

Rozmiar i kształt

- 23.1 Średnie masy molowe
- 23.2 Właściwości koligatywne
- 23.3 Sedymentacja
- 23.4 Lepkość
- 23.5 Rozpraszanie światła

Konformacja i konfiguracja

- 23.6 Kłębki statystyczne
- 23.7 Helisy i harmonijki
- 23.8 Struktury wyższego rzędu

Koloidy i surfaktanty

- 23.9 Właściwości koloidów
- 23.10 Filmy powierzchniowe

Lista pojęć kluczowych

Literatura uzupełniająca

Makrocząsteczki charakteryzują się dużą różnorodnością właściwości, które ilustrowane są wieloma różnymi zależnościami fizykochemicznymi. Charakterystyka makrocząsteczek wymaga podania ich mas molowych, rozmiarów i kształtu. Rozmiary makrocząsteczek są jednak tak duże, iż ich roztwory w znacznym stopniu odbiegają od idealności i dlatego powinno się rozwijać techniki pomiarowe umożliwiające badanie tych odstępstw. Kształty dużych biocząsteczek można określić metodą badania dyfrakcji promieni Roentgena. Polimery syntetyczne natomiast przyjmują w roztworach mniej regularne formy i można w związku z tym wnioskować jedynie o ich ogólnym kształcie. Kolejnym ważnym zagadnieniem jest rola czynników determinujących kształty cząsteczek. W niniejszym rozdziale zapoznamy się z szeregiem tego rodzaju czynników, rozpoczynając nasze rozważania od pozbawionych struktury kłębków statystycznych, a kończąc na polipeptydach, w których spotkamy się z działaniem sił ściśle związanych ze strukturą.

Koloidy i inne agregaty cząsteczkowe, w których cząstki nie są związane chemicznie, wykazują pewne cechy właściwe dla cząsteczek, ale też odznaczają się swoistymi charakterystycznymi właściwościami, wynikającymi z bardzo dużej wartości stosunku powierzchni do objętości ich cząstek składowych.

Makrocząsteczki występują wszędzie — wewnątrz nas i w naszym otoczeniu. Niektóre z nich są pochodzenia naturalnego; należą do nich polisacharydy, takie jak celuloza, polipeptydy, jak na przykład enzymy, oraz kwasy nukleinowe — takie jak DNA. Inne makrocząsteczki są syntetyczne i do tej grupy zaliczamy **polimery**, jak na przykład nylon i polistyren, które otrzymuje się przez łączenie i (w niektórych przypadkach) sieciowanie mniejszych jednostek zwanych **monomerami**. Życie we wszystkich przejawach, poczynając od jego zasadniczej natury, a kończąc na technologicznym oddziaływaniu z otoczeniem, opiera się na chemii makrocząsteczek.

Do szczególnych zagadnień związanych z opisem makrocząsteczek należy określenie ich rozmiarów oraz kształtów i długości łańcuchów polimerowych, a także dużych odstępstw od stanu idealnego wykazywanych przez roztwory polimerowe. W tym rozdziale skoncentrujemy się na tych właśnie szczególnych charakterystykach.

Rozmiar i kształt

Dyfrakcja promieni Roentgena (rozdział 21) może ujawnić położenie prawie każdego atomu nawet w bardzo złożonych cząsteczkach. Istnieje jednak kilka powodów, dla których w badaniach makrocząsteczek stosuje się również inne techniki pomiarowe. Wynika to przede wszystkim z faktu, iż próbka może być mieszaniną cząsteczek o różnej długości łańcucha i różnym stopniu usieciowania, a w takim przypadku nie jest możliwe otrzymanie ostrych obrazów rentgenowskich. Nawet jeśli wszystkie cząsteczki w próbce są identyczne, może się okazać, że niemożliwe jest uzyskanie monokryształu. Ponadto, chociaż rezultaty uzyskane w badaniach nad enzymami, białkami i DNA okazały się bardzo obiecujące, to otrzymane informacje nie są kompletne. Co na przykład możemy powiedzieć o kształcie cząsteczki w jej naturalnym otoczeniu, jakim jest biologiczna komórka? Jak zmienia się cząsteczka na skutek zmiany w jej otoczeniu?

23.1. Średnie masy molowe

Czyste białko jest **monodispersyjne**, co oznacza, że ma ono ściśle zdefiniowaną masę molową. (Mogą wystąpić nieznaczne odchylenia spowodowane na przykład zastąpieniem jednego aminokwasu innym, w zależności od pochodzenia próbki.) Syntetyczny polimer jest jednakże **polidispersyjny** w tym znaczeniu, że próbka jest mieszaniną cząsteczek o różnych długościach łańcucha i różnych masach molowych. Różne techniki stosowane do oznaczania mas molowych dają w rezultacie różne typy wartości średnich charakteryzujących układ polidispersyjny. Wartość średnia otrzymana na podstawie pomiarów osmometrycznych (p. 7.5e) daje nam **liczbowo średnią masę molową** \bar{M}_n , która stanowi wartość uzyskaną przez ważenie każdej masy molowej liczbą cząsteczek, N_i , które reprezentują daną masę M_i w próbce

$$\bar{M}_n = \frac{1}{N} \sum_i N_i M_i \quad [23.1]$$

gdzie N_i jest liczbą cząsteczek o masie molowej M_i oraz N oznacza liczbę wszystkich cząsteczek w próbce. Na podstawie pomiarów lepkości wyznacza się **lepkościowo średnią masę molową** \bar{M}_v , badania rozpraszania światła pozwalają na określenie **masowo (wagowo) średniej masy molowej** \bar{M}_w , a doświadczenia sedymentacyjne dają między innymi **z-średnią masę molową** \bar{M}_z . Chociaż takie średnie często lepiej jest traktować jako wielkości empiryczne, to jednak niektóre z nich można interpretować w powiązaniu ze składem próbki. Tak więc masowo średnia masa molowa jest średnią masy molowej ważoną w ten sposób, że masa molowa cząsteczek M_i jest mnożona przez udział cząsteczek o tej masie w próbce, czyli przez m_i/m

$$\bar{M}_w = \frac{1}{m} \sum_i m_i M_i \quad [23.2]$$

W powyższym równaniu m_i jest całkowitą masą cząsteczek o masie molowej M_i oraz m jest całkowitą masą próbki. Ponieważ $m_i = N_i M_i / N_A$, równanie [23.2] można zapisać jako

$$\bar{M}_w = \frac{\sum_i N_i M_i^2}{\sum_i N_i M_i} \quad (23.3)$$

a zatem masowo średnia masa molowa jest proporcjonalna do średniej kwadratowej masy molowej. Podobnie, z-średnia masa molowa

$$\bar{M}_z = \frac{\sum_i N_i M_i^3}{\sum_i N_i M_i^2} \quad (23.4)$$

może być interpretowana jako proporcjonalna do średniej sześcienniej masy molowej.

Przykład 23.1. Obliczanie liczbowo i masowo średniej masy molowej

Oblicz liczbowo średnią i masowo średnią masę molową próbki poli(chloroku winylu) na podstawie następujących danych:

Przedział mas molowych/(kg · mol ⁻¹)	Średnia masa molowa w przedziale/(kg · mol ⁻¹)	Masa próbki w przedziale/g
5–10	7,5	9,6
10–15	12,5	8,7
15–20	17,5	8,9
20–25	22,5	5,6
25–30	27,5	3,1
30–35	32,5	1,7

Metoda Istotne wzory, to równania [23.1] i [23.2]. Dwie średnie masy molowe otrzymuje się jako średnie ważone, obliczane z wagą równą odpowiednio liczbie cząsteczek i masie cząsteczek w każdym przedziale. Liczby makrocząsteczek w każdym przedziale otrzymuje się, dzieląc masę próbki w danym przedziale przez średnią masę molową wyznaczoną dla tego przedziału. Z uwagi na to, że liczba cząsteczek jest proporcjonalna do ilości substancji (liczby moli), liczbowo średnią masę molową można wyliczyć bezpośrednio na podstawie ilości substancji w każdym przedziale.

Odpowiedź Ilości substancji w każdym przedziale są następujące:

Przedział	5–10	10–15	15–20	20–25	25–30	30–35
Masa molowa/(kg · mol ⁻¹)	7,50	12,5	17,5	22,5	27,5	32,5
Ilość/mmol	1,30	0,70	0,51	0,25	0,11	0,052
				Całkowita ilość		2,92

Zatem liczbowo średnia masa molowa wynosi

$$\begin{aligned}\bar{M}_n/(\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1}) &= \frac{1}{2,92} (1,3 \cdot 7,5 + 0,70 \cdot 12,5 + 0,51 \cdot 17,5 \\ &\quad + 0,25 \cdot 22,5 + 0,11 \cdot 27,5 + 0,052 \cdot 32,5) \\ &= 13\end{aligned}$$

Masowo średnią masę molową obliczamy bezpośrednio na podstawie danych, jeśli uwzględnimy fakt, że całkowita masa próbki jest równa 37,6 g

$$\begin{aligned}\bar{M}_w/(\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1}) &= \frac{1}{37,6} (9,6 \cdot 7,5 + 8,7 \cdot 12,5 \\ &\quad + 8,9 \cdot 17,5 + 5,6 \cdot 22,5 + 3,1 \cdot 27,5 + 1,7 \cdot 32,5) \\ &= 16\end{aligned}$$

Komentarz Zauważ, że wartości obu średnich znacznie się różnią. W tym przypadku $\bar{M}_w/\bar{M}_n = 1,2$.

Zadanie 23.1. Określ z -średnią masę molową próbki.

[19 kg · mol⁻¹]

Choć na pierwszy rzut oka mogłoby się wydawać, że stosowanie kilku typów średnich jest kłopotliwe, to jednak, jeśli zauważymy, iż mają one różne wartości, możemy uzyskać dodatkowe informacje dotyczące rozkładu mas molowych w próbce. Stosunek $\overline{M}_w/\overline{M}_n$ nosi nazwę **współczynnika heterogeniczności** (lub **współczynnika polidispersji**). Określając masy cząsteczkowe białek, spodziewamy się, że różne średnie masy molowe będą jednakowe ze względu na to, że próbka jest monodispersyjna (dopóki nie nastąpi degradacja). W próbkach polimerów syntetycznych mamy do czynienia z masami cząsteczkowymi leżącymi najczęściej w szerokim przedziale i różne średnie masy cząsteczkowe mają różne wartości. Typowe materiały syntetyczne charakteryzują się $\overline{M}_w/\overline{M}_n \approx 4$. Określenie „monodispersyjny” stosuje się do polimerów syntetycznych, dla których współczynnik heterogeniczności jest mniejszy od 1,1. Próbkę handlowego polietylenu mogą być znacznie bardziej heterogeniczne i opisujący je współczynnik heterogeniczności może być bliski 30. Jedną z konsekwencji wąskiego rozkładu mas molowych polimerów syntetycznych jest często ich większa krystaliczność, a co za tym idzie, większa gęstość i wyższa temperatura topnienia. Rozkład mas cząsteczkowych kontroluje się przez dobór katalizatora i warunków reakcji (p. 26.1).

Najbardziej bezpośrednia metoda pomiaru mas molowych polega na zastosowaniu spektrometrii mas. Dotychczas jednakże metoda ta miała dość ograniczone zastosowanie ze względu na trudność przeprowadzenia próbki w stan pary. Problem ten rozwiązano, osadzając polimer w podłożu, które, odparowując, unosi ze sobą makrocząsteczki.

23.2 Właściwości koligatywne

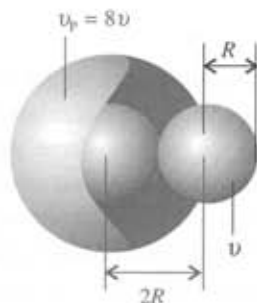
Z klasycznych metodach wyznaczania masy molowej wykorzystuje się właściwości koligatywne (spokrewnione) (p. 7.5). Dla makrocząsteczek, w przypadku których liczba cząsteczek w roztworze może być bardzo mała, nawet jeśli masa substancji rozpuszczonej jest znaczna, jedyną wystarczająco czułą metodą jest osmometria. Ta procedura została opisana i zilustrowana w p. 7.5e. Pomiary osmotyczne stosuje się dla próbek o masach molowych do $100 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$. Dolna granica stosowalności tej metody, około $8 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$, wynika z użycia materiałów membranowych, przez które mogą przenikać mniejsze cząsteczki.

Makrocząsteczki tworzą roztwory znacznie odbiegające od stanu idealnego; z uwagi na to, że są tak duże, wypierają one znaczne ilości rozpuszczalnika. Ujmując ten problem w kategoriach termodynamiki, możemy stwierdzić, że wypieranie cząsteczek rozpuszczalnika oznacza, że szczególnie istotną staje się zmiana entropii związana z rozpuszczaniem makrocząsteczki. Duże rozmiary makrocząsteczek powodują również, że makrocząsteczka nie jest zdolna do swobodnego ruchu w roztworze, ponieważ jest ona wyłączona z obszarów zajmowanych przez inne cząsteczki substancji rozpuszczonej. Obserwuje się także duże udziały entalpii w entalpii swobodnej roztworu, co jest związane z tym, iż oddziaływania rozpuszczalnik–rozpuszczalnik są bardziej uprzywilejowane niż oddziaływania typu makrocząsteczka–rozpuszczalnik.

Wirtualny współczynnik osmotyczny B (zob. równ. (7.38)) wynika głównie z efektu objętości wyłączonej. Jeśli wyobrazimy sobie roztwór makrocząsteczek, który powstał przez sukcesywne dodawanie makrocząsteczek do roztworu, przy czym objętość związana z daną cząsteczką jest niedostępna dla kolejnej makrocząsteczki, to okazuje się, że wartość B jest równa

$$B = \frac{1}{2} N_A v_p \quad (23.5)$$

gdzie v_p jest objętością wyłączoną odpowiadającą pojedynczej cząsteczce.



23.1 Objętość wyłączona, w której nie może znaleźć się środek cząsteczki, wynosi $8v$, gdzie v jest objętością samej cząsteczki

Przykład 23.2 Oszacowanie objętości cząsteczek polimeru

Zastosuj informacje zawarte w przykładzie 7.5 w celu określenia objętości wyłączonej cząsteczek polimeru o założonym kształcie kulistym.

Metoda Objętość wyłączona cząsteczek sferycznych o objętości v jest równa $v_p = 8v$, ponieważ minimalna odległość dwóch kul jest równa sumie ich promieni (rys. 23.1). Określ v_p na podstawie B , stosując równanie (23.5), oraz znajdź B z nachylenia wykresu na rysunku 7.25. Aby to zrobić, zastosuj (jak w przykładzie 7.5) równanie

$$\frac{h}{c} = \frac{RT}{\rho g \bar{M}_n} \left(1 + \frac{B}{\bar{M}_n} c \right)$$

Odpowiedź Wartość wyrazu wolnego $RT/\rho g \bar{M}_n$, którą wyznaczono w przykładzie 7.5, jest równa $0,21 \text{ cm}/(\text{g} \cdot \text{dm}^{-3})$. Nachylenie linii prostej na rysunku 7.25, odpowiadające $(RT/\rho g \bar{M}_n) \cdot B/\bar{M}_n$, wynosi $0,073 \text{ (cm} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^3)/(\text{g} \cdot \text{dm}^{-3})$. Wynika stąd, że

$$\frac{\text{nachylenie}}{\text{wyraz wolny}} = \frac{B}{\bar{M}_n} = \frac{0,073 \text{ (cm} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^3)/(\text{g} \cdot \text{dm}^{-3})}{0,21 \text{ cm} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{dm}^3} = \frac{0,35}{\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}}$$

Zatem

$$B = (0,35/\text{g} \cdot \text{dm}^{-3}) \cdot (123 \cdot 10^3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}) = 4,3 \cdot 10^4 \text{ dm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$$

Z równania (23.5) wynika, że

$$v_p = \frac{2B}{N_A} = 1,4 \cdot 10^{-22} \text{ m}^3$$

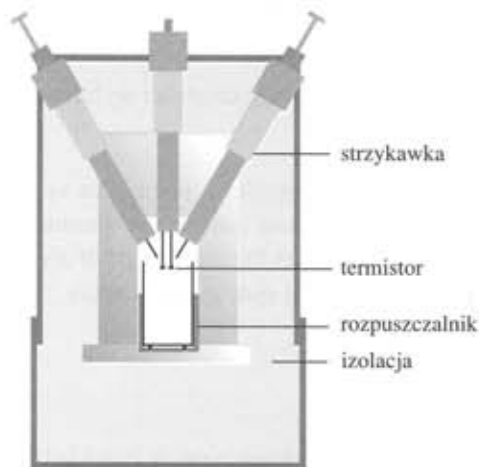
Na podstawie tej wartości v_p można wywnioskować, że objętość cząsteczki jest równa $1,8 \cdot 10^4 \text{ nm}^3$.

Komentarz Promień cząsteczki jest równy w przybliżeniu 16 nm.

Zadanie 23.2 Dla innej próbki w tym samym rozpuszczalniku obserwowano następujące wysokości słupa cieczy w osmometrze w tej samej temperaturze: 0,22, 0,53, 1,39, 3,32, 5,02 cm. Oblicz masę molową i objętość cząsteczki substancji rozpuszczonej.

$$[14 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}, 9 \cdot 10^{-23} \text{ m}^3]$$

Ogólnie mówiąc, objętość wyłączona wnosi wkład do nadmiarowej entropii roztworu (nadmiar entropii w stosunku do roztworu idealnego, p. 7.4); oddziaływania przyciągające i odpychające między makrocząsteczkami dają wkład do nadmiarowej entalpii. Większość układów typu rozpuszczalnik–substancja rozpuszczona charakteryzuje się określoną temperaturą (która nie zawsze jest osiągalna doświadczalnie), w której te efekty się znoszą i roztwór staje się pozornie idealny. Temperatura ta (analogiczna do temperatury Boyle'a dla gazów rzeczywistych) nazywana jest **temperaturą theta Flory'ego, θ** . W temperaturze θ wirialny współczynnik osmotyczny B jest równy zero. Na przykład polistyren w cykloheksanie wykazuje $\theta \approx 306 \text{ K}$; dokładna wartość tej temperatury zależy od średniej masy molowej polimeru. Roztwór o temperaturze θ Flory'ego nazywany jest **roztworem θ** . Z uwagi na to, że roztwór θ zachowuje się niemal jak roztwór idealny, można łatwiej opisać jego właściwości termodynamiczne i strukturalne, nawet jeśli jego stężenie molowe nie jest małe. W kategoriach molekularnych możemy przyjąć, że cząsteczki w roztworze θ znajdują się w stanie nie zaburzonym; w innych roztworach, na skutek oddziaływań z rozpuszczalnikiem, zachodzi ekspansja lub kontrakcja kłębków polimerowych.



23.2 Osmometr parowy. Za pomocą strzykawek wprowadza się kropelki roztworu i rozpuszczalnika na termistory, a następnie notuje się różnicę temperatur powstającą w wyniku różnych szybkości parowania

a) Osmometria prężności par

W osmometrii prężności par (parowej) kropelkę roztworu umieszcza się na termistorze (półprzewodnikowej sondzie temperaturowej), a kropelkę rozpuszczalnika — na drugim termistorze (rys. 23.2). Obie kropelki znajdują się w atmosferze pary rozpuszczalnika. Ze względu na to, że prężność pary nasyconej rozpuszczalnika nad roztworem jest niższa niż nad czystym rozpuszczalnikiem, szybkość kondensacji rozpuszczalnika na kropelce roztworu jest większa od szybkości kondensacji na kropelce czystego rozpuszczalnika. Wynika stąd, że więcej ciepła wydziela się w kropelce roztworu i obserwowany wzrost temperatury jest tam większy niż w kropelce czystego rozpuszczalnika. Różnicę temperatur mierzy się dla serii stężeń i ekstrapoluje do stężenia zerowego. Po dokonaniu kalibracji przy użyciu próbek o znanej masie molowej można wyznaczyć masę molową próbki na podstawie różnicy temperatur między dwoma termistorami. Metoda ta jest niezbyt czuła, a jej stosowanie jest ograniczone do próbek o małych masach molowych.

b) Polielektrolity i dializa

Niektóre polimery są zbudowane z łańcuchów z przyłączonymi grupami kwasowymi, jak w poli(kwasie akrylowym), $-(CH_2CHCOOH)_n-$, lub zasadowymi, jak w nylonie, $-[NH(CH_2)_6NHCO(CH_2)_4CO]_n-$; białka zawierają zarówno grupy kwasowe, jak i zasadowe. Makrocząsteczki mogą więc być **polielektrolitami**: w zależności od rodzaju jonizacji — **polianionami** lub **polikationami**. Makrocząsteczka o mieszanym charakterze kationowym i anionowym nazywana jest **poliamfolitem**.

Zanim zinterpretuje się dane osmometryczne dotyczące polielektrolitów, należy stwierdzić, jaki jest stopień zjonizowania polimeru. Załóżmy na przykład, że w roztworze jest obecna sól sodowa polielektrolitu, występująca w postaci ν jonów Na^+ i pojedynczego polianionu $A^{\nu-}$. Jeśli jest ona całkowicie zdysocjowana w roztworze, to z każdej cząsteczki rozpuszczonej soli tworzy się $\nu + 1$ cząstek. Jeśli założymy, że $\nu = 1$, podczas gdy w rzeczywistości $\nu = 10$, to oszacowanie masy molowej będzie się różniło o rząd wielkości od wartości rzeczywistej. Trudność tę można pokonać, biorąc pod uwagę inną cechę naładowanych makrocząsteczek.

Załóżmy, że roztwór polielektrolitu $Na_\nu A$ zawiera dodatek $NaCl$ i jest w kontakcie z drugim roztworem soli, a roztwory są oddzielone membraną półprzepuszczalną. Załóżmy dalej, że przez membranę może przenikać rozpuszczalnik i jony soli, lecz że jest ona nieprzepuszczalna dla polianionu. Taka sytuacja istnieje w rzeczywistości w układach żywych — istotą działania komórki jest właśnie osmoza. Obecność soli wpływa na ciśnienie osmotyczne ze względu na to, że aniony i kationy nie mogą migrować przez membranę w dowolnych ilościach. W pobliżu membrany występują niewielkie niejednorodności rozkładu ładunku, które prowadzą do pojawienia się potencjałów membranowych. W głębi roztworu jednakże po obu stronach membrany musi być zachowany warunek elektroobojętności: jeśli migruje anion, to musi mu towarzyszyć kation.

Obecność dodanej soli o dużym stężeniu po obu stronach membrany półprzepuszczalnej daje pewność, że efektywna różnica stężeń wynika jedynie z obecności polianionu A po jednej stronie membrany, ponieważ liczba kationów dostarczanych przez polimer jest znikoma w porównaniu z liczbą kationów pochodzących z dodanej soli. W takich warunkach można zatem oczekiwać, że ciśnienie osmotyczne będzie wyrażone wzorem $\Pi = RT[A]$, niezależnie od wartości ν (wynik ten potwierdzono w uzasadnieniu 23.1). Jeśli więc mierzymy ciśnienie osmotyczne w obecności soli o dużym stężeniu, możemy w sposób jednoznaczny określić masę molową.

Uzasadnienie 23.1

Załóżmy, że stężenie Na_vA wynosi $[\text{A}]$ po jednej stronie membrany i że do roztworu po obu stronach membrany dodano NaCl . Po stronie lewej (L) znajdują się jony A^{v-} , Na^+ i Cl^- . Po stronie prawej (P) obecne są jony Na^+ i Cl^- . Warunkiem równowagi jest równość entalpii swobodnej NaCl po obu stronach membrany, dlatego też następuje przepływ jonów Na^+ i Cl^- tak długo, aż $G_m(\text{NaCl}, \text{L}) = G_m(\text{NaCl}, \text{P})$. Ta równość jest spełniona, gdy

$$\begin{aligned} \mu^\ominus(\text{NaCl}) + RT \ln a_L(\text{Na}^+) + RT \ln a_L(\text{Cl}^-) \\ = \mu^\ominus(\text{NaCl}) + RT \ln a_P(\text{Na}^+) + RT \ln a_P(\text{Cl}^-) \end{aligned}$$

lub

$$RT \ln a_L(\text{Na}^+)a_L(\text{Cl}^-) = RT \ln a_P(\text{Na}^+)a_P(\text{Cl}^-)$$

Jeśli pominiemy współczynniki aktywności, te dwa wyrażenia staną się sobie równe, gdy $[\text{Na}^+]_L[\text{Cl}^-]_L = [\text{Na}^+]_P[\text{Cl}^-]_P$. Ponieważ jony Na^+ są dostarczane zarówno przez polielektrolit, jak i dodaną sól, warunki elektroobojętności fazy objętościowej są następujące: $[\text{Na}^+]_L = [\text{Cl}^-]_L + v[\text{A}]$ oraz $[\text{Na}^+]_P = [\text{Cl}^-]_P$. Możemy teraz połączyć te trzy warunki, aby otrzymać wyrażenie opisujące różnice stężeń po obu stronach membrany

$$\begin{aligned} [\text{Na}^+]_L - [\text{Na}^+]_P &= \frac{v[\text{A}][\text{Na}^+]_L}{[\text{Na}^+]_L + [\text{Na}^+]_P} = \frac{v[\text{A}][\text{Na}^+]_L}{2[\text{Cl}^-] + v[\text{A}]} \\ [\text{Cl}^-]_L - [\text{Cl}^-]_P &= -\frac{v[\text{A}][\text{Cl}^-]_L}{[\text{Cl}^-]_L + [\text{Cl}^-]_P} = -\frac{v[\text{A}][\text{Cl}^-]_L}{2[\text{Cl}^-]} \end{aligned} \quad (23.6)$$

gdzie $[\text{Cl}^-] = \frac{1}{2}([\text{Cl}^-]_L + [\text{Cl}^-]_P)$. Wielkość $[\text{Cl}^-]$ jest średnim stężeniem jonów Cl^- po każdej stronie membrany.

Zauważmy na koniec, że ciśnienie osmotyczne zależy od różnicy pomiędzy liczbami cząstek substancji rozpuszczonej po obu stronach membrany. Tak więc równanie van't Hoffa, $\Pi = RT$ [substancja rozpuszczona], przybierze postać

$$\begin{aligned} \Pi &= RT \{ ([\text{A}] + [\text{Na}^+]_L + [\text{Cl}^-]_L) - ([\text{Na}^+]_P + [\text{Cl}^-]_P) \} \\ &= RT[\text{A}](1 + B[\text{A}]) \quad B = \frac{v^2[\text{Cl}^-]_P}{4[\text{Cl}^-]^2 + 2v[\text{Cl}^-]_L[\text{A}]} \end{aligned} \quad (23.7)$$

Gdy stężenie dodanej soli jest tak duże, że stężenia $[\text{Cl}^-]_L$ i $[\text{Cl}^-]_P$ są znacznie większe niż $[\text{A}]$, wtedy $B[\text{A}] \ll 1$ i równanie (23.7) redukuje się do równania przytoczonego w tekście.

Dodatek soli wiąże się również z innym zagadnieniem. Często jesteśmy zainteresowani, w jakim stopniu jony są związane z makrocząsteczką, w szczególności wtedy, gdy membrana (taka jak ściana komórkowa) rozdziela dwa roztwory. Równania

$$\begin{aligned} [\text{Na}^+]_L - [\text{Na}^+]_P &= \frac{v[\text{A}][\text{Na}^+]_L}{2[\text{Cl}^-] + v[\text{A}]} \\ [\text{Cl}^-]_L - [\text{Cl}^-]_P &= -\frac{v[\text{A}][\text{Cl}^-]_L}{2[\text{Cl}^-]} \end{aligned} \quad (23.8)$$

które wyprowadzono w uzasadnieniu, pokazują, że kationy będą przeważać nad anionami w części zawierającej polianion (ponieważ różnica stężeń jest dodatnia dla Na^+ i ujemna dla Cl^-) w wyniku ustalenia się równowagi i spełnienia warunków elektroobojętności. Równowagowy rozkład jonów w dwóch częściach układu, z których jedna

część zawiera polielektrolit, będąc w kontakcie za pośrednictwem półprzepuszczalnej membrany z częścią drugą, nazywa się **równowagą Donnana**.

Przykład 23.3 Analiza równowagi Donnana

Załóżmy, że dwie równe objętości roztworu $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ o stężeniu $0,200 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ są rozdzielone membraną oraz że do roztworu po lewej stronie membrany wprowadzono makrocząsteczkę w postaci soli sodowej Na_6A o masie molowej $55 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$, tak że stężenie Na_6A wynosiło $50 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$. Oblicz stężenia molowe Na^+ oraz Cl^- w obydwu częściach układu.

Metoda Sumy stężeń równowagowych jonów Na^+ i Cl^- w każdej części wynoszą

$$[\text{Na}^+]_{\text{L}} + [\text{Na}^+]_{\text{P}} = [\text{Cl}^-]_{\text{L}} + [\text{Cl}^-]_{\text{P}} + \nu[\text{A}] = 2[\text{Cl}^-] + \nu[\text{A}]$$

Zastosuj następnie $[\text{Cl}^-] = 0,200 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Odpowiedź Ponieważ $[\text{A}] = 9,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$, otrzymujemy

$$[\text{Na}^+]_{\text{L}} - [\text{Na}^+]_{\text{P}} = \frac{6 \cdot (9,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}) \cdot [\text{Na}^+]_{\text{L}}}{2 \cdot (0,200 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}) + 6 \cdot (9,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3})}$$

Suma stężeń jonów Na^+ w dwóch częściach układu wynosi natomiast

$$\begin{aligned} [\text{Na}^+]_{\text{L}} + [\text{Na}^+]_{\text{P}} &= 2 \cdot (0,200 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}) + 6 \cdot (9,1 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}) \\ &= 0,405 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \end{aligned}$$

Rozwiązania tych dwu równań są następujące:

$$[\text{Na}^+]_{\text{L}} = 0,204 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3} \quad [\text{Na}^+]_{\text{P}} = 0,201 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$$

Zatem

$$[\text{Cl}^-]_{\text{P}} = [\text{Na}^+]_{\text{P}} = 0,201 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$$

$$[\text{Cl}^-]_{\text{L}} = [\text{Na}^+]_{\text{L}} - 6[\text{A}] = 0,199 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$$

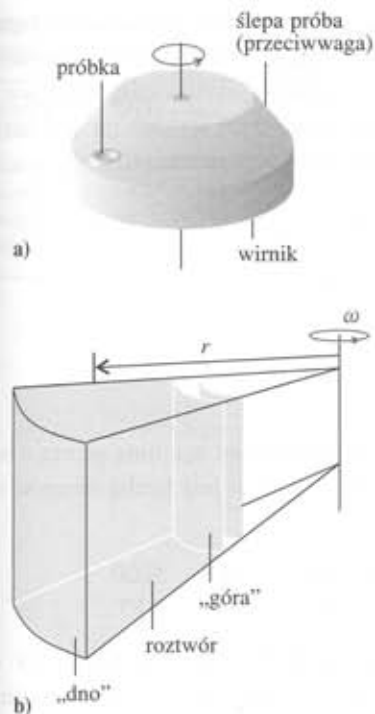
Komentarz Jony Na^+ akumulują się nieznacznie w części zawierającej makrocząsteczkę.

Zadanie 23.3 Powtórz obliczenia dla roztworu $\text{NaCl}_{(\text{aq})}$ o stężeniu $0,300 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ i polielektrolitu Na_{10}A o masie molowej $33 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ i stężeniu masowym $50,0 \text{ g} \cdot \text{dm}^{-3}$.

$$[\text{Na}: 0,311 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}, 0,304 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}]$$

23.3 Sedymentacja

W polu grawitacyjnym ciężkie cząstki osiadają na dnie słupa roztworu. Zjawisko to nosi nazwę **sedymentacji**. Szybkość sedymentacji zależy od natężenia pola oraz od mas i rozmiarów cząstek. Cząsteczki sferyczne (i w ogólności cząsteczki o zwartej budowie) osiadają szybciej niż cząsteczki o budowie sztywnego pręta lub rozciągniętej. Helisy DNA, na przykład, sedymentują znacznie szybciej, gdy są zdenaturowane i występują w postaci kłębków statystycznych; w związku z tym pomiary szybkości sedymentacji mogą mieć zastosowanie w badaniach procesu denaturacji. Gdy próbka jest w stanie równowagi, cząstki zdyspergowane są na różnych wysokościach zgodnie



23.3 a) Głowica ultrawirówki. Próbką po jednej stronie jest zrównoważona przez umiejscowioną naprzeciw ślepa próbę (przeciwwagę). b) Szczegół komory pomiarowej: powierzchnia „górną” jest powierzchnią wewnętrzną, a siła odśrodkowa powoduje sedymentację w kierunku powierzchni zewnętrznej (dna). Cząstka znajdująca się w odległości r poddana jest działaniu siły o wartości $m\omega^2 r$

z rozkładem Boltzmanna (ponieważ pole grawitacyjne konkuruje z efektem mieszania związanym z ruchem termicznym). Rozkład wzdłuż wysokości zależy od masy cząsteczek, tak więc znajomość rozkładu równowagowego prowadzi do alternatywnego sposobu określenia masy molowej.

Sedymentacja jest zwykle bardzo powolna, lecz może być przyspieszona przez zastąpienie pola grawitacyjnego polem odśrodkowym ultrawirówki. Jest ono uzyskiwane w ultrawirówce, której zasadniczą częścią jest cylinder wirujący z dużą szybkością wokół swojej osi z próbką umieszczoną w pobliżu obrzeża cylindra (rys. 23.3). W nowoczesnych ultrawirówkach można osiągnąć przyspieszenia równoważne 10^5 przyspieszenia grawitacyjnego („ $10^5 g$ ”). Początkowo próbka jest jednolita, lecz, w miarę przebiegu sedymentacji, „górną” (najbardziej wewnętrzna) warstwa cieczy klarownej przesuwa się na zewnątrz.

a) Szybkość sedymentacji

Cząstka substancji rozpuszczonej o masie m ma efektywną masę wynikającą z działania siły wyporu ośrodka, $m_{ef} = bm$, przy czym

$$b = 1 - \rho v_S \quad (23.9)$$

gdzie ρ jest gęstością roztworu, v_S jest cząstkową objętością właściwą substancji rozpuszczonej ($v_S = (\partial V / \partial m_B)_T$, m_B jest całkowitą masą substancji rozpuszczonej), a ρv_S jest masą rozpuszczalnika wypartą przez 1 g substancji rozpuszczonej. Cząstki substancji rozpuszczonej, znajdujące się w odległości r od osi wirnika obracającego się z prędkością kątową ω , są poddane działaniu siły odśrodkowej o wielkości $m_{ef} r \omega^2$. Przyspieszeniu odśrodkowemu przeciwdziała siła tarcia proporcjonalna do szybkości, s , ruchu cząstek w ośrodku. Siłę tę wyraża się jako $f s$, gdzie f jest **współczynnikiem tarcia**. Cząstki uzyskują stacjonarną **szybkość dryfowania** w danym ośrodku, którą wyznacza się, przyrównując obie siły: $m_{ef} r \omega^2$ oraz $f s$. Siły te są równe, jeśli

$$s = \frac{m_{ef} r \omega^2}{f} = \frac{b m r \omega^2}{f} \quad (23.10)$$

Szybkość opadania zależy od prędkości kątowej i od promienia. Wygodnie jest wprowadzić **stałą sedymentacji**, S , którą definiuje się jako

$$S = \frac{s}{r \omega^2} \quad [23.11]$$

Z uwagi na to, że masa związana jest ze średnią masą molową \bar{M}_n zależnością $m = \bar{M}_n / N_A$, otrzymujemy

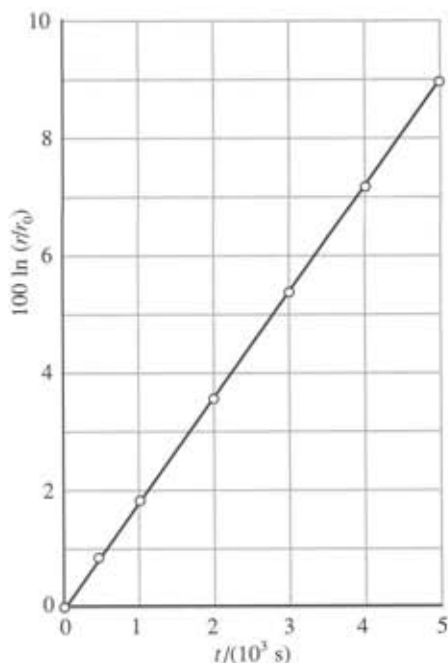
$$S = \frac{b \bar{M}_n}{f N_A} \quad (23.12)$$

Przykład 23.4 Wyznaczenie stałej sedymentacji

Obserwowano sedymentację albuminy z surowicy wołowej (BSA) zachodzącą w temperaturze 25°C . Początkowo powierzchnia roztworu znajdowała się w odległości 5,50 cm od osi obrotu. Podczas wirowania z szybkością 56 850 obr/min granica cieczy klarownej przesuwała się od menisku w sposób następujący:

t/s	0	500	1000	2000	3000	4000	5000
r/cm	5,50	5,55	5,60	5,70	5,80	5,91	6,01

Oblicz współczynnik sedymentacji.



23.4 Wykres na podstawie danych z przykładu 23.4

Metoda Równanie [23.11] można interpretować jako równanie różniczkowe wyrażające szybkość sedymentacji s , $s = dr/dt$, jako funkcję r . Całkując to równanie, otrzymamy r jako funkcję t . Wyrażenie będące wynikiem całkowania, opisujące r jako funkcję t , będzie sugerowało, w jaki sposób sporządzić wykres na podstawie danych doświadczalnych i jak następnie wyznaczyć stałą sedymentacji.

Odpowiedź Równanie [23.11] można zapisać jako

$$\frac{dr}{dt} = r\omega^2 S$$

Scalkowanie tego równania prowadzi do wyrażenia

$$\ln \frac{r}{r_0} = \omega^2 S t$$

Wynika stąd, że wykres zależności $\ln(r/r_0)$ od czasu powinien być linią prostą o nachyleniu $\omega^2 S$. Skorzystaj z wyrażenia $\omega = 2\pi\nu$, w którym ν jest liczbą obrotów na sekundę, i sporządź następującą tabelę:

t/s	0	500	1000	2000	3000	4000	5000
$100 \ln(r/r_0)$	0	0,900	1,80	3,57	5,31	7,19	8,87

Linia prosta na wykresie (rys. 23.4) ma nachylenie $1,78 \cdot 10^{-5}$, a więc $\omega^2 S = 1,79 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$. Ponieważ $\omega = 2\pi \cdot (56\,850/60) \text{ s}^{-1} = 5,95 \cdot 10^3 \text{ s}^{-1}$, otrzymujemy $S = 5,02 \cdot 10^{-13} \text{ s}$.

Komentarz Wynik ten będzie rozważony szerzej w dalszej części rozdziału. Jednostka 10^{-13} s nazywana jest czasem „swedbergiem” i oznaczana jako Sv; w powyższym przykładzie $S = 5,02 \text{ Sv}$. Dokładne wyniki uzyskuje się przez ekstrapolację do stężenia zerowego.

Zadanie 23.4 Oblicz stałą sedymentacji, dysponując następującymi danymi (poza stałe warunki są takie same jak w przykładzie 23.4):

t/s	0	500	1000	2000	3000	4000	5000
r/cm	5,65	5,68	5,71	5,77	5,84	5,90	5,97

[3,11 Sv]

Tabela 23.1* Współczynniki tarcia i geometria cząsteczki[♣]

a/b	Wydłużona (w kierunku biegunowym)	Splaszczona
2	1,04	1,04
4	1,18	1,17
6	1,31	1,28
8	1,43	1,37
10	1,54	1,46

*Więcej wartości i wyrażeń analitycznych zamieszczono w dodatku *Dane fizykochemiczne* na końcu tego podręcznika.

[♣] Pozycje w tabeli to wartości stosunku f/f_0 , gdzie $f_0 = 6\pi\eta c$, przy czym $c = (ab^2)^{1/3}$ dla elipsoid wydłużonych oraz $c = (a^2b)^{1/3}$ dla elipsoid splaszczonych; $2a$ jest osią dużą, a $2b$ jest osią małą.

Aby prowadzić dalej nasze rozważania, musimy określić współczynnik tarcia, f . Dla cząstek sferycznych o promieniu a , znajdujących się w rozpuszczalniku o lepkości η , w przypadku kiedy cząsteczki substancji rozpuszczonej nie są małe w porównaniu z cząsteczkami rozpuszczalnika, f jest dane **równaniem Stokesa**

$$f = 6\pi a \eta \quad (23.13)$$

Zatem dla cząsteczek sferycznych

$$S = \frac{b\overline{M}_n}{6\pi a \eta N_A} \quad (23.14)$$

Wartość S może być wykorzystana do wyznaczania \overline{M}_n lub a . Jeśli cząsteczki nie są sferyczne, stosujemy przybliżone wartości f podane w tab. 23.1. Jak zwykle, kiedy rozpatruje się właściwości makrocząsteczek, należy przeprowadzić pomiary dla serii stężeń, a następnie ekstrapolować wyniki do stężenia zerowego, aby uniknąć komplikacji wynikających z oddziaływań między cząsteczkami o dużych rozmiarach.

Tabela 23.2 Współczynniki dyfuzji w wodzie w temperaturze 20°C

Substancja	$M/(\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1})$	$D/(\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1})$
Sacharoza	0,342	$4,59 \cdot 10^{-10}$
Lizozym	14,1	$1,04 \cdot 10^{-10}$
Hemoglobina	68	$6,9 \cdot 10^{-11}$
Kolagen	345	$6,9 \cdot 10^{-12}$

Na tym etapie rozważań pojawia się konieczność określenia promienia cząsteczkowego a (i w ogólności współczynnika tarcia f), aby wyznaczyć masę molową na podstawie S . Na szczęście można tego uniknąć dzięki zastosowaniu **relacji Stokesa-Einsteina** wiążącej f i współczynnik dyfuzji D

$$f = \frac{kT}{D} \quad (23.15)$$

Współczynnik dyfuzji jest miarą szybkości, z jaką cząsteczka porusza się pod wpływem gradientu stężenia (omówiono to szczegółowo w p. 24.11). Współczynnik ten można wyznaczyć, obserwując szybkość, z jaką maleje lub przemieszcza się gradient stężenia, lub szybkość, z jaką bardziej stężony roztwór dyfunduje do mniej stężonego. Niektóre typowe wartości współczynników dyfuzji podano w tab. 23.2. Współczynnik dyfuzji można też wyznaczyć na podstawie badania rozpraszania światła (p. 23.5). Z równań (23.12) i (23.15) wynika, że

$$\bar{M}_n = \frac{SRT}{bD} \quad (23.16)$$

Wynik ten jest niezależny od kształtu cząsteczek substancji rozpuszczonej. Tak więc masę molową możemy określić za pomocą połączonych pomiarów sedymentacji i szybkości dyfuzji (wyznaczając odpowiednio S i D).

b) Równowagi sedymentacyjne

Trudność zastosowania pomiarów szybkości sedymentacji do oznaczania mas molowych wynika z niedokładności nieodłącznie związanych z określaniem współczynników dyfuzji, takich jak zaburzenie gradientu stężeń przez prądy konwekcyjne. Można uniknąć tego problemu, pozwalając układowi osiągnąć stan równowagi, ponieważ wtedy związana z transportem wielkość D stanie się nieistotna. Jak to zobaczymy w uzasadnieniu 23.2, masowo średnią masę molową można otrzymać, znając stosunek stężeń makrocząsteczek znajdujących się w dwóch różnych odległościach od osi obrotu wirówki obracającej się z częstością kątową ω

$$\bar{M}_w = \frac{2RT}{(r_2^2 - r_1^2)b\omega^2} \ln \frac{c_2}{c_1} \quad (23.17)$$

Alternatywna analiza danych prowadzi do wyznaczenia z -średniej masy molowej. W tej technice szybkość wirowania jest mniejsza niż w metodzie sedymentacyjnej, ażeby zapobiec tworzeniu się na dnie naczynia pomiarowego cienkiego filmu powstającego z substancji rozpuszczonej. Przy takich mniejszych szybkościach osiągnięcie stanu równowagi może trwać parę dni.

Uzasadnienie 23.2

Rozkład cząstek jest wynikiem równowagi pomiędzy działaniem siły odśrodkowej a rozpraszającym efektem dyfuzji zachodzącej pod wpływem gradientu stężenia. Energia kinetyczna cząstki o efektywnej masie m znajdującej się w odległości r od osi obrotu wirnika obracającego się z częstością ω wynosi $\frac{1}{2}m\omega^2r^2$, a zatem całkowity potencjał chemiczny w odległości r jest równy $\bar{\mu}(r) = \mu(r) - \frac{1}{2}M\omega^2r^2$, gdzie $\mu(r)$ jest członem zależnym od stężenia substancji rozpuszczonej. Warunkiem równowagi jest jednorodność potencjału, a więc

$$\left(\frac{\partial \bar{\mu}}{\partial r}\right)_T = \left(\frac{\partial \mu}{\partial r}\right)_T - M\omega^2r = 0$$

Aby określić pochodną cząstkową μ , zauważmy, że

$$\begin{aligned} \left(\frac{\partial \mu}{\partial r}\right)_T &= \left(\frac{\partial \mu}{\partial p}\right)_{T,c} \left(\frac{\partial p}{\partial r}\right)_{T,c} + \left(\frac{\partial \mu}{\partial c}\right)_{T,p} \left(\frac{\partial c}{\partial r}\right)_{T,p} \\ &= Mv\omega^2 r\rho + RT \left(\frac{\partial \ln c}{\partial r}\right)_{T,p} \end{aligned}$$

Pierwszy wyraz w uzyskanej sumie wynika stąd, że $(\partial \mu / \partial p)_T = V_m$, gdzie V_m jest cząstkową objętością molową, i że $V_m = Mv$. Uwzględniamy też fakt, że ciśnienie hydrostatyczne w odległości r wynosi $p(r) = p(r_0) + \frac{1}{2}\rho\omega^2(r^2 - r_0^2)$, gdzie r_0 jest odległością powierzchni cieczy w naczyniu pomiarowym od osi obrotu (czyli położeniem menisku), ρ jest gęstością roztworu. Wyraz zależny od stężenia wynika z wyrażenia $\mu = \mu^\ominus + RT \ln c$. Warunek równowagi przybiera więc postać

$$Mr\omega^2(1 - v\rho) - RT \left(\frac{\partial \ln c}{\partial r}\right)_{T,p} = 0$$

A zatem w stałej temperaturze

$$d \ln c = \frac{Mr\omega^2(1 - v\rho)dr}{RT}$$

Scalkowanie tego wyrażenia prowadzi do równania (23.17).

c) Elektroforeza

Wiele makrocząsteczek ma ładunek elektryczny i w związku z tym mogą się one poruszać pod wpływem pola elektrycznego. Taki ruch nosi nazwę **elektroforezy**. W **elektroforezie żelowej** migracja odbywa się w ośrodku, którym jest żel z usieciowanego poli(akryloamidu). Ruchliwości makrocząsteczek zależą od ich mas i kształtów, a stała szybkość przemieszczania osiągnięta jest wtedy, kiedy działająca siła $ez\mathcal{E}$ (gdzie z jest ładunkiem i \mathcal{E} jest natężeniem pola) zrównoważy lepkościową siłę oporu, f_s .

Jednym ze sposobów uniknięcia konieczności poznania zarówno kształtu hydrodynamicznego cząsteczek, jak też ich ładunku jest kontrolowana denaturacja makrocząsteczek. W tym przypadku niezwykle użyteczny jest dodecylsulfan sodu: denaturuje on białka, niezależnie od ich pierwotnego kształtu, do struktury prętów poprzez utworzenie z nimi kompleksu. Co więcej, większość białek wiąże stałą ilość anionów przypadających na jednostkę masy, tak że ładunek na cząsteczce białka jest dobrze określony. Masę molową białka oznacza się, porównując ruchliwość białka występującego w skompleksowanej formie pręta z ruchliwością próbek standardowych.

Ładunek białka zależy od pH i dlatego szybkość migracji zmienia się ze zmianą pH. Tę pozorną trudność można wykorzystać w celu rozróżnienia białek. Na przykład przy określonym pH szybkość migracji hemoglobiny pochodzącej od ludzi chorych na anemię sierpowatą jest różna od szybkości migracji próbki pobranej od ludzi, którzy nie zapadli na tę chorobę. Różnica ta wskazuje, że na cząsteczkach białka występują różne ładunki, co z kolei przypisuje się obecności różnych reszt aminokwasowych w łańcuchu polipeptydowym.

d) Chromatografia wykluczania według rozmiarów

Wszystkie dotąd dyskutowane techniki wykazują pewne ujemne strony, do których należy czas potrzebny na zebranie danych, a także często trudność ich interpretacji. Większość tych trudności omija technika, w której cząsteczki są wychwytywane



23.5 Wiskozymetr Ostwalda. Lepkość wyznacza się, mierząc czas wypływu roztworu z przestrzeni wyznaczonej przez dwie kreski markujące

w sposób selektywny, w zależności od ich rozmiarów, przez kuleczki z porowatego materiału polimerowego o średnicy około 0,1 mm. W technice zwanej **chromatografią wykluczania według rozmiarów** (ang. *size exclusion chromatography*, SEC) lub w **chromatografii żelowej** (ang. *gel permeation chromatography*, GPC), która jest obecnie najszerzej stosowaną techniką oznaczania mas molowych polimerów, roztwór polimeru jest filtrowany przez kolumnę. Małe cząsteczki, które mogą wnikać w porowatą strukturę żelu, wymagają długiego czasu eluowania (wmywania) lub inaczej, czasu potrzebnego do przejścia przez określoną długość kolumny. Cząsteczki większe, które nie są wychwytywane przez żel, przechodzą przez kolumnę szybko. Średnią masę molową makrocząsteczki można zatem oznaczyć, obserwując jej czas elucji w kolumnie wykalibrowanej za pomocą próbek standardowych.

Zakres mas molowych, który określa się metodą SEC, można zmieniać przez dobór wypełniaczy kolumnowych, wykonywanych z polimerów o różnym stopniu usieciowania, a także z innych materiałów. Zależność czasu elucji od kształtu cząsteczek jest skomplikowana i technika ta działa najlepiej w przypadku cząsteczek sferycznych. Żele polistyrenowe stosuje się w przypadku niepolarnych polimerów w niepolarnych rozpuszczalnikach; porowate żele szklane używane są do badań układów bardziej polarnych. Masę molową można określić w ciągu kilku minut, ponieważ proces wmywania odbywa się pod ciśnieniem. Ten czas pomiaru jest uderzająco krótki w porównaniu z czasem trwania eksperymentu prowadzonego bardziej klasycznymi technikami. Co więcej, aby uzyskać niezawodne wyniki, wystarczy tylko kilka miligramów materiału.

23.4 Lepkość

Obecność makrocząsteczek w roztworze powoduje wzrost jego lepkości. Efekt ten jest duży nawet przy małych stężeniach, ponieważ duże cząsteczki wpływają na przepływ cieczy w znacznym otaczającym je obszarze. Przy małych stężeniach lepkość, η , roztworów jest związana z lepkością rozpuszczalnika, η_0 , następującym wyrażeniem:

$$\eta = \eta_0(1 + [\eta]c + \dots) \quad (23.18)$$

Graniczna liczba lepkościowa (lepkość graniczna), $[\eta]$, jest analogiem współczynnika wirialnego (i ma wymiar odwrotności stężenia). Z równania (23.18) wynika, że

$$[\eta] = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta - \eta_0}{c\eta_0} \right) = \lim_{c \rightarrow 0} \left(\frac{\eta/\eta_0 - 1}{c} \right) \quad (23.19)$$

Lepkość mierzy się kilkoma sposobami. **Wiskozymetr Ostwalda** przedstawiono na rys. 23.5. Notuje się czas wypływu roztworu przez kapilarę i porównuje się go z czasem wypływu próbki wzorcowej. Metoda ta jest odpowiednia do wyznaczenia $[\eta]$, ponieważ stosunek lepkości roztworu i czystego rozpuszczalnika jest proporcjonalny do czasów wypływu t oraz t_0 po wprowadzeniu poprawki uwzględniającej różne gęstości roztworu i czystego rozpuszczalnika, ρ i ρ_0

$$\frac{\eta}{\eta_0} = \frac{t}{t_0} \cdot \frac{\rho}{\rho_0} \quad (23.20)$$

W praktyce te dwie gęstości rzadko różnią się od siebie znacznie. Wyznaczony stosunek η/η_0 można bezpośrednio podstawić do równania (23.19). Stosuje się również wiskozymetry w formie obracających się współosiowo cylindrów (rys. 23.6). Bada się moment obrotowy cylindra wewnętrznego, podczas gdy obracany jest cylinder zewnętrzny. Takie **rotacyjne wiskozymetry bębnowe** mają tę przewagę nad wiskozymetrami typu Ostwalda, że gradient ścinania występujący między cylindrami jest prostszy niż w kapilarze i efekty, o których krótko wspomniano powyżej, można łatwo badać.



23.6 Rotacyjny wiskozymetr bębnowy. Bada się moment siły działający na wewnętrzny cylinder, podczas gdy obracany jest cylinder zewnętrzny

Interpretacja pomiarów lepkości jest związana z wieloma trudnościami. Badania w przeważającym stopniu bazują na obserwacjach doświadczalnych, a wyznaczanie masy molowej opiera się zazwyczaj na porównaniu z wynikami dla próbek wzorcowych, prawie monodispersyjnych. Obserwuje się pewne prawidłowości, które są pomocne w oznaczeniach. Stwierdzono między innymi, że roztwory θ makrocząsteczek można często poprawnie opisać za pomocą **równania Marka–Kuhna–Houwinka–Sakurady**

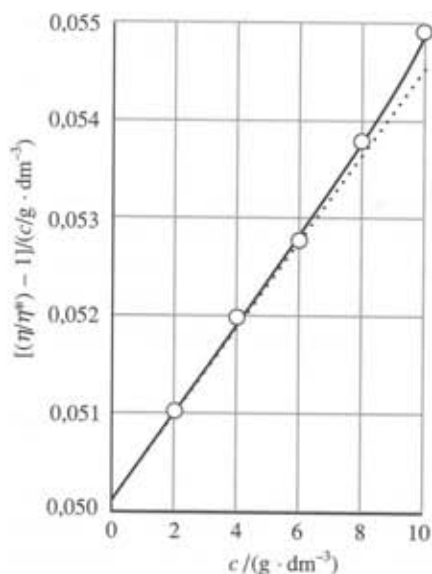
$$[\eta] = K \bar{M}_v^a \quad (23.21)$$

gdzie K i a są stałymi zależnymi od rozpuszczalnika i makrocząsteczki (tab. 23.3); w wyrażeniu tym pojawia się lepkościowo średnia masa molowa, \bar{M}_v . Wykazano na przykład, że roztwory poli(γ -benzylo-L-glutaminianu) występującego w formie prętów wykazują około czterokrotnie większą graniczną liczbę lepkościową w porównaniu z roztworami tego polimeru po denaturacji, kiedy makrocząsteczki występują w postaci kłębków statystycznych. Przeciwnie, roztwory naturalnej rybonukleazy są mniej lepkie niż roztwory formy zdenaturowanej. Obserwacja ta wskazuje, że naturalne białka mają bardziej zwartą budowę niż białka zdenaturowane.

Tabela 23.3* Parametry równania (23.21)

Makrocząsteczka	Rozpuszczalnik	$\theta/^\circ\text{C}$	$K/(\text{cm}^3 \cdot \text{g}^{-1})$	a
Polistyren	benzen	25	$9,5 \cdot 10^{-3}$	0,74
Poli(izobutylen)	benzen	23	$8,3 \cdot 10^{-2}$	0,50
Różne białka	chlorowodorek guanidyny +HSCH ₂ CH ₂ OH		$7,2 \cdot 10^{-3}$	0,66

*Więcej danych zamieszczono w dodatku Dane fizykochemiczne.



23.7 Wykres stosowany do określenia granicznej liczby lepkościowej, którą wyznacza się jako otrzymany przez ekstrapolację punkt przecięcia z osią rzędnych dla $c = 0$; zobacz przykład 23.5

Przykład 23.5 Zastosowanie granicznej liczby lepkościowej do wyznaczania masy molowej

Pomiary lepkości serii roztworów polistyrenu w toluenie w temperaturze 25°C dały następujące wyniki:

$c/(\text{g} \cdot \text{dm}^{-3})$	0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
$\eta/(10^{-4} \text{ kg} \cdot \text{m}^{-1} \cdot \text{s}^{-1})$	5,58	6,15	6,74	7,35	7,98	8,64

Oblicz graniczną liczbę lepkościową i oszacuj masę molową polimeru. Zastosuj równanie (23.21), w którym $K = 3,80 \cdot 10^{-5} \text{ dm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ oraz $a = 0,63$.

Metoda Graniczna liczba lepkościowa jest zdefiniowana równaniem (23.19). Wyznacz stosunek $[(\eta/\eta_0) - 1]/c$ dla serii danych i ekstrapoluj do wartości $c = 0$. Zinterpretuj \bar{M}_v jako $\bar{M}_v/(\text{g} \cdot \text{mol}^{-1})$ w równaniu (23.21).

Odpowiedź Sporządzamy następującą tabelę:

$c/(\text{g} \cdot \text{dm}^{-3})$	0	2,0	4,0	6,0	8,0	10,0
η/η_0	1	1,102	1,208	1,317	1,430	1,549
$100[(\eta/\eta_0) - 1]/(c/\text{g} \cdot \text{dm}^{-3})$		5,11	5,20	5,28	5,38	5,49

Punkty naniesiono na rys. 23.7. Otrzymany przez ekstrapolację punkt przecięcia z osią rzędnych dla $c = 0$ odpowiada wartości 0,0504, czyli $[\eta] = 0,504 \text{ dm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$. A zatem

$$\overline{M}_v = \left(\frac{[\eta]}{K} \right)^{1/a} = 9,0 \cdot 10^4 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$$

Komentarz Gdy $\eta \approx \eta_0$

$$\ln \frac{\eta}{\eta_0} = \ln \left(1 + \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} \right) \approx \frac{\eta - \eta_0}{\eta_0} = \frac{\eta}{\eta_0} - 1$$

Zależność ta jest słuszna, jeśli η zbliża się do η_0 , co jest spełnione, gdy $c = 0$. Dlatego też $[\eta]$ można zdefiniować jako granicę funkcji $(1/c) \ln(\eta/\eta_0)$, gdy $c \rightarrow 0$. Punkt przecięcia wyznacza się dokładniej, sporządzając wykresy obydwu funkcji.

Zadanie 23.5 Określ lepkościowo średnią masę molową, stosując drugi sposób sporządzania wykresu.

[90 kg · mol⁻¹]

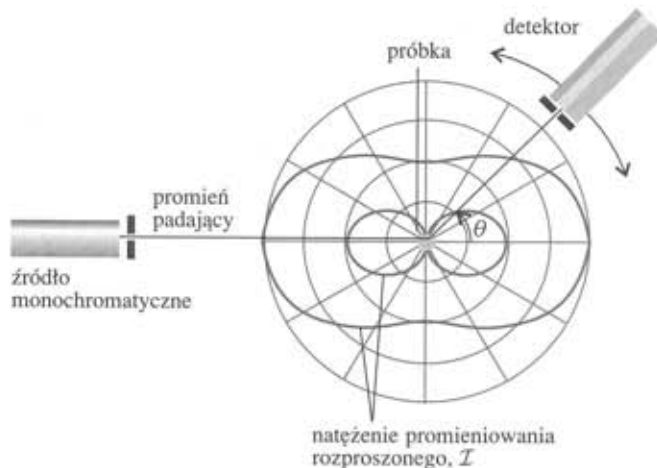
W niektórych przypadkach stwierdzono, że przepływ jest nienewtonowski w takim sensie, iż lepkość roztworu zmienia się, gdy szybkość przepływu rośnie. Zmniejszenie lepkości ze wzrostem szybkości przepływu wskazuje na obecność cząsteczek o kształcie pręta, które orientują się pod wpływem przepływu w ten sposób, że ślizgają się obok siebie bardziej swobodnie. W niektórych przypadkach naprężenia wywołane przez przepływ są tak duże, że długie cząsteczki rozrywają się, co powoduje dodatkowe zmiany lepkości.

23.5 Rozpraszanie światła

Promieniowanie elektromagnetyczne padające na ośrodek materialny powoduje oscylację rozkładu elektronów i w rezultacie emisję. Jeśli ośrodek jest doskonale jednorodny (na przykład doskonały kryształ lub zupełnie nieuporządkowany zbiór cząsteczek, który jest homogeniczny w skali długości fali promieniowania, taki jak próbka wody), fale wtórne interferują destruktywnie z wyjątkiem kierunku rozchodzenia się promieniowania padającego. Dlatego też obserwator widzi wiązkę tylko wtedy, kiedy patrzy w stronę źródła promieniowania wzdłuż kierunku promieniowania padającego. Jeśli ośrodek nie jest jednorodny (niedoskonały kryształ lub roztwór zawierający obce ciała, takie jak makrocząsteczki w rozpuszczalniku lub dym w powietrzu), promieniowanie jest rozpraszane także w innych kierunkach. Znanym przykładem jest rozpraszanie światła przez pyłki kurzu w smudze światła słonecznego (i w wiązkach laserowych na fotografiach reklamowych).

Rozpraszanie światła na cząstkach o średnicach znacznie mniejszych niż długość fali promieniowania padającego nazywane jest **rozpraszaniem rayleighowskim**. Natężenie promieniowania rozproszonego zależy od $1/\lambda^4$ i dlatego promieniowanie o mniejszych długościach fali jest silniej rozpraszane niż promieniowanie bardziej długofalowe. Błękitny kolor nieba jest wynikiem intensywniejszego rozpraszania niebieskiej składowej promieniowania słonecznego przez cząsteczki atmosfery. Intensywność zależy również od kąta rozpraszania θ i jest proporcjonalna do $1 + \cos^2 \theta$, gdy światło jest niespolaryzowane oraz do $\cos^2 \theta$, gdy światło jest spolaryzowane (rys. 23.8). W praktyce okazuje się, że łatwiej jest dokonywać obserwacji pod pewnym kątem w stosunku do wiązki padającej. Intensywność rozpraszania zależy też

23.8 Rozpraszanie rayleighowskie na próbce złożonej z cząstek punktowych spełnia zależność $1 + \cos^2 \theta$ (zewnątrzna linia na wykresie w współrzędnych biegunowych), gdy używa się światła niespolaryzowanego, oraz zależność $\cos^2 \theta$ (linia wewnątrzna), gdy zastosuje się światło spolaryzowane w płaszczyźnie



od wielkości oddziaływania światła z cząsteczkami: oddziaływanie jest silne, gdy polaryzowalność cząsteczek jest duża.

Gdy powyższe uwagi przeniesie się na grunt teorii ilościowej, okazuje się, że intensywność rozpraszania, $\mathcal{I}(\theta)$, pod kątem θ jest równa

$$\mathcal{I} = A \mathcal{I}_0 \bar{M}_w [P] g(\theta) \quad (23.22)$$

$$g(\theta) = \begin{cases} 1 + \cos^2 \theta & \text{dla światła niespolaryzowanego} \\ \cos^2 \theta & \text{dla światła spolaryzowanego} \end{cases}$$

W równaniu tym \mathcal{I}_0 jest natężeniem promieniowania padającego, $[P]$ jest stężeniem molowym substancji rozpuszczonej, \bar{M}_w jest masowo średnią masą molową, A jest stałą, która zależy od współczynnika załamania roztworu, długości fali i odległości detektora od próbki. Równanie (23.22) jest wynikiem dotyczącym sytuacji „idealnej” w tym sensie, iż zaniedbuje komplikacje wynikające z oddziaływań między cząsteczkami substancji rozpuszczonej. W rzeczywistym doświadczeniu wyniki należy ekstrapolować do stężenia zerowego.

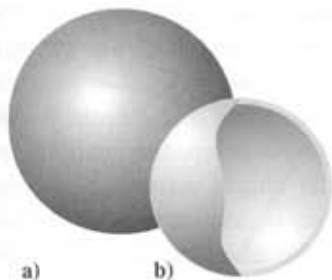
a) Rozpraszanie światła przez duże cząstki

Gdy długość fali promieniowania padającego jest porównywalna z wymiarami cząstek rozpraszających, rozproszenie może zachodzić w różnych miejscach tej samej cząsteczki. Istotna wtedy staje się interferencja różnych promieni¹, a jej wynikiem jest fakt, iż intensywność rozpraszania nie spełnia zależności rayleighowskiej, wyrażonej równaniem (23.22), słuszną dla małych cząstek. Miarą tego odstępstwa jest stosunek

$$P = \frac{\mathcal{I}_{\text{obs}}}{\mathcal{I}_{\text{Ray}}} \quad [23.23]$$

mierzony dla paru kątów, gdzie \mathcal{I}_{obs} jest intensywnością rozpraszania obserwowaną dla każdego kąta oraz \mathcal{I}_{Ray} jest intensywnością przewidywaną dla rozpraszania rayleighowskiego pod tym samym kątem.

¹Ten efekt warunkuje wygląd chmur: widziane przez nas w świetle rozproszonym, wyglądają białe, a nie są niebieskie jak niebo. Przyczyną tego zjawiska jest to, że cząsteczki wody grupują się w kropelki o rozmiarach porównywalnych z długością fali światła i te ugrupowania wspólnie rozpraszają promieniowanie. Chociaż światło niebieskie jest rozpraszane silniej, to jednakże więcej cząsteczek może dawać wkład do rozpraszania, gdy długość fali jest większa (jak w przypadku światła czerwonego). Wypadkowy efekt sprowadza się do jednorodnego rozproszenia dla wszystkich długości fali: światło białe jest rozpraszane jako światło białe. Z tej samej przyczyny papier w tej książce wygląda biało. Dym papierosowy jest niebieski, zanim zostanie wciągnięty do płuc: wydmuchiwany dym staje się brązowy, ponieważ jego cząstki ulegają w płucach agregacji.



23.9 a) Cząsteczka sferyczna i
b) wydrążona powłoka sferyczna o takiej samej charakterystyce rotacyjnej. Promień wydrążonej powłoki jest promieniem bezwładności cząsteczki. Promień bezwładności pełnej kuli o promieniu R wynosi $0,77R$

Jeśli potraktujemy cząsteczkę jako zbiór złożony z i atomów, znajdujących się w odległościach R_i od wybranego punktu, to interferencja zachodzi między promieniowaniem rozproszonym przez każdą parę. Rozproszenie przez wszystkie cząstki oblicza się, uwzględniając wkłady pochodzące od wszystkich możliwych orientacji wszystkich par atomów w każdej cząsteczce. Ten opis jest podobny do użytego w dyskusji dyfrakcji neutronów (p. 21.10), tak więc możemy oczekiwać, iż rozkład intensywności będzie opisany za pomocą wyrażenia typu równania Wierla. Okazuje się, że tak jest faktycznie i jeśli w cząsteczce jest N atomów oraz jeśli założymy, że wszystkie one mają taką samą zdolność rozpraszania, to

$$P = \frac{1}{N^2} \sum_{i,j} \frac{\sin s R_{ij}}{s R_{ij}} \quad s = \frac{4\pi}{\lambda} \sin \frac{1}{2}\theta \quad (23.24)$$

W tym wyrażeniu R_{ij} jest odległością między atomami i oraz j ; λ jest długością fali padającego promieniowania. Obserwowana intensywność rozpraszania jest równa $P I_{\text{Ray}}$, gdzie I_{Ray} dane jest równaniem (23.22).

b) Rozpraszanie przez małe cząstki

Gdy cząsteczka jest znacznie mniejsza od długości fali promieniowania padającego, w tym sensie, że $s R_{ij} \ll 1$ (na przykład, jeśli $R = 5$ nm i $\lambda = 500$ nm, to wszystkie wartości $s R_{ij}$ wynoszą około 0,1), wówczas, jak pokażemy w uzasadnieniu 23.3, odstępstwo od rozpraszania rayleighowskiego jest proporcjonalne do kwadratu **promienia bezwładności**, R_g , cząsteczki

$$P - 1 \propto R_g^2 \quad (23.25)$$

Promień bezwładności jest promieniem cienie wydrążonej powłoki sferycznej, charakteryzującej się tą samą masą i momentem bezwładności co rozważana cząsteczka (rys. 23.9). Oblicza się go formalnie na podstawie wyrażenia²

$$R_g = \frac{1}{N} \left(\frac{1}{2} \sum_{i,j} R_{ij}^2 \right)^{1/2} \quad [23.26]$$

Uzasadnienie 23.3

Gdy $s R_{ij} \ll 1$, możemy zastosować rozwinięcie $\sin x = x - \frac{1}{6}x^3 + \dots$ i wtedy

$$\sin s R_{ij} = s R_{ij} - \frac{1}{6}(s R_{ij})^3 + \dots$$

Stąd

$$P(\theta) = \frac{1}{N^2} \sum_{i,j} \left[1 - \frac{1}{6}(s R_{ij})^2 + \dots \right] = 1 - \frac{s^2}{6N^2} \sum_{i,j} R_{ij}^2 + \dots$$

Sumowanie po kwadratach odległości daje promień bezwładności cząsteczki, wyrażony równaniem [23.26]. Zatem

$$P(\theta) \approx 1 - \frac{1}{3}s^2 R_g^2 = 1 - \frac{16\pi^2 \sin^2 \frac{1}{2}\theta}{3\lambda^2} R_g^2$$

Z ostatniej zależności wynika, że $P - 1$ jest proporcjonalne do R_g^2 .

²W przykładzie 23.6 pokazano, że ta definicja jest równoważna innej, łatwiejszej do zobrazowania w przypadku łańcucha identycznych atomów: promień bezwładności jest średnią kwadratową odległością atomów od środka masy.

Tabela 23.4* Promień bezwładności

Substancja	$M/(\text{kg} \cdot \text{mol}^{-1})$	R_g/nm
Albumina surowicy	66	2,98
Polistyren	$3,2 \cdot 10^3$	50 [▲]
DNA	$4 \cdot 10^3$	117

*Więcej danych zamieszczono w dodatku *Dane fizykochemiczne*.

▲ W złym rozpuszczalniku.

Ze względu na to, że odstępstwo od rozpraszania rayleighowskiego zależy od R_g , analiza intensywności rozpraszania powinna pozwolić na określenie wartości R_g dla cząsteczki w roztworze. Tę z kolei wielkość można interpretować w kategoriach rozmiaru cząsteczki. Na przykład ciało stałe w kształcie kuli o promieniu R charakteryzuje się wartością $R_g = (3/5)^{1/2}R$, podczas gdy w przypadku cienkiego pręta o długości l jego rotację wokół osi prostopadłej do długiej osi tego pręta opisuje $R_g = l/2(3)^{1/2}$. Jeszcze raz należy tutaj podkreślić, że analiza musi dotyczyć danych ekstrapolowanych do stężenia zerowego. Niektóre dane doświadczalne zebrano w tabeli 23.4.

Użycie światła laserowego doprowadziło do dalszych udoskonaleń w zastosowaniu oraz interpretacji pomiarów rozpraszania światła. Szczególną uwagę zwrócono na badania czasowych zależności położenia atomów i orientacji makrocząsteczek w roztworze. Tego typu aspekty **dynamiki polimerowej** można badać poprzez pomiary przesunięcia częstości, które zachodzi wtedy, gdy światło monochromatyczne jest rozpraszane przez poruszający się obiekt, a stosowana technika nosi nazwę **dynamicznego rozpraszania światła**. W szczególności pomiary rozpraszania światła laserowego mogą być zastosowane do bezpośredniego określania dyfuzyjnych charakterystyk makrocząsteczek, dostarczając szybkiej, bezpośredniej i niezawodnej metody pomiaru współczynników dyfuzji nawet dla makrocząsteczek o małej stabilności. Dynamika polimerowa jest też badana za pomocą niesprężystego rozpraszania neutronów, a także komputerowych algorytmów symulacyjnych.

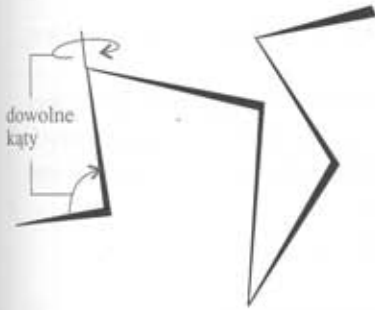
Konformacja i konfiguracja

Pierwszorzędowa struktura makrocząsteczki jest określona przez sekwencję małych jednostek konstytucyjnych tworzących łańcuch (lub sieć, jeśli występuje usieciowanie). W przypadku polimerów syntetycznych te jednostki są identyczne, dlatego też wystarczy nazwać monomer zastosowany do syntezy. Tak więc najmniejszą powtarzającą się jednostką konstytucyjną w polietylenie jest $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ i pierwszorzędowa struktura łańcucha jest określana zapisem $-(\text{CH}_2\text{CH}_2)-$.

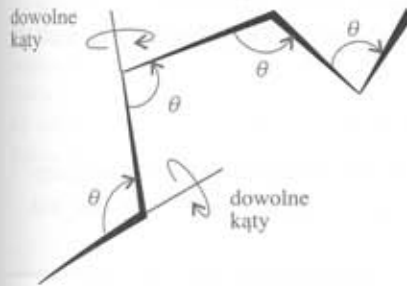
Koncepcja struktury pierwszorzędowej przestaje być oczywista w przypadku syntetycznych kopolimerów i makrocząsteczek biologicznych, ponieważ przeważnie są to łańcuchy utworzone z różnych cząsteczek monomerycznych. Na przykład białka są **polipeptydami**; nazwa ta oznacza łańcuchy powstałe z różnych aminokwasów (około dwadzieścia z nich występuje w przyrodzie), połączonych wiązaniem peptydowym $-\text{CONH}-$. Określenie struktury pierwszorzędowej jest niezwykle złożonym zagadnieniem, rozwiązywanym za pomocą analizy chemicznej zwanej *sekwencjonowaniem*. *Degradacja* polimeru polega na zniszczeniu jego struktury pierwszorzędowej poprzez rozrywanie łańcuchów, z utworzeniem krótszych fragmentów.

Struktura drugorzędowa makrocząsteczek odnosi się do (często lokalnie) dobrze scharakteryzowanego uporządkowania jednostek strukturalnych. Pod względem struktury drugorzędowej izolowana cząsteczka polietylenu jest kłębkami statystycznym. Drugorzędowa struktura białek natomiast odpowiada uporządkowaniu o wysokim stopniu organizacji, zdeteterminowanemu głównie przez wiązania wodorowe — cząsteczki białek przyjmują formę helis lub harmonijek występujących w różnych segmentach cząsteczki. Proces zniszczenia struktury drugorzędowej nosi nazwę **denaturacji**. Jeśli w białku zostaną zerwane wiązania wodorowe (na przykład pod wpływem ogrzewania, jak to się dzieje, gdy gotujemy jajko), to zachodzi proces denaturacji prowadzący do utworzenia kłębka statystycznego.

Różnica między strukturą pierwszorzędową i drugorzędową jest ściśle związana z różnicą między „konfiguracją” i „konformacją” łańcucha. Określenie **konfiguracja**



23.10 Swobodnie połączony łańcuch odpowiada modelowi trójwymiarowego błędzenia przypadkowego; każdy krok odbywa się w dowolnym kierunku, lecz jest tej samej długości



23.11 Lepszy opis uzyskuje się, ustalając kąty między wiązaniami (na przykład kąt tetraedyczny) i pozwalając na swobodną rotację wokół kierunku wiązania

odnosi się do tych cech strukturalnych, które mogą być zmienione wyłącznie przez zerwanie wiązań chemicznych i utworzenie nowych. Zatem łańcuchy —A—B—C— oraz —A—C—B— mają różne konfiguracje. Termin **konformacja** dotyczy przestrzennego uporządkowania różnych części łańcucha i z jednej konformacji do drugiej można przejść poprzez rotację jednej części łańcucha wokół wiązania.

Struktura trzeciorzędowa odpowiada ogólnej trójwymiarowej strukturze cząsteczki. Na przykład wiele białek charakteryzuje się helikalną strukturą drugorzędową, ale w wielu białkach helisy są tak pocięte i wykrzywione, że cząsteczka ma globularną strukturę trzeciorzędową. Określenie **struktura czwartorzędowa** dotyczy sposobu, w jaki niektóre cząsteczki tworzą się przez agregację. Znanym przykładem jest hemoglobina: każda cząsteczka składa się z czterech podjednostek należących do dwóch typów (łańcuchy α i β).

23.6 Klębki statystyczne

W pierwszym etapie wyjaśniania różnych aspektów struktury rozważymy najbardziej prawdopodobną konformację łańcucha złożonego z identycznych jednostek, które nie są zdolne do tworzenia wiązań wodorowych lub innych oddziaływań specyficznych. Prostym przykładem jest polietylen, lecz ogólna idea stosuje się też do zdenaturowanych białek. Najprostszym modelem jest **łańcuch swobodnie związany**, w którym każde wiązanie może tworzyć dowolny kąt z wiązaniem poprzedzającym (rys. 23.10). Zakłada się, że reszty cząsteczkowe zajmują zerową objętość, dlatego też różne części łańcucha mogą znajdować się w tej samej części przestrzeni. Model ten jest oczywiście nadmiernie uproszczony, w rzeczywistości bowiem kierunek danego wiązania jest ograniczony do stożka kątów wokół kierunku wyznaczonego przez wiązanie sąsiednie (rys. 23.11).

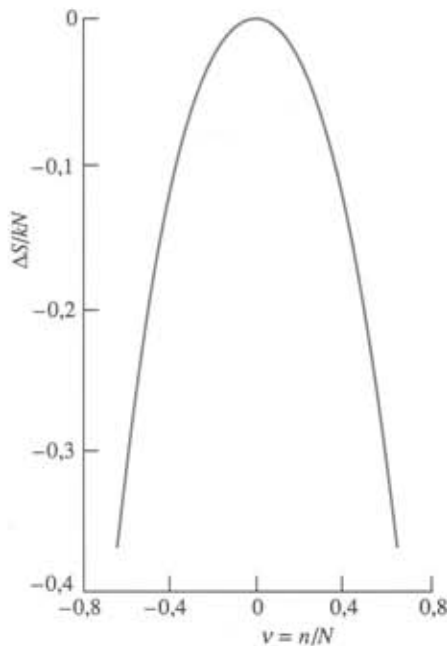
Kłębek statystyczny jest najmniej ustrukturowaną konformacją łańcucha polimerowego i odpowiada stanowi o największej entropii. Każde rozciągnięcie kłębka wprowadza porządek, a co za tym idzie, zmniejszenie entropii. Przeciwnie, tworzenie kłębka statystycznego z bardziej rozciągniętych form jest procesem samorzutnym (pod warunkiem, że nie przeszkadza wkład entalpowy). Model kłębka statystycznego jest pomocny jako punkt wyjścia przy szacowaniu rzędów wielkości właściwości hydrodynamicznych (takich jak szybkości sedimentacji) polimerów i zdenaturowanych białek w roztworze.

Elastyczność **elastomeru doskonałego**, tj. giętkiego polimeru, którego energia wewnętrzna nie zależy od wydłużenia, można dyskutować również w kategoriach właściwości kłębka statystycznego. Strategia polega na znalezieniu wyrażenia opisującego **entropię konformacyjną** (statystyczną entropię wynikającą z uporządkowania wiązań), a następnie na wyprowadzeniu równania opisującego siłę potrzebną do rozciągnięcia kłębka. Pierwsza część obliczeń prowadzi do wniosku, że dla polimeru zawierającego N wiązań o długości l , który poddawany jest rozciąganiu lub ścisłaniu o wartość nl , zmiana entropii konformacyjnej jest równa

$$\Delta S = -\frac{1}{2}kN \ln\{(1 + \nu)^{1+\nu}(1 - \nu)^{1-\nu}\} \quad \nu = n/N \quad (23.27)$$

Uzasadnienie 23.4

Rozważmy jednowymiarowy łańcuch ze swobodnie połączonych segmentów. Konformację cząsteczki można wyrazić za pomocą liczby wiązań skierowanych w prawo (N_P) i liczby wiązań skierowanych w lewo (N_L). Odległość między końcami łańcucha jest równa $(N_P - N_L)l$, gdzie l jest długością pojedynczego



23.12 Zmiana entropii molowej doskonałej gumy ze zmianą rozciągnięcia: ($v = 1$ odpowiada całkowitemu rozciągnięciu; $v = 0$ dotyczy konformacji o największej entropii, odpowiadającej kłębkowi statystycznemu)

wiązania. Zapiszmy również, że $n = N_P - N_L$ oraz $N = N_P + N_L$, gdzie N jest całkowitą liczbą wiązań.

Liczba sposobów, na jakie można utworzyć łańcuch o zadanej odległości między końcami nl , jest równa liczbie sposobów uzyskania N_P wiązań skierowanych w prawo i N_L wiązań skierowanych w lewo. Jest ona dana współczynnikiem dwumianu

$$W = \frac{N!}{N_L!N_P!} = \frac{N!}{\left\{\frac{1}{2}(N+n)\right\}!\left\{\frac{1}{2}(N-n)\right\}!}$$

Entropia konformacyjna łańcucha, $S = k \ln W$, wynosi zatem

$$S/k = \ln N! - \ln\left\{\frac{1}{2}(N+n)\right\}! - \ln\left\{\frac{1}{2}(N-n)\right\}!$$

Ponieważ wartości silni są duże (z wyjątkiem znacznych rozciągnięć), można zastosować przybliżenie Stirlinga (p. 19.1a) w postaci

$$\ln x! \approx \ln(2\pi)^{1/2} + \left(x + \frac{1}{2}\right) \ln x - x$$

skąd otrzymujemy

$$S/k = -\ln(2\pi)^{1/2} + (N+1) \ln 2 + \left(N + \frac{1}{2}\right) \ln N - \frac{1}{2} \ln\{(N+n)^{N+n+1}(N-n)^{N-n+1}\}$$

Najbardziej prawdopodobną konformacją łańcucha jest ta, w której końce są złączone ($n = 0$), co można potwierdzić, wykonując różniczkowanie. Zatem maksymalna entropia wynosi

$$S/k = -\ln(2\pi)^{1/2} + (N+1) \ln 2 - \frac{1}{2} \ln N$$

Zmiana entropii zachodząca wtedy, kiedy polimer jest rozciągany lub ściskany o wartość nl , jest więc różnicą tych dwóch wartości, a otrzymane równanie jest identyczne z równaniem (23.27) (rys. 23.12).

Rozważmy teraz termodynamiczną część obliczeń. Praca wykonana na elastomerze, który jest rozciągnięty na odległość dx , jest równa $F dx$, gdzie F jest siłą sprężystą. Zmiana energii wewnętrznej wynosi więc

$$dU = T dS - p dV + F dx \quad (23.28)$$

Wynika stąd, że

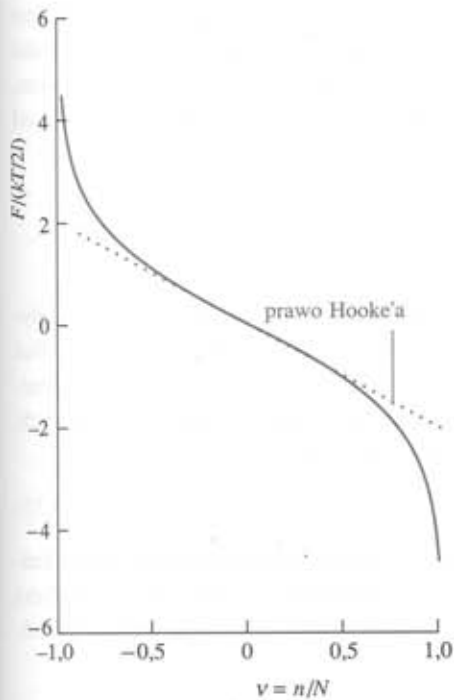
$$\left(\frac{\partial U}{\partial x}\right)_{T,V} = T \left(\frac{\partial S}{\partial x}\right)_{T,V} + F \quad (23.29)$$

W elastomerze doskonałym, podobnie jak w gazie doskonałym, energia wewnętrzna jest niezależna od rozmiarów (w stałej temperaturze), a więc $(\partial U/\partial x)_{T,V} = 0$. Siła sprężysta jest zatem równa

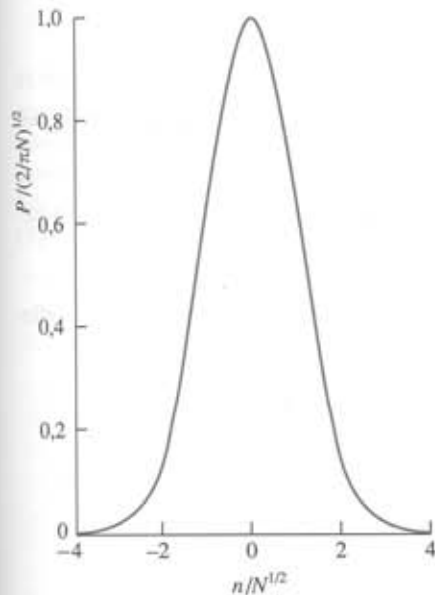
$$F = -T \left(\frac{\partial S}{\partial x}\right)_{T,V} \quad (23.30)$$

Jeżeli podstawimy do ostatniego wzoru równanie (23.27) (unikamy problemów wynikających z ograniczenia dotyczącego stałej objętości, zakładając, że podczas rozciągania próbka ulega skróceniu poprzecznemu), to otrzymamy wyrażenie

$$F = -\frac{T}{l} \left(\frac{\partial S}{\partial n}\right)_{T,V} = -\frac{T}{Nl} \left(\frac{\partial S}{\partial v}\right)_{T,V} = \frac{kT}{2l} \ln \left(\frac{1+v}{1-v}\right) \quad (23.31)$$



23.13 Siła sprężysta, F , dla jednowymiarowej doskonałej gumy. Dla małych odchyłeń siła F jest liniowo zależna od rozciągnięcia, co odpowiada prawu Hooke'a



23.14 Prawdopodobieństwo rozkładu odległości końców łańcucha jednowymiarowego kłębka statystycznego. Odległość między końcami jest równa nl , gdzie l jest długością wiązania

Funkcja ta jest przedstawiona wykresem na rys. 23.13. Dla małych rozciągnięć, gdy $v \ll 1$,

$$F \approx \frac{vkT}{l} = \frac{nkT}{Nl} \quad (23.32)^\circ$$

i próbka spełnia prawo Hooke'a, stwierdzając, że siła sprężysta jest proporcjonalna do odkształcenia. W przypadku małych odkształceń cały kłębek drga ruchem harmonicznym.

a) Rozkład radialny

Jak to pokazano w uzasadnieniu 23.5, ten sam model, którego użyliśmy w dyskusji elastyczności polimeru, można zastosować do obliczenia prawdopodobieństwa tego, że końce jednowymiarowego kłębka statystycznego znajdują się w odległości nl od siebie

$$P = \left(\frac{2}{\pi N}\right)^{1/2} e^{-\frac{1}{2}n^2/N} \quad (23.33)$$

Ta funkcja jest przedstawiona na rys. 23.14.

Uzasadnienie 23.5

Prawdopodobieństwo, że odległość wynosi nl , jest równe

$$P = \frac{\text{liczba polimerów o } N_p \text{ wiązaniach skierowanych w prawo}}{\text{całkowita liczba orientacji wiązań}} \\ = \frac{N!/N_p!(N-N_p)!}{2^N} = \frac{N!}{\{\frac{1}{2}(N+n)\}!\{\frac{1}{2}(N-n)\}!2^N}$$

Dalszy sposób postępowania jest taki, jak w poprzednim uzasadnieniu. Zastosowanie przybliżenia Stirlinga (po wykonaniu sporej liczby przekształceń algebraicznych) prowadzi do wyrażenia

$$\ln P = \ln \left(\frac{2}{\pi N}\right)^{1/2} - \frac{1}{2}(N+n+1) \ln(1+v) - \frac{1}{2}(N-n+1) \ln(1-v)$$

Dla małych wydłużeń ($v \ll 1$) możemy zastosować przybliżenie $\ln(1 \pm v) \approx \pm v - \frac{1}{2}v^2$ i w ten sposób otrzymujemy wyrażenie

$$\ln P \approx \ln \left(\frac{2}{\pi N}\right)^{1/2} - \frac{1}{2}Nv^2$$

które sprowadza się do równania (23.33).

Na podstawie równania (23.33) można obliczyć prawdopodobieństwo tego, że w trójwymiarowym kłębku końce łańcucha leżą w nieskończenie małym przedziale od R do $R + dR$. Prawdopodobieństwo to zapisujemy jako $f dR$, gdzie

$$f = 4\pi \left(\frac{a}{\pi^{1/2}}\right)^3 R^2 e^{-a^2 R^2} \quad a = \left(\frac{3}{2Nl^2}\right)^{1/2} \quad (23.34)$$

Jak zwykle, N jest liczbą wiązań oraz l jest długością wiązania.³ Równanie (23.34) wskazuje, że w niektórych kłębkach (stosunek jest dany wartością f dla dużych R)

³Ignorujemy fakt, że łańcuch nie może być dłuższy niż Nl . Chociaż z równania (23.34) wynika, że istnieje niezerowe prawdopodobieństwo, że $R > Nl$, to jednak jego wartości są tak małe, że błędy, które pojawiają się w związku z założeniem, że R może rosnać do nieskończoności, są do zaniebdania.

końce mogą być znacznie oddalone od siebie, podczas gdy w innych odległość ich jest mała. Alternatywna interpretacja przyjmuje, że każdy kłębek nieustannie przechodzi od jednej konformacji do drugiej. W tym przypadku $f dR$ jest prawdopodobieństwem, że w dowolnym momencie odległość między końcami łańcucha będzie wynosiła od R do $R + dR$.

b) Miary rozmiarów kłębka

Wprowadzono kilka wielkości określających geometryczne rozmiary kłębka statystycznego. **Długość konturowa**, R_c , jest długością makrocząsteczki mierzoną wzdłuż jej łańcucha głównego, od atomu do atomu (maksymalna odległość, jaką można przebyć, błędząc przypadkowo). Dla polimeru zawierającego N jednostek monomerych, z których każda ma długość l , długość konturowa wynosi

$$R_c = Nl \quad (23.35)$$

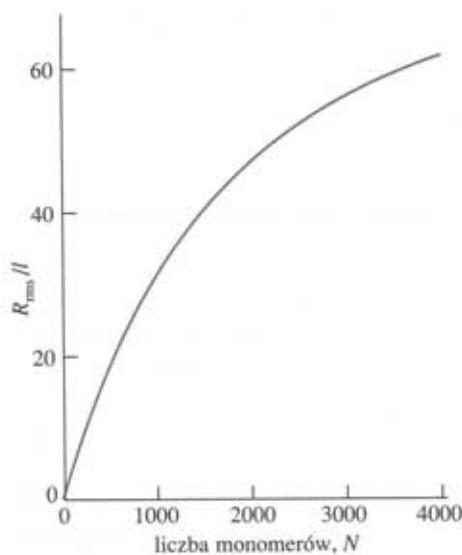
Odległość średnia kwadratowa, R_{rms} lub $(R^2)^{1/2}$, jest miarą odległości końców łańcucha tworzącego kłębek statystyczny; jest to pierwiastek kwadratowy ze średniej wartości R^2 , obliczany jako średnia ważona z R^2 , z wagą równą prawdopodobieństwu wystąpienia danego R

$$R_{rms} = \left(\int_0^\infty R^2 f dR \right)^{1/2} = N^{1/2} l \quad (23.36)$$

Widzimy, że gdy liczba jednostek monomerych rośnie, średnia kwadratowa odległość między końcami rośnie proporcjonalnie do $N^{1/2}$ (rys. 23.15) i w konsekwencji objętość kłębka rośnie proporcjonalnie do $N^{3/2}$. Podobnie wyraża się promień bezwładności kłębka

$$R_g = \left(\frac{N}{6} \right)^{1/2} l \quad (23.37)$$

Promień bezwładności również rośnie proporcjonalnie do $N^{1/2}$.



23.15 Średnia kwadratowa odległość końców łańcucha R_{rms} trójwymiarowego kłębka statystycznego jako funkcja liczby monomerów

Przykład 23.6 Obliczanie rozmiarów kłębka statystycznego

Oblicz średnią odległość między końcami swobodnie połączonego łańcucha polimerowego, składającego się z N wiązań o długości l .

Metoda Ogólne wyrażenie pozwalające na wyznaczenie średniej n -tej potęgi odległości między końcami łańcucha jest następujące:

$$\langle R^n \rangle = \int_0^\infty R^n f dR$$

Powinno ono być zastosowane dla wartości $n = 1$ i f danej równaniem (23.34).

Odpowiedź Średnia odległość wynosi

$$\langle R \rangle = 4\pi \left(\frac{a}{\pi^{1/2}} \right)^3 \int_0^\infty R^3 e^{-a^2 R^2} dR = \frac{2}{a\pi^{1/2}} = \left(\frac{8N}{3\pi} \right)^{1/2} l$$

Standardową całką, której użyliśmy, jest

$$\int_0^\infty x^3 e^{-a^2 x^2} dx = \frac{1}{2a^4}$$

Komentarz W przypadku gdy łańcuch nie jest połączony swobodnie, wynik trzeba pomnożyć przez pewien czynnik: zobacz poniżej.

Zadanie 23.6 Określ średnią kwadratową odległość końców łańcucha.

$[N^{1/2}l]$

c) Łańcuchy nieswobodne

Zanim zrobimy użytek z wyciągniętych wniosków, musimy zrezygnować z założenia, że kąty między wiązaniami mogą przyjmować dowolne wartości. Wprowadzenie takiej poprawki jest proste dla długich łańcuchów, możemy bowiem wziąć pod uwagę grupy sąsiadujących wiązań i rozpatrzyć kierunek ich wypadkowej. Chociaż kierunki poszczególnych wiązań są ograniczone do stożka o kącie rozwarcia θ , to wypadkowa kilku wiązań przyjmuje kierunek przypadkowy. Jeśli skoncentrujemy się na takich grupach, a nie na pojedynczych wiązaniach, to okaże się, że w przypadku długich łańcuchów średnie wartości podane powyżej należy pomnożyć przez

$$F = \left(\frac{1 - \cos \theta}{1 + \cos \theta} \right)^{1/2} \quad (23.38)$$

Dla kątów tetraedrycznych, dla których $\cos \theta = -\frac{1}{3}$ (czyli $\theta = 109,5^\circ$), $F = 2^{1/2}$.
Zatem

$$R_{\text{rms}} = (2N)^{1/2}l \quad R_g = \left(\frac{N}{3} \right)^{1/2} l \quad (23.39)$$

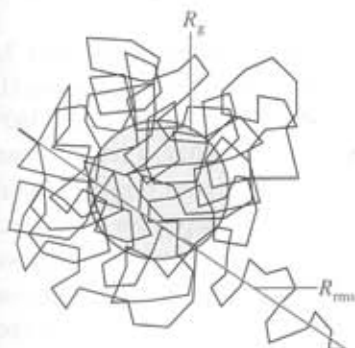
Przykład objaśniający

Dla łańcucha polietylenowego o masie molowej $M = 56 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$, odpowiadającej $N = 4000$, ponieważ $l = 154 \text{ pm}$ dla wiązania C—C, otrzymujemy $R_{\text{rms}} = 14 \text{ nm}$ i $R_g = 5,6 \text{ nm}$ (rys. 23.16). Ta wartość R_g oznacza, że przeciętnie kłębki rotują tak, jak wydrążone sfery o promieniu 5,6 nm i masie równej masie cząsteczki.

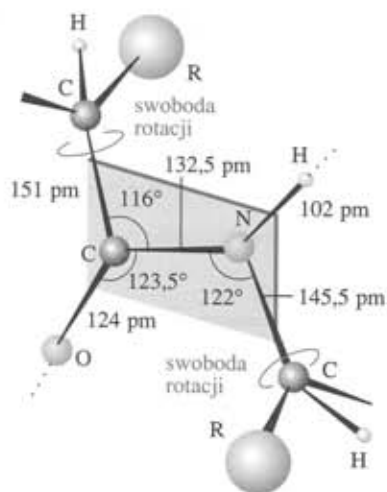
Model statystycznie skłębionej cząsteczki jest nadal przybliżeniem, nawet po wprowadzeniu ograniczenia co do wartości kątów, ponieważ nie uwzględnia faktu, że dwa atomy nie mogą zająć tego samego miejsca. Takie wzajemne unikanie się atomów prowadzi do pęcznienia kłębka, tak więc lepiej jest uznać R_{rms} i R_g za dolne granice rzeczywistych wartości. Model ten ignoruje również rolę rozpuszczalnika: w złym rozpuszczalniku wystąpi tendencja do ścieśniania kłębków tak, aby zminimalizować kontakty rozpuszczalnik–substancja rozpuszczona; dobry rozpuszczalnik będzie powodował efekt odwrotny. Rozpuszczalnik θ pozostawi kłębek w jego stanie naturalnym.

23.7 Helisy i harmonijki

Funkcjonowanie naturalnych makrocząsteczek wymaga precyzyjnego zachowania ich konformacji. Uzyskanie specyficznej konformacji jest podstawowym problemem pozostającym do rozwiązania przy syntezie białek. Chociaż można zbudować struktury



23.16 Kłębek statystyczny w trzech wymiarach. Kłębek przedstawiony tutaj zawiera około 200 jednostek. Zaznaczono średnią kwadratową odległość końców łańcucha (R_{rms}) i promień bezwładności (R_g)



23.17 Wymiary, które charakteryzują wiązanie peptydowe. Atomy C—CO—NH—C wyznaczają płaszczyznę (wiązanie C—N ma częściowo charakter wiązania podwójnego), jednak istnieje swoboda rotacji wokół wiązań C—CO i N—C

pierwszorzędowe, to jednak okazuje się, że produkt jest nieaktywny, ponieważ przyjęta przezeń struktura drugorzędowa nie jest poprawna.

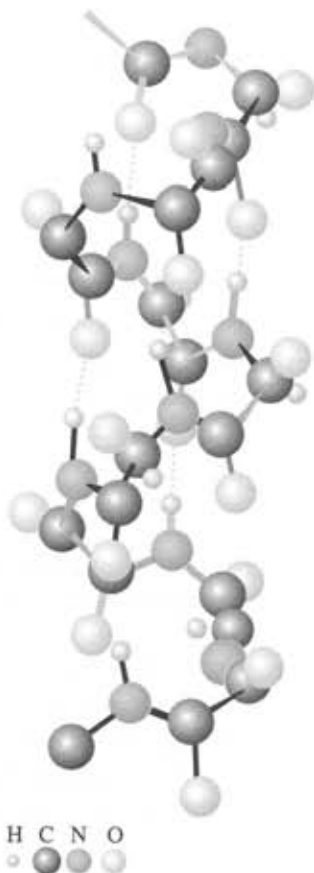
a) Reguły Coreya–Paulinga

Powstawanie drugorzędowej struktury białek wyjaśniają reguły sformułowane przez Linusa Paulinga i Roberta Coreya w 1951 roku. Najistotniejszą właściwością białek jest stabilizacja ich struktury przez wiązania wodorowe, utworzone przez atomy wiązania peptydowego. Mogą one działać zarówno jako donory atomu H (część NH wiązania), jak i jako akceptory (część CO). **Reguły Coreya–Paulinga** są następujące (rys. 23.17):

1. Atomy tworzące wiązanie peptydowe leżą w płaszczyźnie.
2. Atomy N, H i O, tworzące wiązanie wodorowe, leżą w linii prostej (z dopuszczalnym odchyleniem atomu H od kierunku wektora N—O nie większym niż 30°).
3. W wiązaniach wodorowych uczestniczą wszystkie grupy NH i CO.

Reguły te są spełniane przez dwie struktury. Jedna, w której wiązanie wodorowe występuje między grupami peptydowymi należącymi do tego samego łańcucha, zwana jest **helisą α** . Druga struktura, w której wiązania wodorowe łączą różne łańcuchy, określana jest jako **harmonijka β** ; ta forma stanowi drugorzędową strukturę fibroiny, będącej składnikiem jedwabiu.

Helisa α jest przedstawiona na rys. 23.18. Na każdy zwoj helisy przypada 3,6 reszt aminokwasowych, tak więc *okres identyczności* helisy odpowiada 5 zwojom (18 reszt). *Skok* pojedynczego zwoju (odległość między punktami po obrocie o 360°) wynosi 544 pm. Wiązanie N—H...O leży równoległe do osi helisy, a reszta aminokwasowa i jest połączona z resztami $i - 4$ oraz $i + 4$. Helisa może przybrać kształt śruby prawo- lub lewoskrętnej, ale przeważająca większość polipeptydów naturalnych jest prawoskrętna ze względu na to, że wśród naturalnie występujących aminokwasów dominuje konformacja L. Przyczyna tego zjawiska nie jest jasna, lecz może ona mieć związek z symetrią cząstek elementarnych i niezachowaniem parzystości (powoduje to, że wszechświat zachowuje się odmiennie od jego hipotetycznego odbicia zwierciadlanego).

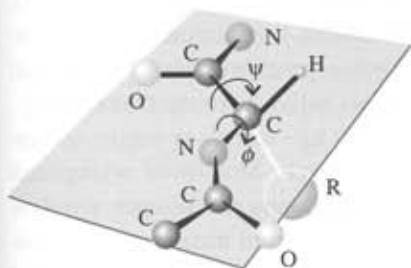


23.18 Helisa α polipeptydu. Na jeden zwoj helisy przypada 3,6 reszt aminokwasowych, każda o długości 150 pm, tak więc skok helisy wynosi 544 pm. Średnica (jeśli pominie się łańcuchy boczne) ma około 600 pm

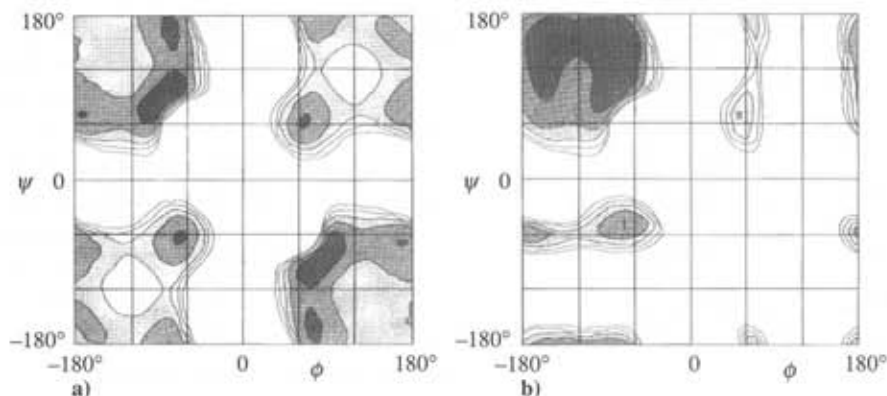
b) Energia konformacyjna

Stabilność polipeptydów o różnych geometriach można badać, obliczając całkowitą energię potencjalną wszystkich oddziaływań pomiędzy nie związanymi atomami i szukając jej minimalnej wartości. Okazuje się, że zgodnie z doświadczeniem, prawoskrętna helisa α zbudowana z L-aminokwasów jest minimalnie bardziej stabilna niż helisa lewoskrętna zbudowana z tych samych aminokwasów.

Geometrię łańcucha określa się, podając dwa kąty: ϕ (kąt skręcenia dla wiązania N—C) oraz ψ (kąt skręcenia dla wiązania C—C). Kąty te są zdefiniowane na rys. 23.19. Według przyjętej konwencji znaków, kąt dodatni oznacza, że pierwszy z atomów musi wykonać obrót zgodnie z ruchem wskazówek zegara, aby mógł zająć pozycję naprzeciwległą (ekliptyczną) względem następnego atomu. Rysunek 23.19 przedstawia postać łańcucha o konformacji całkowicie *trans* (*all trans*), dla której wszystkie kąty ϕ i wszystkie kąty ψ są równe 180° . Helisę otrzymuje się wtedy, kiedy wszystkie kąty ϕ i ψ są równe. W przypadku prawoskrętnej helisy α wszystkie kąty $\phi = -57^\circ$ i $\psi = -47^\circ$. W przypadku lewoskrętnej helisy β wszystkie kąty są dodatnie. Ze względu na to, że w celu określenia konformacji helisy potrzebna jest znajomość jedynie dwóch kątów, które zmieniają się od -180° do $+180^\circ$, energię



23.19 Definicja kątów torsyjnych ϕ oraz ψ między dwiema jednostkami peptydowymi. W tym przypadku (α -L-poli-peptyd) łańcuch narysowano w formie całkowicie *trans*, z kątami $\psi = \phi = 180^\circ$



23.20 Diagramy Ramachandrana dla reszty glicynowej łańcucha polipeptydowego (a) i reszty alaninowej (b). Im ciemniejsze jest zacielenie, tym niższa energia potencjalna. Diagram dla glicyny jest symetryczny, podczas gdy obszary I i II, które odpowiadają lewo- i prawoskrętnej helisie, są niesymetryczne i minimum w obszarze I leży niżej niż w obszarze II. (Według D. A. Brant i P. J. Flory, *J. Mol. Biol.*, 23, 47 (1967))

potencjalną całej cząsteczki można przedstawić na **diagramie Ramachandrana** — diagramie konturowym, w którym jedna oś przedstawia ϕ , a druga ψ .

Energię potencjalną danej konformacji (ϕ , ψ) oblicza się, stosując wyrażenia wyprowadzone w p. 22.3 i 22.4; procedura taka jest obecnie w znacznym stopniu zautomatyzowana w komercyjnie dostępnym oprogramowaniu do modelowania molekularnego. Na przykład energia oddziaływania dwu atomów znajdujących się w odległości R (którą znamy, jeśli określone są kąty ϕ i ψ) może być opisana potencjałem Lennarda–Jonesa (12,6). Jeśli znane są ładunki cząstkowe na atomach (wynikające ze spolaryzowanego charakteru wiązań), to można również uwzględnić udział oddziaływań kulombowskich, zależny od $1/R$. Uwzględnienie oddziaływań kulombowskich uzyskuje się niekiedy poprzez przypisanie ładunku $-0,28e$ atomowi N i $+0,28e$ atomowi H oraz $-0,39e$ i $+0,39e$, odpowiednio, atomom O i C. Istnieje ponadto wkład torsyjny, będący wynikiem istnienia bariery rotacji wewnętrznej jednego wiązania względem drugiego (podobnie jak bariera rotacji wewnętrznej w etanie), który zazwyczaj przedstawia się jako

$$V = A(1 + \cos 3\phi) + B(1 + \cos 3\psi) \quad (23.40)$$

gdzie A i B są stałymi o wartości rzędu $1 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$.

Kontury energii potencjalnej dla helikalnej formy łańcuchów polipeptydowych utworzonych z niechiralnego aminokwasu, glicyny ($R = H$), i chiralnego aminokwasu, L-alaniny, są przedstawione na rys. 23.20. Obliczono je, sumując wszystkie opisane wyżej udziały dla każdego zestawu kątów, a następnie wykreślając kontury odpowiadające jednakowej energii potencjalnej. Mapa dla glicyny jest symetryczna i ma minima o jednakowej głębokości dla $\phi = -80^\circ$, $\psi = +90^\circ$ oraz $\phi = +80^\circ$, $\psi = -90^\circ$. W przeciwieństwie do glicyny mapa dla L-alaniny jest niesymetryczna; obserwuje się trzy wyraźne niskoenergetyczne konformacje (oznaczane jako I, II, III). Minima obszarów I i II odpowiadają w przybliżeniu helisom α prawo- i lewoskrętnej, lecz helisa prawoskrętna ma niższe minimum. Jest to zgodne z zasadą tworzenia się helis prawoskrętnych z naturalnie występujących L-aminokwasów.

23.8 Struktury wyższego rzędu

Helikalne łańcuchy polipeptydowe fałdują się, tworząc struktury trzeciorzędowe, jeśli wystąpią inne oddziaływania wiążące między merami tworzącymi łańcuch; mu-



23.21 Struktura mioglobiny. Pokazane są jedynie położenia atomów węgla α . Grupę hemową, wiążącą tlen, przedstawiono jako zacieniony obszar. (Na podstawie pracy: M. F. Perutz, prawa autorskie *Scientific American*, 1964; za zgodą)

są one być na tyle silne, aby pokonać oddziaływania odpowiedzialne za strukturę drugorzędową. Do czynników powodujących faldowanie należą mostki disulfidowe ($-S-S-$), oddziaływania jonowe (zależne od pH), silne wiązania wodorowe (takie jak $-O-H \cdots O$). Występują one między innymi w mioglobinie (rys. 23.21), której pełna struktura (obejmująca 2600 atomów) została wyznaczona metodą rentgenograficzną. Sfaldowanie helisy α jest spowodowane przez widoczne tutaj mostki disulfidowe: około 77% struktury występuje w postaci helisy α , reszta tworzy faldy.

Stwierdzono, że białka o masie molowej $M > 50 \text{ kg} \cdot \text{mol}^{-1}$ są często agregatami dwu lub większej liczby łańcuchów polipeptydowych. Możliwość wystąpienia takiej struktury czwartorzędowej bywa przyczyną uzyskiwania rozbieżnych wyników przy wyznaczaniu masy molowej; wartości uzyskiwane różnymi metodami mogą różnić się w takich przypadkach dwa lub więcej razy. Przykładem takiego białka jest hemoglobina, która składa się z czterech łańcuchów podobnych do mioglobiny.

Denaturacja białka może być spowodowana przez różne czynniki i może dotyczyć różnych aspektów jego struktury. Na przykład „trwała ondulacja” włosów polega na reorganizacji na poziomie struktury czwartorzędowej. Włos jest zbudowany z keratyny, której czwartorzędowa struktura ma postać wielokrotnej helisy, powstającej przez połączenie helis α mostkami disulfidowymi i wiązaniami wodorowymi (aczkolwiek dokładna struktura jest przedmiotem dyskusji). Proces prowadzący do „trwałej ondulacji” polega na zerwaniu tych wiązań, rozplątaniu struktury czwartorzędowej keratyny, a następnie przekształceniu jej w bardziej modny układ. „Trwałość” jest jedynie przejściowa, ponieważ struktura nowo tworzącego się włosa jest kontrolowana genetycznie. Nawiasem mówiąc, normalny włos rośnie z taką szybkością, że w ciągu każdej sekundy tworzy się co najmniej 10 zwojów helisy keratyny. Dokładne badanie ludzkich włosów wykazałoby, że dosłownie zwijają się one przy pracy.

Denaturacja na poziomie struktury drugorzędowej jest spowodowana przez czynniki, które niszczą wiązania wodorowe. Takim czynnikiem może być ruch cieplny — w tym przypadku denaturacja jest pewnego rodzaju topnieniem wewnętrznym. Podczas gotowania jajka albumina ulega nieodwracalnej denaturacji i białko przyjmuje strukturę przypominającą kłębek statystyczny. **Przejście helisa-kłębek** jest ostre, tak jak zwykle topnienie, ponieważ jest procesem kooperatywnym: gdy ulegnie zerwaniu jedno wiązanie wodorowe, łatwiej jest zerwać sąsiednie, a potem jeszcze łatwiej następne i tak dalej. Zrywanie wiązań odbywa się kaskadowo wzdłuż helisy i dlatego przejście jest ostre. Denaturację można też spowodować na drodze chemicznej. Na przykład rozpuszczalniki tworzące silniejsze wiązania wodorowe niż wiązania, które występują w obrębie helisy, będą z powodzeniem współzawodniczyć o grupy NH i CO. Kwasy i zasady mogą również powodować denaturację poprzez protonowanie lub deprotonowanie grup uczestniczących w wiązaniu wodorowym.

Koloidy i surfaktanty

Większość materiału dyskutowanego w tym rozdziale dotyczy również agregatów cząsteczkowych występujących w formie małych cząstek lub też rozciągniętych harmonijek, takich jak te, które tworzą ściany komórek biologicznych. Układy takie wykazują jednakże wiele specyficznych właściwości, które będą przedmiotem naszej uwagi.

23.9 Właściwości koloidów

Koloid lub **układ dyspersyjny** jest układem, w którym małe cząstki jednej substancji są rozproszone w innej. W tym kontekście określenie „mały” oznacza cząstkę o średnicy mniejszej od 500 nm (co odpowiada mniej więcej długości fali światła

widzialnego). Ogólnie mówiąc, cząstki koloidalne są agregatami dużej liczby atomów lub cząsteczek, ich rozmiary są jednak zbyt małe, aby można je było zaobserwować pod zwykłym mikroskopem optycznym. Przechodzą one przez większość sączków papierowych, ale można je wykryć metodami opartymi na zjawiskach rozpraszania, sedymentacji i osmozy.

a) Klasyfikacja i otrzymywanie

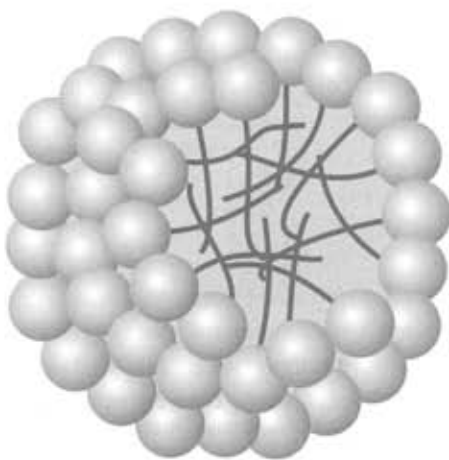
Nazwa, jaką nadaje się układowi koloidalnemu, zależy od stanu skupienia tworzących go składników. **Zól** powstaje w wyniku rozproszenia ciała stałego w cieczy (jak klastery atomów złota w wodzie) lub ciała stałego w ciele stałym (jak na przykład szkło rubinowe, będące zolem złota w szkle, które zawdzięcza swoją barwę rozpraszaniu światła). **Aerozol** tworzy się przez rozproszenie cieczy w gazie (jak mgła i liczne „spraye”) lub ciała stałego w gazie (na przykład dym). Cząstki aerozolu są często dostatecznie duże, aby można je było zaobserwować pod mikroskopem. W **emulsji** fazą zdyspergowaną i dyspergującą jest ciecz (przykładem takiego układu jest mleko).

Dalsza klasyfikacja prowadzi do podziału koloidów na **liofilowe**, czyli przyciągające rozpuszczalnik, i **liofobowe**, czyli odpychające rozpuszczalnik. Jeżeli rozpuszczalnikiem jest woda, używa się odpowiednio terminów **hydrofilowe** i **hydrofobowe**. Do grupy koloidów liofobowych należą zole metali. Koloidy liofilowe wykazują zazwyczaj pewne chemiczne podobieństwo do rozpuszczalnika; zawierają one na przykład grupy —OH zdolne do tworzenia wiązań wodorowych. **Żelem** nazywa się częściowo zeszywniałą masę zolu liofilowego, powstałą na skutek całkowitej penetracji ośrodka rozpraszającego w głąb cząstek zolu.

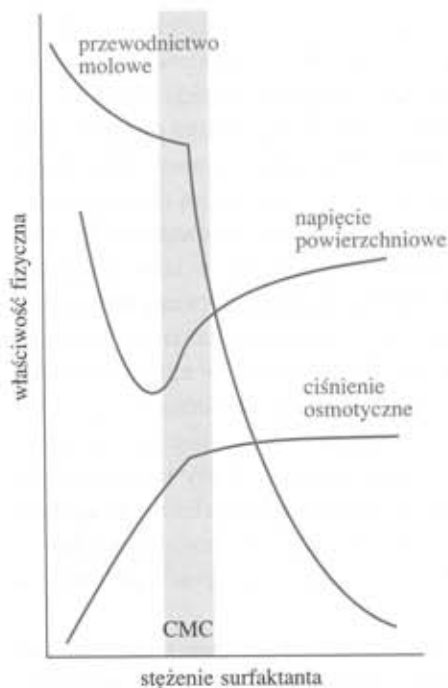
Otrzymywanie aerozoli może być tak proste jak kichnięcie (w czasie którego powstaje niedoskonały aerozol). Metody laboratoryjne i przemysłowe opierają się na kilku technikach. Można rozdrabniać materiał fazy rozproszonej (na przykład kwarc) w obecności fazy rozpraszającej. Przepuszczanie przez elektrolizer prądu o dużym natężeniu może doprowadzić do rozdrobnienia elektrody na cząstki koloidalne. Można również uzyskać koloid, wytwarzając łuk elektryczny między elektrodami zanurzonymi w cieczy stanowiącej układ rozpraszający. Do utworzenia koloidu prowadzić też może wytrącanie chemiczne. Wytrącony osad (np. jodek srebra) można przeprowadzić w koloid przez dodanie środka peptyzującego (na przykład jodku potasu). Gliny można peptyzować przy użyciu wodorotlenków — aktywnym czynnikiem są tu jony OH^- .

Emulsje otrzymuje się na ogół przez energiczne wytrząsanie obu składników, chociaż zwykle zachodzi konieczność dodania środka emulgującego w celu stabilizacji produktu. Emulgatorem może być mydło (sól długołańcuchowego kwasu karboksylowego) lub inny **surfaktant** (substancja powierzchniowo czynna), a także zól liofilowy, który tworzy ochronną warstwę wokół cząstek fazy rozproszonej. W mleku, które jest emulsją tłuszczu w wodzie, emulgatorem jest kazeina, białko zawierające grupy fosforanowe. Kazeina nie stabilizuje jednak mleka w stopniu wystarczającym. Świadczy o tym tworzenie się śmietanki na jego powierzchni: zdyspergowany tłuszcz koaguluje, tworząc kropelki, które zostają wyniesione na powierzchnię cieczy. Koagulacji można zapobiec, zapewniając silne zdyspergowanie emulsji na samym początku — można tego dokonać za pomocą ultradźwięków, a uzyskany w ten sposób produkt jest mlekiem „homogenizowanym”.

Jednym ze sposobów otrzymywania aerozoli jest rozrywanie strugi rozpylanej cieczy za pomocą strumienia gazu. Tworzenie fazy rozproszonej może być ułatwione przez nadanie cieczy ładunku, ponieważ wtedy odpychanie elektrostatyczne pomaga w rozbiciu większych kropel cieczy na mniejsze. Tę procedurę stosuje się również przy otrzymywaniu emulsji — strumień naładowanej cieczy kieruje się do drugiej cieczy, będącej fazą rozpraszającą.



23.22 Schematyczny obraz miceli kulistej. Kulki przedstawiają grupy hydrofilowe, a szypułki obrazują hydrofobowe łańcuchy węglowodorowe; szypułki są ruchome



23.23 Typowe zmiany niektórych właściwości fizycznych wodnego roztworu dodecylsulfonianu sodu w pobliżu stężenia krytycznego micelizacji (CMC)

Koloidy często oczyszczają się przez dializę. Jej celem jest usunięcie większości (lecz nie wszystkich, z powodów omówionych poniżej) jonów, które mogły być wprowadzone w trakcie otrzymywania roztworu koloidalnego. Podobnie, jak to opisano w p. 23.2b przy omawianiu efektu Donnana, dobiera się membranę (na przykład z celulozy), która przepuszcza cząsteczki rozpuszczalnika i jony, a zatrzymuje cząstki koloidalne. Proces dializy przebiega bardzo wolno i dlatego przyspiesza się go zazwyczaj, stosując pole elektryczne i wykorzystując fakt, że wiele cząstek koloidalnych ma ładunek; technika ta nosi nazwę **elektrodializy**.

b) Struktura i stabilność

Układy koloidalne są termodynamicznie nietrwałe w odniesieniu do fazy zwartej. Niestabilność tę można wyrazić termodynamicznie, zauważając, że zmiana entalpii swobodnej, dG , zachodząca, gdy powierzchnia próbki zmienia się o $d\sigma$ w stałej temperaturze i pod stałym ciśnieniem, wynosi $dG = \gamma d\sigma$, gdzie γ jest napięciem międzyfazowym (p. 6.10). Wynika stąd, że $dG < 0$, jeśli $d\sigma < 0$. Trwałość koloidów musi być więc związana z kinetyką ich rozpadu: koloidy są niestabilne termodynamicznie, lecz kinetycznie nielabilne.

Na pierwszy rzut oka wydaje się, że zawodzi nawet odwołanie się do argumentu kinetycznego: nawet znacznie oddalone od siebie cząstki koloidalne przyciągają się i te oddziaływania dalekiego zasięgu wywołują tendencję do skupiania się cząstek w jedną kulkę. Fakt ten wyjaśnia następujące rozumowanie. Energia przyciągania dwu pojedynczych atomów i oraz j , oddległych o R_{ij} , w jednej cząstce koloidalnej zmienia się jako funkcja $1/R_{ij}^6$ (p. 22.4). Jednakże suma wszystkich oddziaływań między parami atomów maleje z odległością jak $1/R^2$ (dokładny przebieg zmian zależy od kształtu cząsteczek i ich bliskości), gdzie R jest odległością między środkami cząstek. Ta suma ma znacznie dalszy zasięg, niż przewiduje zależność typu $1/R^6$, charakterystyczna dla pojedynczych cząstek i małych cząsteczek.

Istnieją czynniki, które przeciwstawiają się przyciąganiu dalekozasięgowemu. Na powierzchni cząstek koloidalnych może utworzyć się warstwa ochronna, która stabilizuje granicę faz i nie dopuszcza do wzajemnej penetracji dwóch cząstek wtedy, kiedy zderzą się one ze sobą. Na przykład powierzchniowe atomy zolu platyny w wodzie reagują chemicznie i przekształcają się w $-\text{Pt}(\text{OH})_3\text{H}_3$; warstwa ta otacza cząstkę koloidalną jak powłoka. Tłuszcz można zemułgować za pomocą mydła, gdyż długie „ogony” węglowodorowe penetrują kropelki oleju, podczas gdy „głowy” karboksylowe (lub inne grupy hydrofilowe syntetycznych detergentów) otaczają powierzchnię, tworząc wiązania wodorowe z wodą i powodując utworzenie powłoki o ujemnym ładunku, który przeciwdziała zbliżaniu się innych jednoimiennie naładowanych cząstek.

c) Tworzenie micel i oddziaływanie hydrofobowe

Cząsteczki lub jony surfaktanta mogą tworzyć zespoły nazywane **micelami**, które są klasternymi cząsteczkowymi o wymiarach koloidalnych. Powstają one, ponieważ „ogony” hydrofobowe wykazują tendencję do skupiania się, a hydrofilowe „głowy” zapewniają osłonę powstałym ugrupowań (rys. 23.22). Micele tworzą się jedynie po przekroczeniu **stężenia krytycznego micelizacji**, CMC (ang. *critical micelle concentration*), i powyżej **temperatury Kraffta**. CMC wyznacza się na podstawie obserwacji wyraźnych nieciągłości właściwości fizycznych roztworu, w szczególności przewodności molowej (rys. 23.23). Węglowodorowe wnętrze miceli wygląda jak kropelka oleju. Magnetyczny rezonans jądrowy wykazuje, że „ogony” węglowodorowe są mobilne, lecz ich ruch w miceli jest nieco bardziej ograniczony niż w roztworze. Micele odgry-

wają znaczącą rolę w przemyśle i biologii ze względu na ich działanie solubilizujące: substancja może być transportowana przez wodę, po tym jak rozpuści się w węglowodorowych wnętrzach miceli. Z tej przyczyny układy micelarne są stosowane jako detergenty, nośniki leków, w syntezie organicznej, do flotacji pianowej i odzysku ropy naftowej.

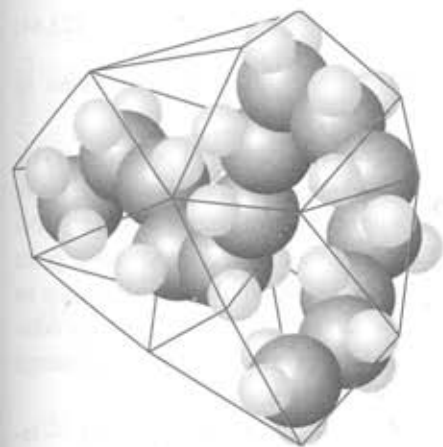
Cząsteczki niejonowych surfaktantów mogą tworzyć klastery grupujące 1000 lub więcej cząsteczek, substancje jonowe natomiast skupiają się w grupy liczące do 100 cząsteczek, gdyż siły odpychania pomiędzy ich hydrofilowymi „głowami” prowadzą do rozrywania większych ugrupowań. Micele są często polidispersyjne, a kształty poszczególnych micel zależą od stężenia. Micele mogą być kuliste, lecz zazwyczaj, przy stężeniach bliskich CMC, mają one kształt spłaszczonych kul. Niektóre micele przy stężeniach znacznie przewyższających CMC występują w formie rozciągniętych równoległych warstw, zwanych **micelami lamelarnymi**, o grubości dwóch cząsteczek. Poszczególne cząsteczki są usytuowane prostopadle do warstwy, a ich grupy hydrofilowe są skierowane na zewnątrz w roztworach wodnych lub do wewnątrz w ośrodkach niepolarnych. Tego typu micele lamelarne wykazują bliskie podobieństwo do membran biologicznych i są często użytecznym modelem, na którym opiera się badania struktur biologicznych. W stężonych roztworach micele uformowane z cząsteczek surfaktanta mogą przybierać kształt długich cylindrów, tworząc gęsto upakowane (heksagonalne) struktury. Takie uporządkowane ugrupowania micel nazywa się **liotropowymi fazami mezomorficznymi**, a bardziej potocznie — „fazami ciekłokrystalicznymi” (p. 24.5e).

Tworzenie micel w roztworach wodnych jest zazwyczaj procesem endotermicznym, którego entalpia wynosi $\Delta H \approx 1-2$ kJ na mol surfaktanta. Powstawanie micel powyżej CMC wskazuje, iż zmiana entropii, która towarzyszy ich tworzeniu, musi być dodatnia; pomiary wskazują, że wynosi ona około $+140 \text{ J} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$ w temperaturze pokojowej. Fakt, iż zmiana entropii jest dodatnia pomimo skupiania się cząsteczek surfaktanta w klastery, świadczy o tym, że do zmiany entropii wnosi swój wkład rozpuszczalnik. Jego cząsteczki uzyskują bowiem większą swobodę ruchu, gdy cząsteczki substancji rozpuszczonej łączą się w małe klastery. Interpretacja ta jest możliwa do przyjęcia, jeśli zwrócimy uwagę na to, iż każda pojedyncza cząsteczka substancji rozpuszczonej znajduje się w klatce utworzonej przez uporządkowane cząsteczki rozpuszczalnika (rys. 23.24), gdy jednak z cząsteczek powstaje micela, rozpuszczalnik musi utworzyć tylko jedną (co prawda większą) klatkę. Wzrost energii w wyniku skupiania się grup hydrofobowych i obniżania wymagań strukturalnych tych grup wobec rozpuszczalnika jest źródłem **oddziaływania hydrofobowego**, które prowadzi do stabilizacji ugrupowań hydrofobowych w makrocząsteczkach biologicznych. Oddziaływanie hydrofobowe jest przykładem procesu porządkującego, który jest możliwy dzięki tendencji do zwiększania nieuporządkowania rozpuszczalnika.

d) Podwójna warstwa elektryczna

Głównym źródłem kinetycznej stabilności koloidów jest obecność ładunku elektrycznego na powierzchni ich cząstek. Ładunek ten powoduje, że w pobliżu cząstki gromadzą się jony przeciwnego znaku i tworzy się wokół niej atmosfera jonowa, podobna do tej, która tworzy się wokół jonów (p. 10.2c).

Należy wyróżnić dwa obszary występowania ładunku. Pierwszym z nich jest prawie nieruchoma warstwa jonów, która ściśle przylega do powierzchni cząstki koloidalnej i która może zawierać cząsteczki wody (o ile jest ona fazą rozpraszającą). Promień sfery, która zawiera tę sztywną warstwę, nosi nazwę **promienia ścinania**, a jego wartość jest głównym czynnikiem określającym ruchliwość cząstek koloidalnych. Potencjał elektryczny w odległości równej promieniowi ścinania, liczony względem poten-



23.24 Gdy cząsteczka węglowodoru jest otoczona wodą, cząsteczki wody tworzą klatkę klatratową. W wyniku powstania takiej struktury entropia wody maleje, a więc rozproszenie węglowodoru w wodzie jest procesem ograniczonym entropowo, koalescencja zaś jest procesem uprzywilejowanym entropowo

cjału w punkcie odległym od cząstki, znajdującym się w głębi roztworu, nosi nazwę **potencjału dzeta, ζ** , lub **potencjału elektrokinetycznego**. Drugi obszar występowania ładunku powstaje w wyniku przyciągania przez naładowane cząstki przeciwnie naładowanych jonów, które tworzą ruchomą atmosferę jonową. Wewnętrzna naładowana powłoka i zewnętrzna atmosfera jonowa tworzą **podwójną warstwę elektryczną**.

Teoria stabilności liofobowych układów dyspersyjnych została opracowana przez B. Derjaguina i L. Landaua oraz niezależnie przez E. Verweya i J.T.G. Overbeeka; nosi ona nazwę **teorii DLVO**. Zakłada się w niej, że istnieje stan równowagi pomiędzy odpychającym oddziaływaniem ładunków podwójnych warstw elektrycznych na sąsiednich cząstkach i oddziaływaniem przyciągającym, wynikającym z oddziaływań van der Waalsa pomiędzy cząsteczkami w cząstkach koloidalnych. Energia potencjalna związana z odpychaniem warstw podwójnych na cząstkach o promieniu a wyraża się wzorem

$$V_{\text{odpychania}} = + \frac{Aa^2\zeta^2}{R} e^{-s/r_D} \quad (23.41)$$

gdzie A jest stałą, ζ jest potencjałem dzeta,⁴ R jest odległością między środkami cząstek, s jest odległością między powierzchniami dwóch cząstek ($s = R - 2a$ dla cząstek sferycznych o promieniu a) oraz r_D jest grubością warstwy podwójnej. Wyrażenie to stosuje się dla małych cząstek o grubej warstwie podwójnej ($a \ll r_D$). Gdy warstwa podwójna jest cienka ($a \gg r_D$), odpowiednie wyrażenie ma postać

$$V_{\text{odpychania}} = + \frac{1}{2} Aa\zeta^2 \ln(1 + e^{-s/r_D}) \quad (23.42)$$

W każdym przypadku grubość warstwy podwójnej można określić na podstawie wyrażenia podobnego do tego, które wyprowadzono w teorii Debye'a-Hückla (równ. (10.33))

$$r_D = \left(\frac{\varepsilon RT}{2\rho F^2 I b^\ominus} \right)^{1/2} \quad (23.43)$$

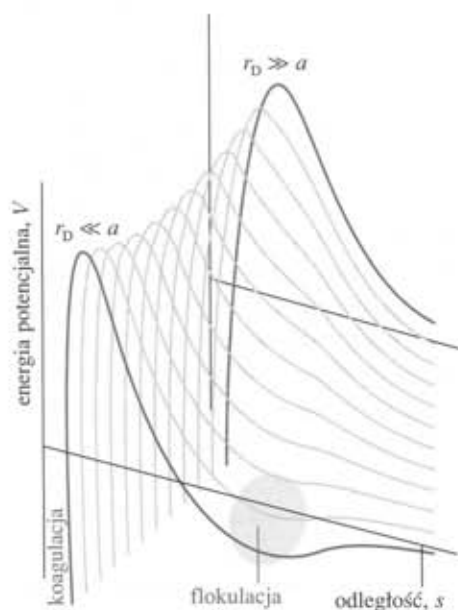
gdzie I jest siłą jonową roztworu, ρ jest jego gęstością masową, $b^\ominus = 1 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$. Energia potencjalna odpowiadająca oddziaływaniu przyciągającemu wyraża się jako

$$V_{\text{przyciągania}} = - \frac{B}{s} \quad (23.44)$$

gdzie B jest stałą. Zmiany energii potencjalnej z odległością przedstawiono na rys. 23.25.

W przypadku dużych sił jonowych atmosfera jonowa jest zwarta i potencjał wykazuje drugie minimum w zakresie dużych odległości. Agregacja cząstek wynikająca ze stabilizującego efektu związanego z tym drugim minimum nosi nazwę **flokulacji**. Ponieważ studnia potencjału jest płytka, proces flokulacji można często odwrócić przez mieszanie i otrzymać ponownie materiał zdyspergowany. **Koagulacja**, polegająca na nieodwracalnym łączeniu się oddzielnych cząstek w duże cząstki, zachodzi, gdy odległości między cząstkami są tak małe, że odpowiadają one minimum krzywej energii potencjalnej; dominują wtedy oddziaływania van der Waalsa.

Siła jonowa wzrasta po dodaniu jonów, zwłaszcza mających duży ładunek — takie jony działają jako środki flokulacyjne. Empiryczna **reguła Shulzego-Hardy'ego** stwierdza, że proces flokulacji koloidu hydrofobowego zachodzi w sposób najbardziej efektywny pod wpływem jonów przeciwnego znaku o dużej wartościowości. Zawarte w alunie jony Al^{3+} działają bardzo efektywnie i są stosowane jako stymulatory krzep-



23.25 Energia potencjalna oddziaływania jako funkcja odległości między środkami dwóch cząstek oraz jej zmiany ze zmianą stosunku wymiaru cząstki a do grubości warstwy podwójnej r_D . Obszary, w których obserwuje się obniżenie energii potencjalnej, oznaczone jako obszary koagulacji i flokulacji, odpowiadają zakresom, w których te procesy zachodzą

⁴Rzeczywisty potencjał jest potencjałem na powierzchni cząstek; istnieje pewne niebezpieczeństwo związane z identyfikowaniem go jako potencjału dzeta. Zobacz odnośniki w literaturze uzupełniającej.

nięcia krwi. Kiedy woda z rzek, zawierająca koloidalną glinę, wpada do morza, słona woda morska powoduje flokulację i koagulację cząstek gliny, co stanowi główną przyczynę powstawania zamuleń w ujściach rzek.

Zole tlenków metali są zazwyczaj naładowane dodatnio, podczas gdy zole siarki i metali szlachetnych — ujemnie. Również naturalnie występujące makrocząsteczki zdyspergowane w wodzie uzyskują ładunek. Ważną cechą białek i innych naturalnych makrocząsteczek jest to, że ich sumaryczny ładunek zależy od pH środowiska. Na przykład w roztworach kwaśnych protony przyłączają się do grup zasadowych i wypadkowy ładunek makrocząsteczki jest dodatni; w roztworach zasadowych ładunek jest ujemny z powodu zachodzącego odszczepiania protonów. **Punkt izoelektryczny** odpowiada takiej wartości pH, przy której wypadkowy ładunek cząsteczki jest równy zero.

Przykład 23.7 Wyznaczanie punktu izoelektrycznego

Zmierzono szybkość wędrówki albuminy osocza wołowego pod wpływem pola elektrycznego w wodnych roztworach o różnym pH i uzyskano wyniki zebrane poniżej (przeciwnie znaki oznaczają przeciwnie kierunki wędrówki). Jaki jest punkt izoelektryczny białka?

pH	4,20	4,56	5,20	5,65	6,30	7,00
Szybkość/($\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$)	+0,50	+0,18	-0,25	-0,65	-0,90	-1,25

Metoda Makrocząsteczka ma zerową ruchliwość elektroforetyczną wtedy, kiedy jest nie naładowana. Zatem punkt izoelektryczny odpowiada pH, przy którym cząstka nie migruje w polu elektrycznym. Powinniśmy więc wykreślić zależność szybkości wędrówki od pH i znaleźć przez ekstrapolację wartość pH, dla której ruchliwość jest równa zero.

Odpowiedź Wykres sporządzony na podstawie danych przedstawiono na rys. 23.26. Szybkość wędrówki jest równa zero dla pH = 4,8; zatem pH = 4,8 jest punktem izoelektrycznym.

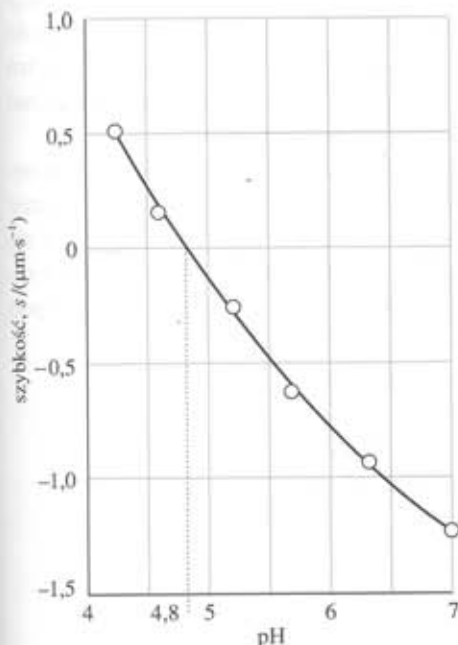
Komentarz Punkt izoelektryczny niektórych substancji musimy wyznaczać przez ekstrapolację, ponieważ makrocząsteczka może nie być stabilna w całym zakresie pH.

Zadanie 23.7 Dla innego białka otrzymano następujące dane:

pH	4,5	5,0	5,5	6,0
Szybkość/ $\mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$	-0,10	-0,20	-0,30	-0,35

Określ pH punktu izoelektrycznego.

[4,3]



23.26 Wykres zależności szybkości wędrówki makrocząsteczki od pH, pozwalający na wyznaczenie punktu izoelektrycznego; punkt ten odpowiada wartości pH, przy której szybkość wędrówki w obecności pola elektrycznego jest równa zero

Zasadnicza rola elektrycznej warstwy podwójnej polega na zapewnieniu roztworom koloidalnym stabilności kinetycznej. Zderzające się cząstki koloidalne przebijają się przez warstwę podwójną i koagulują tylko wtedy, gdy zderzenie jest dostatecznie wysokoenergetyczne, by rozerwać warstwy jonów i solwatujących je cząsteczek, lub też wtedy, gdy ruchy termiczne odsuną nagromadzony przy powierzchni ładunek. Może to następować w wysokiej temperaturze, co jest jedną z przyczyn wytrącania zoli



23.27 Schemat aparatu stosowanego do mierzenia ciśnienia powierzchniowego i innych charakterystyk filmów powierzchniowych. Surfaktant nanosi się na powierzchnię cieczy w korytku, a następnie ściska się go poziomo, przesuując przegrodę ściskającą w kierunku pływaka z miki. Pływak ten jest połączony z drutem wagi skrętnej i w ten sposób można mierzyć różnicę sił po obu stronach pływaka

w wyniku ogrzewania. Występowanie ochronnego efektu warstwy podwójnej tłumaczy, dlaczego ważne jest, aby w czasie oczyszczania koloidu przez dializę nie usunąć wszystkich jonów z roztworu, oraz dlaczego białka najłatwiej koaguluja w punkcie izoelektrycznym.

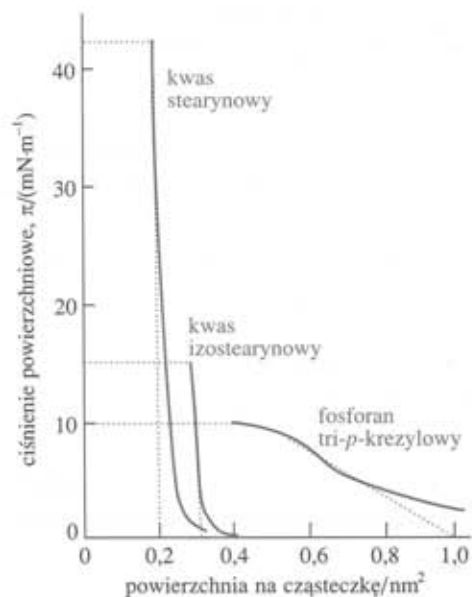
23.10 Filmy powierzchniowe

Skład warstw powierzchniowych bada się prostą (lecz elegancką technicznie) metodą, polegającą na wykrawaniu cienkich warstw z powierzchni roztworów i analizowaniu ich składu. Badano również właściwości fizyczne filmów powierzchniowych. Filmy powierzchniowe o grubości jednej cząsteczki, takie jak filmy tworzone przez surfaktant, nazywane są **monowarstwami**. Monowarstwa przeniesiona na stały nośnik nosi nazwę **filmu Langmuira-Blodgett**; Irving Langmuir i Katherine Blodgett rozwinęły techniki doświadczalne badania takich warstw.

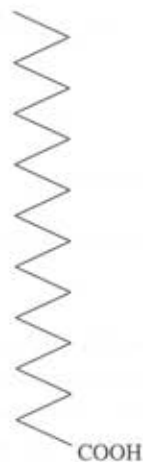
a) Ciśnienie powierzchniowe

Podstawowym urządzeniem do badania monowarstw powierzchniowych jest **waga filmów powierzchniowych**, przedstawiona na rys. 23.27. Przyrząd ten składa się z płytkowego korytka i przegrody, która poruszając się po powierzchni cieczy w korytku, ściska monowarstwę. **Ciśnienie powierzchniowe**, π , definiowane jest jako różnica napięcia powierzchniowego czystego rozpuszczalnika i roztworu ($\pi = \gamma^* - \gamma$). Mierzy się je przy użyciu drutu skrętnego, który jest przymocowany do spoczywającego na powierzchni roztworu paska miki, do którego dociskany jest jeden z brzegów monowarstwy. Części urządzenia pozostające w kontakcie z cieczą pokrywa się poli(tetrafluoroetylenem) w celu wyeliminowania efektów występujących na granicy faz ciecz-ciało stałe. W rzeczywistym doświadczeniu rozpuszcza się małą ilość (około 0,01 mg) badanego surfaktanta w lotnym rozpuszczalniku, a następnie wylewa się ten roztwór na powierzchnię wody. Przegrodę ściskającą przesuwa się po powierzchni i mierzy się ciśnienie powierzchniowe wywierane na pasek z miki.

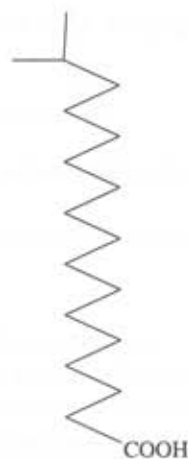
Niektóre typowe wyniki pomiarów przedstawiono na rys. 23.28. Jednym z parametrów wyznaczanych na podstawie takich izoterm jest powierzchnia zajmowana przez cząsteczkę wtedy, kiedy monowarstwa jest ściśle upakowana. Wartość tę otrzymuje się z ekstrapolacji najbardziej stromej części izotermy do osi poziomej. Jak to wynika z rysunku, chociaż kwas stearynowy (1) i kwas izostearynowy (2) są bardzo podobne pod



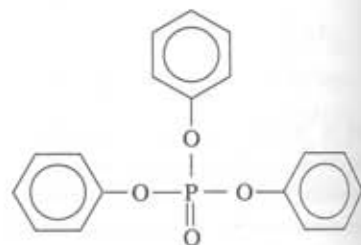
23.28 Ciśnienie powierzchniowe jako funkcja powierzchni zajmowanej przez każdą cząsteczkę surfaktanta. Ciśnienia odpowiadające zniszczeniu filmu są zaznaczone poziomymi kropkowanymi liniami



1 kwas stearynowy



2 kwas izostearynowy



3 fosforan tri-p-krezylowy

względem chemicznym (różnią się one tylko położeniem grupy metylowej na końcu długiego łańcucha węglowodorowego), to jednak zajmowana przez nie powierzchnia w monowarstwie znacznie się różni. Ani kwas stearynowy, ani izostearynowy nie zajmują jednak tak dużej powierzchni jak cząsteczka fosforanu tri-*p*-krezyłowego (3), która jest podobna raczej do rozłożystego krzaka niż do smukłego drzewa.

Drugą cechą, którą można zaobserwować na rys. 23.28, jest to, że izoterma dla fosforanu tri-*p*-krezyłowego jest znacznie mniej stroma niż izotermy dla kwasów stearynowych. Różnica ta wskazuje, że warstwy fosforanu tri-*p*-krezyłowego są bardziej ściśliwe niż warstwy kwasu stearynowego, co jest zgodne z tym, że mają one różne struktury molekularne.

Trzecią cechą izoterm jest **ciśnienie zniszczenia warstwy**, które jest najwyższym ciśnieniem powierzchniowym. Gdy monowarstwa jest ściśnięta tak, że ciśnienie wywierane na nią jest wyższe od ciśnienia odpowiadającego jej zniszczeniu, monowarstwa wygina się i przekształca w warstwę o grubości kilku cząsteczek. Jak to wynika z przebiegów izoterm przedstawionych na rys. 23.28, kwas stearynowy wykazuje wysokie ciśnienie zniszczenia warstwy, a ciśnienie to dla fosforanu tri-*p*-krezyłowego jest znacznie niższe, co wskazuje, że film utworzony z fosforanu jest znacznie słabszy.

b) Termodynamika warstw powierzchniowych

Surfaktant jest aktywny na granicy między dwiema fazami, na przykład na granicy między fazą hydrofilową a hydrofobową. Surfaktant gromadzi się na granicy faz i modyfikuje jej napięcie powierzchniowe, a co za tym idzie ciśnienie powierzchniowe. Aby określić zależność między stężeniem surfaktanta na powierzchni i zmianą napięcia powierzchniowego, którą on wywołuje, rozważmy dwie fazy α i β , pozostające w kontakcie. Załóżmy, że układ składa się z kilku składników J, z których każdy występuje w ogólnej ilości n_J . Gdyby składniki układu były rozłożone w sposób jednolity w obu fazach aż do granicy faz, za którą uznamy płaszczyznę o powierzchni σ , to całkowita entalpia swobodna, G , byłaby sumą entalpii swobodnych obu faz, $G = G(\alpha) + G(\beta)$. Jednakże składniki nie są rozłożone jednolicie, ponieważ jeden z nich może gromadzić się na granicy faz, w wyniku czego suma tych dwóch wartości entalpii swobodnej różni się od całkowitej entalpii swobodnej o wielkość zwaną **powierzchniową entalpią swobodną**, $G(\sigma)$

$$G(\sigma) = G - \{G(\alpha) + G(\beta)\} \quad [23.45]$$

Podobnie, jeśli założymy, że stężenie substancji J jest jednolite aż do granicy faz, to znając objętość układu, możemy wywnioskować, że zawiera on składnik J w ilości $n_J(\alpha)$ w fazie α oraz $n_J(\beta)$ w fazie β . Jednakże, z uwagi na to, że substancje mogą gromadzić się na granicy faz, całkowita ilość J różni się od sumy ilości $n_J(\alpha)$ i $n_J(\beta)$ o wartość $n_J(\sigma) = n_J - \{n_J(\alpha) + n_J(\beta)\}$. Różnicę tę można wyrazić poprzez wartość **nadwyżki powierzchniowej**, Γ_J

$$\Gamma_J = \frac{n_J(\sigma)}{\sigma} \quad [23.46]$$

Nadwyżka powierzchniowa może być dodatnia (gromadzenie substancji J na granicy faz) lub ujemna (niedobór substancji J na granicy faz).

Zależność między zmianą napięcia powierzchniowego i składem fazy powierzchniowej (wyrażanym przez nadwyżkę powierzchniową) została wyprowadzona przez Gibbsa. W uzasadnieniu 23.6 wyprowadzimy **izotermę adsorpcji Gibbsa**, określającą zależność między zmianami potencjałów chemicznych substancji obecnych na granicy faz i zmianą napięcia powierzchniowego

$$d\gamma = - \sum_J \Gamma_J d\mu_J \quad (23.47)$$

Uzasadnienie 23.6

Ogólna zmiana entalpii swobodnej G związana jest ze zmianami T , p oraz n_j

$$dG = -SdT + Vdp + \gamma d\sigma + \sum_j \mu_j dn_j$$

Gdy to równanie zastosujemy do G , $G(\alpha)$ oraz $G(\beta)$, wówczas stwierdzimy, że

$$dG(\sigma) = -S(\sigma) dT + \gamma d\sigma + \sum_j \mu_j dn_j(\sigma)$$

ponieważ w stanie równowagi potencjał chemiczny każdego składnika jest taki sam w każdej fazie, $\mu_j(\alpha) = \mu_j(\beta) = \mu_j(\sigma)$. Podobnie jak w dyskusji molowych wielkości cząstkowych (p. 7.1) scałkowanie tego równania przy założeniu, że temperatura jest stała, prowadzi do wyrażenia

$$G(\sigma) = \gamma\sigma + \sum_j \mu_j n_j(\sigma)$$

Poszukujemy związku między zmianą napięcia powierzchniowego $d\gamma$ a zmianą składu fazy powierzchniowej. Zastosujemy rozumowanie, które w p. 7.1d doprowadziło nas do równania Gibbsa–Duhema (7.12), lecz tym razem porównamy wyrażenie

$$dG(\sigma) = \gamma d\sigma + \sum_j \mu_j dn_j(\sigma)$$

(które jest słuszne w stałej temperaturze) z wyrażeniem opisującym tę samą wielkość, lecz wyprowadzonym z poprzedniego równania

$$dG(\sigma) = \gamma d\sigma + \sigma d\gamma + \sum_j \mu_j dn_j + \sum_j n_j(\sigma) d\mu_j$$

Porównanie to wskazuje, że w stałej temperaturze

$$\sigma d\gamma + \sum_j n_j d\mu_j = 0$$

Podzielenie tego równania przez σ prowadzi do równania (23.47).

Rozważmy teraz uproszczony model granicy faz, w którym faza „olejowa” i faza „wodna” są rozdzielone płaską powierzchnią geometryczną. Przybliżenie takie oznacza, że na powierzchni gromadzi się jedynie surfaktant, S , a wskutek tego zarówno Γ_{olej} , jak i Γ_{woda} są równe zero. Wtedy równanie Gibbsa sprowadza się do postaci

$$d\gamma = -\Gamma_S d\mu_S \quad (23.48)$$

Dla roztworów rozcieńczonych

$$d\mu_S = RT d \ln c \quad (23.49)^{\circ}$$

gdzie c jest molowym stężeniem surfaktanta. Wynika stąd, że w stałej temperaturze

$$d\gamma = -RT \Gamma_S \frac{dc}{c}$$

lub

$$\left(\frac{\partial \gamma}{\partial c} \right)_T = -\frac{RT \Gamma_S}{c} \quad (23.50)^{\circ}$$

Jeśli surfaktant gromadzi się na granicy faz, to jego nadwyżka powierzchniowa jest dodatnia i z równania (23.50) wynika, że $(\partial \gamma / \partial c)_T < 0$. Oznacza to, że napięcie powierzchniowe maleje, gdy substancja gromadzi się na powierzchni. Jeśli znana jest