

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Osmolalita parenterálních přípravků. Parenterální směsi 1.

2012

Veronika Bouallagui

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické technologie

Diplomová práce

Osmolalita parenterálních přípravků. Parenterální směsi 1.

Osmolality of parenteral preparations. Parenteral mixtures 1.

Prohlášení

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

V Praze, dne 24.8.2012

Veronika Bouallagui

Poděkování

Za vstřícnost, trpělivost, odborné vedení a cenné rady při tvorbě této práce bych chtěla poděkovat vedoucímu diplomové práce, paní Doc. PharmDr. Zdeňce Šklubalové, Ph.D.

Obsah

1	Abstrakt	1
2	Abstract.....	2
3	Zadání	3
4	Seznam symbolů a zkratk	4
5	Úvod	5
6	Teoretická část.....	6
6.1	Parenterální přípravky.....	6
6.1.1	Aplikační cesty	7
6.1.2	Pomocné látky	8
6.2	Osmotický tlak, osmolalita a osmolarita.....	11
6.3	Infuzní přípravky	12
6.4	Výroba parenterálních přípravků	14
6.4.1	Požadavky na parenterální přípravek	14
6.4.2	Výrobní prostory	17
6.4.3	Sterilizační metody	20
7	Experimentální část	24
7.1	Použité suroviny	24
7.2	Použité přístroje	24
7.3	Příprava roztoků.....	24
7.3.1	Příprava molálních roztoků	25
7.3.2	Příprava molálních roztoků	25
7.4	Použité metody	26
7.4.1	Měření hustoty	26
7.4.2	Měření osmolality.....	26
7.5	Zpracování výsledků.....	27
7.5.1	Převody koncentrací	27
7.5.2	Odhad molálního objemu	29

8	Výsledky.....	30
9	Diskuse	50
10	Závěry.....	55
11	Použitá literatura.....	56

1 Abstrakt

Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra: Katedra farmaceutické technologie

Školitel: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Posluchač: Veronika Bouallagui

Název diplomové práce: Osmolalita parenterálních přípravků. Parenterální směsi 1.

V této práci byla měřena hustota a osmolalita izotonických roztoků chloridu sodného a glukosy a jejich směsí připravených v molální a/nebo molární koncentraci. Osmolalita byla přímo úměrná rostoucí látkové koncentraci, toto však platilo pouze pro roztoky samotných látek; u směsí byla osmolalita ovlivněna poměrem chloridu sodného a glukosy. Hustota byla měřena při 20°C a 25°C; průměrná hustota roztoků při 20°C byla využita pro převod molality na molaritu a naopak, k odhadu osmolarity a k odhadu měrného specifického objemu V_g (ml/g) a molálního objemu V_{mol} (ml/mol) rozpuštěné látky. Měrný specifický objem a molální objem glukosy nezávisel na látkové koncentraci, zatímco pro chlorid sodný se s klesající látkovou koncentrací snižoval. Výsledná hodnota V_g a V_{mol} u směsí obou látek byla ovlivněna koncentrací a podílem obou složek ve směsi.

Ze tří metod uvedených v USP byl nejpřesnější odhad osmolarity zjištěn pro metodu využívající experimentálně zjištěný měrný specifický objem rozpuštěné látky V_g (ml/g).

2 Abstract

Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradci Králové

Department of: Department of Pharmaceutical Technology

Consultant: Doc. PharmDr. Zdeňka Šklubalová, Ph.D.

Student: Veronika Bouallagui

Title of Thesis: Osmolality of parenteral preparations. Parenteral mixtures 1.

In this work, density and osmolality of isotonic solutions of sodium chloride and glucose and their mixtures was measured in the molal and / or molar concentration, respectively. Osmolality was directly proportional to the increasing concentration of substance, but this is true only for solutions themselves substances; osmolality was affected by the ratio of sodium chloride and glucose in mixtures. The density of the solutions was measured at 20°C and 25°C, the average density at 20°C was used for the conversion of molality to molarity and vice versa, to estimate the osmolarity and to estimate the partial specific volume V_g (ml/g) and molal volume V_{mol} (ml/mol) of the solute. Partial specific volume and molal volume of glucose not relate directly to concentration of substance while decreased for sodium chloride with decreasing concentration of substance. Resulting value V_g and V_{mol} for mixtures of both compounds were affected by the concentration and the ratio of the two components in the mixture.

Out of the three methods outlined in USP, the method using experimentally determined the partial specific volume V_g (ml/g) of the solute was found to be best for estimation of osmolarity.

3 Zadání

Teoretická část této diplomové práce je zaměřena na vlastnosti parenterálních přípravků a požadavky na jejich výrobu s ohledem k zajištění požadované jakosti. Dále je zde uvedeno praktické využití parenterálních přípravků, s důrazem na parenterální směsi chloridu sodného a glukosy.

Cílem experimentální části diplomové práce bylo:

- 1) Připravit izotonické roztoky chloridu sodného a glukosy a jejich směsi ve dvou koncentracích, molální (mol/kg) a molární (mol/l).
- 2) Změřit hustotu a relativní hustotu při 20°C a 25°C a osmolalitu těchto roztoků.
- 3) Využít průměrnou hustotu při 20°C pro vzájemné převody mezi molalitou a molaritou a naopak, pro odhad osmolarity.
- 4) Využít průměrnou hustotu při 20°C a pro odhad měrného specifického objemu a molálního objemu rozpuštěných látek. Posoudit změny těchto charakteristik po jejich smísení do infuzní směsi s ohledem na předpoklad aditivity měrného specifického objemu a molálního objemu rozpuštěných látek.

4 Seznam symbolů a zkratek

Tab. 1: Seznam použitých symbolů

Symbol	Vysvětlení	Jednotka
C	koncentrace rozpuštěné látky	kg/l
c	molarita	mol/l
c_{os}	osmolarita	mosmol/l
f	převodní faktor	
h_c	hustota molárního roztoku	g/ml
h_m	hustota molálního roztoku	g/ml
m	molalita	mol/kg
M_0	navážka látky	g
m_{os}	osmolalita	mosmol/kg
M_r	hmotnost roztoku	g
M_v	hmotnost vody	g
M_w	molekulová hmotnost	g/mol
n	počet částic	
rh_c	relativní hustota molárního roztoku	g/ml
rh_m	relativní hustota molálního roztoku	g/ml
V_c	objem molárního roztoku	ml
V_g	měrný specifický objem látky	ml/g
V_m	objem molálního roztoku	ml
V_{mol}	molální objem látky	ml/mol
V_v	objem vody	ml
η	látkové množství	mol
Φ	molální osmotický koeficient	

5 Úvod

Parenterální přípravky jsou sterilní přípravky určené k podání do lidského nebo zvířecího těla injekcí, infuzí nebo implantací.¹ Hrají významnou roli při úpravě složení či objemu tělesných tekutin, při parenterální výživě a to ve formě infuzních roztoků, v menším objemu se jedná o injekce, jež se často používají v neodkladné péči nebo tam, kde perorální podání není možné.²

Velký význam mají v terapii parenterální infuzní směsi chloridu sodného a glukosy, které se používají u dehydratace, zejména tam, kde jsou ztráty vody větší než ztráty elektrolytů, tj. u hypertonické dehydratace. Glukosa ve směsi zastává funkci rychlého zdroje energie, zatímco sodík je jako extracelulární kationt nezbytný k udržení objemu tělesných tekutin. Ve formě chloridu pak hraje roli v udržení acidobazické rovnováhy.^{3,4}

Pro zajištění optimálního účinku v lidském organismu je důležité dosažení určitých vlastností parenterálního přípravku. Cílem prováděného experimentu bylo porovnat změny ve vlastnostech parenterálních směsí vyvolaných mísením neelektrolytu glukosy a silného elektrolytu chloridu sodného. Dále byly sledovány změny ve vlastnostech individuálně připravovaných roztoků chloridu sodného a glukosy ve stejné koncentraci jako v příslušné směsi.

6 Teoretická část

6.1 Parenterální přípravky

Z důvodu podání přímo do lidského těla jsou na ně kladeny vysoké požadavky, aby se minimalizovalo riziko mikrobiální a částicové kontaminace a kontaminace pyrogenními látkami.

Při této aplikaci se obchází gastrointestinální trakt, čehož se využívá pro přípravu léčiv, které jej dráždí, mají vysoký first past efekt nebo není perorální aplikace možná z důvodu destrukce v kyselém prostředí žaludku. Další výhody spočívají v rychlém nástupu účinku anebo téměř kompletní biologickou dostupnost.²

Můžeme je dělit z několika hledisek, podle objemu, aplikační cesty nebo lékové formy. Rozlišujeme tyto základní druhy parenterálních přípravků injekce, infuze, koncentráty pro injekce nebo infuze, prášky pro injekce nebo infuze, gely pro injekce a implantáty.^{1,5}

Injekce

Injekce jsou jednodávkové nebo vícedávkové sterilní přípravky, které se aplikují zpravidla v malém objemu, několika mililitrů. Vícedávkové přípravky, pokud není uvedeno jinak, obsahují vhodné protimikrobní přísady a jsou objemově větší, maximálně však 100 ml.²

Infuze

Infuze jsou sterilní vodné roztoky nebo emulze typu O/V, kde je voda kontinuální fází, jsou určeny k intravenózní aplikaci ve velkých objemech od 100 do 1000 ml. Neobsahují protimikrobní přísady. Mezi infuze řadíme výživové parenterální přípravky, přípravky k doplnění tekutin a elektrolytů, náhrady krevní plazmy, roztoky pro výplachy, roztoky pro dialýzu.²

Koncentrované roztoky pro injekce nebo infuze

Jedná se o sterilní roztoky, které se před vlastní aplikací ředí předepsaným objemem předepsaného rozpouštědla. Po zředění musí splňovat požadavky pro injekce nebo infuze.^{1,5}

Prášky pro injekce nebo infuze

Jsou to sterilní tuhé látky přeplněné v konečných obalech, po přidání sterilní kapaliny v požadovaném objemu vzniká čirý roztok nebo homogenní suspenze, která vyhovuje požadavkům na injekce nebo infuze. Za prášky pro injekce nebo infuze považujeme lyofilizáty.^{1,5}

Gely pro injekce

Jsou to sterilní gely, jejichž viskozita zajišťuje řízené uvolňování léčivé látky v místě aplikace.¹

Implantáty

Implantáty patří mezi depotní léky. Jsou to sterilní pevné přípravky, jejich tvar a velikost jsou přizpůsobeny, aby umožňovaly aplikaci pod kůži nebo do tkáně. Pokud jsou vyráběny z biodegradovatelného polymeru není nutné chirurgické odstranění.⁵

U parenterálních přípravků se hodnotí sterilita, apyrogenita, přítomnost cizích látek a těsnost uzavření obalů.²

6.1.1 Aplikační cesty

Subkutánní (s.c.), injekce se aplikuje do podkoží. Takto se podávají např. vakcíny, inzulín, adrenalin... Množství je maximálně 2 ml. Při aplikaci, zvláště u diabetických pacientů, je nutné měnit místo vpichu, aplikaci stále do stejného místa by mohla vést k infekci případně až k nekróze. Nástup účinku je zpomalený.

Intramuskulární (i.m.) injekce se podává do svalu, nejčastěji hýždě, ramene nebo stehna. Jsou to roztoky, emulze V/O nebo O/V, suspenze vodné i olejové, koloidní suspenze. Injekce se podávají v objemu do 4 ml. Po aplikaci se vytváří depo, vstřebávání je rovnoměrné a pomalé.

Intravenózní (i.v.) injekce se aplikuje přímo do krevního řečiště, je to nejrychlejší způsob aplikace. Je vhodný pro látky s krátkým poločasem účinku, s vysokým first past efektem nebo látky aplikované ve velmi malém množství. A samozřejmě v případech tam, kde není aplikace jiným způsobem možná a k bezprostředním záchraně života. Jsou to roztoky nebo emulze s vodou jako kontinuální fází.

Další místa k podání jsou využívány méně často. Mezi ně patří např. intradermální, používané k tuberkulinovému testu nebo k diagnostice alergenů. Aplikují se velmi malé objemy.²

6.1.2 Pomocné látky

Léčivé přípravky se skládají z léčivé látky nebo jejich směsí a pomocných látek, samostatná léčivá látka se používá jen výjimečně.

Pomocné látky můžeme definovat jako chemicky jednotné nebo nejednotné suroviny, které dělíme na technické pomocné látky a farmakologické pomocné látky. Technické pomocné látky nejsou ve finálním přípravku obsaženy, používají se v technologickém procesu k usnadnění nebo dokonce k umožnění přípravy či výroby léčivého přípravku. Farmakologické pomocné látky jsou součástí přípravku, musí být bez vlastního léčebného účinku, používají se k zajištění farmaceutické stability, kontroly vlastností produktu, zlepšení parenterálního podávání či zajištění sterility. K opatření účinnosti a bezpečnosti parenterálních přípravků se používají antioxidanty, protimikrobní látky, pufrovací a solubilizační přísady a tenzidy a izotonizační látky.^{2,5}

Volba pomocných látek u parenterálních přípravků závisí na několika faktorech, z nichž nejdůležitější je způsob podání, terapeutický požadavek a objem přípravku. Obsah pomocných látek je tedy rozdílný u injekcí a infuzí, zatímco u injekcí se používají stabilizátory, rozpouštědla, izotonizační přísady a protimikrobní látky, u infuzí žádné protimikrobní látky obsažené nejsou.⁵

Antioxidanty

Mezi antioxidanty používané pro hydrofilní roztoky patří soli oxidu siřičitého, zahrnující siřičitany, hydrogensiřičitany a disiřičitany, které přednostně podléhají

oxidaci a tímto způsobem zvyšují stabilitu produktu. Pro hydrofobní přípravky se nejčastěji používá tokoferol. Mezi antioxidačně působící látky řadíme i chelatační činidla, např. edetan disodný, kyselina vinná nebo citronová, jež vytvářejí komplexy s kovy jako je měď, zinek nebo železo a tím brání katalýze oxidačních procesů. Inertní plyny, dusík, argon, vytvářejí ochranou atmosféru pro látky citlivé na vzdušný kyslík.²

Protimikrobní látky

Protimikrobní přísady přidáváme tam, kde není možná sterilizace, při aseptické přípravě nebo k vícedávkovým přípravkům. Při výběru vhodné protimikrobní látky musíme dávat pozor na možné inkompatibility, např. proteiny mohou vázat thiomersal a to vede ke snížení protimikrobního účinku. V injekcích dále používáme benzylalkohol, chlorbutanol a nebo parabeny ve vhodné koncentraci.²

Pufrovací přísady

Pufry obsahují směsi slabých kyselin a jejich soli nebo slabých zásad a jejich soli. Stabilita, ale i rozpustnost mnohých léčiv závisí na hodnotě pH. Pro tento účel se nejčastěji používá acetátový, citrátový a fosfátový pufr, dále ve vhodných případech i aminokyseliny.²

Solubilizační přísady a tenzidy

Solubilizační přísady a tenzidy napomáhají k zvýšení rozpustnosti špatně rozpustných látek. Snižují povrchové napětí, čímž zvyšují stabilitu koloidních disperzí. Mezi zástupce používané v parenterálních přípravcích patří polysorbáty, sorbitany, lecitin.²

Izotonizační látky

Izotonizační přísady jsou velmi důležité pro přípravu izotonického nebo aspoň izotonicky blízkého roztoku. Lidský organismus je kompatibilní s roztoky, které mají podobný osmotický tlak, např. červené krvinky nebo krevní plazma mají osmotický tlak odpovídající 0,9% roztoku chloridu sodného, jsou tedy izoosmotické a

izotonické.⁴ Infuze anebo injekce podávané všemi aplikačními cestami kromě intravenózní musí být izotonické, abychom se vyhnuli bolestivé aplikaci, dráždění tkáně v místě vpichu nebo celkovému reakci organismu. Roztok bez předchozí izotonické úpravy zvláště při podání infuze, ať už hypertonický nebo hypotonický, může vést vlivem osmotického tlaku až k hemolýze nebo smršťování červených krvinek. K přípravě izotonických parenterálních přípravků nejčastěji slouží chlorid sodný a glukosa.^{2,6}

Infuzní přípravky jsou obvykle izotonické roztoky sloužící k úpravě objemu či složení tělesných tekutin. Pro udržení homeostázy organismu je nutné mít dostatek tekutin, elektrolytů a živin.⁴ Izotonický roztok chloridu sodného 0,9% se používá k rehydrataci organismu pomocí sodného kationtu a také k udržení acidobazické rovnováhy, chloridový aniont okyseluje organismus a toho se využívá v léčbě alkalózy. Izotonické roztoky glukosy se také používají jako náhrada tělesných tekutin a navíc zastávají funkci rychlého zdroje energie.⁴ Roztoky udržující objem, např. infuzní roztok dextransu 40 se připravují rozpouštěním v infuzním roztoku chloridu sodného 0,9%, tak získáme izotonický roztok.¹

Rozpouštědla

Rozpouštědla (vehikula) dělíme na hydrofilní, hydrofobní a s vodou mísitelná.

Mezi hydrofilní patří voda na injekce, je to nepyrogenní voda určena k přípravě nebo výrobě parenterálních léků (nerozplněná voda) anebo nepyrogenní a sterilizovaná voda používaná k rozpouštění nebo ředění parenterálních přípravků těsně před aplikací (rozplněná voda).¹

Hydrofobní a s vodou mísitelná rozpouštědla se používají při výrobě injekčních přípravků. S vodou mísitelná rozpouštědla zlepšují rozpustnost a slouží i jako stabilizátory, patří sem etanol, glycerol, propylenglykol, makrogol 300.⁷ Mohou být dráždivé anebo zvyšovat toxicitu, zvláště ve větším množství nebo vyšší koncentraci. Bolestivá aplikace je u injekcí obsahující vyšší koncentrace etanolu. Hydrofobní rozpouštědla používáme ke zvýšení stability látek, které podléhají hydrolýze, anebo pro zlepšení rozpustnosti. Používané rostlinné oleje sezamový, kukuřičný,

podzemnicový a bavlníkový mohou být při aplikaci mírně dráždivé a u některých pacientů mohou vyvolat alergickou reakce.²

6.2 Osmotický tlak, osmolalita a osmolarita

Osmotický tlak

Osmotický tlak závisí na počtu částic v roztoku, patří mezi koligativní vlastnosti.⁸ Mezi částice řadíme molekuly, ionty nebo dimery. U nedisociovaných roztoků je osmotický tlak přímo úměrný jejich molalitě. Molální roztok odpovídá jednomu molu látky rozpuštěného v 1000,0 g rozpouštědla. Kdežto molární roztok získáme rozpuštěním jednoho molu látky a doplněním roztoku rozpouštědlem vytemperované na 20°C do 1000,0 ml.

Pokud je mezi dvěma vodnými roztoky o různé koncentraci semipermeabilní membrána, bude rozpouštědlo přecházet z roztoku o nižší koncentrace do roztoku s vyšší koncentrací, tento přestup se nazývá osmóza. A tlak, který je nutný k přestupu přes membránu, je osmotický tlak. Rozpouštědlo přechází proti koncentračnímu gradientu a do doby než se osmotický tlak vyrovná s hydrostatickým tlakem.^{9,10}

Osmolalita

Osmolalita udává osmotickou aktivitu rozpuštěných látek v roztoku. Je to experimentální hodnota. Osmolalita přímo souvisí s osmotickým tlakem, protože ten je závislý na počtu částic v kilogramu rozpouštědla.

Osmolalita je dána tímto vztahem:¹¹

$$m_{os} = m \cdot n \cdot \phi \quad (1)$$

m_{os} = osmolalita (osmol/kg)

n = počet částic

m = molalita (mol/kg)

Φ = molální osmotický koeficient

Molální osmotický koeficient lze zjistit experimentálně měřením kryoskopické hodnoty v různých molálních koncentracích. Pro farmaceutické účely je hodnota osmotického koeficientu menší než 1. Molální osmotický koeficient klesá s nárůstem koncentrace roztoku

Měření osmolality se provádí v osmometru měřením kryoskopické hodnoty. Ke kalibraci zařízení potřebujeme porovnávací roztoky.^{8,11}

Osmolarita

Osmolarita je teoretická hodnota, proto ji nemůžeme zjistit experimentálně. Pro stanovení její hodnoty se využívá převodu z osmolality nebo můžeme využít níže uvedeného vztahu.

Je dána tímto vztahem:¹¹

$$c_{os} = c \cdot n \quad (2)$$

c_{os} = osmolarita (osmol/l)

c = molarita (mol/l)

n = počet částic

Hodnota osmolarity je u reálné kapaliny vyšší než u ideální kapaliny, protože nepočítá s interakcemi mezi částicemi vznikajícími rozpuštěním nebo mezi rozpouštěnou látkou a rozpouštědlem.⁸

6.3 Infuzní přípravky

Infuzní přípravky jsou sterilní, nepyrogenní vodné roztoky nebo emulze s vodou jako kontinuální fází. Pomocné látky jsou v infuzích často zastoupeny ve velkém množství a po i. v. aplikaci vykazují terapeutický účinek. Oproti injekcím nejsou v infuzních přípravcích zastoupeny žádné protimikrobní látky. Infuzní přípravky jsou určeny k intravenóznímu podávání kanylou v objemech větších než 100 ml a slouží k úpravě objemu či složení tělesných tekutin, parenterální výživě nebo jako nosné roztoky pro aplikaci léčiv.^{2,4,5}

Totální parenterální výživa

Totální parenterální výživa (TPN), obsahuje sacharidy, proteiny, tuky, elektrolyty a stopové prvky. Je vhodná pro pacienty postupující chemoterapii, s gastrointestinálními potížemi anebo pacienty trpící anorexií.^{2,4}

Infuzní přípravky upravující objem

Parenterální přípravky k úpravě objemu, podávají se roztoky glukosy nebo elektrolytů k doplnění vody a živin. Tímto způsobem se vyhneme možné osmotické hemolýze červených krvinek, která by hrozila při podání samostatného vodného roztoku. U starších pacientů, pacientů s poškozenými ledvinami nebo s kardiovaskulárními chorobami je potřeba sledovat krevní tlak, který by se mohl zvýšit v důsledku objemové zátěže.^{2,4}

Infuzní přípravky elektrolytů

Roztoky elektrolytů, obsahují základní prvky jako je sodík, draslík, vápník a jiné pro tělo nezbytné látky.

Draslík je intracelulární kationt důležitý pro správnou činnost srdce a kosterního svalu. Deplece draslíku je způsobena nadměrným pocením, popáleninami nebo užíváním kličkových či thiazidových diuretik. Používá se ve formě chloridu, před aplikací je nutné roztok naředit. Koncentrovaný roztok může vést až k smrti pacienta!

Sodík, extracelulární kationt nutný k udržení objemu tělesných tekutin. Ve formě chloridu, hraje důležitou roli v udržení acidobazické rovnováhy.

Vápník se používá ve formě glukonátu nebo fosforečnanu. Možná precipitace fosforečnanu vápenatého je zdrojem inkompatibilit.^{2,4}

Kardioplegika

Kardioplegika slouží k prevenci ischemie při chirurgickém zákroku srdce. Jsou to mírně alkalické a hypertonické roztoky elektrolytů.^{2,4}

Roztoky pro výplachy

Roztoky pro výplachy jsou určeny pro výplach ran, tělesných dutin a tkání.

Peritoneální dialyzační roztok používáme k odstranění odpadních látek, které jsou normálně vylučovány ledvinami. Roztoky obsahují glukosu, vitamíny, minerály,

elektrolyty, a aminokyseliny nebo peptidy jako zdroj dusíku. Připravují se hypertonické roztoky.^{2,4}

6.4 Výroba parenterálních přípravků

Parenterální přípravek musí splňovat několik požadavků. Musí být připravovaný za takových podmínek, které zaručují čistý produkt. Nesmí obsahovat živé mikroorganismy a pyrogeny, částice může obsahovat v určitém limitním množství.

Příprava s terminální sterilizací

Příprava roztoků s následnou filtrací a sterilizací má probíhat alespoň v prostorách třídy D, u přípravků podporujících mikrobiální růst by měla být použita třída C. Přeplňování parenterálních přípravků by se mělo odehrávat v laminárním boxu, což odpovídá třídě A v pozadí třídy C.¹²

Aseptická příprava

Tento druh přípravy je vhodný pro látky, které není možné v konečné fázi sterilizovat. Příprava se provádí v izolátorech, což odpovídá třídě čistoty A v pozadí s třídou čistoty B, kde se hotový produkt plní do předem sterilizovaného primárního obalu. Nebo také pro léčivé přípravky, které nejsou hromadně vyráběny a jiná možnost přípravy není možná. Při přípravě se musí dbát velké obezřetnosti, aby nedocházelo ke kontaminaci produktu i obalu. Veškeré vybavení, pomůcky a zařízení je před použitím sterilizováno.¹²

6.4.1 Požadavky na parenterální přípravek

Pro parenterální přípravky je nutné dodržovat závazné normy, abychom získali bezpečný a sterilní přípravek bez přítomnosti pyrogenů a viditelných částic. Dále parenterální přípravek musí vyhovovat požadavkům na jejich stabilitu, kompatibilitu a izotonicitu.^{5,6}

Bezpečnost

Bezpečnost parenterálií musí být zaručena, aby nedocházelo k poškození organismu. Jednou z možností k prokázání bezpečnosti přípravků je testování na zvířatech, tímto způsobem lze zjistit, zvláště u biologických produktů, jestli nemají neočekávaný toxický účinek. Testování zahrnuje kromě testů na sterilitu, pyrogenitu a/nebo endotoxinový test, také chemickou analýzu a reakci organismu po aplikaci injekce.⁶

Sterilita

Sterilní je léčivých přípravek v tom případě, jestli je z něho odstraněn veškerý živý nebo životaschopný mikroorganismus a vyhovuje zkouškám na sterilitu. Toho lze dosáhnout několika způsoby, aseptickou přípravou během celého výrobního procesu, filtrací přes bakteriální filtr nebo sterilizací finálního výrobku v primárním obalu.⁶

Apyrogenita

Vzhledem k možným komplikacím v organismu, které mohou pyrogeny obsažené v parenterálních přípravcích po aplikaci způsobit, typické je zvýšení teploty nad 38°C, je požadováno, aby byl přípravek prostý pyrogenních částic. Parenterální přípravek tak musí vyhovovat zkoušce na bakteriální endotoxiny nebo zkoušce na pyrogenní látky.^{5,6}

Čiřost

Čiřost neboli míra zakalení, je ukazatelem kvality při přípravě parenterálních přípravků. V přípravku nesmí být přítomny viditelné částice, sledována je přítomnost částice pod hranicí viditelnosti ve velikostním rozmezí 10-25 μm .¹

Při hodnocení kontaminace viditelnými částicemi se využívá vizuální detekce, obsah zkoušeného roztoku se opatrně rozvíří a osvětlí bílým světlem, následně se pozoruje proti neoslňující bílé desce přibližně 5 s, postup se poté opakuje proti matné černé desce. Zaznamená se přítomnost všech částic.¹ Pro hodnocení kontaminace částicemi pod hranicí viditelnosti se využívají dvě metody, hodnocení počtu částic cloněním světla a mikroskopické hodnocení počtu částic. První uvedená metoda je u hodnocení

infuzí a injekcí upřednostňována, používá vhodný přístroj, který na principu clonění světla umožňuje automatické stanovení velikosti částic a jejich počtu. Před vlastním stanovením je nutná kalibrace přístroje.¹ Pro viskózní nebo málo čiré přípravky je vhodné použít mikroskopické hodnocení.¹

Cizorodé částice se do přípravku mohou dostat několika způsoby, vnesením při výrobě z přístrojů, filtrů, obalů nebo z ovzduší, všeobecně se tomuto říká kontaminace ze vzduchu, další možností je z vlastního přípravku z důvodu dlouhodobého skladování nebo dochází k vypadávání krystalů z přesyceného roztoku.⁵ K metodám redukujícím přítomnost cizorodých částí patří sanitační řád veškerého používaného vybavení a obalů, dále pak vstupní, mezioperační a výstupní kontroly během výroby zahrnující mikrobiální testy. A samozřejmě pro minimalizaci částicové kontaminace je důležité zdokonalení procedur pro detekci všech částic a vyškolený personál s patřičným vzděláním.⁶

Stabilita

Stabilita by měla být zaručena po celou dobu během přípravy, balení, skladování a užívání. Některé parenterální přípravky jsou nestabilní v přítomnosti rozpouštědla, toto se dá vyřešit přípravou prášku lyofilizací a následnou přípravou roztoku v čase potřeby. Ale i další fyzikální a chemické faktory ovlivňují stabilitu přípravku, jako například teplo, světlo, pH, vzdušný kyslík a kovové nečistoty, u sterilních přípravků nesmíme zapomenout i na mikrobiologickou stabilitu.⁶

Kompatibilita

Další důležitou podmínkou parenterálií je kompatibilita součástí léčivého přípravku, zejména pak rozpouštědla s rozpouštěnou látkou. Parenterální přípravky mohou obsahovat více komponent a je nezbytné, aby všechny součásti byly kompatibilní.⁶

Izotonicita

Poslední vlastností je izotonicita. Parenterální přípravek by měl být izotonický, což znamená, že osmotický tlak parenterálního přípravku odpovídá osmotickému tlaku

buňkám organismu. Toto také vede ke snížení bolestivosti, dráždění a dalším reakcím organismu v místě aplikace. V případě hypotonického roztoku může docházet k praskání buněk, u červených krvinek se tomu říká hemodialýza, naopak hypertonický roztok způsobuje tzv. svrašťování nebo smrskání buněk, dochází k vysychání.⁶

6.4.2 Výrobní prostory

Parenterální přípravky se vyrábějí za takových podmínek, aby se minimalizovalo riziko mikrobiální a částicové kontaminace a kontaminace pyrogenními látkami. Výroba se uskutečňuje v čistých prostorách, které definují zásady Správné výrobní praxe obsahující právně závazné normy.¹³ Použité pracovní postupy musí být validovány a pečlivě dodržovány k zajištění bezpečných, účinných a kvalitních léčivých přípravků.

Čisté prostory – třídy čistoty

V Evropské unii se dělí čisté prostory do 4 tříd, značené písmeny A, B, C a D. V USA mají třídy čistoty číselnou hodnotu 100, 10 000 a 100 000. Hodnoty uvedené v tabulce 2 ukazují rozdíly dle norem EU a USA, dříve se lišily i od ISO norem, ale dnes je snaha co nejvíce tyto hodnoty sjednotit. V EU jsou čisté prostory a zařízení hodnoceny v souladu s EN ISO 14644-1.

V prostorách třídy čistoty A se provádějí vysoce rizikové činnosti, např. rozplňování injekcí do ampulek. Podmínky jsou zajišťovány vzduchotechnickými systémy s laminárním prouděním vzduchu. Při aseptické přípravě jsou tyto prostory obklopeny třídou čistoty B. Prostory s třídou čistoty C nebo D je určeny pro méně kritické činnosti ve výrobě sterilních přípravků.¹⁴

Tab. 2: Klasifikace čistých prostor a zařízení ^{5,9,14}

Třída čistoty		Maximální přístupná počet částic/m ³ o velikosti rovné nebo větší					
		Za klidu		Za provozu		FDA	
EEC (EU)	FDA (USA)	EEC (EU)				FDA (USA)	
		0,5 μm	5,0 μm	0,5 μm	5,0 μm	0,5 μm	5,0 μm
A	100	3520	20	3520	20	3530	0
B	100	3520	29	352000	2900	3530	0
C	1000	352000	2900	3520000	29000	353000	2470
D	10000	3520000	29000	neodef.	neodef.	3530000	24700

Tab. 3: Doporučené limity pro mikrobiologickou kontaminaci čistých prostor ve stavu „za provozu“, dle EU ^{14,12}

Třída	Doporučené limity pro mikrobiologickou kontaminaci			
	Vzorkování vzduchu CFU/m ³	Petriho miska (průměr 90 mm) CFU/4 hod	Kontaktní desky (průměr 55 mm) CFU/deska	Otisk rukavice 5 prstů CFU/rukavice
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Vzduchotechnika

Čistotu ovzduší ve výrobních prostorách zajišťuje systém vzduchotechniky a to několika způsoby, filtrováním a udržováním teploty a vlhkosti vzduchu, cirkulací vzduchu, odváděním vydýchaného a přívodem čerstvého vzduchu.

K odstranění částicové a mikrobiální kontaminace se používá filtrace vzduchu za pomoci vysoce účinného filtru HEPA. Ve třídě čistoty A se používá HEPA filtr s minimálně 99,997% účinností v odstranění částic o velikosti 0,3 μm. ^{12,13}

Proudění vzduchu musí být regulováno, aby se nevolňovaly částice z pracovníků nebo podlah místnosti. Proudění vzduchu se podle podmínek v místnosti může dělit na turbulentní nebo laminární. V prostorách třídy čistoty A je nutné používat laminární proudění vzduchu, v tomto případě je možné předpovídat směr šíření částic uvolněných, např. z personálu. Laminární proudění může probíhat vertikálním nebo horizontálním směrem. Při vertikálním proudění vzduchu s odvodem zdvojenou podlahou hrozí kontaminace pracovní plochy, tedy i produktu. V praxi je používáno vertikální proudění s postranním odsáváním. Jak již bylo zmíněno výše práci s velmi rizikovými produkty je lepší uskutečnit v izolátoru.^{5,12}

Správná výrobní praxe také definuje, jak mají být jednotlivé místnosti pro sterilní přípravu stavěny a používány. Místnost a veškeré vybavení je navrženo tak, aby se zabránilo nebo aspoň minimalizovalo riziko kontaminace produktu. Přístroje a vybavení jsou rozmístěny v takovém pořadí, aby se snížil pohyb personálu v čistém prostoru. Každý pohyb, mluvení nese určitá rizika kontaminace a uvolnění mikroorganismů z pokožky či úst pracovníků, toto je tzv. částicový a mikrobiální potenciál člověka.⁵

Každá místnost pro přípravu sterilních léčiv je konstruována, aby se dala snadno uklízet a desinfikovat, proto musí být podlahy, stěny i stropy hladké, celistvé a z materiálu, který dovoluje sterilizaci. V žádném případě nesmí být v těchto místnostech použity dlaždice, protože spáry mezi jednotlivými dlaždicemi by mohly být rizikem reziduální kontaminace. I nábytek musí být snadno otíratelný a čistitelný. Pravidelná sanitační údržba musí zajistit, aby nedocházelo k usazování prachu a jiných nečistot. Čistotu prostředí, kromě úklidu a směrníc upravujících chování v těchto místnostech, zajišťuje vzduchotechnika a HEPA filtry. Pro změnu prostor s jinou třídou čistotou se používají propusti materiálové a personální. Před vložením materiálu a pomůcek do prostor s vyšší třídou čistoty se vše nejdříve očistí detergentem anebo desinfekčním roztokem a poté je vložen do propusti, která má dvojité dveře, aby se nemohly otevřít současně.^{5,12}

Oblečení pracovníků

Vstup pracovníku přes personální propusti probíhá přes lavici, nejdříve si pracovník odloží plášť a obuv, které používá mimo čisté prostory a potom se přehoupne přes lavici, nesmí se dotknout podlahy, dokud si nevezme přezůvky, jež má zde připravené, následuje antiseptické mytí rukou i předloktí, oblek se skládá buď jednodílně z kombinézy nebo dvoudílně z kabátku a kalhot, vlasy se kompletně zakryjí čepicí, přes ústa se nasadí rouška, konce nohavic jsou uvnitř vhodné obuvi a rukávy jsou zastrčeny v sterilizovaných, nezasypaných rukavicích. Z oblečení se nesmí uvolňovat vlákna ani jiné částice. Po tomto procesu pracovník vstoupí do místnosti, kde je umístěn izolátor.^{5,12}

Izolátory

Izolátory jsou často používány v nemocničních lékárnách při aseptické přípravě sterilních přípravků. Jedná se o uzavřený box opatřený rukávy, které umožňují personálu práci uvnitř, tímto způsobem se minimalizuje riziko mikrobiologické kontaminace z prostředí a také jej chrání před možným škodlivým účinkem produktu, např. cytostatik. Dalším rizikovým faktorem kontaminace je přestup materiálů materiálovou propustí izolátoru. Práce v izolátoru může být za přetlaku nebo podtlaku. Přetlak se používá při aseptické výrobě nebo k testování sterility přístroje. Při výrobě cytostatik se užívá podtlak.¹²

6.4.3 Sterilizační metody

Sterilizace znamená zničení všech životaschopných organismů a jejich spor nebo úplné odstranění z produktu. Všechny sterilizační postupy jsou validovány, aby se ověřila účinnost, správnost a reprodukovatelnost procesů. Vhodnou sterilizační metodu zvolíme podle vlastnosti přípravku a jejich složek.⁴ Sterilizační postupy dělíme na fyzikální, řadíme sem sterilizaci teplem (suché i vlhké), ionizujícím zářením a bakteriální filtrací, a chemické, používají se baktericidní plyny.⁵

Pokud je to možné, preferuje se sterilizace v konečném obalu.¹ Nemůžeme-li použít sterilizaci v konečném obalu, použijeme bakteriální filtraci nebo aseptické zpracování.¹ Kde je to vhodné, výrobek se dodatečně ošetří, např. zahřáním

v konečném obalu.¹ Ve všech případech musí být výrobek sterilní po celou dobu použitelnosti.¹

Validace sterilizace

Sterilita je nepřítomnost životaschopných mikroorganismů. Sterilitu musíme zajistit vhodným validovaným výrobním postupem, sterilitu výrobku nemůžeme zaručit zkoušením. Revalidaci je nutné provést při každé větší změně sterilizačního postupu, včetně změn v sterilizátoru.¹ Vhodnými validačními studii lze stanovit hladinu sterilizační jistoty (SAL), která vyjadřuje statistickou pravděpodobnost přežití mikroorganismu během sterilizačního procesu. Požadovaná hladina sterilizační jistoty 10^{-6} vyjadřuje pravděpodobnou existenci nejvýše jednoho kultivovatelného mikroorganismu v 10^6 položek konečného produktu.¹

Monitorování průběhu sterilizace se provádí fyzikálními, chemickými a biologickými indikátory. Teplotu kontrolujeme pomocí tepelných snímačů, ty zaznamenávají sterilizaci v časovém průběhu, anebo termoindikátory, jedná se o proužky, které se změnou teploty mění barvu, tento údaj neposkytuje informaci o době, kdy bylo dosaženo požadované teploty.⁵ Bioindikátory mohou být použity k ověření účinnosti sterilizace a/nebo revalidaci sterilizace. Používají se bakteriální spory vybraných mikroorganismů rezistentních k dané sterilizační metodě. Jedná-li se o roztoky, přidávají se spory přímo do pečlivě označeného vzorku léčivého přípravku, k pevným látkám se přidává proužek filtračního papíru obsahující spory.^{2,4,5,15} Standardním mikroorganismem, který se při zkouškách sterility používá je *Geobacillus stearothermophilus*.¹⁵

Sterilizace parou (vlhkým teplem)

Sterilizace parou se provádí buď za zvýšeného tlaku v autoklávu nebo při normálním tlaku v parním sterilizátoru, je vhodná pro termolabilní produkty, které nelze sterilizovat suchým teplem. Vlhkost způsobuje koagulaci bakterií a tím jejich zničení za nižší teploty. Tato metoda je vhodná k sterilizaci vodných roztoků, ampulek.

Naopak není vhodná pro přípravky obsahující tuky, oleje nebo prášky, které by mohly být vlhkostí zničeny.⁴

Pro reprodukovatelnost a účinnost této metody je nutné kontrolovat rychlost vstupu páry do autoklávu, účinné odloučení vody od vstupující páry, množství odtoku a použitého vakua.² Minimální teplota pro sterilizaci je 121°C pod dobu 15 minut pro vodné přípravky. Jako bioindikátory se používají spory *Geobacillus stearothermophilus*.¹⁵

Sterilizace suchým teplem

Sterilizace suchým teplem je méně účinná v usmrcení organismů než sterilizace parou, k usmrcení mikroorganismu využívá hlavně oxidaci. Používají se horkovzdušné sterilizátory, ve kterých musí být zaručena intenzivní cirkulace horkého vzduchu. Z těchto důvodů je nutné použít vyšší teplotu a delší čas expozice, např. 120 minut při 160°C. Je vhodná pro produkty obsahující oleje, glycerol, minerální oleje a prášky, např. oxid zinečnatý.^{2,5} K monitorování účinku sterilizace se používají bioindikátory obsahující spor *Bacillus atrophaeus*.¹⁵

Sterilizace ionizujícím zářením

Sterilizace se provádí za použití gama záření nebo svazkem elektronů. Ionizujícím zářením se ireverzibilně destruuje chromozomální nukleoproteiny a tím schopnost mikrobů se rozmnožovat. Sterilizace probíhá za obvyčejné teploty, další výhodou je nepřítomnost reziduí sterilizačních prostředků. Nevýhodou této metody je přeměna vody na peroxid vodíku. Doporučená absorbovaná dávka je u bakterií 15 kGy, spor 21 kGy a virů $45 \cdot 10^4$ kGy.^{4,5} Pro přípravu biologických indikátorů se doporučují spory *Bacillus pumilus*.¹

Sterilizace ethylenoxidem

Ethylenoxid je bezbarvá, vysoce hořlavá a ve směsi se vzduchem výbušná kapalina, z toho důvodu se ředí oxidem uhličitým nebo fluorovaným chlórparafínem. K usmrcení mikroorganismu dochází alkyací reaktivních skupin spor a vegetativních

buněk. Sterilizace ethylenoxidem je vhodná pro látky termolabilní nebo nestabilní při vysoké vlhkosti. Provádí se taktéž v autoklávu, minimální expozice je 90 minut při 40-60°C, dávka je 600-1200 mg ethylenoxidu na 1 litr, relativní vlhkost by měla být minimálně 40%.^{2,4,5} K monitorování účinku sterilizace se používají bioindikátory obsahující spor *Bacillus atrophaeus*.¹⁵

Sterilizace bakteriálními filtry

Bakteriální filtrace se používá u výrobku, které se nemohou sterilizovat v konečném obalu.¹ Sterilizace bakteriálními filtry záleží na absorpční ploše filtru. Používají se sterilní filtry o velikosti póru 0,22 µm nebo menší, tímto způsobem se odstraňují bakterie a plísně, nikoliv viry.⁴ Filtry musí být validovány zátěžovými zkouškami s vhodnými mikroorganismy, např. se suspenzí *Brevundimonas diminuta* (původní jméno *Pseudomonas diminuta*) (ATCC 19146, NCIMB 11091, CIP 103020 nebo CCM 4623). Doporučuje se provést zátěž při koncentraci nejméně 10⁷ jednotek vytvářejících kolonie na cm² účinné plochy filtru.¹

Účinnost filtrů záleží na několika faktorech na mikrobiální kontaminaci, pórovitosti filtru, aseptické přípravě a neporušenosti filtru.^{2,4} Z filtru by se neměly uvolňovat vlákna a před a po použití by se měla vyzkoušet neporušenost filtru, např. bublinkovým testem.⁵

Bublinkový test je velmi rozšířená metoda pro stanovení velikosti póru filtru, měří se tlak, který protlačí vzduchovou bublinu skrz póry filtru. Potřebný tlak je nepřímo úměrný k velikosti póru.¹⁶

7 Experimentální část

7.1 Použité suroviny

Glukosa bezvodá – Glucosum anhydricum, ČL 2009, (dodavatel: Jan KULICH s.r.o., Hradec Králové, ČR)

Chlorid sodný – Natrii chloridum, ČL 2009, (dodavatel: Jan KULICH s.r.o., Hradec Králové, ČR)

ultračistá voda, FaF UK, Hradec Králové

7.2 Použité přístroje

Elektronické váhy, ($d = 0,1 \text{ mg}$), Kern ABJ 120-4M (Kern & Sohn GmbH, Německo)

Elektronické váhy, ($d = 0,01 \text{ g}$), Acculab Atilon (Sartorius group, Německo)

Automatický hustoměr DMA 4100M (Anton Paar, Rakousko)

Automatický semi-mikrosmometr DL (Knauer, Německo)

Ultrazvuková vodní lázeň Bandelin Sonorex RK 106 (Bandelin electronic, Německo)

Mikropipeta Eppendorf Research (20-200 μl)

7.3 Příprava roztoků

Připravovala jsem roztoky glukosy, chloridu sodného a jejich směsi podle ČL 2009, Doplněk 2011¹⁷, ve dvou koncentracích, molální (mol/kg) a molární (mol/l). Označení roztoků a navažované množství složek je uvedené v tabulce 4.

Tab. 4: Kódy a složení roztoků chloridu sodného (N) a glukosy (G) a jejich směsí

Kód	Chlorid sodný (g/l resp. kg)	Glukosa (g/l resp. kg)
N	9,00	-
G	-	50,00
NNG	6,00	16,67
NNG-N	6,00	-
NNG-G	-	16,67
NG	4,50	25,00
NG-N	4,50	-
NG-G	-	25,00
NGG	3,00	33,33
NGG-N	3,00	-
NGG-G	-	33,33
NGGGG	1,80	40,00
NGGGG-N	1,80	-
NGGGG-G	-	40,00

7.3.1 Příprava molálních roztoků

Na analytických vahách jsem navážila přesně na 4 desetinná místa vypočítané množství látky. Na laboratorních vahách jsem do kádinky navážila 1000,0 g ultračisté vody. Pevnou látku jsem rozpustila pomocí odvážené ultračisté vody, kvantitativně převedla do zásobní láhve a promísila.

Čerstvě připravené roztoky jsem použila k měření hustoty a osmolality.

7.3.2 Příprava molálních roztoků

Na analytických vahách jsem navážila přesně na 4 desetinná místa vypočítané množství látky. Navážku jsem rozpustila v ultračisté vodě vytemperované přesně na $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ a kvantitativně převedla do odměrné baňky. Doplnila jsem objem vytemperovanou vodou na 1,0 litr a promísila.

Čerstvě připravené roztoky jsem použila k měření hustoty a osmolality.

7.4 Použité metody

7.4.1 Měření hustoty

Hustotu jsem měřila na automatickém hustoměru DMA 4100M. K měření jsem používala připravené molální (mol/kg) a molární (mol/l) roztoky. Před začátkem měření vzorků jsem nejdříve zkontrolovala nastavení přístroje, provedla jsem promytí měřící cely přibližně 5 ml ultračisté vody, předem odpěněné v ultrazvukové vodní lázni po dobu 10 minut a změřila hustotu vody při 20°C. Pokud kontrola proběhla v pořádku, přistoupila jsem k vlastnímu měření vzorků.

Po nastavení teploty měření, jsem promyla měřící celu vzorkem, dokud se na výstupní hadici neobjevil souvislý sloupec kapaliny, poté jsem znovu naplnila celu vzorkem a v okénku přístroje kontrolovala, jestli je vzorek bez bublin. Hustotu jsem měřila při teplotě 20°C a 25°C, každé stanovení jsem prováděla 5 krát.

Po ukončení měření jsem přístroj nastavila na 20°C, důkladně promyla měřící celu ultračistou vodou, poté nasála do injekční stříkačky vzduch a vyfoukla ho do cely a spustila sušení přístroje.

Z výsledků měření hustoty (h_m , resp. h_c) a relativní hustoty (rh_m , resp. rh_c) jsem vypočítala průměr a směrodatnou odchylku v programu Excel. Výsledky jsou uvedeny v Tab. 5-14.

7.4.2 Měření osmolality

Osmolalitu jsem měřila pomocí automatického semi-mikroosmometru DL. Před každým začátkem měření se přístroj musel nakalibrovat na hodnotu 0 mosmol/kg pomocí ultračisté vody a hodnotu 400 mosmol/kg za použití standardního roztoku chloridu sodného připraveného rozpuštěním 12,687g chloridu sodného v 1 kg vody.

Před vlastním měření vzorků jsem si změřila osmolalitu porovnávacích roztoků chloridu sodného připravených dle ČL 2009 –Doplňk 2011¹⁷, jejichž skutečná osmolalita byla v rozsahu 100 až 700 mosmol/kg. Z výsledků měření jsem získala kalibrační rovnici:

$$y = 0,979905 \cdot x + 1,48333 \quad (3)$$

kde y vyjadřuje naměřenou hodnotu osmolality v mosmol/kg a x je ideální hodnota osmolality v mosmol/kg.

Po změření kalibrační křivky, jsem zkumavku důkladně promyla ultračistou vodou, poté jsem ji naplnila pomocí mikropipety 15 μ l připraveného roztoku. Vložila do komory a nechala vytemperovat, poté změřila. U každého vzorku se dělalo pět stanovení. Po naměření hodnoty jsem čekala, než vzorek rozmrzne, po roztátí jsem ho promíchala a zbavila bublin a opět změřila.

Z výsledků měření jsem vypočítala průměr a pomocí kalibrační křivky jsem spočítala skutečnou osmolalitu (mosmol/kg). Výsledky jsou uvedeny v Tab. 5-14.

7.5 Zpracování výsledků

7.5.1 Převody koncentrací

Pro další zpracování výsledků jsem použila průměrnou hustotu roztoků při 20°C. Výpočty byly realizovány v programu Excel.

Převod molality na molaritu

U molálního roztoku známe hmotnost roztoku M_r (g), která je dána součtem hmotnosti vody M_v (g), jejíž navážka je vždy 1000,0 g, a navážky látky M_0 (g), uvedené v tabulkách 15, 17, 19, 21 a 23. Ze zjištěných hodnot hustoty se podílem hmotnosti roztoku M_r (g) a průměrné hustoty molálního roztoku h_m (g/ml) při 20°C získá hodnota objemu molálního roztoku V_m (ml). Tuto hodnotu dále využijeme k převodu molality na molarity,

$$c = \frac{m}{V_m} \quad (4)$$

kde c je molarita roztoku (mol/l), m je molalita roztoku (mol/kg) a V_m objem molálního roztoku (ml).¹⁸

Výsledky výpočtů jsou uvedeny v tabulkách 15, 17, 19, 21 a 23.

Převod molarity na molalitu

K převodu molarity na molalitu potřebujeme zjistit převodní faktor f , který je dán vztahem:¹⁸

$$f = h_c - M_0 \quad (5)$$

kde f vyjadřuje koncentraci vody, h_c je průměrná hustota molárního roztoku (g/ml) při 20°C a M_0 je navážka látky (g/ml).

Ze získané hodnoty převodního faktoru f se určí molalita pomocí rovnice^{18,19}

$$m = \frac{c}{f} \quad (6)$$

Výsledky výpočtů jsou uvedeny v tabulkách 16,18,20, 22 a 24.

Převod osmolality na osmolaritu

Odhadu osmolarity můžeme dosáhnout 3 různými způsoby, uvedenými v USP.⁸

Mezi nejjednodušší patří součin molarity roztoku c (mol/l) a počtu částic (rovnice 2); tato hodnota je nazývána teoretickou osmolaritou a je rovněž využívána v ČL 2009-Doplněk 2011 pro charakterizaci infuzních roztoků¹⁷.

Pro další dvě metody musíme znát hodnoty osmolality m_{os} (mosmol/kg) a hustoty h_m , resp. h_c (g/ml). Použila jsem průměr experimentálně zjištěných hodnot hustoty.

Při odhadu c_{os} je možné vyjít ze znalosti koncentrace vody (g/ml), kterou vypočítáme rozdílem průměrné hustoty roztoku h (g/ml) a koncentrací rozpuštěné látky C (g/ml).

Koncentrace vody tak odpovídá převodnímu faktoru zmíněnému výše.¹⁸

Pro tento vztah platí:

$$c_{os} = m_{os} \cdot (h - C) \quad (7)$$

Pro poslední způsob odhadu c_{os} musíme nejdříve zjistit měrný specifický objem rozpuštěné látky V_g (ml/g), který vyjadřuje změnu objemu roztoku po přidání 1 g látky.⁸ Pro tento výpočet musíme znát objem vody V_v (ml) v roztoku, který je dán podílem hmotnosti vody M_v (g) a hustoty vody h_v při 20°C (0,9982 g/ml)²⁰.

Po zjištění všech náležitostí k výpočtu, osmolaritu získáme tímto vztahem:

$$c_{os} = \frac{1000 \cdot m_{os}}{\left(\frac{1000}{h}\right) + \sum M_0 \cdot V_g} \quad (8)$$

7.5.2 Odhad molálního objemu

Molální objem látky V_{mol} (ml/mol) vyjadřuje změnu objemu roztoku po přidání 1 mol látky. Lze ho určit podobně jako měrný specifický objem. U molálního i molárního roztoku hodnotu molálního objemu zjistíme z objemu rozpuštěné látky a látkového množství, tímto vztahem:

$$V_{\text{mol}} = \frac{(V_r - V_v)}{\eta} \quad (9)$$

kde V_r je objem roztoku (ml), V_v je objem vody (ml) a η je látkové množství rozpuštěné látky v roztoku (mol). Objem molárního roztoku V_c byl vždy 1000,0 ml. Zjištěné hodnoty molálního objemu roztoků V_{mol} (mol/ml) jsou uvedeny v tabulkách 27-28.

8 Výsledky

Tab. 5: Výsledky měření hustoty a osmolality molálních roztoků chloridu sodného (N) a glukosy (G)

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _m								
N	20	h _m	1,0046	1,0047	1,0047	1,0047	1,0047	1,0047	4,47	286
		rh _m	1,0064	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	4,47	
	25	h _m	1,0035	1,0035	1,0035	1,0035	1,0035	1,0035	0	
		rh _m	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	0	
G	20	h _m	1,0166	1,0168	1,0168	1,0168	1,0168	1,0168	8,94	269
		rh _m	1,0185	1,0187	1,0187	1,0187	1,0187	1,0187	8,94	
	25	h _m	1,0156	1,0156	1,0156	1,0156	1,0156	1,0156	0	
		rh _m	1,0186	1,0186	1,0186	1,0186	1,0186	1,0186	0	

Tab. 6: Výsledky měření hustoty a osmolality molárních roztoků chloridu sodného (N) a glukosy (G)

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _c								
N	20	h _c	1,0048	1,0048	1,0048	1,0048	1,0048	1,0048	0	288
		rh _c	1,0066	1,0066	1,0066	1,0066	1,0066	1,0066	0	
	25	h _c	1,0031	1,0035	1,0035	1,0035	1,0035	1,0034	17,9	
		rh _c	1,0061	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0064	17,9	
G	20	h _c	1,0175	1,0175	1,0175	1,0175	1,0175	1,0175	0	254
		rh _c	1,0193	1,0193	1,0193	1,0193	1,0193	1,0193	0	
	25	h _c	1,016	1,0162	1,0162	1,0162	1,0162	1,0162	8,94	
		rh _c	1,019	1,0192	1,0192	1,0192	1,0192	1,0192	8,94	

Tab. 7: Výsledky měření hustoty a osmolality molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NNG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _m								
NNG	20	h _m	1,0088	1,0089	1,0089	1,0089	1,0089	1,0089	4,47	285
		rh _m	1,0106	1,0107	1,0107	1,0107	1,0107	1,0107	4,47	
	25	h _m	1,0076	1,0076	1,0076	1,0076	1,0076	1,0076	0	
		rh _m	1,0106	1,0106	1,0106	1,0106	1,0106	1,0106	0	
NNG-N	20	h _m	1,0026	1,0026	1,0026	1,0026	1,0026	1,0026	0	193
		rh _m	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	0	
	25	h _m	1,0014	1,0014	1,0014	1,0014	1,0014	1,0014	0	
		rh _m	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0440	0	
NNG-G	20	h _m	1,0047	1,0047	1,0047	1,0047	1,0047	1,0047	0	92
		rh _m	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	0	
	25	h _m	1,0035	1,0035	1,0035	1,0035	1,0035	1,0035	0	
		rh _m	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	0	

Tab. 8: Výsledky měření hustoty a osmolality molárních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NNG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _c								
NNG	20	h _c	1,009	1,009	1,009	1,009	1,009	1,0090	0	290
		rh _c	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	0	
	25	h _c	1,0077	1,0078	1,0078	1,0078	1,0078	1,0078	4,47	
		rh _c	1,0107	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	4,47	
NNG-N	20	h _c	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	1,0027	0	195
		rh _c	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	1,0045	0	
	25	h _c	1,0015	1,0014	1,0014	1,0014	1,0015	1,0014	5,48	
		rh _c	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	1,0044	0	
NNG-G	20	h _c	1,0047	1,0047	1,0048	1,0048	1,0048	1,0048	5,48	94
		rh _c	1,0065	1,0065	1,0066	1,0066	1,0066	1,0066	5,48	
	25	h _c	1,0036	1,0036	1,0036	1,0036	1,0036	1,0036	0	
		rh _c	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	0	

Tab. 9: Výsledky měření hustoty a osmolality molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _m								
NG	20	h _m	1,0107	1,0109	1,0109	1,0109	1,0109	1,0109	8,94	280
		rh _m	1,0125	1,0127	1,0127	1,0127	1,0127	1,0127	8,94	
	25	h _m	1,0096	1,0096	1,0097	1,0097	1,0096	1,0096	5,48	
		rh _m	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	0	
NG-N	20	h _m	1,0016	1,0016	1,0016	1,0016	1,0016	1,0016	0	141
		rh _m	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	0	
	25	h _m	1,0006	1,0004	1,0004	1,0004	1,0004	1,0004	8,94	
		rh _m	1,0036	1,0034	1,0033	1,0033	1,0033	1,0034	13,00	
NG-G	20	h _m	1,0077	1,0078	1,0078	1,0078	1,0078	1,0078	4,47	137
		rh _m	1,0095	1,0096	1,0096	1,0096	1,0096	1,0096	4,47	
	25	h _m	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	1,0065	0	
		rh _m	1,0095	1,0095	1,0095	1,0095	1,0095	1,0095	0	

Tab. 10: Výsledky měření hustoty a osmolality molárních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _c								
NG	20	h _c	1,0111	1,0111	1,0111	1,0111	1,0111	1,0111	0	290
		rh _c	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,0130	0	
	25	h _c	1,0099	1,0099	1,0099	1,0099	1,0099	1,0099	0	
		rh _c	1,0129	1,0129	1,0129	1,0129	1,0129	1,0129	0	
NG-N	20	h _c	1,0018	1,0016	1,0016	1,0016	1,0016	1,0016	8,94	143
		rh _c	1,0036	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	8,94	
	25	h _c	1,0004	1,0004	1,0004	1,0004	1,0004	1,0004	0	
		rh _c	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	1,0034	0	
NG-G	20	h _c	1,0079	1,0079	1,0079	1,0079	1,0079	1,0079	0	140
		rh _c	1,0098	1,0098	1,0098	1,0098	1,0098	1,0098	0	
	25	h _c	1,0067	1,0067	1,0067	1,0067	1,0067	1,0067	0	
		rh _c	1,0097	1,0097	1,0097	1,0097	1,0097	1,0097	0	

Tab. 11: Výsledky měření hustoty a osmolality molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _m								
NGG	20	h _m	1,0127	1,0129	1,0129	1,0129	1,0129	1,0129	8,94	290
		rh _m	1,0145	1,0147	1,0147	1,0147	1,0147	1,0147	8,94	
	25	h _m	1,0117	1,0117	1,0117	1,0117	1,0116	1,0117	4,47	
		rh _m	1,0147	1,0147	1,0147	1,0146	1,0146	1,0147	5,48	
NGG-N	20	h _m	1,0005	1,0005	1,0005	1,0005	1,0005	1,0005	0	97
		rh _m	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	0	
	25	h _m	0,9994	0,9993	0,9993	0,9993	0,9993	0,9993	4,47	
		rh _m	1,0024	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	4,47	
NGG-G	20	h _m	1,0107	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	1,0108	4,47	189
		rh _m	1,0125	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	4,47	
	25	h _m	1,0096	1,0096	1,0096	1,0096	1,0096	1,0096	0	
		rh _m	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	1,0126	0	

Tab. 12: Výsledky měření hustoty a osmolality molárních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _c								
NGG	20	h _c	1,0133	1,0133	1,0133	1,0133	1,0133	1,0133	0	293
		rh _c	1,0151	1,0151	1,0151	1,0151	1,0151	1,0151	0	
	25	h _c	1,0121	1,012	1,012	1,012	1,012	1,0120	4,47	
		rh _c	1,015	1,015	1,015	1,015	1,015	1,0150	0	
NGG-N	20	h _c	1,0008	1,0005	1,0005	1,0005	1,0005	1,0006	13,40	98
		rh _c	1,0026	1,0024	1,0023	1,0023	1,0023	1,0024	13,00	
	25	h _c	0,9993	0,9993	0,9993	0,9993	0,9993	0,9993	0	
		rh _c	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	1,0023	0	
NGG-G	20	h _c	1,0111	1,0111	1,0111	1,0111	1,0112	1,0111	4,47	193
		rh _c	1,013	1,013	1,013	1,013	1,013	1,0130	0	
	25	h _c	1,0098	1,0099	1,0099	1,0099	1,0099	1,0099	4,47	
		rh _c	1,0128	1,0129	1,0129	1,0129	1,0129	1,0129	4,47	

Tab. 13: Výsledky měření hustoty a osmolality molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGGGG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _m								
NGGGG	20	h _m	1,0145	1,0145	1,0145	1,0145	1,0145	1,0145	0	283
		rh _m	1,0163	1,0163	1,0164	1,0164	1,0163	1,0163	5,48	
	25	h _m	1,0133	1,0133	1,0132	1,0132	1,0132	1,0132	5,48	
		rh _m	1,0163	1,0163	1,0163	1,0163	1,0162	1,0163	4,47	
NGGGG-N	20	h _m	0,9997	0,9997	0,9997	0,9997	0,9997	0,9997	0	58
		rh _m	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	0	
	25	h _m	0,9985	0,9985	0,9985	0,9985	0,9985	0,9985	0	
		rh _m	1,0015	1,0015	1,0015	1,0014	1,0014	1,0015	5,48	
NGGGG-G	20	h _m	1,0132	1,0133	1,0133	1,0133	1,0133	1,0133	4,47	226
		rh _m	1,015	1,0151	1,0151	1,0151	1,0151	1,0151	4,47	
	25	h _m	1,012	1,012	1,012	1,012	1,012	1,0120	0	
		rh _m	1,015	1,015	1,015	1,015	1,015	1,0150	0	

Tab. 14: Výsledky měření hustoty a osmolality molárních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGGGG

Složení	teplota (°C)	Hustota (g/ml)						průměr	SD 10 ⁻⁵	m _{os} (mosmol/kg)
		h _c								
NGGGG	20	h _c	1,015	1,0149	1,015	1,015	1,015	1,0150	4,47	289
		rh _c	1,0168	1,0168	1,0168	1,0168	1,0168	1,0168	0	
	25	h _c	1,0137	1,0137	1,0137	1,0137	1,0137	1,0137	0	
		rh _c	1,0167	1,0167	1,0167	1,0167	1,0167	1,0167	0	
NGGGG-N	20	h _c	0,9997	0,9997	0,9997	0,9997	0,9997	0,9997	0	52
		rh _c	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	0	
	25	h _c	0,9985	0,9985	0,9985	0,9985	0,9985	0,9985	0	
		rh _c	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	1,0015	0	
NGGGG-G	20	h _c	1,0137	1,0137	1,0137	1,0137	1,0137	1,0137	0	231
		rh _c	1,0155	1,0155	1,0155	1,0155	1,0155	1,0155	0	
	25	h _c	1,0122	1,0124	1,0124	1,0124	1,0124	1,0124	8,94	
		rh _c	1,0152	1,0154	1,0154	1,0154	1,0154	1,0154	8,94	

Tab. 15: Vlastnosti molálních roztoků chloridu sodného (N) a glukosy (G)

Složení	M_w (g/mol)	M_0 (g)	m (mol/kg)	M_r (g)	h_m (g/ml)	V_m (ml)	c (mol/l)
N	58,44	9	0,154	1009	1.0047	1004.28	0.153
G	180,16	50	0,278	1050	1.0168	1032.651	0.269

Tab. 16: Vlastnosti molálních roztoků chloridu sodného (N) a glukosy (G)

Složení	M_w (g/mol)	M_0 (g)	c (mol/l)	h_c (g/ml)	M_r (g)	f	m (mol/kg)	V_v (ml)
N	58,44	9	0,154	1.0048	1004.8	0.9958	0.155	997.6
G	180,16	50	0,278	1.0175	1017.5	0.9675	0.287	969.2

Tab. 17: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NNG

Složení	M_0 (g)	m (mol/kg)	M_r (g)	h_m (g/ml)	V_m (ml)	c (mol/l)
NNG	22,67	0,195	1022,67	1.0089	1013.649	0.192
NNG-N	6,00	0,103	1006	1.0026	1003.391	0.102
NNG-G	16,67	0,093	1016,67	1.0047	1011.914	0.091

Tab. 18: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NNG

Složení	M_0 (g)	c (mol/l)	h_c (g/ml)	M_r (g)	f	m (mol/kg)	V_v (ml)
NNG	22,67	0,195	1.009	1009	0.9863	0.198	988.1
NNG-N	6,00	0,103	1.0027	1002.7	0.9967	0.103	998.5
NNG-G	16,67	0,093	1.0048	1004.8	0.9881	0.094	989.9

Tab. 19: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NG

Složení	M_0 (g)	m (mol/kg)	M_r (g)	h_m (g/ml)	V_m (ml)	c (mol/l)
NG	29,50	0,216	1029,5	1.0109	1018.399	0.212
NG-N	4,50	0,077	1004,5	1.0016	1002.895	0.077
NG-G	25,00	0,139	1025	1.0078	1017.067	0.137

Tab. 20: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NG

Složení	M_0 (g)	c (mol/l)	h_c (g/ml)	M_r (g)	f	m (mol/kg)	V_v (ml)
NG	29,50	0,216	1.0111	1011.1	0.9816	0.220	983.4
NG-N	4,50	0,077	1.0016	1001.6	0.9971	0.077	998.9
NG-G	25,00	0,139	1.0079	1007.9	0.9829	0.141	984.7

Tab. 21: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGG

Složení	M_0 (g)	m (mol/kg)	M_r (g)	h_m (g/ml)	V_m (ml)	c (mol/l)
NGG	36,33	0,236	1036,33	1.01286	1023.172	0.231
NGG-N	3,00	0,051	1003	1.0005	1002.499	0.051
NGG-G	33,33	0,185	1033,33	1.01078	1022.31	0.181

Tab. 22: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGG

Složení	M_0 (g)	c (mol/l)	h_c (g/ml)	M_r (g)	f	m (mol/kg)	V_v (ml)
NGG	36,33	0,236	1.0133	1013.3	0.9770	0.242	978.7
NGG-N	3,00	0,051	1.00056	1000.56	0.9976	0.051	999.4
NGG-G	33,33	0,185	1.01112	1011.12	0.9778	0.189	979.6

Tab. 23: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGGGG

Složení	M₀ (g)	m (mol/kg)	M_r (g)	h_m (g/ml)	V_m (ml)	c (mol/l)
NGGGG	41,80	0,253	1041,8	1.0145	1026.91	0.246
NGGGG-N	1,80	0,031	1001,8	0.9997	1002.101	0.031
NGGGG-G	40,00	0,222	1040	1.01328	1026.37	0.216

Tab. 24: Vlastnosti molálních roztoků směsi chloridu sodného a glukosy NGGGG

Složení	M₀ (g)	c (mol/l)	h_c (g/ml)	M_r (g)	f	m (mol/kg)	V_v (ml)
NGGGG	41,80	0,253	1.01498	1014.98	0.9732	0.260	974.9
NGGGG-N	1,80	0,031	0.9997	999.7	0.9979	0.031	999.7
NGGGG-G	40,00	0,222	1.0137	1013.7	0.9737	0.228	975.5

Tab. 25: Odhad osmolarity molálního roztoku chloridu sodného (N) a glukosy (G) a jejich směsí

Složení	m_{os} (mosmol/kg)	c_{os} (mosmol/l)			
		rovnice 2	rovnice 7	rovnice 8	rovnice 8 (ϕV_g)*
N	286	308	285	287	287
G	269	277	260	265	265
NNG	285	298	281	284	284
NNG-N	193	205	192	193	193
NNG-G	92	93	91	92	91
NG	280	293	275	278	278
NG-N	141	154	141	141	141
NG-G	137	139	135	136	136
NGG	290	288	283	288	288
NGG-N	97	103	97	97	97
NGG-G	189	185	185	187	187
NGGGG	283	284	275	280	280
NGGGG-N	58	62	58	58	58
NGGGG-G	226	222	220	223	223

* *komentář viz diskuze*

Tab. 26: Odhad osmolarity molárního roztoku chloridu sodného (N) a glukosy (G) a jejich směsí

Složení	m_{os} (mosmol/kg)	c_{os} (mosmol/l)			
		rovnice 2	rovnice 7	rovnice 8	rovnice 8 (ϕV_g)*
N	288	308	287	289	289
G	254	277	246	251	251
NNG	290	298	286	289	289
NNG-N	195	205,4	194	195	195
NNG-G	94	93	93	94	93
NG	290	293	285	288	288
NG-N	143	154	143	143	143
NG-G	140	139	138	139	139
NGG	293	288	286	291	291
NGG-N	98	103	98	98	98
NGG-G	193	185	189	191	191
NGGGG	289	284	281	286	286
NGGGG-N	52	62	52	52	52
NGGGG-G	231	222	225	228	228

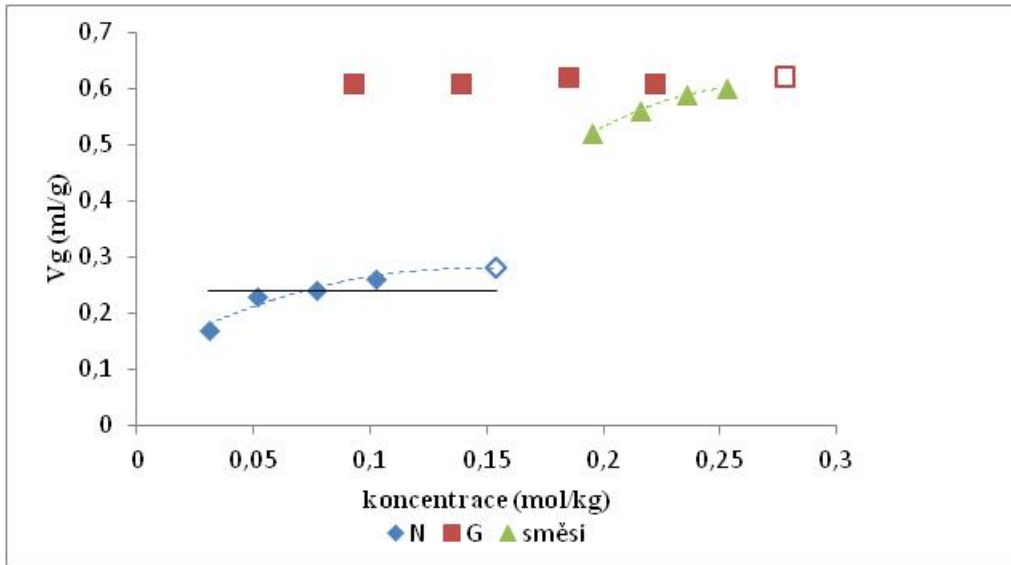
* *komentář viz diskuze*

Tab. 27: Vliv složení molálního roztoku na měrný specifický objem V_g a molální objem V_{mol} chloridu sodného (N) a glukosy (G)

Složení	V_g (ml/g)	V_{mol} (ml/mol)	
N	0.28	průměrný V_g (ml/g) N = 0.24 G = 0.61	16
G	0.62		111
NNG	0.52		61
NNG-N	0.26		15
NNG-G	0.61		109
NG	0.56		77
NG-N	0.24		14
NG-G	0.61		110
NGG	0.59		91
NGG-N	0.23		14
NGG-G	0.62		111
NGGGG	0.60		99
NGGGG-N	0.17		10
NGGGG-G	0.61		111
		průměrný V_{mol} (ml/mol) N = 14 G = 110	

Tab. 28: Vliv složení molárního roztoku na měrný specifický objem V_g a molální objem V_{mol} chloridu sodného (N) a glukosy (G)

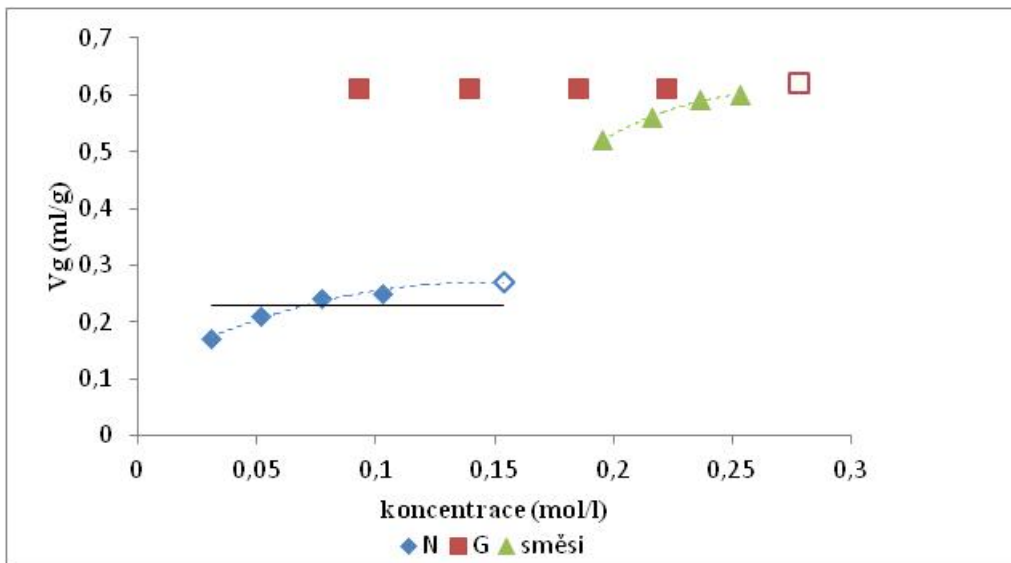
Složení	V_g (ml/g)	V_{mol} (ml/mol)	
N	0.27	průměrný V_g (ml/g) N = 0.23 G = 0.61	16
G	0.62		111
NNG	0.52		61
NNG-N	0.25		15
NNG-G	0.61		109
NG	0.56		77
NG-N	0.24		14
NG-G	0.61		110
NGG	0.59		90
NGG-N	0.21		12
NGG-G	0.61		111
NGGGG	0.60		99
NGGGG-N	0.17		10
NGGGG-G	0.61		111
		průměrný V_{mol} (ml/mol) N = 13 G = 110	



Obr. 1: Závislost měrného specifického objemu na molální koncentraci roztoků

◇ náleží roztoku chloridu sodného 0,154 mol/kg

□ náleží roztoku glukosy 0,278 mol/kg



Obr. 2: Závislost měrného specifického objemu na molární koncentraci roztoků

◇ náleží roztoku chloridu sodného 0,154 mol/l

□ náleží roztoku glukosy 0,278 mol/l

Tab. 29: Vliv smísení na charakteristiky molálních roztoků glukosy (G) a chloridu sodného (N)

Složení	m_{os} (osmol/kg)		V_g (ml/g)		V_{mol} (ml/mol)	
NNG	285		0.52		61	
NNG-N	193	$\Sigma=285$	0.26	$\Sigma=0.87$	15	$\Sigma=124$
NNG-G	92		0.61		109	
Rozdíl	0		- 0.35		- 63	
NG	280		0.56		77	
NG-N	141	$\Sigma=278$	0.24	$\Sigma=0.85$	14	$\Sigma=124$
NG-G	137		0.61		110	
Rozdíl	+ 2		- 0.29		- 47	
NGG	290		0.59		91	
NGG-N	97	$\Sigma=286$	0.23	$\Sigma=0.85$	14	$\Sigma=125$
NGG-G	189		0.62		111	
Rozdíl	+ 4		- 0.26		- 34	
NGGGG	283		0.60		99	
NGGGG-N	58	$\Sigma=284$	0.17	$\Sigma=0.78$	10	$\Sigma=121$
NGGGG-G	226		0.61		111	
Rozdíl	- 1		- 0.18		- 22	

Tab. 30: Vliv smísení na charakteristiky molárních roztoků glukosy (G) a chloridu sodného (N)

Složení	m_{os} (osmol/kg)		V_g (ml/g)		V_{mol} (ml/mol)	
NNG	290		0.52		61	
NNG-N	195	$\Sigma=289$	0.25	$\Sigma=0.86$	15	$\Sigma=124$
NNG-G	94		0.61		109	
Rozdíl	+ 1		- 0.34		- 63	
NG	290		0.56		77	
NG-N	143	$\Sigma=283$	0.24	$\Sigma=0.85$	14	$\Sigma=124$
NG-G	140		0.61		110	
Rozdíl	+ 7		- 0.29		- 47	
NGG	293		0.59		90	
NGG-N	98	$\Sigma=291$	0.21	$\Sigma=0.82$	12	$\Sigma=123$
NGG-G	193		0.61		111	
Rozdíl	+ 2		- 0.23		- 33	
NGGGG	289		0.60		99	
NGGGG-N	52	$\Sigma=283$	0.17	$\Sigma=0.78$	10	$\Sigma=121$
NGGGG-G	231		0.61		111	
Rozdíl	+ 6		- 0.18		- 22	

9 Diskuse

Osmotický tlak infuzního roztoku hraje významnou roli v rovnováze extracelulární a intracelulární tekutiny, proto by měl být stejný jako osmotický tlak plazmy. Osmotická aktivita rozpuštěných částic se vyjadřuje v osmolaritě (mosmol/l), je to z důvodu, protože se jedná o přípravky, které se dávkují objemově. Osmolarita je teoretická hodnota, neboť ji nelze změřit. Osmotický tlak, je závislý na počtu částic v kilogramu rozpouštědla, tj. na osmolalitě (mosmol/kg). Hodnota osmolarity je vyšší než skutečná osmolalita, protože nepočítá s interakcemi mezi částicemi, vznikajícími rozpuštěním. Osmolaritu lze vypočítat z osmolality, kterou změříme pomocí osmometru.^{8,21}

Cílem této diplomové práce bylo změřit hustotu a osmolalitu roztoku chloridu sodného a glukosy a jejich směsí. Roztoky byly připravované podle lékopisného článku¹⁷, a jejich složení je uvedeno v tabulce 4. Jedním ze záměrů této práce bylo experimentálně podchytit změny ve vlastnostech, vyvolané s mísením dvou látek různé povahy: neelektrolytu glukosy a silného elektrolytu chloridu sodného. Proto byly uvedené roztoky připraveny jednak ve dvou různých látkových koncentracích, molální (mol/kg) a molární (mol/l) a jednak byly připraveny a studovány individuální roztoky obou látek ve stejné koncentraci, jako jsou obsaženy ve směsi, a zjištěné výsledky byly porovnány s výsledky příslušné směsi obou látek.

Hustotu roztoků jsem měřila při teplotách 20°C a 25°C, z výsledků měření hustoty (h_m , resp. h_c) a relativní hustoty (rh_m , resp. rh_c) jsem vypočítala průměr. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách 5, 7, 9, 11 a 13 pro molální roztoky a v tabulkách 6, 8, 10, 12 a 14 pro molární roztoky. Z výsledků je patrné, že hustota měřených roztoků je závislá na teplotě, s rostoucí teplotou klesá. Naopak se zvyšující látkovou koncentrací hustota roste. U koncentrovanějších roztoků byly hodnoty vyšší u molárního roztoku, ale u koncentrací nižších než 0,1 mol/kg resp. mol/l, byly hodnoty stejné u molálního i molárního roztoku, neboť při tak nízkých koncentracích jsou rozdíly mezi molaritou a molalitou velmi malé.

Znalost hustoty roztoku je podmínkou převodu mezi koncentracemi. K tomu jsem využila průměrnou hodnotu hustoty při 20°C. Při převodu molality (mol/kg) na molaritu (mol/l) a naopak je u molálního roztoku nejprve třeba vyádrřit celkový objem roztoku V_m (ml), který je dán podílem hmotnosti roztoku M_r (g) a průměrné hustoty h_m (g/ml) při 20°C. Molaritu zjistíme dosazením do rovnice 4¹⁸ U převodu molarity na molality potřebujeme znát převodní faktor, který zjistíme jako rozdíl průměrné hustoty roztoku a navážky látky. Po zjištění této hodnoty a dosazení do vzorce 6 získáme molalitu.^{18,19} Všechny způsoby převodů jsou podrobněji popsány v experimentální části. Výsledky převodu jsou uvedeny v tab. 15.24. Parenterální infuze se obvykle připravují v molaritě, osmotická koncentrace je však závislá na molalitě. Proto jsou vzájemné převody mezi koncentracemi nezbytné. Jak potvrzují výsledky, jsou pro studované izotonické roztoky rozdíly velmi malé a z hlediska praktické aplikace roztoků zanedbatelné. Z experimentálního hlediska je ale příprava molálního roztoku jednodušší, protože nevyžaduje temperaci rozpouštědla ani vznikajícího roztoku.

U všech připravených roztoků jsem dále měřila osmolalitu (mosmol/kg). Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách 5, 7, 9, 11 a 13 pro molální roztoky a v tab. 6, 8, 10, 12 a 14 pro molární roztoky. U roztoků připravených v molární koncentraci byly hodnoty osmolality vyšší oproti molálním roztokům. Je to dáno tím, že se u molálního roztoku objem roztoku nemění a čím víc se přidává látky, tím je roztok koncentrovanější, kdežto u molálního roztoku se objem roztoku s rostoucím obsahem rozpuštěné látky zvyšuje. Proto je roztok molární s číselně stejnou látkovou koncentrací vždy koncentrovanější než roztok molální.

Na rozdíl od samostatných roztoků glukosy a chloridu sodného, jejichž osmolalita rostla se vzrůstající látkovou koncentrací, byla osmolalita směsi obou látek v různém poměru ovlivněna složením parenterální směsi. Přestože všechny směsi jsou deklarovány jako izotonické infuzní roztoky a měly by tedy mít stejnou osmolalitu, z výsledků experimentu je patrné, že se osmolalita mění podle toho, která ze složek ve směsi převažovala, zda látkové množství chloridu sodného nebo glukosy. Například u parenterální směsi NNG, kde převažuje chlorid sodný (N) nad glukosou (G)

v poměru 2/3, je vypočítaná látková koncentrace složek v této směsi 0,195 mol/kg resp. mol/l, což je nejnižší koncentrace ze všech připravovaných směsí. Přesto jejich zjištěná osmolalita 285 mosmol/kg u molálního roztoku a 290 mosmol/kg u molárního roztoku nebyla ve srovnání s ostatními nejnižší, jak by se dalo čekat. Naopak převažuje-li výrazně ve směsi látkové množství glukosy, jako např. u směsi NGGGG, která obsahovala 1 díl chloridu sodného (N) a 4 díly glukosy (G), je výsledná osmolalita 283 mosmol/kg u molálního roztoku a 289 mosmol/kg u molárního roztoku, přestože se jedná o směs, jejíž látková koncentrace složek 0,253 mol/kg resp. mol/l byla nejvyšší ze všech připravovaných směsí.

Udávat osmotickou aktivitu parenterálních infuzí v osmolaritě je vhodnější pro praxi, neboť se jedná o objemově dávkované přípravky. Jak již bylo zmíněno, osmolarita (mosmol/l) je teoretická hodnota a lze ji pouze vypočítat. Odhad osmolarity pro všechny studované roztoky jsem prováděla několika metodami použitými v USP,⁸ neboť v Českém ani Evropské lékopisu se tyto postupy neuvádějí. Výsledky převodů jsou shrnuty v tab. 25-26.

Mezi nejméně přesné metody patří odhad teoretické osmolarity z molarity roztoku (mol/l) a počtu částic vzniklých disociací 1 molekuly rozpuštěné látky, podle rovnice 2. Tato hodnota osmolarity je vyšší než naměřená hodnota osmolality, protože nepočítá se vzájemnými interakcemi mezi částicemi nebo částic a rozpouštědlem roztoku.⁸ To je patrné z hodnot uvedených v tabulkách 25-26.

Další metoda je založena na znalosti koncentrace vody, která je dána rozdílem průměrné hustoty roztoku a koncentrace rozpuštěné látky, obě hodnoty musí být uvedeny v g/ml.⁸ Koncentrace vody tak odpovídá převodnímu faktoru f , zmíněnému výše.^{18,19} Osmolaritu vypočítáme podle rovnice 7 Metoda poskytuje poměrně přesné odhady osmolarity blízké experimentálním hodnotám.

Poslední metoda (rovnice 8) vychází ze znalosti měrného specifického objemu V_g (ml/g), který vyjadřuje změnu objemu roztoku po přidání 1 g látky.⁸ Samotný měrný specifický objem určíme z podílu objemu rozpuštěné látky a navážky látky, jak je podrobně popsáno v experimentální části. Odhady měrného specifického objemu V_g chloridu sodného a glukosy pro jednotlivé roztoky jsou uvedeny v tab. 27-28, odhady

osmolarity v tab. 25-26. Z výsledků je zřejmé, že hodnoty osmolarity získané touto metodou se nejvíce přibližují k naměřené osmolalitě.

Kromě měrného specifického objemu látky lze k popisu chování při rozpouštění využít také molální objem látky V_{mol} (ml/mol), který vyjadřuje změnu objemu roztoku po přidání 1 mol látky. Lze ho, podobně jako měrný specifický objem, určit jako podíl objemu rozpuštěné látky a látkového množství látky. Zjištěné hodnoty molálního objemu chloridu sodného a glukosy v roztoku V_{mol} (ml/mol) jsou uvedeny v tabulkách 27-28. Měrný specifický objem a molální objem závisí na velikosti molekuly, což je patrné porovnáním průměrné hodnoty $V_g = 0,61$ ml/g zjištěné pro glukosu (M_w 180,16 g/mol) a $V_g = 0,24$ ml/g pro chlorid sodný (M_w 58,44 g/mol), resp. V_{mol} 110 ml/mol a V_{mol} 14 ml/mol. Odhad obou látkových objemů vyžaduje určení objemu vody v roztoku.^{18,22,23} Zatímco u molálního roztoku je objem vody známý (je dán podílem hustoty a hmotnosti vody) a je u všech roztoků stejný, tj. 1001,803 ml, u molárních roztoků je nutné vycházet z předpokladu aditivity objemu vody a látky v roztoku. Odlišné hodnoty zjištěné u chloridu sodného pro molální roztoky (0,24 ml/g resp. 14 ml/mol) oproti molárním (0,23 ml/g resp. 13 ml/mol) naznačují, že předpoklad aditivity objemů nezbytný při odhadu objemu vody v molárním roztoku neplatí a pravděpodobně při rozpouštění silného elektrolytu dochází k objemové kontrakci. Protože výpočet V_g (ml/g) resp. V_{mol} (ml/mol) u molálních roztoků takový předpoklad nepotřebuje (hmotnostní příprava roztoku), lze hodnoty V_g (ml/g) i V_{mol} (ml/mol) zjištěné pro molální roztoky považovat za přesnější. Molální objem zjištěný pro chlorid sodný 14 ml/mol u molálního roztoku je blízký hodnotě odhadu V_{mol} 17 ml/mol pro roztok o nekonečném zředění uvedené v literatuře.^{18,19} U neelektrolytů objemové změny nenastávají, jak ukazují shodné hodnoty V_g (ml/g) resp. V_{mol} (ml/mol) pro molální i molární roztoky glukosy.

Vliv koncentrace roztoku a vliv smísení na měrný specifický objem V_g (ml/g) glukosy a chloridu sodného ilustrují obrázky 1 a 2. Značky symbolů v obrázcích bez výplně znázorňují izotonické roztoky chloridu sodného (0,154 mol/kg resp. mol/l) a glukosy (0,278 mol/kg resp. mol/l). V obrázcích je rovněž znázorněn průměrný měrný specifický objem V_g (ml/g) chloridu sodného černou čarou. Je zřejmé, že

zatímco měrný specifický objem glukosy zůstal stejný i s měnící se koncentrací roztoku, měrný specifický objem chloridu sodného se nelineárně snižoval s klesající koncentrací. Zelené body v obrázcích znázorňují parenterální směsi. Je vidět, že hodnoty jsou závislé na koncentraci, v žádném případě však nejsou součtem obou dílčích hodnot. Například u směsi NGGGG je patrný převyšující vliv glukosy, která zde byla zastoupena ve větším množství oproti chloridu sodnému. Zjištěná hodnota V_g 0,60 ml/g se více přibližovala k průměrné V_g samotné glukosy 0,61 ml/g.

Vliv smísení na osmolalitu a na látkové charakteristiky chloridu sodného a glukosy dokumentují tabulky 29-30. Porovnáním součtu dílčích hodnot m_{os} (osmol/l), V_g (ml/g) a V_{mol} (ml/mol) s experimentálními výsledky pro jejich směsi je zřejmé, že osmolalita směsi je vyšší než součet osmolalit roztoků chloridu sodného a glukosy. Na této skutečnosti se pravděpodobně podílejí blíže těžko podchytitelné interakce částic silného elektrolytu a neelektrolytu, které ovlivňují jejich osmotický efekt.^{8,22,23,24} Součet měrného specifického objemu a/nebo molálního objemu byl u jednotlivých látek vždy větší než výsledek zjištěný u jejich směsi, což je pravděpodobně možné přisoudit objemové redukci díky interakcím mezi silným elektrolytem chloridem sodným a neelektrolytem glukosou. Tento výsledek je patrný i z obrázků 1 a 2.

Odhad osmolarity s využitím hodnoty V_g (ml/g) určené experimentálně pro každý roztok byl sice v této práci potvrzen jako nejpřesnější, přesto je komplikován právě jeho experimentálním určením. V poslední části práce byl proto proveden odhad osmolarity z rovnice 8 s využitím průměrných hodnot V_g ²¹ chloridu sodného 0,24 ml/g a glukosy 0,61 ml/g a výsledky výpočtu porovnány. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 27-28. Je patrné, že rozdíly v osmolaritě se od odhadu z experimentálních hodnot V_g (ml/g), zjištěných pro konkrétní koncentraci roztoku, prakticky nelišily

10 Závěry

Z výsledků této experimentální diplomové práce vyplynuly následující závěry:

1. Hustota roztoků měřených roztoků glukosy, chloridu sodného a jejich směsí s rostoucí teplotou klesá, s látkovou koncentrací se zvyšuje a je větší u molárních roztoků oproti molálním.
2. Osmolalita měřených roztoků glukosy a chloridu sodného s látkovou koncentrací roste, u jejich směsí toto však neplatilo, bylo to ovlivněno poměrem chloridu sodného a glukosy. Osmolalita je u molárních roztoků vyšší.
3. Měrný specifický objem a/nebo molální objem glukosy je ve studovaném rozmezí koncentrací nezávislý na látkové koncentraci, zatímco měrný specifický objem a molální objem chloridu sodného se s klesající látkovou koncentrací snižoval.
4. Pro odhad osmolarity je nejvhodnější metoda, využívající experimentálně zjištěný měrný specifický objem rozpuštěné látky V_g (ml/g).
5. Pro odhad osmolarity z molality v případě, že nejsou dostupné experimentální hodnoty měrného specifického objemu V_g (ml/g), je možné použít také průměrný měrný specifický objem se srovnatelným výsledkem. Na základě výsledků lze doporučit průměrný V_g chloridu sodného 0,23 ml/g a glukosy 0,61 ml/g.
6. Měrný specifický objem a molální objem chloridu sodného a glukosy se odlišovaly od hodnot zjištěných pro jejich směsi. To svědčí o tom, že při mísení se obě látky vzájemně ovlivňují a počáteční předpoklad aditivity nebyl potvrzen.

11 Použitá literatura

¹ MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009*. 2009, Grada Publ., Praha, 3968s., ISBN : 978-80-247-2994-7.

² FLORENCE, A.T., SIEPMANN, J. (Eds): *Modern pharmaceuticals. Vol. 1. Basic principles and systems*. 2009, Informa Healthcare, New York, 633 s., ISBN 1-4200-6564-5. BOYLAN, J. C., NAIL, S. L.: Parenteral products. 565 – 609.

³ ARDEAPHARMA, a.s.: SOUHRN ÚDAJŮ O PŘÍPRAVKU Ardeaelytosol F 1/2; Ardeaelytosol F 1/3, k 20.8.2012.

<http://www.sukl.cz/modules/medication/detail.php?code=0069660&tab=info>

⁴ 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, *Sterile dosage forms and delivery systems*, s. 443-505.

⁵ CHALABALA, M. ET AL.: *Technologie léků 1997*, Galén, Praha, 711 s., ISBN: 80-85824-68-X.

⁶ AKERS, M.J., *Sterile drug products: Formulation, packaging, manufacturing and quality*. 2010, Informa Healthcare, New York, London, 500 s., ISBN: 978-0-8493-3993-6.

⁷ STRICKLEY, R.G.: *Solubilizing excipients in oral and injectable formulations*. Pharm.Res., 21 (2), 2004, 201-230

⁸ UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION: *United States Pharmacopoeia – national formulary 27*, 32th Ed., 2008, Rockville, 3901 s., ISBN: 1-889788-69-2, <785>, *Osmolality and osmolarity*, s. 305-307

⁹ TROY, D. B. (Ed.): *Remington: The science and practice of pharmacy*. 21th Ed., 2005, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2393 s., ISBN: 0-7817-4673-6, GUPTA, K., G.: *Solutions and Phase equilibria*. s 211-230.

¹⁰ LORD, R., R.: *Osmosis, osmometry, and osmoregulation*, Postgrad Med J., 1999, 75, 67-73.

¹¹ COUNCIL OF EUROPE: *European Pharmacopoeia 6.0*, 6th Ed., 2007, Renouf Publishing Company, Ltd., Strasbourg, ISBN: 978-92-871-6054-6.

2.2.35. Osmolality, s. 57

¹² WINFIELD, A. J., REES, J. A., SMITH, I.: *Pharmaceutical Practice*, 4th ED., 2009, Churchill Livingstone, United Kingdom, s. 652, ISBN: 978-04-4306-906-2, CHAPMAN, D. G.: Production of sterile products, s. 323-336

¹³ STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV ČESKÁ REPUBLIKA: *Pokyny k Výrobě léčiv, Výroba sterilních léčivých přípravků*, k 27.8.2012

<http://www.sukl.cz/leciva/vyr-32-dopl-1-verze-1>

¹⁴ STÁTNÍ ÚSTAV PRO KONTROLU LÉČIV ČESKÁ REPUBLIKA: *Pokyny k Výrobě léčiv, Čisté prostory*, k 20.8.2012

<http://www.sukl.cz/leciva/vyr-36>

¹⁵ MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009 – Doplněk 2012*. 2012, Grada Publ., Praha, s.1112. ISBN: 978-80-247-4242-7

5.1.2 BIOLOGICKÉ INDIKÁTORY PRO STERILIZACI, str.707-708

¹⁶ DICKENSON, CH. T.: *Filters and Filtration Handbook*, Elsevier, January 1, 1997, k 27.8.2012

<http://www.lenntech.com/library/fine/bubble/bubble-point.htm>

¹⁷ MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR: *Český lékopis 2009 – Doplněk 2011*. 2011, Grada Publ., Praha, s. 1552, ISBN: 978-80-247-3785-0.

¹⁸ ŠKLUBALOVÁ, Z., ZATLOUKAL, Z.: *Conversion between osmolality and osmolarity of infusion solutions*, *Sci. Pharm.*, 2009, 77, s. 817 – 826.

¹⁹ GATLIN, L., KULKARNI, P. HUSSAIN, A., DELUCA, P. P.: Determining osmolarities: A practical approach for multicomponent intravenous and parenteral nutrient solutions. *Am. J. Hosp. Pharm.* 1979, 36, s. 1357-1361.

²⁰ KOTLÍK, B., LANK, V., RŮŽIČKOVÁ, K., VONDRA, M., VOŠICKÝ, Z., (Eds): *Matematické, fyzikální, chemické tabulky pro SŠ a nižší ročníky víceletých gymnázií*. 2007, Fragment, Praha, 287 s., ISBN 978-80-7200-521-5, s. 164-165.

²¹ ŠKLUBALOVÁ, Z.: *Odhad osmolarity infuzních roztoků pomocí metod USP*, Praktické lékárenství, 2012, 8(4), s. 175-176.

²² TROY, D. B. (Ed.): *Remington: The science and practice of pharmacy*. 21th Ed., 2005, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, 2393 s., ISBN: 0-7817-4673-6, POON, C. Y.: Tonicity, Osmoticity, Osmolality and Osmolarity. s 250-265.

²³ STRENG, W. H., HUBER, H. E., CARSTENSEN J. T.: *Relationship between osmolality and osmolarity*. J Pharm Sci., 1978, 67: 384-386, doi: 10.1002/jps.2600670330.

²⁴ HUBER, H. E., STRENG, W. H., TAN, H. G. H.: *Osmolality of Parenteral Solutions*. J. Pharm. Sci, 1979, 68: 1029-1032