

Účinek kolagenního hydrolyzátu na pokožku

Johanka Hornová

Bakalářská práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Johanka Hornová**
Osobní číslo: **T19030**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Účinek kolagenního hydrolyzátu na pokožku**

Zásady pro vypracování

1. V teoretické části zpracujte literární studii na zadané téma, zhodnoťte ji s ohledem na praktickou část práce a zhodnoťte přínosy kolagenu pro zdraví.
2. V praktické části na skupině dobrovolníků sledujte vybrané vlastnosti –hydratace pokožky, transepidermální ztráta vody z pokožky, elasticita pokožky a pH pokožky.
3. Výsledky zpracujte tabelárně, graficky, proveďte diskuzi a konfrontaci s dostupnými literárními zdroji.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Baumann, L. *Cosmetic Ingredients and Cosmeceuticals*. New York: McGraw-Hill Companies, 2015. ISBN 9780071793988.
- [2] Loh, X.J. *Polymers for Personal Care Products and Cosmetics*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, 2016.
- [3] Dong, J.R., Jin, Y.J., Kee, Y.C., Hwal, S., Sang, H.O., Ju, H.L. *The Efficacy and Safety of Succinylated Atelocollagen and Adenosine for the Treatment of Periorbital Wrinkles*. *Journal of Cosmetics, Dermatological Sciences and Applications*, 2013, 3, 234-241.
- [4] Mokrejš, P., Pavlačková, J., Janáčková, D., Huťta, M. *Hydration and Barrier Properties of Emulsions with the Addition of Keratin Hydrolysate*. *Cosmetics*, 2018, 5(4), 64.

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Aneta POLAŠTÍKOVÁ**
Ústav inženýrství polymerů

Datum zadání bakalářské práce: **25. února 2022**

Termín odevzdání bakalářské práce: **20. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

doc. Ing. Marián Lehocký, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Teoretická práce se zabývá strukturou a vlastnostmi kolagenu, popisuje jednotlivé typy kolagenů. Dále se věnuje kosmetickým formulacím a polymerům, které jsou v nich používány. V neposlední řadě zmiňuje vlastnosti a stavbu kůže a popisuje měření jejich vlastností, které je prováděno v rámci praktické části.

Praktická část se věnuje dlouhodobému účinku gelové formulace s přídavkem rybího kolagenního hydrolyzátu na kůži. Po dobu dvou měsíců používalo 11 probandek připravenou gelovou formulaci na oční okolí. Před použitím, po 32 dnech a po dalších 32 dnech byly měřeny vlastnosti kůže. Měřen byl vliv na hydrataci, transepidermální ztrátu vody a pH. Pomocí visioskopu bylo zobrazováno množství pórů a vrásek.

Klíčová slova: kolagenní hydrolyzát, kůže, transepidermální ztráta vody, hydratace, pH, vrásky, póry, oční okolí, gelová formulace

ABSTRACT

The theoretical part of this paper deals with both the structure and properties of collagen and describes its different types. In addition, it treats cosmetic formulations and polymers which are used in these formulations. Finally, the skin measurements performed in the practical part are described in detail alongside its structure and properties.

On another note, the practical part is dedicated to the long-term effects of gel formulation with addition of fish collagen hydrolyzate on skin. For a two-month span, the prepared formulation was used by 11 probands. The measurements of skin properties took place before the start of usage, after 32 days of its usage and after another 32 days. The effect on hydration, transepidermal water loss and pH was measured as well. The amount of pores and wrinkles was displayed using a visioscope.

Keywords: collagen hydrolyzate, skin, transepidermal water loss, hydration, pH, wrinkles, pores, eye area, gel formulation

Touto cestou bych ráda poděkovala především vedoucí mé bakalářské práce, paní Ing. Anetě Prokopové, za její ochotu, cenné rady a podporu během vypracování mé práce. Dále také paní Ing. Janě Pavlačkové, PhD., za pomoc v laboratoři a zapůjčení přístrojů pro měření v praktické části BP. Stejně díky patří i paním laborantkám.

Další díky patří samozřejmě probandkám za poctivé používání přípravku a také ochotu celé měření podstoupit. V neposlední řadě jsem vděčná také své rodině a blízkým za podporu během celého studia.

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

OBSAH

ÚVOD.....	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 KOLAGEN JAKO SOUČÁST ŽIVÝCH ORGANISMŮ	11
1.1 STRUKTURA KOLAGENU	11
1.2 BIOSYNTÉZA KOLAGENU	14
1.3 VLASTNOSTI KOLAGENU	14
1.3.1 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI	15
1.4 TYPY KOLAGENŮ.....	16
1.4.1 KOLAGEN TYPU I.....	16
1.4.2 KOLAGEN TYPU II	17
1.4.3 KOLAGEN TYPU III	17
1.4.4 KOLAGEN TYPU V	18
1.4.5 KOLAGEN TYPU XI.....	18
1.4.6 OSTATNÍ TYPY KOLAGENŮ	18
2 KOSMETICKÉ FORMULACE S KOLAGENEM.....	19
2.1 POLYMERY POUŽÍVANÉ V KOSMETICE	19
2.1.1 PŘÍRODNÍ POLYMERY	19
2.1.2 SEMI-SYNTETICKÉ POLYMERY	20
2.1.3 SYNTETICKÉ POLYMERY.....	20
2.2 TYPY KOLAGENŮ POUŽÍVANÝCH V KOSMETICE	21
2.3 HYDROLYZOVANÝ KOLAGEN	21
2.4 KOSMETICKÉ FORMULACE.....	22
2.4.1 TEKUTÉ	23
2.4.2 POLOTUHÉ.....	23
2.4.3 TUHÉ.....	24
3 KŮŽE A MĚŘENÍ JEJÍCH VLASTNOSTÍ	26
3.1 ANATOMIE A FYZIOLOGIE KŮŽE	26
3.2 MĚŘENÍ VLASTNOSTÍ KŮŽE	30
3.2.1 HYDRATACE.....	30
3.2.2 TRANSEPIDERMÁLNÍ ZTRÁTY VODY (TEWL).....	31
3.2.3 POVRCHOVÉ PH.....	31
II PRAKTICKÁ ČÁST	32
4 CÍLE PRÁCE	33
5 MATERIÁLY, METODY A POSTUP PRÁCE.....	34
5.1 PŘÍPRAVA KOLAGENNÍHO HYDROLYZÁTU	34
5.2 ANALÝZY PROVÁDĚNÉ NA SAMOTNÉM HYDROLYZÁTU	35
5.2.1 PŘÍSTROJE, POMŮCKY A CHEMIKÁLIE.....	35

5.2.2	STANOVENÍ OBSAHU SUŠINY	36
5.2.3	STANOVENÍ OBSAHU POPELOVIN	36
5.2.4	STANOVENÍ PH A ČIROSTI ROZTOKU	36
5.3	PŘÍPRAVA GELU S KOLAGENNÍM HYDROLYZÁTEM.....	37
5.3.1	PŘÍSTROJE, POMŮCKY A CHEMIKÁLIE	37
5.3.2	METODIKA A POSTUP PRÁCE.....	37
5.4	MĚŘENÍ VLASTNOSTÍ POKOŽKY	37
5.4.1	PŘÍSTROJE, POMŮCKY A CHEMIKÁLIE	37
5.4.2	METODIKA A POSTUP PRÁCE.....	38
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	41
6.1	VYHODNOCENÍ ANALÝZ HYDROLYZÁTU	41
6.1.1	VYHODNOCENÍ OBSAHU SUŠINY	41
6.1.2	VYHODNOCENÍ OBSAHU POPELOVIN.....	41
6.1.3	VYHODNOCENÍ PH A ČIROSTI ROZTOKU	42
6.2	VYHODNOCENÍ ÚČINKŮ KOLAGENNÍHO HYDROLYZÁTU NA POKOŽKU.....	42
6.2.1	VYHODNOCENÍ ÚČINKŮ GELOVÉ FORMULACE NA HYDRATACI POKOŽKY	43
6.2.2	VYHODNOCENÍ ÚČINKŮ GELOVÉ FORMULACE NA TEWL POKOŽKY.....	46
6.2.3	VYHODNOCENÍ ÚČINKŮ GELOVÉ FORMULACE NA PH POKOŽKY	49
6.2.4	VYHODNOCENÍ ÚČINKŮ GELOVÉ FORMULACE NA PÓRY A VRÁSKY	52
	ZÁVĚR	59
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	60
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	65
	SEZNAM OBRÁZKŮ	66
	SEZNAM TABULEK.....	67
	SEZNAM PŘÍLOH.....	68

ÚVOD

Kůže jako největší orgán lidského těla zajišťuje velké množství funkcí. Je složena ze tří vrstev; *dermis*, *epidermis* a *hypodermis*. Právě v *epidermis* jsou uložena kolagenní vlákna, které kůži jakožto celku dodávají pevnost. Množství kolagenních vláken se v průběhu života postupně snižuje, což zapříčiňuje tvorbu vrásek. Přítomnost vrásek může být způsobena činností mimických svalů, které jsou typické pro každého jednotlivce, tyto vrásky jsou pak nazývány mimické. Dalším druhem vrásek jsou ty stařecké, které jsou důsledkem stárnutí kůže a jsou způsobeny úbytkem kolagenních a elastinových vláken a také úbytkem vody, která se váže na kolagen a elastin.

Díky dostupnosti spousty kosmetických přípravků je dnes možné proces stárnutí zpomalovat, nikoliv mu úplně zabránit. Dále jsou přípravky pečující kosmetiky používány především ženami od věku cca 20 let. Slouží ke zlepšení vlastností kůže, a to především v oblasti obličeje. Dále je možné svěřit se do rukou kosmetiček, dermatologů či plastických chirurgů, kde je možno dosáhnout lepšího efektu vyhlazení pleti, a právě nechtěných vrásek.

Účinky kolagenního hydrolyzátu byly již dříve testovány na Fakultě technologické Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, a to na starší pleti, nyní byla zkoumána jeho účinnost na pleti mladé. Důležité je vědět, jakým způsobem přípravky s jeho přídavkem ovlivňují transepidermální ztrátu vody, hydrataci pleti, také její pH, množství pórů a vrásek. Záleží také v jaké kosmetické formulaci se hydrolyzát vyskytuje a jaké je jeho procentuální zastoupení. V rámci této bakalářské práce byla použita gelová formulace s přídavkem 0,5 a 1,5 % rybího kolagenního hydrolyzátu.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOLAGEN JAKO SOUČÁST ŽIVÝCH ORGANISMŮ

Společně s elastinem, proteoglykany, glykoproteiny a dalšími látkami tvoří kolagen výstavbu extracelulární matrix (ECM), kterému se často zjednodušeně přezdívá pojivo. ECM vyplňuje prostor mezi buňkami, vytváří mezi nimi buněčné spoje, čímž jsou tvořeny tkáně. Dále je důležitý pro ukládání a přenos živin, podílí se také na obraně proti infekcím. Kolagenní vlákna se v pojivové tkáni vyskytují nejčastěji a jsou nejsilnější. Pojivu dodávají odolnost vůči napětí, a to díky své struktuře vzájemně propletených vláken. [1] Množství ECM je různé a závisí na konkrétní tkáni, kterou tvoří. Velké množství ECM se nachází v chrupkách, šlachách, kostech či kůži. Kolagen tvoří více než 25 % proteinových struktur u mnohobuněčných organismů. Vytváří celou rodinu skleroproteinů neboli vláknitých bílkovin, které jsou ve vodě nerozpustné a poměrně chemicky odolné, ale také proteiny nevláknité povahy. [2]

1.1 Struktura kolagenu

Kolagenů rozeznáváme hned několik typů a všechny je možné rozdělit do dvou velkých skupin; fibrilární a nefibrilární. [3] Všechny mají strukturu trojitě pravotočivé dvoušroubovice a specifickou primární sekvenci Gly-X-Y. Jako každý protein je i kolagen tvořen aminokyselinami. Každá třetí z nich je glycin (GLY). Na pozicích X a Y se mohou vyskytovat různé aminokyseliny z nichž nejdůležitější je prolin (PRO), dále pak lysin (LYS). Jejich posttranslační modifikací vznikají pro kolagen typické aminokyseliny hydroxyprolin (HYP) a hydroxylysin (HYL), které se často vyskytují v pozici Y. K modifikaci prolinu a lysinu dochází již při translaci α -řetězců kolagenu v cisternách endoplazmatického retikula, a to za přítomnosti enzymů prolylhydroxylasy a lysylhydroxylasy. [2]

V přírodě se vyskytuje více než 300 různých aminokyselin, ale pouze 20 z nich lze nalézt v bílkovinách. Jejich počet se ale zvyšuje možností jejich posttranslační modifikace a vzniku derivátů.

Aminokyseliny (AMK) jsou základní složkou bílkovin. Z chemického hlediska se jedná o deriváty karboxylových kyselin. Podle postranního uhlovodíkového řetězce se rozdělují na ty s acyklickým, aromatickým a heterocyklickým uhlovodíkovým řetězcem. Obsahují bazickou aminoskupinu $-NH_2$ a kyselou karboxylovou skupinu $-COOH$, což značí jejich amfoterní charakter. V těle se nejhojněji vyskytují α -aminokyseliny, u nichž je karboxyskupina i aminoskupina vázána na uhlík v poloze α . Na řetězec mohou být substituovány i další skupiny, například hydroxylová, thiolová či guanidylová. Typ

navázaných skupin a uhlovodíkového řetězce významně ovlivňují reaktivitu molekuly aminokyseliny. Výskyt aminokyselin může být volný nebo vázaný, což se vyskytuje například u polypeptidových řetězců peptidů a bílkovin. Dále mohou být aminokyseliny kódované či nikoliv. Kódované aminokyseliny jsou v bílkovinách seřazeny podle genetického kódu. Všechny kódované AMK se vyskytují v L-konfiguraci, zatímco konfigurace D se vyskytuje velmi zřídka. Důležitou vlastností AMK je jejich schopnost kondenzace, čímž mezi aminokyselinami vzniká peptidová vazba. Aminokyseliny mohou být esenciální, tedy nemohou být syntetizovány v těle a musí být dodávány jiným způsobem, například v potravě. Mezi esenciální AMK se řadí lysin, leucin, valin či methionin a další. Mohou se vyskytovat také semiesenciální AMK, ke kterým patří histidin a arginin a jedná se o aminokyseliny, které nejsou syntetizovány dostatečně, například v době růstu dětí. [2]

Glycin je nejjednodušší a nejmenší aminokyselinou a řadí se mezi hydrofilní. Ve své struktuře obsahuje alifatický postranní řetězec. Kvůli své jednoduchosti může v proteinech zaujímat polohy, které pro ostatní aminokyseliny nejsou možné. Vyskytuje se tedy v místech ostrého ohybu proteinu.

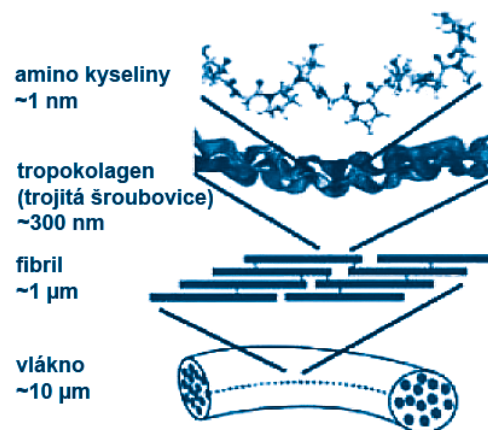
Prolin je jednou z hydrofobních aminokyselin a řadí se mezi iminokyseliny, jelikož jeho amino skupina je na α -uhlíku zacyklená v postranním řetězci.

Lysin se řadí mezi bazické a hydrofilní aminokyseliny a je jednou z esenciálních aminokyselin pro člověka.

Hydroxyprolin je jednou z nekódovaných aminokyselin. Vzniká hydroxylací prolinu, který je již zabudovaný v peptidovém řetězci.

Hydroxylysin je hydroxyderivát lysinu, jedná se o nekódovanou aminokyselinu. [4]

Kolagen vytváří vlákna, složena z aminokyselin, které se k sobě vážou a stáčí se vždy tři do pravotočivé dvoušroubovice, která se nazývá tropokolagen. Tropokolagen dále polymeruje a vytváří kolagenní vlákna, nejprve spojením do mikrofibril, dále větších celků tedy fibril, díky kterým jsou kolagenní vlákna pevná. [5]

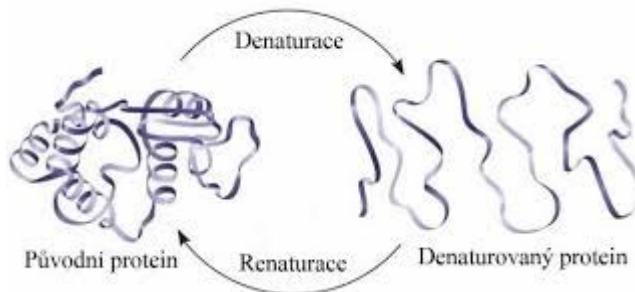


Obrázek 1: Struktura kolagenního vlákna [25]

Jelikož se jedná o protein, je možné si jeho strukturu rozdělit na primární, sekundární, terciární a kvartérní. *Primární* struktura bílkovin je posloupnost aminokyselin v řetězci, která je syntetizována podle genetického kódu. *Sekundární* struktura vzniká na základě tvorby vodíkových můstků. Dochází ke stabilizaci konformace s nejnižší energií. Ukazuje tedy, jakým způsobem se bude řetězec stáčet. Může tvořit α -helix jako kolagen, anebo β -skládaný list. U některých globulárních, tedy ve vodě rozpustných proteinů kulovitého tvaru, mohou spojením α -helixu a β -skládaného listu vznikat suprasekundární struktury. *Terciární* struktura popisuje prostorové uspořádání molekuly a je závislá na interakcích vedlejších skupin navázaných na řetězci, které vedou k zprohýbání molekuly. *Kvartérní struktura* popisuje také prostorové uspořádání, ale už více podjednotek složených z více řetězců. Do této struktury spadá právě kolagen, ale také například hemoglobin. [2]

Proces, kterým dochází k narušení struktury bílkovin, ať už fyzikálními (teplem, ozářením, tlakem) či chemickými vlivy (kyselinami a zásadami), se nazývá denaturace. V případě kolagenu se jedná o proces, při kterém vzniká z nativního kolagenu želatina. Denurací tropokolagenu dojde k vzniku dvou štěpů označených α a β . Každý z nich má odlišnou molekulovou hmotnost. Štěp β je schopen se dále štěpit na dvě komponenty α . Tím dojde ke vzniku tří štěpů, které dále tvoří trojitou spirálu, která je pro kolagen typická. Tato spirála je dvoustupňovým procesem denaturace poškozena a v prvním stupni dojde k jejímu zborcení. Makromolekula tropokolagenu se stočí do statistického klubka, ve kterém jsou řetězce ještě spojeny. V druhém stupni dojde k rozpadu klubek na tři frakce; α , β a γ . Frakce α je tvořena jedním polypeptidickým řetězcem původní spirály. Frakci β tvoří dva spojené řetězce a frakci γ řetězce v původní podobě statistického klubka. Ponecháním denaturovaného roztoku tropokolagenu při nízké teplotě po delší dobu může dojít

k renaturaci, tedy procesu zpětné rekonstrukce spirály. Jedná se tedy o denaturaci reversibilní, tedy vratnou. [7]



Obrázek 2: Schéma denaturace a renaturace proteinu [26]

1.2 Biosyntéza kolagenu

Prekurzorem pro syntézu kolagenu je preprokolagen, který se vytváří na ribozomech endoplazmatického retikula. Následně dochází na Golgiho aparátu k posttranslačním modifikacím prolinu (PRO) a lysinu (LYS), čímž vznikají AMK hydroxylysin (HYL) a hydroxyprolin (HYP), které se, jak již bylo zmíněno, ve výsledném kolagenu vyskytují. Dále se odštěpí signální peptid, čímž dojde k vytvoření prokolagenu. Na N-konci i C-konci se ještě nachází propeptidy, jejichž stanovení se využívá při studiu metabolismu kolagenu. U hydroxylysinu může ještě dále během posttranslačních modifikací docházet k glykosylaci, tedy posttranslační modifikaci bílkovin. Tímto procesem rozumíme navázání řetězce glykanů probíhající na endoplazmatickém retikulu. Může docházet také k oxidaci thiolových skupin na cysteinu, čímž vznikají disulfidové můstky, nebo k oxidaci některých lysinů, katalyzovaných enzymem lisyloxidasou, a to za vzniku aldehydu. Modifikováním aminokyselin dochází k intermolekulárním a intramolekulárním spojení, které vytváří příčné vazby v kolagenu, čímž se vytváří trojpramenná pevná šroubovice. Šroubovice je následně transportována do extracelulárního prostoru, kde dojde hydrolýzou k odstranění propeptidů. [2]

1.3 Vlastnosti kolagenu

Využívání a zpracování kolagenu je díky jeho obnovitelnosti stále vyšší. Jedná se o přírodní zdroj získávaný z živočišné tkáně, díky čemuž je biokompatibilní s celým lidským organismem. Jeho přírodní charakter zajišťuje také vysokou kompatibilitu s životním prostředím. Mimo anorganické látky v jeho struktuře je celý rozložitelný. Anorganické látky

jsou ale využitelné v půdách jako zdroj živin, tedy hnojivo, což činí kolagen v přírodě 100% rozložitelný, tedy biodegradabilní. Je proto důležité znát jeho vlastnosti.

1.3.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti

Polyelektrický charakter kolagenu je vlastností závislou na pH. Podle něj dochází ke změně náboje molekuly. V silně kyselém prostředí tedy molekula kolagenu vykazuje kladný náboj. Naopak v silně zásaditém prostředí se jeví jako záporná. Izelektrický bod nám ukazuje, při jakém pH je volný náboj nulový. U nativního kolagenu je tento bod v oblasti pH 7.

Schopnost **botnání kolagenu** ve vhodném prostředí je omezeným procesem, při kterém dochází ke změně objemu, pružnosti a délky vlákna. Řadí se tedy mezi gely neboli přechodně koloidní soustavy. Botnání můžeme rozdělovat na osmotické a lyotropní, a to z hlediska mechanismu. Při osmotickém dochází k průniku vody mezi pevnou látku a rozpouštědlo na základě gradientu osmotického tlaku. Po určité době dojde k ustavení rovnováhy; tzv. Donnanovy membránové rovnováhy. Lyotropního botnání je dosaženo vyšším stupněm botnání a je způsobeno rozrušením stabilizujících vazeb a snížením protitlaku pevné fáze. Sloučeniny, které tento typ botnání způsobují, mohou štěpit vodíkové vazby, a dokonce i kolagen rozpustit.

Zahříváním kolagenu ve vodném prostředí dochází k **přeměně kolagenu na želatinu**. Ta může být způsobena štěpením příčných kovalentních intermolekulárních vazeb na úrovni kvartérní struktury, denaturací na úrovni terciární struktury nebo hydrolytickým štěpením peptidických vazeb polypeptidových řetězců na úrovni molekulární. Při konkrétní teplotě, běžně okolo 60 °C, se mění struktura a fyzikální vlastnosti kolagenu. Dochází k degradaci, depolymeraci, což je nežádoucím jevem. Je tedy vyžadováno rozštěpení co nejnižšího počtu vazeb, čímž bude želatina vykazovat lepší fyzikální vlastnosti, bude tedy více kvalitní. Z chemického hlediska je želatina velice čistou formou kolagenu, především pokud je připravována v kyselém prostředí. Dochází k odstranění mukopolysacharidů, tuků a nevláknitých bílkovin. V zásaditém prostředí dochází k poklesu koncentrace některých AMK (arginin a tyrosin) a amidicky vázaného dusíku.

Další vlastností je **hydrotermální stabilita kolagenu**. Zahříváním kolagenních vláken ve vodě nebo použitím lyotropního činidla dojde ke zkrácení vláken důsledkem štěpení intramolekulárních a intermolekulárních vazeb udržujících trojitou spirálu nativního kolagenu nataženou. Zkrácení ve směru osy až o 1/3 je charakterizováno teplotou smrštění T_s , která je považována za tání kolagenu v krystalických oblastech. Další

možnou charakterizací je denaturační teplota přechodu kolagen na želatinu T_d . Jedná se o fázovou přeměnu prvního řádu. Obě teploty je možné zvýšit zesíťováním. [7]

1.4 Typy kolagenů

V dnešní době je známo a popsáno 28 typů kolagenů. Pro přehledné rozdělení se každý typ kolagenu zapisuje římskou číslicí. Dále se pak rozděluje podle toho, zda jsou vláknité či nikoliv. Kolagen typu I, II a III jsou označovány za majoritní fibrilární kolageny. Mezi minoritní fibrilární se řadí kolagen typu V a XI. Kolageny typu XXIV a XXVII jsou mnohem méně prozkoumány, ale jedná se také o vláknité proteiny. Fibrilární kolagen tvoří protáhlá, kabelovitá, pruhovaná vlákna, ve kterých dochází k opakování každých 64-67 nm. Jsou důležitá jako mechanická opora a pro prostorovou stabilitu. Nefibrilární kolageny tvoří další supramolekulární struktury jako například perličková či kotvící vlákna. Mohou být spojeny s povrchem kolagenních fibril nebo s mezimembránovými proteiny. Mezi ně se řadí kolagen typu IV, VI, VII, VIII, IX, X, XII, XIV, XXVI, XXVIII, atd. [3] Jednotlivé typy kolagenů se liší především složením AMK. Dále můžeme rozlišovat heterotrimery či homotrimery. Jedná se o rozdělení na základě vláknité struktury kolagenu sestávající ze tří α -řetězců. V případě homotrimerů jsou všechny tři α -řetězce stejné. Pokud se alespoň jeden z nich liší, jedná se o heterotrimery. [2]

1.4.1 Kolagen typu I

Tento typ kolagenu je nejhojněji zastoupen a vyskytuje se téměř ve všech orgánech a tkáních v těle člověka. Jeho výskyt je nejvýznamnější v kostech, šlachách a kůži (70 %). Například kost je tvořena z cca 25 % organických látek, z čeho je asi 95 % složeno právě z kolagenu typu I a dalších proteinů jiného původu. Zbylých 5 % tvoří kostní buňky. Dále se vyskytuje také v zubovině, vazivu, děloze a cévách, ale i například v nádorových nebo zanícených útvarech. Zubovina je složena ze 70 % anorganického materiálu, z 20 % organického a zbylých 10 % tvoří voda. Organická část je tvořena především kolagenem typu I a menším množstvím kolagenů typu III a V. V zubovině slouží kolagen jako scaffold pro minerální látky. Kolagen typu I se vyskytuje jako homotrimer, který je charakteristický pro embryonální tkáň. Častější formou tohoto kolagenu je ale heterotrimer, který je produkován fibroblasty a nalezneme jej především ve svalovině, ale také v kostech a kůži. [2, 10, 11] Kolagen typu I sestává z asi 300 nm dlouhých vláken. Ta jsou tvořena fibrilami, které se opakují po 67 nm a jsou dále složena z mikrofibril složených z triple-helixu molekuly kolagenu. [12] Společně s kolagenem typu II a III je využíván pro biomedicínské aplikace, v kosmetice i lékařství,

například pro výrobu materiálů zlepšující a uzdravující stav a kvalitu pokožky, ale také ve farmacii jako sloučenina prodlužující účinnost léků nebo jako přírodní scaffoldy používané pro adhezi a proliferaci buněk v tkáňovém inženýrství a rekonstrukční medicíně (především kolagen typu I). Nejčastěji je tvořen sekvencí aminokyselin glycin-prolin-hydroxyprolin; hydroxylysin se objevuje v malé míře. [13] Dělení tohoto typu kolagenu je možné na základě rozdílné rozpustnosti v odlišných prostředích. Pokud je rozpustný v neutrálních solích jedná se o Natural Salt Soluble Collagen (NSC), Acid Soluble Collagen (ASC) se označuje ten rozpustný v kyselinách. Z části rozpustný při denaturaci a nerozpustný je označován jako Insoluble Collagen (ISC). [9]

1.4.2 Kolagen typu II

Dalším majoritním kolagenem je typ II, který je podobný kolagenu typu I a III. Sestává také z vláken dlouhých 300 nm. Jedná se o homotrimer velice podobné struktury jako kolagen typu I. Vyskytuje se především v chrupavkách nebo sklivci oka. V ECM hyalinních chrupavek tvoří až 95 % množství kolagenu, v menší míře se objevují i kolageny typu VI, IX a XI. Celkově v ECM přispívá k podpůrné funkci. [14, 15] Je tvořen chondrocyty, hlavními buňkami chrupavky a pro její optimální funkci tvoří důležitou arkádovou strukturu. Obsahuje více hydroxylysinu oproti kolagenu typu I, využití je ale obdobné jako u kolagenu tohoto typu. Slouží především v tkáňovém inženýrství jako místo uchycení a správného rozmístění chondrocytů. Je velice důležitý pro funkci pohybového aparátu. S produkcí kolagenu typu II souvisí dědičné onemocnění zvané dysplazie kyčelního kloubu. Jedná se o mutaci genu COL2A1, který kóduje kolagen typu II. Toto onemocnění se často vyskytuje u psů. Projevuje se takzvaným dwarfismem, krátkým trupem a končetinami, nebo například kyfoskoliózou, zakřivením páteře. [6, 9]

1.4.3 Kolagen typu III

Kolagen typu III se vyskytuje jako homotrimer v embryonální tkáni, postupně jeho množství klesá a v dospělosti převažuje kolagen typu III v podobě heterotrimeru. Je součástí kůže, konkrétně *dermis*. Dále pak cévních stěn, hladkých svalových buněk, nervových vláken a roztažitelných tkání (cévy) a orgánů (plíce, kůže). Výskyt, funkce a stavba je obdobná jako u kolagenu typu I. Rozdílné je jeho složení, jelikož obsahuje více proteoglykanů a glykoproteinů. Liší se také přítomností disulfidických můstků a vysokým obsahem hydroxyprolinu. Podobně jako u kolagenu typu I se jeho množství s věkem snižuje. Dříve se

mu přezdívalo retikulin, a to z důvodu tvorby retikulárních sítí pomocí jeho fibril. Retikulární sítě nalezneme jako oporu v měkkých tkáních. [2, 6, 9]

1.4.4 Kolagen typu V

Jedním z minoritních fibrilárních kolagenů je typ V. Jedná se o kolagen v podobě heterotrimeru doprovázející další typy kolagenů, ty majoritní (I a III) ale i minoritní (XI). Vyskytuje se tedy obdobně, jako již zmíněné kolageny, v kůži, v zubovině, v mnoha orgánech a tkáních, ale také v cytoskeletu, rohovce nebo je například součástí placenty. Díky své podobnosti je často spjat s kolageny typu IV a VII, které najdeme především v bazálních membránách. [2, 12]

1.4.5 Kolagen typu XI

Tento minoritně obsažený fibrilární kolagen v podobě heterotrimeru můžeme nalézt obdobně jako kolagen typu II rovnoměrně distribuovaný v chrupavkách. V nich se jedná o strukturální analogii kolagenu typu V, jelikož oba ve formě tkáně obsahují velkou amino-terminální nekolagenní doménu. [15]

1.4.6 Ostatní typy kolagenů

Další typy kolagenů nejsou stále podrobně prozkoumány. Jejich přítomnost v organismech je ale známa. Kolagen VII je součástí epitelu a společně s kolagenem X tvoří krátká vlákna. Kolagen VIII se stavbou podobá kolagenu typu X, ale má jiné funkce, vyskytuje se v endotelu. Kolagen typu XII se hojně vyskytuje v pojivové tkáni. Kolagen XIII zase na povrchu buněk, ve vlasovém folikulu, střevech, plicích a v epidermis. Známa je také přítomnost kolagenu typu XXVI a XXVIII v periferních nervech. [15] Další minoritní kolageny jsou asociovány s fibrilami nebo v tkáních vytvářejí sítě. Podle struktury se kolageny dají rozdělit do 6 skupin. Kolageny utvářející vlákna (typu I, II, III, V a XI), kolageny sdružující se s vlákny (IX, XII), kolageny utvářející síť, kolageny transmembránové, kolageny bazálních membrán (IV), kolagenní kotvící vlákna a ostatní kolageny s unikátními funkcemi. [16]

2 KOSMETICKÉ FORMULACE S KOLAGENEM

Kvůli schopnosti tvořit film, hydratovat a regenerovat je kolagen jednou z nejvíce používaných látek v kosmetice. Dokáže velmi dobře vázat vodu v kůži a udržet ji po celý den hydratovanou a měkkou. Jedná se o přírodní humektant, tedy látku, která je přirozenou součástí *Stratum corneum* a je schopna dodávat pokožce potřebné množství vody. Jeho schopnost tvořit film je důležitá pro udržení vody v kůži. Díky povrchovému filmu nedochází tak snadno k odpařování vody, tedy transepidermální ztrátě vody (TEWL z anglického transepidermal water loss). [17, 18]

2.1 Polymery používané v kosmetice

V kosmetice je kolagen jedním z velice často používaných polymerů. Není ale jediným, proto budou popsány i ostatní. Polymery často nacházíme v přípravcích na vlasy, v prostředcích péče o pleť i nehty, v dekorativní kosmetice či vůních. Jsou definovány jako makromolekuly sestávající z několika opakujících se jednotek, tedy monomerů, a rozdělují se podle jejich původu na přírodní, semi-syntetické a syntetické. Jedná se o skupinu materiálů s širokou škálou vlastností a v kosmetice se využívají jako velmi rozličné složky a do mnoha odlišných prostředků. Příkladem mohou být modifikátory reologie (především viskozity), stabilizátory či destabilizátory pěn, emulgátory. Mohou také tvořit filmy, fixovat nebo kondicionovat. [22]

2.1.1 Přírodní polymery

Jsou nejčastěji používanými polymery v kosmetice z důvodu jejich vysoké biokompatibility a bezpečnosti. V dnešní době je výhodou jejich biodegradabilita, jsou tedy označovány za eco-friendly, s čímž se pojí jejich velmi dobrá prodejnost v produktech. Aplikovatelné jsou do obrovské škály produktů. Mezi přírodní polymery se řadí kolagen, který byl a bude dále přiblížen, škrob, xanthanová a guarová guma, karagenan, alginát, pektin, želatina, kyselina hyaluronová, chitosan, celulóza a hedvábí.

Škroby jsou přírodně se vyskytující polysacharidy, které mohou být ve formě rozpustné či granulované. Jejich vlastnosti v kosmetických produktech jsou odlišné v závislosti na jejich původu. Může se jednat o škrob bramborový, kukuřičný či maniokový. Často se používají v kombinaci s ostatními přírodními polymery.

Chitosan je často používán v produktech péče o vlasy či kůži jako moisturizer, ale také jej můžeme nalézt například v lacích na nehty. Opalovacím přípravkům dodává odolnost proti

vodě. Dále vykazuje antimikrobiální účinky, může být tedy obsažen v deodorantech ve formě spreje. Může být použit také jako stabilizátor nebo v parfémeh zlepšuje přilnavost ke kůži. Jeho využití je velice široké a jeho schopnost zvlhčovat pokožku vychází z jeho vysoké molekulové hmotnosti a kladného náboje.

Celulóza je také přírodním polymerem, ale není rozpustná ve vodě, což znemožňuje její použití v kosmetice. Proto musí být chemicky modifikována. Po modifikaci je používána do masek na obličej pro svoje neiritační účinky, dobrou roztíratelnost a přilnavost k obličejí. Ionické celulózové polymery se využívají pro zvýšení viskozity a stability kosmetických formulací. Kladně nabitý kationický celulózový polymer polyquaternium-10 se hojně používá do kondicionerů, a to díky svým antistatickým a zvlhčujícím vlastnostem. Často se celulóza používá v kombinaci s dalšími přírodními polymery, například s hyaluronanem, alginátem či karagenanem.

Hedvábí je složeno z vláken fibroinu a obalu ze sericinu a strukturálně je tvořeno opakujícími se hydrofilními a hydrofobními sekvencemi peptidů a je složeno z řetězců polypeptidů spojených na C-konci disulfidickou vazbou. Vyznačuje se výbornou biokompatibilitou a biodegradabilitou. Fibroin je možné použít do krémů a šamponů, kde zvyšuje elasticitu a zvlhčuje. V přípravcích na nehty funguje jako prevence křehkosti. [22]

2.1.2 Semi-syntetické polymery

Do této skupiny řadíme polymery jako je například nitrocelulóza, hydroxyethylcelulóza, hydroxypropylcelulóza, kopolymery akrylátu, kyselina polyakrylová a polyamidy. Deriváty celulózy je možné rozdělit do dvou skupin; estery a ethery. Obě skupiny jsou povrchově aktivní, biodegradačně stabilní, termostabilní a také stabilní proti hydrolyze a oxidaci. Estery celulózy jsou ve vodě nerozpustné, ale mají dobré vlastnosti pro tvorbu filmu. Ethery celulózy jsou naopak ve vodě rozpustné. Celkově se tato skupina polymerů využívá v kosmetice do šamponů, gelů a krémů. Fungují jako gelující, stabilizující a zahušťující látky. Oproti některým přírodním polymerům jsou méně odolné proti mikrobiální kontaminaci. [22]

2.1.3 Syntetické polymery

Mezi syntetické polymery používané v kosmetice bychom mohli zařadit silikony, polymery na bázi kyseliny akrylové, polyakrylamidy a homopolymery a kopolymery na bázi alkylenoxidu. Výhodou těchto polymerů je především jejich nižší cena oproti těm přírodním.

Silikony jsou používány v kosmetice jako suspenzační činidla při procesech jako je emulgace nebo zahušťování. Polyethylenglykoly (PEG) a polypropylenglykoly (PPG) a jejich anionické a neionické deriváty jsou využívány jako emolienty a emulgátory. Fungují také jako enhancery, které zpřístupní průchod skrz membrány. Používají se v přípravcích na holení a do koupele, v přípravcích péče o pleť nebo také v make-upech. Kyselina polymléčná (PLA) a poly- ϵ -kaprolakton (PCL) se vyznačují vlastnostmi, které není možné najít u přírodních polymerů, jako jsou jejich vynikající mechanické vlastnosti a zpracovatelnost při tavení. [22]

2.2 Typy kolagenů používaných v kosmetice

V kosmetických formulacích se můžeme setkat s kolagenem získávaným z drůbeží, vepřové, hovězí nebo rybí tkáně. Lišit se budou v mnoha vlastnostech. Příkladem může být pH, které je, pro kolagen získaný z drůbeží tkáně, podobné pH lidské kůže a pohybuje se v rozmezí hodnot 4 až 4,5. U kolagenu mořského se pro pH jedná o rozmezí 3 až 4,5. U kolagenu z hovězí tkáně se pH vyskytuje mezi hodnotami 2,3 až 4. Další důležitou vlastností je rozpustnost, která je nejlepší u kolagenu z drůbeží tkáně. Hůře rozpustný je kolagen rybí a nejhorší rozpustnost vykazuje kolagen z tkáně hovězí. [19] Při extrakci kolagenu z živočišné tkáně je důležitým faktorem stáří konkrétního jedince. Čím bude starší, tím více zesíťovaných vazeb bude tkáň obsahovat a tím bude horší rozpustnost ve vodě. Proto je nutné použít extrakci za pomoci kyselin (např. kyselina mléčná, kyselina octová, kyselina chlorovodíková), která je vysoce účinná. V dnešní době je velice často používaným kolagenem v kosmetice ten rybí, kterému se často přezdívá také mořský. Jeho aplikace v kosmetice může být, ale do jisté míry omezena kvůli častým alergiím spotřebitelů na mořské plody a podobně. Jak již bylo zmíněno v předchozích kapitolách, v kůži se nejčastěji vyskytují kolageny typu I, III a V. Nejhojněji zastoupený je kolagen typu I, který se ve velkém množství vyskytuje právě v mořském kolagenu. [17]

2.3 Hydrolyzovaný kolagen

Během zrání kolagenu v těle dochází k tvorbě příčných vazeb a stává se méně rozpustným ve vodě a kyselém prostředí. Proto se v kosmetických formulacích přechází k tvorbě hydrolyzátů. Krátké polypeptidové řetězce a malé molekuly peptidů, které pochází z kolagenu a vzniknou hydrolýzou přírodního kolagenu, jsou velmi dobře rozpustné ve vodě a jejich hydrofilní struktura je velkou výhodou pro aplikaci do kosmetických formulací. Další výhodou je právě přítomnost malých molekul peptidů a krátkých polypeptidových

řetězců, které snadněji prochází skrze membrány, čímž jsou schopny se dostat do hlubších vrstev kůže. Zvyšuje se tím schopnost hydratovat pokožku a zlepšuje její bariérovou funkci. Znamé je také využití kolagenního hydrolyzátu v kosmetice díky jeho antioxidačním a antiaging vlastnostem. Důležité je použití hydrolyzátu z důvodu jeho rozpustnosti ve vodě a transparentnosti. Nedochozí ani k opětovné agregaci jeho peptidů důsledkem hydrofobních interakcí. Celkové využití je ale mnohem širší, a to díky jeho kompatibilitě s lidskými buňkami a jeho biodegradabilitě. Je tedy využitelný například jako biomateriál. V tkáňovém inženýrství jsou častá jeho použití na přípravu scaffoldů a filmů pro léčbu povrchových zranění. Například nízká stabilita mořského kolagenu jeho aplikaci ztěžuje. Z tohoto důvodu se pro použití hydrolyzovaného rybího kolagenu začaly využívat liposomy jako vezikuly ke zvýšení jeho stability a bioaktivity. Jeho využití je široké také v potravinářském průmyslu. Díky jeho schopnosti snižovat povrchové napětí, tvořit pěnu a následně ji stabilizovat se používají při výrobě dezertů, kterým dodávají krémovitost. Dále se často využívají jako nutriční a potravinové doplňky, upravují viskozitu například mléčných produktů a jsou schopny stabilizovat emulze. Objevuje se také v kořenících směsích do polévek, omáček a dalších pokrmů, jelikož ve svém složení obsahuje kyselinu glutamovou, neboli glutaman sodný, který se používá pro zvýraznění chuti. Jejich využití je známé i v zemědělství pro přípravu hnojiv nebo růstových stimulátorů. V nich slouží k enkapsulaci herbicidů, fungicidů či pesticidů. Jsou také součástí krmných směsí pro hospodářská zvířata, domácí mazlíčky i ryby. [17, 20, 21]

Hydrolyzovaný kolagen se vyrábí nejčastěji z kostí a kůže. Výchozí materiál je nejprve promyt, dále je podroben extrakci, enzymatické hydrolýze, purifikaci, následně je zkoncentrován, sterilizován a sušen, čímž je regulována jeho molekulová hmotnost, která se pohybuje v rozmezí 2-6 tisíc $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Na vyrobeném hydrolyzátu se následně provádí analýzy. Například osmolarita, přítomnost toxických látek a patogenů, obsah dusíku a popelovin, aminokyselinové složení hydrolyzátu, stupeň hydrolýzy a distribuce molekulových hmotností. [20]

2.4 Kosmetické formulace

Kosmetické formulace, často nazývány formy kosmetických prostředků, jsou definovány jako finální formy složené z chemických, kosmetických a/nebo aktivních látek sloužící spotřebiteli k jejich použití. Formy ovlivňují použití a aplikace kosmetických přípravků.

Mohou být rozděleny do tří skupin podle konzistence; tekuté, polotuhé a tuhé. Všechny typy budou dále popsány a rozděleny. [18, 24]

2.4.1 Tekuté

O tekutý kosmetický prostředek se jedná, pokud je možné jej nalévat a je složen z tekutých ingrediencí. Není možné je udržet v rukou, jelikož by tekly. Řadí se mezi ně například roztoky, lotiony, suspenze, oleje a některé emulze. [24]

Roztoky jsou často označovány jako vody, tonika nebo také lotiony. Jedná se o nejjednodušší a nejstarší formu kosmetického přípravku v podobě jedné a více látek rozpuštěných v jednom či více rozpouštědlech. Dle použitého rozpouštědla mohou být rozděleny do tří skupin; na vodní bázi, hydroalkoholické a bezvodé. Mohou být bezbarvé nebo zabarvené, parfemované či nikoliv. [24]

Suspenze je tvořena dispergovanou fází pevného charakteru a disperzním prostředím kapaliny. Při skladování by nemělo docházet k sedimentaci neboli usazování částic dispergované fáze, čemuž může být zamezeno přidáním zahušťovačů či dispergátorů nebo použitím koloidních částic, jejichž velikost se pohybuje v rozmezí 0,1 až 100 μm . [23]

Emulze se používají v kosmetických formulacích nejčastěji, jelikož velmi málo používaných složek je navzájem mísitelných. Emulze jsou definovány jako disperzní systémy dvou a více kapalin, které jsou navzájem nemísitelné nebo jen omezeně mísitelné. Jedna z kapalin je dispergována ve formě kapek a tvoří dispergovanou fází. Druhá kapalina tvoří disperzní prostředí, ve kterém je dispergována první kapalina. Většinou jsou stabilizovány emulgátorem. Běžně je jedna kapalina označována za olej a druhá za vodu. Tvořeny jsou tedy emulze voda v oleji (v/o) nebo olej ve vodě (o/v) v závislosti na tom, která z nich tvoří disperzní prostředí a která dispergovanou fází. Amfifilní molekuly emulgátorů obalí dispergované kapky první kapaliny a umožní jim mísit se s druhou kapalinou. [18, 23, 24]

2.4.2 Polotuhé

Pokud se jedná o konzistenci mezi tuhou a tekutou je klasifikována jako polotuhá. Je více viskózní než forma tekutá a také síla potřebná na rozetření a aplikaci je větší. Mezi tyto formy kosmetických prostředků se řadí masti, krémy, pasty a gely. [24]

Masti jsou obvykle složeny z méně než 20 % vody či těkavých látek a z více jak 50 % uhlovodíků, vosků či polyolů. Jedná se o typ emulze. Pokud obsahují vodu, mohou být označovány za velmi slabou emulzi voda v oleji. Bezvodé jsou složeny z více olejových

složek. Většinou jsou okluzivního charakteru, tvoří tedy na pokožce ochranný film, který zabraňuje vypařování vody, ale také prostupu látek z vnějšku. Mohou být bezvodé nebo obsahovat malé množství vody, čímž se ale zvyšuje šance mikrobiální kontaminace. Nepatří mezi nejoblíbenější přesto stále časté formy z důvodu jejich lepkavosti, mastnotě a poměrné těžkosti. Jsou velmi hojně využívány ve farmacii. [24]

Krémy jsou vysoce viskózní emulze obsahující více než 20 % vody a těkavých látek a méně než 50 % uhlovodíků, vosků a polyolů. Příkladem této formy mohou být pleťové krémy, kondicionéry, opalovací krémy, krémové oční stíny nebo krémy na holení. [24]

Pasty jsou velmi husté formulace, které jsou těžko roztíratelné z důvodu vysokého obsahu pevných složek, dokonce vyšší než u mastí, kterým jsou jinak velice podobné. Dle definice se jedná o polotuhou formu kosmetického prostředku obsahující 20-50 % pevných složek rozptýlených v tukovém vehikulu. [24]

Gely jsou polotuhé a průhledné formy vznikající botnáním tuhých látek ve vodě. Obsahují gelotvorné činidlo, kterým je zajištěna tuhost prostředku. Oproti jiným kosmetickým formulacím obsahují velké množství vody. Gely vykazující velice vysokou elasticitu označujeme za galerty. Po odpaření vody z gelu vzniká xerogel, který je schopen po přidavku vody opět přejít do formy gelu. V kosmetice je možné nalézt gely na vlasy nebo gelové čistící přípravky na pleť. [23, 24]

2.4.3 Tuhé

V případě formy sestávající z pevných částic nebo vosků stlačených nebo smíchaných dohromady se jedná o tuhé kosmetické prostředky. Vyznačují se charakteristickým tvarem. Mezi ně je možné zařadit prášky, granuláty, tyčinky či kapsle. [24]

Prášky jsou směsí pevných a suchých chemikálií. Rozdělují se do dvou skupin; sypké a stlačené. Sypké prášky se vyrábí smísením prášků namletých na podobně velké částice. V kosmetice se můžeme setkat například s koupelovými solemi, tvářenkami, očními stíny či minerálními pudry. Slisované prášky jsou formou sypkých prášků stlačených do konkrétních forem či obalů. Opět se může jednat o pudry, oční stíny či tvářenky, ale také koupelové bomby. Často obsahují pojiva, například škroby nebo triglyceridy, které spojují složky a zabraňují porušení finální formy po pádu. [24]

Granuláty jsou poměrně robustní prostředky složené z primárně jemných práškovitých látek s mnohem menší velikostí částic než běžné pudry. Při kontaktu s vodou se snadno rozpadají a tvoří roztíratelné pasty či suspenze. [23]

Tyčinky jsou tuhé formy připravované v dlouhých, úzkých, kruhových nádobách. Používají se ke zvýraznění malých detailů. Mohou a nemusí pokožku barvit. Jejich složení je založeno především na látkách tukové povahy, dále mohou obsahovat změkčovadla či dispergátory. Ve formě tyčinky naleznete v kosmetice například rtěnky, tužky na rty, oční linky, korektory, deodoranty nebo například opalovací krémy. [23, 24]

Kapsle jsou složeny z obalu a náplně. Obal může být tvrdý i měkký a může být naplněný tekutou či tuhou látkou. V kosmetice se můžeme setkat s kapslemi vytvořenými z želatiny naplněnými olejovou tekutinou. Může se jednat například o kapsle s antiaging sérem nebo kapsle s koupelovými oleji. Po kontaktu s vodou se želatinový obal rozpustí a obsah je vypuštěn na požadované místo. [24]

3 KŮŽE A MĚŘENÍ JEJÍCH VLASTNOSTÍ

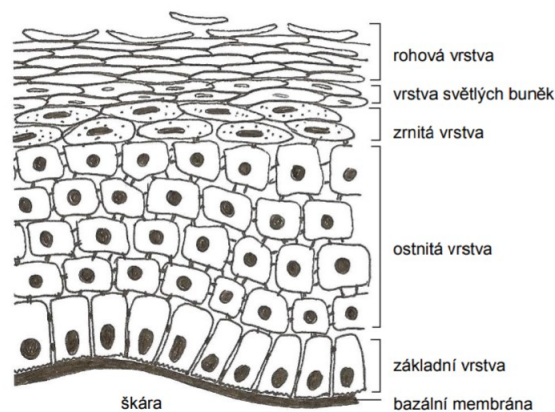
Kůže je často označována za nejrozsáhlejší orgán lidského těla. Jakožto hraniční orgán mezi vnitřním a vnějším prostředím zajišťuje velké množství funkcí. Tvoří 16 % z celkové tělesné hmotnosti člověka a její plocha zaujímá až 2 m² v závislosti na výšce a konstituci jedince. Její tloušťka je na různých místech těla různá. Kromě místa výskytu záleží také na výživě, hydrataci a věku jedince. Její povrch není homogenní, je rozbrázděný v záhyby a rýhy tvořící kožní reliéf. Je tvořena třemi vrstvami a dále pak přídatnými orgány, takzvanými kožními adnexy, ke kterým se řadí vlasy, nehty a mazové a potní žlázy. [27]

3.1 Anatomie a fyziologie kůže

Kůže je tvořena třemi vrstvami; *epidermis* (pokožka), *dermis* (škára) a *hypodermis* (podkoží). [1]

Epidermis je nejtenčí vrstva na povrchu kůže. Její tloušťka se pohybuje mezi 0,2-1,5 mm podle místa na těle, například na očních víčkách je nejtenčí. Jedná se o vícevrstevný dlaždicový rohovějící epitel. Obsahuje čtyři typy buněk; keratinocyty, melanocyty, Merkelovy buňky a Langerhansovy buňky. Nejhojněji jsou zastoupeny keratinocyty, které tvoří pevný vláknitý protein keratin, který je důležitý pro ochranu svrchní vrstvy kůže. Keratinocyty vznikají v nehlubší vrstvě *epidermis*; *stratum basale*. Tam dochází k jejich neustálému dělení a postupnému vytlačování do vyšších vrstev. *Stratum basale* (základní vrstva) je tvořeno jednou řadou buněk, nejčastěji zárodečnými cylindrickými keratinocyty, mezi které jsou vnořeny polokulovité Merkelovy buňky. Dále je tato vrstva tvořena melanocyty, buňkami pavoukovitého tvaru tvořící melanin. Melanin je ve velkém množství obsažen v keratinocytech v bazální vrstvě. Další vrstvou je *stratum spinosum* (ostnitá vrstva) sestávající z několika vrstev buněk, mezi kterými si mohou ojedinele vyskytovat Langerhansovy buňky. Jedná se o dendritické buňky podobné makrofágům. Jsou součástí imunitního systému, pohlcují cizí bílkoviny (antigeny), které přenášejí dalším buňkám imunitního systému a tím chrání kůži. Následující vrstva *stratum granulosum* (zrnitá vrstva) je velmi tenká a skládá se z 3 až 5 řad oploštělých keratinocytů. Dále jsou v této vrstvě obsažena keratohyalinová granula napomáhající tvorbě keratinu a lamelózní granula zpomalující ztrátu vody pomocí glykolipidů v nich obsažených. Předposlední vrstvou je *stratum lucidum* (vrstva světlých buněk) označována také jako tranzitní zóna. Vyskytuje se pouze u tlustého typu kůže (dlaně a plosky). Jedná se o více řad buněk tvořených plochými odumřelými keratinocyty. V nejsvrchnější vrstvě označované

jako *stratum corneum* (SC) jsou keratinocyty ve formě plochých bezjaderných váčků tvořeny pouze keratinem a dochází k jejich odlupování, čímž se obnovuje *epidermis*. Mezibuněčné prostory jsou vyplněny glykolipidy, které zabraňují ztrátě vody. Celkově slouží *stratum corneum* (rohová vrstva) také k ochraně před odřeninami a podrážděním. Proces vzniku, odlupování a obnovy keratinocytů trvá cca 40 dní. Za celý život vyloučí průměrný jedinec až 18 kg korneocytů ve formě odlupujících se šupinek. [1, 27]

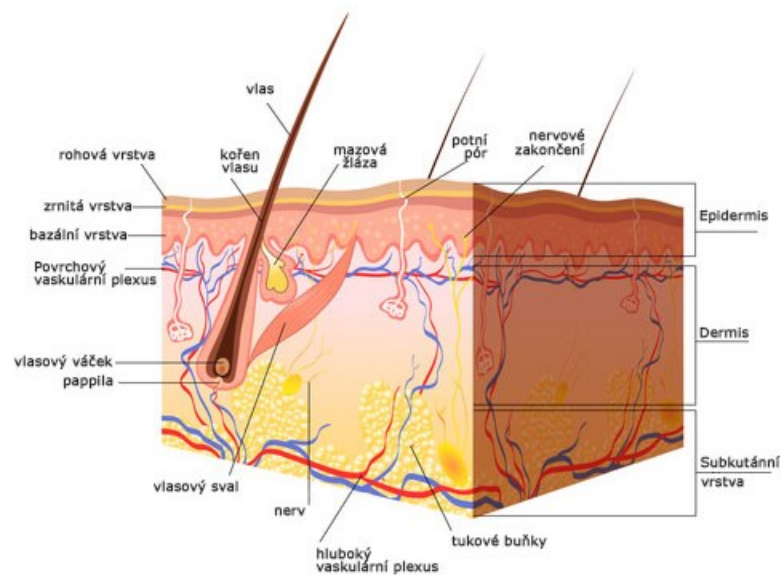


Obrázek 3: Vrstvy pokožky [31]

Dermis se skládá z fibroblastů, makrofágů žírných buněk a roztroušených buněk bílé krevní řady. Dále obsahuje kolagenní, elastická a retikulární vlákna, čímž je zajištěna pevnost a ohebnost kůže. Její tloušťka se pohybuje od 0,6 mm do 3 mm. Je bohatě propletena nervy a cévami, které slouží výživě *dermis* i *epidermis*, ale napomáhají také při termoregulaci. Skládá se z vrstvy papilární a retikulární. Vrstva papilární se vyskytuje na povrchu škýry a je tvořena řídkou pojivovou tkání. Tvoří výběžky vybíhající proti pokožce, jenž jsou označovány jako dermální papily. Další vrstva retikulární zaujímá asi 80 % *dermis* a je tvořena hustou neuspořádanou pojivovou tkání. V mezibuněčných prostorech jsou hustě propletena kolagenní vlákna, která zajišťují pevnost a odolnost. V místech s nízkou hustotou těchto vláken se nachází linie štěpitelnosti kůže, jejichž znalost je důležitá v chirurgii. Dále se v retikulární vrstvě *dermis* vyskytují elastická vlákna, které zajišťují kůži pružnost. [1, 27]

Hypodermis neboli tuková vrstva či *subcutis* je složena z tukové a řídké pojivové tkáně. Její základní stavební jednotkou jsou tukové buňky neboli adipocyty. Jedná se o okrouhlé či oválné buňky s excentricky uloženým jádrem. Je inervována a slouží k ukládání zásobního tuku, dále pak k upevnění kůže k hlouběji uloženým strukturám, nejčastěji svalům,

ke kterým ale není přichycena příliš pevně, což umožňuje pohyblivost kůže. Vykonává také funkci izolační. [1, 27]



Obrázek 4: Struktura kůže [30]

Důležitost kůže jako největšího orgánu lidského těla je možno si uvědomit díky množství funkcí, které zajišťuje.

Ochranná funkce umožňuje kůži fungovat jako bariéra před vnitřními i vnějšími vlivy. Ať už jako bariéra fyzikální, chemická či biologická. Fyzikální bariéra je důležitá z hlediska soudržnosti, pevnosti a pružnosti kůže, při čemž je důležitý proces keratinizace, funkce potních a mazových žláz, hydratace *epidermis*, desmozomy keratinocytů, dermoepidermální juncce a rozsáhlá síť kolagenních a elastinových vláken. Za dermoepidermální juncce považujeme rozhraní mezi *dermis* a *epidermis*, ve kterém vznikají juncční névy. Fyzikální bariéra spočívá v ochraně před fyzikálními vlivy jako například tlak, tah či tření. [27, 28, 29] Chemická bariéra společně s biologickou zajišťují ochranu před různými vlivy, kam lze zařadit například působení kosmetických prostředků nebo přítomnost mikrobů. K této ochraně dochází vzájemnou součinností autodesinfekční a autodetoxikační funkcí kůže, odolností keratinu před kyselinami a alkáliemi, kyselým a lipidním pláštěm, hydratací, udržováním turgoru a mechanickými vlastnostmi kůže. Uvnitř pokožky je pH lehce zásadité (6,7 – 7,3), na jejím povrchu naopak lehce kyselé (3,8 – 5,6). Kyselý pH na povrchu kůže je vytvořeno přítomností mazu a potu, jenž společně tvoří hydrolipidový film. Tento film umožňuje odolnost proti chemickým vlivům. Mytím kůže dochází k oslabení tohoto ochranného filmu a po poškození už není možná jeho obnova. Pro jeho obnovu je důležité používat vhodnou kosmetickou péči. [27, 29]

Termoregulační funkce kůže souvisí s ochranou před teplem a chladem, která je zajištěna změnami prokrvení, tukovou vrstvou, keratinem a ochlupením. [29]

Smyslová funkce je důležitá pro předávání podnětů a informací o dění ve vnějším a vnitřním prostředí. Toto vnímání je zajištěno vegetativním nervovým systémem a cerebrospinálním senzitivním nervstvem ve škáře. V kůži se nacházejí speciální receptory zaměřené na konkrétní podněty zvenčí. Vaterova-Paciniho tělíska umožňují předávat informace o tlaku, Krauseho tělíska přenášejí chlad, Ruffiniho naopak teplo. Wagnerova-Meissnerova tělíska zase dotyk. [27, 29]

Funkce metabolická umožňuje průběh metabolismu sacharidů, lipidů, proteinů a steroidů v kůži. [27]

Regulační funkce je umožněna semipermeabilitou kůže, čímž je ovlivněna schopnost termoregulace a hospodaření s vodou. Dochází k regulaci tělesné teploty pomocí odpařování vody a potu, vasokonstrikce a vasodilatace. [27]

Sekreční funkce kůže umožňuje produkci potu, mazu, keratinu a melaninu. Produkce potu (sudoru) je zajištěna činností apokrinních i ekrinních potních žláz. Jedná se o hypotonickou látku složenou z iontů (Na, Cl, K, Ca, Mg), fosfátů, síranů, laktátu, kyseliny močové, urey, aminokyselin, glukózy, vitamínu C a ve stopovém množství také biogenní aminy. Jeho sekrece je závislá na celé řadě mediátorů; cholinu, acetylcholinu, adrenalinu či skopolaminu. Mazové žlázy produkují maz (sebum) olejové konzistence, který je složený především z glyceridů či volných mastných kyselin, dále pak z esterů vosků, skvalenu, esterů cholesterolu a cholesterolu samotného. Produkce mazu je ovlivněna mnoha faktory, například dědičností, hormony, výživou, léky a dalšími chemickými či fyzikálními vlivy. Keratin je produkován samotnou kůží jako holokrinní žlázou. Jedná se o skleroprotein syntetizovaný keratinocyty. Je hlavní složkou *stratum corneum* a také významnou součástí vlasů a nehtů. Malenin je pigment tvořený melanocyty. Vyskytuje se ve dvou formách; *eumelanin* a *feomelanin*. Je důležitý pro ochranu před slunečním zářením, které absorbuje, rozptyluje a oslabuje. [27, 29]

Imunologická funkce je zajištěna epidermální bariérou, přítomností Langerhansových buněk, T-lymfocytů, mastocytů a keratinocytů. Dále pak imunogenetikou a funkčním systémem kožní lymfatické tkáně a kožního imunitního systému. [27]

Depotní funkce vyplývá z její plochy. Kůže udržuje zásobu vody, glukózy, glykosaminoglykanů, krve, lipidů, buněk specifických pro danou tkáň a podkožní tukové tkáň. [27, 29]

Resorpční funkce neboli vstřebávací je umožněna semipermeabilitou membrány a souvisí s ochranou funkcí kůže. Vstřebávání probíhá pomocí vývodů potních a mazových žláz. Mazovými a potními žlázami pronikají látky rozpustné v tucích, zatímco látky rozpustné ve vodě jsou transportovány pouze pomocí potních žláz. Po poškození rohové vrstvy pokožky se zvyšuje propustnost. [29]

Respirační funkce umožňuje dýchání skrze kůži. [29]

Psychosociální funkce kůže hraje důležitou roli při celkovém vnímání člověka ve společnosti. [27]

3.2 Měření vlastností kůže

I když je kůže velice účinnou bariérou, může být narušena chemickými nebo mechanickými vlivy. K chemickému poškození kožní bariéry může dojít účinkem detergentů nebo kosmetických přípravků. Také expozice slabým zásadám nebo kyselinám může ovlivnit hydrataci kůže nebo její povrchové pH. Zhoršení bariérové funkce může vést ke zvýšení prostupnosti kůže, dojde k usnadnění průniku nanočástic či větších molekul bílkovin nebo anorganických kovových sloučenin. Toto narušení může způsobit imunologické projevy mezi které patří podráždění nebo zánět kůže a její senzibilizace. Proto se při výzkumech měří vlastnosti pokožky; hydratace *stratum corneum*, transepidermální ztráta vody, elasticita a povrchové pH. Jedná se o vlastnosti, které poskytují objektivní posouzení stavu pokožky. Metody měření těchto vlastností jsou praktické, citlivé a neinvazivní a jsou používány při klinických studiích a vyšetřeních pro indikaci, ale také predikci poškození kůže. [32]

3.2.1 Hydratace

Udržení hydratované kůže je nezbytné pro udržení její bariérové funkce a zamezení ztrátám vody a průniku látek skrze kůži. Hydratace kůže je dána množstvím vody právě v rohové vrstvě pokožky. Pro udržení vody ve *stratum corneum* je důležitá přítomnost přirozeného hydratačního faktoru (NMF – natural moisturising factor) a korneocytů. Správná hydratace je důležitá pro plnění zásadních funkcí kůže. Zajišťuje udržení pružnosti, viskoelastických vlastností kůže a usnadnění enzymatických reakcí, které se podílejí na zrání korneocytů. Hydratace kůže může být měřena na základě tří principů; kapacitanci dielektrického média, elektrické vodivosti a totální impedanci. Přístroje na měření hydratace jsou dostupné a většinou jsou složeny ze sondy, která je přikládána ke kůži. Korneocyty ve zdravé nejsvrchnější vrstvě pokožky vykazují hydrataci mezi 10 % a 20 %, zatímco keratinocyty

v základní vrstvě pokožky v rozmezí 75 až 85 %. Pokud se hydratace pohybuje v nízkých hodnotách, kůže nebude tak elastická, dojde k jejímu odlupování či praskání, což sníží bariérovou funkci kůže. [24, 32]

3.2.2 Transepidermální ztráty vody (TEWL)

V pokožce se vyskytuje vodní gradient, díky kterému je obsah vody v rohové vrstvě nižší než ve vrstvě základní. Dochází k pasivní difúzi vody z nižších vrstev pokožky k jejímu povrchu, na němž dojde k odpařování vody. Tento jev je známý jako transepidermální ztráta vody. Toto odpařování je kontrolováno funkčností pokožky, pokud ale dojde ke zvýšení ztráty vody, dojde k porušení bariéry. TEWLu je používáno pro zjišťování účinků látek dráždivých pro kůži, detergentů, organických rozpouštědel nebo různých vlivů na bariérovou funkci kůže. Tato vlastnost kůže je měřena pomocí sondy přikládané ke kůži a je vyjadřována jako množství odpařené z povrchu pokožky v $\text{g/m}^2/\text{h}$. Sonda může být ve formě zavřené či otevřené komory a obsahuje dva snímače. Jeden snímá teplotu, druhý relativní vlhkost a z těchto hodnot je odvozován výsledek měření. Nízké hodnoty značí neporušenou kůži a plně funkční kožní bariéru. [32]

3.2.3 Povrchové pH

Z chemického hlediska je pH definováno jako záporný dekadický logaritmus koncentrace vodíkových iontů ve vodném roztoku. Pohybuje se v rozmezí od 0 do 14 a je veličinou bezrozměrnou. Hodnota pH 7 je označována za neutrální, hodnoty nižší než 7 se označují jako kyselé pH, naopak hodnoty vyšší než 7 vykazují pH zásadité. Přímé měření pH kůže není možné, proto se používá měření pomocí skleněné elektrody připojené k měřiči napětí. Kyselé pH kůže je ovlivněno sekrecí potu a mazu a pohybuje se v rozmezí 4,6 až 5,6 v závislosti na místě na těle. [32]

II. PRAKTICKÁ ČÁST

4 CÍLE PRÁCE

Cílem teoretické části bakalářské práce bylo zpracovat rešerši týkající se zadaného tématu. Zaměřována byla na kolagen a také kolagenní hydrolyzát. Důležitou částí jsou také možnosti kosmetických formulací s použitím přírodních biopolymerů namísto dnes poměrně odsuzovaných syntetických přísad. Byly také rozebrány vlastnosti a funkce kůže z důvodu aplikace gelové formulace s přídavkem rybího kolagenního hydrolyzátu v rámci praktické části. Popsány byly i způsoby měření funkčních vlastností pokožky, které byly opět důležité pro praktickou část.

Cílem praktické části bakalářské práce bylo zjistit účinek kolagenního hydrolyzátu na pokožku. Jeho použití, jakožto přírodního biopolymeru, v gelové formulaci je v dnešní době velice žádané. Připravený kolagenní hydrolyzát byl nejprve analyzován, dále přidán do gelové kosmetické formulace a po dobu dvou měsíců byly sledovány na souboru probandek jeho účinky na periorbitální oblast. Během tří měření byly pomocí neinvazivních metod naměřeny změny hydratace, transepidermální ztráty vody, pH, množství pórů a vrásek. Hydratace byla měřena pomocí korneometru, TEWL pomocí tewametru, pH bylo zjišťováno pH metrem a množství pórů a vrásek bylo získáno díky visioskopu. Získaná data byla statisticky zpracována a dále diskutována.

5 MATERIÁLY, METODY A POSTUP PRÁCE

5.1 Příprava kolagenního hydrolyzátu

Rybí kolagenní hydrolyzát byl připraven v rámci diplomové práce dle postupu, který bude dále popsán.

Výchozí surovinou byly skelety kapra obecného obsahující kosti, zbytky kůže a svaloviny, šupiny a ploutve. Všechny materiály byly rozřezány a dále pomlety na velikost asi 3 mm a na vakuové svářečce zbaveny vzduchu. V cca 1 kg balíčcích byl materiál zamrazen při -18°C . Před dalším zpracováním byla surovina rozmrazena a následně promývána vodou na sítu s tkaninou po dobu 2 minut. Po dobu 5 minut byla surovina ponechána ve studené vodě a poté dále promývána. Následovalo opračování $0,2 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztokem NaCl po dobu 90 minut. Dále se surovina filtrovala přes síto a byla opět promývána studenou vodou. Následovalo opračování $0,3 \text{ mol}\cdot\text{l}^{-1}$ roztokem NaOH po dobu 45 minut. Po uplynutí doby následovala opět filtrace přes síto s PA tkaninou a promytí studenou vodou. Proces opračování pomocí hydroxidu sodného byl opakován ještě třikrát, přičemž promývání po posledním přidavku a opračování NaOH bylo nejdůkladnější. Přebytečná voda byla vymačkána a surovina byla rozprostřena na plechy s potravinářskou fólií. Plechy byly ponechány v sušárně při 35°C po dobu 24-36 hodin. Vysušená surovina byla rozlámána na menší kousky a smíchána v poměru 1:6 se směsí rozpouštědel petrolether a ethanol v poměru 1:1. Na třepačce docházelo k odtučňování suroviny po dobu asi 2 dnů, přičemž se každých 12 hodin vyměnila směs rozpouštědel za čistou. Po odtučňování byla veškerá surovina opět rozmístěna na plech a v digestoři se nechaly odpařit zbytky rozpouštědel. Připravený čistý kolagen byl rozemlet na vertikálním mlýnku na jemnost 3 mm. Následně byl připravován demineralizovaný kolagen. K čistému kolagenu byla přidána HCl v poměru 1:10 a demineralizace probíhala po dobu 48 hodin při pokojové teplotě za mírného třepání. Po 24 hodinách byla HCl vyměněna za čistou. Po uplynutí 48 hodin byl kolagen opět promýván studenou vodou na sítu s tkaninou asi 3 minuty. Následovalo sušení demineralizovaného kolagenu v sušárně při 35°C po dobu 24-36 hodin. Vysušená surovina byla rozemleta na velikost 1-3 mm. Cca 70 g demineralizované suroviny bylo smícháno s destilovanou vodou v poměru 1:15 a protřepáváno asi 20 minut. Následně bylo upraveno pH pomocí 5% roztoku hydroxidu sodného na hodnotu 6,5-7,0. Dále byl přidán proteolytický enzym Protamex a celá směs byla dále třepána po dobu 4 hodin. Surovina byla po skončení třepání filtrována přes síto. Následovalo sušení na plechu při 70°C po dobu

24 hodin. Po vysušení byl hydrolyzát zvážen, seškrábán a nasypán do uzavíratelného sáčku. Při filtraci přes síto s tkaninou bylo nutno promývat zachycenou surovinu minimálně po dobu 5 minut pro odstranění co největšího množství enzymu. Poté byla k surovině do kádinky přidána destilovaná voda v poměru 1:15 a směs byla zahřívána a míchána pomocí magnetického míchadla při teplotě 40 °C po dobu 45 minut. Následovala filtrace přes síto a kapalina (želatina 1. frakce) byla jímána do další kádinky, přivedena k varu a povařena po dobu 5 minut, následně zchlazena, rozlita do zkumavek a 4 minuty odstředována při 4000 ot/min. Roztok se odstředěním rozdělil na tři vrstvy, navrchu se nacházela tuková vrstva, uprostřed čistý želatinový roztok, spodní vrstva obsahovala pigment. Filtrací přes síto s tkaninou byla odstraněna tuková vrstva a roztok na plechu byl po dobu 30 minut chlazen v lednici, následně pak sušen přes noc při 40 °C, druhý den ještě po dobu 8 hodin při 65 °C. Vysušená želatina byla zvážena, nasypána do uzavíratelného sáčku a ponechána v temnu. Nerozložený materiál, tedy zbytek po 1. frakci, byl opět smíchán v kádince s destilovanou vodou a zahříván. Po dosažení teploty 50 °C byla 2. frakce želatiny vařena po dobu 45 minut. Další kroky byly shodné s postupem jako v případě první frakce. Nerozložený materiál, zbytek po 2. frakci, byl opět smíchán v kádince s destilovanou vodou a zahříván do dosažení 70 °C, následně byla 45 minut extrahována želatina 3. frakce. Následující postup je opět shodný jako v případě první a druhé frakce. Poslední nerozložený materiál, tedy zbytek po 3. frakci, byl opět podroben extrakci smícháním s destilovanou vodou a po dobu 20 minut při teplotě 95 °C byla extrahována želatina 4. frakce. Další postup se shoduje s postupy v případě předchozích frakcí. Zbýlý nerozložený podíl byl přes noc sušen při 103 °C, zvážen a uložen v uzavíratelném sáčku. Shodným způsobem byla vysušena a uložena i tkanina se zachyceným tukem. Pigment byl ze zkumavek vyškrábnut a sušen přes noc při 40 °C na Petriho misce. Následně byl pigment zvážen a uschován jako tkanina a vysušený nerozložený podíl. [34]

5.2 Analýzy prováděné na samotném hydrolyzátu

5.2.1 Přístroje, pomůcky a chemikálie

Elektronické analytické váhy KERN ALS, sušárna Memmert, Muflová pec Nabertherm, pH metr WTW, UV-VIS spektrofotometr Helios 3 Thermo Spectronic, exikátor, plynový kahan, koželužské misky, žihací kelímky, kyveta, kádinky, odměrné válce, míchadlo s ohřevem, kleště, trojnožka, lžičky, tyčinky
Destilovaná voda, rybí kolagenní hydrolyzát

5.2.2 Stanovení obsahu sušiny

Do tří koželužských misek byl na analytických vahách navážen vždy cca 1 g rybího kolagenního hydrolyzátu a byla zaznamenána hmotnost před sušením. Misky byly i s víkem umístěny do sušárny a ponechány při 103 °C přes noc. Druhý den ráno byly misky vytaženy a ponechány ke zchladnutí v exikátoru. Poté byly opět zváženy a byl vypočítán obsah sušiny dle vztahu (1):

$$S = \frac{m}{m_0} \cdot 100 \quad (1)$$

kde: S – obsah sušiny vzorku [%]

m – hmotnost vzorku po vysušení [g]

m₀ – hmotnost vzorku před vysušením [g]

5.2.3 Stanovení obsahu popelovin

Pomocí stanovení obsahu popelovin je zjištěno množství anorganických látek v hydrolyzátu. Navážený hydrolyzát v žíhacím kelímku byl nad kahanem spalován na popel a následně v muflové peci žíhán při 650 °C po dobu 2 hodin. Po vytažení z muflové pece byly kelímky ponechány v digestoři ke krátkému zchladnutí, následně přeneseny do exikátoru na delší zchladnutí. Po vychladnutí byly kelímky zváženy a byl vypočítán obsah popelovin dle vztahu (2):

$$P = \frac{m_p}{m_0} \cdot 100 \quad (2)$$

kde: P – obsah popelovin [%]

m_p – hmotnost zpopelněného vzorku [g]

m₀ – hmotnost vzorku před spálením [g]

5.2.4 Stanovení pH a čirosti roztoku

Pro stanovení pH a čirosti kolagenního hydrolyzátu byl připraven jeho 6,67% roztok navážením 3 g hydrolyzátu a doplněním 42 ml destilované vody. Následně byla směs míchána a ponechána k rozpuštění. Do kádinky s roztokem byla umístěna sonda pH metru a byly zaznamenány dvě hodnoty. Část roztoku byla přelita do kyvety a na spektrofotometru byla měřena transmitance.

5.3 Příprava gelu s kolagenním hydrolyzátem

5.3.1 Přístroje, pomůcky a chemikálie

Analytické váhy Nimbus, plastové a skleněné kádinky, tyčinky, lžičky

Rybí kolagenní hydrolyzát, Carbopolový gel Fargon (složení: *Aqua purificata*, *Carbomerum 980*, *Methylparabenum*, *Propylparabenum*, *Trolaminum*)

5.3.2 Metodika a postup práce

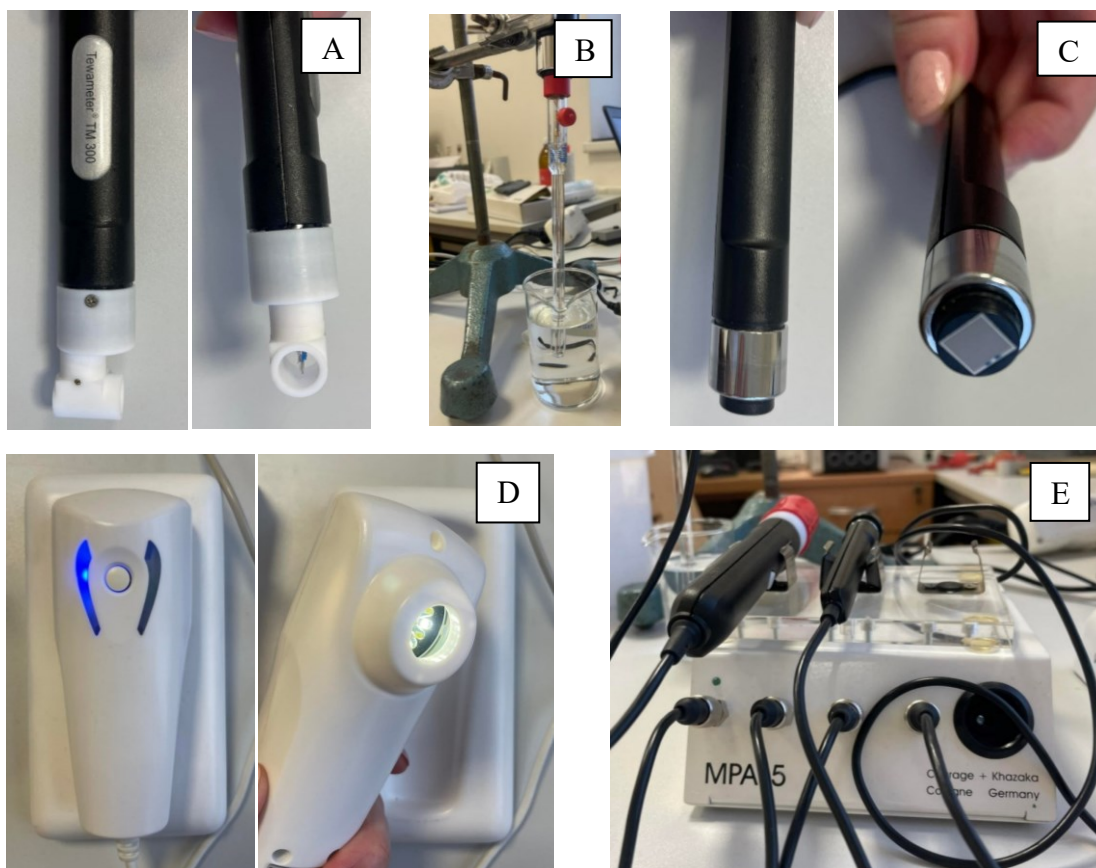
Připravovány byly formulace o koncentraci hydrolyzátu 0,5 % a 1,5 % (w/w). Vypočítaná množství hydrolyzátu byla navážena do plastových kádinek na analytických vahách a následně vždy doplněna do 200 g celkové hmotnosti formulace. V kádinkách byly formulace homogenizovány pomocí tyčinky a následně přendány do uzavíratelných nádob, popsány, uloženy do lednice a uchovávány při teplotě $5 \pm 1^\circ \text{C}$, dokud nebyly předány probandkám, které ji následně po celou dobu používání také uchovávaly v lednici.

5.4 Měření vlastností pokožky

5.4.1 Přístroje, pomůcky a chemikálie

Tewametr TM 300, pH metr PH 905, korneometr CM 825, visioskop PC 35, stanice MPA 5 (všechny přístroje Courage & Khazaka, Německo), běžné laboratorní sklo, buničina, odličovací tampony

Destilovaná voda, Jarischův roztok (složení: *Acidum boricum*, *Glycerolum*, *Aqua conservans*), micelární termální voda pro intolerantní pleť Uriage (složení: *Aqua*, *Polysorbate 20*, *Glycerin*, *Poloxamer 184*, *Caprylyl/Capryl Glucoside*, *Cetrimonium bromide*, *Polyaminopropyl biguanide*, *Parfum*, *Prunus armenica fruit extract*, *Citric acid*, *Ascorbic acid*)



Obrázek 5: Přístroje používané k měření vlastností kůže, A – tewametr TM 300, B – pH metr PH 905, C – korneometr CM 825, D – visioskop PC 35, E – MPA 5 stanice

5.4.2 Metodika a postup práce

Výběr probandů

Hlavním cílem praktické části BP bylo testování účinnosti gelové formulace s přídavkem kolagenního hydrolyzátu (KH). Formulace byla probandy používána po dobu cca 2 měsíců každé ráno a každý večer na oblast spánku a očního okolí. Účinnost kolagenního hydrolyzátu na starší pleti již byla testována v předešlých akademických pracích, nyní bylo cílem zjistit účinek na pleť mladší, proto byly jako probandky vybrány ženy ve věku 22 ± 2 roky v celkovém počtu 11. Šesti probandkám byla přidělena formulace s přídavkem 1,5 % KH, 5 probandkám s přídavkem 0,5 % KH.

Organizace měření

Účinnost kolagenního hydrolyzátu byla zkoumána v období únor až duben, prováděna byla 3 měření. První byla provedena před používáním gelu s KH, následně po 32 dnech používání a poslední měření po dalších 32 dnech. Měřena byla hydratace, transepidermální ztráta vody, pH, póry, vrásky a skvrny, vše v oblasti spánku a očního okolí, kam byl hydrolyzát

aplikován. Probandky byly před prvním měřením obeznámeny s průběhem měření, podepsaly informovaný souhlas (P I) a vyplnily dotazník o svém zdravotním stavu (P II). Před každým měřením byly ponechány v laboratoři 15 minut před samotným měřením z důvodu aklimatizace. Pokud byly probandky před měřením nalíčené, byly odličeny micelární vodou Uriage, poté Jarischovým roztokem a následně ponechány 20 minut v laboratoři z důvodu aklimatizace a odpaření přebytečného produktu, který by mohl zkreslovat měření. Během měření byla teplota místností $24 \pm 2^\circ \text{C}$ a relativní vlhkost $28 \pm 3\%$. Gelová formulace s KH byla probandkami používána každé ráno a večer po dobu 2 měsíců, na měřenou oblast nebyly aplikovány jiné produkty.

Princip měření

Měření hydratace

Měření bylo prováděno pomocí korneometru CM 825 na levé i pravé straně místa aplikace. Sonda byla mírně přitlačena k měřené oblasti a bylo odečteno 5 hodnot ponechaných ke statistickému zpracování. Podle škály používaného přístroje je možno rozdělit kůži na 3 různé typy. Jako normální typ pleti můžeme označit při hodnotách hydratace vyšších než 45 korneometrických jednotek (k. j.). Hodnoty hydratace v rozmezí 30-45 k. j. označujeme jako suchou pleť. Pro extrémně suchou pleť jsou typické hodnoty nižší než 30 k. j. [36]

Měření transepidermální ztráty vody

Pomocí tewametru TM 300 bylo naměřeno 15 hodnot přiložením na pravý a levý spánek. Prvních 5 hodnot bylo odstraněno a dále bylo statisticky zpracovááno pouze 10 hodnot. Stupnice hodnot rozděluje kůži na 5 různých stavů. Pokud se hodnoty vyskytují v rozmezí 0-10 g/m²/h jedná se o velmi dobrý stav, dobrý stav odpovídá hodnotám 10-15 g/m²/h, jako normální stav označujeme hodnoty 15-25 g/m²/h. Pokud se pohybujeme mezi hodnotami 25-30 g/m²/h, jedná se o napjatý stav. Kritickým stavem jsou hodnoty vyšší než 30 g/m²/h. [37]

Měření pH

Za pomoci pH metru byla vždy zaznamenána 1 hodnota pH pro pravou a levou stranu měřené oblasti. Hodnota pH na kůži se pohybuje v rozmezí 4,6-5,6. [32]

Měření pomocí visioskopu

Pro zaznamenávání 2D obrazů kůže byl používán visioskop a software CK-Multi Probe. Visioskop byl přikládán k oblasti levého a pravého spánku a po zaostření byla pořízena fotografie. Měřená oblast byla podrobena zjišťování množství pórů, skvrn a vrásek.

Statistické vyhodnocení naměřených dat

Vyhodnocování a statistické zpracovávání dat bylo prováděno pomocí programu Microsoft Office Excel (2016). Z naměřených dat byl vypočítán aritmetický průměr a směrodatná odchylka, podle vztahu (3) a (4).

$$\bar{x} = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N x_i \quad (3)$$

kde: \bar{x} – aritmetický průměr

N – počet měření

x_i – hodnota měření

$$s = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (x_i - \bar{x})^2} \quad (4)$$

kde: s – směrodatná odchylka

\bar{x} – aritmetický průměr

N – počet měření

x_i – hodnota měření

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Vyhodnocení analýz hydrolyzátu

6.1.1 Vyhodnocení obsahu sušiny

Podle kapitoly 5.2.2 byla zaznamenána hmotnost vzorku před sušením a po provedení analýzy byla vypočítána hmotnost vzorku po sušení. Dále byla ze tří paralelních stanovení spočítána průměrná hmotnost před a po sušení a hodnoty byly dosazeny do vztahu (1). Vypočteny byly také průměrné hodnoty a chyby měření dle vztahů (3) a (4). Stanoven byl obsah sušiny S . V tabulce jsou zaznamenány veškeré hodnoty potřebné k výpočtu obsahu sušiny a také samotný obsah sušiny, který byl pro rybí hydrolyzát stanoven na $87,4 \pm 0,8 \%$.

Tabulka 1: Hodnoty pro výpočet obsahu sušiny rybího hydrolyzátu

Stanovení	m_0 [g]	m [g]	S [%]
1	1,2917	1,1191	86,6
2	1,2620	1,1091	87,9
3	1,4280	1,2524	87,7
\bar{x}	1,3272	1,1602	87,4
s	0,09	0,08	0,70

6.1.2 Vyhodnocení obsahu popelovin

Podle kapitoly 5.2.3 byla zaznamenána hmotnost zpopelněného vzorku a po provedení analýzy byla vypočítána hmotnost vzorku před spálením. Dále byla ze dvou paralelních stanovení spočítána průměrná hmotnost před a po zpopelnění a hodnoty byly dosazeny do vztahu (2). Vypočteny byly také průměrné hodnoty a chyby měření dle vztahů (3) a (4). Stanoven byl obsah popelovin P . V tabulce jsou zaznamenány hodnoty potřebné k výpočtu obsahu popelovin a také samotný obsah popelovin, který byl pro rybí hydrolyzát stanoven na $2,41 \pm 0,01 \%$. Porovnat můžeme se studií Krasnova a spol., kde analyzovali kolagenní hydrolyzát z rybího odpadu. Hydrolyzát obsahoval v % $2,22 \pm 0,2$ popelovin. Hodnoty se od sebe velmi výrazně neliší. [38]

Tabulka 2: Hodnoty pro výpočet obsahu popelovin pro rybí hydrolyzát

Stanovení	m_p [g]	m_0 [g]	P [%]
1	0,0244	1,0158	2,40
2	0,0254	1,0503	2,41
\bar{x}	0,0249	1,0331	2,41
s	0,001	0,02	0,01

6.1.3 Vyhodnocení pH a čírosti roztoku

Stanovení pH a čírosti vzorku bylo prováděno dle kapitoly 5.2.4. Z dvou paralelních stanovení pH a čírosti roztoku byly vypočítány průměrné hodnoty. Čírost roztoku byla pomocí transmitance stanovena na 2,074, hodnota pH činí 6,435. Ve studii Krasnova a spol. byl pro přípravu rybího kolagenního hydrolyzátu použit odpad zbylý při zpracování ryb a jeho pH bylo nižší než v případě našeho hydrolyzátu, činilo $5,95 \pm 0,15$. Lze ale konstatovat, že se od sebe hodnoty významně neliší. [38]

6.2 Vyhodnocení účinků kolagenního hydrolyzátu na pokožku

Cílem bakalářské práce bylo zjistit jaké účinky má přidavek kolagenního hydrolyzátu v kosmetické formulaci na pokožku při jeho dlouhodobém používání. Měřena byla hydratace, transepidermální ztráta vody, pH pokožky a množství pórů a vrásek. Probandky byly seřazeny abecedně dle příjmení a následně byly označeny čísly od 1 do 11. Charakteristika probandek se nachází v tabulce 3.

Tabulka 3: Charakteristika probandek dle věku a používané formulace

Označení probandky	Věk probandky	Zastoupení KH v %	Označení souboru
1	23	0,5	A
2	22	1,5	B
3	21	1,5	B
4	20	0,5	A
5	21	0,5	A
6	21	1,5	B
7	21	1,5	B
8	21	1,5	B
9	22	0,5	A
10	25	0,5	A
11	22	1,5	B

6.2.1 Vyhodnocení účinků gelové formulace na hydrataci pokožky

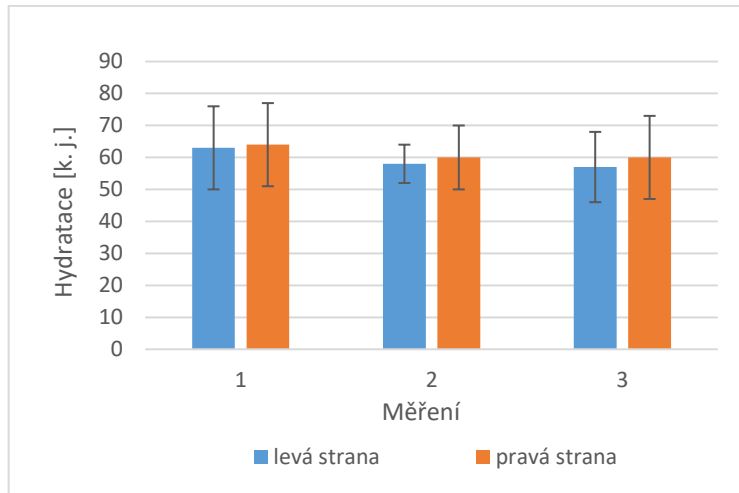
Měřené hodnoty hydratace pokožky byly získány pomocí korneometru CM 825. Sledována byla hydratace u 11 probandek. Měření před samotným používáním formulace je označováno jako první, druhé měření probíhalo v polovině celkové doby, tedy po 32 dnech od začátku používání. Poslední měření je označeno jako 3. a probíhalo před skončením používání gelové formulace s KH. Měřena byla vždy pravá i levá strana v oblasti očního okolí. V tabulce 4 jsou zaznamenány průměrné hodnoty hydratace během všech tří měření. Tabulka 5 ukazuje změny hydratace v období dvou měsíců aplikace pro každou probandku. Data z tabulek 4 a 5 byla graficky znázorněna do sloupcových grafů (Obrázky 6, 7 a 8).

Tabulka 4: Průměrné změny hydratace pro celý soubor probandek

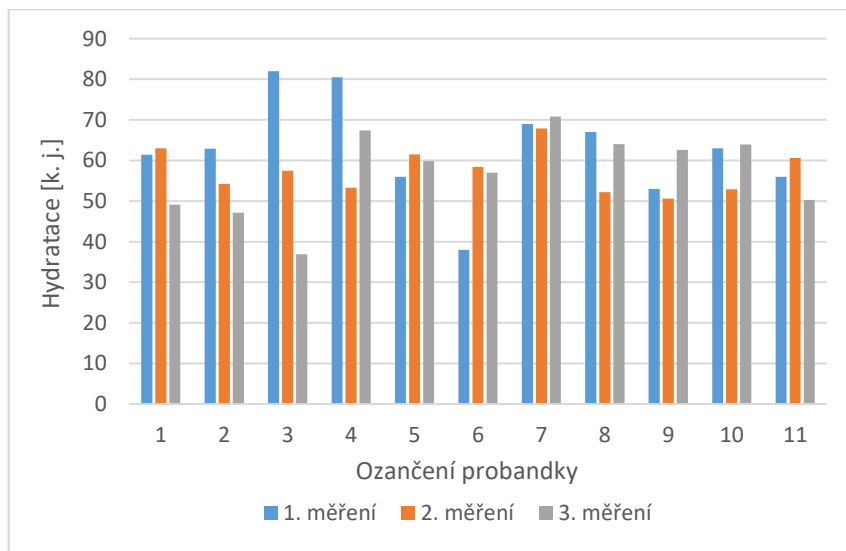
Měření	Hydratace [k. j.]	
	Levá strana	Pravá strana
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
1	63 ± 13	64 ± 13
2	58 ± 6	60 ± 10
3	57 ± 11	60 ± 13

Tabulka 5: Hodnoty hydratace při každém měření u každé jedné probandky

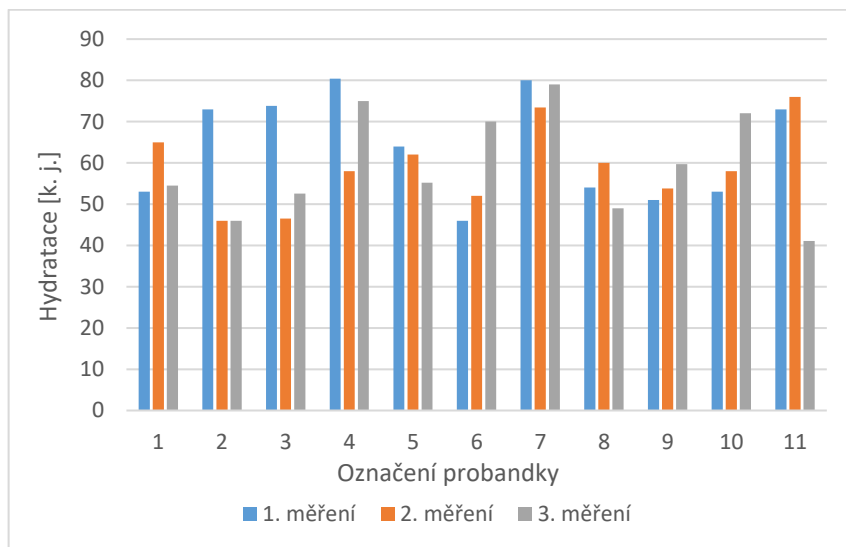
Označení probandky	Hydratace [k. j.]					
	1. měření		2. měření		3. měření	
	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
1	61,4 ± 0,7	53 ± 6	63 ± 3	65,0 ± 1,6	49,1 ± 0,3	54,5 ± 1,6
2	62,9 ± 1,4	73,0 ± 1,2	54,2 ± 1,2	46 ± 1	47,1 ± 0,6	46 ± 4
3	82,0 ± 1,8	73,8 ± 1,2	57,5 ± 1,8	46,5 ± 1,3	36,9 ± 0,4	52,6 ± 0,6
4	80,5 ± 1,2	80,4 ± 1,3	53,3 ± 1,4	58 ± 3	67,4 ± 0,4	75 ± 3
5	56 ± 7	64 ± 4	61,5 ± 0,6	62 ± 3	59,8 ± 1,6	55,2 ± 1,4
6	38 ± 5	46 ± 3	58,4 ± 0,4	52 ± 2	57 ± 1	70 ± 2
7	69 ± 4	80 ± 2	67,9 ± 1,3	73,4 ± 1,7	70,8 ± 0,3	79 ± 1
8	67 ± 4	54 ± 7	52,2 ± 0,9	60 ± 2	64,0 ± 0,4	49 ± 4
9	53 ± 7	51 ± 4	50,6 ± 1,8	53,8 ± 0,7	62,6 ± 0,9	59,7 ± 0,5
10	63 ± 3	53 ± 5	52,9 ± 1,2	58 ± 1	63,9 ± 1,8	72 ± 2
11	56 ± 11	73 ± 3	60,6 ± 1,9	76 ± 4	50,3 ± 1,1	41,1 ± 1,8



Obrázek 6: Průměrné hodnoty hydratace pro celý soubor probandek



Obrázek 7: Jednotlivé hodnoty hydratace pro každou probandku – levá strana



Obrázek 8: Jednotlivé hodnoty hydratace pro každou probandku – pravá strana

Soubor probandek vykazoval v průměru hodnoty vyšší než 45 k. j., lze tedy konstatovat, že soubor vykazoval normální typ pleti. Postupně ale v průběhu měření docházelo ke snižování hydratace účinky gelové formulace s KH. Celkový pokles činil pro levou stranu 10 % a pro pravou stranu 6 %. Pokles ale není velmi významný vzhledem k průměrnému věku probandek. Mladá pleť je více variabilní a také je ovlivněna okolními vlivy. K poklesu může dojít například změnou stravy či pitného režimu, stresem, ale také menstruací. K porovnání výsledků lze použít studii věnovanou efektu orálně podávanému kolagennímu hydrolyzátu na hydrataci kůže. Užíván byl kolagen rybí po dobu 8 týdnů 60 japonskými ženami. Požit byl hydrolyzovaný kolagen vždy ráno v množství 10 g. Celkový nárůst hydratace na souboru probandek činil 28 %. [39]

Dále je možno porovnat se studií Prokopová a spol. Jednalo se o gelovou formulaci s přídavkem 1 % drůbežního kolagenního hydrolyzátu, který byl aplikován ráno i večer na oblast očního okolí. Hydratace byla po 8 týdnech zlepšena na levé straně o 9 %, na pravé straně o 12 %. [40]

V souboru probandek A došlo k nejvyššímu navýšení hydratace u probandky 9. Navýšení hydratace činilo na levé straně 18 %, na pravé straně 17 %. Nejhorší výsledky byly u probandky 1, hydratace poklesla na levé straně o 20 %, na pravé o 3 %. V souboru probandek B se u probandky 6 zvýšila hydratace na levé straně o 50 %, na pravé o 52 %. Naopak snížení hydratace se projevilo u probandky 3. Pokles na levé straně činil 55 %, na pravé straně 29 %. Probandka 6 vykazovala nejvyšší nárůst hydratace i mezi 1. a 2. měřeními, hydratace byla navýšena o 54 % na levé straně, na pravé straně o 13 %. Důvodem je nízká hodnota hydratace na počátku měření, její pokožku lze původně považovat za suchou.

6.2.2 Vyhodnocení účinků gelové formulace na TEWL pokožky

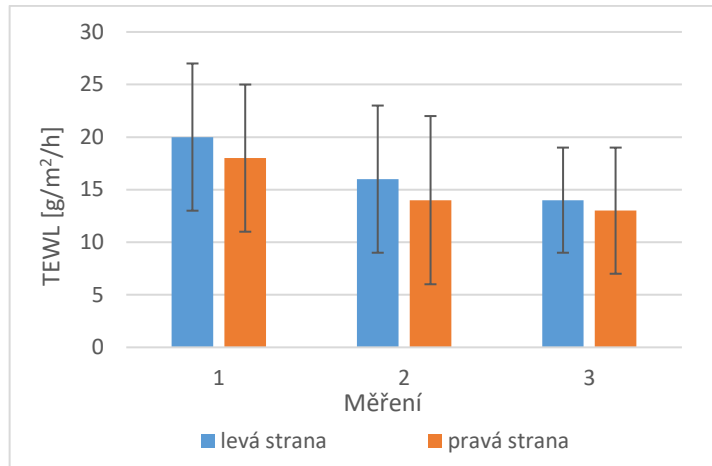
Pomocí tewametru TM 300 byly naměřeny hodnoty transepidermální ztráty vody v pokožce u 11 probandek. Měření bylo prováděno na levé i pravé straně očního okolí, kam byla po dobu dvou měsíců aplikována gelová formulace s přídavkem KH. Měřilo se před začátkem samotného používání, dále po 32 dnech, a nakonec před skončením používání, tedy po dalších 32 dnech, jednotlivá měření jsou označena čísly dle návaznosti měření. Tabulka 6 obsahuje průměrné hodnoty TEWLu během každého měření. V tabulce 7 jsou zaznamenány změny TEWLu během období dvou měsíců aplikace pro každou probandku. Data z tabulek 6 a 7 byla graficky znázorněna do sloupcových grafů (Obrázky 9, 10 a 11).

Tabulka 6: Průměrné změny TEWLu pro celý soubor probandek

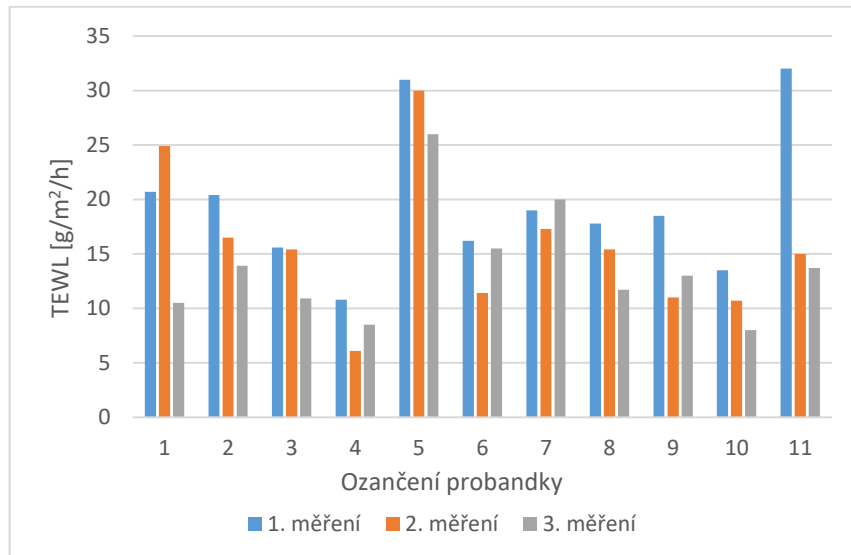
Měření	TEWL [g/m ² /h]	
	Levá strana	Pravá strana
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
1	20 ± 7	18 ± 7
2	16 ± 7	14 ± 8
3	14 ± 5	13 ± 6

Tabulka 7: Hodnoty TEWLu při každém měření u každé jedné probandky

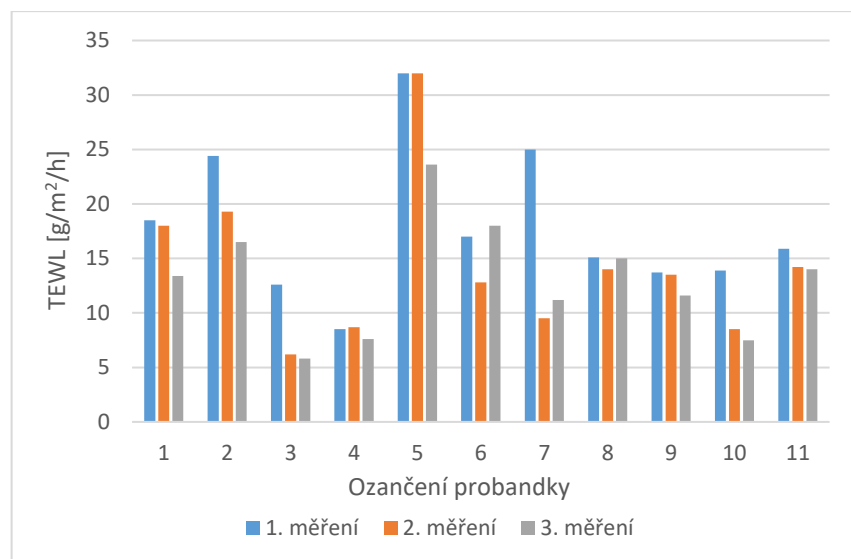
Označení probandky	TEWL [g/m ² /h]					
	1. měření		2. měření		3. měření	
	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
1	20,7 ± 0,7	18,5 ± 1,3	24,9 ± 1,9	18,0 ± 0,6	10,5 ± 0,8	13,4 ± 1,3
2	20,4 ± 1,3	24,4 ± 0,9	16,5 ± 0,7	19,3 ± 1,2	13,9 ± 1,2	16,5 ± 1,8
3	15,6 ± 0,9	12,6 ± 0,4	15,4 ± 1,8	6,2 ± 1,8	10,9 ± 0,9	5,8 ± 0,5
4	10,8 ± 0,8	8,5 ± 0,4	6,1 ± 0,4	8,7 ± 0,6	8,5 ± 0,4	7,6 ± 0,9
5	31 ± 1	32 ± 6	30 ± 2	32 ± 5	26 ± 5	23,6 ± 0,4
6	16,2 ± 0,8	17,0 ± 1,7	11,4 ± 1,9	12,8 ± 1,9	15,5 ± 1,2	18 ± 2
7	19 ± 2	25 ± 4	17,3 ± 1,6	9,5 ± 1,2	20 ± 3	11,2 ± 1,3
8	17,8 ± 0,5	15,1 ± 0,5	15,4 ± 1,6	14 ± 1	11,7 ± 1,1	15 ± 1
9	18,5 ± 1,7	13,7 ± 1,1	11 ± 0,8	13,5 ± 0,9	13 ± 1	11,6 ± 0,7
10	13,5 ± 1,2	13,9 ± 0,7	10,7 ± 1,1	8,5 ± 0,7	8,0 ± 0,6	7,5 ± 0,7
11	32 ± 3	15,9 ± 0,9	15 ± 1,6	14,2 ± 1,7	13,7 ± 1,7	14 ± 3



Obrázek 9: Průměrné hodnoty TEWLu pro celý soubor probandek



Obrázek 10: Jednotlivé hodnoty TEWLu pro každou probandku – levá strana



Obrázek 11: Jednotlivé hodnoty TEWLu pro každou probandku – pravá strana

Z grafu průměrných hodnot TEWL (Obrázek 9) je možno vyhodnotit, že se transepidermální ztráta vody v průběhu měření snižovalo, což bylo žádoucí. Dle škály v kapitole 5.4.2 se stav pokožky probandek pohybuje v rozmezí dobrý až normální. Výsledky je možno porovnat se studií, ve které byl používán hydrolyzát drůbeží. Během 8 týdnů měření se TEWL snížil na levé straně o 18 %, na pravé straně o 26 %. Soubor probandek používající rybí hydrolyzát po dobu dvou měsíců vykazoval snížení TEWLu na levé straně o 30 %, na pravé straně o 28 %. Trvání studie bylo delší cca o 8 dní, nicméně lze uvést, že rybí hydrolyzát vykazoval lepší účinky na transepidermální ztrátu vody v pokožce než drůbeží hydrolyzát. [40]

Nejvýznamnější pokles TEWLu v souboru probandek A, tedy používajících gelovou formulaci s 0,5% přídavkem KH, je pozorován u probandky 10. Na levé straně se po dvou měsících užívání změnil TEWL o 41 %, na pravé straně o 46 %. Nejhorší výsledky ze souboru A naopak vykazuje probandka 4, u které došlo na levé straně ke snížení o 21 %, na pravé straně o 11 %. V souboru probandek B používajících 1,5% přípravek s KH byly zaznamenány nejlepší výsledky u probandky 3. TEWL poklesl na levé straně o 30 %, na pravé o 54 %. Naopak u probandky 6 došlo na levé straně ke snížení o 4 %, na pravé straně pak dokonce ke zvýšení o 6 %. Dále probandka 6 vykazovala nejvyšší nárůst TEWLu během druhého a třetího měření. Na levé straně činil nárůst 36 %, na pravé až 41 %. U probandky 7 ze souboru B došlo mezi druhým a třetím měřením k nárůstu TEWLu na levé straně o 16 %, na pravé o 18 %. Tato probandka v dotazníku uvedla, že trpí ekzémem, který mohl být příčinou takovéto změny.

6.2.3 Vyhodnocení účinků gelové formulace na pH pokožky

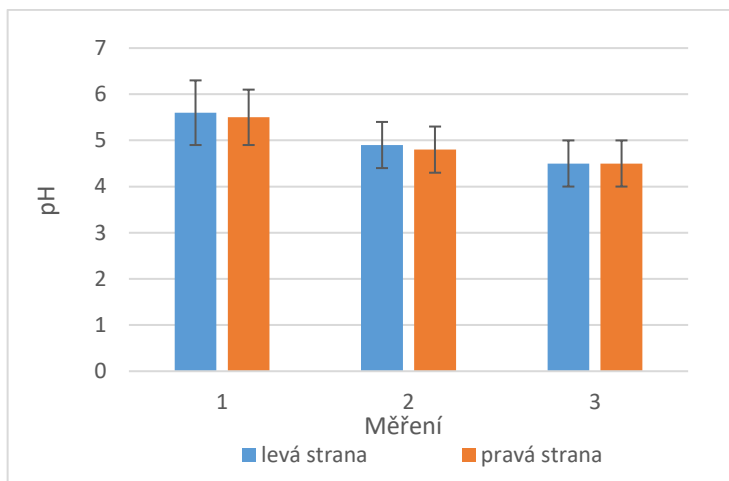
Pro sledování změn pH u 11 probandek v průběhu dvou měsíců byl používán pH metr, měřena byla oblast aplikace na pravé i levé straně. Jednotlivá měření jsou označována dle návaznosti v průběhu měření jako 1., 2. a 3. V tabulce 4 jsou zaznamenány průměrné hodnoty hydratace během každého měření. Tabulka 5 ukazuje změny hydratace v období dvou měsíců aplikace pro každou probandku. Data z tabulek 8 a 9 byla graficky znázorněna do sloupcových grafů (Obrázky 12, 13 a 14)

Tabulka 8: Průměrné změny pH pro celý soubor probandek

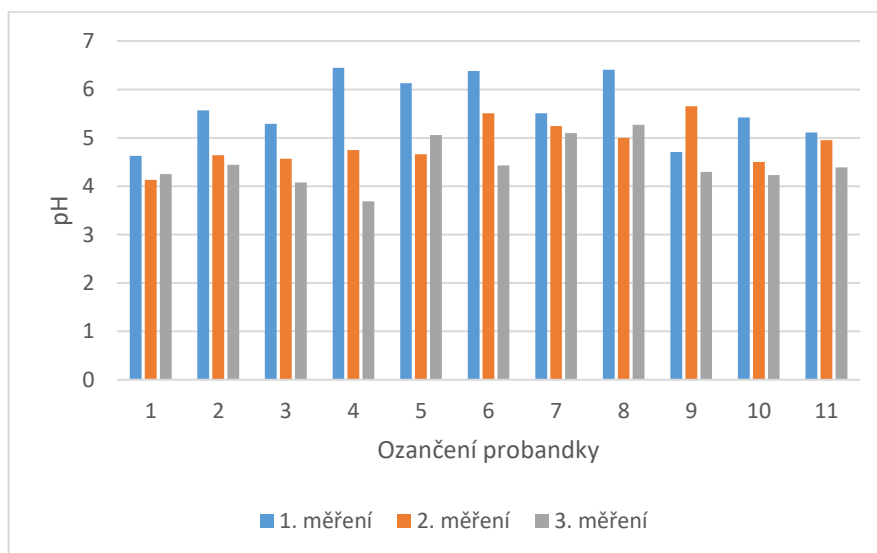
Měření	pH	
	Levá strana	Pravá strana
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
1	5,6 ± 0,7	5,5 ± 0,6
2	4,9 ± 0,5	4,8 ± 0,5
3	4,5 ± 0,5	4,5 ± 0,5

Tabulka 9: Hodnoty pH při každém měření u každé jedné probandky

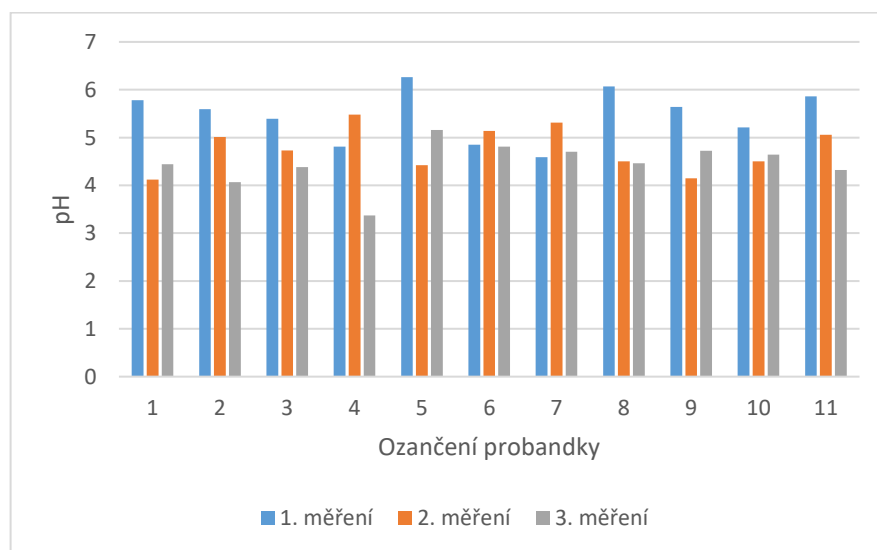
Označení probandky	pH					
	1. měření		2. měření		3. měření	
	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana
	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
1	4,63	5,78	4,13	4,12	4,25	4,44
2	5,57	5,59	4,64	5,01	4,44	4,07
3	5,29	5,39	4,57	4,73	4,08	4,38
4	6,45	4,81	4,75	5,48	3,69	3,37
5	6,13	6,26	4,66	4,42	5,06	5,16
6	6,38	4,85	5,51	5,14	4,43	4,81
7	5,51	4,59	5,24	5,31	5,10	4,70
8	6,41	6,07	5,00	4,50	5,27	4,46
9	4,71	5,64	5,65	4,15	4,30	4,72
10	5,42	5,21	4,50	4,50	4,23	4,64
11	5,11	5,86	4,95	5,06	4,39	4,32



Obrázek 12: Průměrné hodnoty pH pro celý soubor probandek



Obrázek 13: Jednotlivé hodnoty pH pro každou probandku – levá strana



Obrázek 14: Jednotlivé hodnoty pH pro každou probandku – pravá strana

V celém souboru došlo během celého období měření k snížení pH, a to na levé straně o 20 %, na pravé straně o 18 %. Celkové snížení pH bylo žádoucí. Hodnoty pH u většiny probandek se pohybovaly v rozmezí pH pokožky, tedy od 4,6 do 5,6 a to po celý průběh měření. U probandek 5 a 8 se hodnoty pH na obou stranách očního okolí pohybovaly nad rozmezím, které je pro pokožku typické. Takto vyšší hodnoty se také vyskytovaly u probandky 4 a 6 na levé straně, také u probandek 1 a 11 tentokrát na pravé straně. V průběhu používání gelové formulace s KH se pH přibližovalo spodní hranici vymezeného rozmezí. U probandky 4 se dokonce pH dostalo k hodnotám 3,69 na levé straně a 3,37 na pravé straně. Tyto odlehle hodnoty mohly být způsobeny vnějšími a individuálními faktory. Samotný kolagenní hydrolyzát vykazoval pH 6,44, samotný karbopolový gel pH 4,3. Vzhledem k nízkému přídavku KH do gelové formulace, by mělo být pH výsledného produktu bližší hodnotě 4,3 a mělo by být tedy bezpečné jeho použití na pokožku i oblast očního okolí. Možným důvodem pro nízké hodnoty pH na posledním měření může být tedy pH karbopolového gelu. [41]

6.2.4 Vyhodnocení účinků gelové formulace na póry a vrásky

Hodnocení pórů

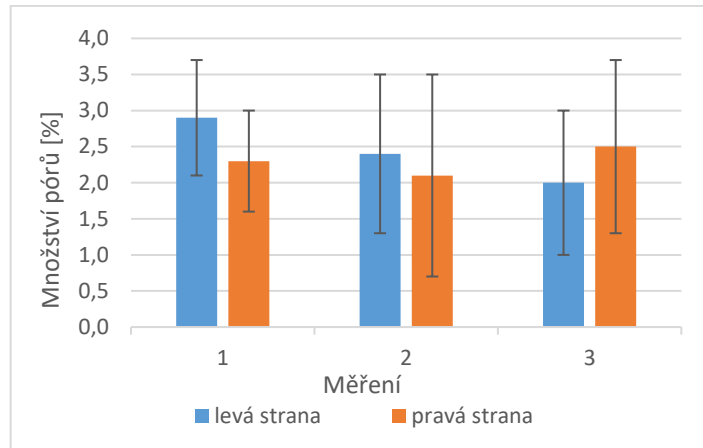
Další měřenou vlastností kůže během aplikace gelové formulace s KH bylo množství pórů. Měřeno bylo pomocí visioskopu, který byl přikládán k oblasti očního okolo. Byla vyfocena fotografie a pomocí programu CK Multi Probe byla provedena analýza. Hodnoty množství pórů v průběhu měření byly zapsány do tabulky 11. Byly vypočítány průměrné hodnoty a směrodatné odchylky, které vyplňují tabulku 10. Průměrné hodnoty i hodnoty pro jednotlivých probandek byly vyneseny do grafů (Obrázky 15,16 a 17)

Tabulka 10: Průměrné změny množství pórů pro celý soubor probandek

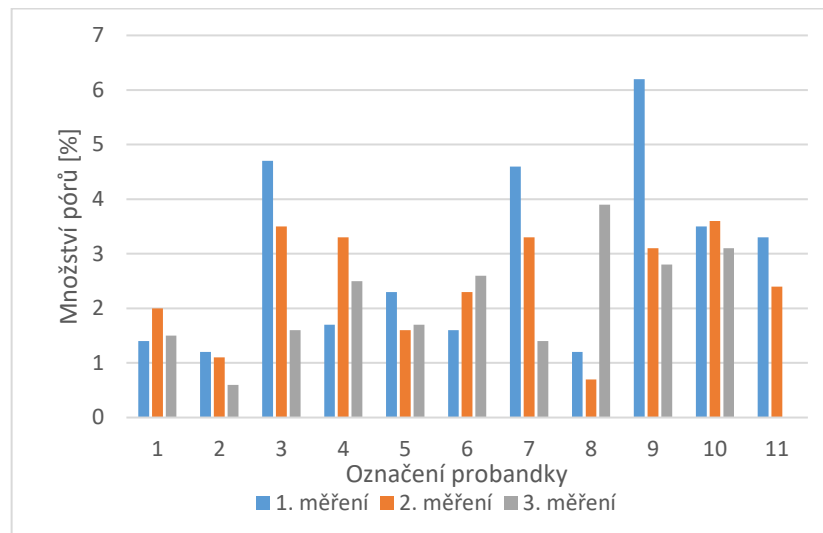
Měření	Póry [%]	
	Levá strana	Pravá strana
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
1	2,9 ± 0,8	2,3 ± 0,7
2	2,4 ± 1,1	2,1 ± 1,4
3	2 ± 1	2,5 ± 1,2

Tabulka 11: Hodnoty množství pórů při každém měření u každé jedné probandky

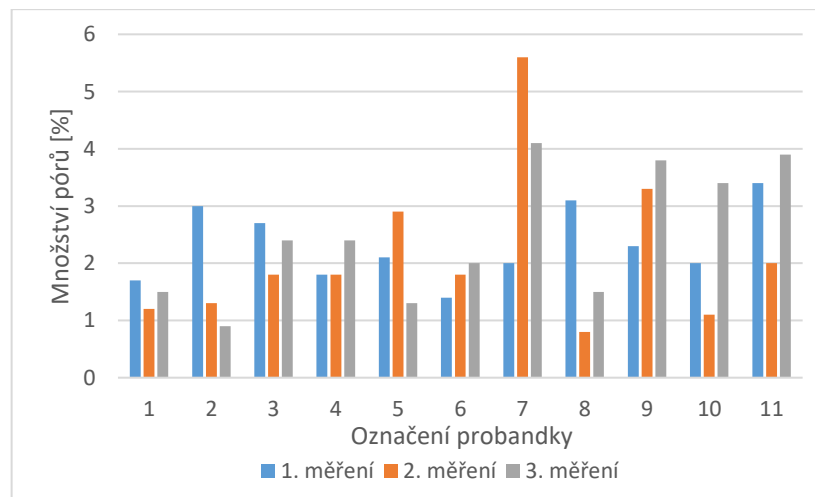
Označení probandky	Póry [%]					
	1. měření		2. měření		3. měření	
	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana
	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
1	1,4	1,7	2,0	1,2	1,4	1,5
2	1,2	3,0	1,1	1,3	1,5	0,9
3	4,7	2,7	3,5	1,8	0,6	2,4
4	1,7	1,8	3,3	1,8	1,6	2,4
5	2,3	2,1	1,6	2,9	2,5	1,3
6	1,6	1,4	2,3	1,8	1,7	2,0
7	4,6	2,0	3,3	5,6	2,6	4,1
8	1,2	3,1	0,7	0,8	1,4	1,5
9	6,2	2,3	3,1	3,3	3,9	3,8
10	3,5	2,0	3,6	1,1	2,8	3,4
11	3,3	3,4	2,4	2,0	3,1	3,9



Obrázek 15: Průměrné hodnoty množství pórů pro celý soubor probandek



Obrázek 16: Jednotlivé hodnoty množství pórů pro každou probandku – levá strana

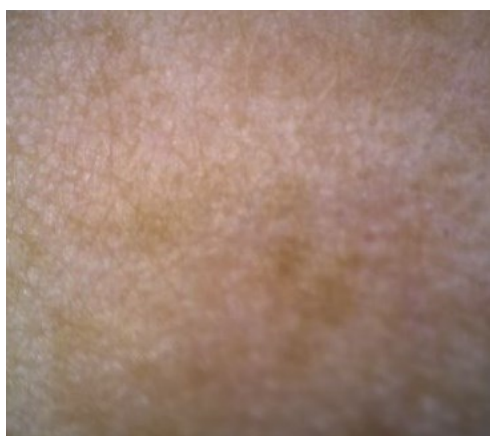


Obrázek 17: Jednotlivé hodnoty množství pórů pro každou probandku – pravá strana

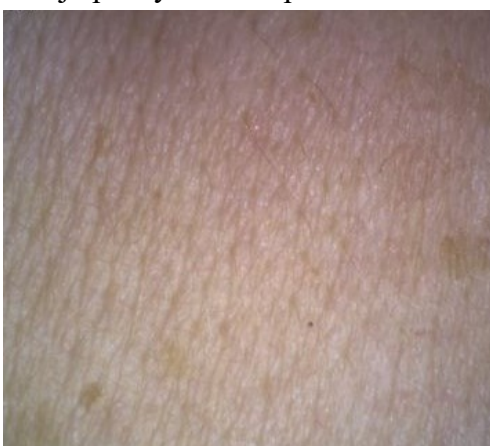
V průměrných hodnotách souboru probandek se na levé straně množství pórů snižovalo, a to o 31 %. Na pravé straně došlo v polovině používání gelové formulace s KH k poklesu množství pórů o 9 %, po další polovině ale došlo k nárůstu. Celkově tedy od prvního měření ke třetímu došlo k nárůstu množství pórů o 9 %. Porovnat výsledky lze se studií, ve které byl po dobu 8 týdnů 25 ženami užíván kolagenní hydrolyzát orálně. Formulace obsahovala 11 % rybího hydrolyzátu. Redukce pórů činila 10% pokles. Na levé straně byly tedy výsledky lepší, na pravé straně naopak. [42]

U každé probandky byl během měření pozorován nárůst množství pórů. Nejvyšší nárůst množství pórů vykazovala probandka 6. Na levé straně přibylo 6 % pórů, na levé 43 %. Nejlepší výsledky můžeme pozorovat u probandky 3, které se stav pórů na levé straně zlepšil o 87 %, na pravé straně o 11 %. V celém souboru byl nejhorší výsledek probandky 7 na pravé straně, kde se množství pórů zvýšilo o 105 %. Tato probandka trpí ekzémem.

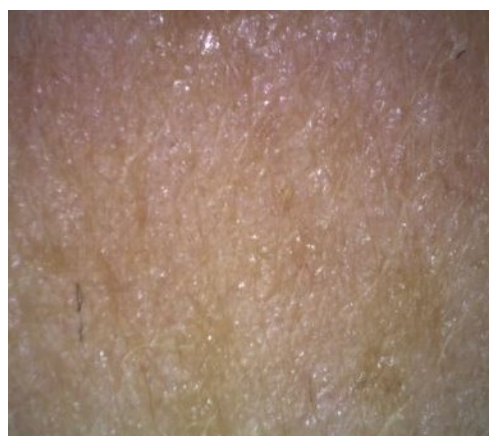
PŘED APLIKACÍ



Nejlepší výsledek – pokles o 87 %



PO 2 MĚSÍCÍCH APLIKACE



Nejhorší výsledek – nárůst o 105 %



Obrázek 18: Snímky z visioskopu zobrazující nejlepší a nejhorší výsledek ze souboru probandek

Hodnocení vrásek

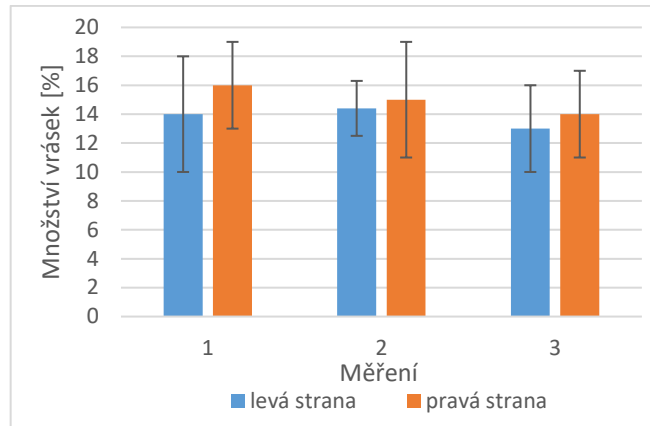
Poslední měřenou vlastností bylo množství vrásek. Visioskop byl přikládán k měřené oblasti a byly pořízeny snímky, které byly následně analyzovány softwarem CK Multi Probe. Výsledné hodnoty množství vrásek v procentech byla zpracována do tabulky 13 a z nich vytvořené průměrné hodnoty a směrodatné odchylky, které jsou obsaženy v tabulce 12. Data byla následně graficky zpracována jak pro celý soubor probandek jednotlivě, tak pro průměrné hodnoty souboru probandek jako takového. (Obrázek 19, 20 a 21)

Tabulka 12: Průměrné změny množství vrásek pro celý soubor probandek

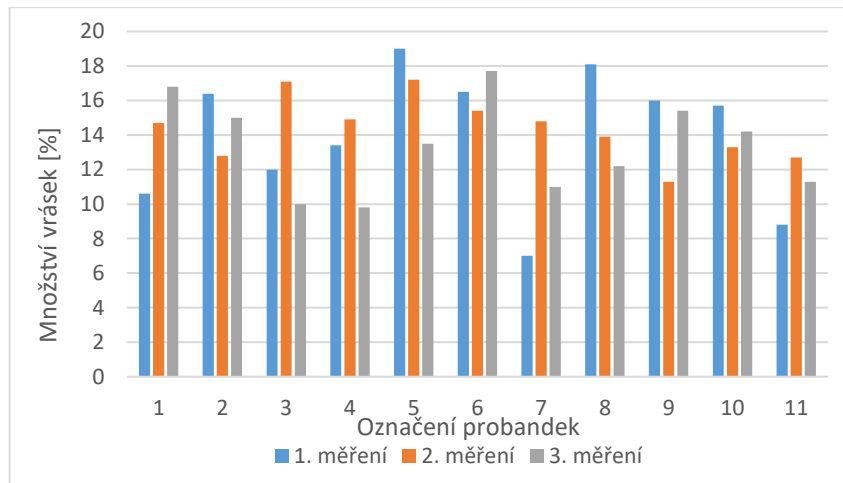
Měření	Vrásky [%]	
	Levá strana	Pravá strana
	$\bar{x} \pm s$	$\bar{x} \pm s$
1	14 ± 4	16 ± 3
2	14,4 ± 1,9	15 ± 4
3	13 ± 3	14 ± 3

Tabulka 13: Hodnoty množství vrásek při každém měření u každé jedné probandky

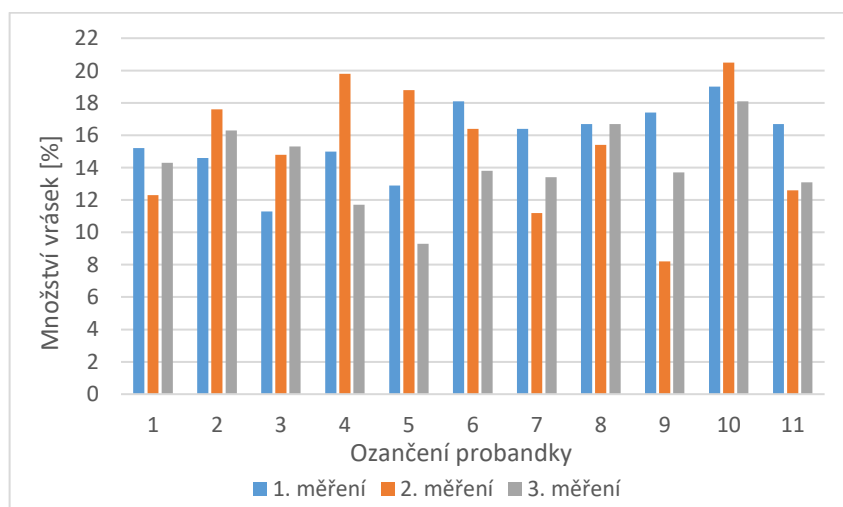
Označení probandky	Vrásky [%]					
	1. měření		2. měření		3. měření	
	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana	Levá strana	Pravá strana
	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}	\bar{x}
1	10,6	15,2	14,7	12,3	16,8	14,3
2	16,4	14,6	12,8	17,6	15,0	16,3
3	12,0	11,3	17,1	14,8	10,0	15,3
4	13,4	15,0	14,9	19,8	9,8	11,7
5	19,0	12,9	17,2	18,8	13,5	9,3
6	16,5	18,1	15,4	16,4	17,7	13,8
7	7,0	16,4	14,8	11,2	11,0	13,4
8	18,1	16,7	13,9	15,4	12,2	16,7
9	16,0	17,4	11,3	8,2	15,4	13,7
10	15,7	19,0	13,3	20,5	14,2	18,1
11	8,8	16,7	12,7	12,6	11,3	13,1



Obrázek 19: Průměrné hodnoty množství vrásek pro celý soubor probandek



Obrázek 20: Jednotlivé hodnoty množství vrásek pro každou probandku – levá strana



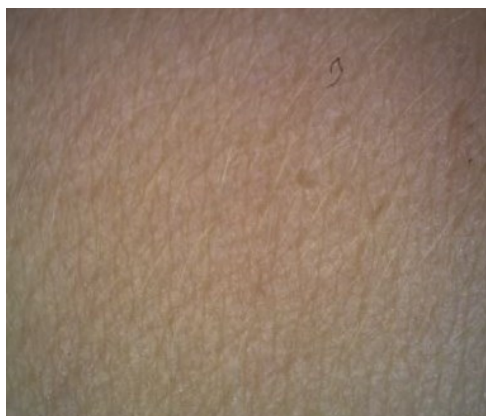
Obrázek 21: Jednotlivé hodnoty množství vrásek pro každou probandku – pravá strana

Soubor probandek v průměru vykazoval mezi 1. a 3. měřením pokles množství vrásek. Na levé straně činí pokles 7 %, na pravé straně 12 %. Porovnat lze se stejnou studií jako v případě vyhodnocení hydratace a TEWLu. Používaná gelová formulace s 1 % drůbežního kolagenního hydrolyzátu byla aplikována na oblast očního okolí ráno a večer po dobu 8 týdnů. Výsledkem byla redukce vrásek na levé straně o 17 %, na pravé straně o 22 %. Probandkami této studie bylo 10 žen ve věku 50 ± 9 let, v případě rybího kolagenního hydrolyzátu byly zkoumány účinky na 11 probandkách ve věku 22 ± 2 let. Procentuálně se výsledky liší, stále ale byl pozorován účinek i na mladé pleti. I přesto, že nebyl pokles vrásek tak vysoký jako u studie na ženách vyššího věku, stále byl pozorován pozitivní účinek na množství vrásek. [40]

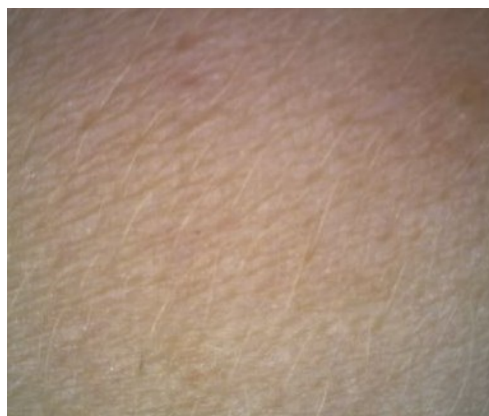
Další porovnání je možno provést se studií, ve které bylo každé ráno nalačno konzumováno 10 g rybího kolagenního hydrolyzátu. Probandkami byly ženy ve věku 45-60 let. Pokles množství vrásek činil 24 %. Opět se jedná o lepší výsledek než v případě gelové formulace s rybím kolagenním hydrolyzátem, který byl aplikován na oblast očního okolí u mladých žen, nikoliv přijímán jako doplněk stravy u žen starších. [43]

Jednotlivé probandky vykazovaly velmi různorodé změny množství vrásek. V souboru probandek A byl pozorován nejlepší výsledek u probandky 5. Množství vrásek na levé straně kleslo o 29 %, na pravé straně o 28 %. Nejhorší účinek byl naměřen u probandky 1, na levé straně došlo dokonce k nárůstu množství vrásek o 58 %, na pravé straně k poklesu pouze o 6 %. V souboru probandek B byl pozorován nejvyšší pokles množství vrásek u probandky 8. Na levé straně činil 33 %, na pravé zůstalo množství vrásek stejné a nebyl tedy pozorován účinek KH. Nejvyšší nárůst byl pozorován u probandky 7 na levé straně, kde činil 57 %. Na pravé straně došlo k poklesu o 18 %.

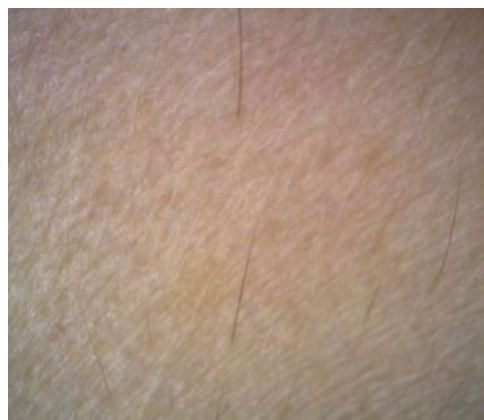
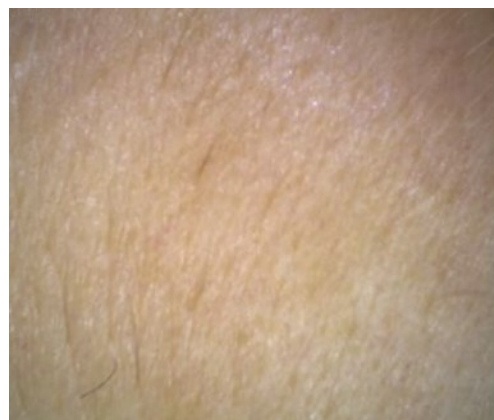
PŘED APLIKACÍ



PO 2 MĚSÍCÍCH APLIKACE



Nejlepší výsledek – pokles o 33 %



Nejhorší výsledek – nárůst o 58 %

Obrázek 22: Snímky z visioskopu zobrazující nejlepší a nejhorší výsledek ze souboru probandek

ZÁVĚR

Teoretická část práce se nejprve zabývá kolagenem jakožto součástí živých organismů. Popisuje jeho strukturu a rozděluje kolageny dle typů a funkcí v těle člověka. Dále jsou rozebrány polymery používané v kosmetických formulacích, důležitost je kladena na kolagenní hydrolyzát. V neposlední řadě je uvedena anatomie a fyziologie kůže a jsou rozebrány metody měření vlastností kůže důležité pro praktickou část bakalářské práce.

V praktické části byl zjišťován účinek gelové formulace s přídavkem 0,5 a 1,5 % KH na kůži a její funkční vlastnosti. Sledována byla hydratace SC, transepidermální ztráta vody z pokožky, pH kůže a množství pórů a vrásek na souboru 11 probandek, které dlouhodobě používaly gelovou formulaci s KH v periorbitální oblasti. Měření probíhalo pomocí neinvazivních metod. Byly též provedeny základní analýzy používaného rybího kolagenního hydrolyzátu.

Pozorován byl negativní účinek kolagenního hydrolyzátu na hydrataci *stratum corneum*. V celém souboru probandek došlo k mírnému poklesu, který ale nebyl tak významný z důvodu věku probandek. Mladá pleť je velmi variabilní a výsledky se velmi lišily v průběhu dvou měsíců používání gelové formulace s přídavkem rybího KH. Dále byla měřena transepidermální ztráta vody, která byla pozitivně ovlivňována, tedy snižována, díky používání gelové formulace s rybím KH. Skupina probandek vykazovala velmi výrazný pokles TEWLu, dokonce lepší než v porovnání se studii používající drůbeží hydrolyzát. Hodnoty pH byly během používání gelové formulace snižovány. Snížení bylo stálé v rámci rozmezí pH pleti. Množství pórů a vrásek se v průběhu měření snižovalo, pokles ale nebyl velice významný. Hodnoty jednotlivých probandek se velmi lišily. Důvodem může být snímání odlišných míst pomocí visioskopu, ale také závislost mladé pleti na okolních vlivech jako je strava, pitný režim či stres.

Dokázáno tedy bylo, že gelová formulace s kolagenním hydrolyzátem má velice pozitivní vliv na TEWL a pH, nikoliv na hydrataci. Množství pórů a vrásek lze hodnotit jako velice rozdílné mezi jednotlivými probandkami.

Nadále by mohly být experimentálně zjišťovány vlastnosti kolagenních hydrolyzátů v kosmetických formulacích, které by mohly být dále distribuovány na kosmetický trh. Výzkum by se mohl dále věnovat vyvíjením formulací s pozitivním účinkem také na hydrataci a poskytnout tak kosmetickému trhu kvalitní přípravek pro zlepšení vlastností pokožky především tedy pro stárnoucí ženy, u kterých jsou pozorovány lepší účinky.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] MARIEB E. N., MALLAT J., Anatomie lidského těla. Brno: CP Books, 2005. ISBN 8025100669.
- [2] MATOUŠ B., Základy lékařské chemie a biochemie. Praha: Galén, 2010. ISBN 9788072627028.
- [3] PARRY D. A. D., SQUIRE J. M., ed. Fibrous Proteins: Structures and Mechanisms: Subcellular Biochemistry 82. Springer International Publishing, 2017. ISBN 978-3-319-49672-6.
- [4] MURRAY R. K., Harperova ilustrovaná biochemie. 5. české vyd., 1. v nakl. Galén. Praha: Galén, 2012. ISBN 978-80-7262-907-7.
- [5] UNIVERZITA KARLOVA, Fakulta Tělovýchovy a sportu. Vazivová tkáň [online]. In: 2018. Dostupné z: <https://ftvs.cuni.cz/FTVS-1424-version1.pdf>
- [6] CHAVEZ M., SAME: S-Adenosylmethionine. American Journal of Health-System Pharmacy. 2000(57), 119-123. Dostupné z: doi:10.1093/ajhp/57.2.119
- [7] [PETERKOVÁ P., LAPČÍK L., Kolagen – vlastnosti, modifikace a aplikace. Chemické listy [online]. 2000(94), 371-379. ISSN 1213-7103.
- [8] JANURA M., Úvod do biomechaniky pohybového systému člověka, Olomouc, Univerzita Palackého, 2003, st. 84, ISBN 80-244-0644-6
- [9] ŠTULÍK K., Analytické separační metody. Praha: Karolinum, 2004. ISBN 80-246-0852-9.
- [10] D'SOUZA Z., CHETTIANKANDY TJ., AHIRE MS., THAKUR A., SONAWANE SG., SINHA A., Collagen – structure, function and distribution in orodental tissues. J Global Oral Health [online]. 2020(2), 134-139. Dostupné z: doi:10.25259/JGOH_4_2020
- [11] VAN DER REST M., GARRONE R., Collagen family of proteins. The FASEB Journal. 1991(5), 2814-2823. ISSN 0892-6638.

- [12] YAO S., XU Y., SHAO C., NUDELMAN F., SOMMERDIJK N. A. J. M., TANG R., A Biometric Model for Mineralization of Type-I Collagen Fibrils. *Collagen: Methods and Protocols* [online]. The University of Edinburgh: Humana Press, 2019, 39-54. ISBN 978-1-4939-9095-5. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-4939-9095-5_4
- [13] EL BLIDI *et al.* Extraction Methods, Characterization and Biomedical Applications of Collagen: a Review. *Biointerface Research in Applied Chemistry* [online]. 2021(11), 13587-13613. ISSN 2069-5837. Dostupné z: <https://biointerfaceresearch.com/wp-content/uploads/2021/02/20695837115.1358713613.pdf>
- [14] JANSEN I. D.C., HOLLANDER A. P., BUTTLE D. J., EVERTS V. Type II and VI collagen in nasal and articular cartilage and the effect of IL-1 α on the distribution of these collagens. *Journal of Molecular Histology* [online]. 2010(41), 9-17. Dostupné z: doi:10.1007/s10735-010-9257-7
- [15] MENDLER M., EICH-BENDER S. G., VAUGHAN L., WINTERHALTER K. H., BRUCKNER P. Cartilage Contains Mixed Fibrils of Collagen Types II, IX, and XI. *The Journal of Cell Biology* [online]. The Rockefeller University Press, 1989(108), 191-197. Dostupné z: doi:0021-9525/89/01/191/7
- [16] GELSE K., PÖSCHL E., AIGNER T. Collagens—structure, function, and biosynthesis. *Advanced Drug Delivery Reviews* [online]. 2003(55), 1531-1546. Dostupné z: doi:10.1016/j.addr.2003.08.002
- [17] SIONKOWSKA A., ADAMIAK K., MUSIAŁ K., GADOMSKA M. Collagen Based Materials in Cosmetic Applications: A Review. *Materials* [online]. 2020(13), 4217. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ma13194217>
- [18] KREJČÍ J. Kosmetické přípravky a prostředky. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2015.

- [19] LOH X. J. Polymers for personal care products and cosmetics [online]. 20. Cambridge, UK : Royal Society Of Chemistry: RSC polymer chemistry series, 2016. ISBN 9781782623984. Dostupné z: https://web.s.ebscohost.com/ehost/ebookviewer/ebook/bmxlYmtfXzEzMzY1MzJfX0FO0?sid=b105357b-27c9-477a-bb90-1edacb1146bc@redis&vid=0&format=EB&lpid=lp_ix&rid=0
- [20] AL-MOUSILLY M. M., ALAJELI I. S., ABDULRAHMAN L. K. Study the healing effect of collagen hydrolysate for the treatment of bone tail fracture in mice. International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences [online]. 2014(6), 67-71. ISSN 0975-1491. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/263563565_Study_the_healing_effect_of_collagen_hydrolysate_for_the_treatment_of_bone_tail_fracture_in_mice
- [21] MOKREJŠ P. Biotechnologické zpracování vedlejších bílkovinných produktů na želatiny a hydrolyzáty. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2020. ISBN 9788074548734.
- [22] ALVES T. F. R. ET AL. Applications of Natural, Semi-Synthetic, and Synthetic Polymers in Cosmetic Formulations. Cosmetics. 2020(7), 1-16. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics7040075
- [23] EGNER P. Kosmetické technologie. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2015.
- [24] BAKI G., ALEXANDER K.S. Introduction to cosmetic formulation and technology. Hoboken: John Wiley, 2015. ISBN 9781118763780.
- [25] Kolagen nebo tropokolagen - co funguje? Kupník.cz [online]. 2020. Dostupné z: <https://www.kupnik.cz/zivy-kolagen-tropokolagen>
- [26] VLČKOVÁ Z. Využití mikropreparativní izoelektrické fokusace při analýze biologických vzorků [online]. Brno, 2017. Dostupné z: https://www.vut.cz/www_base/zav_prace_soubor_verejne.php?file_id=144963. Diplomová práce. Vysoké učení technické v Brně.
- [27] BRYCHTA P., STANĚK J., BERGEROVÁ Y. Estetická plastická chirurgie a korektivní dermatologie. Praha: Grada, 2014. ISBN 9788024707952.

- [28] RÖCKEN M., SCHALLER M., SATTLER E., BURGDORF W. H. C. Kapesní atlas dermatologie. Praha: Grada Publishing, 2018. ISBN 9788027101061.
- [29] ROZSÍVALOVÁ V. Kosmetika I: pro studijní obor Kosmetička. 2. aktualizované vydání. Praha: Informatorium, 2010. ISBN 9788073330804.
- [30] Kůže. Selavis [online]. Dostupné z: <https://www.selavis.cz/kuze/>
- [31] KOTINGOVÁ L., BORSKÁ L., FIALA Z. Testování transdermální absorpce chemických látek *in vitro*. Chemické listy [online]. 2009(103), 533-539. Dostupné z: http://chemicke-listy.cz/docs/full/2009_07_533-539.pdf
- [32] JANSEN VAN RENSBURG S., FRANKEN A., DU PLESSIS J. L. Measurement of transepidermal water loss, stratum corneum hydration and skin surface pH in occupational settings: A review. Skin Res Technol. [online]. 2019(25), 595-605. Dostupné z: doi:10.1111/srt.12711
- [33] PEPERKAMP K., VERHULST A. C., TIELEMANS H. J. K., WINTERS H., VAN DALEN D., ULRICH D. J. O. The inter-rater and test-retest reliability of skin thickness and skin elasticity measurements by the DermaLab Combo in healthy participants. Skin Res Technol. [online]. 2019(25), 787-792. Dostupné z: doi:10.1111/srt.12718
- [34] MIKLÁŠOVÁ T. Příprava potravinářských želatin z netradiční kolagenní suroviny. Zlín, 2021. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [35] STROMKOVÁ I. Kolagenní hydrolyzáty jako funkční polymer v kosmetice. Zlín, 2020. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [36] The Corneometer CM 825: Technical charges. 2013.
- [37] The Tewameter TM 300: Technical charges. 2013.
- [38] KRASNOVA I. S., SEMENOV G. V., YU ZARUBIN N. Modern technologies for using fish wastes in the production of collagen hydrolysates and functional beverages. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science [online]. 2020, 421(6), 1-6. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/421/6/062030

- [39] ASSERIN J. *et al.* The effect of oral collagen peptide supplementation on skin moisture and the dermal collagen network: evidence from an ex vivo model and randomized, placebo-controlled clinical trials. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2015, (14), 291-301. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jocd.12174>
- [40] PROKOPOVÁ A., PAVLAČKOVÁ J., MOKREJŠ P., GÁL R. Collagen Hydrolysate Prepared from Chicken By-Product as a Functional Polymer in Cosmetic Formulation. *Molecules* [online]. 2021, 25(7), 1-19. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26072021>
- [41] MOKREJŠ P., PAVLAČKOVÁ J., JANÁČOVÁ D., HUŤŤA M. Hydration and Barrier Properties of Emulsions with the Addition of Keratin Hydrolysate. *Cosmetics* [online]. 2018, 5(64), 1-11. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cosmetics5040064>
- [42] PING L. *et al.* Collagen formula with Djulis for improvement of skin hydration, brightness, texture, crow's feet, and collagen content: A double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2020, (20), 188-194. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jocd.13500>
- [43] EVANS M. *et al.* A randomized, triple-blind, placebo-controlled, parallel study to evaluate the efficacy of a freshwater marine collagen on skin wrinkles and elasticity. *Journal of Cosmetic Dermatology* [online]. 2021, 2021(20), 825-834. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/jocd.13676>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

ECM	Extracelulární matrix
AMK	Aminokyseliny
T_s	Teplota smrštění
T_d	Teplota denaturace
SC	<i>Stratum corneum</i>
TEWL	Transepidermální ztráta vody
NMF	Natural moisturizing factor
KH	Kolagenní hydrolyzát
k. j.	Korneometrická jednotka, jednotka hydratace
$\text{g/m}^2/\text{h}$	Jednotka transepidermální ztráty vody
S	Obsah sušiny
P	Obsah popelovin
\bar{x}	Aritmetický průměr
s	Směrodatná odchylka

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Struktura kolagenního vlákna [25].....	13
Obrázek 2: Schéma denaturace a renaturace proteinu [26]	14
Obrázek 3: Vrstvy pokožky [31]	27
Obrázek 4: Struktura kůže [30].....	28
Obrázek 5: Přístroje používané k měření vlastností kůže, A – tewametr TM 300, B – pH metr PH 905, C – korneometr CM 825, D – visioskop PC 35, E – MPA 5 stanice.....	38
Obrázek 6: Průměrné hodnoty hydratace pro celý soubor probandek	44
Obrázek 7: Jednotlivé hodnoty hydratace pro každou probandku – levá strana	44
Obrázek 8: Jednotlivé hodnoty hydratace pro každou probandku – pravá strana	44
Obrázek 9: Průměrné hodnoty TEWLu pro celý soubor probandek	47
Obrázek 10: Jednotlivé hodnoty TEWLu pro každou probandku – levá strana.....	47
Obrázek 11: Jednotlivé hodnoty TEWLu pro každou probandku – pravá strana.....	47
Obrázek 12: Průměrné hodnoty pH pro celý soubor probandek	50
Obrázek 13: Jednotlivé hodnoty pH pro každou probandku – levá strana	50
Obrázek 14: Jednotlivé hodnoty pH pro každou probandku – pravá strana.....	50
Obrázek 15: Průměrné hodnoty množství pórů pro celý soubor probandek	53
Obrázek 16: Jednotlivé hodnoty množství pórů pro každou probandku – levá strana.....	53
Obrázek 17: Jednotlivé hodnoty množství pórů pro každou probandku – pravá strana.....	53
Obrázek 18: Snímky z visioskopu zobrazující nejlepší a nejhorší výsledek ze souboru probandek.....	54
Obrázek 19: Průměrné hodnoty množství vrásek pro celý soubor probandek	56
Obrázek 20: Jednotlivé hodnoty množství vrásek pro každou probandku – levá strana.....	56
Obrázek 21: Jednotlivé hodnoty množství vrásek pro každou probandku – pravá strana...	56
Obrázek 22: Snímky z visioskopu zobrazující nejlepší a nejhorší výsledek ze souboru probandek.....	58

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Hodnoty pro výpočet obsahu sušiny rybího hydrolyzátu	41
Tabulka 2: Hodnoty pro výpočet obsahu popelovin pro rybí hydrolyzát	41
Tabulka 3: Charakteristika probandek dle věku a používané formulace	42
Tabulka 4: Průměrné změny hydratace pro celý soubor probandek.....	43
Tabulka 5: Hodnoty hydratace při každém měření u každé jedné probandky.....	43
Tabulka 6: Průměrné změny TEWLu pro celý soubor probandek	46
Tabulka 7: Hodnoty TEWLu při každém měření u každé jedné probandky	46
Tabulka 8: Průměrné změny pH pro celý soubor probandek	49
Tabulka 9: Hodnoty pH při každém měření u každé jedné probandky	49
Tabulka 10: Průměrné změny množství pórů pro celý soubor probandek	52
Tabulka 11: Hodnoty množství pórů při každém měření u každé jedné probandky	52
Tabulka 12: Průměrné změny množství vrásek pro celý soubor probandek	55
Tabulka 13: Hodnoty množství vrásek při každém měření u každé jedné probandky	55

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I: Individuální informovaný souhlas

Příloha P II: Dotazník pro účastníka měření

PŘÍLOHA P I: INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

INDIVIDUÁLNÍ INFORMOVANÝ SOUHLAS

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

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

Podmínky účasti. Před zahájením vlastního experimentu je nutno vyplnit dotazník (viz. Příloha č. 2). Součástí dotazníku jsou údaje o Vašem zdravotním stavu, alergiích, kožních problémech, o užívaných lécích a o dřívější účasti v obdobných studiích. Na základě Vašich pravdivých odpovědí bude rozhodnuto o účasti v daném cvičení.

Metodika testu. Experiment bude prováděn studentkami bakalářského studia pod dohledem kvalifikovaných pracovníků Ústavu polymerů a Ústavu tuků, tenzidů a kosmetiky a dermatologa. Plánovaná práce zahrnuje jednorázový otevřený kožní test (epikutánní test na vnitřní straně předloktí).

Odstoupení z laboratorní práce. Z práce je možno odstoupit při výskytu závažnějších potíží po dohodě s vedoucím bakalářské práce.

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

Jméno a Příjmení:

Datum:

Podpis:

PŘÍLOHA P II: DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ

DOTAZNÍK PRO ÚČASTNÍKA MĚŘENÍ

Jméno:

Příjmení:

Věk:

Pohlaví:

Evidenční číslo:

Pouze pro ženy

Jste:	ano	ne
těhotná nebo kojící		

Doplňující údaje

Zdravotní stav:	ano	ne	specifikujte:
používáte pravidelně jakýkoliv přípravek pro léčbu kůže			
používáte pravidelně jakékoliv léčivo (na předpis, či volně prodejné)			
navštěvujete v současné době lékaře kvůli:			<ul style="list-style-type: none">• alergiím• kožním problémům• z jiného důvodu
máte nějaké jiné zdravotní potíže			

Účast v dalších studiích

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

Současný zdravotní stav

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

Zdravotní stav v minulosti

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

Užívání léků

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

Alergologická léčba

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

Alergie

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