

Optimalizace přípravy ligninových nanočástic a jejich interakce s jinými částicemi na fázovém rozhraní

Bc. Michaela Kolářová

Diplomová práce
2025



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2024/2025

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Bc. Michaela Kolářová
Osobní číslo: T23242
Studijní program: N0711A130011 Biomateriály a kosmetika
Forma studia: Prezenční
Téma práce: Optimalizace přípravy ligninových částic a jejich interakce s jinými částicemi na fázovém rozhraní

Zásady pro vypracování

Teoretická část:

Zpracujte literární rešerši na zadané téma.

Zaměřte se na metody přípravy ligninových částic a parametry, které ovlivňují vlastnosti částic.

Věnujte se interakcím částic na fázovém rozhraní.

Diskutujte mechanismy stabilizace emulzí kombinací různých částic.

Praktická část:

V praktické části práce optimalizujte přípravu ligninových částic metodou precipitace antirozpouštědlem.

Sledujte vliv jednotlivých parametrů (pH, typ rozpouštědla ligninu, rychlost míchání) na vlastnosti ligninových částic.

Vhodnými technikami stanovte fyzikálně-chemické charakteristiky připravených částic.

Sledujte interakce částic na fázovém rozhraní.

Získané výsledky zpracujte a formulujte závěry práce.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] Beisl, S.; Miltner, A.; Friedl, A. Lignin from Micro-to Nanosize: Production Methods. *Int. J. Mol. Sci.* **2017**, *18*, 1244.
- [2] Agustin, M.B.; Nematollahi, N.; Bhattarai, M. et al. Lignin nanoparticles as co-stabilizers and modifiers of nanocellulose-based Pickering emulsions and foams. *Cellulose* **30**, 8955–8971 (2023).
- [3] Wei, Y.; Tong, Z.; Dai, L.; Ma, P.; Zhang, M.; Liu, J.; Mao, L.; Yuan, F.; Gao, Y. Novel colloidal particles and natural small molecular surfactants co-stabilized Pickering emulsions with hierarchical interfacial structure: Enhanced stability and controllable lipolysis. *J. Colloid Interface Sci.* **2020**, *563*, 291–307.
- [4] Andeme Ela, R. C.; Raza, S.; Heiden, P. A.; Vermaas, J. V.; Ong, R. G. Lignin Nanoparticle Morphology Depends on Polymer Properties and Solvent Composition: an Experimental and Computational Study. *ACS Appl. Polym. Mater.* **2022**, *4*, 6925–6935.

Vedoucí diplomové práce: **Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.**
Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce: **10. února 2025**
Termín odevzdání diplomové práce: **9. května 2025**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.
ředitel ústavu

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že

- odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění bez ohledu na výsledek obhajoby;
- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a bude dostupná k nahlédnutí;
- jedno vyhotovení diplomové práce v listinné podobě bude ponecháno Univerzitě Tomáše Bati ve Zlíně k uložení;
- na moji diplomovou 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 mohu užít své dílo – diplomovou 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 diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tj. k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá; neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Prohlašuji, že

- jsem na diplomové práci pracoval(a) samostatně a použitou literaturu jsem řádně citoval(a); v případě publikace výsledků budu uveden(a) jako spoluautor;
- odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně, dne

.....
podpis autora

ABSTRAKT

Tato diplomová práce se zabývá přípravou ligninových nanočástic a studiem jejich interakcí na fázových rozhraních. Lignin, jako hojně dostupný přírodní polymer s vysokým aplikačním potenciálem, je využit k tvorbě nanočástic metodou precipitace antirozpouštědlem. Cílem práce je optimalizovat klíčové parametry přípravy s ohledem na výslednou velikost nanočástic. Nanočástice jsou následně testovány v modelových emulzních systémech za účelem posouzení jejich schopnosti stabilizace mezifázového rozhraní olej-voda, a to samostatně i v kombinaci s dalšími typy částic. Experimenty prokazují, že ligninové nanočástice efektivně stabilizují Pickeringovy emulze a vykazují synergické interakce s jinými částicemi. Získané poznatky přispívají k rozšíření znalostí o využití ligninu v oblasti materiálových a enviromentálních aplikací a potvrzují jeho potenciál jako obnovitelné suroviny pro vývoj funkčních disperzních systémů.

Klíčová slova: lignin, nanočástice, mezifázové interakce, Pickeringovy emulze

ABSTRACT

This thesis deals with the preparation of lignin nanoparticles and the study of their interactions at the phase interfaces. Lignin, a widely available natural polymer with high application potential, is used to form nanoparticles by anti-solvent precipitation method. The aim of this work is to optimize key preparation parameters with respect to the resulting nanoparticle size. The nanoparticles are then tested in model emulsion systems to evaluate their ability to stabilize the oil-water interfacial interfaces, both independently and in combination with other particle types. Experiments demonstrate that lignin nanoparticles effectively stabilize Pickering emulsions and exhibit synergistic interactions with other particles. The obtained findings contribute to expand the knowledge on the use of lignin in materials and enviromental applications and confirm its potential as a renewable raw material for the development of functional dispersion systems.

Keywords: lignin, nanoparticles, interphase interaction, Pickering emulsion

Ráda bych na tomto místě poděkovala vedoucí mé diplomové práce paní Ing. Lucii Urbánkové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady, trpělivost, ochotu, a především za lidský přístup, který pro mě byl v průběhu celé práce oporou. Dále bych chtěla poděkovat paním laborantkám za trpělivý přístup a technickou pomoc během práce v laboratoři.

Velké díky také samozřejmě také patří mé rodině, a hlavně mé Melanie, za podporu, trpělivost a motivaci nejen při psaní této diplomové práce ale i po dobu celého studia.

OBSAH

ÚVOD.....	13
I TEORETICKÁ ČÁST	14
1 LIGNIN	15
1.1 TECHNICKÝ LIGNIN	17
1.1.1 Lignosulfonátový lignin	17
1.1.2 Kraft lignin	17
1.1.3 Organosolv lignin.....	18
1.1.4 Enzymatická hydrolýza lignin.....	18
1.1.5 Soda lignin	18
1.2 VLASTNOSTI LIGNINU	19
1.2.1 Blokace UV záření	19
1.2.2 Biomedicínské aplikace	19
2 LIGNINOVÉ NANOČÁSTICE	20
3 PŘÍPRAVA LIGNINOVÝCH NANOČÁSTIC	22
3.1 PRECIPITACE ANTIROZPOUŠTĚDLEM.....	22
3.2 SELF-ASSEMBLY	22
3.3 PROCES VÝMĚNY ROZPOUŠTĚDEL (DIALÝZA)	23
3.4 MEZIFÁZOVÉ ZESÍŤOVÁNÍ	24
3.5 SONIKACE LIGNINU	24
4 VYUŽITÍ LIGNINOVÝCH NANOČÁSTIC	25
4.1.1 Podávání léčiv	25
4.1.2 Hojení ran.....	26
4.1.3 Tkáňové inženýrství	26
5 PICKERINGOVY EMULZE.....	28
5.1 CHARAKTERIZACE PICKERINGOVÝCH EMULZÍ	29
5.2 STABILIZACE PEVNÝMI ČÁSTICEMI	30
5.3 PŘÍPRAVA PICKERINGOVÝCH EMULZÍ.....	31
5.3.1 Metoda vysokorychlostní homogenizace rotor-stator	31
5.3.2 Vysokotlaká homogenizace	31
5.3.3 Sonikace	31
5.4 VYUŽITÍ PICKERINGOVÝCH EMULZÍ	32
5.4.1 Kosmetické aplikace Pickeringových emulzí	32
6 INTERAKCE ČÁSTIC NA MEZIFÁZOVÉM ROZHRANÍ.....	33
6.1 KO-ADSORPCE.....	33
6.2 KOMPLEXACE.....	34
6.3 LAYER-BY-LAYER	34

7	SOUČASNÝ STAV DANÉ PROBLEMATIKY.....	36
II	PRAKTICKÁ ČÁST	38
8	CÍL PRÁCE	39
9	MATERIÁL A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ.....	40
9.1	POUŽITÉ MATERIÁLY A CHEMIKÁLIE	40
9.2	PŘÍSTROJE	40
10.1	PŘÍPRAVA ZÁSOBNÍCH ROZTOKŮ LIGNINU	41
10.2	PŘÍPRAVA LIGNINOVÝCH NANOČÁSTIC METODOU PRECIPITACE ANTIROZPOUŠTĚDLEM	41
10.2.1	Stanovení množství částic v disperzi.....	42
10.3	PŘÍPRAVA DISPERZÍ OXIDU TITANIČITÉHO A NANOKRYSTALICKÉ CELULOSY	42
10.4	CHARAKTERIZACE ČÁSTIC	42
10.4.1	Měření velikosti částic a zeta-potenciálu	42
10.4.2	Měření mezifázového napětí	44
10.5	PŘÍPRAVA EMULZÍ	44
10.6	CHARAKTERIZACE EMULZÍ	45
10.6.1	Měření velikosti emulzních kapek a zeta-potenciálu	45
10.6.2	Emulgační účinnost	45
10.6.3	Optická mikroskopie	46
11.1	LIGNINOVÉ NANOČÁSTICE	47
11.1.1	Optimalizace přípravy nanočástic ligninu – vliv rozpouštědla, poměru a rychlosti míchání	47
11.1.2	Vliv pH a iontové síly na velikost a zeta-potenciál částic.....	51
11.2	NANOKRYSTALICKÁ CELULOSA A ČÁSTICE OXIDU TITANIČITÉHO.....	54
11.3	MEZIFÁZOVÉ NAPĚTÍ ČÁSTIC	57
11.4	PICKERINGOVY EMULZE – PREFORMULAČNÍ STUDIE	58
11.4.1	Emulze stabilizované ligninovými nanočásticemi	58
11.4.2	Emulze stabilizované nanokrystalickou celulosou.....	61
11.4.3	Emulze stabilizované částicemi oxidu titaničitého	63
11.5	PICKERINGOVY EMULZE – EMULZE STABILIZOVANÉ DVĚMA TYPY ČÁSTIC	64
11.5.1	Emulze stabilizované ligninovými nanočásticemi a nanokrystalickou celulosou – pH 6.....	65
11.5.2	Emulze připravené pomocí částic oxidu titaničitého o pH 6.....	70
11.5.3	Emulze připravené pomocí částic nanokrystalické celulosy o pH 3	75
11.5.4	Emulze připravené pomocí částic oxidu titaničitého o pH 3.....	80
	ZÁVĚR.....	85
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	87
	SEZNAM OBRÁZKŮ	92
	SEZNAM TABULEK.....	95

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	96
---	-----------

ÚVOD

Dřevo je hlavním zdrojem ligninu na světě. Po celulóze je lignin druhým nejčastěji zastoupeným biopolymerem a představuje klíčovou složku buněčných stěn vyšších rostlin. Jako vedlejší produkt papírenského průmyslu a biorafinace je lignin doposud nedostatečně využívaným obnovitelným materiálem s významným aplikačním potenciálem. Jeho komplexní aromatická struktura, chemická variabilita a vysoký obsah funkčních skupin z něj činí atraktivní surovinu pro přípravu nanočástic, které lze dále využít v oblastech jako je potravinářství, environmentální inženýrství, kosmetika nebo farmacie, kde mohou sloužit jako nosiče léčiv s řízeným uvolňováním.

V posledních letech se pozornost výzkumu zaměřuje na vývoj ligninových nanočástic (LNP), které díky své velikosti, biokompatibilitě a schopnosti stabilizovat mezifázové rozhraní nabízejí uplatnění například při tvorbě Pickeringových emulzí. Právě stabilizace fázových rozhraní pomocí pevných částic je perspektivní alternativou ke klasickým surfaktantům, jelikož umožňuje tvorbu stabilních systémů bez potřeby využití syntetických látek zatěžující životní prostředí. Klíčovým faktorem pro praktické využití ligninových nanočástic v těchto systémech je však jejich reprodukovatelná příprava, optimalizace fyzikálně-chemických vlastností a pochopení jejich interakce s jinými částicemi na fázovém rozhraní.

Tato diplomová práce se zaměřuje na optimalizaci přípravy ligninových nanočástic s ohledem na jejich velikost, stabilitu a funkční vlastnosti. Dále bude zkoumána jejich schopnost interagovat s jinými částicemi na fázovém rozhraní, což je důležitý faktor pro vývoj vícefázových systémů s definovanými vlastnostmi. Výsledky této práce mohou přispět k hlubšímu porozumění chování ligninových nanočástic v komplexních disperzních systémech a jejich efektivnějšímu využití v praxi.

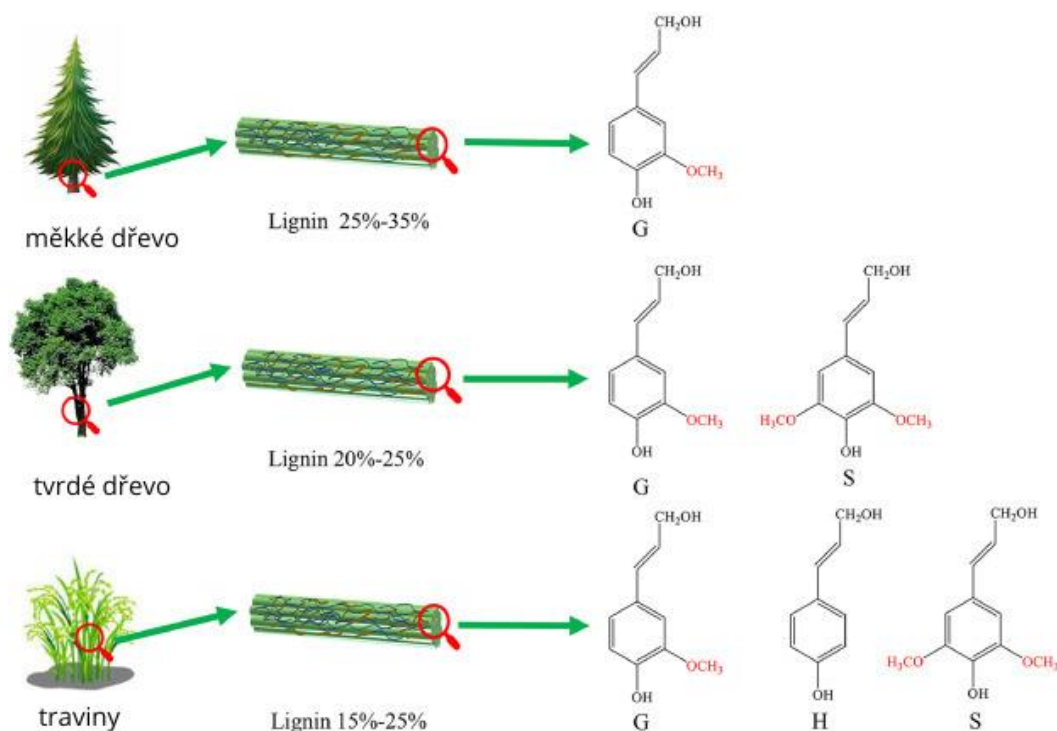
I TEORETICKÁ ČÁST

1 LIGNIN

Lignin je nejrozšířenějším aromatickým biopolymerem, který je nezbytnou složkou buněčných stěn rostlin a tvoří přibližně 20-30 % suché hmotnosti rostlinné biomasy. Tento biopolymer primárně přispívá ke strukturální integritě, tuhosti a hydrofobitě rostlinných buněk, díky čemuž je životně důležitý pro růst rostlin a ochranu před enviromentálními stresy, jako jsou mikrobiální útoky nebo ultrafialové záření.[1]

Lignin se v nativní formě nachází v bylinách a dřevinách a jeho obsah se u různých druhů rostlin liší. Záleží především na typu dřeva/rostliny, v měkkém dřevě je obsah ligninu 25–35 %, zatímco tvrdé dřevo obsahuje mezi 20 až 25 %. U travin obsah ligninu dosahuje rozmezí 15–25 %. Lignin tvoří 15–35 % lignocelulózové biomasy a je zároveň nejhojnější obnovitelná aromatická makromolekula na Zemi [2]. Je prokázáno, že hraje klíčovou roli při transportu vody a živin, zvyšování pevnosti a tuhosti dřeva [3].

Lignin je komplexní a vysoce rozvětvený polymer složený ze tří primárních fenylypropanových monomerů: p-hydroxyfenylyl (H), guaicylyl (G) a syringyl (S). Obsah primárních monomerů se liší v závislosti na rostlinném zdroji, kdy měkké dřevo obsahuje guaicylyl, tvrdé dřevo guaicylyl a syringyl a traviny obsahují všechny tři primární fenylypropanové monomery. Monomery ligninu podléhají náhodné polymeraci, což vede k vytvoření trojrozměrné a zesíťované struktury. Vazby mezi aromatickými monomery jsou převážně uhlík-uhlík a etherové vazby. Kromě těchto vazeb obsahuje lignin různé funkční skupiny, jako jsou methoxy ($-OCH_3$) a fenolické hydroxylové ($-OH$) skupiny připojené k aromatickému kruhu, stejně jako karbonylové skupiny ($-C=O$), alifatické hydroxylové skupiny ($-OH$) a dvojné vazby uhlík-uhlík ($C=C$) na postranních řetězcích. Tato strukturní rozmanitost přispívá k řadě žádoucích vlastností. Mezi něž patří antibakteriální, antioxidační, biokompatibilní vlastnosti a rovněž disponuje určitou ochranou proti ultrafialovému (UV) záření [2]. Je navíc amfipatický a vykazuje schopnost, samovolně se skládat do nanočástic s různými tvary jako jsou koule, agregáty, shluky, a jiné nepravidelné tvary, a to v závislosti na rozpouštědle a postupu přípravy.[3]



Obrázek 1 Obsah a složení ligninových monomerů z různých zdrojů, upraveno dle [2].

Historicky byl lignin považován za odpadní produkt celulóзовého a papírenského průmyslu. Avšak v posledních letech roste o lignin zájem pro jeho potenciál jako udržitelné a obnovitelné suroviny pro řadu aplikací. Opomenout se nesmí ani jeho biologická kompatibilita, biologická rozložitelnost a nízká toxicita, což z ligninu vytváří zajímavý materiál pro použití při výzkumu a vývoji nových farmaceutických a kosmetických produktů.[4] Jeho využití jako suroviny však může být omezeno kvůli jeho velmi složité a náhodné struktuře a nízké rozpustnosti ve vodě. V závislosti na těchto vlastnostech je výroba koloidních ligninových částic slibná strategie, vzhledem k jejich schopnosti změny na ve vodě dispergovatelné ligninové částice bez jakékoliv chemické modifikace. Kromě toho jejich velký povrch a tvar přispívají k vylepšení vlastností ligninu, zejména ke zvýšení antioxidační aktivity a UV ochrany, antimikrobiální účinnosti a tepelné stability. [5]

Lignin, známý jako technický lignin se získává především z rozvláknování lignocelulóзовé biomasy a biorafinérských procesů. Celosvětově se ročně vyrábí více než 50 milionů tun průmyslového ligninu ve formě černého louhu z rozvláknování. Většina alkalického a sulfátového ligninu se získává procesy, jako je odpařování a spalování, za účelem zpětného získání tepla a chemikálií. Některé liginosulfonáty se komerčně využívají jako aditiva, dispergační činidla a povrchově aktivní látky pro stavební materiály.[2]

1.1 Technický lignin

Podle procesu extrakce se lignin rozděluje na lignosulfonát, Kraft lignin, alkalický lignin a organosolv lignin. Struktura a vlastnosti ligninu jsou závislé nejen na extrakčním procesu, ale i na zdroji ligninu. Jednotlivé typy ligninu se budou lišit relativní molekulovou hmotností obsahem popela a síry, které významně ovlivňují jeho použití. Alkalický lignin pochází z tradiční alkalické buničiny, která je známá svou schopností využívat nedřevnaté rostliny jako suroviny pro výrobu papíru. Zvláštní pozornost přitahuje alkalický lignin bez obsahu síry.[2]

1.1.1 Lignosulfonátový lignin

Lignosulfonát se získává ze sulfitového procesu rozvlákňování. Tento typ ligninu obsahuje sulfonové skupiny, které spolu s dalšími hydrofilními skupinami, jako jsou karboxylové a fenolické hydroxylové skupiny, výrazně zlepšují rozpustnost lignosulfonátového ligninu ve vodě. Kromě toho tento typ ligninu obsahuje také hydrofobní skupiny, jako jsou alifatické a aromatické skupiny, což z něj činí aniontovou povrchově aktivní látku. Díky dobré rozpustnosti a určité povrchové aktivitě se lignosulfonátový lignin široce využívá v různých oblastech jako dispergátor barviv, dispergátor pro ropné vrty nebo dispergátor pesticidů. Výhodou této extrakce jsou široké zdroje surovin, nízké náklady a šetrnost k životnímu prostředí. Nevýhodou je však strukturální změna ligninu v důsledku tvorby nových C-C vazeb a nízká čistota po izolaci, kde se nachází vysoký obsah jiných nečistot.[6]

1.1.2 Kraft lignin

Kraft lignin se, na rozdíl od lignosulfonátového ligninu, získává procesem kraftového rozvlákňování, který tvoří přibližně 85 % průmyslového ligninu. Proces sulfátového rozvlákňování se provádí při vysokých hodnotách pH a vysokých teplotách. Nejprve se lignin předběžně upraví hydroxidem sodným a sulfidem sodným při teplotě asi 170 °C a pH hodnotách 13-14, což má za následek štěpení etherové vazby a zavedení fenolických hydroxylových skupin, a tím je umožněna solubilizace ligninu. Poté se lignin oddělí od zbývajících alkalických roztoků metodou srážení kyselinou např. kyselinou sírovou, která sníží hodnotu pH na 5-7,5. Ve srovnání s lignosulfonátovým ligninem má získaný kraft lignin vyšší čistotu díky nižšímu obsahu anorganických nečistot a sacharidových zbytků, ale obsahuje menší množství síry, a proto vykazuje horší rozpustnost ve vodě. Rozpouští se

pouze za alkalických podmínek, což ho činí neaktivním, pokud není chemicky upraven. Kraft lignin se využívá hlavně jako různé průmyslové dispergátory po chemických modifikacích a jako biochemikálie a biopaliva po chemické pyrolýze nebo degradaci.[6]

1.1.3 Organosolv lignin

Organosolv lignin se získává zpracováním lignocelulózové biomasy pomocí organických rozpouštědel jako delignifikačních činidel. Běžně používaná organická rozpouštědla jako jsou aceton, ethanol, methanol, tetrahydrofurfurylalkohol, dioxan, ethylenglykol, glycerol a organické kyseliny, se často mísí s vodou při teplotách 170-190 °C. Někdy se přidávají kyselé nebo zásadité katalyzátory, které pomáhají produkovat vysoce kvalitní lignin. Výsledný lignin má nižší molekulovou hmotnost a vyšší čistotu s nižším obsahem popela a sacharidů než lignin získaný jinými extrakčními metodami. Navíc neobsahuje síru a zachovává téměř nativní strukturu ligninu. I přes tyto výhody je však výroba organosolv ligninu ve velkém měřítku obtížná kvůli rozsáhle korozi zařízení a vysokým nákladům na rozpouštědla.[6]

1.1.4 Enzymatická hydrolýza lignin

Lignin získaný enzymatickou hydrolýzou se vyrábí procesem, při kterém celulózy a hemicelulózy degradují celulózu a hemicelulózu v biomase, zatímco lignin zůstává jako pevný nerozpustný zbytek. Tento proces je ekologicky a ekonomicky výhodný. Výsledné ligninové produkty jsou téměř bez síry a mají velmi nízkou rozpustnost ve vodě i v některých organických rozpouštědlech. Struktura těchto produktů je bližší nativnímu ligninu než jiným technickým ligninům. Enzymaticky hydrolyzovaný lignin obvykle obsahuje 65-80 % ligninu, spolu s dalšími složkami, jako jsou sacharidy, bílkoviny a popel. Využívá se v mnoha průmyslových aplikacích jako dispergační činidlo, pojivo, sorbent, emulgátor a při výrobě různých polymerních chemikálií.[6]

1.1.5 Soda lignin

Soda lignin (alkali lignin) se vyrábí procesem, kdy se lignocelulózová biomasa rozkládá přidáním vodných roztoků 13-16 % hydroxidu sodného a antrachinonu jako katalyzátoru při teplotách 140-170 °C. Kvůli oxidaci alifatických hydroxylových skupin má soda lignin vysoký obsah karboxylových kyselin, což ztěžuje jeho separaci filtrací nebo centrifugací. Tento lignin ovšem neobsahuje síru, což poskytuje výhody pro některé aplikace jako je výroba bioplastů nebo kompozitů.[6]

1.2 Vlastnosti ligninu

Lignin je všestranný a hojně se vyskytující polymer získaný z biomasy. Má širokou škálu vlastností, které z něj činí slibný materiál pro biotechnologické aplikace. Lignin má obrovský potenciál v biotechnologické a farmaceutické oblasti díky své biokompatibilitě, vysokému obsahu uhlíku, nízké toxicitě, schopnosti přeměny na kompozity, tepelné stabilitě, antioxidační aktivitě, blokaci UV a antimikrobiální aktivitě. Lignin je ekologickou alternativou k syntetickým plastům a materiálům na bázi fosilních paliv, a to hlavně díky své přirozené biologické rozložitelnosti a potenciálu udržitelnosti.[7]

1.2.1 Blokace UV záření

Lignin je známý svou schopností absorbovat UV záření díky přítomnosti funkčních skupin UV chromoforů, jako jsou chinony a methoxy – substituované fenoxyskupiny.[8] Kromě toho nenasycené funkční skupiny, včetně konjugovaných karbonylových skupin, aromatických kruhů a dvojných vazeb C-C, ligninu propůjčují jeho schopnost účinně zachycovat UV záření. Tato charakteristická vlastnost se využívá v kosmetice a výrobcích péče o pleť jako přírodní látka na ochranu proti slunečnímu záření.[7]

1.2.2 Biomedicínské aplikace

Lignin si v poslední době získal uznání pro svůj obrovský potenciál v oblasti léčiv a představuje velmi žádanou perspektivu pro drug-delivery systémy, genovou terapii a také jako pomocná farmaceutická látka. Ligninové částice mohou účinně zapouzdřit aktivní látky, chránit je před degradací a usnadnit cílený transport na místo účinku, čímž se nabízí jako skvělé řešení pro moderní lékové terapie.[9] Pomocné látky jsou jádrem farmaceutických přípravků. Lignin vykazuje potenciál pro formulaci tablet díky svým vazebným a dezintegračním vlastnostem. [10]

Dodávání genů nevirovými metodami se provádí kondenzací záporně nabitě DNA do kationtových polymerních částic, aby se usnadnila jejich endocytóza do buňky. Poly-L-lysin a polyethylenimin se běžně používají pro doručování genů, nicméně jejich toxicita pro buňky se zvyšuje se zvyšující se koncentrací.[11] V současnosti je řešena role ligninu jako prostředku pro přenos genů. Přestože nemá vazebná místa pro DNA, funkcionalizace s kationtovými polymery z něj činí potenciální transfekční činidlo.[12]

2 LIGNINOVÉ NANOČÁSTICE

Nanomateriál je přírodní nebo vyrobená částice obsahující neaktivní nebo aktivní látku v nenavázaném stavu jako agregát nebo aglomerát, kde 50 nebo více procent částic má alespoň jeden z jeho rozměrů v rozsahu velikostí 1-100 nm. Částice lze definovat jako nepatrný kus hmoty s definovanými hranicemi, aglomeráty jako soubor slabě vázaných částic a agregáty jako částici obsahující silně vázané nebo fúzované částice.[13]

Nanotechnologie převádějí materiály na velice malé velikosti, čímž materiál získává nové vlastnosti ve srovnání s jejich větší formou. Nové vlastnosti mohou být občas předvídatelné nebo mohou nanočástice vykazovat absolutně neočekávané fyzikální, chemické nebo biologické chování. [13]

V současnosti se nanomateriály využívají i v kosmetických přípravcích. Nařízení Evropské unie pro kosmetiku uvádí, že nanomateriál je „nerozpustný nebo bioperzistentní a záměrně vyrobený materiál s jedním nebo více vnějšími rozměry nebo vnitřní strukturou v rozsahu od 1 do 100 nm“, podle čehož se určité nestabilní třídy nanomateriálů, nemohou považovat za nanočástice.[14]

Nanotechnologie v kosmetickém průmyslu zahrnují výrobu produktů s povrchovými a epidermálními výhodami. Jako první produkty s nanočásticemi byly produkty na ochranu proti slunečnímu záření, které obsahovaly blokátory UV záření, jako je oxid zinečnatý a oxid titaničitý. Kosmetický průmysl začal zcela běžně využívat přísady v nanoměřítku pro produkty jako jsou opalovací krémy, zubní pasty, krémy proti stárnutí, stimulatory růstu vlasů nebo rtěnky. Postupem času se k seznamu používaných nanobiomateriálů v kosmetice přidaly transportní systémy, jako jsou liposomy, etanosomy, nanosomy, nanoperly, nanohouby atd. Účinky, které lze od těchto ingrediencí očekávat jsou lepší dispergovatelnost, lepší přilnutí ke kůži, zlepšená textura, lepší penetrace a ochrana citlivých a těkavých aktivních látek.[13]

V současnosti se výzkum zaměřuje na zlepšení vlastností a funkcí ligninu, např. pomocí nanotechnologií a zelené chemie, což vede k výrobě nanočástic ligninu (lignin nanoparticles; LNP) s lepšími fyzikálními a chemickými vlastnostmi.[15]

Nanočástice ligninu jsou považovány za ekologický způsob využití obnovitelných zdrojů pro použití v různých oblastech, vzhledem k tomu, že jde o levný materiál, který je snadno dostupný a biologicky odbouratelný.[16]

LNP mohou být vyrobeny metodami jako precipitace antirozpouštědlem, srážení kyselinou, sonikací nebo jejich kombinací, ale tyto metody mohou vést k tomu, že nanočástice budou obsahovat zbytková organická rozpouštědla, což může představovat enviromentální problémy. Navíc tyto metody často spoléhají na nákladné materiály a zařízení, přičemž zařízení jako ultrazvuk jsou obtížně přizpůsobitelné pro velkovýrobu.[15]

Vznik nanočástic ligninu otevírá nové možnosti pro jeho využití. Nanočástice ligninu mají vyšší reaktivitu, větší povrch a zlepšenou kompatibilitu. Tyto vlastnosti poskytují potenciální strategii pro částečnou kompenzaci přirozených strukturálních nedostatků ligninu. [2]

Ligninové částice byl rovněž zkoumány jako emulgátory v různých emulzních systémech typu olej ve vodě (O/V). Voskové emulze se běžně používají v systémech pro dodávání léčiv ve farmaceutickém, kosmetickém a potravinářském průmyslu, stejně jako při tvorbě superhydrofobních povlaků.[4]

I když je lignin obecně považován za bezpečný a biodegradabilní, nanočástice mohou představovat větší riziko toxicity pro člověka a životní prostředí než větší makro- nebo mikročástice. Díky své menší velikosti mohou LNP snadněji pronikat biologickými membránami, což může vést k oxidačnímu stresu, tvorbě reaktivních forem kyslíku (ROS) a následnému poškození DNA, peroxidaci lipidů nebo buněčné smrti. Pro řešení těchto problémů je zásadní přijmout principy zelené chemie při syntéze LNP.[15]

3 PŘÍPRAVA LIGNINOVÝCH NANOČÁSTIC

Ligninové nanočástice mají potenciál pro různé aplikace díky jejich vlastnostem jako je ochrana vůči ultrafialovému záření, antioxidační aktivitě, a využití pro čištění vody díky své všestranné chemické struktuře.[17] Existuje několik metod pro přípravu LNP, jako je precipitace rozpouštědlem, proces samouspořádání (self-assembly), ultrazvuk, výměna rozpouštědla (dialýza) a polymerace. Ligninové nanočástice získané různými přístupy se výrazně liší velikostí a morfologií.[2]

3.1 Precipitace antirozpouštědlem

Metoda precipitace antirozpouštědlem zahrnuje zavedení dalšího rozpouštědla po kapkách do roztoku ligninu. Používá se srážedlo (antirozpouštědlo), ve kterém není lignin rozpustný, úkolem antirozpouštědla je rychle změnit polaritu roztoku ligninu, snížit jeho rozpustnost, tak aby nastalo srážení částic. K rozpuštění ligninu se používají organická rozpouštědla jako je tetrahydrofuran, dimethylsulfoxid, ethanol a aceton. Jako antirozpouštědlo se běžně používá voda, což způsobuje, že inherentní fenolické hydroxylové a potenciální karboxylové skupiny ligninu jsou pravděpodobně více vystaveny na povrchu částic, což částicím poskytuje povrchový náboj. Následně se vytvoří struktura dvojité elektrické vrstvy a vzájemná elektrostatická interakce přispívá ke zvýšení dlouhodobé stability částic. [2]

Výsledné nanočástice vykazují vynikající stabilitu po dobu více než dvou měsíců. Kromě toho se precipitace antirozpouštědlem vyznačuje rychlou přípravou, což ukazuje na rychlou nukleaci a růst nanočástic ligninu. V důsledku toho mají částice ligninu obvykle menší velikost. Současně, smyková síla generovaná při vysokorychlostním míchání zrychluje pohyb částic, podporuje kinetickou stabilitu, rychlou nukleaci a precipitaci. Výhodou této metody je její jednoduchost a rychlost.[2, 18]

3.2 Self-assembly

Self-assembly metoda umožňuje molekulám spontánně vytvářet uspořádané struktury prostřednictvím nekovalentních interakcí, jako jsou hydrofobní interakce a van der Waalsovy síly. Molekulární struktura ligninových nanočástic ukazuje řadu dalších interakcí, jako je vodíková vazba s jejich fenolickými nebo karboxylovými skupinami, nebo π - π interakce založené na kvadrupólových interakcích mezi delokalizovanými elektrony v aromatických kruzích a jejich kombinace.

Pro přípravu částic procesem self-assembly je nejrozšířenějším způsobem kyselé srážení. Kyselé srážení spočívá v rozpuštění ligninu v organickém rozpouštědle nebo alkalickém roztoku. Přidáním roztoku kyseliny chlorovodíkové, kyseliny sírové nebo kyseliny fosforečné dojde ke snížení hodnoty pH, což má za následek srážení molekul ligninu do nanočástic.[19] Rozdíly v obsahu fenolických hydroxylových a karboxylových skupin v ligninových frakcích určují tvorbu vodíkových vazeb, distribuci povrchového náboje a hydrofilitu/hydrofobicitu. Výsledkem je, že výsledné nanočástice ligninu vykazují různé velikosti a morfologii, které jsou ovlivněné elektrostatickými interakcemi, hydrofobními silami a vodíkovými vazbami. Navíc rozdíly ve strukturních jednotkách chemických vazeb a molekulové hmotnosti mezi ligninovými typy přispívají k variacím sterické zábrany, což má za následek širší distribuci velikostí částic a různé morfologie v LNP. Kondenzovaný lignin s vysokou molekulovou hmotností poskytuje více kotevních bodů pro self-assembly, především posílením hydrofobních interakcí. Metoda samouspořádání se dosud příliš nerozvinula, právě kvůli heterogenitě chemické struktury ligninu.[2]

3.3 Proces výměny rozpouštědel (dialýza)

Proces výměny rozpouštědel zahrnuje tvorbu ligninových nanočástic zavedením rozpouštědla, ve kterém má lignin nízkou rozpustnost. Hlavní rozdíl mezi metodou výměny rozpouštědla a metodou precipitace spočívá v řízení výměny rozpouštědel. U této metody se pro přípravu částic využívá dialyzační membrána, která při výměně rozpouštědla poskytuje lepší kontrolu nad koncentrací disperze nanočástic ve srovnání s metodou precipitace, kde se roztok ligninu přidává do antirozpouštědla po kapkách. Velikost a morfologie částic závisí na rozpouštědle použitém k rozpuštění ligninu před krokem výměny rozpouštědla. [2]

Rozpouštědla s vysokou počáteční rozpustností pro lignin pravděpodobně produkují homogenní sférické částice. To je způsobeno rychlou změnou polarity, když lignin přechází z vysoké rozpustnosti na nízkou, což vede k rychlému vysrážení nanočástic. Naopak rozpouštědla s nízkou počáteční rozpustností ligninu pravděpodobně vytvoří granule a vločky. Tento jev může být důsledkem toho, že se ligninové nanočástice vysrážejí do jader a procházejí souběžným růstem, což vede ke složitějším strukturám. Proces výměny rozpouštědla je stále ve fázi výzkumu ale získal značnou pozornost díky své schopnosti řídit velikost a morfologii částic.[2]

3.4 Mezifázové zesít'ování

Tento proces zahrnuje zesít'ování látek prostřednictvím molekulárních interakcí s vícefunkčními síťovacími činidly na mezifázovém rozhraní. Chemické reakce mezi aktivními skupinami biomolekul vytvářejí strukturně stabilní produkty budováním molekulárních vazeb. Obecně je olejová fáze ve vodném roztoku ligninu emulgována a následně lignin působením síťovacího činidla prochází adiční reakcí na mezifázovém rozhraní, což vede k tvorbě ligninových nanočástic, které mají strukturu plášť-jádro, a jejich výhodou může být jejich využití pro enkapsulaci. [2]

Typ síťovacího činidla je rozhodujícím faktorem ovlivňujícím velikost částic. Použití amfifilního síťovacího činidla podporuje adiční reakce, čímž je podpořen růst částic. Zvýšení množství síťovacího činidla v určitém rozmezí pozitivně přispívá ke zvýšení velikosti částic. Další faktor, který ovlivňuje velikost částic je typ olejové fáze.[2]

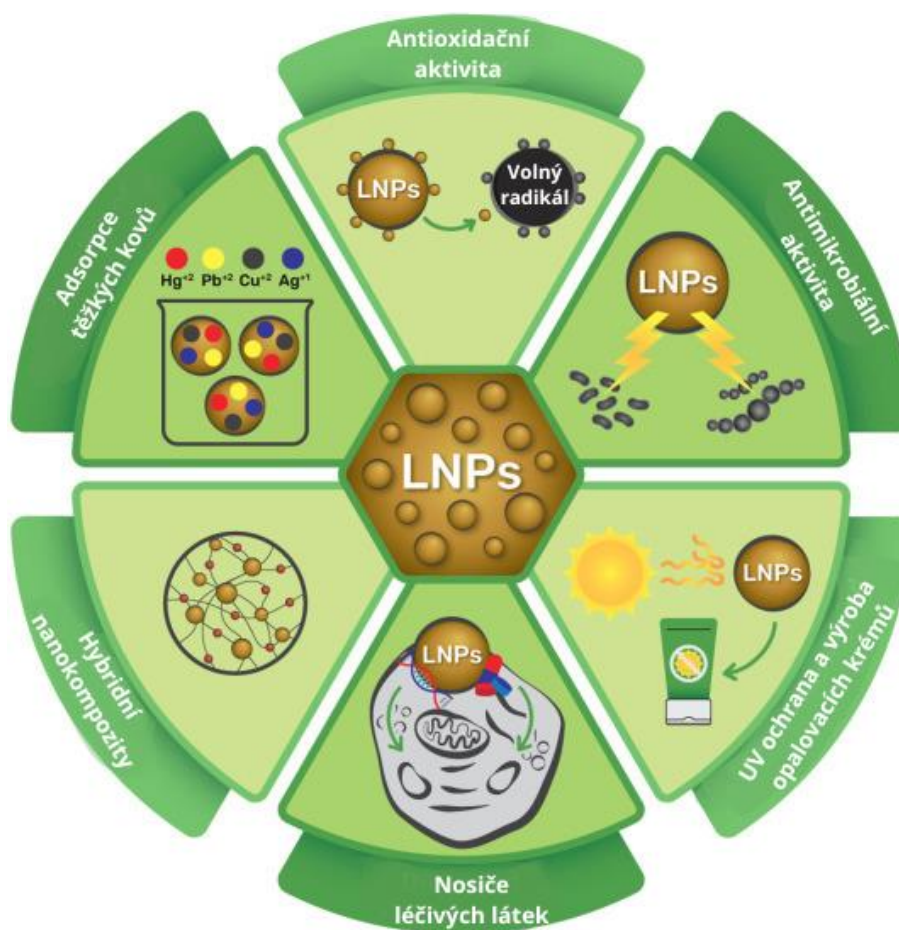
3.5 Sonikace ligninu

Sonikace ligninu využívá vysoce intenzivní ultrazvukovou energii k vyvolání kavitace s vysokou teplotou a tlakem. Ultrazvuková kavitace způsobuje rozklad polymeru, rozbití chemických vazeb a tvorbu volných radikálů v důsledku generovaných smykových a kompresních sil během ultrazvukového procesu. Makromolekulární lignin se rozkládá na nízkomolekulární lignin, což vede ke zmenšení velikosti částic ligninu s lepší stabilitou, např. nižší sedimentací. [2]

Distribuce velikosti částic LNP získaných z procesu sonikace je obvykle užší. Zvýšení počtu sonikačních cyklů může účinně zúžit velikost částic a zlepšit jejich stabilitu.[20] To je přičítáno otevření většího množství chemických vazeb během sonikace, což vede k tvorbě ligninových nanočástic s menší velikostí. Současně dochází k tvorbě více hydroxylových skupin, což potenciálně zlepšuje disperzní efekt a stabilitu nanočástic. Ultrazvukové ošetření také snižuje rozsah intermolekulárních vodíkových vazeb, což ovlivňuje agregační chování mezi částicemi. S rostoucím využitím ultrazvukové technologie se sonikace ukazuje jako slibný proces.[2]

4 VYUŽITÍ LIGNINOVÝCH NANOČÁSTIC

Přesto, že je lignin vedlejším a odpadním produktem celulózového a papírenského průmyslu, má vysoký potenciál při přípravě nových materiálů. Nízká rozpustnost, reakce na změnu pH, blokace UV záření a vysoká stabilita umožňuje využití ligninu v biomedicíně pro systém dodávání léčiv, regeneraci tkání a nosiče aktivních látek.[21] Kromě toho lze lignin využít také v kosmetických aplikacích, jako jsou krémy blokující UV záření nebo dispergátory.[22]



Obrázek 2 Možnosti využití ligninových nanočástic, upraveno dle [16].

4.1.1 Podávání léčiv

Ligninové částice mohou sloužit jako přirozené drug-delivery systémy, díky jejich biokompatibilitě, biologické rozložitelnosti, nízké imunogenicitě a antibakteriálním vlastnostem. Přirozené drug-delivery systémy často umožňují prodloužené a pomalé uvolňování účinných látek v závislosti na terapeutických požadavcích.[22] Ligninové nanočástice a materiály z nich vyrobeny vykazují významně odlišné a jedinečné vlastnosti, jako je enkapsulace a kontrolované uvolňování látky na základě specifických spouštěčů.[7]

Ligninové nanočástice mají potenciál efektivně a bezpečně transportovat léky do cílových buněk s minimálním poškozením zdravých buněk.[2] Existuje několik studií, které naznačují, že částice ligninu mohou být vhodné pro cílenou léčbu nádorových onemocnění. Ligninové částice mohou být použity taky v genové terapii. Tento postup může vyžadovat modifikaci ligninové struktury pro vytvoření specifických míst, která mohou přitahovat molekulu DNA.[22]

4.1.2 Hojení ran

Chronické rány, jako vážná poranění kůže nebo popáleniny, představují výzvu pro výzkum procesu hojení ran a často vedou k neúplnému obnovení funkce tkáně.[2] Ligninové nanočástice díky svému vysoce specifickému povrchu vykazují zvýšenou interakci s buňkami a jejich antibakteriální vlastnosti navíc zabraňují bakteriální kontaminaci ran. Tyto vlastnosti vedou k vývoji pokročilých způsobů a materiálů k hojení ran.[23] Kombinace ligninových nanočástic, a jejich pozitivních vlastností, s ionty stříbra zvyšuje antimikrobiální aktivitu obvazů pro eliminaci patogenů.[24]

K hojení ran byly vyvinuty také multifunkční hydrogely obsahující ligninové nanočástice. Ty mají schopnost podporovat adhezi a proliferaci buněk a regeneraci kožní tkáně. Kromě toho mohou ligninové nanočástice vázat další účinné látky jako jsou alkaloidy, terpenoidy, flavonoidy, aby se zvýšila efektivita obvazů na rány. [25]

4.1.3 Tkáňové inženýrství

Tradiční metody opravy tkání často vyžadují obětování zdravých tkání a mohou vést k zánětu a odmítnutí imunitním systémem. Tkáňové inženýrství nabízí slibnou alternativu vzhledem k využití biokompatibilních a biologicky odbouratelných polymerů k opravě, nahrazení a vylepšení specifických tkání prostřednictvím kultivace in vitro.[26] Ligninové nanočástice, které se vyznačují dobrými mechanickými vlastnostmi, jednoduchými metodami syntézy a necytotoxicitou mají potenciál pro aplikace v tkáňovém inženýrství. Bohaté funkční skupiny ligninu propůjčují ligninovým nanočásticím skvělou schopnost zachycovat volné radikály, což je klíčová vlastnost, při řešení onemocnění jako je například osteoartróza.[27]

V posledních letech si v oblasti tkáňového inženýrství získaly pozornost dva deriváty ligninových nanočástic, a to nanovláknenné scaffoldy a hydrogely. Díky podobnému chemickému složení a požadované fyzikální struktuře jako extracelulární matrice mohou

nanovláknenné scaffoldy podporovat chondrogenní diferenciaci a růst axonů.[2] Hydrogely mohou zachytit velké množství vody ve svých polymerních strukturách a vykazují podobné vlastnosti jako prostředí proximální tkáně.[28]

5 PICKERINGOVY EMULZE

Emulze je disperzní systém dvou nemísitelných kapalin, kdy kapičky jedné z kapalin jsou dispergovány v kapalině druhé, za pomoci emulgačního činidla, nejčastěji povrchově aktivní látky. Pickeringova emulze je vícefázový disperzní systém, který je stabilizován pevnými částicemi namísto povrchově aktivních polymerů nebo povrchově aktivních látek s nízkou molární hmotností. V porovnání s tradičními protějšky vyžaduje tvorba Pickeringových emulzí relativně nízkou energii a vykazuje vysokou odolnost vůči koalescenci. Mají charakteristické vlastnosti a příznivý dopad na životní prostředí vzhledem k tomu, že se nepoužívají žádné povrchově aktivní látky. Všestrannost Pickeringových emulzí umožňuje široké použití v oblastech souvisejících s kosmetikou, potravinami, získáváním ropy a dodáváním léků. Mechanismus stabilizace Pickeringových emulzí je dán kombinací několika faktorů včetně elektrostatického odpuzování, stabilizace rozhraní pomocí pevných částic, sterických efektů, účinku adsorbovaných mezifázových vrstev a hydrofobních interakcí. Což vede k vynikající stabilitě za různých podmínek, jako jsou podmínky definované iontovou silou a pH.[29]

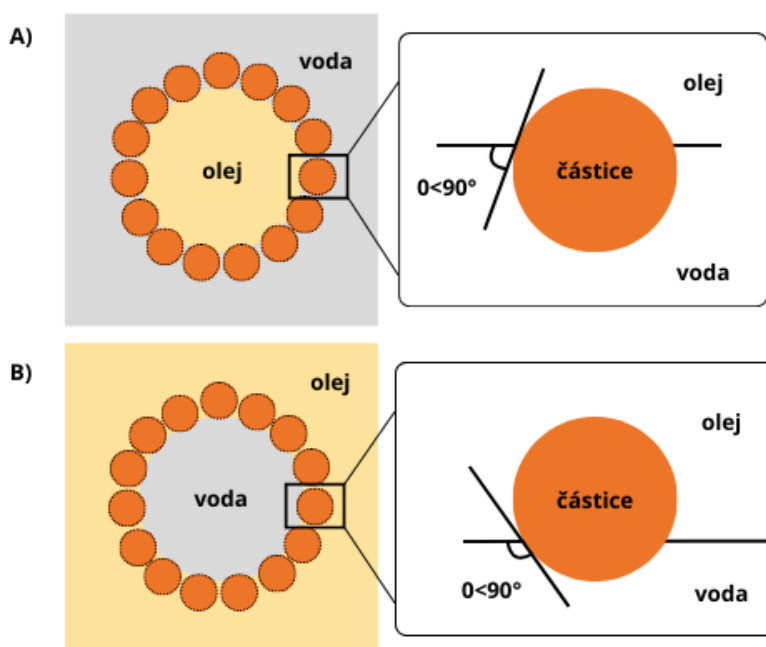
Stabilizátory Pickeringova typu jsou pevné částice, které se používají ke stabilizaci fázového rozhraní olej/voda. Tyto částice mohou zlepšit koloidní stabilitu emulzí zvýšením odolnosti vůči flokulaci a koalescenci, a modulací reologických vlastností. Pickeringovy stabilizátory jsou podle původu klasifikovány na biologické nebo syntetické. Pickeringovy stabilizátory na syntetické bázi, jako je oxid křemičitý, nebo polymerní částice, jsou typicky upravené částice se specifickými povrchovými vlastnostmi, které je činí vhodné pro stabilizaci emulzí a v poslední době přitahují pozornost díky schopnosti stabilizovat emulze bez použití povrchově aktivních látek. Biologické Pickeringovy emulgátory pocházejí z různých zdrojů jako je nanocelulóza, chitosan, škrob anebo právě lignin.[4]

Lignin má, díky své amfifilní struktuře, potenciál stabilizovat emulze prostřednictvím adsorpce na rozhraní olej/voda. Přeměnou ligninu na nanočástice se může významně zvýšit jeho emulzní stabilizační schopnost prostřednictvím Pickeringovy stabilizace. [4]

Jednou z významných výhod Pickeringových emulzí je jejich schopnost enkapsulovat hydrofilní i hydrofobní látky současně, což zvyšuje biologickou dostupnost a účinnost enkapsulovaných účinných látek.[30] Například v systémech dodávání léčiv, se využívají emulze stabilizované pevnými částicemi, které dosahují trvalého a cíleného uvolňování terapeutických látek a zároveň zajišťují vysokou biologickou bezpečnost.[31]

5.1 Charakterizace Pickeringových emulzí

Úspěšná příprava Pickeringových emulzí závisí na smáčivosti, koncentraci, velikosti, hustotě a tvaru částic, pH vodné fáze a také přítomnosti aditiv. Smáčivost pevných částic použitých v Pickeringových emulzích je rozhodující pro jejich funkci na rozhraní olej-voda a lze ji kvantifikovat měřením kontaktního úhlu mezi částicí a rozhraním. Smáčivost částic v olejové nebo vodné fázi určuje typ emulze (olej-voda O/V nebo voda-olej V/O). Částice, které mají kontaktní úhel menší než 90° , mají tendenci tvořit emulze O/V díky svému hydrofilnějšímu charakteru a naopak částice, které mají kontaktní úhel větší než 90° , mají tendenci tvořit emulze V/O.[32]



Obrázek 3 kontaktní úhel na fázovém rozhraní A) Pevná částice na rozhraní kapky s kontaktním úhlem menším než 90° , což odpovídá tvorbě emulze O/V B) Pevná částice na rozhraní kapky s kontaktním úhlem větším než 90° , což odpovídá tvorbě emulze V/O, upraveno dle [32].

Mechanismus tvorby Pickeringových emulzí zahrnuje homogenizaci vodné fáze a částic. Ke stabilizaci těchto emulzí dochází díky vytvoření trojrozměrné sítě složené z pevných částic v kontinuální fázi. V rámci této sítě je olejová fáze zachována, díky čemuž se zabrání koalescenci, sedimentaci nebo krémování. Rozpad Pickeringových emulzí nastává, když dojde k defektům, jako jsou praskliny nebo mezery ve vrstvě částic ohraničující kapičky oleje, což vede k rozpadu emulzních kapek, a následné koalescenci.[32]

Nanočásticemi stabilizované Pickeringovy emulze si získaly pozornost díky své pozoruhodné stabilitě. Jejich výhodou je vyšší stabilita emulze za různých experimentálních

podmínek a to, že mohou být po extrakčních procesech jednoduše deemulgované, zejména pokud jsou použité nanočástice magnetické.[32]

5.2 Stabilizace pevnými částicemi

Stabilizace emulzí vyžaduje překonání termodynamické nestability vyplívající z vysokého mezifázového napětí mezi dvěma nemísitelnými kapalinami a vysoké volné energie systému. To je možné pouze správnou volbou podmínek emulgace, včetně koncentrace stabilizátoru a doby a rychlosti míchání. V případě Pickeringových emulzí dochází k stabilizaci v důsledku adsorpce koloidních částic na rozhraní kapalina/kapalina. Na rozdíl od použití povrchově aktivní látky ke stabilizaci emulzí, adsorpce částic není spojena pouze se snížením mezifázového napětí mezi dvěma kapalinami, ale také následnou minimalizací volné energie systému a tvorby vrstvy částic, které tvoří fyzickou bariéru, která brání kontaktu mezi sousedními kapičkami. Tím se zvyšuje odolnost proti koalescenci kapek a lze proto očekávat zvýšení stability emulze.[33]

Účinnost částic pro stabilizaci emulzí závisí mimo jiné na velikosti, tvaru, koncentraci a smáčivosti částic a také na interakcích mezi částicemi.[34] Koncentrace částic je důležitým parametrem určujícím vlastnosti částicemi stabilizovaných emulzí. Čím větší je koncentrace částic, tím menší je rozměr kapiček dispergované fáze. Pokud je však koncentrace částic nad maximální hodnotou, mohou se objevit agregační a sedimentační jevy, které podporují destabilizaci emulze. Stabilitu emulze a velikost dispergovaných kapiček ovlivňuje rovněž i velikost částic. Zvětšení velikosti částic může vést ke zvětšení velikosti dispergovaných kapiček. Stabilitu emulzí mohou dále ovlivňovat faktory jako je tvar částic, náboj částic, nebo třeba podmínky prostředí jako je pH nebo iontová síla.[33]

Jako stabilizátory emulzí O/V nebo V/O se používá velká škála částic včetně oxidů železa, hydroxidů, oxidu křemičitého nebo jílu. Smáčivost může být změněna adsorpcí vhodných povrchově aktivních látek, což v některých případech vede k inverzi emulzní fáze.[34]

Existují nejméně dva mechanismy, kterými koloidní částice stabilizují emulze. V jednom případě je potřeba, aby se částice adsorbovaly a zůstaly na rozhraní olej-voda a vytvořily bariéru kolem dispergovaných kapek, který brání koalescenci. V druhém případě dochází k stabilizaci, když jsou interakce částic takové, že se v kontinuální fázi obklopující kapky vyvine trojrozměrná síť částic. Tento typ stabilizace se objevuje zejména v systémech stabilizovaných částicemi jílu.[34]

5.3 Příprava Pickeringových emulzí

K přípravě Pickeringových emulzí lze využít metod k výrobě klasických emulzí. Pickeringovy emulze lze připravit pomocí emulgačních technik jako je vysokorychlostní homogenizace, vysokotlaká homogenizace a sonikace.[32]

5.3.1 Metoda vysokorychlostní homogenizace rotor-stator

Metoda vysokorychlostní homogenizace rotor-stator využívá rotačního pohybu lopatek homogenizátoru, což způsobuje, že je kapalina tažena na jeden konec směsi a vypuzen vysokou rychlostí otvory, což podporuje rychlou homogenizaci a vytváří malé kapičky Pickeringových emulzí. Platí, že čím vyšší jsou otáčky v procesu emulgace, tím menší jsou výsledné kapičky, což zvětšuje mezifázovou plochu, snižuje napětí a zvyšuje stabilitu. Mezi parametry ovlivňující velikost kapiček emulze patří rychlost otáčení a doba homogenizace. Homogenizátory rotor-stator mají různé výhody jako je snadná instalace, snadné použití, nízké investiční náklady, rychlost procesu a čištění zařízení. Kromě toho tyto homogenizátory umožňují přípravu velkých objemů emulze.[32]

5.3.2 Vysokotlaká homogenizace

Vysokotlaká homogenizace je kontinuální emulgační proces, který se nejčastěji používá k přípravě Pickeringových. Zařízení obsahuje vysokotlaký ventil, který způsobuje, že je jedna z kapalin rovnoměrně transformovaná a dispergovaná ve formě malých kapiček uvnitř druhé. Vysokotlaká homogenizace je účinným způsobem, jak rozbít olejovou a vodnou fázi za vzniku drobných kapiček emulze. Studie ukázaly, že kapičky vzniklé vysokotlakou homogenizací jsou ve srovnání s kapičkami vytvořenými vysokorychlostní homogenizací rotor-stator, menší. Vysokotlaká homogenizace má výhody, jako je schopnost produkovat malé a rovnoměrné kapky. Velikost kapek může být řízena během procesu emulgace velikostí tlaku nebo počtem homogenizačních cyklů. Tato metoda je sice v průmyslu, v procesu kontinuální emulgace, nejpoužívanější, ale při přípravě Pickeringových emulzí není tolik využívána pravděpodobně kvůli její ceně a riziku degradace během procesu.[32]

5.3.3 Sonikace

Další metodou pro výrobu Pickeringových emulzí je využití ultrazvuku. Tato metoda využívá kavitace, která způsobuje rozpad kapek a lze ji definovat jako rychlou tvorbu a kolaps bublin v kapalině. Ultrazvuková energie je koncentrována v blízkosti sondy, což

způsobuje kavitaci, a může připravit emulzi s menšími kapičkami. Sonickými vlnami je ovlivněna pouze malá oblast tekutiny v blízkosti sondy, což lze překonat mícháním emulze ve stejnou dobu, kdy je sonikována. [32]

5.4 Využití Pickeringových emulzí

Pickeringovy emulze přitáhly pozornost díky rozvoji technik syntézy částic a objevů nových koloidů s nastavitelnými povrchovými vlastnostmi, stability, a především biokompatibilitou stabilizátorů částic.[32]

5.4.1 Kosmetické aplikace Pickeringových emulzí

Pickeringovy emulze nabízejí mnoho atraktivních vlastností, jako je stabilita, snadná tvorba, kontrolovatelná velikost kapek a možnost chemické modifikace, což otevírá široké spektrum aplikací. V poslední době získaly velkou pozornost díky jejich potenciálnímu využití v kosmetických přípravcích a produktech osobní péče, jako jsou hydratační krémy, opalovací krémy, bělicí produkty, produkty proti stárnutí, deodoranty a produkty pro péči o vlasy. To je výsledkem poptávky spotřebitelů po ekologicky udržitelnějších a bezpečnějších produktech a potřeby průmyslu vyrábět levné a ekologické produkty. Použití Pickeringových emulzí v kosmetice může také přispět k lepšímu šíření a pronikání formulací do cílového kosmetického substrátu.[35]

Použití Pickeringových emulzí pro enkapsulaci různých účinných látek v kosmetice získalo zájem díky schopnosti ochrany před degradací, zvýšení biologické dostupnosti látek a řízeného dodávání.[36]

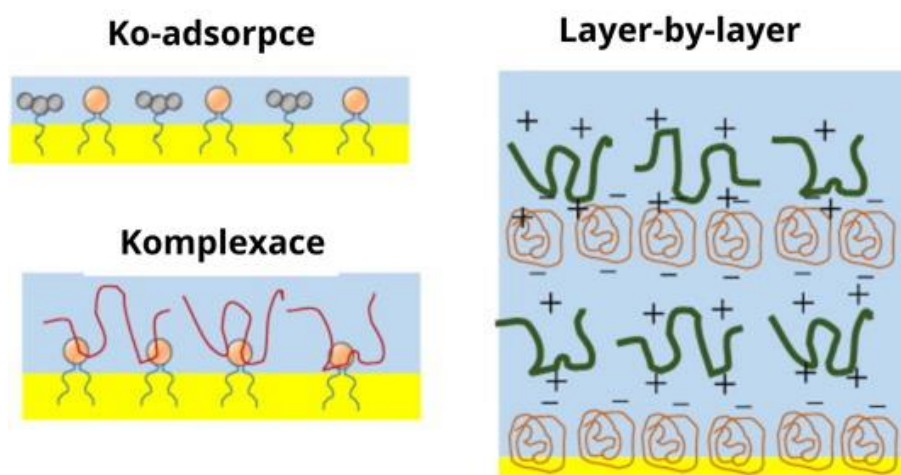
Využití Pickeringových emulzí pro kosmetické účely může přispět k odstranění nebo alespoň snížení toxicity a podráždění, které mohou vznikat při použití konvenčních povrchově aktivních látek. Zároveň mohou přispět ke zvýšení odolnosti kapiček, což může být dobrou volbou pro zabudování, postupné uvolňování a transdermální adsorpci účinných látek.[37] Vývoj Pickeringových emulzí pro kosmetické aplikace je však omezen kvůli omezenému počtu dostupných studií zabývajících se použitím kosmeticky přijatelných sloučenin.[33]

6 INTERAKCE ČÁSTIC NA MEZIFÁZOVÉM ROZHRAŇÍ

Omezené vlastnosti konvenčních emulgátorů vedly k intenzivnímu výzkumu zaměřenému na nalezení alternativních metod stabilizace emulzí, včetně vývoje nových strategií emulgace. Jednou z možností je využití přírodních emulgátorů, které mohou v kombinaci s jinými emulgátory vykazovat synergický efekt při stabilizaci emulzí. V případě použití dvou různých stabilizačních látek dochází k preferenčnímu pokrytí rozhraní olej-voda tou látkou, která má vyšší povrchovou aktivitu.

Komplexy proteinů a polysacharidů nacházejí široké uplatnění v praxi, například při stabilizaci a tvorbě struktur. Kombinací různých typů těchto látek lze dosáhnout výrazně lepších a specifických emulgačních vlastností, než jaké poskytují jednotlivé složky samostatně. Proteinové emulgátory bývají zpravidla účinnější při tvorbě jemných olejových kapek, neboť vykazují vyšší povrchovou aktivitu a rychleji se adsorbují na rozhraní oproti polysacharidům. [38]

Emulgátory lze použít v kombinaci pomocí řady různých přístupů, jak je zobrazeno na Obrázku 4. Mezi tyto přístupy patří ko-adsorpce, komplexace nebo layer-by-layer stabilizace.



Obrázek 4 Schematické znázornění různých druhů smíšených mezifázových vrstev, které mohou být vytvořeny na povrchu olejové fáze pro stabilizaci emulzí, upraveno dle [39].

6.1 Ko-adsorpce

V tomto případě jsou oba emulgátory adsorbovány na povrch olejových kapiček jako jednotlivé molekuly. Výsledné rozhraní se může skládat z homogenní směsi dvou různých emulgátorů, nebo může mít oblasti bohaté na jeden emulgátor bez přítomnosti druhého

stabilizátoru. Emulgátory mohou být začleněny do systému před homogenizací jejich dispergací v olejové anebo vodné fázi. Případně může být jeden emulgátor přidán před homogenizací a druhý emulgátor přidán po homogenizaci. Celkové složení rozhraní bude záviset na relativní afinitě obou emulgátorů k rozhraní olej-voda, stejně jako na jejich relativních koncentracích.[36][40]

6.2 Komplexace

V případě komplexace tvoří dvě látky komplex prostřednictvím interakcí jako je elektrostatická síla, vodíková vazba, kovalentní vazba nebo hydrofobní síla. Komplexy mohou vznikat před nebo po homogenizaci. Před homogenizací se obě složky smíchají ve vodné fázi za vzniku komplexu a poté se vodná fáze homogenizuje s olejovou fází. Ve druhém případě se jedna ze složek použije k vytvoření emulze a poté se přidá druhá složka k vytvoření komplexu.[36][41]

Zhang a kol. se zabývali přípravou Pickeringových emulzí stabilizovaných komplexem částic chitosanu a polystyrenu a sledovali jejich stabilitu. Připravili emulze stabilizované samostatně částicemi chitosanu a částicemi polystyrenu. Emulze stabilizovaná částicemi chitosanu byla velice nestabilní a rychle se rozdělila do dvou fází. V případě emulze stabilizované částicemi polystyrenu byla získána hrubá emulze a došlo k silné flokulaci kapiček emulze. Emulze stabilizované komplexem částic chitosanu a polystyrenu byly naopak vysoce stabilní, s malými kapičkami a úzkou distribucí velikosti kapiček.[42]

6.3 Layer-by-layer

Emulze se připravuje společnou homogenizací oleje, vody a emulgátoru. Použitý emulgátor by měl obsahovat ionizovatelné skupiny, aby kapičky ohraničené emulgátorem měly elektrický náboj. Tato emulze se poté smíchá s emulgátorem, který má opačný náboj než emulgátor v již připravené emulzi, což způsobí, že se elektrostatickou silou adsorbuje na povrch kapiček. Výsledná vícevrstvá emulze má typicky opačný náboj než původní emulze. Proces elektrostatické depozice lze několikrát opakovat, aby se kolem kapiček vytvořila řada vrstev, což může zlepšit stabilitu. Nicméně složení a struktura systému musí být pečlivě kontrolována během procesu elektrostatické depozice, aby nedošlo k agregaci kapek.[36][43]

Emulze typu layer-by-layer vzbuzují značný zájem díky svému potenciálu pro enkapsulaci v nanoměřítku, schopnosti chránit emulze před vlivy prostředí a zlepšovat jejich

stabilitu vůči změnám pH, iontové síly a teploty. Překážkou při přípravě těchto emulzí je však jejich náchylnost k výrazné flokulaci. [38]

Sarkar a kol. zkoumali Pickeringovy emulze stabilizované částicemi proteinu laktoferrinu a polysacharidu inulinu a jejich dopad na žaludeční stabilitu *in vitro*. Primární emulze byla stabilizována negativně nabitými částicemi laktoferrinu, inulinové částice s pozitivním nábojem vytvořily díky elektrostatické interakci na mezifázovém rozhraní sekundární vrstvu, která vytvořila ochrannou bariéru, která zpomaluje trávení emulzí v žaludku.[44]

7 SOUČASNÝ STAV DANÉ PROBLEMATIKY

V současné době představuje lignin atraktivní surovinu zejména díky tomu, že pochází z obnovitelných zdrojů, biokompatibilitě a bohatému obsahu funkčních skupin, které umožňují široké spektrum chemických modifikací. Vzhledem k těmto vlastnostem se lignin stále častěji využívá jako výchozí materiál pro syntézu nanočástic, v rámci udržitelných přístupů ke zpracování biomasy. Ligninové nanočástice nacházejí uplatnění v různých oblastech jako je kosmetický a farmaceutický průmysl, při stabilizaci emulzí nebo jako nosiče aktivních látek.[7]

Jednou z nejzajímavějších oblastí aplikace ligninových nanočástic je jejich schopnost stabilizovat vícefázové systémy, zejména Pickeringovy emulze. Ligninové nanočástice, na rozdíl od klasických emulgátorů, tvoří rozhraní mezi dvěma fázemi díky své částečné hydrofobicitě/hydrofilitě, bez potřeby syntetických povrchově aktivních látek. Což je obzvláště atraktivní pro kosmetický a potravinářský průmysl, kde se klade důraz na přírodní složky a ekologii.[2] Stabilita těchto emulzí je ovlivněna velikostí, povrchovými vlastnostmi a koncentrací nanočástic. Důležitou roli má také schopnost adsorpce částic na rozhraní, která závisí na jejich tvaru, povrchové energii a zeta-potenciálu. Povrchové vlastnosti ligninových nanočástic lze dále modifikovat například esterifikací, čímž se změní jejich afinita k olejové či vodné fázi a tím je ovlivněno výsledné chování emulze.[33]

Tao a kol. prokázali, že kombinací ligninových nanočástic a nanočástic zeinu dochází k posílení stability Pickeringových emulzí. Pomocí ligninových nanočástic bylo možné připravit emulze na bázi zeinových nanočástic se sníženou velikostí kapek, zvýšenou gelovitostí a zvýšenou stabilitou. Mechanismus působení ligninových částic byl prisuzován jeho komplexaci se zeinovými nanočásticemi prostřednictvím elektrostatické přitažlivosti, která zvýšila smáčivost zeinových nanočástic a tím podpořila mezifázovou adsorpci zeinových nanočástic.[45]

Agustin a kol. využili ligninové nanočástice jako kostabilizátory a modifikátory Pickeringových emulzí. Byl prokázán potenciál ligninových nanočástic jako kostabilizátorů Pickeringových emulzí na bázi nanocelulózy. Využití ligninových nanočástic umožňuje přizpůsobení vlastností a stability Pickeringových emulzí bez potřeby další chemické modifikace pro úpravu vlastností nanocelulózy.[46]

Lignin vykazuje velký potenciál v různých oblastech, jako je konzervace potravin, UV ochrana, čištění odpadních vod apod. Možnosti využití se nachází také v biomedicínských aplikacích jako jsou nosiče léčiv, hojení ran nebo antibakteriální léčba. V tomto směru je třeba komplexního patotoxikologického výzkumu. Současné studie se často spoléhají na zjednodušené biologické a cytotoxické testy, které nereplikují složité systémy prostředí lidského těla.[2]

II PRAKTICKÁ ČÁST

8 CÍL PRÁCE

Tato diplomová práce na téma „Optimalizace přípravy ligninových nanočástic a jejich interakce s jinými částicemi na fázovém rozhraní“ se zaměřuje na zpracování literární rešerše týkající se metod přípravy ligninových nanočástic a jejich využití. V této části byla věnována pozornost také Pickeringovým emulzím, jejich stabilizaci a také interakcím částic na fázovém rozhraní.

Cílem experimentální části práce byla příprava ligninových nanočástic metodou precipitace antirozpouštědlem, příprava Pickeringových emulzí a následná charakterizace dostupnými metodami. Byly sledovány rovněž interakce ligninových nanočástic s nanokrystalickou celulosou nebo oxidem titaničitým na rozhraní olej-voda.

9 MATERIÁL A PŘÍSTROJOVÉ VYBAVENÍ

Následující seznamy uvádějí přehled materiálů a metod použitých při zpracování experimentální části této diplomové práce.

9.1 Použité materiály a chemikálie

- Alkalický lignin (Sigma aldrich)
- Ethanol 96 % (EtOH)
- Tetrahydrofuran (THF, PENTA)
- Kyselina chlorovodíková 1M (HCl)
- Hydroxid sodný 1M (NaOH)
- Chlorid sodný (NaCl)
- Chlorid vápenatý (CaCl₂)
- Oxid titaničitý, rutil (TiO₂, Sigma Aldrich)
- Nanokrystalická celulóza (CNC, CelluForce)
- Saboderm TCC RSPO MB (Acetradex)
- Demineralizovaná voda

9.2 Přístroje

- Analytické váhy (PR Series Precision, OHAUS)
- Laboratorní centrifuga (EBA 20, Hettich)
- pH metr CPH 51 (Elteo)
- Elektromagnetická míchačka (Helidolph MR Hei-Standard)
- Sušárna Memmert (Verkon)
- Ultrazvukový sonikátor (UP400St Hielscher Ultrasonics)
- Analyzátor velikosti částic Zetasizer (Nano ZS90 Malvern)
- Optický tenziometr Theta Attension (Biolin Scientific)
- Mastersizer 3000 (Malvern)
- Optický mikroskop (Olympus CX21)

10 POSTUP PRÁCE

V následující části bude popsána příprava ligninových nanočástic a disperzí nanokrystalické celulosy a oxidu titaničitého, s jejich následnou charakterizací. Dále bude popsána příprava emulzí stabilizovaných částicemi a metody využité pro jejich charakterizaci.

10.1 Příprava zásobních roztoků ligninu

Pro rozpuštění ligninu a přípravu zásobních roztoků byla použita organická rozpouštědla, konkrétně ethanol (EtOH) 96 % a tetrahydrofuran (THF), v poměru 90:10 s demineralizovanou vodou, voda byla přidána kvůli lepší rozpustnosti ligninu. Lignin byl navážen a rozpuštěn ve směsi rozpouštědlo/voda (EtOH/H₂O a THF/H₂O) tak, aby výsledná koncentrace ligninu byla 5 mg/ml. Takto připravený zásobní roztok byl míchán na elektromagnetické míchačce po dobu 24 hodin. Poté byl roztok zcentrifugován při 6000 rpm po dobu 5 minut pro to, aby se oddělila rozpustná frakce od nerozpustného ligninu. Množství nerozpuštěného ligninu bylo stanoveno vážkovou analýzou a rozpustná frakce byla sonikována po 1 minutu. EtOH a THF byly použity kvůli jejich rozdílné polaritě, různá rozpouštědla ovlivňují vlastnosti částic jako jejich velikost či morfologie.[47]

10.2 Příprava ligninových nanočástic metodou precipitace

antirozpouštědlem

Jako antirozpouštědlo pro přípravu ligninových nanočástic byla použita demineralizovaná voda, která byla přefiltrována přes filtrační nástavec (0,2 µm) na injekční stříkačku, pro dosažení co možná největší čistoty. Voda byla upravena pomocí 1M HCl a 1M NaOH na hodnotu pH 6. Příprava ligninových nanočástic metodou precipitace antirozpouštědlem spočívala v přikapávání zásobního roztoku ligninu pomocí injekční stříkačky do demineralizované vody o pH 6, přičemž se celý systém míchal různou rychlostí na elektromagnetickém míchadle. Byly sledovány 2 parametry ovlivňující vlastnosti částic, a to poměr ligninu a antirozpouštědla, druhým parametrem byla rychlost míchání. Částice byly připraveny ve třech různých poměrech zásobního roztoku ligninu a antirozpouštědla 1:1, 1:2 a 1:3 a při třech různých rychlostech míchání (rozsah otáček míchadla byl 80–1500 rpm, použité stupně otáčení byly 2, 5 a 7). V dalším kroku bylo odpařeno rozpouštědlo ve vodní lázni za zvýšené teploty. Získané disperze částic byly následně sonikovány po dobu 1 min při 60 % amplitudě.

10.2.1 Stanovení množství částic v disperzi

Pro další charakterizaci částic a přípravu emulzí bylo důležité zjistit koncentraci částic v připravených vzorcích. Množství ligninových částic ve vzorcích bylo stanoveno na základě hmotnosti získané po odstranění vody ze vzorku sušením. Obsah částic byl určen z hmotnostního úbytku vzorku pro vysušení při definované teplotě až do dosažení konstantní hmotnosti. Pro měření byly použity čisté, vysušené a předem zvážené váženky, do kterých byl navážen 1 g vzorku. Sušení probíhalo při teplotě 103 °C, kdy vzorky byly váženy v určitých časových intervalech, až do dosažení konstantní hmotnosti. Koncentrace částic byla vypočítána dle vzorce:

$$c = \frac{m_2}{m_1}$$

m_1 – hmotnost vzorku před vysušením [g]

m_2 – hmotnost vzorku po vysušení [g]

c – koncentrace částic v disperzi [mg/g]

10.3 Příprava disperzí oxidu titaničitého a nanokrystalické celulosy

Pro sledování interakce ligninových částic s jinými částicemi na mezifázovém rozhraní byly vybrány částice oxidu titaničitého a nanokrystalické celulosy. Tyto částice byly připraveny jako 1 % disperze TiO_2 a CNC v demineralizované vodě. Disperze byla po dobu 2 hodin míchána a následně byla disperze TiO_2 zesonikována po dobu 30 minut a disperze CNC 3x 1 minutu, kdy v obou případech probíhala sonikace při 60 % amplitudě.

10.4 Charakterizace částic

Pomocí přístroje Zetasizer Malvern Nano ZS 90 byla změřena velikost částic a zeta-potenciál připravených ligninových nanočástic a disperzí TiO_2 a CNC. Také byl sledován vliv iontové síly a hodnoty pH na velikost připravených částic. Dále bylo měřeno mezifázové napětí disperzí částic s olejovou fází na optickém tenziometru Theta Attension.

10.4.1 Měření velikosti částic a zeta-potenciálu

Přístroj Zetasizer Malvern Nano ZS 90 pro stanovení velikosti částic a zeta-potenciálu pracuje na principu dynamického rozptylu světla.

Vzorky pro měření byly připraveny tak, že do kyvety bylo napipetováno příslušné množství daných disperzí částic a vody dle tabulky 1. Výsledná velikost částic je průměrem tří měření.

Tabulka 1 Množství částic a demineralizované vody použité při měření na zetasizeru

Typ částic	Množství disperze částic [μ l]	Množství demineralizované vody [μ l]
LNP	200	1000
TiO ₂	200	1000
CNC	200	1000

Zeta-potenciál slouží k určení povrchového náboje nanočástic v roztoku na základě jejich pohyblivosti mezi dvěma elektrodami. Tento parametr je klíčový pro posouzení elektrostatické stability disperzí. Obecně platí, že pokud zeta-potenciál dosahuje hodnot méně než -30 mV nebo více než +30 mV, jsou částice považovány za stabilní, jelikož se navzájem silně odpuzují a nedochází k jejich agregaci.[48]

Zeta-potenciál byl proměřen u částic a následně i u připravených emulzí. Vzorky byly měřeny ve speciálních kyvetách pro měření zeta-potenciálu (DTS1070) do kterých byl nadávkován vzorek. Výsledný zeta-potenciál částic je průměrem tří měření.

Obdobným způsobem byly změřeny i vzorky pro sledování vlivu pH a iontové síly na velikost a zeta-potenciál částic.

Pro stanovení vlivu pH na velikost a zeta-potenciál nanočástic (LNP, CNC, TiO₂) byla destilovaná voda upravena na hodnoty pH v rozsahu 2 až 8. Ke stanovení vlivu iontové síly byly připraven roztok NaCl v koncentrační řadě 20-1000 mM a CaCl₂ v koncentrační řadě 20-100 mM. Vzorky pro měření byly připraveny tak, že do plastové kyvety bylo napipetováno příslušné množství daných částic dle tabulky 2.

Tabulka 2 Množství částic a roztoků NaCl / CaCl₂ použité při měření vlivu iontové síly a hodnoty pH

Typ částic	Množství disperze částic [μl]	Množství roztoku NaCl / CaCl ₂ [μl]
LNP	200	1000
TiO ₂	200	1000
CNC	200	1000

10.4.2 Měření mezifázového napětí

Mezifázové napětí mezi olejovou fází a vodnými disperzemi částic, bylo stanoveno pomocí metody visící kapky na optickém tenziometru Attention Theta (Biolin Scientific, Finsko). Snímek kapky byl zaznamenán černobílou digitální kamerou a mezifázové napětí bylo získáno prokládáním tvaru kapky Young-Laplaceovou rovnicí. Kapka byla vytvořena pomocí jehly z nerezové oceli o tloušťce 0,178 mm. Pro měření mezifázového napětí byla připravena koncentrační řada roztoků ligninových nanočástic 0,1; 0,12; 0,2; 0,22; 0,3; 0,32; 0,4 a pro CNC a TiO₂ 0,1; 0,12; 0,2; 0,22; 0,3; 0,32 mg/ml. Uvedené hodnoty jsou průměrem ze 3 měření.

10.5 Příprava emulzí

Pro přípravu a stabilizaci emulzí typu O/V byly využity jak připravené ligninové nanočástice, tak disperze TiO₂ a CNC. Jako olejová fáze byl zvolen Saboderm TTC RSPO MB, což je olej složený z triglyceridu se střední délkou řetězce mastných kyselin (trikaprin/trikaprylin), označený jako MCT olej.

Prvním krokem byla preformulační studie, která spočívala v přípravě emulzí v poměrech O/V 10:90, 20:80, 30:70, 40:60, které byly stabilizovány koncentracemi částic 0,05 %, 0,1 %, 0,2 %, celková hmotnost emulze byla 10 g. Emulgace probíhala sonikací po dobu 1 minuty při 60 % amplitudě.

Dále byly připraveny emulze typu O/V v poměru fází 20:80 obsahující jak ligninové nanočástice, tak částice TiO₂ nebo CNC o celkové koncentraci částic 0,05 % a 0,1 %. Emulze byly připraveny při pH 6 a pH 3. K přípravě těchto emulzí byly využity 3 způsoby přípravy, které byly označeny jako A, B a C.

Způsob A spočíval v navážení 2 g oleje, 4 g disperze ligninových nanočástic a 4 g disperze částic TiO_2/CNC a jejich následné sonikace po 1 minutu při 60 % amplitudě.

Při způsobu B byly jako první naváženy 2 g oleje a 4 g disperze ligninových nanočástic, tato primární emulze B-PE byla sonikována po dobu 1 minuty (amplituda 60 %), poté byly přidány 4 g disperze částic TiO_2/CNC , a systém byl opět sonikován při 60 % amplitudě po dobu 20 sekund (finální emulze, B-E).

Způsob C spočíval v navážení 2 g oleje a 4 g disperze částic TiO_2/CNC a jejich sonikace po dobu 1 minuty (amplituda 60 %), následně byly k primární emulzi (C-PE) přidány 4 g disperze ligninových nanočástic a opět sonikovány po dobu 20 sekund při 60 % amplitudě (finální emulze, C-E).

10.6 Charakterizace emulzí

Emulze připravené v preformulační studii byly vizuálně pozorovány mikroskopem a také byl sledován zeta-potenciál a emulgační účinnost. U emulzí stabilizovaných kombinací částic byl sledován vliv způsobu přípravy (A, B, C), koncentrace částic (0,05 a 0,1 %), typu částic (TiO_2 nebo CNC) a pH (3 a 6) na vlastnosti emulzí, jako je velikost emulzních kapek a zeta-potenciál. Dále byla stanovena emulgační účinnost a pomocí optického mikroskopu také mikrostruktura emulzí.

10.6.1 Měření velikosti emulzních kapek a zeta-potenciálu

Měření velikosti emulzních kapek probíhalo pomocí přístroje Mastersizer 3000. Přístroj využívá principu laserové difrakce, kde dochází k interakci částic s laserovým paprskem a na principu světelné difrakce je získán difrakční obrazec. Měření probíhá v měrné cele, naplněné demineralizovanou vodou, s míchadlem, s nastavenými 2000 ot. /min., zajišťující rozmíchání vzorku při měření. Výsledné hodnoty jsou průměrem tří měření.

Měření zeta-potenciálu opět probíhalo na přístroji Zetasizer Malvern Nano ZS 90 v poměru 1000 μl demineralizované vody a 3 μl vzorku emulze. Výsledné hodnoty jsou průměrem tří měření.

10.6.2 Emulgační účinnost

Emulgační účinnost je zásadní vlastnost emulzních systémů a představuje schopnost stabilizátoru emulgovat olejovou fázi. Tuto schopnost může ovlivňovat metoda přípravy emulzí, pH hodnota složek emulze nebo koncentrace stabilizujících částic.

Nezaemulgovaný olej přítomný v emulzích byl stanoven tak, že vzorky byly zcentrifugovány při 3000 ot./min. po dobu 2 minut, nezaemulgovaný olej byl odebrán a zvážen na analytických vahách.

Emulgační účinnost byla vypočtena podle vztahu:

$$EE = 100 - \left(\frac{m_o \cdot 100}{m_1} \right)$$

EE – emulgační účinnost [%]

m_1 – celková hmotnost olejové fáze [g]

m_o – hmotnost nezaemulgovaného oleje [g]

10.6.3 Optická mikroskopie

K určení mikrostruktury byly připravené emulze mikroskopicky pozorovány pomocí optického mikroskopu Olympus CX21. Na podložní sklíčko bylo nanášeno 10 μ l emulze, která byla překryta krycím sklíčkem a pozorována při zvětšení 40x. Pořízené snímky byly upraveny pomocí softwaru ImageJ.

11 VÝSLEDKY A DISKUZE

11.1 Ligninové nanočástice

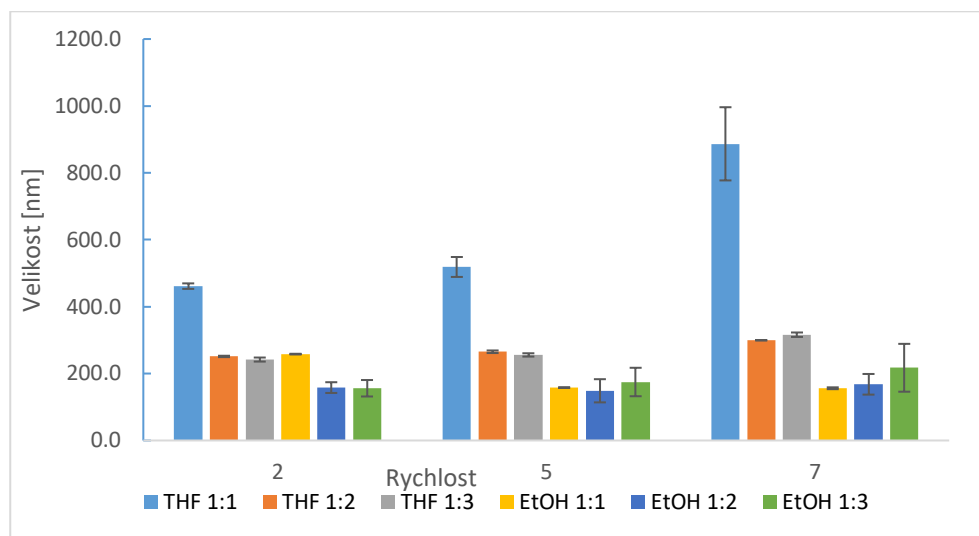
Ligninové částice byly připraveny metodou precipitace antirozpouštědlem, přičemž lignin byl rozpuštěn ve dvou různých rozpouštědlech, což mělo vliv na velikost částic a jejich zeta-potenciál. Kromě toho měly na vlastnosti částic vliv také rychlost míchání, a poměr rozpouštědla a antirozpouštědla při jejich přípravě. Pomocí vážkové analýzy byla po každé přípravě částic stanovena jejich koncentrace, pohybující se mezi 0,2 až 0,4 %. Ligninové nanočástice byly připravovány opakovaně v závislosti na vývoji postupu práce a po každé byla ověřena jejich velikost, pohybující se u ligninových nanočástic připravených ze zásobního roztoku ligninu v ethanolu (LNP-EtOH) v rozsahu 200 až 300 nm, u ligninových nanočástic připravených ze zásobního roztoku ligninu v tetrahydrofuranu (LNP-THF) byla velikost vyšší, pohybovala se v rozmezí 850 až 1050 nm. Stejně tak byl ověřen i zeta-potenciál, který se u částic LNP-EtOH pohyboval mezi -35 až -50 mV, a u částic LNP-THF mezi hodnotami -40 až -60 mV.

11.1.1 Optimalizace přípravy nanočástic ligninu – vliv rozpouštědla, poměru a rychlosti míchání

K přípravě ligninových nanočástic byla jako rozpouštědlo použita směs voda s ethanolem (EtOH), a voda s tetrahydrofuranem (THF) v poměru 10:90. Jako antirozpouštědlo byla použita demineralizovaná voda o pH 6.

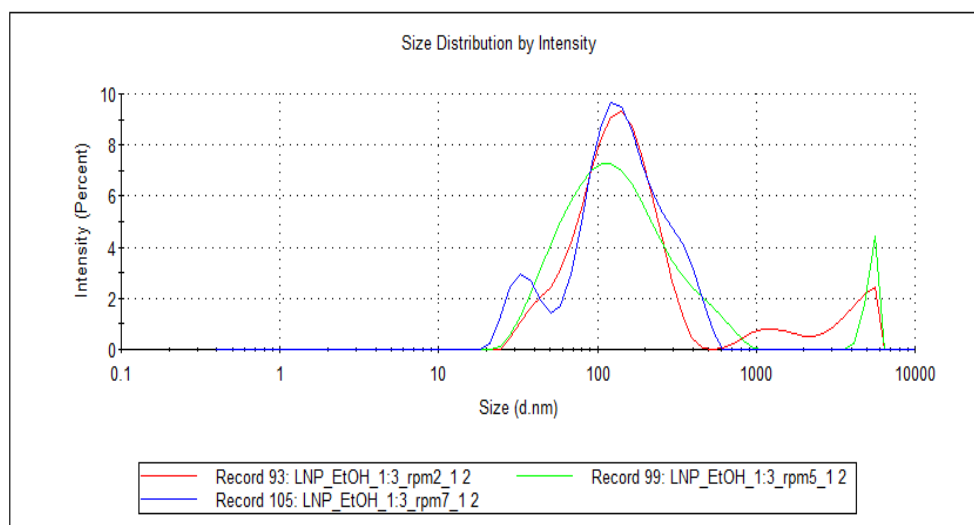
Příprava ligninových nanočástic probíhala v poměrech zásobního roztoku ligninu s antirozpouštědlem 1:1, 1:2, 1:3 a při rychlostech míchání 2, 5 a 7. Velikosti takto připravených částic jsou porovnány na Obrázku 5. Částice připravené z ligninu rozpuštěného v THF (LNP-THF) mají obecně větší velikost částic, což je dáno charakterem rozpouštědla, které je nepolární a rozpouští jiné frakce ligninu než EtOH.[47] Částice LNP-EtOH vznikají procesem „self-assembly“ (samospřádáním), kdy hnací silou tohoto procesu jsou π - π mezi aromatickými kruhy ligninu.[49] Největší velikost částic lze pozorovat u LNP-THF v poměru 1:1 rychlost 7 (886 nm) a naopak částice LNP-EtOH měly nejmenší velikost (149 nm) a vznikly přípravou v poměru 1:2 a rychlosti míchání 5. Dále je z Obrázku 5 viditelné, že rychlost míchání 7 při přípravě měla za následek zvětšení velikosti částic. Velikost částic ligninu rozpuštěného v THF lze zmenšit modifikací výchozí suroviny, pokud se lignin upraví acetylací, tak výsledné částice mají velikosti přibližně 100 nm, tak jak ve své studii zjistili

Qian a kol.[50] Li a kol. ve své práci připravovali ligninové nanočástice přikapáváním vody do ligninu rozpuštěného v EtOH, velikost částic byla přibližně 200–300 nm. [51]

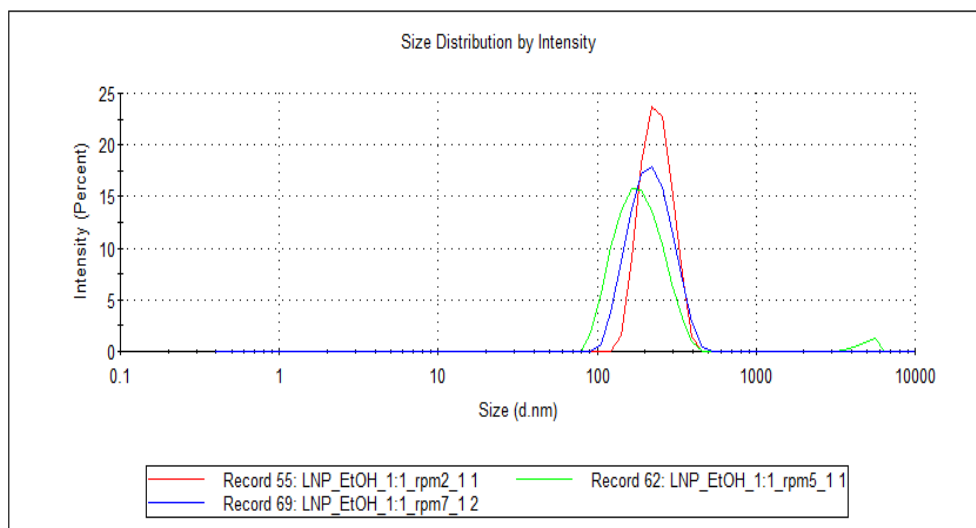


Obrázek 5 Vliv rozpouštědla, poměru a rychlosti míchání na velikost částic

Jako jeden z parametrů byl sledován vliv poměru lignin/antirozpouštědlo na distribuce částic. Při srovnání distribucí LNP-EtOH (obrázek 6 a 7) připravených v poměru 1:3 a 1:1 je viditelný jasný rozdíl. Částice LNP-EtOH v poměru 1:3 (obrázek 6) jsou více polydisperzní, a z distribučních křivek lze vidět, že vznikají i velké částice nebo agregáty o velikosti nad 5000 nm, které jsou mimo měřicí rozsah přístroje. Naopak v případě LNP-EtOH v poměru 1:1 (obrázek 7) lze pozorovat, že distribuce částic je monomodální, a to ve všech rychlostech míchání, kdy velikost částic při rychlosti 2 a 7 dosahuje velikosti 220 nm a při rychlosti 5 velikosti 164 nm.

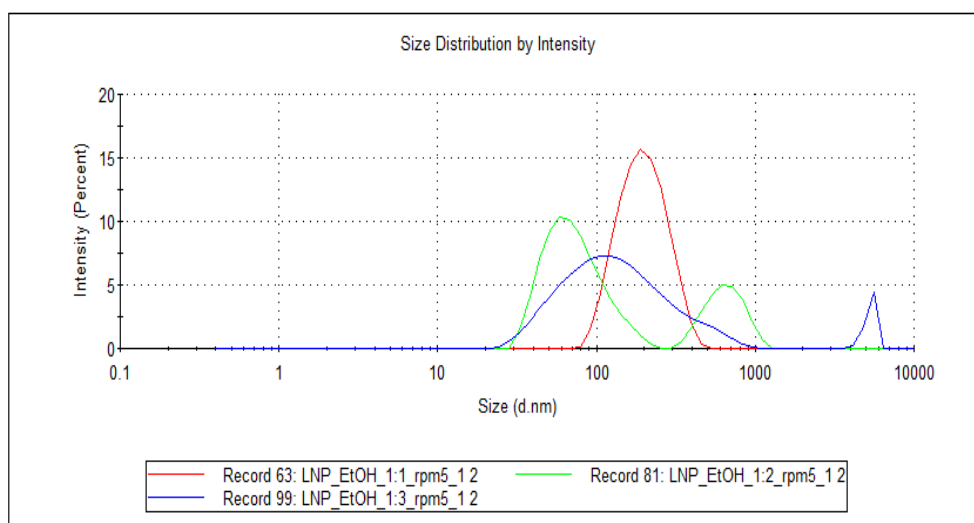


Obrázek 6 Distribuční křivka LNP-EtOH v poměru 1:3 v různých rychlostech

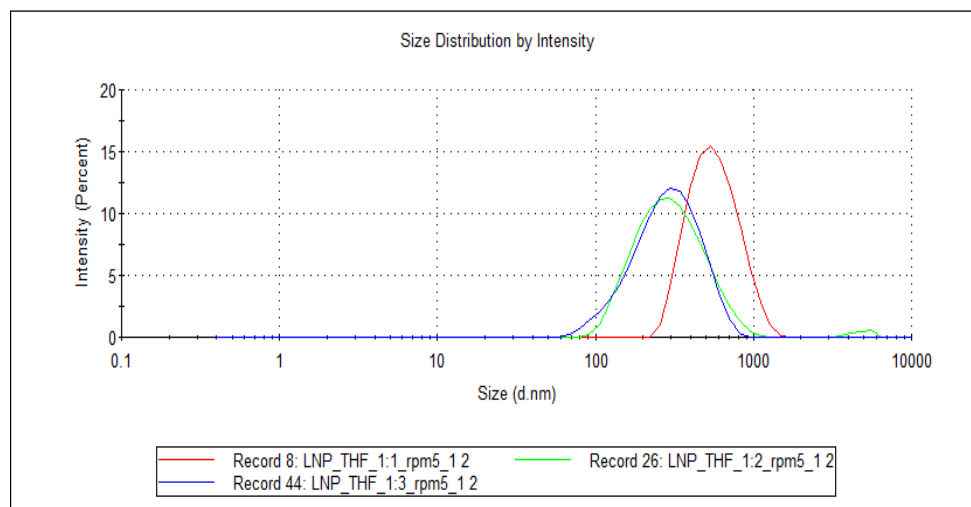


Obrázek 7 Distribuční křivka LNP-EtOH v poměru 1:1 v různých rychlostech

Co se týče vlivu poměru lignin/antirozpouštědlo při jedné rychlosti přípravy ligninových nanočástic (rychlost 5), je jasné pozorovatelný vliv tohoto parametru na distribuce částic LNP-EtOH (obrázek 8) a LNP-THF (obrázek 9). Na Obrázku 8 jsou zobrazeny distribuce LNP-EtOH, u kterých lze pozorovat rozdílné chování. U poměru 1:3 je viditelná široká distribuce velikosti částic a také vzniklé agregáty částic. Poměr 1:2 znázorňuje bimodální distribuci obsahující 2 populace částic s vrcholem píků v 59 nm a 615 nm. Naopak poměr 1:1 vykazuje monomodální distribuci o velikosti částic 190 nm. Naopak, u LNP-THF (Obrázek 9) jsou distribuce monomodální a velikost částic se v závislosti na poměru výrazně nemění (u poměru 1:2 a 1:3 je velikost částic 295 nm), výjimkou jsou LNP-THF 1:1 kdy je viditelné zvýšení velikosti částic (531 nm).

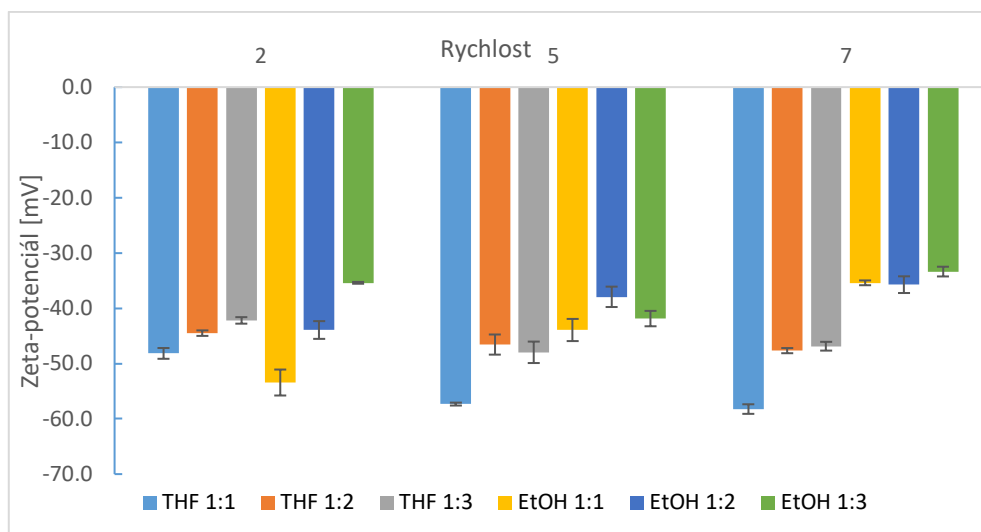


Obrázek 8 Distribuční křivka LNP-EtOH při rychlosti 5 v různých poměrech



Obrázek 9 Distribuční křivka LNP-THF při rychlosti 5 v různých poměrech

Obrázek 10 zobrazuje zeta-potenciál částic LNP-EtOH a LNP-THF, v různých poměrech a rychlostech. Zeta-potenciál částic LNP-EtOH se pohyboval v rozmezí -41 až -53 mV, při rychlosti míchání 2. Při rychlosti míchání 5 a 7 se zeta-potenciál pohyboval v podobných hodnotách od -33 do -44 mV. Pro částice LNP-THF se při rychlosti míchání 2 zeta-potenciál pohyboval od -48 do -58 mV. Při rychlosti míchání 5 a 7 se zeta-potenciál pohyboval v rozmezí -42 až -48 mV. U poměru 1:1 at' už LNP-EtOH nebo LNP-THF je pozorovatelný nejnižší zeta-potenciál ze všech připravených poměrů. Zeta-potenciál všech připravených částic je nižší než -30 mV, což značí, že jsou všechny připravené částice koloidně stabilní. Figueiredo a kol. připravovali ligninové nanočástice v přítomnosti rozpouštědla THF dialýzou, zeta-potenciál těchto částic byl přibližně -44 mV.[52]



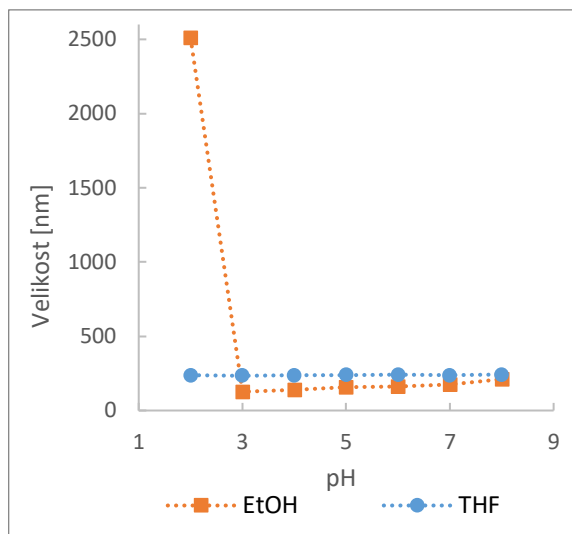
Obrázek 10 Vliv rozpouštědla, poměru a rychlosti míchání na zeta-potenciál částic

11.1.2 Vliv pH a iontové síly na velikost a zeta-potenciál částic

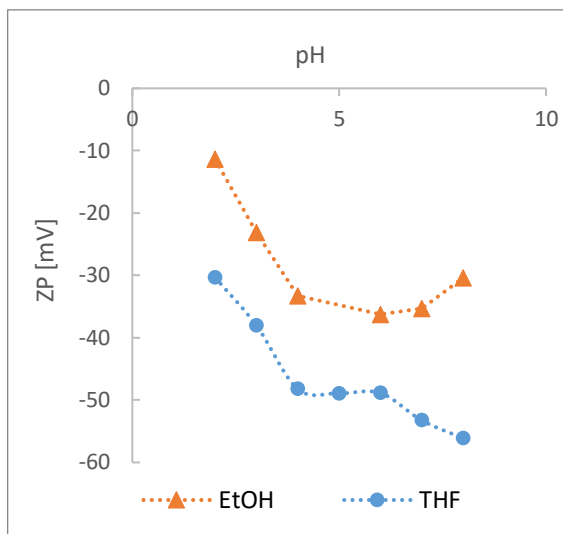
Připravené ligninové částice byly charakterizovány měřením velikosti částic a zeta-potenciálu v závislosti na pH (2–8) a iontové síle NaCl (0–1000 mM) a CaCl₂ (0–100 mM).

Obrázek 11 ukazuje, že u LNP-EtOH dochází při pH 2 k agregaci částic a jejich velikost dosahuje až 2500 nm. Nicméně rostoucí hodnota pH už nemá na velikost LNP-EtOH vliv a jejich velikost se pohybuje konstantně kolem 140 nm. U LNP-THF nemá pH vliv na velikost částic, kdy se pohybuje kolem 233 nm.

Vliv hodnoty pH na zeta-potenciál částic (Obrázek 12) ukazuje, že LNP-EtOH v pH 2 mají zeta-potenciál kolem -10 mV, což odpovídá výsledkům z měření velikosti částic, částice se neodpuzují a podléhají agregaci (Obrázek 11). Nejnižší zeta-potenciál dosahují částice při hodnotách pH 6 a 7. Částice LNP-THF mají v celém rozsahu měřených hodnot pH nižší zeta-potenciál než -30 mV. Zeta-potenciál ovlivňuje chování částic a pomáhá jim tak se od sebe odpuzovat. Tyto částice nebudou mít tendenci se shlukovat a agregovat. Z výsledků měření zeta-potenciálu, kterému odpovídají i výsledky měření velikosti částic, lze tedy konstatovat, že jsou částice koloidně stabilní i při změně hodnoty pH.



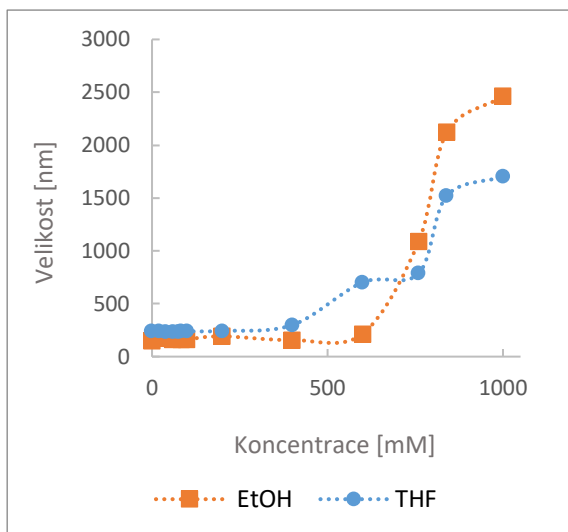
Obrázek 11 Vliv pH na velikost ligninových nanočástic



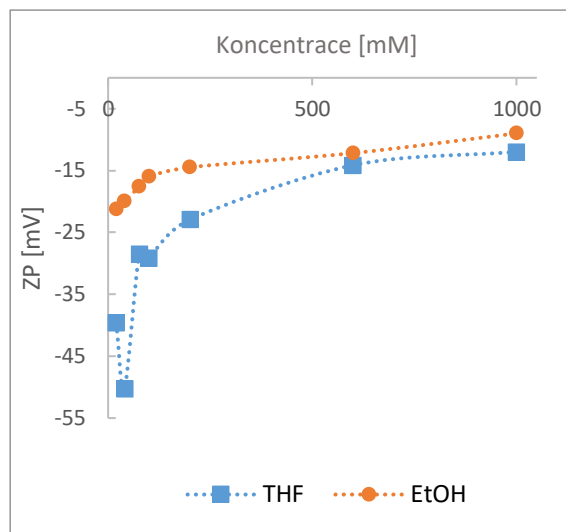
Obrázek 12 Vliv pH na zeta-potenciál ligninových nanočástic

Dále byl sledován vliv iontové síly na velikost ligninových nanočástic (Obrázek 13) a jejich zeta-potenciál (Obrázek 14). Vliv koncentrace NaCl na ligninové nanočástice byl měřen v rozmezí koncentrací 0–1000 mM. V prvním kroku byly použity koncentrace NaCl v rozmezí 0–100 mM, kdy ale nedošlo k žádné změně ve velikosti částic. Tudíž byla koncentrace NaCl zvýšena až na hodnoty do 1000 mM, kde se už projevila agregace částic při zvyšující se koncentracích. Na Obrázku 13 lze pozorovat průběh agregace LNP-EtOH, velikost částic se začala zvyšovat při koncentraci 600 mM z hodnot okolo 215 nm na přibližně 1091 nm, a LNP-THF už při 400 mM z velikosti okolo 300 nm na přibližně 700 nm.

Podle Obrázku 14 je zřejmé, že čím vyšší byla koncentrace NaCl, tím vyšší byl také zeta-potenciál částic, což souvisí s velikostí částic, která se zvyšovala. Dá se tedy říct, že s narůstající koncentrací NaCl rostla jak velikost, tak zeta-potenciál částic, protože se snižovala koloidní stabilita částic.

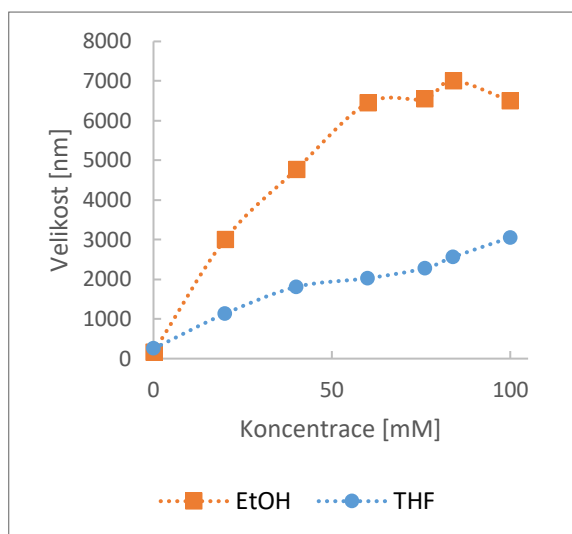


Obrázek 13 Vliv koncentrace NaCl na velikost ligninových nanočástic

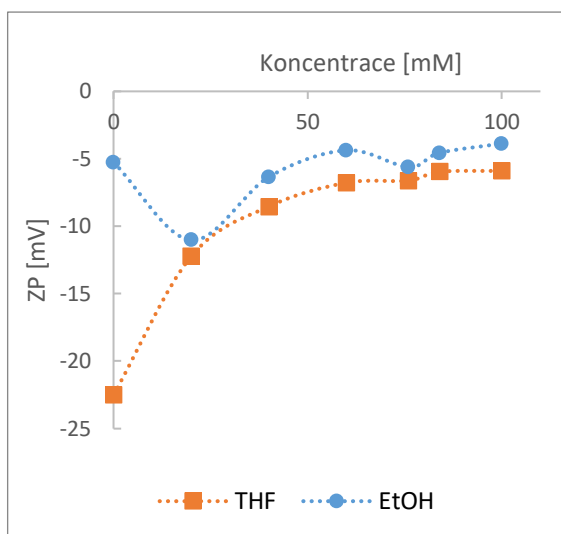


Obrázek 14 Vliv koncentrace NaCl na zeta-potenciál ligninových nanočástic

Dále byl stanoven vliv CaCl_2 na velikost ligninových nanočástic (Obrázek 15) a jejich zeta-potenciál (Obrázek 16). Vzhledem k tomu, že má dvojmocný kationt CaCl_2 iontovou sílu větší než jednomocný kationt NaCl, byla připravena koncentrační řada s nižším rozmezím, a to 0–100 mM. Z obrázku 15 je zřejmé, že agregace částic v CaCl_2 začíná téměř okamžitě, už při nízkých koncentracích. Dále lze vidět, že agregace LNP-EtOH je značně vyšší (3000–7000 nm) než LNP-THF (1000–3000 nm). Výsledky vyplývající z Obrázku 16 naznačují, že ligninové nanočástice nejsou stabilní v prostředí CaCl_2 , jelikož jejich zeta-potenciál dosahuje hodnot vyšších, než je -30 mV. Tyto výsledky opět korelují s výsledky z Obrázku 15, tzn. čím vyšší koncentrace CaCl_2 , tím vyšší je velikost částic a jejich zeta-potenciál. Dvojmocný kationt CaCl_2 má větší iontovou sílu než NaCl, částice agregují už při nižších koncentracích a jejich zeta-potenciál narůstá. Phan-Xuan a kol. studovali agregační chování disperzí nanokrystalické celulosy vlivem anorganických solí, mimo jiné také NaCl a CaCl_2 . Uvádají, že rostoucí koncentrace solí zvyšovala agregaci částic.[53]



Obrázek 15 Vliv CaCl_2 na velikost ligninových nanočástic



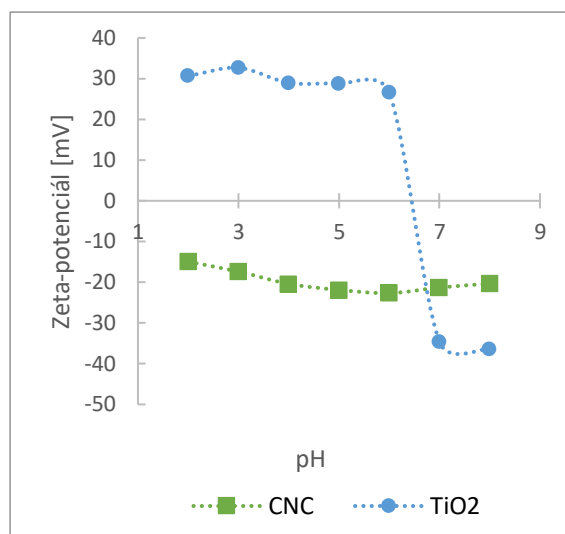
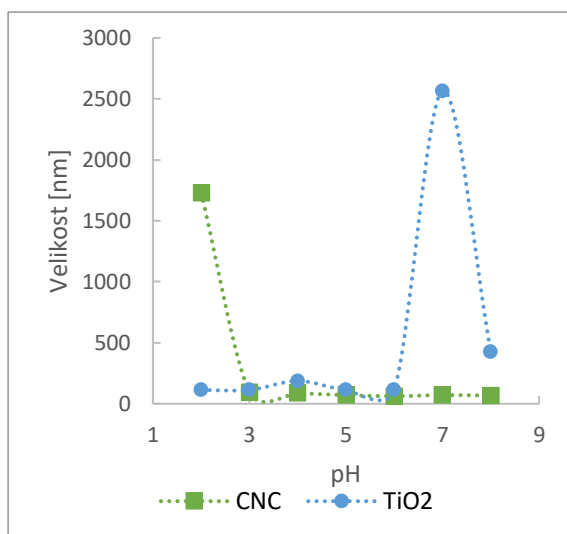
Obrázek 16 Vliv koncentrace CaCl_2 na zeta-potenciál ligninových nanočástic

11.2 Nanokrystalická celulóza a částice oxidu titaničitého

Z hlediska studia interakcí ligninových nanočástic s jinými částicemi na mezifázovém rozhraní byly stejným způsobem charakterizovány i částice CNC a TiO_2 , byla měřena jejich velikost částic a zeta-potenciál.

Na Obrázku 17 je zobrazen vliv hodnoty pH na velikost částic CNC a TiO_2 . Velikost částic TiO_2 při hodnotách pH (2-6) dosahovala rozmezí hodnot 112–186 nm. Změna velikosti nastala při pH 7 kdy velikost vzrostla na 2565 nm, poté ale při hodnotě pH 8 klesla na 427 nm. V případě částic CNC dosáhla jejich velikost, při pH 2, 1730 nm. Následně, zvyšující se hodnotou pH, velikost částic klesá na rozmezí hodnoty 62 až 95 nm.

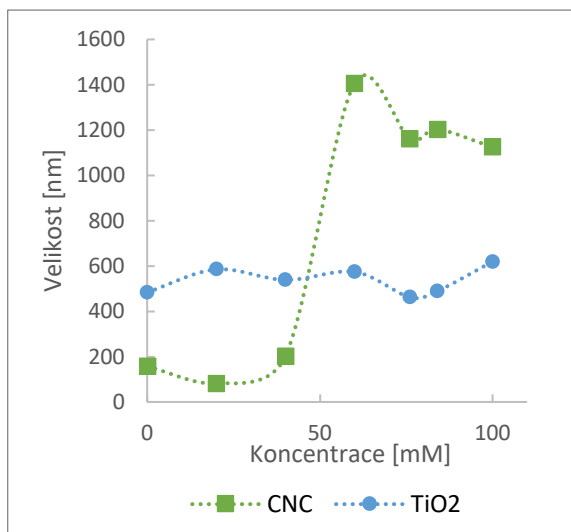
Obrázek 18 zobrazuje vliv pH na zeta-potenciál částic CNC a TiO_2 . Zeta-potenciál částic TiO_2 nabývají kladných hodnot (32-27 mV) při pH hodnotách 2-6. Velké snížení zeta-potenciálu na hodnotu -35 mV nastalo při pH 7, což odpovídá datům na Obrázku 17, kdy při pH 7 došlo k zvýšení velikosti částic. Nejnižší hodnota zeta-potenciálu (-36 mV) byla dosažena při pH 8. V případě částic CNC se vlivem pH zeta-potenciál výrazně neměnil. Nejvyšší hodnota zeta-potenciálu byla -15 mV při pH 2 a naopak nejnižší dosažená hodnota byla -23 mV při pH 6.



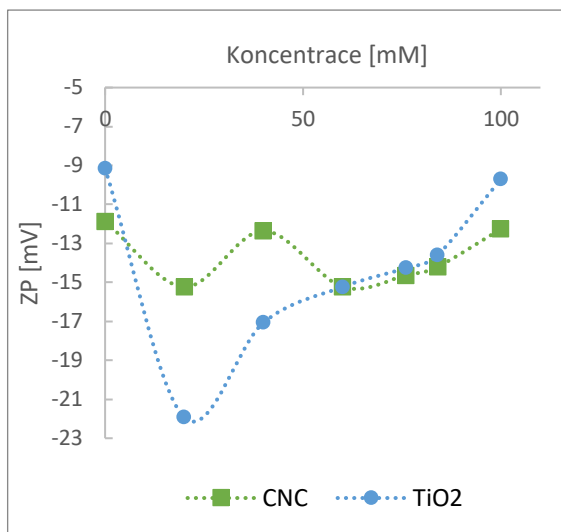
Obrázek 17 Vliv pH na velikost částic CNC a TiO₂ Obrázek 18 Vliv pH na zeta-potenciál částic CNC a TiO₂

Z Obrázku 19 je zřejmé že koncentrace NaCl nemá příliš velký vliv na velikost částic TiO₂, jejich velikost se pohybuje v rozmezí 480–619 nm. Nicméně na částice CNC vliv má, velikost částic se mění z 157 nm při 0 mM, na 200 nm při koncentraci 40 mM a dále až na 1406 nm při koncentraci 60 mM, což je důkazem agregace částic CNC

Vliv koncentrace NaCl (Obrázek 20) na částice CNC je významný, zeta-potenciál se pohybuje v hodnotách od -11 do -15 mV, což značí, že částice nejsou koloidně stabilní, což svědčí o jejich agregaci. Naopak u částic TiO₂ lze pozorovat snížení zeta-potenciálu na hodnotu kolem -22 mV při koncentraci 20 mM NaCl. Zeta-potenciál se zvyšující se koncentrací NaCl zvyšuje, což opět vypovídá o koloidní nestabilitě částic, nicméně tato nestabilita se na velikosti částic neprojevila.



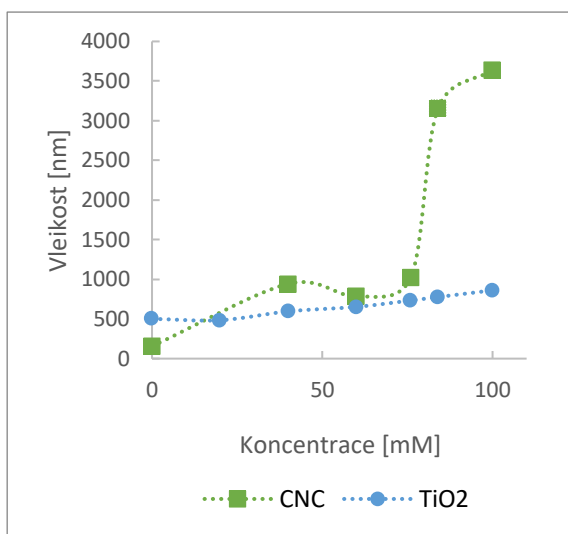
Obrázek 19 Vliv koncentrace NaCl na velikost částic CNC a TiO₂



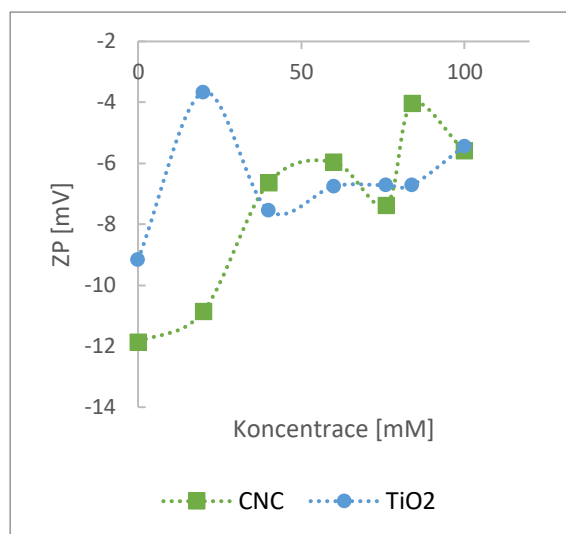
Obrázek 20 Vliv koncentrace NaCl na zeta-potenciál částic CNC a TiO₂

Obrázek 21 naznačuje, že koncentrace CaCl₂ nemá výrazný vliv na velikost částic TiO₂, velikost se mírně zvyšuje z hodnot 484 nm na 861 nm. Zato na částice CNC je vliv této soli významný. Velikost částic z počáteční hodnoty 156 nm prudce vzrůstá při koncentraci 100 mM na velikost 3639 nm, což napovídá, že dochází k agregaci částic.

Zeta-potenciál částic CNC a TiO₂ se působením iontové síly CaCl₂ mění, jak lze vidět na Obrázku 22. Zeta-potenciál částic TiO₂ vzrůstá při koncentraci 20 mM na -3 mV, poté se ale ustaluje na hodnotách v rozmezí -7 až -5 mV. U částic CNC zeta-potenciál roste s koncentrací CaCl₂. Nejnižší dosažená hodnota zeta-potenciálu je přibližně -12 mV při koncentraci 0 mM, se vzrůstající koncentrací se zeta-potenciál pohybuje v rozmezí -10 až -4 mV což poukazuje na koloidní nestabilitu.



Obrázek 21 Vliv koncentrace CaCl_2 na velikost částic CNC a TiO_2

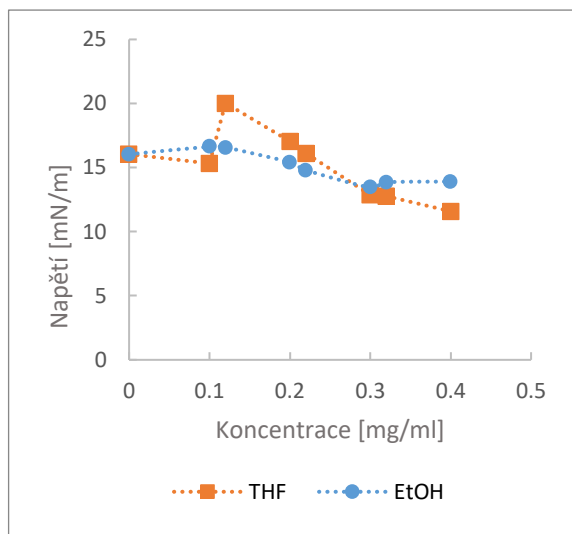


Obrázek 22 Vliv koncentrace CaCl_2 na zeta-potenciál částic CNC a TiO_2

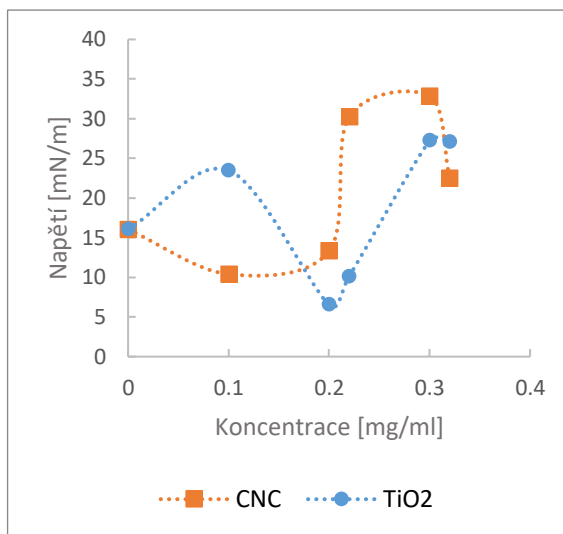
11.3 Mezifázové napětí částic

Pro stanovení mezifázového napětí částic na rozhraní olej-voda byly vybrány jako nejvhodnější ligninové částice připravené v poměru 1:1 při rychlosti míchání 2. Tyto částice vykazovaly monomodální distribuci a nejmenší velikost, zároveň s nejnižším zeta-potenciálem. Na obrázku 23 je závislost mezifázového napětí částic na koncentraci. U LNP-EtOH se mezifázové napětí příliš neměnilo a pohybovalo se přibližně v hodnotách 16,6 až 13,5 mN/m. U LNP-THF lze pozorovat klesající trend mezifázového napětí se zvyšující koncentrací, nejvyšší hodnoty byly naměřeny při koncentraci 0,12 mg/ml a to 20 mN/m, nejnižší bylo při koncentraci 0,4 mg/ml 11,6 mN/m.

Jak lze pozorovat na Obrázku 24 hodnoty mezifázového napětí částic CNC a TiO_2 kolísají. Nejvyšší hodnota byla naměřena při koncentraci 0,3 mg/ml částic CNC a to 32,8 mN/m a v případě TiO_2 částic 27,2 mN/m. Nejnižší mezifázové napětí můžeme pozorovat při koncentraci 0,2 mg/ml pro částice CNC 13 mN/m a pro částice TiO_2 až 6,5 mN/m. Kvůli vysokému kolísání naměřených hodnot nelze usoudit schopnost částic měnit mezifázové napětí olej-voda. Tyto velké rozdíly mohly být způsobeny tím, že samotné stanovení mezifázového napětí bylo komplikované, protože laboratoř nedisponuje antivibračním stolem a optický tenziometr Theta Attension je přístroj citlivý na otřesy. Proto hodnoty mezifázového napětí kolísaly a není vyloučena chybovost výsledků.



Obrázek 23 Hodnoty mezifázového napětí ligninových nanočástic



Obrázek 24 Hodnoty mezifázového napětí částic CNC a TiO₂

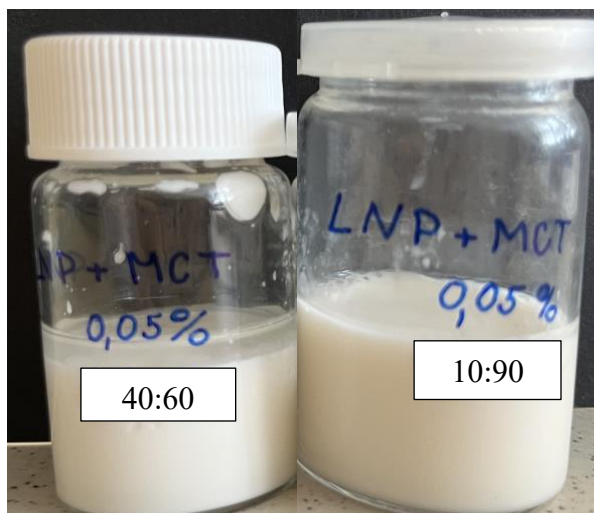
11.4 Pickeringovy emulze – preformulační studie

Před samotným studiem interakcí částic na mezifázovém rozhraní, byly připraveny emulze stabilizované samostatnými částicemi LNP, TiO₂ a CNC, a to v různých poměrech O/V a následně i s různou koncentrací částic. Byl sledován vliv těchto parametrů na vlastnosti emulzí – zeta-potenciál, emulgační účinnost a mikrostrukturu.

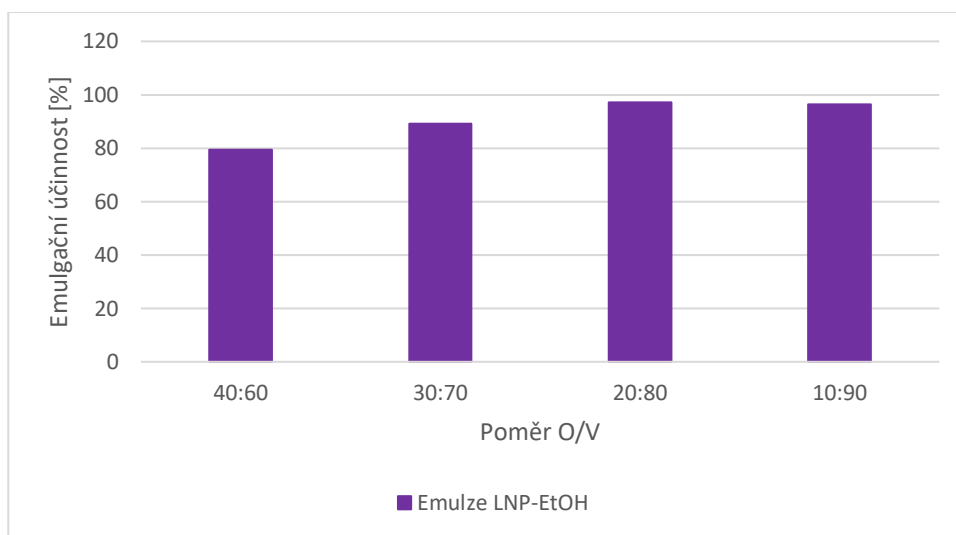
11.4.1 Emulze stabilizované ligninovými nanočásticemi

Jako první byla testována emulgační schopnost připravených ligninových částic, kde byly připraveny emulze s různým poměrem O/V stabilizované 0,05 % LNP, a následně emulze s poměrem O/V 20:80 s různou koncentrací částic. Z vizuálního zhodnocení emulzí (Obrázek 25) připravených s různými poměry O/V lze na první pohled pozorovat rozdíly mezi jednotlivými formulacemi. Množství nezaemulgovaného oleje bylo v poměru O/V 40:60 největší, což potvrzuje Obrázek 26, kde můžeme vidět, že hodnota emulgační účinnosti této emulze dosahuje 80 %. Nejvyšší emulgační účinnosti bylo dosaženo u poměru O/V 10:90, kde byla emulgační účinnost stanovena na 96 %. Podle Dapčević Hadnađev se obecně uvádí, že s rostoucí koncentrací olejové fáze se zvyšuje velikost emulzních kapiček. Hlavním důvodem je nedostatečná koncentrace emulgátoru potřebná k pokrytí kapiček a zvýšená koalescence v důsledku zvýšené koncentrace oleje [54], což lze vidět i v našem

případě u emulze O/V 40:60. Připravené emulze byly mléčné s lehkým nádechem světle hnědé barvy, což bylo způsobeno původní barvou disperze ligninových nanočástic. U připravených emulzí nebylo pozorováno krémování ani v jednom z připravených poměrů O/V, i přestože ve studii Li a kol. ukázali, že s rostoucím podílem olejové fáze v Pickeringových emulzích roste jejich náchylnost ke krémování.[49]



Obrázek 25 Pickeringovy emulze stabilizované LNP-EtOH (0,05 %) v poměrech 40:60 a 10:90 O/V

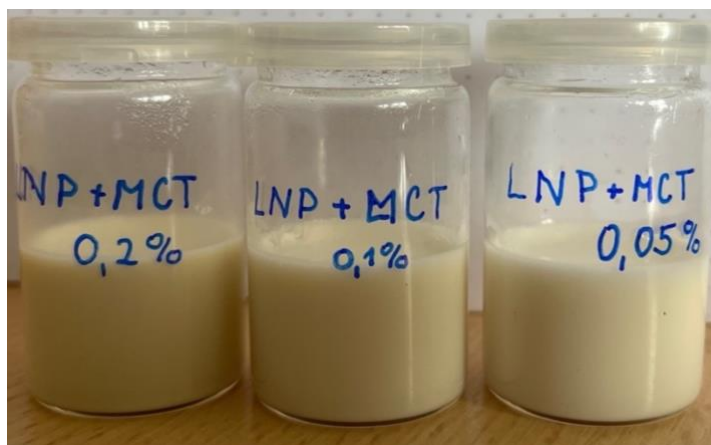


Obrázek 26 Emulgační účinnost emulzí stabilizovaných LNP-EtOH v různých poměrech O/V

Stabilitu koloidních systému jsme schopni určit podle hodnot zeta-potenciálu. Hodnoty zeta-potenciálu musí být nižší než -30 mV a vyšší než +30 mV aby nedocházelo k agregaci nebo flokulaci, a tudíž lze systémy v tomto rozmezí považovat za koloidně

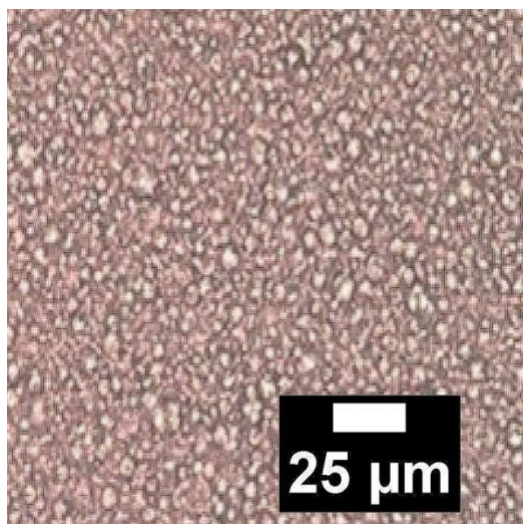
stabilní. Emulze stabilizované LNP jsou koloidně stabilní s hodnotami zeta-potenciálu v rozmezí -36 až -40 mV.

Pro stanovení vlivu koncentrace částic byly připraveny emulze v poměru O/V 20:80 stabilizované LNP s koncentrací 0,05 %, 0,1 % a 0,2 % (obrázek 27). Jak lze vidět na tomto obrázku, emulgační účinnost byla 100 %, hodnoty zeta-potenciálu se nelišily od předchozích emulzí (-40 mV). Zvyšující se koncentrace částic nijak neovlivnila koloidní stabilitu emulzí.

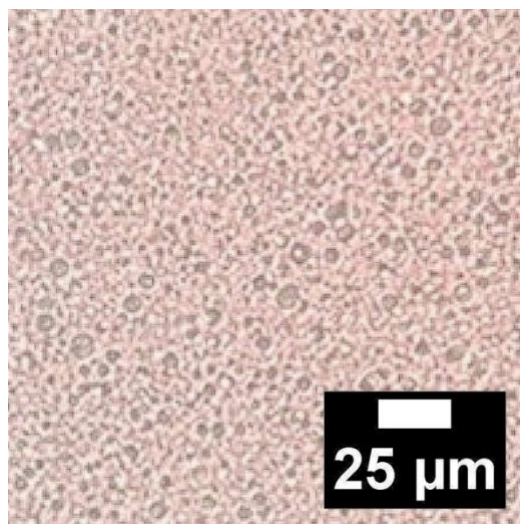


Obrázek 27 Emulze (20:80) stabilizované LNP-EtOH v různých koncentracích

Emulze byly vizuálně pozorovány pomocí optického mikroskopu Olympus CX21, k zjištění jejich mikroskopické struktury. Mikroskopické snímky jsou na obrázku 28 a 29, kde jsou srovnány emulze s O/V 10:90 (0,05 % LNP) a 20:80 (0,2 %). Mikrostruktura emulze s poměrem O/V 10:90 a nižší koncentrací je více homogenní s emulzními kapkami stejné velikosti oproti emulzi na 20:80, kde jsou viditelné kapky větších i menších velikostí.



Obrázek 28 Emulze stabilizované LNP (0,2 %) v poměru 20:80, při zvětšení 400x

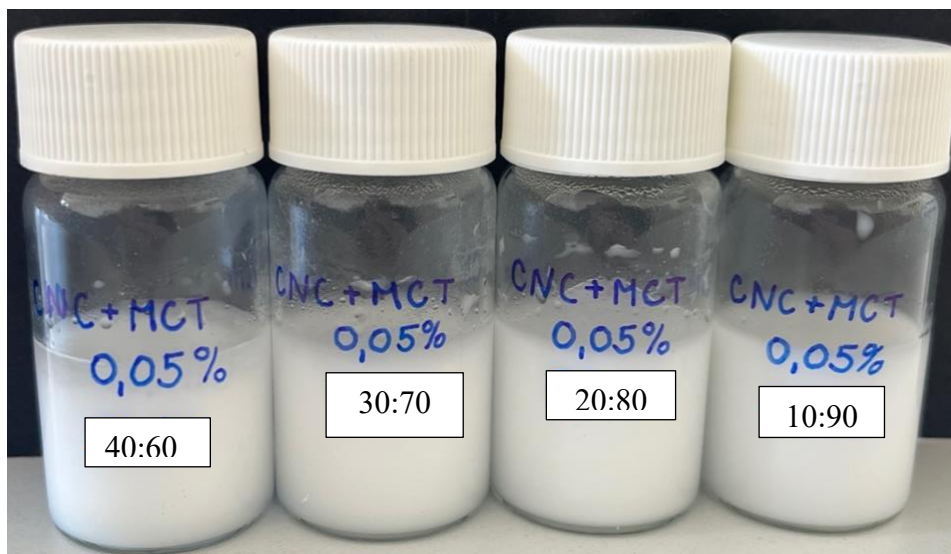


Obrázek 29 Emulze stabilizované LNP (0,05 %) v poměru 10:90, při zvětšení 400x

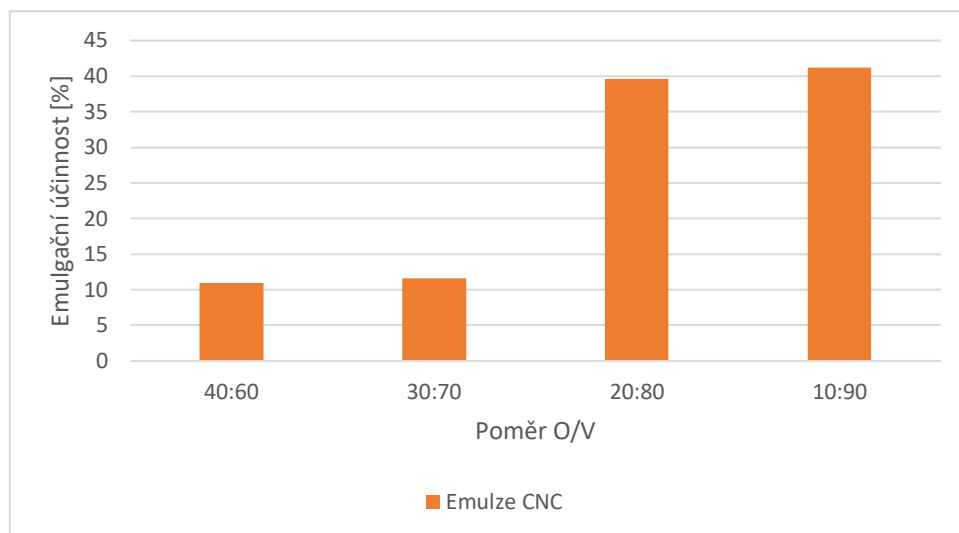
11.4.2 Emulze stabilizované nanokrystalickou celulosou

Po emulzích stabilizovaných ligninovými částicemi byla testována emulgační schopnost částic nanokrystalické celulosy. Byly připraveny emulze s poměrem O/V 40:60, 30:70, 20:80, 10:90 stabilizované koncentrací částic 0,05 %.

Na Obrázku 30 vidíme připravené emulze O/V stabilizované částicemi CNC. Emulze mají mléčně bílou barvu a u poměrů O/V 40:60 a 30:70 lze pozorovat malá vrstva nezaemulgovaného oleje, což potvrzují výsledky emulgační účinnosti na Obrázku 31, kdy zmíněné poměry mají emulgační účinnost pouhých 11 % pro O/V 40:60 a 12 % pro O/V 30:70. Hodnoty zeta-potenciálu se pohybují v okolí -40 mV, což vypovídá o dobré stabilitě emulzí stabilizovaných částicemi CNC, která je srovnatelná s emulzemi stabilizovanými LNP. Nanokrystalická celulóza patří mezi nejčastěji používané částice ke stabilizaci Pickeringových emulzí díky udržitelnosti a biologické rozložitelnosti.

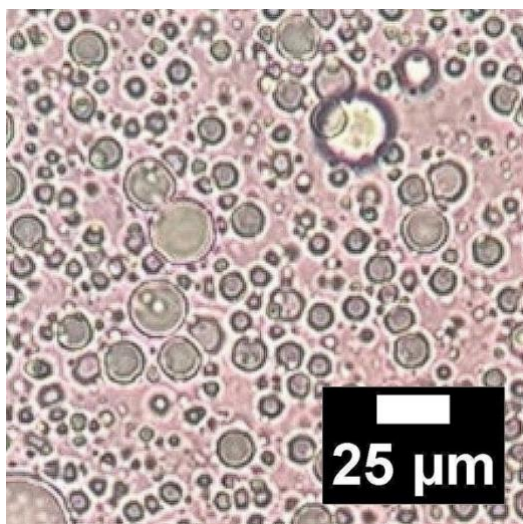


Obrázek 30 Emulze stabilizované částicemi CNC (0,05 %) v různých poměrech O/V

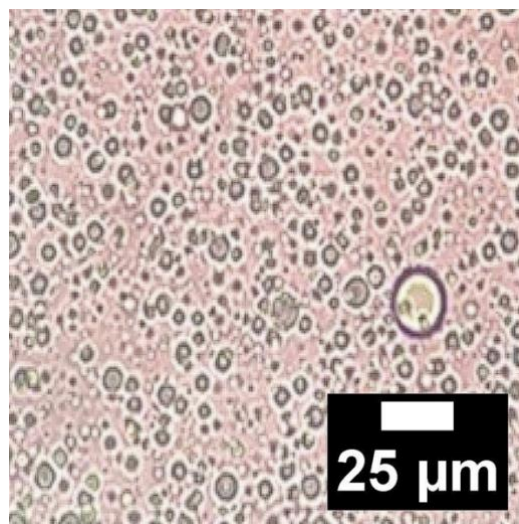


Obrázek 31 Emulgační účinnost emulzí stabilizovaných částicemi CNC v různých poměrech O/V

Emulze byly dále mikroskopicky pozorovány k zjištění jejich mikrostruktury pomocí optického mikroskopu Olympus CX21. Snímky mikrostruktury emulzí jsou na obrázku 32 a 33, kde jsou srovnány emulze o koncentraci 0,05 % CNC s poměry O/V 10:90 a 30:70. Mikrostruktura emulze s poměrem O/V 10:90 je více homogenní s emulzními kapkami přibližně stejné velikosti na rozdíl od emulze 30:70, kde jsou viditelné kapky různých velikostí.



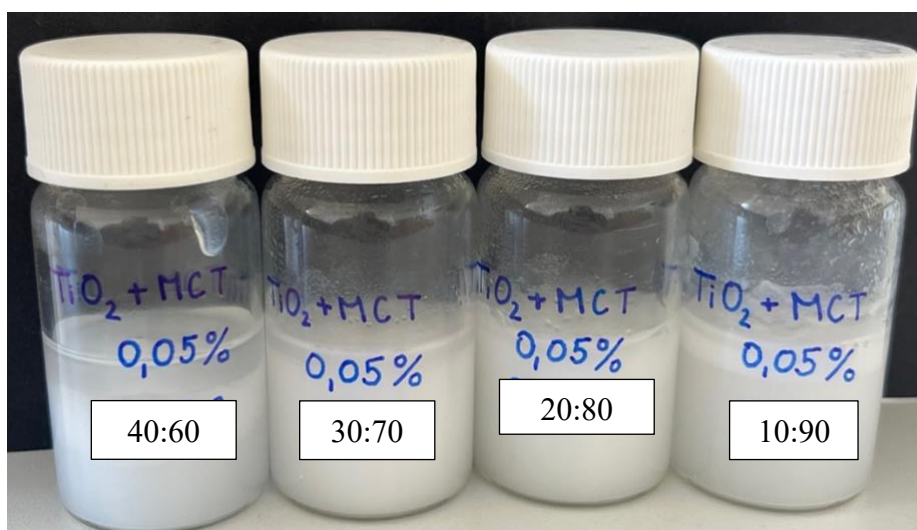
Obrázek 32 Emulze stabilizované částicemi CNC (0,05 %) v poměru 30:70, při zvětšení 400x



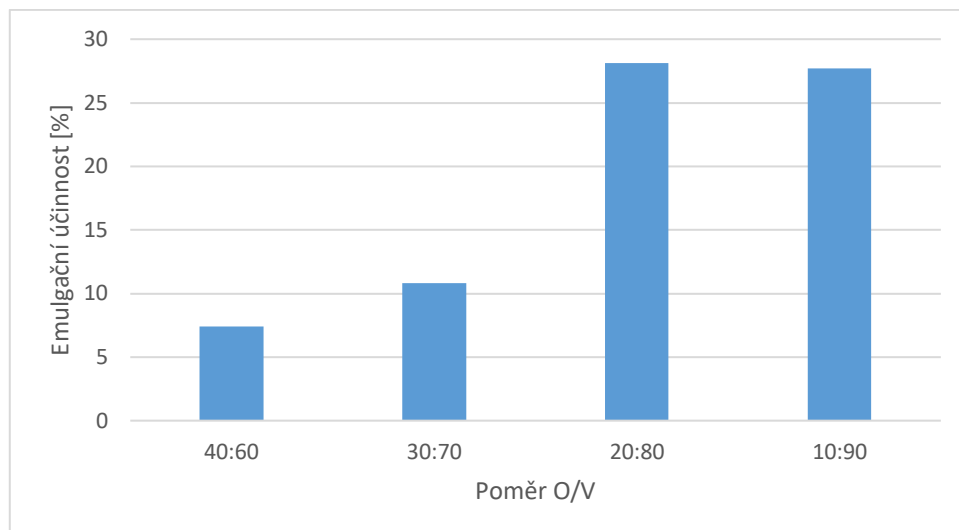
Obrázek 33 Emulze stabilizované částicemi CNC (0,05 %) v poměru 10:90, při zvětšení 400x

11.4.3 Emulze stabilizované částicemi oxidu titaničitého

Nakonec byly připraveny emulze stabilizované částicemi oxidu titaničitého s různým poměrem O/V (40:60, 30:70, 20:80, 10:90) stabilizované koncentrací částic 0,05 %. Na Obrázku 34 vidíme připravené emulze O/V stabilizované částicemi TiO_2 . V poměrech O/V 40:60, 30:70 a 10:90 je viditelná separace fází emulze. Poměry O/V 40:60 a 30:70 zároveň vykazují nejnižší emulgační účinnost, jak je zřejmé z Obrázku 35. Hodnoty zeta-potenciálu se pohybují v okolí -34 mV, což jsou nižší hodnoty zeta-potenciálu, než byly naměřeny u samostatných částic.

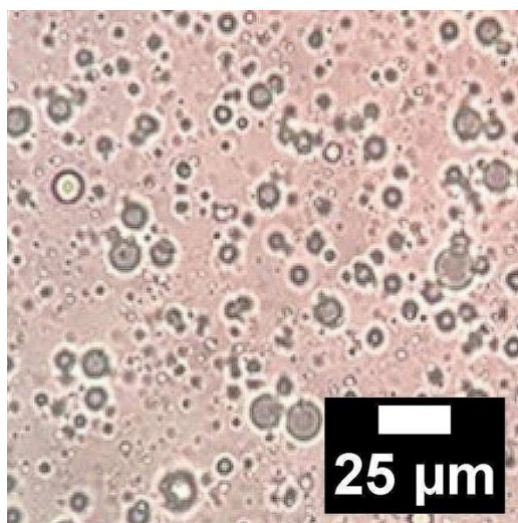


Obrázek 34 Emulze stabilizované částicemi TiO_2 (0,05 %) v různých poměrech O/V



Obrázek 35 Emulgační účinnost emulzí stabilizovaných částicemi TiO_2 v různých poměrech O/V

Na Obrázku 36 je zobrazena mikrostruktura emulze O/V 30:70 s kapkami o různých velikostech.



Obrázek 36 Emulze stabilizovaná částicemi TiO_2 (0,05 %) v poměru 30:70, při zvětšení 400x

11.5 Pickeringovy emulze – emulze stabilizované dvěma typy částic

Pro stabilizaci Pickeringových emulzí byly vybrány ligninové částice s optimálními vlastnostmi, konkrétně LNP-EtOH (poměr 1:1, rychlost 2) v kombinaci s částicemi nanokrystalické celulosy (CNC) nebo TiO_2 . Emulze typu O/V byly připraveny při různých hodnotách pH (3 a 6), s poměrem O/V 20:80 a s celkovou koncentrací částic (0,05 % a 0,1 %). Byla sledována velikost emulzních kapek pomocí přístroje Mastersizer

3000. Dále se stanovoval pomocí přístroje Zetasizer Nano ZS 90 zeta-potenciál připravených emulzí k určení jejich koloidní stability. Sledoval se vzhled emulzí, určovala se také emulgační účinnost a mikrostruktura emulzí pomocí optického mikroskopu Olympus CX21.

K přípravě emulzí byly zvoleny 3 způsoby přípravy:

Cesta A: smíchání olejové fáze, ligninových nanočástic a částic CNC nebo TiO_2 a jejich následná sonikace po 1 minutu.

Cesta B: smíchání olejové fáze s ligninovými nanočásticemi, sonikace po 1 minutu, následné přidání částic CNC nebo TiO_2 a sonikace po 20 sekund.

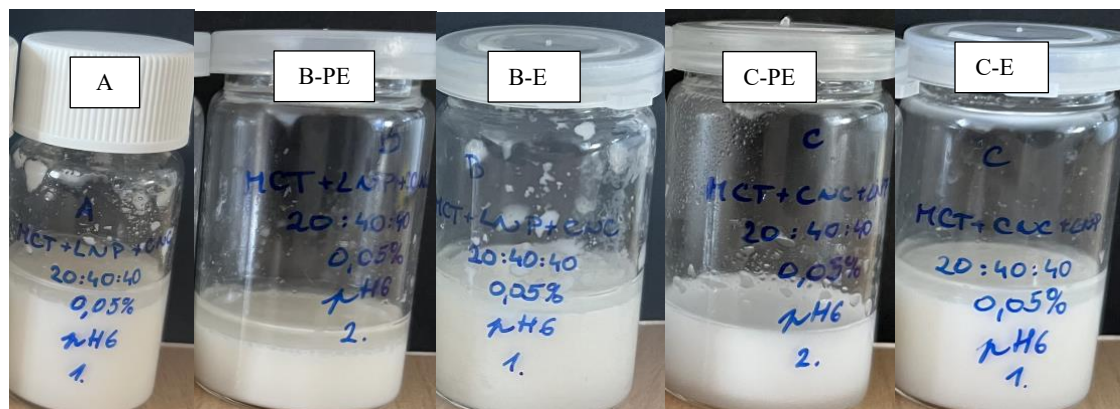
Cesta C: smíchání olejové fáze s částicemi CNC nebo TiO_2 , sonikace po 1 minutu, následné přidání ligninových nanočástic a sonikace po 20 sekund.

Pro možnost pozorování vlivu přítomnosti konkrétních částic byly emulze vytvořeny vždy dvakrát vedle sebe, kdy emulze připravené v prvním kroku a obsahující vždy jen jeden typ částic jsou označovány jako primární emulze (PE), po přidavku druhého typu část vznikla finální emulze obsahující oba typy částic (E) v závislosti na způsobu přípravy.

11.5.1 Emulze stabilizované ligninovými nanočásticemi a nanokrystalickou celulosou – pH 6

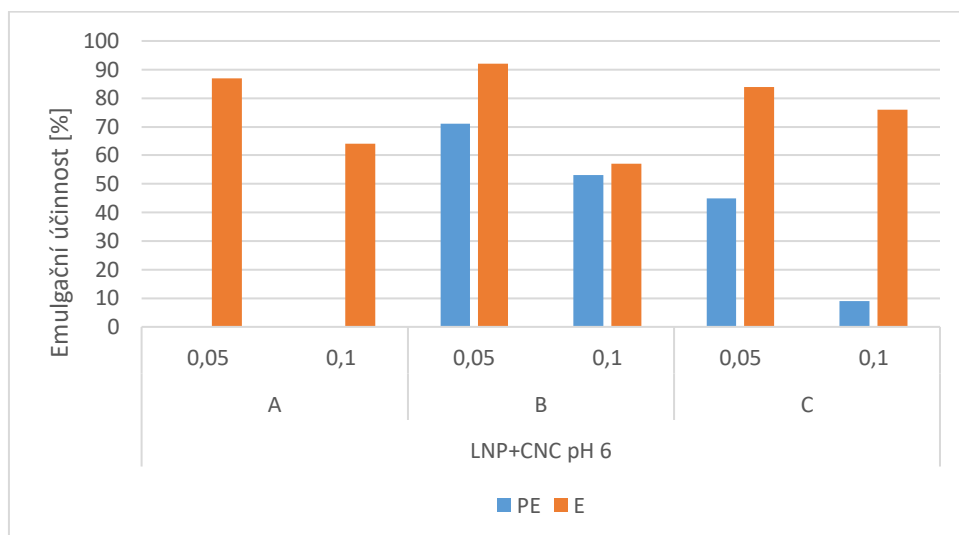
Dále byl sledován vliv ligninových nanočástic v kombinaci s částicemi nanokrystalické celulosy při hodnotě pH 6 na stabilizaci Pickeringových emulzí, o celkové koncentraci částic 0,05 % a 0,1 %. U emulzí byla hodnocena emulgační účinnost a velikost emulzních kapek spolu s distribučními křivkami. Byla sledována především změna těchto parametrů mezi primárními (PE) a finálními emulzemi (E).

Na Obrázku 37 jsou zobrazeny emulze stabilizované LNP-EtOH a CNC v poměru O/V 20:80 o koncentraci 0,05 % a hodnotě pH 6, které byly připraveny 3 různými způsoby. Emulze A má oproti ostatním emulzím lehký žlutý nádech, což může být způsobeno přítomností disperze LNP-EtOH. Kromě emulze C-PE, která je stabilizována pouze částicemi CNC, je u všech připravených emulzí viditelná vrstva nezaemulgovaného oleje. Zeta potenciál emulzí dosahoval přibližně hodnoty -41 mV (koncentrace 0,05 %) a -40 mV (koncentrace 0,1 %).

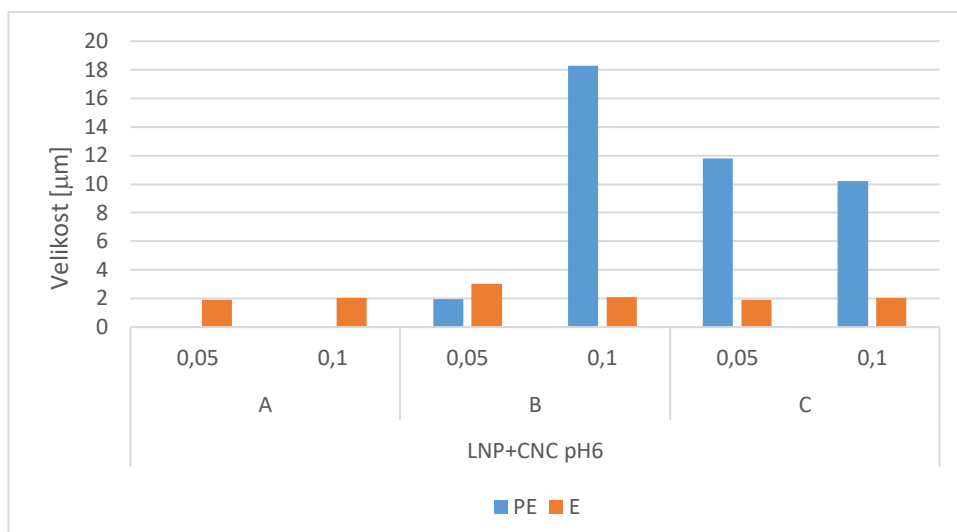


Obrázek 37 Emulze stabilizované LNP + CNC – pH 6

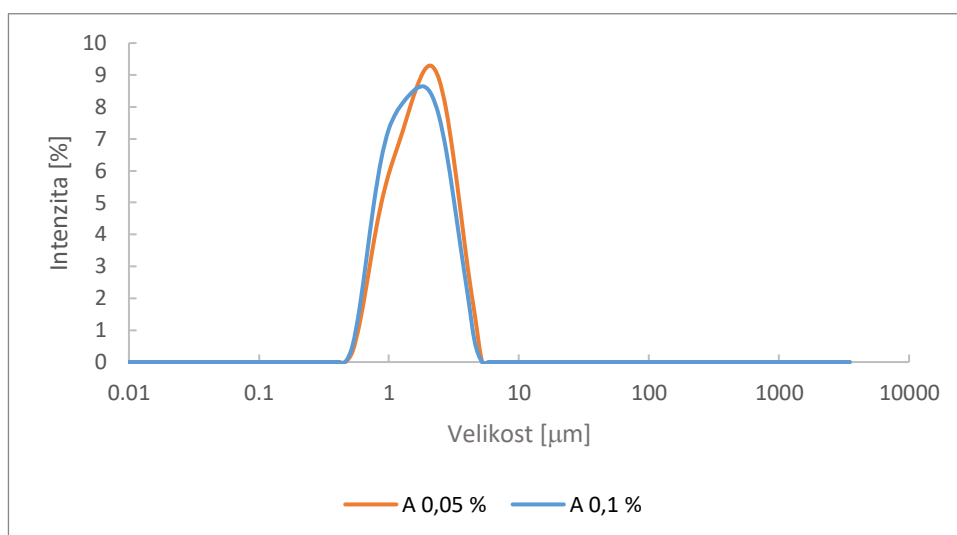
Emulze A stabilizovaná směsí LNP-EtOH a CNC (Obrázek 38, 39, 40) s koncentrací částic 0,05 % měla emulgační účinnost 87 % a velikost kapek 1,89 μm . Velikost kapek emulze A s koncentrací částic 0,1 % nebyla příliš rozdílná (2,07 μm), za to emulgační účinnost klesla na 64 %. Distribuce velikosti částic jsou monomodální a v závislosti na koncentraci stabilizujících částic byly rozdíly minimální. Díky zeta-potenciálu částic LNP-EtOH a CNC, které jsou negativně nabitě, nedocházelo ke komplexaci částic v systému, a proto bylo mezifázové rozhraní stabilizováno oběma typy částic.



Obrázek 38 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+CNC při pH 6 s celkovou koncentrací částic 0,05 % a 0,1 %



Obrázek 39 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+CNC při pH 6 s celkovou koncentrací částic 0,05 % a 0,1 %

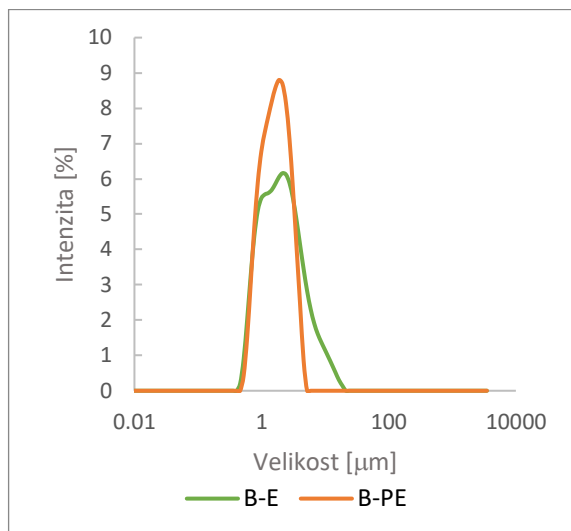


Obrázek 40 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A při pH 6 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %

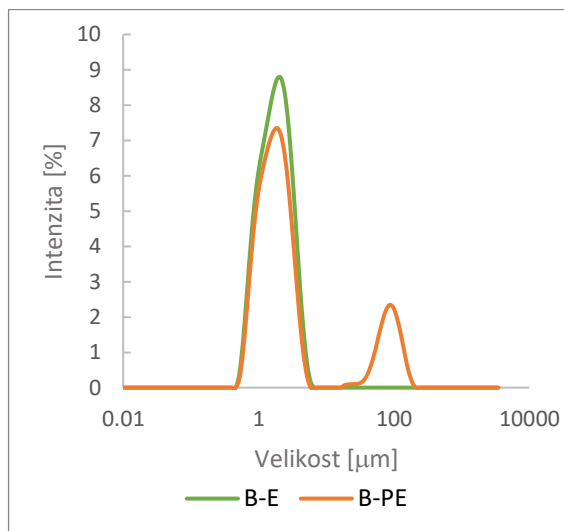
Emulze B–PE byla stabilizovaná pouze LNP-EtOH, o velikosti kapek 2 μm s emulgační účinností 71 % při koncentraci 0,05 % a 18 μm při koncentraci 0,1 % o emulgační účinnosti 53 %. Po přidání částic CNC se změnila velikost kapek na 12 μm s emulgační účinností 92 % (koncentrace 0,05 %) a, v případě koncentrace 0,1 %, na 10 μm a emulgační účinnost 57 % (Obrázek 38 a 39). Emulgační účinnost se po přidavku částic CNC zvýšila, v případě koncentrace 0,05 % o 21 % a v případě koncentrace 0,1 % jenom o 3 %.

Distribuce velikosti částic pro koncentraci částic 0,05 % (Obrázek 41) jsou monomodální a emulze B-PE má značně vyšší intenzitu oproti B-E. Emulze s koncentrací

částic 0,1 % (Obrázek 42) má distribuční křivku s dvěma populacemi emulzních kapek, ale s přidavkem CNC populace větších kapek zanikne, protože byly dostabilizovány částicemi CNC.

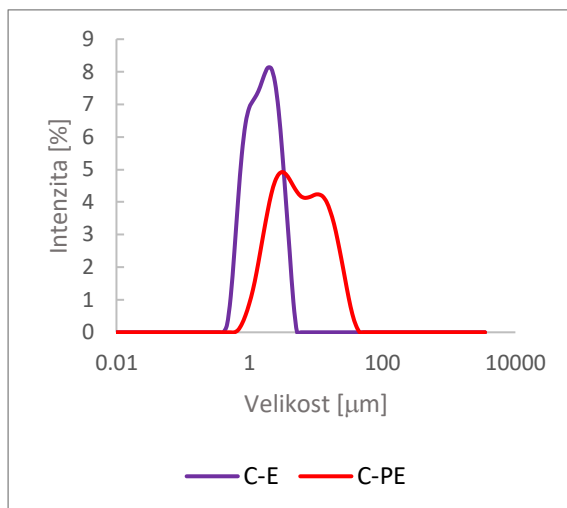


Obrázek 41 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze B - 0,05 %

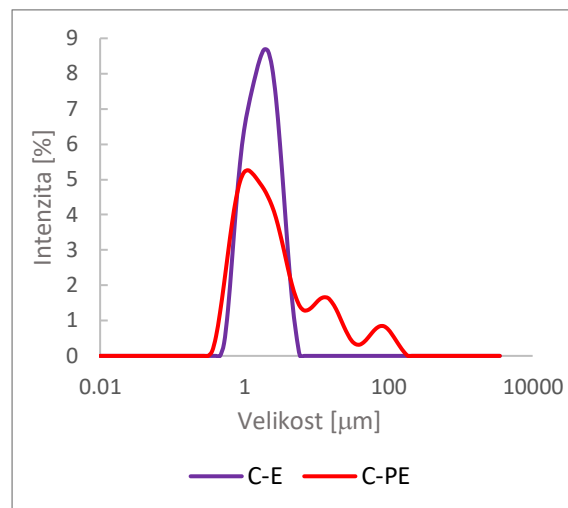


Obrázek 42 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi B - 0,1 %

Emulze C-PE byla stabilizovaná pouze částicemi CNC, o velikosti kapek 1,8 μm s emulgační účinností 45 % při koncentraci 0,05 % a 10,2 μm při koncentraci 0,1 % s emulgační účinností 9 %. Po přidání částic LNP-EtOH (C-E) se změnila velikost kapek na 1,9 μm s emulgační účinností 84 % (koncentrace 0,05 %) a 2,05 μm s emulgační účinností 76 % (koncentrace 0,1 %). Distribuční křivka (Obrázek 43) emulze C-PE o koncentraci 0,05 % vykazuje multimodální charakter, který zanikne přidavkem LNP-EtOH do systému(C-E). Emulze C-PE o koncentraci 0,1 % (Obrázek 44) vykazuje multimodální charakter a po přidavku LNP-EtOH se opět její distribuce změnila na monomodální.

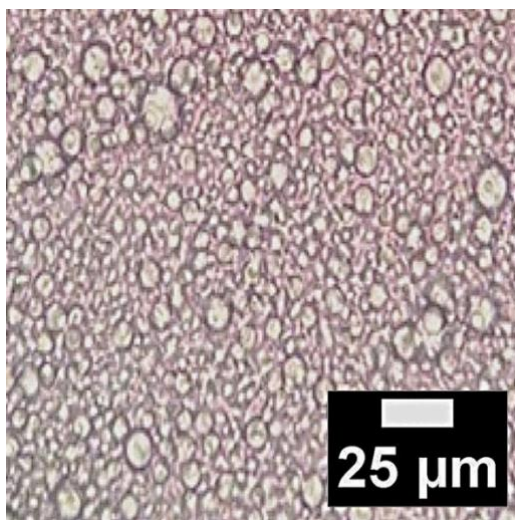


Obrázek 43 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze C - 0,05 %

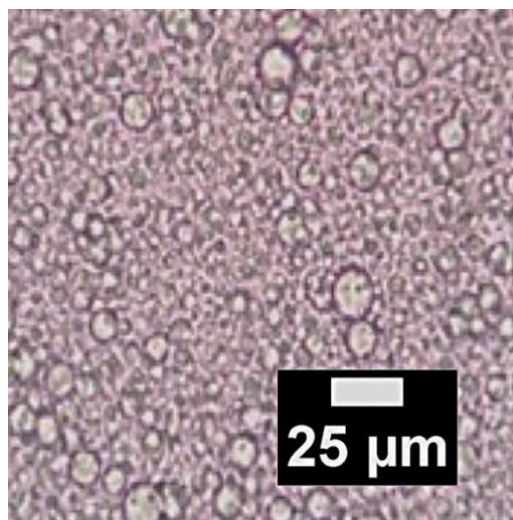


Obrázek 44 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C - 0,1 %

Na obrázku 45 můžeme pozorovat emulzi B-PE stabilizovanou pouze LNP-EtOH, která má emulzní kapky velké. Po přidání částic CNC do systému (Obrázek 46) se velikost většiny kapek snížila, každopádně jsou stále viditelné 2 populace kapek s větší a menší velikostí.



Obrázek 45 Emulze B-PE o pH 6 a koncentraci 0,05 %



Obrázek 46 Emulze B-E pH 6 a koncentraci 0,05 %

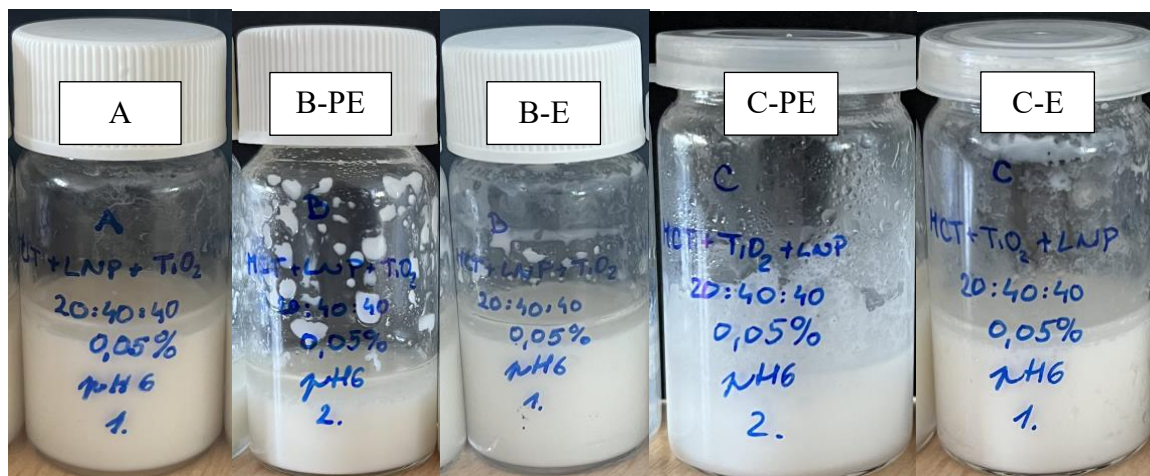
Z výsledků je viditelné, že emulze stabilizované oběma typy částic mají obecně velice malou velikost emulzních kapek. Nejnižší velikost kapek byla dosažena u emulze A o koncentraci 0,05 % a to 1,89 μm . Nejvyšší dosažené emulgační účinnosti (92 %) bylo v případě emulze B-E o koncentraci 0,05 %, kdy byla připravena emulze stabilizovaná LNP-EtOH a poté byly do systému přidány částice CNC. Emulze o koncentraci 0,1 % mají celkově nižší emulgační účinnost oproti emulzím o koncentraci 0,05 %.

LNP a CNC částice se samostatně jeví jako spolehlivé emulgátory, což podporuje předpoklad, synergického chování v kombinaci při stabilizaci Pickeringových emulzí. Což potvrzuje studie. Agustin a kol., kde prokázali potenciál ligninových nanočástic a částic nanokystalické celulosy jako stabilizátorů Pickeringových emulzí.[46]

11.5.2 Emulze připravené pomocí částic oxidu titaničitého o pH 6

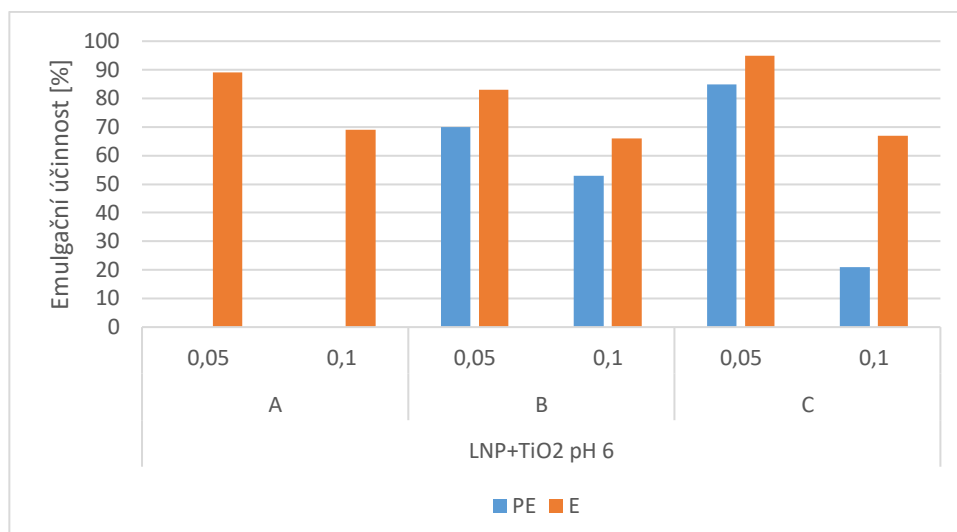
Jako další byly připraveny Pickeringovy emulze stabilizované ligninovými nanočásticemi v kombinaci s částicemi TiO_2 , opět při pH 6 a koncentracích 0,05 % a 0,1 %. U těchto připravených emulzí byla opět stanovena emulgační účinnost, velikost emulzních kapek a distribuční křivky.

Na Obrázku 47 můžeme vidět, emulze stabilizované LNP-EtOH a TiO_2 částicemi v poměru O/V 20:80 o koncentraci 0,05 % a hodnotě pH 6, připraveny 3 různými způsoby. Vyjma emulze C-PE lze u všech emulzí pozorovat vrstvu nezaemulgovaného oleje. Zeta-potenciál těchto emulzí, jak o koncentraci 0,05 % tak 0,1 % dosahovat hodnoty přibližně -39 mV.

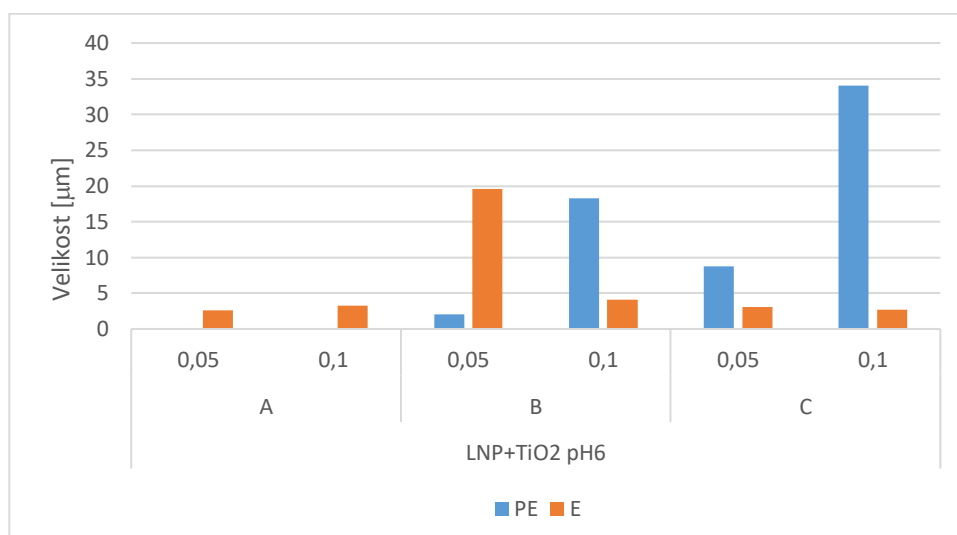


Obrázek 47 Emulze stabilizované LNP-EtOH + TiO_2 částicemi při pH 6

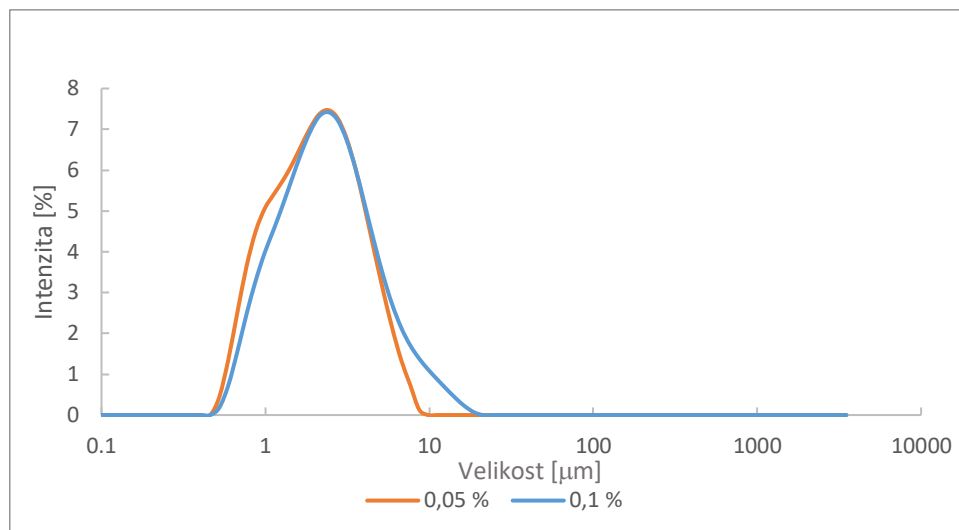
Z Obrázku 48 a 49 vyplývá, že emulze A stabilizovaná směsí LNP a TiO_2 o koncentraci 0,05 % měla emulgační účinnost 89 %, velikost kapek 2,58 μm . Velikost kapek emulze A o koncentraci 0,1 % byla 3,22 μm , a emulgační účinnost činila 69 %. Distribuce velikostí kapek (Obrázek 50) jsou monomodální a mezi koncentracemi 0,05 % a 0,1 % není výrazný rozdíl.



Obrázek 48 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+TiO₂ částic o pH 6 a koncentraci 0,05 % a 0,1 %

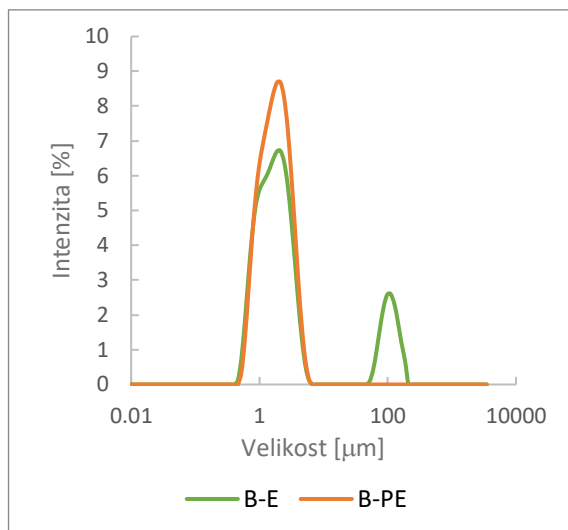


Obrázek 49 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+ TiO₂ o pH 6 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %

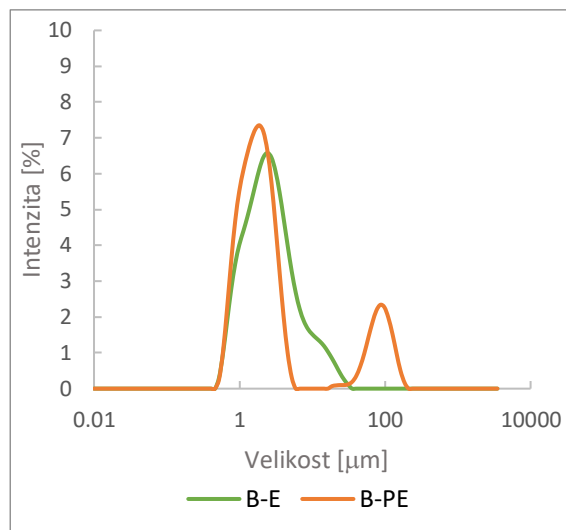


Obrázek 50 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A o koncentraci 0,05 %

Emulze B – PE byla stabilizovaná výhradně LNP. Při koncentraci 0,05 % měly kapky velikost 2,07 μm a emulgační účinnost dosahovala 70 %, zatímco při koncentraci 0,1 % se velikost kapek zvětšila na 18,3 μm a emulgační účinnost činila 53 %. Po přidání částic TiO_2 (B-E) došlo ke změně – při nižší koncentraci (0,05 %) vzrostla velikost kapek na 19,6 μm a emulgační účinností na 83 % naopak při koncentraci 0,1 % se velikost kapek snížila na 4,1 μm a emulgační účinností vzrostla na 66 %. Distribuce velikosti kapek pro koncentraci 0,05 % (Obrázek 51) jsou monomodální a emulze B-PE má značně vyšší intenzitu oproti B-E. Koncentrace 0,1 % (Obrázek 52) má distribuční křivku s dvěma populacemi velikostí částic, ale s přidavkem TiO_2 částic populace částic o větší velikosti zanikne.

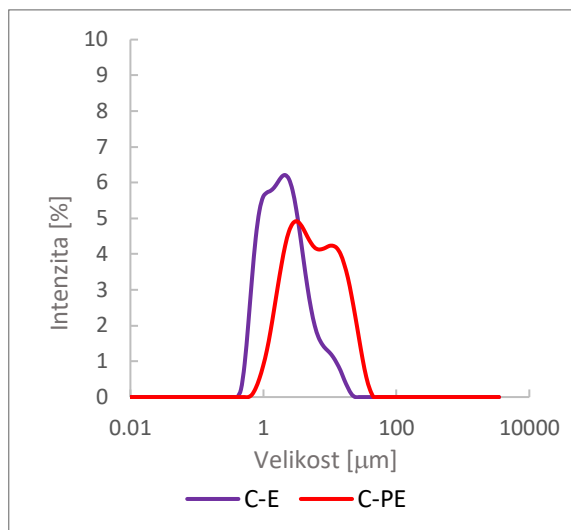


Obrázek 51 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %

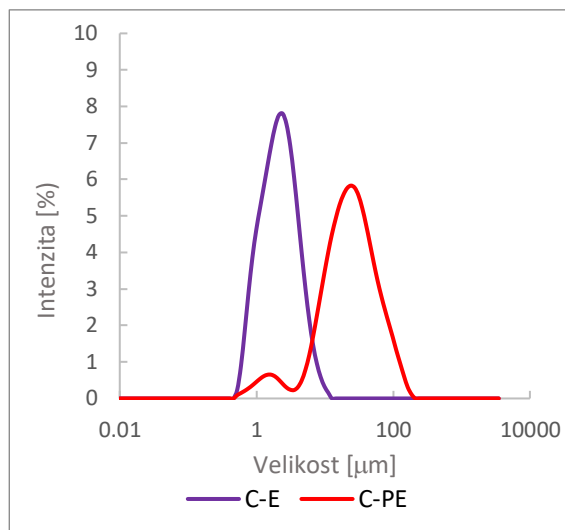


Obrázek 52 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze B o koncentraci 0,1 %

Emulze C-PE byla stabilizovaná pouze částicemi TiO_2 . Při koncentraci 0,05 % měly kapky velikost 8,8 μm s emulgační účinností činila 85 %, kdežto při koncentraci 0,1 % dosahovaly velikosti 34 μm s emulgační účinností pouze 21 %. Po přidavku LNP-EtOH došlo k zvýšení emulgační účinnosti na 95 % velikost kapek se snížila na 3,09 μm při koncentraci 0,05 % a u koncentrace 0,1 % dosáhla emulgační účinnost až 67 % a velikost kapek klesla na 2,7 μm. Distribuční křivky emulzí o koncentraci 0,05 % (Obrázek 53) vykazují monomodální charakter. Zatímco emulze C-PE o koncentraci 0,1 % (Obrázek 54) vykazuje polydisperzní charakter, po přidavku LNP se její distribuce změnila na monomodální.

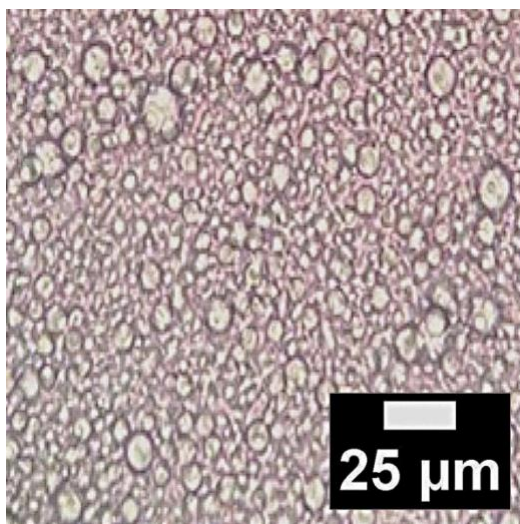


Obrázek 53 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %

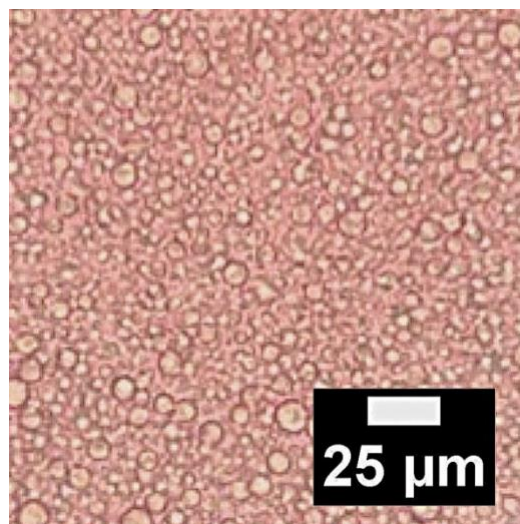


Obrázek 54 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C o koncentraci 0,1 %

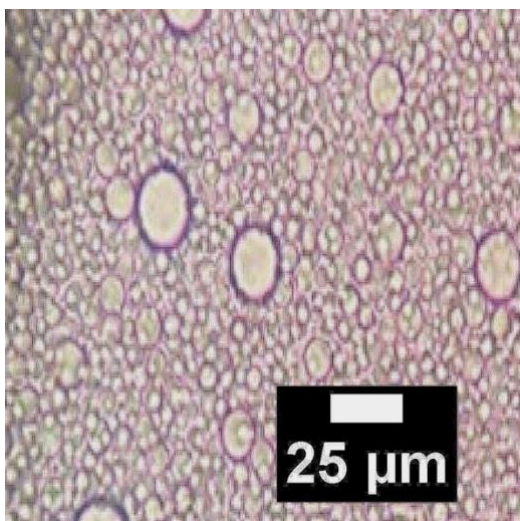
Mezi obrázky 55 a 56 je na první pohled znatelný rozdíl ve velikosti kapek. Lze tedy usoudit, že přidavek TiO_2 mělo za následek vznik jemnějších emulzí s menší velikostí emulzních kapek. V případě emulze C-PE na Obrázku 57 jsou viditelné velké kapky, oproti emulzi C-E na Obrázku 58, což je způsobeno přidavkem LNP-EtOH do systému.



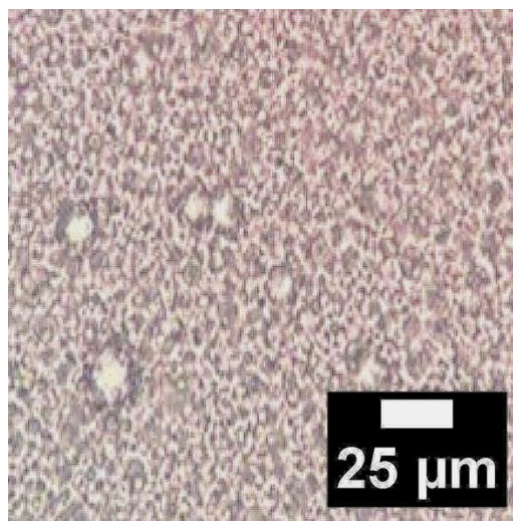
Obrázek 55 Emulze B-PE o pH 6 a koncentraci 0,05 %



Obrázek 56 Emulze B-E pH 6 a koncentraci 0,05 %



Obrázek 57 Emulze C-PE o pH 6 a koncentraci 0,05 %



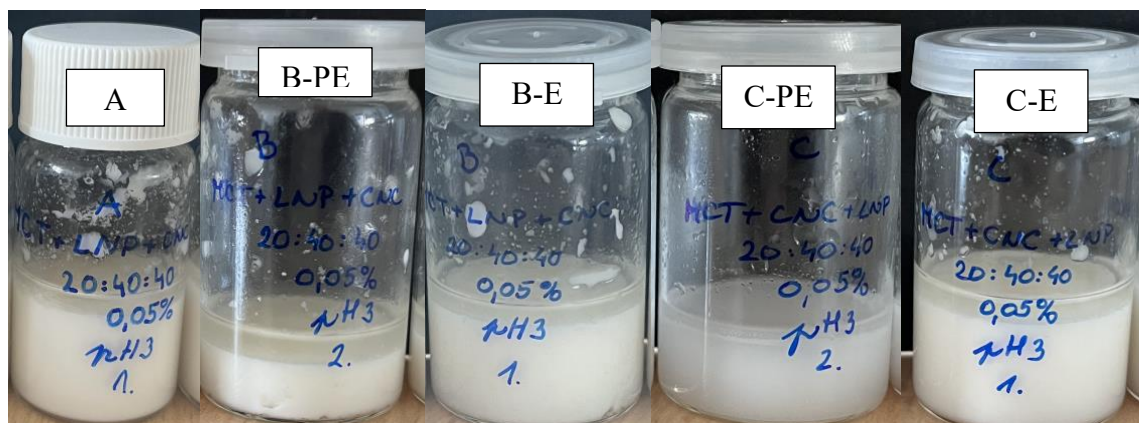
Obrázek 58 Emulze C-E o pH 6 a koncentraci 0,05 %

Připravené emulze stabilizované LNP-EtOH a částicemi TiO_2 prokázaly, že vyšší emulgační účinnosti a menších velikostí kapek bylo dosaženo v případě, kdy byly emulze stabilizovány oběma typy částic. Nejmenší velikosti kapek bylo opět dosaženo v případě emulze A o koncentraci 0,05 % a to 2,58 μm . Za to nejvyšší emulgační účinnosti bylo dosaženo u emulze C-E, která byla připravena první stabilizací částicemi TiO_2 a následným přidavkem LNP-EtOH, a činila až 95 %.

11.5.3 Emulze připravené pomocí částic nanokrystalické celulosy o pH 3

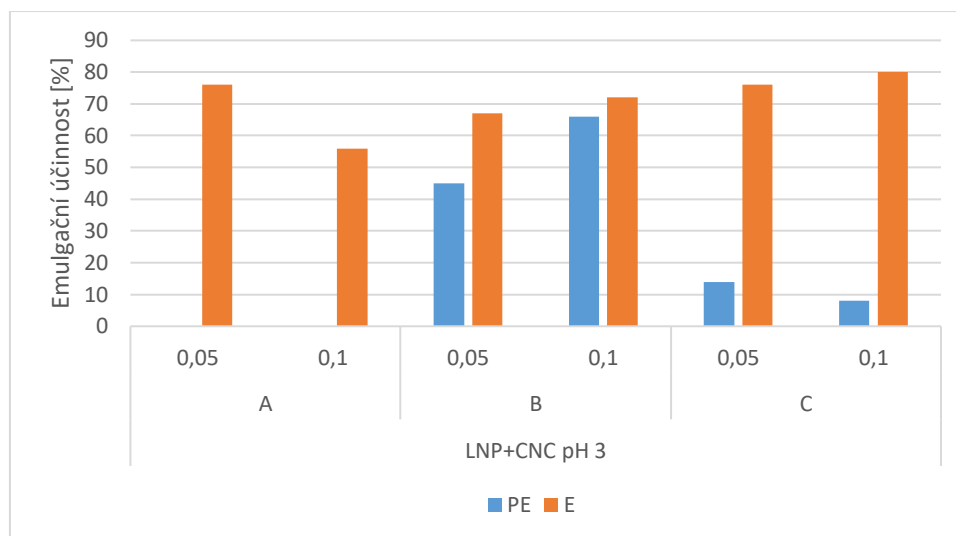
Dále byl zkoumán vliv kombinace ligninových nanočástic a částic nanokrystalické celulosy na stabilitu Pickeringových emulzí při pH 3 v koncentracích 0,05 % a 0,1 %. U připravených emulzí byla opět stanovena emulgační účinnost, velikost emulzních kapek a jejich distribuce pomocí distribučních křivek.

Obrázek 59 zobrazuje emulze, připraveny 3 různými způsoby, stabilizovány LNP-EtOH a CNC částicemi o koncentraci 0,05 % v poměru O/V 20:80 a hodnotě pH 3. U všech připravených emulzí je viditelná vrstva nezaemulgovaného oleje. Zeta-potenciál těchto emulzí dosahoval hodnot okolo -38 mV pro koncentraci 0,05 % a -40 mV při koncentraci 0,1 %.

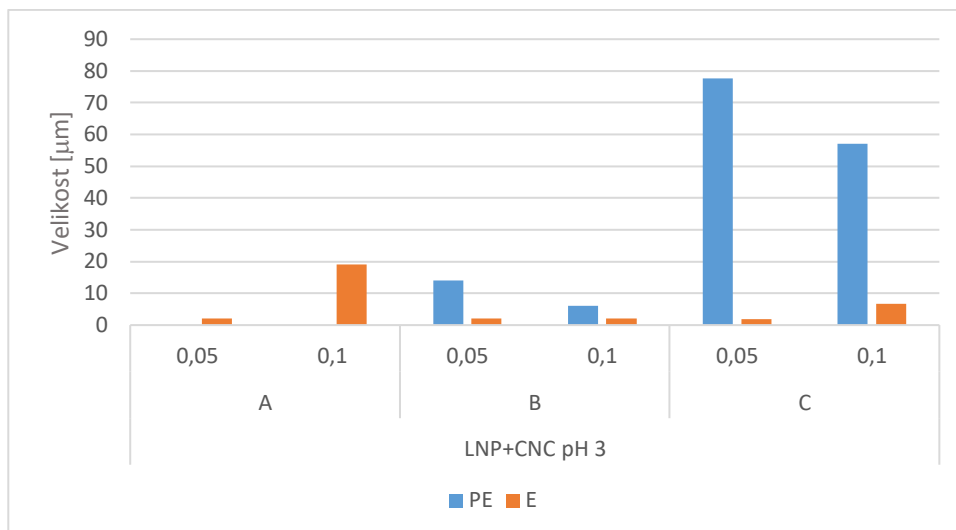


Obrázek 59 Emulze stabilizované LNP+ CNC částicemi při pH 3

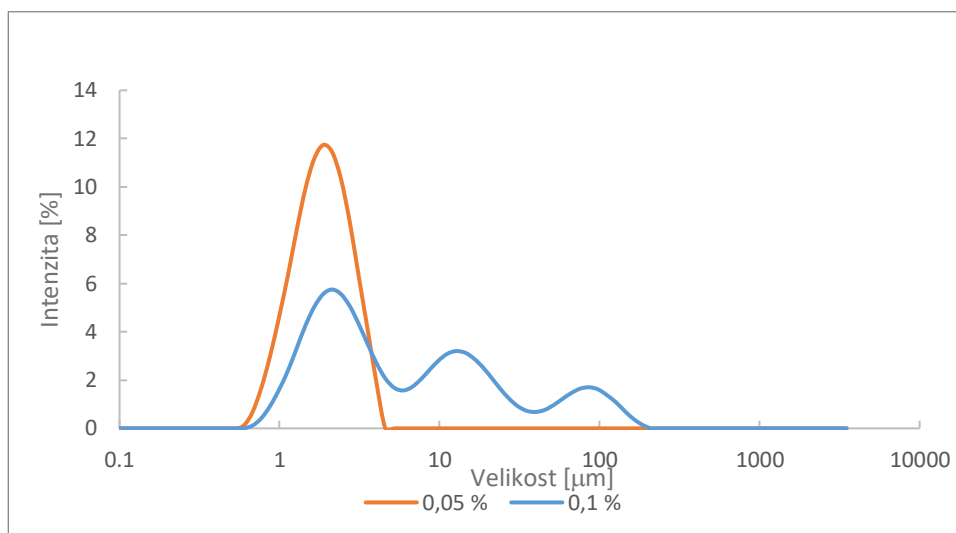
Z Obrázku 60 a 61 vyplývá, že emulze A stabilizovaná kombinací LNP-EtOH a CNC při koncentraci 0,05 % dosáhla emulgační účinnosti 76 %, velikosti kapek 2,09 μm . Velikost kapek emulze A o koncentraci 0,1 % činila 19,1 μm , a emulgační účinnost poklesla na 56 %. Distribuční křivka velikosti kapek (Obrázek 62) při koncentraci 0,05 % vykazuje monomodální charakter, zatímco koncentrace 0,1 % je multimodální.



Obrázek 60 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+CNC částic o pH 3 a koncentraci 0,05 % a 0,1 %

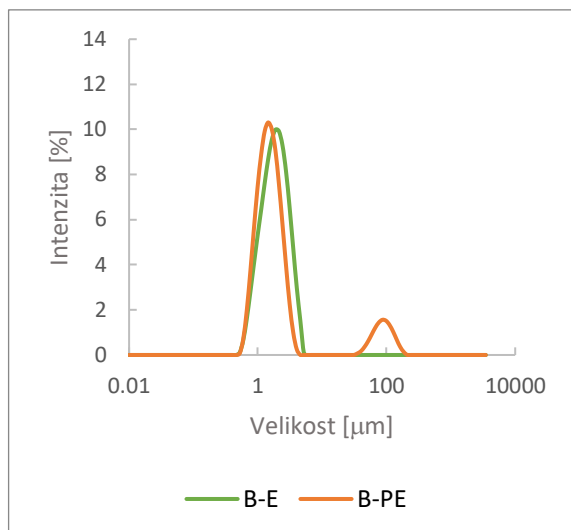


Obrázek 61 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+CNC o pH 3 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %

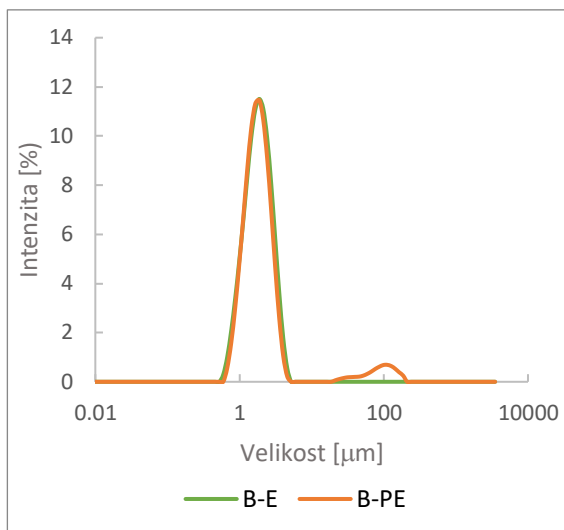


Obrázek 62 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A o koncentraci 0,05 % a 0,1 %

Emulze B – PE byla stabilizovaná pouze LNP-EtOH. Při koncentraci 0,05 % dosahovala velikosti kapek 14 μm a emulgační účinnosti 45 %, zatímco při koncentraci 0,1 % byla velikost kapek 6,14 μm a emulgační účinnost 66 %. Po přidavku částic CNC (B-E) klesla velikost kapek na 2,12 μm a emulgační účinnost vzrostla na 67 % při koncentraci 0,05 % a při koncentraci 0,1 % byla velikost kapek 2,05 μm a emulgační účinnost 72 %. Distribuční křivka velikosti kapek (Obrázek 63 a 64) ukazuje, že zatímco emulze B-PE vykazují bimodální charakter, emulze B-E je charakteristická monodisperzní distribucí. Přídavek částic CNC vedl k eliminaci populace větších kapek.

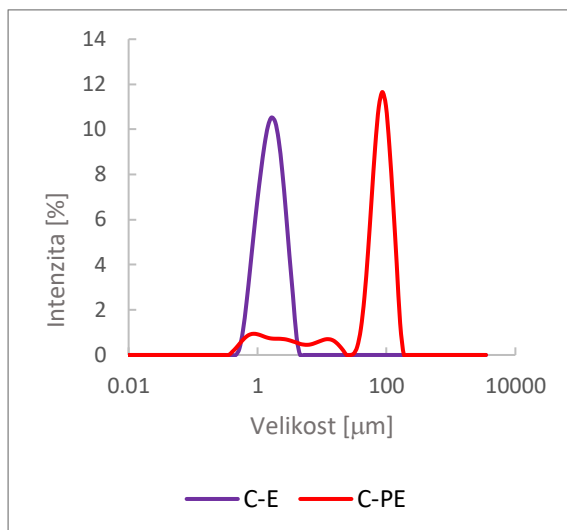


Obrázek 63 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %

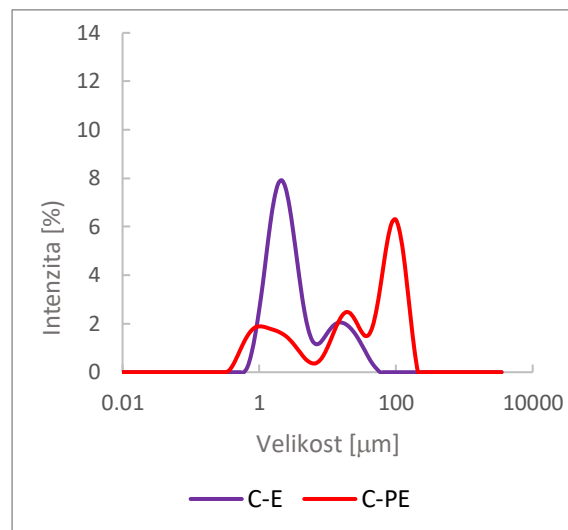


Obrázek 64 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,1 %

Emulze C-PE byla stabilizovaná pouze částicemi nanokrystalické celulosy. Emulze o koncentraci 0,05 % vykazovaly kapky o velikosti 77,6 μm a emulgační účinnost činila pouze 14 %. Při koncentraci 0,1 % činila velikost kapek 57 μm a emulgační účinnost jen 8 %. Po přidavku LNP-EtOH (C-E) se systém výrazně stabilizoval – emulgační účinnost při koncentraci 0,05 % se zvýšila až na 76 % a velikost kapek klesla na 1,85 μm, a v případě koncentrace 0,1 % dosáhla emulgační účinnost až 80 % a velikost kapek se zmenšila na 6,61 μm. Distribuční křivka na Obrázku 65 ukazuje, že emulze C-PE o koncentraci 0,05 % vykazuje polydisperzní charakter, ale po přidavku LNP-EtOH se změnila na monodisperzní. V případě koncentrace 0,1 % na Obrázku 66 je u emulze C-PE viditelný méně intenzivní pík v oblasti menších velikostí kapek a hlavní maximum je posunuto a značí větší velikosti kapek. Přídavek LNP-EtOH (C-E) zapříčinil změnu – výrazný pík v oblasti menší velikosti částic, následovaný méně výraznou populací větších částic.

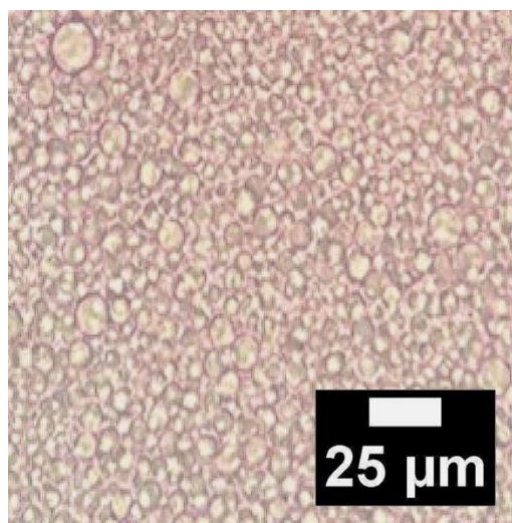


Obrázek 65 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %



Obrázek 66 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C o koncentraci 0,1 %

Na obrázku 67 je zobrazena emulze stabilizovaná LNP-EtOH a částicemi CNC o koncentraci 0,05 % a pH 3, připravena způsobem A, u které můžeme pozorovat kapky různých velikostí.



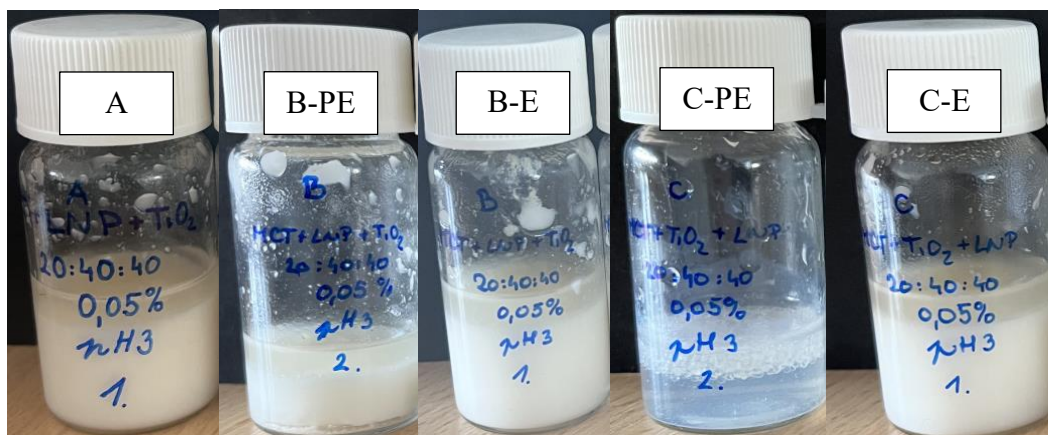
Obrázek 67 Emulze A obsahující CNC částice o pH 3 a koncentraci 0,05 %

Z výsledků je zřejmé, že emulze stabilizované oběma typy částic mají obecně velice malou velikost emulzních kapek s výjimkou emulze A o koncentraci 0,1 %, kde velikost kapek dosahovala 19,1 μm. Nejmenší velikost kapek byla dosažena u emulze C-E o koncentraci 0,05 % a to 1,85 μm. Nejvyšší dosažené emulgační účinnosti, která činila 80 %, bylo v případě emulze C-E o koncentraci 0,1 %.

11.5.4 Emulze připravené pomocí částic oxidu titaničitého o pH 3

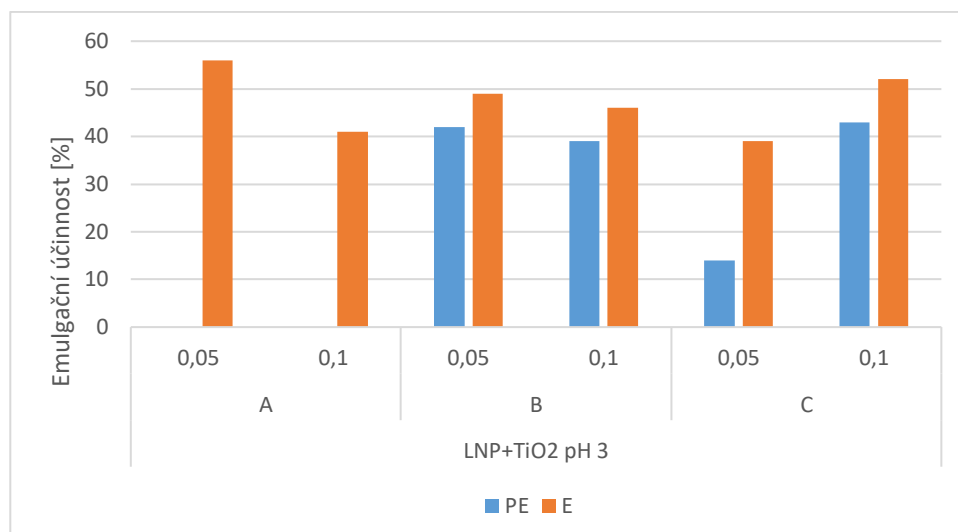
Jako poslední byly připraveny Pickeringovy emulze stabilizované ligninovými nanočásticemi v kombinaci s částicemi TiO_2 , opět při koncentracích 0,05 % a 0,1 %. Z důvodu, že zeta-potenciál částic TiO_2 dosahuje při hodnotě pH 3 kladných hodnot, byla vybrána tato hodnota pH pro přípravu emulzí. U těchto připravených emulzí byla opět stanovena emulgační účinnost, velikost emulzních kapek a distribuční křivky.

Na Obrázku 68 můžeme vidět, emulze stabilizované LNP-EtOH a TiO_2 částicemi v poměru 20:80 o koncentraci 0,05 % a hodnotě pH 3, připraveny 3 různými způsoby. U všech emulzí, kromě C-PE, kde nedošlo k emulgaci, je viditelná vrstva nezaemulgovaného oleje. Zeta-potenciál těchto emulzí má průměrnou hodnotu -37 mV (koncentrace 0,05 %) a -39 (koncentrace 0,1 %).

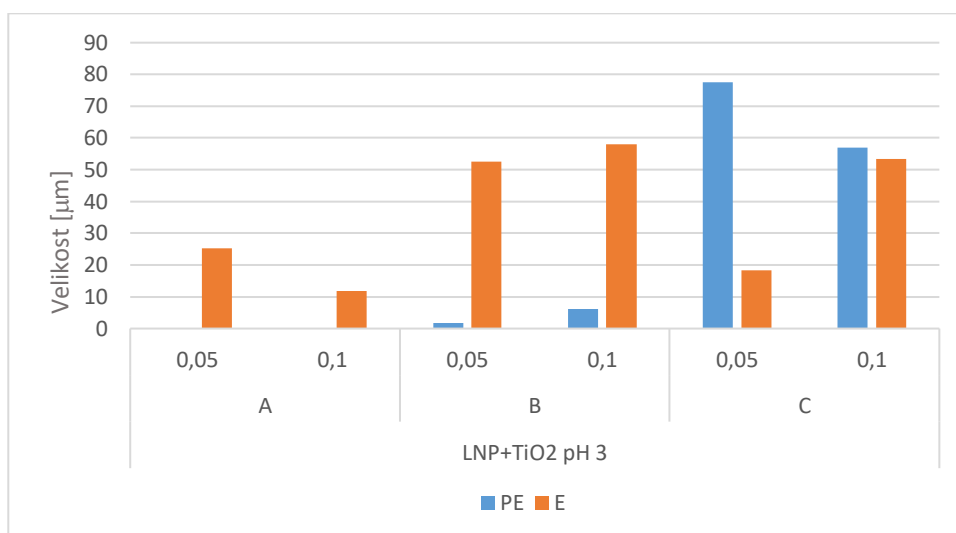


Obrázek 68 Emulze stabilizované LNP+ TiO_2 při pH 3

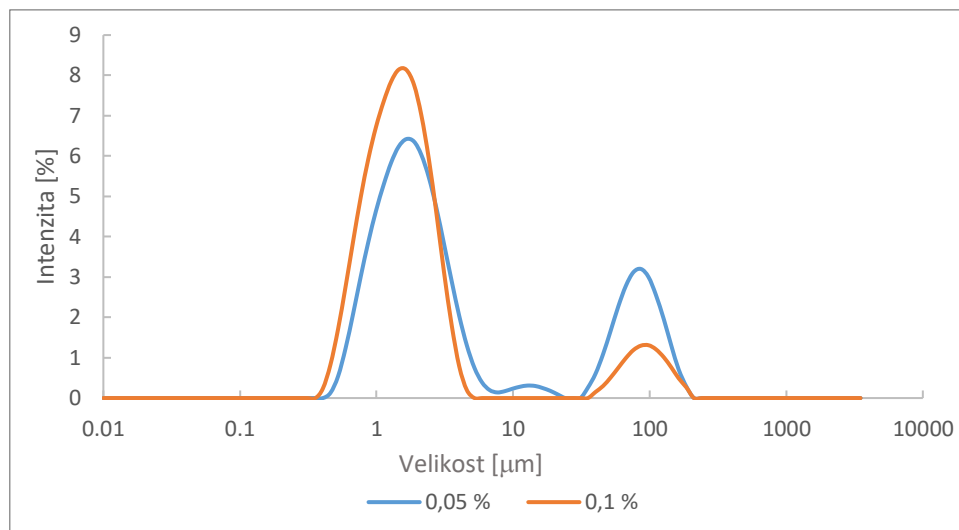
Z Obrázku 69 a 70 vyplývá, že emulze A stabilizovaná kombinací LNP-EtOH a TiO_2 o koncentraci 0,05 % vykazovala emulgační účinnost 56 % a velikost kapek 25,2 μm . Velikost kapek emulze A o koncentraci 0,1 % byla 11,9 μm , a emulgační účinnost 41 %. Distribuční křivky velikosti kapek (Obrázek 71) pro obě koncentrace (0,05 % a 0,1 %) jsou polydisperzní. Díky zeta-potenciálu částic TiO_2 , které jsou kladně nabitě, docházelo ke komplexaci částic v systému, a pro to byla velikost částic větší a mezifázové rozhraní stabilizováno oběma typy částic.



Obrázek 69 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+TiO₂ částic o pH 3 a koncentraci 0,05 % a 0,1%

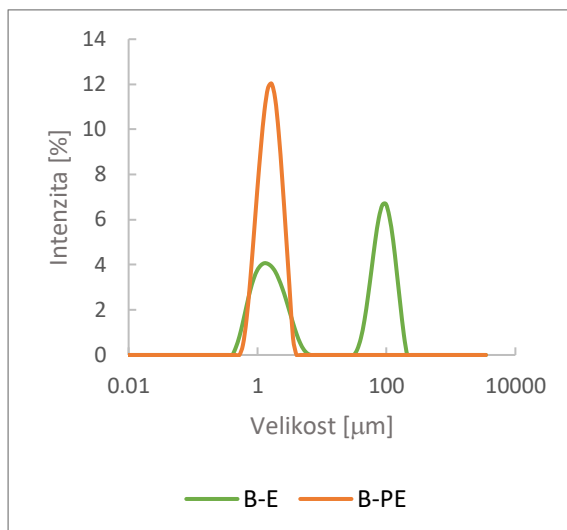


Obrázek 70 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+TiO₂ o pH 3 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %

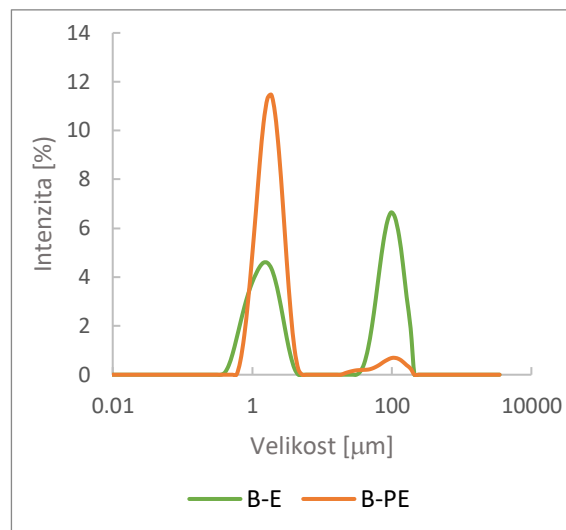


Obrázek 71 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A o koncentraci 0,05 % a 0,1 %

Emulze B – PE byla stabilizovaná pouze LNP, měla při koncentraci 0,05 % velikost kapek 1,76 μm a emulgační účinnost činila 42 %. Při koncentraci 0,1 % byla velikost kapek 6,14 μm a emulgační účinnost činila 39 %. Po přidavku částic TiO₂ vzrostla velikost kapek (B-E), při koncentraci 0,05 %, na 52,6 μm a emulgační účinnost na 49 %. V případě koncentrace 0,1 % vzrostla velikost kapek na 58 μm a emulgační účinnosti na 46 %. Distribuční křivky velikosti částic pro koncentraci 0,1 % (Obrázek 73) jsou polydisperzní a obě vykazují 2 populace částic, kdy v případě B-PE dominuje výrazný pík v oblasti menších kapek následovaný méně výraznou populací větších kapek. To se změnilo přidáním částic TiO₂ do systému (B-E) a můžeme pozorovat opět dvě populace kapek, kdy se ale větší populace kapek nachází v oblasti větších rozměrů. V případě koncentrace 0,05 % (Obrázek 72) je distribuční křivka emulze B-PE monodisperzní, ale po přidání částic TiO₂ se distribuční křivka mění na polydisperzní o dvou populacích. Tato změna pravděpodobně nastala v důsledku komplexace mezi částicemi LNP a oxidu titaničitého při pH 3.

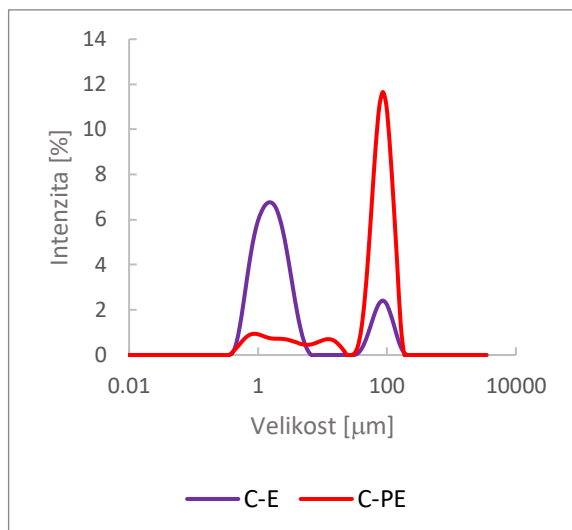


Obrázek 72 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze B o koncentraci 0,05 %

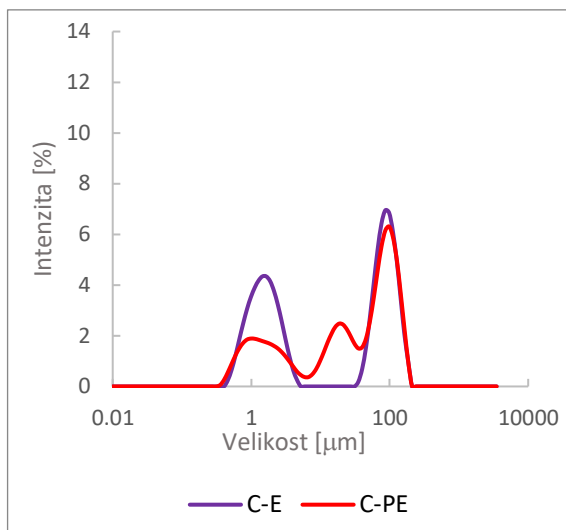


Obrázek 73 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi B o koncentraci 0,1 %

Emulze C–PE stabilizovaná pouze částicemi CNC, vykazovala velikost kapek 77,6 μm a emulgační účinnost 14 % při koncentraci 0,05 %. Při koncentraci 0,1 % byla velikost kapek 57 μm a emulgační účinnost činila 43 %. Po přidavku LNP (C-E) se v případě koncentrace 0,05 % emulgační účinnost zvýšila na 39 % a velikost kapek naopak snížila na 18,3 μm. U emulzí o koncentraci 0,1 % se emulgační účinnost zvýšila na 52 % a velikost kapek snížila na 53,4 μm. Distribuční křivky emulzí, na Obrázku 74 a 75, jak při koncentraci 0,05 %, tak 0,1 %, jsou polydisperzní. V obou případech se po přidavku částic TiO₂ projevují dvě populace částic. Kdy při koncentraci 0,05 % je větší populace menších kapek a v případě koncentrace 0,1 % je větší populace větších kapek.

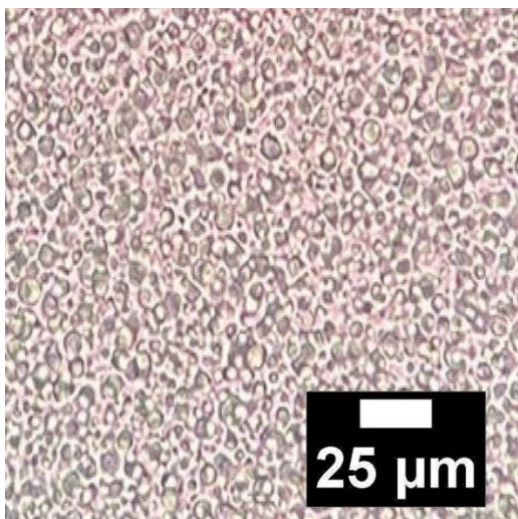


Obrázek 74 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %

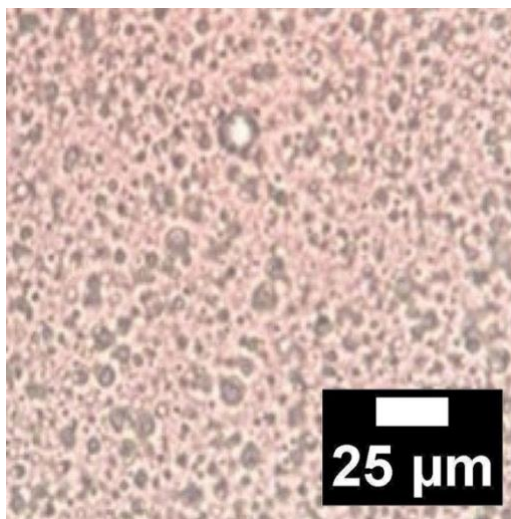


Obrázek 75 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C o koncentraci 0,1 %

Na obrázku 76 můžeme pozorovat emulzi B-PE stabilizovanou pouze LNP-EtOH, o koncentraci 0,05 % a pH 3, která má malé emulzní kapky. Po přidání částic TiO_2 do systému (Obrázek 77) se velikost kapek ještě snížila, každopádně jsou stále viditelné populace kapek s větší a menší velikostí.



Obrázek 76 Emulze B-PE obsahující TiO_2 částice o pH 3 a koncentraci 0,05 %



Obrázek 77 Emulze B-E obsahující TiO_2 částice o pH 3 a koncentraci 0,05 %

V případě emulzí stabilizovaných LNP-EtOH a částicemi TiO_2 při pH 3 bylo dosaženo nejmenší velikosti kapek u emulze A o koncentraci 0,1 % a to 11,9 μm. Za to nejvyšší emulgační účinnosti bylo dosaženo u emulze A o koncentraci 0,05 % a činila 56 %.

ZÁVĚR

Tato diplomová práce se zabývala optimalizací přípravy ligninových nanočástic a studiem jejich interakcí s jinými částicemi na fázovém rozhraní. V teoretické části byla popsána struktura a vlastnosti ligninu, jeho potenciál pro tvorbu nanočástic a přehled metod jejich přípravy. Dále byly popsány vlastnosti Pickeringových emulzí, metody jejich přípravy, mechanismy stabilizace a jejich možné využití. Také byly popsány interakce částic na fázovém rozhraní a způsoby jeho stabilizace.

V experimentální části bylo provedeno srovnání různých parametrů přípravy ligninových nanočástic, jako je typ rozpouštědla, rychlost míchání, poměr rozpouštědla a antirozpouštědla. Optimalizované podmínky vedly k přípravě stabilních nanočástic s homogenní velikostí, dobrou dispergovatelností a požadovanými povrchovými vlastnostmi. Pro tuto práci byly zvoleny LNP připraveny v poměru 1:1 při rychlosti míchání 2, jelikož disponují nejmenší velikostí (220 nm), monomodální distribucí a zeta-potenciálem o hodnotě -41 až -53 mV. Dále byly připraveny disperze nanokrystalické celulózy a oxidu titaničitého a byla provedena jejich charakterizace. Následně byly připravené ligninové nanočástice testovány v modelových emulzních systémech a byla sledována jejich schopnost stabilizace fázového rozhraní, samostatně i ve spojení s částicemi nanokrystalické celulózy a oxidu titaničitého. Emulze s nejlepší emulgační účinností byly stabilizovány oběma druhy částic konkrétně C-E, stabilizována jak LNP-EtOH tak částicemi TiO₂ o pH 6 při koncentraci 0,05 %, dosáhla až 95 %. Podobného výsledku, emulgační účinnosti 92 %, dosáhla také emulze stabilizována LNP-EtOH v kombinaci s částicemi CNC při pH 6 o koncentraci 0,05 %, která byla ale připravena způsobem B.

Výsledky ukázaly, že ligninové nanočástice mají významný potenciál jako ekologické stabilizátory emulzí a jejich interakce s jinými typy částic jako CNC a TiO₂, může být řízena úpravou pH nebo způsobem přípravy (A, B, C). Efekty mezi různými druhy částic přispívají ke zvýšení stability emulzí a umožňují cílené ladění jejich vlastností podle požadované aplikace.

Závěrem lze konstatovat, že ligninové nanočástice představují udržitelnou a multifunkční platformu pro aplikace v oblasti kosmetiky, farmacie, potravinářství i enviromentálních technologií. V této oblasti je ale zapotřebí dalšího výzkumu zaměřeného na dlouhodobou stabilitu těchto systémů, biokompatibilitu a chování v reálných maticích, aby mohl být jejich aplikační potenciál plně využit.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] KARUNARATHNA, Menisha S. a Rhett C. SMITH. Valorization of Lignin as a Sustainable Component of Structural Materials and Composites: Advances from 2011 to 2019. *Sustainability* [online]. 2020, **12**(2), 734 [vid. 2025-03-11]. ISSN 2071-1050. Dostupné z: doi:10.3390/su12020734
- [2] FENG, Nianjie, Xiangdong ZHAO, Jiaxin HU, Fei TANG, Shuang LIANG, Qian WU a Chaoqun ZHANG. Recent advance in preparation of lignin nanoparticles and their medical applications: A review. *Phytomedicine* [online]. 2024, **130**, 155711 [vid. 2024-11-18]. ISSN 09447113. Dostupné z: doi:10.1016/j.phymed.2024.155711
- [3] LIU, Rui, Stefan WILLFÖR a Chunlin XU. New insights into the effects of structural and constituent heterogeneities in lignin on the formation of nanoparticles. *Industrial Crops and Products* [online]. 2024, **220**, 119149 [vid. 2024-11-18]. ISSN 09266690. Dostupné z: doi:10.1016/j.indcrop.2024.119149
- [4] EL BOUHALI, Aymane, Sébastien CAMBIER, Patrick GRYSAN, Lauriane CHUZEVILLE, Daniel F. SCHMIDT a Jean-Sébastien THOMANN. Using kraft lignin nanoparticles for the stabilization of nano/micro wax carriers. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2024, **277**, 134278 [vid. 2024-11-18]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.134278
- [5] COLUCCI, Giovana, Arantzazu SANTAMARIA-ECHART, Samara C. SILVA, Liandra G. TEIXEIRA, Andreia RIBEIRO, Alírio E. RODRIGUES a M. Filomena BARREIRO. Development of colloidal lignin particles through particle design strategies and screening of their Pickering stabilizing potential. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2023, **666**, 131287 [vid. 2025-03-13]. ISSN 09277757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2023.131287
- [6] TANG, Qianqian, Yong QIAN, Dongjie YANG, Xueqing QIU, Yanlin QIN a Mingsong ZHOU. Lignin-Based Nanoparticles: A Review on Their Preparations and Applications. *Polymers* [online]. 2020, **12**(11), 2471 [vid. 2025-03-23]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym12112471
- [7] MUKHEJA, Yashdeep, Jaspreet KAUR, Khushboo PATHANIA, Sangeeta P. SAH, Deepak B. SALUNKE, Abhay T. SANGAMWAR a Sandip V. PAWAR. Recent advances in pharmaceutical and biotechnological applications of lignin-based materials. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2023, **241**, 124601 [vid. 2025-04-02]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2023.124601
- [8] LI, Yuanyuan, Xueqing QIU, Yong QIAN, Wenlong XIONG a Dongjie YANG. pH-responsive lignin-based complex micelles: Preparation, characterization and application in oral drug delivery. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2017, **327**, 1176–1183 [vid. 2025-04-02]. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2017.07.022
- [9] NAN, Nan, Wanhe HU a Jingxin WANG. Lignin-Based Porous Biomaterials for Medical and Pharmaceutical Applications. *Biomedicines* [online]. 2022, **10**(4), 747 [vid. 2025-04-02]. ISSN 2227-9059. Dostupné z: doi:10.3390/biomedicines10040747
- [10] PENKINA, Anna, Osmo ANTIKAINEN, Maija HAKOLA, Sirpa VUORINEN, Timo REPO, Jouko YLIRUUSI, Peep VESKI, Karin KOGERMANN a Jyrki HEINÄMÄKI. Direct Compression of Cellulose and Lignin Isolated by a New Catalytic Treatment. *AAPS PharmSciTech* [online]. 2013, **14**(3), 1129–1136 [vid. 2025-04-02]. ISSN 1530-9932. Dostupné z: doi:10.1208/s12249-013-0002-x
- [11] MOGHIMI, S. Moein, Peter SYMONDS, J. Clifford MURRAY, A. Christy HUNTER, Grazyna DEBSKA a Adam SZEWCZYK. A two-stage poly(ethylenimine)-mediated cytotoxicity: implications for gene transfer/therapy. *Molecular Therapy* [online]. 2005, **11**(6), 990–995 [vid. 2025-04-02]. ISSN 15250016. Dostupné

z: doi:10.1016/j.ymthe.2005.02.010

[12] LIU, Rui, Lin DAI, Chunlin XU, Kai WANG, Chunyang ZHENG a Chuanling SI. Lignin-Based Micro- and Nanomaterials and their Composites in Biomedical Applications. *ChemSusChem* [online]. 2020, **13**(17), 4266–4283 [vid. 2025-04-02]. ISSN 1864-5631, 1864-564X. Dostupné z: doi:10.1002/cssc.202000783

[13] NANDA, Sanju, Arun NANDA, Shikha LOHAN, Ranjot KAUR a Bhupinder SINGH. Nanocosmetics: performance enhancement and safety assurance. In: *Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics* [online]. B.m.: Elsevier, 2016 [vid. 2024-12-03], s. 47–67. ISBN 978-0-323-42868-2. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-323-42868-2.00003-6

[14] KATZ, Linda M., Kapal DEWAN a Robert L. BRONAUGH. Nanotechnology in cosmetics. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2015, **85**, 127–137 [vid. 2024-11-18]. ISSN 02786915. Dostupné z: doi:10.1016/j.fct.2015.06.020

[15] ABDELMULA, Waha Ismail Yahia, Babbiker Mohammed Taher GORISH, Sivasamy SETHUPATHY, Zhong ZIJING, Hisham N. ALTAYEB a Daochen ZHU. Green synthesis of polyphenol-grafted lignin nanoparticles and their application as sustainable anti-acne, antioxidant, and UV-blocking agents. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2025, **245**, 114309 [vid. 2024-11-18]. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2024.114309

[16] SCHNEIDER, Willian Daniel Hahn, Aldo José Pinheiro DILLON a Marli CAMASSOLA. Lignin nanoparticles enter the scene: A promising versatile green tool for multiple applications. *Biotechnology Advances* [online]. 2021, **47**, 107685 [vid. 2025-03-17]. ISSN 07349750. Dostupné z: doi:10.1016/j.biotechadv.2020.107685

[17] YOU, Sang-Mook, Jonghwa KIM, Suin BAE, Hyeon Soo JANG, Chan-Duck JUNG, Hyolin SEONG, Younghoon KIM, Hyun Gil CHA, June-Ho CHOI a Hoyong KIM. Reconstruction of biorefinery lignin into nanoparticles with controlled morphology and structure. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2025, **284**, 138161 [vid. 2024-12-03]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.138161

[18] FRANGVILLE, Camille, Marius RUTKEVIČIUS, Alexander P. RICHTER, Orlin D. VELEV, Simeon D. STOYANOV a Vesselin N. PAUNOV. Fabrication of Environmentally Biodegradable Lignin Nanoparticles. *ChemPhysChem* [online]. 2012, **13**(18), 4235–4243 [vid. 2025-04-02]. ISSN 1439-4235, 1439-7641. Dostupné z: doi:10.1002/cphc.201200537

[19] LIU, Kefeng, Yuntang ZHUANG, Jiachuan CHEN, Guihua YANG a Lin DAI. Research Progress on the Preparation and High-Value Utilization of Lignin Nanoparticles. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 2022, **23**(13), 7254 [vid. 2025-04-15]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms23137254

[20] KIM, Suyeon, Margarida M. FERNANDES, Teresa MATAMÁ, Ana LOUREIRO, Andreia C. GOMES a Artur CAVACO-PAULO. Chitosan–lignosulfonates sono-chemically prepared nanoparticles: Characterisation and potential applications. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* [online]. 2013, **103**, 1–8 [vid. 2025-04-02]. ISSN 09277765. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfb.2012.10.033

[21] YIAMSAWAS, Dounporn, Grit BAIER, Eckhard THINES, Katharina LANDFESTER a Frederik R. WURM. Biodegradable lignin nanocontainers. *RSC Adv.* [online]. 2014, **4**(23), 11661–11663 [vid. 2025-04-02]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C3RA47971D

[22] STANISZ, M., Ł. KLAPISZEWSKI, M.N. COLLINS a T. JESIONOWSKI. Recent progress in biomedical and biotechnological applications of lignin-based spherical nano- and microstructures: a comprehensive review. *Materials Today Chemistry* [online].

- 2022, **26**, 101198 [vid. 2025-03-16]. ISSN 24685194. Dostupné z: doi:10.1016/j.mtchem.2022.101198
- [23] ZHANG, Yue a Gang CHENG. Lignin-containing hydrogels: Transforming a low-value byproduct to absorbents, wound dressings and strain sensors. *Chemical Engineering Journal* [online]. 2023, **475**, 146460 [vid. 2025-04-02]. ISSN 13858947. Dostupné z: doi:10.1016/j.cej.2023.146460
- [24] CUI, Song, Yue YU, David Julian MCCLEMENTS, Chaoran LIU, Xingfeng XU, Qingjie SUN, Pengjie WANG a Lei DAI. High internal phase Pickering emulsions co-stabilized by zein nanoparticles and cellulose nanocrystals: Fabrication, characterization, and application. *Food Hydrocolloids* [online]. 2025, **159**, 110650 [vid. 2025-03-17]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2024.110650
- [25] ALQAHTANI, Mohammed S., Ali ALQAHTANI, Mohsin KAZI, Muhammad Z. AHMAD, Abdullah ALAHMARI, Mohammad A. ALSENAIDY a Rabbani SYED. Wound-healing potential of curcumin loaded lignin nanoparticles. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2020, **60**, 102020 [vid. 2025-04-02]. ISSN 17732247. Dostupné z: doi:10.1016/j.jddst.2020.102020
- [26] FURTH, Mark E., Anthony ATALA a Mark E. VAN DYKE. Smart biomaterials design for tissue engineering and regenerative medicine. *Biomaterials* [online]. 2007, **28**(34), 5068–5073 [vid. 2025-04-02]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2007.07.042
- [27] HAIDER, Md. Kaiser, Davood KHARAGHANI, Lei SUN, Sana ULLAH, Mohammad Nauman SARWAR, Azeem ULLAH, Muzamil KHATRI, Yuji YOSHIKO, Mayakrishnan GOPIRAMAN a Ick Soo KIM. Synthesized bioactive lignin nanoparticles/polycaprolactone nanofibers: A novel nanobiocomposite for bone tissue engineering. *Biomaterials Advances* [online]. 2023, **144**, 213203 [vid. 2025-04-02]. ISSN 27729508. Dostupné z: doi:10.1016/j.bioadv.2022.213203
- [28] CHEN, Ying, Kun ZHENG, Li NIU, Yutao ZHANG, Yupeng LIU, Chunpeng WANG a Fuxiang CHU. Highly mechanical properties nanocomposite hydrogels with biorenewable lignin nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2019, **128**, 414–420 [vid. 2025-04-02]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.01.099
- [29] TIAN, Jing, Jingqian CHEN, Peipei WANG, Shaomin KANG, Jiaqi GUO, Wenyan ZHU, Yongcan JIN, Junlong SONG a Orlando J. ROJAS. Pickering emulsion stabilization with colloidal lignin is enhanced by salt-induced networking in the aqueous phase. *International Journal of Biological Macromolecules* [online]. 2024, **274**, 133504 [vid. 2024-12-03]. ISSN 01418130. Dostupné z: doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.133504
- [30] PEI, Jinze, Ning WEI, Congcong CUI a Guangshan XUAN. Preparation of Pickering Emulsion for Antibacterial, Anti-Inflammatory and Wound Healing. *Journal of Biosciences and Medicines* [online]. 2022, **10**(12), 134–150 [vid. 2025-03-11]. ISSN 2327-5081, 2327-509X. Dostupné z: doi:10.4236/jbm.2022.1012012
- [31] MARTO, Joana, Aida DUARTE, Sandra SIMÕES, Lídia Maria GONÇALVES, Luís Filipe GOUVEIA, António José ALMEIDA a Helena Margarida RIBEIRO. Starch-Based Pickering Emulsions as Platforms for Topical Antibiotic Delivery: In Vitro and In Vivo Studies. *Polymers* [online]. 2019, **11**(1), 108 [vid. 2025-03-11]. ISSN 2073-4360. Dostupné z: doi:10.3390/polym11010108
- [32] DE CARVALHO-GUIMARÃES, Fernanda Brito, Kamila Leal CORREA, Tatiane Pereira DE SOUZA, Jesus Rafael RODRÍGUEZ AMADO, Roseane Maria RIBEIRO-COSTA a José Otávio Carrera SILVA-JÚNIOR. A Review of Pickering Emulsions: Perspectives and Applications. *Pharmaceuticals* [online]. 2022, **15**(11), 1413 [vid. 2025-03-13]. ISSN 1424-8247. Dostupné z: doi:10.3390/ph15111413

- [33] GUZMÁN, Eduardo, Francisco ORTEGA a Ramón G. RUBIO. Pickering Emulsions: A Novel Tool for Cosmetic Formulators. *Cosmetics* [online]. 2022, **9**(4), 68 [vid. 2025-04-03]. ISSN 2079-9284. Dostupné z: doi:10.3390/cosmetics9040068
- [34] AVEYARD, Robert, Bernard P BINKS a John H CLINT. Emulsions stabilised solely by colloidal particles. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2003, **100–102**, 503–546 [vid. 2025-03-13]. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/S0001-8686(02)00069-6
- [35] SIMOVIC, S., N. GHOUCHI-ESKANDAR a C.A. PRESTIDGE. Pickering emulsions for dermal delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2011, **21**(1), 123–133 [vid. 2025-04-03]. ISSN 17732247. Dostupné z: doi:10.1016/S1773-2247(11)50011-5
- [36] MCCLEMENTS, David Julian. Advances in fabrication of emulsions with enhanced functionality using structural design principles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [online]. 2012, **17**(5), 235–245 [vid. 2025-04-03]. ISSN 13590294. Dostupné z: doi:10.1016/j.cocis.2012.06.002
- [37] GUO, Qinxin. Progress in the preparation, stability and functional applications of Pickering emulsion. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* [online]. 2021, **639**(1), 012028. Dostupné z: doi:10.1088/1755-1315/639/1/012028
- [38] URBÁNKOVÁ LUCIE. *Stabilization of dispersion systems by polymeric emulsifiers* [online]. Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky, 2020. Doctoral Thesis Summary. Tomas Bata University in Zlín. Dostupné z: <http://hdl.handle.net/10563/45911>
- [39] MCCLEMENTS, David Julian a Cansu Ekin GUMUS. Natural emulsifiers — Biosurfactants, phospholipids, biopolymers, and colloidal particles: Molecular and physicochemical basis of functional performance. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2016, **234**, 3–26 [vid. 2025-05-04]. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2016.03.002
- [40] PUGNALONI, Luis A., Eric DICKINSON, Rammile ETTELAIE, Alan R. MACKIE a Peter J. WILDE. Competitive adsorption of proteins and low-molecular-weight surfactants: computer simulation and microscopic imaging. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2004, **107**(1), 27–49 [vid. 2025-04-15]. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2003.08.003
- [41] DICKINSON, Eric. Mixed biopolymers at interfaces: Competitive adsorption and multilayer structures. *Food Hydrocolloids* [online]. 2011, **25**(8), 1966–1983 [vid. 2025-04-15]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2010.12.001
- [42] ZHANG, Shumin, Yinghao ZHOU a Cheng YANG. Pickering emulsions stabilized by the complex of polystyrene particles and chitosan. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2015, **482**, 338–344 [vid. 2025-05-05]. ISSN 09277757. Dostupné z: doi:10.1016/j.colsurfa.2015.06.029
- [43] GUZEY, Demet a D. Julian MCCLEMENTS. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. *Advances in Colloid and Interface Science* [online]. 2006, **128–130**, 227–248 [vid. 2025-04-15]. ISSN 00018686. Dostupné z: doi:10.1016/j.cis.2006.11.021
- [44] SARKAR, Anwesha, Valerie ADEMUYIWA, Samuel STUBLEY, Nur Hanesa ESA, Francisco M. GOYCOOLEA, Xiaofei QIN, Fernando GONZALEZ a Clarita OLVERA. Pickering emulsions co-stabilized by composite protein/ polysaccharide particle-particle interfaces: Impact on in vitro gastric stability. *Food Hydrocolloids* [online]. 2018, **84**, 282–291 [vid. 2025-05-05]. ISSN 0268005X. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodhyd.2018.06.019
- [45] TAO, Jianming, Lijun ZHU, Luyi ZHU, Lin LEI a Guohua ZHAO. Colloidal lignin particle reinforces the stability of Pickering emulsions prepared with zein nanoparticle.

- Food Chemistry* [online]. 2024, **460**, 140581 [vid. 2024-11-18]. ISSN 03088146. Dostupné z: doi:10.1016/j.foodchem.2024.140581
- [46] AGUSTIN, Melissa B., Neda NEMATOLLAHI, Mamata BHATTARAI, Erfan OLIAEI, Mari LEHTONEN, Orlando J. ROJAS a Kirsi S. MIKKONEN. Lignin nanoparticles as co-stabilizers and modifiers of nanocellulose-based Pickering emulsions and foams. *Cellulose* [online]. 2023, **30**(14), 8955–8971 [vid. 2024-10-09]. ISSN 0969-0239, 1572-882X. Dostupné z: doi:10.1007/s10570-023-05399-y
- [47] MA, Ya, Yuhe LIAO, Zhicheng JIANG, Qingyong SUN, Xingjie GUO, Wenhua ZHANG, Changwei HU, Rafael LUQUE, Bi SHI a Bert F. SELS. Solvent effect on the production of spherical lignin nanoparticles. *Green Chem.* [online]. 2023, **25**(3), 993–1003. Dostupné z: doi:10.1039/D2GC04014J
- [48] CLOGSTON, Jeffrey D. a Anil K. PATRI. Zeta Potential Measurement. In: Scott E. MCNEIL, ed. *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery* [online]. Totowa, NJ: Humana Press, 2011, s. 63–70. ISBN 978-1-60327-198-1. Dostupné z: doi:10.1007/978-1-60327-198-1_6
- [49] LI, Xiang, Jiajun SHEN, Bijia WANG, Xueling FENG, Zhiping MAO a Xiaofeng SUI. Acetone/Water Cosolvent Approach to Lignin Nanoparticles with Controllable Size and Their Applications for Pickering Emulsions. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [online]. 2021, **9**(15), 5470–5480 [vid. 2025-05-07]. ISSN 2168-0485, 2168-0485. Dostupné z: doi:10.1021/acssuschemeng.1c01021
- [50] QIAN, Yong, Yonghong DENG, Xueqing QIU, Hao LI a Dongjie YANG. Formation of uniform colloidal spheres from lignin, a renewable resource recovered from pulping spent liquor. *Green Chem.* [online]. 2014, **16**(4), 2156–2163. Dostupné z: doi:10.1039/C3GC42131G
- [51] LI, Hao, Yonghong DENG, Bo LIU, Yuan REN, Jiaqi LIANG, Yong QIAN, Xueqing QIU, Chunli LI a Dafeng ZHENG. Preparation of Nanocapsules via the Self-Assembly of Kraft Lignin: A Totally Green Process with Renewable Resources. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* [online]. 2016, **4**(4), 1946–1953 [vid. 2025-05-05]. ISSN 2168-0485, 2168-0485. Dostupné z: doi:10.1021/acssuschemeng.5b01066
- [52] FIGUEIREDO, Patrícia, Kalle LINTINEN, Alexandros KIRIAZIS, Ville HYNINEN, Zehua LIU, Tomás BAULETH-RAMOS, Antti RAHIKKALA, Alexandra CORREIA, Tomáš KOHOUT, Bruno SARMENTO, Jari YLI-KAUHALUOMA, Jouni HIRVONEN, Olli IKKALA, Mauri A. KOSTIAINEN a Hélder A. SANTOS. In vitro evaluation of biodegradable lignin-based nanoparticles for drug delivery and enhanced antiproliferation effect in cancer cells. *Biomaterials* [online]. 2017, **121**, 97–108 [vid. 2025-05-06]. ISSN 01429612. Dostupné z: doi:10.1016/j.biomaterials.2016.12.034
- [53] PHAN-XUAN, Tuan, Axel THURESSON, Marie SKEPÖ, Ana LABRADOR, Romain BORDES a Aleksandar MATIC. Aggregation behavior of aqueous cellulose nanocrystals: the effect of inorganic salts. *Cellulose* [online]. 2016, **23**(6), 3653–3663 [vid. 2025-05-08]. ISSN 0969-0239, 1572-882X. Dostupné z: doi:10.1007/s10570-016-1080-1
- [54] DAPČEVIĆ HADNAĐEV, Tamara, Petar DOKIĆ, Veljko KRSTONOŠIĆ a Miroslav HADNAĐEV. Influence of oil phase concentration on droplet size distribution and stability of oil-in-water emulsions. *European Journal of Lipid Science and Technology* [online]. 2013, **115**(3), 313–321 [vid. 2025-05-07]. ISSN 1438-7697, 1438-9312. Dostupné z: doi:10.1002/ejlt.201100321

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1 Obsah a složení ligninových monomerů z různých zdrojů, upraveno dle [2]. ...</i>	16
<i>Obrázek 2 Možnosti využití ligninových nanočástic, upraveno dle [16].</i>	25
<i>Obrázek 3 kontaktní úhel na fázovém rozhraní A) Pevná částice na rozhraní kapky s kontaktním úhlem menším než 90°, což odpovídá tvorbě emulze O/V B) Pevná částice na rozhraní kapky s kontaktním úhlem větším než 90, což odpovídá tvorbě emulze V/O, upraveno dle [32].</i>	29
<i>Obrázek 4 Schematické znázornění různých druhů smíšených mezifázových vrstev, které mohou být vytvořeny na povrchu olejové fáze pro stabilizaci emulzí, upraveno dle [39]. ...</i>	33
<i>Obrázek 5 Vliv rozpouštědla, poměru a rychlosti míchání na velikost částic</i>	48
<i>Obrázek 6 Distribuční křivka LNP-EtOH v poměru 1:3 v různých rychlostech.....</i>	48
<i>Obrázek 7 Distribuční křivka LNP-EtOH v poměru 1:1 v různých rychlostech.....</i>	49
<i>Obrázek 8 Distribuční křivka LNP-EtOH při rychlosti 5 v různých poměrech</i>	49
<i>Obrázek 9 Distribuční křivka LNP-THF při rychlosti 5 v různých poměrech.....</i>	50
<i>Obrázek 10 Vliv rozpouštědla, poměru a rychlosti míchání na zeta-potenciál částic</i>	51
<i>Obrázek 11 Vliv pH na velikost ligninových nanočástic.....</i>	52
<i>Obrázek 12 Vliv pH na zeta-potenciál ligninových nanočástic</i>	52
<i>Obrázek 13 Vliv koncentrace NaCl na velikost ligninových nanočástic</i>	53
<i>Obrázek 14 Vliv koncentrace NaCl na zeta-potenciál ligninových nanočástic</i>	53
<i>Obrázek 15 Vliv CaCl₂ na velikost ligninových nanočástic.....</i>	54
<i>Obrázek 16 Vliv koncentrace CaCl₂ na zeta-potenciál ligninových nanočástic.....</i>	54
<i>Obrázek 17 Vliv pH na velikost částic CNC a TiO₂.....</i>	55
<i>Obrázek 18 Vliv pH na zeta-potenciál částic CNC a TiO₂</i>	55
<i>Obrázek 19 Vliv koncentrace NaCl na velikost částic CNC a TiO₂.....</i>	56
<i>Obrázek 20 Vliv koncentrace NaCl na zeta-potenciál částic CNC a TiO₂</i>	56
<i>Obrázek 21 Vliv koncentrace CaCl₂ na velikost částic CNC a TiO₂</i>	57
<i>Obrázek 22 Vliv koncentrace CaCl₂ na zeta-potenciál částic CNC a TiO₂.....</i>	57
<i>Obrázek 23 Hodnoty mezifázového napětí ligninových nanočástic</i>	58
<i>Obrázek 24 Hodnoty mezifázového napětí částic CNC a TiO₂.....</i>	58
<i>Obrázek 25 Pickeringovy emulze stabilizované LNP-EtOH (0,05 %) v poměrech 40:60 a 10:90 O/V</i>	59
<i>Obrázek 26 Emulgační účinnost emulzí stabilizovaných LNP-EtOH v různých poměrech O/V</i>	59
<i>Obrázek 27 Emulze (20:80) stabilizované LNP-EtOH v různých koncentracích</i>	60
<i>Obrázek 28 Emulze stabilizované LNP (0,2 %) v poměru 20:80, při zvětšení 400x</i>	61
<i>Obrázek 29 Emulze stabilizované LNP (0,05 %) v poměru 10:90, při zvětšení 400x</i>	61

<i>Obrázek 30 Emulze stabilizované částicemi CNC (0,05 %) v různých poměrech O/V</i>	<i>62</i>
<i>Obrázek 31 Emulgační účinnost emulzí stabilizovaných částicemi CNC v různých poměrech O/V</i>	<i>62</i>
<i>Obrázek 32 Emulze stabilizované částicemi CNC (0,05 %) v poměru 30:70, při zvětšení 400x.....</i>	<i>63</i>
<i>Obrázek 33 Emulze stabilizované částicemi CNC (0,05 %) v poměru 10:90, při zvětšení 400x.....</i>	<i>63</i>
<i>Obrázek 34 Emulze stabilizované částicemi TiO₂ (0,05 %) v různých poměrech O/V</i>	<i>63</i>
<i>Obrázek 35 Emulgační účinnost emulzí stabilizovaných částicemi TiO₂ v různých poměrech O/V</i>	<i>64</i>
<i>Obrázek 36 Emulze stabilizovaná částicemi TiO₂ (0,05 %) v poměru 30:70, při zvětšení 400x.....</i>	<i>64</i>
<i>Obrázek 37 Emulze stabilizované LNP + CNC – pH 6</i>	<i>66</i>
<i>Obrázek 38 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+CNC při pH 6 s celkovou koncentrací částic 0,05 % a 0,1%</i>	<i>66</i>
<i>Obrázek 39 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+CNC při pH 6 s celkovou koncentrací částic 0,05 % a 0,1 %.....</i>	<i>67</i>
<i>Obrázek 40 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A při pH 6 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %.....</i>	<i>67</i>
<i>Obrázek 41 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze B - 0,05 %</i>	<i>68</i>
<i>Obrázek 42 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi B - 0,1 %.....</i>	<i>68</i>
<i>Obrázek 43 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze C - 0,05 %.....</i>	<i>69</i>
<i>Obrázek 44 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C - 0,1 %.....</i>	<i>69</i>
<i>Obrázek 45 Emulze B-PE o pH 6 a koncentraci 0,05 %</i>	<i>69</i>
<i>Obrázek 46 Emulze B-E pH 6 a koncentraci 0,05 %.....</i>	<i>69</i>
<i>Obrázek 47 Emulze stabilizované LNP-EtOH + TiO₂ částicemi při pH 6</i>	<i>70</i>
<i>Obrázek 48 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+TiO₂ částic o pH 6 a koncentraci 0,05 % a 0,1 %.....</i>	<i>71</i>
<i>Obrázek 49 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+ TiO₂ o pH 6 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %.....</i>	<i>71</i>
<i>Obrázek 50 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A o koncentraci 0,05 %</i>	<i>72</i>
<i>Obrázek 51 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %</i>	<i>73</i>
<i>Obrázek 52 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze B o koncentraci 0,1 %</i>	<i>73</i>
<i>Obrázek 53 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %</i>	<i>74</i>
<i>Obrázek 54 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C o koncentraci 0,1 %</i>	<i>74</i>

<i>Obrázek 55 Emulze B-PE o pH 6 a koncentraci 0,05 %</i>	74
<i>Obrázek 56 Emulze B-E pH 6 a koncentraci 0,05 %</i>	74
<i>Obrázek 57 Emulze C-PE o pH 6 a koncentraci 0,05 %</i>	75
<i>Obrázek 58 Emulze C-E o pH 6 a koncentraci 0,05 %</i>	75
<i>Obrázek 59 Emulze stabilizované LNP+ CNC částicemi při pH 3</i>	76
<i>Obrázek 60 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+CNC částic o pH 3 a koncentraci 0,05 % a 0,1 %</i>	76
<i>Obrázek 61 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+CNC o pH 3 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %</i>	77
<i>Obrázek 62 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A o koncentraci 0,05 % a 0,1 %</i>	77
<i>Obrázek 63 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %</i>	78
<i>Obrázek 64 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,1 %</i>	78
<i>Obrázek 65 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %</i>	79
<i>Obrázek 66 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C o koncentraci 0,1 %</i>	79
<i>Obrázek 67 Emulze A obsahující CNC částice o pH 3 a koncentraci 0,05 %</i>	79
<i>Obrázek 68 Emulze stabilizované LNP+TiO₂ při pH 3</i>	80
<i>Obrázek 69 Emulgační účinnost emulzí LNP-EtOH+TiO₂ částic o pH 3 a koncentraci 0,05 % a 0,1%</i>	81
<i>Obrázek 70 Velikost emulzních kapek emulze LNP-EtOH+TiO₂ o pH 3 o koncentraci 0,05 % a 0,1 %</i>	81
<i>Obrázek 71 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi A o koncentraci 0,05 % a 0,1 %</i>	82
<i>Obrázek 72 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze B o koncentraci 0,05 %</i>	83
<i>Obrázek 73 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi B o koncentraci 0,1 %</i>	83
<i>Obrázek 74 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulze o koncentraci 0,05 %</i>	84
<i>Obrázek 75 Distribuční křivky velikostí emulzních kapek pro emulzi C o koncentraci 0,1 %</i>	84
<i>Obrázek 76 Emulze B-PE obsahující TiO₂ částice o pH 3 a koncentraci 0,05 %</i>	84
<i>Obrázek 77 Emulze B-E obsahující TiO₂ částice o pH 3 a koncentraci 0,05 %</i>	84

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka 1 Množství částic a demineralizované vody použité při měření na zetasizeru</i>	<i>43</i>
<i>Tabulka 2 Množství částic a roztoků NaCl / CaCl₂ použité při měření vlivu iontové síly a hodnoty pH.....</i>	<i>44</i>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

CNC	nanokrystalická celulóza
EtOH	ethanol
LNP	ligninové nanočástice
LNP-EtOH	ligninové nanočástice připravené v prostředí rozpouštědla ethanol
LNP-THF	ligninové nanočástice připravené v prostředí rozpouštědla tetrahydrofuran
O/V	emulze typu olej ve vodě
THF	tetrahydrofuran
TiO ₂	oxid titaničitý
UV	ultrafialové záření

