

Usporedba stabilnosti emulzija ulje/voda u šaržnom reaktoru i mikroreaktoru

Češi, Martin

Undergraduate thesis / Završni rad

2020

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology / Sveučilište u Zagrebu, Prehrambeno-biotehnološki fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:159:926234>

Rights / Prava: [Attribution-NoDerivatives 4.0 International/Imenovanje-Bez prerada 4.0 međunarodna](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-11**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Food Technology and Biotechnology](#)



Sveučilište u Zagrebu
Prehrambeno-biotehnološki fakultet
Preddiplomski studij Prehrambena tehnologija

Martin Češi

7510

**Usporedba stabilnosti emulzija ulje/voda u šaržnom
reaktoru i mikroreaktoru**

ZAVRŠNI RAD

Predmet: Mjerenje i upravljanje procesima u prehrambenoj industriji

Mentor: doc. dr. sc. *Davor Valinger*

Zagreb, 2020.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Završni rad

Sveučilište u Zagrebu

Prehrambeno-biotehnološki fakultet

Preddiplomski sveučilišni studij Prehrambena tehnologija

Zavod za procesno inženjerstvo

Laboratorij za mjerenje, regulaciju i automatizaciju

Znanstveno područje: Biotehničke znanosti

Znanstveno polje: Prehrambena tehnologija

Usporedba stabilnosti emulzija ulje/voda u šaržnom reaktoru i mikoreaktoru

Martin Češi, 7510

Sažetak:

Cilj ovog istraživanja bio je usporediti proces emulgacije ulje/voda (s otopljenim polietilen glikolima različitih molekulskih masa) u šaržnom reaktoru te u mikoreaktoru s pasivnim miješalima, volumena 2 μL , mjerenjem zeta potencijala nastalih emulzija. Prilikom oba tipa eksperimenta korišteni su polietilen glikoli (PEG-ovi) molekulskih masa 1500, 6000 i 20000 otopljeni u vodenoj fazi koncentracija 0,2; 0,7; 1; 2 % (w/w) koja je iznosila 71 % ukupnog volumena emulzije, a ostatak od 29 % bila je uljna faza. Dok je za šaržni proces praćen utjecaj molekulske mase PEG-a, koncentracije otopljenog PEG-a u vodi te brzine miješanja (22000, 28000 i 35000 okr min^{-1}), za mikoreaktorski sustav praćen je utjecaj molekulske mase PEG-a, koncentracije otopljenog PEG-a u vodi te ukupnog protoka uljne i vodene faze u mikoreaktoru (200, 300 i 400 $\mu\text{L min}^{-1}$). Rezultati su pokazali da emulzije proizvedene u šaržnom reaktoru imaju veću stabilnost s najvišim izmjerenim zeta potencijalom od -88,3 mV, dok je u mikoreaktorskom sustavu najveća vrijednost bila -71,3 mV. Procijenjeni optimalni parametri za šaržni eksperiment iznosili su: PEG 1500, koncentracije 0,2 % (w/w) pri brzini miješanja 35000 okr min^{-1} , dok su za mikoreaktorski sustav bili: PEG 1500, koncentracije 0,2 % (w/w) pri ukupnom protoku od 200 $\mu\text{L min}^{-1}$.

Ključne riječi: emulgacija, šaržni reaktor, mikoreaktor, polietilen glikol, metoda odzivnih površina

Rad sadrži: 28 stranica, 11 slika, 20 literaturnih navoda

Jezik izvornika: hrvatski

Rad je u tiskanom i elektroničkom obliku pohranjen u knjižnici Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: doc. dr. sc. Davor Valinger

Pomoć pri izradi: doc. dr. sc. Ana Jurinjak Tušek

Datum obrane: 1. srpnja 2020.

BASIC DOCUMENTATION CARD

Bachelor thesis

University of Zagreb

Faculty of Food Technology and Biotechnology

University undergraduate study Food Technology

Department of Process engineering

Laboratory for Measurement, Control and Automatisation

Scientific area: Biotechnical Sciences

Scientific field: Food technology

Comparison of oil/water emulsion stability in batch reactor and microreactor

Martin Češi, 7510

Abstract:

The aim of this study was to compare the oil/water emulsification process (with dissolved polyethylene glycols of different molecular weights) in a batch reactor and in a microreactor with passive mixers, volume of 2 μL , by measuring the zeta potential of the resulting emulsions. Polyethylene glycols (PEG-s) with molecular weights of 1500, 6000 and 20000 dissolved in the aqueous phase at concentrations of 0.2; 0.7; 1 and 2 % (w/w) were used in both types of experiments which was 71 % of total volume and the remaining 29 % was the oil phase. While for the batch process the influence of PEG molecular weight, dissolved PEG concentration in water and mixing speed (22000, 28000 and 35000 rpm) were monitored, for microreactor system the influence of PEG molecular weight, dissolved PEG concentration and total flow of oil and aquaous phase (200, 300 and 400 $\mu\text{L min}^{-1}$) were monitored. The results showed that the emulsions produced in the batch reactor had higher stability with the highest measured zeta potential of -88.3 mV, while in the microreactor system the highest observed value was -71.3 mV. The estimated optimal parameters for the batch experiment were: PEG 1500, concentration 0.2 % (w/w) at a stirring speed of 35000 rpm, while for the microreactor system optimal parameters were: PEG 1500, concentration 0.2 % (w/w) at total flow of 200 $\mu\text{L min}^{-1}$.

Keywords: emulsification, batch reactor, microreactor, polyethylene glycol, response surface method

Thesis contains: 28 pages, 11 figures, 20 references

Original in: Croatian

Thesis is in printed and electronic form deposited in the library of the Faculty of Food Technology and Biotechnology, University of Zagreb, Kačićeva 23, 10 000 Zagreb

Mentor: PhD. Davor Valinger, Assistant professor

Technical support and assistance: PhD. Ana Jurinjak Tušek, Assistant professor

Defence date: July 1th 2020

SADRŽAJ

1. UVOD.....	1
2. TEORIJSKI DIO.....	2
2.1 Emulzije	2
2.2 Stabilnost emulzija.....	2
2.3 Emulgatori.....	3
2.4 Polietilen glikol (PEG).....	3
2.5 Šaržno emulgiranje.....	4
2.6 Mikroreaktorski sustavi.....	5
2.7 Uvećanje mjerila.....	6
2.8 Mješalice mikroreaktorskih sustava.....	6
2.9 Zeta potencijal.....	7
2.10 Metoda odzivnih površina (RSM – Response surface methodology).....	7
3. EKSPERIMENTALNI DIO.....	8
3.1 Materijali.....	8
3.1.1 Kemikalije.....	8
3.1.2 Laboratorijski pribor.....	8
3.1.3 Uređaji.....	8
3.1.4 Software.....	9
3.2 Metode.....	9
3.2.1 Priprema uzoraka.....	9
3.2.2 Mjerenje zeta potencijala.....	10
3.2.3 Metoda odzivnih površina (RSM – Response surface methodology).....	11

4.	REZULTATI I RASPRAVA.....	12
4.1	Šaržno emulgiranje.....	12
4.2	Mikroreaktorsko emulgiranje.....	14
4.3	Optimalni uvjeti za šaržnu i mikroreaktorsku emulgaciju.....	17
5.	ZAKLJUČAK.....	25
6.	POPIS LITERATURE.....	26

1. UVOD

Zbog potražnje smanjenja energetske potrebe u procesima emulgiranja, znanstvenici rješenje vide u mikroemulzijama. One su termodinamički stabilne i izotopne otopine koje nastaju agregacijom hidrofobnih i hidrofilnih skupina molekula emulgatora (Flanagan i Singh, 2006). Emulzije se klasično proizvode šaržno uz pomoć homogenizatora koji mehaničkim miješanjem stvara smično i udarno naprezanje. No, neujednačeno naprezanje u sustavu i smik daju emulzije niske učinkovitosti inkapsuliranja. U svrhu uklanjanja nedostataka šaržnog procesa, predlaže se korištenja mikroreaktorskih sustava kao rješenje iz područja mikroprotočnog inženjerstva. Mikroreaktori već u početku pogoduju time što je veličina opreme smanjenja čime se postižu velike uštede. Također se njihovom primjenom povećava sigurnost u pogonu i manje opterećenje na okoliš, te sam proces pogoduje sposobnošću brzog miješanja reaktanata i preciznog dodavanja reagenasa u sustav u određenim vremenskim periodima (Pohar i Plazl, 2009). Mikroreaktorskom primjenom postiže se inkapsulacija kontrolom veličine, brzine i broja nastalih kapljica temeljenom na spontanom procesu nastajanja viskoznog naprezanja zbog međufaznog naprezanja na granici faza nastalo strujanjem (Vladisavljević i sur., 2014).

U ovom radu cilj je bio usporediti preko izmjerenih zeta potencijala nastaju li stabilnije emulzije u mikroreaktoru u odnosu na šaržne procese i uz pomoć metode odzivnih površina odrediti optimume odnosa parametara poput koncentracija emulgatora određenih molekulskih masa te brzine miješanja za šaržni proces i koncentracije emulgatora određenih molekulskih masa te brzine protoka za mikroreaktorski proces.

2. TEORIJSKI DIO

2.1 Emulzije

Emulzije su danas visoko prisutne u raznim industrijama kao što su prehrambena, petrokemijska, farmaceutska itd. Opisuje ih se kao disperzni sustavi vrste tekućina-tekućina u kojoj razlikujemo disperznu ili inertnu fazu i disperzno sredstvo u kojima se te dvije faze ne miješaju. Usprkos tome da ih najčešće opisujemo kao smjesu vode i ulja, emulzije također sadržavaju čestice topljive u vodi ili ulju te druge krute i plinovite tvari (Akbari i Nour, 2018). Emulzije mogu pokazivati različite karakteristike od vremena nastanka do vremena inverzije faza. Mogu se razlikovati po tome koja je od dviju tekućina disperzna faza, a koja sredstvo i po tome mogu biti V/U (voda/ulje), U/V (ulje/voda) i složene emulzije. Na temelju veličine čestica disperzne faze razlikujemo mikroemulzije, koje su termodinamički stabilne i njima su veličine čestica od 0,01 μm do 0,5 μm , i makroemulzije kojima su veličine čestica od 0,5 μm do 100 μm (Lovrić, 2003). Veličina čestica u emulziji utječe na njezinu stabilnost i reološka svojstva (Goodarzi i Zendeheboudi, 2019). Najčešće prisutne emulzije su U/V (ulje u vodi).

2.2 Stabilnost emulzija

Ulje i voda se ne miješaju te se sferične kapljice ulja raspodjeljuju u vodenoj fazi jer mehaničkim miješanjem tih dviju faza dolazi do povećavanja dodirne površine faza i stvaranja kapljica uljne faze. Faze se ne miješaju i smjesa je zbog toga nestabilna jer dvije tekućine nastoje smanjiti dodirnu površinu i na poslijetku dolazi do razdvajanja faza tako da je prilikom procesa stvaranja emulzije potrebno znatno povećati dodirnu površinu faza te smanjiti površinsku napetost između dviju faza (Kale i Daore, 2017). To postizemo procesom emulgacije pri kojem se ulaže rad proporcionalan površinskoj napetosti i povećanju površine čestica. Rad se ulaže ručnim ili mehaničkim miješanjem pri čemu razbijamo uljnu fazu na kapljice određene veličine pomoću smicanja ili udarnog naprezanja u svrhu dobivanja što stabilnije smjese pri kojem su veličine čestica manje, ali dovoljno velike da proizvode Brownovo gibanje te da nemaju tendenciju

naknadne agregacije i taloženja koja prethodi ponovnom odvajanju faza (Goodarzi i Zendeboudi, 2019). Metode emulgacije mehaničkim putem mogu biti ultrazvukom, visokim tlakom, uz pomoć mikroreaktora te metodom inverzija faza (Daore i Kale, 2017). Emulgiranjem pomoću mikroreaktorskih sustava je lako dobiti dobiti kapljice veličina koje upućuju na termodinamički stabilniji sustav u relativno kratkom vremenu uz malu potrošnju reagenasa.

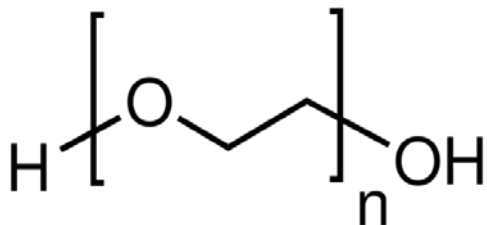
2.3 Emulgatori

Emulgatori su tvari kojima povećavamo stabilnost emulzija. To su površinski aktivne tvari koje se adsorpiraju na graničnu površinu vodene ili uljne faze i mijenjaju naboj jedne strane čestice u odnosu na drugi kraj (Goodarzi i Zendeboudi, 2019). Zbog toga dolazi do orijentiranja lipofilnih grupa prema uljnoj fazi i hidrofilnih grupa prema vodenoj fazi. Time usporavaju, električnom ili mehaničkom energetsom barijerom, međusobno povezivanje istih globula i na taj način stabiliziraju smjesu i čine ju duže homogenom (Herceg, 2011). Mogu biti kationski, anionski i amfoterni. Emulgatore za određene smjese biramo prema HLB broju (*Hydrophile-Lyphophile Balance*) koji opisuje topljivost u fazama emulzije (Lovrić, 2003). HLB vrijednosti veće od 10 upućuju da emulgator ima veći afinitet prema vodi, a manji od 10 prema ulju. U prehrambenim industrijama, kao što su mljekarstvo, konditori ili tehnologije ulja i masti, nastojimo stabilizirati emulzije radi kvalitete proizvoda zbog poboljšavanja okusa, poboljšavanja izgleda proizvoda te radi produljenja njegovog senzoričkog i nutritivnog roka trajanja. Uz to sve emulgatori ne smiju sami po sebi utjecati okus namirnica ili imati neki drugi štetan učinak na čovjeka kao što su alergijske reakcije ili kancerogeno djelovanje.

2.4 Polietilen glikol (PEG)

Polietilen glikol je sinteski, netoksični, hidrofobni polimer koji je zbog svoje elektrokemijske strukture (Slika 1.) i svojstava visokokorišten u farmaceutskoj industriji i medicini kao emulgator i stabilizator ili kao stacionarna faza u plinskoj kromatografiji. Omogućuju dobru uklapanje aktivnih tvari u njihovu polimernu matricu, a zbog topljivosti u vodi i bubrenja imaju mogućnost

održavanja i stvaranja viskoznog medija i gelova. Koriste se kao bioadhezivi zbog liofilnih i hidrofilnih skupina u polimernoj strukturi i zato omogućuju stabilnost smjesa ulje/voda (Pustak, 2010). Vrlo su praktični zbog niske cijene i učinkovitosti. Proizvodi se polimerizacijom etilen oksida te se sintetiziraju spojevi različitih i velikih molekularnih masa, no mogu se i diskretno polimerizirati jedne određene molekulske mase.



Slika 1. Polietilen glikol (PEG)

2.5 Šaržno emulgiranje

Diskontinuirani način provedbe procesa emulgiranja je pomoću roto-statorskih mješalica koje imaju mogućnost homogeniziranja zbog postizanja visokih brojeva okretaja. Emulgacija se odvija na principu dovođenja rada u sustav kroz određeni vremenski period mehaničkim mješanjem gdje dolazi do razbijanja čestica udarnim naprezanjem gdje se ulje razbija na sitinije kapljice što čini smjesu stabilnijom (Carrillo, 2015). Šaržna emulgacija je manje praktičan proces u odnosu na kontinuiranu. Potrebno je duže vrijeme s obzirom da se nakon svake šarže mješalica mora gasiti i dovesti nova šarža, te je potrošnja kemikalija veća u odnosu na mikroreaktorsko emulgiranje.

2.6 Mikroreaktorski sustavi

Jedan od načina provedbe i praćenja procesa emulgacije je uz pomoć mikroreaktorskih sustava pomoću smicanja i udarnog naprezanja. Mikroreaktori se sastoje od mreže minijaturnih kanala promjera od 10 do 500 μm (Šalić i Zelić, 2018). Služe za odvijanje raznih kemijskih procesa u industrijama poput prehrambene, farmaceutske ili petrokemijske. Mikroreaktorski kanali mogu biti kružnog ili pravokutnog presjeka, a to ovisi o planiranoj namjeni mikroreaktorskog sustava (Jurinjak Tušek, 2013). Obično su izrađeni od materijala prilagođenih vrsti reakcija koji se u njima odvijaju, a ti materijali mogu biti staklo, silicij ili polimeri kao što su dimetilsiloksan ili tetrafluoretilen (Geyer i Seeberger, 2009). Stakleni mikroreaktori su povoljni za vizualni pregled tijekom reakcija i za fotokemijske reakcije, dok oni od silicija imaju dobru toplinsku vodljivost (Geyer i Seeberger, 2009). Mikroreaktorski sustavi se pojavljuju u obliku mikrokapilarnog reaktora i mikroreaktorskog čipa (Šalić i Zelić, 2018). Pločicu s urezanim kanalićima nazivamo mikroreaktorski element, a element ugrađen u kućište čini čip. Kućište mikroreaktora omogućuje fiksiranost elementa i lakše spajanje dodatne opreme kao što su cijevčice i precizne klipne pumpe koje služe za konitunirani dovod reagenasa u sustav (Jurinjak Tušek, 2013). Kućišta čipova se najčešće rade od nehrđajućeg čelika. Mikrokapilarni reaktori se izrađuju od cijevi željene duljine i materijala za željenu reakciju, a oni u verziji čipova se proizvode tehnikama mikrourezivanja, vlažnog jetkanja ili meke litografije (Suryawanshi i sur., 2018). Primjena mikroreaktora je vrlo praktična zbog mogućnosti preciznog praćenja odvijanja reakcija, bržeg prikupljanja informacija o reakcijama te je sama iskoristivost procesa velika. U mikroreaktorskim sustavima prilikom emulgacije je moguće kontrolirati smično naprezanje te zbog velike prisutnosti površinske napetosti u kapilarama omogućeno je kontinuirano dobivanje kapljica istih dimenzija. Također je i sam proces provođenja reakcija u mikroreaktorima ekonomičniji zbog manje potrošnje reagenasa i mogućnosti primjenjen manjih strojeva koji služe za induciranje toplinske energije kod nekih reakcija (McMilan i Velve-Casquillas, 2016).

2.7 Uvećanje mjerila

Budući da su dobiveni volumeni u mikroreaktorima premali za potrebe proizvodnje, primjenjuju se metode prebacivanja sustava u veće mjerilo, koje su vrlo jednostavne kod mikroreaktorskih sustava. Metode prebacivanja u veće mjerilo su *scale-up* pri čemu se manji mikroreaktorski sustavi zamjenjuju većima ili *scale-out* gdje se povećava broj mikroreaktora istih volumena (McMilan i Velve-Casquillas, 2016). Uglavnom se češće koristi *scale-out* metoda budući da se sam postupak prebacivanja ubrzava, a i proračuni i ekonomska pitanja lakše rješavaju višestrukim, paralelnim povezivanjem mikroreaktorskih jedinica (Jurinjak Tušek, 2013).

2.8 Mješalice mikroreaktorskih sustava

Radi optimiranja reakcija u mikroreaktorskim sustavima, u mikroreaktorima su ugrađene strukture koje služe kao mješalice. Mogu se opisati kao mjesta u kanalićima mikroreaktorskog sustava u kojem se tokovi reaganasa križaju i gdje nakon toga nastaje novi dobro promješani tok. Postoje razne grupacije mikroreaktorskih mješalica. Prvi način je s obzirom na aktivnost gdje se razlikuju aktivni, i pasivni od kojih su češći u primjeni pasivni, jer se u njima koristi njihova geometrija za povećanje učinkovitosti kontakta između reagenasa i ne zahtjevaju potrošnju vanjske energije, dok su aktivni primjenjiviji kod viskoznijih reagenasa i kao izvori vanjske energije se koriste ultrazvuk, magnetsko polje ili električno polje (Zhang i sur., 2017). Druga podjela je s obzirom na strukturu za mješanje koja može biti jednostavna kontaktna, podjeljena-rekombinirana, multilaminarna, savijena i periodička statička struktura (Zhang i sur., 2017). Mješalice jednostavne strukture su najčešće primjenjive i pojavljuju se u oblicima Y, T i ψ (Šalić i Zelić, 2018).

2.9 Zeta potencijal

Jedan od pojmova čije poznavanje i razumjevanje može koristiti pri manipulaciji stabilnosti emulzija jest zeta potencijal (ζ). Opisuje se kao električni potencijal u koloidnim sustavima, odnosno razlika potencijala između čestica koje imaju površinski naboj. Informacijom o zeta potencijalu može se i predvidjeti i kontrolirati stabilnost emulzija jer se time određuje veličina elektrostatičkog odbijanja kapljica u otopini (Rios i sur., 2017). Stabilnost i otpor agregaciji otopine je veći što je veći naboj između čestica, što znači da je stabilnost emulzije proporcionalna veličini zeta potencijala. Agregacija je posljedica pri kojoj privlačne sile između dovoljno približenih čestica nadmaše odbojne sile i brzinom difuzije dolazi do njihovog spajanja, a sile koje su odgovorne za aglomeraciju su London - van der Walsove i elektrostatke odbojne ako su čestice istog naboja (Lepur, 2017).

2.10 Metoda odzivnih površina (RSM – *Response surface methodology*)

Metoda odzivnih površina (RSM) je statistička metoda kojom se ispituje odnos između zavisih varijabli o nezavisnim varijablama, koja je predstavljena godine 1951. Praktična je na način da ne zahtjeva velik broj eksperimenata te je zbog toga znatno brža i zato je danas visoko primjenjiva u biotehnologiji, prehrambenoj tehnologiji te biokemiji. Radi se u svrhu poboljšanja, optimizacije i razvoja preko upoznavanja utjecaja ulaznih procesa na odziv. Rezultat RSM metode je kontinuirana ploha koja spaja vrhove vrijednosti dobivenih u eksperimentu. Funkcija plohe (odzivna funkcija) opisuje odnos nezavisnih o odzivnim varijablama te svakoj odzivnoj funkciji dodjeljuje polinom za računanje koeficijenata jednadžbe (Kruk, 2018).

3. EKSPERIMENTALNI DIO

3.1 Materijali

3.1.1 Kemikalije:

- PEG (polietilen glikol) 1500 Acros Organics, Njemačka
- PEG (polietilen glikol) 6000 Acros Organics, Belgija
- PEG (polietilen glikol) 20000 SigmaAldrich, Njemačka
- Suncokretovo ulje (Zvijezda, Hrvatska)

3.1.2 Laboratorijski pribor:

- Staklene boce za skladištenje otopina
- Staklene menzure za pripremu otopina od 100 do 1000 mL
- Staklene čaše za pripremu otopina volumena 20 do 1000 mL
- Plastične štrcaljke volumena 10 mL
- Staklene epruvete
- Eppendorf epruvete volumena 2 mL za skupljanje uzoraka
- Stalak za epruvete
- „Omega“ kiveta za Litesyzer 500 uređaj, volumena 350 μ L

3.1.3 Uređaji:

- Analitička vaga, Sartorius TE214-S0CE, Njemačka
- Magnetna miješalica, Heidolph Instruments, Njemačka
- Mikroreaktor volumena 2 μ L, Micronit Microfluidics BV, Nizozemska

- Čelični držač za mikroreaktor, Micronit Mcrofluidics BV, Nizozemska
- Oprema za spajanje dijelova pri radu s mikroreaktorima, Micronit Mcrofluidics BV, Nizozemska
- Klipne pumpe, NE-1000 Syringe Pump, New Era Pump Systems, SAD
- Homogenizator (TH-02, Omni international, SAD)
- Litesyzer 500, Anton Paar, Hrvatska

3.1.4 Software:

- Microsoft Office Excel 2010, Microsoft Corporation, SAD
- Microsoft Office Word 2010, Microsoft Corporation, SAD
- Design-Expert v 10.0, StatSoft, SAD
- Kaliope, Anton Paar, Hrvatska

3.2 Metode:

3.2.1 Priprema uzoraka

Uzroci su bili pripremljeni ovisno o metodi emulgiranja, tj. šaržno ili mikroreaktorski.

Za početak uzorci su bili pripremani tako da su PEG 1500, 6000 i 20000 otopljeni 10 minuta u vodi pri konstantnom miješanju od 500 okr min⁻¹ na magnetskoj mješalici u željenim koncentracijama koje su iznosile 2 %, 1 %, 0,7 % i 0,2 % (g/100ml). Tako pripremljeni uzorci korišteni su u oba načina emulgiranja.

Prilikom šaržne emulgacije u Falcon epruvetu volumena 15 mL dodano je 7,1 mL vodene otopine PEG-a i 2,9 mL suncokretovog ulja. Na kraju je smjesa ulja i vodene otopine PEG-a

miješana 4 minute homogenizatorom. Uzorci različitih koncentracija i iste vrste PEG-a miješani su pri istom broju okretaja, dok je za svaki PEG drugačije mase korišten drugi broj okretaja. Uzorci PEG-a 1500 homogenizirani su na 22000 okr min⁻¹, PEG-a 6000 na 35000 okr min⁻¹ i PEG-a 20000 na 28000 okr min⁻¹. Pri broju okretaja od 35000 okr min⁻¹ napravljen je i referentni uzorak u kojem su u istim omjerima emulgirani ulje i voda bez emulgatora. Nakon gašenja homogenizatora, prikupljen je po jedan uzorak od 700 µL za mjerenje zeta potencijala od svake koncentracije pojedinog PEG-a.

U mikroreaktorskom emulgiranju koriste se dvije šprice. U jednu se stavlja ulje, a u drugu vodena otopina PEG-a. Šprice se stavljaju na dvije klipne pumpe i spajaju se pomoću kapilara na mikroreaktor. Emulgacija se provodi za svaki PEG i njegovu koncentraciju pri tri različita ukupna protoka iznosa 200, 300 i 400 µL min⁻¹. Protoci na pumpama namješteni su kako bi omjer protoka voda/ulje iznosio 1:3 (npr. protok ulja od 75 µL min⁻¹ te protok od 125 µL min⁻¹ za vodenu otopinu PEG-a kako bi ukupni protok bio 200 µL min⁻¹). Na izlazu iz mikroreaktora prikupljan je po jedan uzorak od 700 µL za mjerenje zeta potencijala.

3.2.2 Mjerenje zeta potencijala

Nakon prikupljanja uzoraka emulzija različitim metodama emulgiranja, izmjeren je zeta potencijal uzorka na uređaju Litesyzer 500. Taj instrument ima sposobnost određivanja veličine čestica, zeta potencijala i molekulske mase na temelju mjerenja dinamičkog, elektroforetskog i statičkog raspršivanja svjetlosti. Prikupljeni uzorak se prenese plastičnom špicom od 1 mL u „omega“ kivetu bez prethodnog vorteksiranja ili neke druge predobrade. U programu Kaliope namješteno je da prilikom mjerenja uređaj mjeri u triplikatima. To znači da se za svaki uzorak provode 3 uzastopna mjerenja pri čemu su konačan ishod mjerenja 3 srednje vrijednosti na kraju svakog mjerenja (svako uzastopno mjerenje rezultat je srednje vrijednosti od 100 mjerenja, N=100).

3.2.3 Metoda odzivnih površina (RSM – *Response surface methodology*)

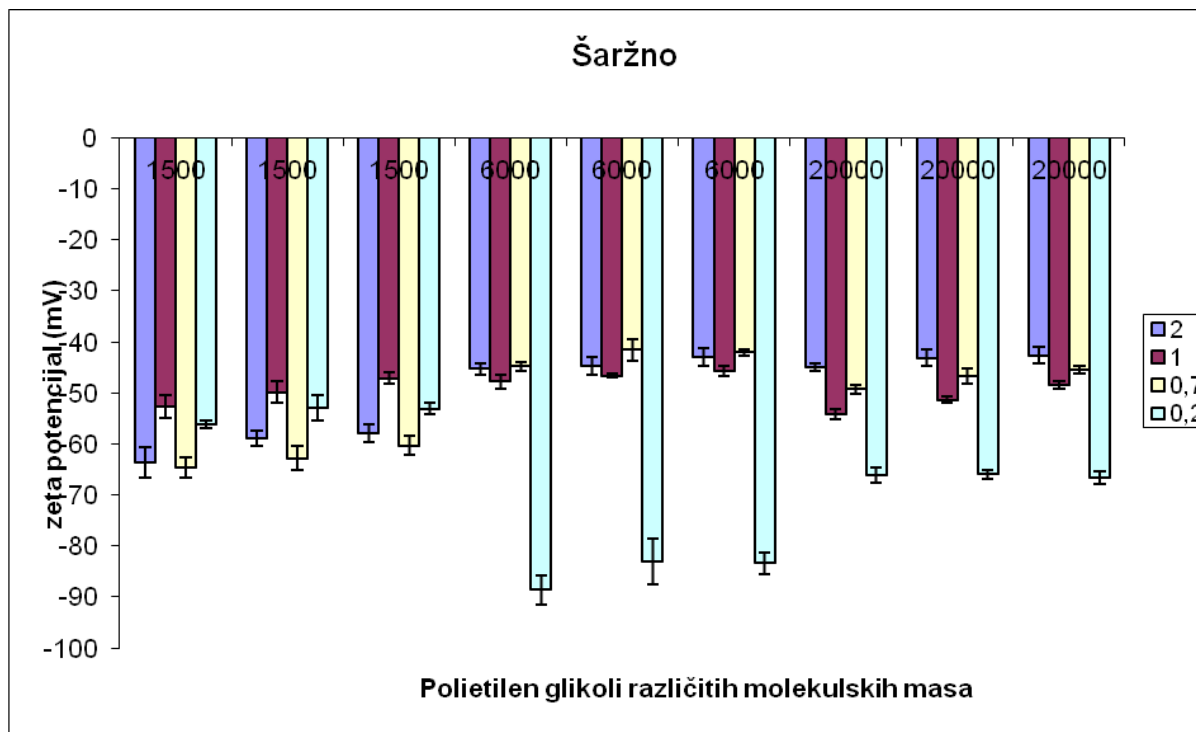
Metoda odzivnih površina najčešće se koristi prilikom obrade podataka koji su dobiveni prethodno dizajniranim eksperimentom. U ovom slučaju nije korištena niti jedna od opcija dizajniranja eksperimenta, poput 2-level factorial, 3-level factorial, Taguchi, Plackett Burman, Box-Behnken i drugih, jer je sam eksperiment dio puno većeg dizajna eksperimenta u kojem je praćeno puno više varijabli nego u našem slučaju. Prednost programa poput Design-experimenta dolazi do izražaja u ovom slučaju jer je moguće pod opcijama za metodu odzivnih površina koristiti i podatke koji nisu prethodno definirani određenim dizajnom. Za šaržni eksperiment kao i za mikroreaktorski sustav korištena su tri numerička faktora (molekulska masa PEG-a, koncentracija PEG-a i brzina miješanja za šaržni eksperiment te molekulska masa PEG-a, koncentracija PEG-a i ukupna brzina protoka za mikroreaktorski sustav) s jednim odzivom (zeta potencijal). Pomoću kvadratnih modela za koje su dobivene najviše vrijednosti koeficijenta determinacije u oba slučaja u programu su predviđeni optimalni parametri na temelju što više vrijednosti zeta potencijala.

4. REZULTATI I RASPRAVA

U ovom poglavlju opisani su rezultati dobiveni emulgacijama u šaržnom procesu i u mikroreaktorima te je uspoređen klasični (šaržni način emulgacije) s još uvijek eksperimentalnim načinom emulgacija u mikroreaktorskom sustavu. U oba procesa praćena je stabilnost emulzija preko zeta potencijala s obzirom da je stabilnost emulzije proporcionalna veličini zeta potencijala (Lepur, 2017).

4.1 Šaržno emulgiranje

Šaržnim emulgiranjem ispitano je koji PEG i u kojoj koncentraciji pri određenoj brzini miješanja daje optimalne, tj. najveće vrijednosti zeta potencijala u procesu emulgacije ulje/voda s otopljenim PEG-om. Za sve šaržne procese omjer ulje/voda bio je 29:71. Rezultati prikazani na Slici 2 dobiveni su u šaržnim eksperimentima u kojima su ispitivani PEG-ovi različitih molekulskih masa (1500, 6000 i 20000), četiri različite koncentracije (0,2; 0,7; 1 i 2 % w/w) pri različitim brzinama miješanja (22000, 28000 i 35000 okr min^{-1}). Važno je naglasiti da su uzorci PEG-a 1500 bili ispitivani pri 22000 okr min^{-1} , PEG-a 6000 pri 35000 okr min^{-1} i PEG-a 20000 pri 28000 okr min^{-1} . Odabir različitih brzina miješanja za pojedine PEG-ove napravljen je na temelju preliminarnih eksperimenata, koji ovdje nisu prikazani, a u kojima je dobiveno da bi trebalo ispitati niže koncentracije od prethodno isprobanih (2, 4 i 6 %) i pri, za svaki PEG, određenoj brzini miješanja koje su bile optimalne za pojedini PEG.



Slika 2. Stupčasti dijagram ovisnosti zeta potencijala o različitim molekulskim masama PEG-a te o različitim koncentracijama PEG-ova (0,2; 0,7; 1 i 2 %)

Iz Slike 2 vidljivo je da su najveće vrijednosti zeta potencijala iznosa -88.3 mV, -83 mV i -83.4 mV dobivene kod PEG-a 6000 za najnižu vrijednost koncentracije (0,2 %). Prema Kirbyju (2010) emulzije vrijednosti zeta potencijala od -40 mV do -60 mV su dobre stabilnosti, a one od -60 mV i više su emulzije odlične stabilnosti. Prema tome vrijednosti zeta potencijala za PEG 6000 pri najnižim koncentracijama (0,2 %) pokazuju odličnu stabilnost.

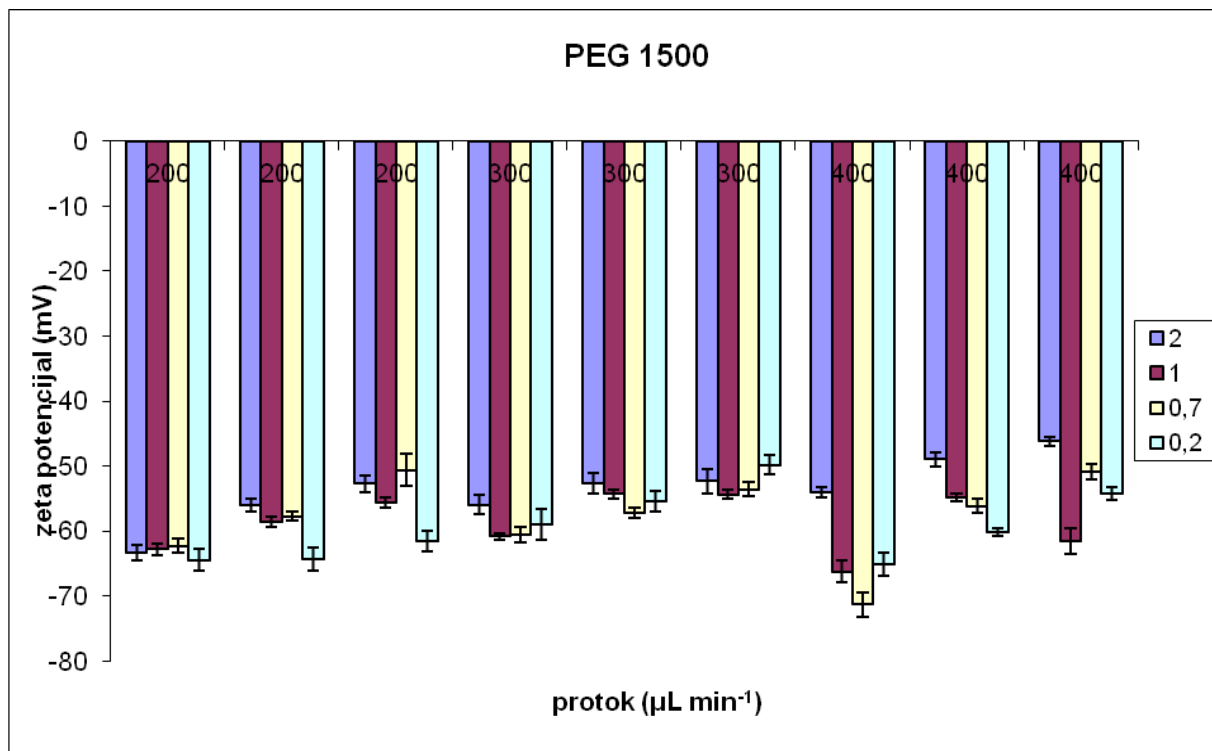
Druge najveće vrijednosti iznosa -66,6 mV, -66,1 mV, -65,9 mV dobivene su kod PEG-a 20000 pri istoj koncentraciji kao i kod PEG-a 6000. Najlošije, tj. najniže vrijednosti zeta potencijala su imali uzorci PEG-a 1500 raspona -47,1 mV do -64,6 mV i ostale koncentracije PEG-ova 6000 i 20000 koje su imale vrijednosti u rasponu od -43 mV do -54,1 mV. To znači da su prema dobivenim vrijednostima za zeta potencijal, prilikom šaržnog emulgiranja, dobivene emulzije dobrih stabilnosti. Kako je uređaj Litesyzer 500 bio namješten da radi tri uzastopna mjerenja svakog uzorka (za svaku koncentraciju), pri čemu svako mjerenje traje dvije minute pri mjerenju je moguće primijetiti da je došlo do promjene vrijednosti zeta potencijala kroz određeni vremenski period koje je moguće zbog sedimentacije čestica u kivetu, ali da su usprkos

tome vrijednosti stabilne i da nije došlo do znatne promjene u iznosima zeta potencijala u svim mjerenim uzorcima.

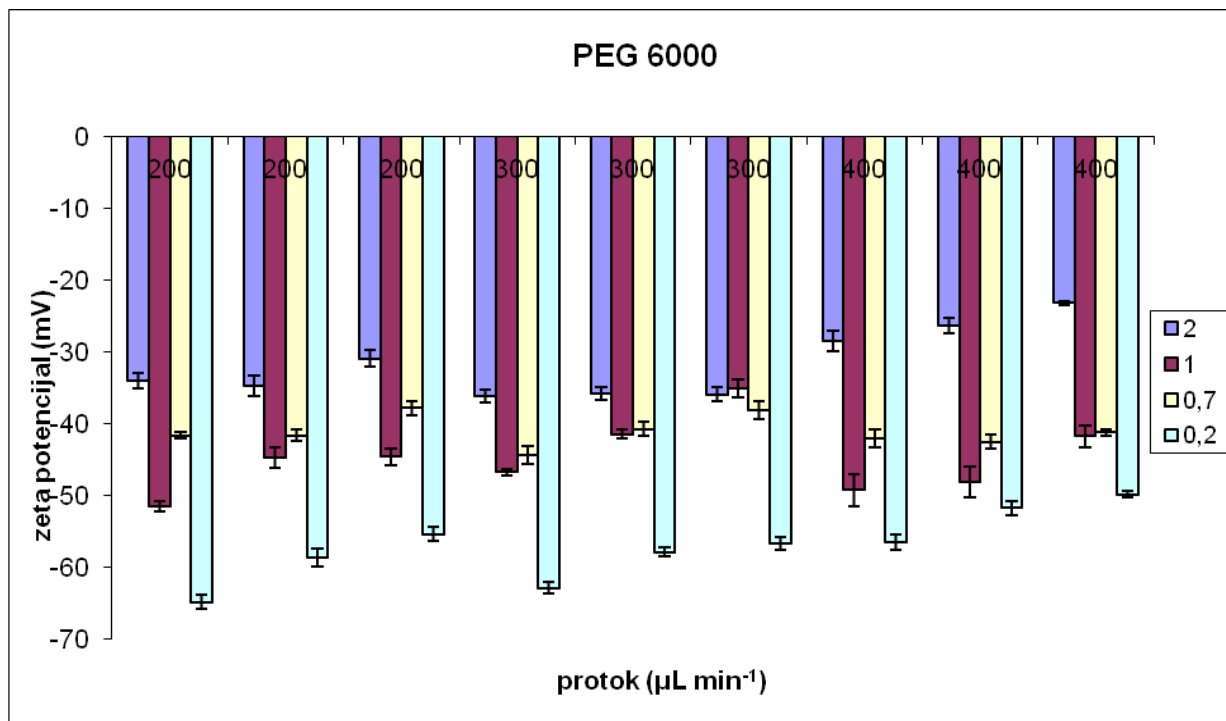
4.2 Mikroreaktorsko emulgiranje

Pri mikroreaktorskom emulgiranju bilo je ispitivano koji protoci u mikroreaktoru su najpovoljniji za tri PEG-a različite molekulske mase koncentracija istih kao i u šaržnom eksperimentu (0,2; 0,7; 1 i 2 % w/w) kako bi se dobio što veći zeta potencijal, odnosno stabilnije emulzije. PEG 1500, 6000 i 20000 bili su ispitivani pri protocima od 200, 300 i 400 $\mu\text{L min}^{-1}$ gdje su protoci na klipnim pumpama namješteni u omjeru 1:3 (uljna faza/vodena faza u kojoj je otopljen PEG).

U rezultatima prikazanim u na Slici 3 vidljivo je da su uzorci PEG-a 1500 dali najveće vrijednosti zeta potencijala iznosa -71,3 mV, -56,2 mV i -50,8 mV kod protoka od 400 $\mu\text{L min}^{-1}$ pri koncentraciji od 0,7 %. Također je vidljivo da se prosječne vrijednosti zeta potencijala kod sva tri protoka znatno ne razlikuju, te da su kod protoka od 200 $\mu\text{L min}^{-1}$ vrijednosti puno stabilnije i sličnije nego kod svih koncentracija PEG-a 1500 u odnosu na druge protoke. Također u slučaju PEG-a 1500 dobivene su ukupno najveće vrijednosti zeta potencijala u odnosu na PEG 6000 (Slika 4) i PEG 20000 (Slika 5) pri istim protocima i istim koncentracijama.

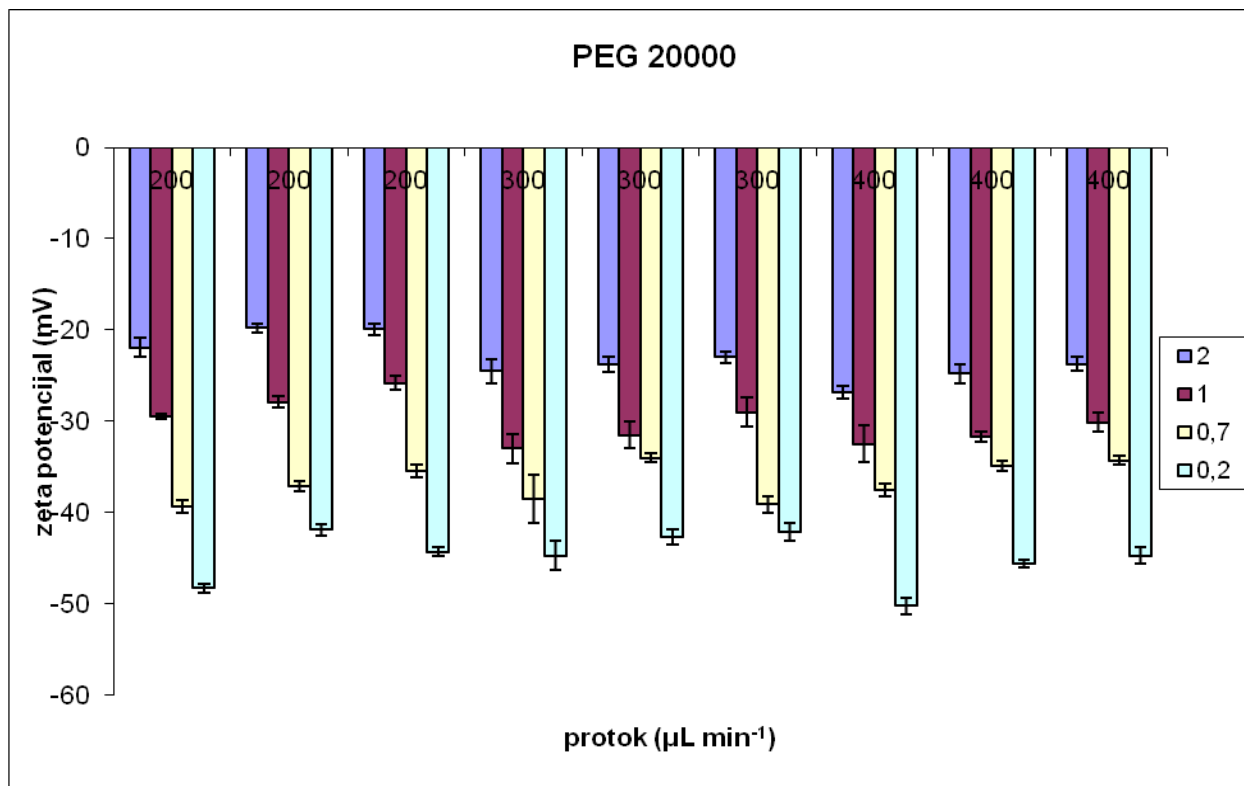


Slika 3. Stupčasti dijagram ovisnosti zeta potencijala o različitim koncentracijama PEG-a 1500 (0,2; 0,7; 1 i 2 %) pri različitim protocima (200, 300 i 400 $\mu\text{L min}^{-1}$)



Slika 4. Stupčasti dijagram ovisnosti zeta potencijala o različitim koncentracijama PEG-a 6000 (0,2; 0,7; 1 i 2 %) pri različitim protocima (200, 300 i 400 μL min⁻¹)

Kod rezultata PEG-a 6000 (Slika 4), vidljivo je da su najbolje i najbližnje vrijednosti kod svih protoka pri najnižoj koncentraciji iznosa 0,2 %. U odnosu na rezultate PEG-a 1500, emulzije su manje stabilne. Može se uočiti da jedine visoke vrijednosti slične njima su one pri najnižim koncentracijama za sve protoke. Također se zeta potencijali uzoraka PEG-a 6000 smanjuju kroz period od šest minuta, u kojem se mjerio zeta potencijal u uzorku. Dolazi do pada vrijednosti što upućuje na manju stabilnost ovih emulzija i sedimentaciju čestica u kiveti tijekom vremenskog perioda od 6 minuta.



Slika 5. Stupčasti dijagram ovisnosti zeta potencijala o različitim koncentracijama PEG-a 20000 (0,2; 0,7; 1 i 2 %) pri različitim protocima (200, 300 i 400 $\mu\text{L min}^{-1}$)

Rezultati uzoraka PEG-a 20000 (Slika 5) pokazali su najveću konzistenciju u odnosu protoka i koncentracija, što znači da povećanjem koncentracije PEG-a, pri svim protocima, smanjuje se zeta potencijal. Usporedivši rezultate PEG-a 20000 s rezultatima PEG-ova 1500 i 6000, maksimalni zeta potencijali su manji i smanjuju se u tijekom vremenskog perioda od 6 minuta. Prema Kirbyju (2010), rezultati PEG-a 6000 i 20000 pri višim koncentracijama emulgatora, daju emulzije srednje stabilnosti koje su u rasponu od -30 mV do -40 mV.

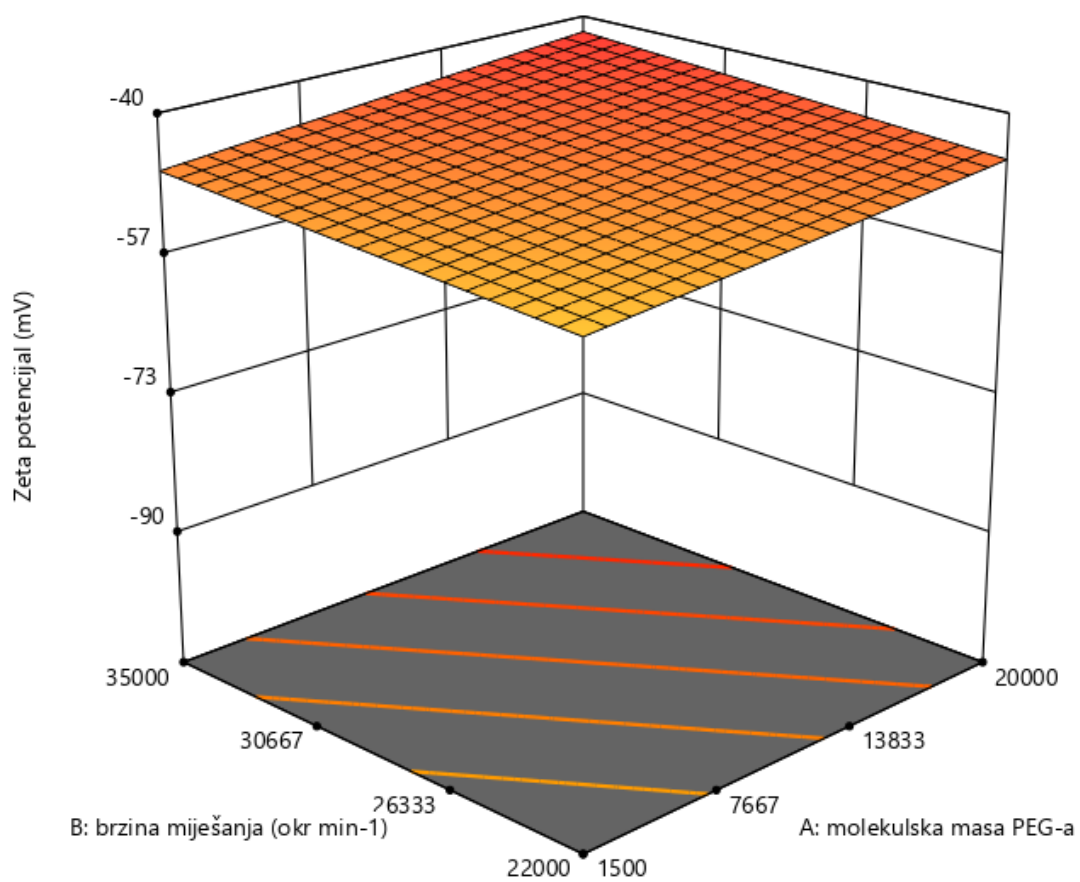
Usporedbom rezultata šaržnog u odnosu na mikroreaktorsko emulgiranje, vidljivo je da su dobivene emulzije viših zeta potencijala s većom stabilnošću kroz određeno vrijeme stajanja. Najveće vrijednosti su pri najmanjoj koncentraciji (0,2 %) PEG-a 6000 i PEG-a 20000 pri šaržnom, dok ostale vrijednosti šaržne emulgacije su po iznosu i stabilnosti sličnije iznosima mikroreaktorskog emulgiranja uzoraka PEG-a 1500 pri svim protocima i koncentracijama. Najviši iznosi zeta potencijala u mikroreaktorskom emulgiranju dobiveni su kod najmanjih koncentracija svih PEG-ova pri svim protocima. PEG 6000 u mikroreaktorskom eksperimentu pokazuje slične

vrijednosti kao i PEG 1500, ali i slabiju stabilnost zbog pojave padanja vrijednosti kroz vremenski period mjerenja. Najniže vrijednosti i stabilnost, usprkos konzistenciji, pokazuju rezultati mikroreaktorskog eksperimenta na uzorcima PEG-a 20000.

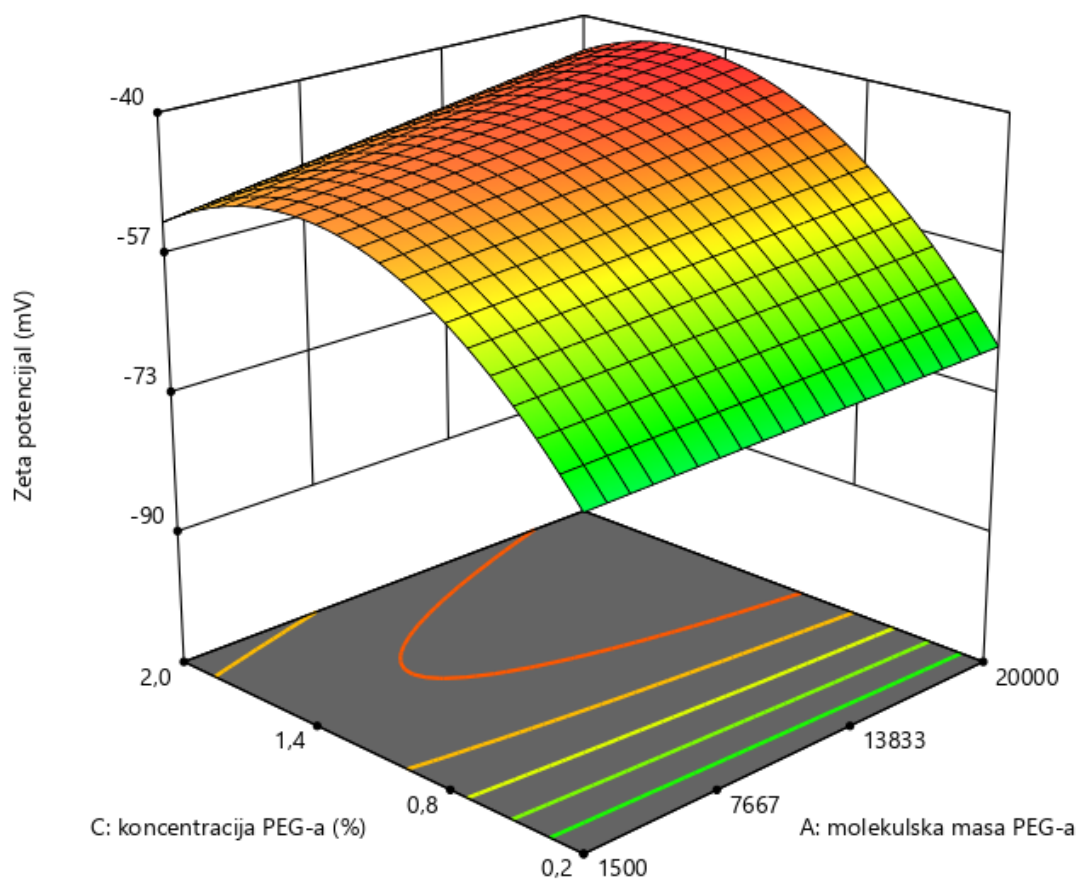
4.3 Optimalni uvjeti za šaržnu i mikroreaktorsku emulgaciju

Kako je ovo istraživanje dio puno većeg dizajna eksperimenta gdje je praćen puno veći broj parametara za šaržne eksperimente poput: više PEG-ova različitih struktura, različiti omjeri voda/ulje/PEG, vrijeme miješanja, brzina miješanja, dodatak ekstrakata i drugi, dok je u slučaju mikroreaktorskih eksperimenata također praćeno više PEG-ova različitih struktura, različiti omjeri ulje/voda s otopljenim PEG-om te različiti protoci i različiti ekstrakti, analiza metodom odzivnih površina napravljena je u Design-expert programu koji ima mogućnost bez obzira na broj eksperimenata i što nisu bili dizajnirani po jednom od postojećih modela (2-level factorial, Taguchi, Plackett Burman, Box-Behnken ...) od dobivenih eksperimentalnih vrijednosti predvidjeti optimalne vrijednosti parametara za ciljanu varijablu.

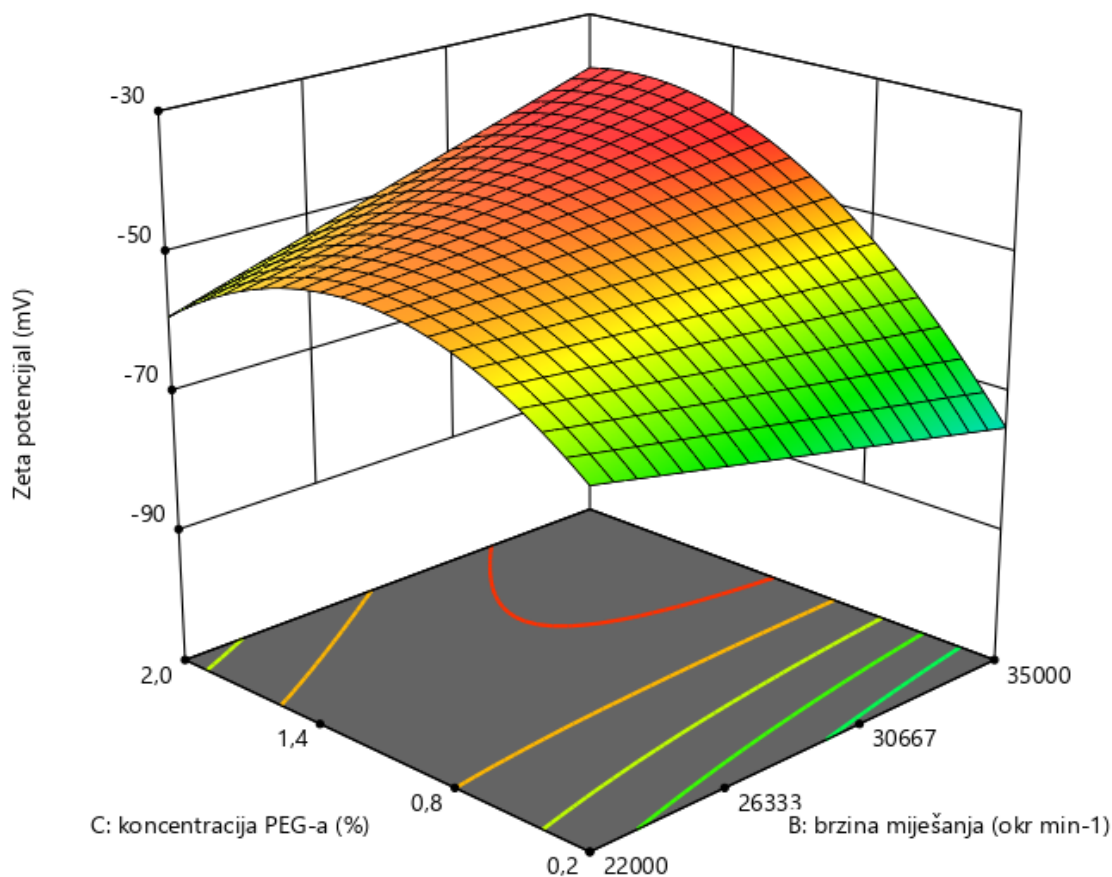
Tako je u slučaju šaržne emulgacije dobiveno da ukoliko se ide prema najvišoj vrijednosti zeta potencijala (tj. najnižoj pošto su vrijednosti negativne) s poželjnošću od 88 % odnos varijabli trebao bi biti: PEG 1500, koncentracije 0,2 % i brzina miješanja od 35000 okr min^{-1} . Na slikama 6-8 prikazani su odnosi brzine miješanja i strukture PEG-a (Slika 6), koncentracije PEG-a i strukture PEG-a (Slika 7) te koncentracije PEG-a i brzine miješanja (Slika 8) u odnosu na zeta potencijal.



Slika 6. Trodimenzionalni prikaz odzivnih površina za zeta potencijal u ovisnosti o različitim brzinama miješanja i molekulskim masama PEG-a



Slika 7. Trodimenzionalni prikaz odzivnih površina za zeta potencijal u ovisnosti o koncentraciji PEG-a i molekulskim masama PEG-a

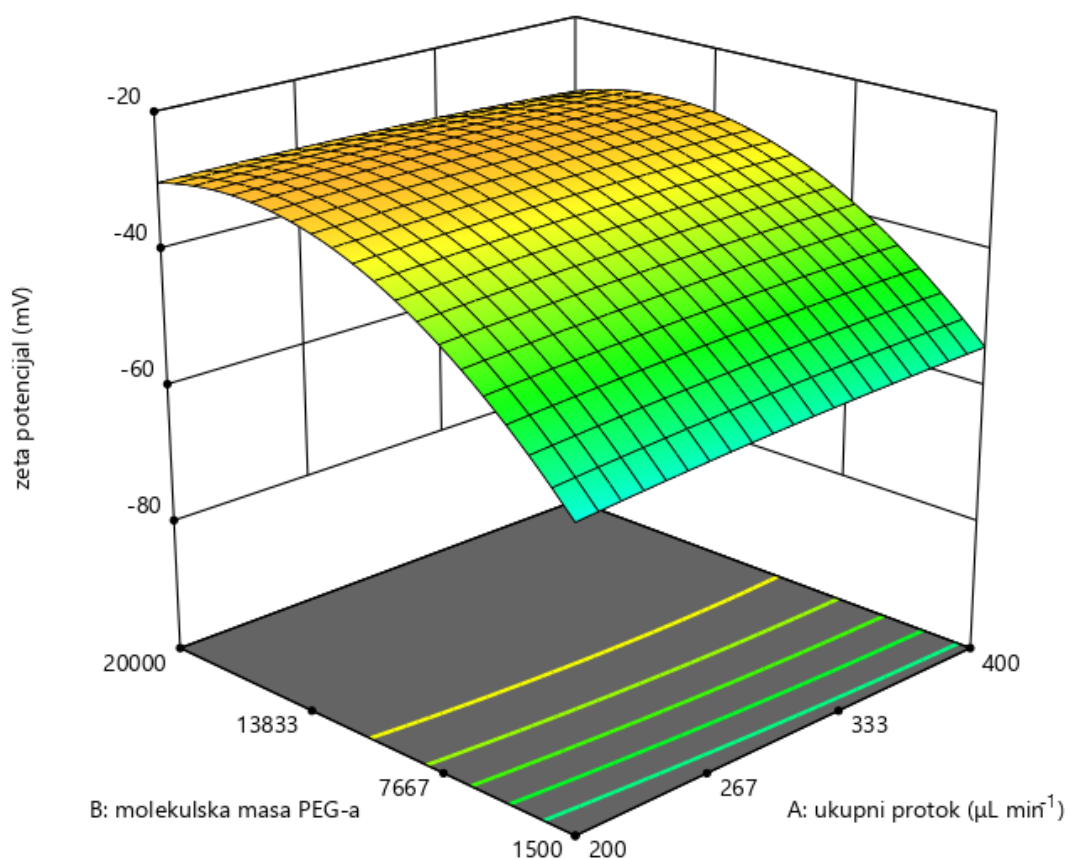


Slika 8. Trodimenzionalni prikaz odzivnih površina za zeta potencijal u ovisnosti o koncentraciji PEG-a i brzini miješanja

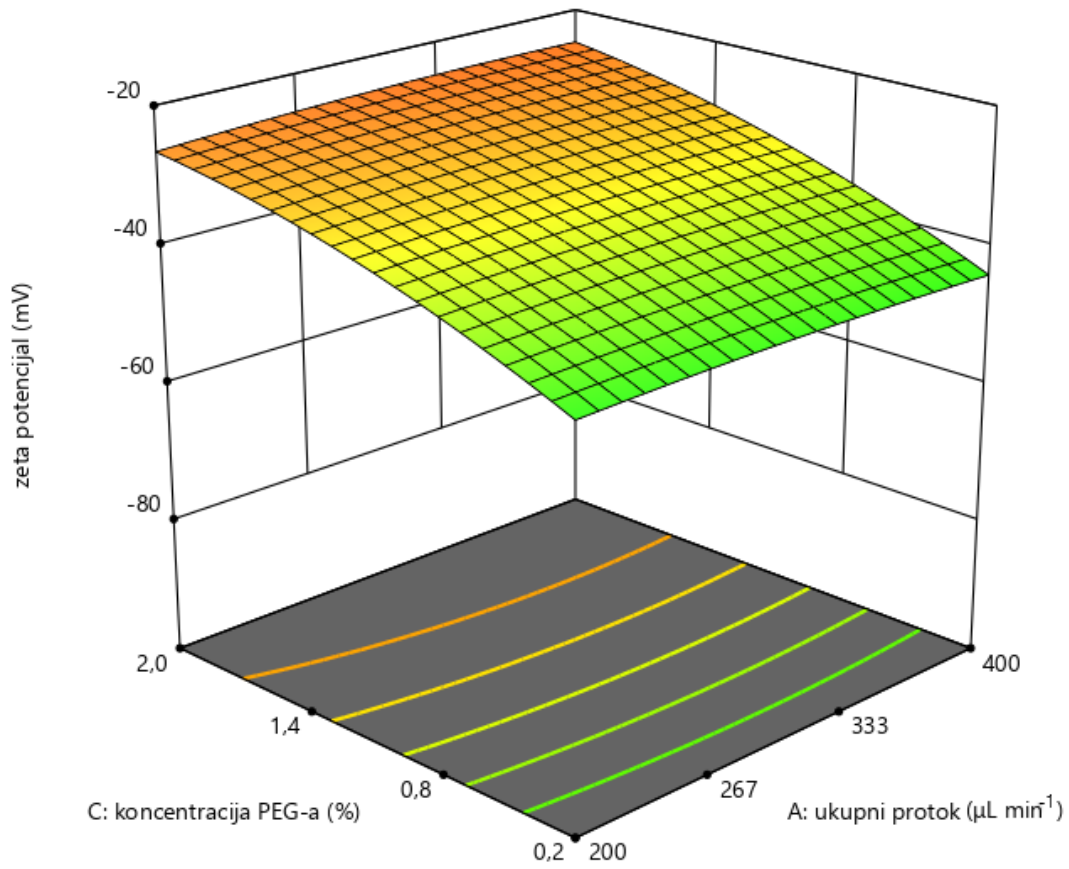
Na Slici 6 vidljivo je da se ravnina spušta prema većem zeta potencijalu i to prema što većem broju okretaja i prema što manjoj PEG molekulskoj masi. Drugim riječima PEG najmanje molekulske mase pri najvećoj brzini miješanja daje najbolje rezultate u smislu što većeg zeta potencijala. Na Slici 7 vidljivo je da je pri najnižim koncentracijama PEG-a i pri manjim molekulskim masama PEG-a najviša vrijednost zeta potencijala. Na Slici 8 gdje je prikazana koncentracija PEG-a i brzina miješanja vidljivo je da je poželjna što manja koncentracija PEG-a pri što višoj brzini miješanja. Može se zaključiti kako grafovi dobro opisuju optimalne uvjete jer je dobiveno da varijabla koja ima najviše utjecaja u šaržnim eksperimentima upravo koncentracija PEG-a, nakon čega slijedi molekulska masa PEG-a, a najmanji utjecaj u biti ima brzina miješanja. Ukoliko se rezultati usporede s prijašnje prikazanom slikom (Slika 2) iako su

najviše vrijednosti zeta potencijala bile za PEG 6000 pri koncentraciji od 0,2 % potrebno je uzeti u obzir da je u eksperimentima s PEG-om 1500 korištena znatno niža brzina miješanja.

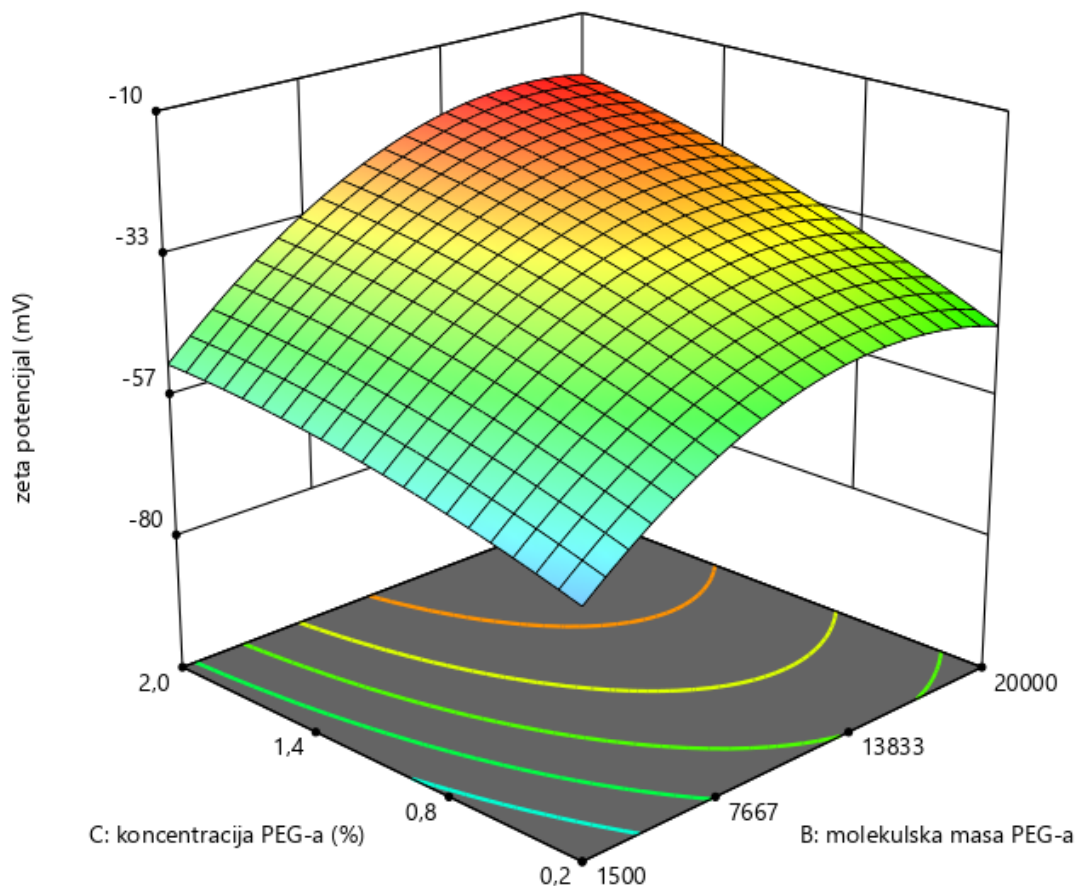
U slučaju mikroreaktorske ekstrakcije prema design-experimentu kako bi se dobila najviša vrijednost zeta potencijala s poželjnošću od 88 % trebalo bi koristiti sljedeće vrijednosti za parametre: PEG 1500, koncentracija 0,2 % i protok od $200 \mu\text{L min}^{-1}$. Kao i za šaržni eksperiment prikazane su odzivne površine za odnose strukturu PEG-a i ukupni protok (Slika 9), koncentraciju PEG-a i ukupni protok (Slika 10) te koncentraciju PEG-a i strukturu PEG-a u ovisnosti o zeta potencijalu (Slika 11).



Slika 9. Trodimenzionalni prikaz odzivnih površina za zeta potencijal u ovisnosti o molekulske mase PEG-a i ukupnom protoku



Slika 10. Trodimenzionalni prikaz odzivnih površina za zeta potencijal u ovisnosti o koncentraciji PEG-a i ukupnom protoku



Slika 11. Trodimenzionalni prikaz odzivnih površina za zeta potencijal u ovisnosti o koncentraciji PEG-a i molekulskoj masi PEG-a

Prema Slici 9 može se zaključiti da struktura PEG-a igra puno veću ulogu u stabilnosti, što se tiče dobivanja više vrijednosti zeta potencijala, od protoka jer pri protocima 200 i 400 $\mu\text{L min}^{-1}$ vrijednosti zeta potencijala razlikuju se samo za par postotaka dok je razlika zeta potencijala za PEG-a 1500 i PEG-a 20000 pri svim protocima otprilike 65 %. Ukoliko se gleda utjecaj koncentracije PEG-a i ukupnog protoka (Slika 10) vidljivo je kao i u prijašnjem slučaju da ukupni protok ne igra toliku ulogu koliko je to očigledno za koncentraciju PEG-a. Na Slici 11 vidi se zanimljiva situacija gdje oba promatrana faktora (koncentracija PEG-a i struktura PEG-a) dosta utječu na vrijednosti zeta potencijala i to od -20,35 mV za najvišu koncentraciju PEG-a 20000 pa do -65,14 mV koja je dobivena za najnižu koncentraciju PEG-a 1500.

Može se zaključiti kako su za optimalne uvjete parametri koji imaju najviše utjecaja u mikroreaktorskim eksperimentima upravo koncentracija PEG-a i molekulska masa PEG-a dok ukupni protoci imaju dosta mali utjecaj. To je usporedivo sa slikama (Slike 3-5) na kojima je također bilo vidljivo da su koncentracije PEG-a i molekulske mase PEG-a imale najviši utjecaj na zeta potencijal odnosno na stabilnost emulzija.

5. ZAKLJUČAK

1. Usporedbom šaržnog i mikroreaktorskog procesa emulgacije veće stabilnosti odnosno veći zeta potencijali dobiveni su za šaržni eksperiment.
2. U šaržnim eksperimentima koji su provedeni s različitim molekulskim masama PEG-a (1500, 6000 i 20000), njihovim različitim koncentracija (0,2; 0,7; 1 i 2 %) i pri različitim brzinama miješanja (PEG 1500 - 22000, PEG 6000 – 35000, PEG 20000 - 28000 i okr min^{-1}) najbolji dobiveni rezultati s obzirom na najvišu vrijednost zeta potencijala bili su za PEG 6000, koncentracije 0,2 % i pri brzini miješanja od 35000 okr min^{-1} . Kako su PEG-ovi različite molekulske mase bili izloženi različitim brzinama miješanja predviđeni optimalni uvjeti s obzirom na najviši zeta potencijal trebali bi biti: PEG 1500, koncentracije 0,2 % te brzina miješanja do 35000 okr min^{-1} .
3. U mikroreaktorski sustav u kojem je korišten mikroreaktor s mikromiješalima koji su provedeni s različitim molekulskim masama PEG-a (1500, 6000 i 20000), njihovim različitim koncentracijama (0,2; 0,7; 1 i 2 %) i pri različitim protocima (200, 300 i 400 $\mu\text{L min}^{-1}$) najviše vrijednosti zeta potencijala dobivene su za PEG 1500, koncentracije 0,2 % pri protoku od 200 $\mu\text{L min}^{-1}$). Predviđeni optimalni uvjeti za mikroreaktorski sustav također su pokazali da bi PEG 1500, koncentracije 0,2 % pri protoku od 200 $\mu\text{L min}^{-1}$ trebao dati najbolje rezultate.
4. Iako su rezultati za šaržno emulgiranje pokazali veće vrijednosti zeta potencijala tj. stabilnosti pripremljenih emulzija, razvojem mikroreaktorske tehnologije samo je pitanje vremena kada će se te vrijednosti izjednačiti jer već postoje posebno dizajnirani mikroreaktori koji mogu proizvesti nanoemulzije i to uniformnih veličina čestica.

6. POPIS LITERATURE

1. Akbari S., Nour A. H. (2018) Emulsion Types, Stability Mechanisms and Rheology: A review, Faculty of Chemical & Natural Resources Engineering, Universiti Malaysia Pahang, Lebuhraya Tun Razak, 26300 Gambang, Pahang, Malaysia
2. Bhanvase B. A., Pimplapure M. S., Sarang P. G., Sonawane S. H., Suryawanshi P. L. (2018) A review on microreactors: Reactor fabrication, design, and cutting-edge applications
3. Carrillo De Hert S., Rodgers T. L. (2017) Continuous recycle and batch emulsification kinetics using a high-shearmixer, School of Chemical Engineering and Analytical Science, The University of Manchester, Manchester M13 9PL, UK
4. Coca J., Pazos C., Rios G., (2017) Zeta Potentials Of Cuttmwu. Water Emulsion Influence of Morgah'ic Salts, Department of Chemical Engineering and Environmental Technology, University of Oviedo, 33006 Oviedo, Spain
5. Deore S. L., Kale S. N. (2017) Emulsion Micro Emulsion and Nano Emulsion, Department of Pharmaceutical Sciences, Shri Jagdish Prasad Jhabarmal Tibrewala University, Rajasthan Department of Pharmacognosy, Govt College of Pharmacy, Amravati, India
6. Flanagan J., Singh H. (2007) Riddet Centre, A Potential Delivery System for Bioactives in Food, Massey University, Palmerston North, New Zealand
7. Flynn C., Murray B., Norton I., O'Sullivan J. (2015) Comparison of Batch and Continuous Ultrasonic Emulsification Processes. *Journal of Food Engineering* 167 B: 114-121
8. Geyer K., Seeberger P. H. (2009) Microreactors as the Key to the Chemistry Laboratory of the Future, Laboratory of Organic Chemistry, Swiss Federal Institute of Technology Zurich, Wolfgang-Pauli-Strasse 10, 8093 Zurich, Switzerland
9. Goodarzy F., Zendehboudi S. (2018) A Comprehensive Review on Emulsions and Emulsion Stability in Chemical and Energy Industries, Faculty of Engineering and Applied Science, Memorial University, St. John's, NL, Canada
10. Herceg T. (2011), *Procesi u Prehranbenoj Industriji*, Plejada, Zagreb, str. 43-45
11. Jensen K. F, Luo G., Teixeira A. R., Wang K., Zhang J. (2017) Design and Scaling Up of Microchemical Systems, Beijing 100084, China

12. Jurinjak Tušek A. (2013) doktorski rad, Razvoj Procesa Biotransformacije Katehola u Mikreorektoru, Department of Process Engineering, University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Croatia
13. Kirby B. J. (2010) Micro-and Nanoscale Fluid Mechanics, Transport in Microfluidic Devices, Cornell University, New York, Inc. str 218.
14. Kruk V. (2018), Fenolni Profil i Antioksidacijski Kapacitet Ekstrakta Lista Tršlje (*Pistacia lentiscus* L.) Izoliranog Primjenom Ekstrakcije Potpomognute Mikrovalovima, University of Zagreb, Faculty of Food Technology and Biotechnology, Pierottijeva 6, 10 000 Zagreb, Croatia
15. Lepur A. (2017) Određivanje Utjecaja Procesnih Parametara na Veličinu i Zeta Potencijal Čestica Pripravljenih Tehnikom Sušenja Raspršivanjem, University of Zagreb, Ul. Ante Kovačića 1, 10000, Zagreb
16. Lovrić T. (2003) Procesi u Prehrambenoj Industriji, Hinus, Zagreb, str. 305-306
17. McMillan A., Velvé-Casquillas G. (2016) Microreactors & Microfluidics in Chemistry: Review, Elvsys SAS, 172 Rue de Charonne 75011 Paris Grant
18. Pohar A., Plazl I. (2009) Process Intensification through Microreactor Application, Chemical and Biochemical Engineering Quarterly, 23(4), 537–544.
19. Šalić A., Zelić B. (2018) Synergy of Microtechnology and Biotechnology: Microreactors as an Effective Tool for Biotransformation Processes, University of Zagreb, Faculty of Chemical Engineering and Technology, Marulićev trg 19 10 000 Zagreb, Croatia
20. Vladisavljević G. T., Al Nuamani R., Nabavi S. A. (2017) Microfluidic Production of Multiple Emulsions. Micromachines, 8(3), 75.

Izjava o izvornosti

Izjavljujem da je ovaj završni rad izvorni rezultat mojeg rada te da se u njegovoj izradi nisam koristio drugim izvorima, osim onih koji su u njemu navedeni.

ime i prezime studenta