

Formulace Pickeringových emulzí pro topické aplikace

Bc. Eva Korábková

Diplomová práce
2018



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2017/2018

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Eva Korábková**
Osobní číslo: **T16229**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **prezenční**

Téma práce: **Formulace Pickeringových emulzí pro topické aplikace**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. V teoretické části zpracujete literární rešerši na zadané téma. Věnujte se kosmetickým emulzím, jejich typům, vlastnostem, přípravě a charakterizaci. Zaměřte se na emulze stabilizované částicemi, tzv. Pickeringovy emulze, srovnajte jejich vlastnosti s ostatními typy emulzí a kriticky zhodnoťte výhody a nevýhody jejich použití v topických aplikacích.

II. Praktická část

1. V praktické části připravte emulze stabilizované částicemi nanokrystalické celulózy s obsahem lipofilních aktivních látek. Stanovte vliv formulace na velikost emulzních kapek, enkapsulační efektivitu a stabilitu připravených systémů. Pro charakterizaci připravených emulzí zvolte a použijte vhodné metody. Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

1. McClements, D.J., Nanoparticle- and microparticle-based delivery systems : encapsulation, protection and release of active compounds. 2014, Boca Raton, FL: CRC Press. ISBN 978-1-4822-3316-2.
2. Tadros, T.F.: Emulsion Science and Technology, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim, 2009, ISBN: 978-3-527-32525-2.
3. Casanova, F., Santos, L.: Encapsulation of cosmetic active ingredients for topical application a review. Journal of Microencapsulation, 2016. 33(1): p. 1-17.
4. Chevalier, Y., Bolzinger, M.A.: Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. Colloid Surf. A-Physicochem. Eng. Asp., 2013, 439, 23 34.
5. Marto, J., Ascenso, A., Simoes, S., Almeida, A.J., Ribeiro H.M.: Pickering emulsions: challenges and opportunities in topical delivery, Expert Opin Drug Deliv., 2016, 13 (8), 1093-1107.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc.

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

5. února 2018

Termín odevzdání diplomové práce:

18. května 2018

Ve Zlíně dne 5. února 2018



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



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

Příjmení a jméno: KORÁBKOVÁ EVA

Obor: TTDK

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové/bakalářské práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová/bakalářská práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byl/a jsem seznámen/a s tím, že na moji diplomovou/bakalářskou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užit své dílo – diplomovou/bakalářskou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové/bakalářské práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové/bakalářské práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové/bakalářské práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 15.5.2018

Korábková

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

(1) Vysoká škola nevdělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

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

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

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

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

ABSTRAKT

Diplomová práce se zabývá problematikou emulzí stabilizovaných částicemi, tzv. Pickeringových emulzí. V teoretické části je pozornost věnována Pickeringovým emulzím, jejich obecné charakteristice, používaným typům částic a principu stabilizace těchto systémů. Dále jsou zde uvedeny i možnosti použití Pickeringových emulzí v dermatologii a kosmetice. Praktická část práce se věnuje formulacím Pickeringových emulzí, jejichž olejovou fází tvoří triacylglycerol trikaprylin/trikaprin a součástí vodné fáze jsou celulózové nanokrystaly a oxid zinečnatý, které zde plní úlohu stabilizátorů. Připravené emulze byly charakterizovány pomocí měření velikosti emulzních kapek, ζ potenciálu, reologie a fázových studií. Mikrobiologické testy prokázaly antibakteriální vlastnosti připravených emulzí.

Klíčová slova: Pickeringovy emulze, stabilizace, celulózové nanokrystaly, ZnO, antibakteriální vlastnosti.

ABSTRACT

The thesis is dealing with emulsions stabilized by particles, so called Pickering emulsions. Attention is paid to Pickering emulsions and their general characteristics, types of particles used, and the principles of their stabilization. It also discusses the possible applications of Pickering emulsions in dermatology and cosmetics. The experimental part of the thesis is focused on formulations of Pickering emulsions containing triacylglycerol tricaprylin/tricaprin as an oil phase, and cellulose nanocrystals and zinc oxide in the aqueous phase, which serve as stabilizers. Characterization of prepared emulsions was performed by determining their particle size, ζ potential, rheological properties and phase studies. Microbiological tests confirmed the antibacterial properties of the emulsions prepared.

Keywords: Pickering emulsions, stabilization, cellulose nanocrystals, ZnO, antibacterial properties.

Ráda bych na tomto místě poděkovala vedoucí mé diplomové práce doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc. nejen za odborné vedení, pomoc a ochotu při zpracování této práce, ale i za vstřícnost, morální podporu a velkou trpělivost během celé naší spolupráce. Poděkování patří rovněž Ing. Veronice Mikulcové Ph.D. za ochotu, podporu a pomoc při zpracování experimentální části práce. Další poděkování patří Ing. Daniele Veselé za vstřícnost a účinnou pomoc během provádění mikrobiologických testů. Dále bych ráda poděkovala projektu IGA/CPS/2017/001 za umožnění realizace experimentální části práce. Velké poděkování náleží také rodině a blízkým, kteří ve mně věřili, podporovali mě a stáli při mně po celou dobu studia.

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

OBSAH

ÚVOD	10
I TEORETICKÁ ČÁST	11
1 KOSMETICKÁ VEHIKULA	12
1.1 KLASIFIKACE VEHIKUL.....	12
1.1.1 Klasifikace podle vzhledu	12
1.1.2 Klasifikace podle místa aplikace a použití	13
1.1.3 Klasifikace podle fyzikálně-chemických vlastností.....	13
1.2 ROZTOKY	13
1.3 GELY	14
1.4 SUSPENZE.....	14
2 EMULZE	16
2.1 KLASIFIKACE EMULZÍ.....	17
2.1.1 Makroemulze.....	17
2.1.2 Nanoemulze.....	17
2.1.3 Mikroemulze	18
2.2 PŘÍPRAVA EMULZÍ	18
2.2.1 Příprava klasických emulzí	19
2.2.2 Příprava mikroemulzí.....	19
2.2.3 Příprava nanoemulzí (PIT metoda, EIP metoda)	20
2.3 MOŽNOSTI STABILIZACE EMULZÍ.....	21
2.3.1 Stabilizace emulzí pomocí surfaktantu	21
2.3.2 Stabilizace emulzí pomocí polymerů	23
2.3.3 Stabilizace pomocí pevných částic.....	24
3 PICKERINGOVY EMULZE	26
3.1 OBECNÁ CHARAKTERISTIKA	26
3.2 PRINCIP STABILIZACE	27
3.3 TYPY ČÁSTIC	30
3.3.1 Celulóza.....	30
3.3.1.1 Mikrofibrilární celulóza (MFC).....	31
3.3.1.2 Mikrokrysalická celulóza (MCC).....	31
3.3.1.3 Celulózové nanokrystaly (CNC).....	32
3.3.1.4 Bakteriální celulóza (BC)	33
3.4 PICKERINGOVY EMULZE V DERMATOLOGII A KOSMETICE.....	33
4 CHARAKTERIZACE EMULZNÍCH SYSTÉMŮ	36
4.1 STABILITA EMULZÍ	36
4.1.1 Vizuální pozorování	36
4.1.2 Mikroskopie	36
4.1.3 Analýza velikosti emulzních kapek	37
4.1.4 Analýza náboje.....	37
4.1.5 Reologie	38

4.2	VZHLED A MORFOLOGIE EMULZÍ	38
4.2.1	Vzhled emulzí	38
4.2.2	Morfologie emulzí	39
4.2.3	Enkapsulační účinnost	40
5	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	41
6	CÍLE PRÁCE	47
II	PRAKTICKÁ ČÁST	48
7	MATERIÁLY A METODIKA.....	49
7.1	MATERIÁLY	49
7.2	PŘÍSTROJE	49
7.3	METODIKA	50
7.3.1	Příprava a charakterizace ZnO částic	50
7.3.2	Příprava emulzí	51
7.3.3	Charakterizace emulzních systémů	52
7.3.3.1	Měření velikosti částic	52
7.3.3.2	Měření ζ potenciálu	53
7.3.3.3	Mikroskopie	53
7.3.3.4	Reologie	54
7.3.3.5	Fázové studie	54
7.3.3.6	Mikrobiologie	56
8	VÝSLEDKY A DISKUZE.....	59
8.1	CHARAKTERIZACE CCNC.....	59
8.2	CHARAKTERIZACE ZNO	60
8.3	PICKERINGOVY EMULZE - PREFORMULAČNÍ STUDIE	62
8.4	PICKERINGOVY EMULZE - FORMULAČNÍ STUDIE	66
8.4.1	Velikost a distribuce částic.....	67
8.4.2	ζ potenciál	76
8.4.3	Fázové studie.....	80
8.4.4	Vizuální hodnocení stability emulzí.....	84
8.4.5	Reologické chování emulzí	87
8.4.6	Mikrobiologie.....	92
	ZÁVĚR	96
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY.....	98
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK.....	108
	SEZNAM OBRÁZKŮ	110
	SEZNAM TABULEK.....	114

ÚVOD

Emulze patří mezi oblíbené formy kosmetických přípravků, zejména pro svou výbornou kompatibilitu s pokožkou. Jsou to termodynamicky nestabilní systémy skládající se z nejméně dvou vzájemně nemísitelných kapalin. K zajištění dostatečné životnosti emulze je zapotřebí ji vhodným způsobem stabilizovat. Je známo několik mechanismů stabilizace, přičemž tradičně jsou využívány povrchově aktivní látky, které se díky své amfifilní struktuře hromadí na mezifázovém rozhraní, kde vytváří soudržný, elastický film a snižují povrchové napětí mezi olejovou a vodnou fází. Přestože se jedná o účinné stabilizátory, jejich nevýhodou je, že mohou způsobovat podráždění pokožky. Kosmetický průmysl se proto snaží najít alternativy, které by umožnily vznik stabilních emulzí bez nutnosti použití povrchově aktivních látek. Mezi alternativy patří stabilizace emulzí pomocí polymerů nebo částic, a právě stabilizace pomocí pevných částic je předmětem zájmu této diplomové práce. Emulze tohoto typu se označují jako tzv. Pickeringovy emulze. Možnost stabilizace emulzních systémů pevnými částicemi byla sice popsána již v roce 1907, ale teprve v posledním desetiletí zájem o tento typ emulzí významně roste.

Ke stabilizaci Pickeringových emulzí lze využít částice jak anorganického, tak organického původu, a tento typ emulzí nachází s výhodou aplikaci v širokém spektru průmyslových odvětví, zejména v kosmetice, farmacii a v potravinářství. Jejich předností je absence povrchově aktivních látek, díky čemuž vynikají i výbornou dermatologickou snášenlivostí s pokožkou, kde se uplatňují mimo jiné i jako náhradní bariérové přípravky. V posledních letech se zvyšuje zájem o Pickeringovy emulze stabilizované částicemi biologického původu, například částicemi celulózy, především pro jejich vynikající stabilitu, biokompatibilitu a šetrnost k životnímu prostředí.

Diplomová práce se zabývá problematikou emulzí, především jejich přípravou, možnostmi stabilizace a charakterizace a zaměřuje se na Pickeringovy emulze stabilizované částicemi nanokrystalické celulózy, které byly předmětem výzkumu praktické části této práce.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOSMETICKÁ VEHIKULA

Vehikulum (nosič) je termín, který se používá jak ve farmacii, tak i v kosmetice v oblasti formulace. Vehikula jsou látky nebo jejich směsi, které se podílejí na tvorbě struktury a formy přípravku, určují jeho tvar, konzistenci a fyzikálně-chemické vlastnosti vhodné pro místo nebo cestu jeho aplikace. Farmaceutické přípravky mají léčebný účinek, jelikož obsahují farmakologicky aktivní látky, které jsou na cílové místo dopravovány pomocí vehikula. U kosmetických přípravků se tyto farmakologicky aktivní látky používat nesmí. Pečující a preventivní účinek kosmetických přípravků zejména na kůži, vlasy a nehty je dosažen v místě aplikace buď kosmeticky aktivní látkou, nebo samotným vehikulem [1, s. 99], [2, s. 1].

Základní funkcí kosmetických vehikul je transport účinné látky na určené místo a její uvolňování. Kromě toho mohou také příznivě ovlivnit funkční kvality kožního povrchu, např. pH nebo bariérovou funkci pokožky. Typ nosiče je potřeba zvolit dle povahy účinné látky, její rozpustnosti a stability v prostředí vehikula [3, s. 48–52].

Následující kapitola se bude zabývat klasifikací vehikul a popisem základních typů vehikul.

1.1 Klasifikace vehikul

Vytvořit jednotný systém pro klasifikaci vehikul je obtížné a v literatuře se lze setkat s mnoha variantami, jak kosmetická vehikula klasifikovat. Z důvodu existence různých hledisek hodnocení jsou vehikula nejčastěji klasifikována podle níže uvedených parametrů [2, s. 101].

1.1.1 Klasifikace podle vzhledu

Klasifikace dle vzhledu patří mezi nejjednodušší členění vehikul. V závislosti na fyzikálních vlastnostech se rozlišují tři typy přípravků, a to kapalné, polotuhé a pevné.

Dále mohou být vehikula klasifikována na základě makroskopické nebo mikroskopické optické rozlišnosti na monofázové izotropní systémy a heterofázové anizotropní systémy. Většina kosmetických vehikul patří mezi heterofázové anizotropní systémy [3, s. 101].

1.1.2 Klasifikace podle místa aplikace a použití

Vehikula lze rozdělit také podle jejich použití a místa aplikace na přípravky používané na vlasy (chlupy), nehty, ústa a kůži [4, s. 103].

1.1.3 Klasifikace podle fyzikálně-chemických vlastností

Z hlediska vývoje kosmetických přípravků je praktická klasifikace vehikul na základě jejich fyzikálně-chemických vlastností. Vehikula se tak dělí dle následujících kritérií, a to podle:

- polarity – hydrofilní, lipofilní;
- skupenství – pevné, polotuhé, kapalné, plynné;
- velikosti/rozměrů částic rozptýlených ve směsi – pravé roztoky (velikost částic < 1 nm), koloidní disperze (velikost částic 1–500 nm), hrubá disperze (velikost částic > 500 nm);
- rozpustnosti;
- reologie a viskozity;
- složení: fyzikálně-chemické vlastnosti hlavních složek – bezvodé, olejové, vodné [5, s. 104].

Neexistuje žádné univerzální kosmetické vehikulum, které by se dalo jednoduše smíchat s aktivní kosmetickou přísadou k dosažení požadované kosmetické péče. Při vývoji takového výrobku je potřeba zvážit různé aspekty a definovat jasný cílový produkt, jehož forma je klíčová při jeho formulaci [6, s. 112–113]. K dispozici je široká škála forem kosmetických přípravků, a proto jsou v následujících podkapitolách popsány jen některé z nich.

1.2 Roztoky

Roztok je čirá, homogenní, kapalná forma obsahující jednu nebo více chemických látek rozpuštěných v rozpouštědle nebo směsi vzájemně mísitelných rozpouštědel [4, s. 53]. Obecně jsou pravé roztoky, používané v kosmetice, založeny buď na vodném nebo vodně alkoholovém základu, nebo na inertních olejových nosičích [7, s. 104]. Vodné roztoky jsou však náchylné k bakteriální kontaminaci, a proto musí být konzervovány pomocí zvýšeného obsahu alkoholu, přidáním jiných konzervačních látek nebo kombinací těchto dvou způsobů [5, s. 124]. Výhodou roztoků je jejich snadná

příprava mícháním, popřípadě i zahříváním. Jsou průhledné, mají čirý vzhled a jsou vhodné zejména k oplachování a čištění povrchu těla [8, s. 106]. Roztoky většinou nemají tendenci se měnit v průběhu času a lze je tedy považovat za termodynamicky stabilní [4, s. 54]. Nicméně je třeba mít na paměti, že v rozpuštěném stavu mohou být chemické sloučeniny méně stabilní. Při přípravě roztoků by mělo být zvoleno takové rozpouštědlo, které zaručí dostatečnou rozpustnost a stabilitu aktivní látky a musí být bezpečné pro aplikaci na kůži [9, s. 106].

1.3 Gely

Pro svůj estetický vzhled představují gely v kosmetickém průmyslu oblíbenou formu přípravků. Příprava gelu spočívá v rozpouštění gelotvorných látek na dostatečně koncentrovaný roztok s následnou želatinací po ochlazení. Dalším způsobem přípravy je botnání gelotvorné látky v rozpouštědle. Speciálním případem jsou tzv. karbopolové (karbomerové) gely, u kterých želatinace nastává v důsledku úpravy pH karbopolového roztoku [5, s. 126]. Povaha gelů může být hydrofilní nebo hydrofobní [1, s. 110].

Hydrofilní gely se skládají převážně z vody, popřípadě z vodně alkoholové směsi a gelotvorného činidla, obvykle na bázi organického polymeru [1, s. 110], [6, s. 4]. Vzhledem k jejich složení, musí být zabezpečeny vůči možné mikrobiální kontaminaci. V důsledku odpaření rozpouštědla vykazují po aplikaci chladivý efekt. Výhodou je jejich okamžitý zvlhčující účinek. Při dlouhodobějším používání může ale docházet k vysušování pokožky, a proto často obsahují zvlhčující látky, jako je např. glycerol. Další nevýhodou je, že při špatně zvolené zahušťující přísadě tvoří na pokožce lepkavý film [1, s. 110].

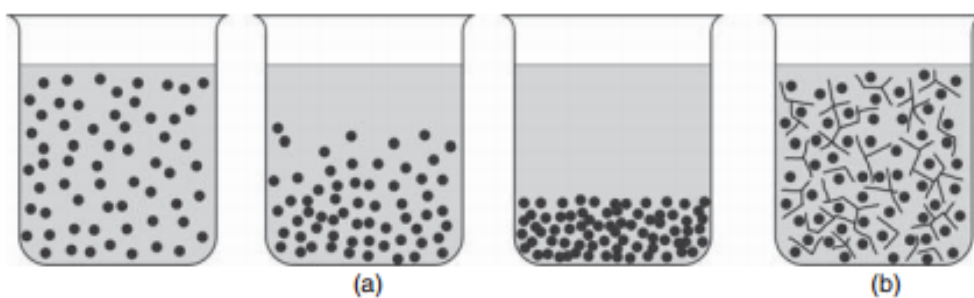
Hydrofobní gely (lipogely, oleogely) se připravují přidávkem vhodného zahušťovacího činidla k oleji nebo zkapalněnému tuku. Speciálním typem hydrofobních gelů jsou gely založené na bázi silikonu [1, s. 110].

1.4 Suspenze

Jedná se o neprůhlednou kapalnou formu obsahující pevné částice dispergované v kapalném nosiči. Na základě typu kapalného nosiče lze rozlišit suspenze na bázi

vodné, vodně alkoholové a bezvodé [4, s. 58–90]. Jejich příprava spočívá v dispergaci tuhé látky v kapalině [5, s. 126].

Suspenze jsou termodynamicky nestabilní systémy. Nerozpustné částice mají tendenci sedimentovat na dno nádoby. Sedimentaci ovlivňuje viskozita kapalné fáze a velikost částic dispergované fáze. Modifikace těchto faktorů vede ke zvýšení stability suspenzí. Základní složkou suspenzí jsou zahušťující složky, které zvyšují viskozitu a zpomalují tak rychlost sedimentace nerozpustných pevných částic. Platí, že čím menší je velikost částic, tím pomalejší je rychlost sedimentace. Na Obr. 1 je zobrazena sedimentace částic v průběhu času. Při absenci zahušťovadla v suspenzi se částice usazují na dně nádoby ve velmi krátkém časovém intervalu (a). Pokud suspenze obsahuje zahušťovadlo, dochází ke zvýšení viskozity kapalné fáze a udržení částic v kapalném médiu, čímž se také zpomaluje rychlost sedimentace (b) [4, s. 58–59].

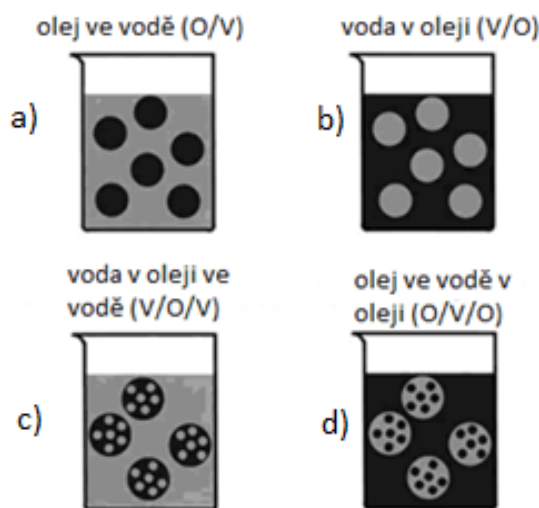


Obr. 1. Sedimentace pevných částic v suspenzi v průběhu času [4, s. 59].

2 EMULZE

Vzhledem ke skutečnosti, že diplomová práce se zabývá emulzními systémy, bude se jim tato kapitola věnovat podrobněji. Emulze jsou nejčastěji používaným základem pro topické aplikace, protože na rozdíl od jiných vehikul vykazují obvykle lepší kompatibilitu s pokožkou [7, s. 71].

Emulze patří mezi dvoufázové systémy složené z nejméně dvou nemísitelných kapalin, z nichž částice jedné kapaliny ve formě kapiček (vnitřní, dispergovaná fáze) jsou rozptýleny v druhé kapalině (vnější, kontinuální fáze) [4, s. 54]. Pokud jsou olejové kapičky dispergované ve vodné fázi, jedná se o emulzi typu olej ve vodě (O/V), zatímco systém složený vodními kapičkami dispergovanými v olejové fázi tvoří emulzi typu voda v oleji (V/O). Tyto dva typy jednoduchých emulzí jsou zobrazeny na Obr. 2 a) a b). Dalším typem emulzí jsou vícenásobné emulze, a to „voda v oleji ve vodě“ (V/O/V) a „olej ve vodě v oleji“ (O/V/O), které jsou zobrazeny na Obr. 2 c) a d). Dalším typem jsou „emulze“ založené na termodynamické inkompatibilitě směsi biopolymerních roztoků, např. „voda ve vodě“ (V/V) nebo „olej ve vodě ve vodě“ (O/V/V) [8, s. 111].



Obr. 2. Typy emulzí, upraveno podle [9, s. 5].

2.1 Klasifikace emulzí

Emulzní systémy se klasifikují podle řady kritérií, např. podle polaritý disperzního prostředí, koncentrace disperzního podílu či velikosti rozptýlených částic [10, s. 27], [11, s. 172]. V závislosti na rozmezí velikosti částic mohou být emulze klasifikovány do tří základních skupin, a to na makroemulze (konvenční, klasické emulze), nanoemulze a mikroemulze (miniemulze) [12, s. 407].

2.1.1 Makroemulze

Makroemulze se vyznačují velikostí částic v rozmezí 1 až 100 μm [13, s. 2828]. Jsou to emulzní systémy s termodynamickou nestabilitou a neprůhledným vzhledem [12, s. 408]. Důležitou veličinou charakterizující makroemulze je objemový zlomek dispergované (vnitřní) fáze, jenž určuje mnoho vlastností emulze. Makroemulze se vyskytují v nerovnovázném stavu a jejich vlastnosti závisí nejen na parametrech jako je teplota a složení, ale také na způsobu jejich přípravy, která obvykle spočívá v mechanickém míchání emulze za použití různých mechanických zařízení typu homogénizátorů, míchadel nebo ultrazvuků. Ke stabilizaci makroemulzí se používají emulgátory, které se adsorbují na rozhraní kapalina-kapalina. Nejčastějšími emulgátory jsou povrchově aktivní látky (PAL), ale mezi účinné emulgátory patří také makromolekuly, jako jsou proteiny, polysacharidy nebo syntetické polymery. Také některé anorganické elektrolyty, jako je thiokyanatan draselný, mohou sloužit jako účinné stabilizátory [14, s. 259–267].

2.1.2 Nanoemulze

V literatuře se objevují určité nepřesnosti ohledně definice nanoemulzí, kdy jsou často zaměňovány s termodynamicky stabilními mikroemulzemi, které se tvoří spontánně. Hlavní rozdíly mezi klasickými emulzemi (makroemulzemi), mikroemulzemi a nanoemulzemi spočívají ve velikosti částic a stabilitě (Tab. 1). Makroemulze a nanoemulze jsou termodynamicky nestabilní, nanoemulze, vzhledem k jejich malé velikosti částic, mohou vykazovat po dlouhou dobu kinetickou stabilitu. Jsou charakterizovány velikostí částic od 20 do 500 nm a mají transparentní vzhled. Malá velikost nanoemulzních částic vede k užitečným vlastnostem, jako je velká plocha povrchu na jednotku objemu, výrazná stabilita a možnost úpravy reologických vlastností [13, s. 2826–2839].

Tab. 1. Srovnání makroemulzí, nanoemulzí a mikroemulzí, upraveno podle [13, s. 2828].

	Makroemulze	Nanoemulze	Mikroemulze
Velikost kapek	1–100 μm	20–500 nm	10–100 nm
Tvar kapek	sférické	sférické	sférické, lamelární
Stabilita	termodynamicky nestabilní, slabě kineticky stabilní	termodynamicky nestabilní, kineticky stabilní	termodynamicky stabilní
Metody přípravy	vysoko a nízkoenergetické metody	vysoko a nízkoenergetické metody	nízkoenergetické metody

2.1.3 Mikroemulze

Mikroemulze jsou termodynamicky stabilní systémy s velikostí částic od 10 do 100 nm a opticky jasným vzhledem [12, s. 408], [13, s. 2828]. Mikroemulze mají tendenci se tvořit spontánně, tudíž není vyžadováno intenzivní míchání nebo protřepávání, jako je tomu u makroemulzí [14, s. 268–271]. Pro mikroemulze je charakteristická přítomnost vodné a olejové fáze, PAL a kosurfaktantu (např. alkoholu se středně dlouhým řetězcem). Termodynamická stabilita mikroemulzí je dána dostatečně nízkým mezifázovým napětím mezi olejem a vodou. Povrchově aktivní látky s dobře vyváženými hydrofilně-lipofilními vlastnostmi mají schopnost dostatečně snížit hodnotu mezifázového napětí. Pokud však PAL takovou schopnost nemají, a nemohou snížit mezifázové napětí mezi olejem a vodou na hodnotu nižší než 1 mN/m, je potřebný přídavek kosurfaktantu. Spontánní vznik, jasný vzhled, termodynamická stabilita a nízká viskozita jsou vlastnosti, které činí mikroemulze velmi atraktivními systémy pro řadu průmyslových aplikací [15, s. 1–6], [16, s. 318].

2.2 Příprava emulzí

Příprava emulzí (emulgace) obvykle spočívá v mechanické dispergaci disperzního podílu v disperzním prostředí za přítomnosti emulgátoru [10, s. 36], [11, s. 176]. Tímto procesem jsou do značné míry ovlivněny vlastnosti dané emulze. Emulgace je založena na intenzivním promíchávání dispergovaných kapalin, dále na jejich protřepávání, na působení vibrační pomocí míchadel, koloidních mlýnů, mikrofluidizérů nebo ultrazvuku. Získané polydisperzní emulze se poté často ještě homogenizují ve

speciálních homogenizátorech, čímž se zvýší stabilita systému [10, s. 36], [11, s. 176], [17, s. 15].

Příprava emulzí mechanickou disperzací je energeticky náročná. Pro všechny tzv. vysokoenergetické procesy, popsané výše, je charakteristická nízká termodynamická účinnost. Alternativní, nízkoenergetické metody, jako jsou např. technologie založené na membránových procesech, mají sice vyšší účinnost, ale neposkytují takovou produktivitu a malou velikost emulzních kapiček, jako je tomu u vysoce energetických procesů [17, s. 15–16].

2.2.1 Příprava klasických emulzí

Příprava klasických emulzí je poměrně snadná. Postupuje se tak, že se emulgátor rozpustí ve fázi, ke které má větší afinitu a poté se přidává druhá fáze [9, s. 202]. Znamé Bancroftovo pravidlo říká, že fáze, ve které se PAL rozpouští přednostně, má tendenci stát se fází spojitou [18, s. 11]. Po rozpuštění se směs pomocí míchadla intenzivně promíchává. U emulzí typu O/V musí být proudění turbulentní, což je zásadní pro získání dostatečně malých kapiček. Využívají se také koloidní mlýny nebo ultrazvukové generátory. Dále je k dispozici široká škála dalších technik, mezi které patří atomizéry a nebulizéry, které se používají pro výrobu emulzí s poměrně úzkou distribucí částic. Vysoká smyková rychlost je nutná pro tvorbu malých kapiček, zatímco vysoká průtoková rychlost zajistí dobrý přenos tepla. U emulzí typu V/O je olejová fáze relativně viskózní a vodná fáze se k ní musí přidávat velmi pomalu a pečlivě, aby se zabránilo zachycení vzduchových bublin do emulze [9, s. 202], [19, s. 16].

2.2.2 Příprava mikroemulzí

Pro tyto emulzní systémy je charakteristická mnohem menší velikost částic, která tak zaručuje jejich větší stabilitu. Bylo zjištěno, že pro topické aplikace je použití mikroemulzí velmi výhodné, a to proto, že jsou schopny zvýšit rychlost a hloubku průniku hydratačních látek do pokožky [10, s. 37], [20, s. 1081].

Mikroemulze se připravují spontánní emulgací metodou fázové titrace, a mohou být popsány pomocí fázových diagramů, jejichž konstrukce je užitečná ke studiu interakcí, které mohou nastat při míchání jejich jednotlivých složek [21, s. 42–43], [22, s. 256]. Komplexní série interakcí mezi jednotlivými složkami mikroemulze může být

fázi. Zvýšením objemové frakce vody se mění spontánní zakřivení surfaktantu, a mikroemulze V/O přejde v bodu inverze na mikroemulzi O/V [21, s. 43].

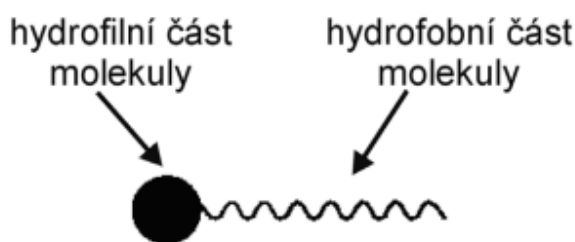
2.3 Možnosti stabilizace emulzí

Emulze jsou termodynamicky nestabilní systémy, které je zapotřebí vhodným způsobem stabilizovat. Stálost emulze je závislá na různých okolních podmínkách, např. je-li emulze v klidu nebo je vystavena otřesům, změnám teploty a jiným vlivům, které by tak mohly vést k jejímu zániku. Stabilitu emulzí výrazně ovlivňuje rozdíl hustoty obou kapalin. Čím je rozdíl větší, tím jsou emulze méně stabilní. Při zániku emulze dochází k postupné separaci na makroskopické fáze, což je spontánní proces související s poklesem Gibbsovy energie. Nestabilita emulzí může zahrnovat celou řadu procesů probíhajících po sobě, nebo současně, v závislosti na podmínkách. Mezi hlavní projevy nestability emulzí patří krémování, sedimentace, flokulace, koalescence, fázová inverze a Ostwaldovo zrání [11, s. 173], [25, s. 60], [26, s. 3], [27, s. 42].

2.3.1 Stabilizace emulzí pomocí surfaktantu

Jedna z možností stabilizace emulzí zahrnuje přidání třetí složky, surfaktantu (emulgátoru), který tvoří na povrchu kapének adsorpční film zabraňující koagulaci při tepelné nebo sedimentační srážce dvou kapiček [11, s. 174].

Povrchově aktivní látky jsou z chemického hlediska amfipatické, nebo také amfifilní molekuly, které jsou tvořeny hydrofilní a hydrofobní částí (Obr. 4). Hydrofilní část tvoří polární skupina zaručující rozpustnost a hydrofobní nepolární část je tvořena uhlovodíkovým řetězcem [27, s. 38].



Obr. 4. Struktura surfaktantu [27, s. 38].

Povrchově aktivní látky představují širokou škálu látek, jejichž klasifikace zahrnuje různá kritéria, mezi která patří např. typ hydrofilní a hydrofobní části, hodnota HLB (tj. hydrofilně-lipofilní rovnováha), dělení podle aplikace, podle biologické rozložitelnosti atd. [28, s. 7].

Užitečným kritériem pro rozdělení PAL je jejich HLB hodnota. Jedná se o empirický výraz pro vztah hydrofilních a hydrofobních skupin surfaktantu. Systém HLB využívá stupnici 1–20 založenou na afinitě surfaktantů k oleji a vodě. Čím je hodnota HLB vyšší, tím je PAL rozpustnější ve vodě [4, s. 38]. Hodnota HLB předpovídá o použití tenzidů v praxi a je důležitým ukazatelem hlavně pro neionické tenzidy, které lze mimo jiné použít jako emulgátory pro emulze O/V i V/O [10, s. 34]. Rozsah hodnot HLB tenzidů v závislosti na jejich aplikaci shrnuje Tab. 2.

Tab. 2. Použití PAL v závislosti na hodnotě HLB, upraveno podle [19, s. 25].

HLB	Aplikace
3–6	V/O emulgátory
7–9	Smáčedla
8–18	O/V emulgátory
13–15	Detergenty
15–18	Solubilizátory

Surfaktanty mají schopnost upravovat mezifázové vlastnosti kapalin, do kterých jsou začleněny, resp. snižovat povrchové napětí mezi těmito fázemi. Tato vlastnost vyplývá z jejich tendence se samovolně a velmi ochotně koncentrovat na rozhraní oddělující nemísitelné fáze, kde vytváří soudržný, elastický film, který ale nesmí jevit adhezi k filmům kolem jiných kapiček. Proto je při výběru vhodného emulgátoru velmi výhodné použití látek schopných gelace nebo asociace do velkých micel, jelikož se ve filmu vážou dostatečně velkými mezimolekulárními silami [11, s. 174], [27, s. 38], [29, s. 2], [30, s. 769].

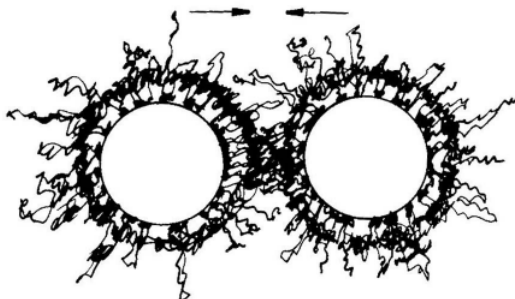
Emulgační účinek PAL, spočívá ve vyváženosti amfipatické molekuly emulgátoru, která je dána délkou uhlovodíkového řetězce a afinitou ionické nebo polární skupiny

k vodě. Platí, že emulgační účinek je tím větší, čím lépe jsou vyváženy polární a nepolární části molekuly PAL [11, s. 174].

2.3.2 Stabilizace emulzí pomocí polymerů

Polymery jsou makromolekulární sloučeniny tvořené vícenásobným opakováním stejného atomárního uskupení (strukturní jednotky) [31, s. 146]. Tyto látky se uplatňují ve stabilizaci emulzí dvěma mechanismy, a to stericou stabilizací a stabilizací pomocí deplece. Pokud je molekulová hmotnost polymerů nad $10\,000\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, jsou jejich řetězce ovlivňovány Van der Waalsovými interakcemi, tudíž mohou vyvolávat odpudivou sílu, a mohou tak poskytovat koloidní stabilitu [32, s. 6].

Stericá stabilizace spočívá v připojování makromolekul na povrch emulzních kapek (Obr. 5), které může probíhat roubováním nebo chemisorpcí [32, s. 7]. Makromolekuly polymerů mají schopnost dostatečně silné adsorpce na povrchu kapek a současně jsou rozpustné v disperzním prostředí. V důsledku obklopení celého povrchu kapek polymerem nedochází k jejich dalšímu přibližování, ani k jejich rozpadu [33, s. 385], [34, s. 2].

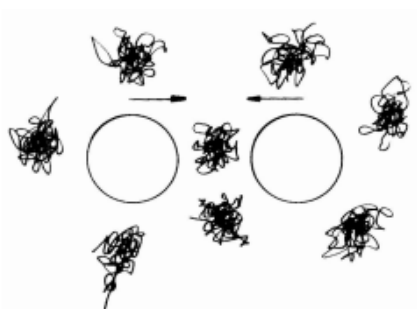


Obr. 5. Schéma stericé stabilizace [32, s. 6].

Při přibližování dvou kapek s pevně adsorbovanými makromolekulami na povrchu může docházet buď k vzájemnému pronikání těchto stabilizačních vrstev, anebo k jejich stlačování. Který z těchto případů nastane, závisí na afinitě polymeru k rozpouštědлу, přičemž v obou případech dochází v prostoru mezi částicemi k růstu koncentrace makromolekulárních řetězců, a tím roste i počet kontaktů mezi nimi [11, s. 164].

Mechanismus stabilizace pomocí deplece je zatím v počáteční fázi výzkumu. Depleční stabilizace je zajišťována makromolekulami, které se vyskytují volně

v roztoku (Obr. 6) [32, s. 7]. Při vyšších koncentracích volného polymeru neadsorbovaného na koloidní částice dochází při přiblížení dvou částic na velmi malou vzdálenost, k tzv. depleční flokulaci. Při tomto jevu jsou makromolekuly vypuzovány z prostoru mezi částicemi, ve kterém je tak obsaženo pouze disperzní prostředí, a mezi povrchy částic se mohou uplatňovat přitažlivé Van der Waalsovy síly. K opačnému efektu, tedy depleční stabilizaci, dochází také při vysokých koncentracích polymeru, ale pouze pokud jsou částice dostatečně vzdáleny. Vznik odpudivé síly, která se uplatňuje mezi částicemi, není doposud uspokojivě vysvětlen [11, s. 166].



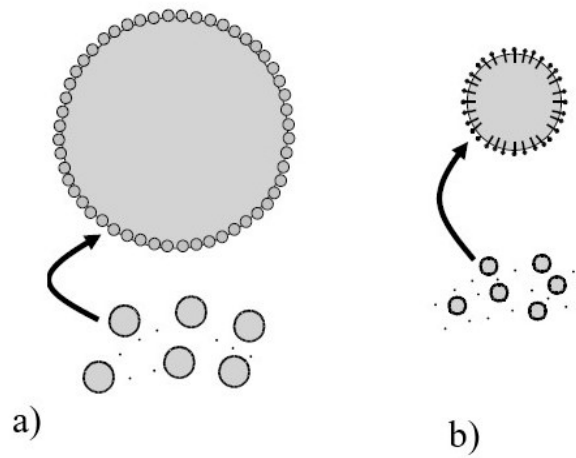
Obr. 6. Schéma stabilizace pomocí deplece [32, s. 6].

2.3.3 Stabilizace pomocí pevných částic

Další možný typ stabilizace emulzí využívá pevné částice, na kterých jsou založeny tzv. Pickeringovy emulze, o kterých bude podrobněji pojednáno v následující kapitole. Jedná se o nový a perspektivní způsob vytvoření stabilního rozhraní mezi olejovou a vodnou fází [3, s. 65], [35, s. 1], [36, s. 23].

Ke stabilizaci Pickeringových emulzí je využívána řada částic, jako je např. oxid křemičitý, uhličitán vápenatý, oxid titaničitý, latexy, organické částice atd. [35, s. 1]. Principem je ochrana kapek oleje, na kterých se tyto pevné částice, které jsou cca 10x menší než dispergované kapky oleje, shromažďují pod určitým kontaktním úhlem (nejlépe 90°), a vytváří tak mechanickou bariéru vůči koalescenci [3, s. 65]. Tento mechanismus stabilizace pomocí adsorpce je velmi odlišný od mechanismu stabilizace pomocí PAL (Obr. 7). Pevného ukotvení na rozhraní olej-voda je docíleno částečným smáčením povrchu pevných částic vodnou a olejovou fází emulze [36, s. 24]. Stabilizace pevnými částicemi přináší mnoho výhod, oproti jiným mechani-

změm, a to zejména vysokou odolnost ke koalescenci a k Ostwaldovu zrání [35, s. 1].



Obr. 7. Pickeringova emulze (a) a klasická emulze (b) [17, s. 116].

3 PICKERINGOVY EMULZE

Pickeringovy emulze nesou název po S. U. Pickeringovi, který v roce 1907 podal důkazy o stabilizaci emulzí pomocí pevných částic podložené jeho studií, kdy stabilizoval emulzi parafinového oleje ve vodě. Již o čtyři roky dříve, Ramsden publikoval článek o adsorpci pevných částic na fázové rozhraní O/V, ale neposkytl experimentální důkaz, který by tuto myšlenku potvrdil. Pickeringovy emulze byly po dlouhou dobu ignorovány, a zájem o tuto problematiku byl znovu obnoven teprve nedávno [36, s. 23].

3.1 Obecná charakteristika

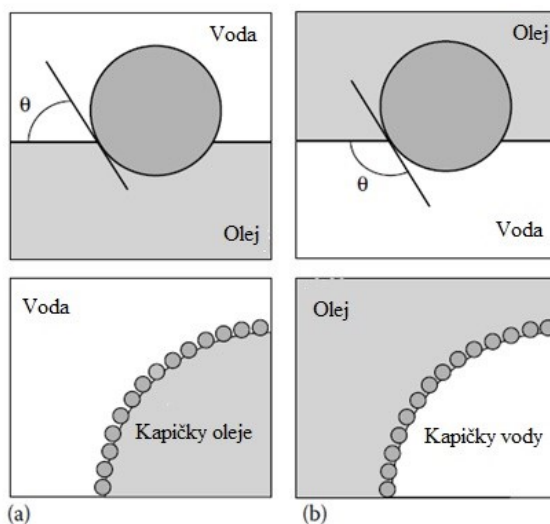
Pickeringovy emulze představují specifický typ emulzí, které jsou založeny na stabilizaci pomocí pevných částic o průměru obvykle menším než 200 nm, které mohou být anorganického či organického původu [37, s. 25]. Mikro- nebo nanočástice mají schopnost stabilizovat emulze pomocí adsorpce na rozhraní kapalina-kapalina [38, s. 1806]. Existence těchto částic na rozhraní mezi olejovou a vodnou fází ovlivňuje nejen přípravu, ale také vlastnosti Pickeringových emulzí [39, s. 4633].

Za poslední desetiletí došlo k exponenciálnímu nárůstu v počtu publikací a patentů zabývajících se Pickeringovými emulzemi, které naznačují současné zvýšení teoretického a komerčního zájmu v této oblasti [40, s. 4633]. Obnovený zájem o Pickeringovy emulze lze přisuzovat jejich zajímavým vlastnostem, a to zejména jejich vysokou a dlouhodobou stabilitou vůči koalescenci a Ostwaldovu zrání. K jejich stabilizaci lze použít širokou škálu typů částic, a jejich různorodost umožňuje přípravu emulzí s vlastnostmi a funkcemi na míru [17, s. 101–102]. Pro Pickeringovy emulze je charakteristická také nízká toxicita a výborná snášenlivost s pokožkou v porovnání s klasickými emulzemi stabilizovanými PAL, které někdy vykazují negativní účinky na kůži, projevující se často jejím podrážděním. V mnoha případech, jsou biologicky kompatibilní a šetrné k životnímu prostředí [36, s. 23], [39, s. 4633], [41, s. 3512]. Použití nanočástic, namísto tradičních PAL, tedy vede k rozdílným vlastnostem emulzí, které mohou být pro praktické aplikace výhodné [38, s. 1806].

3.2 Princip stabilizace

Finkle, Draper a Hildebrand (1923) předpokládali, že částice mohou stabilizovat emulze pouze za podmínek, že jsou smáčeny oběma kapalinami, a adsorbované částice potom vytvoří stérickou (popřípadě elektrostatickou) bariéru mezi kapkami oleje [17, s. 102]. Částice se tak mohou nevratně hromadit na mezifázové rozhraní, což vede k efektivnější stabilizaci, než je tomu u PAL [42, s. 2]. Částice tedy poskytují mechanickou bariéru zabraňující koalescenci kapek [43, s. 7109].

Umístění částic na rozhraní mezi olejovou a vodnou fází je určeno kontaktním úhlem smáčení [17, s. 103]. Podle tzv. Finklova pravidla lze v závislosti na kontaktním úhlu smáčení předpokládat, který typ emulze vznikne [40, s. 49]. Pokud jedna kapalina smáčí pevné částice více než druhá, stane se tato kapalina kontinuální fází a druhá kapalina tak bude fází dispergovanou [42, s. 2]. V případě, že je kontaktní úhel větší než 90° (např. saze), budou částice stabilizovat emulze typu V/O, zatímco při kontaktním úhlu menším než 90° (např. oxid křemičitý, jíł) budou stabilizovány emulze typu O/V. Tyto dva případy jsou schematicky znázorněny na Obr. 8 [17, s. 103], [42, s. 2].



Obr. 8. Schéma vzniku emulzí v závislosti na velikosti kontaktního úhlu stabilizujících částic. Při $\theta < 90^\circ$ vznik emulze typu O/V (a) a při $\theta > 90^\circ$ vznik emulze typu V/O (b), upraveno podle [17, s. 103].

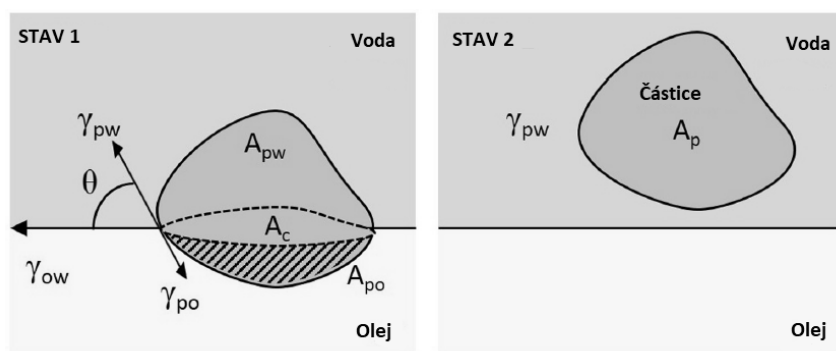
U silně hydrofilních částic zůstává jejich velká část ve vodné fázi, a nemohou tak poskytnout dostatečnou bariéru vůči koalescenci, a emulze se tak stává nestabilní. Naopak, u silně hydrofobních částic setrvá jejich velká část ve fázi olejové, což má za následek menší ochranu vůči koalescenci kapiček vody a nízkou stabilitu emulze. Částice se střední hydrofobicitou se drží na rozhraní olej-voda, čímž poskytují maximální stabilitu vůči koalescenci. Lze tedy říci, že pojem kontaktní úhel u pevných částic je ekvivalentní hodnotě HLB pro PAL [44, s. 123].

Jak silně se částice adsorbují na mezifázové rozhraní lze popsat prostřednictvím hodnot volné energie odloučených částic adsorbovaných na rozhraní. Obr. 9 znázorňuje odloučení nahodile tvarované částice z rozhraní olej-voda. Předpokládá se, že velikost částice je malá ve srovnání s rozhraním, které tvoří kapka oleje, na kterou je částice ukotvena. Na Obr. 9 (vlevo) je zobrazena adsorbovaná částice, která je v rovnovážném „stavu 1“, volná energie systému, $G^{(1)}$, je minimální a lze ji popsat rovnicí (1) [40, s. 50]:

$$G^{(1)} = \gamma_{ow}A_{ow}^{(1)} + \gamma_{pw}A_{pw}^{(1)} + \gamma_{po}A_{po}^{(1)} \quad (1)$$

kde γ_{po} , γ_{pw} a γ_{ow} jsou částice oleje, částice vody a olej-voda, resp. jejich povrchové napětí. $A_{ow}^{(1)}$ je plocha rozhraní olej-voda, $A_{pw}^{(1)}$ a $A_{po}^{(1)}$ značí plochy povrchu částic v kontaktu s vodnou a olejovou fází, jejichž součet udává celkovou plochu povrchu částic A_p podle rovnice (2) [40, s. 50]:

$$A_{pw}^{(1)} + A_{po}^{(1)} = A_p \quad (2)$$



Obr. 9. Malé a pevné částice adsorbované na rozhraní O/V jsou zpočátku v rovnovážném „stavu 1“ s ohledem na volnou povrchovou energii (vlevo), poté je vykonána práce k dosažení „stavu 2“ (vpravo), kde rozdíl volné energie mezi stavem 1 a 2 udává volnou energii potřebnou k oddělení částice, upraveno podle [40, s. 50].

Pokud dojde k posunu částice z její rovnovážné polohy na rozhraní směrem k jedné z objemových fází, je vyžadováno určité množství práce. Když je částice úplně oddělena od rozhraní, může být pak snadno vypočítána změna volné povrchové energie systému. Pokud uvažujeme „stav 2“ na Obr. 9. (vpravo), kde se částice oddělí do vodné fáze, je volná povrchová energie systému dána rovnicí (3) [40, s. 50]:

$$G_w^{(2)} = \gamma_{ow}A_{ow}^{(2)} + \gamma_{pw}A_{pw}^{(2)} \quad (3)$$

kde $A_{ow}^{(2)}$ je celková plocha neobsazeného rozhraní olej-voda po odstranění částice a je rovna součtu $A_{ow}^{(1)}$ a plochy rozhraní olej-voda obsazeného průřezem částic (A_c) podle rovnice (4) [40, s. 50]:

$$A_c = A_{ow}^{(2)} - A_{ow}^{(1)} \quad (4)$$

Volná energie odloučení částic do vodné fáze udává rovnice (5) [40, s. 50]:

$$\Delta Gdw = G_w^{(2)} - G^{(1)} = \gamma_{ow}A_{ow}^{(2)} + \gamma_{pw}A_{pw}^{(2)} - (\gamma_{ow}A_{ow}^{(1)} + \gamma_{pw}A_{pw}^{(1)} + \gamma_{po}A_{po}^{(1)}) \quad (5)$$

Adsorpce je nejsilnější, pokud kontaktní úhel θ činí 90° , což ve většině případů odpovídá maximální stabilitě emulzí [36, s. 25]. Pokud jsou částice příliš hydrofilní (nízký θ) nebo příliš hydrofobní (vysoký θ), mají tendenci zůstat rozptýleny v příslušné fázi. V této spojitosti bylo provedeno mnoho výzkumů s cílem modifikovat tyto částice tak, aby se staly více amfifilní [42, s. 2].

3.3 Typy částic

Vlastnosti pevných částic zvolených ke stabilizaci určují stabilitu, typ, morfologii a charakter emulzí. Proto je pro získání stabilní emulze správný výběr částic velmi podstatný [42, s. 2]. Mezi důležité vlastnosti částic ovlivňujících stabilitu emulzí patří drsnost jejich povrchu. Podle San-Miguela a Behrense (2012) drsnost částic zvyšuje stabilitu emulzí do určitého bodu, po němž se stabilita zase dramaticky snižuje. Tento bod značí oblast, kde částice nejsou homogenně smáčeny kapalinami [17, s. 106].

Řada anorganických i organických částic splňuje podmínku částečného smáčení u většiny běžných olejů. Mezi tyto látky patří například uhličitán vápenatý, síran barnatý, jíly, saze, latex, magnetické částice, uhlíkové nanočástice, micely kopolymerů atd. Dále mohou být použity také katatonické nanokrystaly, spory, bakterie nebo částice proteinů [36, s. 25].

Velmi často se jako stabilizující částice používá oxid křemičitý, který se snadno získává a modifikuje. Experimenty ukázaly, že nemodifikovaný oxid křemičitý má tendenci stabilizovat emulze typu O/V, což souvisí s jeho hydrofilitou plynoucí z přítomnosti Si-OH skupin na povrchu částic, zatímco hydrofobně modifikovaný oxid křemičitý preferenčně stabilizuje emulze typu V/O. Mnoho studií je zaměřeno na modifikaci oxidu křemičitého k získání vlastností, které umožní lepší aplikace vzhledem k Pickeringovým emulzím [36, s. 25], [42, s. 2].

Praktická část diplomové práce se zabývá přípravou Pickeringových emulzí stabilizovaných karboxylovanou nanokrystalickou celulózou, a proto se následující podkapitoly budou zabývat jednotlivými typy celulózy a jejich přípravou.

3.3.1 Celulóza

S ohledem na životní prostředí se začínají ke stabilizaci Pickeringových emulzí stále více používat materiály přírodního původu, k nimž patří částice celulózy [45, s. 3–4]. Celulóza je lineární polysacharid skládající se z 600–15 000 D-glukózových jednotek vázaných β -(1,4) glykosidickými vazbami. Tvoří důležitou složku buněčných stěn vyšších rostlin a biofilmů produkovaných určitými bakteriemi. Patří mezi hojně dostupné, biologicky odbouratelné a netoxické polysacharidy. Protože povrch celulózy obsahuje mnoho reaktivních hydroxylových skupin, může být snadno modifikován.

Modifikací lze připravit např. alkoholáty, estery či ethery. Takto získané deriváty celulózy nacházejí uplatnění např. jako neionogenní emulgátory, stabilizátory suspenzí, masťové základy nebo jako filmotvorné látky ve farmacii [46, s. 20], [47, s. 493], [48, s. 165].

Dlouhé makromolekuly celulózy mohou být uloženy těsně vedle sebe ve stejné vzdálenosti, čímž tvoří „krystality“, anebo mají náhodné, navzájem propletené uspořádání, označující se jako „amorfní“ oblast, která vyplňuje prostor mezi krystality. Vlákna celulózy jsou tedy tvořena střídáním krystalitů s amorfními částmi za vzniku dlouhých vláknitých struktur [46, s. 20], [47, s. 493].

Nativní celulóza může existovat buď ve formě makroskopických vláken, nebo ve formě celulózových mikrofibril (mikrofibrilární celulóza, MFC). Amorfní oblasti mohou být odstraněny pomocí kyselé hydrolyzy za vzniku mikrokrytalické celulózy (MCC). Pokud je MCC hydrolyzována delší dobu, vzniká nanokrytalická celulóza (NCC) [48, s. 165].

3.3.1.1 Mikrofibrilární celulóza (MFC)

Mikrofibrilární celulóza se získává pomocí mechanického přečištění vysoce čisté buničiny z dřevěných a rostlinných vláken. Nejčastěji se používá jako zahušťující činidlo v kosmetickém a potravinářském průmyslu [49, s. 3949].

Nedávno Winuprasith a kol. ve své studii demonstroval možnost stabilizovat emulze pomocí MFC připravené ze slupky mangostanu bez použití povrchově aktivních látek (PAL). Ve studii autoři zjistili, že stabilita emulze vzrůstala se zmenšující se velikostí vláken a se zvyšující se koncentrací MFC [47, s. 493].

3.3.1.2 Mikrokrytalická celulóza (MCC)

Mikrokrytalická celulóza nachází uplatnění ve farmaceutickém průmyslu, kde se používá jako pojivo, a využívá se i v průmyslu potravinářském. Je to komerčně dostupný materiál, který vykazuje oproti běžné celulóze vyšší stupeň krystalinity. Získává se částečnou hydrolyzou celulózy minerálními kyselinami, po které následuje sprejové sušení. Nejčastěji se ke kyselé hydrolyze využívá kyselina sírová nebo chlorovodíková. Výsledkem hydrolyzy je zvýšení hydrofility MCC. Výsledná vlákna MCC jsou výrazně pórovitá s velkým povrchem a vysokým obsahem celulózy. Veli-

kost celulózových částic uváděná v literatuře se v různých publikacích liší. Rabišková a kol. udává např. velikost částic 20 až 200 μm , zatímco R. Moon a kol. udává velikost částic v rozmezí 10 až 50 μm . Jde o velmi stálou látku, prakticky nerozpustnou ve vodě, zředěných kyselinách a organických rozpouštědlech. Mírně se rozpouští v 5% roztoku hydroxidu sodného [49, s. 3949], [50, s. 70].

3.3.1.3 Celulózové nanokrystaly (CNC)

Pro stabilizaci emulzních systémů lze využít celou řadu vhodných typů částic na bázi celulózy. Jako velmi účinné a ekologicky příznivé se pro stabilizaci rozhraní ukázaly právě CNC [45, s. 3–4]. Bylo prokázáno, že CNC jsou schopny stabilizovat emulze typu olej ve vodě bez přídavku PAL, což je přisuzováno jejich částečně amfifilnímu charakteru. Dále bylo zjištěno, že navzdory celkové hydrofilitě CNC, jsou okraje nanokrystalů hydrofobní, což umožňuje adsorpci na rozhraní olej-voda. Z důvodu hydrofility bude celulóza lépe stabilizovat emulze, u kterých je kontinuální fáze tvořena vodou. Celulóza může ale stabilizovat i emulze s kontinuální olejovou fází. K úpravě hydrofobicity celulózových vláken je možno podle Andresena a kol. využít několik postupů, např. silylaci [47, s. 493].

Částice CNC mají tyčinkovitý nebo vláknitý tvar, jenž je důsledkem postupu použití při jejich přípravě. Tu je možné provádět kyselou hydrolyzou výchozích surovin (buničiny, MCC, MFC nebo nanofibrilární celulózy). Celulózové nanokrystaly jsou dlouhé 50 až 500 nm, 3 až 5 nm široké a na konci se zužují. Jsou vysoce krystalické a skládají se z 100% celulózy [49, s. 3949].

Kromě kyselé hydrolyzy je CNC možné připravit i oxidací. Příprava vysoce krystalické nanokrystalické celulózy podle A. Leunga a jeho týmu je jednoduchá a využívá peroxodisíran amonný (APS), což je silné oxidační činidlo s nízkou dlouhodobou toxicitou, vysokou rozpustností ve vodě a také příznivou cenou. Celulózové nanokrystaly se získají zahříváním celulózových materiálů při teplotě 60 °C v 1 M roztoku APS po dobu 16 hodin za intenzivního míchání [51, s. 302]. Tato metoda může být alternativou kyselé hydrolyzy a je vhodná pro zpracovávání různých celulózových materiálů [52, s. 1373]. Celulóza připravená procesem oxidace APS nese na svém povrchu i karboxylové skupiny a je označovaná jako karboxylovaná nanokrystalická celulóza cCNC.

3.3.1.4 Bakteriální celulóza (BC)

Bakteriální celulóza je extracelulární polysacharid, který produkují některé druhy *Acetobacter xylinum*. Jedná se o poměrně nový druh průmyslového materiálu vykazujícího excelentní vlastnosti, jako je vysoká mechanická pevnost či biodegradabilita. Nicméně náklady na produkci BC jsou v současné době značně vysoké [53, s. 359].

Pro každý typ celulózových částic je charakteristická určitá velikost, poměr stran, morfologie či krystalinita. Některé z těchto charakteristik jsou pro porovnání uvedeny v Tab. 3 [49, s. 3949].

Tab. 3. Vybrané charakteristiky celulózových částic, upraveno podle [49, s. 3949].

Typ celulózy	Velikost částic			Krystalinita [%]
	Délka [μm]	Šířka [nm]	Výška [nm]	
Mikrofibrilární celulóza (MFC)	0,5–10	10–100	10–100	51–69
Mikrokrystalická celulóza (MCC)	10–50	10–50 (μm)	10–50 (μm)	80–85
Celulózové nanokrystaly (CNC)	0,05–0,5	3–5	3–5	54–88
Bakteriální celulóza (BC)	> 1	30–50	6–10	65–79

3.4 Pickeringovy emulze v dermatologii a kosmetice

Pickeringovy emulze jsou zajímavé nejen z hlediska teoretického, ale i z hlediska jejich aplikací. Jsou charakterizovány vynikající dermatologickou snášenlivostí a jsou pozoruhodně stabilní i v přítomnosti elektrolytů, což předurčuje jejich použití v přípravcích s adstringentními a mikrobiálními účinky [37, s. 25].

Emulze stabilizované částicemi jsou účinné při formulaci opalovacích přípravků. Pokud tyto produkty využívají na ochranu proti slunečnímu záření fyzikální filtry, jako je oxid titaničitý nebo oxid zinečnatý, mohou být částice TiO₂ či ZnO

v kosmetickém přípravku rovnoměrně distribuovány a současně působit jako stabilizátory další složek přítomných v emulzi [54].

Zajímavé využití mají Pickeringovy emulze, které jsou citlivé na vnější podněty (například na teplotu, pH nebo světlo). Nejenže zvyšují trvanlivost a stabilitu daného výrobku, ale také umožňují rychlé a řízené uvolňování aktivních složek, které je právě důsledkem reakce na působící podněty [41, s. 3526].

Pickeringovy emulze se dále uplatňují při enkapsulaci a řízeném dodávání aktivních látek. Enkapsulační technika poskytuje účinným látkám ochranu, zajišťuje jejich stabilitu v čase a umožňuje jejich transport na požadované místo. Frelichowska a kol. se nedávno zabývala transdermální penetrací hydrofilní aktivní látky, retinolu, enkapsulovaného v Pickeringově emulzi a získaná data porovnála s výsledky penetrace aktivní látky enkapsulované do klasických emulzí stabilizovaných PAL. Bylo zjištěno, že na distribuci retinolu uvnitř vrstev pokožky měl výrazný vliv typ emulze a klasická emulze umožnila jeho rychlou a snadnou difúzi přes *Stratum corneum* až do *dermis*. Naproti tomu Pickeringova emulze zajistila dlouhodobé uchování retinolu ve *Stratum corneum*. Tato studie představila Pickeringovy emulze jako nové nosiče, které jsou vhodné pro penetraci a pomalé uvolňování aktivních látek cílených na *Stratum corneum* [55, s. 20], [56, s. 56].

Na principu Pickeringových emulzí jsou založeny rovněž náhradní bariérové přípravky, které se uplatňují při poruchách bariérové funkce kůže, jež mohou být vrozené (např. atopická dermatitida) nebo získané (účinkem škodlivých látek vnějšího prostředí). Porucha kožní bariéry souvisí s poruchou vazby vody vedoucí k nadměrně suché kůži, přičemž délka regenerace poškozené epidermální bariéry závisí na stupni jejího poškození a obvykle trvá 4 až 8 týdnů. Přípravky pro ochranu kožní bariéry jsou schopny urychleně omezit nadměrnou ztrátu vody a ochránit kožní povrch před škodlivinami zevního prostředí. Na trhu je k dispozici poměrně nový typ bariéroprotektivního přípravku, který využívá Pickeringovu stabilizaci. Konkrétně se jedná o 2DERM krém, který byl vyvinut brněnskou firmou ForLife a je schválen k používání Státním zdravotním ústavem v Praze. V tomto přípravku je rozhraní olej-voda stabilizováno pevnými částicemi anorganické povahy, a to kombinací mikronizovaného talku a oxidu zinečnatého, které jsou přítomny v emulzním základu tvořeném vysoce čistým lanolinem (MEDILAN). Vpravením těchto částic do mezibuněčných prostor se na povrchu rohové vrstvy vytvoří tenká vrstva s chladivým, proti-

zánětlivým a bariérovým účinkem, čímž se omezí působení škodlivin z vnějšího prostředí, zamezí se mikrobiální kontaminaci, ale také se sníží iritace volných zakončení senzitivních nervů. Indikace pro aplikaci krému jsou nejen kosmetické (při vrozené suchosti kůže, jejím ztenčení, při stárnutí nebo hypersenzitivitě), ale i dermatologické (jako součást ošetření chronických dermatóz s poškozením bariérové funkce kůže), přičemž krém nachází uplatnění i v péči a ochraně rukou při pracovních nebo zájmových aktivitách. V budoucnosti lze předpokládat, že v oblasti prostředků péče o kůži jak kosmetických, tak dermatologických, budou na principu Pickeringových emulzí vyvinuty další produkty [57, s. 68–70].

4 CHARAKTERIZACE EMULZNÍCH SYSTÉMŮ

Emulze jsou široce využívané systémy a se znalostmi analytických metod hodnotících jejich kvalitativní parametry lze vyvinout emulze s požadovanými fyzikálními a chemickými vlastnostmi [58, s. 16]. V této kapitole budou popsány techniky, které se používají k jejich charakterizaci.

4.1 Stabilita emulzí

Jak již bylo uvedeno výše, emulze jsou obecně nestabilní systémy, a proto je důležité přesně vyhodnocovat jejich stabilitu, která spočívá ve schopnosti emulzí odolávat fyzikálně-chemickým změnám v průběhu času. Stabilitu emulzí ovlivňuje zejména koncentrace, velikost, náboj, interakce a reologické chování emulzních kapek [58, s. 17].

4.1.1 Vizuální pozorování

Mezi nejjednodušší, nejlevnější a nejrychlejší způsob stanovení stability je vizuální pozorování emulze. Pouhým okem lze pozorovat oddělení jednotlivých složek emulze vlivem gravitačních sil, mezi které patří krémování a sedimentace. Krémování nastane, pokud má dispergovaná fáze nižší hustotu než fáze kontinuální, což způsobí migraci kapek směrem nahoru. U sedimentace je to naopak, a nastane tedy při vyšší hustotě dispergované fáze, která způsobí pohyb kapek směrem dolů. Rozsah těchto dvou procesů lze posoudit vizuálním pozorováním tloušťky krémové nebo sedimentační vrstvy. Navzdory jednoduchosti není tato metoda vhodná k pozorování dalších jevů jako je flokulace, koalescence a Ostwaldovo zrání [10, str. 70], [58, s. 17].

4.1.2 Mikroskopie

Dalším způsobem hodnocení stability emulzí je jejich pozorování pomocí mikroskopu, díky kterému lze sledovat distribuci a rozměry kapek. Tato metoda má několik nevýhod spočívajících zejména v přípravě mikroskopického preparátu, která zahrnuje např. vhodné ředění vzorku. Další nevýhodou je časová náročnost pozorování a subjektivita získaných výsledků [58, s. 17–18].

4.1.3 Analýza velikosti emulzních kapek

Velikost kapek je důležitým faktorem ovlivňujícím stabilitu emulze. Stabilní emulze by měla obsahovat kapky malé velikosti, jejichž velikost leží v úzkém intervalu a jsou tedy homogenně distribuovány. Mezi nejčastěji používané metody sloužící ke stanovení velikosti a distribuce kapek patří např. techniky pracující na principu rozptylu světla, počítání elektrických impulzů nebo ultrazvukové spektrometrie. Výhoda těchto metod spočívá v jednoduchém použití, jsou plně automatizované, měření trvá krátkou dobu a poskytují spolehlivé informace o velikosti a distribuci částic [48, s. 160], [58, s. 18–19].

Ke stanovení distribuce a velikosti částic lze použít zařízení pracující na principu laserové difrakce. Podstatou stanovení je průchod laserového paprsku vzorkem, který je rozptýlen ve vhodném médiu (nejčastěji ve vodě). Přítomné částice pak způsobí ohyb (difrakci) laserového paprsku, a to pod úhlem nepřímo úměrným jejich velikosti [4, s. 295], [10, s. 87].

4.1.4 Analýza náboje

Důležitý faktor ovlivňující stabilitu emulzí je také elektrický náboj na povrchu kapek, obvykle vyjadřovaný pomocí zeta potenciálu. Působením přitažlivých sil dochází ke koalescenci emulzních kapek, která vede k tvorbě velkých kapek na úkor těch menších, což pak výrazně ovlivňuje stabilitu emulze. Pro měření elektrického náboje mohou být použity dvě skupiny metod, a to mikroeletroforetické techniky a elektroakustická spektroskopie. Pomocí mikroeletroforetických technik se měří elektrochemické vlastnosti povrchu kapky. Tyto techniky spočívají v měření rychlosti a směru pohybu nabitě emulzní kapky, která se pohybuje v elektrickém poli [58, s. 19–20].

Elektroakustická spektroskopie pracuje na principu kombinace působení ultrazvuku a elektrického pole na emulzní kapky. Na rozdíl od metod na bázi elektroforézy, které vyžadují dostatečné ředění vzorku, lze elektroakustickou spektroskopií použít ke studiu koncentrovaných vzorků obsahujících až 50 obj. % částic. Naměřená data se pomocí vhodného matematického modelu převedou na zeta potenciál [58, s. 19–20].

4.1.5 Reologie

Reologické vlastnosti emulzí jsou významnou fyzikální charakteristikou, která ovlivňuje jejich stabilitu. Důležitými nástroji pro měření reologických vlastností emulzí jsou reometry nebo viskozimetry. V závislosti na velikosti měřené viskozity pracují přístroje na principu působení deformační síly ve smyku nebo tlaku, a mohou být konstruovány pro kapaliny, pevné látky nebo jiné viskoelastické materiály. Na principu smykové síly jsou konstruovány například smykové viskozimetry a dynamické smykové reometry, které jsou vhodné pro tekuté vzorky, zatímco kompresní zařízení je vhodnější pro vzorky viskoelastické, plastické či pevné [10, str. 70], [58, s. 21].

4.2 Vzhled a morfologie emulzí

Vzhled a sensorické vlastnosti emulzí hrají důležitou roli nejen v potravinářství, ale také v kosmetice. Vizuální vlastnosti lze hodnotit pomocí zbarvení emulze, světelné propustnosti, konzistence nebo přítomnosti či absencí fázové separace [58, s. 21].

4.2.1 Vzhled emulzí

Tato vlastnost závisí na interakcích jako je rozptyl, absorpce, odraz a přenos světelného vlnění ve viditelné oblasti elektromagnetického spektra. Množství rozptýleného světla určuje především transparentnost emulze, která může být vnímána jako zakalená, čirá nebo neprůhledná. O zbarvení emulze potom rozhodují vlnové délky světla, které jsou emulzí absorbovány [58, s. 21].

Schopnost absorbovat a rozptylovat světlo jsou dva kritické faktory určující turbiditu emulze. Pro zjištění absorbance a úrovně a turbidity se nejčastěji používá UV-VIS spektrofotometr. Při analýze se postupuje tak, že se vzorek emulze umístí do křemenné kyvety a použije se elektromagnetické vlnění s vlnovou délkou ve viditelné oblasti (380 až 780 nm) [58, s. 22].

Pro měření barvy emulze lze využít kolorimetry měřící zbarvení na základě barevného prostoru L, a, b , kdy souřadnice L reprezentuje intenzitu odraženého světla (jas), zatímco a a b charakterizují barvu souřadnice. Obvykle se hodnota L pohybuje v rozmezí od 0 do 100, přičemž hodnota blízká 100 znamená, že barva emulze je nejsvětlejší [58, s. 22], [59, s. 112].

4.2.2 Morfologie emulzí

Mikrostruktura emulzí nemůže být obvykle pozorována pouhým okem. K tomuto účelu jsou využívány různé typy mikroskopů [58, s. 22].

Nejrozšířenějším typem pro charakterizaci mikrostruktury emulzí je optický mikroskop. Jde o relativně levnou, snadno ovladatelnou a dostupnou metodu. Často je optický mikroskop vybaven digitální kamerou umožňující zachycení mikrostruktury emulze. Optický mikroskop může být prvním krokem ke zjišťování informací o tvaru a velikosti kapek emulze. Při studiu emulzí mají tyto typy mikroskopů mnoho omezení, například proto, že většina optických obrazů mikrostruktury vyžaduje přípravu plochých vzorků a většinou zobrazují sférické kapky. Další nevýhodou bývá malý rozdíl v hodnotách indexů lomu složek emulze, což ztěžuje jejich rozlišení. Alternativní metodou může být volba metody fázového kontrastu nebo diferenciální interferenční kontrastní mikroskopie. Tyto techniky vylepšují kontrast pomocí speciálního objektivu, který převádí i malé rozdíly v indexu lomu na významné rozdíly v intenzitě světla, kdy se objekty s větším indexem lomu než okolí jeví jako světlejší na tmavém pozadí, anebo tmavší na světlém pozadí. Dalším užitečným nástrojem při zkoumání morfologie emulzí je polarizační světelná mikroskopie [58, s. 22–23], [60, s. 203].

Další technikou charakterizace struktury emulzí je konfokální laserová skenovací mikroskopie. Touto metodou lze také dobře konstruovat trojrozměrné snímky a profil povrchu částic vzorku pomocí speciálního trojrozměrného skenování. Metoda není vhodná pro vzorky citlivé na světlo nebo pro vzorky, které se v průběhu času mění, jelikož vyžadují delší dobu expozice pro získání dostatečně intenzivního signálu [58, s. 23].

Elektronová mikroskopie patří mezi efektivní techniku k prozkoumání morfologie a mikrostruktury emulzí. Lze rozlišit dva typy elektronových mikroskopů, a to transmisní elektronový mikroskop (TEM) a skenovací elektronový mikroskop (SEM). Pomocí TEM lze získat snímky s vysokým rozlišením tím, že dochází k přenosu elektronů skrz vzorek. SEM skenuje vzorky fokusovaným paprskem elektronů, které reagují s atomy ve vzorku a poskytují snímky vzorku s informacemi o topografii povrchu a složení vzorku [58, s. 23].

4.2.3 Enkapsulační účinnost

V posledních desetiletích bylo vynaloženo velké úsilí, aby byly nalezeny bioaktivní látky s vysokou farmakologickou a kosmetickou účinností. Řada takových látek je však citlivá na změny prostředí, před čímž je může účinně ochránit enkapsulace. Bylo např. zjištěno, že enkapsulované aromatické látky, jako je citral, vykazují lepší stabilitu a dlouhodobější zadržování vůně. K vyhodnocení účinnosti emulzního systému obsahujícího enkapsulované bioaktivní látky slouží parametry zahrnující účinnost enkapsulace, stabilitu v průběhu skladování a uvolňování těchto látek. Pro určení uvedených parametrů je nutno kvantifikovat množství těchto látek zbývajících v emulzi ihned po zpracování, a potom v určitém čase během skladování a během používání [58, s. 24].

Pro kvalitativní analýzu analytů s chromofory je možno využít UV-VIS spektrofotometrii. Stanovení účinnosti enkapsulace je možno provést tak, že zapouzdřené sloučeniny obsahující chromofory a auxochromy se extrahují rozpouštědly a následně se analyzují pomocí UV-VIS spektrofotometrie [58, s. 25].

Pro separaci čistých složek ze směsi je účinnou metodou chromatografie. Sloučeniny jsou ze směsi separovány na základě dělení vzorku mezi mobilní a stacionární fázi. V případě kvalitativní a kvantitativní analýzy enkapsulovaných sloučenin je účinnou a vhodnou technikou vysokoúčinná kapalinová chromatografie (HPLC). Pro sloučeniny, které jsou těkavé, nepolární a mají nízký bod varu, lze pak s výhodou použít chromatografii plynovou. Správná příprava vzorku a výběr vhodné stacionární a mobilní fáze je předpokladem pro přesné provedení metody. Často se využívá kombinace chromatografie a hmotnostní spektrometrie [58, s. 25], [59, s. 67–68].

5 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

V poslední době směřuje oblast výzkumu Pickeringových emulzí k systémům stabilizovaným částicemi biologického původu. Důvodem je skutečnost, že tyto částice vykazují vysokou stabilitu, biokompatibilitu a jsou šetrné k životnímu prostředí [61, s. 97].

Celulóza představuje nejhojněji se vyskytující, obnovitelný a dostupný polymer, a proto jsou celulózové částice zvláště zajímavé pro stabilizaci emulzí v oblasti kosmetiky, farmacie nebo medicíny. Pozornost je zaměřena zejména na celulózové nanokrystaly, a to nejen díky jejich přirozené biologické rozložitelnosti, obnovitelnosti, hojnosti a udržitelnosti, ale také díky jejich výhodným fyzikálním a chemickým vlastnostem [62, s. 1–2].

Následující část práce představuje současné vědecké práce, které studují emulze Pickeringova typu stabilizované celulózovými částicemi. Wen, Yuan, Liang a Vriesekoop se zabývali přípravou Pickeringových emulzí s obsahem D-limonenu stabilizovaných CNC částicemi, které byly připraveny z kukuřičné celulózy pomocí APS. Pro přípravu částic byly k 100 ml 0,1 M roztoku APS přidány 2 g této kukuřičné celulózy a směs byla zahřívána na 60 °C po dobu 16 hodin. Takto byla získána suspenze CNC, která byla přečištěna opakovanou centrifugací do dosažení vodivosti 5 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ a hodnoty pH 4. Pomocí ultrazvukové sonikace byly následně připraveny suspenze s různým obsahem CNC. Pickeringovy emulze byly formulovány tak, aby výsledný poměr olej/voda byl 10/90. Z údajů experimentu vyplynulo, že při zvýšení teploty z 20 °C na 70 °C se zvyšovala i stabilita emulzí, což mohlo být zapříčiněno nevratnou adsorpcí CNC na povrch emulzních kapek. Systémy s nízkým pH nebo vysokou koncentrací soli pak vykazovaly v důsledku záporně nabitých částic CNC nízkou stabilitu. Studie prokázala, že použitím CNC jako stabilizátoru Pickeringových emulzí lze získat vysoce stabilní emulze s obsahem D-limonenu [63, s. 695–700].

V. Mikulcová a kol. se ve své studii zabývali přípravou a antimikrobiální aktivitou emulzí s obsahem složek esenciálních olejů stabilizovaných částicemi nanocelulózy. Konkrétně byla ke stabilizaci použita CNC, která byla získána kyselou hydrolyzou komerčně dostupné MCC a MFC. U CNC ani MFC nebyla provedena žádná povrchová modifikace. Testované mikroorganismy byly získány z České sbírky mikroorganismů. Pickeringovy emulze byly připraveny smícháním vodné a olejové fáze po-

mocí vysokorychlostního homogenizéru. V této studii byly sledovány vlastnosti emulzí typu O/V připravených v poměru 10/90 až 40/60 a byl stanoven vliv typu a koncentrace celulózy (0,1 až 1 %) a vliv typu a množství oleje na fyzikálně-chemické vlastnosti emulzí. Jako olejová složka byly použity tři různé antimikrobiální oleje, a to cinnamaldehyd, eugenol a limonen představující hlavní složky esenciálních olejů. U emulzí byl stanovován emulzní index, enkapsulační účinnost, velikost emulzních kapek a jejich distribuce. Dále byla sledována stabilita během osmi týdnů skladování a po mírném odstředování. Během prvního měsíce skladování došlo ke zvýšení průměrné velikosti částic u emulzí stabilizovaných CNC i MFC, ale po dvou měsících skladování již k dalšímu zvyšování velikosti kapek nedocházelo. Analýzou bylo také zjištěno, že emulzní kapičky stabilizované CNC byly menší, než kapičky stabilizované MFC. Dále výsledky ukázaly, že velikost kapiček výrazně závisela na všech sledovaných proměnných, a to nejen na typu celulózových částic a jejich koncentraci, ale také na obsahu a typu použitého oleje. Ukázalo se, že kapičky se zmenšují s rostoucí koncentrací celulózy, což lze přisuzovat většímu množství celulózy dostupné ke stabilizaci vyšší celkové mezifázové plochy, a naopak jejich velikost se zvyšovala se zvyšujícím se poměrem O/V. Emulze vykazovaly během skladování relativně dobrou stabilitu a jejich antimikrobiální účinnost potom závisela na typu a obsahu antimikrobiálního oleje. Při použití vysokých koncentrací olejů neměl typ použitých nanocelulózových částic významný vliv, ale u nízkých koncentrací emulzí již povaha nanocelulózových částic ovlivňovala antimikrobiální aktivitu a to tak, že emulze stabilizované MFC vykazovaly lepší antimikrobiální účinky ve srovnání s emulzemi stabilizovanými CNC. Dále se ukázalo, že grampozitivní bakterie byly připravenými emulzemi inhibovány lépe ve srovnání s gramnegativními bakteriemi, přičemž nejlepší antibakteriální účinnost proti oběma druhům bakterií byla pozorována u emulzí s obsahem cinnamaldehydu. Dle výsledků lze tedy konstatovat, že je možné připravit antibakteriální Pickeringovy emulze typu O/V stabilizované CNC nebo MFC s vysokým obsahem antimikrobiálního oleje, a to až do 40 hm. % [64, s. 780–792].

Přestože bakteriální celulóza vyniká mimořádnými vlastnostmi, jako jsou biokompatibilita, biodegradabilita, vysoká krystalinita, čistota bez přítomnosti ligninu či hemi-celulózy i výborná kapacita pro zadržování vody, jsou informace o použití bakteriální celulózy či nanokrystalů bakteriální celulózy (BCN) jako stabilizátorů Pickeringo-

vých emulzí pro potravinářské, medicínské a kosmetické aplikace značně omezené. Vzhledem k amfifilnímu charakteru jsou BC a BCN předurčeny pro stabilizaci Pickeringových emulzí. Protože BCN lze oproti jiným celulóзовým nanokrystalům snadno hydratovat a rozptýlit ve vodném prostředí, jsou schopny emulgovat např. sójový olej, hexadekan a kapalný parafin za vzniku stabilních Pickeringových emulzí. H. Yan a kol. provedli zajímavou studii, ve které se zabývali syntézou BCN a jejich schopností stabilizovat olivový olej v Pickeringových emulzích. Tento olej je zejména ve Středomoří široce využíván nejen v kosmetice a farmacii, ale i v potravinářství, a je považován za důležitou součást stravy jako jeden z hlavních faktorů pro zachování zdravé populace. V této studii byly BCN připraveny hydrolyzou BC pomocí kyseliny sírové a BC byly syntetizovány pomocí *Acetobacter xylinum*. Výsledkem pak byly ultrajemné krystalické mikrofibrily BC se stupněm krystalinity 75,1 %. Po hydrolyze byly výsledkem tyčinkovité mikrofibrily s krystalinitou 89,6 % a vysokou tepelnou stabilitou způsobenou odstraněním amorfních částí a štěpením krystalických mikrofibril. Pickeringova emulze byla připravena tak, že 10 ml olivového oleje bylo přidáváno k 90 ml BC nebo BCN suspenze o různých koncentracích (0,3; 0,6 a 0,9 hm. %) a k vytvoření emulze byla použita ultrasonikace s následnou centrifugací při 4 000 rpm po dobu 5 minut. Byla sledována výška emulgované vrstvy a pomocí výpočtu indexu emulzní stability (ESI) byla stanovena její stabilita. Při úbytku vodné fáze ve spodní části emulze se ESI zvyšuje, což značí i zlepšení její stability. Stabilitu emulze ovlivňovala také přítomnost olivového oleje resp. triacylglycerolů, které jej tvoří. Ty totiž mohou hydrolyzovat při $\text{pH} > 11$ za vzniku ionizované formy mastné kyseliny, která je povrchově aktivní. Dle výsledků studie, BC a BCN vykazovaly negativní zeta potenciál, což je v souladu s tím, že vlákna BC jsou záporně nabitá nezávisle na pH. Nanokrystalý bakteriální celulózy vykazovaly nižší zeta potenciál (-34,8 mV) ve srovnání s BC (-26,5 mV), který byl zapříčiněn přítomností karboxylových skupin zavedených oxidací na pyranosovém kruhu. Tyto poměrně nízké hodnoty zeta potenciálu a negativní náboj vláken potvrdily dobré koloidní vlastnosti BC a BCN a jejich vhodnost pro stabilizaci Pickeringových emulzí. Dále výsledky studie ukázaly, že emulzní kapky vykazovaly sférický tvar, a to bez ohledu na koncentraci BC nebo BCN. Nicméně koncentrace stabilizujících částic měla významný vliv na velikost emulzních kapek, a to tak, že s rostoucí koncentrací částic se velikost emulzních kapek zmenšovala a stávaly se uniformní,

zatímco počet kapek narůstal. Ukázalo se také, že zvýšená koncentrace částic podpořila stabilitu emulze, kdežto nízké koncentrace měly za následek nedostatečné pokrytí emulzních kapek s následnou koalescencí během centrifugace. Bylo rovněž zjištěno, že emulze stabilizované BCN měly jednotnější a menší kapky ve srovnání s emulzemi stabilizovaných pomocí BC při stejné koncentraci stabilizátoru. Dále byl zkoumán vliv pH a iontové síly, které ovlivňují hustotu náboje a velikost BC a BCN, což vede ke změně smáčivosti jejich povrchu. Z výsledků plyne, že BC i BCN vykazovaly negativní zeta potenciály v reakci na zvýšení pH nebo iontové síly, což je také v souladu s dalšími studii. Nicméně zeta potenciál a velikost BCN postupně klesaly při zvýšení pH z 3,18 na 12,02, a to v důsledku progresivního nárůstu deprotonovaných karboxylových skupin. S rostoucí iontovou silou (0 do 200 mM) pak zeta potenciál a velikost BC a BCN rostly. Hodnoty zeta potenciálu a velikosti celulózo- vých částic byly přisuzovány hlavně elektrostatickému efektu stínění s následnou agregací způsobenou přidáním chloridu sodného. Elektrostatické stínění způsobilo zvýšení zeta potenciálu, ale i agregaci BC a BCN vedoucí ke zvýšení jejich velikosti. Z toho tedy vyplývá, že sůl může nejen snižovat povrchový potenciál koloidních částic, ale také může způsobit jejich koagulaci (flokulaci) zapříčiněnou elektrostatickými interakcemi mezi částicemi. Výsledky studie také ukázaly, že zvýšení pH mělo za následek pomalé zlepšování stability emulze stabilizované BC z důvodu mírného poklesu zeta potenciálu a velikosti emulzních kapek. Naopak u emulze stabilizované BCN se stabilita nejprve dramaticky zvýšila a poté mírně klesala. Deprotonace karboxylových skupin BCN vedla ke zvýšení hustoty náboje a snížení velikosti vlivem elektrostatických odpudivých sil. Ukázalo se ale, že BCN vykazovaly vysokou hustotu náboje při $\text{pH} > 8,15$, která zabraňovala adsorpci BCN na rozhraní olej/voda, což mělo negativní dopad na stabilitu emulze. Podobný jev pozoroval i Wang a kol. (2016), který použil celulózové nanokrystaly z chřestu ke stabilizaci Pickeringovy emulze složené z palmového oleje a vody. Dále se ukázalo, že při kontinuálním zvyšování iontové síly se zvyšovalo i množství volných iontů ve vodné fázi, což zapříčinilo rychlou agregaci BC a BCN. Tyto výsledky byly v souladu i s dalšími studii. V reakci na pH a iontovou sílu byly více citlivější BCN než BC, což naznačuje jejich lepší koloidní vlastnosti, a tudíž lze pomocí BCN získat Pickeringovy emulze s použitím olivového oleje pro kosmetické, potravinářské a medicínské aplikace [65, s. 127–135].

Hlavní výzvou při formulaci kosmetických přípravků bývá připravit je tak, aby byly schopné působit na cílové kožní buňky a zároveň byl omezen jejich průchod do krevního oběhu. S. Simovic a jeho tým se zabývali stabilitou, strukturou a dodáním účinné látky, *all-trans* retinolu, do kůže. Účinná látka byla součástí Pickeringovy emulze složené z triglycylglycerolů se střední délkou řetězce, hydrofilních nanočástic oxidu křemičitého o velikosti ca 50 nm a lipofilního ko-stabilizátoru lecitinu nebo oleylaminu, které byly přítomny v olejové fázi. V této studii byla stabilizace emulzních kapiček pomocí nanočástic zkoumána jako nový přístup ke zlepšení chemické stability účinné látky zakomponované v emulzi. Při stanovení chemické stability *all-trans* retinolu se potvrdilo, že vrstvy nanočástic okolo emulzních kapiček mohou zvýšit trvanlivost nestabilních lipofilních molekul. Penetrační (permeační) chování Pickeringových emulzí bylo stanoveno pomocí *ex vivo* modelu prasečí kůže s použitím *all-trans* retinolu a fluorescenční sondy. Bylo zjištěno, že hloubka průniku *all-trans* retinolu, zakomponovaného v Pickeringových emulzích, může být výrazně zvýšena, a to až na 290 μm . Z výsledků tedy vyplynulo, že přítomnost nanočástic oxidu křemičitého má výrazný vliv na průnik látek do hlubších vrstev kůže. Propustnost kůže pro nanočástice byla naopak zanedbatelná, což prokázalo potenciál Pickeringových emulzí pro aplikace s cíleným dodáním účinných látek do kůže [66, s. 123–133].

V praktické části diplomové práce bude jako stabilizátor použit kromě nanokrystalické celulózy, také oxid zinečnatý, který pro kosmetické a farmaceutické přípravky představuje, mimo jiné, příznivé konzervační činidlo. Zajímavou studii týkající se použití oxidu zinečnatého jako nové antimikrobiální konzervační látky pro topické produkty provedl J. Pasquet a kolektiv. Cílem této studie bylo identifikovat interakce mezi široce používanými složkami topických produktů a ZnO s vyhodnocením jejich vlivu na antimikrobiální účinnost oxidu zinečnatého. Byly studovány tři typy topických formulací lišící se jejich fyzikálně-chemickými vlastnostmi, a to emulze typu O/V, emulze typu V/O a kompaktní pudr. Interakce byly testovány mezi ZnO a anti-oxidanty (2-glukosid kyseliny askorbové – AA2G, hořčík askorbyl fosfát – MgAsc a butylhydroxytoluen – BHT), cheláty dvojmocných kationtů (kyselina ethylendiamin-tetraoctová – EDTA), solemi (chlorid sodný – NaCl a síran hořečnatý) a oxidem titaničitým. Antimikrobiální test byl proveden podle normy EN ISO 11930, která je určena k posouzení úrovně biologické aktivity konzervačního systému v modelových

produktech. Výsledky studie potvrdily významné zlepšení mikrobiologické kvality produktů po přidání oxidu zinečnatého do formulací, a to i přes přítomnost dalších složek ovlivňujících antimikrobiální aktivitu. Studie doporučila věnovat pozornost vhodnému výběru složek neblokujících antimikrobiální mechanismy oxidu zinečnatého [67, s. 88–95].

V souvislosti s výrobními a zpracovatelskými procesy v kosmetickém, chemickém i potravinářském průmyslu vznikají odpadní vody obsahující nejrůznější emulze, jejichž odstranění je značně obtížné. Jednou z možností, kterou lze snížit organickou kontaminaci je fotokatalytická degradace, kterou studovali WeiWu a kolektiv. Jednalo se o intenzivní fotokatalytickou degradaci nitrobenzenu pomocí Pickeringových emulzí stabilizovaných nanočásticemi oxidu zinečnatého. Ve studii byly nejprve připraveny nanočástice oxidu zinečnatého, jejichž povrch byl následně povrchově modifikován pomocí isopropyl (di-(2-ethylhexyl)fosfát) titanátu. Již před modifikací oxidu zinečnatého byla pomocí TEM zjištěna jeho dobrá homogenita, disperzita a velikost částic (10 až 20 nm). Pickeringovy emulze obsahovaly olejovou fázi, ve které byl zakomponován nitrobenzen jako model organického kontaminantu, a vodnou fázi, která byla tvořena pouze vodou. Příprava Pickeringovy emulze typu O/V spočívala v dispergaci 0,3 g nitrobenzenu ve 300 ml vody. Poté byl přidán do směsi 1 g modifikovaných nanočástic oxidu zinečnatého a emulze byla po dobu 5 minut míchána pomocí vysokorychlostního homogenizéru za laboratorní teploty. Účinnost částic při stabilizaci emulze závisela na jejich fyzikálně-chemických vlastnostech, přičemž velmi důležitá byla zejména velikost kontaktního úhlu, který byl ideální u emulze obsahující ZnO s obsahem 3 hm. % modifikačního činidla. Stabilita emulzí byla stanovena vizuálním sledováním změny objemu vody, oleje a emulze po dobu 24 hodin při laboratorní teplotě. Dále byla zkoumána účinnost emulzí v závislosti na rychlosti odstranění nitrobenzenu fotokatalytickou degradací. Výsledky ukázaly, že Pickeringovy emulze stabilizované modifikovanými nanočásticemi oxidu zinečnatého představují nový a účinný způsob intenzivní fotokatalytické degradace organických kontaminantů [68, s. 453–457].

6 CÍLE PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo zpracovat literární rešerši na téma formulace Pickeringových emulzí pro topické aplikace. Úkolem bylo zaměřit se především na typy, vlastnosti, přípravu a charakterizaci kosmetických emulzí. V souladu s tématem práce byl pak důraz kladen na již zmíněné emulze stabilizované částicemi (Pickeringovy emulze), na porovnání jejich vlastností s ostatními typy emulzí a také na zhodnocení výhod a nevýhod jejich použití v topických aplikacích.

Úkolem praktické části diplomové práce bylo připravit emulze stabilizované částicemi nanokrystalické celulózy (CNC) a kombinací CNC a částic ZnO s obsahem lipofilních látek. Dalším dílčím cílem pak bylo připravené emulze charakterizovat a stanovit vliv formulace na velikost emulzních kapek, enkapsulační aktivitu a stabilitu těchto systémů za použití vhodných analytických metod.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 MATERIÁLY A METODIKA

7.1 Materiály

Hlavním materiálem připravovaných emulzí typu O/V byla nanokrystalická celulóza, oxid zinečnatý, demineralizovaná voda a olej. Byly použity následující látky:

- Vodná disperze karboxylované nanokrystalické celulózy s koncentrací nanokrystalů 3,1% a 3,16% (cCNC) – připraveno v laboratoři UTB ve Zlíně;
- Oxid zinečnatý (ZnO), p.a. min. 99,5 %, mol. hm. 81,38 g/mol, (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod);
- Demineralizovaná voda;
- Destilovaná voda;
- Olej trikaprylin/trikaprin (Tegosoft ®CT, Evonik Industries AG);
- Kyselina chlorovodíková (HCl, c = 0,2 M), (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod);
- Hydroxid sodný (NaOH, c = 0,4676 M), (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod);
- Chlorid vápenatý (CaCl₂, c = 3 mM), (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod);
- Chlorid sodný (NaCl), p.a., mol. hm. 58,44 g/mol, (Ing. Petr Švec, Penta);
- Fosfátový pufr o pH 5 – připraveno v laboratoři UTB ve Zlíně;
- Imerzní cedrový olej (Mikroshop);
- Ethylenglykol (Ing. Petr Lukeš, Uherský Brod);
- Diiodomethan (Sigma-Aldrich);
- *Staphylococcus aureus* CCM 4516;
- *Escherichia coli* CCM 4517;
- Mueller Hinton Agar (MHA) – připraveno v laboratoři UTB ve Zlíně.

7.2 Přístroje

Mimo běžného laboratorního vybavení a pomůcek, byly dále použity přístroje uvedené níže.

- Laboratorní váhy (EW 420-3NM, Kern);
- Analytické váhy (BA 110S, Sartorius);
- Analytické váhy (AS 220.R2, Radwag);
- Magnetická míchačka (MM4, Lavat);

- Mikroskop (CX41RF, Olympus);
- Digitální fotoaparát (EOS 1100D, Canon);
- Ultrazvukový sonikátor (UP400S, Hielscher);
- Laserový analyzátor velikosti částic (Mastersizer 3000, Malvern);
- Ultrazvuková čistička (SilverCrest);
- Zetasizer (Nano ZS90, Malvern);
- Rotační viskozimetr (DV-III Ultra, Brookfield);
- Tenziometr (K100, Krüss);
- Vpichový pH metr (Waterproof, XS Instruments);
- pH tester (Checker, Hanna Instruments);
- Laminární box (Alpina);
- Mikrobiologický inkubátor (VWR, Incu-Line).

7.3 Metodika

7.3.1 Příprava a charakterizace ZnO částic

K zakomponování oxidu zinečnatého do vodné fáze emulzí bylo nutno jej nejprve rozetřít v třecí misce tak, aby došlo ke zmenšení částic, jejichž velikost byla poté změřena pomocí laserového analyzátoru velikosti částic Mastersizer 3000 (Malvern). Tření ZnO v třecí misce probíhalo přibližně 1 minutu.

Dále byla pomocí tenziometrie stanovena povrchová energie ZnO. U práškových forem vzorků lze zjistit jejich povrchovou energii na základě měření kontaktního úhlu smáčení. Pro měření povrchové energie ZnO byl použit tenziometr typu K100 (Krüss) za využití Washburnovy metody. Tato metoda je založena na měření rychlosti průniku kapaliny do práškového materiálu umístěného ve skleněné trubičce zavěšené na vahách přístroje, na jejímž dnu se nachází kovový prstýnek s filtračním papírem propouštějícím pouze kapalinu. Před samotným měřením je nezbytné změřit kapilární konstantu za pomoci kapaliny, u které se předpokládá nulový kontaktní úhel se zkoumaným materiálem. V tomto případě byl takovou kapalinou n-hexan. Pro měření kontaktního úhlu smáčení bylo do skleněné kyvety vpraveno 1,5 g oxidu zinečnatého a jako testovací kapaliny byly použity ethylenglykol, voda a diiodome-
than. Objem každé z kapalin činil vždy 40 ml a stanovení bylo provedeno vždy dva-

krát pro každou kapalinu. Přístroj pracuje tak, že při kontaktu kapaliny se zkoumaným materiálem začne zaznamenávat rychlost stoupání kapaliny v prášku na základě změny hmotnosti v závislosti na čase, a následně stanoví kontaktní úhel smáčení daného materiálu. Pomocí těchto údajů lze v programu, který pracuje dle metody OWRK (Owen-Wendt-Rabel-Kaeble teorie), stanovit povrchovou energii měřeného práškového materiálu.

Charakterizace ZnO byla dále provedena pomocí měření zeta (ζ) potenciálu. Byla zkoumána závislost ζ potenciálu na pH. Pro měření bylo 0,09 g ZnO dispergováno v 10 ml 1 mM vodného roztoku NaCl s pH adjustovaným na hodnoty 3, 5, 7 a 10. Dále byla provedena homogenizace této směsi intenzivním protřepáváním. Vzorky byly poté ponechány 20 sekund v klidu, aby proběhla sedimentace největších částic, a následně byl proveden odběr disperze s nesedimentovanými částicemi. Měření tedy probíhalo s neředěnými vzorky. Princip metody měření ζ potenciálu je vysvětlen v kap. 7.3.3.2.

7.3.2 Příprava emulzí

V rámci experimentu byly připravovány emulze typu O/V. Olejovou fází tvořil olej trikaprylin, a to v množství dle zvoleného poměru olejové a vodné fáze, a vodná fáze obsahovala demineralizovanou vodu s karboxylovanou nanocelulózou a oxidem zinečnatým, v předem vypočteném množství. Částice karboxylované nanocelulózy a oxidu zinečnatého působily v emulzích jako stabilizátory hromadící se na mezifázovém rozhraní. Samotná příprava emulzí spočívala v navážení předem vypočteného množství jednotlivých složek do skleněných vialek tak, aby celkové množství emulze činilo vždy 10 g. U části vzorků byla ponechána nativní hodnota pH 7 a další část vzorků byla adjustována pomocí 0,2 M HCl na hodnotu pH 5,5, což přibližně odpovídá hodnotě pH kožního povrchu. Poměry olejové a vodné fáze byly připravovány v rozmezí 10/90 až 50/50. Následně byla provedena homogenizace složek emulze sonikací s využitím ultrazvukového sonikátoru UP400S. Sonikace probíhala po dobu 30 sekund při zvolených amplitudách a cyklu 0,6. V průběhu sonikace byla skleněná vialka se vzorkem emulze umístěna do plastové kádinky naplněné ledem, aby se předešlo přehřívání vzorků.

Při výpočtu se množství stabilizujících složek vztahovalo na vodnou část emulze, nikoliv na její celkové množství. Vzorec pro výpočet množství stabilizující složky uvádí rovnice (6):

$$m_{cCNC/ZnO} = \frac{m_{olej} \cdot m_{stab.}}{c_{cCNC/ZnO}} \quad (6)$$

Kde:

$m_{cCNC/ZnO}$ navažované množství cCNC/ZnO [g]

m_{olej} množství oleje [g]

$m_{stab.}$ množství stabilizující složky [%]

$c_{cCNC/ZnO}$ koncentrace cCNC/ZnO [%].

V následující Tab. 4 jsou na ukázkou uvedena vypočítaná množství pro emulze s poměrem O/V 10/90 až 30/70 s celkovým množstvím stabilizátoru 0,5 % a poměrem cCNC a ZnO 1:1.

Tab. 4. Množství jednotlivých složek emulze s 0,5 % stabilizátoru v poměru 1:1.

Poměr O/V	Množství složek [g]			
	cCNC	ZnO	Voda	Olej
10/90	0,7258	0,0225	8,2517	1
20/80	0,6452	0,0200	7,3348	2
30/70	0,5645	0,0175	6,4180	3

7.3.3 Charakterizace emulzních systémů

7.3.3.1 Měření velikosti částic

Charakterizace emulzních systémů byla prováděna laserovým analyzátozem velikosti částic pomocí přístroje Mastersizer 3000 (Malvern). Toto zařízení slouží pro stanovení distribuce velikosti částic v rozsahu 0,01 až 3500 μm , metodou laserové difrakce v práškových materiálech, suspenzích a emulzích za použití pevně nastaveného systému optických čoček. Měření může probíhat dvěma způsoby, a to tzv. suchou cestou, kdy je vzorek z lodičky sypán do systému a odtud je unášen do měřicí cely, nebo tzv. mokrou cestou, při které je vzorek z roztoku proháněn měřicí celou. V tom-

to experimentu byl použit tzv. mokrý způsob měření za použití dispergační automatizované jednotky, zvané Hydro, která byla naplněna disperzním médiem (demineralizovanou vodou). Tato jednotka je také vybavena zabudovaným míchadlem a ultrazvukem zajišťující homogenitu a rozptýlení vzorku. Vzorek byl do média dávkován plastovou Pasteurovo pipetou. Množství přidávaného vzorku je dáno procentem tzv. obskuracy, která zajistí vhodný poměr signálu a šumu. V tomto případě bylo dosaženo hodnoty obskuracy na přibližně 10 %. Výstupem měření je graf distribuce velikosti částic a tabelované hodnoty s parametry charakterizující velikost částic ve vzorku. Měření bylo prováděno ihned po přípravě vzorků a dále ve stanovených časových intervalech. Míchadlo bylo nastaveno na 2220 ot/min a teplota měření činila 25 °C. Použití ultrazvukového homogenizátoru bylo v rozmezí 30 až 80 % po dobu 3 minut. Sledovaným parametrem byla tzv. hodnota D [4;3] vyjadřující průměr částic v μm vztažený na jejich objem. Každý vzorek byl podroben třem opakováním, jejichž průměr byl výsledkem stanovení. Na základě Dean-Dixonova testu byla poté vypočtena směrodatná odchylka měření.

7.3.3.2 Měření ζ potenciálu

Dalším přístrojem, pomocí kterého byla provedena charakterizace emulzních systémů, byl Zetasizer Nano ZS90 (Malvern). Je to zařízení umožňující analýzu velikosti částic, měření ζ potenciálu a stanovení molekulové hmotnosti. V tomto případě se jednalo o měření ζ potenciálu. Přístroj umožňuje měření ζ potenciálu ve vodných i bezvodých disperzích a analyzovaný rozsah velikostí částic leží v rozmezí 0,3 nm až 5 μm . Pro měření byly vzorky upraveny ředěním, a to smícháním 4 ml demineralizované vody a 15 μm emulze. Měření probíhalo při teplotě 25 °C za použití speciální kyvety (DTS1070). Stanovení ζ potenciálu probíhalo v den přípravy vzorků a dále ve stanovených časových intervalech a výsledná hodnota byla průměrem tří měření a jako v předchozím případě, byla vypočtena směrodatná odchylka měření pomocí Dean-Dixonova testu.

7.3.3.3 Mikroskopie

Za pomoci mikroskopu CX41RF (Olympus) bylo u vybraných vzorků emulzí provedeno mikroskopické pozorování. Výstupem mikroskopování byly fotografické snímky, které byly pořízeny pomocí digitálního fotoaparátu EOS 1100D (Canon) připoje-

ného k mikroskopu, který byl propojen s počítačem. Pozorování bylo založeno na metodě fázového kontrastu. Před pozorováním bylo provedeno ředění vzorku emulze, a to tak, že jedna kapka emulze byla v Eppendorfově zkumavce o objemu 1,5 ml doplněna demineralizovanou vodou nebo demineralizovanou vodou s adjustovaným pH. Na čisté podložní sklíčko byla poté kápnuta jedna kapka připraveného vzorku pomocí plastové Pasteurovy pipety, na které bylo následně vloženo krycí sklíčko. Jelikož bylo pozorování prováděno pomocí okuláru a objektivu při zvětšení 10 x 100, bylo nutno na krycí sklíčko aplikovat imerzní cedrový olej, a mikroskopie byla prováděna při fázovém kontrastu Ph 3. Mikroskopování se konalo nezávisle na době přípravy emulzí.

7.3.3.4 Reologie

Měření viskozity probíhalo na rotačním viskozimetru DV-III Ultra (Brookfield) s použitím geometrie typu válec-válec. Při této geometrii je do válcové nádoby ponořen rotující válec a úzkou mezeru mezi válci vyplňuje měřená kapalina. Podstatou rotačních viskozimetrů je měření síly, kterou kapalina působí na zavěšený válec nebo jinou konstrukci, a hodnotí se účinek při daných rychlostech otáčení. Nastavení parametrů měření a zpracování dat probíhalo v softwaru Rheocalc. Pro měření viskozity bylo zvoleno vřetenno SC4-18. Viskozita byla stanovena v rozmezí smykových rychlostí 15 až 50 s⁻¹ při teplotě 25 °C.

7.3.3.5 Fázové studie

Pomocí vizuálního pozorování emulzních systémů byla zjišťována jejich stabilita. V pravidelných časových intervalech byl u emulzí zjišťován index emulzní stability (EI – Emulsion Stability Index), index krémování (CI – Creaming Index) a enkapsulační účinnost (EE – Encapsulation Efficiency).

Na základě indexu emulzní stability byl sledován objem emulzní vrstvy a celkový objem emulze. Hodnota indexu emulzní stability byla pak vypočtena dle následující rovnice (7):

$$EI = \frac{V_{emuls}}{V_{total}} \cdot 100 [\%] \quad (7)$$

Kde:

V_{emuls} objem emulzní vrstvy [ml]

V_{total} celkový objem emulze [ml].

U indexu krémování byla sledována výška krémovací vrstvy emulze a výška celkové emulze, přičemž hodnota indexu byla vypočítána podle rovnice (8):

$$CI = \frac{H_{serum}}{H_{total}} \cdot 100 [\%] \quad (8)$$

Kde:

H_{serum} výška krémovací vrstvy [mm]

H_{total} celková výška emulze [mm].

Enkapsulační účinnost emulzí byla počítána na základě objemu uvolněného oleje a objemu celkového oleje, obdobně jako u předchozích dvou případů výpočtem, podle této rovnice (9):

$$EE = \frac{V_{celkový\ olej} - V_{uvolněný\ olej}}{V_{celkový\ olej}} \cdot 100 [\%] \quad (9)$$

Kde:

$V_{celkový\ olej}$ objem celkového množství oleje [ml]

$V_{uvolněný\ olej}$ objem uvolněného množství oleje [ml].

V tomto případě se musela u objemu celkového množství oleje zohlednit hustota použitého oleje a také jeho množství v dané emulzi, a to na základě následující rovnice (10):

$$V = \frac{m}{\rho} \quad (10)$$

Kde:

m hmotnost oleje v emulzi [g]

ρ hustota oleje [g/cm³].

7.3.3.6 Mikrobiologie

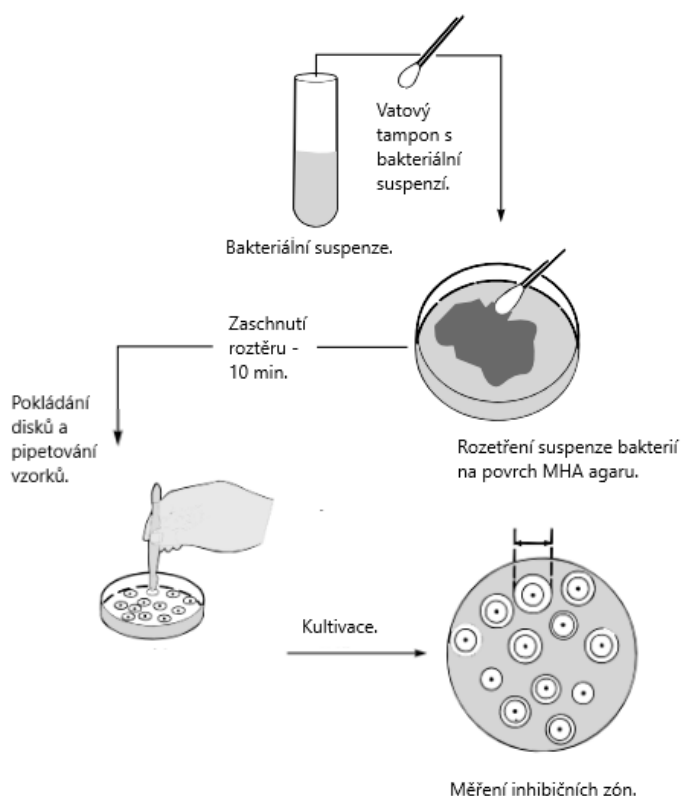
Na základě studií, ve kterých bylo zjištěno, že nanočástice ZnO vykazují antimikrobiální vlastnosti vůči některým patogenům, se část experimentální práce orientovala na tuto problematiku, tedy na stanovení antimikrobní účinnosti připravených emulzí. Přestože mechanismus antibakteriální aktivity ZnO je předmětem výzkumů a stále není zcela objasněn, bylo dokázáno, že nanočástice ZnO vykazují antibakteriální aktivitu vůči grampozitivním i gramnegativním bakteriím. V tomto experimentu byly použity dva testovací bakteriální kmeny získány z České sbírky mikroorganismů (CCM), a to grampozitivní bakterie *Staphylococcus aureus* (CCM 4516) a gramnegativní bakterie *Escherichia coli* (CCM 4517). Antibakteriální aktivita byla testována v předem zvolených vzorcích (Tab. 5). Protože množství oleje v emulzích na toto stanovení nemá vliv, byly testovány pouze emulze s poměrem O/V 10/90, ve kterých byla současně nejvyšší koncentrace ZnO. Postupovalo se tak, že bakterie byly nejprve přeočkovány na nové Petriho misky a byly kultivovány přes noc při teplotě 35 °C. Koncentrace *Staphylococcus aureus* byla $5,0 \cdot 10^6$ CFU/ml a koncentrace *Escherichia coli* odpovídala hodnotě $1,5 \cdot 10^7$ CFU/ml. Ke stanovení antibakteriální aktivity byly zvoleny tři metody, a výpočet směrodatné odchylky byl proveden pomocí Dean-Dixonova testu.

Tab. 5. Testované vzorky emulzí.

Poměr O/V	Celkové množství stabilizátoru [%]	Poměr cCNC a ZnO
10/90	0,2	1:1, 3:2, 4:1
	0,5	1:1, 3:2, 4:1
	0,7	1:1, 3:2, 4:1

- 1) Nejprve byla provedena difúzní disková metoda (DDM). Test byl proveden následujícím postupem: v laminárním boxu byl do bakteriální suspenze ponořen sterilní vatový tampon, a po odstranění přebytečné tekutiny (otřením o vnitřní stěnu zkumavky) byla suspenze rovnoměrně rozetřena na Petriho misku s MHA agarem. Postup odpovídal skice na Obr. 10, tzn. pootáčením Petriho misky o úhel 60° byly provedeny tři roztěry, s konečným obkroužením vatového tamponu po vnitřní stěně misky. Takto provedený roztěr zajistil naočkování celého povrchu misky. Po zaschnutí bakteriální suspenze byly

na povrch Petriho misky sterilní pinzetou položeny sterilní disky z filtračního papíru o průměru 6 mm, na které bylo následně pipetováno vždy po 5 μl neředěného vzorku emulze. Jeden disk na plotně sloužil vždy jako disk kontrolní, na který byla pipetována sterilní destilovaná voda rovněž o objemu 5 μl . Takto připravené Petriho misky byly kultivovány při 35 °C po dobu 24 hodin. Následně bylo provedeno změření velikosti inhibičních zón. Velikost inhibičních zón je vyjádřena jejich průměrem (mm), včetně velikosti disku.



Obr. 10. Postup DDM, upraveno podle [69, s. 260].

- 2) Dalším použitým postupem byla difúzní jamková metoda s roztěrem. Zde je postup provedené metody stejný jako u difúzní diskové metody s tím rozdílem, že na Petriho misky s MHA agarem nebyly kladeny disky, ale do agaru byly pomocí korkovrtu vykrojeny jamky, do kterých bylo následně pipetováno vždy 50 μl neředěného vzorku emulze. Průměr jamky činil 8 mm. Jako v případě předchozí metody, sloužila vždy jedna jamka jako reference a bylo do ní pipetováno 50 μl sterilní destilované vody. Petriho misky byly kultivo-

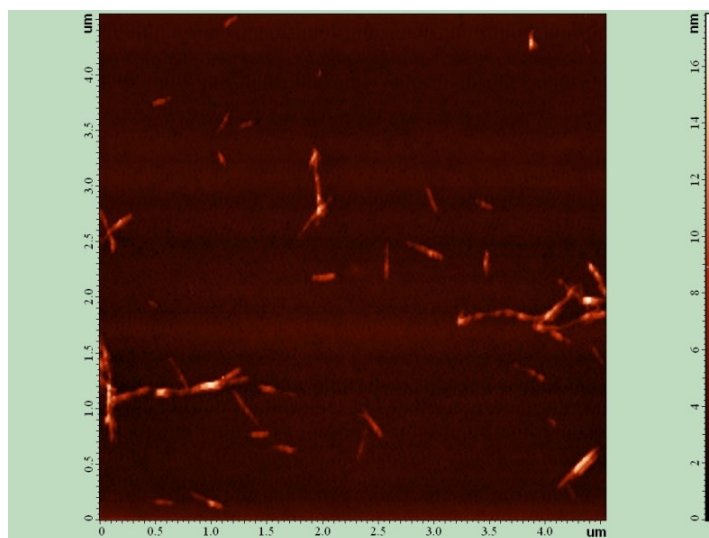
vány při 35 °C po dobu 24 hodin a poté bylo provedeno změření inhibičních zón (mm) způsobem popsaným v předcházejícím bodě.

- 3) Poslední metodou byla difúzní jamková metoda se zaléváním. V laminárním boxu byl na sterilní Petriho misky pipetován vždy 1 ml bakteriální suspenze, která byla následně zalita MHA agarem o teplotě 50 °C. Po promíchání bakteriální suspenze s agarem a po ztuhnutí, byly do agaru, jako v předchozím postupu, vykrajovány jamky pomocí korkovrtu, do kterých bylo také pipetováno vždy 50 µl neředěného vzorku emulze, a do kontrolní jamky 50 µl sterilní destilované vody. Poté byla provedena kultivace při 35 °C po dobu 24 hodin a poté následovalo změření inhibičních zón (mm).

8 VÝSLEDKY A DISKUZE

8.1 Charakterizace cCNC

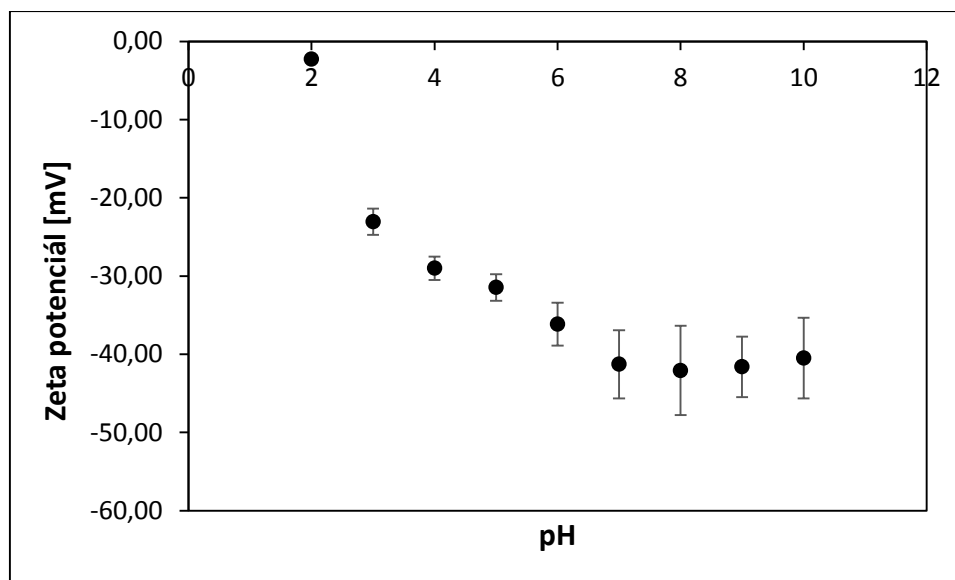
Vzhledem ke skutečnosti, že vlastnosti cCNC jsou pro formulaci emulzí velmi důležité, jsou zde stručně uvedeny na základě publikace [45]. Její autoři se zabývali přípravou karboxylované nanokrystalické celulózy oxidací mikrokrystalické celulózy pomocí APS. Charakterizace částic byla provedena metodou mikroskopie atomárních sil (AFM). Snímek z AFM (Obr. 11) potvrdil, že částice cCNC mají formu protáhlých tyčinkovitých koloidů s délkou v rozmezí 50 až 450 nm, výškou kolem 5 nm a šířkou mezi 20 až 60 nm [45, s. 60].



Obr. 11. AFM celulóзовých nanokrytalů získaných z mikrokrystalické celulózy oxidací pomocí APS [45, s. 62].

U celulóзовých nanokrytalů získaných úpravou celulózy silným oxidačním činidlem se předpokládá, že nesou karboxylové skupiny na povrchu částic (Leung a kol., 2011) [51, s. 302]. Karboxylové skupiny pak způsobují, že cCNC částice vykazují určitou citlivost vůči pH disperzní fáze, což má klíčový dopad na koloidní chování cCNC v prostředí s různými hodnotami pH a iontové síly. Boluk, Lahiji Zhao a McDermott (2011) [70, s. 297–303] zjistili, že nanocelulóзовé částice připravené pomocí APS jevíly velmi dobrou stabilitu nad pKa karboxylových skupin. Jejich stabilita klesá s poklesem pH v důsledku snížení povrchové hustoty náboje, což vede k agregaci. Chování cCNC, konkrétně hodnoty zeta potenciálu stanovené v rozmezí

hodnot pH 2 až 10, jsou zobrazeny na Obr. 12. Podle očekávání, se od hodnoty $\zeta = -41 \pm 4$ mV stanovené při pH 7 a vyšším, zeta potenciál zvyšoval se snižujícím se pH disperzní fáze a při hodnotě pH 2 byly hodnoty zeta potenciálu blízké nule. Za těchto podmínek nebyly celulózové nanokrystaly stabilní a měly tendenci silně agregovat, čímž bylo ovlivněno měření zeta potenciálu [45, s. 62–63].



Obr. 12. Závislost zeta potenciálu suspenze cCNC v 1 mM NaCl na pH [45, s. 63].

8.2 Charakterizace ZnO

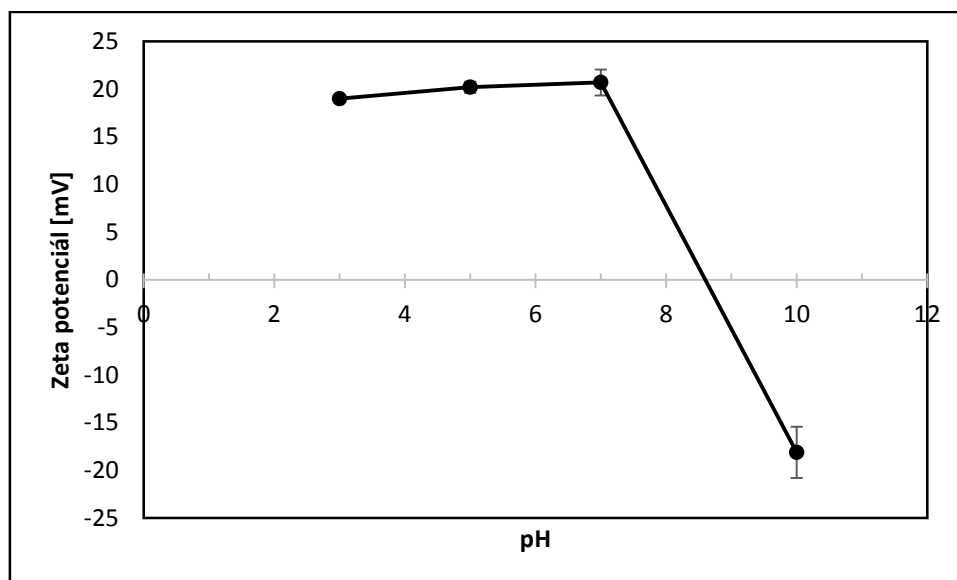
Další složkou připravovaných emulzí byl ZnO, jehož částice byly rovněž charakterizovány relevantními analytickými metodami. Na základě měření velikosti částic světelnou difrakcí bylo zjištěno, že průměrná velikost částic D [4;3] ZnO činila $(6,1 \pm 0,2)$ μm .

Pomocí tenziometrie byla Washburnovou metodou stanovena povrchová energie ZnO. Měření ukázalo, že hodnoty kontaktního úhlu byly pro všechny testovací kapaliny (vodu, ethylenglykol a diiodomethan) rovny 90° , tudíž se jedná o nesmáčivý materiál. Z hodnot kontaktního úhlu byla vypočtena povrchová energie, jejíž hodnota činila 20 mN/m.

Dále byla zkoumána závislost ζ potenciálu na prostředí o různých hodnotách pH. Měření ukázalo, že zeta potenciál ZnO při pH 3, 5 a 7 vykazoval kladné hodnoty blízké +20 mV (Obr. 13). Změna pak nastala při hodnotě pH $\sim 8,5$, kdy zeta potenci-

ál nabýval nulové hodnoty, což je označováno jako izoelektrický bod, ve kterém kolidní systém vykazuje nejnižší stabilitu. Při hodnotě pH 10 pak byla naměřena záporná hodnota ζ potenciálu (-18 ± 3) mV. Tato hodnota je v dobrém souladu s hodnotami uvedenými v literatuře, např. v publikaci [71].

V souvislosti s použitím ZnO v emulzích je vhodné stručně zmínit vlastnosti tohoto oxidu. Oxid zinečnatý patří mezi amfoterní oxidy, je nerozpustný ve vodě (rozpuštěnost při 25 °C $\sim 1,6 \text{ mg.l}^{-1}$) a rozpouští se ve zředěných kyselinách a roztocích hydroxidů. Jeho vlastnosti byly studovány v řadě publikací a v širokém spektru aplikací. Obsáhlou studii zabývající se vlastnostmi vodných disperzí ZnO, konkrétně ζ potenciálem a velikostí jeho částic v závislosti na pH disperzního prostředí, publikovali Omar a kol. [72]. Autoři studovali vliv širokého rozsahu hodnot pH (3–11) na částice ZnO. Tato studie ukázala, že rychlost rozpouštění tohoto oxidu při různých pH je závislá na velikosti částic a je významně rychlejší pro nanočástice ve srovnání s částicemi s mikronovou velikostí. Ve studovaném rozsahu pH autoři zároveň označili tzv. „oblasti stability a nestability“ ZnO. Stablní pH oblast ležela v blízkosti hodnoty pH = 7 a dvě nestablní oblasti pak v rozmezí $4,4 < \text{pH} < 6,4$ a $8,3 < \text{pH} < 10,5$. V kyselé oblasti bylo např. zjištěno, že po přidavku ZnO do vody o pH 5,5 a 6,4 se hodnota pH během hodiny zvýšila na 7,1, na které se pak stabilizovala. Tato změna pH byla vyvolaná rozpouštěním ZnO částic, kdy dochází k hydrolyze jejich povrchu a tvorbě Zn(OH)_2 . Další výsledky práce ukázaly, že hodnoty ζ potenciálu, stanovené při jednotlivých hodnotách pH, vykazovaly změny v čase. Velikost těchto změn byla ovlivněna tím, jestli dané pH leželo ve výše zmíněných oblastech stability či nestability. Izoelektrický bod ZnO byl pak určen při pH = 9,4. Z uvedeného krátkého komentáře je zřejmé, že chování ZnO ve vodných roztocích je komplikované a může ovlivnit i chování emulzí, které jej obsahují.



Obr. 13. Závislost zeta potenciálu ZnO na pH.

8.3 Pickeringovy emulze - preformulační studie

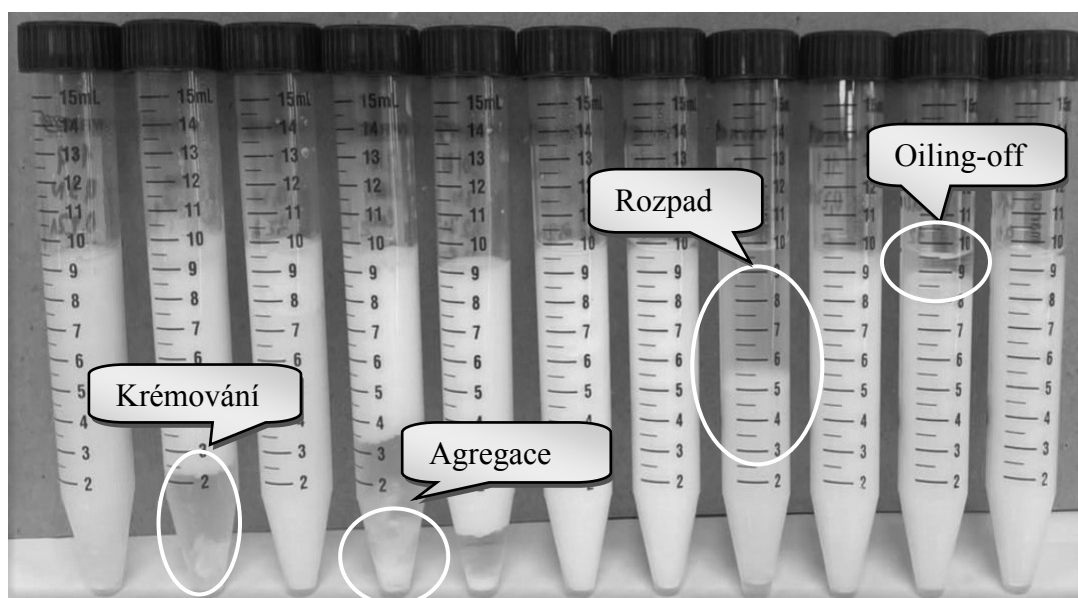
Úkolem úvodních experimentů bylo najít vhodný poměr O/V a vhodné množství stabilizujících složek, tedy cCNC a ZnO částic, které by vedly ke tvorbě stabilní emulze. V Tab. 6 je znázorněn přehled emulzí, které byly v rámci první série připraveny. V této preformulační studii byl dále testován vliv pH a vliv iontové síly (přídavek 3 mM CaCl₂) na tvorbu a stabilitu Pickeringových emulzí.

Tab. 6. Přehled připravovaných emulzí v první sérii.

Vzorek	Poměr O/V	$m_{cCNC}[\%]$	$m_{ZnO}[\%]$	$m_{3mM CaCl_2}[\text{g}]$	pH
A-1	10/90	0,3	0,2	-	7
A-2	10/90	0,3	0,2	0,27	7
A-3	20/80	0,3	0,2	-	7
A-4	20/80	0,3	0,2	0,24	7
A-5	20/80	0,3	0,2	-	5,5
A-6	30/70	0,3	0,2	-	7
A-7	40/60	0,3	0,2	-	7
A-8	50/50	0,3	0,2	-	7
A-9	10/90	-	0,2	-	7
A-10	20/80	-	0,2	-	7
A-11	20/80	0,1	0,1	-	7

Vzorky byly připraveny navážením demineralizované vody, ZnO, cCNC a oleje a následnou sonikací při 30 % amplitudě a 0,6 cyklech po dobu 30 s. V případě vzorku

A-5 byla nejprve adjustována voda na pH 5,5 a poté byly navázeny ostatní složky emulze. Ke vzorku A-2 a A-4 byl přidán 3 mM CaCl_2 , jehož množství bylo vztaženo pouze na vodnou fázi emulze. V den přípravy emulzí byla stanovena velikost emulzních kapek a zeta potenciál. Velikost částic se pohybovala v rozmezí od 3 do 17 μm a hodnoty zeta potenciálu byly příznivé pouze pro vzorek A-5 ($-41,7 \pm 0,7$) mV a vzorek A-9 ($-47,4 \pm 0,9$) mV. Vzorky A-7 a A-8 vykazovaly nízkou stabilitu a emulze se rozpadly již v den přípravy. Vzhledem k této skutečnosti nebylo provedeno měření velikosti kapek, ani zeta potenciálu. Druhý den po přípravě byly provedeny fázové studie, z jejichž výsledků vyplynulo, že vzorky s přidavkem 3 mM CaCl_2 vykazovaly krémování a na dně zkumavky s emulzí byly pozorovány agregáty ZnO s CaCl_2 (Obr. 14). Přídavek CaCl_2 , který pozitivně ovlivnil stabilitu u emulzí stabilizovaných cCNC popsaných v publikaci [45], zde tedy působil opačně, a naopak agregaci podporil. U vzorků A-1, A-6, A-9, A-10 a A-11 došlo k rozpadu fází, kdy byla na povrchu vzorků přítomna olejová vrstva. Tento jev je označován jako „oiling-off“. U vzorku A-5 s adjustovaným pH bylo viditelné krémování emulze. Vzorek A-3 byl den po přípravě stabilní, ale po týdnu již vykazovat rozpad. Dle uvedených výsledků bylo zjištěno, že největší stabilitu jevil vzorek A-5 s adjustovaným pH na hodnotu 5,5, který zůstal stabilní i po 5 měsících od přípravy. Na Obr. 14 jsou zaznačeny známky destabilizace, které byly u některých emulzí pozorovány.



Obr. 14. Vzorky A-1 až A-11 z preformulační studie (první série) po 1 týdnu od přípravy (zleva doprava) s naznačenými destabilizačními jevy.

Na základě těchto údajů byl pro druhou sérii emulzí zvolen poměr O/V 20/80 s 0,3 % množstvím cCNC a 0,2 % množstvím ZnO (tedy 0,5 % stabilizujících částic). Postup přípravy byl totožný s předchozí sérií. Bylo připraveno 8 vzorků, z nichž čtyři byly ponechány při nativním pH 7 a další čtyři byly adjustovány na hodnotu pH 5,5. V této sérii byl studován i vliv metody přípravy emulzí, a vzorky byly sonikovány při předem zvolených amplitudách (40, 60, 80 a 100 %), jak je shrnuto v Tab. 7.

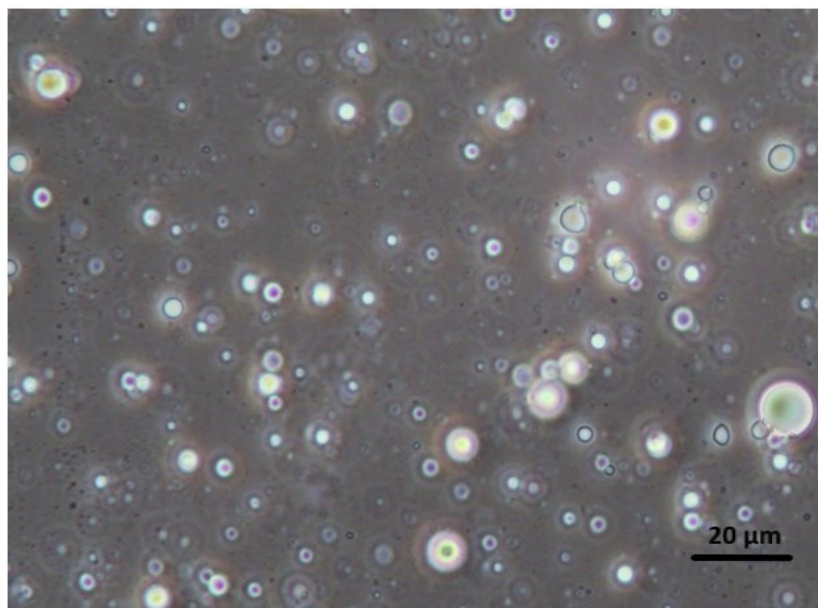
Tab. 7. Druhá série emulzí s 0,3 % cCNC a 0,2 % ZnO.

Vzorek	Poměr O/V	Amplituda [%]	pH
B-1	20/80	40	7
B-2	20/80	60	7
B-3	20/80	80	7
B-4	20/80	100	7
B-5	20/80	40	5,5
B-6	20/80	60	5,5
B-7	20/80	80	5,5
B-8	20/80	100	5,5

Obdobně jako v první sérii byla i zde provedena charakterizace emulzí. Velikost kapek všech emulzí v den přípravy, vyjádřená jako $D [4;3]$, se pohybovala od 3 do 4 μm , byla tedy menší než u vzorků první série, což bylo zřejmě zapříčiněno vyššími hodnotami amplitudy při sonikaci, které vedly k důkladnější homogenizaci. Po opakovaném měření vzorků po 4 týdnech velikost kapek vzrostla na 7 až 20 μm . Co se týká zeta potenciálu, jeho hodnoty byly příznivé pouze pro vzorek B-7 ($-35,2 \pm 0,6$) mV a B-8 ($-33,00 \pm 0,83$) mV. Výsledky fázové studie ukázaly, že vzorky s pH adjustovaným na hodnotu 5,5 nevykazovaly žádné známky rozpadu, i když se u nich již den po přípravě projevilo krémování. U všech vzorků s pH 7 se objevoval oiling-off. Tím se tedy potvrdilo, že k vytvoření stabilní emulze je nutná adjustace pH do kyselejší oblasti.

Dále byla provedena vizualizace vybraných vzorků emulzí pomocí optické mikroskopie při zvětšení 10 x 100 a fázovém kontrastu Ph 3. Jako příklad je na Obr. 15 zobrazena emulze B-2 po šesti dnech od přípravy. Tento snímek ilustruje přítomnost emulzních částic, u kterých byla v den přípravy naměřena velikost $D [4;3]$ ($3,36 \pm 0,01$) μm . Pokud vezmeme v úvahu skutečnost, že velikost emulzních kapek měřená metodou světelné difrakce posky-

tuje objemově vážený průměr a mikroskopie počtetně vážený průměr kapek, je možné konstatovat, že výsledky z optické mikroskopie jsou ve shodě s výsledky z difrakčních měření.



Obr. 15. Emulzní kapky vzorku B-2 vizualizované pomocí optické mikroskopie.

Vlastnosti emulzí ovlivňuje také postup jejich přípravy. V rámci preformulační studie byly připraveny 4 emulze, s poměrem oleje a vody 20/80, 0,3 % cCNC a 0,2 % ZnO, které se lišily postupem přípravy.

- 1) U prvního vzorku byla nejprve adjustována voda na pH 5,5, poté byly přidány všechny ostatní složky a byla provedena sonikace.
- 2) Druhý vzorek byl připraven adjustováním vody na pH 5,5, dále byl přidán ZnO a cCNC, intenzivním protřepáváním byla provedena homogenizace stabilizujících částic ve vodné fázi emulze, poté byl přidán olej a vzorek byl sonikován.
- 3) U třetího vzorku se postupovalo tak, že do vody byly nejprve přidány ZnO a cCNC, poté byla provedena adjustace vodné fáze na pH 5,5, dále byla intenzivním protřepáváním provedena její homogenizace, následně byl přidán olej a vzorek byl podroben sonikaci.
- 4) U čtvrtého vzorku byl použit místo demineralizované vody pufr o pH 5, dále byly přidány ostatní složky a vzorek byl sonikován.

U všech vzorků sonikace probíhala při 30 % amplitudě, 0,6 cyklech po dobu 30 s. Vizualním hodnocením bylo zjištěno, že vzorek s pufrem již v den přípravy vykazoval rozpad. U ostatních vzorků se projevilo krémování.

Nejen postup přípravy, ale i hodnota pH ovlivňuje vlastnosti emulzí. V rámci preformulační studie byla proto sledována změna pH v každém kroku přípravy emulze. Výsledky ukázaly, že pokud byla adjustována samotná voda na pH 5 a 4, po přidání ZnO a cCNC došlo ke zvýšení pH na hodnoty 7,8 (u původního pH 5) a pH 6,6 (u původního pH 4). Poté byla znovu provedena adjustace na pH 5 a pH 4 a po přidavku oleje došlo opět ke zvýšení pH a to na pH 5,5 (u původního pH 5) a na pH 5 (u původního pH 4). Obdobné hodnoty byly naměřeny i po následné sonikaci emulzí. Toto pozorování je v souladu s výše uvedenými poznatky z literatury, která uvádí, že v ZnO suspenzi s počáteční hodnotou pH 5,5 dochází k jeho postupnému růstu na hodnotu blízkou 7 [72]. Dále bylo zjištěno, že v postupu, kdy byly nejprve naváženy všechny složky emulze a poté byla emulze adjustovaná na pH 5 a 4, se po sonikaci pH zvýšilo na pH 5,4 (z původního pH 5) a na pH 4,9 (z původního pH 4), přičemž u emulze s adjustovaným pH na hodnotu 4 byl již po sonikaci pozorován rozpad emulze. Ostatní vzorky vykazovaly krémování.

Na základě zjištěných výsledků ve všech preformulačních studiích byl pro přípravu emulzí zvolen postup, kdy byly naváženy všechny složky emulze, dále proběhla adjustace na pH 5,5 a následně byly vzorky podrobeny sonikaci při 30 % amplitudě, 0,6 cyklech po dobu 30 s.

8.4 Pickeringovy emulze - formulační studie

V souladu se zjištěnými výsledky získanými v preformulační studii, byla další část práce zaměřena na přípravu emulzí s předem zvolenými formulacemi, jejichž složení je uvedeno v Tab. 8.

Tab. 8. Složení emulzí v rámci formulační studie.

Celkové množství stabilizátoru [%]	Poměr cCNC/ZnO	Poměr O/V
0,2	1:1; 3:2; 4:1	10/90; 20/80; 30/70
0,5	1:1; 3:2; 4:1	10/90; 20/80; 30/70
0,7	1:1; 3:2; 4:1	10/90; 20/80; 30/70

Emulze byly připraveny navážením předem vypočteného množství složek do skleněných vialek, v tomto pořadí: voda, ZnO, cCNC a olej. Poté byla provedena adjustace směsi na zvolenou hodnotu pH 5,5. Následovala sonikace při 30 % amplitudě a 0,6 cyklech po dobu 30 s. V den přípravy byla provedena charakterizace emulzí, a to změřením velikosti částic a ζ potenciálu, a jelikož některé z emulzí vykazovaly krémování již v den přípravy, byly v tento den provedeny i fázové studie. Následující den po přípravě byla znovu provedena fázová studie a měření viskozity emulzí.

V rámci formulační studie byla rovněž studována stabilita emulzí vždy po týdnu a po čtrnácti dnech ode dne jejich přípravy, při skladování při laboratorní teplotě. Emulze byly charakterizovány pomocí velikosti částic, ζ potenciálu, reologických měření a fázové studie.

8.4.1 Velikost a distribuce částic

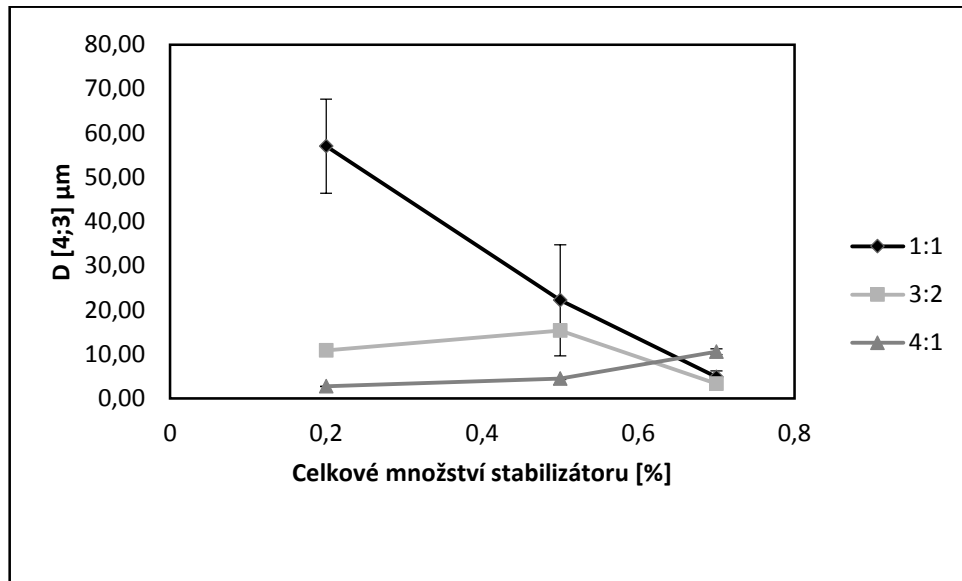
K charakterizaci emulzí sloužil přístroj Mastersizer 3000 od firmy Malvern, pracující na principu laserové difrakce, který je schopen změřit velikost emulzních částic a jejich distribuci. Metoda pracuje na principu ohybu a rozptylu monochromatického záření na částicích proudících v cele přístroje, kdy dochází ke tvorbě difrakčních obrazců na detektoru. Zaznamenaná data se pak zpracovávají Fourierovou transformací. Přístroj zahrnuje hlavní optickou jednotku, dispergační jednotku Hydro pro měření kapalných vzorků a měřicí celu. Při analýze vysílá optická jednotka modré a červené laserové světlo skrz měřicí celu, v níž cirkuluje měřený vzorek, a sleduje intenzitu rozptýleného světla jednotlivými detektory umístěnými pod různými úhly. Tímto způsobem se získají data o rozptylu světla, který je způsoben částicemi v suspenzi. Naměřené hodnoty jsou potom interpretovány pomocí software Mastersizer a vyjádřeny jako průměr D [4;3] v mikrometrech vztažený k objemu částic přítomných ve vzorku.

Dle výsledků měření námi připravených vzorků lze konstatovat, že velikost emulzních kapek nejvíce ovlivňovalo celkové množství stabilizátoru, tedy cCNC a ZnO částic. Z výsledků také vyplývá, že velikost kapek ovlivnil i poměr použitého množství cCNC a ZnO v emulzích. Tab. 9 zaznamenává naměřené hodnoty velikosti kapek v den přípravy emulzí. Z těchto hodnot lze usoudit, že se zvyšujícím se celkovým množstvím stabilizátoru se velikost částic zmenšuje a to bez ohledu na to, jaké množství oleje emulze obsahovaly. Emulze s 0,2 % stabilizátoru byly obecně nestabilní, a byly u nich naměřeny i poměrně

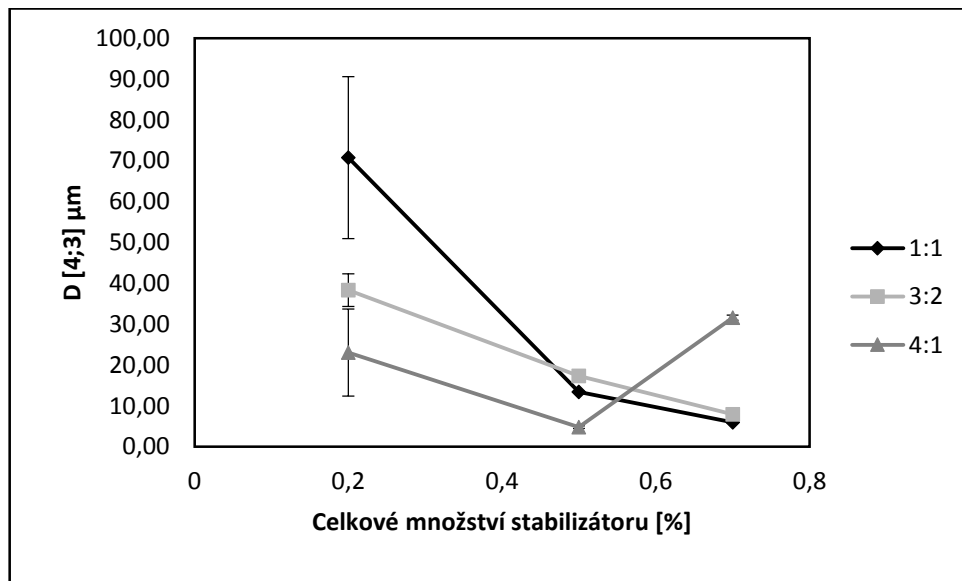
vysoké hodnoty velikosti kapek s vysokými směrodatnými odchylkami měření. Např. pro vzorek s 0,2 % stabilizátoru, poměrem cCNC a ZnO 1:1 a poměrem O/V 10/90 byly v den přípravy stanoveny hodnoty D [4;3] ($61,6 \pm 7,9$) μm . Dále výsledky ukázaly, že u emulzí s 0,2 % a 0,5 % stabilizátoru docházelo se zvyšujícím se množstvím cCNC ke zmenšení velikosti částic. Toto tvrzení ale neplatí pro emulze s 0,7 % stabilizátoru, u nichž se naopak s rostoucím množstvím cCNC velikost částic zvyšovala, což může být dáno vyšším celkovým množstvím stabilizátoru. Na Obr. 16 až 18 lze vidět, že emulze s nejnižším obsahem celulózových nanokrystalů, tedy emulze s poměrem cCNC a ZnO 1:1, vykazují největší emulzní kapky, bez ohledu na celkové množství stabilizujících částic. Nicméně se zvyšujícím se obsahem cCNC docházelo ke zmenšování velikosti kapek, přičemž poměry 3:2 a 4:1 pak poskytly částice s obdobnými velikostmi. Z Obr. 18 je dále patrné, že u emulzí s poměrem O/V 30/70 a poměrem cCNC a ZnO 3:2 a 4:1 byla velikost emulzních kapek velmi podobná. Dle těchto výsledků lze říci, že obsah cCNC v emulzích má rozhodující vliv na jejich stabilizaci.

Tab. 9. Velikost kapek emulzí stabilizovaných cCNC a ZnO v den přípravy emulzí.

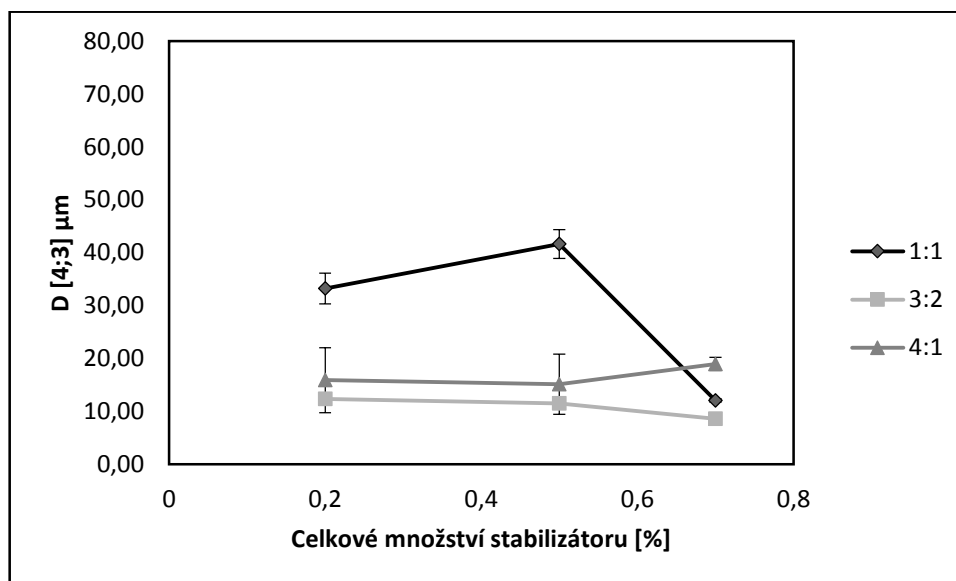
Velikost částic pro 0,2 % stabilizátoru [μm]			
Poměr O/V	Poměr cCNC:ZnO		
	1:1	3:2	4:1
10/90	$61,6 \pm 7,9$	$10,9 \pm 0,5$	$2,7 \pm 0,1$
20/80	$62,8 \pm 16,8$	$36,7 \pm 3,4$	$17,9 \pm 4,2$
30/70	$33,2 \pm 2,9$	$12,3 \pm 0,1$	$15,9 \pm 6,2$
Velikost částic pro 0,5 % stabilizátoru [μm]			
Poměr O/V	Poměr cCNC:ZnO		
	1:1	3:2	4:1
10/90	$29,0 \pm 1,9$	$15,4 \pm 0,1$	$4,5 \pm 0,2$
20/80	$13,4 \pm 0,2$	$17,3 \pm 0,4$	$4,8 \pm 0,3$
30/70	$41,6 \pm 2,7$	$11,5 \pm 0,2$	$15,1 \pm 5,7$
Velikost částic pro 0,7 % stabilizátoru [μm]			
Poměr O/V	Poměr cCNC:ZnO		
	1:1	3:2	4:1
10/90	$4,9 \pm 1,4$	$3,4 \pm 0,1$	$10,6 \pm 0,7$
20/80	$6,0 \pm 0,3$	$8,0 \pm 0,2$	$31,6 \pm 0,7$
30/70	$12,1 \pm 0,4$	$8,6 \pm 0,2$	$19,0 \pm 1,2$



Obr. 16. Závislost velikost částic na poměru cCNC a ZnO u emulzí s 0,2 %, 0,5 % a 0,7 % stabilizátoru a poměrem O/V 10/90.

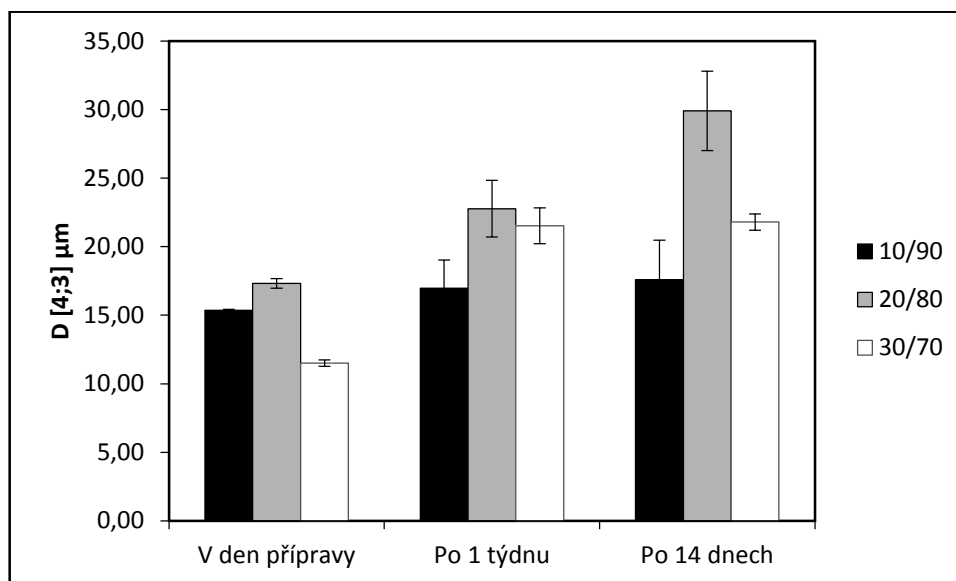


Obr. 17. Závislost velikost částic na poměru cCNC a ZnO u emulzí s 0,2 %, 0,5 % a 0,7 % stabilizátoru a poměrem O/V 20/80.



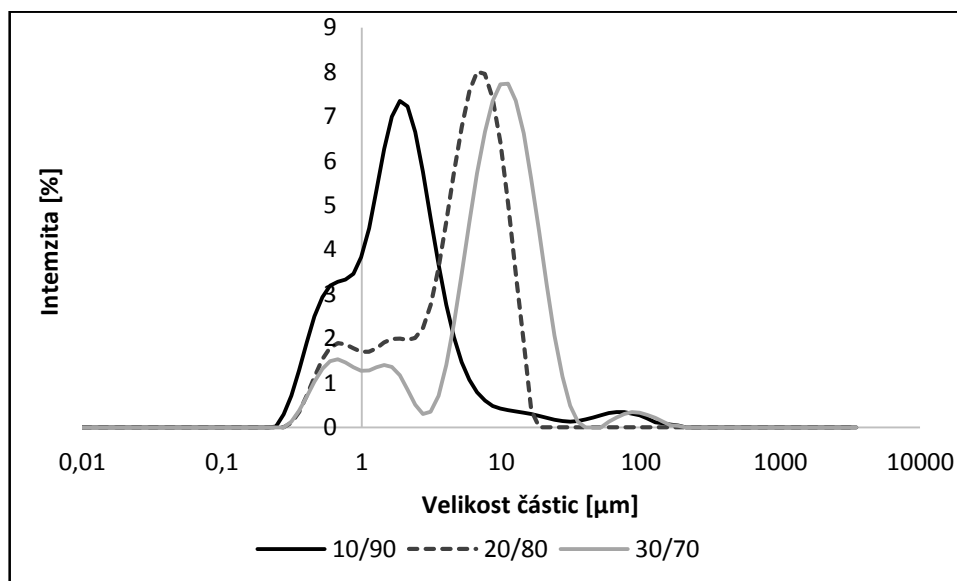
Obr. 18. Závislost velikost částic na poměru cCNC a ZnO u emulzí s 0,2 %, 0,5 % a 0,7 % stabilizátoru a poměrem O/V 30/70.

Stabilita velikostí emulzních kapek v čase je znázorněna na Obr. 19. Z obrázku je patrné, že s časem se pak velikost emulzních kapek mírně zvyšovala, což svědčí o probíhajících změnách. Např. u emulze s 0,7 % stabilizátoru, poměrem cCNC a ZnO 4:1 a poměrem O/V 30/70 vzrostla velikost emulzních kapek z hodnoty $D [4;3]$ $(19,0 \pm 1,2)$ μm na hodnotu $(25,0 \pm 2,9)$ μm . U některých emulzí byl pozorován větší vzrůst velikosti emulzních kapek, a to např. u emulze s 0,5 % stabilizátoru (cCNC:ZnO 1:1, O/V 20/80), kdy hodnota $D [4;3]$ vzrostla z $(13,4 \pm 0,2)$ μm na $(29,8 \pm 2,0)$ μm . Z literatury je známo, že v Pickeringových emulzích dochází ke zvětšování kapek prostřednictvím Ostwaldova zrání [73, s. 5]. Agregace emulzních kapek do větších shluků – aglomerátů je málo pravděpodobná, protože při měření v přístroji Mastersizer 3000 je emulze kontinuálně míchána, což by přítomné agregáty rozrušilo. Lze tedy říci, že klíčovou roli ve velikosti emulzních kapek hraje celkové množství stabilizujících částic a do určité míry i poměr cCNC a ZnO, a naopak množství oleje mělo na velikost částic jen malý vliv.

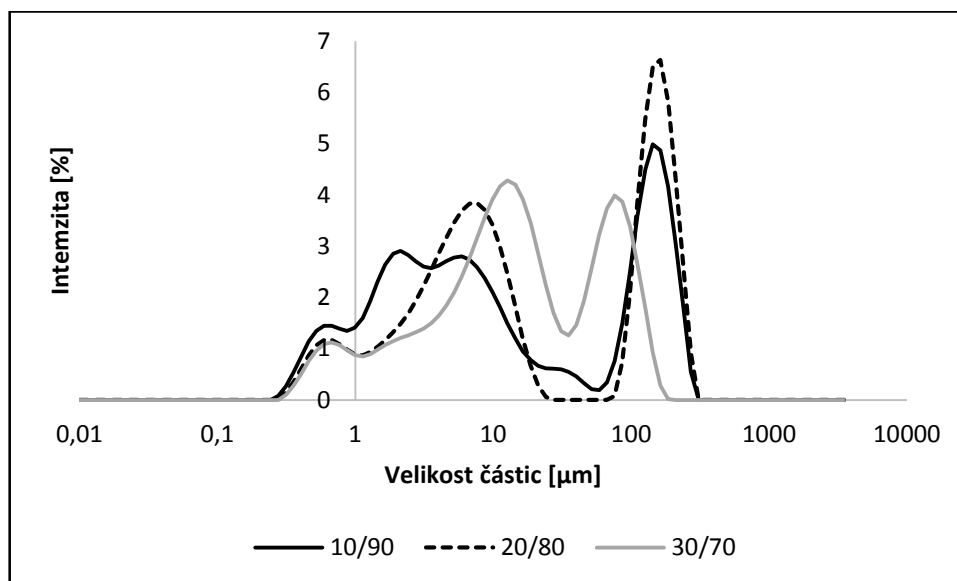


Obr. 19. Změna velikosti částic v čase u emulzí s 0,5 % stabilizátoru v poměru cCNC a ZnO 3:2.

V diplomové práci byly kromě střední velikosti emulzních kapek $D [4;3]$, která je diskutována výše v textu, sledovány a hodnoceny rovněž distribuční křivky emulzních systémů, poskytující komplexnější obraz o zastoupení emulzních kapek různých velikostí v analyzovaných vzorcích. Jako příklad distribuční křivky je zde uveden vliv množství oleje na tvar distribucí pro emulze obsahující 0,7 % a 0,2 % stabilizujících částic při poměru cCNC:ZnO 1:1 (Obr. 20, 21). Z Obr. 20 je zřejmé, že rostoucí množství olejové fáze vede k posunu distribucí k větším velikostem emulzních kapek. Dále lze na Obr. 20 vidět, že emulze s poměrem O/V 10/90 vykazuje monomodální tvar distribuce, zatímco distribuce u emulzí s poměrem O/V 20/80 a 30/70 jsou bimodální s menší frakcí částic o velikostech 200 nm až 3 μm a větší frakcí s kapkami o velikostech v rozmezí od 3 do 20 až 30 μm. Ve srovnání s těmito distribucemi je chování emulzí s nižším celkovým obsahem stabilizujících částic 0,2 % komplikovanější (Obr. 21). V tomto případě jsou při všech poměrech O/V zaznamenány multimodální distribuční křivky které svědčí o přítomnosti několika frakcí emulzních kapek. Distribuční křivky jsou velmi široké a prokazují přítomnost kapek s velikostmi od 200 nm do 300 μm.



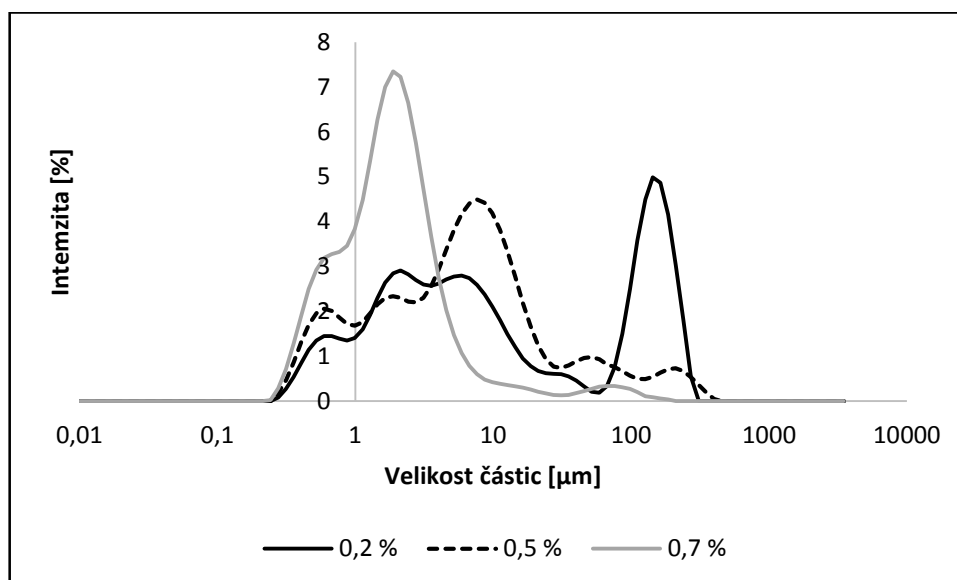
Obr. 20. Distribuce velikostí částic u emulzí s 0,7 % stabilizátoru, cCNC:ZnO 1:1 s různými poměry O/V (10/90 až 30/70) v den přípravy.



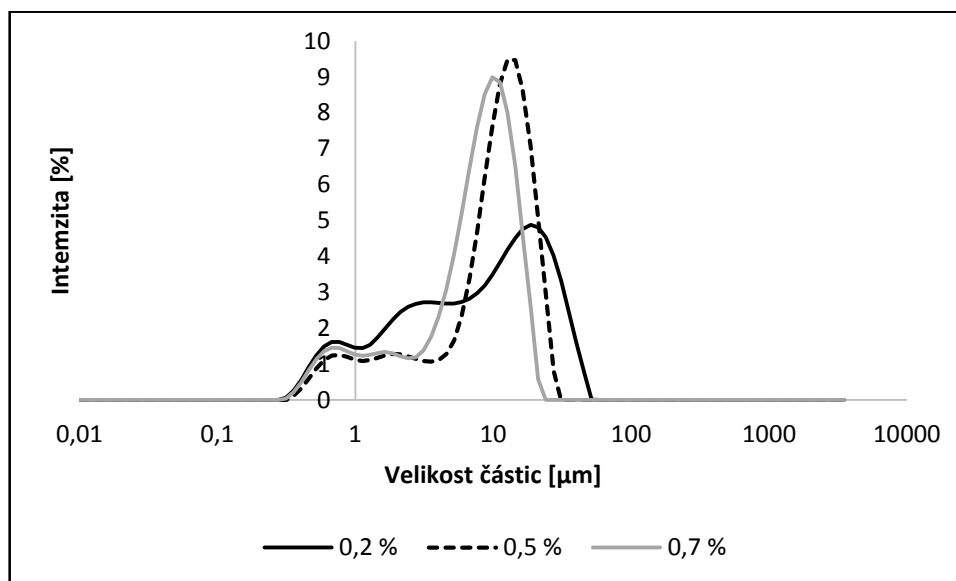
Obr. 21. Distribuce velikostí částic u emulzí s 0,2 % stabilizátoru, cCNC:ZnO 1:1 s různými poměry O/V (10/90 až 30/70) v den přípravy.

Na tvar distribucí mělo také vliv celkové množství stabilizujících částic a jejich poměry (cCNC:ZnO). Například u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 1:1 a poměrem O/V 10/90 při všech množstvích stabilizujících částic (0,2 %, 0,5 %, 0,7 %) byly zaznamenány menší velikosti emulzních kapek, což lze vysvětlit vyšším množstvím stabilizujících částic při tomto poměru cCNC:ZnO (Obr. 22). Na tomto snímku lze také vidět, že nejmenší velikosti kapek byly zaznamenány u emulze s 0,7 % stabilizátorů vykazující monomodální tvar dis-

tribuce s velikostí emulzních kapek od 200 nm do 10 μm , přičemž u emulzí s 0,2 % a 0,5 % stabilizátorů je viditelný široký, multimodální tvar distribučních křivek s velikostmi emulzních kapek v rozmezí od 200 nm do 300 μm . Obr. 23 zaznamenává distribuční křivky emulzí s poměrem cCNC:ZnO 3:2 a poměrem O/V 30/70 s 0,2 %, 0,5 % a 0,7 % stabilizátorů. Ze snímku je patrné, že emulze s 0,5 % a 0,7 % stabilizátorů vykazují podobné monomodální tvary distribučních křivek s velikostí emulzních kapek od 300 nm do 25 až 30 μm . Naopak u emulze s 0,2 % stabilizátorů je zaznamenána široká multimodální distribuční křivka s velikostí emulzních kapek od 300 nm do 55 μm . V tomto poměru cCNC:ZnO je v emulzích přítomno větší množství cCNC, čímž i pro emulze s nižším množstvím 0,5 % stabilizátorů je dosaženo dobré stabilizace.

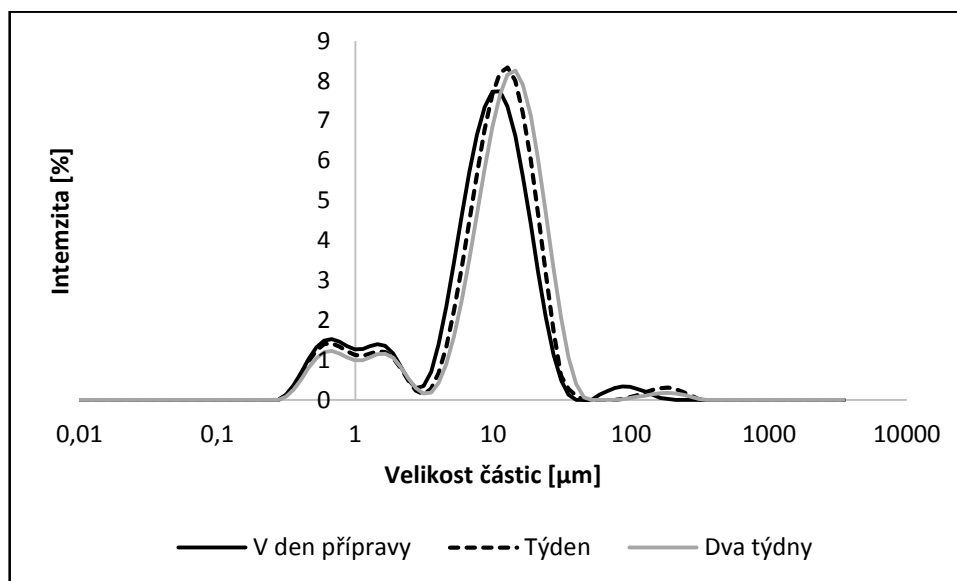


Obr. 22. Distribuce velikostí částic u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 1:1, poměrem O/V 10/90 pro všechna množství stabilizátorů (0,2 %, 0,5 %, 0,7 %) v den přípravy.

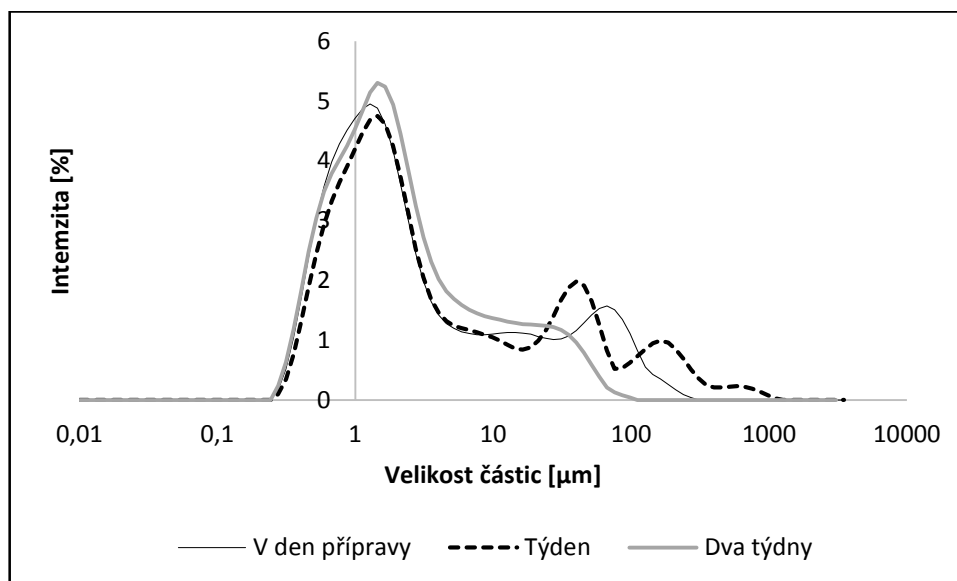


Obr. 23. Distribuce velikostí částic u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 3:2, poměrem O/V 30/70 pro všechna množství stabilizátorů (0,2 %, 0,5 %, 0,7 %) v den přípravy.

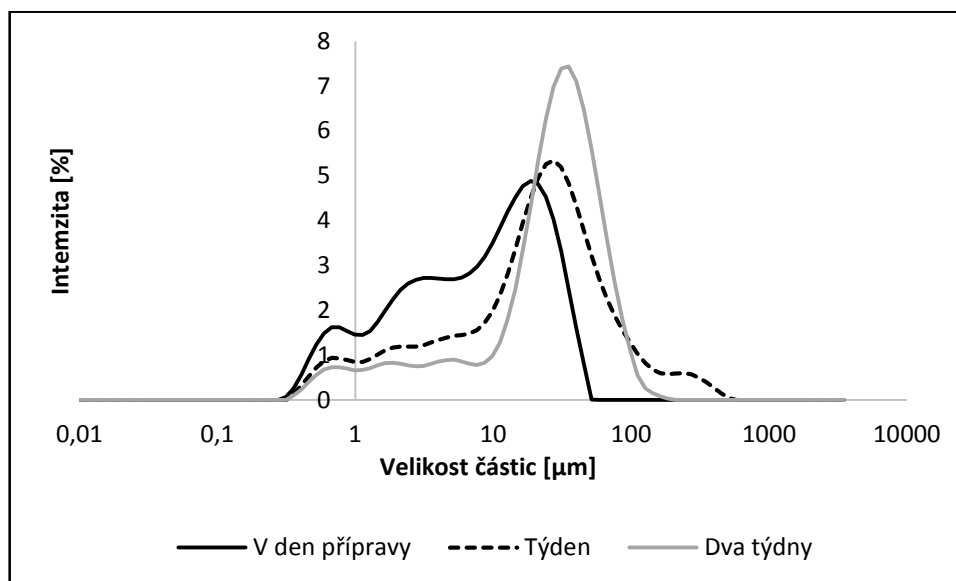
Na tvaru distribučních křivek se projevila i stabilita emulzních systémů. Výsledky ukázaly, že bez ohledu na poměr cCNC:ZnO u emulzí s 0,7 % stabilizátorů a poměrem O/V 30/70 bylo dosaženo dobré stability během 14 denního skladování. Pro příklad jsou na Obr. 24 zaznamenány změny distribučních křivek u emulzí s 0,7 % stabilizátorů v poměru cCNC:ZnO 1:1 a v poměru O/V 30/70 během skladování. Na tomto obrázku je patrné, že posun k větším velikostem emulzních kapek není příliš výrazný díky přítomnosti dostatečného množství stabilizujících částic. Obdobný trend, tedy mírný nárůst velikosti emulzních kapek během skladování byl pozorován u emulzí připravených s nižším množstvím 0,5 % stabilizátorů. Chování emulzí stabilizovaných nejnižším množstvím stabilizátorů 0,2 % bylo během skladování komplikovanější. Velikost jejich kapek rostla, docházelo k posunu distribučních křivek k větším velikostem, ale tento posun byl významnější než v předchozích dvou případech. Navíc, mnohem více závisel na poměru cCNC:ZnO a množství olejové fáze v emulzi, což je znázorněno na Obr. 25 a 26, kdy u emulzí s poměrem O/V 30/70 s celkovým množstvím stabilizujících částic 0,2 % v poměru cCNC:ZnO 4:1 (Obr. 25), tedy s nejvyšším množstvím cCNC, dochází jen k nevýznamným změnám v distribuci, zatímco při sníženém množství cCNC částic (Obr. 26) je změna v distribuci výrazná. To může svědčit o skutečnosti, že cCNC částice jsou hlavním stabilizačním prvkem studovaných emulzí.



Obr. 24. Změna distribučních křivek u emulze s 0,7 % stabilizátorů, poměrem $cCNC:ZnO$ 1:1 a poměrem O/V 30/70 během skladování.



Obr. 25. Změna distribučních křivek u emulze s 0,2 % stabilizátorů, poměrem $cCNC:ZnO$ 4:1 a poměrem O/V 30/70 během skladování.



Obr. 26. Změna distribučních křivek u emulze s 0,2 % stabilizátory, poměrem cCNC:ZnO 3:2 a poměrem O/V 30/70 během skladování.

8.4.2 ζ potenciál

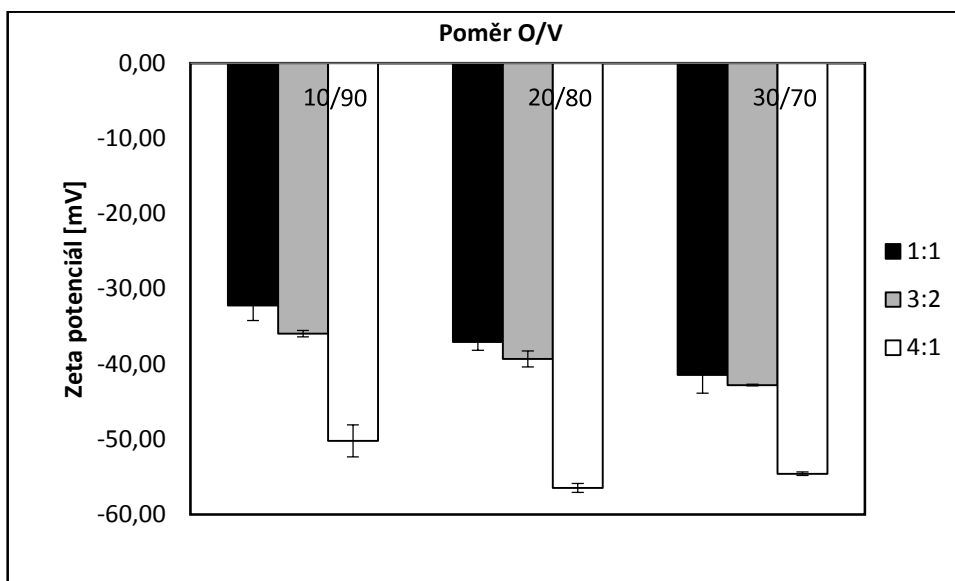
Další významnou veličinou charakterizující emulzní kapky je ζ potenciál, pomocí něhož je hodnocena koloidní stabilita emulzí. Má-li být emulze stabilní, mělo by být dosaženo vysoké pozitivní či negativní hodnoty ζ potenciálu. Pokud je tomu tak, částice se vzájemně odpuzují a nedochází tak k projevům nestability (koalescence, agregace, flokulace). Obecně se uvádí, že k zajištění stability emulze by měla být hodnota ζ potenciálu vyšší než +30 mV nebo nižší než -30 mV.

Naměřené hodnoty ukázaly, že v den přípravy emulzí se hodnoty ζ potenciálu pohybovaly v rozmezí hodnot -26,8 mV až -56,5 mV. Pouze dvě emulze s 0,7 % stabilizátoru a poměrem O/V 10/90 (1:1, 3:2), vykazovaly hodnoty ζ potenciálu vyšší, než -30 mV, tudíž se tyto hodnoty pohybovaly v „nestabilní oblasti“.

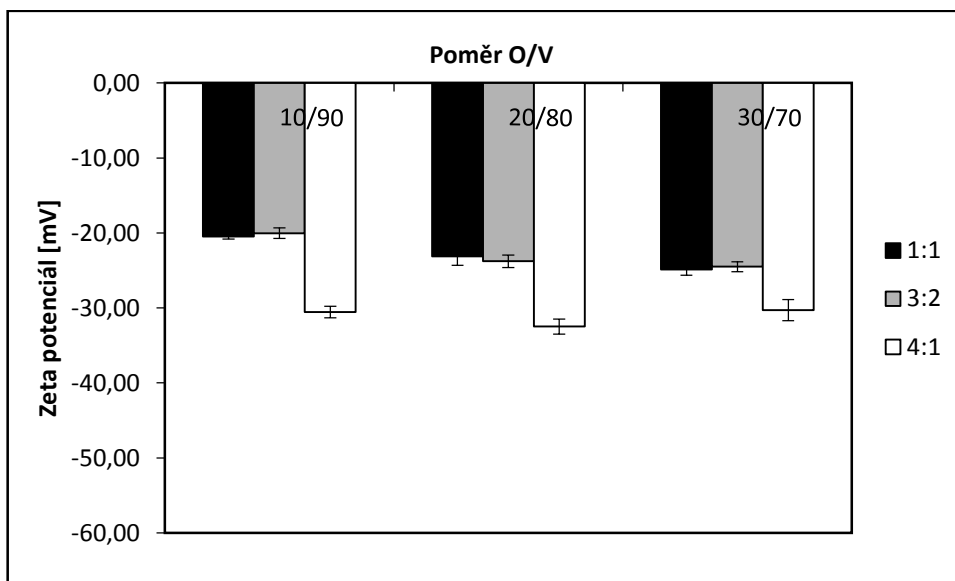
Nejnižší hodnoty ζ potenciálu byly naměřeny u emulzí s 0,2 % celkového množství stabilizátoru s poměrem cCNC a ZnO 4:1 pro všechny poměry O/V (Obr. 27). Jejich hodnoty ležely v rozmezí -50 až -55 mV. Bez ohledu na tuto skutečnost, docházelo u těchto emulzí k rozpadu již v den přípravy, kdy se objevilo zřetelné uvolnění enkapsulovaného oleje (oiling-off). Nízké hodnoty ζ potenciálu zaznamenané při tomto složení emulze je možné vysvětlit přítomností nejvyššího množství cCNC částic ve směsi cCNC/ZnO. Celulózové nanočástice mají při pH 5,5 výrazně nižší zeta potenciál (ca -34 mV) a celkový

zeta potenciál je jen málo ovlivněn přítomným ZnO. Hodnoty ζ potenciálu pro emulze připravené s poměrem stabilizujících částic cCNC:ZnO 1:1 a 3:2 ležely v rozmezí -32 až -43 mV, tedy v „oblasti stability“, a pod tuto hranici klesly až po dvou týdnech od jejich přípravy při skladování při laboratorní teplotě (mimo poměr 4:1, kdy hodnoty ζ potenciálu ani po dvou týdnech neklesly pod uváděnou hraniční hodnotu -30 mV). I emulze s 0,5 % a 0,7 % množstvím stabilizátoru vykazovaly hodnoty ζ potenciálu nižší než -30 mV, přičemž s časem se jejich stabilita snižovala. Nejvyšší stabilitu potom vykazovaly emulze s 0,7 % stabilizátoru a poměrem cCNC a ZnO 4:1 ve všech poměrech O/V (Obr. 28).

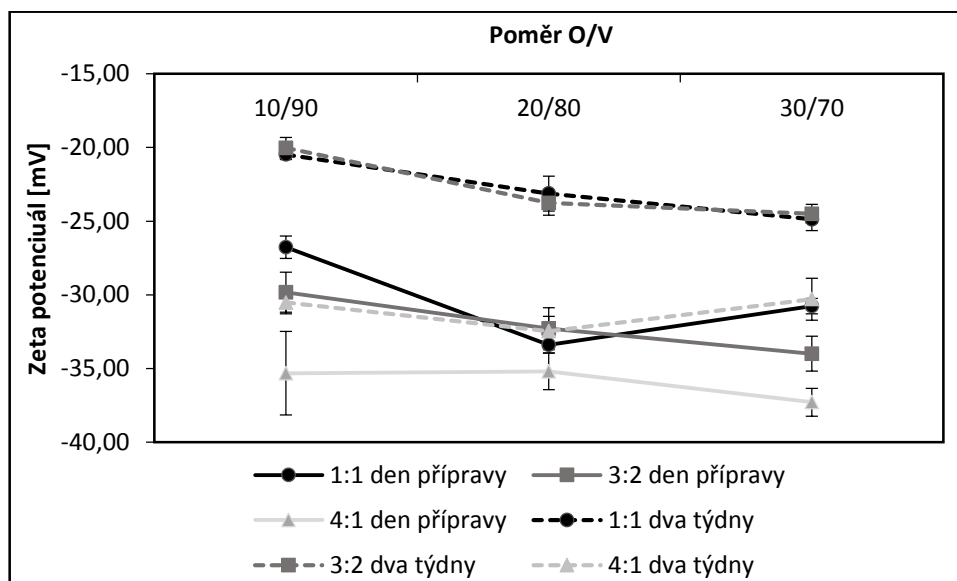
Na základě naměřených hodnot bylo zjištěno, že se ζ potenciál mění s časem, a jeho hodnoty se začínají přibližovat k pomyslné hranici, v níž se emulze stávají nestabilní. Toto zjištění platí pro emulze s 0,2 %, 0,5 % i 0,7 % celkového množství stabilizujících složek a pro všechny poměry O/V. Na Obr. 29 je vyobrazena změna hodnot ζ potenciálu emulzí s 0,7 % stabilizátoru v den přípravy a po dvou týdnech od přípravy. Z obrázku je patrné, že k největší změně ζ potenciálu došlo po dvou týdnech u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 1:1 a 3:2. Naopak emulze s poměrem cCNC:ZnO 4:1 ležely ve „stabilní oblasti“. Dále lze vidět, že u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 3:2 a 4:1 s poměrem O/V 30/70 byly v den přípravy naměřeny nejnižší hodnoty ζ potenciálu. U emulzí s 0,5 % stabilizátoru byly největší změny ζ potenciálu zaznamenány po jednom týdnu od jejich přípravy (Obr. 30), kdy se všechny vzorky již nacházely v „oblasti nestability“, přičemž hodnoty ζ potenciálu emulzí s poměrem O/V 20/80 a 30/70 byly téměř stejné. Nejnižší hodnota v den přípravy pak byla naměřena u emulze s poměrem cCNC:ZnO 1:1 a poměrem O/V 30/70. V případě emulzí s 0,2 % stabilizátoru (Obr. 31) byly naměřeny v den přípravy nejnižší hodnoty ζ potenciálu (nižší než -50 mV) pro vzorky s poměrem cCNC:ZnO 4:1, které i po týdnu vykazovaly příznivé hodnoty (nižší než -40 mV). U emulzí s poměrem cCNC:ZnO 1:1 byly naměřeny podobné hodnoty ζ potenciálu (-30 až -40 mV) jak v den přípravy, tak po týdnu, a rovněž i po dvou týdnech skladování. Totéž platí i pro emulze s poměrem cCNC:ZnO 3:2, které se až po dvou týdnech společně s emulzemi s poměrem cCNC:ZnO 4:1 dostaly do „oblasti nestability“. Z Obr. 31 je dále patrné, že téměř ve všech případech byl nejnižší ζ potenciál naměřen u vzorků s poměrem O/V 30/70. Na základě těchto výsledků je tedy zřejmé, že na velikost ζ potenciálu má vliv jak celkové množství stabilizujících částic, tak i jejich poměr a v neposlední řadě také množství oleje v emulzích.



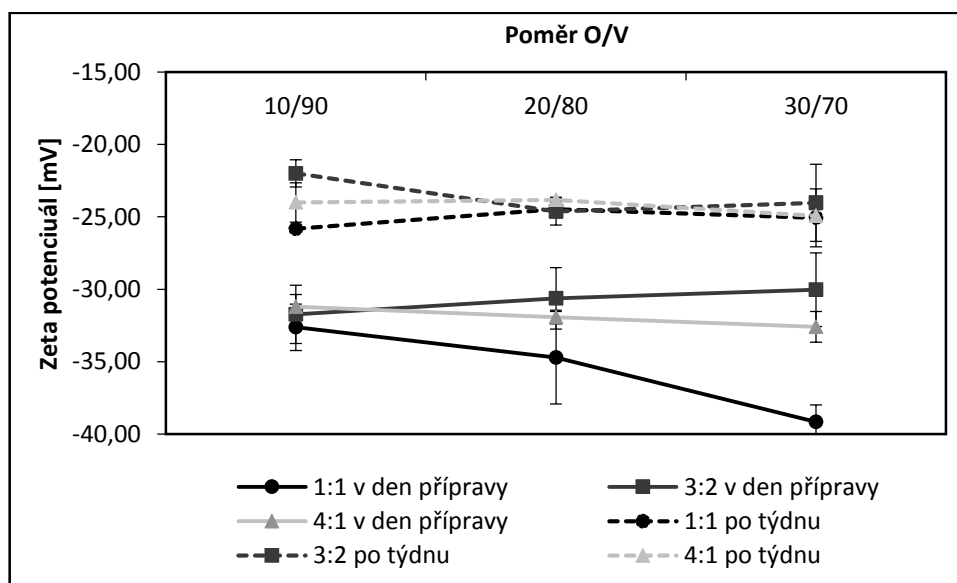
Obr. 27. Hodnoty ζ potenciálu emulzí s 0,2 % stabilizátoru připravené v přítomnosti různých poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den jejich přípravy.



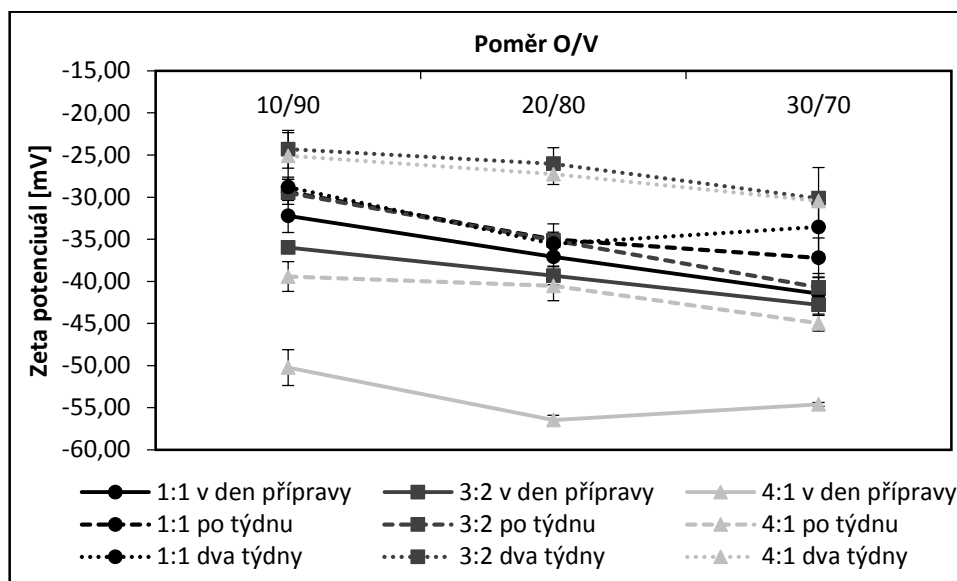
Obr. 28. Hodnoty ζ potenciálu emulzí s 0,7 % stabilizátoru připravené v přítomnosti různých poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) po dvou týdnech od jejich přípravy.



Obr. 29. Srovnání hodnot ζ potenciálu emulzí s 0,7 % stabilizátoru připravené v přítomnosti různých poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den přípravy a po dvou týdnech od jejich přípravy.



Obr. 30. Srovnání hodnot ζ potenciálu emulzí s 0,5 % stabilizátoru připravené v přítomnosti poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den přípravy a po jednom týdnu od jejich přípravy.



Obr. 31. Srovnání hodnot ζ potenciálu emulzí s 0,2 % stabilizátoru připravené v přítomnosti poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den přípravy, po týdnu a po dvou týdnech od jejich přípravy.

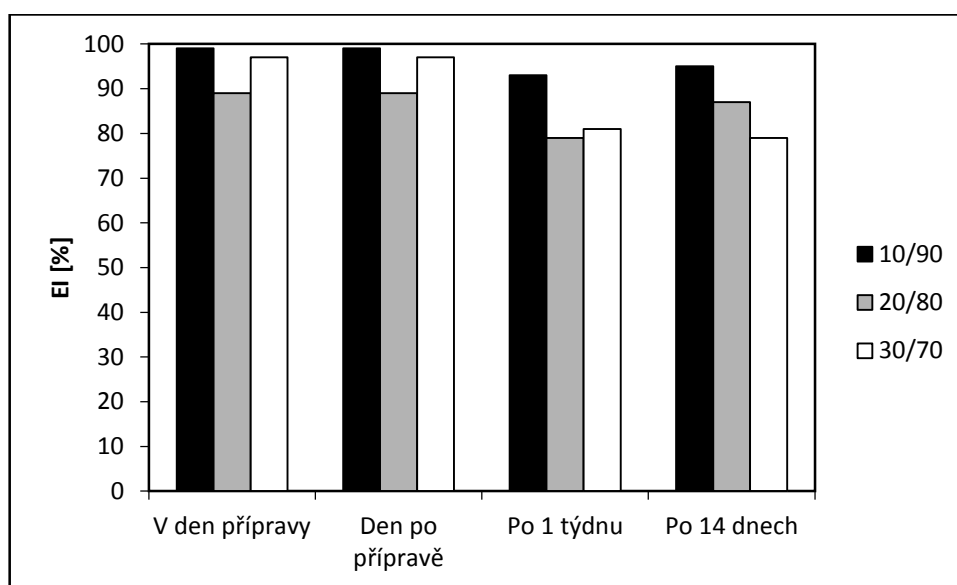
8.4.3 Fázové studie

Fázové studie byly prováděny pomocí vizuálního pozorování emulzí, které spočívalo ve sledování jejich vzhledu, barvy, separace fází a jiných známek destabilizace. Dále byly dle Rovnic (7) až (10) počítány indexy emulzní stability (EI), indexy krémování (creaming index, CI) a enkapsulační účinnost (encapsulation efficacy, EE) emulzí. Stanovení výše zmíněných parametrů bylo provedeno vždy v den přípravy emulzí, druhý den po přípravě, dále po jednom a po dvou týdnech od přípravy.

Pomocí vizuálního pozorování emulzí bylo zjištěno, že již v den přípravy se u všech vzorků objevilo krémování. Dále byl v den přípravy u vzorků s 0,2 % stabilizátoru s poměrem cCNC a ZnO 4:1 pozorován oiling-off a vzorky již vykazovaly rozpad. Dle výsledků lze konstatovat, že série vzorků s 0,2 % stabilizujících složek byla nejméně stabilní, což lze přisuzovat nejmenšímu množství stabilizátorů. Vzorky obsahující 0,5 % a 0,7 % stabilizátoru již vykazovaly stabilitu lepší.

Jak již bylo zmíněno výše, stabilitu emulzí lze popsat více parametry. Lze ji vyjádřit pomocí emulzního indexu (EI), pro který platí, že čím vyšší je jeho hodnota, tím jsou emulze stabilnější. Nejvyšší indexy stability byly naměřeny vždy v den přípravy emulzí, ale s prodlužujícím se časem skladování emulzí hodnota EI snižovala, tedy došlo ke snižování

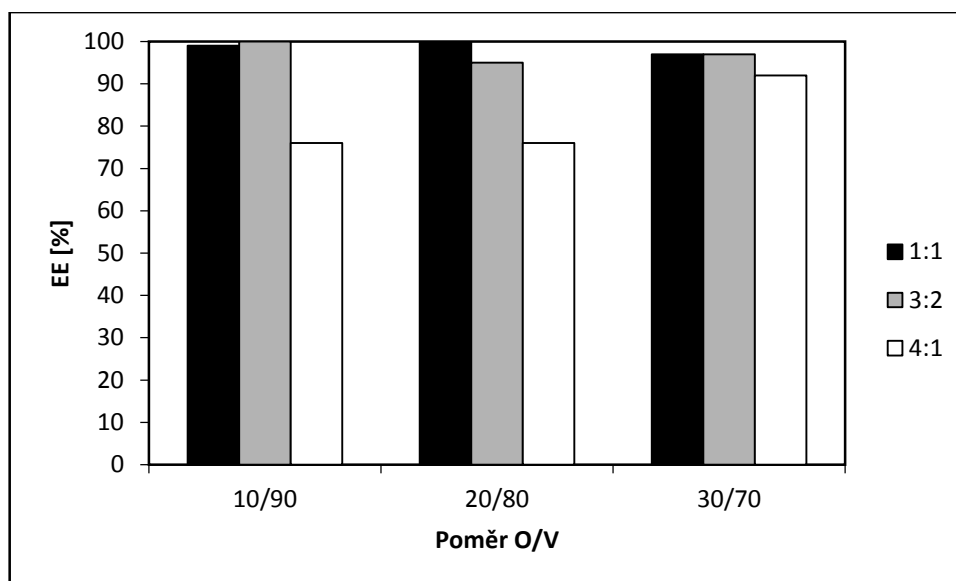
stability. To bylo způsobeno zvýšením výšky vrstvy krémování nebo uvolněním části olejové fáze přítomné v emulzích. Dle hodnocení výsledků ze stanovení EI se jevíly nejstabilnější vzorky s 0,7 % stabilizátoru a poměrem cCNC a ZnO 4:1 (Obr. 32). Jak lze usuzovat z Obr. 32, kde jsou znázorněny hodnoty EI v závislosti na době skladování emulzí, u vzorků s poměrem O/V 20/80 a 30/70 se emulzní index po jednom týdnu nepatrně snížil, což bylo dáno uvolněním malého množství oleje na povrch emulzí. Celkově celá série vzorků s 0,7 % stabilizátoru jevíla nejvyšší hodnoty indexů emulzní stability. Emulzní stabilitu tedy ovlivňovalo celkové množství stabilizátoru a to tak, že se zvyšujícím se množstvím stabilizátoru se zvyšoval i emulzní index.



Obr. 32. Emulzní indexy emulzí s 0,7 % stabilizátoru s poměrem cCNC a ZnO 4:1.

Dalším parametrem vypovídající o stabilitě emulzí, je jejich enkapsulační účinnost, která vyjadřuje schopnost stabilizátorů zakomponovat a stabilizovat olej ve vodné fázi emulze. I v tomto případě platí, že vysoká hodnota indexu enkapsulační účinnosti (EE) odpovídá emulzím s vysokou stabilitou a schopností uchovat enkapsulovaný olej v emulzních kapkách. Na základě výsledků lze říci, že všechny vzorky vykazovaly vysokou enkapsulační účinnost, a to nejen v den přípravy, ale i po čtrnácti dnech od přípravy, kdy se hodnoty EE stále pohybovaly v blízkosti 100 %. Výjimku tvořily vzorky s 0,2 % stabilizátoru a poměrem cCNC a ZnO 4:1, u kterých bylo již v den přípravy pozorováno uvolnění oleje (oiling-off), a množství oleje uvolněného z této formulace dále rostlo s dobou skladování emulzí

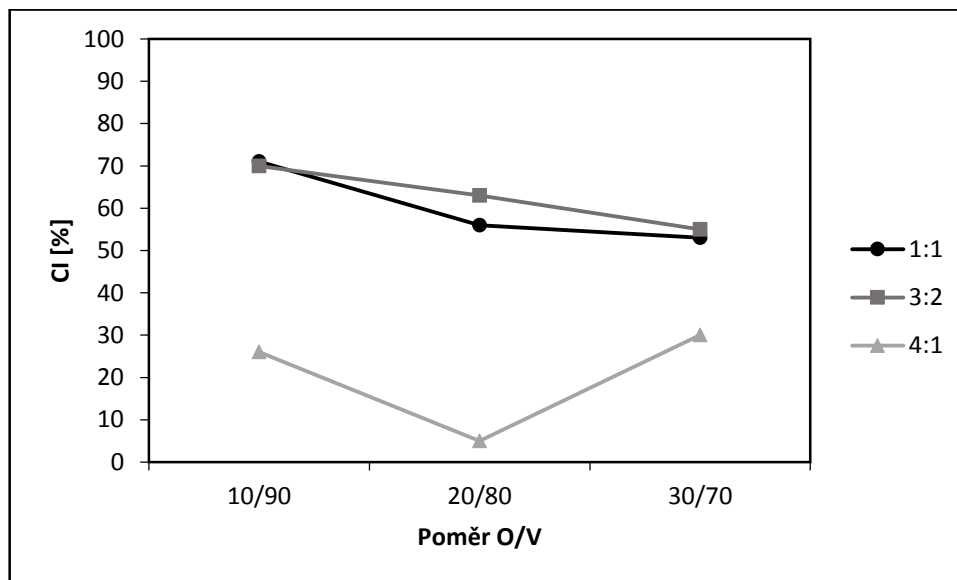
(Obr. 33). V případě dalších připravených formulací došlo k uvolnění pouze minimálního množství oleje.



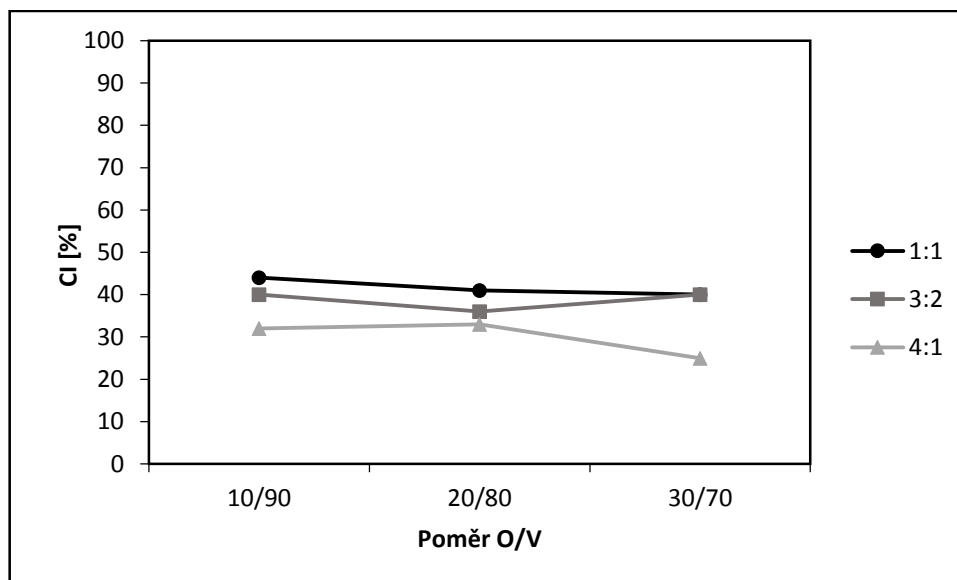
Obr. 33. Enkapsulační účinnost u emulzí s 0,2 % stabilizátoru po 14 dnech od přípravy.

Posledním ukazatelem stability, který byl sledován v rámci fázových studií, byl index krémování (CI). Jelikož je CI definován poměrem výšky vrstvy séra (frakce emulze, ve které nejsou přítomny emulzní kapky) a celkové výšky emulze umístěné ve zkumavce, vysoká hodnota CI značí velkou míru krémování. Jak již bylo řečeno, připravené emulze měly tendence ke krémování již v den přípravy. Výsledky preformulační studie ukázaly, že pokud bylo u vzorků ponecháno nativní pH 7, nedocházelo sice ke krémování, ale objevil se u nich oiling-off, který je rovněž projevem nestability emulzí a svědčí o jejich rozpadu na původní vodnou a olejovou fázi. Naopak u vzorků s pH adjustovaným na hodnotu 5,5 bylo pozorováno právě krémování, ale jak již bylo zmíněno v předchozím odstavci, oiling-off byl pouze minimální. Je tedy zřejmé, že i v této, formulační studii, docházelo ke krémování. Nejnižší hodnoty indexu krémování byly zjištěny u série vzorků s 0,7 % stabilizátoru. Tato skutečnost je pochopitelná, jelikož emulze obsahují největší množství částic potřebných pro stabilizaci olejových kapek. U čerstvě připravených emulzí byla hodnota CI významně ovlivněna složením emulze. Z Obr. 34 až 36 je patrné, že nejnižší hodnoty CI byly den po přípravě naměřeny vždy u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 4:1 bez ohledu na množství oleje a celkové množství stabilizujících částic. Emulze s poměry 1:1 a 3:2 pak vykazovaly vyšší, ale velice podobné hodnoty CI. Výsledky měření dále ukázaly, že se zvyšujícím

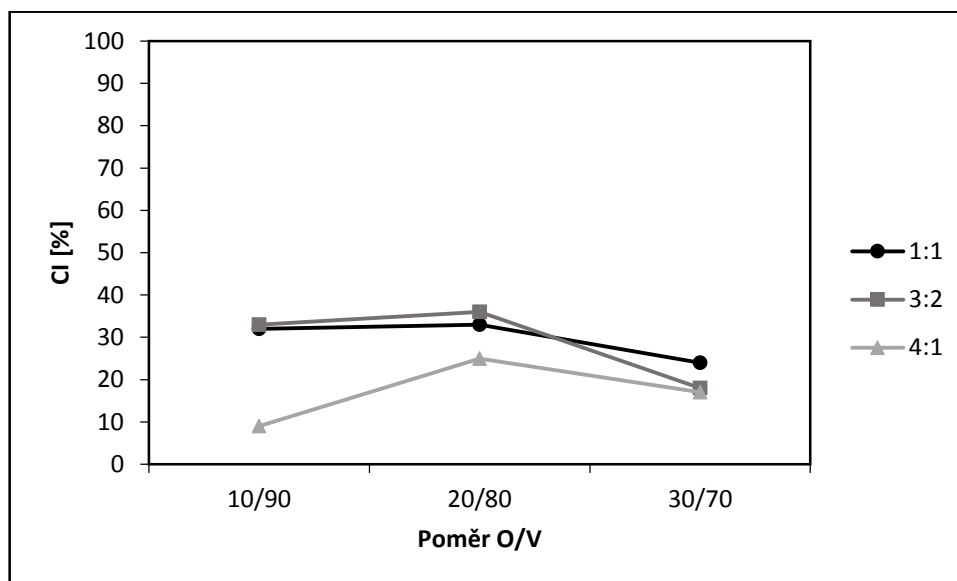
se množstvím olejové fáze obvykle docházelo k poklesu CI. Jak lze vidět na Obr. 37, s prodlužující se dobou skladování emulzí se jejich krémování zvyšovalo, čímž docházelo také k nárůstu indexu krémování a současně tedy i ke snižování emulzního indexu. Krémování bylo výraznější u emulzí s poměrem O/V 10/90.



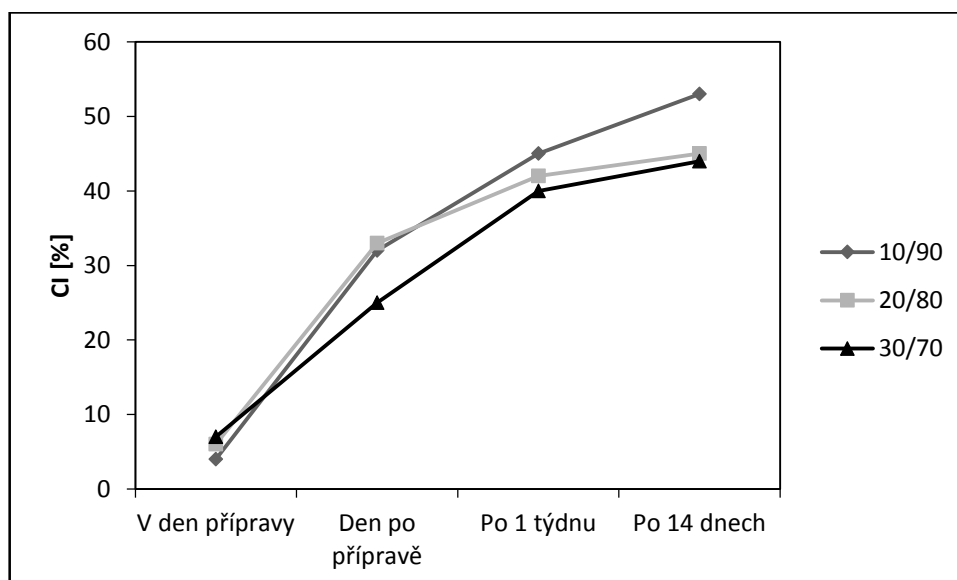
Obr. 34. Index krémování emulzí s 0,2 % stabilizátoru den po přípravě.



Obr. 35. Index krémování emulzí s 0,5 % stabilizátoru den po přípravě.



Obr. 36. Index krémování emulzí s 0,7 % stabilizátoru den po přípravě.

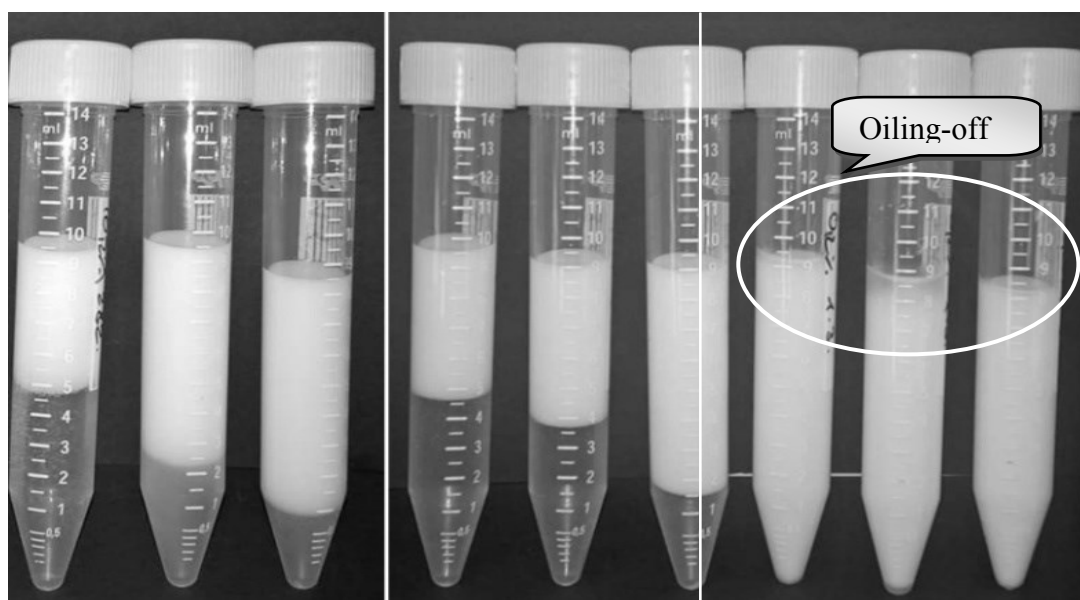


Obr. 37. Změny indexu krémování emulzí s 0,5 % stabilizátoru a poměrem cCNC a ZnO 4:1 během skladování při laboratorní teplotě.

8.4.4 Vizuální hodnocení stability emulzí

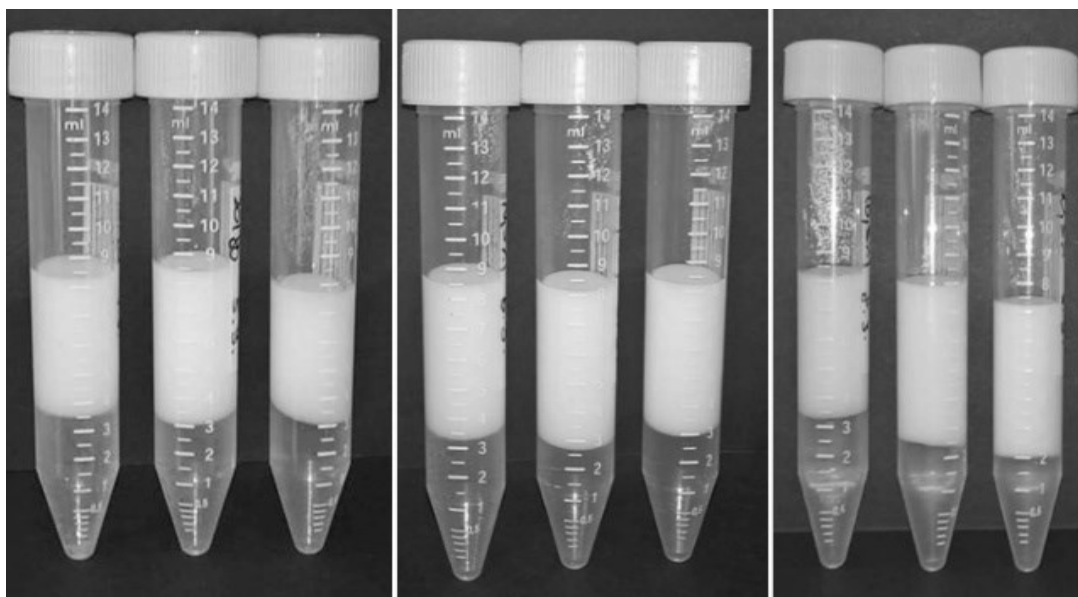
V této části práce bude porovnána stabilita jednotlivých sérií připravených emulzí v čase pomocí jejich vizuálního hodnocení. Efekt oiling-off byl pozorován u některých ze vzorků v každé z připravených sérií, množství uvolněného oleje však bylo obvykle zanedbatelné (ca 0,01 až 0,1 ml) ve srovnání s celkovým množstvím oleje, který byl enkapsulován.

- 1) V sérii vzorků připravených s 0,2 % stabilizátoru byl v den přípravy pozorován rozpad emulzí s poměrem cCNC a ZnO 4:1. U těchto emulzí došlo k uvolnění až 0,5 ml oleje (Obr. 38). U emulzí obsahujících cCNC a ZnO v poměru 1:1 a 3:2 se objevilo krémování, avšak bez oiling-off. Vzorky byly tedy v den přípravy stabilní. Den po přípravě se u vzorku s poměrem cCNC a ZnO 3:2 a poměrem O/V 20/80 objevil oiling-off (0,01 ml uvolněného oleje) a po týdnu skladování při laboratorní teplotě byl tento jev pozorován i u ostatních emulzí (0,01 až 0,1 ml uvolněného oleje), mimo vzorek s poměrem cCNC a ZnO 1:1 a poměrem O/V 20/80 a vzorek s poměrem cCNC a ZnO 3:2 a poměrem O/V 10/90. Tyto dvě emulze zůstaly stabilní (bez oiling-off) i v dalším týdnu skladování. Nicméně vzorky této série byly nejméně stabilní, a to z důvodu malého celkového množství stabilizujících částic, které nevedly k vytvoření stabilních emulzí.



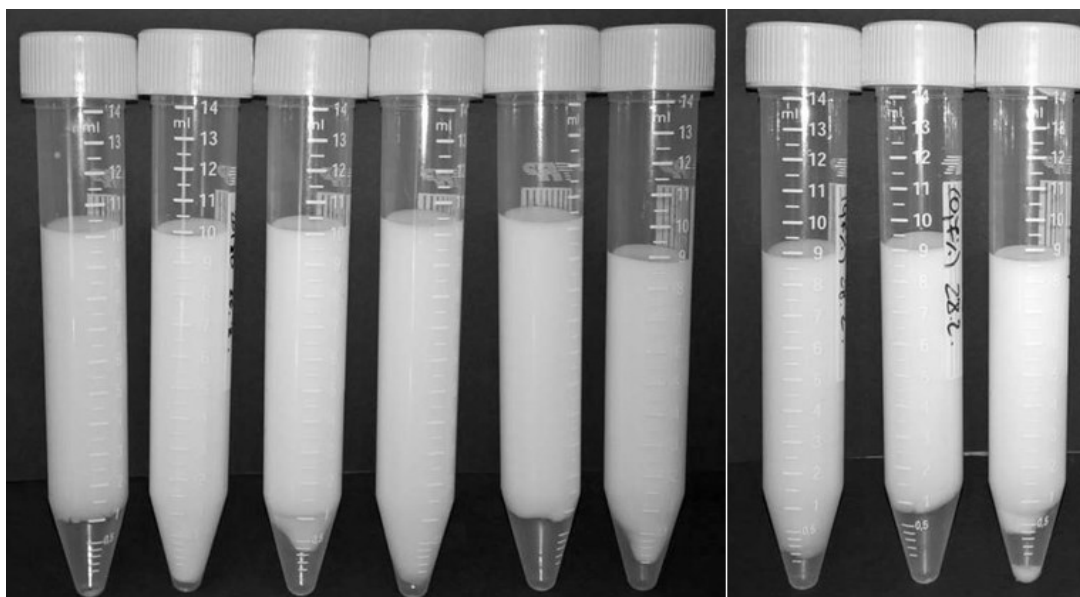
Obr. 38. Vzorky s 0,2 % stabilizátoru v den přípravy (zleva: poměr A) cCNC:ZnO 1:1 – 10/90 až 30/70, B) cCNC:ZnO 3:2 – 10/90 až 30/70, C) cCNC:ZnO 4:1 – 10/90 až 30/70. Přítomnost uvolněného oleje je naznačena.

- 2) U série emulzí připravených s 0,5 % stabilizátoru se objevil oiling-off až po jednom týdnu od přípravy, a to pouze u dvou vzorků, s poměrem cCNC a ZnO 1:1 a poměrem O/V 20/80 (0,01 ml uvolněného oleje) a 30/70 (0,1 ml uvolněného oleje). V dalším týdnu bylo nepatrné množství oleje zaznamenáno u vzorku s poměrem 3:2 (30/70). Ostatní vzorky byly i nadále stabilní (Obr. 39).



Obr. 39. Vzorky s 0,5 % stabilizátoru po dvou týdnech (zleva: poměr A) $cCNC:ZnO$ 1:1 – 10/90 až 30/70, B) $cCNC:ZnO$ 3:2 – 10/90 až 30/70, C) $cCNC:ZnO$ 4:1 – 10/90 až 30/70).

- 3) Ani vzorky s nejvyšším množstvím stabilizátoru (0,7 %) nevykazovaly v den přípravy známky destabilizace (Obr. 40). Den po přípravě byl u vzorků s poměrem $cCNC$ a ZnO 3:2 a poměrem O/V 30/80 pozorován oiling-off (0,01 ml uvolněného oleje), který se pak po jednom týdnu objevil i u vzorků s poměrem 4:1 (20/80 a 30/70). Po dalším týdnu byl již pozorován u všech vzorků (max. 0,01 ml uvolněného oleje), mimo vzorky s poměrem O/V 10/90 u poměru $cCNC:ZnO$ 1:1 a 4:2.



Obr. 40. Vzorky s 0,7 % stabilizátoru v den přípravy (zleva: poměr A) cCNC:ZnO 1:1 – 10/90 až 30/70, B) cCNC:ZnO 3:2 – 10/90 až 30/70, C) cCNC:ZnO 4:1 – 10/90 až 30/70).

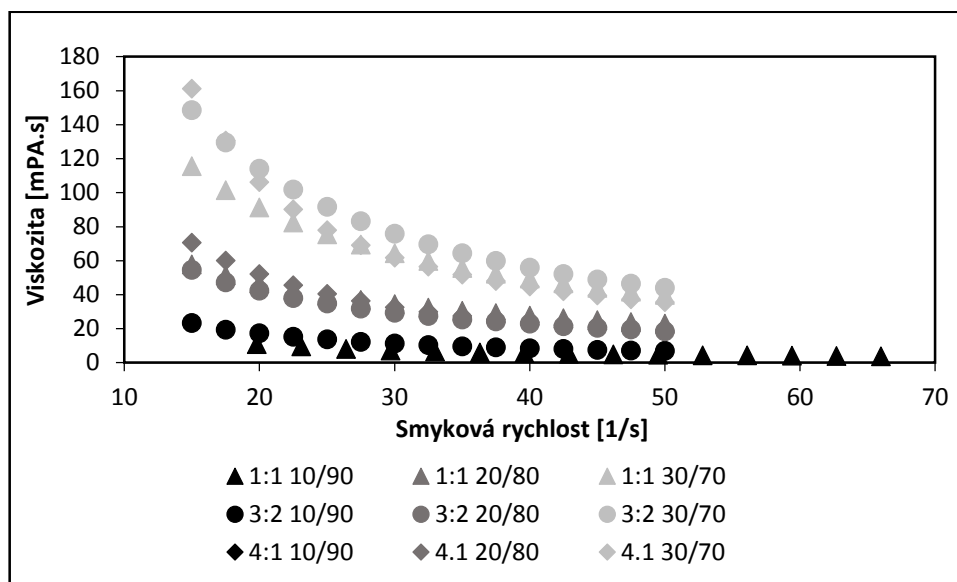
Výsledky vizuálního hodnocení připravených emulzí jsou v korelaci s výsledky fázových studií a potvrzují jejich závěry.

8.4.5 Reologické chování emulzí

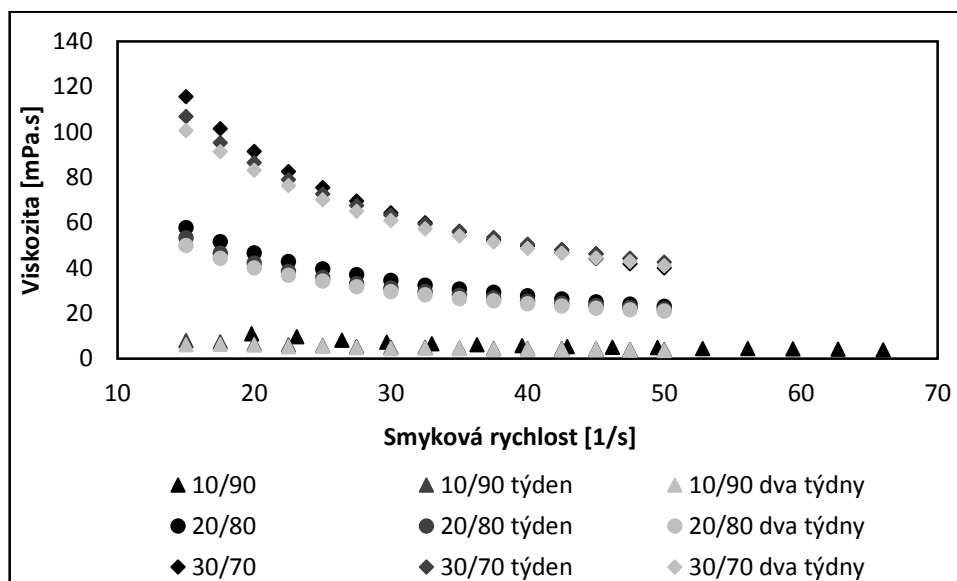
Sledování reologických vlastností je obecně pro kosmetické prostředky, tedy i emulze, velice důležité. Reologické vlastnosti úzce souvisejí se stabilitou emulzí, a jelikož jsou emulze termodynamicky nestabilní systémy, mohou s časem měnit nejen jejich fyzikální, ale i reologické chování. Měření viskozity bylo u vzorků prováděno den po jejich přípravě, poté po týdnu, a nakonec po dvou týdnech od přípravy. Dle získaných výsledků lze říci, že všechny vzorky emulzí vykazovaly viskoplastické chování a řadíme je tedy mezi nenevtonské systémy. V souvislosti s diskusí získaných výsledků je třeba nejprve konstatovat, že reologii Pickerových emulzí byla v literatuře věnována jen velmi omezená pozornost [74, s. 5].

Výsledky měření v této diplomové práci ukazují, že emulze s 0,7 % stabilizátoru vykazují, co se týká reologického chování, stejný trend. Bylo zjištěno, že s rostoucím množstvím oleje se viskozita zvyšovala a s rostoucí smykovou rychlostí se naopak snižovala. Na Obr. 41 lze pozorovat, že po překonání určité smykové rychlosti, ca od 30 s^{-1} , se viskozita emulzí s O/V 10/90 již výrazně neměnila a zůstala téměř konstantní. Jak již bylo zmíněno,

nejvyšší hodnoty viskozity tedy vykazovaly vzorky s poměrem O/V 30/70. Tato skutečnost není překvapivá a souvisí s rostoucím množstvím dispergované fáze v emulzi při zvyšujícím se množství oleje. Dále bylo zjištěno, že viskozita závisela i na poměru cCNC a ZnO a to tak, že nejvyšší hodnoty vykazovaly vzorky s poměrem cCNC a ZnO 4:1, poté vzorky s poměrem 3:2 a nejnižší hodnoty byly naměřeny u vzorků s poměrem 1:1, což znamená, že nejvyšší viskozita byla stanovena v emulzích s největším zastoupením cCNC (Obr. 35). Vysvětlení lze pravděpodobně nalézt ve tvaru a velikosti částic cCNC, které stabilizují olejové kapky emulze. Jejich tvar je podlouhlý s poměrně vysokým poměrem délky a tloušťky (aspect ratio) a ovlivňují zřejmě výslednou viskozitu emulzí výrazněji, než ZnO částice. Co se týká změn reologických vlastností emulzí během skladování, výsledky dále ukazují, že emulze s 0,7 % stabilizátorů v poměru cCNC:ZnO 1:1 při všech poměrech O/V vykazovaly téměř stejné hodnoty viskozity i po dvou týdnech od přípravy (Obr. 42). Stejnou stabilitu pak měly emulze připravené s poměrem O/V 20/80 a 10/90 a cCNC:ZnO 3:2 a 4:1. U emulzí s poměrem O/V 30/70 (cCNC:ZnO 3:2 a 4:1) bylo pozorováno mírné snižování viskozity během skladování, a to zřejmě z důvodu vzniku oiling-off, který se u nich projevil.

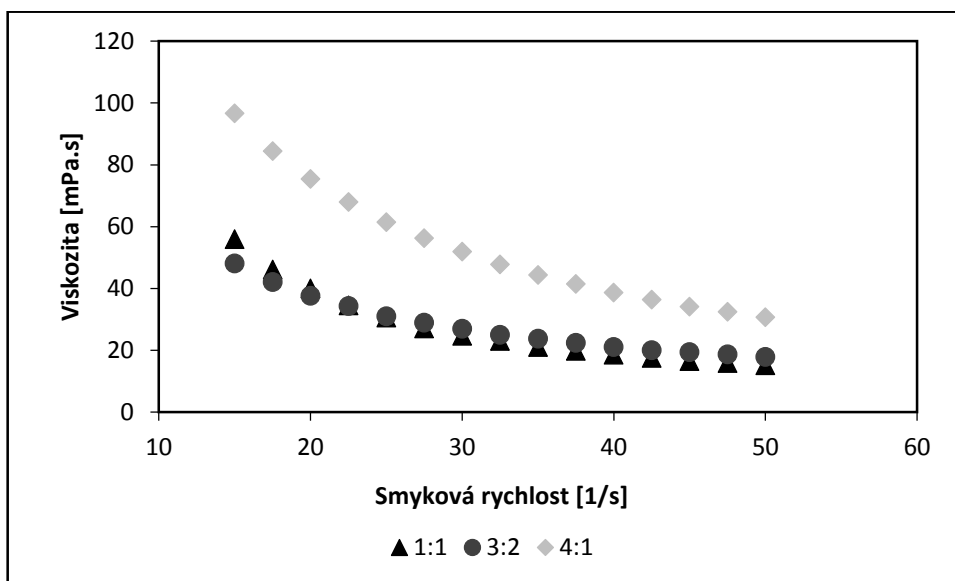


Obr. 41. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,7 % stabilizátoru a rozdílnými poměry mezi cCNC a ZnO den po jejich přípravě (▲ poměr 1:1, ● poměr 3:2, ◆ poměr 4:1).

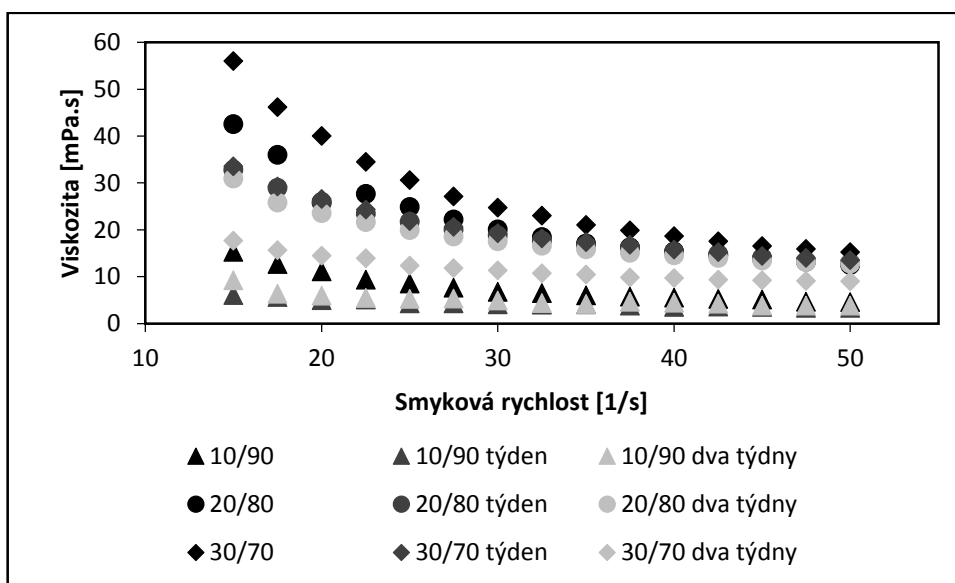


Obr. 42. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,7 % stabilizátoru, poměrem cCNC:ZnO 1:1 a rozdílnými poměry O/V v čase (▲poměr 10/90, ●poměr 20/80, ◆poměr 30/70).

Obdobné chování bylo typické i pro emulze s 0,5 % stabilizátorů, u kterých se s rostoucím množstvím olejové fáze viskozita rovněž zvyšovala, a to při všech poměrech cCNC:ZnO. Dále se ukázalo, že viskozita emulzí O/V 10/90 klesala v závislosti na poměru stabilizujících částic v tomto pořadí: cCNC:ZnO 4:1, 3:2, 1:1, tedy jako u emulzí s 0,7 % stabilizátoru. Odlišně to vypadalo u emulzí s poměrem O/V 20/80 a 30/70, u kterých poměry cCNC:ZnO 1:1 a 3:2 vykazovaly téměř stejné hodnoty viskozity, ale nižší, než emulze s poměrem 4:1 (Obr. 43). Při sledování reologických vlastností v čase bylo zjištěno, že se viskozita emulze 30/70 (cCNC:ZnO 1:1) s časem snižovala, což může opět souviset se vznikem oiling-off, který se objevil po jednom týdnu od její přípravy, a po dalším týdnu se množství uvolněného oleje ještě zvýšilo, což lze pozorovat na Obr. 44. Tuto skutečnost lze pozorovat i u emulze 20/80 (cCNC:ZnO 1:1), u které došlo ke vzniku oiling-off po jednom týdnu, ale množství uvolněného oleje zůstalo konstantní i po dvou týdnech, proto se hodnoty viskozity v tomto čase překrývají. Emulze s poměrem 10/90 (1:1) byly stabilní i po dvou týdnech a jejich hodnoty viskozity se proto příliš neměnily. Snižování viskozity v čase bylo dále pozorováno u emulze 30/70 (cCNC:ZnO 4:1) a dále u emulzí 10/90 a 20/80 (cCNC:ZnO 3:2). U ostatních emulzí se viskozita s časem příliš neměnila.



Obr. 43. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,5 % stabilizátoru, poměrem O/V 30:70 a rozdílnými poměry mezi cCNC a ZnO den po jejich přípravě (▲ poměr 1:1, ● poměr 3:2, ◆ poměr 4:1).



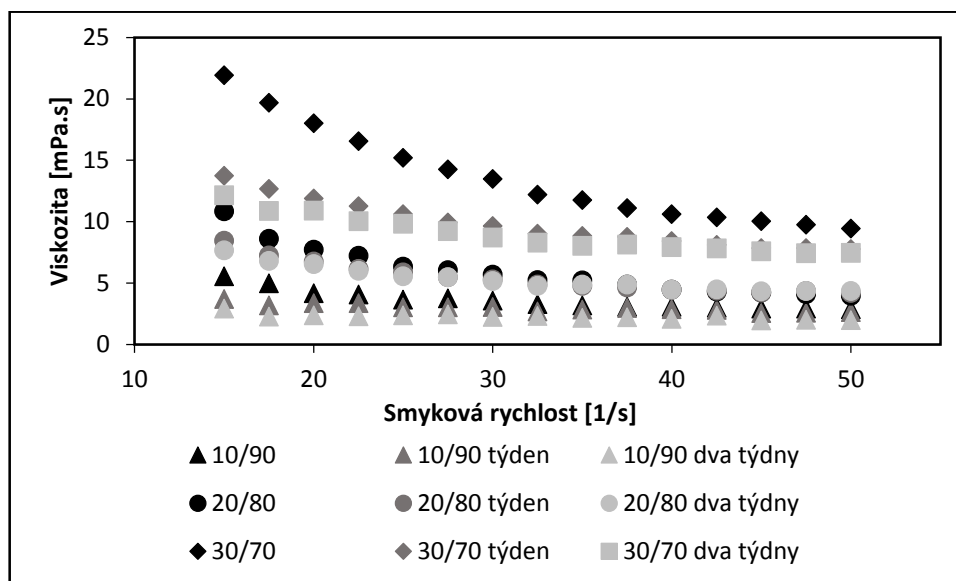
Obr. 44. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,5 % stabilizátoru, poměrem cCNC:ZnO 1:1 a rozdílnými poměry O/V v čase (▲ poměr 10/90, ● poměr 20/80, ◆ poměr 30/70).

Rovněž u emulzí s nejmenším množstvím stabilizujících částic (0,2 %) v poměru cCNC:ZnO 1:1 a 3:2, docházelo se zvyšujícím se množstvím oleje ke zvyšování viskozity tak, jako tomu bylo i u emulzí s 0,5 % a 0,7 % stabilizátorů. Viskozitní data pro emulze s poměrem stabilizátorů cCNC:ZnO 4:1 však nelze jednoznačně zhodnotit. Viskozita

emulzí (bez ohledu na množství obsaženého oleje) byla totiž podobná, což zřejmě souvisí s rozpadem těchto emulzí, který byl pozorován již v den jejich přípravy. Dále výsledky ukazují, že u vzorků s poměrem O/V 10/90 byla nejvyšší viskozita zaznamenána u emulze s poměrem stabilizátoru cCNC:ZnO 4:1. Emulze s poměrem cCNC:ZnO 3:2 a 1:1 vykazovaly podobné, avšak nižší hodnoty viskozity. Obdobně tomu bylo u emulzí s poměrem O/V 20/80, kdy u poměrů částic cCNC:ZnO 4:1 a 1:1 byly zaznamenány vyšší hodnoty viskozity 1:1 ve srovnání s cCNC:ZnO. Naopak u emulze s poměrem stabilizátoru cCNC:ZnO 3:2 a poměrem O/V 30/70 byla viskozita nejvyšší, a emulze s poměrem stabilizátoru cCNC:ZnO 1:1 a 4:1 (30/70) pak vykazovaly podobné, ale nižší hodnoty.

Při sledování reologických vlastností v čase bylo dále zjištěno, že emulze s poměrem 1:1 měly viskozitu stejnou i po dvou týdnech od přípravy, i přesto, že se u nich objevil oiling-off. U emulze s poměrem 3:2 (30/70) bylo po týdnu pozorováno snížení viskozity, ale u ostatních emulzí v poměru 3:2 (10/90, 20/80) se hodnoty viskozity ani po dvou týdnech příliš neměnily (Obr. 45). Dále bylo u emulze s poměrem stabilizátoru 4:1 (20/80) pozorováno snížení viskozity jak po týdnu, tak i po dvou týdnech po přeměření, což lze přisuzovat jejímu rozpadu a nejvyššímu množství uvolněného oleje během skladování. U ostatních emulzí s poměrem 4:1 se viskozita s časem neměnila.

Na základě všech naměřených výsledků lze říci, že reologické vlastnosti emulzí byly ovlivňovány jak celkovým množstvím stabilizátoru a poměrem cCNC a ZnO, tak množstvím oleje v emulzích, ale i projevy nestability měly na viskozitu emulzí značný vliv.



Obr. 45. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,2 % stabilizátorem, poměrem cCNC:ZnO 3:2 a rozdílnými poměry O/V v čase (▲poměr 10/90, ●poměr 20/80, ◆poměr 30/70).

8.4.6 Mikrobiologie

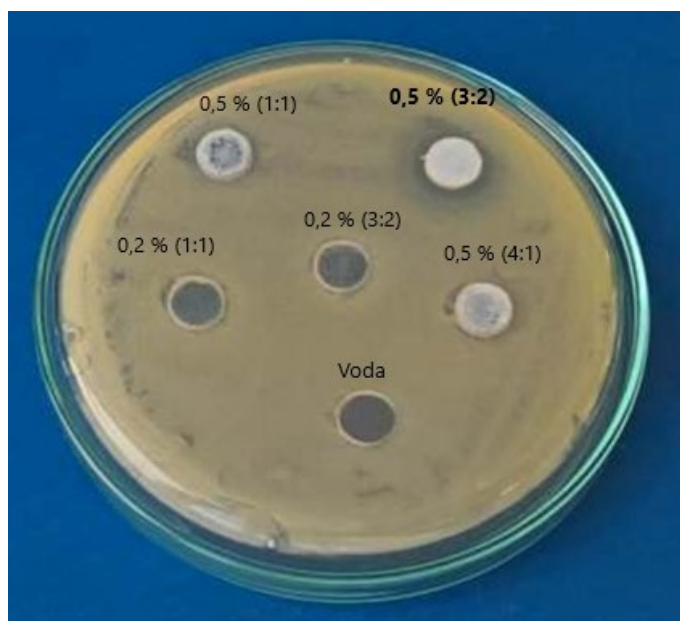
Antibakteriální účinky emulzí byly sledovány vůči grampozitivní bakterii *Staphylococcus aureus* a u gramnegativní bakterie *Escherichia coli*. V diplomové práci byly pro určení antibakteriální aktivity emulzí použity tři rozdílné metody, které poskytly rozdílné výsledky. V případě difúzní diskové metody a difúzní jamkové metody se zaléváním nebyly ani u jedné bakterie detekovány žádné inhibiční účinky. Nicméně v případě difúzní jamkové metody s roztěrem již byla antimikrobní aktivita emulzí prokázána a byly detekovány inhibiční zóny (Obr. 46 až 48), jejichž průměry uvádí Tab. 10. Na základě těchto údajů lze konstatovat, že difúzní disková metoda nebyla pro toto stanovení příliš vhodná zřejmě důvodu pipetování malého množství vzorku na disky (5 μ l), a přestože u difúzní jamkové metody se zaléváním bylo pipetováno větší množství vzorku (50 μ l), nebyly detekovány inhibiční zóny, což lze vysvětlit přítomností inokula v celém objemu agaru. Naproti tomu u difúzní jamkové metody s roztěrem je inokulum přítomno pouze na povrchu agaru, tudíž se mohla antibakteriální aktivita emulzí projevit. Výsledky ukazují, že růst bakterií kmene *Escherichia coli* byl inhibován emulzemi s 0,7 % stabilizátorů, a to ve všech poměrech cCNC:ZnO. Dále výsledky ukázaly, že růst bakterií kmene *Staphylococcus aureus* byl inhibován emulzemi s 0,5 % stabilizátoru v poměru cCNC a ZnO 3:2 a emulzemi s 0,7 % stabilizátoru s poměry cCNC:ZnO 1:1 a 3:2. Jak je patrné z Obr. 49, emulze s poměrem

cCNC:ZnO 1:1 (0,7 % stabilizátoru) měly větší inhibiční účinek na bakterie, než vzorky stabilizované cCNC:ZnO v poměrech 3:2 (0,7 % stabilizátoru), což je dáno vyšším množstvím ZnO. Antibakteriální aktivita emulzí je tedy ovlivněna jak celkovým množstvím stabilizátoru, tak i poměrem celulóзовých nanokrystalů a oxidu zinečnatého. Na základě toho lze tedy říci, že s rostoucím množstvím ZnO v emulzích se zvyšuje i jejich antibakteriální aktivita.

Tab. 10. Antibakteriální aktivita Pickeringových emulzí připravených s poměrem O/V 10/90 stanovená difúzní jamkovou metodou s roztěrem ($N=3$).

Celkové množství stabilizátoru [%]	Poměr cCNC a ZnO	Průměr inhibiční zóny [mm]	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
0,2	1:1	n.p.	n.p.
	3:2	n.p.	n.p.
	4:1	n.p.	n.p.
0,5	1:1	n.p.	n.p.
	3:2	10,5±0,5	n.p.
	4:1	n.p.	n.p.
0,7	1:1	12,5±0,5	11,8±1,0
	3:2	9,0±0,0	11,0±0,0
	4:1	n.p.	11,5±0,5

Pozn. n.p. zóna nebyla přítomná

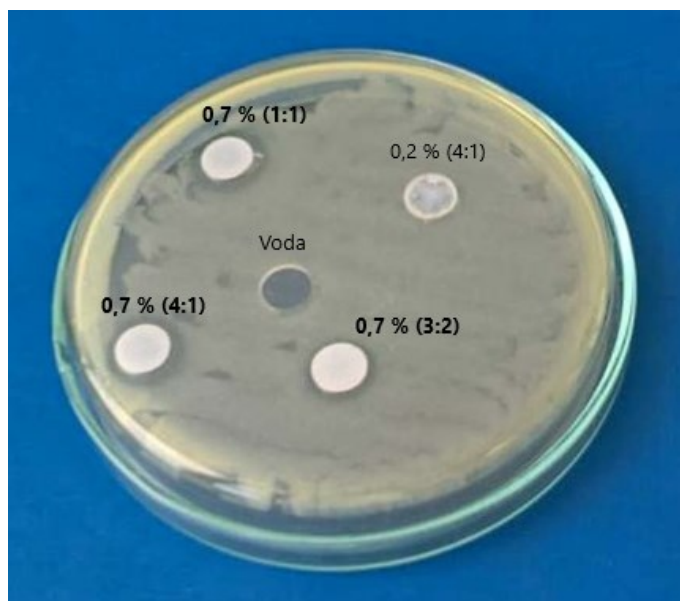


Obr. 46. Difúzní jamková metoda s roztěrem – vliv emulzí s 0,5 % stabilizátoru s poměrem $cCNC:ZnO$ 1:1, 3:2, 4:1 a emulzí s 0,2 % stabilizátoru s poměrem $cCNC:ZnO$ 1:1 a 3:2 na růst *Staphylococcus aureus*.

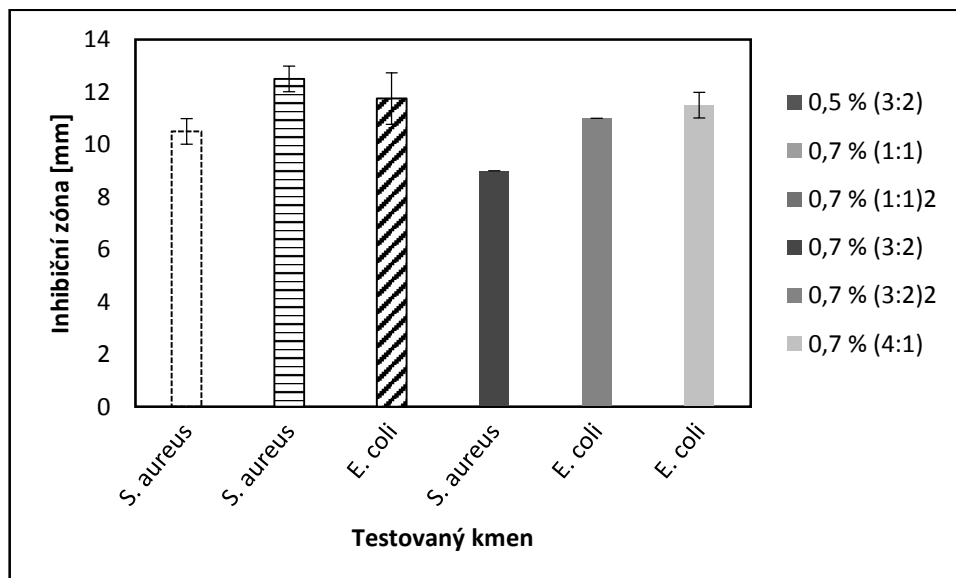


Obr. 47. Difúzní jamková metoda s roztěrem – vliv emulzí s 0,7 % stabilizátoru s poměrem $cCNC:ZnO$ 1:1, 3:2, 4:1 a emulze s 0,2 % stabilizátoru

s poměrem *cCNC:ZnO* 4:1 na růst *Staphylococcus aureus*.



Obr. 48. Difúzní jamková metoda s roztěrem – vliv emulzí s 0,7 % stabilizátoru s poměrem *cCNC:ZnO* 1:1, 3:2, 4:1 a emulze s 0,2 % stabilizátoru s poměrem *cCNC:ZnO* 4:1 na růst *Escherichia coli*.



Obr. 49. Vliv množství a poměru stabilizátoru v emulzích na velikosti inhibičních zón.

ZÁVĚR

Diplomová práce byla zaměřena na přípravu emulzí Pickeringova typu, pro které je charakteristická stabilizace pevnými částicemi. V tomto případě byly jako stabilizující činidla použity částice anorganického i organického původu, a to oxid zinečnatý a karboxylovaná nanokrystalická celulóza, které tvořily součást vodné fáze emulzí, a olejovou fázi potom tvořil triacylglycerol trikaprin/trikaprylin. Cílem této práce bylo najít vhodnou formulaci, která povede ke stabilním emulzím a provést charakterizaci takto připravených emulzí.

Postupem použitým v diplomové práci byly připraveny emulze s rozdílným celkovým množstvím stabilizujících částic (0,2 %, 0,5 %, 0,7 %), rozdílným poměrem cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) a rozdílným poměrem O/V (10/90 až 30/70). Z výsledků preformulační studie vyplynulo, že úprava pH prostředí emulzí na hodnotu 5,5 dala vzniknout stabilním emulzím, a proto byly všechny emulze připravovány v prostředí o této hodnotě pH. Výhodou úpravy pH je i fakt, že tato hodnota je blízká hodnotě pH lidské kůže, což je příznivé z hlediska kompatibility. Nejen hodnota pH, ale také postup přípravy emulzí měl zásadní vliv na stabilitu. Bylo také zjištěno, že přítomnost CaCl_2 podpořila agregaci a měla tedy negativní vliv na stabilitu emulzí. Připravené emulze byly charakterizovány pomocí měření velikosti částic, ζ potenciálu, reologických vlastností a fázových studií. Hodnocení emulzí probíhalo ihned po jejich přípravě, dále po jednom a po dvou týdnech od přípravy při skladování při laboratorní teplotě.

Měřením velikosti částic bylo zjištěno, že klíčovou roli zde hraje zejména celkové množství stabilizujících částic, tedy cCNC a ZnO, kdy se zvyšujícím se množstvím stabilizátoru se velikost částic snižovala, a to bez ohledu na množství oleje v emulzích. Na stabilizaci emulzí se dále významně podílel obsah cCNC, a to tak, že se zvyšujícím se množstvím cCNC docházelo rovněž ke snižování velikosti částic. Částečně velikost částic ovlivňoval i poměr cCNC a ZnO a množství oleje mělo jen zanedbatelný vliv.

Dále, z měření hodnot ζ potenciálu vyplývá, že v den přípravy emulze vykazovaly hodnoty ζ potenciálu nižší než -30 mV, což znamená, že se emulze nacházely ve stabilní oblasti. Nicméně se ale hodnoty ζ potenciálu s časem přibližovaly k hraniční hodnotě oblasti nestability. Přítomnost ZnO měla na hodnoty ζ potenciálu jen malý vliv a ζ potenciál byl v tomto případě ovlivněn především celulózovými nanokrystaly.

U připravených emulzí byly dále provedeny fázové studie pomocí stanovení indexu emulzní stability, indexu krémování a enkapsulační účinnosti, a také byly emulze charakterizovány pomocí vizuálního pozorování, které potvrdilo výsledky fázových studií.

Co se týká reologických vlastností, připravené emulze projevovaly viskoplastické chování, což je typické pro neneutonské systémy. Dále bylo zjištěno, že reologické vlastnosti byly ovlivněny jak celkovým množstvím stabilizujících složek a jejich poměrem, tak i množstvím oleje v emulzích a také projevy nestability emulzí značně ovlivnily jejich viskozitu. Z měření reologických vlastností vyplynulo, že se zvyšujícím se množstvím oleje se zvyšovala i viskozita emulzí a nejvyšší hodnoty viskozity byly pak naměřeny u emulzí s nejvyšším obsahem celulósových nanokrystalů.

Dle zjištěných výsledků byla formulace emulzí s 0,2 % stabilizátoru nejméně stabilní, což lze vysvětlit nízkým obsahem stabilizujících částic a nejlepší stabilitu pak vykazovaly emulze s 0,7 % stabilizátoru, které již obsahovaly dostatečné množství stabilizujících složek, které byly schopny účinně stabilizovat systém O/V, přičemž klíčovou roli ve stabilizaci těchto emulzních systémů hraje spíše přítomnost cCNC.

Výsledky mikrobiologických testů potvrdily antibakteriální vlastnosti připravených emulzí, kdy s rostoucím množstvím ZnO v emulzích se antibakteriální aktivita zvyšovala.

Diplomová práce prokázala, že kombinací anorganických a organických částic lze připravit stabilní Pickeringovy emulze, které by mohly být s výhodou využity především v oblasti kosmetiky a dermatologie. Podrobnější zkoumání takto stabilizovaných systémů by mohlo být vhodným námětem pro další práci.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [10] PAYE, Marc, A. O. BAREL a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*. 2nd ed. New York: Taylor& Francis, 2006. ISBN 9781574448245.
- [2] CHALUPOVÁ, Zuzana et al. Lipidy v technologii léčivých a kosmetických přípravků. *Praktické lékárenství* [online]. 2008, 4(1) [cit. 2017-08-05]. Dostupné z: <http://www.praktickelekarenstvi.cz/pdfs/lek/2008/01/07.pdf>
- [3] ZÁHEJSKÝ, Jiří. *Zevní dermatologická terapie a kosmetika: pohledy klinické, fyziologické a biologické*. Praha: Grada, 2006, 133 s. ISBN 8024715511.
- [4] BAKI, Gabriella a Kenneth S. ALEXANDER. *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*. Hoboken, New Jersey: John Wiley&Sons, 2015, 698s. ISBN 978-1-118-7678-0.
- [5] FEŘTEKOVÁ, Vlasta et al. *Kosmetika v teorii a praxi*. Praha: Maxdorf, 1994. ISBN 80-85800-20-9.
- [6] MEHTA, Ratna. Topical and Transdermal Drug Delivery: What a Pharmacist Needs to Know. *International Journal of Pharmaceutical* [online]. 2004, [cit. 2017-08-05]. Dostupné z: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.562.7692&rep=rep1&type=pdf>
- [7] LU, Guang Wei a Ping GAO. Emulsions and Microemulsions for Topical and Transdermal Drug Delivery. In: KULKARNI, Vitthal S. *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems*. USA: William Andrew, 2010, s. 59–94. Chapter 3. ISBN 9780815520252.
- [8] MCCLEMENTS, D. J., E. A. DECKER a J. WEISS. Emulsion-Based Delivery Systems for Lipophilic Bioactive Components. *Journal of Food Science* [online]. 2007, 72(8), s. R109-R124 [cit. 2017-08-16]. ISSN 0022-1147. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>
- [9] SCHRAMM, L. L. *Emulsions, foams, and suspensions: fundamentals and applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005. ISBN 3-527-30743-5.

- [10] VLTAVSKÁ, Pavlína. *Kosmetické technologie*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Učební text.
- [11] BARTOVSKÁ, L., ŠIŠKOVÁ M. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-7080-579-X.
- [12] GRUMEZESCU, Alexandru Mihai. *Emulsions: Nanotechnology in the Agri-Food Industry*. Volume 3. USA: Elsevier, 2016, 786 s. ISBN 9780128043066.
- [13] GUPTA, Ankur, H. Burak ERAL, T. Alan HATTON a Patrick S. DOYLE. Nano-emulsions: formation, properties and applications. *Soft Matter* [online]. 2016, 12(11), s. 2826-2841 [cit. 2017-09-17]. ISSN 1744-683x. DOI: 10.1039/C5SM02958A. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5SM02958A>
- [14] BUTT, Hans-Jürgen., Karlheinz GRAF a Michael KAPPL. *Physics and chemistry of interfaces*. Weinheim: Wiley-VCH, 2003. ISBN 3-527-40413-9.
- [15] SOLANS, C., KUNIEDA, H. Industrial applications of microemulsion. *Surfactant Science Series Vol. 66*. New York: Marcel Dekker, 1997. ISBN 9780824797959.
- [16] ROSEN, Milton J. *Surfactants and interfacial phenomena*. 3rd ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 2004. ISBN 0-471-47818-0.
- [17] RAYNER, Marilyn a Petr DEJMEK. *Engineering aspects of food emulsification and homogenization*. Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2015. ISBN 978-1-4665-8044-2
- [18] LEAL-CALDERON, F., SCHMITT, V., BIBETTE, J. *Emulsion science: Basic principles*. 2nd ed. New York: Springer, 2007. ISBN 9780387396835.
- [19] TADROS, Tharwat F. *Emulsion science and technology*. Weinheim: Wiley-VCH, 2009. ISBN 978-3-527-32525-2.
- [20] BADAWI, Alia A., Samia A. NOUR, Wedad S. SAKRAN a Shereen Mohamed Sameh EL-MANCY. Preparation and Evaluation of Microemulsion Systems Containing Salicylic Acid. *AAPS PharmSciTech* [online]. Springer US, 2009, 10(4), s. 1081-1084 [cit. 2017-08-21]. ISSN 1530-9932. DOI: 10.1208/s12249-009-9301-7. Dostupné z: <http://www.springerlink.com/index/10.1208/s12249-009-9301-7>

- [21] MUZAFFAR, F., SINGH, U. K., CHAUHAN, L. Review on microemulsion as futuristic drug delivery. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* [online]. Academic Sciences, 2013, 5(3), s. 39-53 [cit. 2017-08-21]. ISSN 0975-1491. Dostupné z: <https://www.ijppsjournal.com/Vol5Issue3/6937.pdf>
- [22] MISHRA, Munmaya. *Handbook of encapsulation and controlled release*. New York: Taylor& Francis Group, 2015. ISBN 9781482232325.
- [23] SURABHI, Khanna, Katare OP, Nasa ATUL a Garg ARUN. Microemulsions: Developmental aspects. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* [online]. 2010, 1(4), s. 683-706 [cit. 2017-09-17]. ISSN 0975-8585. Dostupné z: [https://www.rjpbcs.com/pdf/2010_1\(4\)/\[73\].pdf](https://www.rjpbcs.com/pdf/2010_1(4)/[73].pdf)
- [24] SLOVÁKOVÁ, Ivana. *Formulace a vlastnosti mikroemulzí s obsahem esenciálních olejů* [online]. Zlín, 2010. Diplomová práce. Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, Fakulta technologická. Vedoucí práce doc. Ing. Věra Kašpárková, CSc. Po přihlášení dostupné z aplikace: portal.utb.cz
- [25] KULKARNI, Vitthal S. *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems*. USA: William Andrew, 2010. ISBN 9780815520252.
- [26] TADROS, Tharwat F. *Emulsions: Formation, Stability, Industrial Applications*. Berlin/Boston: Walter de Gruyter GmbH, 2016. ISBN 9783110452242.
- [27] KVÍTEK, Libor a Aleš PANÁČEK. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2007. ISBN 9788024416694.
- [28] SEDLAŘÍKOVÁ, Jana. *Chemie a technologie tenzidů II*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Učební text.
- [29] SALAGER Jean-Louis. Surfactants: Types and Uses. *Laboratory of formulation, interfaces, rheology and processes*. Firp booklet E300-A Teaching Aid in Surfactant Science & Engineering in English [online]. Universidad de Los Andes, Facultad de Ingenieria, Escuela de Ingenieria Quimic. Mérida-Venezuela, 2002, ver. 2 [cit. 2017-08-26]. Dostupný z: <http://www.nanoparticles.org/pdf/Salager-E300A.pdf>
- [30] BAREL, A. O., Marc PAYE a Howard I. MAIBACH. *Handbook of cosmetic science and technology*. 3rd ed. New York: Informa Healthcare USA, 2009. ISBN 1-4200-6963-2.

- [31] KOLÁŘ, Karel a Pavel REITERMAN. *Stavební materiály: pro SPŠ stavební*. Praha: Grada, 2012. ISBN 9788024740706.
- [32] SHI, Jingyu. *Steric Stabilization* [online]. USA: The Ohio State University, 2002 [cit. 2017-08-26]. Dostupné z: http://muri.lci.kent.edu/References/NIM_Papers/Stabilization_of_NP_suspensions/2002_Shi_steric_stabilization.pdf
- [33] NOVÁK, Josef a kol. *Fyzikální chemie: bakalářský a magisterský kurz*. 1. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2008. ISBN 978-80-7080-675-3.
- [34] MALVERN INSTRUMENTS. *Zeta Potential – An Introduction in 30 Minutes* [online]. 2015 [cit. 2017-08-27]. Dostupné z: https://caliscc.org/images/presentations/Morante_Zeta_Potential.pdf
- [35] MARKU, Diana, Marie WAHLGREN, Marilyn RAYNER, Malin SJÖÖ a Anna TIMGREN. Characterization of starch Pickering emulsions for potential applications in topical formulations. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2012, 428(1-2), s. 1-7 [cit. 2017-08-27]. ISSN 03785173. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.01.031. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517312000658>
- [36] CHEVALIER, Yves a Marie-Alexandrine BOLZINGER. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physico-chemical and Engineering Aspects* [online]. 2013, 439, s. 23-34 [cit. 2017-08-27]. ISSN 09277757. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2013.02.054. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777571300157X>
- [37] PATRAVALE, V. B. a S. D. MANDAWGADE. Novel cosmetic delivery systems: an application update. *International Journal of Cosmetic Science* [online]. 2008, 30(1), s. 19-33 [cit. 2017-08-30]. ISSN 01425463. DOI: 10.1111/j.1468-2494.2008.00416.x. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1468-2494.2008.00416.x>
- [38] STEHL, Dmitrij, Lena HOHL, Marcel SCHMIDT, Jessica HÜBNER, Maren LEHMANN, Matthias KRAUME, Reinhard SCHOMÄCKER a Regine von KLITZING. Characteristics of Stable Pickering Emulsions under Process Conditions. *Chemie Ingenieur Technik* [online]. 2016, 88(11), s. 1806-1814 [cit. 2017-

- 08-29]. ISSN 0009286x. DOI: 10.1002/cite.201600065. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/cite.201600065>
- [39] WU, Jie a Guang-Hui MA. Recent Studies of Pickering Emulsions: Particles Make the Difference. *Small* [online]. 2016, 12(34), s. 4633-4648 [cit. 2017-08-29]. ISSN 16136810. DOI: 10.1002/sml.201600877. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/sml.201600877>
- [40] RAYNER, M., et al. Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2014, 458, s. 48-62 [cit. 2017-08-29]. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2014.03.053. Dostupné z: <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfa.2014.03.053>
- [41] TANG, Juntao, Patrick James QUINLAN a Kam Chiu TAM. Stimuli-responsive Pickering emulsions: recent advances and potential applications. *Soft Matter* [online]. 2015, 11(18), s. 3512-3529 [cit. 2017-11-02]. ISSN 1744-683x. DOI: 10.1039/C5SM00247H. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C5SM00247H>
- [42] YANG, Yunqi, Zhiwei FANG, Xuan CHEN, Weiwang ZHANG, Yangmei XIE, Yinghui CHEN, Zhenguo LIU a Weien YUAN. An Overview of Pickering Emulsions: Solid-Particle Materials, Classification, Morphology, and Applications. *Frontiers in Pharmacology* [online]. 2017, 8(287), s. 1-20 [cit. 2017-09-01]. ISSN 1663-9812. DOI: 10.3389/fphar.2017.00287. Dostupné z: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphar.2017.00287/full>
- [43] PILAPIL, Brandy K., Heidi JAHANDIDEH, Steven L. BRYANT a Milana TRIFKOVIC. Stabilization of Oil-in-Water Emulsions with Noninterfacially Adsorbed Particles. *Langmuir* [online]. 2016, 32(28), s. 7109-7116 [cit. 2017-09-08]. ISSN 0743-7463. DOI: 10.1021/acs.langmuir.6b00873. Dostupné z: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.langmuir.6b00873>
- [44] SIMOVIC, S., N. GHOUCHE-ESKANDAR a C. A. PRESTIDGE. Pickering emulsions for dermal delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2011, 21(1), s. 123-133 [cit. 2017-09-14]. ISSN 17732247. DOI: 10.1016/S1773-2247(11)50011-5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224711500115>

- [45] MIKULCOVÁ, V., BORDES, R., MINAŘÍK, A., KAŠPÁRKOVÁ, V. Pickering oil-in-water emulsions stabilized by carboxylated cellulose nanocrystals – Effect on the pH. *Food Hydrocolloids* [online]. 2018, 80, s. 60-67 [cit. 2017-09-14]. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.01.034. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0268005X17319252?via%3Diuh>.
- [46] SPILKOVÁ, J. a kol. *Farmakognozie*. Praha: Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2016. ISBN 9788024632643.
- [47] LAM, Stephanie, Krassimir P. VELIKOV a Orlin D. VELEV. Pickering stabilization of foams and emulsions with particles of biological origin. *Current Opinion in Colloid & Interface Science* [online]. 2014, 19(5), s. 490-500 [cit. 2017-09-21]. ISSN 13590294. DOI: 10.1016/j.cocis.2014.07.003. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029414000806>
- [48] TAVERNIER, Iris, Wahyu WIJAYA, Paul VAN DER MEEREN, Koen DEWETTINCK a Ashok R. PATEL. Food-grade particles for emulsion stabilization. *Trends in Food Science & Technology* [online]. 2016, 50, s. 159-174 [cit. 2017-09-21]. ISSN 09242244. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.01.023. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092422441530026>
- [49] MOON, Robert J., Ashlie MARTINI, John NAIRN, John SIMONSEN a Jeff YOUNGBLOOD. Cellulose nanomaterials review: structure, properties and nanocomposites. *Chemical Society Reviews* [online]. 2011, 40(7), s. 3941-3994 [cit. 2017-09-24]. ISSN 0306-0012. DOI: 10.1039/c0cs00108b. Dostupné z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c0cs00108b>
- [50] RABIŠKOVÁ, Miloslava, Adam HÄRING, Klára MINCZINGEROVÁ, Martin HAVLÁSEK a Petra MUSILOVÁ. Mikrokrytalická celulóza v perorálních léčivých formách. *Chemické Listy*. 2007, 101(1), s. 70-77. ISSN: 0009-2770.
- [51] LEUNG, Alfred C. W., Sabahudin HRAPOVIC, Edmond LAM, Yali LIU, Keith B. MALE, Khaled A. MAHMOUD a John H. T. LUONG. Characteristics and Properties of Carboxylated Cellulose Nanocrystals Prepared from a Novel One-Step Procedure. *Small* [online]. 2011, 7(3), s. 302-305 [cit. 2017-09-29]. ISSN

16136810. DOI: 10.1002/sml.201001715. Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1002/sml.201001715>
- [52] MALE, Keith B., Alfred C. W. LEUNG, Johnny MONTES, Amine KAMEN a John H. T. LUONG. Probing inhibitory effects of nanocrystalline cellulose: inhibition versus surface charge. *Nanoscale*. 2012, 4(4), s. 1373-1379 [cit. 2017-09-29]. DOI: 10.1039/c2nr11886f. ISSN 20403364.
- [53] KENNEDY, John F, Glyn O PHILLIPS, Peter A WILLIAMS a Hyoe HATAKEYAMA. *Recent advances in environmentally compatible polymers*. Cambridge: Woodhead Publishing, 2001. ISBN 1855735458.
- [54] AZONANO. Solid Particle Stabilization of Emulsions: Characterisation, Processing Methods and Applications. In: *Azonano* [online]. 2005 [cit. 2017-09-30]. Dostupné z: <https://www.azonano.com/article.aspx?ArticleID=1293>
- [55] FORDIANI, F., BOURGETEAU, V. Pickering emulsion encapsulation for cosmetic industry. *Bioencapsulation Innovations* [online]. 2012, s. 20–21. Dostupné z: http://bioencapsulation.net/index2-select-newsletter-nl-BI_03_2012.html
- [56] FRELICHOWSKA, Justyna, Marie-Alexandrine BOLZINGER, Jocelyne PELLETIER, Jean-Pierre VALOUR a Yves CHEVALIER. Topical delivery of lipophilic drugs from o/w Pickering emulsions. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2009, 371(1-2), s. 56-63 [cit. 2017-10-12]. ISSN 03785173. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2008.12.017. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517308008326>
- [57] ZÁHEJSKÝ, Jiří. Ochranné bariérové systémy: Současné a perspektivní možnosti úpravy stavu poškozené kožní bariéry. *Dermatologie pro praxi* [online]. 2011, 5(1), s. 8-11 [cit. 2017-10-12]. Dostupné z: <https://www.dermatologiepropraxi.cz/pdfs/der/2011/01/02.pdf>
- [58] HU, Yin-Ting, Yuwen TING, Jing-Yu HU a Shu-Chen HSIEH. Techniques and methods to study functional characteristics of emulsion systems. *Journal of Food and Drug Analysis* [online]. 2017, 25(1), s. 16-26 [cit. 2017-10-03]. ISSN 10219498. DOI: 10.1016/j.jfda.2016.10.021. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1021949816301831>

- [59] UNIVERZITA TOMÁŠE BATI VE ZLÍNĚ. *Analýza tuků a kosmetických přípravků*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně. Učební text.
- [60] BENEŠ, Jiří, Daniel JIRÁK a František VÍTEK. *Základy lékařské fyziky*. 4. vyd. Praha: Univerzita Karlova, nakladatelství Karolinum, 2015. ISBN 978-80-246-2645-1
- [61] FOO, M. L., K. W. TAN, T. Y. WU, E. S. CHAN a I. M. L. CHEW. A Characteristic Study of Nanocrystalline Cellulose and its Potential in Forming Pickering Emulsion. *Chemical Engineering Transactions* [online]. 2017, 60, s. 97-102 [cit. 2017-10-12]. ISSN 2283-9216. DOI: 10.3303/CET1760017. Dostupné z: <http://www.aidic.it/cet/17/60/017.pdf>
- [62] SAIDANE, Dorra, Emilie PERRIN, Fanch CHERHAL, Florian GUELLEC a Isabelle CAPRON. Some modification of cellulose nanocrystals for functional Pickering emulsions. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* [online]. 2016, 374(2072) [cit. 2017-10-15]. ISSN 1364-503x. DOI: 10.1098/rsta.2015.0139. Dostupné z: <http://rsta.royalsocietypublishing.org/lookup/doi/10.1098/rsta.2015.0139>
- [63] WEN, Chunxia, Qipeng YUAN, Hao LIANG a Frank VRIESEKOOOP. Preparation and stabilization of D-limonene Pickering emulsions by cellulose nanocrystals. *Carbohydrate Polymers* [online]. 2014, 112, s. 695-700 [cit. 2017-10-15]. ISSN 01448617. DOI: 10.1016/j.carbpol.2014.06.051. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861714006274>
- [64] MIKULCOVÁ, Veronika, Romain BORDES a Věra KAŠPÁRKOVÁ. On the preparation and antibacterial activity of emulsions stabilized with nanocellulose particles. *Food Hydrocolloids* [online]. 2016, 61, s. 780-792 [cit. 2017-12-03]. ISSN 0268005x. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.031. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16302806>
- [65] YAN, Huiqiong, Xiuqiong CHEN, Huangwang SONG, Jiacheng LI, Yuhong FENG, Zaifeng SHI, Xianghui WANG a Qiang LIN. Synthesis of bacterial cellulose and bacterial cellulose nanocrystals for their applications in the stabilization of olive oil pickering emulsion. *Food Hydrocolloids* [online]. 2017, 72, s. 127-135

- [cit. 2017-12-03]. ISSN 0268005x. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.05.044. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X17303090>
- [66] SIMOVIC, S., N. GHOUCHI-ESKANDAR a C. A. PRESTIDGE. Pickering emulsions for dermal delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* [online]. 2011, 21(1), s. 123-133 [cit. 2017-10-12]. ISSN 17732247. DOI: 10.1016/S1773-2247(11)50011-5. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1773224711500115>
- [67] PASQUET, Julia, Yves CHEVALIER, Emmanuelle COUVAL, Dominique BOUVIER a Marie-Alexandrine BOLZINGER. Zinc oxide as a new antimicrobial preservative of topical products: Interactions with common formulation ingredients. *International Journal of Pharmaceutics* [online]. 2015, 479(1), s. 88-95 [cit. 2017-10-15]. ISSN 03785173. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2014.12.031. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517314009284>
- [68] WU, Wei, Shuang GAO, Weixia TU, Jianfeng CHEN a Pengyuan ZHANG. Intensified photocatalytic degradation of nitrobenzene by Pickering emulsion of ZnO nanoparticles. *Particuology* [online]. 2010, 8(5), s. 453-457 [cit. 2017-10-15]. ISSN 16742001. DOI: 10.1016/j.partic.2010.05.006. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1674200110000878>
- [69] HARLEY, John P., PRESCOTT Lansing M. *Laboratory Exercises in Microbiology*. 5th ed. Boston, MASS: McGraw-Hill, 2002. ISBN9780072333459.
- [70] BOLUK, Y., LAHIJI, R., ZHAO, L., & McDERMOTT, M. T. Suspension viscosities and shape parameter of cellulose nanocrystals (CNC). *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* [online]. 2011, 377(1-3), s. 297-303 [cit. 2018-03-31]. ISSN 0927-7757. DOI:10.1016/j.colsurfa.2011.01.003. Dostupné z: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0927775711000227?via%3Dihub>
- [71] KANEL, S. R., AL-ABED, S. R. Influence of pH on the transport of nanoscale zinc oxide in saturated porous media. *Journal of Nanoparticle Research*. [online]. 2011, 13(9), s. 4035-4037 [cit. 2018-05-16]. ISSN 1388-0764. DOI:

10.1007/s11051-011-0345-8. Dostupné z:
<http://link.springer.com/10.1007/s11051-011-0345-8>

- [72] OMAR, F. M., AZIZ, H. A., STOLL, S. Stability of ZnO Nanoparticles in Solution. Influence of pH, Dissolution, Aggregation and Disaggregation Effects. *Journal of Colloid Science and Biotechnology* [online]. 2014, 3(1), 75-84 [cit. 2018-05-16]. ISSN 21649634. DOI: 10.1166/jcsb.2014.1072. Dostupné z: <http://openurl.ingenta.com/content/xref?genre=article&issn=2164-9634&volume=3&issue=1&spage=75>
- [73] WHITBY, Catherine P. a Erica J. WANLESS. Controlling Pickering Emulsion Destabilisation: A Route to Fabricating New Materials by Phase Inversion. *Materials* [online]. 2016, 9(8), 626 [cit. 2018-04-20]. ISSN 1996-1944. DOI: 10.3390/ma9080626. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/1996-1944/9/8/626>
- [74] PAL, Rajinder. A Simple Model for the Viscosity of Pickering Emulsions. *Fluids* [online]. 2018, 3(1), 2 [cit. 2018-04-27]. ISSN 2311-5521. DOI: 10.3390/fluids3010002. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2311-5521/3/1/2>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AFM	Mikroskopie atomárních sil (z angl. Atomic Force Microscopy).
APS	Persulfát amonný.
BC	Bakteriální celulóza. (z angl. Bacterial Cellulose).
CCM	Česká sbírka mikroorganismů (z angl. Czech Collection of Microorganisms).
CFU	Jednotky tvořící kolonie (z angl. Colony Forming Units).
CNC	Celulózové nanokrystaly.
cCNC	Karboxylované celulózové nanočástice.
DDM	Difúzní disková metoda.
EIP	Inverzní bod emulze. (z angl. Emulsion Inversion Point).
ESI	Index emulzní stability (z angl. Emulsion Stability Index)
GC	Plynová chromatografie (z angl. Gas Chromatography).
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha (z angl. Hydrophile-Lipophile Balance).
HPLC	Vysokoučinná kapalinová chromatografie (z angl. High-Performance Liquid Chromatography).
LC	Kapalinová chromatografie (z angl. Liquid Chromatography).
M	Molární.
MCC	Mikrokrytalická celulóza.
mEq	Miliekvivalent.
MFC	Celulózové mikrofibrily.
MHA	Mueller-Hinton Agar.
NCC	Nanokrytalická celulóza.
NFC	Nanofibrilární celulóza.
nm	Nanometr.
O/V	System olej ve vodě.

O/V/O	System olej ve vodě v oleji.
O/V/V	System olej ve vodě ve vodě.
PAL	Povrchově aktivní látka.
PF	Rostlinná vlákna (z angl. Plant Fibril).
pH	Záporný logaritmus koncentrace vodíkových iontů.
PIT	Teplota fázové inverze (z angl. Phase Inversion Temperature).
pKa	Záporný dekadický logaritmus disociační konstanty při 25°C.
rpm	Otáčky za minutu (z angl. Revolutions per Minute).
SEM	Skenovací elektronový mikroskop (z angl. Scanning Electron Microscope).
TEM	Transmisní elektronový mikroskop (z angl. Transmission electron microscopy).
μm	Mikrometr.
UTB	Univerzita Tomáše Bati.
UV-VIS	Ultrafialovo-viditelný.
V/O	System voda v oleji.
V/O/V	System voda v oleji ve vodě.
V/V	System voda ve vodě.
WF	Dřevěná vlákna (z angl. Wood Fibril).

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obr. 1. Sedimentace pevných částic v suspenzi v průběhu času [4, s. 59].</i>	15
<i>Obr. 2. Typy emulzí, upraveno podle [9, s. 5].</i>	16
<i>Obr. 3. Pseudoternární fázový diagram [24, s. 30].</i>	20
<i>Obr. 4. Struktura surfaktantu [27, s. 38].</i>	21
<i>Obr. 5. Schéma stérické stabilizace [32, s. 6].</i>	23
<i>Obr. 6. Schéma stabilizace pomocí deplece [32, s. 6].</i>	24
<i>Obr. 7. Pickeringova emulze (a) a klasická emulze (b) [17, s. 116].</i>	25
<i>Obr. 8. Schéma vzniku emulzí v závislosti na velikosti kontaktního úhlu stabilizujících částic. Při $\theta < 90^\circ$ vznik emulze typu O/V (a) a při $\theta > 90^\circ$ vznik emulze typu V/O (b), upraveno podle [17, s. 103].</i>	27
<i>Obr. 9. Malé a pevné částice adsorbované na rozhraní O/V jsou zpočátku v rovnovážném „stavu 1“ s ohledem na volnou povrchovou energii (vlevo), poté je vykonána práce k dosažení „stavu 2“ (vpravo), kde rozdíl volné energie mezi stavem 1 a 2 udává volnou energii potřebnou k oddělení částice, upraveno podle [40, s. 50].</i>	29
<i>Obr. 10. Postup DDM, upraveno podle [69, s. 260].</i>	57
<i>Obr. 11. AFM celulóзовých nanokryсталů získaných z mikrokrystalické celulózy oxidací pomocí APS [45, s. 62].</i>	59
<i>Obr. 12. Závislost zeta potenciálu suspenze cCNC v 1 mM NaCl na pH [45, s. 63].</i>	60
<i>Obr. 13. Závislost zeta potenciálu ZnO na pH.</i>	62
<i>Obr. 14. Vzorky A-1 až A-11 z preformulační studie (první série) po 1 týdnu od přípravy (zleva doprava) s naznačenými destabilizačními jevy.</i>	63
<i>Obr. 15. Emulzní kapky vzorku B-2 vizualizované pomocí optické mikroskopie.</i>	65
<i>Obr. 16. Závislost velikost částic na poměru cCNC a ZnO u emulzí s 0,2%, 0,5% a 0,7 % stabilizátoru a poměrem O/V 10/90.</i>	69
<i>Obr. 17. Závislost velikost částic na poměru cCNC a ZnO u emulzí s 0,2%, 0,5% a 0,7 % stabilizátoru a poměrem O/V 20/80.</i>	69
<i>Obr. 18. Závislost velikost částic na poměru cCNC a ZnO u emulzí s 0,2%, 0,5% a 0,7 % stabilizátoru a poměrem O/V 30/70.</i>	70
<i>Obr. 19. Změna velikosti částic v čase u emulzí s 0,5 % stabilizátoru v poměru cCNC a ZnO 3:2.</i>	71

Obr. 20. Distribuce velikostí částic u emulzí s 0,7 % stabilizátoru, cCNC:ZnO 1:1 s různými poměry O/V (10/90 až 30/70) v den přípravy.	72
Obr. 21. Distribuce velikostí částic u emulzí s 0,2 % stabilizátoru, cCNC:ZnO 1:1 s různými poměry O/V (10/90 až 30/70) v den přípravy.	72
Obr. 22. Distribuce velikostí částic u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 1:1, poměrem O/V 10/90 pro všechna množství stabilizátorů (0,2 %, 0,5 %, 0,7 %) v den přípravy.	73
Obr. 23. Distribuce velikostí částic u emulzí s poměrem cCNC:ZnO 3:2, poměrem O/V 30/70 pro všechna množství stabilizátorů (0,2 %, 0,5 %, 0,7 %) v den přípravy.	74
Obr. 24. Změna distribučních křivek u emulze s 0,7 % stabilizátorů, poměrem cCNC:ZnO 1:1 a poměrem O/V 30/70 během skladování.	75
Obr. 25. Změna distribučních křivek u emulze s 0,2 % stabilizátorů, poměrem cCNC:ZnO 4:1 a poměrem O/V 30/70 během skladování.	75
Obr. 26. Změna distribučních křivek u emulze s 0,2 % stabilizátorů, poměrem cCNC:ZnO 3:2 a poměrem O/V 30/70 během skladování.	76
Obr. 27. Hodnoty ζ potenciálu emulzí s 0,2 % stabilizátoru připravené v přítomnosti různých poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den jejich přípravy.	78
Obr. 28. Hodnoty ζ potenciálu emulzí s 0,7 % stabilizátoru připravené v přítomnosti různých poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) po dvou týdnech od jejich přípravy.	78
Obr. 29. Srovnání hodnot ζ potenciálu emulzí s 0,7 % stabilizátoru připravené v přítomnosti různých poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den přípravy a po dvou týdnech od jejich přípravy.	79
Obr. 30. Srovnání hodnot ζ potenciálu emulzí s 0,5 % stabilizátoru připravené v přítomnosti poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den přípravy a po jednom týdnu od jejich přípravy.	79
Obr. 31. Srovnání hodnot ζ potenciálu emulzí s 0,2 % stabilizátoru připravené v přítomnosti poměrů cCNC a ZnO (1:1, 3:2, 4:1) v den přípravy, po týdnu a po dvou týdnech od jejich přípravy.	80
Obr. 32. Emulzní indexy emulzí s 0,7 % stabilizátoru s poměrem cCNC a ZnO 4:1.	81
Obr. 33. Enkapsulační účinnost u emulzí s 0,2 % stabilizátoru po 14 dnech od přípravy.	82

Obr. 34. Index krémování emulzí s 0,2 % stabilizátoru den po přípravě.	83
Obr. 35. Index krémování emulzí s 0,5 % stabilizátoru den po přípravě.	83
Obr. 36. Index krémování emulzí s 0,7 % stabilizátoru den po přípravě.	84
Obr. 37. Změny indexu krémování emulzí s 0,5 % stabilizátoru a poměrem cCNC a ZnO 4:1 během skladování při laboratorní teplotě.	84
Obr. 38. Vzorky s 0,2 % stabilizátoru v den přípravy (zleva: poměr A) cCNC:ZnO 1:1 – 10/90 až 30/70, B) cCNC:ZnO 3:2 – 10/90 až 30/70, C) cCNC:ZnO 4:1 – 10/90 až 30/70. Přítomnost uvolněného oleje je naznačena.	85
Obr. 39. Vzorky s 0,5 % stabilizátoru po dvou týdnech (zleva: poměr A) cCNC:ZnO 1:1 – 10/90 až 30/70, B) cCNC:ZnO 3:2 – 10/90 až 30/70, C) cCNC:ZnO 4:1 – 10/90 až 30/70).	86
Obr. 40. Vzorky s 0,7 % stabilizátoru v den přípravy (zleva: poměr A) cCNC:ZnO 1:1 – 10/90 až 30/70, B) cCNC:ZnO 3:2 – 10/90 až 30/70, C) cCNC:ZnO 4:1 – 10/90 až 30/70).	87
Obr. 41. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,7 % stabilizátoru a rozdílnými poměry mezi cCNC a ZnO den po jejich přípravě (▲poměr 1:1, ● poměr 3:2, ◆ poměr 4:1).	88
Obr. 42. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,7 % stabilizátoru, poměrem cCNC:ZnO 1:1 a rozdílnými poměry O/V v čase (▲poměr 10/90, ●poměr 20/80, ◆poměr 30/70).	89
Obr. 43. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,5 % stabilizátoru, poměrem O/V 30:70 a rozdílnými poměry mezi cCNC a ZnO den po jejich přípravě (▲poměr 1:1, ● poměr 3:2, ◆ poměr 4:1).	90
Obr. 44. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,5 % stabilizátoru, poměrem cCNC:ZnO 1:1 a rozdílnými poměry O/V v čase (▲poměr 10/90, ●poměr 20/80, ◆poměr 30/70).	90
Obr. 45. Závislost smykové rychlosti na viskozitě u vzorků s 0,2 % stabilizátoru, poměrem cCNC:ZnO 3:2 a rozdílnými poměry O/V v čase (▲poměr 10/90, ●poměr 20/80, ◆poměr 30/70).	92
Obr. 46. Difúzní jamková metoda s roztěrem – vliv emulzí s 0,5 % stabilizátoru s poměrem cCNC:ZnO 1:1, 3:2, 4:1 a emulzí s 0,2 % stabilizátoru s poměrem cCNC:ZnO 1:1 a 3:2 na růst <i>Staphylococcus aureus</i>	94

- Obr. 47. Difúzní jamková metoda s roztěrem – vliv emulzí s 0,7 % stabilizátoru s poměrem cCNC:ZnO 1:1, 3:2, 4:1 a emulze s 0,2 % stabilizátoru s poměrem cCNC:ZnO 4:1 na růst *Staphylococcus aureus*. 94
- Obr. 48. Difúzní jamková metoda s roztěrem – vliv emulzí s 0,7 % stabilizátoru s poměrem cCNC:ZnO 1:1, 3:2, 4:1 a emulze s 0,2 % stabilizátoru s poměrem cCNC:ZnO 4:1 na růst *Escherichia coli*. 95
- Obr. 49. Vliv množství a poměru stabilizátoru v emulzích na velikosti inhibičních zón. 95

SEZNAM TABULEK

<i>Tab. 1. Srovnání makroemulzí, nanoemulzí a mikroemulzí, upraveno podle [13, s. 2828].</i>	18
<i>Tab. 2. Použití PAL v závislosti na hodnotě HLB, upraveno podle [19, s. 25].</i>	22
<i>Tab. 3. Vybrané charakteristiky celulózových částic, upraveno podle [49, s. 3949].</i>	33
<i>Tab. 4. Množství jednotlivých složek emulze s 0,5 % stabilizátoru v poměru 1:1.</i>	52
<i>Tab. 5. Testované vzorky emulzí.</i>	56
<i>Tab. 6. Přehled připravovaných emulzí v první sérii.</i>	62
<i>Tab. 7. Druhá série emulzí s 0,3 % cCNC a 0,2 % ZnO.</i>	64
<i>Tab. 8. Složení emulzí v rámci formulační studie.</i>	66
<i>Tab. 9. Velikost kapek emulzí stabilizovaných cCNC a ZnO v den přípravy emulzí.</i>	68
<i>Tab. 10. Antibakteriální aktivita Pickeringových emulzí připravených s poměrem O/V 10/90 stanovená difúzní jamkovou metodou s roztěrem (N=3).</i>	93