

**Univerzita Karlova v Praze  
Farmaceutická fakulta v Hradci Králové**

**Dizertační práce**

**Formulace nanočásticových systémů s protimikrobním působením**

**2011**

**Mgr. Eva Valentová**



„Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a jsou v práci řádně citovány.“

Touto cestou bych ráda poděkovala svému školiteli Doc. RNDr. Milanu Dittrichovi CSc. za odborné vedení, cenné rady a vědecké zázemí, ve kterém vznikala má práce.

Tato práce vznikla za podpory grantu SVV-2010-261-001.





# Obsah

<b>SEZNAM TABULEK</b> .....	<b>3</b>
<b>SEZNAM OBRÁZKŮ</b> .....	<b>7</b>
<b>POUŽITÉ ZKRATKY</b> .....	<b>14</b>
<b>ABSTRAKT</b> .....	<b>15</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>17</b>
<b>CÍL PROJEKTU</b> .....	<b>19</b>
<b>1 ÚVOD</b> .....	<b>20</b>
<b>2 TEORETICKÁ ČÁST</b> .....	<b>22</b>
2.1 POLYMERNÍ NANOČÁSTICE.....	22
<i>Příprava nanočástic</i> .....	22
<i>Polymery</i> .....	25
2.2 NANOČÁSTICE STŘÍBRA.....	27
<i>Příprava nanočástic stříbra</i> .....	27
<i>Použití nanočástic stříbra</i> .....	28
2.3 PRINCIPY MĚŘENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC.....	30
<i>Sítování</i> .....	30
<i>Sedimentace</i> .....	30
<i>Mikroskopie</i> .....	31
<i>Coulterova metoda</i> .....	32
<i>Techniky založené na rozptylu světla</i> .....	32
2.4 PRINCIPY MĚŘENÍ ZETA POTENCIÁLU .....	34
2.5 PRINCIPY MĚŘENÍ POVRCHOVÉHO NAPĚTÍ .....	36
<i>Měření kroužkem</i> .....	36
<i>Měření destičkou</i> .....	37
<i>Srovnání měření kroužkem a destičkou</i> .....	37
2.6 SPREJOVÉ SUŠENÍ .....	38
<i>Průběh sprejového sušení</i> .....	38
<i>Uspořádání sprejové sušárny</i> .....	39
<i>Výhody a nevýhody sprejového sušení</i> .....	42
<b>3 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST</b> .....	<b>43</b>
3.1 POUŽITÉ PŘÍSTROJE .....	43
3.2 CHEMIKÁLIE A POMŮCKY .....	43
3.3 VLASTNOSTI POUŽITÝCH POLYMERŮ .....	45
3.4 PŘÍPRAVA NANOČÁSTIC.....	49
3.5 VÝPOČTY .....	53
3.6 PŘÍPRAVA KOLOIDNÍCH ČÁSTIC STŘÍBRA.....	54
3.7 SPREJOVÉ SUŠENÍ .....	55
3.8 MĚŘENÍ VELIKOSTI ČÁSTIC SVĚTELNÝM MIKROSKOPEM .....	57
3.9 ANALÝZA OBRAZU .....	57
3.10 HODNOCENÍ STABILITY DISPERZÍ PŘI KONCENTROVÁNÍ.....	57
3.11 MĚŘENÍ POVRCHOVÉHO NAPĚTÍ .....	58
<b>4 VÝSLEDKY A DISKUZE</b> .....	<b>60</b>
4.1 SPREJOVÉ SUŠENÍ .....	60
<i>Sušení z vodného roztoku mannitolu v závislosti na teplotě sušení a výkonu čerpadla</i> .....	60
<i>Sušení z vodného roztoku mannitolu</i> .....	75
<i>Sušení mikročástic z vodných a methanolických roztoků</i> .....	84
<i>Sušení z vodného roztoku mannitolu a litesse</i> .....	90
<i>Sušení z vodného roztoku mannitolu a lecitinu</i> .....	94
<i>Sušení z vodného roztoku mannitolu a xylitolu</i> .....	96
4.2 POLYMERNÍ NANOČÁSTICE.....	100
4.3 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ VELIKOST A ZETA POTENCIÁL POLYMERNÍCH NANOČÁSTIC	104

	<i>DCM jako rozpouštědlo vnitřní fáze a PVA jako emulgátor vnější fáze</i> .....	116
	<i>CHCl<sub>3</sub> jako rozpouštědlo vnitřní fáze a PVA jako emulgátor vnější fáze</i> .....	117
	<i>Směs CHCl<sub>3</sub> + DCM 1:1 jako rozpouštědlo vnitřní fáze a PVA jako emulgátor vnější fáze</i> .....	118
	<i>Zeta potenciál nanočástic s PVA</i> .....	119
4.4	<b>KONCENTROVÁNÍ POLYMERNÍCH NANOČÁSTIC</b> .....	122
	<i>Velikost nanočástic bez a s 10% bazí terbinafinu, po koncentrování s PAPA</i> .....	123
	<i>Velikost nanočástic s 10% terbinafinem, odebrání v časových intervalech bez koncentrování</i> .....	124
	<i>Velikost nanočástic s 10% terbinafinem, po vysušení s mannitolem a opětovném rozpuštění</i> .....	124
	<i>Stabilizátory agregace nanočástic</i> .....	125
4.5	<b>STABILITA POLYMERNÍCH NANOČÁSTIC</b> .....	127
	<i>Sledování stability volně stojících částic za pokojové* teploty</i> .....	127
	<i>Stabilita nanočástic v disperzním prostředí při teplotě 22 °C při konvekci kapaliny</i> .....	131
	<i>Stabilita nanočástic při 37°C</i> .....	133
	<i>Stabilita nanočástic při 7°C</i> .....	137
	<i>Velikost mikročástic, analýza obrazu</i> .....	141
	<i>Vliv sprejového sušení a redispergace na parametry nanočástic</i> .....	145
	<i>Stabilita nanočástic po jejich redispergaci v roztoku RPMI</i> .....	147
4.6	<b>STŘÍBRNÉ NANOČÁSTICE</b> .....	149
	<i>Charakteristika vzorků</i> .....	149
	<i>Kinetika koncentrování</i> .....	150
	<i>Srovnání vlivu různých teplot na stabilitu koncentrovaných stříbrných koloidních částic</i> .....	151
	<i>Stabilizace stříbrného koloidu pomocí tenzidů</i> .....	153
	<i>Sušení koloidních částic stříbra s mannitolem</i> .....	153
4.7	<b>KONCENTROVÁNÍ STŘÍBRNÝCH NANOČÁSTIC</b> .....	156
	<i>Koncentrování nanodisperzí</i> .....	156
	<i>Kinetika agregace</i> .....	158
	<i>Nekcentrovaný roztok</i> .....	159
	<i>Koncentrovaný roztok</i> .....	160
	<i>Nekcentrovaná disperze se stabilizátory</i> .....	162
4.8	<b>STABILITA PŘI KONCENTROVÁNÍ STŘÍBRNÝCH NANOČÁSTIC</b> .....	165
	<i>Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra za různých podmínek</i> .....	168
4.9	<b>POVRCHOVÉ NAPĚTÍ</b> .....	180
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR</b> .....	<b>186</b>
	<i>Seznam publikací</i> .....	189
	<i>Použitá literatura</i> .....	190

## Seznam tabulek

Tab. 1: Číselné a hmotnostní průměry molární hmotnosti, hmotnostní průměry vnitřní viskozity a průměrné větvící poměry $g'$ .....	47
Tab. 2: Souhr analýzy polymerů .....	48
Tab. 3: Rozpustnost PDLA .....	54
Tab. 4 : Parametry sprejového sušení.....	55
Tab. 5: Tabulka vzorků pro měření povrchového napětí část 1. ....	58
Tab. 6: Tabulka vzorků pro měření povrchového napětí část 2. ....	59
Tab. 7: Třídy četností pro histogramy středního průměru částic .....	60
Tab. 8: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C .....	61
Tab. 9: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C .....	62
Tab. 10: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	63
Tab. 11: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	64
Tab. 12: Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C.....	65
Tab. 13: Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C.....	66
Tab. 14: Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C .....	67
Tab. 15: Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C .....	68
Tab. 16: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - plocha.....	70
Tab. 17: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - tvarový faktor .....	71
Tab. 18: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C – střední Feretův průměr.....	72
Tab. 19: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - maximální Feretův průměr .....	73
Tab. 20: Třídy četnosti pro mikročástice z 2,5% mannitolu .....	75
Tab. 21: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu .....	76
Tab. 22: Třídy četnosti pro mikročástice z 7,5% mannitolu .....	77
Tab. 23: Třídy četnosti pro mikročástice z 10% mannitolu .....	78
Tab. 24: Třídy četnosti pro mikročástice z 12,5% mannitolu .....	79
Tab. 25: Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu .....	80
Tab. 26: Rozložení velikosti částic (vzorek B) .....	85
Tab. 27: Rozložení velikosti částic (vzorek D) .....	87
Tab. 28: Rozložení velikosti částic (vzorek E) .....	88
Tab. 29: Rozložení velikosti částic (vzorek F).....	89
Tab. 30: Třídy četnosti pro mikročástice z 9% mannitolu, 1% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	90
Tab. 31: Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	91
Tab. 32: Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	92



Tab. 33: Třídy četnosti pro mikročástice z 10% mannitolu, 1,2% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	94
Tab. 34: Třídy četnosti pro mikročástice z 10% mannitolu, 0,6% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	95
Tab. 35: Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	96
Tab. 36: Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	97
Tab. 37: Vliv druhého tenzidu (0,5%) ve směsi s 0,5% lecitinem a typu nosiče na velikost nanočástic.....	100
Tab. 38: Vliv druhého tenzidu (0,5%) ve směsi s 0,5% lecitinem a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic.....	100
Tab. 39: Vliv koncentrace terbinafinu a typu nosiče na velikost nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu.....	101
Tab. 40: Vliv koncentrace baze terbinafinu a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu.....	102
Tab. 41: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na velikost nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi.....	103
Tab. 42: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi.....	103
Tab. 43: Rozpustnost PDLLA.....	104
Tab. 44: Vliv 1,5% lecitinu a baze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic.....	104
Tab. 45: Vliv 1% lecitinu a baze terb. 0%, 5%, 10% a 15% na velikost a zeta pot. částic.....	105
Tab. 46: Vliv 0,75% lecitinu, 0,25% Pso a baze terb. 0%, 10%, 20% a 30% na velikost a zeta pot. částic.....	106
Tab. 47: Vliv koncentrace lecitinu a Pso na velikost a zeta pot. částic (30% baze terb., 1% PDLLA).....	107
Tab. 48: Parametry nanočástic připravených pomocí 0,25% lecitinu a 0,06% Pso, 10% terb. baze; vliv koncentrace lecitinu v organické fázi.....	108
Tab. 49: Vliv původu lecitinu na velikost a zeta potenciál částic.....	109
Tab. 50: Vliv původu 0,5% lecitinu v kombinaci s 0,5% Pso na velikost a zeta potenciál částic.....	110
Tab. 51: Vliv koncentrace vaječného lecitinu a Pso na velikost a zeta potenciál částic.....	110
Tab. 52: Vliv různých poloxamerů v kombinaci s vaječným lecitinem na velikost a zeta pot. částic.....	111
Tab. 53: Rozdíl vlivu sójového a vaječného lecitinu v kombinaci s Pso na velikost a zeta pot. částic.....	112
Tab. 54: Vliv různých koncentrací tenzidu a lecitinu na velikost částic.....	113
Tab. 55: Vliv koncentrace lecitinu samotného a v kombinaci s Pso na velikost částic.....	114
Tab. 56: Vliv různých koncentrací lecitinu a Pso a přídavku NaOH na velikost a zeta potenciál částic.....	115
Tab. 57: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti DCM jako rozpouštědlo vnitřní fáze.....	116
Tab. 58 : Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, CHCl <sub>3</sub> jako rozpouštědlo vnitřní fáze.....	117

Tab. 59: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, DCM:CHCl <sub>3</sub> v poměru 1:1 jako rozpouštědlo vnitřní fáze.....	118
Tab. 60 : Zeta potenciál částic v závislosti na 1,5% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze .....	119
Tab. 61: Zeta potenciál částic v závislosti na 3% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze .....	120
Tab. 62: Vliv koncentrace soli chitosanu na hodnoty zeta potenciálu .....	121
Tab. 63: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty (1. část).....	127
Tab. 64: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty (2. část).....	129
Tab. 65: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C (1. část) .....	131
Tab. 66: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C (1. část).....	133
Tab. 67: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C (2. část).....	136
Tab. 68: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C (1. část).....	137
Tab. 69: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C (2. část).....	139
Tab. 70: Parametry velikosti mikročástic (μm).....	141
Tab. 71: Hodnoty pro histogramy na obr. 106 až 113.....	141
Tab. 72: Parametry nanočástic v různých stádiích zpracování .....	145
Tab. 73: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C pro 3D .....	147
Tab. 74: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C PLGA 50:50 .....	148
Tab. 75: Kinetika koncentrování koloidního stříbra vzorek č. 1 a č. 2 .....	150
Tab. 76 : Kinetika koncentrování při různých teplotách .....	151
Tab. 77: Kinetika koncentrování s přídatkem 1% stabilizátoru: Px 407 a hydrolyzátu želatiny a 0,5% PVA 20 .....	153
Tab. 78: Stabilita Ag nč. v roztoku mannitolu .....	154
Tab. 79: Vliv 5% mannitolu na velikost a zeta pot. částic při různých teplotách .....	155
Tab. 80: Rozdělení vzorků v pokusu.....	156
Tab. 81: 1. Fáze koncentrování – Příprava dialyzační trubice a navážení polymeru do trubice .....	156
Tab. 82: 2. Fáze koncentrování .....	156
Tab. 83: 3. Fáze koncentrování .....	157
Tab. 84: 4. Fáze koncentrování .....	157
Tab. 85: Kinetika agregace nč. ....	158
Tab. 86: Rozložení velikosti částic - střední průměr, Nekoncentrovaný roztok .....	159
Tab. 87: Nano a zeta-potenciálové měření nanočástic v roztoku mannitolu....	160
Tab. 88: velikosti částic - střední průměr, Disperze stříbra po koncentrování. 161	
Tab. 89: Nano a zeta-potenciálové měření, 1% Beta – glukan .....	162
Tab. 90: Nano a zeta-potenciálové měření, 0,03% Chitosan .....	162
Tab. 91: Velikosti částic - střední průměr, 0,03% Chitosan .....	163
Tab. 92: Nano a zeta-potenciálové měření, 0,01% Hydrolyzát želatiny .....	164
Tab. 93: velikosti částic - střední průměr, 0,01% Hydrolyzát želatiny .....	164
Tab. 94: Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu .....	165

Tab. 95: „Blank“ roztok (pouze sodné ionty, amoniak, maltosa), kinetika koncentrování po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu .....	166
Tab. 96: Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu (při pokojové teplotě) .....	168
Tab. 97: Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu v termostatu při teplotě 37°C.....	168
Tab. 98: Koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 10g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 10% mannitolu..	170
Tab. 99: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 10% mannitol)	171
Tab. 100: Koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 10g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 5% mannitolu....	172
Tab. 101: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol)	173
Tab. 102: Koncentrování roztoku koloidního stříbra s 0,1% BSA po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 5% mannitolu .....	174
Tab. 103: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% BSA, 5% mannitol).....	175
Tab. 104: Koncentrování roztoku koloidního stříbra s 0,1% PEI-PEO po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 5% mannitolu .....	176
Tab. 105: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% PEI-PEO, 5% mannitol) .....	177
Tab. 106: Roztoky koloidních částic stříbra s PEI-PEO a BSA - stabilitní test	178
Tab. 107: Povrchové napětí vzorků o různé konc. sójového lecitinu.....	180
Tab. 108: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci polysorbátu .....	180
Tab. 109: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci poloxameru Px 407.	181
Tab. 110: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci sójového lecitinu a 0,5% druhého tenzidu .....	182
Tab. 111: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci sójového lecitinu a 0,25% druhého tenzidu .....	182
Tab. 112: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci vaječného lecitinu a 0,5% druhého tenzidu .....	183
Tab. 113: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci vaječného lecitinu a 0,25% druhého tenzidu .....	184
Tab. 114: Povrchové napětí 1,5% PVA o různých molekulových hmotnostech .....	184
Tab. 115: Povrchové napětí 3% PVA o různých molekulových hmotnostech	185

## Seznam obrázků

Obr. 1 Klasifikace biodegradabilních polymerů (zdroj: Reza Arshady, Biodegradable polymers, Vol 2, Citus Limited, London 2003, str. 7).....	25
Obr. 2: Chemická struktura biodegradabilních polyhydroxy kyselin (zdroj vlastní).....	26
Obr. 3: Uspořádání pokusu pro měření velikosti a zeta potenciálu částic-ZetaSizer ZS (zdroj: ZetaSizer Manuál, Malvern Instruments UK) .....	33
Obr. 4: Schéma elektrického náboje na částici suspendované v elektrolytu (zdroj: ZetaSizer Manuál, Malvern Instruments, 2003, Worcestershire, UK) .....	34
Obr. 5: Isoelektrický bod (zdroj: ZetaSizer Manuál, Malvern Instruments, 2003, Worcestershire, UK).....	35
Obr. 6: Schématické znázornění měření kroužkem (zdroj: manuál K-100 tenziometr Kruss, str. 66) .....	36
Obr. 7: Schématické znázornění měření destičkou (zdroj: manuál K-100 tenziometr Kruss, str.69) .....	37
Obr. 8: Sprejové sušení-otevřený cyklus (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, <a href="http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf">http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf</a> cit 28.8.2007) .....	40
Obr. 9: Sprejové sušení-uzavřený cyklus (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, <a href="http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf">http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf</a> cit 28.8.2007) .....	40
Obr. 10: Sprejové sušení-polo-uzavřený cyklus (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, <a href="http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf">http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf</a> cit 28.8.2007) .....	41
Obr. 11: Sprejové sušení-aseptický proces (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, <a href="http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf">http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/\$file/GB_Spray_Drying.pdf</a> cit 28.8.2007) .....	41
Obr. 12: Markovy-Houwinkovy diagramy lineární poly(DL-mléčné kyseliny) získané čtyřnásobně opakovanou analýzou.....	47
Obr. 13: Markovy-Houwinkovy diagramy pro poly(DL-mléčnou kyselinu) (zelená) a oligoestery obsahující 3 % větvičího monomeru: P3 (fialová), T3 (modrá) a A3 (červená). .....	48
Obr. 14: Schématické znázornění provedeného experimentu (zdroj: autor (vlastní)) .....	50
Obr. 15: Ukázka grafu distribuce velikosti částic (v nm) podle intenzity rozptýleného paprsku (zdroj: autor (vlastní)).....	51
Obr. 16: Ukázka grafu velikosti částic podle objemové distribuce (zdroj: autor (vlastní)) .....	51
Obr. 17: Ukázka grafu velikosti částic podle číselné distribuce (zdroj: autor (vlastní)) .....	51
Obr. 18: Ukázka grafu distribuce zeta potenciálu (zdroj: autor (vlastní)).....	52
Obr. 19: Ukázka grafu distribuce elektroforetické mobility (zdroj: autor (vlastní)) .....	52
Obr. 20: Schématické znázornění provedeného experimentu (zdroj: autor (vlastní)) .....	55

Obr. 21: Schématické znázornění provedení stabilitních pokusů (zdroj: autor (vlastní)) .....	58
Obr. 22: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C.....	61
Obr. 23: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C.....	62
Obr. 24: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	63
Obr. 25: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	64
Obr. 26: Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C.....	65
Obr. 27: Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C.....	66
Obr. 28: Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	67
Obr. 29: Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	68
Obr. 30: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - plocha.....	70
Obr. 31: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - tvarový faktor .....	71
Obr. 32: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C – střední Feretův průměr .....	72
Obr. 33: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - maximální Feretův průměr .....	73
Obr. 34: Histogram pro mikročástice z 2,5% mannitolu.....	75
Obr. 35: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu.....	76
Obr. 36: Histogram pro mikročástice z 7,5% mannitolu.....	77
Obr. 37: Histogram pro mikročástice z 10% mannitolu.....	78
Obr. 38: Histogram pro mikročástice z 12,5% mannitolu.....	79
Obr. 39: Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu.....	80
Obr. 40: Mikročástice z 2,5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1 .....	82
Obr. 41: Mikročástice z 5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1 .....	82
Obr. 42: Mikročástice z 7,5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1 .....	82
Obr. 43: Mikročástice z 10% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1 .....	83
Obr. 44: Mikročástice z 12,5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1 .....	83
Obr. 45: Mikročástice z 15% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1 .....	83
Obr. 46: Částice po sušení (vzorek B).....	84
Obr. 47: Rozložení velikosti částic (vzorek B) .....	85
Obr. 48: Částice po sušení (vzorek D).....	86
Obr. 49: Rozložení velikosti částic (vzorek D) .....	87
Obr. 50: Částice po sušení (vzorek E).....	87
Obr. 51: Rozložení velikosti částic (vzorek E).....	88

Obr. 52: Částice po sušení (vzorek F) .....	89
Obr. 53: Rozložení velikosti částic (vzorek F).....	89
Obr. 54: Histogram pro mikročástice z 9% mannitolu, 1% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	90
Obr. 55: Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	91
Obr. 56: Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	92
Obr. 57: Histogram pro mikročástice z 10% mannitolu, 1,2% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	94
Obr. 58: Histogram pro mikročástice z 10% mannitolu, 0,6% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	95
Obr. 59: Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C.....	96
Obr. 60: Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.....	97
Obr. 61: Mikročástice z 5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C .....	98
Obr. 62: Mikročástice z 5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 120°C .....	98
Obr. 63: Mikročástice z 9% mannitolu a 1% Litesse, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 120°C .....	98
Obr. 64: Částice z 9% mannitolu a 1,5% polysorbátu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 120°C .....	99
Obr. 65: Vliv tenzidu a typu nosiče na velikost nanočástic .....	100
Obr. 66: Vliv tenzidu a typu nosiče na zeta potenciál nč. ....	101
Obr. 67: Vliv koncentrace terbinafinu a typu nosiče na velikost nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu .....	102
Obr. 68: Vliv koncentrace baze terbinafinu a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu .....	102
Obr. 69: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na velikost nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi .....	103
Obr. 70: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi .....	104
Obr. 71: Vliv 1,5% lecitinu a baze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic.....	105
Obr. 72: Vliv 1% lecitinu a baze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic.....	106
Obr. 73: Vliv 0,75% lecitinu, 0,25% Pso a baze terb. 0%, 10%, 20% a 30% na velikost a zeta pot. částic.....	107
Obr. 74: Vliv koncentrace lecitinu a Pso na velikost a zeta pot. částic (30% baze terb., 1% PDLLA) .....	108
Obr. 75: Parametry nanočástic připravených pomocí 0,25% lecitinu a 0,06% Pso, 10% terb. baze; vliv koncentrace lecitinu v organické fázi.....	109
Obr. 76: Vliv původu lecitinu na velikost a zeta potenciál částic .....	109
Obr. 77: Vliv původu 0,5% lecitinu v kombinaci s 0,5% Pso na velikost a zeta potenciál částic .....	110
Obr. 78: Vliv koncentrace vaječného lecitinu a Pso na velikost a zeta potenciál částic.....	111

Obr. 79: Vliv různých poloxamerů v kombinaci s vaječným lecitinem na velikost a zeta pot. částic .....	112
Obr. 80: Rozdíl vlivu sójového a vaječného lecitinu v kombinaci s Pso na velikost a zeta pot. částic .....	113
Obr. 81: Vliv různých koncentrací tenzidu a lecitinu na velikost částic .....	114
Obr. 82: Vliv koncentrace lecitinu samotného a v kombinaci s Pso na velikost částic .....	114
Obr. 83: Vliv různých koncentrací lecitinu a Pso a přídavku NaOH na velikost a zeta potenciál částic .....	115
Obr. 84: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti DCM jako rozpouštědlo vnitřní fáze .....	116
Obr. 85: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, CHCl <sub>3</sub> jako rozpouštědlo vnitřní fáze .....	117
Obr. 86: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, DCM:CHCl <sub>3</sub> v poměru 1:1 jako rozpouštědlo vnitřní fáze.....	118
Obr. 87: Vliv molekulové hmotnosti PVA a použitého rozpouštědla vnitřní fáze (1,5% PVA) .....	119
Obr. 88: Vliv molekulové hmotnosti PVA a použitého rozpouštědla vnitřní fáze (3% PVA) .....	119
Obr. 89: Zeta potenciál částic v závislosti na 1,5% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze .....	120
Obr. 90: Zeta potenciál částic v závislosti na 3% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze .....	120
Obr. 91: Vliv koncentrace soli chitosanu na hodnoty zeta potenciálu .....	121
Obr. 92: Distribuce velikosti nanočástic, 0% terbinafin, koncentrování s PAPA .....	122
Obr. 93: Distribuce velikosti nanočástic, 10% terbinafin, koncentrování s PAPA .....	122
Obr. 94: Distribuce velikosti nanočástic, 10% terbinafin, bez koncentrování .	123
Obr. 95 Koncentrování nč bez terbinafinu .....	123
Obr. 96: Koncentrování nanočástic s 10% bazí terbinafinu .....	123
Obr. 97: Nanočástice s 10% bazí terbinafinu bez koncentrování.....	124
Obr. 98: Vliv koncentrace mannitolu po opětovné dispergaci nanočástic do vodné disperze na jejich parametry .....	125
Obr. 99: Schéma přípravy nanočástic stabilizovaných 1% hydrolyzátem želatiny .....	125
Obr. 100: Schéma přípravy nanočástic stabilizovaných 1% hydrolyzátem želatiny ve vnější fázi nanoemulze.....	126
Obr. 101: Distribuce velikosti částic (v nm) podle intenzity rozptýleného paprsku 10% terbinafin, 1% hydrolyzát želatiny ve vnější fázi při dispergaci.....	126
Obr. 102: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 3P.....	128
Obr. 103: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 3D .....	128
Obr. 104: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 3T.....	128
Obr. 105: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty PLGA 50:50 .....	129

Obr. 106: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty PDLLA .....	129
Obr. 107: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 5P.....	130
Obr. 108: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 5D.....	130
Obr. 109: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 5T .....	130
Obr. 110: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C 3P .....	131
Obr. 111: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C 3D .....	132
Obr. 112: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C 3T .....	132
Obr. 113: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C PLGA 50:50 .....	132
Obr. 114: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C PDLLA .....	133
Obr. 115: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 3P.....	134
Obr. 116: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 3D.....	134
Obr. 117: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 3T .....	135
Obr. 118: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C PLGA 50:50 .....	135
Obr. 119: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C PDLLA .....	135
Obr. 120: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 5P.....	136
Obr. 121: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 5D.....	136
Obr. 122: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 5T .....	137
Obr. 123 : Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 3P.....	138
Obr. 124: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 3D.....	138
Obr. 125: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 3T .....	138
Obr. 126: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C PLGA 50:50 .....	139
Obr. 127: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C PDLLA .....	139
Obr. 128: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 5P.....	140
Obr. 129: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 5D.....	140
Obr. 130: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 5T .....	140
Obr. 131: Histogram a fotografie mikročástic s 3P nanočásticemi.....	142
Obr. 132: Histogram a fotografie mikročástic s 3D nanočásticemi .....	142
Obr. 133: Histogram a fotografie mikročástic s 3T nanočásticemi.....	142
Obr. 134: Histogram a fotografie mikročástic s PLGA 50:50 nanočásticemi..	143
Obr. 135: Histogram a fotografie mikročástic s PDLLA nanočásticemi .....	143
Obr. 136: Histogram a fotografie mikročástic s 5P nanočásticemi.....	143
Obr. 137: Histogram a fotografie mikročástic s 5D nanočásticemi .....	144
Obr. 138: Histogram a fotografie mikročástic s 5T nanočásticemi.....	144
Obr. 139: Stabilita nanočástic – polydisperzita.....	146
Obr. 140: Stabilita nanočástic – velikost.....	146
Obr. 141: Stabilita nanočástic – zeta potenciál .....	146
Obr. 142: Schematické znázornění experimentu.....	147
Obr. 143: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C pro 3D .....	148
Obr. 144: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C PLGA 50:50 .....	148



Obr. 145: Distribuce velikosti částic vzorku č. 1 .....	149
Obr. 146: Distribuce zeta potenciálu částic vzorku č. 1 .....	149
Obr. 147: Distribuce velikosti částic vzorku č.2 .....	150
Obr. 148: Distribuce Zeta potenciálu vzorku č.2 .....	150
Obr. 149: Kinetika koncentrování koloidního stříbra vzorek č. 1 a č. 2 .....	151
Obr. 150: Kinetika koncentrování při 22°C +/- 2°C .....	152
Obr. 151: Kinetika koncentrování při 8°C +/- 2°C .....	152
Obr. 152: Kinetika koncentrování při 37°C +/- 2°C .....	152
Obr. 153: Kinetika koncentrování s přísadkou 1% stabilizátoru: Px 407 a hydrolyzátu želatiny a 0,5% PVA 20 .....	153
Obr. 154: Stabilita Ag nč. s 1% Px 407 v roztoku mannitolu .....	154
Obr. 155: Stabilita Ag nč. s 1% hydrolyzátem želatiny v roztoku mannitolu..	154
Obr. 156: Stabilita Ag nč. s 0,5% PVA 20 v roztoku mannitolu .....	155
Obr. 157: Vliv 5% mannitolu na velikost a zeta pot. částic při různých teplotách .....	155
Obr. 158: Úbytek nanodisperze v čase .....	157
Obr. 159: Kinetika agregace - změna velikosti částic .....	158
Obr. 160: Kinetika agregace – zeta potenciál.....	158
Obr. 161: Rozložení velikosti částic - střední průměr, Nekonzentrovaný roztok .....	159
Obr. 162: Obrázek z mikroskopu - Nekonzentrovaný roztok .....	160
Obr. 163: velikosti částic - střední průměr, Disperze stříbra po koncentrování	160
Obr. 164 : Snímek z mikroskopu, Disperze stříbra po koncentrování .....	161
Obr. 165: Velikosti částic - střední průměr, 0,03% Chitosan.....	162
Obr. 166: Snímek z mikroskopu - 0,03% Chitosan.....	163
Obr. 167 : velikosti částic - střední průměr, 0,01% Hydrolyzát želatiny .....	164
Obr. 168: 0,01% Hydrolyzát želatiny .....	165
Obr. 169: Hmotnost roztoku během koncentrování .....	166
Obr. 170: Odsáté množství každou hodinu (ne-kumulativně).....	167
Obr. 171: Velikost částic během koncentrování.....	169
Obr. 172: Vývoj zeta potenciálu během koncentrování .....	169
Obr. 173: Částice po sušení (roztok koloidního stříbra, 10% mannitol) .....	170
Obr. 174: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 10% mannitol) .....	171
Obr. 175: Částice po sušení (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol) .....	172
Obr. 176: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol)	173
Obr. 177: Částice s 0,1% BSA po sušení (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol).....	174
Obr. 178: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% BSA, 5% mannitol).....	175
Obr. 179: Částice s 0,1% PEI-PEO po sušení (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol).....	176
Obr. 180: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% PEI-PEO, 5% mannitol) .....	177
Obr. 181: Zeta potenciál částic v roztocích s BSA a PEI-PEO .....	179
Obr. 182: Velikost částic v roztocích s BSA a PEI-PEO .....	179
Obr. 183: Povrchové napětí vzorků o různé konc. sójového lecitinu.....	180
Obr. 184: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci polysorbátu .....	181
Obr. 185: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci poloxameru Px 407.	181

Obr. 186: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci sójového lecitinu a 0,5% druhého tenzidu .....	182
Obr. 187: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci sójového lecitinu a 0,25% druhého tenzidu.....	183
Obr. 188: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci vaječného lecitinu a 0,5% druhého tenzidu.....	183
Obr. 189: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci vaječného lecitinu a 0,25% druhého tenzidu.....	184
Obr. 190: Povrchové napětí 1,5% PVA o různých molekulových hmotnostech .....	184
Obr. 191: Povrchové napětí 3% PVA o různých molekulových hmotnostech	185

## Použité zkratky

ABI-007	ABRAXANE™
CNS	Centrální nervový systém
DCM	Dichlormethan
DSC	Differential scanning calorimetry (diferenciální skenovací kalorimetrie)
FDA	Food and Drug Administration
GIT/GIS	Gastrointestinal tract/Gastrointestinální systém
HEMA	2-hydroxyethylmethakrylát
HIC	hydrofobní interaktivní chromatografie
HIV	Human immunodeficiency virus
i.v.	intravenózní podání
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
LD	Laser diffractometry (laserová difraktometrie)
LEC,L	Lecitin
MMA	methylmethacrylate
MPS	mononuclear phagocytic system (mononukleární fagocytární systém)
p.o.	perorální podání
PCA	Polycyanoacrylate
PCS	Photon correlation spectroscopy (fotonová korelační spektroskopie)
PDLLA	poly(D,L-mléčná) kyselina
PIBCA	poly(isobutylcyanoacrylate)
PIHCA	poly(hexylkyanoakrylát)
PLGA	Polymléčná co glykolová kyselina
PMMA	poly(methylmethacrylate)
Pso	Polysorbát
PVA	Polyvinyl alkohol
Px	Poloxamery (Pluronic 407, 6400, 6800) v lekopisu
SEC-MALS	Size Exclusion Chromatography with Multi-Angle Light Scattering
TERB baze	Terbinafin baze
WAXS	Širokouhlový rozptyl X – záření (wide X-ray analysis)

## Abstrakt

Důležitou součástí dnešního farmaceutického výzkumu se stalo „drug delivery“, tzn. cílení účinku léčiv v lidském těle. Pro přípravu takových systémů, jako jsou například nanočástice, jsou používány speciální postupy a specifické, na míru šité sloučeniny, většinou použité jako nosiče účinných látek.

V této práci jsme studovali vliv parametrů ovlivňujících velikost nanočástic a jejich zeta potenciál. Nanočástice jsme připravovali metodou rozdělování a odpařování rozpouštědla z biodegradabilních polymerů PDLLA (poly-D,L mléčné kyseliny) a dalších polyesterů větvených mannitolem nebo pentaerythritolem, které byly syntetizovány na školícím pracovišti. Polymery byly rozpouštěny v organických rozpouštědlech: dichlormethanu, chloroformu a jejich směsi v poměru 1:1. Jako emulgátory byly použity tyto sloučeniny: poloxamery a polyvinylalkoholy různých molekulových hmotností, dále pak polysorbát 20, lecitin sójový a vaječný. Nanoemulze byla připravena pomocí ponorného homogenizátoru s rotorem a statorem. Byly měřeny velikost nanočástic a jejich zeta potenciál.

Tato studie ukázala, že je možné připravit různě veliké nanočástice s malou polydisperzitou o různých hodnotách zeta potenciálu, za použití běžného homogenizátoru laboratorní metodou rozdělování a odpařování rozpouštědla. Jako nejvhodnější kombinace tenzidů se ukázala být kombinace 0,5% sójového lecitinu a 0,5% poloxameru 6800 nebo polysorbátu. Nejvhodnějším z testovaných rozpouštědel byl dichlormethan. Z dílčích výsledků se ukázalo jako zajímavé srovnání vaječného a sójového lecitinu. Oba dva typy lecitinu poskytují stejně veliké nanočástice, výrazně se však liší zeta potenciálem. Nanočástice s vaječným lecitinem nedosahují hodnot -22 mV, zatímco částice se sójovým lecitinem se pohybují nad hranicí stability -35 mV. Použití polyvinylalkoholů se řídí závislostí čím nižší molekulová hmotnost tím menší částice vznikají.

Tato metoda se hodí pro přípravu jak prázdných nanočástic, tak částic obsahujících lipofilní léčivou látku (v našem případě bylo použito antimykotikum terbinafin). Mezní koncentrace, kterou již systém není schopený pojmout je 30 % terbinafinu baze.

Druhým objektem zájmu této práce byla příprava a koncentrování nanočástic stříbra. Po přípravě je disperze stříbrných částic příliš zředěná pro další mikrobiologické testování, proto jsme se ji pokusili koncentrovat pomocí PAPA (poly(akrylát-co-vinylalkoholu)).

Dalším krokem pro stabilizování vodné disperze, bylo sušení společně s nosičem – mannitolem a dalšími stabilizátory, pomocí sprejové sušárny. Při sušení a následné dispergaci zpět do vodného systému docházelo ke změnám ve velikosti částic a v jejich zeta potenciálu. Změny byly výraznější u částic stříbra než u polymerních nanočástic. Nižší teplota bránila agregaci částic stříbra během přidání mannitolu. Naopak vyšší teplota zrychlovala termický pohyb a urychlovala agregaci částic. Mikročástice byly studovány z hlediska velikosti a dalších granulometrických parametrů. Následně byly redispergovány zpět do roztoku a byla sledována stabilita nanočástic po usušení a redispergaci. Stabilitu jsme ovlivnili přidáním stabilizátorů. Jako nejvhodnější se ukázal bovinní sérový albumin, který udržel velikost i zeta potenciál na původních hodnotách.

Při testování vlivu povrchového napětí na parametry vznikajících částic jsme přišli na závislost čím vyšší je povrchové napětí tím menší nanočástice vznikaly. Jako optimální se potvrdila kombinace 0,5% sójového lecitinu a 0,5% poloxameru 6800.

## Abstract

Drug delivery as modern way of therapeutic application is important goal of contemporary pharmaceutical research. The very specific tailor-made drug carriers and special working methods are used. Parameters which potentially influence nanoparticle size distribution and their zeta potential were studied. Nanoparticles were prepared by emulsion solvent distribution-evaporation method from commercially available, biocompatible and biodegradable polymer PDLLA (poly (DL-lactic acid)) and other polyesters branched on mannitol or pentaerythritol and polyurethanes synthesized at workplace. Polymers were dissolved in different organic solvents (dichloromethane, chloroform or mixture of both in mass ratio 1:1). Poloxamers and polyvinyl alcohol with different molecular weight and different degree of hydrolysis, polysorbate 20, and lecithin from soya bean or from eggs as emulsifying agent were used. Nanoemulsion was prepared by homogenizer with stator and rotor. Particle size and zeta potential was measured by Zetasizer. This study demonstrates that monodisperse nanoparticles can be prepared by emulsion solvent distribution-evaporation method in various composition of organic and also aqueous phase. Dispersion process is modified by organic solvent and emulsifier used. Zeta potential was influenced by composition of aqueous phase and depends on charge of adsorbed surfactant. As the most suitable combination of tensides was evaluated combination of 0,5% soya lecithin and 0,5% poloxamer 6800 or polysorbate 20. The most convenient solvent is dichloromethane. From partial results was the most interesting comparison of soya and egg lecithin. Both of lecithins has same distribution of size. They differs in zeta potential. Eggs lecithin nanoparticles have zeta potential up to -22 mV. Soya lecithin nanoparticles have zeta potential over border of stability -35 mV. For polyvinylalcohol as a tenside is valid the lower molecular weight the smaller particles arise. This technique is suitable for preparation of empty nanoparticles or for nanoparticles with incorporated liposoluble drugs (in this thesis for example antimycotic terbinafin). Boundary concentration for the terbinafin is 30%.

Second subject of interest was silver nanoparticles – their preparation and concentration. After preparation is silver dispersion too diluted and for

microbiological testing doesn't have adequate concentration. We tried to concentrate it by superabsorption PAPA polymers poly(acryl-co-vinylalcohol).

Next step was stabilization of aqueous dispersion. Samples were spray dried together with carrier – mannitol and other stabilizers. Size and zeta potential changed after spray drying and redispersion. Changes were more pronounced at silver nanoparticles than at polymeric particles. Lower temperature protect particles against aggregation. On the contrary higher temperature accelerated thermic movement of particles and accelerated their aggregation. Size distribution and zeta potential of microparticles were studied. After examination were samples dispersed to the solution and stability was evaluated.

We studied surface tension and parameters which influence size and zeta potential of rising particles. Stability of particles was influenced by stabilizers. Bovine serum albumine was the most convenient stabilizer. The size and zeta potential stayed same as before drying.

We found out the higher surface tension the smaller nanoparticles rise. We confirmed as the most optimal combination of tensides is combination of 0,5% soya lecithin and 0,5% poloxamer 6800.

## Cíl projektu

- Cílem této práce byla příprava polymerních částic v rozmezí 100-500 nm (ideálně o velikosti kolem 200 nm), za použití různě větvených polymerů, odvozených od kyseliny poly DL mléčné a glykolové, větvených cukernými alkoholy jako je mannitol, pentaerytritol, dipentaerytritol a tripentaeritrytol.
- Dalším cílem byl výběr vhodného emulgátoru a vhodného rozpouštědla, popřípadě směsi rozpouštědel pro organickou fázi.
- U vzniklých nanočástic byla zkoumána velikost, zeta potenciál (nanočástice byly připraveny metodou rozdělávání a odpaření rozpouštědla) a z těchto údajů byly odvozovány závěry o účinnosti metody a vhodnosti použitých polymerů. Zároveň s tím bylo zjišťováno povrchové napětí použitých roztoků tenzidů a byly zkoumány vztahy mezi povrchovým napětím vodné fáze a velikostí výsledných nanočástic. Cílem této části projektu bylo nalezení vztahů mezi velikostí, strukturou, nábojem a použitými polymery, tenzidy, rozpouštědly a metodikou přípravy.
- Dalším krokem byla stabilizace celého systému. Vodná disperze nanočástic je systém naprosto nevhodný pro dlouhodobé uchování částic, proto jsme se rozhodli disperzi vodnou převést na disperzi pevnou.
- Byla sledována interakce nanočástic zabudovaných do mikročástic s vodným roztokem pufru, tedy následná redispersgace systému zpět do vodného prostředí.
- Druhou variantou, všech výšše uvedených bodů, bylo použití stříbrných nanočástic.



# 1 Úvod

V posledních deseti letech vzrůstá zájem o nanovědy obecně [1]. Nicméně nanočástice se používaly již ve starověku, aniž by o jejich podstatě mělo lidstvo tušení. Důkazem, pro toto tvrzení, je takzvaný Lycurgský kalich nalezený v Římě, pocházející ze 4. stol. našeho letopočtu. Je vyrobený ze skla barveného nanočásticemi zlata a díky koloidní podstatě zlaté disperze ve skle má odlišné optické vlastnosti: v procházejícím světle se jeví jako čiré sklo vínové barvy; v odraženém světle je opalescenčně zelený [2]. Fyzikální vysvětlení poskytl v roce 1908 Gustav Mie. Výzkum nanočástic započal již před rokem 1972 kdy Scheffel a kol. připravili denaturací albuminu první biodegradabilní nanočástice [3]. Na ně navázali další. Roku 1976 Birrenbach a Speiser připravili polymerační reakcí první polyakrylamidové nanočástice [4]. Nové, rychle se rozvíjející odvětví bylo zapotřebí pojmenovat a proto v obecnou platnost vzešel termín nanotechnologie poprvé použitý Prof. Norio Taniguchim roku 1974 [5]. Velikost nanočástic je doporučením IUPACu definovaná v rozmezí 1 – 100 nm [6]. Toto doporučení bylo mířeno spíše pro technické obory. Pro farmacii a příbuzné biologické vědy bylo rozmezí rozšířeno směrem nahoru a za nanočástice jsou považovány částice o velikosti do 1000 nm [7]. V intervalu od 1  $\mu\text{m}$  výše se nachází mikročástice. Obojí, jak nano-, tak i mikročástice vznikají z různých materiálů a za použití různých metod přípravy. V současnosti převládají biodegradabilní materiály, které jsou kompatibilní s živou tkání a časem v organismu degradují na odbouratelné produkty např.: poly DL mléčná kyselina PDLLA, poly mléčná co-glykolová kyselina PLGA, z přírodních látek pak chitosan, želatina, alginát sodný apod. Výzkum se i nadále zabývá nedegradabilními syntetickými polymery jako je nejčastěji používaný polyakrylát (PCA).

Použití nano- a mikročástic je široké. Důvodů proč je využívat, je také mnoho. Pro příklad uveďme jen několik z nich. Jejich vlastnosti jsou často kvalitativně nové a nečekané [8]. Nosičové systémy v sobě uzavírají poměrně velká množství účinné látky [9], tím ji chrání před okolním prostředím, před oxidačním působením vzdušného kyslíku a slunečním zářením, maskují chuť či zápach a brání možným inkompatibilitám. Zároveň ji transportují organismem na specifické místo, orgán či receptor. Navázáním specifických protilátek, antigenů a jiných imunitně aktivních látek můžeme docílit aktivního targetingu. Tím, že je účinek zacílen jen na určitou tkáň, se redukuje vedlejší a nežádoucí účinky, klesá celkové množství podaného léčiva a stoupá pozitivní efekt léčby. Mikročástice se dají snadno lisovat do tablet a usnadňují technologické zpracování ve výsledný produkt, zároveň poskytují přípravky s prolongovaným efektem a dají se snadno upravit do acidorezistentní podoby (viz mikropelety v prolongovaných tobolkách vitamínu C, některá antiepileptika např. Depakine Chrono [10], dispergovatelné tablety Lamotriginu apod.

Nanočástice na rozdíl od mikročástic nejsou ještě stále v běžném použití z důvodů obtížné výroby standardních šarží, které by neohrožovali život pacienta embolizací kapilár. Jediný přípravek, který se v současné době vyskytuje na trhu je Abraxane<sup>®</sup>. Je to suspenze albuminových nanočástic s enkapsulovaným paclitaxelem, určená pro léčbu karcinomu prsu [11].

Výzkum se zabývá tvorbou nanočástic jak z biodegradabilních tak i ze syntetických nedegradabilních polymerů jako nosičů různých léčivých látek od inzulínu [12], antibiotik, antineoplastik [13], přes vakcíny [14] a hormony až po proteiny, peptidy [15] a geny určené pro genovou terapii [16]. Současně s tím

probíhá vývoj nových metod přípravy a stabilizace těchto částic. Vodné disperze jsou termodynamicky nestálé a s narůstajícím časem se zvyšuje riziko ireverzibilní agregace částic. Použití nestabilizovaných disperzí nepřipadá v úvahu pro možné poškození zdraví pacienta. Proto jsme se v této práci soustředili nejenom na přípravu nanočástic z různých polymerů a částic stříbra, ale také na stabilizaci vzniklé vodné disperze a na další zpracování ve výsledný produkt, který by bylo možné skladovat a transportovat v rozumném časovém horizontu.

## 2 Teoretická část

### 2.1 Polymerní nanočástice

#### **Příprava nanočástic**

Od doby kdy byly nanočástice poprvé připraveny metodou vysolení z roztoku albuminu (Scheffel a kol.) roku 1972 a kdy byly poprvé připraveny první nanočástice ze syntetického polymeru-polyakrylamidu (Birrenbach a Speiser 1976) uplynulo již mnoho let [17]. Během tohoto období bylo učiněno mnoho objevů jak v polymerní chemii tak v podobě objevů nových metodik přípravy koloidních částic. Nejčastěji citovanou metodou přípravy se stala metoda odpaření a rozdělení rozpouštědla [18]. Jako druhá nečastější zůstala metoda polymerace *in situ* [19]. Mezi disperzní metody se kromě odpaření rozpouštědla řadí spontánní emulgace, koacervace, příprava nanočástic extruzí a příprava nanočástic pomocí nadkritických kapalin. Mezi reakce *in situ* se řadí emulzní polymerace a polykondenzace na mezifázi.

**Metoda rozdělování a odpaření rozpouštědla:** Ekonomicky a technicky nenáročná metoda přípravy polymerních částic. Polymery jsou rozpuštěny v organickém rozpouštědle (dichlormethan, chloroform, aceton, ethylacetát, apod.) Léčivá látka je rozpuštěna nebo dispergována v organické fázi nebo ve vodné fázi, podle svého charakteru. V následné emulgaci za pomoci vhodných emulgátorů (lecitin, poloxamer, polysorbát, polyvinylalkohol, polyethylenimin apod.) [20] vzniká nanoemulze, která se po určitém čase mění na nanodisperzi pevných částic. Je to způsobeno přerozdělením organického rozpouštědla z vnitřní fáze do vnější a následného odpaření do okolí. Tím jak z vnitřní fáze unikne rozpouštědlo, v kapkách nanoemulze zůstane pouze pevný polymerní nosič a účinná látka. Velikost částic se dá ovlivnit koncentrací polymeru, výběrem emulgátoru a jeho koncentrací a viskozitou vnitřní i vnější fáze.

**Spontánní emulgace-difúze rozpouštědla:** V rámci této metody jsou použita s vodou se mísící rozpouštědla jako aceton nebo methanol spolu s ve vodě nerozpustnými rozpouštědly jako dichlormethan nebo chloroform, která slouží jako olejová fáze. Díky spontánní difúzi ve vodě rozpustného rozpouštědla se na rozhraní dvou fází vyvolá interfaciální turbulence, která vede ke vzniku malých částic. S klesající koncentrací ve vodě rozpustného rozpouštědla se docílí snížení velikosti částic [21].

**Koacervace: fázová separace a vysolování:** Obě předchozí metody využívají organická rozpouštědla, jejichž stopy v léčivech jsou striktně kontrolovány a jsou pro ně stanoveny přísné limity kompetentními úřady pro kontrolu léčiv, včetně FDA [22] Oproti tomu metoda koacervace a vysolování nevyžaduje použití toxických rozpouštědel. Makromolekuly jsou vysolovány z roztoku změnou náboje, změnou pH, či přidávkem vysolovacího činidla nebo termodynamicky horšího rozpouštědla-srážedla jako je např. ethanol nebo aceton [23], [24], [25], [26], [27]

**Sít'ování (cross linking)** je metoda stabilizace již vzniklých částic. Sít'ování zpevňuje strukturu a brání rychlému rozpadu částic. Příklady sít'ování: želatina

denaturovaná glutardialdehydem, alginát s CaCl<sub>2</sub>, albumin denaturovaný v přehřátém oleji 100-180°C, polyethylen zesíťovaný peroxidy [28], [29].

**Extruze:** Je vytlačování organického roztoku polymeru společně s vodnou fází přes trysku v několika cyklech za sebou pod vysokým tlakem. Při dostatečném počtu opakování vzniká emulze v nano rozměrech. Tato metoda se využívá nejvíce pro solid-lipid nanoparticles [30].

**Příprava nanočástic metodou využívající nadkritické kapaliny (SCF):** Nadkritické kapaliny (SCF) se staly atraktivní alternativou k předchozím metodám, protože jejich příprava nezatěžuje životní prostředí rozpouštědly a s jejich pomocí se dají získat částice vysoké kvality bez stop organických rozpouštědel [31].

SCF jsou vysokostlačené plyny, které kombinují vlastnosti plynu a kapaliny. SCF je substance, která překročila kritickou teplotu ( $T_c$ ) a tlak ( $P_c$ ). Superkritický bod představuje kombinaci podmínek teploty a tlaku, za kterých substance existuje v rovnováze mezi plynnou a kapalnou fází. Nejběžněji používanou SCF je oxid uhličitý. Když je dosaženo superkritického bodu, CO<sub>2</sub> se změní z kapalného skupenství v SCF kapalinu.

Metoda rychlé expanze superkritického roztoku (Rapid Expansion of Supercritical Solution, RESS) spočívá v tom, že rozpouštěná látka je solubilizována v SCF a takový roztok je expandován přes trysku. V důsledku toho se rozpouštěcí vlastnosti SCF sníží a SCF přejde do plynného skupenství. Rozpuštěná látka následně precipituje. Precipitovaná látka neobsahuje žádné rozpouštědlo. Bohužel většina polymerů je velice omezeně rozpustná nebo prakticky nerozpustná v SCF, zvláště ty o větší molekulové hmotnosti. To limituje využitelnost této metody.

Využití nadkritických srážedel (SAS): za vysokého tlaku dostatečné množství srážedla vstoupí do kapalné fáze a tím se sníží rozpouštěcí schopnost roztoku a rozpouštěná látka precipituje. Po precipitaci a dosažení konečného pracovního tlaku srážedlo cirkuluje v nádrži a absorbuje zbytky rozpouštědla. Po redukci obsahu rozpouštědla je tlak v nádobě vyrovnán s atmosférickým tlakem a precipitát je izolován.

**Emulzní polymerace:** Polymerizační reakce může probíhat buď ve spojitě vnější vodné fázi, kde jsou molekuly monomeru rozpuštěny (to se týká např. polymethyl metakrylátu, polykyanoakrylátu, a dalších kopolymerů akrylové kyseliny) [32][33] nebo může reakce probíhat ve vnitřní organické fázi. Tato metoda je vhodná zvláště pro hydrofilní monomery, které se rozpouští ve velmi malém množství vodné fáze a dispergují se v organické fázi. Ani jedna z těchto metod není ideální pro přípravu nanočástic z důvodů většího množství reziduí organických rozpouštědel ve výsledném produktu.

I přes jejich nedostatky, kterými jsou jejich nízké pH (okolo 2) a cytotoxicita [34] si ně z PACA (polyakryl-kyanoakrylátu) získaly oblibu. Tyto nedostatky vedly dále k syntéze nových monomerů typu dialkyl esterů methylen malonové kyseliny a nanočástice z polymethylenmalonátu, PDEMM. Nanočástice z těchto polymerů nejsou biodegradabilní in-vitro, ani in-vivo [35][36]. Aby byl vyřešen tento problém, byly syntetizovány nové deriváty PDEMM, jmenovitě ethyl-2-ethoxykarbonylmethylenoxykarbonylakrylát. Částice z těchto monomerů byly připraveny stejnou metodou jako PACA ně, tj.

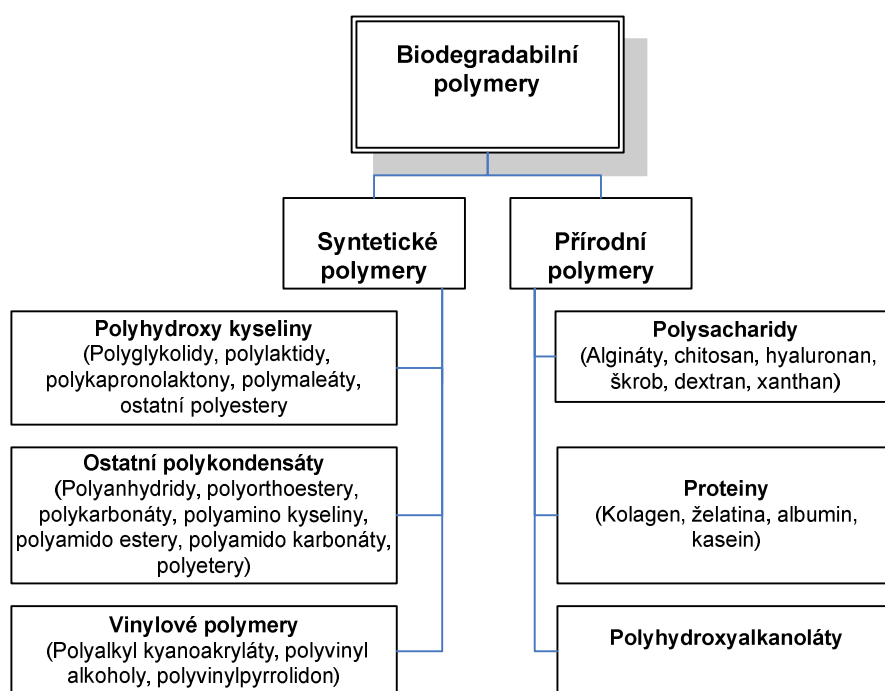
aniontovou polymerizací [37]. pH polymerizačního media zásadně ovlivňuje fyzikálně-chemické vlastnosti nanočástic. Částice o minimalní velikosti byly připraveny v prostředí o pH 5.5 – 6.0 ve srovnání s pH 2.0, které je optimální pro nč PBCA a pH 7.6, které je optimální pro PDEMM.

**Nanočástice připravené z hydrofilních polymerů:** Hydrofilní polymery jako je chitosan, želatina, alginát sodný apod. mají několik nesporných výhod (nevyžadují při přípravě použití organických rozpouštědel), díky nimž se na ně zaměřil výzkum. Calvo a jeho spolupracovníci vyvinuli metodu přípravy hydrofilních chitosanových nanočástic. Příprava spočívá v ionické gelaci za použití směsi dvou vodných fází, z nichž jedna obsahuje dvojblokový kopolymer chitosanu a polyethylenoxidu (PEO) a druhá obsahuje polyaniontový tripolyfosfát sodný (TPP). Takto připravené nanočástice vykazují dobré asociační vlastnosti s proteiny, např. hovězím sérovým albuminem (BSA), tetanovým toxoidem, insulinem nebo oligonukleotidy [38],[39][40][41] .

## Polymery

Mnoho publikací se zabývá nanočásticemi vytvořenými z poly(D, L)-laktidu, polymléčné kyseliny PLA, polyglykolidu PG, poly(laktid-ko-glykolidu) PLGA a polykyanoakrylátu PCA [42].

Nicméně polymerů pro přípravu nanočástic je mnoho. Liší se svou kompatibilitou s organismem, svou biodegradabilitou a svým původem [43]. Pro medicínální použití je od polymerů vyžadována netoxičita, biokompatibilita a jsou upřednostňovány přípravky z biodegradabilních polymerů [44], [45], [46], [47], [48]. Nicméně definice biokompatibility a toxicity polymerů ( $LD_{50}$  pro zvířata a  $LDL_0$  pro lidi) není tak jednoduchá záležitost jako je tomu u sloučenin s nižší molekulovou hmotností. Polymery sami o sobě nebývají toxické. Toxicita vyplývá z jejich nečistot, zbytků rozpouštědel a monomerů či degradačních produktů popřípadě obojího. Biodegradabilita je závislá na primárních vlastnostech polymeru: chemická struktura, makromolekulární architektura-síťování a větvení, molekulová hmotnost a krystalinita. Za zmínku také stojí, že polymery nejsou nikdy přesně definované sloučeniny. Jsou to spíše soustavy s průměrnou molekulovou hmotností, které obsahují velmi podobné sloučeniny o různé délce řetězce. Na Obr. 1 Klasifikace biodegradabilních polymerů (zdroj: Reza Arshady, Biodegradable polymers, Vol 2, Citus Limited, London 2003, str. 7) [49] je uvedeno rozdělení biodegradabilních polymerů podle původu a složení. Nebiodegradabilní polymery jako polyuretany a silikony jsou v těle dlouhodobě stabilní [50].

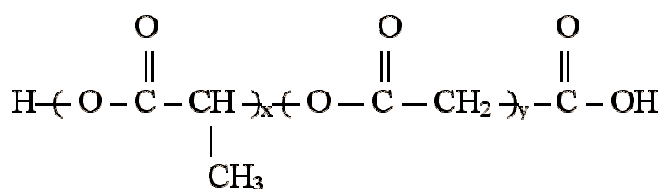
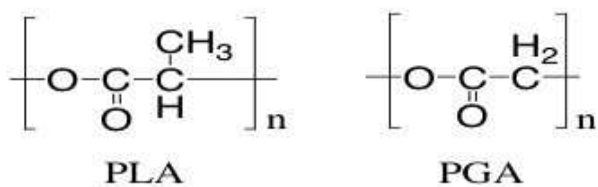


Obr. 1 Klasifikace biodegradabilních polymerů (zdroj: Reza Arshady, Biodegradable polymers, Vol 2, Citus Limited, London 2003, str. 7)

Biodegradace je definována jako desintegrace, eroze, rozpouštění, rozpad či rozpojení řetězců polymeru na metabolizovatelné a vylučitelné fragmenty [51].

Polyhydroxy kyseliny: viz Obr. 2: Chemická struktura biodegradabilních polyhydroxy kyselin jako je lineární polyglykolová kyselina (PGA), polymléčná

kyselina (PDLLA), jejich kopolymer poly(glykolová-ko-mléčná) kyselina (PLGA) a jejich větvené analogy použité v této práci jsou velmi často používané polymery pro přípravu nanočástic. PGA byla uvedena na trh počátkem roku 1970 jako první komerčně dostupný biodegradabilní materiál pro medicínské použití [52]. Byl vyvinut Geckem a Davisem pod obchodním názvem Dexon jako vstřebatelný chirurgický šicí materiál.



Poly(lactic acid-co-glycolic acid)

Obr. 2: Chemická struktura biodegradabilních polyhydroxy kyselin (zdroj vlastní)

## 2.2 Nanočástice stříbra

Od začátku 21. století se nastartoval překotný vývoj, syntéza a aplikace kovových nanočástic v oblastech elektroniky, optiky, textilního průmyslu a mnohých dalších odvětví. Tyto materiály rychle expandovaly do každodenního života, aniž by se od počátku studovalo zároveň jejich působení na okolí, životní prostředí a lidské zdraví. Toxicita nanočástic je nasnadě, jsou to částice okolo 100 nm, které mohou vnikat do organismu a do vnitřního prostředí buněk. Možné toxikologické problémy spojené s těmito částicemi vedly ke vzniku nanotoxikologie [53][54][55].

V současné době se tato věda začíná rozvíjet [56][57].

Ačkoliv se nanočástice stříbra používají v každodenním životě (upravené textilie, prací pračky obsahující částice stříbra, parafarmaceutika ve volném prodeji [58][59]) přesto nebyla jejich toxicita dořešena [60][61]. Toxicita nanočástic stříbra byla testována na bakteriích [62] a na buňkách savců [63][64], nicméně stále existují mnohem jednodušší organismy, hlavně ve vodním prostředí, na kterých je závislá ekologická rovnováha a na nichž toxicita testována nebyla. Pro příklad uveďme jednobuněčný eukaryotický organismus *Paramecium sp.*, které se používá pro testování [65][66][67][68]. Funguje jako významný indikátor znečištění vody těžkými kovy [69].

Příprava vodné disperze nanočástic stříbra probíhá podle Tollensovi metody [70]. Koncentrace stříbra v takové disperzi je  $108 \text{ mg.L}^{-1}$ , což nedostačuje pro otestování toxicity na *Paramecium sp.* Proto je nutné disperzi nejprve zkoncentrovat pomocí Poly(akrylát-co-vinylalkoholu). Příprava takových částic nese mnoho úskalí, některé problémy [71] postupu zahuštění jsou zkoumány v této práci, jako například použití surfaktantů jako stabilizátorů disperze [71].

### **Příprava nanočástic stříbra**

Příprava nanočástic probíhá kondenzační metodou z roztoku soli na základě dostatečného množství nukleačních jader a dostatečně velké rychlosti jejich růstu. Reakčním mechanismem kondenzace může být libovolná chemická reakce, v našem případě to byla redukce  $\text{Ag}^+$  iontů pomocí redukčního činidla (např. maltosa), dále se dá redukovat pomocí libovolných organických i anorganických činidel, UV záření a  $\gamma$  záření [72][73][74].

#### **Teorie vzniku pevné fáze v disperzní soustavě.**

Podle termodynamické teorie vzniku disperze dochází nejprve k nukleaci – vzniku nukleačních jader. Nukleace probíhá v metastabilní soustavě homogenně, nebo heterogenně.

Heterogenní nukleace proběhne pokud se v soustavě nachází povrch (povrch nádoby, nečistoty nebo částice budoucí pevné fáze), na kterém může růst začít.

Homogenní nukleace probíhá pouze při splnění podmínky pouze jedné fáze v počátečním roztoku (plus absolutní nesmáčenlivosti povrchu nádoby nově vznikající fází).



Na vytvoření částice disperze je nutné dodat práci (pro zjednodušení bereme v úvahu částice tvaru koule):

$$W=4\pi r^2\sigma - (4\pi r^3/3V_m N) * (\mu_x - \mu_v)$$

$r$  – poloměr částice

$\sigma$  – povrchová energie nově vznikající fáze

$V_m$  – molární objem částice

$\mu_x$  – chemický potenciál l. v počáteční fázi

$\mu_v$  – chemický potenciál l. v disperzní soustavě

Z této rovnice je vidět, že potřebná práce na vznik disperze závisí na nestabilitě původního roztoku, tzn. na přebytku chemického potenciálu oproti chem. potenciálu výsledné disperze.

### **Příprava nč stříbra redukcí organickými látkami**

Velmi často používanou metodou redukce stříbra organickou látkou je redukce za použití citrátu sodného [75]. Postup podle Lee a Meisela vytváří koloidní disperzi vhodnou zvláště pro Ramanovu spektroskopii [76][77][78][79][80]. Velikost částic je v rozmezí 60-80 nm, tedy vznikají částice poměrně velké a polydisperzní. Pokud se takováto soustava však následně zahřeje, sníží se polydisperzita i velikost částic na průměrnou hodnotu 27 nm [81].

Dalšími redukčními činidly mohou být látky používané ve fotografii jako vývojky. V jejich struktuře se nalézá buď amino- nebo hydroxylová skupina ve vhodné poloze, např. p-fenylendiamin, hydrochinon apod. U těchto látek je důležité pH a teplota roztoku [82].

Nejen pro přípravu neelektrolyticky vytvořených zrcadel, lze použít Tollensův proces. S použitím ultrazvukové lázně a při snížení koncentrace reakčních činidel (např. glukosa [83], maltosa [84], dextroza [85], xylóza, ...) lze dosáhnout poměrně velikostně malé disperze nanočástic stříbra.

Přídavek polymerních stabilizátorů může ovlivnit velikost vznikajících částic a snížit ji až na 3 - 7 nm. To je možné při použití vinylalkoholu a N-vinylpyrolidonu [86].

Použití povrchově aktivních látek (n-hexadecyltrimethylammonium bromid) lze měnit tvar a povrch vznikajících nanočástic. Podle koncentrace a použité teploty tak vznikají koule, tyčinky, vlákna, nepravidelné shluky nebo jehly.

Kromě vodního prostředí je pro redukci stříbra možné použít i nevodné prostředí organických rozpouštědel: dimethylsulfoxid, 2-propanol, N,N-dimethylformamid. Velikost nanočástic pak ovlivňuje teplota, koncentrace činidel a případné použití stabilizátorů [87][88][89][90].

### **Použití nanočástic stříbra**

Díky velikosti nanočástic lze pozorovat některé speciální vlastnosti stříbra, které je možné využít pro optické metody jako je Ramanova spektroskopie [91], povrchem zesílená infračervená absorpce [92] a povrchem zesílená fluorescence [93]. Stejně tak se dají využít jako biologické sensory [94], katalyzátory [95][96][97][98] nebo protimikrobiálně působící látky.

#### **Povrchem zesílená Ramanova spektroskopie**

Povrchem zesílený Ramanův rozptyl (SERS) a povrchem zesílený rezonanční Ramanův rozptyl (SERRS) jsou velmi citlivé spektroskopické metody dávající

informace o struktuře molekuly v roztocích v piko až femtomolárních koncentracích [99][100][91]. Při vlastním měření výkonný laser excituje elektrony, které se neelasticky odtrhnou od molekuly, dojde k následným vibracím, které jsou pak měřeny jako výsledné spektrum. Tyto vibrace jsou však tak slabé, že je obtížné je interpretovat na pozadí šumu, proto se využívají částice nebo povrchy kovů, které rezonančně zesílí signál. Toto zesílení může dosahovat až  $10^7$  násobku.

### **Stříbrné sensory**

Použití nanočástic jako součástí biosensorů je limitováno jejich stejnou velikostí. Jejich tvar a polydisperzita musí být stejné. Takovým požadavkům vyhovují nanočástice tvaru trojbokého jehlanu a velikostech stran 100 nm a výšce 50 nm. Při kontaktu sensoru se zkoumanou látkou se mění charakteristické spektrum absorpčního maxima. Prozatím je detekční limit okolo  $10^{-13}$  mol.dm<sup>-3</sup>, ale výzkum v této oblasti stále pokračuje [101].

### **Katalytické vlastnosti Ag nanočástic**

Výjimečné katalytické vlastnosti nanočástic jsou dané jejich velkým povrchem [102]. Používají se k oxidaci organických látek, např. na přípravu ethylenoxidu z ethylenu, modifikaci fenolů apod. [103].

Koloidní částice se používají na katalýzu buď volně v roztoku, nebo v přechodném stavu jako rostoucí částice [104], nebo vázané na silikagel [105].

### **Protimikrobiální působení stříbra**

O protimikrobiálních účincích stříbra se vědělo již ve starověku (Řecko, Řím). Stříbro se užívalo vnitřně v podobě rozemletého prášku. Při dlouhodobějším použití se tak objevovala otrava stříbrem - argyrie (zešedlá pokožka, bělmo očí, poškození jater).

Stříbro v koloidní formě má nezanedbatelné antibakteriální účinky i vůči rezistentním kmenům bakterií jako je vankomicin rezistentní *Enterococcus faecium* nebo methicilin rezistentní *Staphylococcus epidermidis* atd. [106]. Pro lidské buňky je koloidní stříbro málo toxické, přitom u bakterií byla rezistence zaznamenána jen vzácně [107].

Mechanismus působení stříbra není dosud přesně znám. Pravděpodobně se jedná o interakci s SH skupinami bakteriálních proteinů, zástavu replikace DNA [108]. U *Escherichia coli* bylo prokázáno působení koloidního stříbra na inhibici dýchacího řetězce [109]. Jako optimální velikost nanočástic pro protimikrobiální působení bylo stanoveno rozmezí velikosti 1-10 nm.

V posledních letech bylo připraveno mnoho materiálů obsahujících stříbro jak v koloidní, tak v iontové podobě vykazující protimikrobiální působení (textilie, endoprotézy, pračky, keramika apod.) [110][111][112][113][114][115][116].

## 2.3 Principy měření velikosti částic

Velikost částic lze měřit několika metodami. Záleží na velikosti částic a na parametrech, které chceme měřit.

Mezi metody měření velikosti částic patří:

- Sítování
- Sedimentace
- Mikroskopie
- Coulterova metoda
- Techniky založené na rozptylu světla

### Sítování

Nejstarší ze všech metod měření velikosti částic, ale také nejlevnější a kdykoliv použitelná metoda pro větší částice [88]. Umožňuje rozdělení částic do velikostních tříd. Není použitelná pro aerosoly a emulze; měření suchých prášků o velikosti menší než 38  $\mu\text{m}$  je obtížné. Přílnavé a adhezivní materiály, jako jíly, se měří obtížně a materiály jako 0,3  $\mu\text{m}$   $\text{TiO}_2$  měřit nelze.

Čím delší jsou časy měření, tím metoda poskytuje menší hodnoty – částice se stihnou natočit tak, aby propadly sítím.

Výsledkem není věrné rozdělení hmotností, protože metoda pracuje s druhým - nejmenším rozměrem částic. U tyčkovitých materiálů jako je třeba paracetamol můžeme proto získat neobvyklé výsledky.

### Sedimentace

Tato metoda se používá v malířství a keramickém průmyslu. Provádí se buď pomocí jednoduchého vybavení, jako je Andreasenova pipeta, nebo velmi složitě za použití centrifug a rentgenů. Využívá přirozené tendence částic separovat se podle velikosti při sedimentaci v kapalném médiu [118]. Nehodí se pro emulze, které sedimentují velmi pomalu, nebo pro hustý materiál, který sedimentuje příliš rychle. Dalšími předpoklady jsou homogennost suspenze, přibližně izometrické částice, absence bobtnání a rozpouštění částic, koncentrace částic 1-2% a laminární proudění při sedimentaci. Teplota musí být monitorována z důvodu kontroly viskozity. Změna teploty o 1°C způsobí dvouprocentní změnu viskozity. Nevýhodou je také zdlouhavé měření. Nepravidelně tvarované částice, jako třeba diskovité kaolíny, mají ve srovnání s kulovými delší doby sedimentace. Metoda má omezený rozsah, částice menší než 2  $\mu\text{m}$  a větší než 50  $\mu\text{m}$  se měří obtížně.

Používá se Stokesův vztah pro rychlost sedimentace v kapalině:

$$v = \frac{d_{\text{St}}^2 (h_s - h_0)}{18\eta} = \frac{l}{t}$$

$v$  - rychlost sedimentace (cm/s)

$d_{\text{St}}$  - Stokesův rozměr (cm)

$h_s$  - hustota částic ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

$h_0$  - hustota kapaliny ( $\text{g}/\text{cm}^3$ )

$\eta$  - dynamická viskozita ( $10^{-1} \text{ Pa}\cdot\text{s} = \text{Poissee}$ )

$l$  - délka sedimentace (cm)

$t$  - čas sedimentace (s)

Pro Stokesův rozměr při sedimentační analýze platí:

$$d_{\text{St}} = \sqrt{\frac{18\eta}{h_s - h_0}} \sqrt{\frac{l}{t}}$$

## Mikroskopie

Základním problémem nejen mikroskopie je, jak popsat trojrozměrný objekt pouze jedním číslem. Jediným geometrickým útvarem, který se dá popsat jedním číslem je koule, proto se využívá teorie ekvivalentní koule, která vyjadřuje průměr koule o stejném objemu jako je námi zkoumaný objekt. Dvojměrný obraz z mikroskopu poskytuje parametry jako jsou maximální průměr, minimální průměr, max. a min. Feretův průměr, průměr kružnice vepsané či opsané, plocha, průměr kružnice o stejném obsahu jako má daný objekt, tvarový faktor.... Každý tento parametr je užitečný, ale dává informaci jiného charakteru. Z toho vyplývá, že nemůže existovat něco jako standard pro měření velikosti částic. Je možné mít pouze srovnávací vzorek (např. latexové částice), aby bylo možné částice připravené určitou technikou srovnávat.

Pro počítání průměrných velikostí existují také různé přístupy [119]. Pokud chceme porovnávat jednorozměrné parametry (např. průměrná délka), používáme aritmetický průměr  $D[1,0]$ . Říká se mu také průměr počet-délka, protože součet délek částic dělíme jejich počtem.

$$D[1,0] = d_1 + d_2 + d_3 + \dots + d_n / n = \sum d^1 / \sum d^0 = \sum d^1 / n$$

n - počet částic

d - rozměry jednotlivých částic

Pokud chceme porovnávat plochu částic (např. při analýze adsorpční schopnosti látky, která závisí na velikosti povrchu), používáme kvadratický průměr  $D[2,0]$ .

$$D[2,0] = \sqrt{(d_1^2 + d_2^2 + d_3^2 + \dots + d_n^2) / n} = \sqrt{(\sum d^2 / \sum d^0)} = \sqrt{(\sum d^2 / n)}$$

Pokud chceme porovnávat hmotnosti, vycházíme z kubických (objemových) průměrů (hmotnost se počítá z objemu). Parametru  $D[3,0]$  se říká objemový průměr (*Volume Mean Diameter, VMD*).

$$D[3,0] = \sqrt[3]{(d_1^3 + d_2^3 + d_3^3 + \dots + d_n^3) / n} = \sqrt[3]{(\sum d^3 / \sum d^0)} = \sqrt[3]{(\sum d^3 / n)}$$

Při počítání parametrů souvisejících s objemem se v praxi často používá  $D[4,3]$ , kterému se říká *objemový momentový průměr*. Není zde potřeba znát počet částic, což je užitečné pro měření částic jemného prášku (obrovské množství částic).

$$D[4,3] = \sum d^4 / \sum d^3$$

*Plošný momentový průměr*  $D[3,2]$ , nebo také *Sauter Mean Diameter (SMD)* se používá tam, kde jsou důležité údaje související s plochou povrchu (katalýza, spalování).

$$D[3,2] = \sum d^3 / \sum d^2$$

Mikroskopie je jedinečná metoda, která umožňuje přímé měření požadovaných částic; je také relativně levná. Protože se ale zkoumá relativně málo částic, narůstá nebezpečí nereprezentativnosti vzorku. Pokud se měří distribuce hmotnosti (tj. trojrozměrné veličiny, ekvivalentně i objemu), výsledky mohou být přehnané. Vynechání jedné 10  $\mu\text{m}$  částice má u měření objemu stejný efekt jako vynechání tisíce 1  $\mu\text{m}$  částic ( $10^3 = 1000$ ). Americký *Národní úřad pro standardy* doporučuje proměření minimálně 10.000 obrazů (ne částic!) pro zachování statistické správnosti [120].

## **Coulterova metoda**

Této metodě se říká také Coulterův čítač. Principem je elektronické počítání nevodivých částic v prostředí silného elektrolytu. Přítomnost částice v prostoru trysky vyvolá impuls napětí změnou odporu ( $\Delta R$ ) na elektrodách.

$$\Delta R = \frac{V}{S} R$$

V - objem částice ( $\mu\text{m}^3$ )

S - plocha průřezu trysky ( $\mu\text{m}^2$ )

R - odpor základního elektrolytu

Metoda byla původně vyvinuta pro měření krevních elementů. Pro použití v průmyslu má mnoho nevýhod. Emulze se měří obtížně, aerosoly měřit nelze. Suché prášky musí být suspendovány. Elektrolyt, ve kterém probíhá měření, může způsobovat potíže u organických materiálů. Metoda vyžaduje kalibrační standardy, které jsou drahé a mění velikost v elektrolytu oproti velikosti v destilované vodě. Je pomalá pro velké částice a je dost obtížně použitelná pro částice pod 2  $\mu\text{m}$ . Špatně se měří porézní částice a husté materiály.

## **Techniky založené na rozptylu světla**

Rozptyl světla na koloidních částicích je běžná věc pozorovatelná každý den (modrá barva oblohy - rozptyl světla na molekulách  $\text{O}_2$ , barvy oblohy při západu slunce - rozptyl světla na prachových částicích v atmosféře, duha apod.). O první popis těchto jevů se pokusil Alhazen z Basry kolem roku 1000 n.l. nebo pak později Leonardo da Vinci. První skutečnou definici však poskytl až Lord Rayleigh na základě Maxwellovi teorie elektromagnetismu [121]. Zpočátku se pro pokusy využívaly chaotické zdroje záření (rtuťová výbojka). Takové měření poskytovalo pouze průměrné informace v určitém časovém intervalu o statických vlastnostech systému, proto bylo takové měření označeno jako statický rozptyl světla (SLS static light scattering). Aplikace SLS jsou například měření molekulové hmotnosti nebo gyrační úhly makromolekul v roztocích.

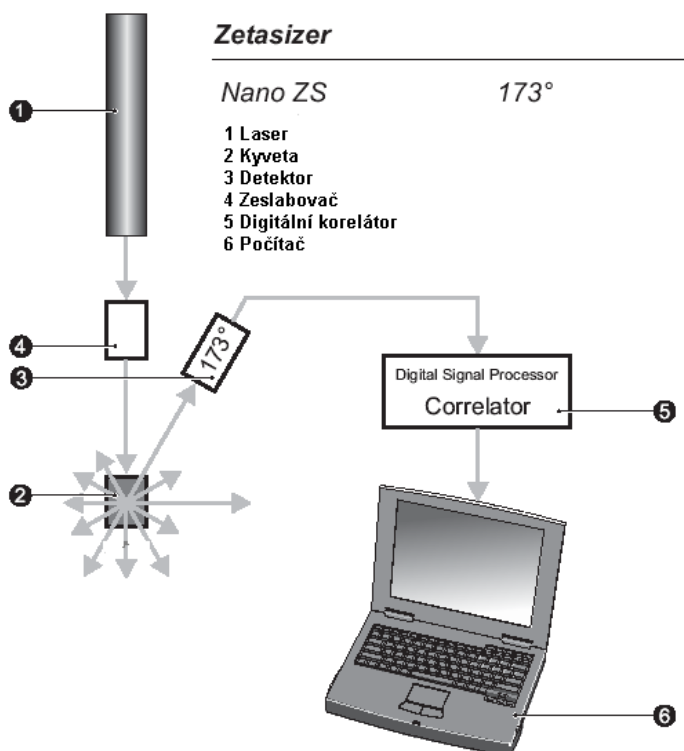
S objevem koherentního laserového zdroje vznikla nová měřicí technika. V experimentu využívajícím laserový paprsek je možné sledovat časové variace rozptýleného záření a provádět spektrální analýzu. Časové variace na rozptýleném záření jsou způsobené dynamickými vlastnostmi disperzního systému (např. pohyb částic). Takovéto uspořádání experimentu bylo nazváno dynamický rozptyl světla (DLS dynamic light scattering) a pochází z druhé poloviny 60-tých let. Pojem Photon correlation spectroscopy PCS je synonymem pro DLS a je odvozen z využití autokorelátoru před spektrálním analyzátozem, který zpřesňuje výsledky měření. Stejně tak i Quasi-elastic light scattering (QELS) je synonymem pro DLS. Název je odvozen od srovnání změn frekvence rozptýleného světla oproti frekvenci laserového paprsku. Typické změny frekvence rozptýleného paprsku jsou od několika Hz po  $10^6$  Hz v porovnání s frekvencí běžně používanou pro laser  $10^{14} - 10^{15}$  Hz

Základním principem rozptylu světla je adsorpce a re-emise elektromagnetického záření. Paprsek dopadající na částice osciluje v jejich elektromagnetickém poli a je vyzářen všemi směry. V dokonale homogenním prostředí by se takové záření vyrušilo a my bychom nedetekovali žádné rozptýlené světlo. Nicméně metoda je používána pro disperzní systémy (s

rozdílnými optickými vlastnostmi- např. index lomu) a proto můžeme detekovat signál a jeho fluktuace, které nesou informaci o dynamických vlastnostech částic.

Při použití monochromatického laserového paprsku (většinou se využívá laser barvy červené 633 nm nebo zelené 532 nm) je rozsah měřených velikostí od 2-3 nm do 2-3  $\mu\text{m}$ . Je to dáno použitou frekvencí laseru, úhlem ve kterém je umístěn detektor a frekvencí snímání. Interval zaznamenávání fluktuací rozptýleného záření je většinou 10 ns až 1 ms což je dlouhá doba v porovnání s periodicitou rozptylování paprsku  $10^{-15}$  s, proto můžeme rychlost zaznamenávání vypustit a počítat pouze s úhlem a vlnovou délkou laseru.

Uspořádání pokusu je znázorněné na Obr. 3: Uspořádání pokusu pro měření velikosti a zeta potenciálu částic-ZetaSizer ZS.



Obr. 3: Uspořádání pokusu pro měření velikosti a zeta potenciálu částic-ZetaSizer ZS (zdroj: ZetaSizer Manuál, Malvern Instruments UK)

Přístroj na kterém probíhalo měření má detektor na 173°, to znamená, že paprsek rozptýleného světla nemusí procházet na cestě k detektoru celým vzorkem. Přístroj je tedy schopen měřit široké rozmezí koncentrací. Dále využívá pro měření červený laser vlnové délky 633 nm a není tedy vhodný pro modré vzorky.

Vlastním principem měření velikosti částic je měření rychlosti Brownova pohybu. Částice suspendované v kapalině nejsou v praxi nikdy stacionární, pohybují se Brownovým pohybem. Ten je důsledkem náhodných srážek s molekulami kapaliny. Hlavní vlastnost Brownova pohybu pro DLS je rozdílná rychlost v závislosti na velikosti částic. Malé částice se pohybují rychleji, velké částice naopak pomaleji. Vztah mezi velikostí částic a rychlostí Brownova pohybu je definován jako Stokes - Einsteinův zákon. ZetaSizer měří rychlost kolísání snímaného rozptýleného paprsku laseru dopadajícího na detektor a

převádí ji pomocí digitálního modelátoru na rychlost pohybu částic. Z ní je následně pomocí Stokes – Einsteinovi rovnice vypočten poloměr částic.

Stokes-Einsteinův zákon:

$$r = kT / 6 \pi \eta D$$

$\eta$  - viskozita

$k$  - Boltzmanova konstanta

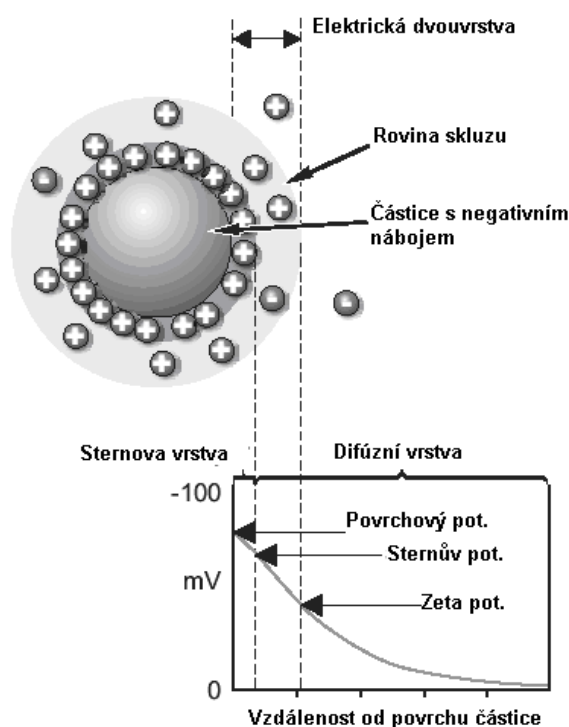
$T$  - teplota

$D$  - koeficient difúze

## 2.4 Principy měření zeta potenciálu

Zeta potenciál, jinak také elektromobilitní potenciál, je měřen pomocí ZetaSizeru ZS laserovým Dopplerovým velocimetrem.

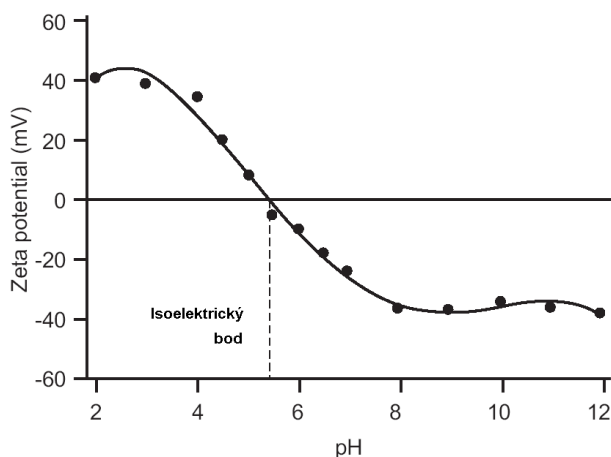
Částice suspendovaná v roztoku elektrolytu váže více či méně pevně ionty ve svém okolí viz Obr. 4: Schéma elektrického náboje na částici suspendované v elektrolytu. Kolem záporně nabitě částice se budou pevně vázat opačně nabitě protiionty. Na povrchu samotné částice se nachází Nernstův potenciál, který není měřitelný. Protiionty tvoří tzv. Sternovu vrstvu. Nejsnáze měřitelný je zeta potenciál na rovině skluzu. Je to vrstva, která odděluje ionty pohybující se po zavedení elektrického napětí společně s částicí a volné ionty, které zůstávají na místě. Proto je zeta potenciál označován jako elektromobilitní potenciál.



Obr. 4: Schéma elektrického náboje na částici suspendované v elektrolytu (zdroj: ZetaSizer Manuál, Malvern Instruments, 2003, Worcestershire, UK)

Zeta potenciál určuje stabilitu disperzního systému. Pokud mají částice dostatečně vysoký potenciál navzájem se odpuzují. Pokud je potenciál v intervalu od -30 mV do +30 mV náboj na povrchu je příliš malý, aby bránil kontaktu a částice mají tendenci se shlukovat. Hodnota zeta potenciálu je závislá

na hodnotě pH. Částice v suspenzi s negativním zeta potenciálem bude reagovat po přidání base dalším snížením zeta potenciálu. Naopak přidáme-li do takovéto suspenze kyselinu, negativní náboj bude neutralizován a zeta potenciál se po dalším přidání kyseliny přehoupne do kladných hodnot viz Obr. 5: Isoelektrický bod.



**Obr. 5: Isoelektrický bod (zdroj: ZetaSizer Manuál, Malvern Instruments, 2003, Worcestershire, UK)**

Laserovým Dopplerovým velocimetrem je určována rychlost pohybu částic v elektrickém poli – elektroforetická mobilita a po dosazení do Henryho rovnice je vypočten zeta potenciál.

Henryho rovnice:

$$U_E = \frac{2\varepsilon\zeta(fKa)}{3\eta}$$

$U_E$  - Elektroforetická mobilita

$\varepsilon$  - Dielektrická konstanta

$\zeta$  - Zeta potenciál

$\eta$  - Viskozita

$f(K_a)$  - Henryho funkce

Po zavedení elektrického pole do kyvety s měřeným vzorkem je ustálena rovnováha mezi pohybem částic v elektrickém poli a viskózními silami, které působí proti pohybu částic k opačně nabitým elektrodám. Rychlost pohybu závisí přímo úměrně na dielektrické konstantě média, zeta potenciálu a nepřímo úměrně na viskozitě média. Pro výpočet se používá aproximace Henryho funkce. U vodných roztoků s velikostí částic kolem 200 nm a větší, a o koncentraci elektrolytu  $10^{-3}$  a větší se používá hodnota 1,5 - Smoluchowského aproximace. Pro nevodná média s nízkou dielektrickou konstantou se používá Huckelova aproximace s hodnotou 1,0

Zeta potenciál je měřen stejně jako velikost částic, jen s tím rozdílem, že není sledován Brownův pohyb, ale pohyb částic v elektrickém poli. Laserový Dopplerův velocimetr analyzuje časové variace rozptýleného paprsku laseru dopadajícího na detektor a přes digitální modulátor počítá elektrokinetickou mobilitu - rychlost pohybu částic.



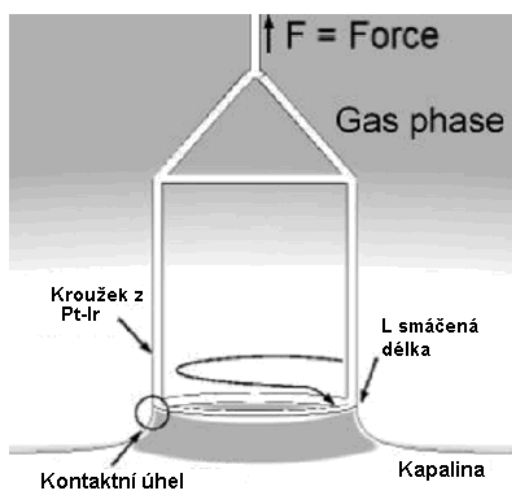
## 2.5 Principy měření povrchového napětí

Mezi molekulami kapaliny a plynu nebo kapaliny a jiné nemísitelné kapaliny, dochází k interakcím a k tvorbě fázového rozhraní. Ke změně takto vytvořeného rozhraní je zapotřebí energie. Práce potřebná ke změně tvaru či velikosti rozhraní je známa jako povrchové nebo mezifázové napětí.

Povrchové i mezifázové napětí se měří pomocí smáčivé sondy o známé délce smáčeného povrchu a velmi citlivých vah, které zaznamenávají sílu, kterou je sonda tažena k povrchu či mezifázi. Sondou je buď kroužek nebo destička. Optimální smáčivost je zaručena použitým materiálem. Na destičku je používána zdrsňená platina a na kroužek platino-iridiová slitina. Obě mají velmi vysokou povrchovou energii.

### Měření kroužkem

Měření kroužkem je historicky starší metoda. To je důvod, proč většina tabelárních hodnot povrchového a mezipovrchového napětí je měřena právě kroužkem. Při měření dochází ke kontaktu kroužku s hladinou kapaliny. Jakmile se kroužek hladiny dotkne, začne se pomalu vzdalovat. Při napínání filmu projde vzorek bodem, při kterém na sondu působí maximální síla. V bodě s maximální silou je vektor síly paralelní se směrem pohybu, tzn. kontaktní úhel  $\theta$  je roven  $0^\circ$  viz Obr. 6: Schématické znázornění měření kroužkem (zdroj: manuál K-100 tenziometr Kruss, str. 66).



Obr. 6: Schématické znázornění měření kroužkem (zdroj: manuál K-100 tenziometr Kruss, str. 66)

K výpočtu povrchového napětí se používá rovnice:

$$\sigma = F_{\max} - F_v / L \cdot \cos\theta$$

$\sigma$  - povrchové nebo mezifázové napětí

$F_{\max}$  - maximální síla

$F_v$  - hmotnost vyzdvižené kapaliny

$L$  - smáčená délka

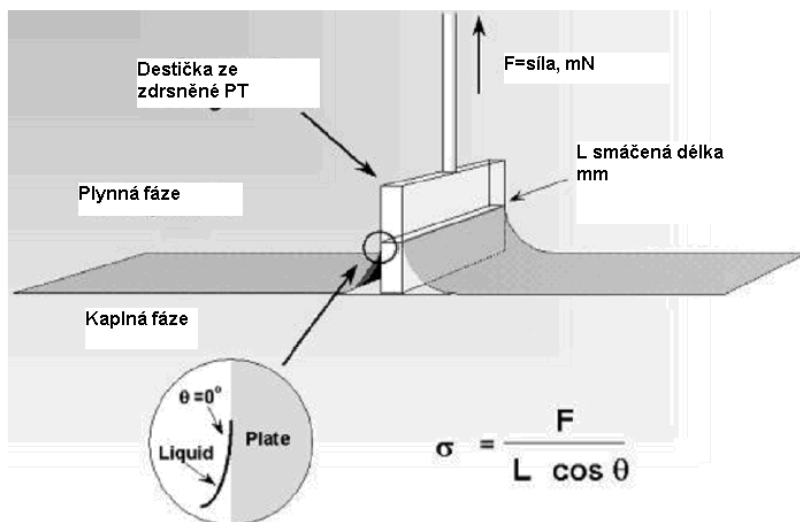
$\theta$  - kontaktní úhel

Korekční metody pro měření napětí kroužkem: hmotnost kapaliny vyzdvihnutá kroužkem  $F_v$  musí být odečtena od maximální síly, protože ovlivňuje váhy. Další korekce je nutná z důvodu nestejného zakřivení filmu na vnitřní a vnější straně kroužku. Na přístroji Kruss K-100 jsou k dispozici tři korekční metody. Výběr závisí na rozsahu měřených hodnot. Korekční metoda podle Harkinse a Jordana je nejpřesnější. Byla vytvořena na základě určování povrchových napětí kroužky o různých průměrech. Metoda podle Zuidema a Waterse je určena pro velmi malá napětí a vyžaduje srovnávací měření proti hodnotám uvedeným v literatuře z důvodů největších odchylek ze všech korelací. Poslední použitá korekce je podle Huh a Masona. Zahrnuje nejširší rozsah hodnot mezipovrchového a povrchového napětí. Proto byla tato metoda vybrána za standardní a je použita pro výpočty v této práci.

### Měření destičkou

Měření destičkou je mladší z hlediska historického, ale je snadnější na obsluhu a nese menší rizika z poškození sondy. Destička je vyrobená ze zdrsňené platiny, tzn. že je optimálně smáčená - při maximální síle je úhel smáčení roven  $0^\circ$  a tudíž člen  $\cos\theta=1$  můžeme vynechat viz následující rovnice a Obr. 7: Schématické znázornění měření destičkou (zdroj: manuál K-100 tenziometr Kruss, str.69):

$$\sigma = F/L \cdot \cos\theta$$



Obr. 7: Schématické znázornění měření destičkou (zdroj: manuál K-100 tenziometr Kruss, str.69)

Při měření destičkou nejsou potřebné korekční výpočty jako u měření kroužkem.

### Srovnání měření kroužkem a destičkou

**Měření kroužkem:** Tabulkové hodnoty jsou většinou měřeny kroužkem-výhoda srovnatelnosti. Smáčená délka kroužku je oproti destičce trojnásobná, díky tomu je síla působící na váhy mnohem větší a to vede k vyšší přesnosti (malá povrchová napětí je lepší měřit kroužkem). Některé látky, např. kationové tenzidy, špatně smáčí platinu (kroužek je z Pt-Ir slitiny-lepší napojení kapaliny na kroužek než na Pt destičku).

**Měření destičkou:** Naměřené hodnoty není potřeba korigovat. Při měření destičkou není nutné znát hustotu kapalin jako je tomu u měření kroužkem. Při měření mezifázového napětí se sonda pouze dotkne mezifáze a dále s ní již není manipulováno – to brání smísení obou fází. Při měření kroužkem dochází k pohybu a neustálé obnově povrchové blány. U vzorků s velkou viskozitou nebo u molekul s velkou molekulovou hmotností kde je zapotřebí ustanovit difúzní rovnováhu je preferováno měření destičkou – je statické. Destička se po doteku s hladinou již nepohybuje.

## **2.6 Sprejové sušení**

Sprejové sušení je jedna z velmi často používaných mikroenkapsulačních metod, zároveň je to také jedna z nejlépejších metod [122]. Pořizovací cena přístrojů je vysoká, ale provozní náklady jsou nízké z důvodů malého množství pohyblivých součástí a použití odolných materiálů [123].

### **Průběh sprejového sušení**

Sprejové sušení je mechanická metoda mikroenkapsulace, vyvinutá ve třicátých letech minulého století. Je vhodná pro kontinuální produkci suchých pevných látek ve formě prášku, granulátu nebo aglomerátu z tekutých roztoků, emulzí a suspenzí. Je to ideální proces tam, kde konečný produkt musí vyhovovat přísným požadavkům na kvalitu, jako je distribuce velikosti částic, zbytkový obsah vlhkosti, objemová hustota a tvar částic.

Sprejové sušení se skládá ze tří kroků [124]:

- 1.) příprava emulze, suspenze
- 2.) homogenizace disperze
- 3.) rozprašení v sušící komoře.

### **PRINCIPY SPREJOVÉHO SUŠENÍ**

Každá sprejová sušárna se skládá z napájecí pumpy, atomizéru, ohřívače vzduchu, vzduchové trysky, sušící komory a zařízení pro vyfukování a čištění vzduchu. Různé požadavky na výstupní kvalitu produktu, na způsob zpracování a termolabilitu vstupního materiálu vedou k odlišnému rozvržení proudění vzduchu, tvaru sušící komory a uspořádání celého systému.

### **ATOMIZÉRY**

Atomizér je zodpovědný za distribuci velikosti částic. Rozprašuje roztok či disperzi do formy drobných kapek aerosolu, který je pak následně sušen. V průmyslovém sušení se používají tři typy atomizérů [125]:

- **ROTAČNÍ ATOMIZÉR** – rozprašování energií centrifugy
- **TLAKOVÁ TRYSKA** – rozprašování tlakovou energií
- **DVOUPROUDÁ TRYSKA** – rozprašování kinetickou energií

Výběr atomizéru závisí na vlastnostech rozprašované disperze a charakteristikách suchého produktu. V případech, kdy lze použít víc než jeden typ atomizéru, se zpravidla dává přednost rotačnímu, z důvodu větší flexibility a jednoduchosti provozu. Jeho další výhody jsou dodávání velkých množství na

vstupu bez potřeby zdvojení, možnost použití hrubých vstupů, práce za nižšího tlaku a jednoduchá kontrola velikosti částic nastavením rychlosti otáčení.

Vlastní proces sušení probíhá: disperze či roztok sušené látky je rozprášena pomocí atomizéru do proudu horkého vzduchu (sušícího plynu- N<sub>2</sub> apod.). Během pádu plynným prostředím získají částice kulovitý tvar. Rychlý odběr rozpouštědla z materiálu pláště udržuje teplotu jádra i pláště částice hluboko pod 100°C, i když je teplota v sušící komoře vyšší [126].

#### **PROUDĚNÍ VZDUCHU**

Rychlost vypařování a teplota produktu v sušárně jsou ovlivněny prvním kontaktem mezi kapkami disperze a sušícím vzduchem. Existují tři typy sušení [127]:

#### **SUŠENÍ V SOUPROUDU**

Sušící vzduch a částice se pohybují sušící komorou stejným směrem. Teplota produktu na výstupu ze sušárny je menší než teplota odpadního vzduchu. Tento postup je ideální pro sušení termolabilních látek.

#### **SUŠENÍ V PROTIPROUDU**

Sušící vzduch a částice se pohybují v sušící komoře proti sobě. Toto uspořádání je vhodné pro produkty, které vyžadují během sušení tepelné zpracování. Teplota prášku opouštějícího sušárnu je obvykle vyšší než teplota odpadního vzduchu.

#### **SMÍŠENÝ TOK**

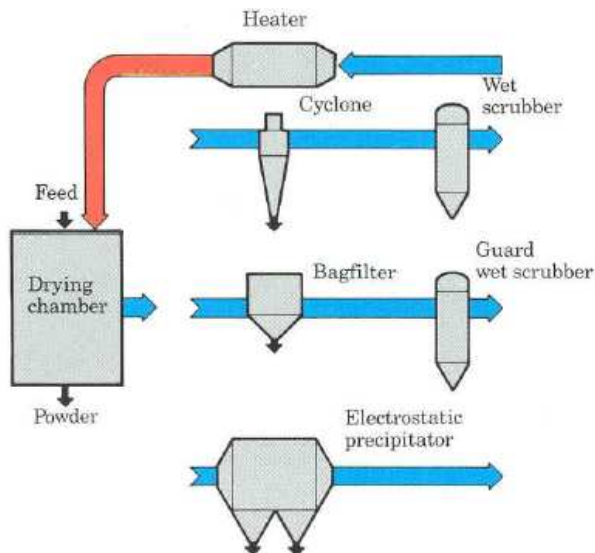
Pohyb částic sušící komorou zahrnuje souproudé i protiproudé fáze. Tento režim je vhodný pro termostabilní produkty, kde nároky hrubého prášku vyžadují používání tryskových atomizérů (ty stříkají vzhůru do přicházejícího proudu vzduchu), nebo termosenzitivní produkty, kde atomizéry rozstříkují částice dolů směrem k integrovanému vířivému lůžku a vstup i výstup vzduchu jsou umístěny v horní části sušící komory.

### ***Uspořádání sprejové sušárny***

Základní součásti sprejové sušárny - atomizér, rozprašovač vzduchu, sušící komora, vpusť a výpusť vzduchu - jsou uspořádány do systému, který odpovídá požadavkům na provozní bezpečnost, čistotu prostředí a požadavkům na zacházení s výsledným produktem. Systémy v průmyslu mohou být vybaveny dalším zařízením, jako je vířivý sušič nebo chladič, aglomerátor, odprašovač nebo dopravní pás.

#### **OTEVŘENÝ CYKLUS**

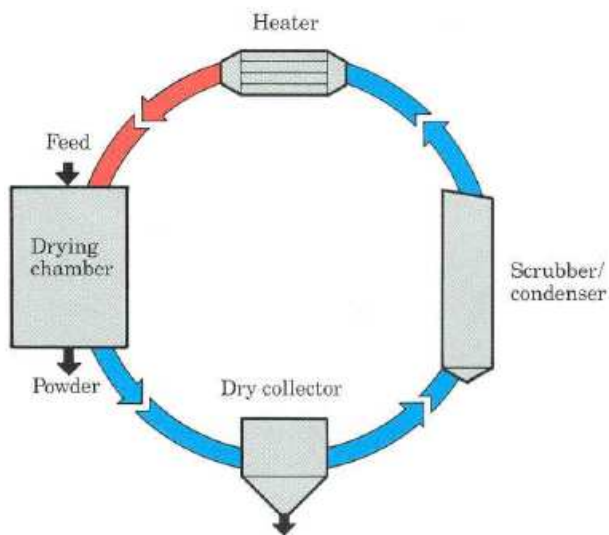
Horký proud vzduchu prochází sušárnou jednou a pak je odveden do atmosféry. Většina průmyslových sprejových sušáren pracujících s vodným výchozím produktem používá tento systém. Užívá se přímé i nepřímé ohřívání vzduchu. Odvedený vzduch je čištěn vířivým odprašovačem, hadicovým filtrem, elektrostatickým odlučovačem nebo sprchovým chladičem (Obr. 8: Sprejové sušení-otevřený cyklus).



Obr. 8: Sprejové sušení-otevřený cyklus (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, [http://www.niro.com/ndk\\_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB\\_Spray\\_Drying.pdf/\\$file/GB\\_Spray\\_Drying.pdf](http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/$file/GB_Spray_Drying.pdf) cit 28.8.2007)

### UZAVŘENÝ CYKLUS

Sušení probíhá v inertní plynné atmosféře, dusík recykluje uvnitř sušárny. Tento systém je používán pro sprejové sušení výchozích produktů obsahujících organické rozpouštědlo nebo tam, kde produkt nesmí během sušení přijít do kontaktu se vzdušným kyslíkem. Zařízení s uzavřeným cyklem bývají navržena podle přísných standardů. Hořlavé páry z rozpouštědel se plně získávají zpět v kapalně formě (Obr. 9: Sprejové sušení-uzavřený cyklus).

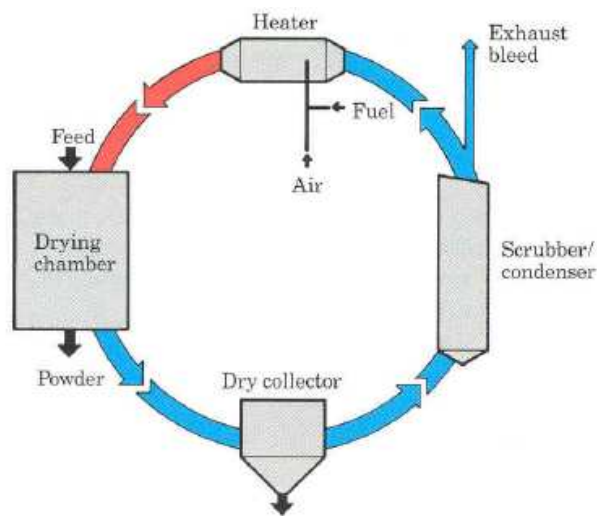


Obr. 9: Sprejové sušení-uzavřený cyklus (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, [http://www.niro.com/ndk\\_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB\\_Spray\\_Drying.pdf/\\$file/GB\\_Spray\\_Drying.pdf](http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/$file/GB_Spray_Drying.pdf) cit 28.8.2007)

### POLO-UZAVŘENÝ CYKLUS

Používá se buď jako režim s částečnou recyklací (až 60 % vzduchu z výstupu se vrací na vstup, hlavně z důvodu efektivního využití tepla), nebo jako samo-inertizující režim, kde přímé vyhřívání vzduchu a jeho minimální odsávání

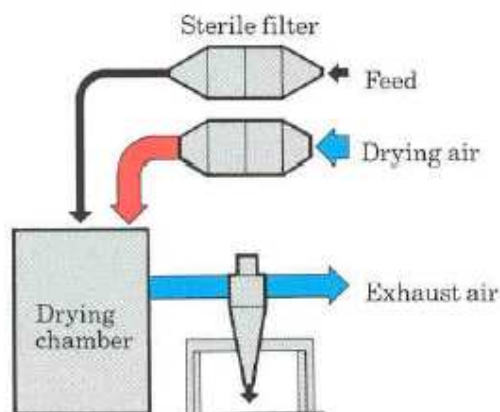
vytváří atmosféru s malým obsahem kyslíku, která je potřebná pro sušení vodných výchozích produktů tvořících explozivní směsi prášek-vzduch (Obr. 10: Sprejové sušení-polo-uzavřený cyklus).



Obr. 10: Sprejové sušení-polo-uzavřený cyklus (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, [http://www.niro.com/ndk\\_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB\\_Spray\\_Drying.pdf/\\$file/GB\\_Spray\\_Drying.pdf](http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/$file/GB_Spray_Drying.pdf) cit 28.8.2007)

### ASEPTICKÉ SUŠENÍ

Rozprašovaná látka je sterilní, vzduch je filtrován přes HEPA filtry. Tyto sušárny se používají tam, kde je třeba zabránit kontaminaci produktu. Jsou konstruovány podle zvláštních norem a pracují pod mírným přetlakem. Většinou jsou na takové přístroje připojena plně automatická čistící a sterilizační zařízení. V uspořádání výroby je dále začleněna balící místnost s laminárním prouděním (Obr. 11: Sprejové sušení-aseptický proces (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, [http://www.niro.com/ndk\\_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB\\_Spray\\_Drying.pdf/\\$file/GB\\_Spray\\_Drying.pdf](http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/$file/GB_Spray_Drying.pdf) cit 28.8.2007)).



Obr. 11: Sprejové sušení-aseptický proces (zdroj: Niro A-S, Soeborg, Dánsko, [http://www.niro.com/ndk\\_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB\\_Spray\\_Drying.pdf/\\$file/GB\\_Spray\\_Drying.pdf](http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/$file/GB_Spray_Drying.pdf) cit 28.8.2007)

## **Výhody a nevýhody sprejového sušení**

Sprejové sušárny se používají pro přípravu malých množství produktu i pro výrobu obrovských množství. Mohou dosáhnout odpařivost (kapacitu vypařování) až 6.800 kg za hodinu.

Čistota produktu zůstává po celou dobu přípravy velmi vysoká, protože částice látky jádra nepřicházejí do kontaktu se stěnami sušárny dříve, než jsou vysušeny, což minimalizuje problém lepení a koroze (jiný problém je lepení už vysušených částecek, viz níže).

Metoda je velmi flexibilní. Jednoduchý operační systém umožňuje rychlé přizpůsobení podmínek (např. nastavení teploty) přesně podle požadavků na produkt. Sprejové sušárny bývají navrženy tak, aby produkt dosáhl požadovaných vlastností: velikosti částic, objemové hustoty, obsahu vlhkosti nebo rozpustnosti [128]. Produkce mikrokapsul probíhá v jednom kroku a může probíhat kontinuálně. Jednoduchost metody umožňuje vyhnout se organickým rozpouštědlům, i když to není vždy pravidlem [129][130].

Produktem sprejového sušení je prášek malých mikrokapsul o rozměrech 1 – 150 mikrometrů. Tento prášek může být dále využit k přípravě suspenzí, pelet nebo k lisování tablet.

Hlavní výhodou sprejového sušení je to, že se může používat i pro termolabilní látky, protože látka jádra bývá zahřáta na poměrně nízkou teplotu.

Nevýhodou sprejového sušení je, že látka jádra může být i na povrchu mikrokapsuly, což může způsobit její oxidaci a případné chuťové změny [131]. Dalším problémem jsou skladovací podmínky produktů, které mohou vyžadovat prostředí s velmi malou vzdušnou vlhkostí. Vyšší obsah vzdušné vlhkosti má vliv na stabilitu mikrokapsuly a udržení prchavých příměsí uvnitř. Navíc během mikroenkapsulace sprejovým sušením nemusí být teplota u vstupního otvoru dostatečně vysoká, což způsobí neúplné vysušení a lepení na stěny sušící komory nebo tvorbu shluků.

Mohou se vyskytnout i poruchy soudržnosti, zvláště při špatných podmínkách sušení. Při snižování teploty se mikrokapsuly mohou nafukovat a na povrchu mohou vzniknout praskliny. To opět způsobuje snížení schopnosti zadržení prchavých látek, a tím i snížení kvality [132].

### **3 Experimentální část**

#### **3.1 Použité přístroje**

Analytické váhy Kern ABS, max 220g, d=0,1mg

Váhy Kern 440-33N max 200g, d=0,01g

Váhy Kern 440-47 max 1200g, d=0,1g

Magnetická míchačka Heidolph MR 3001 100-1250 ot./min

Homogenizátor Diax 900 Heidolph, max.8000-26000 otáček / min.,6.pásem

Zetasizer ZS, Malver Instruments, UK

Ultrazvuk Sonorex super 10P Bandelin

Sprejová sušárna Mini Spray Dryer B-290, Büchi Labortechnik AG, Flawil,  
Švýcarsko

Mikroskop Olympus BX 51

PC s programem analySIS<sup>®</sup> FIVE, Soft Imaging System GmbH, Münster,  
Německo

Potenciometr digitální s pH – metrem, Mini Lab, Model IQ 125 Profesional

Biologický termostat, BT 120, Laboratorní přístroje Praha

Horkovzdušná sušárna, HSPT.200

Tenziometr Krüss K 100, Krüss, Německo

#### **3.2 Chemikálie a pomůcky**

Kyselina Poly(D,L mléčná), KFT UK FaF Hradec Králové

3D, 3M, M-18-M větvené oligomery odvozené od kyseliny poly DL mléčné 3M  
(větvený 3% mannitolem), 3D (větvený 3% dipentaerytritolem) a M-18-M  
(větvený 0,75% mannitolem), KFT UK FaF Hradec Králové

PLGA-2 polylaktid-co-glykolid, KFT UK FaF Hradec Králové

PEU-1 polyesteruretan, KFT UK FaF Hradec Králové

Dichlormethan (DCM) p.a. Lachema a.s. Neratovice

Chloroform (CHCl<sub>3</sub>) Lach-Ner s.r.o. Neratovice cz

Destilovaná voda

Lecitin L- $\alpha$  lecitin typ II S, Sigma Aldrich

Polysorbát Lachema a.s. Neratovice

Poloxamer 407 ICI Surfactants UK



Terbinafin hydrochlorid Zentiva a.s.

Ethylacetát Lachema a.s. Neratovice

Methylacetát Lachema a.s. Neratovice

Methylformiát Lachema a.s. Neratovice

Mannitol p.a. – Lachema a.s., CZ

Xylitol apyrogenní – Roquette, Francie

Polyvinylalkohol – Mw=9000-10 000, stupeň hydrolyzy 80%, Sigma Aldrich

Pentaerythritol – Sigma Aldrich

Litesse – Mw=182-500, Danisco

L- $\alpha$  lecitin – typ II S, sojový, P-5638, Sigma Aldrich

Polysorbát 20 – Tween, Kulich, Hradec Králové

Pupalkový olej – Kulich, Hradec Králové

Methanol p.a., Lachema

Polyethylenimin, 80% polyethoxylovaný, Sigma-Aldrich

Bovinní sérový albumin, Sigma-Aldrich

Dialyzační trubičky:

- celulózová membrána
- výrobce Sigma
- zadrží molekuly nad 12000 Da
- průměr 16mm (6mm)
- Kapacita 60mL/na stopu délky (10mL/ft)

Polyacrylat-polyalkohol Kopolymer kyseliny akrylové s vinylalkoholem:

- P7588-500g
- výrobce Sigma

### 3.3 Vlastnosti použitých polymerů

#### Kyselina polymléčná, kyselina polyglykolová a jejich kopolymery

##### **Charakteristika:**

Kyselina polyglykolová (PGA) jako nejjednodušší polyester, je krystalická látka s teplotou tání ( $T_m$ ) 225°C a s teplotou skelného přechodu ( $T_g$ ) 35°C. Stavební jednotka v molekule PGA obsahuje nepolární methylenovou skupinu a relativně polární esterovou skupinu, empirickým vzorcem vyjádřeno  $(C_2H_2O_2)_n$ . Ve srovnání s ostatními biodegradabilními polymery je PGA vysoce krystalický polymer s krystalinitou v rozmezí 35% až 75%. Z jeho struktury vyplývají specifické chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti. Polymer je rozpustný ve většině organických rozpouštědel. PGA má velmi vysokou pevnost a modul elasticity. PGA podléhá biodegradaci na základě hydrolýzy nestabilních esterových vazeb. Doba degradace závisí na molekulové hmotnosti, stupni krystalinity, fyzikální geometrii polymeru a fyzikálně chemických vlastnostech prostředí.

Kyselina polymléčná (PLA) má odlišné chemické, fyzikální a mechanické vlastnosti než PGA. Rozdíl je dán přítomností methylové skupiny na  $\alpha$ -uhlíku a díky tomuto centru asymetrie lze získat levotočivou, pravotočivou a racemickou formu polymeru. Komerčně se využívá především L-PLA, DL-PLA a jejich kopolymery.

L-PLA je semikrystalický, biodegradabilní polymer s teplotou tání ( $T_m$ ) okolo 175°C a teplotou skelného přechodu ( $T_g$ ) 65°C. Empirický vzorec polylaktidu je  $(C_3H_4O_2)_n$ . L-PLA je méně krystalický polymer než PGA s krystalinitou okolo 35%. Je velmi dobře rozpustný v běžných organických rozpouštědlech jako je např. chloroform. Rovněž se vyznačuje vysokou mechanickou pevností, ale nižším modulem elasticity než PGA.

DL-PLA je amorfni polymer s teplotou tání přechodu 57°C. Polymer má velmi malou pevnost a modul elasticity.

PLA je hydrolyticky stabilnější než PGA, je to dáno sterickým bráněním esterových vazeb methylovou skupinou. Amorfni DL-PLA degraduje rychleji než semikrystalická L-PLA.

Kopolymery kyseliny glykolové s kyselinou DL-mléčnou (PLGA) mají široký rozsah fyzikálních a chemických vlastností a odlišnou rychlost biodegradace. Zastoupení kyseliny glykolové je obvykle 25-50% molárního podílu ve směsi s kyselinou mléčnou. Jsou vhodnými biodegradabilními materiály, protože esterové vazby podléhají hydrolýze. Biodegradace kopolymerů je rychlejší než u biopolymerů neboť kopolymery jsou oproti homopolymerům amorfni.

Charakterizace větvených oligoesterů gelovou permeační chromatografií s on-line rozptylovým fotometrem a viskozimetrem [134] (výstup analýzy: Prof. Š. Podzimek, CSc. SYNPO 2006).

##### **Experimentální část**

Pro analýzu dodaných vzorků byla použita sestava kapalinového chromatografu sestávající se z čerpadla a autosampleru Alliance 2695 Separations Module (Waters), rozptylového fotometru miniDAWN (Wyatt Technology Corporation), viskozimetru ViscoStar (Wyatt Technology Corporation) a diferenciálního refraktometru 2414 (Waters). Pro separaci byly použity dvě

kolony PLgel Mixed-C. Jako mobilní fáze byl použit tetrahydrofuran (THF) při průtoku 1 ml/min. Vzorky byly dávkovány jako roztoky v THF v množství 100  $\mu$ l a koncentraci 4 % w/v.

V Tab. 1: Číselné a hmotnostní průměry molární hmotnosti, hmotnostní průměry vnitřní viskozity a průměrné větvicí poměry  $g'$  jsou pro hodnocené vzorky shrnuty číselné ( $M_n$ ) a hmotnostní ( $M_w$ ) průměry molární hmotnosti, hmotnostní průměry vnitřní viskozity  $[\eta]_w$  a větvicí poměry  $g'$ . Větvicí poměr je definován následovně:

$$g' = \left( \frac{[\eta]_{br}}{[\eta]_{lin}} \right)_M$$

Kde  $[\eta]$  je vnitřní viskozita lineárního *lin* a větveného *br* polymeru při shodné molární hmotnosti  $M$ . Z definice je zřejmé, že pro lineární polymery  $g'$  dosahuje hodnoty 1,0 a klesá směrem k nule s rostoucím stupněm větvení. V Obr. 12: Markovy-Houwinkovy diagramy lineární poly(DL-mléčné kyseliny) získané čtyřnásobně opakovanou analýzou, jsou uvedeny průměrné hodnoty  $g'$  počítané z experimentálně stanovené hodnoty vnitřní viskozity a hodnoty vnitřní viskozity počítané z hodnoty  $M_w$  a Markovy-Houwinkovy (MH) rovnice pro lineární poly(DL-mléčnou kyselinu). Ta byla stanovena čtyřnásobnou analýzou vzorku poly(DL-mléčné kyseliny):

$$[\eta] = 5.22 \times 10^{-2} M^{0.629} \text{ (ml/g)}$$

Příslušné MH diagramy jsou na Obr. 12: Markovy-Houwinkovy diagramy lineární poly(DL-mléčné kyseliny) získané čtyřnásobně opakovanou analýzou..

Pro vzorky obsahující pentaerythritol a tripentaerythritol stupeň větvení a molární hmotnost vzrůstá při zvýšení koncentrace větvicího monomeru z 1 % na 3 %. Při použití 5 % se však již pravděpodobně projevuje přebytek hydroxylových skupin a stupeň větvení i molární hmotnost klesají.

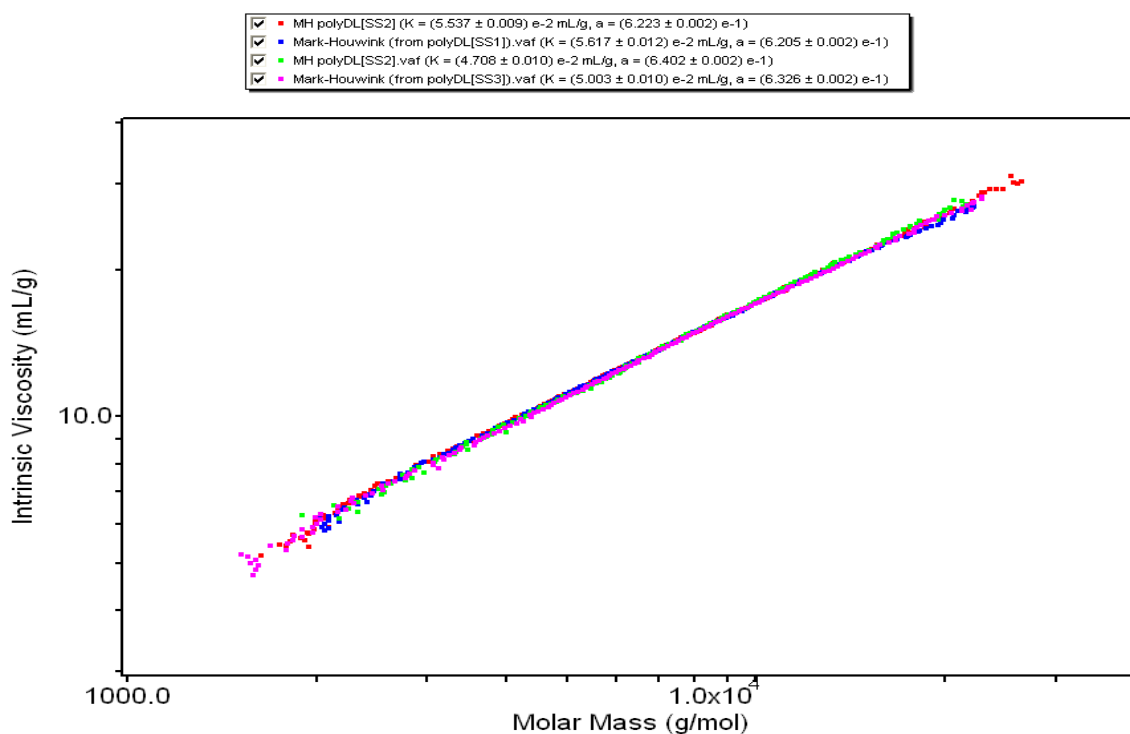
Na Obr. 13: Markovy-Houwinkovy diagramy pro poly(DL-mléčnou kyselinu) (zelená) a oligoestery obsahující 3 % větvicího monomeru: P3 (fialová), T3 (modrá) a A3 (červená), jsou porovnány MH diagramy pro nejvíce větvené vzorky ( $g'$  blízko 0.3) a lineární poly(DL-mléčnou kyselinu). Z obrázku je vidět, že průměry  $g'$  mohou být poněkud matoucí. Přestože jsou pro větvené oligoestery P3, T3 a A3 téměř shodné, z obrázku je mezi jednotlivými vzorky vidět značný rozdíl. MH diagram vzorku P3 je nejvíce posunut k nízkým hodnotám vnitřní viskozity, tzn. tento vzorek je nejvíce větvený v celém oboru dosahovaných molárních hmotností. Vzorky T3 a A3 však obsahují frakce s vyšší molární hmotností a to zvyšuje průměrnou hodnotu  $g'$ . Průběh MH diagramu pro vzorek A3 naznačuje v oblasti nižších molárních hmotností menší stupeň větvení oproti vzorku T3, v oblasti vyšších molárních hmotností je stupeň větvení vyšší. Společným znakem větvených oligoesterů na Obr. 13: Markovy-Houwinkovy diagramy pro poly(DL-mléčnou kyselinu) (zelená) a oligoestery obsahující 3 % větvicího monomeru: P3 (fialová), T3 (modrá) a A3 (červená), je vzrůstající stupeň větvení s rostoucí molární hmotností.

**Tab. 1: Číselné a hmotnostní průměry molární hmotnosti, hmotnostní průměry vnitřní viskozity a průměrné větví poměry  $g'$**

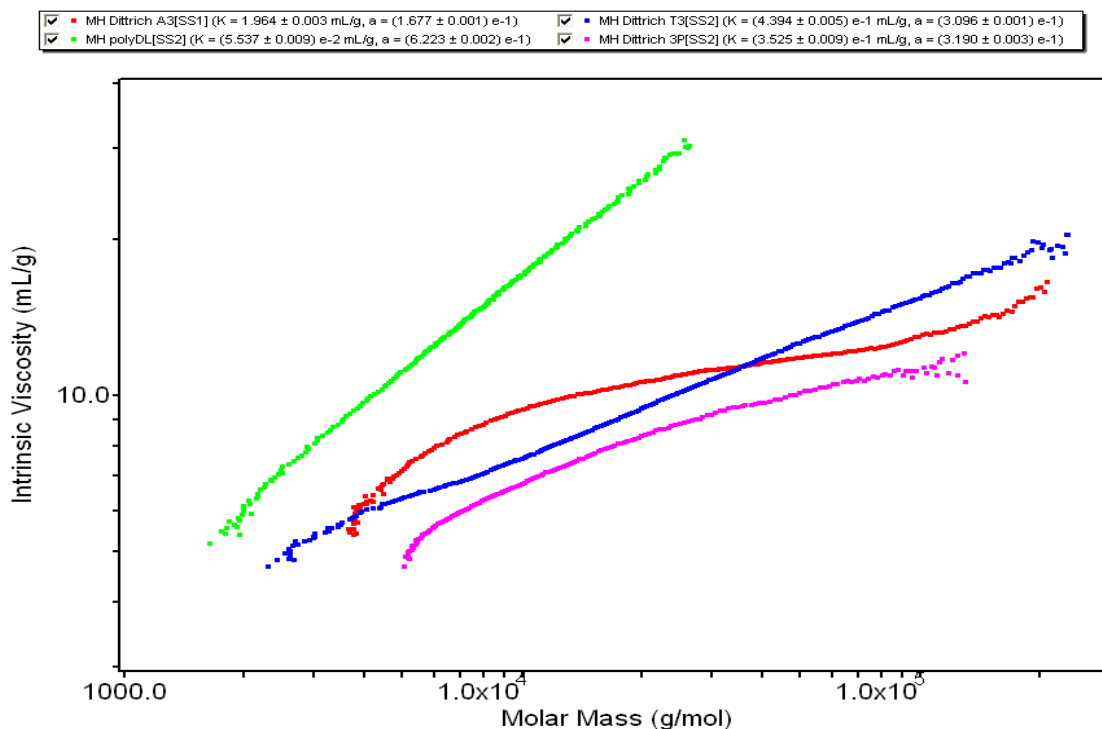
Vzorek	Větví monomer (%)	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	$[\eta]$ (ml/g)	$g'$
P3	penta (3)	8700	12700	6,5	0,33
P5	penta (5)	2200	2700	4,6	0,61
D3	dipenta (3)	4300	6600	6,8	0,52
T3	tripenta (3)	7900	20600	8,5	0,31
T5	tripenta (5)	5800	11900	6,5	0,34

Penta = pentaerythritol, dipenta = dipentaerythritol, tripenta = tripentaerythritol, složení oligoesterů: ekvimolekulárně kyselina glykolová a DL-mléčná

⇒ Z těchto vzorků vyšel jako nejvíce rozvětvený polymer P3.



**Obr. 12: Markovy-Houwinkovy diagramy lineární poly(DL-mléčné kyseliny) získané čtyřnásobně opakovanou analýzou.**



Obr. 13: Markovy-Houwinkovy diagramy pro poly(DL-mléčnou kyselinu) (zelená) a oligoestery obsahující 3 % větvičho monomeru: P3 (fialová), T3 (modrá) a A3 (červená).

Tab. 2: Souhrn analýzy polymerů

NOSIČ	Mn	Mw	MP	Mz	Mz+1	Polydisp.	Tg1	$\Delta C_p$	Tg2	$\Delta C_p$
PLGA										
5/5	1833	4086	4049	6494	8818	2,23	17	0,902		
3D	3600	5300				1,5	27,3			
3P	2440	5231	4659	8342	11778	2,14	22,2	0,416		
3T	3355	13334	9074	27152	43224	3,97	21,7	0,508		
5D	1900	2300				1,2	16,3			
5P	1711	2869	2610	4084	5397	1,68	12,7	0,453		
5T	3016	8555	6379	15025	22625	2,84	17,2	0,471	41,9	0,28

### M-18-M

Obsahuje 0,75 % mannitolu

$M_w(\text{SEC}) = 10\,700$

$M_w(\text{SEC-MALS}) = 12\,200$

### 3D

Obsahuje 3 % dipentaerytritolu

$M_n(\text{SEC}) = 3\,600$

$M_w(\text{SEC}) = 5\,300$

$M_w(\text{SEC-MALS}) = 6\,360$

$T_g = 27,3\text{ }^\circ\text{C}$

### **3M**

Obsahuje 3 % mannitolu

$M_n$  (SEC) = 2 600

$M_w$  (SEC) = 3 800

$M_w$  (SEC-MALS) = 4 100

$T_g$  = 23,7 °C

Měření různých parametrů je způsobeno dlouhým časovým odstupem (asi 6 let) mezi syntézou prvního a posledního z polymerů.

### **3.4 Příprava nanočástic**

K přípravě nanočástic byla použita metoda extrakce a odpaření rozpouštědla, která je založená na přípravě emulze typu olej ve vodě. Vodná fáze je tvořena roztokem tenzidů. Jedním z nich byl vždy lecitin a to v koncentraci 0,25%, 0,5%, 0,75% nebo 1%. Jako druhý tenzid jsme používali PS (polysorbát), nebo Poloxamer P<sub>x</sub> 407, P<sub>x</sub> 6800 nebo P<sub>x</sub> 6400 v 0,25% a 0,5% koncentraci nebo pak samostatně Polyvinylalkohol PVA v koncentracích 1,5% a 3% o různých průměrných molekulových hmotnostech  $M_r$ =10000, 15000, 20000. Organickou fází tvořil polymer. Byly použity různé typy polymerů: nevětvená kyselina poly D,L-mléčná (PDLLA), větvené oligomery odvozené od kyseliny poly DL mléčné 3M (větvený 3% mannitolem), 3D (větvený 3% dipentaerytritolem) a M-18-M (větvený 0,75% mannitolem), PEU-1 (polyesteruretany ) v koncentracích 1% a 2%. Polylaktid-co-glykolid byl použit jako srovnávací látka. Jako léčivo byl použit terbinafin, hydrochlorid terbinafinu a bazický terbinafin v koncentraci 10%, 20% a 30%. Rozpouštědlo bylo použito: dichlormethan, chloroform, jejich kombinace 1:1 a řada polárnějších a méně toxických rozpouštědel: methylacetát (MA), ethylacetát (EA), směs MA s EA 1:1, methylformiát (MF), směs MA s MF 1:1.

#### **Příprava vodné fáze**

Navážené množství tenzidů se doplnilo čištěnou vodou do 49g. Rozpouštění jsme urychlovali zahřátím v mikrovlnné troubě a ponořením do ultrazvukové lázně. Roztok tenzidů se nechal vychladnout na teplotu okolního prostředí.

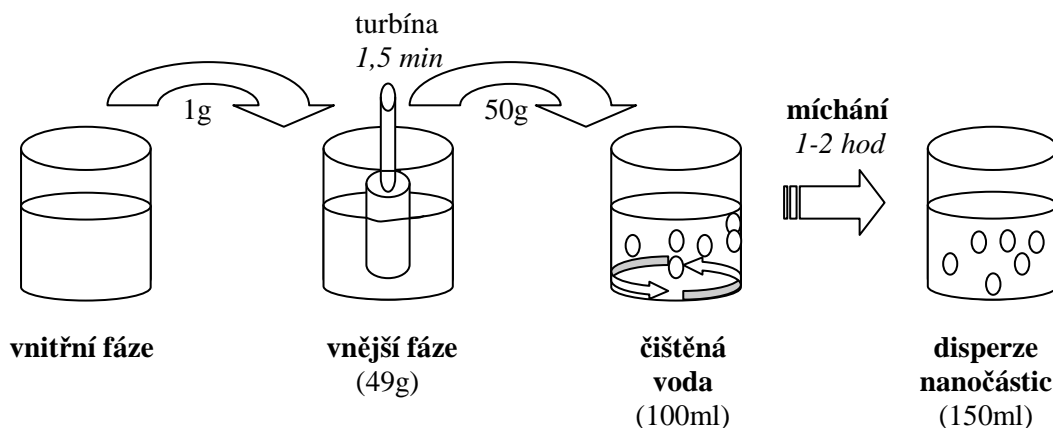
#### **Příprava organické fáze (roztok polymeru v rozpouštědle a léčivo)**

K naváženému množství polymeru jsme přidali odpovídající množství organického rozpouštědla. Do skleněné lahvičky s víčkem jsme navázili potřebné množství terbinafinu a poté rozpustili v roztoku rozpouštědla.

#### **Příprava nanočástic**

Kádinku s 49g vodné fáze jsme umístili na homogenizátor a přidali jsme 1 g popřípadě 2 g roztoku organické fáze. Tuto směs jsme homogenizovali po dobu 1,5 minuty na stupni 6 (tj. 26 000 otáček/min). Po ukončení homogenizace jsme nanoemulzi ihned přelili do předem připravené kádinky se 100 ml čištěné vody umístěné na magnetické míchačce. Nanoemulze byla udržována v pohybu po

dobu 1-2 hodin, dokud organické rozpouštědlo z vnitřní fáze nepřešlo z větší části do vnější fáze odkud se postupně vypařilo. Po odpaření rozpouštědla zůstal ve vnitřní organické fázi polymer a částice se staly pevnými. Viz. schématické znázornění na Obr. 14: Schématické znázornění provedeného experimentu (zdroj: autor (vlastní))



Obr. 14: Schématické znázornění provedeného experimentu (zdroj: autor (vlastní))

### Příprava baze terbinafinu

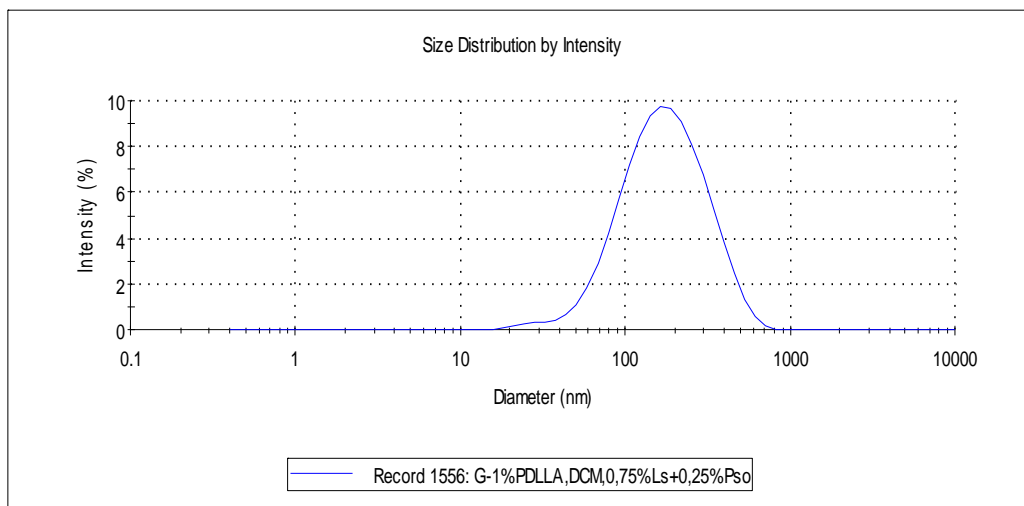
Hydrochlorid terbinafinu jsme rozpustili v destilované vodě na 0,5% roztok. Rozpouštění jsme urychlovali mírným zahřátím a ponořením do ultrazvukové lázně. K roztoku jsme přidali 10% roztok amoniaku až do změny pH (pH ~ 8). Došlo k mléčnému zakalení roztoku. Dále jsme přidali poloviční množství chloroformu a po dobu dvaceti minut vytřepávali v dělicí baňce. Vzniklou organickou fází jsme z dělicí baňky odpustili, k vodné fázi jsme přidali druhou část chloroformu a znovu jsme dvacet minut protřepávali. Vodná fáze – roztok terbinafinu a organická fáze – baze terbinafinu byli v poměru 1:2. Vzniklý organický roztok jsme odpařili ve vakuové sušárně do sucha, vznikl olejovitý produkt baze terbinafinu. Při delším stání na světle (dva až tři dny) došlo k oranžovo-červenému zbarvení. Baze terbinafinu podléhala rozkladu, proto byla vždy připravována v čase potřeby.

### Hodnocení částic

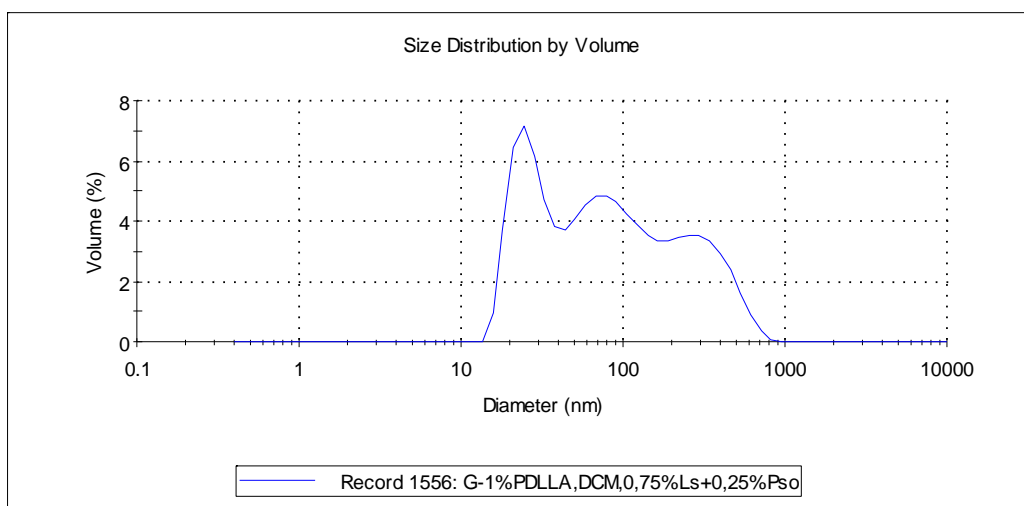
U hotových nanočástic jsme na Zetasizeru proměřovali jejich velikost a zeta potenciál. Výsledky byly zaznamenány v tabulkách a grafech.

### Měření velikosti částic

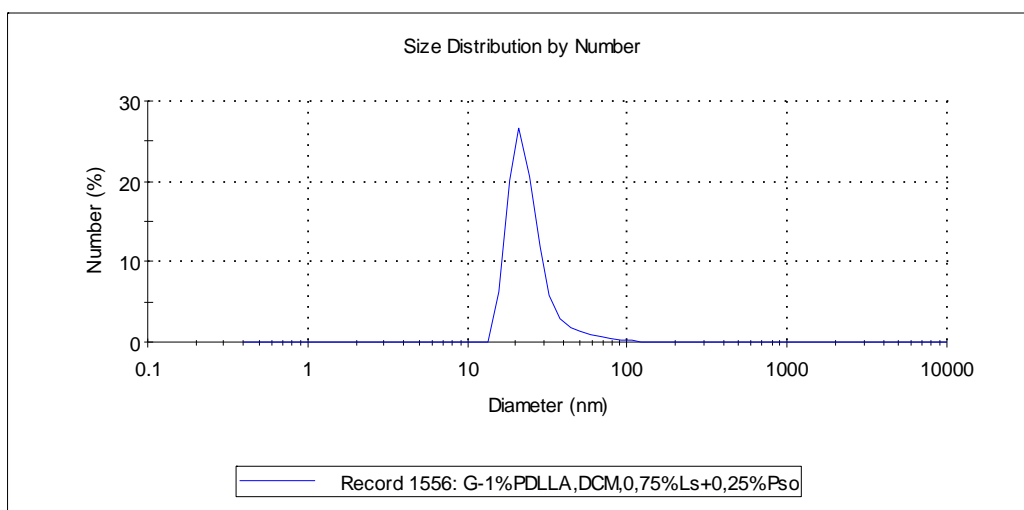
Vzorek jsme naplnili do speciální kyvety určené pro měření v Zetasizeru a měřili jsme velikost částic. Stejný vzorek byl použit pro měření zeta potenciálu. Jak bylo zmíněno již dříve základní distribuční velikost vytvořená DLS je distribuce intenzity, vzorek je proměřován během jediného měření 10krát v časovém intervalu 7,5 min. Přístroj zobrazuje velikostní distribuci. Na ose X je zobrazená distribuce třídy velikostí a na ose Y je zobrazená relativní intenzita rozptýleného světla (viz následující grafy).



Obr. 15: Ukázka grafu distribuce velikosti částic (v nm) podle intenzity rozptýleného paprsku (zdroj: autor (vlastní))



Obr. 16: Ukázka grafu velikosti částic podle objemové distribuce (zdroj: autor (vlastní))



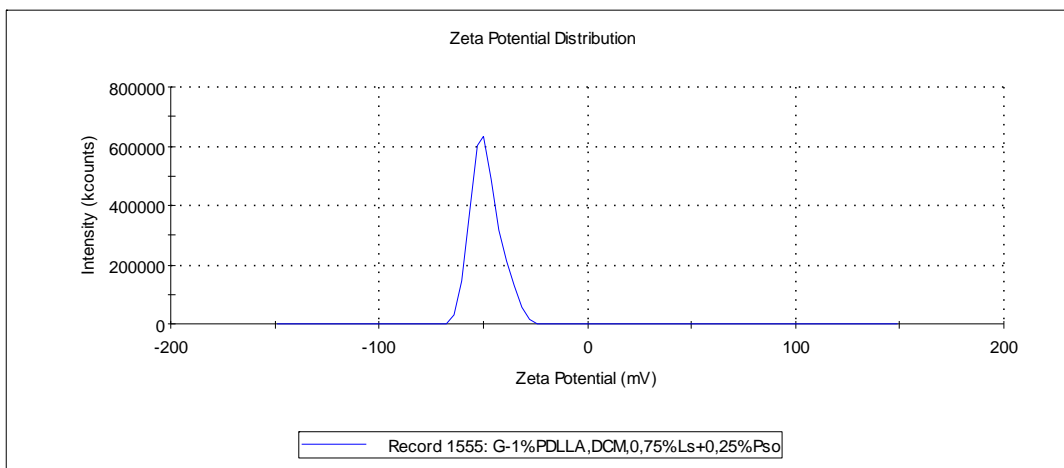
Obr. 17: Ukázka grafu velikosti částic podle číselné distribuce (zdroj: autor (vlastní))



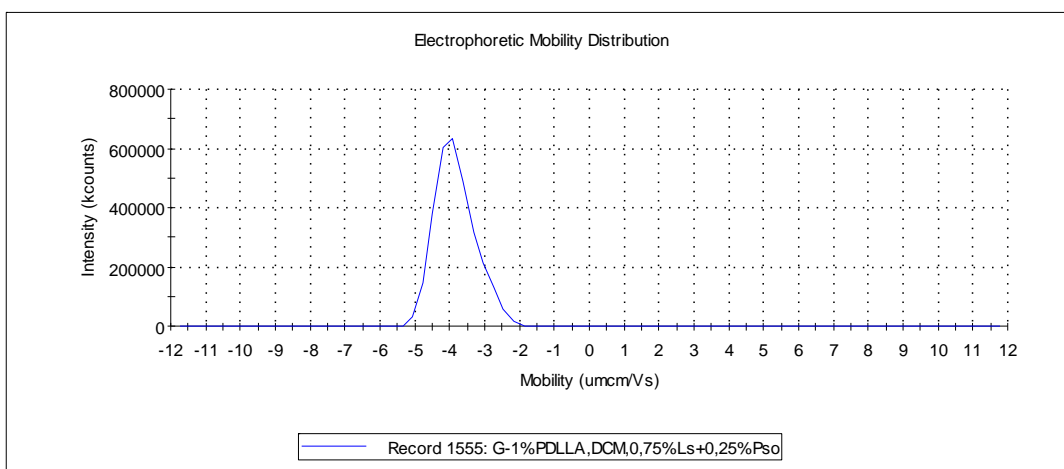
## Měření zeta potenciálu

Zeta potenciál jsme měřili na Zetasizeru, ze stejného vzorku jako velikost částic. Zetasizer zaznamenával výsledky a tyto údaje zpracovával do zeta potenciálové distribuce a distribuce elektroforetické mobility.

V případě grafu Obr. 18: Ukázka grafu distribuce zeta potenciálu (zdroj: autor (vlastní)) je na ose X zobrazen zeta potenciál v mV a na ose Y je zobrazena relativní naměřená intenzita. V grafu Obr. 19: Ukázka grafu distribuce elektroforetické mobility (zdroj: autor (vlastní)) je na ose X zobrazena mobilita, na ose Y je zobrazena relativní naměřená intenzita.



Obr. 18: Ukázka grafu distribuce zeta potenciálu (zdroj: autor (vlastní))



Obr. 19: Ukázka grafu distribuce elektroforetické mobility (zdroj: autor (vlastní))

### 3.5 Výpočty

#### Příprava vodné fáze

Při přípravě vodné fáze se směs příslušných tenzidů doplňovala vždy do hmotnosti 50g čištěnou vodou.

#### Směs tenzidů: 0,75 % lecitin; 0,25 % PS/P<sub>X</sub>/P<sub>E</sub>

0,75 % Lecitin .....0,375 g  
0,25 % PS/P<sub>X</sub>/P<sub>E</sub>.....0,125 g

#### Směs tenzidů: 0, 5 % lecitin; 0,5 % PS/P<sub>X</sub>/P<sub>E</sub>

0,5 % Lecitin .....0,25 g  
0,5 % PS/P<sub>X</sub>/P<sub>E</sub>.....0,25 g

#### Směs tenzidů: 0, 25 % lecitin; 0,75 % PS/P<sub>X</sub>/P<sub>E</sub>

0,25 % Lecitin .....0,125 g  
0,75 % PS/P<sub>X</sub>/P<sub>E</sub>.....0,375 g

Pro přípravu několika vzorků byl k přípravě vodné fáze použit pouze lecitin a to v koncentracích 1 % a 1,5 %.

#### Tenzid: 1,5 % lecitin

1,5 % Lecitin .....0,75 g

#### Tenzid: 1 % lecitin

1 % Lecitin .....0,5 g

#### Příprava organické fáze

Polymery pro organickou fázi byly použity v 1 % a 2 % koncentraci. Při použití 2 % koncentrace polymeru nebylo použito léčivo ( terbinafin ). Pokud jsme použili 1 % koncentraci polymeru přidávali jsme terbinafin hydrochlorid a bazi terbinafinu v koncentracích 10 %, 20 % a 30 %.

#### 1 % M-18-M / 3 D / 3 M / PDLLA

0,01 g M-18-M / 3 D / 3 M / PDLLA ..... 1 g dichlormethan

#### 10 % terbinafin / terbinafin HCl / terbinafin baze

0,01 g polymeru..... 100%  
0,001 g terbinafinu ..... 10 %

#### 20 % terbinafin / terbinafin HCl / terbinafin baze

0,01 g polymeru..... 100%  
0,002 g terbinafinu ..... 20 %

### 30 % terbinafin / terbinafin HCl / terbinafin baze

0,01 g polymeru.....	100%
0,003 g terbinafinu.....	30 %

Tab. 3: Rozpustnost PDLLA, popisuje druhy rozpouštědel pro PDLLA; PDLLA byl nejlépe rozpustný v methylacetátu a dichlormethanu. DCM-dichlormethan jsme proto používali jako rozpouštědlo PDLLA pro další měření. Hodnocení rozpustnosti nebylo množstevně podle lékopisu z důvodů malého množství použitého polymeru (nesplňuje množství v lékopisu pro rozpoštění uvedená, nicméně poměry byly zachovány).

Tab. 3: Rozpustnost PDLLA

Rozpouštědlo	Rozpustnost PDLLA
Methylacetát	dobře rozpustný
Dimethylsulfoxid	dobře rozpustný
Methylformiát	málo rozpustný
Diethyléter	nerozpustný
Benzylalkohol	málo rozpustný
Cyklohexan	nerozpustný
Cyklohexanol	nerozpustný
Dichlormethan	dobře rozpustný
Chloroform	dobře rozpustný

### 3.6 Příprava koloidních částic stříbra

Příprava spočívala v redukcí  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$  komplexu maltosou v alkalickém prostředí. Koncentrace reakčních látek v systému byla  $10^{-3}$  mol/l  $\text{AgNO}_3$ ,  $5 \cdot 10^{-3}$  mol/l  $\text{NH}_3$ ,  $10^{-2}$  mol/l  $\text{NaOH}$  a  $10^{-2}$  mol/l maltosy.

K zásobnímu roztoku stříbrného komplexu uchovávanému ve tmě se přidal zásobní roztok čpavku. Vzniklý komplex se naředil vodou a poté se k němu přidal zásobní roztok  $\text{NaOH}$ . Následoval nástřik zásobního roztoku redukční látky (maltósy).

Reakce se prováděla za použití elektromagnetické míchačky. Celý systém bylo nutné intenzívně míchat po celou dobu redukce. Nástřik redukční látky se prováděl automatickou pipetou, a to v co nejkratším čase. Použitá reakční nádoba musela být dokonale čistá k zamezení vzniku částic heterogenní nukleací. Při opakované přípravě koloidu stříbra se vymývala reakční nádoba i s míchadlem ve zředěné kyselině dusičné (1:1) cca po dobu 5 minut. Všechny zásobní roztoky musely být před každou syntézou koloidu stříbra připraveny *ad hoc*.

Složení „blank“ roztoku bylo stejné, kromě dusičnanu stříbrného, tj.  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NaOH}$  a maltosa o stejných koncentracích.

Syntéza stříbrných nanočástic probíhala v 5 minutách. Koncentrace volných  $\text{Ag}$  iontů ve finální disperzi nanočástic, byla určena potenciometricky. Byla použita stříbrná ISE elektroda jako indikační elektroda a nasycená kalomelová elektroda

jako referenční. Koncentrace volných iontů  $\text{Ag}^+$  nepřekročila hodnotu  $1 \times 10^{-7}$  mol/l, což je detekční limit stříbrné ISE elektrody.

## KONCENTROVÁNÍ

Koncentrování se provádělo pomocí dialyzační trubice (průměr 25 mm) naplněné poly(akrylát-co-vinylalkoholem) ponořené do koloidního roztoku stříbra. Schopnost absorbovat vodu poly(acrylát-co-vinylalkoholem) je 500x násobná. U Koloidního roztoku stříbra je tato schopnost snížena a závislá na čase.

Roztok byl koncentrován ve 4 fázích a ve 3 krocích koncentrování za snížené teploty.

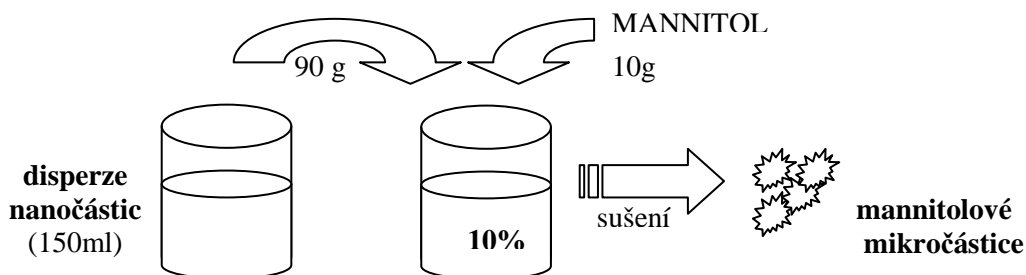
### 3.7 Sprejové sušení

Sušilo se z vodných nebo methanolických roztoků na sprejové sušárně Mini Spray Dryer B-290 (Büchi Labortechnik AG, Flawil, Švýcarsko)

Obr. 20: Schématické znázornění provedeného experimentu (zdroj: autor (vlastní)). Sušení probíhalo za teploty 105 - 110°C u vodných roztoků a za teploty 80°C u methanolických roztoků. Při pomalém rozpouštění se využívalo ultrazvuku k urychlení rozpouštění. Po dostatečném zahřátí vnitřního prostoru sušárny se roztok přetlakem čerpal do sušící komory. Při sušení se musela optimalizovat rychlost nasávání vzorku, nástřik vzorku do komory, teplota v sušící komoře a rychlost proudění vzduchu v sušárně. Výkon čerpadla na sušárně byl nastaven na 5 až 10%. Výkon aspirátoru byl nastaven na 100%, u problémovějších vzorků (vzorky s xylitolem nebo s BSA a s PEI-PEO) byl výkon aspirátoru snížen na 70 až 80% viz Tab. 4 : Parametry sprejového sušení.

Tab. 4 : Parametry sprejového sušení

Parametry procesu	Experiment. podmínky
Průměr trysky	0,7 mm
Vstupní teplota	110°C (+/- 2°C)
Výstupní teplota	60-70°C
Průtok vzduchu	600 L/h
Nástřik vzorku	10 mL/min
Účinnost aspirátoru	100%



Obr. 20: Schématické znázornění provedeného experimentu (zdroj: autor (vlastní))

## Sušené vzorky

Sušilo se z vodného roztoku mannitolu.

Roztok byl připraven o koncentraci **5%** až **20%**.

Sušilo se při teplotě na vstupu **110°C** nebo **120°C**.

Výkon čerpadla na sušárně byl nastaven na **5%** nebo **10%**.

Všechny kombinace těchto tří faktorů byly sušeny dvakrát.

Všechna další sušení probíhala při výkonu čerpadla 10%.

Dále se sušilo z vodného roztoku mannitolu a **xylitolu**:

koncentrace mannitolu **8%**, koncentrace xylitolu **2%**, při 110°C.

koncentrace mannitolu **8%**, koncentrace xylitolu **2%**, při 120°C.

koncentrace mannitolu **5%**, koncentrace xylitolu **5%**, při 110°C.

Vodný roztok mannitolu a **polyvinylalkoholu**:

koncentrace mannitolu **10%**, koncentraci polyvinylalkoholu **0,3%**, 110°C.

koncentrace mannitolu **10%**, koncentrace polyvinylalkoholu **1%**, 110°C.

koncentrace mannitolu **10%**, koncentrace polyvinylalkoholu **3%**, 110°C.

Vodný roztok mannitolu a **pentaerythritolu**:

koncentrace mannitolu **8%**, koncentrace pentaerythritolu **2%**, 110°C.

koncentrace mannitolu **5%**, koncentrace pentaerythritolu **5%**, 110°C.

Vodný roztok mannitolu a **Litesse ultra**:

koncentrace mannitolu **9%**, koncentrace Litesse **1%**, 120°C.

koncentrace mannitolu **8%**, koncentrace Litesse **2%**, 120°C.

koncentrace mannitolu **8%**, koncentrace Litesse **2%**, 110°C.

koncentrace mannitolu **7%**, koncentrace Litesse **3%**, 120°C.

koncentrace mannitolu **5%**, koncentrace Litesse **5%**, 120°C.

Vodný roztok mannitolu a **lecitinu**:

koncentrace mannitolu **10%**, koncentrace lecitinu **1,2%**, 110°C.

koncentrace mannitolu **10%**, koncentrace lecitinu **0,6%**, 110°C.

Vodný roztok mannitolu a **polysorbátu**:

koncentrace mannitolu **9%**, koncentrace polysorbátu **1,5%**, 120°C.

### **3.8 Měření velikosti částic světelným mikroskopem**

Nejvhodnější se ukázala příprava preparátů v pupalkovém oleji. Zkoušeny byly oleje parafinový, olivový, slunečnicový s příměsí tenzidů: kyselina olejová, polyvinylalkohol nebo entelan na přípravu trvalých preparátů.

### **3.9 Analýza obrazu**

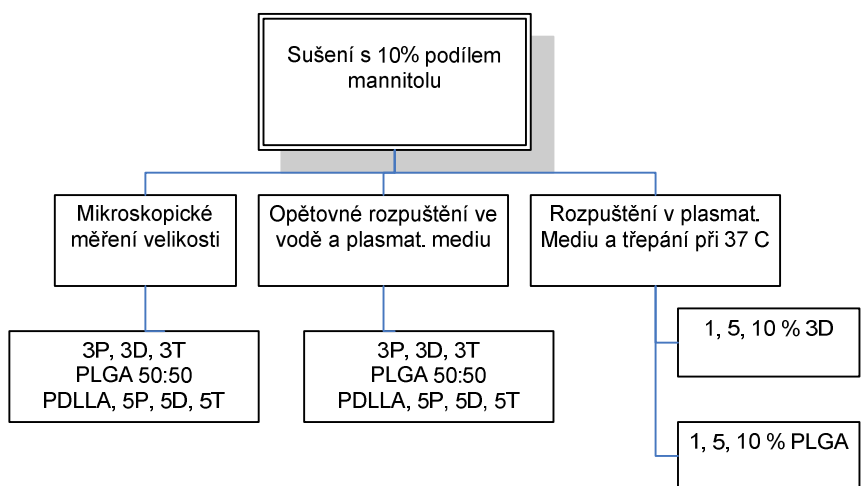
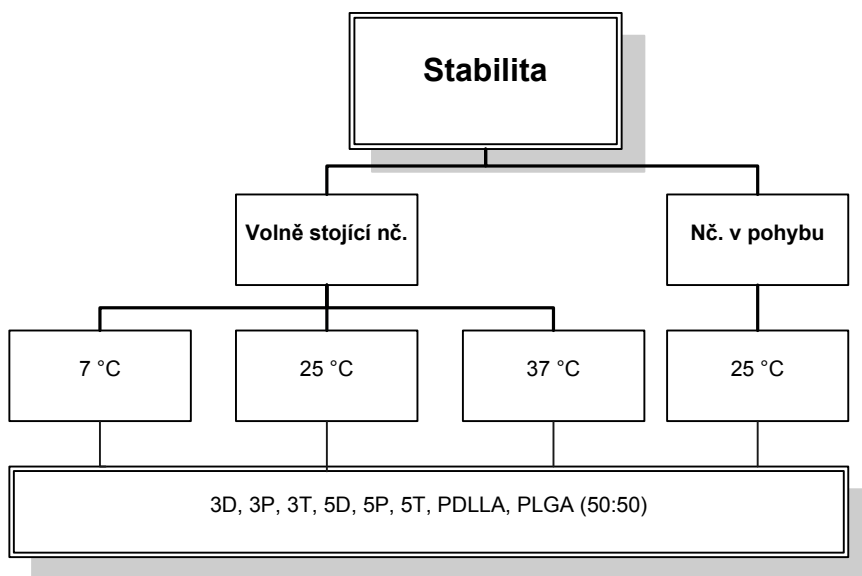
Analýza obrazu pomocí softwaru analySIS<sup>®</sup> FIVE probíhala za těchto parametrů:

- Zvětšení 40x
- Nastavení prahů (Set Tresholds) v rozmezí 146 až 155 (podle ostrosti obrazu)
- Pravidla detekce (Define Detection):
  - Filtr pro velikost částic: minimálně 30 obrazových bodů  
(Particle Filter: Minimum 30 Pixel)
  - Zahrnuto diagonální spojení obrazových bodů (Include Diagonals)
  - Z hodnocení vyřazeny částice dotýkající se hran snímaného obrazu (Exclude Border particles)
- Pravidla měření (Define Measurements):
  - Limit pro detekci plochy (Area - Lower Limit) 3,05
  - Limit pro tvarový faktor (Shape Factor - Lower Limit) 0,55

Hodnocení mikročástic bylo provedeno měřením jejich velikosti, a to za použití parametru středního průměru. Další měřené parametry byly plocha mikročástic, jejich tvarový faktor a Feretův průměr.

### **3.10 Hodnocení stability disperzí při koncentrování**

Jeden z důležitých faktorů u vodných disperzí je jejich stabilita v čase. Jedním z cílů této práce bylo ověřit stabilitu nanočástic ve vodné disperzi v závislosti na teplotě. Viz Obr. 21: Schématické znázornění provedení stabilitních pokusů (zdroj: autor (vlastní))



Obr. 21: Schématické znázornění provedení stabilitních pokusů (zdroj: autor (vlastní))

### 3.11 Měření povrchového napětí

Měření bylo prováděno přístrojem Tenzimetr Krüss K 100 při teplotě 22°C +/- 2°C metodou měření kroužkem. Byla použita korekce výpočtu povrchového napětí podle Huh a Masona, která při rozsahu našich výsledků poskytuje dostatečně přesné výsledky (+/- 0,19%) (Uživatelská příručka V2-05, Tenzimetr Krüss K 100, Krüss GmbH, Hamburg 2001-2005, str. 78). Každý vzorek byl měřen třikrát. Rozpis měřených vzorků je uveden v Tab. 5: Tabulka vzorků pro měření povrchového napětí část 1.a Tab. 6: Tabulka vzorků pro měření povrchového napětí část 2.

Tab. 5: Tabulka vzorků pro měření povrchového napětí část 1.

1,5PVA10	Lecitin	Polysorbát	Polox. 407
1,5PVA15	0,25Ls	0,25Pso	0,25Px407
1,5PVA20	0,5Ls	0,5Pso	0,5Px407
3PVA10	0,75Ls	0,75Pso	0,75Px407
3PVA15	1Ls	1Pso	1Px407
3PVA20	1,5Ls		

**Tab. 6: Tabulka vzorků pro měření povrchového napětí část 2.**

0,5%Lsoj.+0,5%x	0,75Ls+0,25x	0,5Lvaj+0,5%x	0,75Lvaj.+0,25%x
0,5Ls+0,5Pso	0,75Ls+0,25Pso	0,5Lv+0,5Pso	0,75Lv+0,25Pso
0,5Ls+0,5Px407	0,75Ls+0,25Px407	0,5Lv+0,5Px407	0,75Lv+0,25Px407
0,5Ls+0,5Px6400	0,75Ls+0,25Px6400	0,5Lv+0,5Px6400	0,75Lv+0,25Px6400
0,5Ls+0,5Px6800	0,75Ls+0,25Px6800	0,5Lv+0,5Px6800	0,75Lv+0,25Px6800



## 4 Výsledky a diskuze

### 4.1 Sprejové sušení

#### **Sušení z vodného roztoku mannitolu v závislosti na teplotě sušení a výkonu čerpadla**

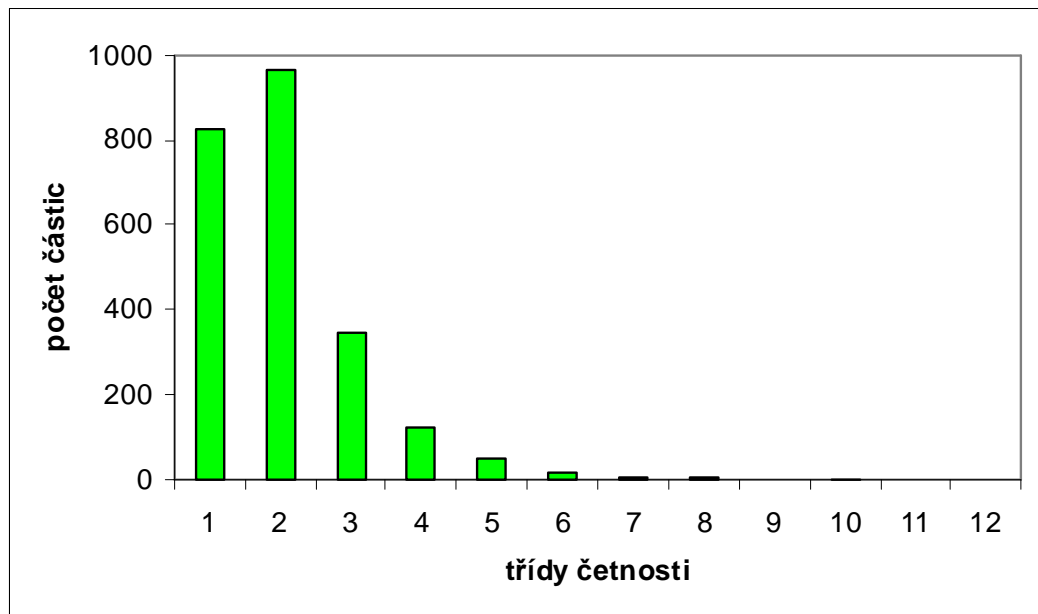
Jako první kapitolu výsledků uvádíme práci na výběru nejvhodnějšího mikročástičového nosiče pro nanočásticovou disperzi.

V grafech jsou uvedeny histogramy rozložení středního průměru částic. Pro histogramy platí velikostní třídy viz Tab. 7: Třídy četností pro histogramy středního průměru částic

**Tab. 7: Třídy četností pro histogramy středního průměru částic**

Třída četnosti	Od	Do
	μm	μm
1	0	3
2	3	6
3	6	9
4	9	12
5	12	15
6	15	18
7	18	21
8	21	24
9	24	27
10	27	30
11	30	33
12	33	36

- mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C



Obr. 22: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 5%

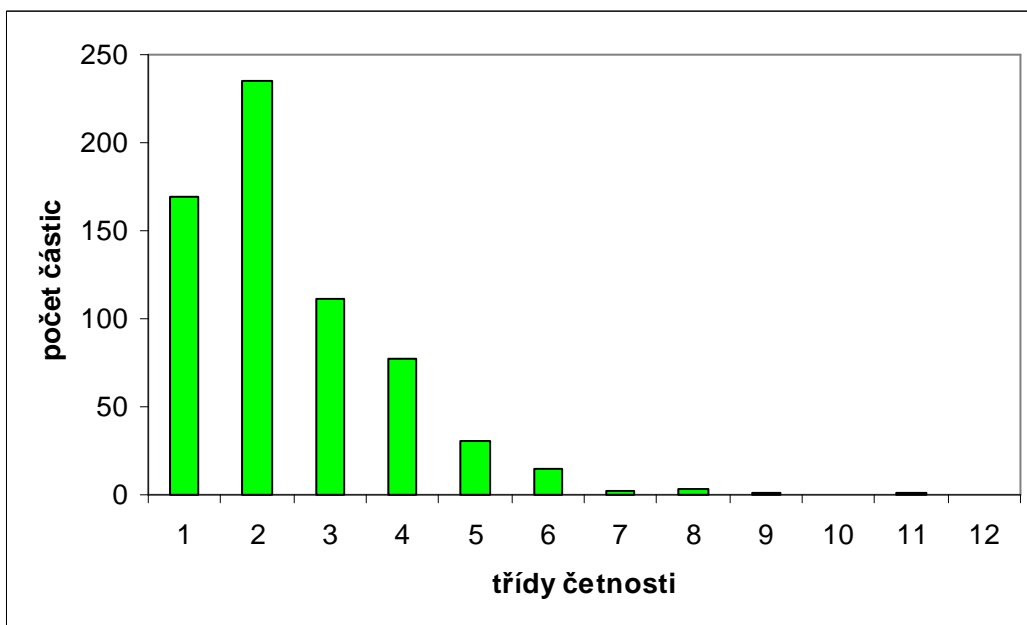
teplota na vstupu 110°C

Tab. 8: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	825
2	3	6	964
3	6	9	345
4	9	12	124
5	12	15	49
6	15	18	15
7	18	21	3
8	21	24	4
9	24	27	0
10	27	30	1
11	30	33	0
12	33	36	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,12
Maximum	29,51
Průměr	4,69
Směrodatná odchylka	2,88
Medián	5,02

- mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C



Obr. 23: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 5%

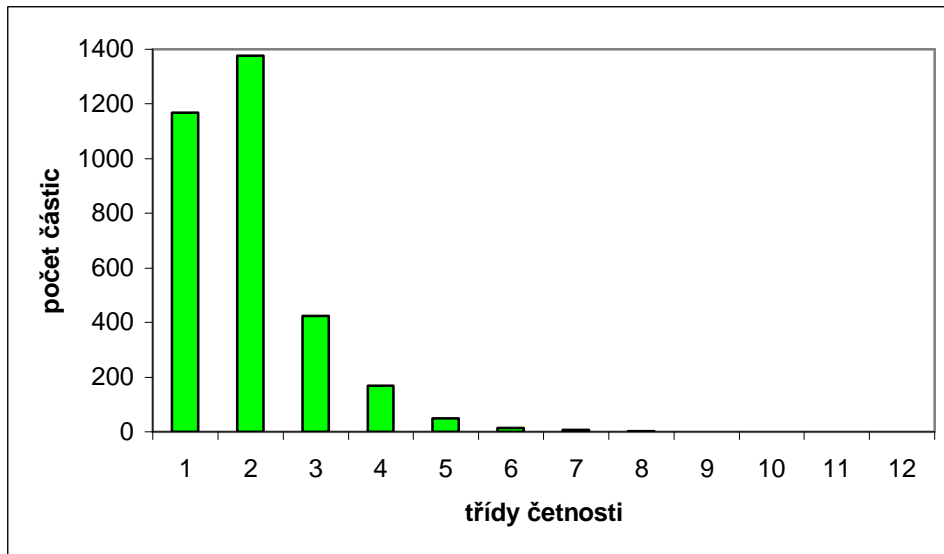
teplota na vstupu 120°C

Tab. 9: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	169
2	3	6	235
3	6	9	111
4	9	12	77
5	12	15	31
6	15	18	15
7	18	21	2
8	21	24	3
9	24	27	1
10	27	30	0
11	30	33	1
12	33	36	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,09
Maximum	32,68
Průměr	6,03
Směrodatná odchylka	3,88
Medián	6,54

- mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C



Obr. 24: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 10%

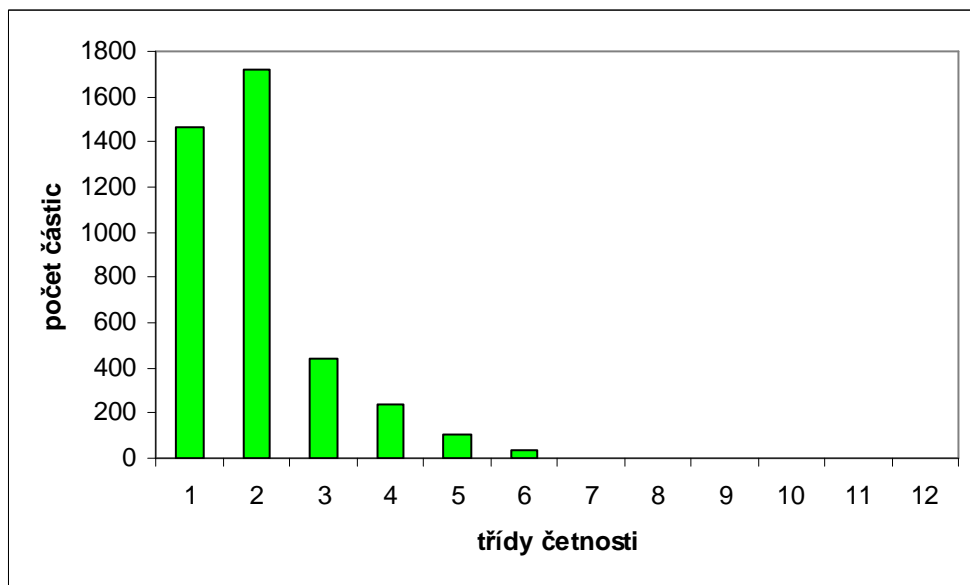
teplota na vstupu 110°C

Tab. 10: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	1169
2	3	6	1376
3	6	9	423
4	9	12	168
5	12	15	50
6	15	18	15
7	18	21	6
8	21	24	2
9	24	27	1
10	27	30	0
11	30	33	0
12	33	36	0
13	36	39	0
14	39	42	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,01
Maximum	25,98
Průměr	4,54
Směrodatná odchylka	2,70
Medián	3,87

- mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C



Obr. 25: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 10%

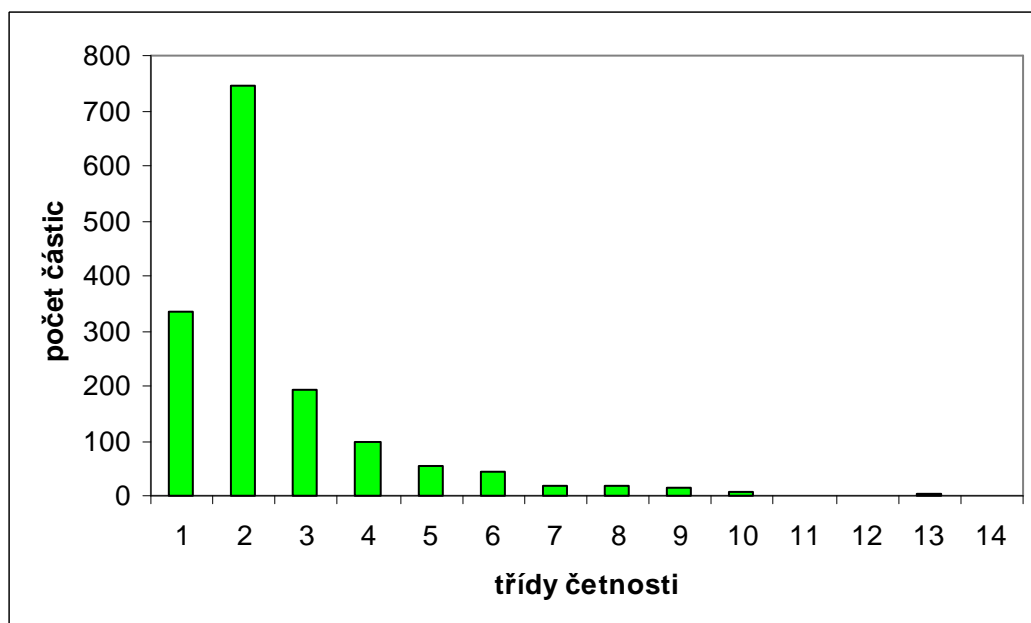
teplota na vstupu 120°C

Tab. 11: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	1466
2	3	6	1721
3	6	9	440
4	9	12	238
5	12	15	107
6	15	18	35
7	18	21	3
8	21	24	4
9	24	27	0
10	27	30	0
11	30	33	0
12	33	36	0
13	36	39	0
14	39	42	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,02
Maximum	23,68
Průměr	4,62
Směrodatná odchylka	2,93
Medián	3,56

- mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C



**Obr. 26:** Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 15%

výkon čerpadla 5%

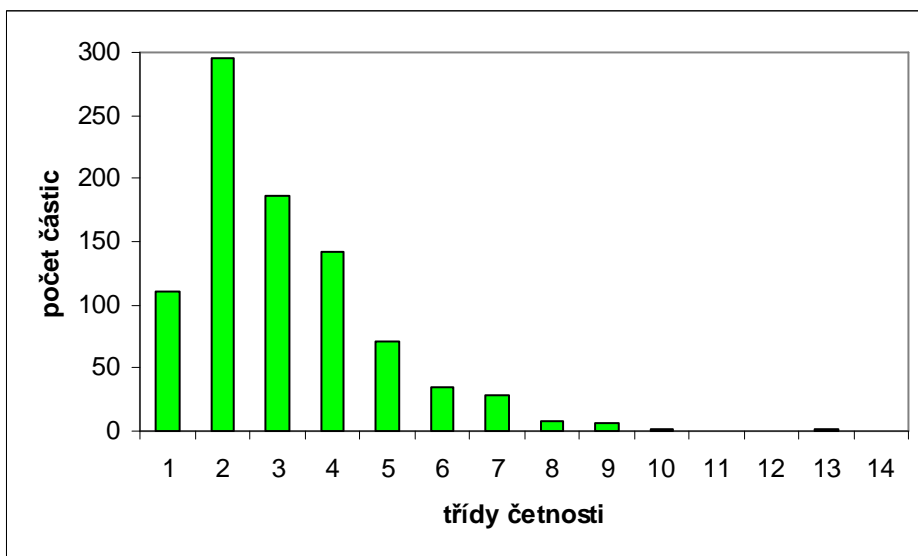
teplota na vstupu 110°C

**Tab. 12:** Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 110°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	µm	µm	
1	0	3	334
2	3	6	747
3	6	9	191
4	9	12	97
5	12	15	53
6	15	18	44
7	18	21	18
8	21	24	17
9	24	27	14
10	27	30	6
11	30	33	1
12	33	36	0
13	36	39	2
14	39	42	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	µm
Minimum	0,21
Maximum	38,56
Průměr	5,98
Směrodatná odchylka	4,85
Medián	6,04

- mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C



**Obr. 27:** Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C

koncentrace mannitolu 15%

výkon čerpadla 5%

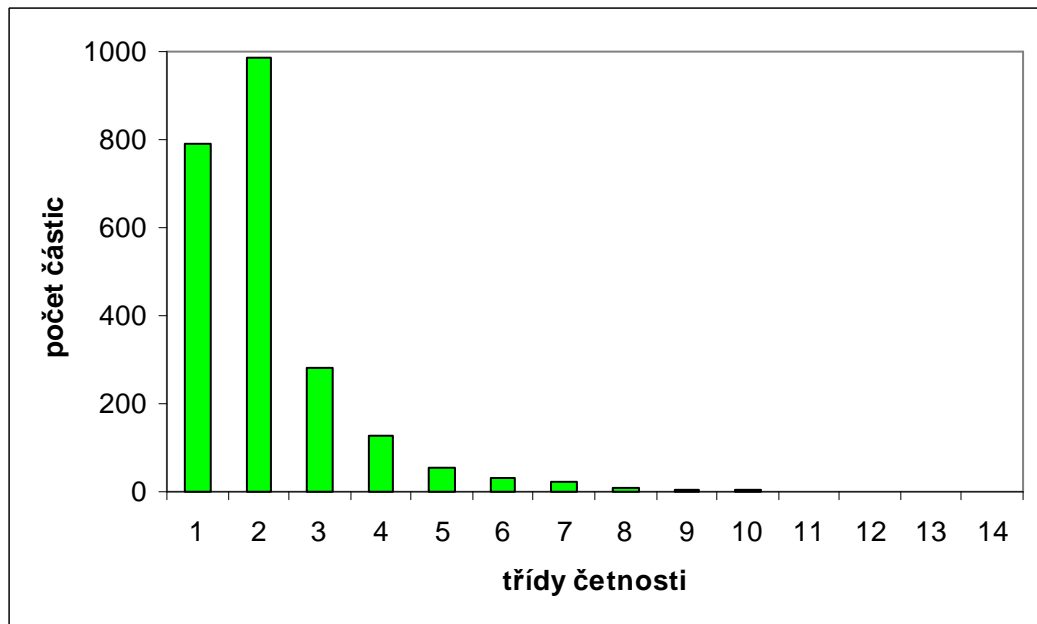
teplota na vstupu 120°C

**Tab. 13:** Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 5% a teplotě na vstupu 120°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	110
2	3	6	296
3	6	9	186
4	9	12	142
5	12	15	71
6	15	18	35
7	18	21	28
8	21	24	8
9	24	27	6
10	27	30	1
11	30	33	0
12	33	36	0
13	36	39	1
14	39	42	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,30
Maximum	37,81
Průměr	7,82
Směrodatná odchylka	4,95
Medián	6,79

- mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C



**Obr. 28:** Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 15%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 110°C

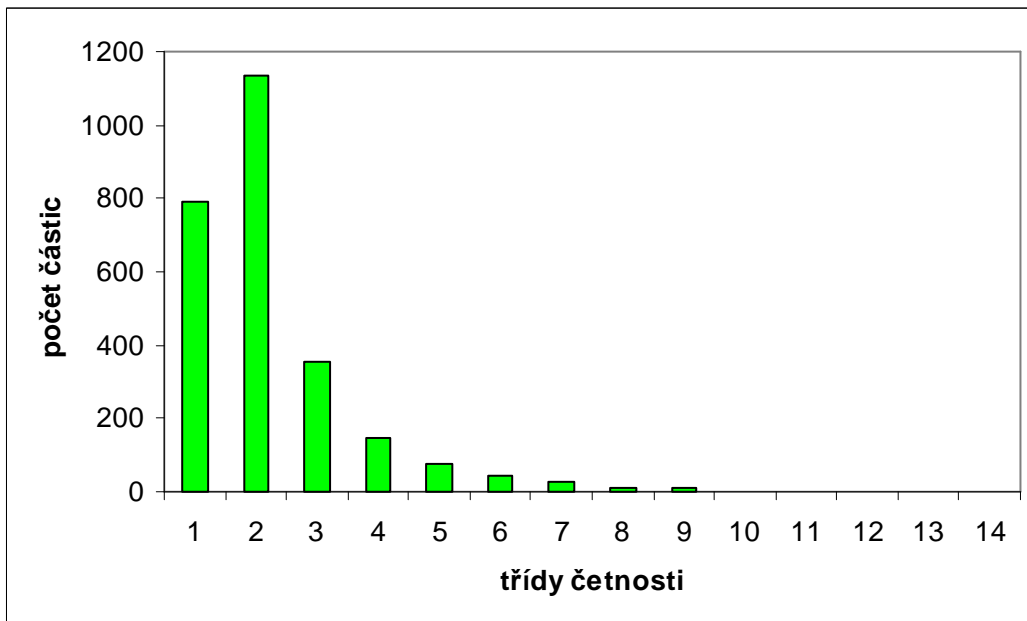
**Tab. 14:** Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

Třída četnosti	Od $\mu\text{m}$	Do $\mu\text{m}$	Počet částic
1	0	3	792
2	3	6	987
3	6	9	282
4	9	12	128
5	12	15	53
6	15	18	30
7	18	21	24
8	21	24	11
9	24	27	4
10	27	30	5
11	30	33	1
12	33	36	2
13	36	39	0
14	39	42	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	$\mu\text{m}$
Minimum	0,09
Maximum	35,12
Průměr	5,06
Směrodatná odchylka	3,86
Medián	4,87



- mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C



**Obr. 29:** Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

koncentrace mannitolu 15%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 120°C

**Tab. 15:** Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	792
2	3	6	1134
3	6	9	353
4	9	12	145
5	12	15	75
6	15	18	45
7	18	21	27
8	21	24	13
9	24	27	10
10	27	30	0
11	30	33	1
12	33	36	0
13	36	39	0
14	39	42	0

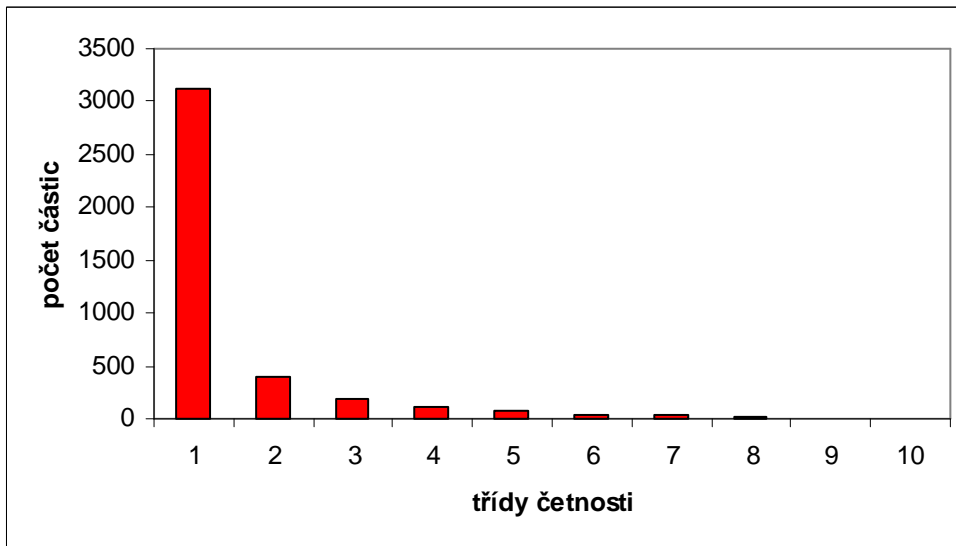
Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,08
Maximum	32,48
Průměr	5,26
Směrodatná odchylka	3,83
Medián	5,03

- ⇒ *Když se zvýší teplota ze 110 °C na 120 °C vzroste i velikost částic a zároveň se zvýší směrodatná odchylka.*
- ⇒ *Platí to pro 5% i pro 15% mannitol.*
- ⇒ *Mannitol v 5% koncentraci poskytuje nejmenší částice (vzorek s nejmenšími mikročásticemi byl 5% mannitol s 10% výkonem čerpadla a teplotou na vstupu 110 °C).*

Pro srovnání jsou na následujících grafech výsledky dalších čtyř možných měřitelných parametrů pro vzorek získaný sušením 5% roztoku mannitolu při výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C.

## PLOCHA

Plocha je charakterizovaná počtem pixelů daného 2D obrazce.



**Obr. 30:** Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - plocha

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 120°C

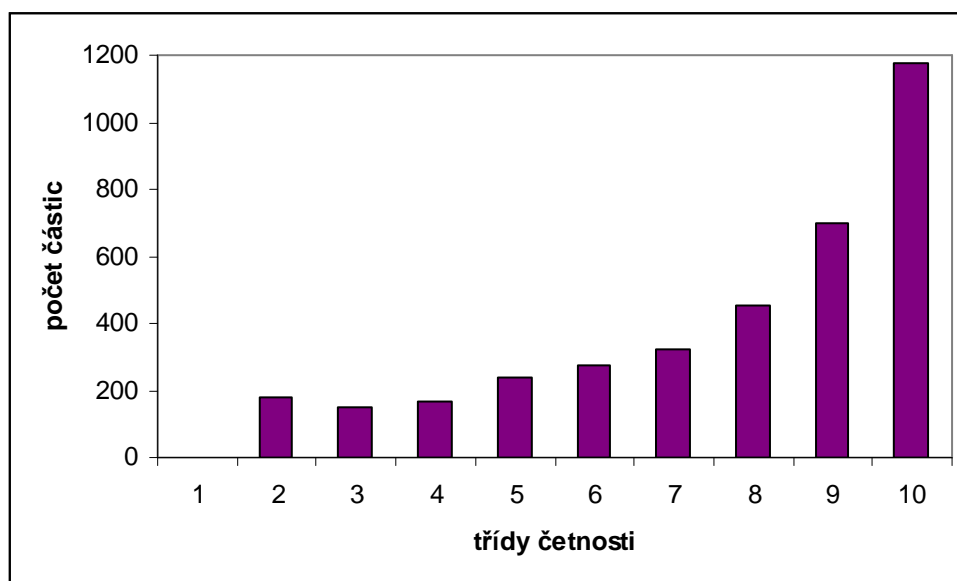
**Tab. 16:** Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - plocha

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	$\mu\text{m}^2$	$\mu\text{m}^2$	
1	0	20	3128
2	20	40	396
3	40	60	195
4	60	80	109
5	80	100	69
6	100	120	43
7	120	140	32
8	140	160	24
9	160	180	6
10	180	200	4

Statistické funkce: Plocha	
Základní jednotky	$\mu\text{m}^2$
Minimum	0,14
Maximum	199,80
Průměr	18,49
Směrodatná odchylka	28,00
Medián	17,91

## TVAROVÝ FAKTOR

Tvarový faktor ukazuje uhlazenost-kulovitost objektu.



**Obr. 31: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - tvarový faktor**

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 120°C

Částice s tvarovým faktorem menším než 0,55 byly vyloučeny vstupní podmínkou.

Tvarový faktor roven 1 vyjadřuje dokonale kulovitou částici. Čím nižší má hodnotu tím je částice vzdálenější od kulovitého tvaru.

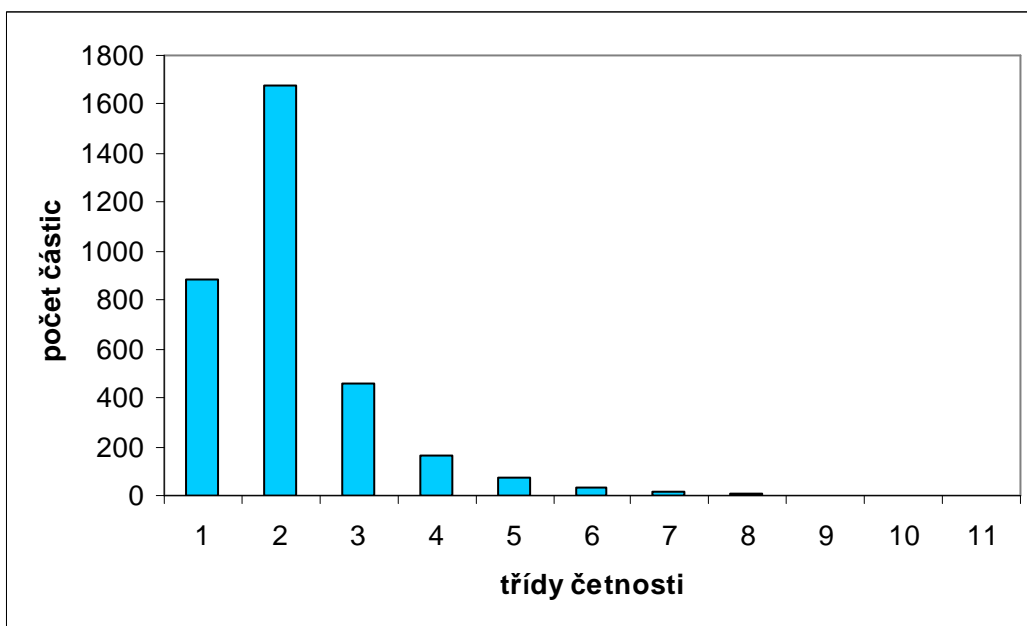
**Tab. 17: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - tvarový faktor**

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
1	0,5	0,55	0
2	0,55	0,6	179
3	0,6	0,65	148
4	0,65	0,7	168
5	0,7	0,75	238
6	0,75	0,8	275
7	0,8	0,85	323
8	0,85	0,9	456
9	0,9	0,95	699
10	0,95	1	1174

Statistické funkce: Tvarový faktor	
Základní jednotky	
Minimum	0,56
Maximum	0,99
Průměr	0,87
Směrodatná odchylka	0,12
Medián	0,73

## STŘEDNÍ FERRETŮV PRŮMĚR

Střední ferretův průměr je získán proměřením objektu v intervalu po 5 stupních. Tětíva jejíž hodnotu získáme zprůměrováním, slouží k výpočtu velikosti částice.



**Obr. 32: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C – střední Feretův průměr**

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 120°C

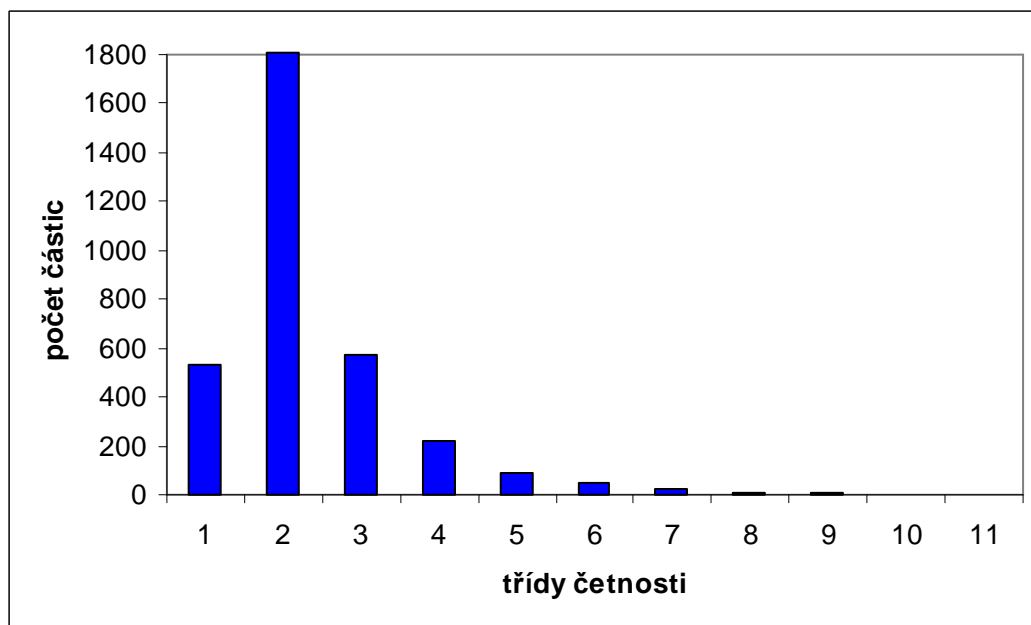
**Tab. 18: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C – střední Feretův průměr**

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	886
2	3	6	1675
3	6	9	462
4	9	12	163
5	12	15	77
6	15	18	34
7	18	21	13
8	21	24	7
9	24	27	0
10	27	30	1
11	30	33	0

Statistické funkce: Střední Feretův průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,11
Maximum	29,54
Průměr	4,91
Směrodatná odchylka	3,00
Medián	4,56

## MAXIMÁLNÍ FERETŮV PRŮMĚR

Maximální feretův průměr je získán proměřením obrazce ve všech úhlech po 5 stupních a určením jeho největší vzdálenosti od jednoho kraje částice ke druhému.



**Obr. 33:** Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - maximální Feretův průměr

koncentrace mannitolu 5%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 120°C

**Tab. 19:** Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C - maximální Feretův průměr

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	528
2	3	6	1809
3	6	9	573
4	9	12	222
5	12	15	90
6	15	18	52
7	18	21	26
8	21	24	10
9	24	27	5
10	27	30	2
11	30	33	1

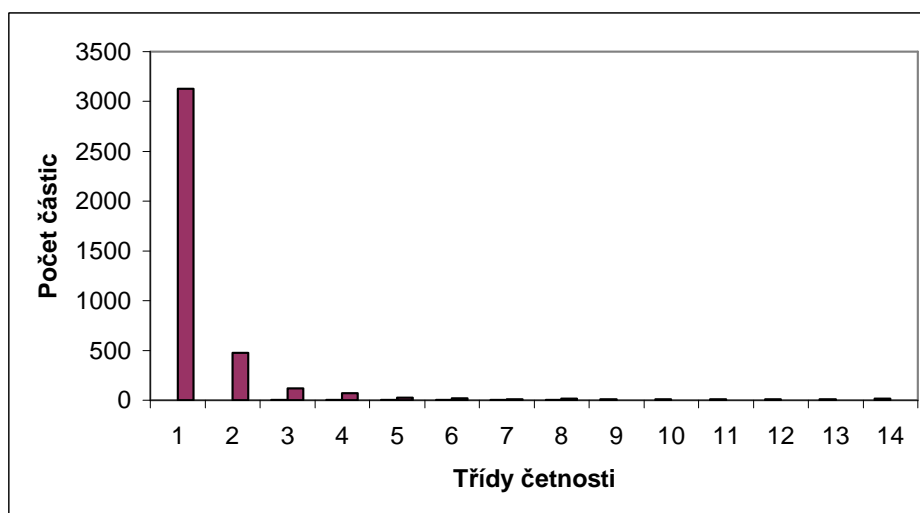
Statistické funkce: Max. Feretův průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,09
Maximum	32,36
Průměr	5,51
Směrodatná odchylka	3,44
Medián	5,98

Z posledních čtyř grafů vyplývá, že částice vyrobené z 5% mannitolového roztoku, s čerpadlem na 10% výkonu a teplotou na vstupu 120 °C mají průměrnou velikost 4,54  $\mu\text{m}$  (odchylku 2,7  $\mu\text{m}$ ) feretův průměr 4,91  $\mu\text{m}$  a maximální feretův průměr 5,51  $\mu\text{m}$ , plocha je 18,49  $\mu\text{m}^2$  a jsou téměř ideálně kulovité – tvarový faktor je 0,87. Z tohoto odstavce vyplývá jak je důležitý výběr jednoho z těchto parametrů.

### **Sušení z vodného roztoku mannitolu**

Všechny vzorky byly sušeny při vstupní teplotě 110°C a při výkonu čerpadla 5%. Histogramy zobrazují rozdělení středního průměru mikročástic. Vzorky se lišily pouze koncentrací mannitolu.

#### **Koncentrace mannitolu 2,5%**



Obr. 34: Histogram pro mikročástice z 2,5% mannitolu

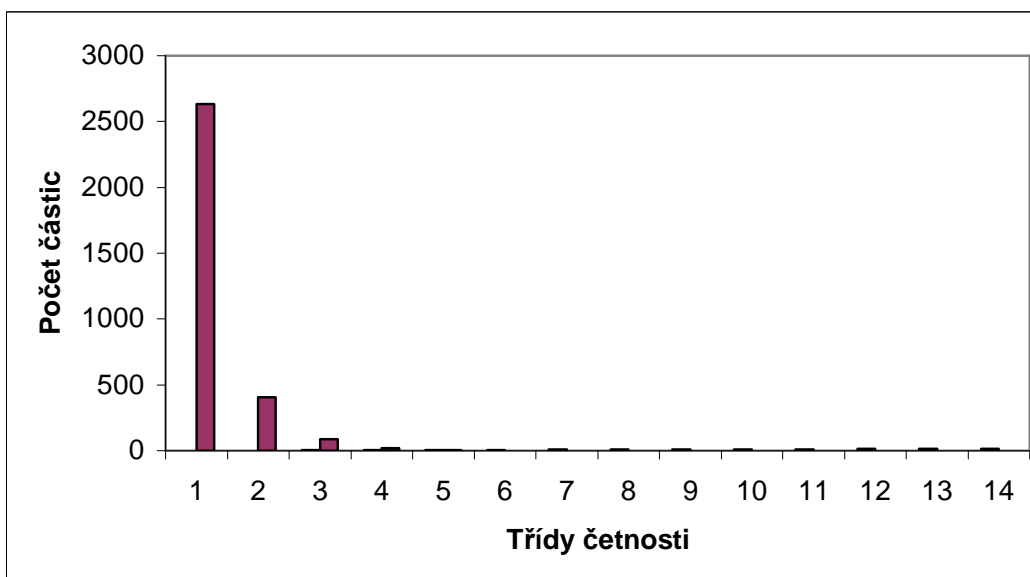
Tab. 20: Třídy četnosti pro mikročástice z 2,5% mannitolu

Třída četnosti	Od um	Do um	Počet částic
1	0	5	3128
2	5	10	475
3	10	15	120
4	15	20	68
5	20	25	29
6	25	30	23
7	30	35	10
8	35	45	17
9	45	55	2
10	55	65	1
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,99
Maximum	62,83
Průměr	3,96
Směrodatná odchylka	4,90
Medián	2,32



## Koncentrace mannitolu 5%



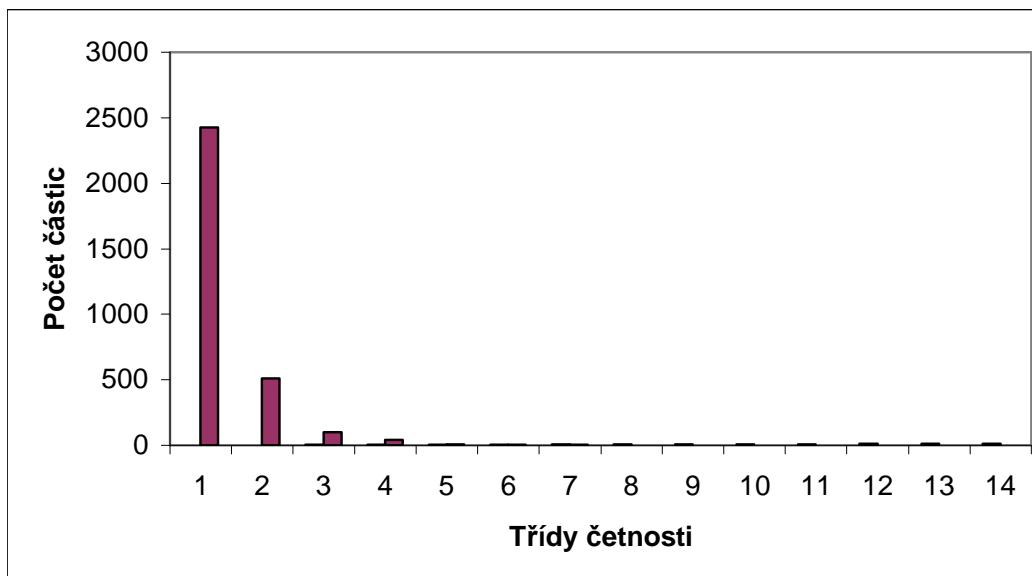
Obr. 35: Histogram pro mikročástice z 5% mannitolu

Tab. 21: Třídy četnosti pro mikročástice z 5% mannitolu

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	2632
2	5	10	405
3	10	15	87
4	15	20	19
5	20	25	6
6	25	30	1
7	30	35	0
8	35	45	1
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,97
Maximum	36,86
Průměr	3,36
Směrodatná odchylka	2,78
Medián	2,49

## Koncentrace mannitolu 7,5%



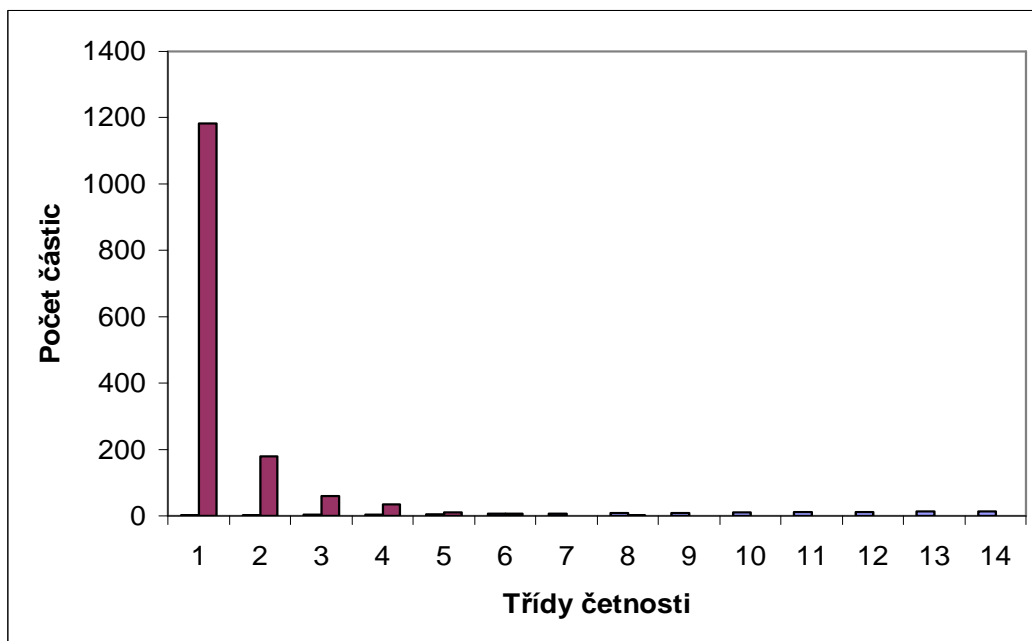
Obr. 36: Histogram pro mikročástice z 7,5% mannitolu

Tab. 22: Třídy četnosti pro mikročástice z 7,5% mannitolu

Třída četnosti	Od um	Do um	Počet částic
1	0	5	2423
2	5	10	512
3	10	15	102
4	15	20	43
5	20	25	10
6	25	30	4
7	30	35	3
8	35	45	2
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,97
Maximum	37,00
Průměr	3,85
Směrodatná odchylka	3,49
Medián	2,67

## Koncentrace mannitolu 10%



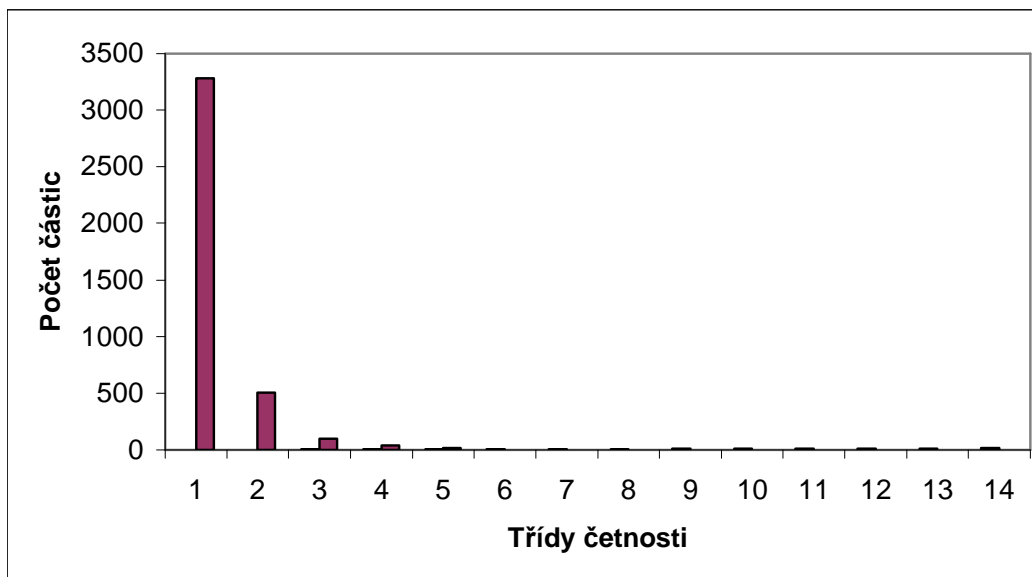
Obr. 37: Histogram pro mikročástice z 10% mannitolu

Tab. 23: Třídy četnosti pro mikročástice z 10% mannitolu

Třídy četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	1182
2	5	10	180
3	10	15	60
4	15	20	35
5	20	25	10
6	25	30	6
7	30	35	0
8	35	45	1
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	1,01
Maximum	36,13
Průměr	4,12
Směrodatná odchylka	3,97
Medián	2,78

## Koncentrace mannitolu 12,5%



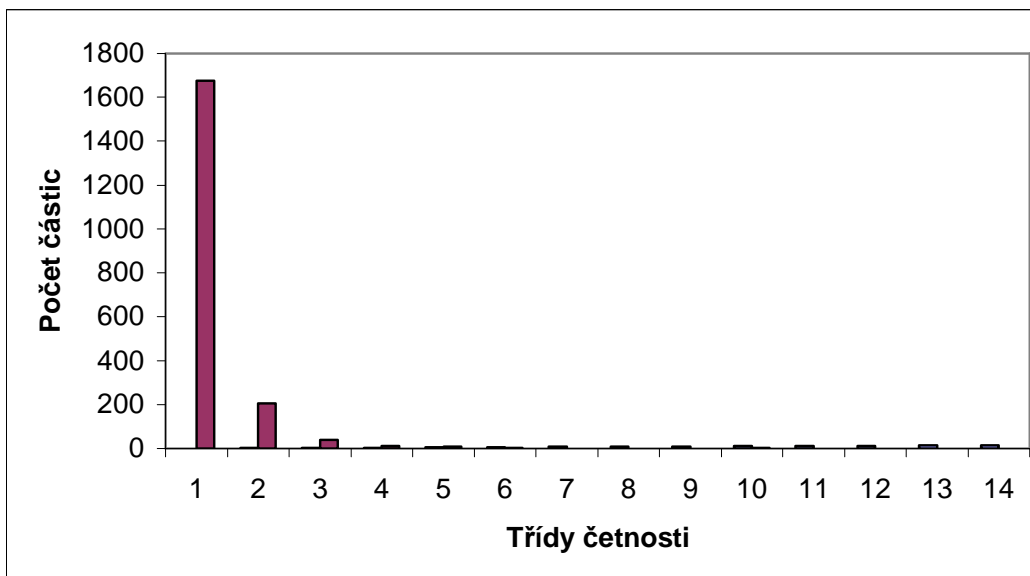
Obr. 38: Histogram pro mikročástice z 12,5% mannitolu

Tab. 24: Třídy četnosti pro mikročástice z 12,5% mannitolu

Třídy četnosti	Od um	Do um	Počet částic
1	0	5	3281
2	5	10	502
3	10	15	99
4	15	20	35
5	20	25	14
6	25	30	0
7	30	35	1
8	35	45	0
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,97
Maximum	32,25
Průměr	3,54
Směrodatná odchylka	2,89
Medián	2,68

## Koncentrace mannitolu 15%



Obr. 39: Histogram pro mikročástice z 15% mannitolu

Tab. 25: Třídy četnosti pro mikročástice z 15% mannitolu

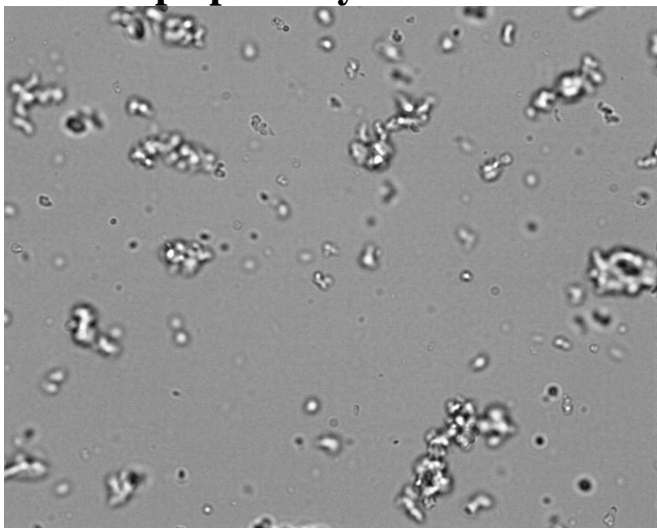
Třídy četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	1675
2	5	10	206
3	10	15	40
4	15	20	11
5	20	25	8
6	25	30	2
7	30	35	0
8	35	45	1
9	45	55	0
10	55	65	2
11	65	75	0
12	75	85	1
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,99
Maximum	76,56
Průměr	3,30
Směrodatná odchylka	3,76
Medián	2,29

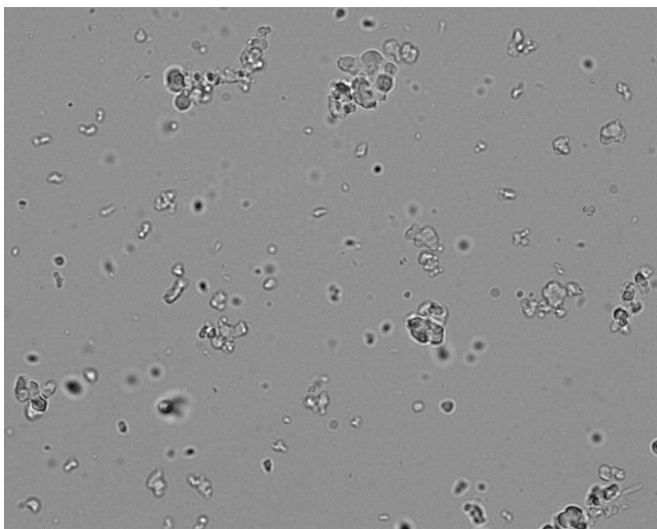
Vzorek obsahující **20% mannitol** nebyl měřen mikroskopem ani sušen, protože koncentrace mannitolu byla tak vysoká, že rozpuštěný mannitol částečně krystalizoval v nádobě zásobního roztoku pro sušení.

*⇒ Jako nejlepší se ukázala 5% koncentrace mannitolu. Vznikaly při ní nejmenší částice.*

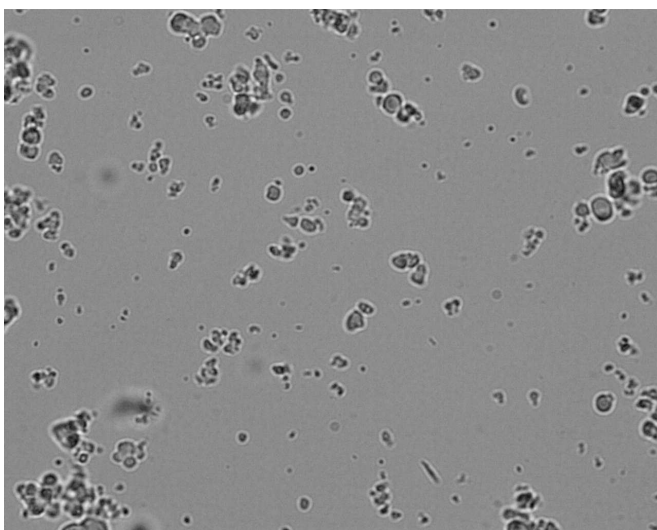
## Ukázka připravených mikročástic



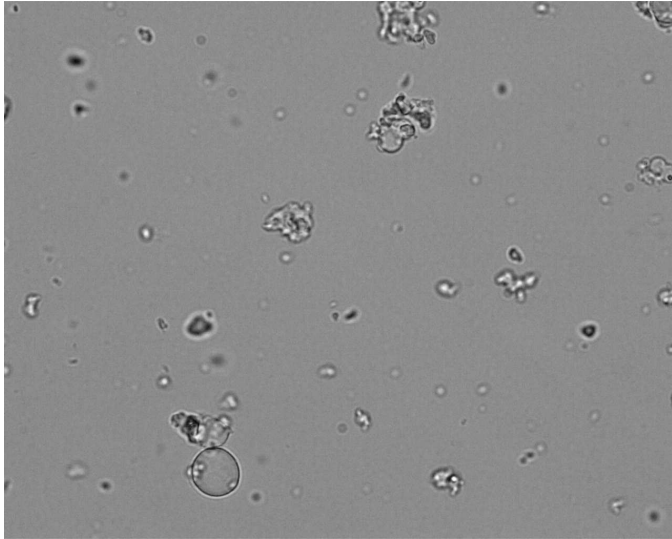
**Obr. 40:** Mikročástice z 2,5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1



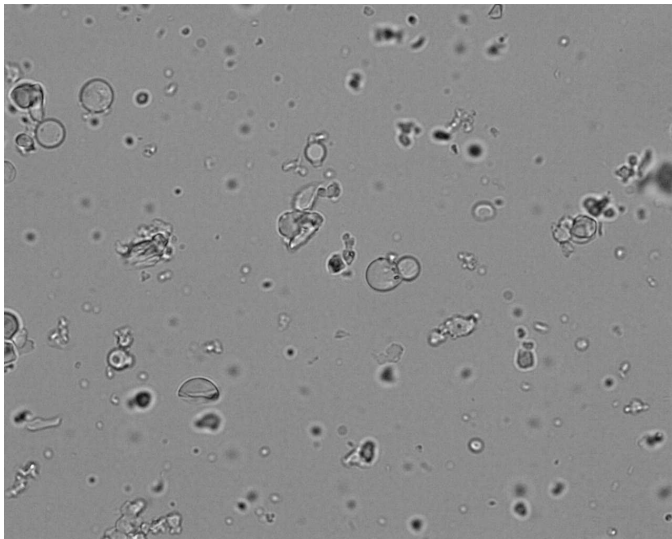
**Obr. 41:** Mikročástice z 5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1



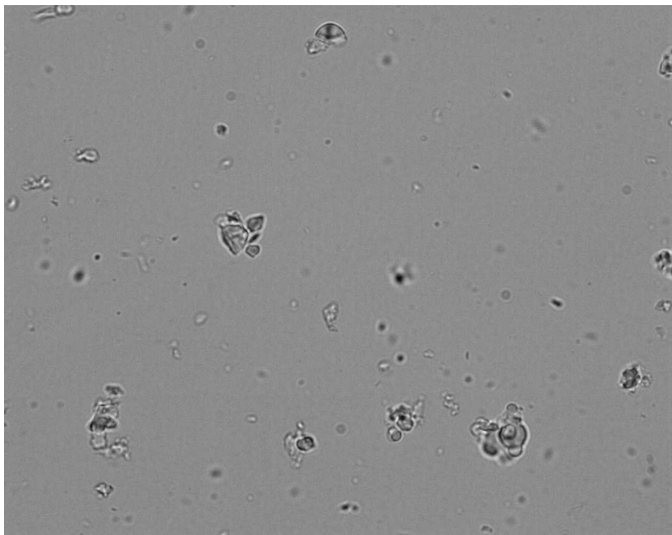
**Obr. 42:** Mikročástice z 7,5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1



**Obr. 43: Mikročástice z 10% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1**



**Obr. 44: Mikročástice z 12,5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1**



**Obr. 45: Mikročástice z 15% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C, doba expozice 20 ms měřítko 500:1**



## ***Sušení mikročástic z vodných a methanolických roztoků***

### **SUŠENÍ Z METHANOL-VODNÝCH ROZTOKŮ**

A) Xylitol 10 g

Methanol 90 g

Voda 40 g

Při menším množství vody se xylitol nerozpustil.

Sušení probíhalo při 110 °C a výkonu čerpadla 5%.

Výsledek sušení: produkt nevznikal, lepil se na stěny sušárny.

B) Pentaerythritol 10 g

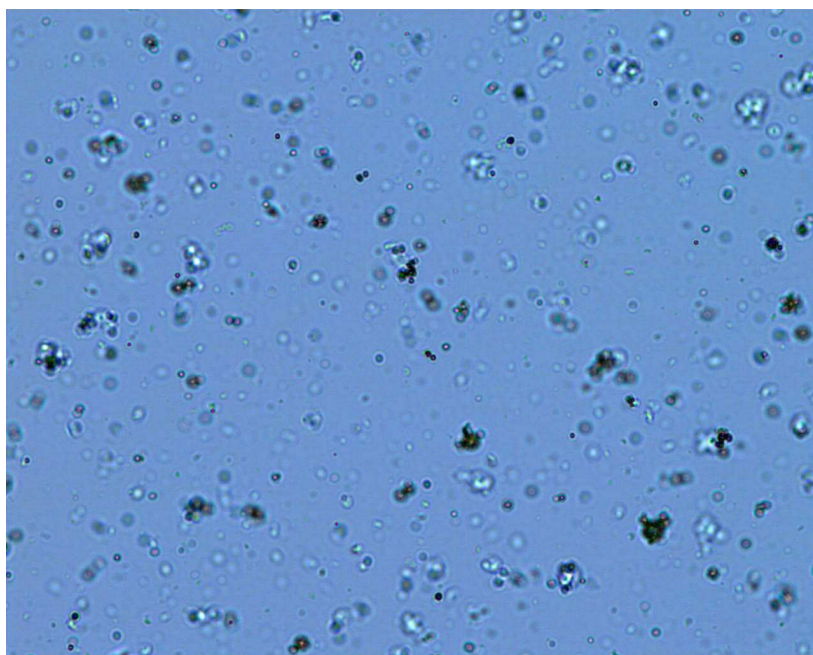
Methanol 90 g

Voda 200 g

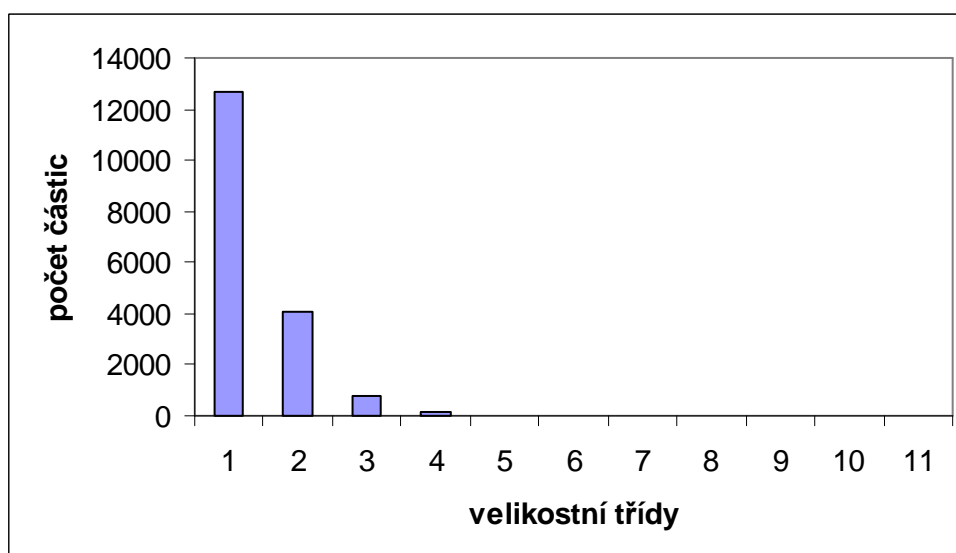
Při menším množství vody se pentaerythritol nerozpustil.

Sušení probíhalo při 110 °C a výkonu čerpadla 5%.

Výsledek sušení: viz obrázek, tabulka a graf.



**Obr. 46: Částice po sušení (vzorek B)**



Obr. 47: Rozložení velikosti částic (vzorek B)

Tab. 26: Rozložení velikosti částic (vzorek B)

Třída četnosti	Od um	Do um	Počet částic
1	0	3	12697
2	3	6	4063
3	6	9	745
4	9	12	158
5	12	15	32
6	15	18	9
7	18	21	2
8	21	24	0
9	24	27	0
10	27	30	0
11	30	33	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-3
Maximum	18-21
Průměr	2,71
Směrodatná odchylka	1,26
Medián	2,15

⇒ *Použití methanolového roztoku účinně snižuje velikost mikročástic v případě vzorku B až na 2,71  $\mu\text{m}$ .*

⇒ **SUŠENÍ Z VODNÝCH ROZTOKŮ**

C) Mannitol 5 g

Xylitol 5 g

Voda 90 g

Sušení probíhalo při 110 °C a výkonu čerpadla 5%.

Výsledek sušení: nebyl produkt, lepil se na stěny sušárny.

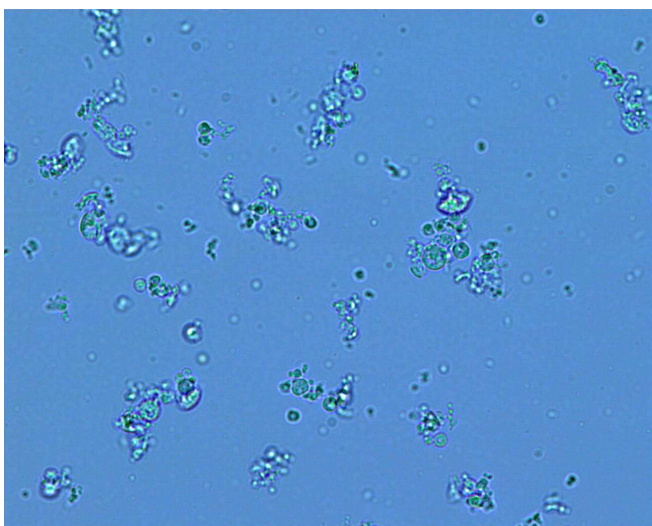
D) Mannitol 8 g

Xylitol 2 g

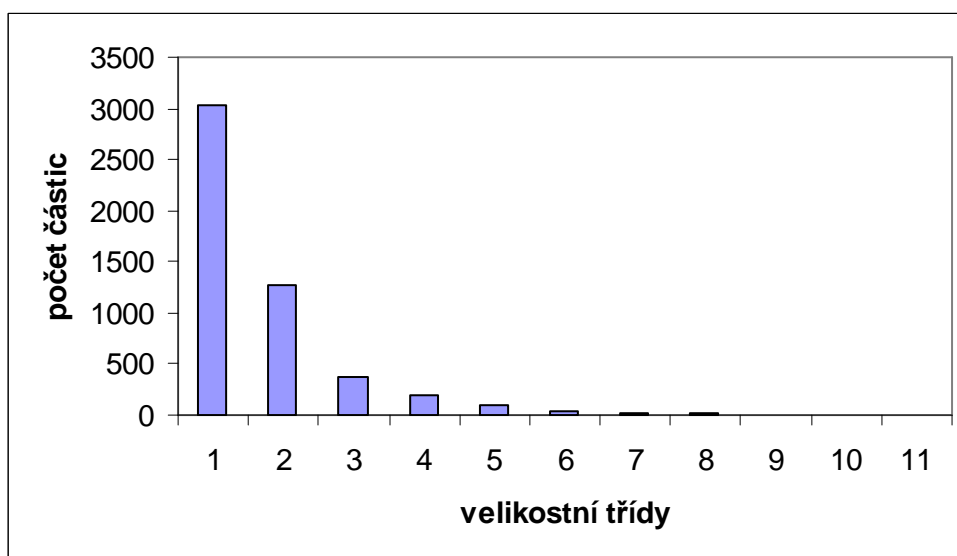
Voda 90 g

Sušení probíhalo při 110 °C a výkonu čerpadla 5%.

Výsledek sušení: viz obrázek, tabulka a graf.



Obr. 48: Částice po sušení (vzorek D)



**Obr. 49: Rozložení velikosti částic (vzorek D)**

**Tab. 27: Rozložení velikosti částic (vzorek D)**

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	3	3039
2	3	6	1269
3	6	9	366
4	9	12	198
5	12	15	94
6	15	18	36
7	18	21	16
8	21	24	10
9	24	27	1
10	27	30	1
11	30	33	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-3
Maximum	27-30
Průměr	3,65
Směrodatná odchylka	1,31
Medián	2,55

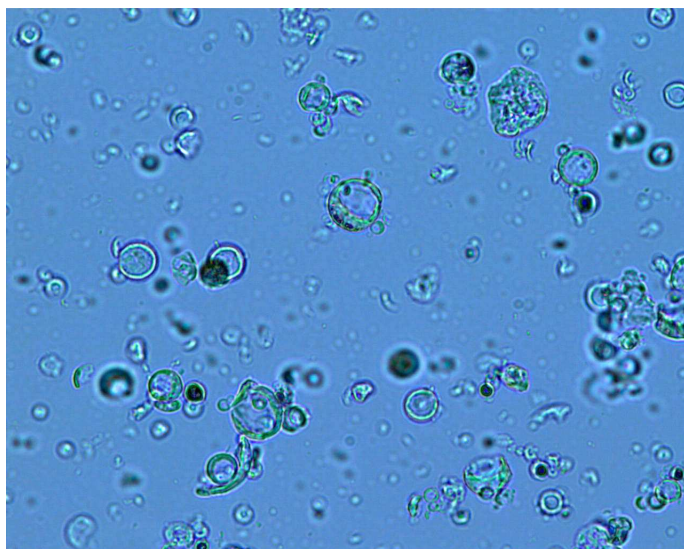
E) Mannitol 5 g

Pentareythritol 5 g

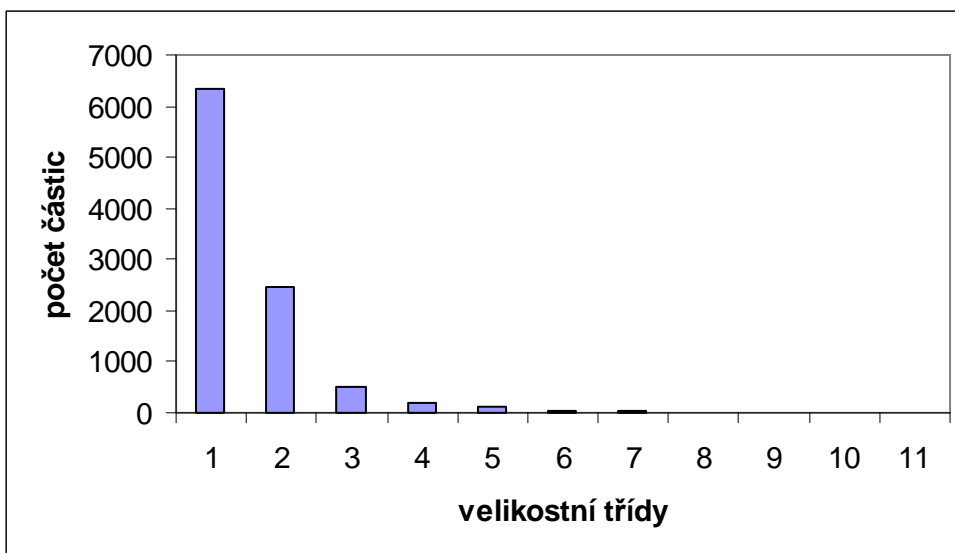
Voda 90 g

Sušení probíhalo při 110 °C a výkonu čerpadla 5%.

Výsledek sušení: viz obrázek, tabulka a graf.



**Obr. 50: Částice po sušení (vzorek E)**



Obr. 51: Rozložení velikosti částic (vzorek E)

Tab. 28: Rozložení velikosti částic (vzorek E)

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	3	6344
2	3	6	2466
3	6	9	496
4	9	12	194
5	12	15	112
6	15	18	39
7	18	21	32
8	21	24	18
9	24	27	7
10	27	30	5
11	30	33	5

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-3
Maximum	30-33
Průměr	3,25
Směrodatná odchylka	1,87
Medián	2,32

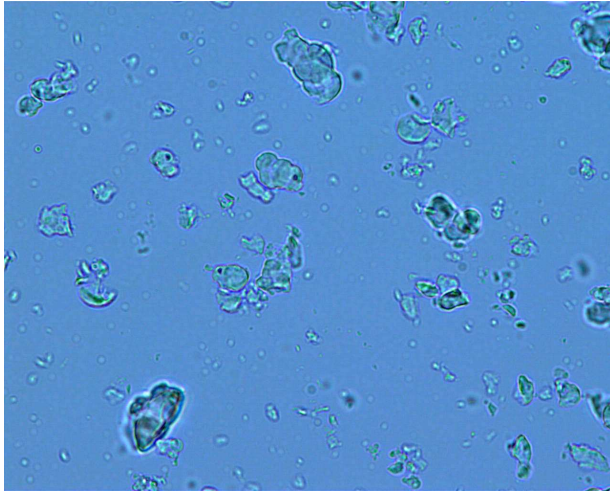
F) Mannitol 8 g

Pentaerythritol 2 g

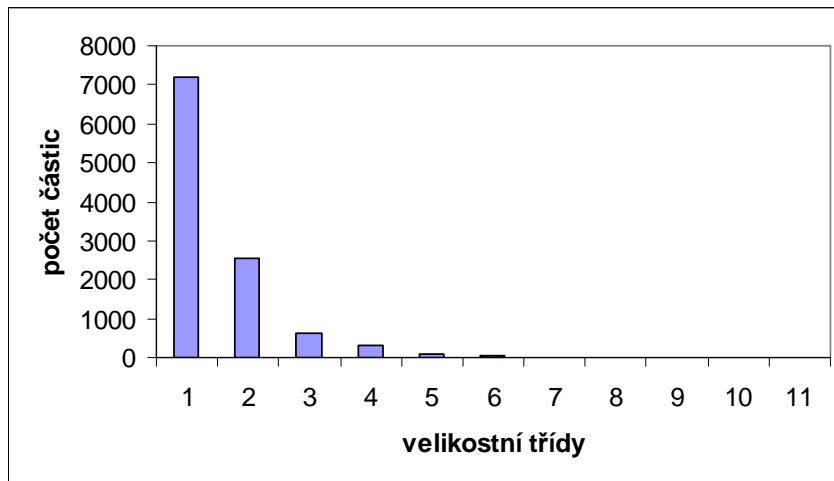
Voda 90 g

Sušení probíhalo při 110 °C a výkonu čerpadla 5%.

Výsledek sušení: viz obrázek, tabulka a graf.



Obr. 52: Částice po sušení (vzorek F)



Obr. 53: Rozložení velikosti částic (vzorek F)

Tab. 29: Rozložení velikosti částic (vzorek F)

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	3	7185
2	3	6	2561
3	6	9	620
4	9	12	310
5	12	15	111
6	15	18	28
7	18	21	12
8	21	24	7
9	24	27	3
10	27	30	2
11	30	33	1

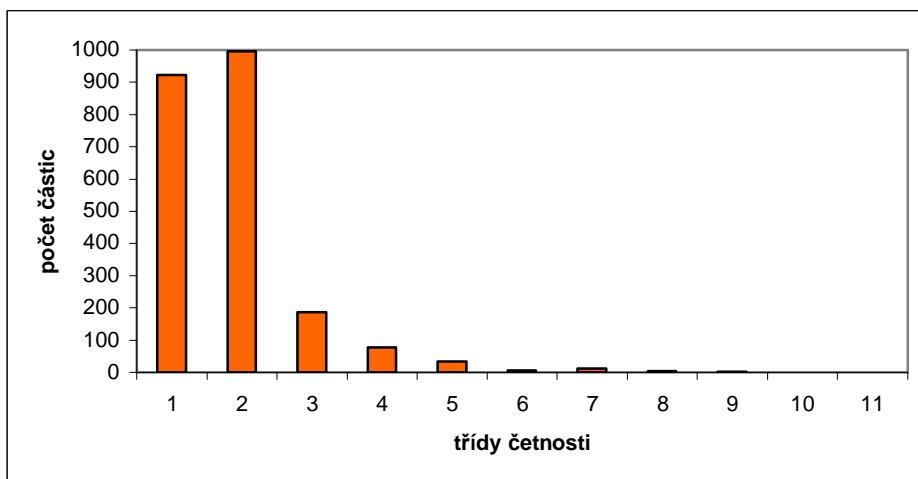
Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-3
Maximum	30-33
Průměr	3,19
Směrodatná odchylka	2,19
Medián	2,34

⇒ Z vodných roztoků vyšel po sušení nejlépe vzorek E obsahující 5% mannitol v kombinaci s 5% pentaerythritolem.

## Sušení z vodného roztoku mannitolu a litesse

V následující kapitole byl sušen vodný roztok mannitolu a litesse v různých poměrech a za různých podmínek. V histogramech je zaneseno rozdělení tříd četnosti středního průměru mikročásteček.

- mikročástečky z 9% mannitolu, 1% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C



Obr. 54: Histogram pro mikročástečky z 9% mannitolu, 1% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

koncentrace mannitolu 9%

koncentrace Litesse 1%

výkon čerpadla 10%

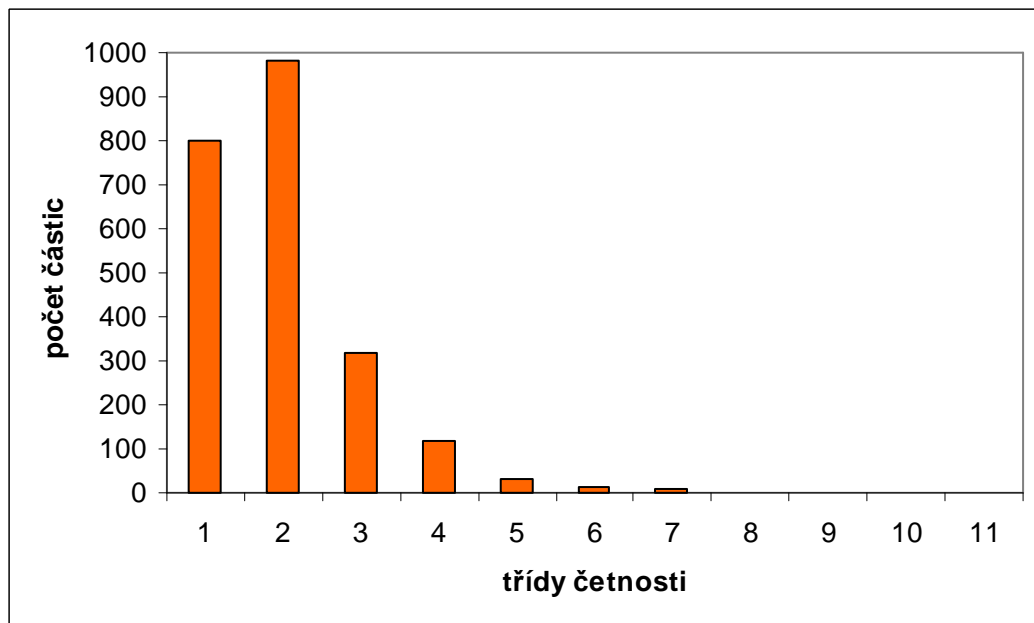
teplota na vstupu 120°C

Tab. 30: Třída četnosti pro mikročástečky z 9% mannitolu, 1% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

Třída četnosti	Od $\mu\text{m}$	Do $\mu\text{m}$	Počet částic
1	0	3	923
2	3	6	996
3	6	9	187
4	9	12	77
5	12	15	33
6	15	18	6
7	18	21	11
8	21	24	4
9	24	27	2
10	27	30	0
11	30	33	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	$\mu\text{m}$
Minimum	0,08
Maximum	26,86
Průměr	4,19
Směrodatná odchylka	2,71
Medián	3,98

- mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C



Obr. 55: Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

koncentrace mannitolu 8%

koncentrace Litesse 2%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 120°C

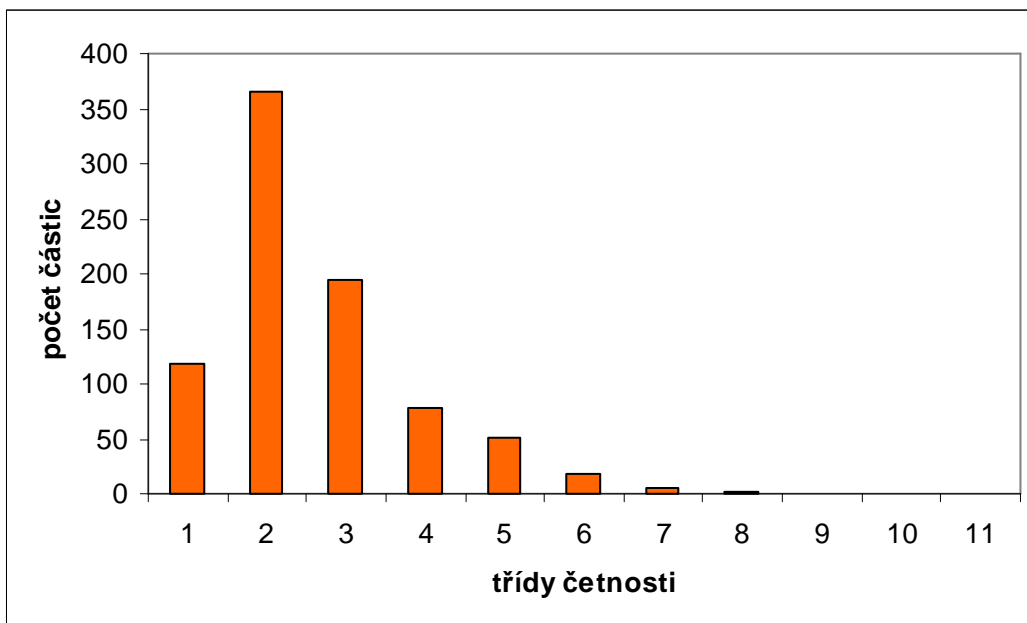
Tab. 31: Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	800
2	3	6	984
3	6	9	316
4	9	12	119
5	12	15	30
6	15	18	14
7	18	21	7
8	21	24	0
9	24	27	0
10	27	30	0
11	30	33	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,12
Maximum	20,59
Průměr	4,55
Směrodatná odchylka	2,66
Medián	3,09



- mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C



**Obr. 56:** Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 8%

koncentrace Litesse 2%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 110°C

**Tab. 32:** Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% litesse, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

Třída četnosti	Od $\mu\text{m}$	Do $\mu\text{m}$	Počet částic
1	0	3	119
2	3	6	365
3	6	9	194
4	9	12	79
5	12	15	50
6	15	18	19
7	18	21	5
8	21	24	1
9	24	27	0
10	27	30	0
11	30	33	0

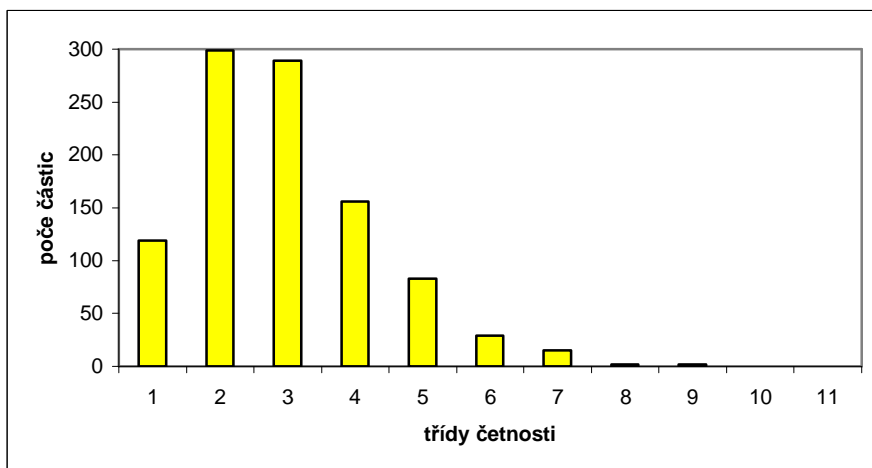
Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	$\mu\text{m}$
Minimum	0,09
Maximum	23,12
Průměr	6,29
Směrodatná odchylka	3,54
Medián	5,87

⇒ *Přídavek Litesse vede ke snížení velikosti při současném zvýšení teploty na 120 °C. Jakmile se zvýší koncentrace Litesse z 1% na 2% zvýší se velikost částic. Pokud je při tom teplota na 110 °C je tento nárůst velikosti ještě výraznější.*

## Sušení z vodného roztoku mannitolu a lecitinu

Příprava mikročástic za použití lecitinu jako emulgátoru. V histogramech jsou zaneseny střední průměry mikročástic rozdělené do tříd četností.

- mikročástice z 10% mannitolu, 1,2% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C



Obr. 57: Histogram pro mikročástice z 10% mannitolu, 1,2% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 10%

koncentrace lecitinu 1,2%

výkon čerpadla 10%

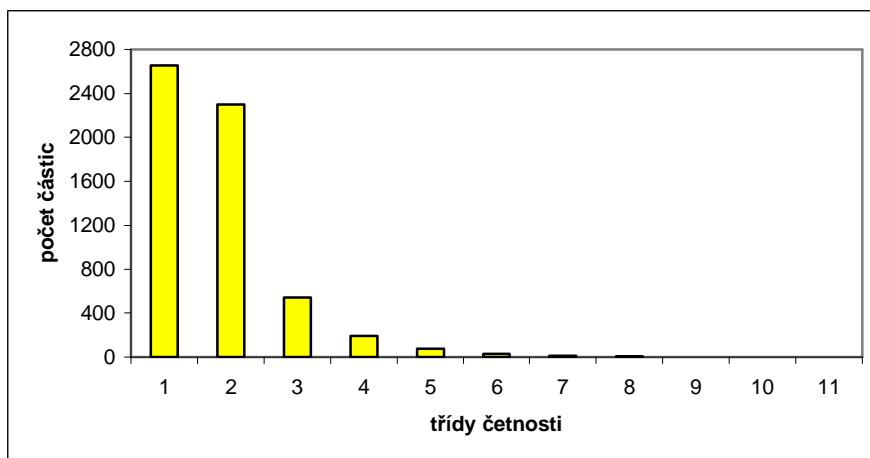
teplota na vstupu 110°C

Tab. 33: Třídý četnosti pro mikročástice z 10% mannitolu, 1,2% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	119
2	3	6	299
3	6	9	289
4	9	12	156
5	12	15	83
6	15	18	29
7	18	21	15
8	21	24	2
9	24	27	2
10	27	30	0
11	30	33	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,15
Maximum	24,19
Průměr	7,41
Směrodatná odchylka	3,96
Medián	6,97

- mikročástice z 10% mannitolu, 0,6% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C



Obr. 58: Histogram pro mikročástice z 10% mannitolu, 0,6% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 10%

koncentrace lecitinu 0,6%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 110°C

Tab. 34: Třídy četnosti pro mikročástice z 10% mannitolu, 0,6% lecitinu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

četnosti	$\mu\text{m}$	$\mu\text{m}$	částic
1	0	3	2652
2	3	6	2301
3	6	9	542
4	9	12	190
5	12	15	76
6	15	18	32
7	18	21	12
8	21	24	7
9	24	27	0
10	27	30	1
11	30	33	0

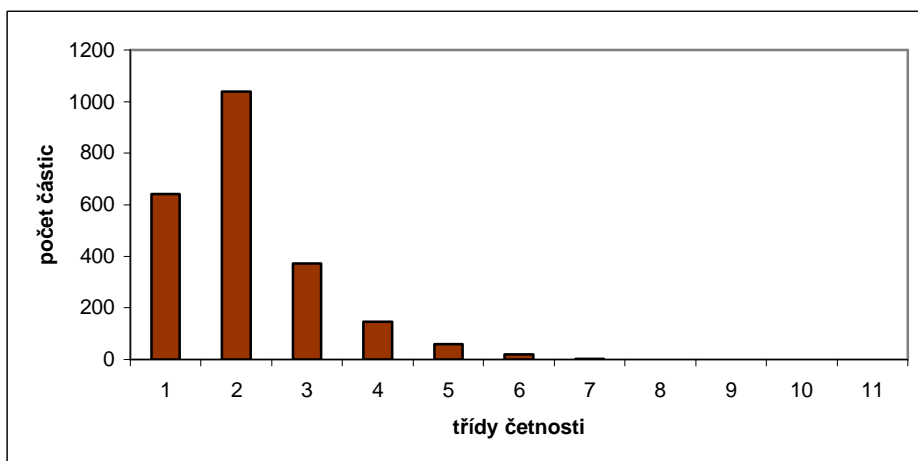
Základní jednotky	$\mu\text{m}$
Minimum	0,04
Maximum	29,89
Průměr	4,08
Směrodatná odchylka	2,55
Medián	2,76

⇒ *Lecitin v koncentraci 0,6% a při teplotě 110 °C snižuje velikost částic nejlépe ze všech připávaných látek. Pravděpodobně je to způsobeno jeho tenzidickou povahou.*

## Sušení z vodného roztoku mannitolu a xylitolu

V této kapitole jsou mikročástice připravovány z mannitolu a xylitolu v různém poměru a při různých vstupních podmínkách. Histogram znázorňuje rozložení středního průměru částic.

- mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C



Obr. 59: Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

koncentrace mannitolu 8%

koncentrace xylitolu 2%

výkon čerpadla 10%

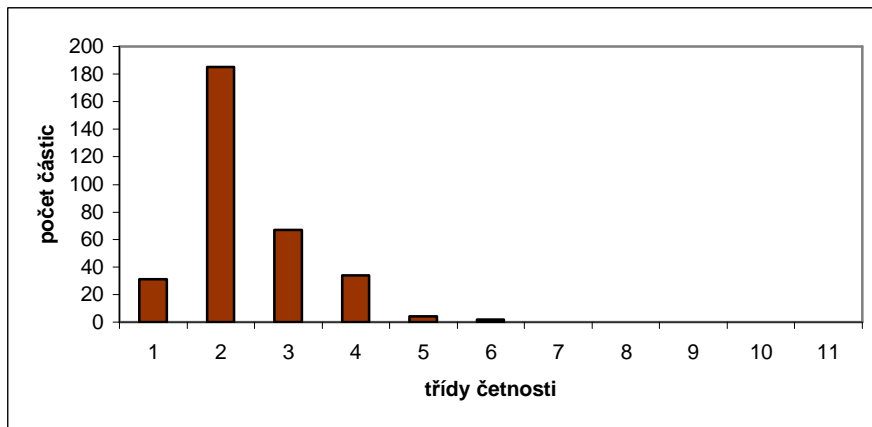
teplota na vstupu 110°C

Tab. 35: Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 110°C

Třída četnosti	Od $\mu\text{m}$	Do $\mu\text{m}$	Počet částic
1	0	3	643
2	3	6	1039
3	6	9	371
4	9	12	146
5	12	15	60
6	15	18	19
7	18	21	3
8	21	24	1
9	24	27	0
10	27	30	1
11	30	33	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	$\mu\text{m}$
Minimum	0,07
Maximum	29,99
Průměr	4,99
Směrodatná odchylka	2,94
Medián	3,57

- mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C



Obr. 60: Histogram pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

koncentrace mannitolu 8%

koncentrace xylitolu 2%

výkon čerpadla 10%

teplota na vstupu 120°C

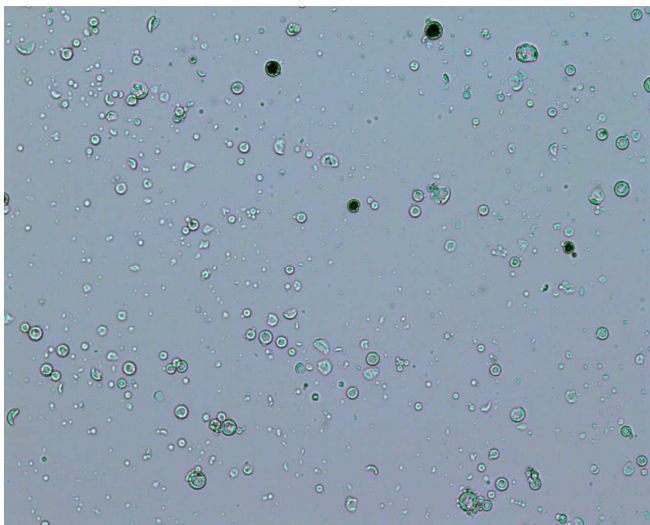
Tab. 36: Třídy četnosti pro mikročástice z 8% mannitolu, 2% xylitolu, výkonu čerpadla 10% a teplotě na vstupu 120°C

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	μm	μm	
1	0	3	31
2	3	6	185
3	6	9	67
4	9	12	34
5	12	15	4
6	15	18	2
7	18	21	0
8	21	24	0
9	24	27	0
10	27	30	0
11	30	33	0

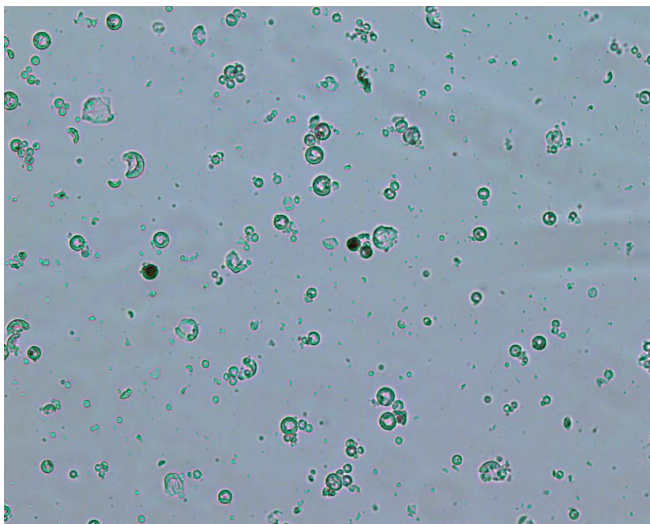
Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0,10
Maximum	17,58
Průměr	5,56
Směrodatná odchylka	2,46
Medián	6,01

⇒ Xylitol jako přídatná látka neměl žádoucí vliv na další snižování velikosti částic oproti samotnému 10% mannitolu, jehož velikost byla 4,12 μm.

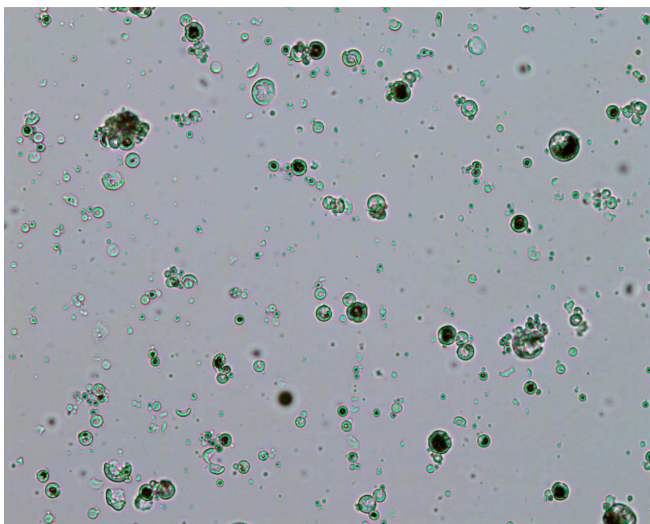
## Ukázka připravených mikročastic



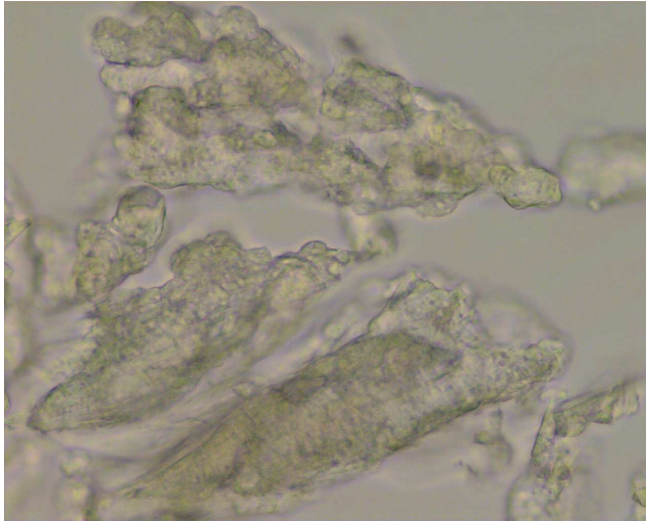
**Obr. 61: Mikročástice z 5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 110°C**



**Obr. 62: Mikročástice z 5% mannitolu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 120°C**



**Obr. 63: Mikročástice z 9% mannitolu a 1% Litesse, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 120°C**



**Obr. 64: Částice z 9% mannitolu a 1,5% polysorbátu, výkon čerpadla 10%, teplota na vstupu 120°C**



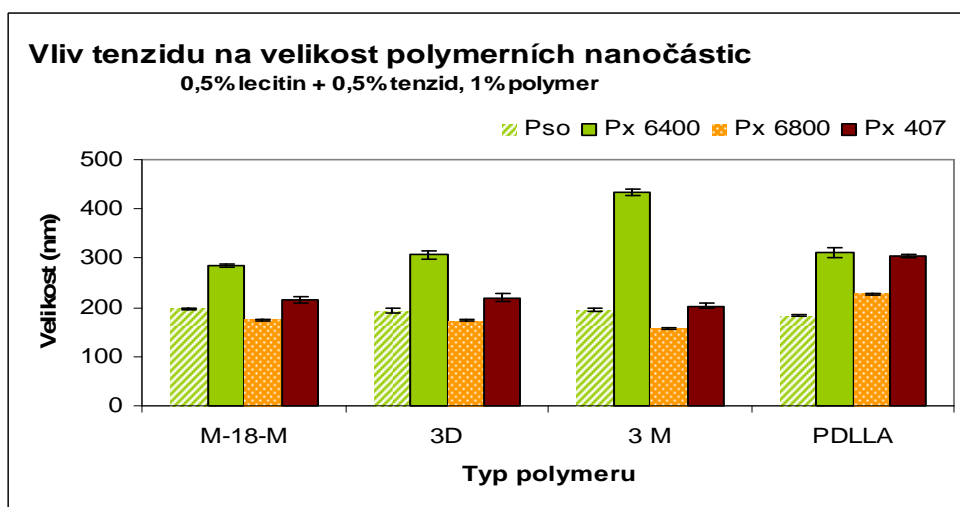
## 4.2 Polymerní nanočástice

V této kapitole jsou srovnávány nanočástice připravené z různých oligomerů, větvené s nevětveným PDLLA a různé koncentrace a typy tenzidů.

Jako první jsou porovnávány větvené polymery M-18-M, 3D, 3M s lineárním PDLLA připravené standardní metodou 1% polymeru v DCM za použití 0,5% lecitinu a 0,5% koncentrace druhého tenzidu (PS, Px6400, Px6800 a Px407) ve vodné fázi.

**Tab. 37: Vliv druhého tenzidu (0,5%) ve směsi s 0,5% lecitinem a typu nosiče na velikost nanočástic**

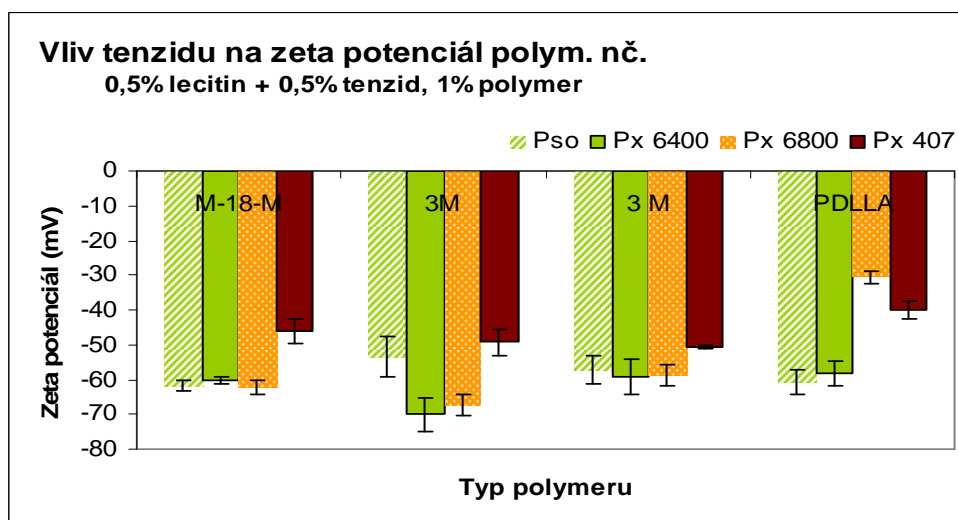
Složení: 0,5% Tenzid; 0,5% Lecitin; 1% Polymer				
Tenzid	Prům. velikost částic [nm]			
	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
PS	197,90	193,60	194,60	183,38
Px 6400	284,95	306,95	434,15	311,20
Px 6800	174,25	173,75	158,55	228,00
Px 407	215,25	219,20	203,60	305,55



**Obr. 65: Vliv tenzidu a typu nosiče na velikost nanočástic**

**Tab. 38: Vliv druhého tenzidu (0,5%) ve směsi s 0,5% lecitinem a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic**

Složení: 0,5% Tenzid; 0,5% Lecitin; 1% Polymer				
Tenzid	Zeta potenciál [mV]			
	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
PS	-61,68	-53,43	-57,20	-60,78
Px 6400	-60,18	-70,10	-59,26	-58,24
Px 6800	-62,13	-67,31	-58,77	-30,51
Px 407	-46,28	-49,33	-50,59	-40,09



Obr. 66: Vliv tenzidu a typu nosiče na zeta potenciál nč.

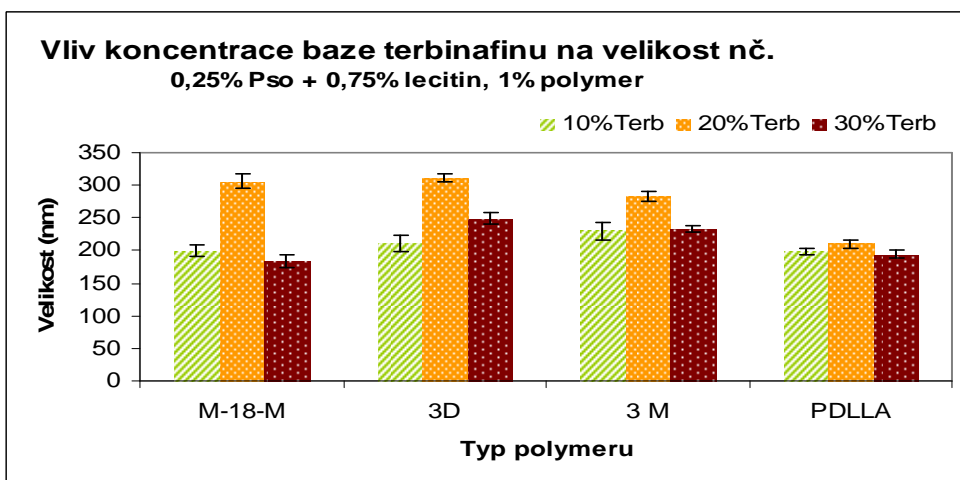
- ⇒ Jako nejvýhodnější se jak z hlediska velikosti tak z hlediska zeta potenciálu ukázal Px 6800 pro M-18-M, 3D, 3M.
- ⇒ PDLLA vykázala jako nejvýhodnější tenzid kombinaci lecitinu s polysorbátem.

### Vliv koncentrace terbinafinu na velikost částic a zeta potenciál

Na následujících grafech je zanesena závislost velikosti nanočástic a jejich zeta potenciálu na rozdílné koncentraci baze terbinafinu.

Tab. 39: Vliv koncentrace terbinafinu a typu nosiče na velikost nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu

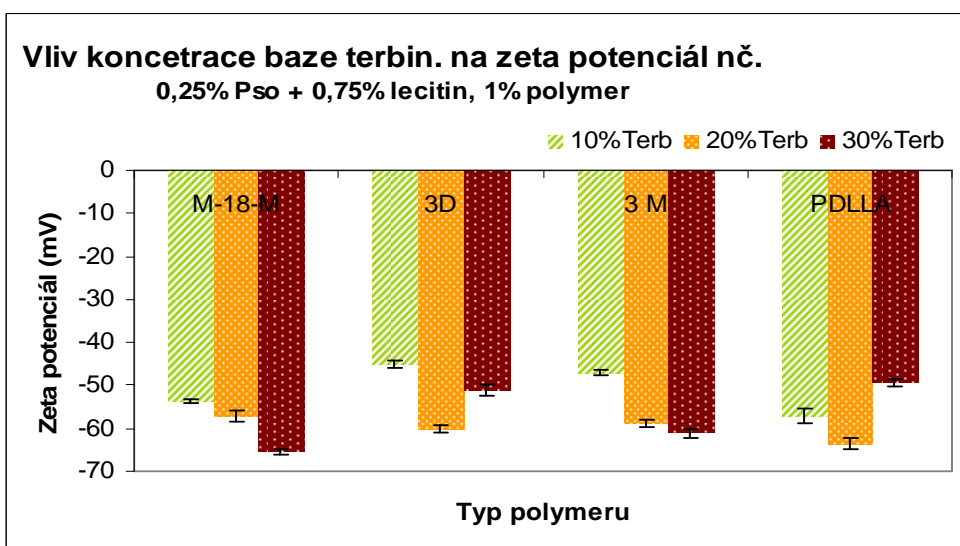
Složení: 0,25% Pso; 0,75 % Lec.; X % Terb.; 1% Polymer				
Terbinafin [%]	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
	Prům. velikost částic [nm]			
10	199,23	210,88	230,62	199,00
20	306,55	310,90	282,90	210,10
30	183,95	249,17	233,85	194,70



Obr. 67: Vliv koncentrace terbinafinu a typu nosiče na velikost nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu

Tab. 40: Vliv koncentrace baze terbinafinu a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu

Složení: 0,25% Pso; 0,75 % Lec.; X % Terb.; 1% Polymer				
Terbinafin	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
[%]	Zeta potenciál [mV]			
10	-53,60	-45,10	-47,08	-57,16
20	-57,17	-60,14	-58,85	-63,49
30	-65,47	-51,04	-61,14	-49,45



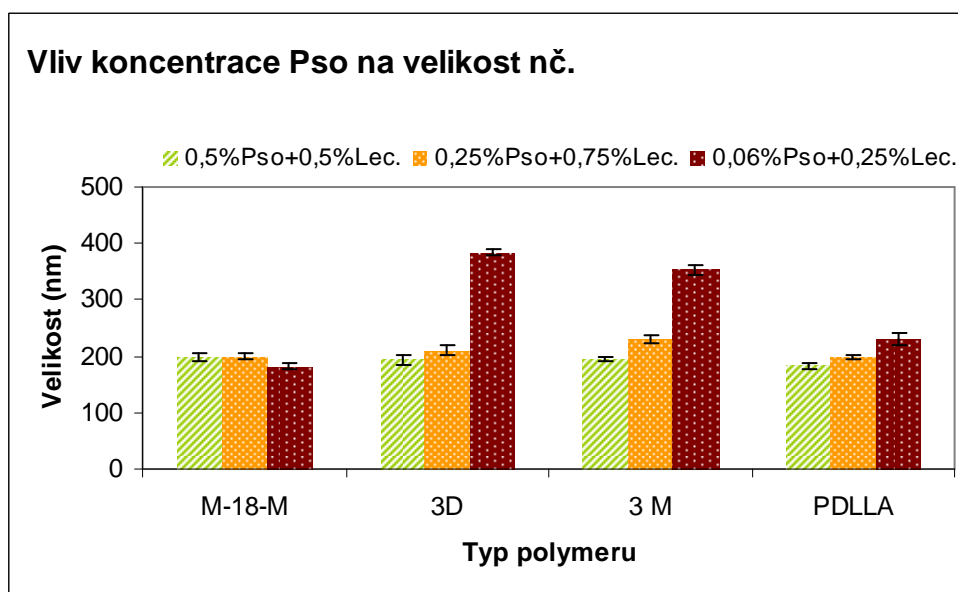
Obr. 68: Vliv koncentrace baze terbinafinu a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic z 0,25% Pso a 0,75% lecitinu

⇒ *Jako nejméně vhodná se ukázala 20% koncentrace terbinafinu baze, která poskytuje největší nanočástice bez ohledu na použitý polymerní nosič.*

## Vliv koncentrace Pso na velikost částic a zeta potenciál

**Tab. 41: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na velikost nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi**

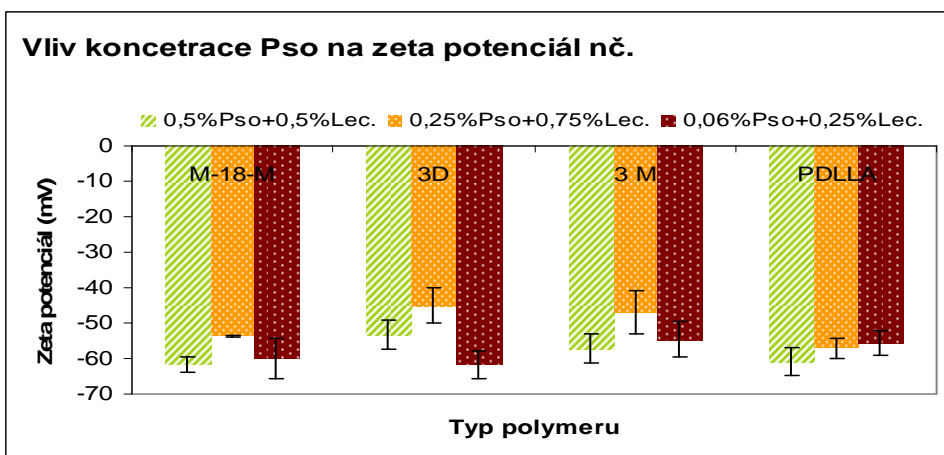
Složení: X% PS; Y % Lec.; 10 % Terb.; 1% Polymer					
lecitin	Pso	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
[%]		Velikost částic [nm]			
0,50	0,50	197,90	193,60	194,60	183,38
0,75	0,25	199,23	210,88	230,62	199,00
0,25	0,06	181,75	383,95	353,45	231,26



**Obr. 69: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na velikost nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi**

**Tab. 42: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi**

Složení: X% Pso; Y% Lec.; 10% Terb.; 1% Polymer					
lecitin	Pso	M-18-M	3 D	3 M	PDLLA
[%]		[mV]			
0,50	0,50	-61,68	-53,43	-57,20	-60,78
0,75	0,25	-53,60	-45,10	-47,08	-57,16
0,25	0,06	-59,97	-61,66	-54,61	-55,66



Obr. 70: Vliv koncentrace Pso a typu nosiče na zeta potenciál nanočástic obsahujících 10% terbinafin bazi

### 4.3 Faktory ovlivňující velikost a zeta potenciál polymerních nanočástic

Tab. 43: Rozpustnost PDLLA popisuje druhy rozpouštědel pro PDLLA; PDLLA byl nejlépe rozpustný v methylacetátu a dichlormethanu .DCM- dichlormethan jsme proto používali jako rozpouštědlo PDLLA pro další měření.

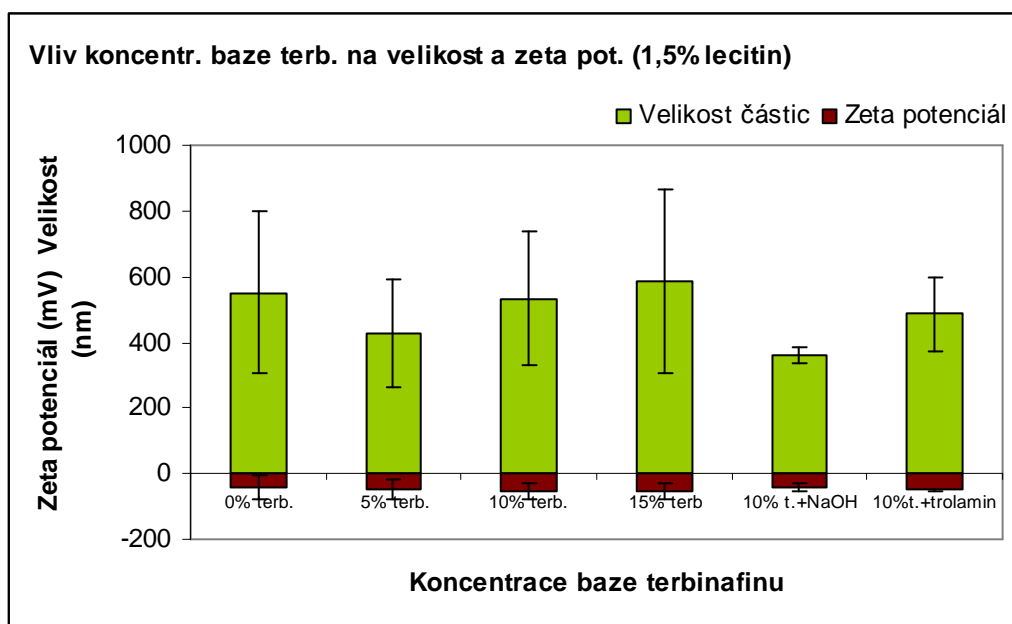
Tab. 43: Rozpustnost PDLLA

Rozpouštědlo	Rozpustnost PDLLA
Methylacetát	dobře rozpustný
Dimethylsulfoxid	dobře rozpustný
Methylformiát	málo rozpustný
Diethyléter	nerozpustný
Benzylalkohol	málo rozpustný
Cyklohexan	nerozpustný
Cyklohexanol	nerozpustný
Dichlormethan	dobře rozpustný
Chloroform	dobře rozpustný

Tab. 44: Vliv 1,5% lecitinu a baze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic popisuje vliv baze terbinafinu (TERB baze) v různých koncentracích a 1,5% sójového lecitinu na velikost částic a zeta potenciál. Srovnání 10% TERB baze s přidáním hydroxydu sodného a trolaminu /Obr. 71: Vliv 1,5% lecitinu a baze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic /.

Tab. 44: Vliv 1,5% lecitinu a baze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic

Lecitin sój./%/	TERB baze /%/	Velikost částic	Zeta potenciál	Poznámka
1,5	0	550,15	-40,79	
1,5	5	429,05	-47,32	
1,5	10	533,7	-56,04	
1,5	15	584,3	-54,04	
1,5	10	361,9	-41,72	pH 8,8 NaOH
1,5	10	485,55	-49,67	pH 8,9 trolamin



Obr. 71: Vliv 1,5% lecitinu a báze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic

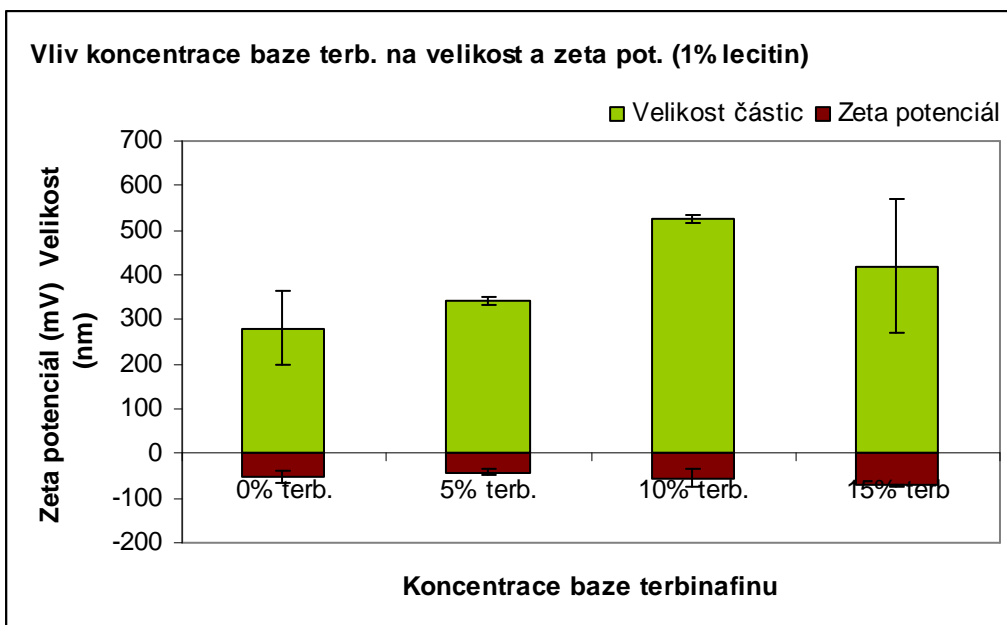
⇒ *1,5% koncentrace lecitinu je příliš vysoká. Nanočástice jsou větší a mají větší polydisperzitu i směrodatnou odchylku.*

⇒

Tab. 45: Vliv 1% lecitinu a báze terb. 0%, 5%, 10% a 15% na velikost a zeta pot. částic popisuje vliv 1% lecitinu a 0%, 5%, 10% a 15% terbinafinu na velikost částic a zeta potenciál. Viz. Obr. 72: Vliv 1% lecitinu a báze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic.

Tab. 45: Vliv 1% lecitinu a báze terb. 0%, 5%, 10% a 15% na velikost a zeta pot. částic

Lecitin sój./%/	TERB báze /%/	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)
1	0	279,5	-53,49
1	5	342,1	-42,145
1	10	524,85	-55,38
1	15	419,3	-71,265



Obr. 72: Vliv 1% lecitinu a baze terbinafinu 0%, 5%, 10% a 15% na velikost částic

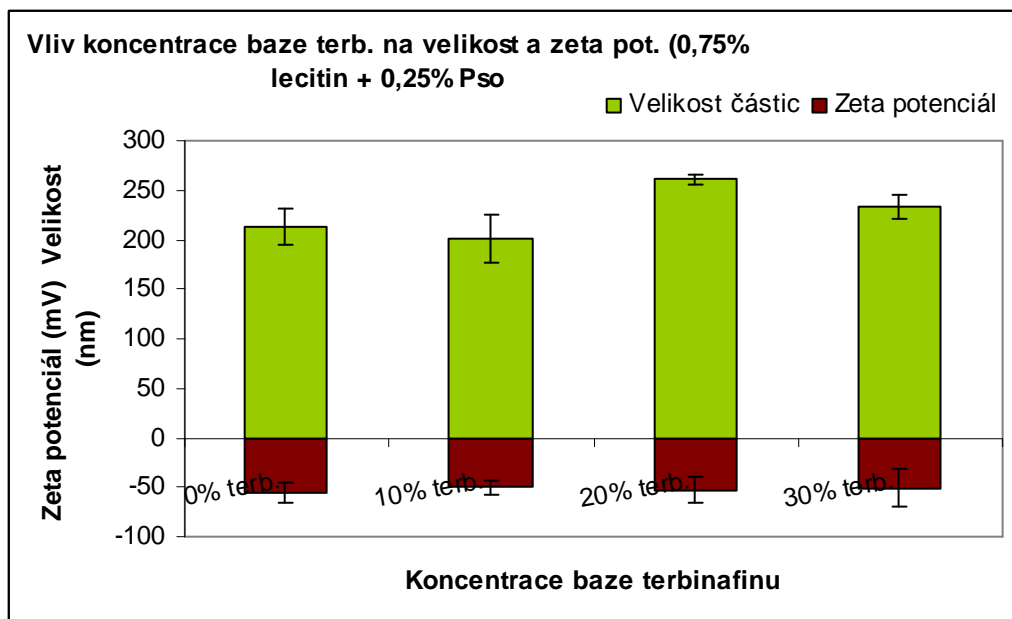
⇒ *1% koncentrace lecitinu je výhodnější z hlediska směrodatné odchylky a velikosti nanočástic. Nejmenší částice vznikaly dle předpokladu ze vzorku bez terbinafinu.*

⇒

Tab. 46: Vliv 0,75% lecitinu, 0,25% Pso a baze terb. 0%, 10%, 20% a 30% na velikost a zeta pot. částic popisuje vliv koncentrace přidaného terbinafinu na velikost částic a zeta potenciál při použití 0,75% lecitinu a 0,25% polysorbátu 20 (PS 20).

Tab. 46: Vliv 0,75% lecitinu, 0,25% Pso a baze terb. 0%, 10%, 20% a 30% na velikost a zeta pot. částic

Lecitin %/l	PS 20 %/l	TERB baze %/l	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)
0,75	0,25	0	213,5	-55,35
0,75	0,25	10	200,57	-50,21
0,75	0,25	20	260,63	-52,77
0,75	0,25	30	233,3	-50,55



Obr. 73: Vliv 0,75% lecitinu, 0,25% Pso a baze terb. 0%, 10%, 20% a 30% na velikost a zeta pot. částic

⇒ *Kombinace 0,75% lecitinu a 0,25% polysorbátu je nejvýhodnější jak z hlediska směrodatné odchylky tak z hlediska velikosti.*

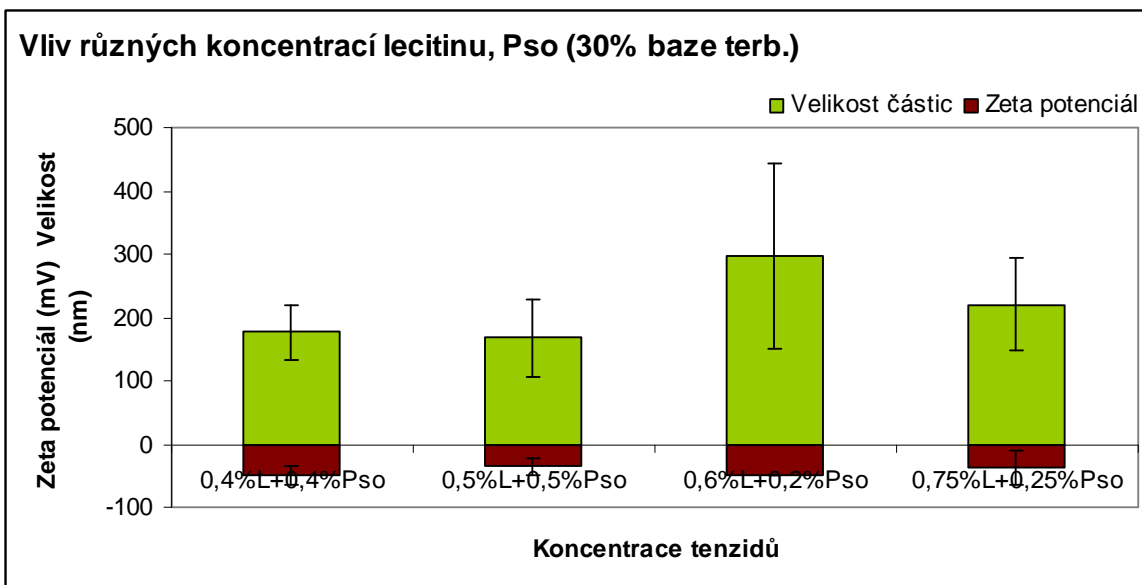
⇒

Tab. 47: popisuje vliv koncentrace sójového lecitinu a 30% baze terbinafinu za přidání Pso jako druhého tenzidu na velikost částic a zeta potenciál. K úpravě pH vodné fáze jsme přidali roztok NaOH.

Tab. 47: Vliv koncentrace lecitinu a Pso na velikost a zeta pot. částic (30% baze terb., 1% PDLLA)

Lecitin sój. /%l	PS 20 /%l	TERB baze /%l	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)	Pozn.
0,4	0,4	30	176,9	-48,4	pH 9,6
0,5	0,5	30	167,45	-35,5	pH 8,9
0,6	0,2	30	297,8	-48,55	pH 9/8
0,75	0,25	30	219,9	-36,95	pH 8/10





Obr. 74: Vliv koncentrace lecitinu a Pso na velikost a zeta pot. částic (30% baze terb., 1% PDLLA)

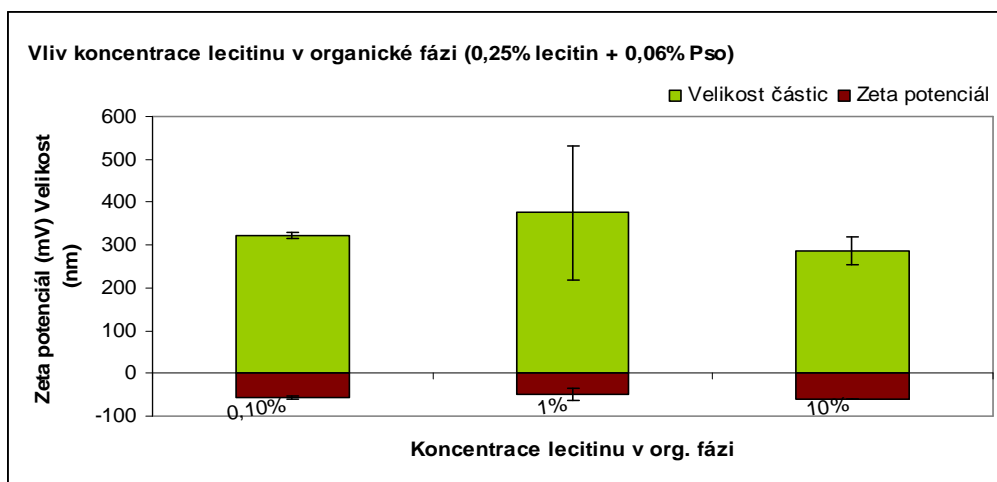
⇒ 30% koncentrace terbinafinu baze je zřejmě nad schopností systému přijmout takové množství. To pravděpodobně způsobilo rozkolísání hodnot směrodatné odchylky a změny v zeta potenciálu směrem k hranici stability.

⇒

Tab. 48: Parametry nanočástic připravených pomocí 0,25% lecitinu a 0,06% Pso, 10% terb. baze; vliv koncentrace lecitinu v organické fázi popisuje nanočástice připravované z 0,25% lecitinu a 0,06% PS 20 při stejné koncentraci TERB baze (10%). Do organické fáze byl přidán lecitin v koncentraci 0,1%, 1% a 10%.

Tab. 48: Parametry nanočástic připravených pomocí 0,25% lecitinu a 0,06% Pso, 10% terb. baze; vliv koncentrace lecitinu v organické fázi

Lecitin sójový /%l	PS 20 /%l	TERB baze /%l	Průměrná velikost částic (nm)	Průměr Zeta potenciál (mV)	Lecitin v org. fázi /%l
0,25	0,06	10	322,95	-56,83	0,1
0,25	0,06	10	375,8	-50,72	1
0,25	0,06	10	286,55	-60,42	10



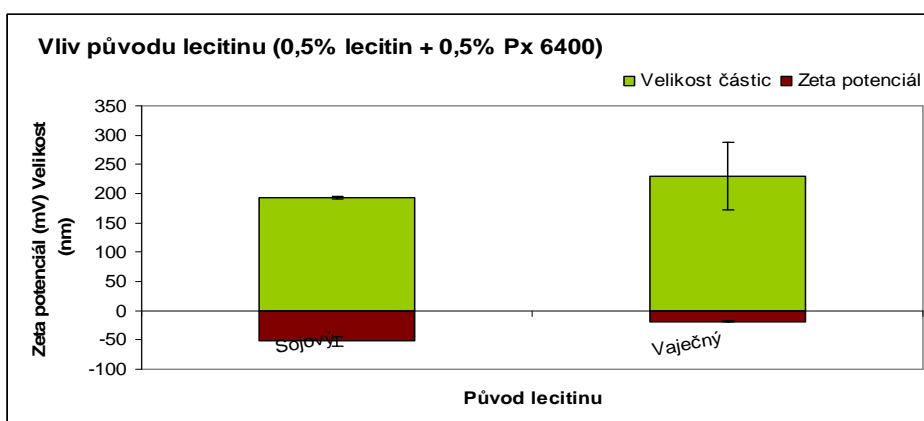
Obr. 75: Parametry nanočástic připravených pomocí 0,25% lecitinu a 0,06% Pso, 10% terb. baze; vliv koncentrace lecitinu v organické fázi

⇒ *Lecitin přidáný do organické fáze před vznikem nanočástic je zřejmě lépe zabudován do částic. V kombinaci s tenzidy ve vodné fázi zvyšuje zeta potenciál a snižuje velikost částic*

Důležitou součástí pokusu bylo srovnání dvou lecitinů různého původu. Jeden lecitin pocházel z vaječného žloutku, druhý měl původ v sóje. Jako druhý emulgátor byl použit poloxamer Px 6400 ve stejné koncentraci 0,5% viz. Tab. 49: Vliv původu lecitinu na velikost a zeta potenciál částic.

Tab. 49: Vliv původu lecitinu na velikost a zeta potenciál částic

	Lecitin /%	Px 6400 /%	Velikost částic /nm/	Zeta potenciál /mV/
Sojový	0,5	0,5	193	-52,02
Vaječný	0,5	0,5	230,6	-18,43



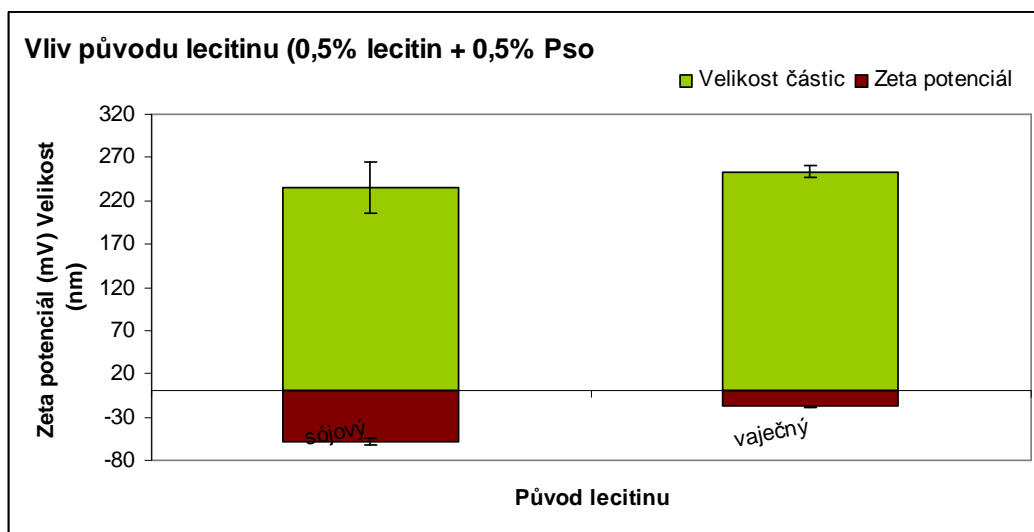
Obr. 76: Vliv původu lecitinu na velikost a zeta potenciál částic

⇒ *Mezi sójovým a vaječným lecitinem je patrný výrazný rozdíl v zeta potenciálu. Velikostně se částice tolik neliší, nicméně vaječný lecitin má zeta potenciál výrazně pod hranicí stability (-18,43 mV).*

Tab. 50: Vliv původu 0,5% lecitinu v kombinaci s 0,5% Pso na velikost a zeta potenciál částic popisuje vliv původu 0,5% vaječného a 0,5% sojového lecitinu s 0,5% PS 20 na velikost a zeta potenciál části.

Tab. 50: Vliv původu 0,5% lecitinu v kombinaci s 0,5% Pso na velikost a zeta potenciál částic

	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)
<b>sojový</b>	235,2	-58,88
<b>vaječný</b>	253,95	-17,63

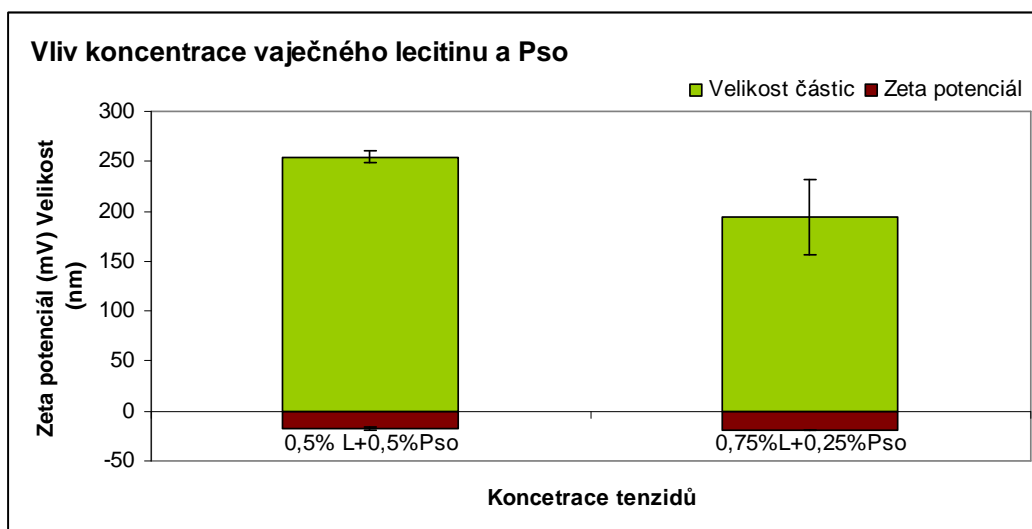


Obr. 77: Vliv původu 0,5% lecitinu v kombinaci s 0,5% Pso na velikost a zeta potenciál částic

⇒ *Bylo ověřeno, že původ lecitinu ovlivňuje zeta potenciál více než velikost částic nezávisle na možné kombinaci s dalším tenzidem.*

Tab. 51: Vliv koncentrace vaječného lecitinu a Pso na velikost a zeta potenciál částic

Lecitin vaječný /%l/	Pso 20 /%l/	TERB baze /%l/	Velikost částic /nm/	Zeta potenciál /mV/
0,5	0,5	10	253,95	-17,78
0,75	0,25	10	193,65	-18,69



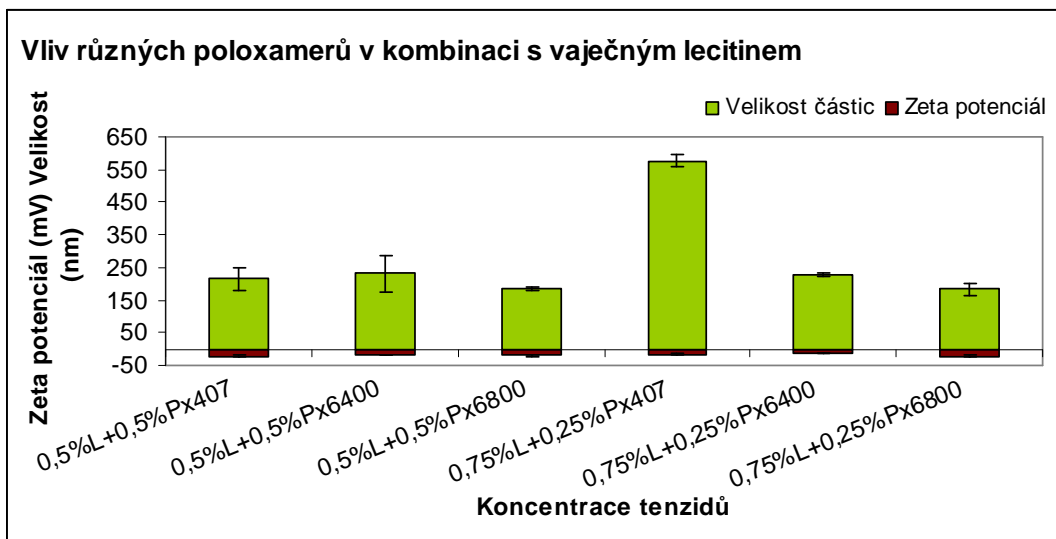
Obr. 78: Vliv koncentrace vaječného lecitinu a Pso na velikost a zeta potenciál částic

⇒ *Vaječný lecitin nesplňuje požadavky na stabilitu. Neudrží hodnoty zeta potenciálu nad hranicí -35 mV.*

Tab. 52: Vliv různých poloxamerů v kombinaci s vaječným lecitinem na velikost a zeta pot. částic popisuje vliv použitého druhu tenzidu (Poloxameru 470, Poloxameru 6400 a Poloxameru 6800) a jejich koncentrací na velikost částic a zeta potenciál při stejné koncentraci TERB baze.

Tab. 52: Vliv různých poloxamerů v kombinaci s vaječným lecitinem na velikost a zeta pot. částic

Vaj. Lecitin /%/	Px 470	Px 6400	PX 6800	TERB baze /%/	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)
0,5	0,5	---	---	10	214,6	-21,99
0,5	---	0,5	---	10	230,6	-18,43
0,5	---	---	0,5	10	183,9	-20,54
0,75	0,25	---	---	10	577,8	-15,32
0,75	---	0,25	---	10	226,85	-14,51
0,75	---	---	0,25	10	183,2	-21,11



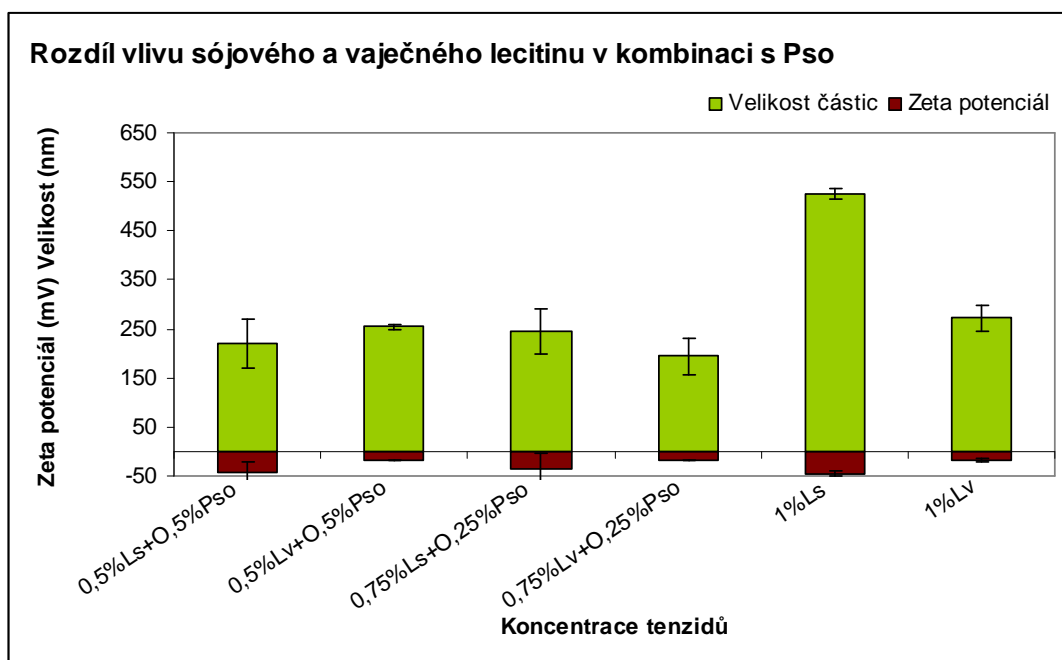
Obr. 79: Vliv různých poloxamerů v kombinaci s vaječným lecitinem na velikost a zeta pot. částic

⇒ Ani jedna z kombinací nedosáhla hodnot nižších než je -22 mV.

Tab. 53: Rozdíl vlivu sójového a vaječného lecitinu v kombinaci s Pso na velikost a zeta pot. částic srovnává stejné koncentrace sójového a vaječného lecitinu v kombinaci s Pso 20 při stejné koncentraci baze terbinafinu.

Tab. 53: Rozdíl vlivu sójového a vaječného lecitinu v kombinaci s Pso na velikost a zeta pot. částic

Soj. Lecitin /%/	Vaj. Lecitin /%/	Pso 20 /%/	TERB baze /%/	Velikost částic /nm/	Zeta poten. /mV/
0,5	---	0,5	10	220	-44,46
---	0,5	0,5	10	253,95	-17,78
0,75	---	0,25	10	245,35	-36,66
---	0,75	0,25	10	193,65	-18,69
1	---	0	10	524,85	-44,98
---	1	0	10	272,35	-19,1



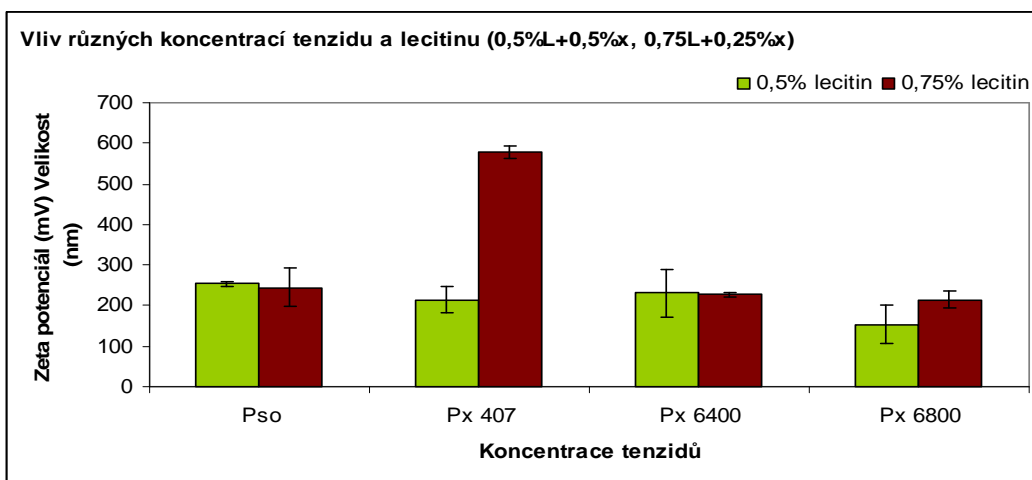
Obr. 80: Rozdíl vlivu sójového a vaječného lecitinu v kombinaci s Pso na velikost a zeta pot. částic

⇒ *Pro srovnání: sójový lecitin se ve všech testovaných případech dostal nad hranici -35 mV. Velikost částic se až na výjimku (vzorek obsahující 1% sójový lecitin) výrazně nelišila.*

Tab. 54: Vliv různých koncentrací tenzidu a lecitinu na velikost částic popisuje vliv kombinace 0,5% použitého druhu tenzidu při koncentraci 0,5% sójového lecitinu a kombinaci 0,25% tenzidu s 0,75% sójovým lecitinem na velikost částic.

Tab. 54: Vliv různých koncentrací tenzidu a lecitinu na velikost částic

Lecitin %	Pso 20 %	Px 407 %	Px 6400 %	Px 6800 %	Velikost částic /nm/
0,5	0,5	---	---	---	253,95
0,5	---	0,5	---	---	214,6
0,5	---	---	0,5	---	230,6
0,5	---	---	---	0,5	153,9
0,75	0,25	---	---	---	245,35
0,75	---	0,25	---	---	577,8
0,75	---	---	0,25	---	226,85
0,75	---	---	---	0,25	213,5



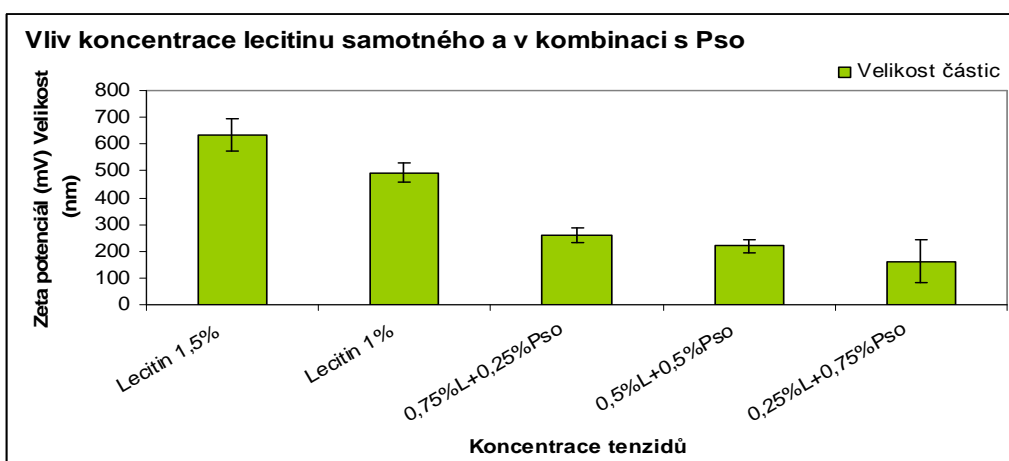
Obr. 81: Vliv různých koncentrací tenzidu a lecitinu na velikost částic

⇒ *Kombinace 0,5% lecitinu a 0,5% druhého tenzidu se jeví jako stabilnější co se týká výsledků. Jako nejvýhodnější kombinace z testovaných vzorků vyšla směs 0,5% lecitinu s 0,5% Px 6800.*

Tab. 55: Vliv koncentrace lecitinu samotného a v kombinaci s Pso na velikost částic popisuje vliv různých koncentrací lecitinu a polysorbátu 20 na velikost částic.

Tab. 55: Vliv koncentrace lecitinu samotného a v kombinaci s Pso na velikost částic

	Lecitin 1,5%	Lecitin 1%	0,75%L+0,25%Pso	0,5%L+0,5%Pso	0,25%L+0,75%Pso
Velikost /nm/	633,7	493,2	258,55	220	161,75



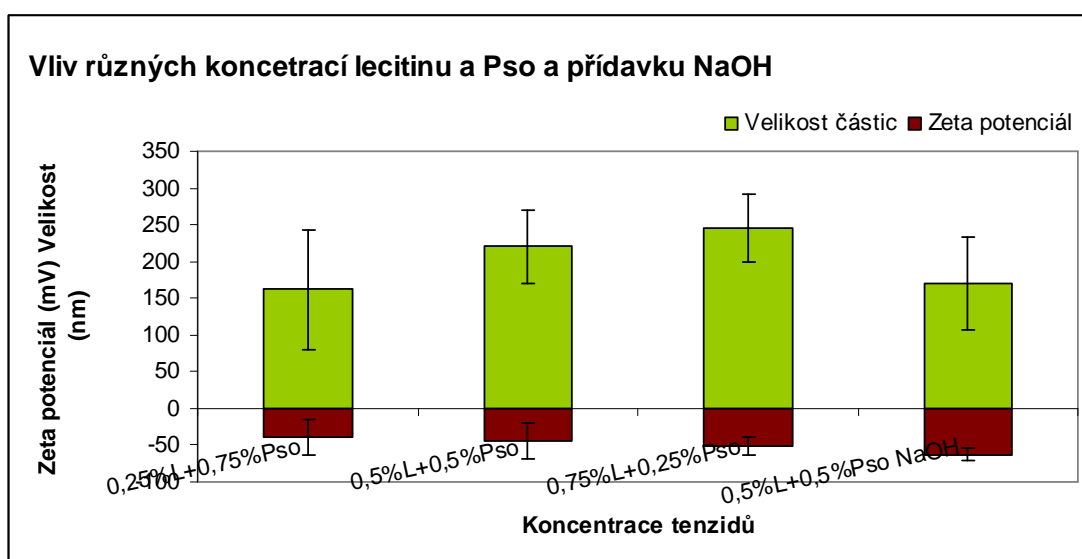
Obr. 82: Vliv koncentrace lecitinu samotného a v kombinaci s Pso na velikost částic

⇒ *Kombinace dvou tenzidů může snižovat povrchové napětí při vzniku primární nanoemulze účinněji, tím se snižuje i velikost připravovaných nanočástic.*

Tab. 56: Vliv různých koncentrací lecitinu a Pso a přídavku NaOH na velikost a zeta potenciál částic popisuje vliv různých koncentrací lecitinu s přidáním polysorbátu Pso při 10% koncentraci terbinafinu a srovnání při stejné koncentraci lecitinu a polysorbátu (0,5% Lec.+ 0,5% Pso) za přidání NaOH do vodné fáze.

Tab. 56: Vliv různých koncentrací lecitinu a Pso a přídavku NaOH na velikost a zeta potenciál částic

Lecitin /%/	Pso /%/	Baze terb. /%/	Velikost částic /nm/	Zeta pot. /mV/	Poznámka
0,25	0,75	10	161,75	-38,89	
0,5	0,5	10	220	-44,46	
0,75	0,25	10	245,35	-51,66	
0,5	0,5	10	169,4	-62,58	pH 10 NaOH



Obr. 83: Vliv různých koncentrací lecitinu a Pso a přídavku NaOH na velikost a zeta potenciál částic

- ⇒ Přidání NaOH může úspěšně zvýšit zeta potenciál a zároveň snížit velikost částic.
- ⇒ Dále je vidět, že výhodnější poměr lecitinu a polysorbátu je ten, který se kloní na stranu Pso. Nicméně s klesající velikostí klesá i zeta potenciál na -38,89 mV.

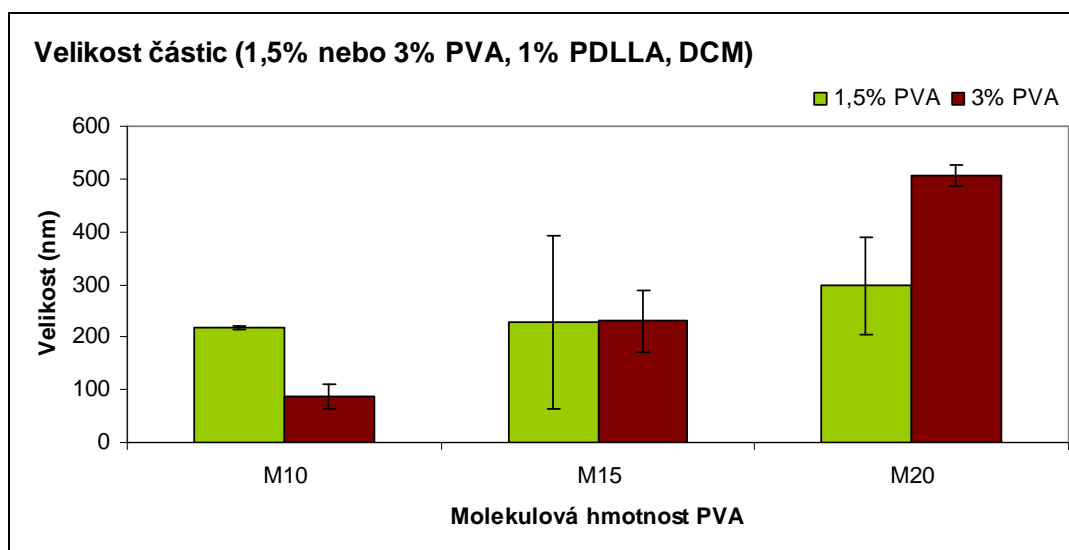


## **DCM jako rozpouštědlo vnitřní fáze a PVA jako emulgátor vnější fáze**

V následující kapitole je popsána příprava nanočástic z PDLLA rozpuštěné v DCM jako vnitřní fáze nanoemulze a z 1,5% a 3% roztoku PVA o různých molekulových hmotnostech jako vnější fáze (M10=Mw 10000, M15=Mw 15000, M20=Mw 20000).

**Tab. 57: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti DCM jako rozpouštědlo vnitřní fáze**

Velikost částic	M10	M15	M20
1,5% PVA	217,35	227,75	296,8
3% PVA	86,66	230,6	506,3



**Obr. 84: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti DCM jako rozpouštědlo vnitřní fáze**

V první sérii měření jsme použili jako rozpouštědlo vnitřní fáze DCM. V Tab. 57: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti DCM jako rozpouštědlo vnitřní fáze je zaznamenána závislost velikosti částic na druhu a koncentraci použitého rozpouštědla.

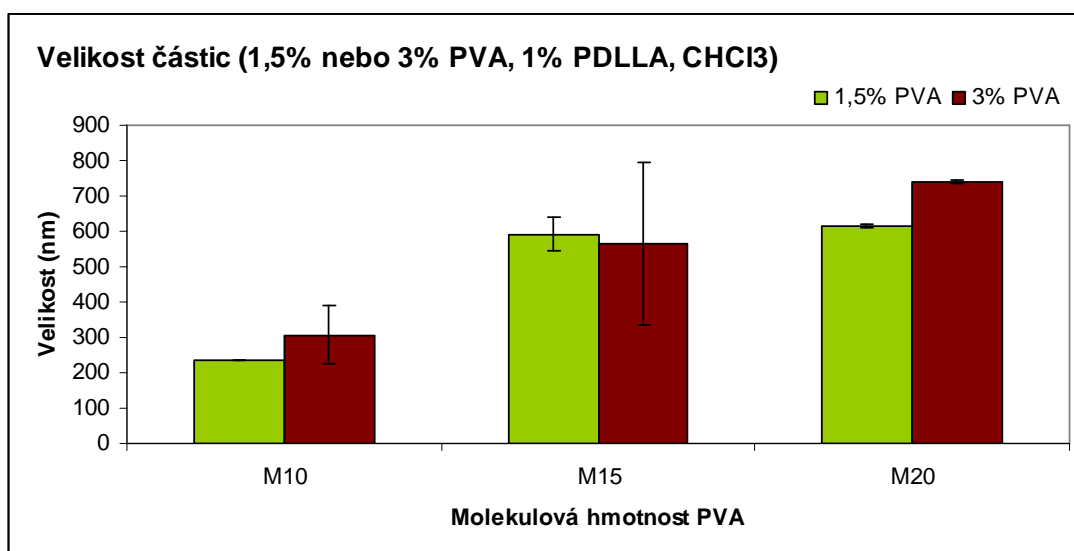
⇒ *V případě PVA o koncentraci 1,5 % je vidět, že velikost částic se zvyšuje se zvyšující se molekulovou hmotností. Stejná závislost je patrná také u PVA v 3 % koncentraci, kde opět platí, že se zvyšující se molekulovou hmotností použitého PVA se zvětšuje velikost částic.*

## ***CHCl<sub>3</sub> jako rozpouštědlo vnitřní fáze a PVA jako emulgátor vnější fáze***

V druhé sérii se porovnávali vzorky o stejném složení vnější fáze. Vnitřní fáze se lišila použitým rozpouštědlem, kterým byl chloroform.

**Tab. 58 : Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, CHCl<sub>3</sub> jako rozpouštědlo vnitřní fáze**

Velikost částic	M10	M15	M20
<b>1,5% PVA</b>	234,65	591,35	615,05
<b>3% PVA</b>	306,65	564,05	741,05



**Obr. 85: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, CHCl<sub>3</sub> jako rozpouštědlo vnitřní fáze**

Ve druhé sérii měření jsme použili jako rozpouštědlo CHCl<sub>3</sub>. V tabulce č.54 je zaznamenána závislost velikosti částic na druhu a koncentraci použitého tenzidu.

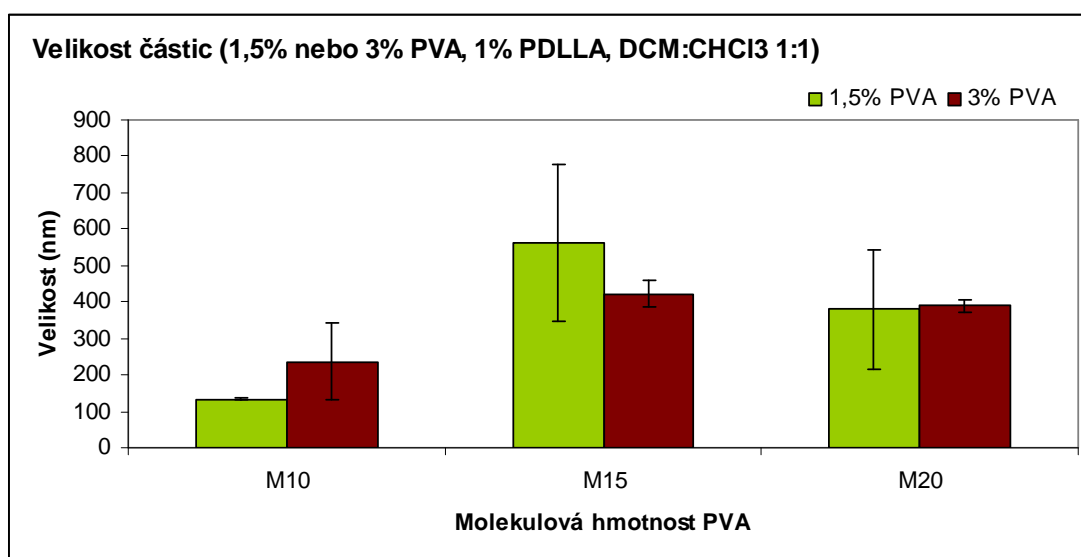
*⇒ V případě PVA o koncentraci 1,5 % je vidět, že velikost částic se zvyšuje se zvyšující se molekulovou hmotností. Ta samá závislost je patrná také u PVA v 3% koncentraci, kde opět platí, že se zvyšující se molekulovou hmotností použitého PVA se zvětšuje velikost částic. 3 % koncentrace PVA zvyšuje velikost vznikajících částic.*

## **Směs $\text{CHCl}_3$ + DCM 1:1 jako rozpouštědlo vnitřní fáze a PVA jako emulgátor vnější fáze**

Ve třetí části pokusu jsme polymer vnitřní fáze rozpouštěli ve směsi DCM: $\text{CHCl}_3$  v poměru 1:1

**Tab. 59: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, DCM: $\text{CHCl}_3$  v poměru 1:1 jako rozpouštědlo vnitřní fáze**

Velikost částic	M10	M15	M20
<b>1,5% PVA</b>	133,75	562,3	379,6
<b>3% PVA</b>	236,15	422,9	390,75



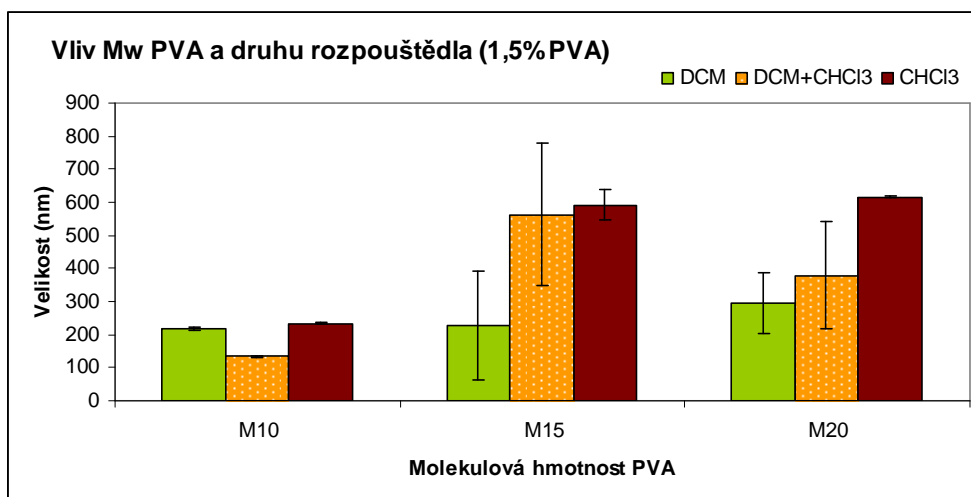
**Obr. 86: Velikost částic v závislosti na koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti, DCM: $\text{CHCl}_3$  v poměru 1:1 jako rozpouštědlo vnitřní fáze**

Ve třetí sérii měření jsme jako rozpouštědlo použili směs  $\text{CHCl}_3$  + DCM (v poměru 1:1).

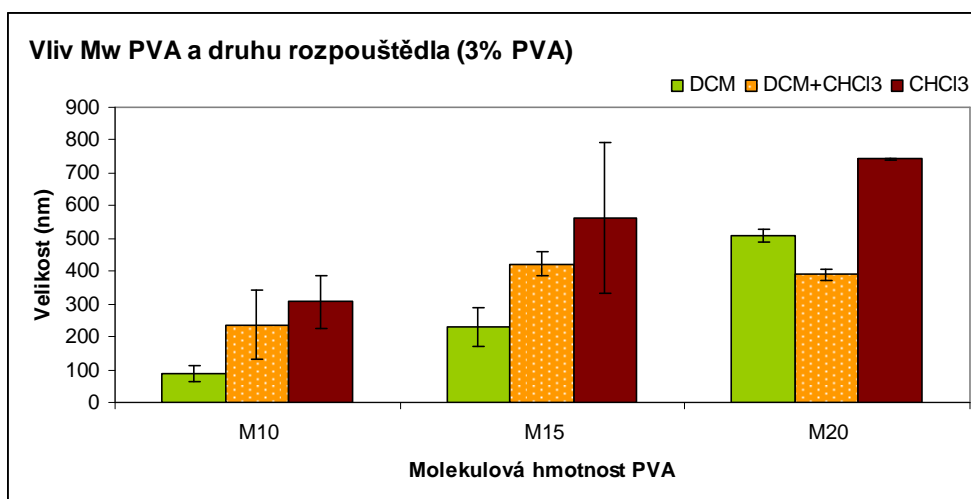
⇒ *Tato směs se jeví jako nestandardní a nevhodná pro přípravu nanočástic. Jednotlivá měření se od sebe dost liší a není zde patrná závislost velikosti částic na molekulové hmotnosti emulgátoru.*

⇒

Na následujících grafech je souhrnně znázorněn vliv molekulové hmotnosti použitého tenzidu a vliv druhu organického rozpouštědla vnitřní fáze.



Obr. 87: Vliv molekulové hmotnosti PVA a použitého rozpouštědla vnitřní fáze (1,5% PVA)



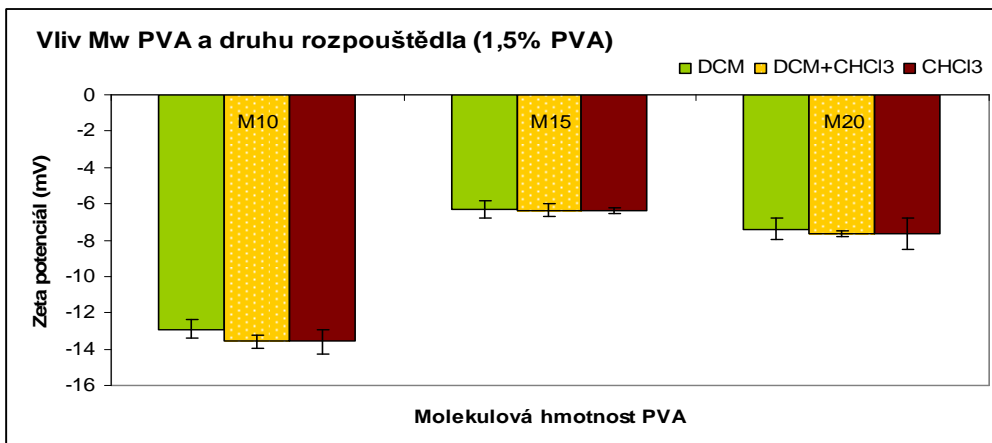
Obr. 88: Vliv molekulové hmotnosti PVA a použitého rozpouštědla vnitřní fáze (3% PVA)

### Zeta potenciál nanočástic s PVA

V následujících tabulkách je uveden zeta potenciál stejných vzorků u nichž byla měřena velikost částic pro rozpouštědla vnitřní fáze DCM, DCM:CHCl<sub>3</sub> (1:1) a CHCl<sub>3</sub> a dvě koncentrace (1,5%, 3%) PVA o různých středních molekulových hmotnostech (M10, M15, M20).

Tab. 60 : Zeta potenciál částic v závislosti na 1,5% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze

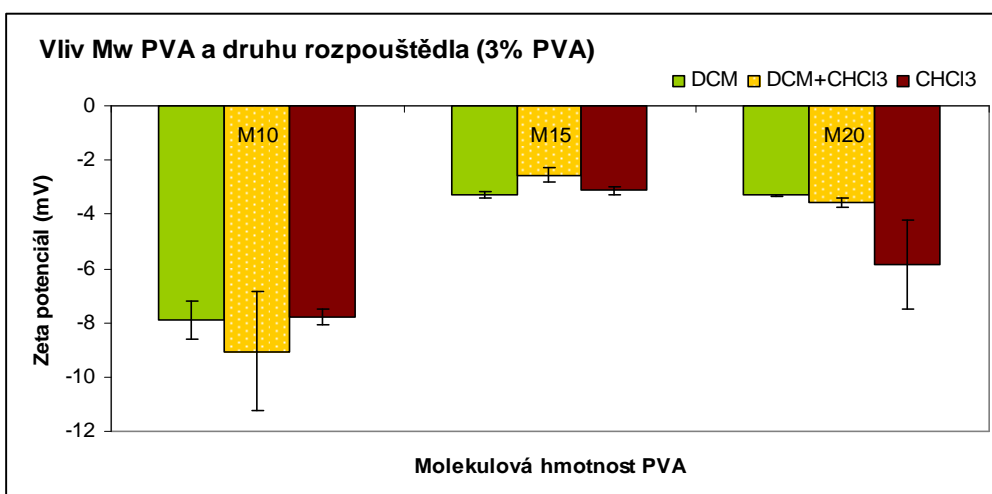
1,5% PVA			
Zeta potenciál	M10	M15	M20
DCM	-12,89	-6,298	-7,385
CHCl <sub>3</sub>	-13,59	-6,351	-7,648
DCM+CHCl <sub>3</sub>	-13,22	-6,939	-8,379



Obr. 89: Zeta potenciál částic v závislosti na 1,5% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze

Tab. 61: Zeta potenciál částic v závislosti na 3% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze

3% PVA			
Zeta potenciál	M10	M15	M20
DCM	-7,915	-3,261	-3,287
CHCl <sub>3</sub>	-7,791	-3,116	-5,85
DCM+CHCl <sub>3</sub>	-9,061	-2,553	-3,591



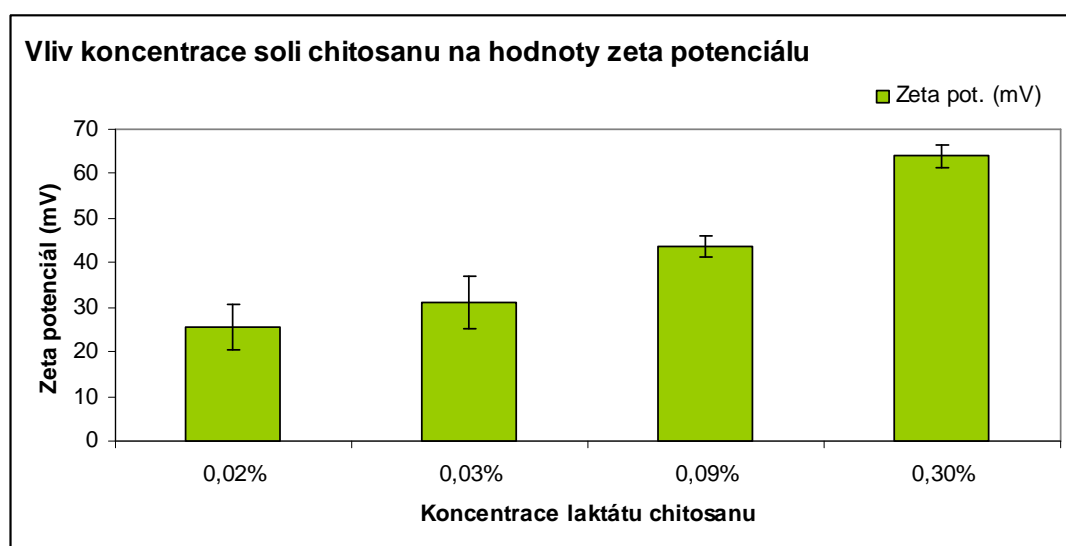
Obr. 90: Zeta potenciál částic v závislosti na 3% koncentraci PVA a jeho střední molekulové hmotnosti a druhu rozpouštědla vnitřní fáze

- ⇒ Jako nejvýhodnější rozpouštědlo byl vybrán DCM. Samotný CHCl<sub>3</sub> poskytuje příliš velké částice a kombinace obou rozpouštědel neposkytuje stabilní výsledky.
- ⇒ Nejvýhodnější z použitých tenzidů je PVA M10 o koncentraci 1,5%, kde je nejnižší zeta potenciál nebo pak 3% PVA M10, kde je velikost částic nejmenší, nicméně zeta potenciál stejně nepřesahuje -35 mV.

Zeta potenciál byl u všech vzorků pod hranicí stability (interval nestability -35 až +35 mV). Pomocí laktátu chitosanu jsme se pokusili ovlivnit hodnotu zeta potenciálu a tedy i stability roztoků. Na konci přípravy disperze nanočástic jsme vzniklou nanoemulzi přidali do 100 mL roztoku laktátu chitosanu o koncentracích (0,015%, 0,03%, 0,09%, 0,30%). Baze chitosanu je nerozpustná, proto jsme v pokusu používali její sůl od kyseliny mléčné. Dále jsme se drželi již známého postupu. Emulgátor PVA (Mw=10000) jsme používali v koncentraci 3%. Měření jsme opakovali jako u všech předchozích vzorků třikrát. V Tab. 62: Vliv koncentrace soli chitosanu na hodnoty zeta potenciálu jsou hodnoty zeta potenciálu s použitím soli chitosanu.

**Tab. 62: Vliv koncentrace soli chitosanu na hodnoty zeta potenciálu**

Chitosan laktát %	0,015%	0,03%	0,09%	0,30%
Zeta pot. (mV)	25,635	31,035	43,565	63,97



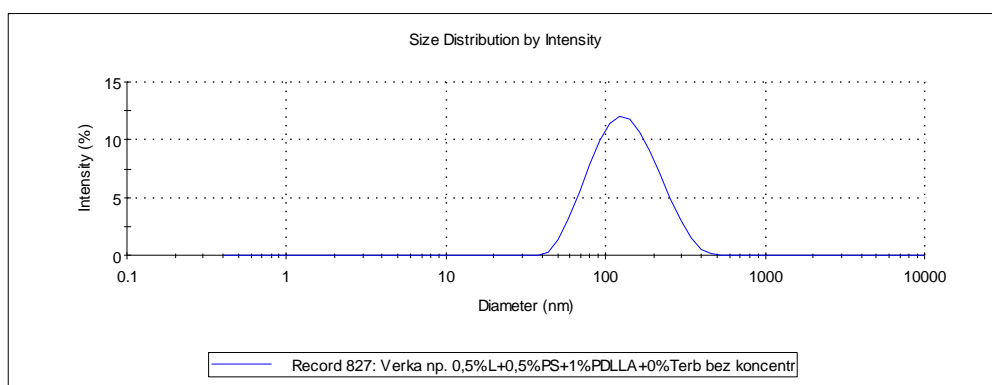
**Obr. 91: Vliv koncentrace soli chitosanu na hodnoty zeta potenciálu**

⇒

⇒ *Z výsledků vyplývá, že chitosan pozitivně ovlivňuje hodnotu zeta potenciálu a zvyšuje stabilitu připravených částic.*

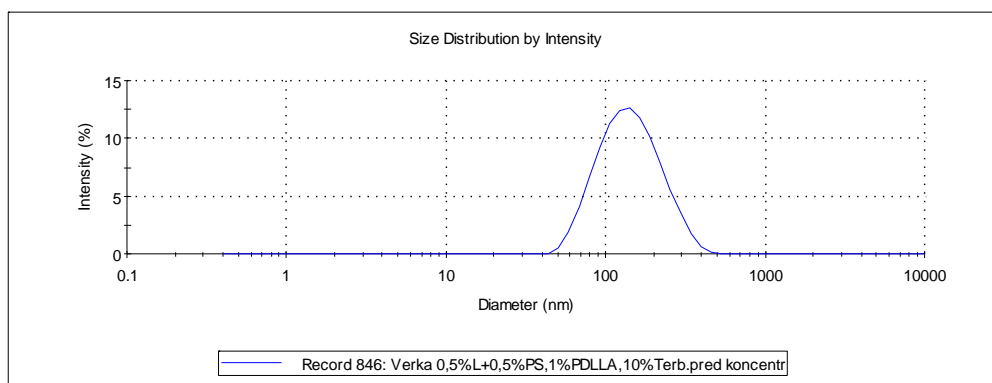
#### 4.4 Koncentrování polymerních nanočástic

Byly připraveny tři vzorky polymerních nanočástic. Všechny byly připraveny metodou rozdělávání-odpaření rozpouštědla. Jako polymer byl použit 1% PDLLA, jako organické rozpouštědlo DCM a jako emulgátory 0,5% lecitin a 0,5% polysorbát 20. Postup přípravy viz Obr. 14: Schématické znázornění provedeného experimentu (zdroj: autor (vlastní)). První vzorek obsahoval čistě polymerní nanočástice bez účinné látky. Měly průměrnou velikost 144,60 nm a byly určené pro koncentrování přes dialyzační membránu PAPA polymerem viz Obr. 92: Distribuce velikosti nanočástic, 0% terbinafin, koncentrování s PAPA. Druhý vzorek obsahoval nanočástice s 10% bazí terbinafinu. Měl střední velikost 152,00 nm a byl určen pro koncentrování přes dialyzační membránu PAPA polymerem viz Obr. 93: Distribuce velikosti nanočástic, 10% terbinafin, koncentrování s PAPA. Poslední třetí vzorek byl srovnávací. Neprobíhalo u něj žádné koncentrování. Obsahoval 10% baze terbinafinu a jeho střední velikost byla 174,90 nm. Sloužil k podchycení změn probíhajících ve vzorcích s časem viz Obr. 94: Distribuce velikosti nanočástic, 10% terbinafin, bez koncentrování.



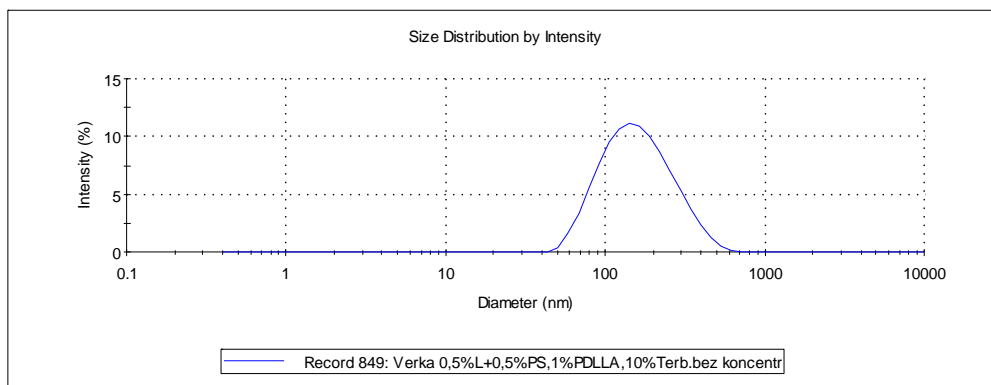
**Obr. 92: Distribuce velikosti nanočástic, 0% terbinafin, koncentrování s PAPA**

Přístroj zaznamenal 1 pík, částice měly průměrnou velikost 144,60 nm.



**Obr. 93: Distribuce velikosti nanočástic, 10% terbinafin, koncentrování s PAPA**

Přístroj zaznamenal 1 pík, částice měly průměrnou velikost 152,00 nm.

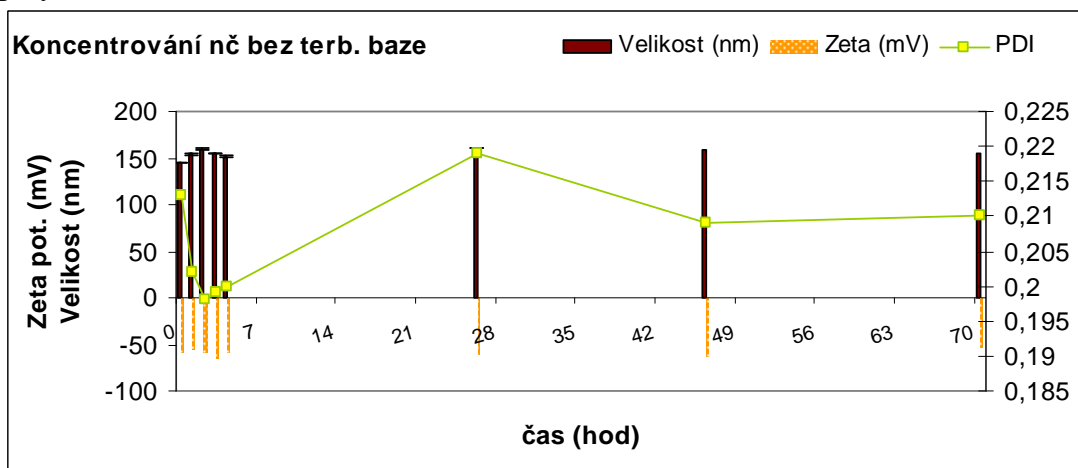


Obr. 94: Distribuce velikosti nanočástic, 10% terbinafin, bez koncentrování

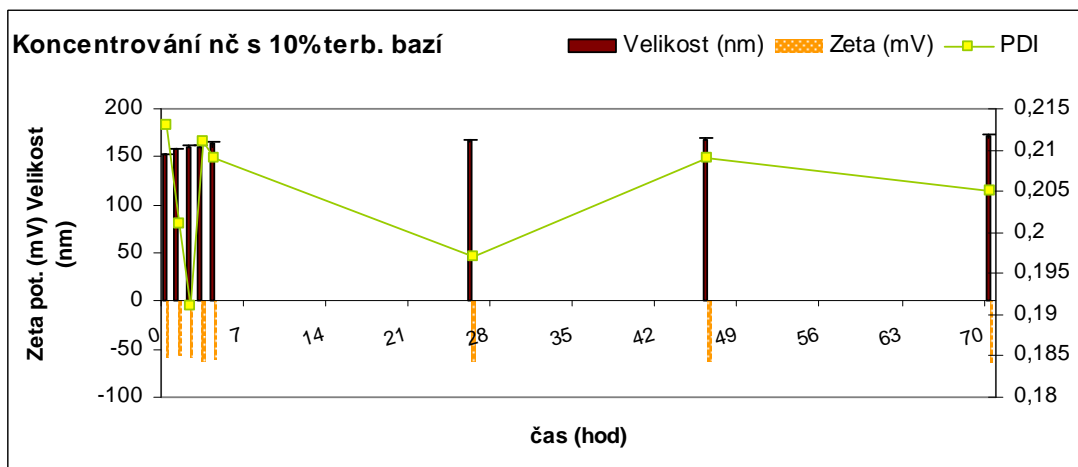
Přístroj zaznamenal 1 pík, částice měly průměrnou velikost 174,90 nm.

### Velikost nanočástic bez a s 10% bazí terbinafinu, po koncentrování s PAPA

Koncentrování probíhalo ve 70 hodinovém intervalu přes dialyzační membránu polymerem PAPA.



Obr. 95 Koncentrování nč bez terbinafinu

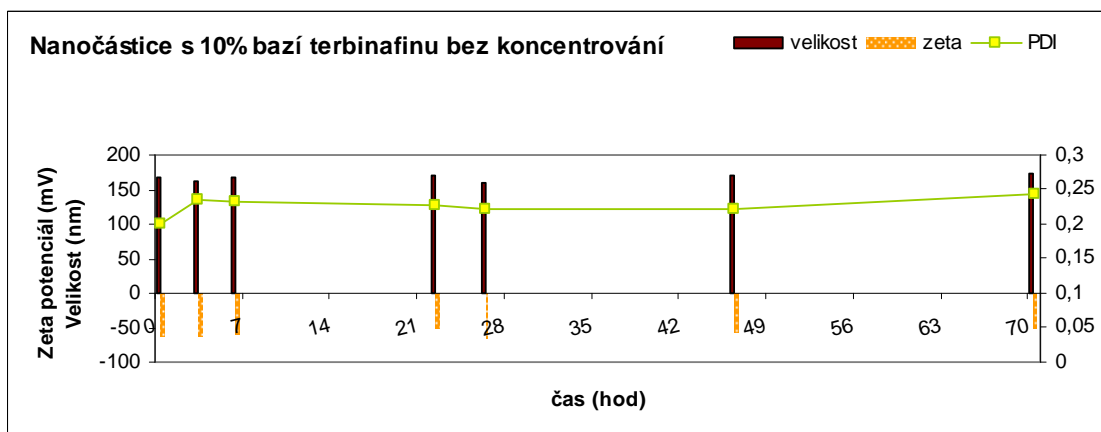


Obr. 96: Koncentrování nanočástic s 10% bazí terbinafinu



### **Velikost nanočástic s 10% terbinafinem, odebírání v časových intervalech bez koncentrování**

Částice byly připraveny stejným postupem jako předchozí vzorek. Po dobu pokusu byly umístěny na magnetické míchačce. V časových intervalech byly odebírány vzorky pro měření velikosti částic a jejich zeta potenciálu.

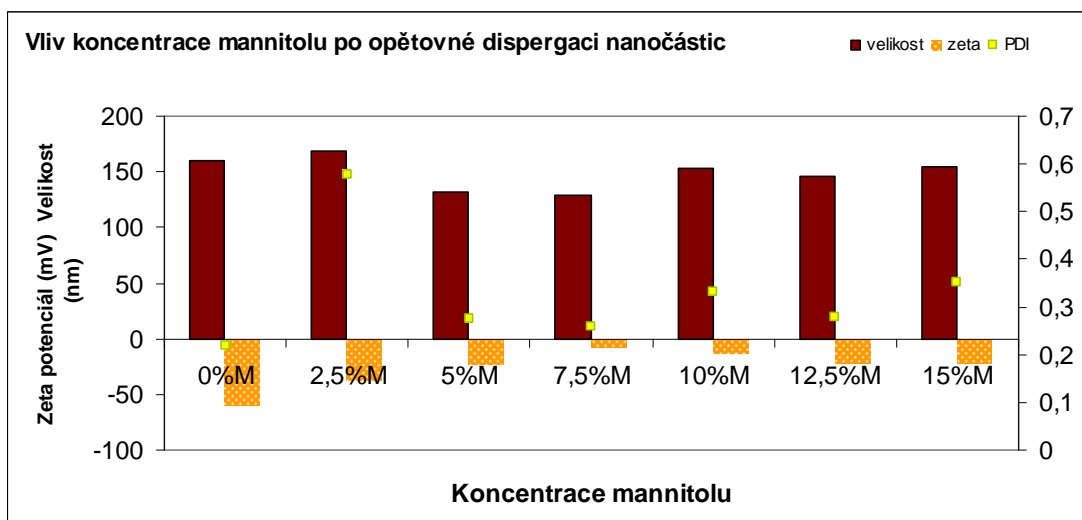


Obr. 97: Nanočástice s 10% bází terbinafinu bez koncentrování

⇒ *Polydisperzita se s časem měnila výrazněji u koncentrovaných vzorků. Zároveň byl patrný počáteční růst velikosti částic. Kontrolní vzorek bez koncentrování si po dobu pokusu udržoval svou původní velikost i polydisperzitu.*

### **Velikost nanočástic s 10% terbinafinem, po vysušení s mannitolem a opětovném rozpuštění**

Nanočástice byly po zkoncentrování přes dialyzační membránu polymerem PAPA smísány s mannitolem v koncentracích 2,5%, 5%, 7,5%, 10%, 12,5%, 15% a usušeny ve sprejové sušárně Mini Spray Dryer B-290 od Büchi. Velikosti částic, jejich zeta potenciál a PDI index po opětovné dispergaci nanočástic z nosiče do vodné disperze jsou zaznamenány na Obr. 98: Vliv koncentrace mannitolu po opětovné dispergaci nanočástic do vodné disperze.



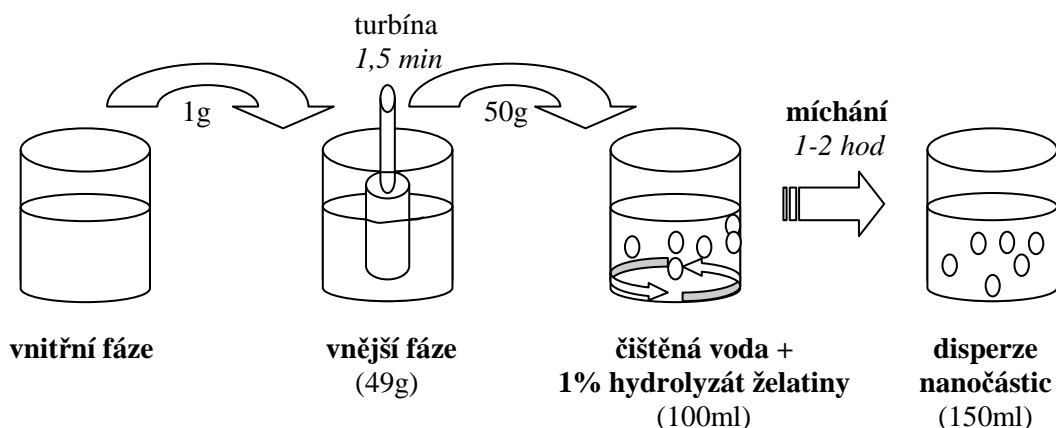
Obr. 98: Vliv koncentrace mannitolu po opětovné dispergaci nanočástic do vodné disperze na jejich parametry

⇒ *Nejvýhodnější koncentrace mannitolu pro sušení a následnou redispergaci, je 5% koncentrace – má po 7,5% koncentraci mannitolu nejmenší velikost, ale oproti němu má výhodnější velikost zeta potenciálu a nízký index polydisperzity.*

## Stabilizátory agregace nanočástic

### Hydrolyzát želatiny

Vzorek č. 1 byl připraven standardním postupem dispergací 1% roztoku PDLLA v DCM v roztoku 0,5% lecitinu a 0,5% polysorbátu ve vodě. Hydrolyzát želatiny (1%) byl umístěn ve stabilizačním roztoku na magnetické míchačce kam se přesunuje vzniklá nanoemulze, aby se z ní odpařilo organické rozpouštědlo a mohly tak vzniknout pevné nanočástice viz Obr. 99: Schéma přípravy nanočástic stabilizovaných 1% hydrolyzátem želatiny.



Obr. 99: Schéma přípravy nanočástic stabilizovaných 1% hydrolyzátem želatiny

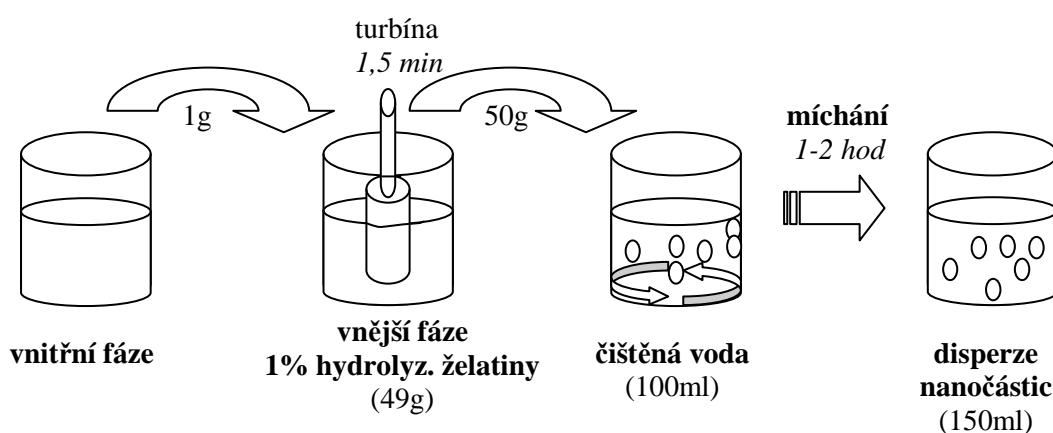
Přístroj nezaznamenal žádný pík, částice měly velikost větší než je rozsah měřených hodnot přístrojem Zetasizer ZS tj. větší než 3  $\mu\text{m}$ . Po přidání

nanosuspenze do roztoku hydrolyzátu želatiny vznikla sraženina, která již následně nešla rozdispergovat.

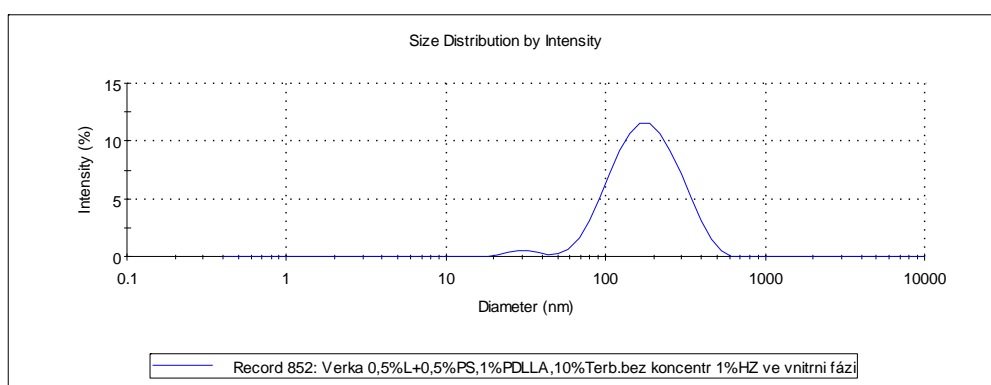
Vzorek č. 2 byl připraven stejným postupem. Lišil se pouze vyšší – 2% koncentrací hydrolyzátu želatiny. Výsledek byl však stejný.

Přístroj nezaznamenal žádný pík, částice měly velikost větší než je rozsah měřených hodnot přístrojem Zetasizer ZS tj. větší než 3  $\mu\text{m}$ . Po přidání nanosuspenze do roztoku hydrolyzátu želatiny vznikla opět sraženina.

Vzorek č. 3 byl připraven stejným postupem. S tím rozdílem, že 1% hydrolyzát želatiny byl přidán do vnější fáze ještě před dispergací nanoemulze viz Obr. 100: Schéma přípravy nanočástic stabilizovaných 1% hydrolyzátem želatiny ve vnější fázi nanoemulze.



**Obr. 100:** Schéma přípravy nanočástic stabilizovaných 1% hydrolyzátem želatiny ve vnější fázi nanoemulze



**Obr. 101:** Distribuce velikosti částic (v nm) podle intenzity rozptýleného paprsku 10% terbinafin, 1% hydrolyzát želatiny ve vnější fázi při dispergaci

Přístroj zaznamenal 1 pík, částice měly velikost 194,60 nm. Sraženina nevznikala.

#### 4.5 Stabilita polymerních nanočástic

V následující části jsme se zaměřili na stabilitu nanočástic připravovaných z různých typů polymerů (3P, 3D, 3T, PLGA 50:50, PDLLA, 5P, 5D, 5T v 1% koncentraci v DCM a za použití 0,75% lecitinu a 0,25% Pso jako emulgátorů ve vnější fázi). Připravili jsme čtyři série vzorků pro posouzení stacionární stability nanočástic (kdy jsou částice po celou dobu pokusu ponechány na místě bez pohybu a jsou umístěny na magnetickou míchačku po dobu 2 min těsně před odběrem dalšího vzorku). Posouzení stability dynamické, kdy jsou částice po celou dobu pokusu v pohybu. Třetí série obsahovala nanočástice ponechané při zvýšené teplotě 37°C za stacionárních podmínek a poslední čtvrtá série byla po celou dobu pokusu umístěna při snížené teplotě 7°C +/- 2°C za stacionárních podmínek.

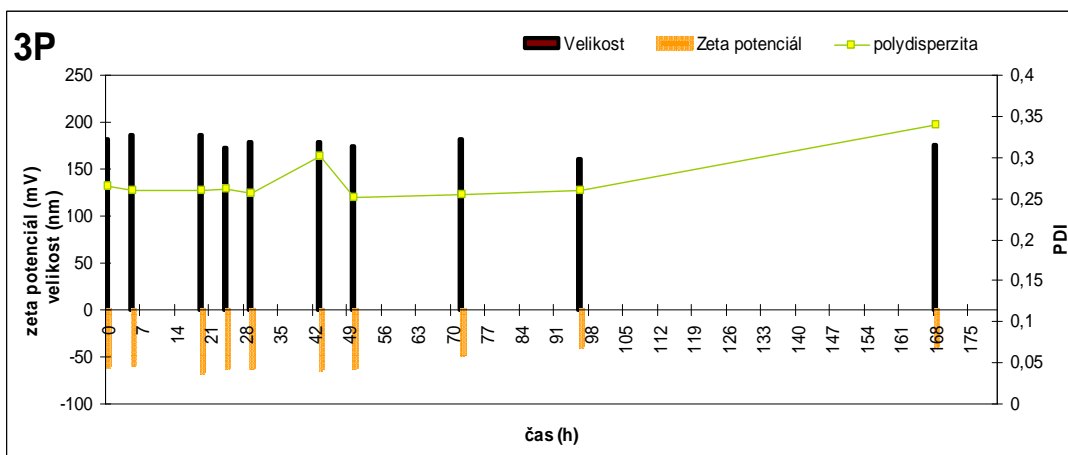
#### Sledování stability volně stojících částic za pokojové teploty

Připravené disperze s nanočásticemi jsme nechali volně stát (zakryté hliníkovou folií) za pokojové teploty a v různých časových intervalech jsme z nich odebírali vzorky, u nichž jsme měřili velikost a zeta-potenciál. Z technických důvodů jsme měření jednotlivých polymerů museli rozdělit do dvou serií. Proto se časy odběru všech vzorků neshodují.

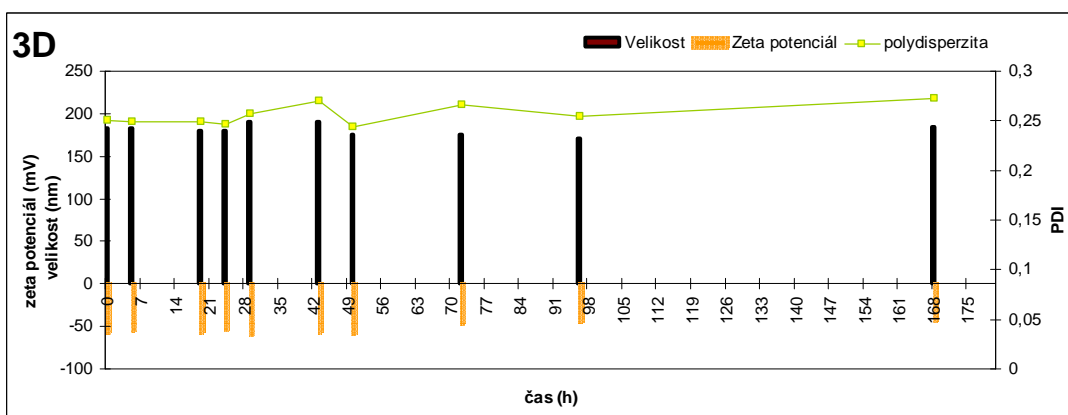
\* pokojovou teplotou je myšlena teplota 22 °C +/- 0,9 °C. Po celou dobu pokusu nebyla překročena odchylka 0,9 °C.

Tab. 63: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty (1. část)

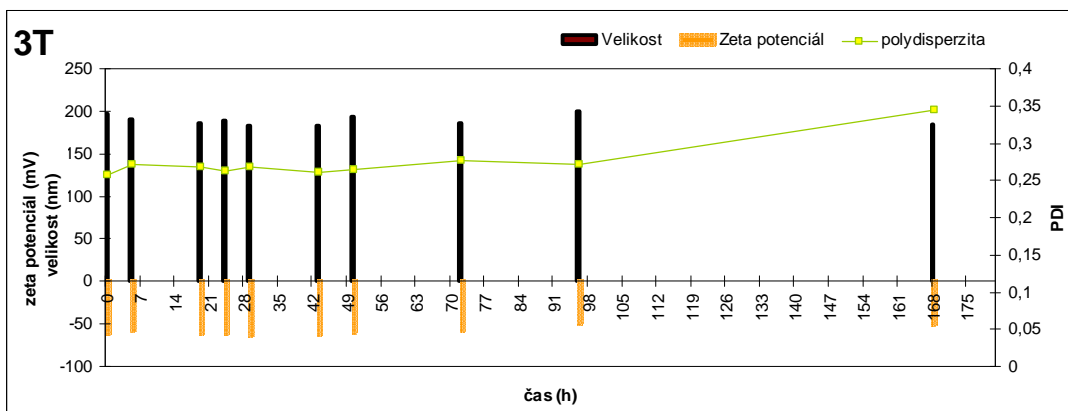
Polydisperz.	0	5	19	24	29	43	50	72	96	168
3P	0,265	0,259	0,26	0,261	0,257	0,302	0,251	0,255	0,26	0,34
3D	0,25	0,249	0,249	0,246	0,257	0,27	0,244	0,266	0,254	0,272
3T	0,257	0,271	0,267	0,263	0,267	0,261	0,265	0,276	0,272	0,345
PLGA 50:50	0,275	0,269	0,273	0,257	0,264	0,259	0,266	0,282	0,281	0,279
PDLLA	0,27	0,269	0,315	0,263	0,267	0,264	0,264	0,28	0,277	0,269
Velikost	0	5	19	24	29	43	50	72	96	168
3P	182,2	187	186,8	172,4	178,9	178,9	173,8	182	160,8	176
3D	183,4	183,4	180,6	179,3	190,1	190,1	175,5	175,4	170,6	185
3T	197,1	190,7	186,4	189,8	183,1	183,1	193,3	185,9	199,4	185,3
PLGA 50:50	188,4	186,8	187,9	178,6	173,5	173,5	182,8	181,9	184,4	169,5
PDLLA	188,2	198,7	166,1	175,3	184,8	184,8	176,8	179,2	187	185,3
Zeta poten.	0	5	19	24	29	43	50	72	96	168
3P	-58,39	-58,05	-65,2	-60,94	-61,34	-62,78	-59,9	-46,36	-38,3	-38,41
3D	-55,4	-54,71	-56,58	-53,25	-58,42	-56,27	-57,03	-44,95	-43,97	-41,78
3T	-60,34	-57,33	-60,15	-60,02	-62,76	-62,07	-58,48	-56,79	-48,23	-49,06
PLGA 50:50	-58,49	-61,53	-57,24	-65,68	-60,32	-51,88	-48,67	-44,84	-44,68	-39,81
PDLLA	-56,83	-61,45	-59,43	-55,44	-60,31	-60,37	-51,07	-45,27	-53,44	-44,85



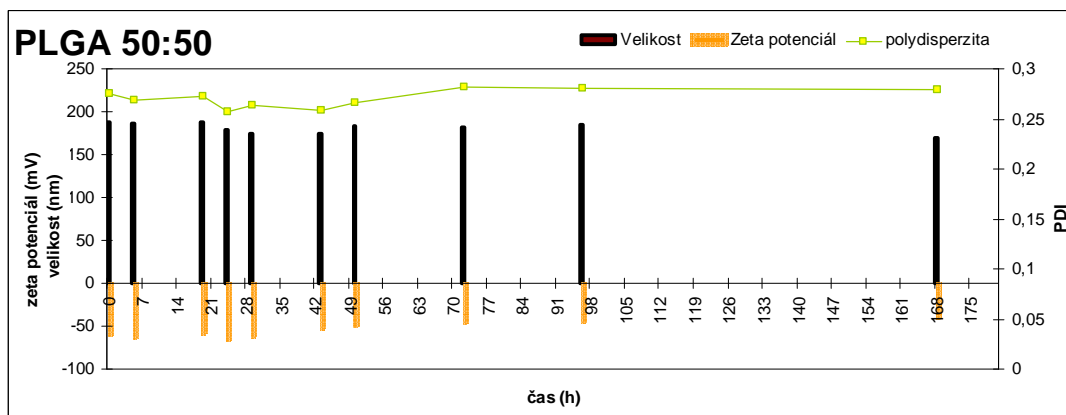
Obr. 102: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 3P



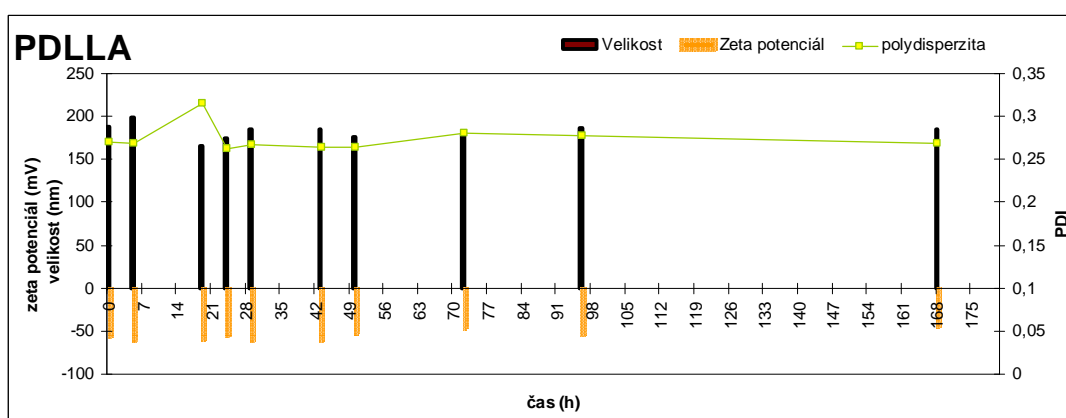
Obr. 103: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 3D



Obr. 104: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 3T



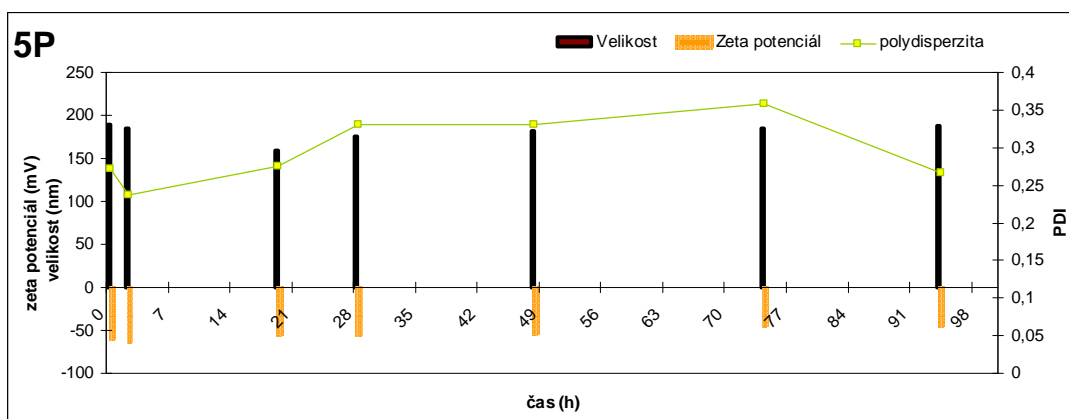
Obr. 105: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty PLGA 50:50



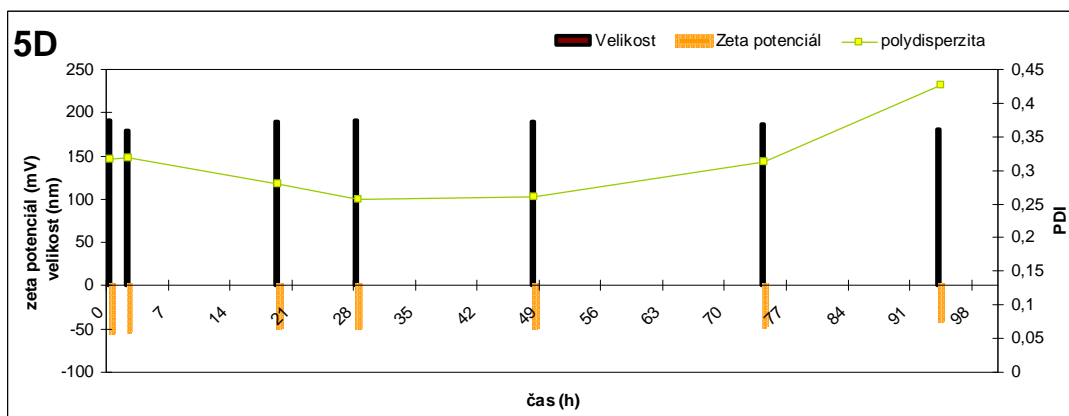
Obr. 106: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty PDLLA

Tab. 64: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty (2. část)

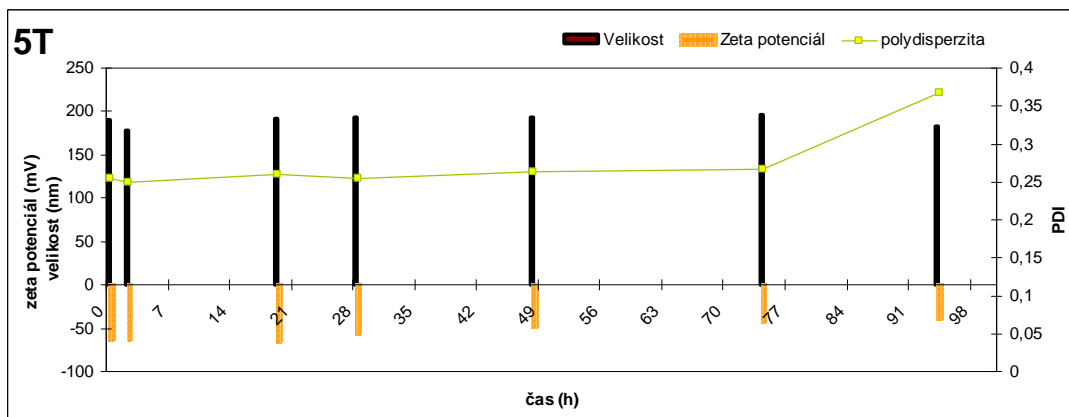
polydisperzita	0	2	19	28	48	74	94
5P	0,272	0,238	0,276	0,331	0,331	0,359	0,266
5D	0,316	0,318	0,281	0,257	0,261	0,313	0,427
5T	0,255	0,25	0,259	0,254	0,264	0,266	0,368
Velikost	0	2	19	28	48	74	94
5P	189	185	159,7	175,9	181,7	185	187,6
5D	191,2	179,1	190,3	191,1	189,4	187,3	181
5T	189,6	178,7	192,4	193,2	193,1	195,8	182
Zeta pot.	0	2	19	28	48	74	94
5P	-59,11	-62,48	-54,56	-54,8	-52,49	-44,16	-43,24
5D	-53,77	-52,14	-47,51	-47,92	-47,02	-45,55	-39,93
5T	-62,49	-62,26	-64,84	-55,16	-48,11	-41,23	-37,97



Obr. 107: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 5P



Obr. 108: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 5D



Obr. 109: Závislost stability volně stojících nanočástic na čase za pokojové teploty 5T

⇒ *Velikost testovaných vzorků s časem zůstávala stejná nebo nepatrně klesala. Zvyšovala se polydisperzita a výrazně klesal zeta potenciál. U všech vzorků byl pozorován stejný trend.*

## Stabilita nanočástic v disperzním prostředí při teplotě 22 °C při konvekci kapaliny

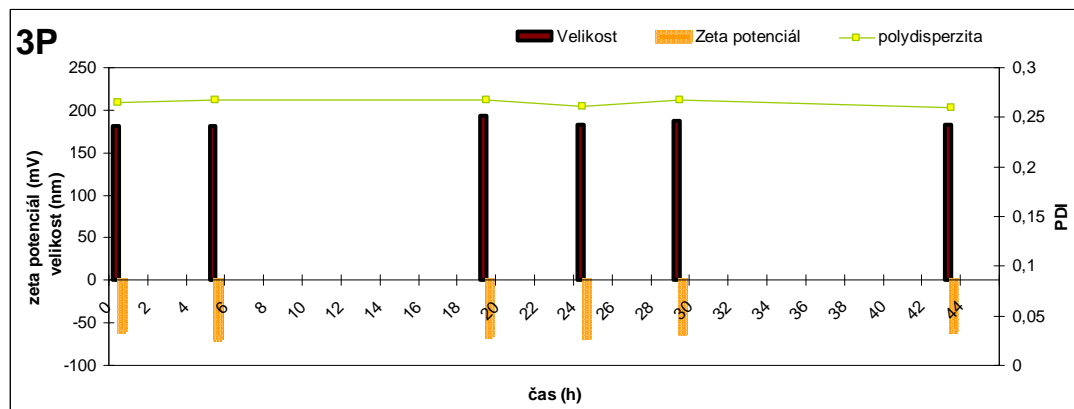
V následující stati jsou shrnuty výsledky měření, kdy byly částice po celou dobu experimentu míchány na magnetické míchače při teplotě 22 °C.

Tab. 65: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C (1. část)

Polydisperzita	0	5	19	24	29	43
3P	0,265	0,267	0,267	0,261	0,268	0,26
3D	0,25	0,258	0,251	0,25	0,254	0,253
3T	0,257	0,274	0,263	0,268	0,279	0,264
PLGA 50:50	0,275	0,271	0,269	0,263	0,267	0,269
PDLLA	0,27	0,282	0,274	0,28	0,27	0,275

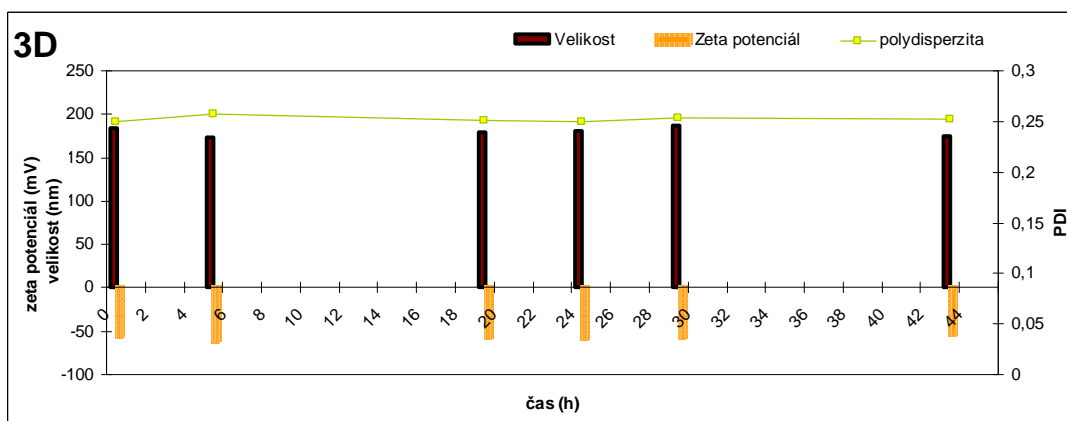
Velikost	0	5	19	24	29	43
3P	182,2	181,3	194,4	183,1	187,5	182,6
3D	183,4	174,1	179,3	181,3	187,2	174,9
3T	197,1	181,2	197,3	202,4	183,6	202,1
PLGA 50:50	188,4	182,7	186,5	177,3	189,6	178,5
PDLLA	188,2	203,3	198,4	181,4	179,3	196,2

Zeta pot.	0	5	19	24	29	43
3P	-58,39	-67,46	-64,41	-66,09	-61,56	-58,23
3D	-55,4	-60,92	-56,19	-58,4	-57,02	-53,79
3T	-60,34	-64,44	-59,72	-62,61	-63,87	-61,6
PLGA 50:50	-58,49	-65,69	-53,39	-61,04	-58,88	-45,36
PDLLA	-56,83	-62,25	-59,46	-60,32	-62,97	-53,25

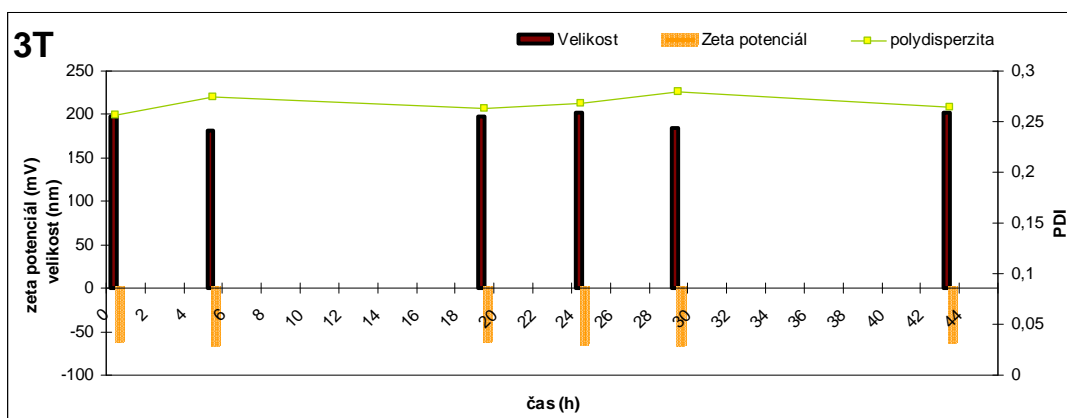


Obr. 110: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C 3P

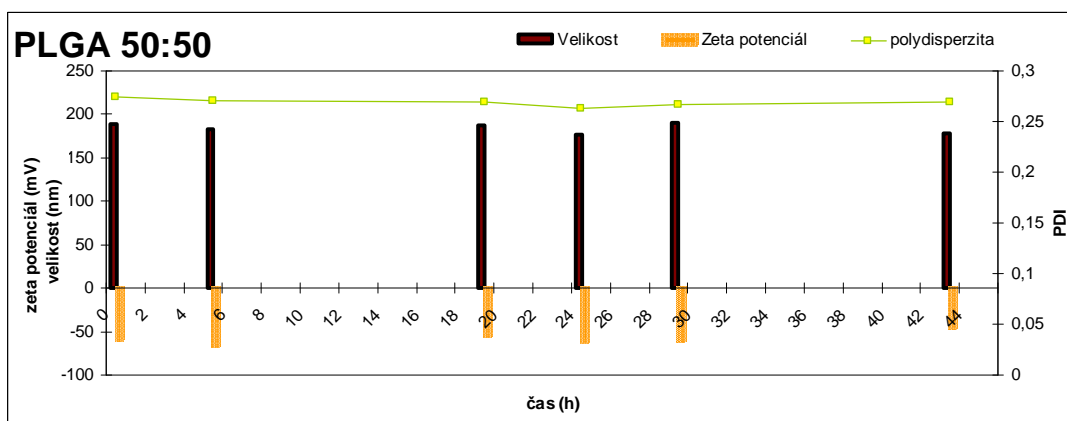




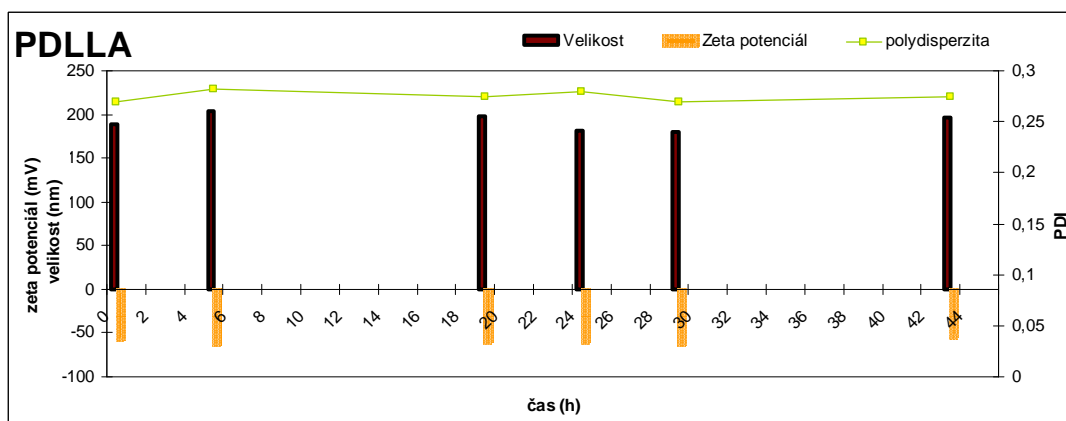
Obr. 111: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C 3D



Obr. 112: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C 3T



Obr. 113: Závislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C PLGA 50:50



Obr. 114: Zavislost stability míchaných nanočástic na čase při teplotě 22 °C PDLLA

⇒ Při konvekci kapaliny zůstávaly hodnoty stejné, jak velikost tak polydisperzita i zeta potenciál. Systém byl po dobu pokusu (43) hod stabilní.

### Stabilita nanočástic při 37°C

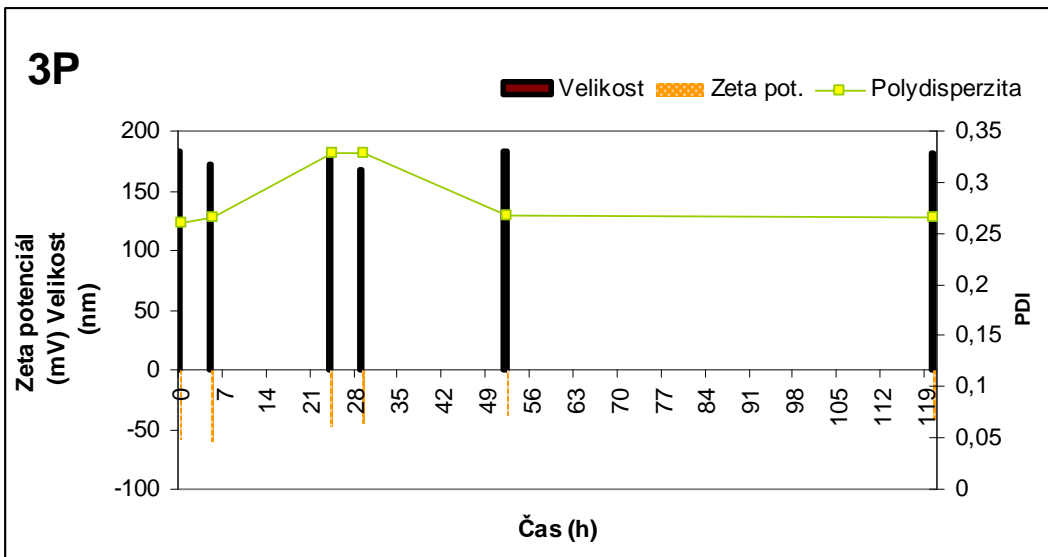
V následující stati jsou shrnuty výsledky měření, kdy byly částice po celou dobu experimentu inkubovány při 37°C za statických podmínek.

Tab. 66: Zavislost stability nanočástic na čase při 37°C (1. část)

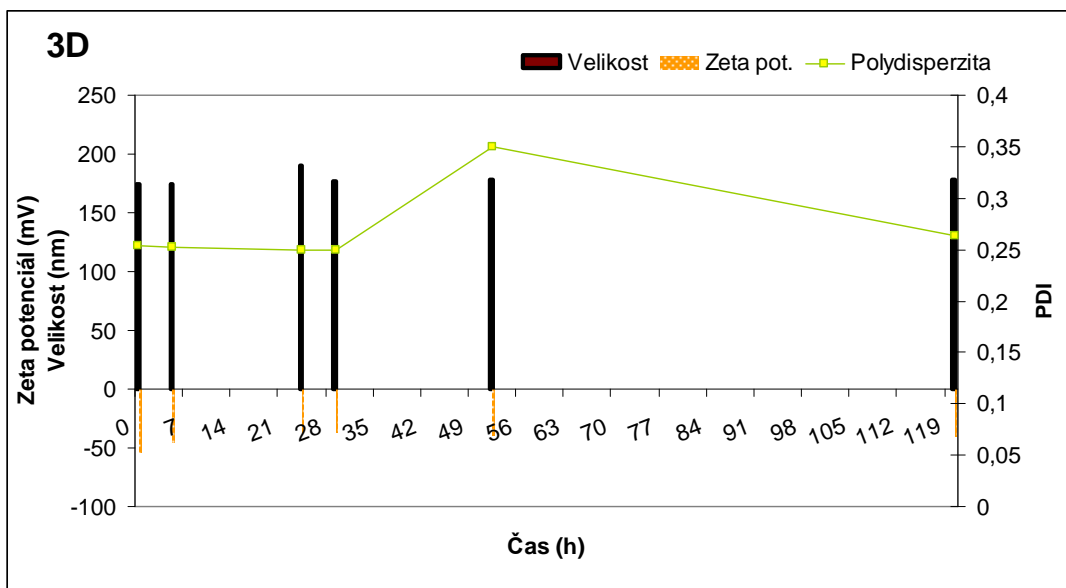
Polydisperzita	0	5	24	29	52	120
3P	0,26	0,265	0,329	0,329	0,268	0,265
3D	0,253	0,252	0,25	0,25	0,35	0,264
3T	0,264	0,266	0,279	0,279	0,291	0,28
PLGA 50:50	0,269	0,274	0,272	0,272	0,27	0,278
PDLLA	0,275	0,269	0,275	0,275	0,324	0,284

Velikost	0	5	24	29	52	120
3P	182,6	172,7	183,8	167,1	182,7	180,9
3D	174,9	174,4	190,6	176,9	177,9	178,2
3T	202,1	190,1	188,3	184,4	190,7	187,1
PLGA 50:50	178,5	174,1	179,2	200	167,1	161,5
PDLLA	196,2	187,1	190,3	179,8	183,5	190,3

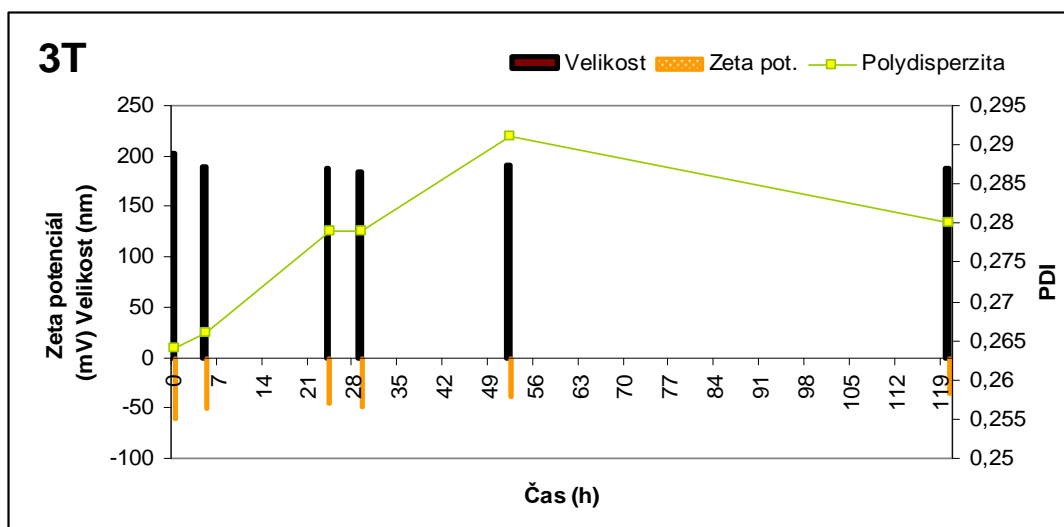
Zeta pot.	0	5	24	29	52	120
3P	-58,23	-59,34	-47,14	-44,69	-38,85	-41,88
3D	-53,79	-44,95	-36,58	-36,52	-39,52	-40,12
3T	-61,6	-50,85	-45,43	-49,22	-38,88	-36,62
PLGA 50:50	-45,36	-34,14	-29,66	-36,84	-33,24	-36,73
PDLLA	-53,25	-43,49	-38,88	-38,64	-42,76	-43,92



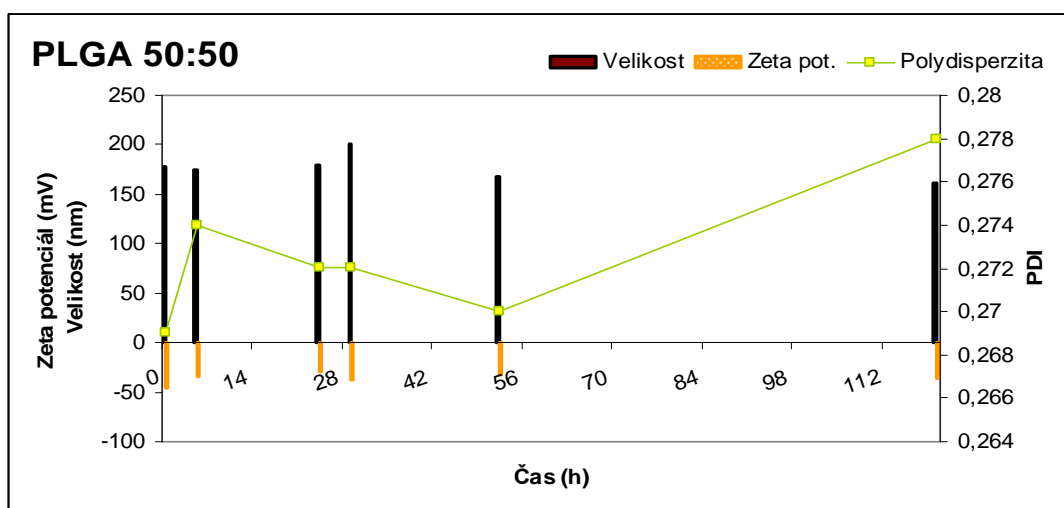
Obr. 115: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 3P



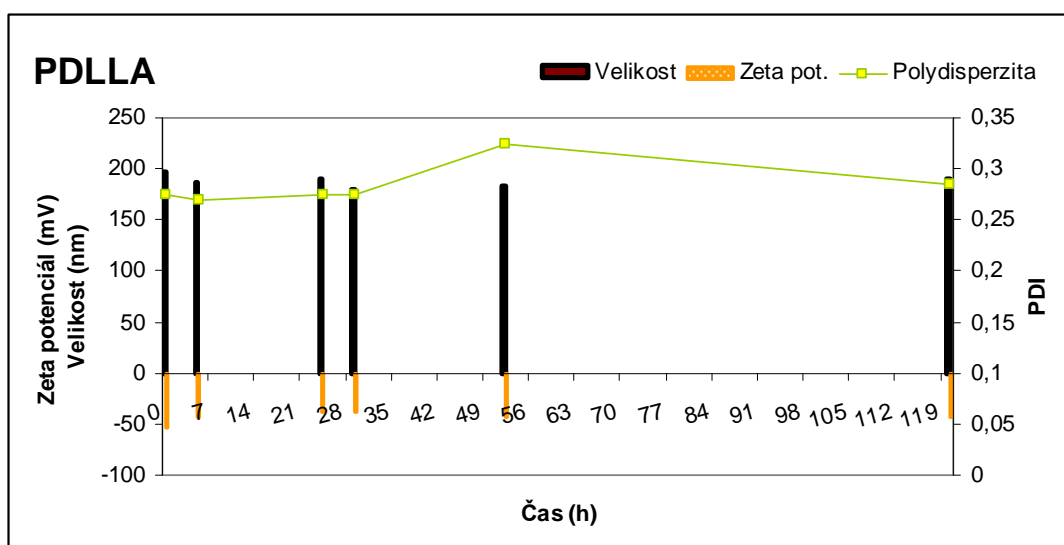
Obr. 116: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 3D



Obr. 117: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 3T



Obr. 118: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C PLGA 50:50



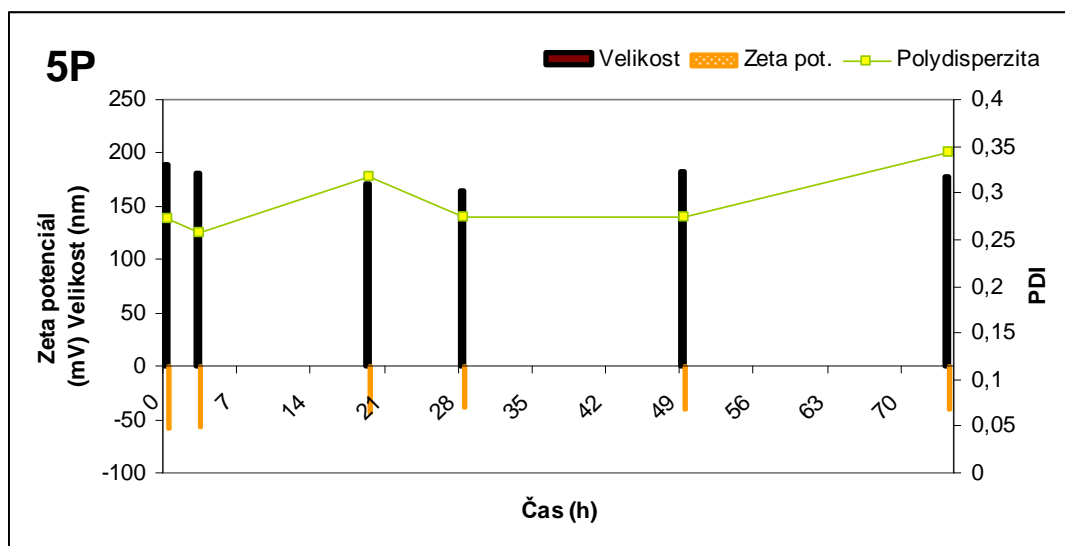
Obr. 119: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C PDLLA

Tab. 67: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C (2. část)

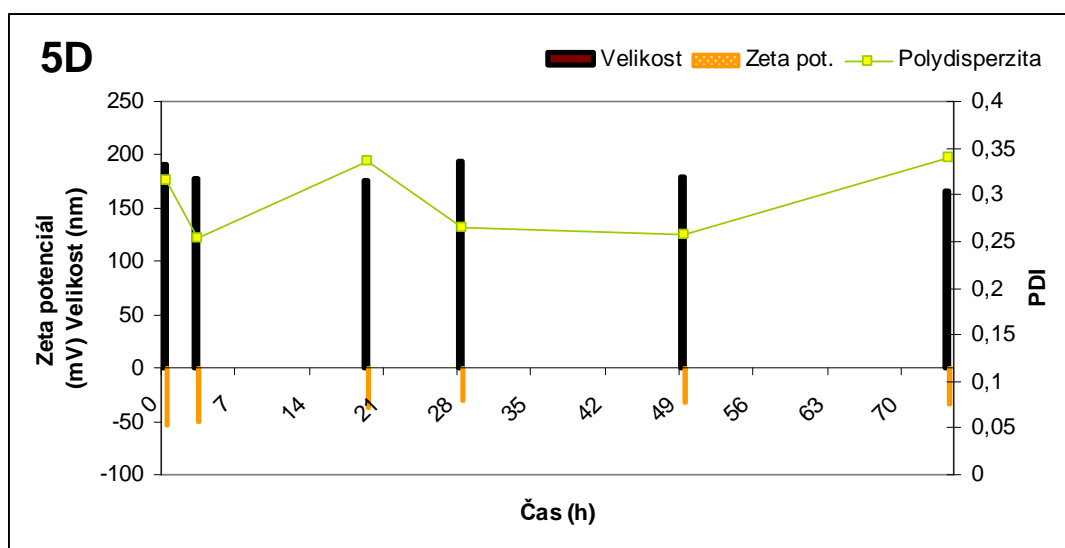
Polydisperzita	0	3	19	28	49	74
5P	0,272	0,257	0,317	0,275	0,275	0,343
5D	0,316	0,254	0,336	0,265	0,257	0,34
5T	0,255	0,253	0,298	0,257	0,372	0,261

Velikost	0	3	19	28	49	74
5P	189	181,3	171,9	164,7	182,7	178,1
5D	191,2	178,4	176,8	194,6	179,3	166
5T	189,6	170,1	207,6	190	192,4	189

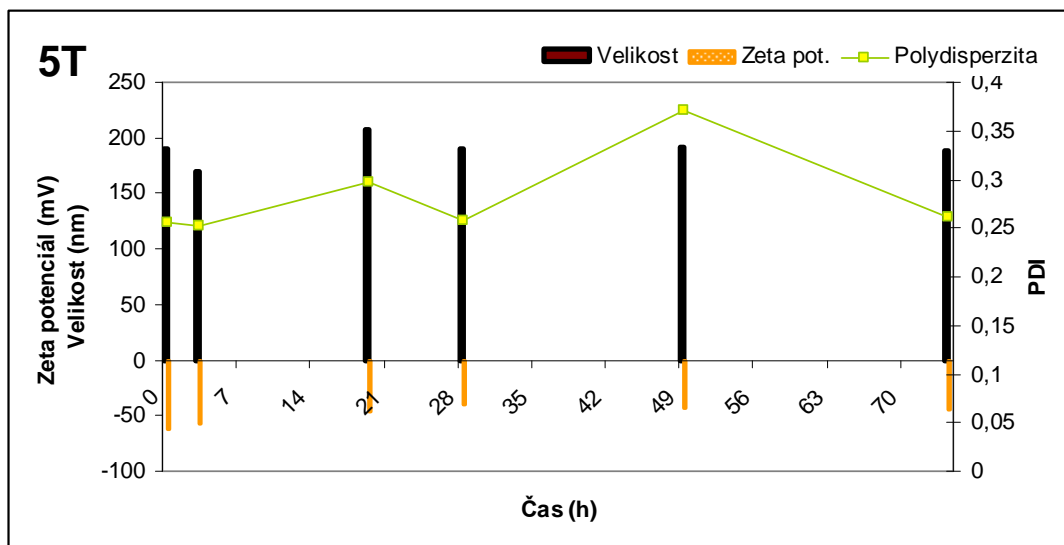
Zeta pot.	0	3	19	28	49	74
5P	-59,11	-57,25	-44,94	-39,38	-40,27	-40,63
5D	-53,77	-51,02	-37,74	-31,01	-32,65	-33,67
5T	-62,49	-57,86	-47,03	-39,76	-43,14	-45,4



Obr. 120: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 5P



Obr. 121: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 5D



Obr. 122: Závislost stability nanočástic na čase při 37°C 5T

⇒ U většiny vzorků se mezi 49 a 52 hod začíná lámat trend polydisperzity z rostoucího na klesající. Nicméně velikost zůstává stejná, klesá však výrazně zeta potenciál.

### Stabilita nanočástic při 7°C

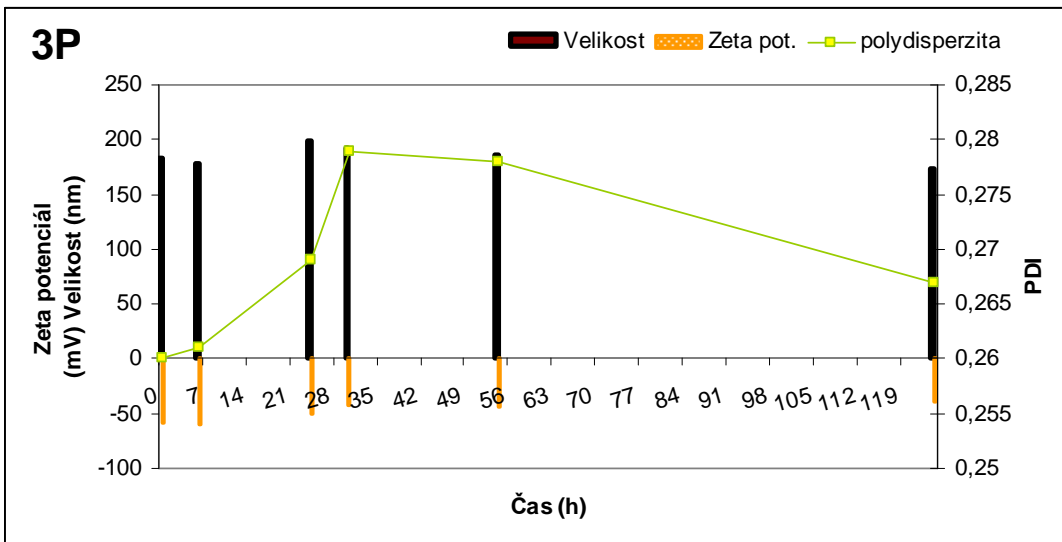
V následující stati jsou shrnuty výsledky měření, kdy byly částice po celou dobu experimentu inkubovány při 7°C +/- 2°C za statických podmínek.

Tab. 68: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C (1. část)

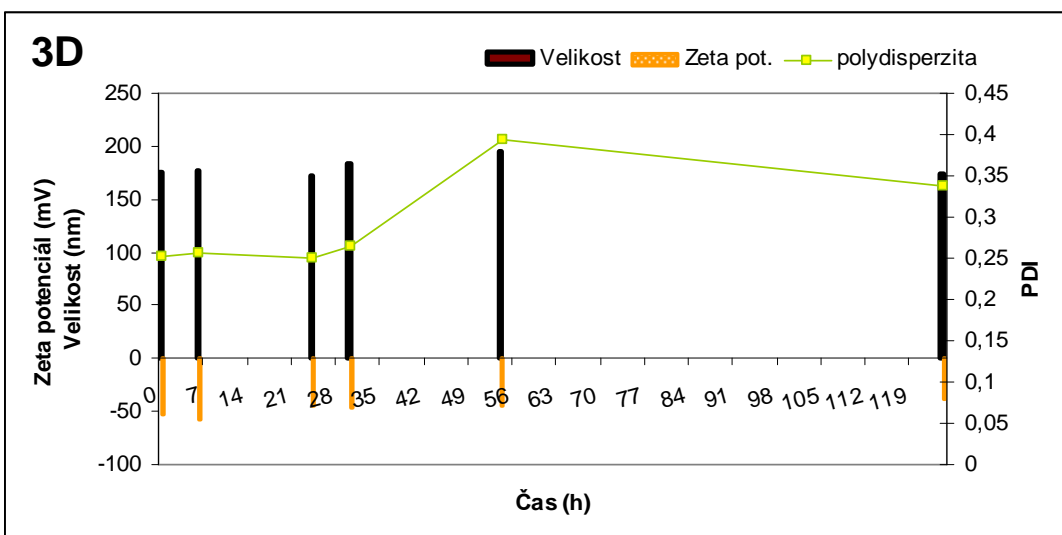
polydisperzita	0	6	24	30	54	124
3P	0,26	0,261	0,269	0,279	0,278	0,267
3D	0,253	0,256	0,249	0,264	0,394	0,337
3T	0,264	0,267	0,271	0,271	0,288	0,288
PLGA 50:50	0,269	0,342	0,274	0,363	0,282	0,276
PDLLA	0,275	0,273	0,322	0,275	0,341	0,365

Velikost	0	6	24	30	54	124
3P	182,6	177,7	198,7	193,1	186,8	173,3
3D	174,9	177	172,8	183,3	194,4	173,9
3T	202,1	183,5	197,5	182,4	192,6	185,8
PLGA 50:50	178,5	162,8	180,8	168,3	167,1	172,6
PDLLA	196,2	184,3	175,1	194,8	174,3	179,5

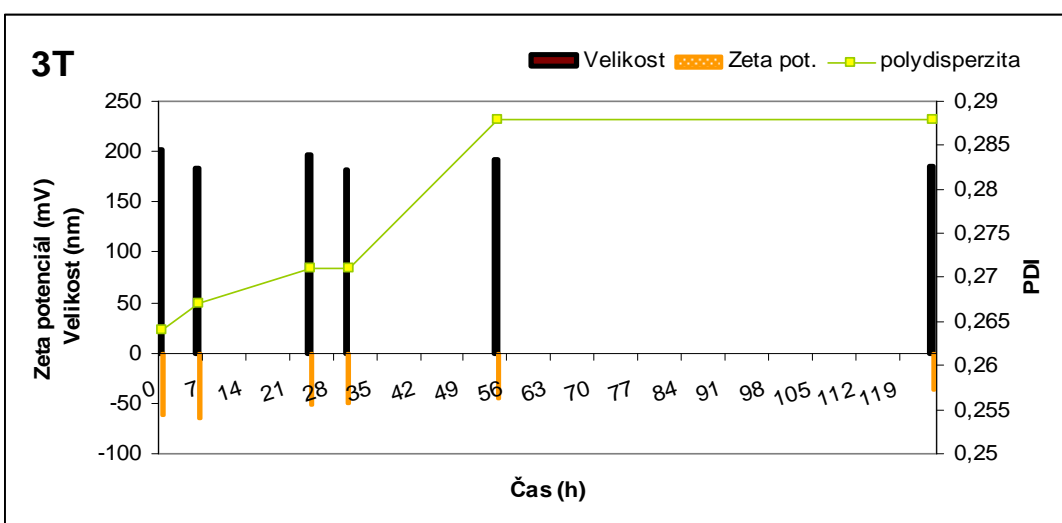
Zeta pot.	0	6	24	30	54	124
3P	-58,23	-59,95	-50,98	-42,64	-43,29	-39,19
3D	-53,79	-57,45	-45,48	-46,98	-44,39	-39,08
3T	-61,6	-64,96	-52,16	-49,73	-44,74	-36,78
PLGA 50:50	-45,36	-44,44	-41,64	-39,87	-41,49	-39,31
PDLLA	-53,25	-52,33	-44,64	-48,63	-44,34	-43,3



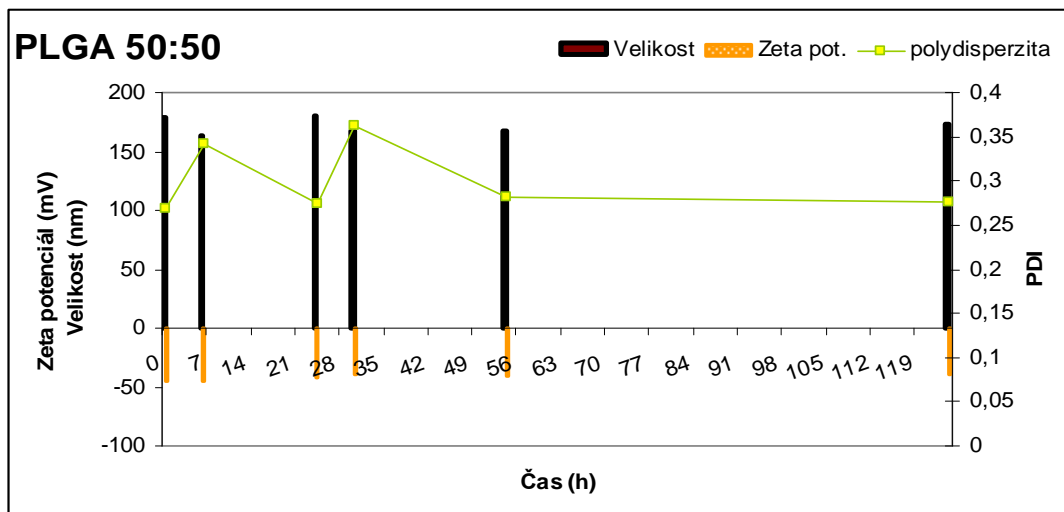
Obr. 123 : Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 3P



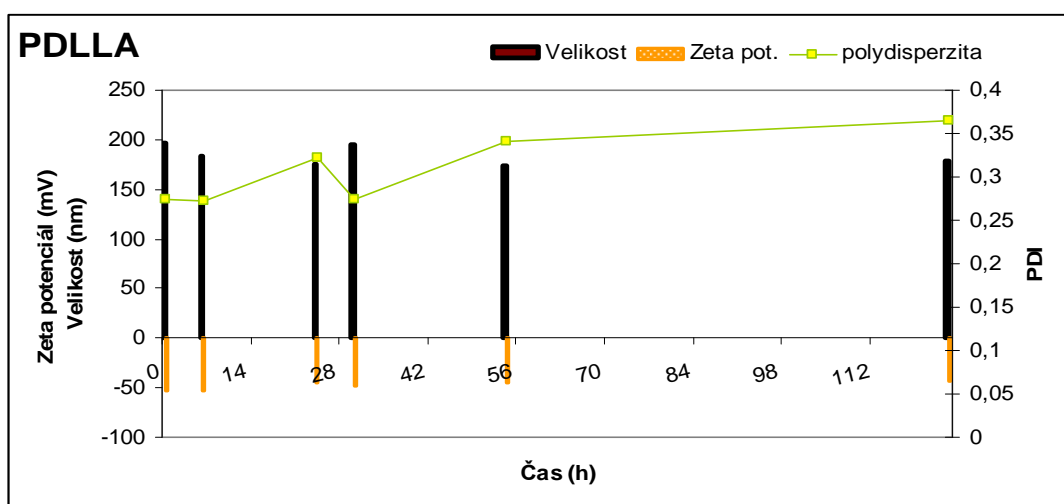
Obr. 124: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 3D



Obr. 125: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 3T



Obr. 126: Zavislost stability nanočastic na čase při 7°C PLGA 50:50



Obr. 127: Zavislost stability nanočastic na čase při 7°C PDLLA

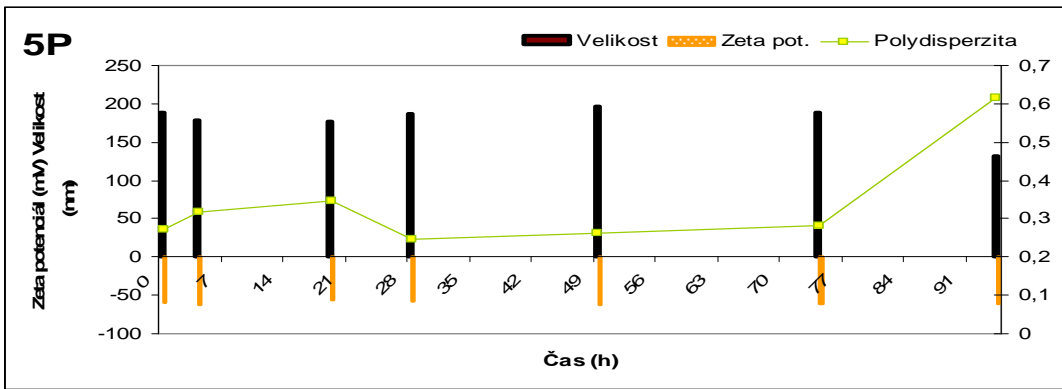
Tab. 69: Zavislost stability nanočastic na čase při 7°C (2. část)

Polydisperzita	0	4	19	28	49	74	94
5P	0,272	0,318	0,347	0,246	0,262	0,283	0,617
5D	0,316	0,332	0,26	0,255	0,252	0,259	0,254
5T	0,255	0,249	0,255	0,265	0,248	0,488	0,243

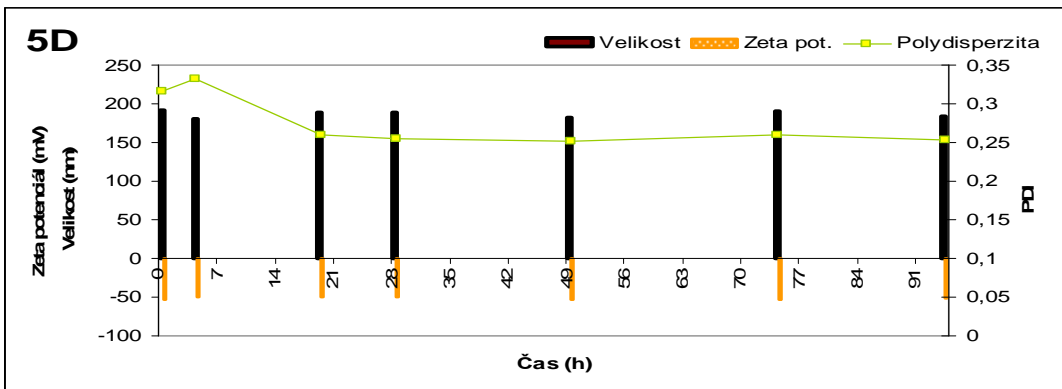
Velikost	0	4	19	28	49	74	94
5P	189	178,7	176,4	187,3	196,7	188,3	131,4
5D	191,2	180,4	189,2	188,9	181,9	189,6	183,8
5T	189,6	185,6	183,9	191,3	195,3	253,5	192,5

Zeta pot.	0	4	19	28	49	74	94
5P	-59,11	-62,8	-56,97	-58,25	-63,53	-61,67	-60,47
5D	-53,77	-50,19	-49,65	-49,3	-52,53	-53,06	-51,01
5T	-62,49	-63,15	-61,26	-56,98	-64,43	-63,7	-54,9

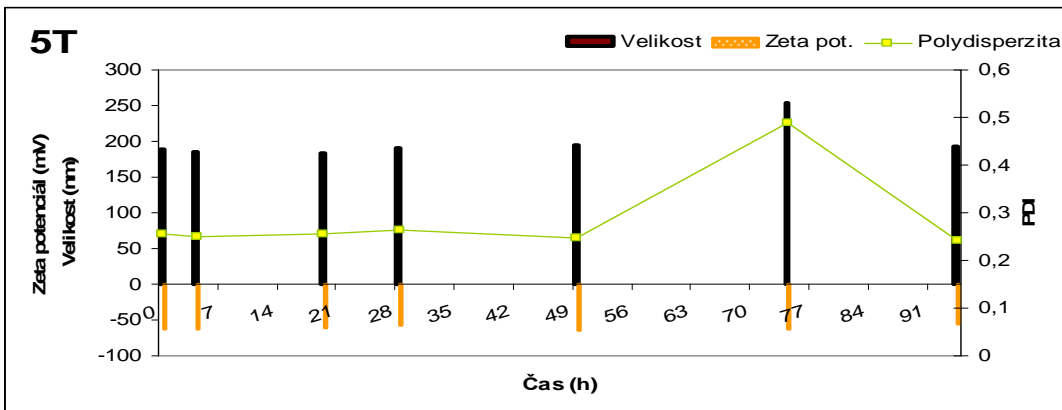




Obr. 128: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 5P



Obr. 129: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 5D



Obr. 130: Závislost stability nanočástic na čase při 7°C 5T

⇒ Vzorky uchovávané za snížené teploty 7 °C vykazovaly až na vzorek 5D růst polydisperzity a značnou chaotičnost ve výsledcích velikosti částic. O zeta potenciálu se dá říct, že s časem klesal.

⇒

⇒ Shrnutí pokusu: nejmenší polydisperzitu měl vzorek 3D, nejmenší velikost částic poskytovaly vzorky 3P, 3D a PLGA a nejmenší zeta potenciál měly 3T, 5T a 3P.

⇒ Všechny částice ať již byly ponechány při jakékoliv teplotě měly s časem tendenci snižovat svou velikost, což může být důsledkem degradace polymerů ve vodném prostředí.

## Velikost mikročastic, analýza obrazu

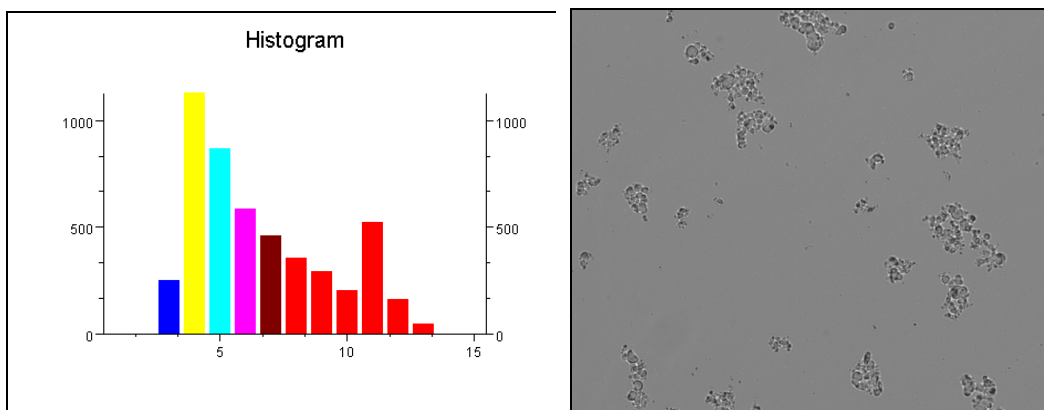
Všechny nanočástice z předchozí kapitoly byly sušeny s 10% mannitolem, za podmínek: koncentrace mannitolu 10%  
výkon čerpadla 10%  
teplota na vstupu 110°C

Tab. 70: Parametry velikosti mikročastic (μm)

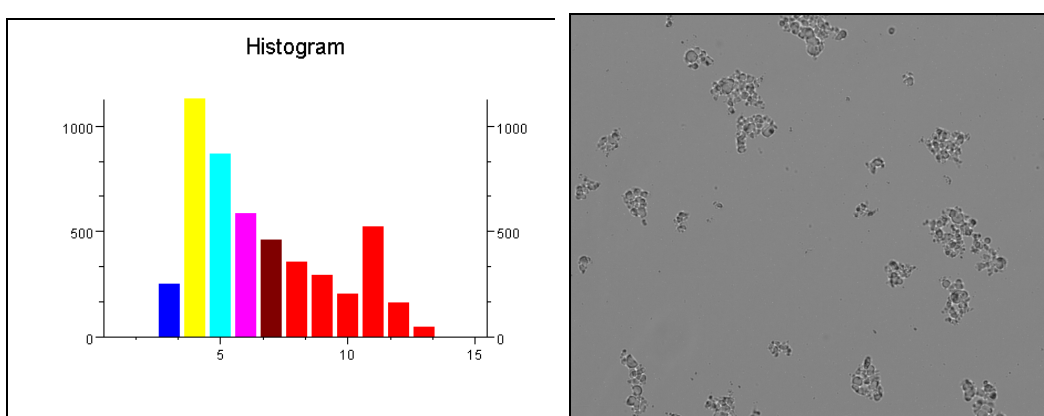
	3P	3D	3T	PLGA 50:50	PDLLA	5P	5D	5T
Min. průměr:	2,52	2,47	2,47	2,47	2,59	2,5	2,47	2,5
Max. průměr:	31,38	31,6	35,45	25,66	44,28	28,33	40,23	16
Střední průměr:	6,53	6,22	4,77	5,41	6,46	5,13	5,67	4,59
Směr. odchylka:	3,75	3,43	2,01	2,58	3,04	2,26	2,68	1,54
Medián velikosti:	5,29	5,17	4,23	4,67	5,56	4,47	4,95	4,24

Tab. 71: Hodnoty pro histogramy na obr. 106 až 113

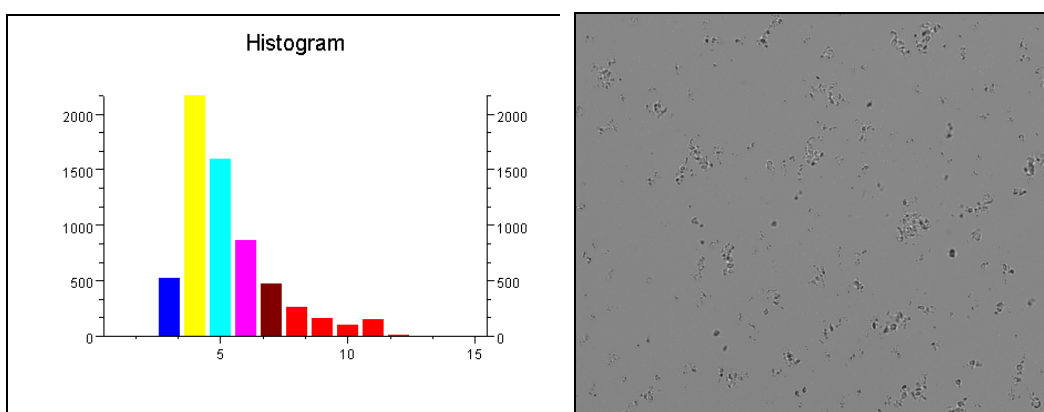
ID	rozsah velikosti		množství spočítaných částic							
	od (μm)	do (μm)	3P	3D	3T	PLGA 50:50	PDLLA	5P	5D	5T
1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	2	3	248	652	526	646	63	504	319	426
4	3	4	1129	2321	2169	1677	846	1947	1167	1548
5	4	5	865	2015	1592	1278	1405	1409	1013	1330
6	5	6	584	1382	863	853	1073	837	695	728
7	6	7	461	1080	469	559	751	653	590	292
8	7	8	353	836	259	453	531	357	334	187
9	8	9	291	587	161	332	386	236	288	105
10	9	10	206	488	100	238	259	157	167	48
11	10	15	523	883	146	293	517	227	307	43
12	15	20	161	219	7	41	109	21	30	1
13	20	30	47	82	0	8	28	4	5	0
14	30	50	2	2	4	0	1	0	4	0
15	50	70	0	0	0	0	0	0	0	0



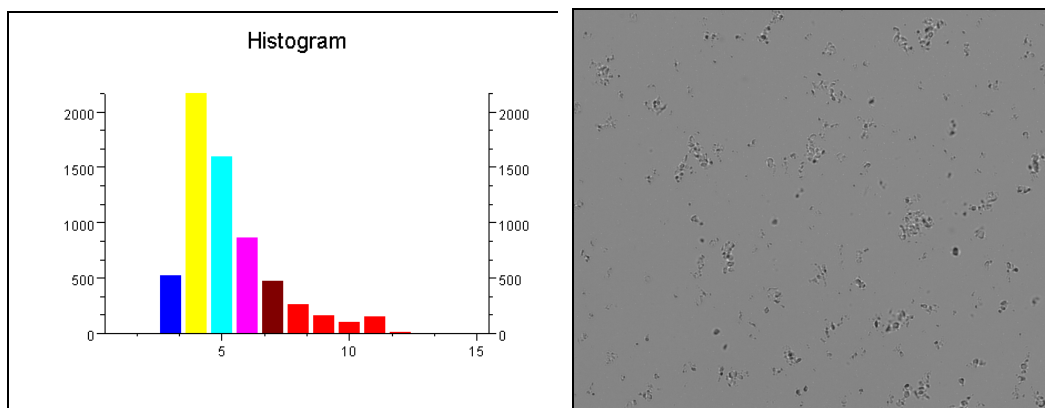
**Obr. 131: Histogram a fotografie mikročastic s 3P nanočasticemi**



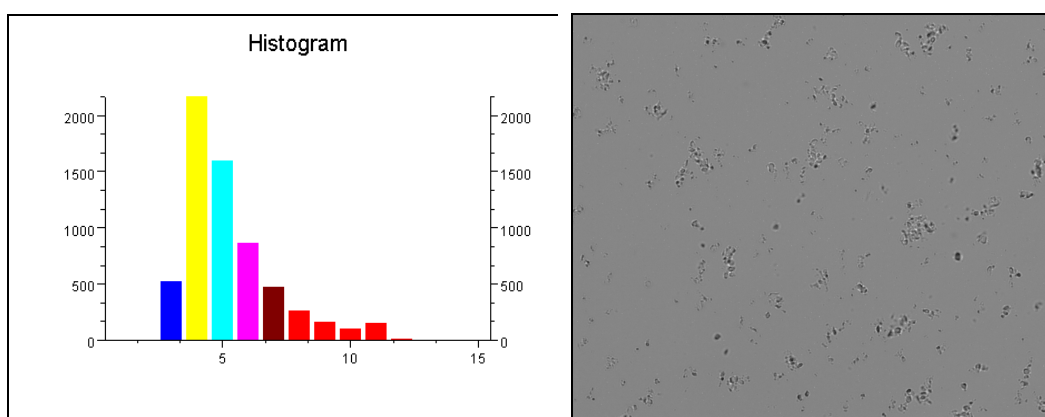
**Obr. 132: Histogram a fotografie mikročastic s 3D nanočasticemi**



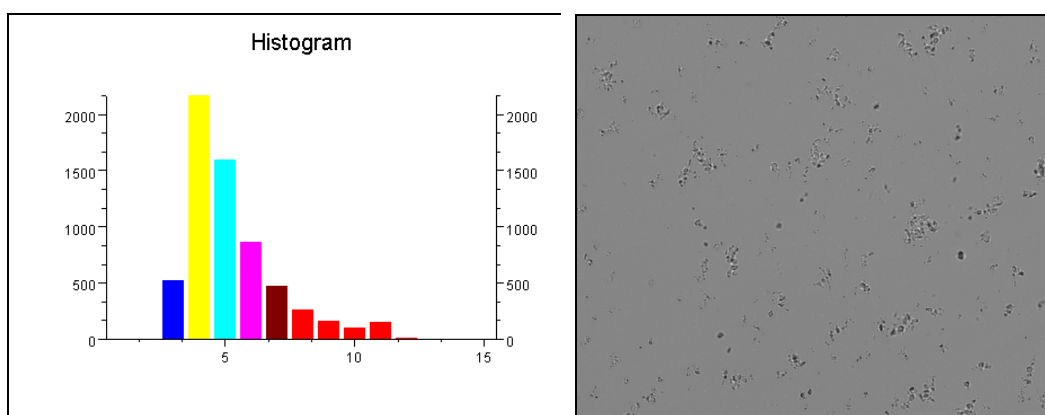
**Obr. 133: Histogram a fotografie mikročastic s 3T nanočasticemi**



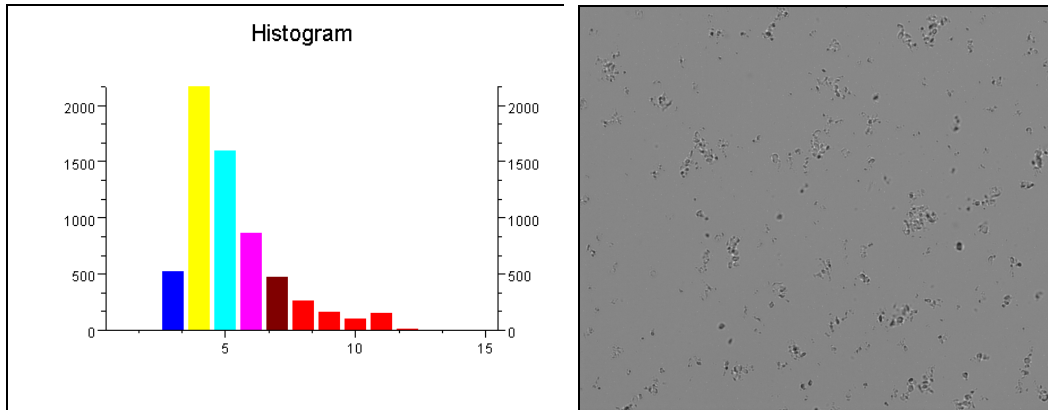
**Obr. 134: Histogram a fotografie mikročastic s PLGA 50:50 nanočasticemi**



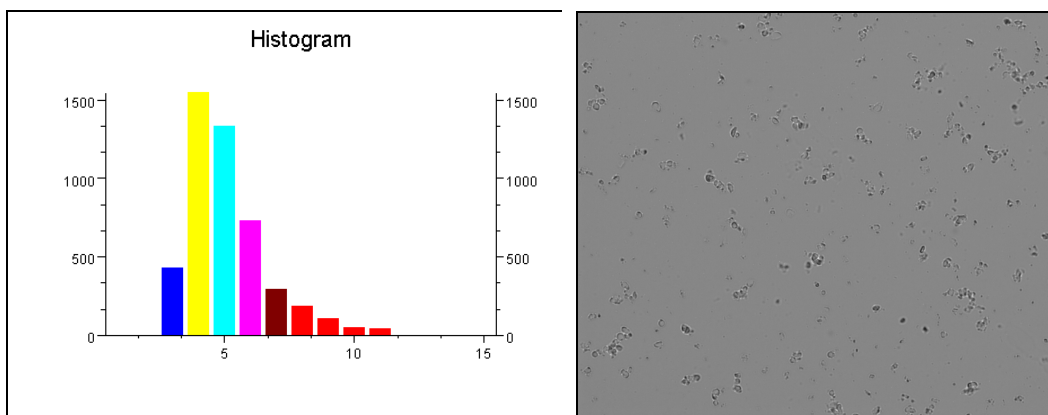
**Obr. 135: Histogram a fotografie mikročastic s PDLLA nanočasticemi**



**Obr. 136: Histogram a fotografie mikročastic s 5P nanočasticemi**



**Obr. 137: Histogram a fotografie mikročastic s 5D nanočasticemi**



**Obr. 138: Histogram a fotografie mikročastic s 5T nanočasticemi**

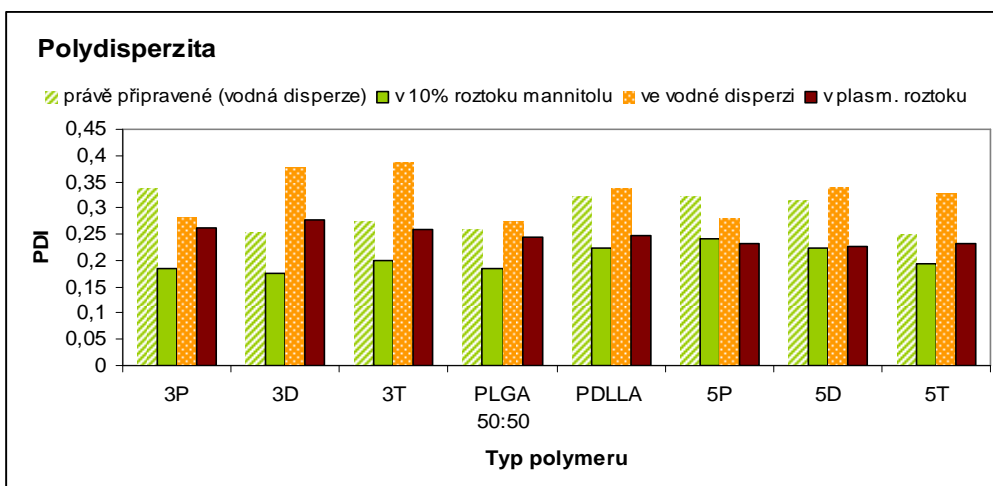
## **Vliv sprejového sušení a redispersace na parametry nanočástic**

V následující kapitole bylo cílem zjistit stabilitu nanočástic po sušení, proto jsme porovnávali čerstvě připravené nanočástice, s disperzí částic v 10% mannitolu, ve kterém byly následně sušeny a dále pak po usušení jsme mannitolové mikročástice rozpouštěli zpět do vodné disperze, a do plasmatického média. Rozpouštění i měření probíhalo za pokojové teploty (22 °C). Zeta potenciál byl měřitelný pouze u vodných disperzí. Plasmatické médium RPMI obsahuje látky, které se při měření zeta potenciálu na elektrodách oxidují či redukují a nedovolují tím v principu daný vzorek proměřit.

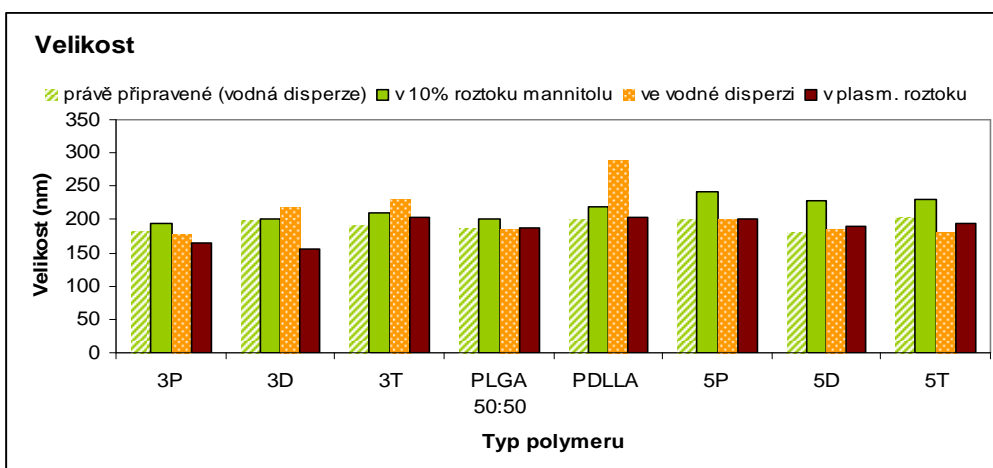
**Tab. 72: Parametry nanočástic v různých stádiích zpracování**

	<b>před sušením</b>					
	<b>právě připravené (vodná disperze)</b>			<b>v 10% roztoku mannitolu</b>		
	PDI	size	Zeta	PDI	size	zeta
<b>3P</b>	0,337	183,7	-66,44	0,184	195,2	-32,7
<b>3D</b>	0,253	198,9	-60,35	0,175	201	-30,55
<b>3T</b>	0,274	192,1	-62,11	0,2	209,8	-35,84
<b>PLGA 50:50</b>	0,259	187,2	-61,35	0,186	201,4	-39,62
<b>PDLLA</b>	0,323	199,9	-61,44	0,225	218,4	-47,81
<b>5P</b>	0,323	200,9	-58,79	0,242	240,8	-38,91
<b>5D</b>	0,315	180,6	-53,9	0,223	227,6	-37,95
<b>5T</b>	0,251	202,8	-60,68	0,193	230,4	-42,05

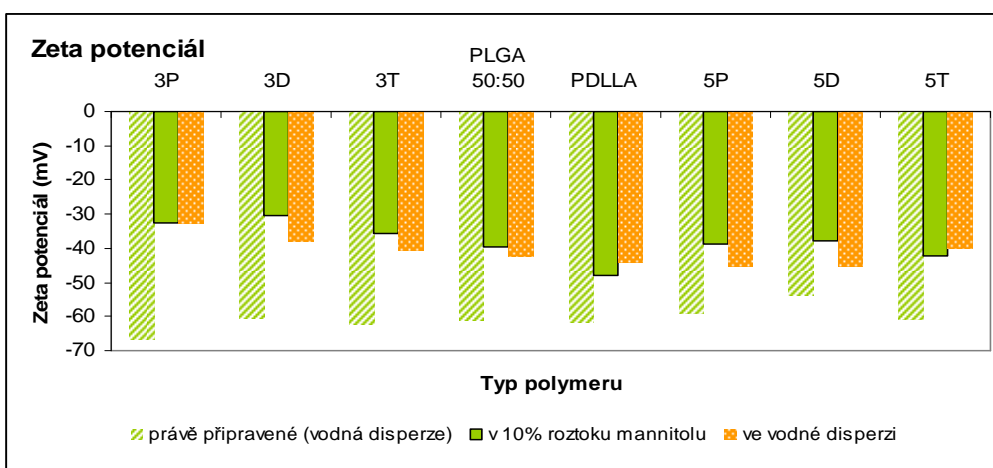
	<b>opětovné rozpuštění po sušení</b>				
	<b>ve vodné disperzi</b>			<b>v plasm. roztoku</b>	
	PDI	size	zeta	PDI	size
<b>3P</b>	0,282	179,1	-32,43	0,261	164,4
<b>3D</b>	0,379	219,7	-37,8	0,277	155,5
<b>3T</b>	0,386	231,3	-40,39	0,259	202,9
<b>PLGA 50:50</b>	0,273	185	-42,27	0,244	188,5
<b>PDLLA</b>	0,337	288,3	-44,23	0,246	203,7
<b>5P</b>	0,279	201	-45,16	0,231	200,9
<b>5D</b>	0,339	185,9	-45,15	0,227	188,6
<b>5T</b>	0,328	180,5	-40,19	0,233	193,3



Obr. 139: Stabilita nanočástic – polydisperzita



Obr. 140: Stabilita nanočástic – velikost

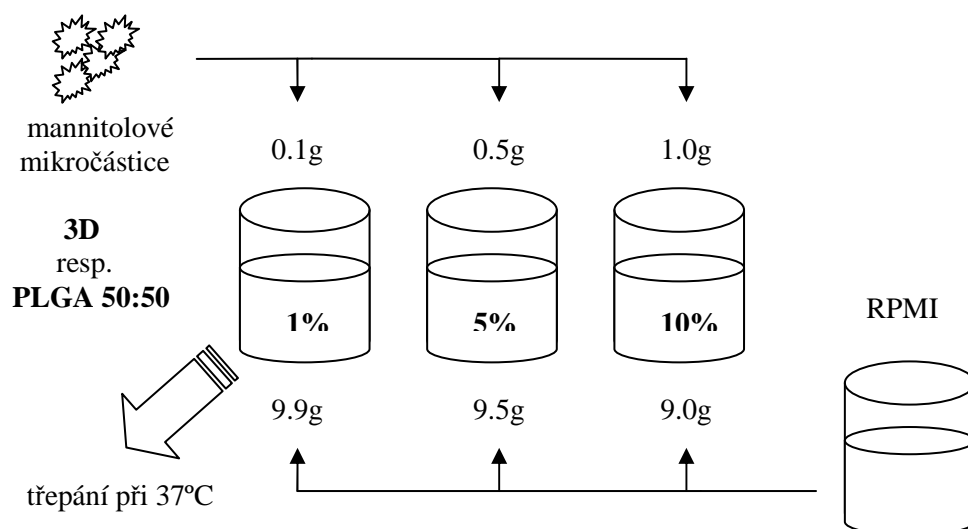


Obr. 141: Stabilita nanočástic – zeta potenciál

⇒ *Velikost částic ani polydisperzita se významně nezvýšila. Větší pohyb nastal u zeta potenciálu, který po redispergaci i po prvotním smísení s mannitolem klesl v některých případech (3P, 3D) až k hranici stability.*

## Stabilita nanočástic po jejich redispergaci v roztoku RPMI

Mannitolové mikročástice jsme opětovně rozpustili na třepače v plasmatickém mediu RPMI za zvýšené teploty (37 °C) a pozorovali jejich stabilitu po dobu 9-ti hodin. Pro pokus jsme použili mikročástice obsahující 3D nanočástice a pro srovnání PLGA nanočástice viz. Obr. 142: Schematické znázornění experimentu.



Obr. 142: Schematické znázornění experimentu

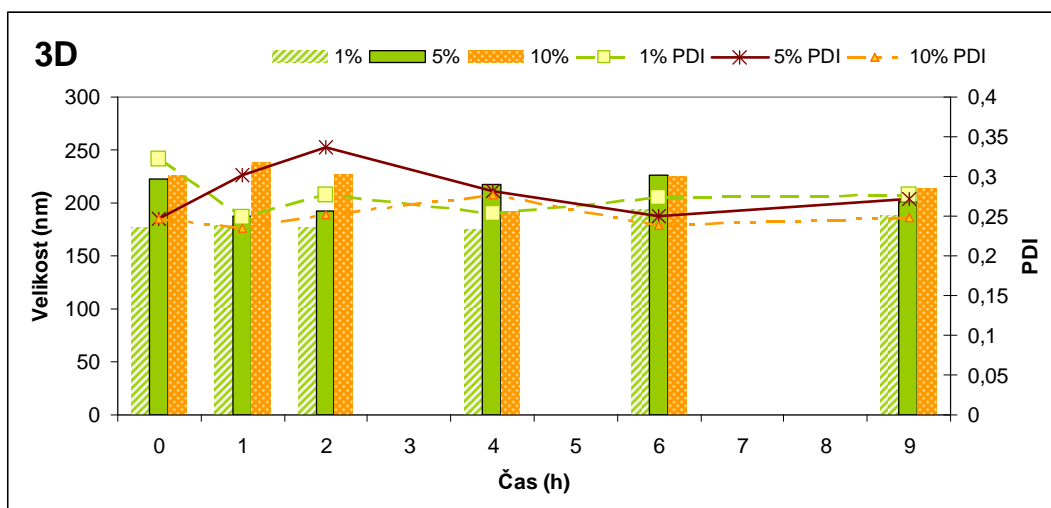
Tab. 73: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C pro 3D

3D: velikost [nm]	0h	1h	2h	4h	6h	9h
1% <sup>1)</sup>	176,9	178,2	177,1	174,6	193,3	189,2
5%	222,3	186,9	192,5	218	225,7	201,7
10%	226	238,2	227,4	192,9	225	214,3

PDI	0h	1h	2h	4h	6h	9h
1% <sup>1)</sup>	0,321	0,248	0,276	0,253	0,274	0,277
5%	0,247	0,301	0,336	0,281	0,25	0,271
10%	0,247	0,235	0,251	0,277	0,238	0,249

<sup>1)</sup> Koncentrace vyjadřuje podíl rozpuštěného mannitolu s nanočásticemi v médiu





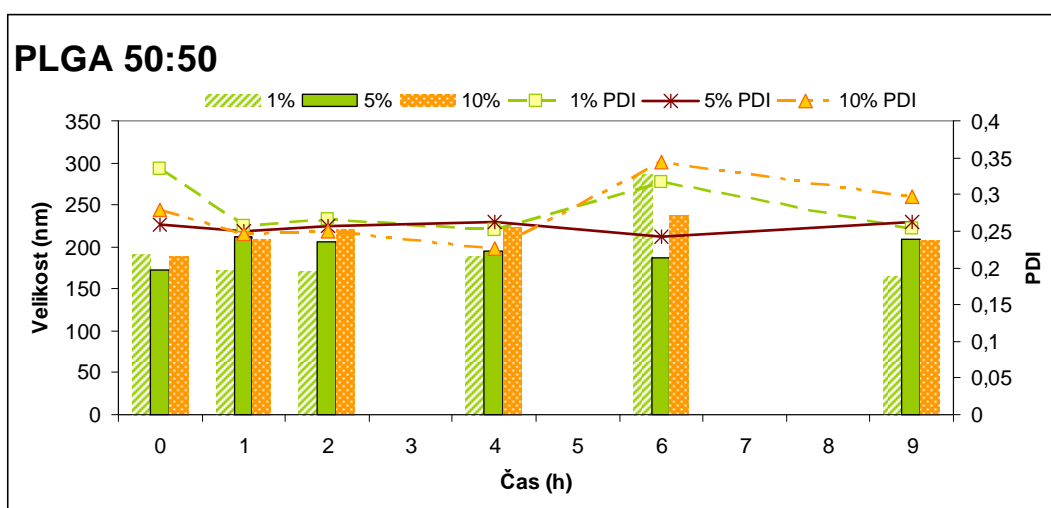
Obr. 143: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C pro 3D

⇒ Oba vzorky byly po dobu testování (9 – 9,5hod) stabilní. Nedocházelo k větším změnám polydisperzity ani velikosti.

Tab. 74: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C PLGA 50:50

PLGA: velikost [nm]	0,5h	1h	2,5h	4,5h	6,5h	9,5h
1%	191,2	173,3	171,7	188,8	286,3	164,2
5%	173	212,5	206,3	195,1	186,9	208,5
10%	189,2	209,1	221,3	223,4	238,1	206,7

Polydisperzita	0,5h	1h	2,5h	4,5h	6,5h	9,5h
1%	0,334	0,257	0,266	0,251	0,317	0,253
5%	0,258	0,249	0,257	0,263	0,242	0,262
10%	0,279	0,246	0,249	0,226	0,343	0,296



Obr. 144: Závislost velikosti a PDI nanočástic v RPMI médiu na čase za zvýšené teploty 37°C PLGA 50:50

⇒ Jako v předchozím případě nejmenší částice vznikaly po redispergaci do 1% roztoku.

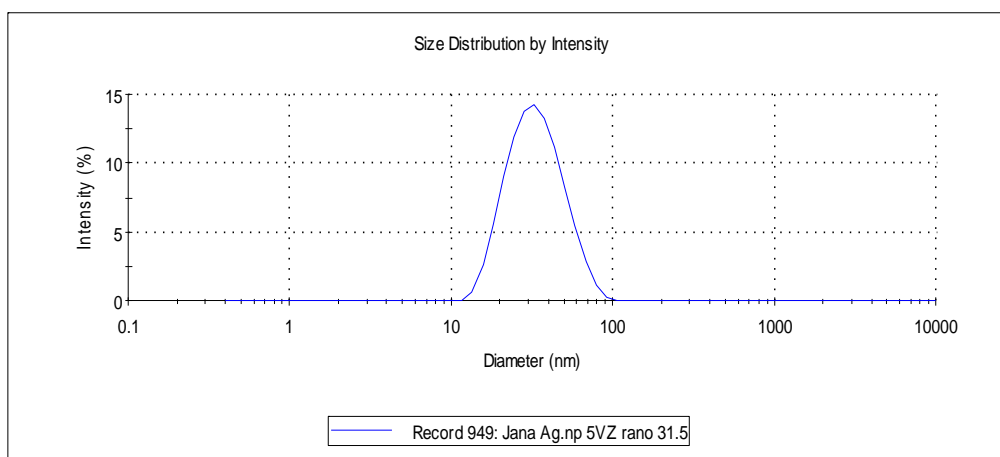
## 4.6 Stříbrné nanočástice

### Charakteristika vzorků

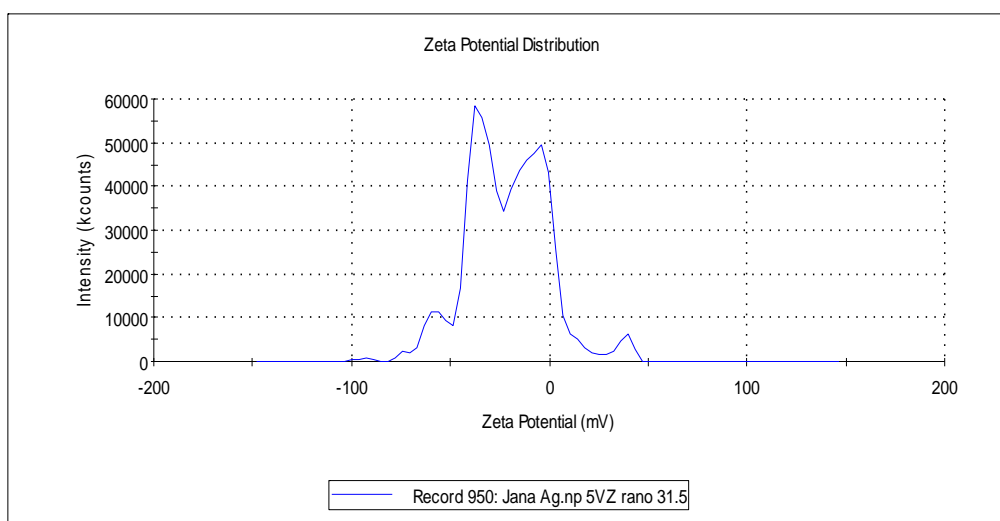
Koncentrování stříbrných nanočástic probíhalo z jejich vodných disperzí od dvou různých vzorků. Do kádinky se 100g stříbrného koloidu byla přidána dialyzační celulózová membrána s 2g absorpčních mikročástic z PAPA polymeru. Vzorky byly po dobu experimentu ponechány při laboratorní teplotě na tmavém místě, aby pokus nerušila možná oxidace vyvolaná slunečním zářením.

**Vzorek č. 1** : koloidní stříbro obsažené ve vzorku č. 1 vznikalo redukcí maltózou v amoniakálním prostředí. Za přídavku hydroxidu sodného se z dusičnanu stříbrného vyredukovaly koloidní stříbrné nanočástice o průměrné velikosti 35,14 nm a zeta potenciálu -23,00 mV

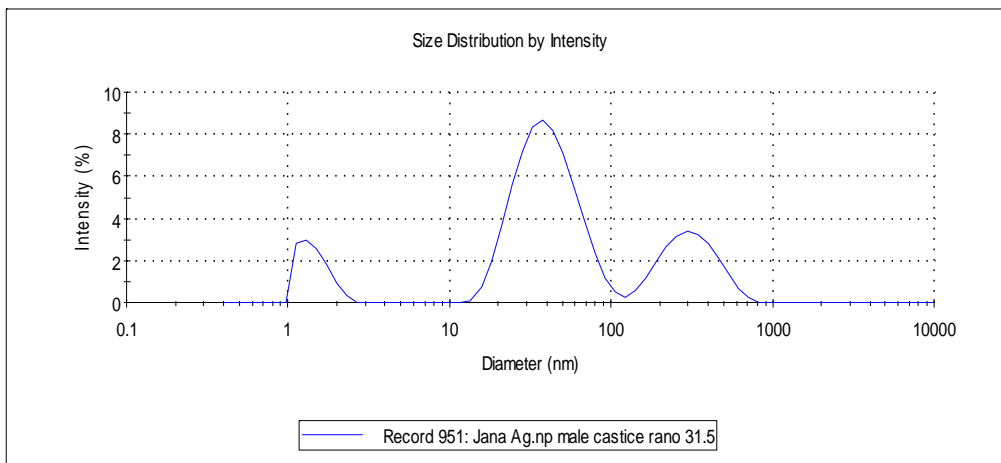
**Vzorek č. 2** : postup přípravy vzorku č. 2 probíhal také redukcí dusičnanu stříbrného v roztoku. Jako redukční činidlo byl použit borohydrid sodný ( $\text{NaBH}_4$ ). Reakce probíhala za chlazení suchým ledem. Výsledné nanočástice měly velikost: první pík 42,18 nm, druhý pík 321,1 nm a zeta potenciál -60,7 mV



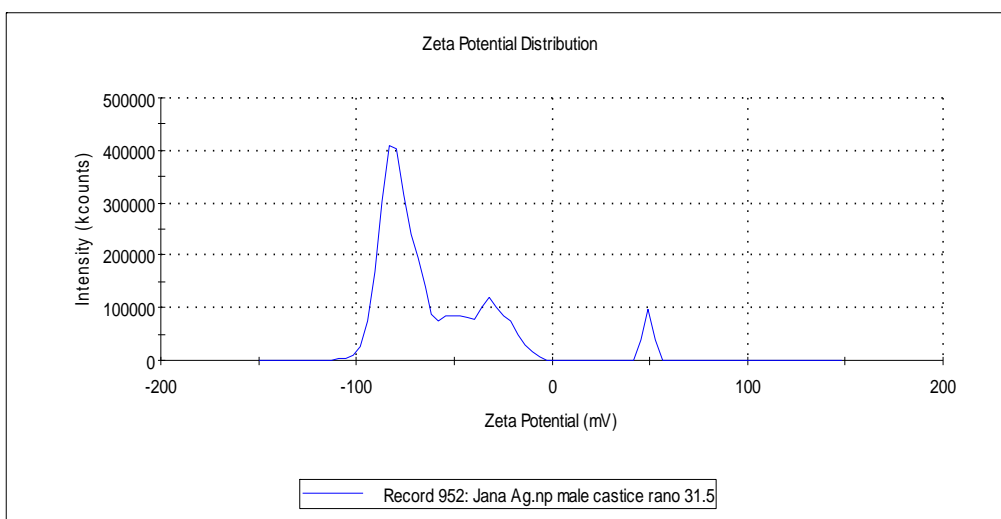
Obr. 145: Distribuce velikostí částic vzorku č. 1



Obr. 146: Distribuce zeta potenciálu částic vzorku č. 1



Obr. 147: Distribuce velikosti částic vzorku č.2

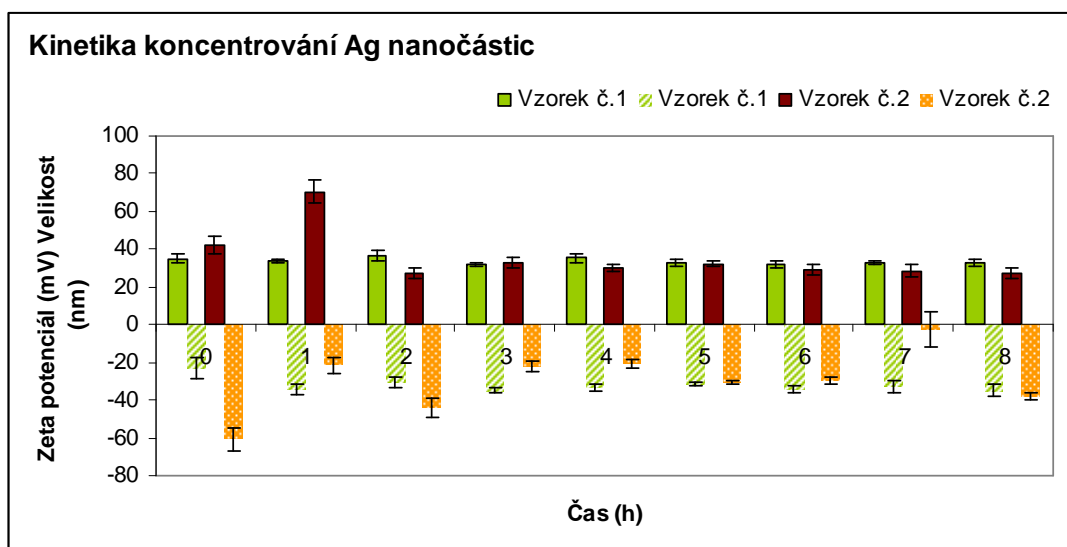


Obr. 148: Distribuce Zeta potenciálu vzorku č.2

## Kinetika koncentrování

Tab. 75: Kinetika koncentrování koloidního stříbra vzorek č. 1 a č. 2

Čas (h)	Vzorek č.1		Vzorek č.2		
	Velikost	Zeta pot.	Velikost 1.pík	Velikost 2.pík	Zeta pot.
0	35,14	-23	42,18	321,1	-60,7
1	33,69	-34,33	70,31	0	-21,47
2	36,61	-30,82	27,39	220,4	-43,85
3	32,04	-34,89	32,73	315	-22,04
4	35,47	-33,63	30,32	183,3	-20,76
5	33,21	-31,21	32,33	300,6	-30,4
6	32,03	-34,05	29,01	169,9	-29,79
7	33,09	-32,81	28,52	248,4	-2,47
8	32,46	-34,81	26,84	132,5	-38,41



Obr. 149: Kinetika koncentrování koloidního stříbra vzorek č. 1 a č. 2

⇒ Ukázalo se, že vzorek č.1 připravený redukcí stříbrných iontů pomocí maltózy je standardnější. Vznikl pouze jeden peak s průměrnou velikostí 35 nm. Proto byla tato metoda zvolena jako výchozí pro další vzorky v následujících kapitolách. Navíc se ukázalo, že je stabilnější v průběhu koncentrování než vzorek č. 2.

⇒ Redukce borohydridem sodným se ukázala jako nevhodná metoda pro naše testování.

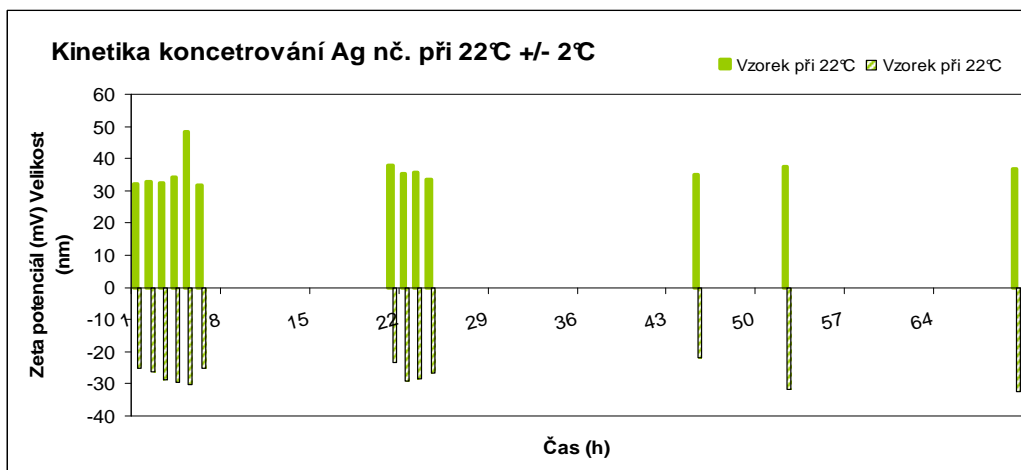
⇒

### **Srovnání vlivu různých teplot na stabilitu koncentrovaných stříbrných koloidních částic**

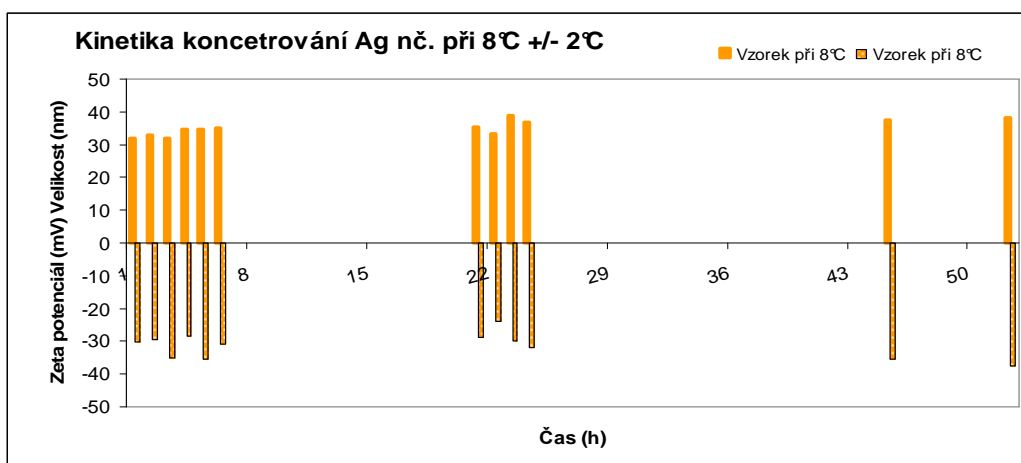
Předchozí pokus jsme zopakovali stejným postupem, jen teplotní podmínky jsme rozdělili na tři varianty: koncentrování za normální teploty 22°C +/- 2°C, za snížené teploty 8°C +/- 2°C a za zvýšené teploty 37°C +/- 2°C. Koncentrování probíhalo ve třech nezávislých vzorcích po dobu 70 hod.

Tab. 76 : Kinetika koncentrování při různých teplotách

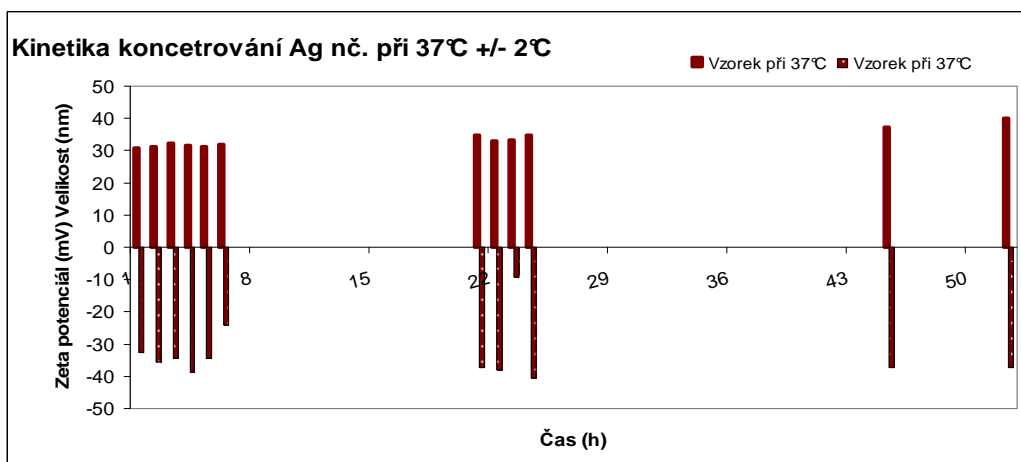
Čas (h)	Vzorek při 22°C		Vzorek při 8°C		Vzorek při 37°C	
	Velikost	Zeta pot.	Velikost	Zeta pot.	Velikost	Zeta pot.
1	32,12	-25,29	31,81	-30,33	30,74	-32,75
2	32,74	-26,32	33,08	-29,51	31,3	-35,46
3	32,44	-28,69	31,85	-34,99	32,21	-34,32
4	34,22	-29,5	34,8	-28,32	31,4	-38,54
5	48,43	-30,38	34,84	-35,37	31,14	-34,45
6	31,74	-25,16	35,2	-31,05	31,83	-24,07
21	37,9	-23,19	35,48	-28,93	34,89	-37,18
22	35,53	-29,26	33,17	-24,06	32,83	-37,93
23	35,59	-28,46	38,73	-29,98	33,24	-9,13
24	33,69	-26,42	36,81	-31,91	34,87	-40,45
45	34,98	-21,87	37,67	-35,46	37,15	-37,4
52	37,42	-31,81	38,13	-37,56	40,2	-37,13
70	36,7	-32,52	35,96	-23,65	39,15	-37,69



Obr. 150: Kinetika koncentrování při 22°C +/- 2°C



Obr. 151: Kinetika koncentrování při 8°C +/- 2°C



Obr. 152: Kinetika koncentrování při 37°C +/- 2°C

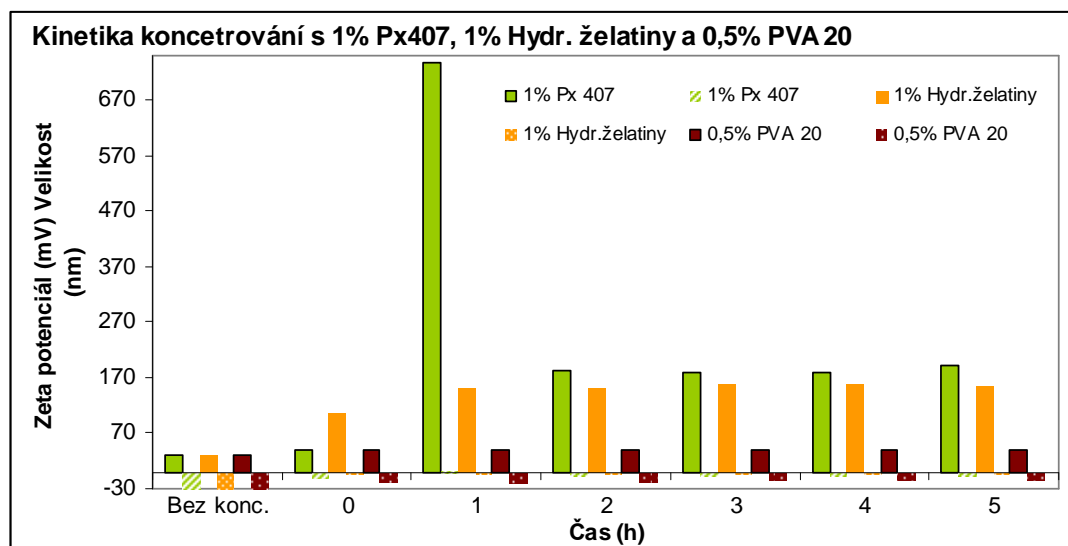
⇒ *Nebyl pozorován žádný trend při změnách teplot. PAPA polymer má natolik velkou nasávací schopnost, že ji změna teploty neovlivní. Velikost i zeta potenciál částic zůstal u všech vzorků po celou dobu pokusů stabilní.*

## Stabilizace stříbrného koloidu pomocí tenzidů

Jako první jsme zjišťovali míru stabilizace koloidních stříbrných částic za použití 1% tenzidů: poloxameru 407 a hydrolyzátu želatiny. Jako další stabilizátor byl testován polyvinyl alkohol (PVA Mw=20000) v 0,5% koncentraci. Doba časového intervalu koncentrování pomocí dialyzační membrány s PAPA polymerem byla 5 hod.

Tab. 77: Kinetika koncentrování s přidavkem 1% stabilizátoru: Px 407 a hydrolyzátu želatiny a 0,5% PVA 20

Čas (h)	1% Px 407		1% Hydr.želatiny		0,5% PVA 20	
	Velikost	Zeta pot.	Velikost	Zeta pot.	Velikost	Zeta pot.
Bez konc.	29,79	-29,5	29,79	-29,5	29,79	-29,5
0	41,16	-9,64	106,2	-5,77	40,67	-16,02
1	738,7	2,871	152,3	-5,2	40,02	-18,93
2	182,2	-6,89	151	-5,53	40,04	-16,24
3	180,2	-6,98	156,1	-5,84	41,34	-15,54
4	179,9	-7,33	156,5	-5,54	39,04	-13,43
5	190,6	-6,66	152,8	-5,77	39,98	-13,95



Obr. 153: Kinetika koncentrování s přidavkem 1% stabilizátoru: Px 407 a hydrolyzátu želatiny a 0,5% PVA 20

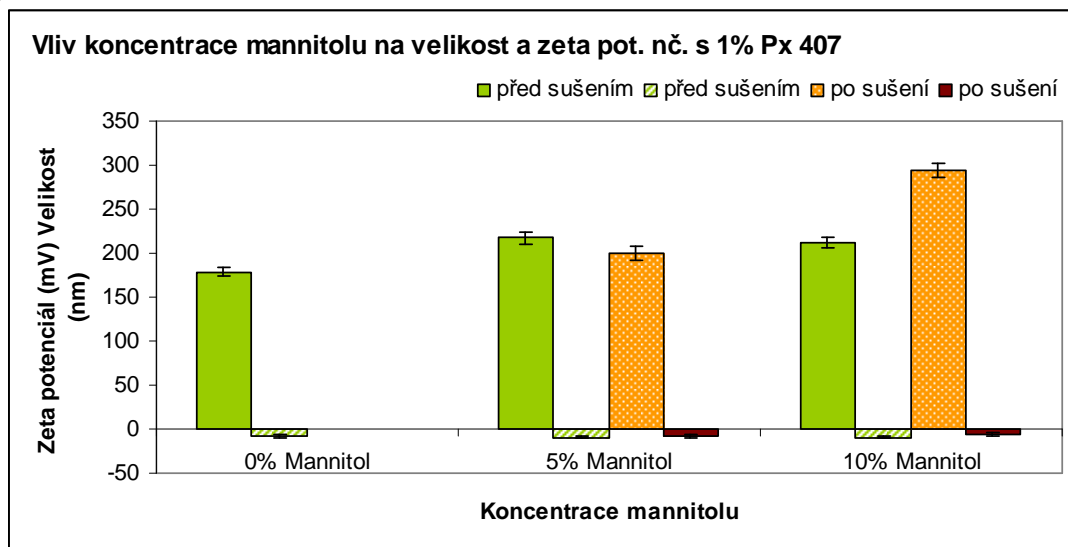
⇒ *Všechny tři stabilizátory výrazně snížily zeta potenciál Ag částic. PVA mělo nejmenší účinek na snížení zeta potenciálu, nicméně se hodnoty dostaly pod hranici stability. Zároveň s tím se projevil prudký nárůst velikosti nanočástic, který s časem ještě mírně vzrůstal.*

## Sušení koloidních částic stříbra s mannitolem

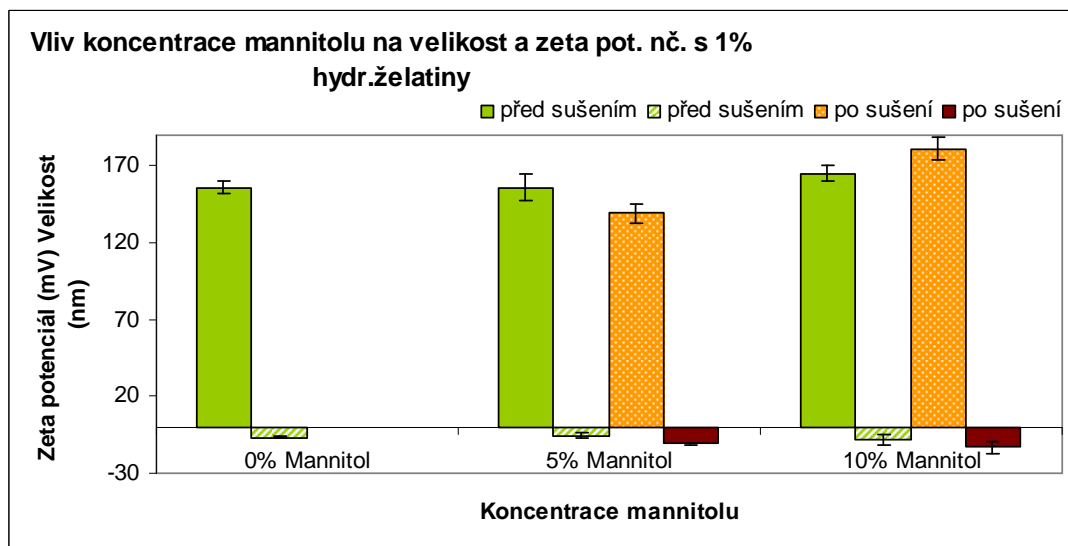
Sušení koloidních částic stříbra ve sprejové sušárně vyžaduje nosič. Jako nejjednodušší látka pro takové účely byl vybrán mannitol. Následující kapitola se zabývá stabilitou velikosti a zeta potenciálu nanočástic právě po přidání mannitolu a vysušení disperze do podoby mannitolových mikročástic.

**Tab. 78: Stabilita Ag nč. v roztoku mannitolu**

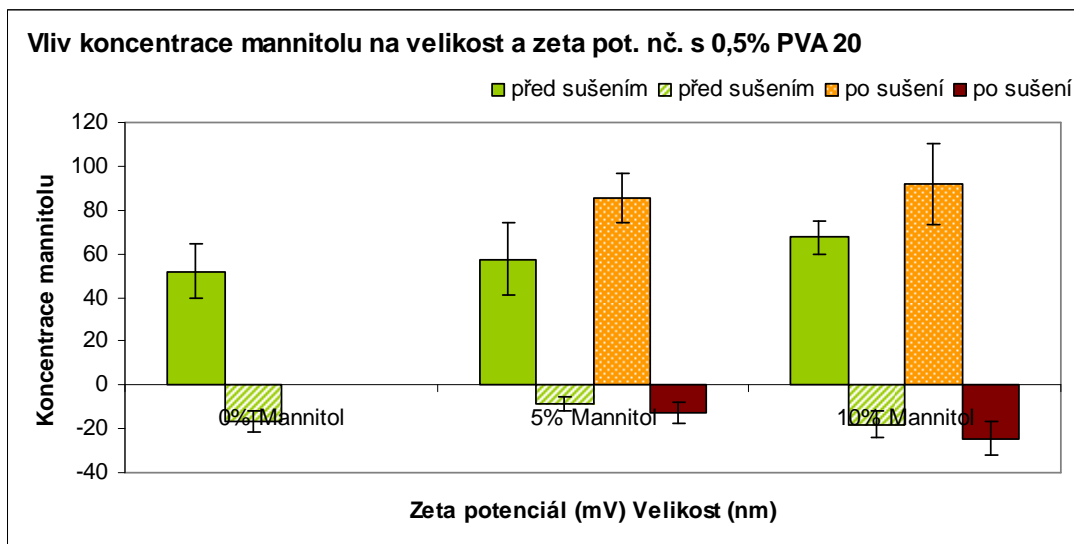
	Tenzid	0 % MANNITOL		5 % MANNITOL		10 % MANNITOL	
		Velikost	Zeta pot.	Velikost	Zeta pot.	Velikost	Zeta pot.
1% Px407	před sušením	178,7	-8,007	217,3	-9,36	212,7	-9,65
	po sušení	-	-	199,9	-7,53	294,6	-5,95
1% Hydr. želat.	před sušením	155,9	-6,699	156	-5,75	165,2	-8,25
	po sušení	-	-	139,2	-10,8	181	-13
0,5% PVA 20	před sušením	51,96	-16,89	57,6	-8,786	67,41	-18
	po sušení	-	-	85,31	-12,83	91,56	-24,7



**Obr. 154: Stabilita Ag nč. s 1% Px 407 v roztoku mannitolu**



**Obr. 155: Stabilita Ag nč. s 1% hydrolyzátem želatiny v roztoku mannitolu**

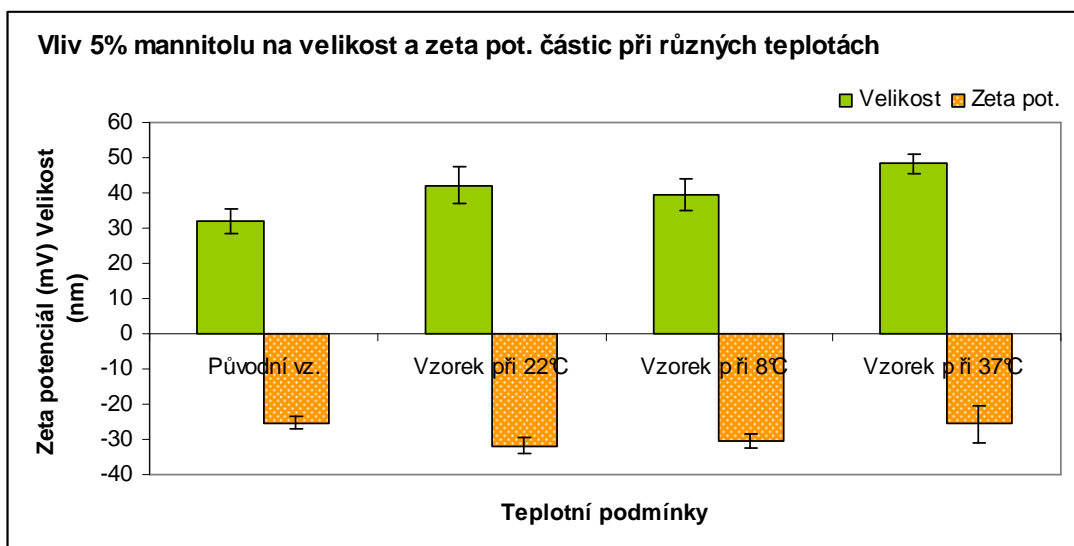


Obr. 156: Stabilita Ag nč. s 0,5% PVA 20 v roztoku mannitolu

⇒ *Sušení zvyšovalo velikost částic. Po následné redispergaci se změnil i zeta potenciál. V případě Px 407 se snižoval a v případě hydrolyzátu želatiny a 0,5% PVA 20 se zvyšoval. Čím vyšší byla koncentrace mannitolu tím větší byla velikost částic jak před sušením tak po redispergaci.*

Tab. 79: Vliv 5% mannitolu na velikost a zeta pot. částic při různých teplotách

5% Mannitol	Velikost	Zeta pot.
Původní vz.	32,12	-25,29
Vzorek při 22°C	42,16	-31,8
Vzorek při 8°C	39,32	-30,33
Vzorek při 37°C	48,49	-25,7



Obr. 157: Vliv 5% mannitolu na velikost a zeta pot. částic při různých teplotách

⇒ *Snížená teplota zpomalila agregaci částic. Oproti původnímu vzorku sice velikost vzrostla, nicméně to byl menší růst než u teploty 22 °C a výrazně menší nárůst než u zvýšené teploty 37 °C.*



## 4.7 Koncentrování stříbrných nanočástic

### Koncentrování nanodisperzí

#### Průběh koncentrování

Nanodisperze stříbrných částic byla koncentrována ve 4 fázích (viz. níže) za snížené teploty. V každé fázi byla připravena nová dialyzační trubice s polymerem a zvážená použitá dialyzační trubice s adsorbovanou tekutinou na polymeru. Koncentrování probíhalo pomocí dialyzační trubice naplněné Polyakrylát-polyalkoholem. Dialyzační trubice byla dlouhá cca 10 cm a na obou koncích zavázána. Byla koncentrována jedna nanodisperze o počátečním množství 100ml (A) a dvě nanodisperze o počátečním množství 25ml (B, C). V nanodisperzi A byly použity 3 dialyzační trubice. V nanodisperzích B a C byl použita jedna dialyzační trubice viz Tab. 80: Rozdělení vzorků v pokusu.

Koncentrování probíhalo ve čtyřech dnech. První den jsme zvážili množství nanodisperze a vložil do ní přesně zvážené množství polymeru v zavázané dialyzační trubici. Druhý den jsme zvážili dialyzační trubici s adsorbovanou tekutinou na polymeru a nanodisperzi a připravili novou.

Tab. 80: Rozdělení vzorků v pokusu

1 – 3 nanodisperze A
4, 5 samostatné nanodisperze B,C

Tab. 81: 1. Fáze koncentrování – Příprava dialyzační trubice a navážení polymeru do trubice

Vzorek	Samotná dialyzační trubice č.1 (g)	Navážka Polymeru (g)	Hmotnost disperze (g)	Hmotnost dialyzační trubice (g)
1	0,17	0,10		
2	0,18	0,10		
3	0,17	0,10	100,00	
4	0,17	0,07	25,00	
5	0,18	0,07	25,00	

Tab. 82: 2. Fáze koncentrování

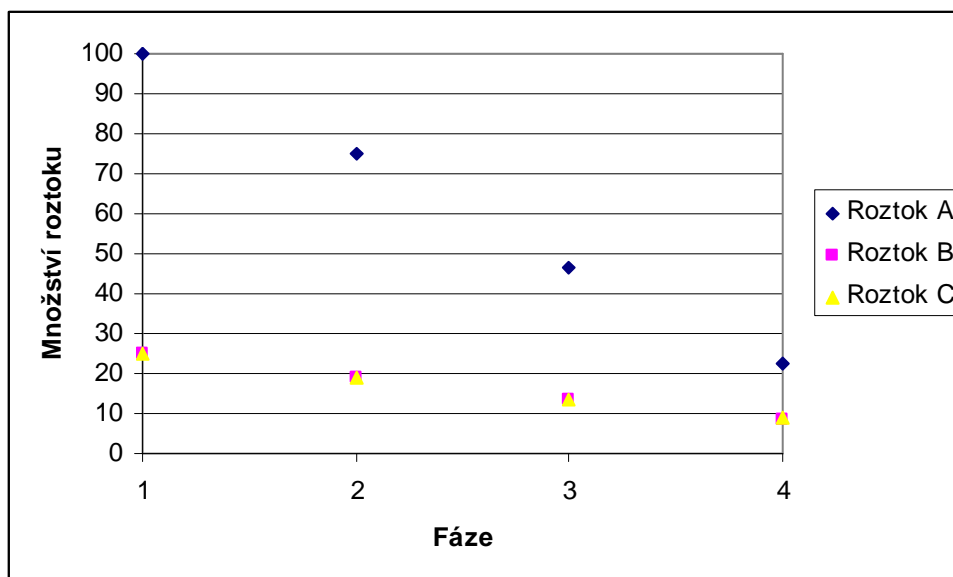
Vzorek	Samotná dialyzační trubice č.2 (g)	Navážka Polymeru (g)	Hmotnost disperze (g)	Hmotnost dialyzační trubice č.1 (g)
1	0,21	0,10		8,79
2	0,21	0,10		9,02
3	0,21	0,10	74,90	6,74
4	0,33	0,07	19,15	5,84
5	0,25	0,07	19,13	5,80

Tab. 83: 3. Fáze koncentrování

Vzorek	Samotná dialyzační trubice č.3 (g)	Navážka Polymeru (g)	Hmotnost disperze (g)	Hmotnost dialyzační trubice č.2 (g)
1	0,24	0,10		7,00
2	0,24	0,10		6,38
3	0,24	0,10	46,38	6,43
4	0,28	0,07	13,41	5,97
5	0,28	0,07	13,69	5,57

Tab. 84: 4. Fáze koncentrování

Vzorek	Samotná dialyzační trubice (g)	Navážka Polymeru (g)	Hmotnost disperze (g)	Hmotnost dialyzační trubice č.3 (g)
1				5,62
2				5,80
3			22,57	5,84
4			8,65	4,99
5			8,76	4,73



Obr. 158: Úbytek nanodisperze v čase

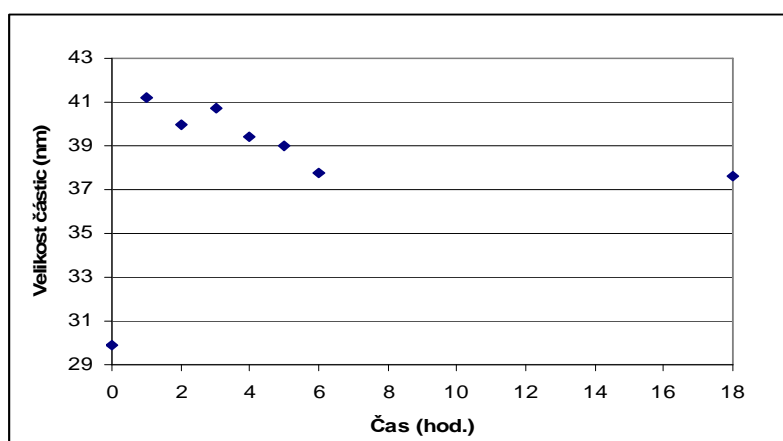
⇒ *Koncentrování probíhalo u všech vzorků lineárně. Absorpční schopnost PAPA polymeru je tak veliká, že není ovlivněná jinými faktory, a proto probíhá lineárně.*

## Kinetika agregace

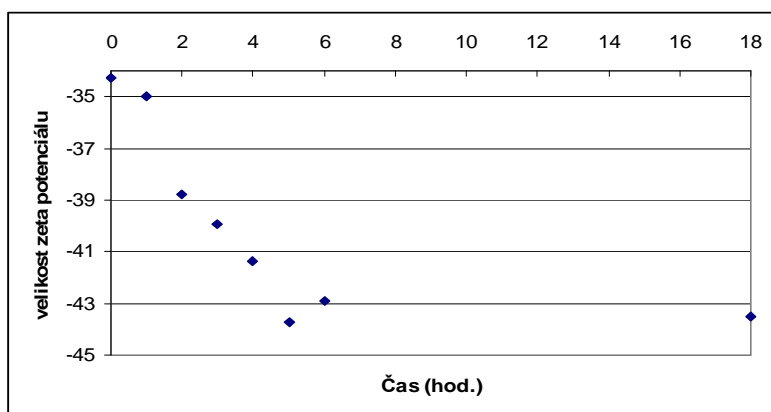
Koncentrování disperze v průběhu 6 hodin, druhého dne (po 18 hodinách) a normální laboratorní teploty. Byly sledovány 3 vzorky jedné disperze.

Tab. 85: Kinetika agregace nč.

Čas (h)	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)
0	29,89	-34,26
1	41,19	-35,02
2	39,95	-38,81
3	40,7	-39,92
4	39,45	-41,35
5	39,03	-43,75
6	37,77	-42,95
18	37,61	-43,54



Obr. 159: Kinetika agregace - změna velikosti částic

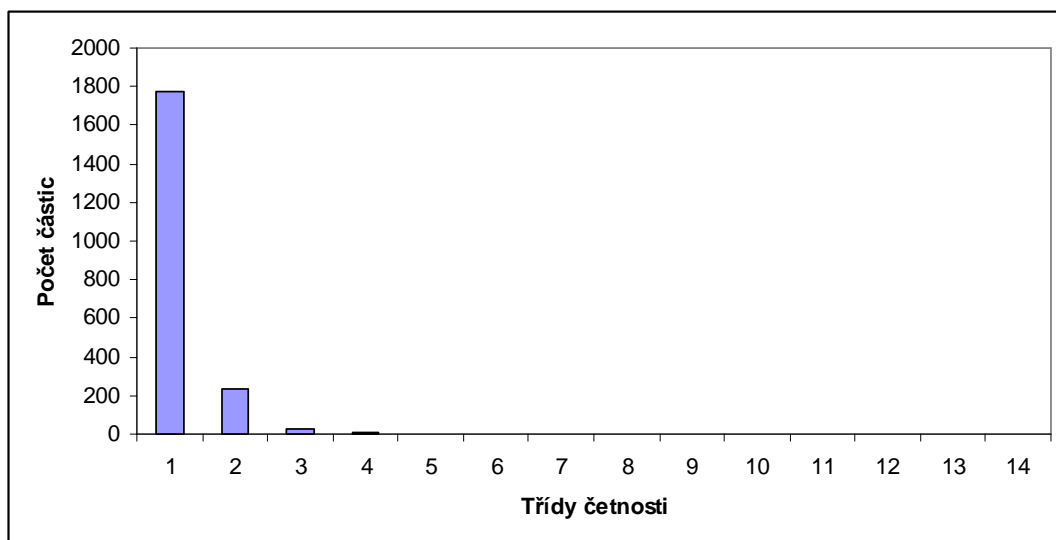


Obr. 160: Kinetika agregace – zeta potenciál

⇒ *Velikost částic vyskočila prudce nahoru a pak jen mírně klesala, zeta potenciál klesal.*

## Nekoncentrovaný roztok

Nekoncentrovaná disperze stříbrných nanočástic o výchozích parametrech 67,44 nm a -33,63 mV byla sušena s 10% mannitolovým roztokem. Výsledky mikroskopování jsou uvedeny v Tab. 86: Rozložení velikosti částic - střední průměr, Nekoncentrovaný roztok.

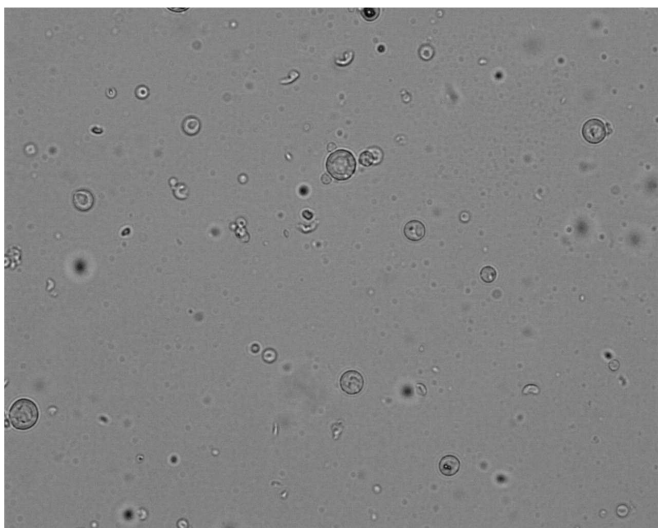


Obr. 161: Rozložení velikosti částic - střední průměr, Nekoncentrovaný roztok

Tab. 86: Rozložení velikosti částic - střední průměr, Nekoncentrovaný roztok

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	1775
2	5	10	232
3	10	15	29
4	15	20	11
5	20	25	3
6	25	30	1
7	30	35	0
8	35	45	0
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	25-35
Průměr	4,21
Směrodatná odchylka	0,98
Medián	3,83



Obr. 162: Obrázek z mikroskopu - Nekonzentrováný roztok

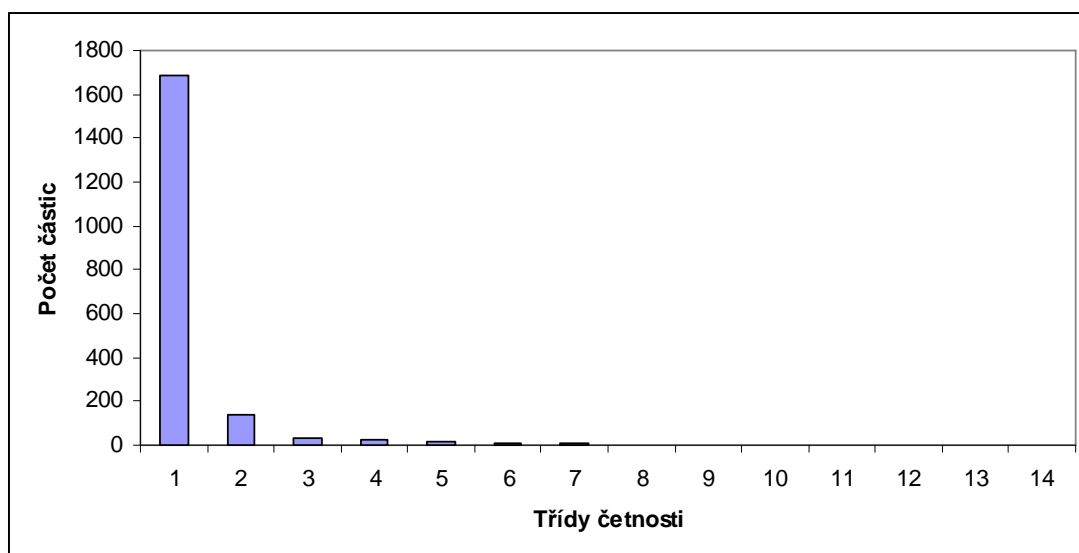
## Konzentrováný roztok

### Konzentrování

Konzentrování probíhalo pomocí dialyzační trubice naplněné mikročásticemi z polyakrylát-polyalkoholu. Výchozí velikost částic byla 104,9 nm a zeta potenciál -42,45 mV. Sušilo se z 10% mannitolového roztoku, při teplotě na vstupu 110°C, při výkonu čerpadla 10% a teplotě na výstupu 70°C.

Tab. 87: Nano a zeta-potenciálové měření nanočástic v roztoku mannitolu

	Zeta potenciál [mV]	Velikost částic [nm]
Vzorek po koncentrování	-42,45	104,9
Vzorek + 10% Mannitol	-35,56	94,11

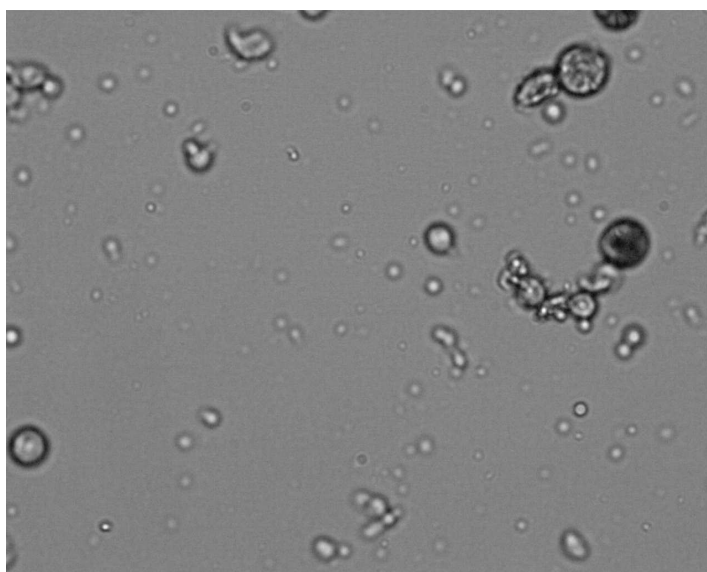


Obr. 163: velikosti částic - střední průměr, Disperze stříbra po koncentrování

**Tab. 88: velikosti částic - střední průměr, Disperze stříbra po koncentrování**

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	1688
2	5	10	138
3	10	15	35
4	15	20	23
5	20	25	15
6	25	30	5
7	30	35	8
8	35	45	4
9	45	55	3
10	55	65	3
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	55-65
Průměr	4,97
Směrodatná odchylka	2,77
Medián	4,46



**Obr. 164 : Snímek z mikroskopu, Disperze stříbra po koncentrování**

*⇒ Koncentrováním pomocí PAPA polymeru vznikaly agregáty nanočástic, to zřejmě způsobilo následně i větší velikost mikročástic vzniklých sušením a jejich větší směrodatnou odchylku.*

## Nekoncentrovaná disperze se stabilizátory

### 1% Beta - glukán

⇒ *Nekoncentrovaná disperze s 10% mannitolem a 1% Beta-glukanem jako stabilizátorem se nechovala podle předpokladu. Částice zvětšily svou velikost a celá disperze se během krátké doby vysrážela. Z toho důvodu nebylo v testování pokračováno.*

Tab. 89: Nano a zeta-potenciálové měření, 1% Beta – glukán

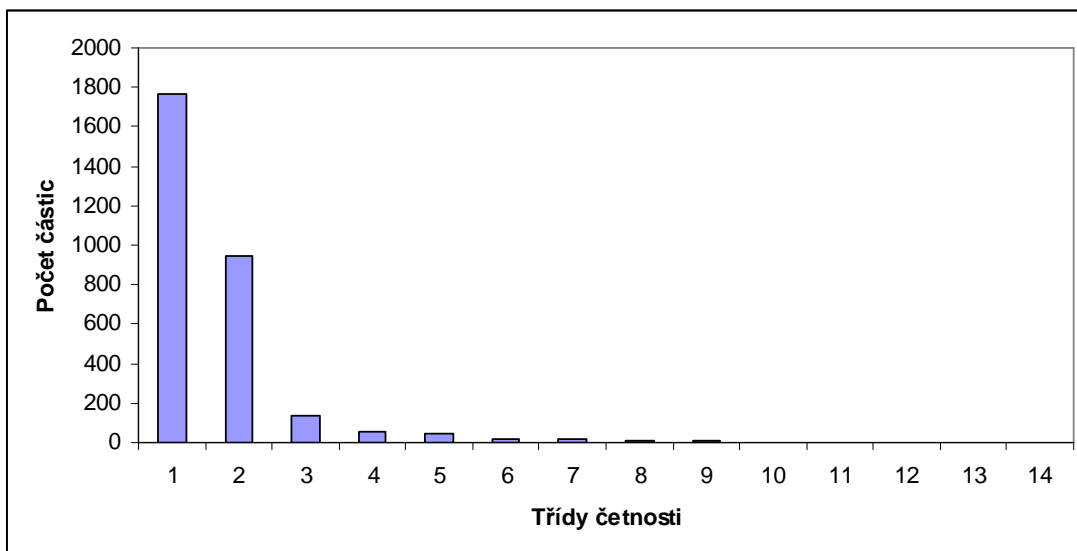
	Zeta potenciál [mV]	Velikost částic [nm]
Vzorek	-11,47	150,3

### 0,03% Chitosan

Nekoncentrovaná disperze s 10% mannitolem a 0,03% chitosanem. Výchozí velikost částic byla 24,42 nm a zeta potenciál 26,02 mV. Sušilo se z 10% mannitolového roztoku, při teplotě na vstupu 110°C, při výkonu čerpadla 10% a teplotě na výstupu 70°C.

Tab. 90: Nano a zeta-potenciálové měření, 0,03% Chitosan

	Zeta potenciál [mV]	Velikost částic [nm]
Vzorek před sušením	26,02	24,42
Vzorek po sušení	20,39	49,57

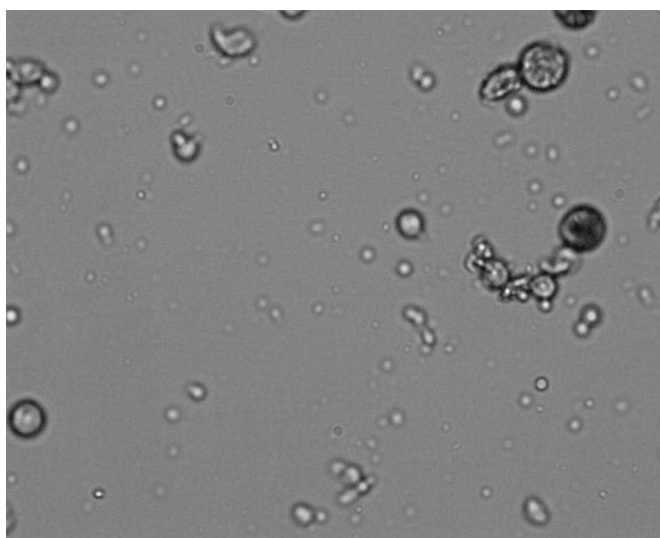


Obr. 165: Velikosti částic - střední průměr, 0,03% Chitosan

**Tab. 91: Velikosti částic - střední průměr, 0,03% Chitosan**

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	1762
2	5	10	945
3	10	15	139
4	15	20	53
5	20	25	42
6	25	30	15
7	30	35	16
8	35	45	6
9	45	55	8
10	55	65	4
11	65	75	3
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	65-75
Průměr	5,11
Směrodatná odchylka	2,04
Medián	4,87



**Obr. 166: Snímek z mikroskopu - 0,03% Chitosan**

⇒ *Přídavek chitosanu převrací hodnoty zeta potenciálu do kladných hodnot. Proces sušení zvyšuje velikost nanočástic dvojnásobně. Pokles zeta potenciálu po redispergaci byl pravděpodobně způsoben vyplavením a rozředěním chitosanu na povrchu nebo v těsné blízkosti částic.*

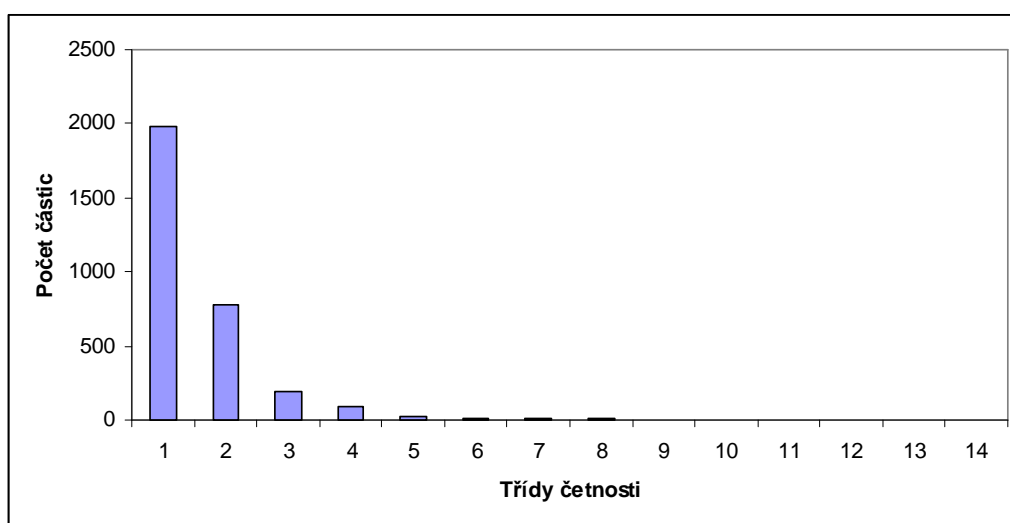


## 0,01% Hydrolyzát želatiny

Nekonzentrovaná disperze s 10% mannitolem a 0,01% hydrolyzátem želatiny. Výchozí velikost částic byla 155,1 nm a zeta potenciál -4,52 mV. Sušilo se z 10% mannitolového roztoku, při teplotě na vstupu 110°C, při výkonu čerpadla 10% a teplotě na výstupu 70°C.

Tab. 92: Nano a zeta-potenciálové měření, 0,01% Hydrolyzát želatiny

	Zeta potenciál [mV]	Velikost částic [nm]
Vzorek před sušením	-4,521	155,1
Vzorek po sušení	-6,283	79,68

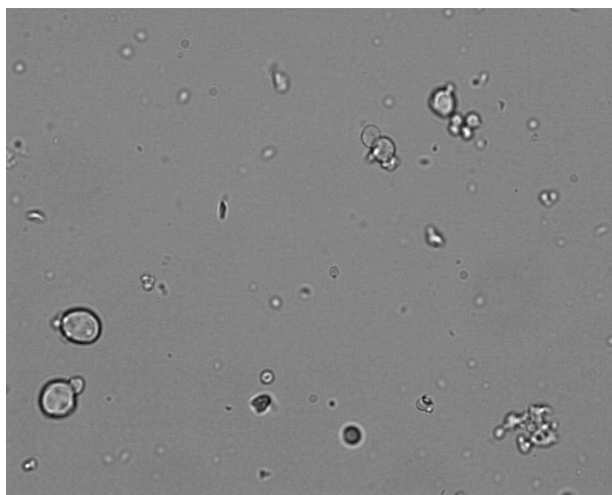


Obr. 167 : velikosti částic - střední průměr, 0,01% Hydrolyzát želatiny

Tab. 93: velikosti částic - střední průměr, 0,01% Hydrolyzát želatiny

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	1985
2	5	10	773
3	10	15	194
4	15	20	86
5	20	25	28
6	25	30	15
7	30	35	10
8	35	45	6
9	45	55	4
10	55	65	1
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	55-65
Průměr	4,95
Směrodatná odchylka	2,10
Medián	4,64



Obr. 168: 0,01% Hydrolyzát želatiny

⇒ Pro hydrolyzát želatiny se hodnota zeta potenciálu redispergací nezměnila. Velikost částic se po sušení a následné redispergaci překvapivě snížila. Pravděpodobnou příčinou byla hydrolyza želatiny v průběhu sušení. Kratší fragmenty želatiny jsou jako tenzidy účinnější a poskytují tak menší částice.

#### 4.8 Stabilita při koncentrování stříbrných nanočástic

##### Srovnání koncentrování roztoku koloidního stříbra s blankem

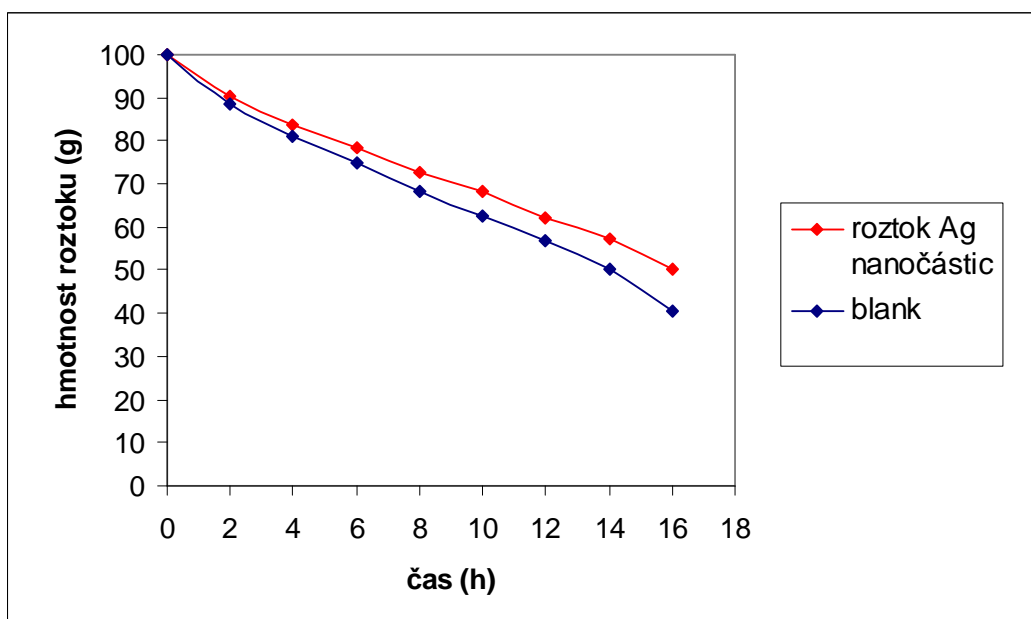
Sledovali jsme absorpční vlastnosti PAPA polymeru, zda jsou ovlivněny absorpcí koloidního stříbra a pokud ano do jaké míry je zpomalena jejich schopnost pojímat tekutinu. Vzorek s nanočásticemi stříbra byl srovnáván s roztokem o stejném zastoupení solí a iontů bez přítomnosti stříbrných sloučenin.

Tab. 94: Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu

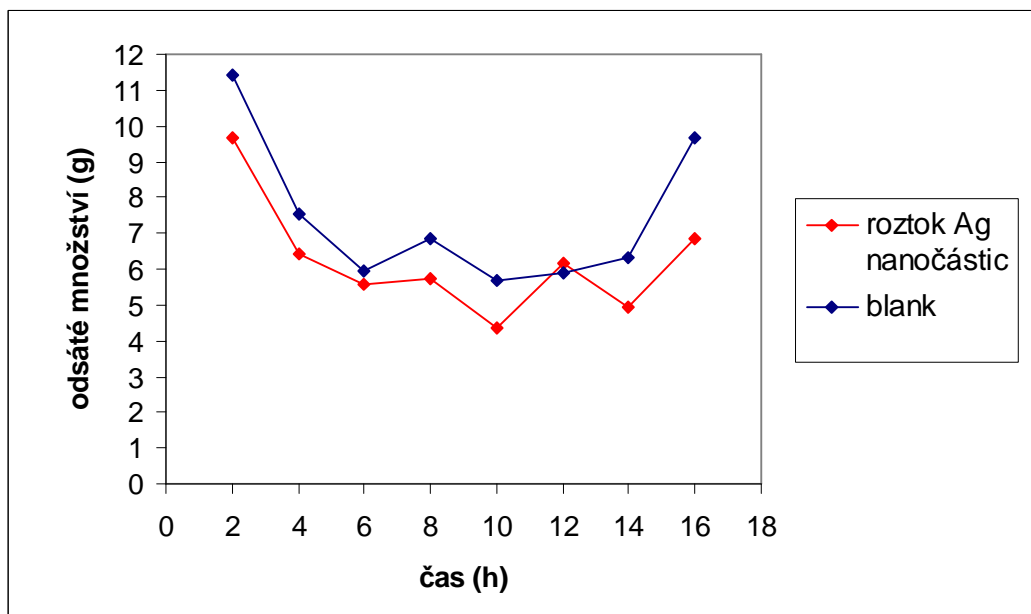
Čas (h)	Hmotnost roztoku (g)	Úbytek hmotnosti (g)	Celkový úbytek (g)	Zeta potenciál (mV)	Velikost částic (nm)
0	100,00	---	0,00	-21,02	75,52
2	90,32	9,68	9,68	-24,76	76,90
4	83,90	6,42	16,10	-24,26	79,41
6	78,30	5,60	21,70	-27,14	79,29
8	72,54	5,76	27,46	-31,18	77,53
10	68,20	4,34	31,80	-27,31	122,70
12	62,04	6,16	37,96	-28,10	77,91
14	57,10	4,94	42,90	-29,44	78,85
16	50,24	6,86	49,76	-31,17	76,96

Tab. 95: „Blank“ roztok (pouze sodné ionty, amoniak, maltosa), kinetika koncentrování po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu

Čas (h)	Hmotnost roztoku (g)	Úbytek hmotnosti (g)	Celkový úbytek (g)
0	100,00	---	0,00
2	88,57	11,43	11,43
4	81,03	7,54	18,97
6	75,06	5,97	24,94
8	68,19	6,87	31,81
10	62,50	5,69	37,50
12	56,61	5,89	43,39
14	50,28	6,33	49,72
16	40,61	9,67	59,39



Obr. 169: Hmotnost roztoku během koncentrování



Obr. 170: Odsáté množství každou hodinu (ne-kumulativně)

⇒ *S rostoucím časem koncentrování je více patrný rozdíl mezi nasákavostí polymeru čistým blank roztokem a disperzí stříbrných nanočástic. Nanočástice pravděpodobně ucpávají póry v polymerní struktuře a zpomalují tak absorpci tekutiny.*

### **Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra za různých podmínek**

První vzorek o hmotnosti 100 g byl umístěn společně s dialyzační trubičkou s 5 g PAPA polymeru na temné místo o pokojové teplotě 22°C +/- 2°C. Druhý vzorek byl umístěn do termostatu při teplotě 37°C +/- 2°C. Třetí vzorek byl použit jako srovnání prvního vzorku, byl totožný jen umístěný na jiné tmavé místo.

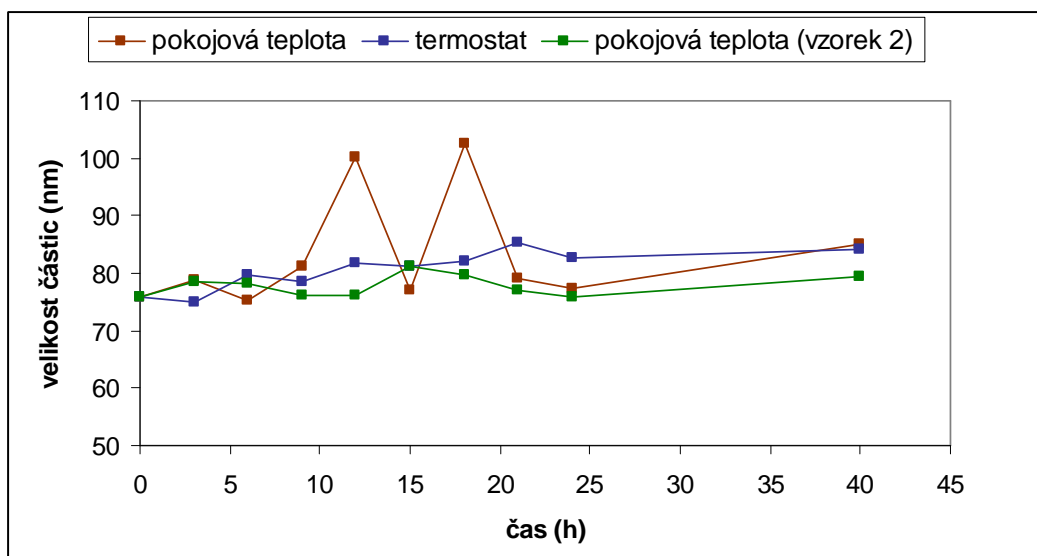
Koncentrování bylo ukončeno po 40 hodinách, poté byla sledována stabilita a po stabilitě následovalo sušení s 10% mannitemem.

**Tab. 96: Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu (při pokojové teplotě)**

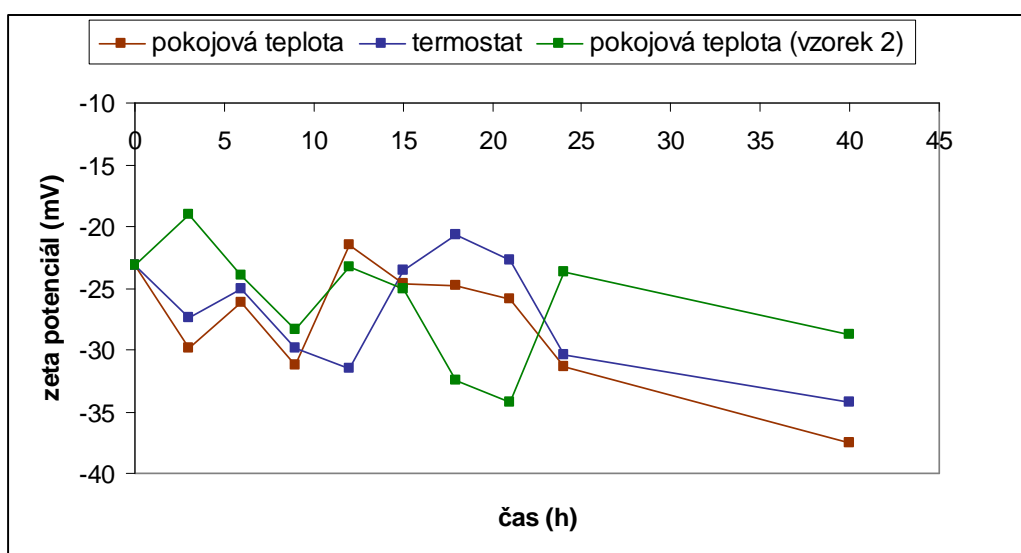
<b>Čas (h)</b>	<b>Hmotnost roztoku (g)</b>	<b>Úbytek hmotnosti (g)</b>	<b>Celkový úbytek (g)</b>	<b>Zeta potenciál (mV)</b>	<b>Velikost částic (nm)</b>
<b>0</b>	100,00	---	0,00	-23,18	75,85
<b>3</b>	83,10	16,90	16,90	-29,86	78,88
<b>6</b>	75,10	8,00	24,90	-26,11	75,36
<b>9</b>	67,01	8,09	32,99	-31,22	81,07
<b>12</b>	61,51	5,50	38,49	-21,45	100,10
<b>15</b>	57,11	4,40	42,89	-24,62	76,96
<b>18</b>	51,41	5,70	48,59	-24,76	102,50
<b>21</b>	47,42	3,99	52,58	-25,90	79,06
<b>24</b>	43,93	3,49	56,07	-31,42	77,29
<b>40</b>	32,44	11,49	67,56	-37,59	84,95
<b>65</b>	<b>stabilita po 4 dnech</b>			-33,80	77,15
<b>160</b>	<b>stabilita po 8 dnech</b>			-34,23	76,68

**Tab. 97: Kinetika koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu v termostatu při teplotě 37°C**

<b>Čas (h)</b>	<b>Hmotnost roztoku (g)</b>	<b>Úbytek hmotnosti (g)</b>	<b>Celkový úbytek (g)</b>	<b>Zeta potenciál (mV)</b>	<b>Velikost částic (nm)</b>
<b>0</b>	100,00	---	0,00	-23,18	75,85
<b>3</b>	78,40	21,60	21,60	-27,36	74,87
<b>6</b>	66,53	11,87	33,47	-25,02	79,80
<b>9</b>	54,50	12,03	45,50	-29,86	78,61
<b>12</b>	47,35	7,15	52,65	-31,53	81,83
<b>15</b>	41,75	5,60	58,25	-23,62	81,17
<b>18</b>	35,00	6,75	65,00	-20,67	81,99
<b>21</b>	31,12	3,88	68,88	-22,70	85,42
<b>24</b>	27,18	3,94	72,82	-30,39	82,55
<b>40</b>	15,49	11,69	84,51	-34,24	84,14
<b>65</b>	<b>stabilita po 4 dnech</b>			-31,90	84,36



Obr. 171: Velikost částic během koncentrování



Obr. 172: Vývoj zeta potenciálu během koncentrování

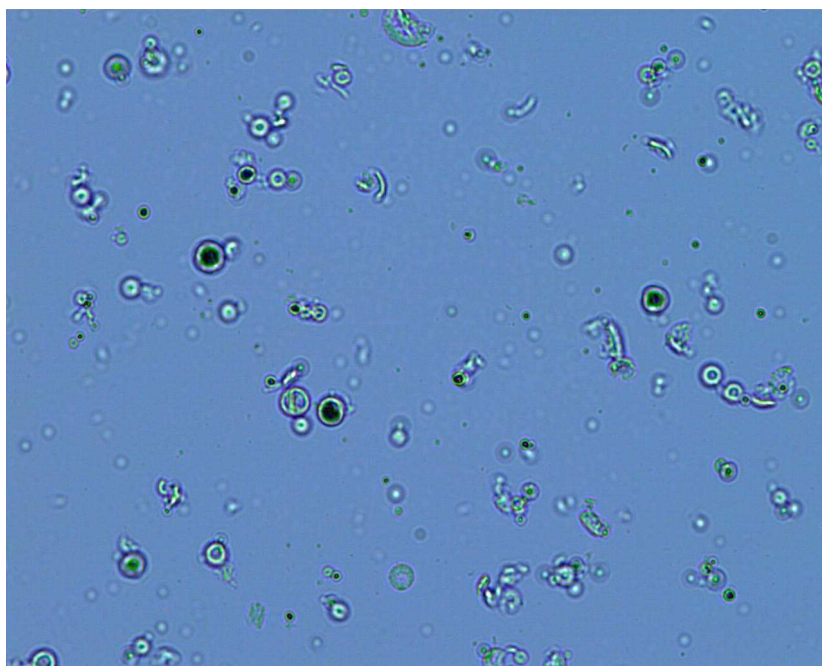
Hodnoty pro vzorek č. 2 jsou uvedeny v Tab. 98: Koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 10g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 10% mannitolu.

⇒ *Teplota nemá prokazatelný vliv na rychlost koncentrování a na absorpci tekutiny polymerem.*

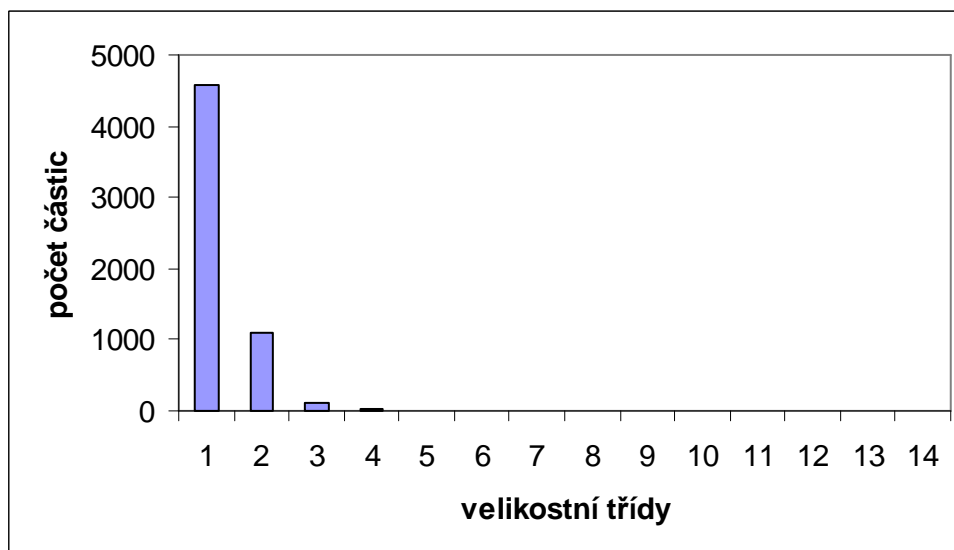
## Stabilita při koncentrování a následném sušení

Tab. 98: Koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 10g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 10% mannitolu

Čas (h)	Hmotnost roztoku (g)	Úbytek hmotnosti (g)	Celkový úbytek (g)	Zeta potenciál (mV)	Velikost částic (nm)
0	500,0	---	0,0	-23,18	75,85
3	481,0	19,0	19,0	-19,06	78,54
6	464,3	16,7	35,7	-23,99	78,11
9	444,8	19,5	55,2	-28,38	76,10
12	428,5	16,3	71,5	-23,26	76,18
15	414,9	13,6	85,1	-25,04	81,17
18	398,9	16,0	101,1	-32,47	79,62
21	384,3	14,6	115,7	-34,25	76,96
24	368,1	16,2	131,9	-23,65	75,82
40	317,0	51,1	183,0	-28,78	79,41
65	268,8	48,2	231,2	-28,42	78,63
---	<b>roztok po přidání mannitolu</b>			-25,35	96,55
---	<b>částice po sušení</b>			-23,64	94,46



Obr. 173: Částice po sušení (roztok koloidního stříbra, 10% mannitol)



Obr. 174: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 10% mannitol)

Tab. 99: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 10% mannitol)

Třída četnosti	Od um	Do um	Počet částic
1	0	5	4582
2	5	10	1100
3	10	15	110
4	15	20	15
5	20	25	3
6	25	30	0
7	30	35	1
8	35	45	0
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

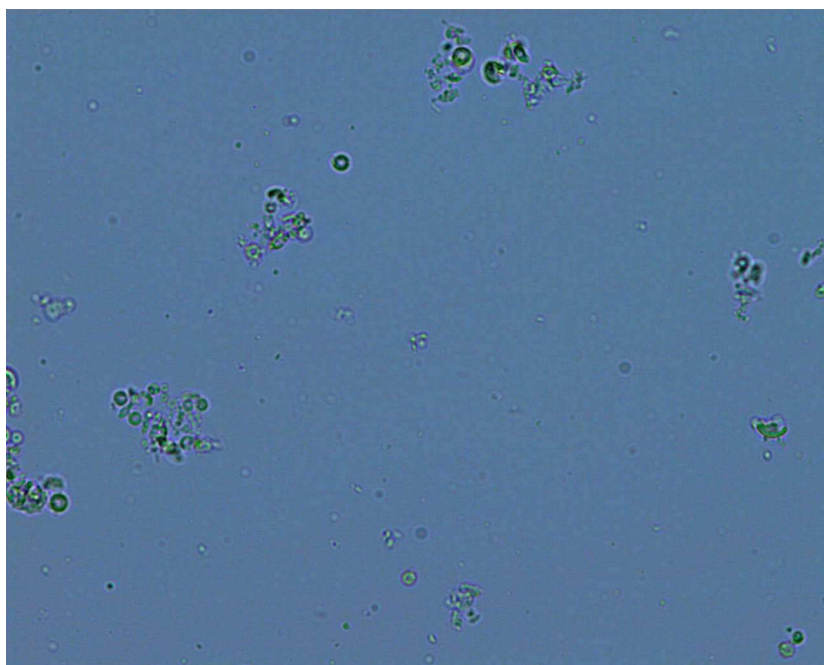
Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	30-35
Průměr	3,49
Směrodatná odchylka	0,12
Medián	2,66

⇒ *Velikost nanočástic zůstávala po dobu koncentrování stabilní. Její zvýšení cca o 20 nm zapříčinilo přidání 10% mannitolu. Sušení a následná redispergace již systém zásadně neovlivnili.*

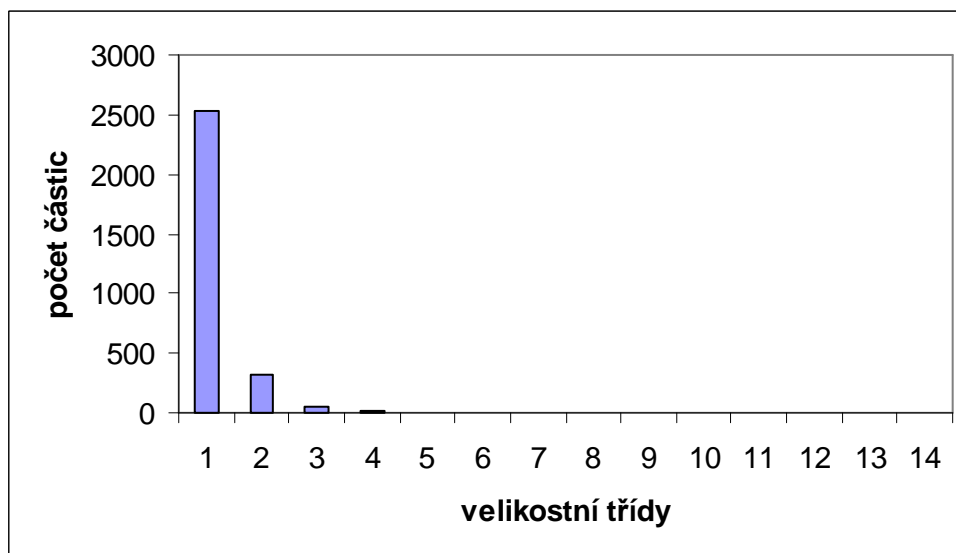


**Tab. 100: Koncentrování roztoku koloidního stříbra po vložení dialyzační trubičky s 10g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 5% mannitolu**

<b>Čas (h)</b>	<i>Hmotnost roztoku (g)</i>	<i>Úbytek hmotnosti (g)</i>	<i>Celkový úbytek (g)</i>	<i>Zeta potenciál (mV)</i>	<i>Velikost částic (nm)</i>
<b>0</b>	500,0	---	0,0	-23,18	75,85
<b>3</b>	464,1	35,9	35,9	-28,98	119,50
<b>6</b>	438,7	25,4	61,3	-24,52	77,87
<b>48</b>	179,1	259,6	320,9	-26,22	77,77
---	s mannitolem 5%			-23,29	83,46
---	po sušení			-30,01	100,80



**Obr. 175: Částice po sušení (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol)**



Obr. 176: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol)

Tab. 101: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol)

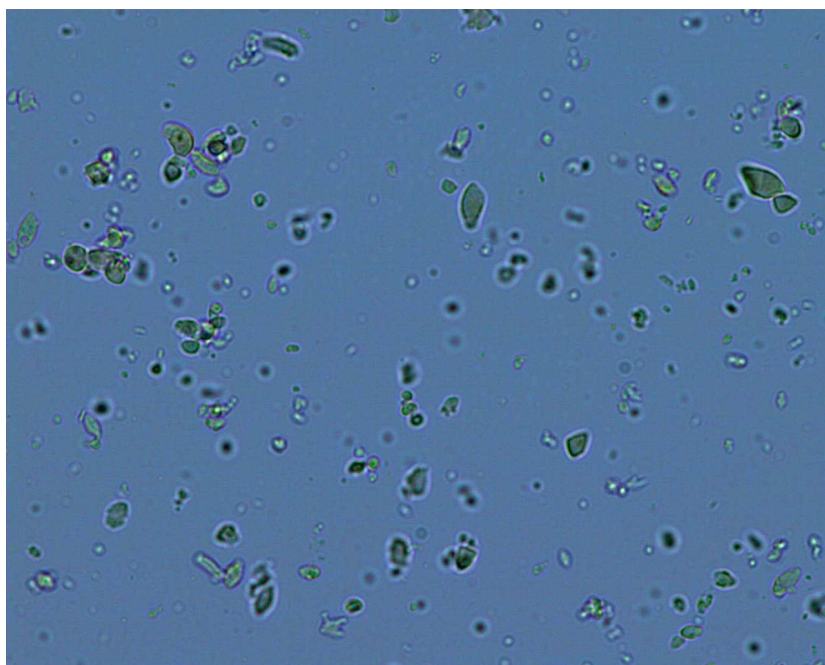
Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	2538
2	5	10	319
3	10	15	58
4	15	20	13
5	20	25	2
6	25	30	0
7	30	35	1
8	35	45	0
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	30-35
Průměr	2,96
Směrodatná odchylka	0,21
Medián	2,06

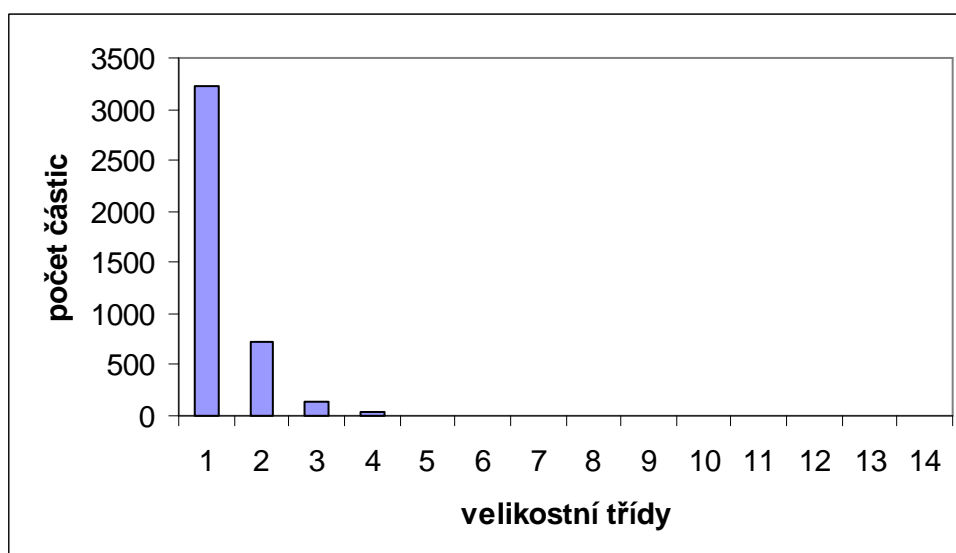
⇒ *Přídavek 5% mannitolu neovlivnil velikost tak výrazně (cca 10 nm) oproti 10% mannitolu (nárůst o cca 20 nm), nicméně po redispergaci se velikost částic dále zvyšovala.*

**Tab. 102: Koncentrování roztoku koloidního stříbra s 0,1% BSA po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 5% mannitolu**

<b>Čas (h)</b>	<i>Hmotnost roztoku (g)</i>	<i>Úbytek hmotnosti (g)</i>	<i>Celkový úbytek (g)</i>	<i>Zeta potenciál (mV)</i>	<i>Velikost částic (nm)</i>
<b>0</b>	100,0	---	0,0	-21,65	80,79
<b>3</b>	86,8	13,2	13,2	-27,45	81,77
<b>6</b>	80,2	6,6	19,8	-24,89	81,15
<b>48</b>	37,7	22,8	62,3	-24,04	82,95
---	s mannitolem 5%			-28,59	87,58
---	po sušení			-26,61	87,78



**Obr. 177: Částice s 0,1% BSA po sušení (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol)**



Obr. 178: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% BSA, 5% mannitol)

Tab. 103: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% BSA, 5% mannitol)

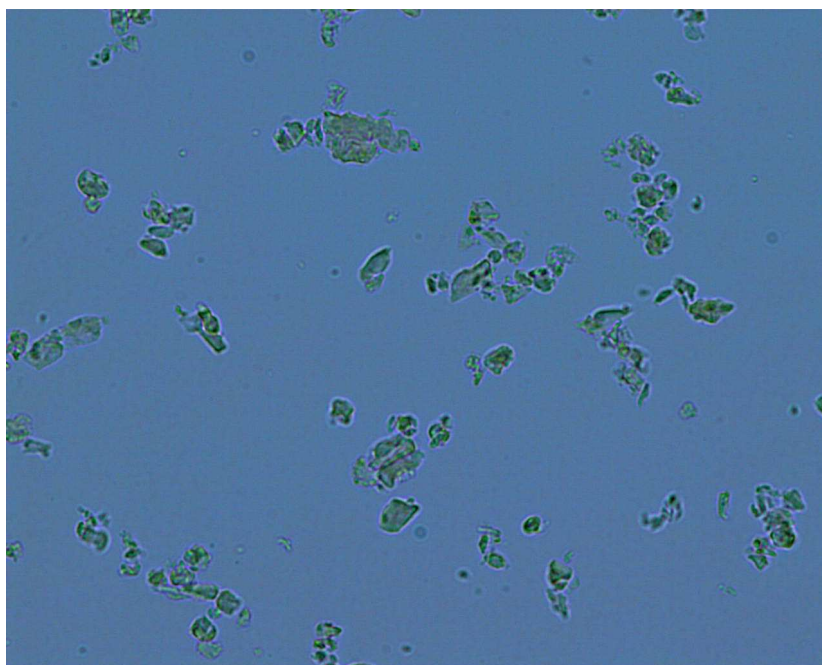
Třída četnosti	Od um	Do um	Počet částic
1	0	5	3221
2	5	10	718
3	10	15	137
4	15	20	37
5	20	25	6
6	25	30	1
7	30	35	0
8	35	45	0
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	25-30
Průměr	4,01
Směrodatná odchylka	0,87
Medián	3,17

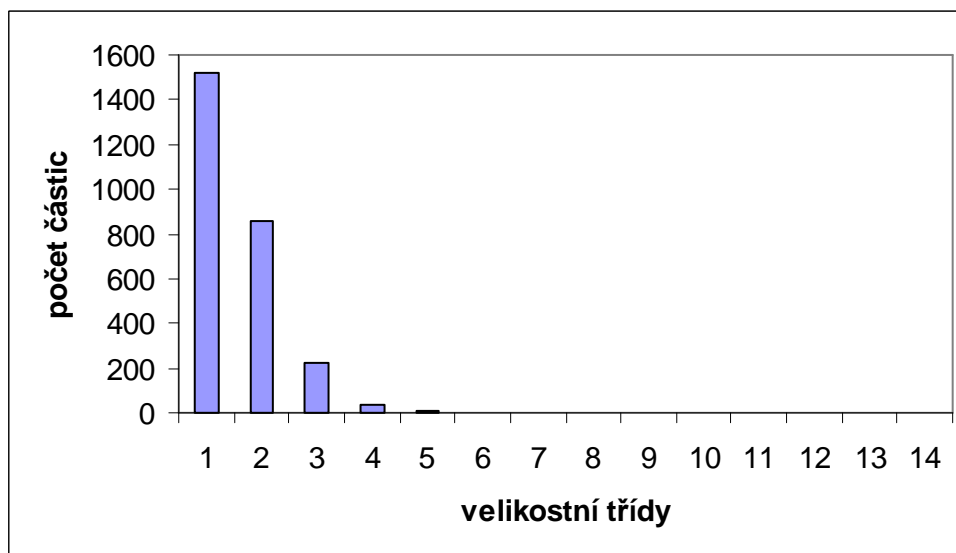
⇒ *Přidáním 0,1% BSA nezvýšilo velikost ani zeta potenciál původních nanočástic. Po dobu koncentrování si nanočástice držely své parametry, ani sušení a následná redispergace jejich velikost neovlivnili. 0,1% BSA se ukázal jako nejlepší z použitých stabilizátorů.*

**Tab. 104: Koncentrování roztoku koloidního stříbra s 0,1% PEI-PEO po vložení dialyzační trubičky s 5g polyakrylát-polyalkoholu, poté sušení s 5% mannitolu**

<b>Čas (h)</b>	<i>Hmotnost roztoku (g)</i>	<i>Úbytek hmotnosti (g)</i>	<i>Celkový úbytek (g)</i>	<i>Zeta potenciál (mV)</i>	<i>Velikost částic (nm)</i>
<b>0</b>	100,0	---	0,0	8,27	91,35
<b>3</b>	83,5	16,5	16,5	13,69	87,33
<b>6</b>	76,7	6,8	23,3	15,77	87,60
<b>48</b>	38,6	22,0	61,4	15,42	81,13
---	s mannitolem 5%			18,71	90,70
---	po sušení			5,98	119,10



**Obr. 179: Částice s 0,1% PEI-PEO po sušení (roztok koloidního stříbra, 5% mannitol)**



Obr. 180: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% PEI-PEO, 5% mannitol)

Tab. 105: Rozložení velikosti částic (roztok koloidního stříbra + 0,1% PEI-PEO, 5% mannitol)

Třída četnosti	Od	Do	Počet částic
	um	um	
1	0	5	1523
2	5	10	860
3	10	15	220
4	15	20	36
5	20	25	6
6	25	30	1
7	30	35	1
8	35	45	0
9	45	55	0
10	55	65	0
11	65	75	0
12	75	85	0
13	85	125	0
14	125	165	0

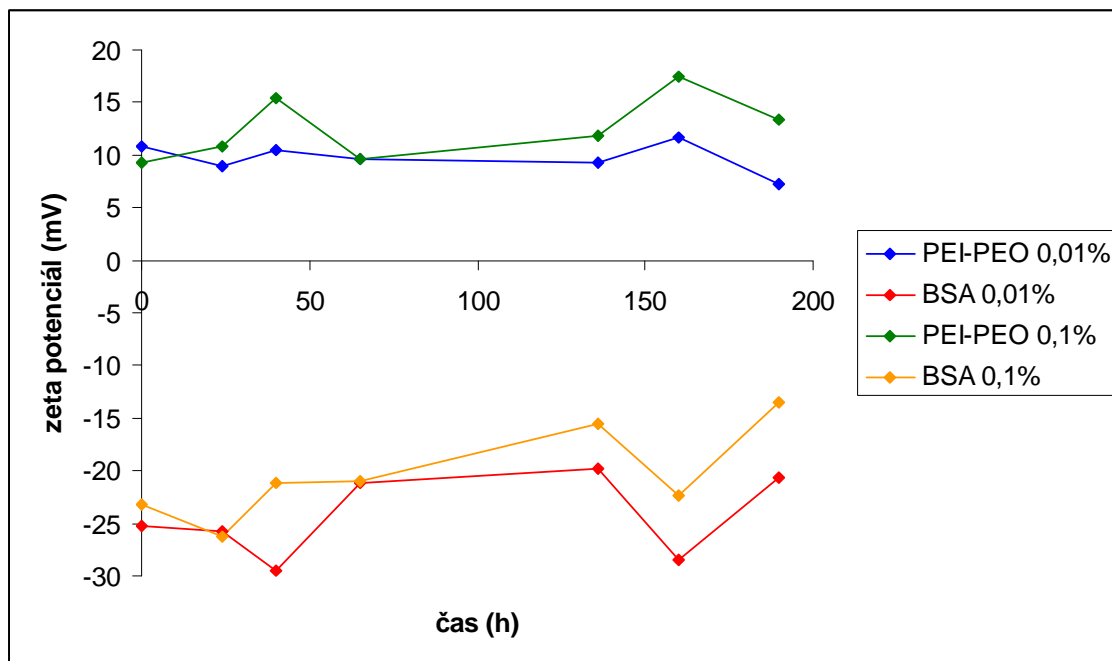
Statistické funkce: Střední průměr	
Základní jednotky	um
Minimum	0-5
Maximum	30-35
Průměr	5,04
Směrodatná odchylka	1,18
Medián	4,09

⇒ 0,1% PEO-PEI převrátil hodnotu zeta potenciálu do kladných hodnot. Velikost částic zůstala stabilní až do přidání mannitolu a do následné redispergace.

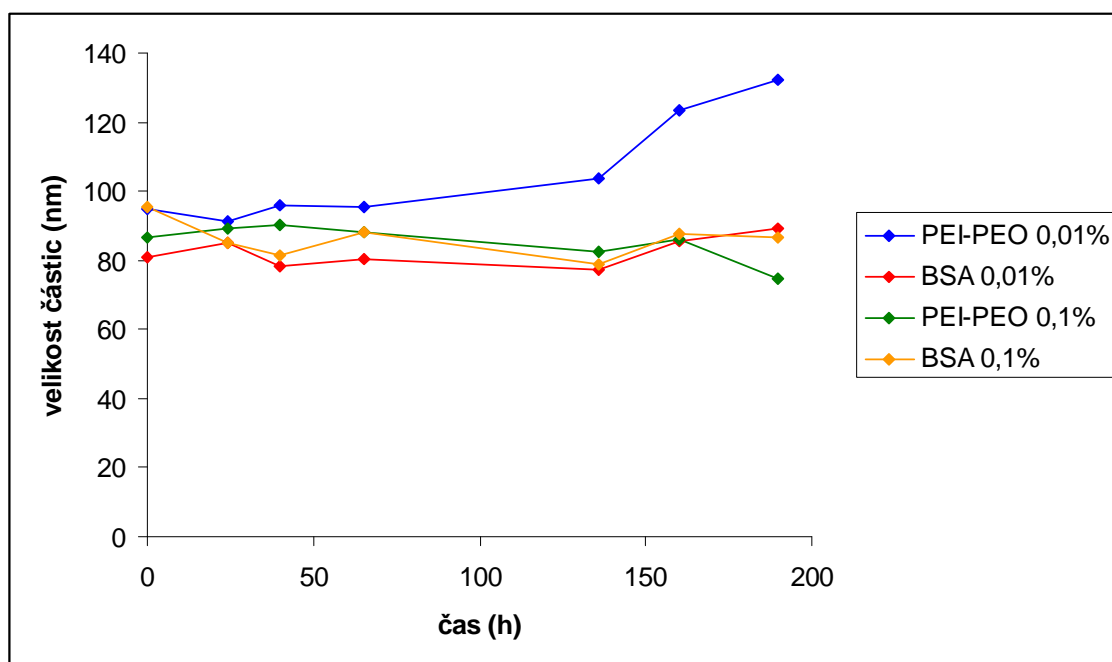
## Stabilita roztoků koloidního stříbra s BSA a PEI-PEO

Tab. 106: Roztoky koloidních částic stříbra s PEI-PEO a BSA - stabilitní test

Čas (h)	PEI - PEO 0,01 %		BSA 0,01%		PEI - PEO 0,1 %		BSA 0,1%	
	Zeta potenciál (mV)	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)	Velikost částic (nm)	Zeta potenciál (mV)	Velikost částic (nm)
0	10,80	94,63	-25,26	80,78	9,20	86,80	-23,12	95,52
24	9,03	91,06	-25,80	85,12	10,76	89,42	-26,28	84,83
40	10,51	96,07	-29,47	78,10	15,33	90,32	-21,20	81,63
65	9,63	95,47	-21,23	80,23	9,59	88,13	-21,07	88,36
136	9,26	103,60	-19,73	77,38	11,90	82,61	-15,57	78,79
160	11,72	123,40	-28,54	85,60	17,51	85,92	-22,43	87,60
190	7,22	132,40	-20,61	89,01	13,36	74,70	-13,55	86,58



Obr. 181: Zeta potenciál částic v roztocích s BSA a PEI-PEO



Obr. 182: Velikost částic v roztocích s BSA a PEI-PEO

⇒ Vyšší koncentrace obou tenzidů byla účinnější při zvyšování zeta potenciálu. U PEI-PEO to bylo směrem do stabilních hodnot u BSA se hodnoty snižovaly směrem k nule. Zároveň pro vyšší koncentraci tenzidu hodnota velikosti částic oscilovala kolem původní hodnoty vzorku před koncentrováním. Pro 0,01% koncentraci se velikost částic s časem zvyšovala.

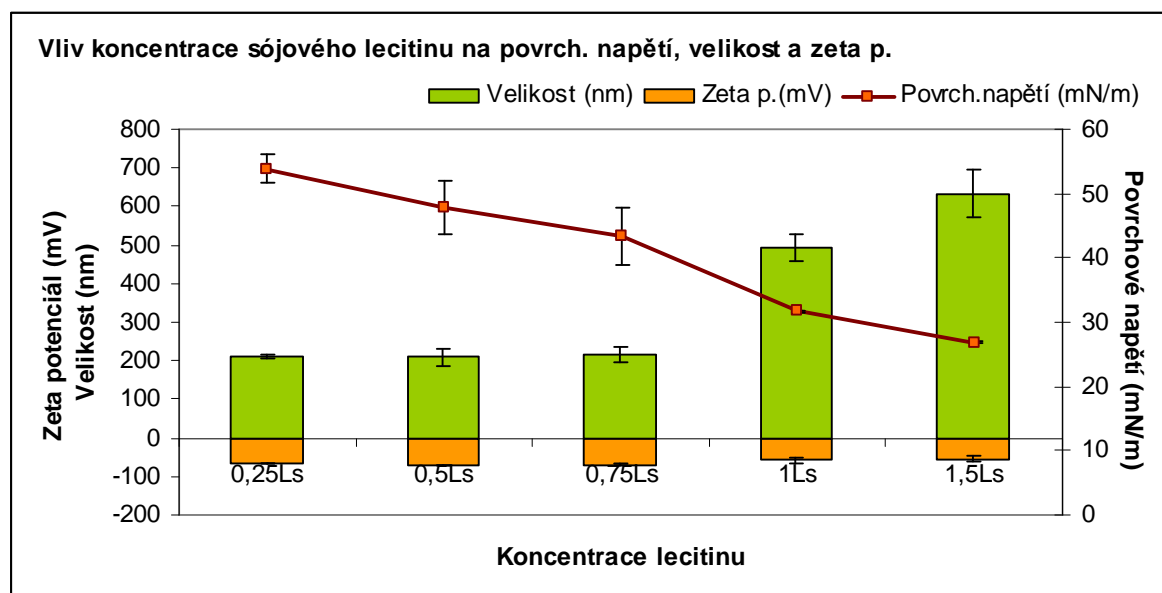


## 4.9 Povrchové napětí

Protože jsme v celé práci používali různé kombinace tenzidů, rozhodli jsme se proměřit povrchové napětí všech použitých kombinací a vztáhnout je k velikosti následně připravených částic a k jejich zeta potenciálu. Povrchové napětí bylo měřeno na tenziometru Krüss K 100 při teplotě 22°C +/- 2°C metodou měření kroužkem. Byla použita korekce výpočtu povrchového napětí podle Huh a Masona.

Tab. 107: Povrchové napětí vzorků o různé konc. sójového lecitinu

Lecitin	Povrch.napětí (mN/m)	Velikost (nm)	Zeta p.(mV)
0,25Ls	53,909	211,25	-68
0,5Ls	47,780	209,8	-71,265
0,75Ls	43,287	217,25	-69,665
1Ls	31,679	493,2	-58,76
1,5Ls	26,852	633,7	-55,915

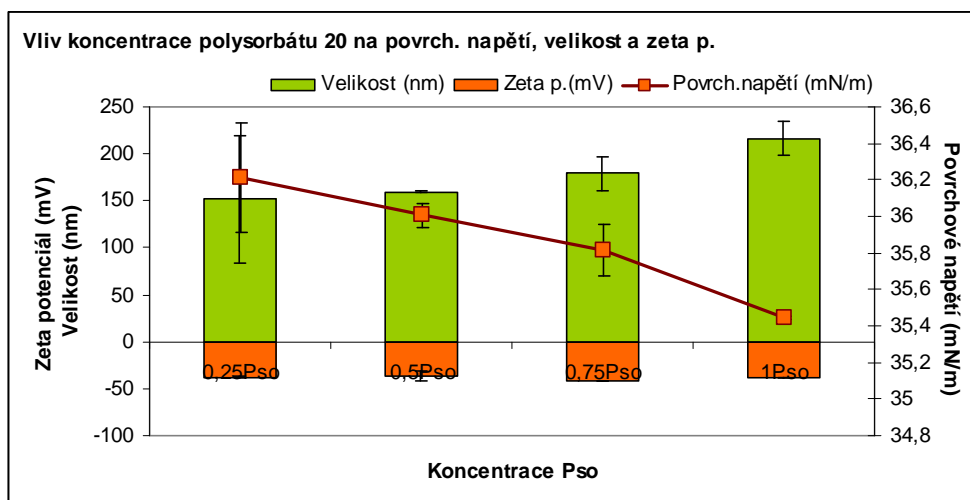


Obr. 183: Povrchové napětí vzorků o různé konc. sójového lecitinu

⇒ Čím větší bylo povrchové napětí tím menší částice vznikaly. Jako optimální pro přípravu nanočástic vyšla nejnižší použitá koncentrace lecitinu 0,25%. Nadbytek lecitinu tvořil micely, které již nepřispívali ke snižování povrchového napětí, ale naopak způsobily nárůst velikosti nanočástic.

Tab. 108: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci polysorbátu

Polysorbát	Povrch.napětí (mN/m)	Velikost (nm)	Zeta p.(mV)
0,25Pso	36,211	151,45	-38,09
0,5Pso	36,007	159,55	-36,64
0,75Pso	35,815	179,3	-41,7
1Pso	35,447	216,15	-38,4

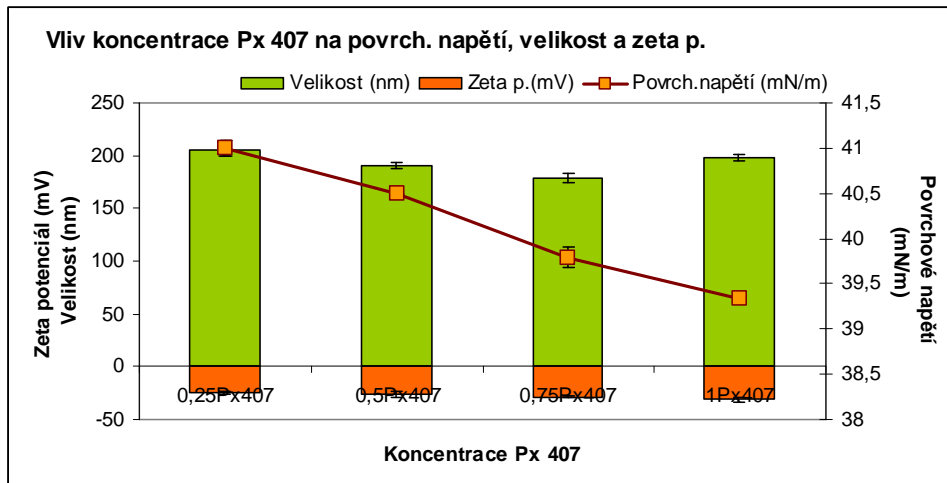


Obr. 184: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci polysorbátu

⇒ *Stejný efekt jaký byl pozorován u lecitinu, se uplatňuje i u polysorbátu. Není tak výrazný, ale trend je stejný.*

Tab. 109: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci poloxameru Px 407

Poloxamer 407	Povrch.napětí (mN/m)	Velikost (nm)	Zeta p.(mV)
0,25Px407	40,999	205,1	-24,75
0,5Px407	40,488	190,25	-26,62
0,75Px407	39,793	179,1	-28,775
1Px407	39,339	197,6	-31,41

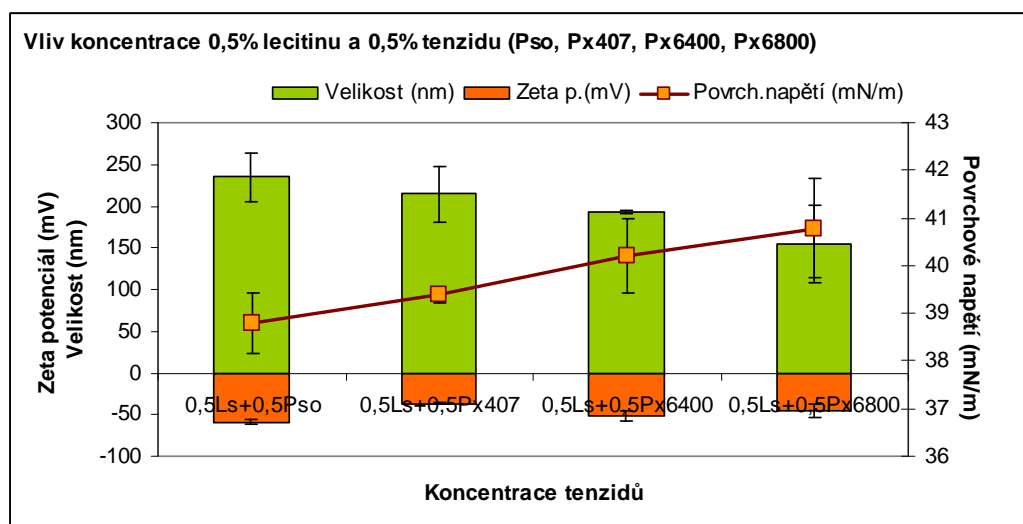


Obr. 185: Povrchové napětí vzorků o různé koncentraci poloxameru Px 407

⇒ *U poloxamerů byl vliv na velikost nevýrazný. Vyšší koncentrace ovlivnila spíše zeta potenciál směrem do zápornějších hodnot. Malé rozdíly v hodnotách oproti např. lecitinu jsou způsobeny strukturou poloxamerů. Jedná se neionický tenzid, který nemění výrazně náboj na povrchu nanočástic.*

**Tab. 110: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci sójového lecitinu a 0,5% druhého tenzidu**

0,5%Lsoj.+0,5%x	Povrch.napětí (mN/m)	Velikost (nm)	Zeta p.(mV)
<b>0,5Ls+0,5Pso</b>	38,799	235,2	-58,88
<b>0,5Ls+0,5Px407</b>	39,378	214,6	-37,095
<b>0,5Ls+0,5Px6400</b>	40,218	193	-52,015
<b>0,5Ls+0,5Px6800</b>	40,783	153,9	-46,32

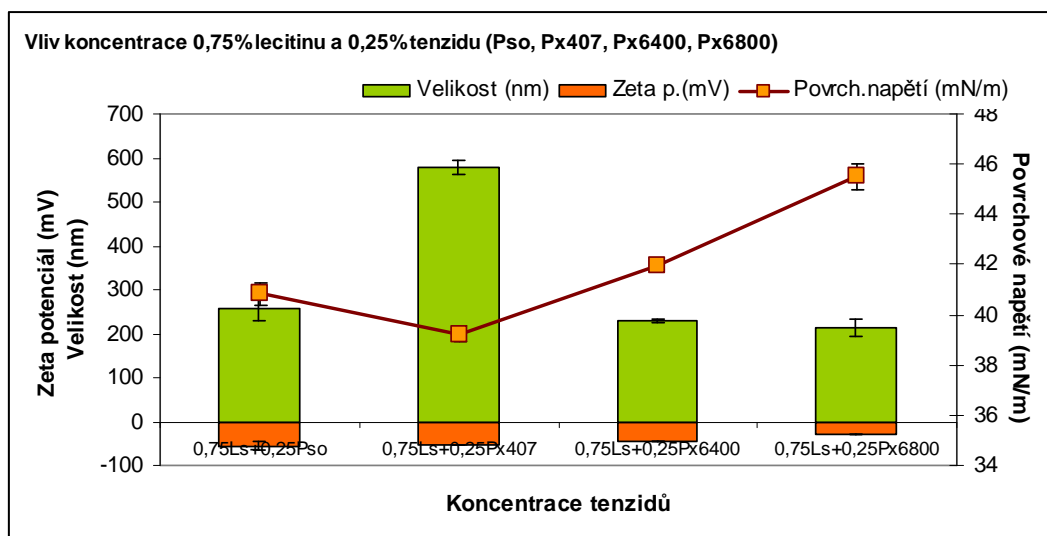


**Obr. 186: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci sójového lecitinu a 0,5% druhého tenzidu**

⇒ *Jako nejúčinnější se zdá být kombinace lecitinu s 0,5% Px 6800. Nicméně rozdíly v hodnotách povrchového napětí jsou tak malé, že je to statisticky neprůkazné.*

**Tab. 111: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci sójového lecitinu a 0,25% druhého tenzidu**

0,75Ls+0,25x	Povrch.napětí (mN/m)	Velikost (nm)	Zeta p.(mV)
<b>0,75Ls+0,25Pso</b>	40,829	258,55	-55,35
<b>0,75Ls+0,25Px407</b>	39,248	577,8	-51,475
<b>0,75Ls+0,25Px6400</b>	41,950	228,85	-44,51
<b>0,75Ls+0,25Px6800</b>	45,516	213,5	-30,51

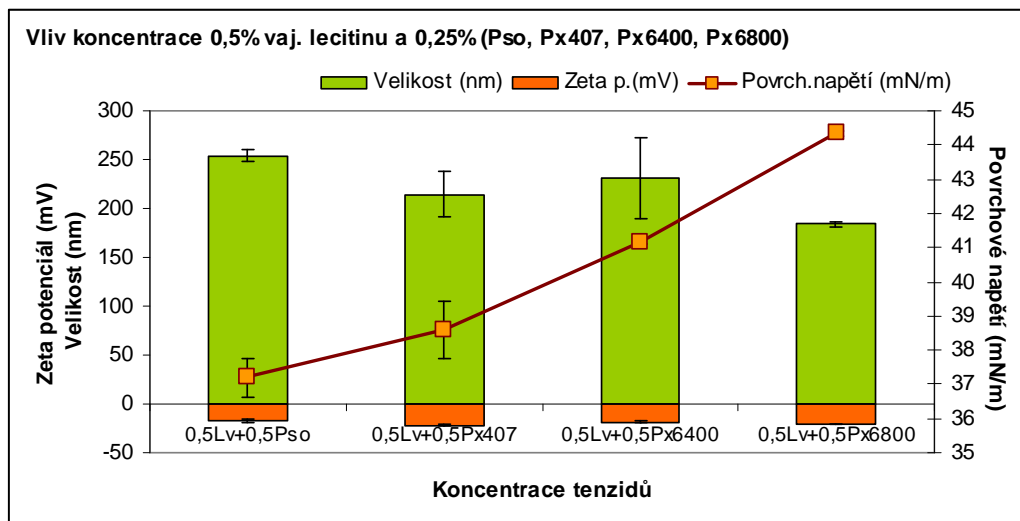


Obr. 187: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci sójového lecitinu a 0,25% druhého tenzidu

⇒ Pro 0,75% lecitin a 0,25% tenzid je nejvýhodnější z hlediska velikosti poloxamer 6400. Nicméně vyšší koncentrace lecitinu způsobuje rozkolísání hodnot a jeví se jako nevhodná pro další použití.

Tab. 112: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci vaječného lecitinu a 0,5% druhého tenzidu

0,5Lvaj+0,5%x	Povrch.napětí (mN/m)	Velikost (nm)	Zeta p.(mV)
0,5Lv+0,5Pso	37,209	253,95	-17,63
0,5Lv+0,5Px407	38,588	214,6	-21,99
0,5Lv+0,5Px6400	41,179	230,6	-18,425
0,5Lv+0,5Px6800	44,346	183,9	-20,54

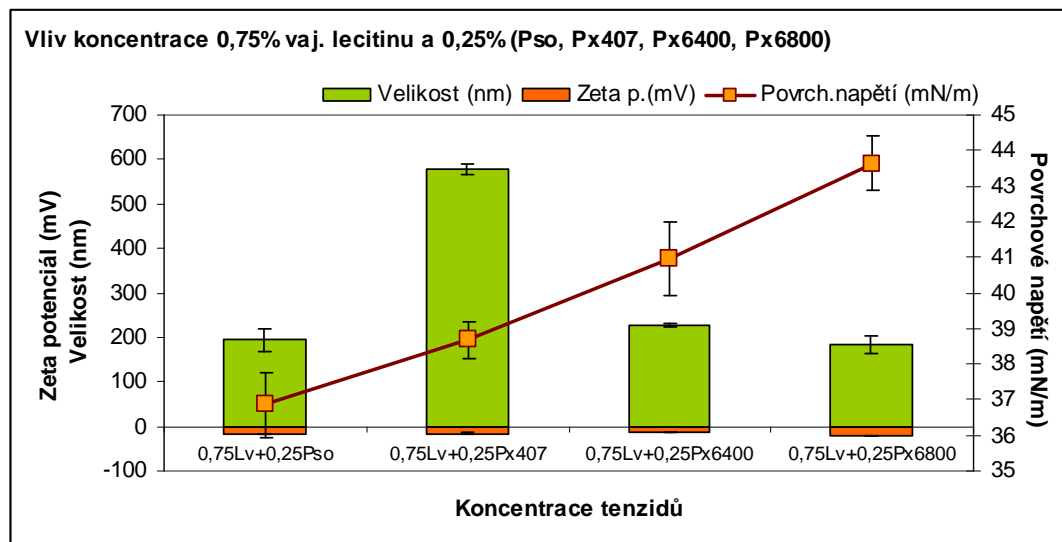


Obr. 188: Povrchové napětí vzorků o 0,5% koncentraci vaječného lecitinu a 0,5% druhého tenzidu

⇒ Povrchové napětí vaječného lecitinu a sójového lecitinu je zhruba stejné, velikost nanočástic také. Jen zeta potenciál je vaječným lecitinem snížený pod hranici stability.

Tab. 113: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci vaječného lecitinu a 0,25% druhého tenzidu

0,75Lvaj.+0,25%x	Povrch.napětí (mN/m)	Velikost (nm)	Zeta p.(mV)
0,75Lv+0,25Pso	36,849	193,65	-18,685
0,75Lv+0,25Px407	38,687	577,8	-15,32
0,75Lv+0,25Px6400	40,949	226,85	-14,51
0,75Lv+0,25Px6800	43,643	183,2	-21,105

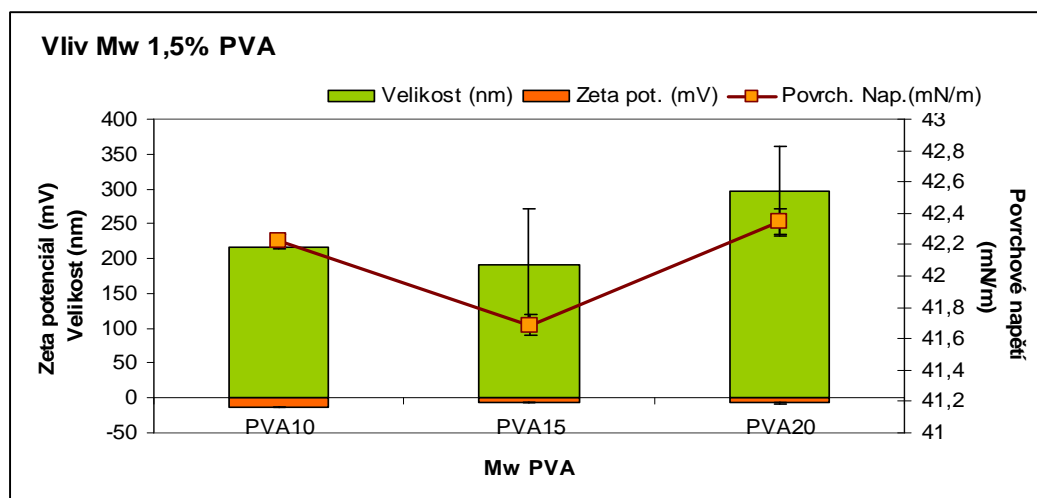


Obr. 189: Povrchové napětí vzorků o 0,75% koncentraci vaječného lecitinu a 0,25% druhého tenzidu

⇒ Vyšší koncentrace vaječného lecitinu působí stejné rozkolísání hodnot jako v případě lecitinu sojového. Pro další použití je tato kombinace i z důvodu nízkého zeta potenciálu nevhodná.

Tab. 114: Povrchové napětí 1,5% PVA o různých molekulových hmotnostech

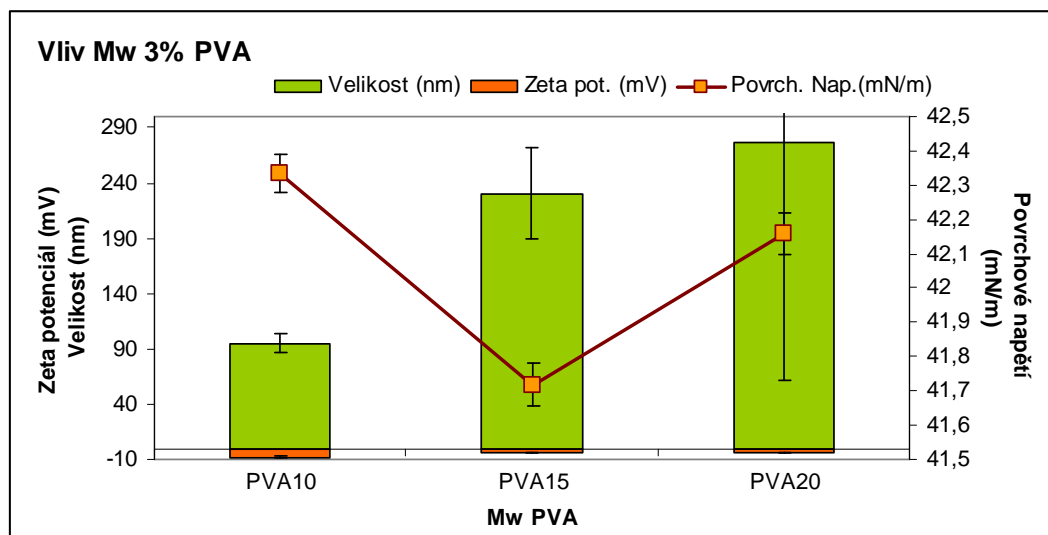
1,5% DCM	PVA10	PVA15	PVA20
Povrch. nap.(mN/m)	42,227	41,685	42,348
Velikost (nm)	217,35	192,05	296,8
Zeta pot. (mV)	-12,89	-6,3	-7,38



Obr. 190: Povrchové napětí 1,5% PVA o různých molekulových hmotnostech

Tab. 115: Povrchové napětí 3% PVA o různých molekulových hmotnostech

3% DCM	PVA10	PVA15	PVA20
Povrch. nap.(mN/m)	42,33424	41,71775	42,15646
Velikost (nm)	95,08	230,6	277,02
Zeta pot. (mV)	-7,915	-3,26	-3,285



Obr. 191: Povrchové napětí 3% PVA o různých molekulových hmotnostech

⇒ *Koncentrace PVA nemá vliv na povrchové napětí. Mění pouze velikost nanočástic a snižuje zeta potenciál. U PVA o Mn 15000 dochází k poklesu povrchového napětí přestože velikost se nijak výrazně nesnižuje.*

## 5 Závěr

V předložené disertační práci jsme se zabývali přípravou, stabilizací a koncentrováním polymerních nanočástic a nanočástic stříbra. Následně byly tyto disperze sušeny pomocí sprejové sušárny a poté byly mikročástice znovu převedeny do roztoku. V takové disperzi jsme sledovali velikost, zeta potenciál částic a jejich stabilitu v čase. Zkoumali jsme vliv povrchového napětí na velikost vznikajících částic a výběr vhodného nosiče pro převod vodné disperze na pevné mikročástice.

Výběr nejvhodnějšího nosiče pro mikročástice přinesl jednoduché řešení v podobě 5% mannitolového roztoku, který se sušil při 110 °C, při výkonu čerpadla 10%. Mannitol jako vhodný nosič je potvrzen i v práci [135] kolektivu Univerzity v Sydney jejíž pokus prokázal, že mannitolové částice jsou stabilní, málo kohezní a dobře se suší ve výsledný mikročásticový produkt. Ten samý závěr vzešel z práce [136] kde bylo potvrzeno, že částice neobsahující jako složku mannitol mají velikost 2,7  $\mu\text{m}$ , zatímco částice s mannitolem mají velikost 2,5  $\mu\text{m}$ . Velikost mikročástic se dále snižovala po přidání methanolu. Methanol má nižší teplotu varu – čím rychleji se nosný roztok vypaří tím menší částice v sušárně vzniknou. Další složky jako byl pentaerythritol nebo litesse vyžadovaly zvýšení sušící teploty. Xylitol na snížení velikosti vznikajících mikročástic nefungoval. Jako nejvhodnější kombinace se ukázal být 0,6% lecitin s 5% mannitolem. Velikost takto připravených částic byla ovlivněna ionickou povahou lecitinu. Mannitol se zároveň ukázal být vhodným nosičem i po stránce obsahu zbytkové vlhkosti viz. [137] – mannitol měl nižší obsah vlhkosti než trehalosa a laktosa.

Přípravu polymerních nanočástic provázelo srovnání větvených (M-18-M, 3P, 3D, 3M, 5P, 5D, 5T, PEU 1) a lineárních polymerů (PDLLA a PLGA). Jako výsledek nelze označit jeden polymer za nejvhodnější. Pro každou kombinaci polymer versus použité tenzidy je lepší jiný polymer. Zároveň se neprokázalo, že by větvené polymery oproti nevětveným měly při přípravě nanočástic výraznější výhodu. Velikosti byly ve všech případech srovnatelné. Výběr tenzidu také nepřinesl jednoznačný výsledek. Jako vhodná se ukázala být kombinace dvousložkové vodné emulgující fáze: kombinace 0,5% lecitinu a 0,5% druhého tenzidu – dobré výsledky poskytoval poloxamer 6800 a polysorbát 20. Dvě složky vykázaly větší účinnost z důvodu lepšího uspořádání na mezifázi a díky vyššímu povrchovému napětí pak vznikaly menší nanočástice. Během testování jsme srovnávali i původ emulgátoru jako je lecitin. Sójový i vaječný lecitin vykazovaly stejné rozdělení velikosti částic, výrazně se však lišily v zeta potenciálu. Zeta potenciál částic připravených s vaječným lecitinem nepřekročil hranici -22 mV. Zatímco sójový lecitin se pohyboval nad stabilní hranicí -35 mV. Dalším podrobněji zkoumaným emulgátorem byl polyvinylalkohol. Použili jsme tři vzorky o průměrné molekulové hmotnosti 10 000, 15 000 a 20 000. Čím větší byla molekulová hmotnost, tím větší částice vznikaly. Pravděpodobně je to způsobeno tím, že větších molekul se na mezifázi vejde méně a účinnost je tím nižší. Tato myšlenka je částečně podpořena proměřením povrchového napětí, kde vybočuje vzorek PVA 15 což může být způsobeno příměsí nečistot s kratším řetězcem.

K přípravě nanočástic s léčivem byl použit lipofilní terbinafin base. Jako mezní koncentrace, kterou již systém není schopen pojmout, byla určena 30% koncentrace terbinafinu base v olejové fázi. Takový systém byl nestabilní. Bylo potvrzeno, že s rostoucí koncentrací terbinafinu roste i velikost nanočástic. Velikost nanočástic se dala ovlivnit úpravou pH vodné fáze na pH 9. Přidání NaOH snížilo velikost částic o 170 nm, použití trolaminu o cca 60 nm. Úpravou pH došlo k větší disociaci solí včetně soli terbinafinu, která se pak snáze zabudovala do struktury nanočástic.

Koncentrování nanočástic probíhalo pomocí poly(akrylát-co-vinylalkoholu), což je gel, který je schopný pojmout 500-ti násobek své vlastní hmotnosti. U koncentrovaných částic se s časem výrazněji měnila polydisperzita a klesal zeta potenciál. Docházelo k méně výrazným změnám velikosti, které byly zapříčiněny hydrolyzou polymerní matrice. Ze studovaných parametrů stability bylo zjištěno, že konvekce kapaliny během sledovaného období nemění velikost částic. Rovněž změny teploty při skladování nemají výrazný vliv. Pro částice uchovávané při 37 °C klesal výrazněji pouze zeta potenciál, což mohlo být způsobeno rychlejším uvolněním tenzidů z povrchu částic. Pro teplotu uchovávání 7 °C byly výsledky chaotické.

Disperze nanočástic byla následně sušena sprejovou sušárnou. Po vyhodnocení parametrů sušených částic byly vzorky dispergovány do vodné disperze nebo do plasmatického média. Velikost částic ovlivnilo přidání mannitolu do disperze nanočástic. Sušení a následná redispergace změnili výrazněji pouze zeta potenciál. Což bylo způsobeno vyplavením tenzidu z povrchu částic. Velikost polymerních nanočástic se tedy výrazněji neměnila. Oproti až 50% nárůstu velikosti u nanočástic stříbra. Podobný vzestup velikosti – až 30% byl prokázán u želatinových nanočástic viz. [138].

Dalším část této práce je příprava nanočástic stříbra. Příprava probíhala dvěma způsoby: redukcí stříbrných iontů pomocí maltózy a pomocí borohydrátu sodného. Maltóza poskytovala nanočástice okolo 35 nm, borohydrát sodný nevyhověl – vzorek obsahoval dva píky a výsledky nebyly reprezentativní. Koncentrace disperze částic stříbra není dostatečná pro další mikrobiologické testování, proto byla koncentrována pomocí poly(akrylát-co-vinylalkoholu). Změny teploty neovlivnily nasávací schopnost polymeru. Použití stabilizátorů (1% poloxameru 407, 1% hydrolyzátu želatiny a 0,5% polyvinylalkoholu) mělo opačný efekt na stabilitu systému. Zeta potenciál klesl pod hranici stability (-35 mV až +35 mV) a současně s tím vzrostla velikost nanočástic. Sušení a následná redispergace zvýšily velikost částic a snížily zeta potenciál výrazněji než u polymerních nanočástic. Snížení teploty při přidání mannitolu zpomalilo agregaci částic. Oproti původnímu vzorku velikost sice vzrostla, ale nárůst byl menší než při teplotě 22 °C a výrazně menší než u teploty 37 °C. Vyšší teplota urychlila termický pohyb nanočástic, čímž se zrychlil proces agregace.

Koncentrování pomocí poly(akrylát-co-vinylalkoholu) probíhalo lineárně. Absorpční schopnost polymeru je výraznější než změny teploty. Zpomalením při testování koncentrování stříbrné disperze oproti blanku bez nanočástic, bylo malé snížení způsobené ucpáváním pórů polymerní struktury gelu. Při koncentrování došlo na začátku k prudkému nárůstu velikosti částic. V průběhu koncentrování se pak velikost postupně snižovala nicméně nedosáhla na původní velikost před zahájením koncentrování.

Při koncentrování vznikaly agregáty, které způsobily zvětšení velikosti mikročástic vzniklých sušením vodné disperze. Současně se zvýšila i polydisperzita vznikajících mikročástic. Pro sušení byly otestovány stabilizátory: 1% beta glukan, který disperzi oproti očekávání vysrážel; 0,03% chitosan, který převrátil zeta potenciál do kladných (nestabilních) hodnot, zároveň se tím dvojnásobně zvýšila velikost, po redispergaci se část chitosanu z povrchu částic vyplavila a zeta potenciál klesl. U 0,01% hydrolyzátu želatiny se po sušení a redispergaci velikost překvapivě snižovala, což bylo způsobeno pravděpodobně hydrolyzou želatiny v průběhu sušení. Kratší fragmenty želatiny jsou účinnější a poskytují tak menší nanočástice. Přidání 0,1% BSA (bovinního sérového albuminu) nezvýšilo ani velikost ani zeta potenciál. BSA



se tak ukázal jako nejvhodnější z použitých stabilizátorů. Podobně jako v práci [139] Gdaňské Univerzity bylo prokázáno že přidavek emulgátoru (v případě citované práce polyvinylalkoholu) zvyšuje stabilitu systému a snižuje velikost částic. Pro sušení byla testována 5% a 10% mannitolová disperze. Nižší koncentrace mannitolu v disperzi ovlivnila velikost vznikajících částic o 10 nm níž oproti 10% roztoku mannitolu, kde byla velikost nanočástic o 20 nm větší oproti disperzi nanočástic původních-bez přidaného mannitolu.

Povrchové napětí bylo studováno s ohledem na použité tenzidy a jejich směsi ve vztahu k velikosti a zeta potenciálu vznikajících nanočástic. Bylo prokázáno, že čím vyšší bylo povrchové napětí tím menší nanočástice vznikaly [140]. Jako optimální pro přípravu nanočástic byla vyhodnocena 0,25% (0,5%) koncentrace lecitinu. Vyšší koncentrace tvořily micely, které již dále nepřispívaly ke změnám povrchového napětí, ale naopak působily nárůst velikosti nanočástic. Polysorbát ovlivňoval velikost stejně jako lecitin (čím nižší koncentrace tenzidu, tím vyšší povrchové napětí roztoku a tím menší velikost vznikajících nanočástic). U poloxamerů byl vliv na velikost nevýrazný. Bylo to způsobeno strukturou poloxamerů – jedná se o neionický tenzid, který výrazně nemění náboj na povrchu částic. Jako nejúčinnější byla potvrzena kombinace 0,5% sójového lecitinu a 0,5% poloxameru 6800.

## **Seznam publikací**

Šnejdrová E., Dittrich M., Valentová E.: Influence of Plasticizer type and Concentration on acyclovir release from Branched oligoester. *Folia pharmaceutica Universitatis Carolinae*. Prague : Univerzita Karlova, 1988-. ISSN: 1210-9495; 1212-5121 (elektronická verze) ISBN: 1210-9495; 1212-5121 (elektronická verze), č. 35-36, s. 7-14, 2007.

Kvítek L., Vaníčková M., Panáček A., Soukupová J., Dittrich M., Valentová E., Pucek R., Bancířová M., Milde D., Zbořil R.: Initial Study on the Toxicity of Silver Nanoparticles (NPs) against *Paramecium caudatum*. *J. Phys. Chem. C* **113**, 4296, 2009.

## **Použitá literatura**

- [1] Fahlman B.D.: Materials Chemistry. New York: Springer-Verlag. Vol. 1, p 282-283, 2007.
- [2] Ashby M. F., Paulo J. S. G. Ferreira, Daniel L. Schodek: Nanomaterials, nanotechnologies and design: an introduction for engineers and architects, Butterworth-Heinemann, [ISBN 0750681497](#), 2009.
- [3] Scheffel U., Rhodes B.A., Natarajan T.K., et al: Albumin microspheres for study of the reticuloendothelial system. J Nucl Med 13, 498-503, 1972 in Egbaria K., Friedman M.: Sustained in vitro activity of human albumin microspheres containing chlorhexidine dihydrochloride against bacteria from cultures of organisms that cause urinary tract infections. Antimicrob agents and chemotherapy, Vol 34, No. 11, 2118-2121, 1990
- [4] Couvreur P., Tulkens P., Roland M., Trouet A. and Spenser P.: Nanocapsules: A new type of lysosomotropic carrier, FEBS Letters, Vol. 84, No 2, str. 323-326, 1977.
- [5] Taniguchi N.: "On the basis concept of nanotechnology", Proc. Int. Conf. on Production Engineering, Part 2, Tokyo, JSPE, 1974
- [6] IUPAC. Compendium of Chemical Terminology, 2nd ed. (the "Gold Book"). Compiled by McNaught A. D. and Wilkinson A. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1997). XML on-line corrected version: <http://goldbook.iupac.org> (2006-) created by Nic M., Jirat J., Kosata B.; updates compiled by Jenkins A. ISBN 0-9678550-9-8. doi:10.1351/goldbook.
- [7] Kreuter J.: Nanoparticles as drug delivery system. In: Nalwa HS, editor. Encyclopedia of nanoscience and nanotechnology. New York: American Scientific Publishers. Vol. 7, p 161-180, 2004.
- [8] Salata O.V.: Applications of nanoparticles in biology and medicine. Journal of Nanobiotechnology 2: 1 – 6, 2004.
- [9] Breunig M, Bauer S, Goepferich A.: Polymers and nanoparticles: Intelligent tools for intracellular targeting? European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 68: 112 – 128, 2008.
- [10] Dulac O.M.D., Alvarez J-C: Bioequivalence of a New Sustained-Release Formulation of Sodium Valproate, Valproate Modified-Release Granules, Compared with Existing Sustained-Release Formulations After Once- or Twice- Daily Administration. Pharmacotherapy, Volume: 25, Issue: 1, 35-41, 2005.
- [11] Micha J.P., Goldstein B.H., Birk C.L., Rettenmaier M.A, Brown J.V.: Abraxane in the treatment of ovarian cancer: The absence of hypersensitivity reactions. Gynecologic Oncology, Volume 100, Issue 2, February 2006, Pages 437-438, 2006.
- [12] Packhaeuser C.B., Kissel T.: On the design of in situ forming biodegradable parenteral depot systems based on insulin loaded dialkylaminoalkyl-amine-poly(vinyl alcohol)-g-poly (lactide-co-glycolide) nanoparticles. Journal of Controlled Release 123 (2007) 131–140, 2007.
- [13] Fonseca C., Simões S., Gaspara R.: Paclitaxel-loaded PLGA nanoparticles: preparation, physicochemical characterization and in vitro antitumoral activity, Journal of Controlled Release 83 (2002) 273–286, 2007.
- [14] Kanchan V., Panda A.K.: Interactions of antigen-loaded polylactide particles with macrophages and their correlation with the immune response. Biomaterials 28, 5344–5357, 2007.

- [15] Niwa T., Takeuchi H., Hino T., Nohara M., Kawashima Y.: Biodegradable submicron carriers for peptide drugs: Preparation of DL-lactide/glycolide copolymer (PLGA) nanospheres with nafarelin acetate by a novel emulsion-phase separation method in an oil system. *International Journal of Pharmaceutics* 121 (1995) 45-54, 1994.
- [16] Hussein G.A., Pitt W.G.: Micelles and nanoparticles for ultrasonic drug and gene delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60, 1137–1152, 2008.
- [17] Kreuter J.: Nanoparticles a historical perspective. *International Journal of Pharmaceutics* Vol 331, Issue 1, 22, 1-10, 2007.
- [18] Anton N., Bendit J.P., Saulnier P.: Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates A review. *Journal of Controlled Release* 128, 185–199, 2008.
- [19] Anton N., Bendit J.P., Saulnier P.: Design and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates—A review, *Journal of Controlled Release* 128, 192, 2008.
- [20] Feczko T., Tóth J., Gyenis J.: Comparison of the preparation of PLGA–BSA nano- and microparticles by PVA, poloxamer and PVP. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* Vol. 319, 188–195, 2008.
- [21] Kwon H.-Y., Lee J.-Y., Choi S.-W., Jang Y., Kim J.-H.: Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification–diffusion Method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. Vol 182, 123–130, 2001.
- [22] Bodmeier R., McGinity J.W.: Solvent selection in the preparation of poly(D,L-lactide) microspheres prepared by the solvent evaporation Method. *Int. J. Pharm.* 43 (1988) 179–186. in Arshaday R., Preparation of porous and nonporous biodegradable polymeric hollow microspheres, *J. Control. Rel.* 17, 1–22, 1991.
- [23] Lazko J., Poponesu Y., Renard D., Legrand J.: Microcapsules based on glycinin-sodium dodecyl sulfate complex coacervation. *Journal of Microencapsulation*, Vol 21 (1): 59-70, 2004.
- [24] Legrand P., Lesieur S., Bochet A., Gref R., Raatjes W., Barratt G., Vauthier Ch.: Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation. *International Journal of Pharmaceutics* 344, 33–43, 2007.
- [25] Duclairoir C., Irache J.M., Nakache E., Orecchioni A.M., Chabenat Ch., Gliadin Y.P.: Nanoparticles: formation, all- trans-retinoic acid entrapment and release, size optimization. *Polymer International* Vol 48, Issue 4 , 327 – 333.
- [26] Wartlick H., Spänkuch-Schmitt B., Strebhardt K., Kreuter J., Langer K.: Tumour cell delivery of antisense oligonucleotides by human serum albumin nanoparticles, *Journal of Controlled Release*. Vol 96, Issue 3, 483-495, 2004.
- [27] Azarmia S., Huang Y., Chend H., McQuarria S., Abramse D., Road W., Finlay W.H., Millera G.G., Löbenberga R.: Optimization of a two-step desolvation method for preparing gelatin nanoparticles and cell uptake studies in 143B osteosarcoma cancer cells, *J Pharm Pharmaceut Sci* (www.cspscanada.org) 9(1):124-132, 2006.
- [28] Liua T., DeSimonea J.M., Roberts G.W.: Cross-linking polymerization of acrylic acid in supercritical carbon dioxide. *Polymer* Vol 47, Issue 12, 4276-4281, 2006.

- [29] Gul R.M.: Comparison of peroxides used for cross-linking ultra high molecular weight polyethylene. *European Polymer Journal* Vol 35, Issue 11, 2001-2005, 1999.
- [30] Reitza C., Kleinebudde P.: Solid lipid extrusion of sustained release dosage forms. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* Vol 67, Issue 2, 440-448, 2007.
- [31] Randolph T.W., Randolph A.D., Mebes M., Yeung S.: Sub-micron-sized biodegradable particles of poly(L-lactic acid) via the gas antisolvent spray precipitation process. *Biotech- nol. Prog.* 9, 429–435, 1993.
- [32] Couvreur P., Kante B., Roland M.: Les perspectives d'utilisa-tion des formes microdisperses´ comme vecteurs intracel-lulaires, *Pharm. Acta Helv.* 53, 341–347, 1978.
- [33] Couvreur P., Kante B., Roland M., Goit P., Bauduin P., Speiser P.: Polycyanoacrylate nanocapsules as potential lysosomotropic carriers: preparation, morphology and sorp-tive properties. *J. Pharm. Pharmacol.* 31, 331–332, 1979.
- [34] Lherm C., Muller R.H., Puiseux F., Couvreur P.: Alkylcyanoacrylate drug carriers: II. Cytotoxicity of cyanoacrylate nanoparticles with different alkyl chain length, *Int. J. Pharm.* 84, 13–22, 1992.
- [35] De Keyser J.-L., Poupaert J.H., Dumont P.: Poly(diethyl methylidenemalonate) nanoparticles as a potential drug carrier: preparation, distribution and elimination after intravenous and peroral administration to mice, *J. Pharm. Sci.* 80, 67–70, 1991.
- [36] Mabela T.K.M., Poupaert J.H., Dumont P., Haemers A.: Development of poly(dialkyl methylidenemalonate) nanoparticles as drug carriers, *Int. J. Pharm.* 92, 71–79, 1993.
- [37] Breton P., Roy D., Marchal-Heussler L., Seguin C., Couvreur P., Lescure F.: New poly(methylidene malonate 2.1.2) nanoparticles: Recent developments, in: G. Gre-goriadis, B. McCormack, G. Poste (Eds.), *Targeting of Drugs, Advances in System Constructs*, Vol. 4, Plenum Press, New York, 161–172, 1994.
- [38] Calvo P., Remunan-Lopez C., Vila-Jato J.L., Alonso M.J.: Novel hydrophilic chitosan and chitosan / polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J. Appl. Polym. Sci.* 63, 125–132, 1997.
- [39] Calvo P., Boughaba A.S., Appel M., Fattal E., Alfonso M.J., Couvreur P.: Oligonucleotide–chitosan nanoparticles as new gene therapy vector. *Proc. 2nd World Meeting APCI /APV Paris*, 1111–1112, 1998.
- [40] Calvo P., Remunan-Lopez C., Vila-Jato J.L., Alonso M.J.: Chitosan and chitosan / ethylene oxide–propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm. Res.* 14, 1431–1436, 1997.
- [41] Fernandez-urrusuno R., Calvo P., Remunan-Lopez C., Vila-Jato J.L., Alfonso M.J.: Enhancement of nasal absorption of insulin using chitosan nanoparticles. *Pharm. Res.* 16, 1576–1591, 1999.
- [42] Couvreur P., Grislain L., Lenaerts V., Brasseur F., Guiot P. in: P. Guiot, P. Couvreur (Eds.), *Polymeric Nanoparticles and Microspheres*, CRC Press, Boca Raton, Florida, 1986.
- [43] Kreuter J., Nanoparticles, in: J. Kreuter (Ed.), *Colloidal Drug Delivery Systems*, Marcel Dekker, New York, 219–342, 1994.

- [44] Peppas L.B.: Recent advances on the use of biodegradable microparticles and nanoparticles in the controlled drug delivery, *Int. J. Pharm.* 116, 1–9, 1995.
- [45] Uhrich K.E., Cannizzaro S.M., Langer R.S., Shakesheff K.M.: Polymeric systems for controlled drug release. *Chem. Rev.* 99, 3181–3198, 1999.
- [46] Torchilin V.P.: Polymer-coated long-circulating microparticle late pharmaceuticals, *J. Microencapsul.* 15, 1–19, 1998.
- [47] Raney D.F.: Biomimetic transport, rational drug delivery. *Biochem. Pharmacol.* 59, 105-114, 2000.
- [48] Zimmer A., Kreuter J.: Microspheres and nanoparticles used in ocular drug delivery systéme. *Adv. Drug. Deliv. Rev.* 16, 61–73, 1995.
- [49] Arshady R.: *Biodegradable polymers*, Vol 2, Citus Limited, London 2003, str. 7
- [50] Monfardini C., Veronese F.M.: Stabilization of substances in circulation, *Bioconjug. Chem.* 9, 418–450, 1998.
- [51] Soppimath K. S., Aminabhavi T. M., Kulkarni A. R., Rudzinski W. E.: Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery device. *Journal of Controlled Release*, Vol 70, 1–20, 2001.
- [52] Frazza E., Schmidt E.: A new absorbable suture, *J. Biomed. Mater. Res. Symp.* 1971, 1, 43-58 in Reza Arshady, *Biodegradable polymers*, Vol 2, Citus Limited, London 2003, str. 72
- [53] Donaldson K., Stone V., Tran C., L., Kreyling W., Borm P., A., J.: Nanotoxicology, *Occup. Environ. Med.* 61, 727, 2004.
- [54] Nel A., Xia T., Madler L., Li N.: Toxic Potential of Materials at the Nanolevel, *Science*, 311, 622, 2006.
- [55] Oberdorster G., Oberdorster E., Oberdorster J.: Concepts of Nanoparticle Dose Metric and Response Metric, *J. Environ. Health Perspect.*, 113, 823, 2005.
- [56] Albrecht M., A., Evans C., W., Raston C., L.: Green chemistry and health implications of nanoparticles, *Green Chem.*, 8, 417, 2006.
- [57] Rickerby D., G., Kortison M.: Nanotechnology and the environment: A European perspective, *Sci. Technol. Adv. Mater.*, 8, 19, 2007.
- [58] Lee H., J., Yeo S., Y., Jeong S., H.: Preparation of nanocomposite fibers for permanent antibacterial effect *J. Mater. Sci.*, 38, 2199, 2003.
- [59] Silver S.: Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds, *FEMS Microbiol. Rev.*, 27, 341, 2003.
- [60] Griffitt R., J., Luo J., Gao J., Bonzongo J., C., Barber D., S.: Effect of particle composition and species on toxicity of metallic nanomaterials in aquatic organism, *Environ. Toxicol. Chem.*, 27, 1972, 2008.
- [61] Navarro E., Baun A., Behra R., Hartmann N., B., Filser J., Miao A. J., Quigg A., Santschi P., H., Sigg L.: Environmental behaviour and ecotoxicity of engineered nanoparticles to algae, plants and fungi, *Ecotoxicology*, 17, 372, 2008.
- [62] Panáček A., Kvítek L., Pucek R., Kolář M., Večeřová R., Pizurová N., Sharma V., K., Nevěčná T., Zbořil R.: Silver colloid nanoparticles: Synthesis, Characterization and Their Antibacterial Activity, *J. Phys. Chem. B*, 110, 16248, 2006.
- [63] Alt V., Bechert T., Steinrucke P., Wagner M., Seidel P., Dingeldein E., Domann E., Schnettler R.: An in vitro assessment of the antibacterial

- properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement, *Biomaterials*, 25, 4383, 2004.
- [64] Braydich-Stolle L., Hussain S., Schlager J., J., Hofmann M., C.: In Vitro Cytotoxicity of Nanoparticles in Mammalian Germline Stem Cells, *Toxicol. Sci*, 88, 412, 2005.
- [65] Catalo W., J., Hoover D., G., Vargas D.: *Aquat. Toxicol.*, 29, 291, 1994
- [66] Abraham-Peskir J., V.: Structural changes in fully hydrated. *Chilomonas paramecium* exposed to copper, *Eur. J. Protistol.*, 34, 51, 1998.
- [67] Bernal J., Ruvalcaba S.: Pharmacological prevention of acute lead poisoning in *Paramecium*, *Toxicology*, 108, 165, 1996.
- [68] Fenske C., Daeschlein G., Gunther B., Knauer A., Rudolph P., Schwahn C., Adrian V., et al.: Comparison of different biological methods for the assessment of ecotoxicological risks, *Int. J. Hyg. Environ. Health*, 209, 275, 2006.
- [69] Carlson C., Hussain S., M., Schrand A., M., Braydich-Stolle L., K., Hess K., L., Jones R., L., Schlager J., J.: Unique Cellular Interaction of Silver Nanoparticles: Size-Dependent Generation of Reactive Oxygen Species, *J. Phys. Chem. B*, 112 (43), pp 13608–13619, 2008.
- [70] Kvítek L., Průček R., Panáček A., Novotný R., Hrbáč J., Zbořil R.: The influence of complexing agent concentration on particle size in the process of SERS active silver colloid synthesis, *J. Mater. Chem.*, 15, 1099, 2005.
- [71] Kvítek L., Panáček A., Soukupová J., Kolář M., Večeřová R., Pucek R., Holecová M., Zbořil R.: Effect of Surfactants and Polymers on Stability and Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles (NPs), *J. Phys. Chem. C*, 112 (15), pp 5825–5834, 2008.
- [72] O. Fischer a kol.: *Fyzikální chemie*, SPN Praha, 1983
- [73] <http://chemikalie.upol.cz/skripta/fch/Koloidy.doc>, 2.1.2009
- [74] <http://fch.upol.cz/skripta/kol/koch.pdf>, 2.1.2009
- [75] Lee P.,C., Meisel D.: Adsorption and Surface-Enhanced Raman of Dyes on Silver and Gold Sols', *J. Phys. Chem.*, 86, 3391-3395, 1982.
- [76] Graham D., Smith W.E., Linacre A.M.T., Munro C.H., Watson N.D., White P.C.: Selective detection of deoxyribonucleic acid at ultralow concentrations by SERRS, *Anal Chem.*, 69, 4703-4707, 1997.
- [77] Jones J.C., McLaughlin C., Littejohn D., Sadler D.A., Graham D., Smith W.E.: Quantitative assessment of surface-enhanced resonance Raman scattering for the analysis of dyes on colloidal silver, *Anal Chem*, 71, 596, 1999.
- [78] Feng Z.C., Liang C.H., Li M.J., Chen J., Li C.: Surface-enhanced Raman scattering of xanthopterin adsorbed on colloid silver, *J Raman Spectrosc*, 32, 1004, 2001.
- [79] Maruyama Y., Ishikawa M., Futamata M.: Surface- enhanced Raman scattering of single adenine molecules on silver colloidal particles, *Chem Lett*, 834-835, 2001.
- [80] Kneipp K., Wang Y., Dasari R.R., Feld M.S.: An approach to single molecule detection using surface-enhanced resonance Raman scattering (SERRS) : a study using rhodamine 6G, *Appl Spectrosc*, 49, 780, 1995.
- [81] Munro C.H., Smith W.E., Garner M., Clarkson J., White P.C.: Characterization of the Surface of a Citrate-Reduced Colloid Optimized for Use as a Substrate for Surface-Enhanced Resonance Raman Scattering, *Langmuir* 11, 3712, 1995.

- [82] James T.H., et al. In the Theory of the Photographic Process, MacMillan Publishing Co., New York, 1977
- [83] Saito Y., Wang J.J., Batchelder D.N., Smith D.A.: Simple Chemical Method for Forming Silver Surfaces with Controlled Grain Sizes for Surface Plasmon Experiments, *Langmuir*, 19, 6857, 2003.
- [84] Yu D., Wing-Wah Yam V.: Hydrothermal-Induced Assembly of Colloidal Silver Spheres into Various Nanoparticles on the Basis of HTAB-Modified Silver Mirror Reaction, *J Phys Chem B*, 109, 5497, 2005.
- [85] Jensen T.R., Kelly L., Lazarides A., Schatz G.C.: Electrodynamics of noble metal nanoparticles and nanoparticle clusters, *J Clust Sci*, 10, 295, 1999.
- [86] Esumi K., Ishizuki N., Torigoe K., Nakamura H., Meguro K.: Preparation of colloidal silver using various reductants in the presence of copolymers of vinyl alcohol-n-vinyl pyrrolidone, *J Appl Polym Sci*, Vol 44, 1003, 1992.
- [87] Pastoriza-Santos I., Liz-Marzan L.M.: Formation and Stabilization of Silver Nanoparticles through Reduction by N,N-dimethylformamide, *Langmuir*, 15, 948, 1999.
- [88] Pastoriza-Santos I., Liz-Marzan L.M.: Reduction of Silver by DMF. Formation of Monolayers and Stable Colloids, *Pure Appl Chem*, 72, 83, 2000.
- [89] Pastoriza-Santos I., Liz-Marzan L.M.: Formation of PVP-Protected Metal Nanoparticles in DMF, *Langmuir*, 18, 2888, 2002.
- [90] Rodriguez-Gattorno G., Diaz D., Rondon L., Hernandez-Segura G.O.: Metallic Nanoparticles from Spontaneous Reduction of Silver(I) in DMSO. Interaction between Nitric Oxide and Silver Nanoparticles, *J Phys Chem B*, 106, 2482, 2002.
- [91] Garell R.L.: Surface enhanced Raman spectroscopy, *Anal Chem*, 61, A401, 1989.
- [92] Merklin G.T., Griffiths P.R.: Effect of Microscopic Surface Roughness in Surface Enhanced Infrared Absorption Spectrometry, *J Phys Chem B*, 101, 5810, 1997.
- [93] Parfenov A., Gryczynski I., Malicka J., Geddes C.D., Lakowicz J.R.: Enhanced fluorescence from fluorophores on fractal silver surfaces, *J Phys Chem B*, 107, 8829, 2003.
- [94] Schultz D.A.: , *Curr Opin Biotechnol*, 14, 13, 2003.
- [95] Vaškėlis A., Jagminiene A., Tamašauskaite L., Juškeenas R.: Silver nanostructured catalyst for modification of dielectrics surface, *Elektrochim Acta*, 50, 4586, 2005.
- [96] Mallick K., Withcomb M., Scurrill M.: Silver nanoparticle catalysed redox reaction: An electron relay effect, *Mat Chem Phys*, 97, 283, 2006.
- [97] Takato M., Shusuke A., Haruhiko M., Tomoo M., Koichiro J., Kiyotomi K.: Supported Silver-Nanoparticle-Catalyzed Highly Efficient Aqueous Oxidation of Phenylsilanes to Silanols, *Angew Chem Int Edit*, 47 (41), 7938, 2008.
- [98] Rammani S.P., Kumar J.V., Prasat Reddy K.H., Rama Rao K.S., Sai Prasat P.S.: *Catal Commun*, 9, 76, 2008.
- [99] Vankeirsbilck T., Vercauteren A., Baeyens W., G. Van der Weken, Verpoort F., Vergote G., Remon J.P.: Applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical analysis, *TrAC Trend Anal Chem*, 869, 2002.



- [100] Wang Y., Li Y.S., Zhang Z.X., An D.Q.: Surface-enhanced Raman scattering of some water insoluble drugs in silver hydrosols, *Spectrochim Acta A*, 59, 589, 2003.
- [101] Haes A. J., Van Duyne R. P.: A Nanoscale Optical Biosensor: Sensitivity and Selectivity of an Approach Based on the Localized Surface Plasmon Resonance Spectroscopy of Triangular Silver Nanoparticles, *J Am Chem Soc.*, Vol 124, 10596, 2002.
- [102] Popa M., Pradell T., Crespo D., Calderón-Moreno J. M.: Stable silver colloidal dispersions using short chain polyethylene glycol, *Coll Surf A: Phys Eng Asp*, Vol 303, 184, 2007.
- [103] Alvarez-Ros M. C., Sanchez-Cortez S., Francioso O., Garcia-Ramos J. V.: , *Canadian J of Anal Sci and Spectr*, Vol 48, 132, 2003.
- [104] Pradhan N., Pal A., Pal T.: Silver nanoparticle catalyzed reduction of aromatic nitro compounds, *Coll Surf A: Phys Engin Asp*, Vol 196, 247, 2002.
- [105] Kundu S., Mandal M., Ghosh S. K., Pal T.: Photochemical deposition of SERS active silver nanoparticles on silica gel and their application as catalysts for the reduction of aromatic nitro compounds, *J Colloid Int Sci*, Vol 272, 134, 2004.
- [106] Neu H. C.: The Crisis in Antibiotic Resistance, *Science*, Vol 257, 1064, 1992.
- [107] Percival S. L., Bowler P. G., Russel D.: Bacterial resistance to silver in wound care, *J Hosp Infect*, Vol 60, 1, 2005.
- [108] Feng Q. L., Wu J., Chen G. Q., Cui F. Z., Kim T. N., Kim J. O.: A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *J Biomed Mater Res*, Vol 52, 662, 2000.
- [109] Holt K. B., Bard A. J.: Interaction of Silver(I) Ions with the Respiratory Chain of *Escherichia coli*: An Electrochemical and Scanning Electrochemical Microscopy Study of the Antimicrobial Mechanism of Micromolar Ag<sup>+</sup>, *Biochemistry*, Vol 44, 13214, 2005.
- [110] Ulkur E., Oncul O., Karagoz H., Yeniz E., Celikoz B.: Comparison of silver-coated dressing (Acticoat), chlorhexidine acetate 0.5% (Bactigras), and fusidic acid 2% (Fucidin) for topical antibacterial effect in methicillin-resistant *Staphylococci*-contaminated, full-skin thickness rat burn wounds, *Burns*, Vol 31, 874, 2005.
- [111] Parikh D. V., Fink T., Rajasekharan K., Sachinvala N. D., Sawhney A. P. S., Calamari T. A., Parikh A. D.: Antimicrobial Silver/Sodium Carboxymethyl Cotton Dressings for Burn Wounds, *Text Res J*, Vol 75, 134, 2005.
- [112] Alt V., Bechert T., Steinrucke P., Wagener M., Seidel P., Dingeldein E., Domann U., Schettler R.: An in vitro assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement, *Biomaterials*, Vol 25, 4383, 2004.
- [113] Jain P., Pradeep T.: Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter, *Biotechnol Bioeng*, Vol 90, 59, 2005.
- [114] Han D. W., Lee M. S., Lee M. H., Uzawa M., Park J. Ch.: , *World J Microbiol Biotechnol*, Vol 21, 921, 2005.
- [115] Jeong S. H., Hwang Y. H., Yi S. Ch.: , *J Mater Sci*, Vol 40, 5407, 2005.
- [116] Chou W. L., Yu D. G., Yang M. C.: The preparation and characterization of silver-loading cellulose acetate hollow fiber membrane for water treatment, *Polym Adv Technol*, Vol 16, 600, 2005.

- [117]Český lékopis 2002, Grada Publishing, a.s., Praha 2003
- [118]Micromeritics Analytical Services, The Particle Testing Authority, Norcross, USA, [http://www.particletesting.com/particle\\_size.aspx#SA](http://www.particletesting.com/particle_size.aspx#SA), cit 28.8.2007
- [119]Rawle, Alan: Particle Sizing – An Introduction, <http://www.silver-colloids.com/Tutorials/psintro.html>, cit 28.8.2007
- [120]Dragoo A. L. et al.: A critical assessment of requirements for ceramic powder characterization, Advances in Ceramics 21, Ceramic Powder Science, 1987.
- [121]Finsy R., Particle sizing by quasi-elastic light scattering. Advances in Colloid and Interface Science, Vol. 52, 79-143, 1994.
- [122]Sheu, T.Y., Rosenberg, M.: Microencapsulation by spray drying ethyl caprylate in whey protein and carbohydrate wall systems, J. Food Sci. 60(1), 98-103, 1995.
- [123]Williams-Gardner, A.: Industrial Drying, Chemical and Process Engineering Series, Leonardo Hill, London 1971.
- [124]Dziezak, J.D.: Microencapsulation and encapsulated ingredients, Food Technology 42 (4), 136-148, 1988.
- [125]Niro A-S, Soeborg, Dánsko, [http://www.niro.com/ndk\\_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB\\_Spray\\_Drying.pdf/\\$file/GB\\_Spray\\_Drying.pdf](http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/$file/GB_Spray_Drying.pdf) cit 28.8.2007
- [126]Dziezak, J.D.: Microencapsulation and encapsulated ingredients, Food Technology 42 (4), 136-148, 1988.
- [127]Niro A-S, Soeborg, Dánsko, [http://www.niro.com/ndk\\_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB\\_Spray\\_Drying.pdf/\\$file/GB\\_Spray\\_Drying.pdf](http://www.niro.com/ndk_website/NIRO/CMSResources.nsf/filenames/GB_Spray_Drying.pdf/$file/GB_Spray_Drying.pdf) cit 28.8.2007
- [128]Traub, Darren A.: Spray Dryers, Part 1, Bensenville, USA, 2001, [http://www.process-heating.com/CDA/Articles/Drying\\_Files](http://www.process-heating.com/CDA/Articles/Drying_Files), cit 20.9.2005
- [129]Narayan P, Marchant D, Wheatley MA. Optimization of spray drying by factorial design for production of hollow microspheres for ultrasound imaging. J Biomed Mater Res. 5; 56(3):333-41, 2001.
- [130]Prior S., Gamazo C., Irache J. M., Merkle H. P., Sander B.: Gentamicin encapsulation in PLA/PLGA microspheres in view of treating Brucella infections International Journal of Pharmaceutics. Volume 196, Issue 1, 25, 115-125, 2000.
- [131]Dziezak, J.D.: Microencapsulation and encapsulated ingredients, Food Technology 42 (4), 136-148, 1988.
- [132]Bhandari, B.R., Dumoulin, E.D., Richard, H.M.J., Noleau, I. And Lebert, A.M.: Flavor encapsulation by spray drying: application to citral and linalyl acetate, J Food Sci. 57(1), 1992, 217-221 in [http://www.wsu.edu:8080/~gmhyde/433\\_web\\_pages/drying-web-pages98/spray-dry/microencapsulation.htm](http://www.wsu.edu:8080/~gmhyde/433_web_pages/drying-web-pages98/spray-dry/microencapsulation.htm), cit 4.9.2007
- [133]King E., Cameron R. E.: Effect of hydrolytic degradation on the microstructure of poly(glycolic acid): An X-ray scattering and ultraviolet spectrophotometry study of wet samples ultraviolet. Journal of Applied Polymer Science, Volume 66, Issue 9, 1681 – 1690, 1998.
- [134]Protokol z měření: Analýza polyesterů metodou SEC-MALS, Š., Podzimek, SYNPO, 2006
- [135]Adia H., Younga P.M., Hak-Kim Chana, Agusb H., Trainia D.: Co-spray-dried mannitol–ciprofloxacin dry powder inhaler formulation for cystic

- fibrosis and chronic obstructive pulmonary diseases. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol 40, Issue 3, 239-247, 2010.
- [136] Bruschia M.L., Cardoso M.L.C., Lucchesi M.B., Gremião M.P.D.: Gelatin microparticles containing propolis obtained by spray-drying technique: preparation and characterization. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 264, Issues 1-2, 45-55, 2003.
- [137] Jensen D.M.K., Cun D., Maltesena M.J., Frokjaera S., Nielsen H.M., Foged C.: Spray drying of siRNA-containing PLGA nanoparticles intended for inhalation. *Journal of Controlled Release*, Vol 142, Issue 1, 138-145, 2010.
- [138] Shama J.O.H., Zhang Y., Finlay W.H., Roa W.H., Löbenberg R.: Formulation and characterization of spray-dried powders containing nanoparticles for aerosol delivery to the lung. *International Journal of Pharmaceutics*, Vol 269, Issue 2, 457-467, 2004.
- [139] Zielińska A., Skwarek E., Zaleska A., Gazdac M., Hupka J.: Preparation of silver nanoparticles with controlled particle. *Procedia Chemistry* Vol 1, Issue 2, Pages 1560-1566, 2009.
- [140] Samsonov V.M et al.: Size dependence of the surface tension and the problem of Gibbs thermodynamics extension to nanosystem. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, Vol 239, 113–117, 2004.