

# Využití kolagenního hydrolyzátu v kosmetických emulsích.

Ivana Stromková

---

Bakalářská práce  
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav inženýrství polymerů

akademický rok: 2017/2018

## ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Ivana Stromková**  
Osobní číslo: **T15236**  
Studijní program: **B2808 Chemie a technologie materiálů**  
Studijní obor: **Polymerní materiály a technologie**  
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Využití kolagenního hydrolyzátu v kosmetických emulsích**

Zásady pro vypracování:

1. Zpracujte literární studii na zadané téma a zhodnoťte ji s ohledem na praktickou část práce
2. V praktické části připravte kosmetické emulze s různými přísadami kolagenního hydrolyzátu a testujte hydratační vlastnosti emulzí neinvazivní metodou in-vivo
3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, proveďte diskusi
4. Zhodnoťte vhodnost přísady kolagenního hydrolyzátu do kosmetických emulzí pro praxi

Rozsah bakalářské práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

**Barel, A.O., Paye, M., Maibach, H.I. Handbook of Cosmetic Science and Technology, Boca Raton: CRC Press, 2014**

**Goddard, E.D., Gruber, J.V. Principles of Polymer Science and Technology in Cosmetics and Personal Care. Marcel Dekker: New York, 1999**

Vedoucí bakalářské práce:

**doc. Ing. Pavel Mokrejš, Ph.D.**

Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání bakalářské práce:

**2. ledna 2018**

Termín odevzdání bakalářské práce:

**18. května 2018**

Ve Zlíně dne 1. března 2018



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.  
*děkan*



doc. Ing. Tomáš Sedláček, Ph.D.  
*ředitel ústavu*

Příjmení a jméno: IUVANA STROMKOVÁ

Obor: PMT

## 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 <sup>1)</sup>;
- 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 <sup>2)</sup>;
- beru na vědomí, že podle § 60 <sup>3)</sup> 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 <sup>3)</sup> 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 11.5.2018

Stromková

<sup>1)</sup> 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 nevdělečně 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.

<sup>2)</sup> 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).

<sup>3)</sup> 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). Odprá-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 užit 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 výdětku jim 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 přiměřeně k výši výdětku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

## ABSTRAKT

Teoretická část práce se zabývá kosmetickými přísadami – humektanty, živočišnými přísadami (zejména kolagenem), kosmetickými formulacemi (kapalné, polotuhé, tuhé), kosmetickou legislativou a sledováním bariérových vlastností kůže. V praktické části byly připraveny kosmetické formulace typu o/v s různými přídávky kolagenního hydrolyzátu. Byly testovány hydratační účinky (korneometricky), transepidermální ztráta vody a pH kůže pomocí neinvazivních metod *in vivo* u 12 dobrovolnic. Ze získaných výsledků vyplývá, že testované formulace s přídávkem kolagenního hydrolyzátu nezlepšují hydratační účinek a příliš neovlivňují pH kůže, ale významně snižují TEWL a zlepšují tak bariérové vlastnosti kůže.

Klíčová slova: kosmetická formulace, humektant, hydratace, tewametr, korneometr, transepidermální ztráta vody, kolagenní hydrolyzát

## ABSTRACT

Theoretical part of this work is focused on cosmetic ingredients – humectants, animal ingredients (especially collagen), cosmetic formulations (liquid, semi solid, solid), cosmetic legislative and following barrier properties of skin. In experimental part o/v cosmetic formulations with different concentrations of collagen hydrolysate were prepared. Hydration effects (corneometric method), transepidermal water loss and pH of skin by using noninvasive *in vivo* methods on 12 volunteers were tested. From the results it is obvious that tested emulsions do not improve hydration of skin and do not influence pH of skin, but significantly decrease TEWL and improve barrier properties of skin.

Keywords: cosmetic formulation, humectant, hydration, tewameter, corneometer, transepidermal water loss, collagen hydrolysate

## PODĚKOVÁNÍ:

Touto cestou bych ráda poděkovala všem, kteří mě podporovali při psaní této bakalářské práce a také po celou dobu studia, především mé rodině a přátelům.

Velké díky patří také vedoucímu mé bakalářské práce, doc. Ing. Pavlu Mokrejšovi, Ph.D., za vstřícnost, podporu, poskytnutou literaturu a čas, který mi věnoval po celou dobu psaní bakalářské práce. Dále bych ráda poděkovala Ing. Janě Pavlačkové, Ph.D., která organizovala praktické měření a také všem zúčastněným probandům.

## PROHLÁŠENÍ:

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

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 KOSMETICKÉ PŘÍSAKY</b> .....	<b>12</b>
1.1 ČISTIČÍ PŘÍSAKY .....	12
1.2 HYDRATANTY (HUMEKTANTY) .....	13
1.2.1 Kyselina hyaluronová (hyaluronan).....	13
1.2.2 Urea .....	14
1.2.3 Glycerin.....	14
1.2.4 Aquaporin.....	15
1.3 PŘÍRODNÍ PŘÍSAKY .....	15
1.3.1 Rostlinné přísady.....	15
1.3.1.1 Tuky.....	15
1.3.1.2 Oleje.....	16
1.3.1.3 Vosky.....	16
1.3.2 Živočišné přísady .....	17
<b>2 KOSMETICKÉ FORMULACE</b> .....	<b>20</b>
2.1 KLASIFIKACE KOSMETICKÝCH FORMULACÍ .....	20
2.1.1 Kapalné .....	20
2.1.2 Polotuhé.....	21
2.1.3 Tuhé.....	22
2.2 KOSMETICKÁ LEGISLATIVA .....	23
2.2.1 Legislativa v EU.....	23
2.2.2 Legislativa v USA .....	24
2.2.3 Legislativa v Japonsku .....	25
<b>3 SLEDOVÁNÍ BARIÉROVÝCH VLASTNOSTÍ KŮŽE</b> .....	<b>26</b>
3.1 PH KŮŽE .....	28
3.2 MĚŘENÍ TRANSEPIDERMÁLNÍ ZTRÁTY VODY .....	28
3.3 MĚŘENÍ HYDRATACE KŮŽE .....	30
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>32</b>
<b>4 CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>33</b>
<b>5 MATERIÁLY, METODY A POSTUP PRÁCE</b> .....	<b>34</b>
5.1 KOLAGENNÍ HYDROLYZÁT .....	34
5.2 PŘÍSTROJE, POMŮCKY, CHEMIKÁLIE .....	34
5.3 METODIKA A POSTUP PRÁCE.....	37
5.4 PŘÍPRAVA KOSMETICKÝCH EMULZÍ S KOLAGENNÍM HYDROLYZÁTEM.....	41
<b>6 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>43</b>
6.1 VÝSLEDKY MĚŘENÍ HYDRATACE KŮŽE.....	44
6.2 VÝSLEDKY MĚŘENÍ TRANSEPIDERMÁLNÍ ZTRÁTY VODY .....	45
6.3 VÝSLEDKY MĚŘENÍ PH.....	46
<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>47</b>
<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY</b> .....	<b>48</b>
<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK</b> .....	<b>51</b>



<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>52</b>
<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>53</b>
<b>SEZNAM PŘÍLOH.....</b>	<b>54</b>

## ÚVOD

Kosmetické výrobky hrají v našich životech důležitou roli už tisíce let. V současné době jsou vyráběny produkty o vysoké kvalitě, a pokud chceme dále zlepšovat jejich kvalitu, je nutné porozumět tomu, jak tyto produkty nebo jejich přísady přispívají k lepšímu vzhledu a stavu pokožky, k její ochraně nebo k udržení přirozených funkcí. Kosmetické formulace se stávají složitější a kosmetické přísady jsou mnohem funkčnější, zatímco zákony kladou čím dále tím větší omezení výrobcům kosmetických produktů.

Přestože kosmetické výrobky existovaly již od počátku civilizace, k největšímu pokroku v oblasti kosmetiky došlo ve 20. století. V současnosti jsou kosmetické produkty určeny nejen k lepšímu vzhledu a vůni, ale také ke zlepšení stavu pokožky, např. k lepší hydrataci, zpomalení příznaků stárnutí nebo k ochraně kožní bariéry před agresivními látkami, se kterými přichází denně do styku. Agresivními látkami mohou být např. tenzidy, které při nadměrném používání mohou způsobit podráždění pokožky.

Důležitá je pravidelná péče o pokožku a správnou hydrataci, aby byl její povrch jemný a pružný. K takovým účelům se používají hydratační kosmetické produkty, které hydratují, zpevňují a zpomalují stárnutí pokožky, např. oleje, které se přidávají do hydratačních krémů a chrání tak pokožku před ztrátou vlhkosti nebo humektanty, které zabraňují evaporaci a zlepšují jemnost a pružnost pokožky. Vliv na dobrý stav pokožky má také věk, zdravotní stav, genetické predispozice nebo strava.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 KOSMETICKÉ PŘÍPRAVKY

Je složité určit, které z výchozích látek, používaných při výrobě kosmetických přípravků, by se měly považovat za látky pomocné a za látky základní, a proto je lze rozdělit do jediné skupiny základních materiálů a poukázat na rozdílnost jednotlivých skupin látek [1].

### 1.1 Čisticí přísady

Hlavním účelem čisticích přísad je odstranění oleje, bakterií, potu a zbavení se kožních buněk z obličeje a těla. Čisticí přísady reagují s lipidy a bílkovinami pokožky a podněcují keratinocyty ke zvýšení tvorby cytokinů, které mohou způsobit podráždění pokožky [3].

**Tenzidy** jsou povrchově aktivní látky, jejichž schopností je snižovat povrchové napětí.

Pokud se v kosmetice využívá schopnosti povrchově aktivních látek, tedy snižovat mezi-povrchovou energii systému pokožka (vlas) pro dosažení dobrého smáčení povrchu kosmetickou kompozicí, nazývají se takové látky v kosmetické praxi tenzidy [1]. Existuje několik druhů tenzidů.

*Aniontové tenzidy* ve formě pěny mají největší čisticí účinek, tudíž jsou primárně používány jako čisticí prostředky. Mýdlo zahrnuje aniontový tenzid alkyl-karboxylát. Velice známé je aniontové činidlo laurylsulfát sodný (SLS), které dráždí pokožku. Laurethsulfát sodný má dobré čisticí účinky a oproti SLS je u něj méně pravděpodobné, že vyvolá podráždění [3]. Dalším příkladem aniontových tenzidů je  $\alpha$ -olefin sulfonát, který je běžně používán jako tenzid do šamponů [2].

*Kationtové tenzidy* mají nižší čisticí účinek než aniontové tenzidy a jsou velmi dráždivé, ale jsou často používány kvůli svým antimikrobiálním vlastnostem [3]. Tyto tenzidy představují nejsilnější kondicionační přípravky pro pokožku a vlasy. Vzhledem k tomu, že celkový povrchový náboj pokožky a vlasů je negativní, jsou kationtové tenzidy elektrostaticky přitahovány k pokožce a vlasům. Příklady kationtových tenzidů zahrnují aminy a jejich deriváty a nejčastěji užívané kvarterizované amoniové sloučeniny, jako jsou benzalkonium-chlorid nebo stearalkonium-chlorid [4].

*Amfoterní tenzidy* jsou používány v kombinaci s aniontovými a neiontovými tenzidy pro dosažení větší jemnosti šamponů [2]. Jsou populární díky dobrým čisticím účinkům a také díky tomu, že snadno pění. Jejich výhodou je, že minimálně dráždí pokožku [3]. Obsahují

jak pozitivní, tak negativní náboj ve své molekule. Jsou součástí šamponů a přípravků pro děti. Příklady amfoterních tenzidů jsou betainy a sulfobetainy.

*Neiontové tenzidy* nemají žádný elektrický náboj. Jsou to nejčastěji používané povrchově aktivní látky v kosmetice. Jejich aplikační oblasti zahrnují stabilizaci emulze a kondicionaci. Mezi neiontové tenzidy patří estery cukrů a mastných kyselin, např. 3-palmytoyl glukóza nebo monolaurát sacharózy [1, 4].

Podráždění pokožky čistícími prostředky ovlivňuje mnoho faktorů, například pH nebo citlivost pokožky k podráždění, avšak druh tenzidu má na podráždění největší vliv. Nejagresivnější tenzidy jsou s delšími uhlíkovými řetězci ( $C_{10}$ – $C_{14}$ ), protože jsou v roztoku neaktivnější.

## 1.2 Hydratanty (humektanty)

Humektanty jsou hydrofilního charakteru s vysokou absorpční schopností. Jsou to látky hygroskopické povahy, a proto jsou schopny absorbovat vodu z atmosféry. Humektanty jsou také populární přísady v hydratačních krémech, protože zabraňují evaporaci (vypařování), což zvyšuje trvanlivost formulací a některé z nich mohou zabránit růstu bakterií v produktech. Příklady běžně užívaných humektantů zahrnují glycerin, sorbitol, kyselinu hyaluronovou, ureu, propylenglykol nebo  $\alpha$ -hydroxy kyseliny [3]. Dahlrgen a kol. (1987) popisovali pomocí instrumentálních metod pozitivní účinky glycerinu na pokožku. Výsledky ukázaly, že vysoké množství glycerinu zlepšuje povrch pokožky a její jemnost [7].

### 1.2.1 Kyselina hyaluronová (hyaluronan)

Termín „hyaluronan“ se používá k pokrytí jak kyseliny hyaluronové, tak hyaluronátu sodného. Kůže je největším rezervoárem kyseliny hyaluronové, najdeme zde více než 50 % této kyseliny z celkového množství obsaženého v našem těle [5]. Vytváří s vodou roztoky o vysoké viskozitě až viskoelastické gely. Vlastnosti těchto gelů (viskoelastická) závisí na hodnotě pH. Ve formě svých sodných solí ji můžeme nalézt jako součást emulzí nebo kosmetických gelů [1].

### Využití v kosmetice

Kyselina hyaluronová, používaná v přípravcích pro péči o pleť, byla původně získávána z kohoutích hřebenů. Nyní je však většina této kyseliny získávána z bakterií a je vyráběna v laboratorním prostředí. Bylo prokázáno, že lokální použití kyseliny hyaluronové zlepšuje

hydrataci pokožky. Stala se oblíbenou přísadou v přípravcích pro péči o pokožku pro vyhlazení vrásek a zpevnění pokožky [3].

### 1.2.2 Urea

Urea je látka, která se vyskytuje v lidských tkáních, krvi a moči (asi 2 %). Jedná se o lehce hygroskopický, bezbarvý a průhledný krystal nebo o bílý krystalický prášek. Urea je rozpustná ve vodě a prakticky nerozpustná v etheru [5]. Množství urey se odvíjí od intenzity pocení a závisí také na odpařování vody z povrchu kůže. Urea je důležitá pro udržení optimálního množství vody na povrchu kůže a zároveň se podílí na funkční schopnosti epidermální bariéry (tzv. moisturizing effect). Je schopna dlouhodobě vázat vodu a zajišťovat tak v povrchových strukturách dostatečné množství vody (tzv. moisturizér).

#### Využití v kosmetice

Při vyšších koncentracích urey (nad 20 %) dochází k proteolytickému odloučení např. chorobně poškozených nehtů a dochází také ke zvyšování průniku zevně aplikovaných léčiv hlouběji do epidermálních vrstev. Vysoké koncentrace urey (40 %) se používají pro keratolytické odstraňování nehtových plotének, při koncentracích 15 až 20 % by měla být aplikována pouze u lokalizovaných hyperkeratóz a jen po krátkou dobu [6].

### 1.2.3 Glycerin

Význam glycerinu v přípravcích pro péči o pokožku je dobře znám. Aby se prokázaly jeho pozitivní účinky, studie se zaměřily na jeho zvlhčující a ochranné vlastnosti. Koncentrace glycerinu do 25 % se používají v hydratačních přípravcích pro léčbu suché pokožky. Bylo prokázáno, že léčba pokožky pomocí glycerinu o koncentraci 20 % nevykazuje žádné známky nežádoucích účinků [5].

#### Využití v kosmetice

Koncentrace glycerinu do 25 % se používají v hydratačních přípravcích pro léčbu suché pokožky. Glycerin je primárně používaným humektantem v přípravcích pro péči o pokožku. Poskytuje lepivý pocit na pokožce, a proto se používá v kombinaci s jinými humektanty, například se sorbitolem. Sorbitol je používán jako částečná nebo úplná náhrada glycerinu ve formě 70% vodného roztoku. Je méně těkavý a zároveň méně hygroskopický. Sorbitol je schopen vázat přibližně 17 % vlhkosti, zatímco glycerin je schopen vázat 24 % při relativní vlhkosti okolí 58 až 79 % [1]. Glycerin a sorbitol se používají jako přísady do

sprchových gelů, pěn do koupele nebo mýdel, aby se předešlo vysychání samotného výrobku.

#### **1.2.4 Aquaporin**

Použitím aquaporinů zůstává kůže hydratována. Tyto transmembránové proteiny vytváří kanály, které usnadňují transport malých polárních molekul přes buněčné membrány. Některé typy aquaporinů mají schopnost usnadnit transport glycerolu (znám i jako glycerin) a urey. Nejdůležitějším typem aquaporinu pro hydrataci pokožky je tzv. aquaporin 3 [5]. Aquaporin 3 je vodní kanál, který je propustný jak pro vodu, tak pro glycerin. Studie na myších prokázaly, že nedostatek aquaporinu 3 má za následek sníženou elasticitu pokožky a špatnou regeneraci kožní bariéry. Celkově je u savců známo 13 typů aquaporinů, které se klasifikují do dvou skupin. První skupinu tvoří aquaporiny 1, 2, 4, 5 a 8, které slouží pouze pro transport vody, a druhou skupinu tvoří aquaporiny 3, 7, 9 a 10, které dokáží transportovat glycerol nebo ureu [3].

#### **Využití v kosmetice**

Několik společností uvedlo na trh kosmetiku obsahující složky, o nichž se tvrdí, že zvyšují expresi aquaporinu 3. Zvýšená exprese snižuje stárnutí pokožky, působí proti vráskám, zvlhčuje pokožku a má příznivé účinky na její vzhled [7].

### **1.3 Přírodní přísady**

#### **1.3.1 Rostlinné přísady**

Do skupiny rostlinných přísad patří tuky, oleje a vosky. Mají široké využití v přírodní kosmetice a také ve výživě. Působí také příznivě na vzhled pokožky a vlasů.

##### **1.3.1.1 Tuky**

Tuky používané pro kosmetickou výrobu by neměly obsahovat více než 5 % volných mastných kyselin a glyceridy by měly tvořit 95 hm. % materiálu. Důležité je, aby neobsahovaly produkty oxidačního rozkladu tuků (peroxydy, ketony, atd.), protože takové produkty jsou zdravotně závadné. Komplexní triglyceridy obsahující zbytek kyseliny fosforečné a aminoalkohol kolamin nebo cholin by v kvalitním tuku neměly přesahovat množství 5 %. Pigmenty (karoteny, karotenoidy), steroly a uhlovodíky nesmí přesahovat množství 1 % [1].

### 1.3.1.2 Oleje

Olej je látka, která je při pokojové teplotě tekutá a nerozpustná ve vodě. Rostlinné oleje jsou vylišovány ze semen a éterické oleje jsou získávány z jednotlivých částí rostlin, tedy ze stonků, listů a kořenů. Většina olejů a tuků jsou triglyceridy, které jsou složeny z glycerolu a mastných kyselin. Přírodní triglyceridy obsahují pět nejběžnějších mastných kyselin v různých poměrech: kyselina palmitová, stearová, olejová, linolová a linolenová. Rostlinné a rybí oleje obsahují esenciální mastné kyseliny, jako jsou  $\omega$ -6 a  $\omega$ -3 mastné kyseliny. Existuje mnoho druhů olejů, např. arganový, jojobový, olivový, borákový a jiné [3].

**Arganový olej** chrání a hydratuje pokožku. Je složen z tokoferolu, kyseliny fenolové, karotenů a esenciálních mastných kyselin [8]. Arganový olej pochází z plodů rostliny *Argania spinosa*, což je pomalu rostoucí strom nacházející se v jihozápadním Maroku. Olej používaný pro kosmetické účely má zlatou barvu a nemá žádnou chuť. V kosmetice je používán do hydratačních krémů, tělových mlék. Akutní nebo chronická toxicita během používání oleje nebyla zjištěna.

**Borákový (brutnákový) olej** pochází z rostliny, která se nazývá *Borago officinalis*. Používá se v lékařství při léčbě atopické dermatitidy díky svým protizánětlivým účinkům. Menší studie prokázaly účinnost borákového oleje při léčbě atopického ekzému u dětí. Došlo ke zlepšení hydratace a byl zjištěn také protizánětlivý účinek. Borákový olej je důležitou přísadou pro léčbu suché a podrážděné pokožky.

**Jojobový olej** se získává z rostliny *Simmondsia chinensis*. Kosmetické produkty mohou zahrnovat různé formy přísad získaných z této rostliny, ať už se jedná o zmíněný jojobový olej nebo jojobové máslo. Synteticky vyrobený jojobový olej se také používá v kosmetice [3]. Tento olej je relativně stabilní vůči oxidaci a je hojně používán v kosmetice. Mnoho kosmetických produktů, ať už jsou to emulze, krémy nebo spreje, zahrnuje ve svém složení přírodní oleje, tuky nebo vosky [9]. V produktech pro péči o pokožku je typicky používán jako humektant. Na pokožce vytváří ochranný film, který pomáhá udržet vlhkost. Studie na zvířatech uvádí, že při orálním podání jojobového oleje nebyla prokázána jeho toxicita [3].

### 1.3.1.3 Vosky

Vosky tvoří skupinu přírodních i syntetických látek, při teplotě 20 °C tvoří tuhou konzistenci a tají při teplotách nad 40 °C. Jsou tvořeny estery vyšších mastných kyselin a mast-



ných alkoholů. Díky vysokému bodu tání se používají pro výrobu past nebo voděodolných rtěnek. Podle jejich původu se klasifikují na:

**Vosky rostlinné recentní** zahrnují např. vosk karnaubový (listy palmy karnaubové), dále vosk kandelitový (listy mexické kaktusovité trávy), vosk třtinový (vedlejší produkt zpracování cukrové třtiny) nebo vosk kávový (vedlejší produkt výroby instantní kávy). Karnaubový vosk najdeme jako součást rtěnek nebo ve vlasových kondicionérech. Kandelitový vosk je také součástí rtěnek a vosků na vlasy.

**Vosky rostlinné fosilní** tvoří základ vosků, které jsou chemicky změněné (destiláty) i vosků polosyntetických (estery kyseliny montanové  $C_{27}H_{55}COOH$  a vícesytných alkoholů).

**Vosky živočišného původu** mohou být produkovány hmyzem (včelí nebo ghedový vosk) nebo jinými živočichy (lanolin je vosk z ovčí vlny). Jsou známy také vosky z těl mořských savců, tzv. spermacet (spermacetový olej). Včelí vosk je nejvíce používaným voskem v kosmetice. Samotný se používá jako přísada do krémů, ale i v kombinaci s kyselinou stearovou. Lanolin je široce užíván v kosmetice. Je vhodnou složkou v hydratačních krémech [1, 10].

### 1.3.2 Živočišné přísady

Mezi živočišné přísady patří bílkoviny, které mají schopnost zadržovat vysoké množství vody (vlhkosti). Díky této schopnosti jsou součástí mnoha kosmetických přípravků k péči o vlasy i tělo. Zvlhčují pokožku, zvyšují její flexibilitu a vyrovnávají vrásky. Kolagen a elastin působí jako látky, které zadržují vlhkost (humektanty), protože mají schopnost snadno se vázat na pokožku a vlasy [12].

**Kolagen** patří mezi nejdůležitější složku mezibuněčné hmoty a najdeme ho ve všech typech pojiva (řídke pojivo, šlachy, chrupavka, kost). Tvoří sekundární strukturu šroubovice díky vysokému zastoupení aminokyselin prolinu a glycinu. Tato struktura je stabilizována vodíkovými můstky mezi třemi řetězci za vzniku tropokolagenových jednotek [11]. Existuje více než 28 typů kolagenu. Byl klasifikován na základě rozdílné struktury a funkce [16].

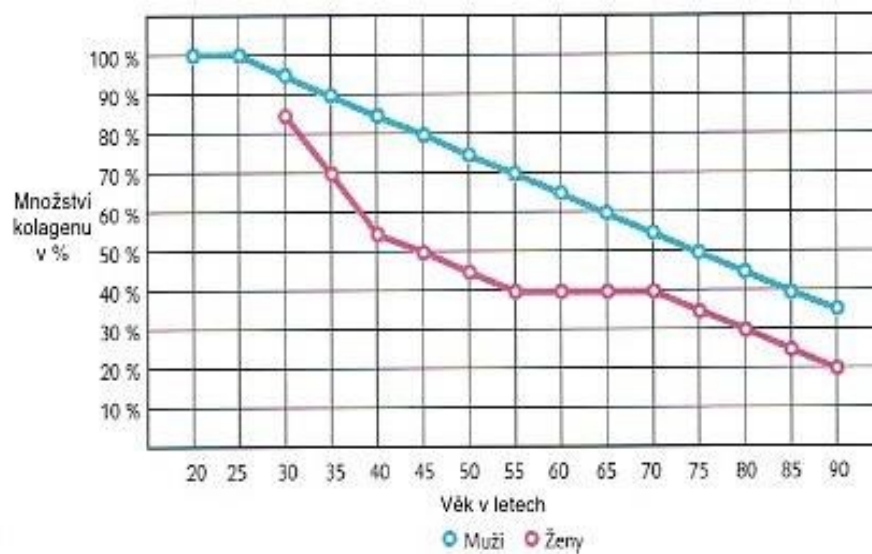
#### Hydrolyzáty kolagenu

Hydrolyzáty kolagenu se získávají alkalickou, enzymovou nebo kyselou hydrolyzou. Při alkalické hydrolyze se používá např. roztok NaOH, KOH nebo  $Ba(OH)_2$  a získáme produkt, který je levnější než rozpustný kolagen. Při enzymové hydrolyze se používají alkalá-

zy a při kyselé hydrolyze zředěné kyseliny (HCl, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>). Hydrolyzáty se snadno rozpouští a vytváří bezbarvé roztoky bez zápachu [12].

### Vliv kolagenu na hydrataci pokožky

Kolagen představuje v kůži až 70 % bílkovin, a proto má vliv na její vzhled, charakter a zdravé fungování. V mladém věku mají kolagenová vlákna síťovité uspořádání, v blízkosti pokožky jsou tenká a orientovaná kolmo k jejímu povrchu. Zabezpečují pevné spojení škáry a pokožky.



Obr. 1: Přirozený úbytek kolagenu u mužů a žen [13]

Kolagen od svého vzniku přechází nezvratnými formami stárnutí, až se za několik měsíců rozpadne na své stavební složky. Mladé formy kolagenu dokáží ve své struktuře zadržet potřebnou vlhkost, kdy jedna molekula kolagenu obsahuje až 50 tisíc molekul vody (aktivní kolagen). Časem však kolagenová vlákna tuhnou a slabě vážou vodu (málo aktivní kolagen). Nejstarší kolagen má formu ztuhnutého gelu a vodu už neváže (neaktivní kolagen neboli želatina). V naší pokožce jsou přítomny všechny formy kolagenu. V mladším věku je produkce mladé formy kolagenu rychlá, ale s rostoucím věkem (hlavně po 30. roku věku) se novotvorba kolagenu zpomaluje, zatímco jeho odbourávání zrychluje.

### Využití v kosmetice

Kolagen je v kosmetice využíván díky své biokompatibilitě a dostupnosti. Používá se např. do přípravků pro péči o pleť, zejména jako krém proti vráskám, který se stal oblíbeným u žen. Naproti tomu může vyvolat alergické reakce a záněty [16].

V současné době se v kosmetice používá kolagen z více akceptovaných živočichů, kolagen zbavený alergenních částí, rostlinný kolagen, mořský kolagen nebo syntetický kolagen [13]. Kolagen pro kosmetické účely se nejčastěji získává z telecích nebo hovězích kůží. Najdeme ho také v pleťových maskách, kde působí nerozpustný, vláknitý kolagen jako hydratant. Jako hydratanty jsou používány i hydrolyzáty kolagenu [1].

*Rozpustný kolagen* se připravuje z vepřových kůží. Vepřový materiál je velice blízký lidskému a alergie se vyskytují minimálně.

*Kolagen ze sladkovodních ryb, kolagen z mořských ryb* je kolagen ze sladkovodních ryb (kapr) a z mořských ryb (žralok). Na vnějších vrstvách kůže vytvoří proteinový film, který zabraňuje vysychání pokožky.

*Hydrolyzovaný kolagen* se připravuje štěpením velké molekuly kolagenu enzymatickou proteolýzou. V kosmetice se častěji používají hydrolyzované bílkoviny o střední molekulové hmotnosti s vyšší rozpustností.

*Fytokolagen* je rostlinný kolagen tvořený pšeničnými proteiny [5, 13].

**Elastin** je vláknitý protein, který se nachází v pojivových tkáních. S glykoproteiny tvoří pružná vlákna v pojivových tkáních. Vysoké zastoupení má glycin (kolem 33 %) a prolin, méně zastoupené jsou valin, leucin, izoleucin a alanin.

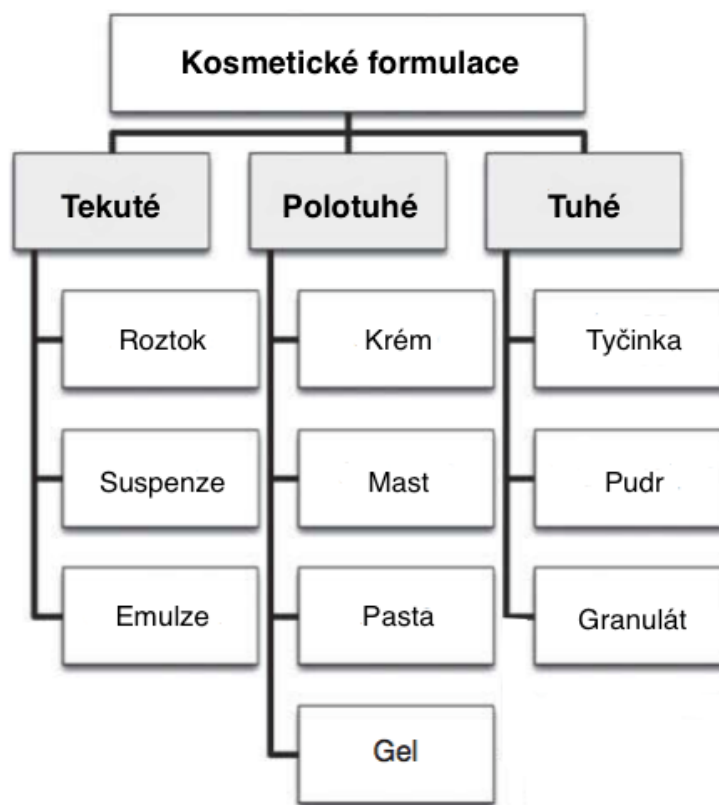
Elastin se pro kosmetické účely získává z kůží, tkání aorty a z dlouhých hovězích šlach [1]. Elastinová vlákna jsou v porovnání s kolagenem méně pevná, ale pružnější. Rozhodují o tom, v jakém směru se naše kůže rozpíná při naší mimice. Nejvíce elastinu máme tedy na obličeji. V kosmetice se nejvíce používají hydrolyzované formy elastinu, zejména z mořských zdrojů [13]. Hydrolyzovaný elastin má vyšší rozpustnost, a proto je více využíván pro kosmetické účely. Elastin se používá na suchou pokožku a zvyšuje její pružnost [8].

**Keratin** má vysoký obsah aminokyseliny cystein, čímž se odlišuje od kolagenu. Řadí se mezi fibrilární proteiny a jeho součástí jsou také aminokyseliny cystin a methionin, které ve své molekule obsahují síru. Keratin je nerozpustný a vyznačuje se pevností v ohybu [12].

Patří mezi nejhojnější bílkovinu nacházející se ve vlasech. Proniká až do struktury poškozeného vlasu a dokáže obnovit jeho strukturu. Používá se do šamponů a kondicionérů a také v prostředcích pro péči o pokožku [14, 15].

## 2 KOSMETICKÉ FORMULACE

Kosmetická formulace je chápána jako konečná forma směsi chemických přísad (kosmetických přísad), kterou mohou spotřebitelé koupit a používat jako kosmetický přípravek.



Obr. 2: Schéma rozdělení kosmetických formulací [4]

### 2.1 Klasifikace kosmetických formulací

#### 2.1.1 Kapalné

**Roztok** je nejjednodušším typem formulace. Jedná se o čirou, homogenní kapalnou směs, která obsahuje jednu nebo více látek rozpuštěných v rozpouštědle [4]. Může být bezbarvý nebo zbarvený a často parfémovaný nebo alkoholický.

**Suspenze** tvoří dispergovanou fázi (pevné částice) a kontinuální fázi, která je označována jako vehiculum (kapalina). Pevné částice mají při skladování tendenci sedimentovat. Sedimentaci lze zabránit přidáním povrchově aktivní látky nebo zahušťovadla, které zvýší viskozitu disperzního prostředí. Tato zahušťovadla vytváří na pokožce souvislou vrstvu [1].

**Emulze** tvoří dvoufázový systém sestávající nejméně ze dvou nemísitelných kapalin, kdy jedna kapalina je dispergována ve formě kapiček ve druhé kapalině, která tvoří kontinuální fázi [4]. Emulze jsou velmi často používány do kosmetických produktů, např. jako chladiivé masti, krémy na ruce a deodoranty. Jejich výhodou je čisticí účinek a snadné použití [17]. Emulze jsou tvořeny olejovou fází, vodnou fází a emulgátorem. Existují dva druhy emulzí: olej ve vodě o/v a voda v oleji v/o.

V emulzi typu o/v tvoří olej vnitřní část (chráněnou) a voda vnější část (nechráněnou), proto je citlivá na vysychání. Nevytváří mastný film na pokožce, a proto je vhodná pro mastnou pleť. Tento typ emulze tvoří většinou tělová mléka, vlasové kondicionéry nebo krémy na holení. V emulzi typu v/o je uspořádání fází opačné. Moderní technologie umožňují zakomponovat do olejového základu 30 až 75 % vodné fáze, která je před vysycháním chráněna vnější olejovou složkou. Kosmetologie potvrdila, že hydratační účinek emulzí v/o je mnohem větší než emulzí o/v. Jsou odolnější vůči vodě, protože obsahují olej ve vnější fázi a používají se do opalovacích krémů [4, 13]. Existují i jiné druhy emulzí typu voda v oleji a ve vodě (v/o/v), kde jsou vnitřní a vnější části vodné fáze odděleny olejem a olej ve vodě a v oleji (o/v/o), kde vodná fáze odděluje dvě olejové fáze [18].

### 2.1.2 Polotuhé

**Mast** je polotuhá formulace, která obvykle obsahuje méně než 20 % vody a více než 50 % uhlovodíků a vosků. Obsahují malé množství vody nebo jsou bezvodé. Aplikují se na menší oblasti pokožky, která je vysušená. Masti jsou často neprůhledné a nažloutlé díky vysokému množství olejů. Používají se jako přípravky pro úpravu vlasů.

**Pasta** je velice hustá formulace, která se obtížně aplikuje na pokožku díky vysokému obsahu tuhých látek [4]. Její základ tvoří masti, které obsahují práškovité komponenty nerozpustné ve vodě a rozpouštědlech. V kosmetice jsou využívány omezeně, např. pro ošetření pokožky kojenců nebo ke krytí vysoce citlivých oblastí pokožky. Měkké pasty se používají u zapálené pokožky nebo pro ošetření pokožky kojenců. Tyto pasty jsou emulze, do kterých se přidávají tuhé prášky a jejich výhodou je snadné nanášení na pokožku [1].

**Gel** tvoří průhlednou a polotuhou formulaci. Některé látky vytváří s vodou nebo jinými rozpouštědly kapalnou suspenzi, které při změně vnějších podmínek přejdou v tuhé gely. Obsahují větší množství vody ve srovnání s ostatními kosmetickými formulacemi. Jakmile se voda po aplikaci vypaří, poskytuje chladivý efekt, který se využívá např. u gelů po holení, protože odpařování vody nebo alkoholu má osvěžující účinek. Používají se také jako

přípravky pro úpravu vlasů nebo pro čištění pleti. Při odstranění vody z gelu vysušením vzniká xerogel, který může zpětně přijmout vodu a vznikne opět původní gel. Gely vznikají při botnání tuhých látek ve vodě [1, 4].

**Krém** je emulze, která obvykle obsahuje více než 20 % vody a méně než 50 % uhlovodíků a vosků. Vzhledem k tomu, že krémy obsahují vyšší množství olejové fáze, jsou obecně mastnější. Tvoří emulze typu o/v nebo v/o. U emulzí typu o/v se používají zejména hydrofilní povrchově aktivní látky, zatímco u emulzí typu v/o se používají lipofilní povrchově aktivní látky. Krém má vysokou viskozitu, proto také málo teče. Nejčastějšími produkty jsou opalovací krémy, hydratační krémy na obličej, vlasové kondicionéry nebo depilační krémy. Tělové krémy jsou emulze typu o/v nebo v/o a jejich výhodou je rovnoměrné rozložení emulze na velké plochy pokožky. Jejich úkolem je zadržovat vlhkost v pokožce [4, 19].

### 2.1.3 Tuhé

**Tyčinka** je aplikátor, který je využíván v kosmetice (rtěnky, deodoranty). Tyčinky se vyrábí tvarováním, kdy jsou voskovité složky roztaveny a smíchány s oleji a dalšími přísadami. Horká směs se nalije do konečných nádob a nechá se vychladnout. Materiál pro výrobu deodorantů je vkládán do pouzdra v teplém a tekutém stavu a následně při pokojové teplotě ztuhne. Při výrobě rtěnky je materiál nejprve formován do tvaru tyčinky a poté je vložen do pouzdra, které je vyrobeno z polystyrenu [4, 20]. Tyčinky mohou po nanesení pokožku barvit a zanechávají na ní mastný film. Jsou složeny z esterů mastných kyselin (resp. z vosků), polyolů, polyethylenglykolů nebo z jiných změkčovadel a dispergátorů.

**Pudr** tvoří práškovitou kompozici, která obsahuje jeden nebo více typů práškových substancí. Jeho složení je závislé od požadovaného účinku na pokožku. Tekuté pudry tvoří mastek: křemičitan hořečnatý, oxid zinečnatý, oxid titaničitý, glycerol a voda. Kompaktní pudry tvoří barevné prášky s příměsí pojivého materiálu [1]. Sypké pudry se používají u některých produktů na makeup (oční stíny) a najdeme je také v dětských pudrech [4].

**Granulát** je robustní přípravek, který se skládá z jemně práškových materiálů, které mají výrazně menší velikost částic ve srovnání s pudry. Granuláty využívané v kosmetice (např. prášky na čištění zubů) se ve styku s vodou lehce rozpadají a díky tomu vytváří snadno roztíratelné pasty nebo suspenze. Používají se v takových případech, kdy dochází k uvolňování jejich účinné složky [1].

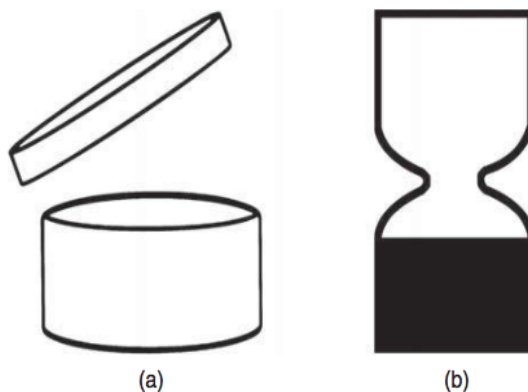
## 2.2 Kosmetická legislativa

Výroba a prodej kosmetických produktů se řídí předpisy ve většině zemí světa. Největšími producenty kosmetických výrobků na světě jsou Spojené státy americké (USA), Evropská unie (EU) a Japonsko, proto jsou nařízení v těchto zemích modelem pro celý svět. Jednotlivé orgány nadále rozvíjely a zdokonalovaly právní předpisy řídící výrobu a prodej kosmetických výrobků. Důležitý je také vztah mezi legislativou upravující výrobu a prodejem kosmetických produktů a léků. Aby byl výrobek zařazen do kategorie kosmetických produktů, musí být věnována velká pozornost jednotlivým kosmetickým přísadám ve výrobku a také jeho prezentaci. Některé výrobky jsou v USA, EU a Japonsku rozděleny do jednotlivých kategorií rozdílně. Příkladem mohou být krémy na opalování, šampony proti lupům a zubní pasty obsahující fluorid. Obvykle se stává, že výrobky, které jsou v EU klasifikovány jako kosmetické, v USA a Japonsku mohou být označovány jako léčivé. Vývoj produktu bývá konzultován v počáteční fázi procesu. Předpisy, které mají dopad na výrobu a prodej kosmetických produktů, zahrnují: právní autoritu, seznam přísad, registraci surovin a formulací, informace o produktu, inspekční orgán, oznámení o toxikologickém centru [21].

### 2.2.1 Legislativa v EU

Nařízení o kosmetických výrobcích EU má za úkol zajistit ochranu zdraví spotřebitele a dostatečně ho informovat o složení výrobku. Nařízení také udává informace o bezpečnosti výrobku a zákazu testování na zvířatech [4]. Nahradit testování na zvířatech alternativními metodami je v EU priorita. Poslední zákaz vstoupil v platnost dne 11. března 2013 [22]. Evropská komise má zodpovědnost za právní předpisy v oblasti kosmetiky v rámci EU. Každý členský stát určí příslušný orgán, který prosazuje legislativu. Je důležité si uvědomit, že některé kosmetické produkty (krémy na opalování) jsou v USA považovány za léčiva. Pokud je uveden na trh nový kosmetický výrobek, jeho uvedení musí být schváleno úřadem stejně jako v USA. EU má také určitá omezení, která se týkají používání kosmetických přísad. Tato omezení udávají seznam povolených barevných přísad, konzervačních látek, UV filtrů a zakázaných přísad. Seznamy obsahují mnohem více kosmetických přísad než seznamy v USA. Nařízení dále zakazuje používání látek, které jsou označovány jako karcinogenní, mutagenní nebo toxické [4]. Nařízení EU vstoupilo plně v platnost dne 11. července 2013 a je založeno na zajištění vysoké úrovně ochrany lidského zdraví [22]. U produktů, které mají minimální dobu trvanlivosti větší než 30 měsíců, by mělo být období po otevření označeno symbolem otevřené nádoby. Otevřená nádoba je doplněna číslem,

kteřé udává trvanlivost produktu a písmeno „M“ odkazuje na měsíce (Obr. 3 a). Naopak u produktů, které mají minimální dobu trvanlivosti kratší než 30 měsíců, musí být datum spotřeby vyznačeno symbolem přesýpacích hodin (Obr. 3 b) [4].



Obr. 3: Označení expirační doby u kosmetických produktů v EU [4]

### 2.2.2 Legislativa v USA

Úřad pro kontrolu potravin a léčiv (FDA) je zodpovědný za předpisy týkající se kosmetických výrobků. Jeho úkolem je zajistit, aby byla kosmetika bezpečná a náležitě označená. Produkt, který je považován jak za léčivo, tak za kosmetický přípravek, musí splňovat požadavky obou kategorií, např. krémy na opalování se považují za léčiva i za kosmetické přípravky [21]. Výroba kosmetických produktů by měla být prováděna takovým způsobem, aby byly výrobky bezpečné, účinné a kvalitní. V USA mohou výrobci kosmetických produktů používat různé přísady bez jakéhokoli souhlasu. Omezení platí pouze pro použití barevných aditiv a zakázaných přísad. Výrobci kosmetických produktů odpovídají za bezpečnost výrobků a jejich přísad ještě před uvedením na trh. Úkolem každého výrobce je zajistit, aby byl výrobek pro spotřebitele bezpečný. Expertní skupina posuzování kosmetických přísad (CIR) kontroluje údaje o kosmetických přísadách a rozhoduje, zda jsou bezpečné pro použití. Tímto způsobem pomáhá výrobcům vybrat přísady pro jejich kosmetické produkty. Kosmetické produkty musí být před uvedením na trh zabaleny a označeny, musí také informovat spotřebitele o složení výrobku a způsobu použití. Všechny kosmetické výrobky, které jsou importovány do USA, podléhají stejným zákonům jako výrobky v USA, to znamená, že musí být bezpečné a musí splňovat všechna pravidla označování a balení výrobků [4].



### 2.2.3 Legislativa v Japonsku

Legislativa v Japonsku je řízena Ministerstvem zdravotnictví, práce a sociálních věcí (MHLW). Výrobce je zodpovědný za bezpečnost výrobku a je také jeho povinností vybrat vhodnou analytickou metodu pro detekci škodlivých látek ve výrobcích. Kosmetické výrobky mohou být kontaminovány širokou škálou nežádoucích látek [22]. MHLW je zodpovědné za kontrolu jednotlivých formulací a za následné udělení dovozní nebo vývozní licence. Obaly kosmetických produktů musí obsahovat předepsané informace:

- jméno a adresu licencovaného výrobce nebo dovozce
- úplný a přesný obchodní název licencované kosmetiky
- číslo šarže
- expirační dobu

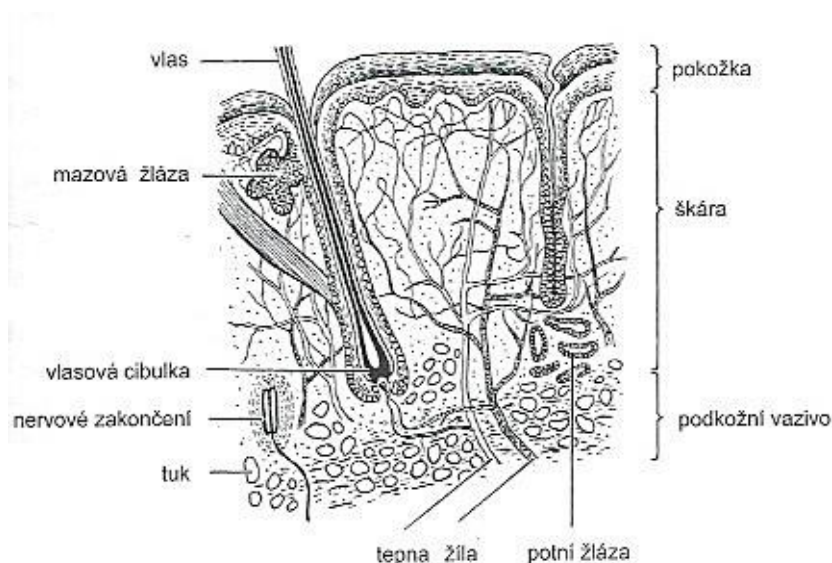
Informace na etiketě musí být uvedeny v japonštině (katakana) a musí být dobře čitelné. Na etiketě jsou také uvedeny přísady kosmetického výrobku. Pro každý kosmetický výrobek, který je prodáván v Japonsku, je požadována licence. Při prvním použití kosmetické přísady ve výrobku podléhá tento výrobek bezpečnostní kontrole. Všechny kosmetické přísady, které jsou používány při výrobě kosmetických výrobků, musí být schváleny MHLW [21].

### 3 SLEDOVÁNÍ BARIÉROVÝCH VLASTNOSTÍ KŮŽE

Kůži ovlivňuje vnější prostředí (počasí) a vnitřní prostředí organismu (jeho změny a zdravotní stav člověka).

Skládá se ze tří částí:

- pokožka (*epidermis*)
- škára (*dermis*)
- podkožní vazivo (*tela subcutanea*) [23]



Obr. 4: Řez kůží [23]

Nejdůležitější funkcí kůže je působit jako bariéra vůči škodlivinám a jejímu vysušování. Musí být splněny určité faktory, tedy optimální rohovatění buněk pokožky, dostatek a vhodné složení mezibuněčné hmoty, přirozeného hydratačního faktoru a kyselého kožního filmu. Základ mezibuněčné hmoty tvoří lipidy, které se tvoří zejména v horní části zrnité vrstvy pokožky (*stratum granulosum*). Mezibuněčná hmota zabraňuje vysychání pokožky a zároveň i nadměrnému zavodnění. Působí také jako chemická bariéra, protože reguluje prostup látek z vnějšího prostředí do kůže [13].

Kůže se z hlediska hydratace dělí na několik typů:

- normální
- suchá
- mastná
- citlivá

*Normální kůže* není přesně definována a obvykle je srovnávána s jinými typy kůže. Obecně je popisována jako ne příliš mastná a ne příliš suchá. Je funkčně vyvážená, hladká, obsahuje jemné póry a je také dobře zásobena krví. Neprojevuje se žádnou závažnou citlivostí.

*Suchá kůže* se vyskytuje poměrně často a u většiny lidí se projevuje vlivem různých faktorů. Její povrch je drsný a matný, což může vést k napjatosti a svědění. Kromě toho se projevuje začervenaním a ztrácí elasticitu. Suchá kůže má tendenci k předčasnému stárnutí. Kůži vysušuje mnoho faktorů, např. chladné počasí, sluneční záření nebo častý kontakt s vodou a povrchově aktivními látkami.

*Mastná kůže* má rozšířené póry a je na pohled velmi lesklá v důsledku nadměrné aktivity mazových žláz. Mastnota je nejvíce viditelná na čele, nosu a bradě. Mastná kůže se nejčastěji objevuje v období dospívání a postihuje vysoké procento mladých lidí. Tento typ kůže ovlivňuje několik faktorů, zejména genetická dědičnost, hormonální změny, strava, stres a různé druhy kosmetických přípravků.

*Citlivá kůže* se projevuje pálením i bolestmi při používání různých kosmetických přípravků nebo mýdel. Je citlivá na UV záření, teplo, chlad a vítr. Citlivá kůže se projevuje nejčastěji v oblastech obličeje, ale může se týkat i jiných částí těla, např. rukou, pokožky hlavy nebo genitálních oblastí [4].

**Přirozený hydratační faktor (natural moisturizing factor, NMF)** je hydrofilní materiál schopný absorbovat vlhkost. Pokud rohová vrstva dokáže udržet 15 až 30 % vody, zachovává si pružnost, pevnost a vláčnost. Tuto schopnost NMF výrazně ovlivňuje. Složky NMF ve svých molekulách absorbují vodu z atmosféry a kombinují ji s vlastní vlhkostí [13]. Je definován jako směs volných aminokyselin a dalších ve vodě rozpustných látek s nízkou molekulovou hmotností, které se nachází v korneocytech. Na produkci NMF se podílí bílkovina filaggrin, která vzniká zejména v zrnité vrstvě pokožky. V horních vrstvách rohoviny je filaggrin rozložený na aminokyseliny, které tvoří asi 40 % NMF a na kyselinu pyrrolidonkarboxylovou, která je derivátem aminokyselin a tvoří asi 12 % NMF. Tyto látky jsou

velice důležité pro hydrataci a udržení kyselého pH pokožky. Dalšími složkami NMF jsou kyselina mléčná a laktáty (asi 12 %), urea (asi 7 %), cukry (asi 9 %), chloridy, fosforečnany a citráty sodné, draselné, vápenaté a manganaté (asi 18 %), kyseliny urokanová a močová, močovina, glukozamin a kreatin (asi 1,5 %) [13, 24].

### 3.1 pH kůže

Více než 100 let je známo, že pH kůže je kyselé díky kyselým složkám jako je pot a maz, avšak kůže nemá stejnou hodnotu pH po celém těle. V závislosti od lokality a individuálních faktorů má hodnoty pH 4,5 až 6,7. Průměrně má hodnotu pH = 5,5. Označuje stupeň kyselosti nebo zásaditosti látky nebo kosmetického výrobku vůči vodě. Kyselé látky mají hodnotu pH < 7, zásadité naopak pH > 7. Pokud je pH = 7, látka se označuje jako neutrální [13]. Ovlivňuje hydrataci a bariérovou funkci kůže.

Hodnota pH zůstává konstantní mezi 18 a 60 lety. Muži a ženy starší 80 let vykazují vyšší hodnoty pH. V jedné ze studií bylo zjištěno, že 89 % účastníků mělo vyšší hodnotu pH na tváři než na čele. Účastníci mladší 80 let měli průměrnou hodnotu pH na čele mezi 4,0 a 5,5 a na tváři 4,2 až 5,9. V jiné studii se měřily hodnoty pH u účastníků s akné a bez akné, ale rozdíly byly nepatrné. Hodnoty pH ovlivňuje rasa, pohlaví a dědičnost. Gupta a kol. (1987) měřili pH kůže u skupiny indiánů, která se skládala z 30 mužů a 25 žen ve věkovém rozmezí 12 až 58 let. Výsledky ukázaly, že pH této skupiny bylo více zásadité. Rozdíly hodnot pH u mužů a u žen nebyly dosud zcela prokázány. Dosud zveřejněné studie ukazují protichůdné výsledky. Většina studií dokázala, že u mužů je pH kůže kyselejší než u žen, zatímco jiné studie dokázaly, že u žen je pH kůže kyselejší ve srovnání s muži. Naopak u jiných studií byly hodnoty pH u mužů a u žen bez větších rozdílů. Existuje mnoho vnějších faktorů, které ovlivňují pH povrchu pokožky. Mezi tyto faktory patří např. používání mýdla, detergentů a různých kosmetických přípravků. Bylo prokázáno, že při dlouhodobém používání těchto látek dochází ke změnám pH pokožky a do určité míry ovlivňují i kožní mikroflóru [5].

### 3.2 Měření transepidermální ztráty vody

Voda se dostává z hlubších vrstev směrem k povrchové vrstvě pokožky a odtud se odpařuje. Tento jev se označuje jako „transepidermální ztráta vody“ (TEWL) a udává celkové množství odpařené vody z povrchu pokožky ( $\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ ). Pokud je kůže poškozena, je také

ohrožena bariérová funkce kůže a lze pozorovat nárůst TEWL. Voda je nezbytnou součástí pokožky, udržuje ji pružnou a hydratovanou [4].

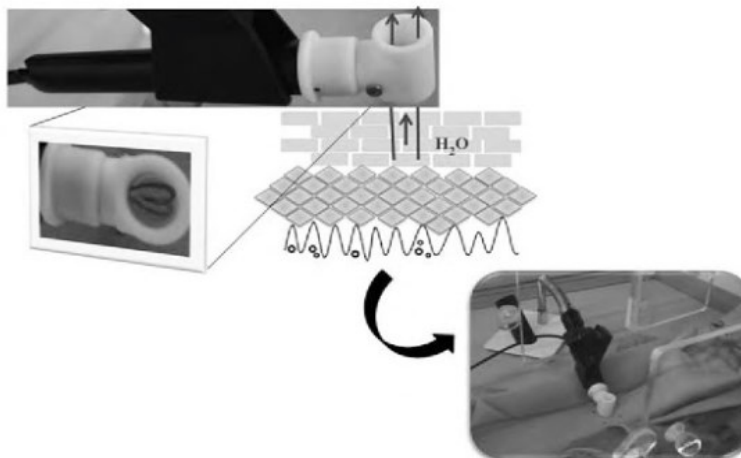
Většina studií neprokázala významné rozdíly při ztrátě vody mezi pohlavími, ale u některých studií bylo naopak zjištěno, že ztráta vody u mužů je větší než u žen. Vztah mezi věkem a TEWL je zpochybňován, jelikož někteří vědci dospěli k závěru, že mezi těmito parametry neexistuje žádný vztah, zatímco jiní tvrdí, že záleží na lokalitě, kde jsou měření prováděna.

Obvykle jsou přístroje měřící TEWL založeny na měření gradientu tlaku vodní páry na povrchu pokožky. Gradient se měří uvnitř válcové komory se dvěma snímači vlhkosti. Přístroje pro měření TEWL se dělí na systémy s otevřenými komorami a na systémy s uzavřenými komorami. Přístroje s otevřenými komorami se skládají z malého dutého válce, který je přikládán na kůži. Vzduch uvnitř je ovlivňován jak vnějšími proudy vzduchu, tak výparů z povrchu pokožky. Gradient tlaku vodní páry je jiný pro různé úhly dotyku sond, protože hodnoty TEWL závisí na tom, zda měřicí plocha, a tedy i sonda, směřují nahoru nebo dolů. Přístroj s otevřenou komorou se nazývá tewametr. Nevýhodou otevřených komor je velikost sondy a rozdílné úhly dotyku sond při měření. Dalšími důležitými faktory, které je potřeba vzít v úvahu při měření TEWL s otevřenými komorami, jsou konvekce vzduchu, teplota v místnosti a vlhkost. Existují také přístroje s uzavřenými komorami pro měření TEWL (VapoMetr), které mají pouze jeden otvor. Otevřený konec je umístěn na povrch pokožky a vodní pára difunduje do uzavřené komory. Sonda musí zůstat během měření suchá. Jejich nevýhodou je však blokování odpařování vody z kůže. Tento problém byl vyřešen zkrácením doby měření, které trvá méně než 10 s [26, 27, 28].

Umístění sondy na povrch pokožky ovlivní TEWL, protože hustota toku vody na nekryté pokožce je jiná než hustota toku v měřicích komorách. Aby bylo měření TEWL co nejpřesnější, byla navržena určitá doporučení. Před vlastním měřením je důležitá aklimatizace (alespoň 15 min). Během této doby musí být oblasti pokožky, které budou měřeny, odkryty. Pokojová teplota by se měla pohybovat kolem 22 °C a relativní vlhkost by měla být asi 50 % (i méně). Při umístění sondy na povrch pokožky nesmí být použit příliš velký nebo příliš malý tlak a musí být zajištěno, že mezi sondou a pokožkou nebude žádný volný prostor.

TEWL je jeden z nejdůležitějších parametrů indikující stav kožní bariéry. Hodnota TEWL je zvýšena u různých druhů kožních chorob (atopický ekzém), naopak snížení hodnot indi-

kuje obnovení kožní bariéry. Tento parametr je velice citlivý a závisí na mnoha faktorech, např. na věku, měřených oblastech pokožky, teplotě pokožky nebo také na ročním období [28].

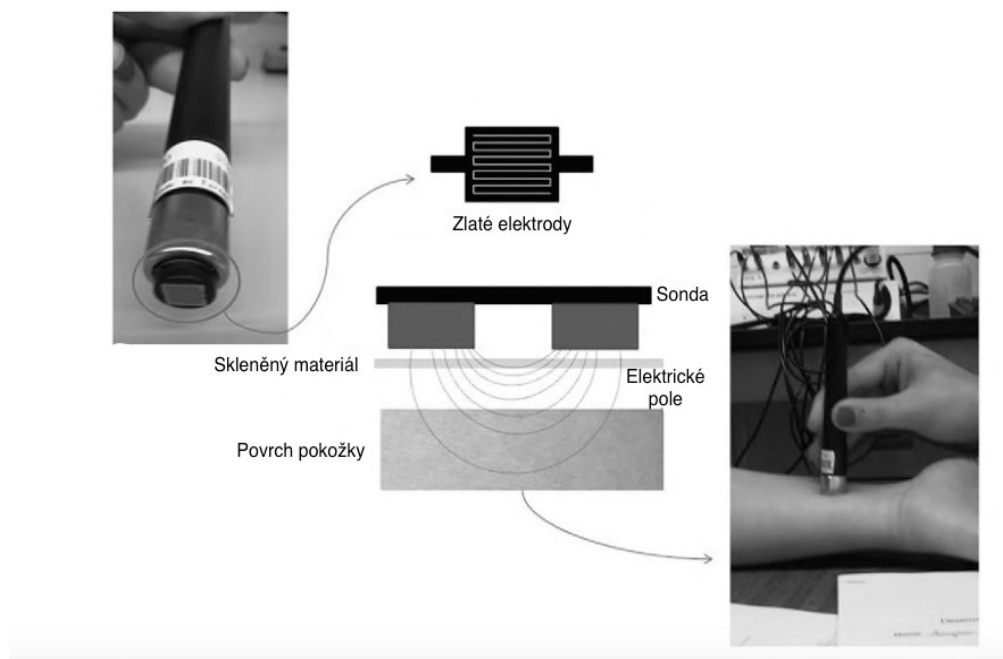


Obr. 5: Měření TEWL pomocí Tewametru [29]

### 3.3 Měření hydratace kůže

Obsah vody v kůži je přibližně 80 %. Rohová vrstva má nižší obsah vody (asi 10 až 30 %). Množství vody v povrchových vrstvách pokožky má největší význam při určování mnoha vlastností. Pokud je množství vody v pokožce dostatečné, její povrch se jeví jako hladký a měkký. Ale pokud je její množství nižší, pokožka je suchá a může se vyskytnout zarudnutí a svědění [4]. Hydratace ovlivňuje vzhled a mechanické vlastnosti kůže. Důležitou roli pro hydrataci pokožky mají lipidy nacházející se v rohové vrstvě. Tyto lipidy jsou složeny přibližně ze 40 až 50 % ceramidů, 20 až 25 % cholesterolu, 15 až 25 % mastných kyselin a 5 až 10 % cholesterol sulfátu [5]. V rohové vrstvě najdeme také vrstvy bezjaderných a oploštělých buněk, které se nazývají korneocyty. Buňky k sobě přiléhají a jsou tvořeny keratinem, který je odolný vůči chemickým i fyzikálním vlivům [25]. Dostatečná hydratace je nezbytná pro to, aby pokožka předcházela fyziologickým procesům, které vedou k jejímu stárnutí a tím i k ubývání kolagenu, elastinu a ke snížení regenerace buněk. Účinné je používání hydratační kosmetiky, díky které dochází k zadržení vody na povrchu pokožky. Je prokázáno, že hydratovaná pokožka stárne pomaleji a je lépe chráněna vůči vnějším vlivům. V dehydratované pokožce jsou buňky méně pružné a dochází tak k nárůstu hodnot TEWL [29].

Přístroj používaný k měření hydratace kůže se nazývá korneometr. Využívá se v testování kosmetiky více než 25 let. Měření je rychlé, snadné a dokáže detekovat i ty nejmenší změny hydratace. Nevýhodou je, že soli na povrchu pokožky mohou ovlivnit hodnoty hydratace. V kosmetice je testována rohová vrstva pokožky. Korneometrie se řadí mezi kapacitní metody. Princip měření je založen na různých dielektrických konstantách vody a jiných látek. Konkrétním příkladem je korneometr CM 825, který měří hydrataci pomocí sondy. Tato sonda je sestavena ze zlatých obvodů tvaru čtverce a na povrch pokožky je přikládána s mírným tlakem. Sonda je pokryta skleněným materiálem o tloušťce 20  $\mu\text{m}$  a díky tomu neprochází náboj skrz pokožku [4, 29, 30]. Nedávno prováděná studie porovnávala měření mezi velmi suchou, suchou a normální pokožkou pomocí korneometru CM 825. Pro jednotlivé typy pokožky byly definovány určité kategorie, kdy velmi suchá pokožka má hodnoty hydratace menší než 30, pro suchou pokožku nabývá hodnot mezi 30 až 40 a pro normální pokožku jsou hodnoty vyšší než 40. Hydratace se uvádí v korneometrických jednotkách (c. j.) [5].



Obr. 6: Měření hydratace kůže korneometricky [29]

## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**



## 4 CÍLE PRÁCE

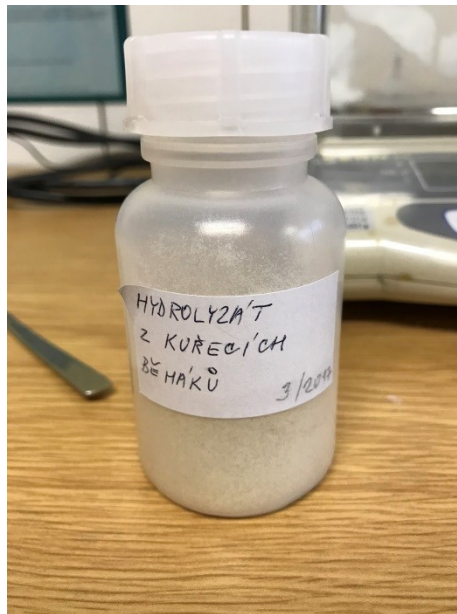
Cílem teoretické části práce bylo vypracování literární studie, která se zabývala zejména účinky kosmetických přísad na pokožku. Důraz byl kladen také na bariérové vlastnosti kůže, protože soudobá literatura nezmiňuje mnoho studií ohledně těchto vlastností.

Cílem praktické části práce bylo připravit kolagenní hydrolyzát (KH) a otestovat jeho účinky na bariérové vlastnosti kůže po přidání do kosmetické emulze, tedy transepidermální ztrátu vody, pH a hydrataci neinvazivní metodou (sondami). Na pokožku má vliv mnoho faktorů, a jelikož každá z provedených studií zjistila rozdílné výsledky vlivu těchto faktorů, byly na probandech otestovány účinky KH na pokožku. Dalším cílem bylo statistické zpracování výsledků, prezentace výsledků a návrh optimálního přídatku kolagenního hydrolyzátu do kosmetické emulze.

## 5 MATERIÁLY, METODY A POSTUP PRÁCE

### 5.1 Kolagenní hydrolyzát

Kolagenní hydrolyzát (obsah bílkovin v sušině 99 %) byl připraven hydrolyzou z kuřecích běháků za použití mikrobiální proteinázy v laboratoři fakulty technologické.



Obr. 7: Kolagenní hydrolyzát

### 5.2 Přístroje, pomůcky, chemikálie

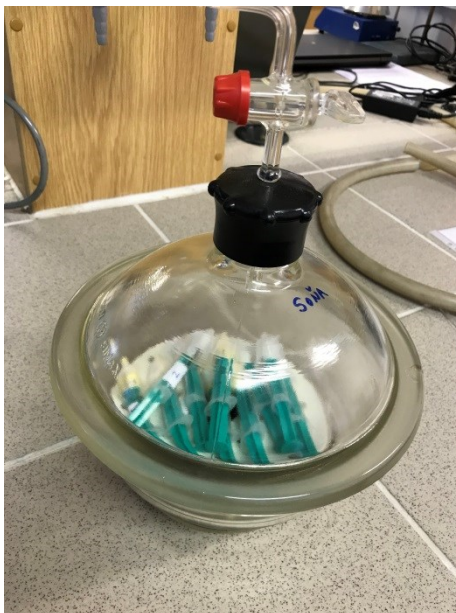
Použité chemikálie:

- laurylsulfát sodný (SLS), (Sigma Aldrich, ČR)
- chlorid sodný (NaCl), (ZMBD chemik s.r.o., ČR)
- destilovaná voda

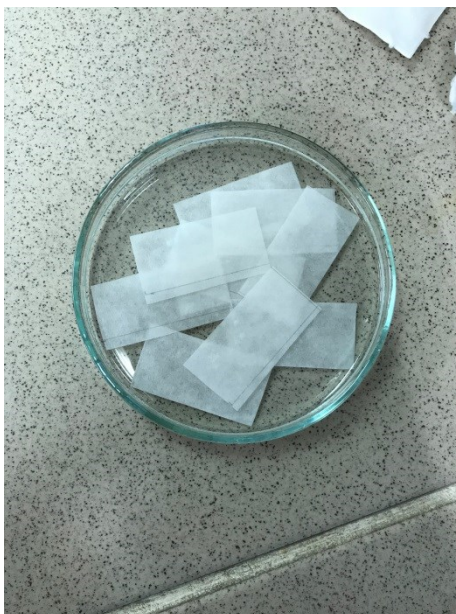
Pomůcky:

- plastové tyčinky ve tvaru hokejky
- fixy
- buničina
- pinzeta
- Petriho misky (obr. 9)
- nůžky
- exsikátor (obr. 8)

- injekční stříkačky (obr. 8)
- odměrná baňka 250 ml
- lžička
- filtrační papír (obr. 9)
- náplast Omnifix (2 × 4 cm)



Obr. 8: Stříkačky s emulzemi v exsikátoru



Obr. 9: Filtrační papír v roztoku SLS

Přístroje:

- tewametr TM 300 (Courage & Khazaka, Německo), (obr. 10)
- korneometr CM 825 (Courage & Khazaka, Německo), (obr. 11)
- pH metr PH 905 (Courage & Khazaka, Německo), (obr. 12)
- míchadlo RZR 2020 (Ika, Německo), (obr. 13)
- stanice MPA 5 (Courage & Khazaka, Německo)
- laboratorní váhy (KERN & Sohn GmbH, Německo)



Obr. 10: Tewametr TM 300



Obr. 11: Korneometr CM 825



Obr. 12: pH metr PH 905



Obr. 13: Míchadlo RZR 2020

### 5.3 Metodika a postup práce

Způsob výběru probandů a následné testování bylo v souladu s mezinárodními etickými principy biomedicínského výzkumu s lidmi [31]. Praktického měření se zúčastnilo celkem 12 probandů ženského pohlaví, které probíhalo v měsíci lednu pokaždé ve stejné laboratoři při teplotě 20 až 23 °C. Probandi byli seznámeni s průběhem měření a museli podepsat individuální informovaný souhlas (P I) a vyplnit dotazník o svém zdravotním stavu (P II).

Den před provedením experimentu byli probandi požádáni, aby na pokožku neaplikovali krém a sprchovali se jen vodou.

Před začátkem měření bylo nutné připravit 0,5% roztok SLS do odměrné baňky o objemu 250 ml k odmaštění pokožky na volárním předloktí probandů a také 0,85% roztok NaCl do odměrné baňky o objemu 250 ml. Vypočítané množství NaCl (2,125 g) bylo nejprve zváženo na analytických vahách, následně rozpuštěno v destilované vodě a poté kvantitativně převedeno do odměrné baňky, která byla naplněna destilovanou vodou po rysku. Pro přípravu 0,5% roztoku SLS byla nejprve vypočítána navážka SLS (1,25 g), která byla následně zvážena na analytických vahách a rozpuštěna v předem připraveném roztoku NaCl.

Před vlastním měřením byla nejprve naplněna Petriho miska 0,5% roztokem SLS na odmaštění pokožky. Do tohoto roztoku byly následně vloženy nastříhané proužky filtračního papíru o rozměrech 2 × 4 cm. Poté byly proužky pokládány za sebou na volární předloktí probandů. Tyto proužky byly zafixovány pomocí náplasti (obr. 14). Proužky byly zafixovány na volárním předloktí po dobu 4 hodin. Po uplynutí této doby byly proužky odstraněny a jejich poloha byla vyznačena pomocí fixu (obr. 15). Následně proběhlo měření iritovaných míst. Nejprve bylo provedeno měření TEWL pomocí tewametru TM 300. Sonda byla přiložena na pokožku a na každém iritovaném místě bylo změřeno celkem 15 hodnot. Následovalo měření hydratace kůže pomocí korneometru CM 825, kdy na každé ploše bylo naměřeno 5 hodnot. Jako poslední bylo změřeno pH pokožky pH metrem PH 905, kdy byla měřená plocha detekována pouze jednou. Po naměření byly na iritovaná místa nanášeny krémy o jednotlivých koncentracích, které byly předem připraveny v injekčních stříkačkách a uchovány v exsikátoru. Měření bylo provedeno na 5 místech na levém volárním předloktí. Na první místo nebyl nanášen žádný krém, sloužilo pouze jako kontrola. Na druhé místo byl nanášen pouze kosmetický základ bez přidaného kolagenního hydrolyzátu. Na zbývající tři místa byly nanášeny postupně krémy s přídavkem KH o koncentracích 0,5 %, 1,5 % a 3 %. Na pokožku bylo ze stříkaček aplikováno vždy 0,1 ml krému, který byl následně rozetřen mezi vyznačenými místy pomocí plastových tyčinek až do tenkého filmu. Opět proběhlo měření jednotlivých míst v intervalech 1, 2, 3, 4 a 24 hodin.



Obr. 14: Zafixované filtrační papíry na volárním předloktí



Obr. 15: Označená iritovaná místa fixem po odstranění náplasti

Všechna naměřená data byla statisticky zpracována v programu Microsoft Office Excel (2010). Byl vypočítán aritmetický průměr ( $\bar{x}$ ) a následně směrodatná odchylka ( $\sigma$ ) podle rovnic (1) a (2).

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

Kde:

$\bar{x}$ .....aritmetický průměr

N.....počet hodnot

$x_i$ .....hodnota měření

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

Kde:

$\sigma$ .....směrodatná odchylka

N.....počet hodnot

$\bar{x}$ .....aritmetický průměr

$x_i$ .....hodnota měření

Při měření transepidermální ztráty vody (TEWL) bylo naměřeno celkem 15 hodnot na jednom iritovaném místě, ale pro výpočet aritmetického průměru a směrodatné odchylky bylo použito jen posledních 10 hodnot. U korneometrického měření bylo naměřeno 5 hodnot na každém iritovaném místě, ale výpočet aritmetického průměru a směrodatné odchylky byl proveden jen z 3 hodnot, protože nejvyšší a nejnižší hodnota byla zanedbána. pH pokožky bylo změřeno pouze jednou na každém iritovaném místě a opět byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka.



## 5.4 Příprava kosmetických formulací s kolagenním hydrolyzátem

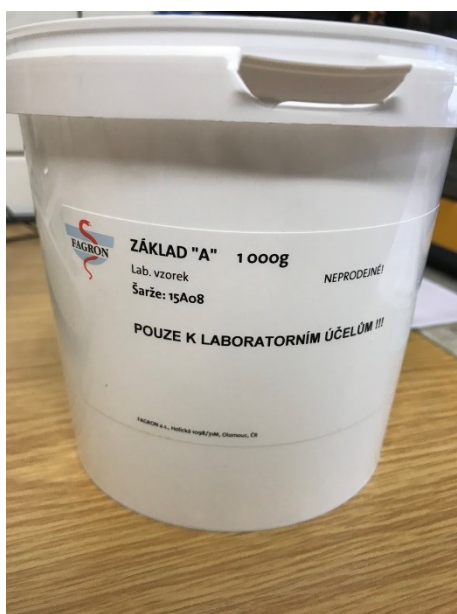
Formulace s obsahem 0,5 %, 1,5 % a 3 % (w/w) KH byly připraveny takto:

Do PE nádoby o průměru 7 cm a výšce 10 cm se odvážil práškový KH a poté se přidal kosmetický základ v takovém množství, aby celková hmotnost formulace byla 50 g. Celá směs byla následně homogenizována na míchadle RZR 2020 (Ika, Německo) 10 min při 2000 ot/min. Připravené formulace byly uchovány při teplotě  $5 \pm 1$  °C a před použitím 2 h vytemperovány při teplotě místnosti.

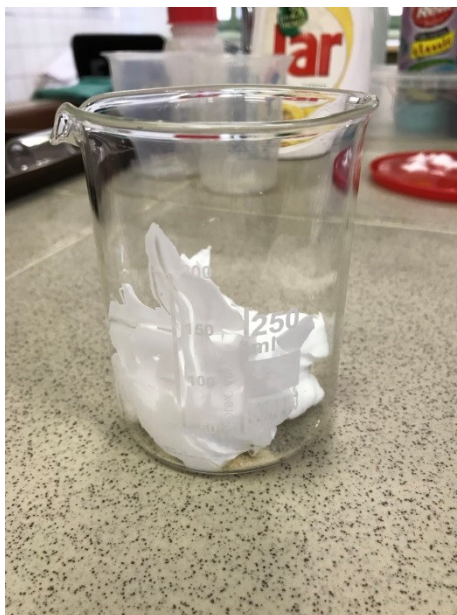
Kosmetický základ použitý k testování byl typem emulze o/v. Kvalitativní složení základu je uvedeno v pořadí od látek s nejvyšším zastoupením k látkám s nejnižším zastoupením: voda, parafin, tekutý parafin, ceteryl alkohol, laureth-4, NaOH, karbomer, methylparaben a propylparaben.

Tab. 1: Rozpis pro přípravu kosmetických emulzí s KH

číslo	Obsah kolagenního hydrolyzátu (KH) v kosmetickém základu (%)	Navážka KH (g)	Navážka kosmetického základu (g)
1	0	0	50,00
2	0,5	0,25	49,75
3	1,5	0,75	49,25
4	3,0	1,50	48,50



Obr. 16: Kosmetický základ



Obr. 17: Kosmetický základ před homogenizací

## 6 VÝSLEDKY A DISKUZE

Cílem této bakalářské práce bylo zjistit účinky KH na pokožku pomocí neinvazivních metod. Byla měřena hydratace kůže, TEWL a pH. Výsledky byly zprůměrovány a zpracovány do tabulky včetně směrodatných odchylek (Tab. 2).

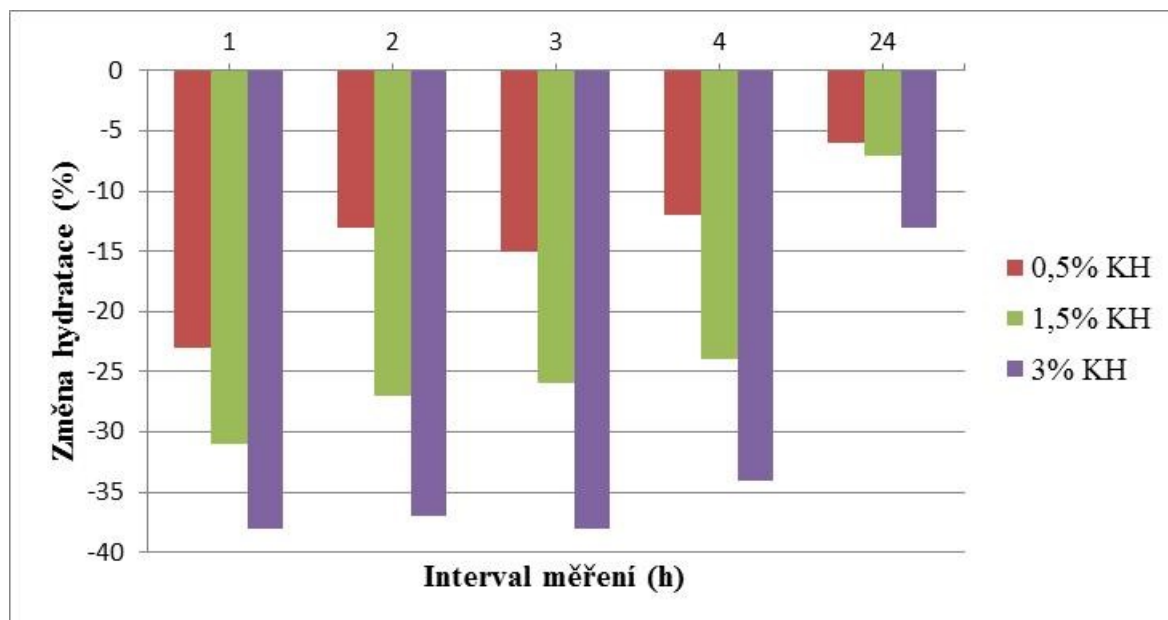
Tab. 2: Změny hydratace, TEWL a pH kůže v intervalech 1, 2, 3, 4 a 24 h

Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	Změna hydratace (%) $\pm$ SD				
0,5% KH	-23 $\pm$ 4	-13 $\pm$ 4	-15 $\pm$ 3	-12 $\pm$ 3	-6 $\pm$ 3
1,5% KH	-31 $\pm$ 3	-27 $\pm$ 4	-26 $\pm$ 4	-24 $\pm$ 3	-7 $\pm$ 4
3% KH	-38 $\pm$ 7	-37 $\pm$ 4	-38 $\pm$ 3	-34 $\pm$ 4	-13 $\pm$ 4
	Změna TEWL (%) $\pm$ SD				
0,5% KH	-17 $\pm$ 3	-18 $\pm$ 5	-23 $\pm$ 4	-16 $\pm$ 4	-19 $\pm$ 4
1,5% KH	-33 $\pm$ 4	-26 $\pm$ 5	-36 $\pm$ 5	-25 $\pm$ 6	-22 $\pm$ 4
3% KH	-31 $\pm$ 5	-36 $\pm$ 7	-36 $\pm$ 7	-24 $\pm$ 5	-34 $\pm$ 5
	Změna pH				
Kontrola	5,1 $\pm$ 0,3	4,78 $\pm$ 0,08	4,71 $\pm$ 0,16	4,71 $\pm$ 0,14	4,91 $\pm$ 0,17
Základ	4,88 $\pm$ 0,14	5,03 $\pm$ 0,12	4,88 $\pm$ 0,16	4,95 $\pm$ 0,12	4,89 $\pm$ 0,15
0,5% KH	5,04 $\pm$ 0,13	5,09 $\pm$ 0,12	5,05 $\pm$ 0,12	5,17 $\pm$ 0,13	4,82 $\pm$ 0,16
1,5% KH	5,03 $\pm$ 0,12	5,07 $\pm$ 0,13	5,17 $\pm$ 0,10	5,23 $\pm$ 0,12	4,91 $\pm$ 0,15
3% KH	5,11 $\pm$ 0,08	4,97 $\pm$ 0,12	5,20 $\pm$ 0,12	5,04 $\pm$ 0,15	4,98 $\pm$ 0,15

Hodnoty hydratace a TEWL byly naměřeny u různých dobrovolníků a nemohly tak být porovnány mezi sebou, proto byly vyjádřeny jako procentuální změna ve srovnání s kosmetickým základem, který neobsahoval KH. V příloze (P III) jsou uvedeny změny hydratace v korneometrických jednotkách (c. j.), TEWL je vyjádřen jako množství odpařené vody na jednotku plochy za jednotku času ( $\text{g}/\text{m}^2/\text{h}$ ). Měření změn hydratace, TEWL a pH byla prováděna v časových intervalech 1, 2, 3, 4 a 24 h u krémů s přísadkou 0,5 %, 1,5 % a 3 % KH a u kosmetického základu.

### 6.1 Výsledky měření hydratace kůže

Data byla statisticky zpracována a následně byl vytvořen sloupcový graf změny hydratace s časem pro lepší přehlednost účinků krémů (Obr. 18).



Obr. 18: Změna hydratace s časem

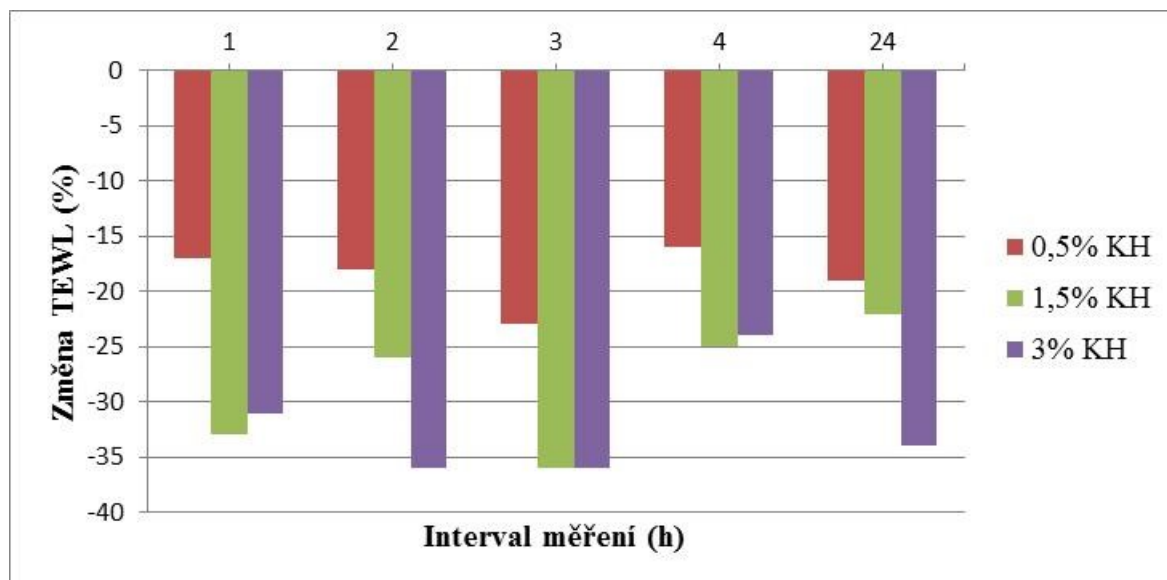
Z výsledků měření je patrné, že krémy nehydratovaly kůži, protože ve všech časech byly naměřeny záporné hodnoty. Největší změna hydratace byla po první hodině po aplikaci krémů. Nejmenší hydratační efekt vykazuje krém s obsahem 3 % KH, hodnota poklesu činila  $-38\%$  už po první hodině, zatímco nejnižší pokles vykazuje krém s obsahem 0,5 % KH, tedy  $-23\%$ . Největší pokles hydratace byl tedy zaznamenán u krému s obsahem 3 % KH, což je vidět i v intervalech 2, 3, 4 a 24 h, kdy došlo k největšímu snížení hodnot oproti krémům s obsahem 0,5 % KH a 1,5 % KH. Hodnoty hydratace se však s rostoucím časem zvyšují. Nejmenší poklesy hydratace můžeme zaznamenat u krému s obsahem 0,5 % KH,

kdy nejnižší hodnota poklesu byla zaznamenána po 24 hodinách měření, tedy  $-6\%$ . U krému s obsahem  $1,5\%$  KH byl pokles hydratace znatelně vyšší než u krému s obsahem  $0,5\%$  KH. Nejnižší pokles u krému s obsahem  $1,5\%$  KH a  $3\%$  KH byl naměřen opět po 24 hodinách, pro  $1,5\%$  KH činila tato hodnota  $-7\%$  a pro  $3\%$  KH činila  $-13\%$ . Ze závislosti změny hydratace na čase (Obr. 18) můžeme pozorovat, že po 24 hodinách už nemají krémy značný vliv na hydrataci kůže. Zároveň je pozorovatelný i snižující se vliv krémů na hydrataci kůže s časem, protože hodnoty už se příliš nemění. Z výsledků je patrné, že přídavek  $0,5\%$  KH je optimální, protože snižuje hydrataci nejméně, zatímco přídavek  $1,5\%$  KH a  $3\%$  KH není vhodný, protože naopak hodnoty hydratace dosahují nejnižších hodnot.

Mac-Mary a kol. dokázali, že došlo k nárůstu hydratace kůže na předloktí zdravých jedinců o  $14\%$  při pití 1 litru vody denně po dobu 42 dnů. K podobnému nárůstu hydratace dochází i při užívání hydratační kosmetiky, kdy se hodnoty hydratace zvýší o  $10$  až  $30\%$  [5].

## 6.2 Výsledky měření transepidermální ztráty vody

Ze statisticky zpracovaných dat byl sestrojen graf změn TEWL s časem pro lepší přehlednost účinků krémů (Obr. 19).



Obr. 19: Změna TEWL s časem

Z tabulky (Tab. 2) a obrázku (Obr. 19) lze pozorovat, že všechny krémy snižují hodnoty TEWL. Významný pokles nastal již po první hodině, kdy nejnižších hodnot dosáhl krém s obsahem  $1,5\%$  KH ( $-33\%$ ) a také krém s obsahem  $3\%$  KH ( $-31\%$ ). Největší pokles byl

zaznamenán po třetí hodině po aplikaci krému s obsahem 1,5 % KH a 3 % KH, kdy hodnoty činí -36 %. Největší pokles zde vykazuje také krém s obsahem 0,5 % KH (-23 %) a lze vyvodit, že po třetí hodině po aplikaci krémů došlo k nejmenší ztrátě vlhkosti z kůže. Pokud porovnáme krém s obsahem 1,5 % KH a 3 % KH po čtvrté hodině po aplikaci, můžeme říci, že došlo k nejmenšímu snížení hodnot. U krému s obsahem 1,5 % KH došlo ke snížení o -25 % a u krému s obsahem 3 % KH o -24 %. U krému s obsahem 0,5 % KH můžeme také vidět, že TEWL dosahuje v jednotlivých časových intervalech nejmenšího snížení hodnot ve srovnání s krémy s obsahem 1,5 % KH a 3 % KH. Nejmenší pokles byl zaznamenán po čtvrté hodině u krému s obsahem 0,5 % KH, tedy -16 %. Nejmenší snížení TEWL vykazuje krém s obsahem 0,5 % KH po 24 hodinách, jehož hodnota byla -19 %. Krémy mají na hodnoty TEWL vliv i po 24 hodinách, kdy hodnoty klesly nejvíce u krému s obsahem 3 % KH, pokles činil až -34 %. Z toho lze vyvodit závěr, že krém s nejvyšší koncentrací KH je nejvhodnější pro aplikace, protože snižuje hodnoty TEWL nejvíce, dokonce i po 24 hodinách. Vhodný je i krém s obsahem 1,5 % KH, protože dosahuje podobně nízkých hodnot jako krém s obsahem 3 % KH, zabraňují tedy úniku vlhkosti z kůže nejvíce. Nejméně vhodný je krém s obsahem 0,5 % KH, jelikož při jeho aplikaci došlo k nejmenšímu poklesu hodnot a zabraňuje tak nejméně ztrátě vlhkosti z kůže.

Většina studií prokázala vyšší hodnoty TEWL u černochoů ve srovnání s bělochy, ale Warrier a kol. zjistili, že hodnoty TEWL jsou u černochoů nižší než u bělochoů. Bylo zjištěno, že černoši mají po místní aplikaci SLS vyšší hladiny TEWL než běloši. Mnoho studií nevykazuje žádné rozdíly mezi pohlavími při měření TEWL. Některé studie však poukazují na významnější ztrátu vody u mužů než u žen. Vztah mezi TEWL a věkem je také zpochybňován, jelikož někteří autoři dospěli k závěru, že neexistuje žádný vztah mezi těmito parametry, zatímco jiní zjistili, že tento vztah existuje, ale jen nepatrný [5].

### 6.3 Výsledky měření pH

Nakonec byly změřeny hodnoty pH iritovaných míst. Jak je z tabulky patrné (Tab. 2), hodnoty pH vykazují přibližně stejnou hodnotu ve všech časových intervalech a ve srovnání s kontrolou, tedy místa bez krému, se příliš neliší. Naměřené hodnoty pH se pohybují kolem 5, tedy  $\text{pH} < 7$  (kyselé). Z výsledků lze usoudit, že krémy významně neovlivňují pH kůže.

## ZÁVĚR

Teoretická část bakalářské práce se nejprve zabývá kosmetickými přísadami a jejich využitím v kosmetických výrobcích. Pozornost je kladena především na kolagen a jeho hydrolyzát, protože KH byl využíván v praktické části práce. Dále se teoretická část zabývá různými typy emulzí a také legislativou v EU, Japonsku a USA. Důraz je kladen zejména na bariérové vlastnosti kůže, které jsou ovlivňovány vnějším i vnitřním prostředím. Nakonec jsou zde zmíněny také způsoby měření hydratace kůže a TEWL neinvazivními metodami.

Praktická část se zabývá testováním kosmetických formulací s přídavkem kolagenního hydrolyzátu *in vivo*, tedy vlivem krémů o různých koncentracích na bariérové vlastnosti kůže a také změnami před a po aplikaci krémů s KH. Bylo provedeno měření transepidermální ztráty vody, pH a hydratace kůže u probandů.

Změna hydratace kůže byla měřena korneometricky pomocí korneometru CM 825. Bylo zjištěno, že krémy pokožku nehydratovaly. Nejhorší hydratační účinky vykazoval krém s obsahem 3 % KH, zatímco krém s přídavkem 0,5 % KH snižoval hydrataci nejméně.

Dále byla měřena transepidermální ztráta vody pomocí tewametru TM 300. Z výsledků vyplývá, že u všech krémů došlo k poklesu TEWL a tím i k zabránění ztráty vlhkosti z kůže. Nejvyšší pokles byl zaznamenán u krémů s obsahem 1,5 % KH a 3 % KH, které zadržovaly vodu nejvíce, zatímco u krému s obsahem 0,5 % KH došlo k největší ztrátě vlhkosti z kůže.

Nakonec bylo změřeno také pH kůže pomocí pH metru PH 905. Výsledky měření ukázaly, že se pH kůže po aplikaci krémů výrazně nemění a dosahuje podobných hodnot v jednotlivých časových intervalech.

Experimentem bylo dokázáno, že krémy s obsahem 0,5 % KH, 1,5 % KH a 3 % KH nemají příliš pozitivní vliv na hydrataci pokožky. Naopak mají významný vliv na TEWL a ovlivňují tak pozitivně bariérovou funkci kůže, zatímco na pH kůže výrazný účinek nemají. Kolagenní hydrolyzát (případně i jiné typy kolagenního hydrolyzátu) by měl být dále testován z hlediska jeho vlastností a účinků na pokožku.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] LANGMAIER, Ferdinand, 2001. *Základy kosmetických výrob.* Zlín: Univerzita Tomáše Bati. Učební texty vysokých škol. ISBN 8073180162.
- [2] BAREL, A. O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology.* New York: Marcel Dekker, c2001. ISBN 0824702921.
- [3] BAUMANN, Leslie. *Cosmetic ingredients and cosmeceuticals.* New York: McGraw-Hill Companies, 2015. ISBN 9780071793988.
- [4] BAKI, Gabriella. a Kenneth S. ALEXANDER. *Introduction to cosmetic formulation and technology.* Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2015. ISBN 9781118763780.
- [5] BAREL, A. O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology.* 3rd ed. New York: Informa Healthcare, c2009. ISBN 9781420069631.
- [6] ZÁHEJSKÝ, Jiří. *Urea – stále aktuální a diskutovaná.* Dermatologie pro praxi. 2008, **2**(1), 28-30.
- [7] VERKMAN, A. S., 2008. A cautionary note on cosmetics containing ingredients that increase aquaporin-3 expression. *Experimental Dermatology* [online]. **17**(10), 871-872 [cit. 2018-03-16]. DOI: 10.1111/j.1600-0625.2008.00698.x.
- [8] MICHALUN, M. Varinia a Joseph C. DINARDO. *Milady skin care and cosmetic ingredients dictionary.* Fourth edition. Clifton Park, NJ: Cengage Learning, 2015. ISBN 1285060792.
- [9] DAYAN, Nava. a Lambros. KROMIDAS. *Formulating, packaging, and marketing of natural cosmetic products.* Hoboken, N.J.: Wiley, c2011. ISBN 9780470484081.
- [10] IWATA, Hiroshi. a Kunio. SHIMADA. *Formulas, ingredients and production of cosmetics: technology of skin- and hair-care products in Japan.* New York: Springer, c2013. ISBN 9784431540601.
- [11] DOSTÁL, Jiří a Petr KAPLAN. *Lékařská chemie II.* Brno: Masarykova univerzita, 2001. ISBN 8021027312.
- [12] MOKREJŠ, Pavel a Ferdinand LANGMAIER. *Aplikace přírodních polymerů.* Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2008. ISBN 9788073186746.



- [13] HOJEROVÁ, Jarmila a Eva BOSKOVIČOVÁ. *Kozmetika, zdravie, krása: jako si vybrať kozmetiku*. Bratislava: Plat4M Books, 2015. ISBN 9788089642199.
- [14] LOH, Xian Jun. *Polymers for personal care products and cosmetics*. Cambridge, UK: Royal Society Of Chemistry, 2016. ISBN 9781782622956.
- [15] VILLA, Ana Lúcia Vazquez, Márcia Regina Senrra ARAGÃO, Elisabete Pereira DOS SANTOS, Ana Maria MAZOTTO, Russolina B ZINGALI, Edilma Paraguai DE SOUZA a Alane Beatriz VERMELHO. Feather keratin hydrolysates obtained from microbial keratinases: effect on hair fiber. *BMC Biotechnology* [online]. 2013, **13**(1), 15- [cit. 2018-03-19]. DOI: 10.1186/1472-6750-13-15.
- [16] SAMAD, Nur a Archana SIKARWAR. *Collagen: New dimension in cosmetic and healthcare*. 2016, **14**(3), 1-8. DOI: 10.9734/IJBCRR/2016/27271.
- [17] OTHMER, Kirk. *Kirk-Othmer chemical technology of cosmetics*. Hoboken, New Jersey: Wiley. 2013. ISBN 9781118406922.
- [18] BAREL, A. O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*. Fourth edition. Boca Raton: Taylor & Francis, 2014. ISBN 9781842145647.
- [19] MITSUI, Takeo. *New cosmetic science*. New York: Elsevier Science, 1997. ISBN 0444826548.
- [20] SINGH, S. K. *Handbook on cosmetics (Processes, formulae with testing methods)*. ASIA PACIFIC BUSINESS PRESS Inc., 2010. ISBN 9788178331294.
- [21] BUTLER, Hilda. *Poucher's perfumes, cosmetics and soaps*. 10th Edition. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000. ISBN 9789401727341.
- [22] SALVADOR, Amparo a Alberto CHISVERT. *Analysis of cosmetic products*. London: Elsevier, 2007. ISBN 0444522603.
- [23] ROZSÍVALOVÁ, Věra. *Kosmetika I pro studijní obor Kosmetička*. 2., aktualiz. vyd. Praha: Informatorium, 2010. ISBN 9788073330804.
- [24] SAKAMOTO, Kazutami. *Cosmetic science and technology: theoretical principles and applications*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, 2017. ISBN 9780128020050.
- [25] MIŠURCOVÁ, Ladislava. *Základy biologie*. Vyd. 2., rozš. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2012. ISBN 9788074541568.

- [26] SERUP, Jørgen., B. E. JEMEC a Gary L. GROVE. *Handbook of non-invasive methods and the skin*. 2nd ed. Boca Raton: CRC/Taylor & Francis, 2006. ISBN 9780849314377.
- [27] GEFEN, Amit., c2009. *Bioengineering research of chronic wounds: a multidisciplinary study approach*. Berlin: Springer. Studies in mechanobiology, tissue engineering, and biomaterials, 1. ISBN 3642005349.
- [28] BARAN, R. a Howard I. MAIBACH. *Textbook of cosmetic dermatology*. Fifth edition. Boca Raton: CRC Press/Taylor & Francis Group, 2016. ISBN 9781482257342.
- [29] GRUMEZESCU, Alexandru Mihai, 2016. *Nanobiomaterials in galenic formulations and cosmetics: applications of nanobiomaterials*. Amsterdam: Elsevier/WA, William Andrew is an imprint of Elsevier. Applications of nanobiomaterials, v. 10. ISBN 0323428681.
- [30] FLUHR, Joachim. *Practical aspects of cosmetic testing: how to set up a scientific study in skin physiology*. Heidelberg: Springer, c2011. ISBN 3642050670.
- [31] International ethical guidelines for biomedical research involving human subjects. Council for international organisations of medical sciences. Geneva (2002).

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

NMF	Natural Moisturizing Factor (přirozený hydratační faktor)
SLS	laurylsulfát sodný
c. j.	korneometrická jednotka
TEWL	Trans Epidermal Water Loss (transepidermální ztráta vody)
KH	kolagenní hydrolyzát
NaCl	chlorid sodný
NaOH	hydroxid sodný
KOH	hydroxid draselný
Ba(OH) <sub>2</sub>	hydroxid barnatý
HCl	kyselina chlorovodíková
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	kyselina sírová
v/o	emulze typu voda v oleji
o/v	emulze typu olej ve vodě
o/v/o	emulze typu olej ve vodě a v oleji
v/o/v	emulze typu voda v oleji a ve vodě
FDA	Food and Drug Administration
CIR	Cosmetic Ingredient Review
MHLW	Ministry of Health, Labour and Welfare
PE	polyethylen
UV	Ultra Violet (ultrafialové záření)

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1: Přirozený úbytek kolagenu u mužů a žen [13] .....	18
Obr. 2: Schéma rozdělení kosmetických formulací [4] .....	20
Obr. 3: Označení expirační doby u kosmetických produktů v EU [4] .....	24
Obr. 4: Řez kůží [23] .....	26
Obr. 5: Měření TEWL pomocí Tewametru [29].....	30
Obr. 6: Měření hydratace kůže korneometricky [29] .....	31
Obr. 7: Kolagenní hydrolyzát .....	34
Obr. 8: Stříkačky s emulzemi v exsikátoru.....	35
Obr. 9: Filtrační papír v roztoku SLS .....	35
Obr. 10: Tewametr TM 300.....	36
Obr. 11: Korneometr CM 825.....	36
Obr. 12: pH metr PH 905.....	37
Obr. 13: Míchadlo RZR 2020 .....	37
Obr. 14: Zafixované filtrační papíry na volárním předloktí .....	39
Obr. 15: Označená iritovaná místa fixem po odstranění náplasti .....	39
Obr. 16: Kosmetický základ .....	41
Obr. 17: Kosmetický základ před homogenizací.....	42
Obr. 18: Změna hydratace s časem .....	44
Obr. 19: Změna TEWL s časem .....	45

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1: Rozpis pro přípravu kosmetických emulzí s KH.....	41
Tab. 2: Změny hydratace, TEWL a pH kůže v intervalech 1, 2, 3, 4 a 24 h .....	43

## SEZNAM PŘÍLOH

- P I Informovaný souhlas
- P II Dotazník
- P III Výsledky hydratace a TEWL

# PŘÍLOHA P I: INFORMOVANÝ SOUHLAS

Příloha č.4

## Individuální informovaný souhlas

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

### Cíl studie

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

### Podmínky účasti

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

### Metodika testu

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

### Odstoupení z laboratorní práce

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

### Rizika a nepříjemnosti

Během práce může dojít k podráždění odpovídající lehkému připálení sluncem. Místo aplikace může 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.

# PŘÍLOHA II: DOTAZNÍK

Příloha č.3

## Dotazník pro účastníka měření

Jméno:

Příjmení:

Věk:

Pohlaví:

Kód pokusné osoby (evidenční číslo):

### **Současný zdravotní stav:**

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

### **Zdravotní stav v minulosti**

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

### **Užívání léků**

Berete či používáte pravidelně:	ano	ne	jaké
protizánětlivé léky (např. aspirin, ibuprofen, hydrokortizon, nebo jiné steroidy)			
imunosupresivní léky (např. cyklosporin A)			
jiné léky			

### **Alergologická léčba**

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



**Pouze pro ženy**

<b>Jste:</b>	<b>ano</b>	<b>ne</b>
těhotná nebo kojící		

**Alergie**

<b>Projevila se u vás někdy alergie na:</b>	<b>specifikujte:</b>
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**

<b>Zdravotní stav:</b>	<b>specifikujte:</b>
používáte pravidelně jakýkoliv přípravek pro léčbu kůže	
používáte pravidelně jakékoli 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**

<b>Studie:</b>	<b>Typ studie:</b>	<b>Datum poslední studie:</b>
účastní(a) jste se někdy kožního testu	-----	
účastníte se v současné době jiné studie jakéhokoliv druhu		

podpis účastníka měření:  
datum:

**Pouze pro účely organizátora měření**

Na základě zjištěných údajů je účastník a) přijat  
b) nepřijat

Zdůvodnění:

Datum:

Podpis organizátora:

### PŘÍLOHA III: VÝSLEDKY HYDRATACE A TEWL

Proband č. 1 (23 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	28,45	20,54	24,18	25,58	55,32
základ	15,44	15,16	12,56	11,30	17,66
0,5% KH	12,28	13,00	12,64	13,46	15,86
1,5% KH	11,70	11,46	8,70	10,28	15,52
3% KH	9,56	6,86	7,04	10,58	10,96
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	53,03	54,73	59,10	54,80	54,63
základ	38,53	38,77	44,30	44,63	45,47
0,5% KH	30,20	36,03	37,80	36,63	42,23
1,5% KH	22,20	31,30	30,87	32,73	39,30
3% KH	21,93	26,13	27,87	27,00	35,53

Proband č. 2 (23 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	21,70	15,20	30,96	28,52	8,06
základ	17,60	14,74	24,18	16,90	7,44
0,5% KH	17,52	13,24	15,56	16,12	5,94
1,5% KH	10,98	12,12	12,56	15,80	4,66
3% KH	10,40	12,88	10,96	15,30	2,66
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	44,33	37,73	45,13	35,50	24,17
základ	49,63	36,01	40,13	35,67	27,90
0,5% KH	34,53	35,17	36,40	36,67	26,27
1,5% KH	35,20	31,10	36,27	37,00	27,93
3% KH	27,76	21,33	28,50	28,07	27,97

Proband č. 3 (22 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)					
kontrola	9,76	8,34	7,81	5,98	7,16
základ	10,72	12,52	7,34	9,14	8,48
0,5% KH	9,78	11,40	5,72	9,38	8,36
1,5% KH	6,54	8,62	4,86	8,18	7,62
3% KH	6,98	8,70	6,26	8,54	7,98
Hydratace (c. j.)					
kontrola	17,97	22,01	26,57	25,97	25,12
základ	24,80	31,23	25,50	27,53	21,13
0,5% KH	20,77	22,17	23,53	24,90	20,50
1,5% KH	18,90	19,47	20,87	21,50	22,02
3% KH	14,37	14,90	15,47	15,33	19,50

Proband č. 4 (23 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)					
kontrola	15,74	11,74	32,70	13,72	12,12
základ	27,16	22,45	31,84	14,38	12,20
0,5% KH	20,02	11,96	20,96	12,30	11,14
1,5% KH	15,52	19,94	12,50	13,30	9,38
3% KH	18,35	13,18	12,46	12,84	10,32
Hydratace (c. j.)					
kontrola	46,80	52,33	50,90	59,20	45,93
základ	31,57	36,93	42,27	46,63	45,93
0,5% KH	22,33	26,50	36,17	34,47	36,13
1,5% KH	26,33	26,03	36,37	33,10	44,43
3% KH	26,30	30,70	24,07	33,17	40,97

Proband č. 5 (23 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	8,80	7,68	9,24	11,72	12,76
základ	8,62	6,82	10,82	12,76	13,25
0,5% KH	6,56	5,52	7,44	8,40	11,82
1,5% KH	5,86	5,12	10,04	7,28	10,00
3% KH	8,24	6,16	10,78	8,26	9,04
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	16,67	19,20	17,50	21,40	19,60
základ	26,93	26,33	32,33	22,90	21,13
0,5% KH	20,20	21,93	26,43	20,00	17,93
1,5% KH	15,73	17,40	18,57	15,77	16,83
3% KH	12,63	12,90	16,30	13,73	13,93

Proband č. 6 (23 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	9,12	11,44	20,02	15,28	12,16
základ	17,26	16,86	16,54	13,60	6,82
0,5% KH	13,22	12,50	14,48	11,12	4,48
1,5% KH	8,38	10,48	11,36	12,72	5,16
3% KH	8,38	8,16	11,80	12,96	4,32
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	19,80	17,17	18,70	17,97	19,70
základ	35,40	25,77	29,03	23,97	27,42
0,5% KH	18,33	23,60	28,10	22,73	25,47
1,5% KH	20,27	22,00	21,50	20,03	22,20
3% KH	13,23	18,23	13,87	15,57	23,03

Proband č. 7 (23 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	21,18	12,92	15,64	34,92	15,08
základ	12,54	11,44	10,84	14,30	9,56
0,5% KH	10,86	10,60	8,14	10,06	6,04
1,5% KH	9,60	10,44	9,02	11,44	7,40
3% KH	11,52	10,52	8,00	10,56	7,34
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	18,82	25,33	20,43	27,37	24,63
základ	29,83	30,80	34,97	32,53	27,47
0,5% KH	24,27	32,70	30,17	21,80	23,15
1,5% KH	17,73	27,93	20,37	20,57	19,28
3% KH	17,80	21,27	19,93	18,33	17,21

Proband č. 8 (47 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	6,66	8,24	10,92	8,30	19,06
základ	16,60	12,22	14,42	13,62	14,32
0,5% KH	12,88	10,62	11,84	12,60	8,62
1,5% KH	8,78	7,38	8,88	8,28	7,96
3% KH	11,72	8,44	8,92	11,60	7,92
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	30,80	28,74	27,48	29,40	31,22
základ	27,20	25,40	29,50	32,51	33,14
0,5% KH	21,81	23,33	21,71	29,63	33,45
1,5% KH	20,42	14,30	26,76	23,10	30,62
3% KH	16,95	16,32	15,92	17,00	30,70

Proband č. 9 (30 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)					
kontrola	7,16	10,90	10,46	11,48	9,42
základ	12,30	25,24	12,60	15,64	14,53
0,5% KH	9,96	15,44	8,16	16,94	10,76
1,5% KH	8,33	15,50	6,24	15,12	9,46
3% KH	6,82	8,56	5,00	11,76	10,68
Hydratace (c. j.)					
kontrola	27,71	22,67	20,26	24,55	-24,80
základ	29,40	29,91	31,71	35,50	25,72
0,5% KH	18,74	31,60	29,25	32,84	24,75
1,5% KH	20,73	21,25	23,93	24,71	31,56
3% KH	16,70	19,52	21,44	23,63	26,70

Proband č. 10 (40 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)					
kontrola	8,42	2,92	4,62	6,70	6,74
základ	5,08	9,46	4,06	9,41	8,56
0,5% KH	6,92	6,88	3,68	7,88	8,68
1,5% KH	7,08	4,18	4,46	3,66	7,46
3% KH	8,35	4,10	4,18	4,86	5,06
Hydratace (c. j.)					
kontrola	39,30	50,37	48,42	42,69	42,71
základ	33,03	38,00	40,51	41,62	44,76
0,5% KH	27,21	26,28	28,94	35,44	42,30
1,5% KH	26,23	24,62	26,60	31,83	40,26
3% KH	39,64	24,40	30,41	30,35	42,52

Proband č. 11 (27 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	14,44	8,04	16,76	12,48	8,36
základ	13,28	10,46	10,94	12,02	7,58
0,5% KH	13,10	10,46	9,90	10,56	5,66
1,5% KH	11,20	8,76	7,88	8,98	6,78
3% KH	7,66	4,70	9,52	9,72	5,54
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	44,30	52,62	48,64	42,10	41,23
základ	41,71	47,58	46,53	41,34	33,12
0,5% KH	39,43	38,90	38,03	37,13	35,10
1,5% KH	31,01	32,72	25,11	31,65	31,60
3% KH	24,35	23,14	29,13	25,96	27,32

Proband č. 12 (47 let)					
Interval měření (h)	1	2	3	4	24
	TEWL (g/m <sup>2</sup> /h)				
kontrola	12,24	10,28	12,18	20,80	8,00
základ	10,56	12,42	12,16	19,82	8,52
0,5% KH	9,04	11,44	7,32	13,12	7,70
1,5% KH	8,24	11,98	5,30	10,64	7,66
3% KH	7,04	10,50	3,02	9,88	4,26
	Hydratace (c. j.)				
kontrola	30,27	33,73	32,83	32,87	22,70
základ	41,77	39,27	35,37	34,50	26,63
0,5% KH	36,77	33,37	31,27	35,17	28,10
1,5% KH	26,83	28,67	29,13	26,41	24,90
3% KH	22,47	28,43	25,60	30,90	25,93