



# VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY

## FAKULTA CHEMICKÁ

FACULTY OF CHEMISTRY

## ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

# VÝVOJ A OPTIMALIZACE PŘÍPRAVY MASTI NA HOJENÍ POPÁLENIN

DEVELOPMENT AND OPTIMIZATION OF OINTMENT PREPARATION FOR BURN HEALING

## BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

## AUTOR PRÁCE

AUTHOR

Kristýna Müllerová

## VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.

BRNO 2021

## Zadání bakalářské práce

Číslo práce: FCH-BAK1653/2020 Akademický rok: 2020/21  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Studentka: **Kristýna Müllerová**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie  
Studijní obor: Chemie pro medicínské aplikace  
Vedoucí práce: **Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.**

### Název bakalářské práce:

Vývoj a optimalizace přípravy masti na hojení popálenin

### Zadání bakalářské práce:

Připravit masti na bázi mastového základu s přidavkem bioaktivní složky chlorofylu.

Vypracovat aktuální literární rešerši na téma možností přípravy mastí z hlediska ovlivnění jejich fyzikálně–chemických vlastností s ohledem na stabilitu připravované masti.

Dále navrhnout a optimalizovat metodu přípravy masti z hlediska její stability ovlivněnou především její recepturou.

Diskutovat získané experimentální výstupy, zhodnotit praktickou využitelnost navržené metody přípravy a dále diskutovat vliv složení masti na její stabilitu.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 30.7.2021:

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

-----  
Kristýna Müllerová  
student(ka)

-----  
Ing. Vojtěch Enev, Ph.D.  
vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
vedoucí ústavu

V Brně dne 1.2.2021

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
děkan

## **ABSTRAKT**

Tato bakalářská práce si klade za cíl připravit masti na bázi mast'ového základu s přídatkem bioaktivní složky chlorofylu podle receptury od neznámého lékaře. V teoretických základech byla provedena základní charakteristika emulzí, byla popsána zejména jejich nestabilita a možné způsoby stabilizace. Dále je čtenář obeznámen s bioaktivní látkou chlorofylu, vybranými mastmi na hojení popálenin a ran a na závěr s využitím v medicíně.

V Experimentální části byla popsána příprava emulzních základů mastí. Na základě provedené analýzy stability pomocí analytické odstředivky byly vybrány dva mast'ové základy, do kterých byly přidány další složky – chlorofyl, včelí vosk a extrakt z heřmánku pravého. Byla studována stabilita při 25 °C a 37 °C kompletně připravených mastí, tato analýza byla provedena i po delším časovém intervalu. S využitím ATR-FTIR spektrometrie byly u připravených mastí, jednotlivých složek mast'ového základu i samotného chlorofylu identifikovány přítomné funkční skupiny. Na základě měření stability zhotovených mastí a reologického měření (oscilační a rotační měření) bylo vyhodnoceno, že nejlepší vlastnosti vykazovala připravená mast s mast'ovým základem tvořeným 30 hm. % bílou vazelínou a 70 hm. % syndermanem.

## **KLÍČOVÁ SLOVA**

disperzní systém, emulze, mast na popáleniny a rány, chlorofyl, stabilita, reologie, ATR-FTIR

## **ABSTRACT**

This bachelor's thesis aims to prepare ointments based on an ointment base with the addition of a bioactive component of chlorophyll according to a recipe from an unknown doctor. The basic characteristic of emulsions was performed in the theoretical part, their instability and possible methods of stabilization were described. Furthermore, the reader is acquainted with the bioactive substance of chlorophyll, selected ointments for the healing of burns and wounds and finally with the use in medicine.

In the Experimental part, the preparation of emulsion bases of ointment was described. Based on a performed analysis of stability using analytical centrifuge, two ointments bases were selected, to which other components were added – chlorophyll, beeswax, and chamomile extract. The stability of completely prepared ointments was studied at 25 °C and 37 °C, this analysis was performed even after a longer time interval. Using ATR-FTIR spectrometry the present functional groups were identified at prepared ointments, individual components of the ointments base and chlorophyll. Based on the stability measurement of the prepared ointments and rheological measurements (oscillation and rotational measurements), it was evaluated that the best properties were shown by the prepared ointment with an ointment base consisting of 30 wt. % white vaseline and 70 wt. % synderman.

## **KEY WORDS**

disperse system, emulsion, ointment for burns and wounds, chlorophyll, stability, rheology, ATR-FTIR

MÜLLEROVÁ, Kristýna. *Vývoj a optimalizace přípravy masti na hojení popálenin*. Brno, 2021. Dostupné také z: <https://www.vutbr.cz/studenti/zav-prace/detail/131396>. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, Ústav fyzikální a spotřební chemie. Vedoucí práce Vojtěch Enev.

## PROHLÁŠENÍ

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

.....  
podpis studenta

## Poděkování:

*Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce Ing. Vojtěchu Enevovi, Ph.D. za odborný dohled, ochotu, vstřícnost a za pomoc a cenné rady, které mi pomohly při zpracování této práce. Také bych chtěla poděkovat Ing. Jiřímu Smilkovi, Ph.D. za užitečné rady a čas, který mi věnoval při experimentálním zpracování práce.*

# OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>5</b>
<b>1 TEORETICKÉ ZÁKLADY</b> .....	<b>6</b>
1.1 Emulze.....	6
1.1.1 Typy emulzí.....	6
1.1.2 Vlastnosti emulzí .....	7
1.1.3 Vznik emulzí.....	8
1.2 Nestabilita emulzí.....	8
1.2.1 Izotermický převod.....	9
1.2.2 Agregace.....	9
1.2.3 Koalescence.....	10
1.2.4 Vzplývání a sedimentace .....	10
1.3 Metody stabilizace emulzí.....	11
1.3.1 Stabilizace elektrickou dvojvrstvou.....	11
1.3.2 Stérická stabilizace.....	12
1.3.3 Gibbs-Marangoniho efekt .....	12
1.3.4 Stabilizace pevnými částicemi.....	13
1.4 Emulgátory .....	13
1.4.1 Druhy emulgačních činidel .....	14
1.5 Chlorofyl .....	15
1.5.1 Hojení popálenin.....	16
1.5.2 Další zranění a dermatologická onemocnění.....	16
1.6 Masti na hojení popálenin a ran .....	17
1.6.1 Mast na popáleniny a rány.....	17
1.6.2 Směsi z kavkazských druhů kostivalu .....	18
1.6.3 Mast na popáleniny pro podporu regenerace tkání.....	19
1.6.4 Bylinný přípravek.....	20
1.7 Využití v medicíně .....	20
<b>2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY</b> .....	<b>23</b>
<b>3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>25</b>
3.1 Použité chemikálie .....	25
3.2 Použité přístroje a zařízení .....	25
3.3 Charakteristika použitých surovin.....	25

3.4	Příprava vzorků masťového základu .....	26
3.5	Příprava vzorků se všemi složkami .....	27
3.6	Analýza stability .....	28
3.6.1	<i>Nastavení metody</i> .....	28
3.6.2	<i>Příprava vzorků pro analýzu stability</i> .....	29
3.7	FTIR spektroskopie masti .....	29
3.8	Reologické vlastnosti masti .....	29
<b>4</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>31</b>
4.1	Analýza stability .....	31
4.1.1	<i>Analýza stability masťového základu</i> .....	31
4.1.2	<i>Analýza stability vzorků se všemi složkami</i> .....	33
4.1.3	<i>Analýza stability při zrání masti</i> .....	35
4.2	FTIR spektroskopie .....	38
4.3	Reologické vlastnosti mastí .....	40
4.3.1	<i>Amplitudový oscilační test</i> .....	40
4.3.2	<i>Frekvenční oscilační test</i> .....	41
4.3.3	<i>Rotační test</i> .....	41
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>43</b>
<b>6</b>	<b>BIBLIOGRAFIE .....</b>	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>PŘÍLOHY .....</b>	<b>50</b>

## ÚVOD

Masti na popáleniny nacházejí uplatnění zejména při ošetření popálenin 1. a 2. stupně, tyto stupně popálenin jsou nejčastější a jejich ošetření je možné provést v domácím prostředí bez pomoci lékaře. Z důvodu častějšího výskytu popálenin se zvyšuje poptávka po různých možnostech léčby, což vede k růstu trhu s mastmi na popáleniny a přípravky na jejich ošetření a podporu hojení. Většinu z těchto mastí lze také použít i k ošetření ran, uplatnění mohou ale nalézt i jako součást krycího materiálu na poranění.

Jedním z typů mastí jsou masti emulzní, jejich příprava spočívá v kombinaci olejové a vodné složky, které za běžných podmínek tvoří neslučitelné fáze. Mezi nejdůležitější vlastnosti emulzního systému patří stabilita. Samotné emulze jsou z důvodu nemísitelnosti fází poměrně nestabilní. Pro zvýšení stability se do systému přidávají vhodná emulgační činidla, která díky svým fyzikálním a chemickým vlastnostem umožňují promísení těchto dvou fází a zvyšují tak stabilitu zhotovené emulze.

Nejdůležitější součástí masti je masťový základ, na jeho vlastnostech závisí kvalita přípravku. Kvalitní masťový základ musí splňovat požadavky, mezi které patří již zmiňovaná dobrá stabilita, měl by být snadno roztíratelný, nesmí reagovat s pomocnými látkami a nesmí způsobovat podráždění pokožky.

Další důležitou vlastností je trvanlivost masti. Trvanlivost označuje dobu, po kterou přípravek nepodléhá žádným změnám, nemění se tak jeho složení, stabilita ani vlastnosti. V případě emulzních mastí po tuto dobu nedochází k žádnému oddělování původně nemísitelných fází.

Cílem této práce bylo navrhnout vhodnou metodu přípravy masti na bázi masťového základu s přídavkem bioaktivní látky chlorofylu, aby co nejlépe splňovala výše zmíněné požadavky. Pomocí zvolených experimentálních metod (analýza stability a reologické měření) byla určena stabilita připravených mastí a tím i jejich vlastnosti. Na základě těchto výsledků bylo určeno optimální složení masťového základu a vhodná metoda přípravy kompletní masti.

# 1 TEORETICKÉ ZÁKLADY

## 1.1 Emulze

Emulze patří mezi heterogenní disperzní soustavy. Disperzní soustavy tvoří alespoň dvě fáze nebo složky, přičemž jedna z nich je rozptýlena ve druhé ve formě jemných částic. Rozptýlený druh je označován pojmem disperzní podíl. Druh, jehož spojitost zůstává zachována, je nazýván disperzním prostředím [1].

Emulze je disperze kapaliny v kapalném disperzním prostředí. Tvoří je kapaliny, které jsou navzájem nemísitelné nebo omezeně mísitelné. Tyto kapaliny mají obvykle rozdílnou hustotu a polaritu. V soustavě bývají přítomny i látky, které jsou schopny zabránit koalescenci<sup>1</sup> [2].

V praxi se vyskytují přirozené i uměle připravené emulze. Obvykle se s nimi můžeme setkat v odvětvích, jako je kosmetika, farmacie, potravinářský průmysl a v mnoha dalších oborech.

### 1.1.1 Typy emulzí

Emulze se rozdělují podle polárnosti disperzního podílu na emulze přímé a emulze obrácené. Emulze přímé (prvního druhu) jsou takové emulze, ve kterých je disperzním prostředím více polární kapalina. Tento typ je často označován jako emulze O/V neboli olej ve vodě. Olej představuje nepolární fázi bez ohledu na to, zda je olejovité konzistence, a voda představuje polárnější kapalinu, kterou je nejčastěji právě voda nebo vodný roztok [1; 2].

Emulze obrácené (druhého druhu) označují emulze, jejichž disperzním prostředím je méně hydrofilní kapalina. Obrácené emulze bývají označovány jako V/O, voda v oleji [1; 2].

O který typ emulzí z výše uvedených druhů se jedná, je možné určit několika způsoby:

- Podle měrné elektrické vodivosti – vodivost emulze je určena vodivostí jejího disperzního prostředí, kdy emulze O/V mají mnohem vyšší vodivost než emulze V/O v případě přítomnosti silného elektrolytu rozptýleného v disperzním prostředí;
- Podle schopnosti rozpouštět polární nebo nepolární barviva;
- Podle schopnosti mísit se s polárními nebo nepolárními rozpouštědly;
- Podle smáčivosti – emulze smáčí povrch, který je smáčen jejím disperzním prostředím;
- Pozorováním v ultrafialovém světle – po přidání fluorescenční sondy nepolárního charakteru disperzní prostředí emulze V/O je schopna fluorescence, obecně luminiscence [2].

Emulze se mohou dělit podle koncentrace disperzního podílu na emulze zředěné, koncentrované a vysoce koncentrované neboli gelovité (Obr. 1) [1; 2].

Ve zředěných emulzích zaujímá disperzní fáze maximálně 2 obj. % z celkového objemu a průměr kapiček je blízký rozměru koloidních částic tzn.  $\geq 0,5 \mu\text{m}$ . [1; 2].

Disperzní podíl je u koncentrovaných emulzí tvořen nedeformovanými kapkami kulovitěho tvaru. V systému se stejně velkými disperzními částicemi může koncentrace disperzního podílu dosahovat maximálně 74 obj. %. V systému, který je tvořen disperzními částicemi o různých velikostech, lze dosáhnout i vyšších koncentrací [1; 2].

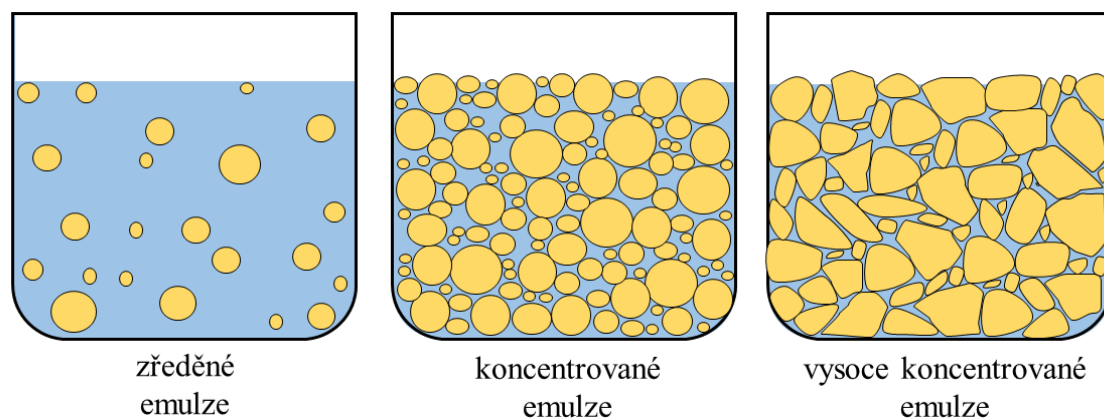
---

<sup>1</sup> Koalescence je jev, při kterém dochází ke spojování dvou nebo více kapek kapaliny v jeden větší celek o větším objemu a menším povrchu [3].



Kapky disperzního podílu ve vysoce koncentrovaných (gelovitých) emulzích jsou uloženy v soustavě velmi těsně, z tohoto důvodu dochází k jejich vzájemné deformaci [1; 2].

Za zvláštní druh emulzí jsou považovány tzv. *kritické emulze*. Jedná se o soustavy tvořící se ze dvou omezeně mísitelných kapalin při teplotě, která je blízká kritické rozpouštěcí teplotě. Tato emulze se vyznačuje existencí jen ve velmi úzkém teplotním intervalu a nestálostí disperzního podílu, což znamená, že její kapičky se v soustavě neustále tvoří a zároveň zanikají [2].



Obr. 1 – Typy emulzí dle koncentrace disperzního podílu (upraveno) [1]

Dalším zvláštním typem jsou tzv. dvojité emulze, O/V/O nebo V/O/V, kdy kapky oleje emulze O/V obsahují drobné kapičky vody. Tento druh emulzí nachází uplatnění v potravinářství, ve farmacii, při zpracování odpadních vod, v kosmetickém průmyslu a v dalších odvětvích. Pro stejné využití lze použít i mnohočetné emulze, jedná se o složitější systémy, než jsou dvojité emulze [2].

### 1.1.2 Vlastnosti emulzí

Barva a vzhled emulzí závisí na indexu lomu obou kapalných složek. Při stejném indexu lomu jsou emulze průsvitné, avšak většinou jsou kalné tzv. vzhledu mléčného skla, koncentrovanější emulze jsou dokonce neprůhledné. Vzhledové vlastnosti emulzí závisí i na koncentraci a velikosti částic disperzního podílu [2].

Částice zředěných emulzí typu O/V nesou negativní elektrický náboj, jeví elektroforetickou pohyblivost a lze je srážet pomocí roztoků elektrolytů [2].

Sedimentace disperzní fáze závisí na poměru hustot obou kapalin. K usazování může docházet směrem dolů, ale také může docházet ke vzplývání, což je usazování směrem vzhůru, kdy na hladině vniká koncentrovaná vrstva disperzní fáze. U vysoce koncentrovaných emulzí z důvodu těsného uložení částic k sedimentaci nedochází [2].

U zředěných systémů viskozita často závisí na koncentraci disperzního prostředí, naopak u koncentrovaných emulzí je více závislá na poměru objemů obou kapalin než na viskozitě disperzního prostředí [2].

Další z vlastností emulzí je možnost změny typu emulze, kdy emulze jednoho typu přechází na emulzi typu druhého. K obrácení neboli inverzi fází může docházet na základě změny podmínek, které stabilizují emulzi určitého typu [1; 2].

### 1.1.3 Vznik emulzí

Vznik emulzí může probíhat různými způsoby, některé stabilnější emulze mohou vznikat samovolnou *emulzifikací*. V případě, že mezí povrchové napětí mezi oběma fázemi je dostatečně malé, mohou emulze vznikat pouhým smícháním dvou kapalin a mírným protřepáním [2; 3].

Mezi základní postupy pro přípravu emulzí patří:

- Přidání vnitřní fáze do fáze vnější – jedná se o často využívaný postup, jehož výhodou je, že vnější fáze zůstává v přebytku, a tak se snadněji docílí požadovaného typu emulze. Při přípravě emulze O/V se nepolární fáze přidává po částech do vodné fáze. U emulze druhého druhu je tomu naopak [4];
- Přidávání vnější fáze k vnitřní – při přípravě emulze typu O/V je postupně přidávána „voda“ k „oleji“, nejprve vzniká emulze V/O, ale postupným přidáváním vodné fáze dochází k obrácení fází emulze a tím ke vzniku emulze O/V [4];
- Střídavé přidání obou fází k emulgačnímu činidlu – nejprve se do každé fáze přidávají emulgační činidla rozpustné v těchto fázích, vzniklé směsi jsou promíchány a následně spojeny v jednu směs, čímž se vytvoří prvotní emulze, následně je přidávána organická a vodná fáze, dokud se nedosáhne požadovaného produktu [4];
- Smíchání obou fází po zahřátí – obě fáze jsou zahřáty nad teplotu tání organické fáze, následně jsou míchány a ponechány chladnout. Tato metoda se využívá např. při přípravě krémů a mastí [4].

Při emulzifikaci je nutno dodat systému práci, která rozdělí vnitřní fázi na menší kapky a ty rozdisperguje ve fázi vnější. Většinou se emulze připravují mechanickou dispergací za přítomnosti vhodného emulgátoru, přičemž dochází k silovému působení a vzájemnému pronikání obou nemísitelných či omezeně mísitelných kapalin za pomoci míchání, protřepávání, vibrací pomocí míchadel a koloidních mlýnů nebo ultrazvuku. V některých případech se získané polydisperzní<sup>2</sup> emulze dodatečně homogenizují, čímž vzroste jejich stálost [2; 4; 5].

## 1.2 Nestabilita emulzí

Stabilita emulzí patří mezi jejich nejdůležitější vlastnosti, lze ji popsat jako odolnost vůči změnám vlastností emulzí v čase. Je výrazně závislá na rozdílu hustoty obou kapalin, čím je tento rozdíl větší, tím méně je systém stabilní [5].

Emulze jsou systémy agregátně nestálé, což znamená, že se malé částice poměrně nestabilní soustavy postupem času shlukují do větších celků s větší stabilitou. Zánik emulze je proces spontánní a je spojený s poklesem Gibbsovy energie. Obecně se nestabilita emulze dá rozdělit do několika jevů: izotermický převod, agregace, koalescence a sedimentace [2].

---

<sup>2</sup> Polydisperzní systém je soustava, která obsahuje částice o různých velikostech [3].

### 1.2.1 Izotermický převod

Izotermický převod neboli Ostwaldovo zrání je přenos látky z menších částic na částice o větších rozměrech v důsledku vyššího tlaku páry nebo větší rozpustnosti drobnějších částic [6].

Nejprve dojde k rozpuštění menších částic a následně k přemístění rozpuštěných látek na povrch částic větších, dochází tak ke vzniku mohutnějších celků. Menší částice mají vyšší rozpustnost než částice větších rozměrů, příčinou je jejich vyšší povrchová energie a vyšší celková Gibbsova energie. Rychlost tohoto pochodu závisí na těkavosti (rozpustnosti) disperzního podílu v disperzním prostředí, na difuzním koeficientu a na mezifázovém napětí [2; 7].

### 1.2.2 Agregace

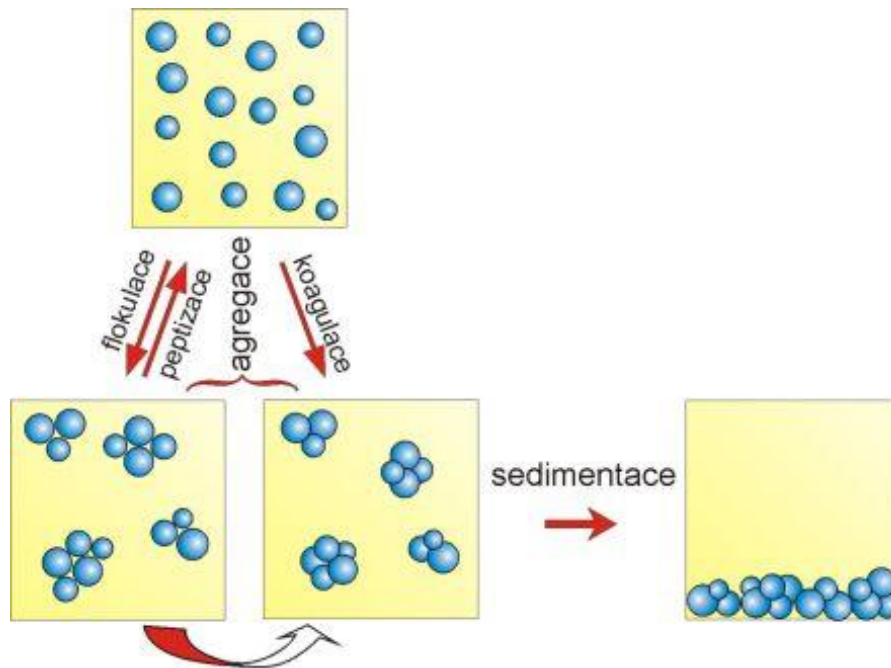
Agregace je jev, při kterém se malé částice shlukují do větších celků neboli agregátů. Dochází při tom ke zrušení fázového rozhraní mezi jednotlivými částicemi a disperzním prostředím, přičemž dochází i ke zmenšení plochy povrchu. Částice si zachovávají identitu, ztrácí pouze kinetickou nezávislost, což znamená, že se vzniklý agregát pohybuje jako celek. Agregaci lze dělit podle pevnosti vázání částic na dva druhy: koagulaci a flokulaci [3].

#### *Koagulace*

Koagulaci podléhají především zředěné emulze, jedná se o proces, při kterém vznikají shluky pevně vázaných částic. Tento jev je nevratný, vytvořený agregát nelze bez vynaložení dostatečně velké energie převést zpět na koloidní systém. Po koagulaci, kdy vzniklé agregáty dosahují určité velikosti, dochází k sedimentaci [3].

#### *Flokulace*

Flokulace je typ agregace, při němž vznikají agregáty částic vázaných slabými vazebnými interakcemi – van der Waalsovy (disperzní) interakce. Jedná se o vratný děj, vzniklé agregáty mohou být převedeny mírným zásahem zpět na koloidní systém pomocí peptizace. Vzniklé shluky částic mohou ale také přecházet v pevněji vázané shluky [3; 5].



Obr. 2 – Agregace disperzních částic [3]

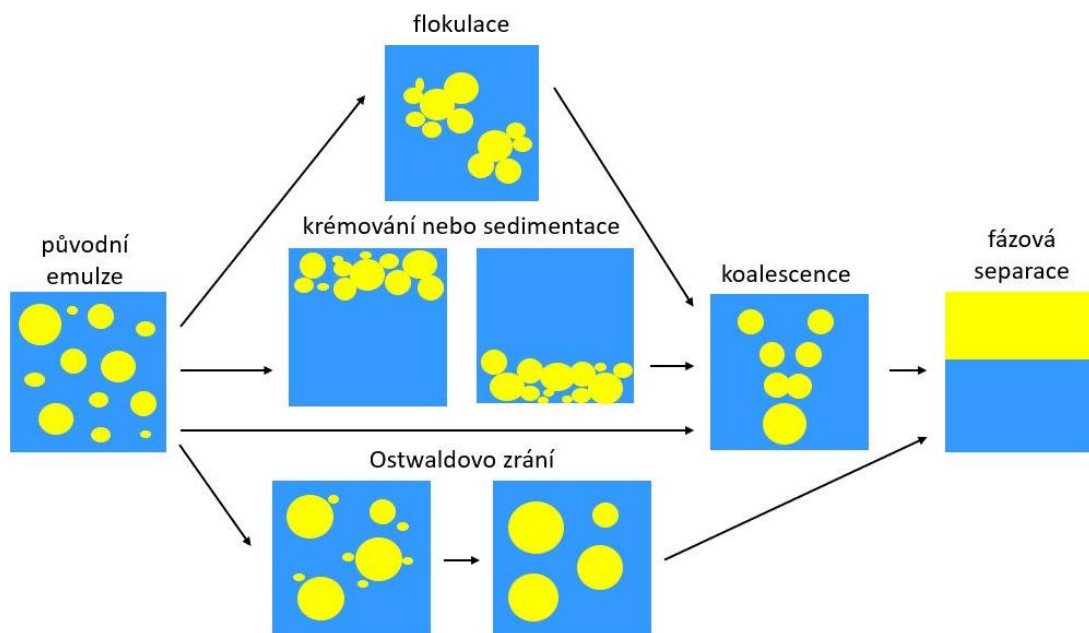
### 1.2.3 Koalescence

Koalescence probíhá zejména v koncentrovaných emulzích. Dochází ke spojování malých kapek do menšího počtu větších kapek a ke zmenšení plochy fázového rozhraní. Tento jev určuje dobu životnosti koncentrovaných emulzí [2].

### 1.2.4 Vzplývání a sedimentace

Tyto jevy jsou založeny na gravitační separaci, jedná se o usazování částic disperzního podílu v silovém poli. Při vzplývání (krémování) dochází k pohybu složek disperzního podílu směrem nahoru v důsledku jejich nižší hustoty. Pokud je hustota částic větší než hustota disperzního prostředí, padají částice směrem dolů a dochází k jejich usazování na dně, v takovém případě se jedná o sedimentaci. Průběh sedimentace určuje rozdíl hustot, velikost částic, případně i rychlost otáčení v odstředivém poli [3; 4].

Hustota olejnaté fáze je většinou nižší než fáze vodné, z toho důvodu dochází u emulze typu O/V ke vzplývání. Naopak u emulze typu V/O dochází k sedimentaci vodné fáze ke dnu.



Obr. 3 – Destabilizace emulzí (upraveno) [4]

### 1.3 Metody stabilizace emulzí

Samovolnému zániku emulzí lze zabránit jejich stabilizací. Častým způsobem, jak zabránit agregaci v systému, je stabilizace elektrickou dvojrůstvou. Mezi další způsoby patří stérická stabilizace, Gibbs-Marangoniho efekt a stabilizace pevnými částicemi.

#### 1.3.1 Stabilizace elektrickou dvojrůstvou

Na povrchu koloidních částic vzniká tzv. elektrická dvojrůstva. Je to útvar složený ze dvou opačně nabitých vrstev. Skládá se ze dvou částí – kompaktní a difúzní. Kompaktní vrstva je blíže k povrchu částice, naopak difúzní část je od povrchu částice dále. Obě vrstvy jsou elektricky nabité. V difúzní části nepůsobí adsorpční síly nebo jsou velmi malé, naopak v kompaktní vrstvě tyto síly působí. Díky povrchovému náboji koloidních částic existuje potenciálový rozdíl mezi těmito dvěma částmi daného koloidu [8].

Stabilizace elektrickou dvojrůstvou má uplatnění jen ve zředěných emulzích, kdy ke srážkám částic nedochází tak často. Vzniká zde v důsledku různé rozpustnosti kationtů a aniontů ve vodné a olejové fázi<sup>3</sup>. Za podmínky, že nejsou v systému přítomny elektrolyty, může elektrická dvojrůstva vzniknout v důsledku adsorpce hydroxoniových nebo hydroxidových iontů z vody na fázovém rozhraní [1; 2].

Při přibližování dvou disperzních částic o stejném náboji se difúzní části jejich elektrických dvojrůstev navzájem prostupují. V mezeře mezi povrchy částic se mění prostorové rozložení iontů, v důsledku toho se mění i profily potenciálu a místní hustoty náboje. Při zužování mezery dochází k uvolňování iontů, vzrůstá Gibbsova energie systému,

<sup>3</sup> Anionty jsou obvykle více rozpustné v olejové fázi, naopak kationty ve vodné fázi, v důsledku toho mívají kapičky u emulzí O/V záporný náboj [2].

v důsledku toho vznikají odpuzivé síly mezi částicemi, které se vlivem tepelného pohybu<sup>4</sup> od sebe opět vzdálí [3].

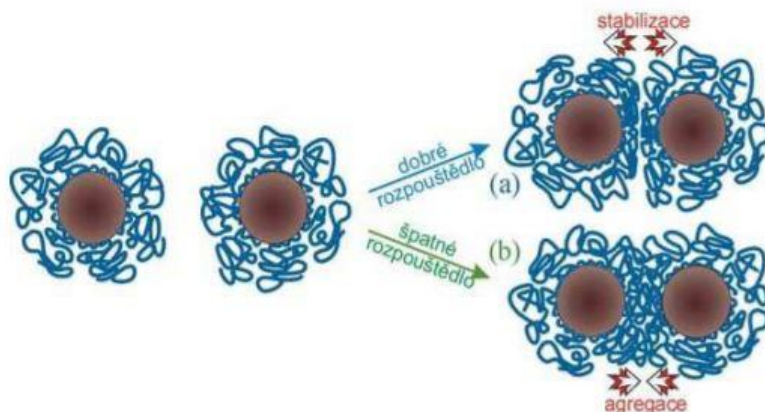
Stabilitu elektrickou dvojrůstkou může ovlivnit řada faktorů – přidavek elektrolytů, koncentrace disperzního systému nebo teplota. Nejvýznamnější vliv má přítomnost elektrolytů, které zvyšují iontovou sílu a zároveň zmenšují tloušťku dvojrůstky. Čím je tloušťka dvojrůstky a náboj kapky větší, tím účinněji brání odpuzivé síly mezi kapičkami koalescenci [2; 6].

### 1.3.2 Stérická stabilizace

Stérická stabilizace je stabilizace koloidních lyofobních částic přidavkem vhodných látek. Molekuly přidané látky musí být schopné dostatečně silné adsorpce na povrchu lyofobních částic a současně jsou rozpustné v disperzním prostředí. Pro účinnou stabilizaci musí být povrch částice zcela pokryt dostatečně silnou vrstvou pevně vázané stabilizující látky. Nejčastěji se používají některé makromolekuly a povrchově aktivní látky [2; 5].

V dobrém rozpouštědle adsorpční vrstva způsobuje, že lyofobní částice získávají lyofilní povrch, jsou díky ní stabilní a brání jejich agregaci. Důvodem je upřednostnění kontaktu stabilizující látky a molekul rozpouštědla, adsorpční vrstvy se brání vzájemnému pronikání a vyvíjejí odpor proti shlukování, protože mají tendenci expandovat [2; 3; 6].

Účinnost látky závisí na jejích chemických vlastnostech, jako je stupeň disperzity, elektrický náboj a teplota. Za určitých podmínek by mohla stabilizující látka mít opačný účinek, a naopak napomáhat k agregaci. Tento případ nastává při použití špatných rozpouštědel, kdy dochází k vzájemnému pronikání adsorpčních vrstev molekul a částice se shlukují [2; 5].



Obr. 4 – Stérická stabilizace [2]

### 1.3.3 Gibbs-Marangoniho efekt

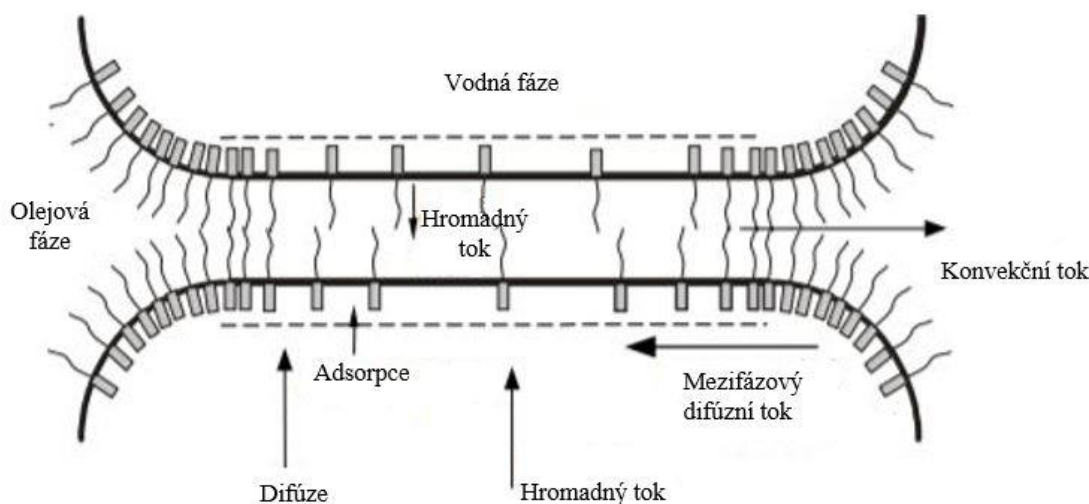
Gibbs-Marangoniho efekt může stabilizovat emulze povrchově aktivními látkami. Vlastnosti filmů disperzního prostředí, které oddělují jednotlivé kapky disperzního podílu, jsou jedním z nejdůležitějších faktorů, které rozhodují o stabilitě emulzí [3].

Dochází k odtoku kontinuální fáze mezi dvěma protichůdnými kapičkami, což vede ke ztenčování přepážek. Při přiblížení kapiček se jejich povrchy nakonec stávají

<sup>4</sup> Při tepelném pohybu dochází neustále k náhodným srážkám molekul. Tento pohyb bývá také označován jako Brownův pohyb [5].

rovnoběžnými a v důsledku zvětšení plochy přepážky při její deformaci poklesne koncentrace povrchově aktivní látky ve střední části filmu. Dochází k vzrůstu lokálního mezifázového napětí, což působí proti síle protahující přepážku. Gradient mezifázového rozhraní způsobuje tok kapalin podél fázového rozhraní z míst o nižším mezifázovém napětí do míst o vyšším mezifázovém napětí. Tímto tokem se vyrovnává ztenčování filmu způsobené vytékáním kapaliny [3; 9].

Pro ustanovení původní koncentrace v oblasti se zvýšeným mezifázovým napětím je nutné, aby se v této deformované části rozptýlily molekuly povrchově aktivní látky [3; 9].



Obr. 5 – Gibbs-Marangoniho efekt (upraveno) [9]

### 1.3.4 Stabilizace pevnými částicemi

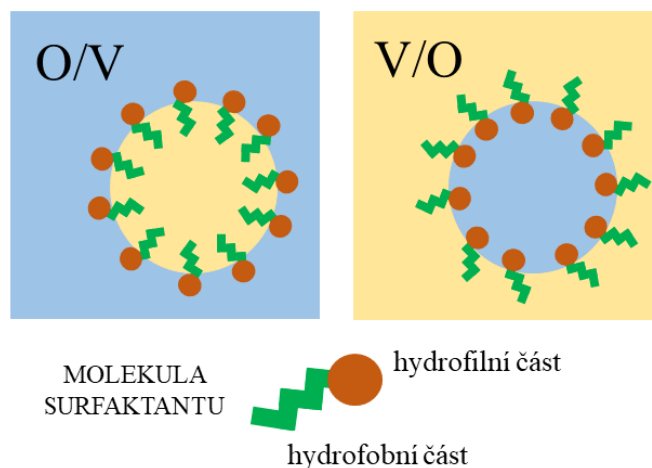
Ke stabilizaci emulzí jsou často používány pevné částice ve formě jemných prášků, částečně smáčených oběma fázemi, jejichž částice jsou schopny vytvořit kolem kapének dostatečně pevnou bariéru, která zabraňuje jejich splývání [2].

Jemné nerozpustné prášky mohou být hydrofilní (více smáčené vodou), nebo naopak mohou být hydrofobní (vodou smáčené méně) [3].

## 1.4 Emulgátory

Emulgátory jsou látky, které umožňují vznik a stabilizaci emulzí díky svým fyzikálním a chemickým vlastnostem. Ke stabilizaci dochází dvěma způsoby, zmenší se energie potřebná na tvorbu kapek a sníží se mezifázové napětí, nebo dojde k zabránění či zpomalení zániku kapek tím, že se na fázovém rozhraní vytvoří film nebo bariéra, která brání kapkám ve flokulaci a koalescenci [3; 4].

Molekuly emulgačních činidel mají amfifilní strukturu, to znamená, že mají hydrofilní i lipofilní část. V emulzích se molekuly orientují na rozhraní nepolární fáze (O) a fáze polární (V) tak, že hydrofobní konce molekul tvořené převážně řetězci mastných kyselin směřují do fáze nepolární, naopak hydrofilní části molekul směřují do polární fáze. Mezi fázemi tak dochází k vytvoření monomolekulárního nebo vícemolekulárního filmu, který usnadňuje emulgaci a stabilizuje emulzi [4].



Obr. 6 – Stabilizace kapek v emulzi pomocí emulgátoru (upraveno) [4]

Povaha emulgátoru určuje stabilitu, ale také i typ emulze. Pro všechny druhy emulgátorů platí, že ve stabilizované emulzi je spojitě disperzní prostředí tvořeno tou fází, k níž má použité emulgační činidlo za daných podmínek větší afinitu, tím je myšlena rozpustnost v dané fázi a u práškových emulgátorů ochota ke smáčení [3].

#### 1.4.1 Druhy emulgačních činidel

Vhodnými emulgačními činidly jsou látky schopné gelace nebo látky schopné sloučení ve velké micely. Ve vznikajících filmech jsou vázány dostatečně velkými mezimolekulárními silami, které jim dodávají potřebnou soudržnost a pevnost. Mezi vhodné emulgátory patří i práškovité nerozpustné látky. Převážnou část používaných emulgátorů lze rozdělit do tří následujících skupin [3].

##### *Asociativní koloidy*

Asociativní neboli micelární koloidy vznikají spojováním molekul povrchově aktivních látek v útvary koloidní velikosti tzv. micely. Tyto koloidy nemají pevně definované fázové rozhraní, jelikož dochází k neustálé výměně molekul povrchově aktivní látky mezi koloidní částicí a disperzním prostředím [5].

##### *Makromolekulární koloidy*

Mezi makromolekulární koloidy patří hydrofilní koloidy a koloidy rozpustné v nepolárních rozpouštědlech. Do této skupiny se řadí proteiny a polysacharidy [3].

##### *Nerozpustné prášky*

Částice nerozpustného prášku musí mít správný stupeň disperzity, tyto částice jsou schopny vytvořit kolem kapének dostatečně pevný obal. Příliš těžké částice klesají z rozhraní vlivem gravitačního pole, a naopak příliš malé částice opouštějí rozhraní působením tepelného pohybu [3].

Jemné prášky jsou částečně smáčené oběma fázemi a uvnitř kapénky je fáze, která méně smáčí práškový emulgátor. Hydrofilní prášky stabilizují emulze O/V a hydrofobní emulgátory stabilizují emulze typu V/O [3].



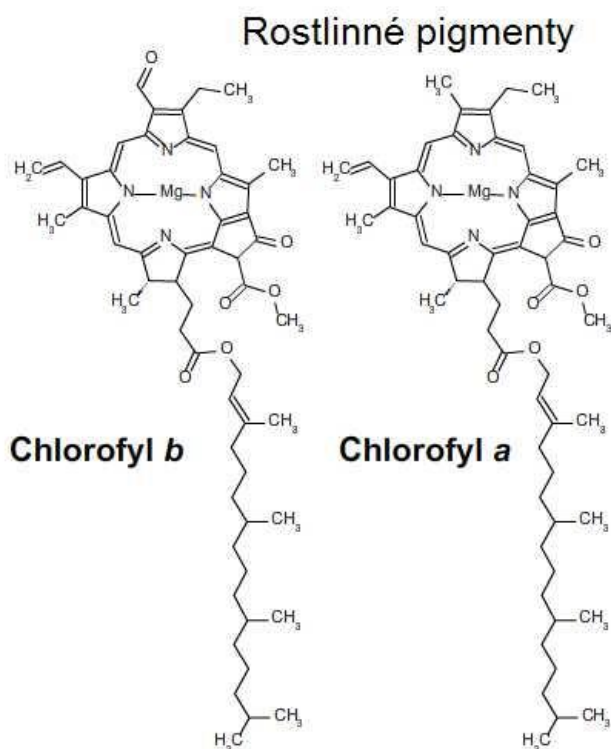
## 1.5 Chlorofyl

Chlorofyl je zelený pigment obsažený prakticky ve všech fotosyntetických organismech, mezi tyto organismy patří zelené rostliny, sinice a řasy. Zapojuje se do fotosyntézy, zjednodušeně řečeno, absorbuje elektromagnetické záření, které následně použije k přeměně oxidu uhličitého na sacharidy. Je známo několik forem chlorofylu, u vyšších rostlin, mechů a zelených řas se v nejvyšší míře vyskytuje chlorofyl *a* a *b*, chlorofyl *c* a *d* se nachází u některých řas společně s již zmiňovaným typem *a*, chlorofyl *e* je méně obvyklým typem a vyskytuje se u některých zlativek, bakteriochlorofyl je posledním typem a vyskytuje se u některých fototrofních bakterií [10; 11].

V zelených rostlinách jsou molekuly chlorofylu umístěny v organelách zvané chloroplast, konkrétně na thylakoidních membránách.

Z chemického hlediska se chlorofyl řadí mezi deriváty porfyriu. Jedná se o planární molekulu s centrálním atomem kovu vázaným na 4 pyrolová jádra. Centrálním atomem je v případě chlorofylu kationt hořčíku  $Mg^{2+}$ , další komponentou chlorofylové molekuly je dlouhý uhlovodíkový řetězec (fytol). Ačkoli porfyrin má hydrofilní charakter, je pro molekulu chlorofylu významnější nepolární charakter uhlovodíkového řetězce [10; 11; 12].

Ve stravě člověka může být chlorofyl pozitivním přínosem pro jeho zdraví svými antimutagenními účinky, antigenotoxickými vlastnostmi a silnou antioxidační kapacitou k zachycování volných radikálů, čímž brání oxidaci lipidů [13].



Obr. 7 – Vzorec chlorofylu *a* a *b* [14]

Pozitivní vliv chlorofylu na zdraví byl prokázán i při vnějším užívání, nejen jeho konzumací v potravě.

### 1.5.1 Hojení popálenin

Na základě dřívějších studií vycházel Smith a Livingstone při jejich studii na téma hojení ran s použitím ve vodě rozpustných chlorofylových přípravků v roce 1943 z předpokladu, že chlorofyl má stimulující účinek na růst fibroblastů v tkáňové kultuře a má určité bakteriostatické vlastnosti, ačkoli sám o sobě baktericidní není. V této studii bylo prováděno porovnání chlorofylových přípravků i značné množství dalších látek při léčení experimentálně způsobených popálenin suchým teplem u psů. Ve výsledku vykazovaly chlorofylové přípravky větší odezvu v rychlosti hojení popálenin v rozmezí 62 až 83 %, jako průměrný údaj je ve studii uvedeno 71% zlepšení. Zároveň nebyly pozorovány žádné výraznější rozdíly mezi léčbou větších, závažnějších popálenin a léčbou menších popálenin, vytvořených při nižší teplotě, i když léčba rozsáhlejších popálenin trvá o něco déle. Míra zlepšení hojení se při použití chlorofylu pohybovala okolo 25 až 30 %, zatímco u ostatních pozorovaných látek došlo zřídka ke zlepšení o více jak tři dny [15].

Na výše uvedenou studii [15] navázal Smith a Livingstone v roce 1945, když se rozhodli pro další výzkum použití chlorofylu, tentokrát ve spojení s některými antibakteriálními látkami. Jak je již zmíněno, chlorofyl není baktericidní, z toho důvodu není schopen léčit sekundární infekci ran. Při přítomnosti infekce v ráně a použití samotného chlorofylu v přípravku docházelo spíše ke zpomalení hojení. Cílem Smitha a Livingstona bylo spojení chlorofylové masti s antibakteriální látkou tak, aby přípravek urychlil hojení i infikovaných ran. V několika rezistentních chronických případech, jako byly dlouhodobé případy osteomyelitidy a popáleniny, které se nevyлéčily ani po 20 měsících, byly výsledky nad očekávání dobré. Několik končetin bylo zachráněno před amputací a vyléčení některých případů proběhlo v neuvěřitelně krátkých časových obdobích [16].

Ze zmíněných studií [15, 16] čerpal i Collings, který v roce 1945 vydal studii týkající se účinnosti masti s přídavkem chlorofylu a výtažku z nadledvin na průmyslové popáleniny. Chlorofyl byl použit s cílem dosažení maximální regenerace tkáně v co nejmenším časovém období, jelikož z dřívějších studií bylo prokázáno, že chlorofyl má výrazný účinek na stimulaci buněčné proliferace a opravy tkání, navíc vyvolává dostatečný bakteriostatický účinek. V této studii byly porovnávány 3 masti, jedna byla tvořena pouze základem a byla používána pro kontrolu, další byla tvořena masťovým základem, ale obsahovala i přidaný chlorofyl, a poslední mast obsahovala masťový základ, chlorofyl i výtažek z nadledvin. Studie [17] byla provedena na 91 případech průmyslových popálenin různých stupňů, kdy masti byly aplikovány na jednotlivé případy náhodně a kontroly byly prováděny jen u bilaterálních popálenin. Z výsledků je patrné, že podle kontrol docházelo u hlubších popálenin 2. a 3. stupně ke zkrácení doby hojení při použití masti s chlorofylem, a mnohem kratší doba hojení se projevila u masti s výtažkem z nadledvin (tato doba je kratší i oproti masti s chlorofylem), přičemž se ani u jedné popáleniny 2. a 3. stupně neprojevila infekce. V závěrech Collings zmiňuje, že pro udržení čisté chirurgické rány při běžných antiseptických opatřeních stačí použít právě chlorofyl [17].

### 1.5.2 Další zranění a dermatologická onemocnění

V již zmíněné studii z roku 1943 se Smith a Livingstone zaměřili i na hojení experimentálně vytvořených chirurgických ran, přičemž se věnovali ranám neinfikovaným i infikovaným. Při těchto experimentech bylo provedeno 18 samostatných experimentů na každém druhu zvířat, přičemž neinfikované rány měly 4 druhy a infikované 2 druhy zvířat.

U 67 % neinfikovaných ran došlo k rychlejšímu hojení při použití chlorofylu, u morčat a králíků zlepšení bylo až u 83,3 % ran. O 3,5 dne se také zlepšila doba průměrného časového intervalu potřebného pro úplné uzdravení a v některých případech tento rozdíl činil i 6 až 8 dní. Doba zkrácení léčení naznačila, že chlorofyl stimuluje buněčný růst. U infikovaných ran bylo relativní zrychlení hojení za použití chlorofylu téměř stejné jako u ran neinfikovaných [15].

Ve svém výzkumu na použití chlorofylu ve spojení s antibakteriálními látkami, se Smith a Livingstone zabývali kromě popálenin i jinými ranami, například povrchovými řeznými ranami. Při hledání nejlepšího základu pro mast bylo testováno několik produktů na morčatech, přičemž bylo vytvořeno celkově 200 experimentálních ran, z toho 100 bylo ošetřeno 1% chlorofylovou mastí a zbylých 100 sloužilo jako kontrola, ty byly ošetřeny jen čistým základem masti. Většinou se jednalo o čisté rány, infekce propukla v méně než 10 % případů. Hojení bylo urychleno u 71 % případů a probíhalo o 25 % rychleji v čase, čímž se ukázalo, že chlorofyl významně urychluje proces hojení. Následně byla k výzkumu použita 1% chlorofylová mast v kombinaci s různými antibakteriálními látkami (sulfa, penicilin, tetrodin). Experimenty se prováděly na morčatech a psech (24 zvířat), které měli 2 rány na břicho, z toho vždy rána na pravé straně sloužila jako kontrolní. Nejlepší výsledek vykazovala kombinace chlorofylu a penicilinu. Při použití masti obsahující samotný chlorofyl trvalo hojení rány 14,3 dní, při použití samotného penicilinu v masti hojení trvalo 15 dní, při kombinaci těchto dvou látek se doba hojení zkrátila na 10 dní. V ostatních případech, stejně tak i u kontrolních vzorků výsledky nebyly tak uspokojivé. Průměrné zrychlení hojení v čase činilo 25 %, ale v jednotlivých případech se vyskytovaly velké rozdíly, u některých ran šlo dokonce o 40 a 50 %. Závěrem tedy vyplývá, že chlorofylová mast s penicilem může významně přispět ke zkrácení doby potřebné k eliminaci infekce a úplného uzdravení ran [16].

## 1.6 Masti na hojení popálenin a ran

Existuje několik stupňů i druhů popálenin, což ovlivňuje i jejich léčbu. Například při popáleninách 1. stupně je důležité postižené místo zchladit tekoucí vodou a následně jej ošetřit krémem (případně gelem nebo pěnou) s chladivým a hydratačním účinkem, jelikož popálená kůže ztrácí schopnost dobře si udržovat vlhkost. K tomuto účelu stačí i gel z odkrojeného listu rostliny *aloe vera*, který poraněnou kůži chladí a zvláčňuje [18].

### 1.6.1 Mast na popáleniny a rány

V roce 1999 byl schválen patent masti na popáleniny a rány, o který žádali Shikhashvili a Darsavelidze [19]. Složení masti bylo následující:

- Vlastovičnick větší (*Chelidonium majus*) – 15–25 g;
- Jitrocel větší (*Plantago major*) – 15–25 g;
- Řebříček obecný (*Achillea millefolium*) – 15–25 g;
- Měsíček lékařský (*Calendula officinalis*) – 15–25 g;
- Třezalka tečkovaná (*Hypericum perforatum*) – 15–25 g;
- Blahovičnick kulatoplodý (*Eucalyptus globulus*) – 15–25 g;
- Olivový olej – 1000 g;
- Žlutý vosk Cera Flava – 80–130 g.

Vlaštovičník urychluje regeneraci a působí jako protizánětlivé, lokální analgetikum. Jitrocel má antimikrobiální, hemostatický a hojivý účinek. Řebříček funguje jako antiseptické lokální analgetikum, má protizánětlivý účinek a zrychluje regeneraci. Měsíček dokáže posílit stěny oběhových cév a tím snížit jejich propustnost, což je u popálenin důležité, jelikož dochází ke zvýšení kapilárního toku a úniku plazmy, dále zlepšuje epitelizaci a granulaci kůže. Účinek měsíčku roste v kombinaci s řebříčkem. Třezalka vykazuje protizánětlivé a hojivé účinky. Jednou z jejích aktivních složek je hypericin, ten působí jako antibiotikum a antivirotikum. Olivový olej je pokožkou snadno vstřebán a v patentu je uváděno, že má hlubší účinek než vazelína. Žlutý vosk pak obsahuje velké množství vitamínu A, který je nezbytný pro celkové zotavení pokožky a urychluje hojení popálenin [19; 20].

Vzorky mastí byly aplikovány na členy rodin zapojených vědců a dobrovolníky při léčbě popálenin 1., 2. a 3. stupně, tržných a řezných ran, ale i pohmožděnin. Po aplikaci obvazu na poranění došlo u pacientů k zástavě krvácení, zmírnění bolesti, zastavení hnisavého výtoku a urychlení granulace a epitelizace. Zároveň nebyly zaznamenány žádné komplikace léčby, jako je hnisání, krvácení a prodloužení doby hojení [19].

V preklinických testech byl zkoumán mechanismus působení této masti toxikologickými, mikrobiologickými, morfológickými, imunologickými, patofyziologickými, histobiologickým i a biochemickými metodami. Dle výsledů tuto mast lze považovat za neškodnou a bezpečnou pro lidské zdraví [19].

Při klinických testech se zapojilo 6 klinik a celkem 449 pacientů s různými diagnózami, jako jsou infikované i neinfikované rány, popáleniny, hnisavé poškození podkožních tkání, vředy atd. Aplikace masti na poranění způsobila stimulaci regeneračních procesů a rány se hojily dříve než u klasické léčby, rychle také došlo ke snížení hnisavého výtoku, snížení bolesti a otoků tkání kolem rány, zrychlilo se čištění rány a došlo ke zlepšení mikrocirkulace a epitelizačních procesů. U popálenin 2. a 3. stupně došlo ke snížení ztrát plazmy, dokonce došlo k úplné epitelizaci bez jizev. Po aplikaci masti nedošlo k prodloužení doby hojení, ani nenastaly žádné komplikace [19].

### *1.6.2 Směsi z kavkazských druhů kostivalu*

V roce 2009 vyšel článek [21], který pojednává o léčivých účincích kavkazských druhů kostivalu na popáleniny. Výtažky z této rostliny se používají již mnoho let, pro jeho protizánětlivé a hojivé účinky. V gruzínské lidové medicíně se využívá k urychlení regeneračních procesů. Používá se při léčbě zlomenin kostí, poranění šlach, vředových lézí gastrointestinálního traktu, jako podpora hojení ran a snížení zánětu kloubů. Bylo zjištěno, že kyselina poly[3-(3,4-dihydroxyfenyl) glycerová] (PDPGA) obsažená v kořenech a stoncích rostliny má vysokou antioxidační aktivitu, lze považovat za protizánětlivý prostředek a vazoprotektivum a je využívána při hojení ran [21; 22].

Cílem výzkumu bylo studium aktivity hojení popálenin nových pyrrolizidinových alkaloidů a přípravků bez obsahu alantoinu z kavkazských druhů kostivalu ve srovnání s 2,5 % alantoinovou mastí. Základ mastí byl tvořen destilovaným monoglycerinem a glycerinem. Celkem byly připraveny 3 masti (A, C, CA). Mast C obsahovala 2,5 % vysokomolekulární frakce z kořenů kostivalu, jako polysacharidy a PDPGA. Mast A byla tvořena 2,5 % alantoinovou mastí a mast CA byla kombinace, která obsahovala 1,25 % vysokomolekulární frakce (jako u masti C) a 1,25 % alantoinu (jako u masti A) [21].

Během výzkumu byly prováděny pokusy na krysách o podobné hmotnosti, při anestezii byly zvířatům na depilované kůži způsobeny popáleniny 3. stupně pomocí topného tělíska.

Krasy byly rozděleny do 4 skupin po 6 zvířatech, skupiny 1–3 byly ošetřovány mastmi A, C a CA a 4. skupina sloužila jako kontrolní, kdy popáleniny zůstaly bez ošetření. Při pozorování bylo patrné, že při použití masti C došlo rychle ke zmenšení poraněné plochy až o 40 %, u mastí A a CA se postižená plocha zmenšila jen o 10 a 20 %. Také při použití masti C bylo pozorováno o 3 dny dřívejší kompletní vyléčení ve srovnání s mastmi A a CA, oproti kontrolním vzorkům bylo vyléčení rychlejší dokonce o 5 dní. Předpokládá se, že stanovená aktivita hojení je spojena se synergickým působením složek, což vede ke zkrácení doby potřebné pro zhojení zánětlivé rány [21].

Z výsledku experimentu se dá předpokládat, že mast C, tedy mast bez obsahu alantoinu, je účinnější než masti, které jej obsahují. Nicméně alantoin má také farmakologické a hojivé účinky, i když zřejmě při léčbě popálenin nejsou tak výrazné. V článku se uvádí, že vyrobená mast C by mohla být doporučena pro léčbu popálenin 2. a 3. stupně [21; 23].

### 1.6.3 Mast na popáleniny pro podporu regenerace tkání

V roce 2018 byl publikován patent zabývající se mastí na popáleniny, která by měla podporovat regeneraci tkání a reepitelizaci postiženého místa kožními buňkami [24]. Složení vyrobené masti bylo následující:

- Cefalosporin;
- Gentamicin;
- Ženšenový kořen (*Radix Ginseng*);
- Propolis;
- Kamejka – kořen (*Radix Lithospermi*);
- Šišák bajkalský – kořen (*Radix Scutellariae*);
- Montmorillonite;
- Reveň kadeřavá – kořen (*Radix et Rhizoma Rhei*);
- Výtažek z lidské placenty;
- Borneol;
- Vitamín B6;
- Vitamín C;
- Základ masti.

Cílem bylo vyrobit mast, která by účinně zkrátila dobu hojení popálenin 3. stupně a která by působila tak, aby zhojená tkáň byla bez keloidního zjizvení. Dalším cílem vyrobené masti byly její antibakteriální vlastnosti, zmírnění bolesti pacientů a eliminace infekce [24].

Jako základ pro mast byla použita vazelína nebo základová emulze typu V/O. Cefalosporin je antibiotikum, které má baktericidní účinky, v tomto případě byl použit cefoperazon sodný. Gentamicin se používá k terapii závažných infekcí a sepsí, má bakteriostatický až baktericidní účinek [24].

Výtažek z ženšenu pravého podporuje hojení ran a popálenin, částečně je chrání i před infekcí. Stimuluje produkci kolagenu v pleti a tím podporuje regenerační procesy v pleti [25].

Propolis je produktem včely medonosné, vykazuje antimikrobiální vlastnosti a pomáhá k regeneraci kožní tkáně [26].

Rostlina jménem kamejka (*Lithodora fruticosa*) pomáhá u léčby spalniček, neštovic, ekzémů a popálenin. Při hojení ran může přispívat k aktivní proliferaci fibroblastů a zvýšení hladiny kolagenových vláken. Aktivní složky izolované z kořene kamejky vykazují protizánětlivé účinky [27].

Studie lidské placenty ukázaly, že je bohatým zdrojem mezenchymálních kmenových buněk, kolagenové matrice, růstových faktorů a může přispívat k regeneraci tkání. Výtažek z placenty se používá pro ošetřování ran již poměrně dlouhou dobu. Bylo zjištěno, že látky obsažené v lidské placentě mají protizánětlivé a antimikrobiální účinky [28].

Borneol se řadí k terpenům, které jsou obsaženy např. v zázvoru, šalvěji, skořici, máte a konopí. Má schopnost zmírnit bolest, antibakteriální účinky a působí protizánětlivě [29].

Jeden z příkladů klinického testování připravené masti uvádí pacienta, který byl převezen do nemocnice s popáleninami obličeje a levé ruky způsobenými při odpalu ohňostroje. Rány byly již 6 dní staré. Dále je uvedeno, že po aplikaci připravené masti se popáleniny vyléčily po 10 dnech bez potřeby kožního štěpu, zároveň na obličeji nezůstaly žádné jizvy, ani hyperpigmentace [24].

#### 1.6.4 Bylinný přípravek

V roce 2017 byla zveřejněna žádost o patent na rostlinný přípravek s protizánětlivým účinkem, který lze použít na hojení ran. Hlavní aktivní látkou přípravku byl alkoholový extrakt z medovníku meduňkolistého (*Melittis melissophyllum*), dalšími aktivními složkami ale byly i flavonoidy, trísloviny, polyfenoly, aminové sloučeniny, hořčiny a minerální látky. Přičemž trísloviny neboli taniny tvoří s kolagenem nerozpustné a nevratné spoje, působí svíravě na sliznice, zabraňují krvácení z kapilárních cév a inaktivují bakterie. Flavonoidy slouží jako prostředek pro utěsnění stěn cévních kapilár, a tím také působí proti krvácení. Mast dále obsahovala 40–70 hm. % bílé vazelíny jako masťového základu [30].

Mast byla použita na ošetření ran epidermis a hlubších vrstev kůže. Její účinky byly testovány na 3 skupinách zvířat. Jedna skupina sloužila jako kontrolní a rány byly ponechány bez ošetření. Další skupina byla ošetřena chlorhexidinem, který slouží jako antiseptikum a ničí bakterie. Třetí skupina byla ošetřena mastí popsanou v patentu [30].

U skupiny ošetřované popisovanou mastí došlo k úplné epitelizaci již 9. den, u kontrolní skupiny i u skupiny ošetřované chlorhexidinem k úplné epitelizaci došlo až za 12–13 dní. Bylo zjištěno, že vyrobená mast podporuje normální epitelální růst, urychlení granulace během hojení a pomáhá udržovat prostředí rány vlhké. Roztok *Melittis melissophyllum* má vysokou terapeutickou aktivitu během všech fází hojení ran a tento proces urychluje, pomáhá urychlit buněčnou proliferaci, a z toho důvodu k úplnému zahojení dochází mnohem dříve [30].

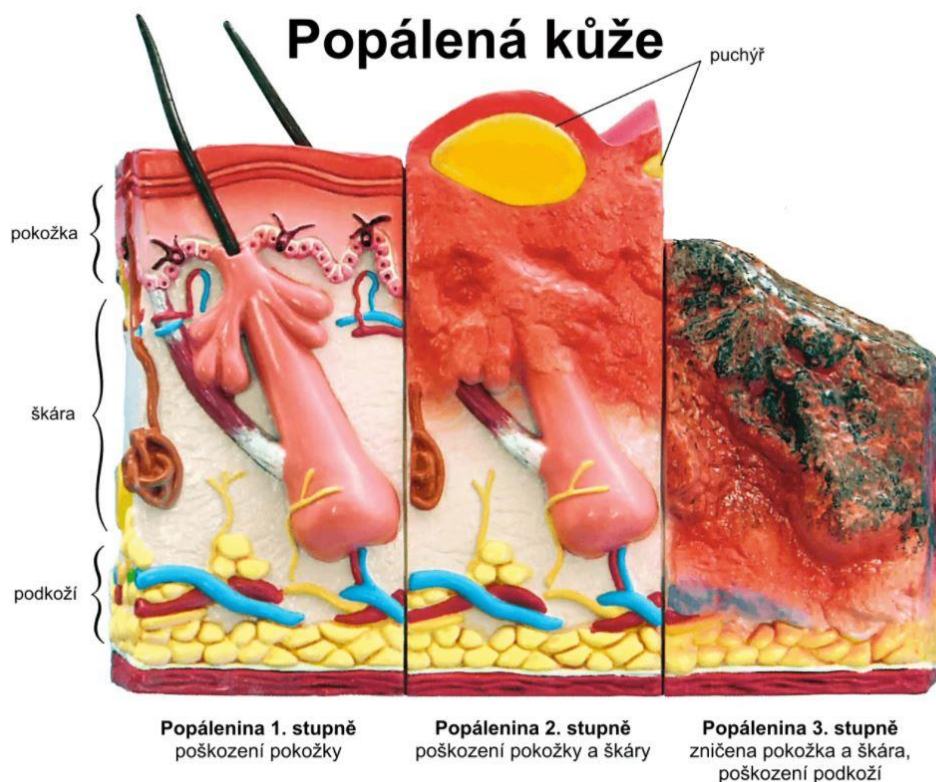
### 1.7 Využití v medicíně

Důležitým a stále velmi aktuálním problémem v medicíně je rychlost hojení různých typů ran. Rány mohou být způsobeny mechanicky, jako jsou oděrky, tržné rány a rány řezné. Rány mohou mít také původ v nemoci, kdy se projevují jako vedlejší účinek onemocnění, příkladem může být cukrovka a s ní spojená diabetická noha. Dalším typem ran jsou rány tepelné, do této kategorie spadají popáleniny a omrzliny [30].

Popálenina je typem poranění tkáně, může být způsobena teplem, chemikáliemi, elektrickým proudem, slunečním zářením, ale i ionizujícím zářením. Popáleniny bývají definovány podle intenzity poškození tkáně do hloubky, ale i do velikosti plochy poškození. Popáleniny se dělí na 6 stupňů, ovšem první tři z nich bývají nejčastější [31].

Rozdělení popálenin podle stupňů:

- 1. stupeň – bývá poškozena jen vnější vrstva kůže zvaná pokožka (epidermis), tyto rány se obvykle zahojí bez potřeby ošetření lékařem, bývají bolestivé a k úplnému zahojení dochází do 14 dnů;
- 2. stupeň – poškození zasahuje i do vrstvy kůže zvané škára (dermis), zde bývá potřeba ošetření lékařem, bývají bolestivé, po těchto popáleninách může zůstat na tkáni zjizvení;
- 3. stupeň – dochází k poškození nebo k úplnému zničení obou vrstev kůže, dochází k poškození podkoží, bývají poškozeny i vlasové folikuly a potní žlázy, při takto rozsáhlém poškození všech vrstev kůže bývají poškozeny nervová zakončení a popáleniny se stávají bezbolestnými, u těchto popálenin je ošetření lékařem vždy nutné;
- 4. stupeň – bývá poškozena i spodní tuková tkáň, tyto popáleniny jsou bezbolestné, jelikož jsou zničena i nervová zakončení, stejně jako u 3. stupně;
- 5. stupeň – dochází i k poškození svalů;
- 6. stupeň – takto hluboké popáleniny zasahují až na kost [31].



Obr. 8 – Vizualizace tří základních stupňů popálení kůže [32]

V roce 2018 světová zdravotnická organizace (WHO) na svých stránkách uveřejnila článek, ve kterém uvádí, že každoročně je na světě až 180 000 úmrtí způsobené právě popáleninami. WHO dále uvádí, že u žen se popáleniny vyskytují častěji než u mužů, příčinou je častá manipulace se kuchyňskými spotřebiči, kdy může dojít ke vzplanutí volného oblečení. Další obvyklou příčinou tepelných úrazů jsou opaření při vaření. Nejčastěji tedy dochází k popálení v domácnosti a na pracovišti [33].

Další náchylnější skupinou k tepelným poraněním jsou děti. Popáleniny u dětí jsou podle článku WHO pátou nejčastější příčinou dětských zranění. Příčinou popálenin u dětí je hlavně

nesprávný dohled rodičů. U dětí jsou život ohrožující popáleniny již na 5 % povrchu těla, pro přirovnání jen dlaň včetně prstů tvoří celé 1 % [33; 34].

V České republice ročně přes 100 000 lidí s popáleninami vyžadují lékařskou léčbu, z toho přibližně u 4 000 případů je nutná hospitalizace. Nejčastější jsou popáleniny způsobené horkou tekutinou, tato příčina se vyskytuje až u 60 % případů, 25 % případů je způsobeno ohněm, 4 % jsou popáleniny způsobené chemikáliemi a 3 % jsou úrazy elektrickým proudem [34].

Těžké a rozsáhlé popáleniny vyžadují hospitalizaci v popáleninových centrech, v České republice se tyto centra nachází na Vinohradech, v Brně a v Ostravě. Od popálení 3. stupně a u všech stupňů následujících je vždy nutná hospitalizace v nemocnici. Při takto rozsáhlých popáleninách dochází k tzv. popáleninovému šoku, kdy organismus ztrácí množství tekutin. Následkem této ztráty tekutin by mohlo být poškození až selhání orgánů, jelikož se k orgánům nedostane dostatek kyslíku. Orgány citlivé na poškození v důsledku popáleninového šoku jsou plíce, srdce, mozek a ledviny. Tento šok může trvat 3 až 14 dní [31; 34].

Při popálení dochází k oslabení imunitního systému, což znamená, že tělo má menší schopnost bojovat proti hrozbám v podobě různých bakterií a infekcí. Dochází k poškození ochranné bariéry těla (pokožky), a tak je pro mikroorganismy snazší se dostat do těla. Povrchový zánět kůže může být vážným problémem, tento neléčený zánět může být následně příčinou infekce v těle. Infekce se pak nemusí usadit jen v poraněné oblasti, ale i v orgánech jako jsou plíce, nebo v krevním řečišti. Tyto infekce pak mohou být potenciálně smrtelné. K zahájení léčby popálenin dochází 3 až 5 dní po úrazu. Proces hojení je bolestivý a často omezuje pohyblivost a kvalitu života [21; 30; 34].

Většina popálenin 1. a 2. stupně může být ošetřována v domácím prostředí. Prvním krokem po popálení by mělo být ochlazení pod tekoucí chladnou vodou po dobu asi 20 minut. Následně by poškozené místo mělo být jemně omyto mýdlem a vodou. Mohou se přikládat i chladivé obklady, které zmírňují bolesti a otoky tkáně. Aplikují se masti na popáleniny. Tyto masti bývají antibiotické, brání mikroorganismům v proniknutí do rány a následnému vzniku infekce. Při ošetření poraněného místa se nesmějí používat žádné vatové či bavlněné tampony, jelikož by se malá vlákna mohla přichytit k ráně a zvýšit tak riziko infekce. Prostředí poranění je nutné udržovat čisté, aby rána byla zahojena rychleji [35; 36].



## 2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V roce 2019 byl celosvětový trh s mastmi oceněn na 813,7 milionu USD, což činí přibližně 17,36 miliard Kč. V letech 2020 až 2027 je predikován roční růst trhu o 6,1 %, konečná hodnota trhu s mastmi na popáleniny se v roce 2027 odhaduje až na 1,3 miliardy USD, přibližně tedy 27,7 miliardy Kč. Růst trhu je způsoben častějším výskytem popálenin, což vede k vyšší poptávce po různých možnostech léčby [37].

V roce 2019 byly na trhu nejvíce zastoupeny produkty obsahující lokální antibiotika, a to díky možnosti jejich použití v domácnosti. Dále se hojně využívají masti obsahující jod a stříbro. Ovšem k léčbě popálenin je možné využít i další produkty, jako jsou spreje, pěny, různé kryty ran, gely apod. [37].

Infadolan patří mezi nejprodávanější dermální masti používaných u dospělých i dětí na ošetření drobných ran, oděrek, ekzémů a popálenin 1. stupně. Tato mast obsahuje *retinoli acetat* (vitamín A) a *ergocalciferolum* (vitamín D<sub>2</sub>) jako léčivé látky v bezvodém masťovém základu. Tento základ je tvořen bílým voskem, bílou vazelínou a tukem z ovčí vlny tzv. lanolín. Mast po aplikaci v tenké vrstvě 1–3krát denně pomáhá k urychlení hojení a obnově pokožky na poraněném místě [38].

Mast Betadine se používá na popáleniny, proleženiny, odřeniny a různá kožní onemocnění spojená s infekcí. Je to antiseptický, dezinfekční přípravek se širokým spektrem účinku proti virům, plísním, prvokům a bakteriím. Přípravek se aplikuje tenkou vrstvou na čistou suchou poraněnou pokožku až šestkrát denně. Léčivou látkou je v tomto případě *povidonum iodinum*, pomocnými látkami jsou hydrogenuhličitan sodný, makrogol 400, makrogol 1000, makrogol 1500, makrogol 4000 a čištěná voda [39].

Při léčbě popálenin je upřednostňováno hojení ve vlhkém prostředí, které je spojováno s menšími bolestmi a se zlepšením hojení. Během 48 hodin po zranění se v ráně vytváří exsudát a dochází k úniku tekutin, z toho důvodu se nejprve používají absorpční obvazy. Následně se absorpční materiál vymění za neadherentní typ nebo hydrokoloidní obvaz. Pokud jsou rány infikované, je potřeba používat lokální antimikrobiální látky, aby došlo k vyčištění rány a zastavení infekce. Stále dostupnější jsou například obvazy obsahující stříbro, které vykazují silné lokální antimikrobiální účinky [40].

Vhodné krytí poranění může zajistit celá řada obvazových materiálů. Je potřeba vybrat takový materiál na krytí rány, který splňuje základní požadavky, jako je například neomezování pohybu pacienta a neulpívání na povrchu poranění. Běžně používané obvazy mají tendenci se přichytit k povrchu rány, při výměně krytí pak může docházet ke strhávání a k poškození epitelizované tkáně, což vede ke zpomalení hojení. Další vlastností, kterou by měl vhodný materiál vykazovat, je savost, měl by být schopen pojmout tekutinu unikající z rány. Zvolený materiál by měl ale zároveň udržovat prostředí rány vlhké, což příznivě ovlivňuje granulaci a epitelizaci. Krytí rány slouží i jako bariéra, aby nedošlo ke vniknutí bakterií do poranění a následnému rozšíření infekce [41].

Při použití hydrokoloidních obvazů dochází při styku s exsudátem k vytvoření gelu na vnitřní straně obvazu. Používají se pro čisté a neinfikované rány, tvoří bariéru neprostupnou pro bakterie a chrání tak ránu před infekcí. Nevýhodou tohoto typu obvazu je možná macerace rány, případně hypergranulace rány [41; 42].

Hydrogelové obvazy řídí výměnu tekutin na rozhraní rány a obvazu. Tyto obvazy obsahují vysoký obsah vody, z toho důvodu se používají hlavně pro poranění se slabým až středním vylučováním exsudátu. Hydrogely zajišťují vlhké prostředí, které napomáhá při hojení, poranění také ochlazuje, což zmírňuje bolesti. Mezi výhody těchto obvazů patří nepřilnavost

k povrchu rány, umožňují volný průchod metabolitů a tkáň nedráždí. Nevýhodou je naopak jejich neschopnost absorpce velkého množství tekutin a mechanická pevnost [41; 43].

Obvazy potažené silikonem neobsahují žádné biologické sloučeniny. Jedná se o porézní, málo přilnavou vrstvu, která se skládá z polyamidové sítě potažené měkkým silikonem. Silikonová vrstva je mírně lepkavá, což zabraňuje maceraci a usnadňuje aplikaci, i přes jeho lepkavost ovšem nedochází při jeho odstraňování k poškození nově vznikající tkáně. Silikon není příliš absorpční, ale umožňuje průchod exsudátu do sekundárního krytí (dalšího obvazu) [41; 44].

Krycí podložky na rány patří mezi jednoduché neadherentní obvazy. Patří sem tkané bavlněné obvazy, tyly a gázy. Mastné tyly patří mezi zástupce primárního nepřilnavého krytí ran. Používají se na sekretující povrchové rány a přikládají se přímo na ránu. Tyto tyly se po aplikaci na poranění následně fixují sekundárním obvazem. Jako výchozí tkanina bývá používán Sanavel nebo Tylexol. Obecně platí, že čím větší jsou oka ve tkanině, tím méně brání výměně metabolitů a transpiraci rány, což pak usnadňuje celý proces hojení. Tkanina je namáčena nebo zalévána neutrálním masťovým základem, nebo i kompletní masť s účinnými látkami [41; 45].

Dalším příkladem používaného materiálu pro krytí ran jsou polyuretanové (PU) filmové obvazy, ty jsou propustné pro vodní páru, kyslík a oxid uhličitý, ale nepropouštějí vodu a bakterie. Polyuretanové obvazy neodvádějí dobře exsudát, což může způsobovat jeho hromadění v ráně a následně vznik infekce, nebo zpoždění hojení. Tyto vlastnosti polyuretanu mohou být zlepšeny při použití jeho nanovláken. Nanovlákna PU jsou netoxická, umožňují vstup vodní páry, výměnu kyslíku, zabraňují průniku bakterií a podporují i odtok tekutin v důsledku zvýšení pórovitosti materiálu [41; 46].

Biosyntetické krytí ran napodobují funkce pokožky, tím podporují reepitelizaci. Krytí tohoto typu napodobuje důležité rysy přirozené kůže, pomáhá k ochraně rány, snížení bolesti a zlepšení funkčních i estetických vlastností. Vnitřní vrstvu tvoří kolagen typu I a vnější vrstvu tvoří silikon. Při jejich použití dochází k výměně plynů a tekutin, ale slouží i jako ochrana před bakteriemi [41; 47].

Pěnové krytí se používá na menší popáleniny, pomáhá udržovat vlhké prostředí ran a poskytuje tepelnou izolaci. Jsou vyrobeny z polopropustného polyuretanu a obsahují pěnové polymerní roztoky s malými póry, které zadržují exsudát mimo ránu a zabraňují tak maceraci. Kontaktní část obvazu je nepřilnavá, obvaz se snadno odstraňuje a nedochází při jeho sejmutí k poranění vznikající tkáně. Vnější vrstva je hydrofobní nebo voděodolná. Při použití těchto krytí dochází tedy k propouštění vodní páry, ale zároveň zabraňují pronikání vodných roztoků a mikroorganismů k ráně. Obvazy mohou být impregnovány antimikrobiálními látkami, což zabraňuje průniku bakterií do poranění a vzniku infekce [46; 48].

## 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

### 3.1 Použité chemikálie

- Synderman – SydoFarm® 1000 g Fagron;
- Bílá vazelína (*Vaselineum album*) – Dr. Kulich Pharma, s.r.o.;
- Extrakt z heřmánku pravého (*Ext. Chamomillae*) – Finclub international;
- Chlorofyl – Dr. Müller Dermochlorophyl Sprej 50 ml;
- Včelí vosk.

### 3.2 Použité přístroje a zařízení

- Magnetické míchadlo s ohřevem IKA C-MAG HS 7;
- Mechanické míchadlo IKA RW 16 basic WERKE;
- Analyzátor disperzí LUMiSizer;
- Hybridní reometr Discovery HR-2;
- Spektrometr Nicolet iS50 se zabudovaným ATR krystalem.

### 3.3 Charakteristika použitých surovin

#### *Synderman*

Jedná se o bezvodý emulgující hydrofobní masťový základ žluté barvy. V omezené míře je kompatibilní s vodou v poměru 2:1 a širokým spektrem převážně lipofilních látek. Spolu s vodou nebo vodními roztoky látek vytváří stabilní emulzi typu V/O. Synderman obsahuje tuk z ovčí vlny, který zlepšuje průnik léčiv do kůže, včelí vosk, japonský vosk, cholesterol, tekutý parafín, tvrdý parafín, polysorbát 80, což je syntetická neiontová povrchově aktivní látka používaná pro stabilizaci vodných roztoků, a žlutou vazelínu [49; 50; 51].

#### *Bílá vazelína*

Je tvořena bělenou a čištěnou směsí převážně nasycených uhlovodíků. Vytváří hydrofobní neemulgující masťový základ vhodný pro další přípravu mastí. Lze do ní dobře zabudovat aktivní farmaceutické látky, které pak mohou snadněji pronikat přes kůži [52].

#### *Extrakt heřmánku*

Heřmánek se řadí mezi nejdůležitější léčivé byliny. Využívá se hlavně jeho protizánětlivých, antiseptických, antispazmodických a mírně zvlhčujících účinků. Léčivo lze aplikovat na rány, které se pomalu hojí, na kožní vyrážky a infekce [53].

#### *Chlorofyl*

Chlorofyly jsou rostlinné pigmenty hořčíku a porfyrinového kruhu. Dodávají rostlinám, řasám a sinicím zelenou barvu a jsou komponentami, které hrají hlavní úlohu při fotosyntéze rostlin. Při konzumaci ve stravě je přínosem díky svým antimutagenním účinkům, anitigenotoxickým vlastnostem a silnou antioxidační kapacitou [13; 54].

#### *Včelí vosk*

Jedná se o velmi tvárnou chemicky amorfní látku. V kosmetickém průmyslu se využívá především vosk včely medonosné, vosk ostatních druhů je sice podobný, ale liší se některými charakteristikami. Z chemického hlediska vosk včely medonosné obsahuje až 284 různých

složek, přičemž ne všechny byly identifikovány. Vlastnosti vosku dávají pevnost a vláčnost emulzním roztokům, pomáhají při stabilizaci emulzí a zlepšují udržení vody v mastech a krémech. Pro využití těchto vlastností stačí do kosmetických přípravků přidat malé množství, tj. 1–3 % [55].

### 3.4 Příprava vzorků mast'ového základu

Byly připraveny 4 vzorky o různém složení. Příprava proběhla v laboratoři následujícím způsobem: nejprve byly naváženy složky tvořící základ masti, bílé vazelíny bylo potřeba pro přípravu všech vzorků 70 g a syndermanu 94 g. Prakticky bylo vazelíny naváženo o 38 % více a syndermanu o 54 % více, z důvodu rychlého tuhnutí a špatné manipulace s látkami. V kádinkách byly rozpuštěny navážky ve vodní lázni při teplotě 50 °C. Kádinka s rozpuštěnou vazelínou byla zakryta alobalem a po dobu rozpouštění syndermanu vložena do sušárny vyhřáté na 50 °C, aby rozpuštěný obsah opět neztuhl. Z rozpuštěných navážek byly na předvážkách s přesností na 2 desetinná místa naváženy vzorky v různém poměru viz. níže Tabulka 1. Do plastových nádobek na vzorky byla jako první navážena vazelína a k ní byl pomocí plastové pipety postupně přidáván synderman. Po každém přidavku byl vzorek vždy promíchán skleněnou tyčinkou. Po ztuhnutí jednotlivých vzorků byla provedena homogenizace. Připravené vzorky byly jednotlivě přeneseny do plastové nádoby na míchání. Přenesený vzorek byl homogenizován pomocí laboratorního míchadla rychlostí 8 000 ot·min<sup>-1</sup> po dobu 60 minut. V průběhu míchání byly odebrány postupně vzorky v časech 15, 30, 45 a 60 minut (Obr. 9, Obr. 10, Obr. 11, Obr. 12). Odebrané vzorky byly přeneseny do označených nádobek na vzorky.

Tabulka 1 – Hmotnostní procenta složek mast'ového základu pro všechny vzorky

	Hmotnostní zastoupení složek (hm. %)			
	Vzorek A	Vzorek B	Vzorek C	Vzorek D
Bílá vazelína	50	30	70	15
Synderman	50	70	30	85



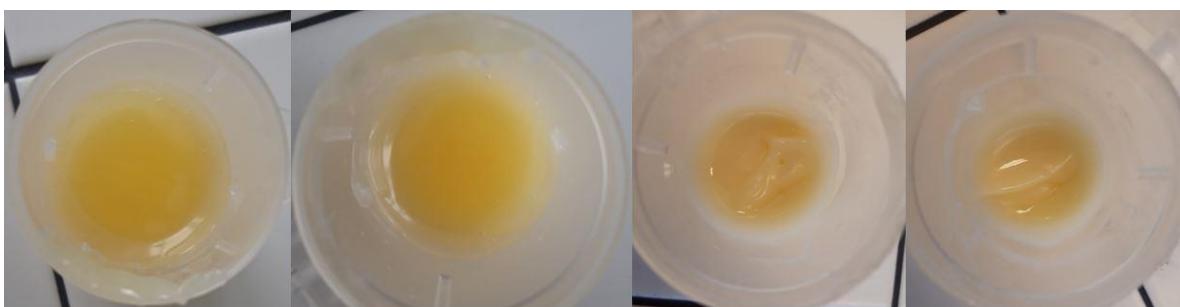
Obr. 9 – Vzorek A v průběhu homogenizace při 15, 30, 45 a 60 min (zleva)



Obr. 10 – Vzorek B v průběhu homogenizace při 15, 30, 45 a 60 min (zleva)



Obr. 11 – Vzorek C v průběhu homogenizace při 15, 30, 45 a 60 min (zleva)



Obr. 12 – Vzorek D v průběhu homogenizace při 15, 30, 45 a 60 min (zleva)

### 3.5 Příprava vzorků se všemi složkami

Byly připraveny 2 vzorky, každý o celkové hmotnosti 200 g, pro jeden byl použit masťový základ A a pro druhý základ B. Masťové základy byly vybrány na základě pilotní analýzy jejich stability pomocí analytické centrifugy LUMiSizer. Hmotnosti jednotlivých složek jsou uvedeny v tabulce níže (Tabulka 2). Postup přípravy byl shodný jako při přípravě masťového základu viz. subkapitola 3.4 až do bodu homogenizace.

Následně byly do každého připraveného základu masti přidány 2 hm. %, tedy 4 g včelího vosku, který byl rozpuštěn na vodní lázni při teplotě 65 °C. Aby došlo k dostatečné homogenizaci všech složek, byl vzorek s připravovanou mastí promícháván mechanickým míchadlem při teplotě 65 °C rychlostí 2 000 ot·min<sup>-1</sup>. Vzorek A byl promícháván 30 minut a vzorek B 60 minut.

Mezitím bylo do dvou vialek odpipetováno 6 ml extraktu heřmánku a tyto vialky byly vloženy do sušárny vyhřáté na 55 °C, aby se odpařil alkohol, který zakoupený extrakt obsahoval. Po odpaření většiny alkoholu (přibližně 5 ml) byl zbylý roztok po kapkách přidáván plastovou pipetou k homogenizovanému vzorku.

Poslední přidávanou složkou byl chlorofyl, do obou vzorků jej bylo přidáno 2,72 g. Chlorofyl ve spreji byl v digestoři nastříkán do kádinky, ze které se následně pomocí plastové pipety přenášel do promíchávaného vzorku.

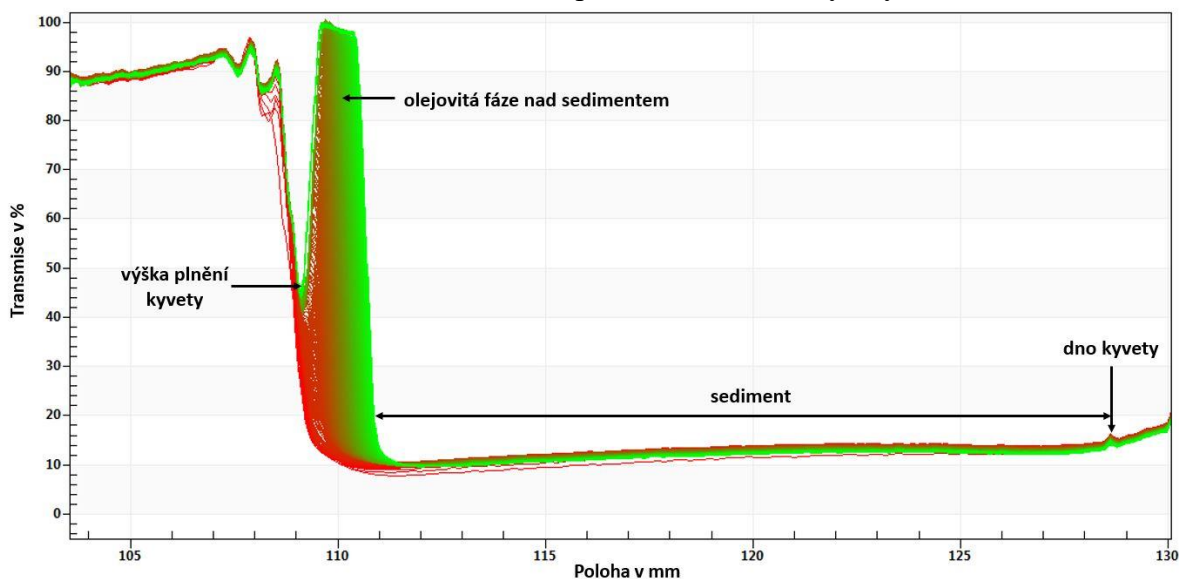
Tabulka 2 – Množství jednotlivých složek v masti

	Vazelína bílá	Synderman	Chlorofyl	Včelí vosk	Heřmánek
Vzorek A	100 g	100 g	2,72 g	4 g	1 ml
Vzorek B	60 g	140 g	2,72 g	4 g	1 ml

### 3.6 Analýza stability

Pomocí analytické odstředivky byly zjištěny indexy nestability všech laboratorně připravených vzorků. Každý vzorek masťového základu byl podroben analýze při dané teplotě třikrát, následně vzorky obsahující všechny složky masti byly podrobeny analýze stability celkem šestkrát. U vzorků se všemi složkami byl posuzován i vliv stárnutí na jejich stabilitu, nejprve se vzorky ponechaly téměř 8 týdnů v klidu (konkrétně 53 dní) a následně byly opět zjišťovány jejich indexy nestability pomocí analytické odstředivky.

Analýza v disperzním analyzátoru probíhá následujícím způsobem. Vzorek v kyvetě, který byl odstředován, byl prosvěcován laserovým zdrojem světla při vlnové délce 865 nm. V programu SEPView byl zobrazován graf, kdy na ose y byla vynesena transmitance a na ose x vzdálenost v milimetrech. Tato vzdálenost odpovídala velikosti kyvety.



Obr. 13 – Ukázka a popis grafického výstupu z analýzy

#### 3.6.1 Nastavení metody

Měření probíhalo při rychlosti otáčení rotoru 4 000 ot·min<sup>-1</sup>, doba trvání vždy odpovídala 5 hodinám a výsledky byly rozděleny do 3 časových úseků, a to 100, 200 a 300 minut. Vzorky byly analyzovány při teplotě 25 °C, což je teplota odpovídající laboratorní teplotě, a následně byla provedena analýza při 37 °C, tato teplota přibližně odpovídá teplotě lidského těla. Pro všechny testy byly použity kyvety s optickou dráhou 2 mm, a to buď kyvety PC 110-131xx, nebo PA 110-134xx.

### 3.6.2 Příprava vzorků pro analýzu stability

Přípravené zhomogenizované vzorky byly do kyvet přenášeny pomocí injekční stříkačky s tupou ocelovou jehlou. Vzorek byl nanesen do výšky odpovídající značce na stěně kyvety. Kyvety byly popsány a umístěny do připraveného disperzního analyzátoru.

## 3.7 FTIR spektroskopie masti

Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (FTIR) byla použita pro získání informací o struktuře a pro identifikaci jednotlivých funkčních skupin v měřených vzorcích. Pomocí spektrometru Nicolet iS50 se zabudovaným ATR krystalem byla naměřena infračervená spektra metodou zeslabené totální reflektance (ATR-FTIR).

Principem této techniky je částečné pronikání záření do analyzovaného materiálu, který je v dokonalém kontaktu s krystalem. Pokud vzorek absorbuje záření o dané frekvenci, pak bude tato složka v úplně odraženém světle zeslabena, a na základě toho ji lze identifikovat.

Všechna měření byla provedena na jednodrazovém krystalu z technického diamantu. Měření byla provedena pro střední infračervenou oblast (MIR), které odpovídá oblast vlnočtů  $4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$ . Nastavení metody a samotné měření bylo provedeno v programu OMNIC9, přehled nastavení je uveden v následující tabulce.

Tabulka 3 – Nastavení pro měření metody ART-FTIR

Rozmezí vlnočtu	$4000\text{--}400\text{ cm}^{-1}$
Rozlišení	$8\text{ cm}^{-1}$
Počet skenů	32

Nejprve bylo změřeno pozadí, tzn. *background*, toto spektrum odpovídalo okolní atmosféře v laboratoři a použitému ATR diamantovému krystalu. Následně byly měřeny všechny vzorky, a to v pořadí: SydoFarm, vazelína bílá, vzorek A, vzorek B a samotný chlorofyl.

Naměřená data byla zpracována pomocí programu OMNIC9 a následně vyhodnocena v programu ORIGIN.

## 3.8 Reologické vlastnosti masti

Reologické vlastnosti připravených vzorků masti A a B o konečném složení byly měřeny na hybridním reometru Discovery HR-2 od společnosti TA Instruments. Před začátkem měření bylo potřeba zvolit vhodnou geometrii, v tomto případě se jednalo o uspořádání deska-deska. Spodní i vrchní deska byly vroubkované o průměru 20 mm. Nejprve byla provedena kalibrace přístroje a následně vytemperování reometru na požadovanou teplotu  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Byla nastavena výška mezery mezi geometrií v klidu na 45 mm a výška mezery při měření na 1 mm.

Vzorky byly nanášeny na spodní desku přes celou její plochu pomocí nerezové špachtle ve výšce 1 mm. Po přiblížení pohyblivé části reometru s vrchní deskou bylo přebytečné množství vzorku opatrně odstraněno, aby nedocházelo ke zkreslení výsledků. Pro oba vzorky bylo provedeno oscilační amplitudové měření, oscilační frekvenční měření, a nakonec byly provedeny rotační testy. Nastavení pro jednotlivá měření jsou uvedena v tabulkách: Tabulka 4, Tabulka 5, Tabulka 6 a Tabulka 7.

Tabulka 4 – Nastavení úpravy vzorku před samotným měřením (pro všechny testy stejné)

Teplota	25 °C
Klidový čas	120 s

Klidový čas představuje dobu před samotným měřením, po kterou je vzorek nanesený na spodní desce reometru ponechán v klidu. Tento krok se provádí z toho důvodu, že při nanášení vzorku na geometrii byl vzorek namáhán, což by mohlo negativně ovlivnit výsledky měření.

Tabulka 5 – Nastavení metody pro oscilační amplitudový test

Frekvence	1,0 Hz
Namáhání	od 0,01 % do 1000 %
Body za dekádu	5

Tabulka 6 – Nastavení metody pro oscilační frekvenční test

Namáhání	0,03 %
Frekvence	od 0,01 Hz od 100 Hz
Body za dekádu	5

Tabulka 7 – Nastavení metody pro rotační test

Smyková rychlost	od 0,1 s <sup>-1</sup> do 100 s <sup>-1</sup>
Body za dekádu	5
Čas vyvažování	5 s
Průměrný čas	30 s

Naměřená data byla vyhodnocena pomocí programu TRIOS a následně zpracována v programu Microsoft Excel.



## 4 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 4.1 Analýza stability

#### 4.1.1 Analýza stability masťového základu

Po ukončení analýzy byly k jednotlivým vzorkům vypočteny průměrné indexy nestability i směrodatné odchylky. Tyto zaokrouhlené hodnoty jsou uvedeny v souhrnné tabulce (Tabulka 15 viz Přílohy). K nepřesnostem výsledků mohlo dojít například z důvodu ulpění vzorku na stěně kyvety nebo přítomností vzduchových bublin v kyvetě. Tyto chyby mohly podstatně ovlivnit výsledky naměřených indexů nestability a následně i vypočtené směrodatné odchylky.

Po porovnání indexů nestability jednotlivých vzorků ve všech časech bylo patrné, že vzorky při laboratorní teplotě vykazují mnohem vyšší stabilitu než vzorky odstředované při 37 °C, avšak pro snadné nanesení a rozetření masti na postižené místo je nižší stabilita při teplotě odpovídající teplotě lidského těla žádoucí. Masťový základ A měl prakticky pro všechny odběrové časy vyšší nestabilitu při 25 °C, nejvyšší stabilitu tento vzorek vykazoval po 30 minutách homogenizace. Vzorek B při laboratorní teplotě vykazoval nejvyšší stabilitu po 60 minutách homogenizace. V případě měření nestability vybraných masťových základů při teplotě 37 °C byly tyto hodnoty srovnatelné v různých časech homogenizace i při specifickém složení mastí. Z toho důvodu mohl být zvolen jako optimální vzorek pro další práci i jiný vzorek než nejméně stabilní.

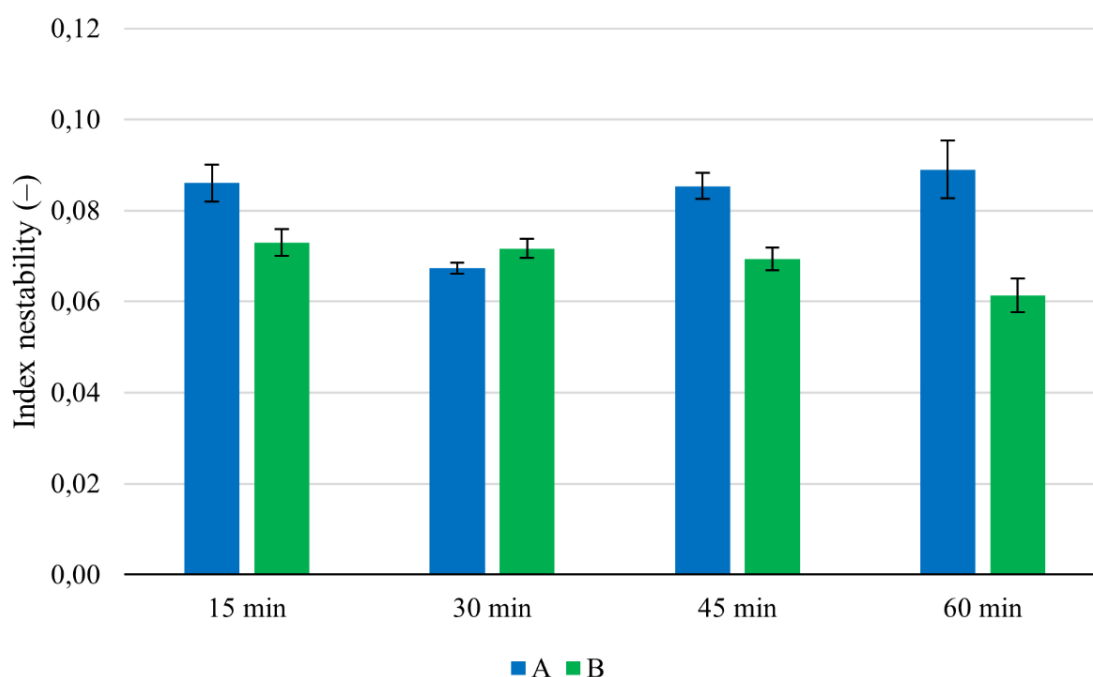
Pro přidání dalších složek masti a pro další práci byly vybrány 2 připravené masťové základy: vzorek A při době homogenizace 30 minut a vzorek B při době homogenizace 60 minut pro obě teploty.

Tabulka 8 – Naměřené a vypočtené hodnoty indexu nestability pro vzorek A při teplotě 25 °C po celkové době odstředování

Vzorek A pro 18000 s				
Čas odběru	15 min	30 min	45 min	60 min
Index	0,086	0,069	0,082	0,093
nestability	0,091	0,067	0,085	0,094
(-)	0,081	0,066	0,089	0,080
Průměr	0,086 ± 0,004	0,067 ± 0,001	0,085 ± 0,003	0,089 ± 0,006

Tabulka 9 – Naměřené a vypočtené hodnoty indexu nestability pro vzorek B při teplotě 25 °C po celkové době odstředování

<b>Vzorek B pro 18000 s</b>				
Čas odběru	15 min	30 min	45 min	60 min
Index nestability	0,076	0,072	0,066	0,066
(-)	0,074	0,069	0,072	0,061
Průměr	0,073 ± 0,003	0,0717 ± 0,002	0,069 ± 0,003	0,061 ± 0,004



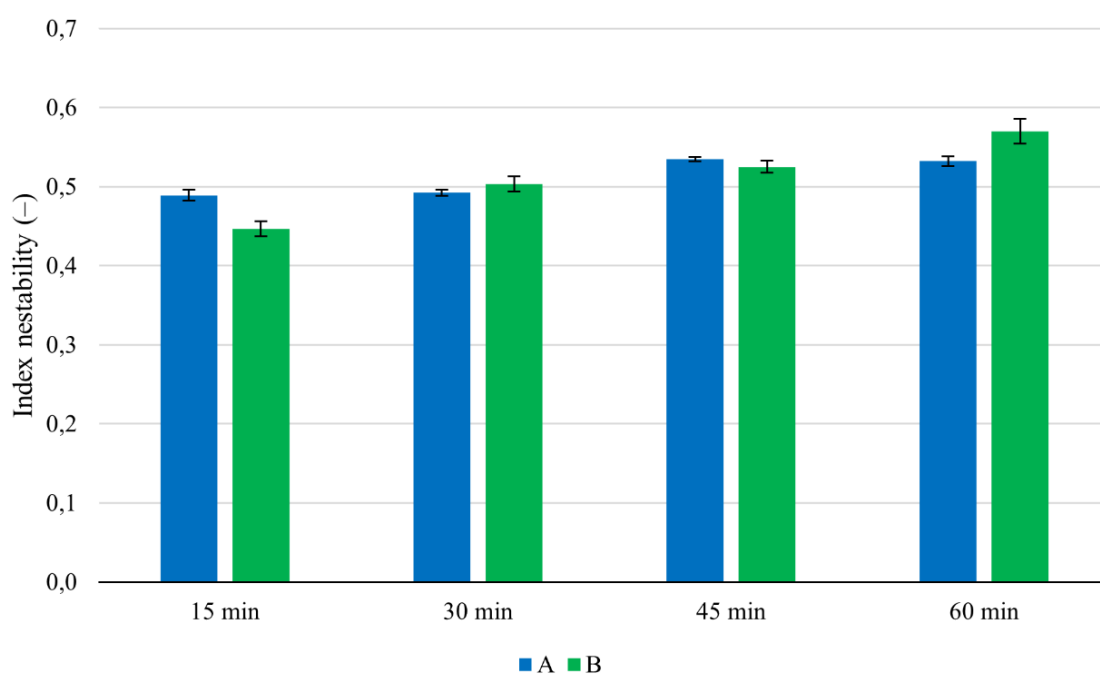
Obr. 14 – Grafické znázornění indexů nestabilit vzorků A a B při 25 °C

Tabulka 10 – Naměřené a vypočtené hodnoty indexu nestability pro vzorek A při teplotě 37 °C po celkové době odstředování

<b>Vzorek A pro 18000 s</b>				
Čas odběru	15 min	30 min	45 min	60 min
Index nestability	0,480	0,487	0,531	0,524
(-)	0,496	0,494	0,535	0,534
Průměr	0,489 ± 0,006	0,492 ± 0,004	0,535 ± 0,003	0,532 ± 0,006

Tabulka 11 – Naměřené a vypočtené hodnoty indexu nestability pro vzorek B při teplotě 37 °C po celkové době odstředování

Vzorek B pro 18000 s				
Čas odběru	15 min	30 min	45 min	60 min
Index nestability	0,438	0,490	0,527	0,591
(-)	0,460	0,511	0,533	0,566
	0,442	0,509	0,515	0,553
Průměr	0,447 ± 0,010	0,503 ± 0,010	0,525 ± 0,008	0,570 ± 0,016



Obr. 15 – Grafické znázornění indexů nestabilit vzorků A a B při teplotě 37 °C

#### 4.1.2 Analýza stability vzorků se všemi složkami

Stejně jako v předchozí části viz. subkapitola 4.1.1 byly po ukončení analýzy k jednotlivým vzorkům vypočteny průměrné indexy nestability a jejich směrodatné odchylky, tyto hodnoty jsou uvedeny níže v tabulce (Tabulka 12).

Byly porovnány indexy nestability obou vzorků pro jednotlivé teploty, z výsledků je zřejmé, že pro teplotu 25 °C je vzorek B stabilnější než vzorek A po celou dobu odstředování. Naopak pro teplotu 37 °C vykazoval ztatečně vyšší stabilitu vzorek A.

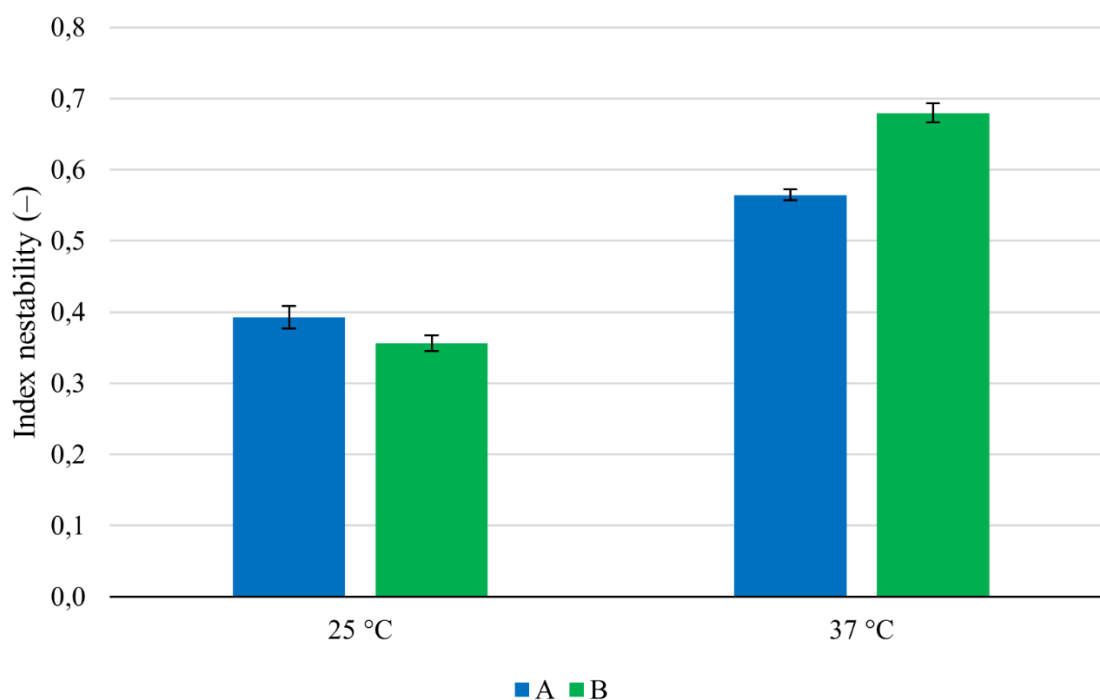
Jak již bylo zmíněno v předchozí části této práce, při přípravě masti se požaduje, aby při laboratorní teplotě, tedy při teplotě 25 °C, byla mast stabilní, ale při teplotě 37 °C vykazovala menší stabilitu z důvodu snadnějšího nanášení na postižené místo. Nižší stabilita při teplotě lidského těla je výhodná i z hlediska použití masti jako části krycí podložky, například na mastné tyly, viz. kapitola 2. Jak již bylo zmíněno v kapitole 2, krycí materiál by měl udržovat

prostředí rány vlhké a umožňovat absorpci vylučovaných exsudátů na sterilní krytí. Právě z toho důvodu je žádoucí použít mast vykazující nižší stabilitu, resp. viskozitu. Naopak při použití stabilnější masti by mohlo dojít k zabránění absorpci vzniklého exsudátu, což by mohlo vést k maceraci rány a zpomalení hojení.

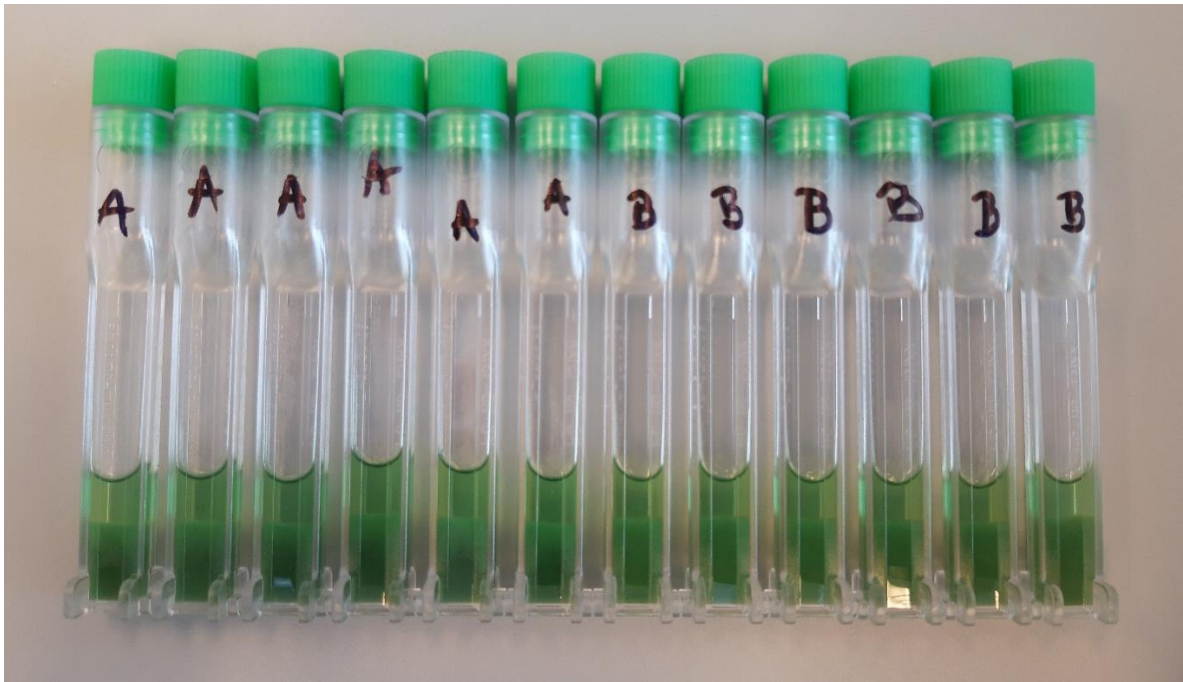
Z porovnávaných vzorků těmto požadavkům nejvíce vyhovuje vzorek B, lze tedy říct, že tento vzorek má nejoptimálnější složení z hlediska obsahu jednotlivých složek mast'ového základu.

Tabulka 12 – Přehled naměřených indexů nestability, jejich průměrů a směrodatných odchylek pro oba vzorky při obou teplotách

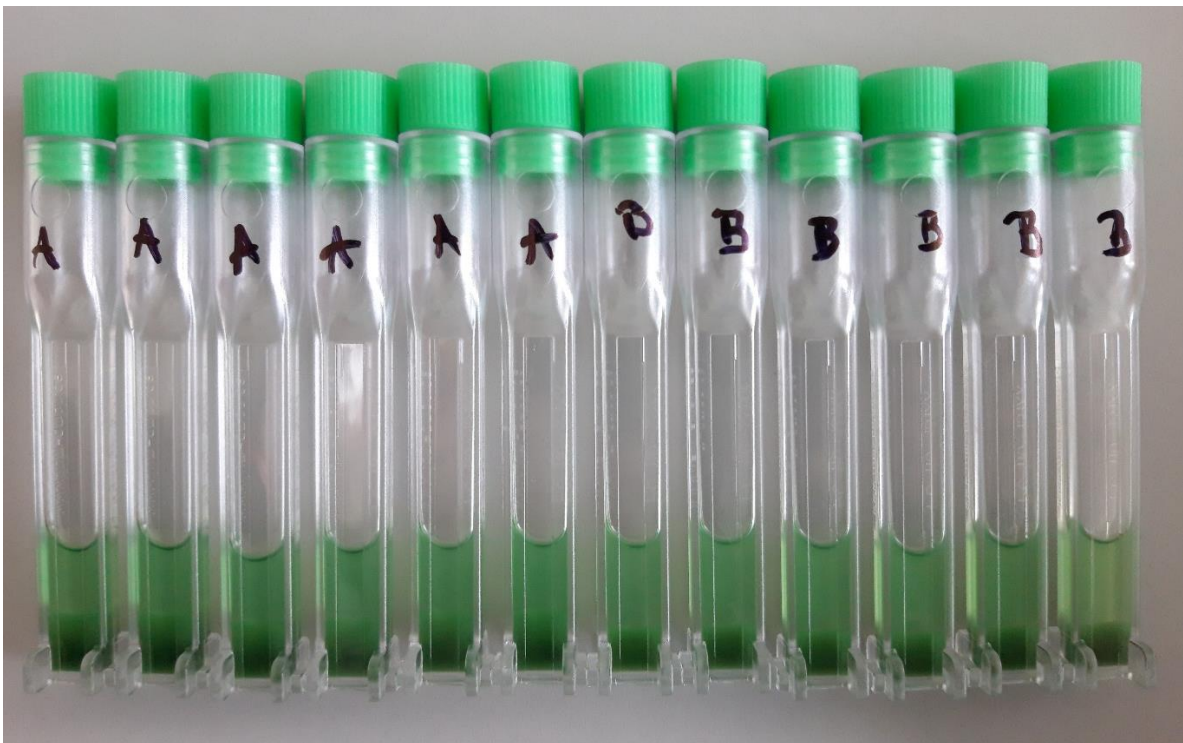
	Vzorek A (25 °C)	Vzorek B (25 °C)	Vzorek A (37 °C)	Vzorek B (37 °C)
Index nestability (-)	0,405	0,346	0,572	0,688
	0,420	0,366	0,560	0,662
	0,370	0,373	0,568	0,702
	0,386	0,360	0,550	0,679
	0,384	0,340	0,572	0,680
	0,389	0,352	0,564	0,666
Průměr	0,392 ± 0,016	0,356 ± 0,011	0,564 ± 0,008	0,680 ± 0,013



Obr. 16 – Grafické znázornění indexů nestability pro vzorek A a B při teplotách 25 °C a 37 °C



Obr. 17 – Vizuální porovnání stability vzorku A a B po odstředování při teplotě 25 °C



Obr. 18 – Vizuální porovnání stability vzorku A a B po odstředování při teplotě 37 °C

#### 4.1.3 Analýza stability při zrání masti

Po ukončení analýzy stability po 53 dnech, kdy mast byla ponechána v klidu, byly k jednotlivým vzorkům při daných teplotách vypočteny průměrné indexy nestability a jejich odpovídající směrodatné odchylky, tyto hodnoty jsou zaznamenány v tabulce níže (Tabulka 13) a jejich porovnání je patrné z následujícího grafického znázornění (Obr. 19).

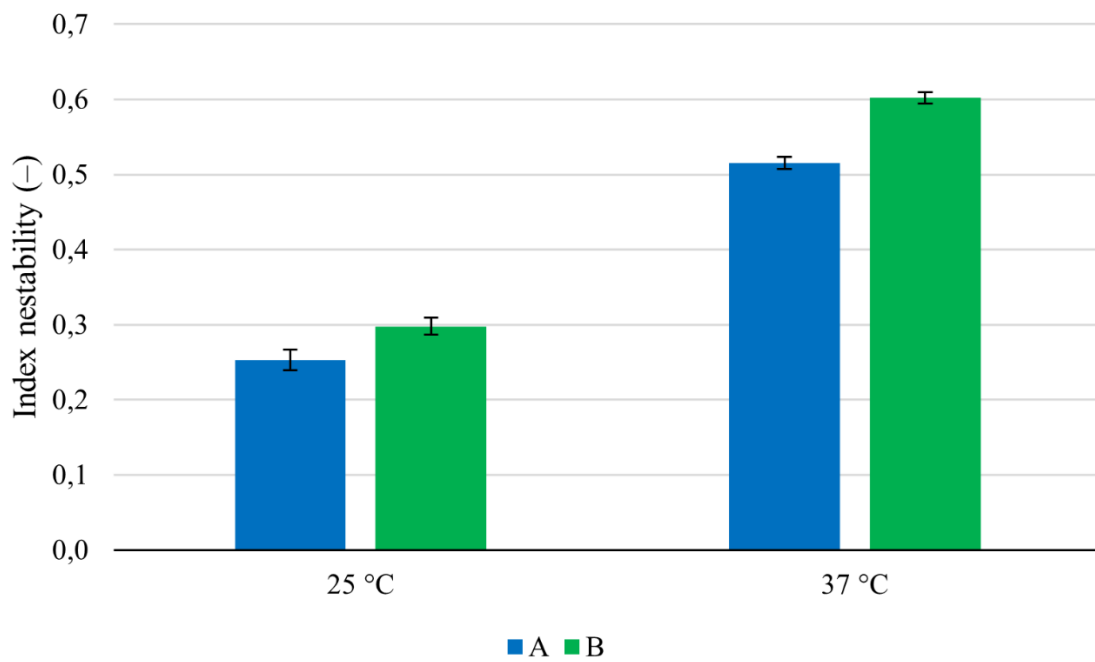
Bylo provedeno porovnání indexů nestability vzorku A a B pro jednotlivé teploty. Z výsledků je patrné, že vzorek A vykazoval větší stabilitu než vzorek B při obou měřených teplotách po celou dobu odstředování. V porovnání s předchozí částí viz. subkapitola 4.1.2 došlo k celkovému snížení hodnot indexů nestability obou měřených vzorků, největší změnu pak vykazoval právě vzorek A při teplotě 25 °C.

Ke zvýšení stability mohlo dojít z důvodu působení izotermického převodu neboli Ostwaldova zrání viz. subkapitola 1.2.1, při tomto procesu dochází ke vzniku stabilnějších částic pomocí přenosu látky z částic o menších rozměrech na částice větší. Také v systému mohlo dojít k procesu zvanému flokulace (subkapitola 1.2.2), při které vznikají agregáty vázané van der Waalsovými interakcemi. V důsledku těchto procesů je v systému snižován stupeň disperzity, snižuje se tedy míra rozptýlení disperzního podílu v disperzním prostředí a dochází k tvorbě větších celků s vyšší stabilitou.

Ostwaldovo zrání i flokulace se řadí mezi jevy charakteristické pro nestabilitu emulzí, lze tedy předpokládat, že připravené vzorky vykazují vyšší stabilitu jen po určitý čas, následně lze očekávat opět pokles stability a oddělení jednotlivých fází.

Tabulka 13 – Přehled naměřených indexů nestability, jejich průměrů a směrodatných odchylek pro oba vzorky při teplotách 25 °C a 37 °C po 53 dnech stárnutí

	<b>Vzorek A (25 °C)</b>	<b>Vzorek B (25 °C)</b>	<b>Vzorek A (37 °C)</b>	<b>Vzorek B (37 °C)</b>
	0,266	0,306	0,511	0,597
	0,244	0,275	0,501	0,613
Index	0,243	0,297	0,523	0,605
nestability	0,237	0,309	0,521	0,597
(-)	0,251	0,304	0,521	0,609
	0,277	0,295	0,514	0,591
Průměr	0,253 ± 0,014	0,298 ± 0,011	0,515 ± 0,008	0,602 ± 0,008



Obr. 19 – Grafické znázornění indexů nestability vzorku A a B při teplotě 25 °C a 37 °C po 53 dnech stárnutí



Obr. 20 – Vizuální porovnání stability vzorku A a B po odstředování při teplotě 25 °C po 53 dnech stárnutí



Obr. 21 – Vizuální porovnání stability vzorku A a B po odstředování při teplotě 37 °C po 53 dnech stárnutí

## 4.2 FTIR spektroskopie

Naměřená spektra všech látek jsou znázorněna v jednom společném grafu (Obr. 22). Absorbance byla pro všechna spektra normalizována na hodnotu 1 s využitím nejintenzivnějších absorpčních pásů. Absorpční pásy byly označovány u spekter, u kterých jsou nejlépe viditelné, nachází se ovšem i u dalších vzorků.

Jako první byl označen v infračerveném spektru vzorku vazelíny bílé absorpční pás vlnočtu  $2955\text{ cm}^{-1}$ , který odpovídá asymetrické vibraci methylové skupiny. Označení bylo provedeno v tomto spektru, jelikož je zde pás nejlépe viditelný.

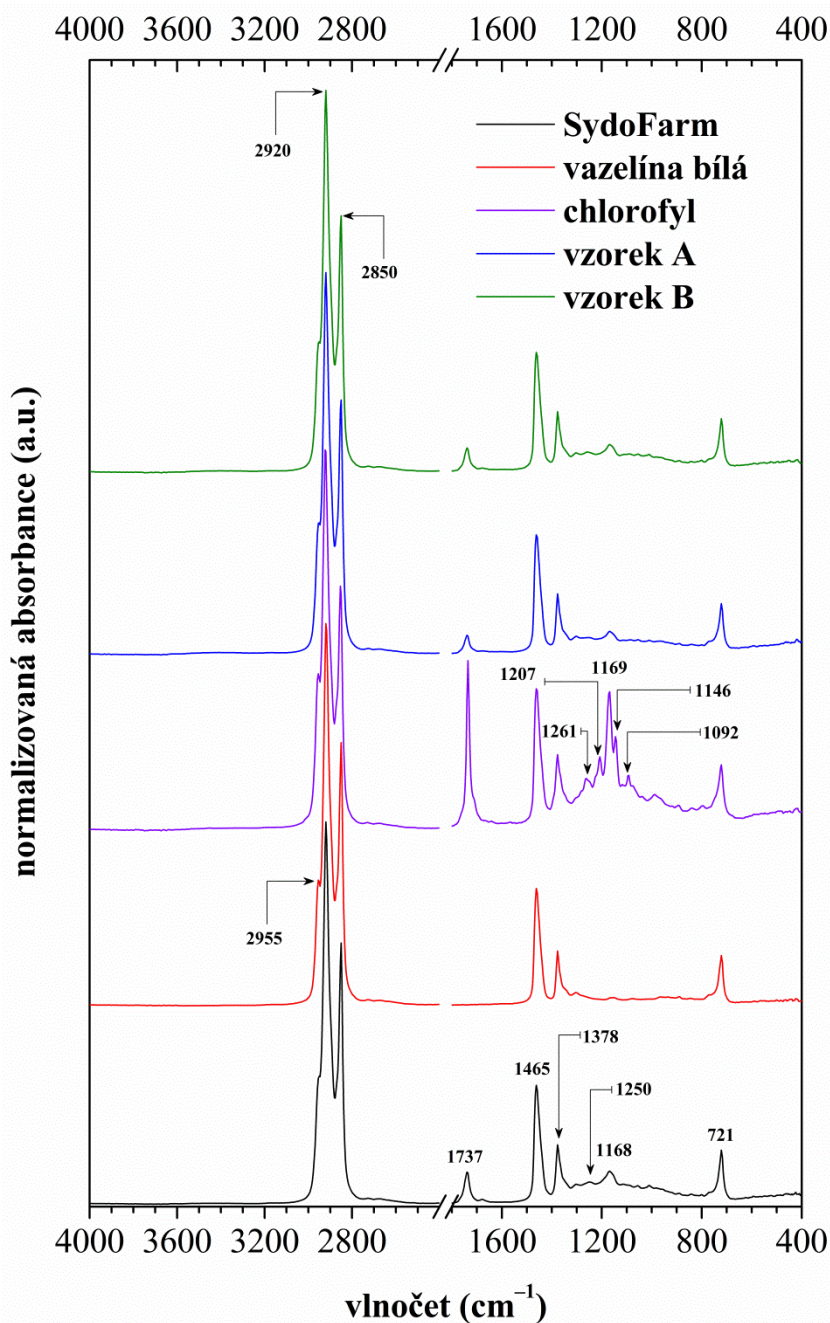
Na infračerveném spektru vzorku B byl označen absorpční pás vlnočtu  $2920\text{ cm}^{-1}$ , který je charakteristický pro asymetrické vibrace C–H vazeb v methylenových skupinách, a pás o hodnotě specifické absorpce při  $2850\text{ cm}^{-1}$ , který odpovídá symetrickým vibracím C–H vazeb v methylenových skupinách.

Na spektru SydoFarmu byly zvýrazněny absorpční pásy lokalizované při  $1737\text{ cm}^{-1}$ ,  $1465\text{ cm}^{-1}$ ,  $1378\text{ cm}^{-1}$ ,  $1250\text{ cm}^{-1}$ ,  $1168\text{ cm}^{-1}$  a  $721\text{ cm}^{-1}$ . Hodnota pro vlnočtu  $1737\text{ cm}^{-1}$  odpovídá valenčním vibracím C=O vazeb v alkyl-esterech. Pro hodnotu specifické absorpce při vlnočtu  $1465\text{ cm}^{-1}$  jsou charakteristické „scissoring“ deformační vibrace methylenové skupiny a také asymetrické deformační vibrace skupiny methylové. Vlnočtu  $1378\text{ cm}^{-1}$  odpovídá symetrická deformační vibrace methylové skupiny, tzv. „umbrella“ deformace. Hodnota vlnočtu  $1250\text{ cm}^{-1}$  odpovídá valenční vibraci C–C–O vazeb v alifatických esterech. Tato hypotéza byla potvrzena rovněž přítomností absorpčního pásu při vlnočtu  $1168\text{ cm}^{-1}$ , který je výlučně připisován valenční vibraci O–C–C vazeb ve výše zmíněných funkčních skupinách. Posledním zvýrazněným pásem je absorpční pás při vlnočtu  $721\text{ cm}^{-1}$ , tento pás je charakteristický pro tzv. „rocking“ vibraci, jedná se o signál delších řetězců alkanů.

Na infračerveném spektru chlorofylu byly zvýrazněny absorpční pásy pro vlnočty  $1261\text{ cm}^{-1}$  a  $1207\text{ cm}^{-1}$ , tento charakteristický dublet absorpčních pásů odpovídá protahovací vibraci C–C–O vazeb v alkyl-esterech. Vlnočtu  $1169\text{ cm}^{-1}$  je charakteristický pro valenční



vibrace vazeb O–C–C u alifatických esterů. Hodnota vlnočtu  $1146\text{ cm}^{-1}$  je typická pro valenční vibraci vazby O–C–C u alifatických esterů. Absorpční pás lokalizovaný při vlnočtu  $1092\text{ cm}^{-1}$  odpovídá deformační vibraci C–O vazeb v alkyl-esterech, které jsou substituovány delšími alifatickými řetězci přítomnými ve struktuře chlorofylu. Všechny označené vlnočty v rozmezí  $1207\text{--}1092\text{ cm}^{-1}$  mohou zároveň charakterizovat skupiny terciálních aminů, které se vyznačují absorpčními pásy v rozmezí  $1250\text{--}1020\text{ cm}^{-1}$ .



Obr. 22 – Grafické znázornění normalizované absorpce na vlnočtu pro všechny měřené vzorky

## 4.3 Reologické vlastnosti mastí

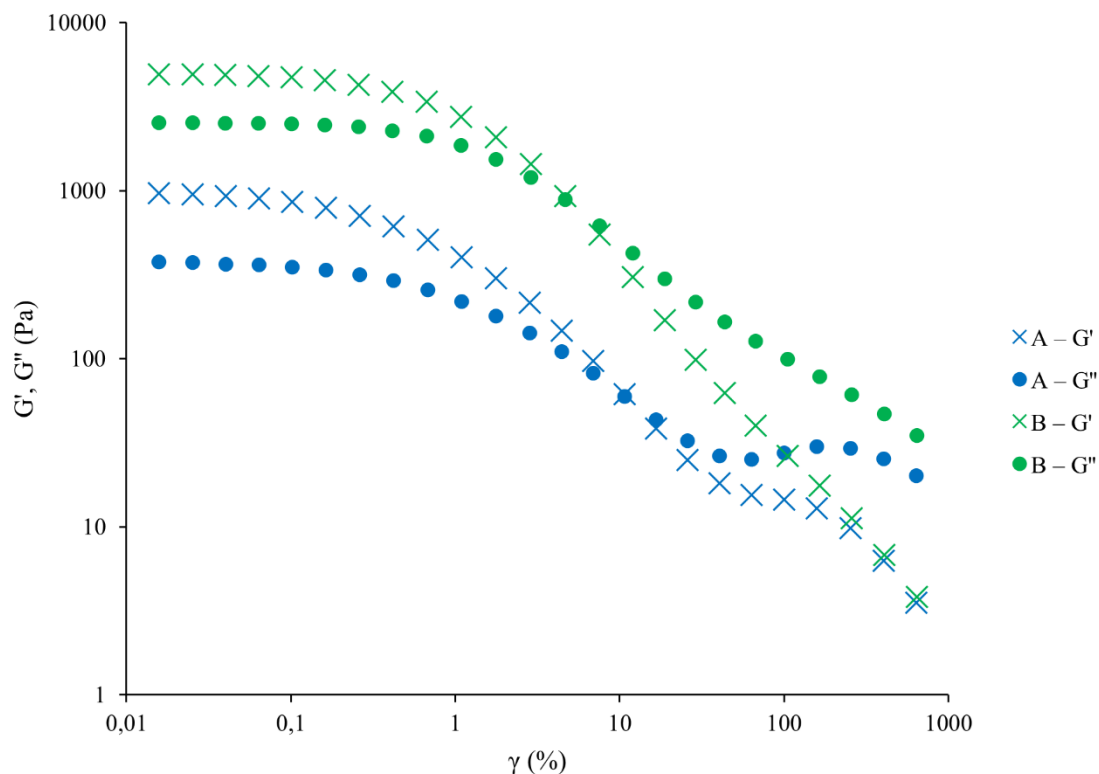
### 4.3.1 Amplitudový oscilační test

Při amplitudovém testu byla nastavena konstantní frekvence, přičemž docházelo ke změně amplitudy napětí. Nastavení metody je popsáno v předešlé části 3.8. Byla měřena závislost elastického modulu  $G'$  a viskózního modulu  $G''$  se zvyšující se hodnotou amplitudy smykové deformace, tato závislost je vynesena pro oba vzorky v následujícím grafu (Obr. 23) v logaritmickém měřítku pro obě osy.

Cílem měření bylo určit příslušnou hodnotu napětí v lineární viskoelastické oblasti (LVO) pro nastavení metody měření oscilačních frekvenčních testů. Z grafu je zřetelné, že LVO se pro vzorek A pohybuje přibližně mezi hodnotami deformace 0,01–0,03 %, pro vzorek B byla tato oblast určena v rozmezí deformace přibližně 0,01–0,1 %. Tyto rozsahy označují oblast, ve které je možné provést test s danými vzorky, aniž by došlo ke zničení jejich struktury. Pro měření frekvenčních testů byla vhodná hodnota LVO určena na 0,03 % amplitudy smykové deformace pro oba vzorky.

Z grafu je také patrné, že oba měřené vzorky vykazují více elastický charakter, jelikož elastický modul  $G'$  dosahuje v počátku měření vyšších hodnot než viskózní modul  $G''$ , z toho plyne, že se oba vzorky chovají více jako pevné látky než jako kapaliny.

Při porovnání vzorků mezi sebou je zřejmé, že u vzorku B dochází k bodu křížení, kdy  $G' = G''$ , přibližně při hodnotě deformace 6 % a 750 Pa. Pro vzorek A je bod křížení přibližně při 11 % deformace a 55 Pa. Po dosažení bodu křížení v obou případech  $G''$  dosahuje vyšších hodnot než  $G'$ , což znamená, že se vzorky začínají chovat jako kapaliny v důsledku deformace a vzniku mikrotrhlin ve vzorcích.



Obr. 23 – Grafická závislost elastického a viskózního modulu na měnící se amplitudě deformace vzorku A a B

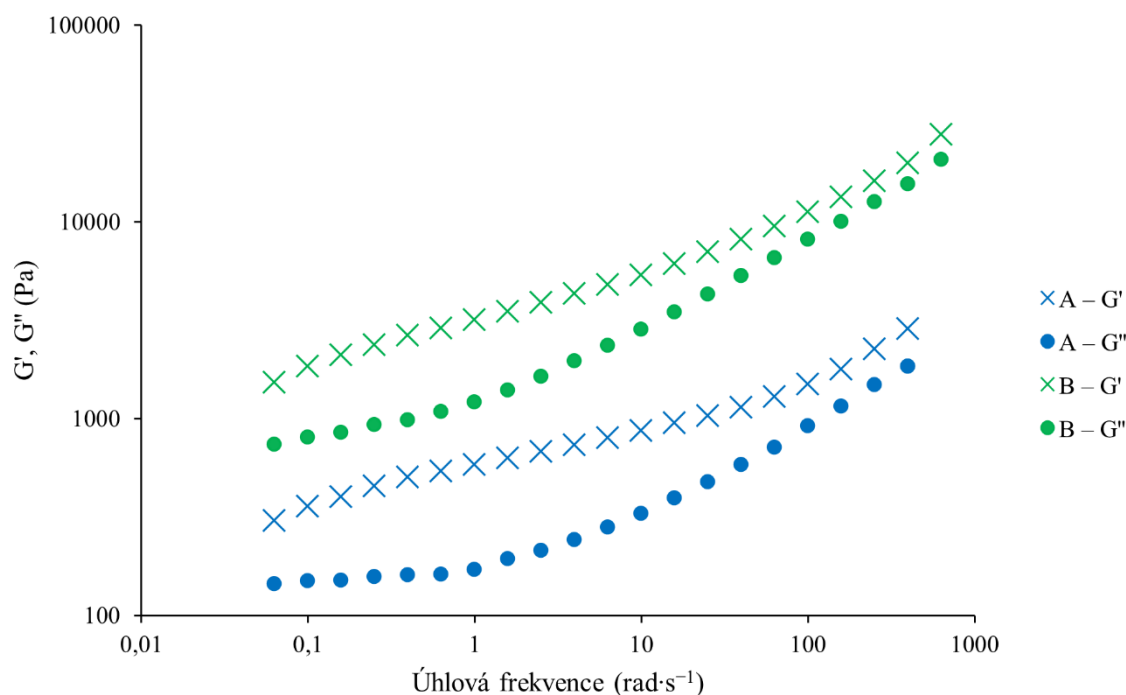
### 4.3.2 Frekvenční oscilační test

Měření frekvenčních oscilačních testů bylo prováděno za konstantního napětí. Hodnota tohoto napětí byla určena při měření amplitudového testu na 0,03 % amplitudy deformace. Podrobné nastavení metody je uvedeno v kapitole 3.8.

Výsledkem měření je závislost elastického modulu  $G'$  a viskózního modulu  $G''$  na úhlové frekvenci. Naměřené hodnoty jsou vyobrazeny v následujícím grafu (Obr. 24). Při vysokých frekvencích v průběhu měření  $G'$  vzorku A byl pozorován prokluz měřícího senzoru, z toho důvodu byla poslední naměřená data pro další zpracování odstraněna.

Ze získaných závislostí je zřejmé, že s rostoucí frekvencí oscilace dochází k růstu modulu  $G'$  i  $G''$ . Při měřených úhlových frekvencích dosahují elastické moduly  $G'$  pro oba vzorky vyšších hodnot než viskózní moduly  $G''$ . Z toho vyplývá, že oba vzorky vykazovaly po celou dobu frekvenčních testů spíše elastický charakter, oba vzorky tedy odolávaly konstantní deformaci po celou dobu měření.

Při porovnání vzorků mezi sebou je zřejmé, že vzorek B vykazoval větší viskoelastický charakter. Tento rozdíl je způsoben odlišným složením základu masti, kdy základ vzorku B je tvořen z větší části syndermanem.



Obr. 24 – Grafická závislost viskoelastických modulů vzorku A a B na úhlové frekvenci

### 4.3.3 Rotační test

Výsledkem měření byla závislost viskozity na smykové rychlosti, tato závislost je vynesena v následujícím grafu (Obr. 25).

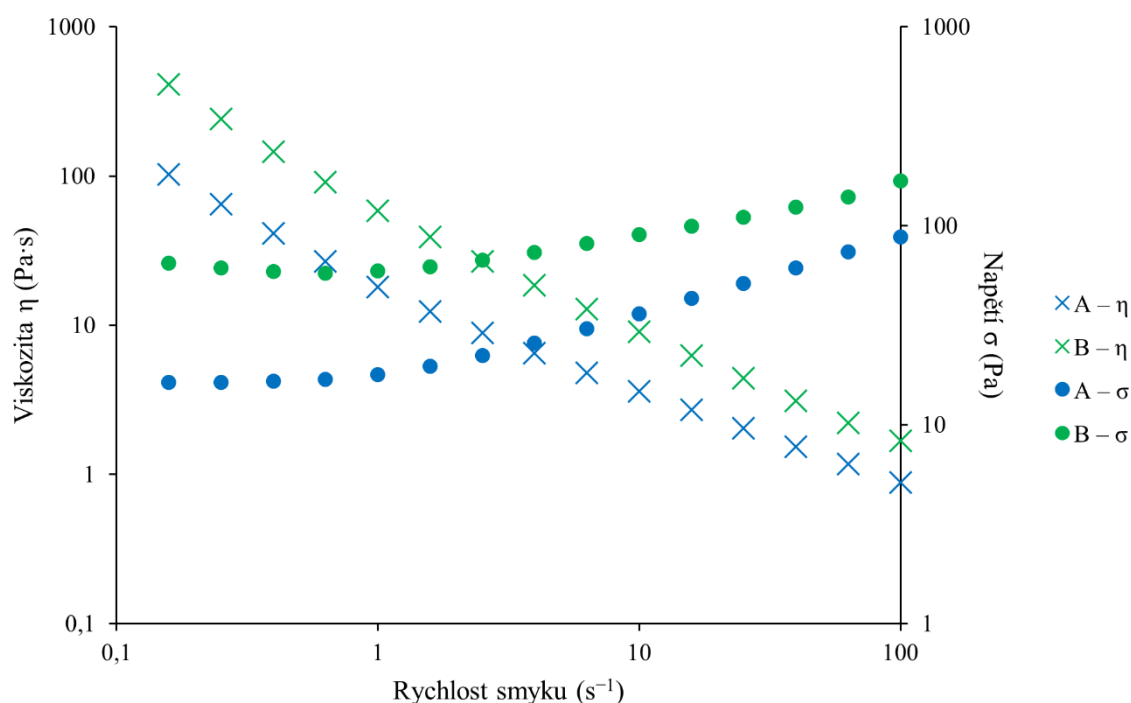
Z grafu je patrné, že při nízkých hodnotách rychlosti smyku oba vzorky vykazují vysokou viskozitu, nicméně ta již při malém zvýšení smykové rychlosti klesá. Tento jev nastává z důvodu rozrušování asociačních spojů mezi jednotlivými molekulami a dochází k napřimání a orientaci částic v systému. Výsledkem je systém, který s rostoucí smykovou rychlostí vykazuje chování více podobné kapalinám. Na základě těchto vlastností mohou být oba

měřené vzorky zařazeny mezi neneutronovské kapaliny, konkrétně pak mezi pseudoplastické kapaliny [3].

Vzorek B vykazoval v porovnání se vzorkem A vyšší hodnoty viskozity po celou dobu měření, z toho lze usoudit, že projevoval větší viskoelastický charakter. V programu TRIOS byly jednotlivé grafické závislosti proloženy Herschel-Bulkleyho modelem pro neneutronovské kapaliny a následně byly pomocí zmíněného programu určeny hodnoty pro kritické napětí označované také jako mez toku, viskozity, viskozity nulové rychlosti a viskozity nekonečné rychlosti. Všechny zmíněné veličiny jsou uvedeny v následující tabulce (Tabulka 14).

Ze zjištěných hodnot lze usoudit, že hodnoty těchto veličin se pro vzorky liší dokonce až o jeden řád. Vzorek B má vyšší hodnotu kritického napětí, což znamená, že k rozrušování struktury tohoto vzorku dochází v porovnání se vzorkem A později, tedy vzorek B bude vykazovat chování podobné kapalinám až při větším namáhání systému.

Z výsledků lze tedy usoudit, že vzorek B vykazuje větší odolnost vůči namáhání, větší viskoelastický charakter a je tedy oproti vzorku A stabilnější.



Obr. 25 – Grafická závislost viskozity a smykové rychlosti

Tabulka 14 – Zjištěné hodnoty kritického napětí a viskozit pomocí programu TRIOS

	<b>Vzorek A</b>	<b>Vzorek B</b>
Kritické napětí (Pa)	6,330	43,154
Viskozita (Pa·s)	10,862	16,709
Viskozita nulové rychlosti (Pa·s)	$1,179 \cdot 10^6$	$3,105 \cdot 10^7$
Viskozita nekonečné rychlosti (Pa·s)	0,480	1,012

## 5 ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo navrhnout a optimalizovat metodu přípravy masti na bázi masťového základu s přídavkem bioaktivní složky chlorofylu z hlediska její stability. V první části této práce byla popsána základní charakteristika emulzí, bioaktivní látka chlorofylu, vybrané masti na hojení popálenin a ran a využití v medicíně.

V experimentální části byla popsána příprava základů mastí a dále byla měřena jejich stabilita pomocí analytické odstředivky LUMiSizer. Na základě vyhodnocení stability připravených masťových základů byly vybrány dva vzorky, do kterých byly přidány zbylé složky masti – chlorofyl, extrakt z heřmánku pravého a včelí vosk. Kompletně připravené masti byly opět podrobeny analýze stability. U kompletních mastí byly zjišťovány i jejich reologické vlastnosti a pomocí ATR-FTIR spektrometrie byly identifikovány přítomné funkční skupiny.

Veškeré analýzy stability byly provedeny pro laboratorní teplotu 25 °C a teplotu 37 °C, která přibližně odpovídá teplotě lidského těla. Měření při těchto dvou teplotách probíhalo z toho důvodu, že na mast jsou kladeny určité požadavky. Jedním z těchto požadavků je, aby mast vykazovala dobrou stabilitu při pokojové teplotě, ale zároveň byla dobře roztíratelná při kontaktu s lidskou pokožkou. Z těchto důvodů je tedy pro masťové základy i kompletní mast žádoucí vyšší stabilita při teplotě 25 °C a nižší stabilita při teplotě 37 °C. Těchto vlastností je možné využít i při přípravě krycí podložky na ránu, příkladem může být mastný tyl, kdy mast slouží jako součást sterilního krytí.

Po porovnání indexů nestability vzorků masťového základu při obou teplotách byl pro další práci vybrán masťový základ A po 30 minutách homogenizace a masťový základ B po 60 minutách homogenizace. K těmto vybraným základům byly přidány zbylé složky masti. Zhotovené kompletní masti byly opět podrobeny analýze stability při výše zmíněných teplotách, a to ihned po jejich přípravě a následně po téměř 8 týdnech, kdy masti byly ponechány v klidu. Naměřené stability mastí byly vzájemně porovnány. Dle naměřených dat bylo předpokládáno, že vzorek s masťovým základem B bude lépe splňovat požadavky kladené na emulzní masti. Po delším časovém intervalu, kdy kompletní masti byly ponechány v klidu, bylo pozorováno zvýšení jejich stability při obou měřených teplotách. Na základě těchto výsledků lze předpokládat, že v emulzním systému docházelo k tzv. Ostwaldovu zrání, nebo k jevu zvanému flokulace, tyto jevy předcházejí úplnému oddělení fází v systému. V souladu s tímto zjištěním lze po delší době očekávat u připravených mastí změnu jejich vlastností a následně opět pokles stability.

Analýza pomocí ATR-FTIR spektrometrie byla využita k získání informací o struktuře a přítomných funkčních skupinách. Měřeny byly vzorky kompletních mastí, samotný chlorofyl a jednotlivé části masťového základu, tedy vazelína bílá a synderman.

Měření reologických vlastností kompletních mastí probíhalo při teplotě 25 °C a bylo využito oscilačních a rotačních testů. Při amplitudovém oscilačním měření byla určena hodnota napětí v lineárně viskoelastické oblasti pro oba vzorky na 0,03 % amplitudy smykové deformace. Dále bylo zjištěno, že oba vzorky vykazují více elastický charakter a chovají se tedy více jako pevné látky. Tento výsledek byl potvrzen i při frekvenčním oscilačním testu, kdy oba vzorky opět vykazovaly spíše elastický charakter. Z porovnání vzorků mezi sebou pak bylo patrné, že větší viskoelastický charakter vykazoval vzorek B. Při rotačním testu byly zjištěny hodnoty kritického napětí, viskozity, viskozity nulové rychlosti a viskozity nekonečné rychlosti. Po porovnání naměřených hodnot pro oba vzorky bylo zřejmé,

že vzorek B vykazoval vyšší hodnotu kritického napětí, měl tedy vyšší odolnost vůči namáhání a větší viskoelastický charakter.

Z výsledků, které byly získány pomocí analytické odstředivky, a zjištěných reologických vlastností kompletně připravených masť lze říct, že složení masťového základu významně ovlivňuje kvalitu výsledného produktu. Nejlepší vlastnosti vykazovala masť s masťovým základem B, který byl tvořen z 30 hm. % bílou vazelínou a 70 hm. % syndermanem.

## 6 BIBLIOGRAFIE

- [1] NOVÁK, Josef. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz* [online]. Verze 1.0. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2008 [cit. 2020-03-30]. ISBN 978-80-7080-675-3. Dostupné z: [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_isbn-978-80-7080-675-3/pages-img/](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-978-80-7080-675-3/pages-img/)
- [2] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online]. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005a [cit. 2020-03-30]. ISBN 80-708-0579-X. Dostupné z: [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_isbn-80-7080-579-X/pages-img/](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/)
- [3] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [online]. Verze 1.0. Praha: VŠCHT Praha, 2005b [cit. 2020-04-03]. Dostupné z: [https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/motor/main.obsah.html](https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-001/motor/main.obsah.html)
- [4] JAKUBEC, Martin a Jitka ČEJKOVÁ. *Emulze: příprava a stabilizace* [online]. In: . [cit. 2020-04-03]. Dostupné z: <https://fchi.vscht.cz/files/uzel/0010367/cwUA.pdf?redirected>
- [5] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie* [online]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007 [cit. 2020-04-03]. ISBN 978-80-244-1669-4. Dostupné z: <https://fch.upol.cz/skripta/kol/koch.pdf>
- [6] BARTOVSKÁ, Lidmila. Heterogenní disperze. *Koloidní chemie* [online]. [cit. 2020-05-01]. Dostupné z: <http://fch-ped.bartovsky.eu/koloidy/texty/09-Heterodisperze.pdf>
- [7] IUPAC. Ostwald ripening. In: *IUPAC Compendium of Chemical Terminology* [online]. Research Triangle Park, NC: IUPAC, 2009 [cit. 2020-04-03]. ISBN 0-9678550-9-8. Dostupné z: doi:10.1351/goldbook.O04348
- [8] KVÍTEK, Libor. *Metody studia koloidních soustav* [online]. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2006 [cit. 2020-04-03]. Dostupné z: <http://chemikalie.upol.cz/skripta/msk/msk.pdf>
- [9] SPIECKER, Paul Matthew. *The impact of Asphaltene Chemistry and Solvation on Emulsion and Interfacial Film Formation*. Raleigh, NC, 2001. Disertační. NC State University at Raleigh.
- [10] Chlorophyll. In: *Encyclopædia Britannica, Inc.* [online]. 2020 [cit. 2020-10-18]. Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/chlorophyll>
- [11] Extrakce a spektrofotometrické stanovení fotosyntetických pigmentů. In: *Masarykova univerzita: Přírodovědecká fakulta* [online]. Brno [cit. 2020-12-09]. Dostupné z: <https://www.sci.muni.cz/~fyzrost/chlorofyly.htm>
- [12] DOHNAL, Vlastimil. *Barvy očima chemika* [online]. Praha: Univerzita Karlova [cit. 2020-12-09]. Dostupné z: [https://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/839761/mod\\_resource/content/1/Barvy%20o%C4%8](https://dl1.cuni.cz/pluginfile.php/839761/mod_resource/content/1/Barvy%20o%C4%8)

- [13] ROCA, M., K. CHEN a A. PÉREZ-GÁLVEZ. Chlorophylls. *Handbook on Natural Pigments in Food and Beverages* [online]. Elsevier, 2016, , 125-158 [cit. 2021-04-15]. ISBN 9780081003718. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-100371-8.00006-3
- [14] TEPLÁ, Milada. Fotosyntéza. *StudiumBiochemie* [online]. Praha: PřF UK v Praze, 2013-2021 [cit. 2020-12-09]. Dostupné z: <http://www.studiumbiochemie.cz/fotosynteza.html>
- [15] SMITH, Lawrence a Alfred LIVINGSTON. Chlorophyll. *The American Journal of Surgery*. 1943, **62**(3), 358-369. ISSN 00029610. Dostupné z: doi:10.1016/S0002-9610(43)90053-4
- [16] SMITH, Lawrence a Alfred LIVINGSTON. Wound healing. *The American Journal of Surgery*. 1945, **67**(1), 30-39. ISSN 00029610. Dostupné z: doi:10.1016/0002-9610(45)90322-9
- [17] COLLINGS, G.H. Chlorophyll and adrenal cortical extract in the local treatment of burns. *The American Journal of Surgery*. 1945, **70**(1), 58-63. ISSN 00029610. Dostupné z: doi:10.1016/0002-9610(45)90154-1
- [18] *1000 rad domácího lékaře: ověřené způsoby léčení běžných zdravotních obtíží*. Praha: Reader's Digest Výběr, 2008. ISBN 978-80-86880-64-8.
- [19] SHIKHASHVILI, Nino a Zubar DARSVELIDZE. *Burn and wound ointment*. 1999. USA. WO1997GE00001. Přihlášeno 1997-11-20. Uděleno 1998-11-10. Zapsáno 1999-12-07. Dostupné také z: <https://patents.justia.com/patent/5997876>
- [20] DODD-BUTERA, T. a M. BRODERICK. St. John's Wort. *Encyclopedia of Toxicology*. Elsevier, 2014, , 395-397. ISBN 9780123864550. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-386454-3.00060-9
- [21] MULKIYANYAN, Karen, Vakhtang BARBAKADZE, Zhana NOVIKOVA, Marine SULAKVELIDZE, Lali GOGILASHVILI, Lela AMIRANASHVILI a Maia MERLANI. Burn Healing Compositions from Caucasian Species of Comfrey (*Symphytum L.*). *Bulletin of the georgian national academy of science* [online]. 2009, **3**(3), 114-117 [cit. 2020-11-22]. Dostupné z: <http://science.org.ge/old/moambe/3-3/Mulkijanian.pdf>
- [22] GOKADZE, SI, VV BARBAKADZE, LM GOGILASHVILI, LSh AMIRANASHVILI a AD BAKURIDZE. Development of technology for the substance of poly[3-(3,4-dihydroxyphenyl) glyceric acid] from *Symphytum asperum*. *Geordian medical news* [online]. 2013, (5), 72-77 [cit. 2020-11-22]. ISSN 1512-0112. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/240308935\\_Development\\_of\\_technology\\_for\\_the\\_substance\\_of\\_poly3-34-dihydroxyphenyl\\_glyceric\\_acid\\_from\\_Symphytum\\_asperum](https://www.researchgate.net/publication/240308935_Development_of_technology_for_the_substance_of_poly3-34-dihydroxyphenyl_glyceric_acid_from_Symphytum_asperum)
- [23] PEARSON, Wendy. Pyrrolizidine Alkaloids in Higher Plants. *Journal of*



*Nutraceuticals, Functional & Medical Foods*. 2015, **3**(1), 87-96. ISSN 1089-4179.  
Dostupné z: doi:10.1300/J133v03n01\_06

- [24] ZHANG, Jin'an, Zhuangyi ZHANG a Wenyi ZHANG. *BURN OINTMENT FOR PROMOTING TISSUE REGENERATION AND SKIN GROWTH, AND PREPARATION METHOD THEREFOR*.
- [25] Ženšen. In: *MEDAPREX* [online]. [cit. 2020-11-14]. Dostupné z: <https://www.medaprex.cz/slovník-pojmu/zensen-a2068>
- [26] PŘIDAL, Antonín. *Včelí produkty*. V Brně: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. ISBN 80-715-7717-0.
- [27] WEN, Chih-Chun, Hui-Ming CHEN a Ning-Sun YANG. Developing Phytocompounds from Medicinal Plants as Immunomodulators. *Recent Trends in Medicinal Plants Research*. Elsevier, 2012, , 197-272. Advances in Botanical Research. ISBN 9780123945914. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-394591-4.00004-0
- [28] GIBBONS, Gary W. Grafix<sup>®</sup>, a Cryopreserved Placental Membrane, for the Treatment of Chronic/Stalled Wounds. *Advances in Wound Care*. 2015, **4**(9), 534-544. ISSN 2162-1918. Dostupné z: doi:10.1089/wound.2015.0647
- [29] Borneol. In: *LabEffects: The Science of Mapping Terpenes* [online]. Colorado, c2013-2021 [cit. 2021-04-18]. Dostupné z: <https://labeffects.com/terpene-glossary-borneol/>
- [30] *Herbal preparation and its application*. Vynálezce Mikolaj TOMULEWICZ. PL. WO2016PL00067 20160627. Dostupné také z: [https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?FT=D&date=20170111&DB=EPODOC&locale=en\\_EP&CC=EP&NR=3115055A1&KC=A1&ND=4](https://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?FT=D&date=20170111&DB=EPODOC&locale=en_EP&CC=EP&NR=3115055A1&KC=A1&ND=4)
- [31] Burns. In: *The National Institute of General Medical Sciences* [online]. 2018 [cit. 2020-12-06]. Dostupné z: <https://www.nigms.nih.gov/education/fact-sheets/Documents/fact-sheet-burns.pdf>
- [32] Charakter popálenin. In: *Popálky* [online]. 2020 [cit. 2020-12-06]. Dostupné z: <https://popalky.cz/popaleniny/charakter-popalenin/>
- [33] Burns. In: *World Health Organization* [online]. 2020 [cit. 2020-12-06]. Dostupné z: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/burns>
- [34] Ročně přes 100.000 lidí v ČR utrpí popáleniny, které léčí lékař. In: *Medical Tribune: Tribuna lékařů a zdravotníků* [online]. c2020-2021 [cit. 2020-12-06]. Dostupné z: <https://www.tribune.cz/clanek/4040-rocne-pres-lidi-v-cr-utrpi-popaleniny-ktere-leci-lekar>
- [35] CAFASSO, Jacquelyn. Home Remedies for Burns. In: *Healthline* [online]. c2005-2021 [cit. 2020-12-06]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/home-remedies-for-burns>

- [36] KAHN, April. Burns: Types, Treatments, and More. In: *Healthline* [online]. c2005-2021 [cit. 2020-12-06]. Dostupné z: <https://www.healthline.com/health/burns>
- [37] Burn Ointment Market Size: Industry Report, 2020-2027. In: *Market Research Reports & Consulting: Grand View Research, Inc.* [online]. Grand View Research, Inc., 2020 [cit. 2020-12-19]. Dostupné z: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/burn-ointment-market>
- [38] Infadolan mast 30g: Výrobce: Herbacos Recordati. In: *Dermocentrum* [online]. [cit. 2020-12-08]. Dostupné z: <https://dermocentrum.com/telo/hojeni-a-jizvy/infadolan-drm-ung-1x30g>
- [39] Příbalová informace: informace pro pacienta: Betadine. In: *Dr.Max* [online]. 2021 [cit. 2020-12-08]. Dostupné z: <https://www.drmax.cz/betadine-mast-20g>
- [40] CLELAND, Heather. Thermal burns: Assessment and acute management in the general practice setting. *Australian Family Physician* [online]. Australia: The Royal Australian College of General Practitioners, 2021, **41**(6), 372-375 [cit. 2020-12-20]. Dostupné z: <https://www.racgp.org.au/afp/201206/47070>
- [41] WASIAK, Jason, Heather CLELAND, Fiona CAMPBELL a Anneliese SPINKS. Dressings for superficial and partial thickness burns. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [online]. Wiley, c2000-2021 [cit. 2020-12-20]. ISSN 14651858. Dostupné z: doi:10.1002/14651858.CD002106.pub4
- [42] What is a Hydrocolloid Dressing?. *Wound source* [online]. Kestrel Health Information, c2008-2021 [cit. 2020-12-21]. Dostupné z: <https://www.woundsource.com/blog/what-hydrocolloid-dressing>
- [43] THOMAS, Liji. Hydrogel Dressings. *News Medical: Life Sciences* [online]. AZoNetwork, c2000-2021 [cit. 2020-12-21]. Dostupné z: <https://www.news-medical.net/health/Hydrogel-Dressings.aspx#>
- [44] SMTL Dressings Databcard: Mepitel. In: *SMTL Dressings Databcard* [online]. Surgical Materials Testing Lab., c1992-2007 [cit. 2020-12-21]. Dostupné z: <http://www.dressings.org/Dressings/mepitel.html>
- [45] JIRÁSEK, Robert. Mastné tyly nepatří do starého železa. *Edukafarm: farminews*. 2012, (1), 16-17.
- [46] ONISHI, H., Y. MACHIDA, E. SANTHINI a Ketankumar VADODARIA. Novel textiles in managing burns and other chronic wounds. *Advanced Textiles for Wound Care*. Elsevier, 2019, , 211-260. ISBN 9780081021927. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-08-102192-7.00008-4
- [47] HELD, Manuel, Anne-Sophie ENGELKE, Dascha Sophie TOLZMANN, Afshin RAHMANIAN-SCHWARZ, Hans-Eberhard SCHALLER a Jens ROTHENBERGER. Biomechanical Skin Property Evaluation for Wounds Treated With Synthetic and Biosynthetic Wound Dressings and a Newly Developed Collagen Matrix During Healing of Superficial Skin Defects in a Rat Model. *Wounds*. 2016, **28**(9), 334-340.

- [48] What is a Foam Dressing?. *Wound source* [online]. Kestrel Health Information, c2008-2021 [cit. 2020-12-20]. Dostupné z: <https://www.woundsource.com/blog/what-foam-dressing>
- [49] RŮŽIČKOVÁ JAREŠOVÁ, Lucie. Dermatologická externa polotuhé konzistence. *Dermatologie pro praxi* [online]. 2010, **4**(1), 59-61 [cit. 2020-10-13]. Dostupné z: <http://solen.cz/pdfs/der/2010/01/14.pdf>
- [50] Adaps Lanae. In: *Soustředěná příprava léčiv* [online]. Česká Lékárna Holding, c2012-2019 [cit. 2021-02-15]. Dostupné z: <https://www.e-laborator.cz/zbozi/adepts-lanae-50g>
- [51] SCHWARTZBERG, Lee S. a Rudolph M. NAVARI. Safety of Polysorbate 80 in the Oncology Setting. *Advances in Therapy* [online]. 2018, **35**(6), 754-767 [cit. 2021-02-15]. ISSN 0741-238X. Dostupné z: [doi:10.1007/s12325-018-0707-z](https://doi.org/10.1007/s12325-018-0707-z)
- [52] ALTMeyer, Peter. Vaselineum album. In: *Altmeyers encyclopedia* [online]. Altmeyers Encyclopedia, 2021 [cit. 2021-02-15]. Dostupné z: <https://www.altmeyers.org/en/dermatology/vaselinum-album-131536>
- [53] SINGH, Ompal, Zakia KHANAM, Neelam MISRA a ManojKumar SRIVASTAVA. Chamomile (*Matricaria chamomilla* L.): An overview. *Pharmacognosy Reviews*. 2011, **5**(9). ISSN 0973-7847. Dostupné z: [doi:10.4103/0973-7847.79103](https://doi.org/10.4103/0973-7847.79103)
- [54] CROFT, H. a J.M. CHEN. Leaf Pigment Content. *Comprehensive Remote Sensing*. Elsevier, 2018, , 117-142. ISBN 9780128032213. Dostupné z: [doi:10.1016/B978-0-12-409548-9.10547-0](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.10547-0)
- [55] PŘIDAL, Antonín. Včelí vosk - složení a využití. *Moderní včelař* [online]. 2007, **4**(5), 20-21 [cit. 2021-05-01]. ISSN 1214-5793. Dostupné z: <http://user.mendelu.cz/apridal/text/c029.pdf>

## 7 PŘÍLOHY

Tabulka 15 – Souhrnná tabulka vypočtených průměrů nestabilit a k nim příslušných směrodatných odchylek pro všechny vzorky

	Vzorek A pro 6000 s při teplotě 25 °C				Vzorek A pro 6000 s při teplotě 37 °C			
čas odběru (min)	15	30	45	60	15	30	45	60
index nestability (–)	0,04	0,03	0,04	0,04	0,4	0,4	0,4	0,4
odchylky (–)	0,005	0,0008	0,003	0,006	0,007	0,005	0,005	0,005
	Vzorek A pro 12000 s při teplotě 25 °C				Vzorek A pro 12000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,06	0,05	0,06	0,07	0,4	0,4	0,5	0,5
odchylky (–)	0,004	0,0005	0,003	0,006	0,008	0,004	0,004	0,006
	Vzorek A pro 18000 s při teplotě 25 °C				Vzorek A pro 18000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,09	0,07	0,09	0,09	0,5	0,5	0,5	0,5
odchylky (–)	0,005	0,001	0,003	0,006	0,007	0,004	0,003	0,006
	Vzorek B pro 6000 s při teplotě 25 °C				Vzorek B pro 6000 s při teplotě 37 °C			
čas odběru (min)	15	30	45	60	15	30	45	60
index nestability (–)	0,04	0,04	0,03	0,03	0,4	0,4	0,4	0,5
odchylky (–)	0,002	0,002	0,003	0,001	0,009	0,009	0,01	0,02
	Vzorek B pro 12000 s při teplotě 25 °C				Vzorek B pro 12000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,06	0,05	0,05	0,05	0,4	0,5	0,5	0,5
odchylky (–)	0,002	0,002	0,001	0,003	0,009	0,009	0,009	0,02
	Vzorek B pro 18000 s při teplotě 25 °C				Vzorek B pro 18000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,07	0,07	0,07	0,06	0,4	0,5	0,5	0,6
odchylky (–)	0,003	0,002	0,003	0,004	0,01	0,009	0,007	0,02
	Vzorek C pro 6000 s při teplotě 25 °C				Vzorek C pro 6000 s při teplotě 37 °C			
čas odběru (min)	15	30	45	60	15	30	45	60
index nestability (–)	0,07	0,05	0,04	0,05	0,3	0,3	0,3	0,3
odchylky (–)	0,002	0,002	0,006	0,002	0,004	0,01	0,006	0,007
	Vzorek C pro 12000 s při teplotě 25 °C				Vzorek C pro 12000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,1	0,09	0,07	0,08	0,4	0,3	0,4	0,4
odchylky (–)	0,004	0,006	0,008	0,002	0,006	0,02	0,005	0,006
	Vzorek C pro 18000 s při teplotě 25 °C				Vzorek C pro 18000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,1	0,1	0,09	0,1	0,4	0,4	0,5	0,4
odchylky (–)	0,006	0,009	0,009	0,005	0,006	0,03	0,004	0,004
	Vzorek D pro 6000 s při teplotě 25 °C				Vzorek D pro 6000 s při teplotě 37 °C			
čas odběru (min)	15	30	45	60	15	30	45	60
index nestability (–)	0,06	0,09	0,08	0,07	0,5	0,5	0,5	0,5
odchylky (–)	0,02	0,005	0,005	0,002	0,002	0,008	0,004	0,004
	Vzorek D pro 12000 s při teplotě 25 °C				Vzorek D pro 12000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,09	0,1	0,1	0,1	0,6	0,6	0,6	0,6
odchylky (–)	0,02	0,01	0,007	0,003	0,002	0,004	0,005	0,003
	Vzorek D pro 18000 s při teplotě 25 °C				Vzorek D pro 18000 s při teplotě 37 °C			
index nestability (–)	0,1	0,2	0,2	0,2	0,6	0,6	0,6	0,6
odchylky (–)	0,03	0,01	0,008	0,006	0,002	0,002	0,005	0,003