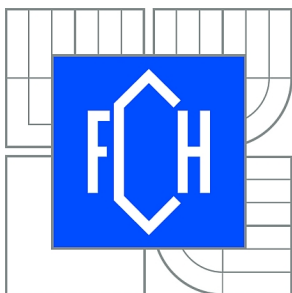




VYSOKÉ UČENÍ TECHNICKÉ V BRNĚ

BRNO UNIVERSITY OF TECHNOLOGY



FAKULTA CHEMICKÁ

ÚSTAV FYZIKÁLNÍ A SPOTŘEBNÍ CHEMIE

FACULTY OF CHEMISTRY

INSTITUTE OF PHYSICAL AND APPLIED CHEMISTRY

## SLEDOVÁNÍ VLIVU VYBRANÝCH SYNTETICKÝCH KONZERVANTŮ NA STABILITU KOSMETICKÉ EMULZE TYPU O/V

MONITORING OF THE INFLUENCE OF SELECTED SYNTHETIC PRESERVATIVES ON THE  
STABILITY OF COSMETIC EMULSIONS O/W

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

BACHELOR'S THESIS

AUTOR PRÁCE

AUTHOR

ANNA HOLUBOVÁ

VEDOUCÍ PRÁCE

SUPERVISOR

Ing. JANA ZEMANOVÁ, Ph.D.

BRNO 2015



Vysoké učení technické v Brně  
**Fakulta chemická**  
Purkyňova 464/118, 61200 Brno 12

## Zadání bakalářské práce

Číslo bakalářské práce: **FCH-BAK0812/2014** Akademický rok: **2014/2015**  
Ústav: Ústav fyzikální a spotřební chemie  
Student(ka): **Anna Holubová**  
Studijní program: Chemie a chemické technologie (B2801)  
Studijní obor: Spotřební chemie (2806R002)  
Vedoucí práce **Ing. Jana Zemanová, Ph.D.**  
Konzultanti:

### Název bakalářské práce:

Sledování vlivu vybraných syntetických konzervantů na stabilitu kosmetické emulze typu O/V

### Zadání bakalářské práce:

1. Vypracování literární rešerše s ohledem na zadané syntetické konzervanty pro kosmetiku.
2. Příprava vzorové emulze, zakomponování zvolených konzervantů, sledování změny viskozity přípravků v čase.

### Termín odevzdání bakalářské práce: 22.5.2015

Bakalářská práce se odevzdává v děkanem stanoveném počtu exemplářů na sekretariát ústavu a v elektronické formě vedoucímu bakalářské práce. Toto zadání je přílohou bakalářské práce.

-----  
Anna Holubová  
Student(ka)

-----  
Ing. Jana Zemanová, Ph.D.  
Vedoucí práce

-----  
prof. Ing. Miloslav Pekař, CSc.  
Ředitel ústavu

V Brně, dne 30.1.2015

-----  
prof. Ing. Martin Weiter, Ph.D.  
Děkan fakulty

## ABSTRAKT

Tato bakalářská práce shromažďuje dostupné informace o komerčně dodávaných kosmetických konzervantech Sensiva PA 20 (složení dle INCI: fenethylalkohol, ethylhexylglycerin), Euxyl K 900 (složení dle INCI: benzylalkohol, ethylhexylglycerin, tokoferol) a Euxyl PE 9010 (složení dle INCI: fenoxxyethanol, ethylhexylglycerin), od německé společnosti Schülke & Mayr, zejména s ohledem na posouzení jejich potenciálního vlivu na stabilitu kosmetické emulze typu O/V. Následně byly na základě literární rešerše aplikovány vybrané metody, jejichž kombinace může výhledově posloužit k požadovanému vyhodnocení ovlivnění stability studovanými konzervačními systémy.

## ABSTRACT

This bachelor's thesis collects available information on commercially supplied cosmetic preservatives Sensiva PA 20 (ingredients by INCI: phenethyl alcohol, ethylhexylglycerin), Euxyl K 900 (ingredients by INCI: benzyl alcohol, ethylhexylglycerin, tocopherol) and Euxyl PE 9010 (ingredients by INCI: phenoxyethanol, ethylhexylglycerin) from German company Schülke & Mayr, especially with regard to the assessment of their potential influence on the stability of cosmetic emulsion O/W. Subsequently, based on the literature review, selected methods were applied, their combination may prospectively serves to required evaluation of the influence on the stability of studied preservation systems.

## KLÍČOVÁ SLOVA

Kosmetické konzervanty, kosmetické emulze, stabilita

## KEYWORDS

Cosmetic preservatives, cosmetic emulsions, stability

HOLUBOVÁ, A. *Sledování vlivu vybraných syntetických konzervantů na stabilitu kosmetické emulze typu O/V*. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2015. 45 s.  
Vedoucí bakalářské práce Ing. Jana Zemanová, Ph.D.

## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně a že všechny použité literární zdroje jsem správně a úplně citovala. Bakalářská práce je z hlediska obsahu majetkem Fakulty chemické VUT v Brně a může být využita ke komerčním účelům jen se souhlasem vedoucího bakalářské práce a děkana FCH VUT.

.....  
podpis studenta

*Poděkování: Velmi ráda bych poděkovala vedoucí práce paní Ing. Janě Zemanové, Ph.D. za veškerou pomoc a za to, že se mi při psaní bakalářské práce plně věnovala. Dále děkuji firmě Ace Trade, s.r.o. za možnost spolupráce na experimentální části bakalářské práce.*

## OBSAH

1	ÚVOD .....	8
2	SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY .....	9
2.1	Úvod do problematiky kosmetických konzervantů .....	9
2.1.1	Aktivita vody .....	9
2.2	Disperzní soustavy .....	10
2.2.1	Charakteristika emulzí .....	10
2.2.2	Příprava emulzí .....	11
2.2.3	Stabilita emulzí a faktory stability ovlivňující .....	11
2.2.3.1	Stabilizace elektrickou dvojvrstvou .....	11
2.2.3.2	Stabilizace pomocí emulgátoru .....	12
2.2.3.3	Faktory ovlivňující stabilitu emulze .....	12
2.2.4	Emulgátory .....	13
2.2.5	Jevy při destabilizaci emulzí .....	14
2.2.5.1	Krémovatění .....	14
2.2.5.2	Flokulace .....	14
2.2.5.3	Koalescence .....	15
2.2.5.4	Ostwaldovo zrání .....	15
2.2.5.5	Inverze fází .....	15
2.2.5.6	Sedimentace .....	16
2.3	Používané koncentrace kosmetických konzervantů .....	16
2.4	Mechanismus účinku kosmetických konzervantů .....	16
2.5	Podmínky mikrobiologické stálosti a testování kosmetických konzervantů .....	17
2.5.1	Stanovení koncentrace MIC .....	17
2.5.2	Semikvitatativní test mikrobiálního růstu .....	18
2.5.3	Opakovaný test (Schülke KoKo test) .....	19
2.6	Indikátorové mikroorganismy použité při testování daných konzervantů .....	21
2.6.1	Gramovo barvení .....	21
2.6.2	Grampozitivní bakterie .....	22
2.6.2.1	Rod <i>Staphylococcus</i> .....	23
2.6.2.2	Rod <i>Corynebacterium</i> .....	23
2.6.2.3	Rod <i>Bacillus</i> .....	23

2.6.3	Gramnegativní bakterie .....	23
2.6.3.2	Rod <i>Escherichia</i> .....	24
2.6.3.3	Rod <i>Pseudomonas</i> .....	24
2.6.4	Plísně .....	24
2.6.4.1	Rod <i>Aspergillus</i> .....	25
2.6.4.2	Rod <i>Penicillium</i> .....	25
2.6.5	Kvasinky.....	25
2.6.5.1	Rod <i>Candida</i> .....	25
2.6.6	Potencionální kontaminanty kosmetických emulzí.....	26
2.7	Experimentální metody.....	27
2.7.1	Reologie .....	27
2.7.1.1	Definice reologie.....	27
2.7.1.2	Uplatnění reologie v praxi .....	28
2.7.1.3	Newtonova rovnice .....	28
2.7.1.4	Newtonovské a nenewtonovské kapaliny .....	29
2.7.2	Měření kinematické viskozity pomocí výtokového pohárku .....	29
2.7.2.1	Instrumentace .....	29
2.7.2.2	Princip metody .....	29
2.8	Surovinové složení studovaných konzervantů .....	30
2.8.1	Benzylalkohol (dle INCI: Benzylalcohol).....	30
2.8.2	Tokoferol (dle INCI: Tocopherol).....	30
2.8.3	Fenoxyethanol (dle INCI: Phenoxyethanol) .....	31
2.8.4	Fenethylalkohol (dle INCI: Phenethylalcohol) .....	32
2.8.5	Ethylhexylglycerin (dle INCI: Ethylhexylglycerin).....	32
3	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST.....	33
3.1	Použité chemikálie.....	33
3.2	Použité přístroje.....	33
3.3	Surovinové složení vodné a olejové fáze připravované emulze.....	33
3.3.1	Voda (dle INCI: Water).....	34
3.3.2	Carbomer 940 (dle INCI: Carbomer) .....	34
3.3.3	Vaselinový olej (dle INCI: Paraffinum liquidum) .....	34
3.3.4	Cetareth-20 (dle INCI: Cetareth-20).....	34
3.3.5	PEG-40 hydrogenovaný olej (dle INCI: PEG-40 Hydrogenated Castrol Oil) ...	34

3.3.6	Glyceryl stearát (dle INCI: Glyceryl Stearate).....	35
3.3.7	Cetearylalkohol (dle INCI: Cetearyl Alcohol).....	35
3.4	Další přidané kosmetické suroviny.....	35
3.4.1	Glycerin (dle INCI: Glycerin).....	36
3.4.2	Polyacrylamid (dle INCI: Polyacrylamide).....	36
3.4.3	Triethanolamin (dle INCI: Triethanolamine).....	36
3.5	Laboratorní příprava emulze .....	37
3.6	Použité metody měření .....	37
3.6.1	Měření pH .....	37
3.6.2	Měření viskosity .....	37
3.6.3	Stanovení sušiny.....	38
3.6.4	Stanovení hustoty .....	38
3.7	Výsledky a diskuse .....	38
4	ZÁVĚR.....	40
5	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK .....	41
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ .....	42

# 1 ÚVOD

Kosmetické konzervanty zastávají v současné kosmetologii a technologii kosmetiky nezastupitelnou roli. Ničí mikroorganismy, které mohou kontaminovat kosmetické přípravky nebo případně zabraňují jejich dalšímu množení. Díky tomu potencionálně snižují výskyt dermatitid a dalších problémů souvisejících s chorobami kůže. Konzervanty napomáhají k tomu, aby vybraný produkt byl stabilní, aby jeho chemické složení a forma bylo působením vnějších vlivů prostředí neměnné, výrazně tedy prodlužují dobu použitelnosti daného výrobku.

Aktuálně je téma syntetických kosmetických konzervantů velmi probírané. Nejčastěji se takto hovoří o parabenech, tedy esterech kyseliny 4-hydroxybenzoové, na které byly pozorovány časté alergické reakce. Ač je tedy jejich použití obecně diskutabilní, v konečném důsledku nelze příliš namítat, protože je legislativně povolené. V přírodní kosmetice se syntetické konzervanty nahrazují esenciálními oleji, které mají mnoho cenných a užitečných chemických vlastností také jako antimikrobiální látky. Musí se však dávkovat velmi opatrně, protože obvykle mají silnou, charakteristickou vůni a ve vyšších koncentracích mohou rovněž vyvolávat alergické reakce. [1]

Cílem teoretické části této bakalářské práce je provést základní charakteristiku syntetických konzervantů a emulzí a jejich stability, jmenovitě Euxylu K 900, Euxylu PE 9010 a Sensivy PA 20 od německé společnosti Schülke & Mayr.

## 2 SOUČASNÝ STAV ŘEŠENÉ PROBLEMATIKY

### 2.1 Úvod do problematiky kosmetických konzervantů

V kosmetických přípravcích vyrobených podle současných platných norem tvoří podstatnou součást právě konzervační činidla. Není tím ale myšleno, že by v surovinovém složení byla majoritně zastoupena, právě naopak. Důležitost kosmetických konzervantů je dána tím, že zabraňují rozkladu daného kosmetického přípravku, tedy chemické transformaci látek v něm obsažených a také ničí produkty a odpadní látky tzv. biodeteriorace neboli mikrobiálního metabolismu. Látky vzniklé při transformaci i produkty biodeteriorace mohou následně interagovat s ostatními složkami, mít určitý alergenní potenciál, působit pak podráždění pokožky a vzniku dalších, s tím spojených dermatologických problémů. Při interakci se může rovněž oslabit účinek obsažených účinných látek. Nejvíce náchylné ke kontaminaci mikroorganismy jsou přípravky s obsahem vody, tedy například emulze nebo gely.

Látky účinné proti bakteriím se nazývají bakteriostatika a bakteriocidy. Bakteriostatika zastavují růst bakterií a bakteriocidy bakterie usmrcují. Proti plísním se používají fungistatika a fungicidy. Fungistatika opět zastavují růst plísní a fungicidy mají za úkol plísně zničit. Mikroorganismy, které napadají kosmetické emulze, jsou klasifikovány jako bakterie, plísně a kvasinky. [1], [2]

#### 2.1.1 Aktivita vody

Pro majoritu kosmetických přípravků je charakteristické, že obsahují vodu. Samotný procentuální obsah vody, ale není zcela validní informací o případné možnosti mikrobiologické kontaminace přípravku. Je důležité vzít v úvahu, že obsažená voda se vyskytuje nejen ve formě volné, která je pro mikroorganismy dostupná, ale také ve formě vázané čili ve formě různých interakcí, které kontaminaci podléhají obtížněji a zřídka.

Veličina, která popisuje míru dostupnosti vody, se nazývá aktivita vody  $a_w$ :

$$a_w = \frac{p_w}{p_w^0} \quad (1)$$

kde  $p_w$  je parciální tlak vodní páry nad roztokem a  $p_w^0$  je parciální tlak vodní páry čisté vody stejné teploty. Na základě tohoto vztahu je jasné, že hodnoty aktivity vody  $a_w$  se pohybují v intervalu od 0 do 1. Důležitým faktorem, který ovlivňuje aktivitu vody  $a_w$  při konstantním obsahu vody je teplota, v tomto případě se zvyšující teplotou aktivita vody  $a_w$  roste. Teplotní závislost popisuje Clausius-Clapeyronova rovnice:

$$\frac{d \ln a_w}{d \ln (1/T)} = -\frac{\Delta H}{R} \quad (2)$$

kde  $R$  je univerzální plynová konstanta,  $T$  je absolutní teplota,  $\Delta H$  je integrální adsorpční teplo. Závislost přirozeného logaritmu  $a_w$  na reciproké teplotě je v určitém rozsahu teplot lineární, podíl  $\Delta H$  a  $R$  je směrnici přímky. [3], [4]

## 2.2 Disperzní soustavy

Disperzní soustavy jsou termodynamické systémy složené minimálně ze dvou chemicky nebo také fázově odlišných druhů hmoty. Jde o systém, kdy je jedna fáze rozptýlena ve druhé ve formě částic. Rozptýlená fáze se nazývá disperzní podíl neboli dispenzum, prostředí, ve kterém je rozptýlena, je prostředí disperzní neboli dispergens. Z hlediska velikosti částic dělíme disperzní soustavy na analyticky disperzní, s částicemi pod 1 nm, koloidně disperzní, kde se velikost částic pohybuje v intervalu od 1 nm do 1000 nm a hrubě disperzní, jejichž částice mají velikost nad 1000 nm. Hrubě disperzní soustavy se dělí ještě do dvou podskupin, na makrodisperzní, jejichž částice lze pozorovat okem a mikrodisperzní, jejichž částice jsou pozorovatelné pod mikroskopem. Diferenciaci disperzních soustav podle skupenství a velikosti částic jednotlivých fází demonstruje **Tab. 1: Klasifikace disperzních soustav dle skupenství a velikosti částic dispergens a disperzumu.** Odvětví chemie, které se zabývá disperzními soustavami, se nazývá koloidní chemie. [5], [6]

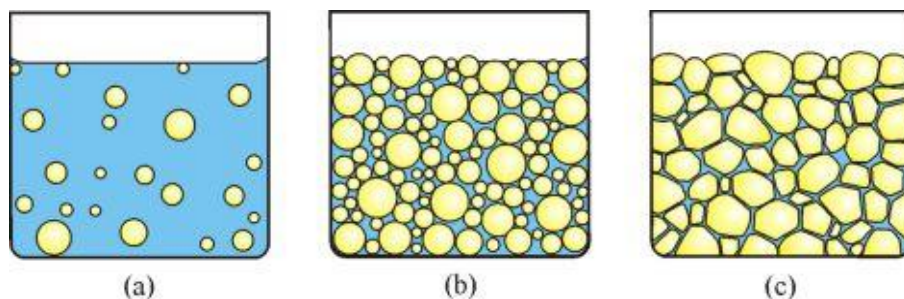
**Tab. 1: Klasifikace disperzních soustav dle skupenství a velikosti částic dispergens a disperzumu,** [5]

skupenství		disperzní soustava		
dispergens	disperzum	hrubě	koloidně	analyticky
plyn	plyn	-	-	dusík a kyslík
	kapalina	děšť, mlha	aerosoly	páry vody ve vzduchu
	pevná látka	prach, dým	aerosoly	páry jodu ve vzduchu
kapalina	plyn	bubliny, pěny	pěny	roztok plynu v kapalině
	kapalina	emulze	lyosoly	směsi mísitelných kapalin
	pevná látka	suspenze	lyosoly	pravé roztoky tuhých látek
pevná látka	plyn	tuhé pěny: například sklo, polystyren nebo krystal s uzavřenými bublinami plynů nebo kapalin		H <sub>2</sub> v Pd, tuhé roztoky, například eutektika, slitiny (bronz, mosaz, amalgamy), látky s krystalickou vodou
	kapalina			
	pevná látka	tuhé směsi krystalů různých látek	tuhé soly	

### 2.2.1 Charakteristika emulzí

Emulze jsou dvoufázové nebo vícefázové disperzní systémy. Fázemi jsou zde kapaliny, které jsou navzájem nemísitelné nebo jen omezeně mísitelné, což je dáno rozdílem jejich polarity.

Emulze jsou podle koncentrace disperzní fáze klasifikovány na zředěné, koncentrované a gelovité neboli vysoce koncentrované, viz **Obr. 1: Jednotlivé typy emulzí z hlediska koncentrace, (a) zředěné, (b) koncentrované, (c) gelovité.** Pro zředěné emulze je typické, že obsahují do 2 % obj. disperzního podílu. Emulze koncentrované jsou charakteristické obsahem 70 % obj. disperzního podílu a více. Disperzní podíl v koncentrovaných emulzích může zaujímat maximálně 74,02 % obj., při této koncentraci disperzního podílu dochází k nejtěsnějšímu geometrickému uspořádání kulovitých částic. U koncentrovanějších gelovitých emulzí se částice deformují do tvaru mnohostěnů, protože jsou na sebe uloženy velmi těsně. Částice od sebe dělí jen tenké filmy, v podobě vrstviček disperzního prostředí a emulgátoru.



**Obr. 1:** Jednotlivé typy emulzí z hlediska koncentrace, (a) zředěné, (b) koncentrované, (c) gelovité, [7]

Dále se emulze dělí podle toho, která z kapalin tvoří disperzní prostředí a disperzní podíl. Pokud je disperzním prostředím polárnější kapalina jde o emulzi typu olej ve vodě, zkráceně O/V. Tyto emulze se také označují jako emulze přímé nebo emulze prvního druhu. V případě, že je disperzním prostředím méně polární kapalina, jde o emulzi typu voda v oleji, zkráceně V/O, jinak označovanou jakou emulzi obrácenou nebo emulzi druhého druhu. [5], [7], [8], [9], [10]

### 2.2.2 Příprava emulzí

Proces tvorby emulzí se nazývá emulzifikace. Proces tvorby disperzních soustav obecně je tzv. dispergování. Nejtypičtějším a nejjednodušším způsobem laboratorní přípravy emulze je protřepávání jednotlivých fází. To ale zpravidla nevede k vytvoření stabilní emulze, proto se za tímto účelem do systému přidávají emulgátory. Dispergování částic se obecně dá provést více způsoby, kromě protřepávání třeba mícháním, prosáváním, ultrazvukem, apod. Stálost emulze lze podpořit procesem homogenizace, který se často provádí u polydisperzních emulzí, což jsou emulze obsahující částice mnoha různých velikostí. Při homogenizaci tohoto typu emulze je právě polydisperzita systému redukována, zmenšuje se velikost částic disperzního podílu. [7], [8]

V průmyslovém měřítku při dispergování používají různé přístroje, které pro výrobu emulzí využívají vibrací, ultrazvuku, působení velkých gradientů smykových rychlostí (tzv. koloidní mlýny), atp. [10]

### 2.2.3 Stabilita emulzí a faktory stabilitu ovlivňující

Stabilita emulzí je důležitým a pečlivě sledovaným kritériem jejich kvality. Kosmetický průmysl na stabilitu emulzí klade značný důraz. Toto kritérium ovlivňuje poměrně mnoho vnějších i vnitřních faktorů.

#### 2.2.3.1 Stabilizace elektrickou dvojrůstvou

Elektrická dvojrůstva je útvar, který tvoří dvě opačně nabitě vrstvy. K vnitřní vrstvě jsou elektrostatickými a adsorpčními silami přitahovány protiionty vrstvy vnější. Náboj protiiontů vnější vrstvy neutralizuje náboj povrchu.

Stabilizace elektrickou dvojrůstvou je charakteristická pro zředěné emulze. V případě emulzí koncentrovaných je potřeba emulgátoru, souvisí to také s počtem srážek vnitřní fáze. [7], [9]

### 2.2.3.2 Stabilizace pomocí emulgátoru

U koncentrovaných emulzí je stabilizace elektrickou dvojrůstvou nedostatečná, proto je nezbytné pro prodloužení životnosti emulze přidat emulgátor. Emulgátor vytváří na povrchu jednotlivých kapének emulze ochrannou vrstvičku, která brání srážce kapének vyvolané teplem nebo sedimentací. Pro spolehlivě zabráněné koalescenci, tedy agregování částic, se musí emulgátor hromadit na rozhraní obou fází systému a musí na tomto rozhraní tvořit soudržný, elastický film, neadhezní k filmům vytvořeným okolo jiných kapének. Stálost je možné podpořit snížením povrchového napětí nebo také zvýšením viskozity vnější fáze.

Podle rozpustnosti emulgátoru v emulzi lze určit typ emulze podle tzv. Bancroftova pravidla, které říká, že disperzním prostředím systému bude ta kapalná fáze, ve které se emulgátor lépe rozpouští, u práškových emulgátorů ta kapalná fáze, ke které má emulgátor větší ochotu ke smáčení. Pro lepší představu lze Bancroftovo pravidlo vysvětlit na teorii mezifázových napětí. Celý disperzní systém je chápán jako třífázový se dvěma mezifázovými rozhraními, fázemi jsou voda (V), emulgátorový film (E) a olej (O). Při určování typu emulze se porovnávají velikosti mezifázových napětí, viz **Tab. 2: Typy emulze na základě porovnání mezifázových napětí.** [7], [9]

**Tab. 2:** Typy emulze na základě porovnání mezifázových napětí, [9]

Typ emulze	Rozpustnost nebo smáčivost emulgátoru	Porovnání mezifázových napětí $\gamma$
O/V	Rozpustný ve vodě	$\gamma_{EO} < \gamma_{VE}$
	Více smáčený vodou	$\gamma_{SO} < \gamma_{VS}$
V/O	Rozpustný v oleji	$\gamma_{VE} < \gamma_{EO}$
	Více smáčený olejem	$\gamma_{VS} < \gamma_{SO}$

**Tab. 3:** Legenda k **Tab. 2**

$\gamma_{EO}$	mezifázové napětí fáze emulgátorového filmu a oleje
$\gamma_{VE}$	mezifázové napětí fáze vody a emulgátorového filmu
$\gamma_{SO}$	mezifázové napětí fáze emulgátorového filmu tuhého emulgátoru a oleje
$\gamma_{VS}$	mezifázové napětí fáze vody a emulgátorového filmu tuhého emulgátoru

### 2.2.3.3 Faktory ovlivňující stabilitu emulze

Na stabilitu emulzí má vliv mnoho faktorů.

Zkoumáním disperzního systému z hlediska poměru fází se obvykle dochází k tomu závěru, že fáze zastoupená v menším poměru je fází vnitřní. Pokud je tato fáze do systému přidána a převyší tím množství vnější fáze, může dojít k reverzi fází a pod vlivem tohoto děje může dojít ke změně typu emulze. Reverzi fází lze v některých případech vyvolat i změnou koncentrace přidávaného emulgátoru.

Teplota má za následek vratnou reverzi fází, protože dochází ke změně rozpustnosti emulgátoru v jednotlivých fázích. Působením extrémně nízkých teplot nebo extrémně vysokých teplot dochází k rozražení emulze.

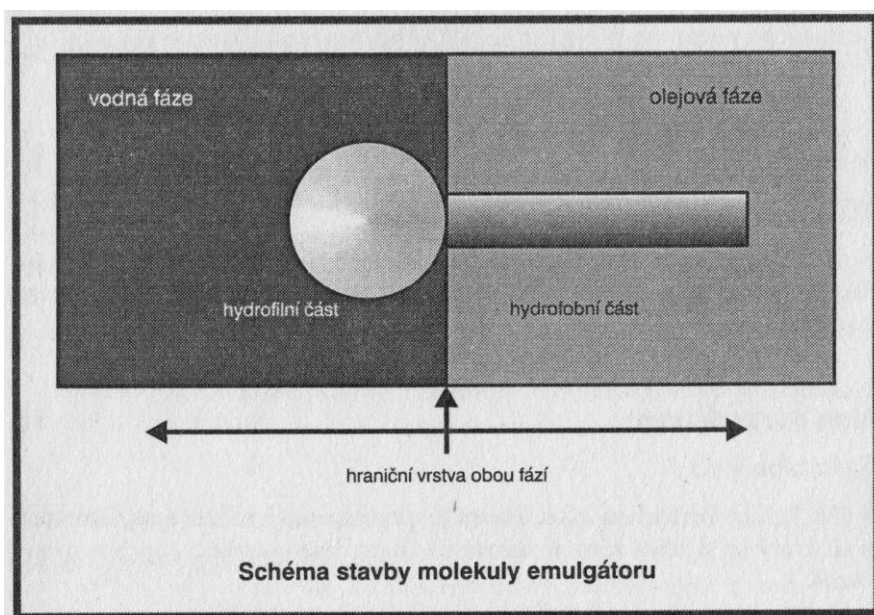
Stabilitu lze také ovlivnit chemickou reakcí po přidání elektrolytu. Elektrolyt může emulgátor transformovat na emulgátor opačného typu. Chemicky je také možné rozrušit

emulgátorový film, pokud lze chemickou reakcí na filmu vytvořit jiné látky, které nemají pro stabilizaci potřebné vlastnosti.

Mechanickým působením se emulze dá stabilizovat i rozrušit v závislosti na konkrétní emulzi. Zředěné emulze podléhají rozrušení například už filtrací, pokud je smáčen materiál filtrační přepážky pouze vnější fází. [9]

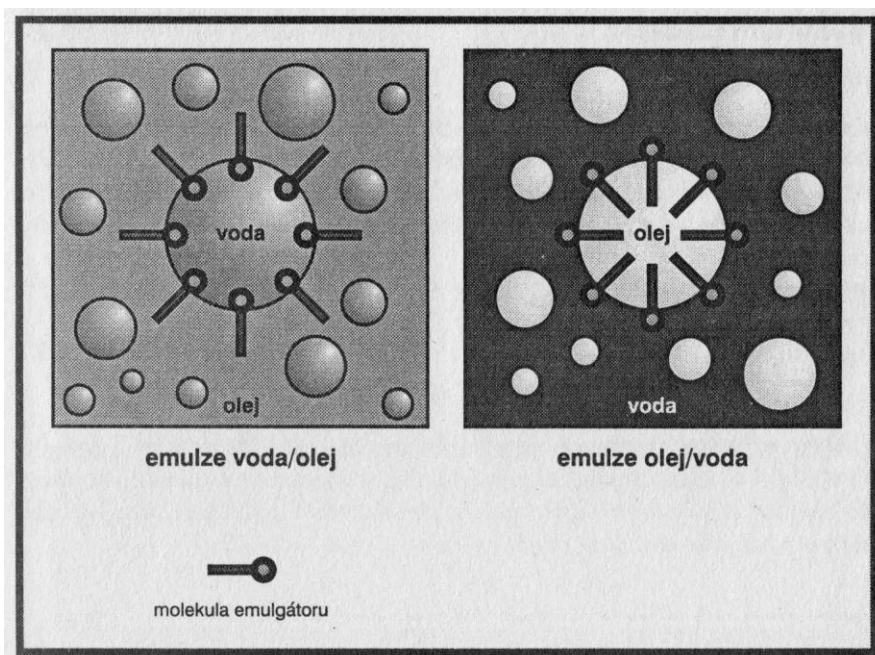
#### 2.2.4 Emulgátory

Emulgátory jsou látky umožňující vznik emulze a její stabilizaci. Emulgátory snižují mezifázové napětí a také zabraňují rozdělení fází na mezifázovém rozhraní, kde vytvoří film nebo bariéru. Stavbu molekuly emulgátoru obecně definuje **Obr. 2: Stavba molekuly emulgátoru.**



**Obr. 2:** Stavba molekuly emulgátoru, [11]

Pravé emulgátory jsou látky micelární povahy, jsou amfifilní, díky adsorpci snižují povrchové nebo mezifázové napětí kapalin. Amfifilní povaha pravých emulgátorů vyplývá z rovnováhy polárních a nepolárních skupin v molekule. Pravé emulgátory se klasifikují podle náboje polární části na iontové a neiontové, skupina iontových se dále kategorizuje na anionaktivní, kationaktivní a amforterní. Dávkování těchto emulgátorů se provádí ve velmi malých dávkách, pro snížení povrchového napětí obvykle postačí dávka 0,001 % obj. Nejvhodnější koncentrací emulgátoru je tzv. kritická micelární koncentrace (CMC), což je koncentrace, kdy se začínají tvořit micely neboli agregace amfifilních molekul emulgátoru. Pro pravé emulgátory je typické, že na fázovém rozhraní tvoří film. Mechanismus působení pravých emulgátorů znázorňuje **Obr. 3: Mechanismus působení pravých emulgátorů.**



**Obr. 3:** Mechanismus působení pravých emulgátorů, [11]

Další skupinou jsou vysokomolekulární koloidy, které jsou specifické tím, že emulzi stabilizují především zvýšením viskosity vnější fáze. Na částicích vnitřní fáze může dojít k tvorbě filmu o tloušťce několika molekul, který mechanicky brání koalescenci. Koalescence je jev, kdy se spojují dohromady v jednu, tím pádem mají větší objem a menší povrch a tedy i menší povrchovou energii než původní částice.

Poslední skupinou jsou nerozpustné emulgátory, které se vyznačují tím, že jsou částečně smáčeny oběma fázemi. Mezi hydrofilní, které jsou více smáčeny vodou, se řadí například alkalické sírany, mezi hydrofobní patří například uhelný prach, saze, sulfidy. [7], [9], [11]

## 2.2.5 Jevy při destabilizaci emulzí

Destabilizace emulzí je primárně charakterizována šesti následujícími jevy, jde o krémovatění, flokulaci, koalescenci, Ostwaldovo zrání, inverzi fází a sedimentaci. [7], [12]

### 2.2.5.1 Krémovatění

Jednotlivé kapičky jsou v emulzi rozptýleny s různou hustotou, naprosto náhodně, což v negativním důsledku podporuje krémovatění. Při krémovatění mají částice s menší hustotou tendenci stoupat v disperzním prostředí směrem vzhůru. V rámci jednoho systému pak vzniká emulze tvořená dvěma podsystemy, dvěma odlišnými emulzemi, jedna z nich má převládající podíl vnější fáze, druhá z nich má převládající podíl vnitřní fáze. Krémovatění se dá zabránit mícháním. [12]

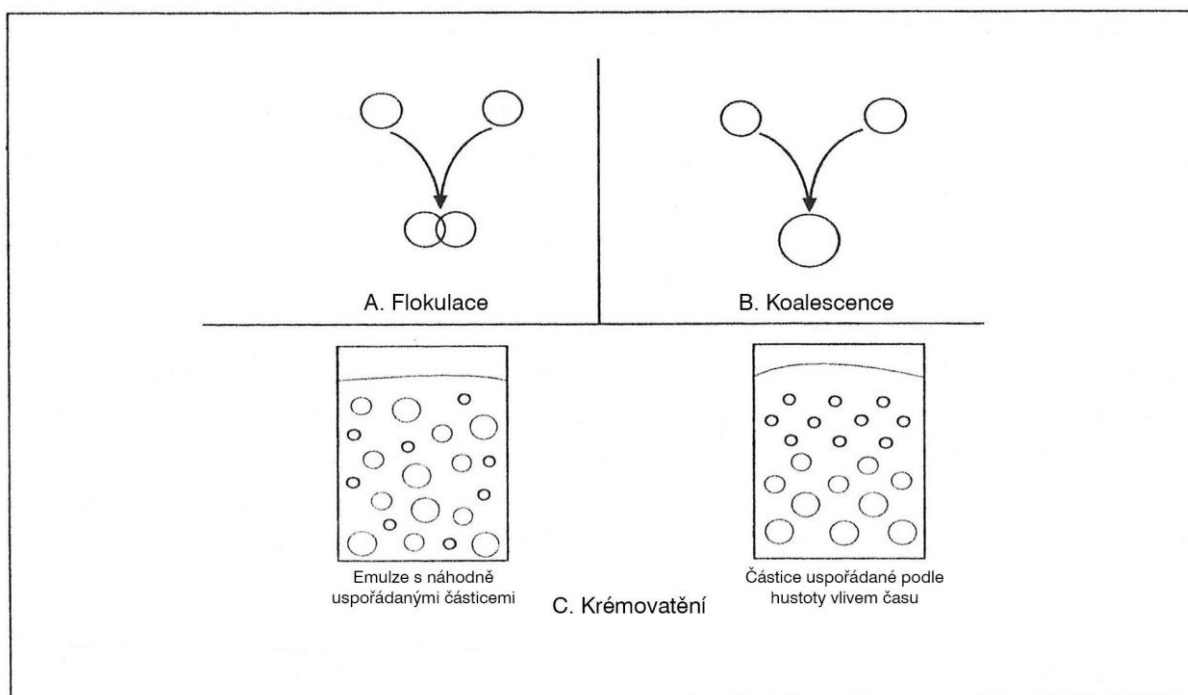
### 2.2.5.2 Flokulace

Flokulace je jev, jehož výsledkem je vratné shlukování dispergovaných částic. Flokulace je způsobena nedostatečným povrchovým napětím micel v disperzním systému, což snižuje

odpudivé síly mezi částicemi. Při flokulaci se nijak nemění velikost částic. Vzniklé agregáty mohou být převedeny zpět na původní koloidní systém peptizací. Je více způsobů, kterými je možné peptizaci provést, například promýváním čistou vodou, tedy odstraněním elektrolytu, který koagulaci vyvolává. Flokulaci lze také předejít mícháním. [7], [12]

### 2.2.5.3 Koalescence

Koalescenci předcházejí obdobné děje jako flokulaci, na rozdíl od flokulace je ale nevratná. Částice se přiblíží na takovou vzdálenost, až mezi nimi začnou působit přitažlivé síly a začnou se spojovat v jednu částici. Pokud koalescenci podlehne dostatek částic, výsledkem bude kompletní separace obou fází. První tři destabilizační procesy znázorňuje **Obr. 4: Krémovatění, flokulace a koalescence.** [12]



**Obr. 4: Krémovatění, flokulace a koalescence,** [12]

### 2.2.5.4 Ostwaldovo zrání

Ostwaldovo zrání funguje na stejném principu jako koalescence, ale je možné si všimnout, že systém má tendence vytvářet částice stejných velikostí. Ostwaldovo zrání je také nevratné a jeho výsledkem také může být oddělení obou fází. Jedním ze způsobů, jak lze snížit míru Ostwaldova zrání v systému je přidání emulgátoru, který snižuje rychlost včleňování nových molekul. [12], [13]

### 2.2.5.5 Inverze fází

Inverzí fází se rozumí přechod emulze na emulzi opačného typu. Faktory, které inverzi ovlivňují, mohou být fyzikální nebo chemické. Inverze fází je děj vratný.

Mezi fyzikální děje, které zapříčiňují inverzi fází, se řadí změna teploty nebo koncentrace emulgátoru, které v konečném důsledku vedou k změně poměru rozpustnosti emulgátoru v obou fázích.

Chemické reakce, například přidavek elektrolytu do systému, vedou k tomu, že emulgátor se změní na látku, která stabilizuje opačný typ emulze než je emulze původní. [7]

#### 2.2.5.6 Sedimentace

Sedimentace je děj, kdy dochází k usazování částic vlivem silového pole. V gravitačním poli částice sedimentují, pokud je jejich hustota větší než hustota disperzního prostředí, sedimentace je v tomto případě rovnoměrná a částice se pohybují směrem dolů, pokud je hustota částic menší než hustota disperzního prostředí, částice se pohybují směrem vzhůru, tzv. vzplývají.

Probíhá-li sedimentace v centrifuze, tedy v odstředivém silovém poli, částice sedimentují radiálně, těžší částice směrem od osy otáčení, lehčí částice naopak. Rychlost pohybu částic se mění se vzdáleností od osy otáčení.

Sedimentaci ovlivňuje velikost částic, rozdíl hustot a pro sedimentaci prováděnou v centrifuze je podstatná také rychlost otáčení. [7]

### 2.3 Používané koncentrace kosmetických konzervantů

Z hlediska dávkování kosmetických konzervantů se rozlišují dvě základní koncentrace: MIC, tedy takzvaná minimální inhibiční koncentrace, to znamená, že jde o nejnižší koncentraci látky, která již dále neumožňuje růst mikroorganismů a MBC, minimální biocidní koncentrace, což je nejnižší koncentrace látky, která neumožňuje mikrobiální růst po dobu následujících 24 hodin od dávkování.

Při volbě vhodné koncentrace daného konzervantu je třeba zvážit dva protichůdné jevy. Koncentrace musí být dostatečná tak, aby byl konzervační systém funkční. Na druhou stranu ale při vysokých koncentracích byly pozorovány nežádoucí jevy jako je například vliv na hormonální rovnováhu nebo potencionálně karcinogenní aktivita. [14]

### 2.4 Mechanismus účinku kosmetických konzervantů

Pro vícefázové soustavy, kde voda vystupuje jako disperzní fáze nebo pro vodné roztoky musí být konzervanty rozpustné ve vodě alespoň v koncentraci MIC, musí se však také rozpouštět i v lipofilním prostředí, tedy v prostředí dispergované fáze. Takto lze charakterizovat amfifilní molekuly s převahou oleofilních skupin. Hydrofilní část molekuly umožňuje její rozpustnost ve vodě a přenos k buněčné membráně mikroorganismů, oleofilní část penetraci do buněčné membrány nebo až do nitra buňky, podle toho se rozlišují látky bakteriostatické a látky bakteriocidní. Bakteriostatika pronikají do buněčné membrány, bakteriocidy do nitra buňky.

Mechanismus účinku souvisí s chemickou strukturou. Jako praktický příklad může být uvedeno použití alkoholů a fenolů, při kterém dochází k dezorganizaci koloidního stavu v buňce, a to například tím, že je koagulována cytoplazma. Kyselina sorbová blokuje oxidační procesy esenciální pro základní životní funkce.

Mezi faktory ovlivňující aktivitu konzervantu se řadí koncentrace, aktuální acidita, přítomnost ostatních pomocných látek, interakce s dalšími látkami obsaženými v daném přípravku a interakce s obalem a další.

Aktuální aciditu je důležité sledovat především u disociujících konzervantů. Disociující konzervanty totiž mohou penetrovat buněčnou membránou, pouze v případě, kdy je největší

podíl konzervantu v nedisociované formě. Aktivita konzervantů může být snížena i adsorpcí, konkrétně adsorpcí dalšími složkami nebo různými druhy obalů, například plastovými. [2]

## 2.5 Podmínky mikrobiologické stálosti a testování kosmetických konzervantů

Aby byl produkt mikrobiologicky stálý, je třeba již od počátku výroby dodržovat vhodné výrobní postupy. Je nutné, aby byly použity vyhovující kosmetické suroviny a obaly, aby byl dodržován přísný hygienický režim, s tím souvisí platné interní předpisy, které se týkají jak výrobních, tak i čistících procesů.

V počáteční fázi mikrobiologické kontaminace lze pozorovat fyzikální změny daného kosmetického produktu, např. u přípravků s vyšším obsahem vody je možné pozorovat zákal.

Mikrobiologické zkoušky se obvykle provádějí ve formě dlouhodobých stabilitních testů, tzn. testů, které probíhají za podmínek uchovávání, probíhají tedy v reálném prostředí a reálném čase. Výsledky těchto testů jsou brány jako důležitější ve srovnání s testy zrychlenými, protože přesněji určují dobu použitelnosti testovaného produktu. [2]

### 2.5.1 Stanovení koncentrace MIC

Pro diskutované konzervanty Euxyl K 900 a Euxyl PE 9010 a v experimentální části použitou Sensivu PA 20 byly provedeny MIC testy. V níže uvedené **Tab. 4: Koncentrace MIC Euxylu K 900 a Euxylu PE 9010 pro vybrané mikroorganismy** a **Tab. 5: Koncentrace MIC Sensivy PA 20 pro vybrané mikroorganismy** jsou zaznamenány výsledky stanovení MIC konzervantů pro vybrané grampozitivní a gramnegativní bakterie, plísně a kvasinky. [15], [17], [18]

**Tab. 4: Koncentrace MIC Euxylu K 900 a Euxylu PE 9010 pro vybrané mikroorganismy, [15]**

Mikroorganismus	MIC koncentrace pro Euxyl <sup>®</sup> PE 9010 [%]	MIC koncentrace pro Euxyl <sup>®</sup> K 900 [%]
<b>Gramnegativní bakterie</b>		
<i>Enterobacter gervoviae</i>	0,50	0,50
<i>Escherichia coli</i>	0,50	0,50
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,25	0,25
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,50	0,50
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0,25	0,50
<i>Pseudomonas putida</i>	0,50	0,50
<b>Grampozitivní bakterie</b>		
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,50	0,50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,50	0,25
<b>Plísně</b>		
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0,25	0,50
<i>Penicillium funiculosum</i>	0,25	0,25
<b>Kvasinky</b>		
<i>Candida albicans</i>	0,25	0,25

**Tab. 5:** Koncentrace MIC Sensivy PA 20 pro vybrané mikroorganismy, [17]

Mikroorganismus	MIC koncentrace pro Sensivu <sup>®</sup> PA 20 [%]
<i>Corynebacterium xerosis</i>	0,50
<i>Corynebacterium flavescens</i>	0,50
<i>Corynebacterium calluae</i>	0,50
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,50
<i>Bacillus subtilis</i>	0,50
<i>Ochrobacter anthropi</i>	0,12
<i>Leifsonia aquatica</i>	0,25
<i>Kocuria rhizophila</i>	0,50

### 2.5.2 Semikvantitativní test mikrobiálního růstu

Diskutované konzervanty Euxyl K 900 a Euxyl PE 9010 byly dále podrobeny semikvantitativním testům mikrobiálního růstu. Výsledky testů jsou uvedeny v jednotkách KTJ·ml<sup>-1</sup> neboli koloniích tvořících jednotky vztažených na jednotku objemu, v tomto konkrétním případě na mililitr.

Připravené vodné roztoky Euxylu K 900 byly naočkovány suspenzemi mikroorganismů. Objem 25 ml roztoku konzervantu byl naočkován 0,1 ml suspenze, aby výchozí počet mikroorganismů činil přibližně 10<sup>8</sup> KTJ·ml<sup>-1</sup>. Roztoky byly promíchány a poté naneseny na trypton sójový agar nebo Sabouraudův 4% dextrózový agar v časových intervalech 3, 6, 24, 48 a 72 hodin. Následovalo inkubování kultur po dobu 48 hodin při teplotě 37°C, vyjma plísně *Aspergillus brasiliensis*, která se inkubovala 72 hodin při teplotě 25°C až 27°C.

Nakonec bylo provedeno semikvantitativní stanovení mikrobiálního růstu, výsledky stanovení uvádí **Tab. 6:** Výsledky semikvantitativního testu mikrobiálního růstu pro Euxyl K 900. [15], [16]

**Tab. 6:** Výsledky semikvantitativního testu mikrobiálního růstu pro Euxyl K 900, [15]

Testovaný mikroorganismus	Použitá koncentrace [%]	Doba kontaktu [h]			
		6	24	72	168
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,50	C	++++	++++	++++
	0,75	C	C	++	–
	1,00	++++	++	–	–
<i>Escherichia coli</i>	0,50	C	C	C	C
	0,75	C	++++	+++	–
	1,00	–	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	0,50	C	C	C	C
	0,75	C	++++	–	–
	1,00	++++	++	–	–
<i>Aspergillus brasiliensis</i>	0,50	C	C	C	C
	0,75	C	C	C	++
	1,00	C	C	++++	–

**Tab. 7:** Legenda k **Tab. 6 a Tab. 8**, [15], [16]

Symbol	Význam symbolu	Počet mikroorganismů obsažených v 1 ml
–	bez růstu mikroorganismů	< 100
+	nepatrný růst mikroorganismů	přibližně 10 <sup>2</sup>
++	mírný růst mikroorganismů	přibližně 10 <sup>3</sup>
+++	silný růst mikroorganismů	přibližně 10 <sup>4</sup>
++++	masivní růst mikroorganismů	přibližně 10 <sup>5</sup>
C	povrch pokrytý mikroorganismy	přibližně 10 <sup>6</sup>

Tento test byl proveden i pro Euxyl PE 9010, jen místo plísně *Aspergillus brasillensis* byl použit kmen *Aspergillus niger*.

**Tab. 8:** Výsledky semikvantitativního testu mikrobiálního růstu pro Euxyl PE 9010, [16]

Testovaný mikroorganismus	Použitá koncentrace [%]	Doba kontaktu [h]					
		3	6	24	48	72	168
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0,00	C	C	C	C	C	C
	0,50	C	C	C	C	C	–
	0,75	C	++	–	–	–	–
	1,00	–	–	–	–	–	–
<i>Escherichia coli</i>	0,00	C	C	C	C	C	C
	0,50	C	C	–	–	–	–
	0,75	+	–	–	–	–	–
	1,00	–	–	–	–	–	–
<i>Candida albicans</i>	0,00	C	C	C	C	C	C
	0,50	C	C	C	C	C	–
	0,75	C	C	++++	+	–	–
	1,00	C	++++	–	–	–	–
<i>Aspergillus niger</i>	0,00	C	C	C	C	C	C
	0,50	C	C	C	C	C	–
	0,75	C	C	+++	+++	–	–
	1,00	C	++++	–	–	–	–

### 2.5.3 Opakovaný test (Schülke KoKo test)

Do nekonzervovaných vzorků byly přidány rozdílné koncentrace konzervantu. Poté byly vzorky očkované uvedenými mikroorganismy ve stanovených časových cyklech. Vždy bezprostředně před každým dalším očkováním byl nanesen vzorek na živné médium. Konzervační účinek byl následně vyhodnocen na základě pozorování růstu mikroorganismů na daném živném médiu. Čím je delší doba, kdy byl zaznamenán první mikrobiální růst, tím je daný konzervant účinnější. V ideálním případě by konzervovaný produkt měl zůstat ve stavu bez mikrobiálního růstu po šesti a více očkovacích cyklech, tím je pak možné zajistit požadovanou dobu trvanlivosti produktu v originálním balení, což je běžně v praxi 30 měsíců. [15], [16], [19]

Výsledky testů pro emulzi typu O/V a carbopolový gel prezentují **Tab. 9:** Výsledky opakovaného testu (Schülke KoKo testu) pro emulzi typu O/V, **Tab. 10:** Výsledky

opakovaného testu (Schülke KoKo testu) pro carbopolový gel a **Tab. 11.** Výsledky opakovaného testu (Schülke KoKo testu) při použití Sensivy PA 20 pro emulzi typu O/V.

**Tab. 9:** Výsledky opakovaného testu (Schülke KoKo testu) pro emulzi typu O/V, [15], [16]

Emulze typu O/V	Počet očkování						
	0	1	2	3	4	5	6
Nekonzervovaná	–	+++ B,Y,M	+++ B,Y,M				
Konzervovaná 0,75 % benzylalkoholu	–	+++ B,Y	+ B,Y	++ B,Y	+ B,Y	++ B,Y	++ B,Y
Konzervovaná 1,00 % benzylalkoholu	–	+ B	+ B	+ B,Y	+ B	+ B,Y	++ B
Konzervovaná 0,75 % Euxylu K 900	–	–	+ Y	–	–	–	–
Konzervovaná 1,00 % Euxylu K 900	–	–	–	–	–	–	–
Konzervovaná 0,75 % Euxylu PE 9010	–	–	–	–	–	–	–
Konzervovaná 1,00 % Euxylu PE 9010	–	–	–	–	–	–	–

**Tab. 10:** Výsledky opakovaného testu (Schülke KoKo testu) pro carbopolový gel, [15], [16]

Carbopolový gel	Počet očkování						
	0	1	2	3	4	5	6
Nekonzervovaný	–	+++ B,Y,M	+++ B,Y,M				
Konzervovaný 0,75 % benzylalkoholu	–	+ M	+ M	+ M	++ M	++ M	+ M
Konzervovaný 1,00 % benzylalkoholu	–	–	–	–	–	–	–
Konzervovaný 0,75 % Euxylu K 900	–	+ M	+ M	+ M	++ M	++ M	++ M
Konzervovaný 1,00 % Euxylu K 900	–	–	–	–	–	–	–
Konzervovaný 0,75 % Euxylu PE 9010	–	+ M	+ M	+ M	++ M	++ M	+ M
Konzervovaný 1,00 % Euxylu PE 9010	–	–	–	–	–	–	–

**Tab. 11.** Výsledky opakovaného testu (Schülke KoKo testu) při použití Sensivy PA 20 pro emulzi typu O/V, [17]

Emulze typu O/V (RL-04-9004)	Počet očkování						
	0	1	2	3	4	5	6
Nekonzervovaný	–	+++ B,Y,M	+++ B,Y,M				
Konzervovaný 0,75 % Sensivy PA 20	–	–	–	–	+ M	+ M	+ M
Konzervovaný 1,00 % Sensivy PA 20	–	–	–	–	–	–	–

**Tab. 12:** Legenda k Tab. 9,10 a 11, [15], [16], [17]

Symbol	Význam symbolu
–	bez růstu mikroorganismů
+	nepatrný růst mikroorganismů
++	mírný růst mikroorganismů
+++	silný růst mikroorganismů
B	Bakterie
Y	Kvasinky
M	Plísně

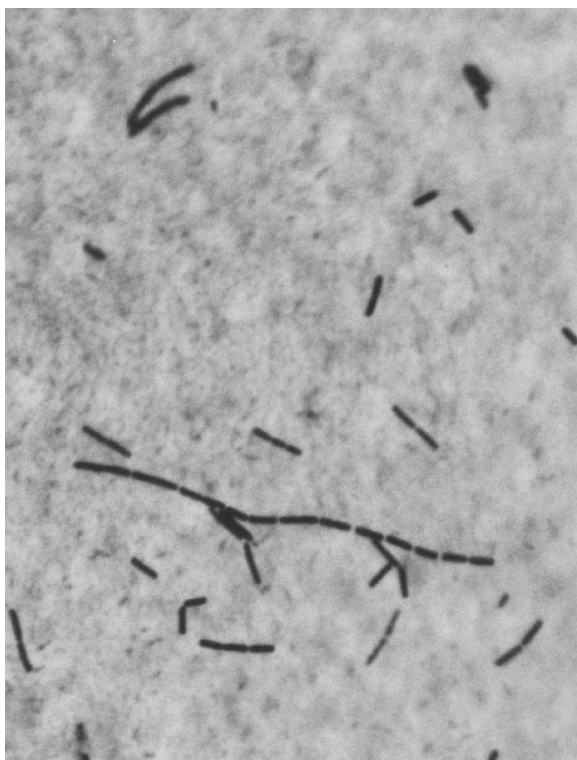
## 2.6 Indikátorové mikroorganismy použité při testování daných konzervantů

### 2.6.1 Gramovo barvení

Gramovo barvení je s jistotou nejznámější diagnostickou metodou analýzy bakterií, nesporně důležitou pro jejich klasifikaci. Vymyslel jej dánský lékař Hans Christian Joachim Gram.

V prvním kroku experimentu se zkoumaný materiál, fixovaný preparát bakterií, obarví krystalovou violetí, buňky tedy získají tmavě modré až modrofialové zbarvení. Dále se k preparátu přidá Lugolův roztok, což vede k reakci, kdy vzniká komplex barviva s jodem. Nakonec se do reakční směsi přidá 96% ethanol nebo aceton. Reakcí s touto látkou buď zůstane komplex krystalové violeti a jodu bakterie stálým nebo se naopak reakční směs rychle odbarví. První možnost specifikuje grampozitivní bakterie, které si zachovávají tmavě modré zbarvení. Druhá možnost charakterizuje bakterie gramnegativní, ty je ještě třeba dobarvit kontrastní látkou, používá se fuchsin nebo safranin.

Podstata Gramova barvení ještě stále nebyla zcela objasněna. Je jisté, že souvisí se stavbou buněčné stěny bakterií. Buněčná stěna gramnegativních bakterií obsahuje mnohem více lipidů než je tomu u bakterií grampozitivních. Naopak grampozitivní bakterie mají ve své buněčné stěně mnohem silnější vrstvu peptidoglykanu než je tomu u gramnegativních bakterií, což pravděpodobně po dehydrataci alkoholem vede k jejímu smrštění a tím se zpomalí vyplavení komplexu krystalové violeti a jodu z buněk grampozitivních bakterií. [20]



**Obr. 5:** Mikroskopický snímek buněk *Pseudomonas aeruginosa* a *Bacillus cereus* po Gramově barvení, zvětšeno 1250krát, [21]

### 2.6.2 Grampozitivní bakterie

Pro grampozitivní bakterie je typické, že jejich buněčnou stěnu majoritně tvoří peptidoglyken, chybí vnější membrána a vrstva lipidopolysacharidů. Při Gramově testu barvení se pod mikroskopem jeví jako temně fialové. [20]

Námi testované konzervanty již byly podrobeny zkouškám s následujícími grampozitivními bakteriemi uvedenými v **Tab. 13:** *Testované grampozitivní bakterie* níže.

**Tab. 13:** *Testované grampozitivní bakterie*, [15], [16], [17]

Rod <i>Staphylococcus</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Rod <i>Corynebacterium</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>
<i>Corynebacterium flavescens</i>
<i>Corynebacterium callunae</i>
Rod <i>Bacillus</i>
<i>Bacillus subtilis</i>
Rod <i>Leifsonia</i>
<i>Leifsonia aquatica</i>
Rod <i>Kocuria</i>
<i>Kocuria rhizophila</i>

### 2.6.2.1 Rod *Staphylococcus*

Název rodu *Staphylococcus* pochází z řeckého *staphylé*, což v překladu znamená hrozen. Bakterie tohoto rodu nejčastěji tvoří shluky hroznovitých tvarů, mohou se však vyskytovat také ve formě řetězců, tetrad, párů nebo i jako jednotlivé koky. Při mikroskopickém pozorování je možné si povšimnout kolonií bílé, žluté nebo oranžové barvy.

Rod *Staphylococcus* je dále specifický tím, že pro řadu virů funguje jako hostitelské prostředí neboli bakteriofág. Přibližně u jedné třetiny lidské populace *Staphylococcus aureus* přežívá v symbióze typu komensalismus především na kůži nebo na sliznicích. Při problémech daného jedince s imunitou pak může projevit svůj patogenní charakter. Obvykle jde o kožní hnisavé afekce, záněty vnitřních orgánů i smrtelné sepse. [22], [23]

### 2.6.2.2 Rod *Corynebacterium*

Rod *Corynebacterium* se řadí mezi grampozitivní tyčinky, které jsou často uspořádány do pravoúhlých geometrických nebo palisádovitých útvarů. Tyto typické útvary, nazývané také jako difteroidní, vznikají při buněčném dělení, kdy se buňky o určitý úhel posouvají. [22]

### 2.6.2.3 Rod *Bacillus*

Rod *Bacillus* patří k nejrozšířenějším a nejznámějším rodům bakterií. Bakterie tohoto rodu našly široké uplatnění v průmyslu, především v odvětví potravinářském, farmaceutickém a textilním. Zmíněný *Bacillus subtilis* je kosmopolitní bakterií, používá se pro průmyslovou přípravu amylasy. Je peritrichní, což znamená, že má celý svůj vnější povrch pokrytý bičíky, takže je schopen buněčného pohybu. Tento druh také je také farmaceuticky významný, produkuje totiž antibiotika polypeptidového typu. [22]

## 2.6.3 Gramnegativní bakterie

Pro testování určených konzervantů společností Schülke & Mayr byly použity vybrané modelové mikroorganismy, viz **Tab. 14: Testované gramnegativní bakterie.**

**Tab. 14:** Testované gramnegativní bakterie, [15], [16], [17]

Rod <i>Enterobacter</i>
<i>Enterobacter gervoviae</i>
Rod <i>Escherichia</i>
<i>Escherichia coli</i>
Rod <i>Klebsiella</i>
<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Rod <i>Pseudomonas</i>
<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Rod <i>Ochrobactrum</i>
<i>Ochrobactrum anthropi</i>

### 2.6.3.1 Rod *Enterobacter*

Rod *Enterobacter* je gramnegativním anaerobním rodem, běžně můžeme najít jeho zástupce v půdních vzorcích, na rostlinách a v trávicím traktu, kde je k životu přímo přizpůsoben a neprojevuje se zde jako patogen. Pokud je patogenně aktivní, postihuje lokomotorický neboli pohybový aparát. [22], [23]

### 2.6.3.2 Rod *Escherichia*

Gramnegativní bakterie rodu *Escherichia coli* se vyskytuje ve střevním traktu člověka a teplokrevných zvířat, vyskytuje se dále i v jejich výměšcích. *Escherichia coli* je původcem průjmových střevních onemocnění a onemocnění močového traktu.

Přítomnost této bakterie je rovněž ukazatelem čistoty, především v potravinářském a vodárenském průmyslu. V tomto případě se užívá testu, který popisuje výsledky reakce *Escherichie coli* s laktózou. Tato bakterie má schopnost zkvašovat laktózu za její přeměny na karboxylové kyseliny. Pozitivní výsledek testu je následně detekován barvivem, které reaguje na chemické změny laktózy.

*Escherichia coli* patří k nejprozkoumanějším bakteriím, velmi často užívaným k různým vědeckým studiím. [22]

### 2.6.3.3 Rod *Pseudomonas*

Bakterie rodu *Pseudomonas* jsou gramnegativní aerobní bakterie bez schopnosti fermentace. Velmi často se používají průmyslově, především v odvětví farmaceutickém při syntéze léčiv.

Některé druhy tohoto početného rodu jsou specifické tvorbou fenazinových barviv žlutých, zelených modrých nebo červených odstínů, které dále vylučují do růstového prostředí. Jedním ze známých praktických příkladů tohoto jevu je modránání a červenání mléka. Jiné druhy mohou tvořit fosforeskující barviva žlutých a zelených odstínů. Mimo to mohou produkovat látky určitého zápachu mající vliv na sensorické vlastnosti potravin.

Většina druhů tohoto rodu je psychrofilní, což znamená, že se dokáží množit i při poměrně nízkých teplotách od 0°C do 10°C a to bez ohledu na jejich optimální teplotu. Pro popis interakce s emulzními systémy je nutno zmínit, že jde o lipolytické organismy.

Testovaná *Pseudomonas aeruginosa* je patogenní pro člověka, zvířata i rostliny. [22]

### 2.6.4 Plísně

Pro stanovení koncentrací MIC a MBC určených konzervantů byly použity dané modelové mikroorganismy, viz **Tab. 15: Testované plísně.**

**Tab. 15: Testované plísně, [15], [16], [17]**

Rod <i>Aspergillus</i>
<i>Aspergillus brasiliensis</i>
<i>Aspergillus niger</i>
Rod <i>Penicillium</i>
<i>Penicillium funiculosum</i>

#### 2.6.4.1 Rod *Aspergillus*

Rod *Aspergillus* je rodem velmi rozšířeným, vyskytuje se v nejrůznějších prostředích díky své bohaté enzymové výbavě. Mikromycety tohoto rodu se rozšiřují velmi rychle, jsou schopné vytvořit plně vybavené kolonie už do tří dnů od počátku inkubace. Kolonie jsou výjimečné obsahem široké palety pigmentů, téměř ve všech odstínech barevné škály, které mohou difundovat do agaru. Jejich zbarvení lze pro lepší pozorování zesílit použitím Czapekova-Doxova agaru, což je chemicky přesně definované růstové médium obohacené o soli anorganického původu a sacharózu.

Experimentálně použitý druh *Aspergillus niger* vděčí svému názvu svým konidiím, které jsou pokryty černým barvivem, které je chrání proti nepříznivým vlivům slunečního záření. *Aspergillus niger* se v průmyslu používá pro syntézu kyseliny citronové. [22], [23]

#### 2.6.4.2 Rod *Penicillium*

Tento rod patří k nejrozsáhlejším, celkově se do něj řadí přibližně 130 druhů. Jeho druhy tvoří kolonie rozeznatelné typickým žlutozeleným až modrozeleným zbarvením, které na napadené půdě vytváří dojem sametového až moučného povlaku. Okraje kolonií, kde nejsou spory, jsou zbarveny do bíla. Některé druhy jsou specifické tvorbou mykotoxinů, a to i v potravinářství, kde se mohou rozvinout například při uchovávání sýrů v nevhodných skladovacích podmínkách, jiné alergickými reakcemi u některých jedinců. [22], [23]

#### 2.6.5 Kvasinky

Při experimentech provedených společností Schülke & Mayr byly použity následující mikroorganismy, viz **Tab. 16: Testované kvasinky**.

**Tab. 16: Testované kvasinky**, [15], [16], [17]

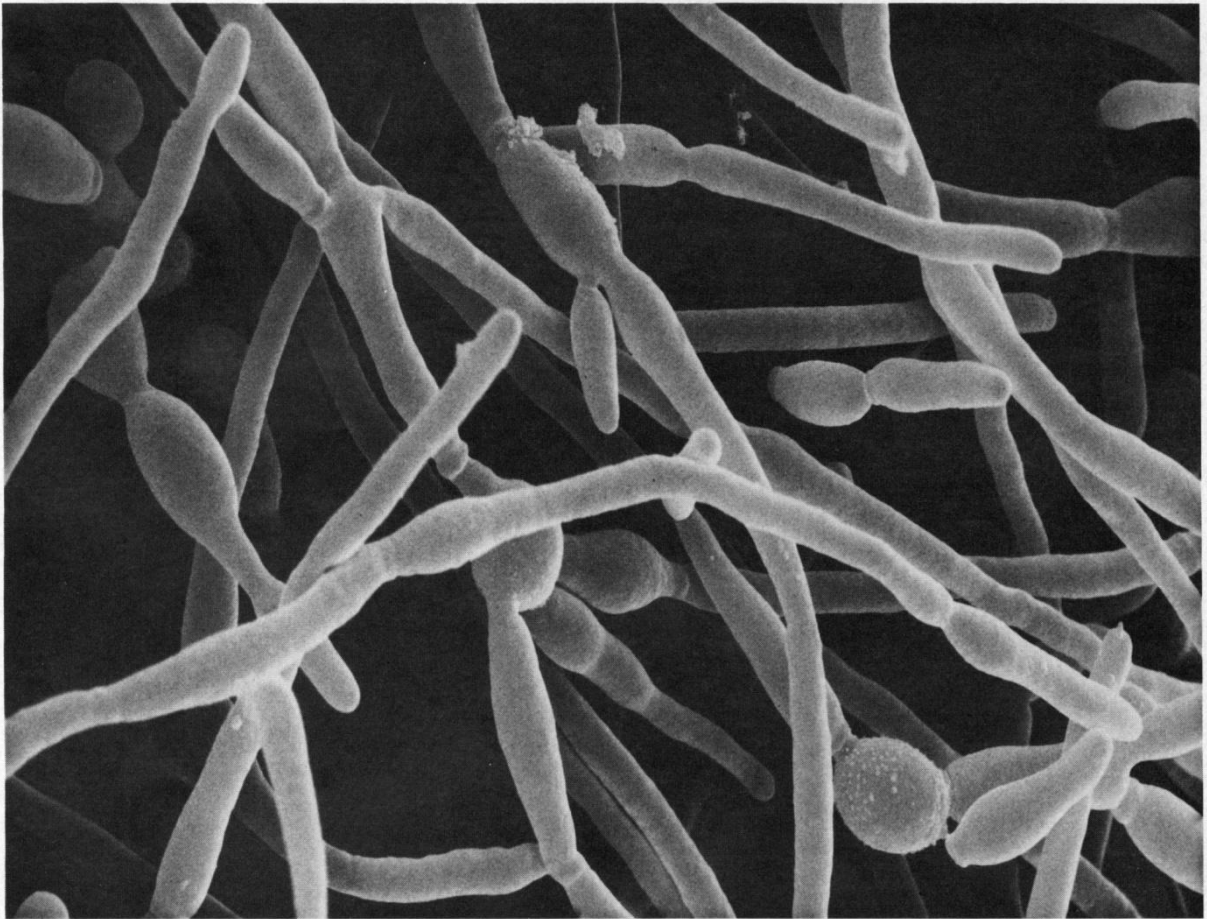
Rod <i>Candida</i>
<i>Candida albicans</i>

##### 2.6.5.1 Rod *Candida*

Do rodu *Candida* se počítají kvasinky se schopností fermentace i bez ní, rod celkem obsahuje asi 160 druhů těchto mikroorganismů.

*Candida albicans* je velmi nebezpečným patogenním mikroorganismem, a to i přesto, že patří k mikroorganismům nejprostudovanější. Způsobuje onemocnění, tzv. kandidózy projevující se především na kůži a nehtech, ale může se dále rozšířit až do vnitřních orgánů. Nejzávažnější formou je tzv. kandidóza krve, jejíž léčení je vzhledem k limitovanému systému antimykotik a vysoké lékové rezistenci tohoto druhu spojeno s poměrně vysokou mírou mortality pacientů. Největší potenciál k nákaze mají lidé, kteří přicházejí do styku s půdou, tedy zahradníci a zemědělci a lidé, kteří při práci přicházejí do styku s cukernými nálevy, například při výrobě konzervovaných potravin. [22], [24]

Mikroskopický snímek *Candidy albicans* poskytuje **Obr. 6: Mikroskopický snímek *Candidy albicans* při zvětšení 6030krát.**



*Obr. 6: Mikroskopický snímek Candidy albicans při zvětšení 6030krát, [25]*

#### 2.6.6 Potencionální kontaminanty kosmetických emulzí

Z hlediska způsobu mikrobiologické kontaminace je možné kontaminující mikroorganismy rozdělit do dvou skupin: na mikroorganismy, které mohou kontaminovat produkty již ve výrobě a mikroorganismy, které napadají produkty až druhotně, tedy až je začne konečný spotřebitel používat. Toto rozdělení demonstruje **Tab. 17: Potencionální kontaminanty ve výrobě a při spotřebě kosmetických přípravků.**

Mnoho ze zmíněných mikroorganismů patří do obou skupin. Spíše výjimečným kontaminantem ze skupiny kontaminantů ve výrobě jsou bakterie rodu *Clostridium*, kterými mohou být kontaminovány produkty s obsahem talku. [26]

**Tab. 17:** Potencionální kontaminanty ve výrobě a při spotřebě kosmetických přípravků, [26]

Kontaminanty při spotřebě	Kontaminanty ve výrobě
Bakterie	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Burkholderia picketii</i>
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>Pseudomonas</i> spp.
<i>Moraxella</i> spp.	<i>Acinetobacter</i> spp.
<i>Enterobacter</i> spp.	<i>Moraxella</i> spp.
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Enterobacter</i> spp.
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Serratia</i> spp.	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Serratia</i> spp.
<i>Sarcina</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.
<i>Propionibacterium</i> spp.	<i>Ochrobacterium anthropi</i>
<i>Corynebacterium</i> spp.	<i>Proteus</i> spp.
<i>Streptococcus mutant</i>	<i>Aeromonas sorbia</i>
<i>Bacillus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.
<i>Clostridium perfringens</i>	
<i>Clostridium tetani</i>	
Plísně a kvasinky	
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida lipolytica</i>
<i>Rhodotorula</i> sp.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>Penicillium</i> spp.	<i>Penicillium</i> spp.
<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>
<i>Scopulariopsis</i> sp.	<i>Paecilomyces variotii</i>

## 2.7 Experimentální metody

### 2.7.1 Reologie

#### 2.7.1.1 Definice reologie

Reologie je vědní obor, který řeší působení vnějších sil na materiály a s tím související deformace materiálů. Pro zjednodušení problematiky reologie, je možné ji charakterizovat jako obor, který se zabývá tokem materiálů.

Tok neboli viskózní deformaci řadíme společně s deformací plastickou a elastickou ke specifickým druhům deformace. Pro tok je typické, že je velmi dobře pozorovatelný u kapalin. V souvislosti s působením vnějších sil zde platí přímá úměra, čím větší je působící vnější síla, tím je větší rychlost deformace. [27]

### 2.7.1.2 Uplatnění reologie v praxi

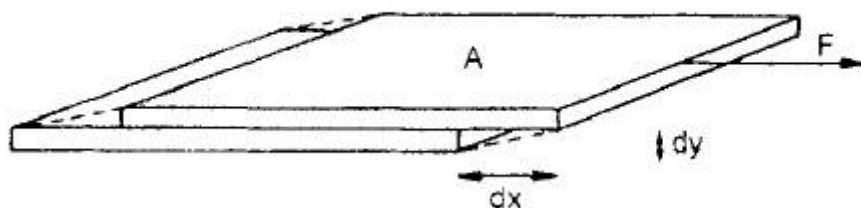
Reologie má všestranné uplatnění napříč mnoha průmyslovými obory, kde pomáhá optimalizovat výrobky pro každodenní použití.

Konkrétně v kosmetickém průmyslu se reologie využívá například při přípravě krémů. Je potřeba stanovit ideální viskozitu krému tak, aby jeho roztírání po pokožce nebylo spotřebiteli nepříjemné, ale zároveň, aby produkt byl nestékavý. U produktů balených v tubách, jako jsou například zubní pasty, je nutné, aby bylo možné produkt bez potíží z tuby dávkovat. Změny viskozity krémů nebo kosmetických výrobků obecně jsou také měřítkem stability daného produktu.

Jinými příklady využití reologie je třeba aplikace v lékařství, kdy reologické vlastnosti krve mohou být spojeny s různými chorobami srdce a cév. [28]

### 2.7.1.3 Newtonova rovnice

Pro lepší názornost je dobré si představit tok kapaliny jako pohyb dvou po sobě posouvajících se vrstev hmoty, stejně jako to demonstruje **Obr. 7: Model viskózní deformace**.



**Obr. 7: Model viskózní deformace, [29]**

Při definici tečného napětí zde platí přímá úměra, tečné napětí mezi těmito dvěma rovinami tekutiny v relativním pohybu je přímo úměrné gradientu rychlosti mezi dvěma vrstvami tekutiny.

$$\tau_{xy} = \frac{F_x}{A} = -\eta \frac{du_x}{dy} \quad (3)$$

$F_x$  definuje tečnou sílu a  $A$  plochu, na kterou deformační tečná síla působí.  $\tau_{xy}$  je tečné napětí, které působí ve směru osy  $x$  v rovině, která je kolmá k ose  $y$ ,  $u_x$  vyjadřuje rychlost toku ve směru osy  $x$  a podíl  $du_x/dy$  je gradientem rychlosti.  $\eta$  je koeficientem úměrnosti v rovnici, zvaným dynamická viskozita. Dynamickou viskozitu lze chápat jako míru vnitřního odporu tekutiny, která je kladena relativnímu pohybu různých částí tekutiny, jehož příčinou je chaotický tepelný pohyb a mezimolekulární přitažlivé síly částic.

Podíl dynamické viskozity  $\eta$  a hustoty kapaliny  $\rho$  stanovuje kinematickou viskozitu  $\nu$ .

$$\nu = \frac{\eta}{\rho} \quad (4)$$

Newtonův vztah je možné interpretovat i jiným způsobem, který do rovnice zahrnuje smykovou rychlost  $D$ . Smyková rychlost  $D$  vyjadřuje rychlost růstu deformace, a to na základě podílu relativní deformace  $\gamma$  za čas  $t$ . Relativní deformace  $\gamma$  slouží k vyjádření velikosti deformace, stanovuje ji podíl  $dx/dy$ . [27], [29]

$$D = \frac{d\gamma}{dt} \quad (5)$$

$$\tau_{xy} = \eta \cdot \frac{d\gamma}{dt} = \eta \cdot D \quad (6)$$

#### 2.7.1.4 Newtonovské a neneutronovské kapaliny

Kapaliny, jejichž chování lze popsat výše uvedenou rovnicí, se nazývají newtonovské. U těchto kapalin můžeme viskozitu chápat jako míru odporu kapaliny vůči toku. Zjednodušeně, čím vyšší bude hodnota viskozity, tím hůře bude kapalina téct.

Pro disperzní soustavy, jejichž chování bude popisováno v experimentální části, je však spíše typické chování neneutronovské. Neneutronovské kapaliny nemají jednu hodnotu viskozity, která by byla konstantní v celém oboru hodnot tečného napětí. Závislost  $\tau = \tau(D)$  pro ně nemá tvar rovnice, ale v tomto případě se vyjadřuje tokovými křivkami neboli reogramy. Reogramy nemusí být jen závislosti  $\tau = \tau(D)$ , ale také  $\eta = \eta(\tau)$  a  $\eta = \eta(D)$ . V praxi se změří tečné napětí při daných hodnotách smykové rychlosti, závislost tečného napětí na smykové rychlosti udává zdánlivou viskozitu. Reogramy  $\eta = \eta(\tau)$  a  $\eta = \eta(D)$  jsou tedy grafickým znázorněním zdánlivé viskozity. [27]

#### 2.7.2 Měření kinematické viskozity pomocí výtokového pohárku

##### 2.7.2.1 Instrumentace

Tato metoda využívá speciální zařízení, tzv. výtokové poháry, zhotovené v souladu s normou ČSN EN ISO 2431. Výtokové pohárky jsou zařízení s definovanou geometrií a daným objemem opatřené výtokovou tryskou se zátkou. Dále je potřeba pro provedení metody mít stojan k upevnění pohárku se stavěcími šrouby, vodováhu, která slouží ke kontrole vyvážení stojanu, víčko, které se používá k odstranění přebytečného vzorku z kelímku a stopky. [30]

##### 2.7.2.2 Princip metody

Metoda je založena na měření času, během kterého testovaná kapalina vlivem gravitační síly protéká výtokovým pohárkem o normou stanoveném průměru výtokové trysky.

Metoda je vhodná pro kapaliny, které jsou ideálně viskózní neboli newtonovské. U reálných kapalin se totiž během měření mění velikost rychlosti smykové deformace, protože ta je závislá na objemu kapaliny, který už během experimentu pohárkem odtéká. Příčinou jevu je hmotnost kapaliny v důsledku gravitace, která je hnací silou toku, ta postupně klesá úměrně objemu kapaliny, který je ještě v pohárku. S časem postupně také klesá smykové napětí.

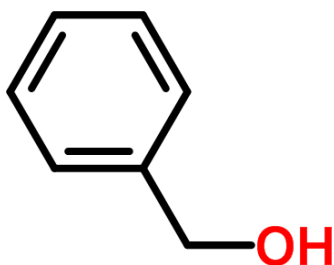
Metoda je obtížně reprodukovatelná u materiálů, jejichž výtoková doba je delší než 100 s, protože ke konci vytékání dochází k defektu zpomalování.

Během experimentu také nesmí dojít ke značnému kolísání teplot, kolísání teplot nesmí překročit 0,5 °C. [30]

## 2.8 Surovinové složení studovaných konzervantů

### 2.8.1 Benzylalkohol (dle INCI: Benzylalcohol)

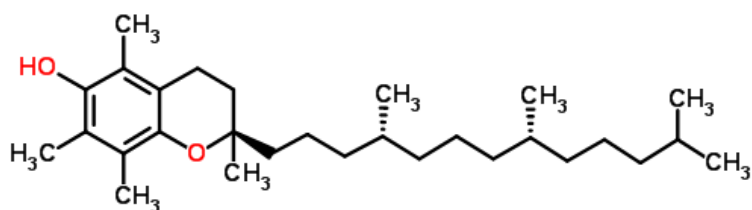
Benzylalkohol je čirá kapalná látka, slabě aromatického zápachu. V přírodní formě jej lze získat například z jasmínu, jehož je složkou. Benzylalkohol je rozpustný ve vodě v koncentraci od 3 %, dále je mísitelný například s methanolem, ethanolem a chloroformem. Vlivem UV záření pomalu podléhá oxidaci a rozpadu na kyselinu benzoovou a benzaldehyd. Optimální pH pro skladování se pohybuje v rozmezí od 5 do 6. Používá se ve farmaceutickém průmyslu jako lokální anestetikum, v kosmetickém průmyslu je častým konzervantem, rozpouštědlem pro parabeny, dále se používá jako složka parfémů a ochucovadel. Jde o látku mikrobiologicky účinnou proti grampozitivním bakteriím, některým gramnegativním bakteriím a kvasinkám a slaběji proti plísním. [31], [32]



*Obr. 8: Benzylalkohol, [33]*

### 2.8.2 Tokoferol (dle INCI: Tocopherol)

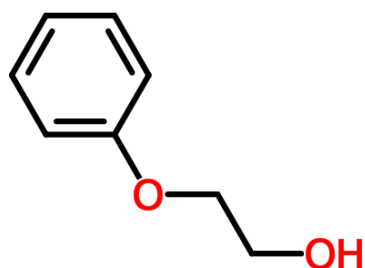
Častěji označován jako Vitamin E. Obvykle se získává syntetickou cestou, ale je také možné jej izolovat z přírodních zdrojů, například je obsažený v oleji z pšeničných klíčků, mléce, žloutku nebo jiných rostlinách. Tokoferol je červená až hnědočervená látka, která je nestabilní v přítomnosti světla, nerozpustná ve vodě, rozpustná v oleji. Tokoferol se vyskytuje ve více formách prostorových izomerů, z nichž nejvýznamnější je alfa-tokoferol. Účinnost tokoferolů klesá v řadě s klesajícím počtem methylových skupin, nejučinnější je alfa forma, beta forma vykazuje přibližně 40 až 50 % účinnost alfa formy, gama forma 4 až 5 % a delta forma přibližně 1 %. Srovnáním účinnosti přírodních a syntetických tokoferolů bylo zjištěno, že přírodní alfa-tokoferol je 1,36× účinnější než synteticky připravený. Tokoferol je rozpustný v lipidech, v kosmetickém průmyslu se používá pro své antioxidační účinky, což znamená, že omezuje aktivitu volných kyslíkových radikálů. [32], [34]



*Obr. 9: Tokoferol, [35]*

### 2.8.3 Fenoxxyethanol (dle INCI: Phenoxyethanol)

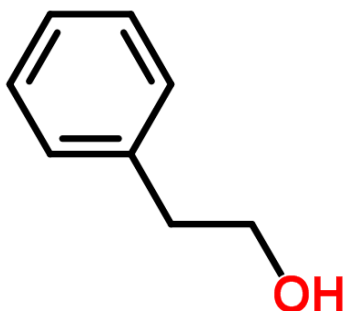
Jde o látku, která se vyskytuje v kapalném formě a je specifická svým výrazným květinovým aroma. Jako konzervační látka se běžně používá v kombinaci s dalšími látkami nebo se používá jako rozpouštědlo konzervačních látek typicky pro parabeny. Mimo kosmetický průmysl našel fenoxxyethanol využití i ve farmaceutickém průmyslu, při výrobě lepidel, jako rozpouštědlo pro barviva a pro chemické syntézy a také ve výrobě repelentů. Je rozpustný ve vodě v množství od 0,5 g do 2,67 g na 100 g vody a je mísitelný s propylenglykolem a glycerinem. Je stabilní při teplotě do 85 °C a pH v rozmezí od 3 do 10. Je účinný v kyselém prostředí, antimikrobiálně působí proti gramnegativním bakteriím a slaběji proti plísním. [31]



*Obr. 10: Fenoxxyethanol, [36]*

#### 2.8.4 Fenethylalkohol (dle INCI: Phenethylalcohol)

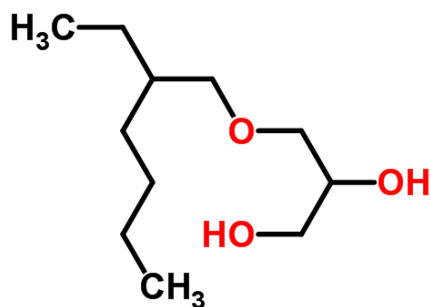
Fenethylalkohol je kapalný aromatický alkohol, který je rozpustný ve vodě v 2% koncentraci. Praktické uplatnění našel mimo jiné jako konzervant očních kapek. Fenethylalkohol je účinný proti bakteriím a slaběji proti plísním. [31]



*Obr. 11: Fenethylalkohol, [37]*

#### 2.8.5 Ethylhexylglycerin (dle INCI: Ethylhexylglycerin)

Ethylhexylglycerin se používá jako změkčovadlo a fixativ s antimikrobiálními účinky. Ethylhexylglycerin zvyšuje účinnost látek, které byly primárně použity jako konzervační látky cílené proti mikroorganismům. Vzácně byly na tuto látku zaznamenány kontaktní alergické dermatitidy. [38], [39]



*Obr. 12: Ethylhexylglycerin, [40]*

### 3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

#### 3.1 Použité chemikálie

- Demivoda – Ace Trade, s.r.o. (Česká republika)
- Acritamer 940, Carbomer 940 – A.C.E.F. (Itálie)
- Vaselineový olej, White mineral oil Blandol, Paracos – Sonneborn Refined Products B.V. (Nizozemsko)
- Sabowax CS-20 – Sabo (Itálie)
- Sabowax ELH40 – Sabo (Itálie)
- Cutina GMS, Glycerylmonostearate, GMS 45 – Sabo (Itálie)
- Sabonal C16-18, Cetearylalcohol, Ginol 16-18 TA – Sabo (Itálie)
- Glycerin 86,5 % – AarhusKarlshamn Sweden AB (Švédsko)
- Sepigel 305 – Chemservis, s.r.o. (Česká republika)
- Sensiva PA 20 – Schülke & Mayr (Německo)
- Triethanolamin – EURO-Šarm, s.r.o. (Česká republika)

#### 3.2 Použité přístroje

- varná deska – Sencor SCP 2251 (Čína)
- kontaktní teploměr – Mextech Multi-Thermometer ST-9269B (Čína)
- tyčový mixér – Silvercrest (Německo)
- pH metr – Hanna Instruments HI 3220 (Rumunsko), elektroda Hamilton – Polylite Lab (Švýcarsko)
- rotační viskosimetr – Fungilab Expert (Španělsko)
- sušicí váhy – Sartorius MA35 (Německo)
- pyknometr speciálně zhotovený pro účely laboratoře firmy Ace Trade, s.r.o.

#### 3.3 Surovinové složení vodné a olejové fáze připravované emulze

Při laboratorní přípravě emulze pro účely experimentální části byly v první fázi přípravy naváženy suroviny vodné fáze a olejové fáze podle receptury výrobce. Přehled surovin vodné a olejové fáze udává **Tab. 18: Kosmetické suroviny vodné a olejové fáze podle INCI.**

**Tab. 18:** Kosmetické suroviny vodné a olejové fáze podle INCI

Vodná fáze	Olejová fáze
Water	Paraffinum liquidum
Carbomer 940	Ceteareth-20
	PEG-40 Hydrogenated Castrol Oil
	Glyceryl Stearate
	Cetearyl Alcohol

### 3.3.1 Voda (dle INCI: Water)

Voda je základní složkou většiny kosmetických přípravků. Obvykle plní funkci rozpouštědla dalších složek. Při výrobě kosmetických preparátů je důležité používat vodu demineralizovanou, protože vysoký obsah solí vápníku a železa má negativní vliv na konečnou trvanlivost produktu. [11]

### 3.3.2 Carbomer 940 (dle INCI: Carbomer)

Jde o polymer na bázi syntetických pryskyřic. V kosmetické chemii zastává roli želírovacího prostředku pro vodné fáze emulzí, přidává se, aby zvýšil viskozitu a také jako suspenzační činidlo. Funguje na principu tvorby micelárních struktur, do kterých se následně mohou včleňovat různé esenciální oleje a vůně. Z hlediska fyzikální formy jde o jemný, bílý, hygroskopický prášek. [11], [41]

### 3.3.3 Vaselineový olej (dle INCI: Paraffinum liquidum)

Jde o ropnou frakci nasycených uhlovodíků s dlouhými řetězci, tvoří jej uhlovodíky  $C_{18}H_{38}$  až  $C_{32}H_{66}$ . Vaselineový olej je bezbarvý, tuhé konzistence a prakticky bez zápachu a chuti. Je nerozpustný ve vodě a alkoholu, naopak v etheru a benzenu se rozpouští. V přírodě se vyskytuje ve více formách, například ozokerit, což je samostatný uhlovodíkový vosk mimo ropu nebo cerezin, což je jeho mikrokrytalická forma s vyšším bodem tání. Pokožka na něj může reagovat iritací v závislosti na jeho čistotě.

Používá se na úpravu plastifikace a jako masťový základ do krémů, je častou složkou pomád na rty a také kosmetických přípravků pro fixaci účesu jako jsou brilantiny nebo vlasové krémy. [11], [32], [42]

### 3.3.4 Cetareth-20 (dle INCI: Cetareth-20)

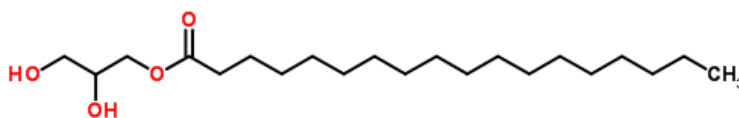
Po chemické stránce se jedná o polyetylen glykolether cetarylalkoholu s dvaceti přilehlými polyethylenovými skupinami. Z fyzikálního hlediska jde o bílou hmotu, která je rozpustná ve vodě. V kosmetické chemii funguje jako emulgátor pro emulze typu O/V. Emulze, které jsou připravovány s použitím tohoto emulgátoru, mají velmi dobrou stabilitu vůči rušivým látkám v přípravku obsaženým. [11], [32]

### 3.3.5 PEG-40 hydrogenovaný olej (dle INCI: PEG-40 Hydrogenated Castrol Oil)

Z hlediska organické chemie hovoříme o polyetylen glykoletheru ricinového oleje s čtyřiceti přilehlými polyetylen glykolovými skupinami. Při přípravě kosmetických emulzí zastává roli koemulgátoru, což znamená, že podporuje funkci emulgátoru, ale v případě jeho samostatného použití tuto funkci neplní. Dále se používá jako rozpouštědlo, protože dobře rozpouští parfémové oleje ve vodě téměř nerozpustné. [11], [32]

### 3.3.6 Glyceryl stearát (dle INCI: Glyceryl Stearate)

Monoglycylester kyseliny stearové, které se vyrábí syntetickou cestou z hovězího loje nebo rostlinných tuků. Dá se dispergovat v horké vodě a je rozpustný v alkoholu. Je důležitým konzistenčním činidlem. Z dermatologického hlediska je jeho použití velmi vhodné, protože nevysušuje pokožku a primárně nepůsobí iritačně. [11], [32], [43]



*Obr. 13: Glyceryl stearát, [44]*

### 3.3.7 Cetearylalkohol (dle INCI: Cetearyl Alcohol)

Vyrábí se obdobně jako Glyceryl stearát, tedy synteticky z hovězího loje nebo z rostlinných tuků, mimo to se může získávat z petrochemických meziproductů. I funkce je podobná, slouží také jako konzistenční činidlo, emulzím dodává stabilitu a jemnost. [11]

## 3.4 Další přidané kosmetické suroviny

Do připravené emulze byly dále přidány následující kosmetické suroviny, viz **Tab. 19: Další přidané kosmetické suroviny podle INCI**. Tyto suroviny se přidávají ve velmi nízkých koncentracích, řádově v desetinách procent až procentech. Tyto suroviny musí být přidány až do vychladlé emulze, jinak by jejich použití bylo bezúčelné, fungují jako stabilizátory, konzervanty a upravují texturu konečného produktu a jeho pH.

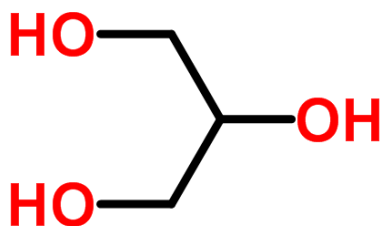
**Tab. 19:** Další přidané kosmetické suroviny podle INCI

Glycerin
Polyacrylamide
Ethylhexylglycerin
Phenethyl Alcohol
Triethanolamine

### 3.4.1 Glycerin (dle INCI: Glycerin)

Propan-1,2,3-triol je čirá sirupovitá kapalina sladké chuti, která je rozpustná ve vodě. V přírodě je poměrně značně zastoupen, protože většina tuků je po chemické stránce právě triglyceridy mastných kyselin, je také vedlejším produktem v průmyslu mýdel. Jeho deriváty estery se ve výrobě používají jako emulgátory. Jde o silné dehydratační činidlo, má velmi silné hygroskopické vlastnosti. Zlepšuje aplikaci krémů tím, že podporuje roztíratelnost a pomáhá fyzikálně stabilizovat jejich konzistenci.

Je jednou z nejpoužívanějších kosmetických surovin, používá se do velké většiny kosmetických přípravků, namátkou do pleťových krémů, krémů na ruce, zubních past a deodorantů. [11], [32], [42]



**Obr. 14:** Glycerin, [45]

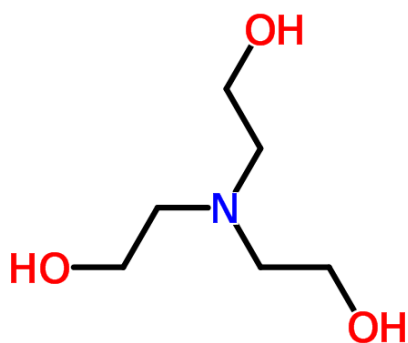
### 3.4.2 Polyacrylamid (dle INCI: Polyacrylamide)

Jde o polymer na bázi syntetických pryskyřic sloužící jako želírovací prostředek vodné fáze emulzí, což podporuje jejich stabilitu. [11]

### 3.4.3 Triethanolamin (dle INCI: Triethanolamine)

Má fyzikální formu viskózního, bezbarvého oleje se slabým čpavkovým zápachem. Je rozpustný ve vodě, alkoholu a chloroformu, částečně rozpustný v benzenu a v etheru. Slouží k úpravám hodnoty pH nebo neutralizaci kyselin.

Je součástí šamponů, přípravků na holení a mýdel. [11], [32]



*Obr. 15: Triethanolamin, [46]*

### 3.5 Laboratorní příprava emulze

Laboratorní příprava emulze byla započata odvážením veškerých surovin vodné a olejové fáze. Všechny suroviny vodné fáze byly smíseny v kádince, taktéž všechny suroviny olejové fáze v další kádince. Směsi surovin byly zahřívány na varné desce přibližně na teplotu 70°C, což bylo zkontrolováno kontaktním teploměrem.

Po zahřátí na požadovanou teplotu byly obě fáze společně homogenizovány v nerezové nádobě tyčovým mixérem přibližně po dobu pěti minut.

Po dokončení procesu homogenizace byla emulze v nerezové nádobě umístěna do vodní lázně a zchlazena přibližně na teplotu 25°C.

Na závěr, tedy po zchlazení, byly do emulze přidány další suroviny podle **Tab. 19: Další přidané kosmetické suroviny podle INCI.**

### 3.6 Použité metody měření

#### 3.6.1 Měření pH

Hodnota pH byla změřena pH metrem, který ji uvádí jako rozdíl hodnot potenciálů měrné neboli pracovní a indikační neboli referentní elektrody. Použit byl stolní pH metr Hanna Instruments HI 3220. V kombinaci s pH metrem byla použita bezúdržbová, robustní, kombinovaná elektroda HAMILTON PolyLite Lab. Tato elektroda se zvláště hodí pro měření emulzí a suspenzí, protože funguje na principu speciální technologie Single Pore. Namísto malých pórů v keramické diafragmě, je jeden pór, který je přibližně dvěstěkrát větší v průřezu a má formu kapiláry, díky tomu je zajištěn spolehlivý kontakt s měřeným vzorkem a elektrodu téměř není možné ucpat. [47], [48]

#### 3.6.2 Měření viskosity

Měření viskosity bylo provedeno pomocí rotačního viskosimetru Fungilab Expert, užitím vřetena L4 při 6 otáčkách·min<sup>-1</sup>. Rotační viskosimetry fungují na principu měření torzní síly, kterou působí rotující kapalina na prvek zavěšený na torzním vlákně. Rotační viskosimetr se

skládá ze dvou soustředných válců, mezi kterými je úzká mezera vyplněná kapalinou nebo z kužele a desky.

Jeden z prvků se otáčí konstantní úhlovou rychlostí, přes vnitřní tření je otáčivý moment přenášen na druhý element, který je zavěšený na torzním vlákně. Jakmile se ustaví rovnováha, měří se úhel pootočení prvku od polohy na počátku měření  $\varphi$ , který je úměrný úhlové rychlosti a viskozitě kapaliny. [7]

### 3.6.3 Stanovení sušiny

Stanovení sušiny bylo provedeno na sušících vahách Sartorius MA 35. Váhy jsou vybaveny spirálou, která zahřívá vzorek na teplotu 105°C až do konstantní hodnoty stanovené hmotnosti neboli konstantní hodnoty sušiny. Váhy zaznamenají navážku, čas sušení a hodnotu sušiny v procentech hmotnosti.

Při experimentu navážka činila  $m = 2,2$  g a čas sušení  $t = 26$  min.

### 3.6.4 Stanovení hustoty

Stanovení hustoty bylo provedeno pomocí speciálního pyknometru o známém objemu. Pyknometr se vzorkem byl pak zvážen na analytických vahách. Stanovené hmotnosti a objemy udává **Tab. 20: Objem a hmotnosti pyknometru při stanovení hustoty.**

**Tab. 20:** Objem a hmotnosti pyknometru při stanovení hustoty

Hmotnost suchého pyknometru	$m_1 = 21,7439$ g
Hmotnost pyknometru s náplní	$m_2 = 68,1215$ g
Hmotnost pyknometru s náplní	$m_3 = 68,1208$ g
Objem pyknometru	$V = 925,4$ kg·m <sup>-3</sup>

## 3.7 Výsledky a diskuse

Stanovené výsledky a jejich porovnání s optimálními hodnotami měření udává **Tab. 21: Stanovené fyzikální vlastnosti laboratorně připravené emulze.**

**Tab. 21:** Stanovené fyzikální vlastnosti laboratorně připravené emulze

	Požadované rozmezí	Stanovená hodnota
Měření pH	6,3–6,7	6,41
Měření viskosity	min. 30 000 mPa·s	79 235 mPa·s
Stanovení sušiny	min. 15 %	16,94 %
Stanovení hustoty	880 kg·m <sup>-3</sup> –980 kg·m <sup>-3</sup>	925,4 kg·m <sup>-3</sup>

Veškeré experimentálně stanovené hodnoty spadají do požadovaných rozmezí uvedených v receptuře výrobce.

Změny experimentálně stanovených hodnot lze očekávat v čase. U měření pH lze s časem uvažovat nad poklesem pH, který souvisí se snížením účinnosti nebo úplnou ztrátou účinku kosmetického přípravku. U měření viskosity lze předpokládat snížení její hodnoty. Nepředpokládají se významné změny hodnot při stanovení sušiny. U stanovení hustoty je možné

spíše předpokládat její snížení. Očekávané změny se mohou projevit v horizontu měsíců, v případě, že by emulze byla vystavena vyšším teplotám, než je obvyklá pokojová teplota, tedy například uskladněním v termostatu, změny se projeví rychleji. Jedním z faktorů, který tedy změny ovlivňuje je skladovací teplota, dále skladovací doba, koncentrace použitých konzervantů, koncentrace použitých stabilizátorů, ke změnám může dojít také vlivem interakce kosmetického přípravku s jeho obalem a dalšími jevy.

## 4 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá vlivem syntetických konzervantů na stabilitu kosmetické emulze typu O/V. Byla vypracována rešerše, která danou problematiku diskutuje, zabývá se jak fyzikálně, tak povrchově také mikrobiologickými aspekty, které danou problematiku ovlivňují.

Hned z počátku je významná kapitola o aktivitě vody, voda je totiž mikrobiologicky riziková kosmetická surovina, což úzce souvisí se stabilitou.

Úvod teoretické části této bakalářské práce dále řeší disperzní soustavy. Charakterizuje emulze jako takové, jejich přípravu a především se zabývá jejich stabilitou. Řeší nejen, jak lze emulze stabilizovat, ale také faktory ovlivňující stabilitu emulze a jaké jevy mohou při destabilizaci emulzí z fyzikálního hlediska nastat. U koncentrovaných emulzí se jako nejvhodnější metoda stabilizace jeví stabilizace pomocí emulgátoru. Při destabilizaci emulzí dochází nejčastěji k následujícím jevům: ke krémovatění, flokulaci, koalescenci, Ostwaldově zrání, inverzi fází a sedimentaci. Na tyto nežádoucí jevy má vliv teplota, která podporuje změnu rozpustnosti emulgátoru v jednotlivých fázích, přidání elektrolytu, který může přeměnit emulgátor na emulgátor opačného typu, negativně mohou také působit vlivy mechanického působení.

Z mikrobiologického hlediska práce povrchově řeší jednotlivé mikroorganismy jako kontaminanty kosmetických emulzí. V souvislosti s optimálním dávkováním kosmetických konzervantů cituje produktové informace společnosti Schülke & Mayr k jednotlivým produktům: Sensiva PA 20 (složení dle INCI: fenethylalkohol, ethylhexylglycerin), Euxyl K 900 (složení dle INCI: benzylalkohol, ethylhexylglycerin, tokoferol) a Euxyl PE 9010 (složení dle INCI: fenoxoethanol, ethylhexylglycerin) a o konkrétně při stanovení koncentrace MIC a v testech mikrobiálního růstu.

Práce poskytuje stručné definice dvou experimentálních metod, které se používají v běžné praxi kosmetických emulzí ke stanovení jejich viskosity, a to reologie a metody měření kinematické viskosity pomocí výtokových pohárků dle normy ČSN EN ISO 2431.

Závěr teoretické části práce charakterizuje surovinové složení produktů od společnosti Schülke & Mayr a také laboratorně připravené emulze v experimentální části.

V experimentální části této bakalářské práce byla laboratorně připravena emulze typu O/V. Bylo provedeno měření základních, v praxi běžně stanovovaných, fyzikálních a chemických vlastností a stanovené hodnoty byly porovnány s optimálními hodnotami udávanými výrobcem. Ověřovány byly následující vlastnosti: pH, viskozita, stanovení sušiny a hustota. I když se laboratorní příprava od výroby velice liší, výrobní postupy jsou náročnější a hygienické podmínky daleko přísnější, vlastnosti vyrobené emulze spadají do optimálních hodnot, které stanovil výrobce. Změny stanovených veličin této kosmetické emulze se zřetelně promítnou až v čase, nicméně lze předpokládat například, že dojde ke snížení hodnoty viskosity působením okolními vlivů, jako jsou skladovací teplota, skladovací doba a další.

V současné době je nabídka kosmetických emulzí na trhu skutečně široká, a aby výrobci na trhu uspěli, musí garantovat záruku trvanlivosti svých výrobků, což je ošetřeno i legislativně vyhláškou Ministerstva zdravotnictví České republiky č. 444/2004 Sb v aktuálním znění.

## 5 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

CMC	kritická micelární koncentrace (z anglického <i>Critical Micelar Concentration</i> )
INCI	mezinárodní názvosloví kosmetických surovin (z anglického <i>International Nomenclature of Cosmetic Ingredients</i> )
KTJ	kolonie tvořící jednotky (jednotka $\text{KTJ} \cdot \text{ml}^{-1}$ )
MBC	minimální biocidní koncentrace (z anglického <i>Minimum Biocidal Concentration</i> )
MIC	minimální inhibiční koncentrace (z anglického <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> )
O/V	emulze typu „olej ve vodě“
V/O	emulze typu „voda v oleji“

## 6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- [1] FEŘTEKOVÁ, V. *Kosmetika v teorii a praxi*. 2. rozš. vyd. Praha: Maxdorf, 1995, 288 s. ISBN 80-858-0029-2.
- [2] CHALABALA, M. *Technologie léků*. 2. přeprac. a dopl. vyd. Praha: Galén, 2001, 408 s. ISBN 80-726-2128-9
- [3] BARTOVSKÁ, L. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-708-0579-X.
- [4] VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. 1. vyd. Tábor: OSSIS, 1999, 304 s. ISBN 80-902-3912-9.
- [5] KOMERS, K. *Základy koloidní chemie*. 1. vyd. Pardubice: Univerzita Pardubice, 1996, 64 s. ISBN 80-719-4045-3.
- [6] OMELKA, L. *Fyzikální chemie II*, učební texty pro posluchače FCH VUT Brno, 2013/2014, nepublikováno.
- [7] Co je co v povrchové a koloidní chemii: Výkladový slovník. BARTOVSKÁ, L., ŠÍŠKOVÁ, M. *Vydavatelství VŠCHT* [online]. 2005 [cit. 2015-02-22].  
Dostupné z: [http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/)
- [8] ATKINS, P., J. DE PAULA. *Fyzikální chemie*. Vyd. 1. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, 2013, xxvi, 915 s. ISBN 978-80-7080-830-6.
- [9] CHALABALA, M., A. LIBICKÝ. *Výroba léků*. 1. vyd. Praha: Avicenum, 1985, 392 s.
- [10] ŠČUKIN, E. *Koloidní chemie*. Vyd. 1. Praha: Academia, 1990, 484 s. ISBN 80-200-0259-6.
- [11] BURCZYK, F., A. GIANNI. *Lexikon kosmetiky od A do Z: jak se vyhnout alergiím, jak rozpoznat, co je škodlivé, jak rozumět deklaracím*. Praha: Pragma, 1999, 180 s. ISBN 80-720-5939-4.
- [12] SCHUELLER, R., P. ROMANOWSKI. *Beginning cosmetic chemistry: an overview for chemists, formulators, suppliers and others interested in the cosmetic industry*. Carol Stream, IL: Allured Pub. Corp., c1999, 177 p. ISBN 09-317-1068-5.
- [13] SCHRAMM, L. L. *Emulsions, foams, and suspensions: fundamentals and applications*. Weinheim: Wiley-VCH, 2005, xv, 448 p. ISBN 35-273-0743-5.
- [14] CHISVERT, Edited by Amparo Salvador and Alberto. *Analysis of cosmetic products*. Amsterdam: Elsevier, 2007. ISBN 978-008-0475-318.
- [15] SCHÜLKE & MAYER. Produktové informace k výrobku Euxyl K 900
- [16] SCHÜLKE & MAYER. Produktové informace k výrobku Euxyl PE 9010
- [17] SCHÜLKE & MAYER. Produktové informace k výrobku Sensiva PA 20
- [18] BEILFUSS, W., M. LESCHKE, K. WEBER. A New Concept to Boost the Preservative Efficacy of Phenoxyethanol. *International Journal for Applied Science*. 2005, roč. 2005, č. 11. Dostupné z: <http://microsites.schuelke.com/preservative-booster/documents/ANewConcepttoBoostthePreservativeEfficacyofPhenoxyethanol-SFW-2005.pdf>

- [19] LESCHKE, M., S. WÜSTERMANN. A Reliable Alternative for Traditional Preservative Systems. *International Journal for Applied Science*. 2006, roč. 2006, č. 4. Dostupné z: <http://microsites.schuelke.com/preservative-booster/documents/AReliableAlternativeforTraditionalPreservativeSystems-SFW-2006.pdf>
- [20] VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie obecná*. 2., přepr. vyd. Brno: Neptun, 2005, 351 s. ISBN 80-868-5000-5.
- [21] BINNERUP, S. J., O. HØJBERG, J. SØRENSEN. Gram characteristics determined on single cells and at the microcolony level of bacteria immobilized on polycarbonate membrane filters. *Journal of Microbiological Methods* [online]. 1998, vol. 31, issue 3, s. 185-192 [cit. 2014-12-27]. DOI: 10.1016/S0167-7012(97)00102-4. Dostupné z: [http://ac.els-cdn.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/S0167701297001024/1-s2.0-S0167701297001024-main.pdf?\\_tid=b3ce3a0a-8dcf-11e4-bf2e-00000aab0f27&acdnat=1419688574\\_9a34d5d9dfa9051298f1aab8e7f0a5d5](http://ac.els-cdn.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/S0167701297001024/1-s2.0-S0167701297001024-main.pdf?_tid=b3ce3a0a-8dcf-11e4-bf2e-00000aab0f27&acdnat=1419688574_9a34d5d9dfa9051298f1aab8e7f0a5d5)
- [22] ŠILHÁNKOVÁ, L. *Mikrobiologie pro potravináře a biotechnologii*. 3. oprav. a dopl. vyd. Praha: ACADEMIA, 2002, 363 s. ISBN 80-200-1024-6.
- [23] VOTAVA, M. *Lékařská mikrobiologie speciální*. Brno: Neptun, 2003, 495 s. ISBN 80-902-8966-5.
- [24] BERMAN, J. *Candida albicans*. *Current Biology* [online]. 2012, vol. 22, issue 16, R620-R622 [cit. 2014-12-27]. DOI: 10.1016/j.cub.2012.05.043. Dostupné z: [http://ac.els-cdn.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/S0960982212006306/1-s2.0-S0960982212006306-main.pdf?\\_tid=3e347708-8ddb-11e4-8f4d-00000aab0f02&acdnat=1419693530\\_a9c6e6b070509b180eb477980bc13f55](http://ac.els-cdn.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/S0960982212006306/1-s2.0-S0960982212006306-main.pdf?_tid=3e347708-8ddb-11e4-8f4d-00000aab0f02&acdnat=1419693530_a9c6e6b070509b180eb477980bc13f55)
- [25] PHILLIPS, D. M. *Candida albicans*. *The New England Journal of Medicine* [online]. Massachusetts Medical Society, 1993, vol. 328, issue 18, s. 1322 [cit. 2014-12-27]. Dostupné z: <http://search.proquest.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/docview/1282486131/fulltextPDF?accountid=17115>
- [26] GEIS, P. A. *Cosmetic microbiology: a practical approach*. 2nd ed. New York: Taylor, 2006, 295 s. ISBN 08-493-1453-4
- [27] PEKAŘ, M., M. KLUČÁKOVÁ, M. VESELÝ, M. ČEPPAN. *Fyzikální chemie a fotochemie /: praktikum*. Vyd. 1. Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta chemická, 2003, 114 s. ISBN 80-214-2470-2.
- [28] Reologie v kosmetice, potravinách i jinde. In: *Chempoint* [online]. 2011 [cit. 2014-12-29]. Dostupné z: <http://www.chempoint.cz/reologie-v-kosmetice-potravinach-i-jinde>
- [29] BARTOVSKÁ, L. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 5. přeprac. vyd. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2005, 244 s. ISBN 80-708-0579-X.
- [30] Měření kinematické viskozity pomocí výtokového pohárku. *Zvyšování exkluzivity výuky technologie tuků, kosmetiky a dermentů* [online]. 2015 [cit. 2015-05-04]. Dostupné z: <http://kosmetika.ft.utb.cz/Services/Downloader.ashx?id=131&disposition=inline>
- [31] STEINBERG, D. *Preservatives for cosmetics*. Carol Stream, IL: Allured Pub., c1996, 47 p. ISBN 09-317-1054-5.

- [32] GREENBERG, L. A., D. LESTER. *Handbook of cosmetic materials: their properties, uses, and toxic and dermatologic actions, with a bibliography of over 2,500 titles*. New York: Interscience Publishers, 1954, ix, 455 p.
- [33] Benzylalcohol. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-02].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13860335.html?rid=2254ed5c-ef52-47ba-9041-1c34de94965d>
- [34] HLÚBIK, P., D. OPLTOVÁ. *Vitaminy*. 1. vyd. Praha: Grada, 2004, 232 s. ISBN 80-247-0373-4.
- [35] Tocopherol. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-02].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.14265.html?rid=87203aeb-7960-4585-a1ae-f002886ae10e>
- [36] Phenoxyethanol. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-02].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13848467.html?rid=269c3f59-80a7-4870-8f7d-232f930198b2>
- [37] Phenethylalcohol. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-02].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5830.html?rid=e0930ee7-ffb0-4aaf-b07c-ee4c279dda5d>
- [38] LINSEN, G., A. GOOSSENS. Allergic contact dermatitis from ethylhexylglycerin. *Contact Dermatitis* [online]. Oxford, UK: Munksgaard International Publishers, 2002, vol. 47, issue 3, s. 169 [cit. 2015-02-20]. DOI: 10.1034/j.1600-0536.2002.470308\_4.x.  
Dostupné z: [http://onlinelibrary.wiley.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/10.1034/j.1600-0536.2002.470308\\_4.x/epdf](http://onlinelibrary.wiley.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/10.1034/j.1600-0536.2002.470308_4.x/epdf)
- [39] STAUSBØL-GRØN, B., K. E. ANDERSEN. Allergic contact dermatitis to ethylhexylglycerin in a cream. *Contact Dermatitis* [online]. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2007, vol. 57, issue 3, s. 193-194 [cit. 2015-02-20]. DOI: 10.1111/j.1600-0536.2007.01103.x.  
Dostupné z: <http://onlinelibrary.wiley.com.ezproxy.lib.vutbr.cz/doi/10.1111/j.1600-0536.2007.01103.x/epdf>
- [40] Ethylhexylglycerine. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-02].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.8034793.html?rid=0ed6b964-01c2-4662-a927-840f0849255c>
- [41] Cabomer 940. *Ingredients To Die For* [online]. 2005 [cit. 2015-05-07].  
Dostupné z: <http://www.ingredientstodiefor.com/files/Carbomer940.pdf>
- [42] KRS, V. *Materiály I: pro 1. a 2. ročník oboru Kosmetička*. 1. vyd. Praha: INFORMATORIUM, 2001, 135 s. ISBN 80-860-7373-4.
- [43] Glyceryl Stearate SE. *Ingredients To Die For* [online]. 2005 [cit. 2015-05-07].  
Dostupné z: <http://www.ingredientstodiefor.com/files/Glyceryl%20Stearate%20SE%20MSDS.pdf>
- [44] Glyceryl Stearate. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-01].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.23095.html?rid=e231e8fa-edfc-4d23-9dbc-65962bf7836c>
- [45] Glycerine. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-01].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.733.html?rid=db2d441b-9730-4053-826d-a050cf776d00>

- [46] Triethanolamine. *ChemSpider* [online]. 2015 [cit. 2015-05-01].  
Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.13835630.html?rid=4ec1f4d4-9e1b-460d-b4d5-68ff4a87929a>
- [47] Polylite Lab. *Hamilton Company* [online]. 2015 [cit. 2015-05-07].  
Dostupné z: <http://www.hamiltoncompany.com/products/laboratory-products/laboratory-sensors/ph/general-use/polilyte-lab>
- [48] pH a ORP Laboratory Electrodes. *Falc Instruments* [online]. 2015 [cit. 2015-05-07].  
Dostupné z: [http://www.falcinstruments.it/modules/tmslider2/slides/Falc\\_instruments\\_Hamilton\\_Laboratory\\_Electrodes\\_Catalog.pdf](http://www.falcinstruments.it/modules/tmslider2/slides/Falc_instruments_Hamilton_Laboratory_Electrodes_Catalog.pdf)