

Univerzita Karlova v Praze
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové
Katedra farmaceutické technologie

Rigorózní práce

Osmolalita izotonizačních přísad. Dusičnan draselný.
Osmolality of tonicity adjusters. Potassium nitrate.

Prohlášení

„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.“

.....

podpis

Poděkování

Děkuji především Doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D. za cenné rady, ochotu a čas při vedení této rigorózní práce, dále pak svým rodičům za poskytnutí bezúročných půjček.

Obsah

1	Abstrakt.....	5
2	Abstract.....	6
3	Zadání	7
4	Seznam symbolů a zkratk	8
5	Úvod.....	9
6	Teoretická část	10
6.1	Osmotický tlak a osmóza	10
6.2	Osmotická koncentrace	11
6.2.1	Osmolalita.....	12
6.2.2	Osmolarita.....	12
6.3	Význam osmotického tlaku u očních přípravků.....	13
6.4	Izotonizace vodných roztoků	14
7	Experimentální část.....	21
7.1	Použité suroviny.....	21
7.2	Použitá zařízení	21
7.3	Příprava roztoků	21
7.3.1	Příprava molálních roztoků.....	21
7.3.2	Příprava molárních roztoků	21
7.4	Měření hustoty	22
7.5	Měření osmolality	22
7.6	Zpracování výsledků	23
7.6.1	Převody koncentrací	23
7.6.2	Odhad osmolarity.....	23
7.6.3	Odhad molálního osmotického koeficientu	24
8	Výsledky	25
9	Diskuze	38
10	Závěry	43
11	Použitá literatura	44

1 Abstrakt

Cílem teoretické části této rigorózní práce bylo studium osmotického tlaku, osmotické koncentrace a porovnání metod izotonizace vodných roztoků léčiv. Byly připraveny molální a molární roztoky dusičnanu draselného o koncentraci 0,01-0,2 mol/kg resp. mol/l a pomocí hustoměru měřena jejich hustota v teplotním rozmezí 15-40°C. Závislost hustoty na teplotě byla popsána rovnicemi kvadratické regrese s koeficientem determinace v rozmezí 0,9997-1,0000. Při konstantní teplotě byla zjištěna lineární závislost hustoty roztoků dusičnanu draselného na koncentraci. Průměrná hustota roztoků při 20°C byla využita ke vzájemným převodům mezi molalitou a molaritou. Osmolalita molálních i molárních roztoků dusičnanu draselného byla přímo úměrná koncentraci. Pomocí lékopisných metod (USP) byla vyjádřena osmolarita molárních roztoků dusičnanu draselného. Ve studovaném koncentračním rozmezí 0,01-0,2 mol/l nebo mol/kg nebyly zjištěny rozdíly v přesnosti hodnocených metod odhadu osmolarity. Na závěr byl vyjádřen molální osmotický koeficient, jehož hodnota se snižuje s rostoucí molální koncentrací.

2 Abstract

The objective of this rigorous thesis was the study of the osmotic pressure, osmotic concentration and the comparison of methods isotonic aqueous solution of drugs. Solutions of potassium nitrate were prepared in molality and molarity in a range of 0,01 to 0,2 mol/kg and mol/l and their density was measured using a densimeter in a temperature range between 15 and 40°C. The dependence of the solution density on temperature was described by quadratic regressions with coefficient of determination ranging from 0,9997 to 1,0000. At constant temperature, a direct proportion between the potassium nitrate solution density and the solution concentration was detected. The average density of the solutions at 20°C was used for mutual conversions between molality and molarity. The osmolality of the molal and molar solutions of potassium nitrate was directly proportional to the concentration. Using the methods listed in USP, osmolarity of the potassium nitrate molar solutions was expressed. No differences in the accuracy of the investigated methods of osmolarity estimations were detected in the studied concentration range of 0,01-0,2 mol/l. Finally, the molal osmotic coefficient was expressed. It's value decreases as the molal concentration increases.

3 Zadání

Cílem teoretické části rigorózní práce bylo vypracovat literární rešerši zaměřenou na metody izotonizace vodných roztoků léčiv, jejich osmotický tlak a osmotickou koncentraci.

Cílem experimentální části bylo:

1) připravit roztoky dusičnanu draselného v molální a molární koncentraci v rozsahu 0,01-0,20 mol/kg. resp. mol/l, změřit jejich hustotu v teplotním rozsahu 15-40°C a vyjádřit závislost hustoty na teplotě

3) využít průměrnou hustotu při 20°C k vzájemným převodům látkových koncentrací

4) změřit osmolalitu připravených roztoků dusičnanu draselného a vyjádřit její závislost na látkové koncentraci

5) s využitím lékopisných postupů (USP 35) odhadnout osmolaritu roztoků dusičnanu draselného a porovnat zjištěnou hodnotu s experimentálně měřenou osmolalitou

6) vyjádřit molální osmotický koeficient dusičnanu draselného

4 Seznam symbolů a zkratek

m	molalita	(mol/kg)
c	molarita	(mol/l)
m_{os}	osmolalita	(mOsm/kg)
c_{os}	osmolarita	(mOsm/l)
f	faktor konverze	
Φ	molální osmotický koeficient	
V_g	měrný specifický objem látky	(ml/g)
h_m	hustota molálního roztoku	(g/ml)
h_c	hustota molárního roztoku	(g/ml)
h_v	hustota vody	(g/ml)
T	teplota	(°C)
V	objem	(ml)
V_r	objem roztoku	(ml)
V_v	objem vody	(ml)
M_0	hmotnost navážky	(g)
M_r	hmotnost roztoku	(g)
n	počet částic vzniklých disociací	
SD	směrodatná odchylka	
ΔT	snížení teploty tuhnutí	(°C)
π	osmotický tlak	(Pa)
R	univerzální plynová konstanta	(J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹)
C	koncentrace	(g/ml)
R^2	koeficient determinace	
E	ekvivalent chloridu sodného	(g)
L_{ISO}	konstanta	
M_w	molekulová hmotnost	(g/mol)

5 Úvod

Farmaceutické roztoky jsou někdy aplikovány přímo na citlivé membrány oka, nosu nebo mohou být injikovány přímo do svalu, cévy, orgánu, tkáně či léze. Tyto roztoky by měly být připravovány tak, aby měly přibližně stejný osmotický tlak jako tělní tekutiny. Roztoky s podobným osmotickým tlakem nevyvolávají pohyb rozpouštědla dovnitř buňky nebo opačně z buňky ven, a tudíž nezpůsobují diskomfort ani poškození tkáně. Roztoky, které působí stejným osmotickým tlakem, jsou nazývány izosmotickými.¹

Oční přípravky jsou sterilní tekuté, polotuhé nebo tuhé přípravky určené k podání na oční bulvu a spojivku nebo k vložení do spojivkového vaku. Aplikují se lokálně za účelem léčby nebo ovlivnění podmínek v oku. Z tohoto důvodu jsou na oční přípravky kladeny přísné požadavky, které se týkají především sterility, izotonicity, hodnoty pH, viskozity, uchování a obalových materiálů.²

Rozlišuje se několik druhů očních přípravků: oční kapky, oční vody, prášky pro oční kapky a oční vody, polotuhé oční přípravky a oční inzerty.²

Oční kapky jsou sterilní vodné nebo olejové roztoky nebo suspenze, obsahující jednu nebo více látek, určené ke vkapávání do oka. Mohou obsahovat pomocné látky, např. k úpravě osmotického tlaku nebo viskozity, k úpravě nebo stabilizaci pH, zvýšení rozpustnosti účinných látek nebo ke stabilizaci přípravku. Tyto pomocné látky neovlivňují nepříznivě léčebný účinek přípravku a v použitých koncentracích nejsou příčinou přílišné místní dráždivosti.²

Vícedávkové přípravky jsou dodávány v obalech umožňujících podání ve formě jednotlivých kapek. Pokud není předepsáno a schváleno jinak, lahvičky obsahují nejvýše 10 ml přípravku. V označení na obalu se uvádí název přidané protimikrobní přísady a na vícedávkových přípravcích doba od prvního otevření, po níž se již přípravek nesmí používat. Tato doba nesmí být delší než 4 týdny, není-li předepsáno a schváleno jinak.²

6 Teoretická část

6.1 Osmotický tlak a osmóza

Osmóza předpokládá dva kapalně kompartmenty, které jsou od sebe odděleny membránou. Ta je propustná pro vodu, ale ne pro jednu nebo více rozpuštěných látek. Označuje se jako polopropustná. Pokud vzroste látková koncentrace v jednom z kompartmentů, voda začne pronikat přes membránu směrem ke straně o vyšší látkové koncentraci. Osmóza trvá tak dlouho, dokud se koncentrace na obou stranách membrány nevyrovnají. Je typem difuze.³

Potenciální tlak částic látky neschopných difuze se nazývá osmotický tlak. Vyvolává osmózu vody, která působí v opačném směru k osmotickému tlaku.⁴ Této problematice jsem se podrobněji věnovala ve své diplomové práci.⁵

Osmotický tlak, stejně jako snížení tenze par, snížení teploty tuhnutí a zvýšení teploty varu, patří mezi koligativní vlastnosti roztoku. Obecně platí, že roztoky, které mají stejné koligativní vlastnosti, jsou vzájemně izotonické.⁶

Koligativní vlastnosti nezávisí na chemické povaze rozpuštěné látky, ale pouze na počtu částic rozpuštěné látky v objemu roztoku. Částicí může být molekula, iont nebo shloučený útvar (např: dimer), které mohou samostatně existovat v roztoku, přičemž nezávisí na jejich molekulové hmotnosti. Výsledný efekt na osmotický tlak bude shodný v případě rozpuštění jednoho molu glukosy (180 g) stejně jako jednoho molu sacharosy (342 g). Obě tyto látky jsou neelektrolyty a jeden mol každé z nich obsahuje stejný počet částic odpovídající Avogadrově konstantě $6,02 \times 10^{23}$, pokud je rozpuštěn ve vodě. Naproti tomu jeden mol jednoduchého elektrolytu, např: chloridu sodného (58,5 g), má dvojnásobný efekt na osmotický tlak, protože každá molekula NaCl poskytuje dvě částice.¹

Přímé měření osmotického tlaku je obtížné, a proto se častěji měří jiná z koligativních vlastností, nejčastěji snížení teploty tuhnutí.¹

Roztok vykazuje ideální chování tehdy, pokud neprobíhají žádné interakce mezi rozpuštěnými částicemi a rozpouštědlem, vyjímaje vazby vodíkové a koordinačně

kovalentní. Pokud roztok obsahuje částice neschopné disociace, je osmotický tlak úměrný molalitě:⁷

$$\pi = (h \cdot R \cdot T / 1000) \cdot m \quad (1)$$

Kde h vyjadřuje hustotu rozpouštědla při teplotě T (absolutní teplota), R je univerzální plynová konstanta a m molalita roztoku, která udává počet molů rozpuštěné látky na kilogram rozpouštědla. Pro reálné roztoky, které obsahují více než jednu rozpuštěnou látku, osmotický tlak je dán touto rovnicí:⁷

$$\pi = (h \cdot R \cdot T / 1000) \sum n \cdot m \cdot \Phi \quad (2)$$

kde n udává počet částic vzniklých disociací jedné molekuly, u nedisociovaných látek (např: glukosa, močovina) je n rovno jedné, m vyjadřuje molalitu, Φ značí molální osmotický koeficient, který vyjadřuje odchylku od chování ideálního roztoku. Jeho hodnotu je možné stanovit experimentálně. V rámci farmacie je jeho hodnota menší než jedna. Molální osmotický koeficient se snižuje s rostoucí koncentrací rozpuštěné látky.⁷

Osmotický tlak čištěné vody je roven nule.⁸ Osmotický tlak krevní plasmy a slz se pohybuje v rozmezí 0,73-0,81 MPa.⁹

6.2 Osmotická koncentrace

Mírou osmotického tlaku je osmotická koncentrace, kterou lze vyjádřit dvěma způsoby, a to jako osmolalitu nebo osmolaritu. Oba termíny jsou často zaměňovány. Vyjádření osmotické koncentrace jako osmolality je termodynamicky přesnější, protože koncentrace roztoku vztažená na hmotnost rozpouštědla je nezávislá na teplotě, oproti osmolaritě, kdy je nutné brát v úvahu teplotní roztažnost roztoku. Osmolalitu je možné změřit, kdežto osmolaritu pouze vypočítat. To je možné několika postupy, které uvádí USP.⁷ Český lékopis zatím problematiku vztahů mezi osmolalitou a osmolaritou neřeší.

Osmotická koncentrace se vyjadřuje v jednotkách zvaných *osmoly*, které jsou vztaženy buď na kilogram rozpouštědla (osmolalita) nebo na litr roztoku (osmolarita). V praxi se využívá odvozené jednotky miliosmol.

Charakterizace roztoků pomocí hodnoty osmotické koncentrace se využívá především u infuzí, neboť tyto přípravky přímo ovlivňují vodní a elektrolytovou rovnováhu vnitřního prostředí. Obecně se předpokládá, že hodnoty osmolality a osmolarity se od sebe výrazně neliší. Ovšem to platí pouze pro zředěné roztoky. Pokud je roztok koncentrovaný, pak se tyto hodnoty mohou lišit o 20% i více.¹⁰

Vztah mezi molaritou resp. molalitou roztoku a jeho osmolaritou resp. osmolalitou závisí na počtu částic vzniklých z jedné molekuly.¹¹ K převodu osmolality na osmolaritu je nutné znát hodnotu hustoty roztoku.

6.2.1 Osmolalita

Osmolalita vyjadřuje míru osmotického tlaku působícího reálným roztokem na polopropustnou membránu. Osmolalita se nemění s teplotou. Obvykle uváděná fyziologická hodnota osmolality séra je 286 mOsm/kg.¹² Rozmezí hodnot 275-300 mOsm/kg je přípustné.⁴

Hodnotu osmolality je možné určit změřením kterékoliv koligativní vlastnosti roztoku, které, jak už bylo řečeno, závisí pouze na množství částic rozpuštěné látky v roztoku. Nejčastěji se osmolalita stanovuje pomocí přístroje zvaného osmometr, který měří snížení teploty tuhnutí. Osmometry měřící snížení tenze par se používají méně často.²

Mezi osmolalitou a snížením teploty tuhnutí ΔT platí následující vztah:¹³

$$m_{os} = \frac{\Delta T}{1,86} \quad (3)$$

Hodnota 1,86 je kryoskopická konstanta vody. 1 osmol částic látky dodaných do 1 kilogramu vody sníží teplotu tuhnutí o 1,86°C. Hodnoty osmolality lze tedy naopak využít pro určení kryoskopické hodnoty.

6.2.2 Osmolarita

Vyjadřuje osmotickou koncentraci částic v jednom litru roztoku. Osmolarita se využívá v klinické praxi častěji než osmolalita, nedá se ale změřit. Teoretickou osmolaritu je možné vypočítat z hodnoty molární koncentrace:⁷

$$c_{os} = \sum n \cdot c \quad (4)$$

Kde c je molární koncentrace částic rozpuštěné látky v roztoku a n je počet částic, které vzniknou disociací jedné molekuly látky.

Rozpor mezi teoretickou osmolaritou a experimentálně zjištěnou osmolalitou spočívá ve skutečnosti, že osmotický tlak je vztažen na molalitu a ne na molaritu. Dále se musí brát v úvahu také fakt, že experimentální výsledky a teoretické výpočty se budou lišit v důsledku rozdílného chování ideálního a reálného roztoku. V případě reálného roztoku je nutné uvažovat interakce mezi jednotlivými částicemi rozpuštěné látky nebo mezi částicemi a rozpouštědlem v roztoku. Mnohé interakce oslabují tlak působený částicemi na polopropustnou membránu, což snižuje hodnoty experimentálně zjištěné osmolality oproti hodnotám teoretickým. Tyto odchylky koriguje, jak už bylo řečeno, molální osmotický koeficient Φ . Osmolarita je ovšem ovlivněna i teplotou, která způsobuje změny objemu roztoku.⁵

Osmolaritu je možné vypočítat z experimentálně zjištěné hodnoty osmolality:⁷

$$c_{os} = \frac{1000 \cdot m_{os}}{(1000/h + \sum M_0 \cdot V_g)} \quad (5)$$

Kde M_0 je navážka v gramech, V_g je měrný specifický objem vyjádřený v mililitrech na gram rozpuštěné látky. Měrný specifický objem bere v úvahu změnu objemu roztoku po přidání 1 g látky. Tento objem může být zjištěn měřením hustot roztoku před a po přidání látky. Měrné specifické objemy solí jsou obecně velmi malé, okolo 0,1 ml/g, v případě aminokyselin se hodnoty pohybují okolo 0,6-0,9 ml/g.⁵

Osmolarita může být také zjištěna z experimentální hodnoty osmolality a z koncentrace vody v roztoku, kterou lze vyjádřit z naměřené hodnoty hustoty h v g/ml a koncentrace látky C v g/ml:⁷

$$c_{os} = m_{os} \cdot (h - C) \quad (6)$$

Číselně bude hodnota osmolarity vyšší než osmolality, protože molární roztok je koncentrovanější než molální.⁵

6.3 Význam osmotického tlaku u očních přípravků

Oční přípravky musí být formulovány tak, aby se jejich osmotický tlak co nejvíce přibližoval tlaku, který vytvářejí biologické tekutiny. Hodnota osmotického tlaku

tělních tekutin, zahrnující krev a slzy, odpovídá osmotickému tlaku, kterým působí 0,9% roztok chloridu sodného. Tento roztok se označuje jako izosmotický nebo také izotonický. Roztoky s vyšší hodnotou osmotického tlaku jsou nazývány jako hypertonické, roztoky s nižším osmotickým tlakem jako hypotonické. Lidské oko toleruje minimální odchylku od těchto hodnot, kdy ještě nedochází k nepříjemným vjemům.⁹

Slzy jsou produkovány slznými, hlenovými a tukovými žlázami. Slzy jsou izotonický nebo lehce hypotonický roztok s pH 7,3-7,7. Jsou z 99% tvořeny vodou, na 1% sušiny se podílejí hlavně tuky, hlen, proteiny, elektrolyty a oloupané epitelie. V slzách bylo identifikováno velké množství enzymů, zvláště lysozym a betalyzin. Lysozym je enzym s baktericidním účinkem.¹⁴

Slzný film se na rohovce vytváří při mrkání. Má velké povrchové napětí, které brání stékání vodné vrstvy filmu, svlažuje rohovku a spojivku.¹⁴

6.4 Izotonizace vodných roztoků

Izotonické roztoky látek jsou roztoky, které vzájemně porovnány mají stejné koligativní vlastnosti (osmotický tlak, snížení teploty tuhnutí, zvýšení teploty varu a osmolalitu). Za izotonický (izosmotický) s lidskou krví, slzami a tkáňovým mokem se považují vodný roztok chloridu sodného o koncentraci 9,0 g/l, jehož snížení teploty tuhnutí (kryoskopická hodnota) vzhledem k vodě je $-0,520^{\circ}\text{C}$, nebo jiné roztoky se shodnou kryoskopickou hodnotou.¹⁵

Hypotonické roztoky mají kryoskopickou hodnotu nižší, hypertonické pak vyšší. Hypertonické roztoky se na izotonické neupravují, musely by se ředit, snižoval by se obsah léčiva v jednotce objemu a to z terapeutických důvodů není možné.¹⁶

Izotonizují se pouze hypotonické roztoky. K izotonizaci se použije vhodná izotonizační přísada, která nesmí s žádnou složkou roztoku chemicky reagovat ani jinak měnit její účinek. Izotonizační přísady omezují bolestivé vjemy při aplikaci očních kapek a parenterálních přípravků, ke kterým by docházelo při vyrovnávání osmotických tlaků neizotonizovaného přípravku a vnitřního prostředí organismu nebo spojivkového vaku. Výrazněji nepříjemné jsou pocity při aplikaci

hypotonického roztoku. U očních kapek se jako izotonizační přísady používají chlorid sodný, případně dusičnan draselný.¹⁶

Nejčastěji se k izotonizaci využívá chlorid sodný, ovšem ne ve všech případech je jeho použití možné. Například pokud jsou v očních kapkách obsaženy ionty stříbra, chlorid sodný se nesmí použít díky inkompatibilitě, která se projeví vznikem sraženiny. V tomto případě se izotonizuje pomocí dusičnanu draselného. Izotonizovat lze i přísadou vhodného pufru ve variantě nazývané izotonicko-euacidní úprava.¹

K výpočtu množství izotonizační přísady je možné využít několika metod. Český lékopis doporučuje použití především experimentálních kryoskopických hodnot (ΔT) shrnutých v lékopisné tabulce nebo výpočet pomocí molárních koncentrací.¹⁵ Kromě uvedených, existují však i další metody, které v následující části budu porovnávat:

- Metoda snížení teploty tuhnutí (ΔT)
- Metoda ekvivalentu chloridu sodného (E)
- Metoda výpočtu pomocí tzv. V-hodnot (V)
- L_{ISO} metoda (L_{ISO})

Jednotlivé postupy izotonizace pomocí chloridu sodného budou vysvětleny na příkladu 1% roztoku ethylmorfinu hydrochloridu. Hodnoty potřebné k výpočtu množství izotonizační přísady k 1% roztoku ethylmorfinu hydrochloridu pomocí jednotlivých metod shrnuje tabulka 1.

Tab. 1: Přehled vlastností ethylmorfin hydrochloridu a jeho 1% roztoku

M_w	385,88
izotonická koncentrace	6,18%
ΔT	0,088
E	0,16
V	5,3
L_{ISO}	3,6

Metoda snížení teploty tuhnutí

V tabulce se nejprve vyhledá snížení teploty tuhnutí (ΔT) k předepsané koncentraci léčivé látky (v %). Pro několik předepsaných látek se nejprve určí součet kryoskopických hodnot ($\Sigma \Delta T$). Pro více látek v roztoku se jednotlivé vlivy sčítají, protože teplota tuhnutí má aditivní charakter.

Množství izotonizační přísady se určí z rovnice:¹⁵

$$NaCl (g) = 0,0173 \cdot m \cdot (0,520 - \Sigma \Delta T) \quad (7)$$

Kde m značí celkové množství přípravku (v gramech).

$$NaCl (g) = 0,0173 \cdot 10 \cdot (0,520 - 0,088) \quad (8)$$

Pokud nelze k izotonizaci použít chlorid sodný, vycházíme z izotonické koncentrace dusičnanu draselného. Potřebné množství dusičnanu draselného (v gramech), odpovídající rozdílu kryoskopických hodnot, se pro připravované množství přípravku (m) určí podle rovnice:¹⁵

$$KNO_3 (g) = 0,0312 \cdot m \cdot (0,520 - \Sigma \Delta T) \quad (9)$$

Kde m značí hmotnost roztoku v gramech.

$$KNO_3 (g) = 0,0312 \cdot 10 \cdot (0,520 - 0,088) \quad (10)$$

Metoda ekvivalentu chloridu sodného

Tato metoda byla vyvinuta kvůli potřebě zjednodušit výpočet pro množství izotonizační přísady a také pro případ, kdy nejsou známy kryoskopické hodnoty daných látek. V roce 1936 Mellen a Seltzer navrhli systém pro porovnání snížení teploty tuhnutí způsobený chloridem sodným vůči ostatním běžným látkám.¹ Chlorid sodný byl vybrán, protože se nejčastěji využívá k izotonizaci.

Ekvivalent chloridu sodného je faktor, který vyjadřuje množství chloridu sodného (v gramech), které působí stejný osmotický efekt jako 1 gram určité látky.¹ Pro názornost uvádím ještě jednu definici. Ekvivalent chloridu sodného určité látky je množství chloridu sodného v gramech, které má stejný efekt na snížení teploty tuhnutí, jaký působí 1 g látky.¹⁷ Chloridový ekvivalent je možné nalézt v příslušné literatuře.¹

Postup použití chloridového ekvivalentu lze popsat na následujícím příkladu:

Ethylmorfin hydrochlorid		1%
Aqua pro iniectio	ad	10,0

E = 0,16

To znamená, že 0,16 g chloridu sodného působí stejný osmotický efekt jako 1,0 g ethylmorfinu hydrochloridu. V 1% roztoku bude obsaženo 0,1 g ethylmorfinu hydrochloridu, což odpovídá 0,016 g chloridu sodného. Na závěr se odečte množství chloridu sodného, které odpovídá příslušné látce (0,016 g), od množství chloridu sodného, které je potřebné k izotonizaci roztoku (0,09 g pro 10 g roztoku).

Při výpočtu množství dusičnanu draselného je nutné pracovat také s E-hodnotou pro dusičnan, tj. 0,56.

Metoda pomocí V-hodnoty

V-hodnota je objem izotonického roztoku, který vznikne rozpuštěním 1,0 g dané látky.¹⁸ Tato metoda bývá označována také jako White-Vincentova nebo USP-metoda.

Při přípravě očních kapek je někdy nutné použít pufrovací látky. Pufrы pak mohou plnit dvojí funkci, a to udržení potřebného pH a fungovat jako izotonizační přísada. Pokud je do roztoku přidáváno více látek, metoda ekvivalentu chloridu sodného je těžko proveditelná. Proto v roce 1947 White a Vincent vyvinuli jednoduchý systém, který řeší tento problém. Metoda je založena na aditivním charakteru jednotlivých koligativních vlastností. To znamená, že smísením dvou izotonických roztoků opět vzniká izotonický roztok. Nejjednodušším způsobem, jak získat izotonický roztok, je přidání dostatečného množství vody k určenému množství látky a následně doplnit izotonickým roztokem pufrovací látky do požadovaného objemu. Izotonizace se tedy provádí mísením izotonických roztoků.¹

Aby bylo možné metodu využít v praxi, White a Vincent vyvinuli tuto rovnici:

$$V = w \cdot E \cdot 111,1 \quad (11)$$

Kde V značí objem izotonického roztoku (v mililitrech), který vznikne rozpuštěním 1,0 g dané látky ve vodě, w je množství látky (v gramech), E je ekvivalent chloridu sodného dané látky a 111,1 je objem (v mililitrech) izotonického roztoku získaného rozpuštěním 1,0 g chloridu sodného ve vodě. V -hodnoty jsou tabelovány.¹

Postup použití V -hodnoty lze opět ilustrovat na příkladu:

Ethylmorfin hydrochlorid	1%
Aqua pro iniectione	ad 10,0

V -hodnota pro 0,3 g ethylmorfinu hydrochloridu odpovídá 5,3 ml izotonického roztoku. To znamená, že z 0,1 g ethylmorfinu hydrochloridu vznikne 1,77 ml izotonického roztoku. Po odečtení této hodnoty od celkového objemu roztoku 10 ml získáme objem, který je nutné izotonizovat, tj. 8,23 ml:

Následuje jednoduchý výpočet potřebného množství chloridu sodného pro vypočítaný objem roztoku pomocí přímé úměry.

L_{ISO} metoda

Tato metoda využívá tzv. L_{ISO} hodnot. Lze ji s výhodou použít v případech, kdy není známa hodnota snížení teploty tuhnutí ani chloridový ekvivalent. L_{ISO} hodnota závisí na chování látky, zda je či není elektrolytem.

Tab. 2: Příklady L_{ISO} hodnot vybraných látek:¹⁹

látka	L _{ISO}
kyselina askorbová	1,9
atropin sulfát	5,3
chloramfenikol	1,9
kokain hydrochlorid	3,2
adrenalin hydrochlorid	3,7
nafazolin hydrochlorid	3,3
streptomycin sulfát	6,0
pilocarpin nitrát	3,7
ethylmorfin hydrochlorid	3,6

Postup použití L_{ISO} hodnoty na příkladu ethylmorfin hydrochloridu:

Ethylmorfin hydrochlorid 1%

Aqua pro iniectione ad 10,0

L_{ISO} = 3,6

M_w = 385,88 g/mol

Nejdříve se vypočítá molární koncentrace *c* roztoku pomocí molární hmotnosti, což je 0,0259 mol/l. V tabulkách dále vyhledáme L_{ISO} hodnotu příslušné látky a vypočítáme snížení teploty tuhnutí (ΔT):

$$\Delta T = L_{ISO} \cdot c = 3,6 \cdot 0,0259 = 0,0933 \quad (12)$$

Tuto hodnotu dosadíme do rovnice (7) resp. (9) a vypočítáme množství chloridu sodného resp. dusičnanu draselného potřebné k izotonizaci.

Rozdíly v množství chloridu sodného nebo dusičnanu draselného při použití různých metod izotonizace dokumentují tabulky 3 a 4. Je zřejmé, že rozdíly v hmotnosti pomocné látky jsou po zaokrouhlení nepatrné.

Tab. 3: Odhad množství chloridu sodného potřebného k izotonizaci 1% roztoku ethylmorfin hydrochloridu pomocí jednotlivých metod:

Metoda	Množství NaCl (g)
ΔT	0,0748
E	0,0740
V-hodnota	0,0741
L_{ISO}	0,0739

Tab. 4: Odhad množství dusičnanu draselného potřebného k izotonizaci 1% roztoku ethylmorfin hydrochloridu pomocí jednotlivých metod:

Metoda	Množství KNO ₃ (g)
ΔT	0,1346
E	0,1334
V-hodnota	0,1333
L_{ISO}	0,1323

7 Experimentální část

7.1 Použité suroviny

dusičnan draselný (Kalii nitras), Ph. Eur. 5.0 (ČL 2005), šarže: 2006230553, atest: 0178/0706/517

ultračistá voda, Farmaceutická fakulta UK, Elix 15, MILLIPORE, Francie

7.2 Použitá zařízení

Automatický hustoměr Anton Paar, DMA 4100 M, Rakousko

Automatický semi-mikro osmometr Knauer, Německo

Ultrazvuková lázeň Bandelin Sonorex, RK 106, Německo

Analytické váhy Kern, ABJ 120-4M, d = 0,1 mg

Váhy Acculab, Sartorius Group, Acculab Atilon, d = 0,01 g

Mikropipeta Eppendorf Research 200, 20-200 μ l

7.3 Příprava roztoků

Připravila jsem vodné roztoky KNO_3 v koncentraci 0,01-0,2 mol/kg, resp. mol/l. Roztoky jsem připravila v čas potřeby a uchovávala je v uzavřených skleněných nádobách po dobu maximálně 24 hodin. Roztoky jsem použila pro měření hustoty a osmolality.

7.3.1 Příprava molálních roztoků

Nejdříve jsem vypočítala navážky KNO_3 pro jednotlivé koncentrace, které jsem postupně navažovala na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Poté jsem pro každý roztok navázila 1000,0 g ultračisté vody, navážku látky jsem rozpustila a kvantitativně převedla do odměrné baňky. Roztok jsem důkladně promísila.

7.3.2 Příprava molárních roztoků

Předem vypočítané navážky jsem navažovala na analytických vahách s přesností na 0,1 mg. Jednotlivé navážky KNO_3 jsem rozpustila a kvantitativně převedla

do odměrné baňky o objemu 1000,0 ml, doplnila ultračistou vodou o teplotě 20°C do požadovaného objemu a roztok důkladně promísila.

7.4 Měření hustoty

Hustotu jsem měřila na automatickém hustoměru DMA 4100 M.

Po zapnutí je nutné nechat přístroj 15 minut stabilizovat a následně zkontrolovat nastavení pomocí kontroly hustoty vzduchu a vody při daném atmosférickém tlaku.

Před vlastním měřením jsem měřící celu promyla vzorkem roztoku pomocí injekční stříkačky. Měřící celu je nutné vždy naplnit bez bublin. Poté jsem nastavila teplotu měření, stiskla tlačítko "Start" a pojmenovala jednotlivé vzorky. Po změření vzorku jsem naplnila celu dalším cca 1 ml vzorku a měření opakovala.

Po ukončení měření jsem měřící celu propláchla čištěnou vodou a následně vysušila.

Hustotu jsem měřila při teplotách 15, 20, 25, 30, 35 a 40°C. Každý vzorek jsem měřila pětkrát při každé z teplot. Výsledky měření jsou uvedeny v tab. 5 a 6 včetně průměrné hustoty a směrodatné odchylky (SD). Hustota s rostoucí teplotou klesala, jak je doloženo na obr. 1 a 2. Hodnoty naměřené hustoty jsem shrnula v tab. 5 a 6, kde je zároveň uvedena hodnota průměrná a hodnota směrodatné odchylky. Průměrnou hustotu při 20°C jsem dále využila pro převod molality na molaritu, molarity na molalitu a pro odhad osmolarity. Hustotu je možné vypočítat podle rovnice kvadratické regrese, která je uvedena zvlášť pro molální a molární roztoky chloridu sodného v tab. 7 a 8.

7.5 Měření osmolality

Osmolalitu jsem měřila na automatickém osmometru Knauer.

Před měřením jsem vždy prováděla kalibraci přístroje, a to tak, že jsem nastavila hodnotu 0 mOsm/kg pomocí ultračisté vody a hodnotu 400 mOsm/kg pomocí roztoku chloridu sodného. Tento roztok je možné připravit rozpuštěním 12,687 g čistého chloridu sodného v 1,0 kg ultračisté vody.

Pomocí mikropipety jsem dávkovala vzorky o objemu 150 μ l do měřící zkumavky, kterou jsem nasadila na měřící hlavu, následně vložila do termistoru a změřila osmolalitu m_{os} (mOsm/kg). Všechny připravené roztoky jsem proměřila pětkrát.

V tab. 9 a 10 jsou uvedeny průměrné hodnoty osmolality pro molální a molární roztoky dusičnanu draselného.

7.6 Zpracování výsledků

7.6.1 Převody koncentrací

Molární koncentraci c (mol/l) lze vyjádřit jako podíl molální koncentrace m (mol/kg) a objemu roztoku V_r (l). Objem molárního roztoku se vypočítá z hmotnosti roztoku M_r (g), jako součet navážky látky M_0 (g) a hmotnosti rozpouštědla M_v (g), a naměřené hustoty h_m (g/ml). V případě molálních roztoků je M_v vždy rovna 1,0 kg vody. Hodnoty potřebné k převodu molality na molaritu jsou shrnuty v tab. 9.

K přepočtu molární koncentrace c na molální koncentraci m je potřeba znát hodnotu tzv. faktoru konverze f . Ten lze vyjádřit jako rozdíl hustoty roztoku h_c a navážky látky M_0 .

$$f = h_c - M_0 \quad (13)$$

Následně se molalita vypočítá jako podíl molarity a faktoru konverze (c/f) .²⁰

Potřebná data jsou uvedena v tab. 10.

7.6.2 Odhad osmolarity

Hodnotu osmolarity c_{os} (mOsm/l) lze získat několika postupy. V této práci jsem porovnávala odhady pomocí metod doporučených v USP 35.⁷

Tzv. teoretickou osmolaritu lze vypočítat jako násobek molární koncentrace c (mol/l) a počtu částic n , vzniklých disociací, podle rovnice 4. Výsledky jsou shrnuty v tab. 11.

Dalším postupem odhadu osmolarity je výpočet, který využívá naměřenou osmolalitu a koncentraci vody, podle rovnice 6.

Jinou možností je odhad tzv. aktuální osmolarity. Do vztahu (5) se dosadí hodnota naměřené osmolality m_{os} (mOsm/kg) molárního roztoku, hustota molárního roztoku h_c , navážka dusičnanu draselného M_0 a měrný specifický objem V_g (ml/g) dusičnanu draselného. Měrný specifický objem lze určit z rozdílu objemu roztoku V_r , objemu

vody v roztoku V_v a navážky látky. V_g vyjadřuje změnu objemu roztoku po přidání 1g látky.

$$V_g = \frac{(V_r - V_v)}{M_0} \quad (14)$$

Měrný specifický objem jsem vypočítala zvlášť pro molální a molární roztoky. U molálních roztoků se nejdříve zjistí objem vody V_v podílem hmotnosti vody M_v , vždy 1,0 kg, a průměrné hustoty vody h_v při 25°C ($h_v = 0,9971$ g/ml).²¹

$$V_v = \frac{M_v}{h_v} \quad (15)$$

Objem vody V_v u molálního roztoku se nemění a pro všechny roztoky byl roven 1002,9 ml. Měrný specifický objem V_g se vypočítá podle rovnice (14). Data potřebná k převodu a zjištěné hodnoty V_g jsou shrnuty v tab. 9.

U molárních roztoků je nutné vyjít z aditivity objemu a hmotnosti složek roztoku. Objem vody V_v se vypočítá podle rovnice (16).

$$V_v = \frac{M_r - M_0}{h_v} \quad (16)$$

Do vztahu jsem dosadila průměrnou hustotu vody h_v při 20°C ($h_v = 0,9982$ g/ml).²¹ Měrný specifický objem se vypočítá podle rovnice (14). Data potřebná k převodu a vypočítané hodnoty V_g jsou shrnuty v tab. 10.

7.6.3 Odhad molálního osmotického koeficientu

Molální osmotický koeficient Φ lze vyjádřit z rovnice (17) pro výpočet teoretické osmolality, kde m_{os} (mOsm/kg) představuje naměřenou osmolalitu, m (mol/kg) molalitu roztoku, n počet částic vzniklých disociací molekuly dusičnanu draselného. Teoretická osmolalita roztoku je vyjádřena jako:²

$$m_{os} = m \cdot n \cdot \phi \quad (17)$$

Výsledky jsou shrnuty v tab. 12 a ilustrovány na obr. 6.

Rozdíl mezi měřenou a vypočítanou osmolalitou se označuje jako osmolální okno neboli *osmolal gap*.⁸

8 Výsledky

Tab. 5: Vliv teploty a molální koncentrace na hustotu h_m (g/ml) roztoků dusičnanu draselného

m (mol/kg)	T = 15°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9998	0,9998	0,9999	0,9999	0,9999	0,9999	5,0
0,02	1,0004	1,0004	1,0004	1,0004	1,0005	1,0004	4,0
0,03	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	0,0
0,04	1,0017	1,0017	1,0017	1,0017	1,0017	1,0017	0,0
0,05	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	0,0
0,06	1,0030	1,0030	1,0030	1,0030	1,0030	1,0030	0,0
0,07	1,0036	1,0036	1,0036	1,0036	1,0036	1,0036	0,0
0,08	1,0043	1,0043	1,0042	1,0043	1,0043	1,0043	4,0
0,09	1,0049	1,0049	1,0050	1,0050	1,0050	1,0050	5,0
0,10	1,0055	1,0055	1,0055	1,0055	1,0055	1,0055	0,0
0,15	1,0086	1,0086	1,0086	1,0086	1,0086	1,0086	0,0
0,20	1,0118	1,0118	1,0118	1,0118	1,0118	1,0118	0,0
m (mol/kg)	T = 20°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9989	0,9989	0,9989	0,9989	0,9989	0,9989	0,0
0,02	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,0
0,03	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	0,0
0,04	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	0,0
0,05	1,0014	1,0014	1,0014	1,0014	1,0014	1,0014	0,0
0,06	1,0020	1,0020	1,0020	1,0020	1,0020	1,0020	0,0
0,07	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	0,0
0,08	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	0,0
0,09	1,0040	1,0039	1,0039	1,0039	1,0039	1,0039	4,0
0,10	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	0,0
0,15	1,0076	1,0076	1,0076	1,0076	1,0076	1,0076	0,0
0,20	1,0107	1,0107	1,0107	1,0107	1,0107	1,0107	0,0

m (mol/kg)	T = 25°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9977	0,9977	0,9978	0,9977	0,9978	0,9977	5,0
0,02	0,9984	0,9983	0,9984	0,9983	0,9984	0,9984	5,0
0,03	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	0,0
0,04	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,0
0,05	1,0003	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	4,0
0,06	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	1,0009	1,0008	4,0
0,07	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	0,0
0,08	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	0,0
0,09	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	0,0
0,10	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	0,0
0,15	1,0064	1,0063	1,0063	1,0063	1,0063	1,0063	4,0
0,20	1,0094	1,0094	1,0094	1,0094	1,0094	1,0094	0,0
m (mol/kg)	T = 30°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9963	0,9963	0,9963	0,9963	0,9963	0,9963	0,0
0,02	0,9969	0,9969	0,9969	0,9969	0,9969	0,9969	0,0
0,03	0,9976	0,9976	0,9976	0,9976	0,9976	0,9976	0,0
0,04	0,9982	0,9981	0,9982	0,9982	0,9982	0,9982	4,0
0,05	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,0
0,06	0,9994	0,9994	0,9994	0,9994	0,9994	0,9994	0,0
0,07	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0
0,08	1,0006	1,0006	1,0006	1,0006	1,0006	1,0006	0,0
0,09	1,0012	1,0012	1,0012	1,0012	1,0012	1,0012	0,0
0,10	1,0018	1,0018	1,0018	1,0018	1,0018	1,0018	0,0
0,15	1,0049	1,0049	1,0048	1,0048	1,0049	1,0049	5,0
0,20	1,0078	1,0078	1,0078	1,0078	1,0078	1,0078	0,0

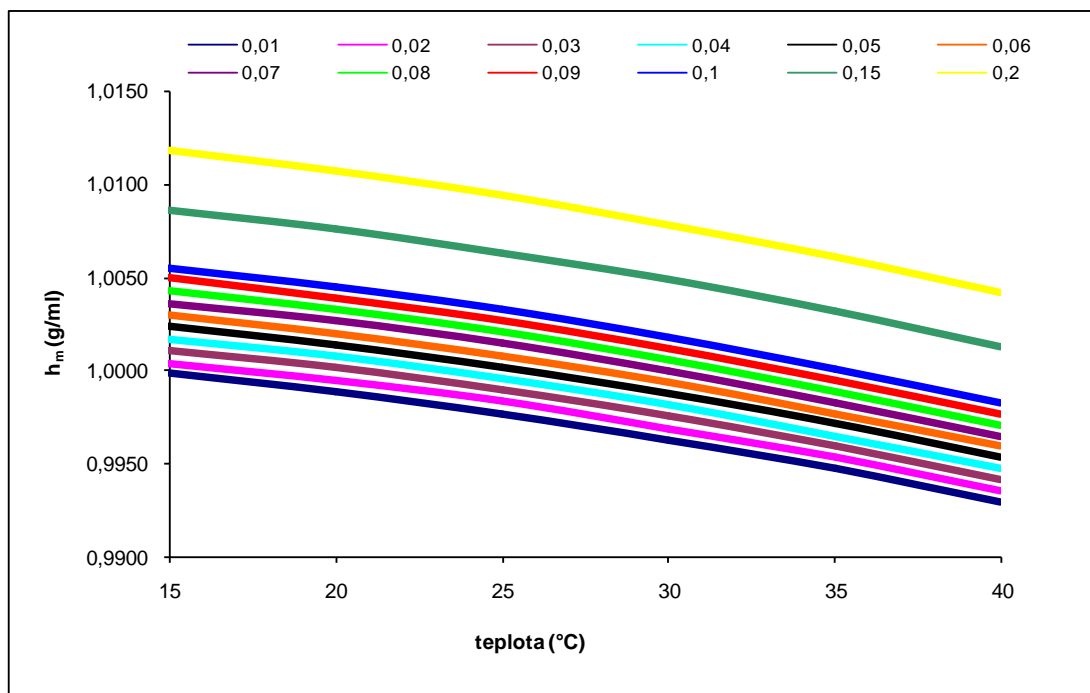
m (mol/kg)	T = 35°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,0
0,02	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,0
0,03	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	0,0
0,04	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,0
0,05	0,9972	0,9972	0,9972	0,9972	0,9972	0,9972	0,0
0,06	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,0
0,07	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	0,0
0,08	0,9989	0,9989	0,9990	0,9989	0,9989	0,9989	4,0
0,09	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,0
0,10	1,0001	1,0001	1,0001	1,0001	1,0001	1,0001	0,0
0,15	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	0,0
0,20	1,0061	1,0061	1,0061	1,0061	1,0061	1,0061	0,0
m (mol/kg)	T = 40°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9929	0,9929	0,9929	0,9929	0,9929	0,9929	0,0
0,02	0,9935	0,9935	0,9935	0,9935	0,9935	0,9935	0,0
0,03	0,9941	0,9941	0,9941	0,9941	0,9941	0,9941	0,0
0,04	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,0
0,05	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,0
0,06	0,9959	0,9958	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	4,0
0,07	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,0
0,08	0,9970	0,9971	0,9971	0,9971	0,9971	0,9971	4,0
0,09	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,0
0,10	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	0,0
0,15	1,0013	1,0013	1,0013	1,0013	1,0013	1,0013	0,0
0,20	1,0042	1,0042	1,0042	1,0042	1,0042	1,0042	0,0

Tab. 6: Vliv teploty a molární koncentrace na hustotu h_c (g/ml) roztoků dusičnanu draselného

c (mol/l)	T = 15°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,9998	0,0
0,02	1,0005	1,0004	1,0004	1,0005	1,0005	1,0005	5,0
0,03	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	1,0011	0,0
0,04	1,0017	1,0017	1,0017	1,0017	1,0017	1,0017	0,0
0,05	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	1,0024	0,0
0,06	1,0030	1,0030	1,0030	1,0030	1,0030	1,0030	0,0
0,07	1,0037	1,0037	1,0037	1,0037	1,0037	1,0037	0,0
0,08	1,0043	1,0043	1,0043	1,0043	1,0043	1,0043	0,0
0,09	1,0049	1,0049	1,0049	1,0049	1,0049	1,0049	0,0
0,10	1,0056	1,0056	1,0056	1,0055	1,0055	1,0056	5,0
0,15	1,0087	1,0087	1,0087	1,0087	1,0087	1,0087	0,0
0,20	1,0119	1,0119	1,0119	1,0119	1,0119	1,0119	0,0
c (mol/l)	T = 20°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9989	0,9989	0,9989	0,9989	0,9989	0,9989	0,0
0,02	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,9995	0,0
0,03	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	0,0
0,04	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	0,0
0,05	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	0,0
0,06	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	0,0
0,07	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	0,0
0,08	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	0,0
0,09	1,0040	1,0039	1,0039	1,0039	1,0039	1,0039	4,0
0,10	1,0046	1,0046	1,0046	1,0046	1,0046	1,0046	0,0
0,15	1,0077	1,0077	1,0077	1,0077	1,0077	1,0077	0,0
0,20	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	0,0

c (mol/l)	T = 25°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,0
0,02	0,9984	0,9984	0,9984	0,9984	0,9983	0,9984	4,0
0,03	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	0,0
0,04	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,0
0,05	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	0,0
0,06	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	1,0008	0,0
0,07	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	0,0
0,08	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	1,0021	0,0
0,09	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	0,0
0,10	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	1,0033	0,0
0,15	1,0064	1,0064	1,0064	1,0064	1,0064	1,0064	0,0
0,20	1,0095	1,0095	1,0095	1,0095	1,0095	1,0095	0,0
c (mol/l)	T = 30°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9963	0,9963	0,9963	0,9963	0,9963	0,9963	0,0
0,02	0,9969	0,9969	0,9969	0,9970	0,9969	0,9969	4,0
0,03	0,9976	0,9976	0,9976	0,9976	0,9976	0,9976	0,0
0,04	0,9982	0,9982	0,9982	0,9982	0,9982	0,9982	0,0
0,05	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,9988	0,0
0,06	0,9994	0,9994	0,9994	0,9994	0,9994	0,9994	0,0
0,07	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	1,0000	0,0
0,08	1,0006	1,0006	1,0006	1,0006	1,0006	1,0006	0,0
0,09	1,0013	1,0013	1,0013	1,0012	1,0013	1,0013	4,0
0,10	1,0019	1,0019	1,0019	1,0019	1,0019	1,0019	0,0
0,15	1,0049	1,0049	1,0049	1,0049	1,0049	1,0049	0,0
0,20	1,0079	1,0080	1,0080	1,0080	1,0080	1,0080	4,0

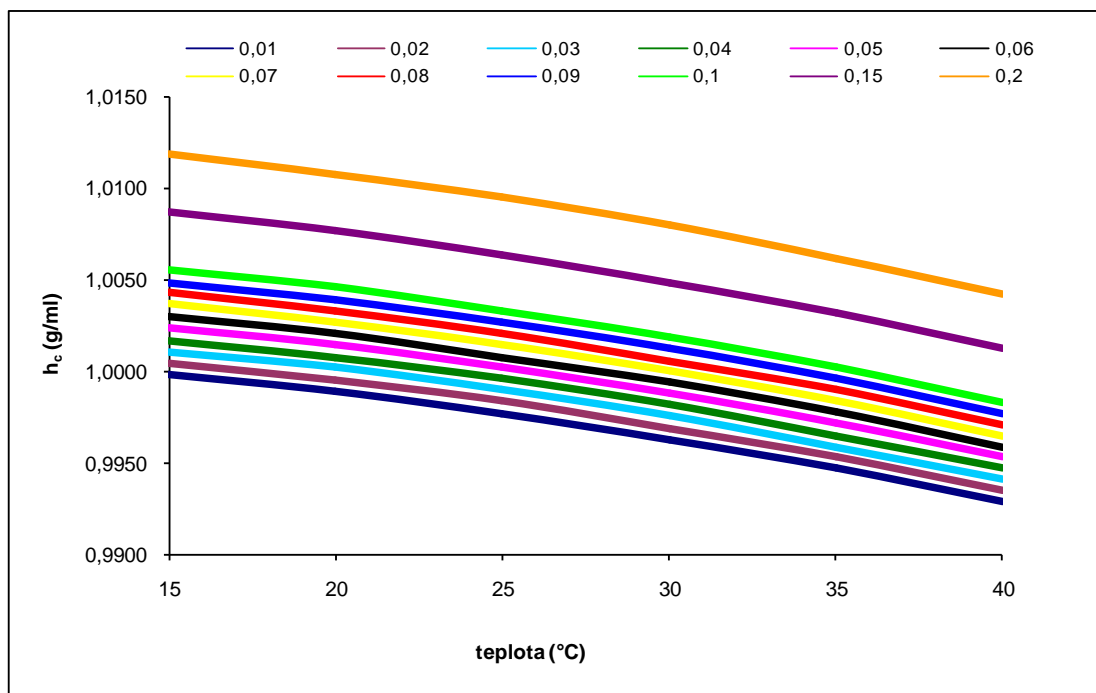
c (mol/l)	T = 35°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,0
0,02	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,0
0,03	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	0,0
0,04	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,0
0,05	0,9972	0,9972	0,9972	0,9972	0,9972	0,9972	0,0
0,06	0,9978	0,9978	0,9978	0,9978	0,9978	0,9978	0,0
0,07	0,9984	0,9984	0,9984	0,9984	0,9984	0,9984	0,0
0,08	0,9989	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	0,9990	4,0
0,09	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,9996	0,0
0,10	1,0001	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	1,0002	4,0
0,15	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	1,0032	0,0
0,20	1,0062	1,0062	1,0062	1,0062	1,0062	1,0062	0,0
c (mol/l)	T = 40°C						
	1	2	3	4	5	průměr	SD*10 ⁻⁵
0,01	0,9929	0,9929	0,9929	0,9929	0,9929	0,9929	0,0
0,02	0,9935	0,9935	0,9935	0,9935	0,9935	0,9935	0,0
0,03	0,9941	0,9941	0,9941	0,9941	0,9941	0,9941	0,0
0,04	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,9947	0,0
0,05	0,9953	0,9953	0,9953	0,9953	0,9952	0,9953	4,0
0,06	0,9959	0,9958	0,9959	0,9959	0,9959	0,9959	4,0
0,07	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,9965	0,0
0,08	0,9970	0,9971	0,9971	0,9971	0,9971	0,9971	4,0
0,09	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,9977	0,0
0,10	0,9983	0,9981	0,9983	0,9983	0,9983	0,9983	9,0
0,15	1,0013	1,0013	1,0013	1,0013	1,0013	1,0013	0,0
0,20	1,0041	1,0042	1,0043	1,0043	1,0043	1,0042	9,0



Obr. 1: Vliv teploty na hustotu molálních roztoků dusičnanu draselného

Tab. 7: Parametry rovnic pro závislost hustoty molálních roztoků dusičnanu draselného na teplotě

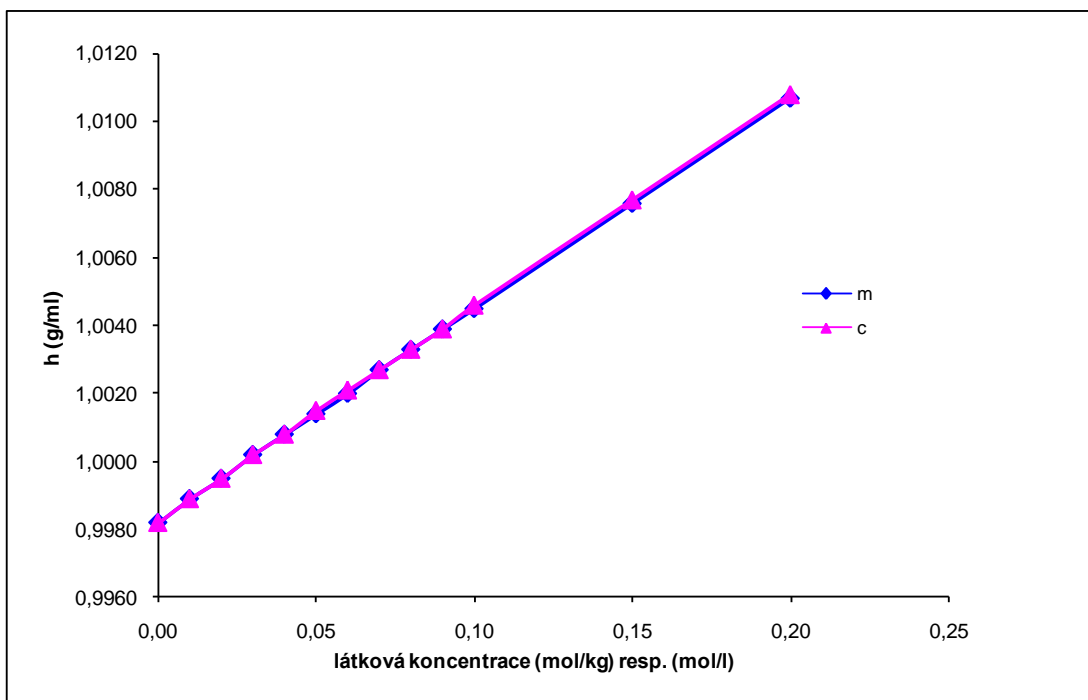
m (mol/kg)	$h_m = a * T^2 + b * T + c$			
	$a * 10^{-6}$	$b * 10^{-5}$	c	R^2
0,01	-4,000000	-6,000000	1,001700	1,0000
0,02	-4,642857	-2,235714	1,001798	0,9998
0,03	-4,642857	-2,635714	1,002558	0,9999
0,04	-4,642857	-2,635714	1,003158	0,9999
0,05	-4,357143	-4,321429	1,004018	1,0000
0,06	-4,285714	-4,885714	1,004697	0,9999
0,07	-4,642857	-3,150000	1,005149	0,9997
0,08	-4,285714	-5,400000	1,006089	0,9999
0,09	-3,928571	-7,650000	1,007028	0,9999
0,10	-4,285714	-5,400000	1,007289	0,9999
0,15	-4,357143	-5,235714	1,010369	0,9999
0,20	-4,000000	-8,514286	1,013991	0,9999



Obr. 2: Vliv teploty na hustotu molárních roztoků dusičnanu draselného

Tab. 8: Parametry rovnic pro závislost hustoty molárních roztoků dusičnanu draselného na teplotě

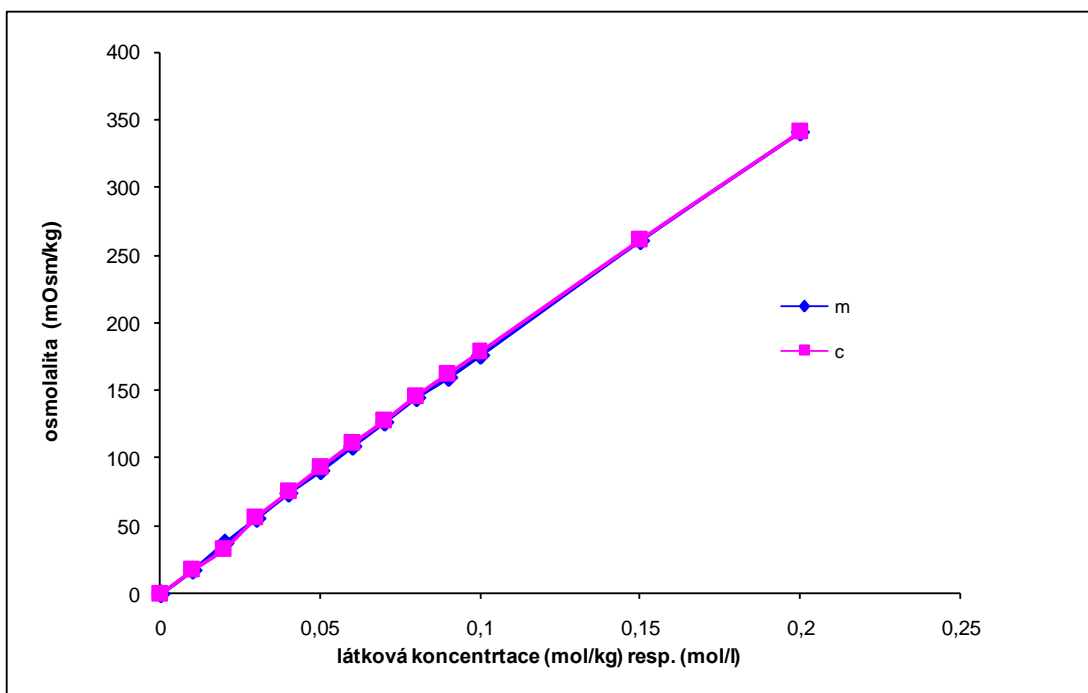
c (mol/l)	$h_c = a * T^2 + b * T + c$			
	$a * 10^{-6}$	$b * 10^{-5}$	c	R^2
0,01	-4,357143	-3,750000	1,001361	0,9999
0,02	-4,285714	-4,485714	1,002137	0,9998
0,03	-4,642857	-2,635714	1,002558	0,9999
0,04	-4,642857	-2,635714	1,003158	0,9999
0,05	-4,428571	-4,100000	1,004033	0,9998
0,06	-4,428571	-4,100000	1,004633	0,9998
0,07	-4,357143	-4,835714	1,005409	0,9999
0,08	-4,357143	-4,835714	1,006009	0,9999
0,09	-4,642857	-3,207143	1,006415	1,0000
0,10	-4,357143	-5,235714	1,007369	0,9999
0,15	-4,357143	-5,750000	1,010561	1,0000
0,20	-4,642857	-5,207143	1,013715	1,0000



Obr. 3: Vliv látkové koncentrace na hustotu roztoků dusičnanu draselného při 20°C

$$h_m = 0,062233 * m + 0,998284 \quad R^2 = 0,9999 \quad (18)$$

$$h_c = 0,062785 * c + 0,998284 \quad R^2 = 0,9999 \quad (19)$$



Obr. 4: Vliv látkové koncentrace na osmolalitu roztoků dusičnanu draselného

$$m_{os} = 1709,025845 * m + 4,298211 \quad R^2 = 0,9991 \quad (20)$$

$$m_{os} = 1719,145129 * c + 4,751491 \quad R^2 = 0,9984 \quad (21)$$

Tab. 9: Vlastnosti molálních roztoků dusičnanu draselného

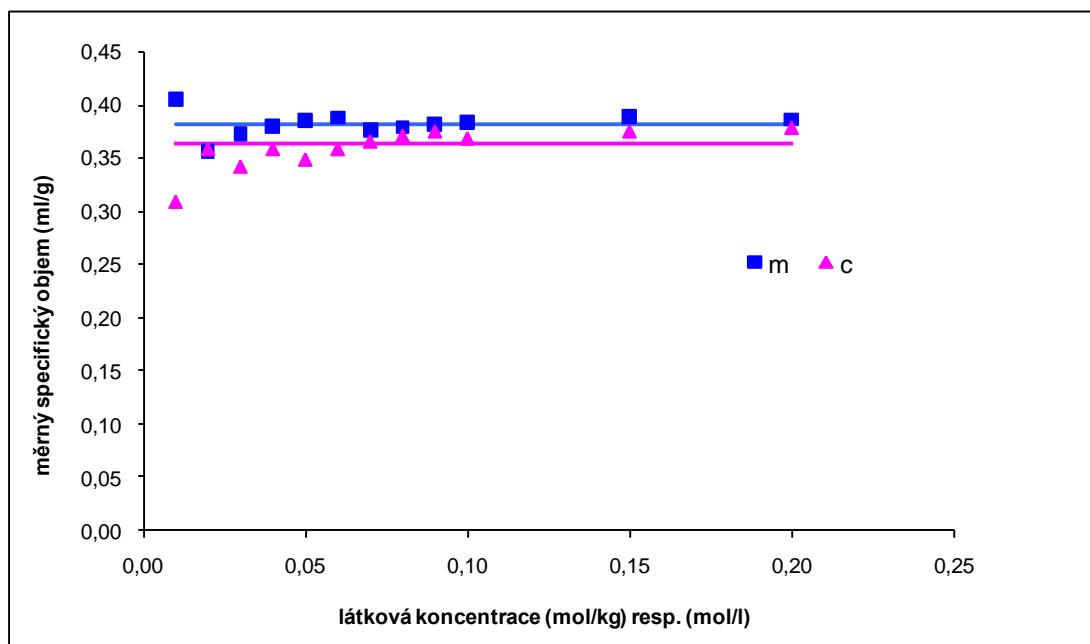
m (mol/kg)	M_o (g)	h_m (g/ml)	M_r (g)	V_r (ml)	c (mol/l)	V_g (ml/g)	m_{os} (mOsm/kg)
0,01	1,0110	0,9989	1001,0110	1002,1133	0,0100	0,4057	17
0,02	2,0220	0,9995	1002,0220	1002,5233	0,0199	0,3558	37
0,03	3,0330	1,0002	1003,0330	1002,8324	0,0299	0,3721	56
0,04	4,0440	1,0008	1004,0440	1003,2414	0,0399	0,3802	74
0,05	5,0550	1,0014	1005,0550	1003,6499	0,0498	0,3849	91
0,06	6,0660	1,0020	1006,0660	1004,0579	0,0598	0,3880	109
0,07	7,0770	1,0027	1007,0770	1004,3652	0,0697	0,3759	127
0,08	8,0880	1,0033	1008,0880	1004,7723	0,0796	0,3792	145
0,09	9,0990	1,0039	1009,0990	1005,1788	0,0895	0,3817	160
0,10	10,1100	1,0045	1010,1100	1005,5849	0,0994	0,3837	176
0,15	15,1650	1,0076	1015,1650	1007,5079	0,1489	0,3891	261
0,20	20,2200	1,0107	1020,2200	1009,4192	0,1981	0,3863	341

Tab. 10: Vlastnosti molárních roztoků dusičnanu draselného

c (mol/l)	M₀ (g)	h_c (g/ml)	M_r (g)	V_v (ml)	f	m (mol/kg)	V_g (ml/g)	m_{os} (mOsm/kg)
0,01	1,0110	0,9989	998,9000	999,6884	0,9979	0,0100	0,3082	17
0,02	2,0220	0,9995	999,5000	999,2767	0,9975	0,0201	0,3577	34
0,03	3,0330	1,0002	1000,2000	998,9651	0,9972	0,0301	0,3412	57
0,04	4,0440	1,0008	1000,8000	998,5534	0,9968	0,0401	0,3577	75
0,05	5,0550	1,0015	1001,5000	998,2418	0,9964	0,0502	0,3478	94
0,06	6,0660	1,0021	1002,1000	997,8301	0,9960	0,0602	0,3577	111
0,07	7,0770	1,0027	1002,7000	997,4184	0,9956	0,0703	0,3648	128
0,08	8,0880	1,0033	1003,3000	997,0066	0,9952	0,0804	0,3701	147
0,09	9,0990	1,0039	1003,9000	996,5949	0,9948	0,0905	0,3742	163
0,10	10,1100	1,0046	1004,6000	996,2833	0,9945	0,1006	0,3676	179
0,15	15,1650	1,0077	1007,7000	994,3248	0,9925	0,1511	0,3742	262
0,20	20,2200	1,0108	1010,8000	992,3663	0,9906	0,2019	0,3775	342

Tab. 11: Odhad osmolarity c_{os} (mOsm/l) roztoků dusičnanu draselného

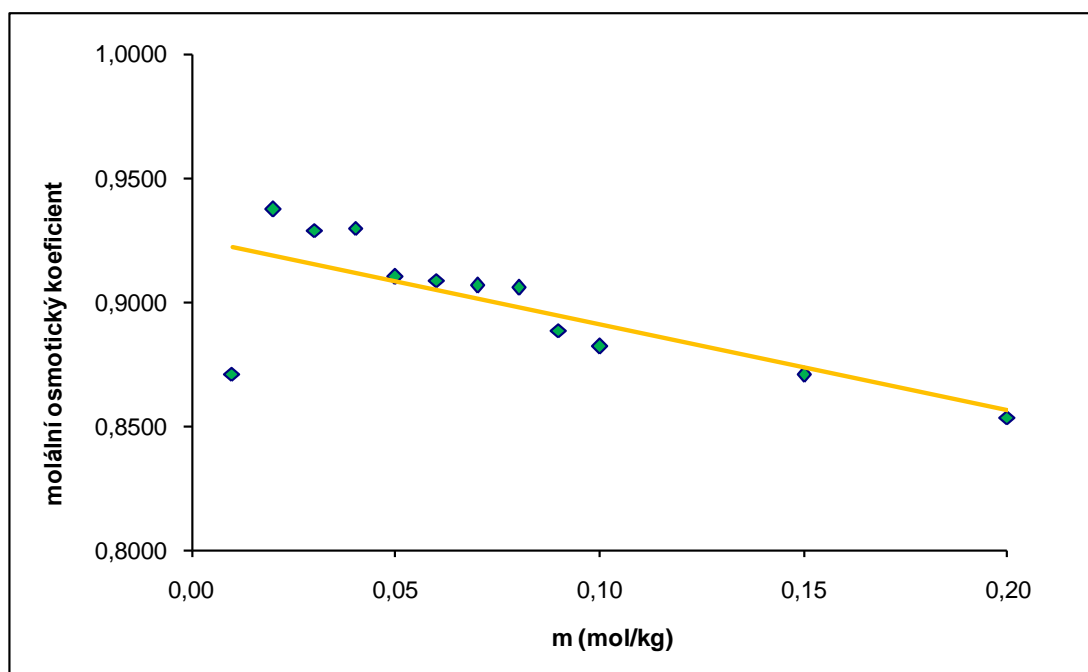
c (mol/l)	m_{os} (mOsm/kg)	c_{os} (mOsm/l)		
		rovnice (4)	rovnice (5)	rovnice (6)
0,01	17	20	17	17
0,02	34	40	34	34
0,03	57	60	57	57
0,04	75	80	75	75
0,05	94	100	94	93
0,06	111	120	111	111
0,07	128	140	128	128
0,08	147	160	147	146
0,09	163	180	163	162
0,10	179	200	179	178
0,15	262	300	263	260
0,20	342	400	343	339



Obr. 5: Vliv látkové koncentrace molálních a molárních roztoků dusičnanu draselného na měrný specifický objem dusičnanu draselného

Tab. 12: Závislost molálního osmotického koeficientu na molalitě m (mol/kg) roztoků dusičnanu draselného

m (mol/kg)	m_{os} (mOsm/kg)	Φ
0,01	17	0,8710
0,02	37	0,9373
0,03	56	0,9290
0,04	74	0,9299
0,05	91	0,9102
0,06	109	0,9089
0,07	127	0,9065
0,08	145	0,9060
0,09	160	0,8886
0,10	176	0,8819
0,15	261	0,8704
0,20	341	0,8536



Obr. 6: Vliv molality roztoků dusičnanu draselného na molální osmotický koeficient

9 Diskuze

Osmotický tlak se významně podílí na udržování stálosti vnitřního prostředí. Je tvořen všemi částicemi, které jsou obsaženy v roztoku, přičemž nezávisí na jejich povaze. Je vyrovnáván přestupem rozpouštědla přes polopropustnou membránu, která není propustná pro většinu rozpuštěných částic v roztoku. Je závislý na teplotě a koncentraci roztoku. Přímé měření osmotického tlaku je však obtížné a nepraktické.⁶

Osmotický tlak patří mezi koligativní vlastnosti roztoku. Dalšími koligativními vlastnostmi jsou snížení teploty tuhnutí, snížení tenze par a zvýšení teploty varu. Této skutečnosti se v praxi využívá při řešení problému izotonizace roztoku.

Mírou osmotického tlaku je osmotická koncentrace, kterou lze vyjádřit jako osmolalitu m_{os} nebo osmolaritu c_{os} . Vztah mezi osmolalitou m_{os} a snížením teploty tuhnutí ΔT popisuje rovnice 3. Obecně platí, že 1 osmol částic látky dodaných do 1 kilogramu vody sníží teplotu tuhnutí o 1,86°C. Hodnota 1,86 je kryoskopická konstanta vody. Pro účely využití vodných roztoků léčiv se ve farmacii upravuje osmotický tlak roztoku na izotonický, tj. shodný s osmotickým tlakem vnitřního prostředí organismu. Za izotonický (izoosmotický) s lidskou krví, slzami a tkáňovým mokem se považuje vodný roztok chloridu sodného o koncentraci 9,0 g/l, jehož snížení teploty tuhnutí (kryoskopická hodnota) vzhledem k vodě je -0,520°C, nebo jiné roztoky se shodnou kryoskopickou hodnotou. Hypotonické roztoky mají tyto hodnoty nižší, hypertonické vyšší. Hypertonické roztoky se na izotonické neupravují, musely by se ředit, snižoval by se obsah léčiva v jednotce objemu a to z terapeutických důvodů není možné. Izotonizují se proto pouze hypotonické roztoky. K izotonizaci se použije vhodná izotonizační přísada, která nesmí se žádnou složkou roztoku chemicky reagovat ani jinak měnit její účinek, a která je vhodná pro použití u daného roztoku. Při volbě látek je nutné uvažovat o tom, zda přípravek je k parenterálnímu či jinému použití. Pro oční kapky, případně nosní kapky, se používá např: chlorid sodný, dusičnan draselný, nebo mannitol.¹⁶

V této experimentální práci jsem měřila hustotu a osmolalitu molálních a molárních roztoků dusičnanu draselného v koncentračním rozmezí 0,01-0,20 mol/kg resp.

mol/l. Studovala jsem vliv teploty v rozmezí 15-40°C na hustotu roztoku. Průměrné hodnoty hustoty a směrodatné odchylky (*SD*) jsem zaznamenala v tab. 5 a 6, průměrné hodnoty osmolality jsou zaznamenány v tab. 9 a 10. Průměrnou hodnotu hustoty roztoků při teplotě 20°C jsem využila pro převod molality na molaritu a naopak a k výpočtu osmolarity.

Molální roztoky jsem připravovala rozpuštěním navážky dusičnanu draselného v 1,0 kg vody. U roztoků molárních jsem navážku dusičnanu draselného kvantitativně převedla do odměrné baňky a doplnila vodou do objemu 1,0 litru při teplotě 20±0,5°C. Příprava molárních roztoků je snazší, protože nevyžaduje teplotu.

U molárních roztoků se zvětšoval objem se zvyšující se navázkou, kdežto u molárních roztoků zůstával objem stejný. Z toho vyplývá, že molární roztoky jsou koncentrovanější. To je patrné i u hodnot naměřené hustoty.

Jak ilustruje obr. 1 a 2, hustota molárních i molárních roztoků se snižovala s rostoucí teplotou. Závislost hustoty roztoků dusičnanu draselného na teplotě popisují rovnice kvadratické regrese, jejichž parametry jsou vyznačeny v tab. 7 a 8. Jsou doplněny o příslušné hodnoty koeficientu determinace R^2 v rozmezí 0,9997-1,0000. Obdobná závislost byla již dříve potvrzena pro chlorid sodný.⁵

Při konstantní teplotě se hustota lineárně zvyšovala s rostoucí látkovou koncentrací, jak je patrné z obr. 3. Závislost popisují rovnice lineární regrese (18) pro molální a (19) pro molární roztoky dusičnanu draselného. Ve studovaném koncentračním rozmezí 0,01-0,2 mol/kg resp. mol/l se naměřené hodnoty hustoty molárních i molárních roztoků od sebe výrazně nelišily, protože koncentrace roztoků, s kterými jsem pracovala, byly velmi nízké. Průměrnou hustotu při 20°C jsem využila pro převod molality na molaritu a naopak.

K převodu molality na molaritu je nutné znát také objem roztoku. Molaritu c (mol/l) jsem vypočítala jako podíl molality m (mol/kg) a objemu roztoku V_r (l). Objem roztoku jsem určila jako podíl hmotnosti roztoku a průměrné hodnoty hustoty roztoku při 20°C. Výsledné hodnoty molarity jsou uvedeny v tab. 9. Závislost mezi

molální a molární koncentrací popisuje rovnice lineární regrese (22) s koeficientem determinace $R^2 = 1,0000$, ze které je možný odhad molarity dusičnanu draselného.

$$c = 0,99040 \cdot m + 2,61443 \cdot 10^{-4} \quad (22)$$

K převodu molarity na molalitu bylo nutné předem vypočítat faktor konverze f podle rovnice (13). Molalitu m (mol/kg) jsem vypočítala jako podíl molarity c (mol/l) a faktoru konverze f (c/f).¹³ Hodnota faktoru f klesá s rostoucí látkovou koncentrací, jak je zřejmé z tab. 6. Molalitu lze vypočítat ze známé molarity roztoku pomocí rovnice lineární regrese (23) s koeficientem determinace $R^2 = 1,0000$.

$$m = 1,00960 \cdot c - 2,61443 \cdot 10^{-4} \quad (23)$$

Ve studovaném rozmezí koncentrací 0,01-0,2 mol/kg resp. mol/l byly rozdíly mezi molalitou a molaritou nepatrné, jak je zřejmé z hodnot v tab. 10.

Pro látkovou koncentraci 0,160 mol/kg, která odpovídá izotonické koncentraci roztoku dusičnanu draselného 1,62%,² byla z rovnice (22) odhadnuta molarita 0,159 mol/l. Naopak pro roztok 0,160 mol/l je z rovnice (23) možné určit molalitu 0,161 mol/kg. Pro izotonický roztok jsou rozdíly zanedbatelné.

Výsledky měření osmolality jsou shrnuty v tab. 9 a 10. Osmolalita se přímo úměrně zvyšovala s rostoucí látkovou koncentrací, což je ilustrováno na obr. 4. Osmolalita molálních a molárních roztoků se výrazně nelišila, protože koncentrace, s kterými jsem pracovala, byly velmi nízké. Z rovnic lineární regrese (18) a (19) s koeficientem determinace v rozmezí 0,9984-0,9991 lze odhadnout hodnoty osmolality pro molální resp. molární roztoky dusičnanu draselného.

Pro již zmíněný izotonický roztok dusičnanu draselného připravený jako molální, tj. 0,160 mol/kg, byla z rovnice lineární regrese (20) určena osmolalita 278 mOsm/kg; analogicky pro molární roztok 0,160 mol/l z rovnice (21) osmolalita 280 mOsm/kg.

Pro zpřesnění odhadu byla využita také rovnice kvadratické regrese s koeficientem determinace $R^2 = 0,9999$ pro molální roztok:

$$m_{os} = -766,4983 \cdot m^2 + 1855,7729 \cdot m + 0,0939 \quad (24)$$

a rovnice kvadratické regrese s koeficientem determinace $R^2 = 0,9998$ pro molární roztok:

$$m_{os} = -1028,1795 \cdot c^2 + 1915,9914 \cdot c + (-0,8882) \quad (25)$$

Z nich byla určena hodnota osmolality 277 mOsm/kg pro molální a 279 mOsm/kg pro molární roztok.

I když rovnice kvadratické regrese popisuje závislost mezi osmolalitou a látkovou koncentrací matematicky přesněji, na výsledné hodnoty osmolality izotonického roztoku dusičnanu draselného nemá podstatný vliv. V obou případech, mezi odhadem osmolality pro molální a molární roztok, jsou rozdíly minimální.

Osmolalita je fyzikálně přesnější vyjádření osmotické koncentrace, v klinické praxi se ale častěji uplatňuje osmolarita. Osmolaritu je možné vypočítat několika možnými způsoby.⁷ Prvním postupem je výpočet tzv. teoretické osmolarity podle rovnice (4), kdy vynásobíme molaritu c počtem částic vzniklých disociací molekuly dusičnanu draselného. Tato metoda je rychlá a jednoduchá. Předpokládá ideální chování roztoku, tedy nebere v úvahu žádné interakce probíhající v roztoku, ať už mezi rozpuštěnými částicemi a částicemi rozpouštědla nebo mezi rozpuštěnými částicemi navzájem. To je problém především u roztoků silných elektrolytů ve vyšších koncentracích, kdy se vypočítané hodnoty teoretické osmolarity od skutečné osmolality výrazně liší.²² Pro zředěné roztoky jsou odchylky zanedbatelné.²³

Jiným způsobem odhadu osmolarity je výpočet pomocí naměřené osmolality, hustoty molárního roztoku a navážky, podle rovnice (6). Navážka je v tomto vztahu vyjádřená v jednotkách (g/ml), stejně jako hustota. To znamená, že po odečtení navážky od hustoty, získám hodnotu koncentrace vody.⁷ Protože USP 4 neuvádí, zda se při výpočtu vychází z molálního nebo molárního roztoku, využila jsem hodnoty pro molární roztoky při teplotě 20°C.

Třetí možností, kterou uvádí USP 4, je výpočet tzv. aktuální osmolarity podle rovnice (5). Vyžaduje znalost naměřené hodnoty osmolality roztoku, hustoty roztoku a měrného specifického objemu rozpuštěné látky. Ten vyjadřuje změnu objemu roztoku po přidání 1 g látky. Protože USP neuvádí, zda se při výpočtu aktuální osmolarity vychází z molálního nebo molárního roztoku, využila jsem hodnoty osmolality, hustoty a měrného specifického objemu molárních roztoků dusičnanu draselného.

Hodnotu měrného specifického objemu V_g dusičnanu draselného jsem určila z rovnice (14) zvlášť pro molální a molární roztoky. Vypočítané hodnoty měrného specifického objemu jsou zaznamenány v tab. 9 a 10. Vliv látkové koncentrace na měrný specifický objem dokládá obr. 5. S rostoucí látkovou koncentrací se jeho hodnota nepatrně zvyšuje. Zjištěné hodnoty V_g se u molálních a molárních roztoků lišily. Vyšší hodnotu V_g mají molální roztoky.

Zatímco u molálních roztoků lze V_g určit přímo z rozdílu hmotnostně určeného objemu roztoku a vody, v případě roztoků molárních jsem vycházela z předpokladu aditivity hmotností a objemů složek roztoku, tj. že celkový objem roztoku je roven součtu objemů vody a dusičnanu draselného. Ze zjištěných rozdílů hodnot V_g pro molalitu a molaritu lze usuzovat, že předpoklad aditivity u silných elektrolytů neplatí a při rozpouštění dochází k určité objemové kontrakci. Ta se projevila v rozdílné hodnotě měrného specifického objemu dusičnanu draselného. Protože u molárních roztoků, které se připravují hmotnostně, se objemové změny přímo neprojevují, je možné považovat zjištěný V_g za správnější. Proto je pro odhad osmolarity možné doporučit průměrnou hodnotu měrného specifického objemu dusičnanu draselného určeného experimentálně z výsledků pro molální roztoky 0,38 ml/g.

Výsledky odhadu osmolarity jsem shrnula v tab. 11. V souladu s očekáváním bylo zjištěno, že největší odchylky od měřené osmolality mají hodnoty teoretické osmolarity. U zbylých dvou metod jsou odchylky od naměřené osmolality zanedbatelné.

Určení molálního osmotického koeficientu je možné z rovnice (17) pro výpočet teoretické osmolality. Molální osmotický koeficient vyjadřuje odchylku od chování ideálního roztoku. K výpočtu jsem využila naměřenou osmolalitu molálních roztoků, molalitu a počet částic vzniklých disociací molekuly dusičnanu draselného. Vypočítané hodnoty jsou uvedeny v tab. 12. Vliv molality roztoků dusičnanu draselného na molální osmotický koeficient prezentuje obr. 6. Molální osmotický koeficient se s rostoucí látkovou koncentrací snižuje.

10 Závěry

Z výsledků této experimentální rigorózní práce vyplynuly následující závěry:

- 1) Hustota molálních i molárních roztoků se při konstantní teplotě lineárně zvyšuje se stoupající látkovou koncentrací dusičnanu draselného v rozsahu 0,01-0,2 mol/kg resp. mol/l.
- 2) S rostoucí teplotou se hustota molálních i molárních roztoků dusičnanu draselného snižuje. Závislost popisují rovnice kvadratické regrese s koeficientem determinace v rozsahu 0,9997-1,0000.
- 3) Hustota molárních roztoků je vyšší než odpovídajících roztoků molálních. Ve studovaném koncentračním rozmezí jsou rozdíly zanedbatelné.
- 4) K převodu molality na molaritu je nutné znát objem roztoku. Převod molarity na molalitu vyžaduje výpočet faktoru konverze, jako rozdílu mezi hustotou roztoku a hmotností rozpuštěné látky. Faktor konverze se snižuje s rostoucí koncentrací.
- 5) Osmolalita roztoků dusičnanu draselného lineárně stoupá s rostoucí koncentrací. Hodnota osmolality molárních roztoků je vyšší než odpovídajících roztoků molálních, ve studovaném rozmezí koncentrací 0,01-0,2 mol/kg resp. mol/l však byly odchylky zanedbatelné.
- 6) Molální osmotický koeficient, vyjádřený z rovnice pro výpočet teoretické osmolality, se snižuje s rostoucí koncentrací.
- 7) Výsledky této rigorózní práce mohou být v budoucnu využity pro odhad ΔT podle rovnice (3).

11 Použitá literatura

- 1 THOMPSON, E. J., DAVIDOW, L. W. (Eds.): *A practical guide to Contemporary pharmacy practice*. 3rd Ed., 2009 Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, Wolters Kluwer, Philadelphia, 704 s., ISBN: 978-0-7817-8396-5, THOMPSON, E. J., DAVIDOW, L. W.: *Isotonicity Calculations*. s. 131-138.
- 2 MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009*. 2009, Grada Publ., Praha, 3968 s., ISBN: 978-80-247-2994-7.
- 3 DANIELS, F., ALBERTY, R. R., *Physical chemistry*, 3rd Ed., 1967, New York, s. 170-172.
- 4 DEARDORFF, D. L.: Osmotic strength, osmolality and osmolarity. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1980, 37, s. 504-509.
- 5 KMONÍČKOVÁ, L.: *Osmolalita parenterálních přípravků. Chlorid sodný*. Diplomová práce. 2011, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 48 s.
- 6 NOVÁK, J. a kol.: *Fyzikální chemie*, 2008, VŠCHT Praha, 506 s., ISBN 978-80-7080-675-3.
- 7 UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION: *United States Pharmacopoeia 35- National formulary 30*, 35th Ed., 2011, on-line přístup, <785>, *Osmolality and osmolarity*, s. 335-336.
- 8 JABOR, A. (Ed.): *Vnitřní prostředí*. 2008, Grada, Praha, 530 s., ISBN 978-80-247-1221-5.
- 9 ALLEN, L. V., POPOVICH, N. G., ANSEL, H. C.: *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery system 2005*, 8th Ed., 2005, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, 738 s., ISBN: 0-7817-4612-4.
- 10 MURTY, B. S. R., KAPOOR, J. N., DELUCA, P. P.: Compliance with USP osmolarity labeling requirements. *Am. J. Hosp. Pharm.*, 1976, 33, s. 546-551.
- 11 CAMPBELL, I.: Osmolarity and partitioning of fluids. *Surgery*, 2004, 22, 48c-48e.
- 12 SILBERNAGL, S., DESPOPOULOS, A. et al.: *Atlas fyziologie člověka*. Grada Publ., Praha, 3. vydání, 2004, 435 s., ISBN 80-247-0630-X.

-
- 13 ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: Conversion between osmolality and osmolarity of infusion solutions. *Sci Pharm.* 2009, 77, s. 817-826.
- 14 ROZSÍVAL, P. et al.: *Oční lékařství.* 2006, Galén, Praha, 373 s., ISBN 80-7262-404-0.
- 15 MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009.* Doplněk 2011. Grada Publ., Praha, CD-ROM.
- 16 CHALABALA, M.: *Technologie léků.* Galén, Praha, 1.vydání, 1997, ISBN 80-85824-68-X.
- 17 LUND, W. (Ed.): *The pharmaceutical codex.* 12th Ed., 1994, Pharmaceutical Press, 1117 s. ISBN 978-0853692904.
- 18 TROY, D. B. (Ed.): *Remington: The science and practice of pharmacy.* 21st Ed., 2005, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, 2393 s., ISBN 0-7817-4673-6.
- REICH, I., POON, Y. C., SUGITA, T. E.: *Tonicity, Osmoticity, Osmolality and Osmolarity,* s. 246-249.
- 19 SWARBRICK, J., (Ed.): *Encyclopedia of pharmaceutical technology, Vol. 3.* 3rd Ed., 2002, Informa Healthcare, New York, s. 5536, ISBN 0-8493-9394-9.
- 20 ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: The relationship between osmolarity and osmolality of infusion solutions of monosacharides. *J. Pharm. Sci & Res.,* Vol. 2 (9), 2010, ISSN 0975-1459.
- 21 KOTLÍK, B., LANK, V., RŮŽIČKOVÁ, K., VONDRA, M., VOŠICKÝ, Z., (Eds): *Matematické, fyzikální, chemické tabulky pro SŠ a nižší ročníky víceletých gymnásií,* 2007, Fragment, Praha, 287 s., ISBN 978-80-7200-521-5.
- 22 KŘÍŽOVÁ, L.: *Osmolalita parenterálních přípravků s obsahem elektrolytů.* Rigorózní práce. 2008, Farmaceutická fakulta, Hradec Králové, 60 s.
- 23 ŠKLUBALOVÁ, Z.: Osmotická koncentrace infuzí- osmolarita vs. osmolalita. In: ZADÁK, Z.: (Ed.): *Minerály- pilíře metabolismu a regulace objemu,* Sborník konference, Třeboň 29.-30.4.2010. Ardeapharma a.s., Ševětín, 2011, 271 s. ISBN 978-80-254-4690-4, s. 263-267.