

# Charakterizace emulzí fotonovou korelační spektroskopií

Bc. Jana Šenkeříková

---

Diplomová práce  
2010



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně  
Fakulta technologická

---

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně

Fakulta technologická

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

akademický rok: 2009/2010

## ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Jana ŠENKEŘÍKOVÁ**  
Osobní číslo: **T080355**  
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**  
Studijní obor: **Technologie a ekonomika výroby tuků, detergentů a kosmetiky**

Téma práce: **Charakterizace emulzí fotonovou korelační spektroskopií**

Zásady pro vypracování:

### I. Teoretická část

1. V teoretické části práce vypracujte literární rešerši se zaměřením na emulze, jejich charakteristiku, vlastnosti a stabilitu. Věnujte se stručně postupům jejich přípravy. Popište metody vhodné pro stanovení velikosti a distribuce velikostí částic emulzí a zaměřte se na metodu fotonové korelační spektroskopie (PCS), její princip, popis a přístrojové vybavení.

### II. Praktická část

1. V praktické části se věnujte nalezení podmínek vhodných pro měření velikosti a distribuce velikosti částic v emulzích metodou PCS. Metodu prakticky ověřte stanovením změn velikosti částic u emulzí typu "olej ve vodě" s variabilním zastoupením olejové fáze skladovaných při různých teplotách prostředí. Získané výsledky zpracujte, přehledně uspořádejte a diskutujte.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

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

Seznam odborné literatury:

- [1] HIEMENZ, P. C., RAJAGOPALAN, R. Principles of Colloid and Surface Chemistry. 3rd Edition, Boca Raton FL, Taylor and Francis, 1997. 650 p. ISBN 0-8247-9397-8.
- [2] TADROS, T., Ed. Emulsion Science and Technology. Wiley-WCH. Weinheim, 2009. 326 p. ISBN 978-3-527-325-2.
- [3] TADROS, T. Formation and stability of nano-emulsions. Adv. Colloid Interface Sci. 2004, vol. 108 -- 110, p. 303 -- 318.
- [4] HASSELLOV, M., ET AL. Nanoparticle analysis and methodologies in environmental risk assessment of engineered nanoparticles. Ecotoxicology. 2008, vol. 17, p. 344 -- 361.

Vedoucí diplomové práce:

**Ing. Věra Kašpárková, CSc.**

Ústav technologie tuků, tenzidů a kosmetiky

Datum zadání diplomové práce:

**22. února 2010**

Termín odevzdání diplomové práce:

**14. května 2010**

Ve Zlíně dne 22. února 2010



doc. Ing. Petr Hlaváček, CSc.

*děkan*



doc. Ing. Rahula Janiš, CSc.

*ředitel ústavu*



## PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

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

Ve Zlíně ..... 15.5.2010

Jana Šenkeříková

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

## **ABSTRAKT**

Diplomová práce se zabývá stanovením velikosti částic emulzí typu olej ve vodě (O/V) s různými poměry olejové a vodné fáze. Emulze byly připraveny metodou EIP (Emulsion Inversion Point, inverzní bod emulze) při laboratorní teplotě za přítomnosti směsi dvou emulgátorů o rozdílných hodnotách hydrofilně-lipofilní rovnováhy (HLB). Pro charakterizaci emulzí byla použita metoda fotonové korelační spektroskopie (PCS). Ihned po přípravě byla touto metodou u emulzí stanovena velikost a distribuce velikostí částic. Pro hodnocení stability byly emulze uloženy při teplotách 4 °C, 25 °C a 35 °C. Stabilita byla sledována v pravidelných časových intervalech během skladování prostřednictvím změn ve velikostech částic a pomocí vizuálního hodnocení.

Klíčová slova: emulze, mikroemulze, nanoemulze, fotonová korelační spektrometrie (PCS), stabilita

## **ABSTRACT**

In the graduation thesis, particle size of oil-in-water emulsions with different ratios between oil and water phase was studied. The emulsions were prepared using EIP method (Emulsion Inversion Point) at laboratory temperature in the presence of two emulsifiers with different values of hydrophilic-lipophilic balance (HLB). Photon correlation spectroscopy (PCS) was used to evaluate size and distribution of particles in the emulsions immediately after their preparation. In order to estimate stability, the emulsions were stored at temperatures of 4 °C, 25 °C and 35 °C. Stability was evaluated from the changes of particle size and visual appearance of emulsions sampled at regular time intervals during the storage.

Keywords: emulsion, micro-emulsion, nano-emulsion, photon correlation spectroscopy (PCS), stability

## **PODĚKOVÁNÍ**

*Chtěla bych poděkovat Ing. Věře Kašpárkové, CSc. za její vstřícnost, odbornou pomoc, cenné rady a připomínky při vypracování diplomové práce.*

## **PROHLÁŠENÍ**

*Prohlašuji, že jsem diplomovou práci Charakterizaci emulzí fotonovou korelační spektroskopii, vypracovala samostatně pod vedením Ing. Věry Kašpárkové, CSc., a uvedla v seznamu literatury všechny použité literární a odborné zdroje.*

## OBSAH

<b>1</b>	<b>ÚVOD</b> .....	<b>10</b>
<b>1</b>	<b>TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>11</b>
<b>2</b>	<b>EMULZE</b> .....	<b>12</b>
2.1	KLASIFIKACE EMULZÍ .....	12
2.1.1	Podle polarity disperzního podílu a prostředí .....	12
2.1.2	Podle koncentrace disperzního podílu.....	13
2.1.3	Podle velikosti disperzního podílu .....	14
2.2	STABILITA EMULZÍ.....	14
2.2.1	Stabilizace emulzí pomocí surfaktantu .....	17
2.2.2	Stabilizace elektrickou dvojvrstvou .....	17
2.3	EMULGÁTORY .....	18
2.3.1	Anionické tenzidy .....	19
2.3.2	Kationické tenzidy.....	19
2.3.3	Amfoterní tenzidy .....	20
2.3.4	Neionické tenzidy.....	20
2.4	HYDROFILNĚ-LIPOFILNÍ ROVNOVÁHA (HLB).....	20
<b>3</b>	<b>MIKROEMULZE</b> .....	<b>22</b>
<b>4</b>	<b>NANOEMULZE</b> .....	<b>25</b>
4.1	PŘÍPRAVA NANOEMULZÍ .....	25
4.1.1	Použití vysokotlakých homogenizátorů .....	25
4.1.2	Využití nízkoenergetických emulgačních metod .....	26
<b>5</b>	<b>METODY STANOVENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC EMULZÍ</b> .....	<b>29</b>
5.1	HYDRODYNAMICKÁ CHROMATOGRRAFIE .....	29
5.2	MIKROSKOPIE.....	29
5.2.1	Optická mikroskopie .....	29
5.2.2	Elektronová mikroskopie .....	30
5.3	LASEROVÁ DIFRAKCE .....	30
5.4	COULTER COUNTING.....	31
<b>6</b>	<b>DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA (FOTONOVÁ KORELAČNÍ SPEKROSKOPIE - PCS)</b> .....	<b>32</b>
	POPIS METODY .....	32
	PRINCIP METODY .....	32
6.1	POUŽITÍ .....	35
6.2	PŘÍSTROJ ZETA NANO ZS .....	35
6.2.1	Činnost přístroje pro měření velikosti částic – Zeta Nano ZS .....	35
6.2.2	Detekční optika 173° - detekce zpětného rozptylu.....	37
<b>II</b>	<b>EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>38</b>
<b>7</b>	<b>MATERIÁLY A PŘÍSTROJE</b> .....	<b>39</b>



7.1	POUŽITÉ CHEMIKÁLIE A PŘÍSTROJE .....	39
7.1.1	Chemikálie .....	39
7.1.2	Přístroje .....	39
7.1.3	Pomůcky.....	39
7.2	METODIKA .....	40
7.2.1	Složení emulzí.....	40
7.2.2	Příprava emulzí .....	42
7.2.3	Charakterizace emulzí .....	43
7.2.4	Měření velikosti částic na přístroji Zeta Nano SZ.....	43
7.2.5	Sledování časové stability emulzí .....	45
7.3	VÝSLEDKY A DISKUSE .....	46
7.3.1	Vzhled emulzí .....	46
7.3.2	Velikost částic .....	49
7.3.3	Stabilita emulzí.....	54
	<b>ZÁVĚR .....</b>	<b>65</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....</b>	<b>68</b>
	<b>SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK .....</b>	<b>71</b>
	<b>SEZNAM OBRÁZKŮ .....</b>	<b>72</b>
	<b>SEZNAM TABULEK.....</b>	<b>74</b>

## 1 ÚVOD

Emulze jsou dvoufázové systémy skládající se z jedné fáze dispergované ve formě drobných částic, kapiček, ve fázi druhé za pomoci emulgátoru. V současnosti patří emulze mezi intenzivně studované systémy a nacházejí široké uplatnění v řadě průmyslových odvětví. Můžeme se s nimi setkat například v potravinářství, kosmetice, farmacii, při výrobě a zpracování kaučuku, makromolekulárních látek, nebo při výrobě mazadel a laků.

Pro využití emulzí v praxi je jedním z nejdůležitějších ukazatelů jejich stabilita. Ta je ovlivněna především typem a množstvím emulgátoru, poměrem obsahu vnější a vnitřní fáze emulze, viskozitou vnější fáze a způsobem její přípravy. Důležitým faktorem pro přípravu emulzí je volba typu emulgátoru. Jako emulgátory mohou být použity micelární koloidy (mýdla, detergenty), molekulové koloidy (polysacharidy, bílkoviny, polyvinylalkohol) nebo drobné pevné částičky nerozpustné látky.

Velikost a distribuce velikostí částic jsou v případě emulzí významnými charakteristikami poskytujícími informace potřebné pro jejich výrobu a kontrolu, pro hodnocení kvality výsledné emulze a určení její stability v závislosti na čase a teplotě skladování. Techniky používané pro stanovení velikosti částic jsou založeny na různých principech. Jednou z technik, kterou lze velikost částic emulzí a její distribuci stanovit, je Fotonová korelační spektroskopie (PCS). Měření touto metodou je založeno na principu dynamického rozptylu světla, kdy je detekován Brownův pohyb částic a přístrojový software jej dává do vztahu s velikostí částic. Tato technika našla v současné době široké uplatnění rovněž v oblasti výzkumu proteinů, biomateriálů a micel.

Diplomová práce se zabývá stanovením velikosti částic emulzí připravených s různými poměry olejové (O) a vodné (V) fáze (O/V 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75, 30/70), za přítomnosti emulgátorů o různé koncentraci a hodnotě HLB. K tomuto účelu byla použita metoda PCS. Kromě stanovení velikosti částic emulzí bezprostředně po výrobě, hodnotí diplomová práce rovněž stabilitu připravených emulzí, skladovaných při teplotách 4 °C, 25 °C a 35 °C.

## **I. TEORETICKÁ ČÁST**

## 2 EMULZE

Emulze jsou definovány jako disperze kapaliny v kapalném disperzním prostředí. Pro tvorbu emulzí platí obdobné podmínky jako pro vznik jiných lyofobních solů. Kapaliny, které spolu vytvářejí emulzi, musí být navzájem nesmíselné, nebo omezeně mísitelné a v soustavě bývají přítomny povrchově aktivní látky, schopné zabránit slévání dispergovaných kapiček, tzv. koalescenci. Velikost kapek u emulzí často přesahuje koloidní rozměry, naopak filmy mezi kapkami mohou být koloidních rozměrů [1].

V praxi se setkáváme s přirozenými i uměle připravenými emulzemi v potravinářském průmyslu, v průmyslu plastických hmot, ve farmacii, kosmetice, zemědělství a v mnoha jiných oborech. V některých průmyslových odvětvích mohou být emulze nevítaným jevem (např. při zpracování ropy), neboť znesnadňují dělení kapalných fází a snadno zvyšují viskozitu systému [2].

Emulze mají velmi široké rozmezí velikosti částic, které leží mezi 0,1 až 100  $\mu\text{m}$ . Množství dispergované fáze se vyjadřuje nejčastěji objemovým zlomkem dispergované fáze  $\Phi$ , který je definován vztahem (1)[3]

$$\Phi = \frac{V_D}{V_E}, \quad (1)$$

kde  $V_D$  – objem dispergované fáze

$V_E$  – celkový objem emulze

### 2.1 Klasifikace emulzí

Emulze lze klasifikovat podle několika různých hledisek.

#### 2.1.1 Podle polaritý disperzního podílu a prostředí

*Emulze přímé* - označované jako O/V (olej ve vodě), kdy je disperzní prostředí tvořeno kapalinou polárnější, než disperzní podíl [6]. Mezi tyto emulze se může řadit např. mléko [7].

*Emulze obrácené* - označované jako V/O (voda v oleji), kdy disperzní prostředí tvoří nepolární kapalina [6]. Do tohoto typu emulzí lze zařadit např. máslo [7].

*Emulze mnohočetné (složené)* - např. O/V/O nebo V/O/V. Emulze typu V/O/V jsou tvořeny dispergovanými částicemi vody ve větších částicích oleje a ty jsou dispergovány v kontinuální vodné fázi [4].

Pro stanovení typu emulze existuje několik postupů. Prvním je stanovení typu emulze podle její elektrické vodivosti, která je dána vodivostí jejího disperzního prostředí. Emulze O/V mají proto vyšší vodivost než emulze V/O. Typ emulze je možno rovněž stanovit podle schopnosti rozpouštět polární nebo nepolární barviva. Další možností je určení typu emulze podle schopnosti mísit se s polárními nebo nepolárními rozpouštědly, kdy je emulzi možno ředit kapalinou, která se mísí s jejím disperzním prostředím. Jiným způsobem je pozorování emulze v ultrafialovém světle, ve kterém olejová fáze fluoreskuje. Jednoduchou metodou je rovněž stanovení smáčivosti povrchu, kdy emulze O/V smáčí hydrofilní povrch, zatímco emulze V/O nikoliv [6].

### 2.1.2 Podle koncentrace disperzního podílu

Podle koncentrace disperzního podílu rozdělujeme emulze do následujících skupin:

*Emulze zředěné* - disperzní podíl zaujímá nejvýše 2 % celkového objemu, průměr kapiček je zpravidla 100 nm, tedy blízko rozměru koloidních částic.

*Emulze koncentrované* - disperzní podíl je tvořen nedeformovanými sférickými kapkami; v monodisperzních systémech může koncentrace disperzního podílu dosáhnout až 74 % celkového objemu, což odpovídá nejtěsnějšímu geometrickému uspořádání kulovitých částic. V případě polydisperzních systémů, kde malé kapénky mohou vyplnit prostory mezi velkými, lze připravit i emulze koncentrovanější.

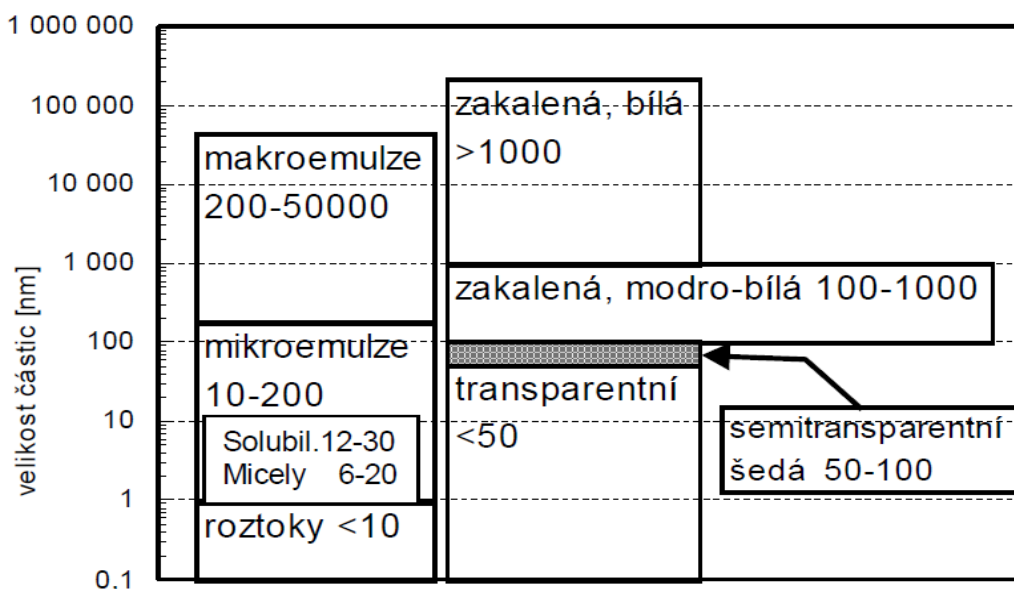
*Emulze gelovité (vysoce koncentrované)*, v nichž jsou částice disperzního podílu uloženy tak těsně, že se vzájemně deformují a nabývají tvaru mnohostěnů, oddělených od sebe tenkými filmy koloidních rozměrů - vrstvičkami disperzního prostředí a emulgátoru [6].

### 2.1.3 Podle velikosti disperzního podílu

Dalším možným, způsobem klasifikace emulzí je jejich rozdělení podle velikosti disperzního podílu

*Mikroemulze a nanoemulze* – průměrná velikost částic je od 10 do 100 nm [8]. Různé literární zdroje se ve velikosti částic mikroemulzí liší, v publikaci [5] je například uvedena velikost částic mikroemulzí od 10 do 200 nm.

*Makroemulze (emulze)* – průměrná velikost makroemulzí se pohybuje od 200 do 50 000 nm [5]. Rozdělení emulzí podle velikosti disperzního podílu je schematicky znázorněno na obr. 1.



Obr. 1. Rozdělení emulzí a vzhled systému v závislosti na velikosti částic [5]

## 2.2 Stabilita emulzí

Stabilita emulzí je jednou z nejdůležitějších vlastností, která zásadně ovlivňuje jejich praktické použití. Stabilitu emulze lze posuzovat z termodynamického a kinetického hlediska. Termodynamická stabilita emulze je v přímé souvislosti s pravděpodobností, že daný proces, tj. rozpad emulze, proběhne, zatímco kinetická stabilita je vyjadřována rychlostí s jakou tento proces, tj. rozpad dané emulze nastane. Někdy je možno se se-

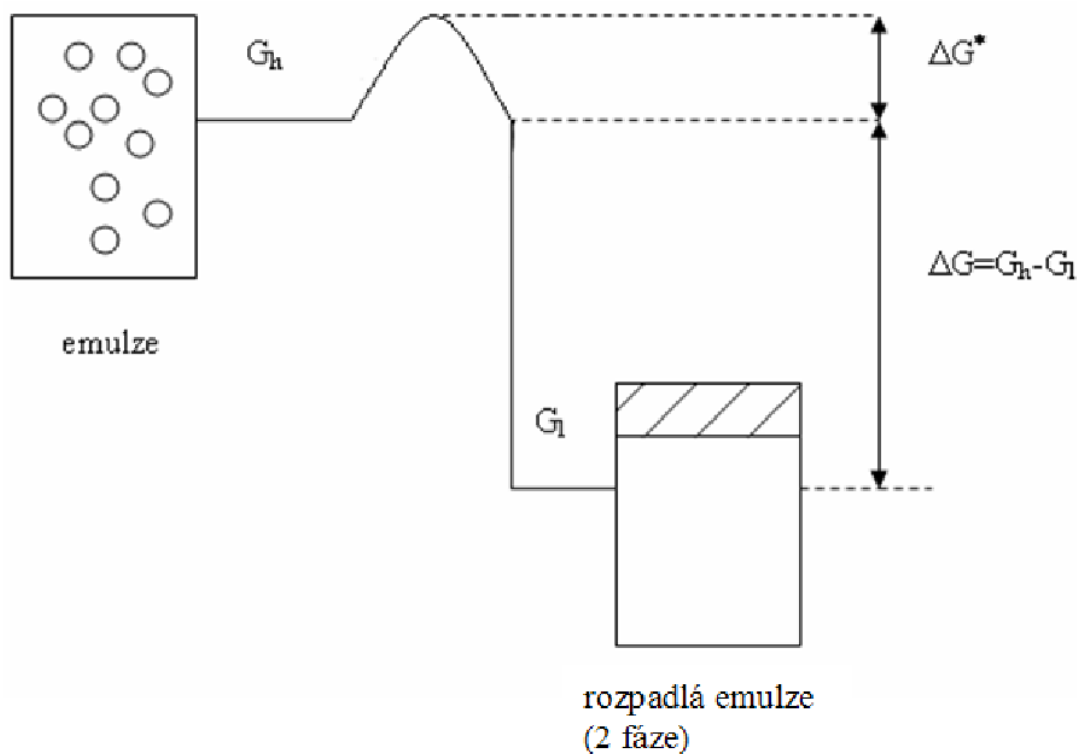


tkat i s pojmem agregátní stálost, která popisuje, jak systém zachovává stupeň polydisperzity [4].

Pro představu termodynamické stability emulze předpokládejme, že v systému je velké množství částic, které mohou zaujmout pouze dva stavy s rozdílnou velikostí volné energie  $G_h$  (vysoký obsah energie) a  $G_l$  (nižší obsah energie). Stav s nižším obsahem volné energie je termodynamicky výhodnější, a proto budou mít částice snahu vyskytovat se v tomto uspořádání. V rovnováze těchto dvou stavů platí Boltzmannův rozdělovací zákon:

$$\frac{n_h}{n_l} = \exp\left(-\frac{G_h - G_l}{kT}\right), \quad (2)$$

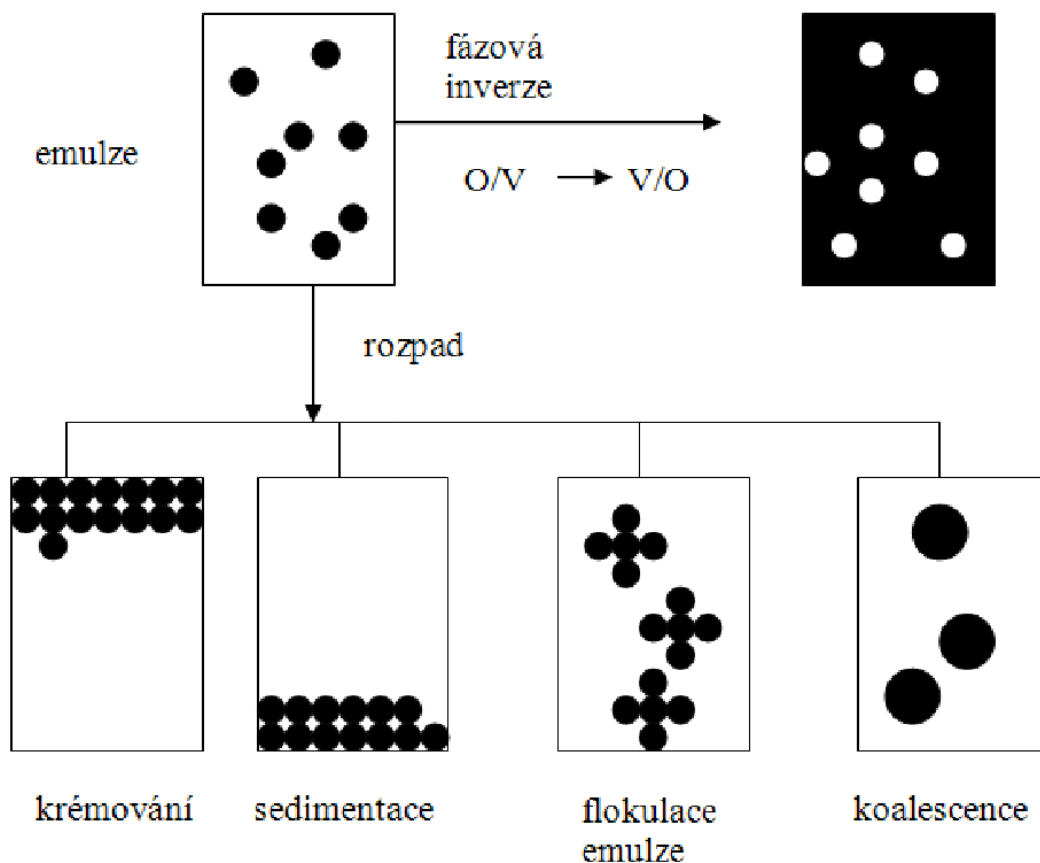
Kde:  $n_h$  a  $n_l$  je počet částic s vyšší nebo nižší volnou energií a součin  $kT$  (Boltzmannovy konstanty a teploty) lze považovat za tepelnou energii systému. Čím je vyšší rozdíl mezi  $G_h$  a  $G_l$  ve srovnání s tepelnou energií systému, tím větších hodnot dosahuje  $n_l$ , tedy tím více částic o nižší volné energii se v systému objeví [4].



Obr. 2. Schéma termodynamické a kinetické stability emulze [3]

V reálných emulzích, které obsahují více složek, existuje řada termodynamických mezistavů, které mohou být stabilní po různou dobu. Veličinou, kterou lze sledovat v praxi je kinetická stabilita.

Separace vodné a olejové fáze v emulzi může probíhat různými mechanismy [3].



Obr. 3. Různé mechanismy rozpadu emulze [3]

*Krémování a sedimentace* jsou založeny na separaci působením gravitačních sil. Krémování lze charakterizovat jako shromažďování dispergovaných částic v horní části systému z důvodu jejich nižší hustoty, zatímco sedimentace je opačný děj zapříčiněný vyšší hustotou částic, než je hustota spojité fáze.

*Flokulace a koalescence* jsou dány agregací částic (kapek) dispergované fáze. Při flokulaci dochází k agregaci částic do větších celků při zachování jejich individuálního charakteru. Při koalescenci dvě nebo více kapek spolu fúzují a vytvoří jednu novou o

větším průměru. Proces je způsoben ztužováním a prasknutím filmů kapaliny mezi kapkami.

*Fázová inverze* je proces, při kterém dochází k výměně fází, tzn., že emulze typu O/V přecházejí na emulze typu V/O a naopak.

Mezi možné mechanismy rozpadu emulze zařazujeme i Ostwaldovo zrání (Oswald ripening) [3].

Jako všechny lyofobní a mikrodisperzní soustavy jsou i emulze agregátně nestabilní. Aby byla zajištěna dostatečná životnost emulze, je zapotřebí systém stabilizovat. Stabilizaci emulzí je v principu možno provést buď pomocí surfaktantu nebo elektrickou dvojrstvou [4].

### **2.2.1 Stabilizace emulzí pomocí surfaktantu**

V koncentrovaných emulzích je možno jejich stabilitu zajistit přidáním vhodné třetí složky, surfaktantu (emulgátoru). Surfaktant je látka, která vytváří na povrchu kapek ochrannou vrstvu, která při tepelné nebo sedimentační srážce dvou kapiček zabrání jejich koalescenci. Musí proto splňovat tyto požadavky:

- hromadit se na rozhraní obou fází;
- vytvářet na rozhraní soudržný, elastický film, který však nejeví adhezi k filmům vytvořeným okolo jiných kapiček.

Vhodnými emulgátory jsou látky schopné gelatinizace nebo asociace ve velké micely a lze mezi ně zařadit i práškovité, nerozpustné látky [6].

Stabilita emulzí je dána nejen typem emulgátoru (jeho hodnotou HLB – viz. dále), ale i druhem olejové fáze. Proto je pro různé emulze sestavován systém emulgátorů s tzv. vyžadovanou hodnotou HLB [3].

### **2.2.2 Stabilizace elektrickou dvojrstvou**

Tento typ stabilizace přichází v úvahu pouze u zředěných emulzí, kde srážky částic nejsou příliš časté [6].

Jestliže se k sobě přibližují dva stejně nabitě povrchy, začnou se navzájem prostupovat difuzní části jejich elektrických dvojrstev. V prostoru mezi povrchy se ustavuje nové

rozložení iontů a tím se mění i průběh potenciálu a místní hustota náboje. Při tomto přibližování dochází k desorpci iontů, vzrůstá Gibbsova energie systému a to vede ke vzniku odpudivé síly mezi částicemi, které se od sebe opět vzdálí [1]. Odpudivé síly mezi kapičkami brání koalescenci tím účinněji, čím větší je tloušťka dvojvrstvy a čím větší je náboj kapky. Vliv koncentrace elektrolytů na tyto dvě veličiny je však opačný - náboj kapky roste s koncentrací elektrolytu, kdežto tloušťka dvojvrstvy se vzrůstající koncentrací elektrolytu klesá. Křivka závislosti stability emulze na koncentraci elektrolytu tak prochází maximem [6].

### 2.3 Emulgátory

Názvu emulgátor je ekvivalentní termín surfaktant (surfactant). V současné době je frekventovaný i termín tenzid (tenside) nebo povrchově aktivní látka.

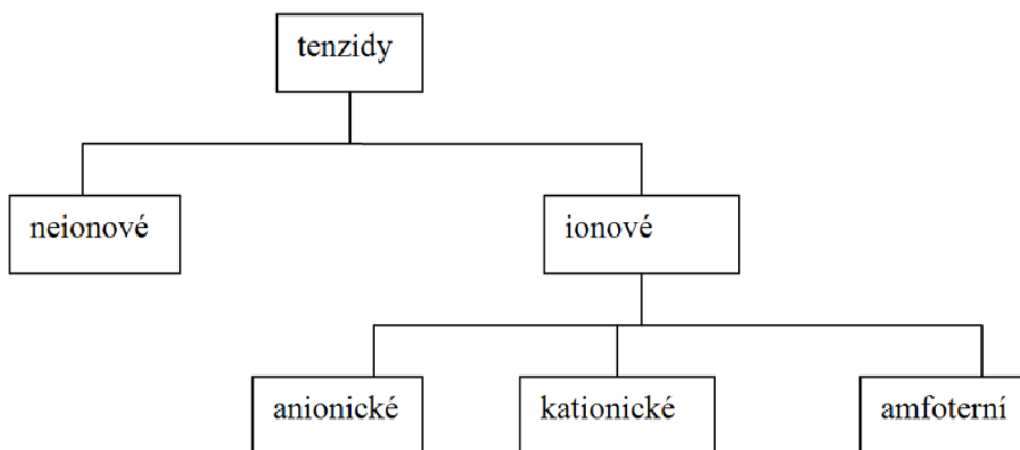
Povrchově aktivní látky (PAL) je skupinové označení pro látky, které výrazně ovlivňují energetické poměry na rozhraní dvou fází. To se většinou projeví snížením mezifázového napětí. Specifické vlastnosti PAL jsou dány chemickou a fyzikální strukturou jejich molekul, pro kterou je typická přítomnost ohraničené hydrofilní a hydrofobní části v molekule. Takové struktury se označují jako amfipatické. Chování PAL v roztoku je závislé na velikosti obou částí. V polárním rozpouštědle, například ve vodě, se hydrofobní část snaží zaujmout takové uskupení, které co nejvíce omezuje její styk s tímto rozpouštědlem. Hydrofilní část má naopak k vodě vysokou afinitu, napomáhá orientaci molekul PAL v rozpouštědle, ovlivňuje polaritu PAL a rozdělení náboje [3].

Tenzidy představují širokou škálu látek, které lze klasifikovat podle řady kritérií, z nichž jsou nejdůležitější:

- typ hydrofobní složky
- typ hydrofilní složky (ionový charakter)
- HLB hodnota
- systematika organických sloučenin

V praxi jsou nejčastěji používána poslední tři jmenovaná kritéria [3]

Rozdělení PAL podle typu hydrofilní složky, kdy je základním kritériem členění schopnost hydrofilní skupiny disociovat na ionty je schematicky uvedeno na Obr. 4:



Obr. 4. Schéma rozdělení tenzidů podle typu hydrofilní skupiny [3]

Polární skupiny ionových tenzidů jsou tedy disociovatelné. Účinnou složkou je buď aniont (anionické) nebo kationt (kationické) PAL. Jako protionty bývají nejčastěji jednoduché ionty ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ). Amfolytické tenzidy se mohou v závislosti na podmínkách (pH) chovat jako anionické nebo kationické [3].

### 2.3.1 Anionické tenzidy

Nejrozšířenějším anionickým tenzidem je lineární natrium-sek-alkylbenzensulfonát. Hydrofobní část molekuly anionického tenzidu může být různá, nejčastěji se jedná o nasycené alkyly o délce 8-18 atomů uhlíků. Součástí řetězce mohou být i arylové zbytky [10].

### 2.3.2 Kationické tenzidy

Nejběžnější jsou alkylaminy s délkou řetězce 8-18 atomů uhlíku. Vyskytují se ve formě primárních až kvarterních aminů. Kvarterní aminy jsou i vzhledem k silné ionizaci nejvýznamnější. Hydrofobní zbytek obsahuje 10-16 atomů uhlíku, jeho součástí mohou být i heterocyklické aminy [3].

### 2.3.3 Amfoterní tenzidy

Do této skupiny jsou zařazovány jednak klasické amfoterní tak i zwitterionické PAL.

Amfoterické tenzidy se chovají jako klasické amfolyty. Náboj obou skupin, jak bazické tak kyselé, je závislý na pH prostředí. V alkalickém prostředí ztrácí náboj bazická skupina, v kyselém nedisociuje kyselá skupina. Zwitterionické tenzidy si ponechávají kladný náboj v celém rozmezí pH [3].

### 2.3.4 Neionické tenzidy

Hydrofilní část těchto tenzidů není schopna disociace. Na její polaritě závisí, je-li daný tenzid rozpustný ve vodě nebo v olejové fázi. Chemicky se jedná o širokou paletu látek, z nichž jsou nejběžnější alkyl polyoxyetylenetery ( $R-(O-CH_2-CH_2)_xOH$ ), estery mastných kyselin a vícesytných alkoholů (monoacylglyceroly a jejich deriváty, estery s polyglycerolem) a substituované etery sacharidů [10].

Pro přípravu emulzí a mikroemulzí jsou v některých případech potřebné tzv. kosurfaktanty. Jsou to povrchově aktivní látky, jejichž uhlovodíkový řetězec není dost dlouhý na to, aby mohly samostatně asociovat v micely, ale může vstupovat do struktury micel asociativních koloidů a dále snižovat povrchové napětí systému (viz mikroemulze). Příkladem mohou být alkoholy o střední délce řetězce, například hexanol [11].

## 2.4 Hydrofilně-lipofilní rovnováha (HLB)

Vlastnosti tenzidů jsou do velké míry závislé na poměru velikosti hydrofilní a hydrofobní části molekuly. Vyváženost obou částí je charakterizována hydrofilně-lipofilní rovnováhou (HLB - hydrophilic-lipophilic balance). Velikost HLB rozhoduje o praktickém využití tenzidů. Jedná se o semiempirickou veličinu. Hodnota HLB je dána součinem HLB hodnot jednotlivých skupin tvořících daný tenzid. Existuje řada vztahů, které se pro výpočet HLB používají. Nejběžnější je Griffinův vztah

$$HLB = 7 + 11.7 \log \left[ \frac{M_H}{M_L} \right], \quad (3)$$

kde  $M_H$  je molární hmotnost hydrofilních a  $M_L$  – molární hmotnost lipofilních skupin [3].



Z dalších vztahů je důležitý vztah Rázce a Orbána, kteří počítají HLB tenzidů z experimentálně stanovitelného hydratačního tepla  $\Delta H$  pomocí vztahu

$$HLB = 0.42 \cdot \Delta H + 7.5. \quad (4)$$

Řada dalších vztahů je využívána jen pro určité skupiny neionických tenzidů jako jsou estery vícesytných alkoholů. Prakticky však všechny předpokládají alespoň malou znalost chemického složení daného tenzidu. Pokud není složení tenzidů známo, lze provést i experimentální stanovení HLB.

Pokud se používají směsi tenzidů, lze HLB směsi vypočítat podle vztahu:

$$HLB_S = \frac{x_1 \cdot (HLB)_1 + x_2 \cdot (HLB)_2}{x_1 + x_2}, \quad (5)$$

kde  $x_1$  a  $x_2$  jsou hmotnostní zlomky jednotlivých tenzidů použitých ve směsi. Pro přibližný výpočet HLB směsi tedy platí aditivita HLB.

Hodnoty HLB umožňují předvídat chování tenzidů v roztocích a rozhodnout o jejich použití v praxi (viz. obr. 5). Hodnota HLB je důležitá především pro neionické tenzidy. Pro ionické tenzidy jsou charakteristické hodnoty HLB větší 20, což určuje i jejich použití. Neionické tenzidy lze využít kromě jiného jako emulgátory pro oba typy emulzí [3].

Vzhled disperze	HLB	Použití
netvoří disperzi ve vodě	0	emulgátory V/O
	2	
	4	
mlékovitá nestabilní disperze	6	emulgátory O/V
	8	
mlékovitá stabilní disperze	10	
	12	
čiré disperze	14	solubilizátory
	16	
	18	

Obr. 5. Možnosti praktického využití tenzidů v závislosti na HLB [3]

### 3 MIKROEMULZE

Mikroemulze jsou termodynamicky stabilní, izotropní dispersní systémy s velikostí částic udávanou v rozmezí 10 – 100 nm [12]. V literatuře se můžeme setkat i s alternativními názvy jako transparentní emulze (transparent emulsions), zbotnalé micely (swollen micelles), micelární roztoky (micellar solutions) nebo solubilizovaný olej (solubilized oil).

Mikroemulze tvoří přechod mezi emulzemi a micelárními koloidy. Vznikají spontánně při vysokých koncentracích povrchově aktivní látky (8 – 12 hm. %) a velkém obsahu solubilizátu v micelle za přítomnosti kosurfaktantu. Kosurfaktantem může být například alkohol o střední délce řetězce. Jeho molekula proniká amfifilní mezipovrchovou vrstvou a způsobuje snížení mezifázového napětí, což je pro tvorbu mikroemulze klíčový faktor. Za hranici mezi velikostí micely a částice mikroemulze bývá považován poloměr řádu 30 nm [13].

Mikroemulze vykazují řadu unikátních vlastností. Jsou transparentní nebo lehce opalescentní, což je způsobeno přítomností částic o velikost menší než vlnová délka viditelného světla, mají nízkou viskozitu a je pro ně charakteristická velmi nízká hodnota mezifázového napětí. Tyto vlastnosti činí mikroemulze žádoucími v mnoha oblastech, včetně kosmetiky, potravinářství, farmacie a technologie čištění a sanace zeminy [14].

Nejvýznamnější rozdíly mezi mikroemulzemi a běžnými emulzemi lze shrnout do následujících bodů

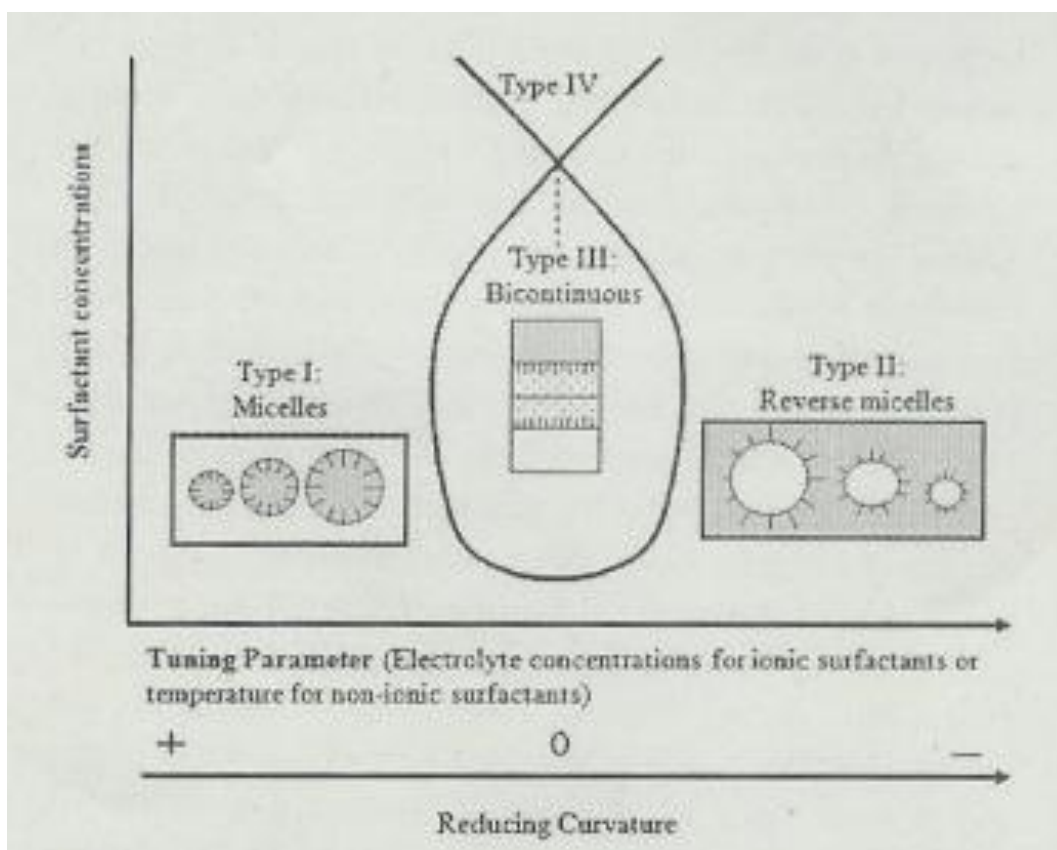
1. Mikroemulze obsahují částice minimálně o řád menší než běžné emulze;
2. Mikroemulze jsou transparentní a polotransparentní a běžné emulze jsou mléčné;
3. Mikroemulze vznikají spontánně; běžné emulze obvykle vyžadují intenzivní míchání;
4. Mikroemulze jsou stabilní vzhledem k separaci svých složek; běžné emulze mohou být kineticky stabilní, ale nakonec se jejich jednotlivé fáze oddělí;
5. Množství surfaktantu potřebného pro přípravu mikroemulze je vyšší ve srovnání s klasickou emulzí [8].

Pro nízké až střední koncentrace surfaktantu rozeznáváme tři typy mikroemulzí označované jako Winsor (viz obr. 14 )

*Mikroemulze typu Winsor I* – běžné micely v rovnováze s nadbytkem olejové fáze (V/O)

*Mikroemulze typu Winsor II* – reverzní micely v rovnováze s nadbytkem vodné fáze (O/V)

*Mikroemulze typu Winsor III* – bikontinuální (lamelární) fáze obsahující olej, vodu a povrchově aktivní látku v rovnováze s nadbytkem vodní i olejové fáze [14].



Obr. 6. Fázové vlastnosti mikroemulzí zobrazené ve „fish“ diagramu ukazují závislost změny v zakřivení s koncentrací povrchově aktivní látky [14]

Přechod mezi mikroemulzemi typu I – II – III může být dosažen zvýšením koncentrace elektrolytu pro iontové PAL nebo zvýšením teploty pro neiontové PAL (Obr. 6). Zvyšující se koncentrace elektrolytu (pro iontové PAL) nebo teplota (pro neiontové PAL)

způsobí, že se roztok povrchově aktivní látky stane více hydrofobním a tím se více oddělí rozhraní olej-voda, čímž se sníží povrchové zakřivení filmu povrchově aktivní látky a mezipovrchové napětí. Při nulovém zakřivení povrchu pak vzniká mikroemulze typu Winsor III. Mikroemulze typu IV se vyskytuje v případě, pokud je koncentrace PAL zvýšena v mikroemulzi typu Winsor III [14].

Mikroemulzní systémy nacházejí využití v nesčetných oblastech. Příkladem běžných produktů jsou podlahové vosky, prostředky na holení, nápojové koncentráty či pesticidní přípravky. Další významnou oblastí aplikace mikroemulzí je syntéza polymerů emulzní polymerací. Vzhledem ke komerční důležitosti polymerů, byl tento proces intenzivně zkoumán a dobře pochopen. V poslední době je velká část výzkumu mikroemulzních systémů zaměřena na problém terciárního využití ropy. Velmi široké uplatnění nacházejí mikroemulze v potravinářství, kosmetice a farmacii [8].

## 4 NANOEMULZE

Nanoemulze jsou průhledné nebo průsvitné dispersní systémy pokrývající převážně rozmezí velikostí částic od 50 do 220 nm [9]. Publikace [15,16] však posouvají horní interval velikosti částic nanoemulzí až na 500 nm. Na rozdíl od mikroemulzí, které jsou rovněž průhledné nebo průsvitné a termodynamicky stabilní, jsou však nanoemulze jen kineticky stabilní [9].

Bývají rovněž nazývány jako miniemulze (mini-emulsions), ultrajemné emulze (ultra-fine emulsions), submikronové emulze (submicrone emulsions) nebo polotransparentní emulze (translucent emulsions) [15].

V literatuře se můžeme setkat s nedorozuměním týkajícím se nanoemulzí, které vyplývá z jejich podobnosti s mikroemulzemi. Nanoemulze jsou emulze s velikostmi částic, které se velikostí mohou překrývat s mikroemulzemi. Zásadním rozdílem mezi mikroemulzí a nanoemulzí je však skutečnost, že mikroemulze jsou rovnovážné systémy, které jsou termodynamicky stabilní, zatímco nanoemulze jsou nerovnovážné, termodynamicky nestabilní systémy se spontánní tendencí k separaci na základní složky. Nicméně i nanoemulze mohou mít relativně vysokou kinetickou stabilitu.

### 4.1 Příprava nanoemulzí

Pro přípravu nanoemulzí, uvažujeme-li systémy s velikostí částic o poloměru 50 až 200 nm, lze použít následující metody:

- Emulgace použitím vysokotlakých homogenizátorů za pomoci vhodných povrchově aktivních látek, popřípadě i kosurfaktantů.
- Emulgace s využitím nízkoenergetických, emulgačních (kondenzačních) metod [9,17].

#### 4.1.1 Použití vysokotlakých homogenizátorů

Příprava malých kapiček s velikostí menší než mikrometr je vysoce energeticky náročná. Může být provedena mechanicky, což je realizováno prostřednictvím přísunu velkého množství energie dodávané prostřednictvím smykového namáhání (intenzivní míchání), vysokotlakých homogenizátorů nebo ultrazvukových generátorů. Vstup vel-

kého množství energie dává vzniknout deformačním silám, které jsou schopny rozdělit větší kapky na menší. Čím menší budou kapky, tím větší množství energie je potřeba do systému dodat, což činí tento postup nevýhodný z hlediska použití v průmyslu [9].

#### 4.1.2 Využití nízkoenergetických emulgačních metod

Tyto metody využívají fázového přechodu, ke kterému dochází během emulgace. V principu existují dvě cesty, kterými lze fázového přechodu dosáhnou. První probíhá za konstantní teploty a mění se HLB systému obsahujícího směs dvou surfaktantů. Metoda se označuje EIP - Emulsion Inversion Point (Inverzní bod emulze), nebo TPI Transitional Phase Inversion. Při druhém postupu složení zůstává konstantní a dochází ke změně teploty. Pro tuto metodu se používá název PIT (Phase inversion temperature), tzv. koncept teploty fázové inverze [9].

##### **Metoda EIP**

Ze studia fázového chování systému V/O/PAL vyplynulo, že příprava nanoemulzí může být provedena různými postupy navrženými v publikaci [18].

- postupným přidáváním oleje do směsi vody a PAL
- postupným přidáváním vody do roztoku PAL v oleji
- smícháním všech složek v konečném složení, kterému předcházela ekvilibrace složek před emulgací

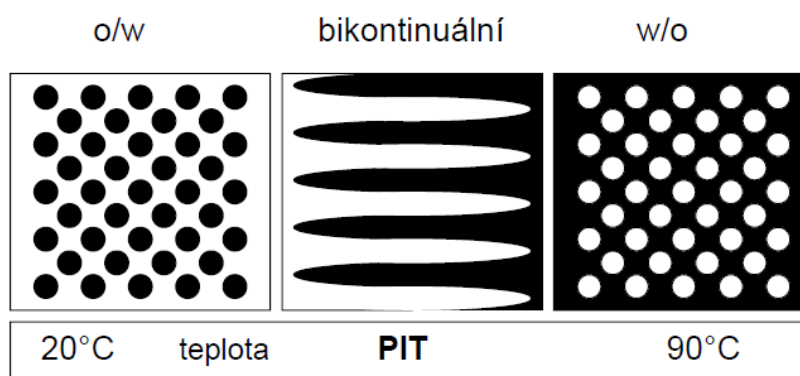
Výsledky studie však ukázaly, že ve studovaném systému se složkami voda/Brij 30/dekan (V/PAL/O) došlo k tvorbě nanoemulze s kapičkami o velikosti řádově 50 nm pouze tehdy, když byla voda přidána do směsi PAL a oleje [9].

##### **Metoda PIT**

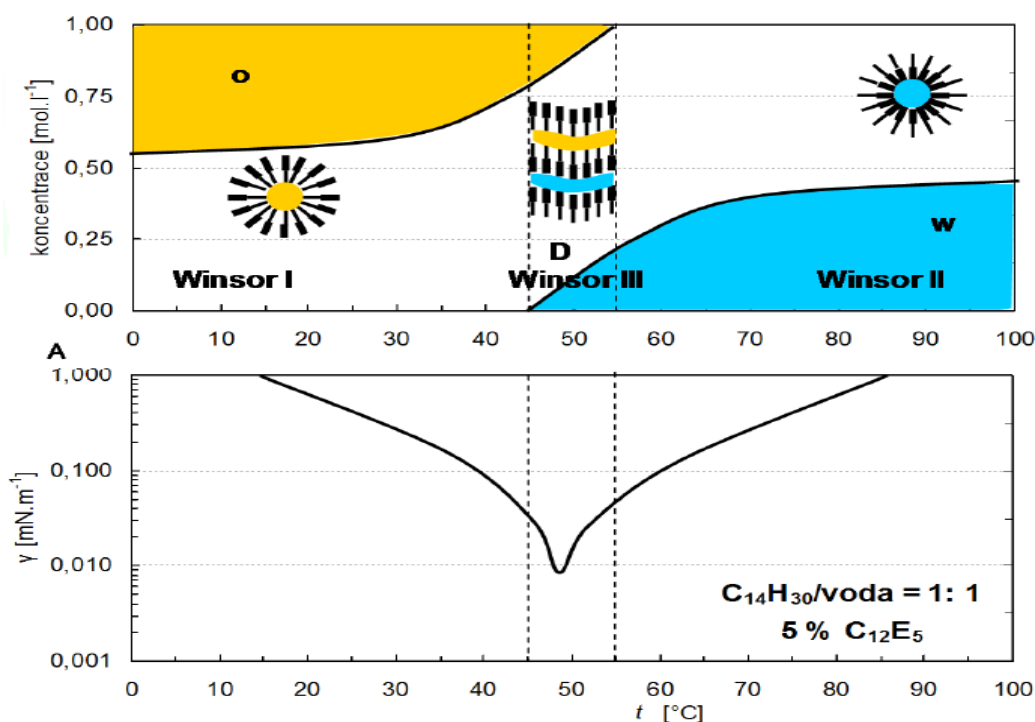
Tato metoda byla použita autory publikace [19], kteří pracovali s neionogenními surfaktanty etoxylovaného typu, pro které je charakteristická silná teplotní závislost. Vzhledem dehydrataci polyoxyetylenového řetězce roste se vzrůstající teplotou jejich lyofilita. Je-li pomocí těchto surfaktantů připravena emulze typu olej ve vodě a je za-



hřáta, potom při kritické teplotě (PIT) dojde k „převrácení“ emulze na emulzi opačného typu, tedy voda v oleji. Při kritické teplotě (PIT) je velikost kapiček nejmenší a rovněž mezifázové napětí dosahuje minima. Rychlým ochlazením systému pak vznikají stabilní emulze s kapičkami o malých průměrech. [9]. Průběh fázové změny během PIT je znázorněn na obrázku 7.



Obr. 7. Chování emulze v závislosti na teplotě [5]



Obr. 8. Vliv teploty na složení fází a na průběh mezifázového napětí [5]

Při praktickém provedení se do míchané olejové fáze obsahující surfaktant (85-95 °C) přidá voda o stejné teplotě a směs se prudce za míchání ochladí. Někdy je vhodné přidat pouze část vody a později při nižší teplotě zbytek. Obsah emulgátoru je obvykle 3 až 10 %. [5].

## 5 METODY STANOVENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC EMULZÍ

Velikost a distribuce velikostí částic jsou v případě emulzí a mikroemulzí klíčovými charakteristikami, které poskytují informace potřebné pro kontrolu a optimalizaci jejich výroby, pro hodnocení kvality výsledné emulze a určení její stability v závislosti na čase a teplotě skladování. Techniky používané pro stanovení velikosti částic jsou založeny na různých principech. Využívají například rozptyl světla, měří pohyb částice jako odezvu na působení gravitační, odstředivé nebo elektrostatické síly, nebo sledují Brownův pohyb.

Následující kapitola se uvádí některé z metod vhodných pro stanovení velikosti částic.

### 5.1 Hydrodynamická chromatografie

Hydrodynamická chromatografie (HDC) je metoda, kterou lze použít jak pro separaci částic, tak i pro separaci polymerů. Princip separace je založen na mechanismu „tokového profilu“ a velikosti separovaných částic. Velké částice se vzhledem ke své velikosti nemohou dostat až ke stěně kapiláry a proto nemohou zpomalit rychlost toku rozpouštědla, kterým je kapilára naplněna. Velké částice, ve srovnání s částicemi malými, se tedy vyskytují mnohem častěji ve středu kapiláry a pohybují se díky tvaru tokového profilu rychleji. U hydrodynamické chromatografie je tedy pořadí eluce stejné jako u gelové permeační chromatografie, velké částice se eluují dříve než částice malé.

Podmínkou pro úspěšnou aplikaci HDC je, aby průtokové kapiláry byly extrémně úzké. Toho může být dosaženo buď v úzkých válcových kapilárách, nebo v kolonách plněných neporézními kulovými částicemi, které tvoří sadu kapilár [20].

### 5.2 Mikroskopie

#### 5.2.1 Optická mikroskopie

Částice hrubě disperzních systémů jsou viditelné v mikroskopu. Aby částice byla viditelná, musí být její index lomu dostatečně odlišný od indexu lomu prostředí. Pro využití mikroskopu je důležité nejen zvětšení, ale také jeho rozlišovací schopnost. Zvětšení určuje velikost obrazu, ale rozlišovací schopnost určuje množství rozlišovacích detailů. Rozlišovací schopnost mikroskopu je posuzována podle meze rozlišení, rovné

vzdálenosti  $d$  mezi dvěma body, které je zapotřebí k získání jejich zřetelně odlišných obrazů. Podle vztahu (6), který odvodil Abbé, je při kolmém osvětlení preparátu tato vzdálenost rovna

$$d = \frac{\lambda}{n \cdot \sin \alpha} . \quad (6)$$

Rozlišovací schopnost je tedy tím větší (tj.  $d$  tím menší), čím je větší index lomu optického prostředí  $n$  a odklon krajních paprsků, které ještě vstupují do objektivu, od optické osy (úhel  $\alpha$ ) nebo čím je menší vlnová délka použitého světla  $\lambda$  [1].

Optická mikroskopie je nejsnadnějším a nejjednodušším postupem, jak zhodnotit tvar a velikost částic. Není vhodná pro částice výrazně menší než 1  $\mu\text{m}$ . Pro částice s menší velikostí je vhodnou metodou elektronová mikroskopie.

### 5.2.2 Elektronová mikroskopie

Elektronová mikroskopie využívá, na rozdíl od světelné mikroskopie, místo světelného paprsku paprsek elektronů, který prochází ve vakuu přes elektromagnetické čočky. Proto je nutno preparát do mikroskopu vložit tak, aby nedošlo k porušení vakua. Zobrazovací systém tvoří elektromagnetické čočky zasazené v cívkách napájených stejnosměrným proudem. Rozeznáváme dva základní typy elektronových mikroskopů – transmisní a skenovací. Ve skenovacím (rastrovacím) elektronovém mikroskopu (SEM) neprochází svazek elektronů preparátem (jako je tomu u transmisního elektronového mikroskopu), ale řádkuje (rastruje) po jeho povrchu. Nutnou podmínkou pro tento typ mikroskopie je to, že povrch preparátu musí být elektricky vodivý, a proto se pokovuje zlatem. Získaný obraz je pak díky velké hloubce ostrosti zdánlivě trojrozměrný. Rozlišovací schopnost skenovacího elektronového mikroskopu je menší než u transmisního elektronového mikroskopu a činí 5 – 10 nm, výhodou je však velká hloubka ostrosti [21].

### 5.3 Laserová difrakce

Další vhodnou technikou pro stanovení velikosti částic je laserová difrakce. Při měření prochází laserový paprsek kyvetou, ve které je umístěn měřený vzorek rozptýlený ve

vhodném médiu, nejčastěji ve vodě. Vlivem přítomných částic dochází k ohybu (difrakci) laserového paprsku pod úhlem, jež je nepřímo úměrný jejich velikosti.

Laserová difrakce se používá se ke stanovení distribuce velikosti částic v rozsahu 0,1 - 600  $\mu\text{m}$  u širokého spektra materiálů od potravinářských emulzí, přes léčiva a prášky až po oxidy kovů a cementy [22].

#### 5.4 Coulter counting

Technika byla původně vyvinuta pro měření velikosti krvinek a je jednou z nejvíce používaných metod ve farmaceutickém průmyslu [23]. Princip metody je založen na impedančním principu. Částice suspendované ve slabém elektrolytu procházejí aperturou o definované velikosti oddělující dvě elektrody, mezi kterými prochází proud. Při průchodu každé nevodivé částice aperturou se proud přerušuje, protože částice nahradí svým vlastním objemem objem elektrolytu, čímž se na okamžik zvýší impedance mezi elektrodami. Tato změna impedance vyvolá pulz, který je digitálně zpracován a který je přímo úměrný objemu částice, která jej vyvolala. Analýza pulzů potom umožní získat distribuci velikosti měřených částic a jejich průměr. Zatímco počet impulsů indikuje počet částic, velikost elektrického impulsu je úměrná jejich objemu. Coulter counter je vhodný pro měření částic v rozsahu od 0,4  $\mu\text{m}$  do 1200  $\mu\text{m}$  [24].

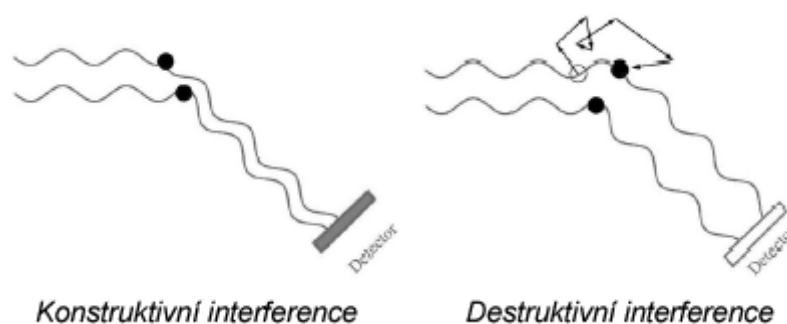
## 6 DYNAMICKÝ ROZPTYL SVĚTLA (FOTONOVÁ KORELAČNÍ SPEKTROSKOPIE - PCS)

### Popis metody

Metodou, která je pro měření velikosti částic často využívána je dynamický rozptyl světla (DLS), známý také jako kvazielastický rozptyl světla (QELS) nebo fotonová korelační spektroskopie (PCS) [25].

### Princip metody

Principem metody je měření fluktuací intenzity světla rozptýleného molekulami/částicemi vzorku v průběhu času. Při rozptylu světla molekulou se rozptýlí jen část dopadajícího světla. Kdyby byla molekula stacionární, množství rozptýleného světla by bylo konstantní, ale jelikož všechny molekuly v roztoku difundují Brownovým pohybem vzhledem k detektoru, existují interference (pozitivní nebo negativní), které způsobují změny intenzity (viz obrázek 9).



Obr. 9. Grafické znázornění pozitivní (konstruktivní) a negativní (destruktivní) interference [25]

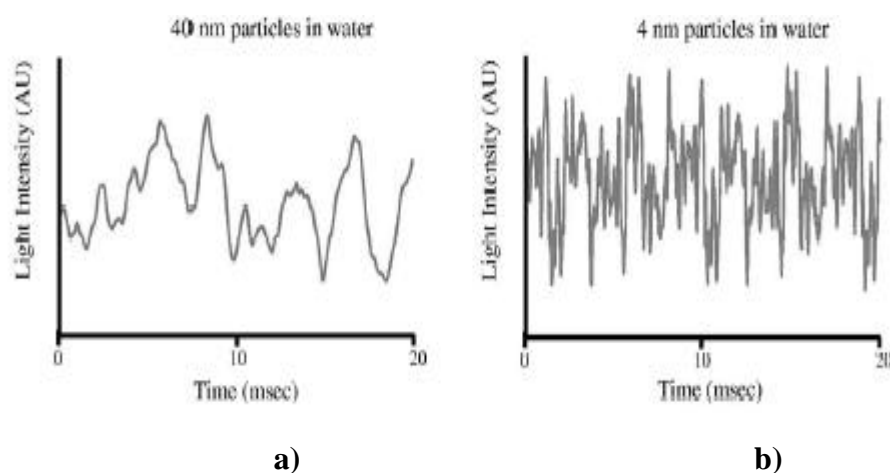
Čím rychleji se částice pohybují, tím rychleji se intenzita rozptýleného světla mění.

Rychlost těchto změn je tudíž přímo závislá na pohybu molekuly.

Fluktuace intenzity rozptýleného světla molekul v principu ovlivňují následující faktory:

- **Teplota** – čím vyšší je teplota, tím rychleji se molekuly pohybují.

- **Viskozita rozpouštědla** – čím vyšší je viskozita rozpouštědla, tím pomaleji se molekuly pohybují.
- **Velikost molekul** – čím větší jsou molekuly, tím pomaleji se pohybují. Pro malé částice je tedy charakteristické, že se pohybují rychleji a fluktuace vyvolané jejich pohybem rychleji zanikají. U velkých částic je tomu naopak [26]. Graficky je fluktuace částic s různou velikostí znázorněna na Obr. 10.



Obr. 10. Znáznornění fluktuací intenzity rozptýleného světla pro částice o velikosti 40 nm a) a 4 nm b) [25]

Jak již bylo uvedeno, fluktuace intenzity rozptýleného světla je závislá na velikosti částic. Okamžitou hodnotu fluktuace intenzity rozptýleného světla v čase  $\tau$  popisuje pro monodisperzní systém tzv. autokorelační funkce  $g(\tau)$  definovaná vztahem

$$g(t) = \exp [-t/ \tau_c], \quad (7)$$

kde  $\tau_c$  je relaxační čas. Relaxační čas je charakterizován jako doba potřebná k návratu fluktuace k průměrné hodnotě intenzity rozptýleného světla. Hodnotu relaxačního času lze vztáhnout k difuznímu koeficientu  $D$  rozptylujících částic prostřednictvím rovnice

$$\tau_c = 1/Dq^2, \quad (8)$$

kde  $q$  je rozptylový vektor, jehož hodnota je funkcí vlnové délky dopadajícího záření, indexu lomu dispersního média a úhlu  $\theta$ , pod kterým je intenzita rozptýleného světla měřena;  $q = (4\pi n/\lambda) \sin(\theta/2)$ .

Difusní koeficienty měřených částic  $D$  je potom možno převést na velikost částic pomocí Stokesovy-Einsteinovy rovnice

$$d(H) = kT/3\pi\eta D, \quad (9)$$

kde  $d(H)$  je hydrodynamický průměr částice,  $D$  je translační difusní koeficient,  $k$  je Boltzmannova konstanta,  $T$  je absolutní teplota a  $\eta$  je viskozita dispersního prostředí.

Z rovnice (9) je zřejmé, že difusní koeficient roste s teplotou, a to ze dvou důvodů. Prvním důvodem je skutečnost, že difuze je důsledkem tepelného pohybu, takže její hybná síla je úměrná součinu  $kT$ . Důvodem druhým je viskozita kapalného viskózního prostředí, která s teplotou klesá.

U kulovitých částic je difusní koeficient nepřímo úměrný jejich poloměru. Z naměřené hodnoty difusního koeficientu lze tedy vypočítat poloměr kulovité částice. V případě, že částice mají nepravidelný tvar, je definována „hydrodynamicky ekvivalentní kulovitá částice“ jako koule, která má za daných podmínek (teplota, disperzní prostředí) stejný odpor prostředí proti pohybu (frikční koeficient) jako studovaná částice. Poloměr vypočtený z difusního koeficientu pomocí Stokesovy Einsteinovy rovnice se pak nazývá hydrodynamický poloměr ( $R_H$ ).

Pro polydisperzní materiály je tvar korelační funkce složitější a je kombinací funkcí odpovídajících jednotlivým druhům částic, avšak se silným zkreslením směrem k větším částicím (čím větší je molekula, tím vyšší je rozptyl). Je možno odvodit individuální korelační funkce, ale existuje téměř neomezený počet způsobů získání finální



funkce, pokud se nestanoví určité předpoklady, jaká je distribuce velikosti částic v měřeném materiálu.

Matematicky je tento problém řešen buď předpokladem, že je distribuce monomodální (je přítomen pouze jeden druh částic), nebo předpokladem, že pokud je přítomno více druhů částic, distribuce každého z nich je omezena určitými limity. Dobrý software umožní zobrazit obojí výsledky. Teoretický limit této metody je, že nelze rozlišit druhy s rozdílem velikosti méně než 40 % [25].

## 6.1 Použití

Dynamický rozptyl světla je široce aplikovaná metoda měření velikosti molekul a částic v roztoku. S použitím matematických algoritmů lze stanovit i přítomnost směsi částic bez jejich fyzikální separace. Lze jej aplikovat při charakterizaci proteinů, liposomů a micel, stejně jako při detekci agregace [25]. Metodou rozptylu světla lze stanovit parametry nejen translačního, ale i rotačního tepelného pohybu disperzních částic; u ohebných makromolekul se touto metodou studuje i dynamika intramolekulárně-rotačního pohybu [26].

Výhodou této metody je zejména její nízká časová náročnost a u materiálů s nepříliš velkým sklonem k aglomeraci reprodukovatelné výsledky porovnatelné s časově náročnější elektronovou mikroskopií. Nutnost poměrně vysokého zředění vzorku při měření může být výhodou z hlediska potlačení aglomerace a tedy přesnějšího určení primární velikosti měřených částic [27].

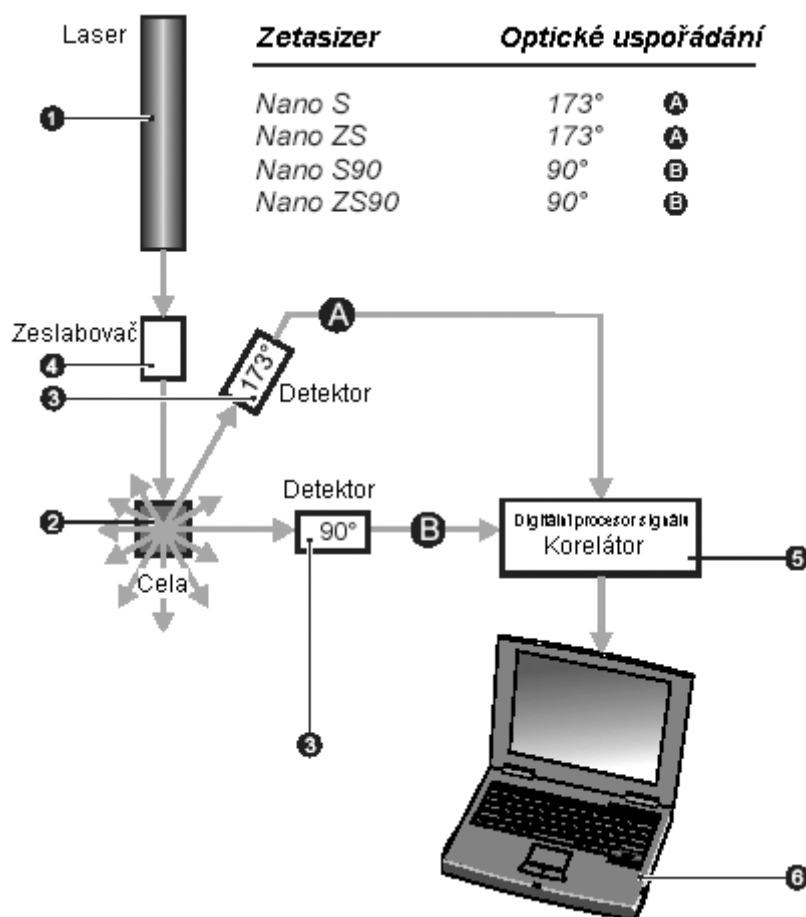
## 6.2 Přístroj Zeta Nano ZS

### 6.2.1 Činnost přístroje pro měření velikosti částic – Zeta Nano ZS

Typický systém DLS se skládá ze šesti hlavních komponent. Především se používá laser (1) pro zajištění zdroje světla pro osvětlení částic vzorku uvnitř cely (2). Většina laserových paprsků prochází přímo skrz vzorek, ale některé jsou rozptýlené částicemi ve vzorku. Detektor (3) se používá pro měření intenzity rozptýleného světla.

U použitého přístroje Zeta Nano ZS, je poloha detektoru v úhlu  $173^\circ$ . Intenzita rozptýleného světla musí ležet uvnitř určitého rozsahu, aby ji mohl detektor úspěšně změřit.

Je-li detekováno příliš mnoho světla, pak se detektor zahltí. Pro snížení intenzity laseru se proto používá "zeslabovač" (attenuator) (4) [28].



Obr. 11. Schéma přístroje Zeta Nano ZS [28]

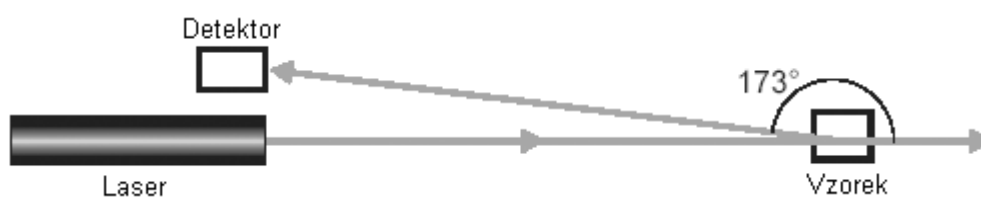
U vzorků, které mnoho světla nerozptylují, jako velmi malé částice nebo vzorky o nízké koncentraci, se množství rozptýleného světla musí zvýšit. V takové situaci "zeslabovač" propustí více světla laseru do vzorku. Naopak u vzorků, které rozptylují více světla se pomocí "zeslabovače" množství světla laseru procházejícího do vzorku sníží.

Signál intenzity rozptylu pro detektor projde na desku digitálního zpracování signálu, nazvanou korelátor (correlator) (5). Korelátor srovnává intenzitu rozptylu v po sobě jdoucích časových intervalech.

Tato informace korelátoru pak přejde do počítače (6), kde software provede analýzu dat a odvodí informace o velikosti měřených částic [28].

### 6.2.2 Detekční optika 173° - detekce zpětného rozptylu

Zeta Nano ZS měří intenzitu rozptýleného světla blízko úhlu 180°, což je známé jako detekce tzv. zpětného rozptylu. Toto uspořádání je výhodné, protože dopadající paprsek nemusí procházet celým vzorkem. Skutečnost, že světlo prochází kratší optickou drahou vzorku, umožňuje měření vyšší koncentrace vzorku [28].



Obr. 12. Detekce zpětného rozptylu [28]

To zmenšuje efekt známý jako mnohonásobný rozptyl, kde rozptýlené světlo z jedné částice je samo rozptýleno jinými částicemi. Kontaminující látky, jako například částice prachu v dispersním médiu použitém pro měření, jsou obvykle velké ve srovnání s velikostí vzorku. Velké částice převážně rozptylují ve směru „dopředu“. Proto se měřením zpětného rozptylu negativní efekt prachových částic značně sníží [28].

## **II. EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST**

## **7 MATERIÁLY A PŘÍSTROJE**

### **7.1 Použité chemikálie a přístroje**

#### **7.1.1 Chemikálie**

Igepal CA 720 HLB 14,2 (Aldrich)

Igepal CA 520 HLB 10 (Aldrich)

n-undekan ( $C_{11}H_{24}$ ) (Reachin)

Polystyrénový latex – Standard 60 nm (Malvern Instruments, Ltd., Velká Británie)

Voda čištěná reverzní osmózou (RO voda)

#### **7.1.2 Přístroje**

Předvážky (Ohaus)

Míchadlo RZR 2020 (Heidolph, Germany)

Zetasizer nano SZ (Malvern Instruments, Ltd., Velká Británie)

#### **7.1.3 Pomůcky**

Kádinky

Byrety

Automatické mikropipety Eppendorf (100 – 1000  $\mu$ L, 10 – 100  $\mu$ L)

Standardní polystyrenová kyveta pro měření velikosti částic (Sarsted Germany)

Stříkačkový filtr o velikosti pórů 0.22  $\mu$ m (Millipore, Velká Británie).

## 7.2 Metodika

### 7.2.1 Složení emulzí

Pro diplomovou práci byly zvoleny emulze, jejichž olejovou fází tvořil n-undekan a vodnou RO voda. Byly připraveny vzorky s následujícími poměry mezi olejovou (O) a vodnou fází (V): O/V 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70. Pro přípravu byla zvolena metoda emulgace prováděná při laboratorní teplotě za přítomnosti dvojice emulgátorů (EIP, viz. Kapitola 4.1.2.). Jako emulgátor pro vodnou fází byl použit Igepal CA 720, jehož hodnota HLB je 14.2 (informace dodavatele). Pro olejovou fází byl použit emulgátor Igepal CA 520 s hodnotou HLB 10. Celkové množství obou emulgátorů v emulzi bylo buď 3 nebo 5 hm.%.

Potřebná množství pro přípravu směsí emulgátorů s požadovanou hodnotou HLB byla vypočtena podle vztahu (10)

$$HLB = x_1 \times HLB_1 + x_2 \times HLB_2, \quad (10)$$

kde  $x_1$  a  $x_2$  jsou hmotnostní zlomky jednotlivých emulgátorů použitých ve směsi  
 $HLB_1$  je hodnota HLB Igepalu 520 a  $HLB_2$  je hodnota HLB Igepalu 720.

Jako příklad je uveden výpočet navážek emulgátorů o celkovém obsahu 3 % pro množství 100 g emulze s poměrem olejové a vodné fáze 5/95. Při obsahu emulgátoru 3 % (3 g) bude celkové množství vodné a olejové fáze 97 g. Pro poměr O/V 5/95 je potom hmotnost olejové fáze rovna 4.85 g a hmotnost vodné fáze 92.15 g.

$$HLB = x_1 \times HLB_1 + x_2 \times HLB_2$$

$$HLB = \left( \frac{3 - m_2}{3} \right) \times HLB_1 + \frac{m_2}{3} \times HLB_2$$

$$HLB = \left( 1 - \frac{m_2}{3} \right) \times 10 + \frac{m_2}{3} \times 14.2$$

$$10,5 = 10 - 3.3m_2 + 4.73m_2$$

$$0,5 = 1.430m_2$$

$$m_2 = 0.349 \text{ g}$$

$m_1$  je hmotnost emulgátoru Igepal CA 520 s hodnotou  $HLB_1 = 10$

$m_2$  je hmotnost emulgátoru Igepal CA 720 s hodnotou  $HLB_2 = 14.2$

Na základě předběžných studií byly připraveny emulze s emulgátory o HLB hodnotách 10.5, 11.0 a 11.5. Volba HLB vycházela z teoretického předpokladu, že pro přípravu stabilní emulze je vhodný emulgátor s hodnotou HLB doporučenou pro konkrétní použitou olejovou fázi [29]. Jelikož v případě undekanu leží doporučená hodnota HLB emulgátoru pro vytvoření stabilní emulze v intervalu mezi 10 a 11 [30], byly pro přípravu emulzí zvoleny emulgátory s hodnotami HLB blízkými tomuto intervalu, a to 10.5, 11.0 a 11.5.

Hmotnosti jednotlivých surfaktantů, stejně jako hmotnosti vodné a olejové fáze použité pro přípravu emulzí, jsou uvedeny v tabulkách 1 a 2. Údaje jsou vztaženy k množství emulze 50 g.

*Tab. 1. Vypočtená množství složek použitých pro přípravu emulzí s 3 % emulgátoru (vztaženo na 50 g emulze)*

O/V	HLB	O fáze m [g]	V fáze m [g]	Igepal 520 m [g]	Igepal 720 m [g]
5/95	10.5	2.43	46.08	1.32	0.18
10/90	10.5	4.85	43.65	1.32	0.18
15/85	10.5	7.28	41.22	1.32	0.18
20/80	10.5	9.70	38.80	1.32	0.18
25/75	10.5	12.13	36.37	1.32	0.18
30/70	10.5	14.55	33.95	1.32	0.18
5/95	11	2.43	46.08	1.14	0.36
10/90	11	4.85	43.65	1.14	0.36
15/85	11	7.28	41.22	1.14	0.36
20/80	11	9.70	38.80	1.14	0.36
25/75	11	12.13	36.37	1.14	0.36
30/70	11	14.55	33.95	1.14	0.36
5/95	11.5	2.43	46.08	0.97	0.53
10/90	11.5	4.85	43.65	0.97	0.53
15/85	11.5	7.28	41.22	0.97	0.53
20/80	11.5	9.70	38.80	0.97	0.53
25/75	11.5	12.13	36.38	0.97	0.53
30/70	11.5	14.55	33.95	0,97	0.53

Tab. 2. Vypočtená množství složek použitých pro přípravu emulzí s 5 % emulgátoru (vztaženo na 50 g emulze)

O/V	HLB	O fáze m [g]	V fáze m [g]	Igepal 520 m [g]	Igepal 720 m [g]
5/95	10.5	2.38	45.13	2.20	0.30
10/90	10.5	4.75	42.75	2.20	0.30
15/85	10.5	7.13	40.38	2.20	0.30
20/80	10.5	9.50	38.00	2.20	0.30
25/75	10.5	11.88	35.63	2.20	0.30
30/70	10.5	14.25	33.25	2.20	0.30
5/95	11	2.38	45.13	1.90	0.60
10/90	11	4.75	42.75	1.90	0.60
15/85	11	7.13	40.38	1.90	0.60
20/80	11	9.50	38.00	1.90	0.60
25/75	11	11.88	35.63	1.90	0.60
30/70	11	14.25	33.25	1.90	0.60
5/95	11,5	2.38	45.13	1.61	0.89
10/90	11.5	4.75	42.75	1.61	0.89
15/85	11.5	7.13	40.38	1.61	0.89
20/80	11.5	9.50	38.00	1.61	0.89
25/75	11.5	11.88	35.63	1.61	0.89
30/70	11.5	14.25	33.25	1.61	0.89

### 7.2.2 Příprava emulzí

Vypočtené množství emulgátoru Igepal CA 720 (viz tabulky 1 a 2) bylo naváženo a rozpuštěno v RO vodě. Obdobným způsobem by připraven roztok emulgátoru Igepal CA 520 v olejové fázi (n-undekan).

Samotná emulgace probíhala v jednoduché laboratorní aparatuře skládající se z míchacího zařízení RZR 2020, kádinky a byrety. Do byrety byla nalita připravená vodná fáze s emulgátorem o HLB 14.2, která byla za míchání přikapávána do kádinky s olejovou fází obsahující emulgátor s HLB hodnotou 10. V kádince s olejovou fází bylo umístěno vlastní míchadlo. Příprava emulzí probíhala při rychlosti míchání 1050 otáček za minutu. Rychlost přidavku vodné fáze byla cca 1 ml/min. Doba míchání emulze byla závislá na množství přidávané vodné fáze. Po ukončení přidavku vodné fáze do oleje byla emulze ještě míchána 5 minut. Poté bylo míchací zařízení vypnuto a emulze byly ihned hodnoceny vizuálním pozorováním.

Pro srovnání byla připravena i emulze, která obsahovala pouze jeden emulgátor Igepal CA 520 (HLB 10). Vypočtené množství emulgátoru bylo rozpuštěno v olejové fázi



a přidávána vodná fáze byla bez přídavku emulgátoru. Emulgace probíhala stejným způsobem, jako v případě použití dvou emulgátorů.

### 7.2.3 Charakterizace emulzí

#### Vizuální hodnocení

Vzhledem k přítomnosti emulgátorů se během přípravy emulzí vytvořila na jejich povrchu pěna. Ihned po ukončení emulgace byla proto pozorována a zaznamenána přítomnost pěny, rychlost odpěnění a barva vzniklé emulze.

Po uplynutí jedné hodiny bylo sledováno, zda na emulzi pěna zůstala, či jestli došlo k separaci emulze na jednotlivé fáze. Po tomto vizuálním zhodnocení následovalo rozdělení emulzí na tři alikvotní části, které byly uloženy při různých teplotách, a to při 4 °C, 25 °C a 35 °C.

### 7.2.4 Měření velikosti částic na přístroji Zeta Nano SZ

Metoda rozptylu světla, na které je měření velikosti částic založeno, je velmi citlivá na přítomnost sebemenších prachových částic. Proto musí být dispersní médium (v našem případě RO voda) pečlivě zbaveno prachových částic. To bylo provedeno dvojnásobnou filtrací RO vody přes filtr o velikosti pórů 0.22  $\mu\text{m}$ .

Pro měření velikosti musí být připravena emulze o vhodné koncentraci. Volba nesprávné koncentrace může mít za následek zkreslení výsledků měření.

Po předběžných testech byl pro přípravu vzorků emulzí pro stanovení velikosti částic zvolen následující postup. Do standardní polystyrenové kyvety byl pomocí automatické pipety nadávkován 1 ml dvakrát přefiltrované RO vody a 10  $\mu\text{l}$  vzorku emulze. Před každým dávkováním byla vždy emulze homogenizována manuálním protřepáním. Kyveta byla zakryta víčkem, které zajistilo teplotní stabilitu vzorku a byla vložena do přístroje.

Měření bylo prováděno při teplotě 25 °C a byly použity následující vstupní údaje potřebné pro výpočet velikosti částic: viskozita disperzního média (vody) 0.887 cP, index lomu disperzního média 1.33 a index lomu dispergovaného podílu (undekan) 1.41. Po nastavení metody měření a umístění vzorku do přístroje byla analýza spuštěna a

byla shromážděna potřebná data. Vyhodnocení měření bylo prováděno přímo přístrojem Zeta Nano ZS.

Pro každou emulzi, bylo měření velikosti částic prováděno ihned v den její výroby (ca 3 hodiny po výrobě) a následně pro emulze skladované při různých teplotách v definovaných časových intervalech.

Základní distribuce velikosti generovaná metodou PCS je distribuce částic získaná z „intenzity rozptýleného“ světla, kterou je možno s použitím Mieho teorie převést, na „distribuci objemu“ částic [28].

### Kontrola přístroje Zeta Nano ZS

Přesnost měření velikosti částic byla ověřena pomocí analýzy suspenze monodisperzního standardu polystyrénového latexu o nominálním průměru částic 60 nm. K tomuto účelu byl jako dispersní médium použit roztok NaCl o koncentraci 9 mg/ml, který byl zbaven prachových částic dvojnásobnou filtrací přes 0.22  $\mu\text{m}$  filtr. Pro měření byl použit 1 mL roztoku NaCl a 5  $\mu\text{L}$  standardu. Výsledky analýzy prokázaly, že získané hodnoty velikosti částic polystyrénového latexu ležely v intervalu  $59 \pm 2.5$  nm, udávaném pro tuto nominální velikost standardu dodavatelem.

V rámci kontroly měření byla stanovena opakovatelnost měření velikosti částic emulzí (z-průměr), která byla vyjádřena jako relativní směrodatná odchylka (RSD) pěti měření provedených ihned po sobě, na stejném vzorku a stejným operátorem. Pro stanovení opakovatelnosti byly použity emulze specifikované v Tabulce 3.

Tab. 3. Opakovatelnost měření velikosti částic emulzí

Poměr O/V	HLB	Obsah emulgátoru [%]	z-průměr velikosti částic		
			$\Phi$ [nm]	SD [nm]	RSD [%]
25/75	11	5	518	18.8	4
30/70	11	5	813	49.8	6

### 7.2.5 Sledování časové stability emulzí

Stabilita připravených emulzí v čase byla sledována za pomoci měření velikosti částic stanovených, jako „z-průměr“ částic na přístroji Zeta Nano ZS. Tento z-průměr představuje střední hodnotu velikosti všech částic přítomných v emulzi. Jako další informace jsou uváděny i velikosti částic získané z „intenzitní“ distribuce. Tyto údaje mají informační hodnotu především v případě vzorků s bimodální nebo multimodální distribucí velikosti částic, která se projevuje přítomností dvou nebo více píků. Z těchto údajů lze potom získat hodnoty velikosti částic každého z přítomných píků, stejně jako zastoupení částic s různými velikostmi ve vzorku vyjádřené jako procenta (%) z celkového množství částic. Stabilita byla dále sledována pomocí vizuálního pozorování emulzí uložených při různých teplotách, u kterých byla hodnocena homogenita, rozpad emulze do jednotlivých fází tj. jestli vzniklo krémování, sedimentace nebo došlo k separaci olejové a vodné fáze. Byla hodnocena taktéž i konzistence emulzí a změna barvy, případně průhlednost.

Jak vizuální pozorování, tak i měření velikosti částic byly prováděny okamžitě po výrobě a poté každý z následujících pěti dnů u všech emulzí skladovaných za různých teplotních podmínek (4 °C, 25 °C a 35 °C). Následně byla stabilita sledována jen pro vzorky, u kterých nedošlo k rozpadu emulze na jednotlivé fáze. Homogenní vzorky byly měřeny dále, vzorky u kterých separace fází nastala již nikoliv.

## 7.3 Výsledky a diskuse

### 7.3.1 Vzhled emulzí

Vizuální hodnocení emulzí probíhalo ihned po dokončení emulgace a pak následně 1 hodinu od dokončení výroby. Byla hodnocena přítomnost pěny a rychlost odpěnění. Dále byl hodnocen vzhled vzniklé pěny a souhrnný vzhled celého vzorku, případně přítomnost jednotlivých fází. Vzhled emulze bezprostředně po výrobě byl ovlivněn hodnotou HLB emulgátoru a poměrem olejové a vodné fáze v emulzi. Téměř všechny emulze poměrem olejové a vodné fáze O/V 5/95, bez ohledu na hodnotu HLB (10.5 – 11.5) a množství emulgátoru (3 % a 5 %) byly polotransparentní. Výjimku tvořila emulze připravená při HLB 11 s obsahem emulgátoru 3 %, která měla mléčně bílé zbarvení, čímž se od výše uvedených lišila. Ostatní emulze se sledovanými O/V poměry (10/90 až 30/70) připravené s emulgátory o všech hodnotách HLB měly mléčně bílé zbarvení. Tyto vzorky byly většinou homogenní, výjimku však tvořily emulze připravené při HLB 10.5 s 5 %, emulgátoru, které sice měly rovněž bílou barvu ale u poměrů O/V 20/80, 25/75 a 30/70 došlo v krátké době po emulgaci k separaci a vytvoření dvou fází – polotransparentní a mléčně bílé.

S ohledem na přítomnost pěny a rychlost odpěnění, nebyla po uplynutí 1 hodiny pěna pozorována pouze u emulzí připravených s 3 % emulgátoru o HLB 10.5 a 5 % emulgátoru o HLB 11. Ve všech ostatních případech, tedy u emulzí s 5 % emulgátoru o HLB hodnotě 10.5, emulzí s 3 % emulgátorem o HLB 11 a u emulzí připravených s 3 a 5 % emulgátoru o HLB 11.5 nebylo ani po jedné hodině od přípravy pozorováno úplné odpěnění systému.

Tab. 4. Vizuální pozorování emulze připravené s 3 % emulgátoru o HLB 10.5 ihned po přípravě a po 1 hodině

O/V	Poměr pěny/emulze ihned po přípravě	Vzhled emulze ihned po přípravě	Vzhled po 1 hodině od výroby
5/95	70/30	polotransparentní	polotransparentní emulze
10/90	60/40	bílá	bílá emulze
15/85	40/60	bílá	bílá emulze
20/80	60/40	bílá	bílá emulze
25/75	50/50	bílá	bílá emulze
30/70	50/50	bílá	bílá emulze

Tab. 5. Vizuální pozorování emulze připravené s 5 % emulgátoru o HLB 10.5 ihned po přípravě a po 1 hodině

O/V	Poměr pěny/emulze ihned po přípravě	Vzhled emulze ihned po přípravě	Vzhled po 1 hodině od výroby
5/95	90/10	polotransparentní	polotransparentní emulze
10/90	80/20	polotransparentní	polotransparentní emulze
15/85	60/40	polotransparentní/bílá	polotransparentní emulze
20/80	90/10	polotransparentní/bílá	1 cm polotransparentní fáze + 1 cm bílá fáze
25/75	90/10	polotransparentní/bílá	0.6 cm polotransparentní fáze + 1.4 cm bílá fáze
30/70	90/10	bílá/polotransparentní	1.8 cm bílá fáze + 0.2 cm polotransparentní fáze

Tab. 6. Vizuální pozorování emulze připravené s 3 % emulgátoru o HLB 11 ihned po přípravě a po 1 hodině

O/V	Poměr pěny/emulze ihned po přípravě	Vzhled emulze ihned po přípravě	Vzhled po 1 hodině od výroby
5/95	70/30	bílá	bílá emulze
10/90	70/30	bílá	bílá emulze
15/85	80/20	bílá	bílá emulze
20/80	80/20	bílá	bílá emulze
25/75	70/30	bílá	bílá emulze
30/70	70/30	bílá	bílá emulze

Tab. 7. Vizuální pozorování emulze připravené s 5 % emulgátoru o HLB 11 ihned po přípravě a po 1 hodině

O/V	Poměr pěny/emulze ihned po přípravě	Vzhled emulze ihned po přípravě	Vzhled po 1 hodině od výroby
5/95	80/20	polotransparentní	polotransparentní emulze
10/90	90/10	bílá	bílá emulze
15/85	90/10	bílá	bílá emulze
20/80	90/10	bílá	bílá emulze
25/75	90/10	bílá	bílá emulze
30/70	70/30	bílá	bílá emulze

Tab. 8. Vizuální pozorování emulze připravené s 5 % emulgátoru o HLB 11,5 ihned po přípravě a po 1 hodině

O/V	Poměr pěny/emulze ihned po přípravě	Vzhled emulze ihned po přípravě	Vzhled po 1 hodině od výroby
5/95	80/20	polotransparentní	polotransparentní emulze
10/90	80/20	bílá	bílá emulze
15/85	80/20	bílá	bílá emulze
20/80	80/20	bílá	bílá emulze
25/75	70/30	bílá	bílá emulze
30/70	70/30	bílá	bílá emulze

Tab. 9. Vizuální pozorování emulze připravené s 3 % emulgátoru o HLB 11,5 ihned po přípravě a po 1 hodině

O/V	Poměr pěny/emulze ihned po přípravě	Vzhled emulze ihned po přípravě	Vzhled po 1 hodině od výroby
5/95	80/20	bílá	bílá emulze
10/90	60/40	bílá	bílá emulze
15/85	80/20	bílá	bílá emulze
20/80	70/30	bílá	bílá emulze
25/75	80/20	bílá	bílá emulze
30/70	70/30	bílá	bílá emulze

Vizuální pozorování bylo provedeno i u emulzí, které byly vyrobeny pouze s jedním emulgátorem Igepal CA 520 (HLB 10) rozpuštěným v olejové fázi. Emulze O/V 15/85 a 30/70 byly bez přítomnosti pěny. U emulze s poměrem O/V 5/95 byla rychlost odpěnění 7 minut a po 1.5 hodině u ní nastala separace na dvě fáze. U emulze s poměrem O/V 15/85 nastala separace na dvě fáze po 20 minutách a u poslední emulze s poměrem O/V 30/70 došlo k separaci na 3 fáze již po 15 minutách. Všechny tři emulze byly ve srovnání s emulgátory připravenými v přítomnosti dvou emulgátorů nestabilní, což bylo potvrzeno i měřením velikosti částic.

### 7.3.2 Velikost částic

Výsledky měření velikosti částic u čerstvě připravených emulzí jsou uvedeny v tabulkách č. 10 až 15. Tabulky uvádějí informace o z-průměru velikosti částic, dále velikosti částic v jednotlivých frakcích (pro případ, že emulze obsahuje více populací částic) a množství částic v % v těchto frakcích. Například pro emulzi uvedenou v prvním řádku tabulky 9 (O/V 5/95, HLB 10.5, 3 % emulgátoru) byl stanoven z-průměr velikosti částic 150 nm, emulze obsahovala dvě populace částic, první s velikostí 194 nm, která tvořila 93 % veškerých částic a druhou frakci s velikostí 3960 nm, které v emulzi bylo 7 %.

Z výsledků je zřejmé, že velikost částic (kapiček) v emulzích je ovlivněna hodnotou HLB emulgátoru, jeho množstvím i poměrem olejové a vodné fáze. Závislost mezi hodnotou HLB a velikostí částic je znázorněna pro různé poměry O/V na obrázku č. 13 (pro koncentraci emulgátoru 3 %) a Obr. 14 (pro koncentraci emulgátoru 5 %). Obecně je možno pozorovat, že čím byla hodnota HLB vyšší, tím byla velikost částic emulzí větší. Například pro emulze připravené v poměru O/V 5/95 při sledovaných hodnotách HLB (10.5–11.5) s obsahem emulgátoru 3 % ležela velikost částic vyjádřená jako z-průměr v rozmezí 43 až 180 nm, pro poměr 10/90 se pohyboval z-průměr v rozmezí 82 až 681 nm a pro poslední sledovaný poměr O/V 30/70 rostl z-průměr velikosti částic od 102 nm (HLB 10.5) po 606 nm (HLB 11.5).

Obdobný trend, tedy zvýšení velikosti částic emulze s rostoucí hodnotou HLB, bylo možno pozorovat i u emulzí připravených s 5 % emulgátoru, kde však není tak markantní rozdíl ve zvýšení velikosti částic emulzí připravených s HLB 11 a HLB 11.5 (Viz. Obr. 14). Jedinou výjimkou z tohoto pravidla bylo chování emulze s poměrem

O/V 5/95 připravené s 5 % emulgátoru, kdy byl s rostoucí hodnotou HLB pozorován pokles velikosti částic emulzí (od 112 nm pro HLB 10.5 po 43 nm pro HLB 11.5).

Se zvyšující hodnotou HLB bylo po odpěnění vizuálně pozorováno i zvýšení homogeneity emulzí.

Velikost částic nově připravených emulzí byla rovněž ovlivněna poměrem, mezi vodnou a olejovou fází emulze. Z obrázků 13 a 14 je zřejmé, že čím bylo více olejové fáze, tím se velikost částic emulze zvyšovala. To je zvláště viditelné pro emulze s obsahem olejové fáze 15 % a vyšším, tedy pro emulze O/V 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70.

Rozdíly ve velikosti částic byly pozorovány rovněž při použití rozdílného množství emulgátorů, tedy 3 % nebo 5 %. Vliv vyššího množství emulgátoru na velikost částic však nelze ze získaných dat jednoznačně stanovit. Podle teoretického předpokladu, by se vzrůstajícím množstvím emulgátoru měla velikost částic klesat [31]. Tento trend však není u sledovaných emulzí jednoznačně prokazatelný. Například u emulzí připravených při HLB 10.5 došlo vlivem zvýšení množství emulgátoru z 3 % na 5 % k mírnému poklesu velikosti částic, stejně jako v případě emulzí s poměrem O/V 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70 připravených při HLB 11.5.

Tab. 10. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 5/95 pro HLB (10.5 – 11.5)

HLB	Množství emulgátoru [%]	z-průměr [nm]	Velikosti částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]			Množství částic v jednotlivých zastoupených frakcích [%]		
			194	3960	0	93	7	0
10.5	3	150	194	3960	0	93	7	0
10.5	5	112	147	4030	0	97	3	0
11.0	3	121	355	5020	76	55	1	44
11.0	5	64	104	0	0	100	0	0
11.5	3	179	198	0	0	100	0	0
11.5	5	43	50	0	0	100	0	0



Tab. 11. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 10/90 pro HLB (10.5 – 11.5)

HLB	Množství emulgátoru [%]	z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]			Množství částic v jednotlivých zastoupených frakcích [%]		
10.5	3	85	84	4806	0	93	7	0
10.5	5	82	91	0	0	100	0	0
11.0	3	228	861	47	4960	79	17	4
11.0	5	134	1655	39	0	60	40	0
11.5	3	536	653	0	0	100	0	0
11.5	5	681	854	0	0	100	0	0

Tab. 12. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 15/85 pro HLB (10.5 -11.5)

HLB	Množství emulgátoru [%]	z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]			Množství částic v jednotlivých zastoupených frakcích [%]		
10.5	3	78	66	2725	0	65	33	0
10.5	5	105	104	4164	0	85	15	0
11.0	3	383	691	34	0	92	8	0
11.0	5	345	648	29	0	90	10	0
11.5	3	547	664	0	0	100	0	0
11.5	5	465	527	0	0	100	0	0

Tab. 13. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 20/80 pro HLB (10.5 – 11.5)

HLB	Množství emulgátoru [%]	z-průměr [nm]	Velikostí částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]			Množství částic v jednotlivých zastoupených frakcích [%]		
10.5	3	117	84	2557	0	60	40	0
10.5	5	89	88	2420	0	81	19	0
11.0	3	524	773	4900	0	96	4	0
11.0	5	473	621	0	0	693	0	0
11.5	3	488	546	0	0	100	0	0
11.5	5	454	517	0	0	100	0	0

Tab. 14. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 25/75 pro HLB (10.5 – 11.5)

HLB	Množství emulgátoru [%]	z-průměr [nm]	Velikosti částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]			Množství částic v jednotlivých zastoupených frakcích [%]		
10.5	3	122	2400	169	44	39	39	22
10.5	5	93	94	2588	0	77	23	8
11.0	3	446	623	0	0	100	0	0
11.0	5	480	601	0	0	100	0	0
11.5	3	448	602	0	0	100	0	0
11.5	5	551	476	0	0	100	0	0

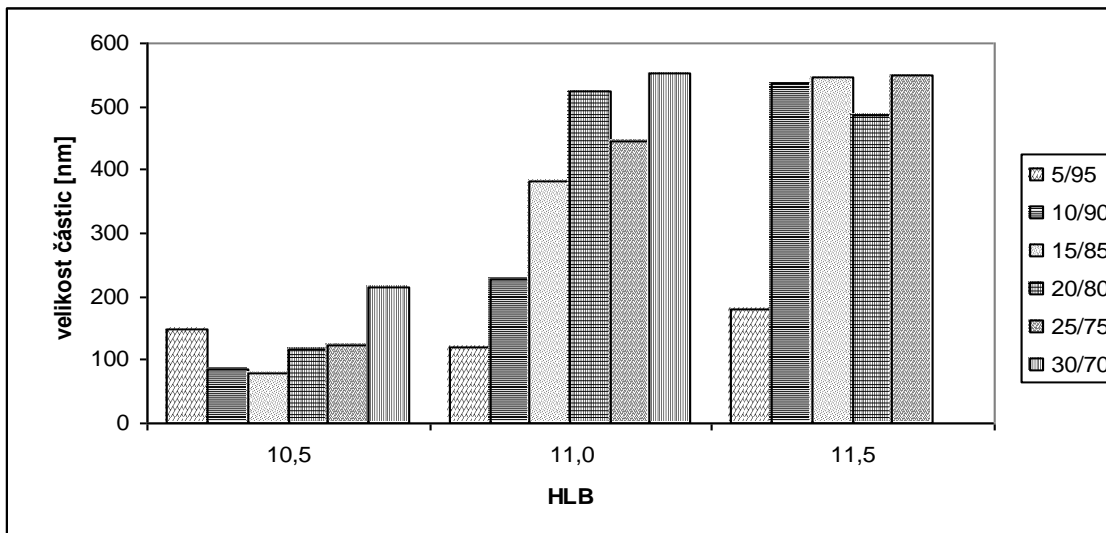
Tab. 15. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 30/70 pro HLB (10.5 – 11.5)

HLB	Množství emulgátoru [%]	z-průměr [nm]	Velikosti částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]			Množství částic v jednotlivých zastoupených frakcích [%]		
10.5	3	215	2456	49	0	74	26	0
10.5	5	102	91	1772	0	67	33	0
11.0	3	554	713	5043	0	98	2	0
11.0	5	606	859	0	0	100	0	0
11.5	3	140	98	882	4470	65	27	8
11.5	5	437	471	0	0	0	0	0

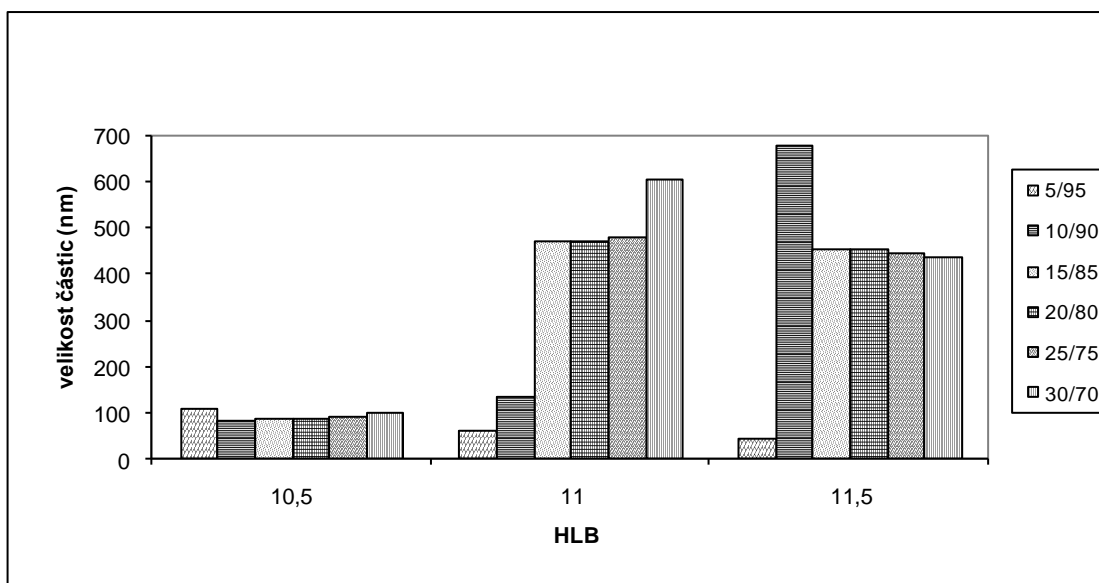
Pro srovnání byly rovněž stanoveny velikosti částic u emulzí, kdy byl použit pouze jeden emulgátor Igepal CA 520. Byly vyrobeny emulze s poměrem O/V: 5/95, 15/85, 30/70 a charakterizovány stejným způsobem jako výše diskutované systémy obsahující 2 emulgátory. Všechny tyto emulze byly značně nehomogenní a již v den výroby vykazovaly přítomnost „frakcí“ částic s různými velikostmi, což se projevilo přítomností 3 píků na křivce distribuce velikostí částic. Částice (kapičky) takto připravených emulzí byly rovněž větší ve srovnání s emulzemi připravenými se dvěma emulgátory. To je zřetelné především u emulze s poměrem O/V 5/95, jejíž velikost je případě použití jednoho emulgátoru byla 618 nm a v případě dvou emulgátorů 112 nm (HLB 10.5)

Tab. 16. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě. Systém s jedním emulgátorem Igepal CA 520 o HLB 10

O/V	Množství emulgátoru [%]	Z-průměr [nm]	Velikosti částic v jednotlivých zastoupených frakcích [nm]		
5/95	5	618	3969	538	108
15/85	5	1222	1427	83	5560
30/70	5	776	1311	5171	104



Obr. 13. Vliv hodnoty HLB na velikost částic v emulzích při různých poměrech O/V pro koncentraci emulgátoru 3 %



Obr. 14. Vliv hodnoty HLB na velikost částic v emulzích při různých poměrech O/V pro koncentraci emulgátoru 5 %

### 7.3.3 Stabilita emulzí

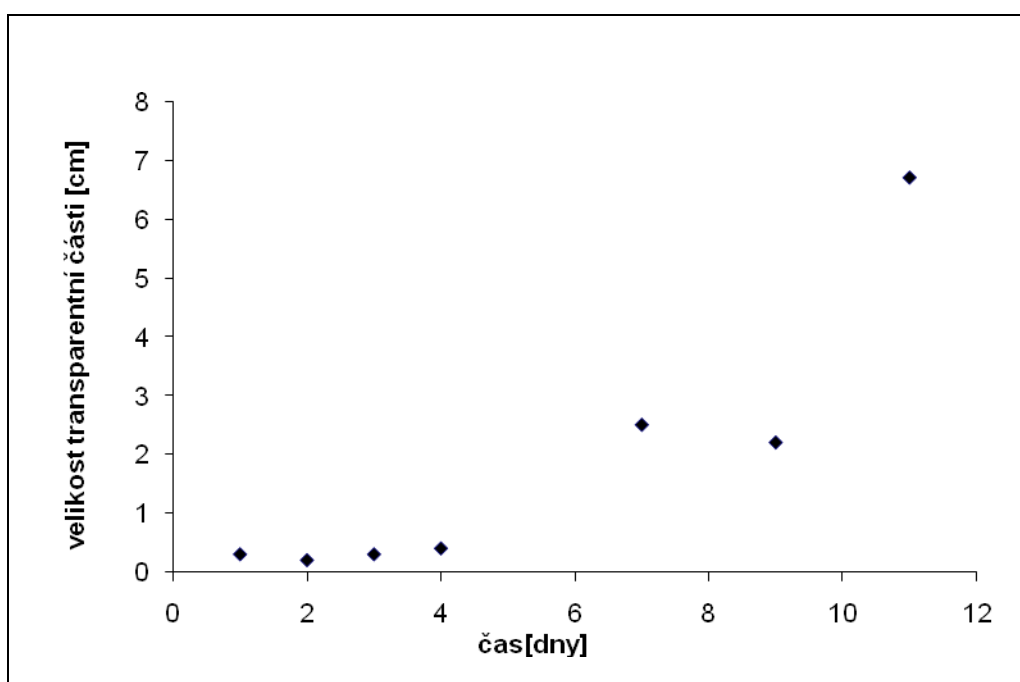
#### Vizuální pozorování

Vzhled emulzí byl vizuálně hodnocen v průběhu jejich skladování při různých teplotních podmínkách. Příklad vizuálního hodnocení vzhledu emulzí je uvedeno na obrázcích 15 a 16. Tyto obrázky znázorňují separaci emulzí na jednotlivé vrstvy (bílá, polotransparentní) v čase. Destabilizace všech sledovaných emulzí probíhala „krémováním“ (viz část 2.2 práce), kdy se dispergované částice emulze shromažďovaly v horní části systému z důvodu jejich nižší hustoty. Vytvořila se tak mléčně bílá vrstva na povrchu emulze a transparentní/polotransparentní vrstva v části dolní. Výška této transparentní/polotransparentní části pak byla měřena, vynesena na osu y (v centimetrech) v závislosti na době skladování a použita jako stabilitní parametr charakterizující rozpad emulze (počáteční výška homogenní emulze činila 8 cm).

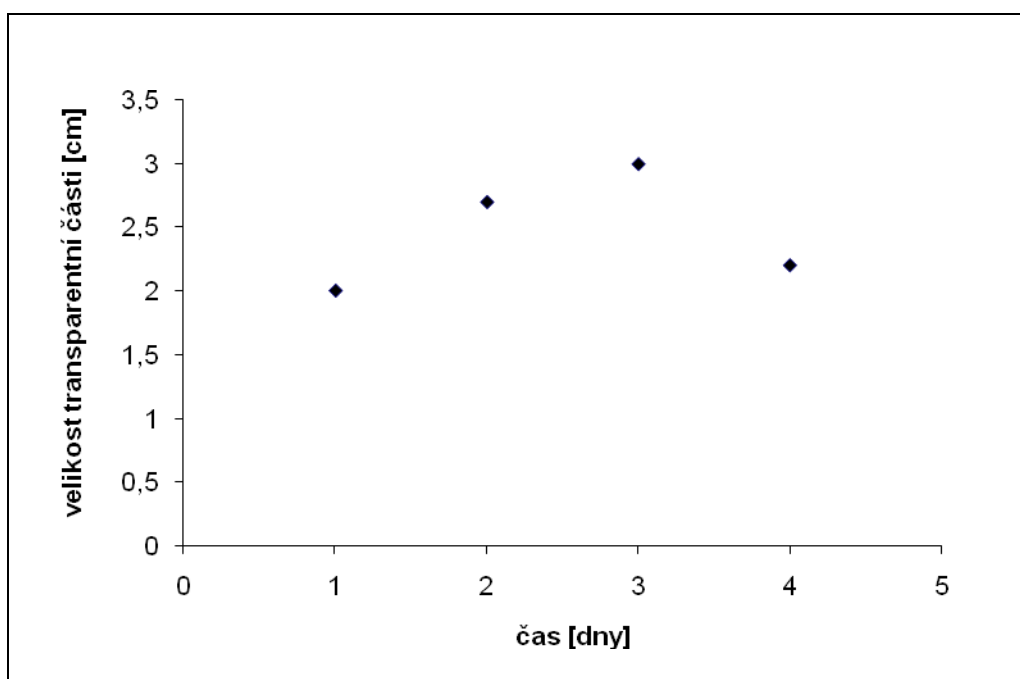
Při teplotě 4 °C byly vzorky umístěny v chladničce. Tato teplota skladování byla hodnocena z hlediska uchování emulzí jako nejlepší. Separace na jednotlivé fáze zde sice probíhala, ale daleko pomaleji než při ostatních teplotách skladování. Nejlepší stabilitu z hlediska vizuálního hodnocení vykazovaly emulze s poměrem O/V fáze 5/95 připravené s emulgátory HLB 10.5 (3 %) a 10.5 (5 %). Tyto emulze byly buď homogenní nebo vykazovaly minimální separaci fází (transparentní část ca 0.5 cm) po dobu 33 dnů. Dobrá stabilita byla pozorována rovněž u emulzí s poměrem O/V 25/75 s hodnotou HLB 11 3 % a 5 % a poměrem O/V 30/70 (HLB 11 se 3 % emulgátoru) kde separace nastala 16. den a emulze pak vykazovaly jen minimální separaci fází (výška separované transparentní fáze ca 0.1 – 0.2 cm).

Při laboratorní teplotě (25 °C) nastala separace fází u emulzí rychleji, než u chladničkové teploty. Nejlepší stabilitu vykazovaly emulze s poměrem O/V 5/95 připravené s emulgátorem o HLB 10.5 (3 %), kdy byla emulze homogenní a došlo u ní k minimální separaci fází po dobu 36 dnů a emulgátorem o HLB 10.5 (5 %) u níž byla rovněž pozorována jen minimální separace po dobu 20 dnů. Uspokojivou stabilitu měly rovněž emulze s poměry O/V 25/75 pro HLB 11.5 s 5 % emulgátoru a O/V 30/70 (HLB 11.5 3 % a 5 % emulgátoru) u kterých probíhala opět jen minimální separace. Příklad průběhu separace u emulze vykazující horší stabilitu je uveden na Obr. 15, ze kterého je patrná výška separovaných fází a průběh separace v čase.

U emulzí uložených v termostatu při 35 °C nastala separace již v průběhu prvního dne skladování při této teplotě (viz. obr. 16). U emulzí došlo nejdříve k separaci fázi na bílou a polotransparentní, ale záhy se vytvořily až 4 další frakce a došlo k úplnému rozpadu emulze na olejovou a vodnou fázi. Separace nastala u všech poměrů O/V bez ohledu na použitou hodnotu HLB emulgátoru. Z hlediska stability byla tato teplota pro stabilitu emulze nežádoucí.



Obr. 15. Průběh separace emulze při skladování za laboratorní teploty (poměr O/V 5/95, HLB 11.5 obsah emulgátoru 5 %)

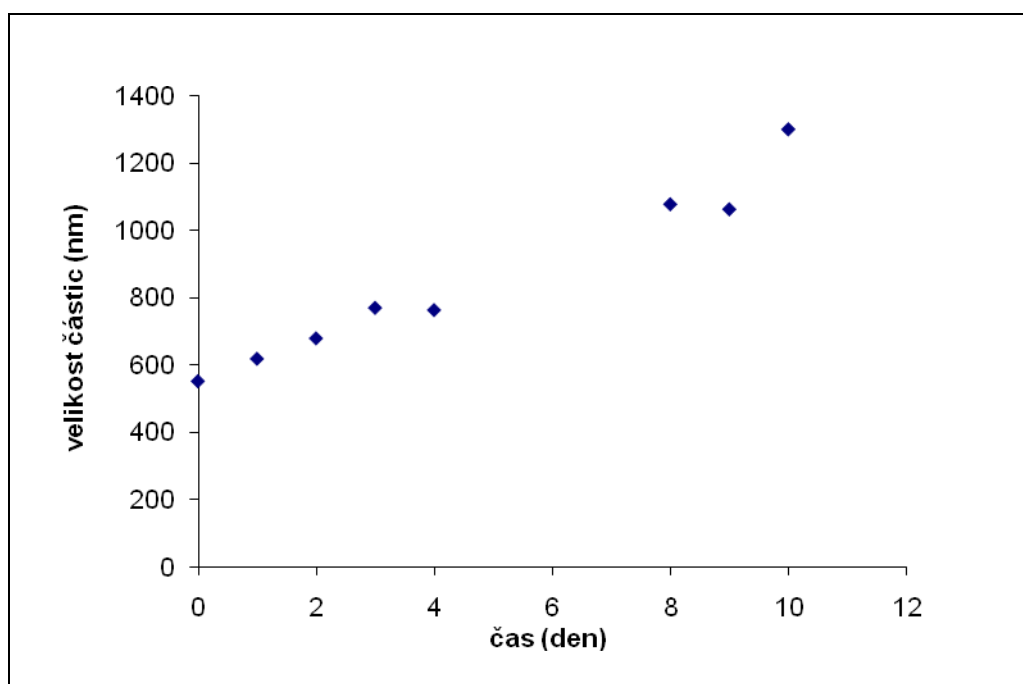


Obr. 16. Průběh separace emulze při skladování za teplotové teploty (poměr O/V 5/95, HLB 11 obsah emulgátoru 5 %)

### Velikosti částic

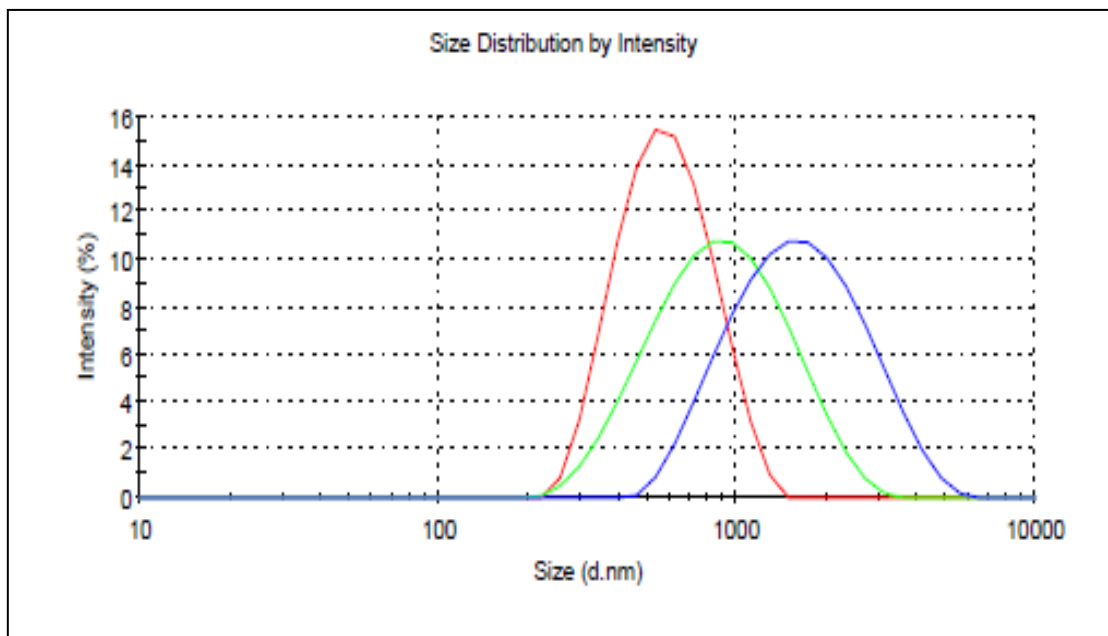
Pro všechny emulze bez ohledu na hodnotu HLB použitého surfaktantu, jeho koncentraci (3 %, 5 %) a rovněž bez ohledu na poměr olejové a vodné fáze byla stabilita emulzí, hodnocená ze změny velikosti částic, významně ovlivněna teplotou.

Největší změny ve velikosti částic byly pozorovány u vzorků emulzí skladovaných při teplotě 35 °C. Změna velikosti částic během skladování (z-průměr) pro emulzi o složení O/V 25/75 (HLB = 11.5, 3 % emulgátoru) je znázorněna na Obr. 17. Tato závislost vystihuje typické chování připravených emulzních systémů při teplotě 35 °C. Z obrázku je zřejmé, že v průběhu skladování se velikost částic postupně zvyšovala. Například pro výše zmíněný typ emulze se velikost dispergovaných kapiček měnila z 551 nm, stanovených ihned po výrobě, na 618 nm měřených po jednom dnu skladování až po kapičky s velikostí větší než 1 μm po týdnu skladování. Po této „fázi růstu“ nastal v některých případech úplný rozpad emulze na olejovou a vodnou fázi doprovázený náhlým poklesem velikosti částic (není znázorněno).



Obr. 17. Změna velikosti částic během skladování pro emulzi o složení O/V 25/75 HLB 11.5 a 3 % emulgátoru při teplotě 35 °C

Růst velikosti částic je dobře patrný i z Obr. 18, který pro tuto emulzi znázorňuje distribuci velikosti částic. Z průběhu křivek je zřetelně vidět, že s prodlužující se dobou skladování dochází k posunu distribučních křivek k vyšším hodnotám velikostí částic.



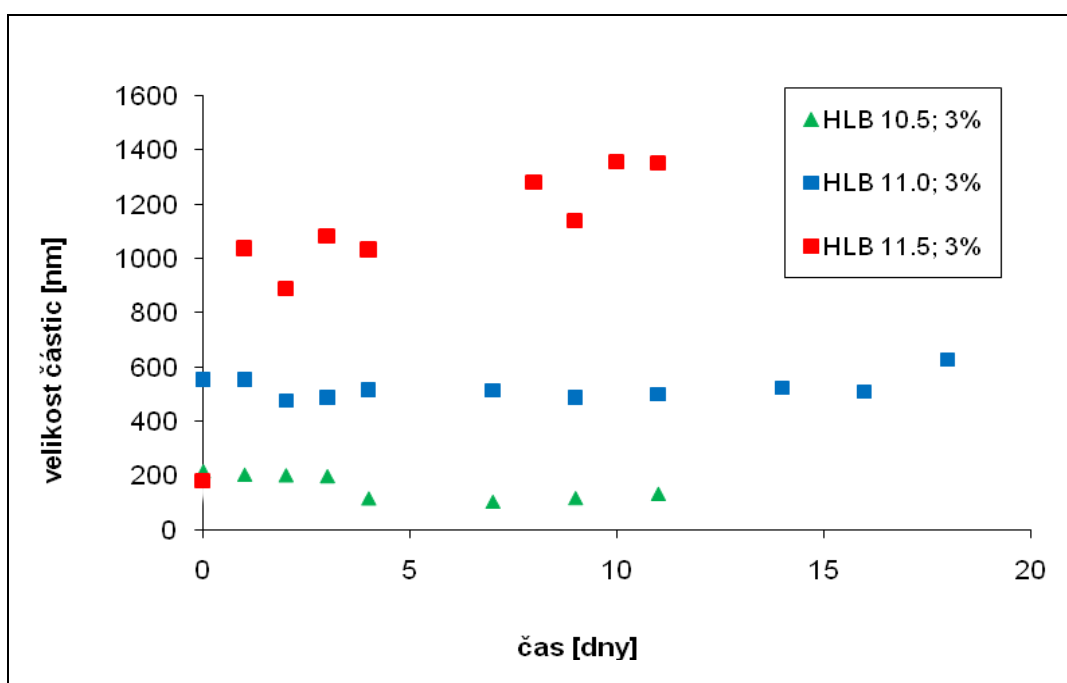
Obr. 18. Distribuce velikosti částic pro emulze s 3 % emulgátoru o HLB 11.5 a poměru O/V 25/75 skladované při teplotě 35 °C. Červená křivka: distribuce získaná bezprostředně po přípravě emulze, zelená křivka: po 3 dnech skladování, modrá křivka po 11 dnech skladování.

Naopak při teplotě 4 °C, byly změny ve velikosti částic v závislosti na době skladování nejmenší. Při této teplotě byly pozorovány individuální rozdíly ve změnách velikostí částic. Na Obrázku 19 a 20 je znázorněn průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 30/70 pro hodnoty HLB 10.5 až 11.5 a koncentrace emulgátorů 3 % a 5 %. Průběh grafů naznačuje, že emulze připravené s emulgátory o HLB 10.5 a 11 jsou při obou použitých koncentracích emulgátoru stabilní a velikost jejich částic se podstatně v průběhu skladování nemění. Minimální změny ve velikosti částic jsou rovněž viditelné u emulze připravené s 5 % emulgátoru o HLB 11.5. Naopak při stejné hodnotě HLB a nižším množství emulgátoru (3 %) lze pozorovat s prodlužující se dobou skla-

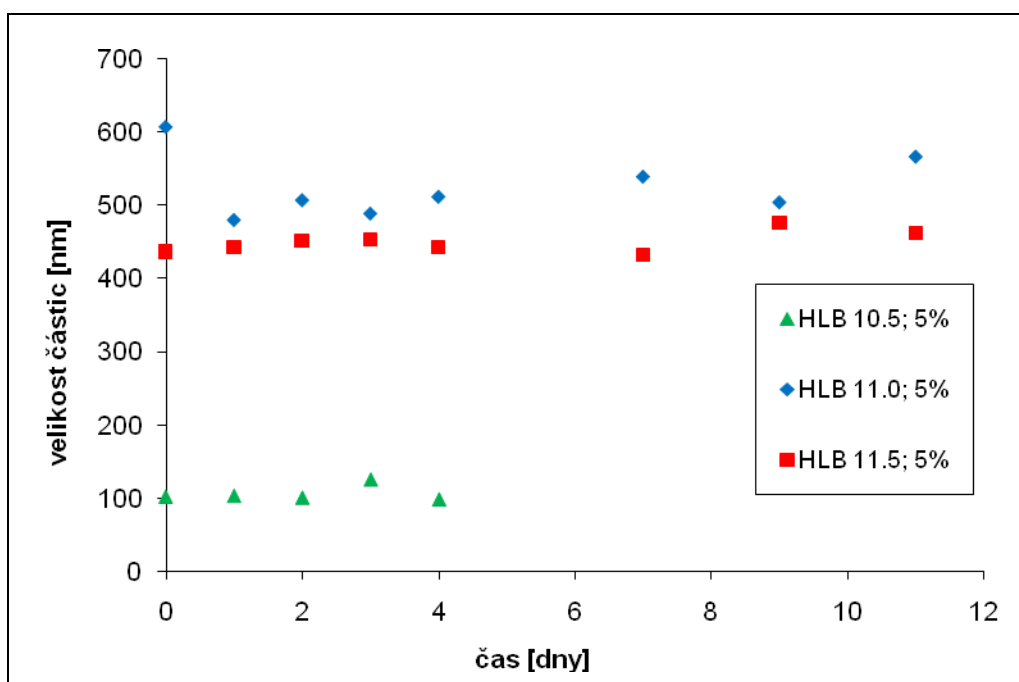


dování postupný vzrůst velikosti částic. To naznačuje pozitivní stabilizující efekt zvýšeného množství emulgátoru.

Obecně je možno konstatovat, že vzrůst velikosti částic emulzí připravených s 3 % emulgátoru o HLB 11.5 je typický pro emulze s téměř všemi sledovanými poměry vodné a olejové fáze. Použití 3 % emulgátoru o HLB 11.5 není tedy pro přípravu stabilních emulzních systémů se sledovanými poměry O/V vhodné. Výjimkou zde byla emulze O/V 5/95, s nejmenším množstvím olejové fáze, u které byl pozorován vzrůst velikosti částic i při použití 5% koncentraci emulgátoru o HLB 11.5.

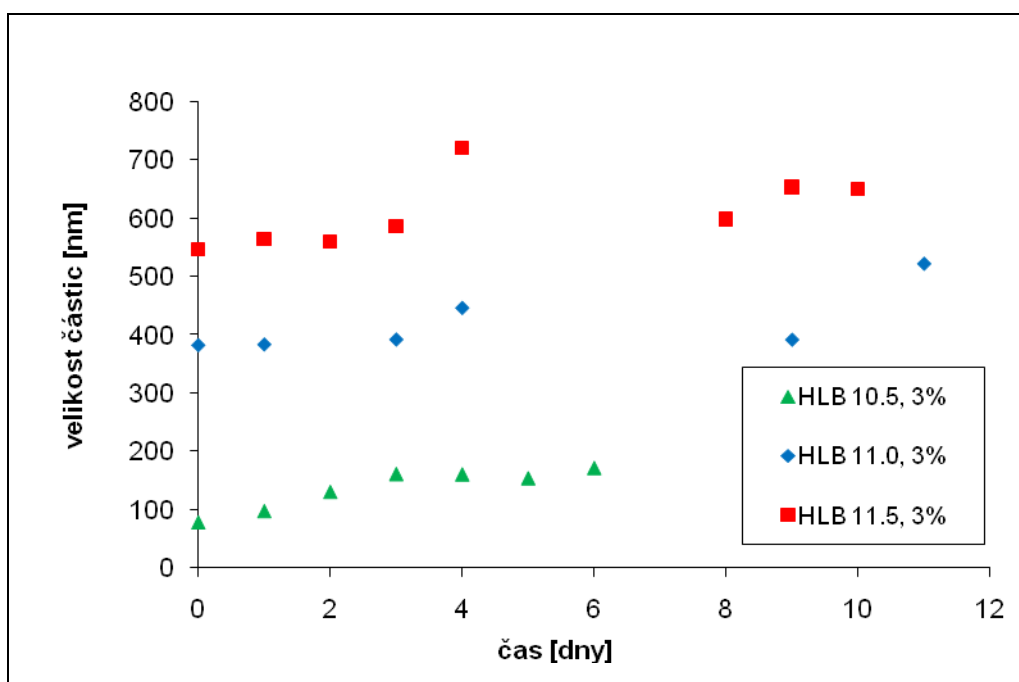


Obr. 19. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 30/70 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s 3 % emulgátoru skladovaných při 4 °C



Obr. 20. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 30/70 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s 5 % emulgátoru skladovaných při teplotě 4 °C

Atypické chování v průběhu skladování bylo pozorováno u emulzí O/V 15/85 a obsahem emulgátoru 3 %, pro které byl pozorován plynulý růst velikosti částic v průběhu dvanáctidenního skladování bez ohledu na HLB hodnotu použitého surfaktantu (Obr. 21).



Obr. 21. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 15/85 pro hodnoty HLB 10.5 - 11.5 s obsahem emulgátoru 3 % skladovaných při teplotě 4 °C

Z hlediska stability velikosti částic v emulzích skladovaných při 4 °C je možno konstatovat, že nejlepší stabilitu vykazovaly emulze O/V 5/95 (HLB 10.5 a 11, 3 % a 5 % emulgátoru), u kterých docházelo k minimálním změnám velikosti částic v průběhu skladování. Tyto emulze byly charakteristické i tím, že velikost jejich částic byla nejmenší. Z vizuálních pozorování bylo rovněž zřejmé, že v průběhu prvních 10 dnů u nich vůbec nedocházelo k separaci fází a i později byla fázová separace minimální (výška separované části 0.1 až 0.2 cm).

Změna velikosti částic emulzí skladovaných při laboratorní teplotě (25 °C) byla velmi závislá na jejich složení. U emulzí připravených s emulgátory o HLB 11.5 a koncentraci 3 % i 5 % je možno pozorovat růst velikosti částic pro O/V 5/95, 15/85 a 30/70. Míra růstu byla závislá na složení emulze. Například pro O/V 15/85 (5 % emulgátoru) se velikost částic zvýšila z 464 nm stanovených ihned po výrobě na 631 nm měřených po 11 dnech skladování a pro emulzi O/V 5/95 (3 %) to bylo za stejné časové období ze 179 nm na 390 nm. Pro chování emulzí O/V 10/90 a 20/80 bylo charakteristické, že

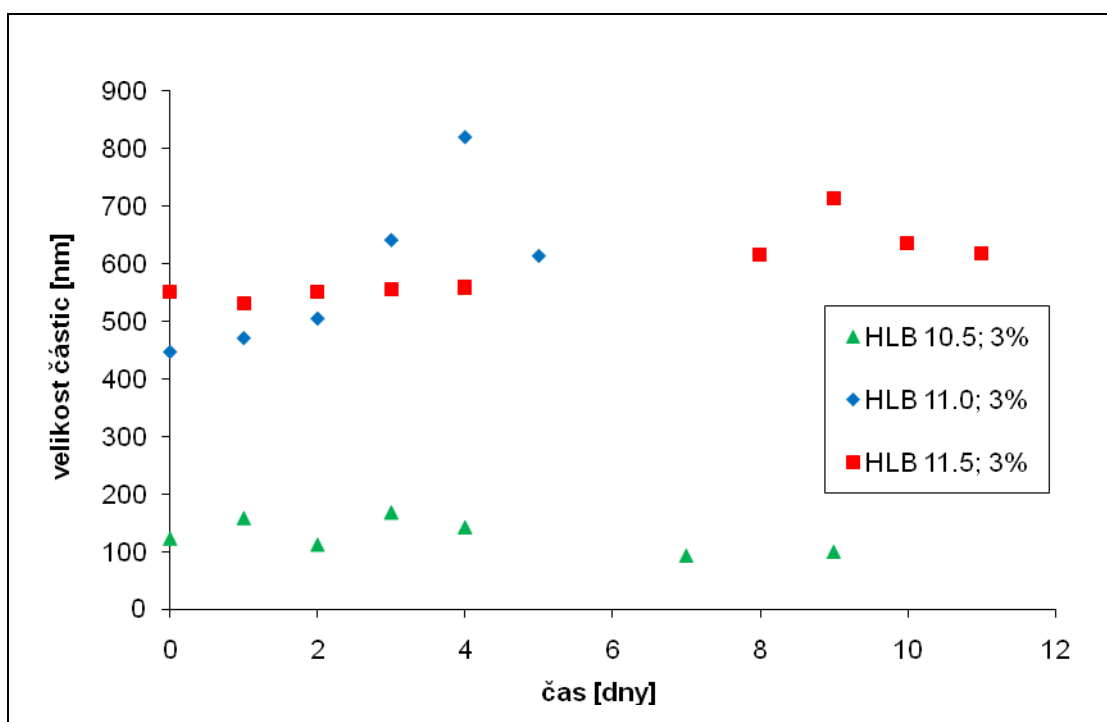
přibližně po dobu prvního týdne po výrobě zůstávala jejich velikost beze změny a k mírnému vzrůstu velikosti částic došlo až po uplynutí této doby.

Velikost částic u emulzí připravených s emulgátorem o HLB 10.5 (3 % a 5 %) byla sledována po dobu 11 dnů a po tuto dobu se neměnila. Pouze pro emulzi O/V 5/95, s nejmenší velikostí částic, byla stabilita sledována 33 dnů a bylo zjištěno, že po 25 dnech došlo ke zvětšení částic emulze ze 140 nm (25 den) na 250 nm (28 den) a velikost částic dále během skladování rostla.

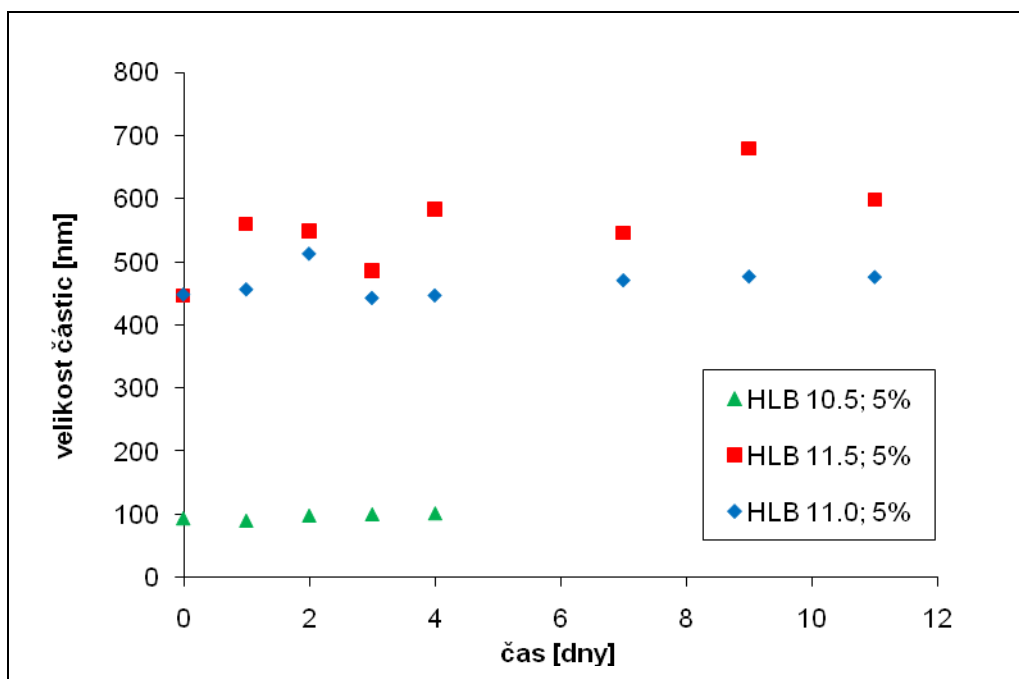
V případě emulzí připravených s emulgátorem o HLB 11.0 nelze vliv teploty na stabilitu emulze jednoznačně určit. Například pro emulze O/V 5/95 s 3 % emulgátoru rostla velikost částic z 59 nm (9 den) na 91 nm (11 den) a s 5 % emulgátoru byla velikost částic po celou dobu měření stabilní. U emulzí s poměrem O/V 15/85 a 20/80 s 3 % i 5 % emulgátoru naopak velikost částic od prvního dne po výrobě postupně klesala.

Pro ilustraci chování emulzí při laboratorní teplotě je uvedena časová závislost změny velikosti částic emulzí s poměrem O/V 25/75 s 3 % emulgátoru (Obr. 22) a 5 % emulgátoru (Obr. 23).

Vzhledem k výše uvedeným nekonsistentním výsledkům získaným při měření velikosti částic skladovaných při laboratorní teplotě by bylo vhodné chování těchto emulzí podrobněji charakterizovat v následné studii.



Obr. 22. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 25/75 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s obsahem emulgátoru 3 % skladované při 25 °C



Obr. 23. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 25/75 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s obsahem emulgátoru 5 % skladovaných při 25 °C

Při celkovém zhodnocení výsledků měření velikosti částic lze konstatovat, že obdobně jako v případě vizuálního pozorování byly nejstabilnější emulze skladované při 4 °C. Při této teplotě emulze vykazovaly po nejdelší skladování velikost částic, která se příliš neměnila. Při laboratorní teplotě byla stabilita emulzí individuální a lišila se pro různé poměry O/V a hodnoty HLB. U emulzí skladovaných při teplotě 35 °C byl pozorován rychlý nárůst velikosti částic po kterém následoval rozpad emulzí na jednotlivé fáze.

## ZÁVĚR

Diplomová práce shrnuje ve své teoretické části základní poznatky o emulzích. V práci jsou uvedeny informace o vlastnostech, struktuře a rozdělení emulzí spolu s informacemi o metodách jejich přípravy a možném využití v různých průmyslových odvětvích. Je zde zdůrazněno, že velikost a distribuce částic v emulzích jsou důležitými charakteristikami, které ovlivňují vlastnosti, stabilitu a následně i použití emulzí. Z tohoto důvodu je tedy důležité velikost částic emulzí určit a vybrat vhodné metody, které stanovení velikosti a distribuce velikostí částic v emulzích umožňují. Z literární rešerše je zřejmé, že takovou metodou je metoda Dynamického rozptylu světla (Fotonové korelační spektroskopie – PCS).

Experimentální část diplomové práce je zaměřena na vlastní stanovení velikosti částic v emulzích připravených s různým poměrem olejové (O) a vodné (V) fáze zpracování a vyhodnocení výsledků a jejich diskuzi. Je zde stručně popsána metoda výroby emulzí a postup při jejich vizuálním hodnocení stejně jako měření velikosti částic pomocí přístroje Zeta Nano ZS. Pro diplomovou práci byly připraveny emulze s poměry O/V 5/95, 10/90, 15/85, 20/80, 25/75 a 30/70. Pro jejich přípravu byla použita metoda EIP (inversní bod emulze) a kombinace dvou emulgátorů Igepal CA 720 (HLB 14.2) a Igepal CA 520 (HLB 10) s koncentrací 3 a 5 hm. %. Tyto emulze byly charakterizovány bezprostředně po výrobě a byla hodnocena jejich stabilita při skladování při třech různých teplotách 4 °C, 25 °C a 35 °C.

Z výsledků, které jsou diskutovány v experimentální části je možno učinit následující závěry:

- Velikost částic sledovaných emulzí závisí na poměru olejové a vodné fáze, množství použitého emulgátoru a jeho hodnotě HLB.
- S rostoucí hodnotou HLB velikost částic v emulzích roste, jak při použití emulgátoru o koncentraci 3 %, tak i 5 %.
- Obecně, nejmenší velikost částic vykazovaly emulze u nichž byl poměr O/V 5/95. Při použití 5 % emulgátoru s hodnotou HLB 11.5, byla velikost částic těchto emulzí 43 nm, pro stejnou koncentraci emulgátoru a HLB 11.0 % byl velikost 64 nm a emulze připravené s emulgátorem o HLB 10.5 měly velikost

112 nm. Emulze o této velikosti lze vzhledem k metodě přípravy klasifikovat jako nanoemulze.

- U emulzí připravených s emulgátorem o hodnotě HLB 10,5 a koncentraci 5 % byla bez ohledu na poměr O/V byla velikost částic menší než 100 nm. Snížením množství emulgátoru na 3 % velikost částic vzrostla ale stále byla v „nano“ oblasti.
- Emulze s ostatními poměry olejové a vodné fáze lze klasifikovat jako klasické „makro“ emulze, jejichž velikost ležela v závislosti na složení převážně mezi 300 a 700 nm, ale přesahovala již hodnotu 200 nm, což je podle definice uvedené v teoretické části práce horní limit pro velikost „nanoemulzí“.
- Při celkovém hodnocení nově vyrobených emulzí byl z hlediska vlivu na velikost a distribuci částic vyhodnocen jako nejlepší emulgátor s hodnotou HLB 11.5 (5 % nebo 3 %). Emulze připravené za těchto podmínek měly velikost mezi 450 a 550 nm a byly ve všech poměrech O/V homogenní, obsahovaly tedy pouze jednu populaci velikostí částic.
- Stabilitu emulzí nejvíce ovlivňovala teplota, při které byly vzorky skladovány. Nejlepší stabilitu měly emulze skladované při teplotě 4 °C, u kterých během skladování nedocházelo k podstatným změnám velikosti částic ani k výrazné fázové separaci.
- Nejhorší stabilitu naopak vykazovaly emulze skladované při teplotě 35 °C, u kterých byla pozorována již během prvního dne skladování separace fází následovaná rychlým rozpadem emulze na olejovou a vodnou fázi. Rovněž velikost částic u těchto emulzí během skladování rychle rostla.
- Na stabilitu emulze má rovněž vliv hodnota HLB emulgátoru a poměr O/V fází. Nejlepší stabilitu ve vztahu ke změně velikosti částic měly emulze s poměrem O/V 5/95 (HLB 10.5 a 11.0), u kterých zůstala velikost částic beze změny déle než 20 dnů. Dobrou stabilitu měly rovněž emulze O/V 30/70 a 25/75 připravené s emulgátorem o HLB hodnotě 11.5. Výsledky naznačují, že s vyšším podílem olejové fáze je nutné volit i vyšší hodnotu HLB, aby byla zajištěna stabilita emulze.



- Stabilizující efekt měla i koncentrace emulgátoru. Při použití vyšší koncentrace emulgátoru (5%) se stabilita většiny sledovaných emulzí zlepšila.

**SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY**

- [1] BÁRTOVSKÁ, L. *Fyzikální chemie povrchů a koloidních soustav*. 1. vyd. Praha: 2002. 192 s. ISBN 80-7080-475-0
- [2] NOVÁK, P. *Fyzikální chemie II.*, 1. vyd. Praha: 2001. 319 s. ISBN 80-7080-436.
- [3] UTB ve Zlíně. *Fyzikální, chemické a technické vlastnosti povrchově aktivních látek*. Vzdělávací portál [on-line]. [cit. 2007-03-23]. Dostupné z WWW: <<http://utb.cepac.cz/screens/default.aspx>>
- [4] MC CLEMENTS, D.J. *Food Emulsions*. 2nd Edition, Boca Raton, CRC Press, 2005. 609 p. ISBN 0-8493-2023-2.
- [5] ŠMIDRKAL, J., HRÁDKOVÁ, I., FILIP, V. *Mikroemulze – VŠCHT Praha* [on-line]. [cit. 2009-03-18]. Dostupné z WWW: <[http://www.kosmetologie.cz/Archiv\\_97\\_seminar\\_Praha\\_Srobarova/Mikroemulze\\_presentace.pdf](http://www.kosmetologie.cz/Archiv_97_seminar_Praha_Srobarova/Mikroemulze_presentace.pdf)>
- [6] Internetové stránky. [on-line]. [cit. 2010-04-20]. Dostupné z WWW: <[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/emulze.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/emulze.html)>
- [7] Internetová encyklopedie Wikipedia. [on-line]. [cit. 2010-04-20]. Dostupné z WWW: <<http://cs.wikipedia.org/wiki/Emulze>>
- [8] HIEMENZ P. C., RAJAGOPALAN, R. *Principles of Colloid and Surface Chemistry*. 3rd Edition, Boca Raton FL, Taylor and Francis, 1997. 650 p. ISBN 0-8247-9397-8.
- [9] TADROS, T. *Formation and stability of nano-emulsions*. Adv. Colloid Interface Sci., vol. 108 – 110 (2004) 303 – 318.
- [10] ŠMIDRKAL, J. *Tenzidy a detergenty dnes*. Chemické listy. 1999, č. 93, s. 421-427. ISSN 0009-2770.
- [11] Internetové stránky. [on-line]. [cit. 2010-04-20]. Dostupné z WWW: <[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/ko-surfaktant.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/ko-surfaktant.html)>
- [12] HEUSCHKEL S., GOEBEL A., NEUBERT. *Microemulsions - Modern colloidal carrier for dermal and transdermal drug delivery*. Journal of Pharmaceutical Sciences. 2008, vol. 97, is. 2, p. 603-631.

- [13] Internetové stránky.[on-line]. [cit. 2010-04-20]. Dostupné z WWW:  
<[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_es-001/hesla/mikroemulze.html](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_es-001/hesla/mikroemulze.html)>
- [14] LINH D.Do, GRADZIELSKI, M., HOFFMANN, H. *Environmentally Friendly Vegetable Oil Microemulsions Using Extended Surfactant and Linkers*, J. Phys. Chem. 1994, vol. 98, p. 2613.
- [15] FERNANDEZ, P., ANDRE V., RIEGEL, J., KUHNLE A. *Nano-emulsion formation by emulsion phase inversion*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 2004, vol. 251, p. 53-58. ISSN 0927-7757.
- [16] EL-AASER M., LACK, C., VANDERHOFF J., FOWKES, F. *The miniemulsification process – different form of spontaneous emulsification*, Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects. 1988, vol. 29, p. 103-1418. ISSN 0927-7757.
- [17] SOLÉ, I., MAESTRO, A., GONZÁLEZ, C., SOLANS, C., GUTIÉRREZ, J.M. *Optimization of Nano- emulsion preparation by Low- Energy Metod in an ionic Surfatant System*. Langmuir. 2006, vol. 22, p. 8326-8332. ISSN 1520-5827.
- [18] FOGRIARINI, A., ESQUENA, J., GONZALEZ, C. *Studies of the relation between phase behavior and emulsification methods with nanoemulsion formation*, Trends in colloid and interface science XIV, Progress in colloid and Polymer science. 2000, vol. 115, p. 36-39.
- [19] SHINODA, K., SATO, H.J. Colloid. Interface. Sci. 1996, vol. 26, p. 70.
- [20] *Hydrodynamická chromatografie* [on-line]. [cit. 2006-03-26]. Dostupné z WWW:  
<[http://www.its.chem.uva.nl/research/polymer-\\_analysis.old/Chmela/Chmela.html](http://www.its.chem.uva.nl/research/polymer-_analysis.old/Chmela/Chmela.html)>
- [21] STEWART, A. D. G. *Measurement and Instrument*. Review. 1968, vol. 15, p. 569.
- [22] *Laserová difrakce, fotonová korelační spektroskopie* [on-line]. [cit.2006-03-26]. Dostupné z WWW: <<http://www.malvern.co.uk/>>
- [23] PABST, W., GREGOROVÁ, E. *Charakterizace částic v částicových soustavách*, VŠCHT, Praha (2007).

- [24] RAWLE, A. *The importance of Particle Size Analysis in the Pharmaceutical Industry*, Malvern Instruments Ltd., Materiály z interního kurzu Nycomed Imaging Oslo 1998.
- [25] JACKSON, K. *Dynamický rozptyl světla – Co, Jak, Proč?*, Chemagazín číslo 1, ročník XVII (2007).
- [26] KVÍTEK, L. *Stanovení velikostní distribuce částic anorganických disperzí metodou dynamického rozptylu světla*, Chemické listy.1998, č. 92, s. 431-433.
- [27] Internetové stránky. [on-line]. [cit. 2010-05-05]. Dostupné z WWW:  
<[http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid\\_isbn-978-80-7080-674-6/pages-img/obs](http://vydavatelstvi.vscht.cz/knihy/uid_isbn-978-80-7080-674-6/pages-img/obs)>
- [28] Zetasizer Nano Příručka pro uživatele, MANO317, vydání 3.0, leden 2007. 195 s.(Malvern Instruments Ltd. Enigma Business Park, Grovewood Road, Malvern, Worcestershire WR14 1XZ, Velká Británie).
- [29] FLORENCE, A. T., ATTWOOD, D. *Physicochemical Principles of Pharmacy. 4th Edition, Chapter 7. Emulsions, Suspensions and other disperse systems*. Publisher by the Pharmaceutical Press, 2006, London. ISBN 085369608X.
- [30] YAMAGUCHI S. *Correlation between the Mixing Ratio of Surfactants and the Water/Oil Ratio in the Middle Microemulsions in Water/Mixed Surfactant/Hydrocarbon Systems*.Langmuir. 1998, vol. 14, p. 7183–7188.
- [31] CHANADA, G.D., SHETH, B.B. *Particle size reduction of emulsions by formulation design-II: effect of oil and surfactant concentration*. J Pharm Sci Technol. 1995, vol. 49, is. 2, p. 71-6. ISSN 1079-7440.

**SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK**

DLS	Dynamický rozptyl světla
EIP	Inverzní bod emulze (Emulsion Inversion Point)
GPC	Gelová permeační chromatografie
HDC	Hydrodynamická chromatografie
HLB	Hydrofilně-lipofilní rovnováha
O	Olej
O/V	Emulze olej / voda
PAL	Povrchově aktivní látka
PCS	Fotonová korelační spektroskopie
PIT	Fáze inverzní teploty (Phase Inversion temperature)
QELS	Kvazielastický rozptyl světla
TPI	Přechodná fáze inverze (Transitional Phase Inversion)
V	Voda
V/O	Emulze voda / olej

**SEZNAM OBRÁZKŮ**

Obr. 1. Rozdělení emulzí a vzhled systému v závislosti na velikosti částic.....	14
Obr. 2. Schéma termodynamické a kinetické stabilit emulze.....	15
Obr. 3. Různé mechanismy rozpadu emulze.....	16
Obr. 4. Schéma rozdělení tenzidů podle typu hydrofilní skupiny.....	19
Obr. 5. Možnosti praktického využití tenzidů v závislosti na HLB.....	21
Obr. 6. Fázové vlastnosti mikroemulzí zobrazené ve „fish“ diagramu ukazují závislost změny v zakřivení s koncentrací povrchově aktivní látky.....	23
Obr. 7. Chování emulze v závislosti na teplotě.....	27
Obr. 8. Vliv teploty na složení fází a na průběh mezifázového napětí.....	27
Obr. 9. Grafické znázornění pozitivní (konstruktivní) a negativní (destruktivní) interference.....	32
Obr. 10. Znázornění fluktuací intenzity rozptýleného světla pro částice o velikosti 40 nm a) a 4 nm b).....	33
Obr. 11. Schéma přístroje Zeta Nano ZS.....	36
Obr. 12. Detekce zpětného rozptylu.....	37
Obr. 13. Vliv hodnoty HLB na velikost částic v emulzích při různých poměrech O/V pro koncentraci 3 %.....	52
Obr. 14. Vliv hodnoty HLB na velikost částic v emulzích při různých poměrech O/V pro koncentraci 5 %.....	53
Obr. 15. Průběh separace emulze při skladování za laboratorní teploty (poměr O/V 5/95, HLB 11.5 obsah emulgátoru 5 % ).....	55
Obr. 16. Průběh separace emulze při skladování za termostatové teploty (poměr O/V 5/95, HLB 11 obsah emulgátoru 5 % ).....	55
Obr. 17. Změna velikosti částic během skladování pro emulze o složení O/V 25/75	

HLB 11.5 a 3 % emulgátoru.....	56
Obr. 18. Distribuce velikosti částic pro emulze s 3 % emulgátoru o HLB 11.5 a poměru O/V skladované při laboratorní teplotě. Červená křivka: distribuce získaná bezprostředně po přípravě emulze, zelená křivka: po 3 dnech skladování, modrá křivka po 11 dnech skladování.....	57
Obr. 19. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 30/70 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s 3 % emulgátoru skladovaných při 4 °C.....	58
Obr. 20. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 30/70 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s 5 % emulgátoru skladovaných při teplotě 4 °C.....	59
Obr. 21. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 15/85 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s obsahem emulgátoru 3 % skladovaných při teplotě 4 °C .....	59
Obr. 22. Průběh závislosti změny velikosti částic emulzí O/V 25/75 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s obsahem emulgátoru 3 % skladované při 25 °C.....	61
Obr. 23 Průběh závislosti změny velikosti částic v emulzích O/V 25/75 pro hodnoty HLB 10.5 – 11.5 s obsahem emulgátoru 5 % skladovaných při 25 °C.....	62

**SEZNAM TABULEK**

Tab. 1. Vypočtená množství složek použitých pro přípravu emulzí s 3 % emulgátoru (vztaženo na 50 g emulze).....	41
Tab. 2. Vypočtená množství složek použitých pro přípravu emulzí s 5 % emulgátoru (vztaženo na 50 emulze).....	42
Tab. 3. Opakovatelnost měření velikosti částic.....	44
Tab. 4. Vizualní pozorování emulze připravené s 3 % emulgátoru o HLB 10.5 po přípravě a po 1 hodině.....	46
Tab. 5. Vizualní pozorování emulze připravené s 5 % emulgátoru o HLB 10.5 po přípravě a po 1 hodině.....	47
Tab. 6. Vizualní pozorování emulze připravené s 3 % emulgátoru o HLB 11 po přípravě a po 1 hodině.....	47
Tab. 7. Vizualní pozorování emulze připravené s 5 % emulgátoru o HLB 11 po přípravě a po 1 hodině.....	47
Tab. 8. Vizualní pozorování emulze připravené s 5 % emulgátoru o HLB 11.5 po přípravě a po 1 hodině.....	48
Tab. 9. Vizualní pozorování emulze připravené s 3 % emulgátoru o HLB 11.5 po přípravě a po 1 hodině.....	48
Tab. 10. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 5/95 pro HLB (10.5 – 11.5).....	50
Tab. 11. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 10/90 pro HLB (10.5 – 11.5).....	50
Tab. 12. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 15/85 pro HLB (10.5 – 11.5).....	50
Tab. 13. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě pro poměr O/V 20/80 pro HLB (10.5 – 11.5) .....	51



- 
- Tab. 14. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě vyjádřené jako z-průměr pro poměr O/V 25/75.....51
- Tab. 15. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě vyjádřené jako z-průměr pro poměr O/V 30/70.....51
- Tab. 16. Hodnoty velikosti částic emulzí stanovené ihned po výrobě, vyjádřené jako z-průměr. Systém s jedním emulgátorem Igepal CA 520 o HLB 10.....52