

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA BIOFYZIKY A FYZIKÁLNÍ CHEMIE

VLIV ELEKTROLYTŮ NA CMC

DIPLOMOVÁ PRÁCE

HRADEC KRÁLOVÉ 2006

Jana Šmerdová

Mé poděkování patří panu Ing. Vladimíru Kubíčkoví, Csc. Velmi oceňuji jeho znalosti a zkušenosti, které mi byly vodítkem pro vypracování mé diplomové práce.

OBSAH

Souhrn	4
1. Úvod	6
2. Teoretická část.....	8
2.1. Absorpční spektrofotometrie v UV-VIS oblasti.....	9
2.2. Stav tenzidů v roztoku	11
2.3. Určení CMC iontových tenzidů pomocí keto-enol tautomerie benzoylacetonu	17
3. Praktická část.....	18
3.1. Chemikálie.....	19
3.2. Použité přístroje.....	21
3.3. Příprava roztoků	22
3.4. Provedení pokusů	24
4. Výsledky.....	26
4.1. Absorpční spektrofotometrie	27
4.2. Kritické micelární koncentrace.....	55
4.3. Příklad vyhodnocení měřených závislostí	56
5. Diskuse a závěr.....	57
6. Literatura	60

Souhrn

V této diplomové práci bylo použito UV-VIS absorpční spektrofotometrie k měření CMC kationických tenzidů a vlivu elektrolytů na CMC. Dosažené výsledky potvrzují očekávaný trend poklesu hodnot CMC tenzidů se stoupající iontovou silou roztoků. Použitá modifikace metody UV-VIS absorpční spektrofotometrie pro stanovení CMC byla rovněž úspěšná.

1. Úvod

Pro stanovení CMC byla navržena celá řada různých metod. Jednou z nich je i metoda, která využívá měření UV-VIS spekter. Je známo několik modifikací této metody. V práci¹⁾ byla použita modifikace, při níž je využito změn v UV-VIS spektru benzoylacetonu při tvorbě micel. Avšak v práci¹⁾ nebyly vyhodnotitelné experimenty v případě nízkých hodnot CMC. Jako možná příčina byla shledána příliš vysoká koncentrace benzoylacetonu použitá v uvedené práci. Tato diplomová práce si klade za cíl ověřit tuto hypotézu. Jsou v ní zjišťovány CMC modelových vzorků kationických tenzidů a jejich ovlivnění přídavkem solí.

2. Teoretická část

2.1. Absorpční spektrofotometrie v UV-VIS oblasti

Elektronická absorpční spektra jsou měřena v ultrafialové (UV) oblasti v rozmezí 200 – 400 nm a ve viditelné (VIS) oblasti v rozmezí 400 – 760 nm²⁾.

UV-VIS spektrofotometrie patří mezi metody optické a je založena na absorpci elektromagnetického záření z UV a VIS oblasti spektra při průchodu paprsku roztokem umístěným v kyvetě. Část intenzity procházejícího světelného paprsku se ve vzorku absorbuje a část kyvetou prochází a měří se jeho intenzita³⁾. Absorbovaná část elektromagnetického záření vlnových délek 200 – 760 nm způsobuje přechod elektronů do vyšších energetických hladin. Excitaci zářením uvedených vlnových délek podléhají především π elektrony, popřípadě elektrony nevazebné. V oblasti pod 200 nm by mohlo docházet i k excitacím σ elektronů, avšak tato oblast se v praxi běžně nevyužívá pro silnou absorpci vzduchu, zejména kyslíku⁴⁾. V oblasti nad 200 nm absorbují látky, které v molekule obsahují skupiny s dvojnými či trojnými vazbami, tzv. chromofory. Zvyšováním počtu konjugovaných vazeb v molekule, se posouvá absorpce do oblasti vyšších vlnových délek²⁾.

Poloha a intenzita elektronových absorpčních pásů ve spektru je závislá na struktuře analyzovaného léčiva, především na typu a počtu chromoforů v molekule. Absorpce je závislá na vlnové délce záření, na síle vrstvy, na struktuře a koncentraci analyzované látky. Při registraci závislosti absorbance na vlnové délce získáme absorpční spektrum. Během měření se vlnová délka monochromatického paprsku plynule mění, takže spektrum je registrováno jako plynulá křivka²⁾.

UV-VIS spektrofotometrie má široké využití jak při kvalitativní, tak při kvantitativní analýze²⁾. Kvalitativní analýza je založena na porovnání absorpčního spektra neznámé látky s absorpčním spektrem standardu, změřeného za stejných podmínek. Jestliže poloha a počet absorpčních maxim standardu a neznámé látky souhlasí, můžeme považovat látky za totožné. V mnohých případech však mohou i stopy znečištěnin silně ovlivnit absorpční spektrum analyzované látky. V kvantitativní analýze se UV-VIS spektrofotometrie užívá ke stanovení obsahu dané sloučeniny. Kvantitativní analýza je založena na platnosti Lambert-Beerova zákona:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

kde: A absorpce měřeného roztoku
c koncentrace analytu (mol/l)
l tloušťka vrstvy roztoku (cm)

ε molární absorpční koeficient ($1\text{mol}^{-1}\cdot\text{cm}^{-1}$).

Vlastní výpočet koncentrace stanovované sloučeniny při sériových analýzách se obvykle provádí metodou kalibrační křivky právě na základě platnosti tohoto zákona. Lambertův-Beerův zákon platí pouze pro monochromatické záření, které je možno získat pomocí monochromátoru nebo spektrálních filtrů⁴⁾.

UV-VIS spektrofotometrie je velmi rozšířená a často využívaná metoda. Vyniká jednoduchostí selektivitou a citlivostí.

2.2. Stav tenzidů v roztoku ^{5), 6)}

Tenzidy, surfaktanty, povrchově aktivní látky mají vystupňovanou schopnost snižovat povrchové napětí kapalin, zejména vody a vodných roztoků, snižovat mezipovrchové napětí mezi polární a nepolární kapalinou a zvyšovat smáčení tuhých látek kapalinami. Tato vlastnost je dána strukturou molekul tenzidů.

Molekula tenzidu se skládá z rozsáhlejší lipofilní (hydrofobní) a menší hydrofilní části. Lipofilní část bývá nejčastěji tvořena uhlovodíkovou strukturou, v nejjednodušším případě je to delší uhlovodíkový řetězec. Hydrofilní část může být iontová nebo neiontová. Mýdla jako silné elektrolyty se v roztoku vyskytují v podobě iontů (RCOO^- , M^+).

V nízké koncentraci jsou molekuly tenzidu v roztoku volné, pohybují se samostatně a jsou obklopeny molekulami rozpouštědla. Při stoupající koncentraci dosáhnou kritické micelární koncentrace (CMC). Nad CMC začíná ve vodných roztocích agregace molekul a vznikají micely. Je to vratný děj a zředěním se molekuly vrátí do původního stavu. Čím je tenzid lipofilnější tím má nižší CMC. Běžné tenzidy mají CMC přibližně v rozsahu 10^{-2} - 10^{-5} mol.l⁻¹. Přídavek soli (elektrolytu), podporuje micelizaci a snižuje kritickou micelární koncentraci zejména iontových tenzidů. Větší koncentrace soli však může způsobit vysolení tenzidu.

Dalo by se říci, že tvorbou micel vzniká nová fáze v soustavě voda-tenzid. Na micely se pohlíží jako na zvláštní fázi o limitní disperzitě (pseudofázi), neboť na rozdíl od pravého rozdělení fází nevede k nekonečně velkému počtu molekul v agregátu (počet molekul v agregátu se zkráceně nazývá agregátní číslo).

Tuto teorii tvorby micel, k níž se přiklání většina vědců, podporují přinejmenším dva body:

1. konstantní koncentrace volných molekul tenzidů, jestliže celková koncentrace tenzidů převyšuje kritickou micelární koncentraci
2. náhlý zlom na křivkách závislosti fyzikálně chemické vlastnosti na koncentraci v oblasti CMC.

Agregát molekul tenzidů se tvoří z uhlovodíkových řetězců a hydrofilní části molekul se přitom rozmisťují na vnější povrch micely. Za toto uspořádání jsou odpovědné především hydrofobní interakce a dále také kohezní síly mezi molekulami vody, které jsou větší než vzájemná přitažlivost molekul vody a uhlovodíkových řetězců. Molekuly vody

jakoby „vytěsňovaly“ uhlovodíkové řetězce z roztoku. Tvorbě micel brání odpudivé síly hydrofilních částí molekul tenzidů. U iontových tenzidů je toto odpuzování podmíněno elektrostatickou interakcí souhlasně nabitých ionogenních skupin, u neionogenních tenzidů pak osmotickými tlaky, které vznikají v důsledku zvýšení koncentrace oxyethylenových řetězců v periferní části micely.

Modelů struktury vody bylo zkoumáno a navrženo mnoho, ale všechny mají něco společného. Je to tetraedrická struktura přirovnávaná ke kostce ledu, v níž je každá molekula obklopena v průměru dalšími čtyřmi molekulami vody. Navázány jsou pomocí vodíkových vazeb. Původní předpoklad tetraedrické struktury byl později potvrzen rentgenografickými výzkumy.

Ve vodě se kromě kostry vázané vodíkovými vazbami vyskytují i volné molekuly vody. Skutečnost, že led zaujímá větší objem než voda v kapalném stavu je vysvětlena také právě touto teorií. Volné molekuly zaujímají volná místa uvnitř kostry vody, v níž se pohybují a také se vyměňují s molekulami kostry. Ochlazením soustavy dochází k upevnění molekul vázaných v kostře a molekuly, které byly volné se vážou také do struktury kostry. Tím dochází ke snížení jejich počtu. Zvýšením teploty dochází opět k oslabení tetraedrické struktury a zvýšení počtu volných molekul.

Nekompaktní oblasti v pseudoledové struktuře se chovají jako dutiny. Dutiny využívají kromě volných molekul vody také nepolární organické látky, což je důležité pro jejich rozpouštění. Molekuly těchto látek vstupují do struktury vody, což vede ke stabilizaci soustavy a ke snížení její vnitřní energie. Podle jednoho z možných vysvětlení tohoto jevu, omezují molekuly organických látek svým vstupováním do volných prostorů pohyb volných molekul vody a jejich tepelnou výměnu s molekulami vody ve skeletu. To napomáhá stabilizaci struktury vody. Jelikož tenzidy obsahují nepolární uhlovodíkový řetězec, vede i jejich rozpouštění ke stabilizaci struktury vody.

Současně s rozpouštěním tenzidů probíhá spojování uhlovodíkových částí molekuly tenzidů ve vodném prostředí, tzv. hydrofobní interakce. Příčinou této interakce je zeslabení struktury vody při přechodu uhlovodíkových řetězců z vodných roztoků tenzidů do jádra micely, kde mezi nimi vznikají hydrofobní interakce. Rušení struktury vody a vzrůst konformační entropie uhlovodíkových řetězců v jádře micely ve srovnání s jejich entropií ve vodní fázi vede ke vzrůstu entropie soustavy. Proces tvorby micel je typickou ukázkou hydrofobní interakce. To znamená, že se v energetické bilanci vzniku micel objevuje nová složka, zvýšení entropie soustavy což také v mnohých případech určuje entropický charakter tvorby micel. Nesmíme ovšem ztrácet ze zřetele, že tvorba micel je spojena i

s opačnou změnou, poklesem entropie. V důsledku toho vznikají v nepříliš koncentrovaných roztocích malé micely, neboť při tvorbě velkých by docházelo ke značnému poklesu entropie (myslí se pokles entropie, který vyplývá ze ztráty nezávislého translačního pohybu částic asociujících do větších celků).

Některé iontové tenzidy se vyznačují tzv. *Kraftovou teplotou*. Pod touto teplotou rozpustnost tenzidu ve vodě prudce klesne pod hodnotu jeho kritické micelární koncentrace, takže tenzid za nízké teploty nemicelizuje a ochlazením micelárního roztoku se vysráží. Pro přípravu stabilních micelárních roztoků jsou proto vhodné pouze tenzidy, jejichž Kraftova teplota je dostatečně nízká nebo se vůbec nepozoruje. Při nízkých teplotách vytváří hydratovaný tuhý tenzid nabobtnalý gel, který je v rovnováze s pravým roztokem. V Kraftově bodě jakoby uhlovodíkové řetězce tenzidů přecházely do kapalného stavu. Přitom se v důsledku tepelného pohybu uhlovodíkových řetězců rozpadají orientované vrstvy molekul tenzidů na částice koloidních rozměrů (micely). Vznik micel z gelu je doprovázen vzrůstem entropie napomáhajícím průběhu tohoto procesu. Celková rozpustnost tenzidů rychle vzrůstá, kdežto molekulární rozpustnost charakterizovaná kritickou koncentrací tvorby micel se podstatně nemění. Kraftův bod se nekryje s bodem tání tuhých tenzidů a leží níž, neboť v nabobtnalém gelu je tenzid hydratován, což usnadňuje tání. Jelikož se micely tvoří pouze nad Kraftovým bodem, lze na ně pohlížet jako na kapalnou fázi. Kapalný stav uhlovodíkového jádra micel je též potvrzován tím, že mohou tvořit smíšené micely s různými příměsmi. Většina hydratovaných neionogenních tenzidů je při dostatečně nízkých teplotách kapalná a proto nemá Kraftův bod. Pokud lze sledovaný tenzid smíchat s vodou na homogenní viskózní disperzi s koncentrací tenzidu přes 20%, znamená to zpravidla postupné sdružování micel tenzidu na hexagonální a lamelární fázi.

Koloidní systémy (koloidy) jsou druhem disperzních systémů, skládající se z dispergující fáze, v níž jsou dispergovány částice, jejichž rozměr je větší, než mají jednoduché molekuly nízkomolekulárních látek, avšak příliš nepřesahuje hranici přímé pozorovatelnosti běžným optickým mikroskopem. Číselně se přibližné rozmezí velikosti dispergovaných koloidních částic udává rozměrem 1-500 nm, nověji se často uvádí větší rozmezí 1-1000 nm a některé druhy koloidních částic se nazývají micely.

Tvorba koloidních asociátů a povrchová aktivita tenzidů ve vodném prostředí je především výsledkem hydrofobní interakce, tendence lipofilních (hydrofobních) uhlovodíkových skupin vzájemně se sdružovat tak, aby se zbavily energeticky nevýhodného kontaktu s vodou. Ve vodném roztoku se i při velkém zředění molekuly nebo

ionty tenzidu shromažďují na povrchu, kde se orientují uhlovodíkovými řetězci směrem ven z vodné fáze. Molekuly tenzidu vytvářejí takto na povrchu vodné fáze nebo na fázovém rozhraní voda-olej, palisádovitě uspořádaný monomolekulární film neboli monovrstvu.

Při dosažení CMC je povrchová vrstva tenzidem téměř nasycena a molekuly nebo ionty tenzidu se ve vodném roztoku shlukují na koloidní micely. Tyto sférické agregáty se někdy nazývají *Hartleyovy micely*. Uhlovodíkové řetězce molekul jsou v nich navzájem propleteny a polární skupiny směřují navenek (do vody). V jednom takovém agregátu je obvykle 50 až 100 molekul tenzidů, ale jejich počet může dosáhnout i 1000 molekul. Podle Hartleye je průměr takového sférického agregátu asi dvakrát větší než délka molekuly tenzidu, z níž je vytvořen.

Stavba sférického agregátu ionogenních tenzidů je zcela stejná jako u typické koloidní micely. Ve vodě, na povrchu agregátu, tvoří částečně disociované ionogenní skupiny elektrickou dvojvrstvu. Agregované uhlovodíkové řetězce, které jakoby tvořily kapku kapalného uhlovodíku, opravdu plní v micelle úlohu agregátu běžné micely.

Tenzidy zřídka vytvářejí ve vodném roztoku malé asociáty (dimery ap.), ale obvykle se několik desítek monomerů najednou kooperativně sdruží na koloidní micelu. Tvorbou velkých asociátů lze totiž dosáhnout toho, aby se lipofilní řetězce tenzidů v převážné míře zbavily energeticky nevýhodného kontaktu s vodou.

Při rostoucím zastoupení tenzidů v systému na úkor klesajícího podílu vody pak pokračující vratnou asociací vzniká podle podmínek početná řada dalších koloidních struktur tenzidů. Pokud tyto koloidní struktury vznikají spontánně za běžné teploty, pouze změnou podílu nebo druhu rozpouštědla v systému (lyotropní změnou), označují se jako lyotropní fáze, i když nemají všechny znaky skutečných fází. V micelárním roztoku se micely zvýšením podílu tenzidu a snížením podílu vody nejdříve spojují na větší tyčinkovité až vláknité micely, následuje *hexagonální fáze* tenzidu, která dále přechází na *lamelární (laminární, destičkovou) fázi*. Lamelární fáze tenzidu představuje předěl, po který se systém považuje za disperzi tenzidu v kontinuálním vodném prostředí a podobně jako emulze se označuje symbolem o/v (olej ve vodě), a to i tehdy, kdy se jedná jen o směs tenzidu a vody.

Lamelární micely jsou složené ze dvou vrstev tenzidů, které jsou k sobě obráceny uhlovodíkovými řetězci. Ty jsou navzájem orientovány rovnoběžně, zatímco ionogenní skupiny směřují navenek. Stavbou připomínají tyto micely dvojrozměrný krystal a mohou mít ve dvou směrech neomezeně velké rozměry. Lamelární micely ionogenních tenzidů

mají mnohem menší náboj než sférické, neboť při poměrně velké koncentraci, při které vznikají, klesá disociace ionogenních skupin. Proto se lamelární micely ukládají navzájem rovnoběžně, přičemž sousední micely jsou k sobě obráceny povrchy, na kterých jsou hydratované skupiny molekul tenzidů.

Existenci lamelárních micel v dostatečně koncentrovaných roztocích mýdla poprvé navrhl McBain, a proto se tyto útvary často nazývají *McBainovy micely*. Později byla existence těchto micel mýdla prokázána rentgenograficky.

Lytotropní tenzidové fáze s menším podílem vody, než odpovídá lamelární fázi, jsou považovány za disperze typu v/o (voda v oleji), a jsou do určité míry reverzním (inverzním, zrcadlovým) obrazem fází v oblasti o/v. V reverzní oblasti přechází lamelární fáze v *reverzní hexagonální fázi* a téměř bezvodé tenzidy mohou v kapalných systémech vytvářet také *reverzní micely*. Reverzní micely vznikají v roztocích tenzidu v nepolárním rozpouštědle i v některých kapalných tenzidech. Struktura reverzních fází se přitom vyznačuje opačnou orientací tenzidových molekul nebo iontů.

Uvedené lyotropní fáze podléhají změnou teploty termotropním přeměnám na řadu dalších termotropních fází. Zvýšením teploty vznikají hlavně kubické fáze tenzidů.

Normální micely ve vodném roztoku nebo reverzní micely v nepolárním rozpouštědle představují izotropní kapalně koloidní roztoky. O detekci tvorby normálních micel bude pojednáno dále. Na rozdíl od roztoků mají lamelární fáze a obě hexagonální fáze do určité míry periodické strukturní uspořádání, které je ale v různých směrech odlišné. Tyto fáze jsou proto anizotropní a jejich anizotropie se projevuje optickým dvojlomem, takže je zjištělná polarizačním mikroskopem. Kubické fáze jsou sice izotropní, mají však rovněž aspoň zčásti periodické strukturní uspořádání. Lamelární fáze, hexagonální fáze i kubické fáze se proto považují za kapalně krystalické mezofáze tenzidů.

Důsledkem náhlé tvorby micel je také náhlý zlom fyzikálních vlastností roztoku, na čemž je založeno stanovení CMC. Vlastnosti roztoku se mění tím výrazněji, čím je větší agregátní číslo micel. Kritická micelární koncentrace se stanovuje jako zlom v závislosti koncentrace na různých veličinách, např. na povrchovém napětí roztoku. S růstem obsahu tenzidu povrchové napětí roztoku vždy klesá a obvykle dosahuje limitní neměnné hodnoty v bodě, který odpovídá CMC.

V případě iontových tenzidů lze též stanovit CMC z koncentrační závislosti elektrické vodivosti.

Na kritickou micelární koncentraci může mít v roztocích tenzidů vliv řada faktorů. CMC např. klesá s růstem molekulové hmotnosti uhlovodíkového řetězce. Taková

závislost je zcela pochopitelná, neboť s prodlužováním uhlovodíkového řetězce se zmenšuje skutečná rozpustnost a vzrůstá sklon molekul tenzidů k asociaci. Vliv teploty na CMC je pro ionogenní tenzidy rozdílný. U ionogenních tenzidů kritická micelární koncentrace obvykle vzrůstá se stoupající teplotou v důsledku deagregujícího účinku tepelného pohybu molekul. Tento efekt však není veliký, neboť je oslabován hydrofilními interakcemi, které jsou doprovázeny zvýšením entropie soustavy. Proto se vliv teploty na kritickou micelární koncentraci projevuje tím slaběji, čím výraznější jsou hydrofobní vlastnosti mýdel. U neionogenních tenzidů se CMC vždy snižuje při vzestupu teploty, protože se přerušují vodíkové vazby mezi esterovým atomem kyslíku a vodou, oxyethylenové řetězce se dehydratují a zmenšuje se jejich vzájemné odpuzování, které bránilo agregaci. (Na závislost CMC neionogenních tenzidů na teplotě má nesporný vliv hydrofobní interakce, jež se uplatňuje při shlukování uhlovodíkových řetězců a je endotermní. Pokud se uplatní jenom tento efekt, pak kritická micelární koncentrace s rostoucí teplotou klesá. U ionogenních micelárních koloidů je tato tendence zřejmě kompenzována vlivem nějakého exotermního děje, který doprovází asociaci a souvisí s nábojem polárních skupin).

Jak již bylo uvedeno, tvoří tenzidy ve vodě micely a v uhlovodících reverzní micely. Je však třeba také uvést, že v alkoholu poskytují tenzidy obvykle molekulární roztoky. Vysvětluje se to tím, že alkohol leží svou polaritou mezi vodou a uhlovodíky a je tudíž rozpouštědlem jak pro polární, tak i pro nepolární části molekul tenzidů.

2.3. Určení CMC iontových tenzidů pomocí keto-enol tautomerie benzoylacetonu⁷⁾

Benzoylacetone se může v roztoku vyskytovat v keto- nebo enol-formě. Účinek tenzidů na tuto keto-enol tautomerii lze zkoumat pomocí měření intenzity dvou absorpčních spektrálních pásů při 250 nm a 315 nm odpovídajících keto- nebo enol-formě sloučeniny. Zatímco keto-forma má vyšší afinitu k polárnějšímu prostředí, byla enol-forma indikována spíše v prostředí nepolárním. Při změnách koncentrace tenzidu pod CMC nevykazuje absorbance dvou uvedených absorpčních pásů prakticky žádnou změnu, neboť polarita prostředí se mění jen minimálně. Avšak nad CMC absorbance pásu enol-formy prudce stoupá a absorbance keto-formy prudce klesá. To je způsobeno přechodem části molekul benzoylacetone do micelárních jader, která představují nepolární prostředí.

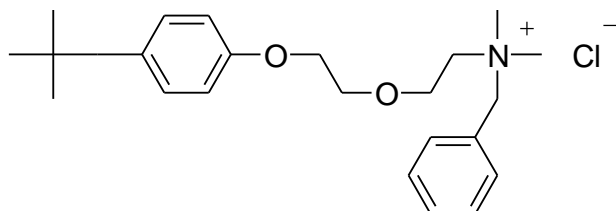
Změny absorbancí byly velmi výrazné u roztoků iontových tenzidů. Při pokusech s neiontovými tenzidy se absorbance měnila pozvolně a proto se nedala CMC určit. Z tohoto důvodu je metoda vhodná pouze iontové tenzidy.

Větší procentuelní zastoupení enol-formy se vyskytuje v nepolárních nebo polárních organických rozpouštědlech narozdíl od vody. Díky tomu enol-forma ve vodném roztoku rychleji přechází do micel, protože v micelách je nepolární organické prostředí, a tím se prudce zvyšuje její koncentrace. Proto je tato metoda vhodná pro stanovení CMC iontových tenzidů v polárních rozpouštědlech. Druhou možností je použití této metody k indikaci vzniku reverzních micel v nepolárních prostředích.

3. Praktická část

3.1. Chemikálie

Benzethonium chlorid (Sigma)



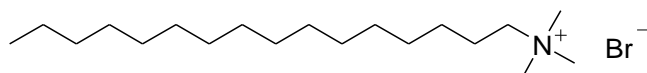
$$M_r = 448,1$$

Benzalkonium chlorid (Fluka)

Jednalo se o směs benzyldimethyldodecylammonium chloridu (60%) a benzyldimethyltetradecylammonium chloridu (40%).

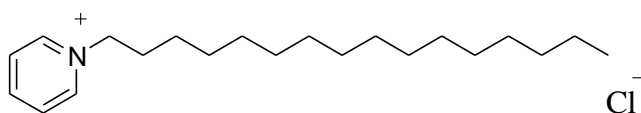
$$M_r = 351,2$$

Cetyltrimethylammonium bromid (*Cetrimid*) (for cosmetics, Merck)



$$M_r = 364,5$$

Cetylpyridinium chlorid (Sigma)



$$M_r = 340,0$$

Carbethopendecinium bromid (*Septonex*) (Slovakofarma Hlohovec)

3.2. Použité přístroje

Spektrofotometrická měření jsem prováděla na přístroji HP 8453 (Hewlett-Packard).

K navažování jsem používala analytické váhy Sartorius.

3.3. Příprava roztoků

3.3.1. Příprava roztoku benzoylacetonu

Na analytických vahách jsem navážila 0,0255 g benzoylacetonu a rozpustila ho v odměrné baňce o objemu 50 ml v dioxanu a doplnila dioxanem po rysku. Odebrala jsem 0,4 ml tohoto roztoku do odměrné baňky o objemu 25 ml a doplnila vodou po rysku.

3.3.2. Příprava roztoku benzalkonium chloridu

Připravila jsem 50 ml roztoku benzalkonium chloridu o koncentraci 0,02 mol/l. Tomu odpovídá navážka 0,3540 g. Navážka se rozpustí destilovanou vodou a doplní po rysku.

3.3.3. Příprava roztoku benzethonium chloridu

Připravila jsem 50 ml roztoku o koncentraci 0,03 mol/l. Tomu odpovídá navážka 0,6721 g. Navážka se rozpustí destilovanou vodou a doplní po rysku.

3.3.4. Příprava roztoku cetrimidu

Připravila jsem 50 ml roztoku o koncentraci 0,004 mol/l. Tomu odpovídá navážka 0,0729 g. Navážka se rozpustí destilovanou vodou a doplní po rysku.

3.3.5. Příprava roztoku cetylpyridinium chloridu

Připravila jsem 50 ml roztoku o koncentraci 0,004 mol/l. Tomu odpovídá navážka 0,0680g. Navážka se rozpustí destilovanou vodou a doplní po rysku.

3.3.6. Příprava roztoku septonexu

Připravila jsem 50 ml roztoku o koncentraci 0,004mol/l. Tomu odpovídá navážka 0,0845 g. Navážka se rozpustí destilovanou vodou a doplní po rysku.

3.3.7. Příprava roztoku chloridu sodného

Pro přípravu 250 ml 0,2 M roztoku NaCl je třeba 2,922 g NaCl.

Navážku jsem rozpustila v odměrné baňce o objemu 250 ml a doplnila destilovanou vodou po rysku.

3.3.8. Příprava roztoku síranu sodného

Pro přípravu 250 ml 0,2 M roztoku Na_2SO_4 je třeba 6,11 g Na_2SO_4 .

Navážku jsem rozpustila v odměrné baňce o objemu 250 ml a doplnila destilovanou vodou po rysku.

3.4. Provedení pokusů

3.4.1. Měření absorpčních spekter benzoylacetonu v roztocích benzalkonium chloridu, benzethonium chloridu, cetrymidu, cetylpyridinium chloridu a septonexu

Přímo do kyvety jsem napipetovala příslušné množství základního roztoku tenzidu podle požadované výsledné koncentrace, přidala jsem 0,4 ml roztoku benzoylacetonu a doplnila vypočítané množství destilované vody do celkového objemu 3 ml.

Spektra jsem měřila proti slepému roztoku.

Slepý roztok jsem připravila stejně jako měřený roztok, pouze roztok benzoylacetonu byl nahrazen destilovanou vodou.

3.4.2. Měření absorpčních spekter benzoylacetonu v roztocích benzalkonium chloridu, benzethonium chloridu, cetrymidu, cetylpyridinium chloridu a septonexu v přítomnosti chloridu sodného o koncentraci 0,2 mol/l

Do odměrných baněk o objemu 25 ml jsem napipetovala příslušné množství základního roztoku tenzidu podle požadované výsledné koncentrace, přidala jsem 3,3 ml roztoku benzoylacetonu, 5 ml roztoku chloridu sodného o koncentraci 0,2 mol/l a doplnila destilovanou vodou po značku.

Spektra jsem měřila proti slepému roztoku.

Slepý roztok jsem připravila stejně jako měřený roztok, pouze roztok benzoylacetonu byl nahrazen destilovanou vodou.

3.4.3. Měření absorpčních spekter benzoylacetonu v roztocích benzalkonium chloridu, benzethonium chloridu, cetrymidu, cetylpyridinium chloridu a septonexu v přítomnosti síranu sodného o koncentraci 0,2 mol/l

Do odměrných baněk o objemu 25 ml jsem napipetovala příslušné množství základního roztoku tenzidu podle požadované výsledné koncentrace, přidala jsem 3,3

ml roztoku benzoylacetonu, 5 ml roztoku síranu sodného o koncentraci 0,2 mol/l a doplnila destilovanou vodou po značku.

Spektra jsem měřila proti slepému roztoku.

Slepý roztok jsem připravila stejně jako měřený roztok, pouze roztok benzoylacetonu byl nahrazen destilovanou vodou.

4. Výsledky

4.1. Absorpční spektrofotometrie

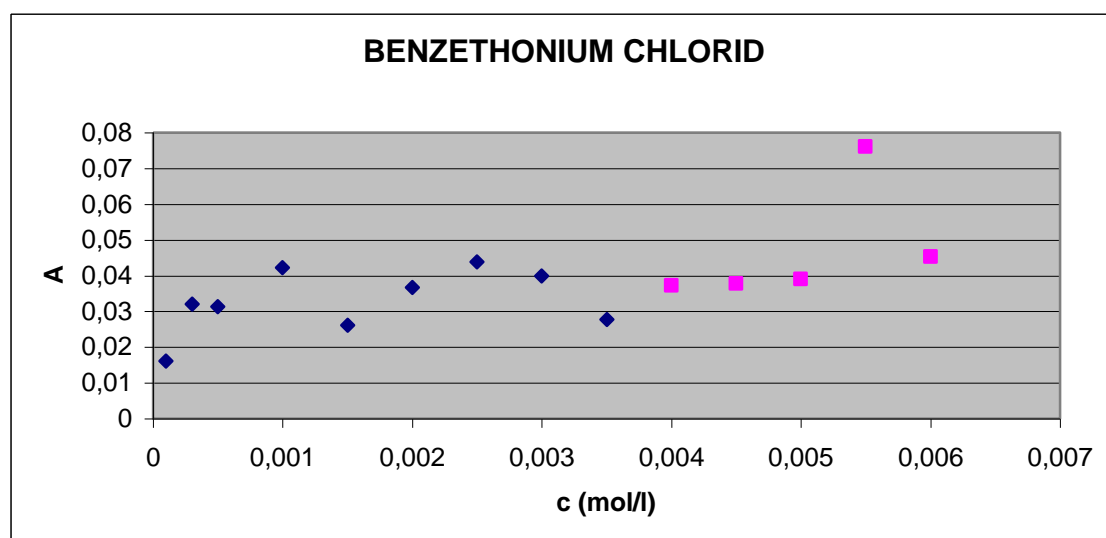
Hodnoty absorpčních uvedené v následujících tabulkách a grafech byly měřeny při vlnové délce 310 nm, která odpovídá absorpčnímu pásu enol-formy.

Tabulka 1: Naměřené hodnoty absorpčních v roztocích benzethonium chloridu

BENZETHONIUM CHLORID

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00010	0,016172
2	0,00030	0,032116
3	0,00050	0,031342
4	0,00100	0,042269
5	0,00150	0,026152
6	0,00200	0,036729
7	0,00250	0,043901
8	0,00300	0,039890
9	0,00350	0,027719
10	0,00400	0,037169
11	0,00450	0,037831
12	0,00500	0,039031
13	0,00550	0,076118
14	0,00600	0,045207

Obrázek 1: Závislost absorpčnosti na koncentraci benzethonium chloridu

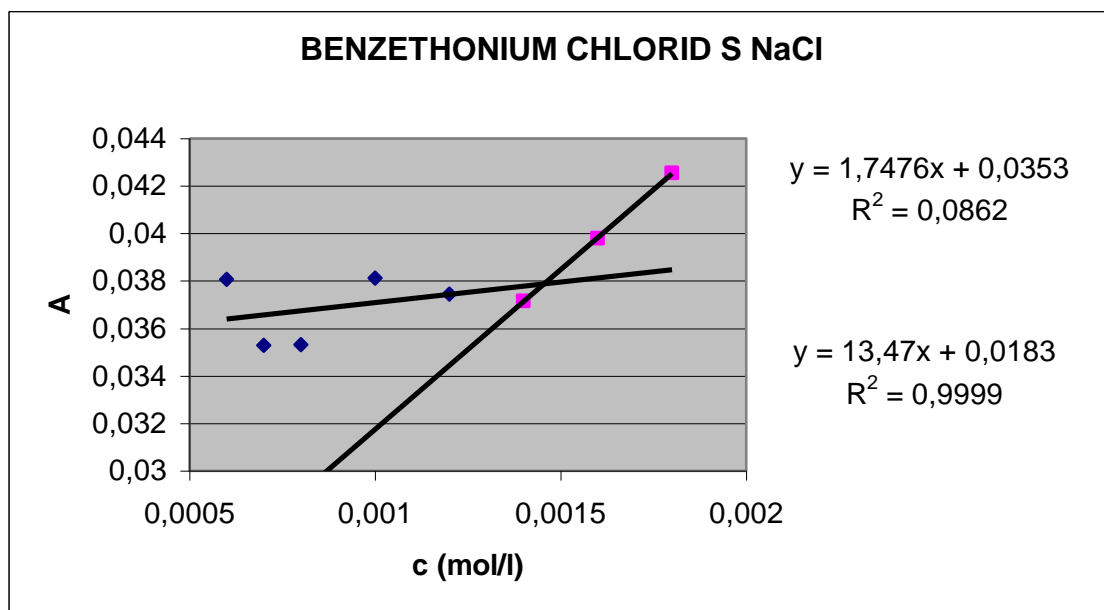


Tabulka 2: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích benzethonium chloridu s přidavkem chloridu sodného

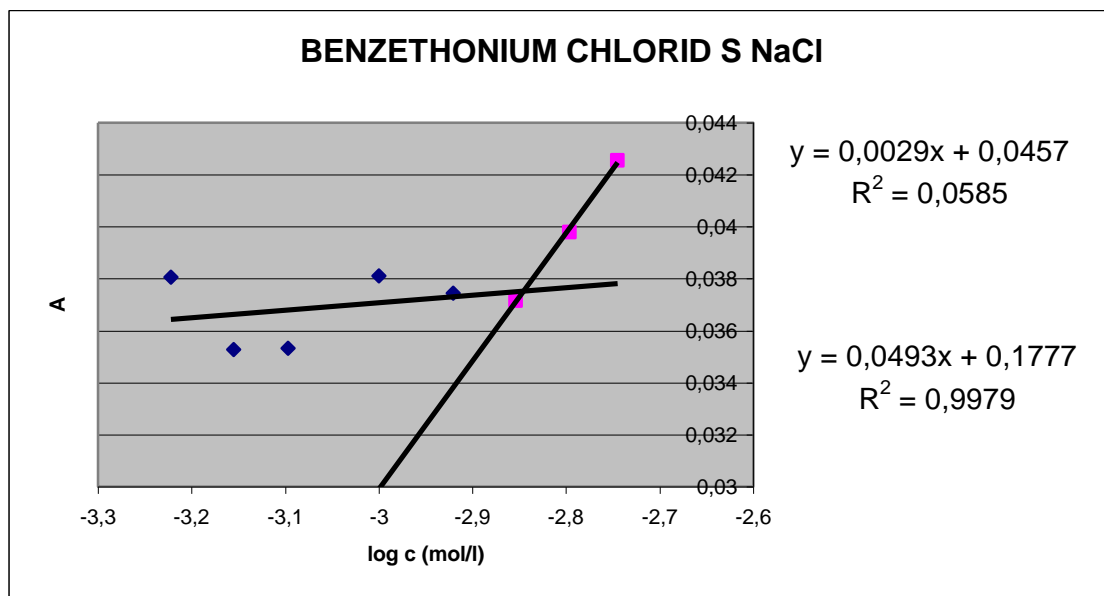
BENZETHONIUM CHLORID S NaCl

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00060	0,038056
2	0,00070	0,035283
3	0,00080	0,035312
4	0,00100	0,038115
5	0,00120	0,037435
6	0,00140	0,037149
7	0,00160	0,039797
8	0,00180	0,042537

Obrázek 2: Závislost absorpance na koncentraci benzethonium chloridu s přidavkem chloridu sodného



Obrázek 3: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace benzethonium chloridu s přidavkem chloridu sodného

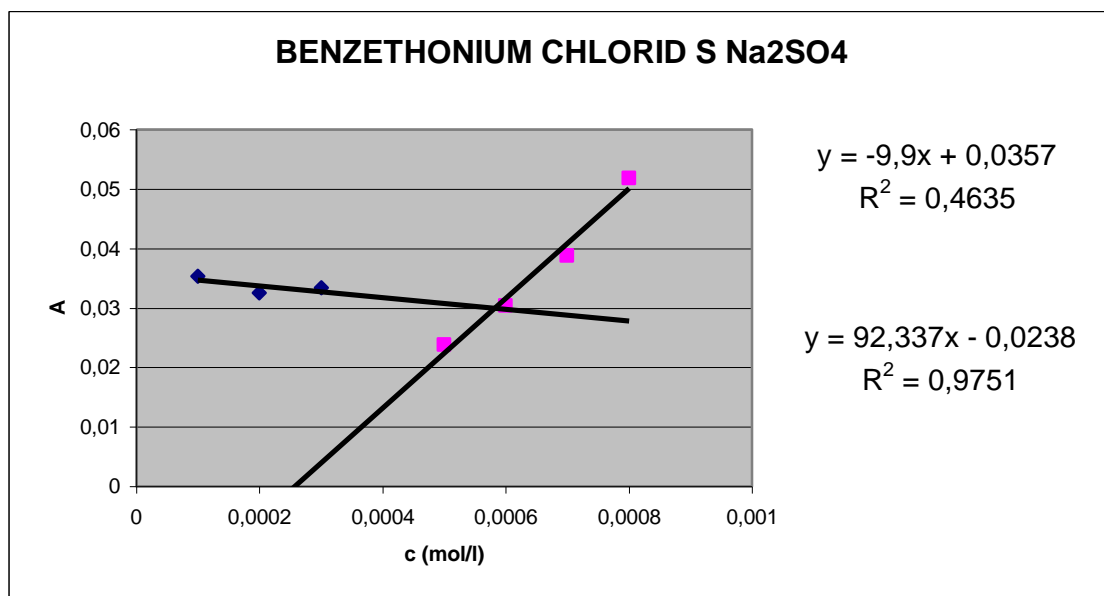


Tabulka 3: Naměřené hodnoty absorpance v roztocích benzethonium chloridu s přidavkem síranu sodného

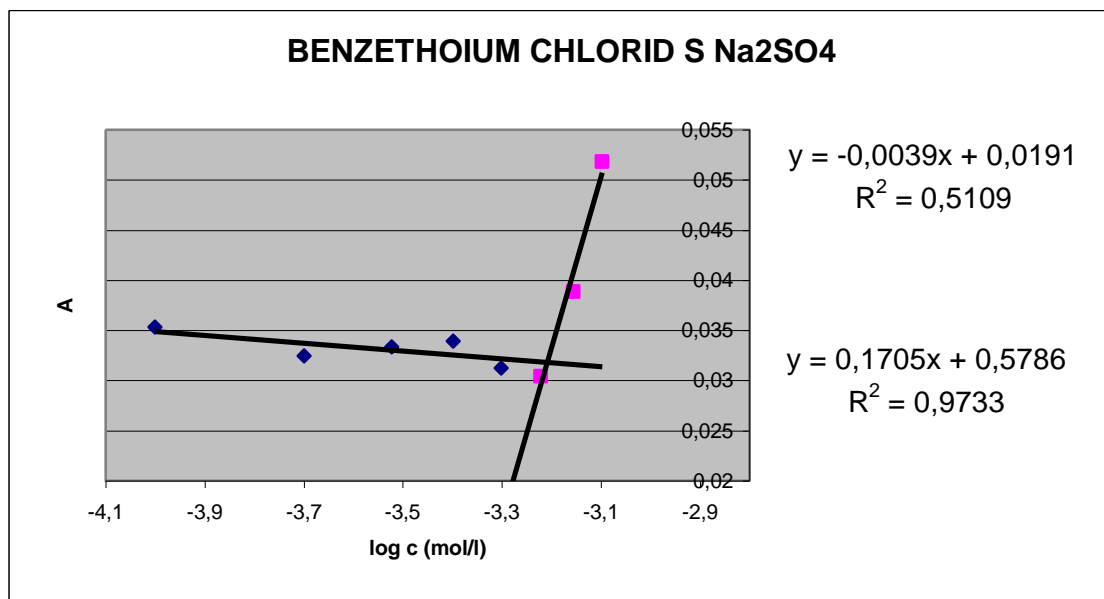
BENZETHONIUM CHLORID S Na₂SO₄

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00010	0,035320
2	0,00020	0,032485
3	0,00030	0,033340
4	0,00050	0,023858
5	0,00060	0,030385
6	0,00070	0,038815
7	0,00080	0,051827

Obrázek 4: Závislost absorpance na koncentraci benzethonium chloridu s přidavkem síranu sodného



Obrázek 5: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace benzethonium chloridu s přidavkem síranu sodného

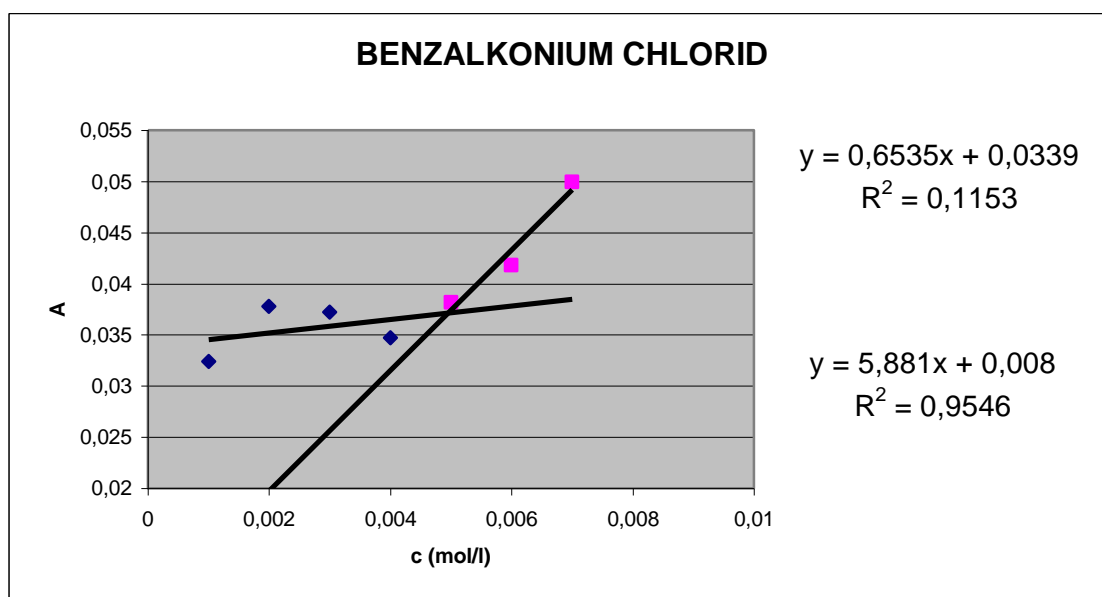


Tabulka 4: Naměřené hodnoty absorbcí v roztocích benzalkonium chloridu

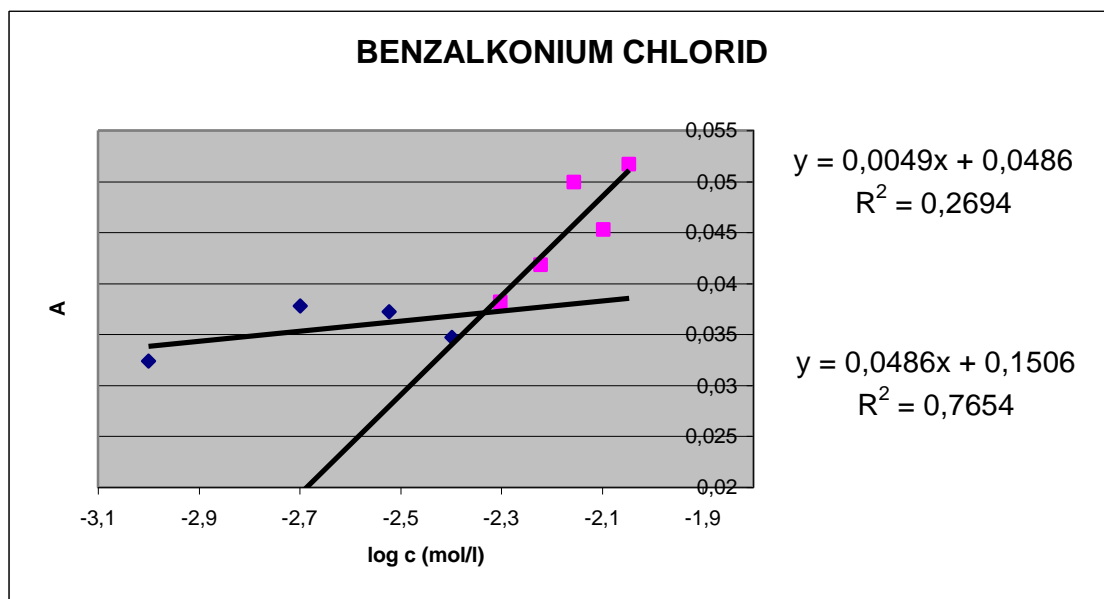
BENZALKONIUM CHLORID

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00100	0,032372
2	0,00200	0,037776
3	0,00300	0,037222
4	0,00400	0,034735
5	0,00500	0,038136
6	0,00600	0,041795
7	0,00700	0,049898

Obrázek 6: Závislost absorbcance na koncentraci benzalkonium chloridu



Obrázek 7: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace benzalkonium chloridu

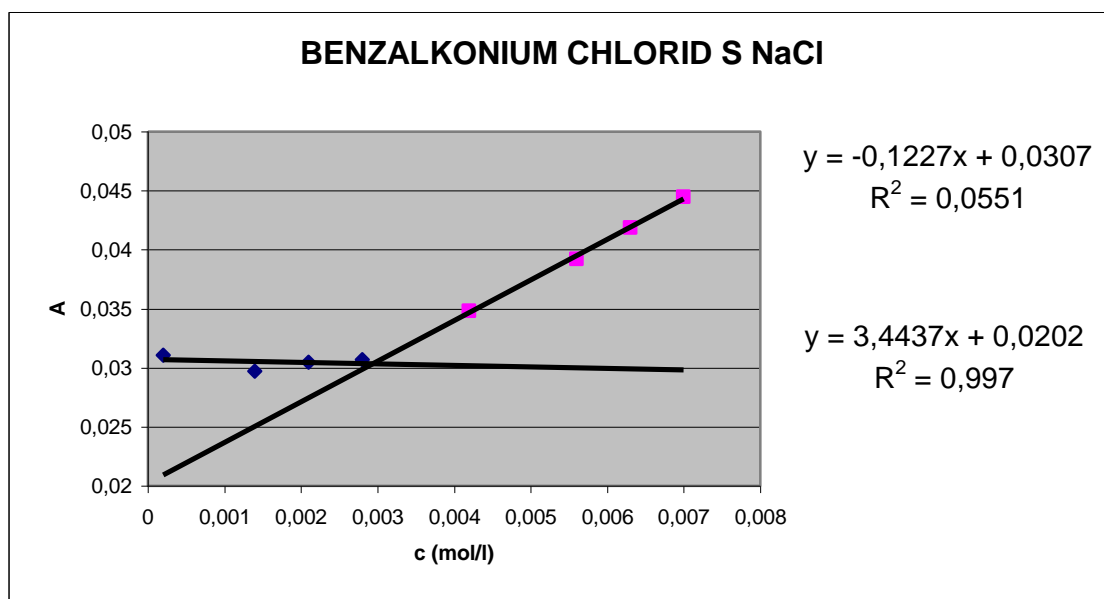


Tabulka 5: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích benzalkonium chloridu s přidavkem chloridu sodného

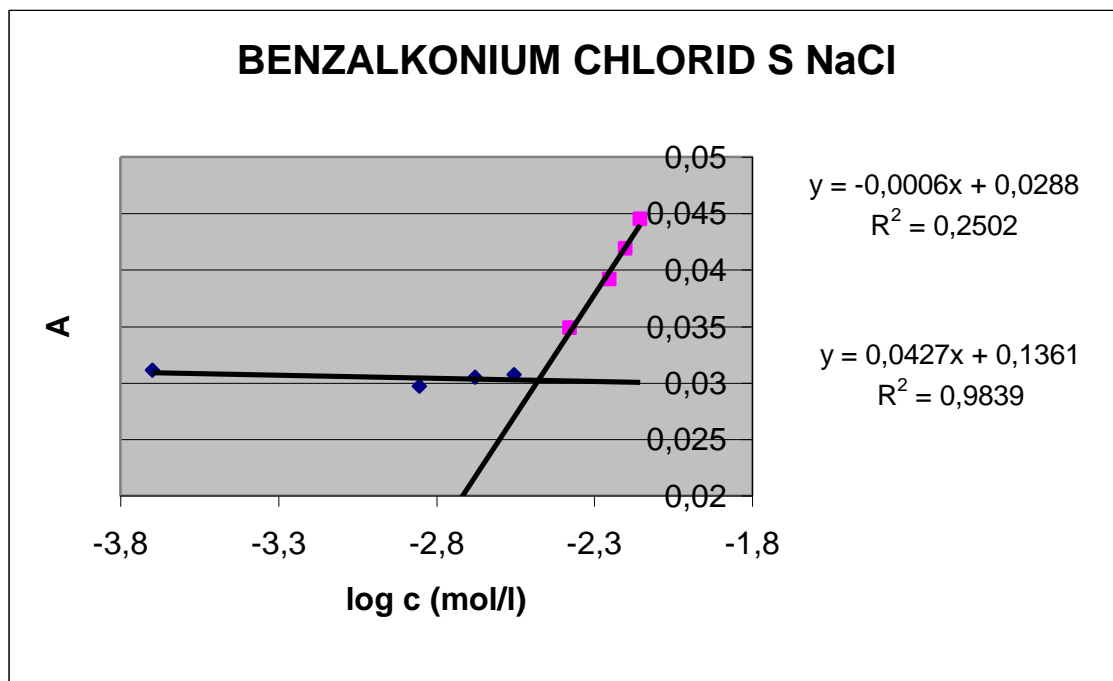
BENZALKONIUM CHLORID S NaCl

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00020	0,031091
2	0,00140	0,029712
3	0,00210	0,030472
4	0,00280	0,030692
5	0,00420	0,034834
6	0,00560	0,039187
7	0,00630	0,041871
8	0,00700	0,044493

Obrázek 8: Závislost absorbance na koncentraci benzalkonium chloridu s přidavkem chloridu sodného



Obrázek 9: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace benzalkonium chloridu s přidavkem chloridu sodného

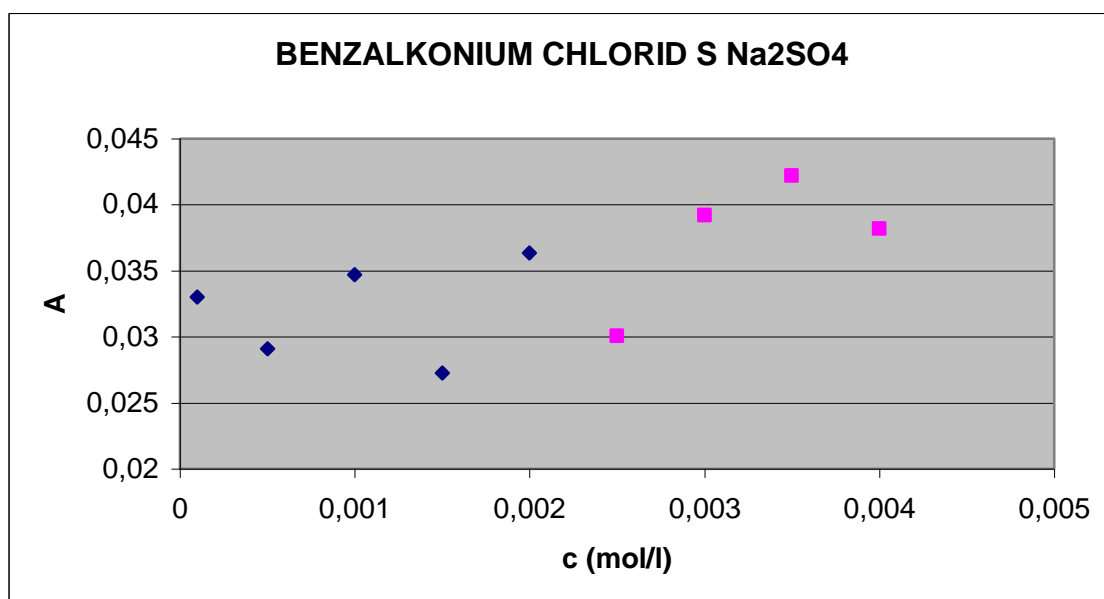


Tabulka 6: Naměřené hodnoty absorpací v roztocích benzalkonium chloridu s přidavkem síranu sodného

BENZALKONIUM CHLORID S Na_2SO_4

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00010	0,033014
2	0,00050	0,029105
3	0,00100	0,034723
4	0,00150	0,027275
5	0,00200	0,036321
6	0,00250	0,030045
7	0,00300	0,039190
8	0,00350	0,042176
9	0,00400	0,038181

Obrázek 10: Závislost absorbance na koncentraci benzalkonium chloridu s přidavkem síranu sodného

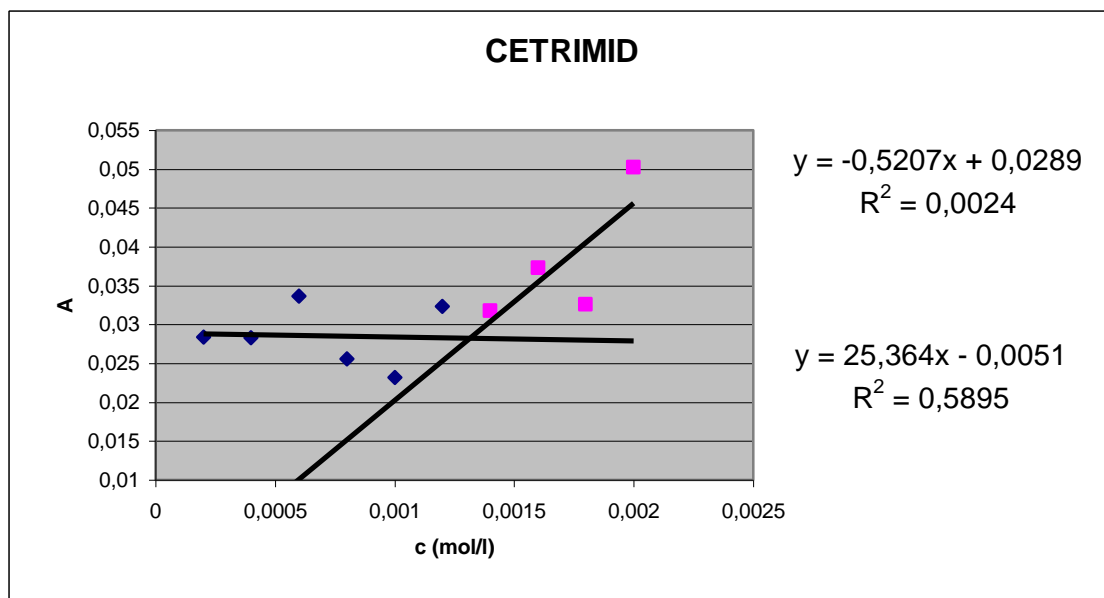


Tabulka 7: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích cetrimidu

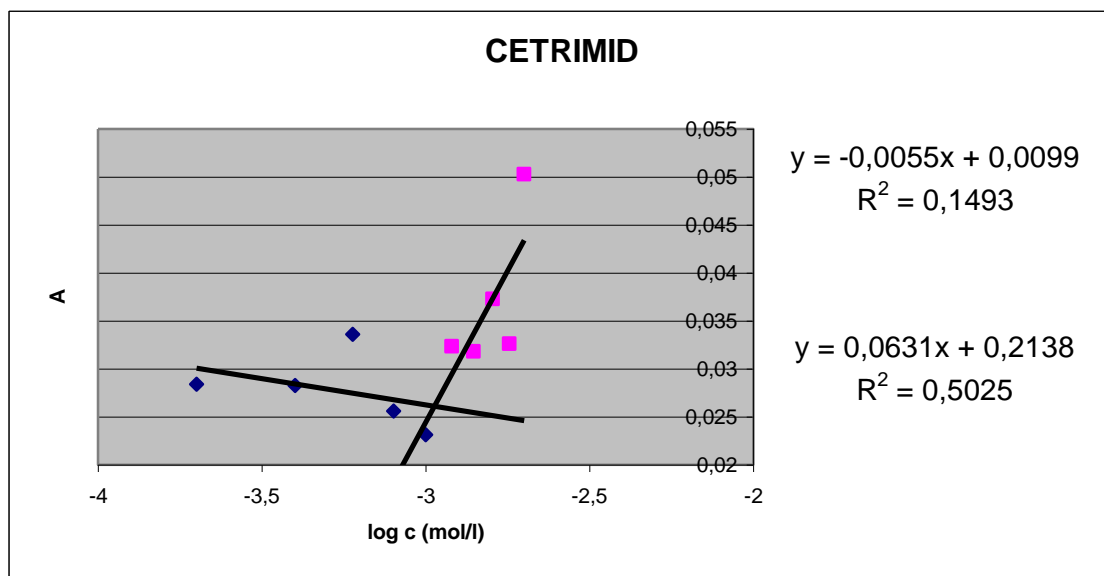
CETRIMID

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00020	0,028372
2	0,00040	0,028288
3	0,00060	0,033619
4	0,00080	0,025579
5	0,00100	0,023163
6	0,00120	0,032326
7	0,00140	0,031773
8	0,00160	0,037293
9	0,00180	0,032608
10	0,00200	0,050244

Obrázek 11: Závislost absorbance na koncentraci cetrimidu



Obrázek 12: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace cetrimidu

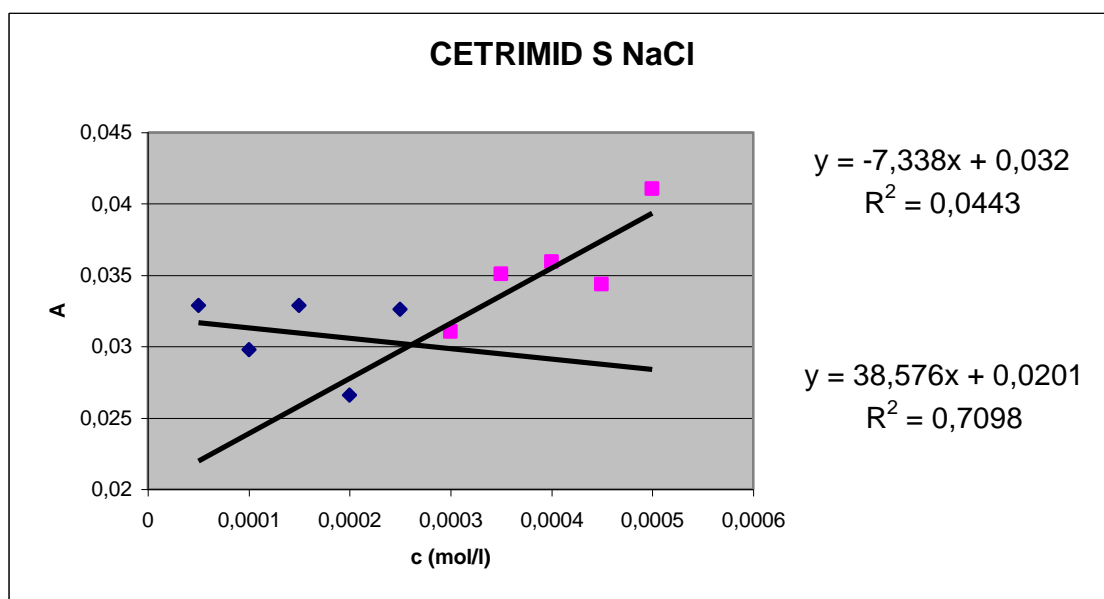


Tabulka 8: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích cetrimidu s přidavkem chloridu sodného

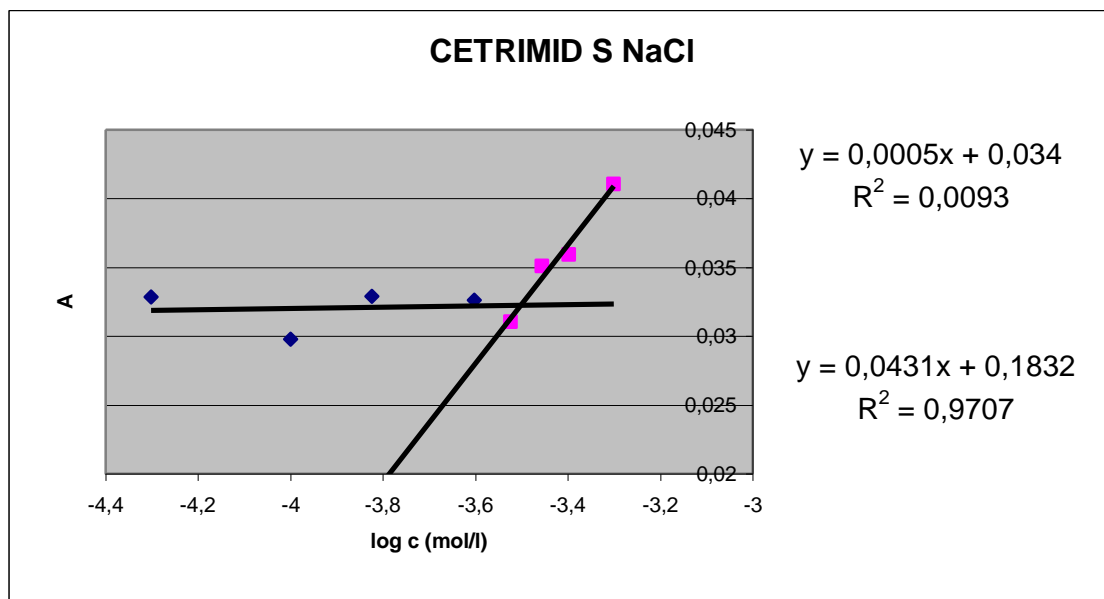
CETRIMID S NaCl

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00005	0,032864
2	0,00010	0,029775
3	0,00015	0,032877
4	0,00020	0,026610
5	0,00025	0,032612
6	0,00030	0,031055
7	0,00035	0,035078
8	0,00040	0,035917
9	0,00045	0,034346
10	0,00050	0,041065

Obrázek 13: Závislost absorbance na koncentraci cetrimidu s přidavkem chloridu sodného



Obrázek 14: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace cetrimidu s přidavkem chloridu sodného

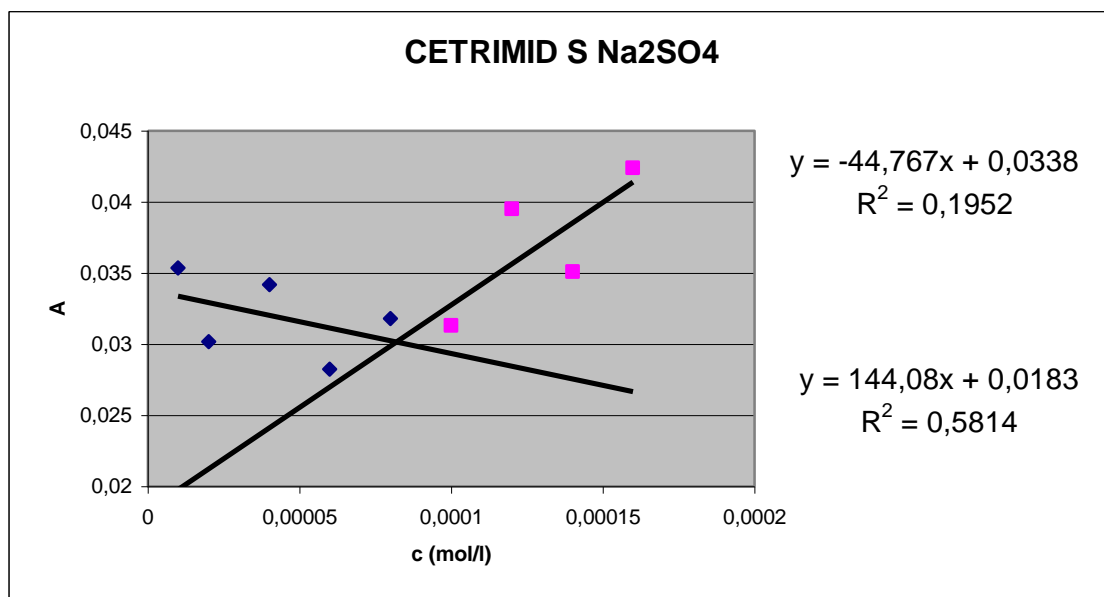


Tabulka 9: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích cetrimidu s přidavkem síranu sodného

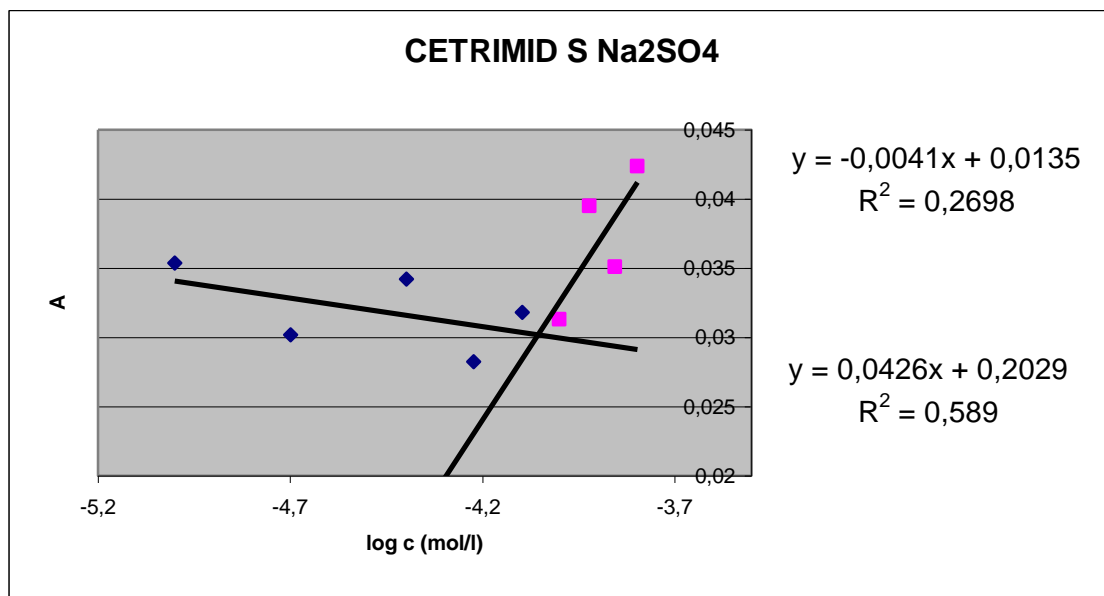
CETRIMID S Na₂SO₄

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00001	0,035352
2	0,00002	0,030171
3	0,00004	0,034203
4	0,00006	0,028231
5	0,00008	0,031801
6	0,00010	0,031296
7	0,00012	0,039503
8	0,00014	0,035075
9	0,00016	0,042377

Obrázek 15: Závislost absorbance na koncentraci cetrimidu s přidavkem síranu sodného



Obrázek 16: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace cetrimidu s přidavkem síranu sodného

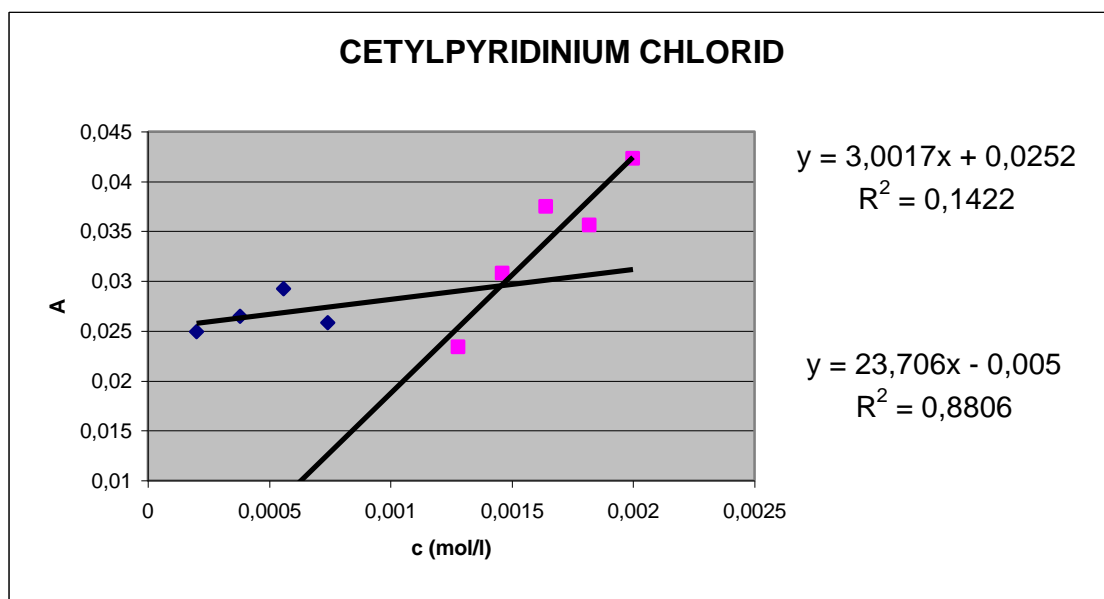


Tabulka 10: Naměřené hodnoty absorbcí v roztocích cetylpyridinium chloridu

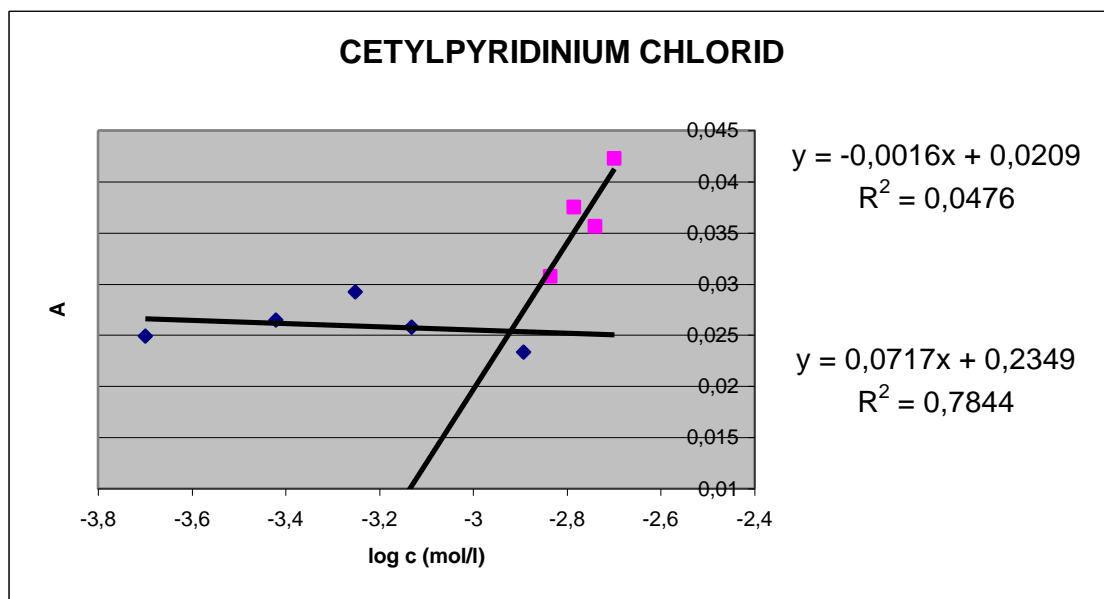
CETILPYRIDINIUM CHLORID

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00020	0,024918
2	0,00038	0,026470
3	0,00056	0,029206
4	0,00074	0,025807
5	0,00128	0,023364
6	0,00146	0,030754
7	0,00164	0,037479
8	0,00182	0,035601
9	0,00200	0,042276

Obrázek 17: Závislost absorbcance na koncentraci cetylpyridinium chloridu



Obrázek 18: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace cetylpyridinium chloridu

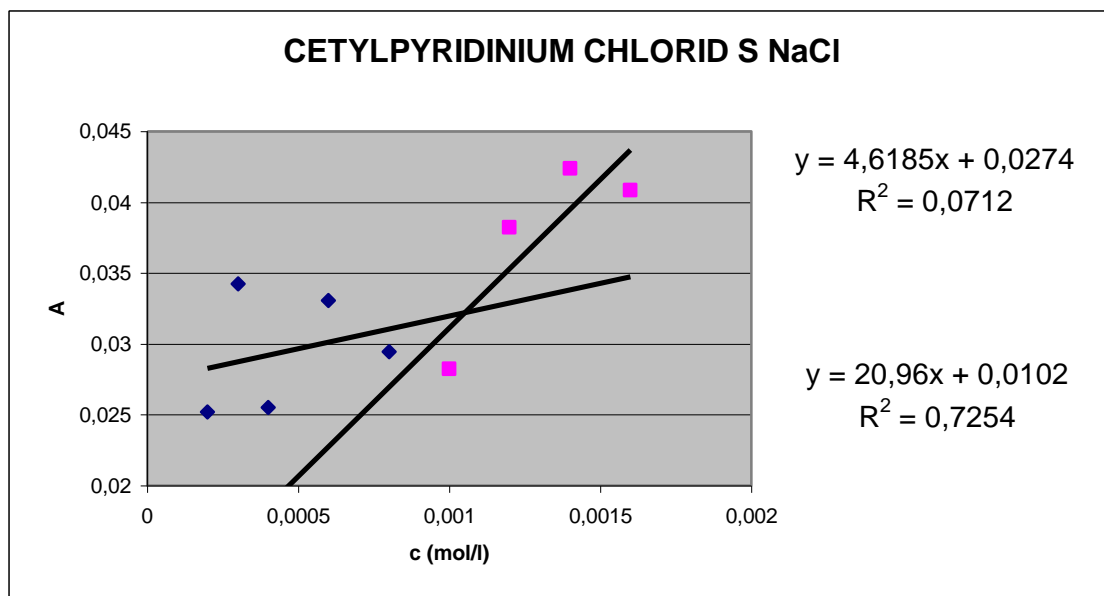


Tabulka 11: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích cetylpyridinium chloridu s přidavkem chloridu sodného

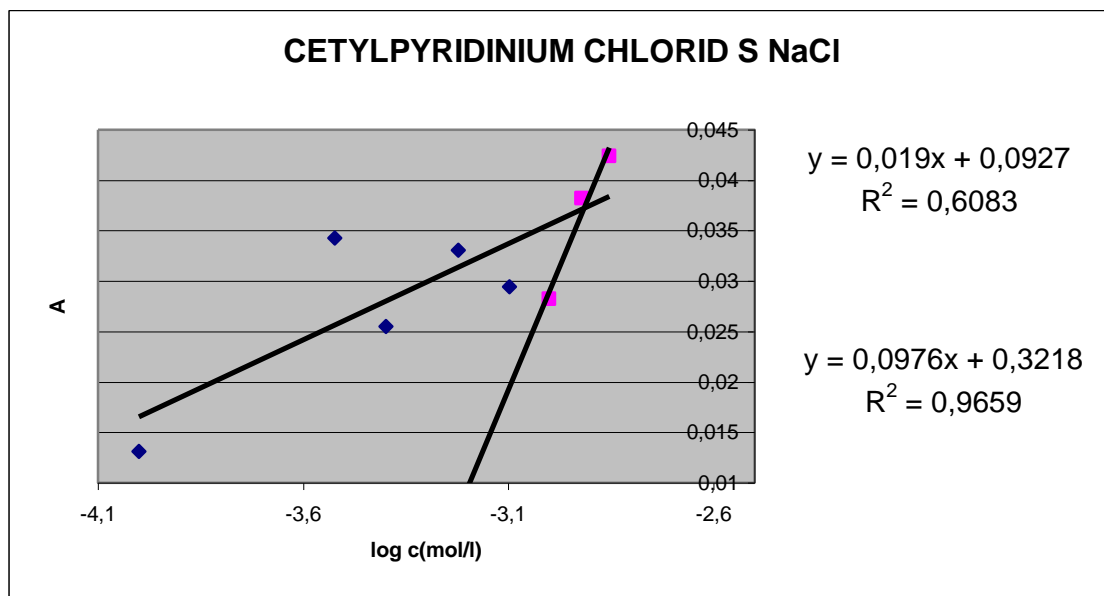
CETYLPIRIDINIUM CHLORID S NaCl

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00020	0,025212
2	0,00030	0,034248
3	0,00040	0,025497
4	0,00060	0,033049
5	0,00080	0,029439
6	0,00100	0,028230
7	0,00120	0,038217
8	0,00140	0,042367
9	0,00160	0,040820

Obrázek 19: Závislost absorbance na koncentraci cetylpyridinium chloridu s přidavkem chloridu sodného



Obrázek 20: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace cetylpyridinium chloridu s přidavkem chloridu sodného

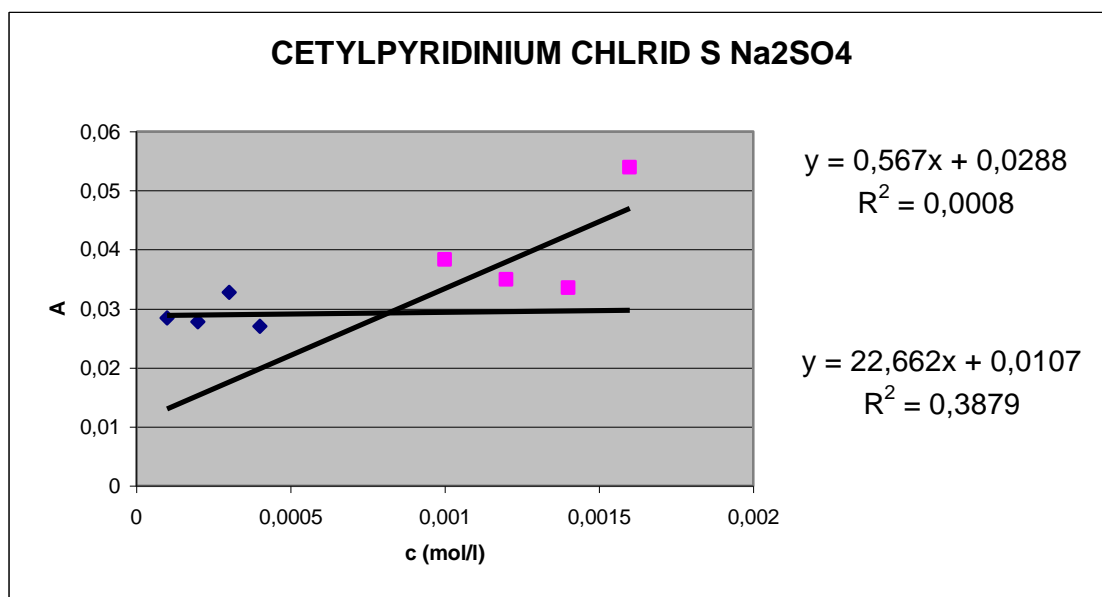


Tabulka 12: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích cetylpyridinium chloridu s přidavkem síranu sodného

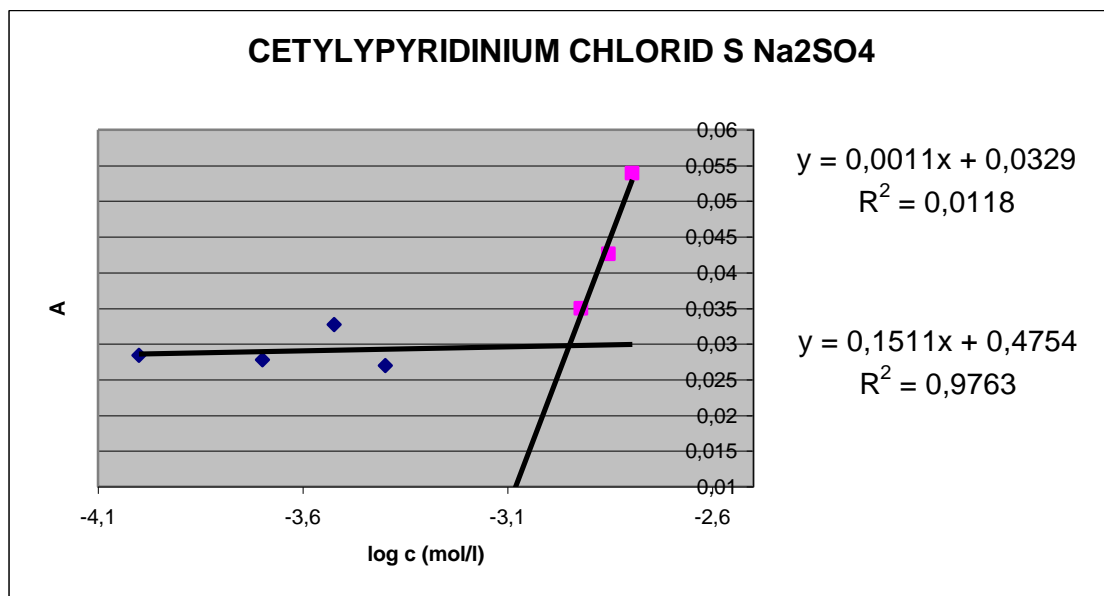
CETILPYRIDINIUM CHLORID S Na₂SO₄

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00010	0,028440
2	0,00020	0,027755
3	0,00030	0,032753
4	0,00040	0,026963
5	0,00100	0,038346
6	0,00120	0,034938
7	0,00140	0,033492
8	0,00160	0,053936

Obrázek 21: Závislost absorpance na koncentraci cetylpyridinium chloridu s přidavkem síranu sodného



Obrázek 22: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace cetylpyridinium chloridu s přidavkem síranu sodného

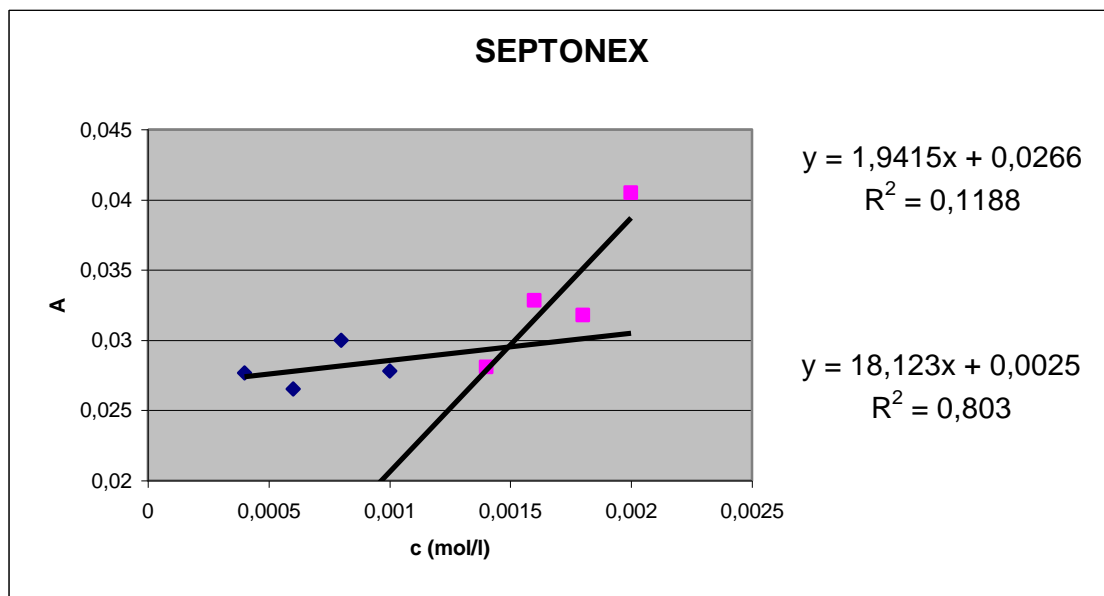


Tabulka 13: Naměřené hodnoty absorbcí v roztocích septonexu

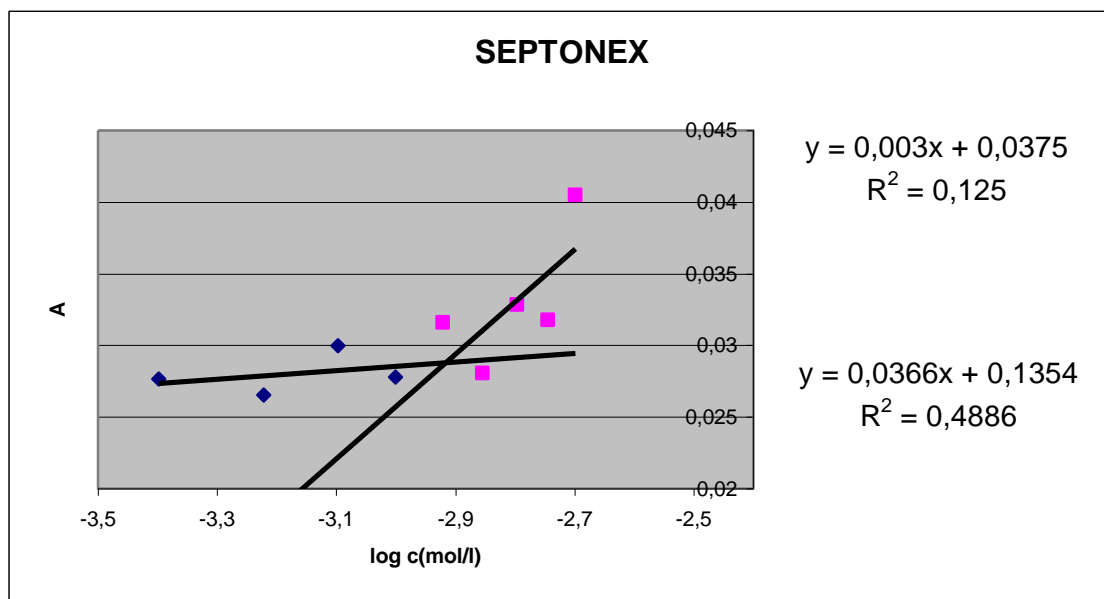
SEPTONEX

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00040	0,027655
2	0,00060	0,02651
3	0,00080	0,029991
4	0,00100	0,027789
5	0,00140	0,028061
6	0,00160	0,032822
7	0,00180	0,031765
8	0,00200	0,040495

Obrázek 23: Závislost absorbcance na koncentraci septonexu



Obrázek 24: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace septonexu

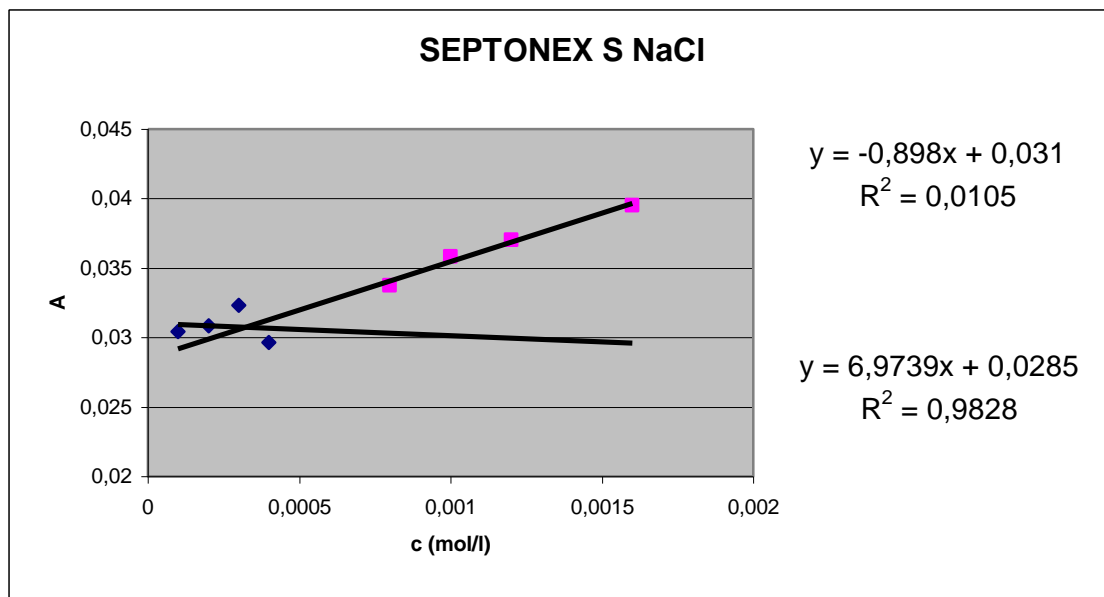


Tabulka 14: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích septonexu s přidavkem chloridu sodného

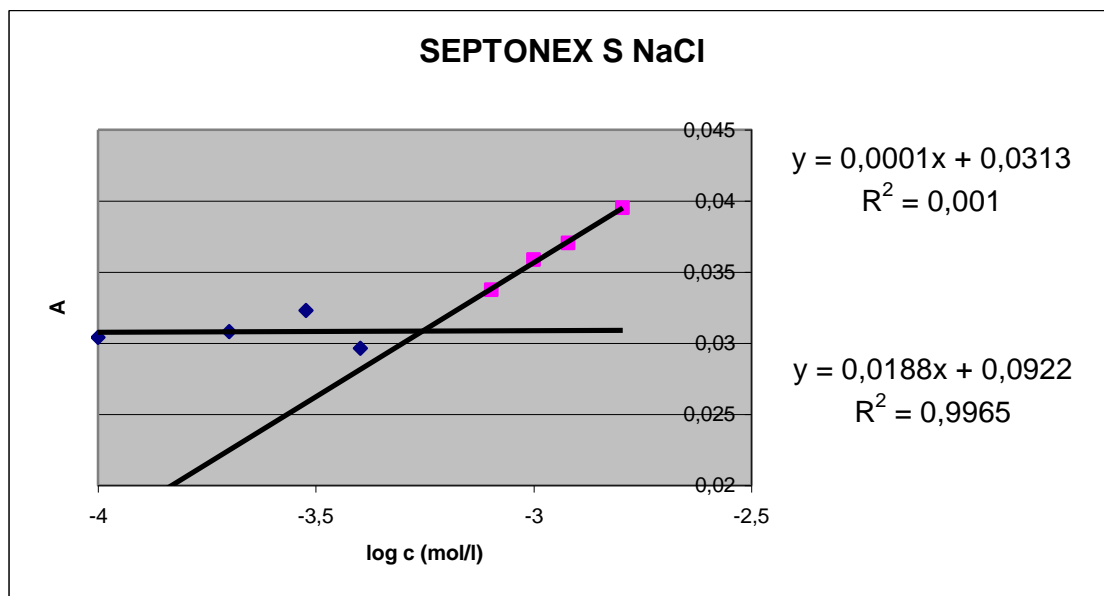
SEPTONEX S NaCl

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00010	0,030416
2	0,00020	0,030829
3	0,00030	0,032319
4	0,00040	0,029620
5	0,00080	0,033733
6	0,00100	0,035838
7	0,00120	0,037007
8	0,00160	0,039495

Obrázek 25: Závislost absorbance na koncentraci septonexu s přidavkem chloridu sodného



Obrázek 26: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace septonexu s přidavkem chloridu sodného

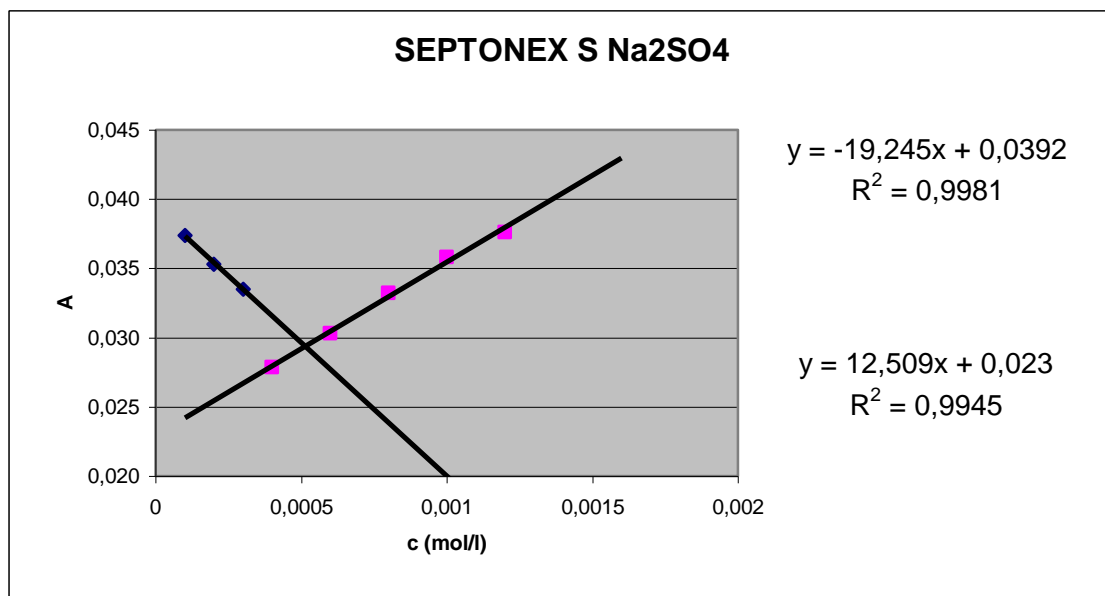


Tabulka 15: Naměřené hodnoty absorbancí v roztocích septonexu s přidavkem síranu sodného

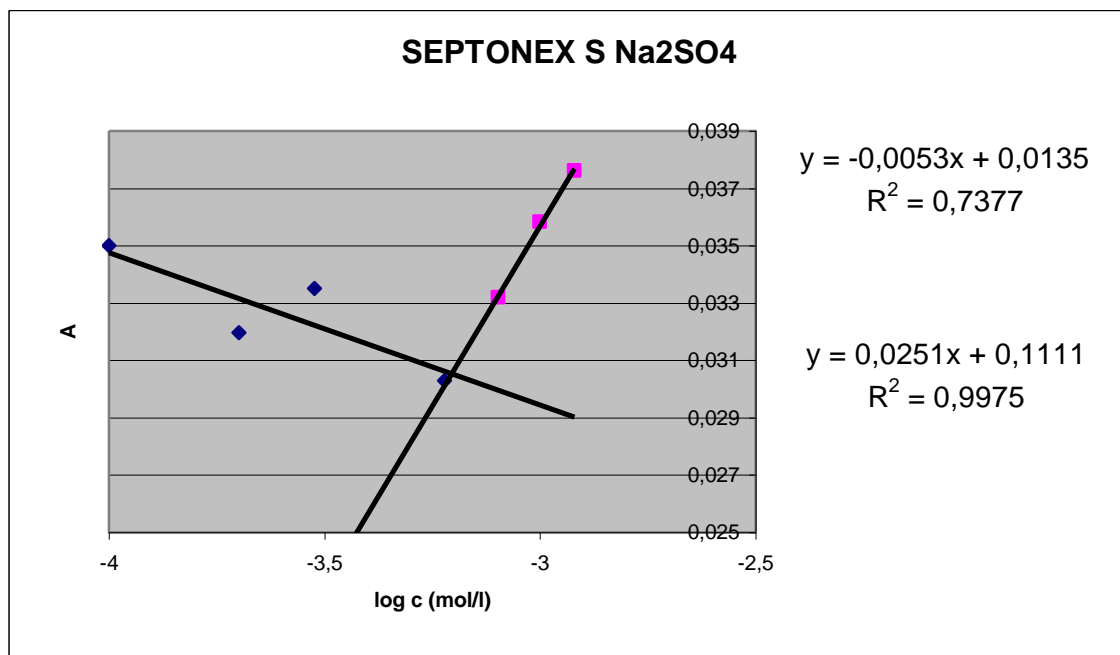
SEPTONEX S Na₂SO₄

číslo vzorku	koncentrace c (mol/l)	absorbance A
1	0,00010	0,037356
2	0,00020	0,035287
3	0,00030	0,033507
4	0,00040	0,027874
5	0,00060	0,030297
6	0,00080	0,033205
7	0,00100	0,035825
8	0,00120	0,037619

Obrázek 27: Závislost absorbance na koncentraci septonexu s přidavkem síranu sodného



Obrázek 28: Závislost absorbance na logaritmu koncentrace septonexu s přidavkem síranu sodného



4.2. Kritické micelární koncentrace

Tabulka 16: Naměřené hodnoty kritických micelárních koncentrací

	CMC čistého tenzidu (mol/l)	CMC tenzid+NaCl (mol/l)	CMC tenzid+Na ₂ SO ₄ (mol/l)
BEC	0,00146	0,00061
BZAC	0,00414	0,00294
CET	0,00097	0,00032	0,00008
CPC	0,00109	0,00101	0,00110
SEPT	0,00124	0,00032	0,00056

Chybějící dvě hodnoty nebylo možné vyhodnotit z důvodu příliš velkého rozptylu experimentálních hodnot.

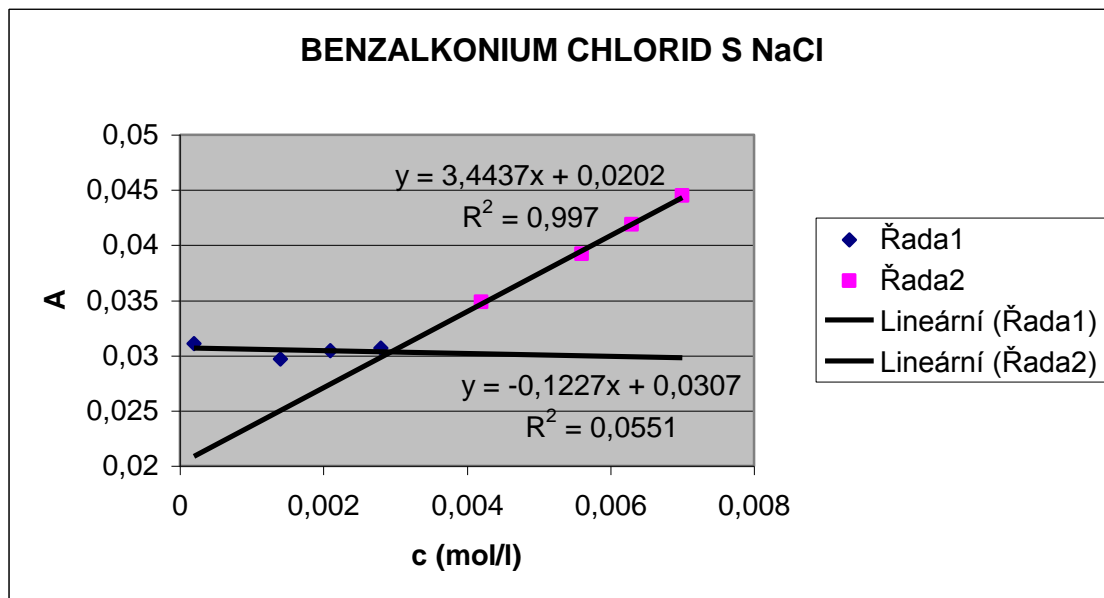
Tabulka 17: Kritické micelární koncentrace uvedené v literatuře

	CMC čistého tenzidu (mol/l)		CMC tenzid+NaCl (mol/l)	CMC tenzid+Na ₂ SO ₄ (mol/l)
BEC	0,00780 ⁸⁾	0,00323 ¹⁾	0,00045 ¹⁾	0,000563 ¹⁾
BZAC	0,00260 ⁹⁾	0,00334 ¹⁾	0,00166 ¹⁾	0,00104 ¹⁾
CET	0,00092 ¹⁰⁾	0,00110 ¹⁾
CPC	0,00086 ¹¹⁾	0,00103 ¹⁾
SEPT	0,00077 ¹²⁾	0,00085 ¹⁾

Hodnoty podle literatury¹⁾ byly měřeny rovněž pomocí keto-enol tautomerie benzoylacetonu a UV-VIS absorpční spektrofotometrie. Byla však použita 10x vyšší koncentrace benzoylacetonu. Chybějící hodnoty nebylo možné stanovit.

4.3. Příklad vyhodnocení měřených závislostí

Obrázek 29: Příklad vyhodnocení závislosti absorbance na koncentraci benzalkonium chloridu s přidavkem chloridu sodného



Graf závislosti absorbance na koncentraci (a také na logaritmu koncentrace) obsahuje dvě oblasti. První oblast je přibližně rovnoběžná s osou x a odpovídá podkritické koncentraci tenzidu, tedy koncentraci, při které se ještě netvoří micely. Ve druhé oblasti vykazuje absorbance nárůst, což je přičítáno vychytávání enol-formy benzoylacetonu do micelárních jader a tím způsobeným nárůstem koncentrace enol-formy. Experimentální hodnoty v první i ve druhé oblasti byly metodou nejmenších čtverců proloženy regresními přímkami. Průsečík obou přímek, jehož koncentrační souřadnice značí CMC, byl pak vypočítán z obou regresních rovnic.

Výpočet CMC ze zobrazených rovnic regrese:

$$3,4437x + 0,0202 = -0,1227x + 0,0307$$

$$x = 0,00294$$

Nalezená hodnota CMC benzalkonium chloridu s přidavkem NaCl je 0,00294 mol/l.

5. Diskuse a závěr

Ve své diplomové práci jsem testovala metodu stanovení CMC kationických tenzidů založenou na měření změn v UV-VIS spektru benzoylacetonu při tvorbě micel. Tato metoda byla již testována v rigorózní práci Opravilové¹⁾. Některé hodnoty však nebyly vyhodnotitelné, a to v případě nízkých hodnot CMC. Vzhledem k tomu, že jako možná příčina byla shledána příliš vysoká koncentrace benzoylacetonu použitá v uvedené práci, zaměřila jsem se na ověření této možnosti. Ve své práci jsem zjišťovala CMC pomocí absorpčních spekter modelových vzorků kationických tenzidů a jejich ovlivnění přidávkem solí s 10x nižší koncentrací benzoylacetonu v roztoku, než používala Opravilová.

Obecně je absorpční spektrofotometrie považována za spolehlivou metodu, avšak hodnoty absorbancí v mých měřeních byly velmi nízké. Z toho se mohou odvíjet i některé problémy spojené s mými pokusy. Je to zejména větší rozptyl hodnot od přímek proložených jednotlivými body. Tyto nepřesnosti může způsobovat více faktorů. Jedním z těchto faktorů mohou být nečistoty. Může jít o nepatrné nečistoty na kyvetách nebo i prachové částice v optické dráze paprsku spektrofotometru, proto by bylo vhodnější pracovat v neprašném prostředí. Při úvodních pokusech jsem si všimla, že některé dvojice kyvet (vzorek – slepý roztok) vykazují stále vyšší výsledky a některé dvojice nižší výsledky. Proto jsem pro měření vytvořila dvojice kyvet tak, aby absorbance obou kyvet ve dvojici byly prakticky shodné (provedeno měřením absorbancí prázdných kyvet proti vzduchu). Když jsem měření se seřazenými kyvetami opakovala, byly výsledky lépe vyhodnotitelné.

Z porovnání naměřených hodnot CMC, které jsou shrnuty v tabulce 16, a hodnot literárních v tabulce 17 plyne, že shoda naměřených a literárních dat není uspokojivá. Hodnoty naměřené v této diplomové práci jsou většinou vyšší než hodnoty literární. To je alespoň v kvalitativní shodě se závěry Opravilové¹⁾. Všeobecně potvrzuje tato diplomová práce očekávaný trend snížení hodnot CMC při stoupající iontové síle roztoku. Tomuto závěru odporuje pouze měření roztoků septonexu, kdy CMC poněkud stoupá při zvýšení iontové síly záměnou přídavku NaCl za Na₂SO₄, a všechna měření v případě CPC. U septonexu je toto pozorování velmi překvapující, neboť kromě samotného vlivu iontové síly je i vysolovací efekt síranového anionu výrazně vyšší než vysolovací efekt chloridového anionu. Situace u CPC je rovněž neobvyklá. Existují jediná experimentální data pro porovnání, a to data naměřená v diplomové práci Švátorové¹³⁾. Švátorová měřila ovlivnění CMC u CPC za použití stejných solí (NaCl a Na₂SO₄) při stejných hodnotách iontové síly pomocí iontově selektivní elektrody a její výsledky ukazují velmi výrazné

snížení hodnot CMC vlivem stoupající iontové síly. Obojí data jsou tedy ve značném rozporu a jen další měření, nejlépe další metodou, by mohla ukázat, která data odpovídají skutečnosti.

Učinila jsem pokus vyhodnotit svá data jako závislost absorbance na logaritmu koncentrace, jak je uvedeno ve výsledkové části. Tato vyhodnocení nepřinesla žádnou výraznou změnu rozptylu experimentálních hodnot a takto zjištěné CMC byly buď shodné nebo větší než CMC vyhodnocené ze závislosti $A = f(c)$. Navíc neexistuje žádný objektivní důvod provádět vyhodnocení ze závislosti $A = f(\log c)$, neboť platí Lambertův-Beerův zákon, který říká, že absorbance je lineární funkcí koncentrace. Z těchto důvodů jsou v tabulce 16 uvedeny pouze hodnoty CMC zjištěné zpracováním závislosti $A = f(c)$.

Ve dvou případech byla příslušná spektra naměřena, avšak vyhodnocení CMC nebylo možné z důvodu příliš velkého rozptylu jednotlivých hodnot absorbancí. Jednou z těchto hodnot je CMC samotného benzethonium chloridu. Z důvodu tohoto chybějícího údaje nebylo možné posoudit, zda se CMC po přidavku soli snížila, ovšem při porovnání s údaji z literatury^{1), 8)} se tento trend potvrdil. Druhým případem byl roztok benzalkonium chloridu s přidavkem Na_2SO_4 , u něhož se také ani po několika opakováních pokusu nepodařilo získané výsledky vyhodnotit.

Výsledkem této diplomové práce je konstatování, že UV-VIS spektrofotometrie je v zásadě použitelná metoda pro měření CMC kationických tenzidů při koncentracích benzoylacetonu použitých pro mé pokusy. V budoucnu by bylo vhodné prozkoumat ještě vliv jiných koncentrací benzoylacetonu na vyhodnotitelnost experimentálních hodnot absorbancí a správnost získaných hodnot CMC. Jak v této práci, tak v práci Opravilové¹⁾ byly metodou UV-VIS absorpční spektrofotometrie získány vyšší hodnoty CMC než jsou výsledky metod jiných. Tato skutečnost vede k závěru, že jde o nějakou systematickou chybu zkoumané metody.

6. Literatura

1. Opravilová J.: Rigorózní práce, katedra farmaceutické technologie, Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, 2002.
2. Klimeš J. a kol.: Kontrola léčiv I., Karolinum 2002, 9 – 11.
3. Klouda P.: Moderní analytické metody, Nakladatelství Pavel Klouda 1996.
4. Karlíček R. a kol.: Analytická chemie pro farmaceuty, Karolinum 1998.
5. Vojuckij S.:Kurs koloidní chemie, SNTL Praha 1984.
6. Chalabala M. et al.: Technologie léků, Druhé, přepracované a doplněné vydání, Galén, 1997, 2001, 67 - 77.
7. Shoji N., Ueno M., Meguro K.: Journal of the American Oil Chemist's Society, vol. 53, Determination of Critical Micelle Concentrations fo Some Surfactants by Keto-Enol Tautomerism of Benzoylacetone, 165-167.
8. Theis M., Heinze V., Paradies H. H.: Colloids and Surfaces A 101 (1995), 261 – 277.
9. Cross J., Singer E. J. (Eds) Cationic Surfactants, Marcel Dekker Inc., New York, Basel, Hong Kong, 1994.
10. Elworthy P. H., Florence A. T., McFarlane C. B.: Solubilization by Surface Active – Agents, Chapman and Hall, London 1968.
11. Kogej K., Škerjanc J.: Acta Chim. Slov. 45 (1998), 443.
12. Čermáková L., Rosendorfová J., Malát M.: Collect. Czech. Chem. Comuun. 45 (1980), 210.
13. Švátorová M.: Diplomová práce, katedra biofyziky a fyzikální chemie, Farmaceutická fakulta UK, Hradec Králové, 2000.