

Příprava a vlastnosti emulzních gelů na bázi nanokrystalické celulózy a kaseinátu sodného

Bc. Lenka Tatarková

Diplomová práce
2020

 Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

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

Akademický rok: 2019/2020

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE (projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Bc. Lenka Tatarková**
Osobní číslo: **T18300**
Studijní program: **N2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie tuků, detergentů a kosmetiky**
Forma studia: **Prezenční**
Téma práce: **Příprava a vlastnosti emulzních gelů na bázi nanokrystalické celulózy a kaseinátu sodného**

Zásady pro vypracování

I. Teoretická část

V teoretické části zpracujete literární rešerši na zadané téma. Věnujte se možnostem přípravy emulzních gelů stabilizovaných nanocelulózovými částicemi (CNC) v kombinaci s kaseinátem sodným (CAS). Teoreticky popište mechanismy stabilizace prostřednictvím interakcí mezi oběma těmito polymery a věnujte se i metodám vhodným pro charakterizaci připravených systémů.

II. Praktická část

V praktické části naleznete vhodnou formulaci, která povede k přípravě emulzních gelů na bázi CNC a CAS s obsahem rostlinných olejů. Připravte modelové emulzní systémy, stanovte vliv poměru částic CAS:CNC, pH disperzní fáze a poměru vodné a olejové fáze v základní emulzi na vlastnosti výsledných gelů. Emulze a gely charakterizujte pomocí relevantních analytických technik a u gelů vzniklých vysušením emulzí stanovte jejich mechanické vlastnosti, re-dispergovatelnost ve vodném prostředí a kinetiku uvolňování olejové fáze. Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.

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

Seznam doporučené literatury:

1. Bouyer, E. et al. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? *International journal of pharmaceutics*, 2012. 436, 359-378.
2. Liu, Fu et al. Pickering high internal phase emulsions stabilized by protein-covered cellulose nanocrystals. *Food hydrocolloids*, 2018. 82, 96-105.
3. Hu, Zhen et al. Dried and re-dispersible cellulose nanocrystal Pickering emulsions. *ACS macro letters*, 2016. 5, 185-189.
4. Hu, Zhen et al. Synergistic stabilization of emulsions and emulsion gels with water-soluble polymers and cellulose nanocrystals. *ACS sustainable chemistry & engineering*, 2015. 3, 1023-1031.

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

Datum zadání diplomové práce: **2. ledna 2020**
Termín odevzdání diplomové práce: **15. května 2020**

L.S.

prof. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan

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

Ve Zlině dne 20. února 2020

PROHLÁŠENÍ AUTORA DIPLOMOVÉ PRÁCE

Beru na vědomí, že:

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

Prohlašuji,

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

Ve Zlíně dne:

Jméno a příjmení studenta:

.....
podpis studenta

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na přípravu emulzních gelů z Pickeringových emulzí stabilizovaných dvěma typy částic, a to nanokrystalickou celulózou (CNC) a kaseinátem sodným (CAS). Teoretická část se zabývá obecnými charakteristikami emulzí, jejich vlastnostmi a přípravou. Dále zpracovává tematiku stabilizujících částic, jejich fyzikálně-chemických vlastností a využití. V poslední kapitole je přiblížena problematika přípravy a použití emulzních gelů (oleogelů). Praktická část práce je věnována přípravě CNC a CAS disperzí následně využitých k formulaci emulzí a oleogelů, jejichž dispergovanou fází tvoří hexadekan a olivový olej. Připravené emulze byly charakterizovány pomocí měření velikosti a distribuce emulzních kapek, mikroskopií, a sledováním jejich dlouhodobé stability. U výsledných oleogelů pak bylo analyzováno množství uvolněného oleje a byly stanoveny jejich viskoelastické vlastnosti.

Klíčová slova: Pickeringovy emulze, emulzní gel, oleogel, kaseinát sodný, nanokrystalická celulóza

ABSTRACT

The diploma thesis is focused on the preparation of emulsion gels based on Pickering emulsions stabilized with two types of particles, namely nanocrystalline cellulose (CNC) and sodium caseinate (CAS). The theoretical part of the work concentrates on the emulsions, their properties and preparation, and introduces also stabilizing particles, their physico-chemical properties and applications. In the last section, the preparation and principal characteristics of emulsion gels (oleogels) are presented. The experimental part of the thesis describes preparation of CNC and CAS dispersions, which are subsequently used for the formulation of emulsions and oleogels with dispersed phase consisting of hexadecane and olive oil. The emulsions are then characterized by measuring size and distribution of their emulsion droplets, microscopy, and by monitoring their long-term stability. The resulting oleogels are analysed for the amount of oil released, and their viscoelastic properties are determined.

Keywords: Pickering emulsions, emulsion gel, oleogel, sodium caseinate, cellulose nanocrystals

Mé poděkování patří zejména vedoucí diplomové práce doc. Ing. Věře Kašpárkové, CSc. za odborné rady, pomoc a trpělivost při zpracování diplomové práce, ale také za čas věnovaný jejímu vedení. Dále velké díky patří Ing. Lucii Urbánkové nejen za velmi cennou pomoc při práci v laboratoři, ale také za spoustu rad a přátelský přístup. Dále děkuji všem pracovníkům, laborantům i doktorandům, za ochotu pomoci mi, a také ÚTTTK a CPS za možnost mou práci realizovat. Děkuji také své rodině a blízkým za neustálou podporu, hlavně pak mému partnerovi za velkou trpělivost a důvěru během celého mého studia.

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

OBSAH

ÚVOD	9
I TEORETICKÁ ČÁST	10
1 DISPERZNÍ SYSTÉMY	11
1.1 EMULZE.....	13
1.2 DESTABILIZAČNÍ PROCESY V EMULZÍCH.....	14
1.3 METODY PŘÍPRAVY EMULZÍ.....	15
2 PICKERINGOVY EMULZE	17
2.1 PRINCIP STABILIZACE PICKERINGOVÝCH EMULZÍ.....	17
2.2 PŘÍPRAVA PICKERINGOVÝCH EMULZÍ.....	20
3 ČÁSTICE PRO STABILIZACI PICKERINGOVÝCH EMULZÍ	21
3.1 VÝROBA STABILIZUJÍCÍCH BIOPOLYMERNÍCH ČÁSTIC.....	22
3.1.1 Přehled metod „shora-dolů“.....	23
3.1.2 Přehled metod „zdola-nahoru“.....	24
3.2 POLYSACHARIDY.....	25
3.2.1 Nanokrystalická celulóza.....	26
3.3 PROTEINY.....	27
3.3.1 Kaseinát sodný.....	28
3.4 KOMPLEXY PROTEIN-POLYSACHARID.....	29
4 GELY	30
5 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY	32
6 CÍLE PRÁCE	36
II PRAKTICKÁ ČÁST	37
7 MATERIÁLY A POUŽITÉ METODY	38
7.1 MATERIÁLY.....	38
7.2 PŘÍSTROJE.....	38
7.3 PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE CAS A CNC DISPERZÍ.....	39
7.3.1 Příprava disperzí.....	39
7.3.2 Velikost stabilizujících částic: Dynamický rozptyl světla.....	40
7.3.3 Agregace částic CNC a CAS v přítomnosti elektrolytů: UV-VIS spektroskopie.....	41
7.3.4 Zeta-potenciál disperzí CAS a CNC.....	42
7.3.5 Mezipovrchové napětí.....	43
7.4 PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE EMULZÍ.....	44
7.4.1 Příprava emulzí.....	44
7.4.2 Měření velikosti a distribuce emulzních kapek.....	45
7.4.3 Optická mikroskopie.....	46

7.4.4	Studium dlouhodobé stability emulzí.....	46
7.5	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE EMULZNÍCH GELŮ.....	46
7.5.1	Příprava gelů	46
7.5.2	Stanovení množství uvolněného oleje a sušení	47
7.5.3	Stanovení viskoelastických vlastností gelů	47
7.5.4	Test redispergovatelnosti gelů.....	48
8	VÝSLEDKY A DISKUZE	49
8.1	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE CAS A CNC DISPERZÍ.....	49
8.1.1	Vizuální hodnocení CNC a CAS disperzí v prostředí o různé iontové síle a pH.....	49
8.1.2	Vliv elektrolytu a pH disperzní fáze na velikost stabilizujících částic	51
8.1.3	Stanovení agregace částic: UV-VIS Spektroskopie	55
8.1.4	Zeta-potenciál.....	57
8.1.5	Mezipovrchové napětí	59
8.2	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE EMULZÍ	62
8.2.1	Příprava emulzí	62
8.2.2	Měření velikosti a distribuce emulzních kapek.....	65
8.2.3	Optická mikroskopie	73
8.2.4	Studium dlouhodobé stability emulzí.....	76
8.3	PŘÍPRAVA A CHARAKTERIZACE GELŮ	80
8.3.1	Příprava gelů	80
8.3.2	Množství nezaenkapsulovaného oleje a oleje uvolněného sušením	83
8.3.3	Stanovení viskoelastických vlastností gelů	86
8.3.4	Redispergace gelů	89
	ZÁVĚR	94
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	97
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	110
	SEZNAM OBRÁZKŮ	111
	SEZNAM TABULEK.....	114
	SEZNAM PŘÍLOH.....	116

ÚVOD

Emulzní gely jsou systémy tvořené spojitou sítí molekul či makromolekul, které pomáhají utvářet jejich strukturu. Z praktického hlediska lze na gelech zejména ocenit jejich vlastnosti, které se přibližují vlastnostem pevných látek, dále schopnost udržet ve své struktuře obsah dispergované fáze až 97 %, či možnost využít k jejich přípravě přirozeně se vyskytující látky přírodního původu. Emulzní gely se obvykle klasifikují na hydrogely (s dispergovanou vodnou fází) a oleogely (s dispergovanou fází olejovou).

Gely je možno připravit několika způsoby. V první řadě lze aplikovat přímou metodu s využitím látek síťujících požadovanou imobilizovanou kapalinu pomocí změny teploty. Další možností je využití metody nepřímé, při níž jsou v prvním kroku připraveny emulze (s využitím povrchově aktivních látek či biopolymerních částic) a teprve ve druhém kroku jsou tyto emulze použity k vytvoření gelu. Tvorba gelu nastává nejčastěji působením teploty, ať už vysoké (sušení teplem), nebo nízké (lyofilizací). Je ale také možné použít metodu výměny rozpouštědla. V této diplomové práci byly pro přípravu emulzních gelů využity dva typy biopolymerních částic schopných tvořit a stabilizovat emulze, konkrétně částice nanokrystalické celulózy a kaseinátu sodného. Obě jmenované látky zde uplatňují své rozdílné vlastnosti. Kaseinát sodný uplatňuje svoji povrchovou aktivitu a částice nanokrystalické celulózy jsou schopné se pevně ukotvit na povrch olejové fáze emulzí a vytvořit pevnou síť krystalů. Kombinace obou těchto polymerů pak propůjčuje gelu velmi dobrou stabilitu a nespornou výhodou je také skutečnost, že oba typy částic pocházejí z přírodních obnovitelných zdrojů.

Emulzní gely nacházejí své využití např. jako systémy s postupným uvolňováním aktivních látek, nebo jako alternativa klasických emulzí, ale s nižším obsahem vody a tím i nižším nebezpečím mikrobiální kontaminace.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 DISPERZNÍ SYSTÉMY

Disperzní systémy jsou takové systémy, jež se skládají ze dvou i více složek. Jedna z nich tvoří disperzní fázi náhodně rozptýlenou ve fázi spojitě, která představuje rovnoměrné disperzní prostředí. Obvykle se jedná o pevnou látku rozptýlenou v kapalném prostředí (suspenze), nebo dvě nemísitelné kapalné složky (emulze). Ty pak zauímají místo mezi makroskopickými heterogenními systémy a molekulárními roztoky.

Disperze je možné klasifikovat hned několika různými způsoby. Jeden z nich dělí disperze na (i) volné disperzní systémy, ve kterých jsou částice volně dispergovány ve spojitě fázi (disperzním médiu, které je buď kapalinou nebo plynem), a (ii) strukturované disperzní systémy, v nichž vzájemně vázané částice tvoří strukturu sítě, jíž proniká fáze spojitá [1, str. 321].

Dále je možné disperze dělit na základě velikosti dispergovaných částic. Takto se dají rozdělit následovně:

- a) Molekulární disperze. Jedná se o skutečné roztoky s homogenně distribuovanými molekulami v mediu. Velikost částic je zpravidla menší než 1 nm. Příkladem můžou být různé elektrolyty, roztoky solí.
- b) Koloidní disperze. Jsou mikroheterogenními systémy s velikostí částic mezi 1–1000 nm. Fáze koloidních disperzí jsou od sebe např. filtrací těžko oddělitelné. Příkladem takových disperzí jsou klasické emulze, pěny a aerosoly.
- c) Hrubé disperze. Heterogenní dispergované systémy, známé jako suspenze, s částicemi většími než 1000 nm. Vyznačují se velmi rychlou sedimentací a snadnou oddělitelností fází.

Posledním způsobem, tím nejčastějším, můžeme dělit disperze na základě skupenství dispergovaných fází (viz. Tabulka č. 1).

V systémech s kapalným disperzním médiem závisí povaha koloidní stability do velké míry na agregovaném stavu dispergované fáze. Vlastnosti emulzí, a také i vlastnosti solů, jsou podobné vlastnostem termodynamicky stabilních lyofilních systémů. V nich lze dosáhnout vysokého stupně stability pomocí povrchově aktivní látky [1, s. 583].

Tabulka č. 1: Rozdělení disperzních systémů na základě skupenství fází

Disperzní prostředí	Disperzní podíl			Typ disperze
	Plynný	Kapalný	Tuhý	
<i>Plynné</i>	–	Děšť, mlha	Kouř	Hrubá
	–	Aerosol	Aerosol	Koloidní
<i>Kapalné</i>	Pěna	Emulze	suspenze	Hrubá
	Pěna	Emulze (lyosol)	Lyosol (sol)	Koloidní
<i>Tuhé</i>	Tuhá pěna	Inkluze	Tuhá směs	Hrubá
	Tuhá pěna	–	Tuhý sol	Koloidní

Disperze obecně lze připravovat dvěma nejčastějšími způsoby, a to dispergací makroskopické fáze nebo kondenzací pravých roztoků. Vytvoření takové disperze ale většinou vyžaduje přídavek práce z vnějšku, nejčastěji mechanické, a po jejich vytvoření není zaručena termodynamická rovnováha. Částice vytvořeného systému mají tendence se shlukovat, systém se postupně hroutí, až se rozdělí na základní fáze. Jejich existence tedy není možná bez stabilizace. Systémy v takto popsané termodynamické nerovnováze jsou označovány jako lyofobní a spadá do nich celá řada kosmetických přípravků. Mnoho disperzních systémů může ale vznikat spontánně, a takové systémy se označují jako lyofilní. Naopak jsou v termodynamické rovnováze a dá se říci, že nevyžadují žádnou další stabilizaci [2, str. 260].

Velikost částic disperzních systémů je velmi různorodá. Pro nejčastější koloidní systémy je, jak již bylo zmíněno výše, udávána v rozmezí 1 nm – 10 μm . Budou-li se částice takového systému například blížit rozměru 10 μm , tak se již razantně projeví vliv gravitační síly a částice budou mít tendenci sedimentovat a přiblíží své chování hrubým disperzím [3, str.1].

Je nutné si ale uvědomit, že uvedené rozměry vždy udávají pouze průměrnou velikost částic a různé měřicí techniky mohou uvádět rozdílné hodnoty těchto velikostí pro ty samé disperzní systémy. Měřením je obvykle získána jistá distribuce, která velkou měrou souvisí se stabilitou systému [4, str. 635; 5, str.127].

1.1 Emulze

S emulzemi se můžeme setkat ve formě olejových kapek rozptýlených ve vodném prostředí nebo vodných kapek v prostředí oleje. V obou případech musí být vytvořené kapky stabilizovány. Vůbec nejčastěji jsou emulze stabilizovány povrchově aktivními látkami nebo amfifilními polymery, které se dokáží adsorbovat na rozhraní olej-voda a zabránit tak koalescenci kapek v důsledku elektrostatických a sterických odpuzivých sil. V mnoha případech ale nejsou biologicky kompatibilní a jsou škodlivé pro životní prostředí. Dále lze stabilizace dosáhnout i přidáním různých emulgátorů či koloidních částic [6, str. 49].

Syntetické povrchově aktivní látky mohou být přirozeně toxické, většina z nich také vyvolává dráždivé kožní reakce a toxické symptomy u zvířat a lidí. Vazba anionických povrchově aktivních látek na proteiny, enzymy a fosfolipidové membrány může vést k biochemickým změnám, jako je změna struktury bílkovin a ztráty funkce enzymů a buněčných membrán. Nahrazení takových syntetických látek je v posledních letech předmětem mnoha výzkumů [7, str. 360].

Emulze lze klasifikovat hned několika způsoby. Základní systém dělí emulze na jednoduché a násobné emulze. Jednoduchými emulzemi jsou systémy olej ve vodě (O/V) a voda v oleji (V/O). Násobné emulze jsou již sofistikovanější a tvoří emulze olej ve vodě v oleji (O/V/O) a voda v oleji ve vodě (V/O/V) [7, str. 360].

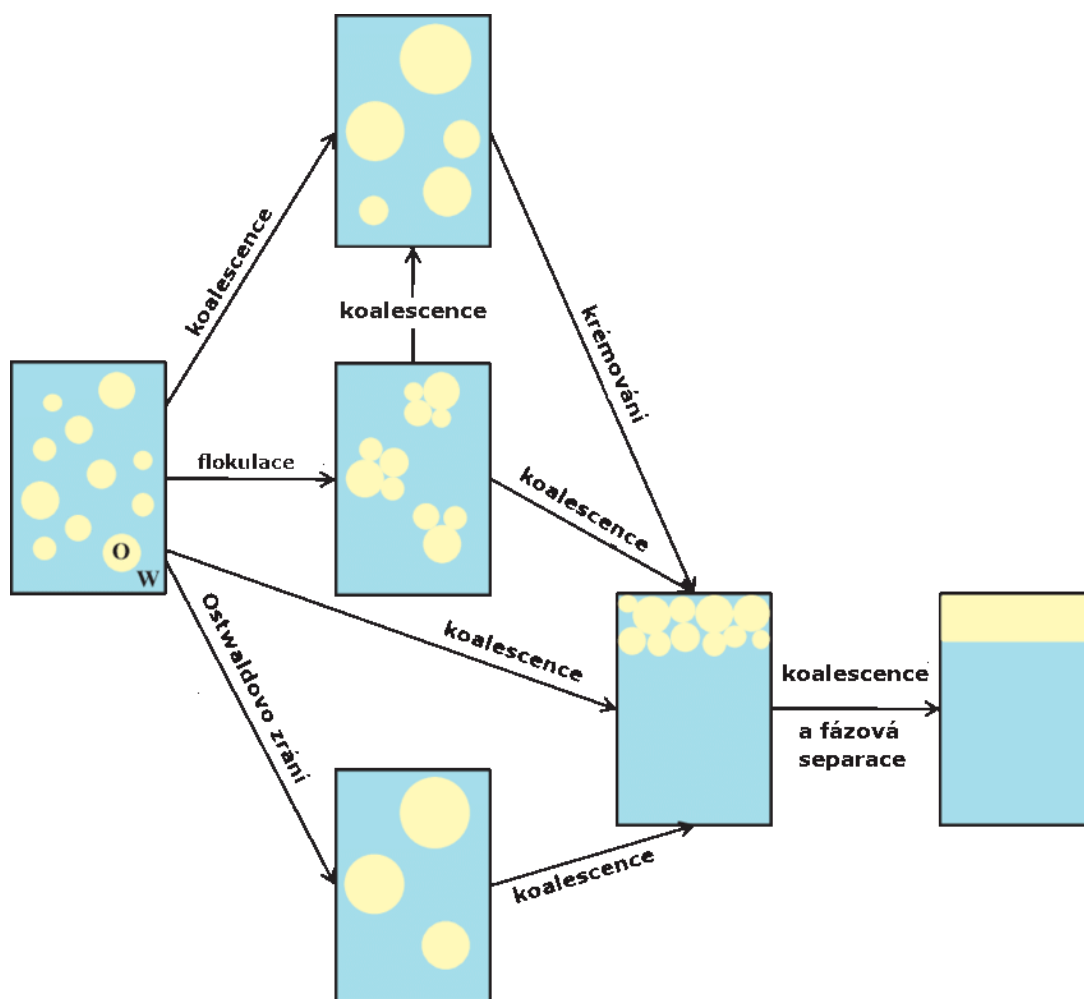
Další možností, jak klasifikovat emulze, je dle velikosti kapek. Tímto systémem můžeme rozlišit emulzní systémy na:

- (a) makroemulze, s velikostí kapek od 0,1 do 100 μm . Díky rozptylu světla se emulze s touto velikostí částic jeví jako bílé, zakalené.
- (b) mikroemulze, jejichž kapky mohou mít velikost 10–100 nm. Oproti makroemulzím jsou termodynamicky stabilní a na pohled se jeví jako průhledné.
- (c) nanoemulze s velikostí kapek v rozmezí 20–200 nm. Taktéž se jeví jako průhledné až mírně opalescentní [8, str. 489; 7, str. 361].

V neposlední řadě můžeme emulze rozdělit podle obsahu dispergované fáze na zředěné (obsah dispergované fáze $< 2\% \text{obj.}$), koncentrované (obsah 2–74 $\% \text{obj.}$) a vysoce koncentrované, také gelovité (obsah $> 74\% \text{obj.}$) [9, str. 172].

1.2 Destabilizační procesy v emulzích

Většina kosmetických přípravků, přípravků osobní péče, mnoho zpracovaných potravin, agrochemických výrobků či farmaceutických přípravků jsou přípravky na bázi emulzí. Emulze jsou jedním z typů disperzních systémů. Jde o systém složený ze dvou kapalin, které jsou mezi sebou vzájemně málo mísitelné či nemísitelné, jsou termodynamicky nestálé a jejich struktura se časem významně mění [4, str. 648].



Obrázek č. 1: Grafické znázornění destabilizačních procesů emulzí [upraveno z 7]

Nerovnovážený stav emulze, způsobený nemísitelností kapalin, je z hlediska kvality produktů většinou velmi nepříznivý, jelikož omezuje předvídatelnou a dlouhodobou stabilitu výrobku. Nicméně už z podstaty emulze, dříve či později, dojde k jejímu rozdělení na dvě fáze. Děje se tak díky mnoha destabilizačním procesům (Obrázek č. 1), ke kterým patří krémování, sedimentace, koagulace, koalescence a Ostwaldovo zrání. Pro co největší oddálení těchto procesů je nutné znát chování a podstatu mísených kapalin a zvládnout

proces jejich výroby, který se obecně nazývá jako emulgace [8, str. 489; 10, str. 273, 274]. S emulzemi se běžně setkáváme jak ve farmaceutickém, tak i kosmetickém a potravinářském průmyslu.

1.3 Metody přípravy emulzí

Tvorba samotné emulze nebývá ve většině případů spontánní a pro její výrobu, je třeba dodání energie. V případě makroemulzí, s velkými rozměry částic, je výroba snadná a není třeba dodání tak velkého množství energie. K emulgaci lze například využít vysokorychlostní míchadla, jako např. Ultra-Turrax. Naopak dodání velkého množství energie je zapotřebí ke tvorbě nano a mikroemulzí. Při výrobě emulzí je tedy potřeba dodání buď značného množství povrchově aktivních látek (PAL), energie, nebo jejich výhodnou kombinaci [11, str. 16].

Emulze olej ve vodě

K výrobě tohoto typu emulzí využíváme metodu působení PAL, které pomáhají snížit mezipovrchové napětí mezi olejovou a vodnou fází. Můžeme se zde setkat s využitím emulgační metody inverze fází, která může nastat dvojím způsobem, a to jako inverze emulze typu V/O na O/V způsobená 1) změnou teploty (metoda PIT, phase inversion temprature) nebo způsobená 2) změnou koncentrace emulgátoru. Dále je možné použít mikroemulgační metodu. Při použití obou těchto metod dojde k velkému snížení mezipovrchového napětí, což následně vede ke tvorbě velmi jemné emulze nebo k samovolnější emulgaci. Vytvořené emulze ovšem nemají obvykle dlouhou stabilitu a podléhají koalescenci. Je tedy nutné je dále upravovat např. fyzikálními metodami. Základem je tedy využití fází s co možná nejnižším mezipovrchovým napětím, dodat energii k samotné adsorpci PAL na rozhraní a převedení na emulzi s rozpuštěnou PAL ve vodné fázi [8, str. 499].

Emulze voda v oleji

Způsoby přípravy těchto typů (kosmetických) emulzí jsou podobné jako u O/V. V důsledku olejového disperzního prostředí nejde dosáhnout velkých odpudivých sil mezi emulzními kapkami. Další problém nastává při stabilizaci emulze adsorpcí PAL na rozhraní,

protože množství rozpuštěných molekul PAL v olejové fázi emulze V/O může být mnohem větší než u emulze O/V. Tím dochází k destabilizaci a dělení na původní fáze emulze. Stabilita by pak mohla být zajištěna zvýšením viskozity disperzní fáze. Časté využití nacházejí silikonové emulgátory s polyetherovými či glycerolovými skupinami [8, str. 501].

Vícenásobné emulze

Díky stále větší oblibě používání emulzí ve farmaceutickém průmyslu, jako systému dodávání léčiv, jsou na ně kladeny čím dál větší nároky pro schopnost postupného uvolňování léčiv. Díky tomu byly vyvinuty jak emulze V/O/V ale i O/V/O. Obecně nejčastěji dochází k vytvoření primární základní emulze, např. V/O, a přidáním hydrofilního emulgačního činidla dojde k vytvoření požadované emulze V/O/V. Možný je ale i jednostupňový postup, který využívá metodu inverze fází. Nevýhodou jednostupňového procesu je stejné složení vnitřní a vnější fáze a také nedefinované množství enkapsulovaných kapek emulze. Výhodou pak může být jednoduchá manipulace při přípravě a její vysoká rychlost. Největší potíží, při využití vícenásobných emulzí v průmyslu, je stabilita, která není nijak vysoká [8, str. 501].

2 PICKERINGOVY EMULZE

Poprvé se objevila zmínka, ve vědecké literatuře, o využití částic pro stabilizaci emulzí již na počátku 20. století. Vědci W. Ramsden a S. U. Pickering nezávisle na sobě pozorovali, že pevné koloidní částice, jíly a sraženiny síranu měďnatého s vápnem dokázaly stabilizovat rozhraní mezi dvěma nemísitelnými fázemi [6, str. 49].

V současné době jsou tyto systémy, nazývané Pickeringovy emulze, studovány stále častěji. Jak bylo uvedeno výše, poprvé byly popsány na počátku 20. století jako emulze, které jsou stabilizovány pevnými částicemi místo konvenčních, povrchově aktivních látek [12, str. 156]. U kosmetických emulgátorů a povrchově aktivních látek (PAL), zejména těch synteticky vyráběných, postupně dochází k legislativním omezením, jsou pod zvýšenou kontrolou a jejich použití je stále častěji regulováno. Je již dlouho známo, že spousta z nich způsobuje při opakované a dlouhodobé aplikaci podráždění [6, str. 49].

Zájem o Pickeringovy emulze v posledních 20 letech vzrůstá, a to zejména v oblasti zdravotnických a kosmetických aplikací, kde je použití PAL nežádoucí. [13, str. 7471] Jejich popularita roste rovněž v oblasti biomedicínských aplikací (terapie, diagnostika zobrazovací techniky). Dlouhodobě je zkoumána například jejich schopnost enkapsulovat do své struktury aktivní látky a postupně je uvolňovat v místě potřeby. Oproti klasickým typům emulzí vykazují Pickeringovy emulze vysokou stabilitu a částice stabilizující emulzi jsou ve většině případů biokompatibilní. Využití přírodních a biologicky rozložitelných stabilizujících částic je tudíž věnováno také velké úsilí, hlavně v případech, kdy použití běžně dostupných anorganických částic není vhodnou volbou. Výborná schopnost stabilizovat emulze typu O/V byla prokázána například u nanokrystalické celulózy, nebo prolaminu [14, str. 239; 15, str. 128; 16, str. 173].

2.1 Princip stabilizace Pickeringových emulzí

Stabilita Pickeringových emulzí je velmi závislá na typu částic, které jsou k jejich přípravě použity (obvykle částice s průměrnou velikostí mezi 100–1000 nm) [6, str. 51]. Ty se vyznačují schopností ulpívat na deformovatelných rozhraních fází a vytvořit tam tuhý a pevný film. Tím účinně snižují mezifázovou energii systému, dokáží emulzi stabilizovat a poskytnout jí vysokou odolnost proti koalescenci nebo Ostwaldovu zrání. Ideální částice použitá pro stabilizaci Pickeringových emulzí by měla být smáčena částečně oběma fázemi

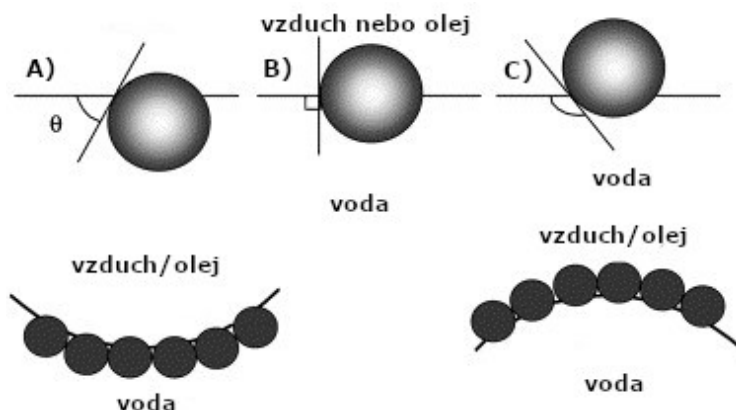
a měla by sama slabě flokulovat. Důležitým faktorem, který přispívá ke stabilitě tohoto typu emulzí je také tvar použitých částic, přičemž ty nesférické nacházejí mnohem významnější uplatnění než částice sférické. Existují důkazy, že velmi protažené částice mohou působit jako účinné stabilizátory Pickeringův za podmínek, kdy kulovité (nebo částice méně protažené) účinné nejsou. Naopak zdrsňený povrch některých nepravidelných částic působí heterogenní smáčení, které má za následek snížení schopnosti stabilizace. Při tvorbě Pickeringových emulzí nachází využití celá řada částic, například hydrofobní silika, práškové pryskyřice, oxidy kovů, jílové minerály i další materiály přírodního původu [8, str. 505; 17, str. 217; 18, str. 659].

Pickeringovy emulze se od klasických emulzí stabilizovaných PAL liší v řadě důležitých vlastností. Adsorpční energie na rozhraní fází emulze je při stabilizaci částicemi až tisíckrát vyšší, než při stabilizaci pomocí PAL. Aby se částice dostatečně adsorbovaly na rozhraní olej-voda, musí být smáčeny oběma fázemi a povaha povrchu částice určuje typ disperzního prostředí a dispergované fáze, mezi kterými jsou pevně ukotveny. Současně je velmi důležité, aby docházelo k interakci mezi jednotlivými částicemi, jelikož emulze stabilizované flokulovanými částicemi jsou považovány za nejstabilnější [19, str. 496; 17, str. 217].

Konvenční popis stabilizace Pickeringových emulzí tedy zahrnuje koncept tvorby kompletní monovrstvy těsně sbalených částic kolem každého mezifázového rozhraní emulzních kapek. Jestliže se dvě kapky přiblíží, a je-li potlačeno elektrostatické odpuzování fyzikální bariéra zabrání koalescenci [20, str. 94]. Pokud hustota stabilizujících částic není dostatečná k pokrytí jednotlivých kapek, může se pár kapek spojit a stabilizovat sdílením jediné můstkové vrstvy adsorbovaných částic. Částice je tedy smáčena dvěma oddělenými oblastmi dispergované fáze, ale hlavní část dispergované částice lze stále nalézt uvnitř objemové kontinuální fáze. [21, str. 220] Za předpokladu, že hustota částic adsorbovaných na rozhraní olej-voda je dostatečně vysoká, vytvoří účinnou mechanickou bariéru čímž se dosáhne dlouhodobé ochrany emulzních kapek před koalescencí. Umístění každé částice na rozhraní závisí na interakcích se sousedními částicemi a na kontaktním úhlu (na rozdíl od klasické PAL, jejíž schopnost smáčet prostředí určuje hodnota HLB) [21, str. 220].

Princip stabilizace Pickeringových emulzí lze vysvětlit i pomocí kontaktního úhlu smáčení částic (Obrázek č. 2). Strana fázového rozhraní olej-voda, kde se nachází větší část povrchu částice, bude pravděpodobně spojitou fází emulze. Částice tedy svírá s daným prostředím úhel a ten určuje, kterou fází částice lépe smáčí. Pro hydrofilní částice

je kontaktní úhel smáčení $< 90^\circ$, větší část povrchu je tedy smáčena polární fází. Hydrofilní částice tak pomáhají vytvářet vodné pěny a emulze O/V. Naopak hydrofobní částice lze využít pro stabilizaci například aerosolů a emulzí V/O. Jestliže je kontaktní úhel částice roven 90° , tento stav odpovídá bodu fázové inverze a typ emulze, který vznikne, bude záviset na vlastnostech částic a disperzní fáze. Změna složení emulze, například olejové fáze, může pak vést k výše zmiňované inverzi emulze [6, str. 49; 22, str. 21, 22].



Obrázek č. 2: Grafické vyjádření myšlenky kontaktního úhlu Pickeringových emulzí A) hydrofilní částice, B) bod fázové inverze C) hydrofobní částice [upraveno z 22]

V případech, kdy mají částice pro smáčení příznivé podmínky a dostatečnou velikost, je jejich adsorpce na rozhraní olej-voda prakticky nevratná. Za těchto podmínek částice vykazují nevratnou adsorpci, na rozdíl od molekul PAL, které existují v dynamické rovnováze a rychle se adsorbují a desorbují na fázovém rozhraní. To u emulzí stabilizovaných PAL usnadňuje koalescenci kapek a Ostwaldovo zrání, což vede ke změnám v distribuci velikosti kapek [6, str. 51].

Interakce částic použitých ke stabilizaci Pickeringových emulzí ovlivňují jejich reologické vlastnosti, což může mít další výhodu v tom, že snižují potřebu dalších zahušťujících látek a modifikátorů viskozity. [6, str. 51] Současně ale částice nedokáží tvořit tak pravidelné útvary jako jsou micely povrchově aktivních látek. Agregáty vždy vykazují prvek nepravidelnosti a vzhledem k této skutečnosti nemají Pickeringovy emulze schopnost solubilizace [22, str. 21].

2.2 Příprava Pickeringových emulzí

Velikost emulzních kapek v Pickeringových emulzích je určena buď množstvím částic, ve vztahu k dispergované fázi, která je k dispozici ke stabilizaci rozhraní (při nízkých koncentracích částic), nebo energetickým výkonem emulgačního zařízení (při vyšších koncentracích částic). Obecně se velikost emulzních kapek snižuje se zvyšující se koncentrací částic, při určité koncentraci začíná převládat nadbytek těchto částic a ty se hromadí v jedné z fází. V takovém případě se dalšího snížení velikosti kapek dosáhne pouze úpravou emulgačního procesu. Malá velikost kapek, u emulzí obecně koreluje s vysokou stabilitou emulze. U Pickeringových emulzí se ale i velké kapky jeví jako velmi stabilní vůči koalescenci [6, str. 52].

Pickeringovy emulze lze připravovat hned několika způsoby. Podle zvyšující se výsledné velikosti částic, můžeme metody seřadit následujícím způsobem:

Ultrazvuk, který je asi nejvíce používanou metodou ke tvorbě Pickeringových emulzí. Existují dva typy zařízení, a to sonikační lázeň, nebo sonikační sonda. Vysíláním akustických vln o vysokém kmitočtu dojde k překonání silové bariéry a tvorbě emulze. Proces emulgace do velké míry závisí na zkušenostech pracovníků a zvolených parametrech včetně geometrie sondy [23, str. 282].

Vysokotlaký homogenizátor, je metoda vysokoenergetická, dodáním obrovského množství energie dokáže rozbít olejovou a vodnou fázi a vytvořit malé kapky emulze. Jde o netermický proces a výsledek homogenizace ovlivňuje jak zvolený tlak, tak čas homogenizace [24, str. 247].

Rotor-statorové zařízení (jako např. Ultra-Turrax), také velmi široce využívané. Přístroj dokáže vyvinout extrémně silné sřížné síly na homogenizovaný materiál. Často jsou využívány pro přípravu prvotní hrubé emulze, jelikož nejsou vhodné pro jednostupňový proces emulzifikace [25, str. 141].

Jako další, však méně výkonné metody můžeme jmenovat rotační míchadla, a nakonec prosté protřepání v rukou. Ty je ale často, pro vytvoření stabilní emulze, doplnit druhým stupněm účinnější emulzifikace [26, str. 136].

3 ČÁSTICE PRO STABILIZACI PICKERINGOVÝCH EMULZÍ

Se vzrůstající oblibou Pickeringových emulzí vzrůstá i potřeba navrhovat emulze stabilizované stále novými typy částic. Použití částic jako stabilizátorů je důležité pro vývoj nových kosmetických, potravinářských, farmaceutických a všech biologicky rozložitelných produktů, např. pro přípravu pěn, u nichž je obtížné dosáhnout dlouhodobé stability. Částice používané ve všech zmíněných odvětvích musí být schváleny, nebo musí být obecně považovány za bezpečné [27, str. 9245].

Mezi nejčastější Pickeringovy emulze patří obecně emulze stabilizované anorganickými, nebo synteticky vyrobenými částicemi, jako jsou oxid křemičitý, latexové nebo silikonové částice. Z velké části však tyto částice vyžadují chemickou modifikaci, aby byla zlepšena jejich smáčivost, a to hlavně olejovou fází. Tato skutečnost velmi omezuje jejich použití hlavně v potravinářských aplikacích [28, str. 282].

Další, v současnosti velmi diskutovanou možností, je použití biopolymerních částic. Ty mají schopnost být stabilizačním činidlem v řadě vícefázových systémů. Zmíněné biopolymery se běžně vyskytují ve formě nano- nebo mikrometrových částic. Mnoho z nich se velmi podobá původnímu uspořádání v rostlinných pletivech nebo živočišných tkáních, ze kterých jsou odvozeny. Nejčastěji je však struktura biopolymeru změněna mechanicky, tepelně nebo biochemicky, a to během zpracování nebo čištění získaného produktu. Nakonec si ale každá biopolymerní složka zachová alespoň nějakou „paměť“ původní složité hierarchické struktury a tato paměť se za jistých podmínek dokáže projevit jako sklon k jistému typu agregace. Často během zpracování vznikají další asociativní interakce a zesíťování makromolekul. Tyto znaky jsou typické pro proteiny a polysacharidy, které mohou existovat v potravinách v mnoha různých agregovaných stavech, což poskytuje širokou škálu struktur k výrobě částic [21, str. 220, 221]. Navíc systémy založené na biopolymerních částicích vykazují vysokou biokompatibilitu, a tedy i nízkou toxicitu pro použití v biologických systémech [29, str. 324].

Biopolymerní částice jsou nejčastěji klasifikovány podle své struktury, jako jsou např. hydrogelové částice, plněné hydrogelové částice (které mají ve své struktuře zachyceny menší částice kapalné, pevné nebo biopolymerní povahy), inkluzní komplexy (ve struktuře neaktivních molekul jsou zapouzdřeny biologicky aktivní látky) a polyelektrolytové komplexy [30, str. 417].

3.1 Výroba stabilizujících biopolymerních částic

Jak již bylo zmíněno dříve, je produkce stabilizujících částic zaměřena z velké části na jejich získávání z obnovitelných zdrojů, tedy z rostlin, živočichů nebo mikroorganismů.

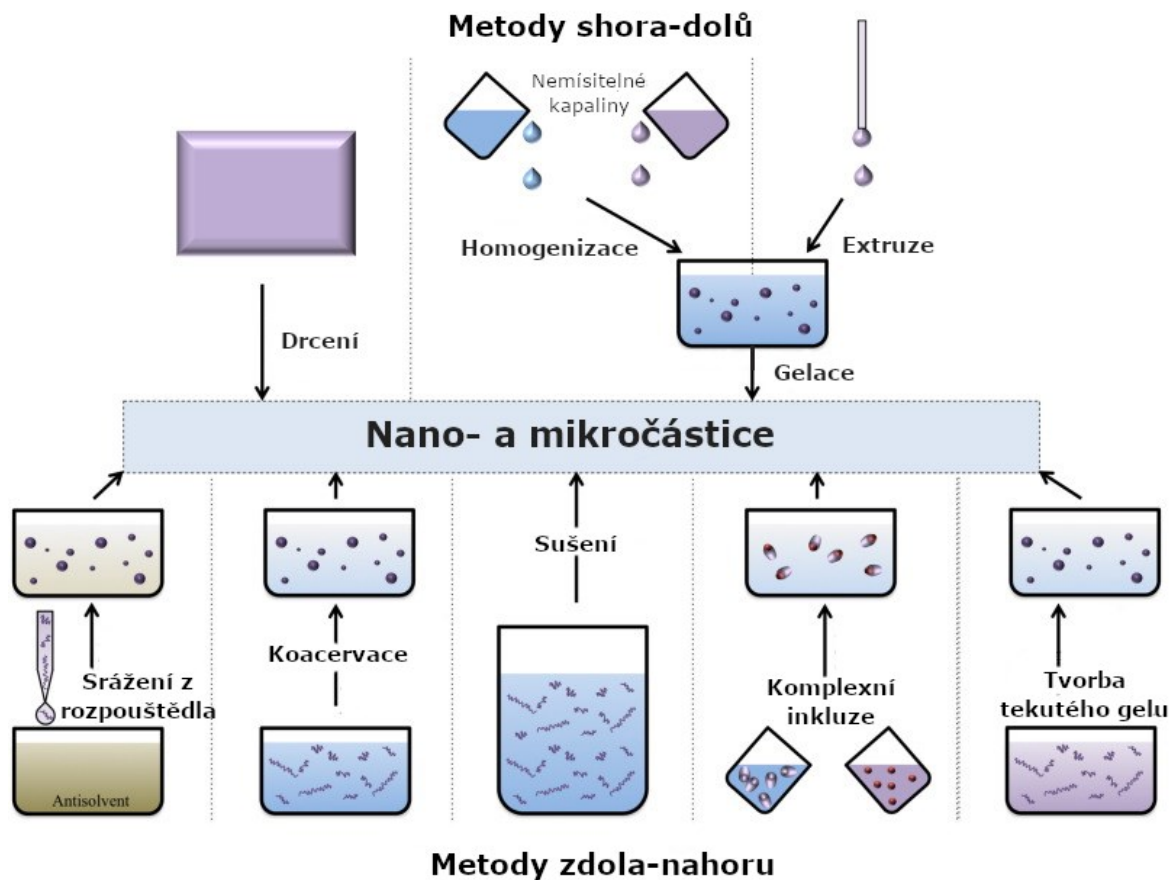
V principu existují tři hlavní způsoby přípravy částic:

(a) Přímým oddělením z přírodního zdroje rozpuštěním, odstředováním nebo filtrací. Mezi přímo získané struktury řadíme nanočástice laktoferinu nebo sítě bakteriálního chitosanu.

(b) Přístupem „shora dolů“, který zahrnuje rozpad původní biologické struktury chemickou cestou, homogenizací nebo mletím. Rozpadem výchozího materiálu se získává například nanokrystalická celulóza, částice ethylcelulózy i částice modifikovaného škrobu.

(c) Přístupem „zdola nahoru“, který zahrnuje stavbu koloidní struktury z jednotlivých molekul agregací, síťováním, krystalizací nebo srážením. Takto lze získat nanokrystalický chitin, částice sójového proteinu, nebo částice zeinu [6, str. 53; 21, str. 220, 221].

Graficky nám výrobu částic přibližuje Obrázek č. 3. Surové částice, bez ošetřeného povrchu, však nejsou obvykle povrchově aktivní vzhledem k nedostatku hydrofobicity/hydrofility, nebo jsou velmi náchylné k agregaci. Proto byly vyvinuty způsoby jejich povrchových modifikací nebo úpravy pomocí kosurfaktantů. To např. slouží k přípravě tzv. symetrických nebo nesymetrických (Janusových) částic [13, str. 7471].



Obrázek č 3: Grafický přehled metod výroby biopolymerních částic [upraveno z 30]

3.1.1 Přehled metod „shora-dolů“

Drcení

Jedná se o jednoduchou metodu klasického drcení či mletí, kdy je původní hrubý materiál zpracováván na jemné částice požadovaného rozměru [30, str. 420].

Homogenizace

Homogenizace zahrnuje smíchání dvou nemísitelných kapalin pomocí mechanického zařízení (homogenizátoru). Po vytvoření emulze obvykle dojde ke zgelovatění nebo zesíťování vnitřní fáze, a to buď zahřátím emulze, nebo přidáním gelatačního činidla, kterým mohou být kationty alkalických kovů a kovů alkalických zemin [30, str. 420].

Extruze

Extruzí rozumíme, v tomto případě, vytlačování roztoku biopolymeru do prostředí tenkými tryskami. Této metody může být v průmyslu využito k rychlé tvorbě biopolymerních částic. Velikost takto získaných částic závisí na průměru trysky či jehly, rychlosti průtoku, viskozitě roztoku a vlastnostech prostředí [30, str 421].

3.1.2 Přehled metod „zdola-nahoru“

Srážení z rozpouštědla

Metoda je vhodná pro výrobu nanočástic jak z polysacharidů, tak z proteinů. Kvalitu nanočástic velmi ovlivňuje kvalita použitých rozpouštědel, kdy je obvykle zvolena kombinace méně a více účinného rozpouštědla. Těmi mohou být např. voda, řada organických rozpouštědel, i superkritický CO₂. Hnací silou tvorby nanočástic je tedy vyvolané přesycení roztoku a následná nerovnováha molekulárních interakcí mezi rozpouštědly a rozpouštěnou látkou. Metoda se již běžně využívá k výrobě nanočástic pro farmaceutické využití [30, str. 422].

Koacervace

Tvorba koacervátů může nastat jednak při interakci dvou odlišně nabitých biopolymerů díky působení elektrostatických sil, ale i prostřednictvím hydrofobních interakcí či vodíkových můstků. Biopolymery se pak mohou srážet přímo kolem jádra aktivní složky a tím ji dokáží zapouzdřit. Nevýhodou metody je možnost aglomerace vznikajících částic [30, str. 422].

Komplexní inkluze

Je metodou molekulární enkapsulace bioaktivní molekuly do molekuly biopolymeru. Síly ovlivňující vznik částice jsou vodíkové můstky, van der Waalsovy síly a hydrofobní interakce. Metoda je využívána např. k zapouzdření těkavých organických molekul, k maskování pachů a také chutí [30, str. 422].

Sušení

Další velmi využívaná technika, sušení, snižuje náchylnost biopolymerů k hydrolyze (chemické i enzymatické). Vysušením dojde ke snížení objemu i hmotnosti a s tím spojených nákladů na skladování či přepravu. Roztoky bioaktivních látek a biopolymerů jsou atomizovány na jemné kapičky, ty jsou přiváděny do proudu horkého vzduchu a tím dojde k velmi rychlému odpaření rozpouštědla. To následně vede ke vzniku mikrokuliček nebo mikrogelů. Vlastnosti částic lze regulovat úpravou podmínek sušení.

Jednou z variant je sušení za použití mrazu, které je využíváno u termolabilních materiálů (tzv. lyofilizace). Je to vícestupňová technika zahrnující zmrazení, sublimaci a desorpci. Takto vytvořené vzorky lze snadno rekonstituovat a disponují vyšší životností. Nevýhodami procesu jsou například energetická náročnost, nebo vysoká porozita vzniklých částic [30, str. 422].

3.2 Polysacharidy

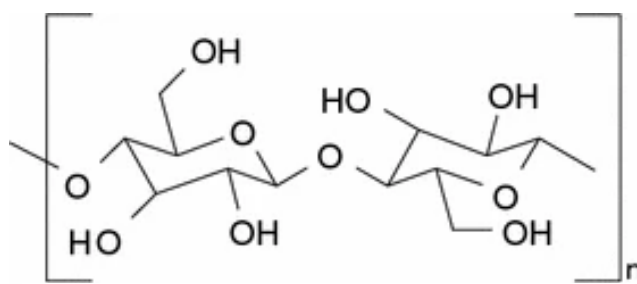
Vhodnými materiály pro stabilizaci emulzí jsou polysacharidy. Jsou obvykle levné, snadno dostupné, biokompatibilní a vykazují nízkou toxicitu. Jejich vlastnosti mohou být rovněž modifikovány fyzikálními, chemickými nebo enzymatickými procesy. Mezi polysacharidy, které jsou nejčastěji využívány jako stabilizátory emulzí, lze zařadit agar, chitosan, pektin, škrob a v kosmetice pak celulózu [30, str. 419].

Ačkoli většina polysacharidů využívaných v průmyslu pochází z rostlin a mořských řas, novými a velmi důležitými zdroji biopolymerů jsou mikrobiální polysacharidy. Tato skupina zahrnuje zejména glukany, bakteriální celulózu, pullulan, xanthanovou gumu a také bakteriální algináty. Tyto produkty se vyznačují vysokou čistotou a velmi pravidelnou strukturou. Díky tomu jsou hojně využívány jako zahušťovadla a gelační a stabilizační činidla [31, str. 2]. Většina polysacharidů však emulze stabilizuje jednoduše, a to zvýšením viskozity kontinuální fáze.

Bezesporu nejhojněji zastoupeným polysacharidem v přírodě je celulóza. Jedná se o strukturální prvek rostlinných buněk a také některých eukaryot. Za největší zdroj rostlinné celulózy jsou považovány vzrostlé stromy, ale ani u některých rostlin, jako jsou konopí, len, juta a bavlna, není její obsah zanedbatelný. [32, str. 2] Po chemické stránce jde o lineární homopolymer $\beta(1\rightarrow4)$ -D-glukózových zbytků spojených glykosidickými vazbami (Obrázek č. 4). Vysoká soudržnost molekul je dána van der Waalsovými silami a rozsáhlými

sítěmi vodíkových můstků přítomných v jednotlivých molekulách i mezi molekulami. Ve struktuře celulózy je patrné, že krystalické uspořádané oblasti střídají méně uspořádané oblasti amorfni [13, str. 7471]. Celulózové řetězce v buněčné stěně rostlin přirozeně agregují za vzniku mikrofibril, které se dále agregují do větších makroskopických vláken [32, str. 2]. Celulózová vlákna, získaná z přírodních zdrojů, se nachází jak v krystalické, tak amorfni formě. Zastoupení jednotlivých forem se liší na zdroji celulózy a postupu jejího získávání.

Jak již bylo zmíněno výše, celulóza je produkována také řadou bakterií, např. gramnegativními bakteriemi *Acetobacter xylinum* (nebo *Gluconacetbacter xylinum*), které ji poskytují ve formě jemné vláknité sítě. Taková celulóza se vyznačuje vysokou čistotou a nachází využití v medicíně [33; 32, str. 2].



Obrázek č. 4: Strukturní jednotka celulózy [32]

3.2.1 Nanokrystalická celulóza

Krystalická nanocelulóza, též celulózové nanokrystaly (CNC), jsou prvním typem stabilizujících částic použitých v diplomové práci. Jsou obvykle získávány kyselou hydrolyzou celulózových materiálů, jako je dřevo, bavlna nebo schránky pláštěnců. Přináší to mnoho výhod, celulóza získaná kyselou hydrolyzou se vyznačuje protáhlým tvarem nanokrystalů s vlastnostmi jako jsou velký povrch, pevnost v tahu, výborná stabilita [34, str. 32]. Působením právě kyseliny sírové nebo fosforečné je na povrchu krystalů indukována tvorba nabitých skupin, což ve vodním prostředí podporuje elektrostatické interakce [19, str. 497]. Tvar krystalů nanokrystalické celulózy přispívá k jejich výborným emulgačním vlastnostem [20, str. 103]. Zároveň se takto získaná nanocelulóza vyznačuje nízkou hustotou, chemickou i environmentální udržitelností a k jejímu získání nejsou potřeba vysoké náklady. To z ní při aplikaci v kosmetickém i farmaceutickém průmyslu činí vhodný materiál. [36; 15, str 129].

CNC mají schopnost se nevratně adsorbovat na rozhraní olej-voda a dokáží tak vytvářet velmi stabilní emulze. Jestliže je zvýšen podíl vnitřní fáze, mohou tyto nanokrystaly vytvářet i gelové emulze s vysokým obsahem vnitřní fáze (high internal phase emulsions, HIPE), ve kterých je např. 90 % hydrofobní fáze stabilizováno 0,1 %hm. nanokrystalické celulózy [35, str. 291].

3.3 Proteiny

Jedná se o amfifilní biopolymery, které jsou schopné tvořit nanočástice ve vodných, alkoholických i nepolárních roztocích. Mají velmi flexibilní konformaci, která se může měnit v rámci změny prostředí [29, str. 324]. Proteiny používané k přípravě biopolymerních částic lze rozdělit na živočišné a rostlinné. Mezi živočišné řadíme albuminy, kaseiny, želatínu, fibroin nebo syrovátkové proteiny. K rostlinným patří například zein nebo sójové proteiny [30, str. 419]. Rostlinné proteiny se snadno získávají z různých obnovitelných zdrojů. Tato skutečnost se bezesporu jeví jako jejich velká výhoda spolu se šetrností k životnímu prostředí. Tím si otvírají cestu být novou ekologickou generací částic pro stabilizaci Pickeringových emulzí [36]. Proteiny mohou být ke stabilizaci emulzí použity ve svém přirozeném stavu, nebo mohou být chemicky, fyzikálně či enzymaticky modifikovány. Díky tomu lze často doladit jejich funkční vlastnosti pro požadované aplikace [30, str. 418]. Například u nativního škrobu, který není přirozeně hydrofobní, může být hydrofobita zvýšena chemickou modifikací např. anhydridem kyseliny jantarové [6, str. 53].

Proteinové částice mohou být připravovány několika způsoby: tepelně indukovanou agregací proteinů v kombinaci se smykovým namáháním, tepelně indukovanou agregací hustých proteinových kapek suspendovaných v matrici, anebo asociativní separací fází, která poskytuje vysoké koncentrace proteinu [37, str. 428].

Při zahřátí nad denaturační teplotu dochází u globulárních proteinů k rozvinutí jejich polypeptidových řetězců a k jejich následné intermolekulární asociaci vlivem hydrofobní a kovalentní vazby. Morfologie a mikrostruktura výsledných agregátů je velmi citlivá na vlastnosti prostředí vodného roztoku (obsah proteinu, pH, iontová síla, koncentrace vápníku) a na podmínky zpracování. Protein pak vytváří širokou škálu morfologií - pevná sférická, flexibilní vlákna nebo polopružné fibrily [21, str. 222; 30, str. 418].

Dlouhodobá stabilizace koloidních systémů proteinovými částicemi je způsobena hlavně jejich schopností adsorbovat se na dispergovanou olejovou kapku a vytvořit na ní viskoelastickou strukturální bariéru, popřípadě stabilizovat prostor mezi kapkami [38, str. 183].

Pokud nejsou v emulzi použity žádné další stabilizátory, je náboj emulzních kapek v podstatě určen nábojem přítomných proteinů, kterými jsou tyto kapky stabilizovány [29, str. 428].

Proteiny vykazují antioxidační vlastnosti, které mohou být užitečné pro ochranu chemicky labilních účinných látek. V průmyslu nacházejí časté využití například při formulaci povlaků na tablety a tobolek, jako adheziva a povrchově aktivní látky. V této skupině má převládající roli želatina, která dokáže vytvářet průhledné gely se schopností tání při teplotě těla (jde o fibrilární protein). Také globulární proteiny mohou tvořit různé gely, a to v koncentraci vyšší než 5 % [31, str. 2].

3.3.1 Kaseinát sodný

Kaseiny jsou hlavními proteiny mléka savců. Jsou to fosfoproteiny, které mají hlavní funkci koncentrovat, stabilizovat a dodávat důležité živiny pro výživu mláďat. Ve vodných roztocích mají molekuly kaseinu schopnost samovolně se shlukovat pomocí hydrofobních interakcí za vzniku micel, které mohou ve své struktuře uzavřít molekuly lipofilní povahy [39, str. 21; 40, str. 737]. Kaseiny obsahují především částečně agregovanou směs čtyř jednotlivých flexibilních kaseinů (α_{S1} a α_{S2} , β a κ). Jsou to neuspořádané hydrofobní molekuly, které dokáží kolem dispergované fáze vytvářet mezifázovou vrstvu s tloušťkou až 10 nm. Dva z kaseinů (α_{S1} a β) jsou účinnými emulgačními činidly, která efektivně snižují mezifázové napětí během emulgace a chrání emulzní kapky proti flokulaci a koalescenci. Kaseinát sodný (CAS), rozpustná forma kaseinu je proto často používaným emulgačním činidlem. Emulze stabilizované CAS mají tendenci být stabilnější vůči zahřívání díky flexibilitě CAS molekul, které nepodléhají tepelně indukovaným konformačním změnám. CAS poskytuje dobrou ochranu proti agregaci při neutrálním pH, díky kombinaci elektrostatických a sterických stabilizačních mechanismů. Při pH blízkém izoelektrickému bodu (pH 4,6) je CAS náchylný k flokulaci z důvodu snížení elektrostatického odpuzování mezi kapičkami. Emulzní kapky potažené vícevrstevnými membránami mají zlepšenou stabilitu [41, str. 607, 608; 42, str. 227].

3.4 Komplexy protein-polysacharid

Výběr biopolymerů, nebo jejich kombinace pro stabilizaci emulzí, závisí na několika faktorech, a to na fyzikálně-chemických a funkčních vlastnostech částic, vlastnostech biopolymerů a na povaze enkapsulované aktivní složky [30, str. 418].

Komplexy tvořené jak proteinovými, tak polysacharidovými částicemi vznikají většinou prostřednictvím elektrostatických interakcí mezi opačnými náboji přítomných makromolekul nebo prostřednictvím kovalentních vazeb. Aby došlo ke snížení volné energie přítomné v systému, komplexy agregují až do nerozpustného stavu (tzv. insolubilizace), čímž dojde k vytvoření dvofázového systému. Ke tvorbě elektrostatických komplexů mezi proteiny a polysacharidy dochází i přirozeně v živých systémech a tyto komplexy zajišťují řadu biologických funkcí. Jedná-li se o silné polyelektrolyty, dochází ke tvorbě komplexů proteinů s polysacharidy snížením celkové volné elektrostatické energie uvolněním protiontů. U slabších polyelektrolytů se využívá snížení entalpie v důsledku elektrostatické přitažlivosti. Tento jev, a následně vznikající lokální náboj, je ovlivňován fyzikálně-chemickými vlivy, z nichž nejdůležitější jsou pH, iontová síla, poměr proteinů k polysacharidům a jejich celková koncentrace. Menší roli potom může hrát molekulová hmotnost biopolymeru, hustota jeho náboje a různé podmínky vzniku komplexů [43, str. 63, 64].

Tvorba komplexů je také řízena neutralizací náboje po smíchání biopolymerů při podmínkách blízkým elektroneutralitě komplexů, což vede k vytvoření velmi dynamického systému. Komplexy bílkovin s polysacharidy nabízejí řadu užitečných funkcí pro vývoj nových produktů [43, str 64, 65].

4 GELY

Gely jsou označovány jako tekuté systémy s některými vlastnostmi pevných látek. Někdy jsou také definovány jako stav hmoty se spojitou sítí strukturních prvků (např. polymerů) a mechanickými vlastnostmi podobnými pevným látkám. V případě použití mikročástic hovoříme o speciálním koloidním systému zvaném mikrogel, který je charakterizován jak vlastnostmi gelu, tak vlastnostmi částic. Gely jsou považovány za cenné koloidní stavební bloky a stabilizační systémy, díky své deformovatelnosti, povrchové aktivitě, reverzibilnímu bobtnání a schopnosti reagovat na změny pH a teploty. Gely mohou být klasifikovány podle různých hledisek, např. podle povahy kapalné složky jako:

a) Hydrogely, kde je imobilizovanou kapalinou voda.

b) Organogely, kde je imobilizovaná složka hydrofobní, např. organické rozpouštědlo, nebo olej (v tom případě o nich hovoříme jako o oleogelech) [38, str. 178; 44, str. 753;].

Hydrogely mohou být tvořeny za pomoci biopolymerních částic o nano– až mikrometrové velikosti dispergovaných ve vodném prostředí, které jsou označovány jako hydrokoloidy. To jsou např. polysacharidy nebo proteiny, které se vyznačují schopností vytvářet ve vodném prostředí viskózní roztoky a/nebo gely. Díky přítomnosti hydroxylových skupin ve své struktuře vykazují tyto makromolekuly vysokou afinitu k molekulám vody [45, str. 1557]. Jmenované biopolymery jsou pak obvykle fyzikálně, chemicky nebo enzymaticky zesíťované a dokáží tak ve své struktuře zachytit částice hydrofilní či lipofilní povahy. Porozitu hydrogelu je možné regulovat výběrem vhodných složek a metod přípravy [39, str. 21; 46, str. 232;].

Strategie, jak propůjčit kapalným olejům funkčnost pevného tuku, zahrnuje přidávání sloučenin, které způsobují gelaci. Oleogelace jednoduše znamená přeměnu kapalného oleje na „gelovitou“ strukturu s viskoelastickými vlastnostmi. Oleogelátory se řadí do dvou tříd:

i) Oleogelátory s nízkou molekulovou hmotností – vosky, fytosteroly, mastné kyseliny, lecitin, oligopeptidy, ceramidy, kyselina 12-hydroxystearová, monoacylglyceroly.

ii) Biopolymerní gelátory – polysacharidy, chitin, škrob, modifikovaná celulóza.

Většina organogelů a oleogelů je tvořena sloučeninami s relativně nízkými molekulovými hmotnostmi [47, str. 36; 44, str. 753].

Přímá metoda výroby oleogelů spočívá v reorganizaci přidaných gelátorů po zvýšení teploty nad teplotu tání nebo nad teplotu jejich skelného přechodu. Při následném ochlazování je pak vytvořena gelová síť zachycující olej v pevné struktuře vytvořeného oleogelu. Mezi nepřímé metody, které zahrnují použití amfifilních molekul nebo částic schopných smáčení (např. kombinace proteinů a polysacharidů) pak patří zejména emulgace provedená např. vysokotlakou homogenizací nebo výměnou rozpouštědla. Při technice výměny rozpouštědla je v prvním stupni vytvořen hydrogel s polymerní sítí, výměna vodného rozpouštědla za organické pak způsobí odstranění vody a nahrazením vody olejovou fází ve vytvořené polymerní síti, vzniká gel. Struktura, ve které se olejové kapky pevně zachytí, zabraňuje jejich koalescenci. Jako známý oleogelátor lze zmínit ethylcelulózu [48, str. 758; 49, str. 2833; 50, str. 32-33; 51, str. 8].

Dalším krokem v přípravě oleogelů může být jejich vysušení/zbavení vodné fáze. Odstraněním vody z produktů se v kosmetickém i farmaceutickém průmyslu zlepšuje odolnost proti degradaci a oxidaci, prodlužuje se jejich skladovatelnost a zmenšuje náchylnost k napadení mikroorganismy. Dehydratace ovšem často může vést k destabilizaci oleogelů, která může probíhat různými mechanismy. Důležité je tedy před sušením dobře začlenit gelační činidlo do hydrofobní fáze, aby nedošlo k výše zmiňované destabilizaci emulze. Díky své vysoké stabilitě se systémy stabilizované částicemi jeví jako mnohem vhodnější pro výrobu emulzí určených k odstranění vodné fáze [44, str. 776; 52, str. 185].

Mezi široce používané a známé metody odstranění vody z emulzí patří sušení při zvýšené teplotě (ať už volné nebo sprejové) a lyofilizace (sušení vymrazováním). Pomalým odstraňováním vody z emulze lze připravit oleogel, zatímco při rychlém odpaření se tvoří prášek. Je tedy jasné, že forma vznikajícího oleogelu závisí na době a postupu sušení [44, str. 777; 53, str. 1697; 54 str. 31].

Možnost přeměny kapalných olejů na měkké, viskoelastické gely (organogely) otevírá řadu příležitostí pro průmyslové aplikace. Své uplatnění nacházejí např. při zpracování potravin a vývoji tukových výrobků bez *trans*- a nasycených mastných kyselin, při řízeném dodávání léčiv transdermálními systémy či vývoji kosmetických produktů. Kosmetické aplikace organogelů jsou však, dle literatury, stále řídké. V kosmetice jsou ke strukturování olejů a hydrofobních látek nejvíce využívány lecitin, estery glycerolu a MK, MK, MA a rostlinné vosky [55, str. 1, 2; 56, str. 9703; 57, str. 444; 58, str. 109,110].

5 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

Oleogely na bázi Pickeringových emulzí se v posledním desetiletí dostaly do popředí zájmu mnoha vědeckých pracovišť. S množstvím dostupných hydrofilních látek, využívaných v potravinářství a zejména v kosmetice, spolu s možnostmi gelačních činidel, je každý z navrhovaných systémů téměř originální.

Z autorů zabývajících se oleogely, je možné zmínit dvojici Ögütcü a Yilmaz (2015), kteří zkoumali gely připravené pomocí nízkohustotních organogelačních činidel jako karnaubský, kandelitový, slunečnicový vosk nebo vosk z rýžových otrub [59, str. 1742]. Obdobnou problematikou se zabývali také Onacik-Gür a kol. (2019), kteří navrhli oleogel, sloužící jako náhrada palmového tuku. Jednalo se konkrétně o řepkový olej strukturovaný kandelitovým voskem, nebo také monoacylglycerolem. Opět zde byla použita gelační činidla o nízké hustotě [60, str.9].

S jedlými rostlinnými oleji pracovali také Patel a kol. (2014), kteří připravovali oleogely na bázi slunečnicového oleje s použitím xanthanové gumy a methylcelulózy [61, str. 2042]. O rok později (2015) použili tito autoři ke strukturování slunečnicového oleje hydrofilní siliku [56, str. 9703]. V další navazující práci byl oleogel úspěšně připraven zachycením oleje v polymerní matici za použití jednoduchého dvoustupňového procesu. Nejprve byla připravena emulze typu O/V stabilizovaná polymery (proteinem želatínou a polysacharidem xanthanovou gumou) a následně byla sušením odstraněna vodná fáze. Výsledkem byly pevné systémy s obsahem olejové fáze >97 %. Sušení bylo provedeno jak za zvýšené teploty, tak lyofilizací, ovšem ve většině případů docházelo k dodatečnému uvolnění oleje. Takto byly získány produkty se zajímavou, pevnou emulzní strukturou [62, str. 2065, 2066].

S často využívaným slunečnicovým olejem pracoval také Vries (2017), který pro přípravu oleogelu využil agregáty syrovátkových proteinů. Proces výroby probíhal metodou výměny rozpouštědla s využitím acetonu. Matrice gelu dokázala vázat velké množství oleje a v porovnání s prvotními hydrogely byla tužší a křehčí. Autoři prokázali účinnost agregátů při vytváření gelové struktury a ukázali, že postup výměny rozpouštědla lze použít jako účinný nástroj k vytvoření proteinových oleogelů [63, str. 82].

Dalšími z možných materiálů pro výrobu oleogelů jsou různé druhy gum, ať už arabská, výše zmiňovaná xanthanová nebo i méně známá guma ze lněných semínek. Dai a kol. (2018) představili Pickeringovy gely s různým obsahem dispergované fáze, připravené s použitím zeinu a arabské gumy. Gely s lepšími vlastnostmi byly právě takové, jež měly obsah

dispergované fáze vyšší než 50 %. Reologie gelů potvrdila, že v těchto systémech byly vytvořeny elastické gelové sítě. Gelová struktura pomohla ke zlepšení dlouhodobé stability při jeho skladování [14, str. 248]. Qiu a kol. (2018) připravili oleogely stabilizované proteinem, polyfenolem a polysacharidem – želatinou, kyselinou tříslovou a gumou ze lněných semínek (flaxseed gum). Vybrané složení příznivě ovlivnilo velikost částic emulzí, které byly dále sušeny jak lyofilizací, tak i běžně v sušárně. Oleogely sušené v sušárně bylo možné následně rekonstituovat do původní emulzní formy. Rekonstituce probíhala smícháním oleogelu s vodou a její úspěšnost závisela na obsahu kyseliny tříslové. Vzniklé emulze sice vykazovaly větší velikost částic, ale byly poměrně stabilní [64, str. 13251].

Ve studii J. Marta a kol. z roku 2016 s úspěchem využili Pickeringových emulzí pro vývoj nového přípravku na ochranu proti UV záření bez přítomnosti povrchově aktivní látky. Ve své práci využili fyzikální UV filtry ZnO a TiO₂ a jejich synergického efektu s modifikovaným škrobem. Částice škrobu tvořily stabilní Pickeringovy emulze [65, str. 56, 57].

Jednu z dřívějších prací publikovali Gravelle a kol. (2013), kteří pro strukturování jedlých olejů využili rovněž ethylcelulózy. Jedno z významných zjištění práce bylo, že vlastnosti gelu jsou ovlivněny rychlostí jeho chlazení během tuhnutí. Rychlé tuhnutí gelu, snížilo pravděpodobnost rozdělení gelu na dvě fáze, pomalé ochlazování pak napomohlo tvorbě homogenní struktury. Autoři rovněž předpokládají, že zvyšující se obsah nenasycených mastných kyselin v oleji vede ke zvýšení pružnosti uhlíkového řetězce a tím se zvýší stlačitelnost oleje. To má za následek vyšší hustotu olejové fáze [66, str 153].

Davidovich-Pinhas a kol. (2015) využili termogelační mechanismus při přípravě oleogelů řepkového oleje, které byly stabilizovány ethylcelulózou. Reologická analýza prokázala vztah mezi molekulovou hmotností polymeru a konečnou pevností gelu, kdy při použití vyšší molekulové hmotnosti polymeru vznikl gel s vyšší pevností. Pomalé chlazení navíc poskytovalo stabilnější gely. Při rychlém chlazení vykazovaly vzniklé gely menší pevnost [67, str. 869, 877].

Glacintucci a kol. (2018) rovněž připravili oleogely z olivového oleje za použití ethylcelulózy. Olivový olej podrobili před přípravou gelu různému stupni rafinace. K výrobě oleogelů využívali zahřívání systému na teplotu skelného přechodu. Po dosažení této teploty byly gely nejprve chlazeny pozvolna a potom při 5 °C. Po rafinaci oleje a odstranění minoritních látek se snížila pevnost gelu, vzhledem ke snížení polaritě oleje, a snížila se také

rozpuštěnost ethylcelulózy v oleji. Autoři tak potvrdili vliv složení oleje (např. přítomnost polyfenolů) a jeho polaritu na výsledný produkt [68, str. 508–514].

Další z autorů zabývajících se touto problematikou, Lupi a kol. (2015) studovali dvoufázové systémy tvořené oleogelem a hydrogelem. Jestliže v těchto systémech dojde ke strukturování pouze kontinuální fáze, je možné je nazývat emulgely, jestliže pak jsou strukturovány obě fáze, jsou připraveny dvoufázové gely (bi-gely). Emulgely a bi-gely jsou zvláště zajímavé vzhledem k jejich potenciálnímu použití v kosmetice a farmacii, protože mohou kombinovat výhody emulzí a gelů (hydrogelů i organogelů) a mohou být využity pro kontrolu dodávání léčiv pro lokální a transdermální použití. Materiály pro použití v kosmetice by měly mít řadu uživatelsky příznivých vlastností, měly by být zvlhčující, zvláčňující, změkčující, být nosičem účinných látek, mít správnou hladkost a roztíratelnost a také dobrou stabilitu při skladování po dobu několika měsíců i let. V této práci byly studovány organogely olivového oleje a termální vody. Vodná fáze byla strukturována běžným hydrokoloidem, bramborovým škrobem, zatímco gelace olivového oleje byla provedena směsí monoacylglycerolů a mastných kyselin. Použitá metoda příprava poskytovala hladké a homogenní materiály. S objemem přidaného organogelu rostla viskozita bi-gelu. Mikroskopie i vodivost potvrdily vytvoření komplexního systému matrice v matici [69 str. 71, 76; 70, str. 717, 718].

Rovněž Jiang a kol. (2018) připravili oleogely s využitím regenerované celulózy a karboxymethyl celulózy, které měly vysoký obsah celulózy i vysokou koncentrací olejové fáze (slunečnicový olej), která činila i více než 97 %hm. Nejprve formulovali emulzi typu olej ve vodě stabilizovanou uvedenými celulózami, následovalo sušení, lyofilizace emulze, čímž se vytvořil pevný systém. Vysušený produkt vykazoval příznivé reologické vlastnosti a zvýšení koncentrace regenerované celulózy mělo za následek zvýšení jak elastického, tak viskózního modulu, což autoři dali do souvislosti s tvorbou sítě. Oleogely byly pevné a dobře redispergovatelné [55, str. 1, 2].

Hu a kol. (2016) popsali ve své práci přípravu emulzí, které byly připraveny lyofilizací. Emulze kukuřičného oleje byly stabilizovány kombinací methylcelulózy a CNC. Experimentální práce však prokázaly, že takové emulze nelze vysušit tak, aby je bylo možno následně redispergovat. V dalším kroku proto do formulace přidali pro stabilizaci kyselinu tříslou. S její pomocí pak došlo k úspěšné lyofilizaci a redispergaci emulzí, i přes to, že se z nich částečně uvolnil olej. V závěru práce autoři konstatovali, že úspěchem pro vytvoření

požadované lyofilizované emulze není jen správná formulace, ale také jednotlivé kroky přidávání surovin [52, str. 186].

6 CÍLE PRÁCE

Diplomová práce se věnuje nalezení vhodné formulace emulzí stabilizovaných částicemi kaseinátu sodného (CAS) a nanokrystalické celulózy (CNC), která povede k přípravě stabilních oleogelů. Olejovou fází zde budou tvořit hexadekan (modelový olej) a olivový olej (vhodný pro použití v kosmetice).

Cílem práce je připravit modelový emulzní systém s vhodným poměrem CNC a CAS, stanovit vliv množství a poměru těchto částic, iontové síly, pH disperzní fáze a množství enkapsulovaného oleje na vlastnosti těchto emulzí. Dalším cílem je připravit z těchto emulzí gely (oleogely), a emulze i oleogely pomocí vhodných analytických technik charakterizovat. Součástí charakterizace gelů vzniklých vysušením emulzí bude stanovení jejich mechanických vlastností, možnosti jejich re-dispergace ve vodném prostředí a sledování kinetiky uvolňování olejové fáze.

II. PRAKTICKÁ ČÁST

7 MATERIÁLY A POUŽITÉ METODY

V následující kapitole je uveden přehled použitých materiálů a metod pro provedení experimentální části diplomové práce.

7.1 Materiály

Základ pro výrobu emulzí tvořily 1) disperze nanokrystalické celulózy (CNC), kaseinátu sodného (CNC) a 2) oleje hexadekan a olivový olej.

V práci byly použity:

- Nanokrystalická celulóza, prášková, připravena kyselou hydrolyzou za pomoci kyseliny sírové od firmy CelluForce (Kanada)
- Kaseinát sodný, práškový od firmy Sigma-Aldrich (Německo)
- Hexadekan od firmy Sigma-Aldrich (Německo)
- Olivový olej extra panenský, dostupný v obchodní síti ČR
- Demineralizovaná voda

Dále byly použity chemikálie, jejichž dodavateli byly firmy Sigma-Aldrich a Merck (Německo), v analytické kvalitě:

- $\text{CaCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ dihydrát chloridu vápenatého (dále jen CaCl_2 – chlorid vápenatý)
- NaCl chlorid sodný
- NaOH hydroxid sodný
- HCl kyselina chlorovodíková

7.2 Přístroje

Vedle běžného laboratorního vybavení byly při zpracování experimentální práci využity následující přístroje:

- Laboratorní váhy KERN 572-33 (Kern, Německo)
- Analytické váhy Sartorius BA-110-S (Sartorius, Německo)

- pH metr CPH 51
- Spektrofotometr photolab 6600 UV-VIS (WTW GmbH, Německo)
- Zetasizer Zeta Nano (Malvern Instruments, UK)
- Optický tenziometr Theta (Attension, Biolin Scientific)
- Sonikátor Vibracell Sonicator (Sonics and Materials Inc., USA)
- Optický mikroskop Olympus CX41 optical microscope (Olympus Corporation, Japonsko) vybaven fotoaparátem Olympus.
- MasterSizer Malvern Micro (Malvern Instruments Ltd, UK)
- Centrifuga EBA 20 (Hettich, Německo)
- Míchadlo Vortex V-1 plus (Biosan, Litva)
- Reometr PHYSICA MCR-502 (Anton Paar, Rakousko)

Pomůckou pro přípravu gelů byly teflonové formy s vnitřním průměrem 12 mm, které sloužily jako matrice pro přípravu oleogelů použitých pro měření viskoelastických vlastností.

7.3 Příprava a charakterizace CAS a CNC disperzí

7.3.1 Příprava disperzí

Disperze, jak CNC, tak CAS, byly připraveny dispergováním sypkého materiálu v demineralizované vodě. Přípravované disperze CAS i CNC byly po navážení homogenizovány mícháním po dobu alespoň 24 hodin na magnetickém míchadle. Disperze CNC byla poté ještě sonikována po dobu 30 sekund a také vždy po stejnou dobu před každým jejím použitím. Vzorky byly skladovány při 5 °C

Současně byly pro další práci potřebné 1M roztoky elektrolytů NaCl a CaCl₂, které byly připraveny jejich prostým navážením a rozpuštěním v demineralizované vodě. Dále byly připraveny 1M roztoky NaOH a HCl, odpipetováním vypočítaného objemu zásady/kyseliny do demineralizované vody. Za pomoci roztoků kyseliny a zásady byly připraveny i disperze CAS a CNC s různým pH disperzního média.

7.3.2 Velikost stabilizujících částic: Dynamický rozptyl světla

Technika je také známá jako fotonová korelační spektroskopie nebo kvazielastický rozptyl světla a je používána pro analýzu velikosti částic v submikronových i mikronových velikostech dispergovaných v kapalném mediu. Je schopna studovat jejich velikost za různých podmínek, jako teplota, pH disperzního média či koncentrace. DLS je také používán pro studium agregace částic, detekci a kvantifikaci biomolekul, nebo analýzu interakcí mezi částicemi [71, str. 2; 72, str. 479; 73, str. 339]. DLS je technika s nízkým rozlišením a lze ji použít jako vodítko pro posouzení přítomnosti aglomerátů nebo značně rozdílných velikostí částic.

Když koherentní světlo zasáhne částici, částice působí jako sekundární zdroj záření díky schopnosti rozptylu světla. Jelikož se ale částice pohybují náhodně Brownovým pohybem, tak se vzdálenost vln od detektoru mění v čase. Tím se mění i intenzita rozptýleného záření. Fotodetektor následně změří toto kolísání záření v čase [74, str. 3-12].

Vliv elektrolytu na velikost částic CNC a CAS

Velikost částic ve studovaných disperzích CNC a CAS byla stanovena pomocí přístroje Zeta Nano. Nejprve byla připravena disperze CNC nebo CAS o koncentraci 0,1 %hm. Tato základní disperze byla napipetována do 11 odměrných baněk a byly k ní přidány roztoky 0,1 M NaCl nebo CaCl₂ tak, aby vznikla koncentrační řada: 0; 0,1; 0,25; 0,5; 1; 5; 10; 25; 50; 75 a 100 mM NaCl nebo CaCl₂. Pro samotné měření bylo do měřicí kyvety dávkováno 1000 µl vytvořeného vzorku. Stanovení probíhalo při 25 °C a výsledky byly vyjádřeny v nanometrech jako intenzitně vážený průměr velikosti částic, tzv. z-průměr. Každý vzorek byl analyzován třikrát, byla stanovena jeho průměrná velikost a směrodatná odchylka měření. V Tabulce č. 2 je shrnuto složení studovaných vzorků.

Tabulka č. 2: Vzorky připravených disperzí pro měření velikosti částic

Typ částic	Koncentrace [%hm.]	Elektrolyt
CAS	0,100	CaCl ₂
CAS	0,050	–
CAS	0,025	CaCl ₂
CAS	0,025	NaCl
CNC	0,025	CaCl ₂
CNC	0,025	NaCl

Vliv pH na velikost částic CNC a CAS

Stanovení velikosti částic disperzí CAS a CNC bylo také provedeno v prostředí o různém pH. Pro disperzi CNC byla, na základě předběžných testů, zvolena koncentrace částic 0,025 %hm. a pro CAS 0,1 %hm. Postupným přidáváním 1M roztoků HCl nebo NaOH za pomoci mikropipety a za současného měření pH, byly připraveny dvě řady disperzí v prostředí s rostoucím pH v řadě od 2 do 7 pH (skok po 0,5 pH).

7.3.3 Agregace částic CNC a CAS v přítomnosti elektrolytů: UV-VIS spektroskopie

Agregace částic vlivem přítomnosti elektrolytů NaCl nebo CaCl₂ byla dále hodnocena pomocí měření zákalu disperzí UV-VIS spektrofotometrem. Turbidimetrická metoda je založená na sledování poklesu intenzity záření procházejícího vrstvou koloidních částic v suspenzích a koloidních roztocích. Na částicích dochází k rozptylu záření a částečně i jeho absorpci. Záření prošlé koloidní disperzí má vždy nižší intenzitu než záření dopadající [75, str. 60].

Intenzita agregace CNC a CAS v přítomnosti solí byla měřena u disperzí obou typů stabilizujících částic. Disperze byly připraveny s obsahem solí (koncentrační řadou), jako tomu bylo v kapitole 7.3.2. Zvolené koncentrace částic a solí jsou uvedeny níže, v Tabulce č. 3. Mezi přípravou disperzí a měřením byl volen 15 minutový interval, aby mohla proběhnout dostatečná agregace částic. Následně byly vzorky měřeny při 25 °C a každý vzorek byl změřen třikrát.

Tabulka č. 3: Vzorky připravených disperzí pro měření agregace

Typ částic	Koncentrace [%hm.]	Elektrolyt
CAS	0,100	CaCl ₂
CAS	0,050	CaCl ₂
CAS	0,025	NaCl
CNC	0,100	CaCl ₂
CNC	0,050	NaCl

7.3.4 Zeta-potenciál disperzí CAS a CNC

Zeta-potenciál je elektrokinetický potenciál v rovině skluzu koloidní částice (hranice mezi kompaktní a difuzní vrstvou), která se pohybuje pod napětím elektrického pole. Odráží potenciální rozdíl mezi elektrickou dvojrystvou částic a disperzního prostředí. Dispergovaná nabitá částice má schopnost na svém povrchu vytvářet elektrickou dvojrystvu. Vnitřní vrstvu tvoří převážně ionty opačného náboje, než nese samotná částice. Za touto tzv. Sternovou vrstvou se postupně elektrostatické účinky snižují. Její složení je významně ovlivňováno různými faktory prostředí a při elektroforéze působí jako rozhraní mezi pohybující se částicí a disperzním prostředím. Zeta-potenciál napomáhá předpovědět stabilitu systému nanočástic v disperzi [73 str. 345; 76 str. 617, 77 str. 247]. Hodnoty potenciálu nižší než -30 mV a vyšší než $+30$ mV se považují za dostatečné pro odpuzování částic a dobrou fyzikální stabilitu koloidu. Na druhou stranu hodnoty blíží se k nule mohou vést k agregaci a flokulaci částic v důsledku přitažlivých sil, což vede k fyzikální nestabilitě systému [78 str. 99].

Zeta-potenciál vodných disperzí CNC i CAS byl měřen pomocí laserové Dopplerovy velocimetrie na přístroji Zeta nano. Pro měření byly připraveny disperze CNC (0,025 %hm.) a CAS (0,100 %hm.), které byly pipetovány do 11 baněk. Následující postup pro přípravu koncentračních řad disperzí s různým obsahem elektrolytů NaCl a CaCl₂, se shoduje s postupem popsáním v bodě 7.3.2. V Tabulce č. 4 jsou uvedeny studované vzorky s použitými solemi.

Tabulka č. 4: Vzorky připravených disperzí pro měření zeta-potenciálu

Typ částic	Koncentrace [%hm.]	Elektrolyt
CAS	0,100	CaCl ₂
CAS	0,100	NaCl
CNC	0,025	CaCl ₂
CNC	0,025	NaCl

7.3.5 Mezipovrchové napětí

Jedním z klíčových parametrů, při charakterizaci chování nemísitelných systémů, je mezipovrchové napětí. Mezipovrchové napětí popisuje povrchovou energii, která existuje mezi dvěma nemísitelnými kapalnými fázemi a zabraňuje těmto kapalinám vzájemné míšení. Obecně je definováno jako akumulace energie a velikost nerovnovážných sil na rozhraní dvou různých fází (dvě nemísitelné kapaliny, kapalina-pevná fáze). Metody měření mezipovrchového napětí mohou být založeny např. na vytlačování kapky kapaliny do kapaliny jiné, nebo tenziometrickém měření pomocí Wilhelmyho destičky či Du Noüyho kroužku [79, str. 515].

Mezipovrchové napětí na rozhraní olej-vodná disperze CNC a olej-vodná disperze CAS bylo stanoveno metodou visící kapky pomocí optického tenziometru Attension Theta. Do kyvety bylo odpipetováno 1000 μl disperze (CAS nebo CNC s rostoucí koncentrací částic v řadě 0,01; 0,05; 0,1; 0,2; 0,5; 1; 1,5 a 2 %hm.) a kyveta byla umístěna na pohyblivou desku tenziometru. Následně byla na tenziometr připevněna stříkačka se zahnutou „Hookovou“ jehlou, která byla naplněna zkoumaným olejem (tedy hexadekanem nebo olivovým olejem). Pomocí pohyblivého systému byla jehla z nerezové oceli o průměru 0,718 mm zasunuta do kyvety pod hladinu disperze, a optická část přístroje byla zaostřena na hrot jehly. Následně byla do objemu disperze vytlačena kapka oleje tak, aby zůstala přilnutá ke hrotu jehly a současně měla objem minimálně 7 μl . Obrázek kapičky byl v reálném čase pozorován a zaznamenán pomocí digitální fotografie a povrchové napětí bylo stanoveno iteračním přizpůsobením tvaru kapky Young-Laplaceově rovnici. Měřené systémy jsou uvedeny v Tabulce č. 5. Každý vzorek byl změřen minimálně dvakrát.

Tabulka č. 5: Měřené kombinace disperzí s olejem

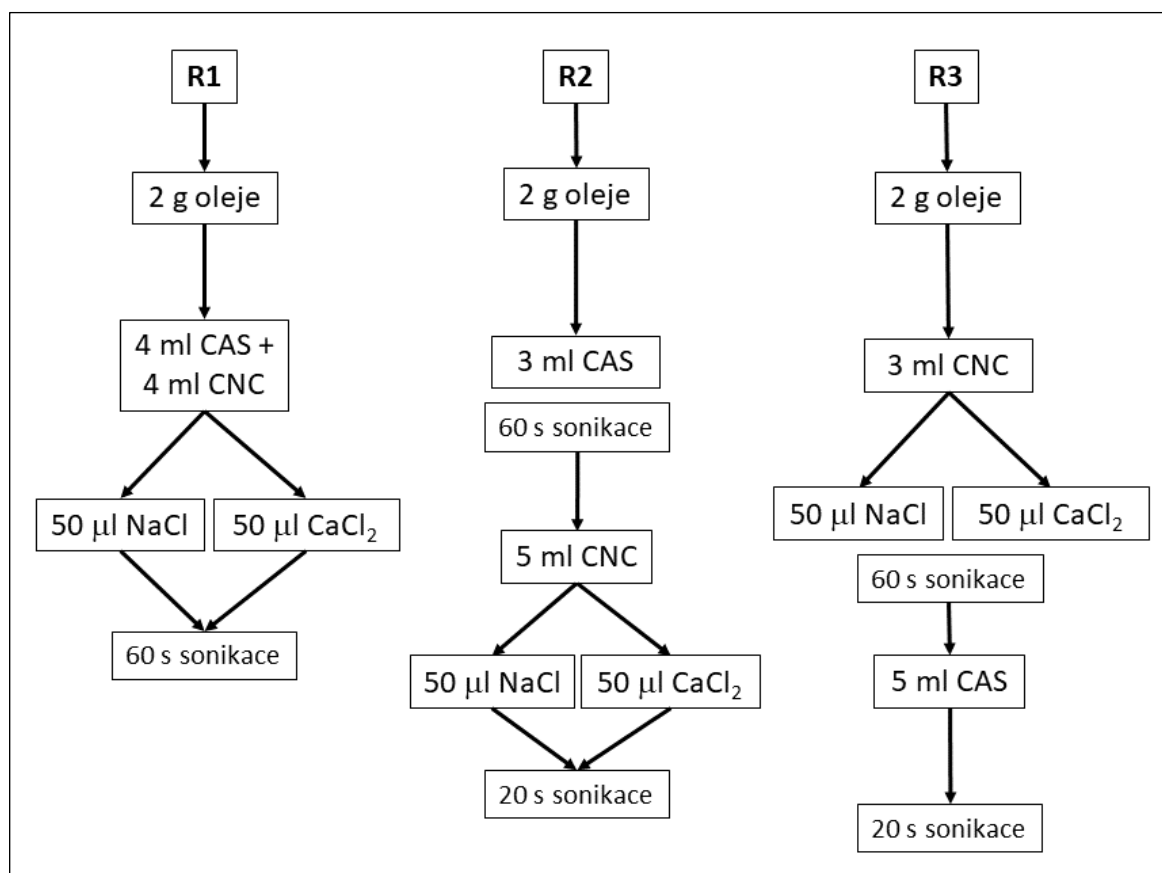
Vodná fáze	Disperze CAS		Disperze CNC	
Olejová fáze	Hexadekan	Olivový olej	Hexadekan	Olivový olej

7.4 Příprava a charakterizace emulzí

7.4.1 Příprava emulzí

Pro stabilizaci emulzí typu O/V byly využity částice CAS a CNC tak, aby jejich celková koncentrace v emulzi činila 0,2; 0,3 nebo 0,4 %hm. V některých případech byly emulze připravovány z disperzí s upraveným pH (příprava viz. výše v bodě 7.3.1).

Jako olejová fáze byly vybrány oleje, jmenovitě hexadekan (HD, zastupující modelový systém) a olivový olej (OO, zastupující reálné systémy). Součástí emulzí byly také roztoky dvou elektrolytů, NaCl nebo CaCl₂, které byly přidávány ve formě 1M roztoků. Poměr, mezi olejovou/vodnou fází byl zvolen 20/80. Celkový objem připravovaných emulzí činil 10 ml. Sonikace probíhala na přístroji Vibracell Sonicator při zvolené 60% amplitudě. Emulze byly připravovány třemi různými cestami (Route 1–3), které jsou popsány níže (Obrázek č. 5)



Obrázek č. 5: Názorné schéma tří cest přípravy emulzí

Cesta 1 (R1): Do skleněných vialek o požadovaném objemu, byly nejprve naváženy 2 g vybraného oleje. Disperze CNC a CAS obsahující příslušné množství částic byly předem smíchány v poměru 1:1 (v objemu 4 ml) a přidány k oleji. Poté následovala sonikace po dobu 60 sekund. Spolu s CNC disperzí byl do systému přidán i elektrolyt (NaCl nebo CaCl₂).

Cesta 2 (R2): nejprve byla sonikací po dobu 60 s připravena primární emulze stabilizovaná CAS obsahující 40 %hm. oleje. Poté byla k této primární emulzi přidána CNC disperze tak, aby výsledná emulze obsahovala 20 %hm. oleje, která byla navíc homogenizována sonikací po dobu 20 s. Spolu s CNC disperzí byl do systému přidán i elektrolyt (NaCl nebo CaCl₂).

Cesta 3 (R3): nejprve byla sonikací po dobu 60 s připravena primární emulze stabilizovaná CNC obsahující 40 %hm. oleje. Poté byla k této primární emulzi přidána CAS disperze tak, aby výsledná emulze obsahovala 20 %hm. oleje, která byla navíc sonikována po dobu 20 s. Spolu s CNC disperzí byl do systému přidán i elektrolyt (NaCl nebo CaCl₂).

Všechny takto připravené emulze byly dále charakterizovány metodami jako měření velikosti a distribuce emulzních kapek, mikroskopií a byly u nich stanovena dlouhodobá stabilita po skladování v laboratorních podmínkách.

7.4.2 Měření velikosti a distribuce emulzních kapek

Přístroj Mastersizer 3000 využívá pro měření distribuce a velikosti kapek techniku laserové difrakce, známé také jako statický rozptyl světla, která je vhodná pro stanovení velikosti částic od desítek nanometrů až po několik milimetrů [80; 81; 82, str. 23].

Principem metody je detekce vytvořeného difrakčního obrazce odvozeného od ozáření částice. Velké částice rozptylují světlo pod malými a malé částice pod velkými úhly vzhledem k dopadajícímu paprsku. Přístroj následně měří intenzitu, úhel a vzdálenost vytvořených vln. Detektorem zaznamenaný údaj se analyzuje a je vypočítána velikost částic jako průměr koule ekvivalentní objemu. Technika vyžaduje znalost indexu lomu jak měřené složky, tak dispergačního činidla [83, str. 150-155].

Do průtočné měřicí cely přístroje byla připravena demineralizovaná voda, do níž byla, dle nastavených parametrů, dávkována měřená emulze do dosažení přístrojem požadované obskurance. Před dávkováním, byla emulze vždy homogenizována. Pro analýzu byly použity následující parametry: absorbance emulzních kapek = 0,001, index lomu = 1,421 a teplota měření na 25 °C. Výsledky velikosti kapek byly vyjádřeny jako D[4;3], což představuje objemově vážený průměr emulzních kapek v μm. Po změření

jednoho vzorku byla měřicí cela vždy pečlivě vymyta a naplněna opět vodou. Každý nadávkovaný vzorek byl přístrojem měřen třikrát a výsledky byly vyjádřeny jako průměrná hodnota $D[4;3]$.

7.4.3 Optická mikroskopie

Pozorování emulzí optickým mikroskopem ve velmi krátkém čase po jejich přípravě umožní získat představu o velikosti kapek, jejich morfologii a možné vzájemné agregaci. Metoda nese určitá omezení, jelikož spolehlivá dolní mez, pro přesné měření velikostí, je (v závislosti na uspořádání mikroskopu) $\sim 1,0$ mm. [4, str. 649]

K pozorování mikrostruktury emulzí byl použit optický mikroskop firmy Carl Zeiss s připojeným fotoaparátém Olympus. Jako software byl využit program Quick photo micro 3.1. Na mikroskopovací podložní sklíčko bylo nanášeno 10 μ l emulze a překryto krycím sklíčkem. Vzorek byl pozorován objektivem s 10 \times zvětšením a objektivem se 40 \times nebo 100 \times zvětšením.

7.4.4 Studium dlouhodobé stability emulzí

Připravené emulze byly po tři týdny ponechány v klidu při snížené teplotě (~ 5 °C). Následně byl jejich vzhled zhodnocen pomocí vizuálního pozorování. Emulze, které se nerozpadly na jednotlivé fáze, byly rovněž charakterizovány měřením velikosti a distribuce emulzních kapek na Mastersizeru 3000.

7.5 Příprava a charakterizace emulzních gelů

7.5.1 Příprava gelů

Připravené emulze byly přelity do 10ml zkumavek se šroubovacím uzávěrem a vloženy do centrifugy. Odstředování probíhalo na centrifuze EBA 20 (Hettich) při 6000 ot./min. po dobu tří minut. Po odstředění došlo ve zkumavce k oddělení husté vrstvy emulzních kapek (vrchní vrstva) a vodné fáze obsahující velmi malé množství kapiček s nejmenší velikostí, případně volné částice CAS nebo CNC. Vrchní část centrifugované emulze, bohatá na stabilizované olejové kapky, byla opatrně přenesena ze zkumavky na Petriho misku (pro stanovení množství uvolněného oleje) nebo do speciální

teflonové formy umístěné na Petriho misce (pro následné zjišťování viskoelastických vlastností gelů). Z takto připravené emulzní vrstvy vznikl vysušením při laboratorní teplotě oleogel.

7.5.2 Stanovení množství uvolněného oleje a sušení

Množství uvolněného oleje bylo stanoveno ve dvou krocích.

1) Množství nezaenkapsulovaného oleje, uvolněného z emulzí po jejich centrifugaci, bylo provedeno odsátím oleje z povrchu centrifugovaných emulzí pomocí mikrostříkačky. Na stupnici mikrostříkačky byl pak odečten jeho objem, který byl následně přepočítán na hmotnost. Pro přepočet byla použita obecná hodnota hustoty olivového oleje $910 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$ [84] a hexadekanu dle údajů od výrobce $770 \text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$.

2) Množství oleje uvolněného při sušení emulzní vrstvy za vzniku oleogelu bylo stanoveno vážením gelu pomocí analytických vah před a po jeho vysušení.

7.5.3 Stanovení viskoelastických vlastností gelů

Reologické vlastnosti gelů se mohou pohybovat od viskoelastických až po elastické. Konkrétní vlastnosti gelů ale závisí na povaze biopolymerů (polysacharid, protein), které tyto gely obsahují. Jelikož jsou ale hlavní stabilizační interakce založeny na elektrostatických silách, jsou důležitými proměnnými pH, iontová síla a poměr mezi množstvím polysacharidu a proteinu. Elektrolyty, jako NaCl při nižších koncentracích, pomáhají zvyšovat tvorbu komplexů a tím zvyšovat pevnost gelů [43, str. 66, 67].

Reologická charakterizace gelů byla provedena na reometru PHYSICA-502 s konfigurací dvou paralelních desek. Aby se zabránilo skluzu vzorku v geometrii přístroje, byly plochy obou paralelních desek potaženy tenkou vrstvou brusného papíru. Průměr vzorku gelu byl zvolen $\sim 1 \text{ cm}$. Oblast lineární viskoelastické odezvy (γ) byla nastavena na 1 %. Pomocí reometru byl měřen elastický modul (G') a ztrátový modul (G'') jako funkce úhlové frekvence, která se postupně měnila od $100 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$ do $0,1 \text{ rad}\cdot\text{s}^{-1}$. Teplota při měření byla nastavena nejprve na počátečních $25 \text{ }^\circ\text{C}$ a posléze byla zvýšena na $35 \text{ }^\circ\text{C}$.

7.5.4 Test redispergovatelnosti gelů

Do vialek bylo naváženo 0,2 g oleogelu, ke kterému bylo přidáno 0,8 ml demineralizované vody s nativním nebo upraveným pH. Objem vody byl nastaven tak, aby byl zachován původní emulzní poměr olej/voda 20/80. Následně byly vzorky homogenizovány pomocí míchadla Vortex po dobu 30 sekund. Oleogely byly ponechány botnat po dobu 42-72 hodin a následně byly pozorovány jak vizuálně, tak pomocí mikroskopu CX41 (Olympus) jako v bodě 7.4.3.

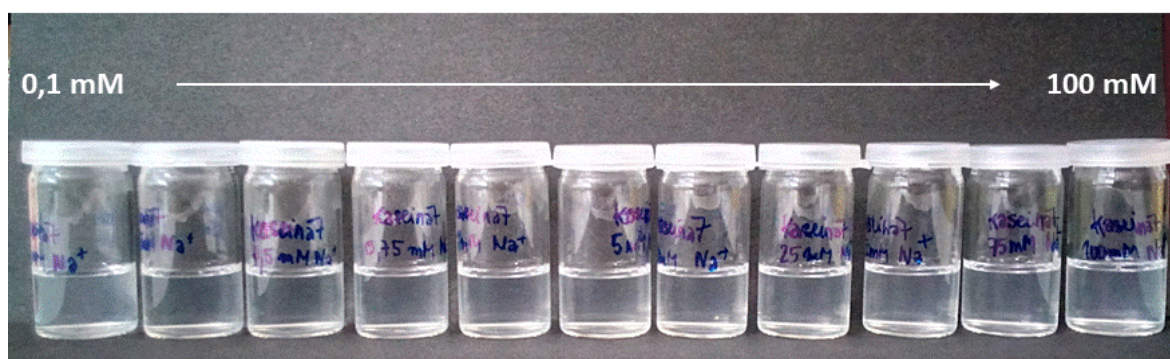
8 VÝSLEDKY A DISKUZE

V následující části práce jsou uvedeny výsledky praktické části diplomové práce a následně jsou diskutovány.

8.1 Příprava a charakterizace CAS a CNC disperzí

8.1.1 Vizuální hodnocení CNC a CAS disperzí v prostředí o různé iontové síle a pH

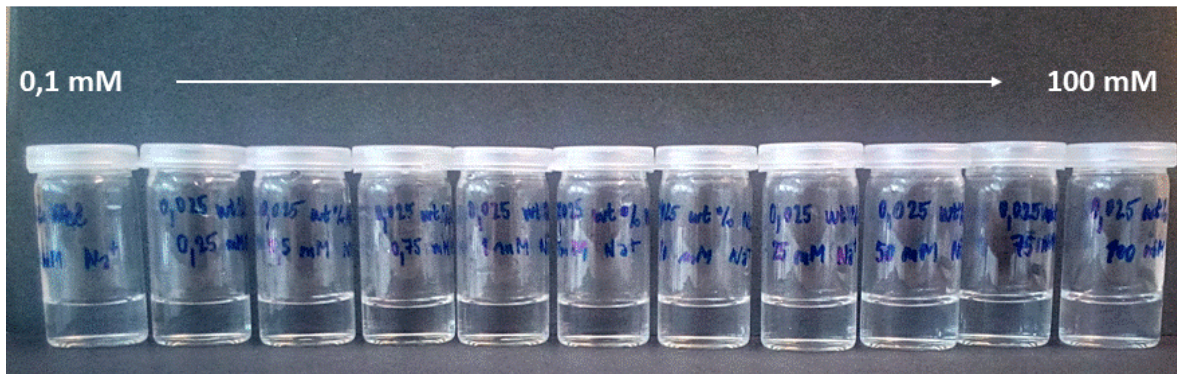
Příprava samotných disperzí byla jednoduchá a velmi rychlá. Sledován byl u nich jednak vliv vybraného elektrolytu, jeho koncentrace a také vliv pH na chování dispergovaných částic. Optickým pozorováním byly mezi disperzemi s obsahem Na^+ a Ca^{2+} iontů pozorovány rozdíly v koncentracích, při kterých se objevil zákal. U disperzí s obsahem Na^+ iontů byl zákal výrazně menší (Obrázek č. 6 a 8) a projevoval se u vyšších koncentrací soli, než tomu bylo v případě iontů Ca^{2+} (Obrázek č. 7 a 9). Se zvyšující se koncentrací elektrolytu pak logicky docházelo ke zvyšování zákalu (jak dokazuje i měření turbidimetrie 8.1.3)



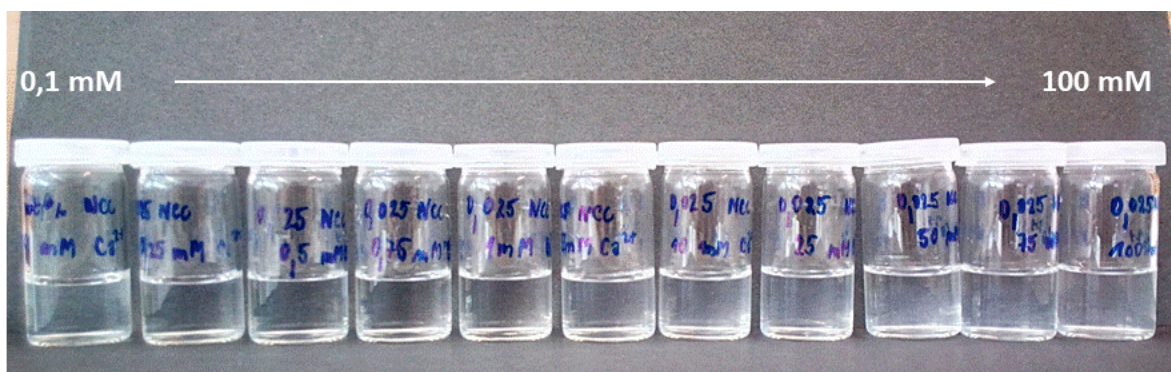
Obrázek č. 6: Disperze CAS 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu NaCl



Obrázek č. 7: Disperze CAS 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu CaCl_2



Obrázek č. 8: Disperze CNC 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu NaCl



Obrázek č. 9: Disperze CNC 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu CaCl₂

Při sledování vlivu pH nebyly u disperze CNC pozorovány téměř žádné změny v míře zákalu (řada vypadala podobně jako na Obrázku č. 8). Naopak u disperze CAS byly změny razantní a byla tak potvrzena jeho citlivost na změnu pH (Obrázek č. 10). Při nízkých hodnotách a hodnotách neutrálních byly disperze čiré a nezakalené. Naproti tomu v disperzních médiích o pH blízcích se k izoelektrickému bodu kaseinu (konkrétně pH 3,5; 5 a 5,5) se roztok viditelně zakalil, ovšem stále bez přítomnosti okem viditelných agregátů. Ty se ve velkém množství vytvořily při pH 4 a 4,5, což je pH hodnota izoelektrického bodu CAS, která je ~ 4,6 pH. [85, str. 164; 86, str. 781]



Obrázek č. 10: Vliv rostoucí hodnoty pH na tvorbu agregátů u disperze CAS 0,1 %hm

8.1.2 Vliv elektrolytu a pH disperzní fáze na velikost stabilizujících částic

8.1.2.1 Vliv elektrolytu na velikost částic CNC a CAS

Použité soli, NaCl a CaCl₂, disociují ve vodném prostředí na ionty. Ionty následně dokáží interagovat s nabitým povrchem koloidních částic a ovlivňovat tak jejich velikost v roztoku. Velikost stabilizujících částic byla měřena u disperzí CAS i CNC o koncentraci 0,025 %hm. Jak je z výsledků v Tabulce č. 6 patrné, tak oba typy elektrolytu u disperze CAS nejprve způsobily pokles velikosti částic, a to ve velmi úzkém rozmezí koncentrací (od 0,1–1,0 mM soli). Při dalším zvýšení obsahu soli v roztoku dále nastává pomalé zvětšování velikosti, nicméně ani při námi zvolené nejvyšší koncentraci elektrolytu, tj. 100 mM soli, nedojde ke zpětnému zvětšení velikosti částic na prvotní hodnotu, tj. bez elektrolytu.

Tabulka č. 6: Velikost částic disperze CAS 0,025 %hm. v přítomnosti rostoucí koncentrace elektrolytů (SD – směrodatná odchylka)

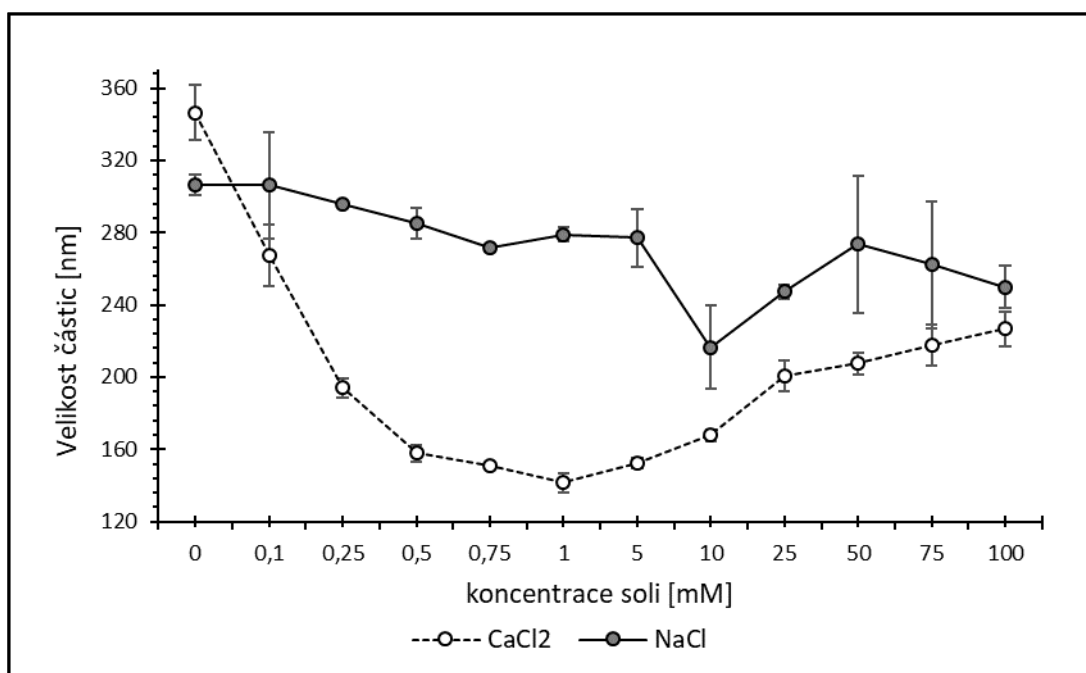
c soli [mM]	CaCl ₂		NaCl	
	Velikost [nm]	SD [nm]	Velikost [nm]	SD [nm]
0	347	15	307	6
0,10	267	17	306	29
0,25	194	6	296	0
0,50	158	5	285	9
0,75	151	1	271	2
1,0	142	5	279	4
5,0	153	3	277	16
10	168	3	216	23
25	200	9	247	4
50	208	6	274	38
75	218	11	262	35
100	227	9	250	12

Disperze CNC, o stejné koncentraci částic, se v přítomnosti elektrolytů chová docela jinak. Nejnižší koncentrace elektrolytu sice způsobila pokles velikosti disperzních částic, oproti CAS byl ovšem mírnější. Se zvyšující se koncentrací elektrolytu se dále velikost částic postupně zvyšovala, až dosáhla desetinásobku své původní velikosti. Při nejvyšších

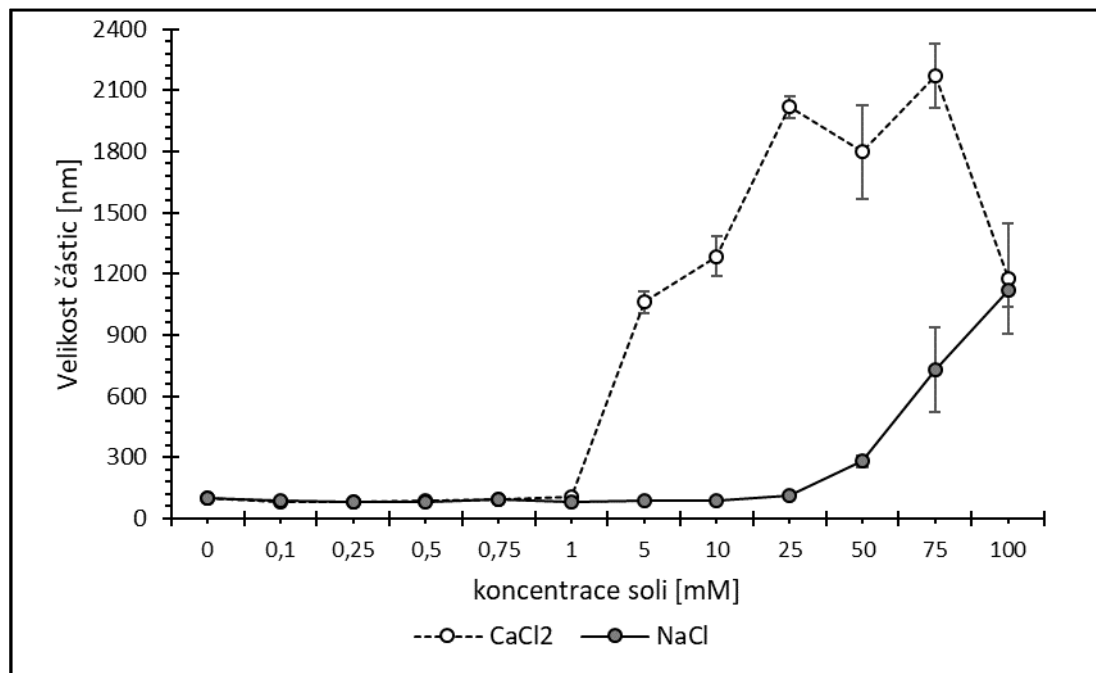
koncentracích solí se tedy tvořily u roztoků CNC obrovské částice, až agregáty. Vliv použitých elektrolytů na velikost disperzních částic je uveden také na Obrázcích č. 11 a 12.

Tabulka č. 7: Velikost částic disperze CNC 0,025 %hm. v přítomnosti rostoucí koncentrace elektrolytů

c soli [mM]	CaCl ₂		NaCl	
	Velikost [nm]	SD [nm]	Velikost [nm]	SD [nm]
0	97	2	101	3
0,10	80	2	87	2
0,25	81	1	82	2
0,50	87	2	83	2
0,75	95	3	92	4
1,0	108	3	84	1
5,0	1060	51	85	1
10	1286	96	88	2
25	2018	55	116	2
50	1797	231	280	31
75	2172	157	729	206
100	1176	268	1118	79



Obrázek č. 11: Vliv iontové síly na velikost částic stanovený pro disperzi CAS 0,025 %hm.



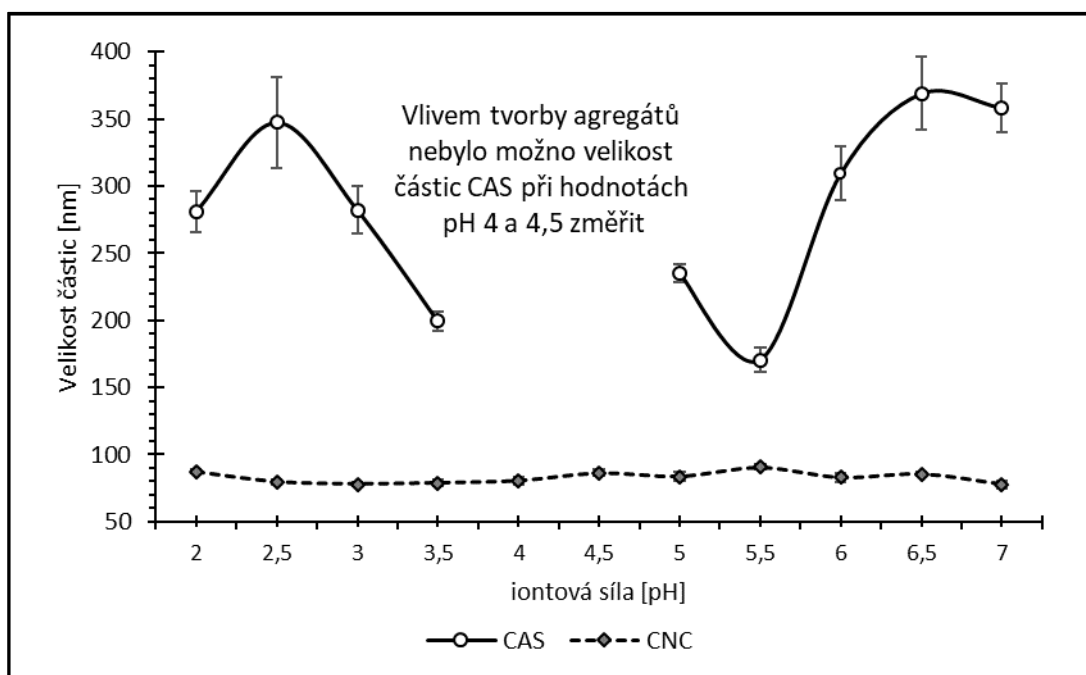
Obrázek č. 12: Vliv iontové síly na velikost částic stanovený pro disperzi CNC 0,025 %hm.

Vliv pH na velikost částic CNC a CAS

Vliv pH disperzního prostředí, jak je patrné z Tabulky č. 8, se u obou typů disperzí projevuje rozdílně. U disperze CNC, lze ve studovaném rozsahu pH, pozorovat pouze malé změny velikosti částic. Naproti tomu chování disperze CAS je změnou pH ovlivněno významně. Od krajních hodnot, směrem k izoelektrickému bodu kaseinátu, a to ~ pH 4,5, se velikost částic spíše zmenšuje, nicméně při hodnotách pH 4 a 4,5 nastává v chování zlom a tvoří se i okem viditelné agregáty (Obrázek č. 10). V těchto bodech tudíž nemohla být velikost částic změřena (Obrázek č. 13). Tímto měřením bylo zjištěno a zároveň potvrzeno, že CNC je na pH prostředí velmi málo citlivá, a naopak u CAS je to klíčový faktor, který ovlivňuje agregaci částic. Z literatury je známo, že přítomnost divalentních iontů, konkrétně Ca^{2+} ovlivňuje agregaci CAS, jelikož se váže na kasein, tím se snižuje náboj na povrchu částic a dochází tak k jejich agregaci [87, str. 54]. Uvedená skutečnost byla jednoznačně potvrzena i v této diplomové práci.

Tabulka č. 8: Velikost částic disperzí CNC a CAS stanovená v prostředí s různým pH

pH	0,025 %hm. CNC		0,1 %hm. CAS	
	Velikost [nm]	SD [nm]	Velikost [nm]	SD [nm]
2,0	88	1	281	16
2,5	80	2	347	34
3,0	78	1	282	17
3,5	79	3	199	7
4,0	80	3	Agregáty	
4,5	86	2	Agregáty	
5,0	84	3	235	6
5,5	91	2	171	9
6,0	83	4	310	20
6,5	86	2	369	27
7,0	78	3	358	18



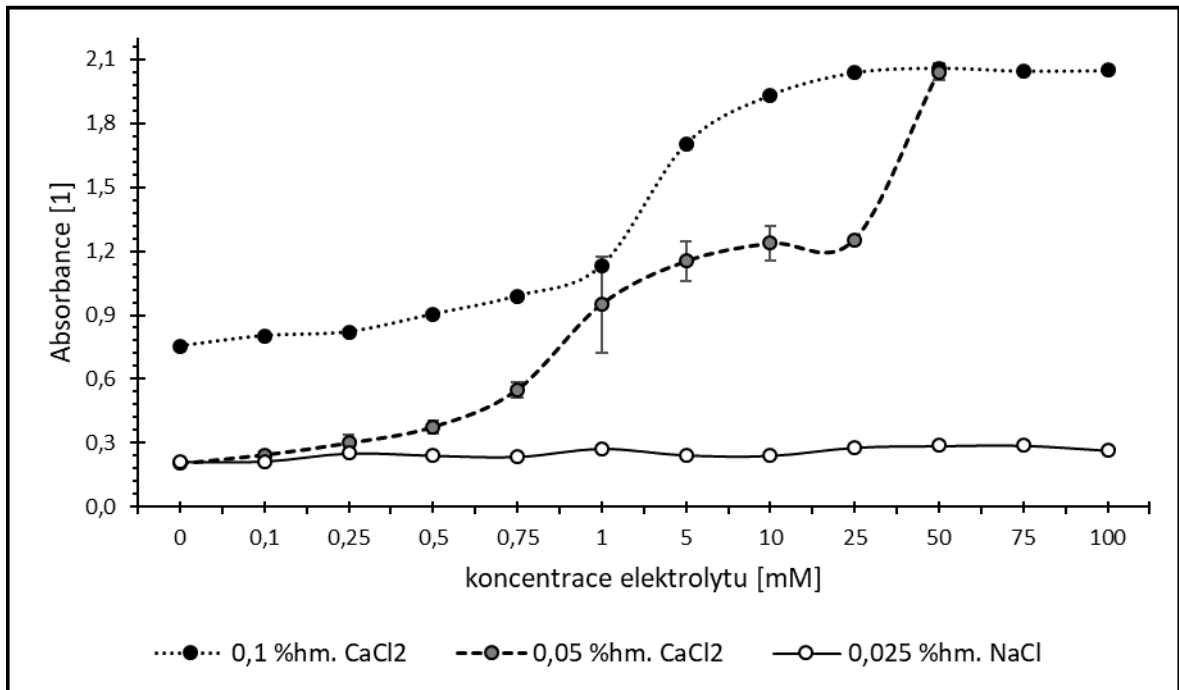
Obrázek č. 13: Vliv rostoucího pH prostředí na velikost částic stanovený pro disperzi CNC 0,025 %hm. a CAS 0,1 %hm.

8.1.3 Stanovení agregace částic: UV-VIS Spektroskopie

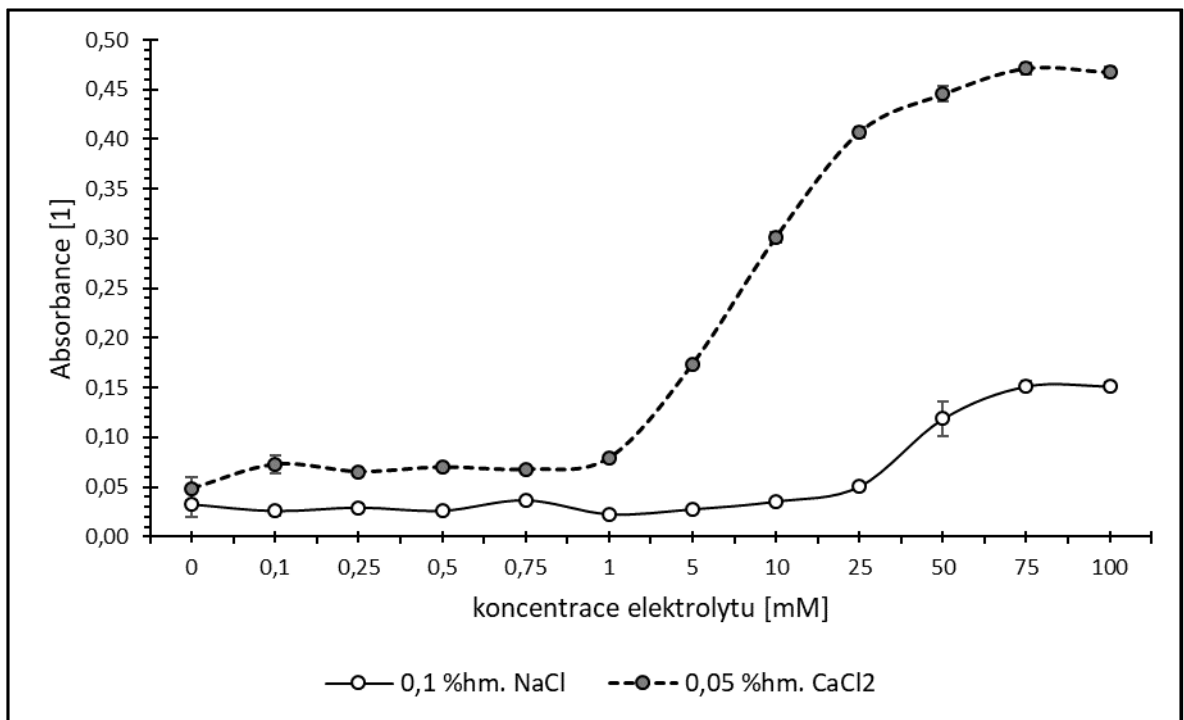
Další možností, jak sledovat vliv elektrolytu na agregaci částic CNC a CAS, je měření zákalu pomocí UV-VIS spektroskopie, resp. turbidimetrie. Z výsledků uvedených v Tabulce č. 9 a na Obrázcích č. 14 a 15 je zřejmé, že s rostoucí koncentrací elektrolytů se postupně zvyšovala agregace CNC i CAS, což se projevilo i zvýšením zákalu disperzí. Mezi hlavní pozorované rozdíly patří míra zákalu, kdy s použitím CaCl_2 jsou disperze více zakaleny než v přítomnosti NaCl . Důvodem je náboj kationtů Na^+ nebo Ca^{2+} , kdy dvojmocné kationty způsobují intenzivnější zákal (tvorbu agregátů) při nižší koncentraci. U vzorků s CaCl_2 navíc můžeme zaznamenat jistý zlomový bod, v jehož okamžiku roste hodnota absorbance skokem. Ionty vápníku, které se vážou na kaseinát, mohou při vysokých koncentracích způsobit jeho precipitaci (oddělení, srážení). Zvyšuje se tím heterogenita roztoku s přítomným CaCl_2 [87, str. 54; 88, str. 326].

Tabulka č. 9: Absorbance disperzí CAS a CNC v přítomnosti studovaných elektrolytů stanovená při vlnové délce 285 nm

c [mM] elektro- lytu	CAS						CNC			
	c disperze [%hm.]						c disperze [%hm.]			
	0,100		0,050		0,025		0,10		0,05	
	CaCl ₂	SD	CaCl ₂	SD	NaCl	SD	NaCl	SD	CaCl ₂	SD
0	0,75	0,001	–	–	0,21	0,001	0,03	0,013	0,05	0,013
0,10	0,80	0,004	0,21	0,01	0,21	0,001	0,03	0,004	0,07	0,004
0,25	0,82	0,010	0,25	0,04	0,25	0,008	0,03	0,004	0,07	0,004
0,50	0,90	0,004	0,30	0,03	0,24	0,009	0,03	0,002	0,07	0,002
0,75	0,99	0,005	0,38	0,04	0,24	0,009	0,04	0,002	0,07	0,002
1	1,13	0,006	0,55	0,23	0,28	0,001	0,02	0,003	0,08	0,003
5	1,70	0,001	0,95	0,10	0,24	0,005	0,03	0,003	0,17	0,003
10	1,93	0,006	1,15	0,08	0,24	0,002	0,04	0,002	0,30	0,002
25	2,04	0,004	1,24	0,01	0,28	0,009	0,05	0,003	0,41	0,003
50	2,06	0,007	1,25	0,04	0,29	0,010	0,12	0,017	0,45	0,017
75	2,05	0,006	2,04	0,00	0,29	0,006	0,15	0,005	0,47	0,005
100	2,05	0,009	–	–	0,27	0,005	0,15	0,003	0,46	0,003



Obrázek č. 14: Absorbance disperzí CAS o různé koncentraci částic v přítomnosti CaCl₂ nebo NaCl. Změna absorbance s rostoucí koncentrací elektrolytů



Obrázek č. 15: Absorbance disperzí CNC o různé koncentraci částic v přítomnosti CaCl₂ nebo NaCl. Změna absorbance s rostoucí koncentrací elektrolytů

8.1.4 Zeta-potenciál

Prostřednictvím měření zeta-potenciálu bylo sledováno chování částic CNC a CAS v závislosti na vlivu koncentrace a typů iontů přítomných v disperzním médiu. U disperze 0,1 %hm. CAS bylo pozorováno, že zeta-potenciál roste spolu s rostoucím obsahem Na^+ i Ca^{2+} iontů v roztoku (Tabulka č. 10). Rozdíl mezi oběma použitými elektrolyty je ale významný. S rostoucí koncentrací NaCl zeta-potenciál roste, a pro disperzi s koncentrací 100 mM dosahuje hodnoty $-17,2 \pm 0,5$ mV, ne však tak prudce, jako v případě přítomnosti CaCl_2 , kde je pro stejnou koncentraci soli jeho hodnota $-3,8 \pm 1,3$ mV. V obou případech, můžeme při koncentraci 5 mM soli, pozorovat zlom a nárůst zeta-potenciálu je dále více pozvolný.

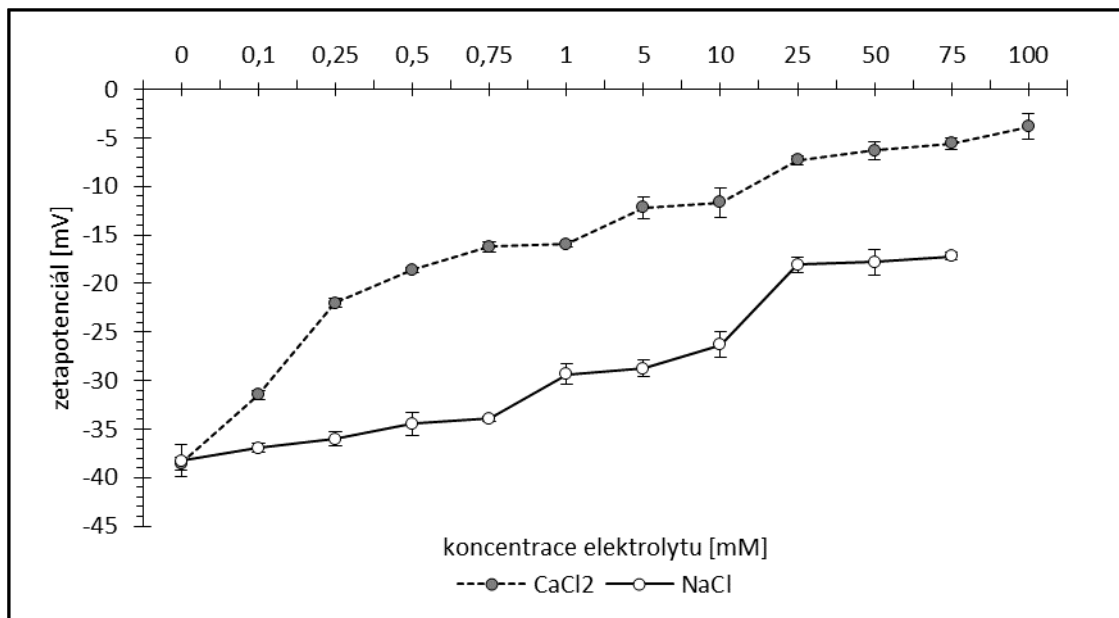
Podobný průběh pozorujeme u 0,025 %hm. disperze CNC, kde přítomnost CaCl_2 taktéž způsobuje prudší nárůst zeta-potenciálu (Tabulka č. 11). Původní hodnoty jsou nicméně průměrně nižší, což je dáno samotnou povahou disperzních částic. Taktéž pozorujeme zlomový bod, při kterém se zvolní nárůst zeta-potenciálu, a to při koncentraci ~ 1 mM soli v roztoku.

Tabulka č. 10: Zeta-potenciál roztoku CAS o koncentraci 0,1 %hm. v přítomnosti použitých elektrolytů

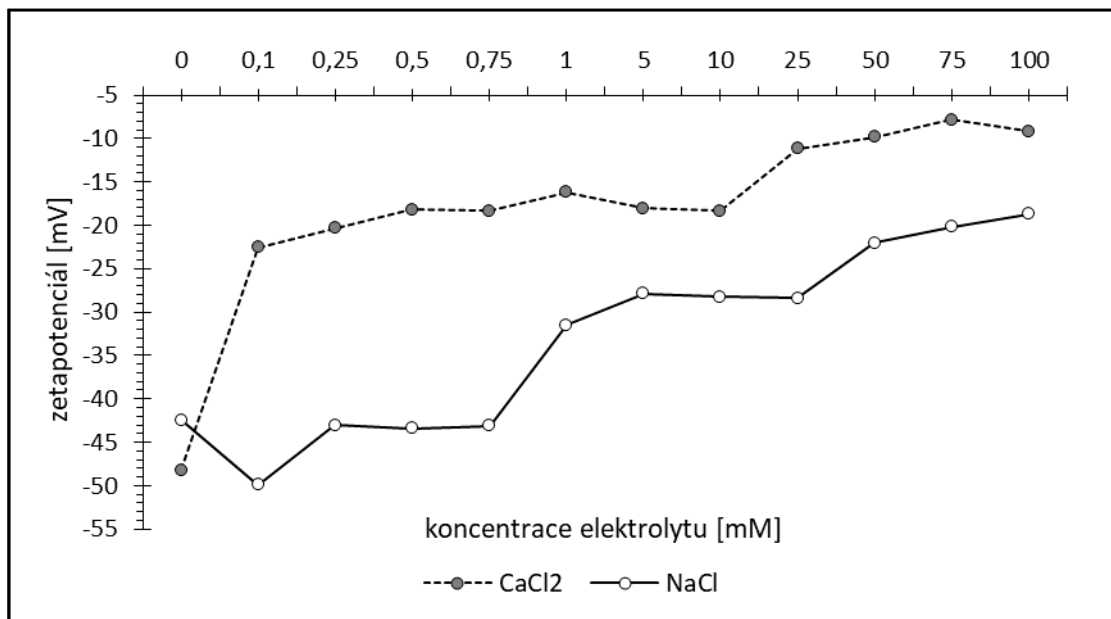
c soli [mM]	CaCl ₂		NaCl	
	Zeta-potenciál [mV]	SD [mV]	Zeta-potenciál [mV]	SD [mV]
0	-38,5	0,7	-38,5	0,7
0,10	-31,5	0,5	-38,3	1,7
0,25	-22,0	0,5	-36,9	0,5
0,50	-18,6	0,3	-36,0	0,8
0,75	-16,2	0,6	-34,5	1,2
1,0	-16,0	0,4	-33,9	0,3
5,0	-12,2	1,1	-29,3	1,0
10	-11,7	1,5	-28,8	0,9
25	-7,3	0,5	-26,3	1,3
50	-6,3	1,0	-18,1	0,9
75	-5,6	0,6	-17,8	1,3
100	-3,8	1,3	-17,2	0,5

Tabulka č. 11 Zeta-potenciál disperze CNC o koncentraci 0,025 %hm. v přítomnosti použitých elektrolytů

c soli [mM]	CaCl ₂		NaCl	
	Zeta-potenciál [mV]	SD [mV]	Zeta-potenciál [mV]	SD [mV]
0	-48,20	1,8	-42,47	3,0
0,10	-22,57	1,4	-49,90	3,3
0,25	-20,33	1,3	-43,03	3,0
0,50	-18,17	1,0	-43,43	0,8
0,75	-18,37	0,9	-43,10	1,8
1,0	-16,20	0,5	-31,53	4,1
5,0	-18,07	0,8	-27,87	0,9
10	-18,33	3,0	-28,27	0,5
25	-11,17	1,0	-28,40	2,3
50	-9,83	0,8	-22,03	0,5
75	-7,87	0,6	-20,17	1,1
100	-9,15	0,7	-18,70	1,6



Obrázek č. 16: Změna zeta-potenciálu disperze CAS 0,1 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytů



Obrázek č. 17: Změna zeta-potenciálu disperze CNC 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytů

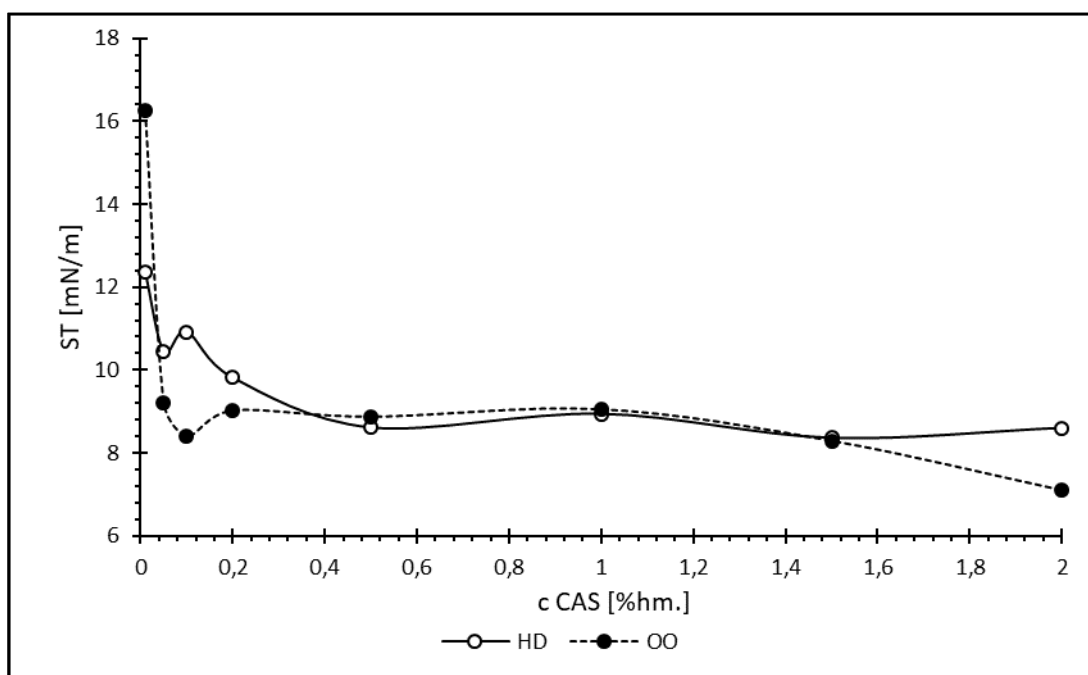
8.1.5 Mezipovrchové napětí

Jelikož CAS a CNC vykazují určitou povrchovou aktivitu, bylo rovněž studováno, jaký budou mít jejich disperze vliv na mezipovrchové napětí na fázovém rozhraní s přítomnou olejovou fází, kterou představovaly hexadekan a olivový olej. Výsledky z měření mezipovrchového napětí jsou uvedeny na Obrázku č. 18, 19 a v Tabulce č. 12, 13.

U disperze CAS (Obrázek č. 18) lze pozorovat, že již i nižší koncentrace částic významně snižuje měřené mezipovrchové napětí a udržuje jej nízké s hodnotou v blízkosti 9 mN/m. Na počátku, při nejnižší koncentraci částic (<0,2 %hm.) je mezi hodnotami mezipovrchového napětí patrný rozdíl (hexadekan $12,4 \pm 0,1$ mN/m a olivový olej $16,3 \pm 0,1$ mN/m) a to i díky tomu že povrchové napětí hexadekanu je nižší, než povrchové napětí olivového oleje (hexadekan 28 mN/m [89, str. 1443], olivový olej 33 mN/m [90, str. 584] při 25 °C). Nicméně, i přes to je nakonec mezipovrchové napětí v přítomnosti obou olejů sníženo na téměř stejnou hodnotu.

Tabulka č. 12: Hodnoty mezipovrchového napětí disperzí CAS s oleji

CAS				
c CAS [%hm.]	hexadekan		olivový olej	
	ST [mN/m]	SD	ST [mN/m]	SD
0,01	12,35	0,06	16,25	0,07
0,05	10,45	0,01	9,22	0,02
0,1	10,92	0,03	8,39	0,02
0,2	9,81	0,02	9,02	0,01
0,5	8,61	0,01	8,87	0,02
1,0	8,94	0,01	9,05	0,02
1,5	8,36	0,01	8,29	0,02
2,0	8,60	0,02	7,10	0,02



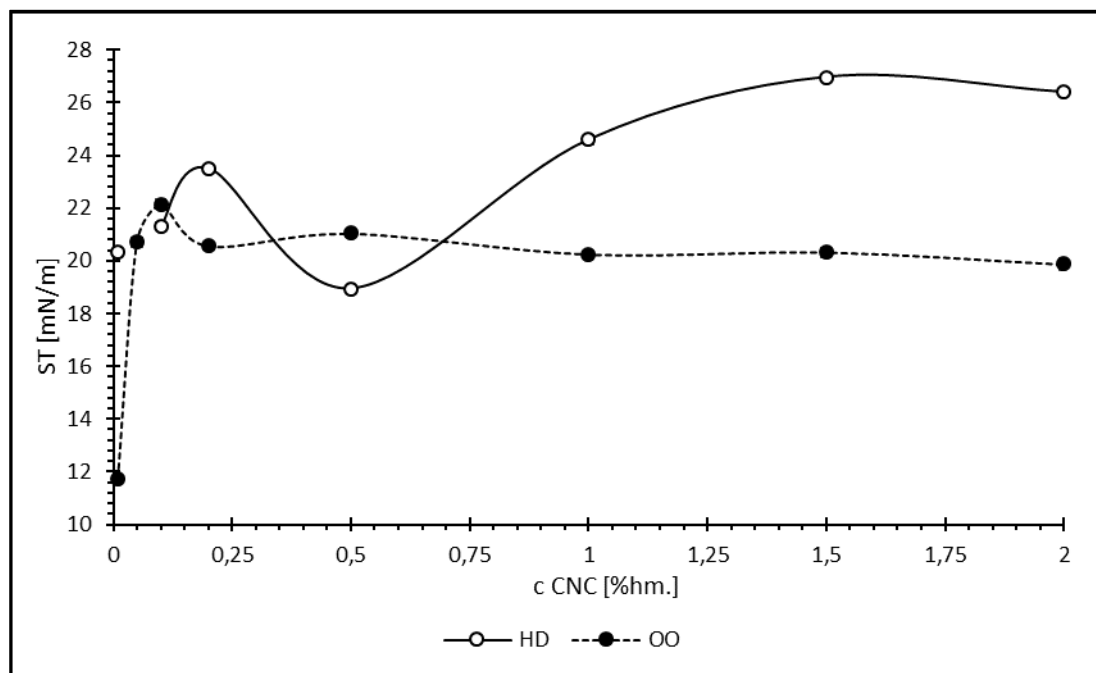
Obrázek č. 18: Mezipovrchové napětí hexadekanu a olivového oleje s rostoucí koncentrací disperze CAS

Jak bylo řečeno výše, CNC sice vykazuje jistou povrchovou aktivitu, je ale výrazně menší než u CAS. To potvrzují i výsledky měření mezipovrchového napětí (Obrázek č. 17) Z průběhu měření v přítomnosti hexadekanu je zřejmé, že mezipovrchové napětí s koncentrací CNC nejprve kolísá, ale při koncentracích nad 1 % se již výrazně nemění. Naproti tomu stanovení s olivovým olejem vykazuje, po počátečním zvýšení ST, konstantní hodnoty (koncentrace nad 0,05 %hm. CNC).

Pozitivním závěrem jistě je, že ani v jednom případě nepřekročí mezipovrchové napětí hodnotu povrchového napětí samotných olejových fází.

Tabulka č. 13: Hodnoty mezipovrchového napětí disperzí CNC s oleji

c CNC [%hm.]	CNC			
	Hexadekan		Olivový olej	
	ST [mN/m]	chyba	ST [mN/m]	chyba
0,01	20,4	0,1	11,73	0,1
0,05	-	0,1	20,70	0,2
0,1	21,3	0,1	22,14	0,2
0,2	23,5	0,1	20,57	0,1
0,5	18,9	0,1	21,04	0,1
1,0	24,6	0,2	20,25	0,1
1,5	27,0	0,1	20,33	0,2
2,0	26,4	0,1	19,87	0,2

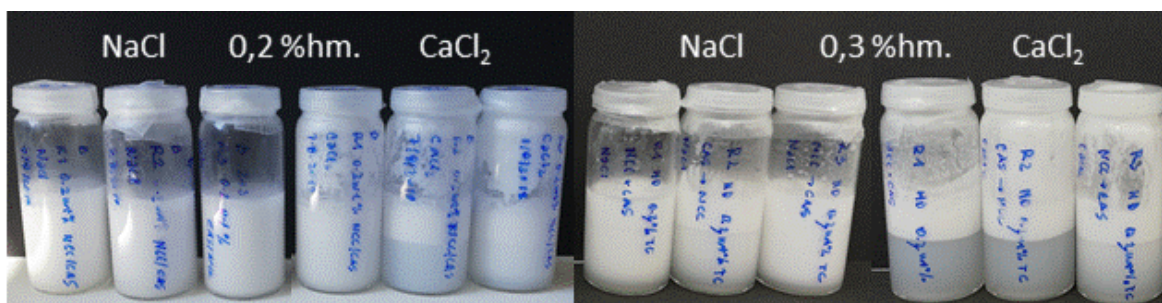


Obrázek č. 19: Mezipovrchové napětí hexadekanu a olivového oleje s rostoucí koncentrací disperze CNC

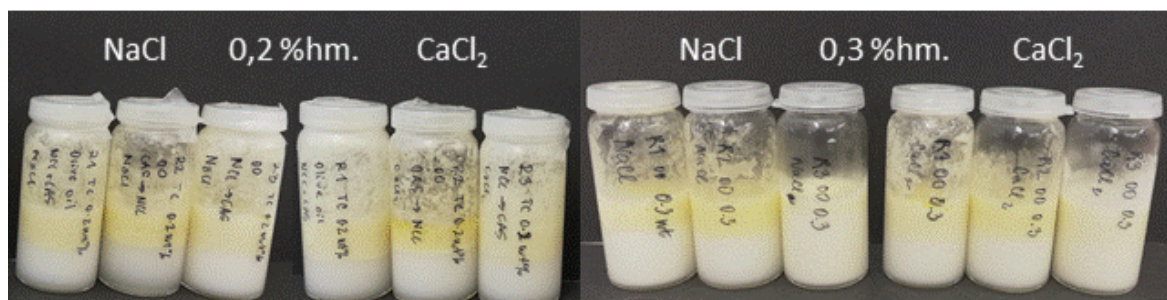
8.2 Příprava a charakterizace emulzí

8.2.1 Příprava emulzí

Příprava emulzí je podrobně popsána v bodě 7.4.1. Pro sonikaci byla na základě předběžných studií zvolena 60% amplituda, jelikož při ní emulze měla nejlepší vlastnosti. Při nižší 40% amplitudě bylo viditelné velké množství volného oleje, který nebyl enkapsulován do emulzních kapek. Při 100% amplitudě nebyl uvolněný olej pozorován, avšak v malém připravovaném množství emulze vysoký výkon způsoboval její přehřívání a takto vysoká teplota nebyla, vzhledem k možné degradaci oleje, žádoucí. Na Obrázcích č. 20 a 21 lze sledovat změny vzhledu emulzí způsobené rozdílem množství použitých stabilizujících částic, rozdílem použitého elektrolytu a rozdílnou cestou přípravy.



Obrázek č. 20: Porovnání vzhledu emulzí s hexadekanem. Zleva do prava vždy R1, R2, R3.

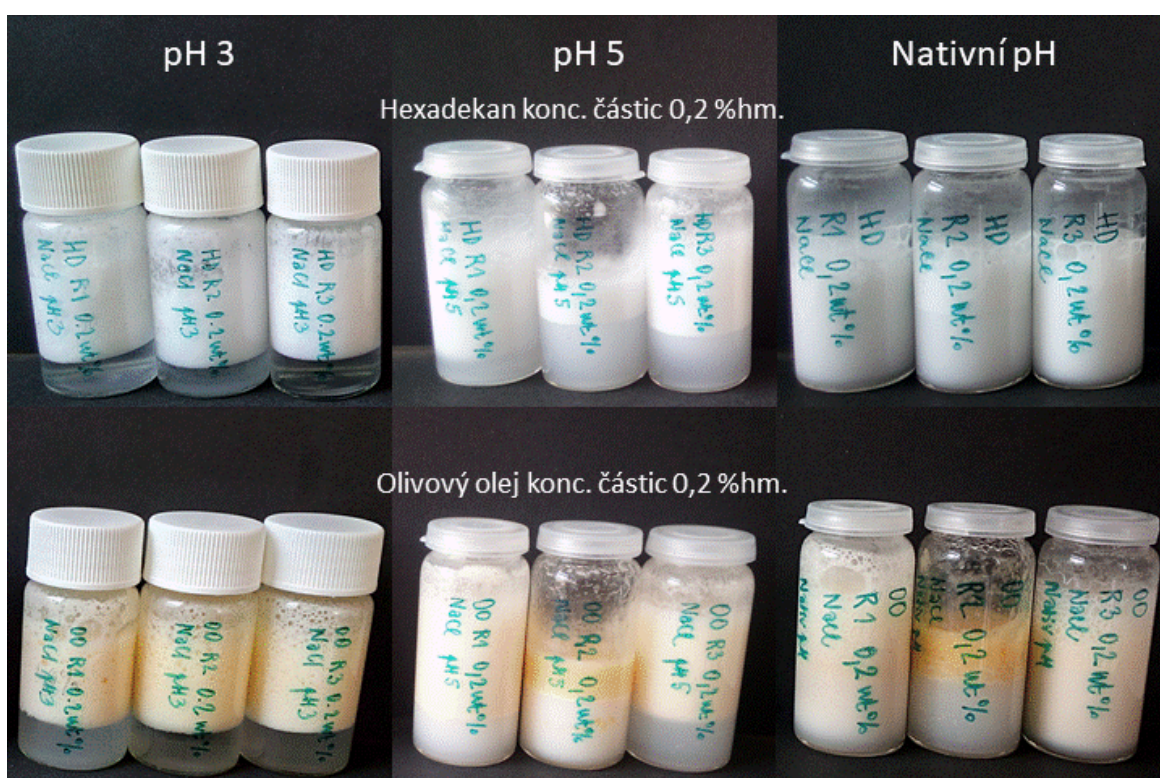


Obrázek č. 21: Porovnání vzhledu emulzí s olivovým olejem. Zleva do prava vždy R1, R2, R3

Emulze s HD jsou viditelně rozdílné, porovnáme-li množství částic v emulzi. S obsahem 0,2 %hm. působí emulze krémověji, je více homogenní a mnohem méně dochází k samovolnému oddělování nadbytečné vodné fáze. S obsahem částic 0,3 %hm. byly emulze tužší s gelovitým charakterem, méně homogenní strukturou a viditelněji se oddělovala spodní vodná fáze. Budeme-li hovořit o použité soli, byly emulze s NaCl vždy jemnějšího

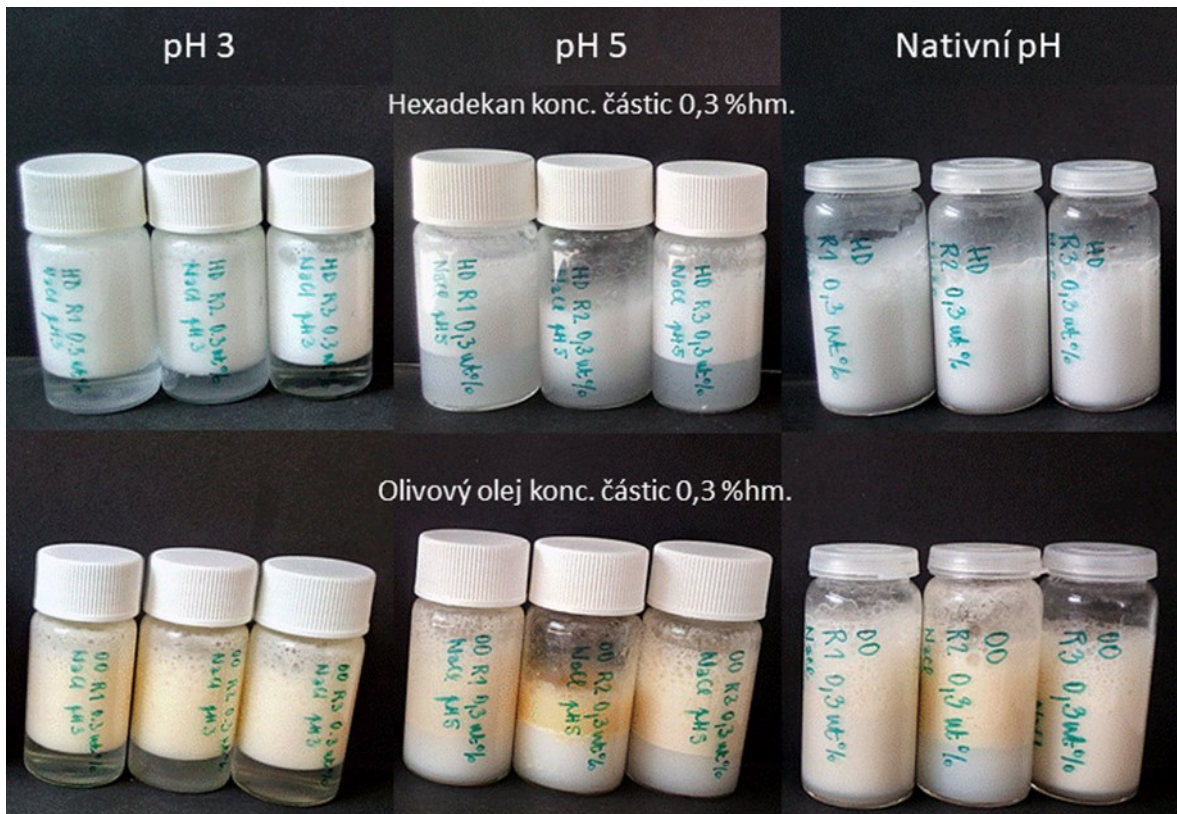
charakteru a více homogenní v porovnání s CaCl_2 . Na pohled můžeme soudit, že vliv cesty přípravy se projevoval méně, než tomu bylo u emulzí s OO.

Olivový olej je oproti hexadekanu hustější a díky mnohým přítomným přírodním látkám se chová odlišně než hexadekan. Například množství nezaenkapsulovaného oleje bylo v porovnání s hexadekanem minimální. Emulze celkově jevily krémovější charakter, byly hustější a více „našlehané“. Toto pozorujeme hlavně u emulzí připravených cestou R3. Vodná fáze se pak nejvíce oddělovala v případech emulzí z cesty R2. Současně byly tyto emulze nejméně homogenní a působily mastně.

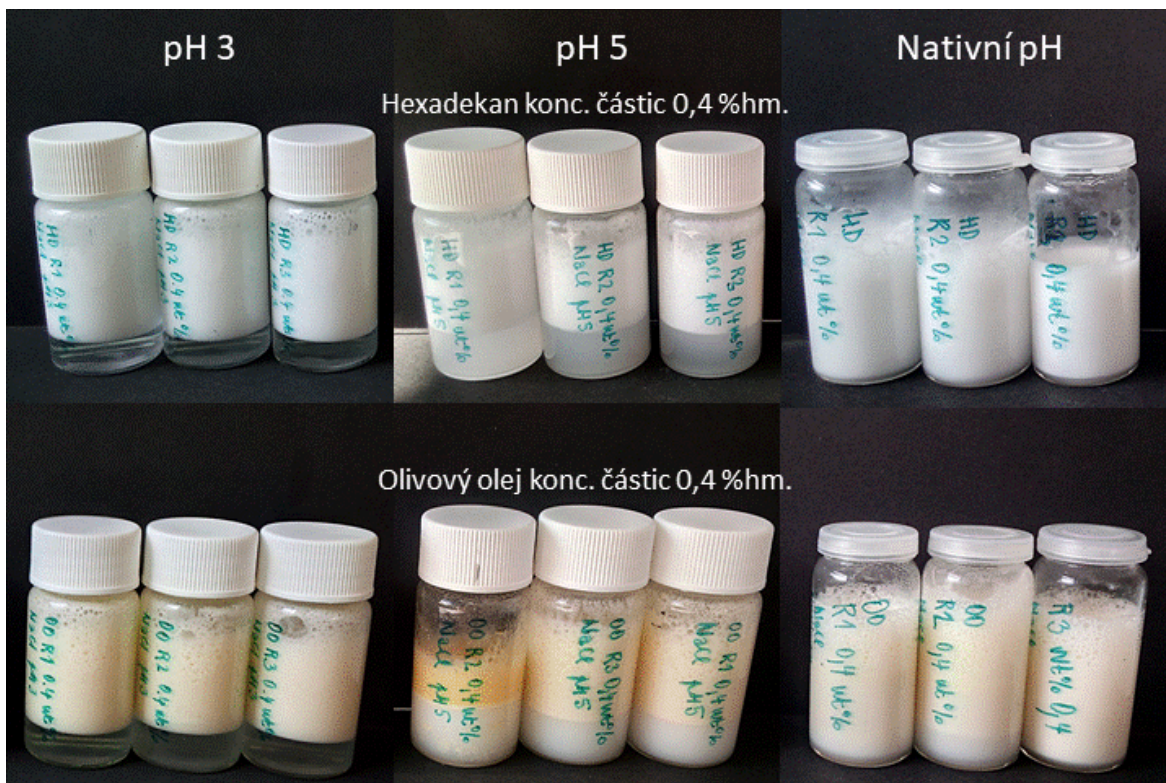


Obrázek č. 22: Vizuální porovnání emulzí hexadekanu a olivového oleje s koncentrací částic 0,2 %hm. a různým pH

Následně byly připravovány i emulze s odlišným pH prostředí. Pro porovnání jsou uvedeny obrázky emulzí s přirozeným (nativním) pH, s pH 5 a 3. Z Obrázků č. 22, 23 a 24 je jasně viditelný rozdíl vlivu pH. Jeho nízké hodnoty způsobí, že při emulgaci jsou do emulze zapracovány téměř všechny volné částice v roztoku, a proto je za prvé emulze velmi hustá a stálá a za druhé se oddělená spodní vodná vrstva jeví jako čirá. Při přirozeném pH disperzní fáze jsou emulze více homogenní, nedochází k takovému oddělení vodné vrstvy, celkově jsou ale řidší.



Obrázek č. 23: Vizuální porovnání emulzí hexadekanu a olivového oleje s koncentrací částic 0,3 %hm. a různým pH



Obrázek č. 24: Vizuální porovnání emulzí hexadekanu a olivového oleje s koncentrací částic 0,4 %hm. a různým pH

8.2.2 Měření velikosti a distribuce emulzních kapek

Pro posouzení kvality a stability vytvořených emulzí, je nejen důležité znát velikost emulzních kapek, která je stejně vždy jen průměrem, ale také jejich distribuci. Distribuce velikostí emulzních kapek umožní komplexnější posouzení velikostí kapek zastoupených v připravené emulzi.

Tabulka č. 14: Velikosti emulzních kapek v prostředí s přirozeným pH (první série) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí

Hexadekan											
Velikost kapek D[4,3] [μm]											
0,2 % hm.						0,3 %hm.					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
7,6	12,2	6,3	8,4	17,8	25,3	2,5	6,1	2,4	14,3	19,1	13,5
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
1,6	0,7	2,1	0,0	0,4	2,1	0,0	0,1	0,0	0,7	1,4	1,1
Olivový olej											
Velikost kapek D[4,3] [μm]											
0,2 % hm.						0,3 %hm.					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
28,6	30,5	40,6	28,7	27,1	37,2	36,4	46,6	15,1	52,8	50,7	30,3
±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±	±
4,6	1,7	3,6	2,2	1,1	6,1	1,4	3,0	0,5	2,1	3,2	2,0

V Tabulce č. 14 jsou shrnuty průměrné velikosti emulzních kapek jednotlivých emulzí vyjádřené jako D[4,3]. V tabulce lze vidět, že HD emulze tvoří systémy s průměrně menšími kapkami, než je tomu u emulzí s OO. Na tuto skutečnost má jistě vliv již dříve zmiňované povrchové napětí jednotlivých olejových fází, kdy olivový olej má povrchové napětí vyšší. Současne obsahuje, jako přírodní a nerafinovaný olej, řadu minoritních, v něm obsažených látek. Pozorován byl také vliv jak koncentrace částic, tak přítomného elektrolytu. Emulze s obsahem částic 0,3 %hm. měly menší emulzní kapky než emulze s 0,2 %hm. což je lépe patrné u HD emulzí než u OO. Jde-li o přítomný elektrolyt, je možno již z podstaty svých vlastností předpokládat, že CaCl₂ bude způsobovat vznik větších agregátů. S výjimkou emulze OO s 0,2 %hm. byl tento předpoklad splněn.

Nelze však zapomenout zmínit i vliv cesty přípravy emulzí. V případě emulzí s nativním pH převládají u HD emulzí největší emulzní kapky u cesty přípravy R2, nejmenší pak u R3. U emulzí s OO je situace odlišná, co se týká obsahu stabilizujících částic, přičemž v systémech s 0,2 %hm. částic jsou nejmenší emulzní kapky u cesty přípravy R1 a v systémech s 0,3 %hm. částic u cesty přípravy R3. Při cestě R2 je prvotně s olejem sonikována disperze CAS, u R1 jsou to obě disperze (CAS i CNC) současně a u R3 je prvotní disperzí CNC. To podle zjištění této práce bude mít klíčový vliv i na stabilitu a velikost emulzních kapek.

Následující studie zahrnovala porovnání chování emulzí připravených s různým pH disperzního prostředí. Za tímto účelem byly připraveny série emulzí s HD a OO za nativního pH ~ 7, pH 5 a pH 3 s použitím jen jednoho elektrolytu NaCl. Již podle fotografií (uvedených na Obrázcích č. 22–24 kap. 8.2.1) je zřejmý rozdíl v charakteru emulzí a rozdíl byl potvrzen i měřením velikosti jejich kapek.

Tabulka č. 15: Velikosti emulzních kapek v prostředí s přirozeným pH (série pro porovnání vlivu pH) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí

Nativní pH – Velikost kapek D[4,3] [μm]								
Hexadekan - NaCl								
0,2 % hm.			0,3 % hm.			0,4 % hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
7,1	5,9	4,5	4,5	7,9	3,3	3,7	4,6	2,3
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
0,2	2,5	0,0	0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0
Olivový olej - NaCl								
0,2 % hm.			0,3 % hm.			0,4 % hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
20,9	15,7	5,4	5,2	43,7	7,5	9,9	19,5	3,5
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
1,2	0,7	0,1	0,1	1,7	0,1	0,8	1,3	0,0

Tabulka č. 16: Velikosti emulzních kapek v prostředí s pH 5 (série pro porovnání vlivu pH) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí

pH 5 – Velikost kapek D[4,3] [μm]								
Hexadekan - NaCl								
0,2 % hm.			0,3 % hm.			0,4 % hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
9,5	17,6	13,0	13,5	11,8	12,0	18,0	14,1	14,5
±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,2	0,7	0,4	0,3	0,4	0,1	0,9	0,1	0,4
Olivový olej - NaCl								
0,2 % hm.			0,3 % hm.			0,4 % hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
26,7	88,3	49,2	27,2	92,9	32,8	32,8	113,0	38,6
±	±	±	±	±	±	±	±	±
1,0	2,9	4,1	1,3	3,6	1,5	1,6	4,4	1,6

Tabulka č. 17: Velikosti emulzních kapek v prostředí s pH 3 (série pro porovnání vlivu pH) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí

pH 3 – Velikost kapek D[4,3] [μm]								
Hexadekan - NaCl								
0,2 % hm.			0,3 % hm.			0,4 % hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
13,5	60,6	7,2	7,3	15,1	5,7	6,0	6,8	5,6
±	±	±	±	±	±	±	±	±
0,7	6,0	0,3	0,2	0,7	0,2	0,2	0,2	0,1
Olivový olej - NaCl								
0,2 % hm.			0,3 % hm.			0,4 % hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
151,7	41,8	90,4	58,5	35,9	69,5	29,1	76,5	26,2
±	±	±	±	±	±	±	±	±
12,5	1,6	9,9	2,2	7,3	8,2	2,3	9,1	2,4

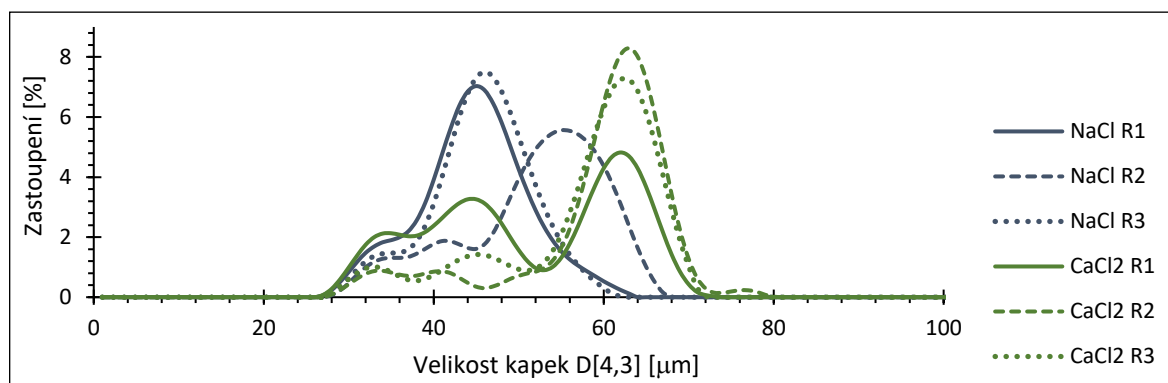
Měření hodnot D[4,3] ukázalo, že v případě emulzí s nativním pH (Tabulka č. 15) byly nejmenší kapky přítomny v emulzích připravených cestou R3. Naopak průměrně největší kapky obsahovaly emulze z cesty R2. Se snížením pH na hodnotu 5 (Tabulka č. 16) došlo u emulzí s HD k mírnému zvýšení velikosti jejich kapek a rozdíly mezi vlivem cesty přípravy přestaly být tak jednoznačné. Naopak u emulzí s OO došlo ke zvětšení kapek, v některých případech až 10 násobnému (OO 0,4 %hm. R3 nativní pH vs. pH 5). Největší nárůst hodnot D[4,3] zaznamenaly emulze připravené cestou R2. S dalším

poklesem pH na hodnotu 3 (Tabulka č. 17) došlo u HD emulzí k poklesu velikostí kapek, kromě emulze 0,2 %hm. R2 se změřenou velikostí $60,6 \pm 6,0 \mu\text{m}$. I v tomto případě však emulze z cesty R2 obsahovaly částice s největší průměrnou velikostí kapek. Na emulze s OO mělo snížení pH viditelný vliv.

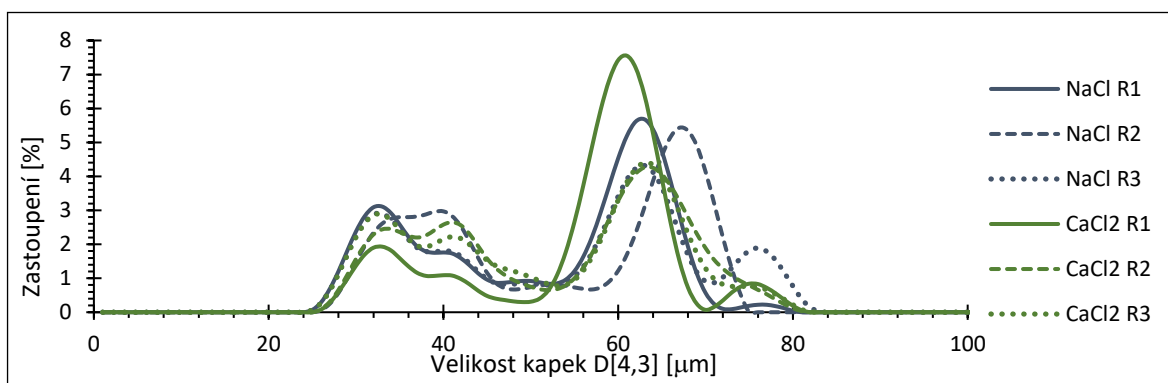
Vliv sledovaných parametrů na distribuci velikosti emulzních kapek je přehledně uveden na Obrázcích č. 25–35, kde je znázorněn vliv použitých elektrolytů, vliv pH nebo např. cesty přípravy emulzí.

Vliv elektrolytu

Prvním zvoleným porovnávaným parametrem byl použitý elektrolyt a jeho vliv na velikost emulzních kapek (Obrázky č. 25–28). Z obrázků emulzí s HD je jasně vidět, že přítomnost dvojmocných iontů Ca^{2+} způsobuje zvýšení velikosti kapek a distribuční křivky jsou v přítomnosti tohoto elektrolytu bi- i mono-modální. Monomodální distribuce byly zaznamenány u emulzí s vyšším obsahem stabilizujících částic, 0,3 %hm.

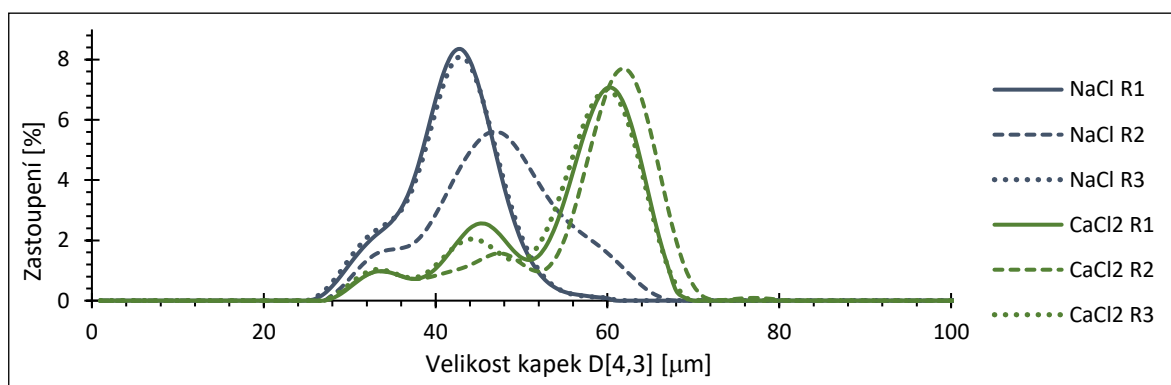


Obrázek č. 25: Distribuce velikosti kapek emulzí hexadekanu s koncentrací částic 0,2 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu

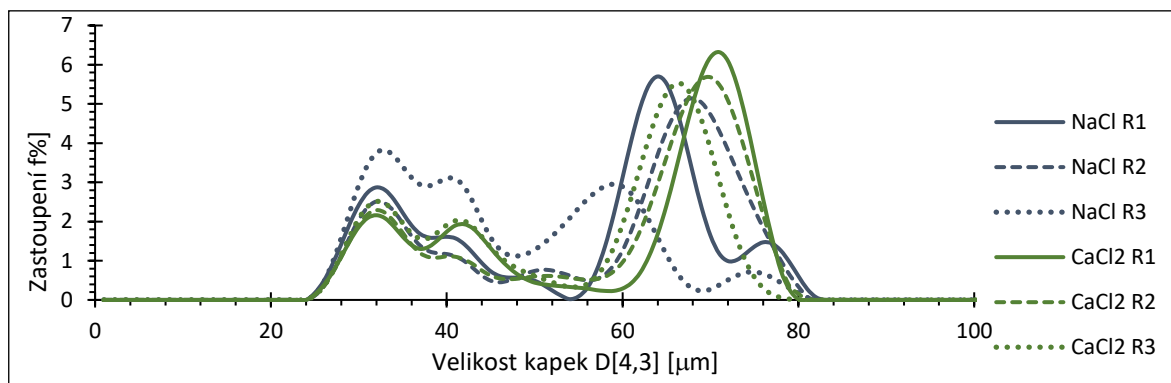


Obrázek č. 26: Distribuce velikosti kapek emulzí olivového oleje s koncentrací částic 0,2 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu

Jak je zřejmé z Obrázků č. 26 a 28 emulzí s OO, nelze jejich distribuce tak jednoznačně porovnat vzhledem k použité soli, jako v případě emulzí s HD na Obrázcích č. 25 a 27. Distribuce jsou multimodální, s výskytem jak menších, tak větších kapek v jedné emulzi. To svědčí o přítomnosti více populací emulzních kapek. U těch, s vyšší koncentrací částic lze říci, že větší velikost kapek mají obvykle emulze s použitým CaCl_2 , ale pro jednoznačné posouzení by bylo nutné provést mnohem více měření.



Obrázek č. 27: Distribuce velikosti kapek emulzí hexadekanu s koncentrací částic 0,3 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu



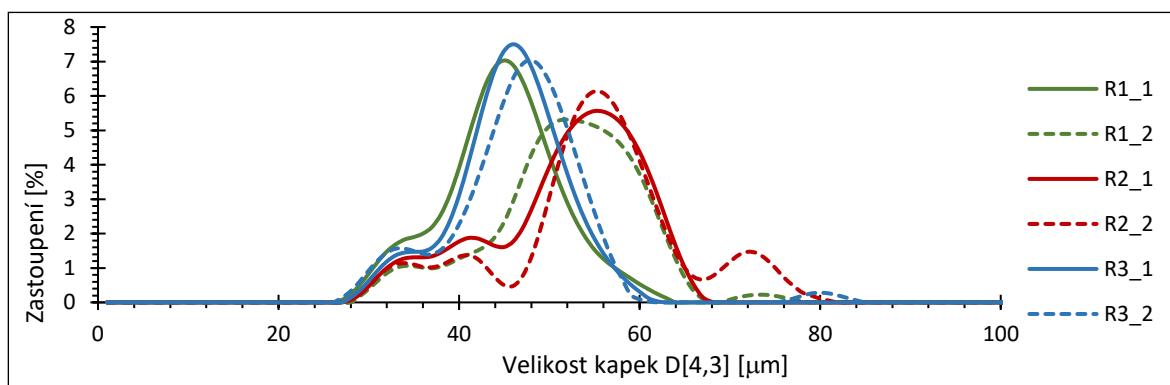
Obrázek č. 28: Distribuce velikosti kapek emulzí olivového oleje s koncentrací částic 0,3 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu

I na těchto případech je vidět, jak je důležité znát nejen průměrnou velikost emulzních kapek (vyjádřenou hodnotou $D[4,3]$ v μm), ale také posoudit jejich celkovou distribuci. Je totiž známo, že systém, který je více homogenní co do velikosti emulzních kapek, bude také stabilnější. Naproti tomu takové systémy s kapkami o různých velikostech mohou snáze podléhat destabilizačním procesům.

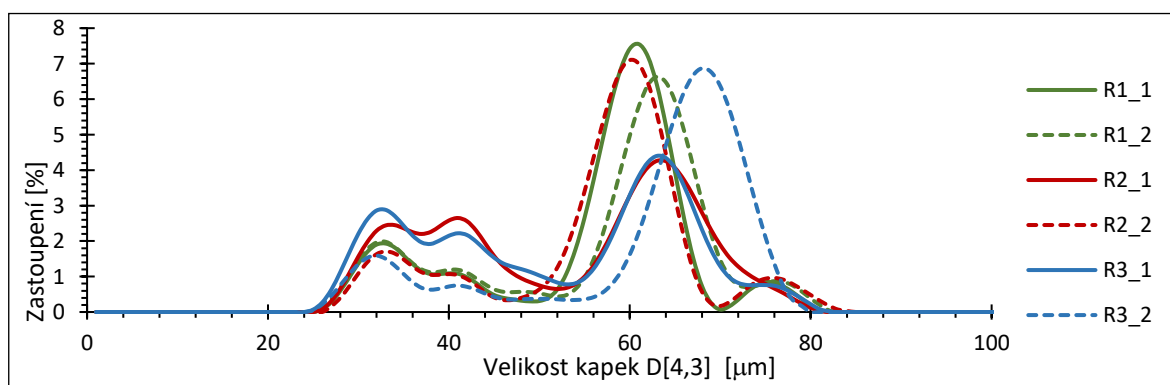
Vliv cesty přípravy emulzí

Dalším sledovaným parametrem ovlivňujícím emulze byla cesta jejich přípravy. Charakter obou použitých částic, jak CAS, tak CNC, je rozdílný při chování v roztoku a bylo zajímavé sledovat, zda bude mít zvolený postup zásadní vliv na velikost kapek připravených emulzí.

U vybraného typu emulzí s HD (Obrázek č. 29) jsou porovnány dvě sady emulzí připravené stejnou cestou, tedy způsobem R1, R2 a R3. U emulzí R1 lze vidět nárůst velikosti kapek a opakovatelnost přípravy této emulze nebyla uspokojivá. Opakovatelnost přípravy emulzí jak cestou R2, tak i R3 byla naopak dobrá. Jejich distribuční křivky si navzájem odpovídají a připravené emulze měly tedy vždy stejný charakter i podobnou velikost kapek. Největší průměrné velikosti kapek dosáhly emulze R2 a nejmenší R3, porovnávané-li obě sady.



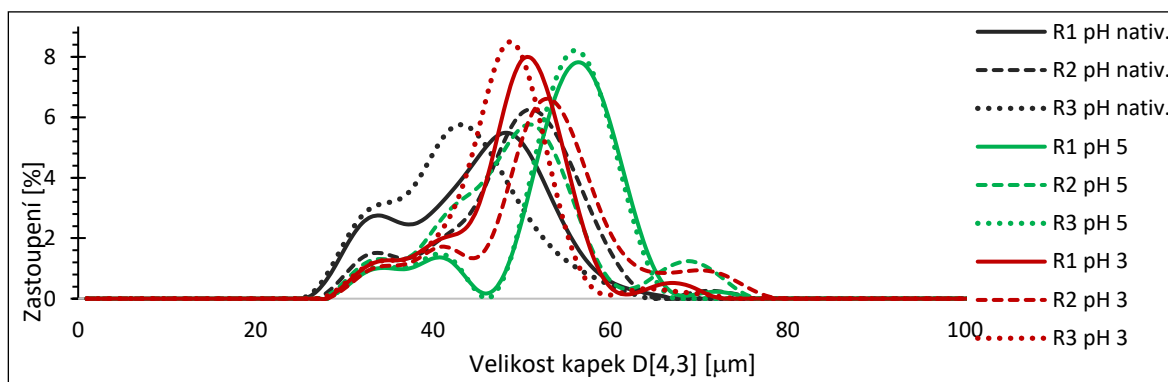
Obrázek č. 29: Distribuce velikosti kapek emulzí hexadekanu 0,2 %hm. s NaCl – porovnání cest přípravy



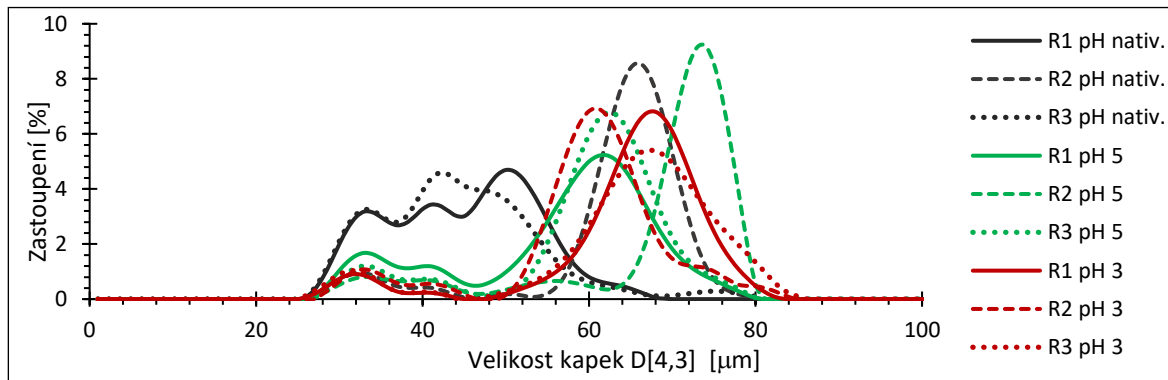
Obrázek č. 30: Distribuce velikosti kapek emulzí olivového oleje 0,2 %hm. s CaCl₂ - porovnání cest přípravy

Na dalším srovnání (Obrázek č. 30) jsou uvedeny distribuční křivky emulzí s OO. Na první pohled jsou vidět ve tvaru distribučních křivek, získaných opakovanou přípravou emulzí, markantní rozdíly, zejména u emulzí cest R2 a R3. U těch vždy došlo ke zvětšení hlavní populace kapek, zároveň se ale snížil obsah menších kapek a ve druhém opakování byla emulze více homogenní.

Vliv pH



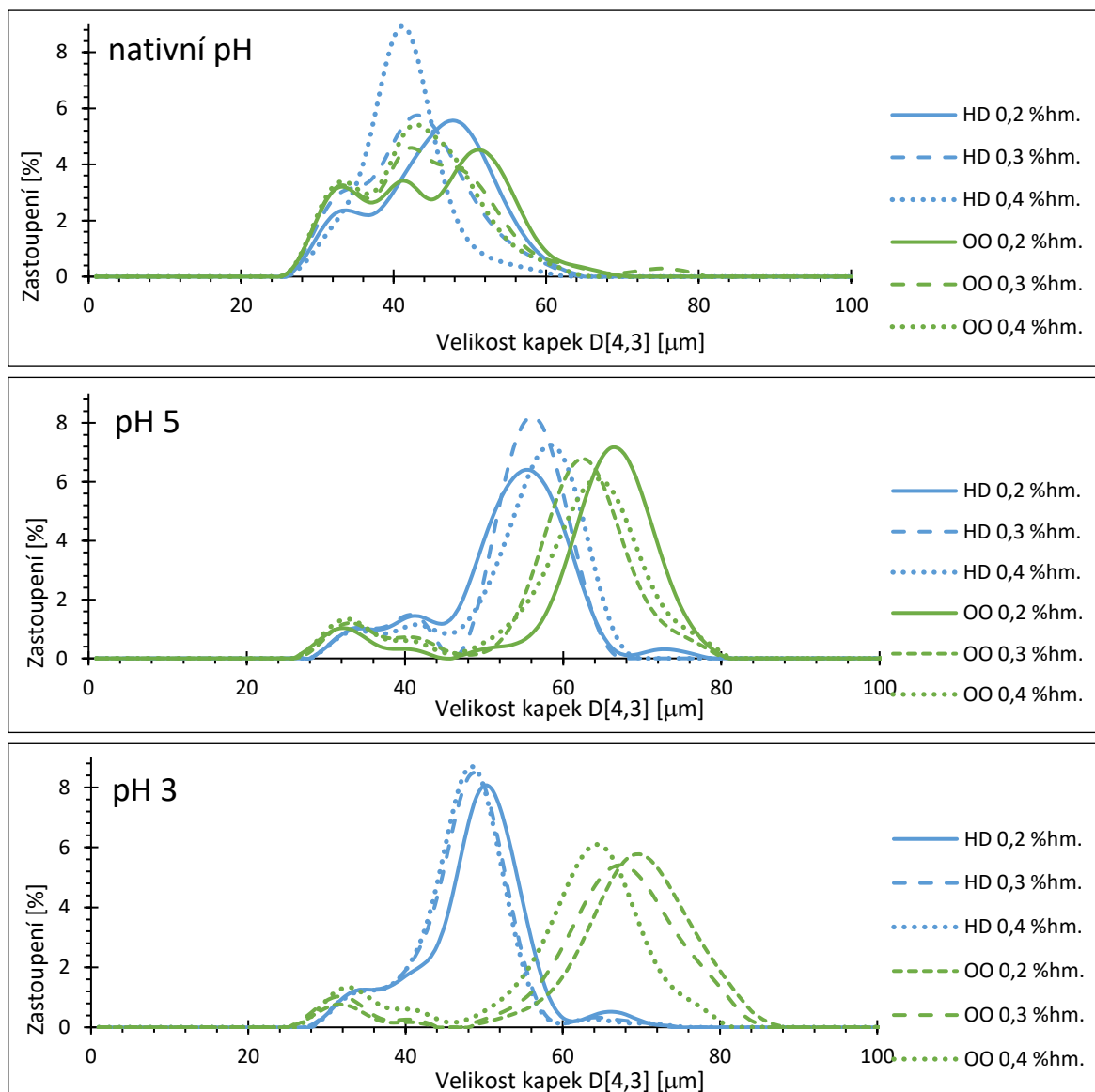
Obrázek č. 31: Vliv pH na distribuci velikosti kapek emulzí hexadekanu s koncentrací částic 0,3 %hm. s NaCl



Obrázek č. 32: Vliv pH na distribuci velikosti kapek emulzí olivového oleje s koncentrací částic 0,3 %hm. s NaCl

Grafické vyobrazení vlivu pH na velikost a distribuci emulzních kapek, pro emulze s HD (Obrázek č. 31), potvrzuje skutečnost uvedenou v Tabulkách č. 15–17. Na základě hodnot velikostí kapek $D[4,3]$ uvedených v této tabulce byl učiněn závěr, že se snížením pH na hodnotu 5 se velikost kapek zvýšila. Dalším snížením pH pak došlo k opětovnému snížení velikosti kapek a současně se hlavní pík na distribuční křivce zúžil, což znamená, že emulzi převládly kapky s určitou, poměrně homogenní velikostí. Obdobné závěry lze učinit i pro emulze s OO (Obrázek č. 32). Samozřejmě zde nelze abstrahovat od vlivu způsobu přípravy emulzí.

Vliv koncentrace stabilizujících částic



Obrázky č. 33, 34, 35: Distribuce velikosti kapek emulzí cesty přípravy R3 různého pH s NaCl – porovnání vlivu koncentrace částic

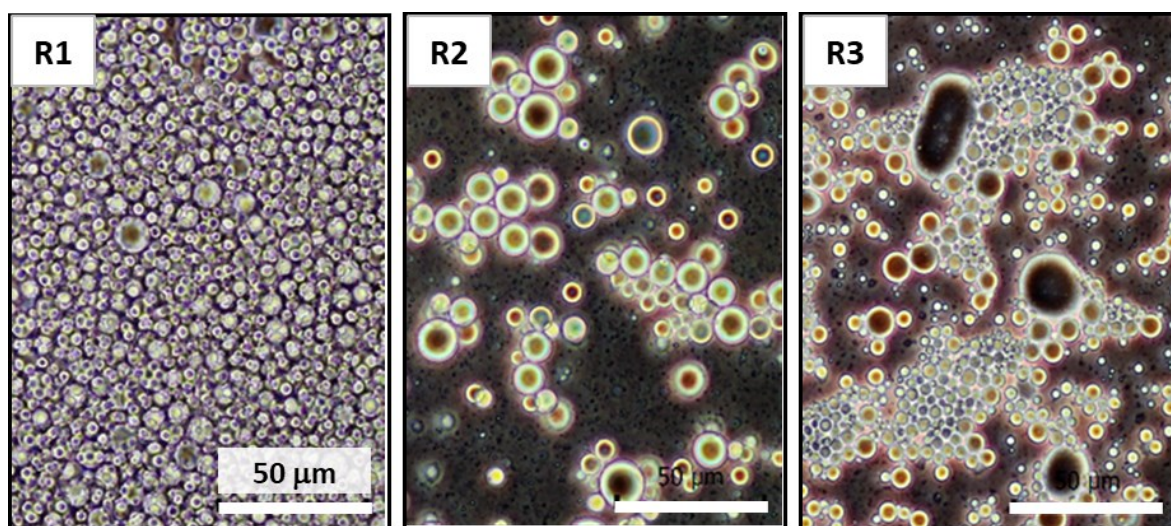
Je samozřejmé, že s nárůstem obsahu stabilizujících částic (Obrázky č. 33–35), docházelo u emulzí i k mírnému zvýšení jejich viskozity. V některých případech, nejčastěji u cest přípravy R3, byl dokonce pozorován gelový charakteru emulze. V distribuci emulzních kapek jsou největší pozorovatelné rozdíly u emulzí při nativním pH, kdy se rostoucí koncentrací CNC a CAS v emulzi postupně zužovala distribuce emulzních kapek. Je možné také konstatovat, že s poklesem pH se rozdíly mezi distribucemi získanými pro emulze stabilizované různým množstvím části ztlačily, což je nejlépe vidět na Obrázku č. 35 u Emulze R3 NaCl pH 3. Na tomto obrázku je naopak nejzřetelněji vidět rozdíl mezi emulzemi s HA a OO.

Na závěr této kapitoly je na místě říci, že na výsledný vliv velikostí a distribuce emulzních kapek mají vliv všechny sledované faktory. Jak typ olejové fáze, obsah stabilizujících částic CNC a CAS, pH prostředí, iontová síla, tak i zvolená cesta přípravy emulze.

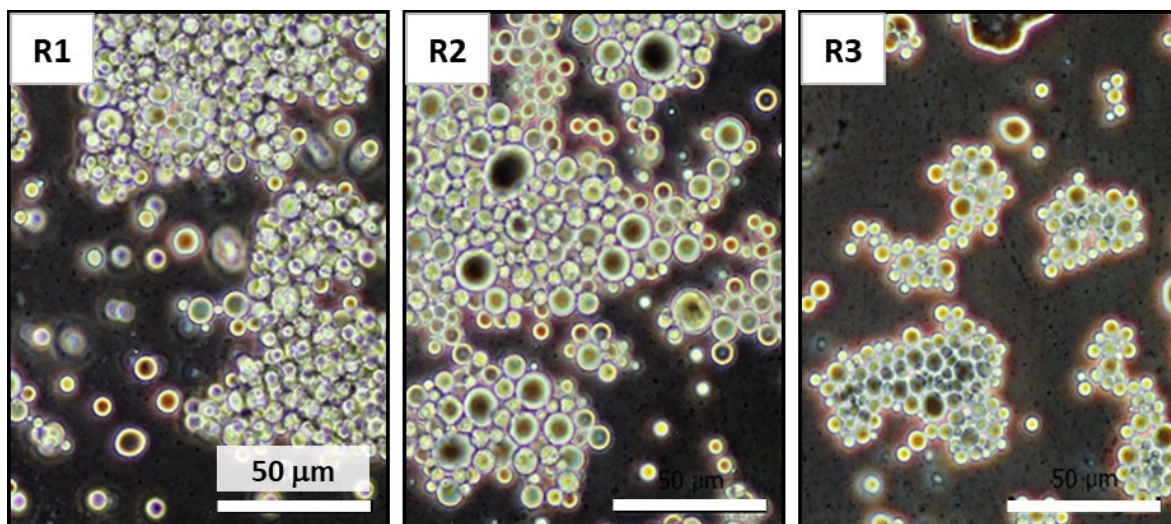
8.2.3 Optická mikroskopie

Tato doplňující metoda poskytla náhled na vzhled jednotlivých emulzních kapek a agregátů. Na fotografiích emulzí (Obrázcích č. 36–43) je možné sledovat charakter jednotlivých emulzí a také ho srovnat s reálně naměřenými velikostmi kapek v Tabulce č. 14. Je důležité poznamenat, že mikroskopické pozorování nesloužilo primárně ke zjištění velikosti emulzních kapek, ale pouze k porovnání emulzí mezi sebou a srovnání, zda vzhled kapek zhruba odpovídá hodnotám $D[4,3]$ stanoveným laserovou difrakcí.

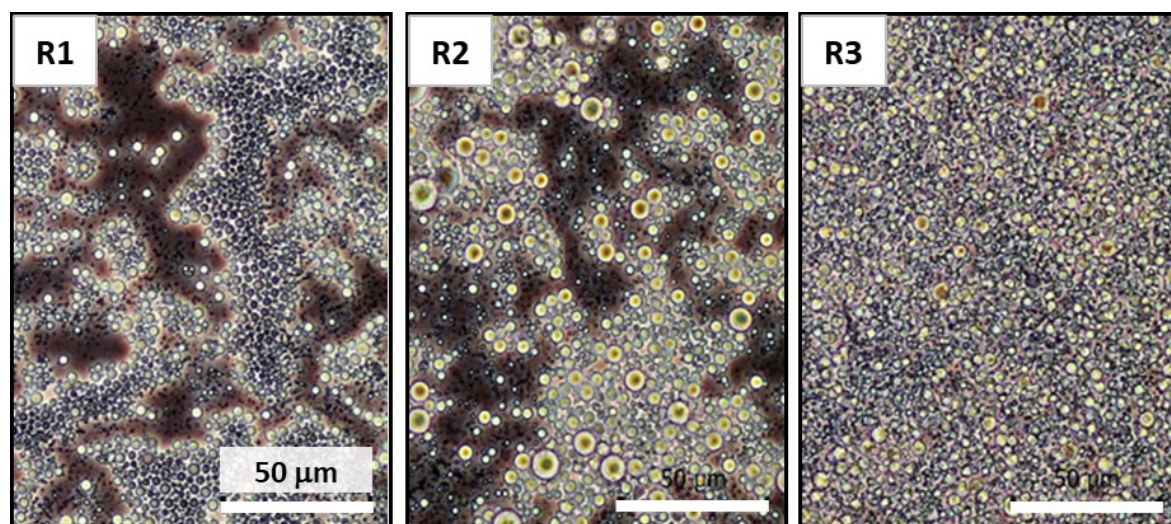
Vizualizace emulzních kapek (např. Obrázek č. 39 a 42) podává informaci, že i pod mikroskopem jsou průměrně velikosti kapek emulzí s OO větší než s HD. Současně je při vzájemném porovnání cest přípravy emulzí zřetelně vidět skutečnost, že emulze z cesty přípravy R2 obsahovaly průměrně větší kapky, než emulze z postupů přípravy R1 nebo R3.



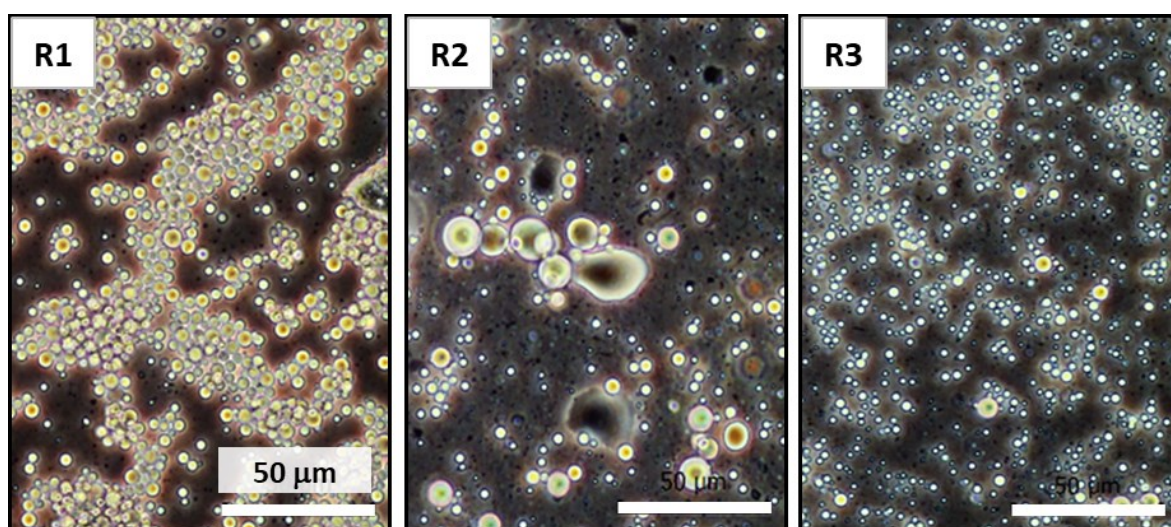
Obrázek č. 36: Mikroskopie emulzí HD 0,2 %hm. s NaCl



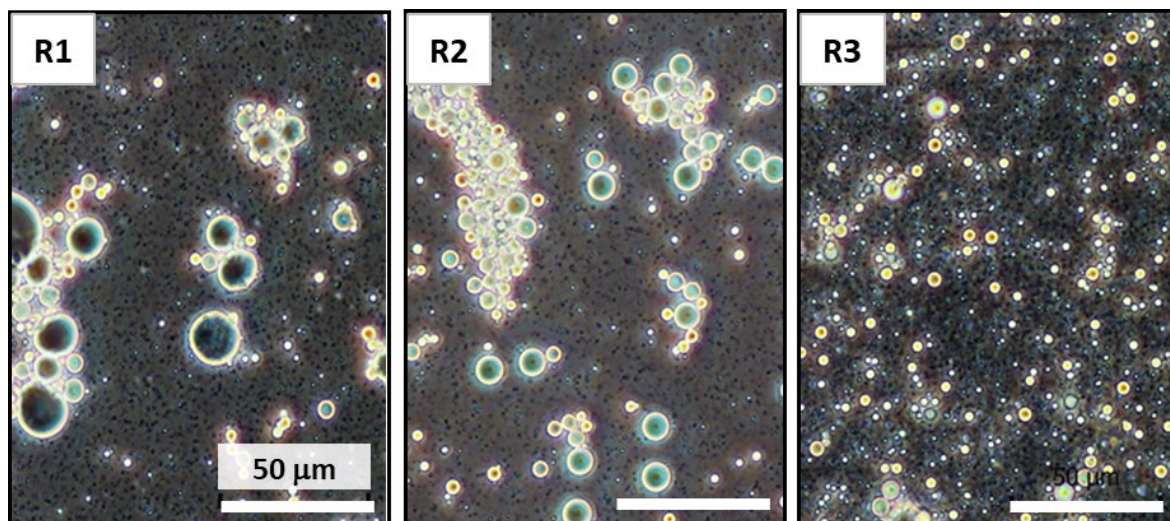
Obrázek č. 37: Mikroskopie emulzí HD 0,2 %hm. s CaCl₂



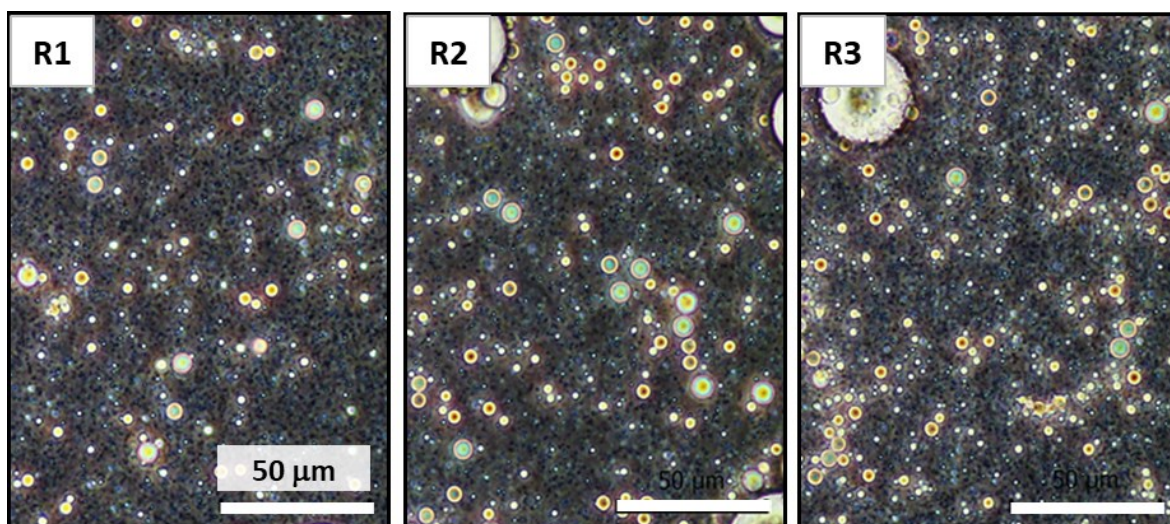
Obrázek č. 38: Mikroskopie emulzí HD 0,3 %hm. s NaCl



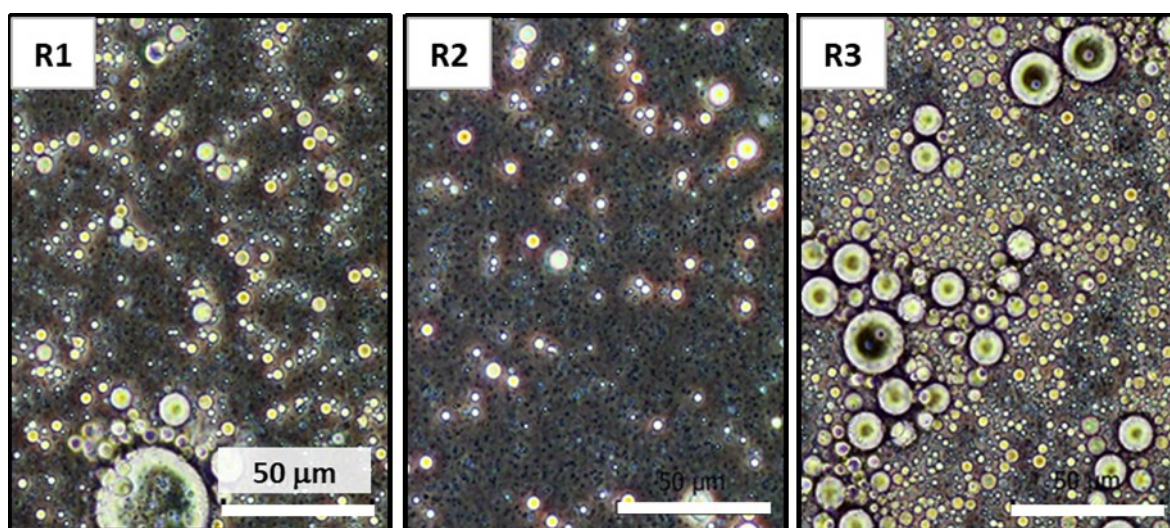
Obrázek č. 39: Mikroskopie emulzí HD 0,3 %hm. s CaCl₂



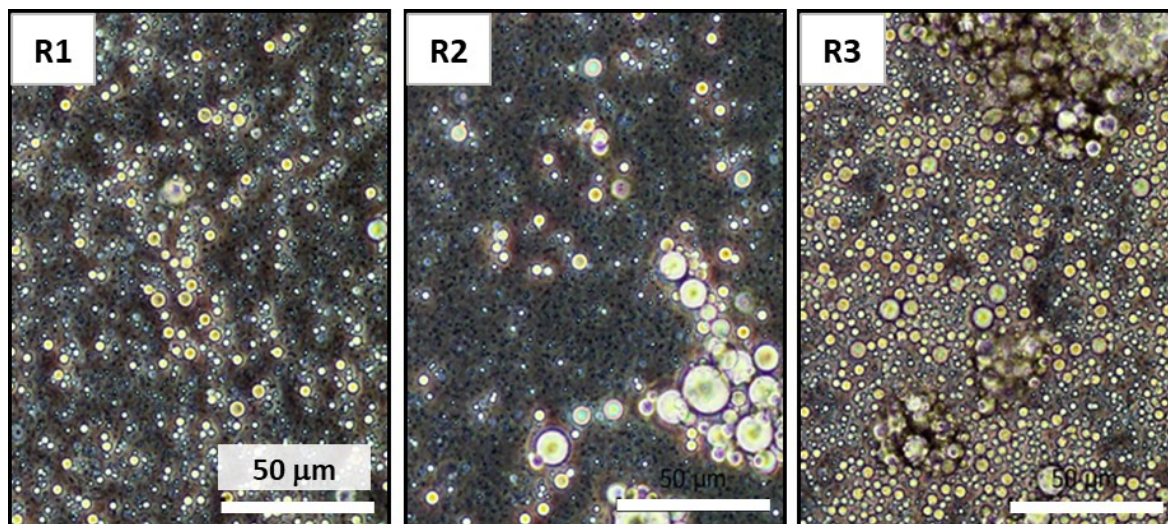
Obrázek č. 40: Mikroskopie emulzí OO 0,2 %hm. s NaCl



Obrázek č. 41: Mikroskopie emulzí OO 0,2 %hm. s CaCl₂



Obrázek č. 42: Mikroskopie emulzí OO 0,3 %hm. s NaCl



Obrázek č. 43: Mikroskopie emulzí OO 0,3 %hm. s CaCl_2

8.2.4 Studium dlouhodobé stability emulzí

Pro studium dlouhodobé stability byly vybrány emulze připravené z HD a OO pouze v přítomnosti NaCl, s disperzní fází, která měla nativní pH, pH 5 a pH 3. Po třech týdnech byl vzhled emulzí zhodnocen vizuálně a byly označeny vzorky, které se rozpadly na jednotlivé fáze. Jednalo se o emulze OO připravené cestou R2. Ty emulze, které si svou stabilitu uchovaly, byly podrobeny měření velikosti a distribuce kapek laserovou diffrakcí.

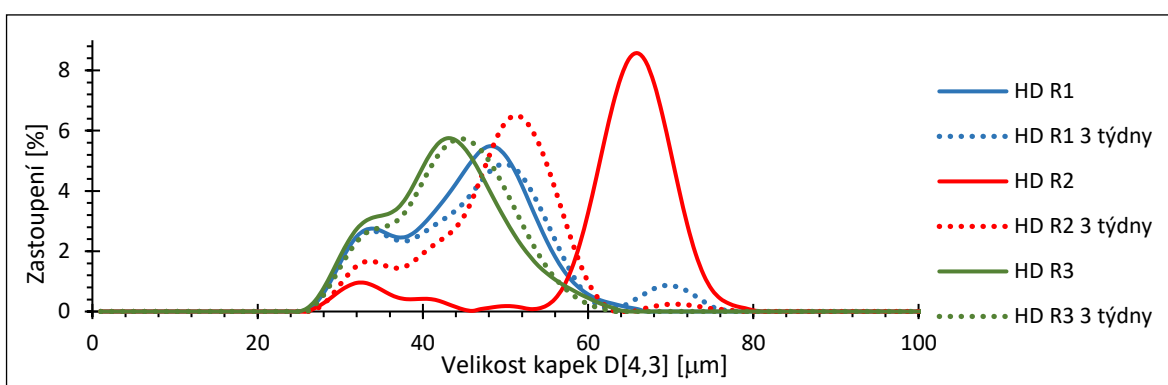
Stabilitní studie ukázala, že většina emulzí si po třech týdnech zachovala charakter a vlastnosti stejné, jako po jejich přípravě. Z přehledu v Tabulce č. 18 lze pak vidět, že velikost kapek se během skladování jen nepatrně zvětšila.

Tabulka č. 18: Srovnání velikostí kapek vybraných emulzí s NaCl po 3 týdnech skladování při 5 °C

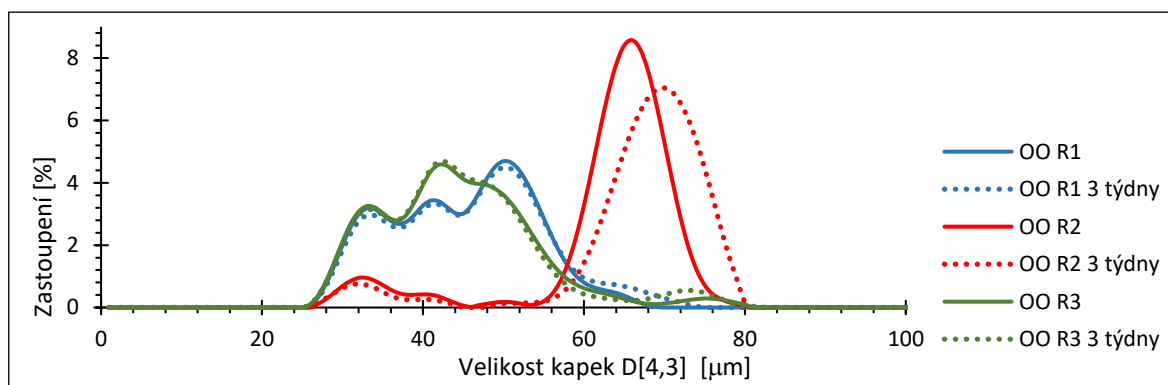
Velikost kapek D[4,3] [μm]											
pH nativní											
Hexadekan						Olivový olej					
0,3 %hm.			0,4 %hm.			0,3 %hm.			0,4 %hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
4,5	7,9	3,3	3,7	4,6	2,3	5,2	43,7	7,5	9,9	19,5	3,5
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
0,0	0,1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1	1,7	0,1	0,8	1,3	0,0
po třech týdnech											
9,1	7,5	3,4	3,7	4,6	2,4	6,9	70,8	9,2	4,5	16,3	4,1
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
0,9	0,3	0,0	0,1	0,1	0,0	0,2	4,6	1,2	0,1	1,1	0,1
pH 5											
Hexadekan						Olivový olej					
0,3 %hm.			0,4 %hm.			0,3 %hm.			0,4 %hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
13,5	11,8	12,0	18,0	14,1	14,5	27,2	92,9	32,8	32,8	113,0	38,6
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
0,3	0,4	0,1	0,9	0,1	0,4	1,3	3,6	1,5	1,6	4,4	1,6
po třech týdnech											
13,6	11,2	9,7	19,8	15,9	18,8	33,4	-	41,8	42,1	-	59,7
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	-	\pm	\pm	-	\pm
0,5	0,7	0,2	0,9	0,4	7,3	1,8	-	1,8	1,6	-	8,6
pH 3											
Hexadekan						Olivový olej					
0,3 %hm.			0,4 %hm.			0,3 %hm.			0,4 %hm.		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
7,3	15,1	5,7	6,0	6,8	5,6	58,5	35,9	69,5	29,1	76,5	26,2
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
0,2	0,7	0,2	0,2	0,2	0,1	5,2	7,3	8,2	2,3	9,1	2,4
po třech týdnech											
12,3	59,8	8,5	6,7	10,5	7,5	86,2	33,0	96,0	44,7	30,9	46,5
\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
0,5	4,8	0,5	0,1	0,5	0,5	6,4	1,5	7,4	2,6	1,5	5,6

V některých případech byl při měření zaznamenán mírný nárůst průměrné velikosti kapek, což se projevilo i na změně distribučních křivek. Současně se zřetelně projevila nestabilita emulzí, které obsahovaly větší kapky, jelikož emulze s největšími kapkami (konkrétně emulze s OO z cesty R2 s obsahem stabilizujících částic 0,3 i 0,4 %hm.), se po třech týdnech, díky termodynamické nestabilitě, rozpadly na původní fáze.

Na Obrázku č. 45 zaujme změna distribuce kapek HD emulze z cesty přípravy R2, která je doprovázena snížením průměrné velikosti kapek. Dle tvarů křivek lze usoudit, že během skladování emulze po tři týdny došlo k rozpadu větších kapek na menší.

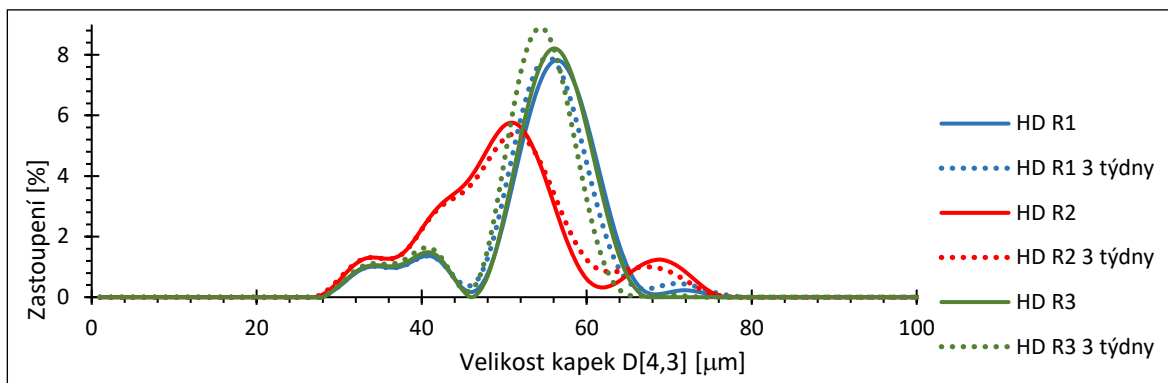


Obrázek č. 44: Distribuční velikosti kapek emulzí hexadekanu 0,3 %hm. s nativním pH – porovnání stability emulzí po 3 týdnech skladování

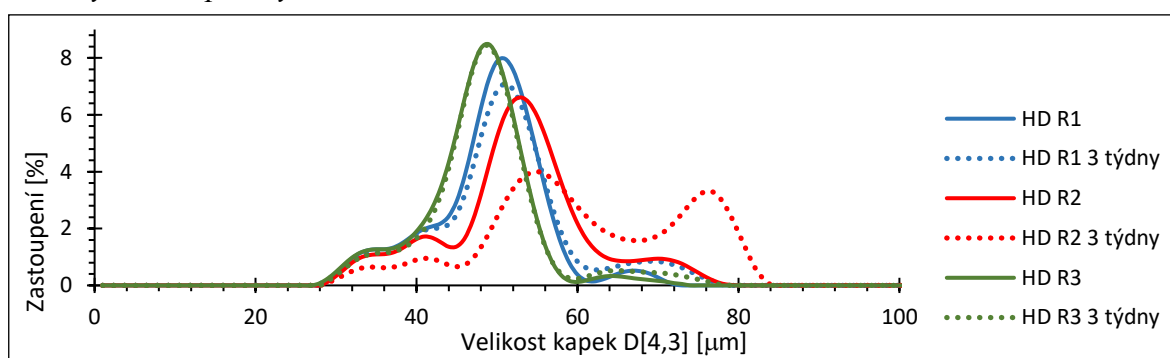


Obrázek č. 45: Distribuční velikosti kapek emulzí olivového oleje 0,3 %hm. s nativním pH – porovnání stability emulzí po 3 týdnech skladování

Obecně zůstala i po třech týdnech velikost kapek a jejich distribuce téměř stejná, zejména u emulzí připravených cestou R1 a R3, jen s malými rozdíly, což je dokumentováno na Obrázcích č. 44–47.



Obrázek č. 46: Distribuce velikosti kapek s hexadekanem 0,3 %hm. s pH 5 – porovnání stability emulzí po 3 týdnech



Obrázek č. 47: Distribuce velikosti kapek s hexadekanem 0,3 %hm. a pH 3 – porovnání stability emulzí po 3 týdnech

Podíváme-li se na HD emulze s nativním pH, došlo k mírnému zvětšení emulzních kapek u emulzí z cesty R1 stabilizovaných 0,3 %hm částic. Ostatní emulze i s vyšším obsahem částic zůstaly stabilní. Emulze s OO byly také stabilní, pouze emulze z cesty R2 stabilizovaná 0,3 %hm. částic vykazovala významný nárůst velikosti emulzních kapek, a to z důvodu jejich původně velké velikosti. Se snížením pH na hodnotu 5 došlo u HD emulzí ke zvýšení stability, především u emulzí s koncentrací částic 0,3 %hm., u kterých se zvětšily kapky pouze nepatrně. Naopak stabilita emulzí s OO olejem se při této hodnotě pH zhoršila. Emulze z cesty R2 s koncentrací částic 0,3 i 0,4 %hm. se po 3 týdnech rozpadly, jelikož ihned po přípravě obsahovaly veliké emulzní kapky. U OO emulzí připravených ostatními cestami přípravy pak došlo jen k mírnému zvětšení emulzních kapek. Konečně pak HD emulze s disperzní fází o pH 3 vykazovaly nestabilitu, pokud byly připraveny cestou R2 a obsahovaly 0,3 %hm. částic. Tato nestabilita se projevila nárůstem velikosti kapek této emulze. Z měření velikosti a distribuce emulzních kapek je patrné, že snížení pH negativněji ovlivňuje chování a stabilitu emulzí s OO, jelikož u emulzí s koncentrací částic 0,3 a 0,4 %hm. došlo ke zvětšení kapek jak u cesty R1, tak i R3. U emulzí z cesty R2 se po uplynutí doby skladování emulzní kapky překvapivě zmenšily.

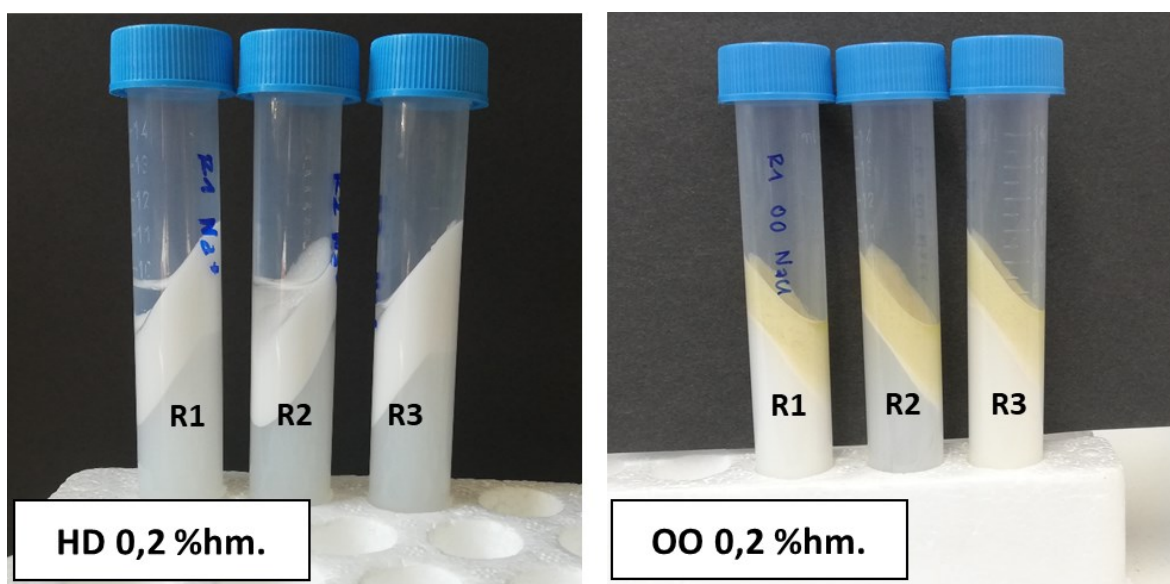
Nejméně stabilní se tedy v průběhu měření ukázaly emulze z cesty R2. Toto pozorování by mohlo být vysvětleno skutečností, že při přípravě emulzí cestou R2 jsou emulzní kapky nejprve stabilizovány CAS, a posléze CNC. Částice CAS by tedy mohly být převládajícími stabilizujícími částicemi zajišťujícími pružnost obalu emulzní kapky, ale ne jeho dostatečnou stabilitu.

8.3 Příprava a charakterizace gelů

8.3.1 Příprava gelů

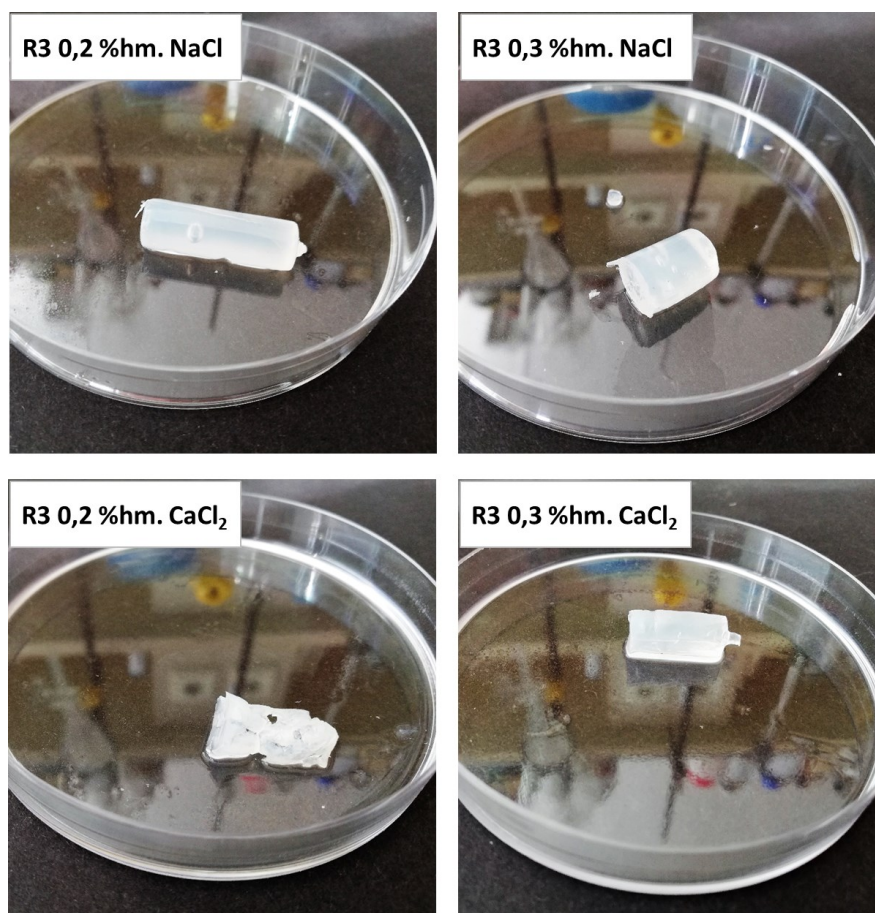
Centrifugací emulzí byly získány koncentrované emulzní vrstvy (Obrázek č. 48). V některých případech došlo centrifugací k uvolnění oleje, jehož množství bylo stanoveno odsátím pomocí mikrostříkačky. Spodní vrstvu pak ve zkumavce tvořila oddělená vodná fáze se zbytky stabilizujících částic.

Získaná emulzní vrstva byla ze zkumavky opatrně vyjmuta tak, aby nedošlo k jejímu rozmíchání ve vodné fázi. Zprvu byly gely pro vysušení umístovány do plastové injekční stříkačky, která sloužila jako forma pro udržení tvaru gelů po jejich vysušení a mohl tak být popsán jejich vzhled. Tento způsob přípravy gelů rovněž umožnil změřit množství oleje uvolněného sušením. Pro reologické měření byly připraveny emulzní gely pomocí teflonových forem, jejichž tvar byl přizpůsoben tvaru tělíska potřebného pro měření viskoelastických vlastností gelů.



Obrázek č. 48: Centrifugované emulzní vrstvy ve zkumavkách po centrifugaci

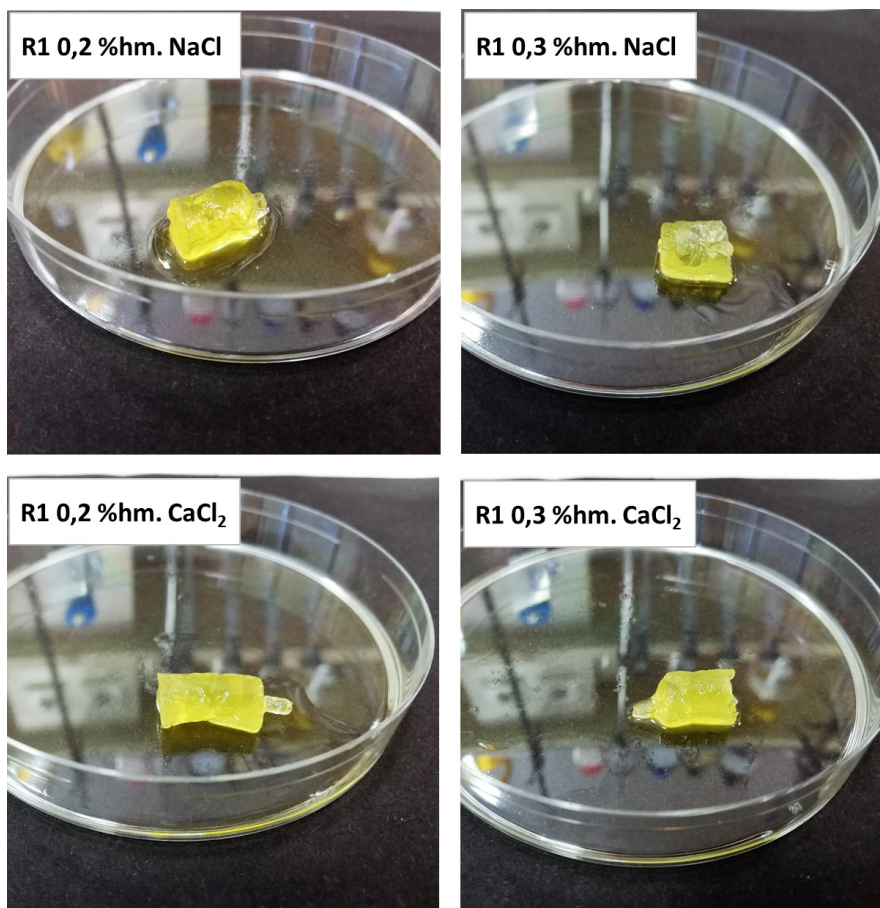
Před umístěním do formy a před vysušením bylo možné porovnat vzhled a vlastnosti koncentrovaných emulzních vrstev. Emulzní vrstva obsahující HD měla jemnější a krémovější strukturu, mezi jednotlivými cestami přípravy emulzí nebyly patrné rozdíly, ovšem se zvyšujícím se obsahem částic se emulze stávaly hustější a až téměř gelovité (0,4 %hm.). Na dotek a omak byly velmi mastné, roztíraly se lehce, ovšem ze sensorického hlediska zanechávaly pocit „syntetického oleje“. Koncentrované emulze s OO byly proti HD emulzím více variabilní co do textury a byl na nich lépe pozorován vliv cesty přípravy výchozí emulze. Koncentrované emulze z cesty R1 vykazovaly nejhomogennější krémovou strukturu, z cesty R3 měly také příjemnou texturu, nejvíce podobnou gelu, ovšem emulze z R2 byly nehomogenní se zřetelně pozorovanými agregáty.



Obrázek č. 49: Emulzní gely s hexadekanem – jejich vzhled po vyjmutí z formy

Po vysušení výše popsaných koncentrovaných emulzí byl zhodnocen také vzhled a textura vzniklých gelů. Hexadekanové gely (Obrázek č. 49) s obsahem částic 0,2 %hm. byly spíše měkčí, než gely připravené s vyšším obsahem stabilizujících částic CAS a CNC.

Projevil se na nich rovněž vliv cesty přípravy, kdy gely z emulzí připravených cestou R1 byly měkké a pevné, cestou R2 spíše gumové s výrazným uvolňováním oleje a cestou R3 pružné s tendencí ke zborcení. Gely s obsahem částic 0,3 %hm. pak byly všechny pevnější, navíc gely z emulzí připravených cestou R1 byly „olejové“ a měkké, z cesty R2 nebyla struktura gelu spojitá a gely připravené z emulzí R3 byly pevné, nebortily se a celkově měly nejlepší vzhled ze všech připravených vzorků.



Obrázek č. 50: Emulzní gely s olivovým olejem – jejich vzhled po vyjmutí z formy

Emulzní gely s olivovým olejem (Obrázek č. 50) měly oproti HD gelům rozmanitější charakter. Vliv cesty přípravy emulzí použitých pro přípravu gelů byl taktéž znatelný, ale projevoval se zde i vliv přítomného elektrolytu. Gely s obsahem částic 0,2 %hm. (cesta R1) uvolňovaly olej a neměly hladkou strukturu, gely z cesty R2 měly poměrně hladkou strukturu, ovšem opět uvolňovaly olej a z cesty R3 pak byly málo pevné (v přítomnosti CaCl_2 nedošlo k velkému uvolnění oleje, na rozdíl od gelu, kde byl použit NaCl). Gely s obsahem částic 0,3 %hm. z cesty R1 měly rozdílné vlastnosti. Za přítomnosti NaCl byla

struktura gelů měkká a bortivá, pokud byl jako elektrolyt použit CaCl_2 pak hladká a pevná. Gely z cesty R2 s NaCl byly pevné a hladké oproti gelům s CaCl_2 , které byly drsnější. Nakonec gely z cesty R3 byly pevné, ale nehomogenní a při tlaku se bortily.

8.3.2 Množství nezaenkapsulovaného oleje a oleje uvolněného sušením

Nezaenkapsulovaným olejem se rozumí, v rámci této diplomové práce olej, který se při sonikaci dobře nezpracoval do emulzních kapek a po centrifugaci se uvolnil jako samostatná olejová fáze. Tento olej byl odebrán z povrchu centrifugovaných emulzí mikrostříkačkou a jeho množství je uvedeno v Tabulce č. 19. Z této tabulky je zřejmé, že k uvolnění oleje po centrifugaci došlo u všech emulzí s HD připravených cestami R1 a R2. Naproti tomu u emulzí cesty R3 byl ve většině případů do struktury zapracován všechen olej (výjimkou byly emulze s 0,02 %hm. částic, pH 3, CaCl_2 a emulze s 0,3 %hm. částic s nativním pH, NaCl). Emulze s olivovým olejem vykazovaly v tomto směru lepší vlastnosti a po centrifugaci nezůstával na jejich povrchu téměř žádný olej. Výjimkou byla emulze s 0,2 %hm. částic a nativním pH, kde množství oleje po centrifugaci činilo 91 mg.

Tabulka č. 19: Stanovená množství nezaenkapsulovaného oleje po centrifugaci jednotlivých emulzí hexadekanu a olivového oleje

Množství nezaenkapsulovaného oleje [mg]										
Olej	Hexadekan						Olivový olej			
Koncentrace částic	0,2 %hm.				0,3 %hm.		0,2 %hm.		0,3 %hm.	
pH	Nativní		3		Nativní		Nativní		Nativní	
Sůl	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂	NaCl	CaCl ₂
R1	185	308	39	77	177	77	–	–	–	–
R2	370	570	31	193	77	–	91	–	–	–
R3	–	–	–	308	39	–	–	–	–	–

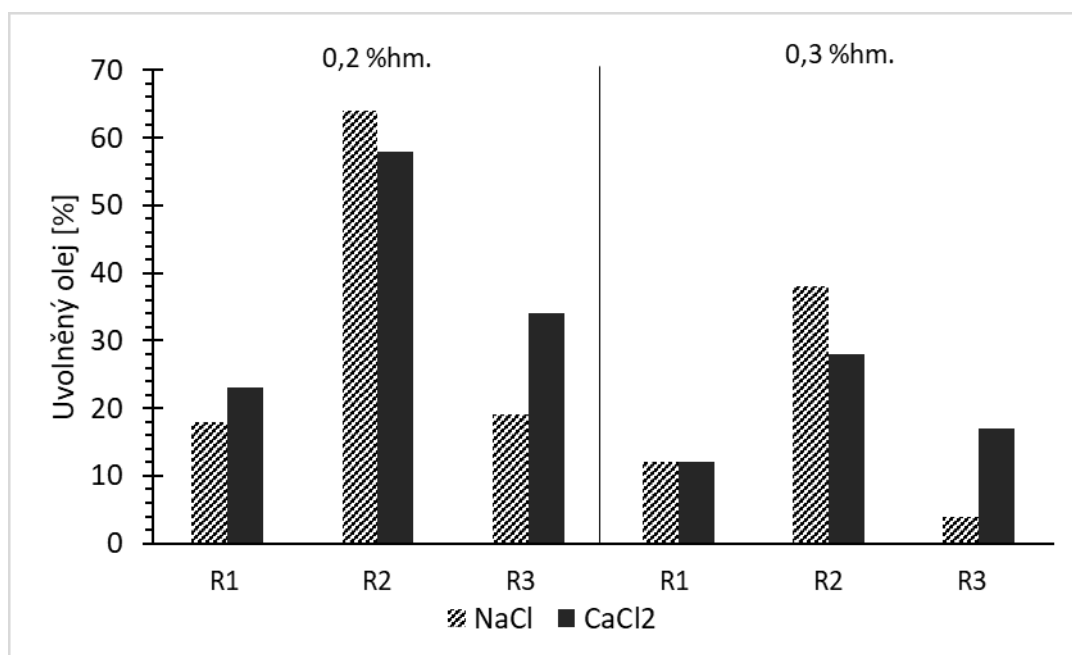
Uvolněným olejem se rozumí takový olej, který se z emulze uvolnil samovolně, při sušení centrifugovaných emulzních vrstev (tedy při vzniku gelu). Množství uvolněného oleje je souhrnně uvedeno v Tabulkách č. 20–22, je vztaženo ke hmotnosti původního emulzního gelu před vysušením, a je vyjádřeno v %.

Tabulka č. 20: Množství uvolněného oleje z hexadekanových emulzí a emulzí s olivovým olejem připravených s 0,2 %hm. stabilizujících částic při sušení, vzhledem ke hmotnosti sušeného emulzního gelu

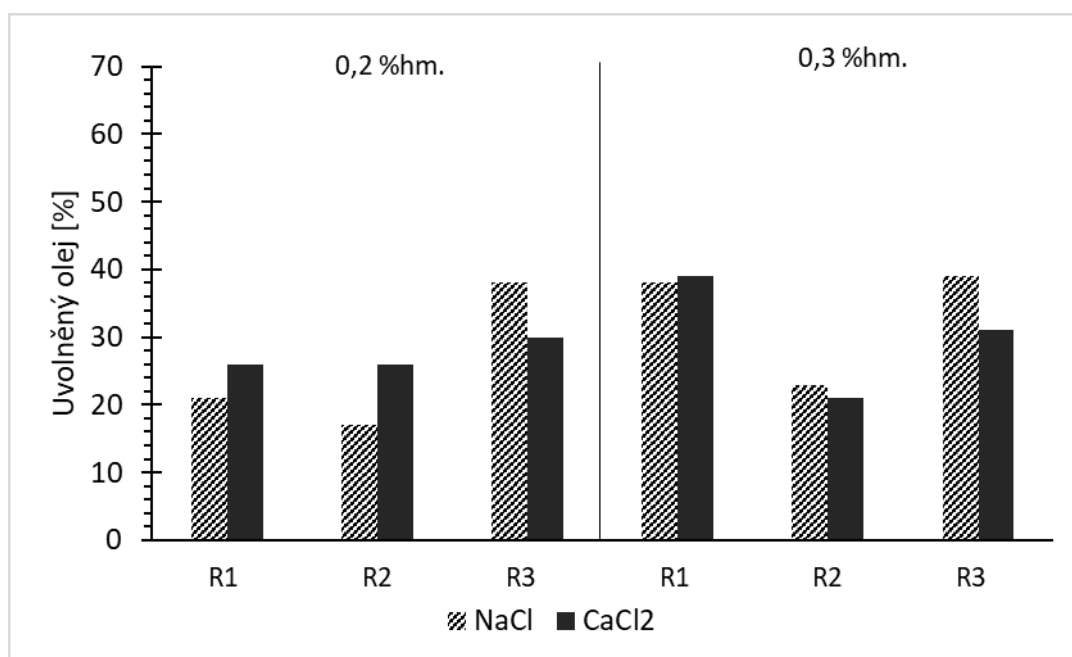
Hexadekan 0.2 %hm.						
Elektrolyt	NaCl			CaCl ₂		
Cesta přípravy	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Uvolněný olej [%]	18	64	19	23	58	34
Olivový olej 0.2 %hm.						
Elektrolyt	NaCl			CaCl ₂		
Cesta přípravy	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Uvolněný olej [%]	21	17	38	26	26	30

Tabulka č. 21: Množství uvolněného oleje z hexadekanových emulzí a emulzí s olivovým olejem připravených s 0,2 %hm. stabilizujících částic při sušení, vzhledem ke hmotnosti sušeného emulzního gelu

Hexadekan 0.3 %hm.						
Elektrolyt	NaCl			CaCl ₂		
Cesta přípravy	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Uvolněný olej [%]	12	38	4	12	28	17
Olivový olej 0.3 %hm.						
Elektrolyt	NaCl			CaCl ₂		
Cesta přípravy	R1	R2	R3	R1	R2	R3
Uvolněný olej [%]	38	24	40	39	21	31



Obrázek č. 51: Grafické vyjádření množství uvolněného oleje emulzí při přípravě gelů s hexadekanem



Obrázek č. 52: Grafické vyjádření množství uvolněného oleje emulzí při přípravě gelů s olivovým olejem

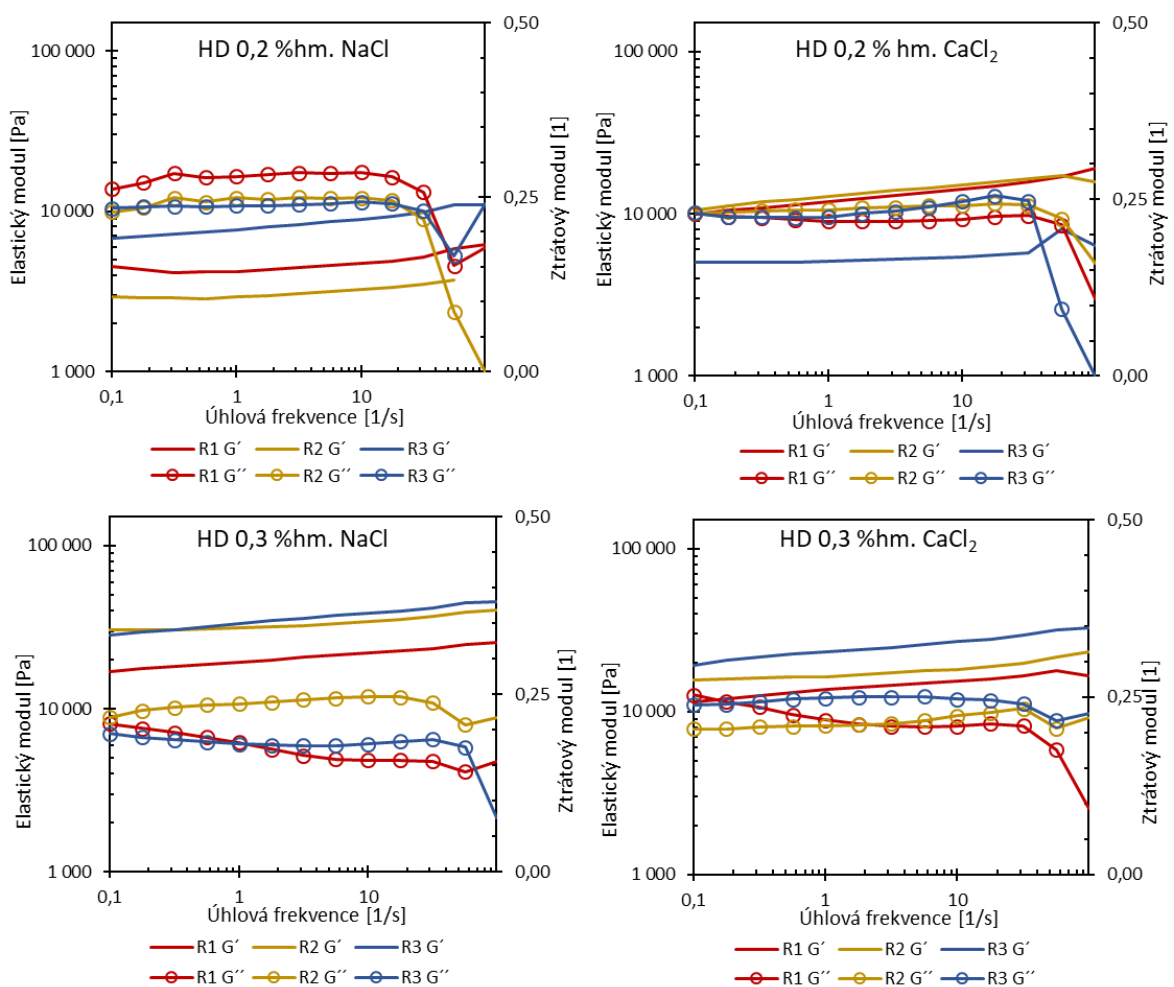
U HD gelů jsou patrné rozdíly v množství uvolněného oleje v souvislosti s koncentrací stabilizujících částic (Obrázek č. 51). Při jejich nižší koncentraci, tj. 0,2 %hm. se průměrně z gelů uvolňovalo více oleje, než u gelů na jejichž přípravu byla použita vyšší koncentrace částic (0,3 %hm.). To je způsobeno především hustější sítí částic v gelu vytvořenou po vysušení emulze, která umožní zachytit ve své struktuře více oleje. Jsou také

patrné rozdíly mezi gely připravenými cestami R1 a R3, které uvolňovaly téměř o polovinu méně oleje než gely z cesty R2.

Množství uvolněného oleje z gelů s olivovým olejem (Obrázek č. 52) se liší méně a rozdíly mezi gely z emulzí připravených různými cestami v přítomnosti rozdílných koncentrací stabilizujících částic jsou menší než v případě gelů s HD.

8.3.3 Stanovení viskoelastických vlastností gelů

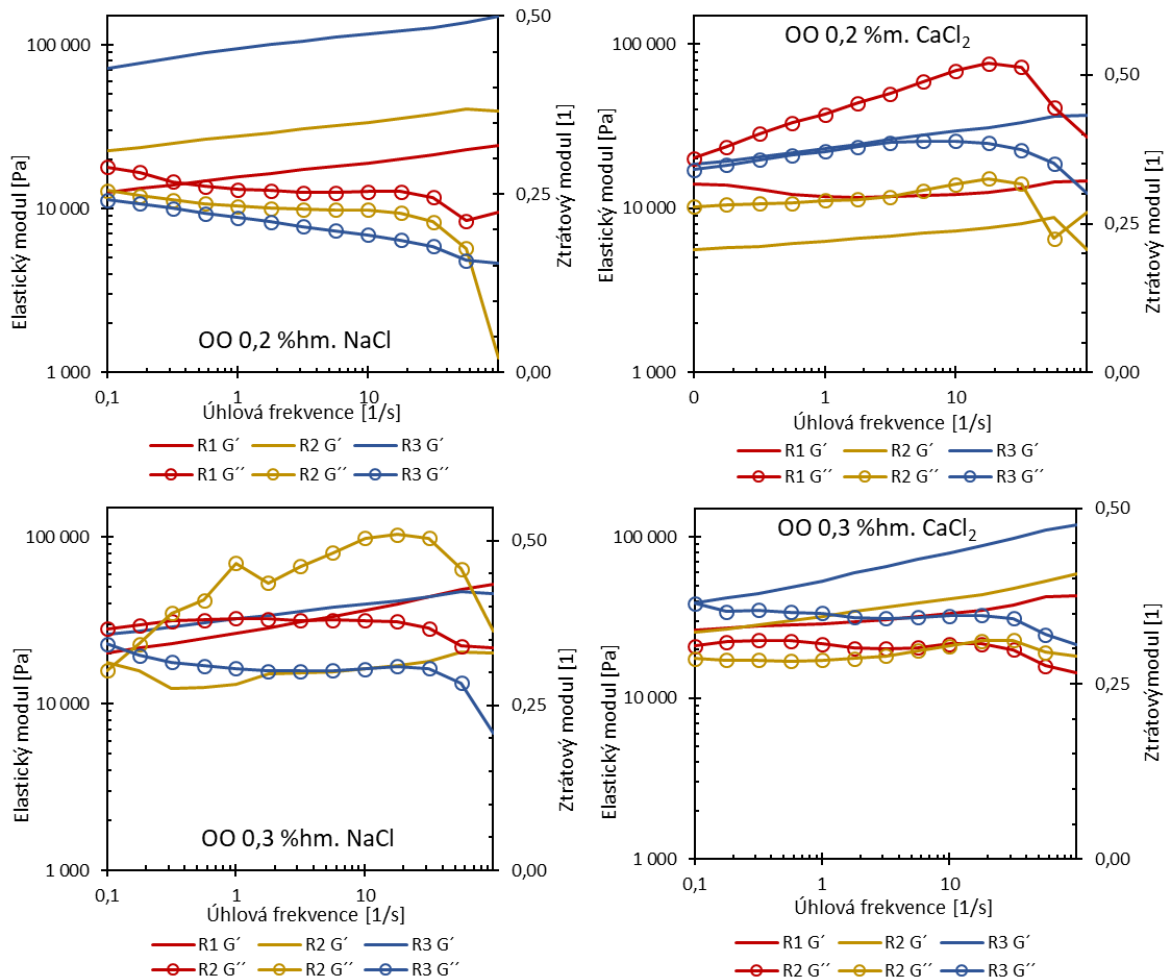
Stanovení viskoelastických vlastností gelů je důležité pro pochopení jejich chování při fyzikálním namáhání, kterým v reálném životě může být manipulace při výrobě, skladování nebo užití spotřebitelem. Gely se v závislosti na svém složení mohou chovat velmi odlišně. Jejich reologické chování je možné popsat modulem elasticity G' , který je měřítkem elastické odezvy materiálu a ztrátovým modulem G'' , který je měřítkem viskózní odezvy materiálu.



Obrázek č. 53: Viskoelastické chování hexadekanových gelů s koncentrací částic 0,2 a 0,3 %hm a různými elektrolyty

Gely, u kterých převažují vyšší hodnoty elastického modulu G' mají jako důležitou vlastnost vyšší elasticitu a tím i nižší odezvu na deformaci. Takový gel je pevnější, avšak pružný a po vyvinutí tlaku se snadněji vrací do původního stavu. Převládá-li u měřených gelů naopak složka ztrátového modulu G'' , jsou gely více viskózní a lépe deformovatelné, ale méně ochotně se vracejí do svého původního stavu. Porovnáme-li vzájemně gely s hexadekanem (Obrázek č. 53), tak vyšší elastický modul vykazovaly gely s vyšším obsahem stabilizujících částic (0,3 %hm.) a zejména potom gely s obsahem NaCl. V přítomnosti CaCl_2 je pak patrné, že tyto gely vykazují o něco vyšší ztrátový modul než u gelů s NaCl. Pro gely s CaCl_2 jsou rovněž typické menší rozdíly mezi viskoelastickým chováním gelů z emulzí připravených různými cestami (R1, R2 a R3). Gely s nejvyšším ztrátovým modulem, tedy nejvyšším podílem viskózní složky (měkké gely) byly připraveny při koncentraci částic 0,2 %hm. s NaCl. Z Obrázku č. 53 je také zřejmé, že nejvyšší hodnotu G' vykazují gely připravené cestou R3 s výjimkou gelu s 0,2 %hm. částic a NaCl. V této sérii se pak jako nejlepší jevíly konkrétní gely HD 0,3 % hm. NaCl a CaCl_2 u kterých převažuje elastická složka nad viskózní. Při sensorickém posouzení byly tyto gely pevné, pružné a málo bortivé s hladkou strukturou.

Jak je na první pohled zřejmé, tak u gelů s olivovým olejem jsou mnohem větší rozdíly mezi gely z emulzí připravenými různými cestami přípravy (Obrázek č. 54). Dochází-li navíc při změně úhlové frekvence ke fluktuaci hodnot ztrátového modulu, což je známka možné přítomnosti volného oleje v gelu. Jedná se o olej, který se z emulzních kapek přítomných v gelu uvolnil při sušení, zůstal však uzavřen ve struktuře gelu mezi emulzními kapkami a stabilizujícími částicemi CNC/CAS. Tento olej významně ovlivňuje reologická měření i vlastnosti gelů a způsobuje jejich vyšší viskozitu. Takovéto chování bylo pozorováno u gelu s OO, 0,2 % hm. částic, CaCl_2 a gelu s 0,3 % hm. částic a NaCl.



Obrázek č. 54: Viskoelastické chování gelů s olivovým olejem s koncentrací částic 0,2 a 0,3 %hm a různými elektrolyty

Nejvyšší hodnota elastického modulu byla zaznamenána u gelu s OO 0,2 % hm. a NaCl, kde výrazně převažoval G' nad G'' a to konkrétně u gelu z cesty přípravy R3, také pak u OO gelu stabilizovaného 0,3 %hm. částic a CaCl₂. V posledně jmenovaném případě je rozdíl mezi viskózní a elastickou složkou modulu menší, ale elastická složka opět převažuje, a to nejvíce u gelu připraveného z emulzí vniklých cestou R3. Obrázek č. 54 rovněž prokazuje, že nevyšší hodnoty modulu elasticity byly shodně zaznamenány pro všechny OO gely z emulzí připravených cestou R3. Pro přehlednost, jsou v práci uvedena měření při 25 °C. Druhá série měření, která probíhala při 35 °C, měla za cíl sledovat možné odlišnosti v chování gelů po zvýšení teploty. Důsledkem zvýšení teploty měření však byl jen posun křivek obou modulů k nižším hodnotám, křivky však vykazovaly obdobné trendy jako v případě měření při 25 °C.

Jiang a kol. ve své práci také sledovali reologii jimi připravených oleogelů a došli k závěru, že vlivem zvyšujícího se obsahu regenerované celulózy se také zvyšuje elastický modul G' a pevnost vytvořených gelů. Se snižujícím se obsahem celulózy byly gely více viskózní a jejich viskozita také klesala s rostoucí frekvencí použitou k měření. Tyto závěry potvrzuje i měření z této diplomové práce, kdy zvýšené smykové namáhání narušuje stabilizační síť gelu, čímž se jeho viskozita sníží [55, str. 462]. Měření reologických vlastností gelů (Davidovich-Pinhas a kol.) sice probíhalo za účelem sledování gelace při zvýšené teplotě, nicméně autoři práce také potvrdili, že pokud G'' má vyšší hodnoty než G' , můžeme očekávat nižší viskozitu a méně pevný gel [67 str. 874].

8.3.4 Redispergace gelů

Jedním z dílčích cílů práce byly testy redispergace připravených gelů ve vhodném médiu do formy původní emulze. Jako medium pro redispergaci byla nejprve použita demineralizovaná voda. Redispergace v tomto médiu však nespĺnila očekávání a obecně nebyla uspokojivá. Redispergace byla úspěšnější u těch gelů, které byly připraveny s vyšším obsahem stabilizujících částic. Za nejlépe redispergovatelnou sérií gelů lze označit gely s HD i OO s koncentrací částic 0,3 %hm. a NaCl. Jedinou sérií gelů, kterou se nepodařilo ani opakovaně redispergovat, byly gely s HD 0,2 %hm. částic a NaCl.

V Tabulce č. 23 je míra úspěšnosti redispergace gelů zaznamenána následujícím způsobem:

- Redispergace nebyla úspěšná, byla doprovázená rozpadem na olejovou a vodnou fázi
- + Redispergace byla částečná s lehkým uvolněním oleje
- ++ Redispergace byla úspěšná, gel byl hydratován a opět převeden na emulzi

Tabulka č. 22: Výsledky redispergace jednotlivých emulzních gelů v demineralizované vodě: – neúspěšná, + částečná, ++ úspěšná

Hexadekan											
0,2 %hm.						0,3 %hm.					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
–	–	–	+	–	+	+	–	++	+	–	++
Opakování											
–	–	–	–	+	+	+	+	+	+	–	+
Olivový olej											
0,2 %hm.						0,3 %hm.					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
–	+	–	–	+	–	+	+	+	+	+	–

Redispergace za použití demineralizované vody s vhodně upraveným pH (3; 4,5; 6; 7,5) se zdála být vhodnou alternativou postupu provedeného pouze v samotné demineralizované vodě. Celkově však byla redispergace v médiu s upraveným pH méně úspěšná. Hydratovány byly pouze gely s OO v disperzním medium o pH 4,5 s NaCl a HD v médiu o pH 3 s NaCl a CaCl₂. Redispergace byla navíc pouze částečná. Z výsledků lze učinit závěr, že struktura vysušeného gelu zřejmě neumožňuje úspěšnou redispergaci ani v prostředí se změněným pH.

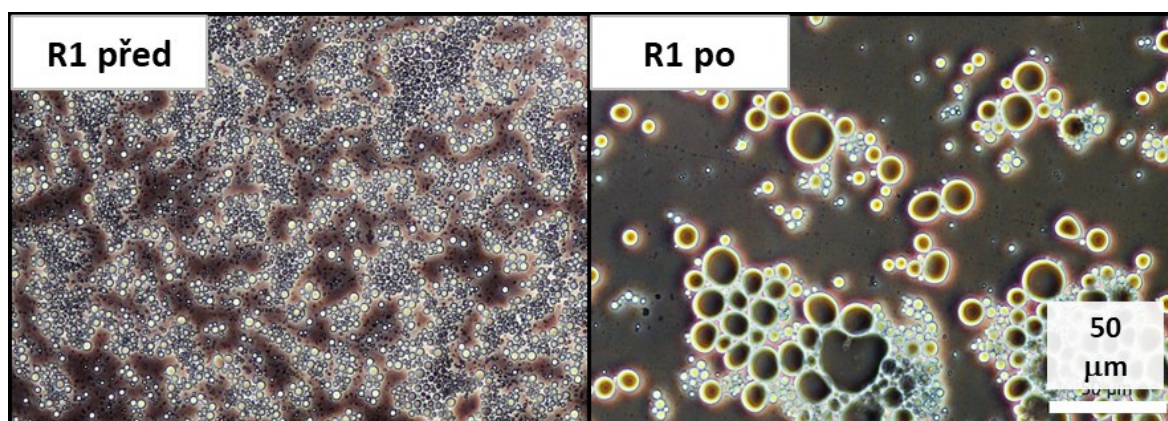
Tabulka č. 23: Výsledky redispergace jednotlivých emulzních gelů s olivovým olejem v prostředí s různým pH: – neúspěšná, + částečná, ++ úspěšná

Olivový olej 0,2 %hm. pH 3						Olivový olej 0,2 %hm. pH 4,5					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
–	–	–	–	–	–	+	+	+	–	–	–
Olivový olej 0,2 %hm. pH 6						Olivový olej 0,2 %hm. pH 7,5					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	–	+

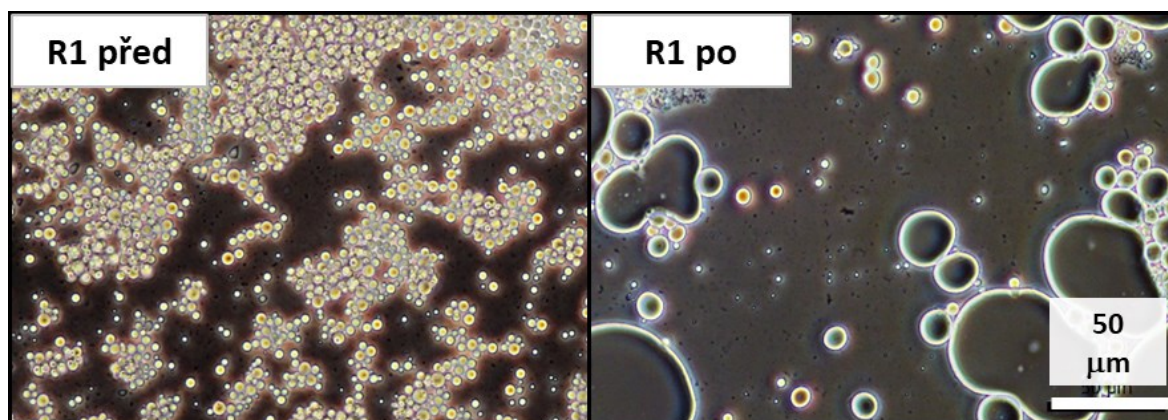
Tabulka č. 24: Výsledky redispergace jednotlivých emulzních gelů s hexadekanem v prostředí s různým pH: – neúspěšná, + částečná, ++ úspěšná

Hexadekan 0,2 %hm. pH 3						Hexadekan 0,2 %hm. pH 4,5					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
+	+	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–
Hexadekan 0,2 %hm. pH 6						Hexadekan 0,2 %hm. pH 7,5					
NaCl			CaCl ₂			NaCl			CaCl ₂		
R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

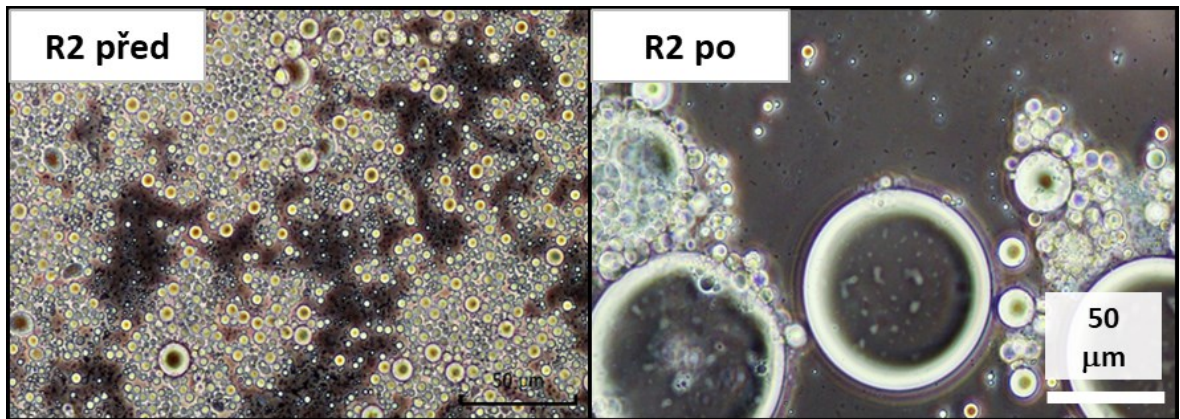
Úspěšnější i neúspěšné pokusy o redispergaci byly zaznamenány pomocí mikroskopického pozorování a vybrané gely/redispergované emulze jsou uvedeny v následujícím přehledu na Obrázcích č. 55–60.



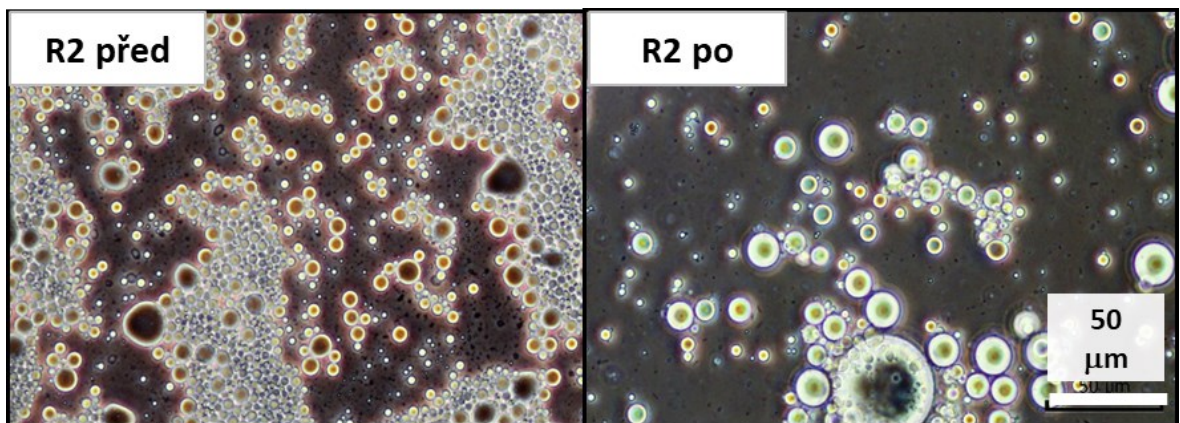
Obrázek č. 55: Redispergace gelu HD, příprava cestou R1 s 0,3 %hm. částic a NaCl: částečně úspěšná



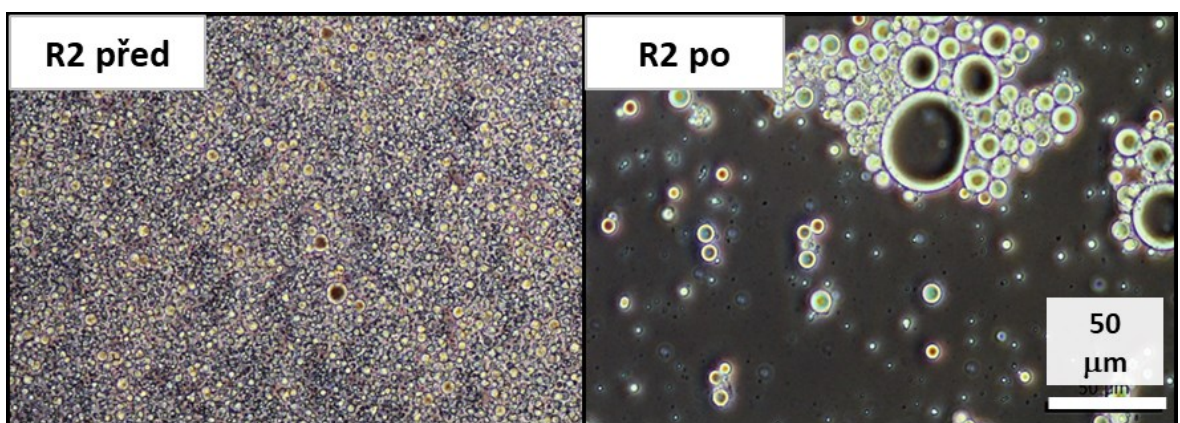
Obrázek č. 56: Redispergace gelu HD, příprava cestou R1 s 0,3 %hm. částic a CaCl₂: částečně úspěšná, viditelné množství uvolněného oleje



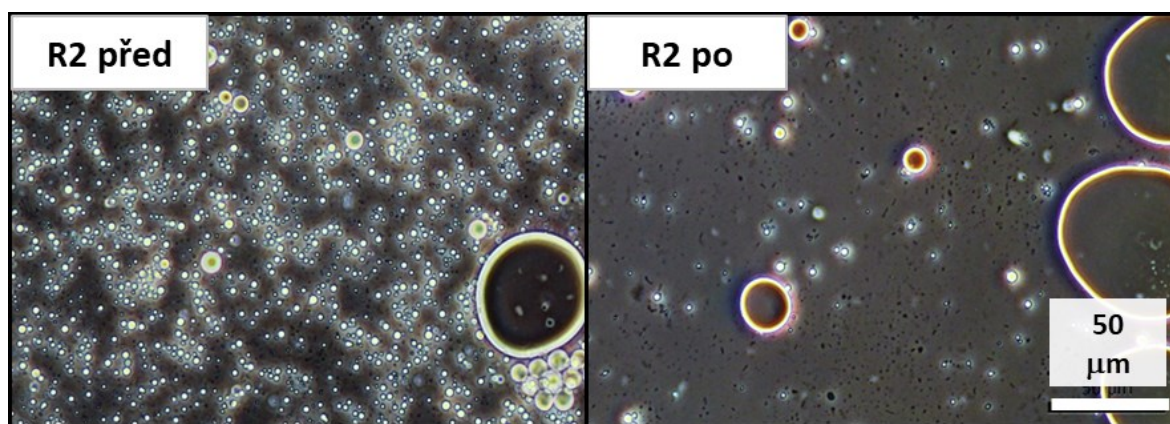
Obrázek č. 57: Redispergace gelu HD, příprava cestou R2 s 0,3 %hm. částic a NaCl: velké množství uvolněného oleje a agregáty částic



Obrázek č. 58: Redispergace gelu HD, příprava cestou R3 s 0,2 %hm. částic a NaCl: úspěšná redispergace s mírným zvětšením částic



Obrázek č. 59: Redispergace gelu HD, příprava cestou R3 s 0,3 %hm. částic a NaCl: úspěšná redispergace s mírným zvětšením částic



Obrázek č. 60: Redispergace gelu HD, příprava cestou R3 s 0,3 %hm. částic s CaCl_2 : neúspěšná redispergace, viditelné množství uvolněného oleje

ZÁVĚR

Diplomová práce se soustředila na nalezení vhodné formulace Pickeringových emulzí, které byly následně využity k přípravě stabilních emulzních gelů (oleogelů). Ke stabilizaci emulzí byly využity dva druhy částic, a to kaseinát sodný a nanokrystalická celulóza. Olejovou fází emulzí tvořil hexadekan nebo olivový olej. K doplňující stabilizaci byly využity dva elektrolyty NaCl a CaCl₂.

Hlavním cílem práce bylo připravit nejprve emulze s vhodným poměrem CNC a CAS a stanovit vliv množství a poměru částic, iontové síly, pH disperzní fáze a typu enkapsulovaného oleje na vlastnosti těchto emulzí. V dalším kroku pak bylo cílem práce připravit z těchto emulzí oleogely a pomocí vhodných analytických technik je charakterizovat. Součástí charakterizace bylo stanovení viskoelastických vlastností připravených gelů, možnosti jejich redispergace ve vodném prostředí a sledování uvolňování olejové fáze v jednotlivých krocích přípravy gelů.

Pro splnění zadání práce byly nejprve připraveny vodné disperze CAS a CNC, které byly následně použity pro stabilizaci emulzí. Velikost disperzních částic byla stanovena metodou dynamického rozptylu světla, a byl sledován vliv koncentrace zvoleného elektrolytu a pH prostředí na jejich chování. Měření bylo zjištěno, že velikost disperzních částic je závislá jak na typu a koncentraci přítomného elektrolytu, tak i na pH disperzního prostředí. Pomocí turbidimetrického měření byla studována i agregace částic ve zvolených médiích v závislosti na jejich koncentraci, přítomnosti elektrolytu a pH prostředí. Bylo zjištěno, že přítomnost elektrolytu působí agregaci obou typů částic a chování CAS, na rozdíl od CNC, závisí více na pH disperzního prostředí. V blízkosti izoelektrického bodu (pH 4,5) pak CAS disperze agregovala za vzniku nerozpustných agregátů. Hodnoty zeta potenciálu byly u obou disperzí záporné (nižší než -30 mV) a se zvyšující se koncentrací elektrolytu jeho hodnoty pro CAS i CNC rostly. Měření mezipovrchového napětí mezi disperzemi a zvolenými olejovými fázemi potvrdilo, že na rozdíl od CNC vykazuje CAS povrchovou aktivitu a snižuje mezipovrchové napětí na rozhraní olej-voda.

Následně byly za použití třech různých postupů (cest) R1, R2 a R3 připraveny emulze stabilizované částicemi CAS a CNC. V závislosti na typu vzorku tyto emulze obsahovaly vždy jeden z olejů, elektrolyt (NaCl, nebo CaCl₂) stabilizující částice o koncentraci 0,2; 0,3 nebo 0,4 %hm. Hodnota pH disperzní fáze zůstala neupravena, nebo byla adjustována na pH 3 a 5. Měření velikostí emulzních kapek laserovou difrakcí bylo zjištěno, že každá

z uvedených proměnných značně ovlivňuje jejich velikost i distribuci. S rostoucí koncentrací částic se průměrná velikost emulzních kapek snižovala a u emulzí s hexadekanem docházelo ke zmenšení kapek i se snižujícím se pH. Na emulze s olivovým olejem mělo snižování pH spíše destabilizační vliv. Vliv rozdílné použité olejové fáze na vlastnosti emulzí byl zřetelný a emulze s hexadekanem měly průměrně menší kapky než ty s olivovým olejem. Stejně tak velikost kapek emulzí s obsahem NaCl byla menší než kapek emulzí s CaCl₂. Nelze opomenout ani vliv cesty přípravy na velikost a distribuci kapek. Nejpriznivější vlastnosti vykazovaly emulze připravené cestou R3, kdy byla nejprve připravena emulze stabilizovaná pouze CNC a v následujícím kroku k ní byly přidány částice CAS. Na základě provedených měření lze říci, že při primární stabilizaci pomocí CNC vznikají menší emulzní kapky. Tyto poznatky z instrumentálního měření byly vizuálně potvrzeny i pomocí mikroskopie. Sledování stability emulzí (tři týdny při 5 °C) prokázalo, že většina emulzí je stabilizována natolik a má takové vlastnosti, že ani po této době nedochází k jejich rozpadu a velikost kapek se jen nepatrně zvětší.

Posledním, a neméně důležitým krokem byla příprava gelů, které vznikly vysušením odebrané emulzní vrstvy získané centrifugací emulzí. Během přípravy gelů bylo stanoveno jak množství nezaenkapsulovaného oleje po centrifugaci, tak i množství oleje uvolněného během sušení gelů. Nezaenkapsulovaný olej byl přítomný u hexadekanových emulzí, a to u emulzí stabilizovaných nižší koncentrací částic (0,2 %hm.). U emulzí s olivovým olejem bylo množství oleje po centrifugaci nižší. Při použití vyšší koncentrace stabilizujících částic (0,3 %hm.) pak vznikaly stabilnější gely s lepší kvalitou. Množství oleje uvolněného při sušení poukázvalo na schopnost gelu zapracovaný olej ve své struktuře udržet. Nejhorší schopnost zadržet olej pak vykazovaly gely z emulzí připravených cestou R2. Další vlastností studovanou na gelech byla jejich schopnost redispergace (tedy zpětný přechod gelu na emulzi) ve vodném prostředí i prostředí s upraveným pH. Nejlepší redispergace gelů bylo dosaženo v demineralizované vodě. Snížení pH způsobilo menší ochotu gelů k redispergaci a vyvolalo jejich rozpad. Viskoelastické vlastnosti gelů byly studovány s cílem získat gel s nejlepší kombinací vyššího elastického modulu G' a nižšího ztrátového modulu G'' , jelikož taková kombinace by měla poskytnout gel pevný i pružný s přívětivou viskozitou. Výsledky ukázaly, že gely s hexadekanem a koncentrací částic 0,3 %hm. vykazovaly příznivější reologické vlastnosti než gely s nižším množstvím částic (0,2 %hm). U posledně jmenovaných gelů převažovala viskózní složka, což mohlo způsobit jejich nestabilitu při vysokých frekvencích. Gel obsahující NaCl byl pevnější než s CaCl₂.

Co se týká vlivu cesty přípravy emulze na viskoelastické vlastnosti hexadekanových gelů, u vzorků z cesty R3 se nejvíce projevila složka elastická. Z gelů s olivovým olejem měly nejlepší vlastnosti formulace s obsahem částic 0,2 %hm částic a NaCl a gely s 0,3 %hm. částic a CaCl₂. V obou případech se jedná o jedny ze stabilnějších gelů, které byly připraveny z emulzí vzniklých cestou R3.

Je třeba říci, že použitý způsob přípravy gelů vysušením centrifugované emulzní vrstvy je unikátní a v literatuře se s ním nesetkáme. Proto i chování vytvořených gelů lze, do jisté míry, považovat za unikátní a jejich srovnání s jinými gelovými systémy je obtížné. Některé z emulzních gelů, které byly připraveny v rámci diplomové práce, vykazovaly příznivé vlastnosti, které by mohly zajistit lepší oxidační stabilitu enkapsulovaných aktivních látek i dobrou fyzikální stabilitu při skladování nebo manipulaci [57].

Představené výsledky diplomové práce představují slibný směr výzkumu v oblasti emulzních systémů a mohou sloužit jako základ pro další prohloubení znalostí o emulzních gelech (oleogelech) s přihlédnutím k jejich použití v kosmetice a v systémech pro dodávání aktivních látek dermální cestou.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

[1] SHCHUKIN, E. D., A. V. PERTSOV, E. A. AMELINA a A. S. ZELENEV. Transfer Processes in Disperse Systems. *Colloid and Surface Chemistry*. Elsevier, 2001, 2001, 320-460. Studies in Interface Science. DOI: 10.1016/S1383-7303(01)80007-7. ISBN 9780444500458. Dostupné z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383730301800077>

[2] SHCHUKIN, E. D., A. V. PERTSOV, E. A. AMELINA a A. S. ZELENEV. The formation of disperse systems. *Colloid and Surface Chemistry*. Elsevier, 2001, 2001, 260-319. Studies in Interface Science. DOI: 10.1016/S1383-7303(01)80006-5. ISBN 9780444500458. Dostupné také z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1383730301800065>

[3] SATOH, A. Introduction to molecular-microsimulation of colloidal dispersions. 2. Boston: Elsevier, 2003. ISBN 978-044-4514-240.

[4] YAMASHITA, Y. a K. SAKAMOTO. Structural Analysis of Formulations. *Cosmetic Science and Technology*. Elsevier, 2017, 2017, 635-655. DOI: 10.1016/B978-0-12-802005-0.00038-0. ISBN 9780128020050. Dostupné také z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128020050000380>

[5] GOODWIN, J. W. The Stability of Dispersions. *Colloids and Interfaces with Surfactants and Polymers - An Introduction*. Chichester, UK, 2004, 2004-07-01, 2004, 127-151. DOI: 10.1002/0470093919.ch5. ISBN 9780470093917. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1002/0470093919.ch5>

[6] RAYNER, M., D. MARKU, M. ERIKSSON, M. SJÖÖ, P. DEJMEK, M. WAHLGREN. Biomass-based particles for the formulation of Pickering type emulsions in food and topical applications. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2014, **458**(September), 48-62. DOI: 10.1016/j.colsurfa.2014.03.053. ISSN 09277757. Dostupné také z:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S092777571400291X>

[7] BOUYER, E., G. MEKHLLOUFI, V. ROSILIO, J.-L. GROSSIORD, F. AGNELY. Proteins, polysaccharides, and their complexes used as stabilizers for emulsions: Alternatives to synthetic surfactants in the pharmaceutical field? *International Journal of Pharmaceutics*. 2012, **436**(1-2), 359-378. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2012.06.052. ISSN

03785173. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517312006503>
- [8] SAKAMOTO, K. *Cosmetic science and technology: theoretical principles and applications*. Amsterdam, Netherlands: Elsevier, [2017]. ISBN 978-012-8020-050.
- [9] BARTOVSKÁ, L. a M. ŠIŠKOVÁ. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. Vyd. 5., přeprac. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005. ISBN 80-708-0579-X.
- [10] ARDITTY, S., C. P. WHITBY, B. P. BINKS, V. SCHMITT a F. LEAL-CALDERON. Some general features of limited coalescence in solid-stabilized emulsions. *The European Physical Journal E*. 2003, **11**(3), 273-281. DOI: 10.1140/epje/i2003-10018-6. ISSN 1292-8941. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1140/epje/i2003-10018-6>
- [11] TADROS, T. F. *Emulsion science and technology: A General Introduction* [online]. 1. Weinheim: Wiley-VCH, c2009 [cit. 2020-03-16]. ISBN 35-273-2525-5. Dostupné z: Wiley Online Library
- [12] RAMSDEN, W. Separation of solids in the surface-layers of solutions and 'suspensions' (observations on surface-membranes, bubbles, emulsions, and mechanical coagulation). Preliminary account. *Proceedings of the Royal Society of London*. 1997, **72**(477-486), 156-164. DOI: 10.1098/rspl.1903.0034. ISSN 0370-1662. Dostupné také z: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspl.1903.0034>
- [13] KALASHNIKOVA, I., H. BIZOT, B. CATHALA a I. CAPRON. New Pickering Emulsions Stabilized by Bacterial Cellulose Nanocrystals. *Langmuir*. 2011, **27**(12), 7471-7479. DOI: 10.1021/la200971f. ISSN 0743-7463. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la200971f>
- [14] DAI, L., C. SUN, Y. WEI, L. MAO a Y. GAO. Characterization of Pickering emulsion gels stabilized by zein/gum arabic complex colloidal nanoparticles. *Food Hydrocolloids*. Elsevier, 2018, **74**(January), 239-248. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.07.040. ISSN 0268005X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X17309773>
- [15] XIE, J., Y. LUO, Y. CHEN, Y. LIU, Y. MA, Q. ZHENG, P. YUE a M. YANG. Redispersible Pickering emulsion powder stabilized by nanocrystalline cellulose combining with cellulosic derivatives. *Carbohydrate Polymers*. 2019, **213**(June), 128-137. DOI:

10.1016/j.carbpol.2019.02.064. ISSN 01448617. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861719302097>

[16] HARMAN, C.L.G., M. A. PATEL, S. GULDIN a G.-L. DAVIES. Recent developments in Pickering emulsions for biomedical applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2019, **39**(February), 173-189. DOI: 10.1016/j.cocis.2019.01.017. ISSN 13590294. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135902941830147X>

[17] LEAL-CALDERON, F. a V. SCHMITT. Solid-stabilized emulsions. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2008, **13**(4), 217-227. DOI: 10.1016/j.cocis.2007.09.005. ISSN 13590294. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029407001331>

[18] ARDITTY, S., V. SCHMITT, J. GIEMANSKA-KAHN a F. LEAL-CALDERON. Materials based on solid-stabilized emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004, **275**(2), 659-664. DOI: 10.1016/j.jcis.2004.03.001. ISSN 00219797. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979704002589>

[19] CHERHAL, F., F. COUSIN a I. CAPRON. Structural Description of the Interface of Pickering Emulsions Stabilized by Cellulose Nanocrystals. *Biomacromolecules*. 2016, **17**(2), 496-502. DOI: 10.1021/acs.biomac.5b01413. ISSN 1525-7797. Dostupné také z:
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.biomac.5b01413>

[20] RAYNER, M. Current status on novel ways for stabilizing food dispersions by oleosins, particles and microgels. *Current Opinion in Food Science*. 2015, **3**(June), 94-109. DOI: 10.1016/j.cofs.2015.05.006. ISSN 22147993. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799315000752>

[21] DICKINSON, E. Biopolymer-based particles as stabilizing agents for emulsions and foams. *Food Hydrocolloids*. 2017, **68**(July), 219-231. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.06.024. ISSN 0268005X. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16302740>

[22] BINKS, B.P. Particles as surfactants – similarities and differences. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2002, **7**(1-2), 21-41. DOI: 10.1016/S1359-0294(02)00008-0. ISSN 13590294. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029402000080>

- [23] LEE, Y.-T., D. S. LI, J. ILAVSKY, I. KUZMENKO, G.-S. JENG, M. O'DONNELL a L.D. POZZO. Ultrasound-based formation of nano-Pickering emulsions investigated via in-situ SAXS. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2019, **536**(February), 281-290. DOI: 10.1016/j.jcis.2018.10.047. ISSN 00219797. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979718312475>
- [24] REN, Z., Z. CHEN, Y. ZHANG, X. LIN a B. LI. Characteristics and rheological behavior of Pickering emulsions stabilized by tea water-insoluble protein nanoparticles via high-pressure homogenization. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2020, **151**(May), 247-256. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.090. ISSN 01418130. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0141813019382376>
- [25] VAN DER SCHAAF, U. S. a H. P. KARBSTEIN. Fabrication of Nanoemulsions by Rotor-Stator Emulsification. *Nanoemulsions*. Elsevier, 2018, 2018, 141-174. DOI: 10.1016/B978-0-12-811838-2.00006-0. ISBN 9780128118382. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128118382000060>
- [26] KEMPIN, M. V., M. KRAUME a A. DREWS. W/O Pickering emulsion preparation using a batch rotor-stator mixer – Influence on rheology, drop size distribution and filtration behavior. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2020, **573**(August), 135-149. DOI: 10.1016/j.jcis.2020.03.103. ISSN 00219797. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979720304070>
- [27] WEGE, H.A., S. KIM, V. N. PAUNOV, Q. ZHONG a O. D. VELEV. Long-Term Stabilization of Foams and Emulsions with In-Situ Formed Microparticles from Hydrophobic Cellulose. *Langmuir*. 2008, **24**(17), 9245-9253. DOI: 10.1021/la801634j. ISSN 0743-7463. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la801634j>
- [28] SARKAR, A., V. ADEMUYIWA, S. STUBLEY, N. H. ESA, F. M. GOYCOOLEA, X. QIN, F. GONZALEZ a C. OLVERA. Pickering emulsions co-stabilized by composite protein/ polysaccharide particle-particle interfaces. *Food Hydrocolloids*. 2018, **84**(June), 282–291. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.06.019. ISSN 0268005X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X18302224>
- [29] XU, R., Z. TENG a Q. WANG. Development of tyrosinase-aided crosslinking procedure for stabilizing protein nanoparticles. *Food Hydrocolloids*. 2016, **60**(October), 324-334. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.04.009. ISSN 0268005X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X1630145X>

- [30] JOYE, I. J. a D. J. MCCLEMENTS. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2014, **19**(5), 417-427. DOI: 10.1016/j.cocis.2014.07.002. ISSN 13590294. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S135902941400079X>
- [31] TELIS, V. R. N. An Introduction to Biopolymer Applications in Food Engineering. Biopolymer engineering in food processing. 1. Boca Raton, FL: CRC Press, c2012, s. 1-16. ISBN 9781439844946.
- [32] EICHHORN, S. J., A. DUFRESNE, M. ARANGUREN, et al. Review: current international research into cellulose nanofibres and nanocomposites. *Journal of Materials Science*. 2010, **45**(1), 1-33. DOI: 10.1007/s10853-009-3874-0. ISSN 0022-2461. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10853-009-3874-0>
- [33] LAM, S., K. P. VELIKOV a O. D. VELEV. Pickering stabilization of foams and emulsions with particles of biological origin. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2014, **19**(5), 490-500. DOI: 10.1016/j.cocis.2014.07.003. ISSN 13590294. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029414000806>
- [34] GRISHKEWICH, N., N. MOHAMMED, J. TANG a K. C. TAM. Recent advances in the application of cellulose nanocrystals. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2017, **29**(May), 32-45. DOI: 10.1016/j.cocis.2017.01.005. ISSN 13590294. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029416301984>
- [35] CAPRON, I. a B. CATHALA. Surfactant-Free High Internal Phase Emulsions Stabilized by Cellulose Nanocrystals. *Biomacromolecules*. 2013, **14**(2), 291-296. DOI: 10.1021/bm301871k. ISSN 1525-7797. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/bm301871k>
- [36] MARTO, J., A. ASCENSO, S. SIMOES, A. J. ALMEIDA a H. M. RIBEIRO. Pickering emulsions: challenges and opportunities in topical delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*. 2016, **13**(8), 1093-1107. DOI: 10.1080/17425247.2016.1182489. ISSN 1742-5247. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17425247.2016.1182489>
- [37] SAĞLAM, D., P. VENEMA, E. VAN DER LINDEN a R. DE VRIES. Design, properties, and applications of protein micro- and nanoparticles. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*. 2014, **19**(5), 428-437. DOI: 10.1016/j.cocis.2014.09.004. ISSN

13590294. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1359029414000910>

[38] DICKINSON, E. Microgels – An alternative colloidal ingredient for stabilization of food emulsions. *Trends in Food Science & Technology*. 2015, **43**(2), 178-188. DOI: 10.1016/j.tifs.2015.02.006. ISSN 09242244. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0924224415000485>

[39] MCCLEMENTS, D. J. Nanoparticle – and microparticle-based delivery systems: encapsulation, protection and release of active compounds [online]. 1. Boca Raton: CRC Press, [2015] [cit. 2020-03-02]. ISBN 978-148-2233-155. Dostupné z: Google Scholar

[40] HAHAM, M., S. ISH-SHALOM, M. NODELMAN, I. DUEK, E. SEGAL, M. KUSTANOVICH a Y. D. LIVNEY. Stability and bioavailability of vitamin D nanoencapsulated in casein micelles. *Food & Function*. 2012, **3**(7), 737-744. DOI: 10.1039/c2fo10249h. ISSN 2042-6496. Dostupné také z:
<http://xlink.rsc.org/?DOI=c2fo10249h>

[41] SURH, J., E DECKER a D MCCLEMENTS. Influence of pH and pectin type on properties and stability of sodium-caseinate stabilized oil-in-water emulsions. *Food Hydrocolloids*. 2006, **20**(5), 607-618. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2005.07.004. ISSN 0268005X. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X05001530>

[42] DICKINSON, E., M. G. SEMENOVA a A. S. ANTIPOVA. Salt stability of casein emulsions. *Food Hydrocolloids*. 1998, **12**(2), 227-235. DOI: 10.1016/S0268-005X(98)00035-6. ISSN 0268005X. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X98000356>

[43] SCHMITT, Ch. a S. L. TURGEON. Protein/polysaccharide complexes and coacervates in food systems. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2011, **167**(1-2), 63-70. DOI: 10.1016/j.cis.2010.10.001. ISSN 00018686. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0001868610001740>

[44] MARANGONI, A. G. Organogels: An Alternative Edible Oil-Structuring Method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2012, **89**(5), 749-780. DOI: 10.1007/s11746-012-2049-3. ISSN 0003-021X. Dostupné také z: <http://doi.wiley.com/10.1007/s11746-012-2049-3>

- [45] PATEL, A. R. Structuring Edible Oils with Hydrocolloids: Where Do we Stand? *Food Biophysics*. 2018, **13**(2), 113-115. DOI: 10.1007/s11483-018-9527-6. ISSN 1557-1858. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s11483-018-9527-6>
- [46] JIANG, Y., L. LIU, B. WANG, et al. Polysaccharide-based edible emulsion gel stabilized by regenerated cellulose. *Food Hydrocolloids*. 2019, **91**(June), 232-237. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2019.01.028. ISSN 0268005X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X1831405X>
- [47] SCHOLTEN, E. Edible oleogels: how suitable are proteins as a structurant? *Current Opinion in Food Science*. 2019, **27**(June), 36-42. DOI: 10.1016/j.cofs.2019.05.001. ISSN 22147993. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799318301334>
- [48] MARTINS, A. J., A. A. VICENTE, R. L. CUNHA a M. A. CERQUEIRA. Edible oleogels: an opportunity for fat replacement in foods. *Food & Function*. 2018, **9**(2), 758-773. DOI: 10.1039/C7FO01641G. ISSN 2042-6496. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7FO01641G>
- [49] PATEL, A., N. CLUDTHS, M. D. B. SINTANG, A. LESAFFER a K. DEWETTINCK. Edible oleogels based on water soluble food polymers: preparation, characterization and potential application. *Food & Function*. 2014, **5**(11), 2833-2841. DOI: 10.1039/C4FO00624K. ISSN 2042-6496.
- [50] MARTINS, A. J., A. A. VICENTE, L. M. PASTRANA a M. A. CERQUEIRA. Oleogels for development of health-promoting food products. *Food Science and Human Wellness*. 2020, **9**(1), 31-39. DOI: 10.1016/j.fshw.2019.12.001. ISSN 22134530. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213453019301119>
- [51] ESPOSITO, C. L., P. KIRILOV a V. G. ROULLIN. Organogels, promising drug delivery systems: an update of state-of-the-art and recent applications. *Journal of Controlled Release*. 2018, **271**(February), 1-20. DOI: 10.1016/j.jconrel.2017.12.019. ISSN 01683659. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365917310830>
- [52] HU, Z., H. S. MARWAY, H. KASEM, R. PELTON a E. D. CRANSTON. Dried and Redispersible Cellulose Nanocrystal Pickering Emulsions. *ACS Macro Letters*. 2016, **5**(2), 185-189. DOI: 10.1021/acsmacrolett.5b00919. ISSN 2161-1653. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsmacrolett.5b00919>

- [53] ADELMANN, H., B. P. BINKS a R. MEZZENGA. Oil Powders and Gels from Particle-Stabilized Emulsions. *Langmuir*. 2012, **28**(3), 1694-1697. DOI: 10.1021/la204811c. ISSN 0743-7463. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la204811c>
- [54] DAVIDOVICH-PINHAS, M. Oil structuring using polysaccharides. *Current Opinion in Food Science*. 2019, **27**(June), 29-35. DOI: 10.1016/j.cofs.2019.04.006. ISSN 22147993. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2214799318300857>
- [55] JIANG, Y., L. LIU, B. WANG, X. SUI, Y. ZHONG, L. ZHANG, Z. MAO a H. XU. Cellulose-rich oleogels prepared with an emulsion-templated approach. *Food Hydrocolloids*. 2018, **77**(April), 460-464. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2017.10.023. ISSN 0268005X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X17312377>
- [56] PATEL, A. R., B. MANKOČ, M. D. BIN SINTANG, A. LESAFFER a K. DEWETTINCK. Fumed silica-based organogels and 'aqueous-organic' bigels. *RSC Advances*. 2015, **5**(13), 9703-9708. DOI: 10.1039/C4RA15437A. ISSN 2046-2069. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4RA15437A>
- [57] LIU, F. a C.-H. TANG. Soy glycinin as food-grade Pickering stabilizers: Part. III. Fabrication of gel-like emulsions and their potential as sustained-release delivery systems for β -carotene. *Food Hydrocolloids*. 2016, **56**(May), 434-444. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2016.01.002. ISSN 0268005X. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X16300029>
- [58] MARTINEZ, R. M., C. ROSADO, M. V. R. VELASCO, S. C. S. LANNES a A. R. BABY. Main features and applications of organogels in cosmetics. *International Journal of Cosmetic Science*. 2019, **41**(2), 109-117. DOI: 10.1111/ics.12519. ISSN 0142-5463. Dostupné také z: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/ics.12519>
- [59] ÖĞÜTCÜ, M. a E. YILMAZ. Characterization of Hazelnut Oil Oleogels Prepared with Sunflower and Carnauba Waxes. *International Journal of Food Properties*. 2014, **18**(8), 1741-1755. DOI: 10.1080/10942912.2014.933352. ISSN 1094-2912. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10942912.2014.933352>
- [60] ONACIK-GÜR, S. a A. ŻBIKOWSKA. Effect of high-oleic rapeseed oil oleogels on the quality of short-dough biscuits and fat migration. *Journal of Food Science and*

Technology. 2019, **2019**(November), 1-10. DOI: 10.1007/s13197-019-04193-8. ISSN 0022-1155. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s13197-019-04193-8>

[61] PATEL, A. R., N. CLUDTS, M. D. B. SINTANG, A. LESAFFER a K. DEWETTINCK. Edible oleogels based on water soluble food polymers: preparation, characterization and potential application. *Food and Function*. 2014, **5**(11), 2833-2841. DOI: 10.1039/C4FO00624K. ISSN 2042-6496. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C4FO00624K>

[62] PATEL, A. R., P. S. RAJARETHINEM, N. CLUDTS, B. LEWILLE, W. H. DEVOS, A. LESAFFER a K. DEWETTINCK. Biopolymer-Based Structuring of Liquid Oil into Soft Solids and Oleogels Using Water-Continuous Emulsions as Templates. *Langmuir*. 2015, **31**(7), 2065-2073. DOI: 10.1021/la502829u. ISSN 0743-7463. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la502829u>

[63] DE VRIES, A., A. WESSELING, E. VAN DER LINDEN a E. SCHOLTEN. Protein oleogels from heat-set whey protein aggregates. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2017, **486**(January), 75-83. DOI: 10.1016/j.jcis.2016.09.043. ISSN 00219797. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979716306981>

[64] QIU, C., Y. HUANG, A. LI, D. MA a Y. WANG. Fabrication and Characterization of Oleogel Stabilized by Gelatin-Polyphenol-Polysaccharides Nanocomplexes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2018, **66**(50), 13243-13252. DOI: 10.1021/acs.jafc.8b02039. ISSN 0021-8561. Dostupné také z: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jafc.8b02039>

[65] MARTO, J., L.F. GOUVEIA, L. GONÇALVES, et al. Design of novel starch-based Pickering emulsions as platforms for skin photoprotection. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2016, **162**, 56-64. DOI: 10.1016/j.jphotobiol.2016.06.026. ISSN 10111344. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1011134415300981>

[66] GRAVELLE, A. J., S. BARBUT a A. G. MARANGONI. Fractionation of ethylcellulose oleogels during setting. *Food and Function*. 2013, **4**(1), 153-161. DOI: 10.1039/C2FO30227F. ISSN 2042-6496. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C2FO30227F>

[67] DAVIDOVICH-PINHAS, M., S. BARBUT a A.G. MARANGONI. The gelation of oil using ethyl cellulose. *Carbohydrate Polymers*. 2015, **117**(March), 869-878. DOI:

10.1016/j.carbpol.2014.10.035. ISSN 01448617. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144861714010406>

[68] GIACINTUCCI, V., C.D. DI MATTIA, G. SACCHETTI, et al. Ethylcellulose oleogels with extra virgin olive oil: the role of oil minor components on microstructure and mechanical strength. *Food Hydrocolloids*. 2018, **84**(November), 508-514. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2018.05.030. ISSN 0268005X. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0268005X18303321>

[69] LUPI, F.R., L. GENTILE, D. GABRIELE, S. MAZZULLA, N. BALDINO a B. DE CINDIO. Olive oil and hyperthermal water bigels for cosmetic uses. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2015, **459**(December), 70-78. DOI: 10.1016/j.jcis.2015.08.013. ISSN 00219797. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0021979715301089>

[70] RHEE, G. J., J. S. WOO, S.-J. HWANG, Y. W. LEE a C. H. LEE. Topical Oleo-Hydrogel Preparation of Ketoprofen with Enhanced Skin Permeability. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1999, **25**(6), 717-726. DOI: 10.1081/DDC-100102231. ISSN 0363-9045. Dostupné také z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1081/DDC-100102231>

[71] ATAHAR, A., N. N. MAFY, M. M. RAHMAN, M. Y. A. MOLLAH a M. A. B. H. SUSAN. Aggregation of urea in water: Dynamic light scattering analyses. *Journal of Molecular Liquids*. 2019, **294**(November). DOI: 10.1016/j.molliq.2019.111612. ISSN 01677322. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0167732219323803>

[72] ŠEVČÍKOVÁ, P., V. KAŠPÁRKOVÁ, J. KREJČÍ a P. VLTAVSKÁ. Dynamický rozptyl světla v analýze koloidních systémů. *Chemické listy* [online]. 2014, **vol. 108**, iss. 5, s. 479-482. [cit. 2020-03-24]. ISSN 1213-7103. Dostupné z: http://www.chemicke-listy.cz/common/content-issue_5-volume_108-year_2014.html.

[73] BHATTACHARJEE, S. DLS and zeta potential – What they are and what they are not? *Journal of Controlled Release*. 2016, **235**(August), 337-351. DOI: 10.1016/j.jconrel.2016.06.017. ISSN 01683659. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0168365916303832>

[74] HASSAN, P. A., S. RANA a G. VERMA. Making Sense of Brownian Motion: Colloid Characterization by Dynamic Light Scattering. *Langmuir*. 2015, **31**(1), 3-12. DOI:

10.1021/la501789z. ISSN 0743-7463. Dostupné také z:
<https://pubs.acs.org/doi/10.1021/la501789z>

[75] KLOUDA, Pavel. Moderní analytické metody. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-863-6907-2.

[76] *Microfluidic methods for measuring zeta potential. Electrokinetics in Microfluidics*. Elsevier, 2004, 2004, **2004**(vol.2), 617-640. Interface Science and Technology. DOI: 10.1016/S1573-4285(04)80032-2. ISBN 9780120884445. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1573428504800322>

[77] *Science and technology of concrete admixtures: 10 - Adsorption of chemical admixtures*. 1. Editor Pierre-Claude AÏTCIN, editor Robert J FLATT. Amsterdam: Elsevier, 2016. Woodhead Publishing series in civil and structural engineering, no. 59. ISBN 978-0-08-100693-1.

[78] JOSEPH, E. a G. SINGHVI. Chapter 4 - Multifunctional nanocrystals for cancer therapy: a potential nanocarrier. *Nanomaterials for drug delivery and therapy*. 1. Washington, WA: Elsevier, 2019, s. 91-116. ISBN 978-0-12-811468-1..

[79] GHOLAMI, R. a N. FAKHARI. Support Vector Machine: Principles, Parameters, and Applications. *Handbook of Neural Computation*. Elsevier, 2017, **2017**, 515-535. DOI: 10.1016/B978-0-12-811318-9.00027-2. ISBN 9780128113189. Dostupné také z:
<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128113189000272>

[80] Mastersizer 3000. Malvern Panalytical [online]. [cit. 2020-04-09]. Dostupné z:
[https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/mastersizer-range/mastersizer-](https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/mastersizer-range/mastersizer-3000?creative=311633610439&keyword=malvern%20mastersizer%203000&matchtype=e&network=g&device=c&gclid=Cj0KCQjwj7v0BRDOARIsAGh37io-aDcdi8YBXdtvBNXYhi8GLkhuqJVk5T2mKlKl_2x319FErhE8FwoaApXqEALw_wcB)

[3000?creative=311633610439&keyword=malvern%20mastersizer%203000&matchtype=e&network=g&device=c&gclid=Cj0KCQjwj7v0BRDOARIsAGh37io-aDcdi8YBXdtvBNXYhi8GLkhuqJVk5T2mKlKl_2x319FErhE8FwoaApXqEALw_wcB](https://www.malvernpanalytical.com/en/products/product-range/mastersizer-range/mastersizer-3000?creative=311633610439&keyword=malvern%20mastersizer%203000&matchtype=e&network=g&device=c&gclid=Cj0KCQjwj7v0BRDOARIsAGh37io-aDcdi8YBXdtvBNXYhi8GLkhuqJVk5T2mKlKl_2x319FErhE8FwoaApXqEALw_wcB)

[81] Laser Diffraction (LD): Particle size distributions from nanometers to millimeters. Malvern Panalytical [online]. [cit. 2020-04-09]. Dostupné z:
<https://www.malvernpanalytical.com/en/products/technology/light-scattering/laser-diffraction>

[82] DRISCOLL, D. F, F. ETZLER, T. A. BARBER, J. NEHNE, W. NIEMANN a B. R. BISTRAN. Physicochemical assessments of parenteral lipid emulsions: light

obscuration versus laser diffraction. *International Journal of Pharmaceutics*. 2001, **219**(1-2), 21-37. DOI: 10.1016/S0378-5173(01)00626-3. ISSN 03785173. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517301006263>

[83] KECK, C. M. a R. H. MÜLLER. Size analysis of submicron particles by laser diffractometry—90% of the published measurements are false. *International Journal of Pharmaceutics*. 2008, **355**(1-2), 150-163. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2007.12.004. ISSN 03785173. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0378517307010113>

[84] Hustota látek: Hustota pevných látek. *Fyzikální kabinet GymKT* [online]. 2001 [cit. 2020-05-02]. Dostupné z: <http://kabinet.fyzika.net/studium/tabulky/hustota-latek.php>

[85] PERUGINI, L., G. CINELLI, M. COFELICE, A. CEGLIE, F. LOPEZ a F. CUOMO. Effect of the coexistence of sodium caseinate and Tween 20 as stabilizers of food emulsions at acidic pH. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 2018, **168**(August), 163-168. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2018.02.003. ISSN 09277765. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0927776518300729>

[86] KOO, C. K.W., C. CHUNG, J.-T. R. FU, A. SHER, P. ROUSSET a D. J. MCCLEMENTS. Impact of sodium caseinate, soy lecithin and carrageenan on functionality of oil-in-water emulsions. *Food Research International*. 2019, **123**(September), 779-789. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.05.043. ISSN 09639969. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0963996919303643>

[87] THOMAR, P., L. BENYAHIA, D. DURAND a T. NICOLAI. The influence of adding monovalent salt on the rheology of concentrated sodium caseinate suspensions and the solubility of calcium caseinate. *International Dairy Journal*. 2014, **37**(1), 48-54. DOI: 10.1016/j.idairyj.2014.02.007. ISSN 09586946. Dostupné také z: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0958694614000557>

[88] THOMAR, P., D. DURAND, L. BENYAHIA a T. NICOLAI. Slow dynamics and structure in jammed milk protein suspensions. *Faraday Discussions*. 2012, **158**(April), 325-339. DOI: 10.1039/c2fd20014g. ISSN 1359-6640. Dostupné také z: <http://xlink.rsc.org/?DOI=c2fd20014g>

[89] ROLO, L. I., A. I. CAÇO, A. J. QUEIMADA, I. M. MARRUCHO a P. COUTINHO. Surface Tension of Heptane, Decane, Hexadecane, Eicosane, and Some

of Their Binary Mixtures. *Journal of Chemical & Engineering Data*. 2002, **47**(6), 1442-1445. DOI: 10.1021/je025536+.

[90] SUPRAN, M. K., J. C. ACTON, A. J. HOWELL a R. L. SAFFLE. Surface tension of common aqueous and organic phases in food emulsions. *Journal of Milk and Food Technology*. 1971, **34**(12), 584-585. DOI: 10.4315/0022-2747-34.12.584. ISSN 0022-2747. Dostupné také z: <https://meridian.allenpress.com/jfp/article/34/12/584/425152/SURFACE-TENSION-OF-COMMON-AQUEOUS-AND-ORGANIC>

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

- CAS Kaseinát sodný
- CNC Nanokrystalická celulóza
- DLS Dynamický rozptyl světla (z angl. Dynamic light scattering)
- HIPE Emulze s vysokým obsahem vnitřní fáze (z angl. High internal phase emulsion)
- HLB Hydrofilně-lipofilní rovnováha
- Kol. Kolektiv
- MA Mastný alkohol
- MK Mastná kyselina
- O/V Emulze typu olej ve vodě
- O/V/O Vícenásobná emulze typu olej ve vodě v oleji
- PAL Povrchově aktivní látka
- PIT Teplota fázové inverze (z angl. Phase inversion temperature)
- SD Směrodatná odchylka (z angl. Standard deviation)
- ST Povrchové napětí (z angl. Surface tension)
- V/O emulze typu voda v oleji
- V/O/V Vícenásobná emulze typu voda v oleji ve vodě

SEZNAM OBRÁZKŮ

<i>Obrázek č. 1: Grafické znázornění destabilizačních procesů emulzí [upraveno z 7]</i>	14
<i>Obrázek č. 2: Grafické vyjádření myšlenky kontaktního úhlu Pickeringových emulzí A) hydrofilní částice, B) bod fázové inverze C) hydrofobní částice [upraveno z 22]</i>	19
<i>Obrázek č. 3: Grafický přehled metod výroby biopolymerních částic [upraveno z 30]</i>	23
<i>Obrázek č. 4: Strukturní jednotka celulózy [32]</i>	26
<i>Obrázek č. 5: Názorné schéma tří cest přípravy emulzí</i>	44
<i>Obrázek č. 6: Disperze CAS 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu NaCl</i>	49
<i>Obrázek č. 7: Disperze CAS 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu CaCl₂</i>	49
<i>Obrázek č. 8: Disperze CNC 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu NaCl</i>	50
<i>Obrázek č. 9: Disperze CNC 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytu CaCl₂</i>	50
<i>Obrázek č. 10: Vliv rostoucí hodnoty pH na tvorbu agregátů u. disperze CAS 0,1 %hm</i> ...	50
<i>Obrázek č. 11: Vliv iontové síly na velikost částic stanovený pro disperzi CAS 0,025 %hm.</i>	52
<i>Obrázek č. 12: Vliv iontové síly na velikost částic stanovený pro disperzi CNC 0,025 %hm.</i>	53
<i>Obrázek č. 13: Vliv rostoucího pH prostředí na velikost částic stanovený pro disperzi CNC 0,025 %hm. a CAS 0,1 %hm.</i>	54
<i>Obrázek č. 14: Absorbance disperzí CAS o různé koncentraci částic v přítomnosti CaCl₂ nebo NaCl. Změna absorbance s rostoucí koncentrací elektrolytů</i>	56
<i>Obrázek č. 15: Absorbance disperzí CNC o různé koncentraci částic v přítomnosti CaCl₂ nebo NaCl. Změna absorbance s rostoucí koncentrací elektrolytů</i>	56
<i>Obrázek č. 16: Změna zeta-potenciálu disperze CAS 0,1 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytů</i>	58
<i>Obrázek č. 17: Změna zeta-potenciálu disperze CNC 0,025 %hm. s rostoucí koncentrací elektrolytů</i>	59
<i>Obrázek č. 18: Mezipovrchové napětí hexadekanu a olivového oleje s rostoucí koncentrací disperze CAS</i>	60
<i>Obrázek č. 19: Mezipovrchové napětí hexadekanu a olivového oleje s rostoucí koncentrací disperze CNC</i>	61
<i>Obrázek č. 20: Porovnání vzhledu emulzí s hexadekanem. Zleva do prava vždy R1, R2, R3.</i>	62
<i>Obrázek č. 21: Porovnání vzhledu emulzí s olivovým olejem. Zleva do prava vždy R1, R2, R3</i>	62
<i>Obrázek č. 22: Vizuelní porovnání emulzí hexadekanu a olivového oleje s koncentrací částic 0,2 %hm. a různým pH</i>	63
<i>Obrázek č. 23: Vizuelní porovnání emulzí hexadekanu a olivového oleje s koncentrací částic 0,3 %hm. a různým pH</i>	64

<i>Obrázek č. 24: Vizuální porovnání emulzí hexadekanu a olivového oleje s koncentrací částic 0,4 %hm. a různým pH.....</i>	<i>64</i>
<i>Obrázek č. 25: Distribuce velikosti kapek emulzí hexadekanu s koncentrací částic 0,2 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu.....</i>	<i>68</i>
<i>Obrázek č. 26: Distribuce velikosti kapek emulzí olivového oleje s koncentrací částic 0,2 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu.....</i>	<i>68</i>
<i>Obrázek č. 27: Distribuce velikosti kapek emulzí hexadekanu s koncentrací částic 0,3 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu.....</i>	<i>69</i>
<i>Obrázek č. 28: Distribuce velikosti kapek emulzí olivového oleje s koncentrací částic 0,3 %hm. – porovnání vlivu elektrolytu.....</i>	<i>69</i>
<i>Obrázek č. 29: Distribuce velikosti kapek emulzí hexadekanu 0,2 %hm. s NaCl – porovnání cest přípravy</i>	<i>70</i>
<i>Obrázek č. 30: Distribuce velikosti kapek emulzí olivového oleje 0,2 %hm. s CaCl₂ - porovnání cest přípravy</i>	<i>70</i>
<i>Obrázek č. 31: Vliv pH na distribuci velikosti kapek emulzí hexadekanu s koncentrací částic 0,3 %hm. s NaCl</i>	<i>71</i>
<i>Obrázek č. 32: Vliv pH na distribuci velikosti kapek emulzí olivového oleje s koncentrací částic 0,3 %hm. s NaCl.....</i>	<i>71</i>
<i>Obrázky č. 33, 34, 35: Distribuce velikosti kapek emulzí cesty přípravy R3 různého pH s NaCl – porovnání vlivu koncentrace částic</i>	<i>72</i>
<i>Obrázek č. 36: Mikroskopie emulzí HD 0,2 %hm. s NaCl</i>	<i>73</i>
<i>Obrázek č. 37: Mikroskopie emulzí HD 0,2 %hm. s CaCl₂.....</i>	<i>74</i>
<i>Obrázek č. 38: Mikroskopie emulzí HD 0,3 %hm. s NaCl</i>	<i>74</i>
<i>Obrázek č. 39: Mikroskopie emulzí HD 0,3 %hm. s CaCl₂.....</i>	<i>74</i>
<i>Obrázek č. 40: Mikroskopie emulzí OO 0,2 %hm. s NaCl</i>	<i>75</i>
<i>Obrázek č. 41: Mikroskopie emulzí OO 0,2 %hm. s CaCl₂.....</i>	<i>75</i>
<i>Obrázek č. 42: Mikroskopie emulzí OO 0,3 %hm. s NaCl</i>	<i>75</i>
<i>Obrázek č. 43: Mikroskopie emulzí OO 0,3 %hm. s CaCl₂.....</i>	<i>76</i>
<i>Obrázek č. 44: Distribuce velikosti kapek emulzí hexadekanu 0,3 %hm. s nativním pH – porovnání stability emulzí po 3 týdnech skladování.....</i>	<i>78</i>
<i>Obrázek č. 45: Distribuce velikosti kapek emulzí olivového oleje 0,3 %hm. s nativním pH – porovnání stability emulzí po 3 týdnech skladování.....</i>	<i>78</i>
<i>Obrázek č. 46: Distribuce velikosti kapek s hexadekanem 0,3 %hm. s pH 5 – porovnání stability emulzí po 3 týdnech.....</i>	<i>79</i>
<i>Obrázek č. 47: Distribuce velikosti kapek s hexadekanem 0,3 %hm. a pH 3 – porovnání stability emulzí po 3 týdnech.....</i>	<i>79</i>
<i>Obrázek č. 48: Centrifugované emulzní vrstvy ve zkumavkách po centrifugaci</i>	<i>80</i>
<i>Obrázek č. 49: Emulzní gely s hexadekanem – jejich vzhled po vyjmutí z formy.....</i>	<i>81</i>
<i>Obrázek č. 50: Emulzní gely s olivovým olejem – jejich vzhled po vyjmutí z formy.....</i>	<i>82</i>

<i>Obrázek č. 51: Grafické vyjádření množství uvolněného oleje emulzí při přípravě gelů s hexadekanem.....</i>	<i>85</i>
<i>Obrázek č. 52: Grafické vyjádření množství uvolněného oleje emulzí při přípravě gelů s olivovým olejem.....</i>	<i>85</i>
<i>Obrázek č. 53: Viskoelastické chování hexadekanových gelů s koncentrací částic 0,2 a 0,3 %hm a různými elektrolyty</i>	<i>86</i>
<i>Obrázek č. 54: Viskoelastické chování gelů s olivovým olejem s koncentrací částic 0,2 a 0,3 %hm a různými elektrolyty</i>	<i>88</i>
<i>Obrázek č. 55: Redispergace gelu HD, příprava cestou R1 s 0,3 %hm. částic a NaCl: částečně úspěšná.....</i>	<i>91</i>
<i>Obrázek č. 56: Redispergace gelu HD, příprava cestou R1 s 0,3 %hm. částic a CaCl₂: částečně úspěšná, viditelné množství uvolněného oleje.....</i>	<i>91</i>
<i>Obrázek č. 57: Redispergace gelu HD, příprava cestou R2 s 0,3 %hm. částic a NaCl: velké množství uvolněného oleje a agregáty částic.....</i>	<i>92</i>
<i>Obrázek č. 58: Redispergace gelu HD, příprava cestou R3 s 0,2 %hm. částic a NaCl: úspěšná redispergace s mírným zvětšením částic</i>	<i>92</i>
<i>Obrázek č. 59: Redispergace gelu HD, příprava cestou R3 s 0,3 %hm. částic a NaCl: úspěšná redispergace s mírným zvětšením částic</i>	<i>92</i>
<i>Obrázek č. 60: Redispergace gelu HD, příprava cestou R3 s 0,3 %hm. částic s CaCl₂: neúspěšná redispergace, viditelné množství uvolněného oleje.....</i>	<i>93</i>

SEZNAM TABULEK

<i>Tabulka č. 1: Rozdělení disperzních systémů na základě skupenství fází.....</i>	<i>12</i>
<i>Tabulka č. 2: Vzorky připravených disperzí pro měření velikosti částic.....</i>	<i>40</i>
<i>Tabulka č. 3: Vzorky připravených disperzí pro měření agregace.....</i>	<i>41</i>
<i>Tabulka č. 4: Vzorky připravených disperzí pro měření zeta-potenciálu.....</i>	<i>42</i>
<i>Tabulka č. 5: Měřené kombinace disperzí s olejem.....</i>	<i>43</i>
<i>Tabulka č. 6: Velikost částic disperze CAS 0,025 %hm. v přítomnosti rostoucí koncentrace elektrolytů (SD – směrodatná odchylka)</i>	<i>51</i>
<i>Tabulka č. 7: Velikost částic disperze CNC 0,025 %hm. v přítomnosti rostoucí koncentrace elektrolytů</i>	<i>52</i>
<i>Tabulka č. 8: Velikost částic disperzí CNC a CAS stanovená v prostředí s různým pH</i>	<i>54</i>
<i>Tabulka č. 9: Absorbance disperzí CAS a CNC v přítomnosti studovaných elektrolytů stanovená při vlnové délce 285 nm.....</i>	<i>55</i>
<i>Tabulka č. 10: Zeta-potenciál roztoku CAS o koncentraci 0,1 %hm. v přítomnosti použitých elektrolytů</i>	<i>57</i>
<i>Tabulka č. 11 Zeta-potenciál disperze CNC o koncentraci 0,025 %hm. v přítomnosti použitých elektrolytů</i>	<i>58</i>
<i>Tabulka č. 12: Hodnoty mezipovrchového napětí disperzí CAS s oleji.....</i>	<i>60</i>
<i>Tabulka č. 13: Hodnoty mezipovrchového napětí disperzí CNC s oleji.....</i>	<i>61</i>
<i>Tabulka č. 14: Velikosti emulzních kapek v prostředí s přirozeným pH (první série) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí.....</i>	<i>65</i>
<i>Tabulka č. 15: Velikosti emulzních kapek v prostředí s přirozeným pH (série pro porovnání vlivu pH) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí</i>	<i>66</i>
<i>Tabulka č. 16: Velikosti emulzních kapek v prostředí s pH 5 (série pro porovnání vlivu pH) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí</i>	<i>67</i>
<i>Tabulka č. 17: Velikosti emulzních kapek v prostředí s pH 3 (série pro porovnání vlivu pH) a různým množstvím stabilizujících částic. R1, R2 a R3 značí rozdílné cesty přípravy emulzí</i>	<i>67</i>
<i>Tabulka č. 18: Srovnání velikostí kapek vybraných emulzí s NaCl po 3 týdnech skladování při 5 °C.....</i>	<i>77</i>
<i>Tabulka č. 19: Stanovená množství nezaenkapsulovaného oleje po centrifugaci jednotlivých emulzí hexadekanu a olivového oleje.....</i>	<i>83</i>
<i>Tabulka č. 20: Množství uvolněného oleje z hexadekanových emulzí a emulzí s olivovým olejem připravených s 0,2 %hm. stabilizujících částic při sušení, vzhledem ke hmotnosti sušeného emulzního gelu</i>	<i>84</i>
<i>Tabulka č. 21: Množství uvolněného oleje z hexadekanových emulzí a emulzí s olivovým olejem připravených s 0,2 %hm. stabilizujících částic při sušení, vzhledem ke hmotnosti sušeného emulzního gelu</i>	<i>84</i>

<i>Tabulka č. 22: Výsledky redispergace jednotlivých emulzních gelů v demineralizované vodě: – neúspěšná, + částečná, ++ úspěšná</i>	90
<i>Tabulka č. 23: Výsledky redispergace jednotlivých emulzních gelů s olivovým olejem v prostředí s různým pH: – neúspěšná, + částečná, ++ úspěšná</i>	90
<i>Tabulka č. 24: Výsledky redispergace jednotlivých emulzních gelů s hexadekanem v prostředí s různým pH: – neúspěšná, + částečná, ++ úspěšná</i>	91

SEZNAM PŘÍLOH