

Příprava a charakterizace Pickeringových emulzí

Bc. Eliška Siudová

Diplomová práce
2016



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky
akademický rok: 2015/2016

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Eliška Siudová**
Osobní číslo: **T14508**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Příprava a charakterizace Pickeringových emulzí**

Zásady pro vypracování:

- 1. V teoretické části zpracujete literární rešerši na zadané téma. Charakterizujte obecně disperzní systémy a zaměřte se na emulze stabilizované částicemi (Pickeringovy emulze). Věnujte se jejich přípravě, vlastnostem, metodám charakterizace a představte možnosti uplatnění těchto systémů ve farmacii a kosmetice.**
- 2. V praktické části připravte Pickeringovy emulze s obsahem bioaktivních látek. Připravené vzorky charakterizujte a určete vliv složení emulzí na jejich vlastnosti, především na velikost částic a stabilitu. Výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.**



Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

TADROS, Tharwat F. Emulsion science and technology. Weinheim: Wiley-VCH, c2009, xviii, 326 p. ISBN 3527325255.

HOLMBERG, Krister. Surfactants and polymers in aqueous solution. 2nd ed. / . Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, c2003, xvi, 545 p. ISBN 0471498831-

CHEVALIER, Yves a Marie-Alexandrine BOLZINGER. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects., 2013, (439): 2334.

FRELICHOWSKA, J. Topical delivery of lipophilic drugs from o/w Pickering emulsions. International journal of pharmaceutics. New York: Elsevier/North Holland, 2009, (371): 5663. ISSN 0378-5173.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

20. ledna 2016

Termín odevzdání diplomové práce:

18. května 2016

Ve Zlíně dne 20. ledna 2016



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



Ing. Martina Černeková, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: ELIŠKA SIUDOVÁ

Obor: TTDK

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 obhajoby¹⁾;
- 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. 3²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60³⁾ 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 § 60³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít 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 10. 5. 2016

Eliška Siudová

²⁾ 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 nevydávalečně 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 přihlíádne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá vlastnostmi a formulací emulzí Pickeringova typu, které jsou stabilizovány částicemi. Teoretická část se zaměřuje na Pickeringovy emulze, jejich obecnou charakteristiku, fyzikálně-chemické vlastnosti a možnosti jejich použití. V této části je taktéž popsána problematika emulzí klasických, které jsou stabilizovány surfaktanty a také otázka celulózových částic vhodných pro stabilizaci Pickeringových emulzí. Praktická část je věnována přípravě celulózových nanokrystalů a následně Pickeringových emulzí, jejichž olejová fáze je tvořena triacylglycerolem trikaprylinem/trikaprinem. Emulze jsou charakterizovány pomocí stanovení velikosti částic, ζ potenciálu a je stanovena jejich stabilita.

Klíčová slova: Pickeringovy emulze, celulózové nanokrystal, celulóza, stabilita.

ABSTRACT

The thesis covers the properties and formulations of Pickering emulsions. The theoretical part focuses on Pickering emulsions, their general characteristics, physicochemical properties and applications. This section also describes conventional emulsions, which are stabilized by surfactants and informs on the cellulose particles suitable for stabilizing of Pickering emulsions. The experimental part focuses on the preparation of cellulose nanocrystals and subsequently on emulsions of Pickering type, which contain triacylglycerol tricaprylin/tricaprin as an oil phase. Emulsions were characterized by measuring their particle size, ζ potential and stability.

Keywords: Pickering emulsions, cellulose nanocrystals, cellulose, stability.

Na tomto místě chci poděkovat vedoucí doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc. nejen za skvělé vedení, pomoc a ochotu při zpracovávání diplomové práce, ale také za nesmírnou trpělivost a vstřícnost během celé naší spolupráce. Dále děkuji umožnění realizace experimentální části práce prostřednictvím projektu Interní grantové agentury UTB IGA 2016/006 a všem laborantkám a doktorandům, kteří mi neváhali kdykoliv ochotně pomoci. Velký dík patří také mé rodině a blízkým, kteří mě podporovali během celého studia a nikdy ve mě nepřestali věřit.

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
1.2 PŘÍPRAVA EMULZÍ	14
1.3 STABILITA EMULZÍ A MECHANISMY JEJICH ROZPADU	14
1.4 MOŽNOSTI STABILIZACE EMULZÍ	16
1.4.1 Typy stabilizátorů emulzí	16
1.5 POVRCHOVĚ AKTIVNÍ LÁTKY	17
1.5.1 Chemická struktura	17
1.5.2 Rozdělení PAL	17
1.5.2.1 Rozdělení podle typu hydrofilní složky	17
1.5.2.2 Klasifikace PAL dle hodnoty HLB	18
1.6 STABILIZACE POLYMERY	19
1.6.1 Stérická stabilizace	19
1.6.2 Stabilizace pomocí deplece	20
2 PICKERINGOVY EMULZE	22
2.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA	22
2.2 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI PICKERINGOVÝCH EMULZÍ	22
2.3 TYPY ČÁSTIC PRO STABILIZACI PICKERINGOVÝCH EMULZÍ	23
2.4 POUŽITÍ PICKERINGOVÝCH EMULZÍ	24
3 CELULÓZA	26
3.1 STRUKTURA CELULÓZY	26
3.2 ZDROJE CELULÓZY	28
3.3 BIOSYNTÉZA CELULÓZOVÝCH MIKROFIBRIL	30
3.4 IZOLACE CELULÓZOVÝCH ČÁSTIC	31
3.5 TYPY CELULÓZOVÝCH ČÁSTIC	32
3.5.1 Dřevěná a rostlinná vlákna (Wood Fibril WF, Plant Fibril PF)	32
3.5.2 Mikrokrystalická celulóza (MCC).....	32
3.5.3 Mikrofibrilární celulóza (MFC)	32
3.5.4 Nanofibrilární celulóza (NFC)	33
3.5.5 Celulózové nanokrystaly (NCC)	33
3.5.5.1 Metoda přípravy NCC.....	34
3.5.6 Celulózové nanokrystaly pláštěnců (t-NCC).....	34
3.5.7 Celulózové částice na bázi řas (AC)	34
3.5.8 Bakteriální celulóza (BA).....	35
4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	36

4.1	EMULZE STABILIZOVANÉ MFC	36
4.2	EMULZE STABILIZOVANÉ BC	36
4.3	EMULZE STABILIZOVANÉ NANOKRYSTALICKOU CELULÓZOU NA BÁZI BAVLNY A ŘAS.....	38
4.4	EMULZE STABILIZOVANÉ CELULÓZOVÝMI NANOKRYSTALY NCC (KARBOXYLOVANOU CELULÓZOU)	39
5	CÍLE PRÁCE	41
II	PRAKTICKÁ ČÁST	42
6	MATERIÁLY A METODIKA.....	43
6.1	MATERIÁLY	43
6.2	PŘÍSTROJE	43
6.3	METODIKA	44
6.3.1	Příprava celulóзовých nanokystalů (c-NCC).....	44
6.3.2	Charakterizace c-NCC.....	45
6.3.2.1	UV-VIS spektrofotometrie.....	45
6.3.2.2	ζ potenciál	45
6.3.2.3	Mikroskopie atomárních sil	45
6.3.3	Příprava emulzí	45
6.3.4	Charakterizace emulzí	47
6.3.4.1	Měření velikosti částic	47
6.3.4.2	Měření ζ potenciálu.....	48
6.3.5	Stabilita	49
6.3.5.1	Stanovení indexu emulzní stability (Emulsion Stability Index EI).....	49
6.3.5.2	Index krémování (Creaming index CI).....	49
7	VÝSLEDKY A DISKUZE	51
7.1	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE C-NCC	51
7.1.1	Stanovení závislosti ζ potenciálu na pH.....	51
7.1.2	Gelace v přítomnosti CaCl ₂	52
7.1.3	Mikroskopie atomárních sil.....	53
7.2	CHARAKTERIZACE EMULZÍ	55
7.2.1	Velikost částic	55
7.2.1.1	Vliv pH disperzního prostředí na velikost částic	55
7.2.1.2	Vliv oleje na velikost částic	59
7.2.2	ζ potenciál.....	63
7.2.3	Vizuální hodnocení emulzí	68
7.2.4	Stabilita emulzí.....	71
7.2.4.1	Stabilita necentrifugovaných emulzí.....	71
7.2.4.2	Stabilita emulzí po centrifugaci	75
7.2.4.3	Velikost emulzních částic během skladování	79
7.2.4.4	Velikost ζ potenciálu během skladování.....	82
	ZÁVĚR	84
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	86
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	92

SEZNAM OBRÁZKŮ	93
SEZNAM TABULEK.....	97

ÚVOD

Skutečnost, že pevné částice malých rozměrů mohou být používány jako stabilizátory emulzí, je známá jen několik málo desetiletí. Pevné částice emulzí Pickeringova typu mají schopnost zůstat stabilní na mezifázovém rozhraní olej-voda, důsledkem čehož je možné podpořit stabilitu emulzních kapek.

Pickeringovy emulze jsou součástí různých typů přípravků v celé škále průmyslových odvětví, kterými jsou zejména kosmetika a farmacie. Emulze tohoto typu neobsahují ve své struktuře žádné surfaktanty, poněvadž jejich rozhraní je stabilizováno díky přítomnosti pevných částic anorganické i organické povahy. Účinnými stabilizátory Pickeringových emulzí mohou být různé typy částic, lze např. jmenovat uhličitán vápenatý, síran barnatý, jíly (montmorillonit, laponit), latex, saze, magnetické částice, uhlíkové nanočástice, micely kopolymerů či proteinové částice. V posledních letech je zájem odborníků soustředěn i na částice celulózy.

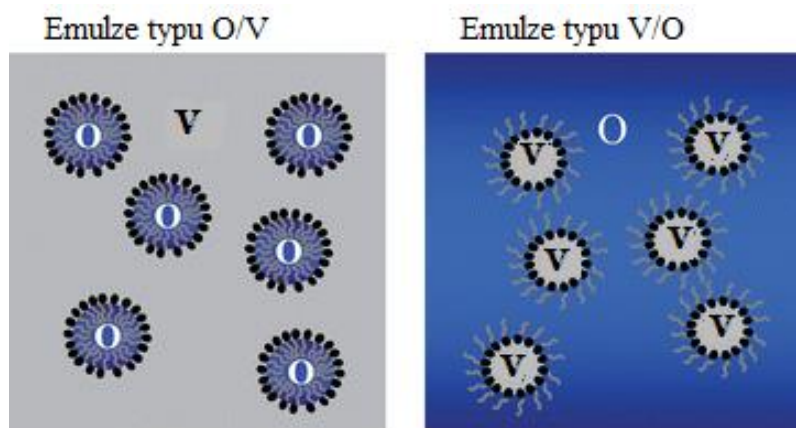
Z hlediska použití v kosmetice představují emulze stabilizované částicemi velmi vhodné systémy. Bylo prokázáno, že díky absenci surfaktantů vykazují velmi dobrou dermatologickou snášenlivost. Jsou proto vhodné nejen jako výborná podpora bariérové vrstvy kůže, kdy takováto bariéra má schopnost omezovat nadměrný výdej vody kůží, čímž zabraňuje přesoušení jejího povrchu, ale také jako doplňková součást ošetření chronických dermatóz doprovázených poškozením této bariérové funkce.

V teoretické části diplomové práce je řešena nejen problematika emulzí Pickeringova typu. Práce se dotýká také oblasti klasických emulzí stabilizovaných surfaktanty a zabývá se podrobněji i problematikou celulózových částic, které jsou vhodné pro stabilizaci Pickeringových emulzí. V praktické části byla nejprve provedena příprava a charakterizace celulózových nanokrystalů, ze kterých byly v dalším kroku připraveny emulze s obsahem triacylglycerolu trikaprinu/trikaprylinu. Emulze pak byly charakterizovány velikostí částic, hodnotou ζ potenciálu a indexem krémování/stability. Byla určena souvislost mezi složením emulzí a jejich vlastnostmi.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 EMULZE

Emulze jsou druhem disperzních systémů, které jsou složeny ze dvou vzájemně nemísitelných kapalin, kde částice jedné kapaliny (dispergovaná, diskontinuální fáze) jsou rozptýleny v disperzním prostředí (disperzní, kontinuální fázi) druhé kapaliny. Nejtypičtějším druhem emulzí jsou emulze typu olej ve vodě (O/V), tedy emulze přímé a emulze typu voda v oleji (V/O), které jsou označovány jako emulze obrácené. Oba typy emulzí jsou schematicky znázorněny na Obr 1. Ve většině potravinářských emulzí odpovídá velikost částic v emulzích rozmezí 100 – 100 000 nm. Dalším typem méně obvyklých emulzí mohou být vícenásobné emulze, a to „voda v oleji ve vodě“ (V/O/V), kde jsou malé částice vodné fáze rozptýleny ve větších částicích olejové fáze a ty jsou opět dispergovány ve vodné fázi a „olej ve vodě v oleji“ (O/V/O) [1, s. 18], [2, s. 3], [3].



Obr. 1: Struktura emulzí typu olej ve vodě (O/V) a voda v oleji (V/O) [4].

1.1 Klasifikace emulzí

Emulze lze třídit dle celé řady kritérií. Jednou z možností je klasifikace dle rozměru částic dispergované fáze, struktury systému nebo podle povahy použitého emulgátoru. Jednotlivá členění jsou uvedena níže.

Rozdělení emulzí podle rozměrů částic dispergované fáze je následující:

- makroemulze, které jsou termodynamicky nestabilní, mléčné, s velikostí částic v rozmezí 100 000 až 1 000 000 nm;

- mikroemulze, které jsou naopak termodynamicky stabilní, transparentní, s velikostí částic 10 až 100 nm;
- nanoemulze, jež jsou kineticky stabilní, transparentní, s velikostí částic 50 až 200 nm.

Uvedená rozmezí velikostí částic se mohou podle literárních zdrojů odlišovat [5, s. 53].

Podle struktury systému lze emulzní systémy členit na

- emulze typu O/V a V/O (dle povahy vnitřní fáze);
- micelární emulze (mikroemulze);
- makroemulze;
- dvouvrstvé kapičky;
- dvojfázové nebo vícefázové emulze;
- směsi emulzí [1, s. 2].

Podle povahy použitého emulgátoru pak rozlišujeme emulze stabilizované

- neionickými povrchově aktivními látkami;
- ionickými PAL;
- směsmi PAL;
- polymery;
- polyelektrolyty;
- směsmi polymerů a PAL;
- pevnými částicemi [1, s. 19].

Z praktického hlediska je rovněž důležité určení typu emulze, které je možno provést:

- dle její elektrické vodivosti, jež je dána vodivostí jejího disperzního prostředí. Proto jsou emulze typu O/V vodivější než emulze typu V/O;
- dle schopnosti rozpouštět/solubilizovat polární či nepolární barviva;
- pozorováním v ultrafialovém světle, poněvadž olejová fáze fluoreskuje;
- dle smáčivosti, kdy emulze typu O/V je schopna smáčet hydrofilní povrch, avšak emulze V/O nikoliv a naopak;
- dle schopnosti mísit se s polárními či nepolárními rozpouštědly. Emulzi lze ředit kapalinou, jež se mísí s jejím disperzním prostředím [6], [7].

1.2 Příprava emulzí

Stabilní emulze mohou v menší míře vznikat spontánní emulgací, jednoduchým smícháním dvou kapalin, je-li mezipovrchové napětí mezi oběma fázemi dostatečně malé. Běžnější je však situace, kdy je nutno k přípravě stabilních emulzí použít mechanického dispergování, tedy míchání, vibrace pomocí míchadel a koloidních mlýnů nebo protřepávání. Nutnou složkou potřebnou pro přípravu emulzí je emulgátor [5, s. 43].

1.3 Stabilita emulzí a mechanismy jejich rozpadu

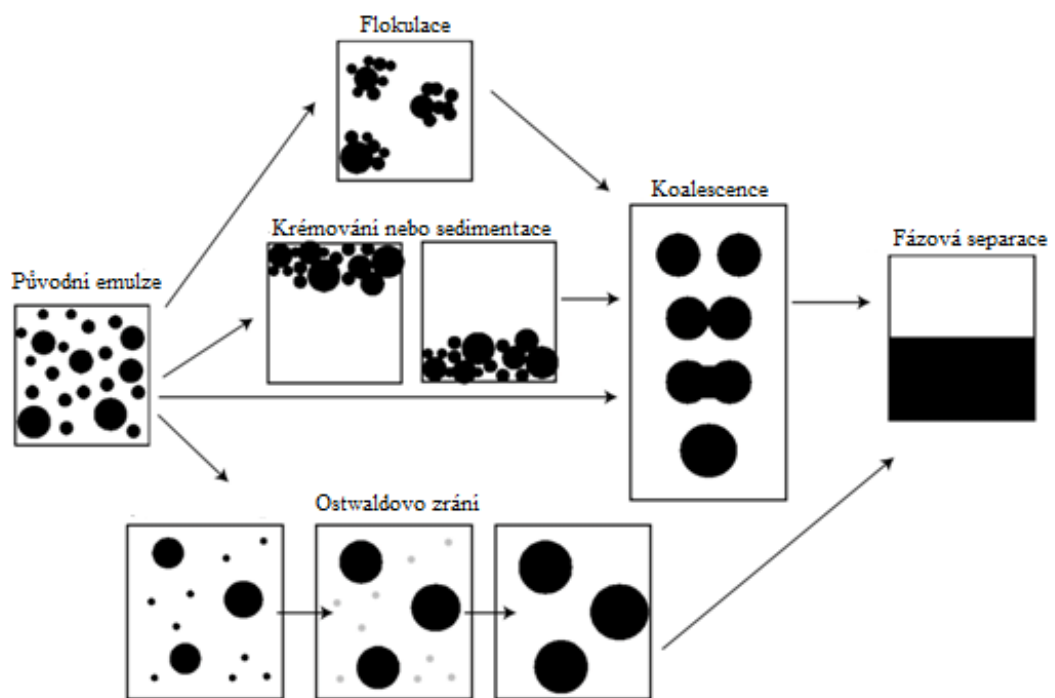
Vzhledem ke skutečnosti, že emulze jsou nestabilními systémy, lze v průběhu času pozorovat jejich rozpad. Možné mechanismy rozpadu emulzí jsou znázorněny na Obr. 2. Změna vlastností emulzí se projevuje například flokulací (vločkováním), koalescencí, separací nebo inverzí fází. Termín inverze se vztahuje na proces, kdy se disperzní a dispergovaná fáze emulze navzájem vymění, např. když se původní emulze typu O/V změní na emulzi typu V/O. Tento jev často nastává velmi rychle, při určité koncentraci fází a využívá se při přípravě určitých typů emulzí (např. při přípravě nanoemulzí metodou EIP). Ideální stabilní emulze by měla mít rovnoměrnou velikost částic v rozmezí 1 – 20 μm . Emulgované částice emulzí s průměrem větším než 20 μm jsou v ideální emulzi nežádoucí, poněvadž se k ostatním částicím chovají jako koagulační jádra a spojují se s nimi do větších celků. Nejvýznamnějším typem nestálosti je pak úplný rozpad emulze, po kterém následuje separace fází. Tento děj probíhá ve dvou stupních, kdy prvním stupněm je flokulace. Při flokulaci se spojí dvě anebo více kapek emulgované látky a vytvoří shluk (vločku). Tento proces je reverzibilní, a pokud se jinak nic nezmění, je možné obnovit původní emulzi mírným protřepáním či mícháním. Po flokulaci se ale vyvločkové kapky mohou spojit do kapky jediné. Tento stupeň zvaný koagulace je ireverzibilní a jeho výsledkem je úplná separace emulzních složek [8, s. 262-263].

Mezi další mechanismy rozpadu emulze lze zařadit krémování nebo sedimentaci. Sedimentace je pohyb dispergovaných částic disperzní soustavy, který je vyvolán působením silového pole. Sedimentace a krémování jsou ovlivněny poměrem hustot částice a disperzního prostředí, dále velikostí a tvarem částic, viskozitou disperzního prostředí apod [9].

Jak již bylo zmíněno, za oba tyto procesy rozpadu jsou zodpovědné vnější síly, a to zejména gravitační a odstředivé. Jestliže tyto síly překonají Brownův tepelný pohyb emulzních

kapkek, vytvoří se v systému koncentrační gradient tak, že se větší kapky začnou pohybovat vzhůru k hladině (jestliže je jejich hustota nižší, než hustota disperzního prostředí) a dochází tak ke krémování nebo klesají ke dnu (pokud je hustota kapek vyšší, než hustota disperzního prostředí) a pak hovoříme o sedimentaci. V krajním případě se mohou emulzní kapky velmi těsně uspořádat buď náhodně nebo řízeně v horní či dolní části systému, kdy zbytek systému tvoří pouze kontinuální, disperzní fáze. Důsledkem tohoto velmi těsného uspořádání mohou vznikat velmi koncentrované či gelovité emulze, které již nemohou sedimentovat a vykazují některé mechanické vlastnosti srovnatelné vlastnostem gelů [1, s. 2-3].

Destabilizace emulzí probíhá rovněž prostřednictvím Ostwaldova zrání. Je to proces, při kterém dochází k přenosu látky z menších částic na částice větších rozměrů a který probíhá v reálných polydisperzních soustavách např. v důsledku větší rozpustnosti menších částic v disperzní fázi ve srovnání s částicemi většími. Toto snižování stupně disperzity probíhá až do přeměny disperzní soustavy na soustavu dostatečně hrubě disperzní. Taková soustava má již rozdíly rozpustnosti částic o různé velikosti velice nepatrné a rychlost procesu je malá [3].



Obr. 2: Možnosti destabilizace emulzí [10].

1.4 Možnosti stabilizace emulzí

Pod pojmem stabilita emulzí rozumíme schopnost emulze setrvávat v určitém stavu. Emulze nejsou za každých okolností stabilní, ale naopak mohou své vlastnosti během času měnit.

Pro zajištění potřebné životnosti emulze je nutné ji stabilizovat, např. přidáním emulgátorů. Za emulgátory se považují látky, jež umožňují vznik emulze a emulzi stabilizují tak, že zmenšují energii potřebnou k tvorbě emulzních kapek, tedy snižují mezifázové napětí. Další vlastností emulgátorů je, že zabraňují zániku kapek nebo jej zpomalují a omezují tedy separaci fází tím, že na fázovém rozhraní tvoří film nebo bariéru, která brání rozpadu emulzních systémů. Emulgátory se tedy hromadí na mezifázovém rozhraní kapek a kontinuální fáze a vytváří na tomto rozhraní soudržný elastický film. Tento film však nevykazuje adhezi k filmům okolních kapek. Emulgátory by měly být látkami chemicky stabilními a inertními a neměly by chemicky reagovat se složkami emulze [8, s. 262], [3], [11, s. 2].

1.4.1 Typy stabilizátorů emulzí

Stabilizátory emulzí tvoří široké spektrum látek (viz kapitola 1.1 této práce). Dle použitého činidla lze emulze stabilizovat různými mechanismy, a to především

- pomocí klasických PAL;
- stérickými stabilizátory (ochranné koloidy – polymery);
- pomocí pevných částic [5, s. 30].

Jak již bylo zmíněno, jednou z možností stabilizace koloidních lyofobních částic je stérická stabilizace pomocí lyofilních (ochranných) koloidů. Tyto látky jsou schopny vytvořit dostatečně silnou vrstvu na povrchu částic, jež brání jejich agregaci. V případě stérické stabilizace je tedy nutné zvolit vhodnou koncentraci stabilizující látky, protože za určitých podmínek mohou mít tyto látky opačný, destabilizující efekt [5, s. 30].

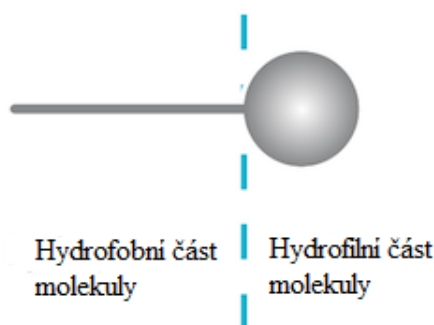
Stabilizace pevnými částicemi je využívána zejména u emulzí a pěn. Jemné prášky, částečně smáčené oběma fázemi, jsou totiž schopny vytvořit kolem emulzních kapiček nebo bublin dostatečně soudržnou bariéru, jež zabraňuje jejich koalescenci. Významným typem emulzí stabilizovaných pevnými částicemi jsou emulze Pickeringovy, jejichž problematika je podrobněji uvedena v kapitole 2 [3].

1.5 Povrchově aktivní látky

Povrchově aktivní látky se vyznačují vlastností snižovat povrchové napětí již v relativně nízkých koncentracích. Ekvivalentními pojmy k označení PAL mohou být surfaktanty (z angl. surface – active agent), tenzidy a detergenty [12].

1.5.1 Chemická struktura

Povrchově aktivní látky se velmi ochotně a spontánně koncentrují na fázovém rozhraní a snižují povrchové napětí mezi fázemi. Molekuly PAL se označují jako amfipatické nebo amfifilní a obsahují hydrofilní a hydrofobní část. Obecně je hydrofilní část molekuly tvořena polární skupinou a hydrofobní část uhlovodíkovým řetězcem (Obr. 3). Molekuly PAL tak vytváří mezi fázemi orientovaný monomolekulární nebo vícemolekulární film (stabilizační vrstvu), který usnadňuje emulgaci a dále stabilizuje emulzi [5, s. 38], [11, s. 1].



Obr. 3: Molekula PAL [13].

1.5.2 Rozdělení PAL

Povrchově aktivní látky je možné klasifikovat podle různých kritérií, např. na základě jejich hydrofilní složky, hydrofobní složky, použití, číselné hodnoty HLB, systematiky organických sloučenin či biologické rozložitelnosti [8, s. 28].

1.5.2.1 Rozdělení podle typu hydrofilní složky

Dle charakteru hydrofilní složky se PAL mohou dělit na ionické a neionické. Toto rozdělení souvisí s jejich chováním ve vodných roztocích. Za předpokladu, že ve vodném prostředí dochází k jejich disociaci, jedná o ionické tenzidy. V případě, že k disociaci nedochází, lze

mluvit o tenzidech neionických. Ionické tenzidy se dále člení na anionické, kationické a amfoterní [14, s. 9].

- Anionické tenzidy mají hydrofilní část záporně nabitou. Zástupcem této skupiny tenzidů jsou například mýdla (RCOO^-Na^+) nebo alkylbenzen sulfonáty ($\text{RC}_6\text{H}_4\text{SO}_3^-\text{Na}^+$) [12, s. 3].
- Kationické tenzidy mají naopak hydrofilní část nabitou kladně. Patří sem například kvartérní amoniové soli ($\text{R}_4\text{N}^+\text{X}^-$), kdy čtyři substituenty R mohou i nemusí být totožné [12, s. 4].
- Pro amfoterní tenzidy je charakteristická přítomnost dvou hydrofilních skupin, zásadité a kyselé, které dávají molekule amfoterní charakter v závislosti na pH prostředí. V zásaditém prostředí se chovají jako anionické, v kyselém pak jako kationické tenzidy [8, s. 38], [15, s. 16].
- Neionické tenzidy ve vodném prostředí nedisociují na ionty. Jejich hydrofobní část je tvořena alifatickým uhlovodíkovým řetězcem či alkylfenolovým řetězcem. Rozpustnost těchto látek je dána hydratační schopností polárních hydrofilních skupin (např. hydroxylové skupiny, amino skupiny) [15, s. 16].

1.5.2.2 Klasifikace PAL dle hodnoty HLB

Významnou charakteristikou PAL je hodnota jejich HLB, neboli hodnota hydrofilně-lipofilní rovnováhy. Jedná se o poměr vlivu hydrofilní a lipofilní části molekuly PAL na její vlastnosti. Tento poměr je vyjádřen bezrozměrným číslem. Od roku 1949, kdy byla veličina HLB Griffinem zavedena, je hojně využívána pro třídění a klasifikaci PAL [8, s. 39], [16].

Dle hodnoty HLB lze tenzidy rozdělit do aplikačních skupin, jako jsou emulgátory, smáčedla, detergenty a solubilizátory. Rozpětí hodnot HLB je pro tyto jednotlivé skupiny uvedeno v Tab. 1 [8, s. 39-40], [3].

Pro výpočet HLB existuje celá řada vztahů. Nejběžněji se nyní využívá Griffinův vztah (Rov. 1),

(1)

$$HLB = 7 + \Sigma(\text{počet hydrofilních skupin}) - (\text{počet lipofilních skupin}),$$

podle kterého je možno hodnotu HLB emulgátoru zjistit ze znalosti počtu a druhu hydrofilních a lipofilních skupin, které molekula PAL obsahuje. Lze ji taktéž odhadnout z experimentálních měření [17, s. 27].

Povrchově aktivní látky s nízkou hodnotou HLB jsou obtížně rozpustné ve vodě a dobře stabilizují emulze typu V/O. Naproti tomu vysoké hodnoty HLB mají hydrofilní PAL s velkou rozpustností ve vodě, které obvykle dobře stabilizují emulze typu O/V. Nejvyšší hodnoty HLB odpovídají takovým PAL, které dokáží snadno vytvářet micely (solubilizátory) [3].

Tab. 1: Hodnoty HLB hlavních aplikačních skupin PAL [8, s. 40].

Rozsah HLB	Aplikační skupina
3 – 6	Emulgátor pro stabilizaci emulzí typu O/V
7 – 9	Smáčedlo
8 – 18	Emulgátor pro stabilizaci emulzí typu V/O
13 – 15	Detergent
15 – 18	Solubilizátor

1.6 Stabilizace polymery

V praxi existují dva různé typy mechanismů, které se využívají pro stabilizaci koloidních disperzí polymery, a to stérická stabilizace a stabilizace pomocí deplece [18, s. 6].

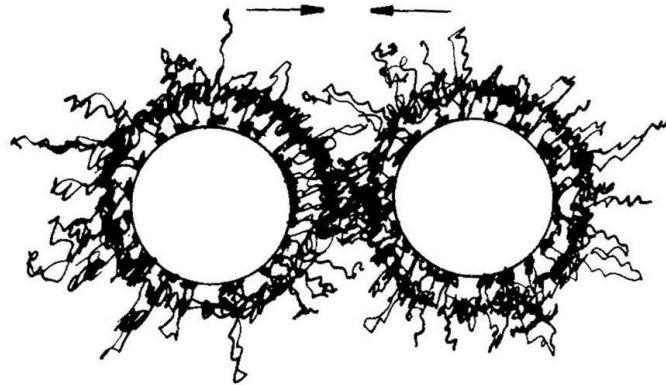
1.6.1 Stérická stabilizace

Při sterické stabilizaci je povrch koloidních částic pokryt vrstvou molekul polymeru (Obr. 4). Je nutné, aby molekuly byly na povrchu částic silně adsorbovány a aby pokrývaly jejich celý povrch. Zároveň však musí být rozpustné v disperzním prostředí. Stabilizace probíhá tak, že dojde k připojení makromolekul na povrch částic buďto roubováním nebo adsorpcí (fyzikální nebo chemisorpcí) [18, s. 6], [19].

Tento druh stabilizace má řadu výhod. Jedná se zejména o:

- Relativní necitlivost stéricky stabilizovaných emulzí vůči přítomnosti elektrolytů;

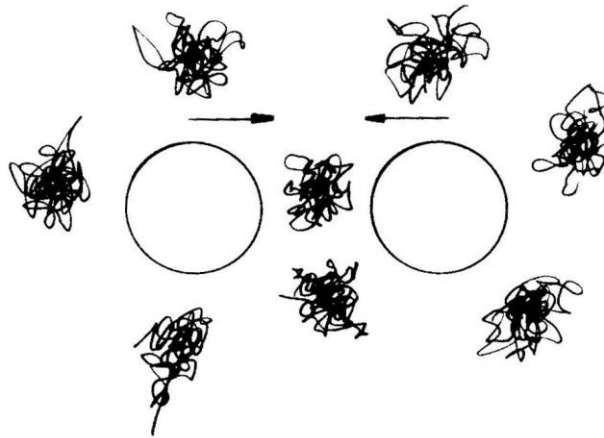
- Stejnou účinnost ve vodném i bezvodém disperzním prostředí;
- Stejnou účinnost při vysokém i nízkém obsahu pevných látek;
- Vratnost flokulace [18, s. 8].



Obr. 4: Schématické znázornění stérické stabilizace [18, s. 6].

1.6.2 Stabilizace pomocí deplece

Problematika zabývající se stabilizací koloidních částic prostřednictvím deplece je stále v počátcích výzkumu. Tento typ stabilizace je umožněn přítomností volného polymeru v disperzním prostředí (Obr. 5). K depleční stabilizaci dochází při vyšších koncentracích volného polymeru, který se neadsorbuje na koloidní částice. Pokud se dvě částice k sobě přiblíží na dostatečně malou vzdálenost, makromolekuly jsou z prostoru mezi částicemi vypuzovány a tento prostor obsahuje pouze disperzní prostředí. Mezi povrchy částic se pak mohou uplatnit přitažlivé Van der Waalsovy síly a dochází k tzv. depleční flokulaci. Avšak v případě, kdy jsou částice dostatečně vzdáleny a koncentrace volného polymeru vysoká, částice se odpuzují a nastává opačný efekt, tedy depleční stabilizace [18].



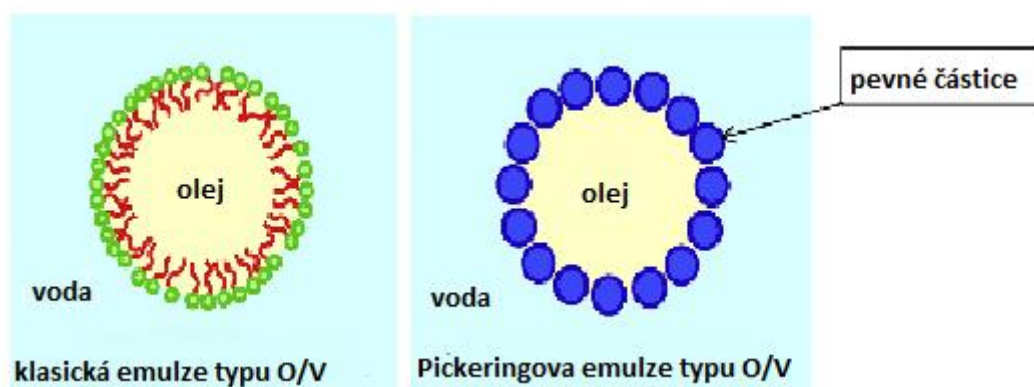
Obr. 5: Schématické znázornění stabilizace emulzních částic pomocí deplece [18, s. 6].

2 PICKERINGOVY EMULZE

Pickeringovy emulze patří mezi atraktivní disperzní systémy, poněvadž jsou jednoduché a jsou podobné emulzím na bázi surfaktantů. Pickeringovy emulze byly od svého vzniku (roku 1907) dlouhou dobu ignorovány a předmětem intenzivního zájmu se staly teprve nedávno [20, s. 23].

2.1 Obecná charakteristika

Součástí emulzí Pickeringova typu nejsou povrchově aktivní látky. Mezifázové rozhraní těchto emulzí je stabilizováno pomocí pevných částic anorganického, nebo organického charakteru. Tyto částice, obvykle o průměru menším než 200 nm, mohou být tvořeny např. oxidy zinku a titanu nebo oxidu křemičitého (silika). Rozdíl mezi klasickou a Pickeringovou emulzí je patrný ze znázornění uvedeného na Obr. 6 [21].



Obr. 6: Rozdíl mezi klasickou a Pickeringovou emulzí [20, s. 23].

2.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti Pickeringových emulzí

Pro zdárnou přípravu stabilních Pickeringových emulzí je nezbytné splnit dvě důležitá kritéria, a to, aby emulze zůstala stabilní vůči jakýmkoliv destabilizačním jevům (koagulace, koalescence, Ostwaldovo zrání) a dále aby byl proces emulgace uskutečnitelný. Dlouhodobá stabilita je závislá především na složení emulze, ale je ovlivněna i metodou její přípravy, jelikož velikost emulzních kapiček je řízena smykovým namáháním při emulgačním procesu [20, s. 25]. Výroba emulzí však není jen otázkou procesu přípravy; významnou úlohu hrají i stabilizátory. Fyzikální chemie jakéhokoliv emulzního systému včetně Pickeringových emulzí zahrnuje jevy, jako jsou adsorpce částic, stabilizace kapek adsorbovaných-

mi částicemi, kinetika adsorpce, které ovlivňují emulgační proces, jakož i reologické vlastnosti systému, které následně působí na proces krémování a sedimentace.

Adsorpce pevných částic na rozhraní olej-voda vyžaduje částečné smáčení pevných stabilizujících částic jak vodnou, tak olejovou fází emulze.

2.3 Typy částic pro stabilizaci Pickeringových emulzí

Podmínky vhodné pro částečné smáčení většiny běžných olejů splňuje řada jak organických, tak anorganických částic. Příkladem takovýchto látek mohou být uhličitán vápenatý, síran barnatý, jíly (montmorillonit, laponit), latex, saze, magnetické částice, uhlíkové nanočástice či micely kopolymerů. Účinnými stabilizátory Pickeringových emulzí jsou rovněž neobvyklé typy částic, jako např. katanionické nanokrystaly, spory nebo bakterie. Funkční částice, kterými jsou např. na teplotu citlivé částice poly(*n*-isopropylakrylamidu), jsou schopny emulzím propůjčit další zajímavé vlastnosti, mezi které lze řadit, mimo jiné, citlivost na změny teploty nebo pH [22], [23]. Další možností je i použití proteinových částic.

Mezi funkční částice lze dále řadit nanočástice o průměru menším než 100 nm, tedy laponit a micely kopolymerů. Velmi často se také využívá částic se submikronovou velikostí (průměr 0,1 – 1 μm) jako je latex nebo silika (oxid křemičitý). Některé z anorganických částic mají svůj povrch příliš hydrofilní. Proto vyžadují částečnou hydrofobizaci, aby bylo zajištěno výše zmíněné parciální smáčení částice vodou a olejem. Tento problém se týká právě oxidu křemičitého, který se používá jako stabilizující částice poměrně často [20, s. 25].

Jak již bylo uvedeno, často používaným stabilizátorem Pickeringových emulzí je oxid křemičitý, na jehož povrch je možné snadno naroubovat organosilany. Roubování dichlorodimethylsilanu nebo hexamethyldisilazanu zanechává na povrchu oxidu křemičitého hydrofobní dimethylsilylové skupiny. Stupeň pokrytí povrchu těmito hydrofobními skupinami pak určuje hydrofobní charakter oxidu křemičitého a jeho smáčení ve vodě nebo oleji [20, s. 25].

Nemodifikované částice oxidu křemičitého nejsou schopny stabilizovat Pickeringovy emulze vytvořené s běžnými oleji, a to z důvodu absolutního smáčení oxidu křemičitého vodou. Nicméně stabilní Pickeringovy emulze O/V stabilizované silikou by mohly být připraveny v přítomnosti polárních olejů. Polární olej v tomto smyslu znamená organickou

kapalinu nesoucí polární funkční skupiny, ovšem s omezenou rozpustností ve vodě, která za běžných podmínek zajistí koexistenci dvou nemísitelných fází. Úspěšně lze provést emulgaci s čistým oxidem křemičitým za použití polárních olejů, které mají mezipovrchové napětí na rozhraní voda-olej nižší než $15 \text{ mN}\cdot\text{m}^{-1}$ [24].

2.4 Použití Pickeringových emulzí

Pickeringovy emulze lze využít v řadě průmyslových odvětví. Jelikož je diplomová práce řešena v rámci studijního oboru Technologie tuků, kosmetiky a detergentů, věnuje se tato část práce především aplikacím Pickeringových emulzí v kosmetice a dermatologii.

Prostředky na bázi Pickeringových emulzí mají schopnost fungovat jako podpora bariérové vrstvy kůže, kdy se emulze aplikuje přímo na kůži postiženou např. ekzémem. Takováto bariéra je schopna omezit nadměrný výdej vody kůží a zabraňuje tak přesušení jejího povrchu. Dále byly tyto emulze použity např. k omezení svědění či pálivého pocitu na pokožce a po jejich aplikaci bylo zaznamenáno snížené pronikání mikroorganismů a cizorodých látek z vnějšího prostředí (alergeny, dráždivé látky) do pokožky. Aplikace Pickeringovy emulze pak nevyklučuje současné použití jiných externích látek [25, s. 8].

Kosmetické přípravky založené na bázi Pickeringových emulzí mají výbornou dermatologickou snášenlivost a na rozdíl od klasických emulzí jsou stabilní také v přítomnosti elektrolytů. Mohou proto být složkou produktů s adstringentním a antimikrobiálním účinkem [21].

Indikace pro aplikaci emulzního systému založeného na Pickeringových emulzích jsou nejen kosmetologické, jako je např. vrozená suchost kůže, atrofie kůže, stárnoucí a hypersenzitivní kůže, nýbrž i dermatologické, kdy jsou tyto formulace indikovány jako doplňková součást ošetření chronických dermatóz s poškozením bariérových funkcí kůže. Tvorba plošného ochranného filmu na kožním povrchu nabízí další možnost využití v ochraně a péči o kůži rukou v okruhu pracovních a zájmových činností. Lze tedy předpokládat, že emulzní systémy stabilizované mikronizovanými částicemi anorganické povahy bez emulgátorů, mají významné uplatnění ve vývoji a výrobě dalších zevních prostředků určených k ochraně a péči o kůži v oboru kosmetologie i dermatologie [26, s. 70].

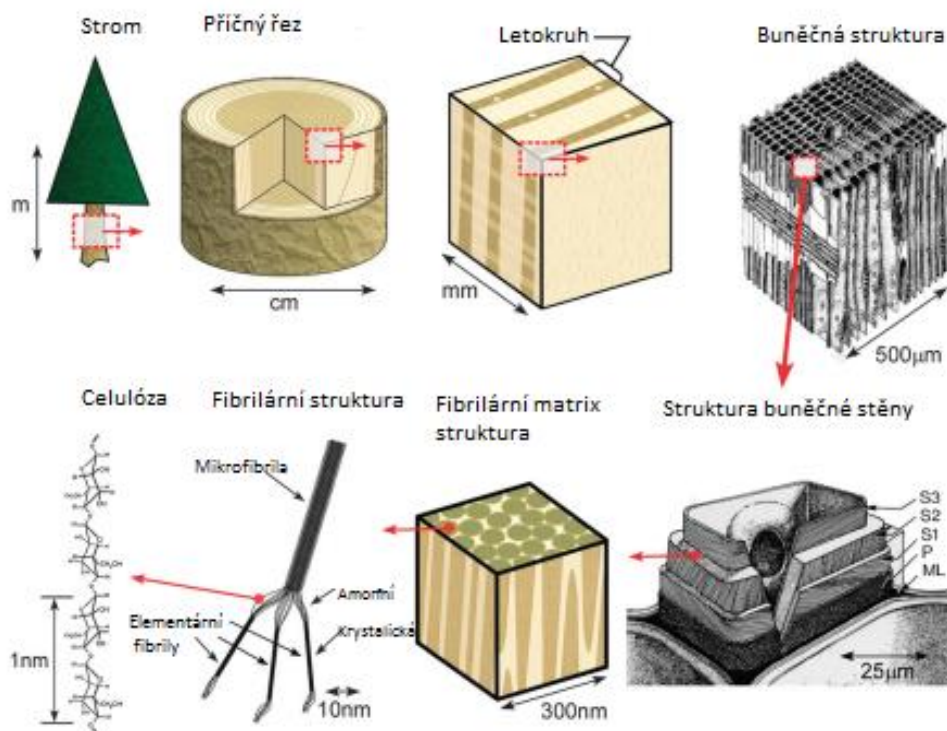
V současnosti je na trhu dostupný bariéro-protektivní přípravek 2DERM krém. Tento krém je schválen k užívání Státním zdravotním ústavem v Praze a v České republice se jedná o

první mikroemulzní systém, který je patentově chráněný (od 14. 9. 2011). Základ krému 2DERM vytváří kombinace mikronizovaných částic mastku (talku) o zrnitosti 1 až 20 μm (optimálně 1 - 5 μm) a oxidu zinečnatého o zrnitosti 10 - 50 μm zapracovaných do emulzního základu, kterým je vysoce čistý lanolin. Dle informací výrobce je lanolin antialergický a neobsahuje pesticidy [25, s. 6-7], [27].

3 CELULÓZA

Celulózu je možno charakterizovat jako nejčastěji se vyskytující přírodní polysacharid. Je nerozpustná ve vodě a tvoří základní stavební jednotku buněčných stěn rostlin. V práškové formě jde o bílou látku bez zápachu [28, s. 1].

Materiály na bázi celulózy jako jsou dřevo, konopí, bavlna, len, atp., jsou používány v naší společnosti jako stavební materiály po tisíce let a jejich využití v dnešní době pokračuje např. v odvětvích textilního nebo papírenského průmyslu. Přírodní materiály na bázi celulózy vykazují funkčnost, flexibilitu a vysokou mechanickou pevnost díky tomu, že jsou vystavěny na základě hierarchické struktury, která zasahuje od nano- do makroskopických rozměrů (viz Obr. 7) [29].

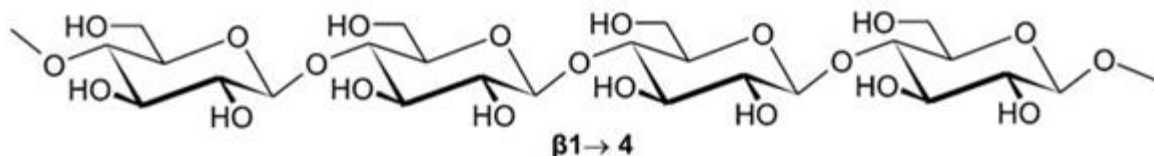


Obr. 7: Schéma hierarchické struktury stromu [29, s. 3].

3.1 Struktura celulózy

Celulózu lze považovat za polymer s lineárním řetězcem, jež má konformaci ve tvaru plochého nataženého řetězce. Opakující se část makromolekuly, která je znázorněna na Obr. 8, je složena ze dvou jednotek β -D-glukózy. Tyto jednotky jsou spojeny prostřednictvím atomu kyslíku, který je kovalentně vázaný na uhlík C1 jednoho z glukózových kruhů a na uh-

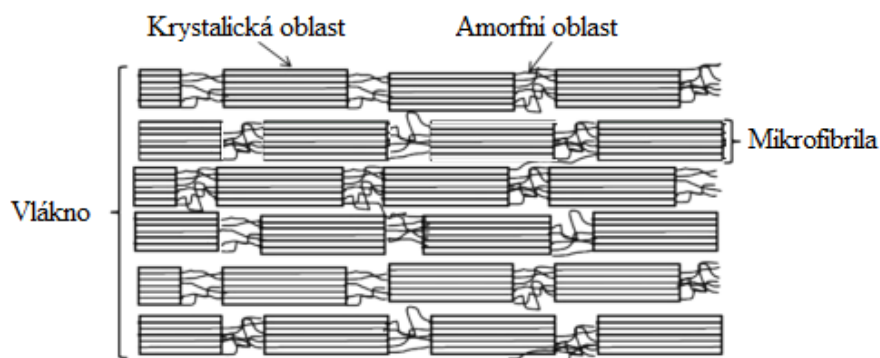
lík C4 kruhu sousedního. Tato vazba se nazývá β -1, 4-glykosidická vazba. Intramolekulární a intermolekulární vodíkové vazby, kterými jsou celulózové řetězce spojeny, vytváří z celulózy stabilní polymer [30].



Obr. 8: Chemická struktura celulózy se znázorněnou β -1, 4-glykosidickou vazbou [31].

Celulóza vykazuje polymorfizmus a je schopna vytvářet dvě krystalické modifikace, a to triklinickou (α) a monoklinickou (β), které koexistují se vedle sebe v různých poměrech a jejichž obsah závisí na zdroji celulózy. Triklinická struktura je hlavním polymorfem vyskytujícím se ve většině řas a bakterií. Naproti tomu monoklinická struktura je dominantní v těle pláštěnců a tvoří celulózu získanou z buněčné stěny vyšších rostlin. Alfa polymorf je metastabilní a může být převeden na β pomocí hydrotermálního ošetření (~ 260 °C) v alkalickém roztoku a vysokoteplotního ošetření v organických rozpouštědlech [29, s. 4].

Dlouhé, nevětvené, polymerní řetězce celulózy v buněčné stěně rostlin vytváří vyšší struktury, a to tenké a tuhé mikrofibrily. Tyto mikrofibrily mají semikrystalický charakter, mají tedy jak amorfni, tak krystalickou oblast. Ve výrazně vyšší míře však v mikrofibrilách převládají krystalické oblasti, které jsou označovány jako nanokrystaly celulózy (viz Obr. 9). Charakteristickým rysem těchto nanokrystalů je, že tvoří základní vyztužující prvek, který je syntetizován a využíván pro zesílení všech podpůrných struktur rostlin, stromů a řas. Byť se jedná o výhradně rostlinný materiál, jsou schopni jej syntetizovat i někteří mořští živočichové (Pláštěnci) a některé druhy bakterií (*Gluconacetobacter xylinus*) [32, s. 45].



Obr. 9: Schématické uspořádání struktury mikrofibril celulózy v rostlinném vlákně [32, s. 182].

3.2 Zdroje celulózy

Za nejběžnější zdroj celulózy je považováno dřevo. Jeho nejvýznamnější předností je snadná dostupnost a nízká cena. Běžně platí, že extrakce celulózy začíná s tzv. purifikovaným dřevem, které je zbaveno většiny ligninu, hemicelulózy a nečistot. Typickými materiály jsou pak bělené sulfátové buničiny (viz Obr. 10) a rozpustné buničiny, které se používají na výrobu produktů z regenerované celulózy (hedvábí) [29, s. 5].



Obr. 10: Bloky bělené sulfátové buničiny [33].

Podobně jako dřevo jsou zdrojem celulózy i rostliny. Využití celulózy z rostlin umožňuje rozvinutá infrastruktura textilního průmyslu zajišťující sklizeň, máčení nebo rozvlákňování (tedy kondicionování a izolace mikronizovaných celulóзовých částic) a zpracování daného produktu. Obvykle platí, že rostliny mohou být purifikovány obdobně jako dřevo [29, s. 6].

Důležitým zdrojem celulózy jsou pláštěnci a řasy. Pláštěnce lze zařadit mezi mořské strunatce, jejichž tělo je chráněno rosolovitým pláštěm (tunica), který produkuje jejich *epidermis* (Obr. 11). Jedná se právě o tento plášť ve zralé fázi, který se používá jako zdroj celulóзовých mikrofibril. Plášť obsahuje polysacharid tunicin, což je látka podobná celulóze [34].

Celulóзовé mikrofibrily dokáží ve své buněčné stěně produkovat i některé druhy řas. Jedná se především o řasy zelené (Obr. 12), červené a šedé. Mezi celulóзовými mikrofibrilami v rámci jednotlivých druhů řas existují značné rozdíly, a to z důvodu rozdílných biosyntetických procesů kterými vznikají. Většina odborníků doporučuje především využití zelených řas, kam se řadí např. *Micrasterias denticulata*, *Micrasterias rotate*, *Caldophora Valonia* a *Boergesenia* [29, s. 6].



Obr. 11: Kolonie pláštěnců třídy Ascidians [35], Obr. 12: Řasy rodu *Boergesenia* [36].

Mezi producenty celulózy lze taktéž zařadit určité druhy bakterií. Nejvíce prostudovaný druh, jenž dokáže celulózu vytvářet, se nazývá *Gluconacetobacter xylinus* (dříve znám jako *Acetobacter xylinum*). Za zvláštních kultivačních podmínek dokáží tyto bakterie vylučovat hustý gel složený z celulóзовých mikrofibril a tzv. pelikuly. Pelikula je tenká vrstva cytoplazmatické membrány, jež má ochrannou funkci. Důvod, proč tyto bakterie produkují celulózu, je zatím nejasný. Bylo však prokázáno, že celulóza je nutná pro jejich přežití, především k ochraně proti ultrafialovému záření či slouží jako ochranná bariéra proti houbám,

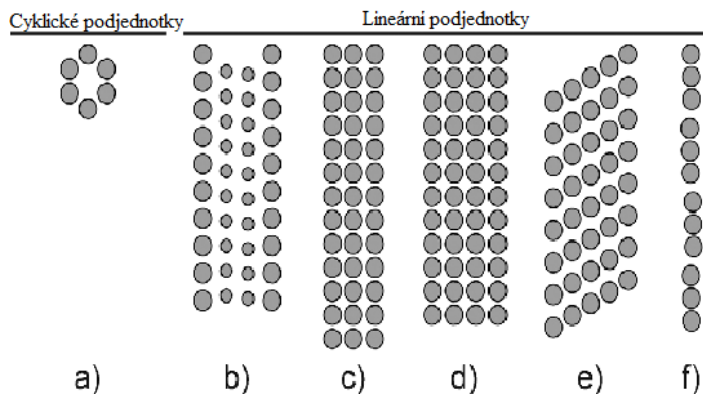
kvasinkám a jiným organismům. Výhodou získávání bakteriální celulózy je skutečnost, že je možné bakteriím nastavit specifické kultivační podmínky a tím ovlivnit tvorbu celulózo-
vých mikrofibril a následně krystalizaci celulózy [29, s. 6].

3.3 Biosyntéza celulózových mikrofibril

Biosyntéza celulózových mikrofibril je vícestupňový proces, který je vysoce specifický pro daný organismus, který celulózu produkuje. Varianty této reakce určují morfologii, poměr stran, krystalinitu a krystalickou strukturu výsledné mikrofibrily. Tyto vlastnosti se poté odrážejí v konečném produktu [29, s. 3946-3947].

Obecně platí, že celulóza je vytlačována z enzymových komplexů lokalizovaných v buněčných stěnách. Konfigurace těchto komplexů určuje výslednou strukturu mikrofibrily. Komplexy jsou tvořeny mnoha identickými podjednotkami, z nichž každá obsahuje více katalytických míst, z nichž se polymeruje jeden celulózový řetězec [29, s. 3946].

První stupeň krystalizace celulózy zahrnuje samoorganizaci celulózových řetězců v rámci dané enzymové podjednotky, která produkuje malou „vrstvu“ (minisheet) těchto uspořádaných řetězců. Jejich geometrie pak závisí na počtu a uspořádání katalytických míst a může být buď izolovaná jednořetězcová, jednovrstevně paralelně skládaná nebo také vícevrstevně paralelně skládaná. V každém z enzymových komplexů jsou podjednotky uspořádány ve dvou hlavních konfiguracích, buď lineární, nebo kruhové, viz Obr. 13, kde každý šedý kruh představuje jednu podjednotku. Konfigurace společně s uspořádáním „vrstev“ určuje výslednou strukturu celulózových fibril. V druhém stupni krystalizace pak dochází k samoorganizaci těchto „vrstev“ a konečná fáze biosyntézy zahrnuje sdružení celulózových vláken buď do mikro nebo makrofibrily [29, s. 3947].



Obr. 13: Schéma uspořádání cyklických a lineárních enzymových komplexů, pro (a) stromy, rostliny, zelené řasy (*Micrasterias*); (b) Pláštěnce; (c) zelené řasy (*Valonia*); (d) červené řasy; (e) žluto zelené řasy; (f) bakteriální (*Acetobacter*) [29, s. 3947].

3.4 Izolace celulóзовých částic

Separace celulóзовých částic z výchozích materiálů obsahujících celulózu probíhá ve dvou fázích. Fáze první zahrnuje čištění a homogenizaci předběžně zpracovaného materiálu obsahujícího celulózu, takže v následujících úpravách může surovina daleko lépe reagovat. Proces předzpracování je závislý na zdroji celulózy a v menší míře také na požadované morfologii výchozích celulóзовých částic použitých v druhé fázi procesu. Předběžné úpravy dřeva a rostlin zahrnují úplné nebo částečné odstranění látek, jako je hemicelulóza, lignin, atp., a izolaci individuálních kompletních celulóзовých vláken. V případě pláštěnců toto předběžné zpracování zahrnuje izolaci jejich pláště a také izolaci celulóзовých vláken a odstranění proteinového matrix. Úpravy materiálů pro získávání celulózy z řas jsou spojené s příslušnou kultivační metodou a následnou purifikací materiálu, která vede k odstranění matrix. Předběžné zpracování bakteriální celulózy se zaměřuje rovněž na kultivační metody orientované na podporu růstu celulóзовých vláken a následné promytí, aby došlo k odstranění bakterií a dalších médií. Druhá fáze zahrnuje separaci těchto „čištěných“ celulóзовých materiálů na jejich mikrofibrilární anebo krystalické složky. Separaci těchto celulóзовých částic lze provádět několika způsoby. Mezi tři základní kroky separace lze zařadit mechanické čištění, kyselou a enzymatickou hydrolyzu. Každá z těchto metod může být použita samostatně, v praxi se však častokrát setkáváme s jejich kombinací nebo s jejich použitím v určitém pořadí, které umožňuje získání požadovaných morfologických vlastností částic [29, s. 3947-3948].

3.5 Typy celulóзовých částic

V literatuře je popsáno devět různých typů celulóзовých částic, které se navzájem odlišují, jak materiálem ze kterého jsou získávány, tak také postupem přípravy. Každý z uvedených typů částic se od těch ostatních liší, má charakteristickou velikost, poměr stran, morfologii, krystalinitu, krystalovou strukturu a vlastnosti. Jednotlivé celulóзовé nanočástice pak mohou být použity jako stabilizátory emulzí. V této souvislosti je třeba si uvědomit, že v současné literatuře se termíny označující jednotlivé typy celulóзовých částic, jako mikrofibrilární celulóза, nanofibrilární celulóза a nanokrystalická celulóза často zaměňují, což může vést k určitým nejasnostem a problémům při interpretaci literatury. Níže uvedené rozdělení vychází z publikace [29, s. 3948] a představí některé z typů celulóзовých částic.

3.5.1 Dřevěná a rostlinná vlákna (Wood Fibril WF, Plant Fibril PF)

Tato vlákna jsou z uvedených typů částic největší. Čištěné částice se skládají z jednotlivých dřevěných nebo rostlinných buněk, které mají desítky μm v průměru, milimetry na délku, obsahují vysoké procento celulóзы a mají relativně nízkou krystalinitu [29, s. 3949].

3.5.2 Mikrokrystalická celulóза (MCC)

Jedná se o komerčně dostupný materiál používaný ve farmaceutickém a potravinářském průmyslu. Mikrokrystalická celulóза má ve srovnání s běžnou celulóзой vyšší stupeň krystalinity a získává se částečnou hydrolyzou celulóзы minerálními kyselinami. Po hydrolyze pak následuje sprejové sušení. Částice MCC jsou porézní s velkým povrchem, což je důsledek přítomnosti nahodile seskupených vláknitých mikrokrystalů. Typická velikost částic MCC se pohybuje mezi 10 až 50 μm dle R. Moon a kol. Publikace M. Rabiškové a jejího týmu pak uvádí rozsah velikostí mezi 20 až 200 μm . Mikrokrystalická celulóза je mírně rozpustná v 5% roztoku hydroxidu sodného, prakticky nerozpustná ve vodě, zředěných kyselinách a většině organických rozpouštědel. Je to látka velmi stálá a rozrušit ji lze silnými oxidačními činidly [37, s. 70].

3.5.3 Mikrofibrilární celulóза (MFC)

Rozdílnost MFC a NFC je založena na fibrilačním procesu, kdy NFC je charakterizovaná tenčími fibrilami s menšími průměry částic. Mikrofibrilární celulóза bývá velmi často v literatuře zaměňována s NCC. Mikrofibrilární celulóза se vyrábí prostřednictvím rafinace

čištěné WF a PF buničiny. Využívá se jako zahušťovadlo v potravinářském a kosmetickém průmyslu [29, s. 3949].

3.5.4 Nanofibrilární celulóza (NFC)

Částice NFC jsou jemnější celulózová vlákna, která připomínají základní vlákna z biosyntézy celulózy dřeva a rostlin. Jsou složeny z 36 celulózových řetězců, které mají čtvercový průřez. Jak již bylo zmíněno výše, termíny NFC a MFC bývají v literatuře často zaměňovány [29, s. 3949].

3.5.5 Celulózové nanokrystaly (NCC)

Celulózové nanokrystaly jsou „tyčinkovité“ nebo vláknité částice, které zůstanou po kyselé hydrolyze WF, PF, MCC, MFC či NFC. Jak bylo již řečeno výše, tyto částice se také mohou nazývat nanokrystalická celulóza, celulózová vlákna, celulózová nanovlákna, karboxylovaná nanokrystalická celulóza a celulózové mikrokristaly v závislosti na typu přípravy a literatury, která o nich pojednává. Nanokrystaly NCC jsou tvořeny 100% celulózou, jsou vysoce krystalické, jejich rozměry činí i 50-500 nm (délka) a 3-5 nm (šířka) a na koncích se zužují. V ideálním případě NCC připomínají krystalické oblasti základních vláken z biosyntézy celulózy dřeva a rostlin a skládají se z 36 celulózových řetězců, které mají čtvercový či hexagonální průřez. Mimo tuto ideální strukturu NCC existuje značná rozmanitost ve tvaru jejích částic, délce i šířce [29, s. 3949-3950].

Nanokrystalická celulóza (NCC) patří mezi skupiny nanomateriálů, které pochází z obnovitelné biomasy. Tato látka vykazuje výjimečné mechanické vlastnosti, má nízkou hustotu ($1,5 \text{ mg}\cdot\text{m}^{-3}$), lze ji snadno chemicky modifikovat a je také ekologicky příznivá. NCC lze využít v řadě rozdílných odvětví, např. pro vyztužené polymery a nanokompozity, pro fixaci enzymů, podávání léčiv i v oblasti biomedicíny. Na základě výzkumů, které provedli B. Male a A. Leung, J. se spolupracovníky lze NCC připravit poměrně jednoduchých způsobem pomocí peroxodisíranu amonného (APS). APS $((\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8)$ je solí kyseliny peroxodisírové. Jedná se o velmi silné oxidační činidlo s nízkou dlouhodobou toxicitou, vysokou rozpustností ve vodě a nízkou cenou [38, s. 302].

Jelikož je NCC použita v této diplomové práci, je zde uvedena i jedna z metod její přípravy.

3.5.5.1 Metoda přípravy NCC

Příprava NCC pomocí APS může být vhodnou náhradou metody, která využívá hydrolyzu v kyselém prostředí. Lze ji využít pro zpracování různých celulóзовých materiálů z různých zdrojů biomasy, které mají částice v průměru 5 mm a vysokou krystalinitu [39, s. 1373].

Příprava nanokrystalické celulózy dle Luenga spočívá v tom, že k výchozímu materiálu biomasy se přidá 1 M roztok APS. Směs se zahřívá k teplotě 60 °C po dobu 16 hodin (pouze 3 hodiny v případě bakteriální celulózy) za vzniku suspenze nanokrystalů celulózy. Suspenze se centrifuguje při 12 000 rpm, RCF = 22 100 po dobu 10 minut. Roztok se následně dekantuje a k nanokrystalům celulózy se přidá 200 ml vody. Poté se směs 5 minut míchá a opakuje se fáze centrifugace. Centrifugační a promývací cykly se 4x opakují, dokud výsledná vodivost materiálu není rovna $5 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, tj. blízká deionizované vodě a pH blízké 4. Produkt se poté lyofilizuje, čímž se získá bílý prášek. Nanokrystal celulózy v jejich sodné formě se připravují přidáváním 1 M NaOH, dokud není dosaženo hodnoty pH = 7 dané suspenze. Následuje promytí či centrifugace s deionizovanou vodou [38, s. 304].

3.5.6 Celulóзовé nanokrystal pláštěnců (t-NCC)

Částice získané kyselou hydrolyzou pláštěnců se nazývají t-NCC. Od jiných systémů NCC se t-NCC odlišují v morfologii částic, krystalické struktury a mechanickými vlastnostmi. Nanokrystal t-NCC vláknitého tvaru mají rozměry ~8 nm (výška), ~20 nm (šířka), 100-4000 nm (délka). Jsou tvořeny téměř 100% celulóзou a jsou vysoce krystalické (85-100 %). Vysoká krystalinita je výhodou t-NCC částic [29, s. 3951].

3.5.7 Celulóзовé částice na bázi řas (AC)

Částice celulózy na bázi řas jsou tvořeny mikrovláknami získanými z buněčné stěny různých druhů řas pomocí kyselé hydrolyzy a následné rafinace. Výsledné mikrofibrily mají délku v řádu μm a jejich morfologie závisí na druhu řasy. Pro srovnání lze uvést dva odlišné příklady řas, a to *Valonia* a *Micrasterias*. Tyto řasy se navzájem liší mimo jiné svým průřezem. Mikrofibrily řasy *Valonia* mají čtvercový průřez. Naproti tomu mikrofibrily řasy *Micrasterias* mají průřez obdélníkový [29, s. 3951].

3.5.8 Bakteriální celulóza (BA)

Celulózové částice bakteriálního původu jsou tvořeny mikrovlákny, která jsou vylučována různými druhy bakterií. Výsledné mikrofibry v délce μm mají morfologii, která je dána specifickým typem bakterie a podmínkami kultivace. Typickým příkladem je *Acetobacter*, jehož mikrofibry mají obdélníkový průřez. Celkově je možné změnou kultivačních podmínek (míchání, teplota, aditiva) měnit například šířku mikro fibril. U aditiv bylo prokázáno, že mají schopnost ovlivňovat vzájemné spojování elementárních vláken a tím ovlivňovat celkovou morfologii BA [29, s. 3951-3952].

4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V následujícím textu budou představeny informace vycházející z literatury, která se zabývá emulzemi stabilizovanými pomocí celulóзовých částic a metodami jejich přípravy.

4.1 Emulze stabilizované MFC

Emulze stabilizované pomocí MFC jsou v současnosti předmětem intenzivního výzkumu. Použitím MFC jako stabilizátoru emulzí typu V/O se zabývá práce týmu Khanari, Syverud a Stenius [40]. Tito autoři použili MFC vyrobenou ze směsné bělené sulfátové buničiny předběžným zpracováním suspenze v Claflinově mlýně s následnou homogenizací za použití homogenizátoru. Mikrofibrilární celulóza byla dále hydrofobizována za použití chloro(dimethyl)isopropyl silanu. Vodná suspenze hydrofobizované MFC byla několikrát promyta, počínaje čistým acetonem, poté směsí acetonu s toluenem a nakonec toluenem. Z této MFC byly připraveny modelové emulze, jejichž olejovou fází tvořil toluen [40, s. 448].

Autoři postupovali tak, že suspenzi MFC v toluenu nejprve naředili na požadovanou koncentraci a pak dispergovali pomocí ultrazvuku po dobu 30 minut. Po přidání potřebného množství vody byla suspenze homogenizována za použití homogenizátoru Ultra Turrax s 18 mm hlavicí při 24 000 rpm po dobu 1,5 minuty. Po ukončení homogenizace byly připravené suspenze skladovány při pokojové teplotě v uzavřených skleněných vialkách. Typ emulze byl zjištěn pomocí drop testu [40, s. 449].

Stabilita emulzí typu V/O byla stanovena zaznamenáním změny relativního objemu emulgované vrstvy s ohledem na celkový objem emulze. Pozorovaná změna ve stabilitě byla důsledkem sedimentace anebo koagulace vodných kapiček [40, s. 449].

4.2 Emulze stabilizované BC

Bakteriální celulóza a jejím účinkem na stabilizaci emulzí se zabýval ve své studii Ougiya a jeho tým [41]. Bakteriální celulóza produkovaná ve směsné kultuře vykazovala nejvyšší stabilizační účinek mezi všemi zkoumanými materiály na bázi celulózy. Bylo zjištěno, že mechanická bariéra a struktura z jemných vláken bakteriální celulózy dokáže přerušit koalescenci olejových kapiček takovým způsobem, že stabilizuje emulzi, aniž by snižovala mezifázové napětí. Vzhledem k tomu, že se kultura skládá z vláken a jejich shluků, které jsou tenčí, než jakýkoli jiný celulóзовý materiál, je tato látka schopna pokrýt větší

plochu olejové kapičky v podobě mechanické bariéry. Emulze s obsahem BC z této směsné kultury byla stabilní vůči přidavku solí, změnám pH a teploty. Pro srovnání byly připraveny emulze s xanthanovou gumou nebo sorbitan monolaurátem [41, s. 1541]. Vlastní příprava emulze a měření indexu její stability byly provedeny tak, že požadované množství suspenze celulózy bylo naváženo do skleněné vialky a dispergováno s určitým množstvím vody. Poté byla do vodné fáze přidána olejová fáze, tvořená rostlinným olejem nebo kerosenem a emulze byly připraveny v homogenizátoru při 30 000 rpm po dobu 1 minuty. Emulze byly následně skladovány při teplotě – 20 až 120 °C po 1 – 7 dní. Pro zhodnocení stabilizačního účinku emulze byl využit index emulzní stability (ESI) [41, s. 1541].

Bakteriální celulózu se ve své práci zabývala také Kalashnikova a kol [42]. Celulóza byla získána z kokosového krému (nata de coco), který je produktem fermentačního působení bakterie *Acetobacter xylinum*. Suspenze byla filtrována a znovu suspendována v 0,5 N roztoku hydroxidu sodného. Následně byla v uzavřené baňce míchána po dobu 2 hodin při teplotě 70 °C. Hydroxid byl odstraněn propláchnutím destilovanou vodou až do neutrálního pH. Poté následoval dvojnásobný bělicí proces, který zahrnoval smíchání suspenze s roztokem NaClO₂ (8,5 g l⁻¹) v pufru octanu sodného (pH = 4,5) při teplotě 70 °C po dobu 2 hodin. Bělená celulóza byla promyta destilovanou vodou až do neutrálního pH [42, s. 7472]. Z této celulózy byly připraveny emulze typu O/V za použití hexadekanu jako olejové fáze. Poměr olej/voda činil 30/70. Při přípravě bylo přidáno 0,3 ml hexadekanu do 0,7 ml vodné suspenze BC a směs byla v plastových vialkách sonikována v sonikačním zařízení pomocí střídavé sonikace s třísekundovým pohotovostním režimem po dobu 20 sekund [42, s. 7472].

Specifických vlastností BC jako stabilizátoru emulzí typu O/V využili ve své studii také Paximada a jeho tým [43]. Jednalo se o přípravu emulzí za pomoci dvou různých emulgačních metod, a to pomocí homogenizátoru nebo sonikačního zařízení.

Primární emulze typu O/V stabilizované BC byly připraveny s extra panenským olivovým olejem (10 %). Tento olej byl přidán k vodnému roztoku BC (90 %), který obsahoval nejen BC ale i další typy celulózy, a to v různých koncentracích (0,1; 0,3; 0,5; 0,7 a 1 hm. %). Vzorky byly připraveny při pH = 3,8 a následně upraveny v homogenizátoru (13 500 rpm, 2 minuty). Pro „sekundární“ emulze platilo, že po tomto postupu následovala dvouminutová ultrasonikace pomocí sonikačního zařízení pracujícího při frekvenci 20 kHz a 20 % amplitudě.

Výzkum prokázal, že pomocí sonikačního zařízení došlo k výraznému zlepšení emulzní stability, došlo ke snížení hodnoty SI (sérum index, měřítko stability emulze) ze 46 % na 3 %. Emulze na bázi BC vykazovala největší velikost kapek a také nejvyšší stabilitu (SI 3 %). Tento jev byl vysvětlen přítomností shluků BC vláken adsorbovaných na povrch kapek oleje, kdy dochází k vytvoření silné sítě, jež zabraňuje jejich shlukování. Tyto emulze nebyly rovněž ovlivněny změnou pH, teploty nebo iontové síly, poněvadž hodnota jejich SI zůstala konstantní na rozdíl od emulzí připravených s jinými druhy celulózy. Studie tedy prokázala, že použití BC jako stabilizátoru emulzí typu O/V zvyšuje jejich stabilitu v porovnání s ostatními komerčními druhy celulóz [43, s. 1-2].

4.3 Emulze stabilizované nanokrystalickou celulózou na bázi bavlny a řas

Kalashnikova a její tým se ve svých pracích zabývali přípravou emulzí stabilizovaných celulózou na bázi bavlny a také na bázi řas [44].

Pro přípravu částic vhodných pro stabilizaci emulzí byla bavlněná vlákna upravena v 40% kyselině sírové a postupně byla zahřívána za občasného míchání při 70 °C po dobu 40 minut. Po hydrolýze byla výsledná suspenze ochlazena v ledové lázni a promývána pomocí centrifugace při 16 000 g po dobu 15 minut, dokud nevznikla koloidní suspenze. Poté byla suspenze 4 dny dialyzována proti deionizované vodě. Finální disperze, označená jako celulózové nanokrystaly na bázi bavlny byly filtrovány, sonikovány 15 min a skladovány při 4 °C. [44, s. 953].

Co se týče úpravy řas, nejprve z nich musela být odstraněna nadbytečná voda. Po odstranění přebytku vody byly řasy rodu *Cladophora rupestris* ponořeny na 30 minut do 1 N HCl při pokojové teplotě a rozdrceny v mixéru. Výsledná kaše byla pod tekoucí vodou promývána tak dlouho, dokud na ní nezůstala žádná pěna. Čištění vyžadovalo tři po sobě následující alkalické či bělicí procesy. První proces zahrnoval čištění s 0,5 N NaOH při teplotě 70 °C společně s 0,1% NaBH₄ v uzavřené nádobě za stálého míchání po dobu 2 hodin. V druhém procesu následovalo bělení v 0,3 – 0,4% NaClO₂ a konečně ve finální fázi byl přidán octan sodný (pH 4,9 - 4,7) a směs byla míchána po dobu 2 hodin při teplotě 70 °C [44, s. 953].

Nanokrystalická celulóza na bázi řas rodu *Cladophora rupestris* (ClaCN) byla připravena hydrolyzou 2,5 M kyselinou chlorovodíkovou se zahříváním pod zpětným chladičem po dobu přibližně 1 hodiny. Po hydrolyze byla suspenze pečlivě promyta do neutrálního pH a dále homogenizována mírnou sonikací po dobu 1 min. Výsledná 1% suspenze byla důkladně dialyzována proti vodě a dále deionizována pomocí iontoměniče. Závěrem byla přidána kapka CHCl_3 pro umožnění dlouhodobějšího skladování [44, s. 953].

Na bázi takto získaných nanokrystalů byly formulovány emulze typu O/V. Byl použit hexadekan a vodné suspenze nanokrystalů v 50 mM NaCl v požadovaných koncentracích bez dalšího ředění tak, aby poměr olej/voda odpovídal poměru 30/70. Dále byly jednotlivé emulze sonikovány při nastavené hodnotě výkonu 1,5 za použití střídavé 3 s sonikace s 3 s pohotovostním režimem po dobu 20 s [44, s. 954].

Bylo zjištěno, že nanokrystal (o délce v rozmezí od 185 nm do 4 μm), které byly získány hydrolyzou této celulózy „Cladophora“ byly adsorbovány na rozhraní olej/voda a byly schopny vytvořit velmi stabilní emulze [44, s. 952].

4.4 Emulze stabilizované celulóзовými nanokrystalami NCC (karboxylovanou celulózou)

Modelovými Pickeringovými emulzemi (obsahujícími D-Limonen (4-izopropenyl-1-methylcyklohexan)) stabilizovanými karboxylovanou celulózou a faktory, které mohou ovlivnit jejich vlastnosti, se ve své studii zabývali Wen, Yuan, Liang a Vriesekoop [45, s. 695].

Karboxylovaná celulóza byla připravena z celulózy získané z kukuřičných klasů hydrolyzou pomocí amonium persulfátu (APS). Dva gramy „kukuřičné“ celulózy byly přidány ke 100 ml 1M APS. Směs byla zahřívána na teplotu 60 °C po dobu 16 hodin. Po ukončení zahřívání byla získána suspenze karboxylované celulózy. Dále následovalo promytí této suspenze pomocí opakované centrifugace při 5000 otáčkách za minutu po dobu 10 minut, do té doby, než se vodivost suspenze ustálila na 5 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ a pH činilo 4 [45, s. 695].

Suspenze s různým obsahem nanokrystalické celulózy byly připraveny ultrazvukovou sonikací. Postupně byla přidána různá množství prášku karboxylované celulózy (5, 10 a 20 mg) do 10 g deionizované vody a systém byl sonikován při 0,4 kW po dobu 3 min. Pickeringo-

vy emulze byly připraveny za použití D-limonenu a vodných suspenzí karboxylované celulózy v požadovaných koncentracích bez dalšího ředění tak, aby poměr olej/voda odpovídal hodnotě 10/90 [45, s. 697]. V práci byla rovněž zkoumána velikost částic v emulzích připravených s různou koncentrací karboxylované celulózy a rovněž faktory, které mohou mít vliv na jejich stabilitu, jako je iontová síla, pH a teplota. Bylo zjištěno, že zvýšením teploty se zvýšila i stabilita emulzí a stabilita emulzí se zároveň snižovala s nízkým pH nebo vysokou koncentrací soli. Celkově lze konstatovat, že uvedeným postupem lze připravit Pickeringovy emulze s vysokou stabilitou obsahující D-limonen [45, s. 695].

5 CÍLE PRÁCE

Cílem práce bylo vypracovat literární rešerši na téma emulzí stabilizovaných pomocí částic, tedy emulzí Pickeringových. Literární studie se týkala především jejich přípravy, vlastností a metod charakterizace. Dalším úkolem bylo prezentovat možnosti uplatnění těchto systémů ve farmacii a kosmetice.

Praktická část diplomové práce se nejprve soustředila na přípravu nanokrystalické celulózy. V dalším kroku pak bylo cílem práce použít tuto připravenou nanokrystalickou celulózu pro stabilizaci a přípravu Pickeringových emulzí s obsahem oleje, který by mohl sloužit jako nosič bioaktivních látek. Dále se práce soustředila na charakterizaci připravených vzorků a stanovení vlivu složení emulzí na jejich vlastnosti, a to zejména na velikost emulzních částic a stabilitu.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

6 MATERIÁLY A METODIKA

Následující část práce podává přehled o materiálech a metodách použitých v experimentální části práce.

6.1 Materiály

Jako základní materiál pro přípravu emulzí byla použita nanokrystalická celulóza, demineralizovaná voda a olej.

Konkrétně se jednalo o následující látky:

- 2% roztok nanokrystalické celulózy (NCC), připravený z mikrokystalické celulózy Avicel® PH-101 (Sigma Aldrich) pomocí peroxosíranu amonného (APS) (Sigma Aldrich);
- demineralizovaná voda (Aqual 29-2; 0,06 $\mu\text{S/m}$);
- olej Tegosoft ®CT (Trikaprylin/Trikaprin), (Evonik Industries AG).

Dále byly pro úpravu pH emulzí použity:

- HCl ($c = 0,49 \text{ M}$);
- NaOH ($c = 0,1 \text{ M}$).

6.2 Přístroje

Pro experimentální zpracování práce byly kromě běžného laboratorního vybavení a pomůcek využity následující přístroje:

- Analytické váhy (Radvag AS 220.R2);
- Laboratorní váhy (Kern EW 420-NM);
- Centrifugační zařízení (1) (Thermo Scientific Sorvall Lynx 4000);
- Centrifugační zařízení (2) (Hermle Z 300 K, Biotech, rotor úhlový);
- pH metr (CPH 51, Elteca; součástí je magnetická míchačka HI 190M, Hanna instruments);
- Ultrazvuková čistička (K-10LE, Kraitek);

- Spektrofotometr (Photo Lab 6600 UV-VIS series WTW);
- Sonikační zařízení (1) (Sonifier Bransom cell disruptor 200);
- Sonikační zařízení (2) (UP400S; součástí je sonda H7, 7 mm, délka 100 mm, titan);
- Zetasizer (Nano ZS90, Malvern, Instruments Ltd; součástí je kyveta DTS1070 pro měření ζ potenciálu);
- Laserový analyzátor velikosti částic Mastersizer (Mastersizer 3000, Malvern).

6.3 Metodika

Následující podkapitola ve stručnosti shrnuje zvolenou metodiku použitou v experimentální části diplomové práce.

6.3.1 Příprava celulóзовých nanokrystalů (c-NCC)

Pro přípravu suspenze c-NCC bylo naváženo 10 g mikrokrytalické celulózy (MCC), která byla převedena do varné baňky. K celulóze byl poté za neustálého míchání přidán do 1 l 1 M roztoku APS. Vzniklá suspenze byla zahřívána 60 minut při 50 °C a dalších 70 minut při 70 °C na vodní lázni. Při této teplotě byla suspenze udržována po 24 hodin za nepřetržitého míchání magnetickým míchadlem. Po uplynutí potřebného času byla reakční směs ochlazena a po rozdělení do 6 plastových centrifugačních nádob s uzávěrem opakovaně centrifugována při 7000 rpm a teplotě 25 °C po dobu 10 minut pomocí velkokapacitní centrifugy Sorvall Lynx 4000 (Thermo Scientific). Po každém centrifugačním cyklu byl supernatant ze suspenze odstraněn a nahrazen deionizovanou vodou. Takto se procedura opakovala až do okamžiku, kdy výsledná konduktivita suspenze činila 3 $\mu\text{S}/\text{cm}$. Dalším krokem v procesu přípravy c-NCC byla sonikace (Sonifier Bransom cell disruptor 200) po dobu 29 minut při 40 % amplitudě. Suspenze byla po celou dobu sonikace ponořena v ledové lázni a následně adjustována na pH 7 pomocí přídatku 0,02 M roztoku NaOH. Přídavkem NaOH došlo ke změně vzhledu suspenze, která se změnila z mléčně bílé barvy na semi-transparentní. Takto adjustovaná suspenze c-NCC byla dále sonikována při 40 % amplitudě po dobu 5 minut. Posledním krokem bylo odpaření vody ze suspenze na výslednou koncentraci ca 2 %.

6.3.2 Charakterizace c-NCC

6.3.2.1 UV-VIS spektrofotometrie

Fotometrická měření byla provedena na přístroji Spektrofotometr (Photo Lab 6600 UV-VIS series WTW) při vlnové délce 270 nm. Byl připraven 200 mM roztok CaCl_2 . Dále bylo nutné homogenizovat suspenzi c-NCC po 30 minut na ultrazvukové lázni (K-10LE, Kraitek). Pro měření byly připraveny suspenze tak, že k c-NCC bylo přidáno předem vypočítané množství 200 mM roztoku CaCl_2 tak, aby vznikla kalibrační řada s koncentrací CaCl_2 0,05; 0,15; 1; 3; 5; 10; 20; 50; 70 a 100 mM. Po důkladném promíchání proběhlo měření absorpance při 270 nm v plastových kyvetách s uzávěrem. Druhé, verifikační měření bylo provedeno obdobným postupem, s výjimkou jiné výchozí koncentrace roztoku CaCl_2 (100 mM).

6.3.2.2 ζ potenciál

Chování c-NCC v závislosti na pH disperzního prostředí bylo stanoveno pomocí měření ζ potenciálu. Ten byl stanoven na přístroji Zetasizer Nano ZS90. Vzorky pro měření byly připraveny smícháním 14 μl suspenze s 4 ml vody s pH hodnotou adjustovanou pomocí HCl ($c = 0,49 \text{ M}$) nebo NaOH ($c = 0,1 \text{ M}$) na hodnoty 2, 4 a 7. Stanovení probíhalo při 25 °C ve speciální kyvetě určené pro měření ζ potenciálu. Výsledná hodnota ζ potenciálu je průměrem tří měření.

6.3.2.3 Mikroskopie atomárních sil

Připravená c-NCC byla charakterizována pomocí mikroskopie atomární sil (AFM). Pro tyto účely byl použit přístroj DimensionIcon od firmy Bruker. Měření byla prováděna v semikontaktním měřícím módu při laboratorní teplotě a atmosféře. Byla použita silikonitridová sonda s rezonanční frekvencí $150 \pm 50 \text{ kHz}$ a konstantou tuhosti 5 N/m od společnosti Bruker. Rychlost skenování činila $0,5 \text{ Hz}$.

6.3.3 Příprava emulzí

Nejdříve byla připravena suspenze c-NCC (část 6.3.1 této práce), která byla dále použita pro stabilizaci olejových kapek Pickeringových emulzí. Před vlastní emulgací bylo nutné disperzi celulózy podrobit sonikací při 40% amplitudě po dobu 5 minut, aby došlo k ho-

mogenizaci případně vzniklých aglomerátů. Následně byly do skleněných vial naváženy jednotlivé složky emulze v předem vypočítaném množství tak, aby jejich celková hmotnost činila 20 g (viz Tabulky 2 až 6). Vodná fáze části vzorků byla ponechána při nativním pH 7, u dalších vzorků pak bylo pH adjustováno pomocí 0,49 M HCl na hodnotu 4 a 2. Pro experiment byly zvoleny poměry olejové a vodné fáze v rozmezí O/V 10/90 až 40/60 a množství celulózy činilo pro každou ze sérií emulzí vždy 0,01; 0,05; 0,1; a 0,3 hm. %. Všechny složky byly poté homogenizovány sonikací pomocí sonikačního zařízení UP400S po dobu 1 minuty při 100% amplitudě a cyklu 0,6. Během sonikace byly vzorky umístěny v kádince naplněné ledem.

Tab. 2: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,01 % celulózy.

Poměr olejové a vodné fáze	Množství jednotlivých složek [g]		
	Celulóza	Olej	Demineralizovaná voda
10/90	0,1	2	17,9
20/80	0,1	4	15,9
30/70	0,1	6	13,9
40/60	0,1	8	11,9

Tab. 3: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,05 % celulózy.

Poměr olejové a vodné fáze	Množství jednotlivých složek [g]		
	Celulóza	Olej	Demineralizovaná voda
10/90	0,5	2	17,5
20/80	0,5	4	15,5
30/70	0,5	6	13,5
40/60	0,5	8	11,5

Tab. 4: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,1 % celulózy.

Poměr olejové a vodné fáze	Množství jednotlivých složek [g]		
	Celulóza	Olej	Demineralizovaná voda
10/90	1	2	17
20/80	1	4	15
30/70	1	6	13
40/60	1	8	11

Tab. 5: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,3 % celulózy.

Poměr olejové a vodné fáze	Množství jednotlivých složek [g]		
	Celulóza	Olej	Demineralizovaná voda
10/90	3	2	15
20/80	3	4	13
30/70	3	6	11
40/60	3	8	9

Obdobným způsobem byly připraveny i emulze se zvýšeným množstvím oleje, a to systémy s poměrem O/V 50/50 a 60/40, viz Tabulka 6.

Tab. 6: Složení Pickeringových emulzí se zvýšeným obsahem oleje a 0,01 % celulózy.

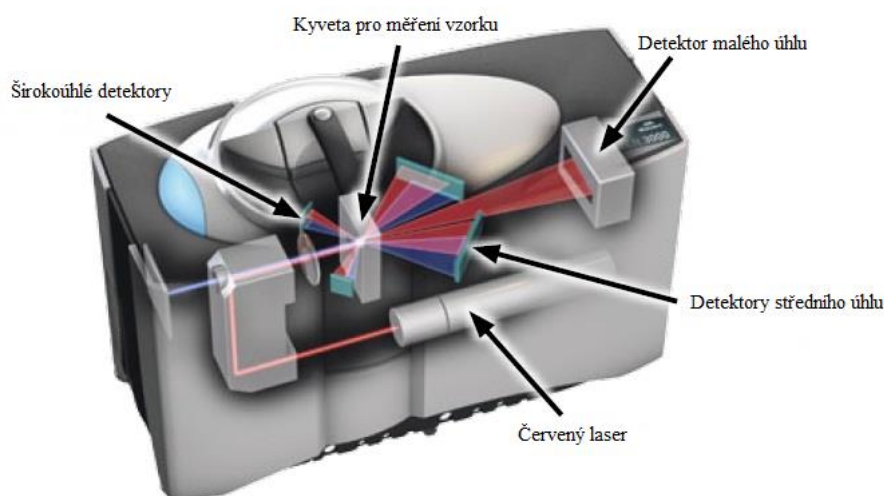
Poměr olejové a vodné fáze	Množství jednotlivých složek [g]		
	Celulóza	Olej	Demineralizovaná voda
50/50	0,1	10	9,9
60/40	0,1	12	7,9

6.3.4 Charakterizace emulzí

6.3.4.1 Měření velikosti částic

Emulze byly charakterizovány pomocí přístroje Mastersizer 3000, který pracuje na principu světelné difrakce (Obr. 14). Měření se provádí automaticky ve speciální dispergační jed-

notce. Do té je napuštěno disperzní médium, v našem případě demineralizovaná voda, do které se mikropipetou přidá vzorek tak, aby bylo dosaženo doporučené hodnoty „obskurace“, která zajistí dosažení vhodného poměru signálu a šumu. Dispergační jednotka přístroje obsahuje míchadlo a zabudovaný ultrazvukový homogenizátor, který zajišťuje homogenitu vzorku. Míchadlo pak usnadňuje pravidelné rozptýlení vzorku v disperzním prostředí. Po ukončení analýzy se dispergační jednotka vyprázdní a celý systém se propláchne ethanolem.



Obr. 14: Přístroj Mastersizer 3000 [46].

Pro měření Pickeringových emulzí byly nastaveny následující parametry analýzy: Doba homogenizace: 40 sekund při 2200 rpm a teplota měření 25 °C. Sledovaným výsledkem měření byla velikost částic označovaná jako D [4; 3], tedy průměr částic v mikrometrech vztahený k jejich objemu. Výsledek měření je průměrnou hodnotou ze tří stanovení. Emulze byly charakterizovány ihned po přípravě a byla rovněž sledována jejich stabilita v čase během skladování v chladničce při 4 – 8 °C.

6.3.4.2 Měření ζ potenciálu

Obdobně jako v případě měření ζ potenciálu c-NCC suspenzí, byl k charakterizaci Pickeringových emulzí použit přístroj Zetasizer Nano ZS90. Vzorky emulzí pro měření byly připraveny smícháním 4 ml dvakrát filtrované, demineralizované vody a 14 μ l emulze. Sta-

novení probíhalo při 25 °C. Hodnota ζ potenciálu je průměrem tří měření. Emulze byly charakterizovány okamžitě po přípravě a dále v pravidelných intervalech sedmi dní.

6.3.5 Stabilita

6.3.5.1 Stanovení indexu emulzní stability (*Emulsion Stability Index EI*)

Analýza množství neenkapsulovaného oleje, emulzní vrstvy, emulzní vrstvy krémování a celkového objemu emulze proběhla pomocí vizuálního pozorování. Vizuální sledování probíhalo u nově připravených emulzí a pokračovalo v pravidelných intervalech, vždy ca po 7 dnech. Index emulzní stability (EI) byl stanoven dle rovnice (2).

$$EI = \frac{V_{emuls.}}{V_{total}} \cdot 100 [\%] \quad (2)$$

kde:

$V_{emuls.}$ je objem emulzní vrstvy;

V_{total} je celkový objem emulze [48, s. 84].

6.3.5.2 Index krémování (*Creaming index CI*)

Obdobně byl stanoven index krémování (CI), pro jehož výpočet se stanoví výška vrstvy krémování v emulzi ku celkové výšce emulze (v mm). Hodnota CI byla stanovena dle rovnice (3).

$$CI = \frac{H_{krem}}{H_{total}} \times 100 [\%] \quad (3)$$

kde:

$H_{krem.}$ je výška vrstvy krémování v emulzi [mm];

$H_{total.}$ je celková výška emulze [mm].

Stabilita emulzí byla rovněž hodnocena po namáhání centrifugací. K tomuto účelu byla použita centrifuga (Hermle Z 300 K, Biotech, rotor úhlový), kdy doba centrifugace činila 2 minuty při 750 rpm. Jak již bylo uvedeno výše, stabilita emulzí byla hodnocena i ze změn velikostí částic měřených laserovou difrakcí a ze změn zeta potenciálu.

Index emulzní stability a index krémování nebyly systematicky stanoveny pro všechny připravené emulze. U některých vzorků se totiž krémování projevovalo, u některých ne. Naopak u emulzních systémů, které byly po celou dobu stabilní a nevykazovaly tendenci k separaci emulzní vrstvy a séra nebyl počítán index stability a emulze byly hodnoceny pouze slovně jako „stabilní“.

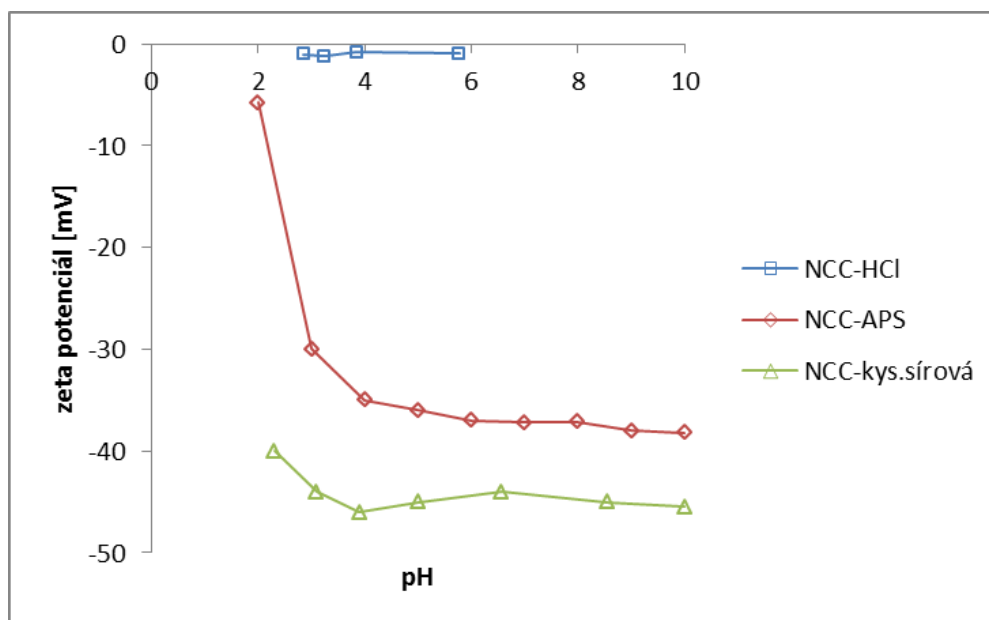
7 VÝSLEDKY A DISKUZE

7.1 Příprava a charakterizace c-NCC

Jak bylo uvedeno v kapitole 6.3.1 této práce, suspenze c-NCC byla připravena z mikrokrystalické celulózy za pomoci silného oxidačního činidla, peroxosíranu amonného. Pro charakterizaci c-NCC byly použity následující postupy: stanovení ζ potenciálu v závislosti na pH, stanovení bodu gelace v přítomnosti iontů CaCl_2 a mikroskopie atomárních sil.

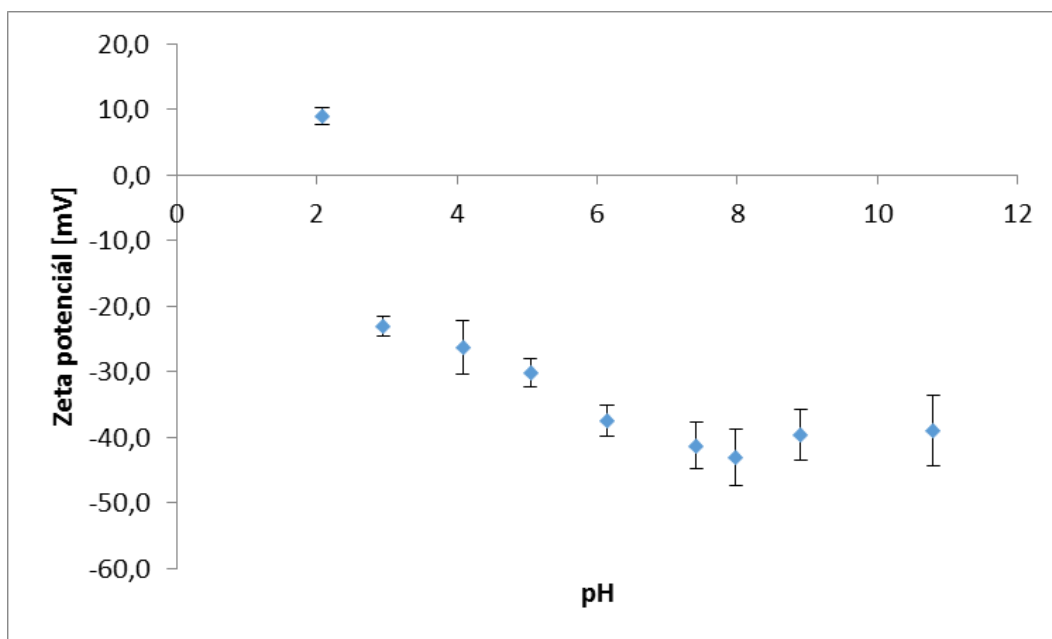
7.1.1 Stanovení závislosti ζ potenciálu na pH

Pro karboxylovanou celulózu (c-NCC), připravenou pomocí APS je charakteristické, že se její chování v prostředí o různém pH mění. V silně kyselém prostředí (pH 2) je ζ potenciál c-NCC blízký 0 a s rostoucím pH pak dále klesá. To je znázorněno na Obr. 15, který na bázi literárních dat, srovnává chování c-NCC s dalšími typy nanokrystalické celulózy připravené působením HCl a H_2SO_4 .



Obr. 15: Závislost ζ potenciálu na pH disperzního prostředí pro NCC připravené působením APS (c-NCC), HCl a H_2SO_4 .

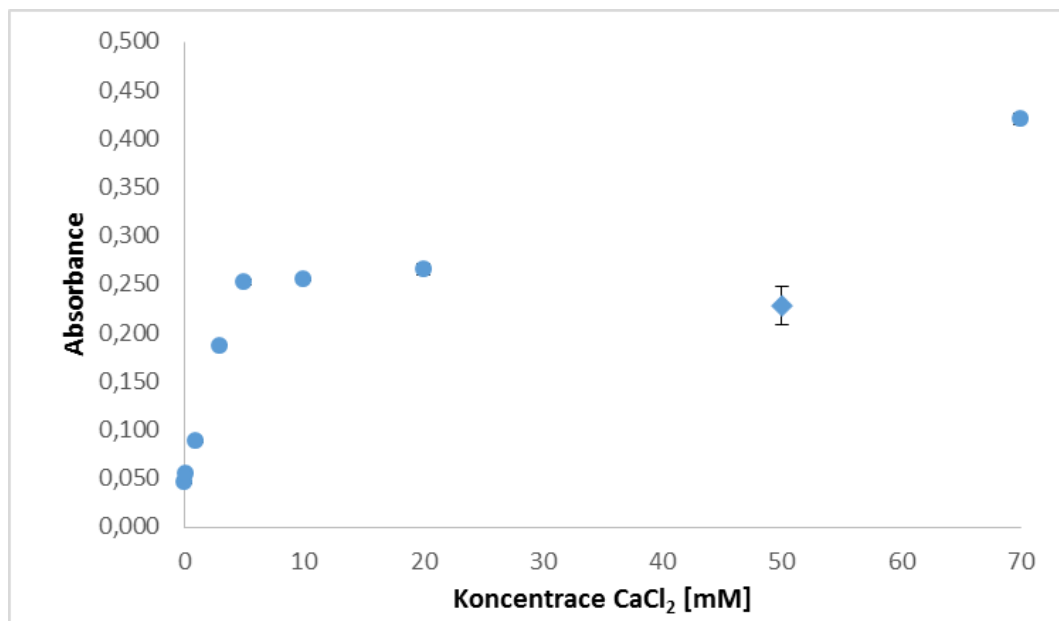
Chování námi připravené c-NCC bylo proto stanoveno v závislosti na pH média, ve kterém byly celulózové nanokrystaly dispergovány. Výsledky měření jsou shrnuty na Obr. 16. Po naměření hodnot ζ potenciálu na připravených suspenzích c-NCC bylo ověřeno, že průběh závislost ζ vs pH má trend podobný údajům uváděným v literatuře a představeným na Obr. 15.



Obr. 16: Závislost ζ potenciálu na pH.

7.1.2 Gelace v přítomnosti CaCl_2

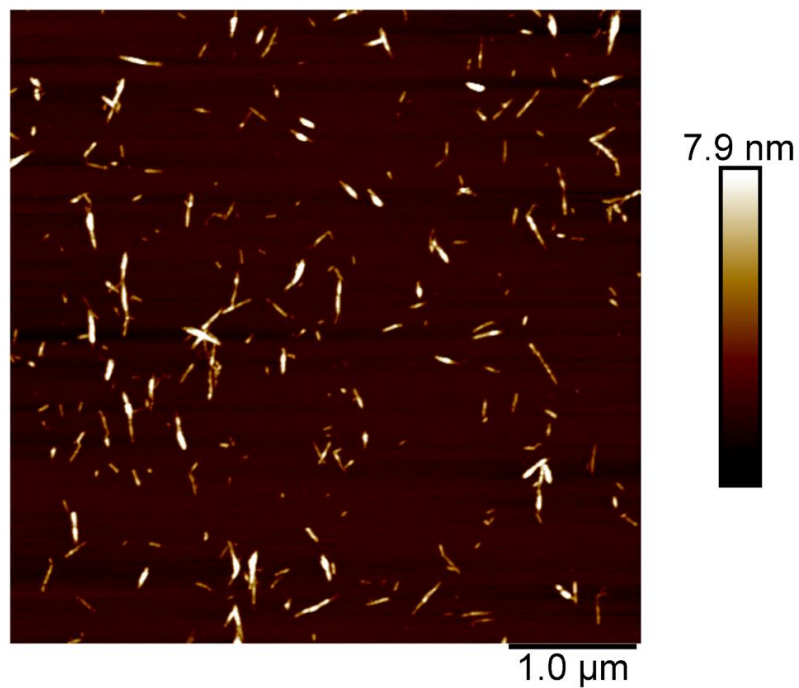
Pro stanovení bodu gelace byl proveden test spočívající ve stanovení absorbance disperze c-NCC v závislosti na přídatku roztoků CaCl_2 o různé koncentraci. Bylo zjištěno, že disperze c-NCC v prostředí CaCl_2 mění, v závislosti na koncentraci iontů, svoji strukturu a s rostoucí koncentrací iontů zákal i viskozita disperze rostou. Po překročení určité koncentrace CaCl_2 dojde ke vzniku gelu/zákalu který se projeví prudkým zvýšením absorbance. Výsledky stanovení jsou uvedeny na Obr. 17. Z obrázku je zřejmé, že disperze celulózových nanokrystalů tvoří spolehlivě gel při koncentraci CaCl_2 10 mM. Vznik gelu v přítomnost iontů má praktický význam při formulaci Pickeringových emulzí obsahujících c-NCC. Napomáhá totiž ke stabilizaci emulzních systémů, které potom vykazují lepší odolnost oproti krémování, sedimentaci a následně i fázové separaci.



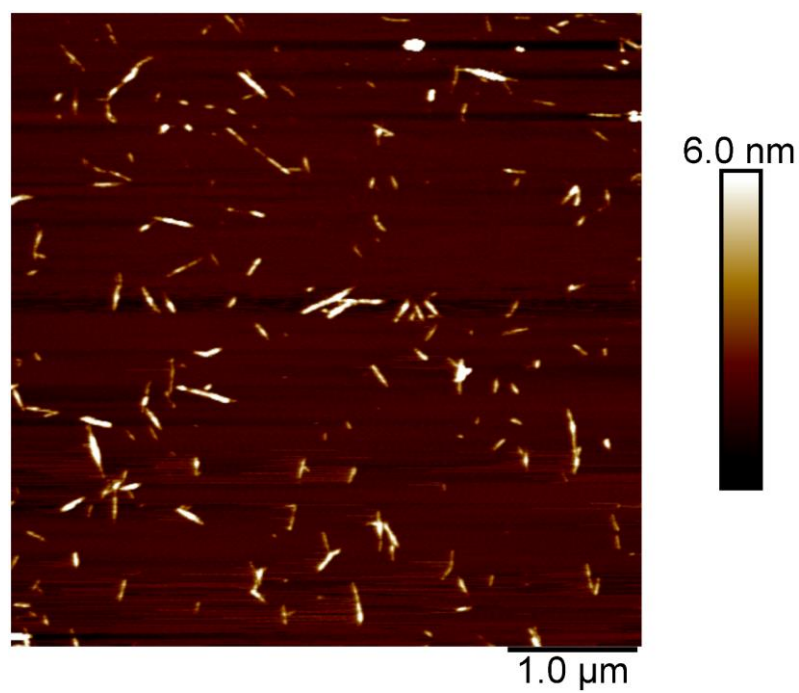
Obr. 17: Závislost absorbance disperze c-CNC na koncentraci CaCl₂ (mM), stanoveno při 270 nm.

7.1.3 Mikroskopie atomárních sil

Mikroskopické zobrazení celulósových nanokrystalů, provedené pomocí AFM je uvedeno na Obr. 18 a 19. Z obrázků je zřejmé, že v případě c-NCC připravené pomocí APS se jedná o podlouhlé tyčinkovité krystaly o délce cca 100–500 nm a šířce 20 nm, tedy s poměrně vysokým aspektním poměrem (poměr délky a šířky nanokrystalu). Literární studie ukazují, že typický průměr celulósových nanokrystalů leží v rozmezí 10 – 30 nm a jejich délka činí 50–500 nm. Tyto rozměry se mohou lišit v závislosti na rostlinném zdroji, ze kterého byly nanokrystaly připraveny [50]. Z tohoto srovnání vyplývá, že připravené krystaly c-NCC mají velikost, která leží v očekávaném intervalu a že postup použitý k jejich přípravě byl úspěšný.



Obr. 18: Mikroskopické zobrazení c-NCC pomocí AFM (1).



Obr. 19: Mikroskopické zobrazení c-NCC pomocí AFM (2).

7.2 Charakterizace emulzí

7.2.1 Velikost částic

Jak bylo uvedeno výše, emulze byly charakterizovány pomocí laserové difrakce na přístroji Mastersizer 3000, kdy výsledek měření byl průměrem ze tří stanovení.

Metodou laserové difrakce je možno stanovit distribuci a velikosti částic. Metoda je založena na interakci částic s laserovým paprskem, který na ně dopadá a tím se získá difrakční obrazec. Paprsek monochromatického světla prochází vzorkem, který je dispergován ve vhodném médiu a vlivem přítomných částic dochází k jeho difrakci (ohybu) pod úhlem, který je nepřímou úměrou jejich velikosti. Rozptýlené světlo detekuje detektor, který zaznamenává hodnoty představující difrakční obrazec. V dalším kroku pak dochází k převodu difrakčního obrazce do digitálního formátu a k převodu digitálního formátu difrakčního obrazce pomocí Fourierovy křivky na distribuční a kumulativní křivku, popisující velikost částic v daném vzorku [47]. Nevýhodou této metody je, že předpokládá kulovitý tvar částic. Pro nekulovité částice je stanoveno ekvivalentní rozdělení odpovídající kulovitým částicím. Velikost a distribuce částic stanovené laserovou difrakcí se pak mohou odlišovat od stanovení jinou metodou. Výhodou naopak je, že metoda je rychlá, reprodukovatelná a robustní.

7.2.1.1 Vliv pH disperzního prostředí na velikost částic

Analýza velikostí emulzních částic provedená ihned po přípravě emulzí je shrnuta v Tab. 7. Z tabulky je možné zaznamenat, že průměrná velikost částic, vyjádřená jako $D[4; 3]$ se pro emulze připravené v disperzním prostředí o pH 7 pohybovala v rozmezí od 1,73 do 9,98 μm . Snížením pH na hodnotu 4 nedošlo k významnému zvětšení částic, které pak vykazovaly velikosti v rozsahu 1,78-5,61 μm . Zvětšení rozměrů částic však bylo zaznamenáno při snížení pH disperzního prostředí na pH 2. Emulzní částice se pak nacházely v širokém intervalu velikostí, a to od 1,46 do 70,10 μm . Pro emulze se zvýšeným obsahem oleje O/V 50/50 byla stanovena průměrná velikost částic ($6,88 \pm 0,76$) μm a pro O/V 60/40 ($9,91 \pm 0,28$) μm . Tyto dvě emulze však byly připraveny pouze v disperzním prostředí o pH 7.

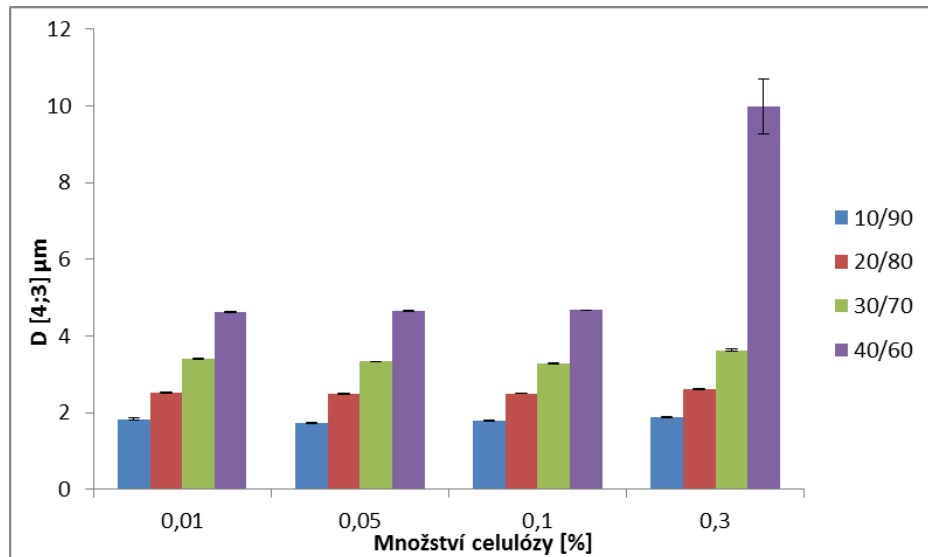
Tab. 7: Velikosti částic emulzí stabilizovaných připravenou celulózou stanovené v den přípravy. pH emulzí bylo 7, 4, 2 a poměry O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60.

Velikost částic pro pH 7 [μm]				
Poměr O/V	Množství celulózy [%]			
	0,01	0,05	0,1	0,3
10/90	1,83±0,02	1,73±0,02	1,79±0,01	1,88±0,01
20/80	2,52±0,02	2,49±0,01	2,50±0,00	2,62±0,01
30/70	3,41±0,02	3,33±0,01	3,28±0,01	3,63±0,02
40/60	4,62±0,01	4,65±0,02	4,67±0,01	9,98±0,72
Poměr O/V	Množství celulózy 0,01[%]			
50/50	6,88±0,76			
60/40	9,91±0,28			
Velikost částic pro pH 4 [μm]				
Poměr O/V	Množství celulózy [%]			
	0,01	0,05	0,1	0,3
10/90	2,07±0,16	1,78±0,10	1,83±0,05	1,78±0,08
20/80	3,26±0,10	2,51±0,08	2,61±0,06	2,32±0,06
30/70	4,30±0,07	3,32±0,04	3,67±0,07	3,04±0,05
40/60	5,61±0,07	4,71±0,07	4,63±0,07	4,12±0,05
Velikost částic pro pH 2 [μm]				
Poměr O/V	Množství celulózy [%]			
	0,01	0,05	0,1	0,3
10/90	6,83±0,01	7,89±0,01	1,46±0,01	3,05±0,09
20/80	6,13±0,01	2,83±0,01	5,01±0,56	67,20±9,28
30/70	9,64±0,06	3,96±0,11	22,20±7,68	70,10±10,88
40/60	15,80±1,17	5,51±0,01	3,55±1,79	67,00±10,45

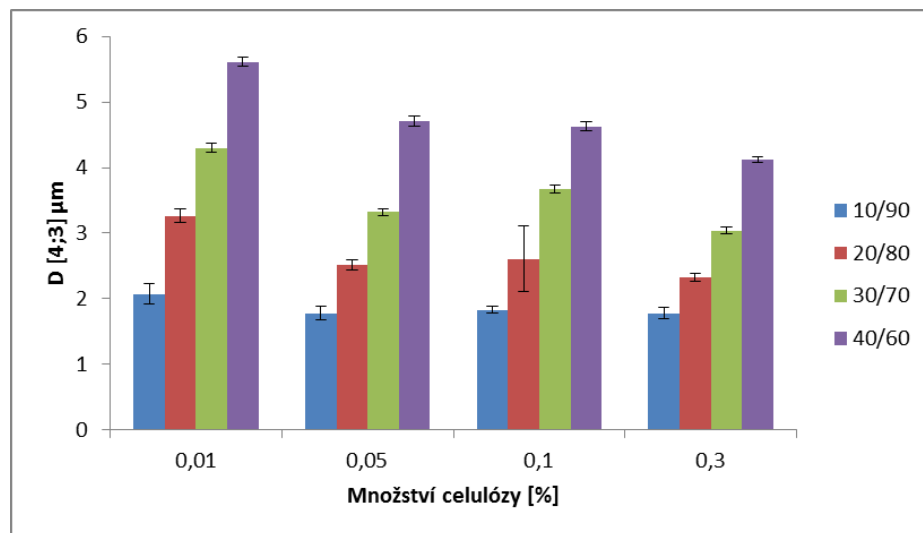
Výsledky studie zabývající se velikostí Pickeringových emulzí jsou shrnuty v grafické podobě na Obr. 20, 21 a 22. Na Obr. 20 jsou představeny emulze připravené při pH 7, které vykazují obecně konzistentní chování. Pro emulze obsahující všechna testovaná množství celulózy (0,01-0,3 %) v den přípravy platilo, že jejich částice byly malé a vykazovaly obdobné chování. Největší velikost částic činila v průměru (9,98±0,72) μm . Tato odlehlá hodnota byla naměřena u emulze O/V 40/60, obsahující 0,3 % celulózy.

Obrázek 21 představuje emulze, u nichž byla vodná fáze adjustována na pH 4. Naměřené hodnoty potvrzují konzistentní chování podobné emulzím připraveným při pH 7. Z Obr. 22 je patrné, že adjustace vodné fáze emulze na pH 2 způsobila růst velikosti částic. Tyto emulze vykazovaly odlišné chování od emulzí připravených s disperzní fází o pH 4 a 7. Emulze, které byly stabilizovány 0,01 % celulózou, obsahovaly při nejvyšší koncentraci ole-

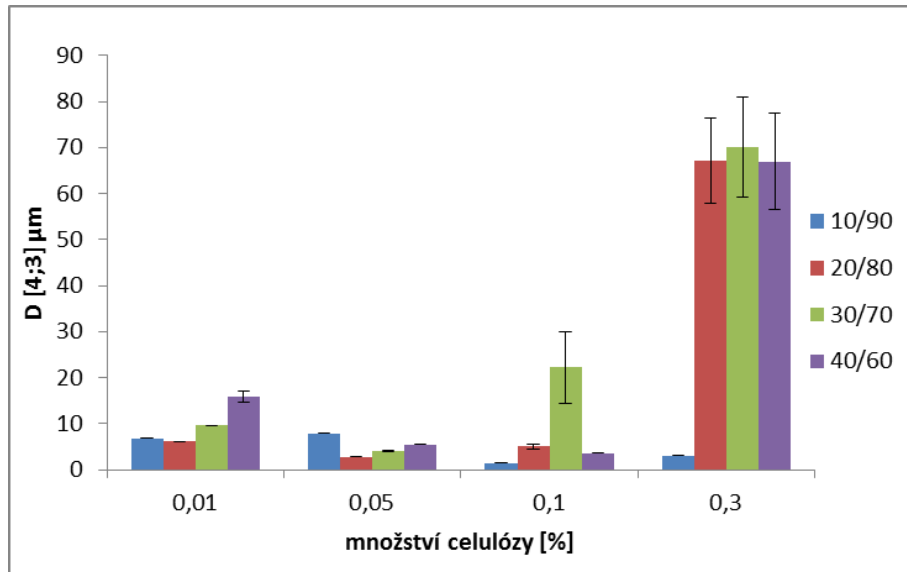
je částice o průměru ($15,80 \pm 1,17$) μm a emulze se stejným obsahem oleje a 0,3 % celulózy obsahovaly částice o průměrné velikosti ($67,00 \pm 10,45$) μm . Tyto výsledky dokazují významný vliv pH na velikost částic, který však nejde oddělit od vlivu množství oleje (viz dále).



Obr. 20: Emulze O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 7.

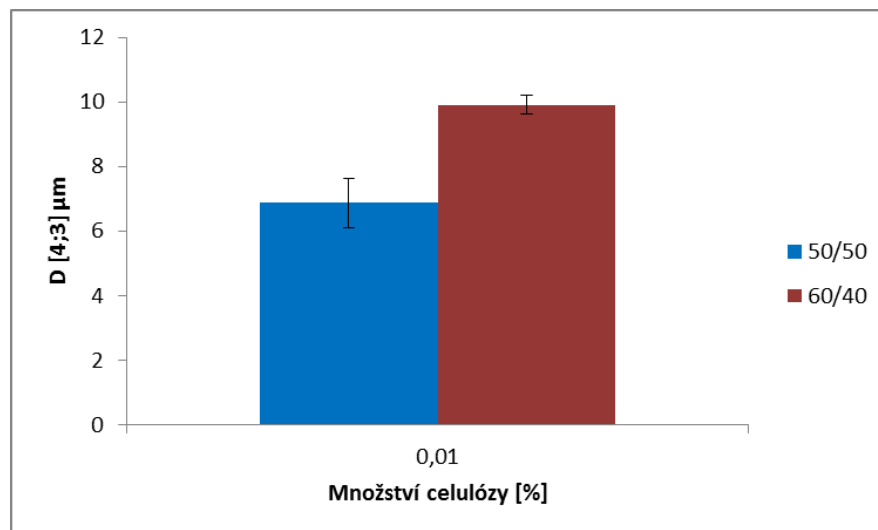


Obr. 21: Emulze O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 4.



Obr. 22: Emulze O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 2.

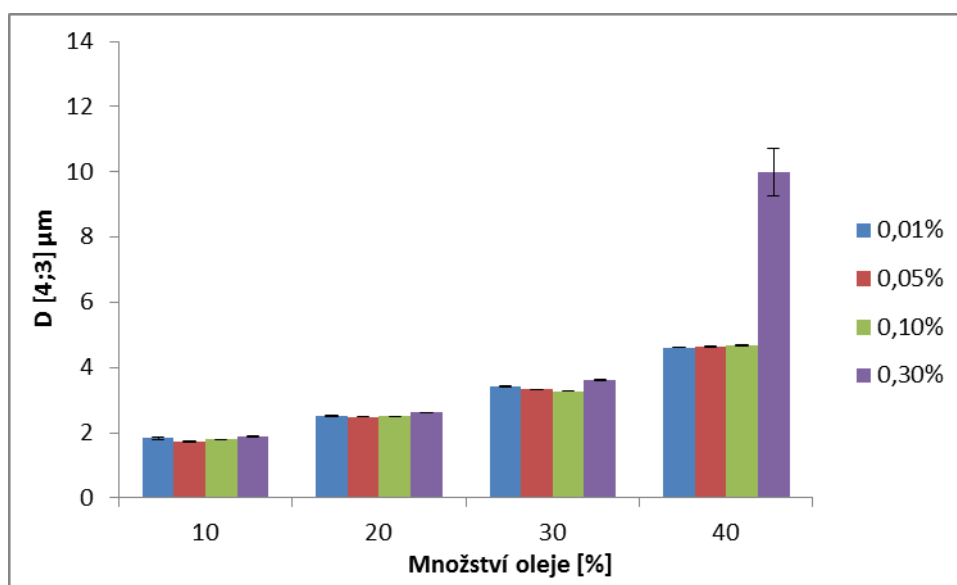
Obr. 23 znázorňuje chování emulzí s 0,01% celulórou a zvýšeným množstvím oleje, tedy emulze O/V 50/50 a 60/40 při nativním pH 7. V tomto případě se projevil trend zvyšující se velikosti částic s rostoucím množstvím olejové fáze.



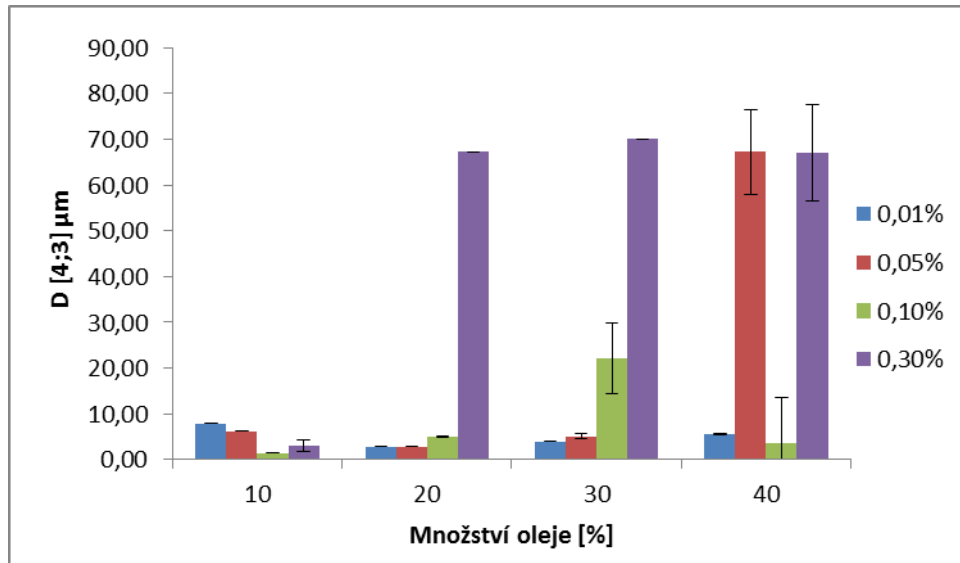
Obr. 23: Emulze se zvýšeným množstvím oleje O/V 50/50 a 60/40 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01 % při pH 7.

7.2.1.2 Vliv oleje na velikost částic

Z uvedených obrázků je možno odvodit obecný trend, který poukazuje na fakt, že se zvyšujícím se množstvím olejové fáze v emulzi, při konstantním množství celulózy a konstantním pH, velikost emulzních částic roste. Se zvyšujícím se množstvím oleje rostla velikost částic i v emulzích připravených s nativním pH 7. Tuto tendenci lze objasnit tím, že v emulzním systému nebylo při vyšším množství olejové fáze dostupné dostatečné množství celulóзовých nanokrystalů, které by byly schopny stabilizovat olejové částice. Podobné chování vykazovaly i emulze adjustované na pH 4. Rovněž v tomto případě je pozorovatelný vzrůst velikosti částic s rostoucím množstvím oleje v emulzi. Charakteristické chování obou těchto systémů je znázorněno na příkladu emulzí o pH 7 (Obr. 24). Emulze připravené v disperzním prostředí o pH 2, které ilustruje Obr. 25, tvořily výjimku. Závislost velikosti částic na množství přidaného oleje byla totiž komplikovanější. Z toho bylo možno usoudit, že emulgace použitého oleje byla problematická a výsledky měření velikosti částic nebyly tudíž konzistentní. Vliv množství oleje se pak nejvíce projeví při nízkém pH disperzní fáze a v systémech stabilizovaných 0,3 % celulózy.

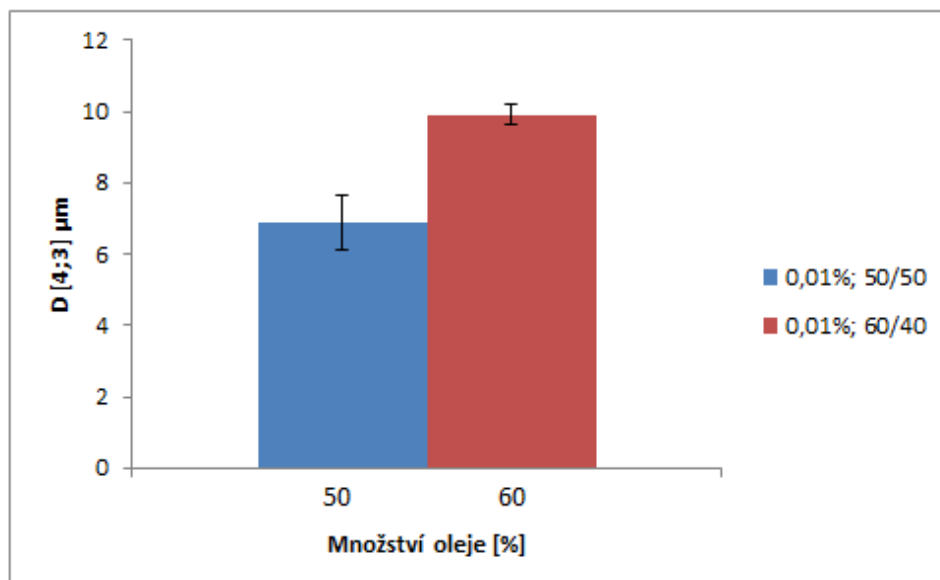


Obr. 24: Emulze stabilizované celulóząou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 7, obsah olejové fáze 10; 20; 30 a 40 %.



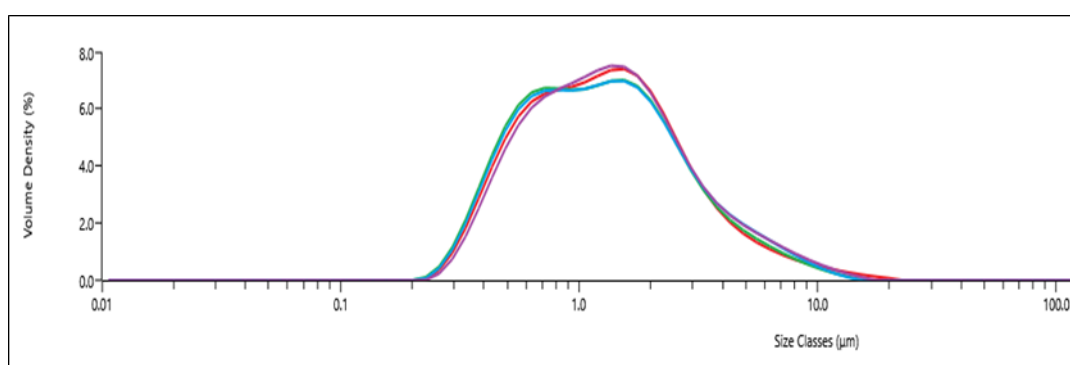
Obr. 25: Emulze stabilizované celulózu v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 2, obsah olejové fáze 10; 20; 30 a 40 %.

Nativní emulze stabilizované celulózu o nejnižší koncentraci 0,01 % a množstvím olejové fáze 50 a 60 % (Obr. 26) vykazovaly v den přípravy tendenci částic růst se vzrůstajícím množstvím oleje, což potvrzuje předešlé hypotézy.



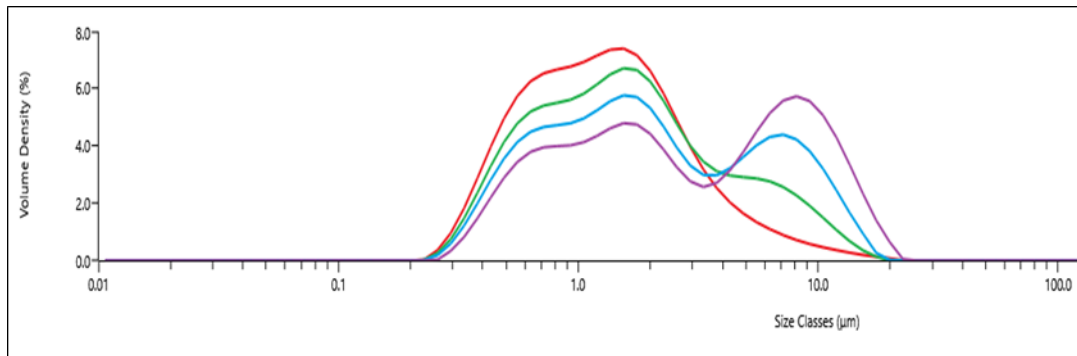
Obr. 26: Emulze stabilizované celulózu v koncentraci 0,01% při pH 7, obsah olejové fáze 50 a 60 %.

Emulze a jejich změny lze charakterizovat také pomocí distribučních křivek, které vystihují přítomnost uceleného množství částic, jež se nacházejí v daném vzorku. V této práci jsou příklady distribučních křivek studovaných emulzí uvedeny na Obr. 27 až 31. Obr. 27 zobrazuje distribuci částic v emulzích připravených při nativním pH 7 s nejnižším množstvím olejové fáze (10 %) v závislosti na množství c-NCC, kdy lze pozorovat téměř uniformní chování všech připravených vzorků. Distribuční křivka zaznamenaná pro emulze stabilizované 0,05 % a 0,1 % c-NCC vykazuje dokonce totožný průběh.

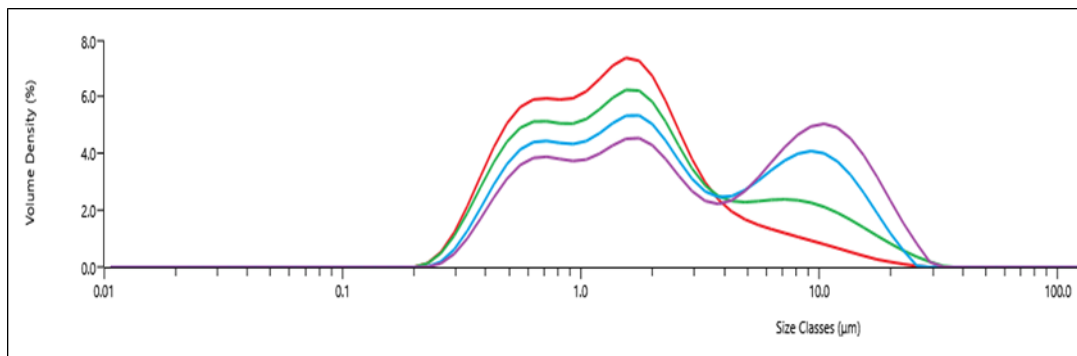


Obr. 27: Změna distribuce částic stabilizovaných c-NCC se vzrůstající koncentrací c-NCC, pH 7, poměr O/V 10/90. Koncentrace c-NCC 0,01 % červená, 0,05 % zelená, 0,1 % modrá a 0,3 % fialová křivka.

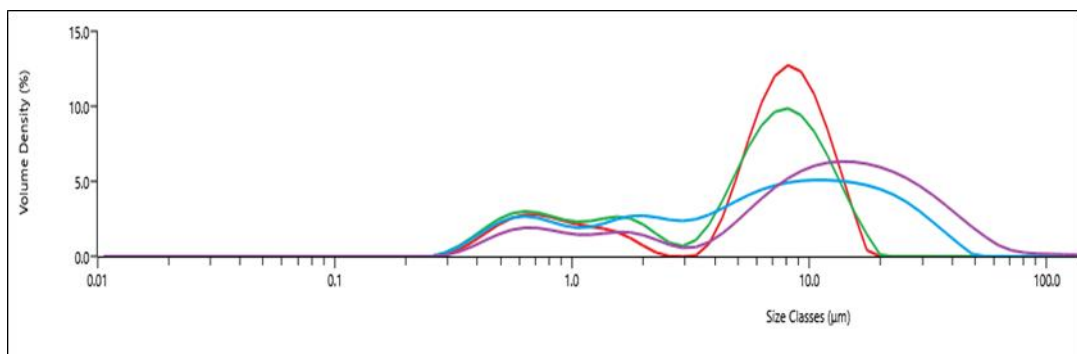
Na Obr. 28 lze sledovat vliv vzrůstajícího množství oleje na distribuci částic v emulzním systému při nativním pH 7, který byl stabilizován 0,01 % celulózy. Zvyšující se podíl olejové fáze zde způsobuje viditelný růst množství emulzních částic s větší velikostí a distribuce je více bimodální. To značí přítomnost dvou populací částic o rozdílných velikostech. Podobnost se jmenovanými emulzemi je možno sledovat i u emulzních systémů adjustovaných na pH 4, zachycených na Obr. 29. Při zachování stejných podmínek, tedy použití stejného množství oleje a množství c-NCC, lze pozorovat obdobné chování s charakteristickým bimodálním projevem distribuce částic. Změny distribuce velikosti částic jsou odlišné v případě emulzí s pH adjustovaným na hodnotu 2 (Obr. 30), kdy při zachování srovnatelných podmínek jako u emulzí předchozích lze vidět rozdílnost při všech koncentracích olejové fáze již od počátku záznamu distribuční křivky. Potvrzuje se tedy hypotéza, která předpokládá, že chování analyzovaných emulzních systémů je ovlivněno z velké části rozdílným poměrem olejové fáze a pH hodnotou disperzní fáze.



Obr. 28: Změna distribuce částic se vzrůstající koncentrací oleje. pH disperzní fáze 7, množství c-NCC 0,01 %. Poměr O/V 10/90 červená, 20/80 zelená, 30/70 modrá a 40/60 fialová distribuční křivka.

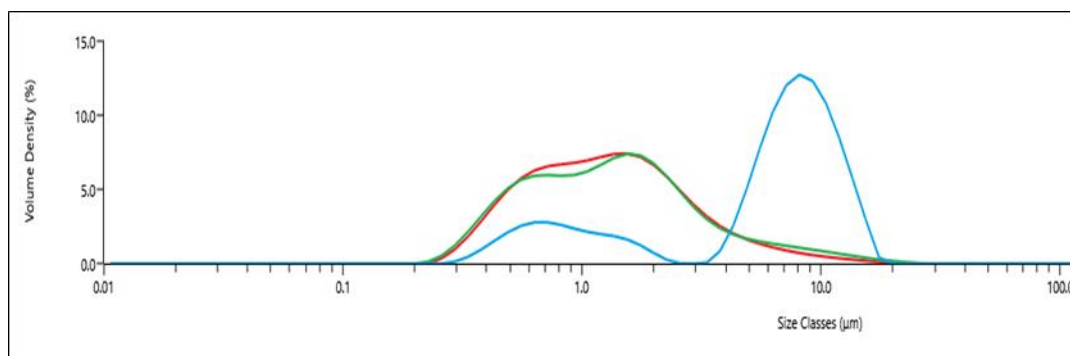


Obr. 29: Změna distribuce částic se vzrůstající koncentrací oleje. pH disperzní fáze 4, množství c-NCC 0,01 %. Poměr O/V 10/90 červená, 20/80 zelená, 30/70 modrá a 40/60 fialová distribuční křivka.



Obr. 30: Změna distribuce částic se vzrůstající koncentrací oleje. pH disperzní fáze 2, množství c-NCC 0,01 %. Poměr O/V 10/90 červená, 20/80 zelená, 30/70 modrá a 40/60 fialová distribuční křivka.

Obr. 31 pak zachycuje vliv pH na velikost částic při aplikaci stejného množství celulózy o koncentraci 0,01 %. Potvrzují se numerické výsledky experimentu, kdy chování emulzí adjustovaných na hodnoty pH 7 a 4 je obdobné a emulze s nejnižším pH 2 se výrazně odlišují. Jejich částice jsou výrazně větší a distribuce těchto částic je bimodální.



Obr. 31: Změna distribuce částic při rozdílném pH. Poměr O/V 10/90, množství c-NCC 0,01 %. pH 7 červená, pH 4 zelená a pH 2 modrá distribuční křivka.

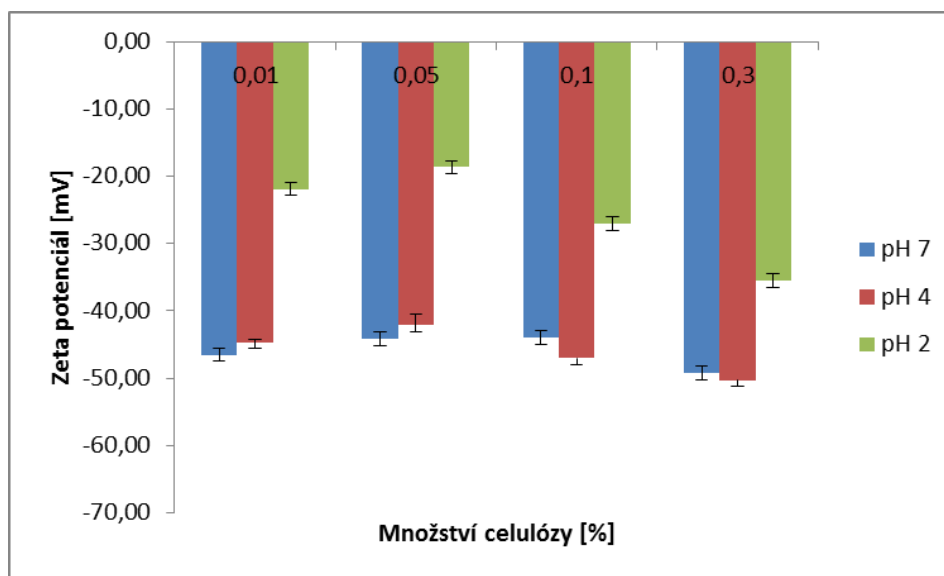
7.2.2 ζ potenciál

Velikost ζ potenciálu poskytuje informace o stabilitě koloidních systémů, tedy i emulzí. Pokud všechny částice v emulzi vykazují vysoký záporný nebo kladný ζ potenciál, pak se budou navzájem odpuzovat a nebude docházet k nestabilitám, jako je koalescence, flokulace či agregace. Jestliže je však hodnota ζ potenciálu nízká, pak se výše uvedené destabilizační jevy projeví a částice se budou shlukovat a flokulovat.

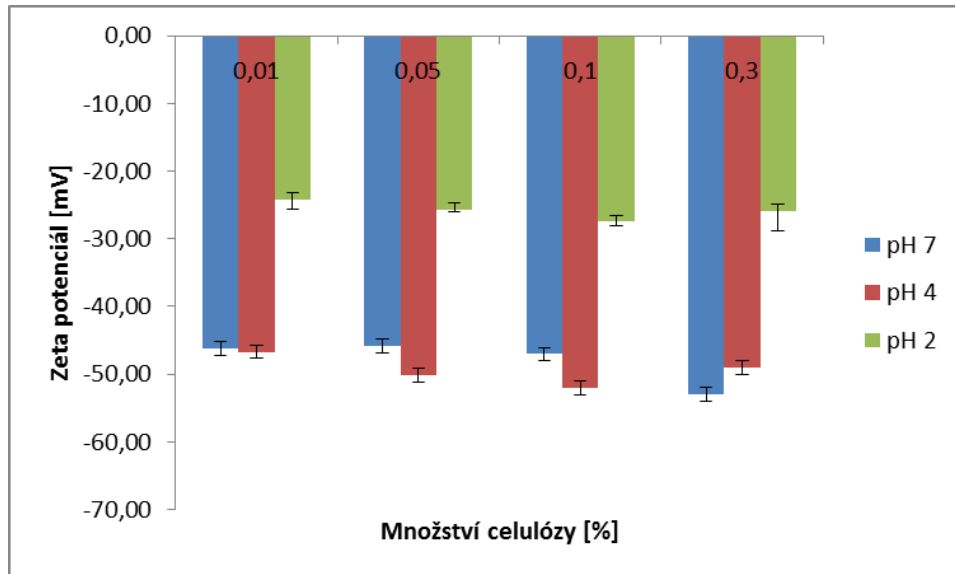
Obecně uváděná hranice mezi stabilní a nestabilní emulzí je +30 mV nebo -30 mV. Částice s potenciálem ζ kladnějším než +30 mV nebo zápornějším než -30 mV lze považovat za stabilní. Hodnota ζ potenciálu v rozmezí -30 a +30 mV pak může znamenat určitý problém se stabilitou emulzí [49, s. 4]. Nejdůležitějším faktorem, který ovlivňuje ζ potenciál je pH.

Na Obr. 32 až 35 jsou znázorněny hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených v přítomnosti různého množství celulózy pro jednotlivé poměry O/V (10/90; 20/80; 30/70 a 40/60) v závislosti na rozdílném pH 7, 4 a 2. Z výsledků měření vyplývá, že studované emulze při pH 7 vykazovaly konstantní a stabilní chování bez ohledu na množství celulózy a množství oleje v systému. Hodnota ζ potenciálu při tomto pH činila průměrně $(-47,55 \pm 0,35)$ mV. Pro emulze s pH 4 rovněž nebyly zaznamenány velké rozdíly v hodnotách ζ potenciálu,

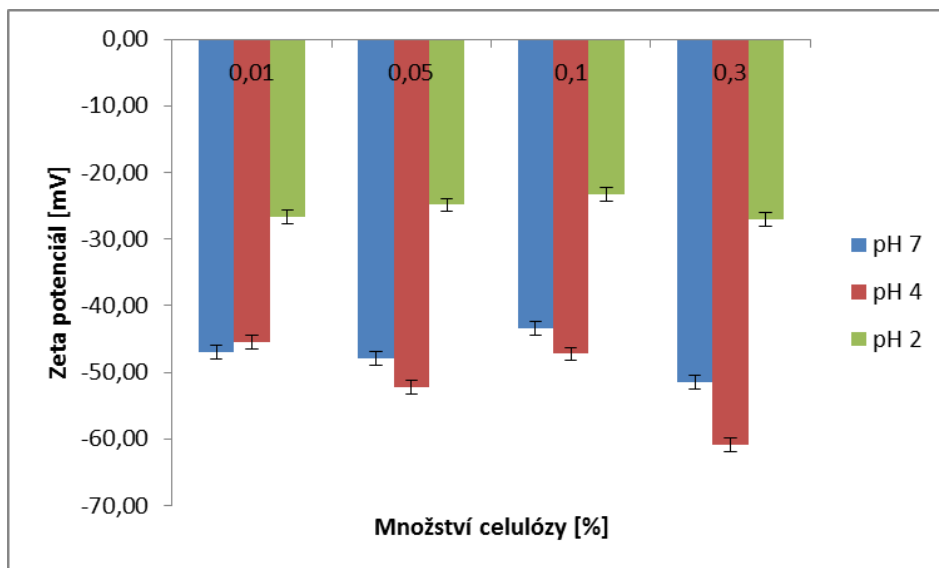
jeho průměrná hodnota byla obdobná jako hodnota při pH 7 a pohybovala se v rozmezí $(-48,98 \pm 0,52)$ mV. Výjimku tvořily emulze s poměrem O/V 30/70 a 40/60 připravené v přítomnosti 0,3 % celulózy, kde ζ potenciál nabýval hodnot kolem -60 mV. Při obou těchto pH se tedy jedná o stabilní emulzní systémy, jejichž ζ potenciál je nižší než uváděná hraniční hodnota -30 mV. Pro emulze s disperzním prostředím o pH 2 platilo, že jejich ζ potenciál se lišil od emulzí s pH adjustovaným na hodnotu 4 a 7. Průměrná hodnota ζ potenciálu pro tyto emulze činila $(-26,20 \pm 1,01)$ mV, což naznačuje, že u tohoto systému lze očekávat větší nestabilitu. Co se týká chování emulzí obsahujících různé množství celulózy, z uvedených obrázků je zřejmé, že se zvyšujícím množstvím celulózy nedochází k významnému ovlivnění ζ potenciálu s výjimkou výše uvedených systémů s obsahem 0,3 % celulóзовých nanokrystalů.



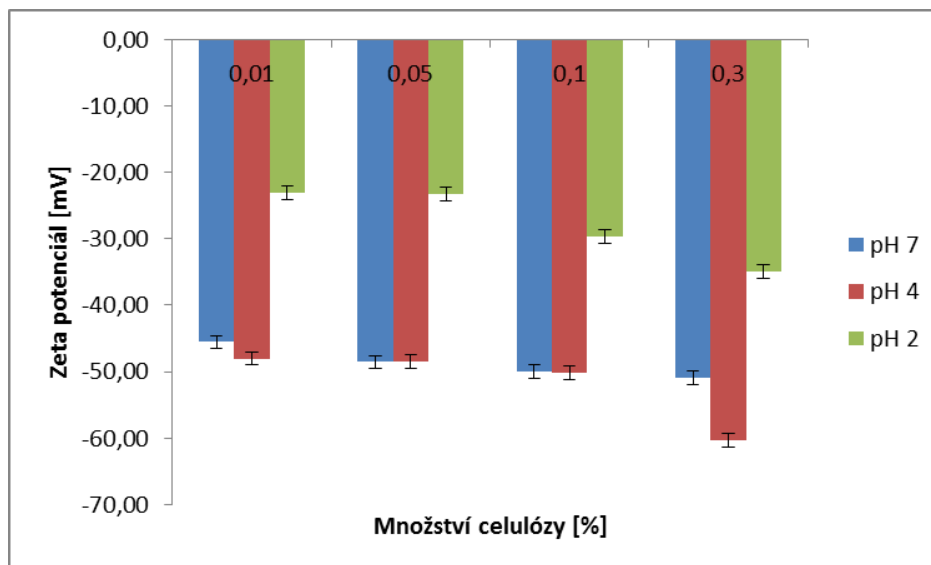
Obr. 32: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 10/90.



Obr. 33: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 20/80.

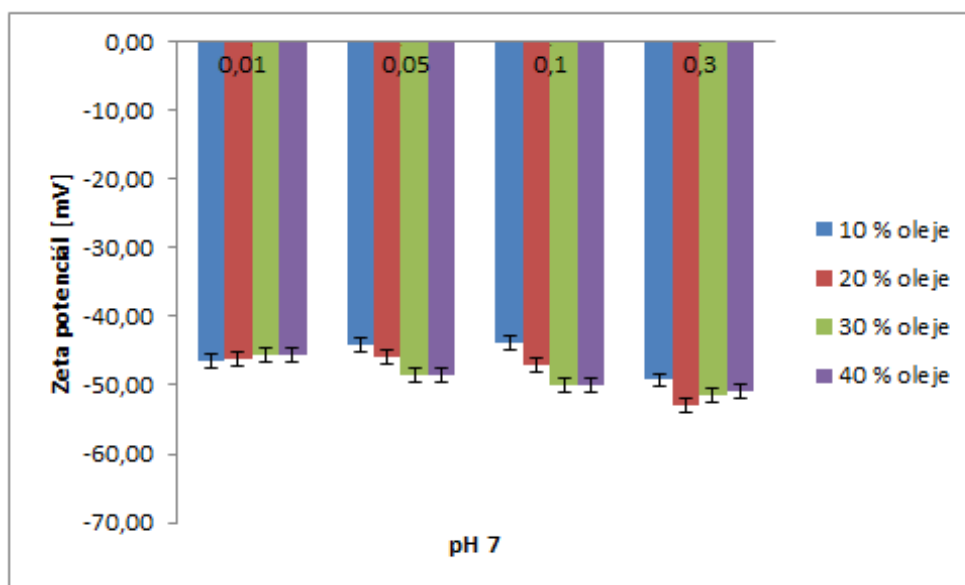


Obr. 34: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 30/70.

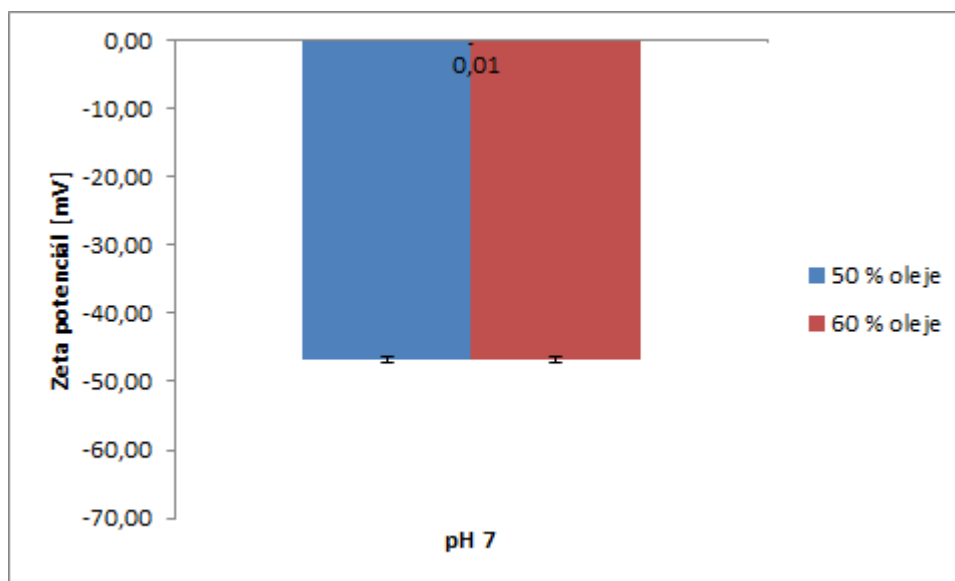


Obr. 35: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 40/60.

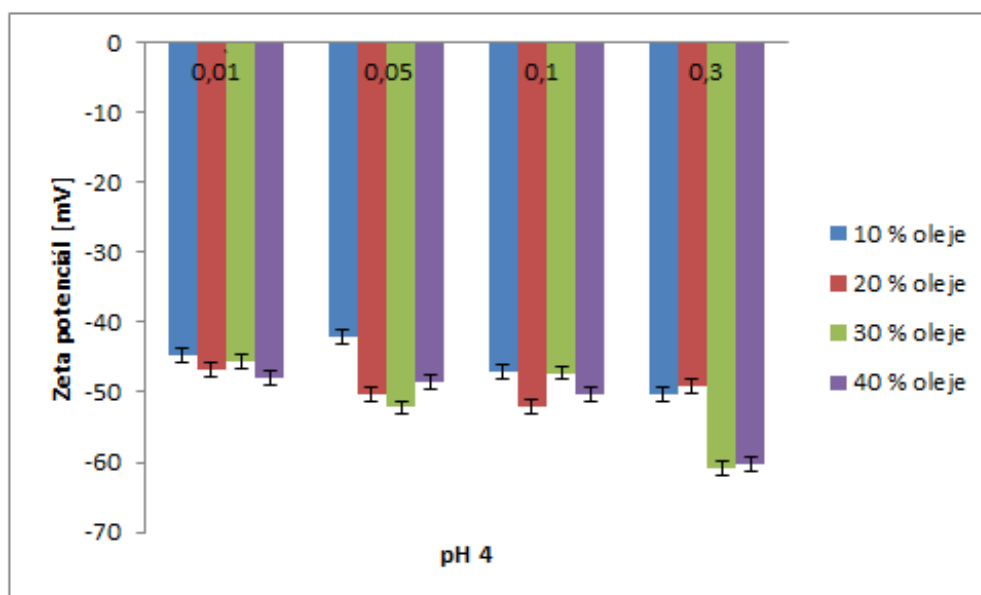
Obrázek 36 ilustruje chování emulzí s disperzní fází adjustovanou na pH 7 a hodnoty ζ potenciálu v závislosti na množství oleje při různém obsahu celulózy. I z tohoto obrázku je zřejmé, že emulze adjustované na hodnotu pH 7 a také 4 (Obr. 38) vykazují obdobné chování. Obrázky však indikují, že mezi obsahem oleje v emulzi a ζ potenciálem není možné stanovit přímou souvislost. Např. u emulzí s pH pro koncentrace celulózy 0,05 % a vyšší lze pozorovat mírný pokles ζ potenciálu s rostoucím množstvím oleje. U emulzí s množstvím oleje 50 a 60 % (Obr. 37) je pak zřejmé další snížení ζ potenciálu oproti emulzím s množstvím oleje nižším při zachování stejného pH a obsahu c-NCC. Pro emulze s pH 2 (Obr. 39) byla situace výrazně odlišná a hodnoty ζ potenciálu se všechny pohybovaly do hodnoty -30 mV. Jediná výjimka byla patrná pouze u emulzí s množstvím oleje 10 % a 40 % a současně s nejvyšším množstvím celulózy, kde hodnota potenciálu přesáhla hranici -30 mV.



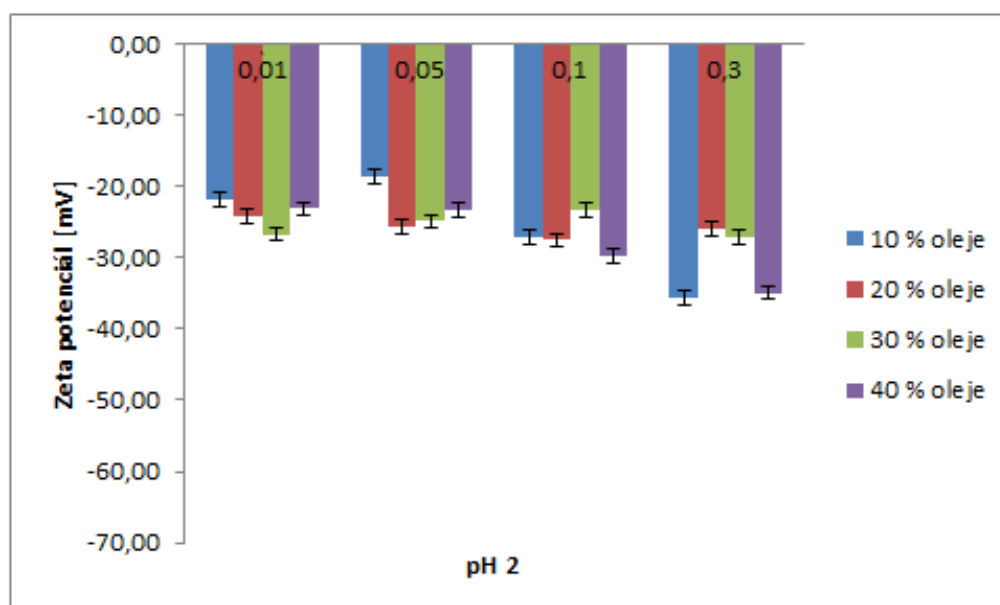
Obr. 36: Závislost ζ potenciálu na množství oleje, pH 7 a různý obsah c-NCC.



Obr. 37: ζ potenciál stanovený pro emulze s 50 a 60 % oleje při pH 7.



Obr. 38: Závislost ζ potenciálu na množství oleje, pH 4 a různý obsah c-NCC.

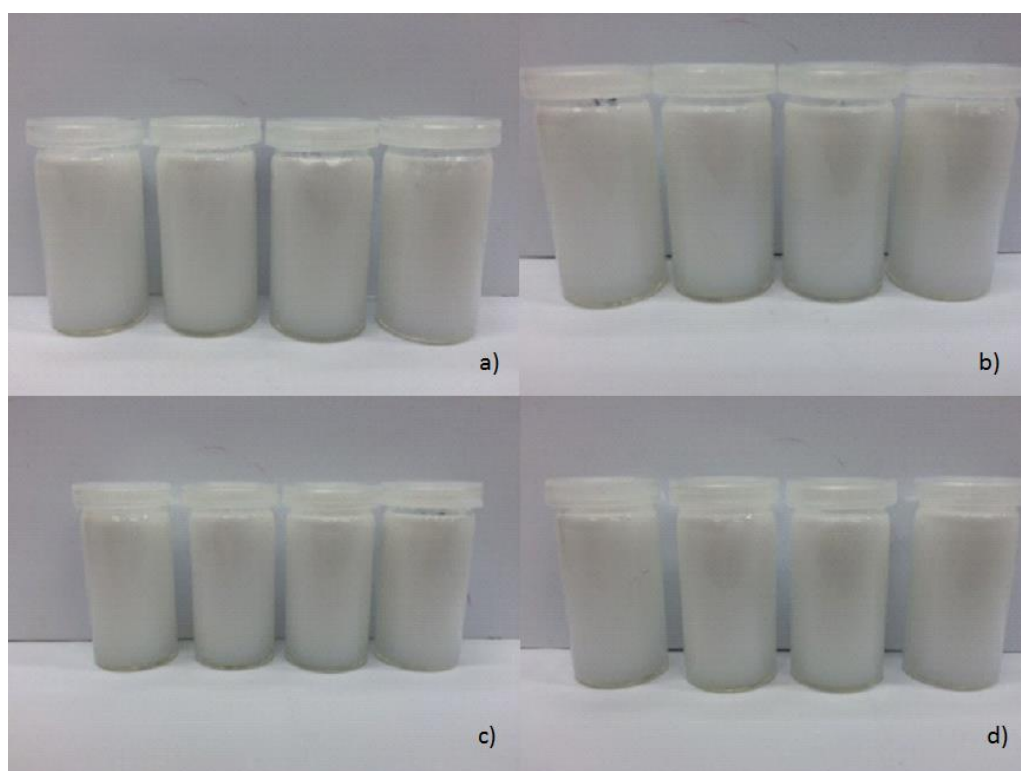


Obr. 39: Závislost ζ potenciálu na množství oleje, pH 2 a různý obsah c-NCC.

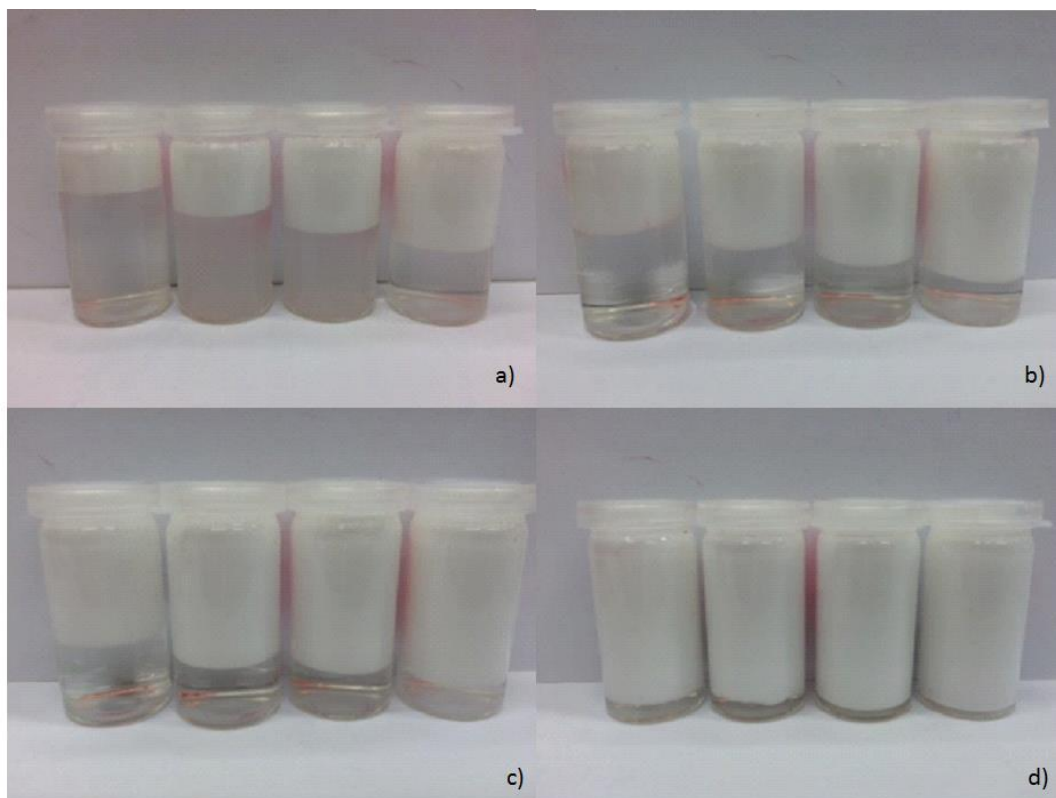
7.2.3 Vizuální hodnocení emulzí

Cílem této části práce bylo hodnocení celkového vzhledu emulzních systémů pomocí vizuálního pozorování (Obr. 40 až 42). Každý z těchto obrázků je rozdělen do čtyř sekcí a) až d) podle vzrůstající koncentrace c-NCC (0,01 %; 0,05 %; 0,1 % a 0,3 %). Dále jsou

v každé z těchto sekcí zobrazeny čtyři skleněné vialky s objemem jednotlivých emulzí, kde v každé z vialek je obsaženo vzrůstající množství olejové fáze (10 %; 20 %; 30 % a 40 %). Všechny emulze jsou hodnoceny sedmý den po přípravě. Kvalita fotografií na obrázcích bohužel nedovoluje podrobné rozlišení drobné vrstvy krémování a případně vrstvy separovaného oleje, které byly viditelné jen po pečlivém vizuálním hodnocení emulzí. Obrázek 40 znázorňuje typické chování emulzí s disperzní fází o pH 7. Z obrázku není patrná separace jednotlivých fází a emulze vykazují soudružnost a homogenitu. Podobně se chovaly i emulze adjustované na pH 4, u kterých však bylo při podrobnějším pozorování možno odhadnout větší sklon k separaci jednotlivých fází. Vzhledem k tomu, že tato separace nebyla dobře viditelná na fotografii, obrázek není prezentován. Odlišná stabilita a chování emulzí s pH adjustovaným na hodnotu 2 byly snadno viditelné pouhým okem. Byla zaznamenána výrazná separace vrstvy séra od zbylé emulzní a olejové fáze. Při tomto pH je velmi dobře viditelný vliv množství celulózy a vliv množství oleje na stabilitu a fázovou separaci probíhající v emulzích. Nejmenší separace fází byla pozorována u emulzí s obsahem 0,3 % celulózy a nejvyšším obsahem oleje 40 %.

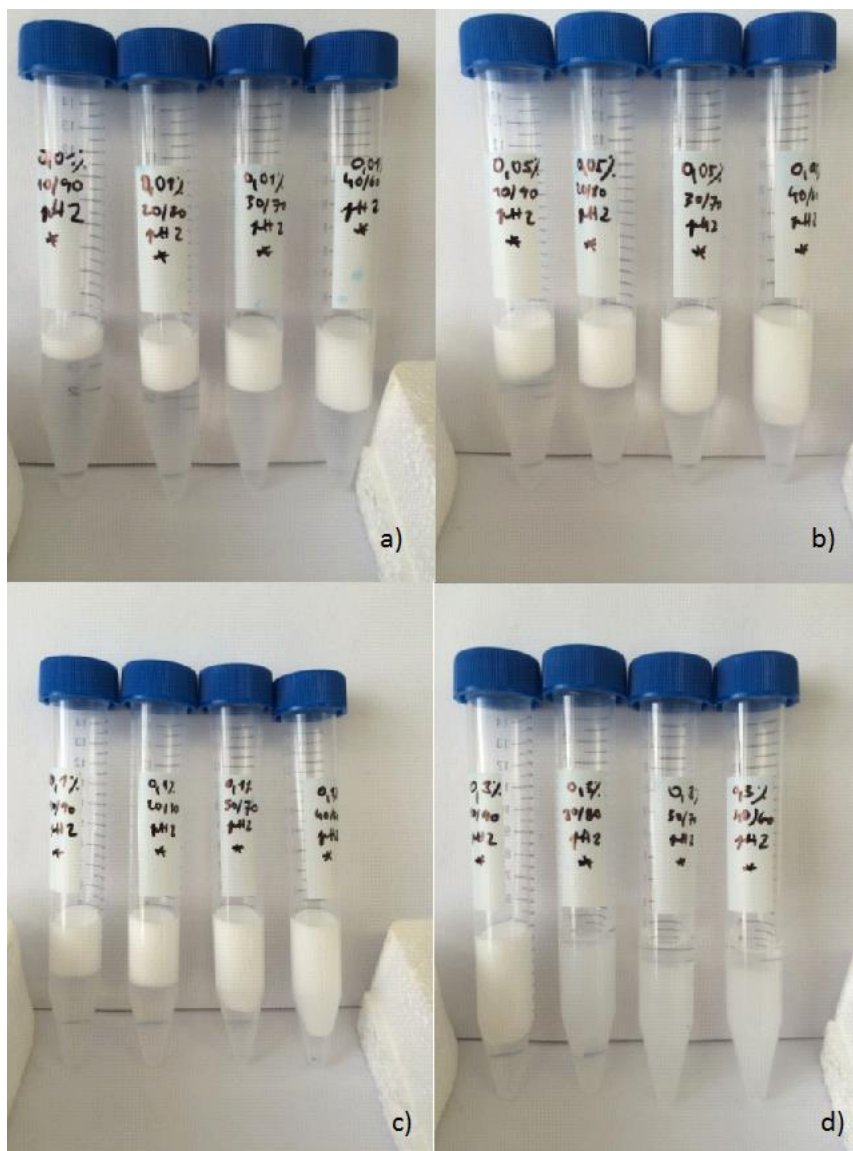


Obr. 40: Emulzí v prostředí o pH 7. Koncentrace c-NCC: a) 0,01 %; b) 0,05 %; c) 0,1 %; d) 0,3 %. Poměr O/V vždy zleva: 10/90; 20/80; 30/70; 40/60.



Obr. 41: Emulze v prostředí o pH 2. Koncentrace c-NCC: a) 0,01 %; b) 0,05 %; c) 0,1 %; d) 0,3 %. Poměr O/V vždy zleva: 10/90; 20/80; 30/70; 40/60.

Jedním ze způsobů, jak hodnotit stabilitu emulze je její centrifugace. Tato technika se používá s cílem urychlit procesy sedimentace nebo krémování v krátkém čase a napomáhá tak lepšímu odhadu stability připravovaných formulací. Vzhled emulzí byl hodnocen po dvouminutové centrifugaci při 750 rpm. Vizuální hodnocení emulzí s pH disperzní fáze 2, podrobených centrifugaci, je uvedeno na Obr. 42. Je zde zaznamenána výrazná separace fází, která je důsledkem centrifugační zátěže. Z obrázku je rovněž zřejmé, že v emulzích dochází k rozpadu fází a na povrchu vzorků je zřetelná přítomnost olejové fáze. K jevu, který je označován jako „oiling-off“, čili přítomnosti olejové fáze z rozpadlých emulzí docházelo především u vzorků s nejvyšším množstvím celulózy 0,3 % a obsahem oleje vyšším než 20 %. Tato skutečnost ukazuje na odlišné chování takovýchto systémů ve srovnání s emulzemi připravenými s disperzní fází o vyšším pH (7, 4), které byly po centrifugaci relativně stabilní a jejichž vzhled proto není v práci představen.



Obr. 42: Emulze v prostředí o pH 2 po centrifugaci. Koncentrace c-NCC: a) 0,01 %; b) 0,05 %; c) 0,1 %; d) 0,3 %. Poměr O/V vždy zleva: 10/90; 20/80; 30/70; 40/60.

7.2.4 Stabilita emulzí

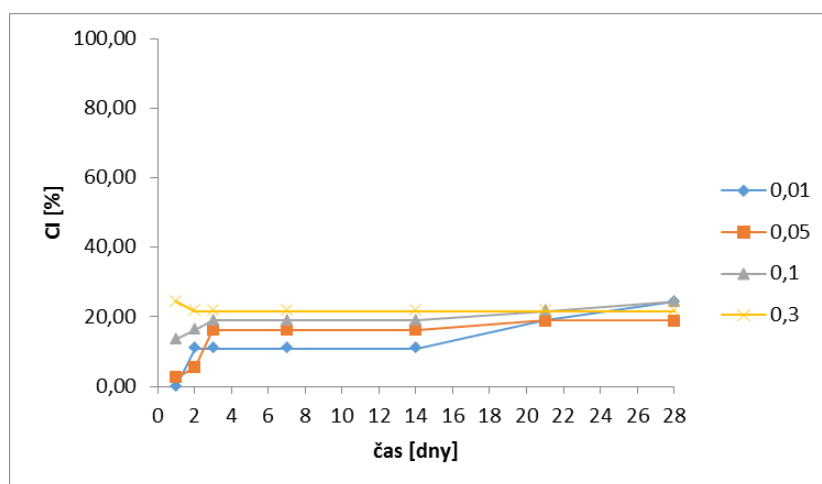
7.2.4.1 Stabilita necentrifugovaných emulzí

Stabilita emulzí byla hodnocena pomocí indexu emulzní stability (EI) (Rov. 2) a indexu krémování (CI) (Rov 3). Pro jejich výpočet byly potřebné hodnoty zaznamenány pomocí vizuálního pozorování emulzí ve skleněných vialkách, ve kterých probíhala jejich příprava. Pro stanovení EI byla měřena výška emulzní fáze a celková výška emulze (součet výšek vrstvy olejové, emulzní a vrstvy séra) v (mm). Pro stanovení CI byla měřena výška vrstvy krémování a celková výška emulze. Měření probíhalo vždy v den přípravy a poté i během

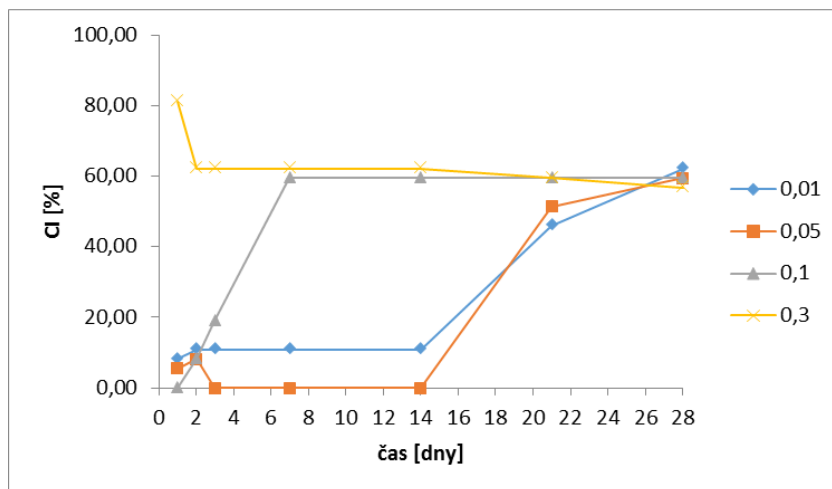
skladování ve stanovených časových intervalech. Emulze byly skladovány v chladničce, při teplotě 4 – 8 °C. Analýza vzorků byla v některých případech komplikovaná, poněvadž jednotlivé fáze, zejména při vyšší koncentraci c-NCC, byly pouhým okem těžko rozlišitelné. Emulze s nižším obsahem celulózy a nižším pH vykazovaly větší transparentnost a hranice mezi jednotlivými vrstvami byly mnohem patrnější. Naopak emulze s vyšším množstvím celulózy a s pH nativním se jevily jako „kompaktnější“ pouze s mírným náznakem hranic mezi jednotlivými vrstvami.

V této části práce je zhodnocena a srovnána stabilita emulzí s poměrem O/V 10/90 a 40/60 připravených s rozdílnými obsahy c-NCC v rozmezí (0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %). Tyto emulze byly zvoleny pro prezentaci jako systémy s nejvyšším a nejnižším použitým množstvím olejové fáze. Všechny emulze, které byly stabilizované pomocí c-NCC v prostředí nativního pH 7 byly v den přípravy stabilní. Během sledování stability však bylo zjištěno, že v nich probíhalo krémování, a proto byl u nich stanoven index krémování CI. Závislost CI na době skladování emulze je znázorněna na Obr. 43. Tento obrázek ilustruje, že u těchto emulzí zůstal index krémování po dobu sledování téměř konstantní.

Větší množství olejové fáze vedlo k nápadnějšímu růstu CI, což je patrné na Obr. 44. U emulzí s vyšším množstvím celulózy docházelo ke krémování dříve, v podstatě již během prvních dnů pozorování. Při nižších koncentracích celulózy se krémování neprojevovalo buď vůbec, nebo až po 14 dnech sledování, kdy během následujících dnů došlo k vzrůstu CI, který dosáhl hodnoty srovnatelné s CI emulzí připravených při vyšších koncentracích celulózy.

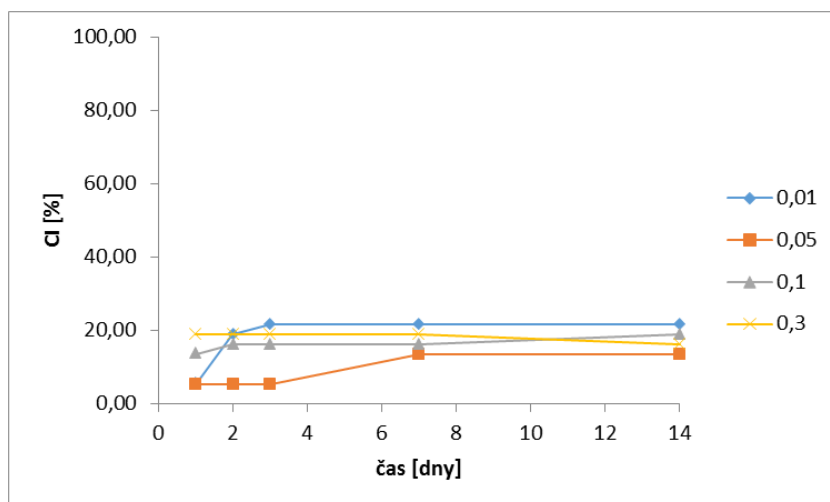


Obr. 43: Index krémování (CI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.

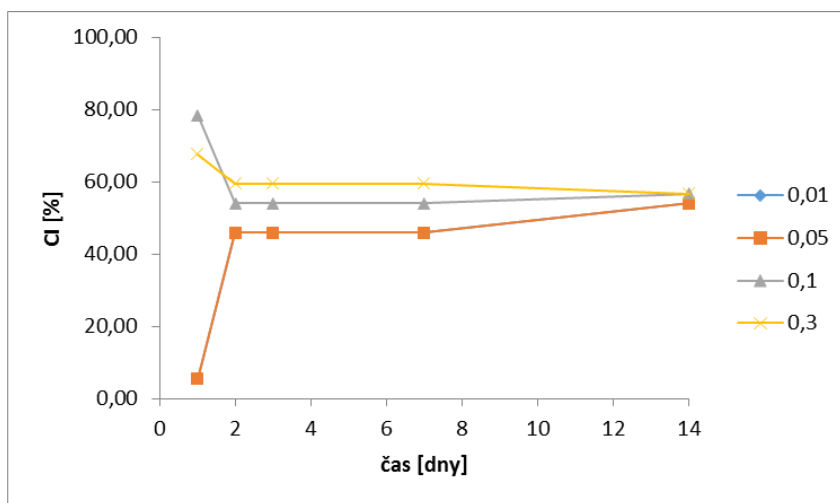


Obr. 44: Index krémování (CI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.

Na obrázcích 45 a 46 je znázorněno krémování emulzí s adjustovaným pH 4, kdy se projeví rozdíly především u vzorků připravených s rozdílným množstvím olejové fáze. Výraznější krémování bylo pozorováno u vzorků s vyšším množstvím oleje. Například emulze s 0,1 % c-NCC a 10 % oleje měla hodnotu CI blízko 20 % v průběhu celého experimentu, avšak stejná emulze s nejvyšším testovaným množstvím oleje 40 % vykazovala již od počátku sledování stability relativně vysoké hodnoty CI. Zajímavým faktem je, že při této koncentraci oleje bylo pozorováno totožné chování emulzí stabilizovaných 0,01 % a 0,05 % c-NCC.



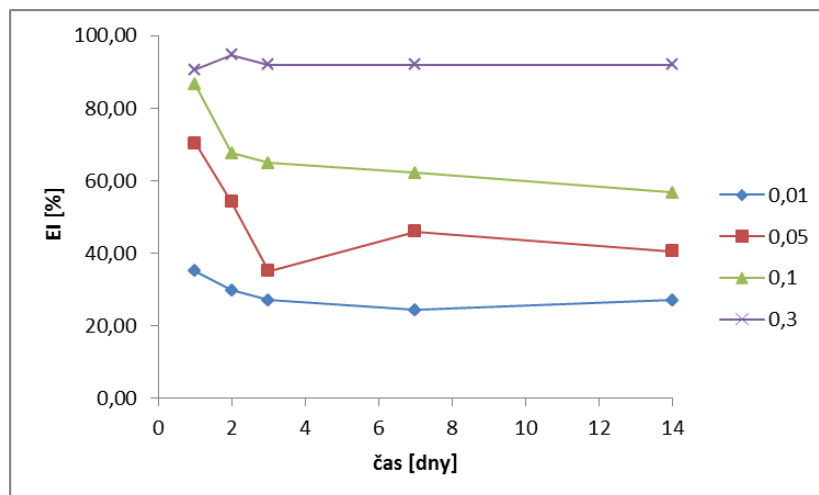
Obr. 45: Index krémování (CI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.



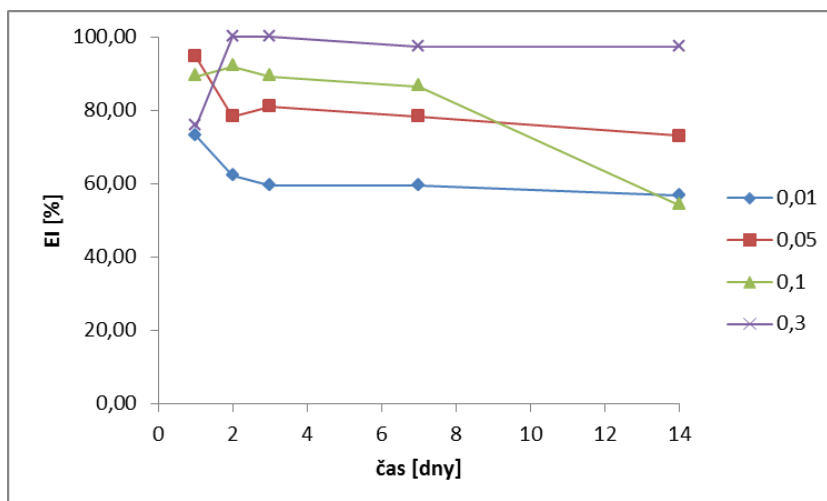
Obr. 46: Index krémování (CI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.

Index stability EI pro emulze s pH 7 a 4 nebyl stanoven, protože u nich během sledované doby skladování nedošlo k oddělení emulzní fáze a séra.

U emulzí adjustovaných na pH 2 (Obr. 47 a 48) byla situace zcela jiná. U těchto vzorků naopak krémování nenastalo vůbec. Došlo totiž k oddělení emulzní fáze a séra již v den jejich přípravy, a to nezávisle na množství celulózy či olejové fáze ve vzorku. Z tohoto důvodu je chování emulzí v tomto případě popsáno indexem emulzní stability EI. Jako nejstabilnější se projevovaly emulze s 0,3 % celulózy, které měly vysoké, konstantní hodnoty EI po čas celého měření. Nejnižší hodnoty EI pak vykazovaly v obou případech vzorky s 0,01 % celulózy v emulzi. Současně je zřejmé, že emulze s vyšším množstvím oleje (40 %) a nižším obsahem celulózy (0,01 a 0,05 %) jsou méně stabilní, než emulze, u nichž obsah oleje činil 10 %. Toto chování je zároveň ilustrováno na Obr. 42.



Obr. 47: Index stability (EI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2.



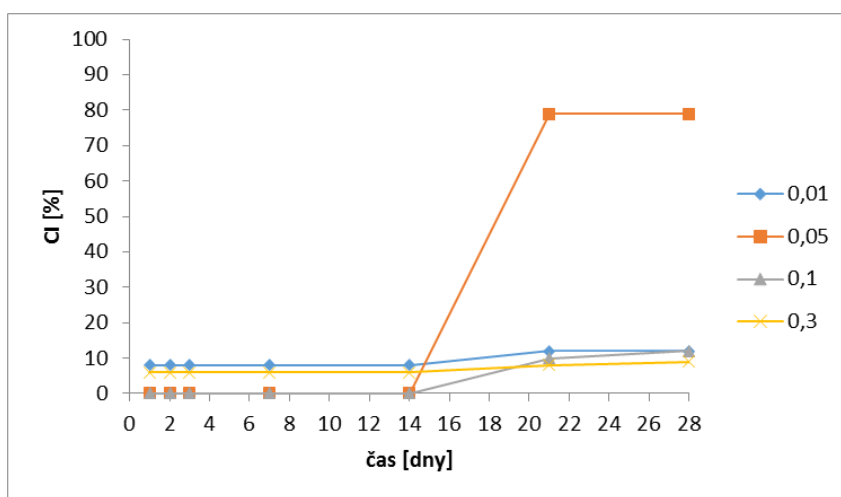
Obr. 48: Index stability (EI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2.

U emulzí, které nebyly před skladováním podrobeny centrifugaci, nedošlo během celého období sledování stability k jejich rozpadu. To znamená, že na povrchu emulze se neobjevila olejová fáze.

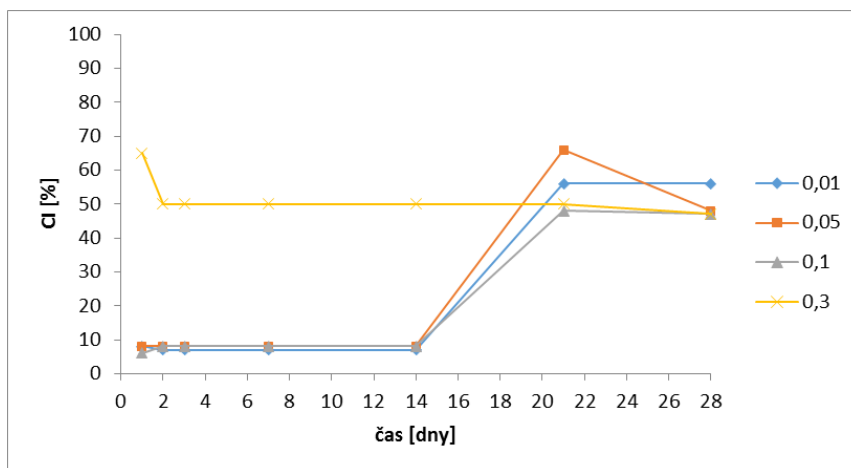
7.2.4.2 Stabilita emulzí po centrifugaci

Na obrázku 49 je ilustrována centrifugační stabilita emulzí s poměrem O/V 10/90 a pH disperzní fáze 7 s rozdílnými obsahy c-NCC (0,01 %; 0,05 %; 0,1 % a 0,3 %). Obrázek 50 pak představuje chování obdobných emulzních systémů s poměrem O/V 40/60. Stabilita

byla hodnocena po dvouminutové centrifugaci při 750 rpm. Obdobně jako u emulze, které nebyly podrobeny centrifugaci i zde byl pro systémy s disperzním prostředím o pH 7 stanoven index krémování CI. Z obrázků je zřejmé, že u emulze O/V 10/90 se krémování neměnilo při všech koncentracích c-NCC po dobu 14 dnů. Od tohoto dne však překvapivě došlo k růstu CI u emulzí s 0,05% koncentrací c-NCC a jeho hodnoty ležely v blízkosti 80 %. Ostatní emulze vykazovaly dostatečnou stabilitu po celou dobu sledování (28 dnů). Pro toto výjimečné chování není jednoduché vysvětlení. Vzhledem k tomu, že další emulze obsahující jak vyšší tak nižší množství celulózy tuto nestabilitu nevykazují se lze domnívat, že se jedná o chybu při přípravě této emulze, nebo o neopatrnou manipulaci se vzorkem. Co se týká stejných emulzí, ovšem s rozdílným poměrem O/V 40/60, zde byly patrné značné rozdíly v jejich stabilitě již od počátku měření, kdy emulze s nejvyšší koncentrací c-NCC (0,3 %) vykazovala od začátku vysokou hodnotu CI a tento trend byl typický po čas celé analýzy. Zlomovým bodem pro zbylé emulze byl 14. den skladování, kdy jejich hodnota CI prudce vzrostla a tyto vyšší hodnoty pak byly zaznamenány po celou dobu měření. Z výsledků vyplývá, že zvyšující se koncentrace c-NCC vedla k výraznějšímu zahájení krémování a slabšímu riziku separace jednotlivých fází. Při zvýšené koncentraci oleje bylo navíc zaznamenáno výraznější krémování od 14. dne skladování.

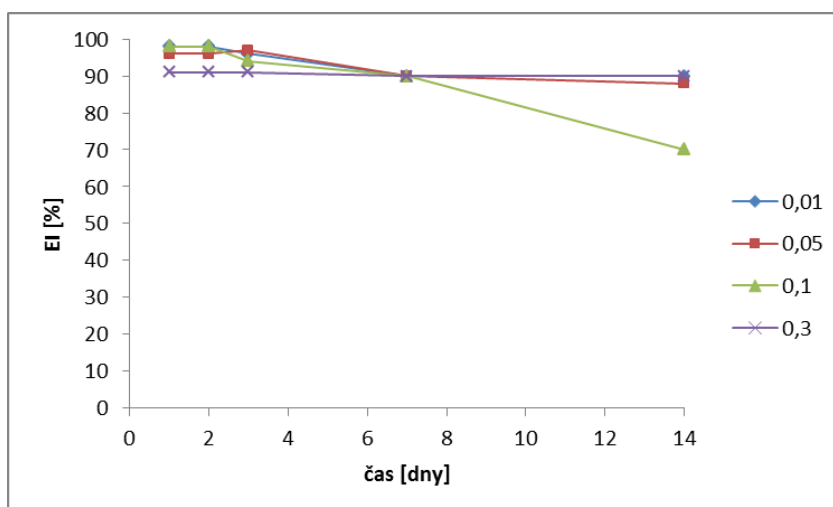


Obr. 49: Index krémování (CI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.

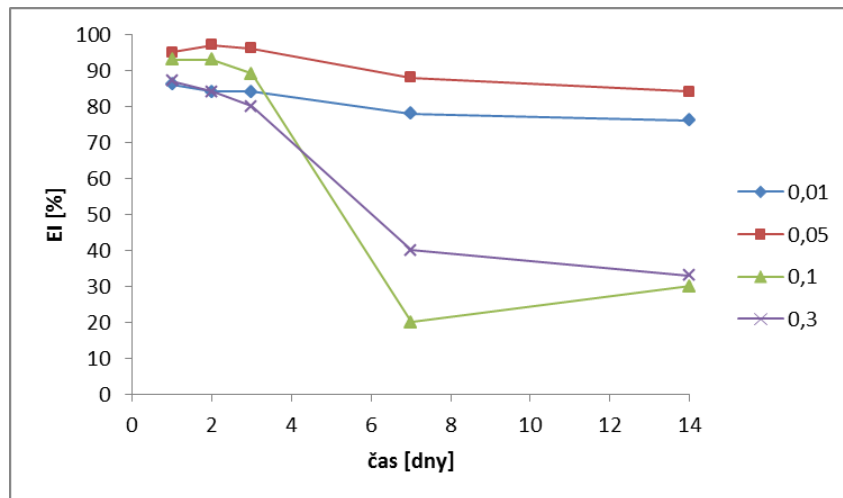


Obr. 50: Index krémování (CI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.

Emulze s disperzní fází adjustovanou na pH 4 měly po centrifugaci naprosto odlišné chování, patrné z obrázků 51 a 52. Krémování emulzí nenastalo, a proto nebyl stanoven index krémování, ale index stability. Emulze O/V 10/90 měly při všech koncentracích celulózy každá velmi vysokou hodnotu EI. V sedmém dni měření došlo k mírnému poklesu EI u emulze s koncentrací c-NCC 0,1 % pravděpodobně z důvodu manipulace se vzorkem během doby pozorování. Zvýšení koncentrací oleje na 40 % se v sedmém dnu pozorování projevilo snížením EI, a to především pro vzorky s vyšším množstvím celulózy (0,1 a 0,3 %).

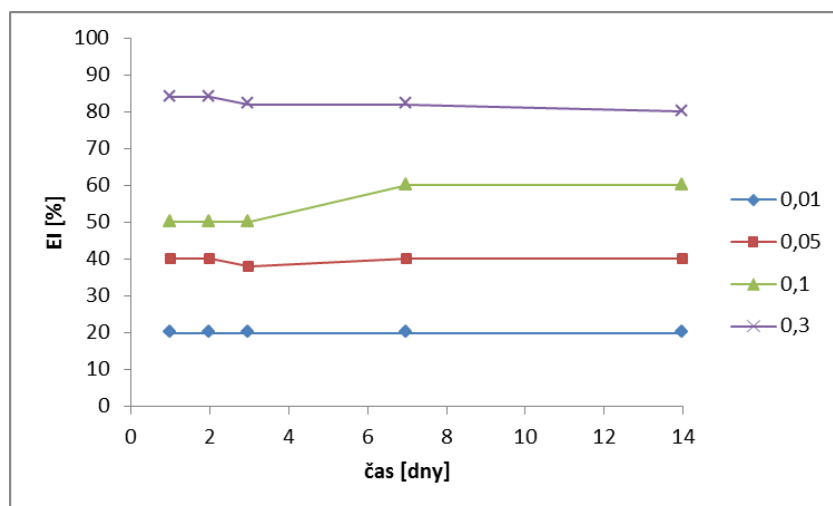


Obr. 51: Index stability (EI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.

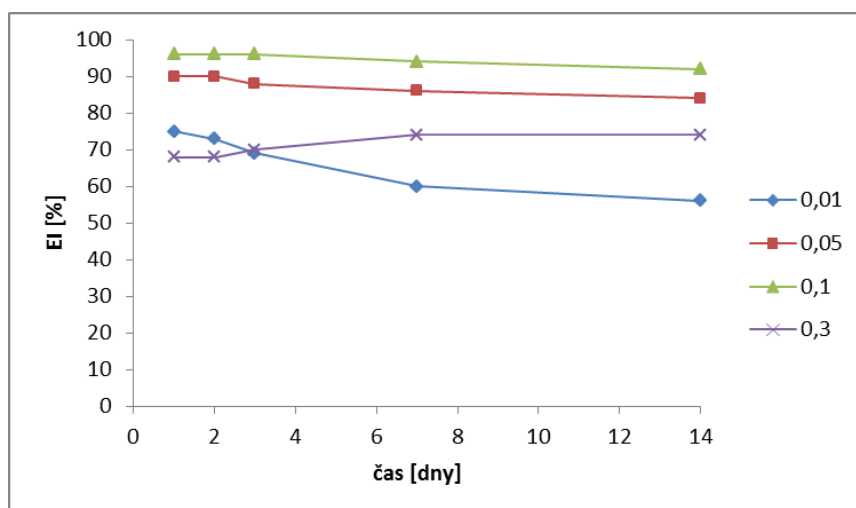


Obr. 52: Index stability (EI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.

Na Obr. 53 a 54 je znázorněn index stability u emulzí s pH adjustovaným na hodnotu 2 a rozdílným obsahem olejové fáze 10 a 40 %. U obou případů je zjevné, že nižší koncentrace celulózy v emulzi způsobila horší stabilitu jak u menšího, tak u většího množství olejové fáze. U těchto vzorků nebylo rovněž pozorováno krémování.



Obr. 53: Index stability (EI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2.



Obr. 54: Index stability (EI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2.

U emulzí s disperzní fází o pH 7, které se před sledováním stability podrobily centrifugaci, bylo pozorováno nejen krémování, ale i jejich postupný rozpad, který se projevil přítomností olejové fáze. Maximální výška olejové fáze činila 5 mm a byla zaznamenána u emulzí s vyšším obsahem oleje (30 a 40 %) připravených s 0,3 % celulózy, a to již druhý den po centrifugaci. Během dalšího skladování se výška olejové vrstvy dále neměnila. Pro ostatní emulze připravené s pH 7 ležela výška olejové vrstvy v rozmezí od 0,5 do 1 mm. Obdobné chování bylo možno pozorovat i u emulzí s pH adjustovaným na hodnotu 4, kde se vliv centrifugace nejmarkantněji projevil rovněž u emulzí s vyšším množstvím oleje (30 a 40 %) stabilizovaných s 0,03 % celulózy. Emulze připravené v prostředí pH 2 vykazovaly jednak nejnižší stabilitu a jednak se u nich nejvýrazněji projevil rozpad fází. Nejvyšší vrstva olejové fáze u emulzí s obsahem 30 % oleje dosahovala výšky až 16 mm. Větší množství uvolněné olejové fáze však při tomto pH vykazovaly všechny sledované emulze s výjimkou vzorků s 10% množstvím oleje, kde zpočátku nebyla vrstva oleje přítomna a uvolněný olej (0,5 mm) se objevil až 14. den skladování.

7.2.4.3 Velikost emulzních částic během skladování

Následující Tabulky 8 až 10 shrnují veškeré změny týkající se stability částic analyzovaných emulzí s disperzním prostředím o pH 7, 4 a 2. Tabulky dokumentují, že velikost

emulzních částic, měřená pomocí laserového analyzátoru (Mastersizer 3000, Malvern), se v čase výrazně neměnila a v průběhu doby skladování při teplotě 4 – 8 °C zůstávala buď téměř konstantní, nebo jen velmi mírně rostla. Jako příklad může posloužit emulze o pH 7 s obsahem 0,1 % c-NCC, kde velikost jejích částic při poměru O/V 40/60 během 7 dnů skladování slabě vzrostla z $(4,67 \pm 0,01)$ μm na $(5,13 \pm 0,01)$ μm a v průběhu dalších 7 dnů na hodnotu $(6,32 \pm 0,10)$ μm . V emulzi adjustované na pH 4 s tímž obsahem c-NCC a poměrem O/V se během 14 dnů pozorování velikost částic také výrazně nezměnila. Původně činila $(4,63 \pm 0,07)$ μm , po 7 dnech $(4,59 \pm 0,05)$ μm a po dalších 7 dnech $(4,65 \pm 0,06)$ μm . Pro identické emulze připravené v prostředí o pH 2 rostla velikost částic z $(3,55 \pm 1,79)$ μm přes $(3,58 \pm 0,00)$ μm jen na $(4,17 \pm 0,86)$ μm . Ze srovnání hodnot CI (EI) a velikostí částic stanovených během skladování emulzí je zřejmé, že i když v emulzích dochází ke krémování, případně oddělení emulzní fáze a séra, které je zřejmé z vizuálního pozorování, na velikost emulzních částic to nemá významný vliv.

Tab. 8: Změny velikosti částic emulzních systémů s pH 7 během skladování.

Změny velikosti částic emulzí s pH 7 během skladování				
Koncentrace celulózy [%]	Poměr O/V	d [μm]		
		po přípravě	7. den	14. den
0,01	10/90	$1,83 \pm 0,02$	$1,58 \pm 0,01$	$1,59 \pm 0,02$
	20/80	$2,52 \pm 0,02$	$2,21 \pm 0,01$	$2,31 \pm 0,01$
	30/70	$3,41 \pm 0,02$	$3,40 \pm 0,01$	$3,52 \pm 0,02$
	40/60	$4,62 \pm 0,01$	$4,46 \pm 0,01$	$4,65 \pm 0,01$
0,05	10/90	$1,73 \pm 0,02$	$1,66 \pm 0,00$	$1,74 \pm 0,02$
	20/80	$2,49 \pm 0,01$	$2,49 \pm 0,00$	$2,51 \pm 0,01$
	30/70	$3,33 \pm 0,01$	$3,40 \pm 0,01$	$3,49 \pm 0,00$
	40/60	$4,65 \pm 0,02$	$4,85 \pm 0,00$	$4,81 \pm 0,06$
0,1	10/90	$1,79 \pm 0,01$	$1,72 \pm 0,01$	$1,82 \pm 0,02$
	20/80	$2,50 \pm 0,00$	$2,49 \pm 0,00$	$2,64 \pm 0,01$
	30/70	$3,28 \pm 0,01$	$3,52 \pm 0,01$	$3,81 \pm 0,02$
	40/60	$4,67 \pm 0,01$	$5,13 \pm 0,01$	$6,32 \pm 0,10$
0,3	10/90	$1,88 \pm 0,01$	$1,60 \pm 0,01$	$1,63 \pm 0,02$
	20/80	$2,62 \pm 0,01$	$2,56 \pm 0,01$	$2,77 \pm 0,00$
	30/70	$3,63 \pm 0,02$	$4,09 \pm 0,01$	$4,74 \pm 0,02$
	40/60	$9,98 \pm 0,72$	$6,73 \pm 0,06$	$9,64 \pm 0,28$

Tab. 9: Změny velikosti částic emulzních systémů s pH 4 během skladování.

Změny velikosti částic emulzí s pH 4 během skladování				
Koncentrace celulózy [%]	Poměr O/V	d [μm]		
		po přípravě	7. den	14. den
0,01	10/90	2,07±0,16	3,51±0,33	1,46±0,07
	20/80	3,26±0,10	2,89±0,07	2,16±0,10
	30/70	4,30±0,07	4,26±0,07	5,11±0,22
	40/60	5,61±0,07	5,37±0,06	5,33±0,05
0,05	10/90	1,78±0,10	1,77±0,10	1,66±0,07
	20/80	2,51±0,08	2,55±0,08	2,50±0,07
	30/70	3,32±0,04	3,38±0,06	3,63±0,03
	40/60	4,71±0,07	4,86±0,07	4,78±0,04
0,1	10/90	1,83±0,05	1,87±0,11	1,68±0,05
	20/80	2,61±0,06	2,43±0,06	2,53±0,05
	30/70	3,67±0,07	3,43±0,04	3,67±0,06
	40/60	4,63±0,07	4,59±0,05	4,65±0,06
0,3	10/90	1,78±0,08	1,50±0,05	nestanoveno
	20/80	2,32±0,06	2,51±0,13	2,34±0,05
	30/70	3,04±0,05	5,31±0,05	6,64±0,48
	40/60	4,12±0,05	4,15±0,07	4,22±0,06

Tab. 10: Změny velikosti částic emulzních systémů s pH 2 během skladování.

Změny velikosti částic emulzí s pH 2 během skladování				
Koncentrace celulózy [%]	Poměr O/V	d [μm]		
		po přípravě	7. den	14. den
0,01	10/90	6,83±0,01	8,06±0,00	8,40±0,01
	20/80	6,13±0,01	6,70±0,01	7,04±0,02
	30/70	9,64±0,06	12,00±0,24	14,10±0,33
	40/60	15,80±1,17	nestanoveno	nestanoveno
0,05	10/90	7,89±0,01	2,44±0,00	2,48±0,01
	20/80	2,83±0,01	2,94±0,02	3,00±0,00
	30/70	3,96±0,11	4,30±0,01	4,28±0,01
	40/60	5,51±0,01	5,72±0,02	5,79±0,02
0,1	10/90	1,46±0,01	1,53±0,05	1,66±0,16
	20/80	5,01±0,56	1,78±0,01	8,65±1,26
	30/70	22,20±7,68	3,45±0,03	3,43±3,43
	40/60	3,55±1,79	3,58±0,00	4,17±0,86
0,3	10/90	3,05±0,09	4,60±0,84	10,70±1,46
	20/80	67,20±9,28	nestanoveno	nestanoveno
	30/70	70,10±10,88	nestanoveno	nestanoveno
	40/60	67,00±10,45	nestanoveno	nestanoveno

7.2.4.4 Velikost ζ potenciálu během skladování

U všech emulzí s pH 7 a 4 byl ζ potenciál vyšší než -30 mV. Tyto hodnoty jsou udávány jako vhodné pro dosažení stability emulzních systémů (Tab. 11, 12). To platilo i pro zeta potenciál emulzí zaznamenaný během jejich čtrnáctidenního skladování. Data uvedená v Tab. 11 a 12 však indikují, že u emulzí stabilizovaných 0,01 % celulózy dochází po 14 dnech k mírnému zvýšení hodnot ζ potenciálu. Pro vzorky o pH 2 se hodnota potenciálu pohybovala v rozmezí, které se udává jako málo stabilní. Jeho změny v čase byly však z časových důvodů sledovány pouze 7. den, takže je obtížné o změnách ζ potenciálu v čase učinit závěry.

Tab. 11: Změny ζ potenciálu emulzních systémů s pH 7 během skladování.

Změny ζ potenciálu emulzí s pH 7 během skladování				
Koncentrace celulózy [%]	Poměr O/V	ζ potenciál [mV]		
		po přípravě	7. den	14. den
0,01	10/90	-46,53±0,52	-50,43±0,33	-41,93±0,50
	20/80	-46,20±0,86	-50,43±1,68	-43,13±0,56
	30/70	-46,97±1,01	-50,40±0,80	-43,87±1,11
	40/60	-45,57±0,90	-51,27±1,21	-44,90±0,37
0,05	10/90	-44,20±0,78	-48,07±1,03	-45,23±0,19
	20/80	-45,83±1,14	-49,50±0,96	-45,33±0,41
	30/70	-47,90±0,42	-49,17±0,21	-46,57±0,97
	40/60	-48,57±0,62	-47,43±0,77	-45,20±1,47
0,1	10/90	-43,93±0,31	-47,70±0,94	-40,87±0,19
	20/80	-47,07±0,05	-47,73±0,61	-40,87±1,02
	30/70	-43,40±0,88	-49,60±0,88	-46,40±1,37
	40/60	-49,97±0,56	-50,37±1,04	-45,33±0,74
0,3	10/90	-49,27±0,62	-49,90±0,93	-47,10±0,36
	20/80	-53,03±1,32	-52,97±1,10	-50,73±0,97
	30/70	-51,50±0,37	-52,07±2,21	-48,33±0,52
	40/60	-50,93±1,35	-50,20±1,34	-45,77±0,31

Tab. 12: Změny ζ potenciálu emulzních systémů s pH 4 během skladování.

Změny ζ potenciálu emulzí s pH 4 během skladování				
Koncentrace celulózy [%]	Poměr O/V	ζ potenciál [mV]		
		po přípravě	7. den	14. den
0,01	10/90	-44,63±0,33	-37,90±0,73	-37,40±1,67
	20/80	-46,73±0,71	-37,77±1,64	-38,90±0,86
	30/70	-45,53±0,47	-42,27±0,87	-37,37±0,73
	40/60	-48,03±0,53	-42,87±0,50	-44,60±1,13
0,05	10/90	-42,10±1,63	-46,70±0,51	-41,80±0,50
	20/80	-50,23±0,12	-48,90±0,33	-43,23±0,37
	30/70	-52,20±0,94	-51,50±0,99	-46,50±0,94
	40/60	-48,43±1,54	-51,03±0,52	-45,27±1,17
0,1	10/90	-47,00±0,94	-45,53±0,97	-44,00±1,02
	20/80	-52,07±0,34	-48,13±0,77	-47,13±0,90
	30/70	-47,23±0,74	-46,63±0,48	-47,20±0,86
	40/60	-50,23±0,54	-49,87±1,79	-46,80±0,99
0,3	10/90	-50,30±1,71	-41,50±1,88	-45,57±1,15
	20/80	-49,07±0,24	-47,83±1,20	-47,43±2,54
	30/70	-60,93±1,59	-56,77±2,10	-46,53±0,94
	40/60	-60,33±1,14	-58,50±0,73	-50,00±0,78

Tab. 13: Změny ζ potenciálu emulzních systémů s pH 2 během skladování.

Změny ζ potenciálu emulzí s pH 2 během skladování			
Koncentrace celulózy [%]	Poměr O/V	ζ potenciál [mV]	
		po přípravě	7. den
0,01	10/90	-21,90±2,56	-23,40±2,89
	20/80	-24,17±1,53	-20,63±2,07
	30/70	-26,67±0,82	-17,13±1,76
	40/60	-23,10±1,67	-18,10±0,59
0,05	10/90	-18,67±0,90	-17,90±0,51
	20/80	-25,70±0,36	-20,67±1,04
	30/70	-24,87±0,39	-22,53±0,58
	40/60	-23,27±1,02	-18,27±0,82
0,1	10/90	-27,00±0,99	-22,37±0,82
	20/80	-27,50±0,51	-25,37±1,11
	30/70	-23,33±0,24	-16,90±0,71
	40/60	-29,73±0,68	-20,07±0,12
0,3	10/90	-35,50±0,88	-35,67±1,02
	20/80	-25,90±2,97	-30,83±2,73
	30/70	-27,07±2,37	-33,10±4,92
	40/60	-34,90±3,73	-37,67±5,24

ZÁVĚR

Cílem diplomové práce bylo připravit emulze Pickeringova typu stabilizované pevnými částicemi. Konkrétně se jednalo o emulze stabilizované částicemi karboxylované nanokrytalické celulózy, které díky své přítomnosti na fázovém rozhraní olej-voda, působí jako stabilizační činidlo. Záměrem studie bylo tyto nanocelulózové krystaly připravit a následně je použít pro stabilizaci emulzních systémů. Výhodou celulózových nanokrystalů je, že jsou získávány z přírodní suroviny. Další důležitou složkou, která ovlivňuje celkové chování emulzí, je olejová fáze. Tu tvořil komerčně dostupný triacylglycerol trikaprin/trikaprylin. Tento neutrální olej byl vybrán pro svou schopnost být vhodným nosičem aktivních látek, které by následně mohly být do Pickeringových emulzí enkapsulovány.

Postupem použitým v diplomové práci, tedy působením APS na mikrokrytalickou celulózu, byla nejprve připravena karboxylovaná nanokrytalická celulóza, c-NCC. Pro charakterizaci c-NCC bylo použito dynamického rozptylu světla, pomocí kterého byla stanovena závislost ζ potenciálu na pH disperzního prostředí. Hodnoty ζ potenciálu měřené na suspenzích c-NCC prokázaly, že průběh závislosti ζ vs pH je shodný s údaji uváděnými v literatuře a že chování disperzí c-NCC je závislé na pH prostředí. V rámci diplomové práce byla ověřena i gelace disperze c-NCC v přítomnosti CaCl_2 , kdy po překročení hraniční koncentrace 10 mM CaCl_2 došlo k tvorbě gelu, která se projevila zvýšením absorbance. Tato skutečnost, tedy gelace v přítomnosti iontů, otevírá možnost zvýšit stabilitu emulzí obsahujících c-NCC přidávkem CaCl_2 . Mikroskopické zobrazení nanokrystalů c-NCC pomocí AFM poté potvrdilo úspěšnost použité metody přípravy nanokrytalické celulózy a vhodnost c-NCC pro použití při stabilizaci Pickeringových emulzí.

Následným krokem byla příprava emulzí stabilizovaných rozdílným množstvím c-NCC (0,01 až 0,3 %) a s rozdílným množstvím olejové fáze (10 až 40 %). Emulze byly připraveny v prostředí pH, které bylo upraveno na tři různé hodnoty, a to 2, 4 a 7. Cílem tohoto testu bylo sledovat, jak hodnota pH ovlivní velikost emulzních částic a enkapsulační účinnost. Charakterizace připravených emulzí byla provedena měřením velikosti částic (světelná difrakce) a ζ potenciálu (dynamický rozptyl světla). Emulze byly hodnoceny ihned po přípravě a dále vždy po sedmi dnech skladování při snížené teplotě (4 až 8 °C).

Co se týká distribuce a velikosti částic, nejmenší velikost vykazovaly částice emulzí připravené v prostředí o pH 7 a 4. Jejich průměr nepřesáhl 10 μm a současně bylo zaznamenáno zvětšení částic s rostoucím množstvím olejové fáze v emulzi. Největší velikost částic pak vykazovaly emulze s pH adjustovaným na hodnotu 2, kde byly zaznamenány částice s průměrem až $\sim 70 \mu\text{m}$.

Měřením hodnot ζ potenciálu bylo zjištěno, že u všech analyzovaných emulzí s disperzní fází adjustovanou na pH 7 a 4 byly jeho hodnoty nižší než -30 mV , což je označováno jako oblast vhodné úrovně stability emulzí. Chování těchto systémů bylo obdobné bez ohledu na množství celulózy či množství oleje ve vzorcích. Výjimku tvořily opět nejméně stabilní emulze připravené v prostředí pH 2, kde hodnoty potenciálu ležely, v převážné většině případů, v rozmezí $+30 \text{ mV}$ až -30 mV , což svědčí o méně stabilním systému.

Kromě výše uvedených metod byly připravené emulze charakterizovány pomocí vizuálního posouzení a také pomocí indexů krémování a emulzní stability. Stanovení probíhalo bez i za použití centrifugačního zařízení.

Diplomová práce prokázala, že Pickeringovy emulze stabilizované karboxylovanou nanocelulózou disponují zajímavými vlastnostmi a mohou se uplatnit v celé řadě odvětví. Z praktického hlediska se jeví velmi zajímavé využití změny jejich chování v závislosti na pH prostředí. Diplomovou práci lze považovat za pilotní studii ve výzkumu těchto systémů a jejich podrobnější zkoumání je vhodným námětem pro další práci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] TADROS, Tharwat F. *Emulsion science and technology*. Weinheim: Wiley-VCH, c2009, xviii, 326 p. ISBN 3527325255.
- [2] MCCLEMENTS, D. *Food emulsions: principles, practices, and techniques*. 2nd ed. Boca Raton: CRC Press, c2005, 609 p. ISBN 0849320232.
- [3] BARTOVSKÁ, Lidmila a Marie ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-7080-579-x.
- [4] SHUI, Lingling, Albert VAN DEN BERG a Jan C. T. EIJKEL. Interfacial tension controlled W/O and O/W 2-phase flows in microchannel. *Lab Chip* [online]. 2009, 9(6): 795-801 [cit. 2015-12-04]. DOI: 10.1039/B813724B. ISSN 14730197. Dostupné z: <http://pubs.rsc.org/services/images/RSCpubs.ePlatform.Service.FreeContent.ImageService.svc/ImageService/Articleimage/2009/LC/b813724b/b813724b-f1.gif>
- [5] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007, 70 s. ISBN 9788024416694.
- [6] ED. BY STIG E. FRIBERG .. [ET AL.]. *Food Emulsions*. 4th ed. Hoboken: Marcel Dekker Inc, 2003. ISBN 9780203913222.
- [7] Co je co v povrchové a koloidní chemii. Http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/index.html [online]. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2005, 2005 [cit. 2015-11-10]. Dostupné z: http://147.33.74.135/knihy/uid_es-001/ebook.help.htm.
- [8] BLAŽEJ, Anton. *Tenzidy*. 1. vyd. Bratislava: Alfa, 1977, 481 s., příl.
- [9] *Siltation and Sedimentation* [online]. Birmingham, 2014, 2001 [cit. 2015-11-11]. Dostupné z: <http://blackwarriorriver.org/siltation-sedimentation/>
- [10] BINKS, Bernard P a Tommy S HOROZOV. *Colloidal particles at liquid interfaces*. New York: Cambridge University Press, 2006, xiii, 503 p. ISBN 0521848466. Dostupné také z: <https://isalama.files.wordpress.com/2011/05/image91.gif>
- [11] JAKUBEC, Martin. *Emulze: Příprava a stabilizace* [online]. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze [cit. 2016-01-01]. Dostupné z: <http://uchi.vscht.cz/uploads/pedagogika/labchi/Em.pdf>

- [12] ROSEN, Milton J a Joy T KUNJAPPU. *Surfactants and interfacial phenomena*. 4th ed. Hoboken, N.J.: Wiley, 2012, xvi, 600 p. ISBN 978-047-0541-944.
- [13] *Biolin Scientific* [online]. 2014 [cit. 2015-12-03]. Dostupné z: [http://www.biolinscientific.com/zafepress.php?url=%2Fimages%2FKSV%20NIMA%2FN](http://www.biolinscientific.com/zafepress.php?url=%2Fimages%2FKSV%20NIMA%2FNew%20images%2FAmphiphilic_Molecules.png)
[ew%20images%2FAmphiphilic_Molecules.png](http://www.biolinscientific.com/zafepress.php?url=%2Fimages%2FKSV%20NIMA%2FNNew%20images%2FAmphiphilic_Molecules.png)
- [14] SVOBODOVÁ, Barbora. *Stanovení tenzidů v půdě odebrané z požářišť*. Brno, 2011. Diplomová práce.
- [15] POLZEROVÁ, Eva. *Analytika povrchově aktivních látek používaných v kosmetice*. Zlín, 2012. Bakalářská práce.
- [16] GRIFFIN, W. C. *J. of Cosmetic Science*. 1954, **5**(4).
- [17] *Kosmetické technologie: Distanční text*. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Zlín.
- [18] 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.
- [19] KVÍTEK, L. a R. PRUCEK. Preparation and application of silver nanoparticles. *Journal of Materials Science*. 2005, **22**, 2461-2473.
- [20] CHEVALIER, Yves a Marie-Alexandrine BOLZINGER. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2012, (439): 23– 34. ISSN 0927-7757.
- [21] PATRAVALE, V. B. a S. D. MANDAWGADE. Novel cosmetic delivery systems: an application update. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2008, **30**(1): 19-33 [cit. 2015-11-10]. DOI: 10.1111/j.1468-2494.2008.00416.x. ISSN 01425463. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1468-2494.2008.00416.x>
- [22] NGAI, To; BEHRENS, Sven Holger; AUWETER, Helmut. Novel emulsions stabilized by pH and temperature sensitive microgels. *Chemical communications*, 2005, 3: 331-333.
- [23] 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>

[24] FRELICHOWSKA, Justyna, Marie-Alexandrine BOLZINGER a Yves CHEVALIER. Pickering emulsions with bare silica. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2009, **343**(1-3): 70-74. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2009.01.031. ISSN 09277757. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927775709001903>

[25] ZÁHEJSKÝ, Jiří. *Nová generace emulzních systémů v dermatologii: 2Derm krém*. Brno, 2011.

[26] ZÁHEJSKÝ, Jiří. Ochranné bariérové systémy: Současné a perspektivní možnosti úpravy stavu poškozené kožní bariéry. *Dermatol. prax.* 2011, **5**(2): 68-70.

[27] ZÁHEJSKÝ, Jiří. Ochranné bariérové systémy: Současné a perspektivní možnosti úpravy stavu poškozené kožní bariéry. *Dermatol. praxi.* 2011, **5**(1), 8-11.

[28] PAXIMADA, Paraskevi, Erminda TSOUKO, Nikolaos KOPSAHELIS, Apostolis A. KOUTINAS a Ioanna MANDALA. Bacterial cellulose as stabilizer of o/w emulsions. *Food Hydrocolloids* [online]. 2016, 2015-11-19, **53**: 225-232 [cit. 2015-11-19]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.12.003. ISSN 0268005x. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X14004408>

[29] MOON, Robert J., Ashlie MARTINI, John NAIRN, John SIMONSEN a Jeff YOUNGBLOOD. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews*. 2011, **40**(7): 3941-. DOI: 10.1039/c0cs00108b. ISSN 0306-0012. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cs00108b>

[30] KALIA, Susheel, Alain DUFRESNE, Bibin Mathew CHERIAN, B. S. KAITH, Luc AVÉROUS, James NJUGUNA a Elias NASSIOPOULOS. Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review. *International Journal of Polymer Science*. 2011, **2011**: 1-35. DOI: 10.1155/2011/837875. ISSN 1687-9422. Dostupné také z: <http://www.hindawi.com/journals/ijps/2011/837875/>

[31] *Biochemistry for Medics* [online]. 2015 [cit. 2016-02-01]. Dostupné z: <http://www.namrata.co/wp-content/uploads/2012/04/D1.bmp>

- [32] ED. BY SUSHEEL KALIA .. *Cellulose fibers: bio- and nano-polymer composites; green chemistry and technology*. Berlin: Springer, 2011. ISBN 978-364-2173-691.
- [33] *Heinzel group* [online]. Rakousko, 2015 [cit. 2015-11-11]. Dostupné z: http://images.heinzel.com/large/Poels_E_0026_2.jpg
- [34] *Biomach* [online]. 2015 [cit. 2015-11-10]. Dostupné z: <http://www.biomach.cz/biologie-zivocichua/strunatci-plastenci-bezlebecni-obratlovci>
- [35] *ScubaShots by AllenHost* [online]. 2014 [cit. 2016-03-06]. Dostupné z: <http://www.allenhost.com/gallery/d/20181-4/aax.jpg>
- [36] *Wild Singapore* [online]. [cit. 2015-11-02]. Dostupné z: <http://www.wildsingapore.com/wildfacts/plants/seaweed/chlorophyta/boergesenia/0410191abd7671m3.jpg>
- [37] RABIŠKOVÁ, Miloslava, Adam HÄRING, Klára MINCZINGEROVÁ, Martin HAVLÁSEK a Petra MUSILOVÁ. Mikrokrystakická celuloza v perorálních lékových formách. *Chem. Listy*. 2007, (101), 70-77.
- [38] LEUNG, Alfred C. W., Sabahudin HRAPOVIC, Edmond LAM, Yali LIU, Keith B. MALE, Khaled A. MAHMOUD a John H. T. LUONG. Characteristics and Properties of Carboxylated Cellulose Nanocrystals Prepared from a Novel One-Step Procedure. *Small* [online]. 2011, 7(3): 302-305 [cit. 2015-12-20]. DOI: 10.1002/sml.201001715. ISSN 16136810. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/sml.201001715>
- [39] MALE, Keith B., Alfred C. W. LEUNG, Johnny MONTES, Amine KAMEN a John H. T. LUONG. Probing inhibitory effects of nanocrystalline cellulose: inhibition versus surface charge. *Nanoscale*. 2012, 4(4): 1373- [cit. 2015-12-21]. DOI: 10.1039/c2nr11886f. ISSN 20403364.
- [40] XHANARI, K., K. SYVERUD a P. STENIUS. Emulsions Stabilized by Microfibrillated Cellulose: The Effect of Hydrophobization, Concentration and O/W Ratio. *Journal of Dispersion Science and Technology* [online]. 2011, 32(3): 447-452. DOI: 10.1080/01932691003658942. ISSN 01932691. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/01932691003658942>.
- [41] OUGIYA, Hiroshi, Kunihiro WATANABE, Yasushi MORINAGA a Fumihiko YOSHINAGA. Emulsion-stabilizing Effect of Bacterial Cellulose. *Bioscience, Biotechno-*

logy and Biochemistry [online]. 2014, 61(9), 1541-1545. DOI: 10.1271/bbb.61.1541. ISSN 09168451.

[42] KALASHNIKOVA, Irina, Hervé BIZOT, Bernard CATHALA a Isabelle CAPRON. New Pickering Emulsions Stabilized by Bacterial Cellulose Nanocrystals. *Langmuir* [online]. 2011, 27(12), 7471-7479 [cit. 2016-01-28]. DOI: 10.1021/la200971f. ISSN 0743-7463. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/la200971f>

[43] PAXIMADA, Paraskevi, Erminda TSOUKO, Nikolaos KOPSAHELIS, Apostolis A. KOUTINAS a Ioanna MANDALA. Bacterial cellulose as stabilizer of o/w emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2016, 53, 225-232. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.12.003. ISSN 0268005x. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X14004408>

[44] KALASHNIKOVA, Irina, Herve BIZOT, Patricia BERTONCINI, Bernard CATHALA a Isabelle CAPRON. Cellulosic nanorods of various aspect ratios for oil in water Pickering emulsions. *Soft Matter*. 2013, 9(3), 952-959. DOI: 10.1039/C2SM26472B. ISSN 1744-683x. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C2SM26472B>

[45] WEN, Chunxia, Qipeng YUAN, Hao LIANG a Frank VRIESEKOOOP. Preparation and stabilization of d-limonene Pickering emulsions by cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, 112, 695-700 [cit. 2016-01-29]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.06.051. ISSN 01448617. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861714006274>

[46] *Azo Materials* [online]. 2013 [cit. 2016-05-08]. Dostupné z: http://www.azom.com/images/Article_Images/ImageForArticle_9934%282%29.jpg

[47] ŠIMEK, Michal, Veronika GRÜNVALDOVÁ a Bohumil KRATOCHVÍL. Současné metody měření velikosti částic farmaceutických látek a jejich omezení. *Chem. Listy*. 2014, (108), 50-55.

[48] RAYNER, Marilyn a Petr DEJMEK. *Engineering aspects of food emulsification and homogenization*. 2015. ISBN 978-146-6580-435.

[49] *Malvern instruments technical note: Zetasizer Nano series technical note*. United Kingdom.

[50] CHAU, Mokit, Shivanthi E. SRISKANDHA, Dmitry PICHUGIN, et al. Ion-Mediated Gelation of Aqueous Suspensions of Cellulose Nanocrystals. *Biomacromolecules* [online]. 2015, **16**(8), 2455-2462 [cit. 2016-05-13]. DOI: 10.1021/acs.biomac.5b00701. ISSN 1525-7797. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.biomac.5b00701>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

PAL	Povrchově aktivní látka.
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha.
WF	Dřevěná vlákna (z angl. Wood Fibril).
PF	Rostlinná vlákna (z angl. Plant Fibril).
MCC	Mikrokrytalická celulóza.
MFC	Mikrofibrilární celulóza.
NFC	Nanofibrilární celulóza.
NCC	Celulózové nanokrystaly (karboxylovaná celulóza).
t-NCC	Celulózové nanokrystaly pláštěnců.
AC	Celulózové částice na bázi řas.
BA	Bakteriální celulóza.
c-NCC	Celulózové nanokrystaly.
EI	Index emulzní stability (z angl. Emulsion Index).
ESI	Index emulzní stability (z angl. Emulsion Stability Index).
O/V	System olej ve vodě.
V/O	System voda v oleji.
O/V/O	System olej ve vodě v oleji.
V/O/V	System voda v oleji ve vodě.
CI	Index krémování (z angl. Creaming Index).

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1: Struktura emulzí typu olej ve vodě (O/V) a voda v oleji (V/O) [4].</i>	12
<i>Obr. 2: Možnosti destabilizace emulzí [10].</i>	15
<i>Obr. 3: Molekula PAL [13].</i>	17
<i>Obr. 4: Schématické znázornění stérické stabilizace [18, s. 6].</i>	20
<i>Obr. 5: Schématické znázornění stabilizace emulzních částic pomocí deplece [18, s. 6].</i>	21
<i>Obr. 6: Rozdíl mezi klasickou a Pickeringovou emulzí [20, s. 23].</i>	22
<i>Obr. 7: Schéma hierarchické struktury stromu [29, s. 3].</i>	26
<i>Obr. 8: Chemická struktura celulózy se znázorněnou β-1, 4-glykosidickou vazbou [31].</i>	27
<i>Obr. 9: Schématické uspořádání struktury mikrofibril celulózy v rostlinném vlákne [32, s. 182].</i>	28
<i>Obr. 10: Bloky bělené sulfátové buničiny [33].</i>	28
<i>Obr. 11: Kolonie pláštěnců třídy Ascidians [35], Obr. 12: Řasy rodu Boergesenia [36].</i>	29
<i>Obr. 13: Schéma uspořádání cyklických a lineárních enzymových komplexů, pro (a) stromy, rostliny, zelené řasy (Micrasterias); (b) Pláštěnce; (c) zelené řasy (Valonia); (d) červené řasy; (e) žluto zelené řasy; (f) bakteriální (Acetobacter) [29, s. 3947].</i>	31
<i>Obr. 14: Přístroj Mastersizer 3000 [46].</i>	48
<i>Obr. 15: Závislost ζ potenciálu na pH disperzního prostředí pro NCC připravené působením APS (c-NCC), HCl a H₂SO₄.</i>	51
<i>Obr. 16: Závislost ζ potenciálu na pH.</i>	52
<i>Obr. 17: Závislost absorpance disperze c-CNC na koncentraci CaCl₂ (mM), stanoveno při 270 nm.</i>	53
<i>Obr. 18: Mikroskopické zobrazení c-NCC pomocí AFM (1).</i>	54
<i>Obr. 19: Mikroskopické zobrazení c-NCC pomocí AFM (2).</i>	54
<i>Obr. 20: Emulze O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 7.</i>	57
<i>Obr. 21: Emulze O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 4.</i>	57

<i>Obr. 22: Emulze O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 2.</i>	<i>58</i>
<i>Obr. 23: Emulze se zvýšeným množstvím oleje O/V 50/50 a 60/40 stabilizované celulórou v koncentraci 0,01 % při pH 7.</i>	<i>58</i>
<i>Obr. 24: Emulze stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 7, obsah olejové fáze 10; 20; 30 a 40 %.</i>	<i>59</i>
<i>Obr. 25: Emulze stabilizované celulórou v koncentraci 0,01-0,3 % při pH 2, obsah olejové fáze 10; 20; 30 a 40 %.</i>	<i>60</i>
<i>Obr. 26: Emulze stabilizované celulórou v koncentraci 0,01% při pH 7, obsah olejové fáze 50 a 60 %.</i>	<i>60</i>
<i>Obr. 27: Změna distribuce částic stabilizovaných c-NCC se vzrůstající koncentrací c-NCC, pH 7, poměr O/V 10/90. Koncentrace c-NCC 0,01 % červená, 0,05 % zelená, 0,1 % modrá a 0,3 % fialová křivka.</i>	<i>61</i>
<i>Obr. 28: Změna distribuce částic se vzrůstající koncentrací oleje. pH disperzní fáze 7, množství c-NCC 0,01 %. Poměr O/V 10/90 červená, 20/80 zelená, 30/70 modrá a 40/60 fialová distribuční křivka.</i>	<i>62</i>
<i>Obr. 29: Změna distribuce částic se vzrůstající koncentrací oleje. pH disperzní fáze 4, množství c-NCC 0,01 %. Poměr O/V 10/90 červená, 20/80 zelená, 30/70 modrá a 40/60 fialová distribuční křivka.</i>	<i>62</i>
<i>Obr. 30: Změna distribuce částic se vzrůstající koncentrací oleje. pH disperzní fáze 2, množství c-NCC 0,01 %. Poměr O/V 10/90 červená, 20/80 zelená, 30/70 modrá a 40/60 fialová distribuční křivka.</i>	<i>62</i>
<i>Obr. 31: Změna distribuce částic při rozdílném pH. Poměr O/V 10/90, množství c-NCC 0,01 %. pH 7 červená, pH 4 zelená a pH 2 modrá distribuční křivka.</i>	<i>63</i>
<i>Obr. 32: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 10/90.</i>	<i>64</i>
<i>Obr. 33: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 20/80.</i>	<i>65</i>
<i>Obr. 34: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 30/70.</i>	<i>65</i>
<i>Obr. 35: Hodnoty ζ potenciálu emulzí připravených s různým množstvím c-NCC a různým pH pro poměry O/V 40/60.</i>	<i>66</i>
<i>Obr. 36: Závislost ζ potenciálu na množství oleje, pH 7 a různý obsah c-NCC.</i>	<i>67</i>

<i>Obr. 37: ζ potenciál stanovený pro emulze s 50 a 60 % oleje při pH 7.</i>	67
<i>Obr. 38: Závislost ζ potenciálu na množství oleje, pH 4 a různý obsah c-NCC.....</i>	68
<i>Obr. 39: Závislost ζ potenciálu na množství oleje, pH 2 a různý obsah c-NCC.....</i>	68
<i>Obr. 40: Emulzí v prostředí o pH 7. Koncentrace c-NCC: a) 0,01 %; b) 0,05 %; c) 0,1 %; d) 0,3 %. Poměr O/V vždy zleva: 10/90; 20/80; 30/70; 40/60.....</i>	69
<i>Obr. 41: Emulze v prostředí o pH 2. Koncentrace c-NCC: a) 0,01 %; b) 0,05 %; c) 0,1 %; d) 0,3 %. Poměr O/V vždy zleva: 10/90; 20/80; 30/70; 40/60.....</i>	70
<i>Obr. 42: Emulze v prostředí o pH 2 po centrifugaci. Koncentrace c-NCC: a) 0,01 %; b) 0,05 %; c) 0,1 %; d) 0,3 %. Poměr O/V vždy zleva: 10/90; 20/80; 30/70; 40/60.....</i>	71
<i>Obr. 43: Index krémování (CI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.</i>	72
<i>Obr. 44: Index krémování (CI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.</i>	73
<i>Obr. 45: Index krémování (CI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.</i>	73
<i>Obr. 46: Index krémování (CI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.</i>	74
<i>Obr. 47: Index stability (EI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2.</i>	75
<i>Obr. 48: Index stability (EI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2.</i>	75
<i>Obr. 49: Index krémování (CI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.</i>	76
<i>Obr. 50: Index krémování (CI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 7.</i>	77
<i>Obr. 51: Index stability (EI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.</i>	77
<i>Obr. 52: Index stability (EI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 4.</i>	78
<i>Obr. 53: Index stability (EI) emulzí O/V 10/90 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2.</i>	78

Obr. 54: Index stability (EI) emulzí O/V 40/60 s množstvím c-NCC v koncentracích 0,01; 0,05; 0,1 a 0,3 %, pH 2. 79

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1: Hodnoty HLB hlavních aplikačních skupin PAL [8, s. 40].</i>	19
<i>Tab. 2: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,01 % celulózy.</i>	46
<i>Tab. 3: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,05 % celulózy.</i>	46
<i>Tab. 4: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,1 % celulózy.</i>	47
<i>Tab. 5: Složení Pickeringových emulzí typu O/V s obsahem 0,3 % celulózy.</i>	47
<i>Tab. 6: Složení Pickeringových emulzí se zvýšeným obsahem oleje a 0,01 % celulózy.</i>	47
<i>Tab. 7: Velikosti částic emulzí stabilizovaných připravenou celulórou stanovené v den přípravy. pH emulzí bylo 7, 4, 2 a poměry O/V 10/90, 20/80, 30/70 a 40/60.</i>	56
<i>Tab. 8: Změny velikosti částic emulzních systémů s pH 7 během skladování.</i>	80
<i>Tab. 9: Změny velikosti částic emulzních systémů s pH 4 během skladování.</i>	81
<i>Tab. 10: Změny velikosti částic emulzních systémů s pH 2 během skladování.</i>	81
<i>Tab. 11: Změny ζ potenciálu emulzních systémů s pH 7 během skladování.</i>	82
<i>Tab. 12: Změny ζ potenciálu emulzních systémů s pH 4 během skladování.</i>	83
<i>Tab. 13: Změny ζ potenciálu emulzních systémů s pH 2 během skladování.</i>	83