

# CHARAKTERIZACE MICEL NA ZÁKLADĚ DYNAMICKÉHO ROZPTYLU SVĚTLA: ROVNICE ZOHLEDŇUJÍCÍ VIZKOZITU

Anton Paar – Reklamní článek

**TOMÁŠ MUTHNÝ, MICHAL BÁRTÍK, CARINA BURGSTALLER, SABINE KOKARNIG a NATHALIE ETCHART**

Anton Paar Czech Republic s.r.o  
tomas.muthny@anton-paar.com

Klíčová slova: Litesizer™ 500, Lovis 2000 ME, kosmetika, surfaktanty, micely, velikost částic, dynamická viskozita

## Úvod

Kokoamfoacetát disodný (*disodium cocoamphoacetate*) je mírně amfifilní povrchově aktivní látka získaná z mastných kyselin kokosového oleje s různě dlouhými řetězci. Tato látka se často používá v přípravcích pro péči o pleť a o vlasy, protože vedle čištění poskytuje i péči. Navíc zvyšuje pěnovost kosmetických přípravků, pokud se používá spolu s jinými povrchově aktivními látkami. Na rozdíl od jiných povrchově aktivních látek, jako je dodecylsírán sodný, který je velmi rozšířenou složkou kosmetických výrobků, má kokoamfoacetát disodný relativně slabé detergentní vlastnosti, a proto je šetrný k pokožce a nedráždí ji.

V této aplikační zprávě jsme zkoumali vliv pH, koncentrace surfaktantů a iontové síly na velikost částic micel pomocí dynamického rozptylu světla (DLS) s použitím analyzátoru částic Litesizer™ 500. Pro účely této studie byl použit komerční micelární roztok na bázi kokoamfoacetátu disodného.

Vzhledem k tomu, že nedílnou součástí Einsteinovy-Stokesovy rovnice (1) je viskozita, je k přesnému výpočtu velikosti částic nezbytné znát viskozitu roztoku.

$$R_H = \frac{k_B T}{6\pi\eta D} \quad (1)$$

kde  $D$  je translační difuzní koeficient [ $\text{m}^2/\text{s}$ ],  $k_B$  Boltzmannova konstanta [ $\text{m}^2\text{kg}/\text{Ks}^2$ ],  $T$  teplota [K],  $\eta$  viskozita [ $\text{Pa}\cdot\text{s}$ ].

Za tímto účelem jsme zkombinovali měření DLS s měřením dynamické viskozity micelárního roztoku pomocí viskozimetru Lovis 2000 ME na principu padající kuličky, který se dokonale hodí k měření viskozity zředěných roztoků. Viskozimetr Lovis 2000 ME měří dobu pádu kuličky v kapiláře naplněné vzorkem roztoku. K výpo-

čtu dynamické viskozity na základě doby pádu kuličky zjištěné viskozimetrem Lovis 2000 ME se používá hodnota hustoty vzorku. Za účelem určení obou parametrů během jediného měření byl přístroj Lovis 2000 ME zkombinován s hustoměrem DMA 5000 M.

Toto nastavení nám umožnilo porovnat hodnoty velikosti částic vypočtené na základě viskozity ředící látky vzorku (tj. vody) a hodnoty vypočtené na základě dynamické viskozity stanovené měřením pomocí viskozimetru Lovis 2000 ME.

## Experiment

### Příprava vzorku

Komerční micelární roztok s obsahem kokoamfoacetátu disodného byl zakoupen v místní lékárně.

Za účelem zjištění vlivu iontové síly jsme roztok zředili NaCl v různé koncentraci (10, 30, 50, 150, 300 nebo 600 mM v deionizované vodě) v poměru 1:1.

Za účelem zjištění vlivu pH jsme roztok zředili filtrovanou deionizovanou vodou v poměru 1:1. Hodnota pH byla následně upravena pomocí 1M roztoku HCl nebo NaOH.

Ke zjištění účinku koncentrace surfaktantu a viskozity byl micelární roztok měřen jednak v čisté formě („neředěný“) a jednak zředěný filtrovanou deionizovanou vodou na poměr 1:2, 1:10 a 1:100 (poměr ředěné látky k celkovému objemu roztoku).

### Měření viskozity

Pomocí hustoměru DMA 5000 M (Anton Paar) spolu s viskozimetrem Lovis 2000 ME (Anton Paar) byla zjištěna dynamická a kinematická viskozita čtyř vzorků roztoku s různým ředěním (neředěný, 1:2, 1:10 a 1:100). U každého vzorku byla provedena tři měření. Nastavení metody měření přístrojem Lovis 2000 ME je uvedeno v tab. I.

Tabulka I  
Nastavení viskozimetru Lovis 2000 ME

Parametr	Lovis 2000 ME
Teplota, °C	25
Úhel, °	50
Režim měření	opakované měření
Měřicí cykly	3
Maximální dovolený variační koeficient, %	0,1

## Měření dynamického rozptylu světla

Pro všechna měření dynamického rozptylu světla (DLS) byl použit analyzátor částic Litesizer™ 500 (Anton Paar).

Provedli jsme sérii měření v jednorázových kyvetách při teplotě 25° C. Přístroj si automaticky nastavil úhel měření, počet měření, polohu fokusu a filtr. Každý vzorek byl před měřením termostátován, abychom předešli teplotním gradientům.

## Výsledky a diskuse

### Výsledky měření viskozity

Naměřené hodnoty hustoty a dynamické viskozity jsou uvedeny v tab. II. V souladu s naším očekáváním se obě hodnoty, tj. hustota i viskozita, micelárního roztoku snižují, pokud vzorek ředíme deionizovanou vodou. Tab. III obsahuje variační koeficient i obousměrné odchylky k ověření kvality měření přístrojem Lovis 2000 ME.

### Vliv iontové síly na velikost částic micel

Změna iontové síly ředící látky měla pouze mírný vliv na velikost částic micel, jak ukazuje obr. 1. I když byl nárůst průměrné velikosti částic vzorku významný, při znásobení iontové síly koeficientem 60 se nárůst omezil jen na cca 10 %. Pravděpodobným vysvětlením tohoto omezeného účinku je, že zkoumané micely jsou amfifilní, což znamená, že nesou kladně i záporně nabitě funkční skupiny, takže výsledný náboj je neutrální. Tyto micely tedy nejsou stabilizovány iontovým účinkem, takže zvýšení iontové síly ředící látky nemá vliv na jejich velikost.

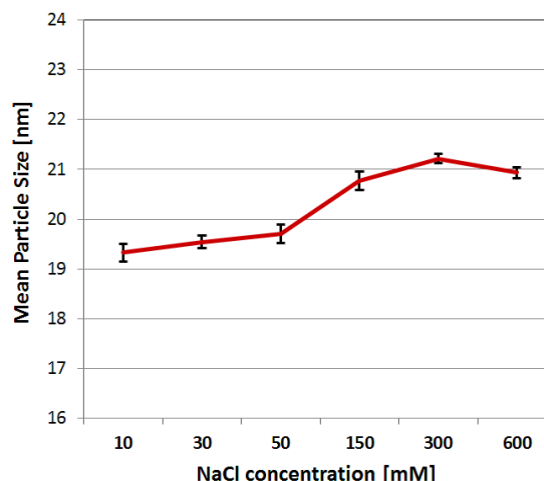
### Vliv pH na velikost částic micel

pH mělo na rozdíl od iontové síly výrazný účinek na tvorbu a velikost micel, jak ukazuje obr. 2 a obr. 3. Při snížení hodnoty pH zásobního roztoku pomocí 1M HCl ze 4,7 na 1,74 micely změnilly svou strukturu a velikost částic vzrostla přibližně z 20 nm na cca 90 nm. Pravděpodobným

Tabulka II

Hustota a dynamická viskozita 4 vzorků micelárního roztoku s různým ředěním naměřená při teplotě 25° C (střední hodnota +/- SD na základě 3 měření)

Ředění vzorku [v Δ H <sub>2</sub> O]	Hustota [g cm <sup>-3</sup> ]	Dynamická viskozita [mPa s]
Neředěno	1,01239 ± 0,00001	1,240 ± 0,001
1:2	1,00469 ± 0,00001	1,084 ± 0,003
1:10	0,99934 ± 0,00001	0,954 ± 0,001
1:100	0,99729 ± 0,00001	0,905 ± 0,001



Obr. 1. Průměrná velikost micelárních částic při různé iontové síle. Výsledky jsou vyjádřeny jako střední hodnota +/- SD (standardní odchylka) na základě 6 následujících/po sobě jdoucích měření

důvodem je, že pokud se k micelám přidají protony, molekuly surfaktantů přestanou být ionogenní. Výsledkem je narušení struktury micel, což vede k agregaci částic. Navíc se během procesu acidifikace vytratila počáteční monomodální distribuce velikosti micel (obr. 3, horní panel) a rozložení velikosti při pH = 2,6 (obr. 3, střední panel) vykázalo minimálně 3 samostatné vrcholy.

Ukázalo se, že daný jev je reverzibilní, protože jakmile se změnilo pH roztoku zpět na hodnotu 4,6, velikost částic micel se vrátila na původní hodnotu cca 20 nm. Z toho je patrné, že molekuly surfaktantů byly opět deprotonizovány a micely se vrátily do původní struktury.

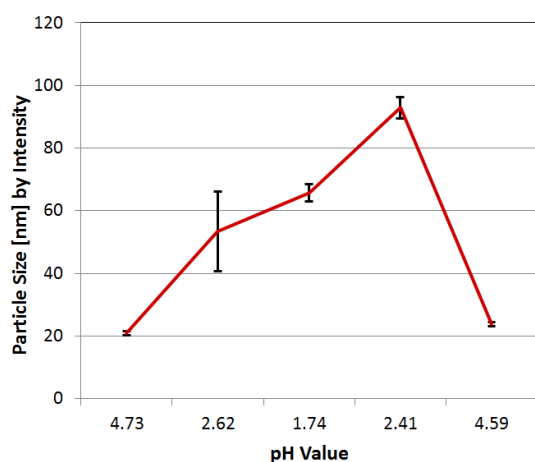
Tabulka III

Variační koeficienty a obousměrné odchylky měření 4 vzorků micelárního roztoku s různým ředěním (počet měření n = 3)

Ředění vzorku [v Δ H <sub>2</sub> O]	Variační koeficient <sup>#</sup> [%]	Obousměrná odchylka <sup>‡</sup> [%]
Neředěno	0,01	0,05
1:2	0,01	0,07
1:10	0,02	0,05
1:100	0,02	0,06

<sup>#</sup> Variační koeficient udává rozdíly [v %] mezi naměřenými dobami pohybu v jednotlivých měřeních vzorku přístrojem Lovis 2000 ME.

<sup>‡</sup> Obousměrná odchylka popisuje rozdíly [v %] mezi pohybem dopředu a dozadu u přístroje Lovis 2000 ME.



Obr. 2. Změna velikosti micelárních částic (hlavní vrchol dle intenzity) během postupné změny pH. Osa x ukazuje hodnoty pH v chronologickém pořadí. Výsledky jsou vyjádřeny jako střední hodnota +/- SD na základě 6 následujících/po sobě jdoucích měření

Vliv viskozity a koncentrace surfaktantů na hodnoty velikosti částic micel dle DLS

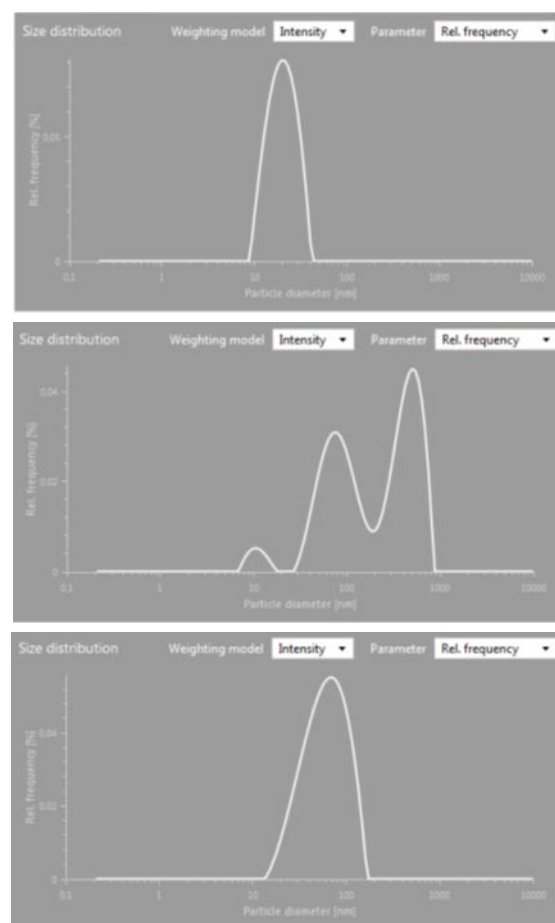
Zkoumali jsme účinek koncentrace surfaktantů na základě postupného ředění micelární suspenze deionizovanou vodou. Měření DLS bylo prováděno u neředěného roztoku a u roztoku zředěného na poměr 1:2, 1:10 a 1:100 (poměr ředění látky k celkovému objemu roztoku). Vzhledem k velké pravděpodobnosti vlivu ředění na viskozitu suspenze jsme změřili dynamickou viskozitu každého ředění pomocí přístroje Lovis 2000 ME (viz část 3.1). Tab. IV a obr. 4 ukazují průměrnou velikost částic vypočtenou pro různá ředění s použitím buď viskozity vody („nekorigovaný“ soubor údajů) nebo naměřené hodnoty viskozity (soubor údajů „korigovaný z hlediska viskozity“).

Tabulka IV

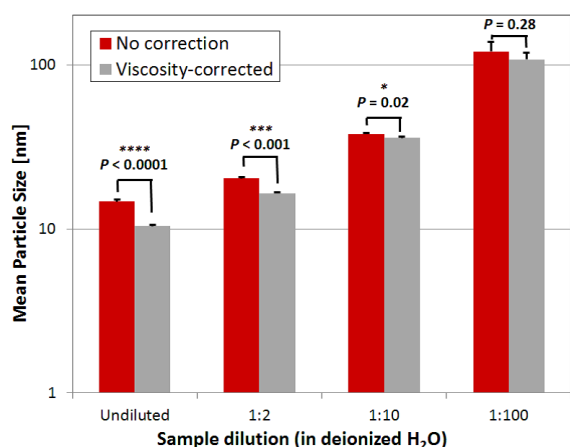
Velikost částic (podle intenzity) micel vypočtená buď na základě viskozity vody („nekorigovaná“) nebo na základě hodnot dynamické viskozity zjištěných přístrojem Lovis 200 ME („korigovaná“ vzhledem k viskozitě)

Ředění vzorku [v Δ H <sub>2</sub> O]	Nekorigovaná velikost částic <sup>#</sup> [nm] (Rel. SD v %)	Velikost částic korigovaná vzhledem k viskozitě <sup>#</sup> [nm] (Rel. SD v %)	Míra korekce <sup>‡</sup>
Neředěno	14,66 ± 0,46 (3,14 %)	10,38 ± 0,24 (2,31 %)	- 41 %
1:2	20,32 ± 0,33 (1,55 %)	16,47 ± 0,26 (1,55 %)	- 23 %
1:10	37,98 ± 0,57 (1,51 %)	35,77 ± 0,87 (2,44 %)	- 6 %
1:100	120,8 ± 16,8 (13,89 %)	107,8 ± 10,7 (9,88 %)	- 11 %

<sup>#</sup> Výsledky jsou vyjádřeny jako střední hodnota +/- standardní odchylka na základě 5 následujících/po sobě jdoucích měření. Relativní standardní odchylka je uvedena v závorce. <sup>‡</sup> Odpovídá relativní změně vypočtené velikosti částic, vezmeme-li v úvahu dynamickou viskozitu vzorku. Korekce = (1 - (nekorigovaná/ korigovaná vzhledem k viskozitě)) × 100



Obr. 3. Rozložení velikosti částic (dle intenzity) micelárního roztoku při hodnotě pH 4,7 (horní panel), pH 2,6 (prostřední panel) a pH 1,7 (spodní panel). Zobrazeno je jedno reprezentativní měření ze 6



Obr. 4. Účinek koncentrace surfaktantu na velikost částic micel: porovnání údajů vypočtených na základě viskozity vody (červený sloupec) a viskozity změřené přístrojem Lovis 2000 ME (šedý sloupec). Výsledky jsou vyjádřeny jako střední hodnota  $\pm$  SD na základě 5 měření. Statistická významnost byla vyhodnocena pomocí standardního T-testu s použitím korigovaného a nekorigovaného souboru dat, hodnoty P jsou uvedeny pro každé jednotlivé ředění vzorku

Ze všech fyzikálních parametrů testovaných v této studii měla koncentrace surfaktantů největší vliv na velikost micelárních částic. Velikost částic vzrostla z cca 10 nm v zásobním roztoku na více než 100 nm v roztoku 1:100. Zatím není známo, zda důvodem je zvětšení jednotlivých micel v reakci na zvýšenou hydrataci systému nebo agregace micel do větších struktur.

Nejdůležitější skutečností je, že uvedená data potvrdila, že pro přesné měření velikosti částic vzorků, které mají podstatně vyšší viskozitu než ředící látka, je nezbytné vzít v úvahu skutečnou viskozitu vzorku. V případě neředěného roztoku byla průměrná velikost částic vypočtená na základě změřené viskozity vzorku o 41 % menší než velikost vypočtená na základě viskozity vody (viz tab. IV, 4. sloupec).

Vzhledem k tomu, že velikost částic vypočtenou s použitím „skutečné“ viskozity vzorku lze z matematického hlediska považovat za přesnou hodnotu, můžeme dospět k závěru, že nekorigovaná hodnota velikosti částic, vykazuje chybu, neboli nadhodnocení o 41 %. Z důvodu nízké standardní odchylky měření DLS se tato chyba ukázala jako statisticky velmi významná ( $P < 0,0001^*$ , viz obr. 4 – „Neředěný“ datový soubor).

Uvedená chyba se ukázala jako velmi významná ( $P < 0,001$ ) i při ředění 1:2, kdy velikost částic vypočtená

na základě viskozity vody, nikoli vzorku, byla stále nadhodnocena o 23 %. U vzorku v ředění 1:10 a dále s tím, jak se viskozita vzorku blížila viskozitě vody, klesla chyba na 6 %, ale přesto zůstala významná ( $P = 0,02$ ).

U vzorku v ředění 1:100 dosáhla velikost částic micel hodnot vyšších než 100 nm, ale série měření DLS vykazovala rovněž větší standardní odchylky (viz tab. IV, spodní řádek), poukazující pravděpodobně na nestabilitu micel v roztoku. Tudiž, i když stanovení hodnot velikosti částic s ohledem na viskozitu vzorku u tohoto ředění stále vedlo ke korekci – 11 %, u této chyby již nebyla prokázána statistická významnost.

## Závěr

Dynamická viskozita je nedílnou součástí výpočtu velikosti částic na základě měření DLS. Operátor, který nemá k dispozici viskozimetr, má při práci se vzorkem, jehož dynamická viskozita není známa, pouze dvě možnosti:

- První z nich je změřit koncentrovaný vzorek a vypočítat velikost částic s použitím dynamické viskozity ředící látky vzorku s vědomím, že tento postup bude mít negativní dopad na přesnost výsledku.
- Druhá možnost je provést měření DLS u postupných ředění vzorku, dokud získané hodnoty (vypočtené s použitím viskozity ředící látky) nebudou stabilní nejméně u dvou ředění.
- To bude znamenat, že bylo dosaženo bodu, kdy se rozdíl mezi viskozitou vzorku a viskozitou ředící látky stává natolik zanedbatelným, že již nemá vliv na hodnoty velikosti částic.

Druhý uvedený přístup je vhodný, pokud jde o částice, které po zředění zůstávají stabilní; v případě částic, jejichž velikost a chování se liší v závislosti na jejich koncentraci proto, že reagují buď vzájemně mezi sebou, nebo s ředící látkou, je však nutně odsouzen k neúspěchu. V tomto případě se se snížením koncentrace částic změní jejich povaha, takže každé ředění se ve skutečnosti stává zcela novým a odlišným vzorkem.

Micely, které představují shluky molekul povrchově aktivní látky s kulovitou strukturou, jsou učebnicovým příkladem takového vzorku. Ukázali jsme zde, že velikost částic micel stanovená pomocí měření DLS přístrojem Litesizer™ 500 se může lišit v závislosti na iontové síle ředící látky a jejím pH, ale největší změny velikosti částic micel jsou pozorovány při prostém ředění vzorku. Zjistili jsme, že při zředění zásobního roztoku deionizovanou vodou na poměr 1:100 se velikost částic zdesetinásobila.

\* P-hodnota zjištěna na základě standardního T-testu; ukazuje, že pravděpodobnost, že rozdíl pozorovaný mezi oběma datovými soubory je způsoben rizikem, je nižší než 0,0001 (nebo 0,01 %). Hodnoty  $P < 0,05$  (nebo 5 %) jsou obvykle považovány za ukazatel statisticky významného rozdílu.

Jedinou možností, jak získat přesný odhad velikosti částic micel v našem zásobním roztoku, bylo zkombinovat měření DLS s měřením dynamické viskozity. Tato měření byla provedena pomocí viskozimetru Lovis 2000 ME v kombinaci s hustoměrem DMA M. Následně jsme porovnali hodnoty velikosti částic vypočtené na základě viskozity vody a na základě naměřené viskozity jednotlivých vzorků při použití jak zásobního roztoku, tak různých ředění.

Získané údaje potvrzují, že u neředěných nebo slabě zředěných vzorků byly hodnoty velikosti částic při výpočtu na základě viskozity vody namísto viskozity vzorku značně nadhodnocené. Vzhledem k vysoké reprodukovatelnosti měření přístrojem Litesizer™ tento rozdíl přetrvával a byl stále významný i u ředění vzorku na poměr 1:10.

Neupravené hodnoty velikosti částic a hodnoty upravené vzhledem k viskozitě se vrátily k podobným hodnotám (tj. přestaly vykazovat statisticky významný rozdíl), teprve když byl vzorek zředěn deionizovanou vodou na poměr 1:100.

Tyto údaje souhrnně ukazují, že přístroj Litesizer™ 500, který automaticky zvolí správný měřicí úhel, a polohu zaostření, umožňuje efektivně změřit velikost částic micel s výbornou reprodukovatelností měření v širokém spektru chemických prostředí.

Údaje však zejména zdůrazňují skutečnost, že měření koncentrovaných vzorků pomocí DLS musí být spojeno s měřením dynamické viskozity vzorku, jinak hrozí riziko značného zkreslení hodnot velikosti částic. Použití viskozimetru Lovis 2000 ME v kombinaci s hustoměrem DMA M nám umožnilo dosáhnout výrazně přesnějšího měření velikosti částic koncentrovaných micelárních vzorků. Tento přístup má význam především pro charakterizaci citlivých vzorků, jako jsou micely, kde není možné použít ředění ke zmírnění vlivu viskozity, protože ředění výrazným způsobem mění povahu částic.

*Velice si vážíme podpory Prof. Andrease Zimmera z Univerzity v Grazu, jehož odborné znalosti a zkušenosti přispěly ke zlepšení kvality této práce.*