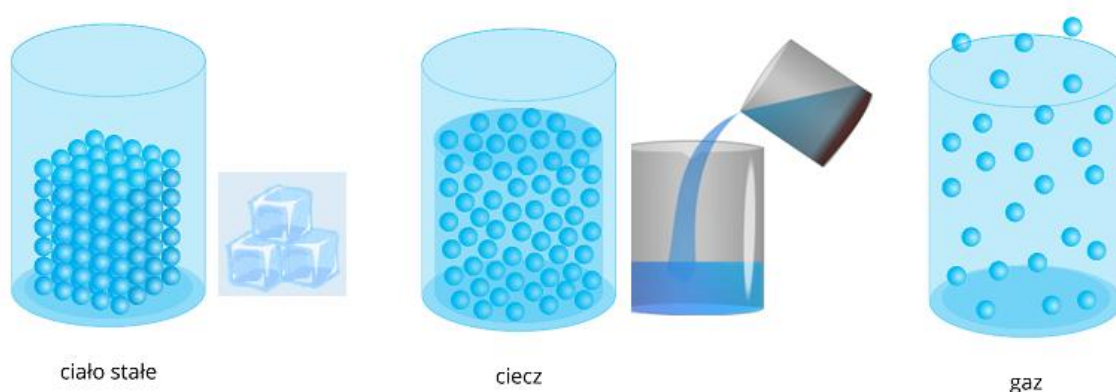


Ćwiczenie 22b. **Badanie parametrów fizycznych cieczy: gęstość, lepkość. Wyznaczanie punktu izoelektrycznego białek na podstawie pomiaru lepkości ich roztworów.**

Ciecze często określa się jako stan pośredni między ciałem stałym, a gazem. Wynika to nie tylko z stopnia upakowania cząstek, ale też i możliwości przemieszczania się poszczególnych cząstek względem siebie. W stanie stałym gęste upakowanie cząstek powoduje, że ich ruchy ograniczają się jedynie do niewielkich oscylacji względem sieci węzłów krystalicznych. W cieczech i gazach cząstki mogą przemieszczać się na niewielkie odległości. Długość drogi swobodnej molekuł w gazie jest rzędu 10^{-7} m i jest duża w porównaniu z rozmiarami molekuł, podczas gdy w cieczy jest ona rzędu 10^{-10} m, czyli ma wielkość porównywalną z rozmiarami pojedynczych cząsteczek (wyrażanych w angstrmach; $1 \text{ \AA} = 0,1 \text{ nm} = 10^{-10} \text{ m}$). Zdolność do przemieszczania się cząstek względem siebie powoduje, że zarówno ciecze, jak i gazy przyjmują kształt naczynia, w którym się znajdują. Jednak energia potencjalna oddziaływań międzymolekularnych cząsteczek cieczy jest na tyle duża, że nie pozwala na pełne oderwanie się od siebie molekuł cieczy. Z tego też powodu ciecze są spójne i zachowują swoją określoną objętość podczas przelewania z jednego naczynia do drugiego (ryc. 1).

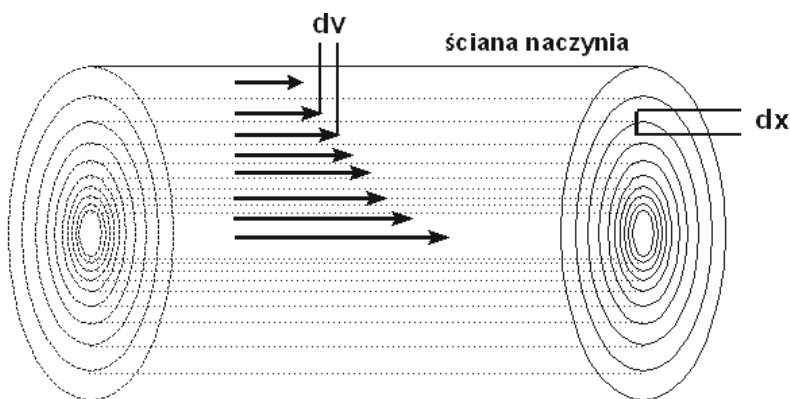


Ryc. 1. Stany skupienia materii – gęstość upakowania cząstek

Gęstość (d) jest wielkością fizyczną, która określa jaką masę substancji (m) przypada na jednostkę objętości (V), co możemy zdefiniować jako: $d = m/V$. W przypadku cieczy najczęściej wyraża się ją w g/cm^3 i wykazano, że jest ona uzależniona od temperatury pomiaru. Trzeba pamiętać, że w wyniku wzrostu temperatury zmienia się energia kinetyczna cząsteczek, a tym samym ich zdolność do przemieszczania się i przechodzenia do fazy gazowej lub stałej. Dlatego też często posługujemy się definicją **gęstości względnej**, która określa stosunek masy określonej substancji badanej w temperaturze odniesienia (T_0) do masy takiej samej objętości substancji przyjętej za porównawczą w temperaturze odniesienia. Zwykle temperaturą odniesienia dla gęstości badanej cieczy jest temperatura 20°C (293 K).

Substancją porównawczą jest zwykle woda, której gęstość w temperaturze 4°C wynosi 1 g/cm³ lub woda w temperaturze 20°C ($d=0,998 \text{ g/cm}^3$). Do pomiarów gęstości używa się aerometrów (swobodnych pływaków), piknometrów (szklanych lub metalowych naczyń o określonej pojemności), bardzo czułych wag oraz gęstościomierzy oscylacyjnych, które mierzą częstotliwość drgań oscylatora o stałej pojemności wypełnionego cieczą, lub oscylatora zanurzonego w tej cieczy. Bardzo często chcąc wyznaczyć gęstość badanych cieczy wyznaczamy bądź porównujemy ich masę, dlatego niezmiernie ważna jest czułość wagi i umiejętność się nią posługiwanie. W przypadku zastosowania areometru – należy dobrać taki, który po zanurzeniu w cieczy daje możliwość odczytania wartości temperatury przy dolnym menisku cieczy.

Obok gęstości cieczy bardzo często mówi się o jej płynności/lepkości (lepkość jest odwrotnością płynności). **Lepkość cieczy** jest wynikiem sił tarcia wewnętrznego pomiędzy cząsteczkami cieczy. Siły takie powstają przy ruchu jednej warstwy cieczy wzdłuż drugiej (przy założeniu, że ciecz złożona jest z wielu warstw o bardzo małej grubości). Jest to wynikiem jakby zazębienia za pomocą cząsteczek, które przechodzą z jednej warstwy do drugiej. Wskutek tarcia występującego między cząsteczkami cieczy, poruszająca się cząsteczka pociąga za sobą sąsiadujące cząsteczki tym silniej, im większa jest lepkość. Te cząsteczki pociągają następne itd. Każda następna warstwa porusza się jednak nieco wolniej. Prędkość spada do zera dla cząstek przy ściankach, które są jakby "przyklejone", a więc nieruchome. Tak więc maksymalną prędkość mają cząsteczki w środku naczynia, jak pokazuje to rysunek 2. Taka sytuacja ma miejsce przy małych prędkościach cieczy. Mówimy, że przepływ jest *laminarny*, czyli warstwowy. Kolejne warstwy cieczy płyną nie zakłócając się wzajemnie.



$$\text{Shear rate} = dv/dx (\text{s}^{-1})$$

$$\text{Shear stress} = \text{shear rate} \times \text{lepkość} (\text{N/m}^2)$$

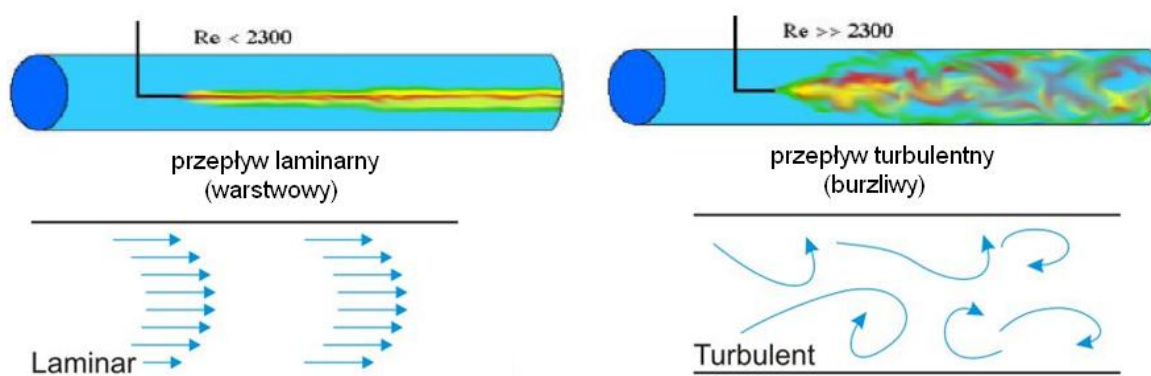
dv - różnica prędkości

dx - różnica odległości
pomiędzy warstwami

Ryc. 2. Różnice w prędkości poszczególnych warstw cieczy oddalonych od siebie o odległości (dx)

Różnice w prędkościach warstw są charakteryzowane w modelu laminarnym przez **szybkość ścinania** (*shear rate*, $S = dv/dx$), która określa z jaką szybkością porusza się jedna warstwa cieczy względem drugiej. Matematycznie wyznaczamy ją dzieląc różnicę prędkości dwóch warstw przez odległość tych warstw. Musimy jednak pamiętać, że im większa będzie różnica w prędkości przemieszczania się jednej warstwy cieczy względem drugiej, tym większe będą pojawiały się siły oporu. Siła na jednostkę powierzchni potrzebna do wprowadzenia w ruch jednej warstwy cieczy względem drugiej określana jest mianem **naprężenia ścinającego** (*shear stress*, F). Zatem "naprężenie ścinające" możemy opisać jako siłę działającą stycznie do granicy dwóch warstw, przypadająca na jednostkę powierzchni tych warstw. Wspomniane warstwy są pojęciem hipotetycznym, w rzeczywistości zmiana prędkości zachodzi w sposób ciągły, a naprężenia można określić w każdym punkcie płynu.

Szybkość ścinania jest istotnym parametrem w charakterystyce przepływu krwi. Wykazano, że w dużych naczyniach z relatywnie wolnym przepływem (żyły) *shear rate* najczęściej nie przekracza 200 s^{-1} , a w tętnicach, gdzie przepływ krwi jest z reguły dużo szybszy *shear rate* wynosi powyżej 600 s^{-1} (standardowo w badaniach eksperymentalnych przyjmuje się wartości w zakresie $1000\text{-}12000 \text{ s}^{-1}$)



Rys.3. Laminarny i turbulentny ruch cząsteczek płynu. Wprowadzenie barwnika przy przepływie laminarnym pozwala zaobserwować barwną warstwę w strumieniu przepływającej cieczy, podczas gdy w przepływie burzliwym obserwujemy zawirowania i rozmytą chmurę barwnika w całej szerokości naczynia.

Przy dużych prędkościach w cieczy pojawiają się zawirowania i ruch z laminarnego zmienia się w *turbulentny* (rozkład prędkości jest wtedy inny; rys. 3). Tworzące się wiry powodują mieszanie się poszczególnych warstw płynu. W przepływie turbulentnym energia i prędkości cząsteczek płynu są tak duże, że wewnętrzne tarcie (czyli lepkość) nie są w stanie wyłumić powstających wirów i zaburzeń przepływów. Charakter przepływu jest określany przez bezwymiarową liczbę Reynoldsa. Dla każdego rodzaju przepływu istnieje krytyczna liczba Reynoldsa (Re_{cr}), poniżej której przepływ turbulentny nie jest obserwowany. Należy zaznaczyć, że nie istnieje uniwersalna wartość krytycznej liczby Reynoldsa i jest ona odmienna w zależności od rodzaju realizowanego przepływu. Musi być zatem wyznaczana na drodze eksperymentalnej. Przykładowo, z pomiarów

eksperymentalnych dla rur okrągłych wynika, że dla wartości poniżej $Re < 2100$ obserwuje się na przepływ laminarny. Przy zachowaniu specjalnych warunków przepływu, dla płynu o wysokiej lepkości udaje się zachować ruch laminarny nawet przy wartości 50000, podczas gdy dla wody przy $Re > 3000$ obserwuje się przepływ turbulentny.

Dla uproszczenia w opisie lepkości płynów rzeczywistych będziemy rozpatrywać laminarny (warstwowy) ruch płynów. Jeżeli jedną warstwę cieczy o powierzchni S chcemy przesuwając względem drugiej z szybkością względną równą dv , a odległość między nimi wynosi dx , to siła (F) potrzebna do tego będzie wynosić:

$$F = \eta S (dv/dx) \quad (1)$$

gdzie η jest współczynnikiem lepkości dynamicznej (lepkość dynamiczna).

Równanie (1) nazywane jest *równaniem Newtona* - opisuje zachowanie się większości gazów i cieczy (w których rozproszenie energii następuje w wyniku zderzeń stosunkowo małych cząstek). Takie ciecze nazywane są idealnie lepкими lub *niutonowskimi*. Lepkość ich jest stała w danej temperaturze i przy danym ciśnieniu. Krzywa płynięcia (graficzna zależność naprężenia ścinającego od prędkości ścinania) płynu niutonowskiego jest linią prostą przechodzącą przez początek układu współrzędnych. Nachylenie tej linii, czyli tangens kąta jaki tworzy ona z osią odciętych, równe jest współczynnikowi lepkości dynamicznej płynu.

Istnieją jednak ciecze (roztwory polimerów, białek, układy koloidalne, maści itp.), które nie spełniają równania Newtona i nie zachowują liniowej zależności w przypadku krzywej płynięcia. Z tego powodu nazwano je cieczami *nieniutonowskimi*. Ich lepkość zależy nie tylko od temperatury i ciśnienia, ale także od występujących w nich naprężeń lub gradientów prędkości przepływów. W tym przypadku wartość η występująca w równaniu (1) nie jest stała – zależy od naprężenia ścinającego. W przypadku kiedy naprężenie ścinające wzrasta mniej niż proporcjonalnie do wzrostu szybkości ścinania, jest to płyn nienewtonowski rozrzedzany ścinaniem (przykład: keczup, który staje się bardziej płynny po wstrząśnięciu). Natomiast kiedy naprężenie ścinające wzrasta bardziej niż proporcjonalnie do wzrostu szybkości ścinania, jest to płyn nienewtonowski zagęszczany ścinaniem (przykład: mieszanina wody i mąki ziemniaczanej, która na skutek nagłego uderzenia staje się twarda niczym ciało stałe, podczas gdy wolno wprowadzany przedmiot bez trudu się zanurza – wykazuje właściwości płynne).

Dyscyplina zajmująca się badaniem zależności lepkości od naprężenia ścinającego nazywana jest *reologią*, a krzywe płynięcia nazywane są potocznie reogramami. Wyniki i metody badań reologicznych mają duże zastosowanie w naukach inżynierskich i biomedycznych (np.: w technologii postaci leku, farmakokinetyce, zjawiskach przepływu krwi – hemoreologia), gdzie wiele polimerów, maści, kremów czy asfaltów wykazuje złożone właściwości, a ich lepkość i lepkosprężystość może zależeć od zadanych warunków takich jak naprężenie, skala czasowa czy temperatura.

Istnieją dwie miary lepkości:

- a) *lepkość dynamiczna* wyrażająca stosunek naprężeń ścinających (F) do szybkości ścinania (S):

$$\eta = F/S \quad (2)$$

Jednostką lepkości dynamicznej w układzie SI jest: kilogram $\cdot$ metr⁻¹ $\cdot$ sekunda⁻¹ ($\text{kg} \times \text{m}^{-1} \times \text{s}^{-1}$) lub paskalosekunda ($\text{Pa} \cdot \text{s} = \text{N} \cdot \text{s}/\text{m}^2$). Tradycyjną jednostką w układzie CGS (centymetr-gram sekunda) jest puaz (P): $1\text{P} = 10^{-1} \text{Pa} \cdot \text{s}$

W praktyce wartości lepkości, przeważnie wyrażane są w centypuazach ($\text{cP} = 0,01 \text{P}$).

- a) *lepkość kinematyczna* (nazywana też kinetyczną) jest stosunkiem lepkości dynamicznej (η) do gęstości płynu (d):

$$\nu = \eta/d \quad (3)$$

Jednostką lepkości kinematycznej (nazywanej czasami *lepkością właściwą*) w układzie SI jest metr² $\cdot$ sekunda⁻¹, a w układzie CGS: stokes (lub centystokes (cSt)):

$$1 \text{St} = \text{m}^2/\text{s}$$

Lepkość cieczy zależy od rodzaju cieczy i temperatury. Wzrost temperatury powoduje wzrost energii kinetycznej cząsteczki, a cząsteczki o zwiększonej energii łatwiej pokonują siły przyciągania cząsteczek sąsiednich, stąd też ze wzrostem temperatury, lepkość cieczy maleje (w przypadku gazów - wartość η wzrasta).

Lepkość maleje wykładniczo wraz z temperaturą, co opisuje równanie Arrheniusa-Guzmana:

$$\eta = Ae^{\frac{\Delta E}{RT}} \quad (4)$$

gdzie: ΔE - energia aktywacji przepływu lepkiego (bariera energetyczna, którą musi pokonać cząsteczka podczas ruchu pomiędzy cząsteczkami sąsiednimi),

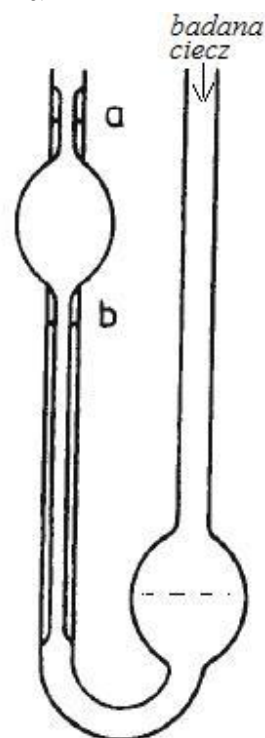
R - stała gazowa,

T - temperatura (wyrażana w $^{\circ}\text{K}$)

A - stała charakterystyczna dla danej cieczy (zależna od masy i objętości molowej).

Do pomiaru lepkości cieczy służą lepkościomierze (wiskozymetry). Do najpopularniejszych należą wiskozymetry Ostwalda i Englera, gdzie oblicza się lepkość kinematyczną przez pomiar czasu przepływu badanej cieczy przez rurkę kapilarną, lub wiskozymetr Höpplera, w którym mierzy się czas opadania standaryzowanej kulki w przezroczystej rurce napełnionej badaną cieczą. W przypadku maści i gęstych zawiesin stosuje się różnego rodzaju wiskozymetry rotacyjne, które mierzą moment siły oporu ruchu obrotowego powodowany lepkością cieczy i służą do wyznaczania współczynnika lepkości dynamicznej.

Metoda pomiaru w *wiskozymetrze Ostwalda* (i innych o podobnej konstrukcji) oparta jest na prawie Poiseuille'a, zgodnie z którym objętość cieczy (V) przepływająca w czasie (t) przez kapilarę o promieniu (R) i długości (l) pod wpływem różnicy ciśnień (Δp) wynosi:



Rys. 4

$$V = \frac{\pi R^4 \Delta p t}{8 \eta l} \quad (5)$$

Zakłada się przy tym, że:

- badana ciecz jest nieściśliwa,
- przepływ jest laminarny,
- warstwa poruszająca się w osi kapilary ma prędkość największą, prędkość pozostałych warstw kapilary zmienia się malejąco do zera (dla warstwy przylegającej bezpośrednio do ścianki),
- poszczególne warstwy poruszają się ruchem jednostajnym,
- przepływ cieczy następuje na skutek istnienia różnicy ciśnień na obu końcach kapilary.

W wiskozymetrze Ostwalda (rys. 4) ciecz przepływa przez kapilarę pod wpływem różnicy ciśnień hydrostatycznych w obu ramionach U-rurki, czyli:

$$\Delta p = (h_1 - h_2) \cdot d \cdot g \quad (6)$$

gdzie: $(h_1 - h_2)$ - różnica poziomów cieczy w obu ramionach,
 d - gęstość cieczy, g - przyspieszenie ziemskie.

W praktyce dla wyznaczenia lepkości mierzy się czas przepływu przez kapilarę objętości cieczy zawartej pomiędzy poziomami a i b (rys. obok). Jeżeli czas ten wynosi dla cieczy wzorcowej o znanej lepkości t_0 , a dla cieczy badanej t_x to:

$$\eta_x = \eta_0 \frac{d_x t_x}{d_0 t_0} \quad (7)$$

Aby różnica poziomów $(h_1 - h_2)$ była w obu przypadkach taka sama, wiskozymetr Ostwalda powinno się zawsze napełniać taką samą objętością cieczy.

Metoda pomiaru szybkości opadania kulki w cieczy została opracowana teoretycznie przez Stokesa, który wyprowadził wzór na siłę, z jaką lepki ośrodek o gęstości d_c przeciwdziała ruchowi kulki o promieniu r , gęstości d_k i prędkości V . Siła ta wynosi:

$$F = 6 \pi \eta r V \quad (8)$$

Na kulkę spadającą w środowisku lepkiem działają trzy siły: wymieniona wyżej siła oporu (tarcia), skierowana ku dołowi siła ciężkości (Q) i działająca ku górze siła wyporu (P). Jednostajny ruch kulki wynika z następującego działania sił: $Q = F + P$, gdzie:

$$Q = \frac{4}{3} \pi r^3 d_k g \quad (9)$$

$$P = \frac{4}{3} \pi r^3 d_c g \quad (10)$$

r - promień kulki

d_k - gęstość materiału, z którego wykonana jest kulka

d_c - gęstość cieczy

g - przyspieszenie ziemskie

Po podstawieniu wszystkich wartości uzyskujemy:

$$6 \pi \eta r V = \frac{4}{3} \pi r^3 (d_k - d_c) g \quad (11)$$

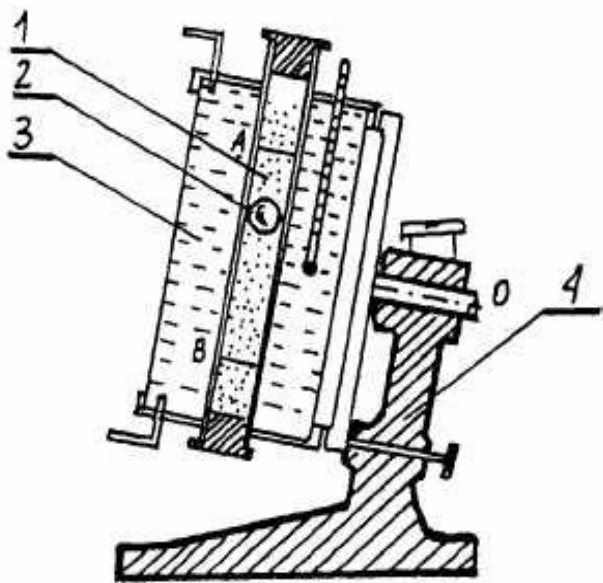
Jeśli prędkość kulki wyrazimy jako stosunek drogi (s) do czasu (t), to wyrażenie na lepkość przyjmie postać:

$$\eta = \frac{2r^2g}{9s}(d_k - d_c)t \quad (12)$$

Wzór ten stosuje się wówczas, gdy kulka opada w cieczy znajdującej się w naczyniu o tak dużych wymiarach, że można pominąć wpływ ścian na ruch kulki. W wiskozymetrze Höpplera kulka opada w rurce szklanej o dość małym promieniu wewnętrznym r . Poza tym, rurka wiskozymetru Höpplera posiada niewielkie odchylenie od pionu, skutkiem czego kulka uzyskuje odpowiednie prowadzenie i nie odbija się od ścianek. Stąd w wyrażeniu stosowanym praktycznie do obliczania lepkości:

$$\eta = K (d_k - d_c) t \quad (13)$$

Stała K tzw. stała kulki różni się znacznie od wartości $\frac{2r^2g}{9s}$ wynikającej ze wzoru (12).



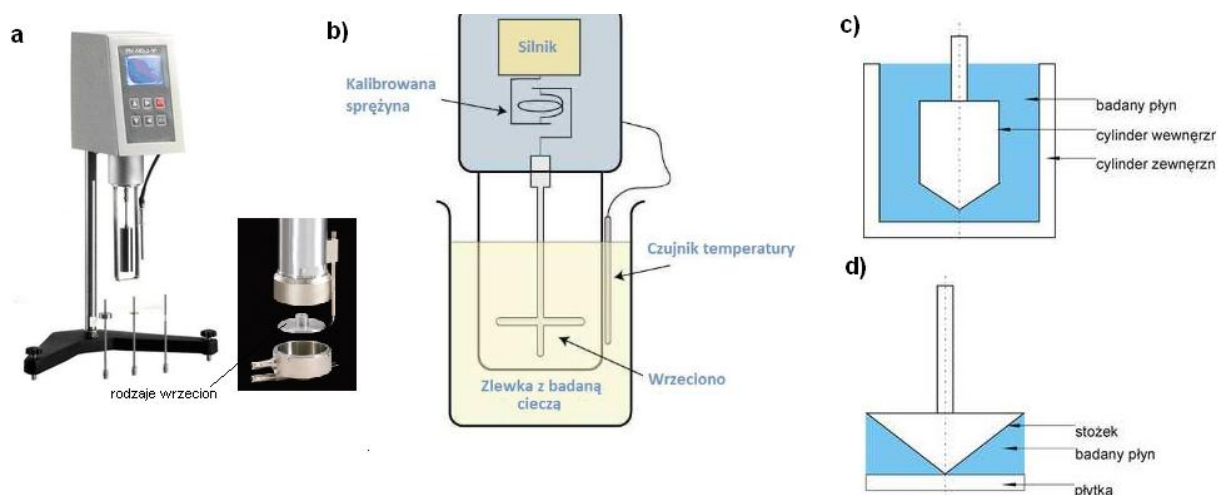
Rys. 5. Wiskozymetr Höpplera: 1 - rurka szklana, 2 – kulka, 3 – płaszcz grzejny wodny, 4 - podstawa

W wiskozymetrze Höpplera miarą lepkości jest prędkość opadania kulki (o znanych wymiarach i gęstości) w badanym ośrodku pod wpływem stałej siły zewnętrznej (zwykle siły ciężkości). Wiskozymetr Höpplera służy do dokładnych pomiarów lepkości gazów i cieczy przezroczystych o charakterze newtonowskim. Przy zachowaniu poprawnej temperatury próbki, lepkościomierz z opadającą kulką jest jednym z najdokładniejszych wiskozymetrów.

Wartość stałej dla danej kulki jest wyznaczana doświadczalnie i podawana w instrukcji wiskozymetru. Wiskozymetr Höpplera umożliwia pomiar lepkości cieczy niutonowskich w granicach $10^{-5} - 10^3 \text{ N}\cdot\text{s}\cdot\text{m}^{-2}$. Rurka, w której opada kulka jest termostatowana płaszczem wodnym. Końce jej są zaopatrzone w nakrętki, które zdejmuje się przy wprowadzaniu lub usuwaniu cieczy i kulki. Wzdłuż rurki zaznaczony jest stały odcinek drogi (100 mm) i połowa tego dystansu. Rurka wraz z płaszczem wodnym jest umocowana w statywie, który umożliwia obrót jej w pionie o 180° . Przez odpowiedni obrót rurki kulkę wprowadza się do góry i mierzy czas jej opadania na wyznaczonej drodze z dokładnością do 0,1 s.

W procesach przemysłowych (przemysł kosmetyczny i farmaceutyczny, petrochemia, mleczarstwo, piwowarstwo, produkcja: lakierów, żywic, słodczy, tłuszczu) powszechnie stosuje się też wiskozymetry rotacyjne, które mierzą opór lepkościowy na

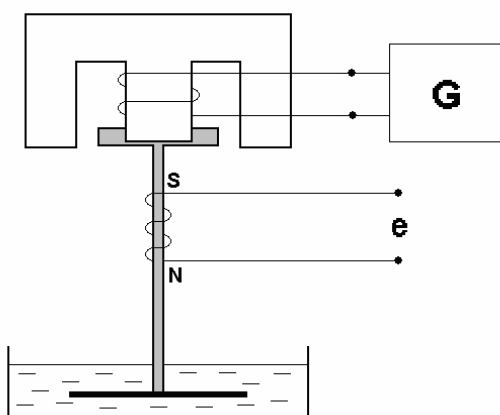
kręcącym się dysku lub cylindrze (Ryc. 6). W tym przypadku następuje ścinanie badanej próbki o określonej objętości na skutek obrotów elementu pomiarowego. Ze względu na zasadę działania wiskozymetry rotacyjnej można podzielić na aparaty o nastawianej prędkości ścinania lub nastawianym momencie ścinającym. Zasadniczymi elementami wiskozymetru pierwszego typu są cylindryczny zbiornik i znajdujący się w nim walec (dysk). Pomiedzy walec a cylindrem wprowadza się badany płyn o określonej objętości. Cylinder wypełniony cieczą obraca się, podczas gdy zanurzony w niej walec utrzymywany jest nieruchomo. Obrót cylindra powoduje ścinanie badanej próbki cieczy. Miarą naprężenia ścinającego w warstwie cieczy jest moment siły potrzebny do zrównoważenia momentu skręcającego wywieranego przez warstwę płynu na walec. Moment siły określa naprężenia ścinające, natomiast szybkość ścinania jest określana przez prędkość obrotową, tak więc pomiar polega na równoczesnym określeniu prędkości kątowej wirującego cylindra oraz związanego z nim momentu siły działającego na walec. W przypadku wiskozymetru z ustalonym momentem ścinającym jest odwrotnie: cylinder pozostaje nieruchomy, a w ruch wprowadzany jest element zanurzony w cieczy. Miarą lepkości cieczy jest prędkość obrotowa, jaka ustali się po przyłożeniu zadanego momentu obrotowego. Na podstawie stałych geometrycznych wyznacza się krzywe płynięcia. System obracającego się walca, który przedstawiony na rys. 6c, nazywany jest Couette i jest używany do pomiaru płynów o małej lepkości. Płyny bardzo lepkie mierzy się w systemie stożka na płycie (*cone-on-plate system*), który przedstawiono na rys. 6d.



Rys. 6. Wiskozymetr rotacyjny Brookfielda z przykładowymi wrzecionami: ogólny wygląd (a), schemat budowy (b) oraz głównych stosowanych systemów pomiarowych: system Couette (c), system stożka na płycie (d).

Stosunek pomiędzy momentem obrotowym, a prędkością jest interpretowany jako lepkość (oznaczana jako: $\text{mPa}\cdot\text{s}$ lub cP). Zaletą wiskozymetrów rotacyjnych jest duża dokładność (ich błąd względny wynosi od 1% do 3%) oraz możliwość badania płynów o zróżnicowanej gęstości (płyny, maści, asfalt itp.). Do wad zalicza się skomplikowaną obsługę, konieczność rekaliibracji oraz dużą objętość próbki niezbędną do pomiaru.

Z pośród innych wiskozymetrów wykorzystywanych w przemyśle warto wymienić *wiskozymetry tłokowe* czy *wibracyjne* (ultradźwiękowe), którego schemat działania przedstawiono na rys. 7. Ich zasada działania polega na pomiarze wartości wyidukowanego napięcia (e) w cewce pomiarowej, którego amplituda zależy od amplitudy i częstotliwości sygnału z generatora oraz od lepkości cieczy, która stanowi opór dla ruchomego rdzenia/płytki. Stosuje się 2 warianty położenia płytki drgającej: *płytką drgająca pionowo* (brak siły oporu; duże napięcie wyidukowane dla każdej lepkości) i *płytką drgająca poziomo*. Działają one w oparciu o pomiar tłumienia drgań mechanicznych w cieczy, które jest tym większe, im większa jest jej lepkość. W jednych przyrządach mierzony jest czas tłumienia, w innych moc potrzebna do utrzymania amplitudy drgań rezonatora na określonym poziomie, w jeszcze innych mierzona jest częstotliwość drgań jako funkcja różnicy faz pomiędzy wzbudzeniem i echem (im większa



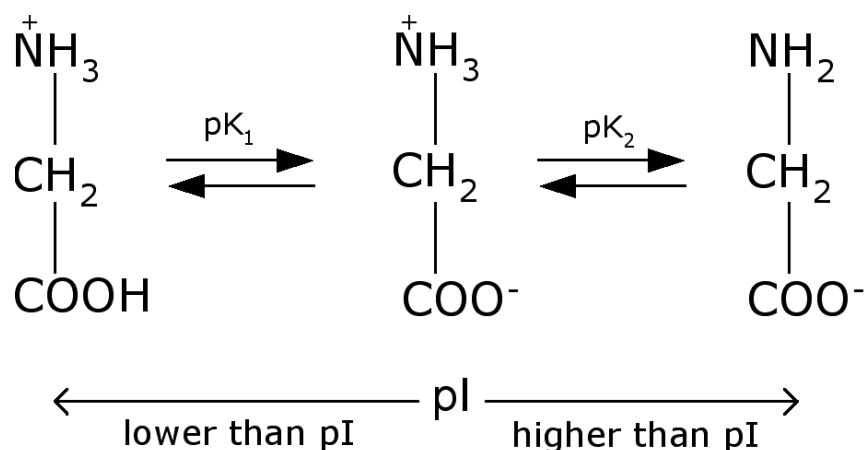
lepkość tym częstotliwość niższa). Urządzenia tego typu są szczególnie przydatne w badaniach cieczy o bardzo dużej lepkości, natomiast są mało dokładne w przypadku pomiarów cieczy o niskiej lepkości.

Część praktyczna:

Wyznaczenie punktu izoelektrycznego żelatyny. Badanie wpływu temperatury na lepkość dynamiczną i właściwą roztworów.

I. Wyznaczanie punktu izoelektrycznego żelatyny.

Punkt izoelektryczny (pI , $pH(I)$) – określa wartość pH , przy której cząsteczka amfoteryczna (czyli taka, która może być jednocześnie kwasem i zasadą; najczęściej termin ten dotyczy aminokwasu lub białka) nie ma ładunku elektrycznego (inaczej: jej ładunki elektryczne równoważą się). Dla przykładu (Ryc. 8), w punkcie izoelektrycznym aminokwas, zawierający grupę aminową i karboksylową, jest w jednakowy sposób zdysocjowany jako kwas i jako zasada (posiada więc jeden ładunek ujemny – ze względu na obecność zdysocjowanej grupy karboksylowej COO^- – i jeden ładunek dodatni wynikający z obecności uprotonowanej grupy aminowej NH_3^+). W roztworze o pH wyższym od punktu izoelektrycznego cząsteczka staje się anionem (grupy karboksylowe ulegają dysocjacji, zaś grupy aminowe nie są uprotonowane i nie ma tam ładunku dodatniego), a w pH poniżej punktu izoelektrycznego – kationem (w wyniku protonowania grupy aminowej w środowisku kwasowym).



Ryc. 8. Wpływ pH na ładunek elektryczny cząsteczki glicyny.

W ćwiczeniu należy dokonać pomiaru lepkości roztworów żelatyny o różnej wartości pH i znalezieniu takiej wartości pH roztworu, przy której lepkość żelatyny jest najmniejsza. Jest to pośredni sposób określenia tzw. punktu izoelektrycznego żelatyny, tj. znalezienie takiego pH przy którym żelatyna nie wędruje w polu elektrycznym. W zależności od pH środowiska może uzyskiwać wypadkowy ładunek dodatni lub ujemny.

Wprowadzenie. Żelatyna jest białkiem otrzymywanym z chrząstek kości i innych tkanek zwierzęcych. Zawiera głównie kolagen, a w niewielkich ilościach także inne białka (kreatyny i albuminy), kwasy nukleinowe, węglowodany i soli mineralne. Rozpuszcza się w wodzie tworząc układ koloidalny - zol żelatyny, który łatwo przechodzi w żel, o ile temperatura otoczenia nie jest zbyt wysoka.

Ładunek wywiera istotny wpływ na szereg właściwości fizykochemicznych żelatyny, takich jak: lepkość, napięcie powierzchniowe, ciśnienie osmotyczne, trwałość układu itp. Śledząc lepkość wodnego roztworu żelatyny w miarę zmiany pH tego roztworu można zaobserwować, że jej najniższa w punkcie izoelektrycznym. Spowodowane jest to faktem, że w przypadku braku ładunku nie występuje oddziaływanie elektrostatyczne cząsteczek białka na siebie i lepkość jest stosunkowo niewielka. W miarę wzrostu ładunku elektrycznego zachodzi coraz wyraźniejsze oddziaływanie cząsteczek na siebie i wzrasta lepkość roztworu.

Żelatyna w zależności od zastosowanego surowca i sposobu produkcji może posiadać punkt izoelektryczny zawarty w granicach od 4,0 do 9,0 i stąd biorą się różne właściwości fizykochemiczne i jej różne zastosowanie. W przemyśle spożywczym spełnia rolę zagęszczacza, środka wiążącego, emulgującego i jest wykorzystywana do produkcji deserów, galaretek, żelków, przy produkcji jogurtów i lodów. W przemyśle farmaceutycznym żelatyna znalazła zastosowanie w produkcji kapsułek leków, jak również przy powlekanii tabletek otoczkami. Ponadto stosowana jest do wyrobu kosmetyków (różnego rodzaju kremów, szminek itp.), przy klarowaniu win i soków owocowych, do otrzymywania materiałów fotograficznych, a także jako składnik do produkcji kulek z farbą używanych w paintballu.

Wykonanie ćwiczenia:

1. Przygotować w kolbach stożkowych 6 roztworów buforowych o składzie podanym w tabeli 1 (po dodaniu wymieszać):

Roztwór	1	2	3	4	5	6
Kwas octowy (1 mol/dm^3) [cm^3]	30	30	30	30	30	30
NaOH (1 mol/dm^3) [cm^3]	0,2	1,5	10	20	25	28

2. Do 6 zlewek wlać po 20 cm^3 uprzednio przygotowanych roztworów buforu octanowego (uzyskanych wg. punktu 1, należy pamiętać aby zawartość kolbek wymieszać przed pobraniem). Następnie do każdej zlewki dodać po 20 cm^3 roztworu żelatyny. Roztwory starannie wymieszać.
3. Do wiskozymetru Ostwalda (do ramienia z większym zbiornikiem, rys. 4) wlać 20 cm^3 wody (zbiorniczek jest wyskalowany i jeśli poziom cieczy jest identyczny w obu ramionach wiskozymetru – poziom cieczy powinien pokrywać się z znacznikiem). Nałożyć zaciągarkę/strzykawkę do pipet, na drugie ramię i powoli zasysając napełnić mniejszy zbiorniczek. Poziom menisku cieczy powinien być powyżej górnej kreski nacechowanej na kapilarze wiskozymetru („a” na rys. 4). Następnie zmierzyć czas przepływu wody przez kapilarę (od kreski „a” do kreski „b” – rys. 4). Przeprowadzić pomiary co najmniej dwukrotnie. Jeżeli wyniki dwóch pomiarów różnią się więcej niż o 2 s, to należy wykonać dodatkowy pomiar – wyliczyć średnią.
4. Podobnie jak dla wody wyznaczyć czas przepływu przez kapilarę wiskozymetru kolejnych roztworów żelatyny zmieszanych z buforem o różnej wartości pH. Zwrócić uwagę, aby podczas nabierania żelatyny w ramieniu wiskozymetru, roztworu tego nie spienić oraz każdorazowo przy zmianie roztworu uprzednio przepłukać przyrząd niewielką objętością badanego roztworu.
5. Po pomiarze czasu przepływu badanego roztworu przez wiskozymetr zmierzyć wartość pH tej cieczy. Przed pomiarami pH uprzednio wykalibrować miernik, używając do tego celu wzorcowego roztworu buforowego (o ściśle określonej wartości pH).
6. Obliczyć wartości lepkości kolejnych roztworów żelatyny. W tym celu podzielić średnią wartość czasu przepływu roztworu (t_1 , t_2 itd.) przez średni czas przepływu wody (t_0), np.: $\eta_1 = t_1/t_0$. Jednostką czasu w układzie SI jest sekunda (s).
7. Sporządzić wykres zależności lepkości od pH roztworu: $\eta = f(\text{pH})$.
Narysować 2 proste (styczne) przebiegające wzdłuż narysowanych linii (wznoszącej i opadającej) i odczytać wartość pH, przy której te styczne przecinają się.
8. Metodą najmniejszych kwadratów obliczyć współczynniki a i b równań prostych ($y = a \cdot x + b$) opisujących zależność lepkości względnej od pH w zakresie niższych (równanie prostej 1) i wyższych (równanie prostej 2) wartości pH.
Alternatywnie można wyznaczyć równania kierunkowe prostych w oparciu o programy komputerowe do wizualizacji danych (np.: MS Excel – wykonać wykresy zależności lepkości od pH dla mniejszych

wartości pH (wykres 1) i większych wartości (wykres 2). Wyznaczyć linię trendu i równanie kierunkowe prostych, gdzie parametry przy x wyznaczają wartość a, wartość b wyznacza wolny człon równania.

Do obliczenia współczynników kierunkowych prostych (a, b) można posłużyć się następującymi wzorami:

$$a = \frac{\sum_i x \sum_i y - n \sum_i xy}{(\sum_i x)^2 - n \sum_i x^2} \quad (13)$$

$$b = \frac{1}{n} (\sum_i y - a \sum_i x) \quad (14) \quad \text{gdzie } n - \text{liczba pomiarów (w tym przypadku } n = 3).$$

Dla ułatwienia obliczeń można posłużyć się tabelami pomocniczymi:

Tabela pomocnicza dla mniejszych wartości pH (roztwory 1-3)

n	x (pH)	y (η)	x ²	x·y
	2,96			
	3,36			
	4,13			
Σ (suma)				

Tabela pomocnicza dla większych wartości pH (roztwory 4-6)

n	x (pH)	y (η)	x ²	x·y
	4,68			
	5,00			
	5,21			
Σ (suma)				

Wartości pH zależą od ilości dodanego kwas i zasady. Wystarczy niewielki nadmiar jednego lub drugiego składnika, aby wartości te różniły się od tych podanych w tabeli. Uwzględnić wyniki własnych pomiarów!

9. Podać równania prostych osobno dla każdej części (wznoszącej i opadającej) krzywych: $\eta = f(\text{pH})$.

$$y_1 = a_1 x + b_1 \quad \text{ i } \quad y_2 = a_2 x + b_2$$

10. Znaleźć punkt przecięcia tych prostych. Odpowiada on pH w punkcie izoelektrycznym żelatyny. Można go wyliczyć podstawiając wartości współczynników kierunkowych prostych y_1 i y_2 :

$$\text{pH} = \frac{b_2 - b_1}{a_1 - a_2} \quad (15)$$

gdzie: a_1 i a_2 oznaczają współczynniki kierunkowe

b_1 i b_2 – wartości przesunięcia prostej 1 i 2.

Podać wartość pH przy jakiej przypada punkt izoelektryczny żelatyny

Pomiar gęstości cieczy:

Do szklanego cylindra wlać 250 ml wody, a następnie umieścić w nim aerometr. Na podziałce odczytać gęstość cieczy.

Napełnić cylinder roztworem żelatyny (0,5 %) i określić jego gęstość. Porównać z gęstością wody. Wyciągnąć wnioski na temat gęstości i lepkości.

Czy różnice w lepkości poszczególnych roztworów wynikają z różnych gęstości płynów, czy też inne czynniki mogą wpływać na zmianę lepkości roztworu?

