

Stabilita emulzí O/V v přítomnosti neionogenních surfaktantů

Bc. Lenka Hrdová

Diplomová práce
2011



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav biochemie a analýzy potravin

akademický rok: 2010/2011

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Lenka HRDOVÁ**
Osobní číslo: **T09784**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Stabilita emulzí O/V v přítomnosti neionogenních surfaktantů**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. V teoretické části práce vypracujte literární rešerši, ve které se zaměřte na popis emulzí, jejich složení, vlastností a faktory ovlivňující jejich stabilitu.
2. Věnujte se stručně postupům přípravy emulzí a popište metody vhodné pro charakterizaci jejich vlastností.

II. Praktická část

1. V experimentální části se věnujte přípravě emulzí s různým poměrem mezi vodnou a olejovou fází a s různým obsahem emulgátoru. Emulze charakterizujte a proveďte testování jejich stability v čase.
2. Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

[1] McCLEMENTS, D., J. Food Emulsions : Principles, Practices, and Techniques. Second Edition. CRC Press : [s.n.], 2005.ISBN 0-8493-2023-2.

[2] BLAŽEJ, A; A KOL., Tenzidy. Bratislava : Alfa SNTL, 1997.

[3] MYERS, D. Surfactant Science and Technology. Third Edition: John Wiley & Sons, 2006. ISBN 13978-0-471-68024-6.

[4] HIEMENZ, P., C., RAJAGOPALAN, R. Principles of Colloid and Surface Chemistry. 3rd Edition, Boca Raton FL., Taylor and Francis, 1997, 650 p. ISBN 0-8527-9397-8

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

25. února 2011

Termín odevzdání diplomové práce:

20. května 2011

Ve Zlíně dne 21. března 2011

doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.
děkan



doc. Ing. Miroslav Fišera, CSc.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu 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, považují 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 20. května 2011

.....

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

(1) Vysoká škola nevydělečně 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 vzdělávacího zařízení (školní dílo).

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

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

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

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

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na přípravu emulzí typu olej ve vodě, jejich charakterizaci a sledování stability při různých teplotách skladování. Stabilita emulzí byla hodnocena ze změn velikostí částic stanovených metodou fotonové korelační spektroskopie a prostřednictvím vizuálního popisu jejich vzhledu.

V teoretické části práce byla vypracována literární rešerše, která je zaměřena na popis emulzí, jejich složení, vlastností a faktorů ovlivňujících jejich stabilitu. Praktická část je rozdělena na dva oddíly. První se zabývá emulzemi typu olej ve vodě O/V připravenými v přítomnosti směsí dvou neionogenních surfaktantů s hodnotou HLB 10 a 9.5 a různým poměrem olejové a vodné fáze. V druhé části práce byly připraveny a studovány podobné emulze typu olej ve vodě O/V, které kromě olejové fáze, vodné fáze a surfaktantu obsahovaly i želatinu nebo hydrolyzát kolagenu Hykol.

Klíčová slova: emulze, nanoemulze, hodnota HLB, surfaktant, stabilita, undekan, želatina

ABSTRACT

The thesis is focused on the preparation of emulsions of oil-in-water type, their characterization, and monitoring of stability at different storage temperatures. Emulsion stability was evaluated from changes in particle size which were determined by photon correlation spectroscopy, and via a visual description of their appearance.

In the theoretical part the literary research was elaborated, which focuses on the characterization of emulsions, their composition, properties and factors affecting their stability. The practical part is divided into two sections. The first deals with the emulsion of oil-in-water type, O/W prepared in the presence of a mixture of two nonionic surfactants with HLB value of 10 and 9.5 and different ratio of oil and aqueous phases. In the second part of this work, similar types of emulsion oil-in-water O/W were prepared and studied, which, except oil phase, aqueous phase and surfactant, contained, also gelatin or collagen hydrolyzate Hykol.

Keywords: emulsion, gelatin, HLB value, nano-emulsion, undecane, surfactant, stability

PODĚKOVÁNÍ

Děkuji paní Doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc. za odbornou pomoc, cenné rady, čas a trpělivost, které mi věnovala při zpracovávání této diplomové práce.

PROHLÁŠENÍ

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

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci Stabilita emulzí O/V v přítomnosti neionogenních surfaktantů, vypracovala samostatně pod vedením Doc. Ing. Věry Kašpárkové, CSc., a uvedla v seznamu literatury všechny použité literární a odborné zdroje.

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 EMULZE	12
1.1 VLASTNOSTI EMULZÍ	12
1.1.1 Barva a vzhled	12
1.1.2 Sedimentace	13
1.1.3 Viskozita	13
2 KLASIFIKACE EMULZÍ	14
2.1 PODLE POLARITY DISPERZNÍHO PODÍLU A PROSTŘEDÍ.....	14
2.2 PODLE KONCENTRACE DISPERZNÍHO PODÍLU	15
2.3 MIKROEMULZE.....	16
2.4 NANOEMULZE	16
3 PŘÍPRAVA EMULZÍ	18
3.1 EMULZIFIKACE	18
3.2 PŘÍPRAVA NANOEMULZÍ.....	18
3.2.1 Použití vysokotlakých homogenizátorů	19
3.2.2 Využití nízkenergetických emulgačních metod	19
<i>Metoda EIP</i>	19
<i>Metoda PIT</i>	20
4 STABILITA EMULZÍ	21
4.1 STABILIZACE EMULZÍ	21
4.2 ZPŮSOBY ZÁNIKU EMULZE	22
4.2.1 Separace na základě gravitačních sil.....	22
4.2.2 Separace na základě agregace částic	23
4.2.3 Ostwaldovo zrání (Ostwald ripening)	24
5 SURFAKTANTY	26
5.1 ROZDĚLENÍ SURFAKTANTŮ.....	26
5.2 SURFAKTANTY PŘÍRODNÍHO PŮVODU	27
5.3 HLB	28
5.4 LEGISLATIVA.....	29
6 KOLOIDY JAKO STABILIZÁTORY EMULZÍ	30
6.1 ŽELATINA.....	30
6.2 VLASTNOSTI ŽELATINY	30
6.2.1 Bloom - hodnota.....	31
6.2.2 Amfoterní vlastnosti.....	31
6.2.3 Ochranný koloidní efekt.....	31
6.2.4 Koacervace	31
6.2.5 Bod tání a tuhnutí.....	32
6.3 ZPŮSOB VÝROBY ŽELATINY.....	32
6.3.1 Kyselý způsob výroby želatiny	32
6.3.2 Alkalický způsob výroby želatiny.....	32

6.4	ŽELATINA JAKO STABILIZÁTOR EMULZÍ.....	33
7	CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE	35
II	PRAKTICKÁ ČÁST	36
8	MATERIÁLY A PŘÍSTROJE.....	37
8.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	37
8.2	PŘÍSTROJE	37
8.3	POMŮCKY.....	37
8.4	EMULZE BEZ PŘÍTOMNOSTI ŽELATINY A HYKOLU	38
8.4.1	Složení emulzí.....	38
8.4.2	Příprava emulzí	41
8.4.3	Charakterizace emulzí	42
8.4.4	Sledování stability emulzí	42
8.5	EMULZE S OBSAHEM ŽELATINY A HYKOLU	43
8.5.1	Složení emulzí s obsahem želatiny a Hykolu.....	43
8.5.2	Příprava emulzí s obsahem želatiny a Hykolu	44
8.5.3	Charakterizace emulzí s obsahem želatiny a Hykolu a jejich stabilita	44
8.6	MĚŘENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC NA PŘÍSTROI ZETA NANO SZ.....	45
8.6.1	Kontrola přístroje Zeta Nano ZS.....	45
9	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	46
9.1	VIZUÁLNÍ POZOROVÁNÍ – EMULZE BEZ OBSAHU ŽELATINY A HYKOLU.....	46
9.1.1	Stabilita emulzí – vliv poměru olejové a vodné fáze	48
9.1.2	Hodnocení průběhu separace fází	50
9.2	VELIKOST ČÁSTIC – EMULZE BEZ OBSAHU ŽELATINY A HYKOLU	52
9.2.1	Velikost částic emulzí ihned po výrobě	52
9.2.2	Stabilita hodnocená ze změn velikosti částic emulzí	57
10	VÝSLEDKY A DISKUZE - EMULZE S OBSAHEM ŽELATINY A HYKOLU	62
10.1	VELIKOST ČÁSTIC EMULZÍ S OBSAHEM ŽELATINY A HYKOLU.....	62
10.1.1	Velikost částic ihned po výrobě	62
10.2	VIZUÁLNÍ POZOROVÁNÍ.....	68
10.2.1	Vizuální pozorování ihned po přípravě emulze	68
10.2.2	Dlouhodobé vizuální pozorování stability emulze.....	72
	ZÁVĚR	74
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	76
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	80
	SEZNAM OBRÁZKŮ	81
	SEZNAM TABULEK.....	82

ÚVOD

Dispergujeme-li vhodnou povrchově aktivní látku v systému obsahujícím vodnou a olejovou fázi vznikne emulze. Emulze je dvoufázový systém, ve kterém jedna fáze existuje ve formě malých částic, pokrytých povrchově aktivní látkou, rozptýlených v celém objemu kontinuální druhé fáze. Emulze jsou mléčné, nebo lehce turbidní což souvisí se skutečností, že velikost jejich částic leží v rozmezí 0,1 μm až 1 μm . Jsou kineticky stabilní, avšak v konečném důsledku budou termodynamicky nestabilní. V průběhu času mají totiž tendenci rozpadat se na své původní složky, které se začnou oddělovat zpět na původní dvě fáze. Částice dispersního podílu se spojí a podle hustoty utvoří fázi, která buď sedimentuje, nebo se shromáždí na povrchu emulze. V poslední době nabývají emulze stále většího významu v kosmetickém i potravinářském průmyslu. Existuje několik typů emulzí a také možností jak je vyrobit.

Tato diplomová práce v teoretické části zpracovává problematiku emulzí, jejich složením, vlastnostmi a faktory ovlivňujícími jejich stabilitu. Praktická část práce je rozdělena do dvou hlavních kapitol. První se zabývá přípravou emulzí typu olej ve vodě v přítomnosti směsí dvou neionogenních surfaktantů. V druhé kapitole jsou rovněž připraveny emulze typu olej ve vodě se směsí neionogenních surfaktantů, ke kterým byly navíc přidány hydrofilní koloidní látky, želatina a hydrolyzát kolagenu Hykol. Připravené emulze byly hodnoceny pomocí vizuálního sledování a byla rovněž stanovena velikost jejich částic technikou fotonové korelační spektroskopie (PCS) a to jak bezprostředně po výrobě, tak i po určité době skladování v různých teplotních podmínkách.

Cílem diplomová práce bylo jak připravit emulze tak i stanovit vliv různých poměrů vodné (V) a olejové (O) fáze (O/V 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70), hodnot HLB surfaktantů a přítomnosti koloidů na velikost částic a stabilitu emulzí skladovaných při teplotách 4 °C, 25 °C a 35 °C.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 EMULZE

Emulze je heterogenní směs dvou kapalin, které se vzájemně samovolně nesměšují. Obvykle jde o kapaliny s různou hustotou a polaritou. Emulze je tvořena disperzním prostředím a dispergovanou (rozptýlenou) látkou [1], [2]. Jako nepolární kapalina bývá často označován olej (O) a jako polární voda (V). Pokud je dispergovanou fází olej a spojitou voda, hovoří se o emulzi typu O/V (olej ve vodě), v opačném případě se jedná o emulzi V/O (voda v oleji) [4].

V praxi se setkáváme s přirozenými i uměle připravenými emulzemi v potravinářském průmyslu, v průmyslu plastických hmot, ve farmacii, kosmetice, v zemědělství a v mnoha jiných oborech [3]. V některých průmyslových odvětvích může být přítomnost emulzí nežádoucí, (např. při zpracování ropy), neboť znesnadňuje dělení kapalných fází a zvyšuje jejich viskozitu [3].

1.1 Vlastnosti emulzí

V následujícím oddílu budou stručně charakterizovány nejdůležitější mechanické (viskozita, hustota), optické (čirost, barva), chemické a fyzikálně-chemické vlastnosti emulzí [4].

Velikost částic v emulzích má velmi široké rozmezí, jejich průměry leží mezi 100 nm až 100 μm a lze je tedy zařadit jak mezi koloidní tak dispergované emulze [4].

1.1.1 Barva a vzhled

Barva a vzhled emulzí závisí na koncentraci a velikosti částic disperzního podílu a na indexu lomu obou kapalných fází. I když obě jejich složky, olej i voda, jsou před emulgováním čiré a bezbarvé, emulze jsou většinou kalné, koncentrovanější emulze jsou neprůhledné. Pouze při stejném indexu lomu obou fází jsou emulze průsvitné [1], [4].

Zákal je způsoben tím, že složky emulze mají různé indexy lomu. Zákal je tím intenzivnější, čím více se indexy lomu obou složek od sebe liší. Čím je emulze koncentrovanější a čím jemněji je vnitřní fáze rozptýlena ve fázi vnější, tím je zákal silnější [13]. To lze odůvodnit tím, že s koncentrací a stupněm disperze vzrůstá i počet heterogenních částic, a tím i počet ploch, na nichž se procházející světlo lomí, odráží a rozptyluje [14].

1.1.2 Sedimentace

Sedimentace disperzního podílu závisí na poměru hustot obou kapalin, může docházet jak k sedimentaci směrem dolů, tak i k flotaci směrem vzhůru, na hladině pak vzniká koncentrovaná vrstva disperzní fáze. Vysoce koncentrované nebo gelovité emulze nejsou v důsledku těsného uložení částic schopné sedimentovat a vykazují některé mechanické vlastnosti stejné jako gely [1], [4].

1.1.3 Viskozita

Z mechanických vlastností je pro technické použití emulzí důležitá jejich viskozita. Viskozita emulze je vlastnost hotové připravené emulze jako celku a je nutno ji odlišovat od viskozity jednotlivých složek. Viskozita emulze je na viskozitě jejích součástí závislá pouze částečně. Hlavními činiteli, kteří mají vliv na viskozitu hotové emulze jsou:

- Viskozita vnější fáze.
- Poměr množství obou fází.
- Způsob přípravy, druh a účinek použitého surfaktantu [14].

Viskozita koncentrovaných emulzí závisí mnohem více na poměru objemů obou kapalných fází než pouze na viskozitě disperzního prostředí a uplatňuje se také viskozita surfaktantu. Koncentrované emulzní systémy často vykazují nenevtonské chování [1], [4].

2 KLASIFIKACE EMULZÍ

V následujícím oddílu budou rozděleny emulze podle polaritý disperzního podílu a prostředí a podle koncentrace disperzního podílu. Dalším kriteriem pro dělení bude velikost částic disperzního podílu.

2.1 Podle polaritý disperzního podílu a prostředí

Podle tohoto kriteria lze emulze dělit na:

- Emulze přímé (prvního druhu), označované jako O/V (olej ve vodě), ve kterých je disperzním prostředím polárnější kapalina (obvykle voda nebo vodný roztok).
- Emulze obrácené (druhého druhu), označované jako emulze V/O (voda v oleji), jejichž disperzním prostředím je méně polární kapalina [1], [3].

Typ emulze je možno určit

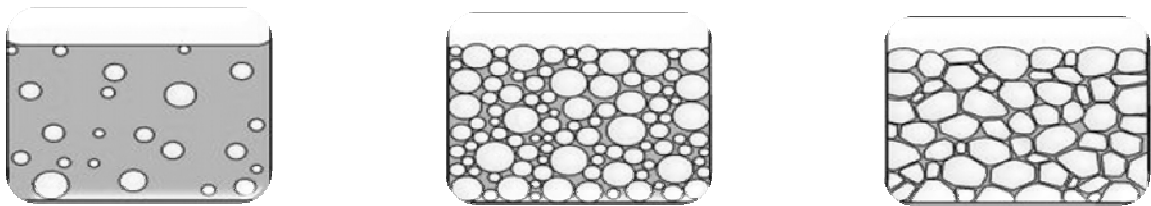
- Podle její elektrické vodivosti, která je dána vodivostí jejího disperzního prostředí a emulze O/V jsou tedy mnohem vodivější než emulze V/O.
- Podle schopnosti rozpouštět polární nebo nepolární barviva.
- Pozorováním v ultrafialovém světle (olejová fáze fluoreskuje).
- Podle smáčivosti, emulze O/V smáčí hydrofilní povrch, emulze V/O nikoliv a naopak [1], [3].
- Podle schopnosti mísit se s polárními nebo nepolárními rozpouštědly. Emulzi je možno ředit kapalinou, která se mísí s jejím disperzním prostředím [4].

V principu je možno připravit i emulze typu O/O (olej v oleji), tato možnost je však omezena značnou mísitelností organických kapalin a dále skutečností, že existuje jen málo látek, které jsou povrchově aktivní na rozhraní dvou organických kapalin a mohou tak působit jako stabilizátory těchto emulzí [1].

2.2 Podle koncentrace disperzního podílu

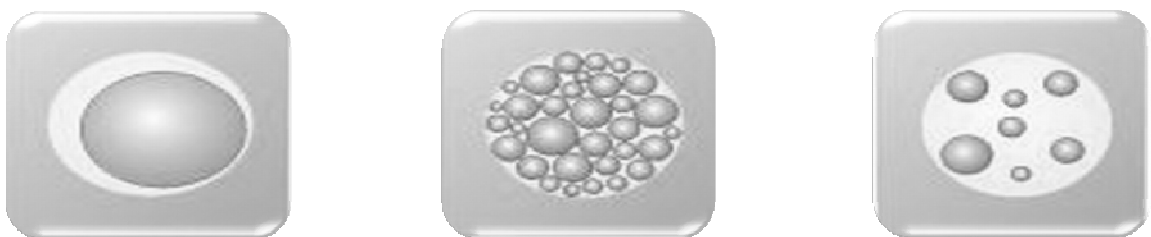
Podle koncentrace disperzního podílu dělíme emulze na:

- Zředěné emulze, kde disperzní podíl zaujímá maximálně 2 % celkového objemu velikost částic je zpravidla řádově 1000 nm [1], [3].
- Koncentrované emulze, kde je disperzní podíl tvořen nedeformovanými sférickými částicemi. V monodisperzních systémech může koncentrace disperzního podílu dosáhnout max. 74 % objemu, což odpovídá nejtěsnějšímu geometrickému uspořádání kulovitých částic. Polydisperzní emulze, kde malé částice mohou vyplnit prostory mezi velkými lze připravit i koncentrovanější [1], [3].
- Gelovité (vysoce koncentrované) emulze, v nichž jsou částice disperzního podílu uloženy tak těsně, že se vzájemně deformují a nabývají tvaru mnohostěnů oddělených od sebe tenkými filmy koloidních rozměrů - vrstvičkami disperzního prostředí a surfaktantu [1], [3]



Obrázek 1. Zředěné, koncentrované a gelovité emulze [1].

Speciálním typem emulzí jsou dvojité emulze, jejichž disperzní podíl je tvořen rovněž emulzí (Obrázek 2). Mohou to být emulze typu O/V/O nebo V/O/V, popřípadě složitější. Emulze tvořící disperzní podíl je označována jako primární emulze a surfaktant použitý při její přípravě jako primární surfaktant [1], [2].



Obrázek 2. Dvojité emulze [1].

Tyto emulze jsou obvykle připravovány ve dvou krocích za použití dvou typů surfaktantu (hydrofilního a hydrofobního), mohou vznikat i inverzí fází, ale takto připravené systémy mají malou stabilitu [1], [3].

2.3 Mikroemulze

Mikroemulze tvoří přechod mezi emulzemi a micelárními koloidy. Vznikají samovolně při vyšších koncentracích surfaktantů a velkém obsahu solubilizátu v micle. Jejich tvorbu usnadňuje přítomnost kosurfaktantu (např. alkoholu o střední délce řetězce), který způsobuje další snížení mezifázového napětí [1]. Velikost částic mikroemulzí se udává v rozmezí 10–100 nm [24]. Na rozdíl od většiny běžných emulzí jsou mikroemulze průhledné. Jsou to termodynamicky stabilní izotropní dispersní systémy [1].

2.4 Nanoemulze

Emulze s typickým rozsahem velikostí molekul 20 – 500 nm. Některé zdroje uvádějí 50 – 200 nm, bývají v literatuře nazývány mini-emulze, průsvitné emulze, nanoemulze nebo velmi jemné emulze [8]. Preferovaný je název nanoemulze, jelikož vystihuje velikosti dispergovaných částic a nelze jej nezeměnit s termínem mikroemulze, které mají velikost dispergovaných částic obdobnou, ale jsou to termodynamicky stabilní systémy [11]. Vzhledem k velikosti dispergovaných částic, mohou vypadat jako transparentní [8]. Na rozdíl od mikroemulzí, které jsou také průhledné nebo průsvitné a jsou termodynamicky stabilní, nanoemulze jsou pouze kineticky stabilní a metastabilní. Nanoemulze lze ředit vodou, aniž by se změnila velikost dispergovaných částic [8].

Vlastnosti nanoemulzí jako je dlouhodobá stabilita, textura a vzhled jsou z velké části ovlivněny velikostí částic olejové fáze. Z tohoto důvodu je důležité mít možnost velikost částic během emulgace ovlivňovat a přitom kontrolovat jejich vlastnosti. To je popsáno například v práci [8], která se zabývá nanoemulzemi složenými z vody, parafínového oleje a směsi neionogenních surfaktantů a sleduje vliv způsobu přípravy a koncentrace surfaktantu na velikost částic v nanoemulzích. Experimenty ukázaly, že nad kritickou koncentrací poměru „surfaktant k oleji“ a za použití standardního způsobu emulgace pomocí fázové inverze vzniká značné množství částic olejové fáze s částicemi o průměru menším

než 1 μ m. Při změně způsobu emulgace, kdy se zabrání fázové inverzi, tyto malé částice chybí a velikost a distribuce velikostí částic je výhradně řízena vstupní mechanickou energií při emulgaci. Ukázalo se rovněž, že metoda emulgace fázovou inverzní využívá pro dosažení jemně rozptýlených O/V emulzí dvou efektů. Zatímco lamelární nebo bikon-
tinuální struktura tvořená surfaktantem v inverzním bodě určuje výslednou velikost částic emulze, odpovídající minimální povrchové napětí v tomto bodě zase usnadňuje vlastní tvorbu částic [8].

Nanoemulze nacházejí významné použití v mnoha oborech, například, kosmetice nebo také ve farmacii a zdravotnictví. Jejich výhody je, ve srovnání s běžnými emulgami, možné shrnout do následujících bodů:

1. Malá velikost dispergovaných částic způsobuje značné snížení vlivu gravitační síly působící destabilizaci nanoemulzí. Brownův pohyb částic je potom dostatečný pro překonání gravitační síly a díky tomu v nanoemulgách dochází pouze omezeně k sedimentaci a krémování.
2. Malá velikost dispergovaných částic také zabraňuje flokulaci, což zajišťuje, aby dispergované částice zůstaly v systému rozptýleny a nedocházelo k jejich separaci.
3. Malé částice omezují rovněž možnost koalescence částic. Navíc tloušťka surfaktantového filmu (v poměru k velikosti dispergovaných částic) zabraňuje ztenčování nebo porušení filmu kapaliny vytvořeného mezi částicemi.
4. Na rozdíl od tvorby malých částic submikronové velikosti v mikroemulgách, které vyžadují velké množství surfaktantu (20 % a více), postačuje pro přípravu nanoemulzí 5 – 10 % surfaktantu [9].

I přes výše uvedené výhody však zatím v praxi k masovému rozšíření nanoemulzí nedošlo. Hlavním důvodem je skutečnost, že příprava nanoemulzí vyžaduje často speciální zařízení, ale především je to názor kosmetického a farmaceutického průmyslu, že výroba nanoemulzí je finančně nákladná. Dalšími skutečnostmi, které lze v této souvislosti zmínit je nedostatek v porozumění mechanismu tvorby částic nanoemulzí se submikronovou velikostí a vyjasnění role surfaktantů. Nelze ani pominout skutečnost, že mechanismus zániku nanoemulzí Ostwaldovým zráním, které je nejzávažnějším problémem spojeným s jejich destabilizací, je rovněž nedostatečně prostudován a objasněn.

3 PŘÍPRAVA EMULZÍ

Emulze se obvykle připravují mechanickou disperzací disperzního podílu v disperzním prostředí za přítomnosti příslušného surfaktantu – emulzifikací. Dispergované kapaliny se intenzivně promíchávají či protřepávají, případně jsou homogenizovány pomocí koloidních mlýnů nebo ultrazvuku. Získané polydisperzní emulze se mohou dodatečně homogenizovat ve speciálních homogenizačních zařízeních. Další možností přípravy emulzí je použití kondenzačních metod, kdy například snížením rozpustnosti vysokomolekulárních látek přidavkem špatného rozpouštědla je možno získat vodné emulze organických látek o velké polydisperzitě [3].

3.1 Emulzifikace

Při emulzifikaci je mechanická práce přeměňována v mezifázovou energii rozhraní olej/voda. Surfaktanty vedle stabilizačního účinku snižují mezifázovou energii a tím tento proces usnadňují [3]. Je možné připravit emulzi homogenizací čistých fází. Dochází ovšem k rychlé separaci obou fází z důvodu termodynamické nevýhodnosti míšení vody a oleje [4]. Emulzifikace je velmi snadná, poklesne-li mezifázové napětí pod 10 mN/m. Některé surfaktanty s rozvětveným řetězcem dokonce snižují mezifázovou energii pod 1 mN/m. Pak stačí k dispergování velmi malé síly a dochází k tzv. spontánní emulzifikaci [3].

3.2 Příprava nanoemulzí

Pro vytvoření stabilního emulzního systému je rozhodující volba správného surfaktantu. Emulze jsou obvykle připravené s cílem, aby zůstaly stabilní. Avšak příprava emulzí za přítomnosti jednoho surfaktantu nemůže zajistit požadovanou stabilitu. Jejich stabilitu lze však zvýšit tím, že se použije směs surfaktantů [12].

K přípravě nanoemulzí pokrývajících rozsah velikosti částic 50–200 nm (20 – 500 nm) mohou být použity následující metody.

3.2.1 Použití vysokotlakých homogenizátorů

Příprava nanoemulzí s velikostí částic v rozsahu submikroskopických je velmi energeticky náročná. Může být provedena mechanicky, což zahrnuje vstup velkého množství energie dodávaného prostřednictvím smykového namáhání (intenzivní míchání). K tomu jsou používány vysokotlaké homogenizéry nebo ultrazvukové generátory [8], [9]. Tyto přístroje dodají energii v kratším čase a výsledná emulze je více homogenní a má menší velikost částic. Konvenční homogenizéry pracují v rozsahu tlaků 50 až 100 MPa. Vysokotlaké přístroje používající tlaky 350 MPa a byly vyvinuty teprve nedávno, ačkoliv na výrobu emulze O/V stačí homogenizace tlakem nižším než je 150 MPa [11].

3.2.2 Využití nízkoenergetických emulgačních metod

Během emulgace, může docházet k fázovému přechodu a toho využívají nízkoenergetické emulgační metody. Během fázové inverze (obrácení fází) dochází k situaci, kdy emulze daného typu přechází na emulzi druhého typu tzn., že například emulze typu O/V přecházejí na typ V/O a naopak [10].

V principu existují dvě cesty, kterými lze fázového přechodu dosáhnout. První probíhá za konstantní teploty a mění se hydrofilně-lipofilní balance (HLB) systému obsahujícího směs dvou surfaktantů. Metoda se označuje EIP – Emulsion Iversion Point (Inverzní bod emulze). Při druhém postupu složení zůstává konstantní a dochází ke změně teploty. Potom se jedná o tzv. PIT (Phase inversion temperature), tedy metodu „teploty fázové inverze“ [9].

Metoda EIP

Studie chování systému voda/olej/surfaktant [9] sledovala vznik nanoemulzí za použití tří následujících postupů:

- a) Postupné přidávání oleje do roztoku vody a surfaktantů.
- b) Postupné přidávání vody do roztoku oleje a surfaktantů.
- c) Smíchání všech složek v konečném složení, kterému předchází ekvilibrace složek před emulgací [9].

Výsledky této studie dokumentovaly, že ve studovaném systému voda/Brij 30/dekan, který byl vybrán jako modelový systém k získání O/V, emulze vznikly nanoemulze s rozměry částic v řádu 50 nm pouze tehdy, když byla voda přidána do směsi olej/surfaktant (metoda b) [9].

Metoda PIT

Metoda PIT využívá neionogenních surfaktantů etoxylovaného typu. Tyto povrchově aktivní látky jsou vysoce závislé na teplotě. Vzhledem k dehydrataci polyoxyethylenového řetězce roste se vzrůstající teplotou jejich lyofilita, takže připraví-li se emulze O/V za použití těchto surfaktantů která je zahřívána, dojde při kritické teplotě (PIT) k jejímu obrácení na emulzi V/O. Pomocí následného rychlého zchlazení systému vznikají stabilní emulze s částicemi o malých velikostech [9].

4 STABILITA EMULZÍ

4.1 Stabilizace emulzí

Emulze jsou agregátně nestálé systémy. Aby byla zajištěna dostatečná životnost emulze, je zapotřebí ji stabilizovat [2]. Stálost emulze závisí na okolnostech a může být různá podle toho, je-li emulze ponechána v klidu nebo vystavena otřesům, odstředování, změnám teploty nebo jiným vlivům, které mohou vést k jejímu zániku [3].

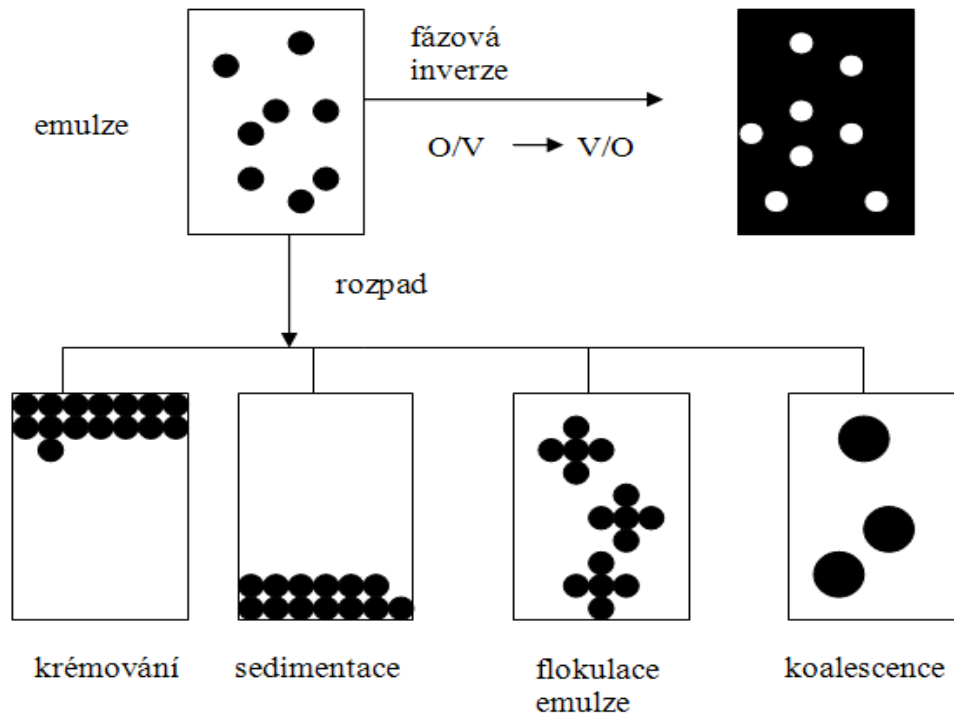
Stabilizaci emulze lze provést několika způsoby:

- Stabilizace elektrickou dvojrůstvou přichází v úvahu pouze u zředěných emulzí, kde srážky dispergovaných částic nejsou příliš časté. Rozpustnost kationtů a aniontů je různá ve vodné a olejové fázi, obvykle jsou anionty více rozpustné v olejové a kationty ve vodné fázi. Odpudivé síly mezi částicemi brání koalescenci tím účinněji, čím větší je tloušťka dvojrůstvy a čím větší je náboj částic. Vliv koncentrace elektrolytů na tyto dvě veličiny je však opačný, náboj částice roste s koncentrací elektrolytu, kdežto tloušťka dvojrůstvy se vzrůstající koncentrací elektrolytu klesá. Křivka závislosti stability emulze na koncentraci elektrolytu tak prochází maximem [1].
- Stabilizace pomocí surfaktantu. V koncentrovaných emulzích, kde stabilizace pouhým elektrickým nábojem nepostačuje, je třeba životnost emulzí zajistit přidáním vhodné třetí složky. Tím je surfaktant, který vytváří na povrchu dispergovaných částic ochrannou vrstvu, která při tepelné nebo sedimentační srážce dvou částic zabrání jejich koalescenci. Surfaktant musí proto splňovat tyto požadavky:
 - Hromadit se na rozhraní obou fází.
 - Vytvářet na rozhraní soudržný, elastický film, který však nejeví adhezi k filmům vytvořeným okolo jiných částic [1].

Stálost emulze lze charakterizovat rychlostí zmenšování plochy fázového rozhraní. Stanovuje se obvykle nepřímou, např. měřením zákalu, měřením objemu olejové fáze uvolněného destrukcí emulze, nebo určením velikosti dispergovaných částic [3].

4.2 Způsoby zániku emulze

Zánik emulze, tj. separace na makroskopické fáze je proces spontánní, spojený s poklesem Gibbsovy energie. Souběžně i následně zde může probíhat několik různých pochodů, jako je krémování, sedimentace, flokulace a koalescence [3].



Obrázek 3. Různé mechanismy rozpadu emulze [4].

4.2.1 Separace na základě gravitačních sil

Nestabilita emulze se projevuje buď krémováním, nebo sedimentací s ohledem na rozdíl v hustotách obou fází. Separace je obecně řízena Stoklesovým zákonem [4].

Krémování

Krémování lze charakterizovat jako shromažďování dispergovaných částic v horní části systému z důvodu jejich nižší hustoty. Na povrchu emulze dojde k vytvoření krémové vrstvy, její tloušťka je dána počáteční koncentrací emulgované fáze a způsobem uložení jednotlivých částic ve vrstvě. Hustota uložení je závislá jednak na polydisperzitě částic, jednak na povaze interakcí mezi nimi [4].

K významným skutečnostem ovlivňující rychlost oddělování fází patří fluidita dispergované fáze, polydisperzita částic, možnost flokulace částic v emulzi, existence elektrického náboje, velikost a vlastnosti absorbované vrstvy surfaktantu [4].

Každá emulze se vyznačuje polydisperzitou. Větší částice mají tendenci vytvářet krémování rychleji než menší. Existuje i distribuce rychlosti krémování podobně jako distribuce velikosti částic. Protože se velké částice pohybují rychleji, může navíc docházet ke kolizím s menšími částicemi a k dalšímu zvýšení rychlosti krémování [4].

Sedimentace

Sedimentace je opačný děj zapříčiněný vyšší hustotou částic, než je hustota spojité fáze. Jedná se o usazování částic disperzního podílu v dolní části systému. Pohyb částic v gravitačním poli je rovnoměrný, částice padají směrem dolů, je-li jejich hustota větší než hustota disperzního prostředí [1].

Průběh sedimentace závisí na velikosti částic a rozdílu hustot disperzního podílu a disperzního prostředí [1].

4.2.2 Separace na základě agregace částic

Dochází-li k destabilizaci emulze na základě agregace částic, je pozorována buďto flokulace nebo koalescence. Jsou dány agregací částic disperzního podílu [4].

Flokulace

Při flokulaci dochází k agregaci částic do větších celků při zachování jejich individuálního charakteru. Flokulace urychluje ve zředěných emulzích gravitační separaci, nebo může způsobit zvýšení viskozity emulze, popřípadě vytvoření gelových struktur [4].

Rychlost flokulace závisí na frekvenci srážek a jejich účinnosti. Účinnost srážek je závislá na hydrodynamických a koloidních interakcích. Mezi koloidní interakce patří např. Van der Waalsovy interakce, elektrostatické, hydrofobní a hydratační interakce. Tyto interakce rozhodují o tom, jestli k agregaci částic dojde nebo jestli částice zůstanou odděleny [4].

Koalescence

Při koalescenci dvě nebo více částic vytvoří jednu novou o větším průměru a tím se plocha fázového rozhraní zmenšuje. Velké částice mohou snadněji sedimentovat. Tento proces probíhá především v koncentrovaných emulzích a je zde hlavním faktorem, který určuje dobu jejich životnosti [3].

Koalescence předpokládá přímý kontakt částic a následný zánik stabilizujícího filmu. Na rozdíl od gravitační separace a flokulace je koalescence závislá více na silách krátkého dosahu. Rozhodujícím faktorem je kvalita ochranného filmu, která je závislá na vlastnostech surfaktantu použitého ke stabilizaci emulze. Koalescence, jako jev, je poměrně málo prostudována. Všeobecně lze říci, že tendence ke koalescenci částic je dána fyzikálními faktory (Brownův pohyb, gravitace atd.), povahou sil, které působí mezi částicemi (především koloidní a hydrodynamické interakce) a odolností stabilizujících filmů proti zaniknutí [4].

Fázová inverze

Dojde-li ke změně podmínek, které stabilizují emulzi určitého typu, může dojít k obrácení fází, kdy emulze daného typu např. O/V přechází na emulzi opačného typu V/O [8]. Příčinou může být buď fyzikální změna, nebo chemická reakce, převádějící surfaktant na látku stabilizující opačný typ emulze. Přitom se mění poměr rozpustností surfaktantů v obou fázích. Tyto změny jsou vratné, zvláště jsou-li vyvolávány změnami fyzikální povahy [4]. Fázová inverze může být způsobena například změnou hodnot HLB.

4.2.3 Ostwaldovo zrání (Ostwald ripening)

Jedním z hlavních problémů spojených se stabilizací nanoemulzí je Ostwaldovo zrání (Ostwald ripening), které vzniká na základě rozdílu rozpustnosti mezi malými a velkými částicemi v nanoemulzích [9].

Teoreticky by mělo vést Ostwaldovo zrání ke kondenzaci všech částic do částice jediné, což se v praxi nevyskytuje, ale dochází ke zvětšování průměru částic a současně ke snižování jejich počtu [9].

Ke snížení Ostwaldova zrání může být použito následujících postupů

- a) Přidání druhé disperzní fáze do složky, která je nerozpustná v kontinuální fázi. V tomto případě významné rozdělení mezi různé molekuly nenastane. Tato metoda má však omezené použití, protože vyžaduje vysoce nerozpustné oleje jako druhou fázi, která je nemísitelná s primární fází.
- b) Úprava mezifázového filmu na rozhraní O/V. K dosažení tohoto efektu je vhodné použít A-B-A blokových kopolymerů, které jsou rozpustné v olejové fázi a nerozpustné ve fázi vodné [9].

5 SURFAKTANTY

Pro surfaktanty je charakteristické, že jejich molekula je složena z hydrofilní a hydrofobní části [2]. V disperzích se proto molekuly surfaktantu orientují na rozhraní mezi nepolární fází (olej) a polární fází (voda) tak, že hydrofobní konce molekul směřují do hydrofobní fáze, zatímco hydrofilní části molekul směřují do fáze vodné. Molekuly tak vytvoří mezi fázemi orientovaný monomolekulární nebo vícemolekulární film, který usnadňuje dispergaci a stabilizuje disperzi [7]. Surfaktanty tak tvoří na stykové ploše obou fází další samostatnou fázi [4].

Povaha surfaktantů určuje nejen stabilitu, ale i typ emulze. Pro všechny kategorie surfaktantů platí obecné, tzv. Bancrofftovo pravidlo, které říká, že ve stabilizované emulzi je spojitě disperzní prostředí tvořeno tou fází, k níž má použitý surfaktant za daných podmínek větší afinitu [1], [3].

Surfaktant umožňuje vznik emulze a emulzi stabilizuje tím, že:

- Zmenšuje energii potřebnou na tvorbu emulzních částic, tj. snižuje mezifázové napětí.
- Zabraňuje nebo zpomaluje zánik emulzních částic tím, že na fázovém rozhraní vytváří film nebo bariéru, která jim brání ve flokulaci nebo koalescenci [1].

5.1 Rozdělení surfaktantů

Většinu používaných surfaktantů lze zařadit do jedné ze tří následujících skupin [1], [3]:

- a) Asociativní (micelární) koloidy, například mýdla a smáčedla, soli vyšších mastných kyselin, soli vícemocných kovů a stříbra, ve vodě nerozpustné, ale rozpustné v nepolárních kapalinách, alifatické sulfonové kyseliny nebo soli sulfonovaných alkoholů.
- b) Makromolekulární koloidy, zahrnují hydrofilní proteiny (želatina), přírodní gumy a vysokomolekulární sacharidy (škrob, dextrin, pektiny). Jsou to látky schopné asociace ve velké micely. Ve vznikajících filmech jsou vázány dostatečně velkými mezimolekulárními silami, které jim dodají potřebnou soudržnost a pevnost [1].

- c) Jemné nerozpustné prášky, částečně smáčené oběma fázemi, hydrofilní, více smáčené vodou (alkalické sírany železa, mědi, niklu, síran olovnatý, oxid železitý, hliníkové křemičitany) a hydrofobní (saze, uhelný prach, PbS, HgS, AgI, HgI₂) [1], [3].

Surfaktanty lze dále dělit podle následujících kritérií:

Podle vlastností hydrofilní a lipofilní části molekuly, která se vyjádří tzv. hodnotou HLB, se surfaktanty rozdělují na:

- Hydrofilní
- Lipofilní [17].

Podle schopnosti tvořit ionty se surfaktanty klasifikují na:

- Ionické – kde hydrofilní část molekuly může být aniontem, kationtem nebo mít amfoterní charakter.
- Neionické – kde hydrofilní část molekuly je neionizovaná, např. u esterů mastných kyselin s glycerolem, sorbitany, sacharosou, hydroxykyselinami [17].
- Amfolytické čili amfoterní, které se ionizují různým způsobem podle toho, v jakém prostředí jsou rozpuštěny [14].

Emulgační účinek ionogenních i neionogenních surfaktantů je tím větší, čím lépe jsou vyváženy polární a nepolární části jejich molekuly. Vyváženost amfipatické molekuly surfaktantu je dána jednak délkou uhlovodíkového řetězce, jednak afinitou ionogenní nebo polární skupině k vodě [3].

5.2 Surfaktanty přírodního původu

V přírodě se nachází látky, které mají schopnost emulgovat tuky a jiné hydrofobní látky ve vodném prostředí, případně pouze podporovat tvorbu emulzí a stabilizovat je [14].

Patří mezi ně přírodní koloidy jako škroby, dextriny, bílkoviny atd. Mnohé z nich působí pouze jako „ochranné koloidy“ při rozptýlení nerozpustných látek ve vodě. Jejich účinky jsou podmíněny vysokou viskozitou jejich roztoků, která je způsobena hydratací velkých

molekul nebo agregátů ve vodném roztoku [7], [14]. Přírodní surfaktanty nacházejí pro svoji zdravotní nezávadnost použití zvláště v potravinářství [6].

Do skupiny přírodních surfaktantů řadíme:

- Rostlinné slizy a gummy, např. guma arabská, akátová, islandský lišejník aj.
- Algináty – přípravky z mořských řas.
- Polysacharidy, škroby a dextry připravené odbouráním přirozených škrobů do různého stupně.
- Deriváty celulózy, alkylcelulózy.
- Saponiny, heteroglykosidy některých rostlin, které s vodou dávají pěnové, silně emulgující koloidní roztoky.
- Lipidy a steroly jsou přirozené surfaktanty, jimiž organizmy převádějí tuky do vodných emulzí při trávení potravy (fosfolipidy).
- Bílkoviny jsou nejčastěji se vyskytujícím surfaktantem případně stabilizátorem, který se nachází v přirozených emulzních soustavách [14].

5.3 HLB

Pro semiempirický kvantitativní popis schopnosti povrchově aktivních látek stabilizovat určitý typ emulze se používá veličina označovaná jako HLB (z anglického hydrophilic-lipophilic balance). Ta je ukazatelem relativní síly hydrofilní a hydrofobní části surfaktantu a může být použita jako charakterizace relativně příbuzných surfaktantů pro vodnou a olejovou fázi [12].

Vysoká hodnota HLB obecně signalizuje dobrou smáčecí schopnost ve vodě, zatímco nízká hodnota HLB ukazuje afinitu k olejové fázi. Následkem toho, surfaktanty s vysokým HLB mají sklon stabilizovat emulze olej ve vodě, zatímco surfaktanty s nízkým HLB mají sklon stabilizovat emulze voda v oleji.

Pro aplikaci v potravinářských systémech se pro přípravu typu V/O používají surfaktanty s hodnotou HLB 3-6, pro emulze typu O/V látky s hodnotou HLB 15-18. Surfaktanty s hodnotou HLB 7-9 jsou vhodné jako zvlhčovačla [17].

Aby bylo možné připravit emulzi typu O/V, např. z kyseliny olejové, je nutný surfaktant o hodnotě HLB 17, u včelího vosku o hodnotě HLB 9, u řepkového oleje a kakaového másla o hodnotě HLB 6 a u sádla surfaktant o hodnotě HLB 5. V praxi se dává přednost směsí dvou kompatibilních surfaktantů, z nichž jeden má nízkou hodnotu HLB a druhý vysokou hodnotu HLB. Lze je pak míchat ve vypočítaných poměrech [17].

5.4 Legislativa

Přítomnost přídatných látek, které byly v dané potravíně použity, musí být uvedena na jejím obalu, který musí rovněž obsahovat informace o tom, v jakém množství jsou tyto látky v potravíně obsaženy. Označení aditiv se provádí tak, že se uvede název nebo číselný kód E, který se skládá z písmena E a trojmístného čísla. Identifikace číslem E znamená kód, pod kterým je přídatná látka označována v mezinárodním číselném systému (číselný systém má Evropská unie i INS *Codex Alimentarius*). Označení kódem E rovněž znamená, že aditivní látka prošla hodnocením své bezpečnosti [23].

Potravinářské surfaktanty se dělí podle několika hledisek. Všechny obsahují jako lipofilní část molekuly zbytky mastných kyselin, hydrofilní část molekuly bývá odvozena od různých polárních sloučenin (např. glykolů a cukerných alkoholů) [17].

Surfaktanty s označením E322 až E495 jsou surfaktanty, umožňující vznik emulzí (zejména dispergování tuků ve výrobku). V moukách působí jako kondicionéry změkčující kůrku pečiva, v cukrovinkách jako modifikátory krystalizace tuků a mají i další prospěšné vlastnosti [17].

Surfaktanty, které se smějí používat v nezbytném množství jsou: E322, E471 a E472. Polysorbáty (E432-E436), cukroestery (E473, E474), stearyllaktyláty (E481, E42) a surfaktanty E475, E476, E477, E479b, E483 se mohou používat do výše nejvyššího povoleného množství. To se liší podle konkrétního druhu surfaktantu a druhu potraviny, ve které jsou použity. Pro polysorbáty činí například 1000 až 10.000 mg.kg⁻¹, kdy dolní hranice je určena pro dietní potraviny pro kontrolu tělesné hmotnosti a hranice horní pro emulgované tuky pro pekařské účely) [17].

6 KOLOIDY JAKO STABILIZÁTORY EMULZÍ

Jak již bylo uvedeno, emulze lze stabilizovat kromě tradičních surfaktantů i polymery nebo biopolymery, ke kterým patří i želatina. Obecně želatina, obdobně jako ostatní hydrofilní koloidy, zvyšuje viskozitu emulzí a může rovněž interagovat s částicemi emulzí a tím zlepšovat jejich stabilitu. Jelikož byla v diplomové práci při přípravě emulzí použita želatina, je v následující části stručně charakterizována.

6.1 Želatina

Želatina je polyamfolytický polymer používaný v potravinářství, farmacii, farmaceutickém průmyslu a fotografickém průmyslu [21]. Je to pevná, průhledná, křehká látka, mdle žluté barvy, téměř bez chuti a bez zápachu. Za normálních teplotních a vlhkostních podmínek obsahuje 9-10 % vody. Když se vloží do studené vody, hydratuje za vzniku oddělených, nabotnalých částic. Při zahřátí přecházejí tyto nabotnalé částice do roztoku. Důležité vlastnosti želatinových roztoků jsou funkcí pH, obsahu popela, metody výroby, teplotní historie a koncentrace [13], [22].

Z chemického hlediska je želatina heterogenní směs vysokomolekulárních bílkovin [35]. Vztaženo na sušinu, obsahuje jich želatina 98 až 99 %. Relativní molekulová hmotnost těchto bílkovinných struktur leží obvykle mezi 20 000 a 250 000 [13] a v želatině mohou být obsaženy i agregáty s milionovou molekulovou hmotností [36].

Základní stavební složkou bílkovin jsou aminokyseliny (AMK). Želatina jich obsahuje 18. V přírodě bylo doposud identifikováno kolem 700 aminokyselin, ale standardně se v proteinech vyskytuje 20. Jsou to tzv. základní AMK, které se označují pojmem kódované. Všechny kódované AMK jsou karboxylové kyseliny s primární aminoskupinou ($-NH_2$) nejčastěji navázanou na uhlíku, který sousedí s karboxylovou skupinou ($-COOH$) [26], [38].

6.2 Vlastnosti želatiny

Díky své jedinečné molekulární struktuře má želatina některé velmi zajímavé vlastnosti, které nacházejí praktické využití v mnoha průmyslových oblastech.

6.2.1 Bloom - hodnota

Tvorba tepelně reverzibilních gelů ve vodě je jednou z nejvýznamějších vlastností želatiny [13], [18]. Různé želatiny tvoří v závislosti na konkrétních fyzikálně-chemických vlastnostech produktu pevné nebo méně pevné gely. Proces gelace není dosud zcela objasněn, ačkoliv je možné se domnívat, že tvorba gelu je výsledkem tvorby vodíkových můstků v želatinové molekule, která je uspořádána jako micela. Tím se tvoří polotuhý gel ve kterém je vázána voda. Vzhledem k tomu, že želatina je používána v mnoha výrobcích právě kvůli svým gelačním schopnostem, možnost kvantitativního změření této vlastnosti je velmi důležité, nejen jako způsob kontroly, ale i jako údaj o množství želatiny požadované pro daný účel. Želírující sílu želatiny vyjadřuje Bloom-hodnota [13], [38].

6.2.2 Amfoterní vlastnosti

Podle pH ve vodném roztoku se želatina může chovat buď jako kyselina nebo jako zásada, což ji činí amfoterickou. V silně kyselém roztoku je želatina kladně nabitá a v elektrickém poli se pohybuje jako kation. V silně zásaditém roztoku je záporně nabitá a pohybuje se jako anion. Přechodný bod, kdy je náboj nulový a nedochází k žádnému pohybu částic, se nazývá izoelektrický bod [13], [38].

6.2.3 Ochranný koloidní efekt

Želatina je typický hydrofilní koloid. Účinnost želatiny jako ochranného koloidu se vztahuje ke Zsigmondyho zlatému číslu, které je u želatiny nejmenší ze všech známých látek. Při použití želatiny jako protektivního koloidu je třeba mít na paměti, že jde o látku amfoterní povahy, tedy že v závislosti na pH a izoelektrickém bodě nese buď kladný nebo záporný náboj [13], [38].

6.2.4 Koacervace

Koacervace je jev spojený s koloidy, při kterém jsou disperzní částice vylučovány z roztoku v kapalném skupenství. Několik studií bylo provedeno právě se želatinou. Koacerváty jsou tvořeny nejsnadněji, když se ve vhodném poměru smíchají dva hydrofilní koloidní roztoky nesoucí opačné náboje (např. želatina s pH hodnotami nižšími než 4,7

a koloidní roztoky arabské gumy). Ke koacervaci byly použity i látky jako ethanol nebo některé surfaktanty [13], [38].

6.2.5 Bod tání a tuhnutí

Bod tání želatiny je přechodovým bodem od gelu k roztoku. Bod tuhnutí je naopak bodem přechodu od roztoku ke gelu. Bod tání se obvykle pohybuje okolo 28 °C – 30 °C. K tuhnutí želatinového roztoku dochází velmi pozvolna a nastává při teplotě nižší než 25 °C [18], [38].

6.3 Způsob výroby želatiny

6.3.1 Kyselý způsob výroby želatiny

Kyselým způsobem se většinou zpracovávají vepřové a rybí kůže, případně se tento postup používá na výrobu želatiny z kostí. Kůže se po oprání a rozřezání vloží na 24 až 48 hodin do kyselé lázně, jejíž pH se pohybuje pod hodnotou 1,5. Po koupeli v kyselé lázni jsou kůže proprány čistou vodou, vloží se do varných kádí z nerezové oceli a započne řada horkovodních extrakcí (obvykle 3). Připravená surovina je postupně zahřívána od 50° C k bodu varu, aby došlo k denaturaci a solubilizaci kolagenu [18], [38]. Kyselým postupem je připravována želatina typu A.

6.3.2 Alkalický způsob výroby želatiny

Alkalickým způsobem se zpracovávají většinou hovězí kůže. Při alkalickém procesu jsou povápněné nebo nasolené hovězí kůže rozkrájeny a namáčeny ve vápenném mléce. Kůže zůstávají podle svého druhu 2 až 4 měsíce v této koupeli, jejíž pH se pohybuje mezi 12 – 13. Tato předúprava zmýdelní tukové látky a zničí rohovinovou vrstvu kůže. Nejdůležitějším účinkem vápnění je dosažení určitého stupně alkalického zbotnění kožní hmoty. Efekt vápnění spočívá v tom, že se při botnění silně uvolňuje struktura kolagenu, což umožňuje snadné vnikání roztoků dovnitř celého systému a lehčí převedení kolagenu do roztoku působením horké vody. Během tohoto procesu dochází současně ke konzervaci suroviny díky vysokému pH. Po procesu vápnění se kolagen propírá a okyselí na žádané

pH, které značně ovlivňuje vlastnosti výsledného produktu. Při praní se surovina mechanicky zbaví vázaného vápna, zmýdelněných tuků a vyperou se z ní uvolněné nebo odbourané součásti bílkovin a jiné nečistoty. Kolagen se poté zahřívá obdobně jako u procesu kyselého [20]. Výsledná želatina je označovaná jako typ B [18], [38].

Další postup výroby je pro oba procesy společný. Vzniklá surová želatina se filtruje, bělí, konzervuje a zahušťuje k sušení. Sušení se provádí tak, že se 25 až 35% sol želatiny ochladí, přičemž vznikne velmi tuhý gel, který se opatrně zbavuje vody. Vysušená želatina se mele na menší částice podle požadavků zákazníka. Poslední etapou výroby želatiny je mísení jednotlivých druhů tak, aby její vlastnosti odpovídaly parametrům vhodným pro dané použití [19].

6.4 Želatina jako stabilizátor emulzí

Proteiny, včetně želatiny, jsou povrchově aktivní látky. Mohou se adsorbovat na rozhraní O/V a hydrofobními částmi pronikat do olejové fáze. Jak již bylo uvedeno, kromě želatiny, hrají důležitou roli ve snižování mezipovrchového napětí surfaktanty [21]. Zvláště interakce želatiny se surfaktanty je považována za důležitý parametr ovlivňující stabilitu emulzí. Ve studiích které se zabývají interakcemi želatiny se surfaktanty, bylo zjištěno, že poté co k této interakci dojde, se povrchová aktivita želatiny zvyšuje. V literatuře byly popsány zejména vzájemné interakce želatiny a anionických surfaktantů, především dodecylsírany sodného. Na druhé straně, informace o chování želatiny v přítomnosti neionických surfaktantů jsou velmi řídké [37].

Vlastnosti želatiny, které ovlivňují interakce s povrchově aktivními látkami a následně povrchové napětí a stabilitu emulze jsou: pH, isoelektrický bod, teplota a iontová síla [21]. Další důležité charakteristiky želatiny jsou molární hmotnost (MW) a distribuce molární hmotnosti (MWD), které rovněž ovlivňují její vlastnosti, jako je například viskozita a gelová pevnost. MW a MWD se však mění v závislosti na rozdílných výrobních podmínkách želatiny i použitých surovinách. Existuje předpoklad, že jejich změny budou rovněž ovlivňovat interakci želatiny a surfaktantu, případně její adsorpci na fázovém rozhraní O/V a budou tak poskytovat různý stupeň stericke stabilizace dispergovaných částic. O vlivu molární hmotnosti na stabilitu emulze O/V existuje jen málo publikací [21].

Je rovněž známo, že želatina se při stabilizaci emulzí používá jako prostředek zvyšující viskozitu kontinuální fáze. U emulzí, kde je koncentrace oleje malá a viskozita kontinuální fáze nízká, bude v emulzích probíhat nadměrné krémování. Želatina však může viskozitu kontinuální fáze zvýšit a zlepšit tak stabilitu emulzí. Želatina však musí být použita jen v dostatečně nízké koncentraci, protože při koncentracích vyšších dochází při běžných teplotách ke tvorbě gelu [13], [38].

Když je želatina kombinována s jinými látkami, je třeba mít na paměti, že v závislosti na pH a izoelektrickém bodě může být buď anionická nebo kationická. Oba tyto typy jsou, ale kompatibilní s neionickými látkami. Emulze obsahující želatinu A vykazují maximální stabilitu při pH od 3 do 4, emulze s želatinou B pak při pH 8 [13], [16].

7 CÍL DIPLOMOVÉ PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo vypracovat literární rešerši zaměřenou na popis emulzí, jejich složení, vlastností a faktorů ovlivňujících jejich stabilitu. Dalším úkolem bylo zhodnotit postupy přípravy emulzí a představit želatinu jako možný stabilizátor emulzí.

V praktické části diplomové práce bylo cílem připravit nanoemulze za přítomnosti směsi dvou neionických surfaktantů Igepal o výsledných hodnotách HLB 10 a 9.5, stanovit vliv hodnoty HLB a poměru vodné (V) a olejové (O) fáze na velikost částic v emulzích a vyhodnotit nejvhodnější poměr O/V, množství surfaktantu a hodnotu HLB zajišťující dobrou stabilitu emulze. Předložená práce navazuje na série měření shrnutou v práci [25], která studuje obdobné nanoemulzní systémy připravené se směsí neionických surfaktantů o HLB 10.5, 11 a 11.5

V druhé části diplomové práce bylo cílem připravit emulze typu O/V s přídavkem výše uvedených surfaktantů a želatiny typu B nebo hydrolyzátu kolagenu Hykol a zjistit vliv studovaných typů želatiny a Hykolu na velikost částic emulzí a jejich stabilitu. Ve všech případech byly nanoemulze hodnoceny pomocí vizuálního pozorování a bylo provedeno měření velikosti částí pomocí fotonové korelační spektroskopie na přístroji Zeta Nano ZS.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

8 MATERIÁLY A PŘÍSTROJE

V této části jsou popsány chemikálie a přístroje, které byly použity během diplomové práce.

8.1 Použité chemikálie

- Igepal CA-210, HLB 4 (Sigma-Aldrich), neionogenní surfaktant
- Igepal CA-520, HLB 10 (Sigma-Aldrich), neionogenní surfaktant
- Igepal CA-720, HLB 14.2 (Sigma-Aldrich), neionogenní surfaktant
- $C_{11}H_{24}$, n-undekan (Reachin)
- Želatina B, bloom hodnota 150 (PB Gelatins)
- Želatina B, bloom hodnota 220 (SKW Biosystem)
- Hydrolyzát kolagenu Hykol (Tanex s.r.o.)
- Voda čištěná reverzní osmózou (RO voda)
- Polystyrénový latex – Standard 60 nm (Malvern Instruments, Ltd.)
- Ethanol 96 % (UTB ve Zlíně)
- Aceton p. a. (C_3H_6O), (Lachema, s. p., Brno závod Neratovice)

8.2 Přístroje

- Digitální váhy – OHAUS
- Míchadlo – sestava míchadla RZR 2020 Heildolph
- Termostat (Laboratorní přístroje Praha)
- Zetasizer nano SZ (Malvern Instruments, Ltd.)

8.3 Pomůcky

- Automatické mikropipety Eppendorf (100 – 1000 μ l, 3 – 10 μ l)
- Běžné laboratorní sklo
- Byrety

- Kovový stojan
- Kádinky
- Plastové zkumavky (Bio logix)
- Standardní polystyrenová kyveta pro měření velikosti částic (Sarsted Germany)
- Stříkačkový filtr o velikosti pórů 0.22 μm (Millipore, Velká Británie).

8.4 Emulze bez přítomnosti želatiny a Hykolu

8.4.1 Složení emulzí

V první části diplomové práce byly připraveny emulze, složené z vodné fáze tvořené čištěnou vodou s obsahem surfaktantu Igepal 720 (HLB 14.2) a olejové fáze, tvořené n-undekánem a surfaktantem Igepal 210 (HLB 4). Kombinací obou typů neionogenních surfaktantů byly nastaveny žádané hodnoty HLB použité při přípravě emulzí, tedy 10 a 9.5.

Volba HLB směsi surfaktantů vycházela z předpokladu, že pro přípravu stabilní emulze je vhodné použít surfaktant, jehož hodnota HLB je doporučená pro konkrétní použitou olejovou fázi [31]. Pro vytvoření stabilní emulze s olejovou fází z undekanu leží tato doporučená hodnota v intervalu mezi 10 a 11 [32]. V práci [25] byly pro přípravu emulzí o stejných poměrech (O/V) použity směsi surfaktantů Igepal 720 (HLB 14.2) a Igepal 520 (HLB 10), kterými byla hodnota HLB nastavena na 10.5, 11 a 11.5. Předkládaná diplomová práce na studii [25] navazuje a rozšiřuje interval HLB směrem k nižším hodnotám, tedy 10 a 9.5.

Poměr olejové (O) a vodné fáze (V) ve studovaných emulzích činil: O/V 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70, s celkovým množstvím surfaktantů v emulzi 3 nebo 5 hm. %.

Množství každého ze surfaktantů potřebných pro přípravu emulzí bylo vypočteno z příslušných tabelovaných hodnot HLB podle vztahu (1):

$$HLB = x_1 \times HLB_1 + x_2 \times HLB_2, \quad (1)$$

kde: x_1 - hmotnostní zlomek olejové složky;

x_2 - hmotnostní zlomek vodné složky;

Hmotnosti jednotlivých složek pro výrobu emulze byly použity v polovičním množství, tedy přepočítány na 50 g emulze.

Tabulka 1. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 5 % a HLB = 10 (vztaženo na 50 g emulze).

Poměr O/V	Olejevá Fáze [g]	Vodná Fáze [g]	Igepal 210 [g]	Igepal 720 [g]
5/95	2.38	45.13	1.025	1.475
10/90	4.75	42.75	1.025	1.475
15/85	7.13	40.38	1.025	1.475
20/80	9.50	38.00	1.025	1.475
25/75	11.88	35.63	1.025	1.475
30/70	14.25	33.25	1.025	1.475

Tabulka 2. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 10 (vztaženo na 50 g emulze).

Poměr O/V	Olejevá Fáze [g]	Vodná Fáze [g]	Igepal 210 [g]	Igepal 720 [g]
5/95	2.43	46.08	0.618	0.882
10/90	4.85	43.65	0.618	0.882
15/85	7.28	41.22	0.618	0.882
20/80	9.70	38.80	0.618	0.882
25/75	12.13	36.37	0.618	0.882
30/70	14.55	33.95	0.618	0.882

Tabulka 3. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 5 % a HLB = 9.5 (vztaženo na 50 g emulze).

Poměr O/V	Olejevá fáze [g]	Vodná fáze [g]	Igepal 210 [g]	Igepal 720 [g]
5/95	2.38	45.13	1.15	1.35
10/90	4.75	42.75	1.15	1.35
15/85	7.13	40.38	1.15	1.35
20/80	9.50	38.00	1.15	1.35
25/75	11.88	35.63	1.15	1.35
30/70	14.25	33.25	1.15	1.35

Tabulka 4. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 9.5 (vztaženo na 50 g emulze).

Poměr O/V	Olejová fáze [g]	Vodná fáze [g]	Igepal 210 [g]	Igepal 720 [g]
5/95	2.43	46.08	0.691	0.809
10/90	4.85	43.65	0.691	0.809
15/85	7.28	41.22	0.691	0.809
20/80	9.70	38.80	0.691	0.809
25/75	12.13	36.37	0.691	0.809
30/70	14.55	33.95	0.691	0.809

8.4.2 Příprava emulzí

Emulze byly připraveny metodou EIP, tedy nízkenergetickou emulgační metodou využívající fázového přechodu, která se provádí při laboratorní teplotě za přítomnosti dvojice surfaktantů, z nichž jeden je rozpuštěn ve vodné a druhý v olejové fázi. Pro vlastní přípravu emulzí byly nejprve připraveny zvlášť vodná a olejová fáze. Pro přípravu vodné fáze bylo naváženo s přesností na 0,001 g vypočítané množství surfaktantu Igepal CA 720 (s hodnotou HLB 14.2) ke kterému bylo přidáno navážené množství vody a roztok byl homogenizován mícháním. Stejným postupem byl připraven roztok surfaktantu Igepal CA 210 (s hodnotou HLB 4) v n-undekanu, který představoval olejovou fázi. Celkové množství emulze tvořilo vždy 50 g.

K emulgaci byla použita jednoduchá aparatura skládající se z míchadla RZR 2020, byrety a kádinky. Připravená vodná fáze byla nalita do byrety a olejová fáze byla umístěna v kádince pod vlastní míchadlo. Emulze byly připravovány tak, že olejová fáze byla míchána rychlostí 1050 otáček za minutu a z byrety k ní byla rychlostí 1ml/min přikapávána vodná fáze. Doba míchání se měnila v závislosti na poměru vodné fáze (5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70). Emulze byla vždy míchána ještě 5 minut po ukončení přidavku vodné fáze. Po ukončení míchání byl vizuálně zhodnocen vzhled emulze a emulze byla připravena k další charakterizaci a sledování stability v čase. Emulgace probíhala při laboratorní teplotě (25 °C).

8.4.3 Charakterizace emulzí

Ve stejném dni jako příprava emulze bylo provedeno měření velikosti částic emulze na přístroji Zetasizer nano SZ. Bylo rovněž provedeno vizuální pozorování emulzí, kdy byl sledován jejich celkový vzhled, barva a konzistence a byla-li na emulzi přítomna pěna také její výška, barva a rychlost odpěnění. Další pozorování probíhalo obvykle po jedné hodině, kdy byla sledována změna barvy emulze, v některých případech oddělení jednotlivých fází emulze a rychlost opadnutí pěny.

8.4.4 Sledování stability emulzí

Po počáteční charakterizaci prováděné ihned po přípravě byly emulze rozděleny na tři alikvotní části, které byly uloženy do prostředí se sníženou teplotou – chladnička (4 °C), s teplotou laboratorní (25 °C) a teplotu zvýšenou – termostat (35 °C).

Jejich stabilita byla sledována pomocí měření velikosti částic na přístroji Zetasizer nano SZ. Výsledky byly zaznamenány jako „z-průměr“ částic. Tento z-průměr představuje střední hodnotu velikosti částic přítomných v emulzi.

Jako další informace jsou uváděny i velikosti částic získané z „intenzitní“ distribuce. Tyto údaje mají informační hodnotu především v případě vzorků s bimodální nebo multimodální distribucí velikosti částic, která se projevuje přítomností dvou nebo více píků, představujících více populací částic přítomných v emulzích. Z těchto údajů lze potom získat hodnoty velikosti částic každé populace, stejně jako procentuální zastoupení částic s různými velikostmi ve vzorku [25].

Měření velikosti částic bylo provedeno v den výroby emulze a následně v dalších dnech skladování (1 až 23 dní). Měření bylo provedeno u všech poměrů O/V skladovaných při všech teplotách.

Současně s měřením velikosti částic, bylo prováděno vizuální pozorování emulzí skladovaných při sledovaných teplotách. Byl hodnocen vzhled, homogenita a rozpad emulze na jednotlivé fáze. Také bylo sledováno krémování nebo sedimentace a změna barvy emulze. Měření velikosti částic bylo prováděno pouze u homogenních emulzí. Pokud došlo k jejímu rozpadu na jednotlivé fáze, bylo sledování stability pomocí měření velikosti částic ukončeno.

8.5 Emulze s obsahem želatiny a Hykolu

V druhé části diplomové práce byly připraveny emulze, které kromě surfaktantů, olejové a vodné fáze obsahovaly přídavek želatiny a hydrolyzátu kolagenu Hykol. Želatina a Hykol byly přidána k vodné fázi tak, aby vznikl vždy jejich 1% roztok. Charakteristiky použité želatiny a hydrolyzátu jsou uvedeny v Tabulce 5.

Tabulka 5. Hodnoty hmotnostního průměru molárních hmotností M_w číselného průměru molárních hmotností M_n a indexu polydisperzity PD vzorků želatiny a Hykolu [27], [28].

Typ Vzorku	Hodnota Bloom	M_w [g/mol]	M_n [g/mol]	$P_d = M_w / M_n$
Želatina B ₁	220	397000	129000	3.1
Želatina B ₃	150	304000	47000	6.5
Hykol	–	18400	1500	12.3

8.5.1 Složení emulzí s obsahem želatiny a Hykolu

Množství jednotlivých složek pro přípravu emulzí se želatinou/hydrolyzátem bylo vypočítáno způsobem popsáním části 8.4.1 (Složení emulzí) diplomové práce. Poměr olejové (O) a vodné fáze (V) činil O/V 5/95, 10/90, 20/80 a 30/70, množství surfaktantu 3 hm. % a vodná fáze emulzí obsahovala navíc 1% příslušné želatiny nebo Hykolu. V tomto případě byly hodnoty HLB směsi surfaktantů Igepal 720 a Igepal 520 nastaveny na 10.5, 11, 11.5.

Tabulka 6. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a $HLB = 10.5$, želatina B 150 (vztaženo na 50 g emulze).

Poměr O/V	Olejová fáze [g]	Vodná fáze [g]	Igepal 210 [g]	Igepal 720 [g]
5/95	2.43	46.08	1.322	0.178
10/90	4.85	43.65	1.322	0.178
20/80	9.70	38.80	1.322	0.178
30/70	14.55	33.95	1.322	0.178

Tabulka 7. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 11, želatina B 150 (vztaženo na 50 g emulze).

Poměr O/V	Olejová fáze [g]	Vodná fáze [g]	Igepal 210 [g]	Igepal 720 [g]
5/95	2.43	46.08	1.140	0.360
10/90	4.85	43.65	1.140	0.360
20/80	9.70	38.80	1.140	0.360
30/70	14.55	33.95	1.140	0.360

Tabulka 8. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 11.5, želatina B 150 (vztaženo na 50 g emulze).

Poměr O/V	Olejová fáze [g]	Vodná fáze [g]	Igepal 210 [g]	Igepal 720 [g]
5/95	2.43	46.08	0.970	0.530
10/90	4.85	43.65	0.970	0.530
20/80	9.70	38.80	0.970	0.530
30/70	14.55	33.95	0.970	0.530

8.5.2 Příprava emulzí s obsahem želatiny a Hykolu

Nejprve byl připraven 1% vodný roztok želatiny tak, že želatina byla navážena s přesností na 0,001 g do kádinky a následně kvantitativně převedena do odměrné 250 ml baňky. Obsah baňky byl zahřát na ca 50 °C po dobu 20 minut, což umožnilo důkladné rozpuštění želatiny. Po ochlazení byl roztok v baňce doplněn vodou na žádaný objem. Takto připravený roztok želatiny byl následně použit místo čištěné vody pro přípravu vodné fáze. Dále byl postup přípravy emulzí totožný s postupem popsaným v části 8.4.2 (Příprava emulzí) diplomové práce.

8.5.3 Charakterizace emulzí s obsahem želatiny a Hykolu a jejich stabilita

Charakterizace emulzí i sledování jejich stability bylo provedeno v souladu s postupem uvedeným v kapitolách 8.4.3 (Charakterizace emulzí) a 8.4.4 (Sledování stability emulzí). Jediným rozdílem bylo, že po počáteční charakterizaci byly emulze rozděleny pouze na dvě alikvotní části a umístěny do prostředí s teplotou 4 °C a 25 °C. Sledování stability

bylo prováděno, vzhledem k časovému omezení, pouze prostřednictvím vizuálního pozorování po dobu sedmi dnů.

8.6 Měření velikosti částic na přístroji Zeta Nano SZ

Metoda rozptylu světla, na které je měření velikosti částic založeno, je negativně ovlivněna přítomností nečistot. Proto musí být dispersní médium těchto nečistot pečlivě zbaveno. To bylo provedeno filtrací dispersního média, vody, přes filtr o velikosti pórů 0.22 μm .

Vzorky pro měření byly připraveny tak, že do standardní polystyrenové kyvety byl pomocí automatické pipety nadávkován 1 ml přefiltrované vody a 3 μl vzorku emulze. Před každým dávkováním byla vždy emulze homogenizována manuálním protřepáním. Kyveta byla zakryta víčkem, které zajistilo teplotní stabilitu vzorku, a byla vložena do přístroje.

Měření bylo prováděno při teplotě 25 $^{\circ}\text{C}$ a byly použity následující vstupní údaje potřebné pro výpočet velikosti částic: viskozita dispersního média (vody) 0.887 cP, index lomu dispersního média 1.33 a index lomu dispergovaného podílu (undekan) 1.41. Vyhodnocení měření bylo prováděno přímo přístrojem Zeta Nano ZS [29].

8.6.1 Kontrola přístroje Zeta Nano ZS

Přesnost měření velikosti částic byla ověřena pomocí analýzy suspenze monodispersního standardu polystyrénového latexu o nominálním průměru částic 60 nm. K tomuto účelu byl jako dispersní médium použit roztok NaCl o koncentraci 9 mg/ml, který byl zbaven prachových částic dvojnásobnou filtrací přes 0.22 μm filtr. Pro měření byl použit 1 ml roztoku NaCl a 5 μl standardu. Výsledky analýzy prokázaly, že získané hodnoty velikosti částic polystyrénového latexu ležely v intervalu 59 ± 3.0 nm, udávaném pro tuto nominální velikost standardu dodavatelem [25].

9 VÝSLEDKY A DISKUZE

9.1 Vizuální pozorování – emulze bez obsahu želatiny a Hykolu

Vzhled emulzí připravených bez přítomnosti želatiny a Hykolu byl posuzován vizuálně již během jejich přípravy a především bezprostředně po jejím ukončení. Byly zaznamenány barva, konzistence, přítomnost pěny (barva, výška) a její stabilita.

Další vizuální hodnocení probíhalo obvykle po jedné hodině od dokončení přípravy emulzí a v některých případech i po delší době. Byla sledována změna barvy emulze, opadnutí pěny a byla zaznamenána skutečnost, zdali již po této době došlo k separaci emulze na jednotlivé fáze.

Vizuální pozorování emulzí ihned po výrobě je shrnuto v Tabulkách 9. – 12. a z něj zřejmé, že emulze se značně liší v závislosti na složení a výsledné hodnotě HLB surfaktantů použitých při jejich přípravě.

Tabulka 9. Vizuální pozorování emulzí O/V při koncentraci surfaktantů 5 % a HLB = 10

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled
5/95	–	–	–	Emulze O/V nevznikla
10/90	+	5	0.5	Namodralá emulze
15/85	+	15	1	Namodralá, po hodině bílá
20/80	+	10	1	Bílá emulze
25/75	+	10	1	Bílá emulze
30/70	+	10	1	Bílá emulze

Tabulka 10. Vizuální pozorování emulzí O/V při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 10

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled
5/95	–	–	–	Emulze O/V nevznikla
10/90	+	10	1	Namodralá emulze
15/85	+	25	2	Bílá emulze
20/80	+	60	2.5	Bílá emulze
25/75	+	60	2.5	Bílá, množství pěny
30/70	+	70	2.5	Bílá, množství pěny

Tabulka 11. Vizuální pozorování emulzí koncentrace surfaktantů 5 % a HLB = 9.5

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled
5/95	–	–	–	Nebylo prováděno
10/90	–	–	–	Nebylo prováděno
15/85	+	0	0	Bílá hustá emulze
20/80	+	0	0	Namodralá emulze
25/75	+	5	1	Bílá napěněná emulze
30/70	+	15	1.5	Bílá napěněná emulze

Tabulka 12. Vizuální pozorování emulze při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 9.5

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled
5/95	–	–	–	Emulze O/V nevznikla
10/90	–	–	–	Emulze O/V nevznikla
15/85	+	20	2	Bílá emulze
20/80	+	20	1.5	Bílá emulze
25/75	+	20	1.5	Bílá emulze
30/70	+	30	2	Bílá napěná emulze

9.1.1 Stabilita emulzí – vliv poměru olejové a vodné fáze

Na stabilitu emulze nemá vliv pouze hodnota HLB, množství surfaktantu a poměr O/V, ale i prostředí, v jakém jsou skladovány. Tato skutečnost byla ověřena při studiu stability emulzí skladovaných při třech teplotách (4 °C, 25 °C a 35 °C).

Posouzení stability připravených emulzí bylo provedeno prostřednictvím jejich vizuálního hodnocení, kdy bylo sledováno oddělování fází, změna barvy a konzistence emulze. Výsledky jsou shrnuty v následující části diplomové práce.

Emulze s poměrem O/V 5/95

Při poměru olejové a vodné fáze O/V 5/95, hodnotách HLB 10 (obsah surfaktantů 3 i 5 %) stejně jako při HLB 9.5 a obsahu surfaktantu 3 % byly připraveny emulze husté, gelovité konzistence, s mléčně bílým zbarvením. Vzhledem k nízkému obsahu olejové fáze a relativně vysokému zastoupení surfaktantu rozpustného v olejové fázi s nízkým HLB však vznikly emulze opačné, tedy voda v oleji (V/O), nikoliv olej ve vodě. Tyto emulze nebyly proto dále systematicky sledovány a hodnoceny.

Emulze s poměrem O/V 10/90

Poměr olejové a vodné fáze O/V 10/90, hodnota HLB 10 a obsah surfaktantů 3 i 5 % poskytl emulze s namodralým (bluish) vzhledem. Emulze se během skladování začaly separovat na část polotransparentní a bílou, což svědčilo o krémování, tedy usazování dispergovaných částic, v jejich horní části. Nejdříve se krémování projevilo u emulzí, které byly skladovány při teplotě 35 °C a poté i při teplotách nižších. Rozpad emulze indikovaný přítomností olejové fáze nastal desátý den pozorování (25 °C).

Při složení O/V 10/90 (HLB 9.5 a 3 % surfaktantu) byla připravena vzhledem k nízkému obsahu olejové fáze a relativně vysokému zastoupení surfaktantu s nízkým HLB rozpustného v olejové fázi emulze opačná, tedy voda v oleji (V/O), stejně jako v případě složení O/V 5/95.

Emulze s poměrem O/V 15/85 a 20/80

Poměr olejové a vodné fáze O/V 15/85, hodnota HLB 10 a obsah surfaktantů 3 i 5 % poskytl emulze, u kterých došlo rovněž nejdříve ke krémování, tedy separaci fází na bílou a polotransparentní část. Obě emulze se od sebe lišily poměrem mezi touto polotransparentní a bílou částí. Tyto emulze zůstaly při teplotě 4 °C stabilní po celou dobu sledování a nedošlo u nich k oddělení olejové a vodné fáze.

Při hodnotě HLB 9.5 a obou studovaných obsazích surfaktantů byly připravené emulze méně stabilní ve srovnání se situací, kdy HLB bylo 10. Během skladování opět došlo nejdříve ke krémování, ale brzy (třetí a čtvrtý den) se při teplotě 25 °C oddělila olejová fáze. Emulze skladovaná při 4 °C se jevila jako stabilnější, k separaci olejové fáze došlo osmý den pozorování.

Chování emulzí s poměrem mezi olejovou a vodnou fází O/V 20/80, hodnocené na základě vizuálního pozorování, bylo během skladování při různých teplotách obdobné jako u emulzí O/V 15/85. Rozdíl se projevil především delší stabilitou oproti emulzím O/V 15/85, kdy například při skladování při 25 °C došlo u emulze (HLB 9.5) k rozpadu na vodnou a olejovou fázi sedmý (5 %) a osmý (3 %) den skladování, zatímco pro O/V 15/85 rozpad nastal třetí (5 %) a čtvrtý (3 %) den skladování. Při teplotě 4 °C byly emulze stabilní nejdéle. U emulzí připravených se surfaktanty o HLB 10 nedošlo k separaci na vodnou a olejovou fázi vůbec. Při poměru O/V 20/80 a hodnotě HLB 9.5 (obsah surfaktantů 3 i 5 %) byly emulze opět méně stabilní než s hodnotou HLB 10. Také došlo nejdříve k separaci fází na bílou a polotransparentní a výskyt oleje byl při teplotě skladování 35 °C pozorován již druhý den (5 % surfaktantu) a čtvrtý den (3 % surfaktantu). Emulze uložené při teplotě 4 °C byly stabilnější (stejně jako v předchozích případech) a výskyt olejové fáze nastal osmý (3 %) a desátý (5 %) den skladování.

Emulze s poměrem O/V 25/75 a 30/70

Emulze připravené s poměrem olejové a vodné fáze O/V 25/75 a 30/70, hodnotou HLB 10 a obsahem surfaktantů 3 i 5 % se jevily jako nejstabilnější ze všech sledovaných emulzí. Například pro O/V 30/70 a obsah surfaktantů 3 % nedošlo k separaci emulze na vodnou a olejovou fázi ani u jedné ze sledovaných teplot po celou dobu skladování 16 dnů.

Poměr olejové a vodné fáze O/V 25/75, hodnota HLB 9.5 a obsah surfaktantů 5 % poskytl překvapivě velmi nestabilní systémy. Emulze se od prvního dne skladování rozdělily na tři fáze: transparentní, bílou a olejovou, a to u všech sledovaných teplot. Emulze s obsahem surfaktantu 3 % byly stabilnější.

Obecně lze říci, že emulze připravené se surfaktanty o hodnotě HLB 10, byly stabilnější ve srovnání s emulzemi s hodnotou HLB 9.5. Ta se jeví zcela zřejmě jako příliš nízká pro udržení jejich dlouhodobé stability.

9.1.2 Hodnocení průběhu separace fází

V Tabulce 13. je přehledně zaznamenán první výskyt separace olejové fáze, následně po jejím výskytu došlo k úplnému rozpadu emulze na olejovou a vodnou fázi.

Z výsledků studie je zřejmé, že rychlost oddělení olejové a vodné fáze je závislá na teplotě skladování emulze. Separace fází tedy nastala nejdříve při nejvyšší teplotě skladování a nejlepší stabilitu a nedelší absenci fázové separace naopak vykazovaly emulze umístěné při teplotě 4 °C. Označení „Bez separace“ uvedené v Tabulce 13. znamená, že olejová fáze se od fáze vodné neoddělila během celého časového intervalu, po který byla emulze vizuálně sledována a popisována. V tomto případě byla stabilita do velké míry závislá na složení emulze, a to především na HLB. Všechny sledované emulze (O/V 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70) připravené se směsí surfaktantů o HLB 10 skladované při teplotě 4 °C byly stabilní po celou dobu sledování (tj. 22 dnů). Avšak i u této teploty bylo vizuálně pozorováno krémování, tj. shromažďování disperzního oddílu na jejím povrchu, ale probíhalo mnohem pomaleji než u vyšších teplot. Při vizuálním pozorování bylo rovněž zřejmé, že při 35 °C docházelo k nejrychlejšímu rozpadu emulze na dvě fáze. Výskyt olejové fáze byl zaznamenán nejdříve u hodnoty HLB 9.5 a 5 % surfaktantů, následovala stejná hodnota HLB 9.5 se sníženou koncentrací surfaktantu na 3 %. Lepší stabilitu vykazovaly emulze s HLB 10 a stejně jakou u HLB 9.5 měla kratší dobu rozpadu emulze s koncentrací 5 %. Při teplotě 35 °C docházelo u všech emulzí proti teplotám 25 °C a 4 °C k dřívějšímu oddělování jednotlivých fází (krémování) a také k dřívějšímu oddělení samostatné olejové fáze.

Z porovnání hodnot rychlosti separace fází v závislosti na hodnotě HLB vychází jako stabilnější emulze připravené se surfaktanty o HLB 10, které vykazovaly obecně lepší stabi-

tu než emulze připravené se surfaktanty o HLB 9.5. Při srovnávání emulzí s HLB 10 a různém procentuálním zastoupení surfaktantů (3 a 5 %), se lépe jeví emulze s nižším, tedy 3% množstvím surfaktantu. Obecně byla stabilita emulzí lepší při vyšších koncentracích olejové fáze tedy pro emulze s poměry O/V 30/70 a 25/75.

Tabulka 13. Doba prvního výskytu oddělení olejové fáze při dlouhodobém pozorování emulze.

Poměr O/V	Teplota [°C]	HLB 10; 5 % [dny]	HLB 10; 3 % [dny]	HLB 9.5; 5 % [dny]	HLB 9.5; 3 % [dny]
5/95	4 °C	–	–	–	–
	25 °C	–	–	–	–
	35 °C	–	–	–	–
10/90	4 °C	–	19	–	4
	25 °C	10	11	–	4
	35 °C	–	11	–	1
15/85	4 °C	Bez separace	Bez separace	8	8
	25 °C	8	15	3	4
	35 °C	8	11	1	8
20/80	4 °C	Bez separace	Bez separace	10	8
	25 °C	8	Bez separace	7	8
	35 °C	8	15	2	4
25/75	4 °C	Bez separace	Bez separace	1	Bez separace
	25 °C	16	Bez separace	1	Bez separace
	35 °C	7	16	1	4
30/70	4 °C	Bez separace	Bez separace	13	15
	25 °C	Bez separace	Bez separace	3	Bez separace
	35 °C	12	Bez separace	1	11

9.2 Velikost částic – emulze bez obsahu želatiny a Hykolu

Velikost částic byla měřena metodou dynamického rozptylu světla, známou jako fotonová korelační spektroskopie (PCS). Dynamický rozptyl světla je široce aplikovaná metoda měření velikosti makromolekul a částic v roztoku. S použitím matematických algoritmů lze stanovit i přítomnost směsi částic bez jejich fyzikální separace [30].

9.2.1 Velikost částic emulzí ihned po výrobě

Měření velikostí částic po výrobě emulzí jsou shrnuta v Tabulkách 14., 15., 16. a 17., kde jsou uvedeny velikosti částic vyjádřené jako „z-průměr“. Protože některé emulze obsahovaly více populací částic (bi- a multimodální distribuce), jsou zaznamenány rovněž velikosti těchto jednotlivých frakcí.

Faktory, které ovlivňují velikost částic v emulzích, jsou hodnoty HLB, množství surfaktantu a dalším důležitým faktorem je poměr olejové a vodné fáze emulze (5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70). Na Obrázku 4. je graficky znázorněná závislost mezi velikostí částic a poměry olejové a vodné fáze v emulzích.

Obecně lze říci, že u emulzí připravených s obsahem surfaktantu 3 % (HLB 10 i 9.5) docházelo se zvyšujícím se množstvím olejové fáze v emulzích k růstu velikosti částic. To je zřejmé například u emulzí s poměry O/V 10/90 až 25/75 kde velikost částic rostla od 83 nm do 530 nm. Výjimku z tohoto trendu tvořily emulze s poměrem O/V 30/70, kdy se velikost částic oproti předchozím případům snížila a to u obou použitých hodnot HLB 10 (200 nm) i 9.5 (290 nm). V případě emulzí připravených s množstvím surfaktantu 5 % docházelo rovněž k růstu velikosti částic, kdy pro HLB 10 se z-průměr velikosti částic zvyšoval od 93 nm (O/V 15/85) do 565 nm (O/V 30/70). Z Obrázku 4. je rovněž zřejmé, že částice emulzí připravených s 3 % surfaktantu o poměrech O/V 15/85 až 25/75 jsou větší ve srovnání s částicemi emulzí o stejném složení a vyšším, 5%-ním obsahu surfaktantu.

Další informace, kterou lze z obrázku přehledně vyčíst je skutečnost, které emulze se podařilo připravit a které nikoliv (emulze, které nejsou na obrázku zobrazeny, nebyly připraveny). Nejobtížnější byla podle očekávání příprava emulzí se surfaktantem o hodnotě HLB 9.5, která je již značně nízká a není příliš vhodná pro přípravu emulzí O/V, kde olejovou fází tvoří undekan.

Tabulka 14. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulze: HLB 10, množství surfaktantu 5 %.

Poměr O/V	Z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
15/85	93	646	54	0
20/80	150	740	50	0
25/75	148	1710	48	0
30/70	565	5410	1450	43

Tabulka 15. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě u emulze: HLB 10, množství surfaktantu 3 %.

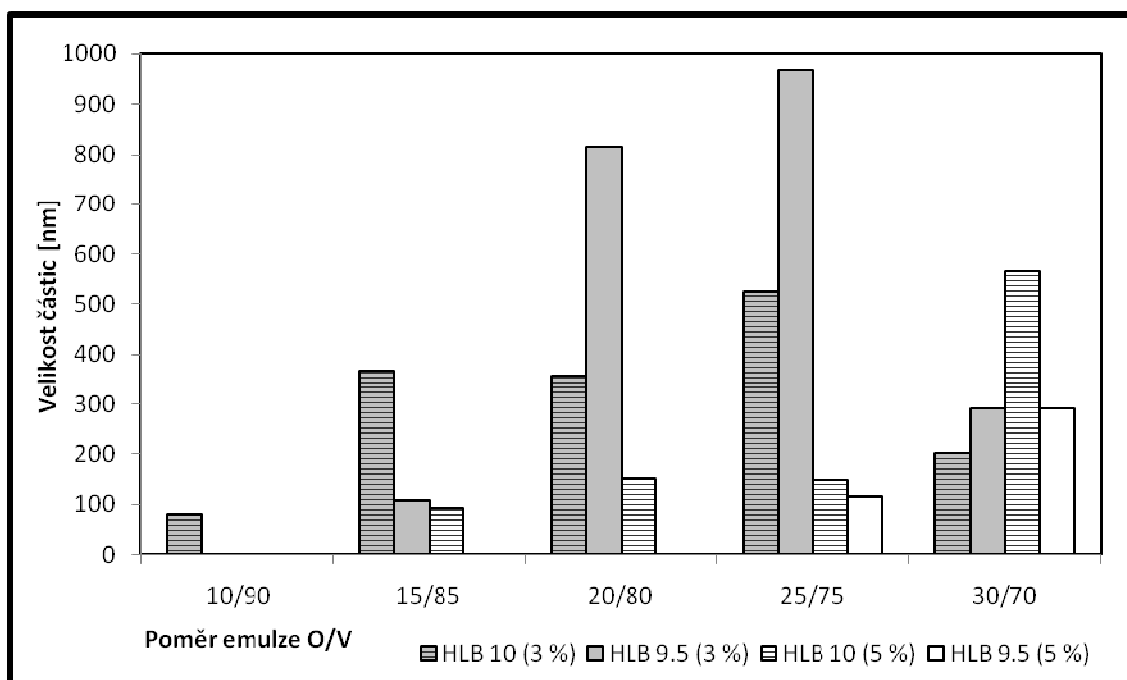
Poměr O/W	Z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
10/90	80	74	0	0
15/85	367	2150	739	47
20/80	356	3030	290	0
25/75	526	3920	326	0
30/70	201	3600	144	0

Tabulka 16. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě u emulze: HLB 9,5, množství surfaktant 5 %.

Poměr O/W	Z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
20/80	2436	1520	125	0
25/75	116	4610	94	0
30/70	291	2520	180	53

Tabulka 17. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě u emulze: HLB 9,5, množství surfaktant 3 %.

Poměr O/W	Z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
15/85	107	4530	85	0
20/80	815	2730	446	41
25/75	966	2550	0	0
30/70	290	4400	314	0



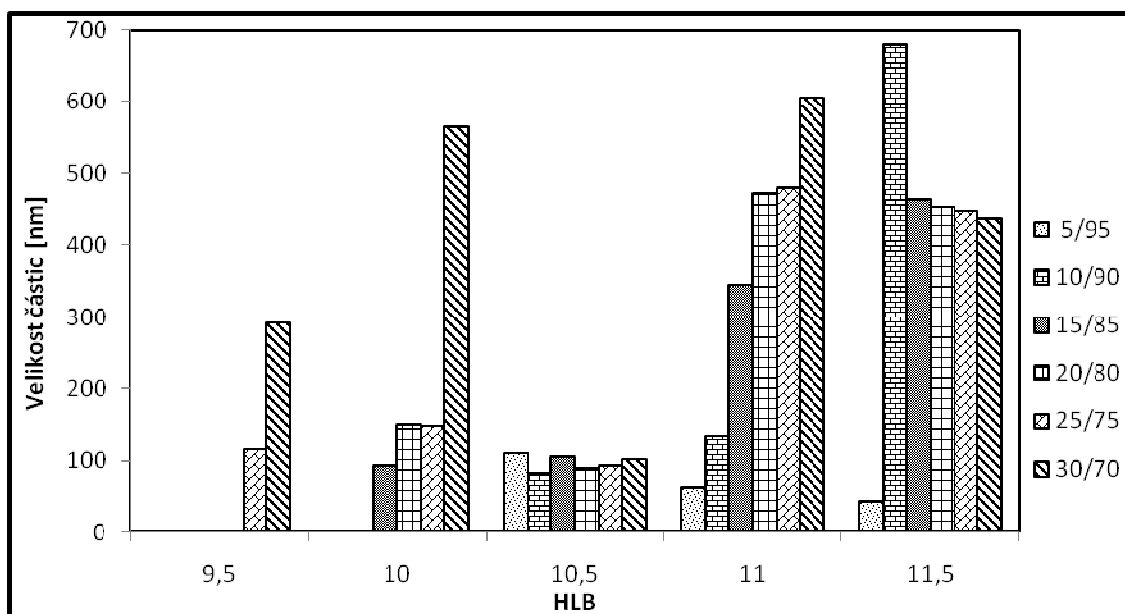
Obrázek 4. Vliv poměru vodné a olejové fáze v emulzi na velikost částic ihned po výrobě. Číslo v závorce za hodnotou HLB označuje množství surfaktantu použité při přípravě emulze. Emulze, které nejsou zobrazeny nebyly s daným poměrem O/V připraveny nebo nebyly studovány.

Předložená diplomová práce navazuje na první část studie zabývající se (nano)emulzemi, která je shrnuta v diplomové práci [25]. Zde byly připraveny nanoemulze stejným způsobem jako v této práci s tím rozdílem, že byly použity směsi surfaktantů s hodnotami HLB 10,5, 11 a 11,5. Předložená diplomová práce tedy doplnila práci [25] tím, že studuje emul-

ze připravené se směsí surfaktantů o nižších hodnotách HLB 10 a 9.5. Pro přípravu všech emulzí v obou pracích byly použity dvě koncentrace surfaktantů, a to 3 a 5 %.

Na Obrázku 5. a 6. jsou souhrnně uvedeny výsledky měření velikosti částic emulzí bezprostředně po jejich výrobě převzaté z diplomové práce [25] spolu s výsledky této diplomové práce.

Výsledky obou prací ilustrují vliv hodnoty HLB surfaktantu na velikost částic v emulzích. Závislost mezi hodnotou HLB a velikostí částic je znázorněna pro sledované poměry O/V a koncentraci surfaktantu 5 % na Obrázku 5. V diplomové práci [25] bylo pozorováno, že se zvyšující se hodnotou HLB velikost částic emulzí rostla a nejmenší částice byly přítomny v emulzích připravených se surfaktanty o hodnotě HLB 10.5. V této diplomové práci (HLB 10 a 9.5) bylo ukázáno, že rovněž čím nižší byla hodnota HLB, tím byla velikost částic v emulzích větší. Z toho vyplývá, že hodnoty HLB mají určité optimum, v tomto případě HLB 10.5 při koncentraci surfaktantu 5 %, při kterém je velikost částic nejmenší a také nejstabilnější při všech poměrech olejové a vodné fáze: O/V (5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70). Při hodnotách HLB vyšších i nižších než je optimální HLB 10.5 roste velikost částic v emulzích a při snižujícím se HLB se současně emulze stávají nestabilními. Pro HLB 9.5 a nízký obsah olejové fáze (O/V 5/95, 10/90) dochází dokonce k tvorbě emulzí převrácených, tedy voda v oleji (V/O).

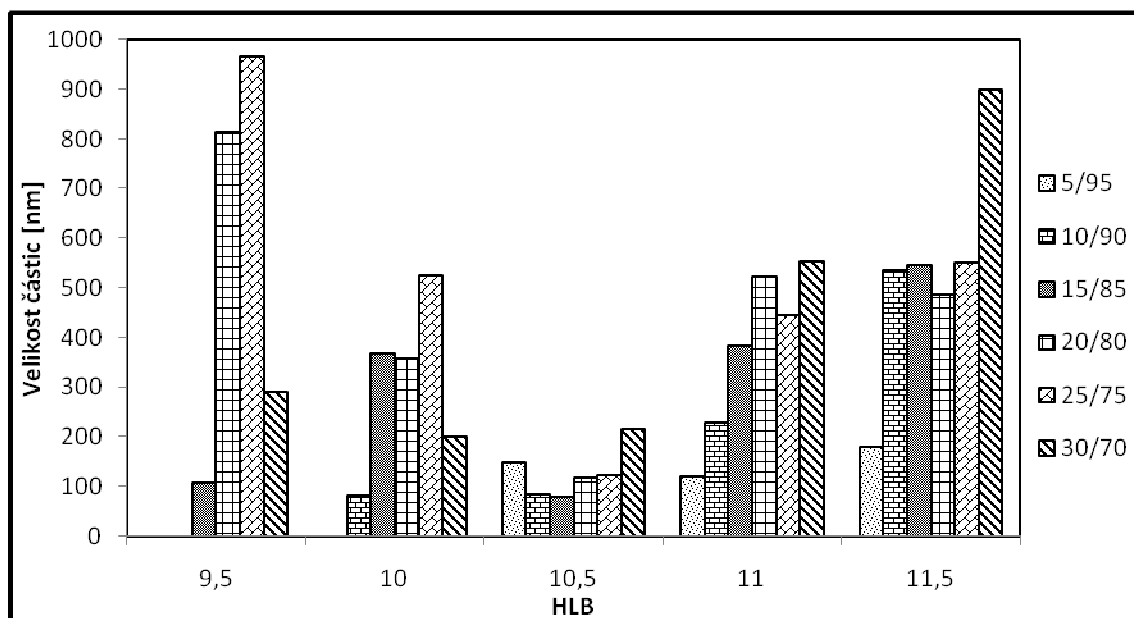


Obrázek 5. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulze s množstvím surfaktantu 5 %, spojení výsledku diplomové práce [25] s touto diplomovou prací.

Obrázek 6. znázorňuje situaci při koncentraci surfaktantu 3 % a ukazuje obdobné výsledky jako Obrázek 5. Opět se potvrdil růst velikosti částic emulzí při zvyšující se i snižující se hodnotě HLB surfaktantu. Optimum, kdy byly částice emulze nejmenší a také nejstabilnější ve všech poměrech olejové a vodné fáze, se ukázalo při hodnotě HLB 10.5, stejně jako pro koncentraci surfaktantu 5 %.

Z obou výše diskutovaných obrázků je rovněž zřejmé, že nanoemulze s velikostí částic menší než 200 nm připravené postupem EIP vznikly pro všechny studované poměry O/V v případě, že směs surfaktantů měla HLB 10.5 a to při obsahu surfaktantů 3 i 5 %. Rovněž s hodnotami HLB nižšími, než je hodnota optimální, lze nanoemulze připravit. V tomto případě byla velikost částic čerstvě připravených nanoemulzí menší než 200 nm zaznamenána u systémů s HLB 10, 5 % surfaktantu a poměrem O/V 15/85, 20/80 a 25/75. Při hodnotě HLB 9.5 byla připravena nanoemulze pouze v případě poměru mezi olejovou a vodnou fází 25/75.

Obdobný tvar závislosti mezi velikostí částic a HLB, tedy přítomnost minima velikosti částic při určité hodnotě HLB jako je uveden na Obrázcích 5. a 6. byl, pozorován pro emulzní systém minerální olej, voda a směs surfaktantů Brij 92 a 96 v publikaci [34].



Obrázek 6. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulze s množstvím surfaktantu 3 %, spojení výsledku diplomové práce [25] s touto diplomovou prací.

9.2.2 Stabilita hodnocená ze změn velikosti částic emulzí

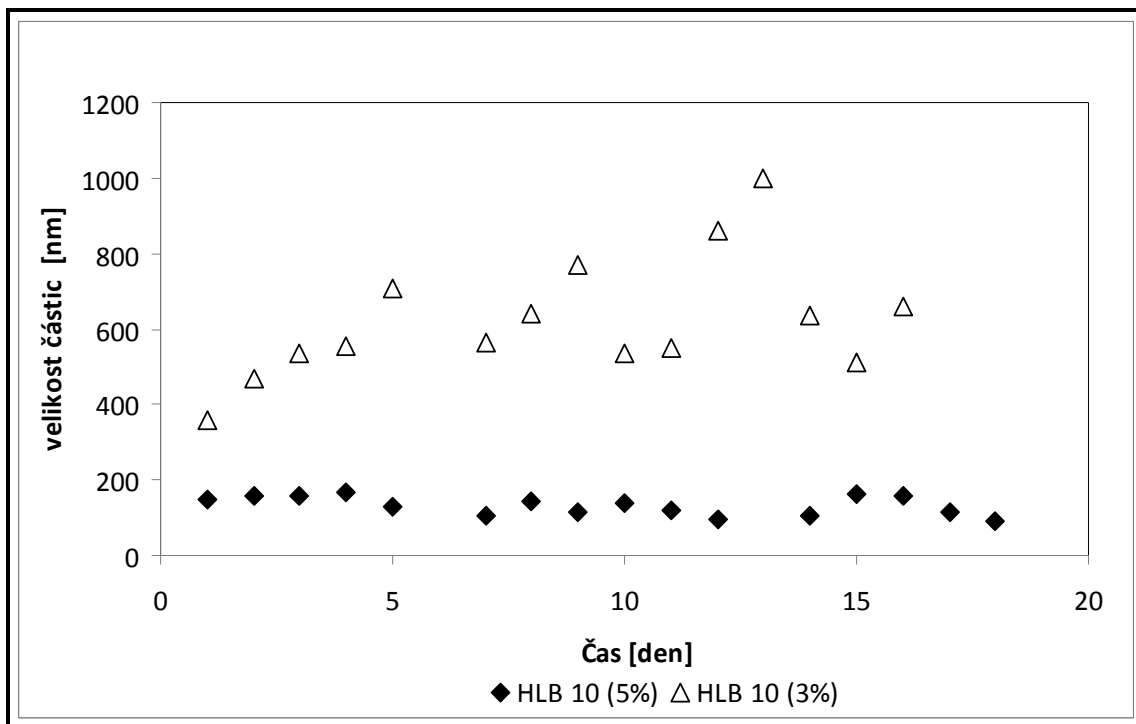
Příprava emulzí O/V s poměrem vodné a olejové fáze 5/95 a sledovaných hodnotách HLB 10 a 9.5 nebyla možná. Jak již bylo uvedeno v části zabývající se vizuálním pozorováním, vznikly v tomto případě emulze opačné, tedy V/O. Emulze s poměrem O/V 10/90 byly připraveny pouze v případě, že HLB surfaktantů bylo 10, tentokrát byla příprava úspěšná jak při jejich 3% tak i 5% obsahu. Všechny tyto emulze však byly nestabilní a poměrně rychle u nich došlo k separaci fází, tedy oddělení olejové od vodné fáze, zvláště u těch, které byly uchovávány při 35 °C.

Systematické sledování stability emulzí pomocí měření velikosti částic bylo proto provedeno pouze u emulzí s poměry O/V 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70. Hodnocení stability těchto emulzí připravených se směsí surfaktantů o výsledné hodnotě HLB 10 a 9.5 bez přítomnosti želatiny je pro vybrané emulze ilustrováno na Obrázcích 7., 8., 9. a diskutováno v následující části diplomové práce.

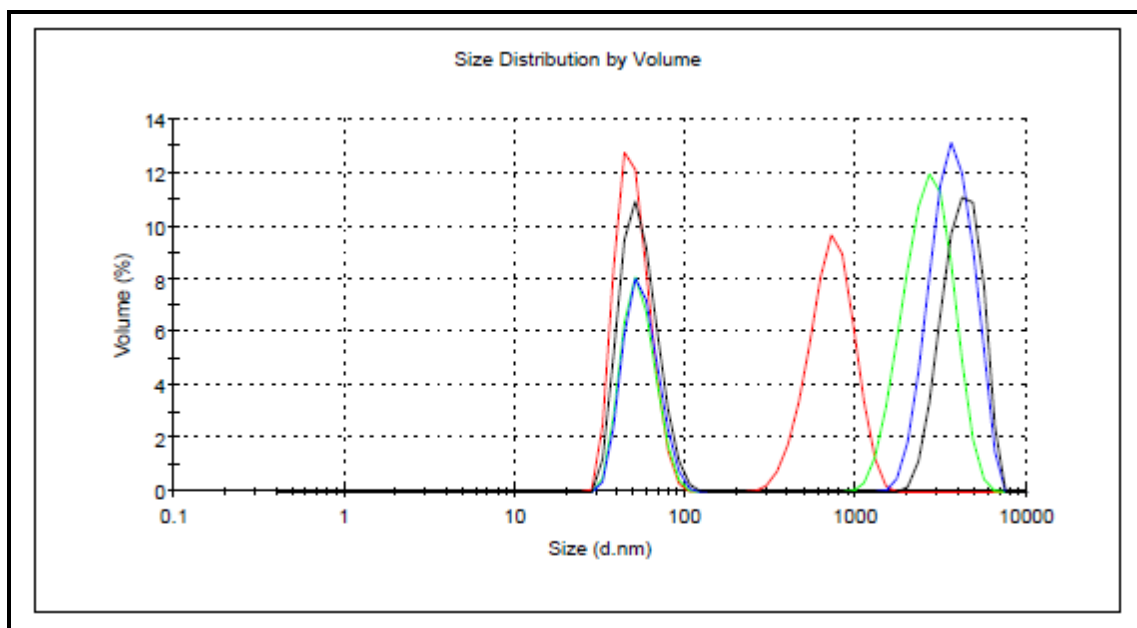
Faktory ovlivňující stabilitu emulze jsou teplota jejího skladování, množství surfaktantu, poměr olejové a vodné fáze emulze a hodnota HLB. V souladu se závěry práce [25] i tato studie prokázala, že stabilitu emulze, respektive velikost jejích částic, velkou měrou ovlivňuje teplota, při které je emulze uchovávána.

To se projevuje i na změnách velikosti částic měřených PCS. U emulzí připravených se surfaktanty o HLB 10, jak v případě jeho obsahu 3 %, tak i 5 % docházelo během skladování emulze ke zvyšování velikosti částic, a to především byla-li emulze skladována při laboratorní a zvýšené teplotě. Zvláště patrné bylo zvětšení částic bezprostředně před rozpadem emulze. Podle očekávání byly nejstabilnější emulze skladované při 4 °C, kdy pro emulze s obsahem surfaktantu 5 % se velikosti částic emulze měnily jen málo. Například u emulze o složení O/V 20/80 se velikost částic měřená v průběhu 22 dnů skladování změnila z hodnoty 150 nm (1. den) na 113 nm (23. den). Menší stabilitu vykazovaly emulze se stejným HLB připravené s nižším obsahem surfaktantu (3 %), u kterých docházelo během skladování k růstu velikosti částic, který byl shodně pozorován u emulzí připravených se všemi poměry O/V. To je ilustrováno na Obrázku 7. pro emulzi O/V 20/80 kde během skladování vzrostl z-průměr z 350 nm na 660 nm. Při laboratorní teplotě byla změna velikosti částic velmi závislá na jejich složení. Zatímco u emulzí O/V 15/85 a 20/80 připravených s 5 % surfaktantu došlo během skladování (8 dnů) ke zmenšení velikosti částic, u emulzí s ostatními poměry O/V nebyl pozorován žádný obecný trend ve změně veli-

kosti částic. Distribuční křivky velikostí částic byly pro většinu emulzí bimodální a emulze obsahovaly tedy dvě populace částic, z nichž podíl frakce s menšími částicemi (nm) se během skladování zmenšoval a podíl obsahující částice s velikostí v oblasti μm během času rostl. To svědčí o skutečnosti, že při skladování docházelo ke koalescenci částic dispergované fáze, která vedla v konečném důsledku k fázové separaci. Jako hlavní příčina rozpadu nanoemulzí je v literatuře udáváno Ostwaldovo zrání. Změny distribuce velikosti částic jsou ilustrovány na Obrázku 8., který pro emulzi O/V 20/80 s 5 % surfaktantu o HLB10 skladovanou při 25 °C názorně ilustruje skutečnost, že připravená emulze je bimodální a její distribuce velikosti částic se mění během skladování. Zřetelný je posun druhého píku v distribuci směrem k větším hodnotám velikosti částic.



Obrázek 7. Stabilita velikosti částic emulze s poměrem O/V 20/80, HLB 10, skladované při teplotě 4 °C.



Obrázek 8. Distribuce velikosti částic pro emulze s 5 % surfaktantu o HLB 10 a poměru O/V 20/80 skladované při teplotě 25 °C. Červená křivka: distribuce získaná bezprostředně po přípravě emulze, zelená křivka: po 1, modrá po 3 a černá po 6 dnech skladování.

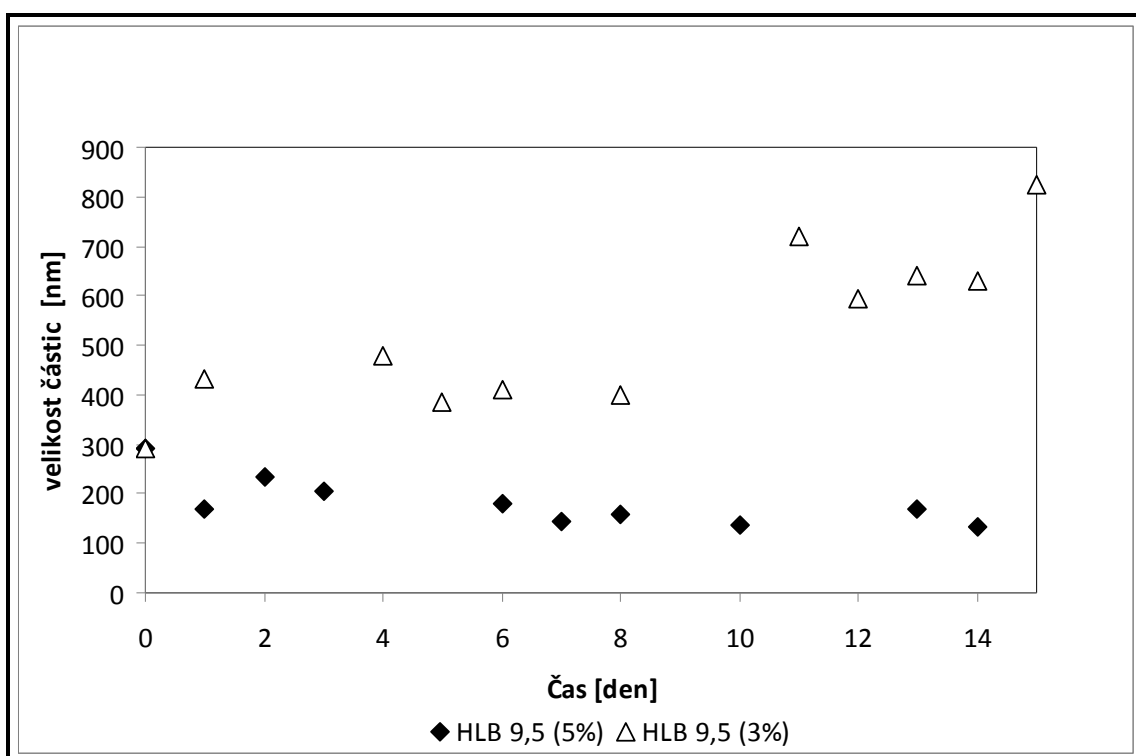
Vliv hodnoty HLB na stabilitu emulze lze pozorovat, podíváme-li se podrobněji na chování systémů připravených s HLB 9.5. Obecně lze říci, že všechny tyto emulze byly méně stabilní než emulze s hodnotou HLB 10. Velikost částic emulzí s hodnotou HLB 9.5 byla sledována pro poměr olejové a vodné fáze: O/V 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70.

Na stabilitu emulzí měla vliv teplota stejně, jako u vizuálního pozorování a bylo prokázáno, že k nejmarkantnější změně velikosti částic docházelo při teplotě 35 °C.

Nejméně stabilní byla emulze s poměrem O/V 25/75, u které se oddělila olejová fáze i při 4 °C, již první den pozorování. Měření velikosti částic bylo proto ukončeno. Při následné vizuální kontrole pak bylo zjištěno, že u této emulze došlo k zvětšení částic sedmý den natolik, že byly viditelné pouhým okem. Emulze s poměrem olejové a vodné fáze 15/85, skladované při 4 °C měly ze všech měřených emulzí nejmenší velikost částic, která ležela v intervalu 103 – 117 nm po dobu 6 dnů. Poté došlo k rozpadu emulze.

Distribuční křivky byly stejně jako u emulzí s hodnotou HLB 10 většinou bimodální, to znamená, že emulze obsahovaly dvě populace částic s různou velikostí.

Pro emulzi O/V 30/70, která byla podle vizuálního hodnocení stabilní 13 dnů (5 % surfaktantu) a 15 dnů (3 % surfaktantu) je změna velikosti částic během skladování znázorněna na Obrázku 9., ze kterého je patrné, že zatímco v prvním případě (5 %), je i tato emulze poměrně stabilní, v případě druhém (3 %) jejich částic roste z počátečních 290 nm na 830 nm, které byly stanoveny před tím, než došlo k jejímu rozpadu na vodnou a olejovou fázi.



Obrázek 9. Stabilita velikosti částic emulze s poměrem O/V 30/70, HLB 9.5, skladované při 4 °C.

U emulze s poměrem olejové a vodné fáze 25/75 se potvrdilo, že při zvýšení množství surfaktantu se sníží velikost částic. Tato skutečnost byla patrná u emulzí připravených s oběma hodnotami HLB. Pro HLB 10 byla velikost částic po přípravě s 5 % surfaktantu 148 nm a pro HLB 9.5 to bylo 116 nm, obě emulze byly po celou dobu pozorování při 4 °C stabilní. Odpovídající emulze s 3 % surfaktantu měly velikost 526 nm (HLB 10) a 966 nm (HLB 9.5).

U emulze s poměrem olejové a vodné fáze 30/70 se potvrdil stejný trend jako u emulze O/V 25/75. Emulze s koncentrací surfaktantu 5 % měly menší velikost částic ihned po přípravě a po celou dobu pozorování byly stabilnější.

Z výše uvedených výsledků měření velikosti částic vyplývá, že pro zachování stability emulze je nejlepší teplota 4 °C. U emulzí připravených se surfaktanty o HLB 10 nedocházelo během celého pozorování k oddělení olejové fáze. Emulze s hodnotami HLB 9.5 již nebyly tak stabilní, přesto vykazovaly nejlepší stabilitu při teplotě 4 °C.

Poměr olejové a vodné fáze měl vliv především na velikost částic, kdy při nejnižším poměru O/V 15/85 byly připraveny emulze s nejmenšími částicemi. V emulzích s vyšším poměrem O/V (25/75, 30/70) byly částice větší.

Rozdíly ve velikosti částic byly pozorovány rovněž při použití rozdílného množství surfaktantu, tedy 3 % nebo 5 %. Vliv vyššího množství surfaktantu na velikost částic však nelze ze získaných dat jednoznačně stanovit. Podle teoretického předpokladu, by se vzrůstajícím množstvím surfaktantu měla velikost částic klesat [33]. Tento trend se potvrdil pouze u emulzí s poměrem O/V (25/75, 30/70), při zvýšení koncentrace surfaktantu na 5 % se snížila velikost částic u HLB (10 i 9.5).

10 VÝSLEDKY A DISKUZE - EMULZE S OBSAHEM ŽELATINY A HYKOLU

Želatina a hydrolyzáty kolagenu (koloidy) se v emulzích používají jako látky schopné zlepšit jejich stabilitu. V této části práce byl studován jednak vliv přítomnosti želatiny typu B a hydrolyzátu kolagenu Hykol na velikost částic (nano)emulzí ihned po jejich výrobě a jednak byla studována jejich stabilita v čase. Oba typy želatiny a Hykol byly vybrány tak, aby měly rozdílnou hodnotu molární hmotnosti a v případě želatin i rozdílnou Bloom hodnotu.

10.1 Velikost částic emulzí s obsahem želatiny a Hykolu

Velikost částic byla, stejně jako v případě emulzí bez přítomnosti želatiny, měřena metodou fotonové korelační spektroskopie. Byly připraveny emulze se směsí surfaktantů Igepal 720 a Igepal 520 o HLB 10.5, 11 a 11.5, jejichž koncentrace byla ve všech případech 3 %, poměry olejové a vodné fáze 5/95, 10/90, 20/80 a 30/70 a s obsahem želatiny (Hykolu)

10.1.1 Velikost částic ihned po výrobě

Velikost částic emulzí stanovená bezprostředně po jejich výrobě je uvedena v Tabulkách 29., 30. a 31. a je vyjádřena jako „z-průměr“. V tabulkách jsou rovněž uvedeny velikosti částic přítomných v jednotlivých frakcích (pokud je distribuce velikostí částic bimodální). Jednotlivé tabulky shrnují vždy výsledky získané pro konkrétní použitý typ koloidu.

Z výsledků vyplývá, že právě druh použitého koloidu byl další faktor, který velikost částic a stabilitu emulzí ovlivňuje.

Tabulka 18. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulzí, koncentrace surfaktantu 3 %, použitý koloid želatina B 220.

O/W	HLB	Z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
5/95	10.5	481	193	1141	5046
10/90	10.5	188	56	5590	0
20/80	10.5	170	1841	55	18
30/70	10.5	562	1422	50	0
5/95	11	59	37	441	5292
10/90	11	497	1293	4736	41
20/80	11	773	1071	5073	0
30/70	11	569	746	0	0
5/95	11.5	182	209	0	0
10/90	11.5	516	890	0	0
20/80	11.5	520	747	0	0
30/70	11.5	470	366	4184	0

Tabulka 19. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulzí, koncentrace surfaktantu 3 %, použitý koloid želatina B 150.

O/W	HLB	Z- průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
5/95	10.5	227	165	2859	0
10/90	10.5	262	62	1227	5322
20/80	10.5	374	1610	53	4458
30/70	10.5	513	823	50	0
5/95	11	135	417	43	0
10/90	11	967	1994	40	0
20/80	11	645	1045	0	0
30/70	11	584	807	0	0
5/95	11.5	146	91	1083	4336
10/90	11.5	445	1070	49	0
20/80	11.5	497	617	0	0
30/70	11.5	234	245	4769	0

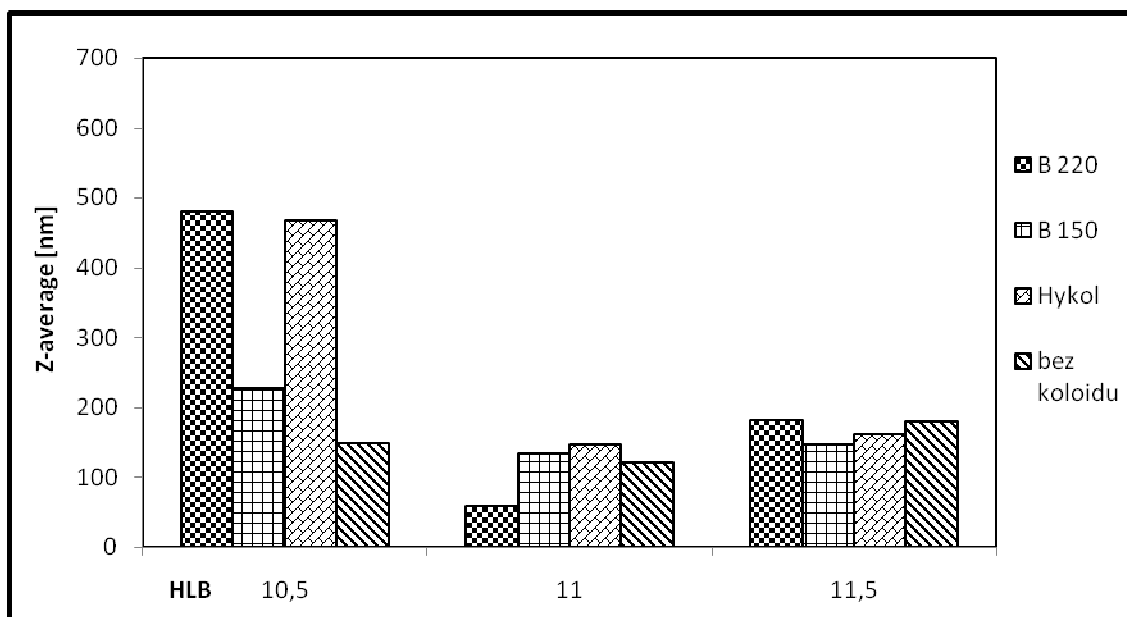
Tabulka 20. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulzí, koncentrace surfaktantu 3 %, použitý koloid Hykol.

O/W	HLB	Z-průměr velikosti částic [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
5/95	10.5	960	527	0	0
10/90	10.5	141	99	2872	0
20/80	10.5	161	67	1632	4436
30/70	10.5	464	1298	50	0
5/95	11	148	283	40	0
10/90	11	280	1099	51	4975
20/80	11	617	890	38	0
30/70	11	516	656	0	0
5/95	11.5	162	176	4905	0
10/90	11.5	544	808	0	0
20/80	11.5	524	747	0	0
30/70	11.5	862	1062	5202	0

Pro ilustraci jsou na Obrázcích 11., 12., 13. a 14. uvedeny velikosti částic stanovené při různých hodnotách HLB použitých surfaktantů a za přítomnosti obou typů želatiny nebo Hykolu. Pro srovnání byly grafy doplněny o velikosti částic emulzí z práce [25], u kterých nebyly ve vodné fázi koloidy použity.

Emulze s poměrem O/V 5/95

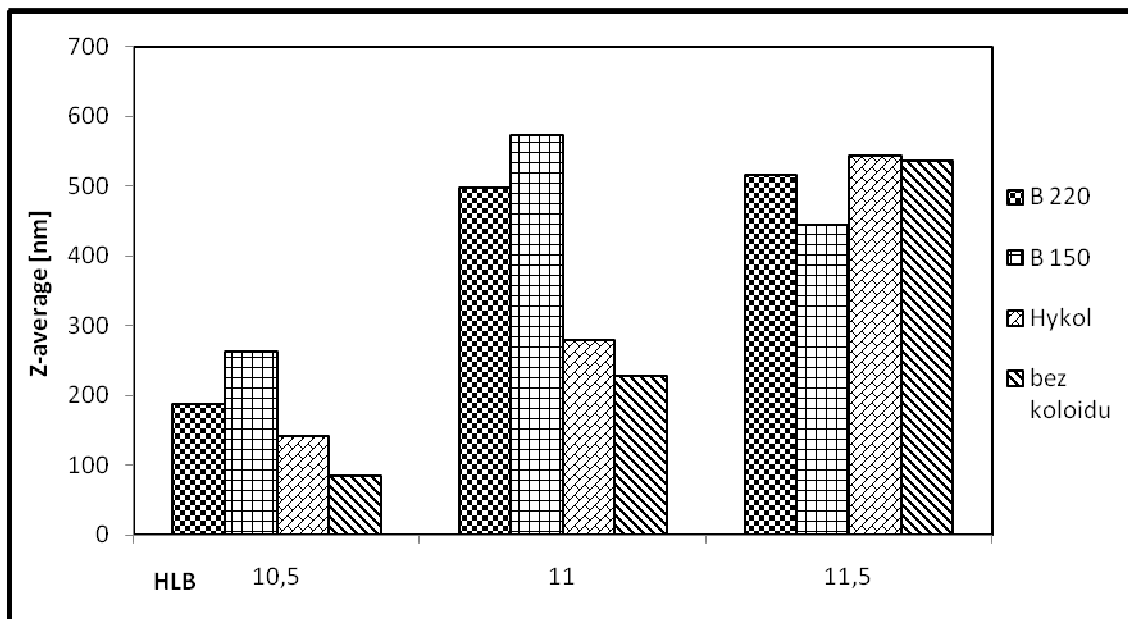
Nejmenší částice (60 nm) byly stanoveny v emulzích připravených s poměrem olejové a vodné fáze O/V 5/95, HLB 11 v přítomnosti želatiny o Bloom hodnotě 220. Pro tento poměr vodné a olejové fáze byla velikost částic menší, než velikost částic stanovená bez přítomnosti koloidů. Největší částice byly naopak přítomny v emulzích připravených s HLB 10.5 a želatinou B 220 nebo Hykolem. Při HLB 11 byla velikost částic v emulzích obdobná bez ohledu na to, který z koloidů byl při jejich přípravě použit a nelišila se ani od velikosti částic emulzí připravených pouze v přítomnosti surfaktantů.



Obrázek 10. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulzí s poměrem O/V 5/95

Emulze s poměrem O/V 10/90

U emulzí připravených s poměrem olejové a vodné fáze O/V 10/90, byla nejmenší velikost částic stanovena při HLB 10.5. Při této hodnotě HLB je rovněž patrné, že přítomnost koloidu působí zvýšení velikosti částic emulzí ve srovnání s emulzemi, kde koloid přítomen nebyl. Zvětšení velikosti částic bylo závislé na typu použitého koloidu. Například v přítomnosti Hykolu byla velikost částic 141 nm, v přítomnosti želatiny B150 262 nm, želatiny B220 198 nm, zatímco v emulzích bez přítomnosti koloidu byla velikost částic 85 nm. Stejný trend, kdy velikost částic emulze roste při použití různých typů koloidů, lze pozorovat i u emulzí připravených s HLB 11 a lze jej dát do souvislosti s velikostí jejich molární hmotnosti. Jak je uvedeno v Tabulce 5., molární hmotnost Hykolu je nižší, než u želatiny. Velikost částic emulzí připravených s HLB 11.5, byla obdobná a přítomnost či typ použitého koloidu velikost částic neovlivnily.

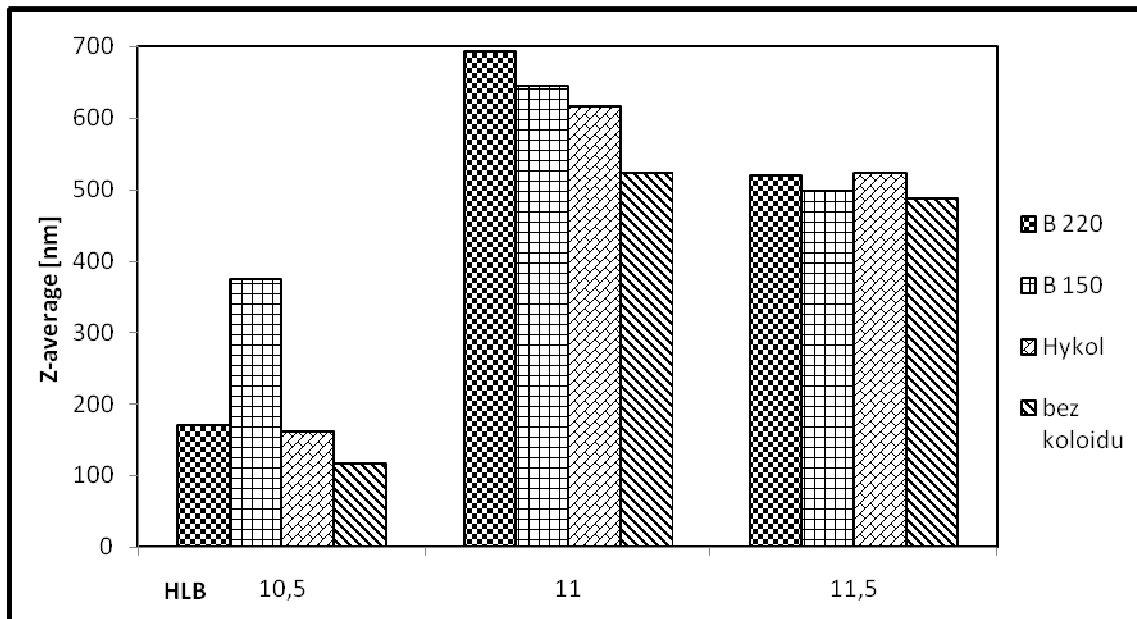


Obrázek 11. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulzí s poměrem O/V 10/90

Emulze s poměrem O/V 20/80

S téměř identickou situací jako v případě emulzí O/V 10/90 se setkáváme i u emulzí O/V 20/80. Nejmenší velikosti částic měly opět emulze připravené s HLB 10.5. Opakoval se i růst velikosti částic u emulzí s hodnotami HLB 11, kdy přítomnost koloidu ovlivňovala velikost částic, která klesala v pořadí emulze s obsahem želatiny B 220, želatiny B 150, Hykolu a emulze bez koloidu, tedy opět podle klesající molární hmotnosti použitého koloidu, respektive bez jeho přítomnosti.

Částice emulzí připravených s HLB 11.5 měly i v této sérii obdobnou velikost bez ohledu na typ použitého koloidu.

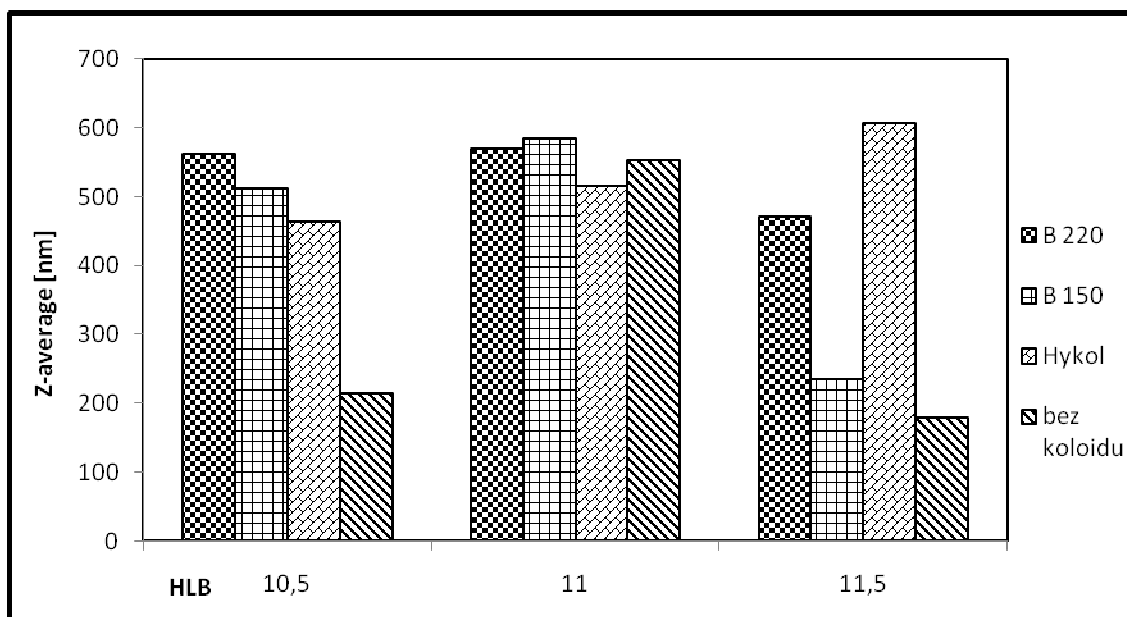


Obrázek 12. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulzí s poměrem O/V 20/80

Emulze s poměrem O/V 30/70

U emulzí s poměrem O/V 30/70 klesala velikost částic při HLB 10,5 pro použité koloidy v řadě želatina B 220, želatina B 150, Hykol a emulze bez koloidu, tedy opět v závislosti na snižující se molární hmotnosti koloidu.

Velikost částic emulzí s HLB 11 byla ve všech případech obdobná a emulze s připravené se surfaktanty o hodnotě HLB 11,5 měly největší částice po přidavku želatiny B 220 a Hykolu.



Obrázek 13. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulze s poměrem O/V 30/70

10.2 Vizuální pozorování

V souladu s měřením velikosti částic bylo vizuální pozorování provedeno ihned po přípravě emulzí a v průběhu jejich skladování po dobu 7 dnů. Pro sledování stability byly zvoleny dvě teploty, a to 4 °C, kdy byly emulze uchovávány v chladničce a 25 °C, tedy laboratorní prostředí. Stabilita emulzí při zvýšené teplotě 35 °C sledována nebyla.

10.2.1 Vizuální pozorování ihned po přípravě emulze

Vzhled emulzí byl posuzován stejně jako u emulzí bez obsahu želatiny a Hykolu. Emulze byly hodnoceny již během přípravy a bezprostředně po jejich dokončení, kdy byla zaznamenána barva emulze, konzistence, přítomnost pěny a její stabilita.

Vizuální pozorování emulzí je shrnuté v následujících tabulkách, probíhalo po jedné hodině od dokončení přípravy emulzí. U všech připravených emulzí se vyskytovala relativně stabilní, vysoká pěna, bílé barvy. Emulze byly většinou bílé, což svědčí o tom, že velikost jejich částic neležela v „nano“ oblasti, pro kterou je charakteristický opacitní, naředlý vzhled emulze.

Tabulka 21. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 10.5, želatina B 150.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	5	2.5	Polotransparentní, namodralá
10/90	+	5	2.5	Polotransparentní
20/80	+	5	2.5	Bílá
30/70	+	5	2.5	Bílá

Tabulka 22. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11, želatina B 150.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	30	4.0	Polotransparentní
10/90	+	25	2.0	Polotransparentní
20/80	+	35	3.5	Bílá
30/70	+	10	2.5	Bílá, hustější

Tabulka 23. Vizuelní pozorování emulze při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11.5, želatina B 150.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	15	4.0	Polotransparentní
10/90	+	30	4.5	Polotransparentní, namodralá
20/80	+	60	3.5	Polotransparentní
30/70	+	40	2.5	Polotransparentní, namodralá

Tabulka 24. Vizuální pozorování při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 10.5, želatina B 220.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	10	2.5	Polotransparentní
10/90	+	10	2.0	Polotransparentní
20/80	+	10	2.5	Bílá
30/70	+	15	1.5	Hustá, bílá

Tabulka 25. Vizuální pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11, želatina B 220.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	30	3.0	Polotransparentní
10/90	+	40	4.0	Bílá
20/80	+	20	4.0	Bílá
30/70	+	30	3.0	Bílá

Tabulka 26. Vizuální pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11.5, želatina B 220.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	70	4.0	Polotransparentní, namodralá
10/90	+	70	4.0	Polotransparentní
20/80	+	60	3.5	Bílá
30/70	+	70	2.0	Bílá

Tabulka 27. Vizuální pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 10.5, Hykol.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	5	2.5	Polotransparentní, namodralá
10/90	+	5	1.5	Bílá
20/80	+	5	2.0	Bílá
30/70	+	5	2.5	Bílá, hustější

Tabulka 28. Vizuální pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11, Hykol.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	15	3.5	Bílá
10/90	+	30	2.0	Bílá
20/80	+	20	3.0	Bílá
30/70	+	5	2.5	Bílá

Tabulka 29. Vizuální pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11.5, Hykol.

Poměr O/V	Přítomnost pěny	Rychlost odpěnění [min]	Výška pěny [cm]	Vzhled emulze
5/95	+	120	2.5	Bílá
10/90	+	120	4.0	Bílá
20/80	+	120	3.5	Bílá
30/70	+	120	3.5	Bílá

10.2.2 Dlouhodobé vizuální pozorování stability emulze

V následující části práce je shrnuto vizuální hodnocení stability emulzí připravených se směsí surfaktantů o HLB 10.5, 11 a 11.5 a koloidy želatinou B o bloom hodnotě 220, 150 nebo Hykolem. Předpoklad, že přítomnost koloidů může působit pozitivně a zlepšit stabilitu emulzí se v tomto případě nepotvrdila. I přes to, že byly připravené emulze uchovávány při teplotách 4 a 25 °C, které jsou z hlediska stability příznivé, byla v přítomnosti koloidů jejich stabilita horší, než u obdobných emulzí připravených pouze v přítomnosti směsi neionogenních surfaktantů Igepal 720 a Igepal 520 [25].

HLB 10.5

Ze všech sledovaných emulzí byly nejméně stabilní ty, k jejichž přípravě byly použity surfaktanty o HLB 10.5 a jejichž poměr olejové a vodné fáze O/V byl 5/95 u kterých se olejová fáze začala oddělovat už v den přípravy emulze, a to u obou typů želatiny i Hykolu.

U emulzí s poměrem O/V 10/90 došlo rovněž k separaci olejové fáze, ale pouze v přítomnosti želatiny B s bloom hodnotou 150, a to při teplotě 25 °C první den po výrobě. Snížení teploty na 4 °C prodloužilo stabilitu emulze a k oddělení olejové fáze došlo sedmý den po její přípravě. U želatiny B s bloom hodnotou 220 nastala separace fází druhý den po výrobě (25 °C). Při teplotě skladování 4 °C zůstala emulze stabilní.

Emulze s poměry olejové a vodné fáze 20/80 a 30/70, vykazovaly lepší stabilitu. U všech emulzí docházelo pouze ke krémování, tedy akumulaci dispergovaných částic na povrchu emulze. U teploty 4 °C bylo v přítomnosti všech koloidů i toto krémování minimální. Zajímavé bylo, že u želatiny B 150 současně se separací docházelo i k flokulaci emulze. A to pouze u těchto poměrů olejové a vodné fáze.

HLB 11

Emulze připravené se surfaktanty o hodnotě HLB 11 byly oprotě předchozím stabilnější. Obdobně jako u HLB 10.5 došlo u emulzí s poměrem O/V 5/95 k oddělení olejové fáze a to v přítomnosti želatiny B 220 a Hykolu ihned první den po jejich výrobě.

U všech ostatních emulzí tedy (10/90, 20/80 a 30/70) u obou typů želatiny i Hykolu docházelo v průběhu vizuálního pozorování pouze ke krémování emulze. Stejně jako v případě

hodnoty HLB 10.5 byly stabilnější emulze s vyšším poměrem olejové fáze a také nižší teplota (4 °C) stabilitu emulze prodloužila.

HLB 11.5

Hodnota HLB 11.5 ovlivnila stabilitu emulzí natolik významně, že k separaci fází nedošlo ani u jedné z měřených emulzí. Pozorováno bylo pouze krémování, tedy rozdělení na transparentní a bílou fázi emulze. Jednotlivé emulze se navzájem lišily pouze poměrem mezi touto transparentní a bílou částí.

ZÁVĚR

Teoretická část diplomové práce se zaměřuje na informace o vlastnostech, klasifikaci, přípravě a stabilitě emulzí. V textu je věnována pozornost i nanoemulzím a jejich přípravě. Dále jsou zmíněny surfaktanty, jejich rozdělení a vliv na stabilitu emulzí. Práce se také zabývá možnostmi stabilizace emulzí koloidními látkami, konkrétně želatinou a hydrolyzátem kolagenu Hykol. Proto teoretická část stručně pojednává i o vlastnostech a způsobu výroby želatiny.

Experimentální část práce je rozdělena na dvě části. První část je věnována přípravě (nano) emulzí olej ve vodě metodou EIP s různým poměrem vodné a olejové fáze O/V: 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70. K jejich přípravě byly použity směsi dvou typů neionogenních surfaktantů Igepal CA-210 (HLB 4) a Igepal CA-720 (14.2 HLB) s výslednými hodnotami HLB 10 a 9.5 a koncentracemi 3 a 5 hm. %. U těchto emulzí bylo provedeno vizuální pozorování a měření velikosti částí pomocí fotonové korelační spektroskopie, a to ihned po výrobě a následně během jejich skladování při třech různých teplotách 4 °C, 25 °C a 35 °C.

Ze zpracovaných výsledků a diskuze lze vyvodit tyto závěry:

- Faktory ovlivňující stabilitu emulze jsou teplota jejího skladování, množství surfaktantu, poměr olejové a vodné fáze emulze a hodnota HLB.
- Pro zachování stability emulze je nejlepší teplota 4 °C. Při této teplotě vykazovaly emulze nejlepší stabilitu, velikost částic zůstávala buď téměř stejná, nebo docházelo k mírným změnám.
- Bylo prokázáno, že čím nižší byla hodnota HLB (10, 9.5), tím byla velikost částic v emulzích větší. Výsledky diplomové práce [25] rovněž ukázaly, že se zvyšující se hodnotou HLB (interval 10.5 až 11.5) velikost částic emulzí rostla a nejmenší částice byly přítomny v emulzích připravených se surfaktanty o hodnotě HLB 10.5.
- Z obou výše uvedených pozorování vyplývá, že hodnoty HLB mají určité optimum, v tomto případě HLB 10.5 při koncentraci surfaktantu 3 i 5 hm. %, při kterém je velikost částic nejmenší a také nejstabilnější při všech poměrech olejové a vodné fáze: O/V (5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70).

- Rovněž s hodnotami HLB nižšími, než je hodnota optimální, lze připravit nanoemulze.
- Emulze připravené s poměrem olejové a vodné fáze O/V 25/75 a 30/70, hodnotou HLB 10 a obsahem surfaktantů 3 i 5 % se jeví jako nejstabilnější ze všech sledovaných emulzí v této diplomové práci.
- Rozdíly ve velikosti částic byly pozorovány při použití rozdílného množství surfaktantu, tedy 3 % nebo 5 %. Vliv vyššího množství surfaktantu na velikost se potvrdil u emulzí s poměrem O/V (25/75, 30/70), při zvýšení koncentrace surfaktantu na 5 % se snížila velikost částic u HLB (10 i 9.5).

V druhé části diplomové práce byly připraveny (nano)emulze za přítomnosti směsí dvou typů neionogenních surfaktantů a v přítomnosti běžně používaných koloidů, želatiny typu B o hodnotách Bloom 220 a 150 a hydrolyzátu kolagenu Hykol. Jako surfaktanty byly tentokrát použity Igepal CA-720 (HLB 14.2) a Igepal CA-520 (HLB 10) s hodnotami HLB 10.5, 11 a 11.5 a koncentrací 3 hm. %. Emulze byly umístěny do dvou teplotních prostředí a to 4 °C a 25 °C. Byl sledován vliv koloidů na velikost částic emulzí po výrobě a jejich stabilitu během skladování.

- Výsledky ukázaly, že právě druh použitého koloidu byl další faktor, který velikost částic a stabilitu emulzí ovlivňuje. Emulze připravené v přítomnosti koloidů měly velikost částic větší ve srovnání s emulzemi, kde koloidy použity nebyly.
- Pro zachování stability emulze je opět nejlepší teplota 4 °C. Pozitivní vliv přítomnosti koloidu na stabilitu emulze nebyl prokázán.
- Nejmenší velikost částic byly pozorovány u emulzí s poměrem olejové a vodné fáze 5/95 u všech použitých koloidů, ale byly také nejméně stabilní. Olejová fáze, se začala oddělovat již v den výroby.
- Nejméně stabilní emulze s přídavkem koloidu byly s hodnotou HLB 10.5, jako nejstabilnější se jeví emulze s hodnotou HLB 11.5.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. *Co je co v povrchové a koloidní chemii: výkladový slovník* [online]. 2005. Vydavatelství VŠCHT Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2005 [cit. 2010-08-20]. Dostupný z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/ebook.help.htm>.
- [2] MC CLEMENTS, D. J. *Food Emulsions*. 2nd Edition, Boca Raton, CRC Press, 2005. 609 p. ISBN 0-8493-2023-2.
- [3] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ, M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online]. 5. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2010-08-20]. Dostupný z WWW: <http://vydavatelstvi.vscht.cz/katalog/uid_isbn-80-7080-579-X/anotace/>. ISBN: 80-7080-579-X.
- [4] *Chemie a technologie tenzidů a detergentů: Fyzikální, chemické a technické vlastnosti povrchově aktivních látek* [online]. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 20. července 2007, 2007 [cit. 2010-08-30]. Dostupný z WWW: <http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0006_chemie_a_tecnologie_tuku_a_detergentu/distancni_text_II/M0006_chemie_a_tecnologie_tuku_a_detergentu_distancni_text_ii.pdf>.
- [5] *Chemie a technologie tenzidů a detergentů: Systematika povrchově aktivních látek* [online]. 1. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 16. června 2008 [cit. 2010-09-04]. Dostupný z WWW: <http://utb-files.cepac.cz/moduly/M0006_chemie_a_tecnologie_tuku_a_detergentu/distancni_text_III/M0006_chemie_a_tecnologie_tuku_a_detergentu_distancni_text_iii.pdf>.
- [6] VRBOVÁ, T. *Vím E954, co jím E551?: Aneb: průvode „Éčky“ v potravinách*. 1. [s.l.] : EcoHouse , 2001. 268 s. ISBN IBSN:80-238-7504-3
- [7] DAVÍDEK, J., JANÍČEK, G., POKORNÝ, J. *Chemie potravin*. 1. Bratislava: Nakladatelství technické literatury, Praha 1, 1983. 632 s. ISBN IBSN04-815-83.
- [8] FERNANDEZ, P., ANDRÉ, V., RIEGER, J., KUHNLE, A. *Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion*. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects. 2004., s. 251., p. 53–58.

- [9] TADROS, T., IZQUIERDO, P., ESQUENA, J., SOLANS C. *Formation and stability of nano-emulsions*. *Advances in Colloid and Interface Science*, vol. 108 – 110 (2004) 303 – 318.
- [10] BARTLOVSKÁ, L. *EMULZE - Kmlinux - NMS*. Doc. [online]. [cit. 2011-05-06], Dostupný z WWW: <kmlinux.fjfi.cvut.cz/~novotfil/skola/rozhrani/.../34-emulze.doc - Vyhledávání Google:>
- [11] SOLANS, C., IZQUIERDO, P., NOLLA, J., et.al. *Nano-emulsions*, *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 10 (2005) p. 102 – 110
- [12] SAJJADI, *Shahriar Effect of mixing protokol on formativ of fine emulsions*, *Chemical Engineering Science* 61 (2006) 3009 – 3017
- [13] GELATIN MANUFACTURERS INSTITUTE OF AMERICA, inc. *Gelatin*. 1st edition. New York: Gelatin manufacturesrs institute of America, inc., 1973. p. 5 – 24
- [14] KUBELKA, V. *Tuky, oleje a emulze v koželužství*. 1. Bratislava: Slovenská akadémia vied, 1954. 264 s.
- [15] HRABĚ, J., ROP, O., HOZA, I. *Technologie výroby potravin rostlinného původu*. 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2006. 178 s.
- [16] *Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Vzdělávací portál: Mlékárenská technologie* [online]. Sdružení CEPAC-Morava, 200 [cit. 2008-03-30]. Dostupný z WWW: <<http://utb.cepac.cz/Screens/Explorerer.aspx?id=32>>.
- [17] VELÍŠEK, J. *CHEMIE POTRAVIN 3*. 1. Tábor: Firma OSSIS, 1999. 368 s. ISBN 80-902391-5-3.
- [18] *Hages pro Českou republiku: Želatina* [online]. 2005 [cit. 2007-03-09]. Dostupný z WWW: <<http://www.hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>>.
- [19] SKOUPIL, J. *Suroviny a polotovary pro cukrářskou výrobu*. 1. vyd. Brno: Společenstvo cukrářů České republiky, 2005. 367 s.
- [20] MLÁDEK, M., et al. *Zpracování odpadů kožedělného průmyslu*. 1. vyd. Praha 1 : Nakladatelství technické literatury, n.p., 1971. 324 s.
- [21] OLIJVE, J., MORI, F., TODA, Y. *Tilburg Research Laboratory Fuj Photo Film: Ideal*, 2001. Influence of the Molecular-Weight Distribution of Gelatin on Emulsion Stability, p. 476 - 482.

- [22] MINISTERSTVO ZDRAVOTNICTVÍ ČR. *Český lékopis 2002*. 4. vyd. Praha 7 : Grada Publishing, a. s., 2005. 5756 s. ISBN 80-247-0464-1.
- [23] STÁTNÍ ZEMĚDĚLSKÁ A POTRAVINÁŘSKÁ INSPEKCE. *Přídavné látky (aditiva)*. [online]. Brno: 9. 5. 2008, [cit. 2011-03-26]. Dostupný z WWW: <<http://www.szpi.gov.cz/docDetail.aspx?docid=1005724&docType=ART&nid=11324>>.
- [24] HEUSCHKEL S., GOEBEL A., NEUBERT. *Microemulsions - Modern colloidal carrier for dermal and transdermal drug delivery*. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2008, vol. 97, is. 2, p. 603-631.
- [25] ŠENKERÍKOVÁ, J. *Charakterizace emulzí fotonovou korelační spektroskopií*. Zlín, 2010. 73 s. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [26] HOZA, I., KRAMÁŘOVÁ, D. *Potravinářská biochemie I.*, 1. vyd. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2005. 168 s. ISBN 80-7318-295-5.
- [27] KAŠPÁRKOVÁ V., KOLOMAZNÍK K., BURKETOVÁ, L., ŠAŠEK, V., ŠIMEK, L. *Characterization of low-molecular weight collagen hydrolysates prepared by combination of enzymatic and acid hydrolysis*. J. Am. Leather Chem. Assoc. 2009, vol.104, no. 2. p. 46–51
- [28] STOJASPAL, R. *Stanovení molární hmotnosti a distribuce molárních hmotností želatiny pomocí gelové permentační chromatografie*. Zlín, 2009. 65 s. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.
- [29] *Zetasizer Nano Příručka pro uživatele*, MANO317, vydání 3.0, leden 2007. 195 s. (Malvern Instruments Ltd. Enigma Business Park, Grovewood Road, Malvern, Worcestershire WR14 1XZ, Velká Británie).
- [30] JACKSON, K. *Dynamický rozptyl světla – Co, Jak, Proč?*, Chemagazín číslo 1, ročník XVII (2007).
- [31] FLORENCE, A. T., ATTWOOD, D. *Physicochemical Principles of Pharmacy. 4th Edition, Chapter 7. Emulsions, Suspensions and other disperse systems*. Publisher by the Pharmaceutical Press, 2006, London. ISBN 085369608X.
- [32] YAMAGUCHI S. *Correlation between the Mixing Ratio of Surfactants and the Water/Oil Ratio in the Middle Microemulsions in Water/Mixed Surfactant/Hydrocarbon Systems*. Langmuir. 1998, vol. 14, p. 7183–7188.

- [33] CHANADA, G. D., SHETH, B. B. *Particle size reduction of emulsions by formulation design-II: effect of oil and surfactant concentration*. J Pharm Sci Technol. 1995, vol. 49, is. 2, p. 71-6. ISSN 1079-7440.
- [34] FLORENCE, T., ATTWOOD, D. *Physicochemical Principles of Pharmacy*, 4th edition, UK London, Pharmaceutical Press 2006, ISBN 085 369 608X
- [35] BUDAVARI, S. *Merck Index*. 12th edition. Whitehouse Station, NJ: Merck., 1996 [cit. 2007-11-23]. Dostupný z WWW: <<http://www.omri.org/Gelatin-TAP.pdf>>.
- [36] POPPE, J. *Thickening and Gelling Agents for Food: Gelatin*, in A. Imeson (ed.). 2nd edition. London: Blackie Academic and Professional, 1997. p. 144 – 168.
- [37] SCHUETZE W, MUELLER-GOYMANN, C. C.: *Mutual interaction between nonionic surfactants and gelatin – Investigation in cubic liquid-crystalline systems and micelar systems*. Colloid and Polymer Science, 1992, vol. 270, is.1, p. 85-90
- [38] HRDOVÁ, L. *Želatina – vlastnosti, metody charakterizace a její použití v potravinářském a farmaceutickém průmyslu*. Zlín 2008. 53 s. Bakalářská práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

Aj.	A jiné
AMK	Aminokyseliny
Atd.	A tak dále
B 150	Želatina o boom hodnotě 150
B 220	Želatina o boom hodnotě 220
CPI	Catastrophic phase inversion (Katastrofická fázová inverze)
DLS	Dynamický rozptyl světla
EIP	Inverzní bod emulze (Emulsion Inversion Point)
HLB	Hydrophile-lipophile balance (Hydrofilně-lipofilní rovnováha)
M	Molární hmotnost
Např.	Například
O	Olej
O/O	Typ emulze olej v oleji
O/V	Typ emulze olej ve vodě
O/V/O	Typ emulze olej/voda/olej
PCS	Fotonová korelační spektroskopie
PIT	Fáze inverzní teploty (Phase Inversion temperature)
TPI	Transitional phase inversion (Přechodová fázová inverze)
V	Voda
Viz.	„Videre licet“ (licet = lze, doslova tedy „leze vidět“)
V/O	Typ emulze voda v oleji
V/O/V	Typ emulze voda/olej/voda

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1. Zředěné, koncentrované a gelovité emulze [1].</i>	15
<i>Obrázek 2. Dvojitě emulze [1].</i>	15
<i>Obrázek 3. Různé mechanismy rozpadu emulze [4].</i>	22
<i>Obrázek 4. Vliv poměru vodné a olejové fáze v emulzi na velikost částic ihned po výrobě. Číslo v závorce za hodnotou HLB označuje množství surfaktantu použité při přípravě emulze. Emulze, které nejsou zobrazeny nebyly s daným poměrem O/V připraveny nebo nebyly studovány.</i>	54
<i>Obrázek 5. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulze s množstvím surfaktantu 5 %, spojení výsledku diplomové práce [25] s touto diplomovou prací.</i>	55
<i>Obrázek 6. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulze s množstvím surfaktantu 3 %, spojení výsledku diplomové práce [25] s touto diplomovou prací.</i>	56
<i>Obrázek 7. Stabilita velikosti částic emulze s poměrem O/V 20/80, HLB 10, skladované při teplotě 4 °C.</i>	58
<i>Obrázek 8. Distribuce velikosti částic pro emulze s 5 % surfaktantu o HLB 10 a poměru O/V 20/80 skladované při teplotě 25 °C. Červená křivka: distribuce získaná bezprostředně po přípravě emulze, zelená křivka: po 1, modrá po 3 a černá po 6 dnech skladování.</i>	59
<i>Obrázek 9. Stabilita velikosti částic emulze s poměrem O/V 30/70, HLB 9.5, skladované při 4 °C.</i>	60
<i>Obrázek 10. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulzí s poměrem O/V 5/95</i>	65
<i>Obrázek 11. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulzí s poměrem O/V 10/90</i>	66
<i>Obrázek 12. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulzí s poměrem O/V 20/80</i>	67
<i>Obrázek 13. Velikost částic stanovená bezprostředně po výrobě, u emulze s poměrem O/V 30/70</i>	68

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 5 % a HLB = 10 (vztaženo na 50 g emulze).....</i>	40
<i>Tabulka 2. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 10 (vztaženo na 50 g emulze).....</i>	40
<i>Tabulka 3. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 5 % a HLB = 9.5 (vztaženo na 50 g emulze).....</i>	40
<i>Tabulka 4. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 9.5 (vztaženo na 50 g emulze).....</i>	41
<i>Tabulka 5. Hodnoty hmotnostního průměru molárních hmotností M_w číselného průměru molárních hmotností M_n a indexu polydisperzity PD vzorků želatiny a Hykolu [27], [28]......</i>	43
<i>Tabulka 6. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 10.5, želatina B 150 (vztaženo na 50 g emulze).....</i>	43
<i>Tabulka 7. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 11, želatina B 150 (vztaženo na 50 g emulze).....</i>	44
<i>Tabulka 8. Vypočtená množství olejové a vodné fáze a surfaktantů při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 11.5, želatina B 150 (vztaženo na 50 g emulze).....</i>	44
<i>Tabulka 9. Vizuální pozorování emulzí O/V při koncentraci surfaktantů 5 % a HLB = 10.....</i>	46
<i>Tabulka 10. Vizuální pozorování emulzí O/V při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 10.....</i>	47
<i>Tabulka 11. Vizuální pozorování emulzí koncentrace surfaktantů 5 % a HLB = 9.5.....</i>	47
<i>Tabulka 12. Vizuální pozorování emulze při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB = 9.5.....</i>	47
<i>Tabulka 13. Doba prvního výskytu oddělení olejové fáze při dlouhodobém pozorování emulze.....</i>	51
<i>Tabulka 14. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulze: HLB 10, množství surfaktantu 5 %.....</i>	53
<i>Tabulka 15. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě u emulze: HLB 10, množství surfaktantu 3 %.....</i>	53
<i>Tabulka 16. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě u emulze: HLB 9,5, množství surfaktant 5 %.....</i>	53

<i>Tabulka 17. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě u emulze: HLB 9,5, množství surfaktant 3 %.</i>	54
<i>Tabulka 18. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulzí, koncentrace surfaktantu 3 %, použitý koloid želatina B 220.</i>	63
<i>Tabulka 19. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulzí, koncentrace surfaktantu 3 %, použitý koloid želatina B 150.</i>	63
<i>Tabulka 20. Velikost částic stanovená bezprostředně po přípravě emulzí, koncentrace surfaktantu 3 %, použitý koloid Hykol.</i>	64
<i>Tabulka 21. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 10,5, želatina B 150.</i>	69
<i>Tabulka 22. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11, želatina B 150.</i>	69
<i>Tabulka 23. Vizuelní pozorování emulze při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11,5, želatina B 150.</i>	69
<i>Tabulka 24. Vizuelní pozorování při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 10,5, želatina B 220.</i>	70
<i>Tabulka 25. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11, želatina B 220.</i>	70
<i>Tabulka 26. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11,5, želatina B 220.</i>	70
<i>Tabulka 27. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 10,5, Hykol.</i>	71
<i>Tabulka 28. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11, Hykol.</i>	71
<i>Tabulka 29. Vizuelní pozorování emulzí při koncentraci surfaktantů 3 % a HLB 11,5, Hykol.</i>	71