

Vliv želatiny na vlastnosti emulzí stabilizovaných celulóзовými nanokrystaly

Barbora Andersová

Bakalářská práce
2022



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Barbora Andersová**
Osobní číslo: **T19018**
Studijní program: **B0711A130009 Materiály a technologie**
Specializace: **Biomateriály a kosmetika**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Vliv želatiny na vlastnosti emulzí stabilizovaných celulózovými nanokrystaly**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

V teoretické části zpracujete literární rešerši na zadané téma.

Věnujte se emulzím stabilizovaným částicemi, jejich přípravě, vlastnostem a charakterizaci.

Představte rovněž želatinu, její typy, vlastnosti a využití při stabilizaci emulzí.

II. Praktická část

V praktické části připravte emulze stabilizované částicemi nanokrystalické celulózy v kombinaci s želatinou.

Stanovte vliv formulace na velikost emulzních kapek, enkapsulační efektivitu a stabilitu připravených systémů.

Pro charakterizaci připravených emulzí použijte vhodné metody. Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Casanova, F, Santos, L.: Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application a review. JOURNAL OF MICROENCAPSULATION (2016), 33 (1), 1-17
- [2] Razavi, Mahsa Sadat; Golmohammadi, Abdollah; Nematollahzadeh, Ali; et al. Preparation of cinnamon essential oil emulsion by bacterial cellulose nanocrystals and fish gelatin. FOOD HYDROCOLLOIDS (2020), 109, Article Number: 106111
- [3] Zhang, Ting; Xu, Jiamin; Zhang, Yangyi; et al. Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification. TRENDS IN FOOD SCIENCE & TECHNOLOGY (2020), 106, 113-131
- [4] Albert, Claire; Beladjine, Mohamed; Tsapis, Nicolas; et al. Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. JOURNAL OF CONTROLLED RELEASE (2019), 309, 302-332

Vedoucí bakalářské práce: **doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání bakalářské práce: **25. února 2022**
Termín odevzdání bakalářské práce: **20. května 2022**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

PROHLÁŠENÍ AUTORA BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

- bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- na moji 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;
- podle § 60 odst. 1 autorského zákona má Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- podle § 60 odst. 2 a 3 autorského zákona mohu užít své dílo – 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);
- pokud bylo k vypracování bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považuji se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji,

- že jsem na bakalářské práci pracoval samostatně a použitou literaturu jsem citoval. V případě publikace výsledků budu uveden jako spoluautor.
- že odevzdaná verze bakalářské práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Bakalářská práce se zabývá vlivem typu a koncentrace želatiny na vlastnosti a stabilitu emulzí stabilizovaných celulóзовými nanokrystaly. Tyto emulze představují slibné systémy pro praktické aplikace, zejména díky své biokompatibilitě a biodegradabilitě. Teoretická část práce se věnuje emulzím, zvláště pak emulzím Pickeringovým, celulóze a jejím částicím a je představena i želatina. V praktické části je popsána příprava emulzních systémů stabilizovaných celulóзовými nanokrystaly a jsou studovány vlivy koncentrace a typu želatiny, obsahu stabilizátoru, vzájemného hmotnostního poměru stabilizátoru a želatiny či hodnoty pH prostředí na vlastnosti a chování těchto systémů. Vliv uvedených parametrů na vlastnosti a stabilitu emulzí byl stanoven měřením velikosti emulzních kapek a ζ potenciálu, ale taky i vizuálním a mikroskopickým pozorováním.

Klíčová slova: emulze, Pickeringovy emulze, želatina, celulózové nanokrystaly, stabilita

ABSTRACT

The bachelor thesis deals with the influence of the type and concentration of gelatine on the properties and stability of emulsions stabilized by cellulose nanocrystals. These systems are promising for practical applications, mainly thanks to their biocompatibility and biodegradability. The theoretical part of the work deals with emulsions and Pickering emulsions, cellulose and its particles, and introduces also gelatine. The experimental part describes the preparation of emulsions stabilized with cellulose nanocrystals and investigates the effects of concentration and type of gelatine, stabilizer content, mass ratio between stabilizer and gelatine, and pH on these systems. The influence of the above given parameters on emulsion properties and stability was determined by measuring their droplet size and ζ potential, as well as by visual and microscopic observations.

Keywords: emulsion, Pickering emulsion, gelatine, cellulose nanocrystals, stability

Ráda bych upřímně poděkovala vedoucí mé bakalářské práce doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc. nejen za odborné vedení, zkušenosti, pomoc, cenné rady a připomínky, ale i za trpělivost, vstřícnost, ochotu, morální podporu a čas, který mé bakalářské práci věnovala. Dále bych chtěla poděkovat mé rodině, která mi studium umožnila a po celou dobu mě plně podporovala. Velké díky patří taky mým kamarádům, za to že mi byli vždy velkou oporou a taky za trpělivost, kterou se mnou během studia měli. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat mým spolužákům za vzájemnou podporu a spolupráci při studiu a taky za krásné tři roky prožité na univerzitě.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 EMULZE	11
1.1 JEDNODUCHÉ EMULZE	11
1.1.1 Klasifikace emulzí podle koncentrace disperzního podílu.....	11
1.1.2 Klasifikace emulzí podle velikosti rozptýlených částic	12
1.1.3 Klasifikace emulzí podle povahy použitého emulgátoru	13
1.2 EMULZE SLOŽENÉ.....	13
1.3 PŘÍPRAVA EMULZÍ	14
1.4 STABILITA EMULZÍ	15
1.4.1 Možnosti stabilizace emulzí	15
1.4.2 Destabilizace emulzí	17
1.5 VLASTNOSTI EMULZÍ	18
2 PICKERINGOVY EMULZE	19
2.1 OBECNÁ CHARAKTERIZACE.....	19
2.2 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI PICKERINGOVÝCH EMULZÍ	19
2.3 PŘÍPRAVA.....	20
2.4 TYPY ČÁSTIC VHODNÉ PRO STABILIZACI.....	20
2.5 POUŽITÍ	21
3 CELULÓZA A CELULÓZOVÉ ČÁSTICE	23
3.1 CHEMICKÁ STRUKTURA CELULÓZY	23
3.2 TYPY CELULÓZOVÝCH ČÁSTIC.....	23
3.2.1 Celulózové nanofibrily (CNF) a nanokrystaly (CNC).....	24
4 ŽELATINA	26
4.1 TYPY ŽELATINY	26
4.2 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI ŽELATINY	26
4.2.1 Vzhled a rozpustnost	26
4.2.2 Bod tání a bod tuhnutí	27
4.2.3 Viskozita	27
4.2.4 Bloom-hodnota.....	27
4.2.5 Vlastnosti želatiny	27
4.3 VYUŽITÍ ŽELATINY	28
4.3.1 Využití při stabilizaci emulzí	28
4.3.2 Využití v kosmetice a farmacii	29
5 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	30
6 CÍL PRÁCE	32

II PRAKTICKÁ ČÁST	33
7 POUŽITÉ MATERIÁLY A METODIKA	34
7.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE.....	34
7.2 POUŽITÉ PŘÍSTROJE A POMŮCKY.....	34
7.3 METODIKA	35
7.3.1 Příprava disperze CNC.....	35
7.3.2 Stanovení izoelektrického bodu želatiny a disperze CNC	35
7.3.3 Příprava emulzí	36
7.3.4 Stanovení velikosti emulzních kapek.....	39
7.3.5 Stanovení ζ potenciálu emulzí.....	39
8 VÝSLEDKY A DISKUZE	40
8.1 IZOELEKTRICKÝ BOD	40
8.2 PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE PRIMÁRNÍCH EMULZÍ.....	41
8.3 PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE EMULZÍ V KOMBINACI S ŽELATINOU.....	42
8.3.1 Vliv pH a koncentrace želatiny	43
8.3.2 Vliv typu želatiny	46
8.3.3 Vliv pH a koncentrace želatiny na ζ potenciál	49
8.3.4 Mikroskopické pozorování.....	52
8.3.5 Vizuální pozorování	52
8.4 ENKAPSULAČNÍ EFEKTIVITA	53
8.5 STABILITA EMULZÍ	54
ZÁVĚR	59
SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	61
SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	66
SEZNAM OBRÁZKŮ	67
SEZNAM TABULEK	70

ÚVOD

Pickeringovy emulze jsou rychle se rozvíjející a slibné disperzní systémy vhodné pro řadu aplikací. Jedná se o emulze, které však nejsou stabilizované klasickými surfaktanty, ale pevnými částicemi. Mezi vhodné stabilizátory Pickeringových emulzí lze rozhodně zařadit i celulóзовé nanokrystaly. Celulóza je velmi zajímavá především pro své biodegradabilní a biokompatibilní vlastnosti i z hlediska environmentální udržitelnosti, jelikož je obnovitelným zdrojem.

Želatina je *amfifilní* biopolymer, který vykazuje dobrou povrchovou aktivitu. Její emulgační vlastnosti jsou ovlivněny nejen zdrojem želatiny (typ A nebo B), ale i jejími fyzikálně chemickými vlastnostmi jako je např. molekulová hmotnost nebo pevnost želatinového gelu vyjádřená bloom hodnotou.

Kombinace želatiny a Pickeringových emulzí stabilizovaných celulóзовými nanokrystaly poskytuje stabilní disperzní systém s biokompatibilními a biodegradabilními vlastnostmi. Tyto emulzní systémy jsou velmi zajímavé pro praktické aplikace, zejména v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu, protože neobsahují klasické tenzidy a vykazují tak velmi dobrou dermatologickou snášenlivost. Pickeringovy emulze lze využít např. při léčbě ekzémů, kdy emulze vytvoří na povrchu pokožky ochrannou bariérovou vrstvu.

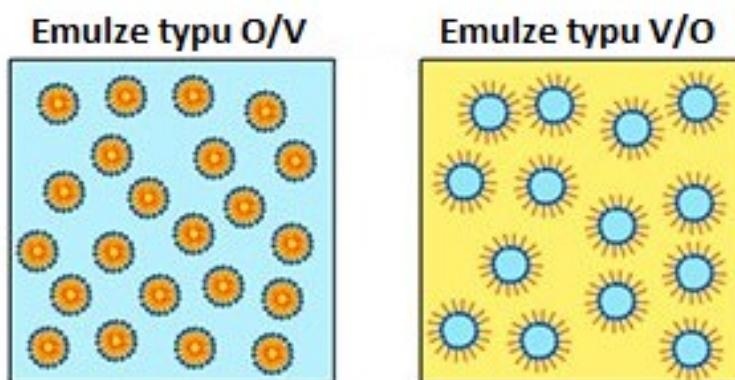
V teoretické části se bakalářská práce věnuje emulzím, jejich přípravě a stabilizaci. Dále se pozornost soustřeďuje na Pickeringovy emulze, celulózu, celulóзовé částice a na želatinu. Praktická část bakalářské práce se zabývá především vlivem typu a koncentrace želatiny na vlastnosti a stabilitu emulzí stabilizovaných částicemi nanokrystalické celulózy o koncentraci 0,5 nebo 1 hm. %. Rovněž byl zkoumán vliv hodnoty pH prostředí i poměru želatiny a primární emulze stabilizované celulóзовými nanokrystaly na připravené emulze. Vliv formulace na vlastnosti a stabilitu emulzí byl stanoven nejen měřením velikosti emulzních kapek laserovou difrakcí a měřením ζ potenciálu, ale i vizuálním a mikroskopickým pozorováním.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 EMULZE

Emulze lze definovat jako druh disperze kapaliny v kapalném disperzním prostředí. Částice dispergované kapaliny (diskontinuální fáze) jsou rozptýleny ve formě kapiček v disperzní kapalině (kontinuální fáze). Kapaliny, jež emulzi tvoří, musí být navzájem nemísitelné či mísitelné jen omezeně. Dále by v soustavě měly být přítomny látky zabraňující slévání dispergovaných kapek, tedy koalescenci [1 s. 172].

Mezi nejběžnější typy emulzí patří emulze přímé a emulze obrácené. V případě emulzí přímých se jedná o emulze typu olej ve vodě (O/V), kdy kapičky oleje jsou dispergované ve vodné fázi. Emulze obrácené jsou emulze typu voda v oleji (V/O), kde vodní kapičky jsou dispergovány v olejové fázi. Dalšími běžnými emulzemi jsou emulze složené, mezi které patří emulze typu „voda v oleji ve vodě“ (V/O/V) nebo „olej ve vodě v oleji“ (O/V/O) [1 s. 172], [2 s. 18].



Obrázek 1: Struktura emulzí typu O/V a V/O [upraveno podle 3]

1.1 Jednoduché emulze

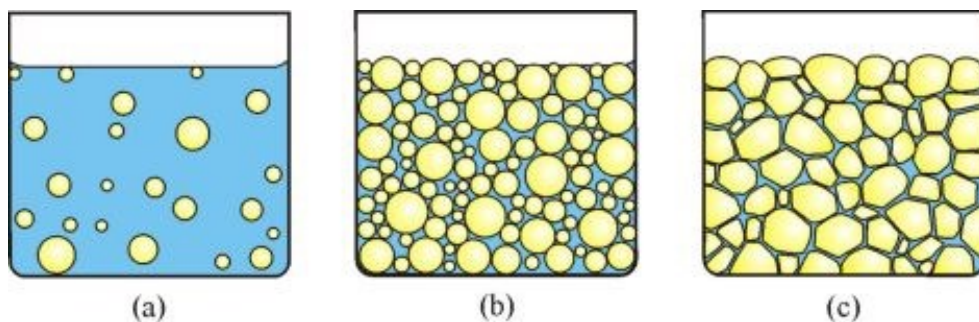
Emulzní systémy lze obvykle klasifikovat podle koncentrace disperzního podílu nebo velikosti rozptýlených částic. Další možností je klasifikace podle jejich struktury nebo povahy použitého emulgátoru [4 s. 20].

1.1.1 Klasifikace emulzí podle koncentrace disperzního podílu

Podle koncentrace disperzního podílu se emulze dělí na zředěné, koncentrované a vysoce koncentrované:

- **Zředěné emulze (a)** – max. 2 % celkového objemu zaujímá dispergovaná fáze a průměr kapiček u emulzí zředěných je blízký rozměru koloidních částic (řádově 10^{-7} m).

- **Emulze koncentrované** (b) obsahují sférické kapky, jež jsou nedeformované. V monodisperzním systému může dosáhnout koncentrace disperzního podílu až 74 objemových procent.
- **Emulze vysoce koncentrované** (c) nebo též nazývány **emulze gelovité**, jsou emulze, kde kapky disperzního podílu jsou uloženy tak těsně, že se vzájemně deformují a nabírají tak tvarů mnohostěnů. Tyto mnohostěny jsou od sebe odděleny tenkými filmy koloidních rozměrů, tedy vrstvičkami disperzního prostředí a emulgátoru [1 s. 172].

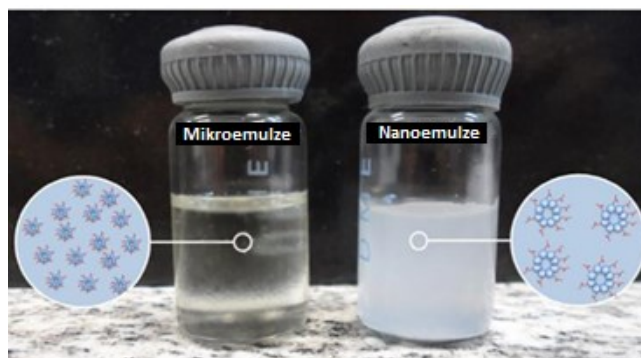


Obrázek 2: Klasifikace emulzí podle koncentrace [upraveno podle 5]

1.1.2 Klasifikace emulzí podle velikosti rozptýlených částic

Podle velikosti rozptýlených částic lze emulze rozdělit na makroemulze, mikroemulze a nanoemulze:

- **Emulze** (též makroemulze) jsou kalné, mléčně zbarvené a termodynamicky nestabilní disperze vzájemně nemísitelných kapalin. Velikost částic musí být výrazně větší než 100 nm, zpravidla se pohybuje v rozmezí 100-1000 nm. Jejich stabilita závisí na složení emulze a na velikosti částic.
- Způsob přípravy může mít také vliv na stabilitu emulze, jelikož v závislosti na způsobu přípravy může být dosaženo různé distribuce velikosti kapek.
- **Mikroemulze** jsou čiré, izotropní a termodynamicky stabilní disperze. Velikost jejich částic je udávána v rozmezí 10-100 nm. Pro mikroemulze je kromě emulgátoru typická i přítomnost kosurfaktantu (nízkomolekulární alkohol).
- **Nanoemulze** (občas označovány jako mini-emulze) jsou disperzní systémy, jejichž velikost částic se pohybuje v rozmezí 50-200 nm. Jsou charakteristické tím, že k jejich přípravě je potřeba vyššího množství emulgátoru, obvykle 5 % a více. Jejich význam se uplatňuje především v oblasti kosmetiky a zdravotnictví [4 s. 20].



Obrázek 3: Rozdíl mezi mikroemulzí a nanoemulzí [6]

1.1.3 Klasifikace emulzí podle povahy použitého emulgátoru

Podle povahy použitého emulgátoru lze rozlišovat emulze stabilizované:

- Ionickými povrchově aktivními látkami
- Neionickými povrchově aktivními látkami
- Směsmi povrchově aktivních látek
- Makromolekulárními látkami (polymery)
- Směsmi polymerů a povrchově aktivních látek
- Polyelektrolyty
- Pevnými částicemi [2 s. 18]

1.2 Emulze složené

Vedle jednoduchých emulzí (O/V a V/O) lze připravit různé typy emulzí složených, např. typu O/V/O nebo V/O/V. Emulzi typu V/O/V tvoří dispergované částice vody ve větších částicích oleje, jež jsou dispergovány v kontinuální vodné fázi [4 s. 23].

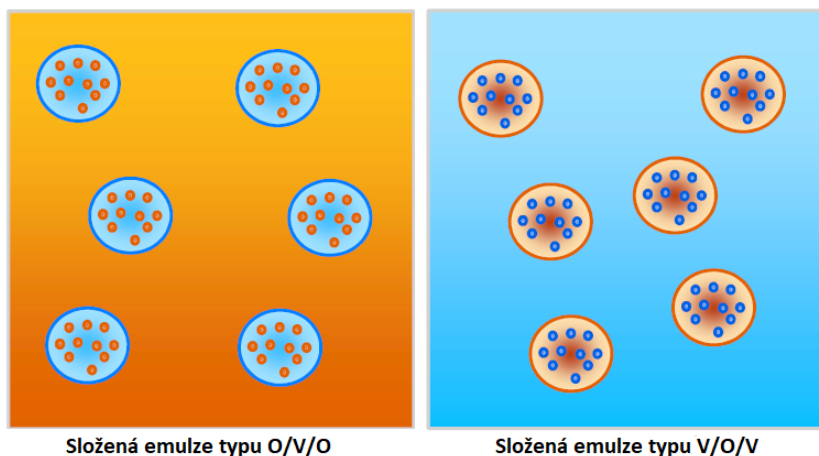
Složené emulze lze připravit dispergací ve dvou krocích, kdy jsou použity emulgátory hydrofilního a lipofilního typu. Dále mohou taktéž vznikat v důsledku nerovnoměrného rozdělení emulgátoru v různých mikroskopických oblastech soustavy při inverzi fází.

Stabilita složených emulzí je menší než u emulzí jednoduchých z důvodu velké plochy fázového rozhraní.

Složené emulze je možno rozlišovat podle stupně disperzity na tři hlavní typy:

- Jedna kapka primární emulze obsahuje jednu kapku vnitřní fáze

- Kapky primární emulze obsahují několik kapek vnitřní fáze separovaných tlustou vrstvou vnější fáze primární emulze
- Každá kapka primární emulze představuje koncentrovanou emulzi (kulovité vnitřní kapky jsou separovány tenkými vrstvičkami vnější primární emulze) [4 s. 23]



Obrázek 4: Struktura složených emulzí typu O/V/O a V/O/V [upraveno podle 7]

1.3 Příprava emulzí

Při běžné přípravě stabilní emulze je nutné použití mechanické dispergace jako je např. míchání, vibrace nebo protřepávání. Lze použít i sonikaci.

I když je pro přípravu stabilní emulze nezbytnou složkou emulgátor, stabilní emulze však může vznikat i spontánní emulgací, kdy dojde k jednoduchému smíchání dvou kapalin, pokud je mezi oběma fázemi povrchové napětí dostatečně malé [8].

Možností přípravy nanoemulzí je využití nízkoenergetických emulgačních metod. Tyto metody využívají fázového přechodu, k jemuž dochází během emulgace. Fázového přechodu lze v principu docílit dvěma metodami – metodou EIP a metodou PIT.

- **Metoda EIP** (Emulsion Inversion Point – Inverzní bod emulze) probíhá za konstantní teploty a mění se hodnota HLB systému, který obsahuje směs dvou surfaktantů.
- **Metoda PIT** (Phase Inversion Temperature – Teplota fázové inverze), při níž dochází ke změně teploty, zatímco složení se nemění. Metoda se používá pro neionogenní povrchově aktivní látky etoxylovaného typu, pro něž je typická silná teplotní závislost. Pokud je pomocí těchto povrchově aktivních látek připravena emulze typu o/v, která je zahřáta, dojde při kritické teplotě (PIT) k tzv. inverzi fází,

tedy k převrácení emulze typu O/V na emulzi V/O. Kritická teplota (PIT) je teplota, při které mezifázové napětí dosahuje minima a velikost emulzních kapek je nejmenší. Stabilní emulze, jejichž kapky mají malý průměr, pak vznikají prudkým ochlazením systému [4 s. 75].

1.4 Stabilita emulzí

Stabilita je jednou z nejdůležitějších vlastností emulzí. Můžeme ji definovat jako odolnost systému proti změnám vlastností v závislosti na čase. Jelikož emulze nejsou stabilní systémy, je nutné zajistit její dostatečnou životnost vhodnou stabilizací. Způsob stabilizace závisí na koncentraci emulze. Stálost emulze může být různá, záleží tedy na okolnostech, jestli je vystavena otřesům, odstředování, změnám teploty či dalším vlivům, které mohou vést k její destabilizaci či zániku [1 s. 173].

1.4.1 Možnosti stabilizace emulzí

Jak již bylo zmíněno, aby byla zajištěna dostatečná životnost emulze, je potřeba ji stabilizovat. Stabilizátorem emulzí může být celá řada látek, záleží především na použitém činidlu a od toho se odvíjejícím mechanismu.

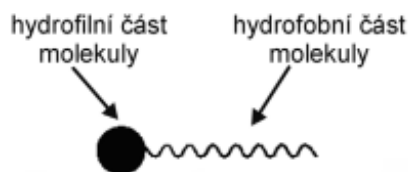
U zředěných emulzí lze využít **stabilizaci elektrickou dvojrstvou**, kdy dochází k tvorbě elektrické dvojrstvy v důsledku různé rozpustnosti kationtů a aniontů ve vodné i olejové fázi. Elektrická dvojrstva může vznikat i v důsledku adsorpce hydroxoniových nebo hydroxidových iontů z vody na fázové rozhraní. Čím větší je náboj kapky a tloušťka té dvojrstvy, tím účinněji brání odpudivé síly mezi kapičkami koalescenci. Se vzrůstající koncentrací elektrolytu dochází k růstu náboje kapky, ale tloušťka dvojrstvy s růstem jeho koncentrace klesá [1 s. 174].

U koncentrovanějších emulzí stabilizace elektrickým nábojem nepostačuje, a proto je třeba zajistit její stabilitu vhodným stabilizátorem. Emulze lze stabilizovat různými mechanismy, mezi nejčastěji používanými patří povrchově aktivní látky, makromolekulární látky neboli polymery a pevné částice [1 s. 174].

1.4.1.1 Stabilizace povrchově aktivními látkami

Emulzi můžeme stabilizovat přidáním vhodné třetí složky – emulgátoru, jehož úkolem je hromadit se na rozhraní obou fází a vytvářet tam soudržný a elastický film, který však nesmí jevit adhezi k filmům vytvořených okolo jiných kapiček.

Povrchově aktivní látky (PAL) jsou *amfipatické (amfifilní)* molekuly a tvoří je hydrofilní a hydrofobní část. Hydrofilní část je tvořena polární skupinou, zatímco hydrofobní část tvoří nepolární uhlovodíkový řetězec [1 s. 174], [8 s. 38].

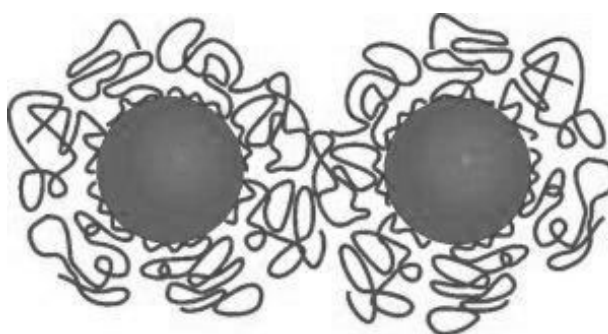


Obrázek 5: Struktura molekuly PAL [8]

K popisu schopnosti povrchově aktivních látek stabilizovat emulzi se používá veličina HLB (*hydrophilic-lipophilic balance*), která charakterizuje poměr hydrofilní a lipofilní části molekuly. Stupnice HLB nabývá hodnot 1-20 a je založena na afinitě surfaktantů k oleji a vodě. Hodnota HLB udává možné využití PAL v praxi. Čím je hodnota HLB vyšší, tím je povrchově aktivní látka ve vodě rozpustnější [1 s. 174].

1.4.1.2 Stabilizace polymery

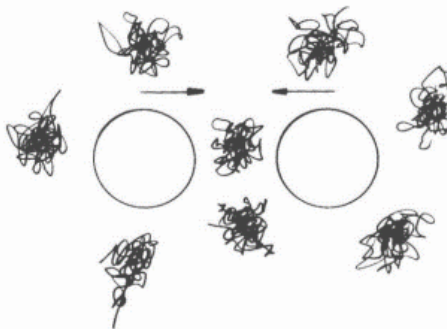
Při stabilizaci emulzí pomocí polymerů existují dva typy mechanismů, a to stabilizace stérická a pomocí deplece. Při **stérické stabilizaci** je povrch emulzních kapek pokryt vrstvou polymeru, přičemž je nezbytné, aby molekuly byly na povrchu kapek silně adsorbovány a pokrývaly tak celý její povrch. Tyto částice musí být taktéž rozpustné i v kontinuální fázi [9].



Obrázek 6: Stérická stabilizace vrstvou adsorbovaných makromolekul [upraveno podle 10]

Depleční stabilizaci umožňuje volný polymer svou přítomností v disperzním prostředí. Nastává při vyšších koncentracích volných polymerů, které nejsou adsorbovány na emulzní kapky. Pokud dojde k přiblížení dvou částic na velmi malou vzdálenost, dochází k vypuzování polymerů z prostoru mezi kapkami, kde je tak obsažena pouze kontinuální fáze a mezi povrchy kapek mohou působit přitažlivé Van der Waalsovy síly. Tento jev bývá nazýván depleční flokulace. Pokud jsou však částice dostatečně vzdáleny a volný polymer

je ve vysoké koncentraci, dojde k odpuzování částic a nastává opačný jev, tzv. depleční stabilizace [9].



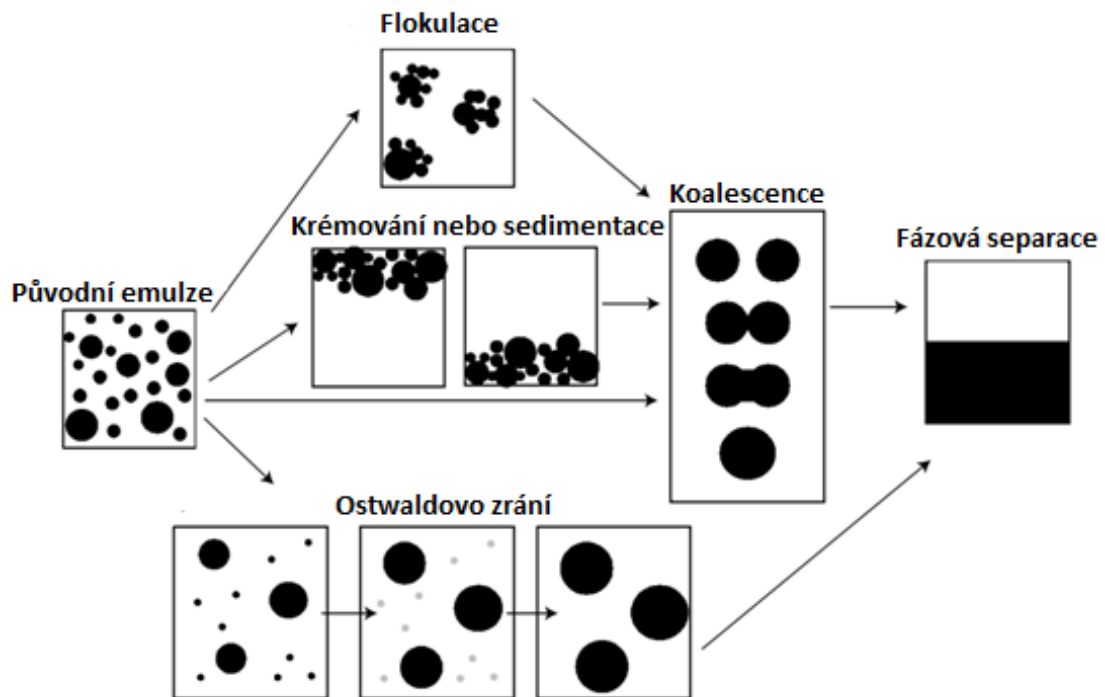
Obrázek 7: Schématické znázornění stabilizace emulze pomocí deplece [upraveno podle 9]

Další možností stabilizace emulzí je stabilizace pevnými částicemi, na kterých jsou založeny tzv. Pickeringovy emulze, o nichž bude pojednáno v kapitole 2.

1.4.2 Destabilizace emulzí

Nestabilita emulzí zahrnuje celou řadu procesů, které mohou probíhat po sobě nebo současně v závislosti na okolních podmínkách. Projevovat se může nejčastěji krémováním, flokulací, koalescencí nebo fázovou inverzí, jejichž mechanismus se liší (obr. č. 8).

- **Krémování a sedimentace** jsou způsobeny separací v gravitačním poli, přičemž krémování bývá vysvětlováno jako pohyb složek emulgované fáze směrem vzhůru, což je důsledkem nižší hustoty emulgované fáze. Sedimentace je pak opakem krémování.
- **Flokulace a koalescence** jsou děje, při kterých dochází k agregaci dispergovaných kapek. Flokulace nastává, když agreguje dvě a více dispergovaných kapek, zatímco nedochází k narušení jejich individuální integrity. U koalescence dochází při agregaci k zániku kapek za současné tvorby kapek větších v menším počtu.
- **Ostwaldovo zrání** je zapříčiněno difúzí dispergované fáze skrz disperzní fázi. Průměr kapek se zvětšuje, zatímco se současně snižuje jejich počet.
- **Fázová inverze** je destabilizační děj, při kterém se emulze typu O/V přemění na V/O a naopak [11 s. 2].



Obrázek 8: Destabilizace emulzí [upraveno podle 12]

1.5 Vlastnosti emulzí

- **Barva a vzhled** emulzí se odráží od koncentrace a velikosti částic kontinuální fáze a také na indexu lomu obou fází. Vzhledově jsou většinou kalné, neprůhledné jsou koncentrovanější emulze. Emulze může být i průsvitná, ale to pouze v případě, že obě kapalné fáze mají stejný index lomu.
- **Elektrický náboj**, který nesou částice emulzí typu o/v je záporný. Typickou vlastností je i jejich elektroforetická pohyblivost.
- **Sedimentace** kontinuální fáze závisí na poměru hustot obou kapalin a velikosti emulzních kapek. Existují i emulze, které sedimentovat nemohou, patří sem emulze vysoce koncentrované a gelovité.
- **Viskozita** koncentrovaných emulzí závisí nejvíce na poměru objemů kapalných fází, dále také na viskozitě kontinuální fáze a emulgátoru [1 s.175].

2 PICKERINGOVY EMULZE

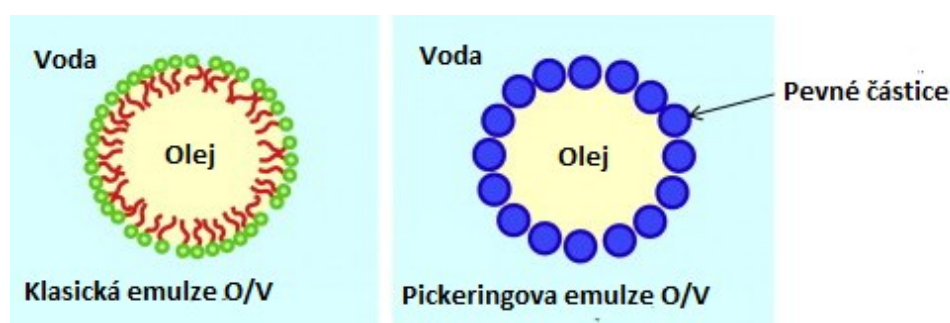
Pickeringovy emulze jsou emulze stabilizované pevnými částicemi. Byly pojmenovány po S. U. Pickeringovi, jenž v roce 1907 přednesl důkazy o možnosti stabilizovat emulze pevnými částicemi, kterými stabilizoval emulzi parafínového oleje ve vodě. Od jejich objevu jim nebyla věnována větší pozornost a předmětem intenzivnější pozornosti se staly teprve nedávno [13 s. 23].

2.1 Obecná charakterizace

Pickeringovy emulze mohou být emulzemi typu jak olej ve vodě, voda v oleji, tak i emulzemi vícenásobnými. Jak již bylo zmíněno, jsou stabilizovány anorganickými i organickými pevnými částicemi, zpravidla o průměru menším než 200 nm, pro které platí, že musí být částečně smáčeny vodnou i olejovou fází [13 s. 23].

Pickeringovy emulze si zachovávají základní vlastnosti emulzí stabilizovaných PAL, takže mohou v mnoha aplikacích nahradit emulze klasické. Stabilizace pevnými částicemi dává emulzím specifické vlastnosti a jednou z hlavních výhod emulzí stabilizovaných pevnými částicemi je vysoká rezistence vůči koalescenci.

Jelikož Pickeringovy emulze neobsahují PAL, které mohou vykazovat nežádoucí účinky jako je např. iritace pokožky nebo cytotoxicita, jsou atraktivní pro aplikace v kosmetickém či farmaceutickém průmyslu. Rozdíl mezi klasickými emulzemi stabilizovanými PAL a emulzemi Pickeringovými je znázorněn na obrázku 9 [13 s. 23].



Obrázek 9: Rozdíl mezi klasickou a Pickeringovou emulzí [upraveno podle 13]

2.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti Pickeringových emulzí

Aby byly úspěšně připraveny stabilní Pickeringovy emulze, musí být splněny dvě hlavní kritéria. Prvním z nich je, že emulze musí být delší dobu stabilní proti destabilizačním procesům a druhým kritériem je, aby byl proces emulgace uskutečnitelný. Dlouhodobá

stabilita emulzí záleží zejména na jejich složení, avšak záleží taky i na způsobu jejich přípravy, protože velikost kapiček emulzí je určována smykovým namáháním při emulgačním procesu [13 s. 25].

2.3 Příprava

Pro zdárnou přípravu Pickeringových emulzí lze aplikovat všechny emulgační procesy, které se využívají pro přípravu emulzí klasických, tedy stabilizovaných PAL. Nicméně mezi nejpoužívanější způsoby přípravy Pickeringových emulzí patří rotor-stator homogenizace, vysokotlaká homogenizace a sonikace. V poslední době se pro jejich přípravu však začaly využívat techniky jako je membránová nebo mikrofluidní emulgace [14 s. 303].

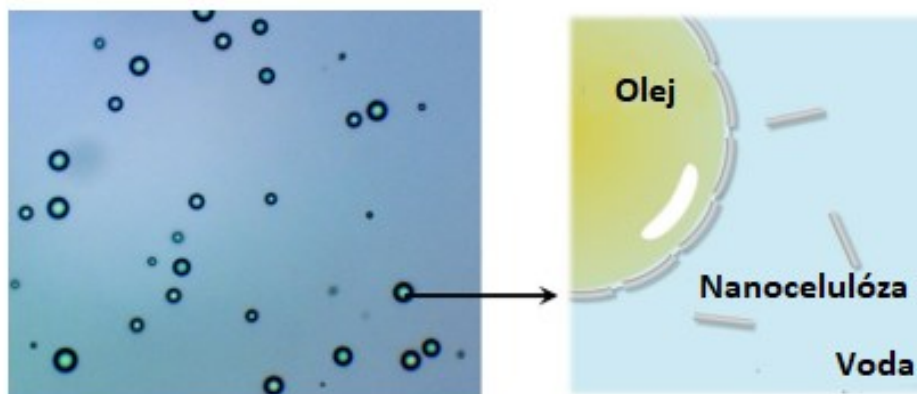
2.4 Typy částic vhodné pro stabilizaci

Předpoklady pro částečné smáčení většiny obvyklých olejů splňuje celá řada anorganických i organických částic. Mezi takovéto částice se řadí uhličitán vápenatý či síran barnatý, jíly, saze, latexy, magnetické částice, uhlíkové nanočástice nebo micely blokových kopolymerů. Jako další účinné stabilizátory Pickeringových emulzí se odsvědčily i netradiční typy částic, jako např. nanokrystaly, spory nebo bakterie.

Použitím částic se specifickými funkčními skupinami lze dodat emulzím další zajímavé vlastnosti. Jako příklady lze uvést na teplotu citlivé částice poly(N-isopropylakrylamidu) a částice citlivé na pH, díky kterým emulzní systémy získají schopnost reagovat na změny teploty a pH. Jako pevné částice vhodné pro stabilizaci Pickeringových emulzí lze použít i proteiny či nanočástice. Mezi nanočástice, jejichž průměr je menší než 100 nm patří např. laponit nebo micely. Mezi hojně využívané částice patří též částice o submikronové velikosti jako např. latex nebo oxid křemičitý. Z důvodu příliš hydrofilního povrchu některých anorganických částic, jako je např. i hojně využívaný oxid křemičitý, je třeba provádět jejich částečnou hydrofobizaci. Částečnou hydrofobizací je pak zajištěno již zmíněné částečné smáčení částice vodou i olejem [13 s. 25].

Jako další částice vhodné pro stabilizaci Pickeringových emulzí lze uvést pevné koloidní částice celulózy, u kterých bylo prokázáno, že se hromadí na rozhraní fází kapalina-kapalina a stabilizují tak kapky emulze proti koalescenci vytvořením mechanicky robustní monovrstvy na tomto rozhraní [15 s. 225]. Nanocelulóza díky svým jedinečným nanorozměrům, *amfifilitě* a dalším příznivým vlastnostem jako je např. chemická stabilita,

biologická rozložitelnost, biokompatibilita a obnovitelnost, poskytuje nové příležitosti pro další využití Pickeringových emulzí [16 s. 959].



Obrázek 10: Nanocelulóza na rozhraní fází olej/voda [upraveno podle 16]

2.5 Použití

Pickeringovy emulze lze využít v řadě průmyslových odvětví a lze jimi v řadě technologií nahradit emulze klasické [13 s 29]. Jelikož je tato bakalářská práce vypracována v rámci oboru Biomateriály a kosmetika, bude se tato kapitola věnovat především aplikacím Pickeringových emulzí v oblasti kosmetiky, dermatologie a popř. i farmacie.

Pickeringovy emulze se vyznačují skvělou snášenlivostí s pokožkou a vykazují vysokou účinnost v ochranných přípravcích proti slunečnímu záření. Jelikož jsou stabilní v přítomnosti elektrolytů, lze předpokládat jejich použití v přípravcích s adstringentními a antimikrobiálními účinky [17. s. 25].

Emulze stabilizované pevnými částicemi se dále uplatňují při enkapsulaci a transportu léčiv a aktivních látek v kosmetických a farmaceutických přípravcích. Výhoda enkapsulace spočívá v ochraně účinných látek a zajištění jejich stability či transportu na požadované místo [18 s. 56].

Aplikací prostředků na bázi Pickeringových emulzí na kůži, která je postižena např. ekzémem, se vytvoří na jejím povrchu náhradní bariérová vrstva, jež omezuje nadměrný výdej vody a brání tak porušení kožního povrchu, průniku mikrobiální infekce a látek zevního prostředí, jako mohou být alergeny či dráždivé látky. Náhradní bariérová vrstva tvořená emulzí dále omezuje svědění, palčivý pocit a lze ji aplikovat současně i s jinými externy, jako jsou např. kortikoidy [19].

Na principu Pickeringových emulzí byl na trh uveden bariérový 2DERM krém, který byl vyvinut v Brně společností ForLife. Podstata jeho užití jako bariérového systému spočívá v zavedení mikronizovaných částecek talku a ZnO do emulzního základu, kterým je lanolin. Takto nanesené mikronizované částice talku a ZnO v lanolinovém základu na kůži vytváří tenkou kontinuální vrstvu, která má protizánětlivý a bariérový efekt. Tyto účinky omezují nežádoucí působení vnějších vlivů jako je např. teplota, vlhkost nebo mechanické dráždění, dále též omezují kontaminaci mikroorganismy nebo iritaci citlivých nervových zakončení. 2DERM krém je schopen vytvořit optimální podmínky pro fyziologickou regeneraci poškozené kůže. Indikace pro aplikaci 2DERM krému jsou jednak kosmetologické jako např. vrozená suchost kůže, ztenčení kůže či stárnoucí a hypersenzitivní kůže, ale i dermatologické jako využití při ošetřování chronických dermatóz s poškozením bariérových funkcí kůže [20 s 11].

V budoucnosti se dá reálně očekávat, že Pickeringovy emulze najdou významné uplatnění ve vývoji a výrobě dalších zevních prostředků pro ochranu a péči o kůži jak v oboru kosmetologie, tak i dermatologie [20 s. 11].

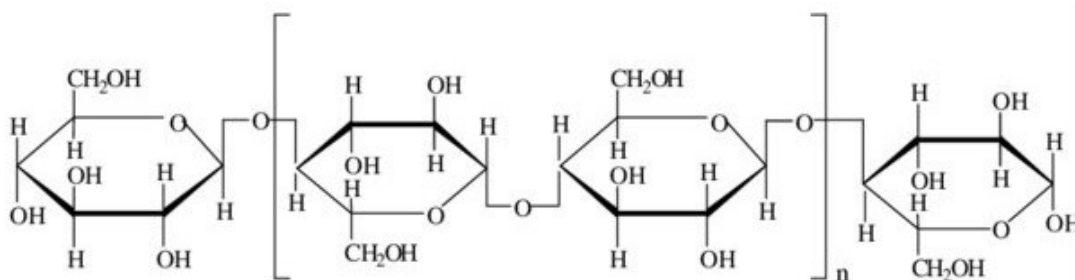
3 CELULÓZA A CELULÓZOVÉ ČÁSTICE

Celulózu lze charakterizovat jako nejrozšířenější přírodní polysacharid, který je hlavní stavební složkou rostlin. Jedná se o homopolymer z $\beta(1-4)$ -D-glukózových zbytků spojených glykosidickými můstky [15 s. 225].

Celulóza je hlavní stavební složkou rostlin [21 s. 34]. Představuje nejvydatnější dostupný zdroj obnovitelných polymerů. Jako surovina je dobře známá pro své využití ve formě vláken či derivátů v širokém spektru produktů i materiálů [22 s. 383]. Přírodní produkty na bázi celulózy, jako je např. dřevo, konopí, bavlna či len, jsou naší společností využívány jako technické materiály po tisíce let a jejich použití pokračuje dodnes [23 s. 3941].

3.1 Chemická struktura celulózy

Celulóza patří do skupiny sacharidů. Obsahuje 49,4 % kyslíku, 44,4 % uhlíku a 6,2 % vodíku. Je tvořena řetězcem anhydroglukózových jednotek, které jsou vzájemně spojeny v polohách 1 a 4 β -glykosidickými vazbami. Její empirický vzorec $(C_6H_{10}O_5)_n$ odpovídá polyanhydridu glukózy. Dva koncové zbytky glukózy molekuly celulózy obsahují dvě různé koncové skupiny. První skupina obsahuje redukující hemiacetálovou skupinu v pozici C_1 , a proto je nazývána redukující koncovou skupinou. Druhá skupina obsahuje hydroxylovou skupinu v pozici C_4 a je známá jako neredukující koncová skupina. Každá základní anhydrido-D-glukózová jednotka $(C_6H_{10}O_5)_n$ obsahuje jednu primární a dvě sekundární alkoholové hydroxylové skupiny, které jsou uspořádány v polohách C_2 , C_3 a C_6 na základní jednotce. Chemická struktura celulózy je uvedena na obrázku 11 [21 s. 34].



Obrázek 11: Chemická struktura celulózy [21]

3.2 Typy celulózových částic

V literatuře je popsáno devět různých typů celulózových částic, jež se od sebe liší výchozími materiály a způsobem přípravy/extrakce. Každý typ částic má pak charakteristickou velikost, poměr stran, morfologii, krystalinitu, krystalovou strukturu a vlastnosti. Je nutno

poznámenat, že v různých literaturách se názvy jednotlivých typů celulózových částic mohou lišit. Příklady typů celulózových částic jsou uvedeny v následujícím odstavci:

- Dřevěná a rostlinná vlákna (Wood Fibril WF, Plant Fibril PF)
- Mikrokrytalická celulóza (MCC)
- Mikrofibrilární celulóza (MFC)
- Celulózové nanofibrily (CNF)
- Celulózové nanokrystaly (CNC)
- Celulózové nanokrystaly pláštěnců (t-CNC)
- Celulózové částice na bázi řas (AC)
- Bakteriální celulózové částice (BA) [23 s. 3949-3951]

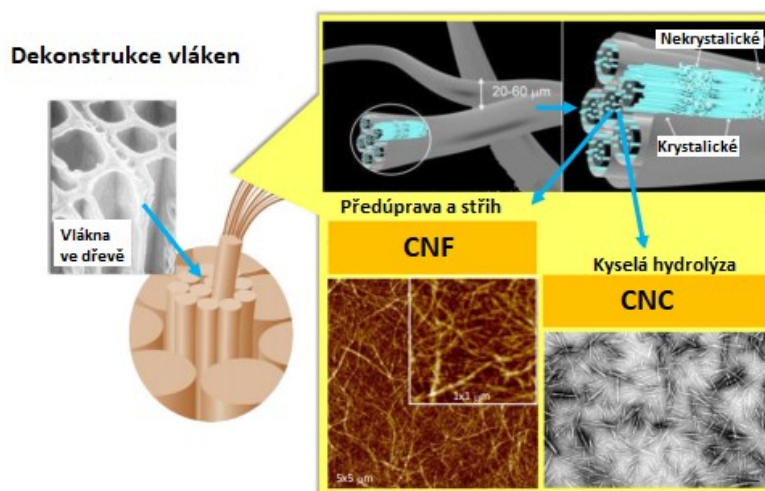
Pro označení několika typů částic, které mají alespoň jeden rozměr v nanoměřítku je využíván termín celulózové nanočástice. Za účelem srovnání jsou v odborné literatuře též definovány mikronové a makrostrukturované celulózové částice [23 s. 3948]. Jelikož jsou v praktické části této bakalářské práce použity jako stabilizátor emulze celulózové nanokrystaly (CNC), je tento typ částic podrobněji popsán v následující kapitole spolu s celulózovými nanofibrilami, které jsou dalším hojně využívaným typem stabilizujících částic.

3.2.1 Celulózové nanofibrily (CNF) a nanokrystaly (CNC)

Celulózové fibrily lze charakterizovat jako strukturní entity vytvořené buněčným procesem (biogenezí celulózy), které jsou stabilizované vodíkovými můstky a van der Waalsovými silami. Fibrily obsahují krystalické a amorfní oblasti, jež lze ze zdroje celulózy získat pomocí mechanických nebo chemických procesů, popřípadě kombinací chemických, mechanických a enzymatických procesů za vzniku CNF nebo CNC [22 s. 383].

Jak již bylo zmíněno v Kapitole 2, nanocelulóza má unikátní vlastnosti, mezi které patří např. nízká hustota, biologická odbouratelnost, vysoký aspektní poměr (tj. poměr délky částice k jejímu průměru), vysoká pevnost a tuhost. Přítomnost OH skupin na povrchu celulózových částic umožňuje tvorbu vodíkových vazeb, což způsobuje seskupování celulózových řetězců do vysoce uspořádaných struktur. Vodíková vazba hraje zásadní roli v povaze adheze mezi nanocelulózou a jinými polymerními materiály přítomnými v buněčné stěně vláken [22 s. 383].

CNF je tvořena nanofibrilami s délkou a šířkou v mikrometrových a nanometrových rozměrech. Pokud jsou rozptýleny např. ve vodném médiu, tvoří snadno sítě a 3D struktury. Obvyklý způsob přípravy CNF je jejich uvolnění z matrice celulóзовých vláken a svazků mikrovláken. Tyto nanofibrily obsahují amorfni i krystalické celulózové oblasti a lze je odlišit od CNC, které mají menší spektní poměr a jsou kratší. CNC se připravuje z vláken nebo fibril obvykle kyselou hydrolyzou, jež degraduje amorfni oblasti, čímž se získají nanočástice celulózy, které jsou vysoce krystalické. Příprava CNF a CNC je schématicky znázorněna na obrázku 13 [22 s. 383 a 384].

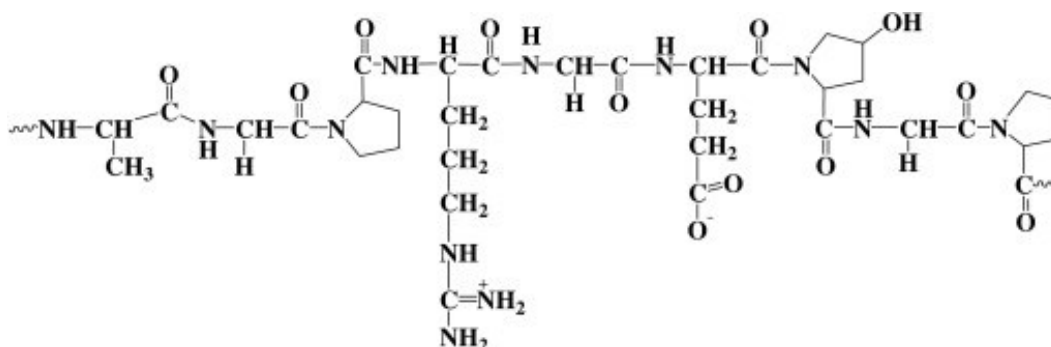


Obrázek 12: Schematické znázornění výroby CNF a CNC ze stěn vláknitých buněk mechanickým a chemickým zpracováním [upraveno podle 22]

4 ŽELATINA

Želatinu lze definovat jako *amfifilní* biopolymer, který se připravuje tepelným rozkladem kolagenu z kostí a kůže zvířat za přítomnosti zředěných kyselin/zásad [24]. Podle Českého lékopisu lze pak želatinu definovat jako čištěnou bílkovinu získanou buď alkalickou hydrolyzou, a/nebo částečnou kyselou hydrolyzou a/nebo enzymatickou hydrolyzou, nebo termickou hydrolyzou živočišného kolagenu [25 s. 2143]. Želatina se skládá z 18 aminokyselin, včetně všech esenciálních aminokyselin s výjimkou tryptofanu [26 s. 1].

I když má želatina podobné složení aminokyselin jako kolagen, má jedinečné vlastnosti a od kolagenu se liší rozpustností, reologickými, emulgačními a gelotvornými vlastnostmi [27 s. 113].



Obrázek 13: Chemická struktura želatiny podle [24]

4.1 Typy želatiny

Ve vztahu k výrobnímu procesu lze rozlišit dva základní typy želatiny – typ A a B, kdy se želatina typu A vyrábí kyselou hydrolyzou surového kolagenního materiálu, zatímco želatina typu B se vyrábí hydrolyzou alkalickou [28 s. 5].

V závislosti na stupni hydrolyzy lze dále rozlišit želatinu typu G a typu F, kdy želatina typu G je gelující a skládá se především ze složek s vysokou molekulovou hmotností. Želatina typu F je pak negelující a skládá se převážně z komponentů s nízkou molekulovou hmotností [28 s. 5].

4.2 Fyzikálně-chemické vlastnosti želatiny

4.2.1 Vzhled a rozpustnost

Vzhled a rozpustnost gelující a negelující želatiny jsou odlišné. Gelující želatina je nažloutlá či světle žlutohnědá pevná látka, která je obvykle ve formě průsvitných lístků, kousků, zrn

nebo prášku. V běžných organických rozpouštědlech je prakticky nerozpustná, ve studené vodě bobtná a po zahřátí tvoří koloidní roztok, jenž zchlazením přechází v gel, který je více či méně pevný. Negelující želatina je bílý až nažloutlý prášek nebo zrna. Ve studené i teplé vodě je dobře rozpustná a v běžných rozpouštědlech je, stejně jako gelující želatina, prakticky nerozpustná [25 s. 2143].

4.2.2 Bod tání a bod tuhnutí

Mezi nejdůležitější vlastnost želatiny (pokud se nejedná o hydrolyzáty) patří její schopnost tvořit gel. Teplota, při které dochází k přechodu gelu do roztoku, se nazývá bod tání. Bod tuhnutí je pak teplota, při které dochází k přechodu roztok–gel. Bod tání želatiny se udává v rozmezí 28 až 30 °C. Tuhnutí želatiny probíhá velmi pozvolna a její bod tuhnutí je nižší než 25 °C [26 s. 3 a 4].

4.2.3 Viskozita

Technologicky velmi významnou vlastností želatiny je její viskozita. Viskozita je měřena viskozimetrickou pipetou v roztoku želatiny o koncentraci 6,67 % a teplotě 60 °C. Viskozita želatiny nabývá hodnot v rozmezí od 15 do 75 [26 s. 4].

4.2.4 Bloom-hodnota

Bloom hodnota vyjadřuje želírující sílu želatiny a je měřena pomocí přístroje, který se nazývá Bloomův gelometr. Měření probíhá na vychlazeném roztoku želatiny o koncentraci 6,67 % (7,5 g želatiny ve 105 g vody), kdy je tento roztok nejprve rozpuštěn při 60 °C a následně zchlazen na 10 °C po dobu 16 hodin. Princip měření spočívá v měření odporu gelu vůči vtlačování válečku o průměru 4 mm do hloubky 12,7 mm. Je-li potřeba k proniknutí do této hloubky vyvinout sílu např. 200 g, bude se jednat o želatinu, jejíž Bloom hodnota je 200.

Bloom hodnota je důležitým faktorem při určování kvality želatiny, a tudíž i její ceny. Kvalita běžné obchodní želatiny se pohybuje v rozmezí 80-300 Bloom [26 s. 3 a 4].

4.2.5 Vlastnosti želatiny

Želatina má v roztoku amfoterní vlastnosti, což znamená, že je schopna se chovat buď jako kyselina, nebo jako zásada. V kyselých roztocích je želatina kladně nabitá a v elektrickém poli migruje jako kation. V zásaditých roztocích je pak nabitá záporně a migruje jako anion. Hodnotu pH bodu, kde je její konečný náboj nulový, se nazývá izoelektrický bod a liší se podle typu želatiny. Želatina typu A má široký rozsah izoelektrického bodu, který leží

v rozmezí pH 7-9, zatímco u želatiny typu B leží izoelektrický rozsah v užším intervalu, a to mezi hodnotami pH 4,7 – 5,4. [29 s. 8].

4.3 Využití želatiny

Želatina má hojné využití v řadě průmyslových odvětví. Nejvýznamnější využití však nachází v průmyslu potravinářském, kde ji lze užít např. při výrobě mastných výrobků, aspiků, cukrovinek (zejména želé bonbony), mléčných výrobků a zmrzliny. Dále je želatina využívána při výrobě plastů a papíru, ale také v metalurgii, kde je přidávána do elektrolytů za účelem vyčištění zinku a kadmia. Želatinové hydrolyzáty jsou používány jako doplněk proteinů v dietě a působí preventivně při artrózách a osteoporózách [26 s. 6-8].

Jak již bylo zmíněno, želatina má velmi široké využití. Jelikož je tato bakalářská práce vypracovávána na Ústavu technologie tuků, tenzidů a kosmetiky bude se blíže věnovat využití želatiny při stabilizaci emulzí a také v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu.

4.3.1 Využití při stabilizaci emulzí

Želatina vykazuje dobrou povrchovou aktivitu a lze ji použít ke stabilizaci emulzí na fázovém rozhraní olej/voda. Povrchově aktivní vlastnosti želatiny jsou založeny na přítomnosti nabitých skupin v postranních řetězcích proteinů a taky na určitých částech kolagenové sekvence, jež obsahuje buď hydrofilní, nebo hydrofobní aminokyseliny. Vzhledem ke své *amfifilní* struktuře má želatina tendenci migrovat z vodné fáze směrem k povrchu na fázové rozhraní olej/voda, čímž snižuje povrchové napětí vodných systémů a vytváří tak nabitý film, který může být zesílen tvorbou gelu.

V důsledku hydrofobních interakcí mezi nepolárními částmi v želatinových polypeptidových řetězcích může také docházet k jejich vzájemné asociaci, a tedy k vytvoření mezifázové vrstvy na rozhraní olej/voda. Tato mezifázová vrstva pak stabilizuje olejovou kapku v emulzi [27 s. 118], [30 s. 1817].

Emulgační vlastnosti želatiny jsou ovlivněny zdrojem želatiny, parametry extrakce a její molekulární hmotností. Povrchová aktivita želatiny s nízkou molekulovou hmotností je relativně vyšší než povrchová aktivita želatiny s vysokou molekulovou hmotností.

Obecně lze říci, že želatina je slabší emulgátor, než jiné povrchově aktivní látky jako jsou např. globulární proteiny nebo běžné tenzidy. Z tohoto důvodu jsou po homogenizaci získané kapičky emulze, kde je jako emulgátor použita pouze želatina, relativně velké s velikostmi v mikrometrech [27 s. 119].

4.3.2 Využití v kosmetice a farmacii

Ve farmaceutickém průmyslu se želatina využívá při výrobě různých lékových forem, jako jsou např. dvoudílné tvrdé tobolky nebo měkké elastické tobolky. Dále lze želatinu využít např. při potahování tablet, granulaci nebo mikroenkapsulaci [29 s. 16].

V kosmetickém průmyslu je želatina (především její hydrolyzáty) využívána hlavně kvůli vysokému obsahu kolagenu, který je důležitý pro výživu pokožky a vlasů. Používá se tedy zejména při výrobě kosmetických přípravků, jako jsou např. krémy či šampony nebo mýdla [26 s. 8].

5 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Celulóza je pro své biokompatibilní a biodegradabilní vlastnosti velmi zajímavým biopolymerem pro praktickou aplikaci. V následující části se bakalářská práce bude věnovat současné problematice systémů, ve kterých jsou kombinovány Pickeringovy emulze stabilizované celulóзовými nanokrystaly se želatínou.

V roce 2020 Razavi a kolektiv vypracovali studii, ve které se zabývali přípravou nanoemulzí se skořicovým esenciálním olejem (CEO) stabilizovaných nanokrystaly bakteriální celulózy (BCNC) a rybí želatínou. Jako reference byly použity emulze, které želatínu neobsahovaly. U emulzí byl zkoumán vliv koncentrace CEO a pH na velikost emulzních kapek, ζ -potenciál, morfologii a enkapsulační efektivitu.

Bylo pozorováno, že ζ -potenciál byl přibližně -25 mV pro emulze BCNC, zatímco v systémech obsahujících želatínu o koncentraci 3 hm. % se změnil na hodnoty kladné. Transmisní elektronová mikroskopie (TEM) prokázala, že v přítomnosti želatiny emulze vykazovaly větší kapky (450–1000 nm) než emulze CEO/BCNC (350–550 nm). Enkapsulační efektivita byla pro emulze s želatínou vyšší při pH 5, než při pH 3 až do koncentrace CEO 0,24 hm. %. V práci byl také stanoven přímý vztah mezi koncentrací CEO a enkapsulační efektivitou pro emulze s želatínou a bez její přítomnosti.

Emulze CEO/BCNC byly stabilní jednak díky elektrostatickému odpuzování kapek, ale také prostřednictvím zachycení kapiček oleje ve struktuře BCNC, což zabraňovalo krémování. Přidáním želatiny došlo k tomu, že protein působil jako povrchově aktivní látka, která se adsorbovala na povrch BCNC pokrývající nanokapky CEO a nabízela sterickou ochranu proti koalescenci olejových kapek i po 30 dnech.

Zjištění této studie lze prakticky využít v potravinářském i kosmetickém průmyslu např. pro navrhování nových systémů obsahujících želatínu jako povrchově aktivní látku a pevné nanočástice biologického původu. Tento typ systémů lze využít i jako nosiče enkapsulovaných bioaktivních sloučenin nebo jako filmy a povlaky [31, s.1 a 6].

V další studii z roku 2019 se Yin a kol. zabývali želatínou (GE), kyselinou hyaluronovou (HA) a celulóзовými nanokrystaly (CNC) jako slibnými materiály pro léčbu ran na kůži. V této studii byly připraveny hydrogely GE-HA-CNC, a to síťováním a následnou lyofilizací. Složení a mechanismus vzniku hydrogelů byly potvrzeny pomocí FTIR, která odhalila, že spojení mezi GE, HA a CNC nastává prostřednictvím amidové a vodíkové vazby. Pomocí SEM byla získána morfologie a velikost pórů hydrogelu, kdy se ukázalo, že po lyofilizaci

vykazovaly hydrogely houbovitou strukturu, s průměrem pórů asi 80–120 nm. Fyzikální vlastnosti byly ověřeny prostřednictvím reologie a stupně botnání, podle jejichž výsledků CNC výrazně zlepšila vlastnosti hydrogelů, čímž hraje zásadní roli v receptuře. Dále byla stanovena cytotoxicita hydrogelů na buňkách NIH-3T3. Výsledky kultivace ukázaly, že buňky NIH-3T3 mohou na hydrogelech adherovat, růst a dobře proliferovat. Tato studie potvrdila buněčnou kompatibilitu hydrogelů GE-HA-CNC a lze předpokládat, že připravené materiály představují slibné využití při hojení ran. [32, s. 190 a 199].

V roce 2020 Leite a kolektiv vypracovali studii na téma Elektrostatické interakce regulující fyzikální vlastnosti nanokompozitních fólií želatina-celulózové nanokrystalů (GE/CNC) určené pro biologicky rozložitelné obaly. GE filmy plněné CNC jsou atraktivními materiály na výrobu biologicky rozložitelných obalů pro použití v širokém rozsahu pH. Komplexní pochopení úlohy pH na vlastnosti GE/CNC filmů získaných litím z roztoku bylo umožněno zkoumáním elektrostatických interakcí mezi GE a CNC. Bylo zjištěno, že velikost náboje želatinových řetězců při různém pH vedl k interakcím želatina-želatina nebo CNC-želatina. Při elektrostatických přitažlivých silách (pH 3) vedlo zvýšení obsahu CNC ke vzniku komplexních koacervátů. Při izoelektrickém bodu GE (pH 6) však nebylo toto chování pozorováno. Dále bylo zjištěno, že fyzikální vlastnosti želatinových filmů byly významně zlepšeny použitím CNC o koncentraci 0,5 hm. % při pH 8 a to díky vhodné konformaci řetězců přítomné želatiny (trojitá šroubovice). Naopak teplota při sušení filmů významně bránila tvorbě trojité šroubovice želatiny a měla tak negativní vliv na mechanické, tepelné a bariérové vlastnosti GE/CNC filmů. Lze tedy konstatovat, že změny pH, množství CNC a teploty sušení mohou být vhodnou strategií pro přípravu želatinových filmů s CNC, které by splnily širší rozsah požadavků na aplikace pro balení potravin [33 s. 1 a 8].

Systémy s želatinou a celulóзовými částicemi jsou velmi zajímavé pro praktické využití a zabývá se jimi řada studií, lze tudíž očekávat jejich další rozvoj v potravinářském, kosmetickém a farmaceutickém průmyslu.

6 CÍL PRÁCE

V teoretické části bylo cílem bakalářské práce zpracovat literární rešerši na zadané téma. Tato část práce se nejprve věnuje emulzím, jejich přípravě a stabilizaci. Pozornost je pak soustředěna na emulze stabilizované pevnými částicemi, tedy Pickeringovy emulze. Dále se práce zabývá celulóзовými nanokrystaly a želatinou a jejich využitím při stabilizaci emulzí.

Praktická část bakalářské práce si klade za cíl připravit emulze stabilizované částicemi nanokrystalické celulózy v kombinaci s želatinou. Soustřeďuje se zejména na vliv formulace na velikost emulzních kapek, enkapsulační efektivitu, stabilitu a ζ potenciál připravených emulzí.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 POUŽITÉ MATERIÁLY A METODIKA

7.1 Použité chemikálie

- Roztok CNC o koncentraci 12,2 hm. % (Cellulose Lab, Kanada)
- Demineralizovaná voda
- HCl o koncentraci 0,1 M
- NaOH o koncentraci 0,1 M
- Trikaprylin/trikaprin (AC Trade, Česká republika)
- CaCl₂ o koncentraci 3 mM
- Želatina B1 (farmaceutická kvalita; dodavatel SKW Biosystème, Francie)
- Želatina B5 (farmaceutická kvalita; dodavatel Rousselot, Francie 41113)

7.2 Použité přístroje a pomůcky

- Analytické váhy (ADAM Equipment NBL 2541)
- Laboratorní váhy (Kern EW 420-3NM)
- Magnetická míchačka se záhřevem (Heidolph MR Hei-Standard)
- Magnetická míchačka bez záhřevu (Hanna instruments HI 190M)
- pH metr (Elteca CPH 51)
- Vortex (Biosan V-1 plus)
- Sonikační zařízení (Hielscher UP400St)
- Zetasizer (Malvern Nano ZS 90)
- Laserový analyzátor velikosti částic Mastersizer 3000 (Malvern)
- Optický mikroskop (Olympus CX 21)
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

7.3 Metodika

7.3.1 Příprava disperze CNC

Pro přípravu disperze CNC vhodné pro přípravu emulzí byla použita koncentrovaná disperze CNC společnosti Cellulose Lab. Disperze CNC částic byla připravena tak, že bylo smícháno 100 g koncentrované disperze se 100 g demineralizované vody. Takto připravený systém byl dále sonikován po dobu 30 minut při amplitudě 60 % pomocí sonikačního zařízení Hielscher UP400St.

Pro zjištění hmotnostního obsahu CNC v disperzi, bylo potřeba stanovit obsah sušiny. Do každé ze tří předem zvážených suchých váženek byl pipetován 1 ml disperze CNC a váženky byly následně umístěny do sušárny. Po vysušení byly váženky vloženy do exikátoru a zváženy. Ze získaných hodnot bylo výpočtem stanoveno, že připravená disperze obsahuje 5,7 hm. % CNC.

7.3.2 Stanovení izoelektrického bodu želatiny a disperze CNC

Izoelektrický bod je hodnota pH, při které dochází k disociaci stejného počtu kyselých i zásaditých skupin v amfoterní makromolekule [8 s. 36]. Je to bod, kde závislost ζ potenciálu na pH prochází nulou. Jeho stanovení má z praktického hlediska velmi důležitý význam, jelikož koloidní systém je zde nejméně stabilní.

7.3.2.1 Příprava roztoků s adjustovaným pH

Pro stanovení izoelektrického bodu byly nejprve připraveny vodné roztoky s adjustovaným pH o hodnotách 2, 4, 6, 8, 10 a 12. Při jejich přípravě bylo vždy 100 ml demineralizované vody adjustováno přídatkem 0,1 M HCl a 0,1 M NaOH na požadovanou hodnotu pH, která byla ověřována pH metrem.

7.3.2.2 Měření ζ potenciálu pro stanovení izoelektrického bodu

ζ potenciál je potenciál ve vzdálenosti pohyblivého rozhraní od povrchu částice a jeho velikost závisí na adsorbovaných iontech a iontové síle roztoku. Je ovlivněn přidávkem elektrolytů a hodnotou pH. K jeho měření byl použit přístroj Zetasizer Nano ZS 90. Příprava vzorků pro měření byla provedena tak, že v případě želatiny B1 bylo 14 μ l želatinového roztoku (kap. 7.3.3.2) rozdispergováno ve 4 ml vody o příslušné hodnotě pH, v případě želatiny B5 činil její objem 18 μ l ve 4 ml vody. Pro měření ζ potenciálu CNC bylo 1,5 ml

disperze rozdispergováno v 1,5 ml vody o adjustovaném pH. Měření každého vzorku bylo provedeno při všech hodnotách pH.

Stanovená hodnota ζ potenciálu je průměrem tří naměřených hodnot. Z grafické závislosti ζ potenciálu na pH byl pak stanoven izoelektrický bod želatiny B1 a B5 i CNC.

7.3.3 Příprava emulzí

7.3.3.1 Příprava a charakterizace primárních emulzí

Primární emulze byly připraveny v poměru O/V 10/90 a byly stabilizovány 0,5 nebo 1% CNC. Vodnou fází tvořila demineralizovaná voda o hodnotě pH 3 nebo 6. Olejovou fází byl triacylglycerol trikaprin/trikaprylin. Při přípravě primární emulze s 0,5% CNC bylo na analytických vahách naváženo 0,79 g CNC, 8,21 g demineralizované vody o požadované hodnotě pH, a 1 g oleje. Pro zlepšení emulgačních schopností CNC bylo přidáno 9 μ l vodného roztoku CaCl_2 . Takto připravená emulze byla homogenizována pomocí homogenizátoru vortex po dobu 1 minuty a následně sonikována při amplitudě 60 % po dobu 2,5 minuty. Pro primární emulzi s 1% CNC byl postup obdobný, lišil se pouze v množství jednotlivých složek, kdy bylo naváženo 1,58 g CNC, 7,42 g demineralizované vody a 1 g oleje. Připravené primární emulze byly charakterizovány ihned po přípravě, a to změřením velikosti jejich částic pomocí dynamického rozptylu světla na přístroji Zetasizer Nano ZS 90. Měření byla provedena při teplotě 25 °C a rozptylovém úhlu 90 °. Velikost částic byla vyjádřena jako z-průměr velikosti koloidní částice, což je intenzitně vážený střední průměr jejich velikosti. Pro analýzu bylo 18 μ l disperze dispergováno ve 4 ml demineralizované vody. Výsledky jsou uvedeny jako průměr tří měření spolu se směrodatnou odchylkou.

7.3.3.2 Příprava roztoků želatiny

Při přípravě emulzí byly použity zásobní roztoky želatiny B1 a B5 o hmotnostní koncentraci 1 %. Tyto zásobní roztoky byly vždy připraveny tak, že 1 g příslušné želatiny byl při teplotě cca 50 °C za stálého míchání rozpuštěn v demineralizované vodě a doplněn na objem 100 ml v odměrné baňce. Základní charakteristiky použitých želatín jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1: Hodnoty charakterizující želatiny B1 a B5, kde M_w je hmotnostní průměr molárních hmotností a M_n početní průměr molárních hmotností

Želatina	M_w [g/mol]	M_n [g/mol]	$P = M_w/M_n$	Bloom hodnota	Viskozita [mPa·s]
B1	397 000	129 000	3,1	231	4,84
B5	293 000	48 000	6,1	156	3,71

Hodnoty Bloom a viskozity jsou převzaty z Certifikátů analýzy od výrobců

Hodnoty molekulové hmotnosti jsou převzaty z [34].

Každý ze zásobních roztoků byl dále ředěn demineralizovanou vodou na pracovní roztoky o hmotnostní koncentraci 0,1; 0,5 a 1 %. Navážky 1% roztoku želatiny a demineralizované vody pro přípravu pracovních roztoků želatiny jsou uvedeny v následujících dvou tabulkách.

V Tabulce 2 jsou uvedeny navážky složek pro hmotnostní poměr primární emulze s CNC a pracovního roztoku želatiny 1:3 a v Tabulce 3 pro hmotnostní poměr 1:5.

Tabulka 2: Navážky složek pro přípravu pracovního roztoku želatiny pro hmotnostní poměr 1:3

Koncentrace želatiny [%]	1% roztok želatiny [g]	Demineralizovaná voda [g]
0,1	0,75	6,75
0,5	3,25	3,25
1	7,5	0

Tabulka 3: Navážky složek pro přípravu pracovního roztoku želatiny pro hmotnostní poměr 1:5

Koncentrace želatiny [%]	1% roztok želatiny [g]	Demineralizovaná voda [g]
0,1	1,25	11,25
0,5	6,25	6,25
1	12,5	0

7.3.3.3 Příprava emulzí stabilizovaných CNC a želatinou

Výsledné emulze byly připraveny kombinací primární emulze O/V stabilizované CNC s pracovními želatinovými roztoky (GE) v hmotnostním poměru 1:3 a 1:5. Celkový objem výsledné emulze byl 10 g pro hmotnostní poměr 1:3 a 15 g pro hmotnostní poměr 1:5.

Při přípravě výsledné emulze bylo pro hmotnostní poměr stabilizátorů CNC:GE 1:3 o celkovém objemu 10 g naváženo 2,5 g primární emulze a 7,5 g pracovního roztoku želatiny příslušného typu a koncentrace. Pro výslednou emulzi o hmotnostním poměru stabilizátorů CNC:GE 1:5 o celkovém objemu 15 g bylo naváženo 2,5 g primární emulze a 12,5 g pracovního roztoku želatiny.

Samotný proces emulgace byl proveden tak, že k příslušnému roztoku želatiny byla za stálého míchání přikapávána pomocí injekční stříkačky s jehlou primární emulze oleje stabilizovaného CNC, přičemž po každých 20 kapkách byla emulze homogenizována pomocí vortexu po dobu 30 s. Jakmile byla všechna primární emulze spojena s roztokem želatiny, byla výsledná emulze ještě znovu homogenizována pomocí vortexu po dobu 2,5 minuty.

Přehled vzorků připravených v rámci studie je uveden v Tabulce 4. Každý ze vzorků byl připraven jak s želatinou typu B1, tak i s želatinou typu B5.

Tabulka 4: Přehled vzorků připravených v rámci studie

Koncentrace CNC [hm. %]	pH	Koncentrace želatiny [hm. %]
0,5	3	0,1
		0,5
		1
	6	0,1
		0,5
		1
1	3	0,1
		0,5
		1
	6	0,1
		0,5
		1

U takto připravených emulzí byla ihned po přípravě stanovena pomocí laserového analyzátoru velikosti částic Mastersizer 3000 velikost emulzních kapek. Za účelem stanovení stability připravených emulzí bylo měření velikosti kapek opakováno v časovém

rozmezí dvou týdnů. Během zmiňovaného časového období byly emulze skladovány v chladničce při teplotě ~ 5 °C. U emulzí byl rovněž stanoven ζ potenciál (Zetasizer Nano ZS 90) a vzhled emulzí byl pozorován vizuálně i pomocí optického mikroskopu.

7.3.4 Stanovení velikosti emulzních kapek

Velikosti částic emulzí byla stanovena pomocí přístroje Mastersizer 3000, který pracuje na principu světelné difrakce. Měření se provádí ve speciální dispergační jednotce, do které je napuštěna jako dispergační médium demineralizovaná voda, do níž se Pasteurovou pipetou přidává vzorek v takovém objemu, aby bylo dosaženo doporučené hodnoty „obskurace“. Homogenita vzorku je zajištěna tím, že přístroj obsahuje zabudovaný ultrazvukový homogenizátor a dispergační jednotka přístroje je opatřena míchadlem, které usnadňuje pravidelné rozptýlení vzorku v dispergačním médiu.

Při samotném měření byl vzorek homogenizován po dobu 1 minuty při otáčkách 2200 rpm. Výsledkem měření byla velikost kapek emulze označovaná jako D [4;3], což je průměr částic v mikrometrech vztažený k jejich objemu. Stanovená hodnota velikosti emulzních kapek je průměrem tří měření.

7.3.5 Stanovení ζ potenciálu emulzí

Obdobně jako při stanovení izoelektrického bodu želatiny a CNC byl pro stanovení ζ potenciálu emulzí použit přístroj Zetasizer Nano ZS 90. Vzorky byly vždy připraveny tak, že bylo 18 μ l měřené emulze rozdispergováno ve 4 ml demineralizované vody o hodnotě pH 6. Stanovení probíhalo při teplotě 25 °C a výsledná hodnota ζ potenciálu je průměrem tří měření.

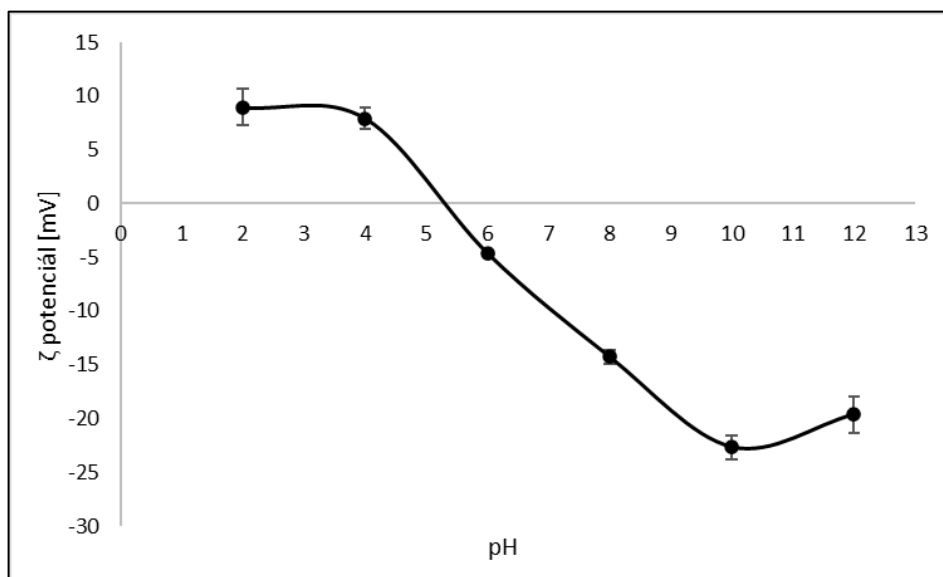
7.3.6 Mikroskopické pozorování

Vybrané vzorky CNC/GE emulzí charakterizovány pomocí optické mikroskopie za použití optického mikroskopu značky Olympus CX 21. Před pozorováním bylo nanášeno 10 μ l vzorku na podložní sklíčko a vzorek pozorován při zvětšení 1000 \times , kdy byl jako imerzní olej použit olej cedrový.

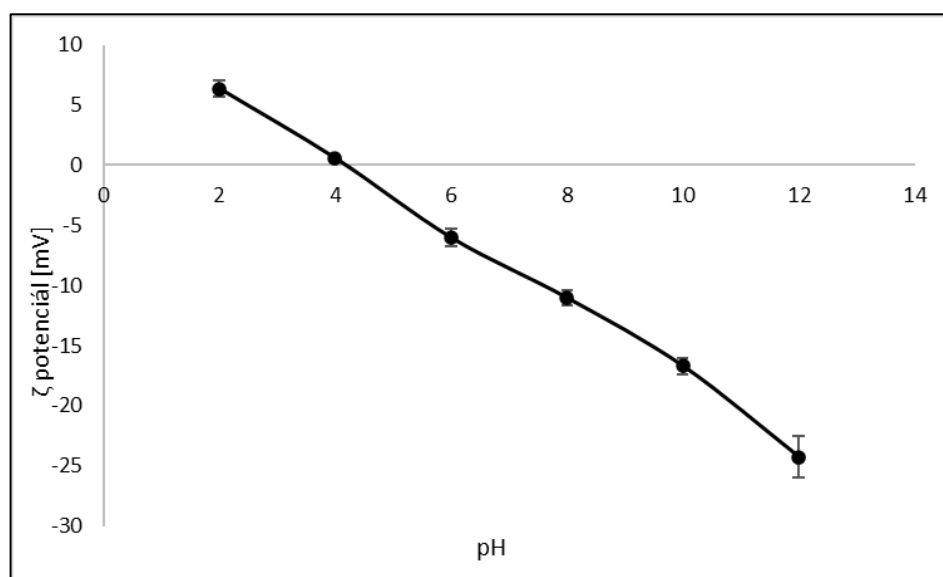
8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Izoelektrický bod

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, stanovení izoelektrického bodu má z praktického hlediska velmi důležitý význam, protože je zde disperzní systém nejméně stabilní. Závislost ζ potenciálu na pH a stanovení izoelektrického bodu byly provedeny u želatiny B1 (Obrázek 14) i B5 (Obrázek 15) a také u disperze CNC (Obrázek 16).

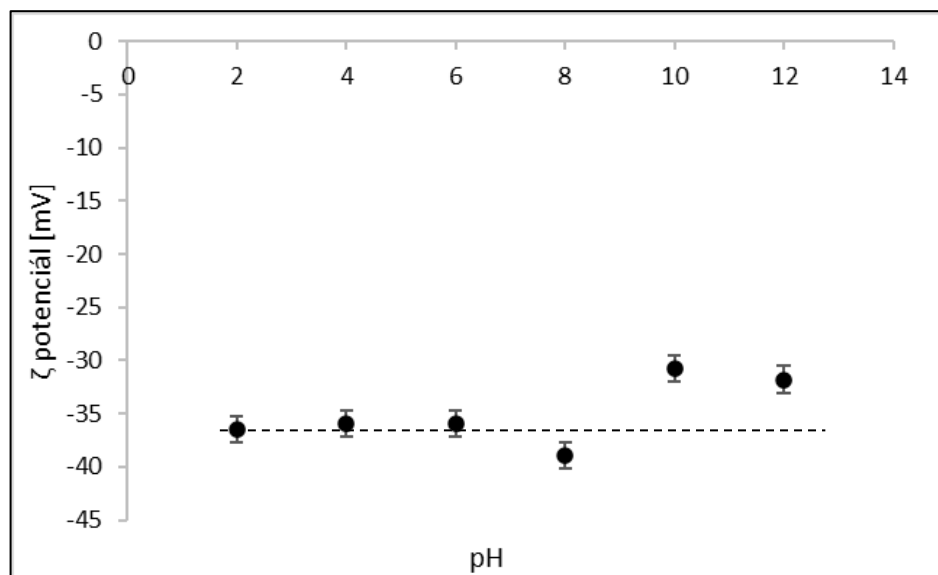


Obrázek 14: Závislost ζ potenciálu na pH a izoelektrický bod želatiny B1



Obrázek 15: Závislost ζ potenciálu na pH a izoelektrický bod želatiny B5

Literatura uvádí, že izoelektrický bod u želatiny typu B leží v intervalu pH od 4,7 do 5,4 [25 s. 8]. Z Obrázku 14 je patrné, že u želatiny typu B1 byl stanoven při hodnotě pH $\sim 5,2$, což odpovídá publikovaným hodnotám. U želatiny typu B5 (Obrázek 15) byl izoelektrický bod $\sim 4,2$. Stanovená hodnota se nepatrně liší od intervalu hodnot pH uvedeného v literatuře, což může být způsobeno např. chybou při měření.

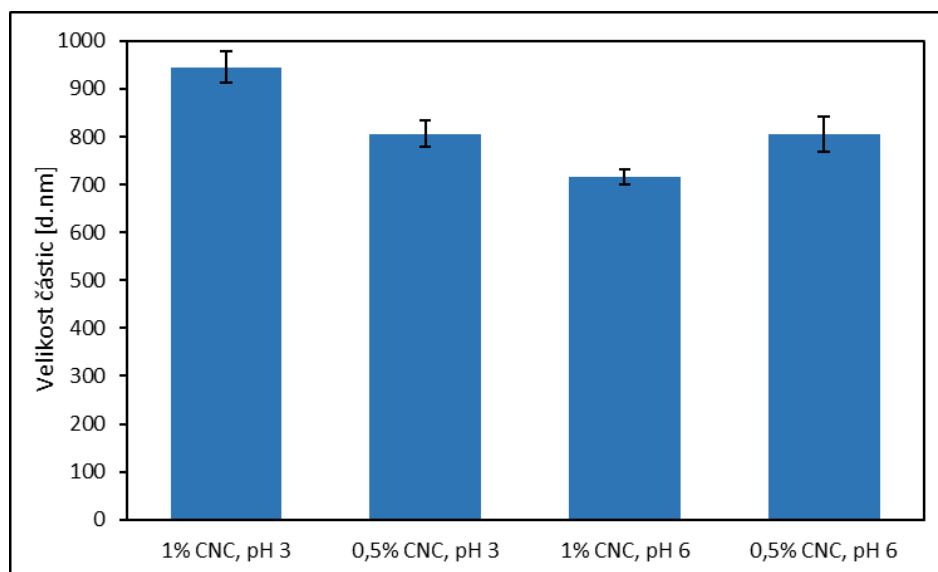


Obrázek 16: Závislost ζ potenciálu na pH a izoelektrický bod disperze CNC

Na Obrázku 16 je graficky znázorněna závislost ζ potenciálu na pH pro disperzi CNC. Body v grafu nejsou proloženy žádnou závislostí a vložená přímka je pouze znázorněním trendu. V literatuře je uvedeno, že celulóзовé nanokrystaly, získané kyselou hydrolyzou celulózy, nevykazují závislost na hodnotě pH [35]. Toto tvrzení je patrné i z Obrázku 16, kde se ζ potenciál při hodnotách pH 2-12 pohyboval v rozmezí -30 až -40 mV. Izoelektrický bod tedy stanovit nelze.

8.2 Příprava a charakterizace primárních emulzí

Pro přípravu emulzí v kombinaci s želatinou bylo nezbytné nejprve připravit primární emulze. V této práci byly připraveny celkem 4 primární emulze, které se lišily hodnotou pH disperzní fáze (3 a 6) a koncentrací CNC (0,5 a 1 hm. %). Velikost kapek primárních emulzí, vyjádřená jako z-průměr (nm) naznačuje jejich stabilitu, jelikož emulzní systém je tím více stabilní, čím jsou jeho kapky menší. Výsledky měření jsou graficky znázorněny na Obrázku 17.



Obrázek 17: Průměrné hodnoty a směrodatné odchytky velikosti částic primárních emulzí (z-průměr) stanovené ihned po přípravě

Z Obrázku 17 je patrné, že nejmenší velikost emulzních kapek (průměr ~750 nm) vykazuje primární emulze, která obsahuje 1 hm. % stabilizátoru CNC a je připravena v prostředí o hodnotě pH 6. Oproti tomu emulze připravená se stejným množstvím stabilizátoru v prostředí pH 3 má emulzní kapky vůbec největší (~950 nm). To je způsobeno tím, že tato emulze byla připravena v prostředí pH blízko izoelektrického bodu, kde je systém nejméně stabilní. U primárních emulzí připravených s obsahem stabilizátoru 0,5 hm. % je velikost emulzních kapek velmi podobná jak pro emulzi připravenou při pH 6, tak i 3 a dosahuje hodnoty ~800 nm.

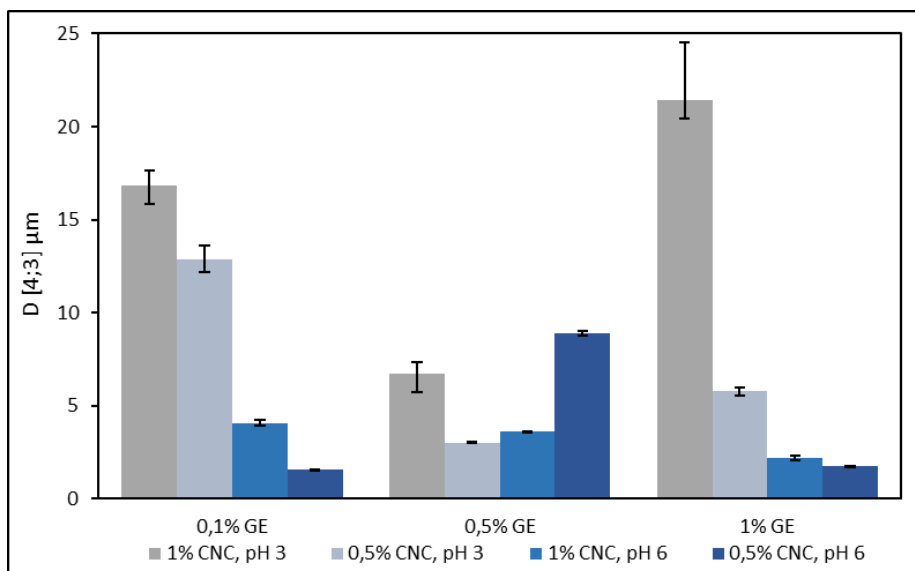
Lze tedy předpokládat, že z primárních emulzí je nejvíce stabilní emulze připravená v prostředí o hodnotě pH 6 s obsahem CNC 1 hm. %. Nejméně stabilní je pak emulze připravená v prostředí o hodnotě pH 3 s obsahem CNC 1 hm. %.

8.3 Příprava a charakterizace emulzí v kombinaci s želatinou

Způsob přípravy emulzí v kombinaci s želatinou je popsán v kapitole 7.3.3.3. Emulze byly charakterizovány pomocí měření velikosti jejich kapek na přístroji Mastersizer 3000. Výsledná velikost kapek je označena D [4;3] a je vyjádřena v μm . Tato kapitola se bude následně zabývat vlivem hodnoty pH a koncentrace želatiny na připravené emulze, dále vlivem typu použité želatiny a vlivem hodnoty pH a koncentrace želatiny na ζ potenciál připravených emulzí.

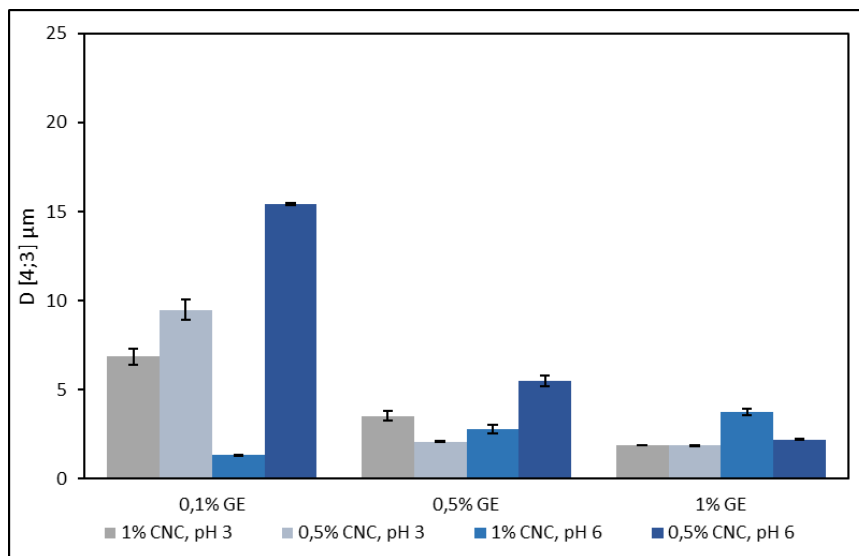
8.3.1 Vliv pH a koncentrace želatiny

Vliv pH a koncentrace želatiny na připravené emulze byl sledován na základě měření velikosti částic emulzí ihned po jejich přípravě. Výsledky jsou graficky znázorněny na Obrázcích 18-21.



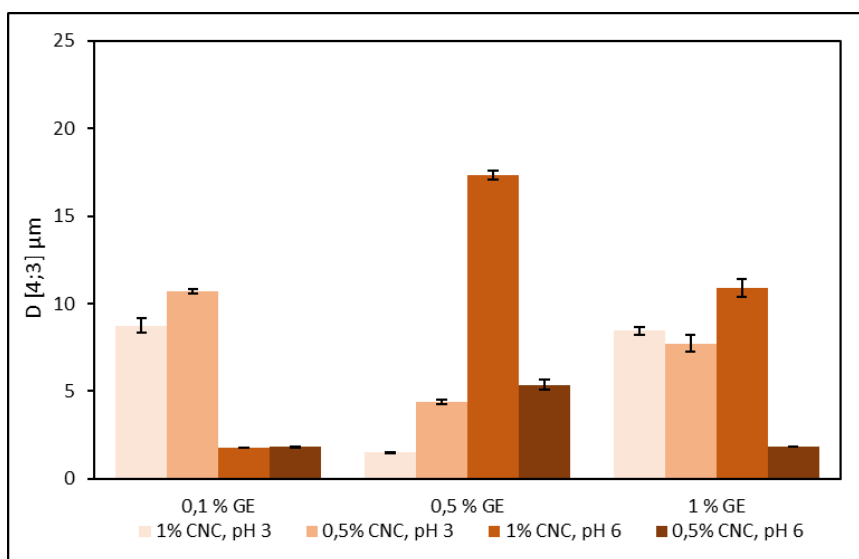
Obrázek 18: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5

Z Obrázku 18 je patrné, že u emulzí, které obsahují želatinu typu B1 o koncentraci 0,1 hm. % a 1 hm. % je velikost kapek menší v prostředí o hodnotě pH 6, než o hodnotě pH 3. Největší velikost kapek vykazují emulzní systémy obsahující 1 hm. % CNC a GE o koncentraci 0,1 a 1 hm. %. Nejmenší rozdíly velikosti kapek lze pozorovat u emulze obsahující 0,5 % GE. Největší rozdíly ve velikosti emulzních kapek v závislosti na koncentraci GE lze pozorovat u emulzí připravených v prostředí o hodnotě pH 3 s 1 hm. % CNC.



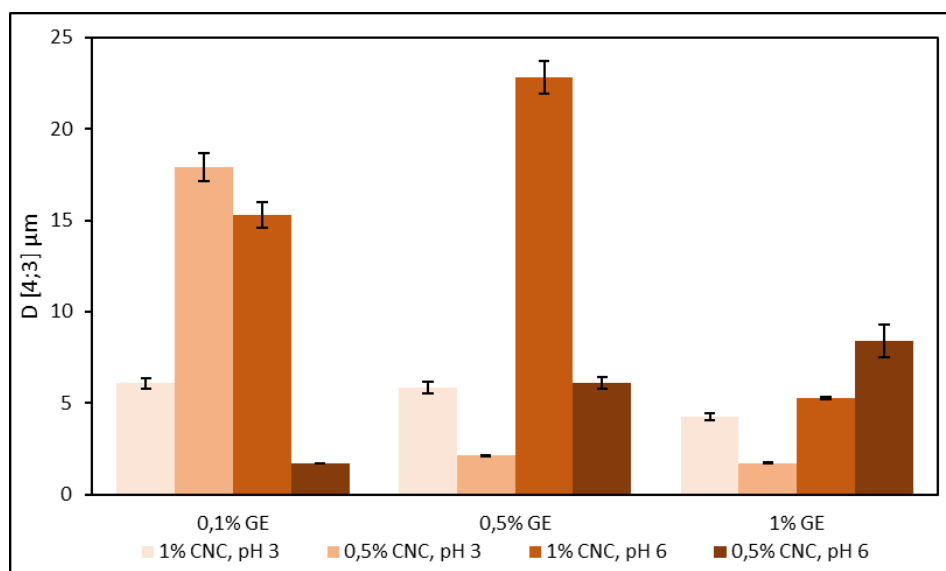
Obrázek 19: Vliv pH a koncentrace želatiny B5 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5

Na Obrázku 19 je znázorněna velikost kapek emulzí připravených s želatinou typu B5 v poměru CNC:GE 1:5. Vůbec nejmenší velikost kapek, i rozdíly v této sérii vzorků lze pozorovat u emulzí obsahujících 1% GE. Malé rozdíly mezi velikostmi kapek vykazují též emulze obsahující GE o koncentraci 0,5 hm. %. Emulze připravené s těmito dvěma koncentracemi GE obsahují kapky podobné velikosti bez ohledu na pH i koncentraci CNC v primární emulzi. Největší emulzní kapky jsou pak pozorovány u emulzí s 0,1% GE. V této sérii vůbec největší emulzní kapky i rozdíly vyazuje emulze obsahující právě 0,1% želatinu a 0,5% CNC, která byla připravena v prostředí o hodnotě pH 6.



Obrázek 20: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3

Na Obrázku 20 je graficky znázorněna velikost kapek emulzí připravených s želatinou typu B1 v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3. Nejmenší kapky obecně vykazují systémy připravené s obsahem CNC 0,5 hm. % v prostředí o hodnotě pH 6. V případě emulzních systémů obsahujících 0,1% GE připravených při pH 6 lze pozorovat malé kapky pro obě koncentrace CNC (0,5 a 1 hm. %). V případě emulzí s 1 hm. % CNC při pH 3 lze pozorovat, že velikost kapek emulzí v kombinaci 0,1 a 1 hm. % GE je téměř stejná. Odlišné chování lze pozorovat u emulzí v kombinaci s GE o koncentraci 0,5 hm. %, jejichž kapky jsou při pH 3 a obsahu CNC 0,5 i 1 hm. % CNC výrazně menší. Největší rozdíly mezi velikostmi kapek v závislosti na koncentraci GE můžeme v této sérii pozorovat u emulzí připravených v prostředí o hodnotě pH 6 a koncentraci CNC 1 hm. %.



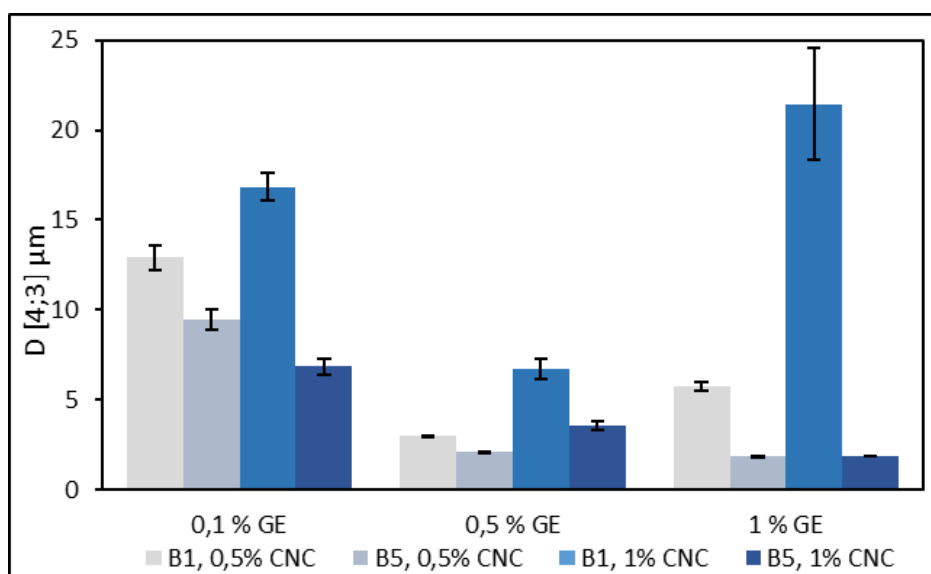
Obrázek 21: Vliv pH a koncentrace želatiny B5 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3

Obrázek 21 představuje emulzní systémy připravené ve stejném hmotnostním poměru složek jako jsou vzorky znázorněné na Obrázku 20. Oba systémy se však liší typem použité želatiny a Obrázek 21 znázorňuje emulze připravené se želatinou B5. Lze konstatovat, že malé rozdíly mezi velikostmi kapek byly pozorovány u emulzí s obsahem želatiny o koncentraci 1 hm. % bez ohledu na to, jaké složení měla primární emulze. Malé rozdíly ve velikosti kapek vykazovaly rovněž emulze připravené s 1% CNC při pH 3 při všech koncentracích želatiny. Na tyto systémy nemá tudíž koncentrace želatiny vliv. V případě emulzí připravených v prostředí také o hodnotě pH 3, ale s obsahem stabilizátoru CNC o koncentraci 0,5 hm. % lze pozorovat, že v kombinaci s 0,1% želatinou tvoří poměrně velké kapky, zatímco v kombinaci s 0,5% a 1% želatinou jsou tyto částice jedny z nejmenších

v celé sérii. Velké rozdíly velikosti emulzních kapek v závislosti na koncentraci želatiny můžeme pozorovat i u emulzních systémů připravených v prostředí o hodnotě pH 6 a koncentraci CNC 1 hm. %.

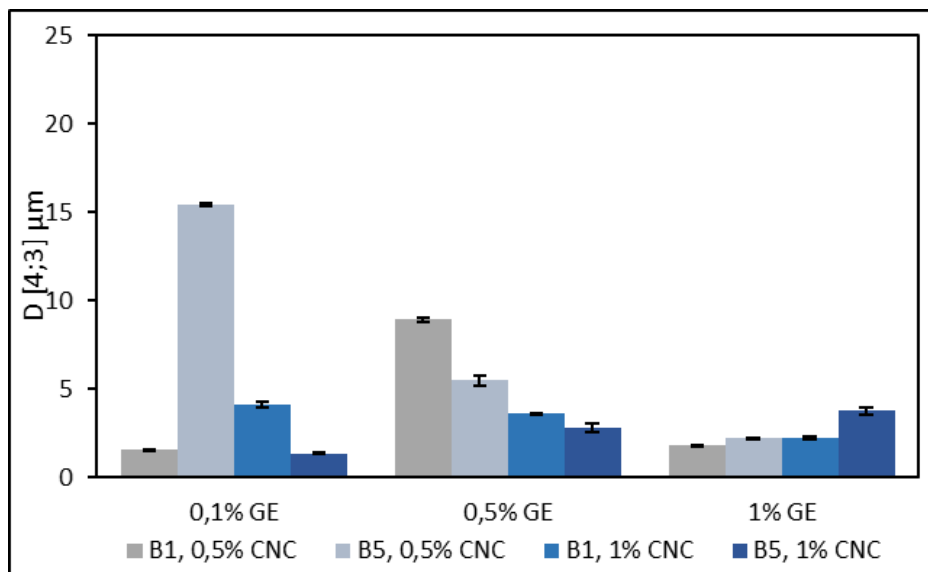
8.3.2 Vliv typu želatiny

Ve studii byla použita želatina typu B, avšak použité vzorky se lišily molekulovou hmotností a Bloom hodnotou. Molekulová hmotnost i Bloom hodnota želatiny B1 byly vyšší než u želatiny označené B5. Vliv typu želatiny byl stejně jako v předchozím případě stanoven na základě měření velikosti emulzních kapek ihned po přípravě vzorků. Základní charakteristiky obou typů želatiny jsou uvedeny v Tabulce 1. Výsledky jsou graficky znázorněny na Obrázcích 22-25.



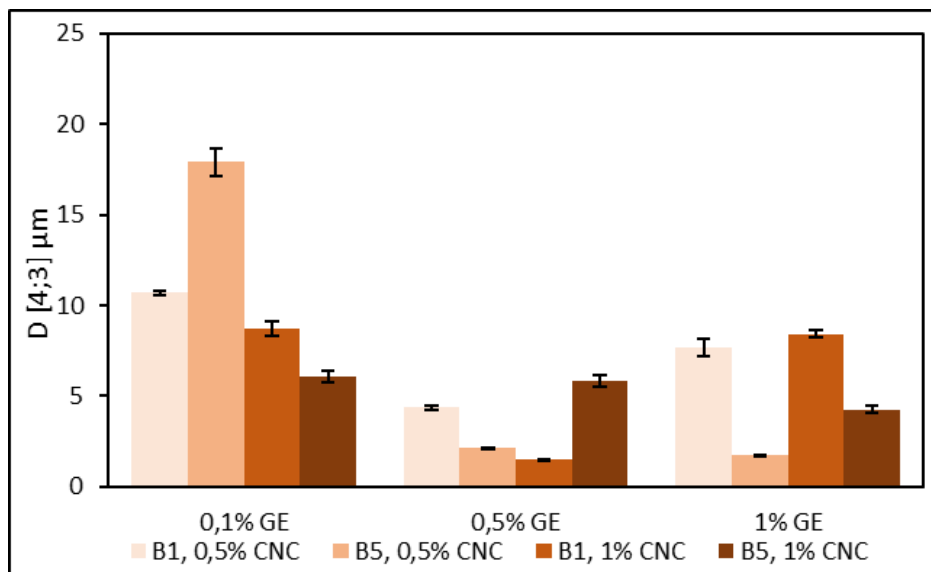
Obrázek 22: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 při pH 3

Na základě Obrázku 22 lze pozorovat, že emulze obsahující GE typu B5 vykazují při pH 3 menší velikost kapek než emulze s želatinou typu B1, a to u všech koncentrací želatiny. Toto chování je pozorováno u emulzních systémů, které obsahují CNC o koncentraci 0,5 hm. % i 1 hm. %. Nejmenší rozdíly mezi velikostmi emulzních kapek u této série vzorků vykazují emulzní systémy obsahující 0,5% GE. Naopak největší velikost kapek lze pozorovat u emulzních systémů, které obsahují želatinu typu B1 o koncentraci 1 hm. % a stabilizátor CNC o koncentraci taktéž 1 hm. %.



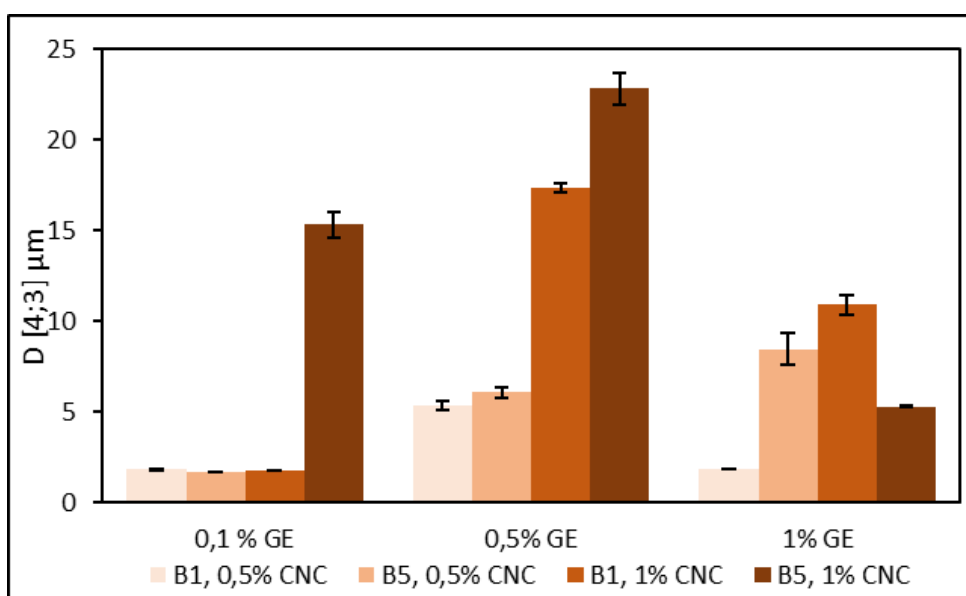
Obrázek 23: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 při pH 6

Na Obrázku 23 jsou graficky znázorněny velikosti částic emulzních systémů připravených ve stejných poměrech a koncentracích jako emulzní systémy na Obrázku 22. Liší se v hodnotě pH prostředí, ve kterých byly připraveny. Obecně lze konstatovat, že emulze připravené v prostředí o hodnotě pH 6 vykazují menší velikost kapek než v prostředí o hodnotě pH 3. Dále jsou také homogennější a jejich chování je předvídatelnější. Vliv pH prostředí je patrný, jelikož při hodnotě pH 6 je pozorována absence aglomerace. Ovšem vliv typu želatiny nelze u emulzí připravených v prostředí o hodnotě pH 6 jednoznačně určit, jelikož u emulze obsahující želatinu o koncentraci 1 hm. % vykazují téměř stejně velké emulzní kapky systémy obsahující jak želatinu typu B1, tak i B5, a to při koncentraci stabilizátoru CNC jak 0,5 hm. %, tak i 1 hm. %. V případě emulzí, které obsahují želatinu v nižších koncentracích je chování obdobné jako v případě emulzí připravených v prostředí o hodnotě pH 3 (Obr. 22).



Obrázek 24: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3

Na Obrázku 24 jsou graficky znázorněny velikosti emulzních kapek u systémů připravených v poměru CNC:GE 1:3 v prostředí o hodnotě pH 3. V tomto případě není vliv typu želatiny tak jednoznačný, jak v případě emulzí připravených v prostředí o stejné hodnotě pH, ale v poměru stabilizátor CNC:GE 1:5. Pouze u emulzí obsahující želatínu o nejvyšší koncentraci 1 hm. % lze pozorovat obdobné chování jako u emulzí připravených v poměru stabilizátor CNC:GE 1:5 (Obrázek 22), kdy emulze s želatinou typu B5 vykazují menší velikost kapek jako s želatinou typu B1.

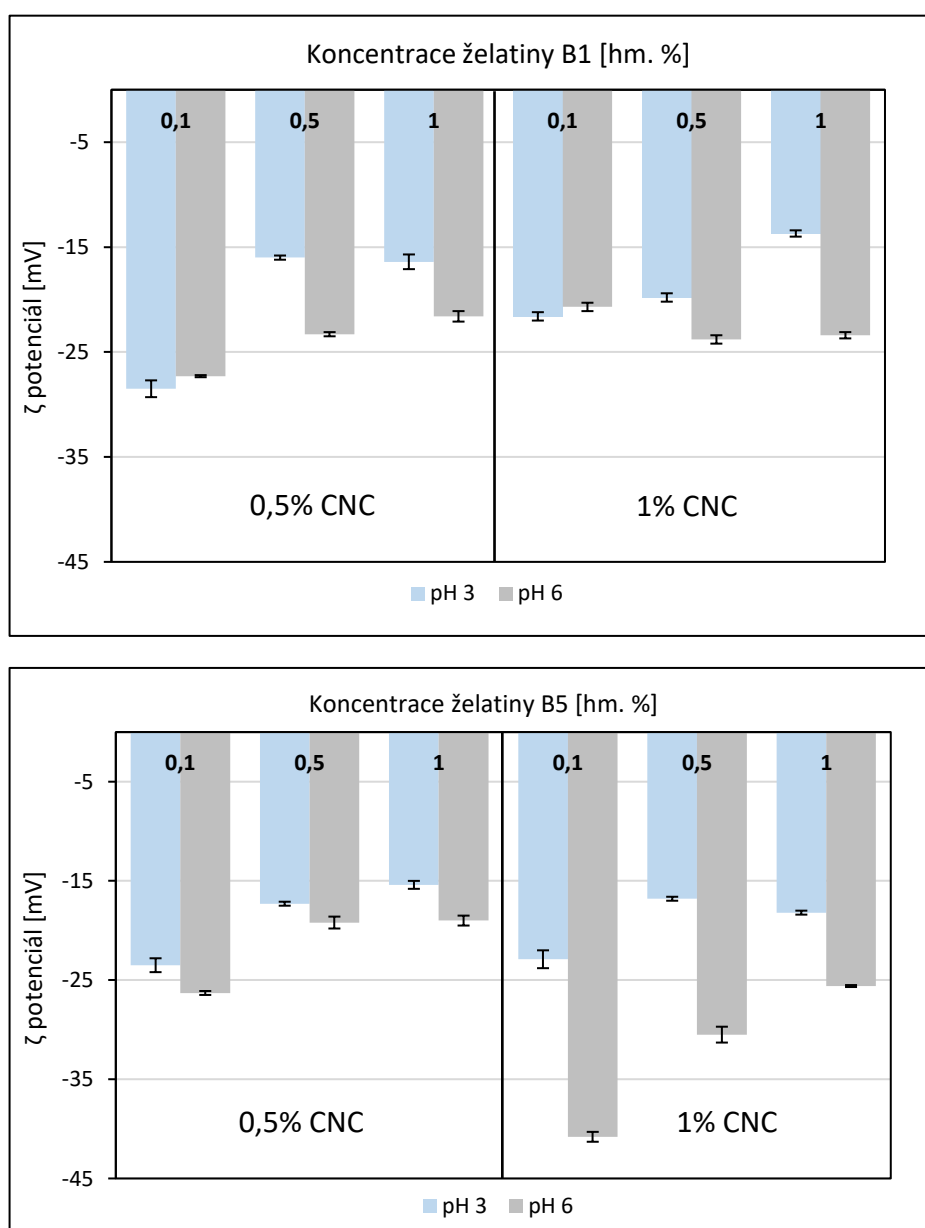


Obrázek 25: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 6

V případě emulzních systémů připravených v hmotnostním poměru stabilizátor CNC:GE 1:3 a v prostředí o hodnotě pH 6, které jsou graficky znázorněny na Obrázku 25, je rovněž obtížné stanovit vliv typu želatiny, jelikož chování emulzí při různých koncentracích želatiny i stabilizátoru CNC v emulzích je rozdílné.

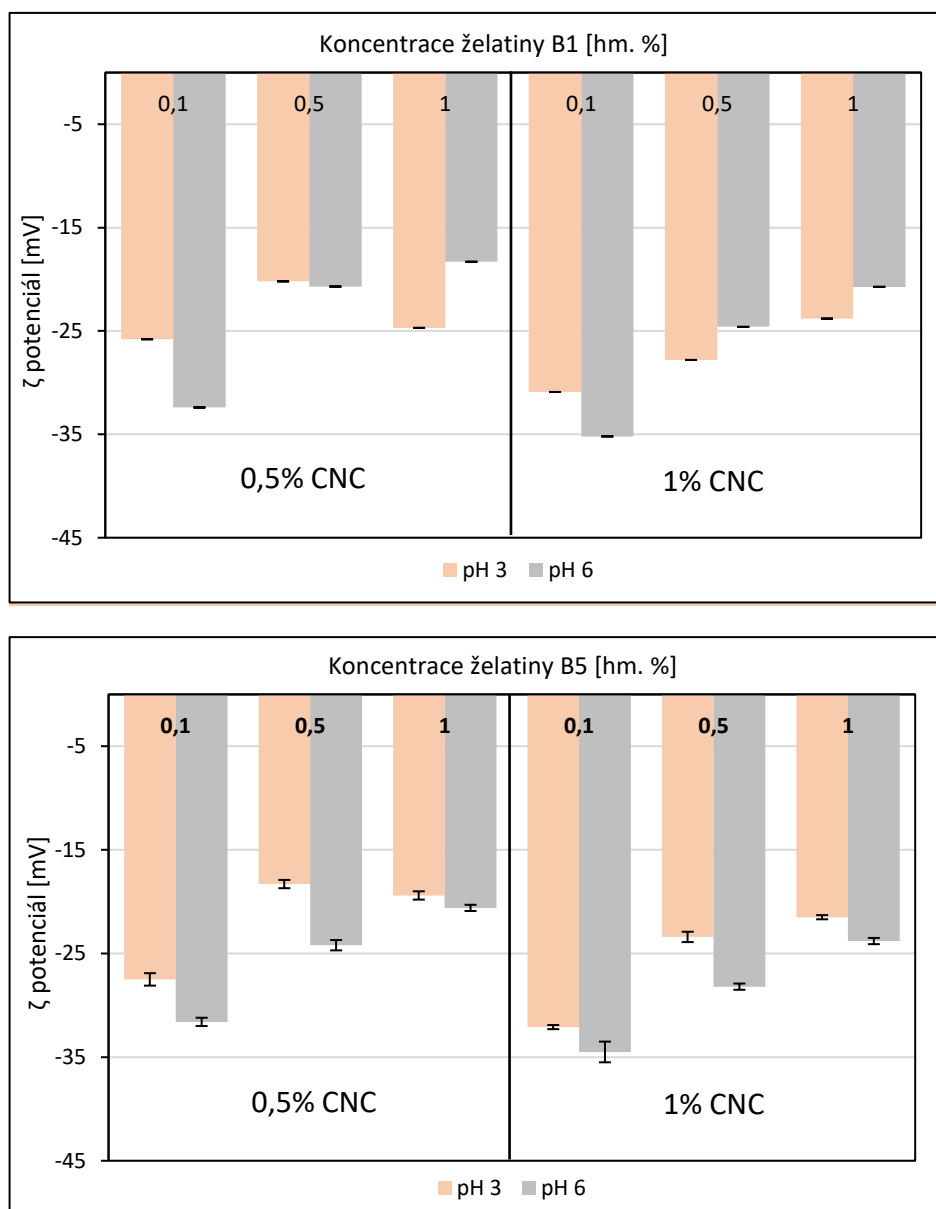
8.3.3 Vliv pH a koncentrace želatiny na ζ potenciál

Vliv hodnoty pH a koncentrace želatiny na ζ potenciál připravených emulzí byl stanoven pomocí měření jejich ζ potenciálu na přístroji Zetasizer Nano ZS 90. Výsledky jsou graficky znázorněny na Obrázcích 26 a 27.



Obrázek 26: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 (nahore) a B5 (dole) na ζ potenciál u emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5

Hodnota ζ potenciálu studovaných emulzí vychází z kombinace hodnot ζ potenciálů CNC a GE použitých k jejich stabilizaci. Pro CNC je ζ potenciál záporný v celém rozsahu pH, zatímco ζ potenciál GE závisí na hodnotě pH a je kladný při pH nižším, než je izoelektrický bod a záporný při pH vyšším, než je izoelektrický bod. Při pH 6 použitým pro přípravu emulzí by se tedy měly částice CNC a GE odpuzovat a při pH 3, vzhledem k rozdílnému náboji, přitahovat. Z uvedeného důvodu budou mít emulze připravené v prostředí pH 6 nižší ζ potenciál, než emulze připravené při pH 3. Z Obrázku 26 je patrné, že u emulzních systémů obsahující stabilizátor CNC o koncentraci 0,5 hm. % a želatinu o koncentracích 0,5 hm. % a 1 hm. % je ζ potenciál přibližně stejný (-15 mV) bez ohledu na typ želatiny (B1, B5). Hodnota pH disperzní fáze má pak malý vliv na ζ potenciál emulzí s 0,5 i 1 hm. % CNC s 0,1% želatinou B1. Pro všechny emulze se želatinou B1 je dále charakteristické, že jejich ζ potenciál je vyšší než -30 mV a leží tedy v oblasti, kde emulze nevykazují dobrou stabilitu. V případě použití želatiny B5, lze konstatovat, že tyto emulze vykazují větší rozdíly hodnot ζ potenciálu v závislosti na hodnotě pH. Emulze připravené při pH 3 vykazují hodnoty ζ potenciálu v rozmezí -15 až -24 mV, což je vyšší, než pro emulze připravené v prostředí pH 6. V případě emulzí s obsahem CNC o koncentraci 1 hm. % je rozdíl mezi naměřeným ζ potenciálem v závislosti na hodnotě pH výrazně větší, než je tomu u emulzí obsahujících stabilizátor CNC o koncentraci 0,5 hm. %. Nejnižší ζ potenciál vykazuje emulze připravená v prostředí o hodnotě pH 6 s 1 hm. % CNC a 0,1 hm. % GE. Pro vzorky s 1 hm. % CNC je rovněž viditelné, že se zvyšující se koncentrací GE se ζ potenciál zvyšuje, z čehož by bylo možné vyvodit, že za záporný ζ potenciál zodpovídá především CNC.



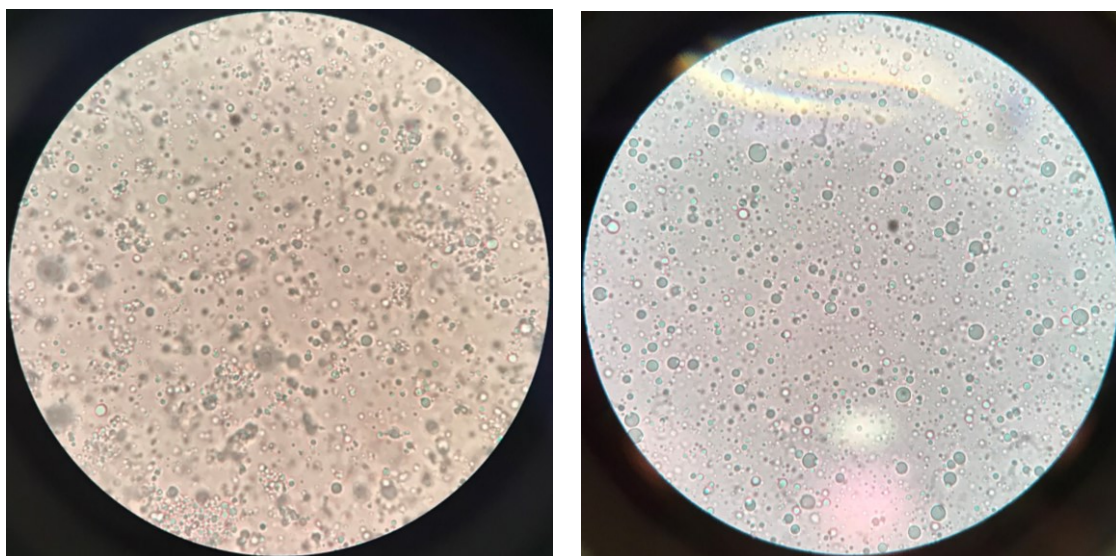
Obrázek 27: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 (nahore) a B5 (dole) na ζ potenciál u emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3

Z Obrázku 27 je patrné, že emulze obsahující stabilizátor CNC o koncentraci 0,5 hm. % mají vyšší hodnoty ζ potenciálu než emulze připravené s CNC o koncentraci 1 hm. %. Podle předpokladu, u emulzí připravených při pH 6 jsou hodnoty ζ potenciálu nižší než u emulzí připravených v prostředí o pH 3. Obdobně jako u emulzních systémů připravených v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 se i v tomto případě s rostoucí koncentrací želatiny naměřené hodnoty ζ potenciálu snižují. Dále lze na základě představených výsledků konstatovat, že u emulzí připravených v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 není patrný tak velký rozdíl mezi chováním želatin typu B1 a B5, zatímco pro emulze připravené

v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 je tento rozdíl výraznější, jak již bylo diskutováno výše.

8.3.4 Mikroskopické pozorování

Vybrané emulze byly charakterizovány pomocí optické mikroskopie. Vzorky byly pozorovány při zvětšení $1000\times$. V této části jsou uvedeny dva příklady vizualizace emulzí, a to vzorek stabilizovaný CNC:GE v poměru 1:5 s obsahem CNC 1 hm. % a želatiny typu B1 0,5 hm. % s rozdílnou hodnotou pH prostředí 3 a 6.



Obrázek 28: Snímky z optického mikroskopu emulzí připravených v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 s 1% CNC a 0,5% želatinou typu B1 při pH 3 (vlevo) a pH 6 (vpravo)

Na základě výsledků měření ζ potenciálu lze předpokládat, že CNC a GE mají při pH 3 rozdílný náboj, tudíž se jejich částice přitahují, zatímco v pH 6 mají náboj stejný, takže se jejich částice budou odpuzovat. Obrázek 28 tento předpoklad potvrzuje, kdy v jeho levé části (pH 3) lze agregaci emulzních kapek zřetelně pozorovat, zatímco v jeho pravé části (pH 6) jsou emulzní kapky samostatné a k jejich agregaci nedochází. Obdobné chování bylo pozorováno i u ostatních emulzí připravených při těchto rozdílných hodnotách pH.

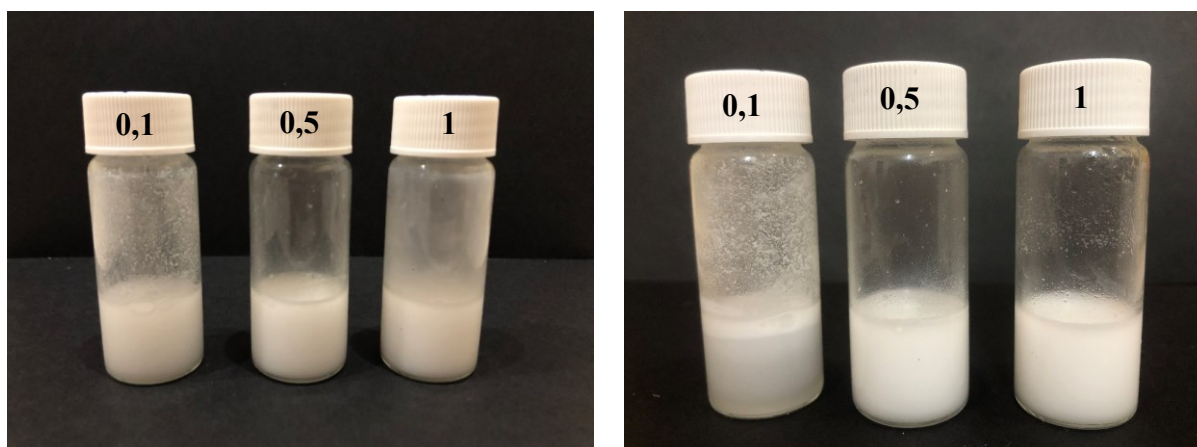
8.3.5 Vizuální pozorování

Emulze byly vizuálně pozorovány ihned po přípravě a poté po 7 a 14 dnech. Po tuto dobu byly emulze skladovány při teplotě $5\text{ }^{\circ}\text{C}$. Hodnocenými parametry byly barva, konzistence a rozpad emulzí. Pozorováním byla zjištěno, že všechny vzorky byly po přípravě zcela homogenní a měly bílou barvu.

Emulze připravené s želatínou typu B1 v obou hmotnostních poměrech 1:3 a 1:5 byly bez ohledu na použité množství CNC kapalné, pokud byla koncentrace GE 0,1 a 0,5 hm. %. V případě zvýšení koncentrace želatiny na 1 hm. %, měly emulze charakter gelu. K rozpadu emulze nedošlo v žádném případě a vzorky byly po celou dobu skladování stabilní.

U emulzí připravených s želatínou typu B5 v obou hmotnostních poměrech byla konzistence bez ohledu na množství stabilizátoru CNC nebo želatiny kapalná. Všechny emulze byly stabilní po celou dobu skladování. Výjimkou byla emulze připravená v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 se stabilizátorem CNC o koncentraci 0,5 hm. % a želatínou o koncentraci 0,1 hm. % při hodnotě pH prostředí 3, kdy docházelo ke krémování již 7 dní od přípravy (Obrázek 29).

Tvorba gelu u emulzí s GE B1 o koncentraci 1 % lze vysvětlit použitím GE s výrazně vyšší hodnotou Bloom (231), která vyjadřuje gelovou mohutnost (schopnost tvořit gel) – viz. kapitola 4.2.4 v teoretické části. Bloom hodnota GE B5 je výrazně nižší (156), takže při žádné z použitých koncentrací gel netvoří. Dalším aspektem je i výrazně vyšší molekulová hmotnost GE B1 ($M_w = 397\,000$ g/mol) než GE B5 ($M_w = 293\,000$ g/mol).



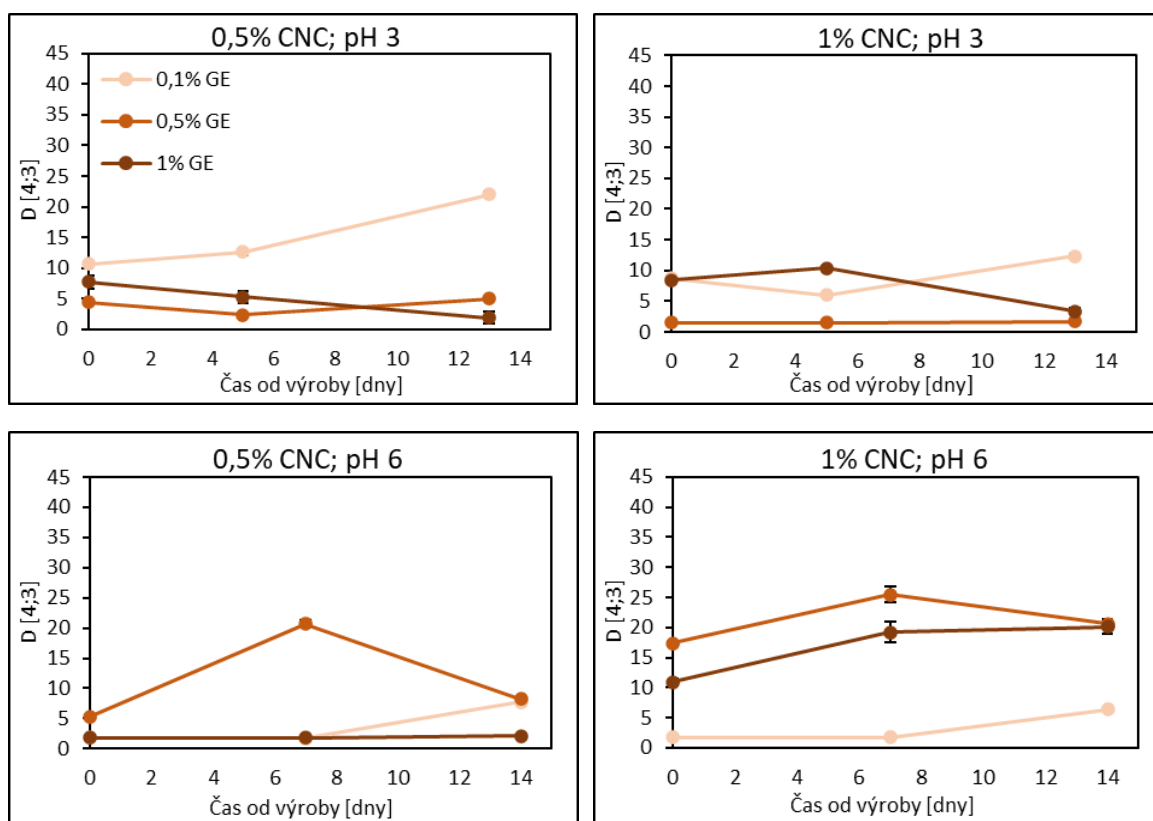
Obrázek 29: Emulze připravená v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 se stabilizátorem CNC o koncentraci 0,5 hm. % a želatínou typu B5 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % při pH 3 ihned po přípravě a po 7 dnech skladování

8.4 Enkapsulační efektivita

Enkapsulační efektivita slouží k hodnocení schopnosti emulzí zachytit množství použité olejové fáze. Enkapsulační efektivita připravených emulzí byla velmi dobrá, jelikož veškerá olejová fáze zůstala po celou dobu skladování enkapsulována, a nedocházelo k pozorovanému uvolňování oleje. To svědčí o dobré stabilitě připravených emulzí.

8.5 Stabilita emulzí

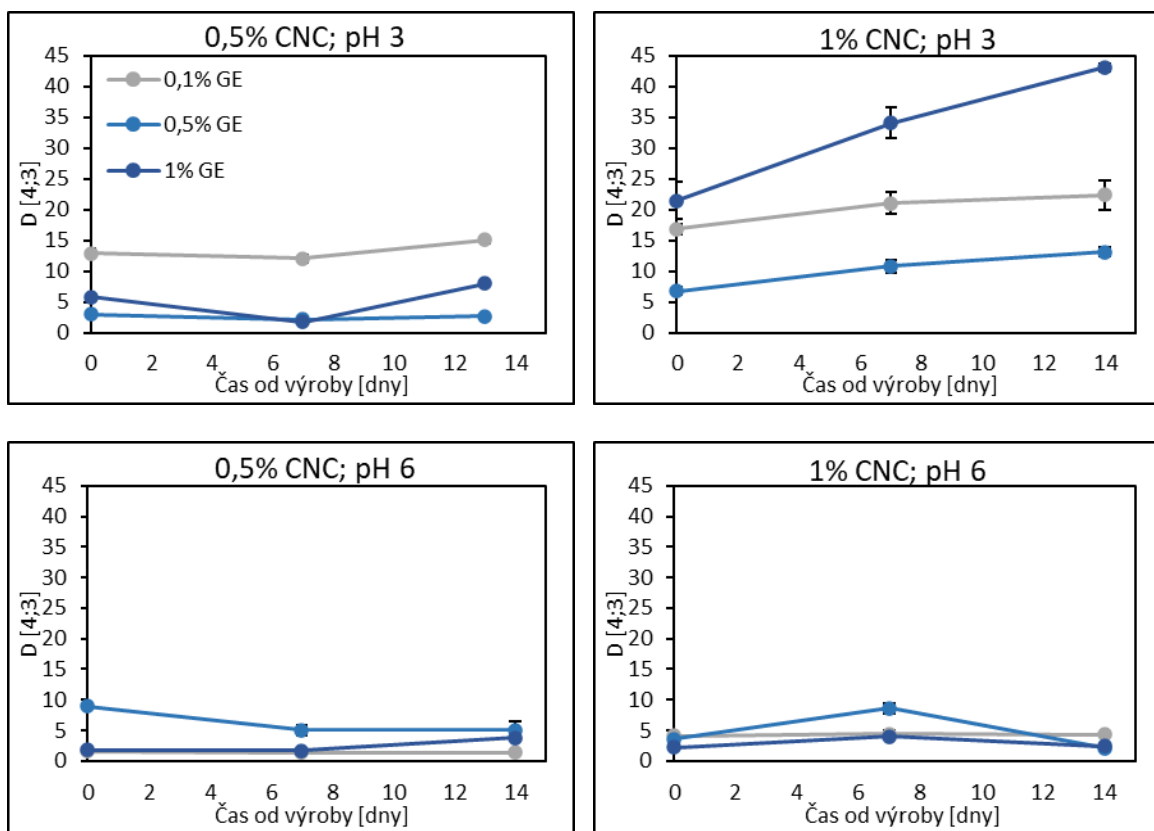
Stabilita emulzí již byla hodnocena při vizuálním popisu emulzí. V této části se bude práce zabývat hodnocením stability emulzí na základě změn velikosti emulzních kapek $D_{[4;3]}$ měřených laserovou difrakcí. Velikost kapek byla měřena pomocí přístroje Mastersizer 3000 ihned po přípravě a poté po týdnu a po dvou týdnech skladování při teplotě 4 °C. Bez ohledu na podrobnou diskuzi výsledků níže, lze konstatovat, že všechny emulzní systémy vykazovaly velmi dobrou stabilitu. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 se chovaly předvídatelněji než emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 a stabilita se měnila s koncentrací želatiny přítomné v systému.



Obrázek 30: Stabilita emulzí připravených s GE B1 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole). Legenda je platná pro všechna grafická znázornění na obrázku

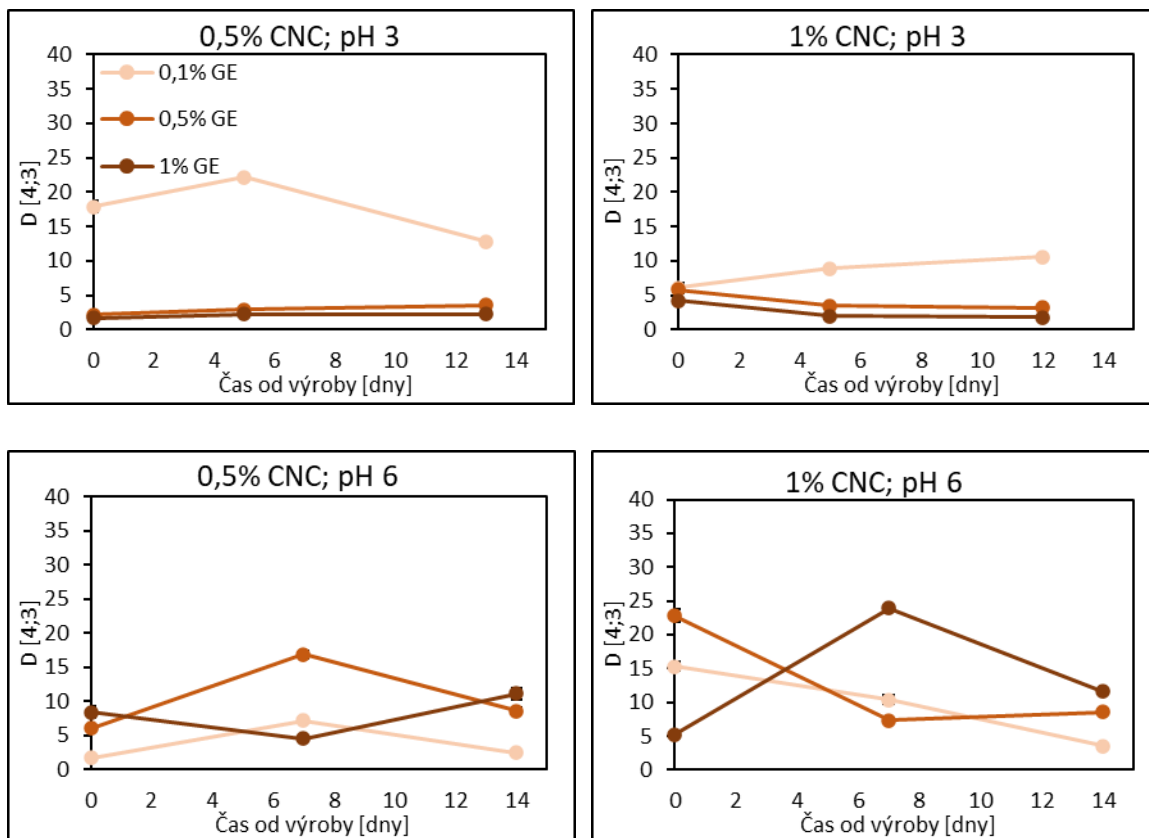
Z Obrázku 30 je patrné, že emulze připravené v prostředí o hodnotě pH 3 s CNC o koncentraci 0,5 i 1 hm. % (CNC:GE 1:3) jsou stabilní především v přítomnosti želatiny B1 o koncentraci 0,5 a 1 hm. %. Nejlepší stabilitu u emulzí připravených při pH 6 vykazuje emulze připravená s CNC o koncentraci 0,5 hm. % a 1% želatinou. Ostatní vzorky při tomto

pH vykazovaly růst velikosti emulzních kapek během prvního nebo druhého týdne skladování.



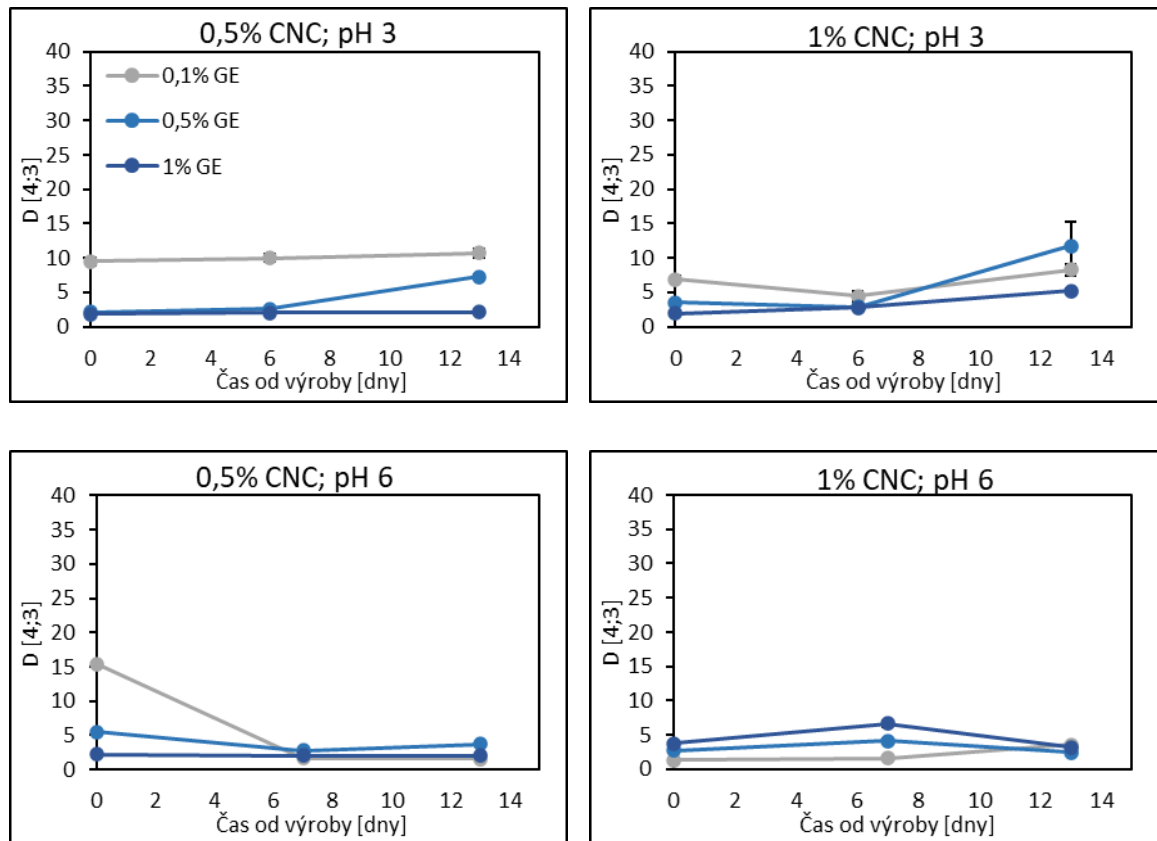
Obrázek 31: Stabilita emulzí připravených s GE B1 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole). Legenda je platná pro všechna grafická znázornění na obrázku

Z grafů na Obrázku 31 lze konstatovat, že emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 s želatinou typu B1 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 a 1 hm. % vykazovaly výbornou stabilitu, a to především při pH 6. Při pH 3 je stabilita lepší při nižší koncentraci CNC 0,5 hm. % v přítomnosti želatiny o koncentraci 0,1 a 0,5 hm. %. Při vyšší koncentraci GE 1 hm. % dochází po 2 týdnech k mírnému růstu hodnoty $D [4;3]$.



Obrázek 32: Stabilita emulzí připravených s GE B5 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole). Legenda je platná pro všechna grafická znázornění na obrázku

Na Obrázku 32 je graficky znázorněna stabilita emulzí připravených s GE B5 v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3. Systémy připravené s CNC o koncentraci 0,5 i 1 hm. % v přítomnosti GE o koncentraci 1 a 0,5 hm. % při pH 3 poskytují stabilní emulze. Při koncentraci GE 0,1 hm. % je stabilita horší. U emulzí připravených v prostředí o hodnotě pH 6 není pozorován žádný systém v jejich chování.



Obrázek 33: Stabilita emulzí připravených s GE B5 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole). Legenda je platná pro všechna grafická znázornění na obrázku

Z Obrázku 33 je patrné, že emulze připravené s větším množstvím želatiny v poměru k CNC vykazují dobrou stabilitu bez výrazného růstu velikosti emulzních kapek. Toto konstatování platí jak pro emulze připravené s CNC o koncentraci 0,5 hm. %, tak i 1 hm. %. Výsledky indikují, že většina emulzí připravených s želatinou typu B5 vykazuje lepší stabilitu, pokud je její koncentrace 0,5 a 1 hm. %.

Obecně lze konstatovat, že dobrá stabilita emulzí je výsledkem kombinace množství stabilizujících částic CNC v primární emulzi a koncentrace želatiny. Výsledky jsou ovlivněny i Bloom hodnotou a molekulovou hmotností želatiny, kdy želatina typu B1 má vyšší Bloom hodnotu i molekulovou hmotnost než želatina typu B5. Při kombinaci GE a CNC je nutné tuto skutečnost brát v úvahu, především při volbě koncentrace GE a poměru CNC:GE v emulzi.

Stabilita emulzí je ovlivněna i hodnotou pH prostředí, kdy při pH 3 želatina ovlivňuje stabilitu emulze prostřednictvím tvorby komplexů mezi kladně nabitou GE a záporně

nabitými částicemi CNC. Při hodnotě pH prostředí 6 působí GE jako modifikátor viskozity emulze, protože zvyšování viskozity má stabilizační efekt. Problém však může nastat u 1% roztoku želatiny, kde dochází k tvorbě gelu. Avšak i tvorba gelu může být pro některé aplikace těchto emulzních systémů výhodná.

Ze shrnutí výsledků stabilitní studie vyplývá, že emulzní systémy vykazují dobrou stabilitu. Je však nutno podotknout, že z hlediska stability byly zhodnoceny nejdůležitější trendy z každé série vzorků. V některých případech však nebylo možné vliv jednotlivých proměnných na stabilitu emulzí stanovit.

ZÁVĚR

Bakalářská práce se zabývá vlivem typu a koncentrace želatiny na vlastnosti emulzních systémů, které byly stabilizovány CNC. Cílem bylo tyto emulze připravit a následně stanovit vliv formulace na velikost emulzních kapek, ζ potenciálu a na jejich stabilitu.

Nejprve byl stanoven izoelektrický bod želatiny. U želatiny typu B1 byl izoelektrický bod stanoven při hodnotě pH $\sim 5,2$, pro želatinu B5 pak při hodnotě pH $\sim 4,2$. Jelikož CNC nevykazuje závislost ζ potenciálu na hodnotě pH, nebyl zde izoelektrický bod stanoven.

Následně byly připraveny primární emulze typu O/V stabilizované CNC (koncentrace 0,5 nebo 1 hm. %) v prostředí o hodnotě pH 3 a 6, které byly charakterizovány měřením velikosti jejich kapek. Nejmenší kapky obsahovala emulze připravená v prostředí o pH 6 a s koncentrací CNC 1 hm. %. Největší pak emulze připravená při pH 3 s 1% CNC.

Finální emulzní systémy byly připraveny spojením primárních CNC emulzí s želatinou typu B1 nebo B5 (s různou hodnotou Bloom a molekulovou hmotností) o koncentraci 0,1; 0,5 nebo 1 hm. %. Bylo zjištěno, že velikost emulzních kapek závisí na řadě proměnných, z nichž lze jmenovat pH disperzní fáze, koncentraci a typ želatiny, koncentraci stabilizátoru CNC a poměr primární emulze stabilizované CNC a želatiny.

Při souhrnném hodnocení vlivu uvedených proměnných na velikost emulzních kapek lze konstatovat, že emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 obsahovaly menší kapky v prostředí o pH 6 než při pH 3. To je způsobeno tvorbou komplexů mezi GE a CNC při pH 3, která vede k vyšší agregaci emulzních kapek. Z emulzí, které byly připraveny ve stejném poměru s GE B1 mají nejmenší velikost kapek emulze s 0,5% GE. V případě emulzí s GE typu B5 je nejmenší velikost kapek pozorována u vzorků s 1% GE. V tomto případě lze tento efekt přisuzovat stabilizačnímu efektu želatiny. U emulzí připravených v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 s GE typu B1 vykazují obecně nejmenší kapky emulze připravené s obsahem CNC 0,5 hm. % při hodnotě pH prostředí 6.

Při zkoumání vlivu typu želatiny na velikost kapek emulzí připravených v poměru CNC:GE 1:5 při pH 3, vykazovaly menší velikost kapek emulze připravené s GE typu B5 než s GE B1. Při stejném poměru obou stabilizátorů a pH 6 však byly kapky stejně velké v přítomnosti GE B1 i B5. Při změně hmotnostního poměru CNC:GE z 1:5 na 1:3 nebyl vliv typu želatiny při obou hodnotách pH tak jednoznačný.

Emulze připravené v prostředí o hodnotě pH 6 vykazovaly nižší ζ potenciál než emulze připravené při pH 3. U vzorků obsahujících 1% CNC byl naměřen nižší ζ potenciál než u vzorků připravených s 0,5% CNC. Výjimkou byly pouze emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 s GE typu B1, kdy byl ζ přibližně stejný pro emulze připravené s oběma koncentracemi CNC.

Mikroskopické pozorování potvrdilo předpoklad tvorby agregátů při hodnotě pH prostředí 3 na základě přitahování částic v důsledku opačných nábojů GE a CNC. Při makroskopickém hodnocení byly emulze zcela homogenní, pouze u emulze v poměru CNC:GE 1:3 stabilizované CNC o koncentraci 0,5 hm. % a želatinou typu B5 o koncentraci 0,1 hm. %, došlo po 7 dnech skladování ke krémování. Vzorky připravené s GE typu B1 o koncentraci 1 hm. % měly charakter gelu.

Všechny zkoumané vzorky vykazovaly rovněž dobrou stabilitu, co se týká změn velikosti kapek, i výbornou enkapsulační efektivitu po celou dobu skladování.

Na základě výsledků této studie lze konstatovat, že takto připravené emulze jsou slibnými systémy, které je možno dále rozvíjet. Dají se využít pro různé typy aplikací nejen v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu. Potenciálně je lze využít pro tvorbu filmů nebo povlaků, které mohou sloužit jako matrice pro novou generaci obalových systémů s řízeným uvolňováním aktivních látek [36].

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] BARTOVSKÁ Lidmila, ŠIŠKOVÁ Marie: *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav* [online]. Version 1.0. Praha: VŠCHT Praha, 2005 [cit. 2022-02-06]. Available from [www:<http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/obalka-1.html>](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-80-7080-579-X/pages-img/obalka-1.html). ISBN 80-7080-579-X
- [2] TADROS, Tharwat F. *Emulsion science and technology*. Weinheim: Wiley-VCH, c2009, xviii, 326 p. ISBN 3527325255
- [3] What is an emulsion? Back to Basics: Formulating Emulsions, 2020. *Chemistscorner* [online]. [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: <https://chemistscorner.com/what-is-an-emulsion-back-to-basics/>
- [4] EGNER, Pavlína. *Kosmetické technologie*. Zlín. Studijní text. Fakulta technologická, Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
- [5] Emulze. <https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/> [online]. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/emulze.html
- [6] FONSECA-SANTOS B, GREMIÃO MP, CHOROLLI M: Nanotechnology-based drug delivery systems for the treatment of Alzheimer's disease *Int.J. Nanomedicine* 2015, 0 (1), 4981-5003
- [7] Principles of Emulsification, 2019. Lankem [online]. [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: <https://www.lankem.com/post/principles-of-emulsification>
- [8] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK, 2007. *Základy koloidní chemie*. Olomouc. Studijní text. Katedra fyzikální chemie, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci
- [9] SHI, Jingyu. Steric Stabilization. *Center for Industrial Sensors and Measurements Department Materials Science & Engineering Group Inorganic Materials Science Literature Review*. USA: Ohio State University Department of Materials Science & Engineering, 2002, 2001, 1-43.
- [10] Stérická stabilizace. <https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/> [online]. Praha [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: https://vydavatelstvi-old.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/stericka_stabilizace.html

[11] JAKUBEC, Martin a Jitka ČEJKOVÁ. Emulze: Příprava a stabilizace. *Vysoká škola chemicko-technologická v Praze* [online]. Praha [cit. 2022-02-06]. Dostupné z: <https://fchi.vscht.cz/files/uzel/0010367/cwUA.pdf?redirected>

[12] BINKS, Bernard P. a Tommy S. HOROZOV. *Colloidal particles at liquid interfaces*. New York: Cambridge University Press, 2006, xiii, 503 p. ISBN 0521848466. Dostupné z: <https://isalama.files.wordpress.com/2011/05/image91.gif>

[13] CHEVALIER, Yves a Marie-Alexandrine BOLZINGER, 2013. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 439, 23-34 [cit. 2021-12-01]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.02.054 ISSN 09277757. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777571300157X>

[14] ALBERT Claire, Mohamed BELADJINE, Nicolas TSAPIS, Elias FATTAL, Florence AGNELY a Nicolas HUANG. Pickering emulsions: Preparation processes, key parameters governing their properties and potential for pharmaceutical applications. *Journal of Controlled Release* [online]. 2019(309), 302-332 [cit. 2022-02-06]. DOI: 10.1016/j.jconrel.2019.07.003 ISSN 0168-3659. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0168365919303906?via%3Dihub>

[15] PAXIMADA Paraskevi, Erminda TSOUKO, Nikolaos KOPSAHELIS, Apostolis A. KOUTINAS a Ioanna MANDALA. Bacterial cellulose as stabilizer of o/w emulsions. *Food Hydrocolloids* [online]. 53(2016), 225-232 [cit. 2022-02-06]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2014.12.003 ISSN 0268-005X Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X14004408?via%3Dihub>

[16] FUJISAWA, Shuji, Eiji TOGAWA a Katsushi KURODA, 2017. Nanocellulose-stabilized Pickering emulsions and their applications. *Science and Technology of Advanced Materials* [online]. 18(1), 959-971 [cit. 2022-02-08]. DOI: 10.1080/14686996.2017.1401423 ISSN 1468-6996. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/14686996.2017.1401423>

[17] PATRAVALE, V. B. a S. D. MANDAWGADE. Novel cosmetic delivery systems: an application update. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2008(30), 19-33 [cit. 2022-02-06]. Dostupné z: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18377627/>

- [18] FRELICHOWSKA, Justyna et al., 2009. Topical delivery of lipophilic drugs from o/w Pickering emulsions. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 371(1-2), 56-63 [cit. 2022-02-06]. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.12.017 ISSN 03785173. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517308008326>
- [19] ZÁHEJSKÝ, Jiří, 2013. Nová generace emulzních systémů v dermatologii: 2DERM krém: Klinické zkušenosti a perspektivy. *Lekaren2derm* [online]. [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: https://www.lekaren2derm.sk/doc/prezentace_2derm_pro_lekare_04.2013.pdf
- [20] ZÁHEJSKÝ, Jiří, 2011. Ochranné bariérové systémy: Současné a perspektivní možnosti úpravy stavu poškozené kožní bariéry. *Dermatol. praxi*. 5(1), 8-11
- [21] TAIMUR-AL-MOBARAK, 2010. Material Properties of Acetylated Jute-Mat Composites [online]. Bangladesh [cit. 2022-02-06]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/321756571_Material_Properties_of_Acetylated_Jute-Mat_Composites/references#fullTextFileContent. Diplomová práce. Bangladesh University of Engineering and Technology.
- [22] SALAS, Carlos et al., 2014. Nanocellulose properties and applications in colloids and interfaces. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [online]. 19(5), 383-396 [cit. 2022-02-07]. DOI: 10.1016/j.cocis.2014.10.003 ISSN 13590294. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029414000971>
- [23] MOON, Robert J. et al., 2011. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews* [online]. 40(7), 3941-3994 [cit. 2022-02-07]. DOI: 10.1039/c0cs00108b ISSN 0306-0012. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cs00108b>
- [24] DESHMUKH, K. et al., 2017. Biopolymer Composites With High Dielectric Performance: Interface Engineering. *Biopolymer Composites in Electronics* [online]. Elsevier, 2017, 27-128 [cit. 2022-02-07]. DOI: 10.1016/B978-0-12-809261-3.00003-6 ISBN 9780128092613. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128092613000036>
- [25] *Český lékopis*, 2017. Praha: GRADA Publishing. ISBN 978-80-271-0500-7
- [26] Želatina, 2005. *HAGES: Potravinářské ingredience* [online]. Boskovice [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: <https://hages.cz/katalogy/zelatina.pdf>

- [27] ZHANG, Ting et al., 2020. Gelatins as emulsifiers for oil-in-water emulsions: Extraction, chemical composition, molecular structure, and molecular modification. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 106, 113-131 [cit. 2022-02-07]. DOI: 10.1016/j.tifs.2020.10.005 ISSN 09242244. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224420306282>
- [28] STANDARDISED METHODS FOR THE TESTING OF EDIBLE GELATINE: GELATINE MONOGRAPH, 2020. *Gelatine Manufacturers of Europe* [online]. [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: https://www.gelatine.org/fileadmin/user_upload/gme_content/GME_Statements/GME_gelatine_Monograph-version_15_-_October_2020_-_short_version.pdf
- [29] GELATINE HANDBOOK, 2019. *GELATIN MANUFACTURERS INSTITUTE OF AMERICA* [online]. [cit. 2022-02-07]. Dostupné z: http://www.gelatin-gmia.com/uploads/1/1/8/4/118450438/gmia_gelatin_manual_2019.pdf
- [30] GÓMEZ-GUILLÉN, M.C. et al., 2011. Functional and bioactive properties of collagen and gelatin from alternative sources: A review. *Food Hydrocolloids* [online]. 25(8), 1813-1827 [cit. 2022-02-07]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2011.02.007 ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X11000427>
- [31] RAZAVI, Mahsa Sadat et al., 2020. Preparation of cinnamon essential oil emulsion by bacterial cellulose nanocrystals and fish gelatin. *Food Hydrocolloids* [online]. 1-7 [cit. 2022-04-20]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106111 ISSN 0268-005X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X20302071#!>
- [32] YIN, Fangqing, Lanfang LIN a Shijuan ZHAN, 2019. Preparation and properties of cellulose nanocrystals, gelatin, hyaluronic acid composite hydrogel as wound dressing. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* [online]. 30(3), 190-201 [cit. 2022-04-20]. DOI: 10.1080/09205063.2018.1558933 ISSN 0920-5063. Dostupné z: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09205063.2018.1558933>
- [33] LEITE, Liliane S.F. et al., 2021. Electrostatic interactions regulate the physical properties of gelatin-cellulose nanocrystals nanocomposite films intended for biodegradable packaging. *Food Hydrocolloids* [online]. 113, 1-10 [cit. 2022-04-20]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2020.106424 ISSN 0268005X. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X20323262?via%3Dihub>

- [34] STOJASPAL, Roman. *Stanovení molární hmotnosti a distribuce molárních hmotností želatiny pomocí gelové permeční chromatografie* [online]. Zlín, 2009 [cit. 2022-05-18]. Available from: <https://theses.cz/id/ww05rs/>. Master's thesis. Tomas Bata University in Zlín, Faculty of Technology. Thesis supervisor Ing. Věra Kašpárková, CSc.
- [35] NISHIO, Y., SATO, J., and SUGIMURA, K. (2016). “Liquid crystals of cellulose: fascinating ordered structures for the design of functional material systems,” in *Cellulose Chemistry and Properties: Fibers, Nanocelluloses and Advanced Materials*, ed O. J. Rojas (Cham: Springer International Publishing), 241–286.
- [36] RAZAVI, Mahsa Sadat et al., 2022. Cinnamon Essential Oil Encapsulated into a Fish Gelatin-Bacterial Cellulose Nanocrystals Complex and Active Films Thereof. *Food Biophysics* [online]. 17(1), 38-46 [cit. 2022-05-13]. DOI: 10.1007/s11483-021-09696-6 ISSN 1557-1858. Dostupné z: <https://link.springer.com/10.1007/s11483-021-09696-6>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

O/V	System olej ve vodě
V/O	System voda v oleji
O/V/O	System olej ve vodě v oleji
V/O/V	System voda v oleji ve vodě
EIP	Inverzní bod emulze (z angl. Emulsion Inversion Point)
PIT	Teplota fázové inverze (z angl. Phase Inversion Temperature)
PAL	Povrchově aktivní látka
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha (z angl. Hydrophilic-Lipophilic Balance)
WF	Dřevěná vlákna (z angl. Wood Fibril)
PF	Rostlinná vlákna (z angl. Plant Fibril)
MCC	Mikrokrystalická celulóza (z angl. Microcrystalline cellulose)
MFC	Mikrofibrilární celulóza (z angl. Microfibrillated cellulose)
CNF	Celulózové nanofibrily (z angl. Cellulose nanofibrils)
CNC	Celulózové nanokrystaly (z angl. Cellulose nanocrystals)
t-CNC	Celulózové nanokrystaly pláštěnců (z angl. Tunicate cellulose nanocrystals)
AC	Celulózové částice na bázi řas (z angl. Algae cellulose particles)
BA	Bakteriální celulózové částice (z angl. Bacterial cellulose particles)
BCNC	Bakteriální celulózové nanokrystaly (z angl. Bacterial cellulose nanocrystals)
CEO	Skořicový esenciální olej (z angl. cinnamon essential oil)
SEM	Skenovací elektronový mikroskop (z angl. scanning electron microscope)
GE	Želatina
HA	Kyselina hyaluronová (z angl. hyaluronic acid)
FTIR	Infračervená spektroskopie s Fourierovou transformací (z angl. Fourier transform infrared)

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1: Struktura emulzí typu O/V a V/O [upraveno podle 3].....	11
Obrázek 2: Klasifikace emulzí podle koncentrace [upraveno podle 5].....	12
Obrázek 3: Rozdíl mezi mikroemulzí a nanoemulzí [6].....	13
Obrázek 4: Struktura složených emulzí typu O/V/O a V/O/V [upraveno podle 7].....	14
Obrázek 5: Struktura molekuly PAL [8].....	16
Obrázek 6: Stérická stabilizace vrstvou adsorbovaných makromolekul [upraveno podle 10].....	16
Obrázek 7: Schématické znázornění stabilizace emulze pomocí deplece [upraveno podle 9].....	17
Obrázek 8: Destabilizace emulzí [upraveno podle 12].....	18
Obrázek 9: Rozdíl mezi klasickou a Pickeringovou emulzí [upraveno podle 13].....	19
Obrázek 10: Nanocelulóza na rozhraní fází olej/voda [upraveno podle 16].....	21
Obrázek 11: Chemická struktura celulózy [21].....	23
Obrázek 12: Schematické znázornění výroby CNF a CNC ze stěn vláknitých buněk mechanickým a chemickým zpracováním [upraveno podle 22].....	25
Obrázek 13: Chemická struktura želatiny podle [24].....	26
Obrázek 14: Závislost ζ potenciálu na pH a izoelektrický bod želatiny B1.....	40
Obrázek 15: Závislost ζ potenciálu na pH a izoelektrický bod želatiny B5.....	40
Obrázek 16: Závislost ζ potenciálu na pH a izoelektrický bod disperze CNC.....	41
Obrázek 17: Průměrné hodnoty a směrodatné odchylky velikosti částic primárních emulzí (z-průměr) stanovené ihned po přípravě.....	42
Obrázek 18: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5.....	43
Obrázek 19: Vliv pH a koncentrace želatiny B5 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5.....	44
Obrázek 20: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3.....	44

Obrázek 21: Vliv pH a koncentrace želatiny B5 na velikost emulzních kapek. Emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3.....	45
Obrázek 22: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 při pH 3.....	46
Obrázek 23: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 při pH 6.....	47
Obrázek 24: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3.....	48
Obrázek 25: Vliv typu želatiny na emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 6.....	48
Obrázek 26: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 (nahore) a B5 (dole) na ζ potenciál u emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5.....	49
Obrázek 27: Vliv pH a koncentrace želatiny B1 (nahore) a B5 (dole) na ζ potenciál u emulze připravené v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3.....	51
Obrázek 28: Snímky z optického mikroskopu emulzí připravených v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 s 1% CNC a 0,5% želatinou typu B1 při pH 3 (vlevo) a pH 6 (vpravo).....	52
Obrázek 29: Emulze připravená v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 se stabilizátorem CNC o koncentraci 0,5 hm. % a želatinou typu B5 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % při pH 3 ihned po přípravě a po 7 dnech skladování.....	53
Obrázek 30: Stabilita emulzí připravených s GE B1 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole).....	54
Obrázek 31: Stabilita emulzí připravených s GE B1 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:5 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole).....	55
Obrázek 32: Stabilita emulzí připravených s GE B5 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole).....	56

Obrázek 33: Stabilita emulzí připravených s GE B5 o koncentraci 0,1; 0,5 a 1 hm. % a s CNC o koncentraci 0,5 hm. % (vlevo) a 1 hm. % (vpravo) v hmotnostním poměru CNC:GE 1:3 při pH 3 (nahore) a pH 6 (dole).....57

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1: Hodnoty charakterizující želatiny B1 a B5, kde M_w je hmotnostní průměr molárních hmotností a M_n početní průměr molárních hmotností.....	37
Tabulka 2: Navážky složek pro přípravu pracovního roztoku želatiny pro hmotnostní poměr 1:3.....	37
Tabulka 3: Navážky složek pro přípravu pracovního roztoku želatiny pro hmotnostní poměr 1:5.....	37
Tabulka 4: Přehled vzorků připravených v rámci studie.....	38