

# Pickeringovy emulze jako nosiče esenciálních olejů

Bc. Sabina Botková

---

Diplomová práce  
2024



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

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

Akademický rok: 2023/2024

# ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Sabina Botková**  
Osobní číslo: **T23441**  
Studijní program: **N0711A130011 Biomateriály a kosmetika**  
Forma studia: **Kombinovaná**  
Téma práce: **Pickeringovy emulze jako nosiče esenciálních olejů**

## Zásady pro vypracování

### I. Teoretická část

V teoretické vypracujte literární rešerši na zadané téma.

Věnujte se Pickeringovým emulzím a jejich využití jako nosičů aktivních látek.

Zaměřte se na charakterizaci esenciálních olejů, jejich využití v kosmetice a možnosti jejich enkapsulace pro zvýšení stability.

### II. Praktická část

V praktické části připravte a dostupnými metodami charakterizujte emulze stabilizované mikrokrytalickou celulózu.

Pro přípravu emulzí využijte různé druhy esenciálních olejů, u kterých nejdříve stanovíte jejich složení pomocí plynové chromatografie.

U emulzí sledujte vliv esenciálního oleje na stabilitu emulzí a stanovte jejich antioxidační aktivitu.

Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.

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

Seznam doporučené literatury:

- [1] de Carvalho-Guimarães, F.B.; Correa, K.L.; de Souza, T.P.; Rodríguez Amado, J.R.; Ribeiro-Costa, R.; Silva-Júnior, J.O. A Review of Pickering Emulsions: Perspectives and Applications. *Pharmaceuticals* **2022**, *15*.
- [2] Cahyana, Y.; Putri, Y.S.; Solihah, D.S.; Lutfi, F.S.; Alqurashi, R.M.; Marta, H. Pickering Emulsions as Vehicles for Bioactive Compounds from Essential Oils. *Molecules* **2022**, *27*.
- [3] Souza, A.G.; Ferreira, R.R.; Aguilar, E.S.; Zanata, L.; Rosa, D.D. Cinnamon Essential Oil Nanocellulose-Based Pickering Emulsions: Processing Parameters Effect on their Formation, Stabilization, and Antimicrobial Activity. *Polysaccharides* **2021**, *2*, 625.
- [4] Huang, K.; Liu, R.; Zhang, Y.; Guan, X. Characteristics of Two Cedarwood Essential Oil Emulsions and their Antioxidant and Antibacterial Activities. *Food Chem.* **2021**, *346*, 128970.

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

Datum zadání diplomové práce: **9. února 2024**  
Termín odevzdání diplomové práce: **10. května 2024**

L.S.

---

**prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.**  
děkan

---

**Ing. Lucie Urbánková, Ph.D.**  
ředitel ústavu

## **PROHLÁŠENÍ AUTORKY DIPLOMOVÉ PRÁCE**

Beru na vědomí, že:

- diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému a dostupná k nahlédnutí;
- 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 autorského zákona 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 pracovala samostatně a použitou literaturu jsem citovala. V případě publikace výsledků budu uvedena jako spoluautorka.
- že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou obsahově totožné.

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studentky: Sabina Botková

.....  
podpis studentky

## **ABSTRAKT**

V posledních letech se Pickeringovy emulze, stabilizované pevnými částicemi, staly klíčovým předmětem výzkumu v oblasti koloidní chemie a aplikací v kosmetickém průmyslu. Jejich schopnost poskytnout stabilní nosiče pro esenciální oleje a další aktivní látky je velmi atraktivní pro výrobu kosmetických produktů, které vyžadují dlouhotrvající stabilitu a efektivní dodávku účinných látek do kůže. Tato diplomová práce se zaměřuje na charakterizaci Pickeringových emulzí stabilizovaných mikrokrystalickou celulózou jako nosičů esenciálních olejů. Rešerše obsahuje detailní popis Pickeringových emulzí, mikrokrystalické celulózy a jednotlivých esenciálních olejů. V rámci experimentální části byly připraveny Pickeringovy emulze typu olej ve vodě (O/V) v různých poměrech, obsahující esenciální oleje a stabilizátor mikrokrystalickou celulózu v koncentracích 0,1-0,5 %. Tyto emulze byly dále charakterizovány pomocí analýzy velikosti částic, zeta potenciálu, indexu krémování, emulgační účinnosti a mikroskopické analýzy. Zvláštní pozornost byla věnována stabilitě emulzí a vlivu složení esenciálních olejů na vlastnosti jednotlivých emulzí.

Klíčová slova: Pickeringovy emulze, mikrokrystalická celulóza, esenciální olej, citron, tymián, levandule, kopaiva.

## **ABSTRACT**

In recent years, solid particle stabilized Pickering emulsions have become a key area of research in colloid chemistry and applications in the cosmetic industry. Their ability to provide stable vehicles for essential oils and other active ingredients is highly attractive for the production of cosmetic products that require long-term stability and effective delivery of active ingredients to the skin. This work focuses on the characterization of microcrystalline cellulose stabilized Pickering emulsions as carriers for essential oils. The literature review includes a detailed description of Pickering emulsions, microcrystalline cellulose and individual essential oils. In the experimental part, oil-in-water (O/W) Pickering emulsions were prepared in different ratios containing essential oils and microcrystalline cellulose stabilizer at concentrations of 0,1-0,5 %. These emulsions were further characterized by particle size analysis, zeta potential, creaming index, emulsification efficiency and microscopic analysis. Particular attention was paid to

the stability of the emulsions and the influence of the essential oil composition on the properties of each emulsion.

Keywords: Pickering emulsion, microcrystalline cellulose, essential oil, lemon, thyme, lavender, copaiva.

Ráda bych touto cestou vyjádřila své upřímné poděkování mé vedoucí práce Ing. Lucii Urbánkové, Ph.D., za čas, který mi věnovala, za cenné rady, vstřícnost a trpělivost během mého výzkumu a tvorby diplomové práce. Dále bych chtěla poděkovat paním laborantkám za jejich ochotu, a panu Ing. Ondřeji Rudolfovi, Ph. D., za jeho cenné rady a asistenci během analýzy esenciálních olejů.

Zvláštní dík patří také mé rodině a přátelům za jejich neustálou podporu a trpělivost během celého studia.

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

## OBSAH

<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>I TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>1 PICKERINGOVY EMULZE</b> .....	<b>12</b>
1.1 FYZIKÁLNĚ-CHEMICKÉ VLASTNOSTI PICKERINGOVÝCH EMULZÍ .....	13
1.2 TYPY ČÁSTIC PRO STABILIZACI PICKERINGOVÝCH EMULZÍ.....	14
<b>2 CELULÓZA</b> .....	<b>17</b>
2.2 STRUKTURA CELULÓZY .....	19
2.3 TYPY CELULÓZOVÝCH ČÁSTIC.....	21
2.4 MIKROKRISTALICKÁ CELULÓZA.....	22
2.5 VYUŽITÍ CELULÓZY PRO STABILIZACI EMULZÍ .....	23
<b>3 ESENCIÁLNÍ OLEJE</b> .....	<b>25</b>
3.1 SLOŽENÍ ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ .....	26
3.2 METODY IZOLACE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ .....	27
3.2.1 Destilace vodní parou.....	27
3.2.2 Hydrodestilace.....	28
3.2.3 Extrakce organickými rozpouštědly.....	29
3.2.4 Lisování.....	30
3.3 POUŽITÍ ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ V KOSMETICE.....	30
3.4 SYNTETICKÉ OLEJE A PŘÍRODNĚ IDENTICKÉ ESENCIÁLNÍ OLEJE .....	31
3.5 CITRON.....	32
3.6 TYMIÁN.....	33
3.7 LEVANDULE .....	35
3.8 KOPAIVA .....	37
3.9 ENKAPSULACE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ .....	37
<b>4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY</b> .....	<b>39</b>
<b>II PRAKTICKÁ ČÁST</b> .....	<b>41</b>
<b>5 CÍLE PRÁCE</b> .....	<b>42</b>
<b>6 MATERIÁLY A METODY</b> .....	<b>43</b>
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A MATERIÁLY .....	43
6.2 POMŮCKY A POUŽITÉ ZAŘÍZENÍ .....	43
6.3 PŘÍPRAVA ZÁSOBNÍCH A PRACOVNÍCH ROZTOKŮ .....	44
6.3.1 Příprava zásobního roztoku mikrokrytalické celulóza .....	44
6.3.2 Příprava 1M a 0,1M roztoku hydroxidu sodného a kyseliny chlorovodíkové.....	44
6.4 ÚPRAVA pH A VIZUÁLNÍ POZOROVÁNÍ .....	44
6.5 PLYNOVÁ CHROMATOGRAFIE .....	45



6.6	PŘÍPRAVA EMULZÍ .....	47
6.7	ZETA POTENCIÁL .....	47
6.8	VELIKOST ČÁSTIC .....	48
6.9	OPTICKÁ MIKROSKOPIE .....	48
6.10	EMULGAČNÍ ÚČINNOST .....	49
6.11	INDEX KRÉMOVÁNÍ .....	50
<b>7</b>	<b>VÝSLEDKY A DISKUZE .....</b>	<b>52</b>
7.1	CHARAKTERIZACE MIKROKRYSALICKÉ CELULÓZY .....	52
7.2	CHARAKTERIZACE ESENCIÁLNÍCH OLEJŮ .....	54
7.2.1	Citron .....	55
7.2.2	Tymián .....	57
7.2.3	Levandule .....	59
7.2.4	Kopaiva .....	61
7.3	CHARAKTERIZACE EMULZÍ .....	63
7.3.1	Vliv esenciálního oleje a koncentrace MCC – emulze O/V 10:90 .....	63
7.3.2	Vliv poměru O/V – emulze 5:95 vs. 20:80 .....	72
7.4	ANTIOXIDAČNÍ AKTIVITA .....	80
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>83</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>85</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>97</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>98</b>
	<b>SEZNAM TABULEK .....</b>	<b>100</b>

## ÚVOD

Pickeringovy emulze, stabilizované pevnými částicemi namísto tradičních emulgátorů, poskytují atraktivní možnost jako efektivní a stabilní nosiče esenciálních olejů. Tyto emulze využívají pevných částic, jako je mikrokrystalická celulóza (MCC), k stabilizaci rozhraní mezi olejem a vodou. Tato alternativa k tradičním emulgátorům přináší řadu výhod, včetně zlepšení stability, zvýšené účinnosti a možnosti kontroly velikosti emulzních kapek. Pickeringovy emulze jsou atraktivní možnosti pro širokou škálu aplikací v kosmetice, farmacii a potravinářství.

Mikrokrystalická celulóza se často využívá jako stabilizátor Pickeringových emulzí. Jedná se o derivát celulózy, který se získává buď chemickou modifikací, nebo mechanickým rozpadem rostlinných vláken. V kontextu Pickeringových emulzí funguje MCC jako stabilizátor tím, že se usazuje na rozhraní mezi olejem a vodou a vytváří pevnou bariéru, která brání sloučení emulzních kapek a destabilizaci. Díky svým mikroskopickým rozměrům poskytuje efektivní ochranu emulze před koalescencí, což vede k dlouhodobé stabilitě a udržení homogenity systému.

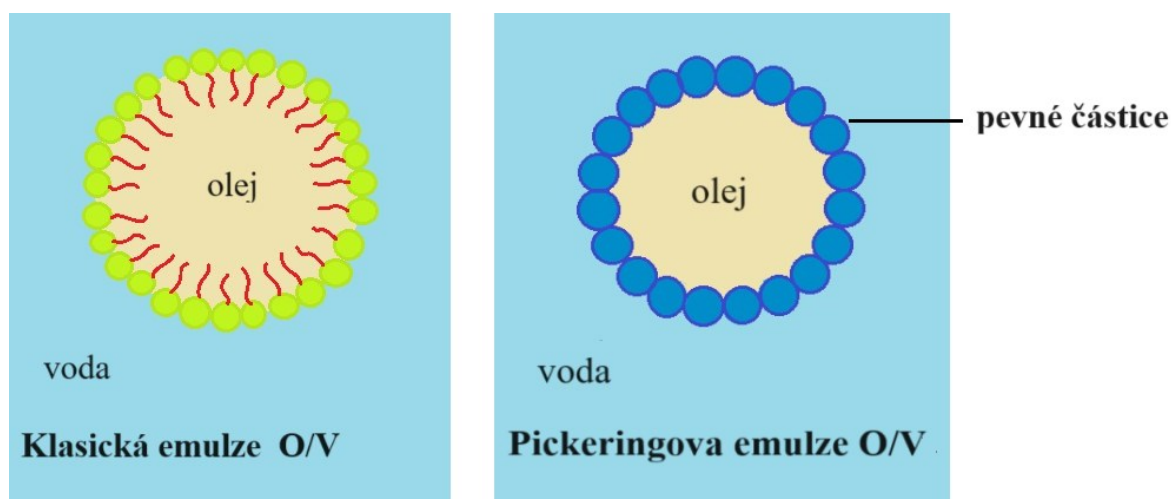
Esenciální oleje jsou kategorizovány jako bioaktivní sloučeniny s prospěšnými vlastnostmi, jako jsou antibakteriální, antifungální, antivirové, antioxidační, protizánětlivé, a dokonce insekticidní účinky. Obsah a složení bioaktivních sloučenin v esenciálních olejích je velmi různorodé a závisí na zdroji olejů. Jejich složení je složité a zahrnuje širokou škálu chemických sloučenin, jako jsou terpeny, fenoly, ketony, estery a alkoholy. Každý esenciální olej má specifické složení, které určuje jeho vůni a účinky. Esenciální oleje mají velký vliv na stabilitu emulzí. Stabilita je jedním z klíčových faktorů při výběru nosiče pro esenciální oleje, neboť úspěšná aplikace těchto olejů vyžaduje udržení jejich struktury a účinnosti po dlouhou dobu a za různých podmínek skladování a použití. V tomto ohledu se ukazují Pickeringovy emulze jako vynikající volba, protože často prokazují vyšší stabilitu ve srovnání s emulzemi stabilizovanými tradičními emulgátory.

Praktická část diplomové práce je zaměřena na přípravu Pickeringových emulzí se čtyřmi různými esenciálními oleji. Cílem bylo vybrat vhodný poměr emulzí O/V pro tvorbu stabilních Pickeringových emulzí stabilizovaných mikrokrystalickou celulózą a sledovat fyzikálně-chemické vlastnosti, zejména pak vliv složení jednotlivých esenciálních olejů na vlastnosti emulze.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 1 PICKERINGOVY EMULZE

Pickeringovy emulze řadíme mezi disperzní systémy, přičemž existují určité rozdíly mezi emulzemi klasickými a Pickeringovými. Klíčovým odlišujícím prvkem Pickeringových emulzí je absence surfaktantů, což představuje významný faktor, zvláště vzhledem k tomu, že surfaktanty bývají vedle vonných látek a konzervantů často označovány za jedny z nejčastějších kožních iritantů. Tato odlišnost přináší nový přístup k formulaci emulzí eliminující potenciální rizika spojená s použitím surfaktantů, což může být zvláště relevantní v kosmetickém a farmaceutickém průmyslu, kde je minimalizace negativních účinků na pokožku klíčová pro úspěch produktů. Na obrázku 1 je zobrazen rozdíl mezi klasickou a Pickeringovou emulzí [1].

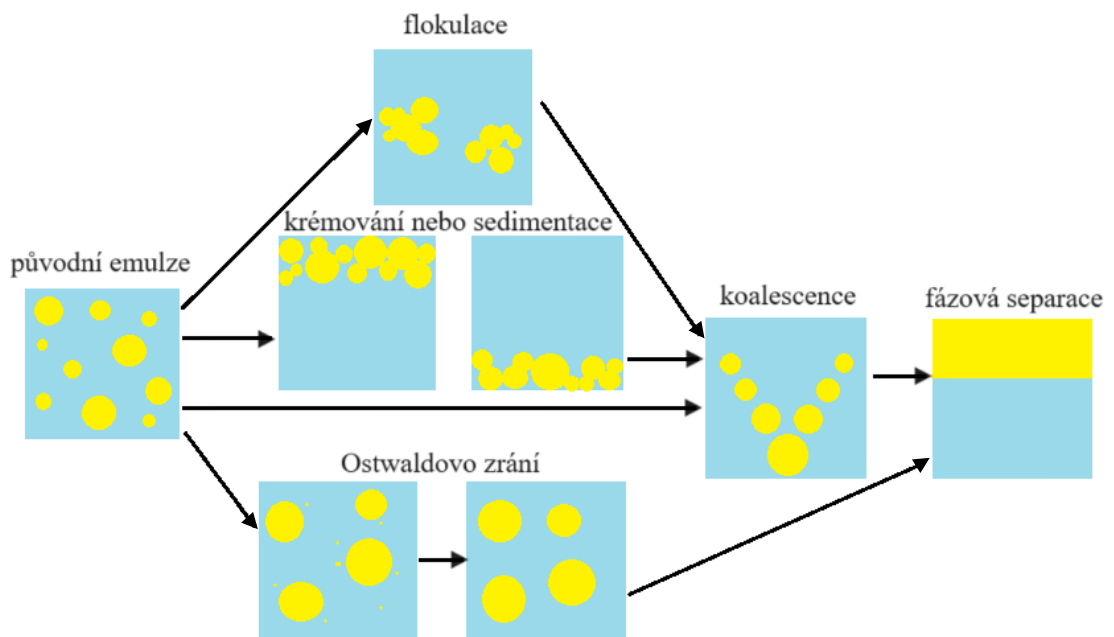


Obrázek 1: Rozdíl mezi klasickou emulzí a emulzí Pickeringovou

Mechanismus stabilizace mezifázového rozhraní spočívá v přítomnosti pevných částic anorganického charakteru, jako například oxid křemičitý, titaničitý nebo zinečnatý, či charakteru organického (nanocelulóza). Tyto částice efektivně stabilizují kapky oleje tím, že jsou absorbovány na fázovém rozhraní a vytvářejí vrstvu s vysokou mechanickou pevností. Stabilní vrstva pevných částic vytváří fyzikální bariéru, což přispívá např. k udržení konzistentního uvolňování účinných látek a léčiv z emulze. Celkově lze konstatovat, že stabilita a funkční vlastnosti Pickeringových emulzí závisí na specifikacích mezifázového rozhraní mezi olejem a vodou. Chování emulzí zásadně ovlivňují vlastnosti, jako jsou náboje částic, tloušťka vrstvy, mezifázové napětí, bariérové vlastnosti a reakce na prostředí [1].

## 1.1 Fyzikálně-chemické vlastnosti Pickeringových emulzí

Pro přípravu stabilních emulzí jsou důležitá kritéria jako je dlouhodobá stabilita a proces emulgace. Dlouhodobá stabilita emulzí znamená schopnost odolat potenciálním destabilizačním jevům, jako jsou koagulace, koalescence a Ostwaldovo zrání, které jsou zobrazeny na obrázku 2. Tato stabilita je závislá především na složení emulze, ale je ovlivněna i metodou přípravy, jelikož velikost emulzních kapiček je řízena smykovým namáháním při emulgačním procesu. Výroba emulzí není jen otázkou procesu přípravy, ale důležitou roli hrají i stabilizátory. Emulgační proces ovlivňují jevy, jako například absorpce částic, stabilizace kapek adsorbovanými částicemi a kinetika adsorpce. Důležitou roli hrají i reologické vlastnosti systému, které mají vliv na proces krémování a sedimentaci [2].



Obrázek 2: Destabilizace emulzí

## 1.2 Typy částic pro stabilizaci Pickeringových emulzí

Pro stabilizaci Pickeringových emulzí je možné využít široké spektrum částic o různých velikostech a různého původu. V porovnání s většími částicemi nabízejí nanočástice a mikročástice několik výhod, jako je vyšší povrchová energie a schopnost přizpůsobit se podmínkám prostředí, což může zlepšit jejich účinnost a vlastnosti. Jejich schopnost absorbovat se na mezifázové rozhraní a vytvářet fyzikální bariéru přináší další benefit, a to prodloužení doby retence účinných látek obsažených ve formulacích. Tato vlastnost zachovává účinnost kosmetických produktů a prodlužuje jejich působení na pokožce. Mikročástice mají pomalejší adsorpční kinetiku, a proto vytvářejí bariéru s vysokou adsorpční energií. Disponují rozměry v rozmezí mikrometrů, což může ovlivnit jejich fyzikální vlastnosti a chování v různých systémech, jako je například reologické chování emulze. Obvykle se vyznačují nižší povrchovou energií než nanočástice. Nanočástice mají typicky velikost od několika desítek do několika stovek nanometrů. Disponují vysokým povrchovým objemem, což znamená, že mají vysokou povrchovou energii. Tato vlastnost jim umožňuje účinně interagovat s molekulami v okolním prostředí [3, 4].

Nano a mikročástice vykazují vynikající vlastnosti pro využití v kosmetice, což otevírá značné možnosti pro inovativní formulace a vývoj nových produktů. Jejich schopnost dodávat účinné látky, pronikat do pokožky a poskytovat dlouhodobé účinky je klíčovým prvkem pro využití v kosmetice. Existence částic s různorodými velikostmi a povrchovou energií má výhodné uplatnění v oblasti topických aplikací, kde přispívají k regulaci pronikání emulzí do pokožky [4].

Jak již bylo uvedeno dříve, pro stabilizaci se mohou využívat částice různého původu, anorganického i organického. Výzkum se po dlouhou dobu zaměřoval především na využití anorganických částic, díky jejich dobře definovanému tvaru, dostupnosti v různých velikostech, úzkých velikostních rozmezech a možnosti chemického upravování jejich povrchů. Avšak anorganické částice mají svá omezení v aplikacích vyžadujících biokompatibilitu a biodegradabilitu, a proto v posledních letech došlo k posunu směrem k studiu materiálů biologického původu. Organické částice, které se využívají jako stabilizátory Pickeringových emulzí, zahrnují biopolymerní částice. Ty se dělí do tří hlavních skupin na polysacharidové, proteinové a ligninové částice. Polysacharidy, jako je celulóza, chitin a škrob, jsou odvozeny z různých přírodních zdrojů, jak rostlinného, tak živočišného původu. Tyto polysacharidy mají složité struktury a jsou obecně považovány

za biokompatibilní a ekologicky šetrné. Jsou schopny efektivně stabilizovat emulze díky svým povrchovým vlastnostem. Druhou skupinou jsou proteiny, mezi něž patří například sójový protein a zein. V některých případech může být problematická jejich biokompatibilita, zejména v důsledku možných alergií na proteiny. Poslední skupinou jsou látky patřící do kategorie ligninu. Lignin je přítomen ve dřevě a získává se při zpracování dřeva, často jako odpadní produkt papírenského průmyslu. Má komplexní amorfní strukturu a zahrnuje hydrofilní i hydrofobní oblasti. Oproti polysacharidům a proteinům může vykazovat nižší biokompatibilitu [5].

### 1.3 Aplikace Pickeringových emulzí

Aplikace Pickeringových emulzí otevírá široké možnosti v různých odvětvích vědy a průmyslu. Tyto emulze, stabilizované pevnými částicemi, nabízejí široký potenciál v oblastech jako je kosmetika, biomedicína a environmentální technologie.

V kosmetických produktech se Pickeringovy emulze mohou využívat zejména při výrobě krému, lotionů, pleťových krémů, make-upů a dalších produktů. Stabilizace těchto produktů pomocí Pickeringových emulzí může vést k lepšímu zachování textury, dlouhodobé stabilitě a zlepšení účinnosti přísad obsažených v produktech. Použití Pickeringových emulzí v kosmetice také přispívá k odstranění nebo k výraznému snížení toxicity a podráždění způsobených používáním běžných povrchově aktivních látek, což může zlepšit bezpečnost a snížit riziko alergických reakcí u spotřebitelů. Dále přispívá ke zvyšování tuhosti kapek, což je vhodná volba pro enkapsulaci, prodloužené uvolňování a transdermální adsorpci účinných látek. Velmi zajímavé využití nachází také Pickeringovy emulze, které jsou citlivé na vnější podněty, jako například na teplotu, pH nebo světlo. Tyto emulze nejen zvyšují trvanlivost a stabilitu výrobků, ale umožňují také rychlé a řízené uvolňování aktivních složek v reakci na tyto specifické podněty. Tím se otevírá možnost vytvářet produkty s inovativními vlastnostmi a optimalizovaným uvolňováním účinných látek v závislosti na okolních podmínkách [4, 6].

Dalším odvětvím, v kterém mají Pickeringovy emulze slibnou budoucnost je biomedicína. Pickeringovy emulze, stabilizované biokompatibilními pevnými částicemi, vedou k výrobkům, které jsou biologicky odbouratelnější a vhodné pro použití *in vivo*. Kromě toho se kolem kapiček Pickeringovy emulze vytvoří hustý obal z pevných částic, který působí jako bariéra. V některých případech jsou polymery schopny interagovat s enkapsulovanými

léčivý, takže lze lépe dosáhnout profilu nepřetržitého uvolňování léčiva. S používáním Pickeringových emulzí v biomedicínských aplikacích je spojena řada problémů, které obvykle souvisejí s fyziologickým prostředím, v němž se emulze na cestě k cílovému místu nacházejí. Například při aplikaci lokálních přípravků může být obtížné dosáhnout požadovaného účinku v důsledku různých faktorů, jako je zejména průchod kůží. Dále pak perorální podání systémů může být ztíženo vysokým pH, koncentracemi enzymů, mikroorganismy v ústní dutině a gastrointestinálním traktu, což může negativně ovlivnit jejich strukturální integritu [7, 8].



## 2 CELULÓZA

Celulóza je nejčastěji vyskytující se polysacharid, který tvoří základní stavební jednotku rostlinných buněčných stěn. Tato látka je nerozpustná ve vodě a v práškové formě má bílou barvu. Celulóza je klíčovým strukturálním prvkem v rostlinách, poskytujícím pevnost a odolnost buněčným stěnám. Její odolnost vůči rozpouštědlům a schopnost tvořit vlákna ji činí důležitým materiálem v různých odvětvích.

Rostliny každý rok vyrobí více než 1011 tun celulózy, která se nachází například v měkkém a tvrdém dřevě, slámě či bambusu. Tato celulóza je obvykle přítomná spolu s hemicelulózou, ligninem a malým množstvím extraktivních látek. Čistou celulózu lze získat procesem delignifikace, který může probíhat různými metodami, například siřičitanovou, sulfátovou nebo organobuněčnou metodou, a vytvořit tak buničinu. Obsah celulózy v materiálu je výrazně ovlivněn jeho původem a postupem izolace. Kromě rostlin produkují celulózu i některé bakterie, řasy a určité druhy hub. Celulóza tak zůstává klíčovým biopolymerem, který se vyskytuje v přírodě a nachází uplatnění v různých biologických procesech a průmyslových odvětvích [9].

Celulóza nedisponuje žádnými léčivými účinky, ale ani škodlivými. Jedná se o naprosto bezpečnou látku, která se může různě modifikovat, například do formy celulózové gumy. Používá se především jako stabilizátor, emulgátor a zahušřovadlo. Samostatná celulóza má absorpční schopnosti, funguje jako plnivo, zvyšuje hustotu, ale také pojí složky k sobě. Snižuje průhlednost produktu a může napomáhat lepší roztíratelnosti. Tyto vlastnosti ji činí vhodnou pro širokou škálu průmyslových a potravinářských aplikací, kde přispívá k zachování konzistence a struktury produktů [9, 10].

### 2.1 Zdroje celulózy

Za nejběžnějším zdrojem celulózy je považováno dřevo. Mezi jeho hlavní výhody patří snadná dostupnost a nízká cena. Extrakce celulózy začíná s tzv. purifikovaným dřevem, což znamená odstranění většiny ligninu, hemicelulózy a nečistot. Typickými materiály je plně bělená sulfátová buničina a rozpustná buničina, které se používají například při výrobě regenerovaných celulózových produktů (hedvábí). Podobně jako dřevo, i rostliny představují častý zdroj celulózy, hlavně kvůli jejich dostupnosti a existující infrastruktuře v textilním průmyslu. Obecně lze rostliny purifikovat podobně jako dřevo. Pro extrakci bylo zkoumáno široké spektrum rostlinných materiálů, včetně bavlny, ramie, sisalu, lnu, plev

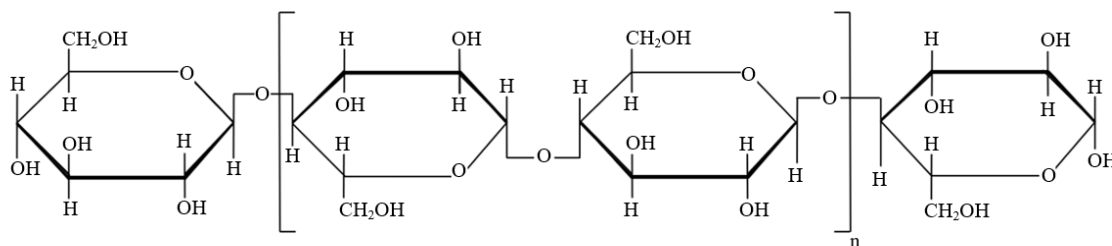
pšenice, bramborových hlíz, odpadu z cukrové řepy, sójových stonků, banánového vřetene a dalších [11].

Dalším možným zdrojem jsou pláštěnci a řasy. Pláštěnci patří mezi mořské strunatce, kteří mají své tělo chráněno rosolovitým pláštěm, nazývaným tunica, který je produkován jejich epidermis. V pozdní fázi svého vývoje tento plášť slouží jako zdroj mikrovláken celulózy. Obsahuje polysacharid nazývaný tunicin, který má podobné vlastnosti jako celulóza. Ve své buněčné stěně produkují mikrovlákna i některé druhy řas (zelené, šedé, červené, žlutozelené atd.). Struktura mikrovláken celulózy se výrazně liší mezi různými druhy řas v důsledku rozdílných procesů biosyntézy. Většina výzkumníků mikrovláken celulózy se však zabývala různými druhy zelených řas. Některé z nejčastěji studovaných druhů zahrnují: *Micrasterias denticulata*, *Micrasterias rotate*, *Valonia*, *Caldophora* a *Boergesenia*. Mikrovlákna celulózy získaná z pláštěnců a různých druhů řas jsou stále více zkoumána pro svůj potenciál v různých průmyslových aplikacích. Jejich unikátní vlastnosti, jako je biodegradabilita, nízká cena a ekologická udržitelnost, je činí atraktivním materiálem pro výrobu bioplastů, biokompozitů a dalších ekologicky šetrných materiálů [11, 12].

Mezi producenty celulózy lze taktéž zařadit některé druhy bakterií. Nejvíce prozkoumaným druhem bakterií produkujícím celulózu je *Gluconacetobacter xylinus* (dříve jako *Acetobacter xylinum*). Tato bakterie za speciálních podmínek kultivace vylučuje mikrovlákna celulózy, která se usazují na povrchu kapalného média a vytváří gel známý jako pelikula. Tento gel je složen z mikrovláken celulózy a obsahuje až 97 % vody. Průměr těchto vláken se pohybuje mezi 20 a 100 nm. Bakteriální celulóza se vyznačuje vysokou retencí vody díky své vysoké hydrofilnosti a velkému poměru povrchu k hmotnosti. Navíc je charakterizována vysokou mechanickou pevností a krystalinitou. Přesný důvod, proč bakterie produkují celulózu, není zcela jasný, ale existuje pravděpodobnost, že je to nezbytné pro jejich přežití, například jako ochrana proti UV záření nebo jako bariéra proti plísním, kvasinkám a dalším organismům. Jednou z výhod mikrovláken celulózy získaných z bakterií je možnost ovlivnit kultivační podmínky tak, aby se ovlivnila tvorba mikrovláken a jejich krystalizace [11, 13].

## 2.2 Struktura celulózy

Strukturálně můžeme celulózu chápat jako polymer s lineárním řetězcem. Opakující se část makromolekuly, znázorněná na obrázku 3, se skládá ze dvou jednotek  $\beta$ -D-glukózy. Tyto jednotky jsou spojeny pomocí atomu kyslíku, který vytváří kovalentní vazbu mezi uhlíkem C1 jednoho z glukózových kruhů a uhlíkem C4 kruhu sousedního. Tato vazba se nazývá  $\beta$ -1,4 glykosidická vazba. Intramolekulární a intermolekulární vodíkové vazby, kterými jsou celulózové řetězce spojeny, tvoří celulózu stabilní [14].



Obrázek 3: Strukturální vzorec celulózy

Struktura celulózy je však termodynamicky metastabilní a může být převedena na celulózu II nebo III. Dodnes byla celulóza II nejstabilnější strukturou s technickým významem. Celulóza III může vzniknout z celulózy I nebo II prostřednictvím ošetření kapalným amoniakem a následné tepelné zpracování může být použito k vytvoření celulózy IV. Celulóza vytváří vyšší struktury, jako jsou mikrofibrily, buněčné stěny a vlákna, díky své schopnosti tvořit pevné a dobře organizované sítě pomocí interakcí mezi jejími molekulami. Základní stavební jednotkou vyšší struktury jsou mikrofibrily. Tato dlouhá a tenká vlákna se skládají z lineárních řetězců celulózy, které jsou uspořádané paralelně vedle sebe. Na vyšší úrovni organizace se mikrofibrily shlukují do větších struktur nazývaných fibrily, které přispívají k mechanické stabilitě buněčných stěn. Dále se fibrily spojují dohromady v agregáty nazývané fibrilární svazky, které poskytují další úroveň organizace a pevnosti ve struktuře celulózy [11, 15].

Obecně se uvádí, že se struktura celulózy skládá jak z amorfní, tak krystalické domény. Krystalická struktura se vyznačuje pravidelným uspořádáním celulózních řetězců do pevných krystalických mřížek. Tyto krystalické oblasti jsou charakterizovány silnými intermolekulárními vazbami. Krystalická struktura poskytuje celulóze vysokou mechanickou pevnost a odolnost vůči vnějším faktorům. Naopak amorfní struktura celulózy

je méně uspořádaná a nepravidelná. V amorfních oblastech nejsou celulózní řetězce pevně uspořádány do krystalických struktur, ale jsou spíše chaoticky rozptýleny. Amorfní oblasti mají nižší hustotu a mechanickou pevnost než krystalické oblasti, a také mohou být náchylnější k enzymatickému rozkladu [16, 17].

Celulóza vykazuje také polymorfizmus, což znamená, že může existovat ve dvou krystalických modifikacích – triklinické ( $\alpha$ ) a monoklinické ( $\beta$ ). Tyto modifikace existují spolu v různých poměrech v závislosti na zdroji celulózy. Struktura  $\alpha$  převažuje u většiny řas a bakterií, zatímco forma  $\beta$  je dominantní u celulózy v buněčných stěnách rostlin a pláštěnců. Struktura  $\alpha$  je metastabilní a může být převedena na  $\beta$  pomocí hydrotermálního ošetření ( $\sim 260$  °C) v alkalickém roztoku a vysokoteplotními ošetřeními v organických rozpouštědlech a heliu [11].

### 2.3 Typy celulóзовých částic

Celulóza, jakožto vláknitý polysacharid, je podrobně modifikovatelná, což umožňuje získání částic různých velikostí. V literatuře se uvádí devět typů částic považovaných za hlavní částice založené na celulóze. Tyto částice se obvykle liší podle zdroje materiálu z celulózy a způsobu extrakce. Termín "celulózové nanočástice" (CN) je používán jako obecný termín pro několik typů částic, které mají alespoň jednu dimenzi na nanometrové úrovni. Je třeba si uvědomit, že v současné literatuře se termíny jako mikrofibrilární celulóza, nanofibrilární celulóza a nanokrystalická celulóza často zaměňují, což může vést k nejasnostem a problémům při interpretaci literatury. Následující rozdělení vychází z publikace Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites, která se věnuje charakterizaci celulózových částic [11].

- Dřevěná a rostlinná vlákna (Wood Fibril WF, Plant Fibril PF)
- Mikrokystalická celulóza (MCC)
- Mikrofibrilární celulóza (MFC)
- Celulózové nanofibrily (CNF)
- Celulózové nanokrystalaly (CNC)
- Celulózové nanokrystalaly pláštěnců (t-CNC)
- Celulózové částice na bázi řas (AC)
- Bakteriální celulózové částice (BA)

Pro každý typ celulózových částic je charakteristická určitá velikost, poměr stran, morfologie nebo krystalinita. Velikost a krystalinita vybraných celulóz je pro porovnání uvedena v tabulce 1.

Tabulka 1: Charakteristika různých celulóзовých částic, upraveno podle [11]

Typ celulózy	Velikost částic			Krystalinita [%]
	Délka [ $\mu\text{m}$ ]	Šířka [nm]	Výška [nm]	
Mikrofibrilární celulóza (MFC)	0,5-10	10-100	10-100	51-69
Mikrokrystalická celulóza (MCC)	10-50	10x10 <sup>3</sup> - 50x10 <sup>3</sup>	10x10 <sup>3</sup> - 50x10 <sup>3</sup>	80-85
Celulóзовé nanokrystaly (CNC)	0,05-05	3-5	3-5	54-88
Bakteriální celulóza (BC)	>1	30-50	6-10	65-79

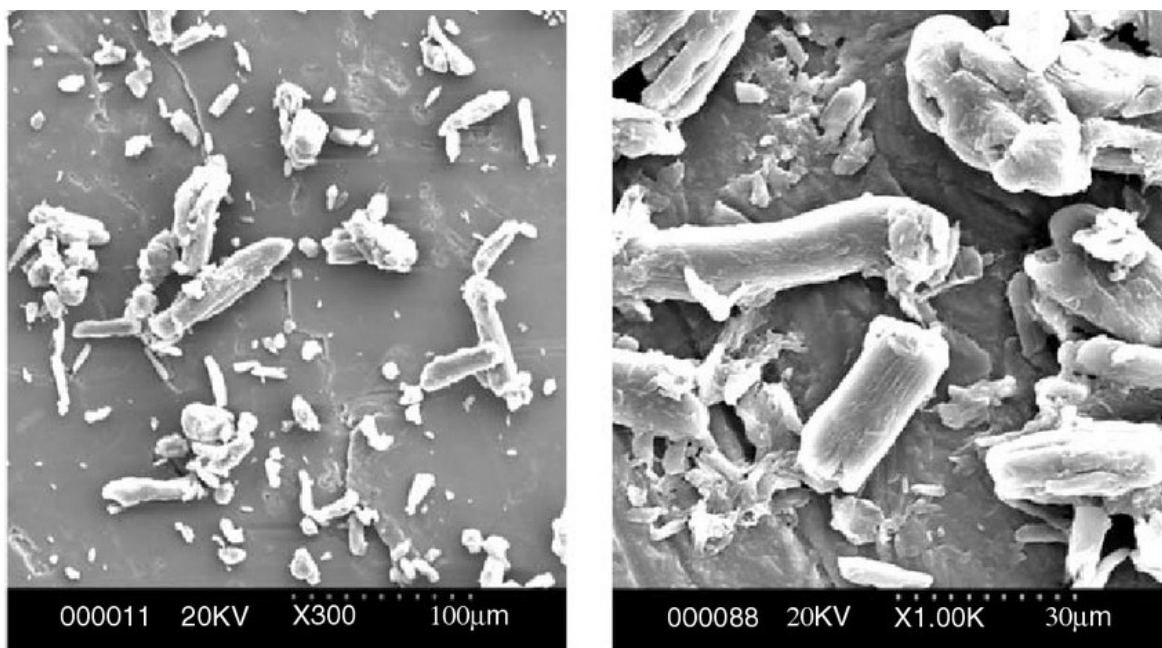
Tato diplomová práce je primárně zaměřena na mikrokrystalickou celulózu, a to z důvodu specifických vlastností, které tato forma celulózy poskytuje. Mikrokrystalická celulóza byla vybrána jako materiál pro svou univerzálnost a významný vliv na různé oblasti, včetně kosmetického a farmaceutického průmyslu či potravinářství.

## 2.4 Mikrokrystalická celulóza

Mikrokrystalická celulóza je v různých odvětvích známa již více než 60 let. Od nanokrystalické celulózy se liší především svým tvarem a velikostí částic. MCC je čistá, vysoce krystalická celulóza, která se skládá ze svazků různě velkých agregátů celulóзовých mikrofibril, které jsou navzájem pevně vázané vodíkovou vazbou ve vysoce krystalické struktuře. MCC se primárně vyrábí tak, že se bělená kraftová dřevní vlákna smíchají s kyselinou sírovou, která částečně depolymerizuje amorfni části vláken. Tímto procesem poté vzniká prášek o velikosti částic v rozmezí 10 až 50  $\mu\text{m}$ . MCC se používá jako vysoce účinná přísada pro zlepšení vlastností výrobků a zpracování. Také se využívá jako ekologické plnivo, které zlepšuje mechanické vlastnosti a snižuje citlivost na vodu, což přispívá k dobrým interakcím mezi celulózou a biopolymery. Podle studií Désiré a kol. (2021) se ukázalo, že MCC v koncentraci 0,5 % a 2 % zvyšuje mechanickou pevnost a hydrofobní vlastnosti fólií [18].

Ze strukturního hlediska je MCC částečně dezintegrovaná přírodní celulóza nebo syntetické vlákno složené z tyčinkovitých krystalů, přičemž si stále zachovává některé vlastnosti

amorfních oblastí celulózy. Struktura celulózy se skládá jak z amorfní, tak z krystalické domény, což je rozdílné od amorfní povahy ligninu a hemicelulózy. V závislosti na nativním celulóзовém materiálu a způsobu extrakce/čištění může MCC vykazovat nepravidelné mikro rozměry tyčinek s mírně drsným povrchem nebo tyčinkové struktury s dobře definovanými okraji. Na obrázku 4 je zobrazený mikroskopický snímek MCC získaný pomocí skenovacího elektronového mikroskopu (SEM) [18].



Obrázek 4: SEM mikrofotografie MCC [19]

## 2.5 Využití celulózy pro stabilizaci emulzí

Jelikož jsou emulze termodynamicky nestabilní, je nezbytné použít emulgátory a stabilizátory pro zajištění jejich dlouhodobé stability. V průmyslu jsou běžně využívány syntetické emulgátory, ale v poslední době se výzkum zaměřuje na hledání alternativních rostlinných emulgátorů s nižší toxicitou a vyšší biokompatibilitou. Pickeringovy emulze na bázi celulózy se ukazují jako slibná alternativa v této oblasti. Díky své netoxicitě, bezpečnosti, biologické rozložitelnosti a udržitelnosti představují atraktivní volbu pro stabilizaci emulzních systémů. Mikrokrystalická celulóza funguje jako emulgátor, který umožňuje vytvořit ochrannou vrstvu kolem dispergovaných olejových kapek, čímž se zabrání jejich spojení a srážení. Studie ukazují, že mikrokrystalická celulóza může být účinným stabilizátorem emulzí i při nízkých koncentracích, což z něj činí zajímavou volbou pro mnoho aplikací [20, 21].

Během skladování emulze prokázaly větší stabilitu vzhledem ke kolísání pH, iontové síly a koalescenci. Tyto vlastnosti jsou klíčové pro dlouhodobou účinnost emulzního systému. Celulóza tak představuje perspektivní materiál pro inovativní a udržitelné přístupy ke stabilizaci emulzí v průmyslových procesech. Tato alternativa zdůrazňuje nejen technologický pokrok, ale také podporuje ekologický přístup k vývoji stabilizačních systémů [22].



### 3 ESENCIÁLNÍ OLEJE

Esenciální oleje jsou velmi zajímavé přírodní rostlinné produkty, které disponují různými biologickými vlastnostmi. Termín „biologické“ zahrnuje všechny účinky, které tyto směsi těkavých sloučenin vyvolávají u lidí, zvířat a dalších rostlin. Tyto oleje jsou vysoce hydrofobní aromatické přírodní produkty získávané z různých částí rostlin (včetně květů, kořenů, kůry, listů, semen, slupek, plodů, dřeva a celých rostlin). Lze je mísit s alkoholy, étery a tuky, ale jsou nerozpustné ve vodě. Mají charakteristickou vůni a jejich hustota je menší než  $1 \text{ g/cm}^3$ , s výjimkou několika případů, například oleje ze skořice nebo hřebíčku. Na jednotlivé esenciální oleje je nutno pohlížet jako na komplexní směs bioaktivních látek, přičemž jejich konečný profil složení, a tedy i bioaktivita, závisí na různých faktorech, jako například způsobu extrakce, sušení, skladování, době sklizně, klimatických podmínkách, druhu rostliny a na tom, která část rostliny byla použita k jejich izolaci [23, 24, 25].

Všechny rostliny mají především schopnost produkovat těkavé sloučeniny, často však ve stopových množstvích. Dva hlavní faktory určují, zda je rostlina vhodná k použití jako zdroj esenciálních olejů:

- a) Jedinečná směs těkavých látek, jako jsou květinové vůně růže (*Rosa* spp.), jasmínu (*Jasminum sambac*) nebo tuberózy (*Polianthes tuberosa*). Květy těchto rostlin produkují a okamžitě emitují těkavé látky epidermálními vrstvami svých okvětních lístků. Výnos je dokonce i u intenzivně vonících květů velmi nízký, a kromě destilace je nutné použít speciální techniky k získání těkavých vonných látek.
- b) Sekrece a akumulace těkavých látek v specializovaných anatomických strukturách. To vede ke zvýšené koncentraci esenciálního oleje v rostlině. Tyto struktury pro ukládání esenciálního oleje mohou být sekreční idioblasty (sekreční buňky), dutiny/kanály nebo žláznaté trichomy [24].

Esenciální oleje mají mnoho užitečných vlastností, především antioxidační, baktericidní, virocidní, fungicidní, antiparazitní, insekticidní a léčivé. Zejména baktericidní a fungicidní účinek některých jednotlivých složek umožňuje jejich zařazení do receptury široké škály kosmetických přípravků, např. krémů, gelů a mastí, aniž by bylo nutné přidávat chemické konzervační látky. Je důležité také zmínit, že esenciální oleje mají několik nevýhod, včetně jejich vysoké těkavosti, špatné rozpustnosti ve vodě, tepelné a chemické lability, což ztěžuje manipulaci při navrhování kosmetických přípravků a vyžaduje tak pečlivou kontrolu jejich

balení, úpravy a podmínek skladování. Navíc úloha esenciálních olejů a jejich jednotlivých složek v recepturách není vždy pozitivní a představuje potenciální zdroj alergenních reakcí, a proto je pro zajištění výroby bezpečných kosmetických přípravků nezbytná pečlivá kvantifikace jejich maximálních koncentrací v konkrétní receptuře [25].

### 3.1 Složení esenciálních olejů

Esenciální oleje mohou být složeny z několika málo až více než 100 jednotlivých složek. Jako přírodní směsi velmi komplexní povahy se esenciální oleje mohou skládat z přibližně 20-60 složek ve zcela odlišných koncentracích. Přičemž dvě nebo tři hlavní složky jsou přítomny v poměrně vysokých koncentracích (20-70 %), zatímco ostatní složky jsou přítomny ve stopovém množství. Podle koncentrace je lze rozdělit na hlavní (20-95 %), vedlejší (1-20 %) a stopové (méně než 1 %) složky. Aromatický přínos jednotlivých složek však nezávisí striktně na jejich příslušné koncentraci, ale závisí na specifickém prahu vůně, který je určen strukturou složek a jejich těkavostí [23, 25].

Z větší části lze složky esenciálního oleje přiřadit k lipofilním terpenoidům, fenylpropanoidům nebo alifatickým uhlovodíkovým derivátům s krátkým řetězcem a nízkou molekulovou hmotností, přičemž první z nich jsou nejčastější a nejcharakterističtější složky. Mezi nimi tvoří převážnou část silic allylické, mono-, bi- nebo tricyklické mono- a seskviterpenoidy různých chemických tříd, jako jsou uhlovodíky, ketony, alkoholy, oxidy, aldehydy, fenoly nebo estery. Absence, byť jen jedné složky může změnit aroma. Základními stavebními bloky většiny esenciálních olejů jsou terpeny, jako jsou pinen, limonen a myrcen. Ty jsou odpovědné za charakteristické vůně a často i za léčivé vlastnosti esenciálních olejů. Esenciální oleje také mohou obsahovat neterpenické sloučeniny vznikající biogenní cestou fenylpropanoidů, jako je eugenol, skořicový aldehyd a safrol [25, 26].

Mnoho složek esenciálních olejů obsahuje jeden nebo více asymetrických atomů uhlíku, které vykazují optickou aktivitu. Tyto chirální sloučeniny přírodního původu se obvykle vyskytují v charakteristickém enantiomerním rozložení, protože vznikly prostřednictvím enzymaticky řízené biosyntézy. Kromě rozdílů v jejich biologickém, terapeutickém a farmakologickém potenciálu se může lišit i vůně (olfaktorika) mezi chirálními sloučeninami [23].

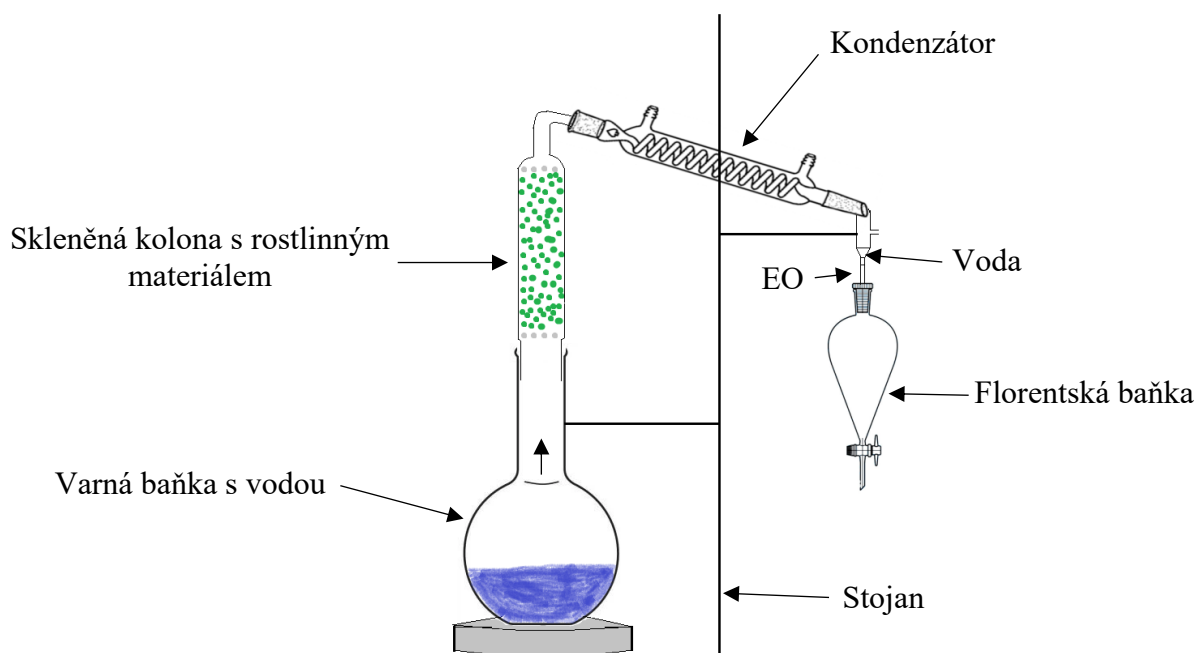
Fenoly, jako je thymol nebo eugenol, přinášejí antiseptické a antibakteriální vlastnosti, zatímco aldehydy, například citral nebo benzaldehyd, mohou dodat svěží nebo ovocnou vůni. Další skupiny látek v esenciálních olejích zahrnují ketony, které mohou mít osvěžující a mentolový charakter (menthon, carvon), estery s ovocnými nebo květinovými vůněmi (linalyl-acetát, bornyl acetát), oxidy, jako je eukalyptol s mentolovým charakterem, laktony (například kamazulen) s potenciálními protizánětlivými vlastnostmi [23].

## **3.2 Metody izolace esenciálních olejů**

Proces izolace esenciálních olejů je klíčový, protože ovlivňuje jakost a množství extrahovaných látek. Existuje několik metod izolace, včetně destilace, extrakce a lisování, které se používají k oddělení esenciálních olejů od rostlinného materiálu. Každá z těchto metod má své výhody a omezení a může být vhodnější pro konkrétní typy rostlin nebo cíle extrakce. Porozumění těmto metodám a jejich aplikaci je klíčové pro získání vysoce kvalitních esenciálních olejů pro různé účely.

### **3.2.1 Destilace vodní parou**

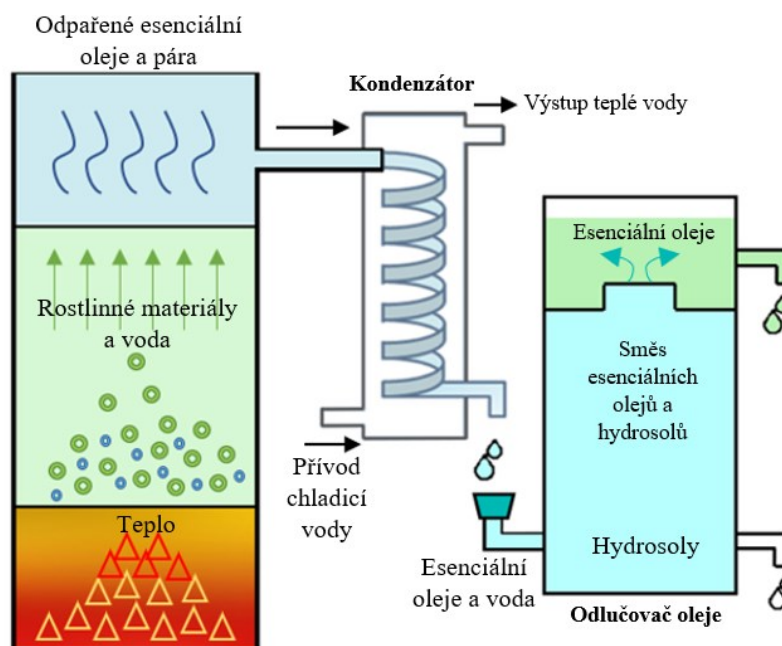
Parní destilace je zdaleka nejrozšířenější technikou pro komerční výrobu esenciálních olejů. Princip destilace vodní parou spočívá v tom, že pára vytvořena zahříváním vody je použita k extrakci esenciálních olejů z rostlinného materiálu. Tento proces umožňuje oddělení olejů od rostlinných surovin a zachování jejich charakteristických vlastností. Při destilaci vodní parou je rostlinný materiál umístěn v nádobě nad vodní hladinou, kde je vystaven proudící páře. Pára proniká do rostlinného materiálu a extrahuje esenciální oleje, které jsou následně zachyceny a kondenzovány do kapalné formy, jako je znázorněno na obrázku 5. Tento proces umožňuje získání čistých esenciálních olejů bez použití chemických rozpouštědel nebo dalších aditiv. Pomocí parní destilace lze extrahovat 93 % esenciálního oleje a zbývajících 7 % lze extrahovat jinými procesy. Teplota zahřívání by měla být dostatečná k rozptýlení nebo dezintegraci rostlinné tkáně a uvolnění aromatických sloučenin nebo esenciálního oleje [27, 28].



Obrázek 5: Aparatura destilace vodní parou

### 3.2.2 Hydrodestilace

Hydrodestilace je nejstarší a nejjednodušší metoda extrakce olejů. Stala se standardní metodou extrakce esenciálních olejů z rostlinného materiálu, jako je dřevo, které je často používáno k izolaci nerozpustných přírodních produktů s vysokým bodem varu. Proces zahrnuje úplné ponoření rostlinného materiálu do vody, následované varem. Tato metoda chrání do určité míry extrahované oleje, protože okolní voda působí jako bariéra, která zabrání jejich přehřátí. Pára a výpary esenciálního oleje jsou kondenzovány na vodnou frakci. Výhodou této techniky je, že potřebný materiál lze destilovat při teplotě nižší než 100 °C. Nicméně, hydrodestilace má své nevýhody. Proces může být časově náročný a vyžaduje pečlivé nastavení teplot a času destilace pro dosažení optimálních výsledků. Navíc může být obtížné dosáhnout úplné extrakce esenciálních olejů z některých rostlinných materiálů, což může vést k nižšímu výtěžku. Pokud se neprovádí při správných podmínkách, může dojít k přehřátí olejů nebo k jejich degradaci, což ovlivňuje kvalitu výsledného produktu. Během hydrodestilace esenciálních olejů se také produkuje významné množství kondenzované vody (také nazývané bylinná voda nebo hydrosol), obsahující netěkavé rozpustné bioaktivní sloučeniny se silnými antioxidačními vlastnostmi, včetně ve vodě rozpustných polyfenolů, proteinů/enzymů, aminokyselin, polysacharidů, alkaloidů, alkoholických sloučenin a vitaminů. Názorný proces hydrodestilace můžeme pozorovat na obrázku 6 [29, 30, 31].



Obrázek 6: Proces hydrodestilace

### 3.2.3 Extrakce organickými rozpouštědly

Extrakce organickými rozpouštědly je metoda získávání látek z rostlinného materiálu, při které se rostlinný materiál maceruje nebo extrahuje v organickém rozpouštědle, jako je například ethanol, hexan nebo dichlormethan. Tento proces umožňuje extrahovat cenné látky z rostlinného materiálu, jako jsou esenciální oleje, aromatické látky, polyfenoly a další biologicky aktivní sloučeniny. Prvním krokem je extrakce rostlinného materiálu ve vhodném rozpouštědle, které má schopnost rozpouštět cílové látky. Rostlinný materiál je často rozdrčen nebo mlet, aby se zvýšila plocha povrchu a usnadnila extrakci a výtěžek látek. Poté je směs rostlinného materiálu a rozpouštědla nechána reagovat po určitou dobu, aby došlo k rozpouštění cílových látek. Po dostatečném čase se směs filtruje, aby se oddělily pevné částice rostlinného materiálu od extrahovaného roztoku. Dále se extrakt získaný rozpouštědlem koncentruje odstraněním rozpouštědla, obvykle za sníženého tlaku, což zanechává za sebou koncentrovanou formu cílových látek. Tento postup extrakce umožňuje izolovat cenné látky z rostlinného materiálu v jejich koncentrované formě. Organická rozpouštědla umožňují extrahovat širokou škálu látek s různými fyzikálními vlastnostmi, což činí tuto metodu velmi užitečnou pro separaci a koncentraci bioaktivních sloučenin z rostlinného materiálu [32, 33, 34].

### 3.2.4 Lisování

Lisování esenciálních olejů je metoda, která se používá zejména pro získávání olejů z citrusových plodů, jako jsou pomeranče, citrony nebo grepové plody. Tato technika je také nazývána mechanické lisování nebo studené lisování. Princip lisování esenciálních olejů spočívá v mechanickém stlačení šťávy z plodů, přičemž se olej odděluje od šťávy a shromažďuje se na povrchu. Tento proces je obvykle prováděn za pokojové teploty nebo za mírného ohřátí, aby se zvýšila produkce oleje. Lisování esenciálních olejů se často používá pro plody, jejichž slupka obsahuje hojné množství oleje. Tato metoda zachovává přírodní vlastnosti a vůni olejů, protože neprobíhá žádný proces zahřívání, který by mohl ovlivnit jejich složení. Výsledkem lisování esenciálních olejů je čistý a přírodní produkt, který se používá v různých odvětvích, včetně kosmetiky, léčitelství a potravinářského průmyslu. Lisované oleje mají často charakteristickou vůni a jsou ceněny pro své terapeutické vlastnosti a širokou škálu použití [32, 35].

### 3.3 Použití esenciálních olejů v kosmetice

Využívání vůně je celosvětovým jevem, který doprovází lidstvo již po staletí. Aromata a vůně se staly nedílnou součástí našeho každodenního života, buď jako přísady pro zlepšení atraktivity produktů nebo k zakrytí nepříjemných pachů. Ve světě kosmetiky hraje vůně zvláště významnou roli, neboť ovlivňuje vnímání a celkové hodnocení produktů. Je považována za klíčovou charakteristiku kosmetických výrobků, na kterou se spotřebitelé těší a která ovlivňuje jejich výběr [36].

Na trhu s aromaty a vůněmi je dostupných přibližně 300 esenciálních olejů z více než 3000 druhů rostlin, jako jsou oleje z pomeranče, máty, citronely, eukalyptu, máty peprné a citronu. V moderní kosmetice jsou tyto oleje oblíbené pro své účinné složky, intenzivní vůně a přirozené vlastnosti. Navíc slouží i jako přírodní konzervační látky díky svým antimikrobiálním vlastnostem, které chrání kosmetické produkty. Jejich přítomnost v produktech může zlepšit i dermato-kosmetické vlastnosti. Esenciální oleje mohou být využity k různým účinkům na pokožce, například k boji s akné, prevenci stárnutí nebo ochraně před slunečním zářením, což zvyšuje jejich hodnotu pro kosmetický průmysl [36, 23].

Nejoblíbenější jsou oleje citrusové, které nabízejí mnoho zdravotních výhod. Největší podíl na celosvětovém trhu s esenciálními oleji má Evropa, následována Asií, Tichomořím

a Severní Amerikou. Jejich použití v kosmetických produktech roste díky rostoucí poptávce po přírodních a šetrných složkách bez chemických konzervantů [36, 23].

Esenciální oleje jsou obsaženy v široké škále kosmetických produktů, včetně pleťových krémů, tělových olejů, šamponů, kondicionérů a parfémů. Jsou smíchány s jinými nosnými oleji nebo aktivními ingrediencemi, aby se dosáhlo optimálních výsledků, a aby se minimalizovalo riziko podráždění pokožky. Přestože jsou esenciální oleje přírodní, je důležité si uvědomit, že mohou způsobit u některých jedinců alergické reakce nebo podráždění pokožky. Je vhodné provést zkušební test na malé části pokožky před aplikací na větší plochy. Dále je třeba dbát na správné ředění esenciálních olejů a dodržovat bezpečné koncentrace podle doporučení odborníků [37].

Studie ukázaly, že přibližně 80 esenciálních olejů může způsobit kontaktní alergii (De Groot a Schmidt, 2016), a proto je důležité zvážit testování na kontaktní alergii u pacientů, kteří s nimi pravidelně přicházejí do kontaktu a u pacientů s anamnézou atopické dermatitidy, kteří nepříznivě reagují na běžné léčebné postupy [37].

### 3.4 Syntetické oleje a přírodně identické esenciální oleje

Syntetické vonné látky jsou komplexní chemické sloučeniny, vyvinuté v laboratořích za účelem napodobení vůní přírodních látek nebo vytvoření zcela nových, umělých vůní. Na druhé straně jsou přírodně identické esenciální oleje, které jsou vyráběny z přírodních surovin, ale proces jejich výroby je optimalizován tak, aby jejich chemická struktura byla identická s přírodními oleji. Syntetické vonné látky nabízejí výrobcům širokou škálu možností, pokrývající vůně od květinových a ovocných po dřevité a kořenité. Tato flexibilita umožňuje vytvářet unikátní vůně a poskytuje větší kontrolu nad estetickým dojmem výsledného produktu. Nicméně, při používání syntetických vonných látek je třeba brát v úvahu některé zdravotní obavy spojené s obsahem chemikálií, které mohou být potenciálně škodlivé nebo alergenní. Některé látky, jako jsou ftaláty, byly spojeny s negativními účinky na zdraví. Regulace a standardy jsou klíčové pro zajištění bezpečnosti a kvality produktů pro spotřebitele a mnoho zemí má předpisy, které upravují výrobu a používání těchto látek v různých odvětvích [23, 38].

V praxi jsou syntetické vonné látky široce využívány v kosmetickém průmyslu pro výrobu parfémů, kosmetických přípravků a toaletních vod. V potravinářském průmyslu jsou také využívány ke zlepšení chuti a vůně potravin. Přestože přinášejí inovaci a kontrolu

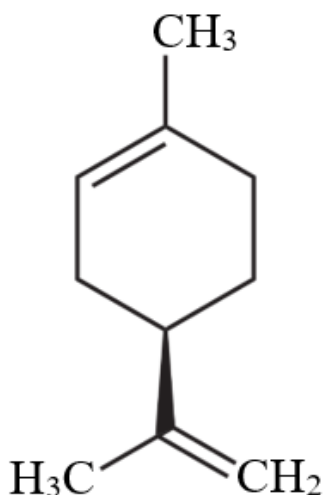
nad vůněmi, je nezbytné zachovávat obezřetnost při jejich používání a dbát na dodržování bezpečnostních a regulačních standardů [23].

### 3.5 Citron

Citrusové plody jsou jednou z nejvýznamnějších plodin na světě, přičemž jejich celosvětová produkce dosahuje impozantních 240 780 milionů metrických tun ročně. Historie jejich pěstování sahá až do roku 2100 př. n. l., a dnes jsou pěstovány v různých částech světa. Mezi hlavní africké producenty citrusů patří zejména Tunisko. Nejznámější citrusový plod je citron (*Citrus limon*), který představuje důležitou léčivou rostlinu z čeledi *Rutaceae*. Strom citronovníku je malý, s lesklými, kožovitými stálezelenými listy obsahujícími olejové žlázy. Plody mají kulovitý či vejčitý tvar a je bohatým zdrojem flavonoidů, glykosidů, kumarinů,  $\beta$ - a  $\gamma$ -sitosterolů, glykosteroidů a esenciálních olejů, které se nacházejí v žlázách vnější plodové slupky. Až polovina z výroby citrusů tvoří odpad v podobě slupek, semen a dužiny [39, 40].

Esenciální olej představuje klíčový vedlejší produkt zpracování citrusových plodů. Jeho chemické složení je velmi složité, s převažujícím obsahem monoterpenních sloučenin, zejména limonenu (obrázek 7) a sekviterpenních látek. Tyto složky tvoří většinu oleje, a jsou doplněné o další uhlovodíky a jejich kyslíkaté deriváty. Přibližně 1-15 % oleje představuje netěkavý zbytek, obsahující steroly, mastné kyseliny, vosky, kumariny, uhlovodíky, karotenoidy a flavonoidy. V chemickém složení citrusových olejů se však vyskytují významné rozdíly, které jsou ovlivněny faktory, jako je původ, genetické pozadí, roční období, klima, stáří plodů, jejich zrání a způsob extrakce. Citron navíc obsahuje různé bioaktivní sloučeniny, včetně polyfenolů a vitamínu C. Tento vitamin hraje klíčovou roli v podpoře imunity organismu [40, 41].





Obrázek 7: Strukturální vzorec limonenu

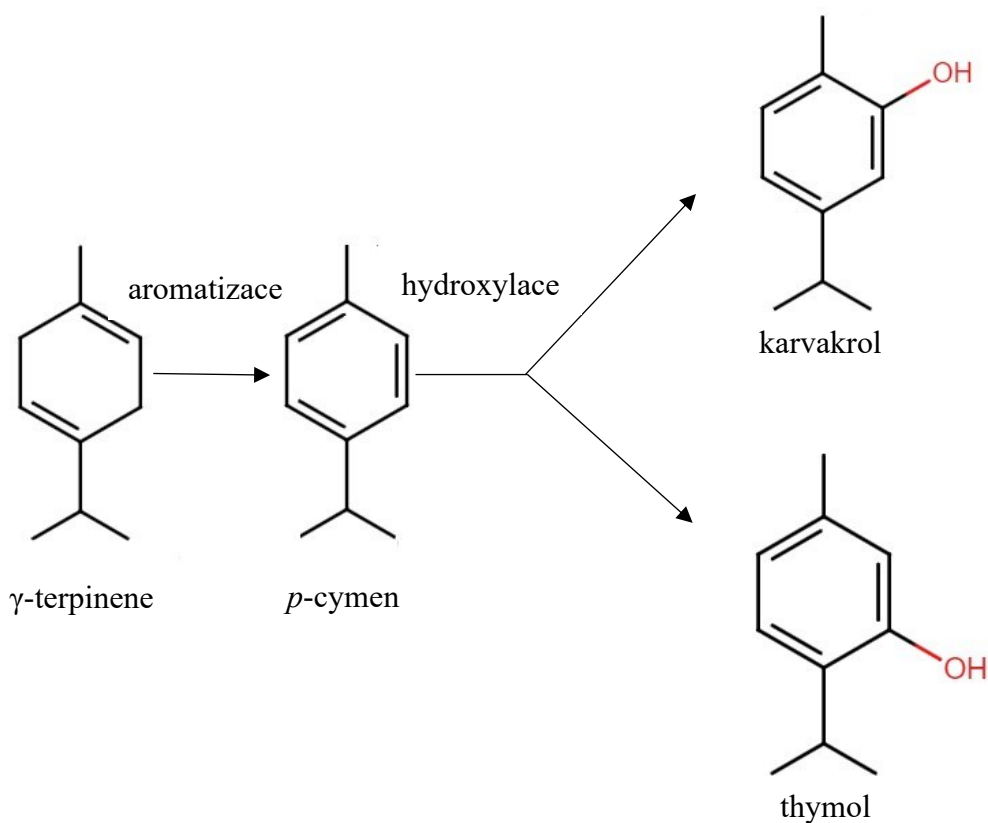
Citronový esenciální olej se používá v inhalační aromaterapii, protože může být účinný v různých situacích, jako je stres, úzkosti a deprese. Dokáže stimulovat centrální nervový systém, pozitivně ovlivňuje kognitivní funkce, úroveň pozornosti, paměť a náladu. Tyto esenciální oleje z citrusů mají široké spektrum biologických aktivit, včetně antimikrobiálních a antioxidačních vlastností. Citronový esenciální olej je ceněn pro své osvěžující aroma a množství výhod, které nabízí. V kosmetice je oblíbený díky své schopnosti podpořit zdraví pokožky a poskytnout řadu dalších benefitů. Mezi významné vlastnosti patří schopnost rozjasnit a osvěžit pleť, snížit pigmentaci a vyrovnat její tón, a také poskytnout hydrataci, která udržuje pokožku vláčnou a zdravou. Olej citrону je častou složkou různých pleťových krémů, sér a tonik, které cíleně bojují proti suché pleti a zlepšují její texturu. Kromě péče o pleť se esenciální olej citrону používá i v péči o vlasy [41, 42].

### 3.6 Tymián

Rod *Thymus* z čeledi *Lamiaceae* obsahuje mnoho zástupců. Tyto rostliny, typické pro oblast Středomoří, jsou běžně využívány v potravinářství, kosmetice a farmaceutickém průmyslu. Tymián má typicky poléhavý růst a dorůstá do výšky asi 15–30 cm, i když některé druhy mohou být vyšší. Listy tymiánu jsou malé, úzké, eliptické a lesklé, s nápadnou žilnatinou. Mají zelenou barvu, a pokud jsou rozmělněny mezi prsty, uvolňuje se z nich silná vůně. Květy jsou drobné, obvykle růžové až fialové barvy, seskupené do hustých hlávkovitých květenství na koncích stonků. Tymián, získávaný z *Thymus vulgaris* L. a *Thymus zygis* L., je široce využíván ve farmaceutickém průmyslu. Esenciální olej z tymiánu je produkován

parní destilací čerstvě kvetoucích nadzemních částí těchto rostlin. Jeho charakteristikou je vysoký obsah thymolu (37–55 %) a karvakrolu (0,5–5,5 %) [43, 44].

Hlavními složkami esenciálního oleje tymiánu jsou izomerní fenolické monoterpeny thymol (2-isopropyl-5-methylfenol) a karvakrol (2-methyl-5-(propan-2-yl)fenol). Oba tyto monoterpeny jsou biosyntetizovány hydroxylací *p*-cymenu po aromatizaci  $\gamma$ -terpinenu na *p*-cymen. Schéma biosyntézy je znázorněno na obrázku 8 [44].



Obrázek 8: Schéma klíčových kroků biosyntézy thymolu a karvakrolu

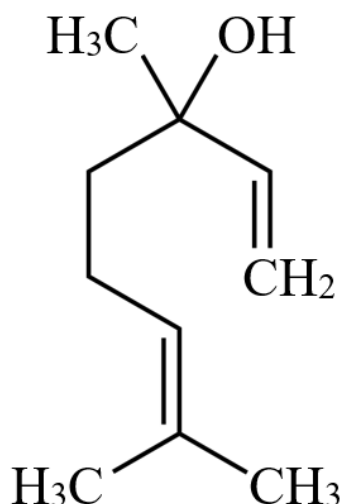
Thymol je bezbarvá krystalická látka, která se vyznačuje silným zápachem a dobře se rozpouští v alkoholu a jiných organických rozpouštědlech, avšak ve vodě je její rozpustnost omezená. Karvakrol je na druhé straně bezbarvá až světle žlutá kapalina, která se také špatně rozpouští ve vodě, ale dobře se rozpouští v ethanolu, acetonu a diethyletheru. Má podobný zápach jako thymol. Tymián a jeho těkavý olej se již dlouho používají k léčbě infekcí horních cest dýchacích, příznaků bronchitidy, parazitárních infekcí, svědění spojeného s dermatitidou, modřin a výronů. Působí antibakteriálně na grampozitivní a gramnegativní bakterie. Aplikace vysokých koncentrací na kůži může způsobit podráždění. Ve vzácných případech se může objevit alergická reakce projevující se jako kožní vyrážka [44, 45].

V kosmetice se především využívá pro své antiseptické vlastnosti, které pomáhají bojovat proti bakteriím a mikrobům na pokožce. Díky tomu je často obsažen v čistících přípravcích a pleťových vodách. Má také protizánětlivé účinky, které pomáhají snižovat zarudnutí a podráždění pokožky, a je proto vhodný do produktů určených k péči o citlivou nebo problematickou pleť. Další významnou vlastností tymiánového oleje jsou jeho antioxidační účinky. Disponuje antioxidanty, které chrání pokožku před poškozením volnými radikály a předčasným stárnutím. Tato vlastnost jej činí vhodným pro produkty určené k ochraně pokožky před vnějšími škodlivými vlivy. Kromě svých prospěšných účinků na pleť má tymiánový olej také osvěžující aroma, které je povzbuzující a příjemné. V oblasti péče o vlasy může tymiánový olej posilovat vlasy a podporovat zdravou pokožku hlavy. Přidání do šamponů a kondicionérů může pomoci udržovat vlasy silné, lesklé a zdravé [46,47].

### 3.7 Levandule

Levandule patřící do čeledi hluchavkovitých (*Lamiaceae*) je jednou z běžně zkoumaných léčivých bylin. Květ keře, purpurově modré barvy, se odpradávná používá k léčbě různých onemocnění. Rod *Lavandula* zahrnuje cenné byliny, asi třicet druhů, desítky poddruhů, stovky hybridů a vybrané odrůdy. Mezi nejčastěji používané druhy levandule používané v kosmetickém, parfemářském a farmaceutickém průmyslu patří *Lavandula angustifolia*, *Lavandula latifolia*, *Lavandula stoechas* a *Lavandula intermedia*. Pro komerční využití se pěstuje po celém světě. Mezi nimi je za nejvýznamnější druh tohoto rodu považována *L. angustifolia*. Jeho silice je vysoce ceněna pro svou atraktivní vůni a nízký obsah kafru, a proto je olej *L. angustifolia* mnohem dražší a často bývá falšován levnějšími uvedenými oleji [48].

Levandulový olej, získávaný destilací květů levandule (*Lavandula* spp.), má složení, které může variabilně záviset na druhu levandule a podmínkách získání oleje. V případě *Lavandula officinalis* je hlavní složkou linalool (obrázek 9), který tvoří většinu oleje. Další významnou složkou je linalyl-acetát, který přispívá k aromatickým vlastnostem a má uklidňující účinky, napomáhající snižovat stres. Mezi ethery patří 1,8-cineol (eukalyptol) s antimikrobiálními vlastnostmi. Ketony, jako je ocimenon, jsou zastoupeny s antifungálními a antimikrobiálními účinky. Terpeny, mezi něž patří myrcen a karyofylen, přispívají různými prospěšnými účinky. Rovněž pozorovatelný je výskyt flavonoidů, bioaktivních sloučenin s antioxidantními účinky. Složení levandulového oleje může být dále ovlivněno geografickým původem levandule a podmínkami pěstování [49].



Obrázek 9: Strukturální vzorec linaloolu

Rostlinné produkty, jako jsou levandulové silice, mohou nabídnout řešení problému rezistence na antibiotika, invazivní léčby, vedlejších účinků nebo dokonce drogové závislosti. Navíc levandulové oleje z čerstvých květů *L. angustifolia* prokázaly vysokou aktivitu proti bakteriím (*Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), kvasinkám a vláknitým houbám (*Candida* sp., *Aspergillus niger* a *Penicillium expansum*), inhibující jejich růst v koncentracích v rozmezí 0,4 až 4,5 µg/ml [48, 50].

Esenciální oleje levandule ukázaly své antimikrobiální schopnosti při redukci orálního zápachu, působí jako konzervanty v mýdlech a tělových balzámech. Běžným postupem je používání mikroenkapsulačních technik těchto olejů, které se ukázaly jako účinné při prodlužování účinků tím, že chrání složky před teplem, světlem a vlhkostí, a tak zabrání odpařování aromatických látek. I přes potenciální výhody esenciálních olejů levandule jako přírodních kosmetických přísad byly zaznamenány i jejich nežádoucí účinky. Extrakt z levandule, včetně *L. officinalis* a dalších druhů, může vyvolat kontaktní alergie u lidí trpících dermatitidou. Čistý linalool a linalyl-acetát, které se běžně nacházejí v kosmetických výrobcích, byly identifikovány jako příčina kontaktní dermatitidy. Tyto složky, používané především pro své vůně, mohou oxidovat po kontaktu se vzduchem, což zvyšuje jejich senzibilizační schopnost a může vést k častým dermálním alergickým reakcím [51, 52].

### 3.8 Kopaiva

Kopaiva patří do rodu *Copaifera*, čeledi *Fabaceae*. Více než 70 druhů této rostliny je rozšířeno po celém světě, především ve Střední a Jižní Americe. Kopaiva je pomalu rostoucí dlouhověký strom, který dosahuje zralosti po pěti letech. Stromy mohou dosáhnout výšky až 40 metrů a dorůstají v průměru až do 4 metrů [53, 54].

Hlavními složkami této silice jsou sekviterpeny (těkavá frakce) a diterpeny (pryskyřičná frakce), které mohou variabilně ovlivňovat kvalitu oleje podle druhu *Copaifera* a různých životních podmínek. Těkavá nebo sekviterpenová frakce může tvořit od 10 % až do 80 % kopaibového oleje. Oleje s menším množstvím těkavých složek jsou více pryskyřičné, a proto mají na trhu malou hodnotu. Naopak oleje bohaté na těkavé sekviterpeny, jako je  $\alpha$ -humulen a  $\beta$ -karyofylen (BCP), jsou velmi vyhledávané a obchodně cenné. Mezi biologické aktivity připisované BCP patří lokálně anestetické, zatímco  $\alpha$ -humulen má protizánětlivé účinky v různých komerčních produktech. Pokud jde o pryskyřičnou, diterpenickou frakci, jsou z hlediska terapeutických účinků nejvíce uváděny sloučeniny kaurenové, hardwické, polyaltové a kopalové kyseliny, kterým se připisuje protizánětlivá, antiparazitická, antibakteriální, antimykotická a protinádorová aktivita [53, 55, 56].

Její použití může pomoci zmírnit akné, kožní podráždění, ekzémy a další problémy s pokožkou. Díky svým antioxidačním vlastnostem také přispívá k ochraně pokožky před volnými radikály a předčasným stárnutím. Kopaiva je také oblíbená v produktech pro péči o vlasy. Její účinky mohou pomoci posílit vlasy, hydratovat vlasovou pokožku a zlepšit celkovou kondici vlasů. Může být součástí šamponů, kondicionérů, olejů nebo masky na vlasy, které cíleně bojují proti lámavosti vlasů, suché pokožce hlavy nebo jiným problémům spojeným s vlasy. Kopaiva je oblíbená také díky svému přírodnímu a exotickému aroma, které přispívá k příjemnému vonnému zážitku při použití kosmetických výrobků. Díky svým unikátním vlastnostem a širokému spektru možností je kopaiva ceněnou složkou v kosmetickém průmyslu [57, 58].

### 3.9 Enkapsulace esenciálních olejů

Enkapsulace esenciálních olejů umožňuje efektivní a stabilní dodávání těchto olejů do kosmetických produktů. Tato technika spočívá v uzavření esenciálních olejů do mikroskopických kapslí nebo nosičů, které chrání jejich složky a udržují je stabilními a aktivními až do okamžiku aplikace. Tato technika nejen zvyšuje účinnost

produktů, ale také zlepšuje jejich stabilitu a bezpečnost. Často se využívá k výrobě pleťových krémů, sér, šamponů, parfémů a dalších kosmetických výrobků, které cíleně využívají vlastností esenciálních olejů pro péči o pleť a vlasy. Navíc umožňuje ochranu esenciálních olejů před různými faktory, jako je teplota, světlo, vlhkost nebo kontakt s jinými látkami během skladování. Díky tomu se minimalizuje jejich ztráta a zajišťuje se jejich dlouhodobá účinnost. Existuje několik mechanismů uvolňování enkapsulovaných látek, včetně mechanického působení, teploty, difuze, pH a rozpouštění. Výběr vhodné techniky a materiálu obalu závisí na konkrétním použití produktu a jeho požadavcích na stabilitu, velikosti částic a mechanismu uvolňování [59, 60].

I když enkapsulace může přinést mnoho výhod, jako je ochrana esenciálních olejů před degradací, existují i určitá omezení spojená s touto technikou. Jedním z hlavních omezení je možná ztráta účinných látek, zejména u technik, které zahrnují zahřívání nebo odpařování. Nicméně formulace esenciálních olejů ve formě mikrokapslí představuje cenný nástroj pro optimalizaci účinnosti a stability kosmetických produktů [32].

## 4 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V současné době roste zájem o Pickeringovy emulze s cílem vyvinout emulzní systémy, které jsou šetrné k zdraví i životnímu prostředí. Pickeringovy emulze jsou považovány za bezpečnější alternativu k emulzím stabilizovaným povrchově aktivními látkami. Jejich role jako nosiče bioaktivních sloučenin otevírá možnosti pro širší využití esenciálních olejů. Očekává se, že Pickeringovy emulze budou efektivním řešením jako nosiče pro esenciální oleje, které jsou hydrofobní a náchylné k oxidaci. Podle studií Ortiz a kol. je hlavní výzvou pro vědeckou komunitu dále zlepšit stabilitu emulzí pomocí nanočástic, které lze přímo aplikovat pro dané účely. Stále je mnoho neprobádaných organických i anorganických částic se zajímavými vlastnostmi. Například 2D sloučeniny, jako je diselenid wolframu a disulfid molybdenu, by mohly být vhodnými kandidáty pro stabilizaci Pickeringových emulzí díky jejich vysoké atomové efektivitě a schopnosti fungovat jako bariéry. Kromě toho má disulfid molybdenu dobrou katalytickou aktivitu a vysokou tepelnou a chemickou stabilitu, což je činí ideálními kandidáty pro různé aplikace v materiálovém inženýrství [62].

Pickeringovy emulze stabilizované mikrokrytalickou celulórou z čajového odpadu zkoumali Zheng a kol. [63]. Tato emulze byla vytvořena pomocí vysokotlaké homogenizace a důkladně charakterizována z hlediska různých fyzikálně-chemických parametrů, morfologie a stability. Výsledky studie naznačily, že vysoká koncentrace MCC, vysoké pH, nízký poměr oleje k vodě a nízká iontová síla přispívají k stabilitě těchto emulzí. Konkrétně byly Pickeringovy emulze stabilizované MCC stabilní po dobu 42 dnů při koncentracích MCC 1,0 % a 2,0 %, poměru oleje k vodě 1:9, pH 7,0 a iontové síle 0 mM. Tyto výsledky naznačují, že tato formulace by mohla být efektivně využita k přípravě Pickeringových emulzí a nabízí perspektivu pro široké využití čajového odpadu.

Studie provedená Ahsanem a kol. zkoumala modifikaci mikrokrytalické celulózy adsorpcí sodné soli karboxymethylcelulózy (CMCNa) a analyzovala schopnost modifikované celulózy stabilizovat Pickeringovy emulze (PE) s poměrem dodekan/voda 1:9 (v/v). Koncentrace modifikované celulózy se pohybovala od 0,45 do 1,8 % (hmotnostně). Stabilita Pickeringových emulzí byla zkoumána v závislosti na koncentraci modifikované celulózy, molekulové hmotnosti CMCNa, pH a iontové síle. Bylo zjištěno, že Pickeringovy emulze byly stabilní proti koalescenci pouze tehdy, když byla celulóza modifikována adsorpcí CMCNa s vysokou molekulovou hmotností. Vliv pH v rozmezí od 3,0 do 11,0 a iontové síly od 0 do 100 mM NaCl byl také pozorován na stabilitu Pickeringových emulzí. Při

koncentraci celulózy 1,35 % (hmotnostně/objemově) bylo zaznamenáno krémování nebo separace fází v závislosti na molekulové hmotnosti CMCNa. Tyto výsledky podtrhují význam molekul vázaných na celulózu pro stabilitu emulze [64].

Další studie je o thymolu, který prokázal schopnost inhibovat růst jak grampozitivních, tak gramnegativních bakterií, včetně *Escherichia Coli*. Tuto účinnost zprostředkovává fenolická hydroxylová skupina, která dokáže proniknout lipidovou membránou mikroorganismů a působit jako baktericidní činidlo. Výzkum provedený Li a kol., zabývající se využitím nanočástic zein-arabské gumy ke stabilizaci thymolu, ukázal, že index krémování se během prvních dvou hodin významně zvýšil. Nicméně pozorování po dobu čtyř hodin naznačovalo, že index krémování začal ustalovat. Zvýšení koncentrace částic mělo významný vliv na snížení hodnoty indexu krémování a viskozity. Přidání stabilizujících částic efektivně inhibuje agregaci olejových kapek, což vede k posílení stability rozhraní mezi olejem a vodou díky vytvoření bariéry. Velikost emulzních kapek byla ovlivněna koncentrací zein-arabské gumy. Emulze vykazovala tendenci k flokulaci a aglomeraci při použití 1,25 % této látky. Vyšší koncentrace vedly ke snížení velikosti částic. Emulze thymolu stabilizovaná zein-arabskou gumou může efektivně potlačovat růst *Escherichia Coli* a prokazuje schopnost řízeného uvolňování thymolu, což udržuje jeho antibakteriální aktivitu díky stabilní mezifázové vrstvě chránící thymol [65].



## **II. PRAKTICKÁ ČÁST**

## 5 CÍLE PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši na téma Pickeringovy emulze jako nosiče esenciálních olejů. Teoretická část se zaměřuje na charakteristiku Pickeringových emulzí a mikrokrystalické celulózy, dále pak na vybrané esenciální oleje, které byly použity v experimentální části.

V experimentální části bylo za úkol připravit Pickeringovy emulze stabilizované mikrokrystalickou celulózou v různých koncentracích s jednotlivými esenciálními oleji. Cílem bylo sledovat fyzikálně-chemické vlastnosti těchto emulzí s různými esenciálními oleji a v různých poměrech olejové a vodné fáze, aby bylo možné vybrat nejvhodnější kombinaci pro výrobu kosmetických produktů.

## 6 MATERIÁLY A METODY

### 6.1 Použité chemikálie a materiály

- 100% přírodní éterický olej CITRON – Nobilis Tilia
- 100% přírodní éterický olej TYMIÁN – Nobilis Tilia
- 100% přírodní éterický olej LEVANDULE – Nobilis Tilia
- 100% přírodní éterický olej KOPAIVA – Nobilis Tilia
- Mikrokryсталická celulóza, 20 μm (MCC) – Sigma-Aldrich
- Hydroxid sodný (NaOH) – PENTA
- Kyselina chlorovodíková (HCl) – mikroCHEM
- Methanol
- DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl)
- Isopropylalkohol

### 6.2 Pomůcky a použité zařízení

- Analytické váhy (Sartorius)
- Magnetické míchadlo (Heidolph)
- Bateriový pH metr CPH 51 s kombinovanou elektrodou HC 103
- Ultrazvukový sonikátor (UP400St, Heilscher)
- Detektor intenzity rozptylu světla ZETASIZER Nano Series ZS 90 (Malvern)
- Mastersizer 3000 (Malvern)
- Kyvety pro měření zeta-potenciálu DTS1070, kyvety plastové
- Mikropipety Eppendorf reaserch plus
- Mikroskop optický – Olympus CX21
- Laboratorní centrifuga (EBA 20, Hettich)
- Spektrofotometr (Jasco V-750)
- DANI Master GC Fast Gas Chromatograph

- Kapilární kolona Zebron™ ZB-5MS
- Mikrostríkačka (Hamilton)
- Inzulínová stríkačka
- Běžné laboratorní sklo a pomůcky

### 6.3 Příprava zásobních a pracovních roztoků

#### 6.3.1 Příprava zásobního roztoku mikrokrytalické celulóza

Zásobní disperze mikrokrytalické celulózy (MCC) byla připravena o koncentraci 2 % tak, že MCC byla navážena a smíchána s destilovanou vodou. Disperze byla poté míchána po dobu 30 min na magnetickém míchadle. Následovala sonikace na sonikátoru UP400St při amplitudě 60 % po dobu 10 minut. Poté byla disperze ponechána 15 minut stát, po této době byla oddělena opalescentní část disperze od nerozpustné frakce částic MCC. Opalescentní část byla dále charakterizována a použita pro přípravu emulzí. Množství MCC v disperzi bylo zjištěno pomocí vážkové analýzy. Nejprve byl do vysušených váženek navážen 1 g disperze MCC. Ty byly umístěny do sušárny při teplotě 104 °C a byly sušeny do konstantní hmotnosti. Poté byly zváženy a byla vypočítána koncentrace MCC v disperzi. Koncentrace MCC v disperzi byla 0,52 %. Pro přípravu emulzí byla upravena na 0,5; 0,25 a 0,1 % MCC.

#### 6.3.2 Příprava 1M a 0,1M roztoku hydroxidu sodného a kyseliny chlorovodíkové

Nejprve bylo připraveno 200 ml 1M roztoku NaOH, který vznikl smícháním 8 g NaOH s destilovanou vodou. Obdobně byl připraven do 200ml odměrné baňky 1M roztok HCl odpipetováním 17,66 ml HCl (35%) a objem byl v odměrné baňce doplněn destilovanou vodou po rysku. Poté následovala příprava 100 ml 0,1M roztoku NaOH a HCl, kdy bylo 10 ml NaOH nebo HCl smícháno s dostatečným množstvím destilované vody ve 100ml odměrné baňce. Tyto roztoky NaOH a HCl byly použity k úpravě pH.

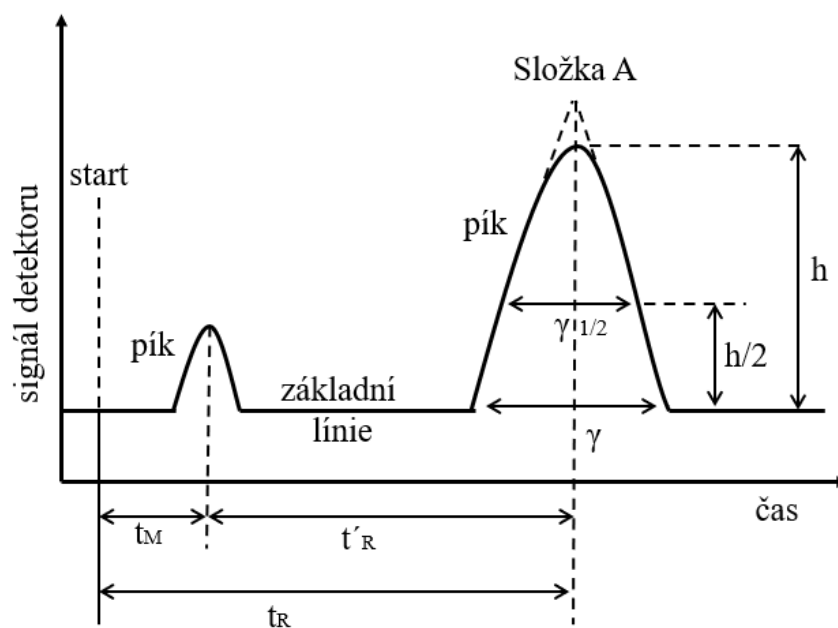
### 6.4 Úprava pH a vizuální pozorování

Připravená 2% MCC disperze byla zředěna na 0,5 % MCC pomocí destilované vody. Následně bylo u MCC upraveno pH pomocí roztoků HCl a NaOH na hodnoty v rozmezí pH 2-9. Úprava probíhala pomocí bateriového pH metru s kombinovanou pH elektrodou. Takto upravená MCC byla využita pro měření zeta potenciálu.

## 6.5 Plynová chromatografie

Plynová chromatografie je analytická separační metoda používaná ke kvantifikaci a identifikaci plynů, kapalin a tuhých látek s bodem varu až do přibližně 400 °C. Princip této metody spočívá v rozdělení složek vzorku mezi dvě fáze: pohyblivou (mobilní) fází a nepohyblivou (stacionární) fází. Pohyblivou fází je obvykle plyn, nazývaný nosný plyn, který prochází chromatografickou kolonou obsahující stacionární fází. Stacionární fáze může být buď pevná látka (například aktivní uhlí, silikagel, oxid hlinitý, polymerní sorbenty atd.) u náplňových kolon, nebo tenká vrstva kapaliny nanesená na pevný, inertní nosič. U kapilárních kolon je stacionární fáze aplikována přímo na vnitřní stěnu křemenné kapiláry. Vzorek se nejprve vstříkne do vyhřívaného injektoru, kde se odpařuje a ve formě par je unášen nosným plynem do chromatografické kolony. Celá kolona je termostatována, aby se zabránilo zpětnému zkapalnění vzorku. Složky vzorku se sorbují na začátku kolony ve stacionární fází a následně se desorbují čerstvým přicházejícím nosným plynem. Nosný plyn postupně unáší vzorky ke konci kolony a tento proces se opakuje. Detektor indikuje okamžitou koncentraci separovaných látek v nosném plynu a zaznamenává se chromatogram, což je grafické znázornění závislosti signálu detektoru na čase [66].

Na chromatogramu, který je znázorněn na obrázku 10, jsou zaznamenány píky, které odpovídají jednotlivým složkám směsi. Každá složka má svůj specifický retenční čas, což je doba, po kterou trvá průchod chromatografickým systémem. Retenční časy pík jsou charakteristické pro konkrétní látky a mohou být využity k identifikaci a kvantifikaci složek směsi. Jejich hodnota je však závislá na konkrétních podmínkách chromatografického systému. To znamená, že retenční časy mohou být specifické pro dané podmínky a nemusí být vždy přenositelné.



Obrázek 10: Chromatogram

Stanovení složení esenciálních olejů bylo provedeno pomocí plynové chromatografie na zařízení DANI Master GC Fast Gas Chromatograph, vybaveného speciální kapilární kolonou Zebron™ ZB-5MS o rozměrech 30 m × 0,25 mm × 0,5 μm, a plamenovým ionizačním detektorem (FID). Pro plynovou fázi byl využit dusík s průtokem 25 ml/min, vodík s průtokem 40 ml/min a vzduch s průtokem 280 ml/min. Průtok nosného plynu činil 1 ml/min. Teplotní profil chromatografu začínal na 50 °C a postupně se zvyšoval na 120 °C rychlostí 6 °C/min, poté rychlostí 15 °C/min až do dosažení teploty 230 °C. Teplota injektoru při nástřiku byla udržována na úrovni 200 °C, zatímco teplota detektoru byla 270 °C. Celková doba analýzy činila 34 minut.

Jednotlivé vzorky esenciálních olejů byly aplikovány do chromatografického systému pomocí mikrostříkačky Hamilton přes septum do injektoru podle tabulky 2. Zde se vzorky odpařily a následně byly nosným plynem unášeny na kolonu, umístěnou v termostatu, kde docházelo k jejich separaci. Vzniklý chromatogram byl poté analyzován a jednotlivé píky byly kvantitativně i kvalitativně vyhodnoceny. Pomocí retenčního času  $t_R$  ve srovnání se standardem bylo určeno složení jednotlivých látek v analyzovaných vzorcích. Zastoupení jednotlivých složek bylo vyhodnoceno metodou vnitřní normalizace, kde se množství dané komponenty vyjadřuje jako relativní podíl z celku. Kromě čtyř základních esenciálních olejů byl analyzován i chmel pro srovnání jeho složení se složením kopaivy.

Tabulka 2: Objemy nástřiků do injektoru jednotlivých esenciálních olejů

Esenciální olej	Objem nástřiku [ $\mu\text{l}$ ]	Množství EO ve vzorku [ $\mu\text{l}$ ]
<b>Citron</b>	1	1
<b>Tymián</b>	1	1
<b>Levandule</b>	1	1
<b>Kopaiva</b>	1	10
<b>Chmel</b>	1	5

## 6.6 Příprava emulzí

Esenciální oleje a disperze MCC byly použity pro přípravu emulzí, které byly formulovány v poměrech oleje a vody 5/95, 10/90 a 20/80. Nejprve bylo do skleněných vialek naváženo příslušné množství esenciálního oleje a poté byla přidána vodná disperze mikrokrytalické celulózy v různých koncentracích (0,1 %, 0,25 % a 0,5 %). Celkové množství emulze bylo 10 g. Následovala sonikace olejové a vodné fáze na sonikátoru UP400St při 60% amplitudě po dobu jedné minuty.

## 6.7 Zeta potenciál

Zeta potenciál (ZP) je termín, který se využívá k popisu elektrokinetického potenciálu v koloidních systémech. Z teoretického pohledu reprezentuje ZP rozdíl potenciálů mezi pohyblivým disperzním médiem a ustálenou vrstvou disperzního média, která je spojena s dispergovanou částicí. Každá částice je obklopena elektrickou dvojvrstvou, která se skládá z vnitřní a vnější části. Vnitřní vrstva obsahuje pevně vázané ionty, zatímco vnější vrstva obsahuje volné ionty. Při pohybu částice se tyto ionty rovněž pohybují spolu s částicí. Potenciál na hranici mezi touto dvojvrstvou a okolním médiem je označován jako zeta potenciál. Hodnota zeta potenciálu je ovlivněna několika faktory, přičemž klíčové je pH média. Další faktory zahrnují iontovou sílu, koncentraci přísad a teplotu. Hodnota zeta potenciálu má zásadní význam pro stabilitu daného systému, ať už jde o stabilitu krátkodobou či dlouhodobou. Systém je považován za elektrostaticky stabilní, pokud má hodnotu zeta potenciálu vyšší nebo nižší než  $\pm 30$  mV [67, 68].

Měření zeta potenciálu bylo provedeno pomocí zařízení ZETASIZER Nano series ZS 90. Nejprve byla analyzována MCC při různých pH hodnotách v rozmezí od 2 do 8. Pro tento proces byla kyveta naplněna disperzí MCC pomocí injekční stříkačky a vložena do přístroje pro měření. Stejný postup byl aplikován i při měření zeta potenciálu emulzí. Před samotným měřením emulzí byly vzorky připraveny následujícím způsobem: 15  $\mu\text{l}$  vzorku emulze bylo přidáno do 5 ml destilované vody, vzorkem byla naplněna kyveta. Tímto způsobem byly vzorky připraveny pro analýzu zeta potenciálu. Všechna měření probíhala při konstantní teplotě 25 °C a byla opakována třikrát pro zajištění přesnosti výsledků.

## 6.8 Velikost částic

Mastersizer je zařízení navržené k měření velikosti částic v různých disperzních systémech, jako jsou suspenze, emulze nebo prášky. Tento přístroj pracuje na principu laserové difrakce nebo laserové difrakční spektrometrie. Během procesu měření laserový paprsek prochází skrze disperzi částic, což způsobuje rozptyl světla. V závislosti na velikosti částic a jejich optických vlastnostech se světlo rozptyluje pod různými úhly. Mastersizer následně analyzuje tyto rozptýlené světelné signály a na základě nich vypočítá velikost částic v disperzi [69].

Velikost částic emulzí byla analyzována pomocí zařízení Mastersizer 3000. Tento analyzátor je schopen určit nejen velikost částic, ale také distribuci velikostí emulzních kapek. Měření probíhalo metodou známou jako tzv. mokrá cesta nebo také v disperzi, přičemž celý proces probíhal v demineralizované vodě. Zařízení disponuje míchadlem a ultrazvukem, které zajišťují dokonalou homogenitu vzorku během měření. Rychlost míchadla byla nastavena na 2200 otáček za minutu. Měření probíhalo při teplotě 25 °C za parametrů absorpance 0,001 a indexu lomu 1,421.

Každý vzorek byl proměřen třikrát a výsledná hodnota byla vyjádřena jako průměrná hodnota. Výsledky, které udávají velikost kapek, jsou prezentovány jako objemově vážený průměr  $D_{[4,3]}$  v  $\mu\text{m}$ .

## 6.9 Optická mikroskopie

Optický mikroskop je zařízení, které umožňuje vizuální zvětšení drobných objektů, které jsou příliš malé na to, aby je bylo možné vidět pouhým okem. Jeho princip fungování spočívá v lomu světla, což umožňuje pozorovat detaily, které by jinak zůstaly neviditelné. Základními komponentami optického mikroskopu jsou zdroj světla, objektivy a okuláry.



Zdroj světla osvětluje vzorek, zatímco objektivy a okuláry lámou světelné paprsky a tvoří zvětšený obraz. Objektiv je umístěn pod vzorkem a sbírá světlo odražené nebo prošlé vzorkem, zatímco okulár umožňuje pozorovateli pohodlně vidět obraz. Princip fungování optického mikroskopu spočívá v lomu světla při průchodu různými prostředími, jako jsou sklo, vzduch a vzorek. Světlo ze zdroje prochází objektivem a dopadá na vzorek umístěný na stole. Část světla se odrazí od povrchu vzorku, zatímco část prochází skrz něj. Světlo procházející vzorkem se lomí a je sbíráno objektivem, který vytváří zvětšený obraz vzorku. Tento obraz je poté dále zvětšen okulárem a pozorovatelem je možné jej vizuálně zkoumat [70, 71].

Struktura emulzí byla pozorována pomocí optického mikroskopu Olympus CX21. Na podložní sklíčko bylo pipetováno 10  $\mu$ l vzorku emulze a poté přikryto krycím sklíčkem. Emulze byly pozorovány při různých zvětšeních, a to 10x, 40x nebo 100x. Při zvětšení 100x byl ještě na krycí sklíčko aplikován cedrový olej. Pořízené fotografie byly dále upravovány pomocí softwaru ImageJ.

## 6.10 Emulgační účinnost

Emulgační účinnost vyjadřuje schopnost stabilizátoru udržet olejovou fázi. Tato účinnost je klíčovým parametrem při vývoji a hodnocení léčivých přípravků, kosmetických produktů a potravinářských doplňků. Emulgační účinnost se vyjadřuje jako procentuální podíl hmotnosti emulgované látky k celkové hmotnosti látky.

$$EE = 100 - \frac{m \cdot 100}{m_{total}} [\%] \quad (1)$$

Kde  $m$  zastupuje množství neenkapsulované látky a  $m_{total}$  množství celkové olejové fáze.

Stanovení emulgační účinnosti proběhlo následujícím způsobem. Do centrifugační zkumavky byla přenesena emulze, která byla poté umístěna do centrifugy EBA 20. Vždy byly do jednoho cyklu umístěny čtyři zkumavky, které byly naproti sobě. Centrifuga byla nastavena na 3000 otáček za minutu, celkový čas centrifugace byl 3 minuty. Následně bylo pomocí inzulínové stříkačky odebrán olej, který nebyl zaemulgován, a byla stanovena účinnost emulgace.

## 6.11 Index krémování

Kinetická stabilita emulzí, která je popsána indexem krémování (CI, creaming index), poskytuje nepřímou informaci o flokulaci kapiček a destabilizaci, ke které v emulzi dochází. Pokud emulze krémuje, odděluje se emulzní vrstva od vodné fáze [72].

Stabilita byla vyjádřena jako výška emulzní vrstvy ( $H_{emul}$ ) vzhledem k celkové výšce emulze ( $H_{total}$ ), která se označuje jako index krémování.

$$CI = \frac{H_{emul}}{H_{total}} \cdot 100 [\%] \quad (2)$$

Ihned po přípravě byly emulze nechány v klidu po dobu nejméně půl hodiny. Poté byla změřena výška emulze a celková výška emulze. Následně byl vypočítán index krémování. Tento proces byl poté opakován po jednom měsíci.

## 6.12 Antioxidační aktivita

Antioxidační aktivita je schopnost látek neutralizovat nežádoucí účinky volných radikálů v organismu. Volné radikály jsou nestabilní molekuly obsahující nevyvážený počet elektronů, což je činní velmi reaktivními a mohou poškozovat buněčné struktury a DNA. Antioxidanty jsou látky, které mohou reagovat s volnými radikály a zabraňují jim v poškozování buněk. Stanovení antioxidační aktivity pomocí DPPH (2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl) je často používanou metodou k hodnocení schopnosti látek neutralizovat volné radikály. Při této metodě se DPPH, které je v roztoku fialové, mění na bezbarvý produkt, když reaguje s látkami s antioxidační aktivitou [73].

Nejprve byly vzorky připraveny smícháním 2 ml příslušné emulze s 8 ml methanolu a následně centrifugovány pomocí laboratorní centrifugy EBA 20 po dobu tří minut při 3000 otáčkách za minutu. Z každé centrifugační zkumavky byla odebrána vrchní transparentní část (MeOH-EO). Poté byly vzorky připraveny pro měření absorbance na spektrofotometru V-750 podle tabulky 3. Absorbance jednotlivých vzorků byla měřena v časových intervalech 1, 2, 5, 10, 15, 30, 45 a 60 minut. Hodnoty antioxidační aktivity byly vypočítány podle následujícího vztahu.

$$\% = \left(1 - \frac{A_s - A_B}{A_c}\right) \cdot 100 \quad (3)$$

Kde  $A_s$  je absorbance vzorku,  $A_c$  označuje absorbanci kontrolního vzorku a  $A_B$  představuje absorbanci blanku.

*Tabulka 3: Příprava pro měření absorbance na spektrofotometru*

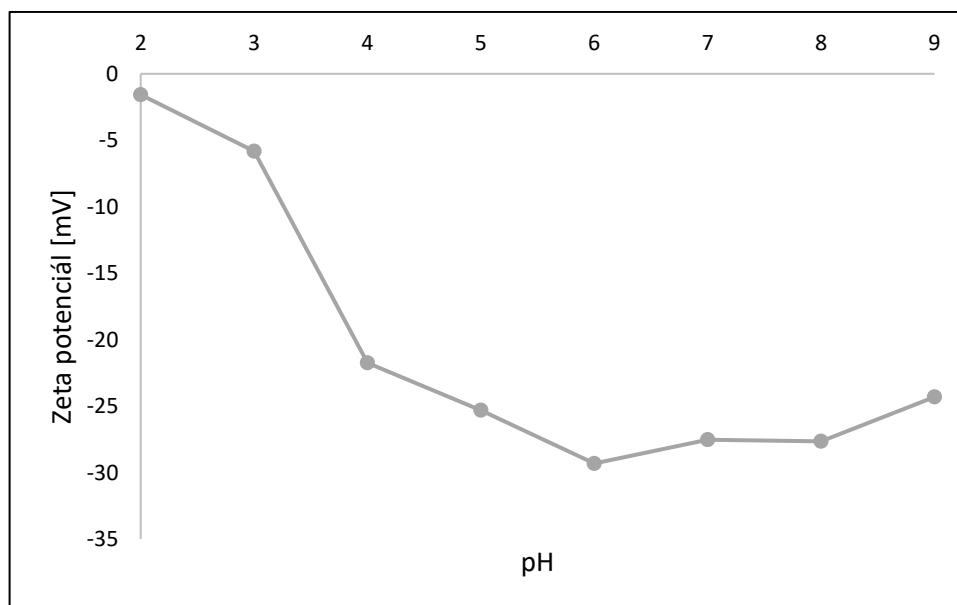
<b>Vzorek</b>		<b>Poměr míchání</b>
Sample ( $A_s$ )	MeOH-EO + DPPH	1:1
Control ( $A_c$ )	MeOH + DPPH	1:1
Blank ( $A_B$ )	MeOH-EO + MeOH	1:1

## 7 VÝSLEDKY A DISKUZE

### 7.1 Charakterizace mikrokrystalické celulózy

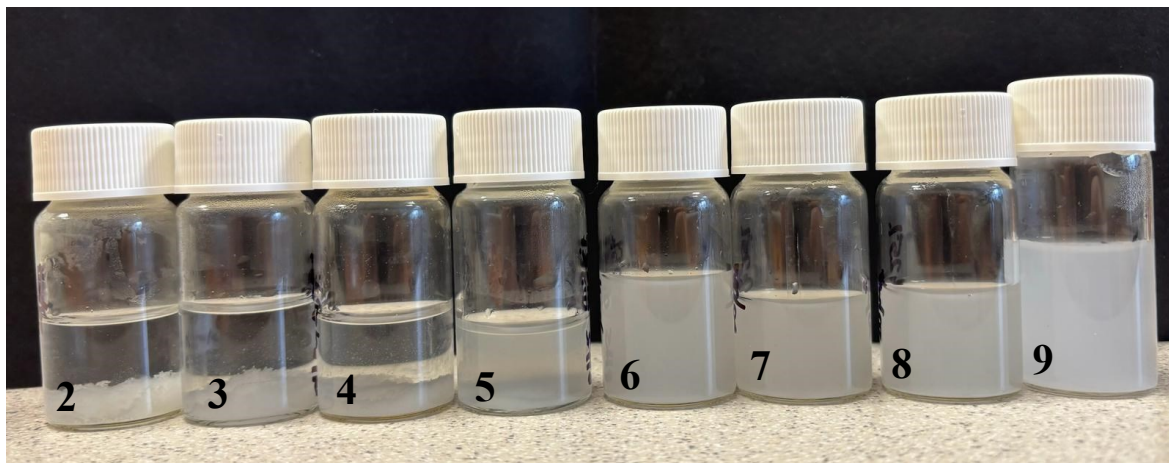
Mikrokrystalická celulóza byla charakterizována měřením zeta potenciálu v závislosti na pH a byla rovněž stanovena její velikost.

Disperze MCC byla upravena na hodnoty pH v rozmezí 2-9. U těchto vzorků bylo pomocí přístroje ZETASIZER Nano Series ZS 90 proměřen zeta potenciál. Podle obrázku 11 je zřejmé, že MCC v rozmezí pH 2-9 prokazuje ZP v rozsahu 0 až -30 mV. Při pH 2-3 ztrácí své elektrostatické repulzní síly a její ZP dosahuje nulových hodnot, tato hodnota pH se uvádí jako isoelektrický bod (pI). Isoelektrický bod je definován jako hodnota pH, při které má MCC nulový náboj, její pohyblivost v elektrickém poli je nulová. Podle studií Tan a kol. [74] byl stanovený isoelektrický bod pro MCC při pH 2,8, v tomto bodě je i nejméně rozpustná.



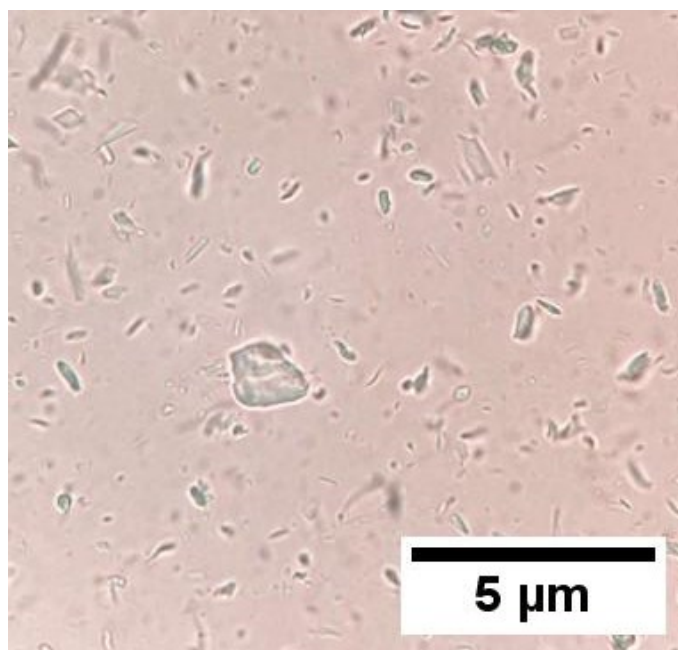
Obrázek 11: Závislost zeta potenciálu MCC na pH

Na obrázku 12 jsou vzorky MCC uspořádány podle vzrůstajícího pH. Po dobu 2 hodin byly jednotlivé vzorky MCC nechány stát a následně bylo sledováno jejich fázové chování. U vzorků s pH 2-4 je pozorována agregace částic a jejich sedimentace. Což bylo potvrzeno i měřením zeta potenciálu, kde MCC dosáhlo svého isoelektrického bodu (~ 2). S rostoucím pH agregace v systému nenastala, MCC je při těchto hodnotách pH koloidně stabilní, a to díky dostatečným repulzním silám mezi částicemi MCC. U vzorku s pH 9 je pozorovatelná změna barvy, kdy MCC má téměř bílou barvu.



*Obrázek 12: MCC při pH 2-9*

Na obrázku 13 můžeme pozorovat mikroskopický snímek MCC z optického mikroskopu Olympus CX21. Na snímku lze pozorovat různě velké částice mikrokrytalické celulózy o velikosti cca 800 nm, jak bylo stanoveno měřením velikosti částic na přístroji zetasizer.



*Obrázek 13: Mikroskopický snímek MCC při zvětšení 100x*

## 7.2 Charakterizace esenciálních olejů

Pro přípravu emulzí byly vybrány čtyři esenciální oleje: citron, tymián, levandule a kopaiva. Latinský název, výrobce a místo původu jsou uvedeny v tabulce 4. Každý vzorek byl charakterizován jak vizuálně, tak pomocí plynové chromatografie (GC). Při plynové chromatografii byly jednotlivé píky identifikovány na základě jejich retenčních časů. Každý vzorek byl proměřen dvakrát. Na obrázku 14 jsou zobrazeny originální obaly esenciálních olejů společnosti Nobilis Tilia, které byly vybrány pro analýzu.

Tabulka 4: Popis analyzovaných vzorků

Esenciální olej	Latinský název	Výrobce	Místo původu
Citron	<i>Citrus limon</i>	Nobilis Tilia	Itálie
Tymián	<i>Thymus vulgaris</i>	Nobilis Tilia	Španělsko
Levandule	<i>Lavandula angustifolia</i>	Nobilis Tilia	Francie
Kopaiva	<i>Copaifera officinalis</i>	Nobilis Tilia	Francie



Obrázek 14: Esenciální oleje vybrané pro analýzu

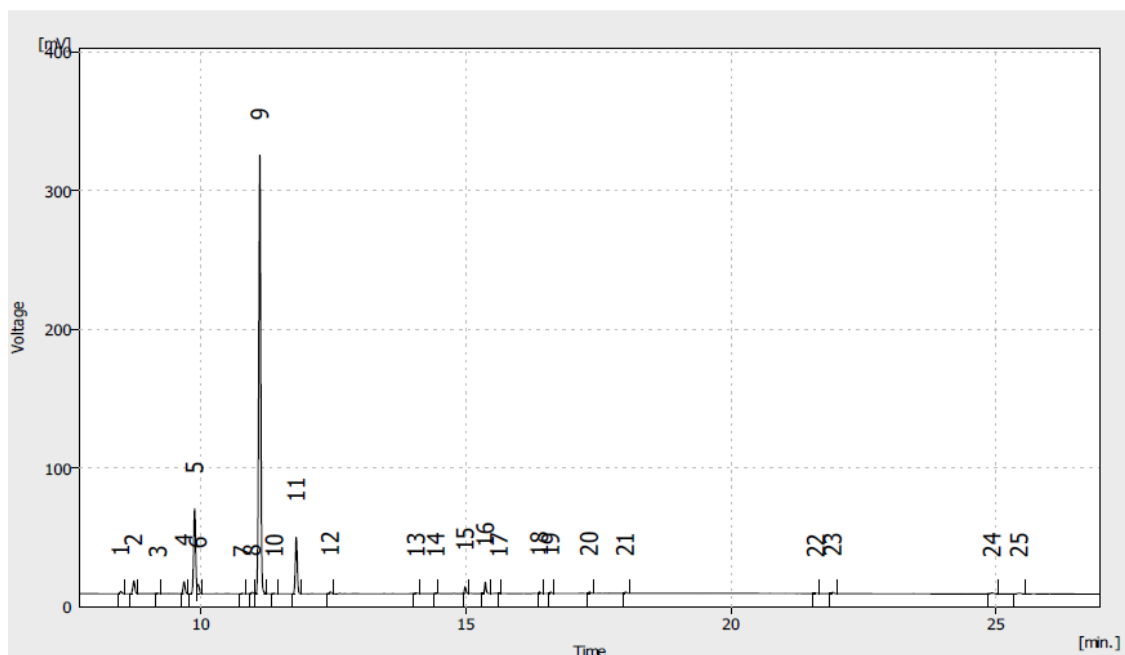
### 7.2.1 Citron

Esenciální olej citronu je po vizuální stránce žlutozelená kapalina s charakteristickou citrusovou vůní. Pro charakterizaci složení tohoto oleje byla využita metoda GC. Vzorek pro analýzu byl připraven smícháním 1  $\mu$ l citronového oleje s 1 ml isopropylalkoholu (IPA), což je standartní postup pro přípravu vzorků. Tato směs byla následně injektována do plynového chromatografu DANI Master GC Fast Gas Chromatograph. Celkový objem injektovaného vzorku byl 1  $\mu$ l a celkový čas analýzy byl nastaven na 34 min.

Tabulka 5: Chromatografická analýza esenciálního oleje Citronu (Nobilis Tilia) ve srovnání s ISO normou 855:2003 [75, 76]

Název složky	Retenční čas [min]	Relativní zastoupení [%]		
		Vlastní analýza	Nobilis Tilia	ISO norma
$\beta$ -Pinen	9,88	13,2	<18,0	10-16,5
$\gamma$ -Terpinen	11,80	8,5	2,9-14,0	8-12
Limonen	11,11	68,2	54,0-72,0	60-68
Geranial	15,37	1,3	< 2,5	0,8-2

Dle technické specifikace (tabulka 5), kterou k tomuto oleji uvádí Nobilis Tilia na svých stránkách, obsahuje EO Citron: geranial, limonen,  $\beta$ -pinen a  $\gamma$ -terpinen. Na naměřeném chromatogramu (viz obrázek 15) bylo ověřeno složení citronu, kdy byly potvrzeny nejvíce zastoupené složky. Nejvyšší plocha, připadající na limonen, byla zaznamenána v čase 11,11 min s relativním zastoupením 68,2 %. Dalším výrazným píkem je pík číslo 5  $\beta$ -pinen s retenčním časem 9,88 min a relativním zastoupením 13,2 %. Poslední výrazný pík, pík číslo 11  $\gamma$ -terpinen, měl retenční čas 11,8 min a relativní zastoupení 8,5 %. Složení se tak tedy shoduje s technickou specifikací uváděnou na stránkách Nobilis Tilia i s ISO normou 855:2003. Pouze limonen přesahuje o 0,2 %, kdy maximální hodnota v ISO normě by měla být 68 %.



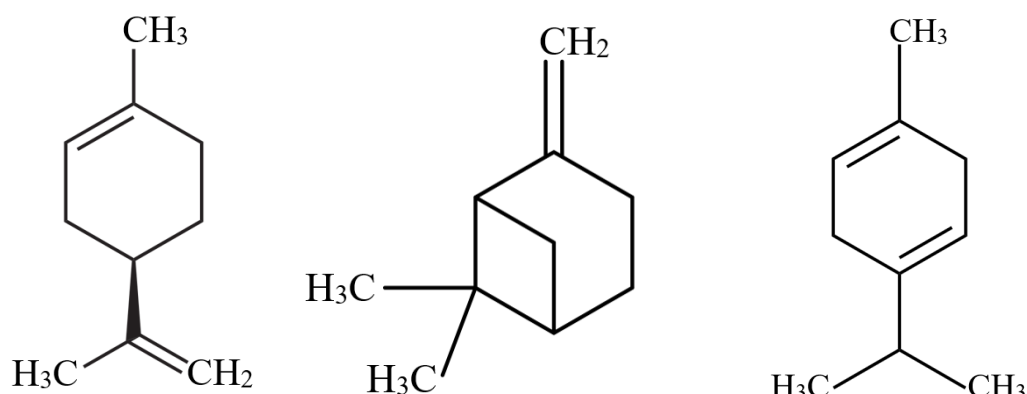
Obrázek 15: Chromatogram esenciálního oleje Citron (*Nobilis Tilia*)

Limonen (obrázek 16) je bezbarvá kapalina, klasifikována jako monoterpen. Skládá se ze dvou izoprenových jednotek. Limonen se vyskytuje ve dvou opticky aktivních formách: L-limonen a D-limonen. Tyto dva izomery mají různé vůně: L-limonen (CAS 5989-54-8) voní jako borovice a terpentýn a D-limonen má příjemnou pomerančovou vůni. Jeho molekula obsahuje alifatický cyklický řetězec, který mu dodává nízkou polaritu. Používá se jako chuťová a vonná přísada v čistících a kosmetických prostředcích, potravinách, nápojích a léčivech. Stále častěji se také používá jako rozpouštědlo [76].

$\beta$ -Pinen je organická sloučenina patřící do skupiny monoterpenů, které jsou časté v přírodě. Jedná se o bicyklický uhlovodík se dvěma izomery. Má charakteristickou vůni borovic a borovicové pryskyřice. Z hlediska polarity je  $\beta$ -pinen nepolární sloučeninou, ale dobře se rozpouští v organických rozpouštědlech. Strukturní vzorec lze pozorovat na obrázku 16 [77].

$\gamma$ -Terpinen (obrázek 16) je monoterpen, který se vyskytuje v různých esenciálních olejích. Má charakteristickou vůni a často se používá jako přísada v kosmetice, potravinářství a farmaceutickém průmyslu.  $\gamma$ -Terpinen má různé biologické účinky a je studován pro svůj potenciál v léčbě různých onemocnění, včetně antimikrobiálních a protizánětlivých vlastností. Zároveň je známý jako potenciální alternativa pro biopaliva [78].





Obrázek 16: Strukturální vzorce: *D*-limonen,  $\beta$ -Pinen a  $\gamma$ -Terpinen

### 7.2.2 Tymián

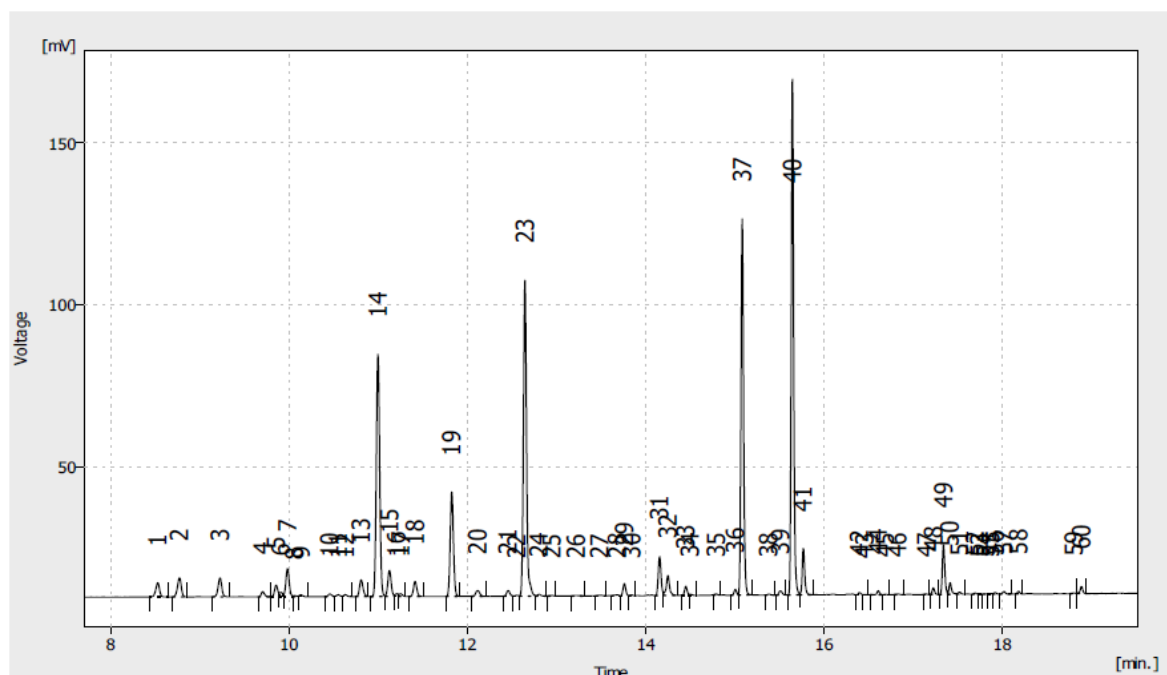
Esenciální olej tymián má typicky charakteristickou žlutou až červenohnědou barvu. Pro analýzu složení tohoto oleje byla využita metoda GC. Vzorek esenciálního oleje tymiánu byl připraven standartním způsobem. Celkový objem injektovaného vzorku do plynového chromatografu DANI Master GC Fast Gas Chromatograph byl 1  $\mu$ l a celkový čas analýzy byl nastaven na 34 min.

Tabulka 6: Chromatografická analýza esenciálního oleje Tymián (*Nobilis Tilia*) ve srovnání s ISO normou 19817:2017 [80, 81]

Název složky	Retenční čas [min]	Relativní zastoupení [%]		
		Vlastní analýza	Nobilis Tilia	ISO norma
$\alpha$ -Pinen	8,77	1,3	2-5	0,5-2,5
Myrcene	9,98	1,7	1-5	1-2,8
<i>p</i> -Cymen	10,99	14,5	20-30	14-28
$\gamma$ -Terpinen	11,82	6	1-5	4-13
Terpinen-4-ol	14,25	1,2	1-5	0,1-2,5
Thymol	15,64	22	40-60	35-55
Karvakrol	15,77	2,1	1-3	0,5-5,5

Podle dostupných informací od *Nobilis Tilia* (viz tabulka 6) patří mezi nejzastoupenější složky tymiánu: thymol a *p*-cymen. Na chromatogramu (obrázek 17) lze pozorovat vlastní analýzu tymiánového esenciálního oleje. Pík s největší plochou, označený číslem 40, se nachází v čase 15,64 min a odpovídá thymolu s relativním zastoupením 22 %. Další identifikovanou složkou byl *p*-cymen (pík 14) s retenčním časem 10,99 min a relativním zastoupením 14,5 %.  $\gamma$ -Terpinen je reprezentován píkem 19 s retenčním časem 11,82 min a relativním zastoupením 6 %. Dalšími výraznými píky jsou píky 23 (linalool) s retenčním

časem 12,64 min a relativním zastoupením 17,4 % a pík 37 (linalyl-acetát) s retenčním časem 15,08 min a relativním zastoupením 17 %. Tyto látky by se však v tymiánu neměly v takové míře nacházet. Naměřené složení se značně liší od složení uváděného výrobcem. U thymolu uvádí až 60 %, avšak u tohoto konkrétního oleje bylo naměřeno pouze 22 %, což nedosahuje ani minimální hodnoty, kterou udává ISO norma 19817:2017. *p*-Cymen také nemá hodnotu, kterou uvádí výrobce, avšak dosahuje minimální hodnoty v ISO normě. Pravděpodobně tak došlo ke kontaminaci vzorku jiným olejem, což vysvětluje nízké relativní zastoupení thymolu a *p*-cymenu.

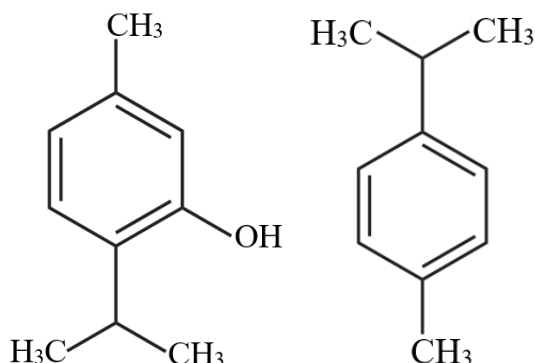


Obrázek 17: Chromatogram esenciálního oleje Tymjánu (*Nobilis Tilia*)

Thymol (obrázek 18) je organická sloučenina patřící mezi monoterpenoidy, má amfifilní vlastnosti, což znamená, že obsahuje jak polární, tak nepolární části ve své molekule. Jedná se o krystalickou a bezbarvou látku s charakteristickým zápachem. Thymol je vysoce rozpustný v alkoholech, alkalických roztocích a dalších organických rozpouštědlech díky deprotonaci fenolu, ale má jen mírnou rozpustnost ve vodě při neutrálním pH [80].

*p*-Cymen, také známý jako *para*-isopropyltoluen, je monoterpenový uhlovodík, který se vyskytuje přirozeně v různých rostlinách. Chemicky je *p*-cymen (obrázek 18) izomerem *ortho*-cymenu, ale má odlišné fyzikální a chemické vlastnosti. Je téměř nerozpustný ve vodě, ale dobře se rozpouští v organických rozpouštědlech, jako je ethanol a ether. *p*-Cymem je důležitým průmyslovým meziproduktem používaným při syntéze fungicidů, pesticidů,

parfémů, vůní a při výrobě některých prekurzorů standardních antioxidantů, jako je *p*-Kresol [81].



Obrázek 18: Strukturní vzorce: Thymol a *p*-Cymen

### 7.2.3 Levandule

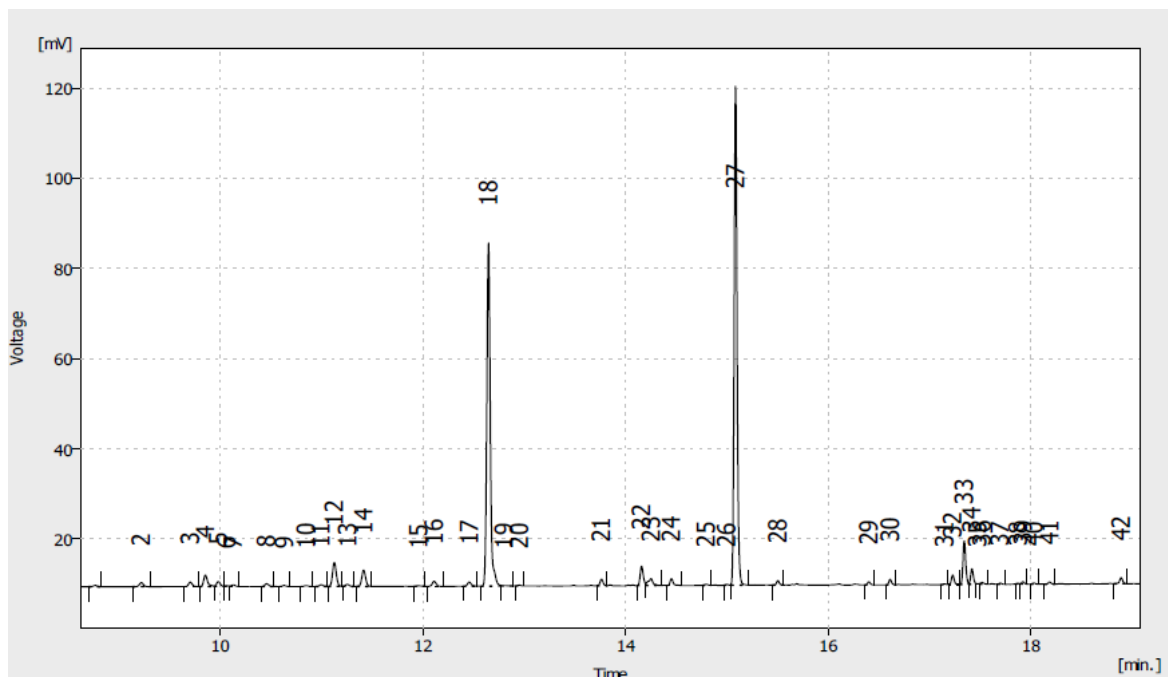
Esenciální olej z levandule má světle nažloutlou barvu a vyznačuje se nízkým bodem varu. Pro charakterizaci tohoto oleje pomocí GC byl vzorek standartně připraven a následně nastříknut do plynového chromatografu DANI Master GC Fast Gas Chromatograph. Celkový nástřik vzorku byl 1  $\mu$ l. Celkový čas analýzy byl nastaven na 34 min.

Tabulka 7: Chromatografická analýza esenciálního oleje Levandule (*Nobilis Tilia*) ve srovnání s ISO normou 3515:2002 [85, 86]

Název složky	Retenční čas [min]	Relativní zastoupení [%]		
		Vlastní analýza	Nobilis Tilia	ISO norma
Limonen	11,11	2,7	0,2-0,6	1
Linalool	12,64	35,2	31-47	45
Kafr	13,76	0,6	0,1-1	1,5
Terpin-1-en-4-ol	14,20	1,8	< 3	8
$\alpha$ -Terpinolen	14,25	1	0,5-2	2
Lavandulol	14,45	0,6	< 3	3
Linalyl acetát	15,08	42,6	25-35	25-47
Geraniol	15,50	0,4	0,2-0,7	-
Lavandulyl acetate	17,70	0,1	0,4-4,5	8

Mezi nejvíce zastoupené složky, které uvádí *Nobilis Tilia* v technické specifikaci patří linalool a linalyl-acetát, jak lze pozorovat v tabulce 7. Na chromatogramu (obrázek 18) jsou nejvýraznější dva píky. Největší plochu měl pík č. 27 linalyl-acetát, který se nachází v retenčním čase 15,08 min s relativním zastoupením 42,6 %. Druhým výrazným píkem je

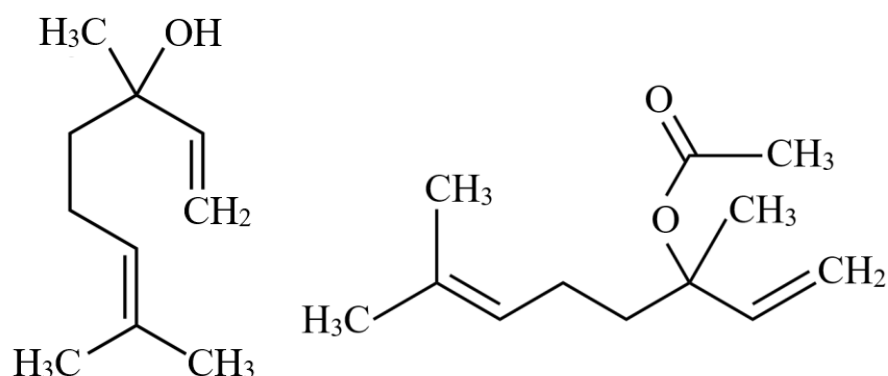
Linalool (pík č. 18) s retenčním časem 12,64 min a relativním zastoupením 35,2 %. Podle složení výrobce Nobilis Tilia se naměřené složení liší u linalyl-acetátu, kdy v EO měl být zastoupen do 35 %, avšak u naměřeného vzorku to bylo až 42,6 %. S ISO normou 3515:2002 tyto dvě nejzastoupenější složky korespondují. Ostatní složky EO jsou zastoupeny v minimálním množství.



Obrázek 19: Chromatogram esenciálního oleje Levandule (*Nobilis Tilia*)

Linalool (obrázek 20) je květinový a kořeněný terpenový alkohol. Tato látka má široké spektrum použití v kosmetickém průmyslu pro své aromatické vlastnosti a potenciální léčivé účinky. Je to převážně nepolární látka, která má vzhledem ke své struktuře afinitu k nepolárním rozpouštědlům, jako je například ethanol. Nicméně, kvůli přítomnosti hydroxylové skupiny v molekule, může mít určitou afinitu k polárním rozpouštědlům, jako je voda, především při nižších koncentracích [87].

Linalyl-acetát je ester, který vzniká reakcí mezi kyselinou octovou a linalolem. Má charakteristickou květinovou a ovocnou vůni, která je často popsána jako jemná a svěží. Linalyl-acetát (obrázek 20) je převážně nepolární sloučenina. V molekule má nízko dipólový moment a není schopen vytvářet silné mezimolekulární interakce s polárními rozpouštědly [88].



Obrázek 20: Strukturální vzorce: Linalool a Linalyl-acetát

#### 7.2.4 Kopaiva

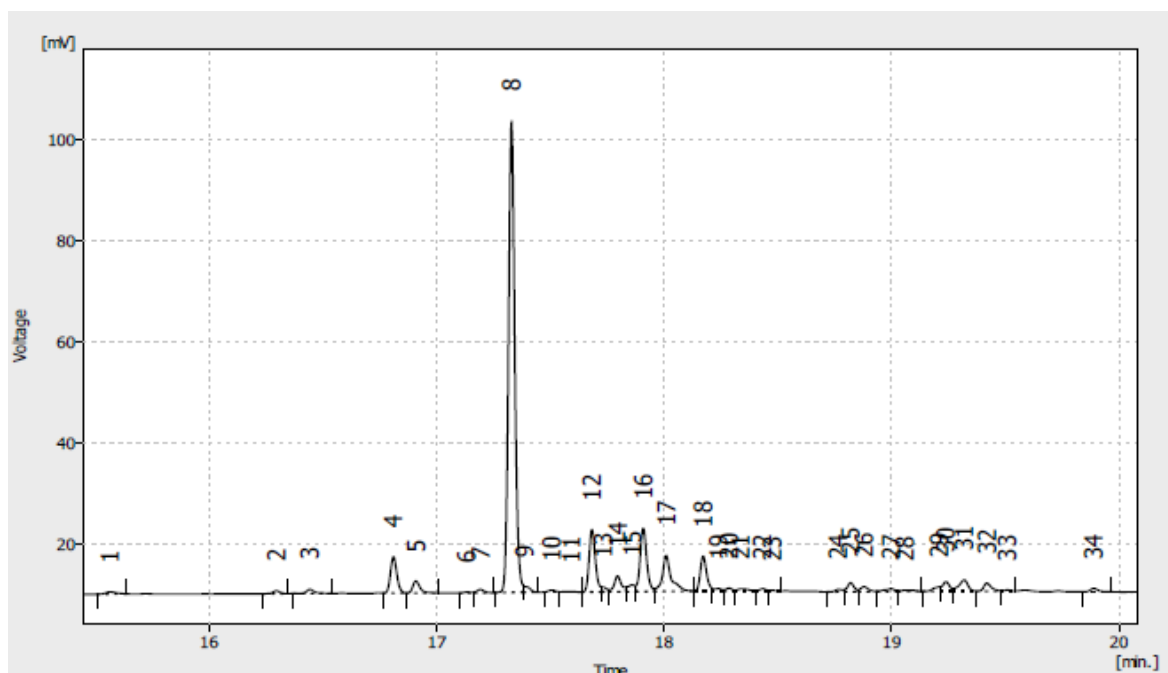
Esenciální olej z kopaivy má žlutohnědou barvu s charakteristickou dřevitou až lehce pryskyřičnou vůní. Vzorek esenciálního oleje kopaivy pro měření GC byl připraven smícháním 10  $\mu$ l kopaivového oleje s 1 ml IPA. Tento poměr byl zvolen kvůli tomu, že při poměru použitým u ostatních olejů byly signály příliš slabé. Tato směs byla následně injektována do plynového chromatografu DANI Master GC Fast Gas Chromatograph. Celkový objem nástřiku byl 1  $\mu$ l a celkový čas analýzy byl nastaven na 34 min.

Tabulka 8: Chromatografická analýza esenciálního oleje Kopaiva (*Nobilis Tilia*) ve srovnání s jiným výrobcem (*Florihana*) [89, 90]

Název složky	Retenční čas [min]	Relativní zastoupení [%]		
		Vlastní analýza	Nobilis Tilia	dle Florihana
$\beta$ -Karyofylen	17,3	53,6	47,2	45,9
$\delta$ -Cadien	-	-	1-10	2,85
Germacrene D	-	-	1-10	9,18
Bisabolen	-	-	1-10	2,59

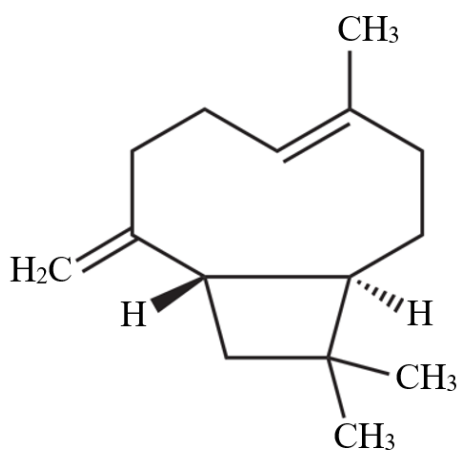
U tohoto oleje je nejzastoupenější složka  $\beta$ -Karyofylen, která je podle *Nobilis Tilia* v zastoupení až do 47,2 %. Na chromatogramu (obrázek 21) můžeme  $\beta$ -karofylen pozorovat na píku 8 s retenčním časem 17,3 min a relativním zastoupením 53,6 %. Dalším výrazným píkem je pík 12  $\alpha$ -karyofylen s retenčním časem 17,8 min a relativním zastoupením 7,1 %, který se rovná  $\alpha$ -humulenu. S identifikací  $\alpha$ -humulenu pomohl esenciální olej chmelu, s kterým byl ověřen retenční čas  $\alpha$ -karyofylen. Pro výrobu a testování není publikována žádná ISO norma, a proto bylo zastoupení porovnáno s jiným výrobcem (*Florihana*), který má místo původu v Brazílii. I v tomto případě se složení EO mírně liší od uváděného výrobcem. Další složky jsou obtížně rozpoznatelné, neboť mají podobné retenční časy,

což ztěžuje jejich jednoznačnou identifikaci. Avšak pík 4 s retenčním časem 16,8 min by mohl být kopaen a píky 16,17 a 18 cadieny.



Obrázek 21: Chromatogram Kopaiva (*Nobilis Tilia*)

$\beta$ -Karyofylen (obrázek 22) je přírodní sloučenina, která se vyskytuje v mnoha rostlinách, zejména v bylinách a kořenech. Vzhledem ke své dřevité a kořenité vůni se běžně používá jako vůně a ochucovadlo. V posledních letech přitahuje značnou pozornost kvůli svým rozsáhlým biologickým účinkům.  $\beta$ -Karyofylen je však těkavý, špatně rozpustný ve vodě a citlivý na světlo, kyslík, vlhkost a vysokou teplotu. Špatná rozpustnost ve vodě může podstatně snížit biologickou dostupnost léčiva a tím omezit jeho další použití ve farmaceutické oblasti [91].



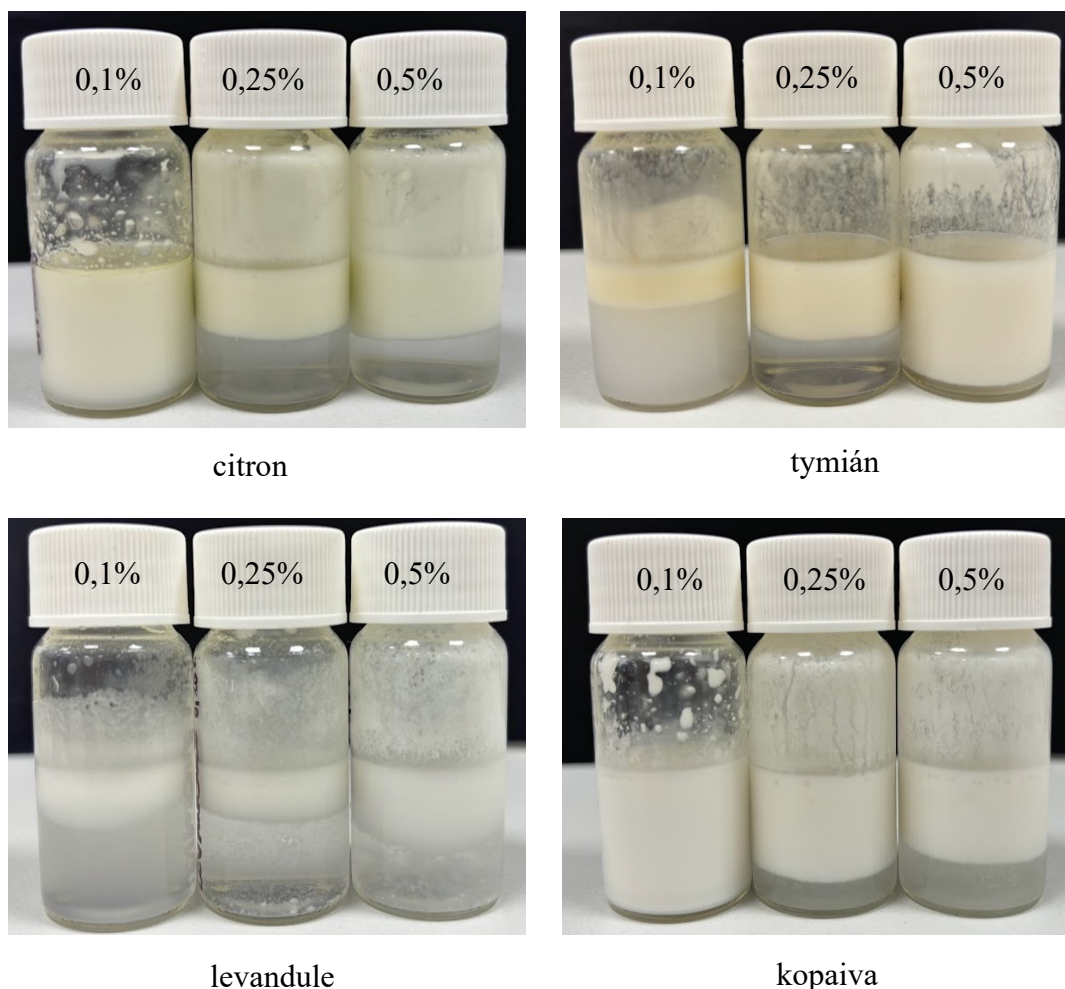
Obrázek 22: Strukturní vzorec  $\beta$ -Karyofylenu

### 7.3 Charakterizace emulzí

Emulze byly připraveny se čtyřmi různými esenciálními oleji ve třech odlišných poměrech oleje a vody, a stabilizovány byly třemi různými koncentracemi MCC. Tyto emulze byly charakterizovány několika metodami, a to vizuálním pozorováním, stanovením emulgační účinnosti a indexem krémování, dále měřením zeta potenciálu a velikosti částic a analýzou pomocí mikroskopie. Cílem práce bylo srovnat vlastnosti a stabilitu emulzí v závislosti na typu použitého esenciálního oleje, proto budou diskutovány primárně výsledky s poměrem O/V 10:90, který byl vybrán jako optimální.

#### 7.3.1 Vliv esenciálního oleje a koncentrace MCC – emulze O/V 10:90

Po přípravě byly emulze jako první vizuálně pozorovány, kdy byly emulze O/V 10:90 ponechány stát po dobu minimálně 2 hodin. Na obrázku 23 jsou patrné rozdíly mezi emulzemi s jednotlivými esenciálními oleji. Zvláště je zřejmý rozdíl v zabarvení, přičemž emulze citronu a tymiánu disponují více žlutými odstíny, zatímco emulze s levandulí a kopaivou jsou spíše bělavé, což koresponduje s barvou esenciálních olejů. EO citronu a tymiánu měly barvy výraznější než EO levandule a kopaivy. Patrné jsou také rozdíly v krémování emulzí, kdy emulze s levandulí krémují ze všech emulzí nejvíce, zatímco emulze s kopaivou nejméně.



Obrázek 23: Emulze O/V 10:90 s jednotlivými esenciálními oleji stabilizované 0,1–0,5 % MCC

### 7.3.1.1 Emulgační účinnost emulzí O/V 10:90

Dalším sledovaným parametrem byla emulgační účinnost, která je u všech emulzí s poměrem 10:90 uvedena v tabulce 8. Z této tabulky lze vyčíst, že nejvyšší emulgační účinnost vykázaly emulze obsahující citron a kopaivu, přičemž i u emulze s tymiánem dosáhla téměř 100% účinnosti. Naopak u levandulové emulze s postupným zvyšováním množství MCC emulgační účinnost klesala až na 74 %. Toto snížení účinnosti může být způsobeno zvýšenou interakcí mezi MCC a esenciálním olejem, což může omezit schopnost oleje vytvářet stabilní kapky v emulzi. Ve studiích Ulrih a kol. [92] byla emulgační účinnost emulze levandule s arabskou gumou a maltodextrinem měřena v rozmezí od 20 % do 91 %. Tento parametr byl výrazně ovlivněn koncentrací polymerů. Avšak se zvyšující koncentrací polymerů se zvyšovala i EE.



Tabulka 9: Emulgační účinnost emulzí O/V 10:90

	0,1% MCC	0,25% MCC	0,5% MCC
	EE [%]	EE [%]	EE [%]
<b>Citron</b>	100	100	100
<b>Tymián</b>	92	93	100
<b>Levandule</b>	92	88	74
<b>Kopaiva</b>	100	97	100

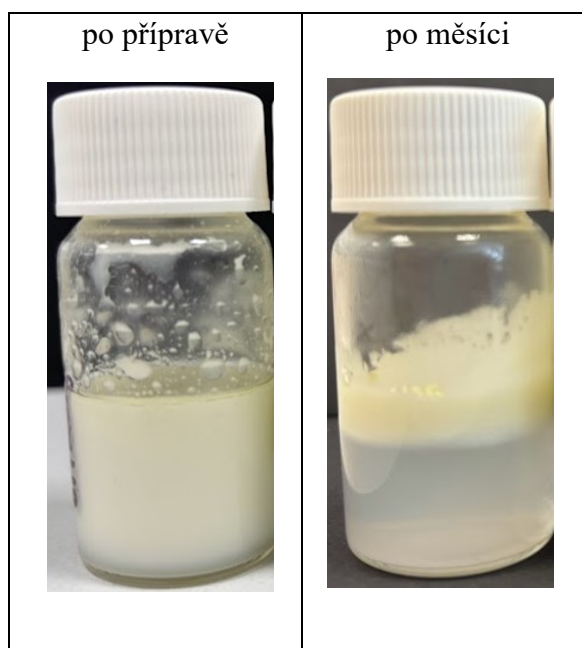
### 7.3.1.2 Index krémování emulzí O/V 10:90

Následně byl sledován index krémování, a to ihned po přípravě a následně byl stanoven po měsíci skladování emulzí při teplotě 5 °C. Index krémování (CI) značí stabilitu, pokud je CI 100 %, znamená to, že emulze je kineticky stabilní a nedochází ke krémování. Jak je zřejmé i z obrázku 23, u některých formulací byla jasně viditelná krémová vrstva v horní části a oddělená vodná fáze ve spodní části vialky. V tabulce 9 lze pozorovat, že kinetická stabilita emulzí s různými esenciálními oleji nebyla stejná. U emulze s citronem se po přípravě a s rostoucí koncentrací MCC CI snižovalo ze 100 % na 83 %, což naznačuje snižující kinetickou stabilitu emulze. Naopak u emulze s tymiánem se s rostoucí koncentrací MCC zvyšovala stabilita emulze a CI vzrostlo z 30 % na 91 %. Stejný trend byl pozorován i u emulze s levandulí, kde s rostoucí koncentrací MCC se CI zvýšil z 39 % na 55 %. Emulze s kopaivou ve všech koncentracích MCC nekrémovala, byla kineticky stabilní a CI dosáhla 100 %. Podle studie Li a kol. [68], zabývající se využitím nanočástic zein-arabské gumy ke stabilizaci thymolu, se ukázalo, že měla významný vliv koncentrace zein-arabské gumy na hodnoty indexu krémování. Přidání této látky efektivně inhibuje agregaci olejových kapek, což vede k posílení stability rozhraní mezi olejem a vodou díky vytvoření prostorové bariéry. To se potvrzuje i v tomhle případě, kdy se zvyšování koncentrace MCC u emulze s tymiánem stabilita rostla.

Tabulka 10: Index krémování emulze O/V 10:90

	0,1% MCC		0,25% MCC		0,5% MCC	
	CI [%] po 30 min	CI [%] po měsíci	CI [%] po 30 min	CI [%] po měsíci	CI [%] po 30 min	CI [%] po měsíci
<b>Citron</b>	100	22	83	35	83	48
<b>Tymián</b>	30	22	65	35	91	35
<b>Levandule</b>	39	23	45	27	55	40
<b>Kopaiva</b>	100	22	100	43	100	44

Po měsíci lze pozorovat výrazné změny, kdy se u všech emulzí CI snížil. Jedním z důvodů může být destabilizace emulze v průběhu času v důsledku změn v mikrostruktuře nebo mohlo docházet k postupnému spojování olejových kapiček, což vede právě ke krémování a ke snížení celkové stability emulze. Největší rozdíl lze pozorovat na obrázku 24 u emulze s citronem s koncentrací MCC 0,1%, kde CI byl nejdříve 100 % a po měsíci klesl na 22 %, stabilita emulze se tedy snížila. Stejný případ je i u emulze s kopaivou s MCC 0,1%, kdy CI klesl na 22% a emulze se stala méně stabilní. Nejmenší rozdíly lze pozorovat u emulzí s koncentrací 0,5% MCC. Celkově lze pozorovat, že koncentrace MCC přispívá k lepší stabilizaci emulze, což je klíčový faktor při formulaci kosmetických produktů.

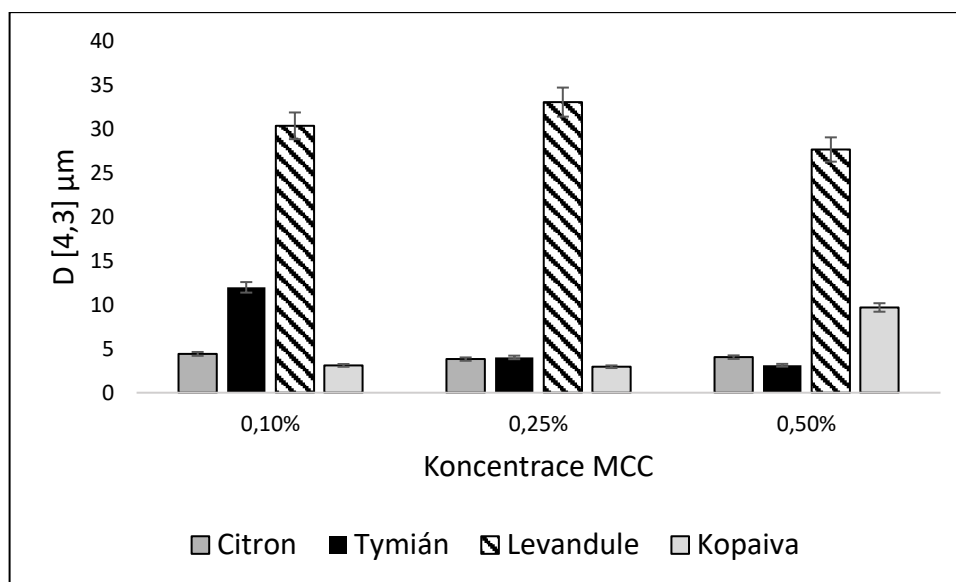


Obrázek 24: porovnání emulze citronu ihned po přípravě a po měsíci

### 7.3.1.3 Velikost částic emulzí O/V 10:90 a jejich distribuce

Velikost emulzích kapek má vliv na stabilitu emulze a migrační schopnost kapek, což je pro zachování dlouhodobé stability emulze důležité. Tato velikost je ovlivněna jak esenciálním olejem a jeho složením, tak koncentrací MCC. Obvykle platí, že menší kapky přispívají k vyšší stabilitě emulze. Velikost emulzních kapek byla změřena pomocí přístroje Mastersizer 3000 a je vyjádřena jako parametr D [4,3].

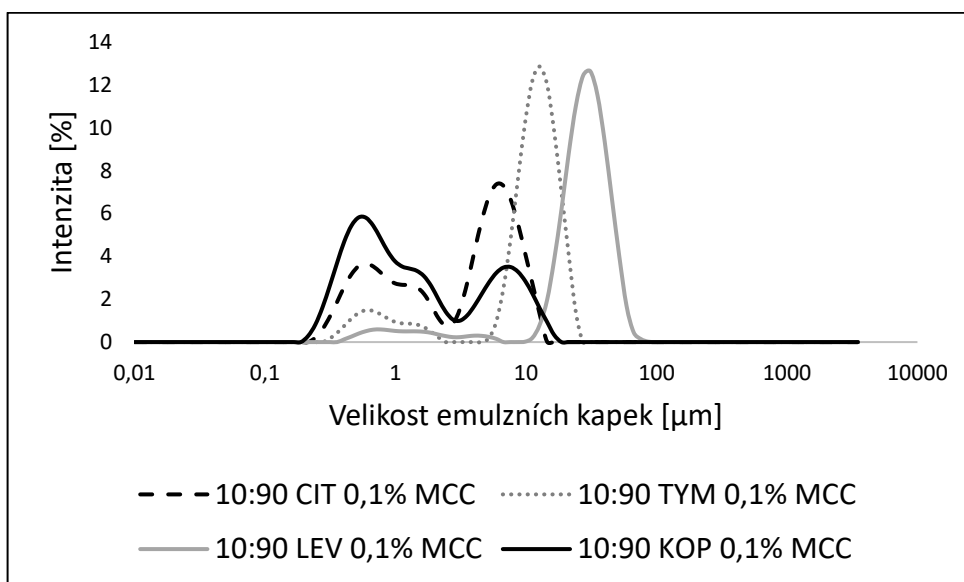
Na obrázku 25 je zobrazena velikost částic všech emulzí 10:90 s různými esenciálními oleji a různými koncentracemi MCC. Celkově nejvyšší velikost emulzních kapek pozorujeme u emulze s levandulí (27,7-33,1  $\mu\text{m}$ ), která je oproti emulzím s ostatními esenciálními oleji značně vyšší (citron 3,8-4,4  $\mu\text{m}$ , tymián 3,1-12,0  $\mu\text{m}$ , kopaiva 3,0-9,7  $\mu\text{m}$ ). U emulze s citronem je ve všech koncentracích MCC přibližně stejná, avšak nejmenší velikost má u MCC s koncentrací 0,25 %. U emulze kopaivy je největší velikost částic při koncentraci 0,5 % MCC, dosahující až 9,7  $\mu\text{m}$ , zatímco nejmenší velikost částic byla dosažena s koncentrací 0,25 % MCC (3,0  $\mu\text{m}$ ). U emulze s tymiánem se velikost částic s rostoucí koncentrací MCC zmenšovala až na 3,1  $\mu\text{m}$ .



Obrázek 25: Velikost částic emulzí O/V 10:90

Z obrázku 26, který zobrazuje distribuce velikosti kapek emulzí O/V 10:90, jsou rovněž patrné rozdíly mezi emulzemi s různými EO. Ve všech případech jsou distribuce polydisperzní a emulze obsahují více populací emulzních kapek. Je zřejmé, že emulze s kopaivou mají nejmenší emulzní kapky, což naznačuje, že by měly být nejstabilnější. Naopak distribuce emulze s levandulí ukazuje pík s nejvyšší velikostí 31  $\mu\text{m}$ , čemuž

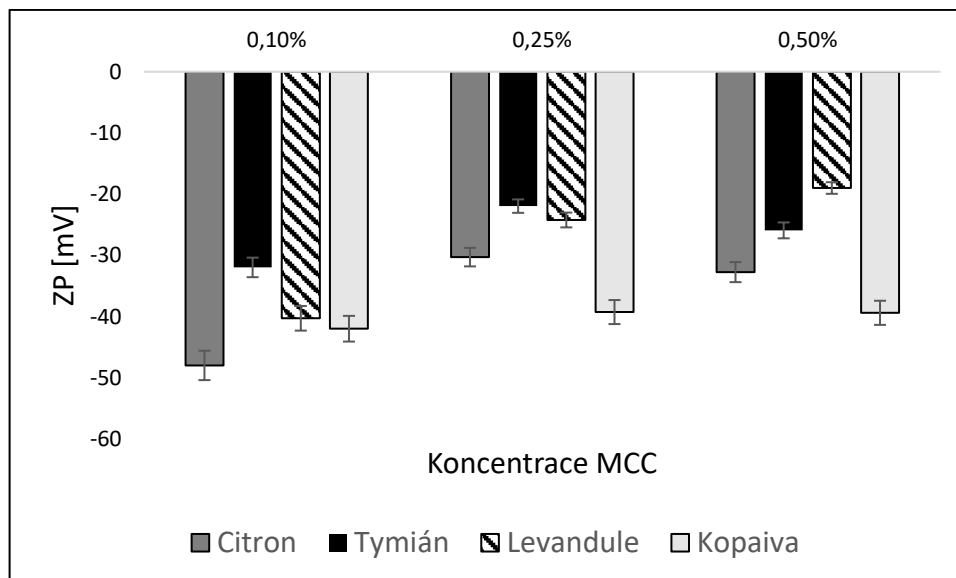
odpovídaly i mikroskopická pozorování a ve výsledku nejnižší stabilita emulzí. Emulze s citronem vykazují distribuci kapek o něco větší než emulze s kopaivou, ale jejich charakter byl podobný. Poslední distribuce emulze s tymiánem je velmi podobná distribuci kapek emulze s levandulí.



Obrázek 26: Distribuce velikosti emulzních kapek všech esenciálních olejů s 0,1% MCC

#### 7.3.1.4 Zeta potenciál emulzí O/V 10:90

Emulze byly dále charakterizovány měřením zeta potenciálu pomocí zařízení ZETASIZER Nano series ZS 90. Koncentrace MCC má výrazný vliv na ZP. Čím nižší je koncentrace MCC, tím nižší je ZP, avšak ukazuje se i vliv jednotlivých esenciálních olejů. Nejlepší hodnotu ZP a stabilitu má emulze s kopaivou, naopak nejhorší stabilitu má emulze s levandulí. ZP MCC, který byl měřen při pH 6 byl -27,9 mV. Na obrázku 27 můžeme pozorovat sloupcový graf hodnot zeta potenciálu emulzí stabilizovaných MCC v různé koncentraci. Emulze s citronem vykazuje nejnižší hodnotu ZP při koncentraci 0,1% MCC, a to -47,98 mV. Nicméně i v dalších koncentracích je ZP menší než -30 mV, což naznačuje stabilitu emulze s citronem. U emulze s tymiánem lze pozorovat stabilní emulzi pouze při koncentraci 0,1% MCC, kdy hodnota ZP dosahuje -32,0 mV. Emulze s levandulí při koncentraci 0,5 % MCC má hodnotu ZP -19,0 mV, zatímco při koncentraci 0,1 % MCC je ZP -40,3 mV. Emulze s kopaivou vykazuje ve všech třech koncentracích MCC hodnoty ZP nižší než -30 mV, což naznačuje její stabilitu.

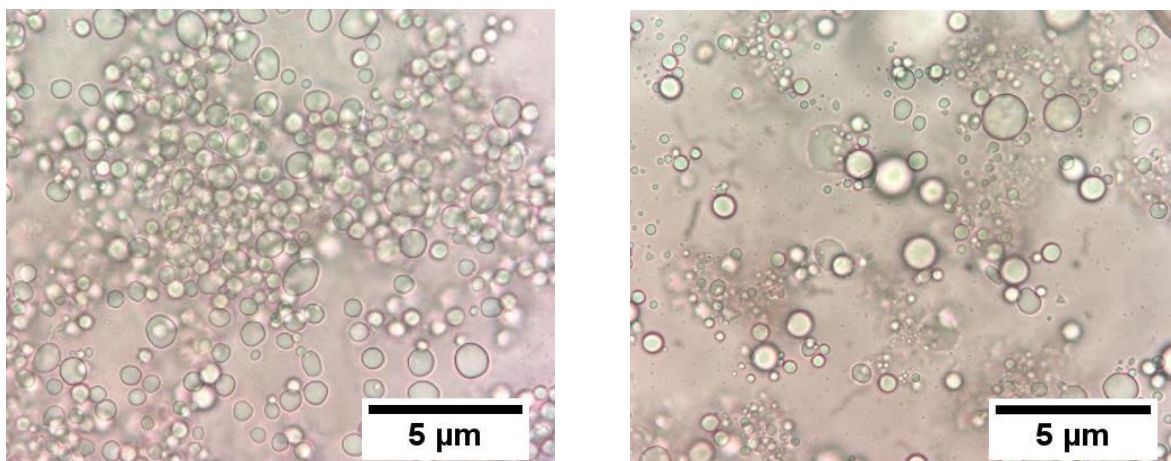


Obrázek 27: Zeta potenciál všech emulzí O/V 10:90 s různými poměry MCC

### 7.3.1.5 Mikrostruktura emulzí O/V 10:90

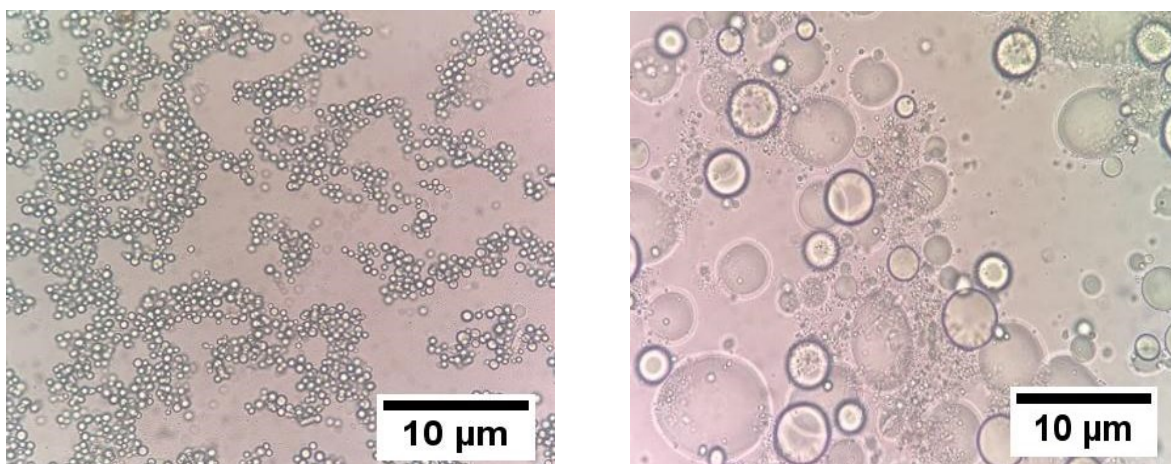
Kromě vizuálního pozorování, byly emulze sledovány i mikroskopicky pomocí optického mikroskopu Olympus CX21. Pozorování emulzí O/V 10:90 bylo provedeno ve zvětšeníh 10x, 40x, 100x. Vzhledem k rozsahu diplomové práce byly vybrány pouze některé obrázky vystihující výše zmíněnou problematiku.

Na obrázku 28 je zobrazena struktura Pickeringovy emulze O/V 10:90 s koncentrací MCC 0,5 %. Vlevo je emulze citronu, kdy emulzní kapičky jsou četnější a mají přibližně stejnou velikost. Napravo se nachází emulze kopaivy, která má oproti emulzi citronu emulzní kapičky různých velikostí. Můžeme pozorovat větší a menší emulzní kapky, které mají tendenci tvořit shluky, což odpovídá i distribuci velikosti emulzních kapek. Emulze citronu mají vyšší velikost emulzní kapek (6,8  $\mu\text{m}$ ), zatímco kopaiva má menší velikosti kapek (5,4  $\mu\text{m}$ ).



Obrázek 28: Mikrostruktura emulze citronu a kopaivy při zvětšení 100x s koncentrací MCC 0,5%

Na obrázku 29 je vidět zřetelný rozdíl mezi emulzí s tymiánem a levandulí. Na levé straně je mikrostruktura emulze tymiánu, která obsahuje menší kapky emulze ve srovnání s emulzí levandule. Tento rozdíl je patrný i v distribuci velikosti částic, kdy emulze s tymiánem má menší velikost emulzních kapek. Zatímco emulze s levandulí má větší velikost emulzních kapek, což naznačuje možnou nižší stabilitu levandulové emulze.



Obrázek 29: Mikrostruktura emulze tymiánu a levandule při zvětšení 40x s koncentrací MCC 0,25%

### 7.3.1.6 *Shrnutí*

Z výsledků lze pozorovat, že složení a množství oleje mělo na emulze velký vliv. Tuto skutečnost potvrdili i ve studii Zhang a kol. [93], kdy zkoumali vliv vlastností oleje na tvorbu a stabilitu Pickeringových emulzí. Vzhledem k odlišné struktuře a složení různých olejů jsou mezimolekulární síly různé a makroprojevy jako například hustota, polarita, viskozita a dalších vlastnosti se mohou během výroby Pickeringových emulzí lišit. Dalším parametrem, který stabilitu ovlivňoval, byla koncentrace MCC. Podle studií Ashan a kol. [64] byl zkoumán vliv modifikované MCC na výrobu Pickeringových emulzí v různé koncentraci (0,5 až 2%). Nestabilní chování emulzí bylo pozorováno pouze při nízkém obsahu MCC. Emulze připravené s nízkou koncentrací (0,5-1%) během 6-12 hodin začaly krémovat. I v tomto případě se zdá, že vyšší koncentrace MCC pozitivně ovlivňuje stabilitu emulze.

Různé typy olejů značně ovlivňují stabilitu emulze. Záleží především na smáčivosti stabilizujících částic a např. polaritě olejové fáze, které ovlivní orientaci MCC na fázovém rozhraní. Nejstabilnější byla emulze s kopaivou, která obsahuje složky, jako je  $\beta$ -karyofylen, který je nepolární. Ve studii [94] bylo dokázáno, že zvýšením poměru nepolárních molekul v olejové fázi lze zvýšit stabilitu emulzních kapek vůči koalescenci.

Limonen, který je hlavní složkou esenciálního oleje z citronu, má podobně jako  $\beta$ -karyofylen nízkou polaritu, což ovlivňuje stabilitu emulzí a velikost emulzních kapek. Kdy u emulzí s citronem a kopaivou byly pozorovány nejmenší kapky, zatímco v případě tymiánových a levandulových emulzí se jejich velikost zvýšila, což bude dáno vyšší polaritou levandulového a tymiánového oleje.

U EO levandule je nejvíce zastoupenou složkou linalool, který obsahuje koncovou alkoholovou skupinu, jeho polarita bude tedy vyšší. Navíc nemá žádnou rezonanční strukturu, proto je tento hydroxyl velmi reaktivní. Mikrokrystalická celulóza obsahuje rovněž volné hydroxylové skupiny, a to vede k tvorbě nových vodíkových vazeb. Jak bylo prokázáno ve studii [95], tato interakce není žádoucí, protože vytvořená vrstva je velmi reaktivní a pravděpodobně vyvolává koalescenci emulzních kapek. Tento jev by mohl vysvětlovat pozorované chování levandulových emulzí, které mohou vykazovat sníženou stabilitu v porovnání s jinými typy emulzí.

Podobné chování bylo pozorováno i u emulzí s tymiánem. Thymol, hlavní složka tymiánového oleje, je molekula s trvalým dipólem, což znamená, že má polární charakter,

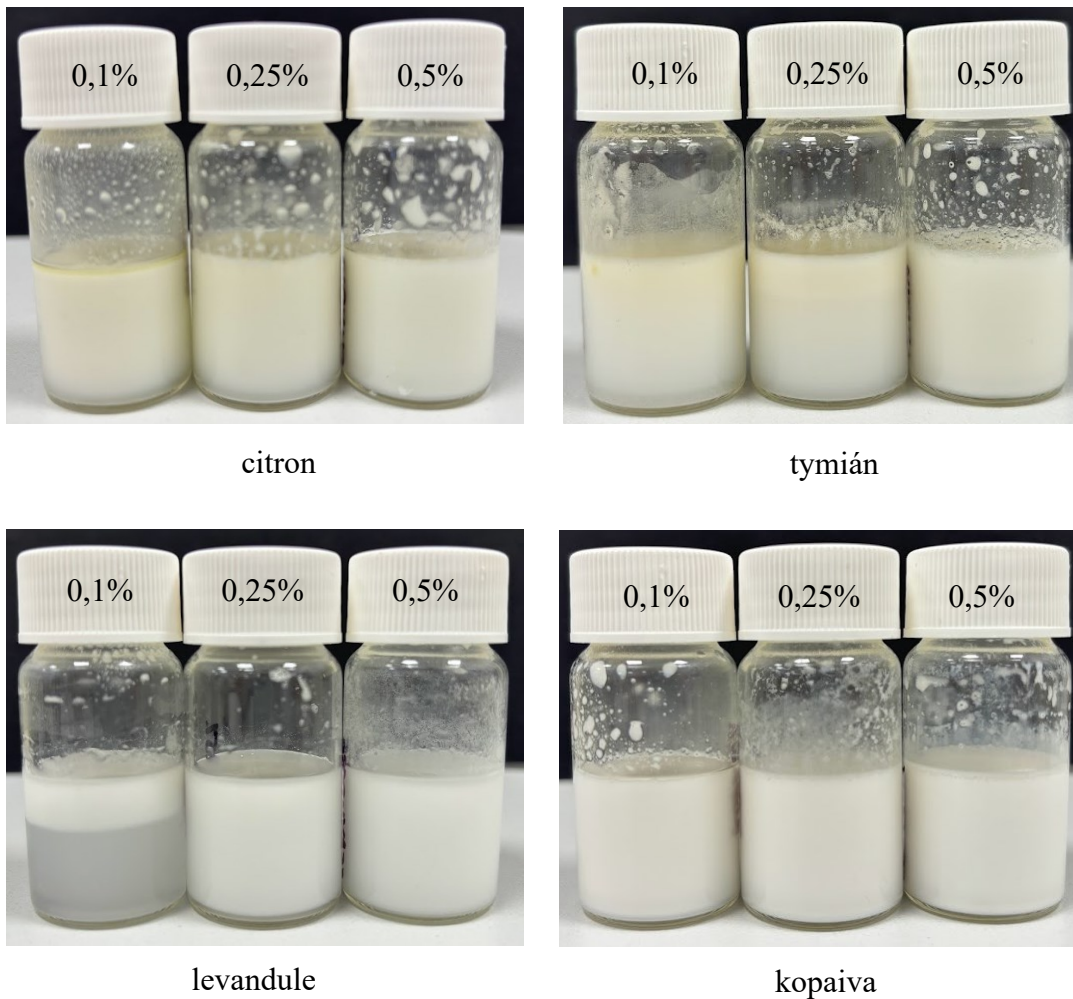
převážně kvůli přítomnosti fenolové skupiny. Navíc fenolová skupina je reaktivní a vede k interakcím s hydroxyly MCC. Tyto interakce mohou ovlivnit stabilitu a vlastnosti emulze, včetně distribuce velikosti kapek a celkového chování systému. To bylo patrné i u emulze s tymiánem, kde se projevila menší stabilita a větší velikosti částic ve srovnání s ostatními emulzemi.

Chování emulzí lze přičíst chemickému charakteru jednotlivých olejů. Vzhledem k tomu, že oleje používané ve studovaných systémech jsou středně polární, přičemž pravděpodobně nejméně polární bude kopaiva a nejvíce polární levandule, je její schopnost vytvářet stabilní emulzi olej ve vodě omezená a náročnější ve srovnání s nepolárními oleji. Polární charakter ovlivňuje adsorpci částic, což vede ke změně zakřivení kapky a následně i velikosti kapky. To bylo prokázáno ve studii [96], kde byla sledována stabilita emulzí s limonenem, cinamaldehydem a eugenolem.

### 7.3.2 Vliv poměru O/V – emulze 5:95 vs. 20:80

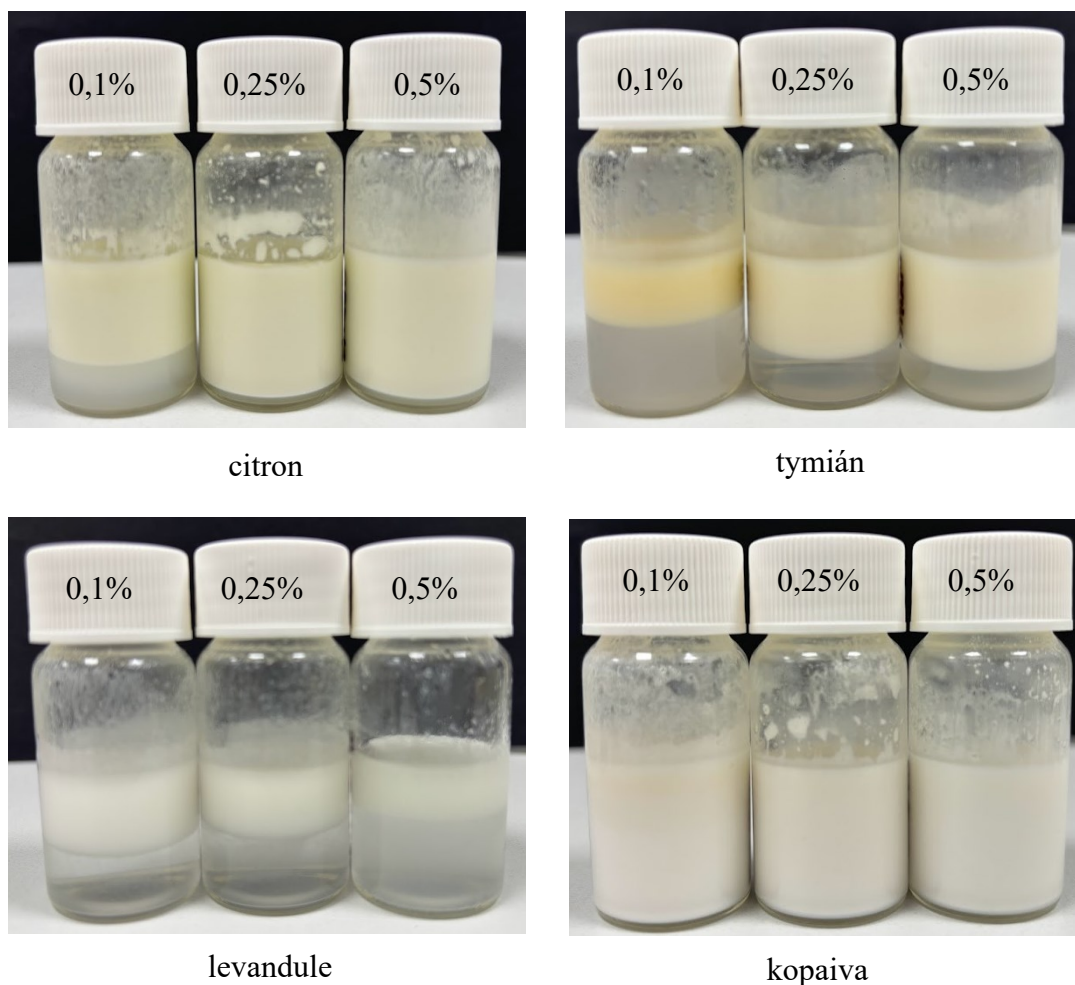
Emulze s esenciálními oleji byly připraveny i v poměru O/V 5:95. Na obrázku 30 jsou patrné rozdíly v barvě emulze. Emulze citronu a tymiánu již nejsou tak výrazně zabarvené do žlutých odstínů jako v případě poměru O/V 10:90, což je způsobeno nižším množstvím olejové fáze. Naopak emulze levandule a kopaivy si stále zachovávají své bělavé odstíny. Lze pozorovat i krémování u levandulové emulze s obsahem MCC 0,1 %, která má jediná tendence ke krémování.





Obrázek 30: Emulze O/V 5:95 s jednotlivými esenciálními oleji

Co se týče poměru O/V 20:80 (obrázek 31) je naopak barva emulzí výraznější. Emulze citronu a tymiánu jsou ze všech poměrů nejvýraznější, což je způsobeno vyšším podílem olejové fáze. Emulze s levandulí a kopaivou mají ve všech poměrech stejné bělavé odstíny. I zde lze pozorovat krémování emulzí, přičemž nejvíce krémují emulze s tymiánem a levandulí, naopak kopaiva nekrémuje vůbec.

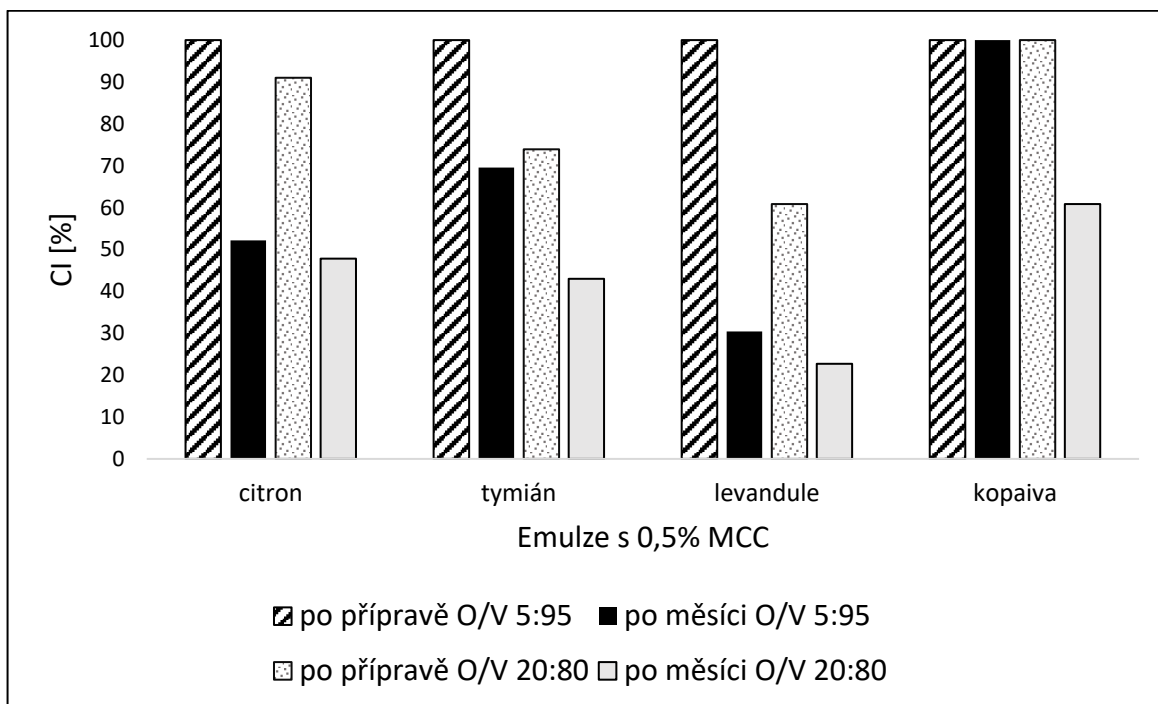


Obrázek 31: Emulze O/V 20:80 s jednotlivými esenciálními oleji

Co se týče emulgační účinnosti, emulze O/V 5:95 vykazovaly nejlepší účinnost s koncentrací MCC 0,5%, kdy všechny emulze měly EE 100 %. U poměru emulzí O/V 20:80 byla nejlepší účinnost opět u emulzí s koncentrací MCC 0,5%, kromě levandule, která měla účinnost 59 %, tato účinnost byla také ze všech nejhorší. Nejnižší EE byla v poměru O/V 5:95 s koncentrací MCC 0,1%, kdy nejnižší účinnost byla u emulze s tymiánem 81 % dále pak s levandulí 81 % a s citronem 89 %. Nejlepší EE v obou poměrech měla emulze s kopaivou, která dosáhla 100% účinnosti ve všech koncentracích MCC.

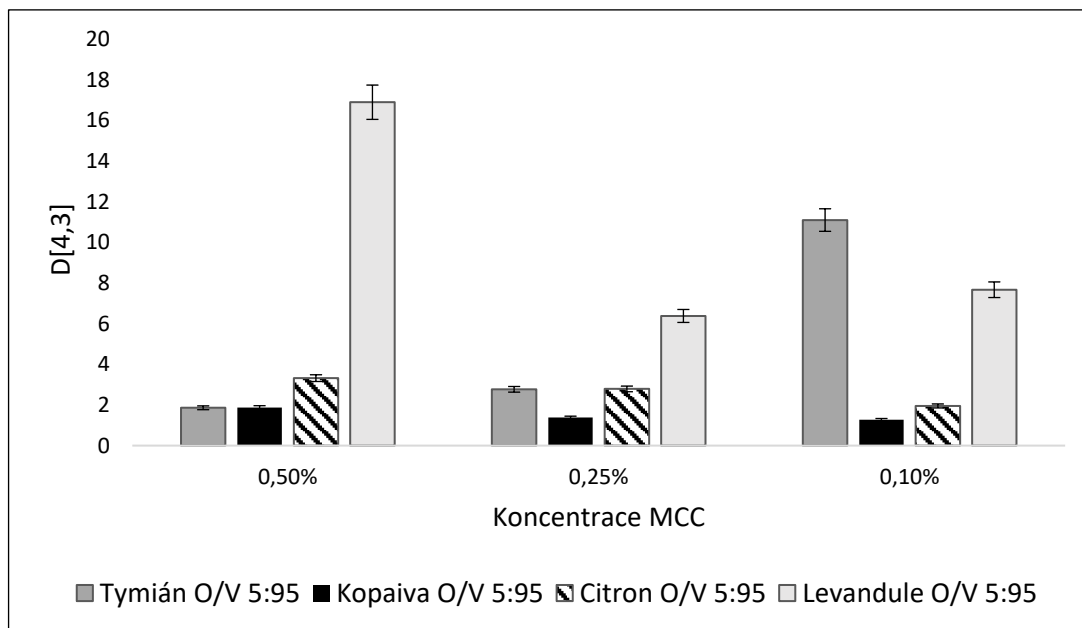
Na obrázku 32 je znázorněn index krémování emulzí O/V 5:95 a O/V 20:80 s koncentrací MCC 0,5%. Index krémování byl pozorován ihned po přípravě a následně po měsíci skladování emulzí při teplotě 5 °C. Ve sloupcovém grafu pozorujeme, že všechny emulze v poměru O/V 5:95 mají ihned po přípravě CI 100 %, nekremují a jsou tedy stabilní. U poměru O/V 20:80 bylo CI 100 % pouze u emulze s kopaivou. Nejnižší hodnota CI v tomto poměru byla u emulze s levandulí (61 %), což naznačuje její nižší stabilitu. Po měsíci se však CI rapidně změnil. U poměru emulze O/V 5:95 bylo nejnižší CI u emulze s levandulí,

kdy CI kleslo na 30%, naopak nejvyšší účinnost měla kopaiva, která má stále CI 100 %. U poměru emulze 20:80 O/V se taktéž CI po měsíci snížil. Nejvyšší rozdíl je opět u emulze s levandulí, kdy CI se snížil na 23 %. Největší CI lze pozorovat u kopaivy, kdy se hodnota snížila na 61 %.



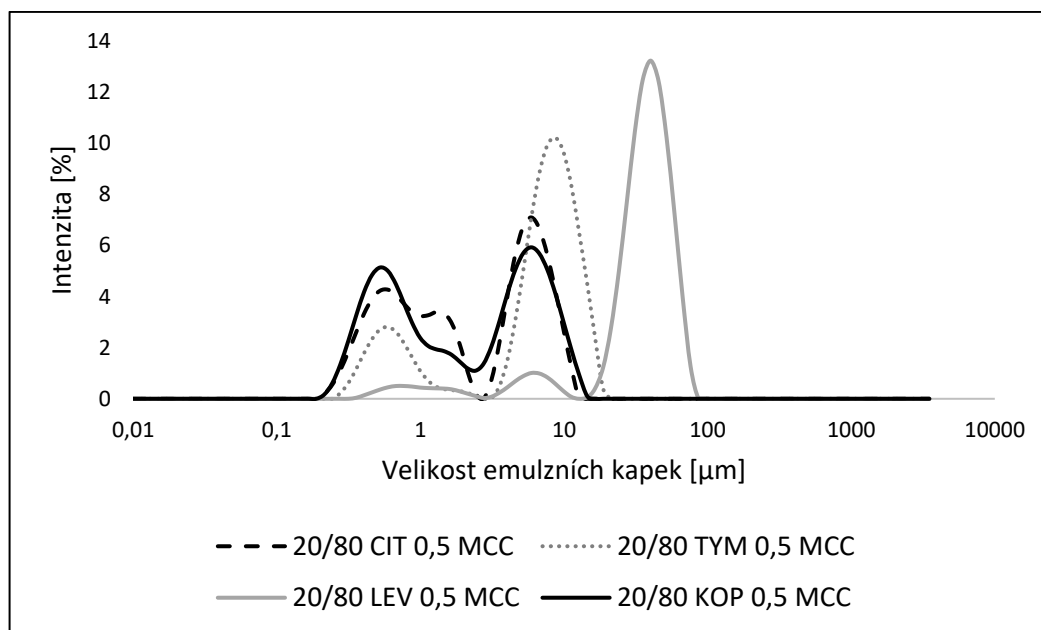
Obrázek 32: Index krémování emulzí O/V 5:95 a O/V 20:80 s 0,5% MCC

Na obrázku 33 můžeme pozorovat velikost emulzních kapek emulzí se všemi esenciálními oleji s různými koncentracemi MCC v poměru O/V 5:95. Největší velikost částic lze pozorovat u emulze s levandulí (6,4-16,9  $\mu\text{m}$ ). Nejmenší velikost je pak u emulze s kopaivou (3,3-1,3  $\mu\text{m}$ ). U poměru O/V 20:80 jsou největší částice pozorované opět u emulze s levandulí (38-42  $\mu\text{m}$ ), zatímco nejmenší velikost je u emulze citronu (6,6-3,7  $\mu\text{m}$ ). Celkově však emulze v poměru O/V 5:95 mají menší velikost částic než v poměru emulzí O/V 20:80.



Obrázek 33: Velikost částic emulzí O/V 5:95

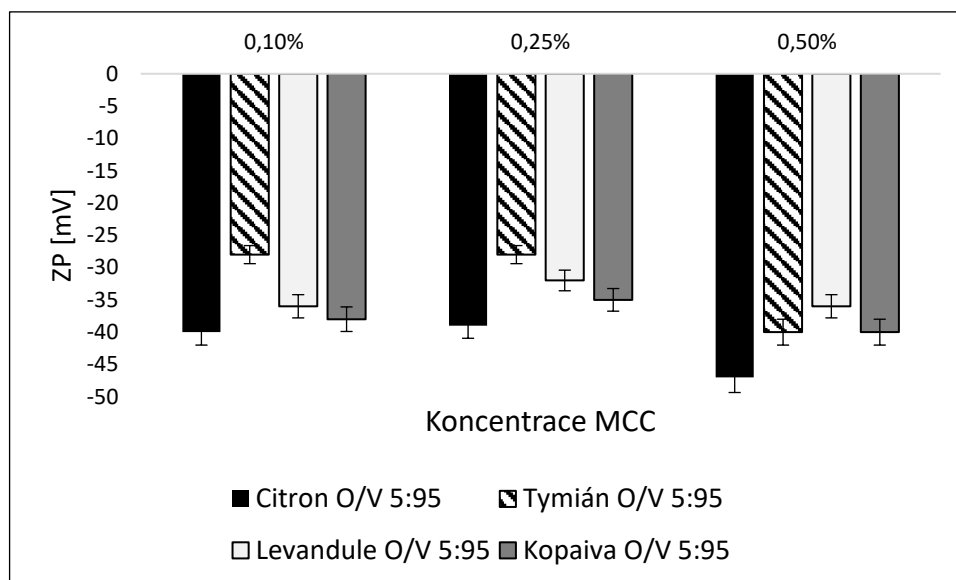
Z distribuce velikosti částic emulze O/V 20:80 s koncentrací MCC 0,5%, která je znázorněna na obrázku 34, lze pozorovat, že ve všech případech jsou distribuce taktéž polydisperzní a emulze obsahují více populací emulzních kapek. Je zřejmé, že největší velikost emulzních kapek má emulze s levandulí, a proto může být méně stabilní. Zatímco nejmenší emulzní kapky vykazuje kopaiva, která je nejstabilnější. Charakter distribuce emulze s citronem je téměř totožný s distribucí emulze s kopaivou, těmto emulzím je podobná distribuce emulze s tymiánem. Nejvíce polydisperzní distribuci se třemi populacemi částic a největší velikostí kapek měla emulze s levandulí.



Obrázek 34: Distribuce velikosti emulzních kapek O/V 20:80 všech esenciálních olejů s 0,5% MCC

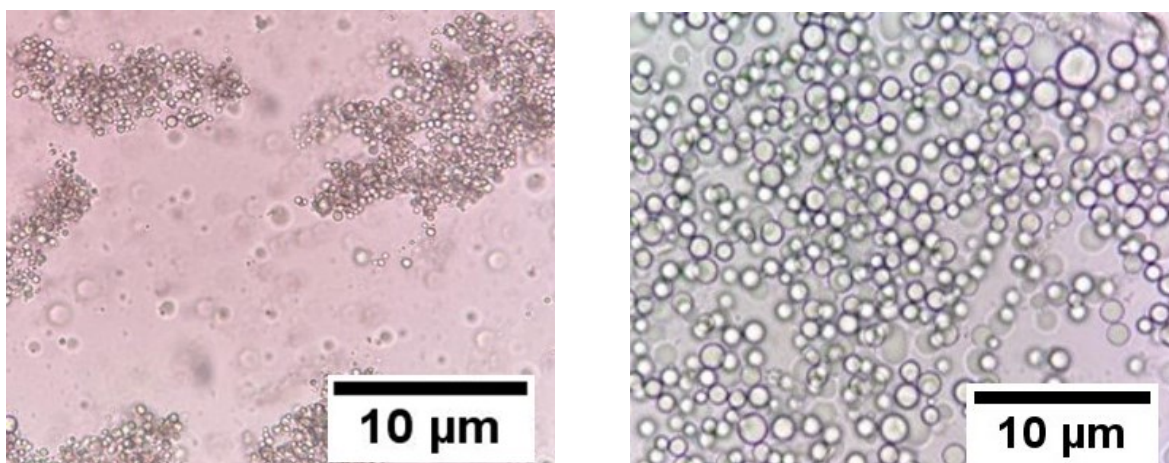
Emulze byly dále charakterizovány pomocí měření zeta potenciálu. Na obrázku 35 lze pozorovat graf s hodnotami zeta potenciálu emulzí O/V 5:95. Největší hodnotu lze pozorovat u emulze s tymiánem v koncentraci MCC 0,1 % a 0,25 % (-28 mV). U všech ostatních lze pozorovat hodnotu nižší než -30 mV. Nejnižší hodnoty ZP mají pak emulze s koncentrací MCC 0,5% u citronu -47 mV, u kopaivy -40 mV, u tymiánu -40 mV a u levandule -36 mV.

Emulze v poměru O/V 20:80 mají oproti emulzím O/V 5:95 vyšší hodnoty ZP, tedy se jeví jako více nestabilní. Nejvyšší hodnota je u emulze s tymiánem s 0,25% koncentrací MCC (-20 mV), zatímco nejnižší hodnotu má v koncentraci MCC 0,5 % (-30 mV). Dalšími nestabilními emulzemi jsou emulze s levandulí, které mají ve všech třech koncentracích MCC hodnoty vyšší než -30 mV. U emulze s levandulí lze tak předpokládat, že vyšší množství oleje negativně ovlivňuje stabilitu. Nejnižší hodnoty má pak emulze s kopaivou ve všech koncentracích MCC. V koncentraci 0,1 % MCC dosahuje ZP až -40 mV. Avšak i emulze citronu má ve všech koncentracích hodnoty nižší než -30 mV, nejnižší je pak v koncentraci 0,5% MCC (-38 mV).



Obrázek 35: Zeta potenciál všech emulzí O/V 5:95 s různými poměry MCC

Na obrázku 36 je zobrazen rozdíl emulzí tymiánu s 0,5% MCC v poměru O/V 5:95 a 20:80 při zvětšení 40x. Vlevo je emulze tymiánu v poměru O/V 5:95, kdy kapičky emulze jsou menší, méně četnější a mají tendenci tvořit shluky oproti emulzi O/V 20:80 (vpravo), což koresponduje i s distribucí částic, která ukázala, že emulzní kapičky tymiánu v poměru O/V 20:80 jsou větší a četnější.

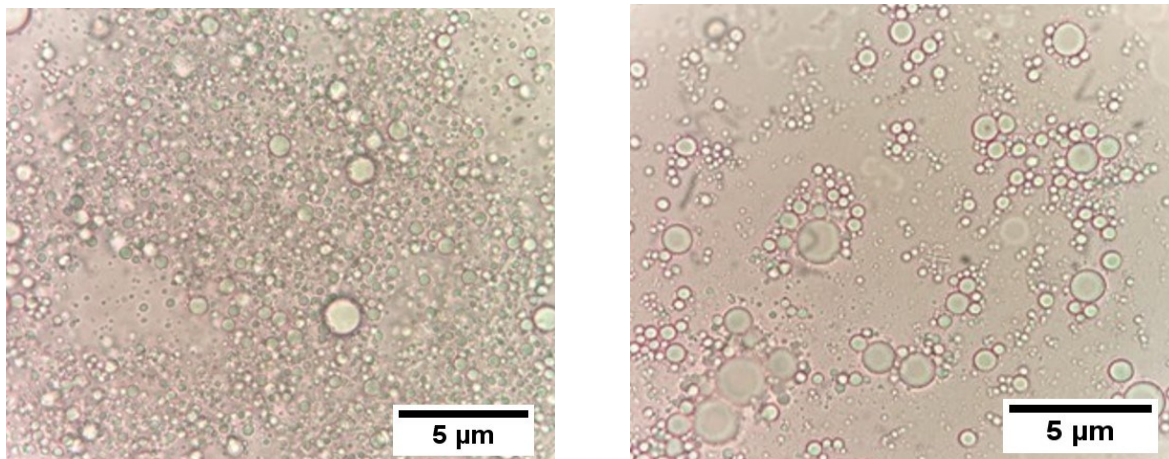


Obrázek 36: Mikrostruktura emulze tymiánu s 0,5% MCC v poměru O/V 5:95 (vlevo) a 20:80 (vpravo) při zvětšení 40x

Na obrázku 37 lze pozorovat porovnání emulzí s kopaivou, kdy vlevo je emulze O/V 5:95 a vpravo O/V 20:80 s MCC 0,1% při zvětšení 100x. Vlevo můžeme pozorovat menší kapičky, které jsou četnější, zatímco u poměru 20:80 O/V jsou kapičky větší a více rozptýlené s různou velikostí. Což potvrzuje i s distribuce částic, kdy u poměru O/V 5:95



jsou emulzní kapičky více zastoupené a mají menší velikost oproti poměru O/V 20:80, kdy mají větší velikost, ale jsou méně četnější.



*Obrázek 37: Mikrostruktura emulze kopaivy s 0,1% MCC v poměru O/V 5:95 (vlevo) a 20:80 (vpravo) při zvětšení 100x*

Po srovnání emulzí v poměru O/V 5:95 a 20:80 lze pozorovat významný vliv množství a složení oleje na stabilitu. Poměr 5:95 O/V prokázal větší stabilitu, což je spojeno s menší velikostí emulzních kapek a nižšími hodnotami zeta potenciálu. Tento poměr vykazoval také lepší emulgační účinnost a nižší index krémování, což jsou indikátory stability emulzí. Naopak poměr 20:80 O/V ukázal negativní vliv vyššího množství oleje. S nárůstem obsahu oleje není dostatek celulósových částic k pokrytí všech olejových kapiček, což vede k jejich zvětšení. Tento jev snižuje celkovou plochu rozhraní a destabilizuje emulzi. Zvýšení koncentrace MCC má pozitivní vliv na stabilitu emulzí, což naznačuje, že více celulósových částic pomáhá pokrýt větší počet olejových kapiček a udržet stabilní strukturu emulze. [64]

## 7.4 Antioxidační aktivita

Na závěr byla u vybraných emulzí změřena antioxidační aktivita. Byly vybrány emulze O/V 10:90 s koncentrací MCC 0,25% a 0,5% s esenciálními oleji citronem, tymiánem a kopaivou, emulze s levandulí byly z tohoto testu vyloučeny kvůli jejich nízké stabilitě. Nejdříve byl připraven vzorek z každé emulze a ihned po přidání DPPH byla proměřena absorbance na spektrofotometru V-750 v časových intervalech (viz tabulka 10). Měření antioxidační aktivity ukázalo, že emulze s různými esenciálními oleji vykazují odlišnou úroveň antioxidační aktivity.

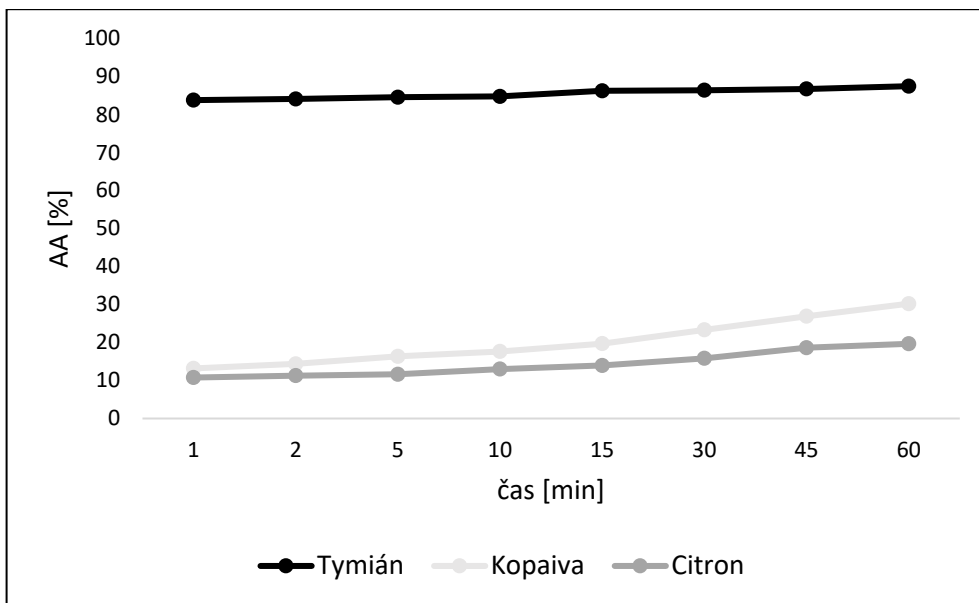
Tabulka 11: Antioxidační aktivita vybraných emulzí O/V 10:90

Čas [min]	Tymián		Kopaiva		Citron	
	MCC 0,25%	MCC 0,5%	MCC 0,25%	MCC 0,5%	MCC 0,25%	MCC 0,5%
1	84	84	13	41	11	36
2	84	85	14	41	11	36
5	85	85	16	42	12	38
10	85	85	18	44	13	38
15	86	85	20	45	14	40
30	86	85	23	48	16	42
45	87	86	27	51	19	43
60	88	87	30	55	20	44

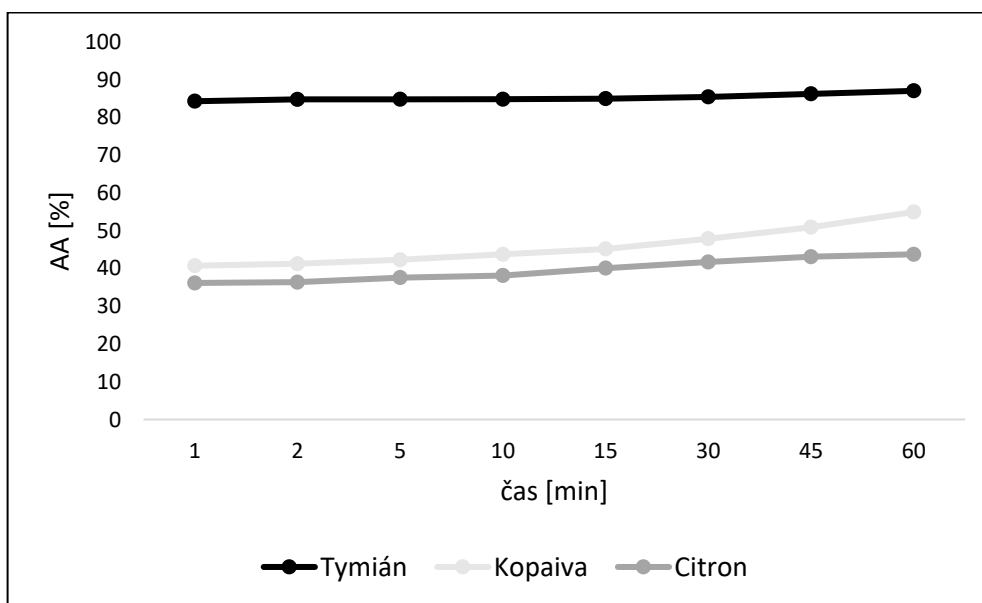
Nejprve byl proveden test s tymiánem, kde po přidání DPPH byla okamžitě pozorována reakce, při které byly radikály zneutralizovány, vzorek ztratil barvu a zbarvil se do žluta. Emulze s tymiánem vykazují okamžitou a vysokou antioxidační aktivitu, v čase 1 min byla AA 84 % a po 60 min se zvýšila jen mírně, a to na 87 %. Množství MCC u tymiánových emulzí AA neovlivnilo. Naopak tomu bylo ale u emulzí s kopaivou a citronem, kde můžeme vidět rozdíl v AA mezi koncentracemi MCC. Větší antioxidační aktivitu měly emulze s koncentrací MCC 0,5%. U obou emulzí došlo v průběhu měření k vyššímu zvýšení AA, než tomu bylo u emulzí s tymiánem. U emulze s kopaivou při koncentraci MCC 0,5% byla AA v čase 1 min 41 % a po 60 min vzrostla na 55 %, zatímco při nižší koncentraci MCC 0,25% byla AA v čase 1 min 13 % a po 60 min stoupla na 30 %. U emulze s citronem u koncentrace 0,5% MCC byla AA 36 % a po 60 min vzrostla na 44 % a při koncentraci MCC 0,25% byla AA 11 % a vzrostla pouze na 20 %. Z výsledků rovněž vyplývá, že emulze



s kopaivou mají vyšší AA než emulze s citronem, jak lze vidět i na obrázcích 38 a 39. Avšak největší antioxidační aktivitu má v obou případech tymián. Několik studií ukázalo, že obsah fenolů silně souvisí s antioxidační aktivitou. Podle studie Alsaraf a kol. [97] zkoumali antioxidační potenciál tymiánu. Tymiánový olej, který má hlavní složku thymol inhiboval až 72 % DPPH radikálů. Ostatní EO nemají tak silné zastoupení fenolů, a tím pádem mají nižší AA.

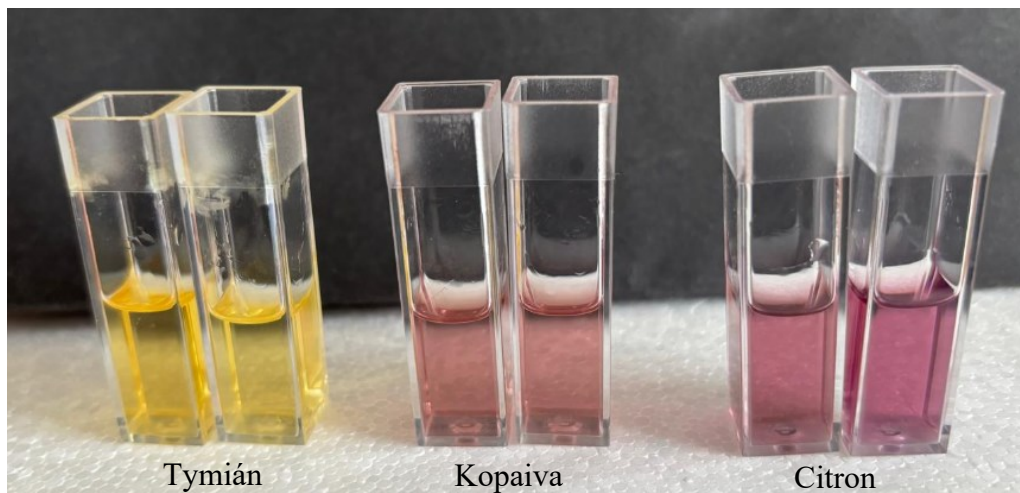


Obrázek 38: Antioxidační aktivita emulzí O/V 10:90 s 0,25% MCC



Obrázek 39: Antioxidační aktivita emulzí O/V 10:90 s 0,5% MCC

Obrázek 40 poskytuje vizuální ukázkou reakce methanolového extraktu s esenciálními oleji po přidání DPPH. Tymián, jehož vzorek je vlevo, ukazuje výraznou změnu barvy na žlutou, což naznačuje aktivitu při neutralizaci volných radikálů. Kopaiva uprostřed má také odlišnou barvu, přecházející v hnědou, což znamená, že i ona vykazuje určitou antioxidační aktivitu. Naopak vzorek citronu vpravo zůstává téměř nezměněn, což naznačuje menší schopnost neutralizovat volné radikály. Tato pozorování podporují výsledky měření absorbance, které ukázaly rozdílnou úroveň antioxidační aktivity mezi těmito vzorky.



Obrázek 40: Vzorky po měření absorbance s 0,25% MCC (vlevo) a 0,5% MCC (vpravo)

## ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na studium Pickeringových emulzí stabilizovaných mikrokrystalickou celulózą s různými esenciálními oleji. Cílem bylo najít vhodný poměr O/V a optimální množství mikrokrystalické celulózy, aby emulze byla co nejvíce stabilní a vhodná pro další použití v kosmetickém průmyslu. Pickeringovy emulze byly charakterizovány pomocí vizuálního pozorování, indexu krémování, emulgační účinnosti, velikosti částic a zeta potenciálu. Dále byla sledována mikrostruktura emulzí a bylo zkoumáno, jak jednotlivé složky esenciálních olejů ovlivňují jejich vlastnosti.

Nejprve byla provedena charakterizace mikrokrystalické celulózy (MCC) tím, že byla připravena její disperze a zjištěna přesná koncentrace. Poté byl určen isoelektrický bod a bylo sledováno chování MCC při různých pH. Následně byla provedena charakterizace jednotlivých esenciálních olejů pomocí plynové chromatografie, kde bylo ověřeno složení podle technické specifikace výrobce.

Dalším krokem bylo připravit Pickeringovy emulze stabilizované mikrokrystalickou celulózą. Emulze byly připraveny v poměru O/V 10:90 s esenciálními oleji citronu, tymiánu, levandule a kopaivy při třech různých koncentracích mikrokrystalické celulózy. Tento poměr byl zvolen jako optimální pro přípravu stabilních emulzí. Nejstabilnější se ukázala emulze s kopaivou a koncentrací 0,5 % MCC, což naznačuje její vhodnost pro další využití. Tato emulze vydržela nejdéle stabilní, měla nejmenší velikost částic a nejnižší zeta potenciál. Naopak emulze s levandulí prokázala nejnižší stabilitu, kdy docházelo k fázové separaci a velikost částic byla příliš velká. Pravděpodobnou příčinou nestability emulze bylo složení esenciálního oleje levandule, zejména polarita a vysoký obsah linaloolu, který mohl způsobit koalescenci. Emulze s citronem vykazovaly stabilní chování ihned po přípravě, avšak stabilita po čase rapidně klesala, což je pravděpodobně způsobeno složením EO citronu. S rostoucí koncentrací MCC se zvyšovala stabilita emulzí s tymiánem, to představuje zajímavou perspektivu pro další využití. Obecně lze říct, že čím vyšší koncentrace MCC, tím vyšší stabilita emulzí.

Pro porovnání byly dále připraveny Pickeringovy emulze v poměru O/V 5:95 a 20:80. Nejprve byla provedena analýza emulgační účinnosti, kde v obou poměrech dosáhla hodnoty 100 %, s výjimkou emulze s levandulí v poměru O/V 20:80. Index krémování byl celkově lepší u poměru O/V 5:95, přičemž emulze lze zhodnotit jako kineticky stabilní. V poměru O/V 20:80 dosáhla emulze s kopaivou indexu krémování 100 %, kdy nedocházelo k jejímu

krémování. Největší rozdíl byl viděn opět u emulze s levandulí. Pokud jde o velikost částic, nejvyšší byla v obou poměrech u emulze s levandulí, zatímco nejmenší byla při poměru O/V 5:95 u kopaivy a u emulze s citronem při poměru O/V 20:80. Posledním sledovaným parametrem byl zeta potenciál, kde nejméně stabilní byl v obou poměrech emulze s tymiánem. Z těchto dvou poměrů se jeví jako stabilnější poměr O/V 5:95, což lze posoudit ze sledovaných parametrů. Jako nejstabilnější emulze lze označit emulzi s kopaivou.

Posledním testem byla antioxidační aktivita, která byla provedena pouze u emulze citronu, tymiánu a kopaivy v poměru O/V 10:90 s koncentrací MCC 0,25 a 0,5 %. Nejvyšší AA prokázal tymián, který rychle reagoval a neutralizoval volné radikály, a to jak při koncentraci 0,25 %, tak i při 0,5 % MCC. Emulze s kopaivou vykázala nižší AA v koncentraci MCC 0,25 %. Nejnižší účinek v neutralizaci volných radikálů ukázala emulze s citronem s koncentrací 0,25 % MCC. Vyšší AA se projevila u emulzí s 0,5% MCC.

Závěrem lze říct, že na stabilitu emulzí mělo složení esenciálních olejů významný vliv, kdy záleží především na polaritě nejvíce zastoupené látky. Dalším faktorem ovlivňujícím stabilitu bylo množství MCC, přičemž vyšší koncentrace MCC vedly k lepším vlastnostem a stabilitě emulze. Poměr O/V 10:90 se jevil jako optimální, kdy emulze v tomto poměru vykazovaly nejlepší chování. Nejstabilnější emulze byla identifikována jako emulze s kopaivou obsahující 0,5 % MCC, což by mohlo naznačovat její vhodnost pro budoucí využití v kosmetickém průmyslu.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] XU, Tian; YANG, Jie; HUA, Shuxian; HONG, Yan; GU, Zhengbiao et al. Characteristics of starch-based Pickering emulsions from the interface perspective. Online. Trends in Food Science & Technology. 2022, č. 105, s. 334-346. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.026>. [cit. 2023-11-10].
- [2] CHEVALIER, Yves a BOLZINGER, Marie-Alexandrine. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. Online. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2013, č. 439, s. 23-24. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2013.02.054>. [cit. 2023-11-10].
- [3] PEITO, Sofia; PEIXOTO, Diana; FERREIRA-FARIA, Inês; MARTINS, Anna Margarida; RIBEIRO, Helena Margarida et al. Nano- and microparticle-stabilized Pickering emulsions designed for topical therapeutics and cosmetic applications. Online. International Journal of Pharmaceutics, 2022. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2022.121455>. [cit. 2023-11-10].
- [4] GUZMÁN, Eduardo; ORTEGA, Francisco a RUBIO, Ramón G. Pickering Emulsions: A Novel Tool for Cosmetic Formulations. Online. 2022, roč. 9, č. 4, s. 68. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/cosmetics9040068>. [cit. 2023-03-19].
- [5] LAM, Stephanie; VELIKOV, Krassimir P. a VELEV, Orlin D. Pickering stabilization of foams and emulsions with particles of biological origin. Online. Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2014, roč. 19, č. 5, s. 490-500. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2014.07.003>. [cit. 2023-12-19].
- [6] TANG, Juntao; QUINLAN, Patrick James a TAM, Kam Chiu. Stimuli-responsive Pickering emulsions: recent advances and potential applications. Online. Soft Matter. 2015, č. 15. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1039/C5SM00247H>. [cit. 2023-12-19].
- [7] YANG, Yunqi; FANG, Zhiwei; CHEN, Xuan; ZHANG, Weiwang; XIE, Yanhmei et al. An Overview of Pickering Emulsions: Solid-Particle Materials, Classification, Morphology, and Applications. Online. Sec. Experimental Pharmacology and Drug Discovery. 2017, č. 8. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00287>. [cit. 2023-12-19].
- [8] HARMAN, Clarissa L.G.; PATEL, Mehzabin A.; GULDIN, Stefan a DAVIES, Gemma-Louise. Recent developments in Pickering emulsions for biomedical applications. Online.

Current Opinion in Colloid & Interface Science. 2019, roč. 39, s. 173-189. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cocis.2019.01.017>. [cit. 2023-12-19].

[9] ABHILASH, M. a THOMAS, D. Biopolymers for Biocomposites and Chemical Sensor Applications. Online. Biopolymer Composites in Electronics. 2017, s. 405-435. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809261-3.00015-2>. [cit. 2024-02-12].

[10] BASHARI, Azadeh; ROHANI, Anahita a SHAKERI, Mina. Cellulose-based hydrogels for personal care products. Online. Polymers for Advanced Technologies. 2018, roč. 29, č. 41. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/pat.4290>. [cit. 2024-02-12].

[11] MOON, Robert J.; MARTINI, Ashlie; NAIRN, John A. a SIMONSEN, John. ChemInform Abstract: Cellulose Nanomaterials Review: Structure, Properties and Nanocomposites. Online. PubMed. 2011, roč. 40. Dostupné z: <https://doi.org/10.1039/c0cs00108b>. [cit. 2024-02-12].

[12] SAMIEE, Sara; AHMADZADEH, Hossein; LYON, Stephan a HOSSEINI, Majid. Algae as a Source of Microcrystalline Cellulose. In: Advanced Bioprocessing for Alternative Fuels, Biobased Chemicals, and Bioproducts. 1. Elsevier, Woodhead Publishing, 2019, s. 331-350. ISBN 9780128179420.

[13] MANOUKIAN, Ohan S.; SARDASHTI, Naseem; STEDMAN, Teagen; GAILIUNAS, Katie; OJHA, Anurag et al. Biomaterials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. In: Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier, 2019, s. 462-482. ISBN 9780128012383.

[14] KALIA, Susheel; DUFRESNE, Alain; CHERIAN, Bibin Mathew; KAITH, B. S.; AVÉROUS, Luc et al. Cellulose-Based Bio- and Nanocomposites: A Review. Online. 2011. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1155/2011/837875>. [cit. 2024-03-20].

[15] ISLAM, Md Nazrul a RAHMAN, Fatima. Production and modification of nanofibrillated cellulose composites and potential applications. Online. In: Green Composites for Automotive Applications. Woodhead Publishing Series in Composites Science and Engineering, 2019, s. 115-141. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780081021774000069>. [cit. 2024-03-20].

- [16] ZUGENMAIER, Peter. Order in cellulose: Historical review of crystal structure research on cellulose. Online. *Carbohydrate Polymers*. 2021, č. 254. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117417>. [cit. 2024-03-20].
- [17] LOELOVICH, Michael a PUGLIA, Debora. Preparation, Characterization and Application of Amorphized Cellulose—A Review. Online. *Polymers*. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym13244313>. [cit. 2024-03-20].
- [18] BANGAR, Sneha Punia; ESUA, Okon Johnson; NICKHIL, C. a WHITESIDE, William Scott. Microcrystalline cellulose for active food packaging applications: A review. Online. *Food Packaging and Shelf Life*. 2023, č. 36. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.foodres.2023.101048>. [cit. 2024-03-20].
- [19] JIANG, Long; MORELIUS, Erving; ZHANG, Jinwen a WOLCOTT, Michael P. Study of the Poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate)/Cellulose Nanowhisker Composites Prepared by Solution Casting and Melt Processing. Online. *Journal of Composite Materials*. Roč. 42, č. 24, s. 2629-2645. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/0021998308096327>. [cit. 2024-03-20].
- [20] COSTA, Carolina; ROSA, Pedro; FILIPE, Alexandra; MEDRONHO, Bruno; ROMANO, Anabela et al. Cellulose-stabilized oil-in-water emulsions: Structural features, microrheology, and stability. Online. *Carbohydrate Polymers*. 2021, č. 252. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117092>. [cit. 2024-03-20].
- [21] JAFARI, Mina; SRIRAM, Vishnu; XU, Zhenyuan; HARRIS, Greg M. a LEE, Joo-Youp. Fucoidan-Doxorubicin Nanoparticles Targeting P-Selectin for Effective Breast Cancer Therapy. Online. *Carbohydrate Polymers*. č. 249. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116837>. [cit. 2024-03-20].
- [22] MEIRELLES, Aureliano Agostinho Dias; COSTA, Ana Letícia Rodrigues a CUNHA, Rosiane Lopes. The stabilizing effect of cellulose crystals in O/W emulsions obtained by ultrasound process. Online. *Food Research International*. 2020, č. 128. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108746>. [cit. 2024-03-20].
- [23] SHARMEEN, Jugreet B.; MAHOMOODALLY, Fawzi M.; ZENGIN, Gokhan a MAGGI, Filippo. Essential Oils as Natural Sources of Fragrance Compounds for Cosmetics and Cosmeceuticals. Online. *Molecules*. 2021, roč. 26, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26030666>. [cit. 2024-03-20].

- [24] BASER, K. Hüsnü Can a BUCHBAUER, Gerhard. Handbook of essential oils: science, technology and applications. 3. CRC Press, Taylor and Francis Group, 2021. ISBN 978-1-4200-6315-8.
- [25] GUZMÁN, Eduardo a LUCIA, Alejandro. Essential Oils and Their Individual Components in Cosmetic Products. Online. Cosmetics. roč. 4, č. 8. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.3390/cosmetics8040114>. [cit. 2024-03-20].
- [26] DHIFI, Wissal; BELLILI, Sana; JAZI, Sabrine; BAHLOUL, Nada a MNIF, Wissem. Essential Oils' Chemical Characterization and Investigation of Some Biological Activities: A Critical Review. Online. Medicines. 2016, roč. 4, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>. [cit. 2024-03-20].
- [27] PURCHON, Nerys a CANTELE, Lora. In: The Complete Aromatherapy & Essential Oils Handbook for Everyday Wellness. Rober Rose, 2014, s. 480. ISBN 0778804860.
- [28] RAFIQ, Aasima; MANZOOR, Bushra; NAYEEM, Mariya; JABEEN, Abida a AMIN, Quraazah A. Extraction of essential oils. Online. In: Extraction Processes in the Food Industry. Elsevier, 2023, s. 279-298. [cit. 2024-03-20].
- [29] TONGNUANCHAN, Phakawat a BENJAKUL, Soottawat. Essential Oils: Extraction, Bioactivities, and Their Uses for Food Preservation. Online. Journal of Food Science. 2014, č. 79. Dostupné z: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.12492>. [cit. 2024-03-20].
- [30] AHMAD, Akil; MOHD-SETAPAR, Siti Hamidah a KARAKUCUK, Alptug. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. Online. 2018, roč. 19, č. 13. Dostupné z: <https://doi.org/10.2174/1389200219666180723144850>. [cit. 2024-03-20].
- [31] GONZALEZ-RIVERA, José; DUCE, Celia; CAMPANELLA, Beatrice; BERNAZZANI, Luca; FERRARI, Carlo et al. In situ microwave assisted extraction of clove buds to isolate essential oil, polyphenols, and lignocellulosic compounds. Online. Industrial Crops and Products. 2021, č. 161. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113203>. [cit. 2024-03-20].
- [32] ASBAHANI, A. El; MILADI, K.; BADRI, W.; SALA, M.; ADDI, E.H. et al. Essential oils: From extraction to encapsulation. Online. International Journal of Pharmaceutics. 2015, č. 483, s. 220-243. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2014.12.069>. [cit. 2024-03-20].



- [33] ANIBOGWU, Rosemary; JESUS, Karl De; PRADHAN, Samjhana; PASHIKANTI, Srinath; MATEEN, Sameena et al. Extraction, Isolation and Characterization of Bioactive Compounds from Artemisia and Their Biological Significance: A Review. Online. 2021, roč. 26, č. 22. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26226995>. [cit. 2024-03-20].
- [34] PRADO, Juliana a ROSTAGNO, Mauricio. Natural Product Extraction: Principles and Applications. Online. In: Green Chemistry Series. Royal society of chemistry, 2022, s. 235-275. ISBN 978-1-83916-590-0. [cit. 2024-03-20].
- [35] VISKELIS, Jonas a SURGUCHOV, Andrei. Essential Oil Extraction Process. Online. In: Essential Oils - Recent Advances, New Perspectives and Applications. 2024. ISBN 978-0-85014-204-4. [cit. 2024-03-20].
- [36] SARKIC, Asja a STAPPEN, Iris. Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. Online. Cosmetics. 2018, roč. 5, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/cosmetics5010011>. [cit. 2024-03-23].
- [37] SINDLE, Allison a MARTIN, Kari. Art of Prevention: Essential Oils - Natural Products Not Necessarily Safe. Online. Int J Womens Dermatol. 2021, roč. 7, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.ijwd.2020.10.013>. [cit. 2024-03-23].
- [38] RÁDIS-BAPTISTA, Gandhi, BOUAÏCHA, Nouredine (ed.). Do Synthetic Fragrances in Personal Care and Household Products Impact Indoor Air Quality and Pose Health Risks? Online. J Xenobiot. 2023, roč. 13, č. 1, s. 121-131. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/jox13010010>. [cit. 2024-03-23].
- [39] JAIN, Neetu a SHARMA, Meenakshi. Evaluation of Citrus lemon Essential Oil for its Chemical and Biological Properties Against Fungi Causing Dermatophytic Infection in Human Beings. Online. 2017, s. 402-409. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/22297928.2017.1349620>. [cit. 2024-03-23].
- [40] HSOUNA, Anis Ben; SIM, Smaoui; HALIMA, Nihed Ben a HAMDI, Naceur. Citrus limon essential oil: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with Its Preservative Effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. Online. Lipids in Health and Disease. 2017, roč. 16, č. 1. Dostupné z: <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0487-5>. [cit. 2024-03-23].

- [41] DOSOKY, Noura S. a SETZER, William N. Biological Activities and Safety of Citrus spp. Essential Oils. Online. *Int J Mol Sci.* 2018, roč. 19, č. 7. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms19071966>. [cit. 2024-03-23].
- [42] ÖZER, Zülfinaz; TEKE, Neslihan; TURAN, Gülcan Bahcecioglu a BAHÇECİK, Ayşe Nefise. Effectiveness of lemon essential oil in reducing test anxiety in nursing students. Online. *EXPLORE.* 2022, roč. 18, č. 5, s. 526-532. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.explore.2022.02.003>. [cit. 2024-04-26].
- [43] CHEVALLIER, Andrew. *Léčivé rostliny.* Noxi, 2004. ISBN 80-89179-02-9.
- [44] KOWALCZYK, Adam; PRZYCHODNA, Martyna; SOPATA, Sylwia; BODALSKA, Agnieszka a FECKA, Izabela. Thymol and Thyme Essential Oil—New Insights into Selected Therapeutic Applications. Online. *Molecules.* 2020, roč. 25, č. 18. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules25184125>. [cit. 2024-03-23].
- [45] VASSILIOU, Evros; AWOLEYE, Oreoluwa; DAVIS, Amanda a MISHRA, Sasmita. Anti-Inflammatory and Antimicrobial Properties of Thyme Oil and Its Main Constituents. Online. *Int J Mol Sci.* 2023, roč. 24, č. 8. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/ijms24086936>. [cit. 2024-03-23].
- [46] TURAL, Serpil a TURHAN, Sadettin. ANTIMICROBIAL AND ANTIOXIDANT PROPERTIES OF THYME (*Thymus vulgaris* L.), ROSEMARY (*Rosmarinus officinalis* L.) AND LAUREL (*Lauris nobilis* L.) ESSENTIAL OILS AND THEIR MIXTURES. Online. *The Journal of Food.* roč. 42, č. 5, s. 588-596. Dostupné z: <https://doi.org/10.15237/gida.GD17030>. [cit. 2024-03-23].
- [47] ESCOBAR, Angélica; PÉREZ, Miriam; ROMANELLI, Gustavo a BLUSTEIN, Guillermo. Thymol bioactivity: A review focusing on practical applications. Online. *Arabian Journal of Chemistry.* 2020, s. 9243-9269. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2020.11.009>. [cit. 2024-03-23].
- [48] POKAJEWICZ, Katarzyna; BIAŁOŃ, Marietta; SVYDENKO, Liudmyla; FEDIN, Roman a HUDZ, Natalia. Chemical Composition of the Essential Oil of the New Cultivars of *Lavandula angustifolia* Mill. Bred in Ukraine. Online. *Molecules.* roč. 26, č. 18. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26185681>. [cit. 2024-03-23].
- [49] KIVRAK, Şeyda. Essential oil composition and antioxidant activities of eight cultivars of Lavender and Lavandin from western Anatolia. Online. *Industrial Crops and Products.*

2018, s. 88-96. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.02.089>. [cit. 2024-03-23].

[50] KAJJARI, Shweta; JOSHI, Riddhi S.; HUGAR, Shivayogi M.; GOKHALE, Niraj; MEHARWADE, Priya et al. The Effects of Lavender Essential Oil and its Clinical Implications in Dentistry: A Review. Online. *Int J Clin Pediatr Dent.* 2022, roč. 15, č. 3, s. 385-388. Dostupné z: <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-2378>. [cit. 2024-03-23].

[51] DIASS, Khaoula; MERZOUKI, Mohammed; ELFAZAZI, Kaoutar; AZZOUZI, Hanane; CHALLIOUI, Allal et al. Essential Oil of *Lavandula officinalis*: Chemical Composition and Antibacterial Activities. Online. *Plants.* 2023, roč. 12, č. 7. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.3390/plants12071571>. [cit. 2024-03-23].

[52] WELLS, Rebecca; TRUONG, Felisha; ADAL, Ayelign M.; SARKER, Lukman S. a MAHMOUD, Soheil S. *Lavandula* Essential Oils: A Current Review of Applications in Medicinal, Food, and Cosmetic Industries of Lavender. Online. 2018. Dostupné z: <https://doi.org/10.1177/1934578X1801301038>. [cit. 2024-03-23].

[53] NIRANJANA, Murthy Hosakatte a RAMAWAT, K.G, MÉRILLON, J.M. (1<sup>st</sup> ed.). *Gums, Resins and Latexes of Plant Origin: Chemistry, Biological Activities and Uses.* Springer, 2022, s. 377–397. ISBN 9783030913779.

[54] LEE, Joseph; WANG, Mei; ZHAO, Jianping; ALI, Zulfiqar; HAWWAI, Mohammed F. et al. SettingsOrder Article Reprints Open AccessArticle Chemical Characterization and Quality Assessment of Copaiba Oil-Resin Using GC/MS and SFC/MS. Online. *Plants.* 2023, roč. 12, č. 8. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/plants12081619>. [cit. 2024-03-23].

[55] CARDINELLI, Camila Castanho; SILVA, Josiane Elizabeth Almeida e; RIBEIRO, Rayssa; VEIGA-JUNIOR, Valdir F.; DOS SANTOS, Elisabete Pereira et al. Toxicological Effects of Copaiba Oil (*Copaifera* spp.) and Its Active Components. Online. roč. 12, č. 5. Dostupné z: 2023, <https://doi.org/doi.org/10.3390/plants12051054>. [cit. 2024-03-23].

[56] CAMPANHOLI, Katieli da Silva Souza; CAZELATTO DA SILVA, Isabella; SAID DOS SANTOS, Rafaela; VECCHI, Camila Félix; BASSI DA SILVA, Jéssica et al. Thermoresponsive micellar emulgel for topical release of Rose bengal dye and *Copaifera reticulata* Ducke: A phototherapeutic treatment alternative. Online. *Journal of Molecular Liquids.* Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121807>. [cit. 2024-03-23].

- [57] MENEZES, Ana Carolina dos Santos; ALVES, Lisia Daltro Borges; GOLDEMBERG, Daniel Cohen; MELO, Andréia Cristine de a ANTUNES, Héilton Spindola. Anti-inflammatory and wound healing effect of Copaiba oleoresin on the oral cavity: A systematic review. Online. *Heliyon*. 2022, roč. 8, č. 2. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e08993>. [cit. 2024-03-23].
- [58] LIU, Ji-Kai. Natural products in cosmetics. Online. *Natural Products and Bioprospecting*. 2022. Dostupné z: <https://doi.org/10.1007/s13659-022-00363-y>. [cit. 2024-03-23].
- [59] SOUSA, Vânia Isabel; PARENTE, Joana Filipa; MARQUES, Juliana Filipa; FORTE, Marta Adriana a TAVARES, Carlos José. Microencapsulation of Essential Oils: A Review. Online. *Polymer (Basel)*. 2022, roč. 14, č. 9. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym14091730>. [cit. 2024-03-28].
- [60] MARTINS, Isabel M.; BARREIRO, Maria F.; COELHO, Manuel a RODRIGUES, Alírio E. Microencapsulation of essential oils with biodegradable polymeric carriers for cosmetic applications. Online. *Chemical Engineering Journal*. 2014, s. 191-200. Dostupné z: <https://doi.org/10.1016/j.cej.2014.02.024>. [cit. 2024-03-28].
- [61] CAHYANA, Yana; PUTRI, Yunita Safiliani Eka; SOLIHAN, Dian Siti; LUTFI, Farrah Shabira; ALQURASHI, Randah Miqbil et al. Pickering Emulsions as Vehicles for Bioactive Compounds from Essential Oils. Online. *Molecules*. 2022, roč. 27, č. 22. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/molecules27227872>. [cit. 2024-04-24].
- [62] ORTIZ, Danae Gonzalez; POCHAT-BOHATIER, Celine; CAMBEDOUZOU, Julien; BECHLANY, Mikhael a MIELE, Philippe. Current Trends in Pickering Emulsions: Particle Morphology and Applications. *Engineering*. 2020, roč. 6, č. 4, s. 468-482.
- [63] ZHENG, Ruiting; ZHAO, Tong; LIN, Xiaorong; CHEN, Zhongzheng; LI, Bin et al. Fabrication, characterization, and application of Pickering emulsion stabilized by tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) waste microcrystalline cellulose. Online. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2022, s. 2150-2160. Dostupné z: <https://doi.org/10.1080/01932691.2022.2063883>. [cit. 2024-04-27].
- [64] AHSAN, Hafiz Muhammad; ZHANG, Xingzhong; LI, Yan; LI, Bin a LIU, Shilin. Surface modification of microcrystalline cellulose: Physicochemical characterization and applications in the Stabilization of Pickering emulsions. *Biological Macromolecules*. 2019, 132, s. 1176-1184.

- [65] LI, Juan; XU, Xueer; CHEN, Zhengxing; WANG, Tao; LU, Zhengjie et al. Zein/gum Arabic nanoparticle-stabilized Pickering emulsion with thymol as an antibacterial delivery system. *Carbohydrate Polymers*. 2018, s. 416-426.
- [66] ZACHAŘ, P. a SÝKORA, D. Plynová chromatografie. Online. Dostupné z: <https://old.vscht.cz/anl/lach2/GC.pdf>. [cit. 2024-04-24].
- [67] GUMUSTAS, Mehmet. Effect of Polymer-Based Nanoparticles on the Assay of Antimicrobial Drug Delivery Systems. *Multifunctional Systems for Combined Delivery, Biosensing and Diagnostics*. 2017, s. 67-108.
- [68] DING, Zhiying; JIANG, Yueyao a LIU, Xianhong. Nanoemulsions-Based Drug Delivery for Brain Tumors. *Nanotechnology-Based Targeted Drug Delivery Systems for Brain Tumors*. 2018, s. 327-358.
- [69] Mastersizer 3000. Online. Malvern Panalytical. Dostupné z: [https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/mastersizer-range/mastersizer-3000-plus-ultra?utm\\_source=google&utm\\_medium=cpc&utm\\_campaign=EN%20-%20CEMEA%20-%20Search&utm\\_term=mastersizer%203000&utm\\_content=EN%20-%20Product%20-%20Mastersizer&gad\\_source=1&gclid=CjwKCAjw26KxBhBDEiwAu6KXtxua\\_-LdYj6F9x1at7PPt7Nege25TPBAITNGGsd7WWWR26UxDKDdNB0CnpwQAvD\\_BwE](https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/mastersizer-range/mastersizer-3000-plus-ultra?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=EN%20-%20CEMEA%20-%20Search&utm_term=mastersizer%203000&utm_content=EN%20-%20Product%20-%20Mastersizer&gad_source=1&gclid=CjwKCAjw26KxBhBDEiwAu6KXtxua_-LdYj6F9x1at7PPt7Nege25TPBAITNGGsd7WWWR26UxDKDdNB0CnpwQAvD_BwE). [cit. 2024-04-24].
- [70] LAWLOR, Dee. *Introduction to Light Microscopy*. Springer, 2019. ISBN 978-3-030-05392-5.
- [71] SANDERSON, Jeremy. *Fundamentals of Microscopy*. Online. *CurrentProtocols in Mouse Biology*. 2020. Dostupné z: <https://doi.org/10.1002/cpmo.76>. [cit. 2024-04-24]. [74] Enkapsulační účinnost
- [72] URBÁNKOVÁ, Lucie; KAŠPÁRKOVÁ, Věra; EGNER, Pavlína; RUDOLF, Ondřej a KORÁBKOVÁ, Eva. Caseinate-Stabilized Emulsions of Black Cumin and Tamanu Oils: Preparation, Characterization and Antibacterial Activity. Online. *Polymers*. Roč. 2019. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/polym11121951>. [cit. 2024-04-27].
- [73] MISHRA, Krishnanand; OJHA, Himanshu a CHAUDHURY, Nabo Kumar. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPHradical dot assay: A critical review and

results. Online. Food Chemistry. 2012, roč. 32, č. 1, s. 1036-1043. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.07.127>. [cit. 2024-04-30].

[74] TAN, KoK Bing; ABDULLAH, Ahmad Zuhairi; HORRI, Bahman Amini a SALAMATINIA, Babak. Online. Adsorption Mechanism of Microcrystalline Cellulose as Green Adsorbent for the Removal of Cationic Methylene Blue Dye. Journal of the chemical society of pakistan . 2016, roč. 38, č. 4, s. 651-664. Dostupné z: [https://www.researchgate.net/publication/309537852\\_Adsorption\\_Mechanism\\_of\\_Microcrystalline\\_Cellulose\\_as\\_Green\\_Adsorbent\\_for\\_the\\_Removal\\_of\\_Cationic\\_Methylene\\_Blue\\_Dye](https://www.researchgate.net/publication/309537852_Adsorption_Mechanism_of_Microcrystalline_Cellulose_as_Green_Adsorbent_for_the_Removal_of_Cationic_Methylene_Blue_Dye). [cit. 2024-04-27].

[75] ÉTERICKÝ OLEJ CITRON. Online. 2019. Dostupné z: [https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Citron\\_E0075.pdf?v=5w5rRT&\\_gl=1\\*1xkavxv\\*\\_ga\\*MTk5MDg1NzY3OC4xNjgxMzg1Nzkw\\*\\_ga\\_Z21ZXNSVCB\\*MTcxNDIyODY4MC4xOS4xLjE3MTQyMjg3MTAuMzAuMC4w](https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Citron_E0075.pdf?v=5w5rRT&_gl=1*1xkavxv*_ga*MTk5MDg1NzY3OC4xNjgxMzg1Nzkw*_ga_Z21ZXNSVCB*MTcxNDIyODY4MC4xOS4xLjE3MTQyMjg3MTAuMzAuMC4w). [cit. 2024-04-27].

[76] INTERANTIONAL STANDARD. ISO 855:2003, Oil of lemon [Citrus limon (L.) Burm. f.], obtained by expression. Second edition. 2003.

[77] NIKFAR, S. a BEHBOUDI, A.F. Encyclopedia of Toxicology. Online. 3. Elsevier, 2014. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00628-X>. [cit. 2024-04-27].

[78] Beta-Pinene. Online. PubChem Compound Summary for CID 14896. 2024. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/14896>. [cit. 2024-04-27].

[79] QI, Chang; ZHAO, Hongwei; LI, Wenyang; LI, Xing; XIANG, Haiying et al. Production of  $\gamma$ -terpinene by metabolically engineered Escherichia coli using glycerol as feedstock. Online. RSC Advances. 2018, č. 54. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1039/C8RA02076K>. [cit. 2024-04-27].

[80] ÉTERICKÝ OLEJ TYMIÁN, THYMOL. Online. 2019. Dostupné z: [https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Tymian\\_thymol\\_E0069.pdf?v=5w5rRT&\\_gl=1\\*1gt0k9p\\*\\_ga\\*MTkxOTcxMTQ5MC4xNzEzOTU4NDM5\\*\\_ga\\_Z21ZXNSVCB\\*MTcxMzk1ODQzOS4xLjEuMTcxMzk1OTI3NS40OC4wLjA](https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Tymian_thymol_E0069.pdf?v=5w5rRT&_gl=1*1gt0k9p*_ga*MTkxOTcxMTQ5MC4xNzEzOTU4NDM5*_ga_Z21ZXNSVCB*MTcxMzk1ODQzOS4xLjEuMTcxMzk1OTI3NS40OC4wLjA). [cit. 2024-04-27].

[81] INTERANTIONAL STANDARD. ISO 19817:2017, Essential oil of thyme [Thymus vulgaris L. and Thymus zygis L.], thymol type. 2017.

- [82] MEERAN, Mohamed Fizur Nagoor; JAVED, Hayate; TAEI, Hasan Al; AZIMULLAH, Sheikh a OJHA, Shreesh K. Pharmacological Properties and Molecular Mechanisms of Thymol: Prospects for Its Therapeutic Potential and Pharmaceutical Development. Online. *Front Pharmacol.* Roč. 2017. Dostupné z: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00380>. [cit. 2024-04-27].
- [83] BALAHBIB, Abdelaali; EL OMARI, Nasreddine; EL. HACHLAFI, Naoufal; LAKHDAR, Fatima; MENYIY, Naoual El et al. Health beneficial and pharmacological properties of p-cymene. Online. *Food and Chemical Toxicology.* 2021, č. 153. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.fct.2021.112259>. [cit. 2024-04-27].
- [85] ÉTERICKÝ OLEJ LEVANDULE. Online. 2019. Dostupné z: [https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Levandule\\_E0035.pdf?v=5w5rRT&\\_gl=1\\*oke8jw\\*\\_ga\\*MTkxOTcxMTQ5MC4xNzEzOTU4NDM5\\*\\_ga\\_Z21ZXNSVCB\\*MTcxMzk1ODQzOS4xLjEuMTcxMzk1OTUzNS4yNS4wLjA](https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Levandule_E0035.pdf?v=5w5rRT&_gl=1*oke8jw*_ga*MTkxOTcxMTQ5MC4xNzEzOTU4NDM5*_ga_Z21ZXNSVCB*MTcxMzk1ODQzOS4xLjEuMTcxMzk1OTUzNS4yNS4wLjA). [cit. 2024-04-27].
- [86] INTERNATIONAL STANDARD. ISO 3515:2002, Oil of lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.). Third edition. 2002.
- [87] SMART, Chris (ed.). In Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition. Online. *The Craft Brewing Handbook.* 2020, s. 1-46. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/B978-0-08-102079-1.00001-1>. [cit. 2024-04-27].
- [88] ELSHARIF, Shaimaa A.; BANERJEE, Ashutosh a BUETTNER, Andrea. Structure-odor relationships of linalool, linalyl acetate and their corresponding oxygenated derivatives. Online. 2015, č. 3. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.3389/fchem.2015.00057>. [cit. 2024-04-27].
- [89] ÉTERICKÝ OLEJ KOPAIVA. Online. 2023. Dostupné z: [https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Kopaiva\\_E0194.pdf?v=5w5rRT&\\_gl=1\\*z83b6b\\*\\_ga\\*MTk5MDg1NzY3OC4xNjgxMzg1Nzkw\\*\\_ga\\_Z21ZXNSVCB\\*MTcxNDIyODY4MC4xOS4xLjE3MTQyMzAzNjYuMTcuMC4w](https://cdn.nobilis.cz/image/original/content/Kopaiva_E0194.pdf?v=5w5rRT&_gl=1*z83b6b*_ga*MTk5MDg1NzY3OC4xNjgxMzg1Nzkw*_ga_Z21ZXNSVCB*MTcxNDIyODY4MC4xOS4xLjE3MTQyMzAzNjYuMTcuMC4w). [cit. 2024-04-27].
- [90] ESSENTIAL OIL CHROMATOGRAPHY SHEET RECORDS. Online. In: Florihana. Dostupné z: [https://www.fs.esa.int/adfs/lis?wa=wsignin1.0&wtrealm=urn%3atpa.esa.int%3aesa&wctx=https%3a%2f%2ftpa.esa.int%2f\\_layouts%2f15%2fAuthenticate.aspx%3fSource%3d%252F&wreply=https%3a%2f%2ftpa.esa.int%2f\\_trust%2fdefault.aspx](https://www.fs.esa.int/adfs/lis?wa=wsignin1.0&wtrealm=urn%3atpa.esa.int%3aesa&wctx=https%3a%2f%2ftpa.esa.int%2f_layouts%2f15%2fAuthenticate.aspx%3fSource%3d%252F&wreply=https%3a%2f%2ftpa.esa.int%2f_trust%2fdefault.aspx). [cit. 2024-05-07].

- [91] LIU, Hua; YANG, Guang; TANG, Yuanjun; CAO, Di; QI, Tian et al. Physicochemical characterization and pharmacokinetics evaluation of  $\beta$ -caryophyllene/ $\beta$ -cyclodextrin inclusion complex. Online. International Journal of Pharmaceutics. 2013, č. 450, s. 304-310. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.04.013>. [cit. 2024-04-27].
- [92] PILICHEVA, Bissera; UZUNOVA, Yordanka a KATSAROV, Plamen. Comparative Study on Microencapsulation of Lavender (*Lavandula angustifolia* Mill.) and Peppermint (*Mentha piperita* L.) Essential Oils via Spray-Drying Technique. Online. Molecules. 2021. Dostupné z: <https://doi.org/10.3390/molecules26247467>. [cit. 2024-04-29].
- [93] ZHANG, Qianjie; SHEN, Xingliang; CHANG, Shaonian; OU, Wenhua a ZHANG, Wanping. Effect of oil properties on the formation and stability of Pickering emulsions stabilized by ultrafine pearl powder. Online. Journal of Molecular Liquids. 2021. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116645>. [cit. 2024-04-29].
- [94] CHANAMAI, Ratjika; HORN, Gregory a MCCLEMENTS, David Julian. Influence of Oil Polarity on Droplet Growth in Oil-in-Water Emulsions Stabilized by a Weakly Adsorbing Biopolymer or a Nonionic Surfactant. Online. Journal of Colloid and Interface Science. 2002, roč. 247, č. 1, s. 167-176. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1006/jcis.2001.8110>. [cit. 2024-05-07].
- [95] SOUZA, Alana G.; FERREIRA, Rafaela R.; PAULA, Larissa C.; SETZ, Luiz F.G. a ROSA, Derval S. The effect of essential oil chemical structures on Pickering emulsion stabilized with cellulose nanofibrils. Online. Journal of Molecular Liquids. 2020, roč. 320. Dostupné z: <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114458>. [cit. 2024-05-07].
- [96] MIKULCOVÁ, Veronika; BORDES, Romain a KAŠPÁRKOVÁ, Věra. On the preparation and antibacterial activity of emulsions stabilized with nanocellulose particles. Online. Food Hydrocolloids. 2016, roč. 61, s. 780-792. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.06.031>. [cit. 2024-05-07].
- [97] ALSARAF, Shahad; HADI, Zainab; AL-LAWATI, Wafa Mustafa; AL LAWATI, Amal Abdullah a KHAN, Shah Alam. Chemical composition, in vitro antibacterial and antioxidant potential of Omani Thyme essential oil along with in silico studies of its major constituent. Online. Journal of King Saud University. 2020, roč. 32, č. 1, s. 1021-1028. Dostupné z: <https://doi.org/doi.org/10.1016/j.jksus.2019.09.006>. [cit. 2024-04-30].



**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

AA	Antioxidační aktivita
AC	Celulózové částice na bázi řas
BA	Bakteriální celulózové částice
BCP	$\beta$ -karofylen
CI	Index krémování
CMCNa	Karboxymethyl celulóza
CN	Celulózové nanočástice
CNC	Celulózové nanokrystaly
CNF	Celulózové nanofibrily
DPPH	2,2-difenyl-1-pikrylhydrazyl
EE	Emulgační účinnost
EO	Esenciální olej
FID	Plamenový ionizační detektor
HCl	Kyselina chlorovodíková
MCC	Mikrokrystalická celulóza
MeOH-EO	Vrchní transparentní část
MFC	Mikrokrystalická celulóza
NaOH	Hydroxid sodný
IPA	Isopropylalkohol
O/V	Emulze olej ve vodě
PE	Pickeringovy emulze
<i>pI</i>	Isoelektrický bod
SEM	Skenovací elektronový mikroskop
t-CNC	Celulózové nanokrystaly pláštěnců
ZP	Zeta potenciál

## SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek 1: Rozdíl mezi klasickou emulzí a emulzí Pickeringovou.....</i>	12
<i>Obrázek 2: Destabilizace emulzí .....</i>	13
<i>Obrázek 3: Strukturní vzorec celulózy.....</i>	19
<i>Obrázek 4: SEM mikrofotografie MCC [19] .....</i>	23
<i>Obrázek 5: Aparatura destilace vodní parou .....</i>	28
<i>Obrázek 6: Proces hydrodestilace .....</i>	29
<i>Obrázek 7: Strukturní vzorec limonenu .....</i>	33
<i>Obrázek 8: Schéma klíčových kroků biosyntézy thymolu a karvakrolu.....</i>	34
<i>Obrázek 9: Strukturní vzorec linaloolu .....</i>	36
<i>Obrázek 10: Chromatogram .....</i>	46
<i>Obrázek 11: Závislost zeta potenciálu MCC na pH .....</i>	52
<i>Obrázek 12: MCC při pH 2-9 .....</i>	53
<i>Obrázek 13: Mikroskopický snímek MCC při zvětšení 100x .....</i>	53
<i>Obrázek 14: Esenciální oleje vybrané pro analýzu .....</i>	54
<i>Obrázek 15: Chromatogram esenciálního oleje Citron (Nobilis Tilia).....</i>	56
<i>Obrázek 16: Strukturní vzorce: D-limonen, <math>\beta</math>-Pinen a <math>\gamma</math>-Terpinen .....</i>	57
<i>Obrázek 17: Chromatogram esenciálního oleje Tymjánu (Nobilis Tilia) .....</i>	58
<i>Obrázek 18: Strukturní vzorce: Thymol a p-Cymen .....</i>	59
<i>Obrázek 19: Chromatogram esenciálního oleje Levandule (Nobilis Tilia) .....</i>	60
<i>Obrázek 20: Strukturní vzorce: Linalool a Linalyl-acetát.....</i>	61
<i>Obrázek 21: Chromatogram Kopaiva (Nobilis Tilia).....</i>	62
<i>Obrázek 22: Strukturní vzorec <math>\beta</math>-Karyofylenu.....</i>	62
<i>Obrázek 23: Emulze O/V 10:90 s jednotlivými esenciálními oleji stabilizované 0,1–0,5 % MCC.....</i>	64
<i>Obrázek 24: porovnání emulze citronu ihned po přípravě a po měsíci.....</i>	66
<i>Obrázek 25: Velikost částic emulzí O/V 10:90 .....</i>	67
<i>Obrázek 26: Distribuce velikosti emulzních kapek všech esenciálních olejů s 0,1% MCC</i>	68
<i>Obrázek 27: Zeta potenciál všech emulzí O/V 10:90 s různými poměry MCC .....</i>	69
<i>Obrázek 28: Mikrostruktura emulze citronu a kopaivy při zvětšení 100x s koncentrací MCC 0,5%.....</i>	70
<i>Obrázek 29: Mikrostruktura emulze tymjánu a levandule při zvětšení 40x s koncentrací MCC 0,25%.....</i>	70
<i>Obrázek 30: Emulze O/V 5:95 s jednotlivými esenciálními oleji .....</i>	73
<i>Obrázek 31: Emulze O/V 20:80 s jednotlivými esenciálními oleji .....</i>	74
<i>Obrázek 32: Index krémování emulzí O/V 5:95 a O/V 20:80 s 0,5% MCC .....</i>	75

<i>Obrázek 33: Velikost částic emulzí O/V 5:95 .....</i>	<i>76</i>
<i>Obrázek 34: Distribuce velikosti emulzních kapek O/V 20:80 všech esenciálních olejů s 0,5% MCC.....</i>	<i>77</i>
<i>Obrázek 35: Zeta potenciál všech emulzí O/V 5:95 s různými poměry MCC .....</i>	<i>78</i>
<i>Obrázek 36: Mikrostruktura emulze tymiánu s 0,5% MCC v poměru O/V 5:95 (vlevo) a 20:80 (vpravo) při zvětšení 40x .....</i>	<i>78</i>
<i>Obrázek 37: Mikrostruktura emulze kopaivy s 0,1% MCC v poměru O/V 5:95 (vlevo) a 20:80 (vpravo) při zvětšení 100x .....</i>	<i>79</i>
<i>Obrázek 38: Antioxidační aktivita emulzí O/V 10:90 s 0,25% MCC .....</i>	<i>81</i>
<i>Obrázek 39: Antioxidační aktivita emulzí O/V 10:90 s 0,5% MCC .....</i>	<i>81</i>
<i>Obrázek 40: Vzorky po měření absorbance s 0,25% MCC (vlevo) a 0,5% MCC (vpravo)</i>	<i>82</i>

**SEZNAM TABULEK**

<i>Tabulka 1: Charakteristika různých celulózových částic, upraveno podle [11].....</i>	<i>22</i>
<i>Tabulka 2: Objemy nástřiků do injektoru jednotlivých esenciálních olejů .....</i>	<i>47</i>
<i>Tabulka 3: Příprava pro měření absorbance na spektrofotometru .....</i>	<i>51</i>
<i>Tabulka 4: Popis analyzovaných vzorků .....</i>	<i>54</i>
<i>Tabulka 5: Chromatografická analýza esenciálního oleje Citronu (Nobilis Tilia) ve srovnání s ISO normou 855:2003 [75, 76] .....</i>	<i>55</i>
<i>Tabulka 6: Chromatografická analýza esenciálního oleje Tymián (Nobilis Tilia) ve srovnání s ISO normou 19817:2017 [80, 81] .....</i>	<i>57</i>
<i>Tabulka 7: Chromatografická analýza esenciálního oleje Levandule (Nobilis Tilia) ve srovnání s ISO normou 3515:2002 [85, 86] .....</i>	<i>59</i>
<i>Tabulka 8: Chromatografická analýza esenciálního oleje Kopaiva (Nobilis Tilia) ve srovnání s jiným výrobcem (Florihana) [89, 90].....</i>	<i>61</i>
<i>Tabulka 9: Emulgační účinnost emulzí O/V 10:90 .....</i>	<i>65</i>
<i>Tabulka 10: Index krémování emulze O/V 10:90 .....</i>	<i>66</i>
<i>Tabulka 11: Antioxidační aktivita vybraných emulzí O/V 10:90.....</i>	<i>80</i>