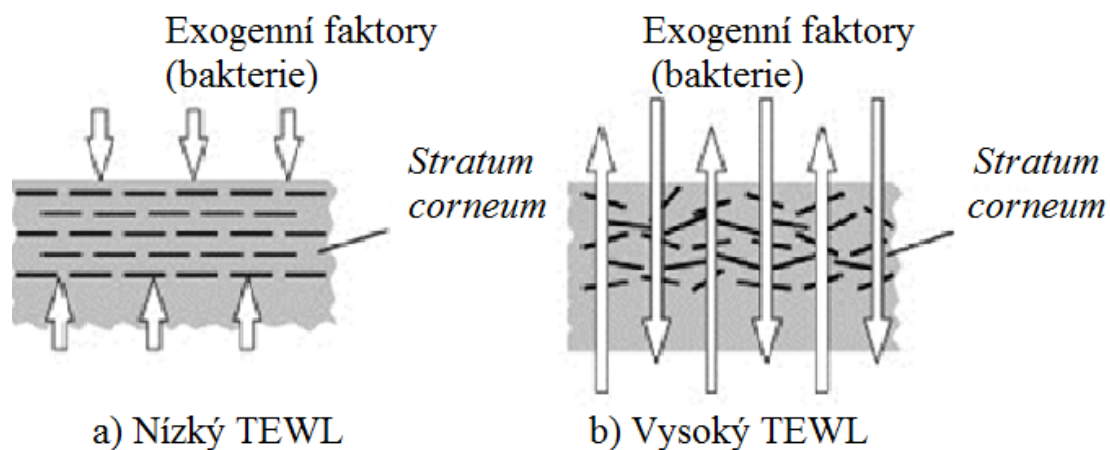
1.3 Transepidermální ztráta vody

Transepidermální ztráta vody je pasivní difuze kožní bariérou. Difuze vodní páry přes *stratum corneum* je přímo závislá na okolní relativní vlhkosti, integritě rohové vrstvy, teplotě, tloušťce *stratum corneum*, což určuje i permeabilitu rohové vrstvy. Jestliže relativní vlhkost okolního prostředí je 100 %, bude TEWL rovna 0 a obráceně, pokud bude relativní vlhkost vzduchu 0 %, bude TEWL maximální hodnoty [2].

Měření TEWL je velmi používaná metoda ke zkoumání bariérové funkce kůže za fyziologických i patologických stavů, k objektivizaci a zpřesnění klinické diagnózy, k vyhodnocování iritačních testů, ke sledování účinků léků a kosmetik (Obr. 1). V současnosti se používají tři druhy měřících přístupů: uzavřené, ventilované a otevřené komůrky [7].

Výhodou metody je nezávislost na subjektivním vnímání hodnotitele a možnosti srovnání mezi laboratořemi získkem numerických výsledků.

Měření ovlivňují faktory zevního prostředí např. proudění a turbulence vzduchu, teplota a vlhkost prostředí. Dále je ovlivnitelné individuálními faktory, mezi které patří např. pocenění, teplota kůže nebo lokalita měření [2].



Obr. 1. Schéma bariérové funkce (*stratum corneum*)

a) zdravá kůže,

b) narušená pokožka [8].

Vzhledem k tomu, že dehydratovaná kůže obsahuje velmi málo močoviny, je zajímavé studovat schopnost pokožky udržet si dostatečné množství močoviny – transepidermální ztráta močoviny (TEWL). Tato metoda umožňuje nezávislé a vzájemně se doplňující vyšetření používané k hodnocení hydratace pokožky. Podobně jako TEWL umožňuje vyhodnocení kapacit účinné látky zabraňující ztrátám močoviny ze *stratum corneum*. Chrání tak pokožku před nedostatkem NMF a dehydratací [9].

1.4 Přírozený hydratační faktor

Přírozený hydratační faktor je soubor hygroskopických látek, které jsou schopné v kůži efektivně vázat vodu.

Obsah přírodních hydratačních látek je zpracován v Tab. 1, kde jsou porovnány hodnoty uváděné různými autory [10, 11, 12].

Mezi významné činitele, které mohou vést k suchosti kůže, patří především dlouhé sprchování horkou vodou, používání detergentů, tření z oblečení, časté cestování letadlem, klimatizace, působení chemikálií a jiné znečištění, dále přetížení, stres či nevhodný způsob stravování. Sklon k suché kůži je většinou dědičný [13, 14].

Tab. 1. Porovnání složek NMF dle Solera, Rawlinga a Jacobiho [10, 11, 12].

Složení NMF [%]	Podle Solera [10]	Podle Rawlinga [11]	Podle Jacobiho [12]
Aminokyseliny	40,0	40,0	40,0
Sodík, vápník, draslík, hořčík, fosfáty a chloridy	18,5	18,5	18,5
Laktát	12,0	12,0	12,0
Pyrrolidon karboxylové kyseliny	12,0	12,0	12,0
Močovina	7,0	7,0	7,0
Amoniak, kyselina močová, glukosamin, kreatinin	1,5	1,5	1,5
Cukr, organické kyseliny, peptidy	8,5	9,0	9,0

1.5 Kosmetické hydratační prostředky

Stav kůže hraje důležitou roli ve vztahu k fyzickému a duševnímu zdraví. K tomu, aby byla kůže v dobrém stavu, je nutné ji udržovat dokonale čistou a optimálně hydratovanou. Jako kosmetika s hydratačním účinkem se používají topicky aplikované prostředky, které zvyšují množství vody v rohové vrstvě, a tak zbavují kůži suchého, šupinatého a zarudlého vzhledu, neakceptovatelného z pohledu kosmetiky a dermatologie. Nejlepší hydratační prostředky jsou ty, které spojují změkčující a lubrikační účinek emolientů, účinek humektantů poutajících vodu a okluzivních látek zpomalujících vypařování vody. Takovéto složení působí proti ztrátě vlhkosti, kůže se udržuje celistvá, hladká, měkká a hebká [15, 16].

Mají-li kosmetické prostředky být specificky účinné, je potřeba aby obsahovaly aktivní látky se specifickými účinky, a zároveň aby tyto látky mohly penetrovat z preparátu do pokožky, minimálně do *stratum corneum* a tam uplatnit svou specifickou účinnost.

Pokožka sama o sobě představuje pro transport takových látek dosti závažnou bariéru. Experimentálně bylo prokázáno, že bazální vrstva *stratum corneum* je nositelem bariérových schopností pro transport (difuzi) řady účinných látek [17].

Stratum corneum velmi intenzivně zadržuje aplikované látky a teprve po odstranění této vrstvy se zbytek kůže chová jako jiné živé membrány. Látky po překonání bariéry *stratum*

corneum pronikají korigem snadněji a jsou zpravidla organismem bez větších potíží resorbovány [17].

1.5.1 Humektanty

Humektanty, v literatuře také nazývány jako hydratanty, jsou látky používané v kosmetických prostředcích ke zvýšení obsahu vody v horních vrstvách kůže, především v rohové vrstvě, a k doplnění látek přirozeného hydratačního faktoru, které se průběžně odstraňují z kožního povrchu např. mytím.

Většina humektantů jsou látky s nízkou molekulovou hmotností, liší se schopností vázat vodu a pronikat do pokožky. Jedná se o hygroskopické hydrofilní látky rozpustné ve vodě, které vážou vodu, čímž zabraňují jejímu vypařování vlivem změn teploty a vlhkosti a následnému zahušťování, popř. vykrystalizování léčiva z vnější hydrofilní fáze, jako je tomu u hydrofilních krémů [8, 15].

Jsou to málo prchavé látky schopné zadržovat vlhkost v prostředí při relativně široké změně vnější vlhkosti po delší dobu. Nejefektivnějším humektantem je glycerol, který se běžně používá v koncentraci 5 – 10 %. Dalším významným humektantem je močovina, používána v koncentraci 3 – 5 %. Dále se používají propylenglykol a sorbitol, látky přirozeného hydratačního faktoru, jako je např. pyrrolidon karboxylová kyselina a kyselina mléčná. Z polysacharidů je to kyselina hyaluronová, její sodná sůl a chitosan [5, 15].

Mezi další hydratační látky působící v kosmetických prostředcích patří např. allantoin, kyselina arachidonová, kyselina askorbová, azulen, bisabolol, kolagen, želatina, glukóza, hydrolyzovaný keratin, hydrolyzovaný sojový škrob, maltodextrin, mléčné proteiny, medový extrakt, minerální soli, mořská sůl a sericin, který je zpracován v kapitole 4 [15].

1.5.2 Emolienty

Emolienty jsou specifickou skupinou dermatologik. Jedná se o látky používané v kosmetice pro svoji schopnost dodat kůži měkký, hladký a hebký vzhled. Jsou to látky hydrofobní, které po aplikaci pokrývají kožní povrch a doplňují tak úbytek kožního lipidního filmu. Nad *stratum corneum* vytvářejí olejový film, který zabraňuje nežádoucímu vysoušení a odpařování vody z podkožních vrstev. Kůži změkčují, zvláčňují, též hydratují, neboť obnovením lipidního filmu se omezí pasivní TEWL, čímž se zlepší hydratace rohové vrstvy a celkový vzhled kůže. Jejich použití je prioritní u všech stavů spojených se suchou kůží a dysfunkcí kožní bariéry [15, 16].

Mezi emolienty s výrazným okluzivním účinkem patří uhlovodíky jako vazelína, tekutý a tuhý parafin, skvalen, dále rostlinné oleje, tuky a vosky, které mají slabší okluzivní účinek, ale výrazné změkčující a zvláčňující účinky.

Dále lze mezi emolienty zařadit např. tuk z ovčí vlny (v kosmetice označovaný jako lanolin), isopropyl-myristát, isopropyl-palmitát, glyceryl-dioleát, glyceryl-ricinoleát, glyceryl-stearát, acetylovaný ricinový olej, hydrogenovaný ricinový olej, cholesterol, dimetikon a další [15].

Emolienty se speciálním složením ovlivňujícím mezibuněčné prostory v rohové vrstvě vytváří skupinu tzv. restrukturačních emolientů [18].

Emolienty standardně obsahují konzervanty, stabilizátory, antioxidanty, emulgátory, barviva a parfemaci. Dalšími přísadami mohou být fytofarmaka, antiseptika, vitaminy, minerály, sunscreens apod. Z hlediska aplikační formy můžeme volit masti, krémy nebo lotia [5].

1.5.3 Okluzíva

Okluzíva jsou skupinou látek používaných v kosmetických prostředcích ke zvýšení obsahu vody v rohové vrstvě, které po nanesení na kůži, zpomalují vypařování vody. Okluzíva fyzicky blokují TEWL v rohové vrstvě.

Kosmetické prostředky hydratují kůži různými způsoby. Mohou vykazovat krátkodobý hydratační účinek liberací vody ze samotného prostředku, což je výrazné u soustav s vysokým obsahem vody ve vnější fázi.

Dlouhodobějšího hydratačního účinku se dosáhne prostřednictvím topicky aplikovaných prostředků (masti) s vysokým obsahem uhlovodíků, především vazelíny.

Nejúčinnějším okluzivem je látka petrolatum v koncentraci minimálně 5 %. Dalšími látkami s okluzivním účinkem jsou lanolin, minerální oleje, silikony a dimetikon [15, 19].

2 ZPRACOVÁNÍ HEDVÁBÍ

2.1 Historie a současnost hedvábnictví

Podle tradičního čínského podání objevila možnost zhotovovat látky z vláken kokonů bource morušového roku 2698 př. n. l. Lei Tsu, manželka mýtického Žlutého císaře (známá též jako paní Si-ling). Legenda existuje v různých variantách, jimž je společné přesvědčení, že Lei Tsu nejen objevila tajemství kokonu, ale vynalezla i způsob spřádání hedvábných vláken a tkaní látek.

Archeologické nálezy dokladují znalost hedvábných látek v Číně již v době neolitu, není zcela jasné, nakolik se jednalo o hedvábí získávané z domestikovaného bource morušového. Jisté je, že chov bource a domácí produkce hedvábí byly běžné již za první historické dynastie Šang (17. – 11. století př. n. l.). Ve starověku byl, vedle pěstování obilnin a pěstování moruší, chov bourců základní součástí zemědělského hospodářství. Hedvábné látky se staly jednou z forem naturální daně. Péče o bource a následně zpracování jejich vláken bylo typickou ženskou záležitostí [20].

Od starověku se hedvábné látky šířily po tzv. Hedvábné cestě do Střední a Přední Asie. Postupně se dostaly až do Středomoří a získaly si oblibu také v císařském Římě. Výroba těchto látek však dlouho zůstávala tajemstvím. Číňané střežili svůj monopol a dohlíželi na to, aby se kokony zdomácnělého bource nedostaly do cizích rukou. Obvykle se uvádí, že teprve roku 552 se dvěma byzantským mnichům podařilo pronést kokony z Číny v dutých poutnických holích. Následně se pak začíná produkovat hedvábí v Byzantské říši a v Arabském světě a během raného středověku se tajemství dostává postupně i do Itálie a odtud do dalších evropských zemí [20].

Chov bourců zasáhl více jak 50 zemí, přičemž jeho nárůst či pokles je podmiňován rozdílnými společenskými a ekonomickými podmínkami těchto oblastí. Mezi nejvýznamnější mocnosti, které vytváří 2/3 světové produkce hedvábí, patří Čína a Japonsko. Dále pak následuje Indie, Rusko, Korea, Francie, Itálie a Bulharsko [21].

V Čechách bylo hedvábnictví na vrcholu na konci padesátých let minulého století. Ročně se u nás vyprodukovalo 29 tun surových zámotků, poté ale bylo hedvábnictví zrušeno. Od roku 1989 probíhá jeho pozvolná obnova [22].

Hedvábí je svojí kvalitou nadřazené nad ostatními textilními vlákny. Dosud žádné umělé vlákno není schopno hedvábí nahradit. Dnes je produkce hedvábí dostačující pro pokrytí poptávky [23].

2.2 Bourec morušový

Bourec morušový – *Bombyx mori* (Obr. 2, Tab. 2) je členem čeledi zahrnující zhruba 300 druhů. Je to nenápadně zbarvený noční motýl, z čeledi *Bombycidae*, o rozpětí křídel kolem 4 cm [24, 25].

Hedvábné kokony (Obr. 3) tohoto druhu jsou komerčním zdrojem hedvábí, proto je bourec také řazen mezi užitkový hmyz. Lze ho považovat za domácí zvíře, neboť je zcela odkázán na péči člověka. Před několika tisíci lety byl bourec morušový vyšlechtěn z divoce žijícího druhu *Bombyx mandarina* a od té doby vznikla šlechtěním celá řada odrůd a zeměpisných ras (hybridů) bourců morušových. Přestože nezůstaly žádné divoké kolonie, vědci věří, že původ tohoto druhu je v Asii. Dnes se běžně chová v Evropě, Asii a Jižní Americe [24].

Tab. 2. Zařazení bource morušového [26].

Říše	<i>Animalia</i> (živočichové)
Kmen	<i>Arthropoda</i> (členovci)
Třída	<i>Insecta</i> (hmyz)
Řád	<i>Lepidoptera</i> (motýli)
Čeleď	<i>Bombycidae</i> (bourcovití)
Rod	<i>Bombyx</i> (bourec)
Druh	<i>Bombyx mori</i> (bourec morušový)

Hedvábné vlákno produkují i jiné druhy motýlů (tzv. plané hedvábí označované jako tussah), zejména příslušníci čeledi martináčovitých (*Saturniidae*), jako např. martináč dubový (*Antherea pernyi*) nebo příbuzný martináč japonský (*Antherea yamamai*). Martináč dubový dosahuje rozpětí křídel až 18 cm a pochází z Mandžuska, kde se zpracovává nejvíce hedvábného vlákna z jeho kokonů [24].



Obr. 2. Bourec morušový [27].



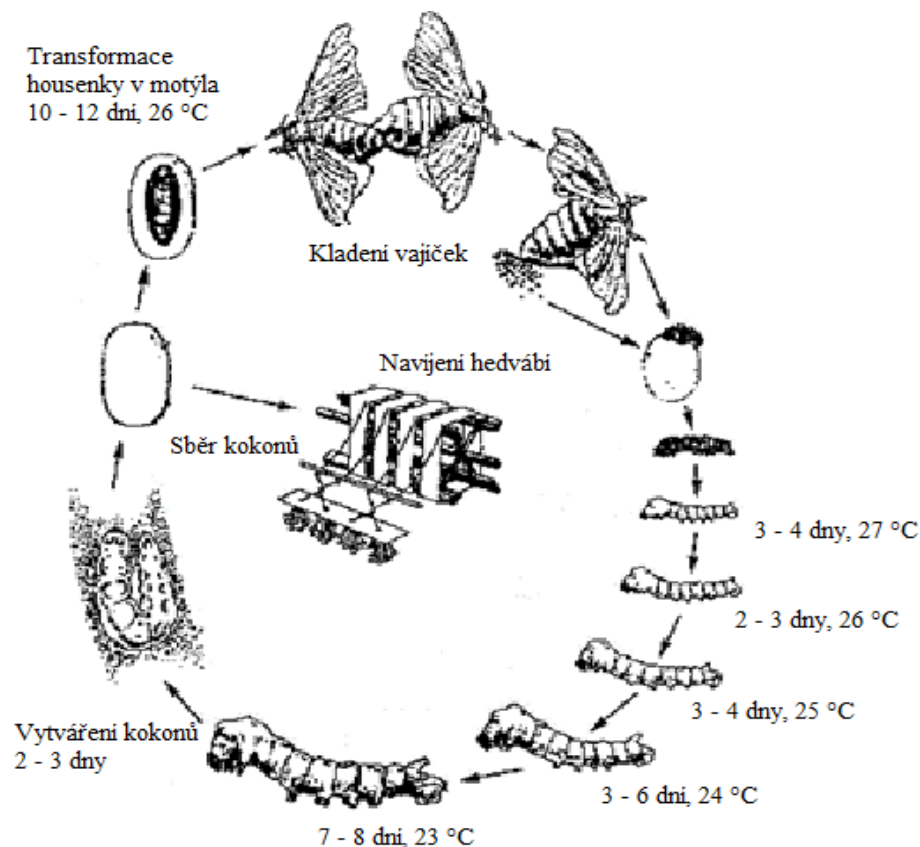
Obr. 3. Housenka bource morušového při tvorbě kokonu [28].

2.3 Životní cyklus bource morušového

Bourec morušový má svůj životní cyklus (Obr. 4), který se skládá z vývojových stádií: vajíčko, housenka, kokon a motýl.

Životní cyklus obvykle trvá 55 – 60 dní. Závisí na typu snášení vajec a na podmínkách chovu. Vývin housenky z vajíčka trvá v závislosti na klimatických podmínkách asi 8 – 12 dní. Housenky se živí listím z moruše. Během tohoto krmení narůstá jejich hmotnost od 0,45 do 45 g a dorůstají délky přibližně od 3 mm do 8 cm. Po ukončení stádia housenka přestane žrát a převléká se. Po posledním stádiu mění housenka barvu a začne se vytvářet kokon. Tvorba kokonu trvá asi 1 – 4 dny. Při tom se uvolňuje vlákno v polotekutém stavu ze dvou otvorů na spodní části hlavy. Dochází k působení různých tlaků, z tohoto důvodu nemá vlákno po celé délce stejnou tloušťku. Délka vlákna bývá 1200 – 1500 m, někdy i 3000 m. Vytvořený kokon tvoří ochrannou vrstvu pro vývoj motýla. Po přeměně se motýl dostává z kokonu vyloučením speciální tekutiny, která hedvábí rozpouští.

Vnější vrstva hedvábí na kokonu je nepravidelná a odstraňuje se jako hedvábný odpad. Nelze odvíjet ani vnitřní vrstvu, proto se i ta zpracovává do odpadu. Střední vrstva je rovnoměrná a lze ji odvíjet. Vlákno se podle požadované jemnosti příze odvíjí z několika kokonů současně. Při tom se odvíjí současně vlákno z kokonů nových, částečně odvinutých i úplně odvinutých. Tím se docílí stejnoměrnosti hedvábné nitě. Asi po 10 – 12 dnech po zapřádání housenky se kukla usmrtí buď horkým vzduchem, nebo párou a pak se suší [29, 30].



Obr. 4. Životní cyklus bource morušového [31].

2.4 Tvorba hedvábného zátočku

Hedvábí je u larev motýlů produkováno ve snovacích žlázách a je primárně využíváno na ochranu vyvíjející se kukly.

Pod pojmem snovací žlázy rozumíme orgán produkující hedvábné vlákno. Obvykle se jedná o párový orgán, který se během fylogeneze vyvinul u několika řádů hmyzu. Snovací žlázy jsou vždy ektodermálního původu. Mohou vznikat buď primárně jako vchlípenina povrchu těla, nebo sekundárně odvozením z jiných typů žláz, jak je tomu u většiny hmyzu. U bource morušového jsou tyto žlázy, tak jako u všech motýlů, odvozeny z labiálních slinných žláz. Jsou tvořeny jednovrstevným tubulárním žláznatým epitelem s dvěma řadami buněk obklopujících lumen, který je podélně rozdělen na tři funkčně rozdílné části: zadní (PSG – posterior silk gland), střední (MSG – medium silk gland) a přední (ASG – anterior silk gland). V každé z těchto částí se tvoří jiný typ proteinů a dohromady dávají vznik hedvábnému vláknu [32, 33].

Přední oddíl snovacích žláz nemá syntetickou funkci a slouží jako trubice, kterou postupuje vytvořené hedvábí. Přední oddíly pravé a levé snovací žlázy se spojují a ústí ven snovací bradavkou. Ta funguje jako lis a vystřikuje hedvábí ven z těla, přičemž dochází k přeměně tekutého hedvábí na pevné vlákno mechanismem, který ještě není zcela objasněn. Během svého vývoje prodělávají snovací žlázy 4 vývojové fáze – akumulární, kdy dochází k hromadění aminokyselin a zásobních látek nutných pro syntézu hedvábí; sekreční – kdy dochází k prudkému nárůstu syntézy hedvábí; regresní – kdy maximální produkce bílkovin hedvábí začíná klesat; a degradační – kdy produkce hedvábí ustává a snovací žlázy postupně degradují. Činnost snovacích žláz je řízena hormonálně. Uplatňují se zde juvenilní hormony, ekdysteroidy i neurohormony [34].

Snovací žlázy jsou dobře přizpůsobeny své funkci – syntéze a sekreci hedvábí. Je to jeden z nejvýkonnějších syntetických systémů v celé živočišné říši. Z obou snovacích žláz je pak vylučována směs polotuhé konzistence. Bourci si nejprve vytvoří jemné hnízdo, které pak pohybem hlavy po dráze ve tvaru osmičky obplétají a vytvoří tak vodotěsný zámotek (kokon), kterým se zcela zahalí. Tento zámotek housenka zhotoví v průběhu tří dnů a vykoná přitom asi 300 000 krouživých pohybů hlavou [28, 35].

2.5 Výroba hedvábí

Kokony se sbírají 8 – 10 dní po zakuklení a při 80 °C se suší vzduchem, čímž dochází k usmrcení kukly (vylíhnutí motýla by poškodilo zámotek a potrhalo tak kompaktní vlákno) [28].

Jeden kokon bource morušového obsahuje až 4000 metrů vlákna obaleného a navzájem slepeného sericinem. Sericin změkne v horké vodě, vlákna z 5 – 6 zámotků se spojí dohromady a při smotávání se chladnoucím sericinem znovu slepují [36].

Nejdříve se odmotá z každého kokonu 500 – 1000 metrů vnější vrstvy obsahující méněcenné vlákno, které se později zpracovává podobným způsobem jako mykaná vlna na tzv. buretovou přízi. Prostřední část kokonu, asi 1000 m v jednom kuse, je nejkvalitnější vlákno zvané gréz. Gréz obsahuje ještě až 30 % sericinu. Teprve po jeho odklizení v louhu dostane vlákno správný lesk a ohebnost. Aby se nahradil úbytek hmotnosti po odstranění sericinu a aby se vlákno dalo lépe zpracovávat, napouští se pak různými solemi.

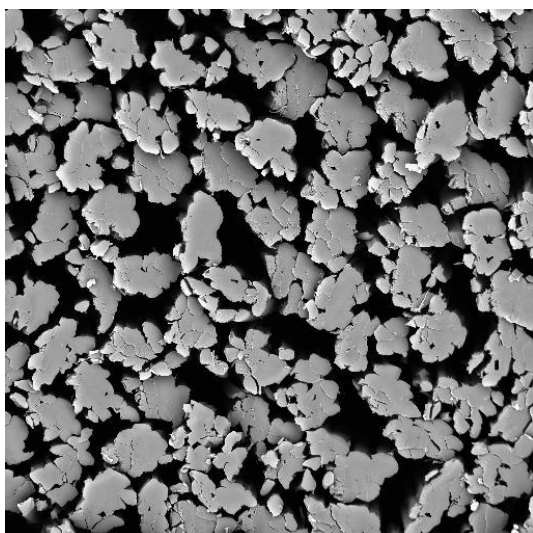
Gréz se zpracovává ve tkalcovně jako jednoduchá příze z 8 – 10 vláken s velmi nízkým zákrutem v jemnosti nebo se z ní vyrábí skané příze.

Z vnitřku kokonu zůstane asi 2000 metrů útržků 20 – 40 cm dlouhých. Z těch se vyrábí šapové příze výrobním postupem podobným spřádání česané vlny. Hedvábí se často míchá s vlnou nebo se lnem, příze se používá na módní tkaniny. Tímto způsobem se také zpravidla zpracovává hedvábí tussah [36].

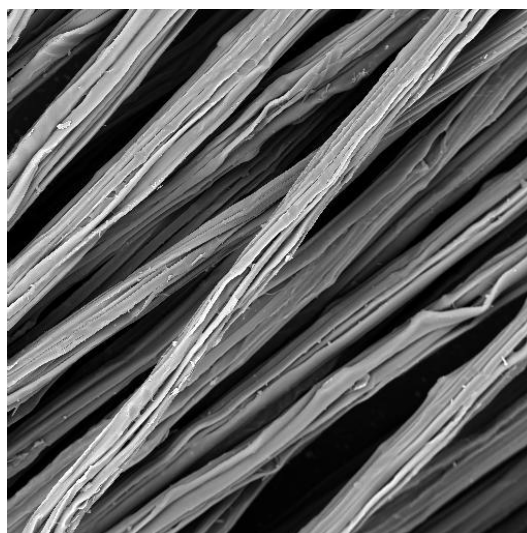
Vzniklé hedvábí je nit složená ze dvou nebo více podélně uložených nekonečných vláken bez zákrutu, nebo vzájemně spojených zákrutem [37].

2.6 Charakteristické vlastnosti hedvábí

Charakteristické vlastnosti hedvábného vlákna (Obr. 5, 6) jsou barva, lesk a omak. I citlivá kůže velice dobře snáší hedvábí. Alergie na hedvábí jsou vzácné, obsahuje totiž složky identické se složkami kůže.



Obr. 5. Řez vlákny [36].



Obr. 6. Podélný pohled na hedvábné vlákno [36].

Jemnost hedvábného vlákna se pohybuje okolo 10 μm . Surové hedvábí má nažloutlou barvu a je bez lesku a šustivosti. Po degumování se stává vláčným, měkkým a hebkým [38].

Hedvábné vlákno špatně vodí teplo. Pro oděv je tato vlastnost ideální, neboť vlákno má schopnost vyrovnávat klimatické výkyvy. V létě má chladivý a v zimě hřejivý efekt.

Hedvábí absorbuje vodu v množství až 30 % své hmotnosti, aniž by vypadalo vlhké. Proteiny obsažené v hedvábí dokážou absorbovat vodu v množství odpovídajícím až 300 násobku své hmotnosti [39].

Přírodní hedvábí hoří podobně jako vlna – škvaří se, zapáchá po spálené rohovině a po spálení zanechává pórovitou zuhelnatělou kuličku. Mikroskopický obraz surového

vlákna v podélném pohledu se podobá dvojité stužce sklovitého vzhledu s rozpukaným povrchem (sericin). Průřez vláken je trojúhelníkový [38].

Je nejpevnější textilní surovinou. Hedvábná nit má pevnost odporu v tahu srovnatelnou s ocelovým drátem stejné tloušťky. Nit o průměru 1 mm snese zatížení až 50 kg. Má nejvyšší tažnou sílu ze všech známých přírodních vláken. Bez přetržení ji lze natáhnout o sedminu až pětinu původní délky. Hedvábný protein má hydratační účinky [39].

2.7 Použití hedvábí

Přírodní hedvábí konkuruje v textilním průmyslu umělým vláknům svým zvláštním vzhledem, leskem, tažností, ohebností, lehkostí a izolační schopností. Využívá se jak ve výrobě módního zboží např. pro výrobu kravat, dámských halenek a košil, tak i ve výrobě technických textilií např. pro výrobu padáků a pásků do psacích strojů [36].

2.8 Chemické složení hedvábí

Hedvábné vlákno se skládá z vlastního vlákna z bílkoviny fibroinu a kličového obalu z bílkoviny sericinu (Tab. 3). Sericin je příčinou drsného omaku surového hedvábí, ale z hlediska zpracování je jeho přítomnost vítána, protože působí jako ochranná vrstva [40].

Obě látky jsou vysokomolekulární proteiny, a skládají se, podobně jako vlna, z aminokyselin. Na rozdíl od živočišných srstí převažují aminokyseliny s kratším alifatickým řetězcem (glycin, alanin, leucin) a neobsahují aminokyseliny se sírou v molekule (cystin, methionin) [29]. Další složky hedvábného vlákna jsou např. vosky, zastoupené pouze v minoritním množství.

Tab. 3. Chemické složení hedvábí [41].

Složka	[%]
Fibroin	70,0 – 80,0
Sericin	20,0 – 30,0
Vosk	0,4 – 0,8
Sacharidy	1,2 – 1,6
Anorganické látky	0,7
Pigment	0,2

2.8.1 Struktura fibroinu

Fibroin je produkován v gelovité konzistenci zadním oddílem snovacích žláz (v posledním larválním stádiu dorůstají tyto žlázy z 5,5 % na 12 % celkové hmotnosti). Kromě fibroinu se v zadním oddíle žláz syntetizuje několik bílkovin o malé molekulové hmotnosti, jejichž funkce není zcela jasná. Zdá se, že hrají roli při přeměně tekutého fibroinu na pevné vlákno. Některé z těchto bílkovin vykazují aktivitu inhibitorů proteáz a pravděpodobně tak chrání hedvábí proti mikrobiálnímu rozkladu [34].

Fibroin má charakteristickou strukturu, která zajišťuje jeho pevnost a pružnost, to je způsobeno sekvencí aminokyselin glycín – alanin – glycín – alanin – glycín – serin. Tyto tři aminokyseliny dohromady představují více než 86 % všech aminokyselin přítomných v hedvábném vláknu. Neobvyklé složení umožňuje dlouhým oblastem peptidu skládat se do těsně nahloučených, téměř plně extendovaných úseků uspořádaných jako β -skládaný list. Díky maximálnímu protažení stavebního peptidu jsou vlákna hedvábí odolná vůči dalšímu natahování.

Vysoká odolnost vláken je dána skutečností, že jednotlivé listy nejsou spojeny vodíkovými můstky (vazbami), ale pouze slabými hydrofobními interakcemi postranních řetězců aminokyselin (tzv. R skupin).

Fibroin obsahuje také malé množství „objemných“ aminokyselin, jako je valin nebo tyrozin, jejichž zastoupení se mění v závislosti na plemeni bource. Tato objemná residua se objevují periodicky, vedou k přerušení struktury β -skládaného listu a tím dodávají vláknu ohebnost potřebnou k vytvoření kokonu [31, 35, 39].

2.8.2 H-fibroin – těžký řetězec fibroinu

H-fibroin je velký protein (391 kDa), jehož gen je lokalizován na 25. chromozomu. Gen byl poprvé částečně charakterizován v roce 1972 a obsahuje dva exony. První exon je malý (67 bp), za ním následuje intron (971 bp) a druhý velký exon (15 750 bp). Primární struktura těžkého fibroinu je charakterizována vysoce repetitivními hydrofobními motivy GAGAGS, GAGAGY a GAGAGVGY, které jsou zodpovědné za tvorbu antiparalelních β -listů v polymerovaném H-fibroinu. Uspořádání do β -listu spolu s krystalickou strukturou přispívá ke stabilitě a některým unikátním mechanickým vlastnostem hedvábného vlákna [34, 42, 43, 44, 45].

2.8.3 L-fibroin – lehký řetězec fibroinu

Struktura L-fibroinu byla objasněna u bource morušového, poprvé v roce 1985. Gen je umístěn na 14. chromozomu a obsahuje 13 472 nukleotidů (nt). Kódující oblast obsahuje 7 exonů a je přerušována šesti introny, z nichž první intron je největší a zabírá svojí velikostí 8 145 bp okolo 60 % celkové délky genu. Oproti tomu první exon obsahuje 41 bp zaváděcí nekódující sekvence a 36 bp sekvence kódující signální peptid. Sekretovaný L-fibroin obsahuje 244 aminokyselin s acetylovaným serinem na N-konci a jeho molekulová hmotnost je 25,8 kDa [46, 47, 48].

2.8.4 N-glykoprotein

N-glykoprotein (P25) je podstatný pro vytvoření komplexu H a L-fibroinu, se kterými interaguje nekovalentními vazbami. Gen P25 bource morušového je 3 500 nt dlouhý a zahrnuje pět exonů s 1 173 nt [49, 50, 51].

2.8.5 Nízkomolekulární bílkoviny hedvábí

Elektroforetické analýzy hedvábí odhalily přítomnost mnoha minoritních proteinů. Předpokládá se, že některé proteiny mají antimikrobiální vlastnosti a některé zabraňují predátorům konzumovat kokony s housenkami uvnitř. První skupinu tvoří seroiny, které byly nejprve charakterizovány u zavíječe voskového. U bource morušového byly nalezeny 2 geny. Genu seroin-1 odpovídá cDNA o 769 nukleotidech a protein o 108 aminokyselinách. Kompletní cDNA genu seroin-2 obsahuje 1 413 nukleotidů, které kódují 112 aminokyselinových zbytků. Proteiny jsou exprimovány souběžně v zadní a přední části snovací žlázy a homologické proteiny z jiných organismů nejsou známy. Seroinové geny *Bombyx mori* zřejmě vznikly genovou duplikací následovanou mnoha delecemi a bodovými mutacemi [52].

Druhou skupinou nízkomolekulárních látek objevenou a popsanou u bource morušového je skupina dvou tříd proteinových inhibitorů.

3 SERICIN

Sericin je vyroben ze střední části žlázy bource morušového. Obklopuje vlákna fibroinu a tvoří tzv. lepidlo (Obr. 7). Tvoří asi 25 – 30 % kokonu a zajišťuje jeho soudržnost. Sericin je ve vodě rozpustná, vysokomolekulární látka. Jeho molekulová hmotnost se pohybuje od 20 do 400 kDa. Obsahuje vysoký počet polárních řetězců s hydroxylovou, karboxylovou a amino skupinou. Skládá se z 18 různých aminokyselin (Tab. 4).

Tab. 4. Aminokyselinové složení sericinu [53].

Aminokyselina	g aminokyseliny/100 g bílkoviny	[%]
Serin	20,21	27,30
Kys. asparagová	13,93	18,80
Glycin	7,91	10,70
Threonin	5,57	7,50
Kys. glutamová	5,29	7,20
Arginin	3,64	4,90
Tyrozín	3,41	4,60
Alanin	3,17	4,30
Valin	2,82	3,80
Lysin	1,54	2,10
Histidin	1,27	1,70
Leucin	1,25	1,70
Fenylalanin	1,17	1,60
Isoleucin	0,94	1,30
Prolin	0,90	1,20
Methionin	0,36	0,50
Cystein	0,24	0,30
Tryptofan	0,32	0,40

Serin, který tvoří přibližně jednu třetinu obsahu aminokyselin, má vynikající absorpční vlastnosti, které jsou až 50 krát vyšší než u glycerolu. Izoelektrický bod je přibližně 4,0 díky více kyselým, než zásaditým aminokyselinovým zbytkům. Charakteristickým rysem sericinu je jeho záře, která vyplývá z efektu rozptylu světla. Zpracováním surových hedvábných kokonů se vytváří 50 000 tun sericinu na celém světě za rok [54, 55, 56, 57, 58].

Zastoupení sericinů se v průběhu spřádání kokonu mění. Zámotek se dělí na tři vrstvy: vnitřní, střední a vnější. Vnější vrstva spřádaná jako první obsahuje maximum sericinů, které ve výsledku tvoří asi 30 % z celkového proteinu kokonu. Ve střední vrstvě se obsah sericinů začíná snižovat a minimální zastoupení je ve vrstvě vnitřní [59, 60, 61].



Obr. 7. Struktura sericinu a fibroinu v hedvábném vlákne [62].

3.1 Formy sericinu

Sericin byl rozdělen do různých forem na základě rozpustnosti, jejich poměry jsou přibližně 40:40:20. Různé frakce sericinu jsou označeny v závislosti na rozpustnosti na sericin1, 2 nebo 3, nebo sericin A, B, C nebo jako α , β a γ modifikace [63, 64].

Sericin1 tvoří vnější vrstvu. Obsahuje 17,2 % dusíku a aminokyseliny jako serin, threonin, glycin a kyselinu asparagovou. Sericin2 tvoří střední vrstvu. Obsahuje 16,8 % dusíku, lysin, kyselinu glutamovou a asparagovou. Sericin3 tvoří vnitřní vrstvu, která přiléhá k fibroinu, odstraňuje se z fibroinu pomocí zředěné kyseliny nebo alkálie.

Frakce mohou být odděleny frakčním srážením přidáním 15 g síranu amonného. Když je síran amonný přidán k filtrátu, bude sericin B vysrážen. Rozpustnost α -sericinu ve vroucí vodě je větší než u β -sericinu [64].

3.2 Příprava sericinu

Existuje několik metod pro přípravu sericinu. Sericin se obvykle ve vroucí vodě vysráží s octanem olovnatým. Vzniklá sraženina se rozloží sirovodíkem a bílkoviny se oddělí alkoholem [41].

Existují dvě metody pro extrakci sericinu [41]:

- 1) Sericin se extrahuje v páře. Kokony jsou vařeny ve vodě po dobu jedné hodiny. Tato extrakce se opakuje třikrát, voda je po každé obměňována. Všechny extrakty se poté shromáždí a odpaří se do sucha.
- 2) Druhá metoda se liší od předchozí urychlováním sericinu ve vodném extraktu kyseliny octové. Vzniklá sraženina se zpracuje s alkoholem a éterem na prášek.

3.3 Vlastnosti sericinu

Sericiny s nízkou molekulární hmotností pod 20 kDa nebo hydrolyzáty mají uplatnění v kosmetice, zdravotnických produktech a jako léky. Sericiny s vyšší molekulovou hmotností než 20 kDa se mohou použít na lékařské biomateriály, odbouratelné biomateriály, funkční biomembrány, složené polymery, funkční vlákna, hydrogely a tkaniny. Nízkomolekulární sericiny se získávají ve studené vodě v dřívějším stádiu snování hedvábí, na rozdíl od vysokomolekulárních, kde je to naopak. Sericiny jsou užitečné i pro zhodnocení kvality polyesteru a polyamidu. Uplatnění nachází také jako povlak nebo do směsí pro přírodní a umělá vlákna, plasty a polymery. Sericiny samotné, nebo kombinované s fibroiny jsou užívány v péči o vlasy, pokožku a nehty. Při jejich použití v pleťových vodách, krémech a mastích se zvýší elasticita kůže a výsledky vykazují protistárnoucí a protivráskové účinky [58].

Sericin má vynikající absorpční a konzervační schopnosti. Bílkovina sericinu může vytvořit na kůži a povrchu vlasů tenkou vrstvu zabraňující ztrátě vody. Sericin vytváří hydratační, okluzivní a ochranné účinky. Dodává kůži okamžitý, dlouhotrvající hladký a hedvábný pocit. Nepůsobí dráždivě na kůži, proto je ideální jako multifunkční přísada pro kosmetické prostředky pro suchou, citlivou a poškozenou pokožku. Kromě těchto vlastností má sericin také antibakteriální, antioxidační, protirakovinné účinky a chrání též před ultrafialovým (UV) zářením [59].

Ve formě prášku se sericin využívá v široké škále aplikací v potravinách, kosmetice, v lékařském a farmaceutickém odvětví [62].

Vlastnosti sericinu mohou být zvýšeny jeho úpravami jako např. zesíťováním, kopolymerací a smícháním s jinými polymery [65].

3.4 Využití sericinu

Hedvábný protein sericin představuje v současné době většinou odpad ze zpracování hedvábí, nicméně rozsáhlý výzkum dokazuje, že sericin může dát užitečné vlastnosti polymerním gelům, membránám, pěnám, vláknům a jiným materiálům.

3.4.1 Biodegradabilní materiály

Ekologicky rozložitelné polymery mohou být vyráběny smícháním sericinu s jinými pryskyřicemi. Polyuretanové pěny obsahující sericin mají vynikající absorpční vlastnosti. Polyuretanové pěny a vlákna obsahují sericin v koncentraci 0,01 – 50 %. Absorpce vlhkosti sericinu obsaženém v polyuretanové pění je až pětinasobně vyšší [28].

Sericin dodává polyuretanu vynikající mechanické vlastnosti. Sericinový prášek je rozpuštěn v organickém rozpouštědle, jako je např. tetrahydrofuran. Sericin se nechá v roztoku reagovat. Vyrobený polyuretan je biologicky odbouratelný [28].

3.4.2 Membránové materiály

Sericiny mohou být použity na tvorbu membrán na separační procesy, jako jsou odsolování vody, výroba čisté vody a některé další chemické procesy. Čistý sericin nemůže tvořit membrány, ale sericin zesíťovaný, ve směsi, nebo jako kopolymer ano. Vzhledem k tomu, že sericin obsahuje velké množství aminokyselin s polárními neutrálními funkčními skupinami, membrány obsahující sericin jsou poměrně hydrofilní a propustné pro vodu ve vodných organických strukturách [28].

Mizoguchi a kol. [28] popsali síťovaný tenký film vyrobený ze sericinu pro použití jako dělicí membránu pro vodu a etanol. Membrána byla vyrobena smícháním kyseliny chlorovodíkové, formaldehydu, vodným roztokem uretanové pryskyřice a s vodným roztokem sericinu. Výsledný roztok byl nanesen na hladkou desku, např. ze skla. Při pokojové teplotě došlo k zesíťování s formaldehydem. Výsledný film byl zpracován horkým vzduchem. Vytvořený film, který sloužil k oddělení směsi vody a alkoholu, byl silný 130 μm . Membrána sericinu může účinně oddělovat alkohol ze směsi.

Yamada a Fuwa [28] také připravili membránu ze sericinu. Tato membrána byla schopna rozlišit racemické směsi. Membránový filtr měl trojrozměrnou síťovou strukturu, která

byla získána vzájemně připojením a zesíťováním sericinu. Tři druhy reakce byly zapojeny do vytváření membrány. Za prvé, epoxidová sloučenina kopolymerovala s hydroxylovou, amino a karboxylovou skupinou sericinu. Za druhé, epoxidová sloučenina kopolymerovala s karboxylovou skupinou sericinu v přítomnosti glutaraldehydu. Třetí, hydroxyl, amino a karboxylová skupina sericinu kopolymerovala s glutaraldehydem. Roztok sericinu byl smíchán s diglycidyl éterem, diethylenetriminem a destilovanou vodou. Tato směs byla nanášena na desku a nechána stát po dobu 48 hodin při pokojové teplotě. Poté se teplota zvýšila na 85 °C po dobu 2 hodin. Následně byla membrána sericinu ponořena do směsi glutaraldehydu, kyseliny sírové a síranu sodného po dobu 24 hodin. Výsledný zesíťovaný membránový filtr mohl rozpustit racemické směsi. Tato schopnost je zřejmě spojena s chorální konformací aminokyseliny v sericinu.

3.4.3 Funkční biomateriály

Je velmi obtížné, aby čistý sericin pronikl do membrány, která je velmi pevná a pružná. Je však možné, aby bílkovina sericinu vytvořila tenkou vrstvu připojenou k jiné matici. Nakajima [28] zjistil, že film ze sericinu položený na vrstvě tekutých krystalů může rovnoměrně orientovat molekuly krystalů a poskytuje vysoce kvalitní zobrazení tekutých krystalů. Film se připraví tak, že sericinový prášek se rozpustí ve vodě a zfiltruje se. Přefiltrovaný roztok se rozetře na průhledné desce a suší se při 100 – 5000 otáčkách.

Sericin může být použit jako nosič barev a jako ochrana pro různé předměty. Materiály zahrnující sericin jsou permeabilní, při schnutí nemění tvar a dobře odolávají vlivům počasí. Film s 10 – 30 % sericinu má dobré termální a mechanické vlastnosti. Namíchaný hydrogel ze sericinu nebo fibroinu a polyvinylalkoholu absorbuje dobře vodu a má uvolňující a elastické vlastnosti. Tento hydrogel může být použit na semena rostlin, medicínské materiály a obvazy na zranění. Sericin může být nanášen na plochy různě odolných materiálů pro zvýšení jejich funkčnosti. Sericiny mohou být použity k přípravě uměleckých pigmentů a pro povrchovou ochranu předmětů. Materiály potažené sericinem mají vysokou odolnost vůči povětrnostním vlivům a mají dobrou propustnost, nekrouť se při sušení [28].

3.4.4 Lékařské biomateriály

Tsubouchi [28] vyvinul obvaz k ošetřování ran z hedvábného fibroinu, který by mohl urychlit hojení. Následně byl obvaz vyroben ze směsi fibroinu a sericinu. Film měl tloušťku 10 – 130 μm . Obvaz měl 10% nebo vyšší rozpustnost ve vodě při pokojové teplotě a vodní nasákavost 100 % při pokojové teplotě.

Membrány složené ze sericinu jsou efektivním substrátem pro buněčnou proliferaci přilnavých zvířecích buněk a mohou být využity jako substrát pro kolagen. Minoura a kol. a Tsukada a kol. [28] zkoumali přichycování a růst zvířecích buněk na filmu ze sericinu a fibroinu. Přichycení buněk bylo závislé na udržování minimálně 90% zastoupení sericinů v membráně. Sericinové a fibroinové filmy umožňují prostupnost pro kyslík a je naděje, že díky této vlastnosti se uplatní při výrobě umělých rohovek, kontaktních čoček, cév a podobně. Sericin polymerizovaný s polyakrylovou kyselinou a akrylamidem může absorbovat vlhkost až 180krát více, než váží. Absorbující schopnost sericinu se zvýší použitím sericinu o molekulové hmotnosti nad 60 kDa. Biomateriály mají vyšší antikoagulační vlastnosti po ošetření sericiny a fibroiny. Kazuhisa a kol. [28] zjistili, že sericin bohaté repetitivní sekvence v hydrolyzátu chrání proteiny v buňkách vystavených stresu a mrazu. Po zaklonování části sericinu do *Escherichia coli* se zvýšila její rezistence na mráz [28].

V biomedicíně sericiny slouží jako náhrada bovinního séra v médiích tkáňových kultur. Sericiny podporují růst buněk hmyzu i savců. Mají také kryoprotektivní účinek.

Pozitivní vliv na buněčnou proliferaci byl zaznamenán v různých typech buněk s velkým potenciálem aplikací jako např. v případě buněk pankreatických ostrůvků. Jejich aplikace slouží též jako nosné struktury pro rekonstrukci tkání. Sericin stimuluje růst buněk, což může být velmi užitečné při jeho aplikacích pro pokrytí komplexních i chronických ran a popálenin. Jeho hydratační účinky podporují hojení a regeneraci pokožky.

Úspěch aplikace sericinu v médiích tkáňových kultur pobídl výzkum na jejich použití pro rekonstrukci tkání. Budoucnost plastické a rekonstrukční chirurgie závisí na nových biomateriálech, které mohou být použity pro konstrukci buněk, při terapii hojení ran a regeneraci pokožky. Rozpustný sericin se ukázal jako vhodná přísada do médií tkáňových kultur pro množení kmenových buněk.

Sericinová konstrukce může být také použita pro výrobu biomateriálů, které by trvale nahradily ztracenou tkáň. Takeuchi a kol. prokázali, že sericin může být použit při výrobě hybridních materiálů jako obdoba kosti [66].

3.4.5 Funkční vlákna, tkaniny a výrobky

Funkční vlastnosti některých syntetických vláken mohou být zlepšeny navázáním přírodních makromolekul jako např. chitin, chitosan, fibroin a sericin. Syntetická polyesterová vlákna mají mikrospory o velikosti 0,001 – 10 μm . Molekula sericinu může být zavedena do těchto mikrospor. Wakabayashi a Sugioka [28] připravili polyesterová vlákna modifikovaná sericinem, která byla 5krát více hygroskopická, než neupravený polyester. Více než 85 % hygroskopicity zůstalo i po padesáti praních.

Podle Yamada a Nomura [28] mohou vlákna s navázaným sericinem předejít abrazivnímu poranění kůže a rozvoji vyrážek, protože jsou savá a kompatibilní s lidskou kůží. Této jeho vlastnosti je využíváno u výroby rukavic a rukojetí pro sportovní účely [28].

Rozsáhlý výzkum ukazuje, že sericin může být užitečný, díky svým účinkům k výrobě polymerních gelů, membrán, pěn, vláken a dalších materiálů.

3.5 Využití sericinu v kosmetice

Kromě výše uvedených lékařských a farmaceutických aplikací, je sericin používán jako součást kosmetických prostředků. Sericin bývá samostatně nebo v kombinaci s fibroinem používán v kosmetice k péči o kůži, vlasy a nehty. Sericin je používán ve formě krémů a mastí. Zlepšuje elasticitu pokožky a působí proti stárnutí kůže.

Sericiny mají jedinečnou schopnost vázat se na jiné proteiny, které jim umožňují velmi efektivně vytvořit vazbu s keratinem pokožky a vlasů a tím vytvářet multifunkční ochranný film. V moderním kosmetickém průmyslu se využívá toho, že sericiny tvoří jakousi ochranu fibroinovému vláknu a tento princip se snaží využívat i ve výrobě nových kosmetických prostředků, přičemž je kladen důraz na podobnost struktury fibroinu a keratinu a schopnost sericinů jímat vodu popř. vzdušnou vlhkost. Tato vlastnost má vliv na účinnost hydratačních prostředků. Na druhou stranu obsahuje i jedinečný podíl sacharidů a unikátně se opakující sekvence aminokyselin, které dodávají sericinům jejich vysokou afinitu vůči bílkovinám, čehož je v kosmetickém průmyslu využíváno na vyhlazování vrásek. Tvorba jednotného filmu po aplikaci prostředků obsahujících sericiny je dána jejich vysokou molekulovou hmotností. Tato polopropustná vrstva zůstává zachována i po umytí a chrání pokožku před škodlivými vlivy prostředí. Sericin brání TEWL [67].

Protože sericiny kombinují tvorbu ochranného filtru a hydrataci pokožky, stal se z nich vysoce hodnocený kosmetický produkt. Navíc mají i výborné zklidňující a vrásky vyhlazu-

jící účinky, což z nich dělá ideální multifunkční prostředek pro suchou, citlivou a namáhanou pokožku a rovněž ideální přísadu do krémů na a po opalování [67].

Vzhledem k vysokému obsahu serinu a glycinu může být sericin využíván také jako hydratační látka v kosmetickém průmyslu.

Další aplikací sericinu je nehtová kosmetika, kde se používá sericin v koncentraci 0,02 – 20 % k zabránění popraskání a lámání nehtů. Vlasové a koupelové prostředky obsahují 0,02 – 2 % sericinu [41].

Padamwar a kolektiv [50] hodnotili hydratační vlastnosti sericinového gelu hydroxyprolin testem, měřením TEWL a pomocí elektronové mikroskopie. Sericinové gely zvyšují obsah hydroxyprolinu ve *stratum corneum* a snižují kožní impendanci. Sericinové gely s pluronicem a carbopolem působí jako hydratační krém tím, že zabraňují ztrátě vody z pokožky. Elektronová mikroskopie ukázala pokles popraskání a odlupování kůže v porovnání suché kůže a normální zdravé kůže [67].

Svou všestranností jsou sericiny vhodnou přírodní složkou velké škály kosmetických prostředků.

3.5.1 Komerční kosmetické prostředky s obsahem sericinu

Asi největší kosmetickou společností zabývající se výzkumem a výrobou kosmetiky s obsahem sericinu je Dr. Temt Laboratories. Společnost vznikla v roce 1946, kdy firmu založil rakouský chemik Walter Pauli. Je světově známým představitelem kosmetických prostředků určených zejména pro profesionální použití v kosmetických salonech. Tradiční je pečlivý výběr přírodních surovin, na základě kterého procházejí všechny suroviny specifickým výrobním procesem, jež je podložen vědeckým výzkumem. Velkou roli hraje přísná kontrola jakosti.

Výrobky jsou založeny na využití ochranných vlastností sericinu, dále jeho schopnosti vytvářet na pokožce ochranný film, regulovat vlhkost v kůži a tím zodpovídat za její vzhled. Sericinová linie je rozdělena do dvou skupin výrobků, podle typu pleti na Hydro Sericin linie, která je určena pro suchou a normální pokožku a Sensitive Sericin linie, která je vhodná pro citlivou a normální pokožku. Řada Hydro Sericin se skládá z Hydro denního krému, nočního krému a masky. Řada Sensitive Sericin je složena z Sensitive čistící emulze, masky, denního krému, heřmánkového čistícího oleje, Hydro ampule s hydratačním

komplexem a ze Sericin aqua lift vodní vypínací ampule. Další řada s obsahem sericinu slouží k ošetření očních partií. Je zde sericinový saténový oční krém a oční gel [68].

Další společností vyrábějící kosmetické prostředky s obsahem sericinu je Natinuel. Natinuel je moderní řada bioceutik navržena a vytvořena na základě přísných analýz vědeckých studií, jež se věnují stárnoucí pokožce nejen z obecného hlediska, ale i zejména z hlediska různorodých bio-funkčních a strukturálních změn, které způsobují výskyt různých kožních problémů.

Mezi výrobky s obsahem sericinu vyrábí Natinuel krém Bio delis, s vysokým biochemickým účinkem. Stimuluje škáru a obnovuje pokožku. Dále povzbuzující, regenerační krém Bio proderm určený pro zralou pokožku. Účinně obnovuje pokožku, regeneruje a vyhlazuje vrásky. Posledním výrobkem obsahujícím sericin je Bio derm. Je to amfoterní systém, stimuluje a regenerační krém pro zralou pleť. Podporuje proces exfoliace, intenzivně stimuluje a regeneruje metabolické mechanismy [69].

Poslední kosmetickou společností, kterou zmíním, je Christina. Společnost vznikla v roce 1982. Tato kosmetika nabízí proceduru Silk, založenou na aplikaci vláken ze zámotků bource morušového. Vlákná se pevně váží na pokožku a dlouho se na ní udrží, přičemž vytvářejí hygroskopickou bílkovinnou vrstvu. Tato vrstva má výrazný liftingový účinek, změkčuje a hydratuje pokožku po dlouhou dobu. Vlákná také chrání pokožku před oxidativním stresem a zlepšují mikrocirkulaci krve.

Prostředky jsou rozděleny na domácí péči a profesionální řadu. Domácí péče zahrnuje Silk absolutely smooth (sérum pro vyrovnání vrásek), Silk uplift team (krém pro vypnutí pleti), Silk eye lift team (krém pro vypnutí pokožky v oblasti očí), Silk peel-off mask (slupovací liftingová maska), Silk my silky serum (hedvábné sérum pro vyrovnání vrásek) a Anti-wrinkle s.o.s. eye serum (sérum SOS lifting kolem očí).

Profesionální řada obsahuje např. Silk soothing exfoliator (jemný exfoliátor), Silk multivitamin drops (multivitaminové kapky) a Silk silky serum (hedvábné sérum) [70].

3.6 Další využití sericinu

Sericin má UV absorpční vlastnosti, poskytuje tak přirozenou ochranu hedvábné textilie. Hedvábní ochuzené o sericin je náchylné k poškození světlem. Nicméně standardní hedvábné tkaniny neposkytují dostatečnou ochranu kůže před silným UV zářením.

Existuje i mnoho farmaceutických aplikací sericinu jako je např. perorální aplikace sericinu, která slouží ke snížení výskytu střevních adenomů. Tento účinek je pravděpodobně způsoben tím, že sericin potlačuje oxidační stres, buněčnou proliferaci a produkci oxidu dusného. V podobném experimentu byly zkoumány myši chráněné sericinem proti podpoře kožních nádorů vyvolaných UV zářením nebo chemickým karcinogenem. Sericin byl také doporučen jako prostředek pro dodání DNA v genové terapii jako inzulin konjugát [66].

Tsujimota a kol. zjistili, že spotřeba sericinu potlačuje zácpu a snižuje vznik nádorů tlustého střeva u hlodavců, což znamená, že by mohl být sericin přínosný pro ochranu zdraví tlustého střeva. Sericin, podávaný jako doplněk stravy u potkanů krmených vysokým obsahem tuku, působil jako vláknina, snižoval sérové triacylglyceroly a způsoboval glukózovou toleranci [71].

Dále byl prokázán účinek sericinu pro snížení cholesterolu u krys metodami *in vitro* i *in vivo*. Mechanismus byl stanoven měřením vychytávání značeného cholesterolu do diferencovaných buněk a rozpustnost cholesterolu ve smíšených lipidových micelách. I nízké koncentrace sericinu jako 25 a 50 mg/ml inhibuje 30 % cholesterolu. Micelární rozpustnost cholesterolu byla snížena v přítomnosti sericinu. Sericin inhibuje absorpci cholesterolu ve střevních buňkách a snížení rozpustnosti cholesterolu v lipidových micelách [72].

Sericin má vysokou antioxidační a antibakteriální aktivitu což znamená, že sericin může zastavovat antioxidační reakce volných radikálů a inhibovat množení mikroorganismů a tím chránit proti mnoha onemocněním [73].

Jeho další praktickou vlastností je proti mrznoucí efekt. Sericiny mohou sloužit k ošetření povrchů, které jsou vystavené mrazu, např. chladicí vozy či jiná chladicí zařízení. Do budoucna by se tohoto efektu dalo využít také k ochraně vozovek a střech před mrazem [74, 75].

Hedvábné kokony představují také materiál, ze kterého se mohou vyrábět šperky. Výtvarná technika zvaná „cocons silk jewelry making“ je úprava hedvábných kokonů bource morušového. Může se pracovat s neporušenou, ale i vyčištěnou kuklou. Dojde k nařezání kokonu a poté technikou různého dekorování a zdobení vznikají unikátní šperky [76].

4 CÍLE PRÁCE

Cílem teoretické části této diplomové práce bylo zpracování problematiky využití sericinu pro potřeby kosmetického průmyslu se zohledněním jeho aplikací v dalších průmyslových odvětvích, kde nachází uplatnění pro svoje unikátní vlastnosti.

Cíle experimentální práce:

- příprava topicky aplikovatelných polotuhých forem s různým obsahem sericinu,
- zorganizovat a pomocí zvolených instrumentálních metod provést charakterizaci vlastností pokožky *in vivo* po aplikaci připravených formulací s obsahem sericinu,
- srovnat hydratační účinky připravených formulací obsahem sericinu s emulzním základem bez aktivní hydratační látky,
- vyhodnocení výsledků a vyvození patřičných závěrů.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 METODIKA

Použité materiály, přístroje a pomůcky nezbytné pro měření včetně charakteristiky souboru dobrovolnic, organizace a realizace experimentu je popsána v subkapitolách 5.1 – 5.6.

5.1 Použité materiály a chemikálie

- sericin (Sigma Aldrich),
- chlorid sodný (ZMBD Chemik s.r.o.),
- laurylsulfát sodný (Sigma Aldrich),
- emulzní základ (FAGRON a.s.),
- destilovaná voda.

5.2 Přístroje

- laboratorní váhy Kern & Sohn GmbH, Německo,
- míchadlo Heidolph RZR 2020,
- platforma MPA 5 (Multi Probe Adapter) Courage & Khazaka, Německo,
- sonda pro korneometr CM 825 Courage & Khazaka, Německo,
- sonda pro Tewametr TM 300 Courage & Khazaka, Německo,
- sonda pro pH metr PH 905 Courage & Khazaka, Německo,
- visioscope Courage & Khazaka, Německo,
- vpichový pH metr Oakton,
- teploměr Greisinger electronic, Německo,
- vlhkoměr Greisinger electronic, Německo.

5.2.1 Platforma MPA

Pro experimentální měření charakteristik kůže *in vivo* bylo použito platformy MPA 5 (Courage & Khazaka), (Obr. 8). Přístroj je vybaven třemi sondami pro měření hydratace, TEWL (Obr. 8) a pH (Obr. 9). Jednotlivé sondy byly přikládány vertikálně na povrch měřených míst a pomocí softwaru byly výsledné hodnoty zaznamenány. Korneometrická sonda byla přikládána na měřené místo vždy pětkrát. Stupnice pro vyhodnocení zaznamenaných hodnot korneometru je zobrazena v Tab. 5. Sonda pro měření TEWL byla také přikládána na měřená místa, přičemž byly zobrazeny hodnoty v rozpětí 1 – 15. Stupnice pro vyhodnocení TEWL je zobrazena v Tab. 6. Sonda pro měření pH (Obr. 9) byla vždy

před začátkem měření opláchnuta destilovanou vodou. Měření začínalo stisknutím tlačítka na boku úchopové části sondy. Stupnice pro vyhodnocení pH je zobrazena v Tab. 7.



Obr. 8. MPA 5 – zleva sonda tewamometru a korneometrická sonda.



Obr. 9. Sonda pHmetru.

Tab. 5. Stupnice korneometru.

Pokožka	Hydratace [c. j.]
Velmi suchá	< 30
Suchá	30 – 45
Normální	> 45

Tab. 6. Stupnice tewamometru.

Stav kůže	Hodnoty TEWL [g/h/m ²]
Velmi dobrý	0 – 9
Dobrý	10 – 14
Normální	15 – 25
Napjatý	26 – 29
Kritický	Nad 30

Tab. 7. Stupnice pHmetru.

pH	Od 3,5	3,8	4,0	4,3	4,5	5,0	5,3	5,5	5,7	5,9	6,2	6,5	Nad 6,5
Žena	Kyselý			Neutrální				Zásaditý					
Muž	Kyselý		neutrální				Zásaditý						

5.2.2 Visioscope

Visioscope (Obr. 10) je speciální barevná kamera určená ke sledování povrchu kůže. Zobrazuje i nepatrné barevné rozdíly v pleti. Pomocí visioscopu lze sledovat stav vrásek, olupování pokožky, kožní nečistoty, pigmentové skvrny a komedony [77].



Obr. 10. Visioscope.

5.3 Pomůcky

- nůžky,
- pinzeta,
- filtrační papír,
- fix,
- náplast,
- buničitá vata,
- injekční stříkačky,
- plastové kelímky,
- váženka,
- kádinka,
- odměrná baňka,
- skleněná miska,

- skleněná tyčinka,
- exsikátor.

5.4 Příprava materiálu pro experiment

Pro experiment byl nejprve připraven fyziologický roztok, dále z tohoto roztoku byl připraven 0,5% roztok SLS, který sloužil k odmaštění pokožky před nanesením krémů se sericinem, které vznikly smícháním kosmetické emulze s vypočteným množstvím sericinu.

5.4.1 Příprava fyziologického roztoku

Fyziologický roztok byl připraven jako 250 ml 0,85% roztoku NaCl. Na analytických vahách bylo naváženo 2,1250 g NaCl. Toto množství bylo rozpuštěno v destilované vodě a kvantitativně převedeno do 250 ml odměrné baňky a doplněno destilovanou vodou po rysku.

5.4.2 Příprava 0,5% roztoku SLS

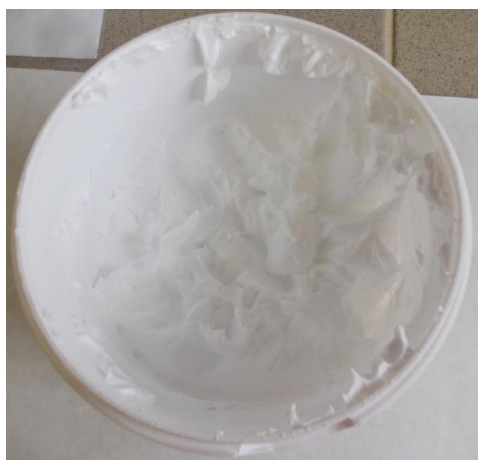
Na analytických vahách bylo naváženo 1,2500 g SLS. Toto množství bylo rozpuštěno ve fyziologickém roztoku a kvantitativně převedeno do 250 ml odměrné baňky a doplněno fyziologickým roztokem po rysku.

5.4.3 Příprava krémů s obsahem sericinu

Sericin (Obr. 12) byl do emulzního základu (Tab. 8, Obr. 11) přidán v koncentraci 2, 4, 6, 8 a 10 % (Obr. 13 – 17). Krémy byly připraveny tak, že do 80 ml plastového kelímku bylo naváženo vypočtené množství sericinu. Dále byl přidán emulzní základ v množství tak, aby celková hmotnost byla 50 g. Celá směs byla poté homogenizována na míchadle RZR 2020 po dobu 10 min. při 2 000 otáček/min. U takto připravených krémů bylo změřeno pH vpičovým pHmetrem (Tab. 9).

Tab. 8. Složení emulzního základu dle INCI [78].

Složka	Obsah [g]	Funkce
Paraffinum liquidum	8,00	Antistatická přísada, emolient, rozpouštědlo
Paraffin	12,00	Zahušřovadlo
Cetearyl alcohol	2,00	Emolient, stabilizátor
C12-14 pareth-3	2,00	Emulgátor
Aqua	74,80	Rozpouštědlo
Carbomer	0,42	Stabilizátor emulze, zahušřovadlo
Triethanolamine	0,53	Emulgátor
Propylparaben	0,05	Konzervant
Methylparaben	0,20	Konzervant

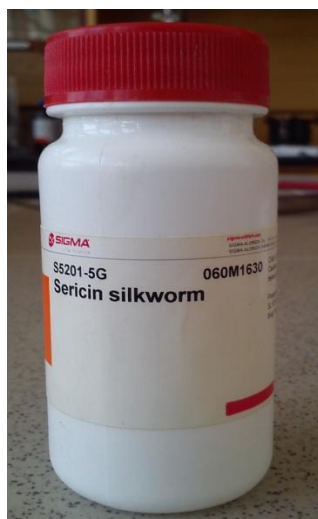


Obr. 11. Emulzní základ.

Navážky sericinu pro přípravu jednotlivých krémů a pH krémů jsou uvedeny v Tab. 9.

Tab. 9. Navážky sericinu pro přípravu krémů a pH krémů.

Koncentrace [%]	Navážka sericinu [g]	pH krémů
2	1,003	6,32
4	2,001	6,27
6	3,006	6,18
8	4,000	6,19
10	5,007	6,74



Obr. 12. Sericin silkworm.



Obr. 13. Emulzní základ s 2 % sericinu.



Obr. 14. Emulzní základ s 4 % sericinu.



Obr. 15. Emulzní základ s 6 % sericinu.



Obr. 16. Emulzní základ s 8 % sericinu.



Obr. 17. Emulzní základ s 10 % sericinu.

5.5 Soubor dobrovolnic a podmínky měření

Experimentu se zúčastnilo celkem 20 dobrovolnic – žen, jejichž charakteristika je uvedena v Tab. 10. Měření bylo vždy prováděno ve třech dnech na 5-ti členné skupině dobrovolnic. Experiment probíhal v laboratoři Fakulty technologické, kde byla teplota přibližně 23 – 25 °C a vlhkost 50 – 55 % (Tab. 11). Dobrovolnice byly požádány před začátkem měření o vyplnění dotazníku týkajícího se jejich zdravotního stavu a podepsání informačního souhlasu (Příloha I). Dále byly instruovány, aby si den před začátkem měření neumývaly mýdlem volární stranu předloktí.

Tab. 10. Charakteristika souboru probandů.

Charakteristika probandů	Věk [rok]	Tělesná hmotnost [kg]	Tělesná výška [cm]
$\bar{x} \pm SD$	26,7 ± 7,7	67,2 ± 7,2	168,4 ± 3,9

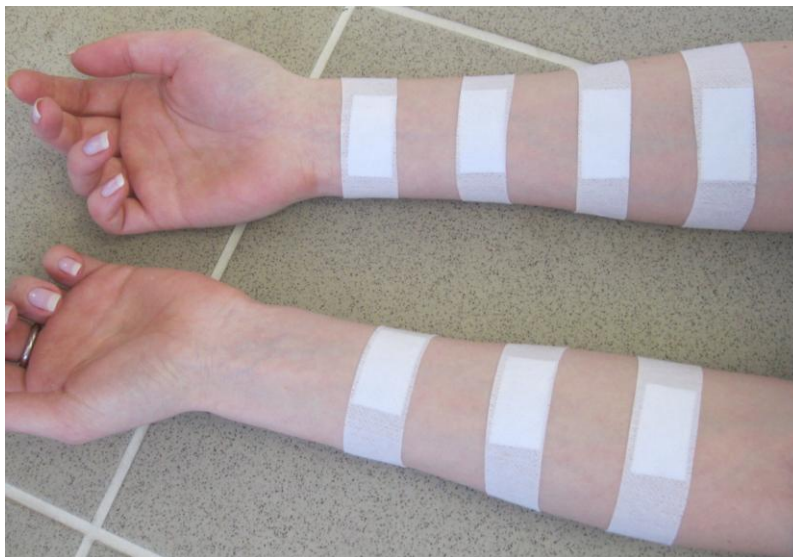
Pozn. $\bar{x} \pm SD$ (aritmetický průměr ± směrodatná odchylka)

Tab. 11. Údaje o průběhu měření.

Číslo měření	Datum	Teplota [°C]	Relativní vlhkost [%]
1.	26. – 28. 6. 2012	23 – 25	50 – 55
2	11. – 13. 7. 2012	23 – 25	50 – 55
3	14. – 16. 6. 2012	23 – 25	50 – 55

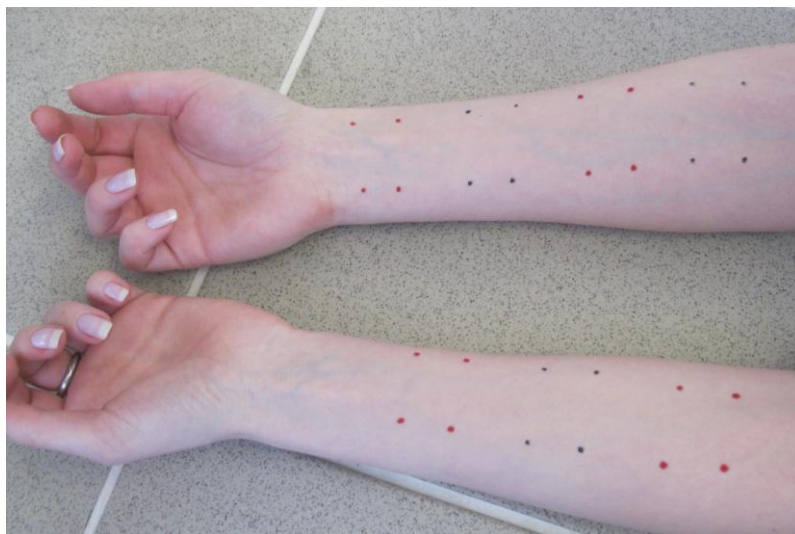
5.6 Postup měření *in vivo*

Do skleněné misky byl připraven 0,5% roztok SLS, který sloužil k odmaštění pokožky za účelem eliminace individuálních vlastností pokožky v daném místě. Do takto připraveného roztoku byly vloženy proužky filtračního papíru o velikosti 2 x 4 cm, které byly nechány v roztoku přibližně 1 minutu. Poté byly pinzetou přikládány a zafixovány náplastí na volární části předloktí (Obr. 18).

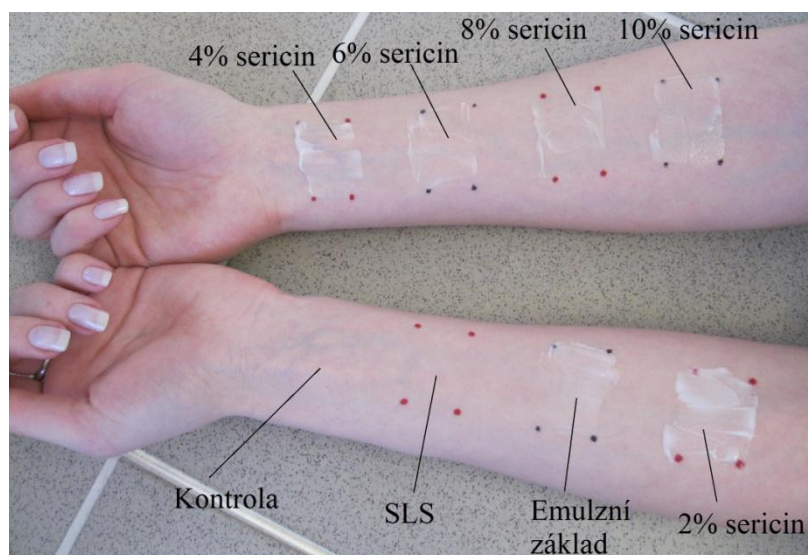


Obr. 18. Nanesení proužků filtračního papíru s roztokem SLS.

Po čtyřhodinové předúpravě pokožky byly tyto proužky filtračního papíru odstraněny. Místa, kde se proužky nacházely, byla označena fixem (Obr. 19). Takto označená místa byla poté změřena korneometrickou sondou pětkrát v rámci jednoho odmaštěného místa, sondou pro TEWL patnáctkrát na každém odmaštěném místě a pH sondou jednou v každém místě. Po naměření byly na jednotlivé plochy nanесeny krémy v pořadí dle Obr. 20. Krémy byly nanášeny pomocí injekčních stříkaček, vždy v objemu 0,1 ml a rozetřeny po celé označené ploše skleněnou tyčinkou. V průběhu celého měření byly krémy v injekčních stříkačkách uchovávány v exsikátoru. Měření bylo dále prováděno v intervalech po 1, 2, 3, 4, 24 a 48 hodinách. Naměřené hodnoty byly dále zpracovány.



Obr. 19. Označení míst po čtyřhodinové iritaci.



Obr. 20. Nanesení emulzního základu a připravených krémů s obsahem sericinu.

5.7 Metody zpracování dat

K statistickému zpracování naměřených dat a zhotovení grafických výstupů byl použit software Excel 2007. Naměřená data byla převedena do databáze. Byly použity základní číselné charakteristiky popisné statistiky: aritmetický průměr (\bar{x}) a směrodatná odchylka (SD) dle vztahů (1) a (2).

Výpočet aritmetického průměru dle vztahu (1):

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (1)$$

Kde:

\bar{x} – aritmetický průměr,

n – počet měření,

x_i – hodnota měření,

Výpočet směrodatné odchylky dle vztahu (2):

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (2)$$

Kde:

SD – směrodatná odchylka,

n – počet měření,

x_i – hodnota měření,

\bar{x} – aritmetický průměr.

U hydratace byla hodnota aritmetického průměru vypočítána ze tří hodnot, přičemž nejvyšší a nejnižší hodnoty byly zanedbány. Od těchto aritmetických průměrů hydratace byly odečteny aritmetické průměry hydratace po odmaštění pokožky pomocí SLS, k čemuž bylo přistoupeno z důvodů sjednocení výchozích podmínek měření pro všechny dobrovolnice.

U TEWL byl aritmetický průměr vypočítán z 10 naměřených hodnot, přičemž prvních 5 hodnot bylo zanedbáno z důvodu větší relevantnosti měření.

Z primárně získaných dat pH měření byly také spočítány aritmetické průměry a směrodatné odchylky pro celý soubor dobrovolnic.

Za základní úroveň u TEWL a pH byl použit čas před vlastní aplikací připravených krémů s obsahem sericinu na testovaná místa volárního předloktí pravé a levé ruky všech zúčastněných dobrovolnic.

Dále byl proveden dvouvýběrový F-test pro rozptyl, který porovnává rozptyly dvou souborů. Hodnocení F-testem bylo použito pro aplikaci krémů s obsahem sericinu v časech (1, 2, 3, 4, 24 a 48) a jejich interakci s emulzním základem bez obsahu zvlhčující látky u hydratace a TEWL z pokožky. Byla zvolena hladina významnosti ve výši 5 % ($P < 0,05$) [79].

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

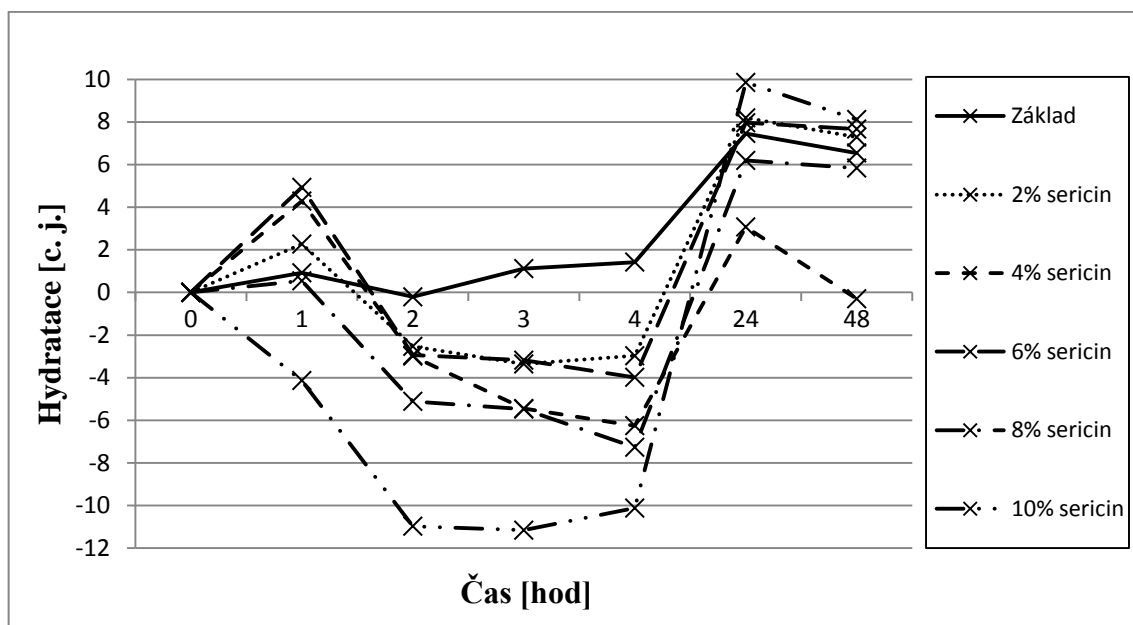
6.1 Vyhodnocení hydratačního účinku sericinu

Hydratační účinek kosmetických prostředků ve formě krémů s obsahem aktivní zvlhčující látky sericinu stanovený postupem uvedeným v kapitole 5. 6 je shrnut v Tab. 12. Také byl vytvořen graf závislosti hydratačního účinku sericinu v závislosti na čase (Obr. 21).

Tab. 12. Výsledky měření hydratace pokožky korneometrickou metodou.

Čas [hod]	Korneometrické měření [c. j.]						
	Kontrola	Základ	2% sericin	4% sericin	6% sericin	8% sericin	10% sericin
0	0	0	0	0	0	0	0
1	36,1 ± 1,07	0,922 ± 2,43	2,27 ± 1,33	4,29 * ± 0,34	4,93 ± 0,92	0,54 ± 0,12	-4,13 ± 0,90
2	38,5 ± 0,40	-0,209 ± 1,09	-2,53 ± 0,16	-2,99 ± 1,09	-2,94 ± 0,00	-5,11 ± 0,04	-11,0 * ± 0,56
3	41,2 ± 0,53	1,12 ± 0,19	-3,36 ± 0,66	-5,45 * ± 1,23	-3,18 ± 0,18	-5,47 ± 0,18	-11,2 ± 0,48
4	39,7 ± 0,05	1,43 ± 0,60	-2,97 ± 0,62	-6,25 * ± 0,73	-3,98 ± 0,13	-7,27 ± 0,10	-10,1 ± 0,88
24	42,4 ± 0,00	7,46 ± 0,09	8,19 * ± 0,18	3,07 * ± 1,49	7,96 ± 0,21	6,19 ± 0,16	9,85 ± 0,16
48	41,9 ± 0,57	6,55 ± 0,07	7,29 ± 0,02	-0,30 * ± 1,63	7,67 ± 0,51	5,84 ± 0,54	8,11 ± 0,00

Pozn.: * signifikance $P \leq 0,05$, všechny ostatní výsledky nejsou významné.



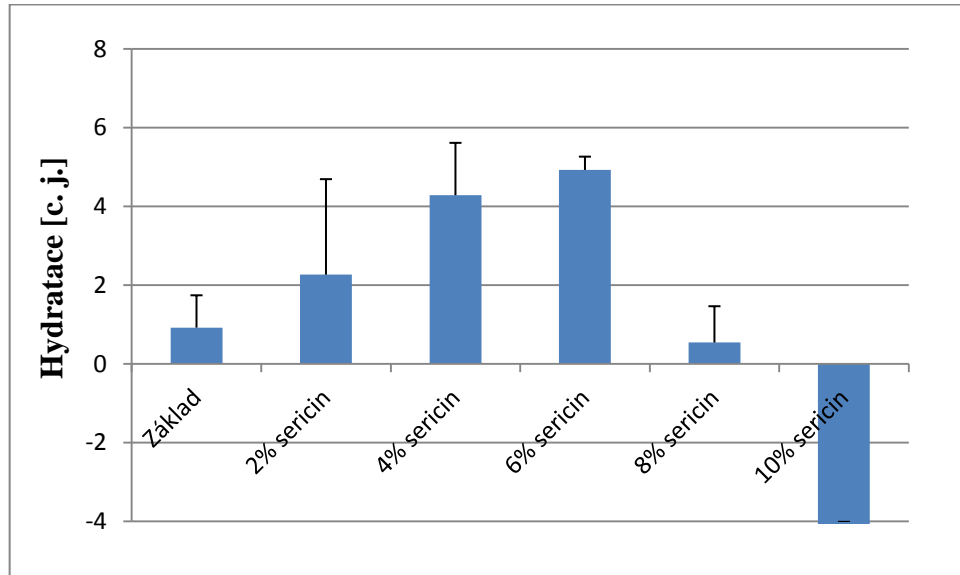
Obr. 21. Závislost korneometrického měření hydratace na čase.

Záporné hodnoty hydratace, byly jednak důsledkem použité metody vyhodnocení, tj. odečtením průměrných hodnot hydratace odmaštěné pokožky od průměrných naměřených hodnot hydratace po nanesení krémů se sericinem, kdy tento odečet sloužil k nastavení podmínek pro porovnání hydratační účinnosti aktivní hydratační látky sericinu, což by bez zohlednění odmaštění pokožky nebylo možné, neboť hydratace neošetřeného místa u každé dobrovolnice byla odlišná. A jednak také vytvořením okluzivního filmu na pokožce, který vznikl u některých použitých koncentrací sericinu.

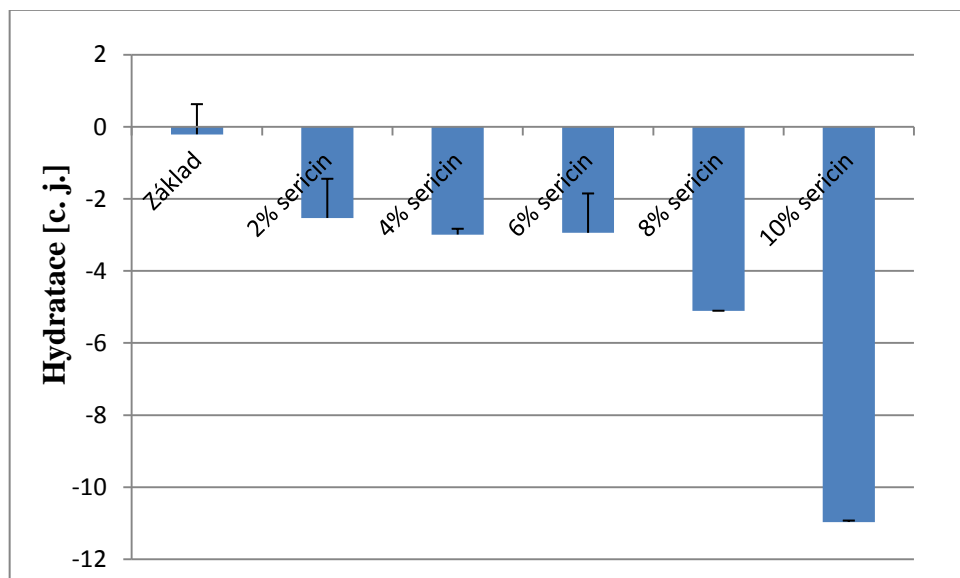
Vzhledem k větší přehlednosti hydratačního účinku krémů v závislosti na čase bylo zvoleno také sloupcové provedení grafů srovnávajících jednotlivé koncentrace sericinu v krémech za sledovaný časový interval (Obr. 22 – 27).

Z Obr. 22 je zřejmé, že v první hodině po aplikaci krémů na pokožku byl ve vztahu k odmaštěné pokožce pozorován mírný nárůst hydratace u koncentrací 2, 4, 6 %. U emulzního základu a krémů s 8 a 10% obsahem sericinu došlo k vytvoření okluzivního filmu (Obr. 37, 41 a 42). Podobného okluzivního efektu na pokožku bylo dosaženo u všech ostatních testovaných koncentrací v časech 2 – 4 hodiny od nanesení krémů na volární předloktí obou rukou (Obr. 23 – 25). Hydratační účinek změřený v intervalech 24 a 28 hodin od aplikace lze označit jako nízký, pohyboval se v rozmezí od -0,3 do 9,85 c. j., kdy tyto hodnoty vypovídají o nízkých hydratačních schopnostech testovaných krémů. V rámci testování jednotlivých koncentrací krémů se sericinem lze konstatovat, že nejrychlejší nástup hydratačních účinků vykazovaly krémy s 2%, 6% a 10% koncentrací sericinu. V porovnání s údaji

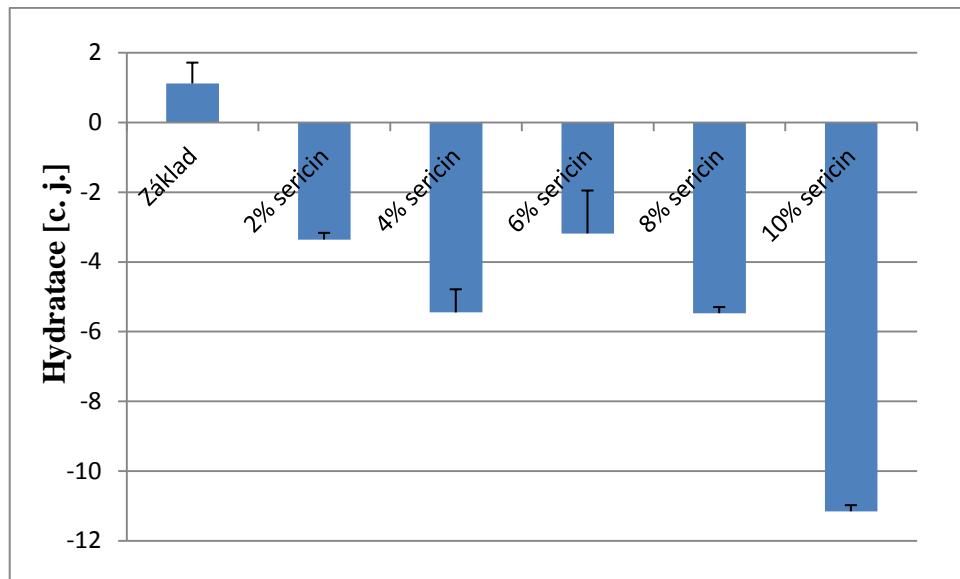
uvedenými v Tab. 5 lze vyvodit, že krémy se sericinem nejsou pro hydrataci pokožky nejvhodnější. Statisticky významné rozdíly v oblasti hydratačního účinku mezi emulzním základem a krémem s přídatkem sericinu byly nalezeny u 4% koncentrace sericinu.



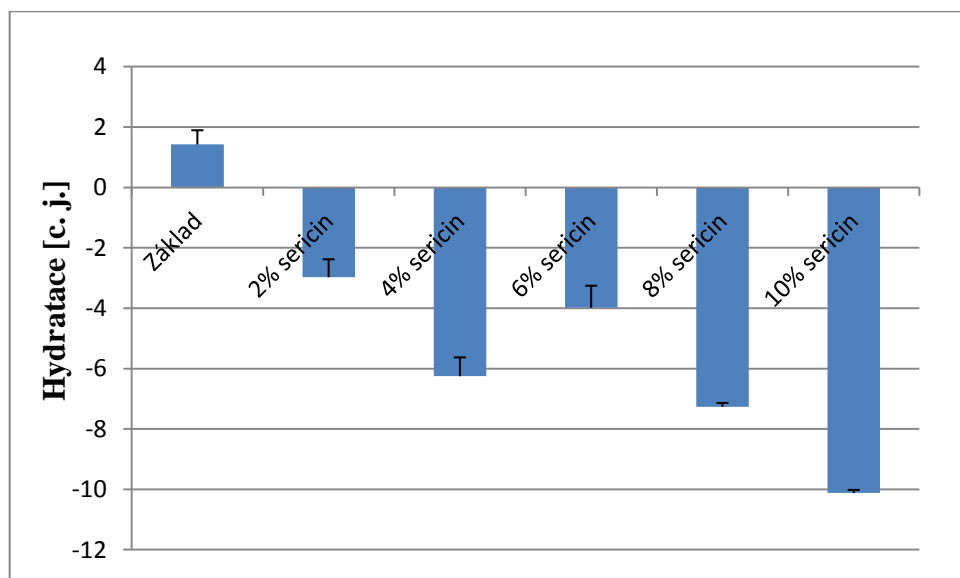
Obr. 22. Srovnání hydratačního účinku krémů hodinu po jejich aplikaci.



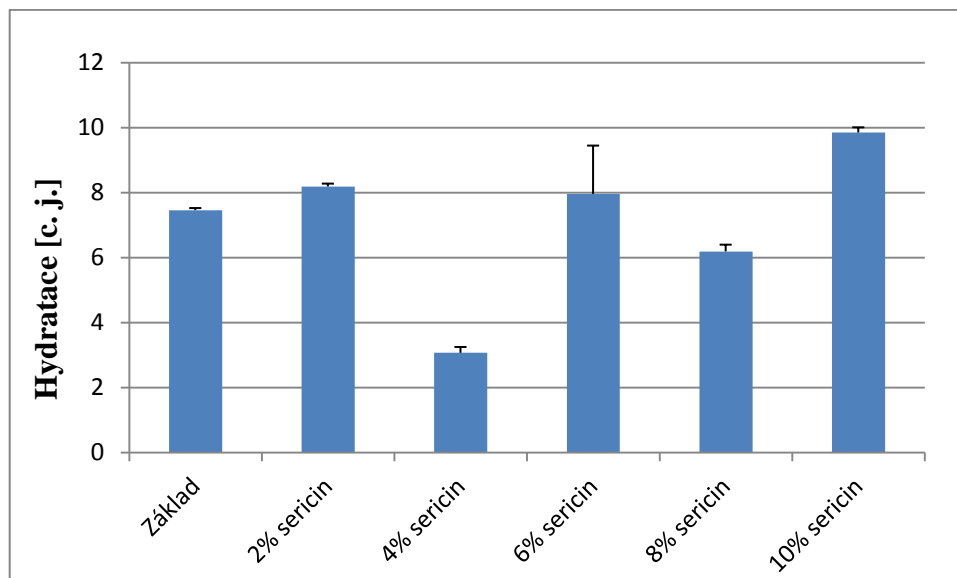
Obr. 23. Srovnání hydratačního účinku krémů dvě hodiny po aplikaci.



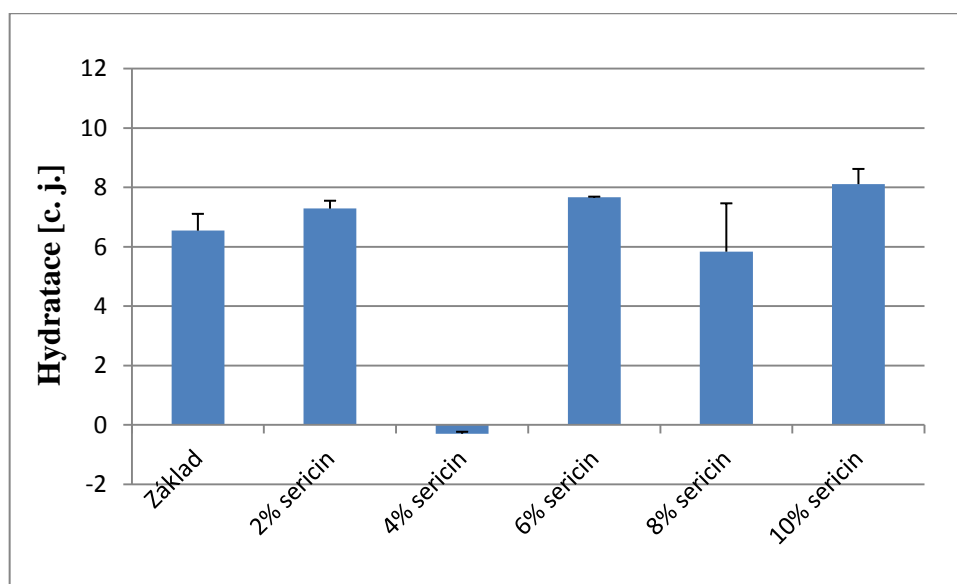
Obr. 24. Srovnání hydratačního účinku krémů tři hodiny po aplikaci.



Obr. 25. Srovnání hydratačního účinku krémů čtyři hodiny po aplikaci.



Obr. 26. Srovnání hydratačního účinku krémů 24 hodin po aplikaci.



Obr. 27. Srovnání hydratačního účinku krémů 48 hodin po aplikaci.

6.2 Vyhodnocení TEWL

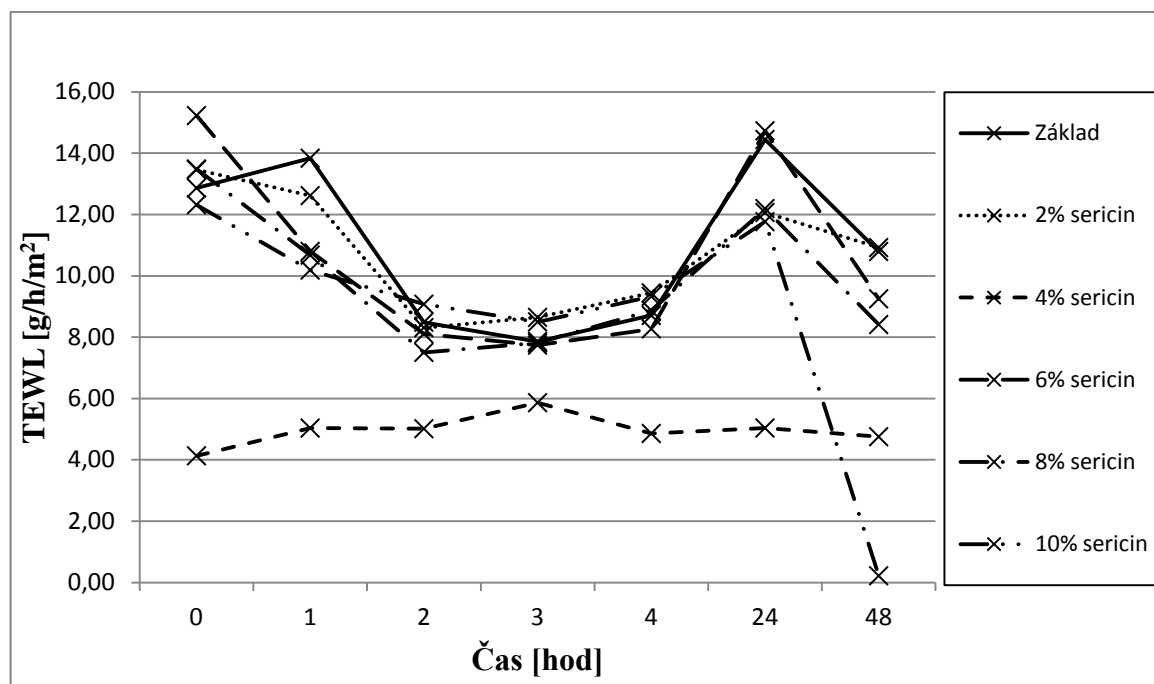
Statisticky vyhodnocené výsledky měření TEWL jsou uvedeny v Tab. 13 a na Obr. 28.

Byl použit dvouvýběrový F-test pro rozptyl pro aplikaci krémů v časech 1, 2, 3, 4, 24 a 48 hodin pro srovnání s emulzním základem bez účinné látky sericinu. Byla zvolena hladina významnosti ve výši 5 % ($P < 0,05$). Statistické výsledky srovnání testovaných krémů s emulzním základem v jednotlivých časových intervalech (signifikace $P \leq 0,05$) byly nalezeny a označeny* v Tab 13.

Tab. 13. Výsledky měření TEWL z pokožky.

Čas [hod]	TEWL [g/h/m ²]						
	Kontrola	Základ	2% sericin	4% sericin	6% sericin	8% sericin	10% sericin
0	3,55 ± 1,19	12,9 ± 0,92	13,5 ± 0,92	4,13 ± 0,90	15,2 ± 1,03	13,5 ± 0,88	12,3 ± 0,79
1	4,04 ± 0,21	13,8 ± 0,29	12,6 * ± 0,30	5,04 ± 0,01	10,8 * ± 1,15	10,7 * ± 0,33	10,2 * ± 0,00
2	5,06 ± 0,25	8,49 ± 0,33	8,31 * ± 0,33	5,01 * ± 0,29	8,11 ± 1,27	7,50 ± 0,41	9,07 ± 0,07
3	4,78 ± 0,56	7,86 ± 0,53	8,65 ± 0,58	5,86 * ± 0,36	7,74 ± 1,26	7,81 * ± 0,42	8,50 * ± 0,13
4	4,07 ± 0,60	8,71 ± 0,50	9,44 ± 0,46	4,86 * ± 0,36	8,27 ± 1,32	8,87 ± 0,31	9,33 ± 0,25
24	4,38 ± 0,15	14,4 ± 0,07	12,1 ± 0,06	5,04 ± 0,09	14,7 ± 0,85	12,2 * ± 0,24	11,8 * ± 0,21
48	4,27 ± 0,20	10,8 ± 0,06	10,9 ± 0,01	4,75 ± 0,06	9,25 ± 0,83	8,41 * ± 0,48	0,228* ± 0,64

Pozn.: * signifikance $P \leq 0,05$, všechny ostatní výsledky nejsou významné.



Obr. 28. Závislost transepidermální ztráty vody z pokožky na čase.

Stejně jako u hydratačního účinku byly pro větší přehlednost zkonstruovány grafy srovnávající TEWL v jednotlivých časech od aplikace krémů na pokožku (Obr. 29 – 35).

Z výsledků měření uvedených v Tab. 13 a v grafu znázorněném na Obr. 28 vyplývá, že hodnoty TEWL se pohybovaly v rozmezí 0,228 – 15,4 g/h/m², což podle Tab. 6. odpovídá stavu velmi dobré až normální pokožky.

Toto měření prokázalo, že u všech testovaných přípravků s obsahem sericinu, kromě krému s 4% obsahem sericinu, mělo vypařování vody z pokožky téměř stejný průběh. V místě kontroly byly hodnoty TEWL v rozmezí od 3,55 do 4,27 g/h/m², což znamená velmi dobrý stav pokožky a vypovídá o funkční bariéře u všech dobrovolnic, které se zúčastnily měření. Podobně se ve smyslu TEWL choval i emulzní základ bez sericinu, který vykazoval hodnotu 13,8 g/h/m², po 2 hodinách došlo ke snížení hodnoty na 8,49 g/h/m², dále byla hodnota téměř konstantní. Po 24 a 48 hodinách došlo ke zvýšení hodnoty TEWL na 14,4 a 10,8 g/h/m².

Krém s 2% obsahem sericinu vykazoval hodnotu TEWL 12,6 g/h/m², ve druhé hodině došlo k jeho snížení na 8,31 g/h/m² a k mírnému negativnímu nárůstu pak došlo po 24 a 48 hodinách na hodnoty 12,1 a 10,9 g/h/m².

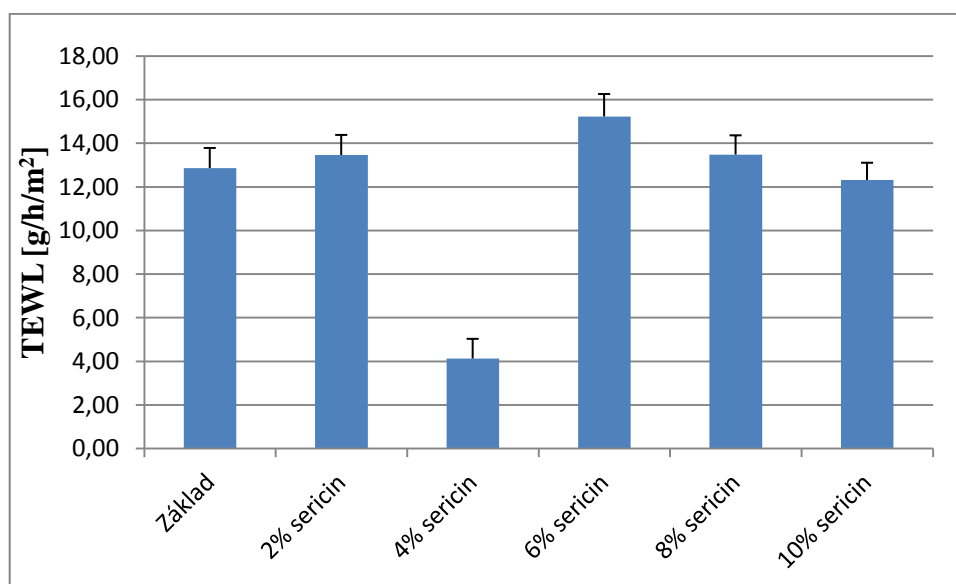
U pokožky ošetřené krémem s 4% obsahem sericinu byla hodnota TEWL 5,04 g/h/m². Dále byla hodnota TEWL téměř konstantní po celou dobu působení krému na pokožku.

Tato koncentrace sericinu by mohla být pokládána z hlediska zadržování pokožky jako nejoptimálnější.

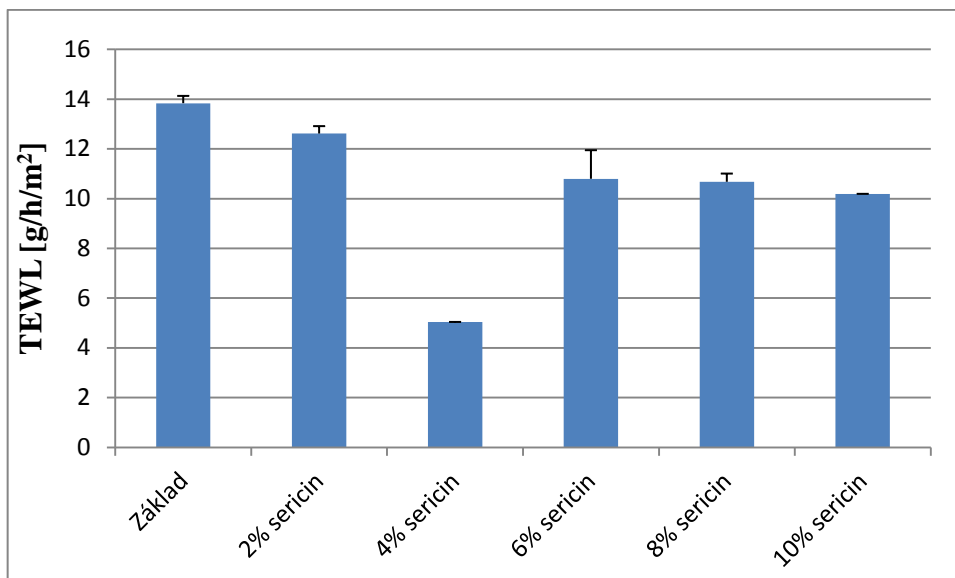
Krém s 6% obsahem sericinu vykazoval nejprve hodnotu TEWL 10,8 g/h/m², následně došlo k jejímu snížení, ve třetí hodině na hodnotu 7,74 g/h/m². Po 24 a 48 hodinách bylo patrné odeznění účinků, neboť došlo opět k nepatrnému nárůstu hodnot TEWL – 14,7 a 9,25 g/h/m², ale opět v příznivé oblasti.

Obdobný účinek byl zaznamenán i pro TEWL na pokožce ošetřené krémem s 8% obsahem sericinu a s 10% obsahem sericinu. Hodnoty TEWL detekované během prvního dne experimentu poklesly, v další dny byl zaznamenán mírný nárůst již popsany u nižších koncentrací.

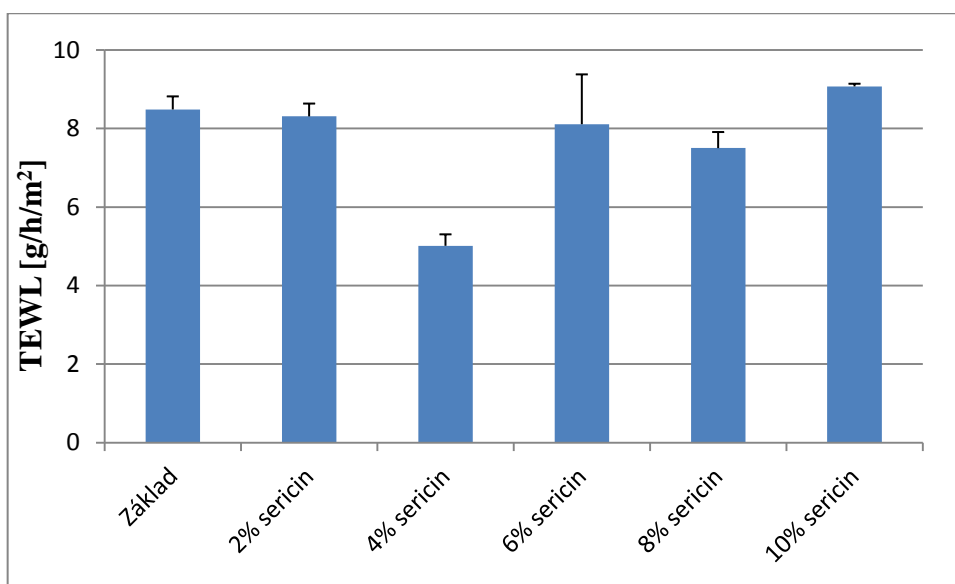
Celkově lze říci, že krémy s obsahem sericinu TEWL z pokožky snižovaly. To znamená, že jsou všechny schopné udržovat funkční bariéru v optimálním stavu bez jakéhokoliv jejího narušení. Ke zvýšení hodnot TEWL docházelo až po odeznění penetračního působení krémů do pokožky a to pouze v hodnotách TEWL, jejichž velikost odpovídala dle stupnice (Tab. 6) dobrému stavu pokožky. Statisticky signifikantní rozdíly krémů se sericinem v interakci s emulzním základem byly prokázány u 2% koncentrace sericinu (1. a 2. hodina od aplikace), u 4% koncentrace (2., 3. a 4. hodina od aplikace), u 6% koncentrace (1. hodinu od aplikace), u 8% koncentrace (1., 3., 24. a 48. hodinu od aplikace) a u 10% koncentrace (1., 3., 24. a 48. hodina od aplikace).



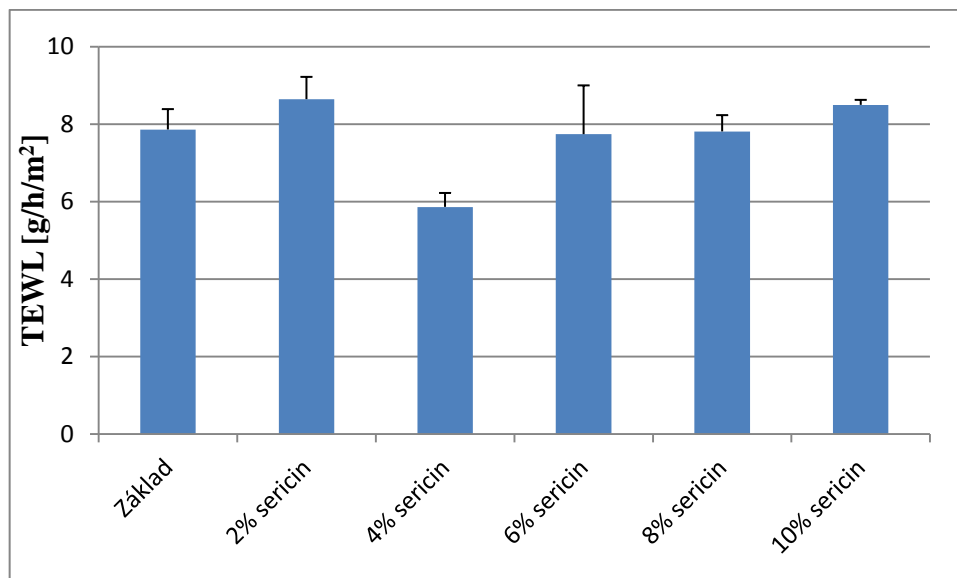
Obr. 29. Srovnání TEWL z pokožky před aplikací krémů.



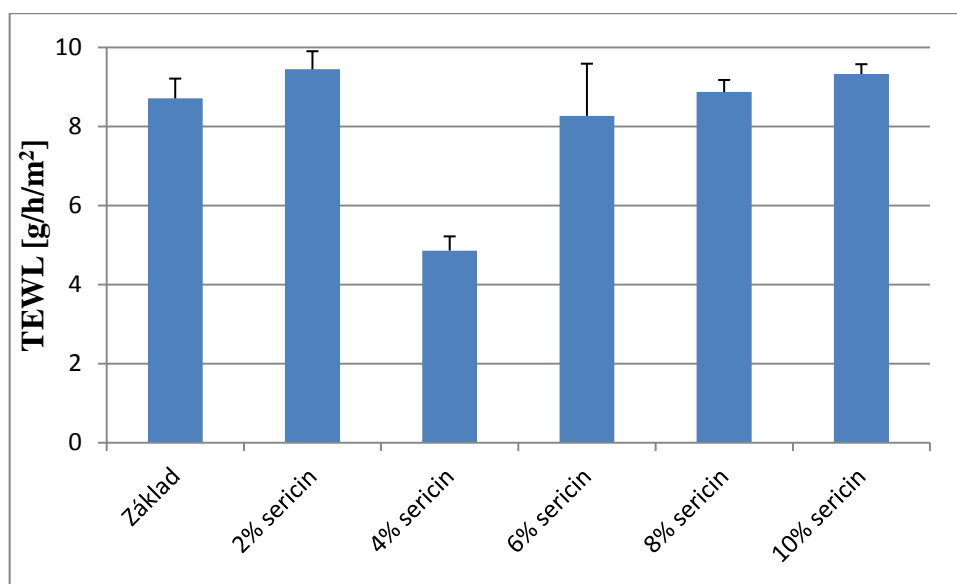
Obr. 30. Srovnání TEWL z pokožky 1. hodinu po aplikaci krémů.



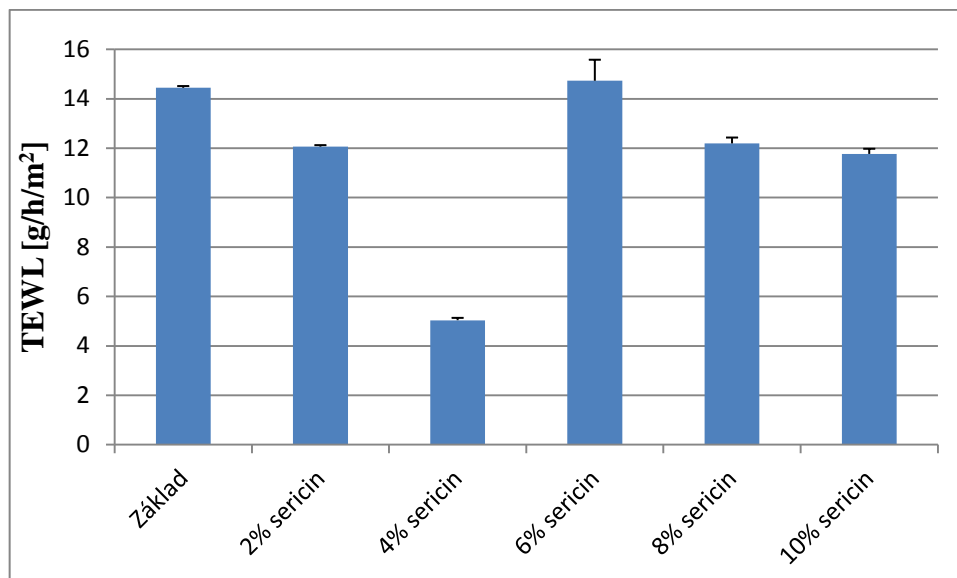
Obr. 31. Srovnání TEWL z pokožky 2. hodinu po aplikaci krémů.



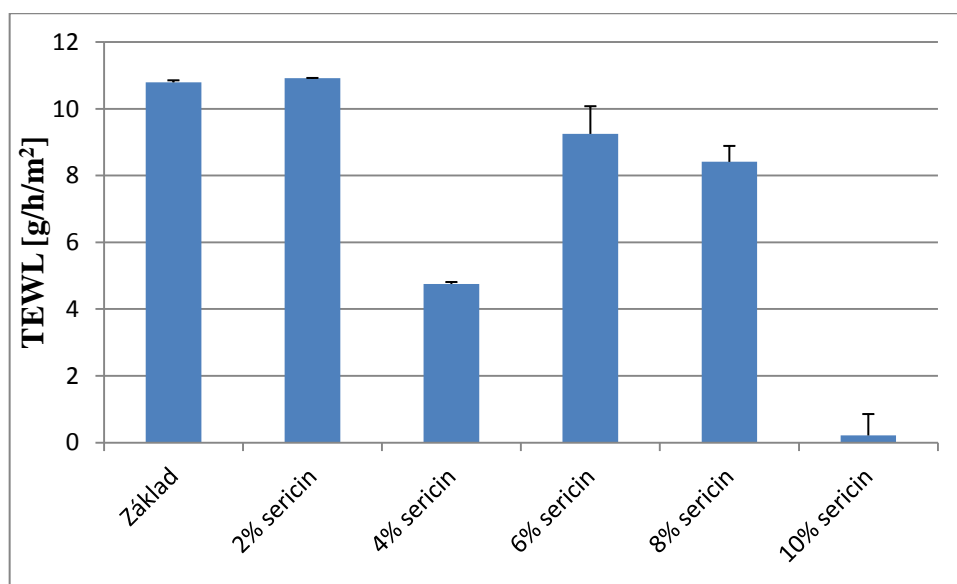
Obr. 32. Srovnání TEWL z pokožky 3. hodinu po aplikaci krémů.



Obr. 33. Srovnání TEWL z pokožky 4. hodinu po aplikaci krémů.



Obr. 34. Srovnání TEWL z pokožky 24. hodinu po aplikaci krémů.



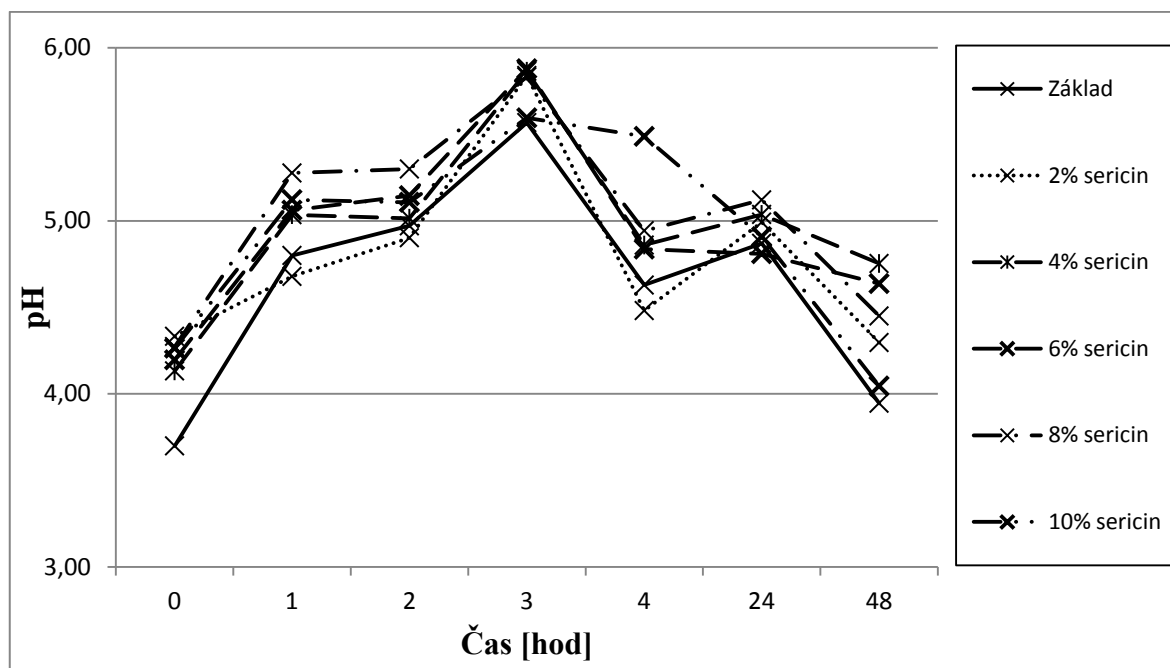
Obr. 35. Srovnání TEWL z pokožky 48. hodinu po aplikaci krémů.

6.3 Vyhodnocení pH

Hodnoty pH pokožky stanovené na sledovaných místech předloktí po nanesení koncentrační řady připravených krémů byly v rozmezí od 3,55 do 5,88. Všechny naměřené hodnoty pH byly statisticky vyhodnoceny a výsledné hodnoty jsou zaznamenány v Tab. 14 a graficky znázorněny na Obr. 36.

Tab. 14. Výsledky měření pH pokožky.

Čas [hod]	pH pokožky						
	Kontrola	Základ	2% sericin	4% sericin	6% sericin	8% sericin	10% sericin
0	3,55 ± 0,51	3,70 ± 0,63	4,33 ± 0,64	4,13 ± 0,67	4,20 ± 0,73	4,27 ± 0,73	4,26 ± 0,75
1	4,04 ± 0,86	4,80 ± 1,39	4,68 ± 1,35	5,04 ± 1,27	5,06 ± 1,35	5,28 ± 1,24	5,12 ± 1,12
2	5,06 ± 0,95	4,97 ± 0,39	4,90 ± 0,59	5,01 ± 0,62	5,15 ± 0,58	5,30 ± 0,21	5,11 ± 0,53
3	4,78 ± 0,70	5,57 ± 0,51	5,84 ± 0,45	5,86 ± 0,33	5,88 ± 0,51	5,83 ± 0,53	5,59 ± 0,85
4	4,07 ± 0,60	4,63 ± 0,78	4,48 ± 1,32	4,86 ± 0,80	4,84 ± 0,54	4,94 ± 0,48	5,49 ± 0,65
24	4,38 ± 0,58	4,87 ± 0,66	4,99 ± 0,76	5,04 ± 0,60	4,81 ± 0,54	5,12 ± 0,66	4,91 ± 0,67
48	4,27 ± 0,81	3,95 ± 1,03	4,30 ± 0,85	4,75 ± 0,66	4,64 ± 0,50	4,45 ± 0,88	4,05 ± 0,84



Obr. 36. Závislost pH pokožky na čase.

Hodnoty pH byly v rozmezí od 3,55 do 5,88. pH pokožky v místě kontroly se pohybovalo v rozmezí 3,55 až 4,27. To znamená, že pH v této oblasti bylo kyselé, což může být způsobeno používáním mycích tělových kosmetických prostředků nebo přítomností bakterií či sníženým odpařováním potu. Kyselé pH bylo též v místě odmaštěné pokožky, zde byly hodnoty v rozmezí 3,91 až 4,08. Na místě s emulzním základem bylo změřeno pH 3,70. Ve třetí hodině došlo k jeho zvýšení na neutrální hodnotu 5,57. Poté došlo opět ke snížení pH na 3,95. U krému s 2% obsahem sericinu zpočátku vykazovala pokožka pH 4,33, ve třetí hodině došlo k zvýšení na 5,84 a následně k snížení na hodnotu 4,30. Ošetřená pokožka tímto krémem byla po celou dobu měření v neutrální oblasti. U pokožky s aplikací krému s 4% obsahem sericinu bylo zjištěno pH 4,13, ve třetí hodině došlo k jeho nárůstu na 5,86 a následně docházelo k jeho snížení na hodnotu 4,75. Nastalou změnu pH pokožky při použití tohoto krému z kyselého na neutrální lze také hodnotit pozitivně. V místě aplikace krému s 6% obsahem sericinu byla zpočátku zaznamenána hodnota 4,20, ve třetí hodině došlo k jejímu zvýšení na hodnotu 5,88, po 48 hodinách na hodnotu 4,64. pH pokožky ošetřené tímto krémem se změnilo z kyselého na neutrální. Krém s 8% obsahem sericinu zpočátku vykazoval hodnotu 4,27, ve třetí hodině došlo k jeho zvýšení na hodnotu 5,83 a poté následoval pokles na hodnotu 4,45. Došlo ke změně pH z kyselého na neutrální. Krém s 10% obsahem sericinu zpočátku vykazoval hodnoty 4,26, ve třetí hodině opět došlo k jeho zvýšení na hodnotu 5,59 a poté docházelo k snížení na hodnotu 4,05. pH pokož-

ky u tohoto krému bylo nejprve kyselé, poté se změnilo na neutrální a postupně kleslo opět do kyselé oblasti.

Celkově lze říci, že všechny testované krémy pH pokožky nejdříve zvyšovaly a poté docházelo k jeho snížení do téměř původních hodnot. Ve třetí hodině byly hodnoty pH u všech krémů v rozmezí fyziologické hodnoty pH pokožky. V této hodině bylo tedy pH pokožky optimální.

6.4 Porovnání naměřených výsledků s pracemi jiných autorů

V porovnání s prací [80], která zkoumala hydratační účinky krémů s 1% a 5% koncentrací sericinu, bylo zjištěno, že krém s 1% koncentrací sericinu nejlépe hydratoval ihned po nanesení na pokožku. Hydratace zde postupně rostla až na hodnotu 20 c. j. Krém s 5% koncentrací sericinu hydratoval také ihned v první hodině, poté následoval mírný pokles a po 25 hodinách vykazoval hodnotu 19,5 c. j. Krém s 5% koncentrací sericinu vytvořil rychlejší hydratační účinky, ale v závěru měření se hodnoty obou prostředků téměř shodovaly. Při měření TEWL bylo zjištěno, že krém s koncentrací 1 % sericinu způsobil nejprve snížení TEWL, poté hodnoty postupně rostly. Krém s 5% koncentrací sericinu způsobil také nejprve snížení hodnot TEWL a poté došlo k jejich zvýšení. pH krému s 1% koncentrací sericinu dosahovalo na začátku měření nejvyšší hodnoty 10,1, poté se postupně snižovaly. U krému s 5% koncentrací sericinu byla nejvyšší hodnota pH také v první hodině měření. Zde hodnoty dosahovaly 10,0, poté došlo k jejich postupnému snížení.

V porovnání s prací [81], která také zkoumala hydratační účinky gelů s 1% a 5% koncentrací sericinu, bylo zjištěno, že gely s těmito koncentracemi sericinu způsobil okluzi ihned po nanesení krémů na pokožku. Ke zvýšení došlo až ve 24 hodině. Při měření TEWL bylo zjištěno, že gely způsobil snížení hodnot TEWL z pokožky, k jejich zvýšení došlo až ve 24 hodině. Při měření pH bylo zjištěno, že gel s 1% koncentrací sericinu způsobil ve čtvrté hodině měření zvýšení pH na hodnotu okolo 9, poté došlo k jejímu snížení. Gel s 5% koncentrací sericinu způsobil postupné snížení pH.

U výše uvedených studií [80, 81] i z výsledků našeho experimentu bylo prokázáno vytvoření okluzivního filmu na pokožce. Hodnoty TEWL a pH pokožky byly v jednotlivých experimentech podobné, tzn., že krémy s obsahem sericinu způsobil snížení hodnot TEWL a úpravu pH pokožky do neutrální oblasti. Ze všech provedených výzkumů byla vyhodnocena 4 – 6% koncentraci látky sericinu jako nejučinnější.

6.5 Vyhodnocení stavu pokožky visioscopem

Pomocí visioscopu byl sledován stav pokožky po nanesení krémů se sericinem. V 1. hodině měření došlo k vytvoření viditelného okluzivního filmu u emulzního základu a u krémů s 6%, 8% a 10% obsahem sericinu. U těchto krémů jsou zřetelné drobné stopy zaschnutého filmu. U krémů s 2% a 4% obsahem sericinu se vytvořil pouze slabý okluzivní film. Srovnání jednotlivých míst s nanesenými krémy oproti místu kontroly jsou uvedeny na Obr. 37 – 42.



Obr. 37. Srovnání kontroly a emulzního základu.



Obr. 38. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.



Obr. 39. Srovnání kontroly a krému s 4 % sericinu.



Obr. 40. Srovnání kontroly a krému s 6 % sericinu.



Obr. 41. Srovnání kontroly a krému s 8 % sericinu.



Obr. 42. Srovnání kontroly a krému s 10 % sericinu.

Ve druhé hodině měření je viditelný okluzivní film u emulzního základu a u krémů s 6%, 8% a 10% obsahem sericinu. U těchto krémů jsou opět viditelné drobné stopy zaschnutého krému. Krémy s 2% a 4% obsahem sericinu vykazují slabý okluzivní film. Srovnání jednotlivých míst s nanesenými krémy oproti místu kontroly jsou uvedeny na Obr. 43 – 48.



Obr. 43. Srovnání kontroly a emulzního základu.



Obr. 44. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.



Obr. 45. Srovnání kontroly a krému s 4 % sericinu.



Obr. 46. Srovnání kontroly a krému s 6 % sericinu.



Obr. 47. Srovnání kontroly a krému s 8 % sericinu.



Obr. 48. Srovnání kontroly a krému s 10 % sericinu.

Ve třetí hodině měření je viditelný okluzivní film opět u emulzního základu a u krémů s 6%, 8% a 10% obsahem sericinu. Krémy s 2% a 4% obsahem sericinu vykazují slabý okluzivní film. Srovnání jednotlivých míst s nanesenými krémy oproti místu kontroly jsou uvedeny na Obr. 49 – 54.



Obr. 49. Srovnání kontroly emulzního základu.



Obr. 50. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.



Obr. 51. Srovnání kontroly a krému s 4 % sericinu.



Obr. 52. Srovnání kontroly a krému s 6 % sericinu.



Obr. 53. Srovnání kontroly a krému s 8 % sericinu.



Obr. 54. Srovnání kontroly a krému s 10 % sericinu.

Ve čtvrté hodině měření došlo k ztenčení okluzivního filmu na pokožce u všech aplikovaných krémů. Došlo ke vstřebání krémů do kůže. Jako příklad už jsou již uvedeny jen srovnání kontrolního neošetřeného místa pokožky s emulzním základem (Obr. 55) a s krémem s 2% obsahem sericinu (Obr. 56).



Obr. 55. Srovnání kontroly a emulzního základu.



Obr. 56. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.

ZÁVĚR

Teoretická část práce je zaměřena na problematiku zpracování hedvábí s důrazem na jeho chemické složení. Její stěžejní část je věnována sericinu, který je využíván pro své unikátní vlastnosti v celé řadě průmyslových aplikací.

Jedním z cílů praktické části byla příprava topicky aplikovatelných polotuhých forem s různou koncentrací sericinu, u kterých byla pomocí zvolených instrumentálních metod provedena charakteristika hydratačního účinku, měření transepidermální ztráty vody, pH pokožky a také kontrola stavu pokožky pomocí visioscopu.

Porovnání hydratačního účinku jednotlivých koncentrací sericinu v nosném základu bylo provedeno korneometrickou metodou. Z výsledků experimentu bylo patrné, že výsledné hodnoty odpovídaly velmi suchému až suchému stavu pokožky. Po nanesení krémů se sericinem byl detekován postupný nárůst obsahu vlhkosti v pokožce až do čtvrté hodiny od jejich aplikace na pokožku. Nejlépe hydratoval krém s 6% obsahem sericinu. Celkově lze říci, že krémy s obsahem sericinu vykazují nízký hydratační účinek, což je způsobeno vytvořením okluzivního filmu na pokožce. Tento film zabraňoval optimální penetraci aktivní látky sericinu do pokožky.

Detekováním TEWL byl zjišťován stav bariérové funkce kůže, která může být ovlivněna jak pozitivně používáním vhodných kosmetických prostředků s účinnými aktivními látkami, tak i negativně prostředky s látkami narušujícími tuto bariéru. Transepidermální ztráta vody měla téměř u všech krémů bez rozdílů obsahu aktivní látky sericinu obdobné hodnoty. Dle stupnice pro TEWL odpovídala hodnotám pro velmi dobrý až normální stav pokožky. Po nanesení krémů došlo k jejímu snížení. Ke zvýšení došlo mezi 4. a 24. hodinou a poté se hodnota opět snižovala. Nejlepší výsledek byl zaznamenán u krému s 4% obsahem sericinu. Hodnota TEWL zde vykazovala velmi dobrý stav pokožky.

Fyziologická hodnota pH pokožky by se měla pohybovat kolem 5,5 – 6,5. Výsledné hodnoty měření pH byly v rozmezí 3,55 – 5,88, což jsou hodnoty kyselé až mírně zásadité. pH pokožky se po nanesení krémů se sericinem v prvních třech hodinách zvyšovalo. Poté došlo k jejímu mírnému poklesu a ke zvýšení opět došlo po 24 hodinách. Po 48 hodinách se pH pokožky opět snížilo. Nejlepší hodnoty pH pokožky byly zaznamenány ve třetí hodině měření od počátku aplikace krémů.

Zkoumání stavu pokožky pomocí visioscopu dokumentuje vytvoření okluzivního filmu na pokožce, v důsledku čehož mohla být omezena penetrace aktivní látky sericinu do pokožky. Okluzivní film byl nejvíce patrný na místech s naneseným emulzním základem a s krémy s 6%, 8% a 10% koncentrací sericinu.

Závěrem lze říci, že připravené prostředky nevykazovaly příliš vysoký hydratační účinek, což bylo způsobeno vytvořeným okluzivním filmem. Zároveň ale tyto prostředky zabraňují odpařování vody z pokožky a upravují hodnoty pH. Vzhledem k těmto zjištěným biocharakteristikám, lze doporučit sericin jako aktivní látku, co by podporující více bariérovou funkci kůže než funkci hydratační. Jako nejlepší koncentrace sericinu v emulzním základu byla vyhodnocena 4% a 6% koncentrace sericinu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. FEŘTEKOVÁ, Vlasta, a kol. *Kosmetika v teorii a praxi*. 3. dopl. vyd. Praha: MAXDORF, 2000. ISBN 80-85912-19-8.
2. RESL, Vladimír, a kol. Měření hydratace kůže. *Česko-slovenská dermatologie*. 2006, č. 5, 298 – 304.
3. ROSENTHAL, M. L. Squalane: the natural moisturizer. *In The chemistry and manufacture of cosmetics*. Carol Stream, USA: Allured Publishing Corporation 2002, 869 – 875.
4. ZÁHEJSKÝ, Jiří. Bariérová funkce kůže z pohledu klinické praxe. *Dermatologie pro praxi* [online]. 2007, [cit. 2012-10-12]. ISSN 1803-5337. Dostupné z: http://www.solen.sk/index.php?page=pdf_view&pdf_id=2884.
5. OBSTOVÁ, Iva a Sladjana ILIČOVÁ. Každodenní péče o suchou a citlivou pokožku, *Medicína pro praxi*, [online]. 68 – 74 [cit. 2012-10-12]. ISSN 1803-5337. Dostupné z: <http://www.solen.cz/pdfs/med/2010/88/08.pdf>.
6. Skin Surface Moisture. *Cyber Derm* [online]. [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://cyberderm-inc.com/main/skin-surface-moisture/>.
7. RESL, Vladimír, Martin LEBA a Ivan RAMPL. Měření transepidermální ztráty vody (TEWL). *Československá dermatologie* [online]. 2008, č. 6, 319 – 324. [cit. 2012-11-05]. ISSN 1803-6597.
8. LODÉN, Marie. Role of topical emollients and moisturizers in the treatment of dry skin barrier disorders. *American journal of clinical dermatology*. Stockholm, Sweden: ACO Hud AB, 2003, 771 – 784.
9. New focus on natural moisturisation. *Personal care* [online]. 2008 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://www.personalcaremagazine.com/print.aspx?Story=4450>.
10. SOLER, C. *Protección de la piel frente al frío*. Acófar, 2005, s. 438.
11. RAWLINGS, A. V. a C. R. HARDING. Moisturization and skin barrier function. *Dermatologic therapy* [online]. 2004 [cit. 2013-04-02]. DOI: 10.1111/j.1396-0296.2004.04S1005.x. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14728698>.
12. JACOBI, O. Moisture regulation in the skin. *Drug Cosmet Ind.*, 1959; 84: 732 – 812.
13. LODÉN, Marie. Hydrating Substances. *Handbook of Cosmetics Science and Technology*. 3. dopl. vyd. USA: Informa, 2009, 107 – 121. ISBN 978-1-4200-6963-1.

14. DRAELOS, Zoe Diana. *Cosmetic Dermatology Product and Procedures*. 1. vyd. North Carolina, USA: Wiley-Blackwell, 2010. ISBN 978-1-4051-8635-3.
15. CHALUPOVÁ, Zuzana a Ruta MASTEIKOVÁ. Hydratace kůže a kosmetické prostředky. *Praktické lékařství*. 2006, č. 4, 192 – 194. Dostupné z: <http://www.solen.cz/pdfs/lek/2006/04/09.pdf>.
16. BLECHOVÁ, Renata a Božena MACEŠKOVÁ. Současný pohled na spotřebu a používání emoliencií. *Klinická farmakologie a farmacie* [online]. 2010, č. 4, 174 – 177. [cit. 2012-10-26]. Dostupné z: <http://www.klinickafarmakologie.cz>.
17. LANGMAIER, František. *Základy kosmetických výrob*. 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2001. 159. ISBN 80-7318-016-2.
18. ZÁHEJSKÝ, Jiří. Ochranné bariérové systémy současné a perspektivní možnosti úpravy stavu poškozené kožní bariéry. *Dermatologie pro praxi* [online]. 2011, [cit. 2012-10-12]. ISSN 1803-5337. Dostupné z: <http://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/01/02.pdf>.
19. Humectants (Moisturizing Agents). *Makingcosmetics.com* [online]. 2012 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://www.makingcosmetics.com/articles/13-humectants-moisturizing-agents-in-cosmetics.pdf>.
20. LOMOVÁ, Olga a Zlata ČERNÁ. *HLEDÁNÍ HARMONIE: Studie z čínské kultury*. Brno: Muni press, 2009. [cit. 2012-12-20]. ISBN 978-80-210-4942-0. Dostupné z: <http://is.muni.cz/do/rect/nakladatelstvi/publikace/210-4942/210-4942-Ukazka.pdf>.
21. LIM, S. H., Y. T. KIM, S. P. LEE, I. J. RHEE, J. S. LIM, a B. H. LIM. *Sericulture training manual*, Agricultural Services Bulletin 80, FAO, Rome, 1990, s. 117.
22. SALÁŠKOVÁ, Vendula. *Nemoci v chovech bource morušového*. Brno, 2006. Bakalářská práce. Masarykova univerzita Brno.
23. PANG-CHUAN, W., C. DA-CHUANG, C. ZUO-PU, L. PING-ZHANG, T. HE. Silkworm rearing, Agricultural Services Bulletin 73/2, FAO, Rome, 1988, s. 83.
24. HYRŠL, Pavel. *Dražší než zlato* [online]. 2003 [cit. 2012-10-13]. Dostupné z: <http://www.abicko.cz/clanek/casopis-abc/4520/drazsi-nez-zlato.html>.
25. *Hedvábí: Bourec morušový* [online]. [cit. 2012-10-13]. Dostupné z: <http://hedvabi.divoce.cz/bource-morusoveho/>
26. KRŮČEK, Tomáš. *Studium sericinu 3 u Bombyx mori a zaklonování sericinu do Escherichia coli*. České Budějovice, 2011. Magisterská práce. Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích.

27. Bombyx mori. *Atlas of living Australia* [online]. 2006 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z:
http://www1.ala.org.au/gallery2/main.php?g2_view=slideshow.Slideshow&g2_itemId=10537.
28. ZHANG, Yang. *Applications of natural silk protein sericin in biomaterials*, Biotechnology advanced, 2002, Soochow University, China. 91 – 100.
29. HLADÍK, Vít, Tomáš KOZEL a Zdeněk MIKLAS. *Textilní materiály*. 2.vyd. Praha: STNL – Nakladatelství technické literatury, 1984.
30. STANĚK, Jaroslav, Jana HYNČICOVÁ a Vladimír KOVAČIČ. *Nauka o textilních materiálech*, díl.1, část.2. 1.vyd. Liberec: Vysoká škola strojní a textilní v Liberci, 1986.
31. SEHNAL, František, Václav JANDA a Václav NĚMEC. Composition, synthetic and cytolytic activities of Galleria mellonella silk glands during the last-larval instar under the action of juvenile hormone. *Journal of insect physiology*. 1983, 29: 237 – 48.
32. ŽUROVEC, Michal, Changsong YANG, Dalibor KODRIK a František SEHNAL. Identification of novel type of silk protein and regulation of its expression. *The Journal of Biological Chemistry*, 1998, 15423 – 15428. DOI: 10.1074/jbc.273.25.15423.
33. MONDAL, M., K. TRIVEDY, K. S. NIRMAL. The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, Bombyx mori. *Caspian Journal Enviromental Sciences*. 2007, Vol. 5 No. 2: 63 – 76.
34. ZHOU, C. Z., F. CONFALONIERY, N. MEDINA, Y. ZIVANOVIC, C. ESNAULT, T. YANG, M. JACQUE, J. JANIN, M. DUGUET, R. PERASSO, Y. G. LI. Fine organization of *Bombyx mori* fibroin Heavy chain gene. *Nucleic Acid Research.*, 2000. 28: 2413 – 2419.
35. MURRAY, R. K., D. K. GRANNER, P. A. MAYES, V. W. RODWELL. *Harperova biochemie*, H & H: 2002, 4. vyd., 50 – 51.
36. MARŠÁLKOVÁ, Miroslava. *Textilní vlákna*. [online]. [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.opvk.eu>.
37. PILLER, Bohumil a Otto LEVINSKÝ. *Malá encyklopedie textilních materiálů*, Praha Nakladatelství technické literatury, 1982, ISBN 04-007-82.

38. Textilní vlákna. 2010. Dostupné z:
www.kht.tul.cz/items/TZD/TZDp/TZD01_vlakna_opakovani.ppt.
39. *Osada Řehačka: Zapomenutá historie Morušárny* [online]. 2005 [cit. 2013-03-31].
Dostupné z: <http://www.rehacka.unas.cz/aktuality.htm>.
40. *Textilní vlákna*. Katedra hodnocení textilií Liberec. Dostupné z:
www.kht.tul.cz/items/TZO/TZO%20Op/TZO%2002.ppt.
41. PATEL, R. J., M. K. MODASIYA. *Sericin: Pharmaceutical Applications*. [online].
2011, č. 2, 913 – 915 [cit. 2013-04-02]. ISSN 2229-3701. Dostupné z:
<http://www.ijrpsonline.com/files/RW6.pdf>.
42. CUNNIFF, P. M., S. A. FOSSEY, M. A. AUERBACH, J. W. SONG, D. L. KAPLAN, W. W. ADAMS, R. K. EBY, D. MAHONEY, D. L. VEZIE. Mechanical and thermal properties of dragline silk from the spider, *Polymers for advanced technologies*, 1994. 5: 401 – 410. DOI: 10.1002/pat.1994.220050801.
43. SUZUKI, Y., D. D. BROWN. Isolation and identification of the messenger RNA for silk fibroin from *Bombyx mori*. *Journal of Molecular Biology*. 1972. 63(3): 409 – 29.
44. KIMURA, K., F. OYAMA, H. UEDA, S. MIZURO, K. SHIMURA. Molecular cloning of the fibroin light chain complementary DNA and its use in the study of the expression of the light chain gene in the posterior silk gland of *Bombyx mori*. *Experientia*, 1985. 41: 1167 – 1171.
45. CASE, S. T., J. POWERS, R. HAMILTON, M. J. BURTON. *Silk Polymers*, 1994. 80 – 90.
46. KIKUCHI, Y., K. MORI, S. SUZUKI, K. YAMAGUCHI, S. MIZUNO. Structure of the *Bombyx mori* fibroin light-chain-encoding gene: upstream sequence elements common to the light and heavy chain. *Gene*. 1992. 110(2):151 – 158.
47. KIMURA, K., F. OYAMA, H. UEDA, S. MIZUNO, K. SHIMURA. Molecular cloning of the fibroin light chain complementary DNA and its use in the study of the expression of the light chain gene in the posterior silk gland of *Bombyx mori*. *Experientia*. 1985, 41: 1167 – 1171.
48. YAMAGUCHI, K., Y. KIKUCHI, T. TAKAGI, A. KIKUCHI, F. OYAMA, SK. HIMURA, S. MIZUNO. Primary structure of the silk fibroin light chain determined by cDNA sequencing and peptide analysis. *Journal of Molecular Biology*, 1989, 210: 127 – 139.

49. TANAKA, K., S. INOUE, S. MIZUNO. Hydrophobic interaction of P25, containing Asn-linked oligosaccharide chains, with the H-L complex of silk fibroin produced by *Bombyx mori*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 1999, 29: 269 – 276.
50. COUBLE, P., M. CHEVILLARD, A. MOINE, P. RAVEL-CHAPUIS. Structural organization of the P25 gene of *Bombyx mori* and comparative analysis of its 5' flanking DNA with that of the fibroin gene. *Nucleic Acids Research*, 1985, 13(5): 1801 – 1814.
51. CHEVILLARD, M., G. DELEGAE, P. COUBLE. Aminoacid sequence and stative conformational characteristics of the 25KD silk protein of *Bombyx mori*. *Sericologia*, 1986, 26: 435 – 449.
52. NIRMALA, X., D. KODRIK, M. ŽUROVEC, F. SEHNAL. Insect silk contains both a Kunitz-type and unique Kazal-type proteinase inhibitor. *European Journal of Biochemistry*, 2001, 268(7): 2064 – 2073.
53. JIN-HONG, W., W. ZHANG a X. SHI-YING. *Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater*. 4. vyd. China, 2007, 1255 – 1262.
54. ARAMWIT, P., A. SANGCAKUL. *The effects of sericin team on wound healing in rats*. [online]. 2007 [cit. 2013-04-12]. DOI: 10.1271. Dostupné z: https://www.jstage.jst.go.jp/article/bbb/71/10/71_70243/_pdf.
55. NISHIDA, A., M. YAMADA, T. KANAZAWA, Y. TAKASHIMA, K. OUCHI, H. OKADA. *Use of silk protein, sericin, as a sustained-release material in the form of a gel, sponge and film*. [online]. 2010 [cit. 2013-04-12]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21048340>.
56. *Sinosilk: Sericin* [online]. 2011 [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://www.sinosilk.com.cn/sericin.html>.
57. *Gerovital: Sericin* [online]. [cit. 2013-03-31]. Dostupné z: <http://www.gerovital.co.ro/sericin.pdf>.
58. VOGELI, R., J. MEIER, R. BLUST. Sericin silk protein: unique structure and properties, *Cosmetics and Toiletries* [online]. 1993, 101 - 108 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.accessmylibrary.com/article-1G1-14677264/sericin-silk-protein-unique.html>.

59. TERADA, S., T. NISHIMURA, M. SASAKI, H. YAMADA, M. MIKI. Sericin, a protein derived from silkworms, accelerates the proliferation of several mammalian cell lines including a hybridoma. *Cytotechnology*. 2002, 3 – 12.
60. SUZUKI Y. Differentiation of silk gland. A model system for the study of differential gene action. *Results and problems in cell differentiation*, 1977, 1 – 44. Springer-Verlag, Berlin/ Heidelberg.
61. JIN, H. J., D. J. KAPLAN. *Mechanism of silk processing in insects and spiders*. [online]. 2003 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12944968>.
62. *Derma silk: Healthcare professionals*. [online]. 2009 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: http://www.dermasilk.com.au/content.php?view=HEALTHCARE_PROFESSIONALS.
63. PADAMWAR, M. N., A. P. PAWAR. *Silk sericin and its applications*. [online]. 2004, 323 – 329 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.niscair.res.in/sciencecommunication/ResearchJournals/rejour/Jsir/Fulltextsearch/2004/April%202004/JSIR-vol%2063-April%202004-pp%20323-329.htm>.
64. CASPIAN, J. *The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, Bombyx mori*. [online]. 2007, č. 2, 63 – 76 [cit. 2013-04-12]. Dostupné z: <http://research.guilan.ac.ir/cjes/.papers/751.pdf>
65. HAZERI, N., H. TAVANAI, A. R. MORADI. *Production and properties of electrosprayed sericin nanopowder*. [online] 2012, 1 – 7. [cit. 2013-03-12]. DOI: 10.1088/1468-6996/13/3/035010. Dostupné z: http://iopscience.iop.org/1468-6996/13/3/035010/pdf/1468-6996_13_3_035010.pdf.
66. SEHNAL, František. *Prospects of the practical use of silk sericins*. 2008, 1 – 5. DOI: 10.1111/j.1748-5967.2008.00168.x.
67. VEČEŘOVÁ, Tereza. *Sericiny, fibroin a jiné produkty bource morušového*. Brno, 2010. Bakalářská práce. Masarykova univerzita Brno.
68. *Dr. Temt* [online]. 2010 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.drtemt.cz/>.
69. *Natinuel* [online]. 2013 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.natinuel.cz/>.
70. *Christina* [online]. 2013 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.christina-kosmetika.cz>.
71. OKAZAKI, Y., H. TOMOTAKE, K. TSUJIMOTO, M. SASAKI, N. KATO. *Consumption of a Resistant Protein, Sericin, Elevates Fecal Immunoglobulin A, Mu-*

- cins, and Cecal Organic Acids in Rats Fed a High-Fat Diet*. 2011, 1 – 7. DOI: 10.3945/jn.111.144246. Dostupné z: <http://jn.nutrition.org/content/early/2011/09/21/jn.111.144246.full.pdf>.
72. LIMPEANCHOB, N., K. TRISAT, A. DUANGJAI, W. TIYABOONCHAI, S. PONGCHAROEN, M. SUTHEERAWATTANANONDA. Sericin Reduces Serum Cholesterol in Rats and Cholesterol Uptake into Caco-2 Cells. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2010. DOI: 10.1021/jf103157w.
73. SAROVART, S., B. SUDATIS, P. MEESILPA, B. P. GRADY, R. MAGARAPHAN. *The use of sericin as an antioxidant and antimicrobial for polluted air treatment*. [online]. 2003 [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: http://www.ipme.ru/e-journals/RAMS/no_3503/sarovart/sarovart.pdf.
74. TANAKA, T. *Antifrosting method, antifrosting agent and snow melting agent*. Japan. 2001.
75. TANAKA, K., S. MIZUNO. Homologues of fibroin L-chain and P25 of Bombyx mori are present in Dendrolimus spectabilis and Papilio xuthus but not detectable in Antheraea yamamai. *Insect biochemistry molecular biology*. 2001. 31: 665 – 677.
76. Fler blog. *Šperky z hedvábných kokonů* [online]. [cit. 2013-04-02]. Dostupné z: <http://www.fler.cz/blog/sperky-z-hedvabnych-kokonu-4457>.
77. Courage + Khazaka electronic GmbH - Marketing Skin Testing. *Dpro scientific* [online]. 2012 [cit. 2013-05-05]. Dostupné z: http://www.dproscientific.com/products_scientific_ck_marketing.php.
78. INCI Directory. *SpecialChem* [online]. 2013 [cit. 2013-05-05]. Dostupné z: <http://www.specialchem4cosmetics.com/services/inci/index.aspx>.
79. Provádění statistické a inženýrské analýzy pomocí doplňku Analytické nástroje. *Office* [online]. 2013 [cit. 2013-05-14]. Dostupné z: <http://office.microsoft.com/cs-cz/excel-help/provadeni-statisticke-a-inzenyrske-analyzy-pomoci-doplнку-analyticke-nastroje-HP010090842.aspx>.
80. VELECKÁ, Magdalena. *Zvlhčující aktivní látky a jejich funkce v kosmetických prostředcích*. Zlín, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
81. PUČÁLKOVÁ, Lenka. *Kosmetické gely s hydratačními účinky*. Zlín, 2012. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

TEWL	Transepidermální ztráta vody.
NMF	Přirozený hydratační faktor.
NIR	Blízké infračervené záření.
FTIR	Fourierova infračervená transformační spektroskopie.
TEUL	Transepidermální ztráta močoviny.
PSG	Zadní část snovací žlázy bource morušového.
MSG	Střední část snovací žlázy bource morušového.
ASG	Přední část snovací žlázy bource morušového.
m	Metr.
g	Gram.
kDa	Jednotka relativní molekulové hmotnosti.
μm	Mikrometr.
bp	Pár bází.
nt	Nukleotid.
SLS	Laurylsulfát sodný.
NaCl	Chlorid sodný.
Ot./min.	Otáčky za minutu.
c. j.	Korneometrické jednotky.
g/h/m ²	TEWL jednotky.
INCI	International Nomenclature of Cosmetic Ingredients

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Schéma bariérové funkce (stratum corneum) a) zdravá kůže, b) narušená pokožka</i>	15
<i>Obr. 2. Bourec morušový</i>	21
<i>Obr. 3. Housenka bource morušového při tvorbě kokonu</i>	21
<i>Obr. 4. Životní cyklus bource morušového</i>	22
<i>Obr. 5. Řez vlákny</i>	24
<i>Obr. 6. Podélný pohled na hedvábné vlákno</i>	24
<i>Obr. 7. Struktura sericinu a fibroinu v hedvábném vlákně</i>	29
<i>Obr. 8. MPA 5 – zleva sonda tewametry a korneometrická sonda</i>	41
<i>Obr. 9. Sonda pHmetru</i>	41
<i>Obr. 10. Visioscope</i>	42
<i>Obr. 11. Emulzní základ</i>	44
<i>Obr. 12. Sericin silkworm</i>	45
<i>Obr. 13. Emulzní základ s 2 % sericinu</i>	45
<i>Obr. 14. Emulzní základ s 4 % sericinu</i>	46
<i>Obr. 15. Emulzní základ s 6 % sericinu</i>	46
<i>Obr. 16. Emulzní základ s 8 % sericinu</i>	46
<i>Obr. 17. Emulzní základ s 10 % sericinu</i>	47
<i>Obr. 18. Nanesení proužků filtračního papíru s roztokem SLS</i>	48
<i>Obr. 19. Označení míst po čtyřhodinové iritaci</i>	49
<i>Obr. 20. Nanesení emulzního základu a připravených krémů s obsahem sericinu</i>	49
<i>Obr. 21. Závislost korneometrického měření hydratace na čase</i>	53
<i>Obr. 22. Srovnání hydratačního účinku krémů hodinu po jejich aplikaci</i>	54
<i>Obr. 23. Srovnání hydratačního účinku krémů dvě hodiny po aplikaci</i>	54
<i>Obr. 24. Srovnání hydratačního účinku krémů tři hodiny po aplikaci</i>	55
<i>Obr. 25. Srovnání hydratačního účinku krémů čtyři hodiny po aplikaci</i>	55
<i>Obr. 26. Srovnání hydratačního účinku krémů 24 hodin po aplikaci</i>	56
<i>Obr. 27. Srovnání hydratačního účinku krémů 48 hodin po aplikaci</i>	56
<i>Obr. 28. Závislost transepidermální ztráty vody z pokožky na čase</i>	58
<i>Obr. 29. Srovnání TEWL z pokožky před aplikací krémů</i>	59
<i>Obr. 30. Srovnání TEWL z pokožky 1. hodinu po aplikaci krémů</i>	60
<i>Obr. 31. Srovnání TEWL z pokožky 2. hodinu po aplikaci krémů</i>	60

<i>Obr. 32. Srovnání TEWL z pokožky 3. hodinu po aplikaci krémů.</i>	61
<i>Obr. 33. Srovnání TEWL z pokožky 4. hodinu po aplikaci krémů.</i>	61
<i>Obr. 34. Srovnání TEWL z pokožky 24. hodinu po aplikaci krémů.</i>	62
<i>Obr. 35. Srovnání TEWL z pokožky 48. hodinu po aplikaci krémů.</i>	62
<i>Obr. 36. Závislost pH pokožky na čase.</i>	64
<i>Obr. 37. Srovnání kontroly a emulzního základu.</i>	66
<i>Obr. 38. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.</i>	66
<i>Obr. 39. Srovnání kontroly a krému s 4 % sericinu.</i>	66
<i>Obr. 40. Srovnání kontroly a krému s 6 % sericinu.</i>	66
<i>Obr. 41. Srovnání kontroly a krému s 8 % sericinu.</i>	67
<i>Obr. 42. Srovnání kontroly a krému s 10 % sericinu.</i>	67
<i>Obr. 43. Srovnání kontroly a emulzního základu.</i>	67
<i>Obr. 44. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.</i>	67
<i>Obr. 45. Srovnání kontroly a krému s 4 % sericinu.</i>	68
<i>Obr. 46. Srovnání kontroly a krému s 6 % sericinu.</i>	68
<i>Obr. 47. Srovnání kontroly a krému s 8 % sericinu.</i>	68
<i>Obr. 48. Srovnání kontroly a krému s 10 % sericinu.</i>	68
<i>Obr. 49. Srovnání kontroly emulzního základu.</i>	69
<i>Obr. 50. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.</i>	69
<i>Obr. 51. Srovnání kontroly a krému s 4 % sericinu.</i>	69
<i>Obr. 52. Srovnání kontroly a krému s 6 % sericinu.</i>	69
<i>Obr. 53. Srovnání kontroly a krému s 8 % sericinu.</i>	70
<i>Obr. 54. Srovnání kontroly a krému s 10 % sericinu.</i>	70
<i>Obr. 55. Srovnání kontroly a emulzního základu.</i>	70
<i>Obr. 56. Srovnání kontroly a krému s 2 % sericinu.</i>	70

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Porovnání složek NMF dle Solera, Rawlinga a Jacobiho.</i>	16
<i>Tab. 2. Zařazení bource morušového</i>	20
<i>Tab. 3. Chemické složení hedvábí.</i>	25
<i>Tab. 4. Aminokyselinové složení sericinu</i>	28
<i>Tab. 5. Stupnice korneometru.</i>	41
<i>Tab. 6. Stupnice tewametry.</i>	41
<i>Tab. 7. Stupnice pHmetru.</i>	42
<i>Tab. 8. Složení emulzního základu dle INCI</i>	44
<i>Tab. 9. Navážky sericinu pro přípravu krémů a pH krémů.</i>	45
<i>Tab. 10. Charakteristika souboru probandů.</i>	47
<i>Tab. 11. Údaje o průběhu měření.</i>	47
<i>Tab. 12. Výsledky měření hydratace pokožky korneometrickou metodou.</i>	52
<i>Tab. 13. Výsledky měření TEWL z pokožky.</i>	57
<i>Tab. 14. Výsledky měření pH pokožky.</i>	63

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Dotazník pro účastníka měření

Příloha P II: Informovaný souhlas

PŘÍLOHA P I: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ

Příloha č.3

Dotazník pro účastníka měření

Jméno:
Příjmení:
Věk:
Pohlaví:
Kód pokusné osoby (evidenční číslo):

Výška:
Váha:

Současný zdravotní stav:

Vyskytuje se u Vás nyní:	ano	ne	jaké
lupénka			-----
ekzém			-----
rakovina kůže			-----
jiné kožní problémy a onemocnění			-----
jizvy, matefská 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 inzulínem			-----
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 jakéhokoliv druhu		

podpis účastníka měření:

datum:

Pouze pro účely organizátora měřeníNa základě zjištěných údajů je účastník a) přijat
b) nepřijat

Zdůvodnění:

Datum:

Podpis organizátora:

PŘÍLOHA P II: INFORMOVANÝ SOUHLAS

Příloha č.4

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, tenzií 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 zrudnout nebo zčervenat, dočasně pálit, svědit nebo se vysušit. Nejsilnější očekávanou reakcí je zrudnutí, které může být doprovázeno místním otokem. Nejsou očekávány žádné trvalé následky.