

**METODY WYZNACZANIA KRYTYCZNEGO  
STĘŻENIA MICELARNEGO ZWIĄZKÓW  
POWIERZCHNIOWO CZYNNYCH**

METHODS FOR DETERMINING CRITICAL  
MICELLAR CONCENTRATION OF SURFACTANTS

**Ola Grabowska, Paweł Dywicki\*,  
Lech Chmurzyński**

*Uniwersytet Gdański, Wydział Chemii,  
ul. Wita Stwosza 63, 80-308 Gdańsk  
\*e-mail: pdywicki@gmail.com*

---

Abstract  
Wykaz stosowanych skrótów  
Wprowadzenie  
1. Metoda konduktometryczna  
2. Elektroforeza kapilarna  
3. Izotermiczna kalorymetria miareczkowa  
4. Metoda luminescencyjna  
Uwagi końcowe  
Piśmiennictwo cytowane

---

**Ola Grabowska** jest studentką II roku studiów stacjonarnych II stopnia na kierunku Chemia, specjalność chemia biomedyczna na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Ukończyła studia I stopnia na kierunku Chemia – chemia biomedyczna w 2018 roku. Swoją pracę naukową realizuje w Katedrze Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Pracowni Fizykochemii Związków Kompleksowych. Jej tematyka badawcza dotyczy wpływu związków powierzchniowo czynnych na określone grupy związków chemicznych.



<https://orcid.org/0000-0001-6793-5415>

**Paweł Dywicki** jest studentem II roku studiów stacjonarnych II stopnia na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego. Swoje pierwsze prace badawcze realizuje w Katedrze Chemii Ogólnej i Nieorganicznej, Pracowni Fizykochemii Związków Kompleksowych.



<https://orcid.org/0000-0002-4719-0476>

**Prof. dr hab. inż. Lech Chmurzyński** ukończył studia na Wydziale Chemicznym Politechniki Gdańskiej uzyskując tytuł zawodowy magistra inżyniera chemika (1978). Stopień doktora nauk chemicznych otrzymał na Wydziale Matematyki, Fizyki i Chemii Uniwersytetu Gdańskiego (1986), a doktora habilitowanego nauk chemicznych na Wydziale Chemii UG (1994). W roku 2001 uzyskał tytuł profesora nauk chemicznych. Od 1978 roku związany jest z Wydziałem Matematyki, Fizyki i Chemii, a później (1992) Chemii UG. Od roku 2003 pracuje na stanowisku profesora zwyczajnego, pełniąc funkcję kierownika Katedry Chemii Ogólnej i Nieorganicznej (od 2006). Jego zainteresowania badawcze skupiają się na problematyce chemii środowisk niewodnych, oddziaływań kwasowo–zasadowych, chemii związków kompleksowych oraz chemii bionieorganicznej – w tym biosensorów molekularnych i ich zastosowań do oznaczania reaktywnych form azotu oraz tlenu w materiale biologicznym. Opublikował około 300 oryginalnych i przeglądowych prac naukowych. Jest współautorem ponad 300 prezentacji konferencyjnych, w tym wykładów na zaproszenie. Wypromował 13 doktorów, a z Jego inspiracji sześć osób habilitowało się.



<https://orcid.org/0000-0003-2707-0255>

### ABSTRACT

Surface active agents, also known as surfactants, are a group of chemical compounds that are used in various products of the chemical industry. These compounds are components of medicines, detergents, motor oils and many others. The multitude of uses of surfactants makes it important to know their aggregation behaviour in solution. There are many methods used to analyse surfactants behaviour in liquid phase. The choice of a particular technique usually depends on the chemical structure of the surfactant.

An example of a method that is used in studies of ionic surfactants is conductometry. This technique allows to study the dependence of specific conductivity on surfactant concentration, enabling determination of critical micellar concentration (CMC).

Capillary electrophoresis is another example of the method used to determine the critical micellar concentration. It allows to make measurements in conditions where other methods fail, including conductometric method. Surfactant solutions differ in viscosity, which changes with the appearance of micelles in solution. Measurement of marker compound migration time through surfactant solutions of various concentrations allow to determine critical micellar concentration.

Isothermal titration calorimetry (ITC) allows to study the thermal effects associated with the aggregation of surfactants into micelles. Based on the energy changes that occur during titration, the critical micellar concentration of surfactant can be precisely determined. ITC is very sensitive method, so basically it can be used to examine all types of surfactants. In addition, the ITC method allows to determine the thermodynamic parameters of the undergoing micellization process.

The use of several measuring methods gives a more complete picture of the phenomena occurring in solutions. It allows to understand aggregation process more accurately. Therefore, CMC measurement are often made with the use of several complementary methods.

Keywords: surface active agents, critical micelle concentration, conductometry, capillary electrophoresis, isothermal titration calorimetry, luminescent method

Słowa kluczowe: związki powierzchniowo czynne, krytyczne stężenie micelarne, konduktometria, elektroforeza kapilarna, izotermiczna kalorymetria miareczkowa, metoda luminescencyjna

---

---

**WYKAZ STOSOWANYCH SKRÓTÓW**

CMC	– krytyczne stężenie micelarne
CTAB	– bromek heksadecylotrimetyloamoniowy
[C5mim][PF6]	– heksafluorofosforan 3-metylo-1-pentyloimidazolu
DPC	– dodecylofosfocholina
ITC	– izotermiczna kalorymetria miareczkowa
MOPS	– kwas 3-morfolinopropano-1-sulfonowy
NaC	– kaprylan sodu
PIPES	– kwas 1,4-piperazynodietanosulfonowy
SDS	– dodecylosiarczan(VI) sodu
TAPS	– kwas N-tris(hydroksymetylo)metylo-3-aminopropanosulfonowy
TES	– kwas N-tris(hydroksymetylo)metylo-2-aminoetanosulfonowy
TRIS	– trihydroksyaminometan

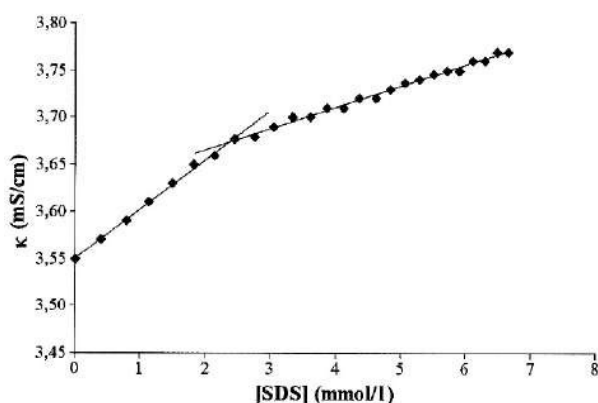
## WPROWADZENIE

Związki powierzchniowo czynne, inaczej surfaktanty należą do łatwo dostępnych związków chemicznych. Znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, w tym w chemii (kinetyka chemiczna), biologii (naśladowanie błony) czy farmacji (produkcja leków) [1]. Występują w wielu produktach, m.in. w olejach silnikowych, lekach, mydłach czy środkach piorących [2]. Związki te posiadają budowę amfifilową, składają się zarówno z części hydrofilowej tzw. „głowy” jak i hydrofobowej tzw. „ogona” [3]. Wykazują wiele charakterystycznych cech m.in. zdolność pianotwórczą, zwilżającą, piorącą, dyspergującą, emulgującą, zmniejszającą napięcie powierzchniowe. Istotną właściwością związków powierzchniowo czynnych jest możliwość tworzenia układów koloidalnych, zwanych micelami [4, 5]. Stężenie, powyżej którego tworzą się micelle, nazywa się krytycznym stężeniem micelarnym (ang. critical micelle concentration, skrót CMC). Powyżej CMC monomery i micelle istnieją w dynamicznej równowadze. CMC dla każdego związku powierzchniowo czynnego przyjmuje różne wartości, zależy przede wszystkim od budowy chemicznej cząsteczki surfaktantu, a ponadto od takich czynników jak temperatura, ciśnienie, stężenie elektrolitu w roztworze [1]. Istnieje szereg metod wyznaczania krytycznego stężenia micelarnego związków powierzchniowo czynnych. Wartość CMC można określić na podstawie zmian właściwości fizykochemicznych roztworów surfaktantów w miarę wzrostu ich stężenia. Właściwości fizyczne, które mogą zostać wykorzystane w tym celu, to m.in. lepkość, gęstość, przewodność, napięcie powierzchniowe, ciśnienie osmotyczne, napięcie międzyfazowe, współczynnik załamania światła czy rozpraszanie światła. Techniki instrumentalne, które można zastosować, obejmują m.in. spektroskopię elektronowego rezonansu paramagnetycznego (EPR), spektroskopię magnetycznego rezonansu jądrowego (NMR), spektroskopię absorpcyjną UV-Vis, kalorymetrię, techniki chromatograficzne, potencjometryczne czy spektrofluorymetryczne [2].

W niniejszym artykule przedstawiono sposób wykorzystania metody konduktometrycznej, elektroforezy kapilarnej, izotermicznego miareczkowania kalorymetrycznego oraz metody luminescencyjnej do badania krytycznego stężenia micelarnego związków powierzchniowo czynnych. Każda z wyżej wymienionych technik pozwala wyznaczać różne wielkości fizyczne. Zestawienie danych otrzymanych tymi metodami umożliwi dokładniejszy opis zjawisk zachodzących w roztworze podczas micelizacji.

## 1. METODA KONDUKTOMETRYCZNA

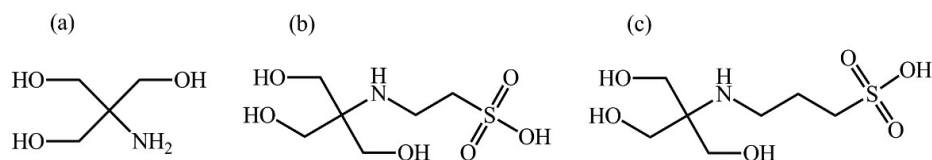
Zaletą metody konduktometrycznej jest prostota eksperymentu i niedroga aparatura. W trakcie pomiaru obserwuje się zmiany przewodnictwa wywołane zmianą składu roztworu na skutek powstawania micel [6]. Aby wyznaczyć krytyczne stężenie micelarne mierzy się przewodnictwo roztworów o rosnącym stężeniu związku powierzchniowo czynnego. Wykres zmiany przewodności właściwej ( $\kappa$ ) od stężenia surfaktantu ( $c$ ) przedstawia dwie linie proste o różnym kącie nachylenia (Rys. 1). Pierwsza linia odpowiada zakresowi stężeń poniżej CMC surfaktantu, gdy w roztworze występują tylko monomery związku powierzchniowo czynnego. Druga odpowiada zakresowi stężeń powyżej CMC surfaktantu. Przy wyższych stężeniach związku powierzchniowo czynnego zaczynają tworzyć się micelle. W wyniku zachodzącego procesu przewodnictwo właściwe roztworu wzrasta w mniejszym stopniu, co przejawia się zmianą kąta nachylenia krzywej zależności  $\kappa = f(c)$ . Rzut powstałego punktu przecięcia dwóch linii na oś odciętych określa wartość CMC badanego surfaktantu (Rys. 1) [7]. Konduktometria posiada pewne ograniczenia w stosunku do omawianych oznaczeń. W przypadku związków powierzchniowo czynnych o niskiej wartości krytycznego stężenia micelnego metoda ta wykazuje brak czułości. Niemożliwe jest również ustalenie CMC przy wysokich stężeniach elektrolitów, ze względu na zbyt duże przewodnictwo badanego układu i niewielkie jego zmiany na skutek zwiększania stężenia związku powierzchniowo czynnego. Innym ograniczeniem jest zastosowanie omawianej techniki tylko do oznaczeń surfaktantów jonowych [7].



Rysunek 1. Wykres zależności przewodności właściwej od stężenia surfaktantu na podstawie konduktometrycznego wyznaczenia CMC SDS-u w 30 mM buforze fosforanowym (pH=7,0), T=298,15 K [7]

Figure 1. Variations of specific conductivity ( $\kappa$ ) vs. surfactant concentration ( $c$ ), for the conductometric determination of the CMC of SDS at 30 mM phosphate buffer (pH=7.0), T=298.15 K [7]

Metodę konduktometryczną można stosować do analizy wpływu wielu czynników na wartość CMC surfaktantu. Bada się m.in. interakcje surfaktant – bufor, surfaktant – ciecz jonowa oraz wpływ takich interakcji na zachowanie agregacyjne związku powierzchniowo czynnego [8]. Dodecylosiarczan(VI) sodu jest przykładem surfaktantu, który często wykorzystuje się w eksperymentach. Natomiast trihydroksyaminometan (TRIS), N-tris(hydroksymetylo)metylo-2-aminoetanosulfonowy (TES) czy N-tris(hydroksymetylo)metylo-3-aminopropanosulfonowy (TAPS) są przykładami związków, które wchodzi w skład popularnych roztworów buforowych. TRIS, TES i TAPS są strukturalnie powiązane. TES oraz TAPS są pochodnymi TRIS posiadającymi dodatkowo podstawnik alkilosulfonowy przy grupie aminowej (Rys. 2) [9].

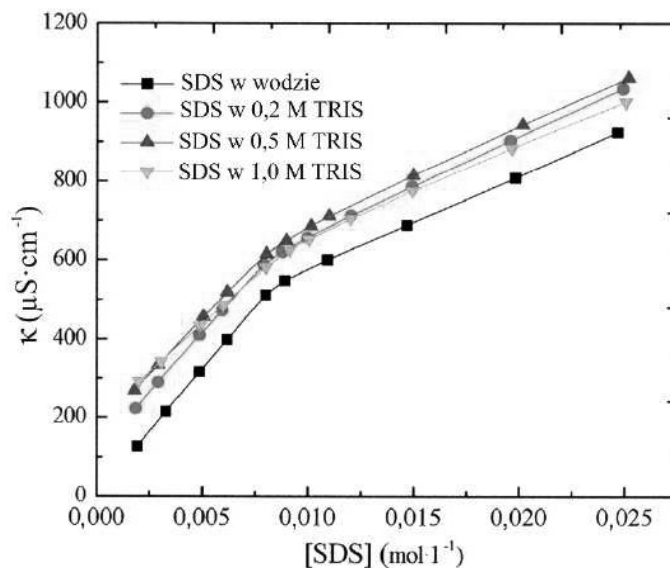


Rysunek 2. Wzór półstrukturalny: (a) TRIS, (b) TES, (c) TAPS [9]

Figure 2. Semi-structural formula of: (a) TRIS, (b) TES, (c) TAPS [9]

W celu wyznaczenia wartości krytycznego stężenia micelarnego SDS-u mierzono przewodnictwo serii roztworów zawierających różne stężenia dodecylosiarczanu(VI) sodu w wodzie oraz w roztworach TRIS, TES, TAPS. Wykreślenie krzywej zależności przewodnictwa właściwego od stężenia surfaktantu pozwoliło wyznaczyć krytyczne stężenie micelarne związku powierzchniowo czynnego w badanym układzie (Rys. 3) [9].

Na podstawie badań wykazano, że CMC SDS-u wzrasta wraz ze wzrostem stężenia roztworu TRIS, z wyjątkiem układów zawierających TRIS w niższych stężeniach, natomiast maleje ze wzrostem stężenia roztworu TES i TAPS (Tab. 1) [9]. Ustalono, że oddziaływania elektrostatyczne oraz hydrofobowe badanych związków z cząsteczkami SDS-u wpływają na jego zachowanie agregacyjne w roztworze. Istotny wpływ ma również zdolność do tworzenia wiązań wodorowych badanych związków z wodą, co wpływa na zachowanie warstwy hydratacyjnej wokół monomerów surfaktantu, a tym samym wpływa na wartość jego krytycznego stężenia micelarnego. Dodatkowo stwierdzono, że oddziaływania hydrofobowe mają dominujący wpływ na wartość CMC surfaktantu, czego potwierdzeniem są jego niższe wartości dla układów zawierających związki z większym udziałem części hydrofobowej (TES oraz TAPS) w porównaniu z bardziej hydrofilowym TRIS [9].



Rysunek 3. Wykres zależności przewodnictwa właściwego od stężenia SDS-u zawierającego bufor TRIS w różnych stężeniach (0 - 1,0 M) w 298,15 K [9]

Figure 3. Variations of conductivities of aqueous solutions of SDS containing different concentrations of TRIS buffer (0 – 1.0 M) at 298.15 K [9]

Tabela 1. Wartości CMC SDS-u w roztworach wodnych TRIS, TES, TAPS w 298,15 K, obliczone na podstawie danych z analizy konduktometrycznej [9]

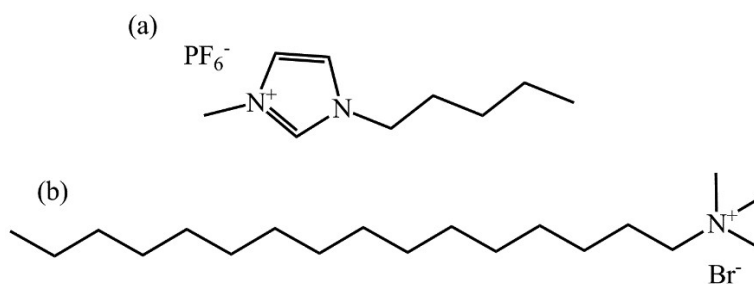
Table 1. The CMC values of SDS in the aqueous TRIS, TES, TAPS solutions at 298.15 K which are calculated from experimental conductivity data analysis [9]

Stężenie związku TRIS, TES, TAPS [mM]	CMC [mM] SDS-u w obecności:		
	TRIS	TES	TAPS
0	8,26 ± 0,05	8,26 ± 0,05	8,26 ± 0,05
200	8,01 ± 0,12	7,17 ± 0,07	6,64 ± 0,12
500	8,10 ± 0,04	6,38 ± 0,08	-
1000	9,15 ± 0,09	-	-

Opisywaną metodę elektrochemiczną można stosować również w analizach interakcji surfaktant – ciecz jonowa [10]. W tego typu układach ciecze jonowe



stosowane są jako modyfikatory właściwości fizykochemicznych związków powierzchniowo czynnych. Chaudhary i Pal wykazali, że obecność cieczy jonowych wpływa na wartość krytycznego stężenia micelarnego surfaktantu (Tab. 2) [11]. Do badań wykorzystali surfaktant stosowany m.in. w biochemii czy farmacji - bromek heksadecylotrimetyloamoniowy (CTAB) oraz hydrofobową ciecz jonową – heksafluororofosforan 3-metylo-1-pentyloimidazolu ([C5mim][PF6]) (Rys. 4). Udowodnili, że wartość CMC związku powierzchniowo czynnego wzrasta w obecności cieczy jonowej, a także wzrasta wraz ze wzrostem jej stężenia w roztworze. Dodatkowo wykazali wpływ temperatury na wartość CMC surfaktantu (Tab. 2). Na podstawie otrzymanych wyników stwierdzili, że wzrost wartości krytycznego stężenia micelarnego związku powierzchniowo czynnego wynika z silnego oddziaływania cieczy jonowej z surfaktantem oraz tworzenia mieszanych miceli surfaktant – ciecz jonowa [11].



Rysunek 4. Wzór półstrukturalny: (a) heksafluorofosforanu 3-metylo-1-pentyloimidazolu, (b) bromku heksadecylotrimetyloamoniowego [11]

Figure 4. The semi-structural formula of: (a) 3-methyl-1-pentylimidazolium hexafluorophosphate, (b) cetyltrimethylammonium bromide [11]

Tabela 2. Wartości krytycznego stężenia micelarnego roztworu wodnego surfaktantu w obecności cieczy jonowej, w różnych temperaturach [11]

Table 2. Values of the critical micelle concentration of aqueous solutions of the surfactant in the absence and presence of ionic liquid, at different temperatures [11]

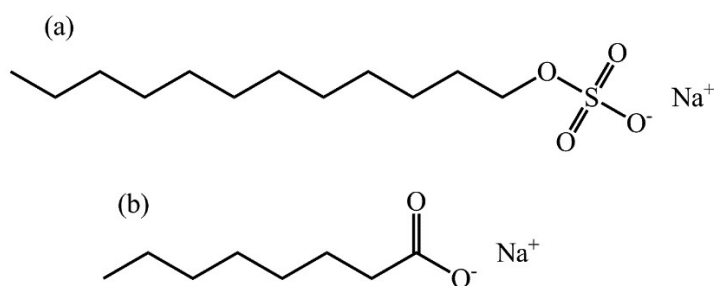
Stężenie [C5mim][PF6] [%]	Wartość CMC CTAB [mM]		
	298,15 K	308,15 K	318,15 K
0	0,95	1,06	1,21
0,025	1,18	1,21	1,37
0,05	1,24	1,35	1,43

## 2. ELEKTROFOREZA KAPILARNA

Elektroforeza kapilarna jest techniką wykorzystywaną do rozdzielania analitów zawierających, m.in. biolakromolekuły, syntetyczne polimery czy różne związki małowcząsteczkowe [12]. Jej zaletą jest wysoka wydajność, rozdzielczość, szybka analiza oraz bardzo mała objętość analizowanej próbki. Ponadto, metodę tę można wykorzystać do wyznaczania krytycznego stężenia micelnego związków powierzchniowo czynnych w takich warunkach pomiarowych, w których zawodzą metody konwencjonalne, takie jak pomiary przewodności czy napięcia powierzchniowego [13]. Eksperymenty wykonywane na sprzęcie przeznaczonym do elektroforezy kapilarnej opierają się m.in. na modelu retencji [14], ruchliwości elektroforetycznej związku markerowego [15], a także pomiaru prądu elektrycznego w funkcji stężeń związków powierzchniowo czynnych [16].

Aparatura przeznaczona do elektroforezy kapilarnej, wykorzystująca prawo Poiseuille'a dotyczące laminarnego przepływu cieczy [17], okazała się niezawodnym wiskozymetrem służącym do pomiarów lepkości małych cząsteczek, roztworów polimerów oraz cieczy jonowych. Zmienność lepkości cząsteczek środka powierzchniowo czynnego między stanem monomerycznym i micelnym można wykorzystać do określenia wartości CMC [12].

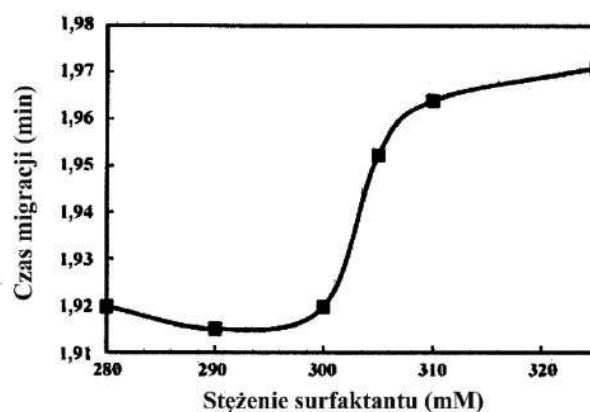
Rejestrując zmiany czasu migracji związku markerowego przez roztwory surfaktantów o różnych stężeniach pod wpływem określonego ciśnienia, Stanley i współpracownicy wykazali możliwość wykorzystania opisywanej aparatury do pomiarów krytycznego stężenia micelnego kilku anionowych związków powierzchniowo czynnych m.in. SDS-u czy kaprylanu sodu (NaC) (Rys. 5) [18]. Założyli, że w wyniku micelizacji następuje zmiana lepkości układu, przez co zauważalnie zmieni się czas przepływu związku markerowego.



Rysunek 5. Badane związki powierzchniowo czynne: (a) dodecylosiarczan(VI) sodu (SDS), (b) kaprylan sodu (NaC) [18]

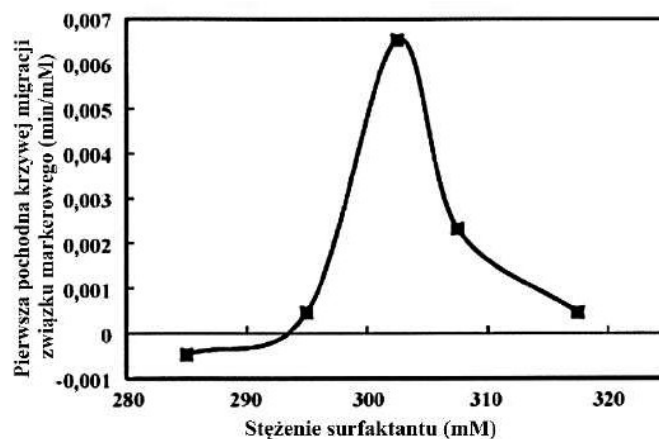
Figure 5. Investigated surfactants: (a) sodium dodecyl sulphate (SDS), (b) sodium caprylate (NaC) [18]

Wartość krytycznego stężenia micelnego badanych surfaktantów wyznaczyli wykreślając pierwszą pochodną krzywej zależności czasu migracji związku markerowego (nitrometanu) od stężenia badanego związku powierzchniowo czynnego (kaprylanu sodu). Wartość maksimum krzywej pierwszej pochodnej przyjmuje się za punkt odpowiadający CMC surfaktantu (Rys. 6, 7) [18].



Rysunek 6. Wykres zależności czasu migracji związku markerowego od stężenia związku powierzchniowo czynnego w  $T=308$  K [18]

Figure 6. Variations of migration times of the marker compound vs. surfactants concentrations at  $T=308$  K [18]



Rysunek 7. Wykres pierwszej pochodnej wyznaczonej na podstawie danych uzyskanych metodą elektroforezy kapilarniej [18]

Figure 7. Variations of the slope derivative determined on the basis of data obtained by capillary electrophoresis [18]

Na podstawie otrzymanych wyników potwierdzono skuteczność wykorzystywanej metody do wyznaczania krytycznego stężenia micelnego związków powierzchniowo czynnych. Wyniki opisywanych oznaczeń przedstawiono w Tabeli 3 [18]. Ponadto, wykazano, że technika ta nie wymaga optymalizacji napięcia w celu dokładnego określenia wartości CMC związku powierzchniowo czynnego, jak ma to miejsce w metodzie opartej na pomiarze prądu elektrycznego [16].

Tabela 3. Porównanie wartości CMC badanych surfaktantów uzyskane za pomocą pomiarów opartych na lepkości z wartościami literaturowymi [18]

Table 3. Comparison of CMC values investigated surfactants obtained via the viscosity based measurements with those reported in literature [18]

Surfaktant	Uzyskane wartości CMC [mM]	Wartości CMC [mM] literaturowe
SDS	8,10	8,08 – 8,02 [19, 20]
NaC	300	280 – 398 [21, 22]

Stosowanie związków markerowych o zróżnicowanej budowie pozwala wyznaczać wartość krytycznego stężenia micelnego surfaktantu w oparciu o różne zjawiska zachodzące w układzie. Przykładem tego typu zjawisk jest zmiana lepkości roztworu wynikająca z zachodzącego procesu micelizacji oraz oddziaływanie związku markerowego z powstającymi micelami. Powyżej opisana metoda odnosi się do zmian lepkości wynikających z agregacji surfaktantów [18]. W innym przypadku wykorzystano fakt, iż obojętne, hydrofobowe cząsteczki mogą przenikać do wnętrza micel. W związku z tym po przekroczeniu CMC można zauważyć znaczny wzrost czasu migracji markera. Dzieje się to ze względu na rozmiar micel, które migrują wolniej od mniejszych cząsteczek niezwiązanego z micelą związku markerowego [23]. Na tej podstawie Nakamura i współpracownicy wyznaczyli CMC kilku anionowo czynnych surfaktantów (Tab. 4). Zbadali również możliwość zastosowania do badań różnych związków markerowych. Według ich założeń związek markerowy powinien być hydrofobowy i elektrycznie obojętny, by mógł przenikać do wnętrza miceli, dobrze rozpuszczalny w wodzie oraz wykazywać wysoką absorpcję promieniowania UV, która ułatwiłaby jego detekcję. Na podstawie wyżej wymienionych założeń przebadali serię 6 związków: Sudan III, toluen, alkohol benzylowy, 2-naftol oraz 2-naftalenometanol. Odpowiednim związkiem markerowym okazał się 2-naftalenometanol. Nie posiadał on zdysocjowanej grupy funkcyjnej oraz krzywe

uzyskiwane przy jego wykorzystaniu przejawiały charakterystyczny punkt przegięcia odpowiadający CMC surfaktantu [23].

Tabela 4. Porównanie wartości CMC anionowo czynnych surfaktantów uzyskanych za pomocą metody elektroforezy kapilarnej z wartościami wyznaczonymi za pomocą metody konduktometrycznej [23]

Table 4. Comparison of CMC values of anionic surfactants obtained via the capillary electrophoresis with values obtained via the conductometric method [23]

Surfaktant	CMC [mM]	
	Elektroforeza kapilarna	Metoda konduktometryczna
Dodecylosiarczan(VI) sodu	3,92	4,02
Tetradecylosiarczan(VI) sodu	0,87	0,89
Dekanosiaraczan(VI) sodu	34,50	34,40

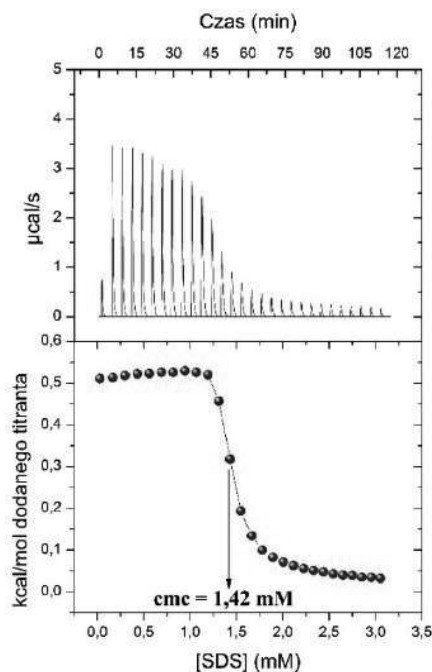
Istnieją jednak doniesienia, że związki markerowe mogą wchodzić w interakcje z oznaczanym surfaktantem, tym samym wpływając na jego wartość CMC. W związku z tym istotne jest dobranie odpowiedniego rodzaju markera do przeprowadzanych badań, tak by nie oddziaływał lub oddziaływał w sposób możliwie najmniejszy z oznaczanym związkiem powierzchniowo czynnym. Szczegółowa analiza związku markerowego pozwala zapobiec fałszywym wynikom oznaczeń, a w efekcie tego nieprawidłowemu wnioskowaniu [12]. Technika elektroforezy kapilarnej może być łatwo zautomatyzowana, charakteryzuje się dużą szybkością oraz nie ma większych wymagań dotyczących próbek, dzięki czemu można nią badać np. izolowane biosurfaktanty czy wyjątkowo drogie materiały [18].

### 3. IZOTERMICZNA KALORYMETRIA MIARECZKOWA

Izotermiczna kalorymetria miareczkowa, w skrócie ITC (*ang. Isothermal Titration Calorimetry*) jest niezwykle wszechstronną metodą termoanalityczną, którą można zastosować do różnorodnych badań m.in. interakcji białek z innymi białkami, jonami metali czy węglowodanami przy całkowitym zachowaniu stałej temperatury i ciśnienia (atmosferycznego) [24]. ITC jest techniką, która dostarcza również niezbędnych informacji na temat samoorganizacji surfaktantów w micelle. Pozwala wyznaczyć wartość CMC oraz zmianę entalpii micelizacji ( $\Delta H_{mic}$ ) już w jednym eksperymencie. Dodatkowo, umożliwia obliczyć inne parametry termodynamiczne związane z procesem micelizacji m.in. entalpię swobodną ( $\Delta G_{mic}$ ), zmianę entropii ( $\Delta S_{mic}$ ) czy zmianę pojemności cieplnej ( $\Delta Cp_{mic}$ ) na podstawie wyznaczonych eksperymentalnie wartości CMC oraz  $\Delta H_{mic}$  [25]. Szerokie zastosowanie ITC do badań nad oddziaływaniami związków powierzchniowo czynnych m.in. z polimerami, biomolekułami np. DNA, nanocząs-

teczkami, wynika z precyzji pomiarów opartych na wymianie energii na sposób ciepła [25]. Technika ta nie ma ograniczeń co do rodzaju analizowanych surfaktantów, pozwala analizować zarówno jonowe jak i niejonowe związki powierzchniowo czynne w mikromolowym zakresie stężeń [26]. Ze względu na liczne zalety i nadzwyczajną czułość, izotermiczna kalorymetria miareczkowa jest metodą cenioną i chętnie wykorzystywaną przez szerokie grono naukowców.

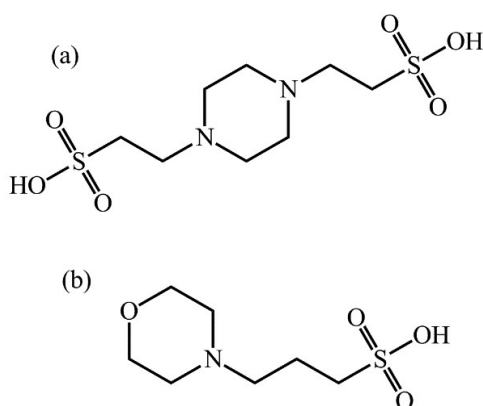
Wynikiem pomiaru ITC jest termogram przedstawiający serię sygnałów, które odpowiadają wykonywanym kolejno po sobie krokom titracji (Rys. 8). Analizę można uznać za zakończoną, gdy na powstającym wykresie obserwuje się sygnały o coraz mniejszej intensywności. Jest to związane z efektami cieplnymi, które wynikają jedynie z rozcieńczania roztworu titranta [27]. Aby wyznaczyć wartość CMC należy wykreślić krzywą miareczkowania kalorymetrycznego. Jest to możliwe, ponieważ pole powierzchni pod każdym sygnałem powstałym w wyniku miareczkowania jest wprost proporcjonalne do efektu cieplnego zachodzącej reakcji. Krytyczne stężenie micelarne odpowiada punktowi przegięcia na krzywej miareczkowania (Rys. 8). Punkt ten można wyznaczyć stosując m.in. metodę pierwszej pochodnej [27].



Rysunek 8. Wyznaczanie CMC dla SDS-u w 50 mM PIPES o pH=6, T=298,15 K [28]

Figure 8. Determination of SDS CMC in 50 mM PIPES of a pH=6, at 298.15 K [28]

Dotychczas przy użyciu metody ITC przeprowadzono szereg analiz wykorzystujących związki powierzchniowo czynne. Zbadano m.in. wpływ obecności biologicznie aktywnych buforów na wartość CMC związków powierzchniowo czynnych [28]. Tego typu bufory wykazują wysoką stabilność chemiczną, są stosunkowo niedrogie, a ich wartości pH są bliskie lub równe fizjologicznemu [29]. Przykładem omawianych roztworów buforowych jest np. kwas 1,4-piperazynodietanosylfonowy (PIPES) czy kwas 3-morfolinopropano-1-sulfonowy (MOPS) (Rys. 9) [28].



Rysunek 9. Wzory półstrukturalne biologicznie aktywnych buforów: (a) PIPES, (b) MOPS [28]  
Figure 9. Semi-structural formulas of the biologically active buffers: (a) PIPES, (b) MOPS [28]

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, że obecność składnika buforowego sprzyja tworzeniu się micel, czego wynikiem są niższe wartości CMC badanego surfaktantu (SDS-u) (Tab. 5) [28]. Najniższe krytyczne stężenie micelarne zaobserwowano dla układu zawierającego bufor PIPES. Stwierdzono, że jest to najprawdopodobniej związane z największą w tym układzie siłą jonową. Oddziaływanie składnika buforowego z monomerami SDS-u powoduje obniżenie egzotermicznego efektu micelizacji w porównaniu z roztworem niebuforowanym. Badania ujawniają, że przeprowadzając pomiary w roztworze buforowym, które wiążą się z tworzeniem micel, należy zwrócić szczególną uwagę na rodzaj substancji buforowej, która w zależności od swojej budowy w charakterystyczny dla siebie sposób oddziałuje z surfaktantem [28].

Tabela 5. Wartości krytycznego stężenia micelarnego SDS-u w 50 mM roztworach buforowych o pH= 6,5 w T=298,15 K [28]

Table 5. Critical micelle concentration of SDS in 50 mM buffer solutions of a pH=6.5, at 298.15 K [28]

Bufor	CMC SDS-u [mM]
PIPES	1,42
MOPS	2,43

Często wykonuje się badania termodynamiczne określonej grupy związków powierzchniowo czynnych o bardzo zbliżonej budowie. Umożliwia to analizę wpływu budowy części hydrofilowej oraz hydrofobowej na proces powstawania micel [30].

Metodę ITC wykorzystuje się również do badań interakcji surfaktant – surfaktant. Pozwala ona wyznaczać parametry termodynamiczne oraz wartości CMC związków powierzchniowo czynnych tworzących micelle mieszane. Fakt ten został wykorzystany do badań, w których sprawdzono oddziaływania dodecylofosfocholiny (DPC) z dodecylosiarczanem(VI) sodu. Pomiar wykonano dla mieszaniny omawianych surfaktantów w różnych stosunkach molowych. Z przeprowadzonych analiz wynika, że wartość CMC maleje wraz ze wzrostem ilości SDS-u w roztworze (Tab. 6). Stwierdzono, że jest to spowodowane wzrastającą siłą jonową roztworu oraz korzystnym oddziaływaniem elektrostatycznym między częścią kationową DPC, a anionową SDS-u, co umożliwia łatwiejsze tworzenie micel mieszanych [31].

Tabela 6. Wartości krytycznego stężenia micelarnego micel mieszanych DPC/SDS wyznaczone metodą ITC w wodzie, w 298,15 K [31]

Table 6. Values of the critical micelle concentration of DPC/SDS micelles determined by the ITC method in water at 298.15 K [31]

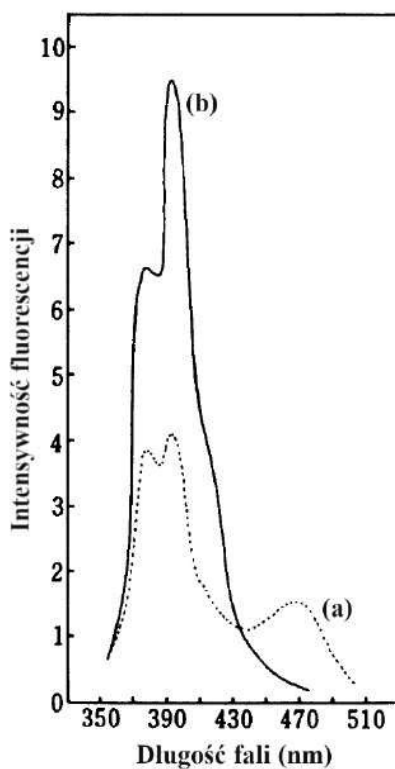
Stosunek molowy DPC/SDS	Wartości CMC [mM]
1:0	1,99
9:1	0,94
5:1	0,84

#### 4. METODA LUMINESCENCYJNA

Podstawą metody luminescencyjnej jest badanie zmian widma emisji i wzbudzenia sond fluorescencyjnych. Wykorzystanie tego rodzaju sond pozwala analizować zachowanie agregacyjne surfaktantów w roztworze, m.in. wyznaczać ich wartość krytycznego stężenia micelarnego, liczbę agregacji micelarnych oraz określać kształt i rozmiar micel [32]. Wiele grup badawczych analizuje zarówno micelle normalne, jak i odwrotne [33]. Istotne jest, by związek luminescencyjny wykazywał podwyższoną lub odmienną charakterystykę emisji w roztworach micelarnych. Dzięki wyraźnemu wzrostowi intensywności emisji w badaniach



fluorescencyjnych możliwa jest analiza zachodzącego procesu micelizacji [32]. Spektroskopię fluorescencyjną wykorzystuje się m.in. do wyznaczania wartości krytycznego stężenia micelnego surfaktantów polimerowych. Jej zaletą jest wysoka wrażliwość na dynamikę i strukturę układów micelarnych. W tego typu badaniach często stosowaną sondą fluorescencyjną jest piren,. Wykazuje on dużą czułość na lokalne zmiany środowiska. Każda zmiana polarności wokół cząsteczki pirenu może powodować znaczące zmiany intensywności fluorescencji. Dzięki temu w łatwy sposób można wyznaczyć wartość CMC m.in. amfifilowych kopolimerów blokowych [34].

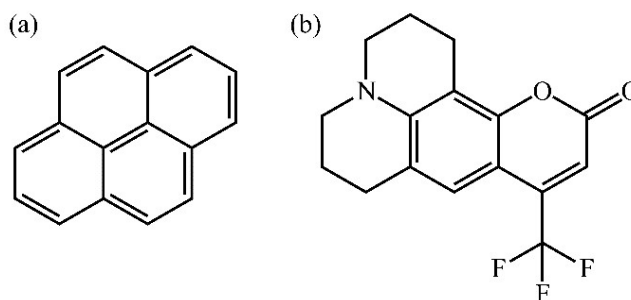


Rysunek 10. Widmo emisji pirenu: (a) bez surfaktantu, (b) w obecności surfaktantu [35]

Figure 10. Emission spectra of pyrene in the (a) absence and (b) presence of surfactant [35]

Metodę luminescencyjną wykorzystuje się również do wyznaczania wartości krytycznego stężenia micelnego związków powierzchniowo czynnych o niskiej masie cząsteczkowej. Tego typu badania przeprowadził Telmo wraz z współpracownikami [36]. Wyzaczyli oni wartość CMC roztworów surfaktantów

w wodzie m.in. SDS-u, CTAB oraz Triton-u X-405. Pomiary polegały na badaniu zmiany intensywności fluorescencji w miarę zwiększania stężenia związku powierzchniowo czynnego w roztworze. Do pomiarów jako sondę fluorescencyjną zastosowano kumarynę 153. Kumaryna 153 charakteryzuje się niewielką intensywnością fluorescencji w wodzie. Wynika to z jej niskiej wydajności kwantowej w środowisku polarnym ( $\phi = 0,10 - 0,12$ ). Przy niskich stężeniach związku powierzchniowo czynnego, gdy w roztworze znajdują się tylko jego monomery, intensywność fluorescencji kumaryny 153 jest niewielka. Przy wyższych stężeniach surfaktantu, gdy w roztworze występują już micelle, kumaryna 153 wnika do ich hydrofobowego wnętrza. Fakt ten umożliwia zaobserwowanie zmiany intensywności fluorescencji. Wykreślenie krzywej zależności liczby falowej odpowiadającej maksimum pasma fluorescencji od stężenia surfaktantu pozwala wyznaczyć wartość CMC badanego związku powierzchniowo czynnego [36]. Zaletą kumaryny 153 jest większa rozpuszczalność w wodzie w porównaniu do innej często stosowanej sondy fluorescencyjnej – pirenu. Wykazuje ona również mniejszą tendencję do tworzenia fluorescencyjnych i niefluorescencyjnych agregatów w zestawieniu z pirenem. Dodatkowo eksperymenty z wykorzystaniem kumaryny 153 są łatwiejsze do przeprowadzenia, mniej czasochłonne i dokładniejsze niż z pirenem. Z tego powodu dobór odpowiedniej sondy fluorescencyjnej jest kluczowym warunkiem zapewniającym wiarygodność otrzymywanych wyników [36].



Rysunek 11. Wzór półstrukturalny: (a) pirenu, (b) kumaryny 153

Figure 11. The semi-structural formula of: (a) pyrene, (b) coumarin 153

## UWAGI KOŃCOWE

Surfaktanty są grupą związków powszechnie wykorzystywanych w wielu gałęziach przemysłu. Obecnie istnieje duże zapotrzebowanie na poznanie ich zachowania w różnorodnych układach. Liczne cechy związków powierzchniowo czynnych pozwalają na zastosowanie wielu metod eksperymentalnych do badania ich właściwości. Podstawową zdolnością tej grupy związków jest agregacja w micelle,

a samo ich powstawanie jest często wykorzystywanym zjawiskiem w przemyśle. W związku z tym istotna jest dokładna znajomość stężenia surfaktantów, przy których występują w formie monomerycznej oraz micelarnej. Wiedza ta umożliwia odpowiednie dobranie stężeń używanych związków do wcześniej założonego celu. Dynamiczny rozwój chemii związków powierzchniowo czynnych wiąże się z syntezą nowych surfaktantów. W konsekwencji tego ważne jest, by szybko i precyzyjnie wyznaczać ich wartość CMC. Istnieje wiele metod wyznaczania krytycznego stężenia micelnego związków powierzchniowo czynnych. Można do nich zaliczyć: metodę konduktometryczną, kalorymetryczną, potencjometryczną, luminescencyjną, stalagmometryczną spektrofotometryczną, ITC, elektroforezę kapilarną czy też techniki chromatograficzne. Każda z wielu metod wykorzystywanych do wyznaczania krytycznego stężenia micelnego związków powierzchniowo czynnych posiada pewne wady i zalety. Jedną z głównych zalet metody konduktometrycznej jest prostota wykonywanego pomiaru, natomiast ograniczeniem jest możliwość oznaczania wyłącznie surfaktantów jonowych. Metoda ITC charakteryzuje się nadzwyczajną czułością i precyzją. Ograniczeniem izotermicznej kalorymetrii miareczkowej jest brak możliwości badania układów, dla których efekty energetyczne związane z tworzeniem micel są zbyt małe. Z kolei elektroforeza kapilarna jest techniką, której najczęściej wymienianą zaletą jest niewielka ilość próbki potrzebnej do oznaczeń, natomiast wadą czasochłonne dopasowywanie odpowiedniego związku markerowego do badań. Metoda luminescencyjna pozwala wyznaczać krytyczne stężenie micelne surfaktantów, których wartości CMC są szczególnie niskie (rzędu  $10^{-7}$ ). Wadą jest trudność w doborze prawidłowej sondy fluorescencyjnej. W związku z tym techniki wykorzystywane do eksperymentów badawczych powinny wzajemnie uzupełniać się aby dostarczać precyzyjnych i powtarzalnych wyników.

#### PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] A. Domínguez, A. Fernández, N. González, E. Iglesias, L. Montenegro, *J. Chem. Educ.*, 1997, **74**(10), 1227.
- [2] K.G. Furton, A. Norelus, *J. Chem. Educ.*, 1993, **70**(3), 254.
- [3] A.I. Mitsionis, T.C. Vaimakis, *Chem. Phys. Lett.*, 2012, **547**, 110.
- [4] G. Savaroglu, A. Yurt, *J. Chem. Thermodyn.*, 2011, **43**(10), 1552.
- [5] C.O. Rangel-Yagui, H.W.L. Hsu, A. Pessoa-Jr, L.C. Tavares, *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, 2005, **41**(2), 237.
- [6] K. Nesměrák, I. Němcová, 2006, **39**(6), 1023.
- [7] E. Fuguet, C. Ràfols, M. Rosés, E. Bosch, *Anal. Chim. Acta.*, 2005, **548**(1-2), 95.
- [8] U. Farooq, A. Ali, R. Patel, N.A. Malik, *J. Mol. Liq.*, 2017, **234**, 452.
- [9] B.S. Gupta, C.R. Shen, M.J. Lee, *Colloid. Surface. A.*, 2017, **529**, 64.
- [10] A. Ali, U. Farooq, S. Uzair, R. Patel, *J. Mol. Liq.*, 2016, **223**, 589.
- [11] S. Chaudhary, A. Pal, *J. Mol. Liq.*, 2014, **190**, 10.
- [12] C. Wu, N.J. Li, K.C. Chen, H.F. Hsu, *Res. Chem. Intermediat.*, 2014, **40**(6), 2371.
- [13] C.E. Lin, *J. Chromatogr. A*, 2004, **1037**(1-2), 467.

- [14] M.G. Khaledi, S.C. Smith, J.K. Strasters, *Anal. Chem.*, 1991, **63**(17), 1820.
- [15] M. Pérez-Rodríguez, G. Prieto, C. Rega, L.M. Varela, F. Sarmiento, V. Mosquera, *Langmuir*, 1998, **14**(16), 4422.
- [16] A. Cifuentes, J.L. Bernal, J.C. Diez-Masa, *Anal. Chem.*, 1997, **69**(20), 4271.
- [17] M.S. Bello, R. Rezzonico, P.G. Righetti, *J. Chromatogr. A*, 1994, **659**(1), 199.
- [18] F.E. Stanley, A.M. Warner, E. Schneiderman, A.M. Stalcup, *J. Chromatogr. A*, 2009, **1216**(47), 8431.
- [19] E.A.G. Aniansson, S.N. Wall, M. Almgren, H. Hoffmann, I. Kielmann, W. Ulbricht, C. Tondre, *J. Phys. Chem.*, 1976, **80**(9), 905.
- [20] M.S. Akhter, *Colloid. Surface. A.*, 1997, **121**(2-3), 103.
- [21] A. González-Pérez, J.M. Ruso, G. Prieto, F. Sarmiento, *Langmuir*, 2004, **20**(6), 2512.
- [22] M.S. Akhter, S.M. Al-Alawi, *Colloid. Surface. A.*, 2000, **164**(2-3), 247.
- [23] H. Nakamura, A. Sano, K. Matsuura, *Anal. Sci.*, 1998, **14**(2), 379.
- [24] R.J. Falconer, B.M. Collins, *J. Mol. Recognit.*, 2011, **24**(1), 1.
- [25] K. Bouchemal, *Drug Discov. Today*, 2008, **13**(21-22), 960.
- [26] W.J. Mcauley, D.S. Jones, V.L. Kett, *J. Pharm. Sci-Us.*, 2009, **98**(8), 2659.
- [27] D. Wyrzykowski, *Izotermiczna kalorymetria miareczkowa. LAB.*, 2012, **17**, 6.
- [28] J. Makowska, D. Wyrzykowski, B. Pilarski, L. Chmurzyński, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2015, **121**(1), 257.
- [29] C.M. Ferreira, I.S. Pinto, E.V. Soares, H.M. Soares, *RSC Adv.*, 2015, **5**(39), 30989.
- [30] W. Loh, C. Brinatti, K.C. Tam, *BBA-Gen. Subjects*, 2016, **1860**(5), 999.
- [31] E. Sikorska, D. Wyrzykowski, K. Szutkowski, K. Greber, E.A. Lubecka, I. Zhukov, *J. Therm. Anal. Calorim.*, 2016, **123**(1), 511.
- [32] R.V. Wandruszka, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, 1992, **23**(3), 187.
- [33] A. Verbeeck, F.C. De Schryver, *Langmuir*, 1987, **3**(4), 494.
- [34] Ö. Topel, B.A. Çakır, L. Budama, N. Hoda, *J. Mol. Liq.*, 2013, **177**, 40.
- [35] T. Ohyashiki, T. Mohri, *Chem. Pharm. Bull.*, 1983, **31**(4), 1296.
- [36] T.J. Prazeres, M. Beija, F.V. Fernandes, P.G. Marcelino, J.P.S. Farinha, J.M.G. Martinho, *Inorg. Chim. Acta*, 2012, **381**, 181.

Praca wpłynęła do Redakcji 31 stycznia 2020 r.