

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

KRYTY RAN NA BÁZI BIOPOLYMERŮ S VÁZANÝM JÓDEM

Bc. Tomáš Havlík

Diplomová práce

2017

UNIVERSITY OF PARDUBICE
FACULTY OF CHEMICAL TECHNOLOGY

BIOPOLYMER-BASED WOUND DRESSINGS WITH IODINE

Bc. Tomáš Havlík

Diploma Thesis

2017

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Tomáš Havlík**
Osobní číslo: **C15527**
Studijní program: **N2808 Chemie a technologie materiálů**
Studijní obor: **Vlákná a textilní chemie**
Název tématu: **Kryty ran na bázi biopolymerů s vázaným jódem**
Zadávací katedra: **Ústav chemie a technologie makromolekulárních látek**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

1. V teoretické části práce se zaměřte na typy krytů ran z přírodních i syntetických polymerů se zabudovanými biologicky aktivními sloučeninami.
2. Na základě zkušeností ÚCHTML se zvláknováním vhodných biopolymerů a zpracováním získaných staplových mikrovláken do plošných útvarů (krytů ran) připravte kryty ran s různým obsahem jódu. Studujte jejich mechanické vlastnosti a pokuste navrhnout vhodnou metodu pro stanovení obsahu jódu v krytu rány. Kvantifikujte některé změny, ke kterým dochází při vizuálním hodnocení vzorků v průběhu skladování.
3. Navrhněte s ověřte vhodnou metodu pro navázání jódu v textilních materiálech na bázi vláken z alifatických polyamidů.

Rozsah pracovní zprávy:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná**

Seznam odborné literatury:

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Ladislav Burgert, CSc.

Ústav chemie a technologie makromolekulárních látek

Konzultant diplomové práce:

Ing. Michal Černý, Ph.D.

Ústav chemie a technologie makromolekulárních látek


Datum zadání diplomové práce: **2. prosince 2016**

Termín odevzdání diplomové práce: **12. května 2017**



prof. Ing. Petr Kalenda, CSc.
děkan

L.S.



Ing. Dávid Veselý, Ph.D.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2017

Prohlašuji:

Tuto práci jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jiného subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požádat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich výše.

Souhlasím s prezenčním zpřístupněním své práce na Univerzitní knihovně Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 12. 5. 2017

Bc. Tomáš Havlík

Poděkování

Na tomto místě bych rád poděkoval doc. Ing. Ladislavu Burgertovi, CSc. za vedení, rady a připomínky a za pomoc při konečném zpracování diplomové práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D. za stanovení biologické aktivity některých typů krytů a doc. Ing. Anně Krejčové, Ph.D. za stanovení obsahu jódu v krytech. Za rady a pomoc při měření bych chtěl poděkovat také Ing. Michalu Černému, Ph.D. a Ing. Luboši Prokúpkovi, Dr. Také bych chtěl poděkovat celé své rodině, která mi byla velkou oporou po celou dobu mého studia.

Anotace

V předložené diplomové práci jsou shrnuty základní poznatky o vlastnostech krytů ran připravených na bázi staplových mikrovláken z kombinace kyseliny hyaluronové a škrobu s obsahem jódu. Řešena je problematika stanovení obsahu jódu v připravených krytech, ale také jeho úbytek v procesu tvorby a zpracování vlákna. Jsou stanoveny mechanické parametry krytu s cílem bližšího pochopení formování vlákna ze dvou odlišných biopolymerů. Součástí práce je i prokázání antimikrobiálního účinku připravovaných krytů. Byly stanoveny zásadní podmínky pro sorpci jódu na materiály z alifatických polyamidů.

Klíčová slova: vlákna z kyseliny hyaluronové, škrob, jód, hodnocení antimikrobiálního účinku, alifatický polyamid.

Annotation

This diploma thesis summarizes basic findings of wound dressings based on a combination of hyaluronic acid and starch staple microfibers containing iodine. The issue of iodine quantification in prepared dressings and its decrease during fiber processing is solved. The mechanical properties of wound dressings were measured to understand the formation of fibers of two different biopolymers. Part of this thesis is also the proof of an antimicrobial effect of prepared wound dressings. The essential conditions of the sorption of iodine on an alifatic polyamide material are set as well.

Keywords: Hyaluronic acid fibers, starch, iodine, antimicrobial effect assessment, alifatic polyamide.

Obsah

1. Úvod	11
2. Teoretická část	12
2.1. Moderní kryty ran	12
2.2. Rozdělení moderních krytů	14
2.2.1. Hydrokoloidní krytí	14
2.2.2. Hydropolymerová krytí	14
2.2.3. Pěnová polyuretanová krytí	14
2.2.4. Hydrogelová krytí	15
2.2.5. Hydrobalanční krytí	16
2.2.6. Mokrý interaktivní krytí	16
2.2.7. Alginátová krytí	16
2.2.8. Absorpční krytí	16
2.2.9. Krytí z hydrovláken	17
2.2.10. Průhledná polyuretanová krytí	17
2.2.11. Enzymatické prostředky	18
2.2.12. Antibakteriální a antiseptické prostředky	18
2.3. Materiály na bázi chitin/chitosan	18
2.4. Celulózové materiály	19
2.4.1. Karboxymethyl celulóza	20
2.4.2. Oxycelulóza	20
2.5. Využití škrobu v medicíně	21
2.6. Využití kyseliny hyaluronové	22
2.7. Formy HA a jejich zpracování	23
2.7.1. Mikrovlákna	24
2.7.2. Nanovlákna z kyseliny hyaluronové	25
2.7.3. Netkané materiály ze staplovým mikrovláken	26

2.8.	Materiály s obsahem jódu	27
2.9.	Hyiodine®	27
2.10.	Cadexomer iodine.....	28
2.11.	Povidone iodine (Betadine®)	28
2.12.	Příklady dalších typů aktivních látek	29
2.12.1.	Stříbro	29
2.12.2.	Med	29
3.	Experimentální část	30
3.1.	Zabudování jódu do nativních zrn škrobu.....	30
3.2.	Zabudování jódu do zmazovatělého škrobu.....	30
3.3.	Zabudování jódu do rozvařeného škrobu.....	31
3.4.	Zabudování jódu do zmazovatělého a přefiltrovaného škrobu.....	32
3.5.	Postup při přípravě staplových mikrovláken a krytů z nich.....	32
3.6.	Stanovení mechanických vlastností připravených krytů ran.....	42
3.6.1.	Charakteristika testovaných vzorků.....	43
3.7.	Stanovení koncentrace jódu	46
3.7.1.	Stanovení obsahu jódu v připravených krytech ran.....	46
3.7.2.	Stanovení obsahu jódu ve zvláknovacím a zpracovatelském roztoku.....	49
3.7.3.	Stanovení koncentrace jódu v krytu na základě metod pro objektivní hodnocení barevnosti.....	52
3.8.	Hodnocení biologické aktivity – antimikrobiální účinnosti krytů ran s obsahem jódu. 59	
3.9.	Sorpce jódu textilními polyamidovými materiály.....	65
3.9.1.	Sorpce jódu na polyamidovou pleteninu dle metody Dr. Schwertasska.....	65
3.9.2.	Stanovení sorpční izotermy jódu na polyamidové pletenině.....	66
4.	Závěry.....	70
5.	Zdroje	71
6.	Přílohy.....	74

1. Úvod

Na základě předběžných zkušeností získaných na Ústavu chemie a technologie makromolekulárních látek FCHT Univerzity Pardubice se zpracováním kombinace škrobu a vhodného vodorozpustného lineárního biopolymeru do formy staplových mikrovláken a jejich následným zpracováním do plošného útvaru – krytu rány a na základě ověření, že do použitého škrobu je možno zabudovat jód, který se do určité míry v systému zachová až do zpracování na kryt rány, bylo v rámci této diplomové práce připraveno několik koncentračních řad krytů ran s teoretickým obsahem jódu 0,5%; 1,0%; 2,0%; 4,0%.

Jak však bylo v průběhu práce zjištěno, značné množství jódu přechází v průběhu přípravy staplových vláken do zvláknovacího roztoku a k dalšímu úbytku dochází v procesu zpracování mikrovláken do plošného útvaru.

Významnou součástí práce je proto stanovení skutečného obsahu jódu v hotovém produktu, ale také snaha o určitou bilanci jódu v procesu celého zpracování. Stanovení obsahu jódu v připravených krytech byla provedena metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem za použití speciálního detekčního čidla. Obsah uvolněného jódu do zpracovatelských izopropanolových lázní byl sledován spektrofotometricky. Pro určení koncentrace jódu v krytech byly, poněkud netradičně, použity metody objektivního měření barevnosti za předpokladu, že intenzita modrého zbarvení jodo-škrobového komplexu je úměrná jeho koncentraci v systému.

Součástí práce je hodnocení mechanických vlastností hotového krytu rány, především pevnosti. Výsledky dokreslují kombinaci lineárního polymeru (především kyseliny hyaluronové) a rozvětvených, event. spirálových makromolekul polysacharidů škrobového zrna.

Významná je ta skutečnost, že pod vedením Ing. Ivety Brožkové, Ph.D. na katedře biologických a biochemických věd FCHT Univerzity Pardubice bylo otestováno několik vzorků krytů s obsahem jódu na jejich antimikrobiální účinek. Výsledky jsou důležité nejen z hlediska potvrzeného antimikrobiálního účinku, ale mají význam i pro optimalizaci formování krytu a pro některá analytická stanovení.

Na základě některých předběžných testování byly stanoveny základní podmínky pro studium sorpce jódu na pleteninu z alifatického polyamidu.

2. Teoretická část

2.1. Moderní kryty ran

Léčba poškozených tkání je složitý proces a vyžaduje hluboké znalosti účinků konkrétní látky na ránu a znalost průběhu fází hojení. Díky technologickému pokroku dnes existuje na 3000 produktů k léčbě různých typů zranění.

Zranění lze definovat jako narušení kontinuity epitelu pokožky, či sliznice, vznikající následkem fyzického, či tepelného poškození. Podle chování zranění je lze rozdělit na akutní a chronické. Akutní zranění jsou následkem nehody, či operace a léčba probíhá v očekávaném období, obvykle 8-12 týdnů, podle rozsahu zranění. Chronická zranění se neléčí klasickým způsobem a nelze stanovit dobu jejich léčby. Mezi chronická zranění patří bércové vředy, proleženiny, popáleniny třetího stupně a další obtížně léčitelná poškození tkáně. [1]

Léčba ran je dynamický a komplexní proces, sestávající se ze 4 fází:

1. **Koagulační fáze** – okamžitě po zranění
2. **Zánětlivá fáze** – dochází k otoku
3. **Proliferační fáze** – dochází k tvorbě nových tkání a cév
4. **Zrací fáze** – dochází k remodelaci nových tkání

Ať chronické, či akutní rány vylučují tzv. exudát (zánětlivý výpotek). Tato tekutina je nebezpečná pro zdravé okolí rány a je třeba ji při léčbě nějakým způsobem kontrolovat. Exudát obsahuje odumřelé buňky a bakterie, které je třeba z rány odstranit. Produkce exudátu je nepříjemná i z hlediska hygieny a čistoty. Schopnost hospodaření s nadměrnou produkcí této tekutiny má řada recentních typů krytů ran, které jsou obsahem dalších kapitol této práce. [2]

Podle typu zranění dochází k různému průběhu těchto fází léčby. Na každý typ zranění je vhodný jiný druh léčby a je třeba použít odlišné materiály. Výběr konkrétního krytu rány by měl být založen na vlastnostech krytu jako je schopnost zajištění určité vlhkosti prostředí, podpoření syntézy nových tkání, umožnění výměny plynů mezi tkání a okolím, udržování určité teploty, zajišťující správné prokrvení tkáně a migraci epidermis, poskytnutí ochrany proti bakteriální infekci. Dalším důležitým požadavkem na nové typy krytů je jejich nepřilnavost k ráně a snadné a bezbolestné odstraňování, či výměna během různých fází léčby. Při rozkladu

krytu v průběhu léčby by nemělo docházet k uvolňování pro tělo škodlivých látek a neměl by obsahovat látky s rizikem alergie. [1,3]

Primární kryty ran jsou určeny k přímému kontaktu s ránou, zatímco sekundární, jako je např. gáza, drží kryt na místě.

Léčba ran byla vždy důležitým oborem a už v Mezopotámii v období 2500 př.n.l. bylo doloženo používání hliněných destiček k léčbě. V pozdějším období byly používány k léčbě proužky látek namočených v oleji, dále pak kryty s medem nebo pryskyřicí. Rány byly oplachovány vodou nebo mlékem, v období kolem roku 400 př.n.l. prosazoval Hippokrates přírodní léčbu ran pomocí vína a octa. K léčbě se používala ve víně vyvařená vlna. Největší pokrok kryty zaznamenaly s objevem antibiotik v 19. století. [3]

Od počátku 80. let se upustilo od používání suchých obvazových materiálů, protože už byly dobře zdokumentovány vlastnosti moderních typů krytů ran, které podporují tzv. **vlhký způsob hojení** a obsahují řadu antibakteriálních látek jako jsou antibiotika, různé formy jódu, stříbra a dalších chemických sloučenin. Je však samozřejmostí, že s příchodem těchto krytů je léčba dražší, ale v porovnání se základními typy krycích materiálů jsou účinky nesrovnatelně lepší, co se týče jak doby léčby, tak i schopnosti zasaženou oblast zregenerovat. Farmaceutické a jiné společnosti, zabývající se těmito kryty, investují každý rok nemalé peníze do dalšího vývoje a lze tedy očekávat příchod stále lepších typů krytů ran. [2,4]

Tradiční tkané materiály jsou, jak již bylo zmíněno dříve, používány převážně jako podpůrný materiál při krytí. Problém jejich použití jako primární kryt spočívá v tom, že neobsahují žádné látky zabraňující interakci s ránou. Při hojení dochází k migraci buněk po povrchu rány. Pokud není kryt nějakým způsobem chráněn, dojde k migraci i do samotného krytu, tedy k adhezi materiálu k ráně a při jeho odstranění dochází k zpětnému poškození již zahojené tkáně. [4]

2.2. Rozdělení moderních krytů

2.2.1. Hydrokoloidní krytí

Na přelomu 19. století se věřilo, že je pro léčbu rány ideální použití krytu schopného odvádět ranou vytvořené tekutiny a udržovat ránu suchou. Poté však bylo zjištěno, že díky udržování rány v určitém vlhkém prostředí je možno urychlit proces hojení. Hydrokoloidní kryty se skládají ze dvou vrstev. Zevní vrstvu tvoří pěnová, pro vodu nepropustná polyuretanová hmota. Vnitřní – absorpční vrstva obsahuje hydrokoloidní polymerový komplex želatiny, pektinu a karboxymethylcelulózy. Hydrokoloidní částice reagují se sekretem rány a vytvářejí tak gelovou hmotu, která je poté v lepším kontaktu s ránou a zajišťuje příznivé klima pro hojení rány s vlhkostí kolem 90 % a požadovanou teplotu. Hydrokoloidy také zabraňují šíření bakterií, a naopak podporují migraci růstových faktorů pro snadnější hojení rány. Tento typ patří k nejstarším typům krytů nové generace, založených na udržování vlhkého prostředí rány. [5]

2.2.2. Hydropolymerová krytí

Hydropolymerová krytí jsou další formou krytů, které podporují vlhký způsob hojení a splňují většinu požadavků kladených na ideální krytí. Hydropolymery jsou buď nepartikulované polymery nebo směsi polymerů s hydrofilním účinkem, nejvíce se podobají hydrokoloidům. Tento kryt se skládá ze tří vrstev – zevní semipermeabilní polyuretanové vrstvy, propustné pro vodní páry, střední vrstvy z netkané textilie, která umožňuje transport tekutin a absorbování přebytečného sekretu z vnitřní, vysoce absorbující hydropolymerové vrstvy krytu. [6]

2.2.3. Pěnová polyuretanová krytí

Pěnová polyuretanová krytí jsou jednoduchá nebo vícevrstevná krytí vyráběná z měkkých polyuretanových materiálů propustných pro vodní páry a plyny. Jsou to hydrofilní prostředky, které se pro své vysoké absorpční vlastnosti používají hlavně na rány se zvýšenou produkcí exudátu. Optimální poměr mezi absorpcí a redukcí přebytečného sekretu udržuje ránu přiměřeně vlhkou. Společně s exudátem jsou pojímány bakterie a tím se pěnové obvazy podílejí

na čištění rány. Při použití tohoto krytu na rány s menší produkcí tekutin však může dojít k tvorbě strupu, který se slepí s krytem a způsobuje tak komplikace při výměně. [1, 4]

2.2.4. Hydrogelová krytí

Hydrogely patří mezi hydrofilní prostředky, které jsou zároveň schopny rehydratovat suchou tkáň a absorbovat sekret exsudativních ran. Hydrogely sestávají z polymerů nebo kopolymerů s vysokým obsahem vody, nejčastěji používaným materiálem je polyvinyl alkohol. Ten je pro použití v krytech ran vhodnou látkou, protože je biokompatibilní a odbouratelný. PVA se však díky své povaze nedá použít v krytech ran samostatně a je proto kombinován s jinými polymery, jako je celulóza, chitosan, nebo například polyethylen oxid. Kryty na bázi hydrogelů se často kombinují s filmovými obvazy a neadherentními obvazy. Amorfni gely mají uklidňující účinek a snižují bolestivost rány. [7]



Obrázek 1: Hydrogelový kryt značky Ypsiderm®

Zajímavým příkladem hydrogelového typu krytu rány je např. **Oxyzyme™**, obsahující enzymy a malé množství jódu. Na krytu dochází k difuzi vzdušného kyslíku a díky enzymatické reakci se v krytu tvoří peroxid vodíku, který pomáhá při léčení a potlačuje anaerobní bakterie. Zároveň se díky peroxidu z krytu uvolní malé množství jódu, který má antimikrobiální účinek. [8]

2.2.5. Hydrobalanční krytí

Hydrobalanční kryt je schopen regulace absorpce nadbytečného sekretu a dehydratace rány. Jeho konstrukci tvoří jemná vícevrstvá síť biosyntetické celulózy. Tento typ krytu je určen pro rány s nižší sekrecí a infikované. [1]

2.2.6. Mokrý interaktivní krytí

Příkladem tohoto krytí je produkt TenderWet, vícevrstevný kryt uzpůsobený přímému kontaktu s ránou. Jedná se o polyakrylátový polštářek (superabsorbent polyacrylate, SAP) v polypropylenové nepřilnavé síťce se superabsorpčním jádrem s Ringerovým roztokem – izotonický fyziologický roztok s obsahem sodíku a chloru, který nahrazuje přirozené biologické prostředí. Ringerův roztok je průběžně uvolňován do rány, aktivně změkčuje a rozpouští nekrózy a současně absorbuje zbytky odumřelých buněk, uvolněný detritus a choroboplodné zárodky (osmolytický débridement). [1, 9]

2.2.7. Alginátová krytí

Alginátová krytí, jejichž základem je biopolymer typu polysacharidu, alginát, který se získává z mořských řas, se vyznačují značnou absorpční schopností, a proto se používají k ošetřování ran se silnou sekrecí. Alginát sodný je biokompatibilní a rozložitelná látka, rozpustná ve vodě a má tedy ideální vlastnosti pro použití v medicíně. Podle stupně zesílení materiálu lze kontrolovat případné postupné uvolňování obsažených látek. Při kontaktu se sekretem rány se mění v nedráždivou a nepřilnavou gelovou hmotu připomínající vodní řasy. Se sekretem rány jsou pohlcovány i choroboplodné zárodky. [10]

2.2.8. Absorpční krytí

Absorpční kryty jsou podle názvu charakterizovány vysokou absorpční schopností. Vyrábějí se z netkaného viskózného, bavlněného nebo polyesterového materiálu. Vzhledem k výrazné sací kapacitě mají široké spektrum použití. Používají se buď jako primární, nebo sekundární krytí. [1].

Zajímavým příkladem tohoto typu krytů je absorpční krytí s **aktivním uhlím**. Základem těchto obvazů je jemná nedráždivá pletenina z viskózy nebo porézního nylonu, nasycená aktivním uhlím, někdy vícevrstevná, jindy uložená v polyamidové síťce. Hlavní výhodou tohoto krytí je schopnost redukovat zápach. Krytí absorbuje sekret rány, pohlcuje bakterie a ránu čistí. Některé typy však potřebují sekundární krytí a nevýhodou je nutnost časté výměny. To je však kompenzováno snadnou aplikovatelností krytů a převazy nepůsobí traumaticky. [11]

2.2.9. Krytí z hydrovláken

Krytí z hydrovláken patří k novým formám krycích prostředků určených k ošetřování silně secernujících ran. Hydrovlákna jsou vyrobena ze stoprocentního hydrokoloidu – karboxymethylcelulózy, který se spřádá do dutých vláken, z nichž se připravuje měkký, rounu podobný polštářek. Vzhledem ke strukturálnímu uspořádání mají enormně vysokou absorpční kapacitu. [1]. Příkladem produktu obsahující hydrovlákna v kombinaci se stříbrem je Aquacel[®]. Tento kryt rány je schopen udržet ránu ve vlhku a zároveň pomáhá absorbovat výpotek rány, který přemění v gel a udržuje tak odumřelé a infikované buňky mimo dosah rány. [12]



Obrázek 2: Kryt rány Aquacel[®] obsahující ionty stříbra

2.2.10. Průhledná polyuretanová krytí

Tyto krytí jsou vyrobeny z jemného transparentního polyuretanu, na jedné straně jsou opatřeny adhezivním akrylátem se samolepicí schopností. Udržují vlhké prostředí rány a tvoří bariéru proti bakteriální kontaminaci. Jako ostatní polyuretanová krytí jsou nepropustná pro

vodu, a proto se hodí spíše na rány, které produkují méně tekutin. Polyuretanové kryty mají také horší termoizolační vlastnosti. Je dobré v ráně udržovat teplotu těla, aby docházelo k lepší migraci buněk a růstových faktorů. Polyuretanová krytí jsou tedy vhodná spíše v konečných fázích léčby [1, 4]

2.2.11. Enzymatické prostředky

Tyto léčivé prostředky obsahují hydrolytické enzymy, které nahrazují nedostatek vlastních enzymů zapojených do procesu hojení. Jejich působením se štěpí narušený tkáňový kolagen, fibrin, rozkládá se deoxyribonukleová kyselina z jader poškozených buněk a tím se docílí bezbolestného vyčištění rány (enzymatický débridement). [1]

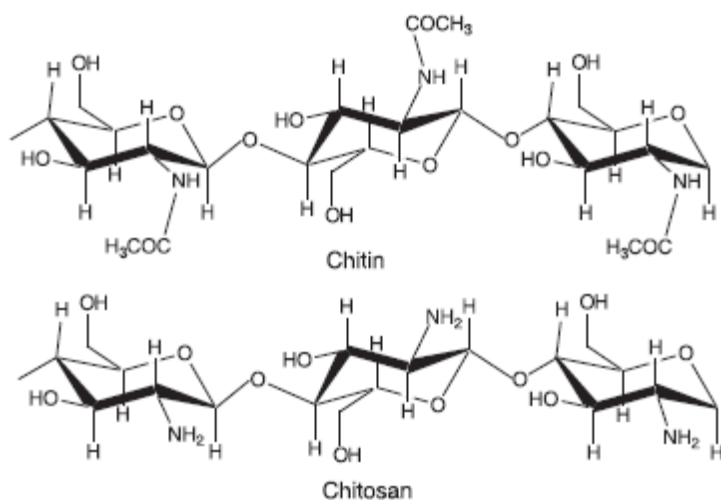
2.2.12. Antibakteriální a antiseptické prostředky

K moderním antibakteriálním a antiseptickým prostředkům patří takové, které mají baktericidní nebo bakteriostatický účinek a minimální riziko vzniku alergických reakcí. Patří sem antiseptické obvazy napuštěné antiseptickou složkou, např. pletená mřížka napuštěná Povidon jódem nebo Chlorhexidinem. *Antiseptika* jsou látky zneškodňující patogenní mikroorganismy vyskytující se v prostředí živých tkání, na ranách, sliznicích a kůži. Používají se k prevenci vzniku sekundární infekce nebo k desinfekci. [1] V poslední době je velmi ceněn a používán Oktenidin. Oktenidin dihydrochlorid patří mezi kationaktivní sloučeniny a vykazuje tedy povrchově aktivní vlastnosti. Reaguje s buněčnou stěnou mikrobiálních buněk a způsobuje tak jejich destrukci. [13]

2.3. Materiály na bázi chitin/chitosan

Chitin je levný biologický materiál získávaný z bezobratlých živočichů a hub. Je to lineární polymer složený z jednotek N-acetyl-D-glukosaminu. Chitin a jeho deriváty, jako je chitosan, je možné využít pro medicínské účely, protože se jedná o biokompatibilní látky, v těle rozložitelné bez vedlejších toxických produktů. Prokázán byl i jejich antimikrobiální účinek a schopnost hydratovat.

Chitosan podporuje mnohé pochody vedoucí k urychlení léčby poškozené tkáně. Mimo jiné má hemostatické účinky a je schopen zablokovat nervová zakončení, čímž napomáhá snížení bolesti.



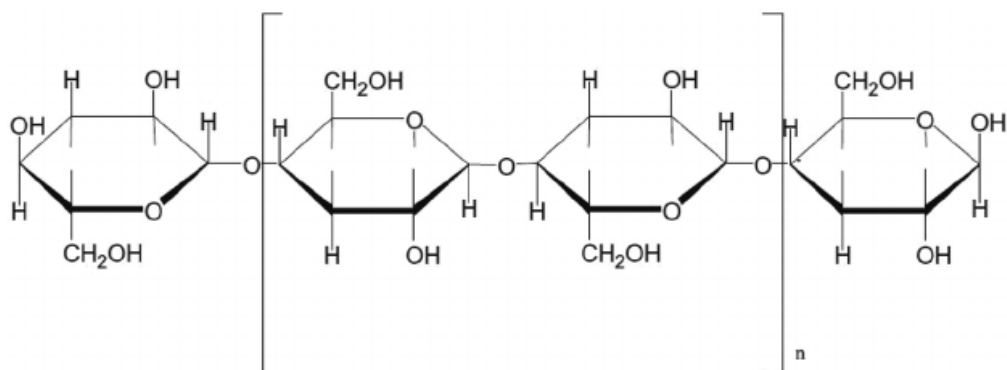
Obrázek 3: Chemická struktura chitinu a chitosanu

Chitin a jeho deriváty lze jednoduše zpracovat do různých forem materiálů, jako jsou hydrogely, nanovlákná, nanočástice, scaffoldy pro tkáňové inženýrství a nosiče léčiv. Tyto materiály lze s výhodou kombinovat s aktivními látkami, jako je např. stříbro. [14, 32, 33]

Důležitými skupinami recentních typů krytů ran jsou kryty s obsahem **kyseliny hyaluronové** a **celulózové materiály**. Těmto skupinám se podrobněji věnují následující kapitoly.

2.4. Celulózové materiály

Celulóza, jako nejrozšířenější přírodní polysacharid, nabízí pro hojení ran řadu výhod. Využití nalézá v různých formách, jako nativní celulóza (bavlna), regenerovaná celulóza (viskóza), nanocelulóza, nebo chemicky modifikovaná. Mezi její chemické modifikace patří karboxymethylcelulóza a oxycelulóza. Kyselá forma obou modifikací je obvykle nerozpustná ve vodě, sodnou sůl oxidované celulózy ve vodě rozpustit lze. [15]



Obrázek 4: Strukturní vzorec celulózy

2.4.1. Karboxymethyl celulóza

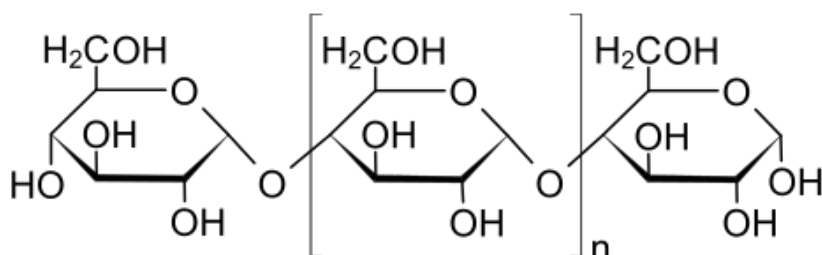
Tento éter celulózy je možné připravit například karboxymethylací alkalizované celulózy kyselinou chloroctovou. Látka má využití v různých oblastech průmyslu, má např. detergenční účinky a lze ji použít jako zahušťovadlo v potravinářském průmyslu. V medicíně ji lze využít ve formě superabsorpčních krytů nebo hydrogelu [15]

2.4.2. Oxycelulóza

Bylo zjištěno, že oxidací a hydrolýzou poškozená celulóza je při implantaci do tkání živočichů vstřebatelná. Příčinou je nejen snížení její molekulové hmotnosti, ale i oxidační poškození řetězce. Při implantaci do tkání je oxidovaná celulóza vstřebatelná během 1-3 týdnů, při aplikaci ve formě krytu rány je vstřebatelnost 1-4 dny. Oxycelulóza má v důsledku nízkého pH také antimikrobiální účinek a podporuje hojení ran. Příkladem produktu z oxycelulózy je Okcel[®] (vyrábí Synthesia, a.s.). Jedná se o hemostatický materiál, umožňující kontrolu vnitřního krvácení při chirurgických operacích. Produkt nemá vedlejší účinky při aplikaci a je tělem snadno a zcela vstřebatelný. [16]

2.5. Využití škrobu v medicíně

Škrob, jako zásobní polysacharid rostlin, se skládá ze dvou homopolymerů D-glukózy. Jedním je lineární amyulóza a druhým rozvětvený amylopektin. Jejich poměr ve škrobu se liší podle druhu rostliny. Amyulóza je rozpustná ve vodě a amylopektin tvoří nerozpustná krystalická zrna, která je třeba pro lepší zpracovatelnost škrobu odstranit pomocí komplexních chemických a fyzikálních reakcí. Vznikne tak přírodní polymer, který lze jako jeden z mála termoplasticky zpracovat. [17]



Obrázek 5: Molekulární vzorec amylózy

Lidské tělo dokáže škrob rozštěpit na maltózu a menší množství glukózy. Ty je potom možné dále zpracovat za vzniku energie na oxid uhličitý a vodu. K tomuto štěpení slouží převážně enzymy alfa-amyláza a gluko-amyláza. Alfa-amyláza je schopna štěpit i modifikovaný škrob, který je hojně využíván pro medicínské aplikace. V lidském těle lze amylázu najít nejvíce ve slinách a v pankreatu, v nepatrných koncentracích ji však lze nalézt i v dalších tkáních.

Škrob lze využít v mnoha odvětvích průmyslu, jedním z nich je i farmaceutický. Nejvíce se pro medicínské účely využívá v nějaké formě do scaffoldů v tkáňovém inženýrství kostí, nebo jako degradabilní nosič pro distribuci léčiv. Své uplatnění však již také nalézá ve formě krytí vnějších ran.

Mezi výhody škrobu patří hlavně jeho dobrá biokompatibilita, úplná biodegradabilita, dobrá zpracovatelnost a nízká cena. K jeho nevýhodám patří hlavně vlastnost společná všem přírodním polymerům – různá kvalita materiálu a horší mechanické vlastnosti. Z tohoto důvodu je výhodná pro výsledný produkt kombinace škrobu s jiným polymerem, jako je např. polylaktid (pro podobnou biodegradabilitu), polyvinylalkohol, chitosan, či celulóza.

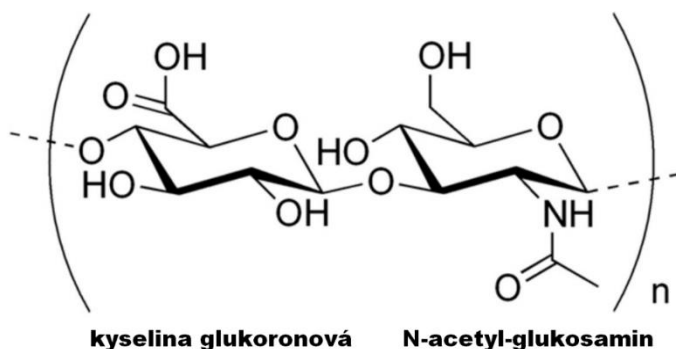
Pro účely krytů ran se převážně používá nějakým způsobem modifikovaný škrob, jako například Cadexomer [18] (zesíťovaný škrob s epichlorhydrinem), nebo oxidovaný škrob, obsahující ještě nějakou aktivní látku, jako jsou hemostatika, či antimikrobiotika. [17]

Škrob je tedy pro své vlastnosti a bez vedlejších účinků dalším vhodným materiálem pro léčbu ran.

2.6. Využití kyseliny hyaluronové

Kyselina hyaluronová je nerozvětvený polysacharid, který je nedílnou součástí lidského těla. Nachází se v mezibuněčné hmotě, v očích, kloubní tekutině, i v pokožce. Firma Contipro a.s, jako přední světový producent této kyseliny, ji vyrábí pomocí pokročilé biotechnologie, fermentací bakteriálního kmene *Streptococcus zooepidemicus* a díky tomu vzniká ve stejné formě, jako ji najdeme v lidském těle. Je to tedy látka biokompatibilní a zároveň ji tělo dokáže snadno odbourat. Nevyvolává žádnou imunitní reakci a ani její degradovaný řetězec nepředstavuje pro tělo žádné riziko. Nachází tak své uplatnění k hojení ran, při očních operacích, onemocnění kloubů, jako nosič léčiv a své využití nalézá i v kosmetickém průmyslu. Kyselina hyaluronová je nejvíce hydrofilní látkou v našem organismu a je schopna navázat asi tisíci-násobek své hmotnosti vody. Toho lze využít k „odsávání“ exudátu z rány. [19, 20]

Kryty na bázi kyseliny hyaluronové jsou schopny doplňovat její nedostatek v oblasti rány. Kyselina má významnou roli v organismu při regeneraci tkání, při chorobných procesech však v tkáni ubývá její množství, a proto je vhodné tento nedostatek vhodným přípravkem doplnit. [1]



Obrázek 6: Struktura molekuly kyseliny hyaluronové

Díky pravidelně se opakujícím monomerním jednotkám polymeru má molekula předpoklady k tvorbě slabých intermolekulových interakcí (vodíkové můstky). Působením alkálií lze kyselinu hyaluronovou neutralizovat na soli – hyaluronáty (např. hyaluronát sodný). Směs této soli a volné kyseliny se označuje jako hyaluronan. Kyselina je netavitelná (jako i ostatní biopolymery, má teplotu rozkladu pod bodem tání), ale je rozpustná ve vodě, takže pro její zpracování je možno využít technologii „mokrého zvlákňování“. Polymer je tedy rozpuštěn ve vodě a poté se tvoří vlákno koagulací tohoto roztoku v roztoku nerozpouštědla.

Výroba těchto vláken má využití ve formě:

- Krytů vnějších ran
- Krytů vnitřních ran
- Nosičů podpůrných látek (Desinfekce, hemostatika, apod.)
- Nosičů léčiv
- Scaffoldů – útvarů pro kultivaci buněk (tkáňové inženýrství)

2.7. Formy HA a jejich zpracování

Na kyselinu hyaluronovou bylo vyvinuto několik technologií zpracování, za vzniku různých produktů, kde každý má své speciální uplatnění. Jak již bylo zmíněno, pro každý druh

zranění je vhodný konkrétní druh léčby a zvolení ideální formy léčby je při současném množství typů krytů ran a léčiv složitým úkonem.

Produkty z kyseliny hyaluronové mohou mít podle technologie výroby tyto formy:

- Nekonečná mikrovlákná
- Staplová mikrovlákná
- Polymerní micely
- Nanovlákná
- Anorganické nanočástice s obsahem HA
- Hydrogely

Využití v krytech ran má kyselina hyaluronová především ve formě vláken.

2.7.1. Mikrovlákná

Tato „nekonečná“ (hedvábnická) vlákna jsou vyráběna koagulací v roztoku nerozpouštědla a podle použitých derivátů kyseliny hyaluronové je možné vytvořit materiál o různých vlastnostech jako je jeho rozpustnost ve vodě, rozložitelnost a její využití v organismu. Zpracováním lze měnit i mechanické a biologické vlastnosti pro optimální využití v krytech ran. Díky dostatečné pevnosti lze z mikrovláken vytvářet tkané, pletené i netkané materiály. Postup výroby uvádí například některé patenty [34, 35]

Uvedené patenty chrání mokrý a sucho-mokrý způsob přípravy nekonečných vláken z kyseliny hyaluronové. Mokrý způsob výroby spočívá v uvedení roztoku kyseliny hyaluronové tryskou do koagulační lázně se směsí alkoholu a organické kyseliny (HA je v kyselé formě nerozpustná, alespoň povrchové vrstvy vlákna, které tak udržují určitou formu před vysušením). Při sucho-mokrém způsobu zvláknování prochází paprsek roztoku před lázní ještě krátkou (2- 10 mm) vzdušnou pasáží, umožňující lepší orientaci molekul a tudíž zvýšení pevnosti. Po průchodu lázní následuje obvyklé dloužení.

2.7.2. Nanovlákna z kyseliny hyaluronové

Nanovlákna jsou vyráběna pomocí tzv. elektrospinningu a ve firmě Contipro a.s., Dolní Dobrouč, byla pro zpracování kyseliny hyaluronové a dalších polymerů vyvinuta technologie 4SPIN[®]. Jedná se o přístroj schopný použití tří technologií:

- Elektrospinning
- Elektrobloving
- Elektrospraying

Elektrospinning využívá vysokého elektrického napětí mezi kapkou roztoku polymeru a kolektoru k vyvíjení nanovláken různých průměrů a morfologie. **Elektrobloving** je podobná technologie, vlákna jsou však navíc unášena proudem vzduchu o různé teplotě a je možné docílit příznivějších vlastností. Technologie **Elektrospraying** je schopna vyvinout z polymeru kapičky od průměru desítek nanometrů a má využití při tvorbě tenkých vrstev na různých aktivních materiálech.

Díky široké škále trysek a kolektorů a možnosti volby parametrů, lze na přístroji připravit nespočet různých produktů a lze vyvíjet produkty nové. Při použití různých druhů trysek lze vyrábět i např. nanokompozity a nanovlákna, opatřená pláštěm z jiného materiálu. Volba kolektoru ovlivňuje především velikost a morfologii výsledného produktu.



Obrázek 7: Přístroj 4SPIN[®], Contipro a.s.

Nanovlákná z kyseliny hyaluronové lze využívat v různých formách jako součást krytů ran, nosiče léčiv a jako vhodný materiál pro tkáňové inženýrství. [21]

2.7.3. Netkané materiály ze staplovým mikrovláken

Aby bylo možné ze staplových vláken vytvořit pevnou netkanou textilií o nízké plošné hmotnosti (pod 5 g/m^2), musí mít vlákna dostatečnou délku (více než $800 \mu\text{m}$). To bylo umožněno až v nedávné době díky patentovému vynálezu z roku 2013 [36]. Podstatou je příprava zvláknovacího roztoku s obsahem biopolymeru, nebo směsí biopolymerů a tento roztok se následně zvlákní v nestacionární koagulační lázni, obsahující alkohol, nejlépe propan-2-ol. Běžná koagulační lázeň obsahuje kyselinu, výzkumem však bylo zjištěno, že když se do lázně kyselina nepřidá, zpomalí se při výtoku z trysky tvorba vlákna, a tak je možno připravit vlákna až 3 cm dlouhá. V případě, že se tímto způsobem vytvoří vlákna pro určité aplikace příliš dlouhá, je možné vlákna pokrátit např. v nožovém mixeru. Pro tvorbu vláken a zároveň jejich dlužení byla použita cirkulující lázeň nerozpouštědla, do které byl pomocí jehly zaváděn zvláknovací roztok biopolymeru.

Příprava netkaných textilií z kyseliny hyaluronové, škrobu a o různém obsahu jódu s využitím tohoto vynálezu je předmětem experimentální části této práce.

2.8. Materiály s obsahem jódu

Jód patří k životně důležitým stopovým prvkům, které člověk potřebuje v každém věku. Především je nutný pro tvorbu hormonů štítné žlázy, které řídí v každé buňce přeměnu základních živin na dostatečné množství energie pro její růst, existenci a funkci. Zajišťují tak správný vývoj všech tkání a orgánů, funkci mozku, nervů, svalů i rozmnožovacích orgánů.

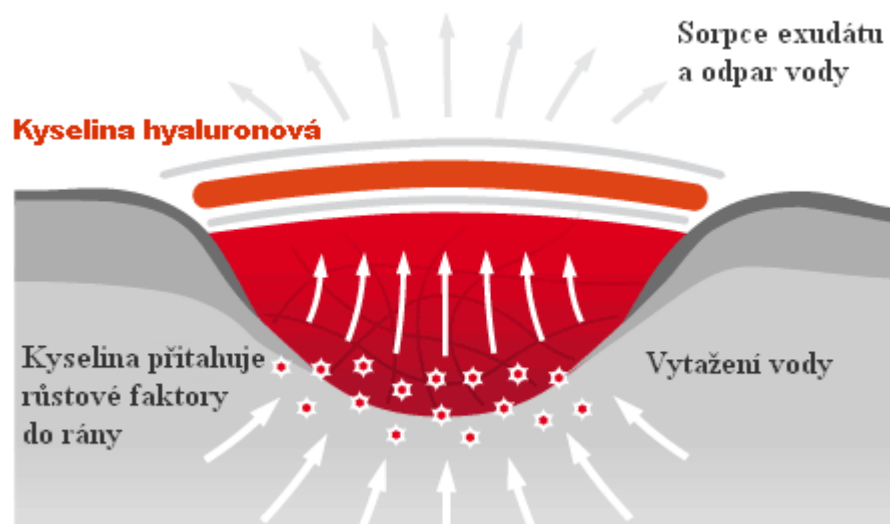
Jeho absolutní nedostatek v organismu je neslučitelný se životem, problém ale nastává i při jeho dlouhodobém nadbytku. Jód má však mimo jiné prokázaný antibakteriální účinek a je ho tedy možné s výhodou využít jako aktivní součást krytů ran. Důležitá je však jeho koncentrace, při větším množství může způsobit popálení v oblasti rány a jeho množství je třeba sledovat i v souvislosti s uvedenou štítnou žlázou. [22]

Alergie na jód jako takový nebyla prokázána, vyskytuje se však alergická reakce na látky obsahující jód, jako je třeba dále zmíněný povidon (pravděpodobnost 1:2500). Alergie má charakter kontaktní dermatitidy. [23]

V následujícím textu jsou uvedeny některé významné materiály s obsahem jódu, které mají uplatnění při léčbě ran.

2.9. Hyiodine®

Viskózní gel, skládající se z hyaluronátu sodného, jódu a jodidu draselného. Tento přípravek zajišťuje hospodaření s vlhkostí rány. Kyselina hyaluronová přitahuje tekutiny z rány (exudát) a zároveň ze zdravého okolí rány přitahuje růstové a výživové faktory a díky tomu urychluje proces hojení. Obsažený jódový komplex je díky antimikrobiálnímu účinku schopen léčby infikovaných ran a zároveň pomáhá stabilizaci kyseliny hyaluronové. Zabraňuje tak jejímu rozkladu působením bakterií. Množství jódu v přípravku je nízké a proto Hyiodine® nepředstavuje pro raněného riziko nepříjemných reakcí. [24]



Obrázek 8: princip hojení pomocí přípravku Hyiodine® [26]

2.10. Cadexomer iodine

Trojrozměrný hydrofilní škrob – dextrin, zesíťovaný epichlorhydrinem, který obsahuje 0,9% hm. jódu. Gram této látky dokáže absorbovat 7 gramů kapaliny (např. exudátu z rány). Při sorpci kapaliny zároveň dochází k zvětšování mikropórů ve škrobu a díky tomu dochází k pomalému uvolňování jódu do rány. To umožňuje udržovat určitou koncentraci jódu v ráně po delší dobu. Tento přípravek tedy při léčbě vnějších ran dokáže jednat jednak absorbovat ranou vyloučené tekutiny a zároveň svou aktivitou snižuje množství bakterií v ráně [18]

2.11. Povidone iodine (Betadine®)

Komplex syntetického polymeru polyvinylpyrolidonu a baktericidní součásti – jódu. Komerčně je tento přípravek dostupný jako vodný roztok poskytující 1% jódu, jako desinfekční přípravek pro chirurgické účely a čistič pokožky na bázi detergentu. Výhodou je, že je možné komplex aplikovat v různé formě a zakomponovat třeba do krytů rány. Má však pouze baktericidní účinek, podpora hojení ran nebyla prokázána, může však přechodně způsobit menší tok krve ránou. [25]

2.12. Příklady dalších typů aktivních látek

2.12.1. Stříbro

Využití stříbra při léčbě ran sahá až do 17. století. Sloučeniny stříbra mají silný baktericidní účinek pro celou řadu bakterií, včetně např. *Staphylococcus aureus*. Stříbrné ionty poškozují buněčné stěny bakterií, jejich membrány a další buněčné organely. Uvolňování stříbrných iontů z krytu většinou nastává při kontaktu s tekutinou z rány. Pro ještě lepší pronikání těchto iontů do rány a lepší antimikrobiální aktivitu lze s výhodou využít nanokrystalické stříbro pro potřeby krytů ran. Stříbro lze do krytu aplikovat např. ve formě roztoku dusičnanu stříbrného, během posledních let se však, obzvláště při léčbě popálenin, využívá krytů s obsahem sulfadiazinu stříbra (SSD). Tato látka má však při léčbě také řadu nevýhod. Kryty na bázi sulfadiazinu je třeba častěji měnit, a to může být zbytečně bolestivé. Další nevýhodou je možná alergie na sirnou složku. Je třeba také zvážit, že cena krytů s obsahem stříbra je vyšší, ve srovnání s podobně antibakteriálně účinnými látkami, jako je například Cadexomer iodine. [26, 34]

2.12.2. Med

Zajímavou přírodní látkou při léčbě chronických, či akutních ran je med. Byla prokázána schopnost medu vyčistit ránu od infekce a jeho antibakteriální účinek a tato skutečnost je známa již z období př.n.l. Tomu pravděpodobně přispívá pomocí pH a osmotického efektu. Další zajímavou vlastností medu je jeho protizánětlivý účinek a stimulace imunitní reakce organismu. Nebyly zatím zjištěny žádné negativní účinky medu při léčbě ran, ani v případě pacientů trpících cukrovkou. Med lze tedy bez obav použít jako vhodnou látku při léčbě ran. [27]

3. Experimentální část

3.1. Zabudování jódu do nativních zrn škrobu.

V 50 ml destilované vody bylo suspendováno při laboratorní teplotě 0,6 g pšeničného škrobu kvalitou odpovídající Československému lékopisu. K suspenzi bylo přidáno 0,6 ml, nebo 1,2 ml, nebo 2,4 ml, nebo 4,8 ml roztoku jódu v izopropanolu. Koncentrace izopropanolového roztoku jódu byla 2,5 g jódu v 250 ml izopropanolu p.a. ve 250 ml odměrné baňce. Po 60 min míchání při laboratorní teplotě bylo do systému vneseno 0,6 g kyseliny hyaluronové (molekulová hmotnost 1,7 MDa). Směs byla doplněna na 100 ml a při laboratorní teplotě míchána do úplného rozpuštění kyseliny hyaluronové.

Získaná suspenze škrobových zrn se zabudovaným jódem v roztoku kyseliny hyaluronové byla použita pro přípravu staplových mikrovláken koagulací v isopropanolu. Teoretický obsah jódu je 0,5 %, nebo 1,0 %, nebo 2,4 %, nebo 4 %.

Stejně by bylo možno postupovat pro jiné typy škrobových zrn, tj. pro nativní bramborový, kukuřičný nebo rýžový škrob, nebo pro jejich chemicky (fyzikálně) modifikované varianty.

Ze suspenze bylo zvlákněním a dalším zpracováním získáno 5 kusů krytů ran rozměrů 11 x 11 cm po cca 0,2 gramech. Získané vzorky byly použity pro další hodnocení a testování, především pro testování antimikrobiální účinnosti. Hmotnost získaných krytů ran byla získána z rozdílu hmotnosti použitých filtračních podložek před výrobou krytů a po jejich zhotovení a usušení při 54°C.

Snímky tohoto typu krytu rány zhotovené REM jsou uvedeny na obrázcích **č. 11 a 12**.

3.2. Zabudování jódu do zmazovatělého škrobu.

Do 40 ml vroucí destilované vody byla vlita suspenze v 30 ml vody 0,6 g pšeničného škrobu kvalitou odpovídající Československému lékopisu. Systém byl asi 2 min zahříván – nikoliv vařen – poté směs ochlazena, přidáno 0,6 g kyseliny hyaluronové (molekulová hmotnost 1,7 MDa), směs doplněna na 100 ml vodou a mícháno při laboratorní teplotě do rozpuštění

podílu HA. Poté bylo do systému přidáno buď 0,6 ml, nebo 1,2 ml, nebo 2,4 ml nebo 4,8 ml roztoku jódu v izopropanolu. Koncentrace izopropanolového roztoku jódu byla 2,5 g jódu v 250 ml izopropanolu p.a. ve 250 ml odměrné baňce. Množství přidaného roztoku jódu v izopropanolu odpovídá teoretické koncentraci jódu v hotovém krytu rány 0,5; 1,0; 2,0 nebo 4,0 % hmotnostních.

Získaný heterogenní systém, který představuje suspenzi zbytků škrobových zrn v roztoku komplexu jód-amylóza a kyseliny hyaluronové ve vodě byl použit pro přípravu staplových mikrovláken koagulací v isopropanolu.

Stejně bylo postupováno pro jiné typy škrobu, tj. pro nativní bramborový škrob, nebo pro zrna oxidovaného pšeničného škrobu (potravinářské kvality E1404).

Ze suspenze bylo zvlákněním a dalším zpracováním získáno 5 kusů krytů ran rozměru 11 x 11 cm po cca 0,2 gramech. Získané vzorky byly použity pro další hodnocení a testování, především pro testování antimikrobiální účinnosti. Hmotnost získaných krytů ran byla získána z rozdílu hmotnosti použitých filtračních podložek před výrobou krytů a po jejich zhotovení a usušení při 54°C.

Obdobně byla připravena řada krytů ran s teoretickou koncentrací jódu 0,5%; 1,0%; 2,0%; 4,0%, ale s použitím vodného roztoku trijodidu draselného KI₃. Snímky tohoto typu krytu rány zhotovené REM jsou uvedeny na obrázcích č. 13 a 14.

3.3. Zabudování jódu do rozvařeného škrobu.

Do 40 ml vroucí destilované vody byla vlita suspenze v 30 ml vody 0,6 g pšeničného škrobu kvalitou odpovídající Československému lékopisu. Systém byl uveden do zřetelného varu, vařen asi 2 minuty a poté směs ochlazena na laboratorní teplotu. Poté bylo do systému přidáno buď 0,6 ml, nebo 1,2 ml, nebo 2,4 ml nebo 4,8 ml roztoku jódu v izopropanolu. Koncentrace izopropanolového roztoku jódu byla 2,5 g jódu v 250 ml izopropanolu p.a. ve 250 ml odměrné baňce. Množství přidaného roztoku jódu v izopropanolu odpovídá teoretické koncentraci jódu v hotovém krytu rány 0,5; 1,0; 2,0 nebo 4,0 % hmotnostních. Systém míchán asi 30 minut a následně přidáno 0,6 g kyseliny hyaluronové (molekulová hmotnost 1,7 MDa), směs doplněna na 100 ml vodou a mícháno při laboratorní teplotě do rozpuštění podílu HA.

Získaný heterogenní systém, který představuje suspenzi zbytků škrobových zrn v roztoku komplexu jód-amyloza a kyseliny hyaluronové ve vodě byl použit pro přípravu staplových mikrovláken koagulací v isopropanolu.

Stejně bylo postupováno pro jiné typy škrobu, tj. pro nativní bramborový škrob, nebo pro zrna oxidovaného pšeničného škrobu (potravinářské kvality E1404).

Ze suspenze bylo zvlákněním a dalším zpracováním získáno 5 kusů krytů ran rozměru 11 x 11 cm po cca 0,2 gramech. Získané vzorky byly použity pro další hodnocení a testování, především pro testování antimikrobiální účinnosti. Hmotnost získaných krytů ran byla získána z rozdílu hmotnosti použitých filtračních podložek před výrobou krytů a po jejich zhotovení a usušení při 54°C.

Snímky tohoto typu krytu rány zhotovené REM jsou uvedeny na obrázcích **č. 15 a 16**.

3.4. Zabudování jódu do zmazovatělého a přefiltrovaného škrobu.

Další možnou variantou je škrob zmazovatět a následně přefiltrovat přes papírový filtr „modrá páska“ na Büchnerově nálevce. Cílem je vyhnout se zbytkům obalů škrobových zrn v hotovém produktu. Rozvařená škrobová zrna v systému – jejich zbytky – můžeme sledovat již pod světelným mikroskopem při poměrně malém zvětšení. Dle snímků na **obr. 17 a 18**, po filtraci již zbytky rozvařených zrn v systému nenajdeme. Jak však ukazuje další výzkum, je možné, že zbytky škrobových zrn, a dokonce ani celá škrobová zrna, do nichž je jód možno rovněž zabudovat, při následných medicínálních aplikacích nevadí.

Snímky tohoto typu krytu rány zhotovené REM jsou uvedeny na obrázcích **č. 17 a 18**.

3.5. Postup při přípravě staplových mikrovláken a krytů z nich.

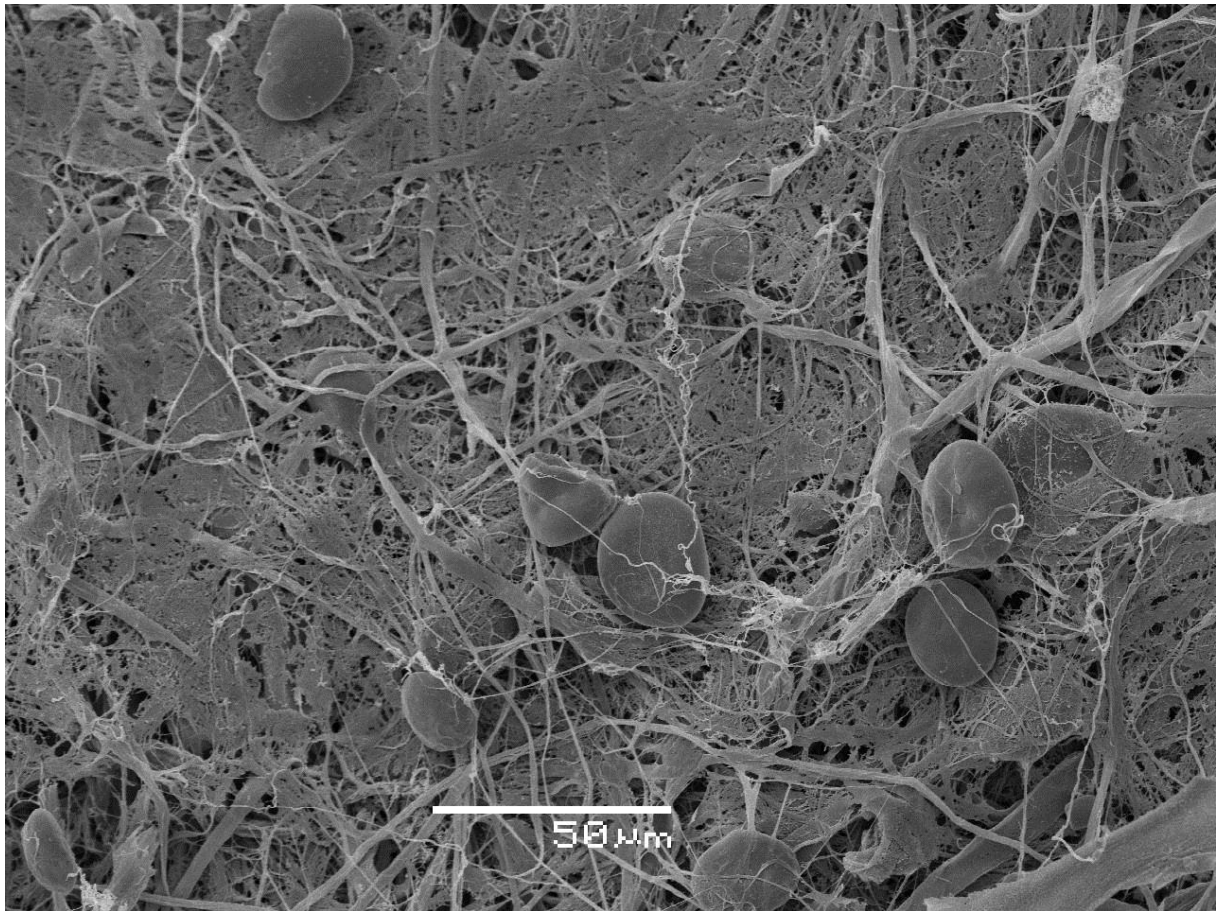
1. Příprava vodného, cca 1 % roztoku příslušného biopolymeru (kyseliny hyaluronové, alginátu sodného, ve směsi s různou formou škrobu). Přidáme roztok jódu (v izopropanolu, nebo jako vodný roztok KI₃). Polymery musí být dobře rozpuštěny a promíchány.

2. Připravený vodný roztok zvlákníme do nestacionární koagulační lázně – isopropanolu, ve smyslu patentu WO 2013167098A2 [37]. Získáme směs staplových mikrovláken o délce cca 2 – 10 cm.
3. Získanou směs mikrovláken pokrátíme na délku 0,3 – 0,7 mm na stolním nožovém mixeru.
4. Suspenzi vláken zředíme isopropanolem na objem 500 ml, důkladně rozmícháme.
5. 100 ml získané suspenze zředíme IPA na objem 300 ml a tuto suspenzi přefiltrujeme přes vhodnou textilií (tkaninu nebo pleteninu) – papírenská technologie.
6. Získaný mokrý list zpracujeme na vakuovém filtru, případně odmáčkne mezi listy filtračního papíru na foulardu a nakonec usušíme během 3 – 4 minut v sušárně při cca 54°C.

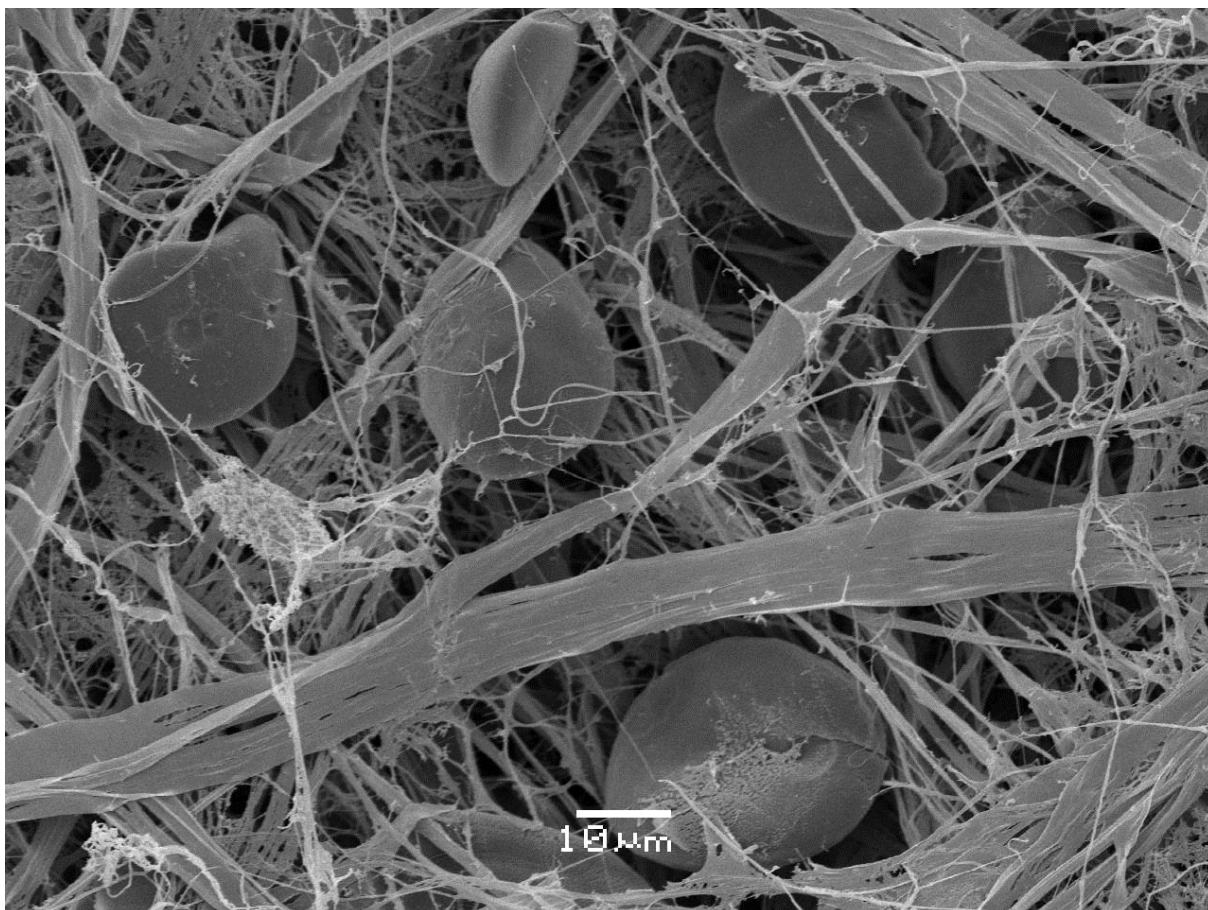
Získaný útvar – v podstatě list papíru – můžeme dále aplikovat na použité podložní textilií, nebo jej z ní sejmut a použít jako samonosnou vrstvu.



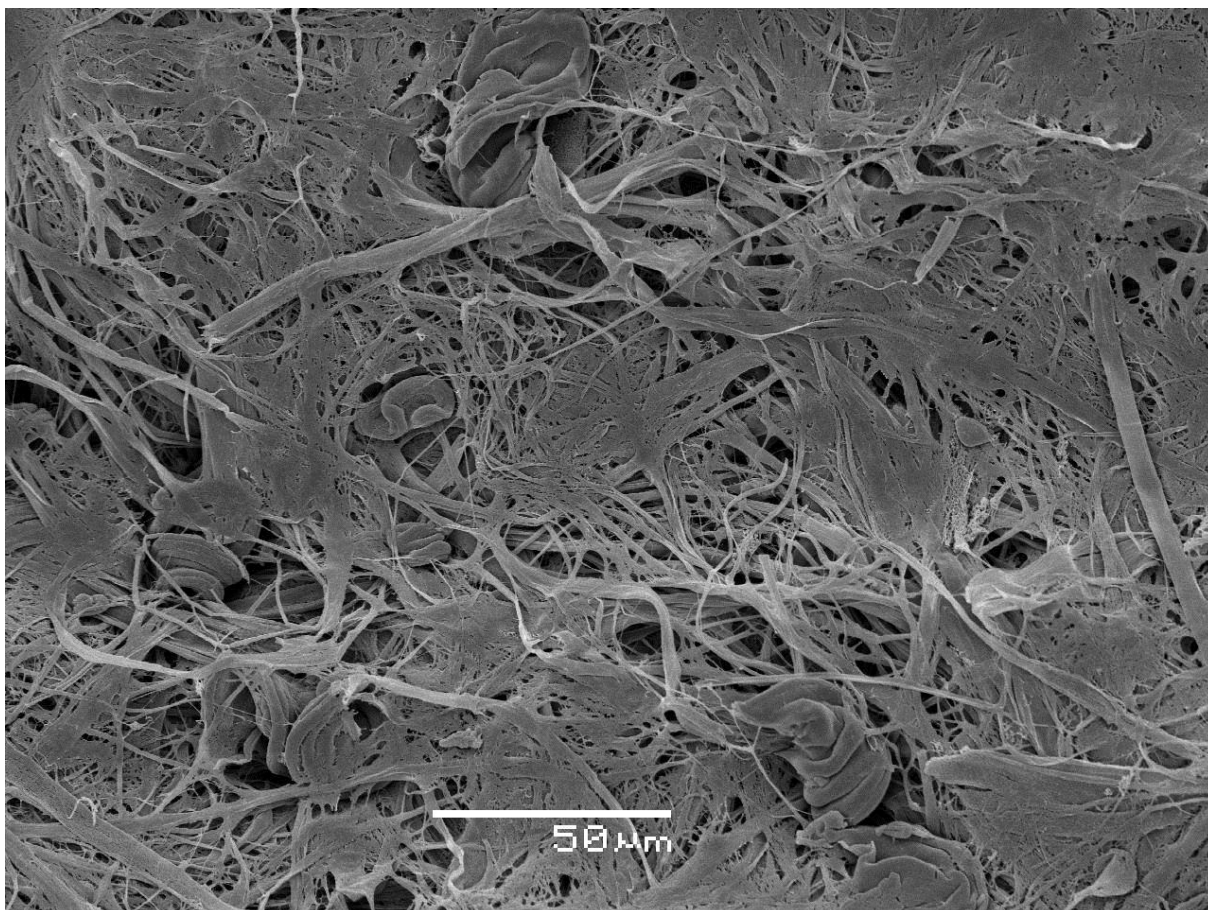
Obrázek 9: Čerstvě vyrobený kryt rány s vázaným jódem.



Obrázek 10: Charakter vrstvy staplových mikrovláken z kyseliny hyaluronové se zabudovanými nerozvařenými zrníčky pšeničného škrobu s vázaným jódem. Postup přípravy podle **kapitoly 3.1.**, zvětšení 500x.

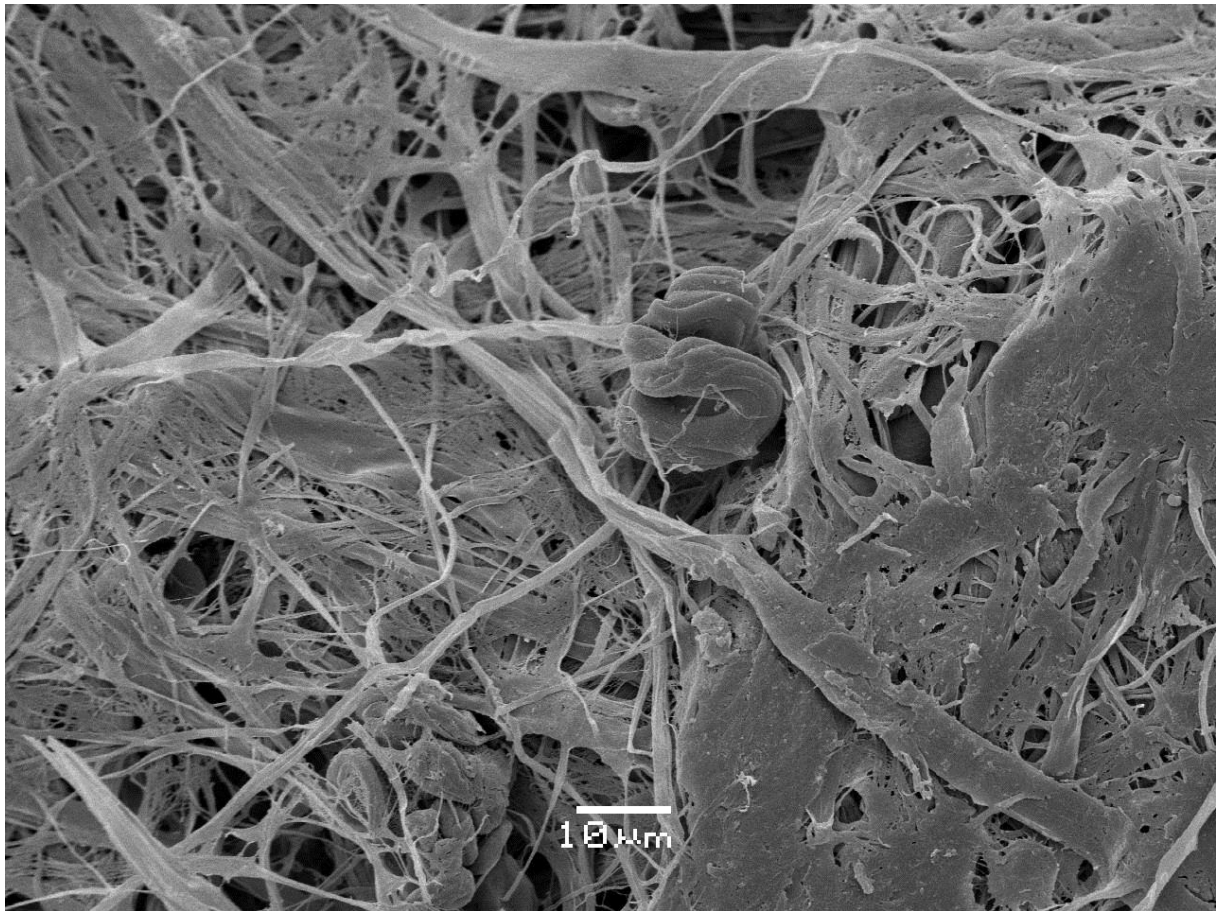


Obrázek 11: Charakter vrstvy staplových mikrovláken z kyseliny hyaluronové se zabudovanými nerozvařenými zrný pšeničného škrobu s vázaným jódem. Postup přípravy podle **kapitoly 3.1.**, zvětšení 1000x.



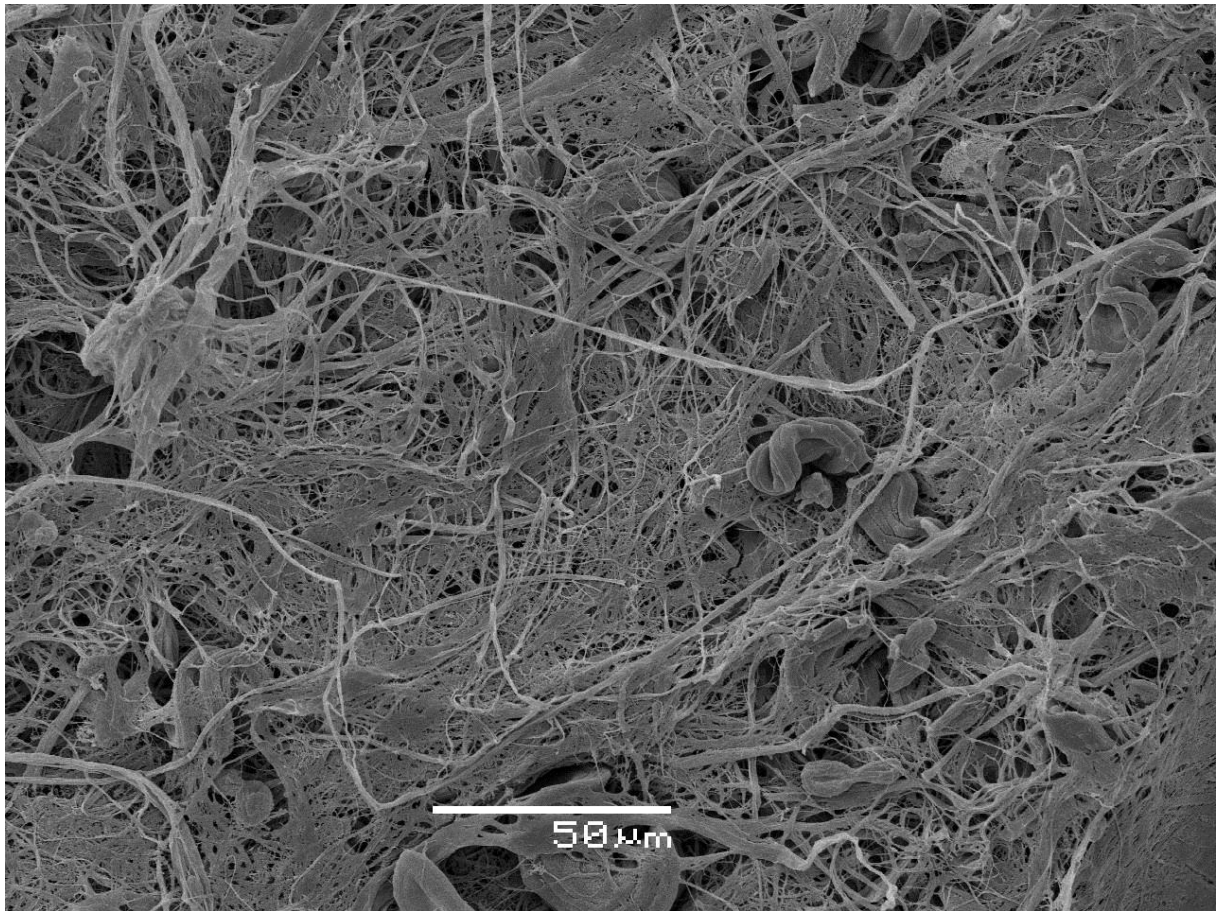
Obrázek 12: Charakter vrstvy staplových mikrovláken ze směsi kyseliny hyaluronové a amylozy s jódem vázaným do komplexu. V systému jsou patrné zbytky rozvařených škrobových zrn.

Postup přípravy podle **kapitoly 3.2.**, zvětšení 500x.



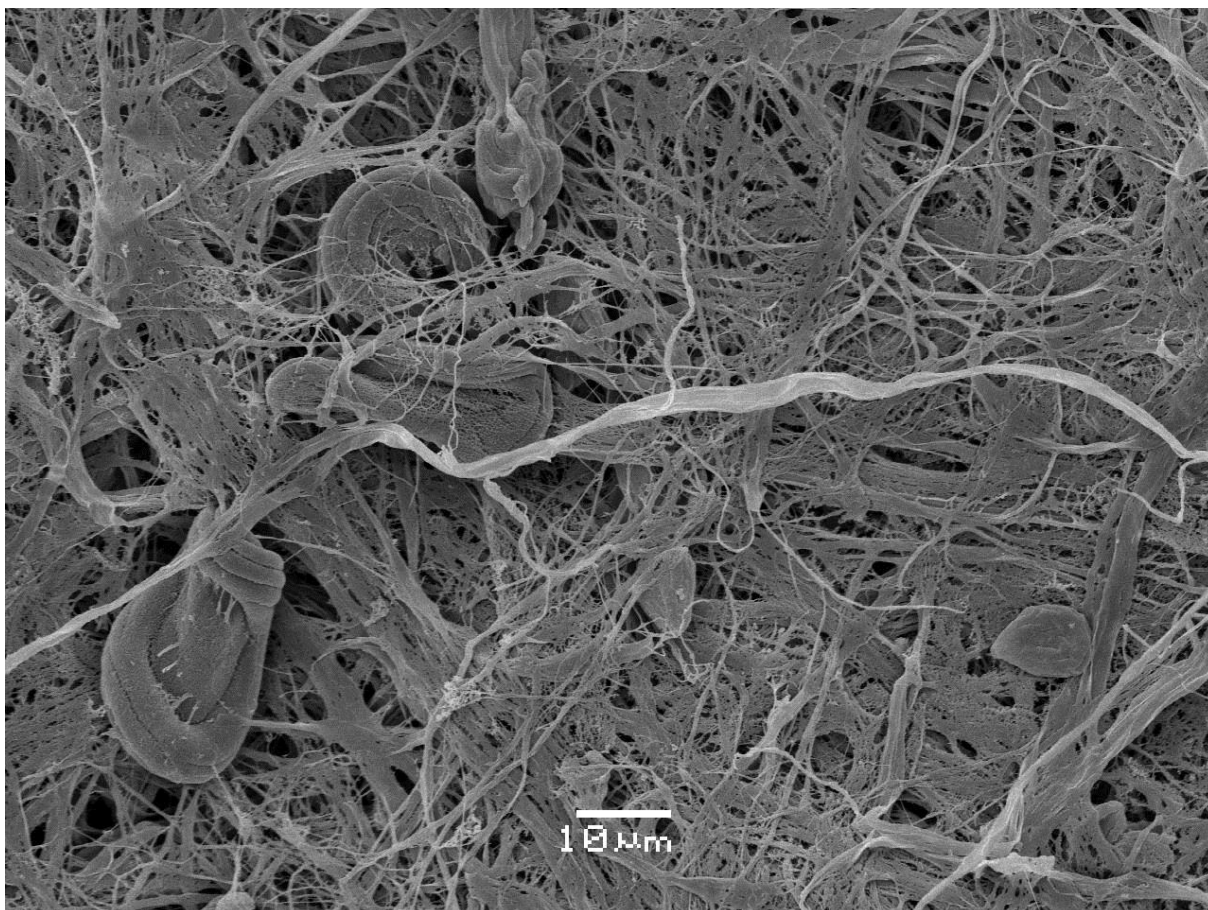
Obrázek 13: Charakter vrstvy staplových mikrovláken ze směsi kyseliny hyaluronové a amylozy s jódem vázaným do komplexu. V systému jsou patrné zbytky rozvařených škrobových zrn.

Postup přípravy podle **kapitoly 3.2.**, zvětšení 1000x.



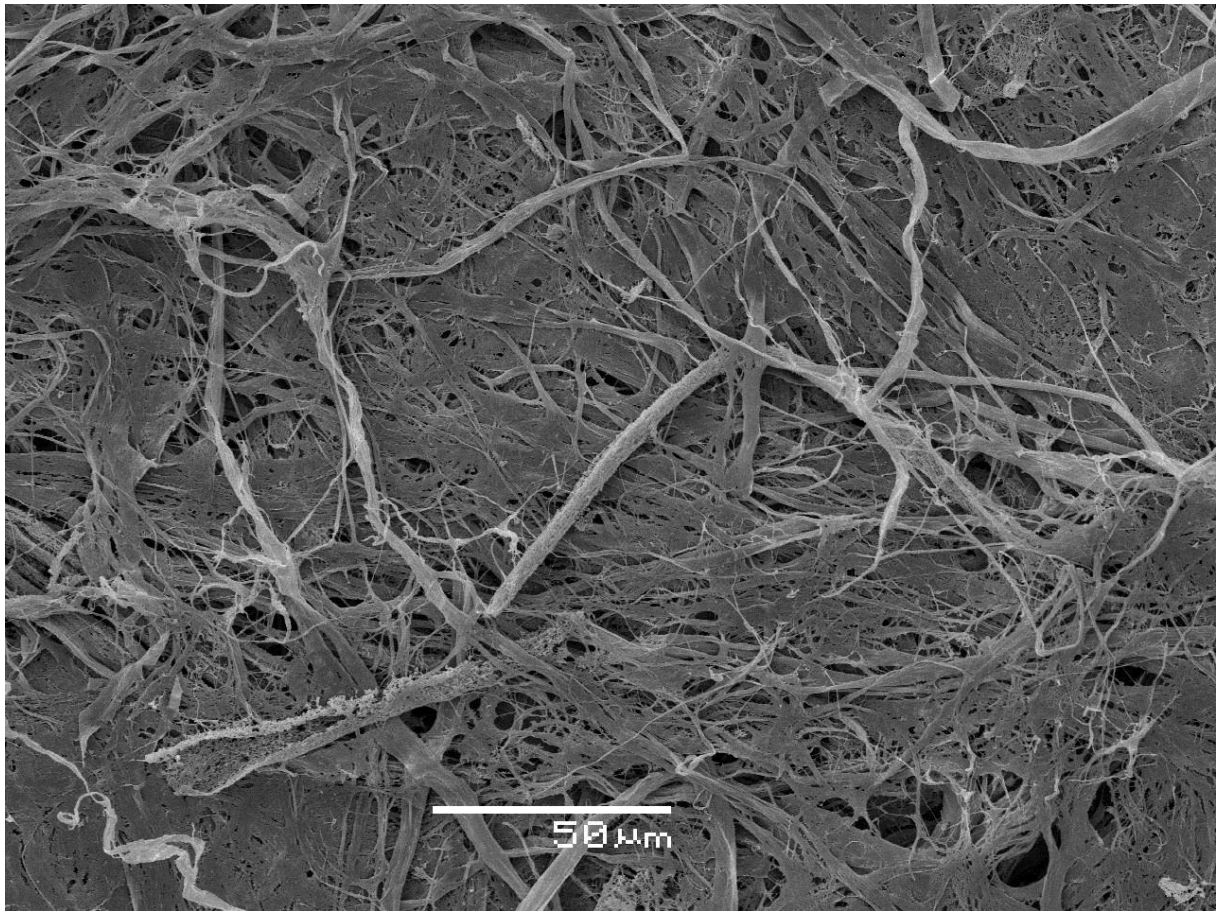
Obrázek 14: Charakter vrstvy staplových mikrovláken ze směsi kyseliny hyaluronové a amylozy s jódem vázaným do komplexu. Škrob byl rozvařen, v systému jsou přesto patrné zbytky rozvařených škrobových zrn. Zvlákňování však probíhá lépe – jednotlivá vlákna nejsou tak slepená ve srovnání s postupem podle **kapitoly 3.2.**

Postup přípravy podle **kapitoly 3.3.**, zvětšení 500x.

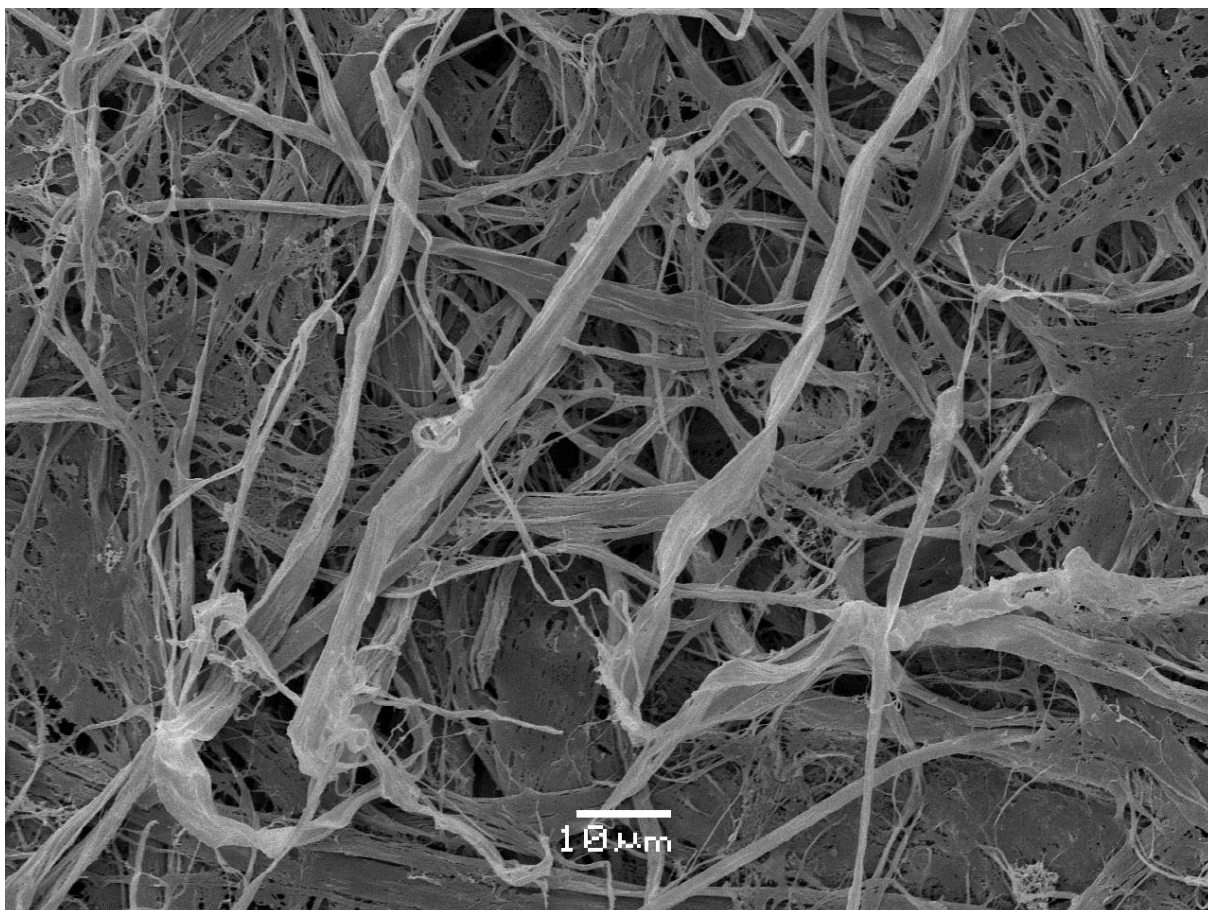


Obrázek 15: Charakter vrstvy staplových mikrovláken ze směsi kyseliny hyaluronové a amylozy s jódem vázaným do komplexu. Škrob byl rozvařen, v systému jsou přesto patrné zbytky rozvařených škrobových zrn. Zvlákňování však probíhá lépe – jednotlivá vlákna nejsou tak slepená ve srovnání s postupem podle **kapitoly 3.2.**

Postup přípravy podle **kapitoly 3.3.**, zvětšení 1000x.



Obrázek 16: Charakter vrstvy staplových mikrovláken ze směsi kyseliny hyaluronové a amylozy s jódem vázaným do komplexu. Škrob byl rozvařen, následně přefiltrován, takže v systému nenajdeme škrobová zrna, nebo jejich zbytky. Postup přípravy podle **kapitoly 3.4.**, zvětšení 500x.



Obrázek 17: Charakter vrstvy staplových mikrovláken ze směsi kyseliny hyaluronové a amylozy s jódem vázaným do komplexu. Škrob byl rozvařen, následně přefiltrován, takže v systému nenajdeme škrobová zrna, nebo jejich zbytky. Postup přípravy podle **kapitoly 3.4.**, zvětšení 1000x.

3.6. Stanovení mechanických vlastností připravených krytů ran.

Připravené kryty ran s obsahem škrobu, ať již s obsahem jódu, nebo bez něho, je možno aplikovat jako samonosné vrstvy nebo na podložní textilii (tkanina, pletenina, netkaná textilie) na které byla vrstva připravena filtrací pokrácených staplových mikrovláken. Především při aplikaci samonosné vrstvy je zapotřebí zajistit dostatečné mechanické parametry, především pevnost.

Na základě hodnot mechanických pevností připravených vrstev můžeme ale také usuzovat na zabudování molekul polysacharidů škrobu do staplových mikrovláken společně s lineárním – vláknotvorným – polymerem. Vedle kyseliny hyaluronové je možno použít i jiný vláknotvorný biopolymer, např. alginát sodný, nebo vodorozpustné deriváty celulózy.

Samotný zmazovatěly – rozvařený – škrob je možno samostatně zvláknit způsobem popsáním v **kap. 3.5**. Získanou disperzi odfiltrujeme a usušíme. Výsledkem je ale tvarově nestálý velmi křehký produkt, se kterým se obtížně manipuluje. Proto je škrob možné zvláknovat pouze v kombinacích.

Stanovení pevností bylo provedeno na přístroji **Instron 5500R**.

Pevnosti vzorků jsou vyjádřeny buď klasickým způsobem – $N \cdot m^{-2}$ (tj. jednotka Pascal), jak je obvyklé například u konstrukčních materiálů a kompozitů, nebo způsobem obvyklým v papírenském průmyslu, tj. tržnou délkou. Ta je definována jako délka proužku papíru v metrech, v okamžiku přetržení svou vlastní vahou a z naměřených hodnot je počítána pomocí následujícího vztahu,

$$L_t = \frac{F}{m_s \cdot b \cdot g}$$

kde L_t je tržná délka materiálu, F je síla působící při přetrhu, m_s je plošná hmotnost, b je šířka vzorku a g tíhové zrychlení $9,81 \text{ m/s}^2$.

3.6.1. Charakteristika testovaných vzorků.

V následujících tabulkách jsou shrnuty výsledky pevnostních měření některých typů krytů ran. Tabulka 2 je propočítána z mediánů naměřených hodnot, výsledky pro konkrétní vzorky jsou součástí přílohy této práce. Vzhledem k jemnému charakteru vzorků a jejich omezenému množství byly pro některé vzorky získány výsledky s vyšším rozptylem.

Tabulka 1: Seznam použitých vzorků

cigaretový papír Libella Extra thin
1 - nativní kyselina hyaluronová
2 - nat. HA + zrna pšeničného škrobu 1:1
3 - nat. HA + pšeničný škrob rozvařený 1:1 (4% I ₂)
4 - nat. HA + oxidovaný pšeničný škrob rozvařený 1:1 (4% I ₂)
5 - nat. HA + rozvařený oxidovaný škrob 1:1 - bez jódu
6 – pšeničný škrob + alginát sodný 1:1
7 - nízkomolekulární HA + alginát sodný 1:1

Tabulka 2: Výsledky tahových zkoušek

	síla přetrhu	hmotnost	plošná hm.	šířka	Tržná délka	Pevnost	Protažení
Vzorek	F (N)	(g)	m_s (g/m²)	b (mm)	L (m)	MPa	%
cig. papír	16,18	0,07	14,57	15,02	7537,76	19,79	1,11
1	1,66	0,12	14,20	15,07	790,88	0,83	9,29
2	0,96	0,15	18,47	15,13	350,20	0,36	5,90
3	0,70	0,15	18,16	15,30	256,81	0,18	3,56
4	1,57	0,17	20,65	15,02	515,88	0,59	4,57
5	0,63	0,14	17,36	15,35	241,03	0,21	1,41
6	1,02	0,23	28,44	14,94	244,67	0,27	2,10
7	0,58	0,18	22,67	14,93	174,71	0,18	2,11

Podrobné výsledky stanovení pro jednotlivé vzorky jsou uvedeny v příloze této práce.

Z hodnocení mechanických parametrů připravených krytů ran je, při porovnání s cigaretovým papírem s přibližně stejnou plošnou hmotností, zřejmé, že mechanické vlastnosti obou typů „papíru“ jsou těžko srovnatelné. Cigaretový papír mnohonásobně převyšuje pevnosti námi připravovaných krytů.

Zajímavé je srovnání vzorku č. 1 a 2. Ve vzorku č. 2 je polovina hmotnosti tvořena nezmazovatělymi zrny pšeničného škrobu, který se v tomto případě nepodílí na tvorbě struktury vlákna, takže strukturu samotných vláken nezlepší, ale také nenaruší. Pevnost vzorku č. 2 je zhruba poloviční ve srovnání se vzorkem č. 1.

Pokud škrobová zrna podrobíme zmazování, nebo rozvaření, potom musíme předpokládat, že se jedná o vodný roztok směsi polymerů, tj. kyseliny hyaluronové a příslušných nelineárních molekul polysacharidů škrobu. Při zvláknování této směsi zřejmě nedochází k tak optimálnímu nadmolekulárnímu uspořádání obou polymerů ve vznikajících staplových mikrovlákních, ve srovnání se zvláknováním samotného hyaluronanu, jehož molekulu můžeme považovat za přibližně lineární, vhodnou pro tvorbu vlákna. Pokles pevnosti je zřejmý především u vzorku č. 3.

Zajímavé je použití oxidovaného pšeničného škrobu v kombinaci s jódem, kdy dostáváme vysokou hodnotu pevnosti – vzorek č. 4. Příznivý vliv oxidace škrobu na pevnost konečného produktu můžeme přičíst vyšší rozpustnosti (zřejmě i vyšší degradaci) oxidovaného škrobu, což se může projevit optimálnějším zabudováním molekul sacharidů škrobu do struktury tvořícího se vlákna. Je zajímavé příznivé účinek přídavku jódu do systému s oxidovaným škrobem – snad určité zesílení; v porovnání vzorků č. 4 a 5.

Kombinovat se škrobem lze i jiné vláknotvorné biopolymery, např. alginát sodný – vzorek č. 6.

Vliv molekulové hmotnosti na pevnost produktu ilustruje příklad vzorku 7. Mol. hm. hyaluronanu sodného byla cca 0,216 MDa.

Přesto, že stanovené pevnosti jsou poměrně nízké, lze se všemi připravenými kryty, (s výjimkou vzorku připraveného z HA nízké mol. hmotnosti – č.7), bezpečně manipulovat i ve formě „samonosných krytů“, tj. bez podložní textilie

Pokud je nám známo, nadmolekulárním uspořádáním staplových mikrovláken připravených z kyseliny hyaluronové (hyaluronanu sodného), tj. stanovením obsahu krystalického podílu a jeho krystalovou modifikací se prozatím nikdo nezabýval.

Ve vztahu k vláknům hedvábnického charakteru (nekonečným vláknům) se touto otázkou zabýval Atkins et al (1972) [28]. Vlákná však nepřipravoval zvlákněním z roztoku, ale řezáním folie a následným dlužením. U vlákná z hyaluronanu sodného stanovil hexagonální krystalovou soustavu a antiparalelní uspořádání makromolekul – předpoklad vodíkových vazeb mezi amidovými skupinami acetylovaného glukosaminu.

Tentýž autor určil u vláken připravených z kyseliny hyaluronové (kyselá forma!) monoklinickou krystalografickou soustavu.

3.7. Stanovení koncentrace jódu

3.7.1. Stanovení obsahu jódu v připravených krytech ran.

Připravený list krytu ze směsi kyseliny hyaluronové a škrobu v nejrůznější formě za přídavku jódu potvrzuje svým charakteristickým modrým zbarvením, že je v připraveném krytu rány jód skutečně přítomen. Vznikající komplex jód-amylóze je však jako každý jiný komplex do určité míry disociován. To se projeví hnědavým zbarvením koagulační lázně i zbarvením lázně při zpracování staplových vláken do formy listu krytu. Část jódu přejde do těchto lázní.

Znamená to tedy sledovat celkovou bilanci koncentrace jódu v procesu výroby a porovnat tuto hodnotu s obsahem jódu, který lze stanovit na konečném výrobku. Na konečném výrobku byla koncentrace jódu stanovena metodou optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem za použití speciálního detekčního čidla pro stanovení obsahu jódu. Vzorek byl před měřením zpracován v trimethylamonium chloridu. Stanovení bylo provedeno na pracovišti Oddělení ochrany životního prostředí, Ústav environmentálního a chemického inženýrství FCHT Univerzity Pardubice pod vedením doc. Ing. Anny Krejčové, Ph.D.

Následující tabulky ukazují, že stanovené množství jódu v krytu rány je přibližně 25 % z předpokládaného teoretického množství, které bylo přidáno do zvláknovaného roztoku. Musíme tedy vzít do úvahy, že významné množství jódu se vymyje v průběhu zvláknování a dalšího zpracování do isopropanolu o čemž také svědčí více nebo méně syté zbarvení isopropanolu v průběhu zpracování.

Tabulka 3: Obsah jódu v krytech ran připravených dle postupu popsáního v **kap. 3.2.** (Zabudování jódu do zmazovatělého škrobu)

Teoretický obsah jódu [%]	Stanovený obsah jódu [%]	Chyba měření [%]	Stanovený obsah jódu [%]	Chyba měření [%]
	<i>Stanovení 8.3.2017</i>		<i>Stanovení 29.3.2017</i>	
0,5	0,13	49,7	0,15	45,2
1	0,26	11	0,33	19,1
2	0,84	3,54	0,94	4,6
4	1,27	1,46	1,55	2,9

Stanovení bylo provedeno na dvou řadách vzorků připravených nezávisle na sobě

Při průměrné hmotnosti jednoho vzorku cca 0,2 gramů je při obsahu jódu 0,5 % jeho obsah ve vzorku 0,001g, tj. 1 miligram. Při teoretickém obsahu 4,0 % je obsah jódu ve vzorku 0,008 g, tj. 8 miligramů. Tyto nízké koncentrace jódu činí potíže při jeho přesném stanovení. Stanovení je pro každou hodnotu provedeno jako průměr z 5 stanovení.

Tabulka 4: Obsah jódu v krytech ran připravených dle postupu popsáno v **kap. 3.3.** (Zabudování jódu do rozvařeného škrobu).

Teoretický obsah jódu [%]	Stanovený obsah jódu [%]	Chyba měření [%]
0,5	0,17	42
1	0,35	26,9
2	0,67	3
4,4	0,97	5,7

Stanovení bylo provedeno na jedné řadě vzorků.

Experimentálně stanovená koncentrace jódu v hotovém krytu se významně liší od teoretické hodnoty. Jak již bylo výše řečeno, dochází k disociaci komplexu a uvolňování jódu do zpracovatelské isopropanolové lázně.

Experimenty byly provedeny na pšeničném škrobu, který odpovídá československému lékopisu. Protože se však jednotlivé druhy škrobu vzájemně liší jak obsahem amylózy, tak její molekulovou hmotností, bylo by zajímavé podobnou studii provést na škrobech různého původu, což by vyžadovalo značné časové i finanční náklady. Nabízí se také možnost, stanovit koncentraci jódu v krytu titrační metodou. Zde je ale nutno vzít v úvahu dvě věci - nízkou koncentraci jódu ve vzorku a za další skutečnost, že systém není zcela rozpustný; po rozpuštění plavou v systému shluky zbytků škrobových zrn, jak bylo výše diskutováno. Čirý roztok, sytě modře zbarvený, vykazuje pouze systém, ze kterého byly zbytky odfiltrovány (viz úvodní kapitoly).

Bylo rovněž provedeno stanovení obsahu jódu ve zpracovatelských isopropanolových lázních. Tyto výsledky jsou pouze dílčí, protože nebyly zkušenosti s chováním jódu v krytu rány. K problematice stanovení jódu v těchto lázních přispívá také ta skutečnost, že koncentrace jódu v těchto lázních zřejmě s časem ubývá. Stanovení bylo provedeno spektrofotometrickou metodou.

Protože kryty ran s obsahem jódu vykazují intenzivní modré zbarvení, které je i při vizuálním pozorování závislé na koncentraci (teoretické i stanovené) jódu v krytu. Nabízí se proto možnost kontroly – určení – koncentrace jódu v tomto krytu na základě metod objektivního měření (hodnocení) barevnosti. Metodu by bylo nutno okalibrovat vždy pro daný systém při analytickém stanovení jódu ve vzorku.

3.7.2. Stanovení obsahu jódu ve zvlákňovacím a zpracovatelském roztoku

Pro stanovení množství jódu, které přešlo při zvlákňování připravené směsi kyseliny hyaluronové, škrobu a jódu do zvlákňovacího isopropanolového roztoku byl použit spektrofotometr. Byla připravena koncentrační řada, která odpovídá množství přidaného jódu do zvlákňovaného roztoku v izopropanolu. Byly stanoveny absorpční křivky jednotlivých členů koncentrační řady a byla zjištěna vlnová délka, při které mají jednotlivé vzorky maximální absorpční - $\lambda_{\max} = 359 \text{ nm}$. Při této vlnové délce poté byla stanovena i absorbance isopropanolových zvlákňovacích roztoků, do kterých přecházela část jódu z připravovaných vláken. Měřitelné množství bylo pouze při dávkování jódu 4 % do krytu rány. Nižší koncentrace nebyly touto metodou měřitelné. Problematická zůstává doba mezi zvlákňováním a měřením absorbance zvlákňovacího roztoku. Jak ukazují výsledky při antibakteriálním testování (viz. kapitola 3.8.), dochází zřejmě vlivem redukujícího účinku redukujících konců makromolekul polysacharidů škrobu (nebo také oligomerů až monomer) k redukci jódu na jodidový aniont.

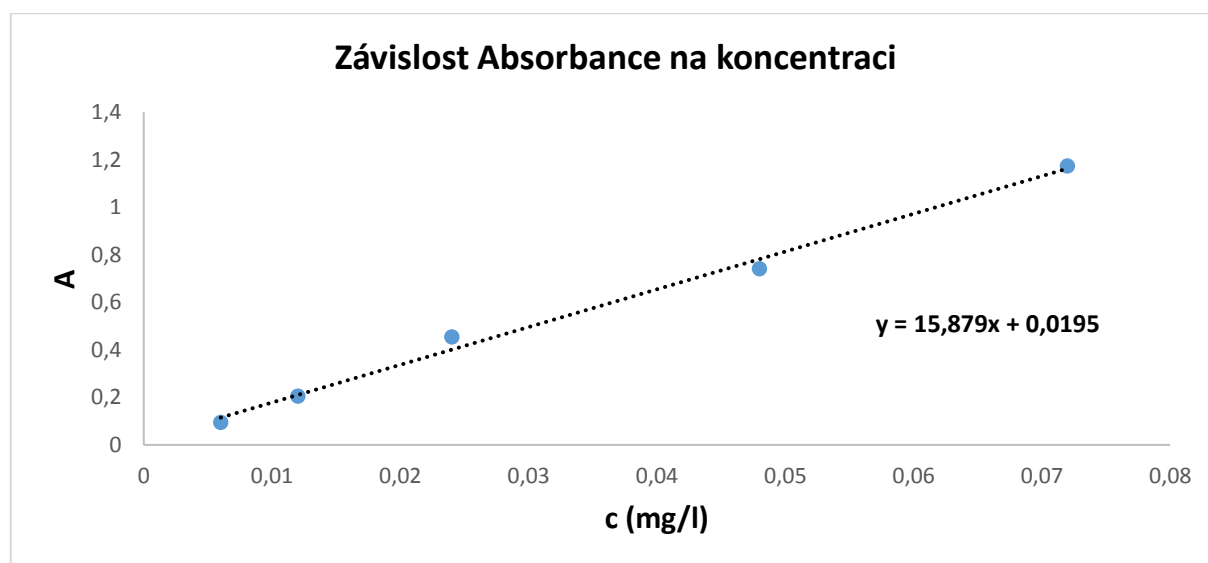
Tento jev byl zřejmě potvrzen při měření absorbance isopropanolového zvlákňovacího roztoku při aplikaci zrn bramborového škrobu se 4 % jódu do krytu. Bezprostředně po zvlákňování tohoto systému bylo ve zvlákňovací lázni nalezeno 15 % dávkovaného množství; po týdenním odstupu klesla tato hodnota v původní zvlákňovací lázni, zřejmě vlivem výše připomenuté reakce, na hodnotu 12%. Při použití těchto tepelně neupravených zrn bramborového škrobu se zabudovaným jódem je zajímavé, že nejenom množství jódu, které přešlo do zvlákňovací lázně, bylo pouze 15 %, ale při dalším zpracování staplových mikrovláken na kryt rány nebylo pozorováno měřitelné množství jódu, které by přešlo do této následné zpracovatelské lázně.

Je zajímavé, že při obdobném zpracování původních zrn oxidovaného pšeničného škrobu přejde do zvlákňovací lázně 40 % jódu (při dávkování 4% jódu do krytu). Při dalším zpracování na kryt rány se do zpracovatelské lázně do isopropanolu uvolní dalších 19% jódu. Pokud se použijí zrna neoxidovaného pšeničného škrobu, přechází do zvlákňovací lázně 38% jódu. Množství zadržovaného jódu ve škrobových zrnech bude zřejmě záviset na jejich původu. Literatura uvádí, že molekulová hmotnost amylózy zrn bramborového škrobu je asi dvojnásobná ve srovnání s molekulovou hmotností amylózy zrn pšeničného škrobu.

Následná tabulka uvádí naměřené hodnoty absorbance pro koncentrace jódu v kalibračním roztoku, odpovídající přidanému množství jódu do zvlákňovaného roztoku 0,5 až 6%. Kalibrační křivka stanovená na základě těchto naměřených hodnot je uvedena dále. Jednotlivé absorpční křivky kalibrační řady jsou uvedeny v příloze této práce.

Tabulka 5: Absorbance vzorků kalibrační řady

teorie	mg/l	A původní	kyveta	zředění	A přepočet
6%	0,072	0,587	1	2	1,174
4%	0,048	0,742	1	1	0,742
2%	0,024	0,454	1	1	0,454
1%	0,012	0,205	1	1	0,205
0,5%	0,006	0,475	5	1	0,095



Obrázek 18: Kalibrační křivka koncentrací roztoků jódu v isopropanolu

Tabulka 6: Množství jódu, které přešlo při zvlákňování systému připraveného různým způsobem do zvlákňovací lázně

Způsob přípravy	koncentrace I ₂ v lázni		Do zvlákňovací lázně přešlo I ₂ [%]
	mg/l	mmol/l	
zrna brambor. škrobu Kap. 3.1. 4 % elem. I ₂	0,007273	0,057314	15
zrna brambor. škrobu Kap. 3.1. 4 % elem. I ₂ po týdnu	0,005888	0,046396	12
zrna oxid. pšen. škrobu Kap. 3.1. 4 % elem. I ₂	0,019238	0,151602	40
pšeničný škrob Kap. 3.3. 4% elem. I ₂	0,023741	0,187084	49
pšen. oxid. škrob Kap. 3.2. 4 % elem. I ₂	0,009339	0,073591	19
pšen. oxid. škrob Kap. 3.3. 4 % elem. I ₂	0,018294	0,144158	38

Jak je zřejmé, množství jódu uvolněného v průběhu zvlákňování do koagulační zvlákňovací lázně závisí na mnoha parametrech – typu škrobu, jeho modifikaci, zapracování do krytu a také zřejmě na formě, v jaké je jód přidán, tj. buď ve formě izopropanolového roztoku elementárního jódu, nebo jako vodný roztok trijodidu draselného KI₃. Podrobnější studiu daného problému by bylo vhodné provést v případě rozhodnutí pro daný typ a formu škrobu zabudovávaného do krytu.

3.7.3. Stanovení koncentrace jódu v krytu na základě metod pro objektivní hodnocení barevnosti.

Je možno předpokládat, že sytost zbarvení krytu rány způsobená modrým jodoškrobovým komplexem je přímo úměrná koncentraci jódu v systému. V současné době existuje řada velmi dobře teoreticky zpracovaných postupů doplněná vhodnou laboratorní technikou – remisní spektrofotometrií, umožňující exaktní popis odstínu a sytosti vybarvení. Tyto metody jsou řadu let běžně používány pro charakteristiku odstínů např. v oblasti textilního průmyslu a v průmyslu nátěrových hmot. Metod objektivního měření barevnosti je rovněž využíváno pro návrh receptur v řadě průmyslových odvětví.

Pro ověření vhodnosti těchto metod pro stanovení koncentrace jódu v krytu byly zvoleny vzorky připravené dle postupu popsáno v **kapitole 3.2.** (*Zabudování jódu do zmazovatělého škrobu*).

Tabulka 7: Charakteristika vzorků, použitých pro stanovení obsahu jódu remisní spektrofotometrií

Teoretický obsah jódu [%]	Stanovený obsah jódu [%]	Chyba měření [%]
Řady c, d, e		
0,5	0,13	49,7
1,0	0,26	11,0
2,0	0,84	3,54
4,0	1,27	1,46

Poznámka: Řady c, d, e představují paralelní vzorky (kryty ran) z téže výroby. Tj. jeden gram směsi biopolymerů s obsahem jódu byl zpracován na 5 krytů po cca 0,2 gramech.

Jako standard pro měření byl použit bílý vzorek – bez jódu – stejného složení a přípravy, tj. kombinace HA + zmazovatělý pšeničný škrob v poměru 1:1.

Řady c, d, e o čtyřech členech s teoretickou koncentrací jódu 0,5; 1,0; 2,0 a 4,0 % byly proměřeny na remisním spektrofotometru typu **ColorQuest XE** značky **HunterLab**.

Měření probíhalo za následujících podmínek:

1. Osvětlení D65
2. 10° pozorovatel
3. Byl použit velký otvor

Pro každý vzorek byly zjištěny tyto parametry: L^* , a^* , b^* , ΔE^*

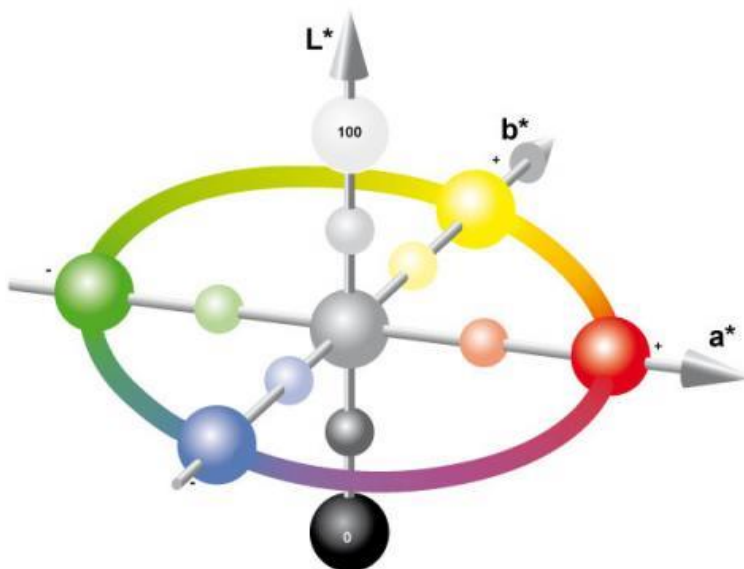
L^* je parametr měrné světelnosti a udává, zda je barva světlá, či tmavá.

Na ose a^* se nachází barvy od zelené po červenou

Na ose b^* se nachází barvy od modré po žlutou

Vzdálenost mezi dvěma barvami v tomto prostoru lze vyjádřit pomocí parametru ΔE , pro který platí vztah:

$$\Delta E = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$



Obrázek 19: Uspořádání $L^*a^*b^*$ barevného prostoru [30]

Naměřené parametry $L^*a^*b^*$ systému jsou uvedeny v následujících tabulkách, včetně barevné odchylky ΔE proti standartu, který neobsahuje jód.

Tabulka 8: Základní kolorimetrické údaje stanovené pro soubor C a koncentrační řadu 0,5; 1; 2 a 4 %, měřeno vůči standardu bez obsahu jódu

C		L	a	b	ΔE	ΔE_{cmc}
0%	Standart	95,4	-0,36	-0,58		l:c=2:1
4%	Darker, Redder, Bluer	42,03	1,52	-8,19	53,94	21,64
2%	Darker, Redder, Bluer	52,88	0,54	-5,83	42,85	16,57
1%	Darker, Bluer, More Chromat.	62,28	-0,2	-5,93	33,55	13,83
0,5%	Darker, Redder, Bluer	73,41	0,07	-3,33	22,16	8,59

Tabulka 9: Základní kolorimetrické údaje stanovené pro soubor D a koncentrační řadu 0,5; 1; 2 a 4 %, měřeno vůči standardu bez obsahu jódu

D		L	a	b	ΔE	ΔE_{cmc}
0%	Standart	95,78	-0,01	-1,75		l:c=2:1
4 %	Darker, Redder, Bluer	42,35	1,48	-8,49	53,88	20,51
2 %	Darker, Redder, Bluer	53,16	0,45	-6,18	42,86	15,78
1 %	Darker, Greener, More Chromat.	62,91	-0,16	-5,45	33,08	12,31
0,5 %	Darker, Redder, Bluer	73,33	0,08	-3,56	22,53	8,07

Tabulka 10: Základní kolorimetrické údaje stanovené pro soubor E a koncentrační řadu 0,5; 1; 2 a 4 %, měřeno vůči standardu bez obsahu jódu

E		L	a	b	ΔE	ΔE_{cmc}
0%	Standart	95,73	-0,32	-0,58		l:c =2:1
4 %	Darker, Redder, Bluer	41,82	1,5	-8,75	54,56	22,21
2 %	Darker, Redder, Bluer	52,88	0,49	-6,22	43,23	16,92
1 %	Darker, Bluer, More Chromat.	62,49	-0,16	-5,7	33,63	13,66
0,5 %	Darker, Redder, Bluer	73,07	0,11	-3,29	22,82	8,76

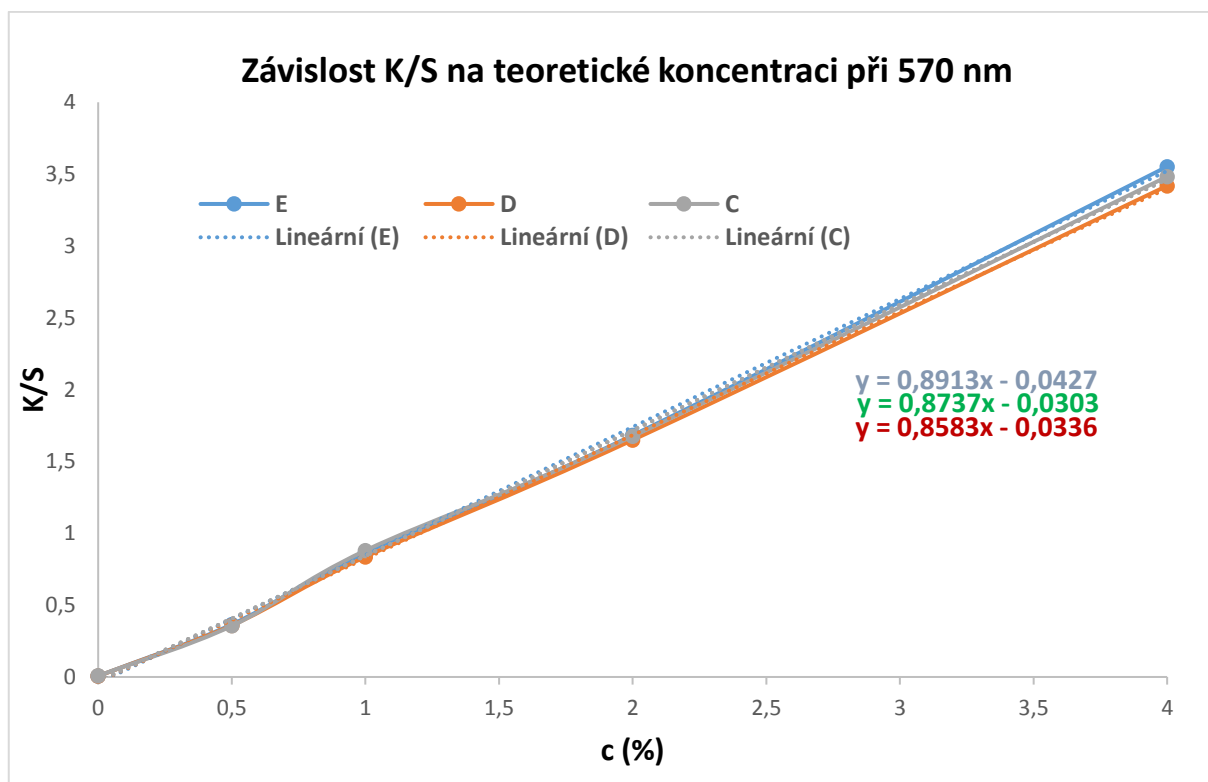
Hodnota ΔE_{cmc} je přesnějším vyjádřením barevné odchylky, protože se jedná o elipsoidní prostor podle poměru l (váha světelnosti) a c (váha odstínu) popisující plynulejší a reálnější přechod mezi barvami.

Při dopadu záření na vzorek je část záření odražena na detektor, část je absorbována a část je rozptýlena do všech směrů ve vzorku. Kubelka-Munkova rovnice ve tvaru

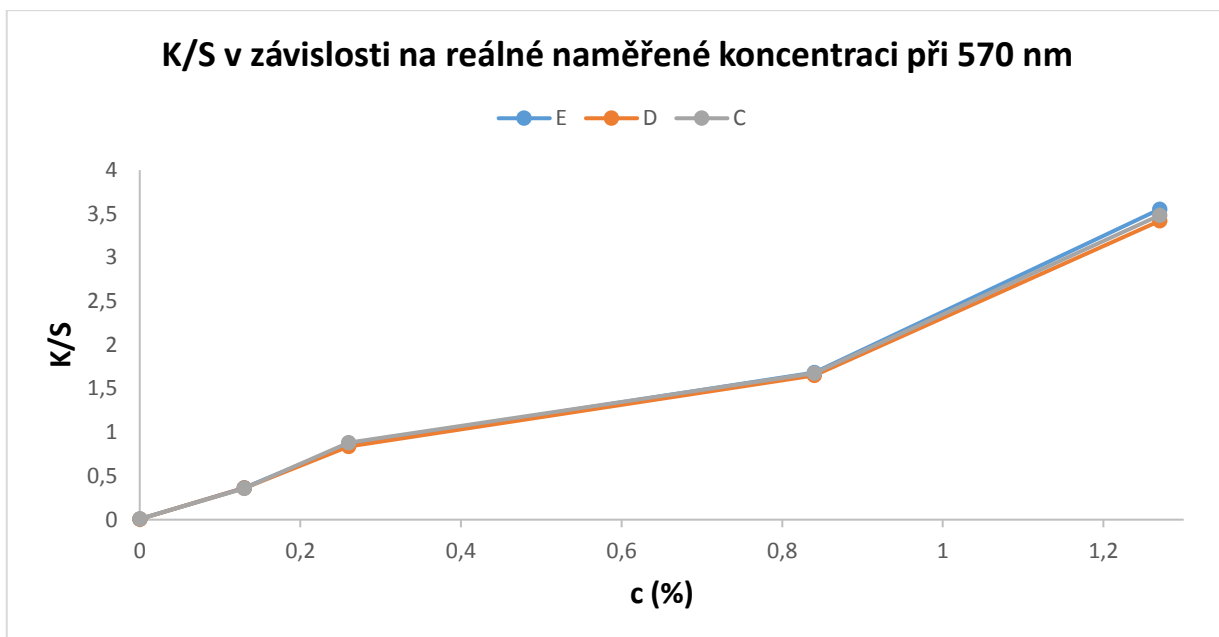
$$\frac{K}{S} = \frac{[1 - 0,01R]^2}{2[0,01R]}$$

popisuje vztah mezi reflektancí R [%], absorbcí K a rozptylem S.

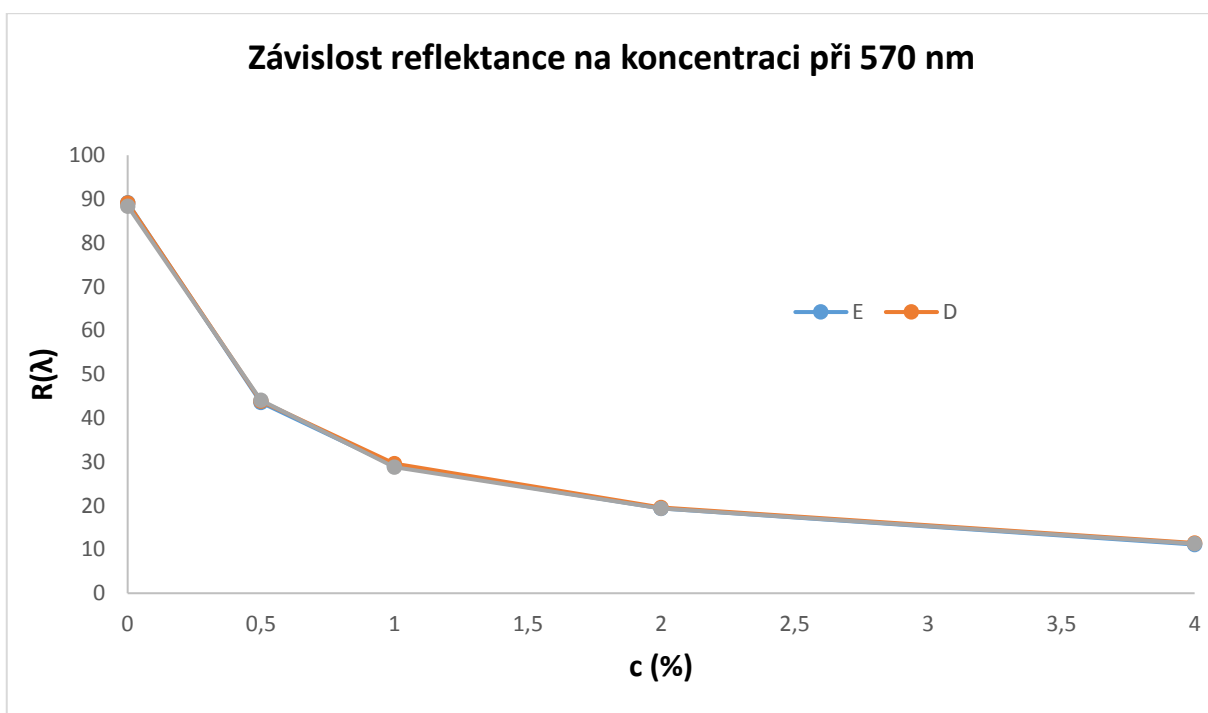
Poměr K/S je na remisním spektrofotometru přepočítáván pro každou vlnovou délku. Kubelka-Munkova rovnice našla své uplatnění v oblasti textilií, papíru a povlaků. Vychází to z předpokladu, že rozptyl záření závisí na použitém materiálu a absorpce záření K na vlastnostech použitého barviva. [29]



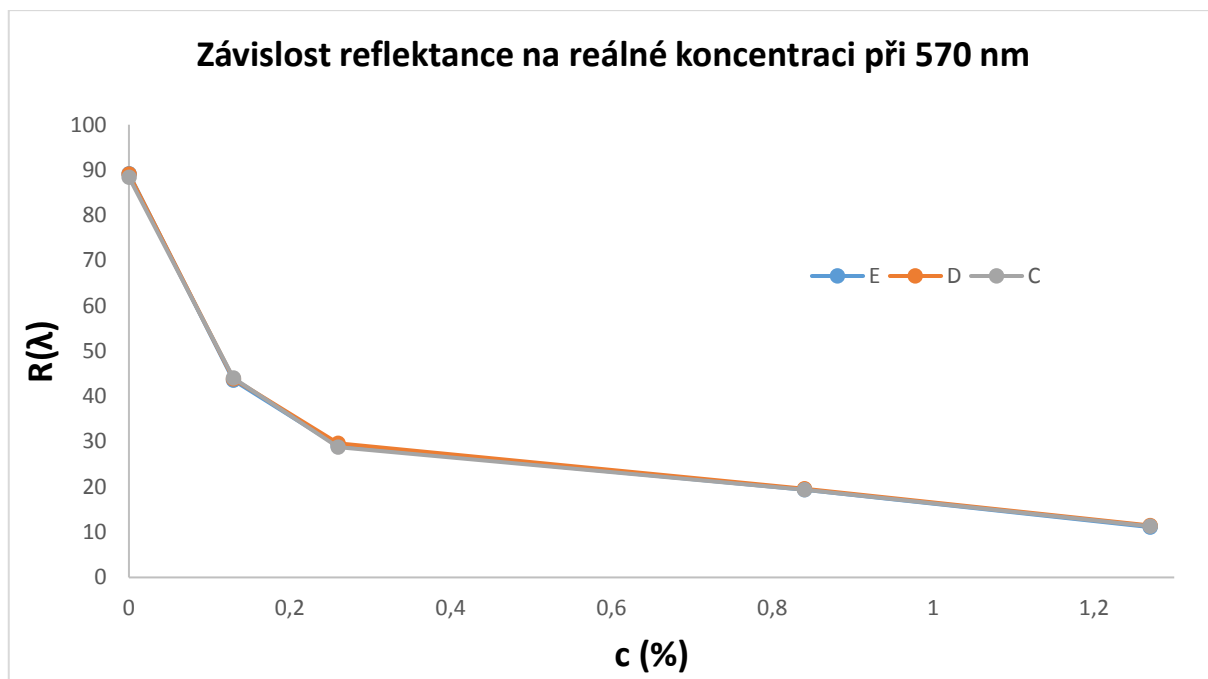
Obrázek 20: Závislost poměru K/S na teoretické koncentraci při vlnové délce 570 nm



Obrázek 21: Závislost K/S na skutečné koncentraci jódu v krytu



Obrázek 22: Závislost reflektance na teoretické koncentraci jódu ve vzorku

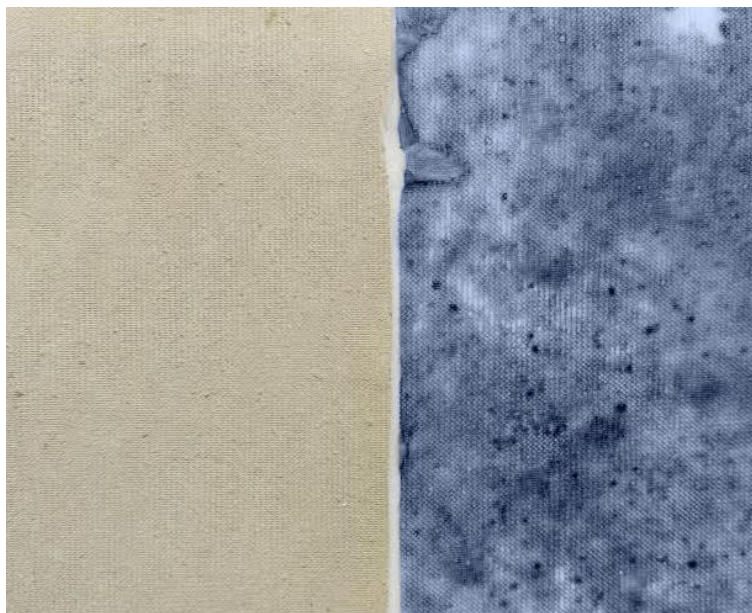


Obrázek 23: Závislost reflektance na reálné koncentraci jódu ve vzorku

Využití této metody pro stanovení koncentrace jódu v krytu vychází z představy lineární závislosti mezi hodnotami K/S a koncentrací barviva v dané vrstvě, jak ukazují předchozí obrázky. Pokud celý systém okalibrujeme, můžeme nedestruktivní metodou měření remise na vhodném spektrofotometru na základě naměřené remise stanovit koncentraci jódu v systému pro podmínky, pro jaké byl systém okalibrován. Obecně je ale prověřeno, že odchylky od linearit vztahu K/S jsou větší, nežli je tomu v případě Lambert-Beerova zákona (závislost absorbance systému na koncentraci barevné sloučeniny).

Poznámka

Při stanovení koncentrace jódu uvedenou metodou objektivního hodnocení barevnosti – sytost modrého odstínu bude zřejmě úměrná koncentraci jódu v krytu, je ale nutno připomenout, že měření bude nutno provést bezprostředně po usušení hotového krytu (event. po velmi krátké době kondicionace). V průběhu času totiž dochází ke změně odstínu z modré spíše do hnědého zbarvení. Při prvním pozorování tohoto jevu byla brána v úvahu možnost degradace škrobu v systému a s tím spojená změna barvy komplexu škrob-jód. Tento jev je znám a prakticky využíván v textilním průmyslu při sledování odbourávání a odstraňování škrobové šlichty z tkanin, kdy se podle zbarvení vzorku tkaniny od modře po hnědě po aplikaci roztoku jódu usuzuje na množství a stupeň odbourání škrobu a také na jeho vyprání z textilie. V případě diskutovaných krytů ran změna zbarvení od původní modré po odstíny hnědě zřejmě neindikuje rozklad – poškození škrobu, ale má svůj původ v jiném jevu; snad vysychání vrstvy, snižování obsahu vlhkosti ve vzorku atd. Po zvlhčení těchto hnědých vzorků zbarvení totiž okamžitě přechází od hnědí do původního, intenzivně modrého odstínu. Se zvlhčením je ale spojeno rozpouštění vrstvy zhotovené z vodorozpuštěných biopolymerů. To je znázorněno na následujícím obrázku, kde byl již starší vzorek krytu (vlevo) navlhčen pomocí vlhkého filtračního papíru a objevilo se původní modré zbarvení komplexu jódu (vpravo).



Obrázek 24: vzorek staršího původního krytu s 1% jódu (vlevo) a rozpuštěného (vpravo)

Zajímavé by bylo sledovat rychlost změny tohoto vybarvení po vytvoření krytu a podmínky, které tuto změnu ovlivňují.

3.8. Hodnocení biologické aktivity – antimikrobiální účinnosti krytů ran s obsahem jódu.

Přestože obsah jódu v krytech nedosahuje předpokládaných hodnot, byly některé připravené vzorky testovány na svoji antibakteriální účinnost. Zůstává otázkou, zda právě dosažená koncentrace jódu kolem jednoho procenta v krytu není zcela postačující – tuto hodnotu totiž uvádí některé práce o krytech ran s obsahem biologicky aktivních látek [18]. Ze zkušenosti je také známo poleptání pokožky jódem při záměně koncentrací při vývoji krytu s obsahem jódu.

K testování byly použity kryty připravené dle postupu v **kap. 3.2.** (*Zabudování jódu do mazovatělého škrobu*). V tomto typu vzorků také byla analyticky stanovena koncentrace jódu – viz předchozí kapitola.

Hodnocení – testování – antimikrobiální účinnosti bylo provedeno na Katedře biologických a biochemických věd FCHT Univerzity Pardubice, pod vedením Ing. Ivety Brožkové, Ph.D.

Testování antimikrobiální účinnosti bylo testováno na několika druzích gramnegativních bakterií (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*); dále na grampozitivní (*Staphylococcus aureus*); na kvasince *Candida albicans* a na dvou druzích bakterií rezistentních vůči antibiotikům - VRE a MRSA.

Výsledky uvádí následující tabulka. Vzorek č. 1 je srovnávací – bez obsahu jódu – tj. směs HA a mazovatělého pšeničného škrobu připravený za stejných podmínek jako vzorky ad 2 – 9.

Do vzorků č. 2 – 5 byl jód přidán v odpovídající koncentraci jako izopropanolový roztok jódu. Do vzorků č. 6 – 9 byl jód ve stejné koncentraci přidán jako vodný roztok trijodidu draselného.

Tabulka 11: Teoretický a skutečný obsah jódu v krytech pro stanovení antibakteriální účinnosti

Vzorek číslo	Teoretický obsah jódu [%]	Skutečný obsah jódu [%]
1	Srovnávací vzorek bez jódu	
2	0,5	0,13
3	1	0,26
4	2	0,84
5	4	1,27
6	0,5	
7	1	
8	2	
9	4	

Tabulka 12: Výsledky hodnocení antibakteriální účinnosti

Vzorek č.	VRE (cm)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (cm)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (cm)	MRSA (cm)	<i>Escherichia coli</i> (cm)	<i>Staphylococcus aureus</i> (cm)	<i>Candida albicans</i> (cm)
1	N	N	N	N	N	N	N
2	N	0x 0,05	0x 0,1*	N	0x 0,2*	N	0x 0,1*
3	N	0x 0,02	0x 0,2*	N	0x 0,05*	N	0x 0,3*
4	N	0x 0,05	0x 0,2*	N	0x 0,2*	N	0x 0,05*
5	N	0x 0,05	0x 0,2	N	0x 0,25*	N	N
6	N	0x 0,15	0x 0,3	N	0x 0,1*	N	0x 0,05*
7	N	0x 0,2	0x 0,3	N	0x 0,25*	N	0x 0,1*
8	N	0x 0,2	0x 0,3	N	0x 0,2*	N	0x 0,1*
9	N	0x 0,15	0x 0,3	N	0x 0,3*	N	N

* jedna strana krytu

N mikroorganismus není inhibován

Z uvedené tabulky celkem jednoznačně plyne příznivý dopad zabudovaného jódu do krytu rány na antimikrobiální účinnost krytu vůči alespoň některým testovaným bakteriím. V některých případech není ani příliš zřejmá zvyšující se koncentrace jódu versus antimikrobiální účinnost. Prozatím se neprokázala účinnost vůči rezistentním bakteriím typu VRE a MRSA, ani účinek oproti *Staphylococcus aureus*. Určitého zlepšení účinnosti by mohlo být dosaženo optimalizací skladby – konstrukce – samotného krytu, jak bude uvedeno dále.

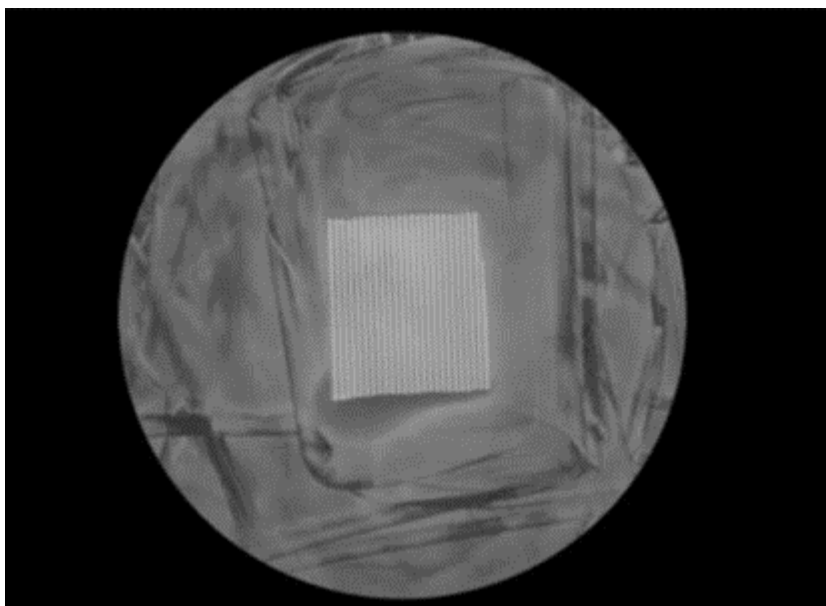
Účinek krytu rány s obsahem jódu je hodnocen jako baktericidní, tj. po vyočkování kultury po odstranění biologicky aktivního krytu na novou plochu nedochází již k dalšímu růstu kultury. Je to rozdíl od účinku bakteriostatického, kdy po odstranění krytu a dalším vyočkování dojde k dalšímu růstu mikroorganismů.

Některé údaje vyžadují bližší vysvětlení. Prozatím byly všechny kryty zhotovovány na polyamidové, zřetelně řádkované pletenině. Na tomto materiálu také byly vždy kryty předkládány pro testování jejich antimikrobiální účinnosti (např. se zabudovaným sulfadiazinem stříbra, chitosanem, nebo samotný chitosan, soli zinku apod.). Nevhodnost používané polyamidové pleteniny se nikdy neprojevila. Hodnocení proběhlo bez nejmenších potíží.

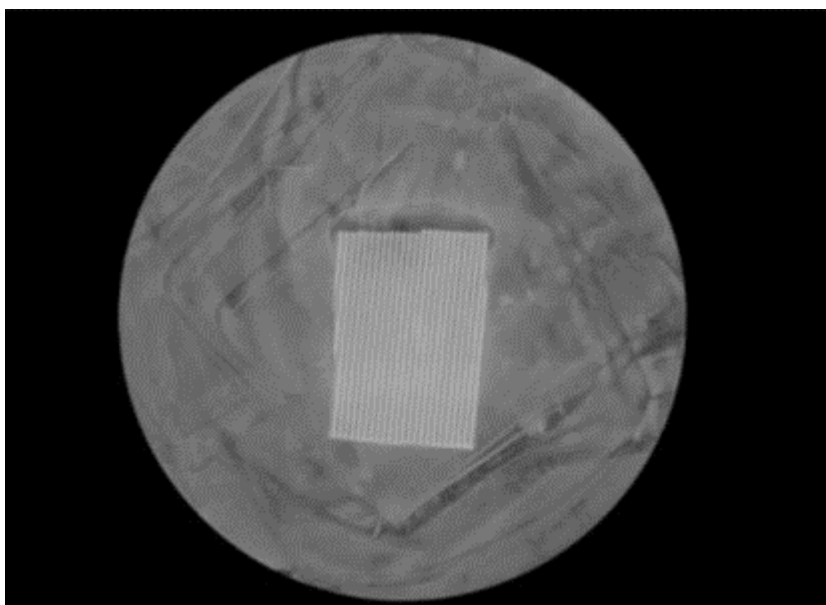
Kupodivu tomu tak není při hodnocení v uvedeném případě. Čísla v jednotlivých sloupcích znamenají šířku inhibiční zóny kolem vzorků. Tato zóna je však značně nesymetrická, objevuje jenom ve směru řádků, nikoliv kolmo na ně. Dokonce u některých vzorků se tato inhibiční zóna objevuje jenom na jednom konci řádků (označeno hvězdičkou). Snad vlivem obsahu škrobu dochází k migraci účinné látky – jódu jen ve směru řádků. Kolmo na tyto řádky jód nemigruje a inhibiční zóna se nevytváří. Tyto jevy jsou zdokumentovány na **obr. 26 - 29**, kde jsou jako příklady uvedeny fotografie výsledků mikrobiálních testů vzorků č. 7 a 9 vůči *Escherichia coli* po 24 hodinách a dále totéž na dvou snímcích při testování účinnosti oproti *Pseudomonas aeruginosa*.

Toto neobvyklé chování krytů je možno modelovat i na vlhkém filtračním papíře. Položíme-li v Petriho misce na navlhčený filtrační papír testovaný kryt rány, dochází zřetelně k migraci zbotnalé modré vrstvy ve směru řádků pleteniny.

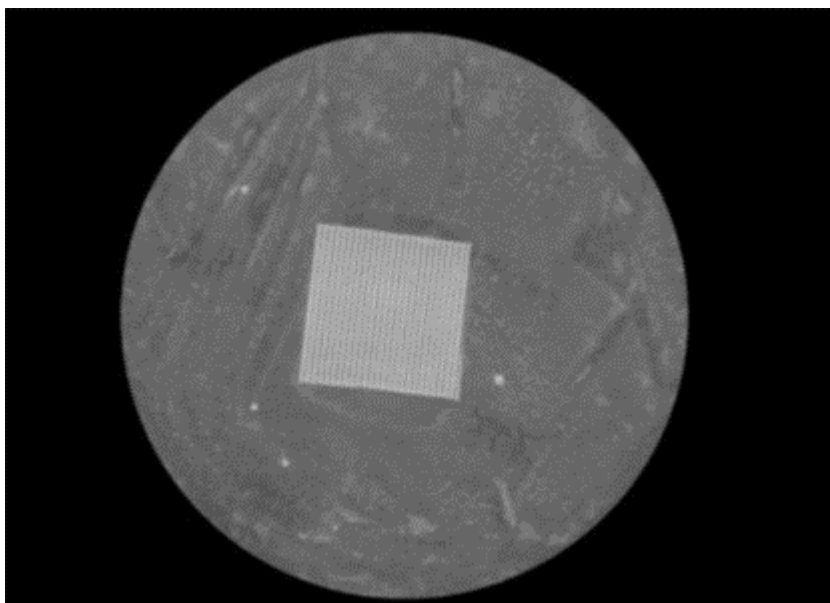
Z pozorování plyne jednoznačný závěr, že vzorky pro testování antimikrobiální účinnosti bude nutno připravovat na podložní tkanině – nejlépe plátňové vazby. Materiál může být např. polyamidová, viskózová nebo polyesterová tkanina. Možno také použít netkanou textilií.



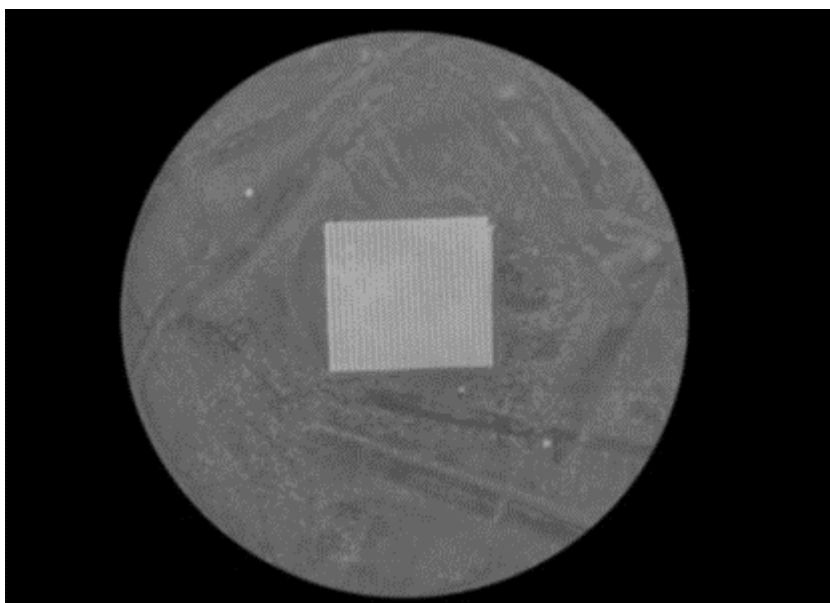
Obrázek 25: Příklad hodnocení antimikrobiální účinnosti vzorku č. 7 vůči *Escherichia coli* výsledek po 24 hodinách. Na obrázku je zřejmá inhibiční zóna – jen ve směru řádků pleteniny a jen na jedné straně.



Obrázek 26: Příklad hodnocení antimikrobiální účinnosti vzorku č. 9 vůči *Escherichia coli* Výsledek po 24 hodinách. Na obrázku je zřejmá inhibiční zóna – jen ve směru řádků pleteniny a jen na jedné straně.



Obrázek 27: Příklad hodnocení antimikrobiální účinnosti vzorku **č. 7** vůči *Pseudomonas aeruginosa* - výsledek po 24 hodinách. Na obrázku je zřejmá inhibiční zóna – jen ve směru řádků pleteniny, ale po obou stranách konců řádků.



Obrázek 28: Příklad hodnocení antimikrobiální účinnosti vzorku **č. 9** vůči *Pseudomonas aeruginosa* - výsledek po 24 hodinách. Na obrázku je zřejmá inhibiční zóna – jen ve směru řádků pleteniny, ale po obou stranách konců řádků.

Další zajímavý úkaz, který doprovází testování, je postupné odbarvování modrého odstínu komplexu jód-škrob. Při konzultaci této skutečnosti na Katedře biologických a biochemických věd FCHT Univerzity Pardubice byl získán poznatek, že v mikrobiálních systémech se nachází značné množství enzymu amylázy, který štěpí ve škrobu obsaženou amylózu. Dochází tak k rozpadu jodoškrobového komplexu a k odbarvování systému. Tento jev můžeme na připravených krytech s obsahem jodoškrobového komplexu namodelovat tím způsobem, že vzorek položíme v Petriho misce na mokré filtrační papír a na vzorek nanese lidské sliny obsahující amylázu. Po krátké době dojde ke stejnému jevu, jako při mikrobiologickém testování – v místech nanesených slin se vzorek naprosto odbarví. Zůstává otázkou, zda reakce nepokračují dále. Štěpením amylózy vzniká glukóza, která má redukující účinek – je tedy možné, že vznikající glukóza redukuje přítomný elementární jód na jodid.

Tento předpoklad podporuje i ta skutečnost, že po přidání nového rozvařeného škrobu do míst, která se odbarvila slinnou amylázou, se modré zbarvení neobnovuje. Glukóza by se sama zřejmě oxidovala na kyselinu glukonovou.

Štěpení amylózy účinkem slinné amylázy se projeví jak u krytů připravených za použití zmazovatělého nebo rozvařeného škrobu, tak při použití nativních škrobových zrn se zabudovaným jódem. Tento jev bude dořešen při testech in vivo. Zůstává otázkou, zda tuto degradaci krytu možno považovat za přednost, nebo chybu.

3.9. Sorpce jódu textilními polyamidovými materiály.

Sorpční schopnosti textilních, především polyamidových materiálů, vůči jódu jsou zkoumány již několik desítek let a byly původně vyvinuty pro hodnocení nadmolekulární struktury vláken s cílem porovnat obsah krystalického podílu a také hodnotit stupeň fixace textilních materiálů. Takovou metodu vypracoval např. *Schwertassek* [31] pro stanovení stupně fixace. Na základě popsané metody je možno určit koncentraci jódu na polyamidovém substrátu na základě stanovení úbytku koncentrace jódu v sorpčním roztoku.

3.9.1. Sorpce jódu na polyamidovou pleteninu dle metody Dr. Schwertasska.

Polyamidová pletenina „Walda“, poskytnutá firmou Contipro a.s., Dolní Dobrouč, byla vyprána pro odstranění povrchové aviváže vlákna a mastnoty při 20°C po dobu 30 minut v roztoku dodecylsulfátu sodného o koncentraci 2 g/l. Následovalo důkladné oplachování destilovanou vodou a sušení při 50°C.

Podle *Dr. Schwertasska* [31] byl připraven roztok jódu o poměru 40 g KI, 5 g jódu a 50 ml vody. Pro titraci byl připraven 0,1M roztok thiosíranu sodného – 24,82 g thiosíranu sodného rozpuštěného v litru destilované vody, pro lepší stabilitu přidány 2 g uhličitanu sodného.

Pro tento roztok byl stanoven faktor – na analytických vahách se diferenčně odváží asi 0,1 g jemně rozemletého a vysušeného dichromanu draselného, navážka se rozpustí v destilované vodě, roztok se okyselí pomocí 20 ml 4M kyseliny chlorovodíkové a přidají se 2 gramy jodidu draselného. Roztok se naředí na 100 ml a titruje se testovaným roztokem thiosíranu do slabě žlutého zabarvení. Poté se přidá škrobový maz a titruje se do odbarvení. Faktor lze poté vypočítat podle vztahu

$$f = \frac{n}{A \cdot 0,0049035}$$

kde n je navážka dichromanu draselného v gramech a A je spotřeba roztoku thiosíranu v ml.

Dva vzorky, o hmotnostech 0,6377 g a 0,6564 g, byly na 5 minut vloženy do 5 ml připraveného roztoku jódu a následně bylo přidáno 200 ml destilované vody. Ve vodě byly vzorky ponechány 60 minut a každých 10 min byly důkladně protřepány. Poté byl materiál

vyjmut z roztoků a ty byly titrovány roztokem připraveného thiosíranu na škrobový maz do odbarvení. Z rozdílu hodnot mezi titrací zásobního roztoku jódu (5 ml připraveného roztoku jódu doplněných na 200 ml destilovanou vodou) a roztoku, ve kterém byl materiál, bylo vypočteno množství jódu, které bylo nasorbováno na materiál. Pro zmíněnou koncentraci roztoku jódu bylo pro oba vzorky zjištěno stejné množství nasorbovaného jódu, a to **189 mg/g**. Podrobnějšímu studiu sorpce jódu na polyamid se věnuje následující kapitola s modifikovaným postupem.

3.9.2. Stanovení sorpční izotermy jódu na polyamidové pletenině.

Vzorek předem vyprané polyamidové pleteniny – viz. **kap. 3.9.1.** o velikosti 10x10 cm byl zvážěn, rozstříhán a vložen do prachovnice. Byla připravena řada roztoků jódu o koncentracích 2,5; 5; 10; 15; 20; 30; 40 g/l. Pro přípravu těchto roztoků byl požit poměr podle českého lékopisu na přípravu Lugolova roztoku, který uvádí 10 g jódu a 25 g jodidu draselného rozpuštěných v 965 g vody. Do každé prachovnice se vzorkem bylo odměřeno 5 ml roztoku jódu, vzorek byl s tímto roztokem důkladně promíchán tyčinkou a za laboratorní teploty ponechán po dobu 60 min. Poté bylo ke každému vzorku přidáno 200 ml destilované vody. Ve vodě byl vzorek po dobu dalších 60 min a každých 10 minut byla prachovnice se vzorkem protřepána. Po této době byly vzorky vyjmuty a stanovena koncentrace zbytkového jódu v lázni titrací 0,01M roztokem thiosíranu sodného (byl zjištěn přesný faktor). Na základě rozdílu mezi titrací původního roztoku jódu a lázně, ve které byl materiál, byla stanovena koncentrace jódu na polyamidovém materiálu. Pro lepší přesnost byly pro každou koncentraci měřeny dva vzorky a jejich výsledky titrace byly zprůměrovány. Výsledky jsou uvedeny v následující tabulce.

Tabulka 13: Vypočítané hodnoty sorpce jódu na polyamid

roztok jódu	sorpce		
	g/l	mg/g \emptyset	% \emptyset (1)
2,45	11,35	1,12	1,14
4,87	22,50	2,20	2,25
9,83	44,57	4,27	4,46
13,86	62,51	5,88	6,25
18,69	79,07	7,33	7,91
27,16	108,70	9,80	10,87
35,90	137,11	12,06	13,71

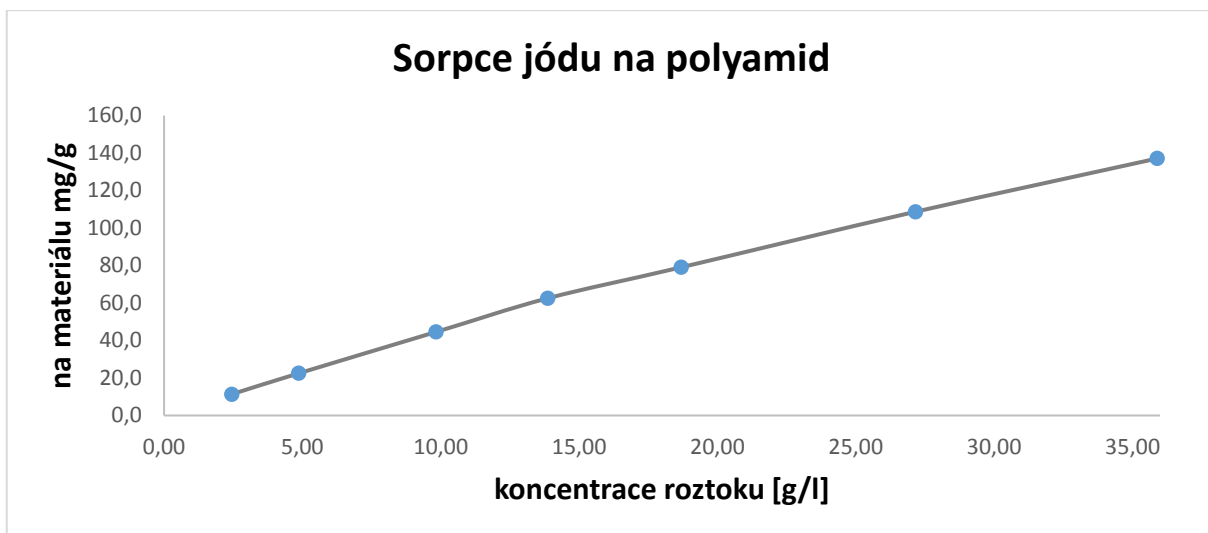
Pro uvedenou koncentrační řadu roztoků jódu byla díky faktorizaci stanovena přesná koncentrace a z těchto hodnot byly vypočteny hodnoty sorpce. První sloupec výsledků z **tab. 13** udává vypočítané hodnoty v mg jódu na gram materiálu, druhý sloupec vyjadřuje procentuální zastoupení jódu na materiálu podle vztahu (1)

$$\% = \frac{m_{\text{jód}}}{m_{\text{jód}} + m_{\text{vzorek}}} * 100$$

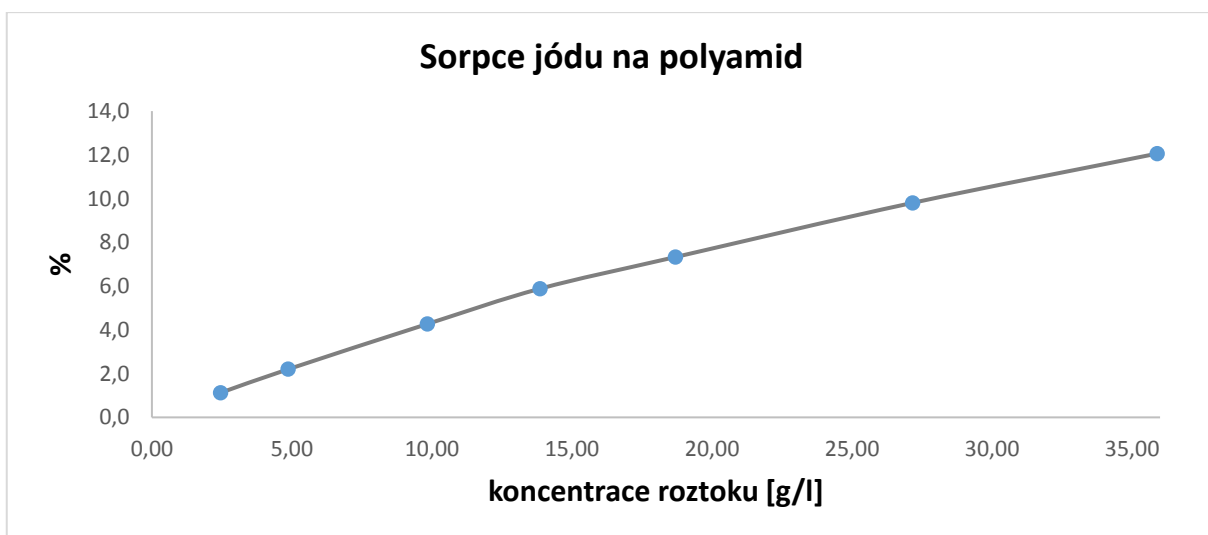
a třetí sloupec taktéž procentuální vyjádření, ale podle poměru (2)

$$\% = \frac{m_{\text{jód}}}{m_{\text{vzorek}}} * 100 .$$

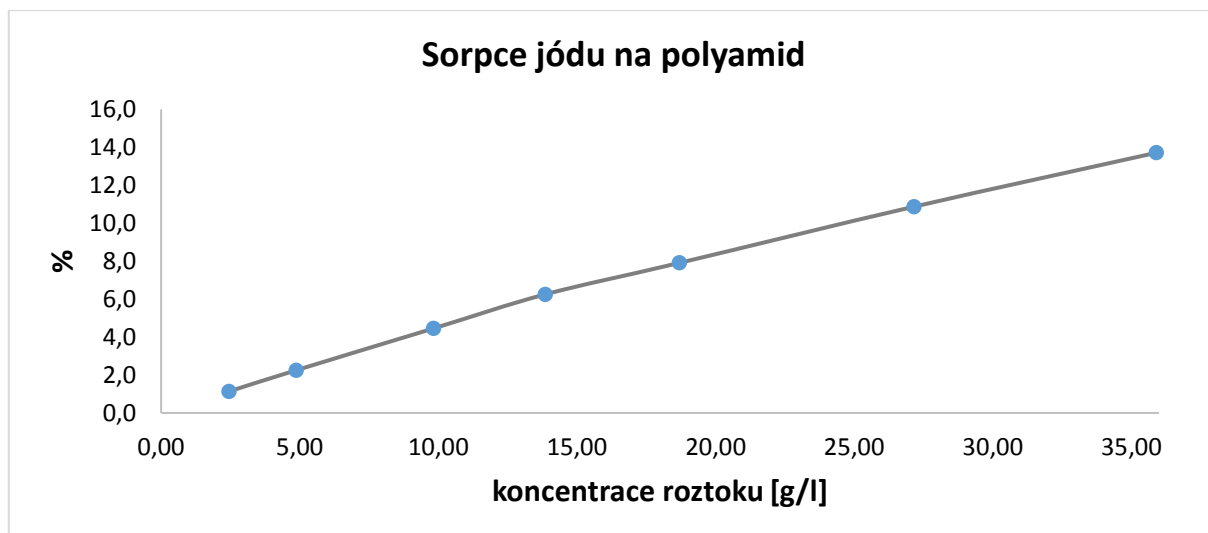
Sorpční izotermu z těchto hodnot vyjadřují následující grafy



Obrázek 29: Sorpční izoterma vyjádřená v mg/g



Obrázek 30: Sorpční izoterma vyjádřená v % podle vztahu (1)



Obrázek 31: Sorpční izoterma vyjádřená v % podle vztahu (2)

Pro další výzkum v této oblasti bude nutno studovat rovněž desorpci jódu z polyamidového materiálu v závislosti na čase i složení desorpční lázně a odhadnout, kolik jódu může přejít z materiálu do rány (na pokožku) bez poškození živé tkáně. K tomu může jako informační hodnota sloužit množství jódu, které je zabudováno v krytu pro kombinaci HA-škrob, kde veškeré množství jódu je z tohoto krytu uvolněno (ale jak dokazují antimikrobiální testy, zřejmě také dochází k degradaci jódu). V případě krytu rány s obsahem jódu na nosné polyamidové pletenině by bylo zajímavé řešit, zda nedochází ve větší míře k sorpci jódu na polyamid.

4. Závěry.

1. Byla opět potvrzena možnost zpracování škrobu v různé formě (škrobová zrna, nebo rozvařený škrob) společně s vhodným vláknotvorným vodorozpustným biopolymerem – v našem případě kyselina hyaluronová – do formy staplových mikrovláken a jejich zpracování do plošného útvaru (krytu rány).
2. Byla potvrzena možnost zvláknit škrob s vázaným jódem různé koncentrace do krytu rány.
3. Potvrdil se předpoklad, že z množství jódu, které do zvlákněvaného systému přidáme, jeho určité množství přejde do zvlákněvací lázně a do lázně použité při zpracování staplových mikrovláken do krytu rány.
4. Pro stanovení koncentrace jódu na finálním krytu rány byla s úspěchem použita metoda optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem za použití speciálního detekčního čidla pro stanovení obsahu jódu.
5. Pro stanovení obsahu jódu ve zvlákněvacím roztoku a v další zpracovatelské lázni (tj. v bezvodém prostředí) byla ověřena spektrofotometrická metoda za využití Lambert-Beerova zákona.
6. Jako alternativa pro stanovení koncentrace jódu na substrátu (modré zbarvení jodoškrobového komplexu) komplexu byla ověřena metoda objektivního měření barevnosti používaná v jiných průmyslových oborech.
7. Na Katedře biologických a biochemických věd FCHT Univerzity Pardubice byl potvrzen baktericidní účinek krytů s vázaným jódem. Výsledky jsou naprosto zásadní pro další výzkum v této oblasti jak z hlediska použité koncentrace jódu v krytu (event. zvýšení jeho koncentrace v krytu), tak pro konstrukci celého krytu pro další testování.
8. Byly stanoveny podmínky sorpce jódu na polyamidovou pleteninu a ověřena možnost stanovení koncentrace jódu na materiálu na základě úbytku koncentrace jódu v sorpční lázni. Tento postup by bylo vhodné, v případě zájmu, dále rozvíjet ve spolupráci s mikrobiologickou laboratoří s cílem stanovení optimální koncentrace jódu na polyamidovém nosiči s ohledem jak na antimikrobiální účinnost, tak s ohledem na akceptovatelnou koncentraci jódu v krytu rány s ohledem na možné poškození tkáně.

5. Zdroje

- [1] Pospisilova, A. Léčba chronických ran moderními krycími prostředky. *Praktické lékarenství* [Online] 2010, 6, 276-281. Materiál dostupný na adrese: <https://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2010/06/04.pdf>
- [2] Ovington, L. G. Advances in wound dressings. *Clinics in Dermatology* 2007, 25, 33– 38.
- [3] Selvaraj Dhivya; Viswanadha Vijaya Padma; Elango Santhini Wound dressings – a review. *BioMedicine (ISSN 2211-8039)* 2015, 5 (4), 24–28.
- [4] Casey, G. Modern wound dressings. *Nursing standart* 2000, 15 (5), 47–51.
- [5] Khurram, S.; et al. Effectiveness of hydrocolloid dressing in postoperative hip and knee surgery *The Journal of Perioperative Practice* 2011 21(8), 275-278
- [6] Williams, C. Tielle: a hydropolymer dressing. *British Journal of Nursing* 1994, 3 (19), 1029–1030.
- [7] Sung Giu Jin, C.; et al. Development of a novel sodium fusidate-loaded triple polymer hydrogel wound dressing: Mechanical properties and effects on wound repair. *Int. J. Pharm.* 2016, 497, 114–122.
- [8] Hampton, S.; Kerr, A.; et al. Oxyzyme(TM): an oxygen releasing dressing. *Journal of Community Nursing* 2008, 22, 42–44.
- [9] Cooper, P. TenderWet: an innovation in moist wound healing. *British Journal of Nursing* 1998, 7 (20), 1232–1235.
- [10] Hnin-Ei Thu; et al. Alginate based bilayer hydrocolloid films as potential slow-release modern wound dressing. *Int. J. Pharm.* 2012, 434, 375–383.
- [11] Wilczková, M. Znalosti všeobecných sester o moderních způsobech hojení chronických ran. Diplomová práce, Masarykova Univerzita, 2011.
- [12] <http://www.convatec.cz/hojeni-ran/vyroby-convatec-wound-therapeutics/hydrofiber> přípravek Aquacel®
- [13] Octenisept – souhrn údajů o přípravku dostupný na <http://www.sukl.cz>

- [14] Jayakumar, R.; et al. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol. Adv.* 2011 (29), 322–327.
- [15] Sopuch, T.; Drahovzalová, R.; et al. Celulózové materiály v ošetřování ran. *Hojení ran* [Online] 2013, 2. Materiál dostupný na adrese: <http://www.holzbecher.net/upload/pdf/hr2-2013-hojeni-ran.pdf>
- [16] Synthesia, a.s., produkt Okcel[®] Oxidovaná vstřebatelná celulóza na přírodní bázi www.okcel.eu/cze
- [17] Hana Potockova M. Sc. Použití škrobu pro hojení vnějších a vnitřních ran. *Literární řešerše, poskytnutá firmou Contipro a.s.*
- [18] Torres, G.; et al. Starch-based biomaterials for wound-dressing applications. *Starch/Stärke* [Online] 2013, 65, 543-551.
- [19] Contipro, a.s., Dolní Dobrouč – www.contipro.cz
- [20] Sobotka, L.; Velebný, V.; Kusalová, M. Komplex hyaluronu a jódu - Hyiodine[®] - nová metoda při terapii diabetických defektů. *Vnitřní lékařství* 2006, 52 (5), 417–422.
- [21] www.4spin.info Technologie výroby nanovláken firmy Contipro a.s.
- [22] Skalický, Z. Význam jódu pro lidský organismus. *Středoškolská odborná činnost* 2005/2006.
- [23] Holm, F. Jodové kontrastní látky a alergie na jód: mýty a fakta. *Intervenční a akutní kardiologie* [Online] 2015, 14(4) 142-143. www.ikardiologie.cz
- [24] www.hyiodine.cz produkt firmy Contipro a.s.
- [25] Burks, R. Povidone-iodine solution in wound treatment. *Physical Therapy* 1998, 212– 218.
- [26] Lily W. Toy; et al. Evidence-based review of silver dressing use on chronic wounds. *Journal of the American Academy of Nurse Practitioners* 2011, 23, 183–192.
- [27] Bhavin, G.; et al. Manuka honey dressing: An effective treatment for chronic wound infections. *British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 2008, 46, 55–56.

- [28] Atkins et al.: Biochem. J. (1972) 128, 1255-1263
- [29] HunterLab; The Kubelka-Munk Theory and K/S. *Insight on Color 18* (7), www.hunterlab.com
- [30] Cielab color system <http://www.ery50.com/en/site/cielab-system>
- [31] Gralinski, M.; Schwertassek, K.; et al. *Chemicko-technické textilní rozborý*; str. 104-106; SNTL: Praha, 1967.
- [32] Šuláková R.; Isolace chitosanu a chitosan-glukanu z odpadního mycelia *Penicilium* sp. a jejich aplikace. Disertační práce, Universita Pardubice 2011
- [33] Abdel-Rahman R.; New Wound Dressing Based on Chitosan/Hyaluronan Biopolymers. Disertační práce, Universita Pardubice 2016

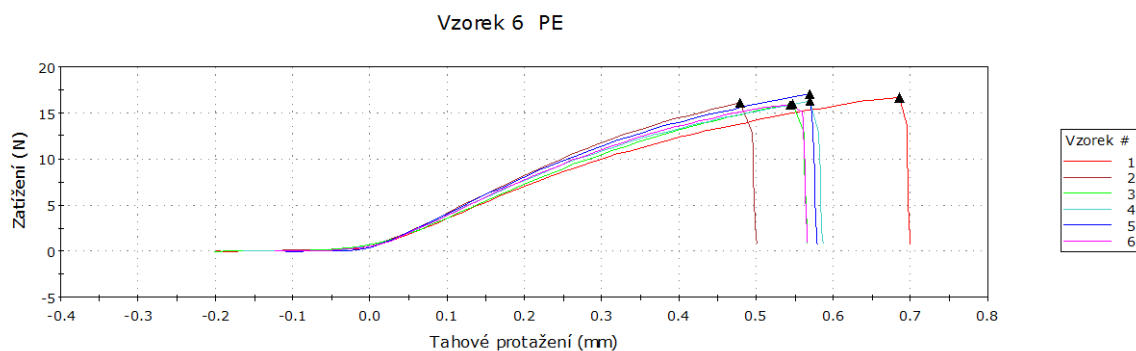
Patenty

- [34] Burgert, L.; Hrdina, R.; Masek, D.; Velebny, V. Hyaluronic fibers, process of their preparation and use (2012), CZ 302994 B6 20120208.
- [35] Burgert, L.; Hrdina, R.; Masek, D.; Velebny, V. Hyaluronic fibers, process of their preparation and use PCT Int. Appl. (2012), WO 2012089179 A1 20120705.
- [36] Burgert, L.; Hrdina, R. Staplová mikrovlákna, kryty ran a bandáže. From Czech Rep. (2013) CZ 25712 U1. (Užitný vzor)
- [37] Burgert, L.; Hrdina, R.; Velebny, V.; Abdel-Lattif, Šuláková, R.; Sobotka, L.; Běťák, J.; Smirnou, D. Kryty ran a způsob jejich přípravy. From Czech Rep. (2014) CZ 304651 B6 20140820, WO 2013167098A2

6. Přílohy.

Výsledky stanovení pevností

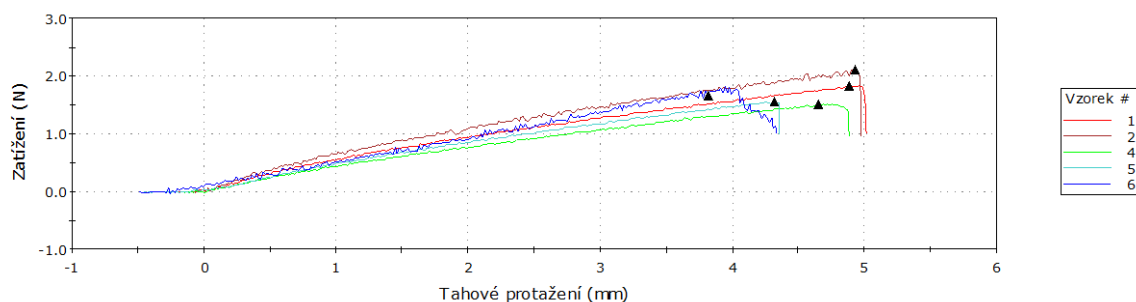
Mechanické vlastnosti vzorku cigaretového papíru



	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
1	15,05	0,06	16,66	20,12	1438,46	0,69	1,37
2	14,75	0,06	16,08	19,82	-----	0,48	0,96
3	15,28	0,06	16,04	19,08	-----	0,55	1,09
4	14,98	0,06	16,27	19,75	1980,33	0,57	1,13
5	15,17	0,06	17,06	20,44	1994,35	0,57	1,14
6	14,89	0,06	15,84	19,35	1888,92	0,54	1,09
Max	15,28	0,06	17,06	20,44	1994,35	0,69	1,37
Min	14,75	0,06	15,84	19,08	1438,46	0,48	0,96
Střední	15,02	0,06	16,32	19,76	1825,52	0,57	1,13
Standardní odchylka	0,19	0,00	0,45	0,50	262,24	0,07	0,13
Medián	15,02	0,06	16,18	19,79	1934,63	0,56	1,11

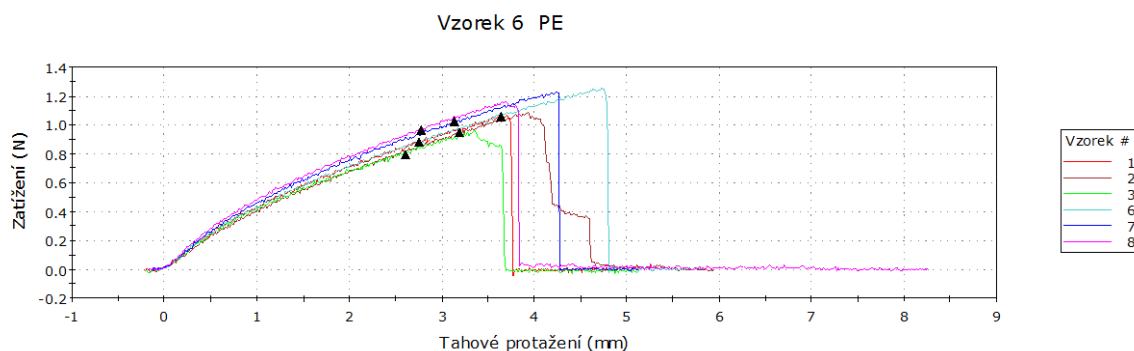
Mechanické vlastnosti krytu z nativní kyseliny hyaluronové (vz.1)

Vzorek 6 PE



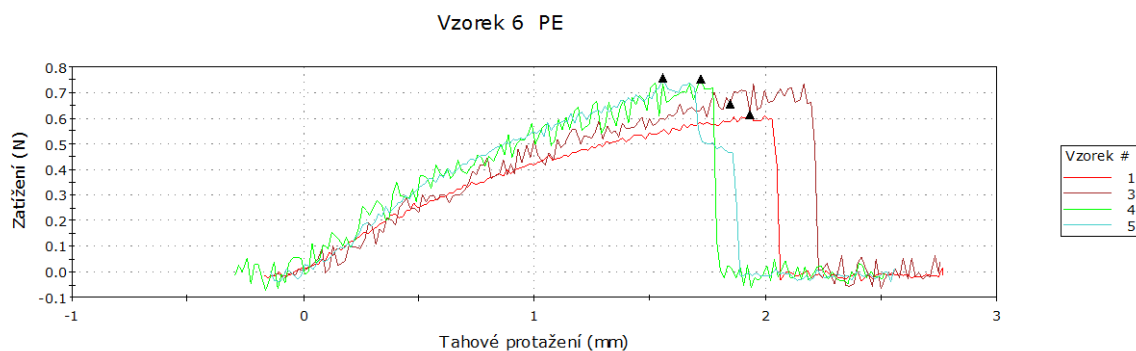
	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
1	15,17	0,12	1,84	1,04	-----	4,89	9,74
2	14,95	0,17	2,12	0,83	-----	4,93	9,83
4	15,07	0,17	1,51	0,59	-----	4,66	9,29
5	15,33	0,17	1,54	0,59	-----	4,32	8,56
6	10,00	0,05	1,66	3,32	-----	3,81	7,55
Max	15,33	0,17	2,12	3,32	-----	4,93	9,83
Min	10,00	0,05	1,51	0,59	-----	3,81	7,55
Střední	14,10	0,14	1,73	1,27	-----	4,52	9,00
Standardní odchylka	2,30	0,05	0,25	1,16	-----	0,47	0,95
Medián	15,07	0,17	1,66	0,83	-----	4,66	9,29

Mechanické vlastnosti krytu z nat. HA se zrny pšeničného škrobu (vz.2)



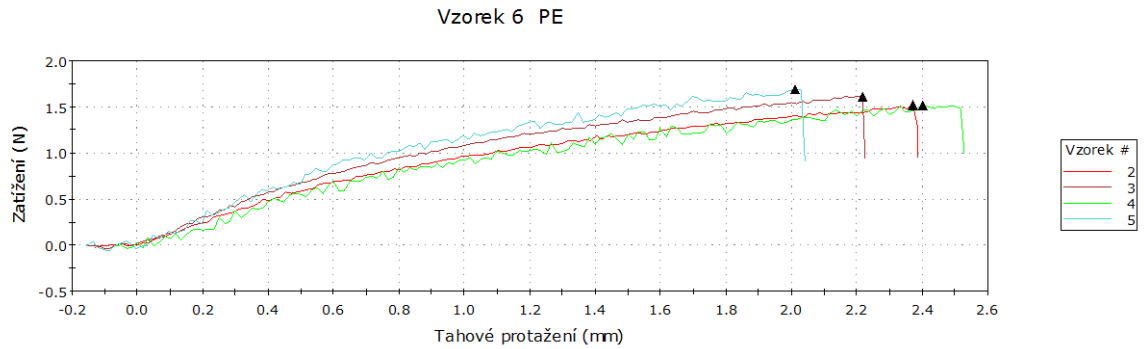
	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
1	15,33	0,18	0,88	0,32	-----	2,75	5,49
2	15,34	0,18	0,95	0,35	-----	3,20	6,36
3	15,34	0,18	0,80	0,29	-----	2,61	5,20
6	15,02	0,17	1,06	0,41	-----	3,64	7,27
7	15,02	0,17	1,02	0,40	-----	3,14	6,27
8	15,26	0,17	0,97	0,37	-----	2,77	5,53
Max	15,34	0,18	1,06	0,41	-----	3,64	7,27
Min	15,02	0,17	0,80	0,29	-----	2,61	5,20
Střední	15,22	0,17	0,95	0,36	-----	3,02	6,02
Standardní odchylka	0,16	0,00	0,10	0,05	-----	0,38	0,76
Medián	15,30	0,17	0,96	0,36	-----	2,96	5,90

Mechanické vlastnosti krytu z nat. HA a rozvařeného škrobu s 4% I₂ (vz.3)



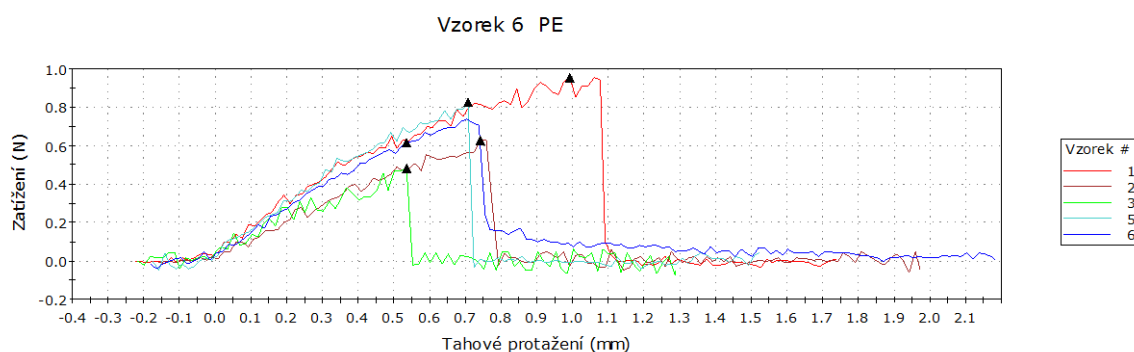
	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
1	15,24	0,23	0,61	0,17	----	1,93	3,85
3	15,35	0,23	0,66	0,19	----	1,85	3,69
4	15,35	0,23	0,75	0,21	----	1,72	3,43
5	15,25	0,28	0,76	0,18	----	1,56	3,11
Max	15,35	0,28	0,76	0,21	----	1,93	3,85
Min	15,24	0,23	0,61	0,17	----	1,56	3,11
Střední	15,30	0,24	0,69	0,19	----	1,77	3,52
Standardní odchylka	0,06	0,02	0,07	0,02	----	0,16	0,32
Medián	15,30	0,23	0,70	0,18	----	1,79	3,56

Mechanické vlastnosti krytu z nat. HA a oxidovaného rozvařeného škrobu s 4% I₂ (vz.4)



	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
2	14,95	0,18	1,52	0,57	----	2,37	4,73
3	15,19	0,18	1,62	0,60	----	2,22	4,42
4	15,08	0,18	1,52	0,57	----	2,40	4,79
5	10,00	0,05	1,69	3,39	----	2,01	4,01
Max	15,19	0,18	1,69	3,39	----	2,40	4,79
Min	10,00	0,05	1,52	0,57	----	2,01	4,01
Střední	13,80	0,15	1,59	1,28	----	2,25	4,49
Standardní odchylka	2,54	0,06	0,08	1,40	----	0,18	0,36
Medián	15,02	0,18	1,57	0,59	----	2,29	4,57

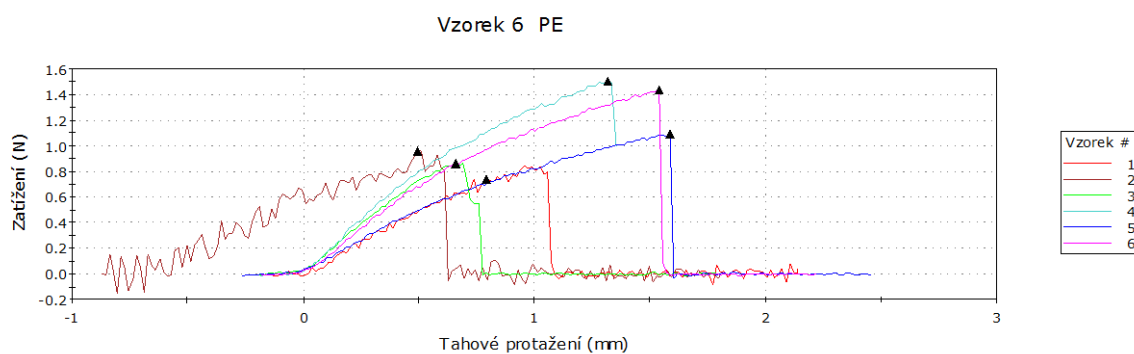
**Mechanické vlastnosti krytu z nat. HA a oxidovaného rozvařeného škrobu bez jódu
(vz.5)**



	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
1	15,40	0,19	0,96	0,32	-----	0,99	1,98
2	15,35	0,19	0,63	0,21	-----	0,74	1,48
3	15,09	0,19	0,48	0,17	-----	0,54	1,07
5	15,09	0,19	0,83	0,29	-----	0,71	1,41
6	15,90	0,19	0,61	0,20	-----	0,54	1,07
Max	15,90	0,19	0,96	0,32	-----	0,99	1,98
Min	15,09	0,19	0,48	0,17	-----	0,54	1,07
Střední	15,37	0,19	0,70	0,24	-----	0,70	1,40
Standardní odchylka	0,33	0,00	0,19	0,06	-----	0,19	0,37
Medián	15,35	0,19	0,63	0,21	-----	0,71	1,41

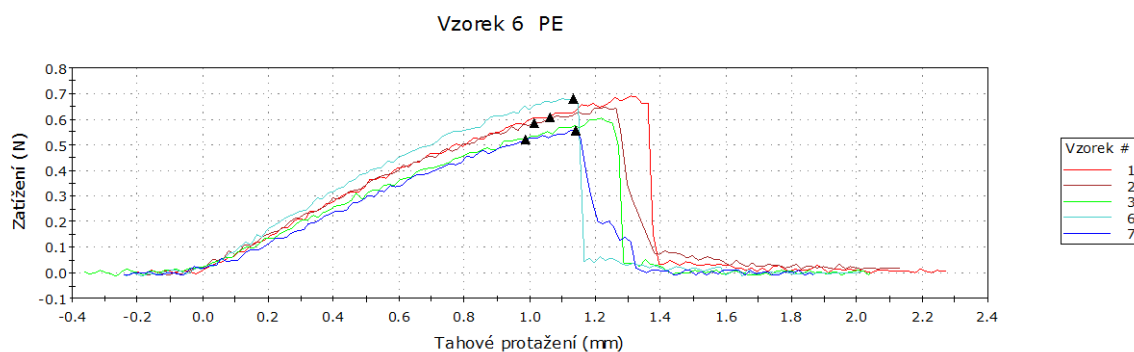
Mechanické vlastnosti krytu z pšeničného škrobu a alginátu sodného v poměru 1:1

(vz.6)



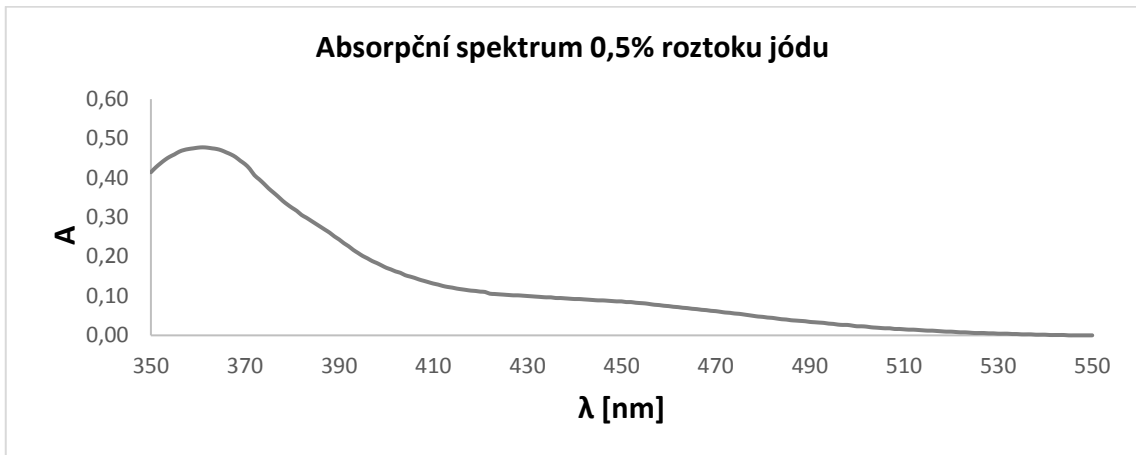
	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
1	14,94	0,26	0,73	0,19	-----	0,79	1,58
2	14,94	0,26	0,96	0,25	-----	0,50	0,98
3	15,13	0,26	0,87	0,22	-----	0,66	1,31
4	15,13	0,26	1,50	0,39	-----	1,32	2,62
5	14,74	0,26	1,09	0,29	-----	1,59	3,16
6	14,93	0,26	1,44	0,38	-----	1,54	3,07
Max	15,13	0,26	1,50	0,39	-----	1,59	3,16
Min	14,74	0,26	0,73	0,19	-----	0,50	0,98
Střední	14,97	0,25	1,10	0,29	-----	1,06	2,12
Standardní odchylka	0,15	0,00	0,31	0,08	-----	0,47	0,95
Medián	14,94	0,26	1,02	0,27	-----	1,05	2,10

**Mechanické vlastnosti krytu z nízkomolekulární HA a alginátu sodného v poměru 1:1
(vz.7)**

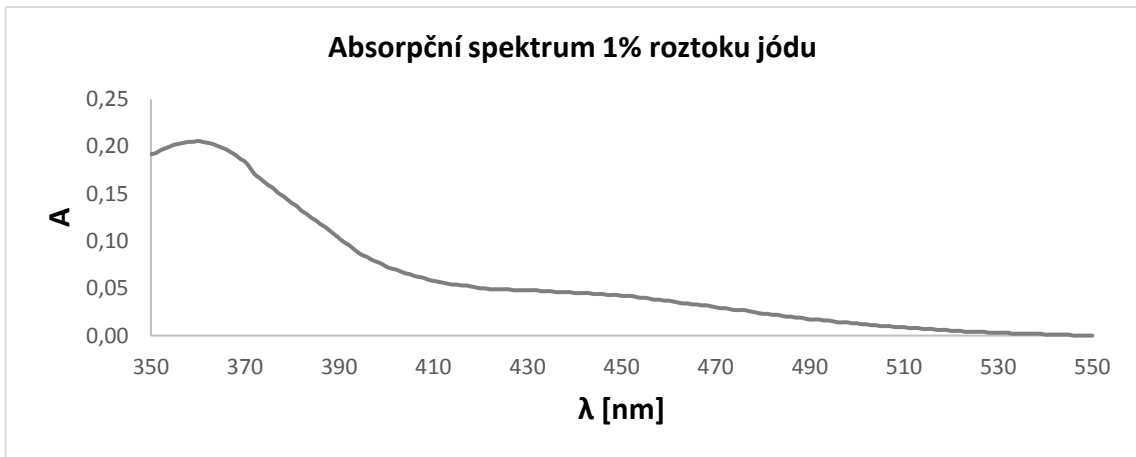


	Šířka (mm)	Tloušťka (mm)	Zatížení (N)	Pevnost v tahu (MPa)	Modul pružnosti (MPa)	Tahové protažení (mm)	Tažnost (%)
1	14,93	0,22	0,61	0,19	-----	1,06	2,11
2	14,93	0,22	0,58	0,18	-----	1,01	2,02
3	14,93	0,22	0,52	0,16	-----	0,99	1,96
6	15,11	0,22	0,68	0,21	-----	1,13	2,25
7	15,01	0,22	0,56	0,17	-----	1,14	2,27
Max	15,11	0,22	0,68	0,21	-----	1,14	2,27
Min	14,93	0,22	0,52	0,16	-----	0,99	1,96
Střední	14,98	0,22	0,59	0,18	-----	1,07	2,12
Standardní odchylka	0,08	0,00	0,06	0,02	-----	0,07	0,14
Medián	14,93	0,22	0,58	0,18	-----	1,06	2,11

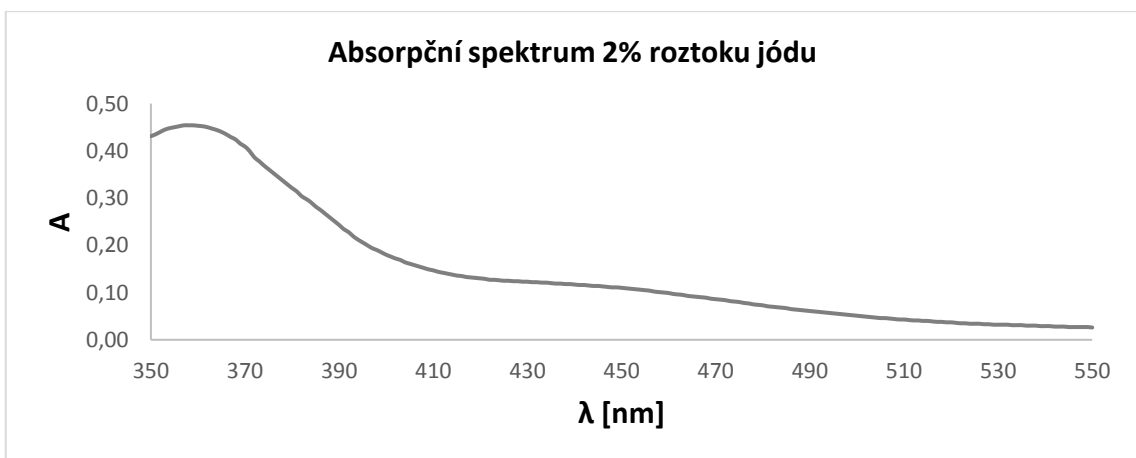
Absorpční křivky kalibračních roztoků zvláknovací lázně



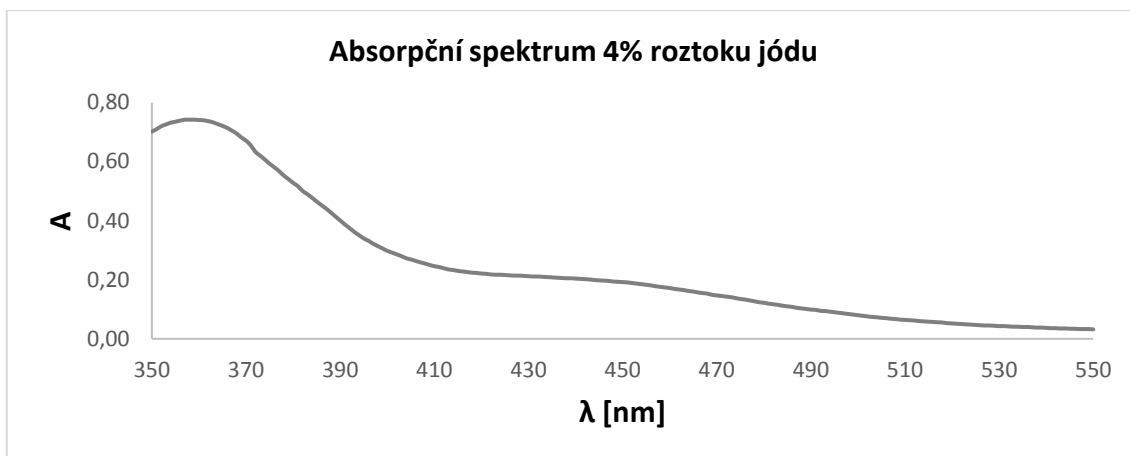
Obrázek 32: Absorpční spektrum kalibračního roztoku pro tvorbu krytu s teoretickým obsahem 0,5% I₂



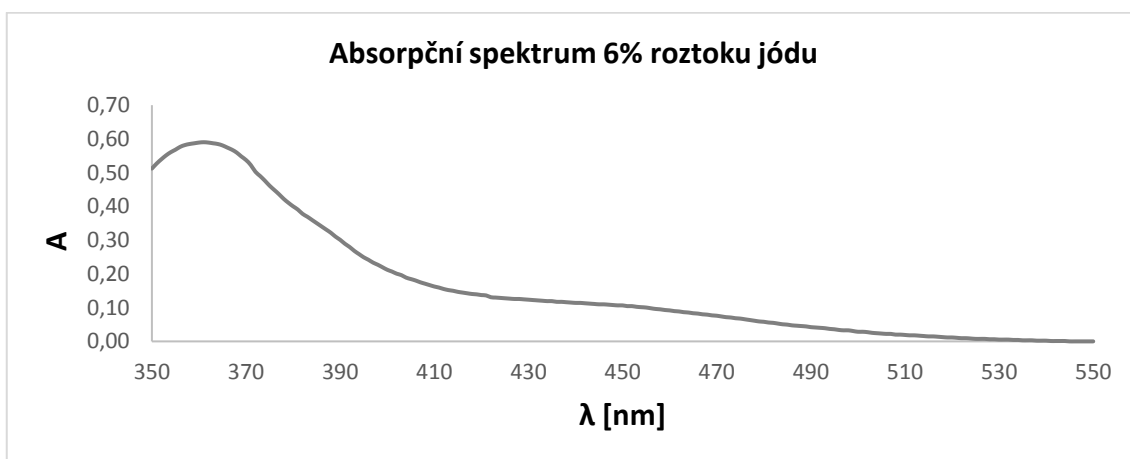
Obrázek 33: Absorpční spektrum kalibračního roztoku pro tvorbu krytu s teoretickým obsahem 1% I₂



Obrázek 34: Absorpční spektrum kalibračního roztoku pro tvorbu krytu s teoretickým obsahem 2% I₂



Obrázek 35: Absorpční spektrum kalibračního roztoku pro tvorbu krytu s teoretickým obsahem 4% I₂



Obrázek 36: Absorpční spektrum kalibračního roztoku pro tvorbu krytu s teoretickým obsahem 6% I₂

Seznam zkratk

HA	Kyselina hyaluronová
PVA	Polyvinyl alkohol
SAP	Superabsorpční polyakrylát
IPA	Isopropanol
SSD	Sulfadiazin stříbra
D65	Standartní denní světlo, reprezentované barevnou teplotou 6500 K
REM	Rastrovací elektronová mikroskopie
VRE	Vancomycin-rezistentní enterokoky
MRSA	Meticilin-rezistentní Staphylococcus aureus