

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

Katedra farmaceutické technologie

Termální analýza interakcí epidermálních lipidů III

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Marie Musilová, CSc.

Děkuji RNDr. Marii Musilové, CSc., vedoucí diplomové práce za odborné vedení, četné rady, trpělivost a čas, který mi věnovala.

Dále chci také poděkovat mé rodině a přátelům za podporu a trpělivost během mého studia.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem, které jsem vypracovala samostatně. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány.

Dvořáková Lenka

Termální analýza interakcí epidermálních lipidů III

Lenka Dvořáková, diplomová práce, červen 2008

Abstrakt

Kůže je orgán chránící lidské tělo před nežádoucími vlivy okolního prostředí. Fyzikálně chemické vlastnosti, struktura a uspořádání epidermálních lipidů, především ve stratum corneum, hrají klíčovou roli v bariérové funkci kůže. V této vrstvě jsou hlavními lipidy ceramidy, cholesterol a volné mastné kyseliny. My jsme použili vzorky napodobující toto nejčastěji uváděné složení epidermálních lipidů, obsahovaly pseudo-ceramid, kyselinu olejovou, cholesterol a cholesterol sulfát. Jelikož vzorky s kyselinou olejovou mohou při vyšších teplotách ovlivňovat chování jednotlivých složek směsi, provedli jsme hodnocení i obsahově jednodušších vzorků, které se skládaly z cholesterolu a pseudo-ceramidu. Snažili jsme se směsi hydratovat v in vitro prostředí různými postupy, sledovali jejich charakteristiky a interakce pomocí diferenciální skenovací kalorimetrie. Současně jsme se zabývali i hodnocením jednotlivých surovin a dvousložkových směsí. Pomocí těchto studií jsme ověřili a detailněji propracovali v literatuře ne zcela jednoznačně uváděné pracovní postupy.

Thermal analysis of interaction of epidermal lipids III

Lenka Dvořáková, diploma paper, June 2008

Abstract

The skin is the organ protecting the human body from unwanted influences from the environment. Physical chemical properties, structure and ordering of the epidermal lipids, mainly in the stratum corneum, play a key role in the barrier function of the skin. The major lipids are ceramides, cholesterol and free fatty acids in this layer. We used the samples mimic such the most frequently referred composition of the epidermal lipids, contained pseudo-ceramid, oleic acid, cholesterol and cholesterol sulfate. Because the samples with oleic acids can at the higher temperatures influence the behavior of the particular constituents of the mixture, we also performed the evaluation of the contained simpler samples which compound cholesterol and pseudo-ceramid. We tried hydrated the mixtures at in vitro environment by various routes, we observed their characteristics and interactions by means of the differential scanning calorimetry. We were also dealing with the evaluation of the particular raw materials and the double-barrelled mixtures. We verified and elaborated in detail the operating sequences which are not completely unambiguously referred in the literature by means of these studies.

Obsah

1. ÚVOD	6
2. TEORETICKÁ ČÁST	7
2.1 DIFERENCIÁLNÍ SKENOVACÍ KALORIMETRIE (DSC).....	7
2.1.1 Charakteristika naměřených křivek a hodnot	9
2.1.2 Faktory ovlivňující průběh křivek.....	13
2.1.3 Kalibrace přístrojů	14
2.1.4 Využití DSC	14
2.2 KOŽNÍ LIPIDY.....	15
3. PRACOVNÍ ÚKOL	18
4. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	19
4.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE	19
4.2 SEZNAM SUROVIN A JEJICH ZNAČENÍ V PRÁCI	20
4.3 SLOŽENÍ VZORKŮ A JEJICH PŘÍPRAVA.....	21
4.4 VÝSLEDKY EXPERIMENTU	24
4.4.1 Průběhy měření surovin a dvousložkových směsí s teplotními programy.....	24
<i>Záznamy měření surovin a dvousložkových směsí</i>	26
4.4.1.1 Pseudo-ceramid.....	26
4.4.1.2 Cholesterol	26
4.4.1.3 Kyselina olejová	27
4.4.1.4 Cholesterol sulfát	27
4.4.1.5 Voda	28
4.4.1.6 Cholesterol a kyselina olejová	28
4.4.1.7 Cholesterol a pseudo-ceramid (bezvodý vzorek č.11b).....	29
4.4.2 Průběhy měření vícesložkových směsí s teplotními programy.....	30
<i>Záznamy měření vícesložkových směsí</i>	41
4.4.2.1 Bezvodý vzorek č.9.....	41
4.4.2.2 Vzorek č.9 hydratovaný v kelímku	44
4.4.2.3 Vzorek č.9 hydratovaný na lázni	47
4.4.2.4 Vzorek č.8.....	51
4.4.2.5 Vzorek č.11 hydratovaný na lázni	52
4.4.2.6 Vzorek č.11b hydratovaný na lázni po homogenizaci na odparce	57
4.5 DISKUZE	62
5. ZÁVĚR	68
6. SEZNAM LITERATURY	69

1. Úvod

Přirozenou funkcí kůže je chránit tělo před nepříznivými vlivy okolního prostředí. Hlavní bariérou je nejsvrchnější vrstva kůže, stratum corneum. Ta je také hlavním problémem při podávání léčiv přes kůži. To se snažili léčitelé již v nejstarších civilizacích.

V dnešní době transdermální podávání léčiv získává stále větší pozornost. Oproti jiným systémově podávaným aplikacím má několik výhod. Léčivo obchází gastrointestinální trakt a játra a tím se zvyšuje jeho biologická dostupnost (výrazné u látek s vysokým first-pass efektem), zamezuje interakcím s jinými léčivy a potravou a omezuje některé jeho nežádoucí účinky. Může se snížit dávka, frekvence podávání léčiva, což zlepšuje compliance pacienta. A navíc transdermální podání je neinvazivní a umožňuje rychlé přerušování expozice léčivem.

Pro ovlivnění a pochopení bariérové funkce kůže je potřebné znát fyzikálně-chemické vlastnosti stratum corneum, které jsou určeny především jeho chemickým složením. Proto je nutné studovat strukturu a funkce jednotlivých součástí kůže, hlavně stratum corneum.

Tato práce se zabývá interakcí epidermálních lipidů pomocí DSC. Cílem je charakterizovat výchozí suroviny a směsi. A dále ověřit a detailněji propracovat pracovní postupy měření, které jsou v literatuře někdy nejednoznačně uváděny.

2. Teoretická část

2.1 Diferenciální skenovací kalorimetrie (DSC)

Diferenciální skenovací kalorimetrie (diferenční výkonová analýza, diferenční entalpická analýza, diferenční skaningová kalorimetrie) patří mezi metody termické analýzy¹.

Je to metoda založená na principu měření elektrické energie přídavného zdroje, potřebné k vyrovnání teplotních rozdílů vzniklých mezi zahříváním vzorkem a referenční látkou (prázdný kelímek nebo obsahuje materiál, který lze v daném teplotním rozsahu považovat za inertní), tedy k udržení izotermních podmínek²⁻⁵.

Výsledkem je závislost rozdílu tepelného toku uvolňovaného z měřeného a referenčního vzorku na teplotě v případě dynamického měření nebo na čase při konstantní teplotě v případě izotermického měření. Výskyt extrémů na měřených křivkách odpovídá exotermickým nebo endotermickým procesům probíhajícím v měřeném vzorku. Tím lze určit například fázové přechody, bod tání a tuhnutí, krystalizaci, čistotu, tepelnou kapacitu, oxidačně-redukční reakce atd²⁻⁵.

Diferenciální skenovací kalorimetrie je dostupná ve dvou základních provedeních, lišících se systémem měření: 1. DSC s tepelným tokem (heat flux DSC)

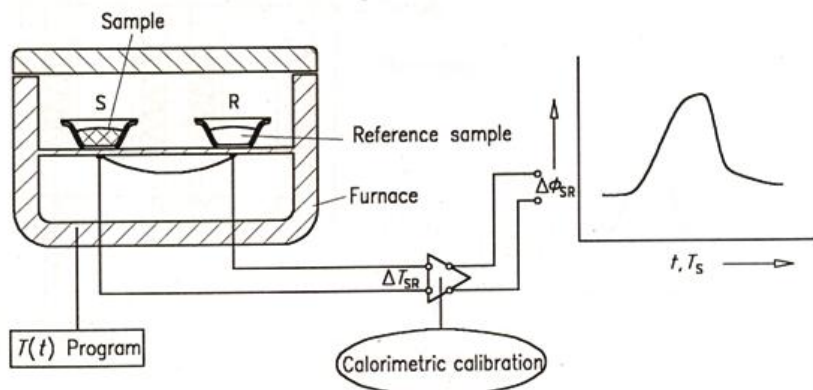
2. DSC s výkonovou kompenzací (power compensating DSC)²

U metody DSC s tepelným tokem se měří rozdíly teplot mezi měřeným vzorkem a referenční látkou. Existují dva typy přístrojů:

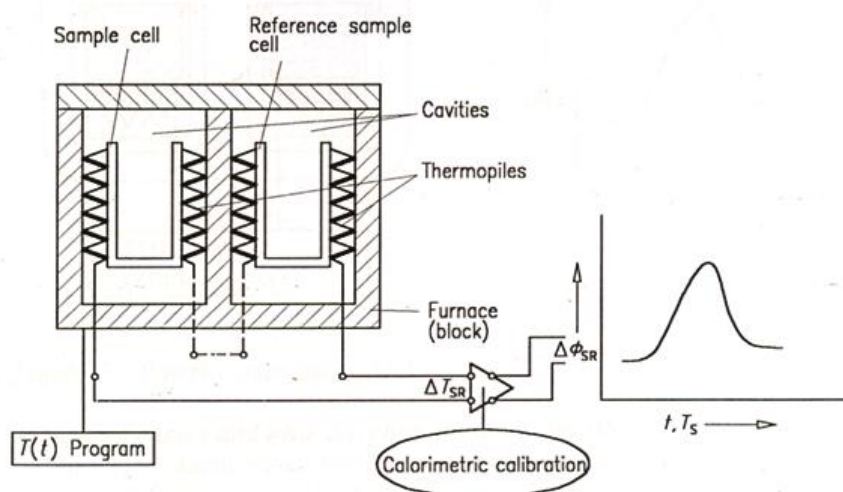
a) diskový typ DSC

b) cylindrický typ DSC²

obr. č.1 – Diskový typ DSC s tepelným tokem²



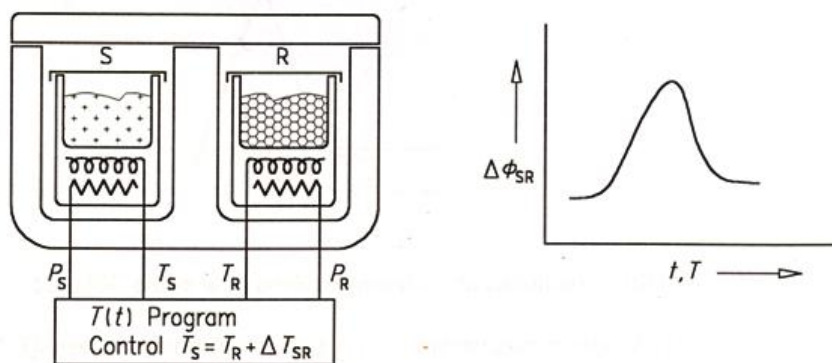
obr. č.2 – Cylindrický typ DSC s tepelným tokem²



U metody DSC s výkonovou kompenzací se měří kompenzační příkon potřebný k vyrovnání exotermické nebo endotermické reakce měřeného vzorku a tím navození rovnovážných podmínek mezi měřeným vzorkem a referenční látkou².

Obě misky jsou individuálně monitorovány ve dvou samostatných ohřivačích. Dokud ve vzorku nedojde k žádné změně, mají misky stejnou teplotu. Při výskytu nějaké změny je upraven stupeň ohřívání tak, aby teploty zůstaly stejné².

obr. č.3 – DSC s výkonovou kompenzací²

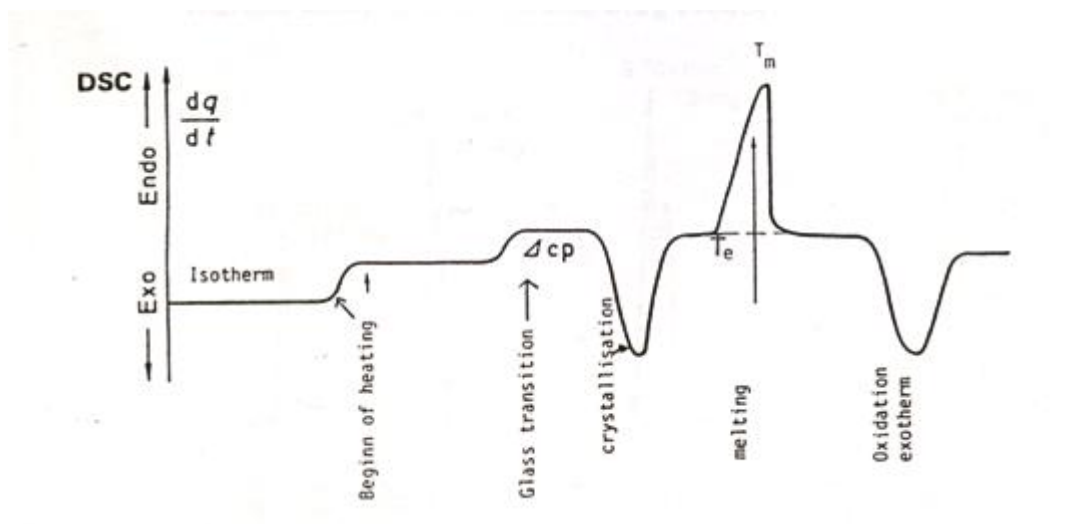


Většinou se používají hliníkové kelímky pro teplotu do 500°C. Pro teploty vyšší nebo pro vzorky reagující s hliníkovým kelímkem se používají zlaté nebo grafitové, někdy jsou vhodné skleněné. Někdy je kelímek s víčkem jen složen. Zatímco u těkavých vzorků je vhodné vytvořit těsný uzávěr schopný odolávat tlaku 2 - 3 bary³.

2.1.1 Charakteristika naměřených křivek a hodnot

Výsledky měření jsou popisovány křivkou, která ukazuje vlastnosti nebo změny vlastností vzorku závislé na teplotě či času v grafickém uspořádání. Podává nám informace kvalitativní i kvantitativní².

obr. č.4 – Typický záznam DSC křivky⁴



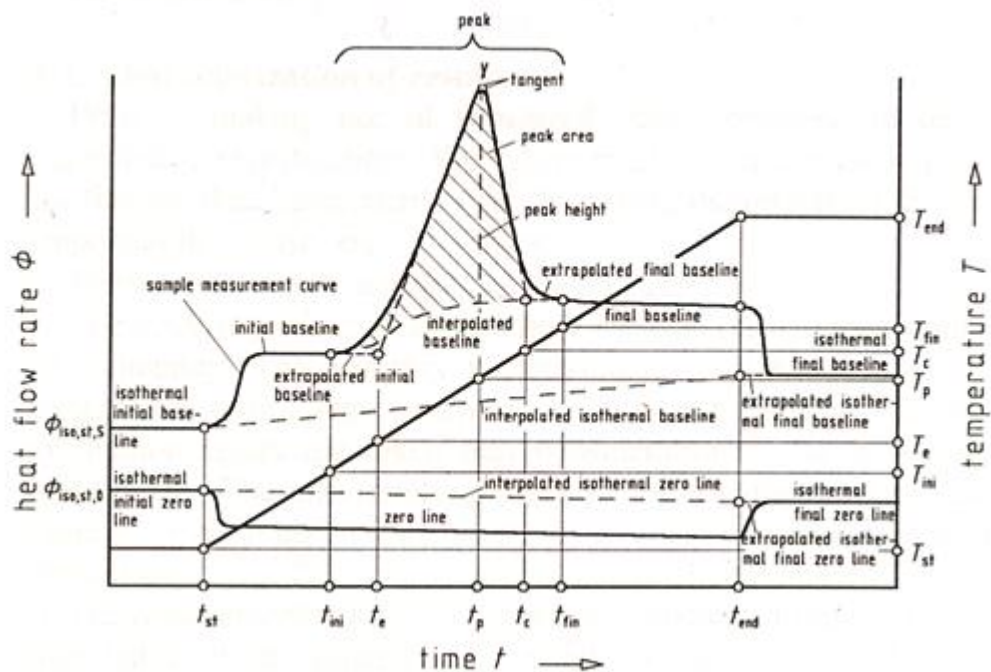
T_e je extrapolovaná teplota onsetu (odpovídá bodu tání nebo varu)

T_m je teplota v bodě maxima píku

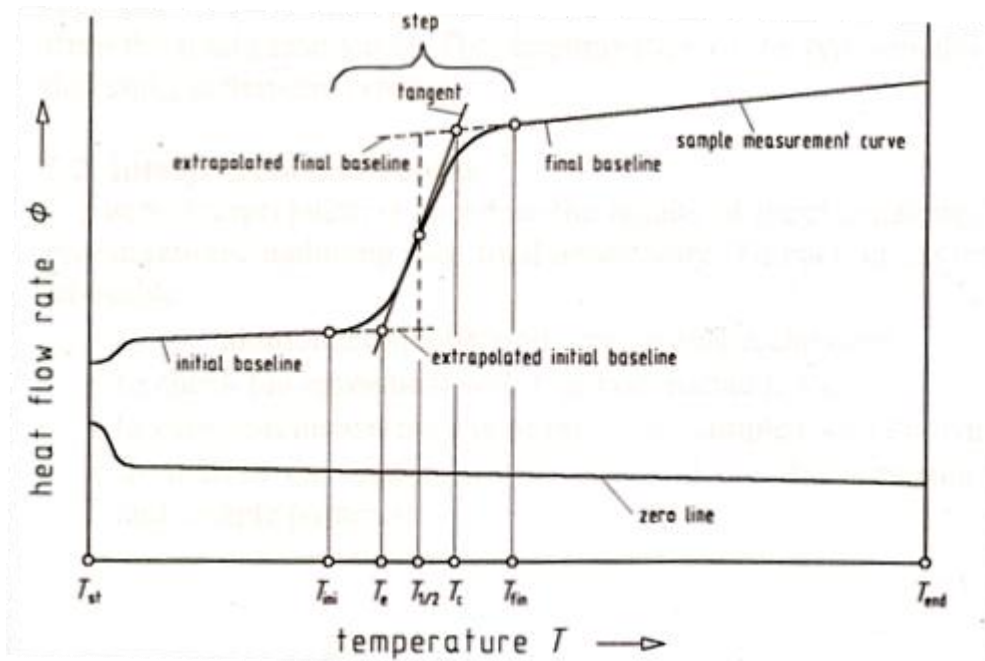
Typický průběh DSC záznamu (obr. č.4) znázorňuje některé měřitelné změny vzorku. Mezi něž patří různé fázové přechody prvního či druhého řádu, při kterých dochází k pohlcení či uvolnění určitého tepla. Tavení, var, sublimace, ... jsou endotermické přechody prvního řádu, krystalizace, oxidace jsou exotermické přechody prvního řádu. Dle způsobu prezentace je tepelný tok endotermický pozitivní stranou pro DSC s výkonovou kompenzací či negativní stranou u DSC s tepelným tokem. Skelný přechod patří mezi reakce druhého řádu a je určen jako inflexní bod^{3,4}.

Na obr. č.5 a č.6 jsou znázorněny termíny popisující charakteristické body a části měřené křivky. Vysvětleny jsou níže^{2,3}.

obr. č.5 – Příklad DSC křivky s píkem²



obr. č.6 – Příklad DSC křivky se schodem²



Měřená křivka – grafické znázornění naměřených hodnot jako funkcí času nebo teploty.

Nulová linie (zero line) – měřená křivka prázdného měřicího zařízení (bez vzorků a kelímků nebo prázdné kelímky).

Pík (peak) – část měřené křivky zahrnující vzestupnou část, maximum a sestupnou část, nebo sestupnou část, minimum a vzestupnou část. Vzniká ve specifickém časovém / teplotním intervalu v důsledku změn vzorku.

Schod (step) - část měřené křivky zahrnující vzestupnou část a inflexní bod, nebo sestupnou část a inflexní bod. Vzniká ve specifickém časovém / teplotním intervalu v důsledku změn vzorku.

Plató, stabilizovaný stav (plateau) – úsek křivky s konstantním nebo téměř konstantním signálem ve specifickém časovém / teplotním intervalu.

Základní linie (baseline) – část měřené křivky mimo oblast píku či schodu, odpovídající minimálním změnám ve vzorku.

Isotermická základní linie (isothermal baseline) – část měřené křivky, kdy je nastavená teplota ohříváče udržována konstantní a ve vzorku neprobíhají žádné změny.

Iniciální základní linie (initial baseline) – úsek měřené křivky před píkem či schodem, ve kterém ještě neprobíhají žádné změny ve vzorku.

Finální základní linie (final baseline) – úsek měřené křivky za píkem či schodem, ve kterém už neprobíhají žádné další změny ve vzorku.

Isotermická iniciální základní linie (isothermal initial baseline) – úsek měřené křivky před začátkem dynamické fáze teplotního programu, kdy je nastavená teplota ohříváče udržována konstantní a ve vzorku neprobíhají žádné změny.

Isotermická finální základní linie (isothermal final baseline) – úsek měřené křivky po skončení dynamické fáze teplotního programu, kdy nastavená teplota ohříváče je udržována konstantní a ve vzorku neprobíhají žádné změny.

Termíny používané k vyhodnocování měřených křivek jsou uvedeny níže:

Interpolovaná (vložená) základní linie (interpolated baseline) – křivka interpolovaná v oblasti píku, spojující iniciální a finální základní linii, jako by ve vzorku neproběhly žádné změny.

Interpolovaná (vložená) isotermická základní linie (interpolated isothermal baseline) – křivka interpolovaná v dynamické fázi programu, spojující isotermickou

iniciální a isotermickou finální základní linii, jako by nebyl proveden žádný dynamický teplotní program.

Extrapolovaná (protažená) iniciální základní linie (extrapolated initial baseline) – iniciální základní linie extrapolovaná do oblasti píku či schodu, jako by ve vzorku žádné změny neproběhly.

Extrapolovaná (protažená) finální základní linie (extrapolated final baseline) – finální základní linie extrapolovaná do oblasti píku či schodu, jako by ve vzorku žádné změny neproběhly.

Pomocí měřené křivky mohou být stanoveny následující charakteristiky:

Výška píku (peak height) – maximum, které se rovná rozdílu mezi píkem a interpolovanou základní linií.

Plocha píku (peak area) – plocha ohraničená píkem a interpolovanou základní linií mezi iniciálním a finálním bodem píku (t_{ini} a t_{fin}).

Výška schodu (step height) – maximum, které se rovná rozdílu mezi extrapolovanou iniciální základní linií a extrapolovanou finální základní linií, v místě teploty středního bodu schodu (viz níže).

Iniciální teplota píku / schodu T_{ini} (initial peak/step temperature) – teplota první zjistitelné odchylky měřené křivky od extrapolované iniciální základní linie v oblasti píku či schodu.

Finální teplota píku / schodu T_{fin} (final peak/step temperature) – teplota poslední zjistitelné odchylky měřené křivky od extrapolované finální základní linie v oblasti píku či schodu.

Extrapolovaná teplota počátku píku / schodu T_e , T_o (extrapolated peak/step onset temperature) – teplota průsečnice extrapolované iniciální základní linie a tangentu (či linie umístěné skrz lineární úsek) vzestupné nebo sestupné části píku či schodu.

Extrapolovaná teplota dokončení píku /schodu T_c , T_{end} (extrapolated peak/step completion temperature) – teplota průsečnice extrapolované finální základní linie a tangentu (či linie umístěné skrz lineární úsek) sestupné nebo vzestupné části píku či schodu.

Teplota v bodě maxima píku T_p (peak extremum temperature) – teplota, ve které je rozdíl mezi píkem a interpolovanou základní linií největší (maximum)

Teplota středního bodu schodu $T_{1/2}$ (step midpoint temperature) – teplota, při které v oblasti schodu je rozdíl mezi extrapolovanou iniciální základní linií a měřenou křivkou stejný jako rozdíl mezi měřenou křivkou a extrapolovanou finální základní linií.

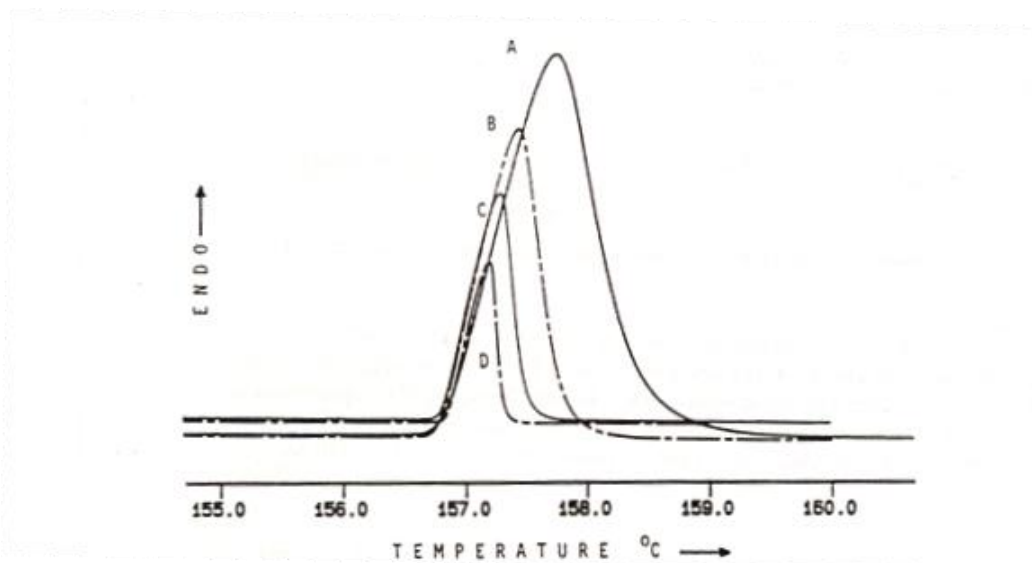
Pro většinu měření je pro nás hledanou hodnotou teplo přeměny ΔH (změna entalpie, odpovídá ploše píku vztažené na navážku vzorku a vynásobené tzv. přístrojovou konstantou). Plocha píku je přímo úměrná hledané veličině ΔH^{1-3} .

Důležitými charakteristikami píku je jeho počátek, vrchol, konec a extrapolované teploty počátku a dokončení píku^{1,2}.

2.1.2 Faktory ovlivňující průběh křivek

Faktorů ovlivňující průběh měřených křivek je spousta. Může se jednat o faktory instrumentálního charakteru, např. typ zařízení, systém měření teploty, záznamu křivky. Dále může jít o faktory metodické, kdy průběh křivek závisí na úpravě, hmotnosti vzorku, rychlosti ohřevu (viz obr. č.7), tlaku a složení atmosféry atd. Zanedbatelné nejsou ani faktory závisejících na fyzikálně – chemických vlastnostech měřených látek (rozpustnost, rychlost rozpouštění, hygroskopičnost, stabilita, reaktivnost, viskozita, hustota, krystalická tvrdost, tepelná kapacita atd.)^{3,4}.

obr. č.7 – Vliv rychlosti ohřevu na křivku tání čistého india⁴



A) 10°C/min, B) 5°C/min, C) 2,5°C/min, D) 1,25°C/min

Při krystalizaci se mohou objevit různé fáze (polymorfni, amorfni, pseudo-polymorfni), které také ovlivňují kinetiku přechodu^{3,4}.

Polymorfni látky mají tendenci krystalizovat v různých krystalických modifikacích (mají jiné vnitřní uspořádání). V pevném stavu vykazují odlišné vlastnosti. Enantiotropní formy jsou schopny přecházet oboustranně z jednoho stavu do druhého. Monotropní formy přechází pouze v jednom směru.

Amorfni stav je charakterizován krystalizací v neuspořádaném, náhodném systému související s kapalinami. Rychlým ochlazením taveniny pod tzv. teplotu skelného přechodu se krystalizující látka může převést na amorfni formu.

Výraz pseudo-polymorfni stav se používá u hydrátů či solvátů, kdy se cizorodé složky (rozpuštědla) podílí na struktuře krystalické formy.

2.1.3 Kalibrace přístrojů

Všechny DSC přístroje musí být správně kalibrovány a pravidelně kontrolovány. Pro kalibraci se používají různé standardy s certifikátem čistoty (např. National Bureau of Standards, NBS, the UK Laboratory of the Government Chemist, LGC³). Musí mít ostře ohraničenou teplotu tání a známé měrné teplo. Pro kalibraci za vyšší teploty se používá kyselina benzoová (147,4 J/g), indium (28,5 J/g), naftalen /28,5 J/g), na nižší teploty voda (334 J/g), cyklohexan (31,1 J/g)⁴.

2.1.4 Využití DSC

Využití DSC je velmi široké. Mezi její výhody patří nejen použití malého množství vzorku, ale i široký teplotní interval pohybující se od záporných hodnot až k teplotám 1200°C – 1500°C a dále dostatečná přesnost měření⁴.

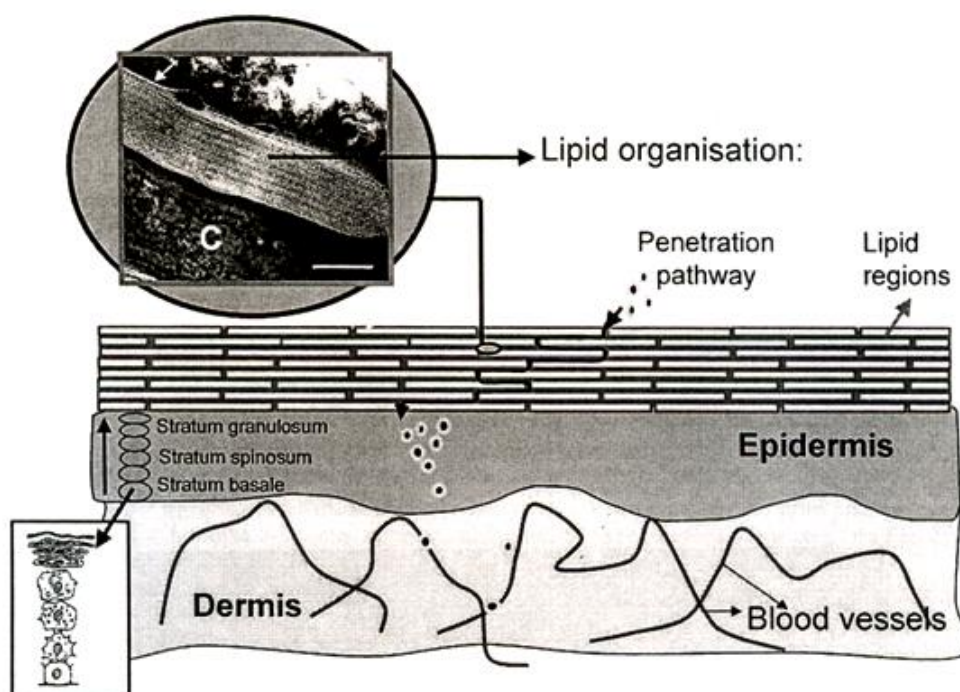
Objevuje se v pracích zabývajících se určením příměsí, detekcí fázových přeměn včetně sublimací, aplikacemi v polymerech, určením tepelné kapacity, kinetickou reakcí, kritickou velikostí vzorku, metastabilními stavy a skly atd^{1,2}.

Je široce používána i ve farmacii. DSC umožňuje charakterizovat výchozí suroviny, léčivé a pomocné látky, výsledné lékové formy¹.

2.2 Kožní lipidy

Kůže je složena ze dvou hlavních vrstev – dermis a epidermis. Dermis je spodní část a je tvořena fibroblasty a extracelulární matrix a je bohatě zásobena kapilárami a nervovými zakončeními. Epidermis sestává ze čtyř vrstev – stratum basale, spinosum, granulosum a corneum⁶.

obr. č.8 – Složení kůže⁷



Stratum corneum (rohová vrstva, SC), konečný produkt diferenciacie epidermálních buněk, je nejsvrchnější vrstvou kůže a je zodpovědná za její bariérovou funkci. Je tvořena obvykle 18-21 vrstvami buněk a intercelulární hmotou složenou ze specifických lipidů. Tato struktura je často nazývána jako „cihly a malta“, kde korneocyty reprezentují „cihly“ a lipidová matrix v mezibuněčných prostorech „malta“^{6,9}. SC je složeno ze 75-80% proteinů, 5-15% lipidů a zbytek tvoří další organické sloučeniny a voda. Intercelulární prostor je vyplněn směsí specifických lipidů s malým množstvím vody. Tvoří lamely, složené z několika dvojvrstev, jejichž hydrofobní část směřuje dovnitř a hydrofilní vně⁶.

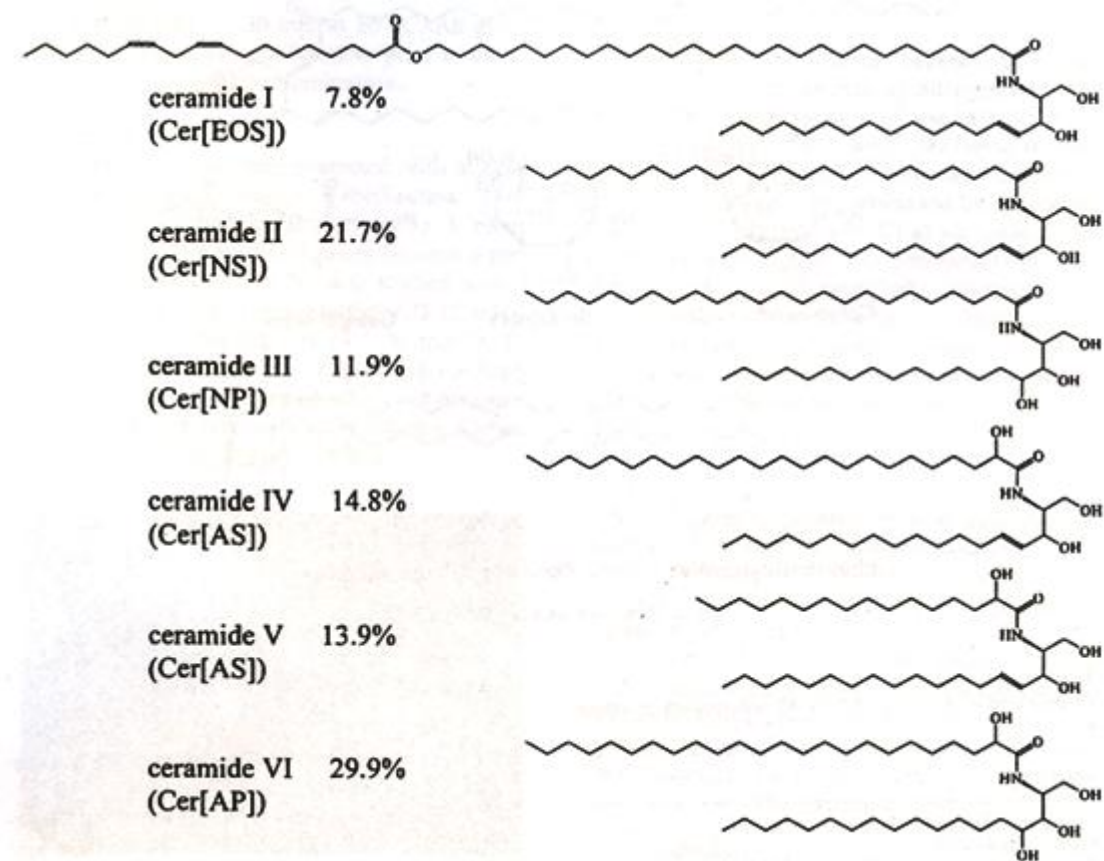
Lipidy jsou tvořeny přibližně z 50% ceramidy, 25% cholesterolem, 10% volnými mastnými kyselinami a zbytek tvoří organické estery cholesterolu, cholesterol sulfát a glukosylceramidy⁶.

Zajímavé je, že v těchto lamelách nejsou přítomny fosfolipidy⁶. Ty jsou obsaženy v buněčných membránách. Při styku s vodou jsou amfoterní fosfolipidy spontánně uspořádány do lipidové dvojvrstvy^{10,11}. Interlamelární voda nemrzne ani při chlazení až na teplotu -40°C ¹².

Ceramidy jsou bazické nenasycené alkoholy (sfingosin, 6-hydroxysfingosin nebo fytosfingosin) amidicky vázané s mastnou kyselinou (většinou s 24uhlíkatým řetězcem, nesubstituované nebo hydroxykyseliny)⁸.

Ceramidy jsou hlavní složkou epidermálních lipidů. Jejich relativní poměr ve SC je na obr. č.9⁸. Podle nových studií je 9 typů ceramidů¹³. Na zastoupení jednotlivých typů ceramidů je závislý výskyt lamelární fáze. Běžně převažuje krystalická lamelární fáze s periodicitou 13nm, ale pokud chybí ceramid 1, převažuje krystalická lamelární fáze s periodicitou 6nm. To má vliv na termální a optické vlastnosti¹⁴. Studování těchto jevů bylo zkoumáno i na směsi ceramid a cholesterol či ceramid, cholesterol a volná mastná kyselina^{15,16}.

obr. č.9 – Struktura a relativní zastoupení ceramidů ve SC⁸



Cholesterol je v lamelách uspořádan asymetricky, jak bylo zjištěno ve studiích zaměřených na funkci cholesterolu ve SC^{17,18}. Jedná se o steroidní látku s teplotou tání 157°C¹⁹. Přidáním volné mastné kyseliny dochází ke zvýšení rozpustnosti cholesterolu¹⁶. V přítomnosti 5% a více vody není zaručeno, že bude cholesterol nahydratován²⁰.

Volné mastné kyseliny zastoupené ve SC jsou nenasycené či nasycené s 16-18uhlíkatým řetězcem⁸. Příkladem může být kyselina olejová, která vykazuje dva endotermické píky – při 5,3°C a 12,3°C. V přítomnosti ceramidu se objevuje pík při 5,5°C, 12,3°C a při 58°C (čistý ceramid má teplotu tání 96°C, která se ve směsi s vodou snižuje přibližně o 15°C)²¹.

Fázové chování všech součástí je silně závislé na pH směsi. Fyzikálně chemické charakteristiky mohou být zjišťovány pomocí DSC⁸, která je využívána i při zkoumání interakcí mezi lipidy a vodou²².

3. Pracovní úkol

Tato práce patří do souboru prací zabývajících se interakcí epidermálních lipidů pomocí DSC. Je první, která má možnost použít při měření kelímky odolávající vnitřnímu tlaku do hodnoty 10 MPa, a proto může zjišťovat interakce těchto látek s vodou.

Pracovní úkol je možné rozčlenit na několik částí:

1) Charakteristika výchozích surovin, a tam, kde je to vhodné, jejich dvousložkových směsí.

2) DSC měření směsí epidermálních lipidů s vodou. Cílem je ověřit a detailněji propracovat v literatuře ne zcela jednoznačně uváděné pracovní postupy. Měření bude probíhat v první fázi na vzorcích obsahující z lipidických složek cholesterol, kyselinu olejovou a látku odpovídající svojí strukturou ceramidům. V případě komplikací při měření je možné kyselinu olejovou vynechat.

4. Experimentální část

4.1 Použité přístroje

1. DSC 200 PC Phox[®] - diferenciální skenovací kalorimetr s tepelným tokem.

výrobce: Netzsch – Gerätebau, Německo

teplotní rozsah: -150°C – +600°C

rychlost ohřevu: 0,1 K/min - 99,9 K/min

kalorimetrický rozsah: ± 750 mW

citlivost kalorimetru: 4 – 4,5 $\mu\text{V/mW}$ (indium)

chlazení: Dewarova nádoba 26l s tekutým dusíkem

zahřívání: cirkulační topné těleso kolem senzoru

kelímky odolávající tlaku 10 MPa, objem: 25 μl

2. Ruční lis pro víčkování kelímků
3. Digitální analytické váhy CAHN 26, CAHN Instruments, USA
4. Magnetická míchačka s vyhříváním, Fisher Scientific, Kanada
Skleněné lahvičky nepropouštějící páry
5. Vakuová odparka
6. Exsikátor (sorbent: tvrdý parafín, pod vakuem)

4.2 Seznam surovin a jejich značení v práci

1. Pseudo-ceramid (tetradecylester N-tetrakosanoyl-(L)-serinu) 14S24 (C) – Katedra anorganické a organické chemie
2. Cholesterol (Ch) – čistota 99%, Sigma – Aldrich chemie
3. Kyselina olejová (Ol) – > 98%, Fluca chemica
4. Cholesterol sulfát (ChS) – Sigma – Aldrich chemie
5. Ultra-čistá voda (V) – Katedra biochemických věd Faf HK

4.3 Složení vzorků a jejich příprava

Na DSC byly měřeny některé **suroviny** – naváženy přímo do kelímku:

Pseudo-ceramid (3,15mg)

Cholesterol (13,74mg)

Kyselina olejová (9,04mg)

Cholesterol sulfát (2,26mg)

Voda (19,48mg)

Dále byly měřeny **vzorky různého složení**:

vzorek č.7 – Ch.71.Ol.29

- přesné složení vzorku (14,22mg): Cholesterol 10,16mg . .71,43% (poměr 25:10)
Kyselina olejová 4,06mg . .28,57%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy do lahvičky, na vodní lázni zahřáty a promísены, poté naváženo do kelímku

vzorek č.8 hydratovaný v kelímku – C.22.Ch.11.Ol.42.ChS.1.V.24

- přesné složení vzorku (34,85mg): Pseudo-ceramid 7,54mg 21,63%
Cholesterol 3,67mg 10,53%
Kyselina olejová 14,82mg 42,53%
Cholesterol sulfát 0,34mg. 0,98%
+ Voda 8,48mg 24,33%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy přímo do kelímku

vzorek č.9 bezvodý – C.54.Ch.27.Ol.14.ChS.5

- přesné složení vzorku (3,28mg):

Pseudo-ceramid	1,79mg	54,46%
Cholesterol	0,89mg	27,05%
Kyselina olejová	0,44mg	13,51%
Cholesterol sulfát	0,16mg	4,98%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy a zhomogenizovány, tj. rozpuštěny v chloroformu, který byl odpařen na vakuové odparce (+ minimálně 24 hodin v exsikátoru pod tvrdým parafínem ve vakuovém prostředí), poté byla směs navážena do kelímku

vzorek č.9 hydratovaný v kelímku – C.11.Ch.5.Ol.3.ChS.1.V.80

- přesné složení vzorku (15,3mg):

Pseudo-ceramid	1,63mg	10,68%
Cholesterol	0,81mg	5,30%
Kyselina olejová	0,41mg	2,65%
Cholesterol sulfát	0,15mg	0,98%
+ Voda	12,30mg	80,39%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy (kromě vody) a zhomogenizovány na odparce (viz vzorek č.9 bezvodý), poté byla směs navážena do kelímku a byla přidána voda (hydratace vzorku přímo v kelímku)

vzorek č.9 hydratovaný na lázni – C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85

- přesné složení vzorku (22,37mg):

Pseudo-ceramid	1,85mg	8,28%
Cholesterol	0,92mg	4,11%
Kyselina olejová	0,46mg	2,06%
Cholesterol sulfát	0,17mg	0,76%
+ Voda	18,97mg	84,79%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy (kromě vody) a zhomogenizovány na odparce (viz vzorek č.9 bezvodý), poté byla směs navážena do lahvičky, přidána voda a na vodní lázni hydratována 20 minut při 65°C, 25 minut při 75°C, 10 minut při 20°C, 15 minut při 80°C
poté 3x cyklus– 5 minut při 20°C
– 10 minut při 85-90°C
poté směs chladla z 90°C na 20°C 60 minut
poté byla navážena do kelímku

vzorek č.11 hydratovaný na lázni – C.11.Ch.6.V.83

- přesné složení vzorku (7,89mg):

Pseudo-ceramid	0,87mg	11,0%
Cholesterol	0,43mg	5,5%
+ Voda	6,59mg	83,5%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy do lahvičky a na vodní lázni hydratováno 120 minut při 55°C (beze změny),
10 minut při 80°C,
poté byla směs navážena do kelímku

vzorek č.11b bezvodý – C.67.Ch.33

- přesné složení vzorku (4,27mg):

Pseudo-ceramid	2,85mg	66,83%
Cholesterol	1,42mg	33,17%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy a zhomogenizovány, tj. rozpuštěny v chloroformu, který byl odpařen na vakuové odparce (+ minimálně 24 hodin v exsikátoru pod tvrdým parafinem ve vakuovém prostředí), poté byla směs navážena do kelímku

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) – C.11.Ch.5.V.84

- přesné složení vzorku (15,94mg):

Pseudo-ceramid	1,76mg	11,04%
Cholesterol	0,87mg	5,47%
+ Voda	13,31mg	83,49%

- postup přípravy vzorku: chemické substance naváženy (kromě vody) a homogenizovány na odparce (viz vzorek č.11 bezvodý), poté byla směs navážena do lahvičky, přidána voda a na vodní lázni hydratována 40 minut při 75°C, poté byla směs navážena do kelímku

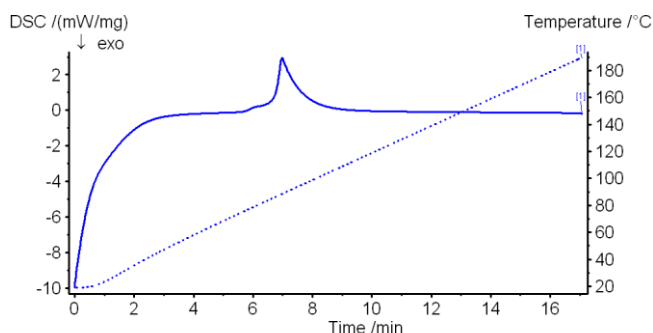
4.4 Výsledky experimentu

4.4.1 Průběhy měření surovin a dvousložkových směsí s teplotními programy

GRAF č. 1

Pseudo-ceramid 3,15mg
měřeno 23.3.2007 12:26

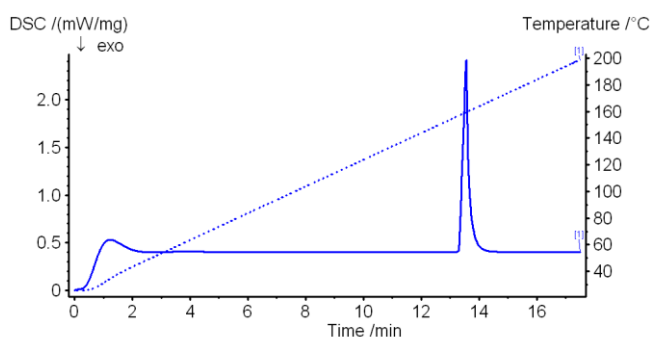
teplotní program: 20 ↑ 230 (10°C/min)



GRAF č. 2

Cholesterol 13,74mg
měřeno 15.6.2007 9:19

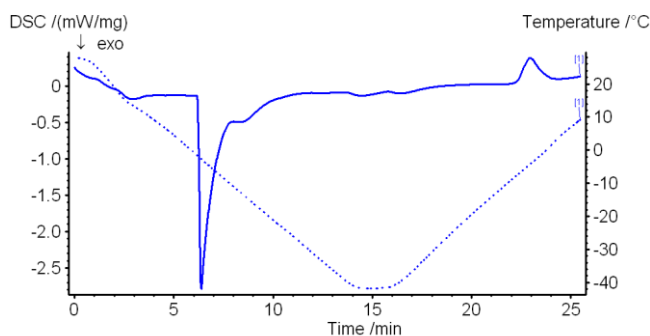
teplotní program: 25 ↑ 200 (10°C/min)



GRAF č. 3

Kyselina olejová 9,04mg
měřeno 22.3.2007 14:01

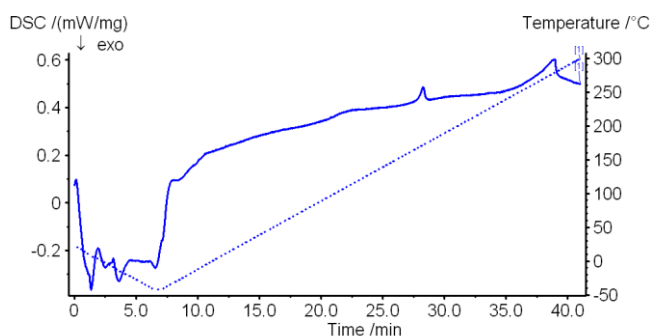
teplotní program: 28 ↓ -40 (5°C/min)
temperace 2min ↑ 50 (5°C/min)



GRAF č. 4

Cholesterol sulfát 2,26mg
měřeno 8.11.2006 16:11

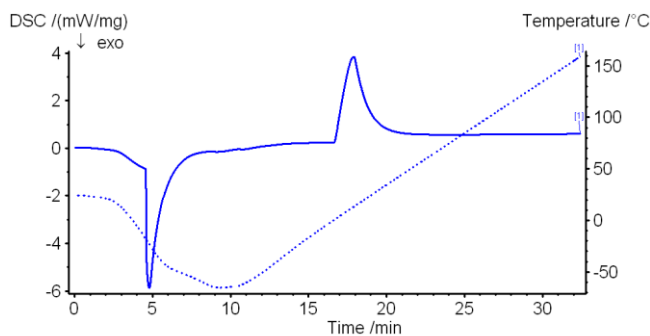
teplotní program: 20 ↓ -40 (10°C/min)
temperace 1min ↑ 300 (10°C/min)



GRAF č. 5

Voda 19,48mg
měřeno 27.3.2006 8:55

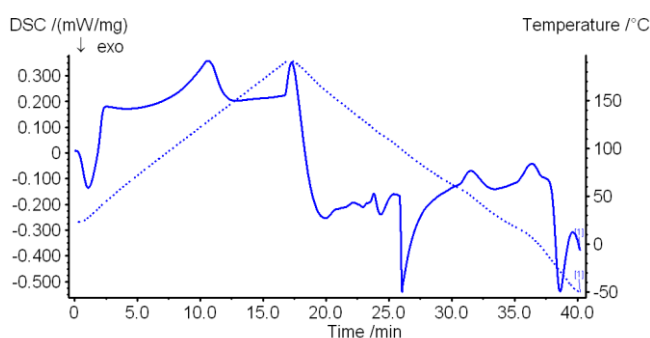
teplotní program: 24 ↓ -60 (10°C/min)
temperace 2min ↑ 160 (10°C/min)



GRAF č. 6

vzorek č.7 – Ch.71.OI.29. 14,22mg
měřeno 23.3.2007 10:41

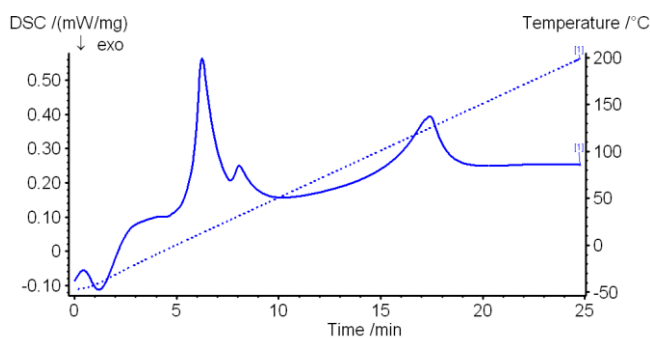
teplotní program: 23 ↑ 190 (10°C/min)
↓ -40 (10°C/min)
= 1.ohřev



GRAF č. 7

vzorek č.7 – Ch.71.OI.29. 14,22mg
měřeno 23.3.2007 11:23

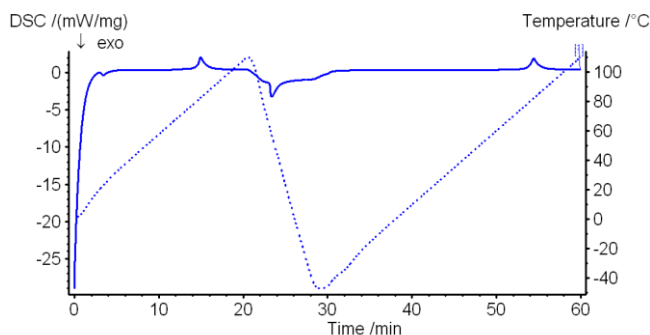
teplotní program: -40 ↑ 220 (10°C/min)
= 2.ohřev



GRAF č. 8

vzorek č.11 bezvodý C.67.Ch.33. 4,27 mg
měřeno 24.4.2007 14:48

teplotní program: 8 ↑ 110 (5°C/min) ↓
-40 (20°C/min) temperace 2min ↑ 110
(5°C/min)
= 1., 2.ohřev

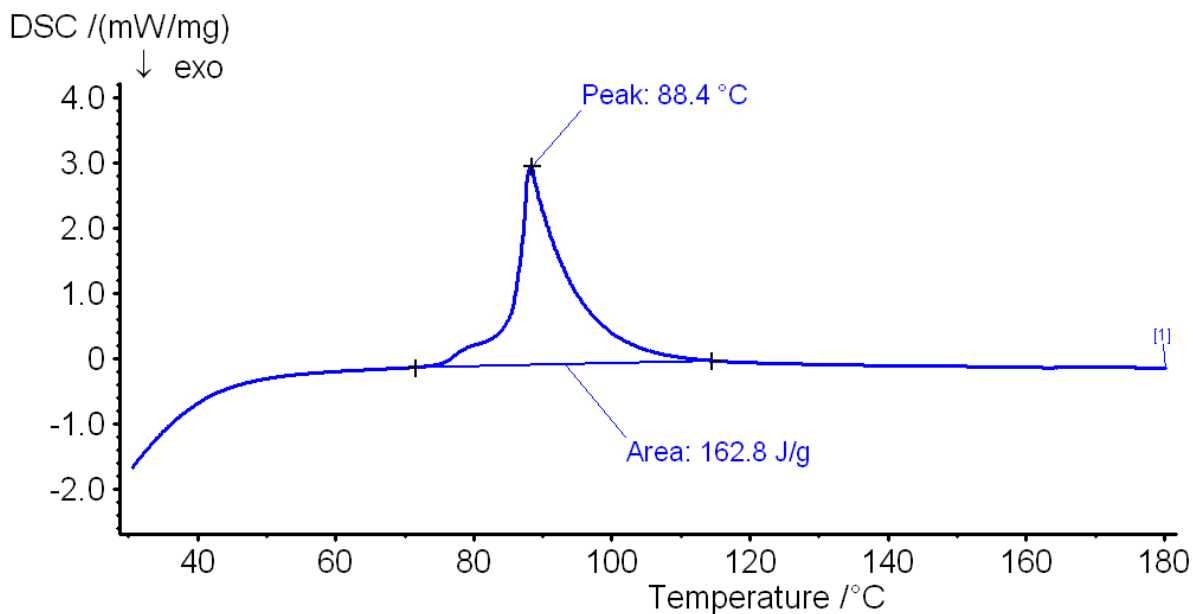


Záznamy měření surovin a dvousložkových směsí

4.4.1.1 Pseudo-ceramid

GRAF č. 9

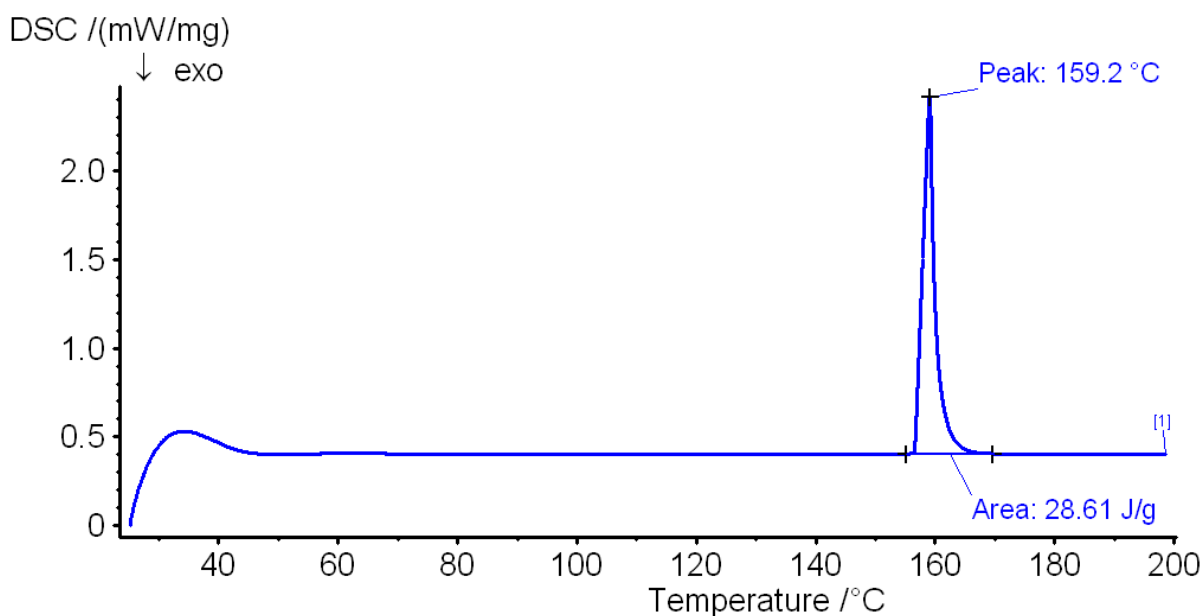
Pseudo-ceramid – Záznam ohřevu



4.4.1.2 Cholesterol

GRAF č. 10

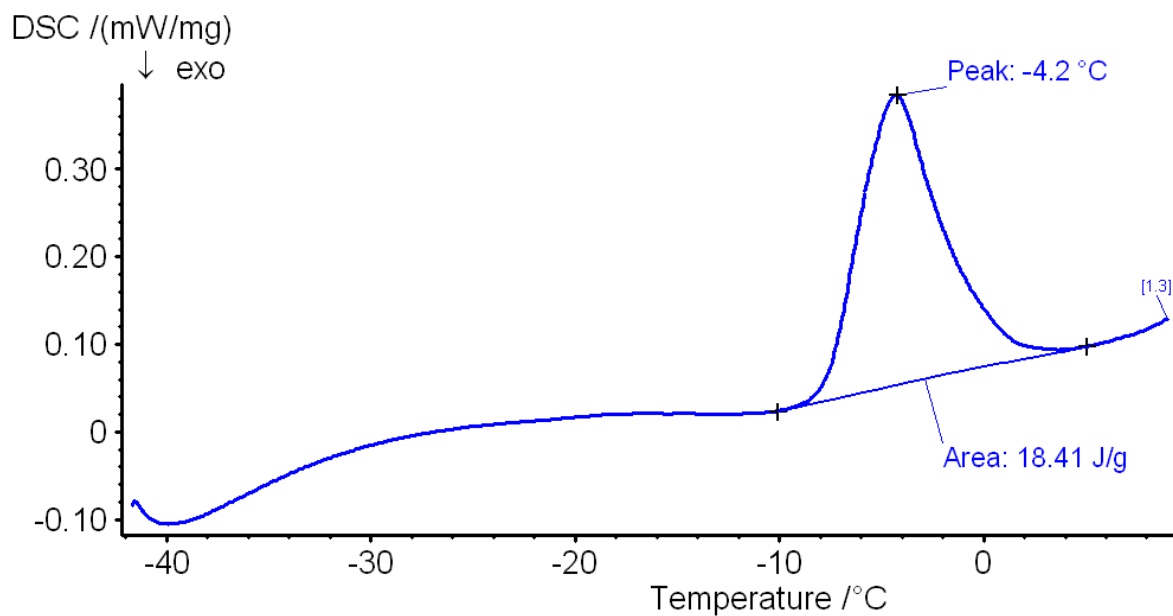
Cholesterol – Záznam ohřevu



4.4.1.3 Kyselina olejová

GRAF č. 11

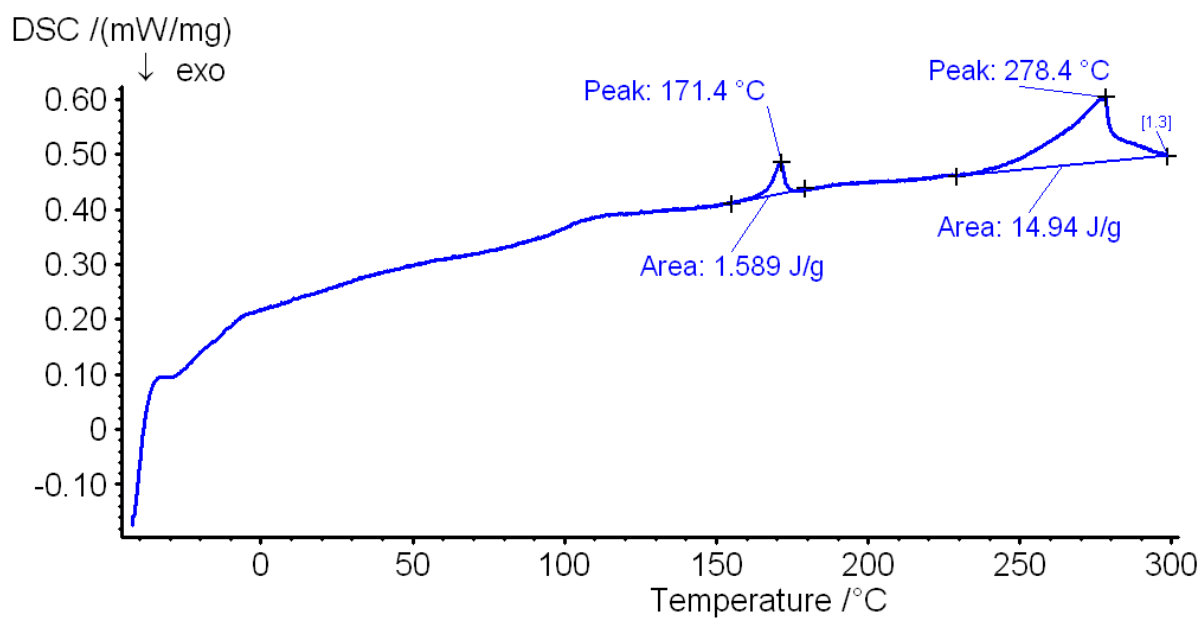
Kyselina olejová – Záznam ohřevu



4.4.1.4 Cholesterol sulfát

GRAF č. 12

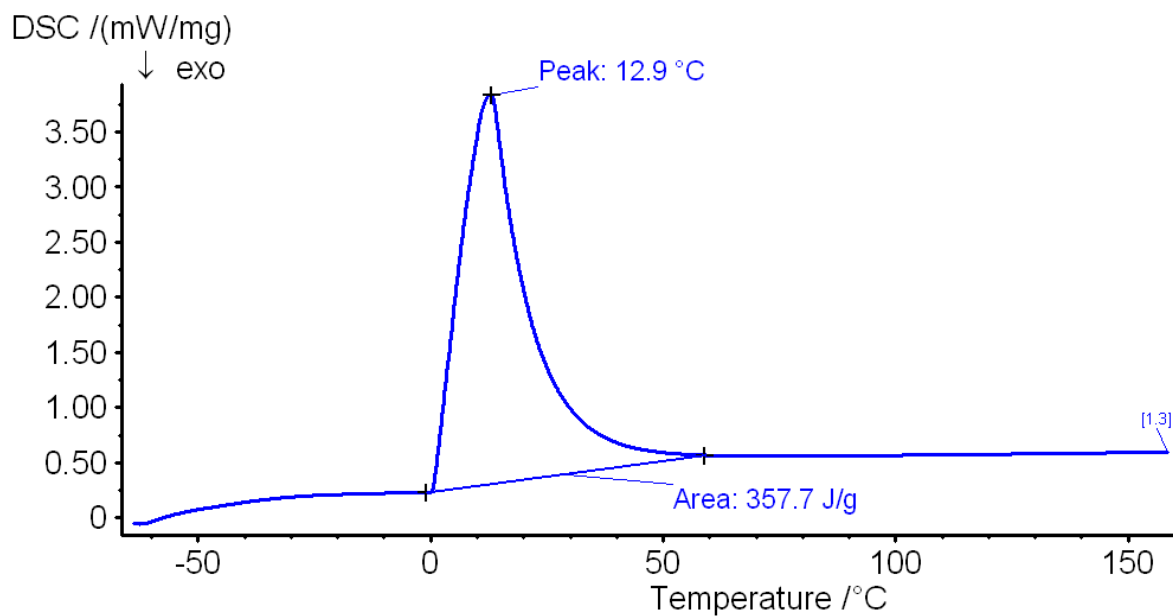
Cholesterol sulfát – Záznam ohřevu



4.4.1.5 Voda

GRAF č. 13

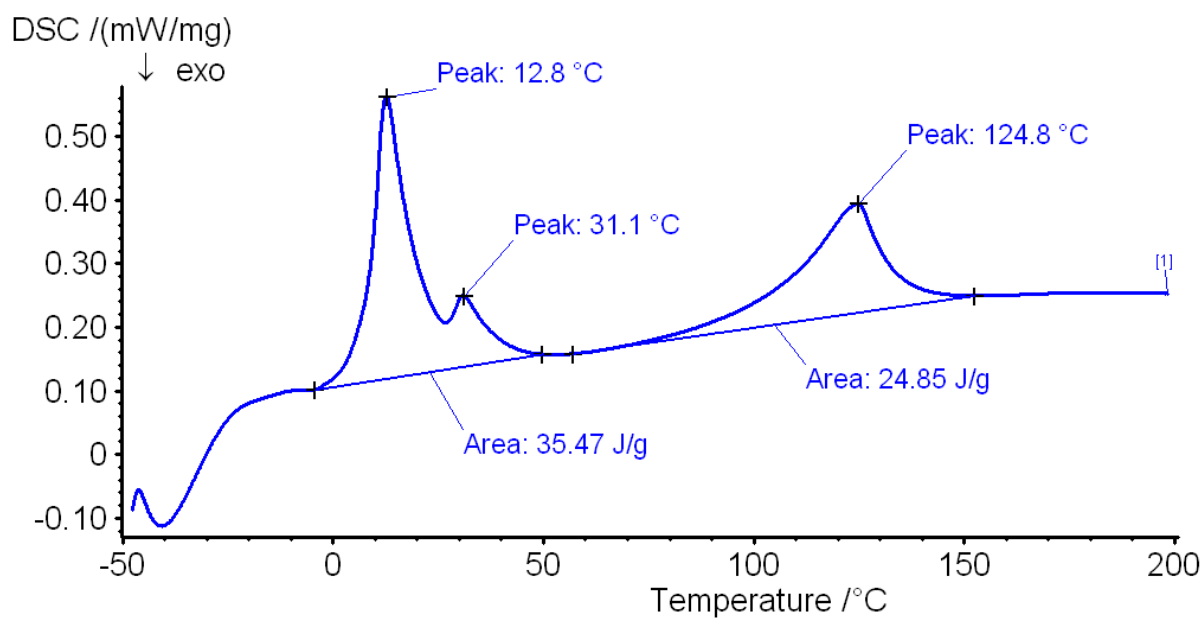
Voda – Záznam ohřevu



4.4.1.6 Cholesterol a kyselina olejová

GRAF č. 14

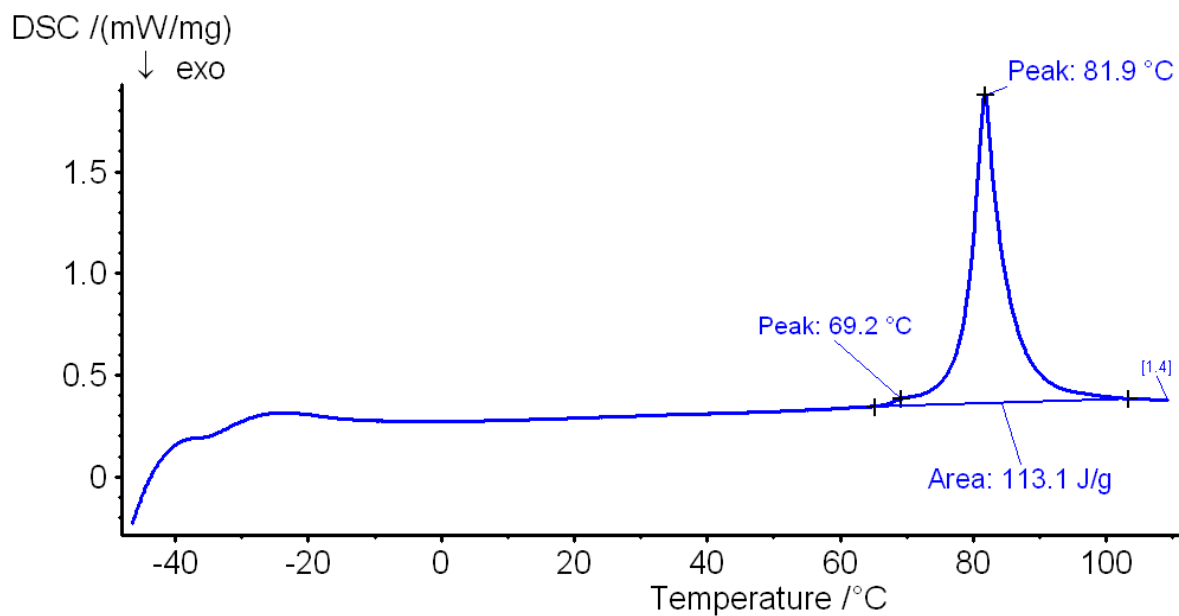
Vzorek č.7 (cholesterol 71% a kyselina olejová 21%) – Záznam 2.ohřevu



4.4.1.7 Cholesterol a pseudo-ceramid (bezvodý vzorek č.11b)

GRAF č. 15

Vzorek č.11b bezvodý (pseudo-ceramid 67% a cholesterol 33%) – Záznam 2.ohřevu

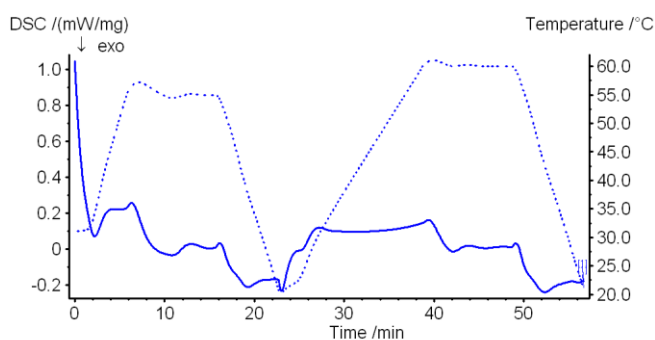


4.4.2 Průběhy měření vícesložkových směsí s teplotními programy

GRAF č. 16

vzorek č.8 – C.22.Ch.11.Ol.42.ChS.1.V.24
34,85mg
měřeno 23.3.2007 13:38

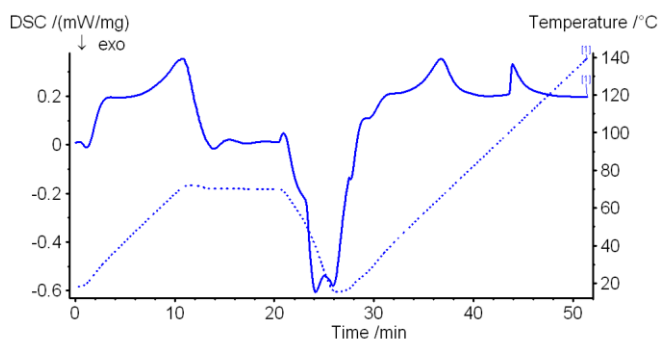
teplotní program: 27 ↑ 55 (5°C/min)
temperace 10min ↓ 20 (5°C/min) ↑ 60
(2,5°C/min) temperace 10min ↓ 20
(5°C/min)
= 1., 2.ohřev



GRAF č. 17

vzorek č.8 – C.22.Ch.11.Ol.42.ChS.1.V.24
34,85mg
měřeno 23.3.2007 14:39

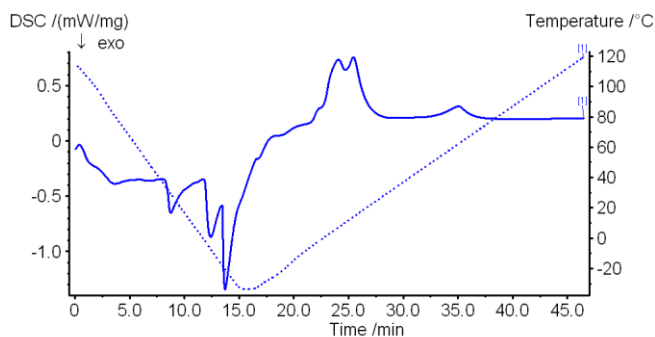
teplotní program: 18 ↑ 70 (5°C/min)
temperace 10min ↓ 20 (10°C/min)
temperace 2min ↑ 140 (5°C/min)
= 3., 4.ohřev



GRAF č. 18

vzorek č.8 – C.22.Ch.11.Ol.42.ChS.1.V.24
34,85mg
měřeno 23.3.2007 15:40

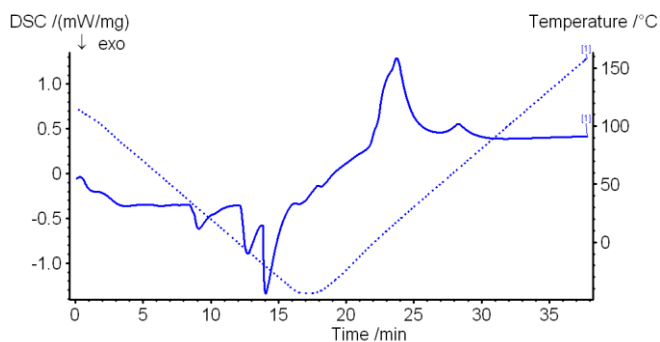
teplotní program: 115 ↓ -30 (10°C/min)
temperace 2min ↑ 120 (5°C/min)
= 5.ohřev



GRAF č. 19

vzorek č.8 – C.22.Ch.11.Ol.42.ChS.1.V.24
34,85mg
měřeno 23.3.2007 16:29

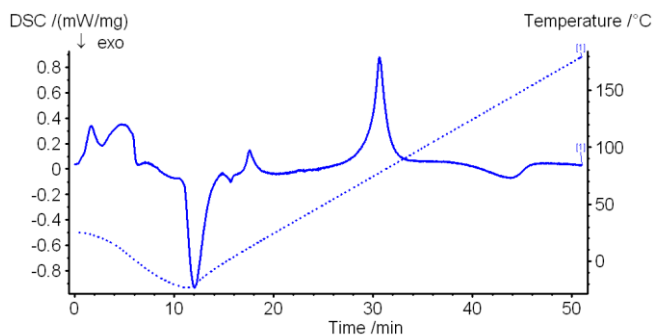
teplotní program: 118 ↓ -40 (10°C/min)
temperace 2 min ↑ 160 (10°C/min)
= 6.ohřev



GRAF č. 20

vzorek č.9 bezvodý
C.54.Ch.27.Ol.14.ChS.5. 3,28 mg
měřeno 26.3.2007 10:05

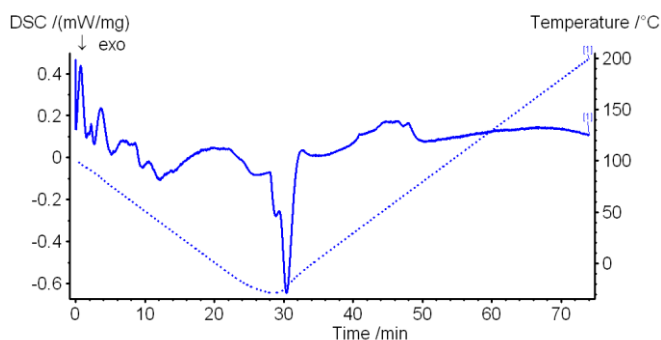
teplotní program: 25 ↓ -20 (5°C/min)
temperace 2 min ↑ 180 (5°C/min)
= 1.ohřev



GRAF č. 21

vzorek č.9 bezvodý
C.54.Ch.27.Ol.14.ChS.5. 3,28 mg
měřeno 26.3.2007 11:27

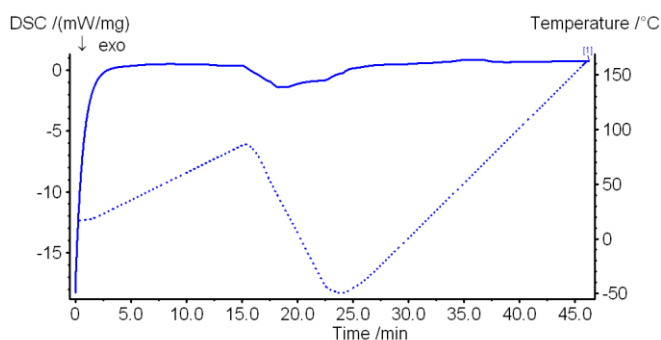
teplotní program: 100 ↓ -30 (5°C/min)
temperace 2min ↑ 200 (5°C/min)
= 2.ohřev



GRAF č. 22

vzorek č.9 bezvodý
C.54.Ch.27.Ol.14.ChS.5. 3,28 mg
měřeno 20.4.2007 14:41

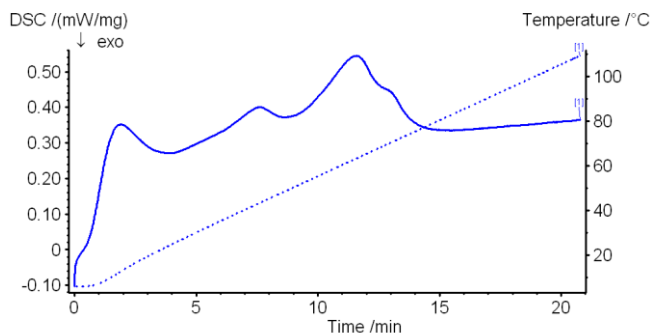
teplotní program: 15 ↑ 90 (5°C/min) ↓
-50 (20°C/min) temperace 2min ↑ 170
(10°C/min)
= 3., 4.ohřev



GRAF č. 23

vzorek č.9 bezvodý
C.54.Ch.27.Ol.14.ChS.5. 3,28 mg
měřeno 24.4.2007 12:26

teplotní program: 6 ↑ 110 (5°C/min)
= 5.ohřev



GRAF č. 24

vzorek č.9 bezvodý

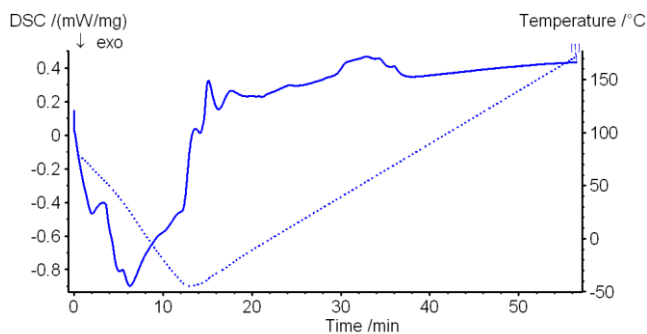
C.54.Ch.27.Ol.14.ChS.5. 3,28 mg

měřeno 24.4.2007 13:04

teplotní program: 80 ↓ -40 (10°C/min)

temperace 2min ↑ 200 (5°C/min)

= 6.ohřev



GRAF č. 25

vzorek č.9 bezvodý

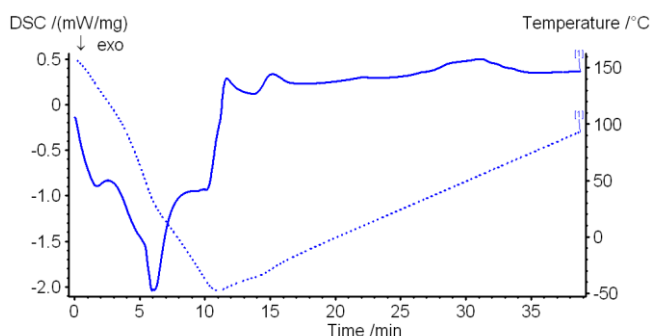
C.54.Ch.27.Ol.14.ChS.5. 3,28 mg

měřeno 24.4.2007 14:03

teplotní program: 160 ↓ -40 (20°C/min)

temperace 2min ↑ 100 (5°C/min)

= 7.ohřev



GRAF č. 26

vzorek č.9 hydratovaný v kelímku –

C.11.Ch.5.Ol.3.ChS.1.V.80. 15,3mg

měřeno 26.3.2007 13:11

teplotní program: 23 ↓ -40 (5°C/min)

temp.2min ↑ 70 (5°C/min) temp.5min ↓

20 (5°C/min) temp.2min ↑ 70 (5°C/min)

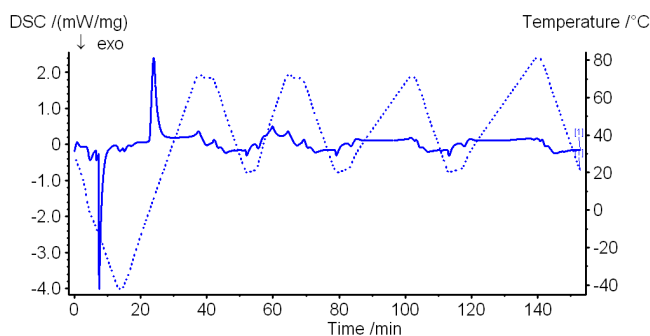
temp.5min ↓ 20 (5°C/min) temp.2min ↑

70 (2,5°C/min) temp.2min ↓ 20

(5°C/min) temp.2min ↑ 80 (2,5°C/min)

temp.2min ↓ 20 (5°C/min)

= 1., 2., 3., 4.ohřev



GRAF č. 27

vzorek č.9 hydratovaný v kelímku –

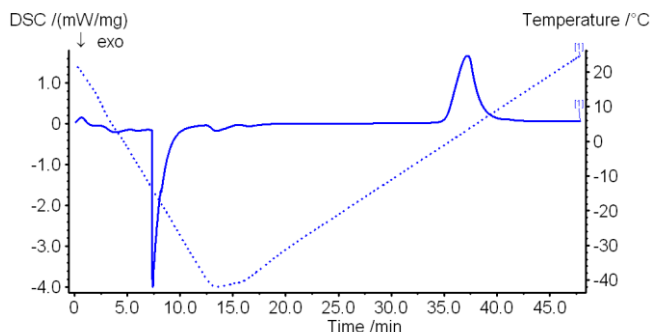
C.11.Ch.5.Ol.3.ChS.1.V.80. 15,3mg

měřeno 26.3.2007 15:52

teplotní program: 22 ↓ -40 (5°C/min)

temperace 3min ↑ 25 (2°C/min)

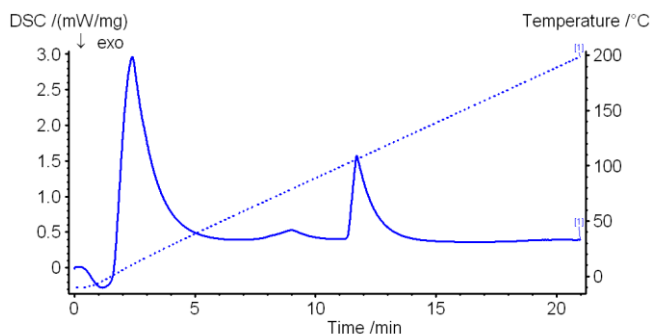
= 5.ohřev



GRAF č. 28

vzorek č.9 hydratovaný v kelímku –
C.11.Ch.5.Ol.3.ChS.1.V.80. 15,3mg
měřeno 26.3.2007 16:49

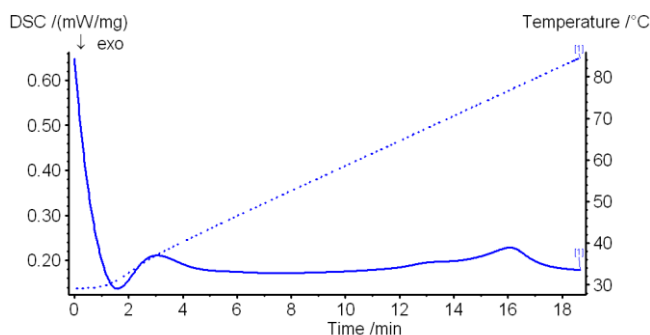
teplotní program: -10 ↑ 200 (10°C/min)
= 6.ohřev



GRAF č. 29

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 27.3.2007 11:21

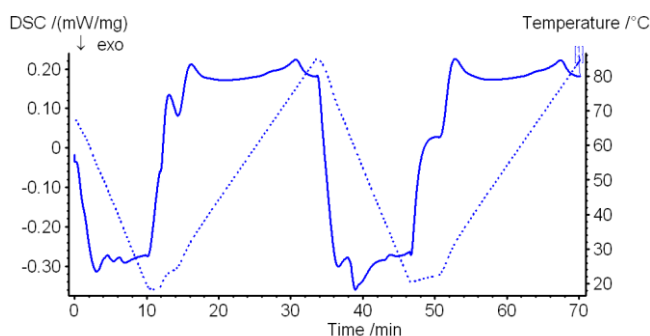
teplotní program: 29 ↑ 85 (3°C/min)
= 1.ohřev



GRAF č. 30

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 27.3.2007 11:55

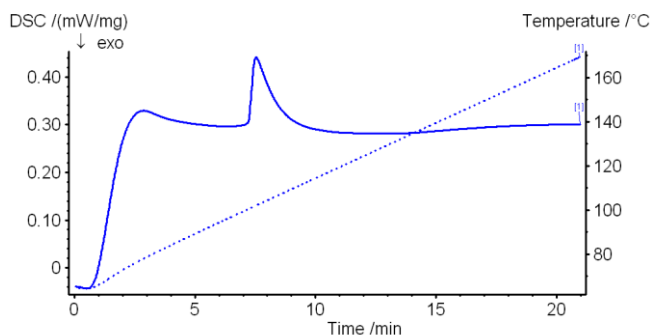
teplotní program: 69 ↓ 20 (5°C/min)
temperace 2min ↑ 85 (3°C/min) ↓ 20
(5°C/min) temperace 2min ↑ 85
(3°C/min)
= 2., 3.ohřev



GRAF č. 31

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 27.3.2007 13:22

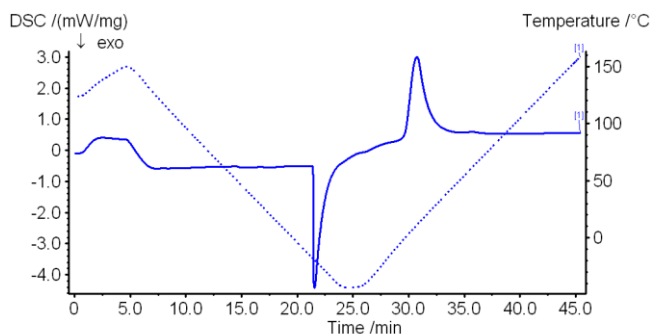
teplotní program: 65 ↑ 170 (5°C/min)
= 4.ohřev



GRAF č. 32

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 27.3.2007 13:58

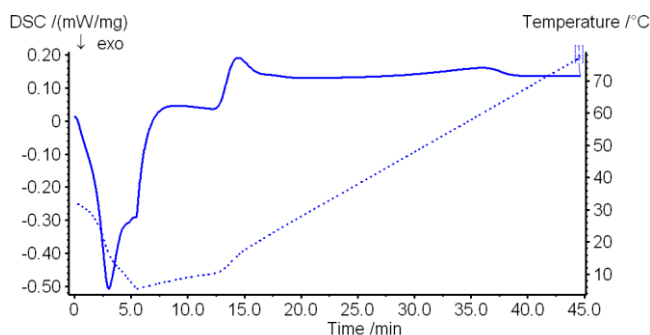
teplotní program: 128 \uparrow 150 (5°C/min)
 \downarrow -40 (10°C/min) temperace 2min \uparrow 160
(10°C/min)
= 5., 6.ohřev



GRAF č. 33

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 13.4.2007 14:31

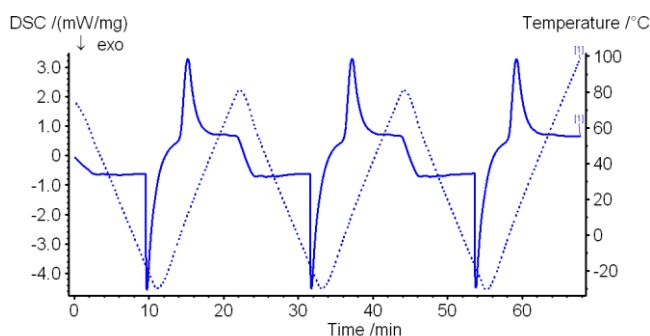
teplotní program: 32 \downarrow 5 (5°C/min)
temperace 3min \uparrow 90 (2°C/min)
= 7.ohřev



GRAF č. 34

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 13.4.2007 15:18

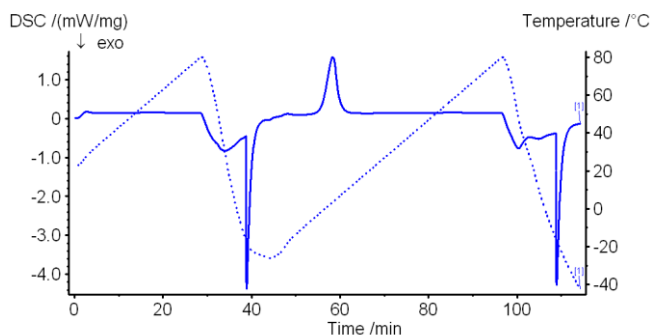
teplotní program: 77 \downarrow -30 (10°C/min)
 \uparrow 80 (10°C/min) \downarrow -30 (10°C/min) \uparrow 80
(10°C/min) \downarrow -30 (10°C/min) \uparrow 100
(10°C/min)
= 8., 9., 10.ohřev



GRAF č. 35

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 18.4.2007 11:08

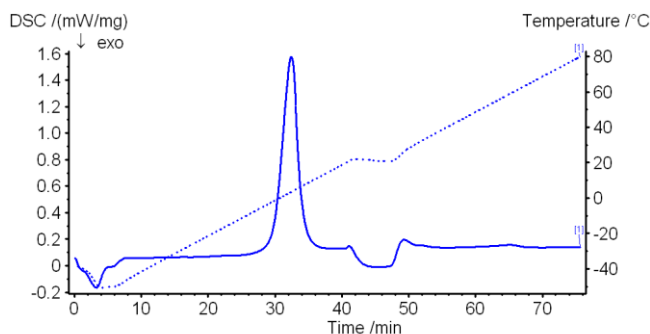
teplotní program: 23 \uparrow 80 (2°C/min) \downarrow
-25 (10°C/min) temperace 5min \uparrow 80
(2°C/min) \downarrow -50 (10°C/min)
= 11., 12.ohřev



GRAF č. 36

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 18.4.2007 13:06

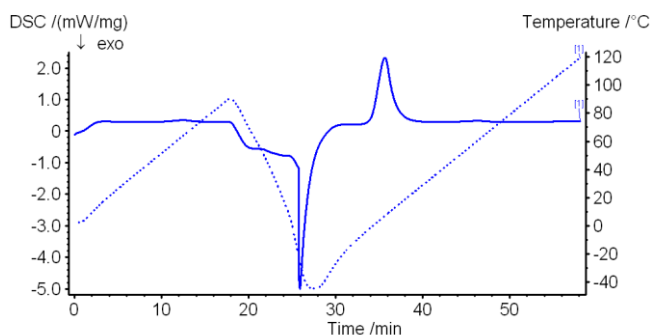
teplotní program: -42 ↓ -50 (5°C/min)
temperace 4min ↑ 20 (2°C/min)
temperace 5min ↑ 80 (2°C/min)
= 13.ohřev



GRAF č. 37

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 25.4.2007 12:34

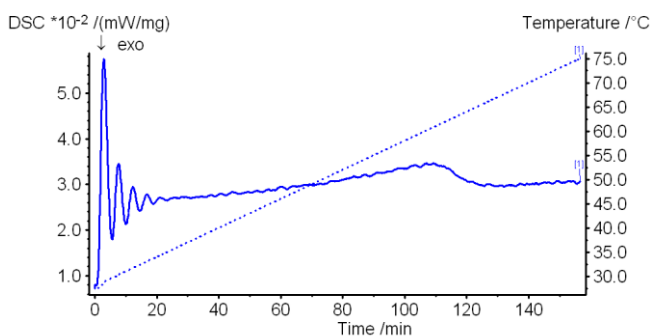
teplotní program: 2 ↑ 90 (5°C/min) ↓
-40 (20°C/min) temperace 2min ↑ 120
(5°C/min)
= 14., 15.ohřev



GRAF č. 38

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 12.6.2007 11:51

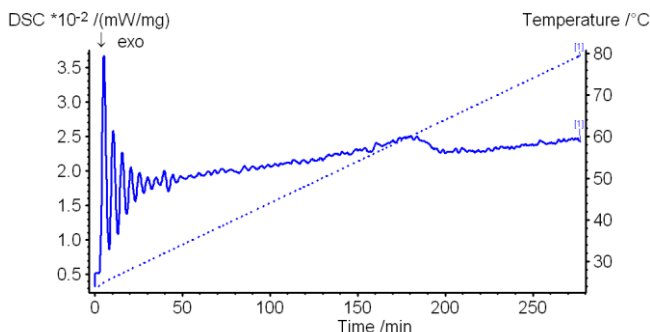
teplotní program: 28 ↑ 75 (0,3°C/min)
= 16.ohřev



GRAF č. 39

vzorek č.9 hydratovaný na vodní lázni
C.8.Ch.4.Ol.2.ChS.1.V.85. 22,37 mg
měřeno 14.6.2007 9:05

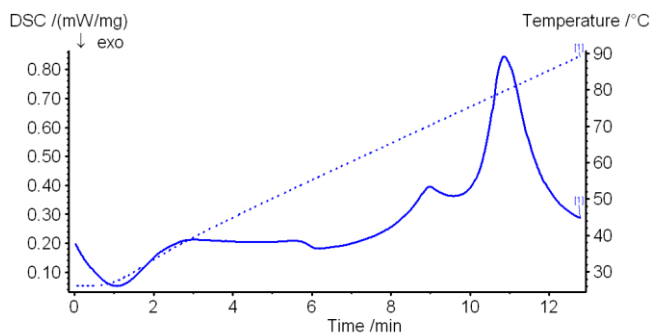
teplotní program: 24 ↑ 90 (0,2°C/min)
= 17.ohřev



GRAF č. 40

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 28.3.2007 11:19

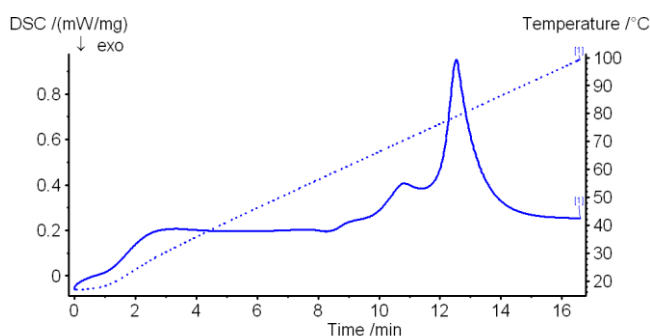
teplotní program: 26 ↑ 90 (5°C/min)
= 1.ohřev



GRAF č. 41

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 28.3.2007 11:58

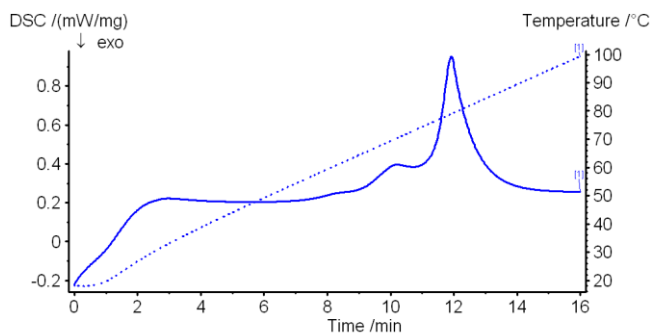
teplotní program: 17 ↑ 100 (5°C/min)
= 2.ohřev



GRAF č. 42

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 28.3.2007 13:18

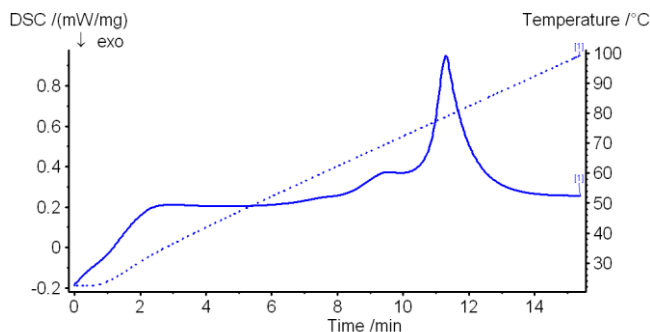
teplotní program: 20 ↑ 100 (5°C/min)
= 3.ohřev



GRAF č. 43

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 28.3.2007 15:00

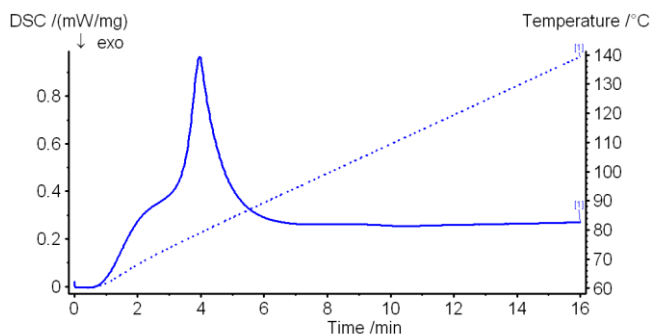
teplotní program: 23 ↑ 100 (5°C/min)
= 4.ohřev



GRAF č. 44

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 28.3.2007 15:50

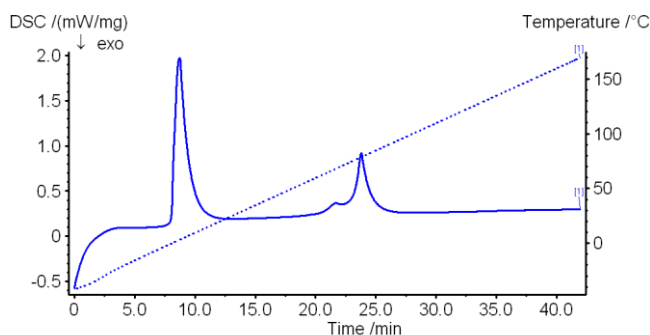
teplotní program: 60 ↑ 140 (5°C/min)
= 5.ohřev



GRAF č. 45

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 28.3.2007 16:14

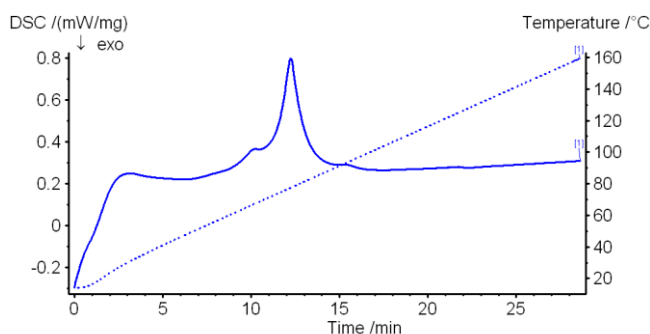
teplotní program: -40 ↑ 170 (5°C/min)
= 6.ohřev



GRAF č. 46

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 28.3.2007 17:05

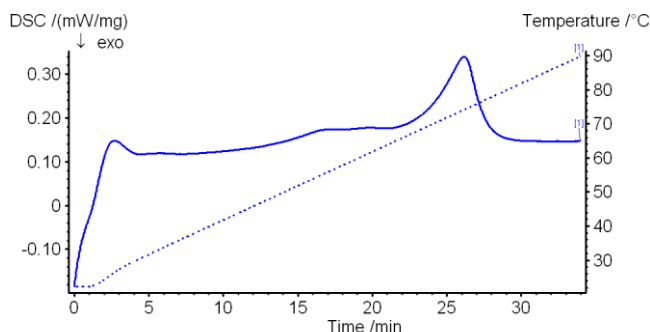
teplotní program: 17 ↑ 160 (5°C/min)
= 7.ohřev



GRAF č. 47

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 19.4.2007 12:04

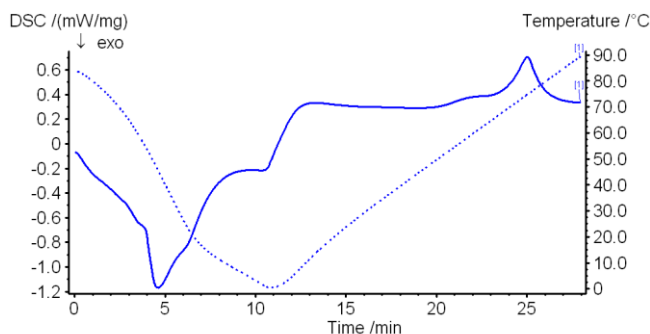
teplotní program: 22 ↑ 90 (2°C/min)
= 8.ohřev



GRAF č. 48

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 19.4.2007 12:43

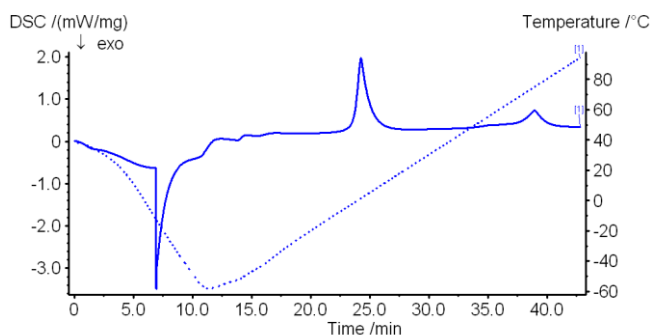
teplotní program: 84 ↓ 5 (10°C/min)
temperace 3min ↑ 90 (5°C/min)
= 9.ohřev



GRAF č. 49

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 19.4.2007 14:29

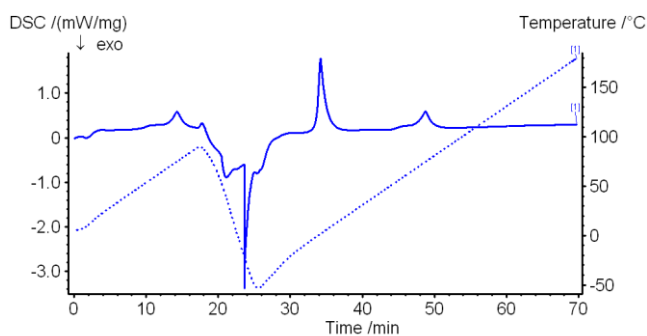
teplotní program: 38 ↓ -50 (10°C/min)
temperace 5min ↑ 95 (5°C/min)
= 10.ohřev



GRAF č. 50

vzorek č.11 hydratovaný na lázni
C.11.Ch.6.V.83. 7,89 mg
měřeno 25.4.2007 13:57

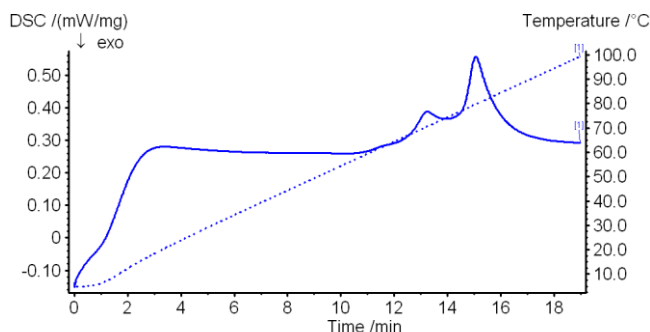
teplotní program: 4 ↑ 90 (5°C/min) ↓
-40 (20°C/min) temperace 2min ↑ 180
(5°C/min)
= 11., 12.ohřev



GRAF č. 51

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po
odparce) C.11.Ch.5.V.84. 15,94 mg
měřeno 26.4.2007 14:08

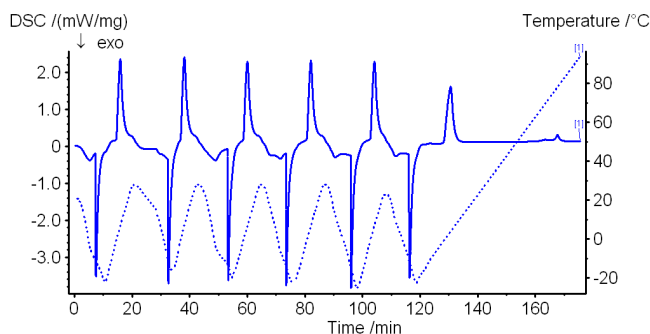
teplotní program: 5 ↑ 110 (5°C/min)
= 1.ohřev



GRAF č. 52

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) C.11.Ch.5.V.84. 15,94 mg
měřeno 27.4.2007 10:25

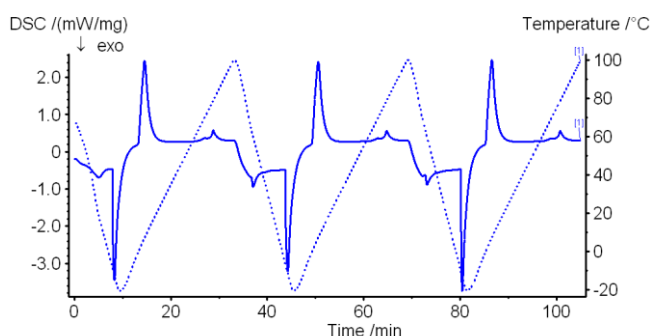
teplotní program: 22 ↓ -20 (5°C/min)
temp.2min ↑ 25 (5°C/min) temp.2min ↓
-20 (5°C/min) temp.2min ↑ 25 (5°C/min)
temp.2min ↓ -20 (5°C/min) temp.2min ↑
25 (5°C/min) temp.2min ↓ -20 (5°C/min)
temp.2min ↑ 25 (5°C/min) temp.2min ↓
-20 (5°C/min) temp.2min ↑ 20 (5°C/min)
temp.2min ↓ -20 (5°C/min) temp.2min ↑
100 (2°C/min) = 2., 3., 4., 5., 6., 7.ohřev



GRAF č. 53

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) C.11.Ch.5.V.84. 15,94 mg
měřeno 27.4.2007 13:37

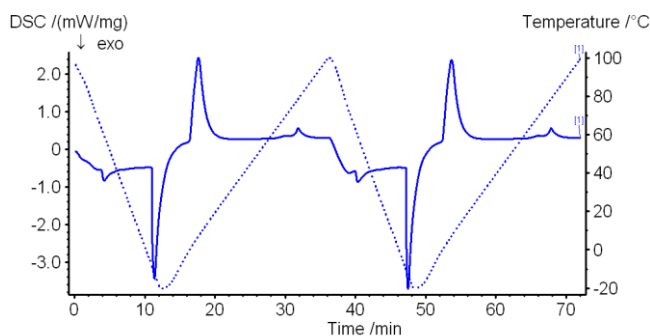
teplotní program: 69 ↓ -20 (10°C/min)
↑ 100 (5°C/min) ↓ -20 (10°C/min) ↑ 100
(5°C/min) ↓ -20 (10°C/min) ↑ 100
(5°C/min) = 8., 9., 10.ohřev



GRAF č. 54

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) C.11.Ch.5.V.84. 15,94 mg
měřeno 27.4.2007 15:24

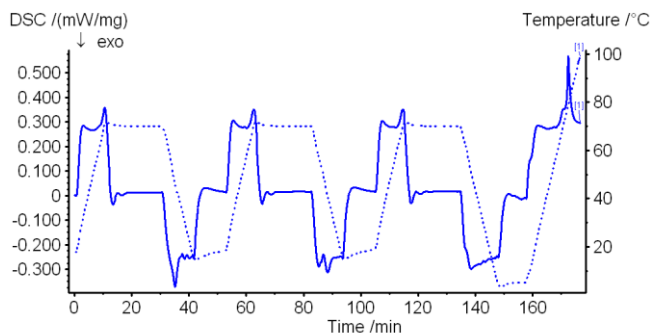
teplotní program: 100 ↓ -20 (10°C/min)
↑ 100 (5°C/min) ↓ -20 (10°C/min) ↑ 100
(5°C/min) = 11., 12.ohřev



GRAF č. 55

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) C.11.Ch.5.V.84. 15,94 mg
měřeno 30.4.2007 9:44

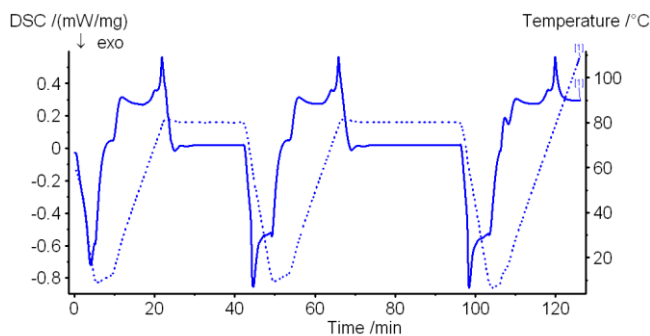
teplotní program: 18 ↑ 70 (5°C/min)
temp.20min ↓ 15 (5°C/min) temp.10min
↑ 70 (5°C/min) temp.20min ↓ 15
(5°C/min) temp.10min ↑ 70 (5°C/min)
20min ↓ 5 (5°C/min) temp.10min ↑ 100
(5°C/min) = 13., 14., 15., 16.ohřev



GRAF č. 56

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) C.11.Ch.5.V.84. 15,94 mg
měřeno 30.4.2007 13.11

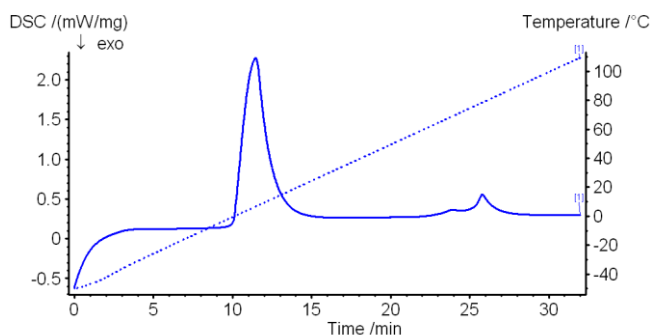
teplotní program: 60 ↓ 10 (10°C/min)
temp.3min ↑ 80 (5°C/min) temp.20min ↓
10 (10°C/min) temp.3min ↑ 80
(5°C/min) temp.30min ↓ 10 (10°C/min)
temp.3min ↑ 110 (5°C/min)
= 17., 18., 19.ohřev



GRAF č. 57

vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) C.11.Ch.5.V.84. 15,94 mg
měřeno 30.4.2007 15:33

teplotní program: -50 ↑ 110 (5°C/min)
= 20.ohřev

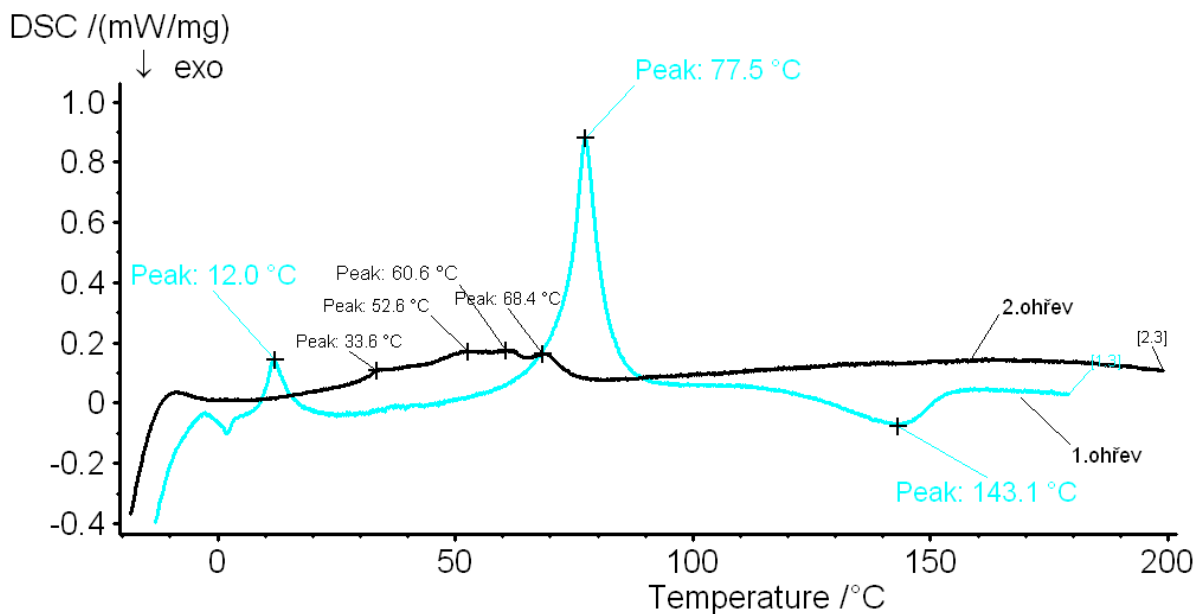


Záznamy měření vícesložkových směsí

4.4.2.1 Bezvodý vzorek č.9

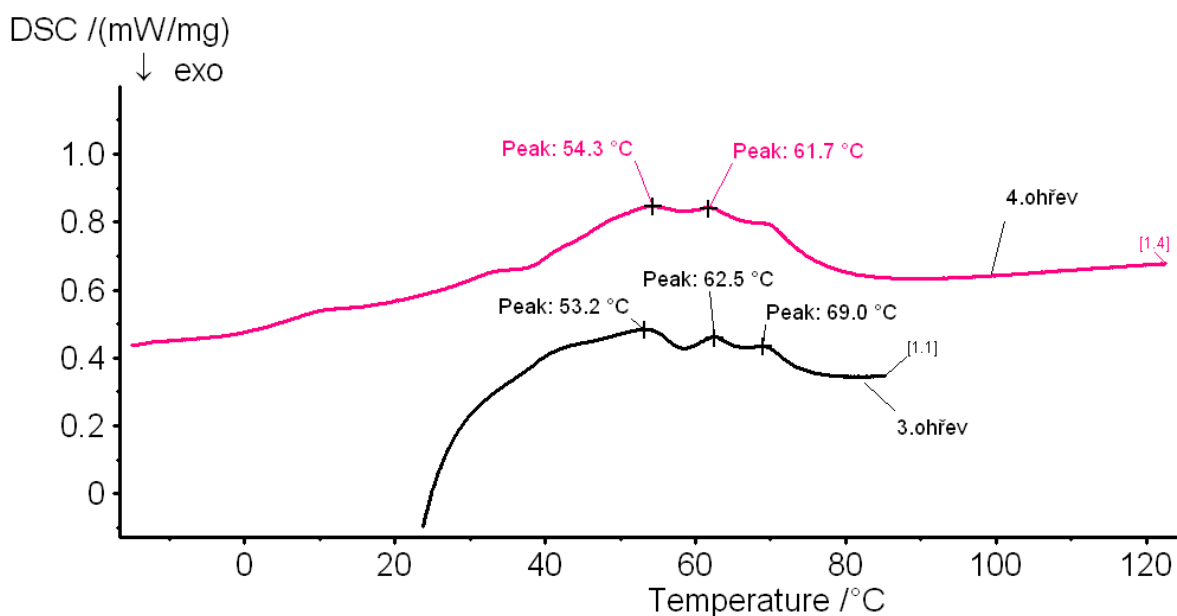
GRAF č. 58

Vzorek č.9 bezvodý – Srovnání záznamů 1. a 2.ohřevu (netavené a tavené směsi)



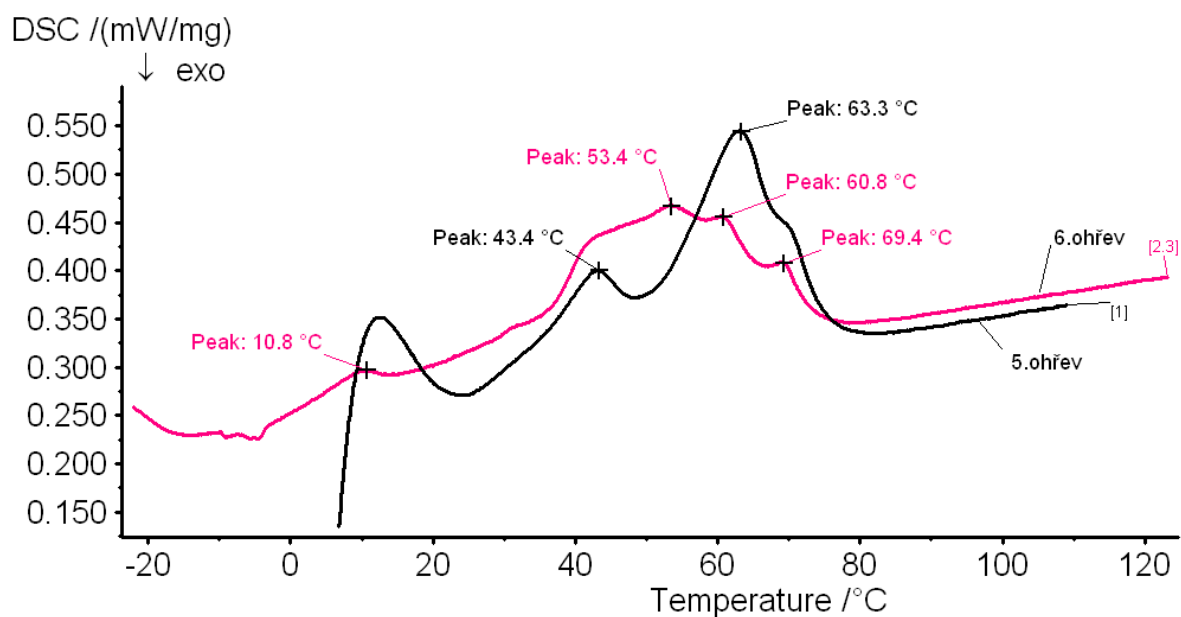
GRAF č. 59

Vzorek č.9 bezvodý – Srovnání záznamů 3. a 4.ohřevu (první ohřev po 25 dnech stání a druhý ohřev, bezprostředně následující)



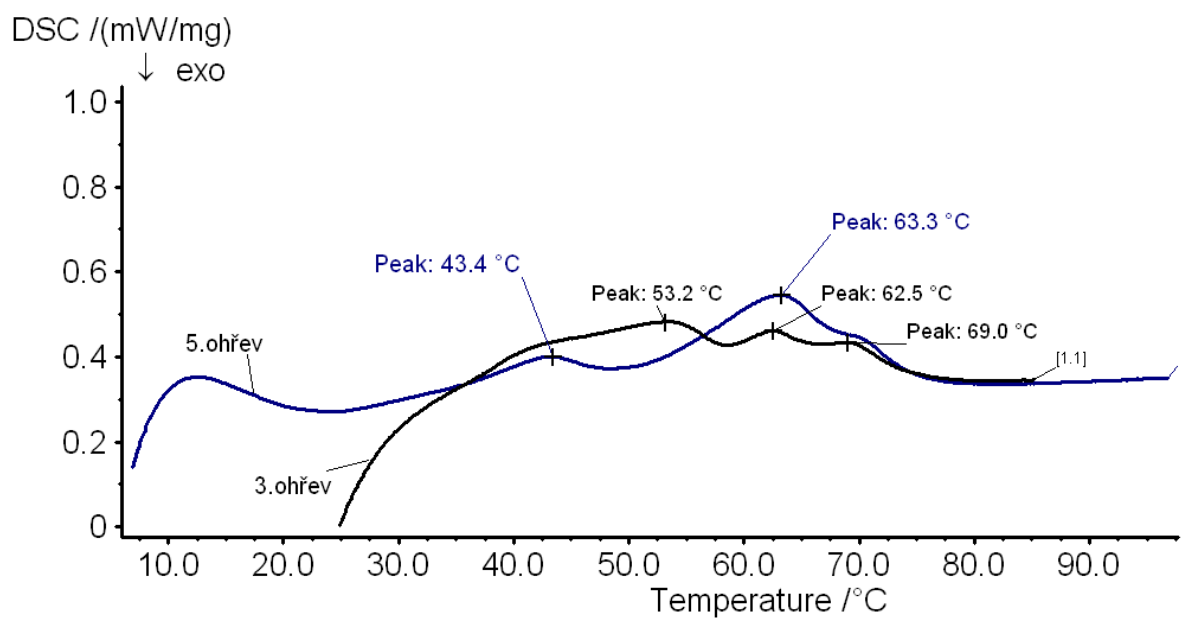
GRAF č. 60

Vzorek č.9 bezvodý – Srovnání záznamů 5. a 6.ohřevu (první ohřev po 4 dnech stání a druhý ohřev, bezprostředně následující)



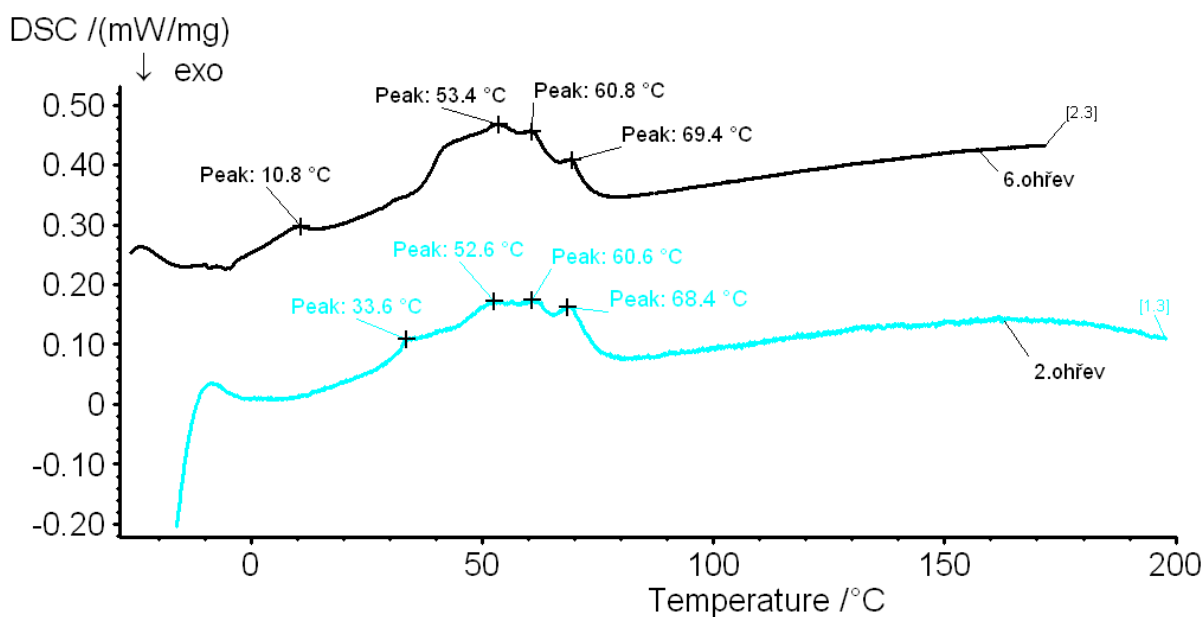
GRAF č. 61

Vzorek č.9 bezvodý – Srovnání záznamů 3.a 5.ohřevu (první ohřevy po stání 25 dní a dalších 4 dní)



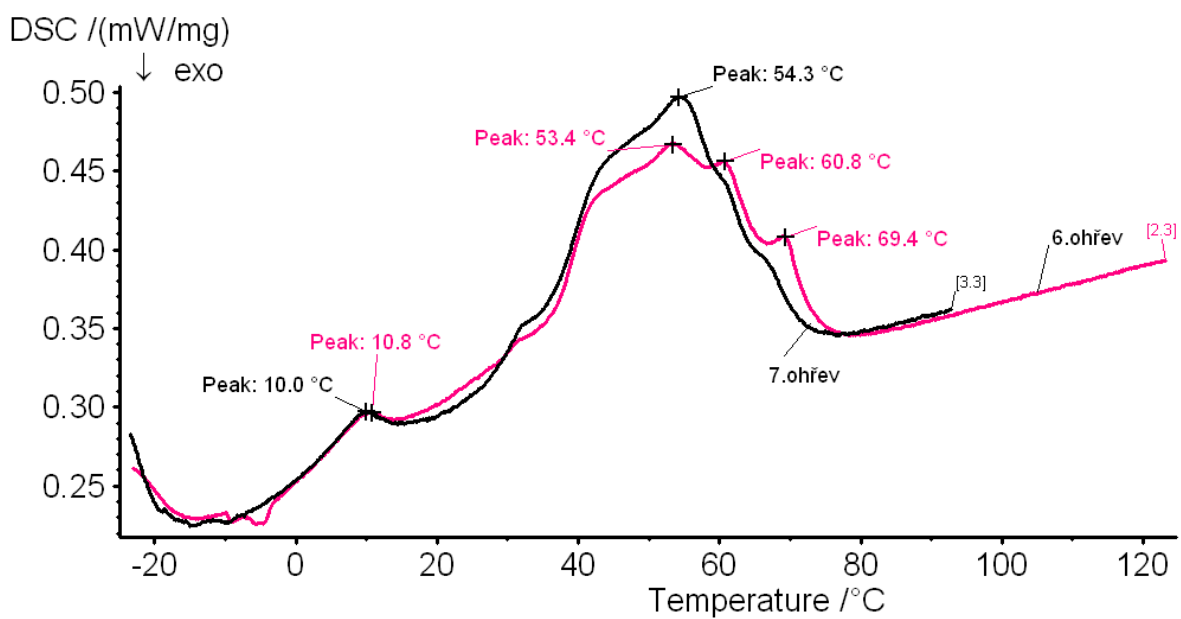
GRAF č. 62

Vzorek č.9 bezvodý – Srovnání záznamů 2. a 6.ohřevu (druhé ohřevy bezprostředně následující po ohřevu po stání)



GRAF č. 63

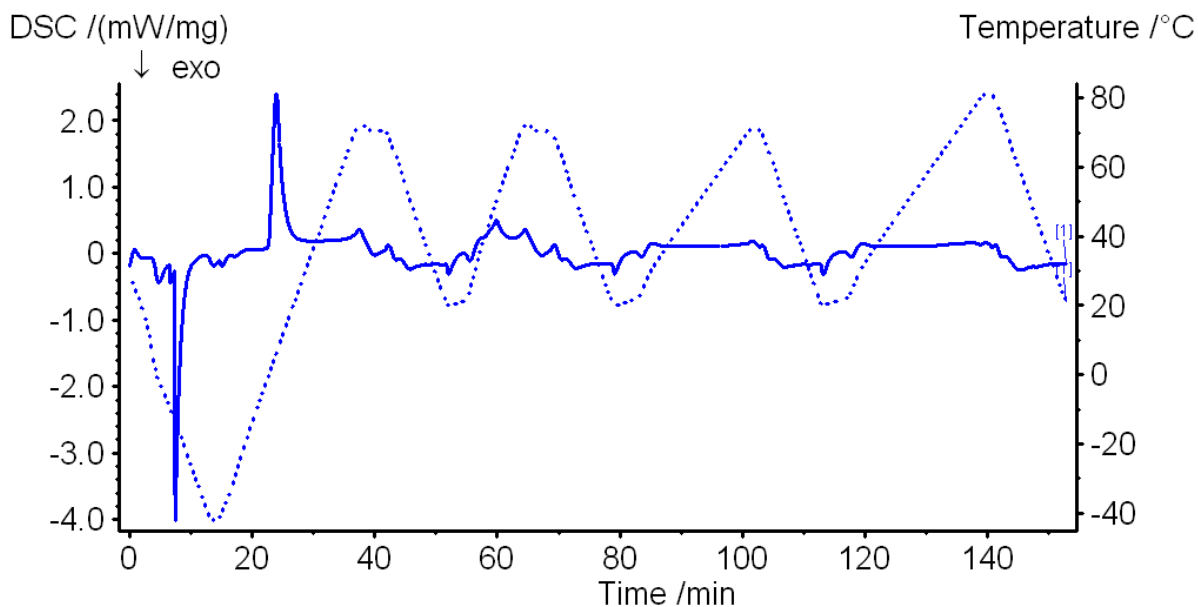
Vzorek č.9 bezvodý – Srovnání záznamů 6. a 7.ohřevu (druhý a třetí ohřev, bezprostředně po sobě následující ohřevy)



4.4.2.2 Vzorek č.9 hydratovaný v kelímku

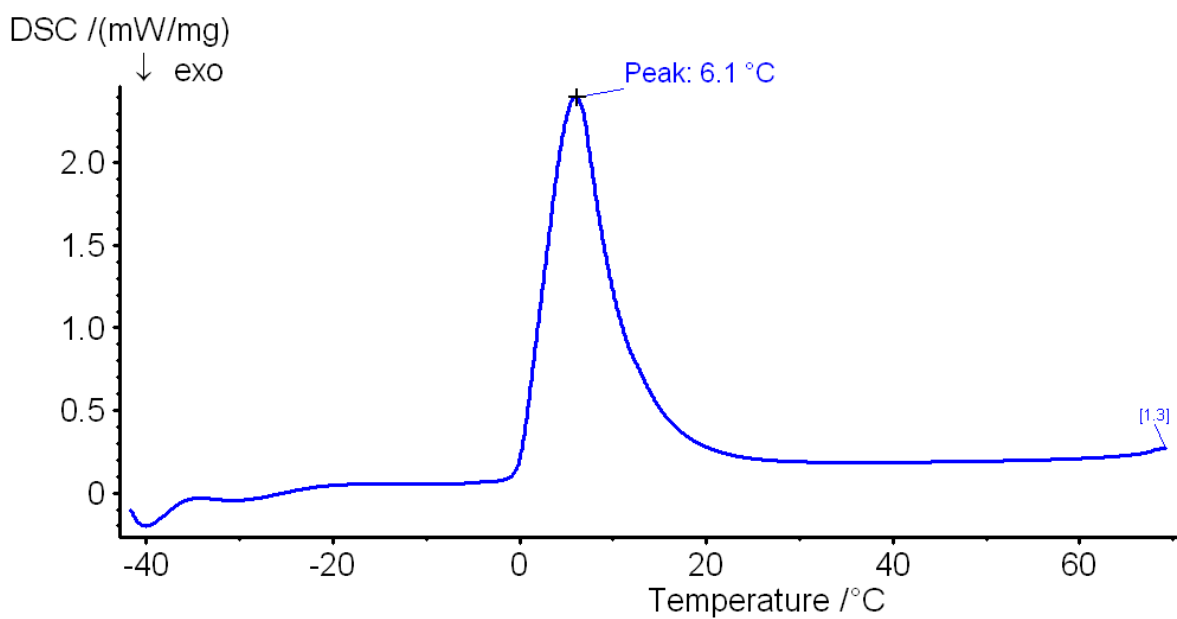
GRAF č. 64

Vzorek č.9 hydratovaný v kelímku – Vzorový záznam cyklu (1. až 4.ohřev)



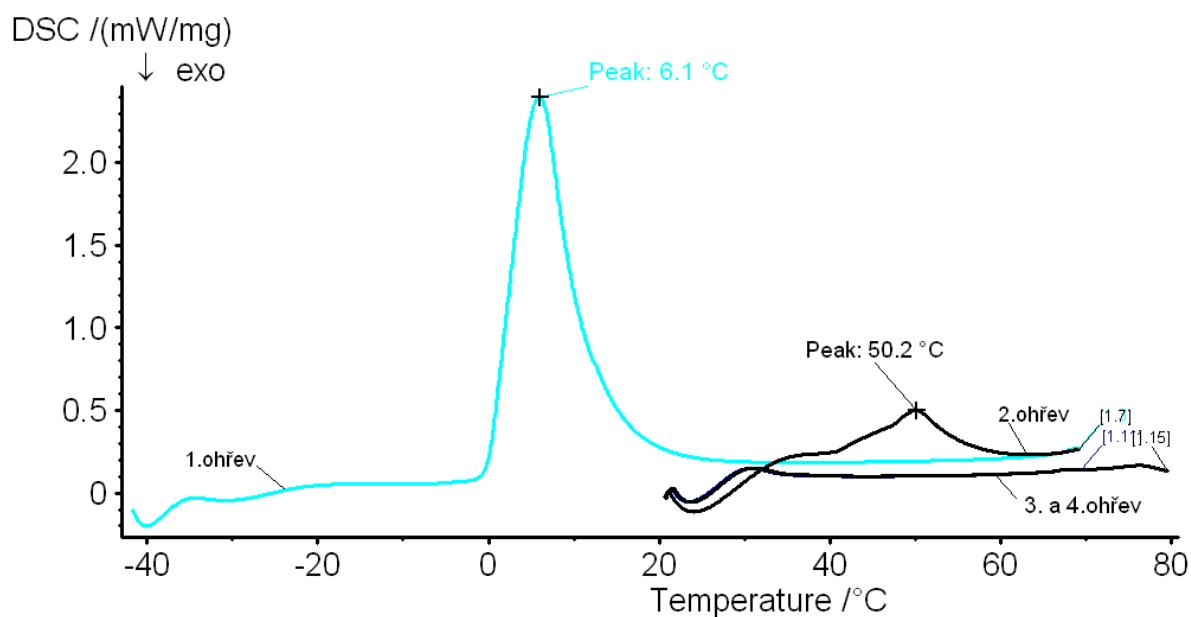
GRAF č. 65

Vzorek č.9 hydratovaný v kelímku – Záznam 1.ohřevu (netavené směsi)



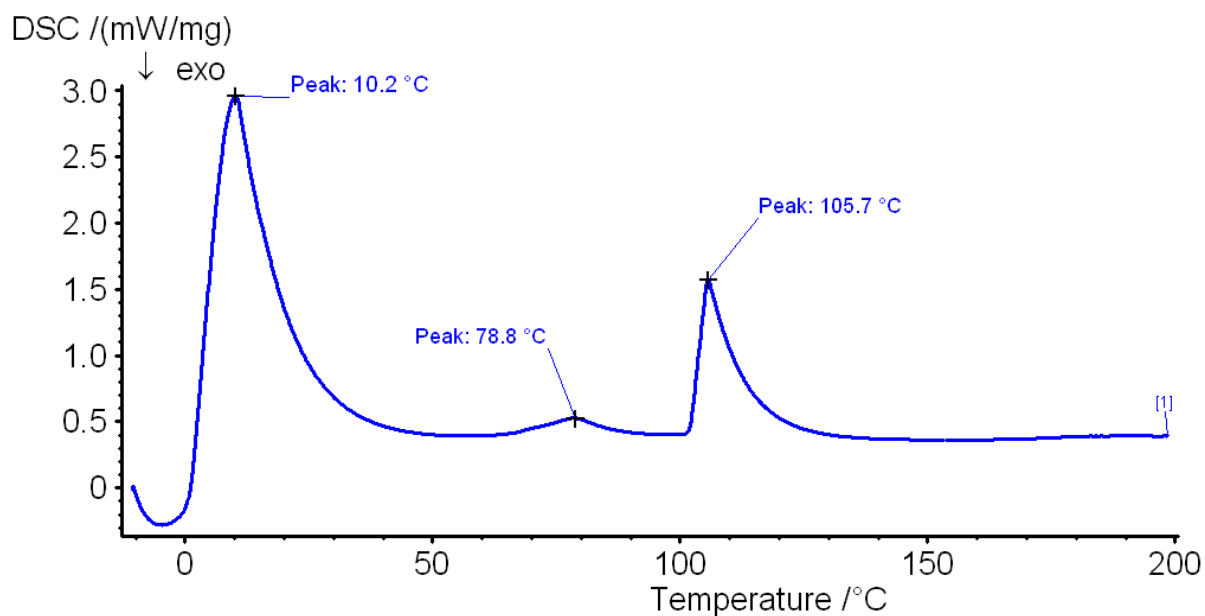
GRAF č. 66

Vzorek č.9 hydratovaný v kelímku – Srovnání záznamů 1.ohřevu a 2. a 3., 4.ohřevu (netavené a tavené směsi)



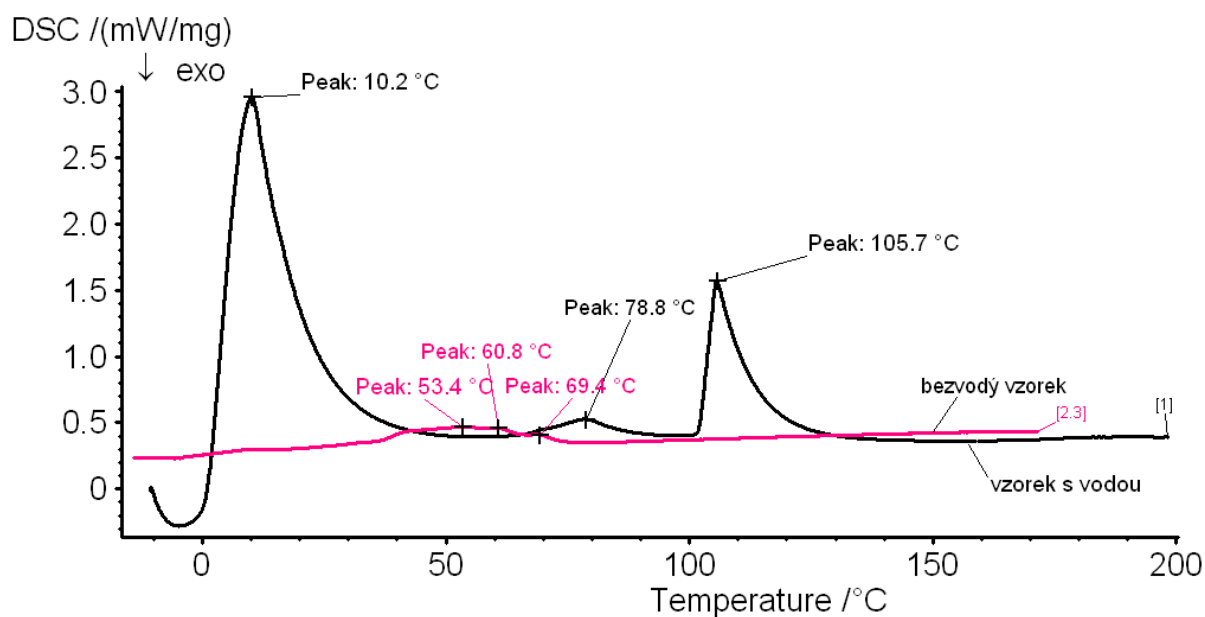
GRAF č. 67

Vzorek č.9 hydratovaný v kelímku – Záznam 6.ohřevu (měřeno bez předchozího stání)



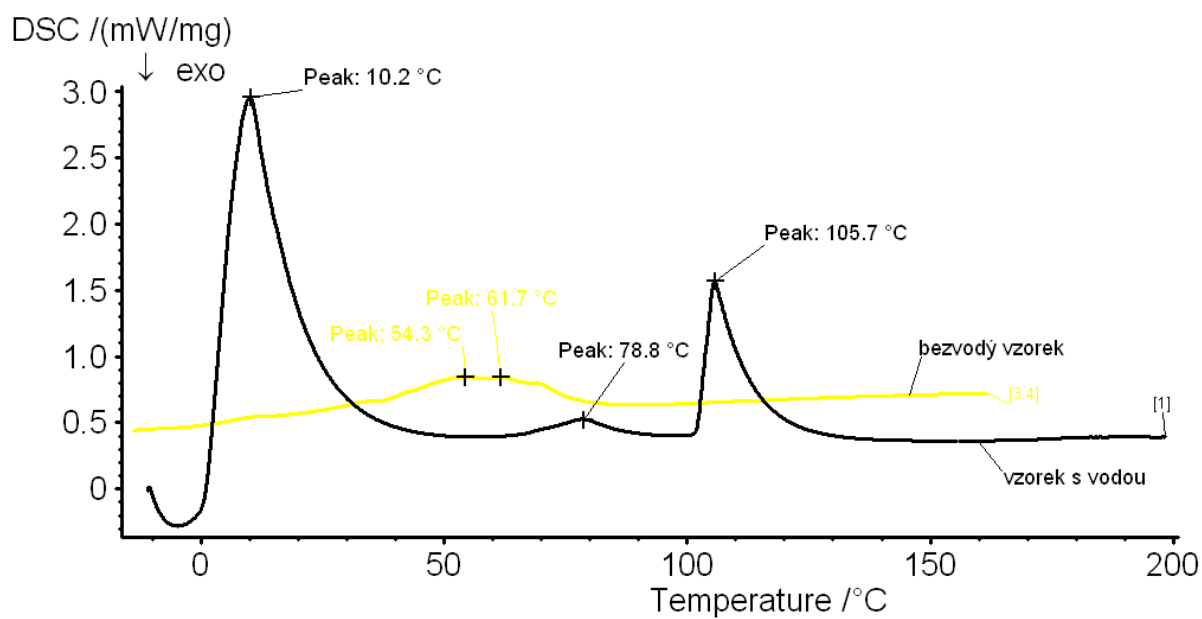
GRAF č. 68

Srovnání záznamu 6.ohřevu vzorku č.9 hydratovaného v kelímku a záznamu 6.ohřevu vzorku č.9 bezvodého



GRAF č. 69

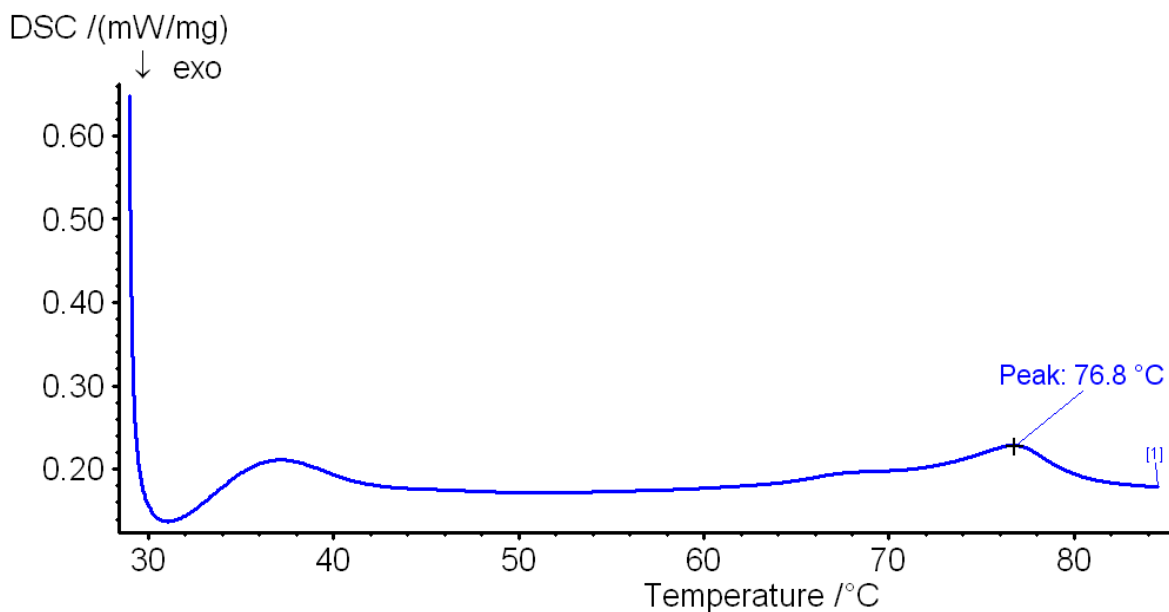
Srovnání záznamu 6.ohřevu vzorku č.9 hydratovaného v kelímku a záznamu 4.ohřevu vzorku č.9 bezvodého



4.4.2.3 Vzorek č.9 hydratovaný na lázni

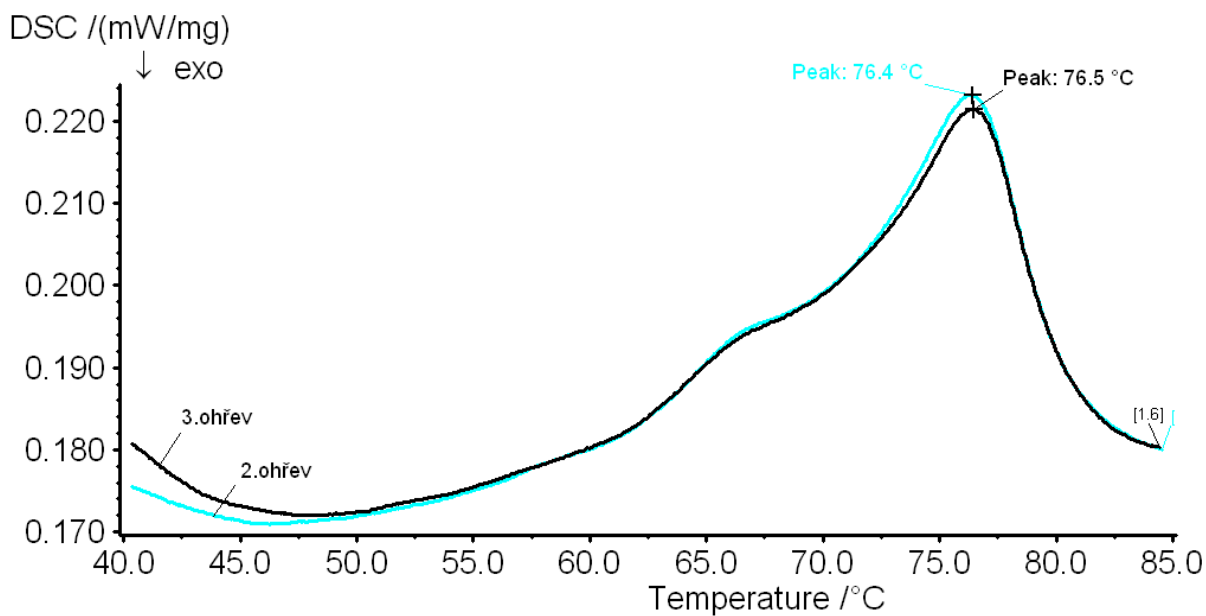
GRAF č. 70

Vzorek č.9 hydratovaný na lázni – Záznam 1.ohřevu (směsi 5x zahříváné na 75-90°C na lázni → jedná se tedy o šestý ohřev)



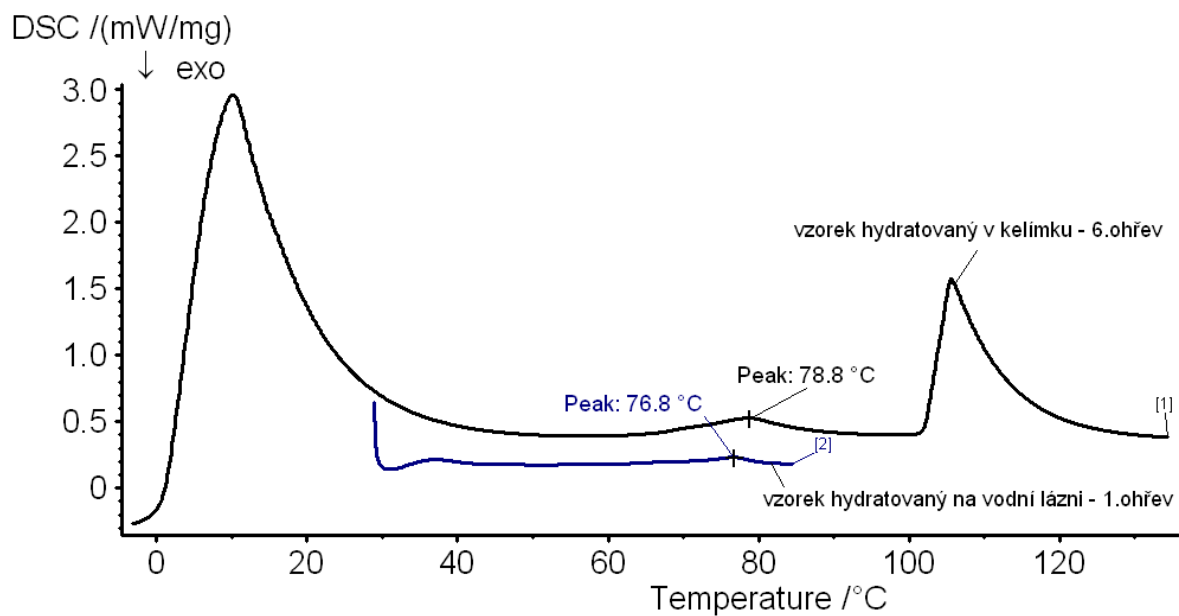
GRAF č. 71

Vzorek č.9 hydratovaný na lázni – Srovnání záznamů 2. a 3.ohřevu (druhý a třetí ohřev, bezprostředně po sobě následující ohřevy)



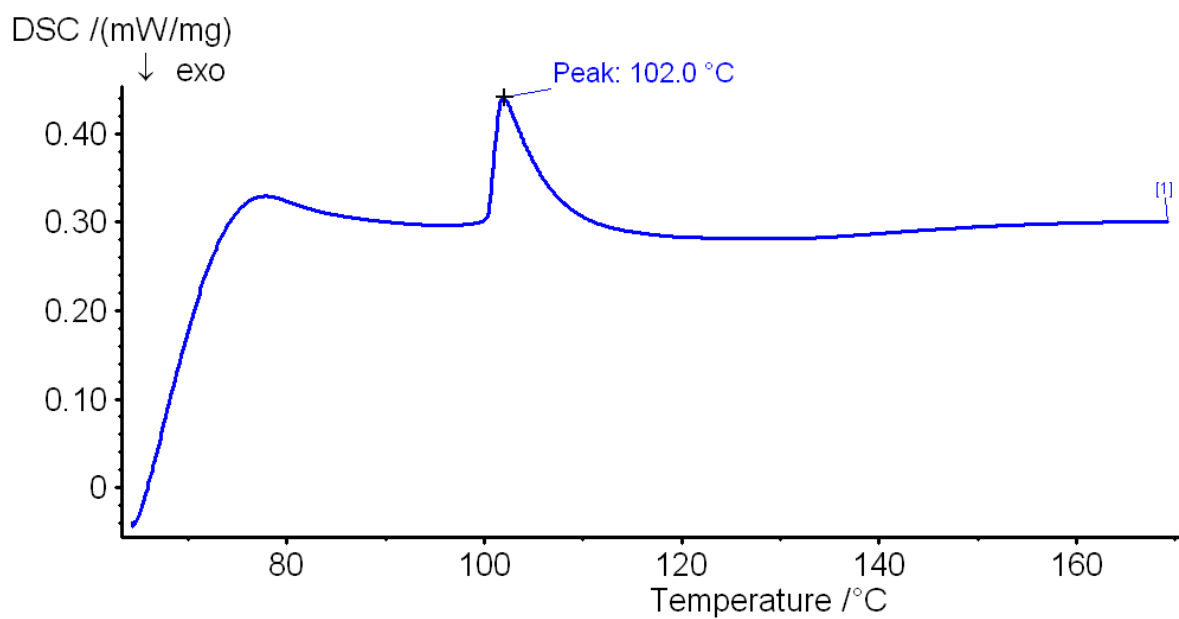
GRAF č. 72

Srovnání záznamu 1. ohřevu vzorku č.9 hydratovaného na lázni (směsi 5x zahříváné na 75-90°C na lázni → jedná se tedy o šestý ohřev) a záznamu 6. ohřevu vzorku č.9 hydratovaného v kelímku



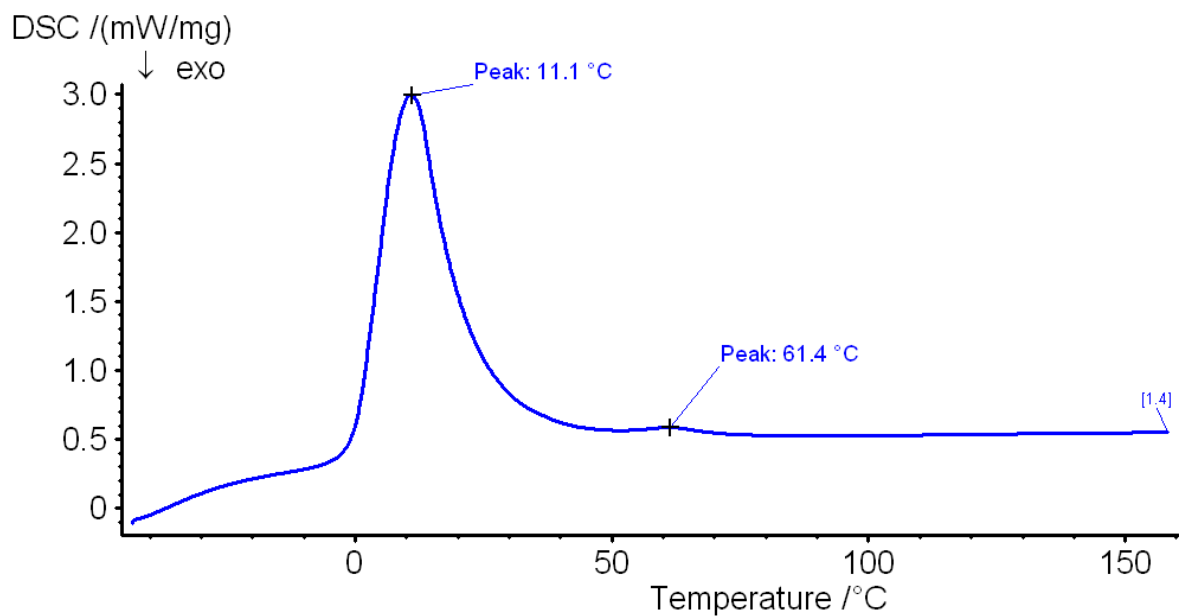
GRAF č. 73

Vzorek č.9 hydratovaný na lázni – Záznam 4. ohřevu (bez předchozího stání)



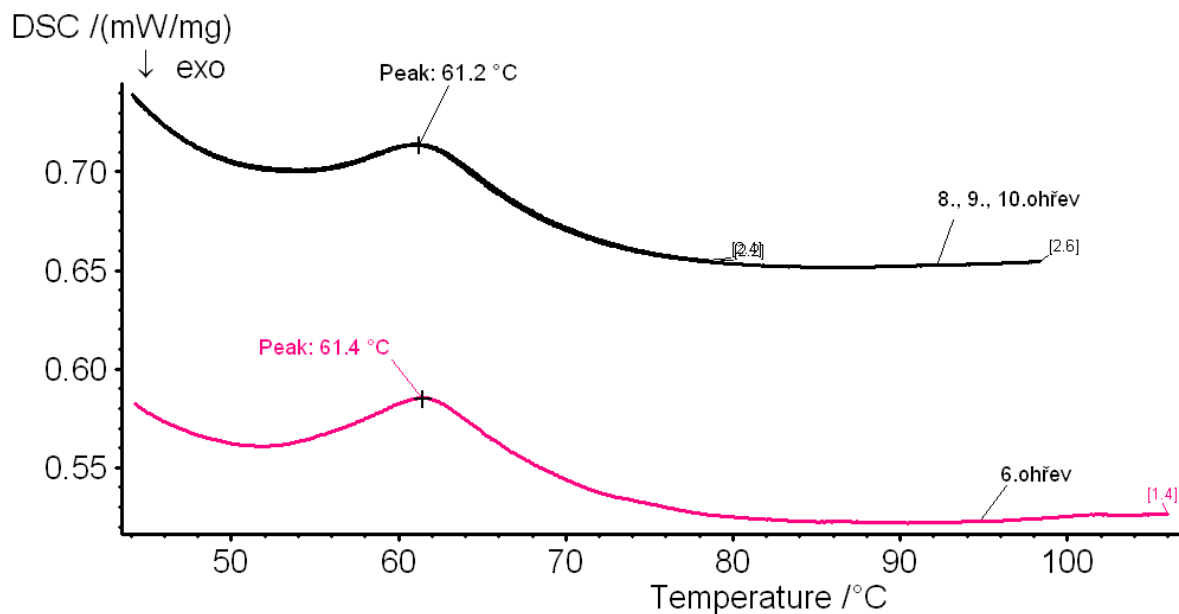
GRAF č. 74

vzorek č.9 hydratovaný na lázni – Záznam 6.ohřevu (bez předchozího stání)



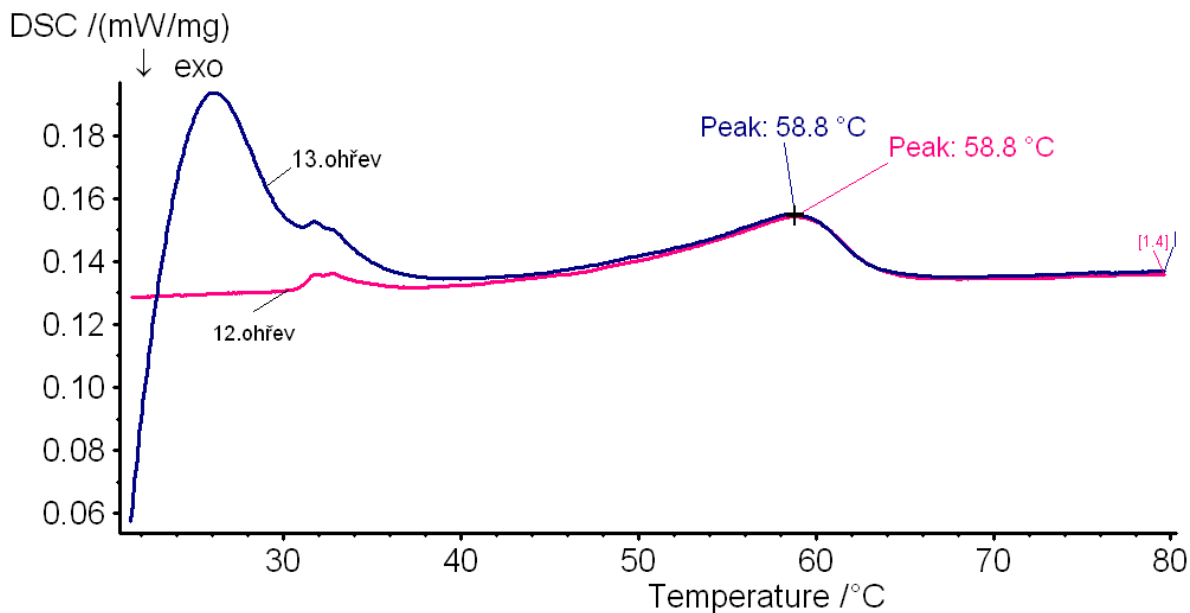
GRAF č. 75

Vzorek č.9 hydratovaný na lázni – Srovnání záznamů 6.ohřevu a 8., 9., 10.ohřevu (následující ohřevy, ne první po stání, ale šestý ohřev a druhý, třetí, čtvrtý ohřev)



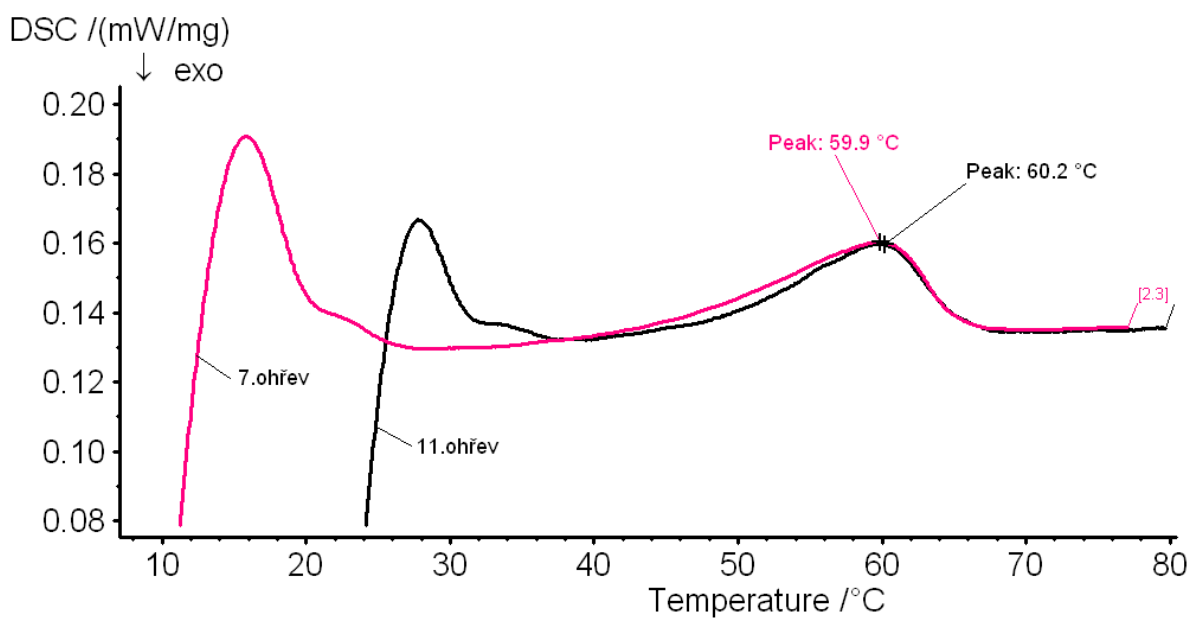
GRAF č. 76

Vzorek č.9 hydratovaný na lázni – Srovnání záznamů 12. a 13.ohřevu (následující ohřevy, ne první po stání, ale druhý a třetí)



GRAF č. 77

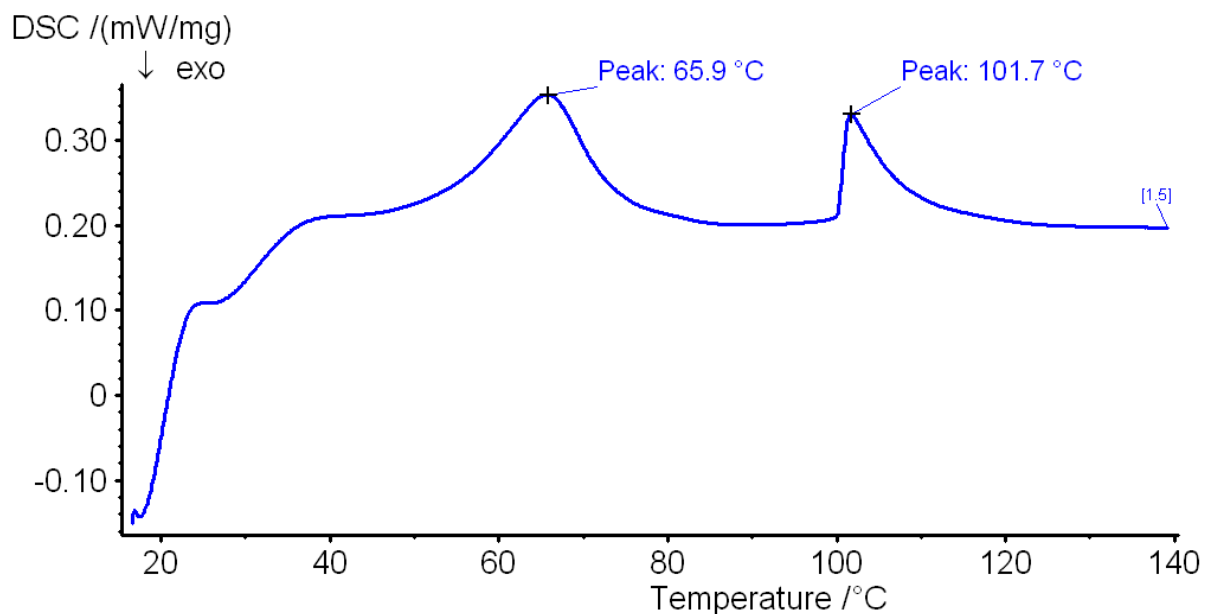
Vzorek č.9 hydratovaný na lázni – srovnání záznamů 7. a 11. ohřevu (první ohřevy po stání 17 dní a dalších 5 dní)



4.4.2.4 Vzorek č.8

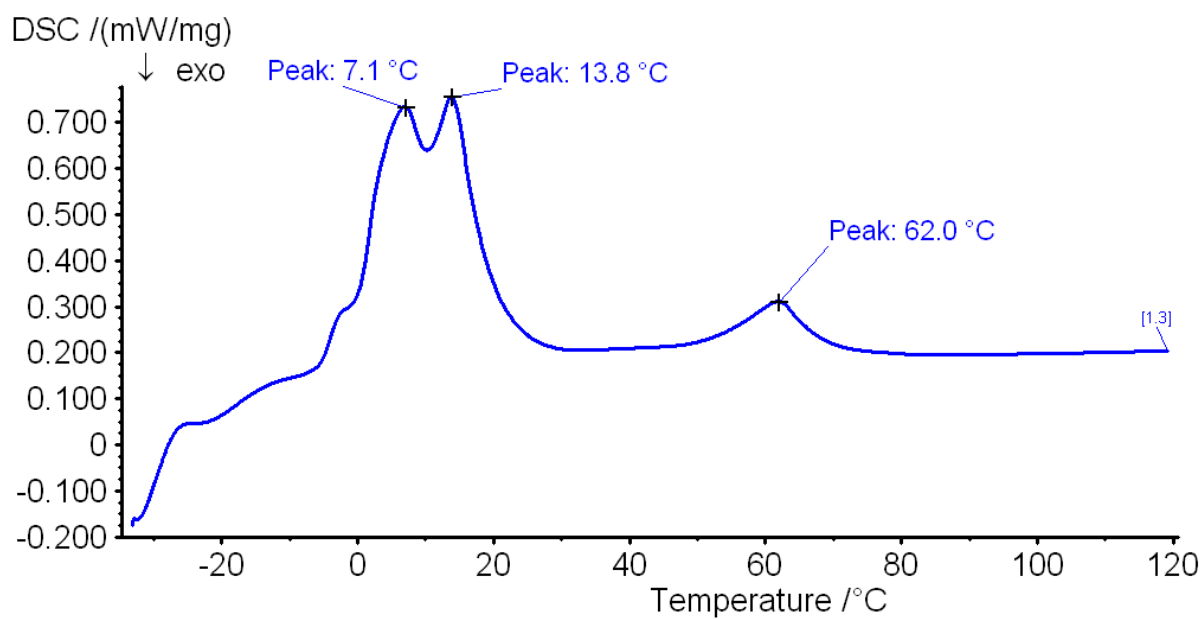
GRAF č. 78

Vzorek č.8 (hydratovaný) – Záznam 4.ohřevu



GRAF č. 79

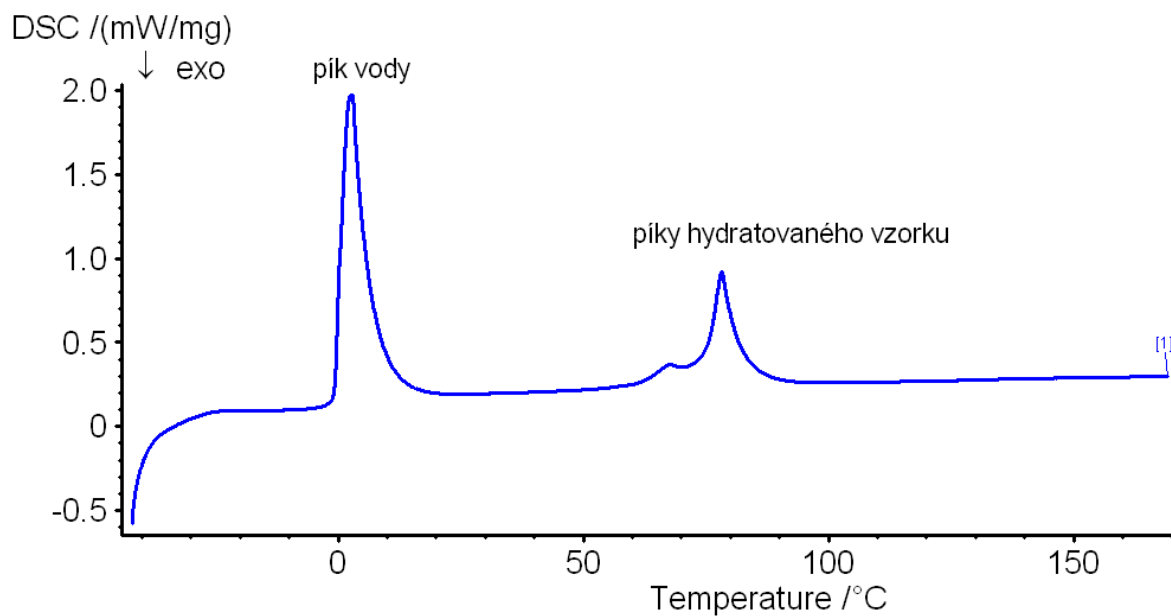
Vzorek č.8 (hydratovaný) – Záznam 5.ohřevu



4.4.2.5 Vzorek č.11 hydratovaný na lázni

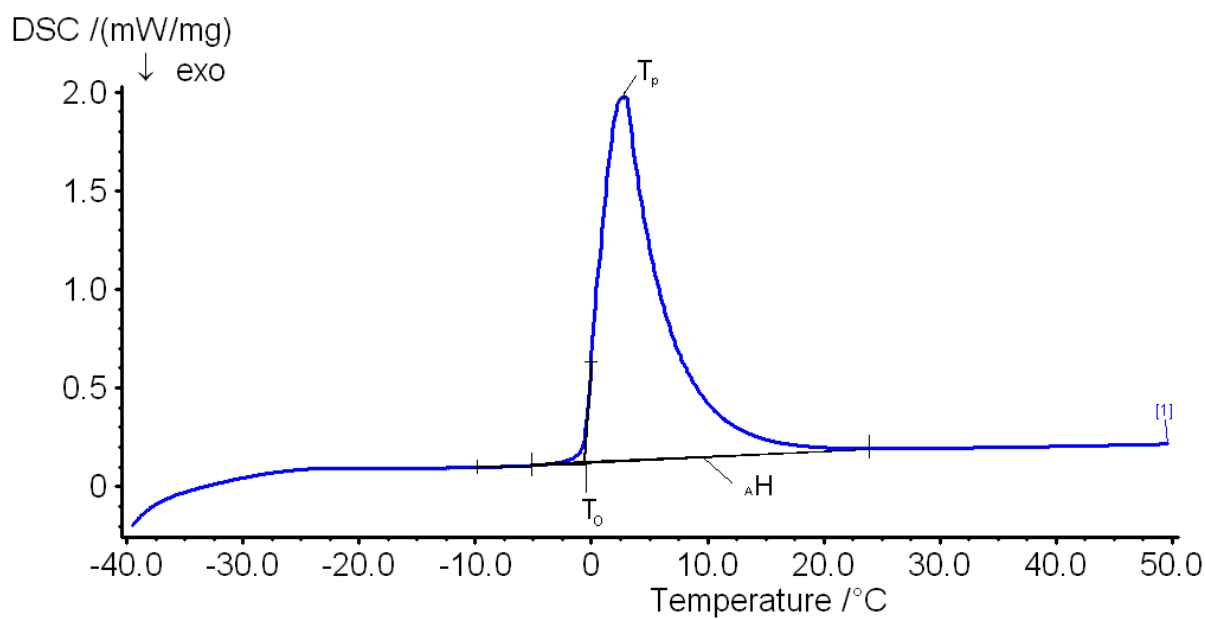
GRAF č. 80

Vzorek č.11 hydratovaný na lázni - Vzorový záznam měření (záznam 6.ohřevu)



GRAF č. 81

Vzorek č.11 hydratovaný na lázni - Posuzované parametry píku vody (záznam 6.ohřevu)



TABULKA č. 1 – Charakteristiky píku vody vzorku č.11 hydratovaného na lázni

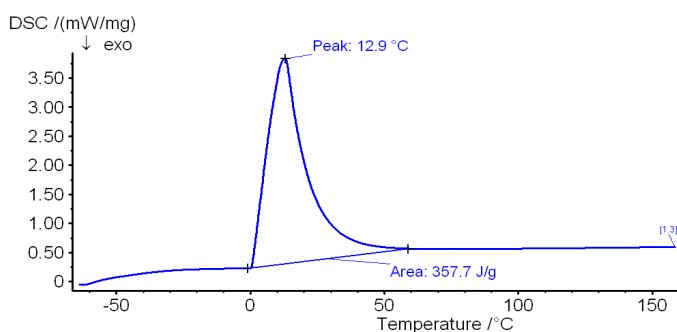
	T_o °C	T_P °C	ΔH J/g
6.ohřev	- 0,6	2,9	135,3
10.ohřev*	- 1,7	1,4	123,3
12.ohřev**	- 1,3	1,5	115,8

* měřeno po 22 dnech stání (nejedná se ale o první ohřev po stání)

** měřeno po dalších 6 dnech stání (nejedná se ale o první ohřev po stání)

GRAF č. 82

Záznam ohřevu vzorku vody



množství vody ve vzorku
vody = 100%
 $\Delta H = 357,7 \text{ J/g}$
→ vztaženo na množství
inkorporované vody ve
vzorku č.11 = 83,5%
 $\Delta H = 298,7 \text{ J/g}$

TABULKA č. 2 – Hodnoty tepla tání vody vztažené k množství inkorporované vody ve vzorku č.11 hydratovaného na lázni

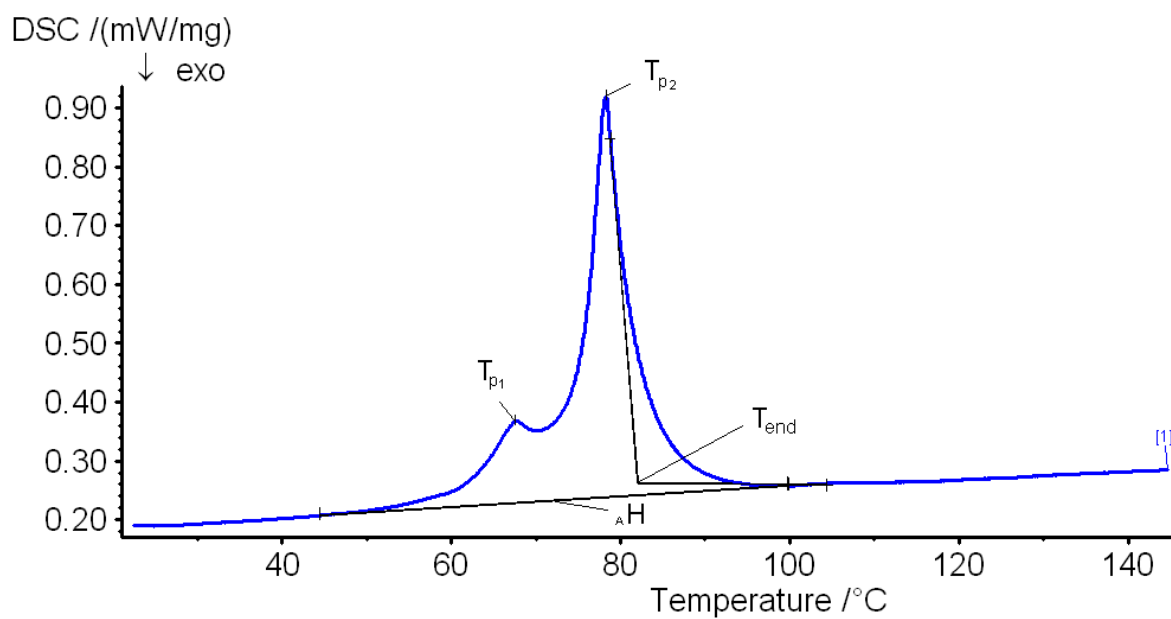
	Naměřené teplo vztažené k množství inkorporované vody ve vzorku J/g	Volná voda %
Teoretická hodnota	298,7	100,0
6.ohřev	162,0 ^a	54,2
10.ohřev	147,6 ^b	49,4
12.ohřev	138,6 ^c	46,4

- ΔH v tab.1 (vztaženo k množství celého vzorku – 7,89mg) → v tab.2 (vztaženo k množství inkorporované vody ve vzorku – 6,59mg)

^a 135,3J/g → 162,0J/g, ^b 123,3J/g → 147,6J/g, ^c 115,8J/g → 138,6J/g

GRAF č. 83

Vzorek č.11 hydratovaný na lázni - Posuzované parametry píku hydratovaného vzorku (záznam 6.ohřevu)



TABULKA č. 3 – Charakteristiky píku hydratovaného vzorku č.11

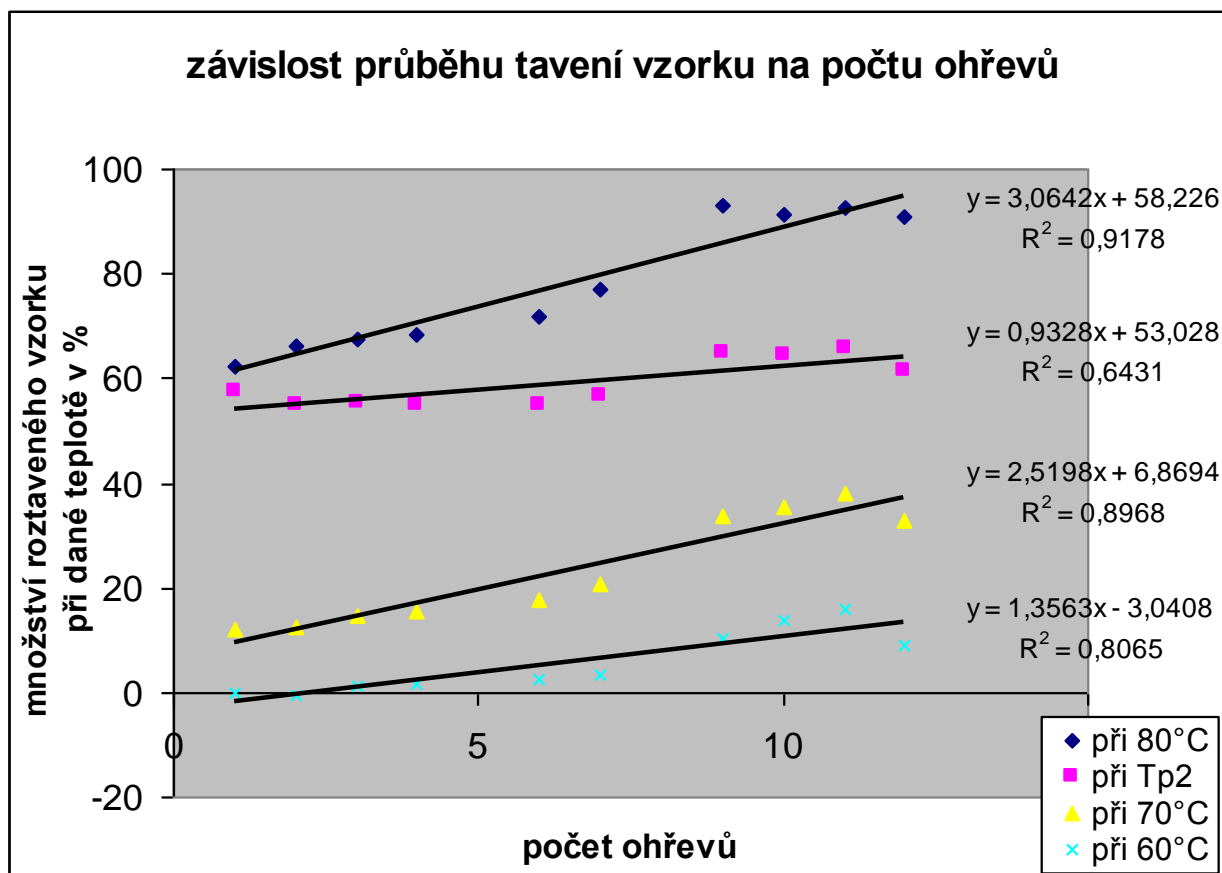
	T _{P1} °C	T _{P2} °C	T _{end} °C	ΔH J/g	Parciální plochy při			
					60°C %	70°C %	T _{P2} %	80°C %
1.ohřev	70,2	79,6	84,0	58,03	0,04	11,91	57,52	62,35
2.ohřev	70,4	79,0	82,8	68,46	-0,33	12,36	54,73	66,09
3.ohřev	70,4	78,9	82,7	69,05	1,31	14,79	55,40	67,57
4.ohřev	70,0	78,8	82,6	68,05	1,82	15,38	55,02	68,31
5.ohřev		78,8	82,9					
6.ohřev	67,7	78,3	82,3	68,27	2,46	17,67	55,02	71,97
7.ohřev	67,1	77,3	81,6	67,72	3,51	20,59	56,58	77,03
8.ohřev*!	61,2	74,1	77,3	62,29	22,55	48,44	77,90	99,28
9.ohřev		74,7	79,4	51,41	10,31	33,80	64,86	93,25
10.ohřev		74,9	80,7	57,33	13,65	35,33	64,26	91,44
11.ohřev**		74,9	80,4	55,42	15,75	37,86	65,91	92,51
12.ohřev		74,5	80,0	53,30	9,23	32,79	61,61	90,97

*! měřeno po 22 dnech stání, při jiné rychlosti ohřevu

** měřeno po dalších 6 dnech stání

GRAF č. 84

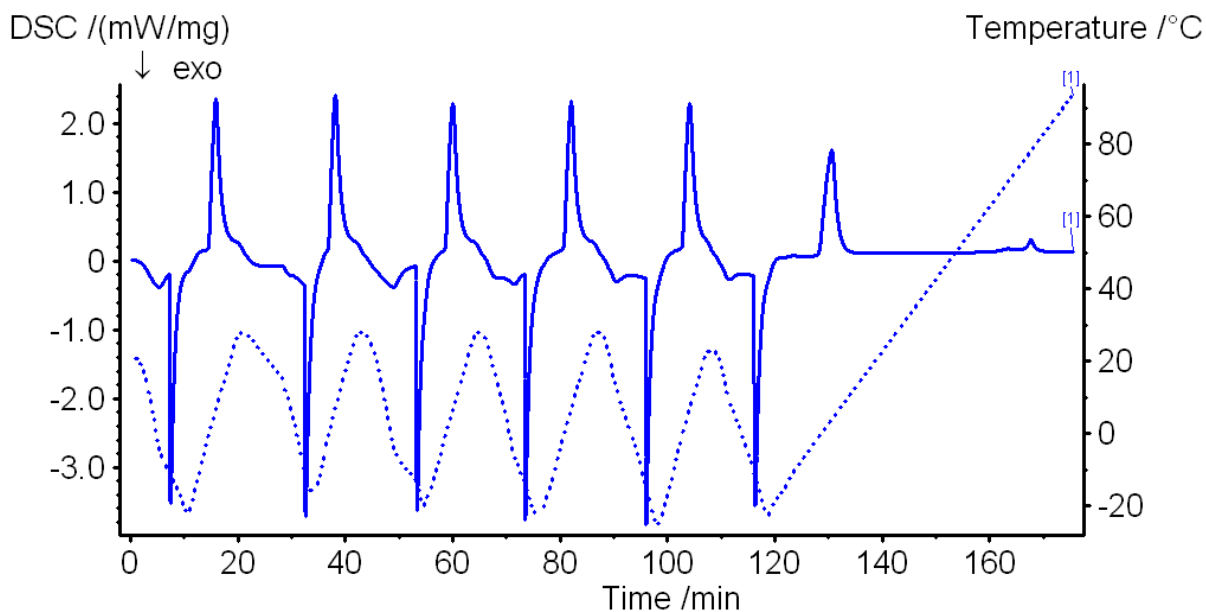
Závislost průběhu tavení vzorku č.11 hydratovaného na lázni na počtu ohřevů



4.4.2.6 Vzorek č.11b hydratovaný na lázni po homogenizaci na odparce

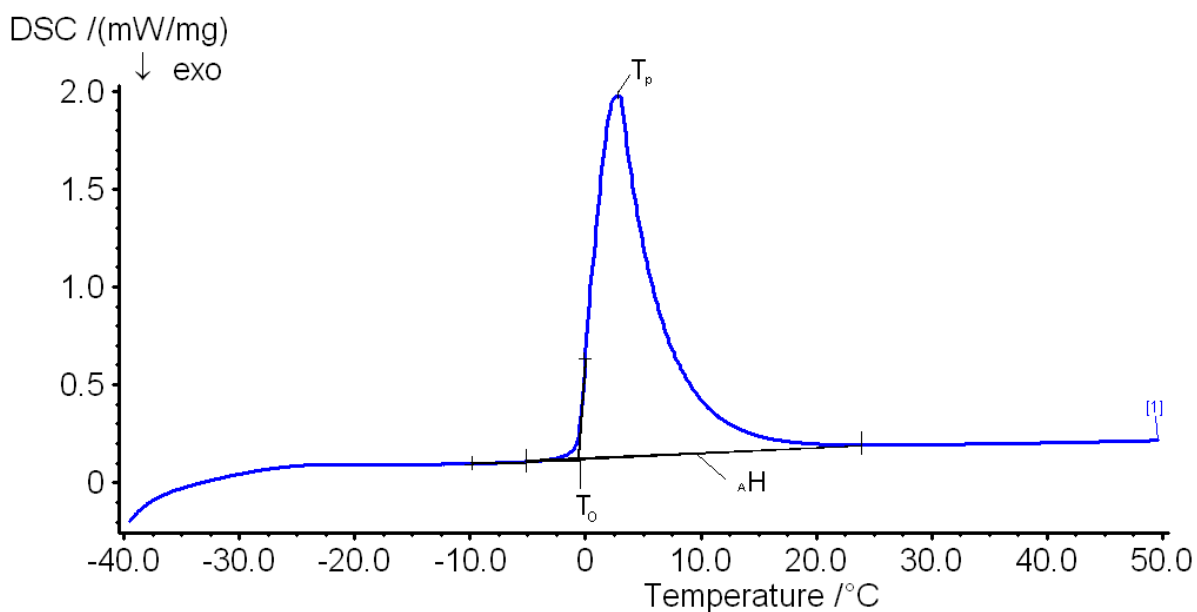
GRAF č. 85

Vzorek č.11b hydratovaný na lázni (po odparce) – Vzorový záznam cyklu (2. až 6.ohřev)



GRAF č. 86

Vzorek č.11b na lázni (po odparce) - Posuzované parametry píku vody (záznam 6.ohřevu vzorku 11)



TABULKA č. 4 – Charakteristiky píku vody vzorku č.11b hydratovaného na lázni po homogenizaci na odparce

	T_o °C	T_P °C	ΔH J/g	Teplota, do které bylo provedeno měření °C
2.ohřev*	- 0,3	6,5	218,4	25
3.ohřev*	0,0	7,2	220,9	25
4.ohřev*	- 0,2	6,7	219,6	25
5.ohřev*	- 0,3	6,8	219,1	25
6.ohřev*	- 0,2	6,7	201,3	20
7.ohřev!	- 1,0	3,6	221,4	100
8.ohřev	- 0,1	6,9	229,9	100
9.ohřev	- 0,1	7,2	228,1	100
10.ohřev	- 0,1	7,0	228,9	100
11.ohřev	- 0,1	6,8	228,7	100
12.ohřev	- 0,1	7,1	228,9	100
20.ohřev**	- 0,4	6,4	229,6	110

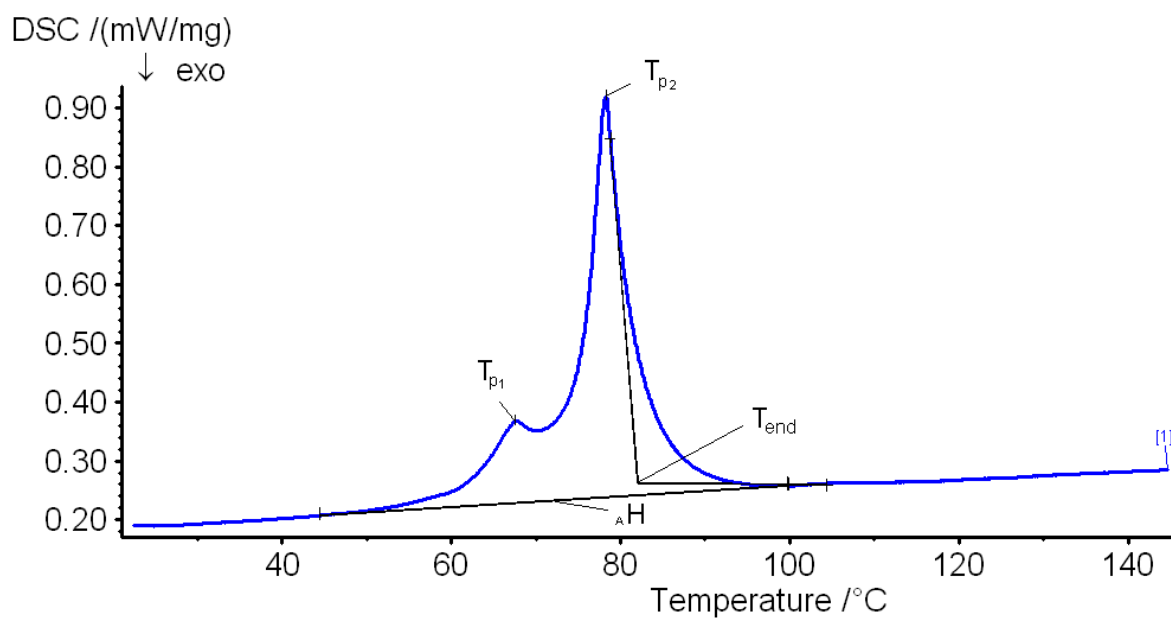
* ne plně dokončené záznamy

! měřeno za jiné rychlosti

** měřeno po 3 dnech stání

GRAF č. 87

Vzorek č.11b na lázni (po odparce) - Posuzované parametry píku hydratovaného vzorku (záznam 6.ohřevu vzorku11)



TABULKA č. 5 – Charakteristiky píku hydratovaného vzorku č.11b

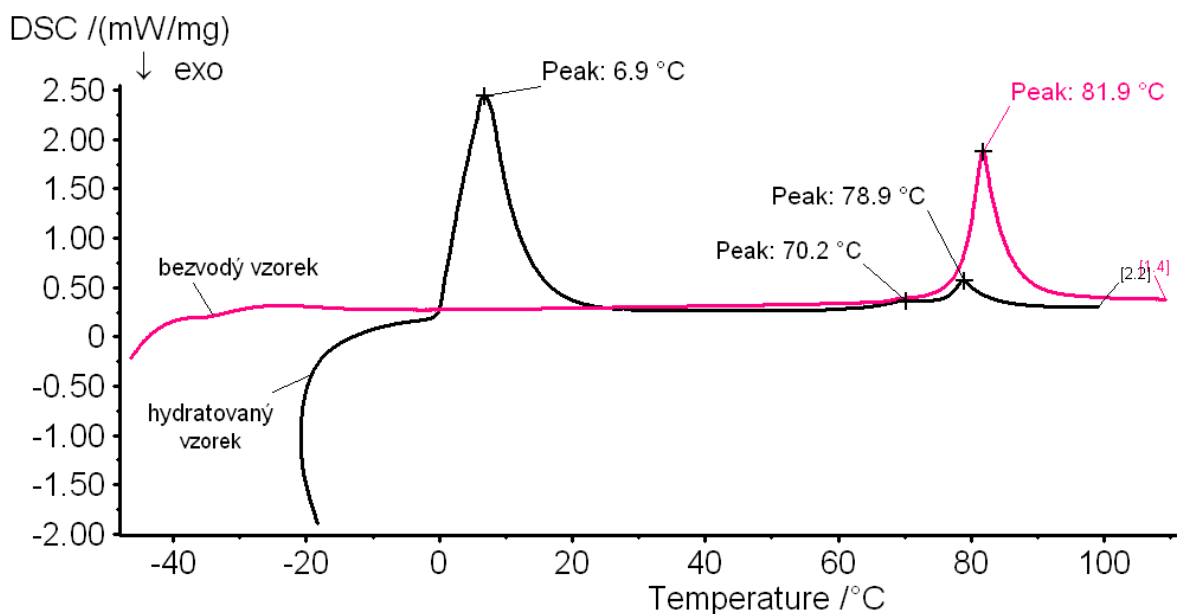
	T _{P1} °C	T _{P2} °C	T _{end} °C	ΔH J/g	Parciální plochy při				
					60°C %	70°C %	T _{P2} %	80°C %	90°C %
1.ohřev	70,5	79,6	84,2	34,53	0,31	14,34	56,71	60,55	96,75
7.ohřev!	69,4	78,0	80,0	32,28	2,18	24,38	70,19	90,57	100,0
8.ohřev	70,2	78,9	83,0	31,78	0,35	14,61	54,78	65,48	97,17
9.ohřev	69,8	78,6	82,6	28,62	- 0,04	14,19	53,13	67,19	97,71
10.ohřev	69,9	78,6	82,6	28,41	- 0,00	14,30	53,41	67,51	97,80
11.ohřev	69,9	78,7	82,6	28,67	- 0,01	14,35	54,59	67,50	97,62
12.ohřev	69,7	78,6	82,6	28,59	0,10	14,72	54,25	68,03	97,73
16.ohřev**	70,1	78,9	83,3	29,93	0,19	13,55	53,40	64,74	97,54
19.ohřev**	69,6	78,4	82,7	30,60	0,28	16,04	54,37	69,31	97,38
20.ohřev**	68,9	78,3	82,6	30,74	0,66	17,68	55,18	70,56	97,06

! měřeno za jiné rychlosti

** měřeno po 3 dnech stání

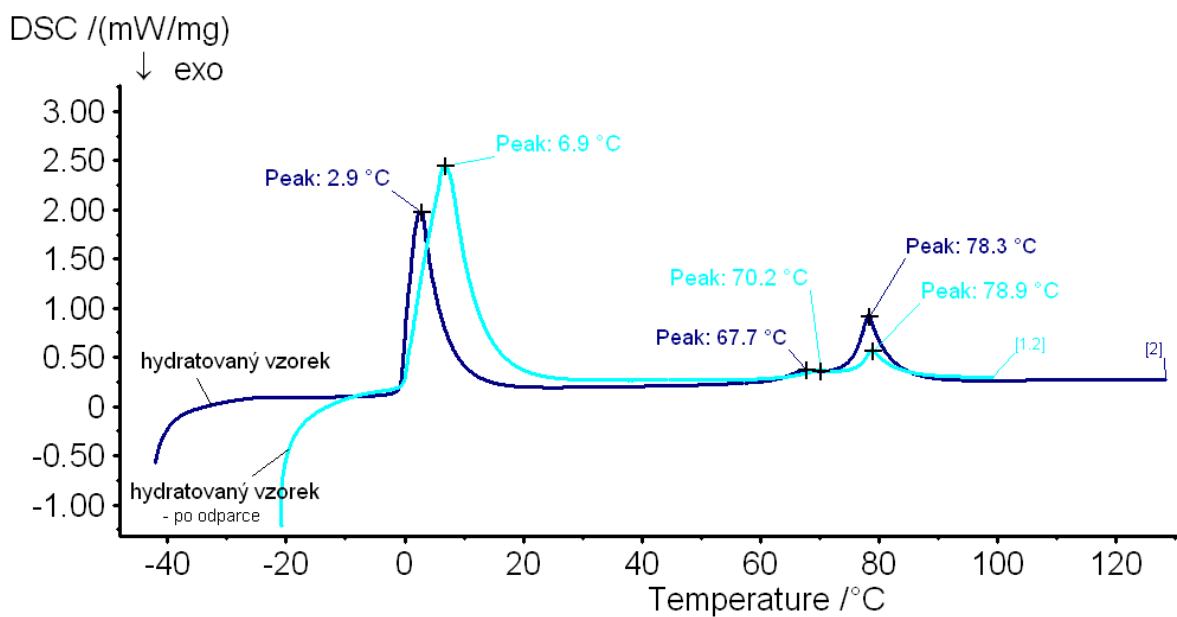
GRAF č. 88

Srovnání záznamu 8.ohřevu vzorku č.11b hydratovaného na lázni (po odparce) - první, který je do požadované teploty a stejnou rychlostí - a záznamu 2.ohřevu bezvodého vzorku č.11



GRAF č. 89

Srovnání záznamu 8.ohřevu vzorku č.11b hydratovaného na lázni (po odparce) a záznamu 6.ohřevu vzorku č.11 hydratovaného na lázni



4.5 Diskuze

4.5.1 Diskuze k úkolu č.1

Nejdříve jsme si navázili suroviny, případně jsme si připravili dvousložkové směsi a podrobili měření na DSC.

Na grafech č.1-8 jsou znázorněny průběhy měření surovin a dvousložkových směsí i s teplotními programy.

Na grafu č.9 je uveden záznam ohřevu pseudo-ceramidu, kde je patrný pík s hodnotou T_P 88,4°C a hodnotou ΔH 162,8J/g.

Na grafu č.10 je uveden záznam ohřevu cholesterolu, kde je patrný pík s hodnotou T_P 159,2°C a hodnotou ΔH 28,61J/g.

Na grafu č.11 je uveden záznam ohřevu kyseliny olejové, kde je patrný pík s hodnotou T_P -4,2°C a hodnotou ΔH 18,41J/g. Na záznamu ale chybí pokračování ohřevu, další pík by měl být kolem T_P 15°C (v diplomové práci Veroniky Kafkové z roku 2007, na str. 33 je uveden celý záznam)²³

Na grafu č.12 je uveden záznam ohřevu cholesterol sulfátu, kde je patrný pík s hodnotou T_P 171,4°C a hodnotou ΔH 1,59J/g a pík s hodnotou T_P 278,4°C a hodnotou ΔH 14,94J/g.

Na grafu č. 13 je uveden záznam ohřevu vody, kde je patrný pík s hodnotou T_P 12,9°C a hodnotou ΔH 357,7J/g.

Na grafu č.14 je uveden záznam ohřevu vzorku č.7 (cholesterol 71% a kyselina olejová 21%), kde je patrný pík s hodnotou T_P 12,8°C, který přisuzujeme kyselině olejové, dále pík s hodnotou T_P 31,1°C cholesterolu (hlavní pík cholesterolu chybí), dohromady mají hodnotu ΔH 35,47J/g. A pík s hodnotou T_P 124,8°C a hodnotou ΔH 24,85J/g, který přisuzujeme rozpouštění cholesterolu v kyselině olejové. Obě složky se zřejmě v daném poměru mísí v kapalném stavu, tuhnou odděleně.

Na grafu č.15 je uveden záznam ohřevu bezvodého vzorku č.11 (pseudo-ceramid 67% a cholesterol 33%) připravovaného na vakuové odparce. Na záznamu je patrný pík s hodnotou T_P 69,2°C a 81,9°C a hodnotou ΔH 113,1°C.

4.5.2 Diskuze k úkolu č.2

V první fázi jsme použili k měření vzorek obsahující nejčastěji uváděné složení epidermálních lipidů, tj. cholesterol, cholesterol sulfát, ceramid a kyselina olejová. Vzhledem k vysoké finanční náročnosti surovin, jsme místo ceramidu použili látku, která byla syntetizována na Katedře anorganické a organické chemie. A která by měla vzhledem ke své struktuře ceramid velmi dobře nahradit.

Poněvadž u lipofilních látek lze očekávat existenci několika krystalických modifikací a eventuálně i pomalou krystalizaci z taveniny, zaměřili jsme se nejdříve na sledování kalorimetrických charakteristik samotné směsi.

Na grafech č.20-25 jsou znázorněny průběhy měření bezvodého vzorku č.9 i s teplotními programy.

Záznam na vakuové odparce homogenizované, ale teplotně nezatěžované směsi je uveden na grafu č.58 pod označením první ohřev. Na tomto záznamu je patrný pík s hodnotou T_P 12,0°C, který odpovídá kyselině olejové. Další výrazný pík má hodnotu T_P 77,5°C. Tento pík má hodnotu T_P o 10,9°C nižší než odpovídá hodnotě pseudo-ceramidu. Vzhledem k mohutnosti píku se zcela pravděpodobně jedná o tání pseudo-ceramidu v interakci s kyselinou olejovou. Cholesterol se v této oblasti pravděpodobně výrazněji neuplatňuje. Dále na záznamu zcela chybí pík odpovídající tání cholesterolu. Toto je v souladu se zjištěním, které bylo uděláno v rámci Rigorózní práce Mgr. Kafkové. Na tomto grafu je zároveň uveden i druhý bezprostředně následující ohřev po ztuhnutí taveniny. Na záznamu je patrný plochý pík tvořený několika překrývajícími se píky. Počátkem tání je cca 15°C a konec při cca 80°C. Žádné další píky na záznamu nejsou. Z tohoto záznamu je patrné, že v roztaveném stavu dochází mezi látkami k interakci. Při tuhnutí nekrytalizují jednotlivé složky odděleně. Zda se jedná o pomalu krystalizující směs nemůžeme zatím konstatovat.

Na grafech č.59 a č.60 je uvedeno srovnání prvních ohřevů (vzorek po několika dnech stání) a bezprostředně následujících druhých ohřevů. Na grafu č.59 nepozorujeme výrazný rozdíl mezi prvním a následujícím ohřevem. Na grafu č.60 není rozdíl v konci procesu tání, ale první ohřev má převahu překrývajícího se píku při vyšších teplotách. Následující ohřev jakoby posouval hodnoty do nižších teplotních pásem. Podobné konstatování můžeme ale udělat i ze záznamu na grafu č.61, kde jsou však uvedeny pouze první ohřevy po stání, kdy 3.ohřev má píky v nižších teplotních pásmech než 5.ohřev.

Na grafech č.62 a č.63 je uvedeno srovnání druhých ohřevů. Nepozorujeme výrazný rozdíl v záznamech. Z tohoto důvodu se nám jeví pro vzájemné porovnání výhodnější srovnávat až druhé ohřevy.

Tuto bezvodou směs jsme potom hydratovali vodou (80 - 85% vody ve vzorku). Hydrataci jsme prováděli dvěma způsoby.

Na grafech č.26-28 jsou znázorněny průběhy měření vzorku č.9 hydratovaného v kelímku i s teplotními programy.

Na grafech č.64-67 jsou záznamy týkající se hydratace vzorku přímo v měřicím kelímku. Nejdříve jsme provedli cyklus 4 ohřevů (graf č.64) Poněvadž převážná část bezvodé směsi roztála do teploty cca 70°C zahřívání vzorek v cyklu nejdříve 3x do teploty 70°C a poslední ohřev byl do teploty 80°C. Na grafu č.65 je průběh prvního ohřevu. Je viditelný pouze pík odpovídající zřejmě tání inkorporované vody. Do 70°C není na záznamu žádný další pík. Všechny ohřevy v cyklu jsou znázorněny na grafu č.66. Při druhém ohřevu je viditelný pík s T_P 50°C, 3. a 4.ohřev mají naznačený nevýrazný pík až kolem 80°C. Při 6.ohřevu jsme vzorek zahřáli až na teplotu 200°C. Záznam je uveden na grafu č.67. Na záznamu je zřetelný pík tání vody s T_P 10,2°C, další pík s T_P 78,8°C je méně výrazný. Na grafu je ale dále patrný výrazný pík s hodnotou T_P 105,7°C. Na grafech č.68 a č.69 je uvedeno srovnání tohoto záznamu se záznamem nehydratované směsi, která žádný pík v teplotním pásmu kolem 100°C nemá.

Na základě provedeného měření můžeme tedy konstatovat, že k interakci vzorku s vodou dojde až po jeho alespoň částečném roztavení. V přítomnosti vody se objevuje další výrazný pík s hodnotou T_P 105,7°C. Tento pík nemá u nehydratovaného vzorku obdobu.

Na grafech č.28-39 jsou znázorněny průběhy měření vzorku č.9 hydratovaného na lázni i s teplotními programy.

Druhý způsob hydratace vzorku probíhal ve skleněné lahvičce na vodní lázni v několika cyklech ohřevu a chlazení. Takto „nahydratovaný vzorek“ byl potom přenesen do měřicího kelímku, proměřen a následně jsme jej pětkrát ohřívání a chladili. Na grafu č.70 je záznam pořízený do teploty ohřevu 85°C. Na grafu č.71 je uvedeno srovnání 2 a 3. ohřevu. Průběh je zcela shodný. Na grafu č.72 je uvedeno srovnání prvního ohřevu vzorku částečně hydratovaného již na vodní lázni se záznamem vzorku hydratovaného přímo v kelímku (porovnávají se vzorky podrobené podobné tepelné zátěži). Je vidět

shodný průběh procesu tání, záznam vzorku hydratovaného na vodní lázni není dokončen. Toto dokončení je uvedeno na grafu č.73. I zde je zřetelný pík s teplotou T_p 102,0°C. Tento pík ale při následujícím ohřevu mizí (graf č.74). Na následujících grafech č.75, č.76 a č.77 jsou porovnávány záznamy po sobě následujících ohřevů. Vzorky byly měřeny rozdílnou rychlostí a znázorněno je porovnání vzorků měřených za stejných podmínek. Průběhy jsou ve všech případech shodné.

Stejný jev – objevení píku s teplotou T_p 101,7°C (graf č.78) a při následném ohřevu jeho vymizení (graf č.79) – se objevil i u vzorku č.8, který obsahuje také pseudo-ceramid, cholesterol, kyselinu olejovou, cholesterol sulfát a vodu, ale všechny složky byly naváženy přímo do kelímku a následně měřeny na DSC. Na grafech č.16-19 jsou znázorněny průběhy měření vzorku č.8 i s teplotními programy.

Poněvadž v předchozích měřeních jsme pracovali se vzorky s kyselinou olejovou, která nám může při vyšších teplotách ovlivňovat chování jednotlivých složek směsi, zaměřili jsme se dále na hodnocení obsahově jednoduššího vzorku, který se skládal z cholesterolu a pseudo-ceramidu. Tuto směs jsme hydratovali v lahvičce na vodní lázni a potom proměřili na DSC. Další zahřívání probíhalo již v kelímcích na DSC. Na grafech č.40-50 jsou znázorněny průběhy měření vzorku č.11 hydratovaného na lázni i s teplotními programy. Celkem jsme provedli 12 ohřevů. Cílem bylo zjistit, zda dalším zahříváním se vzorek hydratuje. Jednotlivé detailní záznamy nejsou z důvodu jejich rozsahu v práci uvedeny. Uvádíme pouze vzorový záznam jednoho ohřevu (graf č.80) .

Na záznamu je zřetelný pík vody a pík „hydratovaného vzorku“. Dále uvádíme zvlášť parametry píku vody a zvlášť parametry „hydratovaného vzorku“. Na grafu č. 81 jsou znázorněny charakteristiky týkající se záznamu píku vody. Tyto charakteristiky jsou dále uvedeny v tabulce č.1 V tabulce je uváděn 6., 10. a 12. ohřev. 5. ohřev byl první, při kterém jsme zahřívali nad 100°C. Z této tabulky vyplývá, že hodnoty T_o se posouvají k nižším hodnotám. Tento jev je uváděn i v literatuře a je přisuzován přítomnosti vody v lamelární struktuře, kdy se uvádí, že tato voda začíná tát při minusové teplotě, přičemž začátek procesu tání je rozdílný podle složení vzorku. Rovněž hodnoty ΔH se zahříváním snižují. Převážním vzorku jsme zjistili, že voda z kelímku ale neunikla. Jedná se tedy o to, že voda pravděpodobně vstoupila do interakce s inkorporovanými složkami. Pokusili jsme se zjistit, jaké množství vody nezreagovalo. Na grafu č.82 je záznam průběhu tání vzorku obsahující pouze vodu. Toto nám posloužilo ke stanovení tepla skupenského přechodu ledu

na kapalinu. V tabulce č.2 jsou uvedeny hodnoty tepla tání vody. Jedná se o hodnoty, které byly převzaty z tabulky č.1 a které byly vztaženy pouze na inkorporované množství vody ve vzorku. Z údajů vyplývá, že množství volné vody se dalším zahříváním neustále snižuje.

Na grafu č. 83 je uveden vzorový záznam píku „hydratovaného vzorku“ a charakteristiky, které byly u něj posuzovány. Tyto jsou dále uvedeny v tabulce č.3 U některých vzorků nebylo možné některé parametry vyhodnotit a proto nejsou v tabulce uvedeny. Co se týče hodnot T_{P1} , T_{P2} , T_{end} a ΔH můžeme konstatovat, že se nám při opakovaném zahřívání pomalu posouvají do nižších pásem. Rozdíly v hodnotách však nejsou příliš velké. V literatuře je uváděno, že hydratovaný vzorek může existovat v několika modifikacích lišících se v hodnotách T_P a ΔH . Rozdíly v hodnotách T_P jsou malé, několik °C. Tomu odpovídají i rozdíly u našeho vzorku. Neodpovídají nám však rozdíly v hodnotách ΔH . Tyto by měly být podle literárních údajů podstatně vyšší. Z tohoto důvodu musíme konstatovat, že v daném měřicím cyklu nemůžeme prokázat existenci dvou rozdílných struktur hydratovaného vzorku.

V tabulce č.3 jsou uvedeny i parciální plochy ukazující, jaké množství vzorku roztálo při uvedené teplotě. Trendy jsou uvedeny i na následujícím grafu č.84. Ve všech případech dochází k tomu, že čím vícekrát zahříváme, tím nám roztaje při dané teplotě větší množství vzorku. Vzorky tají celkově v širším teplotním rozmezí, které jak vyplývá z parciálních ploch se nám posouvá do nižších teplotních pásem. Na základě námi provedených měření můžeme konstatovat, že ani po 12 ohřevech není vzorek dostatečně stabilizovaný a lze očekávat, že v jeho uspořádání bude docházet k dalším změnám.

Na následujících grafech č.85-87 je uvedeno chování vzorku zhruba stejného složení, ale tuhé substance byly homogenizovány na vakuové odparce Na grafech č. 51-57 jsou znázorněny průběhy měření vzorku i s teplotními programy. U tohoto vzorku jsme provedli celkem 20 ohřevů, většina z nich probíhala v cyklech. Záznam takového cyklu je uveden na grafu č.85. Na grafu č.86 je uveden vzorový průběh s vyznačením hodnocených parametrů. V tabulce č.4 jsou uvedeny parametry týkající se vody. Nejistili jsme žádné výrazné rozdíly hodnocených parametrů v závislosti na počtu ohřevů, a to ani při ohřevech na teplotu 100°C. Toto je zcela rozdílný závěr ve srovnání s předchozím vzorkem. Vysvětlujeme si to tím, že teplota 100°C je příliš nízká a v přítomnosti vody mohou být při teplotách nad 100°C ještě nějaké neroztavené podíly vzorku, tak jak tomu bylo zjištěno u vzorku č. 9.

Parametry „hydratovaného vzorku“ jsou znázorněny na grafu č.87 a v tabulce č.5. Nemůžeme konstatovat, že dochází k výraznějším změnám ve vzorku. Na grafu č.88 je uvedeno srovnání bezvodé směsi a vzorku s vodou. Ze záznamu nevyplývá výrazně rozdílný průběh tání .

Na grafu č.89 je porovnání vzorku hydratovaného na lázni po předchozí homogenizaci na vakuové odparce (11b) a vzorku hydratovaného na lázni bez předchozí úpravy (11). Průběh záznamů se příliš neliší. Z tabulky č.1 a č.4 však vyplývá, že hodnota ΔH vody vzorku 11b je cca dvakrát vyšší než vzorku 11, tabulky č.3 a č.5 je patrné, že hodnota ΔH „hydratovaného vzorku“ 11b je cca dvakrát nižší než vzorku 11. Obojí přisuzujeme rozdílnému tepelnému namáhání, vzorek 11b byl zahříván na teplotu 100°C, což nestačí vzhledem k našemu zjištění existence píku při vyšší teplotě.

5. Závěr

- 1 Nedoporučujeme hydratovat vzorek v lahvičce
- 2 Doporučujeme hydratovat vzorek přímo v měřicím kelímku
- 3 Před hydratací je nutné roztavit všechny složky vzorku
- 4 V přítomnosti vody a cholesterolu se může objevit pík s hodnotou T_p 107°C. Tento pík se po zahřátí na teplotu 150 °C v následujících měřeních již nevyskytuje
- 5 12 ohřevů nestačí na stabilizaci vzorku

6. Seznam literatury

1. **Šesták, J.** : Měření termofyzikálních vlastností pevných látek, Teoretická termická analýza. Academia, Praha, 1982, 348 s.
2. **Gallagher, P. K., Brown, M. E.** : Handbook of Thermal Analysis and Calorimetry, Volume 1 – Principles and Practice, Elsevier Science, Amsterdam, 1998, 691 s.
3. **Brown, M. E.** : Introduction of Thermal analysis. Techniques and Applications, Volume 1 – Hot Topics in Thermal Analysis and Calorimetry. Kluwer academic publishers, 2001, 255 s.
4. **Swarbrick, J., Boylan, J. C.** : Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, Volume 15 – Thermal Analysis of Drugs and Drug Products to Unit Processes in Pharmacy: Fundamentals. Marcel Dekker, New York, 1997, 413 s.
5. Západočeská univerzita, Fakulta aplikovaných věd, Katedra Fyziky - <http://www.kfy.zcu.cz/laboratore/pristroje/setaram.php>
6. **Hrabálek, A., Vávrová, K.** : Lze překonat kožní bariéru?. Praktické lékařství 1, 2005, 8-11
7. **Bouwstra, J. A., et al.** : Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulation. Progress in Lipid Research 42, 2003, 1-36
8. **Globitza, B., Müller-Gozmann, C.C.** : Influence of different ceramides on the structure of in vitro lipid systems of the stratum corneum lipid matrix. Chem. Phys. Lipids 117, 2002, 29-44
9. **Kathi C Madison** : Barrier Function of the Skin : „La Raison d’Être“ of the Epidermis. J. Invest. Dermatol. 121, 2003, 231-241
10. **Blume, A.** : Biological calorimetry: membranes. Thermochim. Acta 193, 1991, 299-347
11. **Brandenburg, K., et al.** : What can calorimetry tell us about changes of three-dimensional aggregate structures of phospholipids and glycolipids?. Thermochim. Acta 445, 2006, 133-143
12. **Kaasgaard, T., Mouritsen, O. G., Jørgensen, K.** : Freeze/Thaw effects on lipid-bilayer vesicles investigated by differential scanning calorimetry. Biochim. Biophys. Acta 1615, 2003, 77-83

13. **Miranda, W. de Jager, et al.** : Novel lipid mixtures based on synthetic ceramides reproduce the unique stratum corneum lipid organization. *J. Lipid Res.* 45, 2004, 923-932
14. **Bowstra, J. A., et al.** : Phase behavior of lipid mixtures based on human ceramides: coexistence of crystalline and liquid phases. *J. Lipid Res.* 42, 2001, 1759-1770
15. **Bowstra, J. A., et al.** : The role of ceramide composition in the lipid organization of the skin barrier. *Biochim. Biophys. Acta* 1419, 1999, 127-136
16. **Bowstra, J. A., et al.** : Phase behavior of isolated skin lipids. *J. Lipid Res.* 37, 1996, 999-1011
17. **Mizushima, H., Fukasawa, J., Suzuki, T.** : Phase behavior of artificial stratum corneum lipids containing a synthetic pseudo-ceramide: a study of the function of cholesterol. *J. Lipid Res.* 37, 1996, 361-367
18. **MsIntosh, T. J.** : Organization of Skin Stratum Corneum Extracellular Lamellae: Diffraction Evidence for Asymmetric Distribution of Cholesterol. *Biophysical Journal* 85, 2003, 1675-1681
19. **Collins, J. J., Phillips, M. C.** : The stability and structure of cholesterol-rich codispersions of cholesterol and phosphatidylcholine. *J. Lipid Res.* 23, 1982, 291-298
20. **Garti, N., Karpuj, L., Sarig, S.** : Correlation between crystal habit and the composition of solvated and nonsolvated cholesterol crystal. *J. Lipid Res.* 22, 1981, 785-791
21. **Wartewig, S., et al.** : Structure of stratum corneum lipids characterized by FT-Raman spectroscopy and DSC. Mixture of ceramides and oleic acid. *Chem. Phys. Lipids* 91, 1998, 145-152
22. **Takahashi, H., et al.** : Behavior of ice-water transition in dimyristoylphosphatidylethanolamine-water system. *Thermochim. Acta* 303, 1997, 93-99
23. **Kafková, V.** : Termální analýza interakcí epidermálních lipidů I. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické technologie, 2007
24. Instrument Manual Netzsch