

Emulze stabilizované biopolymery

Bc. Daniela Jasenská

Diplomová práce
2017



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2016/2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Daniela Jasenská**
Osobní číslo: **T15320**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Emulze stabilizované biopolymery**

Zásady pro vypracování:

1. Provedte literární rešerši na téma emulze a především na způsoby ovlivňování jejich stability, s důrazem na využití přírodních polymerů jako stabilizující složky. Získané poznatky kriticky zhodnoťte.
2. V praktické části se u emulzních systémů s obsahem chitosanu věnujte nalezení optimálních podmínek jednak pro jejich přípravu a jednak pro udržení jejich maximální stability. Provedte u nich základní charakterizaci (měření velikosti částic, stanovení zeta-potenciálu, atd.).
3. Dosažené výsledky diskutujte.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

MYERS, D.: Surfactant Science and Technology, Third Edition. John Wiley & Sons, 2006.

McCLEMENTS, D., J.: Food emulsions: principles, practices, and techniques. CRC Press, 2005.

MYERS, D.; TADROS, T.: Emulsion Science and Technology. Wiley-WCH, Weinheim, 2009.

GOOSEN, M., F., A.: Applications of Chitin and Chitosan. CRC Press, 1996.

JAYAKUMAR R., PRABAHARAN M., MUZZARELLI, R. A. A.: Chitosan for Biomaterials I. Springer, 2011.

DAVIS, S., P.: Chitosan: Manufacture, Properties, and Usage. Nova Science Publishers, 2011.

Vedoucí diplomové práce:

Ing. Pavlína Egner, Ph.D.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

3. února 2017

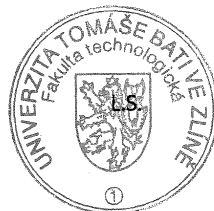
Termín odevzdání diplomové práce:

17. května 2017

Ve Zlíně dne 3. února 2017



doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
děkan



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

Příjmení a jméno: Jasenská Daniela

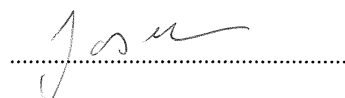
Obor: Technologie výroby tuků,
kosmetiky a detergentů

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 16.5.2017



¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydávlečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá přípravou a způsobem ovlivňování stability emulzí stabilizovaných za pomoci biopolymerů. Konkrétně stabilizovaných prostřednictvím polysacharidu chitosanu. K vlastní přípravě emulzí byly použity předem připravené roztoky o různém pH s obsahem nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu. Vzorke emulzí byly po určité časové období uchovány v různých teplotních režimech (4, 25 a 37 °C). U emulzí byla provedena základní charakteristika pomocí vizuálního pozorování, mikroskopie, měření velikosti částic, povrchového napětí a ζ potenciálu. Výsledky ukazují, že zvýšená teplota společně s prodlužující se dobou skladování má na stabilitu emulzí nepříznivý vliv. Naopak se zvyšující se hodnotou pH se stabilita zvyšuje.

Klíčová slova: emulze, biopolymer, chitosan, stabilita.

ABSTRACT

This Diploma Thesis deals with the way of influence of stability of emulsions through stabilized biopolymers. Concretely, it focuses on the way of influence through the polysaccharide chitosan. For the preparation of emulsions, solutions of particular pH were prepared in advance. The solutions content chitosan with low molecular weight and chitosan with medium molecular wight. The solutions of these emulsions were stored for the certain period of time within a diverse temperature (4, 25, 37 °C). Basic characteristics using visual observation, microscopy, measuring of particle size, surface pressure and ζ potential, were conducted on the emulsions. It results in the fact that increased temperature as well as the increased period of storage have unfavorable influence on the stability of emulsions. Conversely, with increased value of pH emulsions are more stable.

Keywords: emulsion, biopolymer, chitosan, stability.

Tímto bych ráda poděkovala vedoucí mé diplomové práce Ing. Pavlíně Egner, Ph. D., za odborné vedení, čas, cenné rady a hlavně za trpělivost a vstřícný přístup při zpracování této práce. Dále děkuji všem doktorandům a laborantkám, kteří mně pomáhali v experimentální části této práce. V neposlední řadě děkuji mé rodině za podporu v průběhu celého studia a při zpracování této práce.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 EMULZE	12
1.1 KLASIFIKACE EMULZÍ.....	12
1.1.1 Polárnost disperzního prostředí.....	12
1.1.2 Koncentrace disperzního podílu.....	13
1.1.3 Velikost rozptýlených částic.....	13
2 STABILITA EMULZÍ	15
2.1 SEPARACE NA ZÁKLADĚ GRAVITAČNÍCH SIL.....	16
2.1.1 Sedimentace.....	16
2.1.2 Krémování.....	17
2.2 SEPARACE NA ZÁKLADĚ AGREGACE ČÁSTIC.....	17
2.2.1 Flokulace.....	18
2.2.2 Koalescence.....	18
2.3 OSTWALDOVO ZRÁNÍ.....	19
2.4 STABILIZACE EMULZÍ POMOCÍ SURFAKTANTU.....	19
2.5 STABILIZACE EMULZÍ ELEKTRICKOU DVOJVRSTVOU.....	20
2.6 STÉRICKÁ STABILIZACE EMULZÍ.....	21
2.7 STABILIZACE EMULZÍ POMOCÍ PEVNÝCH ČÁSTIC.....	22
2.8 STABILIZACE EMULZÍ POMOCÍ POLYMERŮ.....	23
3 BIOPOLYMERY	26
3.1 POLYPEPTIDY.....	27
3.1.1 Želatina.....	27
3.1.2 Kasein.....	28
3.1.3 Zein.....	28
3.2 POLYSACHARIDY.....	29
3.2.1 Škrob.....	29
3.2.2 Mikrokryalická celulóza.....	31
3.2.3 Deriváty celulózy.....	31
3.2.4 Karagenany.....	32
3.3 CHITOSAN.....	33
3.3.1 Struktura a vlastnosti chitosanu.....	34
3.3.2 Využití chitosanu.....	35
3.3.3 Role chitosanu při ovlivňování stability emulzí.....	37
4 CÍLE PRÁCE	40
II PRAKTICKÁ ČÁST	41
5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	42

5.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A ZAŘÍZENÍ	42
5.2	PŘÍPRAVA ROZTOKU KYSELINY OCTOVÉ.....	43
5.3	PŘÍPRAVA ROZTOKŮ CHITOSANU	43
5.4	PŘÍPRAVA EMULZÍ	43
5.5	CHARAKTERIZACE ROZTOKŮ CHITOSANU A EMULZÍ	44
5.5.1	Povrchové napětí	44
5.5.2	ζ potenciál	44
5.5.3	Velikost částic	45
5.6	MIKROSKOPIE	46
5.7	PODMÍNKY SKLADOVÁNÍ.....	46
5.8	VIZUÁLNÍ POZOROVÁNÍ.....	47
5.9	INDEX KRÉMOVÁNÍ.....	47
6	VÝSLEDKY A DISKUZE	48
6.1	CHARAKTERIZACE ROZTOKŮ CHITOSANU	48
6.1.1	Stanovení povrchového napětí	48
6.1.2	Stanovení závislosti ζ potenciálu na pH.....	50
6.1.3	Stanovení závislosti velikosti částic na pH	51
6.2	CHARAKTERIZACE EMULZÍ	52
6.2.1	Stanovení povrchového napětí	52
6.2.2	Vliv pH na ζ potenciál.....	53
6.2.3	Vliv teploty a doby skladování na ζ potenciál	58
6.2.4	Vliv pH na velikost částic	62
6.2.5	Vliv teploty a doby skladování na velikost částic	64
6.3	VIZUÁLNÍ POZOROVÁNÍ.....	68
6.3.1	Vliv teploty a doby skladování na stabilitu emulzí.....	71
6.4	MIKROSKOPICKÉ POZOROVÁNÍ.....	75
	ZÁVĚR	82
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	84
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	90
	SEZNAM OBRÁZKŮ	91
	SEZNAM TABULEK.....	94

ÚVOD

Emulze jsou heterogenní směsi dvou a více omezeně mísitelných nebo nemísitelných kapalin. Jedná se o disperzní systémy jemných kapek jedné kapaliny ve druhé, z nichž jedna vytváří kontinuální kapalnou prostředí.

Stěžejní vlastností emulzí vzhledem k jejich praktickému využití je jejich stabilita. Emulze by měly zůstat dokonale stabilní a homogenní po dobu potřebnou pro jejich využití. O emulzích je však známo, že samy o sobě jsou agregátně nestálé a velmi snadno tak dochází k jejich destabilizaci a zániku. Existuje řada známých projevů destabilizace emulzí, od sedimentace a krémování přes flokulaci, koalescenci, fázovou inverzi až po Ostwaldovo zrání. Je tedy zřejmé, že emulze je nutné určitým způsobem stabilizovat. Podobně jako je známo více mechanismů destabilizace emulzí, je také známo více možností jak tyto systémy stabilizovat. Zřejmě nejznámější je stabilizace za pomoci surfaktantu, což je povrchově aktivní látka, jejíž molekula je tvořena hydrofilní a hydrofobní částí. Další možností je stabilizace pomocí pevných částic, kdy mohou vznikat emulze známé jako emulze Pickeringovy. Emulze tohoto typu neobsahují ve své struktuře žádné surfaktanty, poněvadž jejich mezifázové rozhraní je stabilizováno díky přítomnosti pevných částic anorganické i organické povahy. Mezi takové částice lze zařadit i biopolymery, makromolekulární látky polymerního charakteru vznikající při biochemických procesech v těle živých organismů. Biopolymery jsou ceněny a hojně využívány v širokém spektru průmyslových odvětví díky svým unikátním vlastnostem, jako je např. nízká toxicita, biokompatibilita a biodegradabilita. Jsou velmi dobrými přírodními emulgátory a stabilizátory, často využívanými v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Ve farmaceutickém průmyslu jsou používány jako stabilizátory emulzí, obaly tablet, pojiva tablet atd. Své využití nachází i v kosmetickém průmyslu, kde jsou využívány jako nosiče aktivních látek, účinné stabilizátory, emulgátory a regulátory viskozity.

Tyto poznatky byly ověřeny v experimentální části této práce, která se zabývala nalezením optimálních podmínek pro přípravu a udržení maximální stability u emulzí stabilizovaných za pomoci biopolymeru chitosanu. Dále provedením základní charakterizace emulzí s obsahem chitosanu prostřednictvím měření povrchového napětí, měření velikosti částic, stanovení zeta potenciálu atd.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 EMULZE

Emulze jsou různorodé směsi hojně využívané v nejrůznějších odvětvích průmyslu. S technickým významem těchto disperzních systémů vzrostl zájem o seznámení s jejich vlastnostmi, jak po stránce teoretické, tak po stránce praktické [1, s. 124].

Emulze jsou heterogenní disperzní systémy, kde je disperzní podíl i disperzní prostředí kapalná [2]. Roku 1960 Commission Internationale de Terminologie definovala emulze, jako heterogenní disperze jemných kapek jedné kapaliny ve druhé, z nichž jedna vytváří kontinuální kapalnou prostředí [3, s. 80]. Emulzi tedy tvoří disperzní prostředí, označované jako kontinuální nebo vnější fáze a emulgovaná látka tvořící disperzní nebo také diskontinuální, popř. vnitřní fázi. Na základě velikosti částic vnitřní fáze lze hovořit o koloidních nebo dispergovaných emulzích. Pro emulze je charakteristické velmi široké rozmezí velikosti částic, jejich rozměry leží mezi 0,1 až 100 μm [4, s. 45]. Podmínkou vzniku emulzí je vzájemná nemísitelnost nebo omezená mísitelnost obou kapalin [5, s. 26]. Tyto kapaliny se od sebe liší především polaritou. U emulzí bývá nepolární kapalina označována jako olej (o) a polární voda (v). Je-li dispergovanou fází olej a spojitou fází voda, jedná se o emulze typu O/V (olej ve vodě). Pokud je dispergovanou fází voda a fází spojitou je olej, jedná se o emulzi V/O (voda v oleji) [4, s. 45]. Aby mohlo dojít k dispergaci, je obvykle vyžadována přítomnost třetí složky, tzv. emulgátoru, tj. látky umožňující vznik a stabilitu emulzí [3, s. 80], [6, str. 172].

1.1 Klasifikace emulzí

Jelikož jsou emulze složité heterogenní soustavy je potřeba je určitým způsobem třídít a klasifikovat. Emulze, lze dělit na základě různých hledisek a kritérií, proto se dělení emulzí může v řadě zdrojů lišit. Jednou z možností je klasifikace dle polárnosti disperzního prostředí, podle koncentrace disperzního podílu a podle velikosti rozptýlených částic.

1.1.1 Polárnost disperzního prostředí

Emulze lze klasifikovat na základě polárnosti disperzního prostředí na emulze přímé, známé také jako emulze typu olej ve vodě a emulze obrácené, označované jako emulze typu voda v oleji.

- Přímé emulze (tzv. prvního druhu) – označované jako emulze O/V (olej ve vodě), kdy je kontinuální prostředí tvořeno polárnější kapalinou. Dispergovanou fází zde

tvoří olej a fází spojitou voda. Příkladem zde může být např. mléko či latex [6, s. 172] [7, s. 44];

- Obrácené emulze (tzv. druhého druhu) – označované jako emulze V/O (voda v oleji), kdy disperzní prostředí tvoří nepolární kapalina. Dispergovanou fází je zde voda a fází spojitou olej. Tento typ emulze zastupuje např. máslo nebo emulgované tuky [6, s. 172] [7, s. 41, 42, 44].

1.1.2 Koncentrace disperzního podílu

Podle koncentrace disperzního podílu lze emulze rozdělit na emulze zředěné, emulze koncentrované a vysoce koncentrované nebo-li gelovité emulze.

- Zředěné emulze – dispergovaná nebo také vnitřní fáze zaujímá maximálně 2 % z celkového objemu emulze. Průměrná velikost kapiček je zpravidla řádově 10^{-7} m, což je rozměr blízký velikosti částic v koloidních systémech [5, s. 27];
- Koncentrované emulze – kde disperzní podíl tvoří nedeformované sférické částice. V monodisperzních systémech může disperzní podíl zaujmout až 74 obj. %, čímž dochází k těsnému geometrickému uspořádání kulovitých částic. U polydisperzních systémů se můžeme setkat i s koncentrovanějšími emulzemi, jelikož malé kapičky vyplňují prostor mezi těmi velkými [6, s. 172];
- Vysoce koncentrované, gelovité emulze – jsou emulze s částicemi disperzního podílu uloženými v tak těsné blízkosti až dochází k jejich vzájemné deformaci. Částice se pak jeví jako kapky ve tvaru mnohostěnů, oddělené od sebe vrstvičkou tenkého filmu koloidních rozměrů. Tento film je tvořen disperzním prostředím, pokud je přítomen, tak i emulgátorem [5, s. 27].

1.1.3 Velikost rozptýlených částic

Emulze je možné také klasifikovat na základě velikosti rozptýlených částic tvořících disperzní prostředí. Rozeznávají se zde makroemulze, mikroemulze a nanoemulze.

- Makroemulze – jsou kineticky stabilní disperze minimálně dvou vzájemně nemísitelných kapalin. Jejich distribuce velikosti částic se pohybuje zpravidla v rozsahu 100–1000 nm. Makroemulze jsou kalné, mléčně zbarvené a termodynamicky nestabilní. Jejich zbarvení je dáno vlnovou délkou dopadajícího světla na částice [5, s. 28], [8, s. 281, 282];

- Mikroemulze – vytváří přechod mezi emulzemi a micelárními koloidy. Velikost částic u mikroemulze se pohybuje v rozmezí 10–100 nm. Ve srovnání s makroemulzemi jsou termodynamicky stabilní, transparentní, slabě opalescentní a opticky izotropní. Tyto disperzní systémy vznikají spontánně vhodnou kombinací lipofilní a hydrofilní složky a surfaktantu [5, s. 28] [9, s. 53];
- Nanoemulze – jsou transparentní systémy s velikostí částic disperzního podílu v rozmezí 50–200 nm. Na rozdíl od mikroemulzní jsou nanoemulze pouze kineticky stabilní a nevznikají spontánně, ale působením externího smykového napětí [5, s. 82].

2 STABILITA EMULZÍ

Vzhledem k praktickému využití emulzí je nejdůležitějším aspektem jejich stabilita. Podobně jako lyofobní koloidní a mikroheterogenní soustavy jsou emulze agregátně nestálé [6, s. 173]. Pojem stabilita vyjadřuje schopnost emulze odolat změnám jejich vlastností v průběhu času. Z čehož plyne, že čím je emulze stabilnější, tím pomalejší jsou změny jejich vlastností [10, s. 269]. Na stabilitu lze nahlížet z pohledu termodynamického a kinetického. Termodynamická stabilita se odvíjí od pravděpodobnosti, že daný proces, tj. rozpad emulze, proběhne. Kinetická stabilita je v provázanosti s rychlostí rozpadu dané emulze [4, str. 47]. Ve stabilních emulzích nelze rozpoznat změny v počtu, velikosti a prostorové uspořádanosti kapek po dané časové období. V tomto stavu mohou setrvat několik sekund nebo i několik let. Což znamená, že stabilita je velmi relativní pojem [11, s. 13]. Stálost emulze závisí na okolnostech a může se lišit podle toho, je-li ponechána v klidu nebo vystavena otřesům, odstředování, změnám teploty či jiným vlivům, které mohou vést k zániku emulze. Nestabilita emulze se může projevovat celou řadou různých procesů, které probíhají současně nebo postupně, v závislosti na okolních podmínkách. Nestabilita se projeví postupnou separací na makroskopické fáze. Jde o spontánní proces, spojený s poklesem Gibbsovy energie, vedoucí k zániku emulze [6, s. 193], [11, s. 13]. Nejčastěji se lze setkat s fyzikální nestabilitou způsobenou působením gravitačních sil. Mezi fyzikální mechanismy rozpadu se řadí sedimentace a krémování, flokulace, koalescence, fázová inverze a Ostwaldovo zrání [10, s. 269]. Tyto procesy ovlivňuje řada faktorů, jako je distribuce velikosti částic, rozdíl hustot disperzního podílu a disperzního prostředí, rozdíl přitažlivých a odpudivých sil, které zapříčiňují flokulaci, rozpustnost disperzní fáze a distribuce velikosti částic, které určují směr Ostwaldova zrání, stabilita kapalného filmu, který určuje koalescenci [12, s. 1,2].

2.1 Separace na základě gravitačních sil

S ohledem na rozdíl v hustotách vnější a vnitřní fáze se nestabilita emulze projevuje buďto sedimentací nebo krémováním. Obecně je separace fází řízena Stokesovým zákonem (Rov. 1).

$$v = \frac{2}{9} \frac{(\rho - \rho_0)}{\eta} gr^2 \quad (1)$$

Kde:

- v rychlost reakce;
- ρ hustota disperzního podílu;
- ρ_0 hustota disperzního prostředí;
- η viskozita vnější fáze;
- r poloměr částic dispergované fáze;
- g gravitační zrychlení.

Stokesův zákon lze implementovat pouze na individuální částice, případně pro monodisperzní systém. Reálné systémy jsou často velice složité a tak existuje řada odchylek od tohoto zákona [4, s. 49, 50], [13, s. 40]. Emulze jsou polydisperzní systémy. V emulzních systémech se lze setkat s vysokou variabilitou tvarů částic. Často se objevují anizometrické, lamelární nebo fibrilární tvary, které mohou být také různým způsobem agregovány [5, s. 71].

2.1.1 Sedimentace

Sedimentace je jedním z nejjednodušších mechanismů rozpadu emulze. Působením silového pole, např. gravitačního, na hrubé a koloidní disperzní systémy se projevuje usměrněným pohybem částic, který může vést až k úplnému usazení částic nebo k jejich rovnovážnému rozdělení podle velikosti. Gravitační síly působí na kapky emulze, v důsledku toho, že vnitřní fáze má rozdílnou hustotu oproti fázi vnější, a tak dochází ke gravitační separaci jednotlivých fází [6 s. 116], [12, s. 32]. Pokud je hustota částic větší než hustota kontinuální fáze, pak dochází k jejich klesání, tj. sedimentaci. Rychlost sedimentace je tedy přímo úměrná rozdílu hustot disperzního podílu a disperzního prostředí. Průběh sedimentace ovlivňuje i velikost částic, velké částice se usazují mnohem rychleji než částice malé. U systémů obsahujících částice koloidních rozměrů je sedimentační rychlost v gravitačním poli většinou malá, často neměřitelná [6, s. 116], [13, s. 40].

2.1.2 Krémování

Podobně jako u sedimentace jsou za tento typ rozpadu emulze zodpovědné vnější síly, zejména gravitační, popř. odstředivé. Pakliže tyto síly překonají Brownův tepelný pohyb emulzních kapek, dochází k vytvoření koncentračního gradientu v systému a větší kapky se začnou pohybovat vzhůru k hladině. Hustota disperzního prostředí však musí být větší než hustota dispergovaného podílu, v opačném případě by totiž docházelo k sedimentaci [1, s. 1, 2]. Krémování lze tedy charakterizovat jako shromažďování dispergovaných částic v horní části systému. Časem dojde k vytvoření krémové vrstvy na povrchu emulze. Její tloušťka je dána počáteční koncentrací dispergované fáze a způsobem uložení jednotlivých částic ve vrstvě. Rychlost oddělování fází ovlivňuje fluidita dispergované fáze, polydisperzita částic, možnost flokulace částic, existence elektrického náboje a vlastnosti adsorbované vrstvy emulgátoru [5, s. 71].

2.2 Separace na základě agregace částic

K separaci emulzních systémů na makroskopické fáze může docházet na základě agregace částic. Agregaci lze chápat jako pochod, při němž se malé částice shromažďují do větších útvarů tzv. agregátů, aniž by přitom docházelo k rozrušení fázového rozhraní mezi jednotlivými částicemi a disperzním prostředím a ke zmenšení plochy jejich povrchu. Částice v disperzi vykonávají neustálý tepelný pohyb, pokud se přiblíží na dostatečně malou vzdálenost, vlivem přitažlivých sil v místě dotyku se spojí. Částice si zanechávají svoji identitu, pouze ztrácejí kinetickou nezávislost, agregát se pohybuje jako celek (kinetická jednotka) [2], [6, s. 161], [14, s. 852]. Frekvence srážek částic je dána srážkami v důsledku Brownova pohybu. Četnost srážek v důsledku Brownova pohybu je dána vztahem (Rov. 2):

$$F_B = 16\pi D_0 r n^2 \quad (2)$$

Kde:

- F_B je srážková frekvence;
- D_0 difuzní koeficient částice;
- r poloměr částic;
- n počet částic vztažený.

Účinek srážek je dán hydrodynamickými a koloidními interakcemi. Mezi koloidní interakce se řadí např. elektrostatické, hydrofobní, hydratační a Van der Waalsovy interakce. Tyto interakce rozhodují, zda dojde k agregaci nebo zůstanou částice odděleny [4, s. 52, 53].

2.2.1 Flokulace

Při destabilizaci emulze na základě agregace částic lze pozorovat děj zvaný flokulace. Jedná se o děj, při kterém dochází k agregaci dvou a více částic, ale zachovává se jejich individuální charakter. Nedochozí tedy ke změně primární velikosti kapek. Příčinou flokulace je působení přitažlivých sil [12, s. 3]. Přitažlivé působení mezi koloidními částicemi je výsledkem Van der Waalsových mezimolekulárních interakcí. K flokulaci dochází, není-li v systému dostatečný odpor k udržení částic ve vzdálenosti, kde jsou Van der Waalsovy síly slabé. Flokulace je proces spontánní a reverzibilní, je možné jej překonat dodáním energie do systému, např. protřepáním. Ve zředěných emulzích může flokulace přispívat ke gravitační separaci v důsledku zvětšování efektivní velikosti částic. Ta je ve většině případů nežádoucí, protože snižuje jejich životnost. Flokulace také přispívá ke zvýšení viskozity emulzí a může vést k vytvoření gelu [6, s. 161], [8, s. 283], [15, s. 420].

2.2.2 Koalescence

Další děj, který může probíhat při destabilizaci emulze na základě agregace částic, je koalescence. Koalescence je definována jako proces, při kterém dochází ke spojování dvou nebo více kapek kapaliny v jednu o větším objemu a menším povrchu a tedy menší povrchové energii. Mezi kapkami dochází nejprve k vytvoření tenkého filmu disperzního prostředí a následně k jeho zániku. Zánik filmu je energeticky náročnější, jde tedy o krok, který určuje rychlost celého pochodu a má rozhodující vliv na stabilitu emulze vůči koalescenci [2], [16, s. 3, 4]. Koalescence je tedy výsledkem molekulárního kontaktu uvnitř dvou a více kapek [12, s. 43]. Podobně jako flokulace, i koalescence probíhá v důsledku působení přitažlivých sil. Tyto síly vedou ke spojování kapek a k přechodu soustavy do stavu o nižší disperzitě, tedy i nižší energii [6, s. 161]. Koalescence zapříčiňuje, že kapky dispergovaného podílu krémují nebo sedimentují mnohem rychleji než obvykle. To může mít za následek významné mikroskopické změny ve stavu disperzní fáze jako např. změny v průměrné velikosti a distribuci částic [8, s. 283], [10, s. 310], [12, s. 3].

2.3 Ostwaldovo zrání

Destabilizace emulzí může dále probíhat prostřednictvím tzv. Ostwaldova zrání (Ostwald ripening). Ostwaldovo zrání je možné definovat jako přenos látky z drobných částic na částice větších rozměrů, probíhající v reálné polydisperzní soustavě v důsledku vyššího tlaku páry nebo větší rozpustnosti menších částic. Toto snižování stupně disperzity probíhá až do přeměny disperzní soustavy na soustavu dostatečně hrubě disperzní, v níž jsou rozdíly rozpustnosti nebo tlaku páry částic s různým rozměrem již velice nepatrné a rychlost procesu je zanedbatelně malá [17]. Obecně lze říci, že Ostwaldovo zrání je výsledkem rozdílné rozpustnosti mezi malými a velkými kapkami. Kdy s postupem času dochází k vymizení menších kapek a jejich rozptýlení v objemu, kde mohou splynout do kapek větších. Teoreticky může vést Ostwaldovo zrání ke kondenzaci všech kapek do jedné, čímž dojde k separaci fází. To však v praxi není možné, jelikož rychlost růstu klesá se zvyšující se velikostí částic [12, s. 3], [18, s. 311]. Ostwald ripening se vyskytuje v systémech, kde mají obě kapaliny omezenou vzájemnou rozpustnost a je jednou z hlavních příčin změny velikosti kapek a jejich distribuce. Vzniká v důsledku vzniku rozdílu v chemickém potenciálu mezi kapkami různé velikosti. Platí, že menší kapičky jsou více rozpustné než kapky větší, což je dáno zakřivením volné povrchové energie. Molekuly kapek dispergované fáze difundují z povrchu do kontinuální fáze a následně se spojují do kapky větší. A tak zatímco se malé kapky zmenšují, velké kapky se zvětšují, což má za následek snížení mezifázové plochy [19, s. 509, 510].

2.4 Stabilizace emulzí pomocí surfaktantu

Jak již bylo zmíněno výše, emulze jsou polydisperzní systémy, jejichž stabilita je velmi omezená. Tyto systémy lze však vhodně stabilizovat a předcházet tak destabilizaci a případné separaci na makroskopické složky. Jednou z možností stabilizace může být přidání třetí složky, surfaktantu (emulgátoru). Surfaktant je povrchově aktivní látka (PAL), tj. látka schopná snižovat povrchové napětí na fázovém rozhraní. V užším slova smyslu je PAL látka, která výrazně snižuje povrchové napětí již v relativně nízkých koncentracích a je pro tuto vlastnost cíleně využívána. Aby docházelo ke snižování povrchové energie, musí se tato látka velmi ochotně a spontánně koncentrovat na fázové rozhraní [4, s. 6]. Z chemického hlediska jsou surfaktanty amfipatické nebo také amfifilní molekuly, tvořené hydrofilní a hydrofobní částí (Obr. 1). Obecně je hydrofilní část molekuly tvořena polární skupinou a hydrofobní část uhlovodíkovým řetězcem [9, s. 38].



Obr. 1. Struktura povrchově aktivní látky [20]

Povrchově aktivní složky je možné klasifikovat na základě různých kritérií. Nejčastěji je možné se setkat s dělením na základě jejich hydrofilní a hydrofobní složky, číselné hodnoty HLB a systematiky organických sloučenin [21, s. 28]. Z hlediska stabilizace emulze je podstatná jejich schopnost vytvářet na povrchu kapek dispergovaného podílu ochrannou vrstvu, která při tepelné nebo sedimentační srážce zabrání jejich koalescenci. Dále by měla splňovat požadavky, jako např. hromadit se na rozhraní obou fází přiměřenou rychlostí a vytvářet na fázovém rozhraní soudržný, elastický film, který však nejeví adhezi k filmům vytvořených okolo jiných kapek [5, s. 74].

2.5 Stabilizace emulzí elektrickou dvojvrstvou

Způsob, jakým lze zabránit agregaci v systémech s vodným prostředím je stabilizace elektrickou dvojvrstvou. Stabilizace pomocí elektrických dvojvrstev se řadí mezi fyzikálně chemické faktory stabilizace. Nabitý povrch přitahuje ionty opačného znaménka, tzv. protiionty, jejichž náboj neutralizuje náboj povrchu a vzniká útvar složený ze dvou opačně nabitých vrstev, tedy elektrická dvojvrstva. Vnitřní část dvojvrstvy je označována jako vnitřní vrstva nebo nabitý povrch. Tvoří na povrchu adsorbovanou vrstvu o tloušťce jednoho iontu, lze ji tedy brát jako plochu nesoucí elektrický náboj. Vnitřní vrstva přitahuje protiionty z roztoku, které tak vytvoří druhou vrstvu o stejné ploše hustotě náboje, avšak s opačným znaménkem. Při přiblížení dvou nabitých povrchů dochází k vzájemnému prostupování difuzní části jejich elektrických dvojvrstev. V prostoru mezi povrchy se ustanoví nové rozložení iontů a tím se změní i průběh potenciálu a místní hustoty náboje. Při zužování mezery mezi povrchy dochází k desorpci iontů a vzrůstu Gibbsovy energie

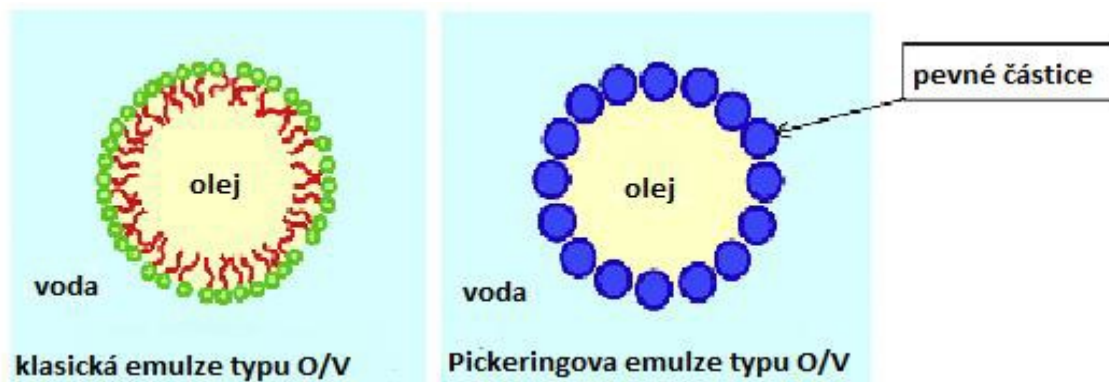
v systému, což vede ke vzniku odpudivých sil mezi částicemi, které se vlivem tepelného pohybu opět vzdálí [6, s. 85, 161, 162], [22, s. 6, 7]. Vznikající odpudivé síly brání přibližování částic dispergovaného podílu a vzniku koalescence. Čím větší je tloušťka dvojvrstvy a čím větší je náboj kapky, tím účinněji je systém chráněn proti koalescenci. Vliv koncentrace elektrolytu na tyto dvě veličiny je však opačný, náboj kapky roste s koncentrací elektrolytu, zatímco tloušťka dvojvrstvy s vzrůstající koncentrací elektrolytu klesá [5, s. 75].

2.6 Stérická stabilizace emulzí

Stabilizační účinky lyofilních koloidů na lyofobní disperze jsou známy již řadu let. Příkladem mohou být barvy a inkousty připravované dispergováním vhodného pigmentu ve vodě za přítomnosti různých v přírodě se vyskytujících polymerů. Přítomnost polymerů v disperzních systémech může vyvolávat jak přitažlivé, tak odpudivé interakce. Účinné stabilizace lyofobních částic je možné dosáhnout přidávkem látek, jejichž molekuly jsou schopné dostatečně silné adsorpce na povrchu lyofobní částice, ale současně jsou rozpustné v disperzním prostředí [6, s. 162, 163]. Aby byla stabilizace účinná, je nutné, aby molekuly byly na povrchu částic silně adsorbovány a aby pokrývaly jejich celý povrch. Těmto požadavkům vyhovují některé makromolekuly (blokové kopolymery) a povrchově aktivní látky tvořící asociativní koloidy. Stabilizace probíhá tak, že dojde k připojení makromolekul na povrch částic buďto roubováním nebo adsorpcí (fyzikální nebo chemisorpcí). Přiblíží-li se dvě částice, na jejichž povrchu je hustá vrstva pevně adsorbovaných makromolekul, může docházet buďto k vzájemnému pronikání adsorbovaných vrstev nebo dojde k jejich stlačování. Záleží na afinitě polymeru k rozpouštědлу. V dobře zvoleném rozpouštědle, kde jsou preferovány kontakty mezi segmenty polymeru a molekulami rozpouštědla se adsorpční vrstvy makromolekul brání vzájemnému pronikání. Současně dochází k expanzi makromolekul, což zvyšuje odpor proti stlačování. To brání přibližování kapek v systému, a tím i koagulaci částic [6, s. 163], [23, s. 6], [24].

2.7 Stabilizace emulzí pomocí pevných částic

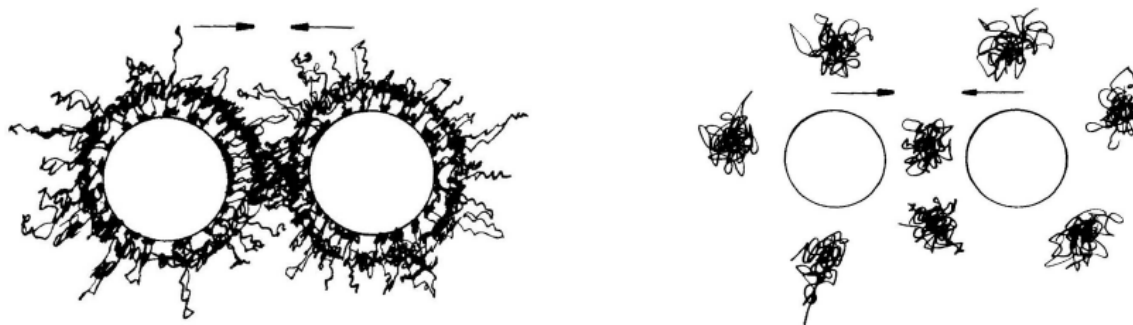
Stabilizace disperzních systémů za současného využití pevných látek je známa již řadu let, avšak teprve nedávno se stala předmětem intenzivního zájmu. Pevné částice mohou být alternativou povrchově aktivních látek, používaných zejména ve farmaceutickém a kosmetickém průmyslu, vykazujících určité nežádoucí účinky, jako např. dráždivost nebo toxicita. Podobně jako povrchově aktivní látky jsou pevné částice schopny se adsorbovat na fázové rozhraní disperzních systémů, např. emulzí a bránit shlukování a slévání jejich částic. Takto stabilizované emulze jsou známy pod pojmem Pickeringovy emulze (Obr. 2). Pickeringovy emulze zahrnují veškeré typy emulzí, a to emulze typu voda v oleji nebo olej ve vodě či emulze smíšené. Mezifázové rozhraní Pickeringových emulzí je stabilizováno za pomoci pevných částic anorganického nebo organického charakteru [25, s. 23]. Emulze nesou název po svém objeviteli S. U. Pickeringovi, který roku 1907 uveřejnil zprávu o emulzi typu o/v stabilizované pevnými částicemi adsorbovanými na povrch olejových kapiček. Již o čtyři roky dříve Ramsden vydal odborný článek, v němž tvrdil, že pevné částice jsou schopny se adsorbovat na fázové rozhraní o/v, avšak svou teorii nijak neprokáزال. Zatímco Pickering podal důkazy o stabilizaci emulzních systémů pomocí pevných částic, když stabilizoval emulzi parafinového oleje ve vodě. I přestože se od roku 1907 všeobecně vědělo, že pevné látky smáčené přednostně vodnou fází mají tendenci stabilizovat emulzi o/v, až experimentální práce Schulmana a Leja z roku 1954 poukázala na důležitost velikosti kontaktního úhlu smáčení při vzniku emulze. V případě, kdy kontaktní úhel svírá méně než 90° jsou pevné částice přednostně smáčeny vodou fází a mají tendenci stabilizovat emulze o/v. Naopak je-li kontaktní úhel větší než 90° částice budou stabilizovat emulze typu v/o. V současné době je všeobecně známo, že smáčivost částic vyjádřená za pomoci kontaktního úhlu určuje typ emulze a její stabilitu [25, s. 24], [26, s. 123]. Při přípravě stabilních Pickeringových emulzí je nezbytné, aby emulze zůstala stabilní vůči jakýmkoliv destabilizačním jevům (koagulace, koalescence, Ostwaldovo zrání) a aby byl proces emulgace uskutečnitelný. Dlouhodobá stabilita emulze je závislá především na složení, vhodně zvoleném stabilizátoru a metodě přípravy [25, s. 25]. Ke stabilizaci Pickeringových emulzí se využívají pevné částice obvykle o průměru menším než 200 nm. Příkladem mohou být uhličitán vápenatý, síran barnatý, saze, latex či uhlíkové nanočástice. Rovněž neobvyklé typy částic, jako např. kationické nanokrystaly, spory nebo bakterie [27, s. 331], [28, s. 2973].



Obr. 2. Rozdíl mezi klasickou emulzí (vlevo) a Pickeringovou emulzí (vpravo) [25, s. 23]

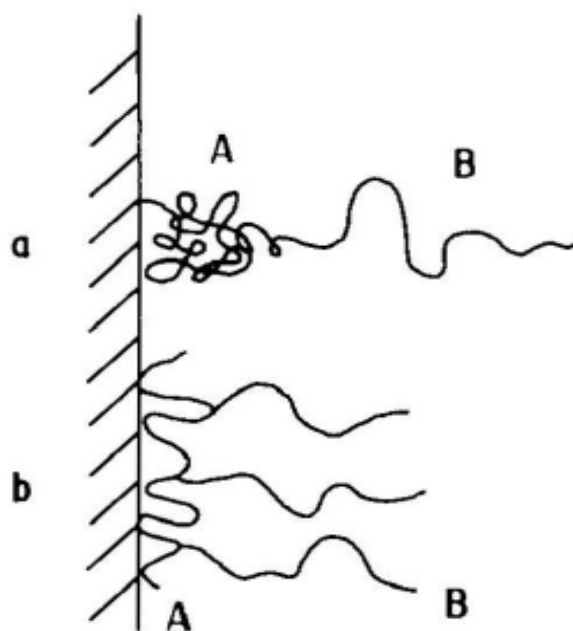
2.8 Stabilizace emulzí pomocí polymerů

Polymery jsou vysoce specifické látky s relativně vysokou molekulovou hmotností, tvořené pravidelně se opakujícími jednotkami spojenými primárními kovalentními vazbami. Dosahuje-li molekulová hmotnost polymerů hodnot vyšších než 10 000 Da, ovlivňují chování polymerních řetězců Van der Waalsovy síly. Z tohoto důvodu může vznikat v systému odpor a polymery mohou fungovat jako účinné stabilizátory. Existují dva různé mechanismy stabilizace pomocí polymerů, stabilizace stérická a stabilizace pomocí deplece. Stabilizace koloidních částic prostřednictvím deplece je prozatím v počáteční fázi výzkumu a ke stabilizaci využívá makromolekuly, které jsou volně v roztoku. Při vyšších koncentracích se tyto makromolekuly absorbují na koloidní částice. Částice mají tendenci se k sobě přibližovat působením Van der Waalsových sil. Přiblíží-li se částice na dostatečně malou vzdálenost, makromolekuly jsou z prostoru mezi částicemi vypuzovány a tento prostor je vyplněn disperzním prostředím a dochází k tzv. depleční flokulaci. Avšak jsou-li částice dostatečně vzdáleny a koncentrace volného polymeru je vysoká, částice se odpuzují a dochází naopak k depleční stabilizaci [23, s. 6, 7, 8]. Jak již bylo zmíněno výše, stabilizace stérická spočívá ve vzájemném působení polymerních řetězců adsorbovaných na povrch částic buďto roubováním nebo adsorpcí (fyzikální nebo chemisorpcí) (Obr. 3).



Obr. 3. Schéma stérické stabilizace (vlevo) a stabilizace pomocí deplece (vpravo) [23, s. 6]

Podle posledních studií lze za nejlepší polymerní stabilizátory pokládat amfifilní blokové nebo roubované kopolymery. Tedy polymery obsahující dva různé monomery začleněné do stejného polymerního řetězce. Z hlediska stability je důležitá přítomnost ukotvující skupiny a stabilizujícího řetězce. Ukotvující část polymerního řetězce vykazuje silnou afinitu k adsorbentu a je obvykle nerozpustná v disperzním médiu. Slouží tedy k ukotvení kopolymeru na povrch částice. Stabilizující řetězec je mnohem více kompatibilní s disperzním médiem, k povrchu částic nevykazuje téměř žádnou afinitu, díky čemuž vystupuje do dispergačního média a vytváří ochrannou bariéru (Obr. 4). Kopolymery náhodné nejsou při stabilizaci účinné, tak jako blokové či roubované. Nicméně některé amfifilní homopolymery mohou být dostatečně účinné, plní-li jejich strukturní jednotky ukotvující a stabilizační funkci. Výsledná schopnost stabilizace polymerů tedy závisí na interakcích mezi částicemi, na rozpouštědle, tloušťce naadsorbované vrstvy, a zda je polymer reversibilně naadsorbován nebo ireverzibilně naroubován na povrch částice [23, s. 9, 10], [29, s. 226, 227].



Obr. 4. Schéma znázorňující ukotvující skupinu (A), stabilizující řetězec (B) blokového kopolymeru (a) a roubovaného kopolymeru (b) při stabilizaci [23, str. 10]

3 BIOPOLYMERY

Biopolymery jsou makromolekulární látky polymerního charakteru vznikající při biochemických procesech v těle živých organismů. Jsou sestaveny analogickým způsobem jako běžné polymery. Vznikají polykondenzací základních strukturních jednotek (monomerů) a spojením kovalentní vazbou [30, s. 462]. V živých organismech probíhá syntéza polymerních látek působením enzymů, které jsou přísně specifické. Enzymatické děje probíhající při vzniku biopolymerů jsou v podstatě jednotné. Kombinací velkého počtu malých molekul různého druhu vzniká lineární řetězec, který může v prostoru zaujímat velký počet konformací vyznačujících se různými vlastnostmi. V porovnání se synteticky připravenými polymery se biopolymery vyznačují přesně definovanou délkou molekuly a pravidelnou stavbou tvořenou několika přesně definovanými základními jednotkami. Kromě velikosti a přesně definované struktury mají tyto makromolekulární látky celou řadu dalších společných charakteristických vlastností jako např. botnění, tvorbu gelu a následné vytváření koloidních roztoků při působení rozpouštědel [31, s. 4]. Díky své chemické struktuře jsou snadno biologicky rozložitelné a po splnění své funkce se rozpadají na fragmenty, které se stávají součástí látkového koloběhu. Současné studie zabývající se aplikovatelností polymerů se již nezaměřují pouze na biologickou rozložitelnost, ale i na prospěšnost z hlediska životního prostředí, což syntetické polymery na rozdíl od biopolymerů nesplňují [32], [33, s. 155]. Biopolymery lze rozdělit na čtyři hlavní skupiny, a to na polypreny, polypeptidy, polysacharidy a nukleové kyseliny. Lze se také setkat s dělením dle tvaru molekul, kdy se dělí na tzv. globulární (klubkovité) a fibrilární (vláknité). Polypreny jsou strukturně nejjednodušší přírodní makromolekulární látky, jejichž významným představitelem je např. kaučuk. Kaučuk nachází své uplatnění v různých odvětvích současného průmyslu, největší využití však nachází v automobilovém průmyslu při výrobě pneumatik. [31, s. 4, 18]. Biopolymery jako jsou proteiny a polysacharidy jsou velmi dobrými přírodními emulgátory a stabilizátory, často využívanými v potravinářském a farmaceutickém průmyslu. Ve farmaceutickém průmyslu jsou používány jako stabilizátory emulzí, obaly tablet, pojiva tablet atd. Své využití nachází i v kosmetickém průmyslu, kde jsou využívány jako nosiče aktivních látek, účinné stabilizátory, emulgátory a regulátory viskozity [34, s. 364, 365]. Poslední skupinou biopolymerů jsou nukleové kyseliny, biologicky aktivní látky hrající klíčovou roli při přenosu a uchování genetické informace. Jsou tvořeny kombinací tří základních složek, cukerné složky (pentózy), dusíkaté heterocyklické báze (purinové nebo pyrimidinové báze) a kyseliny fosforečné. V závislosti na obsahu

cukerné složky (D-ribofuranóza, D-2-deoxyribofuranóza) se rozlišují nukleové kyseliny ribonukleové (RNA) a deoxyribonukleové (DNA).

3.1 Polypeptidy

Polypeptidy (proteiny) jsou vysokomolekulární látky tvořící podstatnou složku živých buněk. Uvádí se, že u živočichů tvoří až 90 % veškeré organické hmoty. Jejich struktura je tvořena základními stavebními jednotkami (aminokyselinami). Jedná se tedy o polyamidy vznikající kondenzací velkého počtu aminokyselin. Jednotlivé aminokyseliny jsou pospojovány pomocí peptidických vazeb do polypeptidického řetězce. Páteř řetězce tvoří jednotlivé α -aminokyseliny spojené peptidickou vazbou, nesoucí postraní řetězce. Řetězec je na jedné straně ukončen volnou aminokyselinou (N-konec), na straně druhé volnou karboxylovou skupinou (C-konec) [31, s. 21]. Proteiny jsou tvořené náhodně uspořádanými hydrofilními a hydrofobními skupinami, díky čemuž získávají charakteristické vlastnosti. Mnohé proteiny jsou schopny se adsorbovat na fázové rozhraní olej/voda, snižovat povrchové napětí a tím zajistit dostatečnou stabilitu systému [34, s. 364, 365], [35, s. 2, 3]. Významnými zástupci biopolymerů na bázi proteinů jsou např. želatina, kasein a zein. Mezi biopolymery na bázi bílkovin lze také zařadit sójové proteiny, hráškové proteiny a syrovátkové bílkoviny, u nichž byla také prokázána schopnost stabilizace emulzí, ne však v takovém rozsahu [34, s. 365], [36, s. 166].

3.1.1 Želatina

Želatina je polyamfolytický polymer s relativně vysokou molární hmotností získávaný ze zvířecího kolagenu. Je to pevná průsvitná látka, která po kontaktu s vodou snadno hydratuje za vzniku oddělených nabobtnalých částic. Pokud dojde k záhřevu vodného roztoku želatiny, želatina se postupně rozptýlí až do vytvoření stabilní suspenze. Při opětovném zchlazení bude želatina vytvářet reversibilní gel [34, s. 365], [37, s. 3, 4]. Tyto vlastnosti jsou dány její specifickou strukturou. Díky ní jsou tyto biomolekuly schopné se deformovat a zaujímat velkou část plochy na fázovém rozhraní olej/voda, kde dochází k vytvoření viskoelastické absorbované vrstvy, která je schopna účinně stabilizovat emulzní systémy [36, s. 166].

3.1.2 Kasein

Kasein je hlavní bílkovinnou složkou savčího mléka s významnými technologickými a nutričními vlastnostmi. Z chemického hlediska se jedná o skupinu heterogenních fosfoproteinů, s výjimkou κ -kaseinu, který je řazen mezi glykoproteiny. Prakticky se jedná o směs čtyř různých proteinových frakcí α_{s1} -, α_{s2} -, β - a κ -kaseinů. V mléce jsou tyto frakce agregovány do tzv. submicel. Primární strukturu kaseinů tvoří sekvence aminokyselin s nestejným rozložením polárních a nepolárních skupin. To znamená, že kaseiny jsou povrchově aktivní látky, tvořené hydrofilní a hydrofobní částí. Nepolární části molekul jsou orientovány do centra submicel, polární části molekul (fosfoserinové zbytky) interagují s molekulami vápníku a s vodou. Submicely jsou poté spojeny do větších strukturních celků, tzv. micel, prostřednictvím fosfoserinových zbytků a molekul vápníku přímo nebo pomocí volných fosfátů a citrátů. Z důvodu absence sekundární a terciární struktury vykazují vysokou povrchovou hydrofobicitu a výjimečné povrchové vlastnosti v emulzích a gelech. Zejména frakce α_{s1} - a β -kaseinu jsou považovány za velmi účinné emulgátory. Jsou schopny snižovat mezifázové napětí při emulgaci a chránit nově vytvořené kapičky proti flokulaci a srůstání kombinací stericke a elektrostatické stabilizace [34, s. 365] [38, s. 53, 54].

3.1.3 Zein

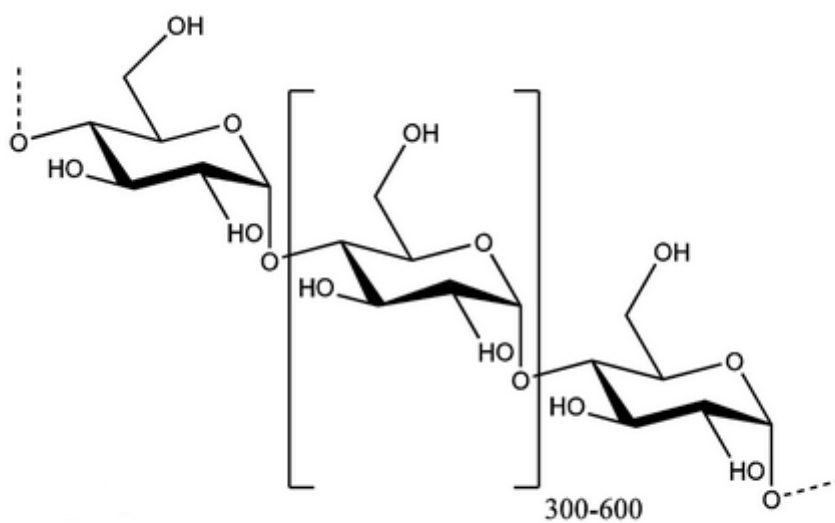
Zein je kukuřičný na prolin bohatý protein, řazený mezi prolaminy. Je jedním z mála hydrofilních proteinů, charakteristickým omezenou rozpustností ve vodě, avšak dobrou rozpustností ve směsi některých organických rozpouštědel s vodou (např. směs ethanol-voda). Zein také patří mezi velmi dobré stabilizátory emulzí. Přednostně se zeinové částice adsorbují na rozhraní emulzních systémů typu olej/voda. Výsledná stabilita těchto emulzí je ovlivněna koncentrací zeinových částic, pH a iontovou silou. Za nízkého pH nejsou zeinové částice schopny bránit slévání kapek, zatímco při vysokém pH koalescenci zabráňují [36, s. 166]

3.2 Polysacharidy

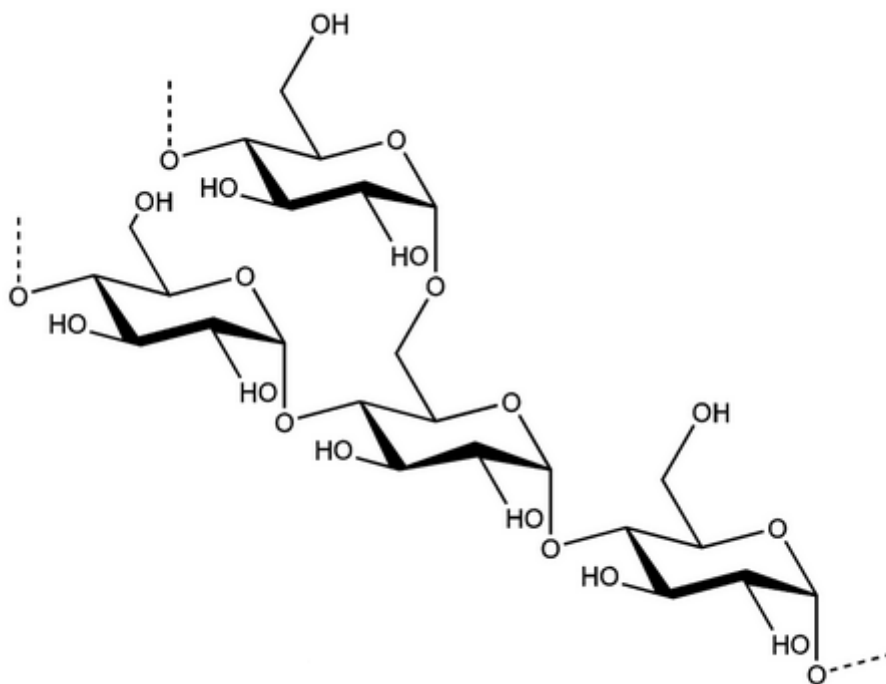
Polysacharidy jsou jedním z nejrozšířenějších druhů biopolymerů. Vyskytují se ve velmi rozmanitých formách po celém světě. Jejich struktura je tvořena základními stavebními jednotkami (sacharidy), spojenými glykosidickou vazbou. Monosacharidové jednotky vytváří lineární či větvené řetězce. V závislosti na počtu monosacharidových jednotek se rozeznávají oligosacharidy tvořené dvěma až deseti jednotkami a polysacharidy mající více než deset základních jednotek. Na základě chemického složení lze polysacharidy rozdělit na homopolysacharidy, tedy sacharidy tvořené jedním druhem monosacharidových jednotek, heteropolysacharidy skládající se ze dvou nebo více druhů monosacharidů a složené polysacharidy obsahující necukernou složku [31, s. 100, 101]. Polysacharidy jsou typické svým hydrofilním charakterem a vysokou molekulární hmotností. Z toho pramení jejich zahušťující schopnosti a schopnost zadržovat vodu. Na rozdíl od proteinů, většina polysacharidů nemá povrchově aktivní vlastnosti a není tedy schopna adsorpce na fázové rozhraní olej/voda nebo voda/olej. Přesto patří mezi výborné stabilizátory disperzních systémů. Vytváří rozmanité sítě a jsou schopny modifikovat viskozitu tak, aby došlo k omezení pohybu a srážek dispergovaných kapek. Jiné polysacharidy jako je arabská guma, chemicky modifikovaný škrob nebo deriváty celulózy povrchovou aktivitu vykazují [34, s. 366].

3.2.1 Škrob

Škrob je polymerní látka, která se vyskytuje jako rezervní látka v rostlinách, zejména pak v semenech a hlízách ve formě zrníček (amyloblastů) různé velikosti. Vzniká při fotosyntéze polykondenzací základních monomerních jednotek glukózy, za vzniku molekulárních řetězců v zelených částech rostlin. Jedná se o řetězce dvojího typu, rozvětvené a lineární. První fáze škrobu (amylóza) je tvořena řetězci lineárními, fáze druhá (amylopektin) řetězci rozvětvenými. Amylóza tvoří 20–30 % škrobu a skládá se z dlouhých nerozvětvených řetězců spojených α -(1-4)-glykosidickou vazbou (Obr. 5). Amylopektin se skládá rovněž z glukózových jednotek spojených α -(1-4)-glykosidickou vazbou. Řetězce jsou však větvené pomocí α -(1-6)-glykosidické vazby, která se vyskytuje u každé desáté až dvanácté glukózové jednotky (Obr. 6). Škrob obsahuje v malém množství také látky necukerné jako například esterově vázanou kyselinu fosforečnou [31, s. 102, 103], [39, s. 31–34]. Škrob se navenek jeví jako hydrofilní látka, přesto jsou škrobové granule vhodnými stabilizátory emulzí typu olej ve vodě. Vzhledem k jejich morfologii a složení se využívají jako stabilizátory emulzí v potravinářském průmyslu [36, s. 165]



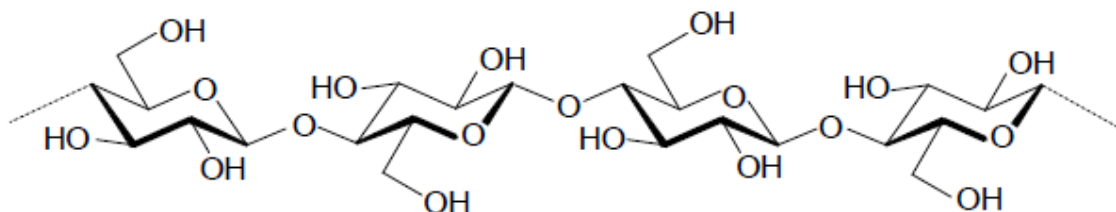
Obr. 5. Strukturní vzorec amylozy [40, s. 15]



Obr. 6. Strukturní vzorec amylopetinu [40, s. 15]

3.2.2 Mikrokrystalická celulóza

Mikrokrystalická celulóza je přečištěná, částečně depolymerovaná celulóza. Celulóza je snadno přístupný, obnovitelný biopolymer rozšířený po celém zemském povrchu. Jedná se o vysokomolekulární látku složenou z několika set jednotek β -D-glukózy, vzájemně spojených glykosidickými vazbami. Spojením dvou β -D-glukóz vzniká disacharid celobióza, základní stavební jednotka glukózy (Obr. 7) [41]. Celulóza je složena z několika milionů mikrovláken, u kterých se rozlišuje parakrystalická (amorfní) a krystalická část. Kyselou hydrolyzou celulózy pomocí minerálních kyselin, např. kyselinou chlorovodíkovou, jsou odstraněny amorfní části řetězce a vzniká mikrokrystalická celulóza. Mikrokrystalická celulóza je stabilní, hygroskopický bílý prášek bez chuti a zápachu, chemicky inertní a biodegradabilní. Široce se využívá ve farmaceutickém průmyslu, zejména jako plnivo při přípravě tablet a kapslí, při vlhké granulaci a pro přímé lisování. Své uplatnění nachází i jako účinný absorbent při výrobě granulovaných prášků, dále pak jako nosič olejů a aromatických látek a v neposlední řadě jako emulgátor. Byla u ní prokázána schopnost stabilizovat emulze typu olej/voda bez jakéhokoliv přídavku povrchově aktivního činidla [36, s. 165, 166], [42, s. 65, 66], [43, s. 6, 7].



Obr. 7. Strukturální vzorec celulózy [44, s. 4]

3.2.3 Deriváty celulózy

Deriváty celulózy vznikají modifikací nativní celulózy. Celulóza je hydrofilní, ve vodě nerozpustná látka, a to díky existenci mnoha silných vodíkových vazeb, které se tvoří mezi jednotlivými vlákny celulózy. Substitucí celulózy lze získat její ve vodě rozpustnou modifikaci. Tato skutečnost je zapříčiněna díky zmenšenému počtu vodíkových interakcí. Touto modifikací vznikají např. methylcelulóza (MC) a hydroxypropylmethylcelulóza (HPMC). Dalšími nejčastěji užívanými deriváty celulózy jsou karboxymethylcelulóza (CMC), respektive její sodná sůl (NaCMC), hydroxyethylcelulóza (HEC) a hydroxypropylcelulóza

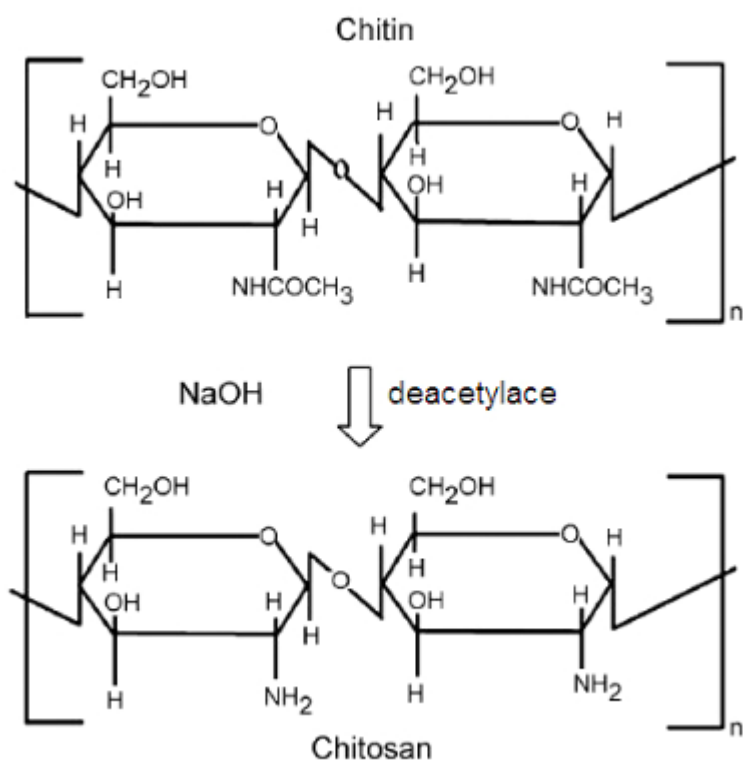
(HPC) [45, s. 162, 163], [46, s. 778, 779]. Z hlediska stabilizace disperzních systémů je nejvýznamnějším derivátem celulózy hydroxypropylmethylcelulóza. Jak již bylo řečeno výše, celulóza patří mezi adsorbující polysacharidy nebo-li povrchově aktivní látky. To je dáno strukturou tvořenou kombinací hydrofobních a hydrofilních skupin podél páteře celulózy. Stejně tak HPMC je tvořena hydrofobními (methoxy-) a hydrofilními (hydroxypropyl-) skupinami se silnou tendencí kumulovat se na fázovém rozhraní olej/voda a snižovat povrchové napětí. Hydroxypropylmethylcelulóza je proto široce využívána jak v potravinářském, tak ve farmaceutickém průmyslu, kde se využívá k úpravě textury a ovlivňování reologických vlastností. Ve farmaceutickém průmyslu dále slouží jako pojivo a potah tablet nebo náhrada želatiny při výrobě tvrdých kapslí [34, s. 366, 368].

3.2.4 Karagenany

Karagenany jsou skupinou vysokomolekulárních přírodních polysacharidů získávaných z buněčných stěn a intracelulární matrix červených řas čeledi *Rhodophyceae*. Nejčastěji se jedná druhy *Euchema spinosum*, *Gigartinas stellata* a *Chondrus crispus*. Struktura karagenanů je tvořena ze stavebních jednotek β -D-galaktopyranózy a 3,6-anhydro- α -D-galaktopyranózy, tvořící disacharid karabiózu, spojených α -(1-3) a β -(1-4) vazbou. Lze se setkat se třemi základními typy karagenanů, a to kappa (κ -), iota (ι -) a lambda (λ -) karagenany. Jednotlivé frakce se liší počtem a polohou sulfátových skupin. Počet a poloha sulfátových skupin a druh navázaného kationtu ovlivňuje jejich rozpustnost ve vodě, schopnost tvořit viskózní roztoky nebo pevné gely. Karagenany jsou známé pro své zahušťující, želírující a stabilizační schopnosti. Proces želatinizace je provázen přechodem karagenu z neuspořádané šroubovice do koaxiální dvoušroubovice. Tato agregace je podpořena navázáním kationtů (Na, K, Ca). Karagenany kappa a iota obsahují anhydridové můstky umožňující přechod do uspořádaných dvoušroubovicových struktur a vytvářet tak gely. Karagenany lambda anhydridové můstky neobsahují, tudíž pozbývají schopnost tvořit gely. V kombinaci s dalšími biopolymery se používají jako účinné stabilizátory emulzí a gelů, do pleťových vod, očních kapek, tablet a kapslí [34, s. 366, 367], [47, s. 164–175], [48, s. 167, 168].

3.3 Chitosan

Chitosan je jediný přírodně se vyskytující kationický polysacharid. Jedná se o částečně deacetylovaný lineární biopolymer *N*-acetyl glukosaminu. Chitosan je získáván a průmyslově vyráběn alkalickou *N*-acetylací polysacharidu chitinu za pomoci 50% roztoku hydroxidu sodného při několikahodinovém varu (Obr. 8). Další možností přípravy je enzymatická deacetylace chitinu s použitím lysozymu, neutrální proteázy a *N*-deacetylázy. Stupeň deacetylace chitinu se udává v procentech, obvykle se pohybuje v rozmezí 60–100 %. Stupeň deacetylace reguluje množství volných aminokyselin v polymerním řetězci, které jsou k dispozici pro interakci s ionty kovů, jako např. Ag^+ , Cu^{2+} , Zn^+ . [49, s. 929], [50, s. 56], [51, str. 11]



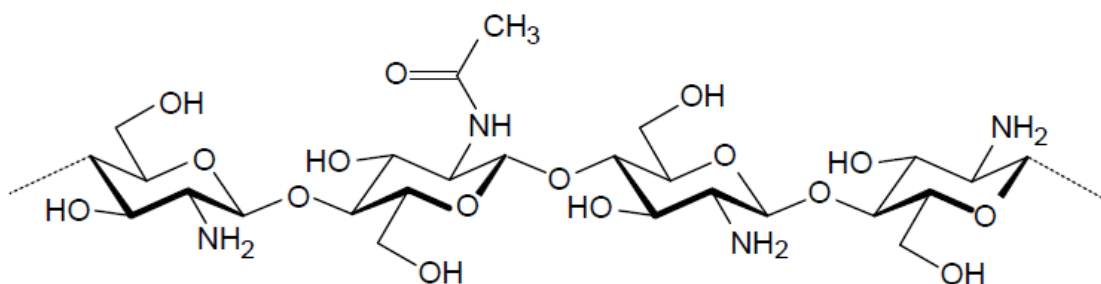
Obr. 8. Schéma vzniku chitosanu z chitinu [52, s. 297]

Chitin je ihned po celulóze druhým nejrozšířenějším polysacharidem na zemi. Jedná se o lineární kopolymer β -(1-4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glukopyranózy, který obsahuje nízké procento zbylých 2-amido-2-deoxy- β -glukopyranózových celků. Strukturně se značně podobá celulóze, v chitinu je však na C-2 hydroxylová skupina nahrazena acetamidovou. Je základní

stavební složkou schránek (exoskeletu) korýšů, hmyzu a dalších bezobratlých živočichů. Chitin je také obsažen v buněčných stěnách hub (kvasinek, plísní, vyšších hub) a krovkách hmyzu. I přes strukturální podobnost s celulózou je chitin nerozpustný ve většině rozpouštědel typických pro celulózu. Přírodní chitin je vysoce krystalický a nerozpustný ve vodě ani běžných organických rozpouštědlech. Rozkládá se pouze bakteriálními enzymy chitinázami, enzymem lysozymem a koncentrovanými kyselinami. Z tohoto důvodu bývá převeden na svůj rozpustný derivát chitosan [53, s. 115], [54, s. 34]. I přes svou špatnou rozpustnost se chitin využívá v biomedicíně a potravinářském průmyslu. Především jako zahušťovadlo, emulgátor a stabilizátor emulzních systémů [53, s. 115].

3.3.1 Struktura a vlastnosti chitosanu

Chitosan nebo-li (1-4)-2-amino-2-deoxy- β -D-glukan patří mezi méně časté kationické polymery. Jedná se v podstatě o kopolymer složený ze dvou základních podjednotek, 2-amino-2-deoxy- β -D-glukopyranózy a 2-acetamido-2-deoxy-D-glukopyranózy spojených β -(1-4) vazbou (Obr. 9) [55, s. 372].



Obr. 9. Strukturální vzorec chitosanu [44, s. 4]

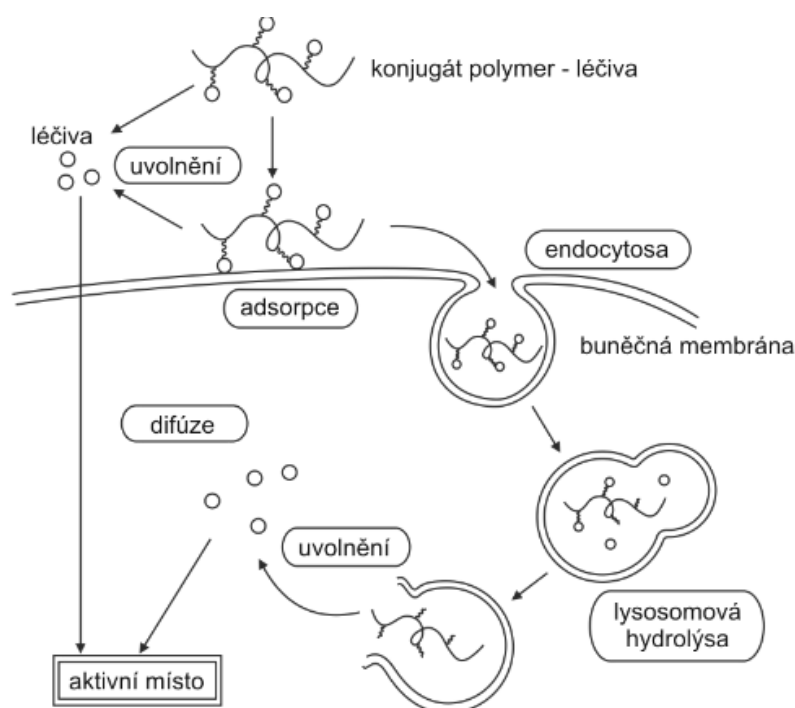
Rentgenostrukturní analýzou byly objeveny čtyři krystalické polyformy chitosanu, z toho tři hydratované (tendonová forma, forma II a L2 forma), které vytvářejí ve vodě rozpustné soli s organickými a minerálními kyselinami a jedna nehydratovaná forma, jež vzniká zahříváním hydratovaného chitosanu na teplotu 200 °C. Molekula chitosanu je tvořena třemi aktivními centry: primární aminoskupinou, primární hydroxyskupinou a sekundární hydroxyskupinou. Primární skupina snadno podléhá kvarternizaci, díky čemuž se zvýší rozpustnost chitosanu ve vodě a tvoří komplexy s ionty kovů. Primární hydroxyskupina bývá nejčastěji substituována spojovacími články, tzv. spacersy, na které se může navázat

aktivní složka (léčivo) či skupina zodpovědná za rozpustnost ve vodě. Sekundární hydroxyskupina je modifikována zejména za účelem zvýšení rozpustnosti ve vodě [50, s. 56, 57]. Významnými strukturálními parametry používanými při charakterizaci chitosanu jsou stupeň deacetylace, molekulární hmotnost a rozpustnost. Molekulární hmotnost komerčně dostupného chitosanu se pohybuje mezi 100 až 1200 kDa. Jde o parametr, který významně ovlivňuje některé vlastnosti chitosanu, zejména jeho rozpustnost a viskozitu. Hlavním omezením chitosanu při různých aplikacích je vysoká viskozita a nízká rozpustnost při neutrálním pH. Snížením molekulární hmotnosti lze tento problém vyřešit, jelikož snížením molekulární hmotnosti se sníží viskozita roztoku a zlepší se rozpustnost chitosanu [55, s. 374]. Chitosan je podobě jako chitin při neutrálním pH nerozpustný ve většině organických rozpouštědlech i ve vodě. Je však velmi dobře rozpustný v kyselém prostředí o pH nižším než 6,5. Příkladem může být kyselina octová, kyselina mléčná a kyselina chlorovodíková. Výjimkou je kyselina sírová a kyselina fosforečná, v nichž je chitosan nerozpustný. Rozpustnost v kyselém prostředí je dána přítomností volných aminoskupin. Ty se ve slabě kyselém prostředí protonizují a chitosan se začne ve vodném roztoku chovat jako polykationt. Rozpustnost je tedy silně spjata s pH roztoku, v němž je rozpouštěn. Pokud je pH prostředí nízké, aminokyseliny chitosanu jsou kladně nabitě a chitosan se stává rozpustným kationickým elektrolytem. Vzroste-li hodnota pH nad 6, aminoskupiny jsou deprotonovány a chitosan ztrácí náboj. Stává se pak ve vodě nerozpustným [56, s. 646]. Vzhledem ke své struktuře disponuje chitosan významnými vlastnostmi jako je odbouratelnost, biologická obnovitelnost, biokompatibilita a netoxičnost. Právě díky těmto vlastnostem je hojně využíván v různých odvětvích průmyslu [51, s. 10].

3.3.2 Využití chitosanu

Jak již bylo zmíněno výše, chitosan je ceněn a hojně využíván v širokém spektru průmyslových odvětví, a to díky svým unikátním vlastnostem. Fyzikální i chemické vlastnosti jsou úzce spjaty s jeho strukturou. Nachází uplatnění v širokém spektru aplikací, počínaje farmacií a biomedicínou, přes textilní průmysl, až po zemědělství. V lékařských a farmaceutických odvětvích je chitosan ceněn díky jeho nízké toxicitě, biokompatibilitě a biodegradabilitě. Nemalé procento bandáží, obinadel, obvazů, ale i lokálních očních a tělních implantátů má základ právě v chitosanu. V biomedicínských aplikacích je hojně využíván coby obvazový materiál, jelikož podporuje hojení ran a chrání rány před mechanickým znečištěním a infekcí. V poslední době se na trhu také objevují samovstřebávací chirurgické nitě na bázi chitosanu, které jsou vysoce pevné a pružné. Dále je s oblibou využíván při

výrobě kontaktních čoček, jelikož lidské tělo jej poměrně snadno přijímá [57, s. 246, 247]. Ve farmaceutickém průmyslu lze chitosan použít jako systém pro transport léčiv s řízeným uvolňováním aktivní látky. Zde jsou kladeny požadavky na minimální vedlejší účinky, prodloužený efekt léčiva a v neposlední řadě optimální odpověď receptoru. Polymer může být sám léčivem, pokud vykazuje farmakologickou aktivitu, i když jeho monomerní jednotky nejsou aktivní. Může se jednat o tzv. polymerní proléčivo složené z polymerního nosiče, biodegradabilní vazby mezi nosičem a léčivem a skupiny určující cílení léčiva (např. specifický peptid pro cílovou buňku). Průnik proléčiva do buňky může probíhat difúzí uvolněného léčiva nebo endocytózou (Obr. 10) [50, str. 57].



Obr. 10. Cesty léčivé látky k aktivnímu místu [50, s. 57]

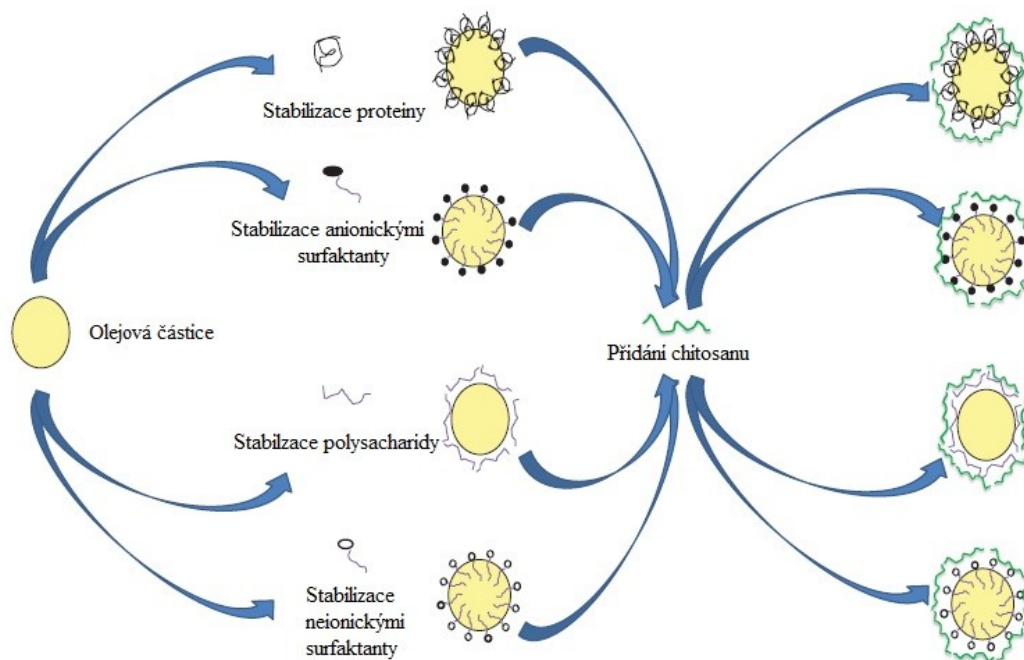
Samotný chitosan vykazuje antibakteriální účinky vůči mnoha grampozitivním (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Bacillus subtilis*) i gramnegativním (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*) bakteriím a houbám. Přesný mechanismus účinku není doposud plně znám, avšak předpokládá se, že kladně nabitě aminoskupiny glukózaminových jednotek interagují s negativně nabitými komponentami mikrobiálních buněčných membrán, ovlivňují jejich propustnost a způsobují únik intracelulárního obsahu, což zapříčiní zánik buňky. Dále byla u chitosanu prokázána i antioxidační aktivita. Je tedy schopen zpomalit či zabránit oxidaci oxidovatelných buněčných substrátů. Antioxidační látky obecně zachytávají radikály a ROS (reaktivní kyslíkové species) obsahující reaktivní kyslíkové

atomy. Tyto radikály jsou velmi nestabilní a rychle reagují s jinými látkami v těle, což vede k poškození buněk a tkání. Účinnost chitosanu jako antioxidantu závisí na velikosti molekuly a stupni acetylace. Za účinný antioxidant je považován zejména nízkomolekulární, částečně *N*-acetylovaný chitosan, jehož (amino-) a (hydroxy-) skupiny vázané na C-2, C-3 a C-6 pyranózového cyklu reagují s radikály za tvorby stabilnějších polymerních radikálů [50, s. 57, 61, 62]. Samotnou kapitolou v oblasti aplikace chitosanu je potravinářský průmysl, kde je využíván především jako součást potravinových doplňků, stabilizátor a konzervant. Díky fungicidním a antibakteriálním vlastnostem je využíván i v kosmetickém průmyslu, kde je hojně využíván ve vlasové kosmetice, jelikož také dokáže zlepšovat penetraci lipofilních látek do pokožky. Využití při stabilizaci disperzních systémů, bude blíže popsáno v následující kapitole [57, s. 247, 248].

3.3.3 Role chitosanu při ovlivňování stability emulzí

Chitosan je hydrofilní polymer patřící do skupiny polysacharidů, která je sama o sobě známá svými stabilizačními a emulgačními schopnostmi. V návaznosti na stabilizační schopnosti lze polysacharidy rozdělit do dvou různých kategorií. Převážná většina polysacharidů nevykazuje sklon k adsorpci na mezifázové rozhraní disperzních systémů. To z toho důvodu, že tyto typy polysacharidů nevykazují žádnou nebo mají pouze omezenou povrchovou aktivitu. Jedná se o tzv. neadsorbující polysacharidy. Ke stabilizaci systémů přispívají svými želírujícími schopnostmi nebo úpravou viskozity vodné kontinuální fáze, která omezuje pohyb a srážky kapek disperzní fáze. Do této skupiny mimo jiné spadá i chitosan. Druhou kategorií polysacharidů jsou polysacharidy adsorbující. Adsorbující polysacharidy vykazují povrchovou aktivitu a jsou schopny adsorpce na mezifázové rozhraní, kde snižují povrchové napětí. Po adsorpci na povrch kapek zabraňují flokulaci a srůstání kapek za pomoci elektrostatických a stérických sil. Jejich povrchová aktivita vyplývá z přítomnosti proteinové frakce v jejich struktuře nebo může být důsledkem kombinace hydrofilních a hydrofobních skupin jako je tomu např. u derivátů celulózy [34, s. 366], [36, s. 165]. Přestože chitosan patří mezi neadsorbující polysacharidy, ovlivňuje v emulzních systémech jak viskozitu, tak elektrostérické stabilizační mechanismy. To je dáno jeho strukturou tvořenou četnými hydrofilními skupinami (aminoskupiny) a omezeným počtem hydrofobních skupin (acetylamínové skupiny) [49, s. 929]. Chitosan dokáže zvyšovat viskozitu kontinuální fáze emulzních systémů a tím omezovat srážky částic dispergované fázi a následný vznik vloček, které mají tendenci na povrchu systému vytvářet krémovou vrstvu. To je dáno díky tvorbě husté pevné elastické sítě, kterou vytváří

chitosanové řetězce ve vodné vnější fázi. Síť je tvořena kovalentními vazbami, které brání odpoutávání jednotlivých makromolekul a jejich přechodu do roztoku. Výsledná viskozita je silně ovlivněna stupněm deacetylce, molekulovou hmotností a koncentrací chitosanu [55, s. 377]. Skaugrud [34, s. 367] uvádí, že viskozita roztoku chitosanu se zvyšuje s jeho koncentrací, stupněm deacetylce, s rostoucí molekulovou hmotností a naopak se snižuje s teplotou. Kromě toho je chitosan nabitý biopolymer, který je schopen adsorpce na opačně nabitě povrchy kapiček emulze, a to díky elektrostatickým přitažlivým silám a v kombinaci s vhodnými surfaktanty je schopen velmi dobře stabilizovat emulze prostřednictvím elektrostérické stabilizace. Elektrostérická stabilizace kombinuje vliv elektrické dvojvrstvy, jež je základem elektrostatické stabilizace a stérického účinku adsorpční vrstvy. Lze jí dosáhnout kombinací nabitých polymerních povrchově aktivních látek s biopolymerem, jako je právě chitosan. Tento typ stabilizace je vhodný zejména u emulzí typu olej ve vodě, které obsahují negativně nabitě kapičky potažené různými povrchově aktivními látkami, jak lze vidět na Obr. 11 [55, s. 377, 378]. Chitosan velmi dobře interaguje s aniontovými povrchově aktivními látkami, jako jsou např. fosfolipidy, lecitin, dodecylsulfát sodný (SDS) a stearyllaktát sodný (SSL). Jsou však také známy interakce chitosanu, jak s kationickými, tak neionickými povrchově aktivními látkami [44, s. 2, 3], [55, s. 378]. Tyto interakce polymerů s povrchově aktivními látkami jsou široce využívány v potravinářském průmyslu, kosmetice, detergentech a při výrobě nátěrových hmot. Elektrostéricky stabilizované emulze za pomoci chitosanu a vhodného surfaktantu jsou vhodné pro řadu aplikací jako jsou potraviny, kosmetika, farmacie atd., jelikož vydrží stabilní po dlouho dobu a mají schopnost modifikovat povrchové vlastnosti [58, s. 395, 396].



Obr. 11. Schéma znázorňující elektrostérické interakce chitosanu na rozhraní kapiček emulze [55, s. 379]

V některých případech se chitosan může naopak chovat jako účinný bioflokulant a biokoagulant, čehož lze s výhodou využít při čištění vod. Obvykle jsou pro tyto aplikace používány soli některých kovů jako např. polyaluminiumchlorid nebo syntetické polymery jako např. polyakrylamid. Použití těchto látek má však neblahý vliv na životní prostředí. Biopolymery proto mohou být dobrou alternativou tradičně používaných látek, neboť jde o přírodní produkty, jejichž náklady na výrobu nejsou příliš vysoké a jsou příznivé z hlediska životního prostředí. Chitosan je ze skupiny biopolymerů momentálně považován za nejslibnější bioflokulant a biokoagulant, který může nahradit použití toxických látek. Koagulace a flokulace je nejčastěji používána jako primární krok při předčištění vod. Cílem je vytvoření dostatečně velkých agregátů či větších hustších vloček, které lze lépe zachytit a odstranit. Chitosan lze úspěšně využít při regeneraci minerálních a jiných organických suspenzí při vyšším pH než je pKa makromolekuly a jako koagulační aditivum v kyselých roztocích obsahující negativně nabitě kontaminanty jako např. barviva nebo huminové kyseliny. Tato schopnost chitosanu je dána vysokou hustotou kationového náboje a obsahem dlouhých polymerních řetězců. Výhodou použití chitosanu je, že jde o netoxickou, nekorodující a biodegradabilní látku s širokou aplikací [59, s. 1337–1341].

4 CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši na téma emulze stabilizované biopolymery. Literární studie se týkala především způsobů ovlivňování stability emulzí, s důrazem na využití přírodních polymerů jako stabilizující složky. To zahrnovalo charakterizaci emulzí a známých druhů biopolymerů, jejich vlastnosti a využití s ohledem na stabilizaci. Cílem praktické části diplomové práce bylo nalezení optimálních podmínek pro přípravu a udržení maximální stability u emulzí stabilizovaných za pomoci polysacharidu chitosanu. Dále provést základní charakterizaci emulzí s obsahem chitosanu prostřednictvím měření velikosti částic, stanovení zeta potenciálu atd.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

5.1 Použité chemikálie a zařízení

- Chitosan nízkomolekulární (50–190 kDa, 75–85 % deacetylovaný, Sigma-Aldrich)
- Chitosan středněmolekulární (190–310 kDa, 75–85 % deacetylovaný, Sigma-Aldrich)
- Kyselina octová (molární hmotnost 60,05 g/mol, IPL laboratorní potřeby a zařízení)
- Destilovaná voda
- Hydroxid sodný (NaOH, $c = 0,4676$ M)
- Kyselina chlorovodíková (HCl, $c = 0,4974$ M)
- Olej slunečnicový Vitae d'Oro
- Imerzní olej cedrový (Merci)
- pH metr CPH 51 (ELTEC – Zdeněk Jursík, Turnov)
- Chladnička Electrolux ERB 29233W (Elektrolux)
- Termostat BIO BT 120 (Laboratorní přístroje Praha)
- Analytické váhy SARTORIUS BA
- Magnetická míchačka HI 190M (Hanna instruments)
- Třepačka Vortex V-1 PLUS (Verze V.1AW, BIOSAN Ltd.)
- Tenzometr Easy Dyne K20 (KRÜSS GmbH Germany)
- Sonikační zařízení UP400S (Hielscher, součástí je sonda H7)
- Zetasizer Nano ZS90 (Malvern, Instruments Ltd, součástí je kyveta DTS1070 pro měření ζ potenciálu a kyveta DTS0012 pro měření velikosti částic)
- Mikroskop OLYMPUS CX41RF (Olympus Corporation, Tokio)
- Fotoaparát Cannon EOS 1100D (Cannon Inc. , Taiwan)
- Filtrační zařízení dle Mortona
- Laboratorní sklo
- Laboratorní plasty (stříkačkové filtry MF-Millipore MCE Membrane MILLEX GS 0,22 μm)

5.2 Příprava roztoku kyseliny octové

Do 500 ml odměrné baňky byl připraven 1% roztok kyseliny octové smícháním kyseliny octové s destilovanou vodou, a to tak že do odměrné baňky bylo nejprve za pomoci pipety převedeno 4,75 ml kyseliny octové. Poté byla baňka doplněna destilovanou vodou do požadovaného objemu.

5.3 Příprava roztoků chitosanu

Jednotlivé roztoky chitosanu byly připraveny smícháním nízko- či středněmolekulárního chitosanu s roztokem kyseliny octové. Chitosan byl navážen na analytických vahách s přesností na 0,0001 g tak, aby jeho výsledná koncentrace činila 10 g/l, následně byl převeden do kádinky. K chitosanu byl přidán předem připravený 1% roztok kyseliny octové (kap. 5.2). Vzniklá suspenze byla rozpouštěná na magnetickém míchadle po dobu 24 hodin u nízkomolekulárního chitosanu a 48 hodin u středněmolekulárního chitosanu při laboratorní teplotě. Po rozpuštění byl roztok přefiltrován za pomoci filtračního zařízení dle Mortona. Roztok byl rozdělen na 8 dílů o objemu 30 ml. V jednotlivých dílech bylo upraveno pH na pH metru CPH 51 za pomoci roztoku 0,4974M kyseliny chlorovodíkové a 0,4676M hydroxidu sodného tak, aby výsledné pH činilo 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5, přičemž poslední díl byl ponechán jako kontrolní vzorek s původním pH roztoku.

5.4 Příprava emulzí

Samotné přípravě emulzí předcházela příprava roztoků nízko- a středněmolekulárního chitosanu (kap. 5.1), které byly poté využity ke stabilizaci olejových kapek. Emulze byly připraveny smícháním roztoků nízko- a středněmolekulárního chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 se slunečnicovým olejem Vitae d'Oró v poměru 90 : 10 tak, aby celkové množství emulze činilo vždy 20 ml. Jednotlivé roztoky chitosanu o objemu 18 ml byly napipetovány do 50 ml plastových zkumavek. Ke každému roztoku byly přidány, za pomoci pipety, 2 ml slunečnicového oleje. Před samotnou emulgací byly emulze promíchány pomocí přístroje Vortex V-1. Po promíchání byly emulze podrobeny homogenizaci s využitím ultrazvukového sondačního zařízení UP400S, jehož součástí je titanová sonda H7. Toto zařízení obsahuje ultrazvukový procesor s energií 400 wattů o frekvenci 24 kHz a je vhodný pro objemy vzorků od 5 do 400 ml. Jednotlivé vzorky byly homogenizovány po dobu 3 min. při 100% amplitudě, aby došlo k rozptýlení případně vzniklých aglomerátů. Během sonikace byly vzorky umístěny v plastové nádobě naplněné ledem, aby nedocháze-

lo k přehřívání vzorků. Vzniklé emulze o různém pH byly rozděleny na 3 stejné díly a po nezbytných analýzách umístěny do 3 různých teplot (4, 25 a 37 °C), z důvodu sledování vlivu teploty na jejich stabilitu.

5.5 Charakterizace roztoků chitosanu a emulzí

Roztoky a emulze s obsahem nízko- a středněmolekulárního chitosanu byly ihned po jejich přípravě charakterizovány prostřednictvím měření povrchového napětí, ζ potenciálu a velikosti částic. Emulze byly dále uchovávány po určité časové období v různých teplotních režimech a v daných časových intervalech u nich byla provedena charakterizace pomocí měření povrchového napětí, ζ potenciálu a velikosti částic, vizuálního pozorování a mikroskopického pozorování.

5.5.1 Povrchové napětí

Tenziometrická měření roztoků chitosanu a emulzí stabilizovaných pomocí nízko- a středněmolekulárního chitosanu byla provedena na tenzometru EasyDyne K20 s využitím metody Wilhelmyho destičky. K měření byly využity čisté a suché skleněné misky. Do misky bylo nalito přiměřené množství roztoku chitosanu (emulze) a miska spolu se vzorkem byla umístěna na měřicí panel tenzometru. Na háček nad misku se vzorkem byla zavěšená předem vyžíhaná platinová destička, určená k měření povrchové napětí. Měřicí panel tenzometru byl uzavřen ochranným plastovým víkem. Po ustálení hladiny vzorku a destičky bylo provedeno samotné měření (přístroj provedl vždy 10 měření s přesností $\pm 0,1$). Po vyhodnocení měření byla z přístroje odečtena průměrná hodnota povrchového napětí a odchylka měření. Mezi jednotlivými vzorky byla miska pečlivě opláchnuta destilovanou vodou a vysušena. Platinová destička byla opláchnuta nejprve ethanolem, poté acetonem a na závěr byla vyžíhána nad plynovým kahanem. Každý vzorek byl proměřen třikrát.

5.5.2 ζ potenciál

Chování částic chitosanu v roztoku kyseliny octové a v emulzních systémech bylo stanoveno pomocí měření ζ potenciálu. Měření bylo provedeno na přístroji Zetasizer Nano ZS90, který je určen k měření zeta potenciálu ve vodných i bezvodých disperzích v rozmezí 5 nm–10 μ m. K přístroji je připojen počítač obsahující program Zetasizer Software ke zpracování a vyhodnocení naměřených dat.

Vzorky pro měření byly připraveny smícháním 750 μl jednotlivých roztoků chitosanu s 3 ml přefiltrované destilované vody. Vzorky emulzí určené pro analýzu byly připraveny smícháním 3 ml dvakrát filtrované destilované vody s 9 μl emulze. Destilovaná voda byla dvakrát přefiltrována přes stříkačkový filtr MF-Millipore MCE Membrane o velikosti pórů 0,22 μm . Stanovení probíhalo při 25 $^{\circ}\text{C}$ ve speciální kyvetě DTS1070 určené pro měření ζ potenciálu. Po nastavení parametrů byla přístrojem Zetasizer Nano ZS90 a příslušným softwarem zpracována naměřená data. Výsledná hodnota ζ potenciálu je průměrem tří měření. Měření bylo provedeno u roztoků chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5, včetně kontrolního vzorku o původním pH roztoku ihned po jejich přípravě. Měření emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 bylo provedeno v den jejich přípravy. Poté byly emulze rozděleny na 3 stejné díly a uloženy do 3 různých teplot (4, 25 a 37 $^{\circ}\text{C}$). Po dobu 5 dní od vzniku emulze byl z každé emulze odebrán vzorek a proměřen. Následné měření probíhalo 9., 12., 15., 19., 30., 36. od přípravy emulzí.

5.5.3 Velikost částic

Distribuce velikostí částic roztoků chitosanu v kyselině octové a emulzí stabilizovaných za pomoci nízko- a středněmolekulárního chitosanu byla zjištěna pomocí přístroje Zetasizer Nano ZS90 od společnosti Malvern, umožňujícího měření velikost částic a molekul. Analyzovatelný rozsah velikostí částic přístroje se pohybuje v rozmezí 0,3 nm–5 μm . Přístroj je schopný zaznamenat rozměry jednotlivých částic na základě měření náhodné změny intenzity světla rozptýleného ze suspenze či roztoku. Ke stanovení velikosti částic tedy využívá tzv. dynamický rozptyl světla. K měření byly použity vzorky roztoků chitosanu o různém pH o objemu 250 μl , které byly smíchány s 1 ml dvakrát přefiltrované destilované vody přes stříkačkový filtr MF-Millipore MCE. Vzorky emulzí byly připraveny smícháním 1 ml přefiltrované destilované vody s 3 μl testované emulze. Přefiltrována destilovaná voda byla připravena obdobným způsobem jako pro měření ζ potenciálu. Stanovení probíhalo v polystyrenové kyvetě DTS0012 určené pro měření velikosti částic. Před vlastním měřením byla kyveta uzavřena víčkem z důvodu zajištění teplotní stability vzorku a důkladně očištěna od nečistot, které by mohly způsobit nepřesnosti v měření. Kyveta byla přemístěna do měřící části přístroje vytemperovaného na teplotu 25 $^{\circ}\text{C}$. Následně přístroj pomocí software Zetasizer Software zpracoval a vyhodnotil naměřená data. K měření byly použity roztoky chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5, včetně kontrolního vzorku o původním pH roztoku. Měření bylo provedeno v den přípravy roztoků chitosanu. Měření velikosti částic emulzí u o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 bylo provedeno v den jejich přípra-

vy. Poté byly emulze rozděleny na 3 stejné díly a uloženy do 3 různých teplot (4, 25 a 37 °C). Následné měření probíhalo po dobu 5 dní od vzniku emulze. Další měření bylo provedeno 9., 12., 15., 19., 30., 36. den od přípravy emulzí.

5.6 Mikroskopie

K mikroskopickému pozorování emulzí o různém pH byl použit laboratorní mikroskop OLYMPUS CX41, vybavený univerzálním kondenzorem CX-PCD a připojeným fotoaparátem Cannon EOS. Mikroskopické zařízení bylo propojeno s počítačem za pomoci programu Quick PHOTO PRO 2.0, kterým byly převedeny fotografické záznamy z mikroskopické sestavy. Jednotlivé preparáty byly připraveny přenesením malého množství testované emulze za pomoci mikropipety na čisté podložní sklíčko. Kapka emulze byla překryta krycím sklíčkem, na které byl následně nanesen imerzní cedrový olej. Takto připravený preparát byl upevněn do stolku mikroskopu a pozorován prostřednictvím okuláru a imerzního objektivu při zvětšení 10 x 100 a fázovém kontrastu Ph 3. Po spuštění příslušného počítačového programu byla pořízena fotografie pozorovaného objektu. Mikroskopické pozorování u emulzí stabilizovaných prostřednictvím středněmolekulárního chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 bylo provedeno v den jejich přípravy. Následně byly pozorovány emulze o pH 3,5; 6; 6,5 z každé ze 3 skladovaných teplot (4, 25 a 37 °C) 19. a 36. den od vzniku emulzí. Emulze stabilizované za pomoci nízkomolekulárního chitosanu o pH 3,5; 6; 6,5 z každé ze 3 teplot skladování byly z časových důvodů pozorovány 19. a 36. den od vzniku emulze. Přičemž byl pořízen fotografický záznam krémové vrstvy a spodní vrstvy emulze o pH 3, 5 uchovávané při laboratorní teplotě před promícháním a po promíchání 19. den od vzniku emulze.

5.7 Podmínky skladování

Po vlastní přípravě emulzí byly emulze rozděleny na 3 shodné díly do 10 ml plastových zkumavek a umístěny do 3 různých teplotních režimů (4, 25 a 37 °C) tak, aby se v každé z teplot nacházely vzorky o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5. V těchto podmínkách byly emulze uchovávány po dobu 36 dní.

5.8 Vizuální pozorování

Emulze byly ode dne jejich vzniku vizuálně pozorovány, aby mohl být zaznamenán vliv teploty (4, 25 a 37 °C) na jejich stabilitu. U jednotlivých emulzí byl pozorován, popsán a zaznamenán vznik krémující vrstvy, změna barvy či konzistence emulze, vznikající při destabilizaci systému. Emulze byly pozorovány po dobu 5 dní od vzniku emulze. Následně pak 9., 12., 15., 19., 30., 36. den od přípravy emulzí. Stejným způsobem bylo postupováno jak u emulzí s obsahem nízkomolekulárního, tak u emulzí s obsahem středněmolekulárního chitosanu.

5.9 Index krémování

Index krémování (CI, Creaming index) je dán poměrem výšky krémující vrstvy emulze ku celkové výšce emulze (v mm). Měření indexu krémování vycházelo z vizuálního pozorování, kdy byla zaznamenána výška vznikající krémující vrstvy a výška emulze. Výsledná hodnota CI byla stanovena dle rovnice (Rov. 3):

$$CI = \frac{H_{\text{Krém.}}}{H_{\text{Total}}} 100 \quad (3)$$

Kde:

$H_{\text{Krém.}}$ výška vrstvy krémování v emulzi [mm]

H_{Total} celková výška emulze [mm]

6 VÝSLEDKY A DISKUZE

6.1 Charakterizace roztoků chitosanu

Jak bylo uvedeno v kap. 5.3 této práce, roztoky chitosanu byly připraveny z předem připraveného roztoku kyseliny octové a z nízko- (NM) či středněmolekulárního (SM) chitosanu. Pro charakterizaci roztoků s obsahem chitosanu byly použity následující postupy: stanovení povrchového napětí, stanovení závislosti ζ potenciálu na pH a stanovení závislosti velikosti částic na pH.

6.1.1 Stanovení povrchového napětí

Polymerní emulgátory obecně jsou schopny se adsorbovat na fázové rozhraní o/v a snižovat mezifázové napětí díky jejich amfifilním vlastnostem. Stejně tak i biopolymer chitosan. V Tab. 1 jsou zaznamenány naměřené hodnoty povrchového napětí roztoků o různém pH s obsahem nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu. Nejnižší hodnota povrchového napětí roztoků s obsahem NM chitosanu byla naměřena u roztoku o pH 3,5, kdy byla naměřena hodnota 54,5 mN/m. Naopak nejvyšší hodnota byla naměřena u roztoku o pH 6,5, kdy bylo dosaženo hodnoty 62,9 mN/m. Obecně lze tedy říci, že se povrchové napětí se zvyšujícím pH zvyšovalo. Tomuto tvrzení se však vymykají naměřené hodnoty povrchového napětí u roztoků o pH 4 a 4,5, jejichž hodnoty se blížily hodnotě naměřené u roztoku o pH 6,5. Obdobně tomu bylo i u roztoků obsahujících SM chitosan, kdy nejnižší hodnota byla naměřena u roztoku o pH 3,5 (54,9 mN/m) a nejvyšší u roztoku o pH 6,5 (63,8 mN/m). Povrchové napětí se tedy opět zvyšovalo. Výjimku zde však rovněž tvořily roztoky o pH 4 a 4,5, jejichž hodnoty byly vyšší než hodnoty naměřené u roztoků o pH 5 a 5,5. Hodnoty roztoků s obsahem chitosanu o různé molekulární hmotnosti se vzájemně příliš nelišily.

Tab. 1. Hodnoty povrchového napětí emulzí o různém pH s obsahem nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu

Roztok					
Nízkomolekulární chitosan			Středněmolekulární chitosan		
pH	Povrchové napětí [mN/m]	Odchylka [mN/m]	pH	Povrchové napětí [mN/m]	Odchylka [mN/m]
3,5	54,50	0,10	3,5	54,91	0,08
4	62,33	0,09	4	56,83	0,08
4,5	62,12	0,09	4,5	61,60	0,10
5	59,11	0,09	5	55,45	0,08
5,5	57,43	0,09	5,5	56,61	0,09
6	61,38	0,10	6	61,83	0,09
6,5	62,91	0,09	6,5	63,84	0,08
4,30	60,75	0,09	3,98	59,67	0,10

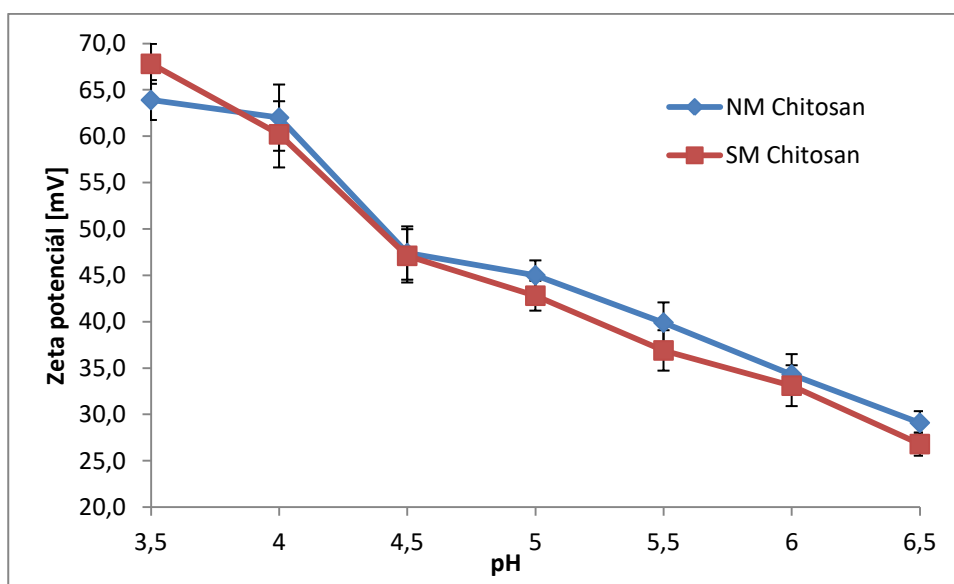
Z naměřených výsledků vyplývá, že povrchové napětí se až na mírné odchylky se zvyšujícím se pH zvyšuje.

Stanovením povrchového napětí roztoků s obsahem chitosanu v závislosti na pH se zabývá i studie Hao Liua a kol. [61]. Tato studie tvrdí, že povrchové napětí se v závislosti na pH nemění a zůstává konstantní. Dále, že chitosan samotný není povrchově aktivní látkou, avšak při vyšším pH lze použít jako částicový emulgátor. Jiná studie [58, s. 932] potvrzuje, že povrchové napětí se v závislosti na rostoucím pH zvyšuje.

6.1.2 Stanovení závislosti ζ potenciálu na pH

Zeta potenciál je nepřímým měřítkem povrchového náboje a odpovídá rozdílu potenciálu mezi objemem kapaliny a tenkou vrstvou protiiontů poutanou k povrchu částice, tedy na rozhraní mezi kompaktní a difuzní částí elektrické dvojvrstvy. Důležitým faktorem, který ovlivňuje hodnotu ζ potenciálu, je pH. To je znázorněno na Obr. 12, kde je vynesena závislost ζ potenciálu na pH naměřeného u roztoků s obsahem chitosanu. Kdy se zvyšující se hodnotou pH se hodnota ζ potenciálu snižuje. To je zapříčiněnou postupnou deprotonací aminoskupin. Na Obr. 12 je zachyceno srovnání naměřených hodnot zeta potenciálu nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu. Hodnoty zeta potenciálu u roztoků s obsahem SM chitosanu byly nepatrně nižší než u roztoků obsahujících chitosan NM. Výjimku tvořila průměrná hodnota naměřena u pH 3,5 ($67,8 \pm 2,1$) mV, ta byla vyšší než u roztoků obsahujících NM chitosan.

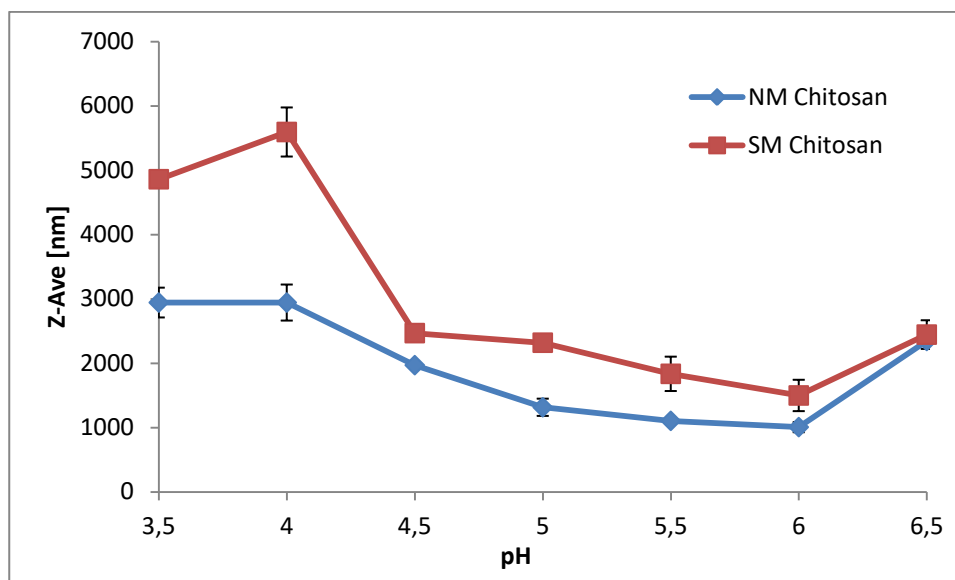
Při měření bylo dosaženo obdobných výsledků, kterých dosáhli při své práci Xiao-Yan Wang a Marie-Claude Heuzey [58, s. 931]. Obdobnou tematikou se zabývali i Hao Liu, Chaoyang Wang a kol., kdy roztoky s obsahem chitosanu o různé koncentraci a pH podrobily analýze. Zeta potenciál roztoku s obsahem chitosanu o pH 6,4 činil 12,4 mV a u roztok o pH 6,7 7,5 mV, z čehož usoudili, že roztoky vytvořené při pH blízkém hodnotě pH mají slabě pozitivní náboj [61].



Obr. 12. Závislost ζ potenciálu na pH roztoků s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu

6.1.3 Stanovení závislosti velikosti částic na pH

Jak již bylo uvedeno výše, roztoky s obsahem chitosanu byly charakterizovány prostřednictvím metody dynamického rozptylu světla, která využívá rozptýlené světlo pro měření rychlosti difuze částic. Po zpracování dat pak poskytuje informaci o distribuci velikostí částic ve vzorku. Velikost částic roztoků s obsahem chitosanu o různé molekulární hmotnosti o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6,5 byla změřena bezprostředně po jejich přípravě. Závislost naměřených hodnot velikosti částic na pH jednotlivých roztoků chitosanu je znázorněna na Obr. 13, ze kterého je patrné, že nejvyšší hodnoty velikostí částic byly naměřeny u emulzí o pH 4, kdy u roztoku s obsahem nízkomolekulárního chitosanu byla naměřena průměrná hodnota velikosti částic 2 942 nm a u roztoku s obsahem středněmolekulárního chitosan 4 859 nm. Naopak nejnižších hodnot velikostí částic dosahovaly roztoky o pH 6, kdy u roztoku s obsahem nízkomolekulárního chitosanu byla naměřena průměrná hodnota velikosti částic 1 006 nm a u roztoku s obsahem středněmolekulárního chitosanu 1 498 nm. Z naměřených hodnot vyplývá, že se zvyšující se hodnotou pH se hodnota velikosti částic snižuje. Nepatrný nárůst velikosti částic byl zaznamenán u pH 6,5, kdy u roztoku s obsahem nízkomolekulárního chitosanu průměrná hodnota velikosti částic činila 2 345 nm a u roztoku s obsahem středněmolekulárního chitosanu 2 444 nm. Na Obr. 12 je také zachyceno srovnání naměřených hodnot velikostí částic nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu, kde lze pozorovat, že roztoky s obsahem NM chitosanu dosahovaly nižších hodnot velikostí částic, než roztoky obsahující SM chitosan.



Obr. 13. Závislost velikosti částic na pH roztoků s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu

6.2 Charakterizace emulzí

V kap. 5. 4 je popsána příprava emulzí o různém pH, které byly charakterizovány za pomocí následujících postupů: stanovení povrchového napětí, vliv pH na ζ potenciál, vliv teploty a doby skladování na ζ potenciál, vliv pH na velikost částic, vliv teploty a doby skladování na velikost částic, vizuální a mikroskopické pozorování.

6.2.1 Stanovení povrchového napětí

Emulze, pro jejichž přípravu byly použity roztoky s obsahem chitosanu o různé molekulární hmotnosti byly charakterizovány prostřednictvím měření povrchového napětí. Jak již bylo uvedeno výše, pro měření povrchového napětí byla zvolena metoda Wilhelmyho vyvažovací destičky. Analýza povrchového napětí emulzí byla provedena bezprostředně po jejich homogenizaci, tedy v den jejich přípravy. Naměřené hodnoty povrchového napětí emulzí o různém pH s obsahem nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu jsou zaznamenány v Tab. 2. Obdobně jako tomu bylo u roztoků s obsahem chitosanu nejnižší hodnota povrchového napětí emulzí s obsahem NM chitosanu byla naměřena u emulze o pH 3,5, kdy naměřena hodnota činila 51,05 mN/m a nejvyšší hodnota byla naměřena u emulze o pH 6,5 a činila 61,05 mN/m. Obdobně tak u emulzí obsahujících SM chitosan, kdy nejnižší hodnota byla naměřena u emulze o pH 3,5 (50,73 mN/m)

a nejvyšší u emulze o pH 6,5 (58,85 mN/m). Povrchové napětí se tedy opět se zvyšujícím se pH zvyšovalo. Výjimku zde tvořily emulze o pH 4,5 a 6 s obsahem NM chitosanu jejichž hodnoty se mírně odlišovaly a emulze o pH 4 a 6 obsahující SM chitosan. Hodnoty emulzí s obsahem chitosanu o různé molekulární hmotnosti se navzájem příliš nelišily.

Tab. 2. Hodnoty povrchového napětí emulzí o různém pH s obsahem nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu

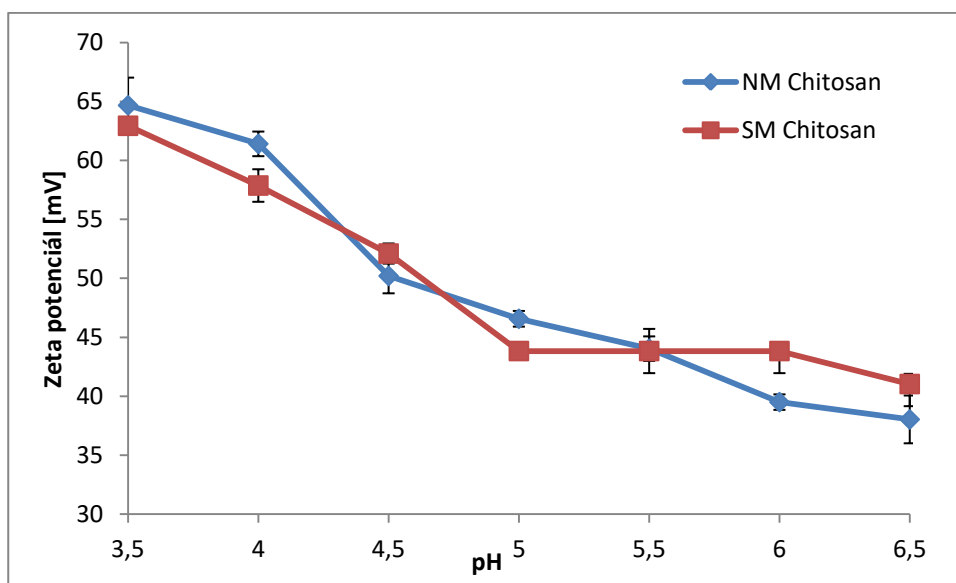
Emulze					
Nízkomolekulárního chitosan			Středněmolekulární chitosan		
pH	Povrchové napětí [mN/m]	Odchylka [mN/m]	pH	Povrchové napětí [mN/m]	Odchylka [mN/m]
3,5	51,05	0,08	3,5	50,73	0,08
4	51,25	0,08	4	56,10	0,08
4,5	54,33	0,09	4,5	54,80	0,10
5	53,60	0,06	5	57,67	0,08
5,5	53,80	0,09	5,5	57,00	0,09
6	52,38	0,08	6	52,27	0,09
6,5	61,05	0,11	6,5	58,85	0,08

6.2.2 Vliv pH na ζ potenciál

Zeta potenciál je důležitým parametrem z hlediska hodnocení stability emulzí, jelikož poskytuje informace o potencionální stabilitě koloidních systémů. Vykazují-li částice obsažené v emulzi vysoký záporný nebo kladný ζ potenciál, částice se budou vzájemně odpuzovat a nebude docházet ke známkám destabilizace jako je např. koalescence, flokulace či agregace. Převážná většina literárních zdrojů se shoduje, že pomyslná hranice mezi stabilní a nestabilní emulzí je ± 30 mV. Částice s ζ potenciálem kladnějším než +30 mV nebo zápornějším než -30 mV lze považovat za stabilní. Naopak obsah částic s ζ potenciálem v rozmezí +30 a -30 mV může naznačovat problém ve stabilitě systému. Nejdůleži-

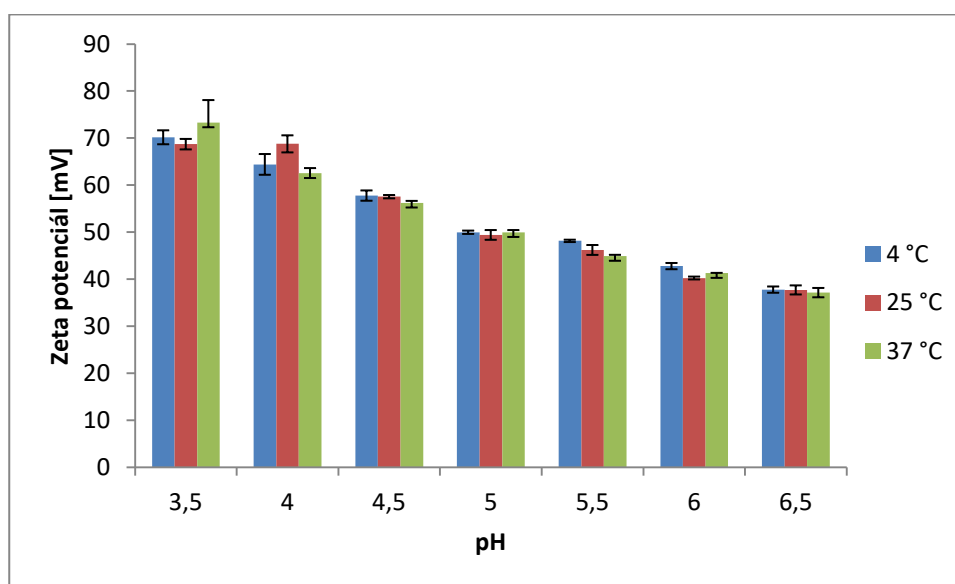
tějším faktorem ovlivňujícím zeta potenciál je pH. Je-li kupříkladu v systému částice se záporným zeta potenciálem a budeme k tomuto systému přidávat alkálie, částice budou inklinovat k tomu, aby získaly zápornější náboj [60, s. 18].

Na Obr. 14 jsou znázorněny hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených v přítomnosti různého typu chitosanu (nízkomolekulární, středněmolekulární) v závislosti na pH. Jedná se tedy o emulze o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 a 6,5 v den jejich přípravy. Z naměřených výsledků u emulzí stabilizovaných prostřednictvím NM chitosanu vyplývá, že se zvyšující se hodnotou pH dochází k poklesu hodnoty ζ potenciálu. Nejnižší hodnota byla tedy naměřena u emulze o pH 6,5 a průměrně činila $(38,03 \pm 2,02)$ mV. Naopak nejvyšší hodnota ζ potenciálu byla naměřena u emulze o pH 3,5 a průměrně činila $(64,67 \pm 2,35)$. Hodnota ζ potenciálu u emulzí s obsahem SM chitosanu vykazovaly stejný trend, tj. že se zvyšujícím se pH klesá i zeta potenciál. Taktéž byla nejnižší hodnota naměřena u emulze o pH 6,5 $(34,40 \pm 0,87)$ mV a nejvyšší u pH 3,5 $(62,93 \pm 0,35)$ mV. Porovnáme-li tedy emulze s odlišným typem chitosanu, lze říci, že hodnoty ζ potenciálu naměřené u emulzí s obsahem středněmolekulárního chitosanu byly nižší než hodnoty naměřené u emulzí stabilizovaných prostřednictvím nízkomolekulárního chitosanu. Výjimky tvořily emulze o pH 6 a 6,5, které dosahovaly vyšších hodnot zeta potenciálu u emulzí s obsahem NM chitosanu.

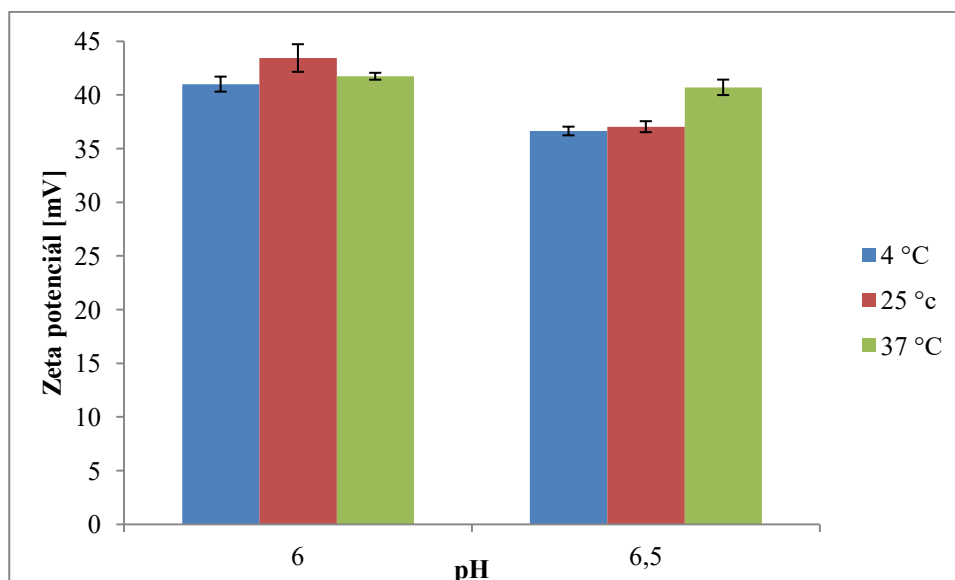


Obr. 14. Závislost ζ potenciálu na pH emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu

Na Obr. 15 a Obr. 16 jsou znázorněny emulze s obsahem nízkomolekulárního chitosanu. Popisují závislost naměřených hodnot zeta potenciálu na pH u emulzí skladovaných ve třech různých teplotách (4, 25 a 37 °C). Obr. 15 znázorňuje naměřené hodnoty ζ potenciálu, získané druhý den po přípravě emulzí. Z výsledků vyplývá, že klesající tendence zeta potenciálu se zvyšujícím se pH byla zachována. Opět nejmenší hodnoty ζ potenciálu byly naměřeny u emulzí o pH 3,5 a nevyšší u pH 6,5. Nejnižší hodnota ζ potenciálu byla naměřena u emulze o pH 6,5 skladované při teplotě 4 °C, jež činila $(37,77 \pm 0,67)$ mV. Naopak nejvyšší hodnota byla zaznamenána u emulze o pH 6,5 skladované při teplotě 37 °C, kdy průměrná hodnota zeta potenciálů dosahovala hodnoty $(73,30 \pm 4,78)$ mV. Na Obr. 16 jsou znázorněny naměřené hodnoty ζ potenciálu emulzí s obsahem nízkomolekulárního chitosanu o pH 6 a 6,5. Emulze o pH 6 a 6,5 si zachovávaly stabilitu po delší dobu, než tomu bylo u ostatních emulzí. U ostatních emulzí došlo k rozpadu mnohem dříve, přestože jejich hodnota ζ potenciálu se v průběhu skladování měnila pouze minimálně. Analýza zobrazená na Obr. 16 probíhala 36. den od přípravy emulzí. Z obrázku je zřejmé, že rozdíl mezi pH 6 a 6,5 po uplynutí 36 dní je pouze minimální. Z výsledků vyplývá, že emulze o pH 6 a 6,5 zůstaly stabilní po obdobně dlouhou dobu.

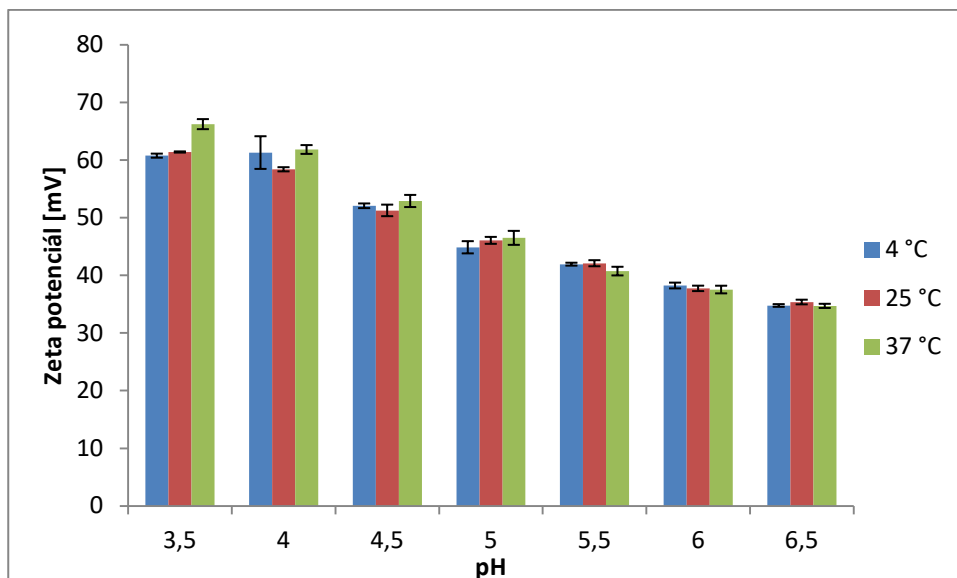


Obr. 15. Vliv teploty na ζ potenciál emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den

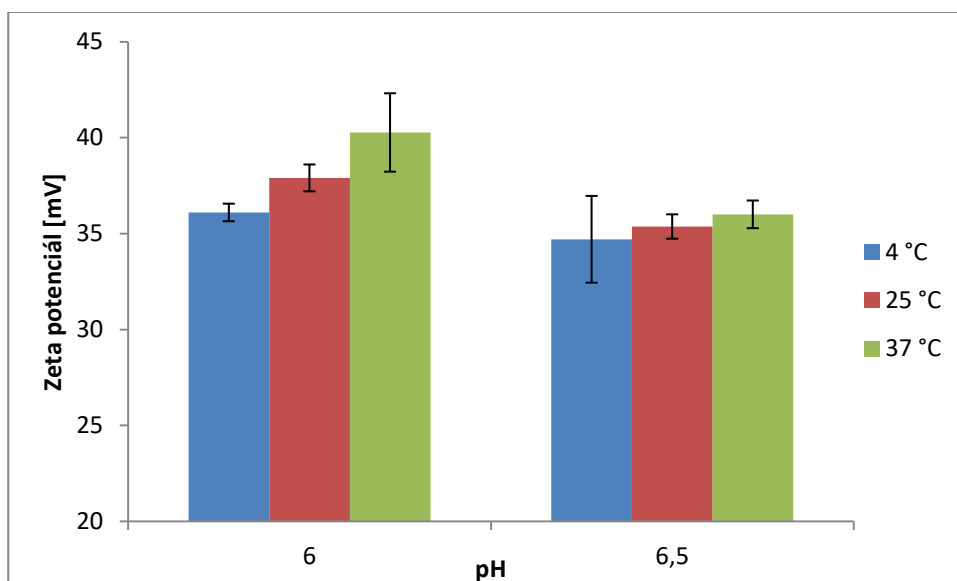


Obr. 16. Vliv teploty na ζ potenciál emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. den

Pro srovnání jsou na Obr. 17 a 18 znázorněny emulze s obsahem středněmolekulárního chitosanu skladovaných při stejných teplotách, jako tomu bylo v předchozím případě. Z obrázků vyplývá, že i u emulzí obsahujících nízkomolekulární chitosan, byly naměřeny snižující se hodnoty ζ potenciálu v závislosti na zvyšujícím se pH. Nejnižší hodnota byla naměřena u emulze o pH 6,5 skladované při teplotě 4 °C ($34,76 \pm 0,23$) mV a nejvyšší u emulze o pH 3,5 skladované při teplotě 37 °C ($66,23 \pm 0,87$) mV. Obr. 18 jsou znázorněny naměřené hodnoty ζ potenciálu emulzí s obsahem středněmolekulárního chitosanu o pH 6 a 6,5. Obdobně jako tomu bylo v předešlém případě, tyto emulze si zachovávaly stabilitu po delší dobu, než tomu bylo u ostatních emulzí. Lze pozorovat, že rozdíl mezi pH 6 a 6,5 po uplynutí 36 dní je pouze minimální. Z výsledků tedy vyplývá, že emulze obsahem středněmolekulárního chitosanu o pH 6 a 6,5 si uchovávají svou stabilitu po obdobně dlouhé časové období.



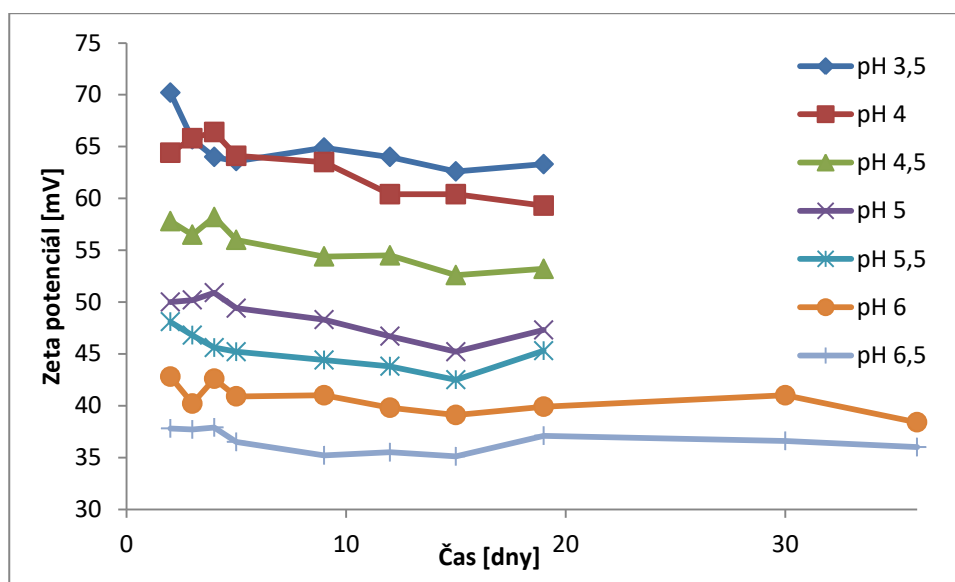
Obr. 17. Vliv teploty na ζ potenciál emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den



Obr. 18. Vliv teploty ζ potenciál emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. den

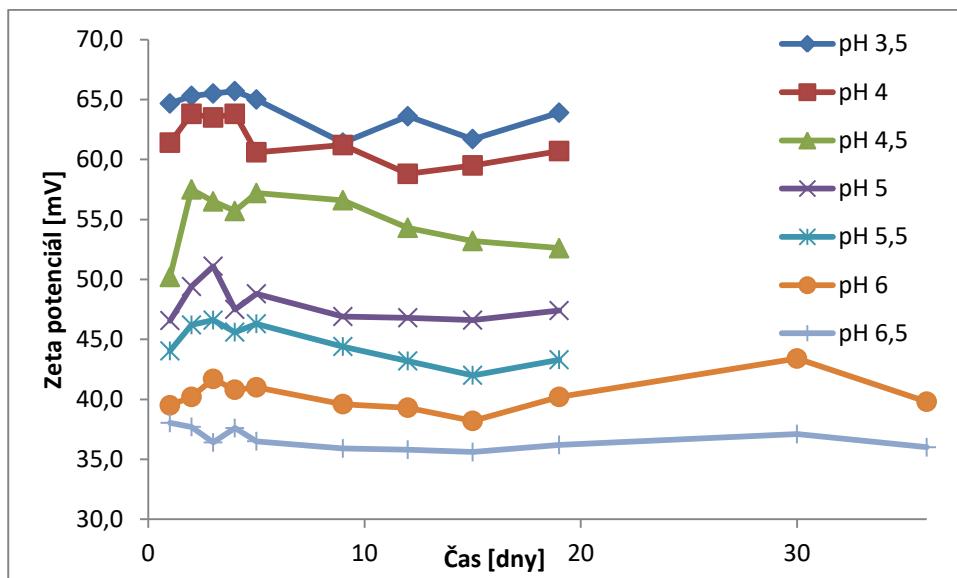
6.2.3 Vliv teploty a doby skladování na ζ potenciál

Jedním z faktorů silně ovlivňujících stabilitu emulzních systémů je teplota. Proto byl u všech vyrobených emulzí sledován zeta potenciál právě v závislosti na teplotě skladování. Jak bylo uvedeno výše, emulze byly skladovány po dobu 36 dní v daných teplotních režimech, přičemž v průběhu docházelo k jejich analýze. Měření ζ potenciálu probíhalo v předem stanovených časových intervalech (1, 2, 3, 4, 5, 9, 12, 15, 19, 30. a 36. den od výroby emulze). Naměřené hodnoty u emulzí s obsahem nízkomolekulárního chitosanu v závislosti na čase jsou uvedeny na Obr.19–21. Na kterých je zobrazena závislost ζ potenciálu na čase při různých teplotách skladování. Jak je z Obr. 19–21 patrné, ζ potenciál byl u emulzí o pH od 3,5 do 5,5 měřen do 19. dne od vzniku, další měření nemělo význam z důvodu rozpadu emulzí. Přestože docházelo k rozpadu emulzí, naměřené hodnoty ζ potenciálu se v průběhu měření více méně neměnily. Naměřené hodnoty spadaly do oblasti vhodné úrovně stability emulzí. Vliv teploty na zeta potenciál nebyl nijak výrazný. Lze pouze pozorovat, že se zvyšující se teplotou docházelo k větším skokovým rozdílům v naměřených hodnotách, jaké lze pozorovat na Obr. 20 a Obr. 21.



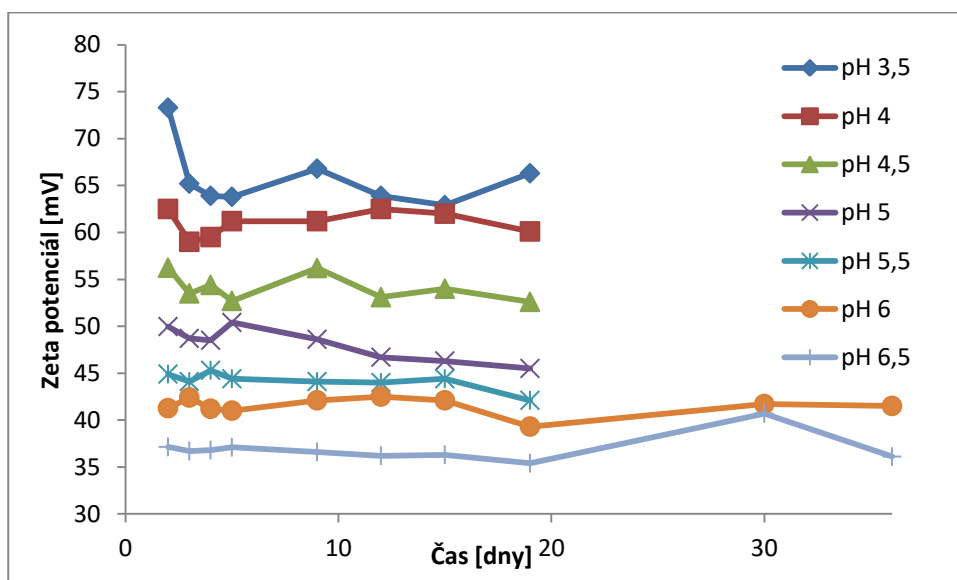
Obr. 19. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4 °C,

Pozn.: emulze o pH 3,5–5,5 jsou uvedeny pouze po 19. den testování z důvodu jejich rozpadu



Obr. 20. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 25 °C

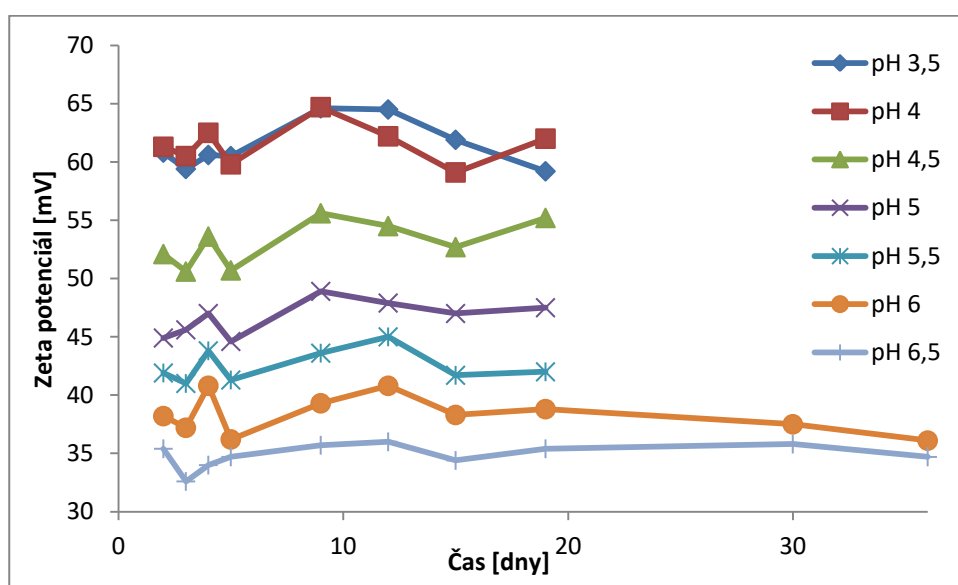
Pozn.: emulze o pH 3,5–5,5 jsou uvedeny pouze po 19. den testování z důvodu jejich rozpadu



Obr. 21. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 37 °C

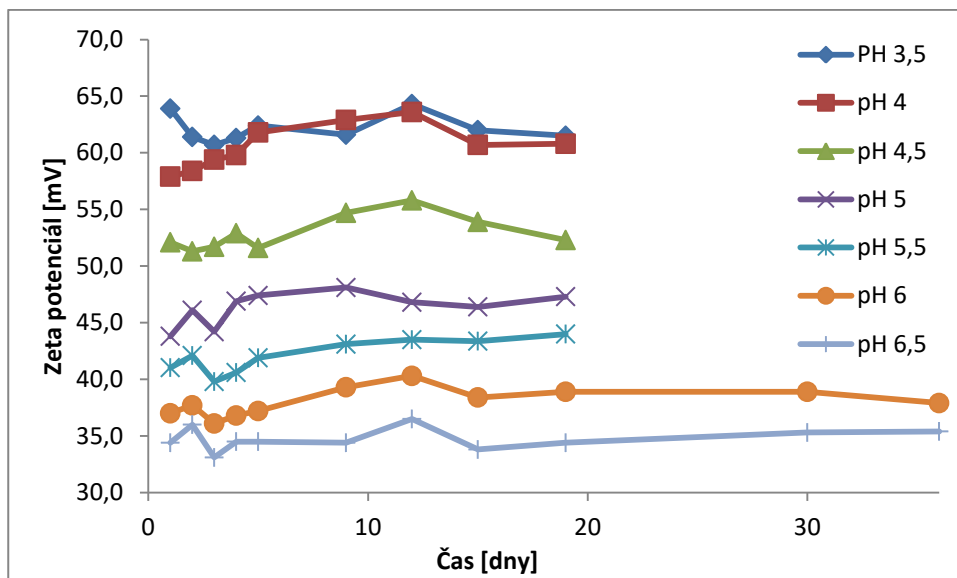
Pozn.: emulze o pH 3,5–5,5 jsou uvedeny pouze po 19. den testování z důvodu jejich rozpadu

Hodnoty ζ potenciálu u emulzí s obsahem středněmolekulárního chitosanu v závislosti na čase jsou znázorněny na Obr. 22–24. Na Obr. 22–24 lze pozorovat časová závislost emulzí o různém pH skladovaných při teplotě 4, 25 a 37 °C na ζ potenciálu. Podobně jako u předchozích emulzí, byly i emulze o pH od 3,5 do 5,5 stabilizované za pomoci SM chitosanu měřeny do 19. dne od vzniku emulzí, jelikož docházelo v průběhu skladování k rozpadu. Hodnoty ζ potenciálu se v průběhu měření více méně neměnily a spadaly do oblasti vhodné úrovně stability emulzí. Ani vliv teploty skladování nebyl opět nikterak výrazný.



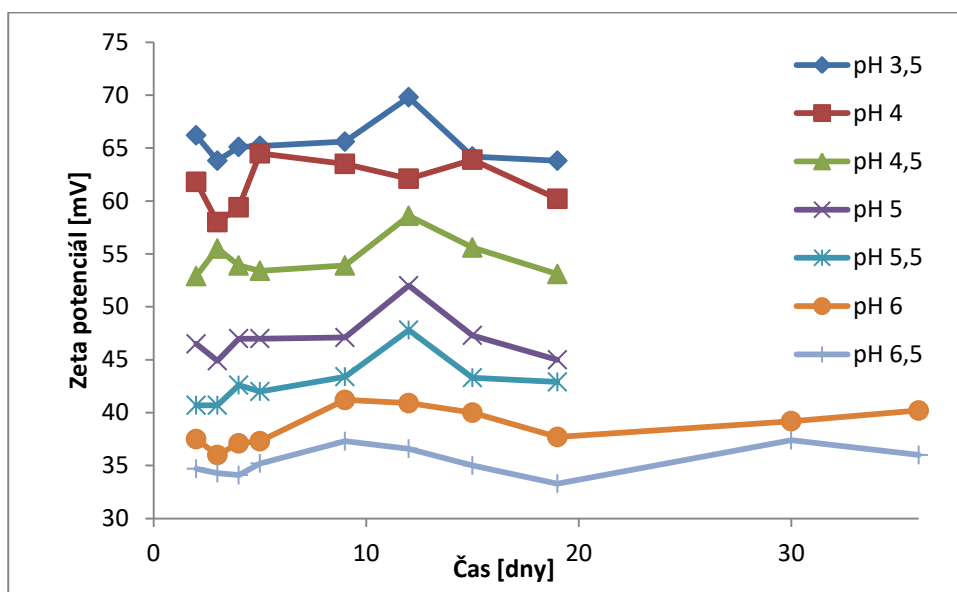
Obr. 22. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4 °C

Pozn.: emulze o pH 3,5–5,5 jsou uvedeny pouze po 19. den testování z důvodu jejich rozpadu



Obr. 23. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 25 °C

Pozn.: emulze o pH 3,5–5,5 jsou uvedeny pouze po 19. den testování z důvodu jejich rozpadu

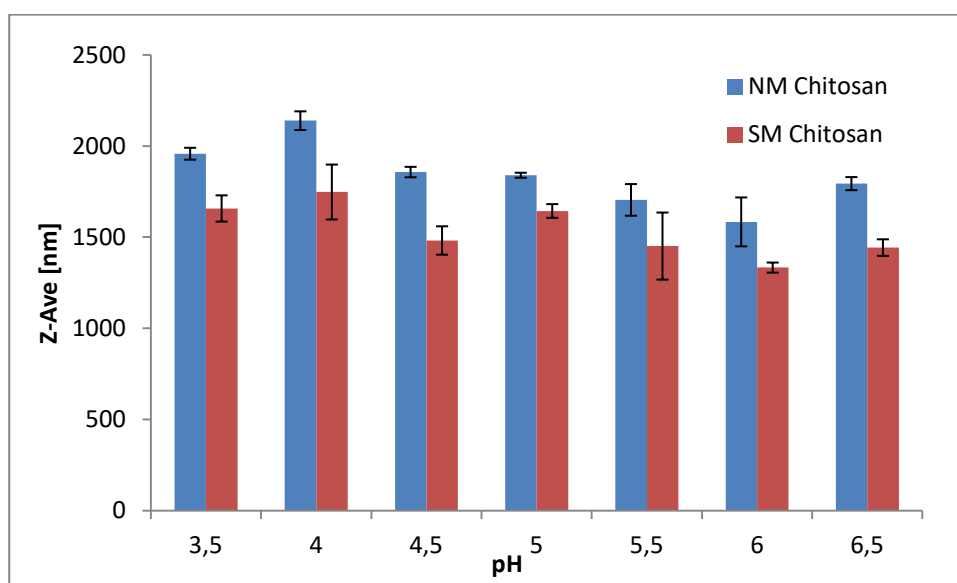


Obr. 24. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 37 °C

Pozn.: emulze o pH 3,5–5,5 jsou uvedeny pouze po 19. den testování z důvodu jejich rozpadu

6.2.4 Vliv pH na velikost částic

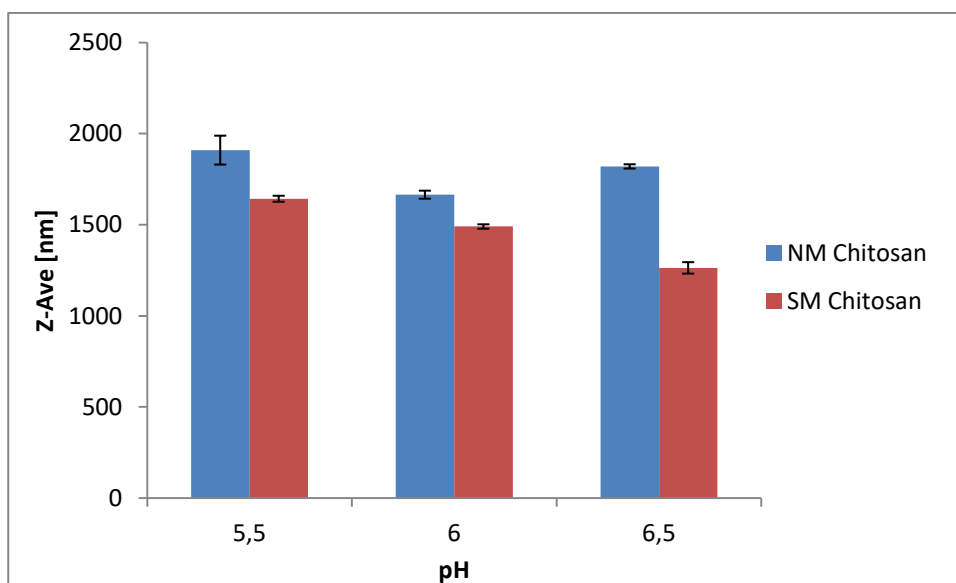
Dále byla provedena analýza vlivu pH připravených emulzí na velikost částic, jelikož velikost částic je jedním z aspektů ovlivňujících stabilitu, vzhled a texturu emulzí. Analýza velikostí částic byla provedena ihned po přípravě emulzí a je shrnuta na Obr. 25. Z obrázku je zřejmé, že částice u emulzí obsahujících nízkomolekulární chitosan dosahovaly větších rozměrů než částice obsažené v emulzích stabilizovaných prostřednictvím středněmolekulárního chitosanu. Také lze říci, že velikost částic emulzí s obsahem SM chitosanu se v závislosti na pH příliš neměnila. Průměrná velikost částic se pohybovala v rozmezí od 1333,00 do 1747,67 nm. Zatímco u emulzí s obsahem NM chitosanu, lze zaznamenat výrazné rozdíly ve velikosti částic při různém pH. Zde se průměrná velikost částic pohybovala v rozmezí od 1583,66 do 2139,00 nm. Přičemž nejvyšší hodnoty velikosti částic byly naměřeny u emulze o pH 4 a nejnižších u emulze o pH 6.



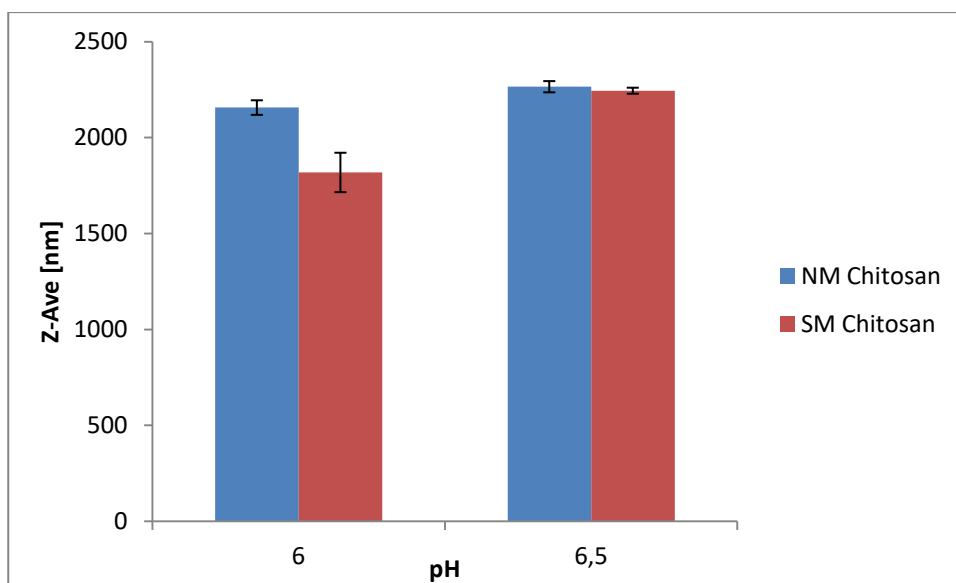
Obr. 25. Velikost částic emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu v den přípravy emulzí

Pro lepší názornost byly sestrojeny grafy závislosti pH na velikosti částic 12. a 36. den skladování (Obr. 26 a Obr. 27). Na Obr. 26 je znázorněna velikost částic u emulzí skladovaných při teplotě 4 °C 12. den od jejich přípravy. Z obrázku je patrné, že nejvyšších hodnot velikosti částic dosahovaly emulze o nižším pH. Nejnižší hodnoty velikosti částic byly naměřeny u emulzí o pH 6. Na Obr. 27 jsou zobrazeny hodnoty velikosti částic

u emulzí skladovaných při teplotě 4 °C 36. den od jejich přípravy. Jak je z obrázku patrné, emulze o pH 6 obsahují částice menších rozměrů, než je tomu u emulzí s pH 6,5. Přičemž i typ použitého chitosanu má vliv na výslednou velikost částic emulzí, potažmo jejich výslednou stabilitu.



Obr. 26. Velikost částic emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) středněmolekulárního (SM) chitosanu, 12. den



Obr. 27. Velikost částic emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) středněmolekulárního (SM) chitosanu, 36. Den

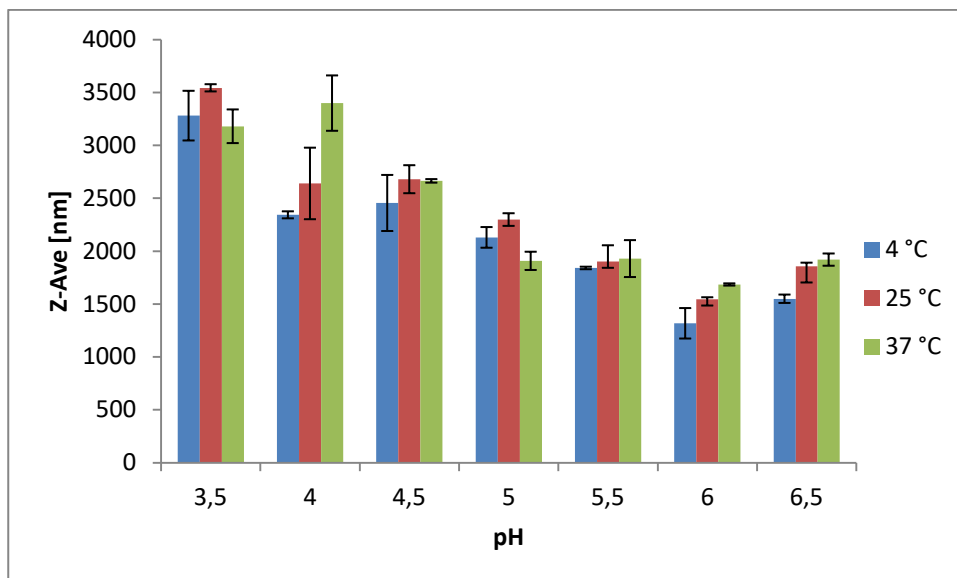
6.2.5 Vliv teploty a doby skladování na velikost částic

Jak již bylo řečeno výše, vliv teploty a doby skladování měl na velikost částic výrazný vliv, proto se i následující kapitola bude zabývat právě vlivem teploty a doby skladování na stabilizační schopnost chitosanu o různé molekulové hmotnosti (nízkomolekulární vs. středněmolekulární).

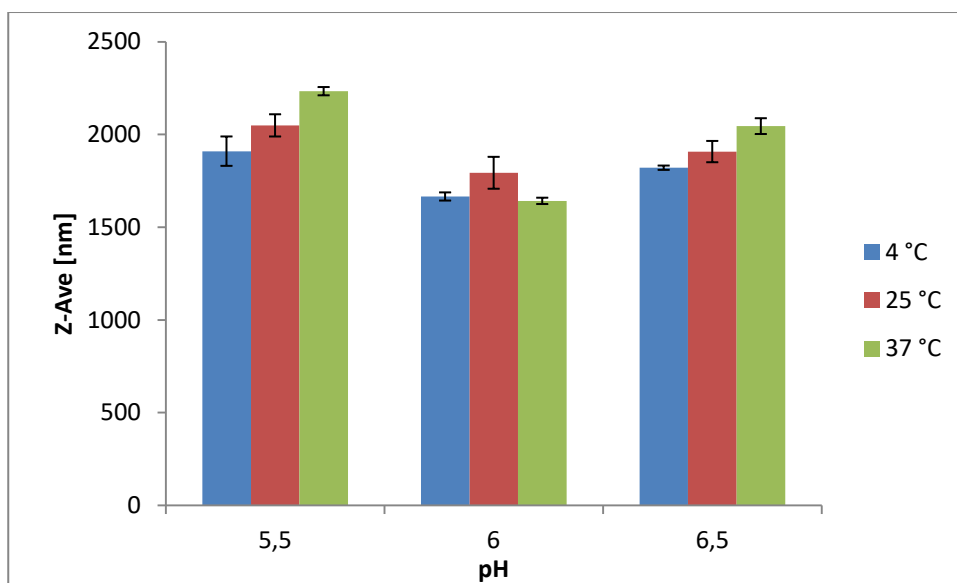
Z výsledků vyplývá, že velmi negativní vliv na stabilitu emulzí měla nejvyšší teplota 37 °C. K rozpadu emulzí (pH 3,5; 4; 4,5) zde došlo již čtvrtý den od jejich přípravy a do konce testování došlo k rozpadu všech emulzí skladovaných v těchto podmínkách. Přičemž docházelo k výraznému zvětšování velikostí částic, což vedlo následně k vytvoření krémové vrstvy na povrchu emulze. Obdobně tomu bylo i vzorků skladovaných při teplotě 25 °C, kdy k prvnímu rozpadu emulzí došlo u vzorků o nižším pH, a to již čtvrtý den od jejich přípravy, přičemž opět došlo k nárůstu velikosti částic. Emulze o pH 6,5 s obsahem nízkomolekulární chitosanu a emulze o pH 6 a 6,5 s obsahem středněmolekulární chitosanu zůstaly stabilní po celou dobu skladování. Nejlepších výsledků bylo dosaženo u vzorků skladovaných při teplotě 4 °C (Obr. 28–33).

U obr. 28 znázorňujícího velikost částic emulzí o různém pH skladovaných při všech testovacích teplotách 2. den od jejich přípravy lze pozorovat, že velikost částic má se zvyšující se hodnotou pH klesající tendenci. Hodnoty velikostí částic naměřené u emulzí o pH 6,5 byly nepatrně vyšší než ty naměřené u emulzí o pH 6. Také lze vidět, že nejvyšších hodnot velikostí částic dosahovaly emulze skladované při teplotě 37 °C.

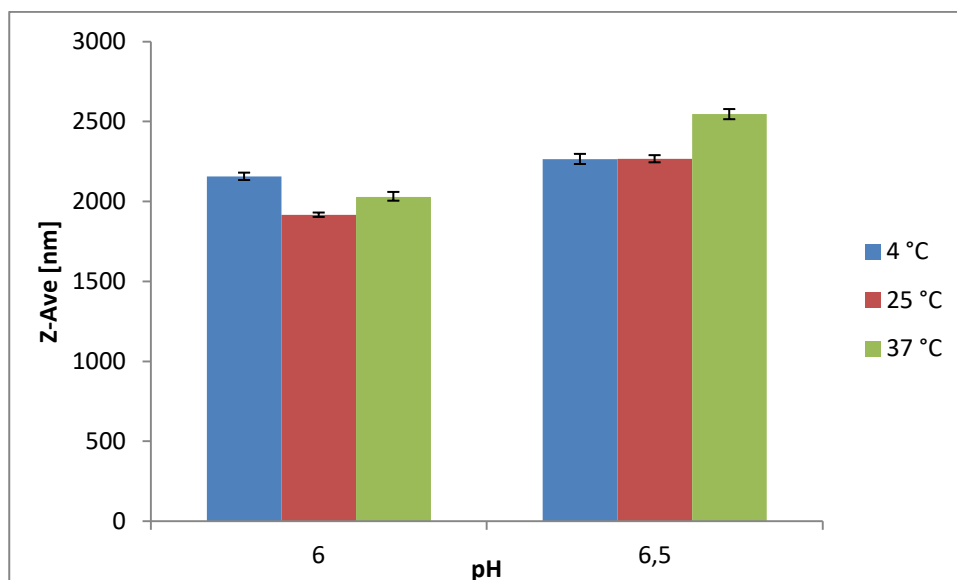
Po 12 dnech skladování (Obr. 29) došlo k dalšímu zvětšení velikosti částic (emulze o pH 5,5; 6 a 6,5). U ostatních vzorků emulzí již došlo k jejich rozpadu. Na Obr. 30 jsou zachyceny pouze dva vzorky emulze o pH 6 a 6,5, resp. jejich velikost částic v závislosti na době a teplotě skladování. Opět lze zde pozorovat nárůst velikosti částic oproti předchozím dnům.



Obr. 28. Vliv teploty na velikost částic emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den

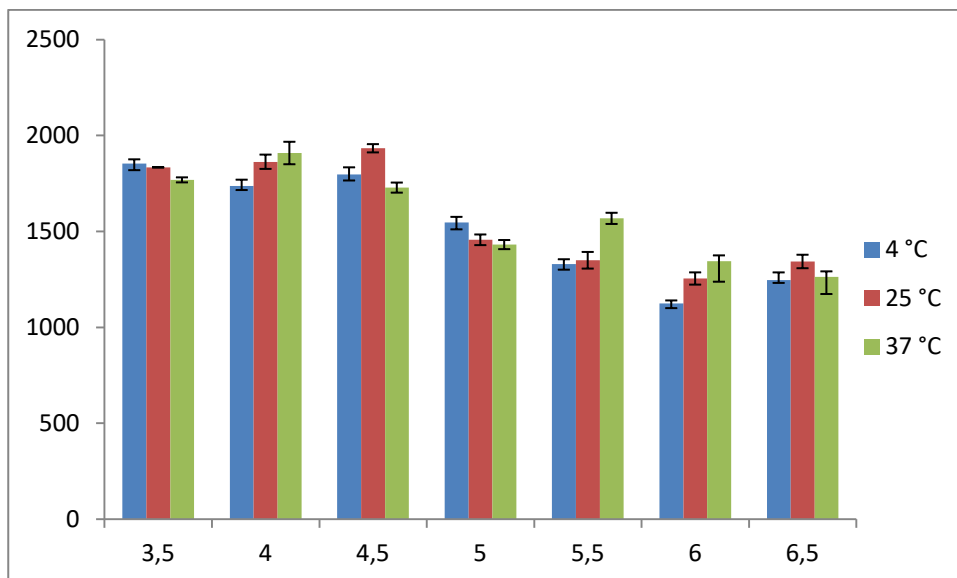


Obr. 29. Vliv teploty velikosti částic emulzí o pH 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 12. den

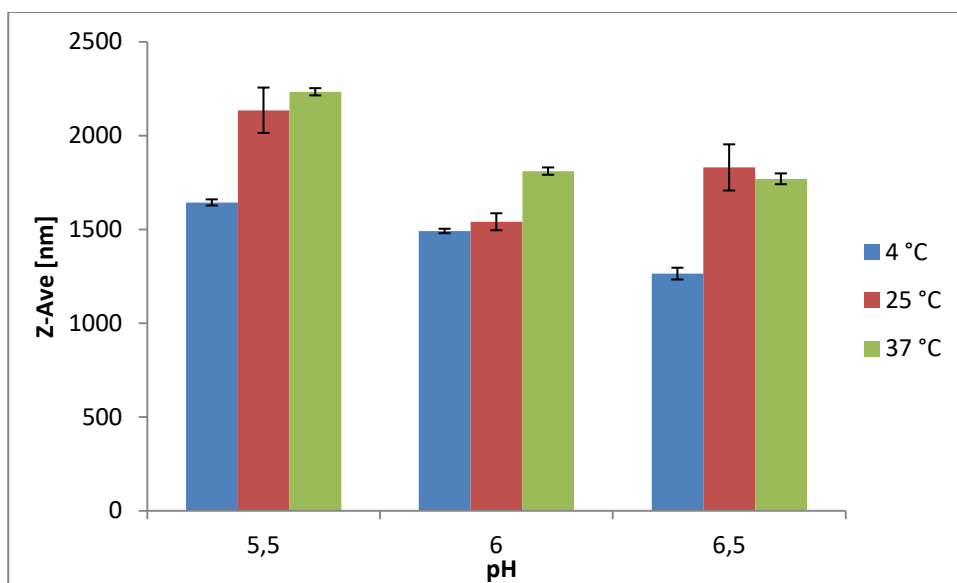


Obr. 30. Vliv teploty velikosti částic emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. den

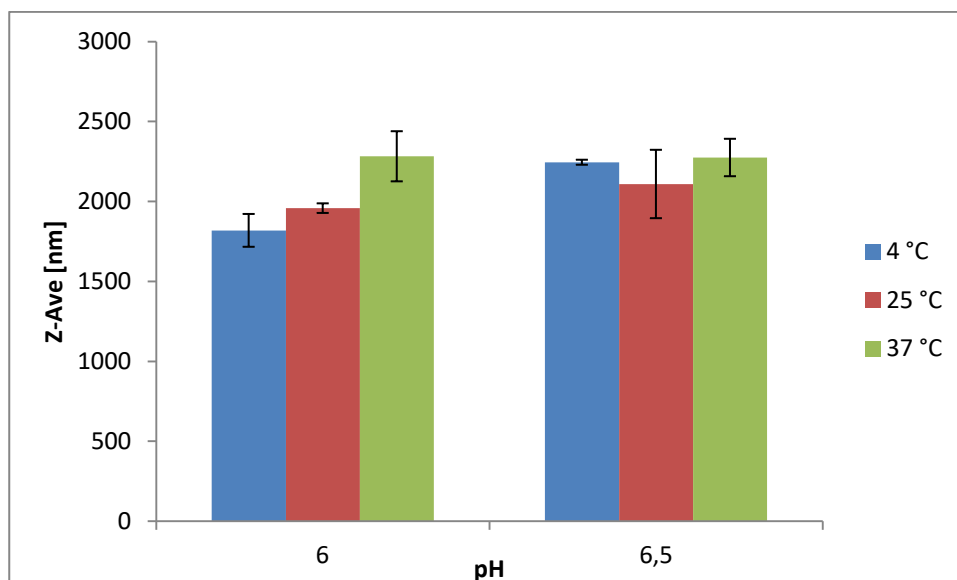
Na Obr. 31–33 jsou zaznamenány hodnoty velikostí částic u emulzí stabilizovaných za pomoci středněmolekulárního chitosanu v průběhu testování. Obrázek 31 znázorňuje velikost částic emulzí skladovaných při rozdílné teplotě skladování 2. den od jejich přípravy. Ve srovnání s emulzemi obsahujícími nízkomolekulární chitosan byly naměřeny nižší hodnoty velikostí částic, a to v průběhu celé doby měření. Dále lze říci, že s rostoucí hodnotou pH, klesá velikost částic. Hodnoty velikostí částic naměřené u emulzí o pH 6,5 byly nepatrně vyšší než hodnoty velikosti částic naměřené u emulzí o pH 6. Z výsledků dále vyplývá, že emulze obsahující středněmolekulární chitosan nevykazují ve své velikosti částic u různých teplot skladování výrazný rozdíl.



Obr. 31. Vliv teploty na velikosti částic emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den



Obr. 32. Vliv teploty na velikost částic emulzí o pH 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 12. den



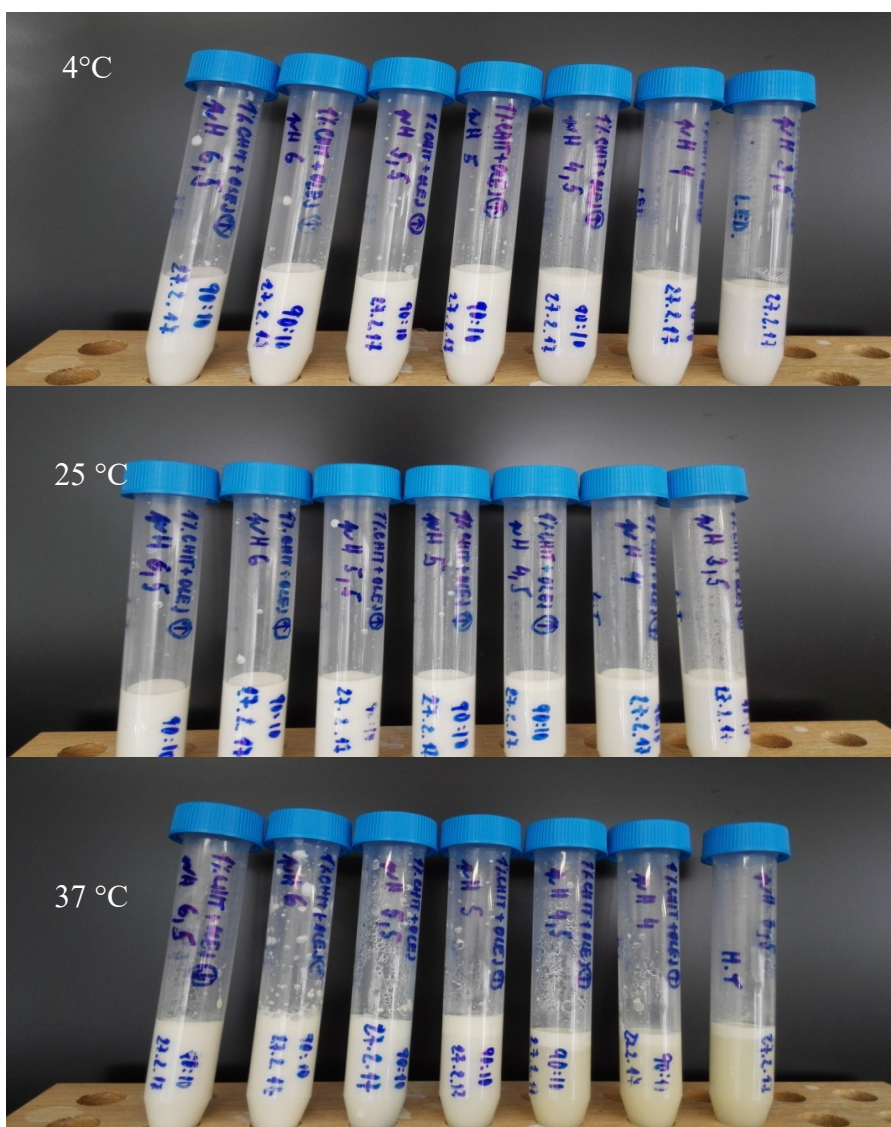
Obr. 33. Vliv teploty na velikost částic emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. Den

6.3 Vizualní pozorování

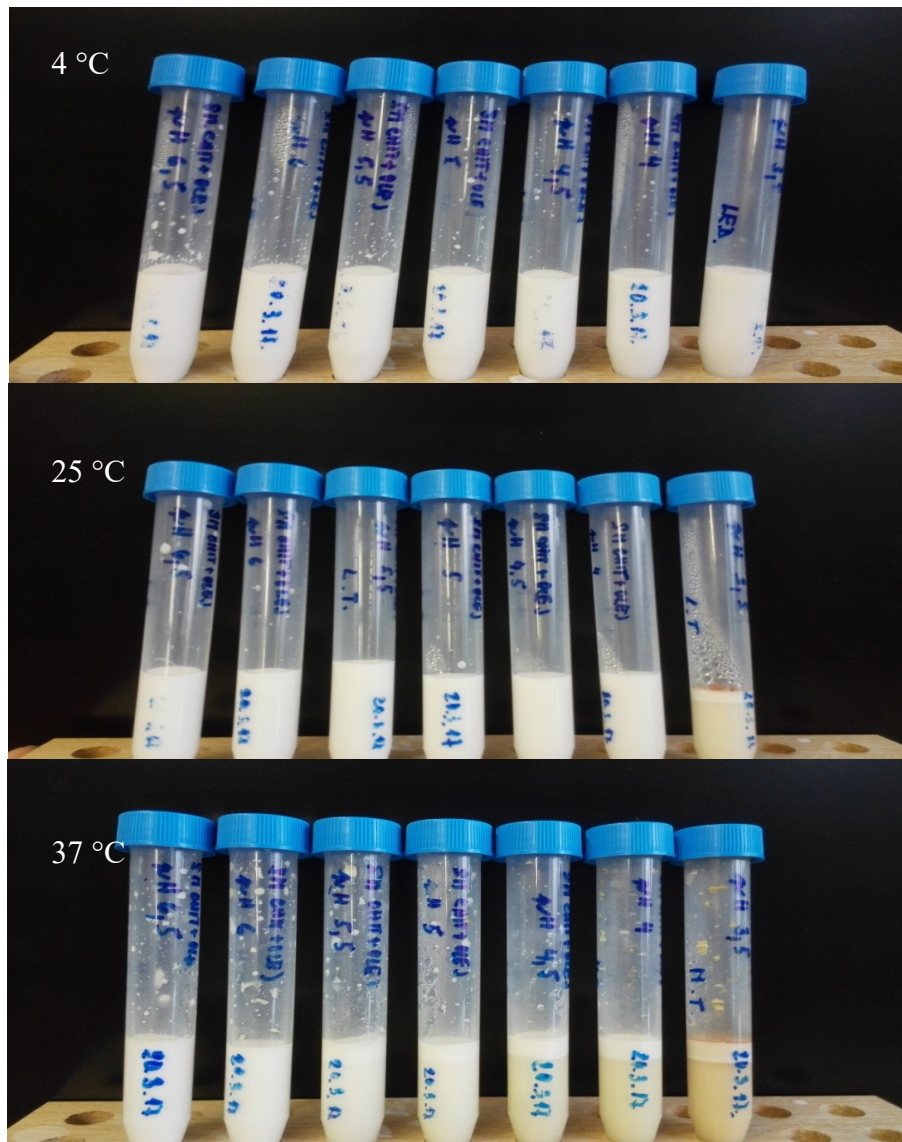
Jak již bylo uvedeno výše, u připravených emulzních systému bylo vždy provedeno i vizuální pozorování. To proběhlo ihned po přípravě emulzí a poté v předem stanovených časových intervalech (1, 2, 3, 4, 5, 9, 12, 15, 19, 30. a 36. den od přípravy emulze). Emulze byly skladovány v různých teplotních režimech (4, 25 a 37 °C). U emulzí byl sledován celkový vzhled, barva, počet fází, přítomnost shluků, krémování a jiné známky destabilizace.

Z výsledků vyplývá, že nejvhodnější teplota skladování z hlediska stability emulzí byla teplota 4 °C, jak u emulzí obsahujících nízkomolekulární chitosan, tak u emulzí obsahujících středněmolekulární chitosan. Naopak nejhůře, z pohledu stability, byla hodnocena nejvyšší teplota skladování, tj. 37 °C. Při této teplotě došlo nakonec k rozpadu všech emulzí. Vzorky uchovávané při teplotě 25 °C zůstaly stabilní po delší časové období než vzorky skladované při 37 °C, avšak v porovnání se vzorky, které byly skladovány při 4 °C, došlo k jejich rozpadu daleko dříve. U emulzí s obsahem nízkomolekulárního chitosanu, lze za nejstabilnější vzorky považovat emulze o hodnotě pH 6,5, skladované při teplotě 25 °C a o hodnotě pH 6,5 skladované při teplotě 4 °C. Tyto emulze zůstaly stabilní po celou dobu testování, tj. 36 dnů. Naopak k nejrychlejšímu rozpadu došlo u emulzí o hodnotě pH 3,5 a 4, kdy byly pozorovány známky destabilizace již čtvrtý den od jejich

přípravy, a to u všech tří teplot skladování. U emulzí obsahujících středněmolekulární chitosan došlo nejrychleji k rozpadu emulzí o hodnotě pH 3,5, a to při všech podmínkách skladování již čtvrtý den od přípravy emulzí. Naopak vzorky emulzí o hodnotě pH 6 a 6,5, které byly uchovávány při teplotě 4 a 25 °C zůstaly stabilní po celou dobu testování (36 dní). Rozpad emulzí probíhal gravitační separací fází, kdy docházelo ke krémování, tj. že se dispergovaná fáze emulze shromažďovala v horní části jako důsledek její nižší hustoty oproti fázi vodné. V horní části vzorku se vytvořila mléčně bílá vrstva nad polotransparentní nažloutlou vrstvou v dolní části. Výjimku tvořila emulze o pH 6,5 skladovaná při teplotě 37°C, kdy došlo k vytvoření aglomerátů. To je pro lepší ilustraci znázorněno na fotografiích pořízených 30. den od přípravy (Obr. 34 a 35).



Obr. 34. Emulze o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6, 6,5 s obsahem NM chitosanu skladované při 4, 25 a 37 °C (zleva: pH 6,5; 6; 5,5; 5; 4,5; 4; 3,5) [vlastní zdroj]



Obr. 35. Emulze o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6, 6,5 s obsahem SM chitosanu skladované při 4, 25 a 37 °C (zleva: pH 6,5; 6; 5,5; 5; 4,5; 4; 3,5) [vlastní zdroj]

Bylo dosaženo obdobných výsledků, jakých dosáhli Hao Liu, Chaoyang Wang a kol. [61] ve své studii. Popisují zde, že emulze o $\text{pH} > 6,5$ vykazují vysokou stabilitu a odolnost po dobu 2 měsíců, zatímco emulze o $\text{pH} < 6,5$ jsou vysoce nestabilní a k jejich rozpadu došlo již druhý den od přípravy. Stejného závěru dosáhli při své práci i Xiao-Yan Wang a Marie-Claude Heuzey [58, s. 931].

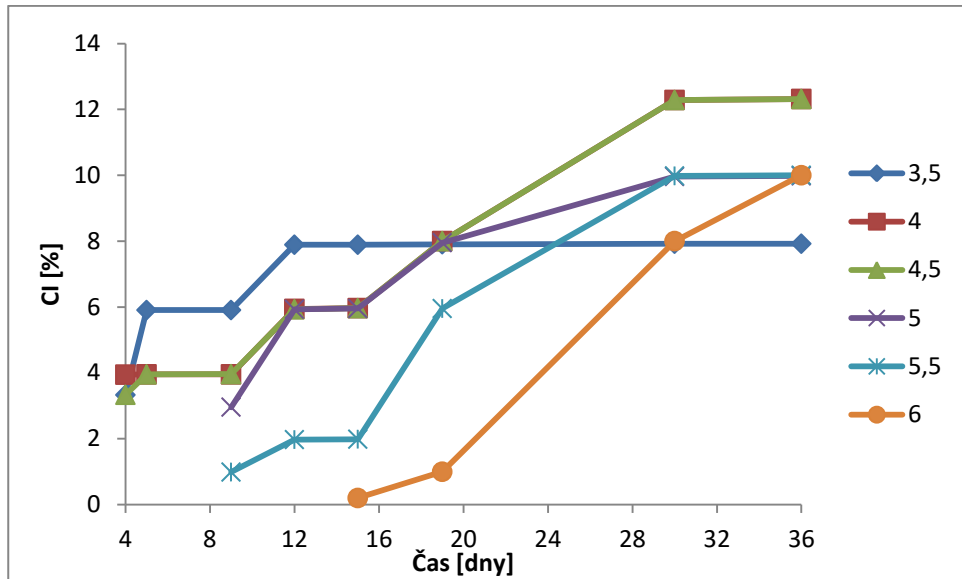
6.3.1 Vliv teploty a doby skladování na stabilitu emulzí

Stabilita emulzí s obsahem chitosanu byla dále hodnocena i prostřednictvím indexu krémování (CI). Pro stanovení CI byla měřena výška vrstvy krémování a celková výška emulze (součet výšky vrstvy krémování a vodné vrstvy) v mm. Měření probíhalo vždy v den přípravy a poté ve stanovených časových intervalech během skladování.

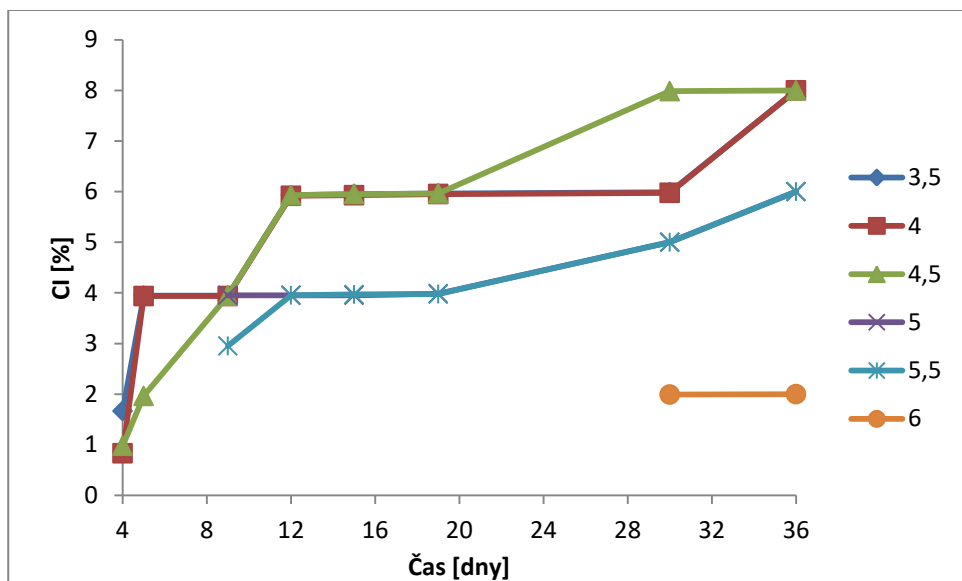
Jelikož jedním z významných parametrů ovlivňujících stabilitu emulzí je teplota, byly připravené emulze rozděleny do třech různých teplot skladování (4, 25 a 37 °C) a byl sledován právě vliv teploty na jejich stabilitu v průběhu času. Jak již bylo uvedeno výše, nejméně stabilní emulze byly emulze s obsahem nízkomolekulárního chitosanu. To je také patrné na Obr. 36, kde jsou vyneseny hodnoty CI emulzí naměřené v průběhu 36 dní v závislosti na pH skladovaných při teplotě 37 °C. U emulzí s nižší hodnotou pH docházelo ke krémování dříve a s postupem času bylo dosaženo vyšších hodnot CI než u emulzí o vyšší hodnotě pH, kdy se krémování začalo projevovat později, např. u emulze o pH 6 až 15 den od její přípravy. Na Obr. 36 není vyhodnocení CI emulze o pH 6,5, jelikož ke krémování vůbec nedošlo, došlo ale k celkovému sražení emulze 30. den od její přípravy.

Z pohledu krémování, tzn. rozpadu emulze byla nepatrně lépe hodnocena teplota skladování 25 °C (Obr. 37). Lze pozorovat, že hodnoty CI nabývaly nižších než hodnoty CI u vzorků skladovaných při 37 °C, i přes to, že ke krémování došlo u emulzí v identické dny. Na Obr. 37 není vyhodnocení CI emulze o pH 6,5, jelikož u emulze nedošlo k rozpadu.

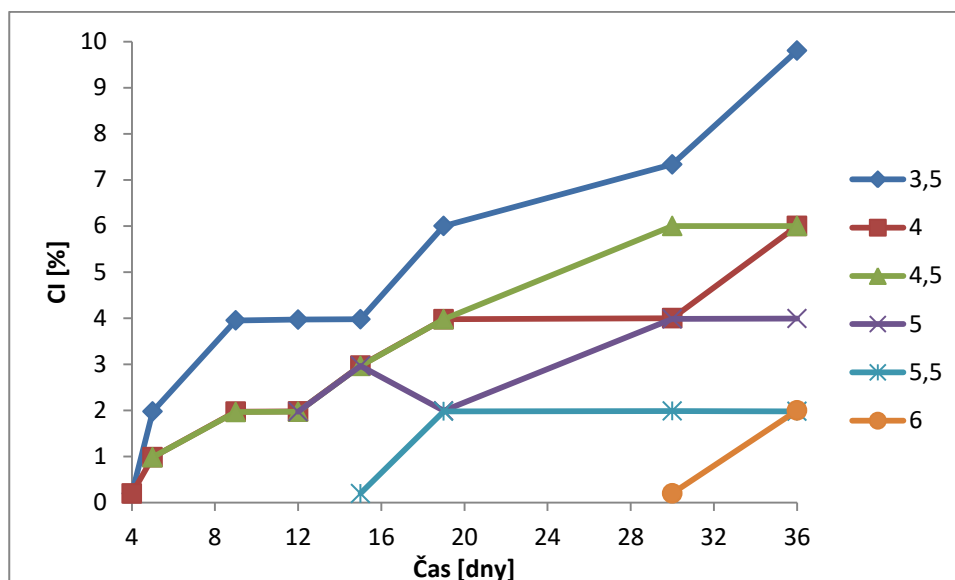
Nejlépe hodnocena byla teplota skladování 4 °C (Obr. 38), kdy CI nabýval nejnižších hodnot. Na obr. 38 není opět vyhodnocení CI emulze o pH 6,5, jelikož emulze zůstala stabilní po celou dobu testování.



Obr. 36. Index krémování (CI) emulzí s obsahem NM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 37 °C

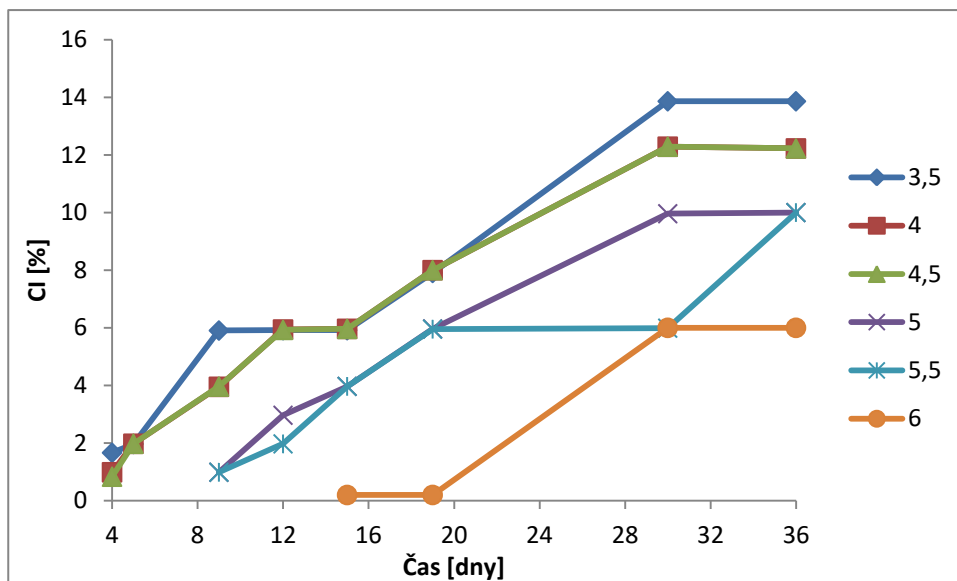


Obr. 37. Index krémování (CI) emulzí s obsahem NM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 25 °C

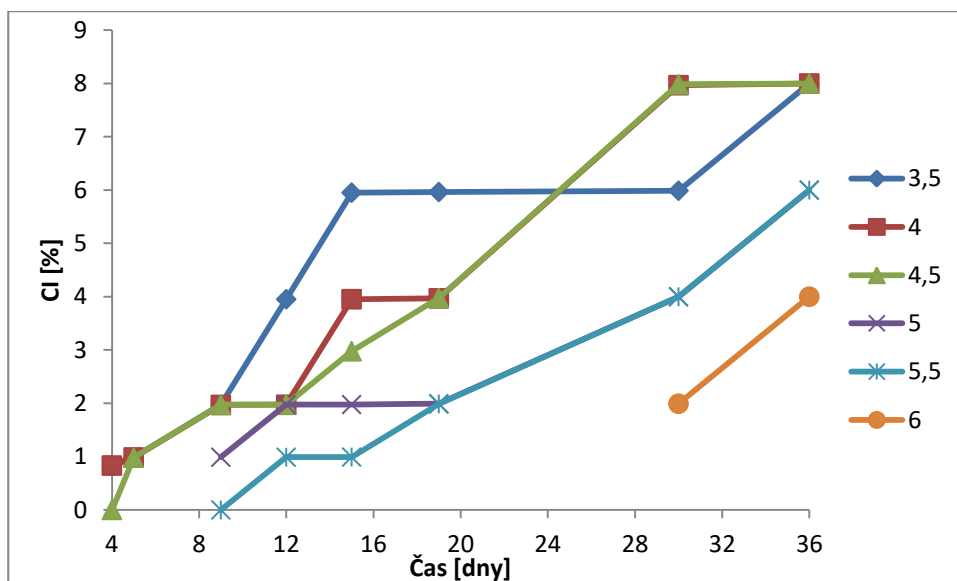


Obr. 38. Index krémování (CI) emulzí s obsahem NM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 4 °C

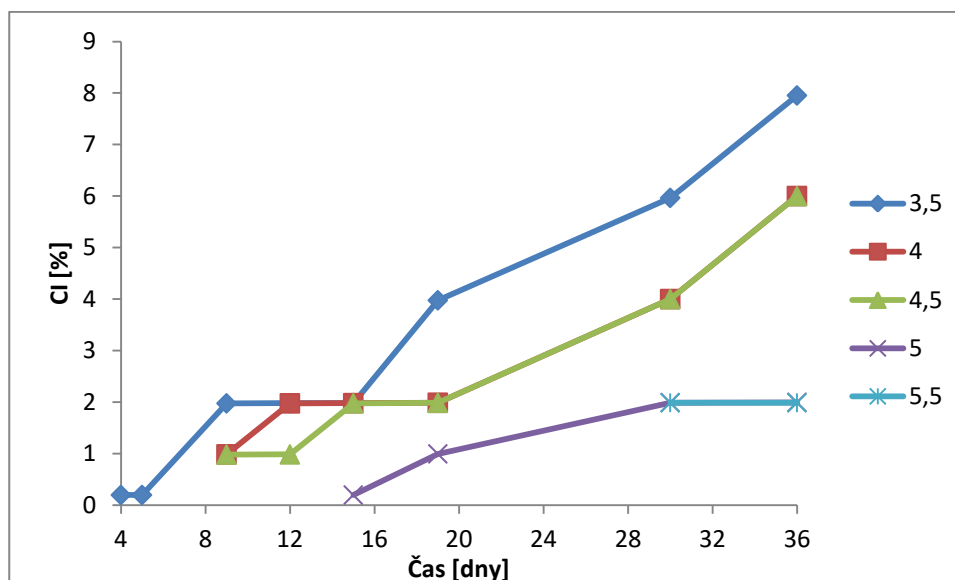
Obdobně tomu bylo i u emulzí s obsahem středněmolekulárního chitosanu (Obr. 39–41). Nejméně stabilní emulze byly emulze skladované při teplotě 37 °C. Což je také patrné na Obr. 39, kde jsou zaznamenány hodnoty CI naměřené v průběhu 36 dní. Je zřejmé, že docházelo k výraznému krémování zejména u emulzí o nižším pH (3,5; 4; 4,5), kdy první známky destabilizace byly pozorovány již čtvrtý den od jejich přípravy. U emulzí o pH 5 a 5,5 byla zpozorována vrstva krémování devátý den od jejich přípravy. Emulze o pH 6 se začala rozpadat patnáctý den. U vzorku o pH 6,5 byl zpozorován vznik aglomerátu po celém objemu emulze, došlo tedy k celkovému sražení emulze a to 30. den. Naopak nejlépe byly hodnoceny opět emulze skladované při teplotě 4 °C, jejich hodnoty CI v průběhu skladování jsou vyneseny na Obr. 39, ze kterého je patrné, že hodnoty CI byly nižší, než tomu bylo u emulzí skladovaných při teplotě 37 a 25 °C. Hodnoty CI u všech měřených emulzí do 19. dne od vzniku emulze nepřekročily hodnotu 4 %. V grafu nejsou zaznamenány hodnoty emulzí o pH 6 a 6,5, jelikož tyto emulze zůstaly stabilní po celou dobu skladování. Emulze s obsahem středněmolekulárního chitosanu skladované při laboratorní teplotě jsou znázorněny na Obr. 40, u kterého lze zpozorovat, že hodnoty CI jsou nižší, než je tomu u emulzí skladovaných při teplotě 37 °C, ale zároveň vyšší než u emulzí skladovaných při teplotě 4 °C. Obecně lze tedy říci, že hodnoty CI byly nižší než hodnoty neměřené u emulzí s obsahem nízkomolekulárního chitosanu.



Obr. 39. Index krémování (CI) emulzí s obsahem SM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 37 °C



Obr. 40. Index krémování (CI) emulzí s obsahem SM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 25 °C



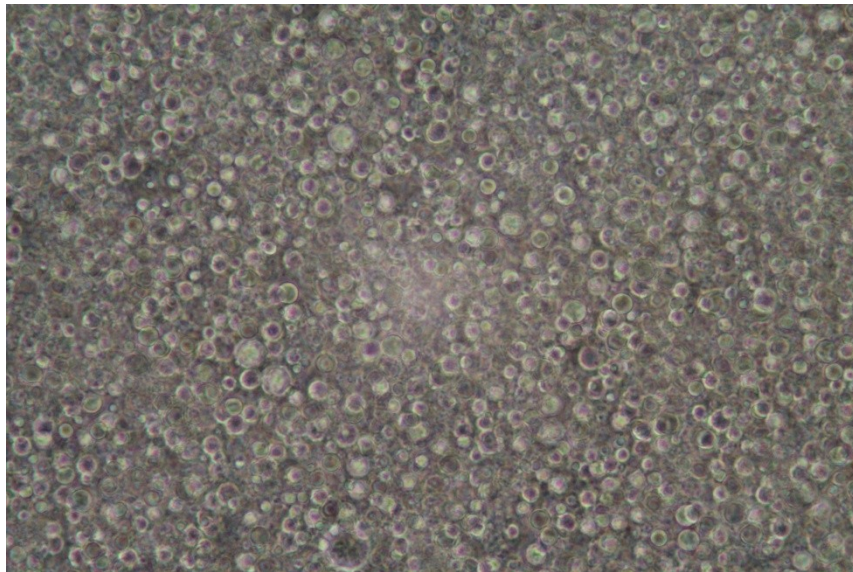
Obr. 41. Index krémování (CI) emulzí s obsahem SM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 4°C

Bylo dosaženo obdobných výsledků jako ve studii [58, s. 934], kde byla zjišťována dlouhodobá stabilita emulzí s obsahem chitosanu o různém pH prostřednictvím vizuálního pozorování a následným výpočtem CI. Bylo zde zjištěno, že přítomnost chitosanu značně zvyšuje stabilitu emulze. Konkrétně, při nižších hodnotách pH (3,5 a 4,5) pozorovali náhlý nárůst CI na hodnotu 75%, resp. 67% v průběhu 40 dnů. Zatímco u pH 6,5 byl CI prakticky 0 po dobu 80 dní. Jejich výsledky ukazují, že nejstabilnější emulzí na bázi chitosanu je ta, která byla připravena při pH 6,5.

6.4 Mikroskopické pozorování

Další charakteristikou emulzí bylo jejich mikroskopické pozorování. Jak již bylo uvedeno výše, pozorování u emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 stabilizovaných prostřednictvím středněmolekulárního chitosanu probíhalo v den jejich přípravy. Následně byly mikroskopickému pozorování podrobeny emulze o hodnotě pH 3,5; 6; 6,5 ze 4, 25 a 37 °C 19. a 36. den od jejich přípravy. Emulze o pH 3,5; 6; 6,5 stabilizované za pomoci nízkomolekulárního chitosanu z každé teploty skladování byly z časových důvodů pozorovány 19. a 36. den od vzniku emulze. Vzhledem k omezenému rozsahu práce byly vybrány pouze pořízené fotografie vystihující výše zmíněnou problematiku.

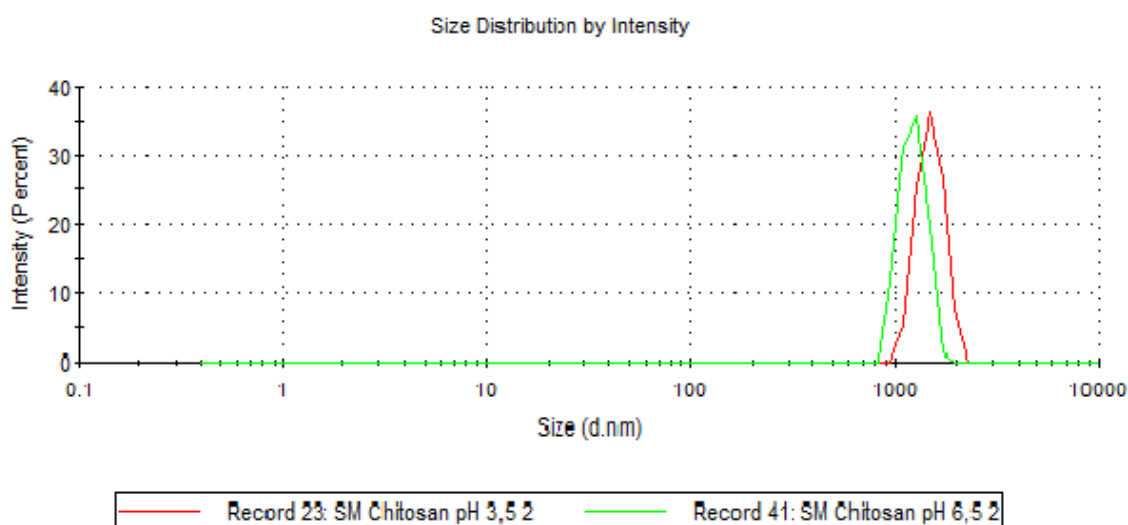
Na Obr. 42 je zachycena emulze o pH 3,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu v den její přípravy. Z pořízené fotografie je patrné, že nově připravená emulze je homogenní a obsahuje více méně jen jedinou populaci částic. Obdobně tomu bylo i u vzorku emulze o pH 6,5 v den její přípravy (Obr. 43). Toto zjištění bylo prokázáno i při měření velikosti částic. Na Obr. 44 jsou pro srovnání uvedeny distribuční křivky velikosti částic u emulze o pH 3,5 a 6,5 v den jejich přípravy.



Obr. 42. Emulze o pH 3,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu v den její přípravy



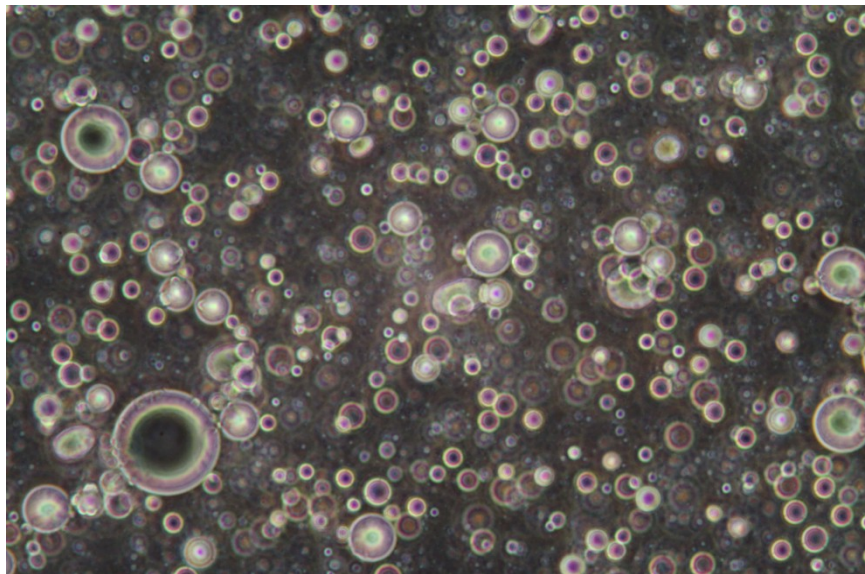
Obr. 43. Emulze o pH 6,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu v den její přípravy



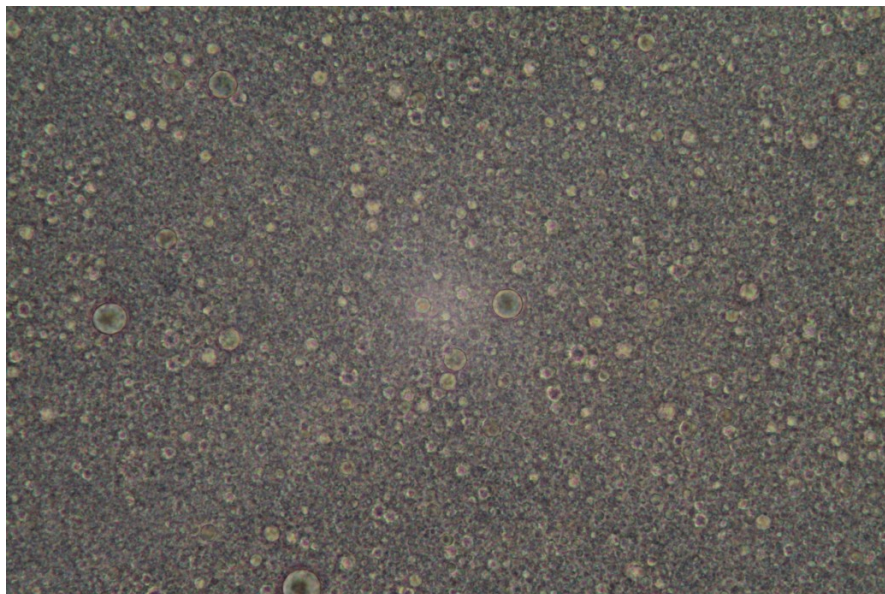
Obr. 44. Distribuce velikostí částic u emulzí o pH 3,5 a 6,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu v den jejich přípravy

Na Obr. 45 je zachycena emulze o hodnotě pH 3,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu 36. den od její přípravy skladovaná při teplotě 4 °C. Lze si zde povšimnout, že emulze již obsahovala různě velké částice, než tomu bylo v den její přípravy (Obr. 42). Pro srovnání je pak na Obr. 46 zachycen vzhled emulze o hodnotě pH 6,5 s obsahem

středněmolekulárního chitosanu 36. den od její přípravy skladované při teplotě 4 °C. Je zřejmé, že tento vzorek emulze obsahuje daleko menší částice než vzorek emulze o hodnotě pH 3,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu. I proto zůstala tato emulze stabilní po celou dobu pozorování, zatímco u druhé zmíněné byly od čtvrtého dne pozorovány známky její destabilizace.

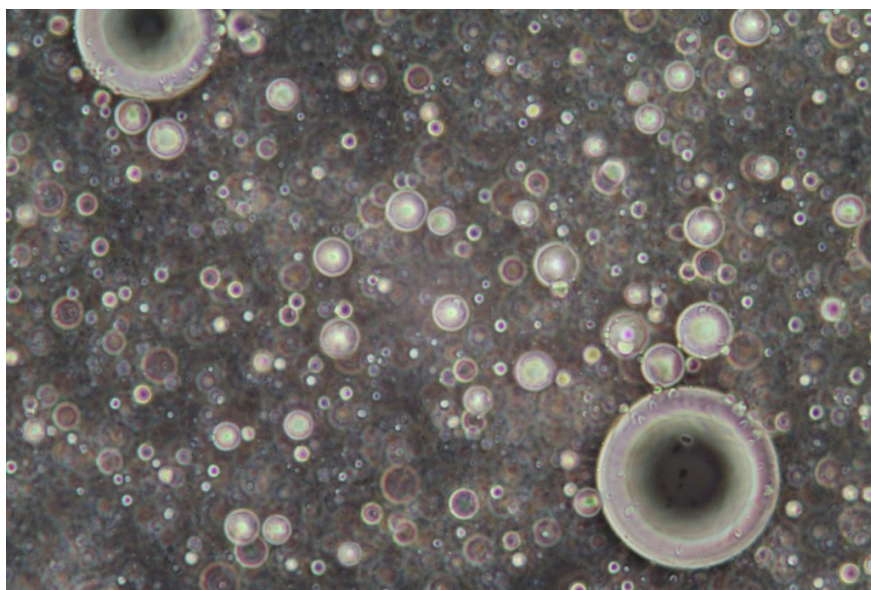


*Obr. 45. Emulze o pH 3,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu
36. den od přípravy emulze, skladovaná při teplotě 4 °C*

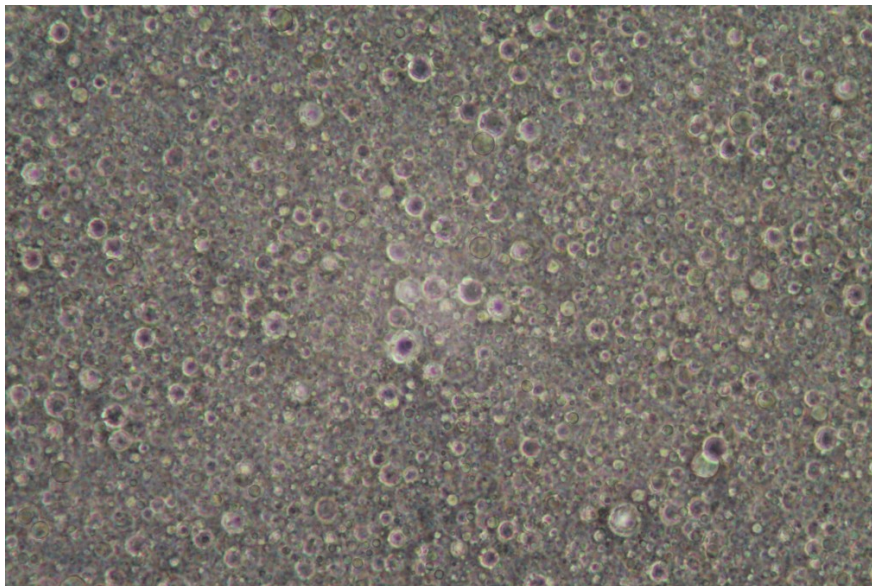


*Obr. 46. Emulze o pH 6,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu
36. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 °C*

Pro srovnání vzhledu emulzí s obsahem různého typu chitosanu jsou na Obr. 47 a 48 zachyceny emulze stabilizované prostřednictvím nízkomolekulárního chitosanu 36. den od přípravy. Byly opět vybrány vzorky emulzí o pH 3,5 a 6,5 skladované při teplotě 4 °C. Při porovnání je zřejmé, že emulze o pH 6,5 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu obsahuje daleko menší částice s daleko menší distribucí než emulze o hodnotě pH 3,5 s obsahem stejného typu chitosanu. Obdobně jako tomu bylo výše, i u emulzí stabilizovaných pomocí nízkomolekulárního chitosanu, obsahovaly vzorky emulzí o pH 6,5 daleko menší částice než tomu bylo u vzorků emulzí o hodnotě pH 3,5. Porovnáme-li fotografie zaznamenávající emulze s obsahem středněmolekulárního chitosanu s emulzemi s obsahem nízkomolekulárního chitosanu lze říci, že částice emulzí stabilizovaných prostřednictvím nízkomolekulárního chitosanu jsou nepatrně větších rozměrů než je tomu u vzorků emulzí stabilizovaných pomocí středněmolekulárního chitosanu.

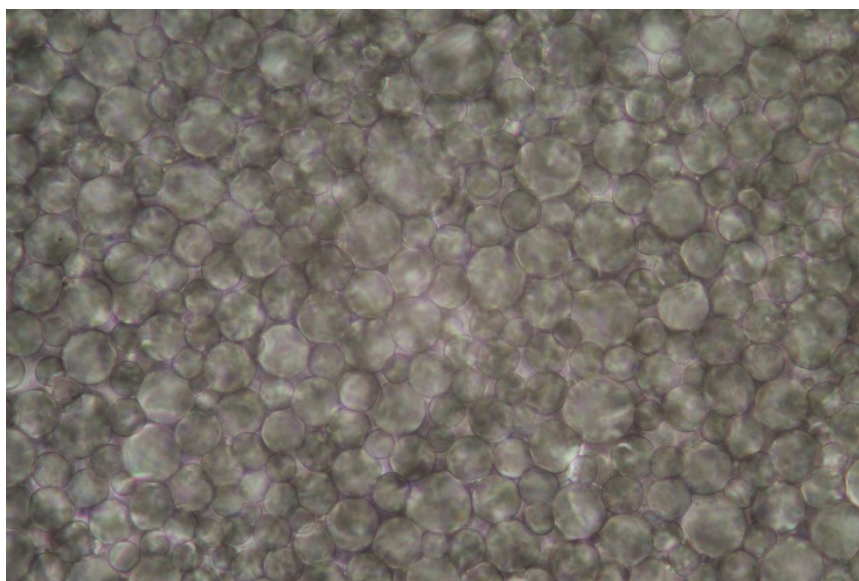


*Obr. 47. Emulze o pH 3,5 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu
36. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 °C*



*Obr. 48. Emulze o pH 6,5 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu
36. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 ° C*

Jak již bylo uvedeno výše, rozpad emulzí probíhal gravitační separací, tj. krémováním. Krémová vrstva je tvořena dispergovanou olejovou fází nashromážděnou v horní části emulze. Na Obr. 49 je pro ilustraci zachycena právě tato krémová vrstva u vzorku z emulze s obsahem nízkomolekulárního chitosanu o pH 3,5 skladované při teplotě 25 °C 19. den od přípravy. Lze zde pozorovat velmi těsně uspořádané částice poměrně velkých rozměrů, ve srovnání s částicemi u stabilních emulzí (Obr. 46 a Obr. 48).



Obr. 49. Krémovací vrstva u vzorku emulze o pH 3,5 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu v 19. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 ° C

Mikroskopickým pozorováním byl i u většiny emulzí zaznamenán Brownův pohyb.

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo připravit emulze stabilizované za pomoci biopolymeru chitosanu a nalézt optimální podmínky pro udržení jejich maximální stability. Dále provést základní charakterizaci takto připravených emulzí.

Postupem použitým v diplomové práci byly nejprve připraveny 1% roztoky kyseliny octové o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 a 6,5 s obsahem chitosanu o různé molekulové hmotnosti. Pro jejich přípravu byl použit nízko- a středněmolekulární chitosan. Pro charakterizaci chitosanových roztoků bylo využito dynamického rozptylu světla, pomocí kterého byla stanovena závislost ζ potenciálu na pH a závislost velikosti částic na pH. Prostřednictvím metody Wilhelmyho vyvažovací destičky bylo u roztoků změřeno jejich povrchové napětí.

Hodnoty ζ potenciálu naměřené u roztoků chitosanů prokázaly klesající tendenci v závislosti na rostoucím pH. Což bylo zapříčiněno postupnou deprotonací aminových skupin. Při měření velikosti částic byla také zaznamenána klesající tendence velikosti částic při zvyšujícím se pH (z 3,5 na 6). Výjimku tvořili roztoky o pH 6,5 jejichž hodnoty zeta potenciálu byly nepatrně vyšší než u emulzí o pH 6. Přičemž roztoky s obsahem nízkomolekulárního chitosanu dosahovaly nižších hodnot velikosti částic než roztoky obsahující středněmolekulární chitosan. Posledním sledovaným parametrem u roztoků s obsahem chitosanu bylo povrchové napětí. Z výsledků vyplývá, že se povrchové napětí se až na mírné odchylky se zvyšujícím se pH zvyšovalo, a to jak u roztoků obsahujících nízko-, tak středněmolekulární chitosan.

Dalším krokem byla příprava emulzí stabilizovaných právě prostřednictvím chitosanu o různé molekulové hmotnosti. Emulze byly připraveny ve stejné hodnotě pH jako tomu bylo u prostých roztoků chitosanů. Cílem bylo sledovat, jak pH ovlivňuje hodnotu ζ potenciálu a velikost částic, s ohledem na celkovou stabilitu emulzí.

Obdobně, jako tomu bylo u roztoků s obsahem chitosanů, hodnoty povrchového napětí emulzí s obsahem nízko- a středněmolekulárního chitosanu se zvyšovaly se zvyšujícím se pH. Výjimku zde tvořily emulze o pH 4,5 a 6 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu a emulze o pH 4 a 6 obsahující středněmolekulární chitosan, jejichž hodnoty se mírně odlišovaly. Hodnoty ζ potenciálu emulzí s obsahem chitosanu o různé molekulární hmotnosti se navzájem příliš nelišily.

Dále, z měření ζ potenciálu vyplývá, že se zvyšující se hodnotou pH dochází k poklesu hodnoty ζ potenciálu. Přičemž všechny hodnoty se nacházely nad hranicí +30 mV, což je označováno jako oblast vhodné úrovně stability emulzí. Vyšší hodnoty byly naměřeny u emulzí stabilizovaných prostřednictvím nízkomolekulárního chitosanu. Dalším sledovaným parametrem ovlivňujícím stabilitu emulzí byla i teplota (4, 25 a 37 °C) a doba skladování (36 dní). Přestože docházelo k rozpadu emulzí, naměřené hodnoty ζ potenciálu se v průběhu skladování měnily pouze minimálně.

Vliv pH, teploty a doby skladování na stabilitu vyrobených vzorků emulzí byl pozorován i prostřednictvím měření velikosti částic. Bylo zjištěno, že docházelo k efektivnímu zvyšování velikostí částic, což postupem času vedlo až k rozpadu emulzí. Vyšší hodnoty velikostí částic byly naměřeny u emulzí stabilizovaných prostřednictvím nízkomolekulárního chitosanu. Nejdříve se projevíly známky destabilizace u emulzí o nižším pH (3,5; 4; 4,5) a to již čtvrtý den od přípravy. Naměřené velikosti částic emulzí zde byly nejvyšší. Naopak nejvíce stabilní byly emulze o pH 6 a 6,5. Z hlediska teploty skladování byla nejlépe hodnocena teplota 4 °C. Naopak nejhorší pro stabilitu byla teplota 37 °C, kdy došlo v průběhu skladování k rozpadu všech emulzí.

Diplomová práce prokázala schopnost chitosanu stabilizovat emulze typu o/v v prostředí o různém pH. Nejstabilnější emulze byly ty o pH 6,5, a to jak s obsahem nízko-, tak středněmolekulárního chitosanu. Podrobnější zkoumání takto stabilizovaných systémů by bylo vhodným námětem pro další práci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BARTOVSKÁ, Ludmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Co je co v povrchové a koloidní chemii* [Online]. Praha: Vydavatelství VŠCHT, 2005 [2016-11-10] Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/ebook.help.htm.
- [2] BARTOVSKÁ, Ludmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 245 s. ISBN 80-708-0579-X.
- [3] BENEŠ, Jiří, Jaroslava KYMPLOVÁ a František VÍTEK. *Základy fyziky pro lékařské a zdravotnické obory: pro studium i praxi*. Praha: Grada, 2015. ISBN 978-80-247-4712-5.
- [4] BERNARD P. BINKS. *Modern aspects of emulsion science*. Cambridge, UK: Royal Society of Chemistry, Information Services, 1998. ISBN 978-0-85404-439-9.
- [5] BLAŽEJ, Anton. *Tenzidy*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1977, 481 s., příl.
- [6] BODVIK, Rasmus; DEDINAITE, Andra; KARLSON, Leif; BERGSTRÖM, Magnus; BÄVERBÄCK, Petra; PEDERSEN, Jan Skov; EDWARDS, Katarina; KARLSSON, Göran; VARGA, Imre; CLAESSESON, Per M. Aggregation and Network Formation of Aqueous Methylcellulose and Hydroxypropylmethylcellulose Solutions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2010, vol. 354, no. 1 s. 162-171. ISSN:0927-7757.
- [7] BOUYER, Eléonore; MEKHLLOUFI, Ghazlene; ROSILIO, Véronique; GROSSIORD, Jean-Louis; AGNELY, Florence. Proteins, Polysaccharides, and Their Complexes Used as Stabilizers for Emulsions: Alternatives to Synthetic Surfactants in the Pharmaceutical Field. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, vol. 436, no. 1-2 s. 359-378. ISSN:0378-5173.
- [8] BRUGGER, B. a W. RICHTERING. Magnetic, Thermosensitive Microgels as Stimuli-Responsive Emulsifiers Allowing for Remote Control of Separability and Stability of Oil in Water-Emulsions. *Advanced Materials*. 2007, **19**(19): 2973-2978. DOI: 10.1002/adma.200700487. ISSN 09359648. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/adma.200700487>.

- [9] CAMPO, V. L., KAWANO, D.F., da SILVA, D. B. Jr., CARVALHO, I. Carageenans: Biological properties, chemici modifications and structural analysis – A review. *Carbohydrate Polymers*, 77, 2009, 167–180.
- [20] DESBRIERES, J; BOUSQUET, C; BABAK, V. Surfactant-chitosan Interactions and Application to Emulsion Stabilization. *Cellulose Chemistry and Technology*. 2010, vol. 44, no. 9 s. 395-406. ISSN:0576-9787.
- [31] DODANE, Valérie a Vinod D VILIVALAM. Pharmaceutical applications of chitosan. *Pharmaceutical Science* [online]. Elsevier B.V, 1998, 1(6), 246-253 [cit. 2017-03-16]. DOI: 10.1016/S1461-5347(98)00059-5. ISSN 14615347.
- [42] DUCK, W. L. et al. Advances in Chitosan Material and its Hybrid Derivatives: A Review. *The open Biomaterials Journal*, Vol. 1, 2009, pp. 10-20.
- [53] EDITED BY VÂNIA REGINA NICOLETTI TELIS. *Biopolymer engineering in food processing*. Boca Raton, FL: CRC Press, 2012. ISBN 1439844941.
- [64] EDITOR DAVID PLACKETT. *Biopolymers: new materials for sustainable films and coatings*. Chichester: Wiley, 2011. ISBN 1119995795.
- [75] EGNER, Pavlína. Kosmetické technologie. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Distanční text.
- [86] GALLOVÁ, Zuzana. Stanovení parametrů drtícího procesu u tablet s kyselinou acetylsalicylovou. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické technologie. 2006.
- [97] Gelatin manufacturers institute of America. [Online]. [2017-1-25] Dostupné z: http://www.gelatin-gmia.com/images/GMIA_Official_Methods_of_Gelatin_Revised_2013.pdf
- [108] HIGUCHI, W.I; MISRA, Jagdish; MISRA, J. Physical Degradation of Emulsions Via the Molecular Diffusion Route and the Possible Prevention Thereof. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1962, vol. 51, no. 5 s. 459-466. ISSN:0022-3549.
- [119] HOZA, Ignác a Daniela SUMCZYNSKI. *Potravinářská biochemie I*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005, 168 s. Učební texty vysokých škol. ISBN 80-7318-295-5.
- [20] CHEVALIER, Y a MA BOLZINGER. Emulsions stabilized with solid nanoparticles. *Colloids and Surfaces A-physicochemical and Engineering Aspects* [onli-

- ne]. Elsevier Science Bv, 2013, 439, 23-34 [cit. 2017-03-14]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.02.054. ISSN 09277757.
- [21] CHIAPPISI, Leonardo a Michael GRADZIELSKI. Co-assembly in chitosan-surfactant mixtures. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. Elsevier Science Bv, 2015, **220**, 92-107 [cit. 2017-03-10]. DOI: 10.1016/j.cis.2015.03.003. ISSN 00018686.
- [22] JIAO, Jim et al. Ostwald ripening of water-in-hydrocarbon emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2003, vol. 264, issue 2, s. 509–516. DOI: 10.1016/S0021-9797(03)00276-5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979703002765>
- [23] JOSHI, M. et al. Ecofriendly antimicrobial finishing of textiles using bioactive agents based on natural products. *Indian Journal of Fibres and textile Research*, Vol. 34, No. 3, 2009, pp. 295-304.
- [24] KARGEROVÁ, Andrea. *Studium tvorby micel*. [Online]. [2016-11-25] Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/studium-tvorby-micel>
- [25] SJÖBLOM, Johan. *Emulsions - A Fundamental and Practical Approach*. Dordrecht: Springer Netherlands, 1992. ISBN 978-94-010-5085-2.
- [26] SPILKOVÁ, Jiřina. *Farmakognozie*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, Nakladatelství Karolinum, 2016. ISBN 978-80-246-3264-3.
- [27] STUMM, Werner, JAMES J. MORGAN. *Aquatic Chemistry Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. 3rd ed. Hoboken: Wiley, 2013. ISBN 047167303X.
- [28] SUSHEEL, Kalia a Luc AVÉROUS. *Biopolymers: biomedical and environmental applications*. Hoboken, N. J.: Wiley, ©2011. ISBN 978-0-470-63923-8. [Online]. [2017-1-22] Dostupné z: http://books.google.cz/books?id=Pk_0QKYPUosC&hl=cs&source=gbs_navlinks_s
- [29] KLÁSEK, Antonín. *Nauka o polymerech II: biopolymerie*. Praha: SNTL, 1980, 115 s.
- [30] KLINKESORN, Utai. Role of Chitosan in Emulsion Formation and Stabilization. *Food Reviews International* [online]. Taylor, 2013, **29**(4), 371-393 [cit. 2017-03-02]. DOI: 10.1080/87559129.2013.818013. ISSN 87559129.

- [31] KUBELKA, Václav. *Tuky, oleje a emulze v koželužství*. Bratislava: SAV, 1954, 264 s.
- [32] KUPEC, Jan, Kateřina CHARVÁTOVÁ a Martina KŘESÁLKOVÁ. *Biopolymery jako plniva v plastech*. Chemické listy vol. 97, 2003 [Online]. [2017-1-25] Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2003_03_04.pdf.
- [33] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007, 70 s. ISBN 9788024416694.
- [34] KVÍTEK, L. a R. PRUCEK. Preparation and application of silver nanoparticles. *Journal of Materials Science*. 2005, 22, 2461-2473.
- [35] LANGMAIER, Ferdinand. *Základy kosmetických výrob*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2001, 160 s. ISBN 80-7318-016-2.
- [36] MYERS, Drew. *Surfactant science and technology*. 3 rd ed. Hoboken, N. J.: J. Wiley, ©2006, XVI. ISBN 04-716-8024-9.
- [37] MCCLEMENTS, David Julian. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, 2005, 609 s. ISBN 08-493-2023-2.
- [38] NASATTO, PL; PIGNON, F; SILVEIRA, JLM; DUARTE, MER; NOSEDA, MD; RINAUDO, M. Methylcellulose, a Cellulose Derivative with Original Physical Properties and Extended Applications. *POLYMERS*. 2015, vol. 7, no. 5 s. 777-803. ISSN:2073-4360.
- [39] NGAI, To; BEHRENS, Sven Holger; AUWETER, Helmut. Novel emulsions stabilized by pH and temperature sensitive microgels. *Chemical communications*, 2005, 3: 331-333.
- [40] ZHANG, Y, ZG CHEN, WY BIAN, L FENG, ZW WU, P WANG, XX ZENG a T WU. Stabilizing oil-in-water emulsions with regenerated chitin nanofibers. *Food Chemistry* [online]. Elsevier Sci, 2015, **183**, 115-121 [cit. 2017-03-16]. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.03.030. ISSN 03088146.
- [41] PHILLIPS a G. O, WILLIAMS, P. A. *Handbook of Hydrocolloids (2nd Edition)*. 2nd ed. S.l.: Woodhead Pub, 2009. ISBN 9781845694142.
- [42] PILLAI, C.K.S, Willi PAUL a Chandra P SHARMA. Chitin and chitosan polymers. *Progress in Polymer Science* [online]. Elsevier, 2009, **34**(7), 641-678 [cit. 2017-03-16]. DOI: 10.1016/j.progpolymsci.2009.04.001. ISSN 00796700.

- [43] RENAULT, F; SANCEY, B; BADOT, P.-M; CRINI, G. Chitosan for Coagulation/flocculation Processes – an Eco-friendly Approach. *European Polymer Journal*. 2009, vol. 45, no. 5 s. 1337-1348. ISSN:0014-3057.
- [44] VACÍK, Jiří, Jana BARTHOVÁ, Josef PACÁK, Bohuslav STRAUCH, Miroslava SVOBODOVÁ a František ZEMÁNEK. *Přehled středoškolské chemie*. 1. vyd. Praha: 1996. 368 s. ISBN 80-85937-08-5.
- [45] STUMM, Werner, JAMES J. MORGAN. *Aquatic Chemistry Chemical Equilibria and Rates in Natural Waters*. 3rd ed. Hoboken: Wiley, 2013. ISBN 047167303X.
- [46] ROUSSEAU, Dérick. Fat Crystals and Emulsion Stability — a Review. *Food Research International*. 2000, vol. 33, no. 1 s. 3-14. ISSN:0963-9969.
- [47] SHI, Jingyu. Steric Stabilization. Center for Industrial Sensors and Measurements Department Materials Science & Engineering Group Inorganic Materials Science Literature Review. USA: Ohio State University Department of Materials Science & Engineering, 2002, 2001, 1-43.
- [48] SIMOVIC, S; GHOUCHI-ESKANDAR, N; PRESTIDGE, C.A. Pickering Emulsions for Dermal Delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2011, vol. 21, no. 1 s. 123-133. ISSN:1773-2247.
- [49] TADROS, Tharwat et al. Formation and stability of nano-emulsions. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2004, 108-109, s. 303–318 [cit. 2016-11-25]. DOI: 10.1016/j.cis.2003.10.023. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S000186860300157X>.
- [50] TADROS, Tharwat F. *Emulsion Science and Technology*. Weinheim: Wiley-VCH, 2009, XVIII. ISBN 35-273-2525-5.
- [51] TAKEO, Makoto. *Disperse systems*. New York: Wiley-VCH, c1999. ISBN 3527294589.
- [52] TAVERNIER, Iris; WIJAYA, Wahyu; VAN DER MEEREN, Paul; DEWETTINCK, Koen; PATEL, Ashok R. Food-grade Particles for Emulsion Stabilization. *Trends in Food*.
- [53] THOORENS, Gregory; KRIER, Fabrice; LECLERCQ, Bruno; CARLIN, Brian; EVRARD, Brigitte. Microcrystalline Cellulose, a Direct Compression Binder in

- a Quality by Design Environment--a Review. *International Journal of Pharmaceutics*. 2014, vol. 473, no. 1-2 s. 64-72. ISSN:0378-5173.
- [54] TREGUBOV, Nikolaj. *Technológia škrobu a výrobkov zo škrobu*. Bratislava: Alfa, 1986, 487 s.
- [55] UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ. *Fyzikální, chemické a technické vlastnosti povrchově aktivních látek: Distanční text*. Zlín.
- [56] VAVŘÍKOVÁ, Eva a Jarmila VINŠOVÁ. Chitosan a jeho farmaceutické aplikace. *Chemické listy*. Číslo 103, 2009, s. 56-65.
- [57] VELÍŠEK, Jan a Jana HAJŠLOVÁ. *Chemie potravin*. Rozš. a přeprac. 3. vyd. Tábor: OSSIS, 2009. ISBN 978-80-86659-17-6.
- [58] WANG, Xiao-Yan a Marie-Claude HEUZEY. Chitosan-Based Conventional and Pickering Emulsions with Long-Term Stability. *LANGMUIR* [online]. Amer Chemical Soc, 2016, **32**(4), 929-936 [cit. 2017-03-16]. DOI: 10.1021/acs.langmuir.5b03556. ISSN 07437463.
- [59] What is cellulose. *General chemistry online* [Online]. [2017-2-16] Dostupné z: <http://antoine.frostburg.edu/chem/senese/101/consumer/faq/what-is-cellulose.shtml>.
- [60] HAZUCHOVÁ, Eva. *Enkapsulace různých typů enzymů do organických částic*. Brno, 2014. Bakalářská práce. Vysoké učení technické v Brně. Fakulta chemická.
- [61] LIU, Hao, Chaoyang WANG, Shengwen ZOU, Zengjiang WEI a Zhen TONG. Simple, reversible emulsion system switched by pH on the basis of chitosan without any hydrophobic modification. *Langmuir* [online]. Amer Chemical Soc, 2012, **28**(30), 11017-11024 [cit. 2017-04-15]. DOI: 10.1021/la3021113. ISSN 07437463.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

O/V	Emulze olej ve vodě.
V/O	Emulze voda v oleji.
PAL	Povrchově aktivní látky.
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha.
RNA	Ribonukleová kyselina.
DNA	Deoxyribonukleová kyselina.
pH	Záporný logaritmus koncentrace vodíkových iontů.
MC	Methylcelulóza.
HPMC	Hydroxypropylmethylcelulóza.
CMC	Karboxymethylcelulóza.
NaCMC	Sodná sůl karboxymethylcelulózy.
HEC	Hydroxyethylcelulóza.
HPC	Hydroxypropylcelulóza.
ROS	Reaktivní kyslíkové species
SDS	Dodecylsulfát sodný.
SSL	Stearoyllaktát sodný.
pKa	Disociační konstanta.
CI	Index krémování.
NM	Nízkomolekulární.
SM	Středněmolekulární.

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Struktura povrchově aktivní látky [20].....</i>	20
<i>Obr. 2. Rozdíl mezi klasickou emulzí (vlevo) a Pickeringovou emulzí (vpravo) [25, s. 23].....</i>	23
<i>Obr. 3. Schéma stérické stabilizace (vlevo) a stabilizace pomocí deplece (vpravo) [23, s. 6].....</i>	24
<i>Obr. 4. Schéma znázorňující ukotvující skupinu (A), stabilizující řetězec (B) blokového kopolymery (a) a roubovaného kopolymery (b) při stabilizaci [23, str. 10].....</i>	25
<i>Obr. 5. Strukturní vzorec amylozy [40, s. 15].....</i>	30
<i>Obr. 6. Strukturní vzorec amylopetinu [40, s. 15].....</i>	30
<i>Obr. 7. Strukturní vzorec celulózy [44, s. 4].....</i>	31
<i>Obr. 8. Schéma vzniku chitosanu z chitinu [52, s. 297].....</i>	33
<i>Obr. 9. Strukturní vzorec chitosanu [44, s. 4].....</i>	34
<i>Obr. 10. Cesty léčivé látky k aktivnímu místu [50, s. 57].....</i>	36
<i>Obr. 11. Schéma znázorňující elektrostérické interakce chitosanu na rozhraní kapiček emulze [55, s. 379].....</i>	39
<i>Obr. 12. Závislost ζ potenciálu na pH roztoků s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu.....</i>	50
<i>Obr. 13. Závislost velikosti částic na pH roztoků s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu.....</i>	52
<i>Obr. 14. Závislost ζ potenciálu na pH emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu.....</i>	54
<i>Obr. 15. Vliv teploty na ζ potenciál emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den.....</i>	55
<i>Obr. 16. Vliv teploty na ζ potenciál emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. den.....</i>	56
<i>Obr. 17. Vliv teploty na ζ potenciál emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den.....</i>	57
<i>Obr. 18. Vliv teploty ζ potenciál emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. den.....</i>	57
<i>Obr. 19. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4 °C,.....</i>	58

Obr. 20. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 25 °C	59
Obr. 21. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 37 °C	59
Obr. 22. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4 °C.....	60
Obr. 23. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 25 °C.....	61
Obr. 24. Časová závislost pH na ζ potenciálu emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 37 °C.....	61
Obr. 25. Velikost částic emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) a středněmolekulárního (SM) chitosanu v den přípravy emulzí.....	62
Obr. 26. Velikost částic emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) středněmolekulárního (SM) chitosanu, 12. den.....	63
Obr. 27. Velikost částic emulzí s obsahem nízkomolekulárního (NM) středněmolekulárního (SM) chitosanu, 36. Den.....	63
Obr. 28. Vliv teploty na velikost částic emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den.....	65
Obr. 29. Vliv teploty velikosti částic emulzí o pH 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 12. den.....	65
Obr. 30. Vliv teploty velikosti částic emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem NM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. den.....	66
Obr. 31. Vliv teploty na velikosti částic emulzí o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 2. den	67
Obr. 32. Vliv teploty na velikost částic emulzí o pH 5,5; 6; 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 12. den.....	67
Obr. 33. Vliv teploty na velikost částic emulzí o pH 6 a 6,5 s obsahem SM chitosanu skladovaných při 4, 25 a 37 °C, 36. Den	68
Obr. 34. Emulze o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5 s obsahem NM chitosanu skladované při 4, 25 a 37 °C (zleva: pH 6,5; 6; 5,5; 5; 4,5; 4; 3,5) [vlastní zdroj]	69

Obr. 35. Emulze o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6, 6,5 s obsahem SM chitosanu skladované při 4, 25 a 37 °C (zleva: pH 6,5; 6; 5,5; 5; 4,5; 4; 3,5) [vlastní zdroj]	70
Obr. 36. Index krémování (CI) emulzí s obsahem NM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 37 °C.....	72
Obr. 37. Index krémování (CI) emulzí s obsahem NM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 25 °C.....	72
Obr. 38. Index krémování (CI) emulzí s obsahem NM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 4 °C.....	73
Obr. 39. Index krémování (CI) emulzí s obsahem SM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 37 °C	74
Obr. 40. Index krémování (CI) emulzí s obsahem SM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 25 °C	74
Obr. 41. Index krémování (CI) emulzí s obsahem SM chitosanu o pH 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6 skladovaných při teplotě 4°C	75
Obr. 42. Emulze o pH 3,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu v den její přípravy	76
Obr. 43. Emulze o pH 6,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu v den její přípravy	77
Obr. 44. Distribuce velikostí částic u emulzí o pH 3,5 a 6,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu v den jejich přípravy	77
Obr. 45. Emulze o pH 3,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu 36. den od přípravy emulze, skladovaná při teplotě 4 °C	78
Obr. 46. Emulze o pH 6,5 s obsahem středněmolekulárního chitosanu 36. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 °C	78
Obr. 47. Emulze o pH 3,5 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu 36. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 °C	79
Obr. 48. Emulze o pH 6,5 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu 36. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 °C	80
Obr. 49. Krémovací vrstva u vzorku emulze o pH 3,5 s obsahem nízkomolekulárního chitosanu v 19. den od přípravy, skladovaná při teplotě 4 °C.....	80

SEZNAM TABULEK

Tab. 1. Hodnoty povrchového napětí emulzí o různém pH s obsahem nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu.....	49
Tab. 2. Hodnoty povrchového napětí emulzí o různém pH s obsahem nízkomolekulárního a středněmolekulárního chitosanu.....	53