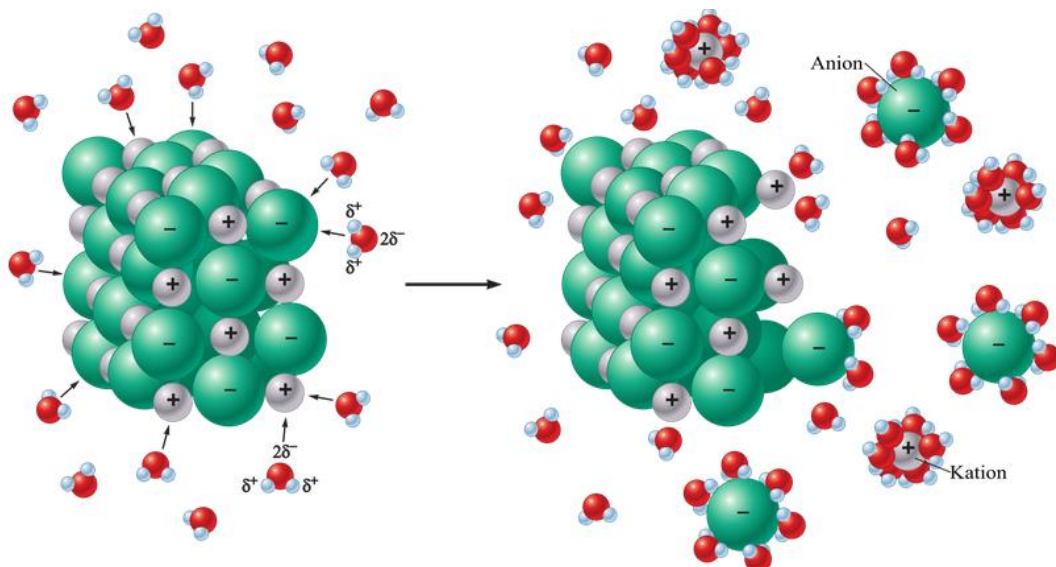


Ćwiczenie 16A. Napięcie powierzchniowe - Pomiar krytycznego stężenia micelnego substancji powierzchniowo czynnej na przykładzie SLS. Wyznaczanie wielkości powierzchni monomolekularnej

Woda (H_2O) jest głównym składnikiem komórek, tkanek i narządów, ponieważ stanowi odpowiednie środowisko dla przebiegu reakcji i zachodzących procesów życiowych organizmu. Pojedyncza cząsteczka wody zbudowana jest z atomu tlenu połączonego z dwoma atomami wodoru. Ponieważ atomy te wyraźnie różnią się elektroujemnością, wiązania O-H są silnie spolaryzowane, a kąt pomiędzy nimi w cząsteczce wody wynosi $\sim 104,5^\circ$. Sprawia to, że cząsteczka jest polarna i jest dipolem (wyróżnia się biegun dodatni na atomach wodoru i biegun ujemny na atomie tlenu). Wypadkowy moment dipolowy wody wynosi 1,84 D (*debaj*, $1D = 3,3356 \cdot 10^{-30} \text{ C}\cdot\text{m}$) i może kumulować się jeśli cząsteczki będą łączyły się z sobą (wartość wspólnego momentu dipolowego wody rośnie nawet do 10 D). Ponieważ na atomie tlenu znajdują się wolne pary elektronowe to mogą one brać udział w utworzeniu dodatkowego wiązania. Dodatnio naładowane atomy wodoru sąsiadujących cząsteczek wody są przyciągane przez silnie elektroujemny atom tlenu i pomiędzy nimi tworzy się wiązanie wodorowe. Wpływa to właściwości fizykochemiczne wody. Zwykle związki o małej masie cząsteczkowej są gazami ($H_2 - 2$; $O_2 - 32$; $CO_2 - 44$; $NO - 30 \text{ g/mol...}$ itd), a dopiero gdy ich masa cząsteczkowa jest bliska 100 zaczynają występować w fazie ciekłej. W temperaturze 4°C w czystej wodzie jej cząsteczki tworzą „paczki” (asocjaty) składające się średnio z siedmiu cząsteczek powiązanych wiązaniami wodorowymi, co tłumaczy dlaczego w przyrodzie woda występuje głównie w fazie ciekłej. Co istotne na skutek wzrostu temperatury dochodzi do zrywania wiązań wodorowych i w temperaturze $\sim 100^\circ\text{C}$ dominują pojedyncze cząsteczki wody w fazie gazowej. Dzięki istniejącym wiązaniom wodorowym i na skutek oddziaływań elektrostatycznych typu dipol-dipol, woda tworzy asocjaty, które charakteryzują się wysoką temperaturą wrzenia (parowania), dużą pojemnością cieplną czy znacznym napięciem powierzchniowym. Najwyższa gęstość wody ($\sim 1\text{g/ml}$) przypada w temperaturze ok. 4°C , co wynika z faktu, że właśnie w tej temperaturze w wodzie jest najwięcej asocjatów typu dipol-dipol. Wiązania wodorowe występują też w lodzie (faza stała wody), gdzie woda tworzy luźną strukturę krystaliczną. W strukturze lodu wiązania wodorowe ułożone są tak aby atom tlenu znajdował się w środku czworościanu foremego, a atomy wodoru w jego narożach. Konsekwencją takiego łączenia się cząsteczek wody jest mniejsza liczba tworzonych wiązań wodorowych i powstanie sieci krystalicznej przypominającej „połączone tunele puste w środku”. Mniejsze upakowanie cząsteczek wody w przestrzeni sprawia, że gęstość lodu jest mniejsza od gęstości wody i lód pływa po wodzie.

Właściwości dipolowe cząsteczek wody sprawiają, że jest ona świetnym rozpuszczalnikiem dla substancji krystalicznych i polarnych oraz powoduje rozpad wielu związków na jony (dysocjację). Woda ma tendencję do otaczania naładowanych cząstek ustawiając odpowiednio dodatnio naładowane atomy wodoru lub tlen z częściowym ładunkiem ujemnym wokół cząstki obdarzonej ładunkiem (Ryc. 1). Takie oddziaływanie określane jest

mianem solwatacji (lub w odniesieniu do wody hydratacja). W przypadku kationów cząsteczki wody ustawiają się biegunem ujemnym (zlokalizowanym na atomie tlenu) dookoła dodatniego jonu, a w przypadku (ujemnie naładowanych) anionów - dodatnio naładowanymi wodorami wokół otaczanego jonu.



Ryc. 1. Rozpuszczanie, solwatacja i dysocjacja związku o budowie krystalicznej/jonowej [Źródło: Adam Rędzikowski, https://pl.m.wikipedia.org/wiki/Plik:Dysocjacja_w_wodzie.png; licencja: CC BY-SA 4.0.]

Napięcie powierzchniowe.

Każda ciecz, w tym woda, wykazuje tendencję do przyjmowania kształtu, któremu odpowiada najmniejsza powierzchnia. Aby to lepiej wyjaśnić przyjrzyjmy się granicy fazy ciekłej i gazowej. Pomiędzy cząsteczkami cieczy występują duże siły spójności, które utrzymują cząsteczki wody razem. Oddziaływania te są na tyle silne, że nawet jeśli napełnimy naczynie po brzegi, a następnie dodamy jeszcze kilka kropeł to zanim się wyleje, woda tworzy zaokrąglony kształt nad krawędzią naczynia w którym się znajduje (Ryc. 2). Aby to zrozumieć popatrzmy na schemat na po prawej stronie gdzie widać, że sytuacja energetyczna cząsteczek wewnątrz fazy jest inna w porównaniu do tych w warstwie powierzchniowej.



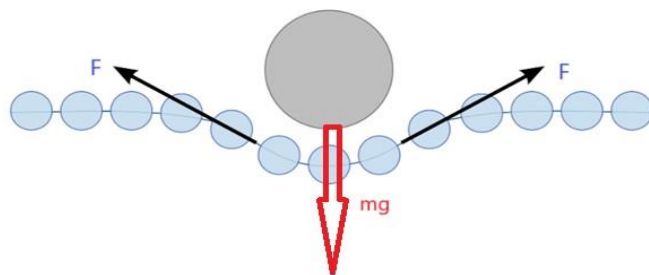
Ryc. 2. Oddziaływania pomiędzy cząsteczkami cieczy zapewniają jej dużą spójność, tak że możliwe jest napełnienie naczynia powyżej krawędzi, a płaskie przedmioty mogą swobodnie utrzymywać się na powierzchni. Schemat z prawej strony przedstawia rozkład sił pomiędzy cząsteczkami cieczy. Pod powierzchnią cieczy siły wzajemnego oddziaływania kompensują - każda cząsteczka posiada wokół siebie inne cząsteczki oddziaływujące na siebie nawzajem. W warstwie powierzchniowej cząsteczki przyciągane są wyłącznie ze strony cieczy - są wciągane w głąb cieczy dążąc do zmniejszenia swobodnej powierzchni cieczy. Istnienie tych sił powoduje, że

formujące się krople wody przyjmują kształt kulisty – cząsteczki na granicy z powietrzem są wciągane do środka, tak aby kropla zajmowała jak najmniejszą objętość (a to gwarantuje kulisty kształt).

W przypadku cząsteczek w głębi cieczy na każdą pojedynczą cząsteczkę działają jednakowe siły ze wszystkich stron. Działające siły wzajemnie się równoważą i ich siła wypadkowa wynosi 0. Natomiast w przypadku cząsteczek na powierzchni widać asymetrię oddziaływań – brak zrównoważenia sił sprawia, że cząsteczki powierzchniowe są silniej wciągane do wnętrza fazy. Określając siłę wypadkową działającą na cząsteczki położone na powierzchni możemy stwierdzić, że jest ona skierowana w głąb cieczy i działa prostopadłe do jej powierzchni. Ciecz dąży zatem do zmniejszenia liczby cząsteczek na swojej powierzchni, a więc do osiągnięcia możliwie najmniejszej swobodnej powierzchni (energii powierzchniowej). Kropla (sfera, kula) jest bryłą geometryczną o minimalnej powierzchni dla danej ilości cieczy, a minimum powierzchni odpowiada minimum energii powierzchniowej. Dlatego też pojedyncze krople cieczy zawsze przyjmują formę kulistą, co pokazano na ryc. 2. Należy jednak pamiętać, że mogą pojawić się dodatkowe siły, które będą przeciwstawiać się do tworzenia takiego idealnego kształtu. Dla przykładu siły grawitacji sprawiają, że większe objętości wody przyjmują bardziej spłaszczone kształty, tak że powierzchnia wody w oceanie czy kałuży jest całkiem płaska.

Napięcie powierzchniowe jest zjawiskiem fizycznym dzięki któremu powierzchnia cieczy zachowuje się jak sprężysta błona. To właśnie dzięki napięciu powierzchniowemu owady czy niektóre przedmioty mogą swobodnie utrzymać się na powierzchni, pomimo że ich gęstość jest znacznie większa od gęstości cieczy.

Delikatny nacisk na powierzchnię cieczy sprawia, że błona powierzchniowa ugina się, ale pojawiają się siły styczne do tej powierzchni (siły napięcia powierzchniowego), które będą starały się temu przeciwdziałać (Ryc. 3, obok).



Utworzenie lub powiększenie powierzchni międzyfazowej wiąże się z nakładem pracy niezbędnej do pokonania przeciwnie działających sił powierzchniowych. Pracę jaką należy wykonać przeciwko siłom międzycząsteczkowym, aby cząsteczki tworzące powierzchnię o polu jednostkowym przenieść na tę powierzchnię z wnętrza ciała określa się **napięciem powierzchniowym**. Miarą napięcia powierzchniowego (σ) cieczy jest stosunek wartości tej pracy (W) do przyrostu powierzchni cieczy (S):

$$\sigma = \frac{W}{S} \quad [\text{N/m}] \quad (1)$$

Wyrażając pracę w dżulach (J), a zmianę powierzchni w m^2 otrzymujemy jako jednostkę napięcia powierzchniowego: $\text{J} / \text{m}^2 = \text{N} \cdot \text{m} / \text{m}^2 = \text{N} / \text{m}$

Napięcie powierzchniowe możemy zatem zdefiniować jako **pracę potrzebną do zmiany powierzchni cieczy o m^2** . Zależy ono od rodzaju cieczy, od sąsiadujących ze sobą faz,

od temperatury czy obecności innych substancji. Przykładowo σ_{wody} względem powietrza wynosi $7,28 \cdot 10^{-2}$ N/m, a na granicy woda:benzen $3,50 \cdot 10^{-2}$ N/m.

Napięcie powierzchniowe cieczy maleje w miarę wzrostu temperatury, osiągając wartość zerową w temperaturze około 6 K niższej od temperatury krytycznej* danej substancji. Zależność σ od T wyraża równanie Eotvosa:

$$\sigma \left(\frac{M}{d} \right)^{2/3} = K / T_{\text{kr}}' - T/ \quad (2)$$

gdzie:

M - masa molowa substancji

d - gęstość cieczy

σ - napięcie powierzchniowe cieczy

T - temperatura

T_{kr}' - temperatura niższa o około 6 K od temperatury krytycznej danej substancji

K - współczynnik proporcjonalności /tzw. współczynnik Eotvosa/, który dla cieczy nie ulegających asocjacji wynosi $2,1 \cdot 10^{-7} \text{ J} \cdot \text{K}^{-1}$

Na wartość napięcia powierzchniowego danej cieczy mogą wpływać substancje, które zostaną w niej rozpuszczone. Jeżeli przykładowo w wodzie rozpuścimy substancje jonowe, jak sole (NaCl, MgSO₄, itd.) to na skutek pojawiania się jonów w roztworze, zwiększeniu ulegają oddziaływania międzycząsteczkowe – a tym samym wzrastają siły napięcia powierzchniowego. Dlatego też wysoka zawartość jonów w wodzie wpływa na zwiększenie napięcia powierzchniowego i słabe zwilżanie ciał stałych, co odpowiada za słabe właściwości myjące wody. Aby temu przeciwdziałać stosujemy substancje obniżające napięcie powierzchniowe – takich jak mydła, czy detergenty. Wiele z tych środków zawiera substancje amfifilowe – posiadają zdolność oddziaływania zarówno z cząsteczkami cieczy polarnych (jak woda), jak i niepolarnych (jak węglowodory ciekłe, rozpuszczalniki organiczne). Substancje amfifilowe wprowadzone do roztworu wodnego gromadzą się na powierzchni tego roztworu tworząc błonkę powierzchniową zbudowaną z jednej warstwy cząsteczek (warstwa monomolekularna) i zmniejszają tym samym oddziaływania w warstwie powierzchniowej - obniżając napięcie powierzchniowe. Z względu na swoje działanie nazywane są **substancjami powierzchniowo czynnymi** lub **surfaktantami** czy **tenzydami**, i szerzej o nich będzie w dalszej części.

Metody wyznaczania napięcia powierzchniowego

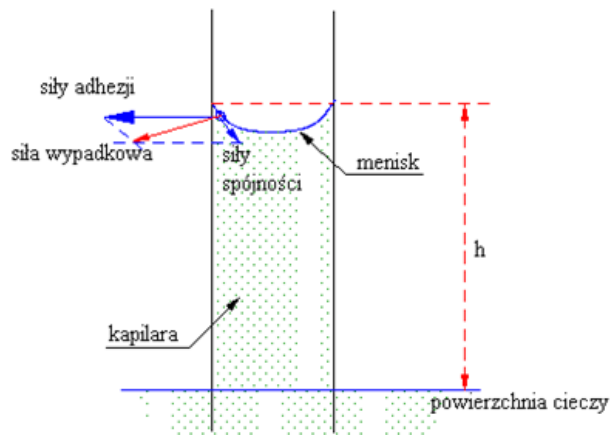
Napięcie powierzchniowe wyrażamy jako **pracę** utworzenia jednostkowej powierzchni cieczy lub **ciśnienie** wytwarzane po wklęsłej stronie powierzchni o jednostkowej krzywiznie. Pomiar napięcia powierzchniowego sprowadza się więc do pomiaru siły, pracy, lub ciśnienia. Do najbardziej popularnych metod należą: metoda kapilarna (wzniesienia kapilarnego), stalagmometryczna (pomiar ciężaru odrywanej kropli), pęcherzykowa (pomiar ciśnienia potrzebna do wypchnięcia pęcherzyka powietrza z kapilary) czy tensjometryczna (pomiar siły potrzebnej do oderwania pierścienia/zanurzenia płytki czy określanie krzywizny zaokrąglenia kropli).

* temperatura, powyżej której zanika różnica gęstości między stanem gazowym a ciekłym danej substancji,

Metoda kapilarna polega na zanurzeniu w badanej cieczy szklanej kapilary otwartej z obu stron. W kapilarze poziom cieczy będzie podnosił się do góry do chwili, gdy ciężar słupa cieczy o wysokości (h) zostanie zrównoważony siłą napięcia powierzchniowego (σ) o obwodzie ($2 \Pi r$). Aby określić napięcie powierzchniowe (cieczy o danej gęstości d) należy dokonać pomiaru różnicy wysokości poziomu cieczy w rurce kapilarnej (o promieniu r) i w naczyniu.

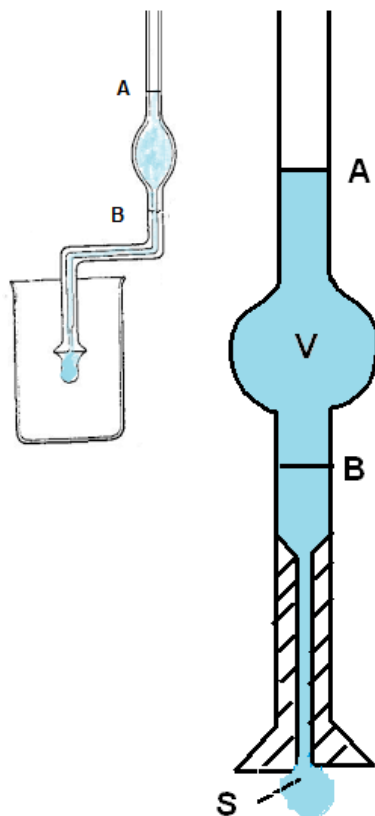
$$\sigma = \frac{h r d g}{2} \quad (3)$$

W przypadku cieczy zwilżającej ścianki naczynia (ryc. 4 obok) napięcie powierzchniowe będzie powodowało, że ciśnienie wewnątrz kapilary będzie niższe niż na zewnątrz i menisk cieczy zostaje przesunięty na taką wysokość (h), aż różnica ciśnień zostanie zrównoważona ciśnieniem hydrostatycznym słupa cieczy w kapilarze. Natomiast w przypadku cieczy, które nie zwilżają ścianek naczynia (np.



rtęć) będziemy obserwować obniżenie poziomu cieczy w kapilarze w stosunku do poziomu cieczy w naczyniu. Do określenia napięcia powierzchniowego rejestruje się różnice wysokości poziomu cieczy w kapilarze i w naczyniu. Warto podkreślić, że tworzenie menisku także wynika z sił oddziaływania cieczy z ściankami naczynia – dlatego jeśli ciecz zwilża ścianki kapilary to „wspina się” wyżej i tworzy się menisk wklęsły, a w przypadku braku zwilżania tworzy się menisk wypukły i poziom cieczy w kapilarze jest niższy niż w otaczającym naczyniu.

Metoda pęcherzykowa (metoda maksymalnego ciśnienia baniek) polega na wytwarzaniu pęcherzyków u wylotu rurki kapilarnej, zanurzonej w badanej cieczy.



W metodzie tej mierzy się nadwyżkę ciśnienia (p) w kapilarze w stosunku do ciśnienia otoczenia, w chwili odrywania się pęcherzyka. Przyjmuje się, że pęcherzyk gazowy wydostający się z kapilary ma kształt półkuli o promieniu r , co nie do końca jest zgodne z prawdą – bowiem ulega on odkształceniu pod działaniem sił ciężkości. $\sigma = \frac{r p}{2} \quad (4)$

Metoda stalagmometryczna polega na wykorzystaniu zależności pomiędzy ciężarem kropli, która tworzy się w czasie powolnego wyciekania cieczy z rurki kapilarnej, a napięciem powierzchniowym tej cieczy. Przyrząd służący do pomiaru napięcia powierzchniowego tą metodą nosi nazwę stalagmometru (ryc. 5 obok). Jest to szklana rurka wydęta w swej środkowej części w bańkę o pojemności kilku centymetrów sześciennych i zeszlifowana płasko na końcu kapilarnego przewężenia.

$$\sigma = \frac{V \cdot d \cdot g}{2 \pi \cdot r \cdot n}$$

Jeżeli ciecz wpływa przez otwór S, to tworzy kroplę, która odrywa się wówczas, gdy ciężar jej przewyższy napięcie powierzchniowe. W praktyce określa się ile kropli (n) danej cieczy wyciekło z ściśle określonej objętości (V) i na tej podstawie określa się masę jednej kropli i wylicza napięcie powierzchniowe.

Bardzo często korzysta się także z pomiarów względnych, przyjmując jako punkt odniesienia wodę, której napięcie powierzchniowe zostało dokładnie zmierzone w dość szerokim zakresie temperatur. Przyjmując wprost proporcjonalną zależność pomiędzy napięciem powierzchniowym (σ), a ciężarem kropli (Q) będziemy mieli dla dwóch różnych cieczy następującą zależność:

$$\frac{\sigma_1}{\sigma_2} = \frac{Q_1}{Q_2} \quad (6)$$

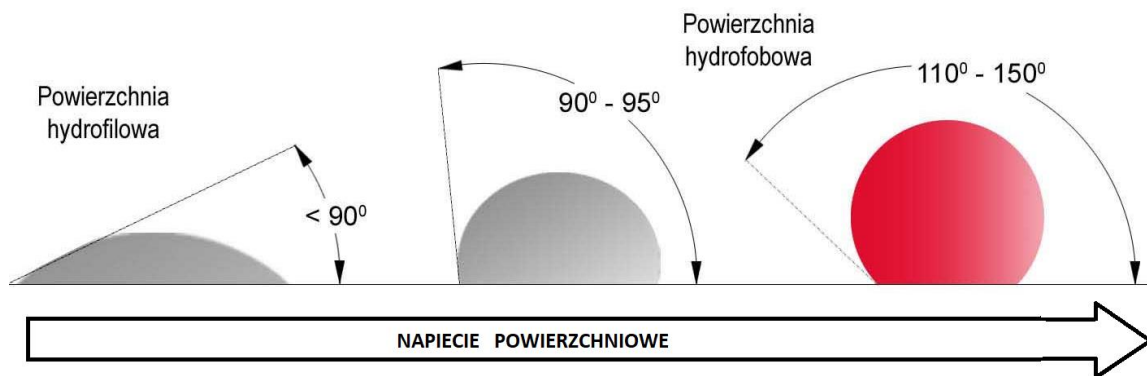
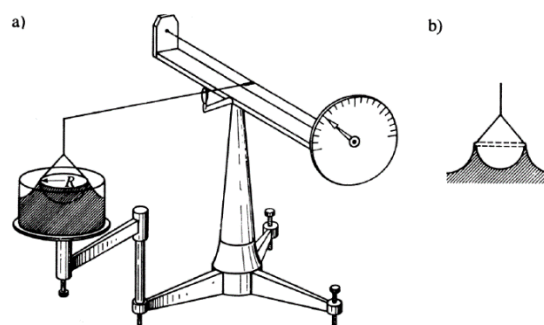
Wynika z niej, że stosunek napięć powierzchniowych wody i porównywanej z nią cieczy jest równy stosunkowi ciężarów ich kropeł. Jeżeli objętość między poziomami A i B zbiorniczka oznaczamy przez V, gęstość jednej cieczy przez d_1 , a drugiej przez d_2 , ilości kropeł tych cieczy wyciekających w czasie wypływu objętości V przez n_1 i n_2 , a przyspieszenie ziemskie przez g, to z równania:

$$\frac{\sigma_1}{\sigma_2} = \frac{V d_1 g}{n_1} / \frac{V d_2 g}{n_2} \quad (7)$$

otrzymamy po uproszczeniu wyrażenie: $\frac{\sigma_1}{\sigma_2} = \frac{d_1 n_2}{d_2 n_1}$ (8),

z którego obliczymy napięcie powierzchniowe jednej cieczy, jeżeli znamy napięcie powierzchniowe drugiej oraz pozostałe parametry.

Metoda *tensjometryczna* polega na pomiarze siły potrzebnej do oderwania pierścienia od powierzchni cieczy lub też zanurzenia płytki. Wymagają one użycia precyzyjnych układów pomiarowych, które dokonują precyzyjnego pomiaru użytej siły (ryc. 6 obok). Na rynku obecne są też tensjometry optyczne, które określają deformację wiszącej lub leżącej kropli pod wpływem sił grawitacyjnych (ryc. 7).



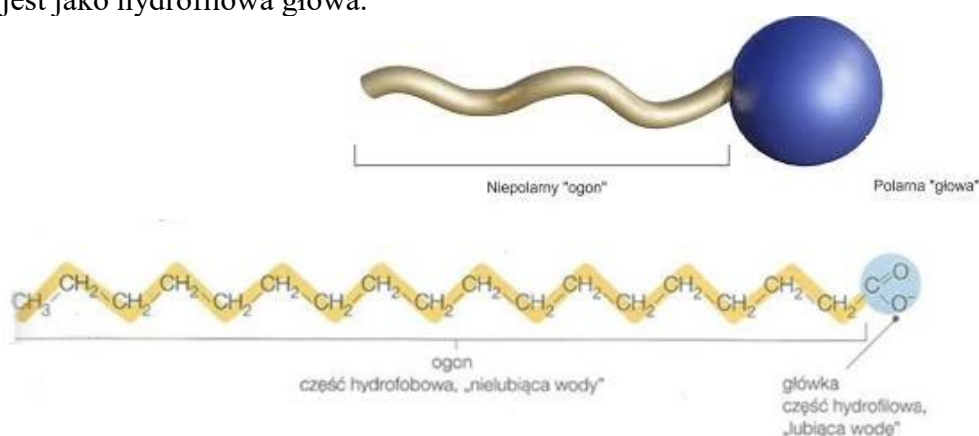
Ryc. 7. Kształt kropli na zwilżanej powierzchni zależy od napięcia powierzchniowego – im one jest wyższe tym kropla jest bardziej okrągła, a powierzchnia zajmowana przez kroplę mniejsza (źródło: strona internetowa <https://www.consil.com.pl/technologie-napiecie-powierzchniowe-impregnat.html>, dostęp: 20.11.2024)

Analiza kształtu kropli i kąta zwilżania (kąąt, jaki tworzy styżna do powierzchni kropli pomiarowej osadzonej na powierzchni ciała stałego) dzięki skomputeryzowanemu systemowi obróbki obrazu pozwala na wyznaczenie napięcia powierzchniowego.

Związki powierzchniowo czynne (tenzydy, surfakanty)

Wiele związków rozpuszczających się w wodzie (np. mydła, wyższe kwasy tłuszczowe, alkohole, estry, sole kwasów sulfonowych, sole amin) gromadząc się przy powierzchni powoduje obniżenie wartości napięcia powierzchniowego. Przyczynia się do lepszego zwilżania powierzchni przez wodę, bowiem cząsteczki stają się mniej kuliste. Substancje o niskim napięciu powierzchniowym, jak np. eter nie tworzą kropeł na szkle i dobrze zwilżają powierzchnie, a w przypadku wody możemy zaobserwować, że na hydrofobowej powierzchni kropla wody może się po niej przetoczyć i wcale jej nie zwilżyć. Dlatego dodatek substancji, która obniża napięcie powierzchniowe wody ułatwia zwilżenie powierzchni tkaniny czy innego materiału hydrofobowego (np. skóry ludzkiej).

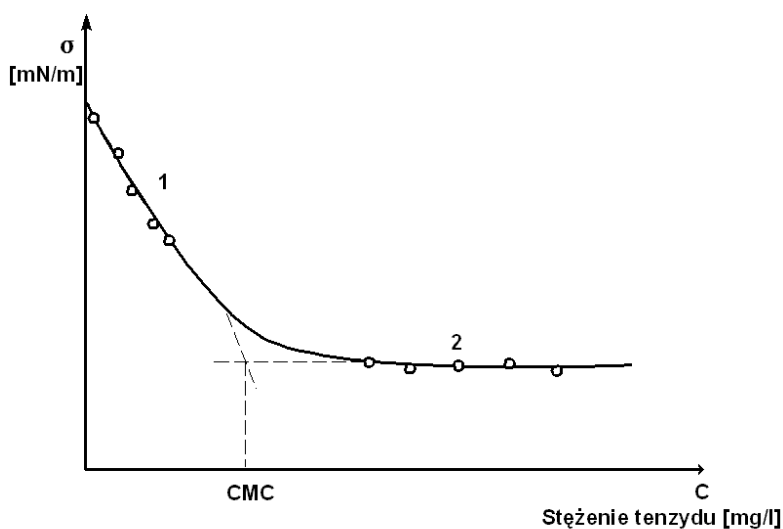
Substancje zdolne do obniżania napięcia powierzchniowego określa się jako *powierzchniowo czynne (tenzydy, surfaktanty)* i wykazują swoje działanie nawet gdy ich stężenie jest bardzo małe. Związki te mają amfifilową budowę (ryc. 8) - zawierają w swojej cząsteczce zarówno polarne grupy hydrofilowe, jak i niepolarne – lipofilowe (hydrofobowe). Grupy hydrofilowe (np.: $-\text{COONa}$, $-\text{OSO}_3\text{K}$, $-\text{CH}_2\text{SO}_3\text{Na}$) posiadają powinowactwo do wody („lubią wodę”), natomiast grupy hydrofobowe (np. reszty węglowodorów alifatycznych) „unikają” wody. Dodane do wody cząsteczki tenzydu adsorbują się na powierzchni granicznej (woda- powietrze lub woda-druga ciecz) w ten sposób, że hydrofilowa grupa zwraca się do wody, podczas gdy część hydrofobowa w kierunku przeciwnym – unika wody. Z względu na fakt, że hydrofobowe fragmenty tworzone są przez długie łańcuchy węglowodorowe określane są one mianem hydrofobowego (niepolarnego) „ogona, a część zawierająca fragment polarny określana jest jako hydrofilowa głowa.



Ryc. 8. Ogólna budowa cząsteczki surfaktantu i rozpisany wzór strukturalny jonu stearynianowego tworzącego taką cząsteczkę (Źródło: „To jest chemia”. Podręcznik dla szkół średnich. Nowa Era)

Odmienne charakter oddziaływań dwóch fragmentów cząsteczki z wodą prowadzi do tworzenia różnego typu uporządkowanych struktur. Jedną z nich jest monomolekularna

warstwa na swobodnej powierzchni wody – część hydrofilowa skierowana jest do wnętrza fazy wodnej, natomiast hydrofobowa – w kierunku odwrotnym – jeśli nie ma substancji o charakterze liofilowym/hydrofobowym – to lipofilowe końce surfaktantu orientują się w kierunku fazy gazowej (powietrza). Ich zagęszczenie na powierzchni sprawia że im większe jest ich stężenie (więcej takich cząsteczek w fazie powierzchniowej)– tym mocniej obniżają one napięcie powierzchniowe (Ryc. 9), jednak tylko do pewnej granicy stężeń.

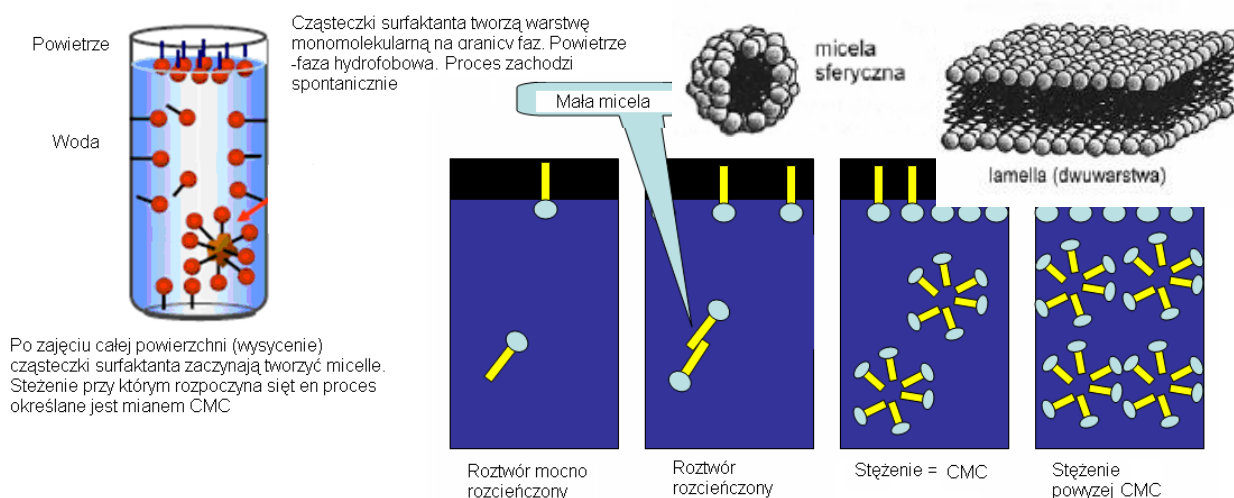


Ryc. 9. Zależność napięcia powierzchniowego od stężenia tenzydu – wyznaczanie krytycznego stężenia micelarnego (CMC)

Powyżej pewnego stężenia ustala się poziom równowagi - napięcie powierzchniowe nie ulega dalszym zmianom. Stężenie tenzydu, powyżej którego mimo dalszego jego dodawania nie obserwujemy zmian w napięciu powierzchniowym cieczy, nosi nazwę **krytycznego stężenia micelarnego** (CMC - *critical micelle concentration*). Przy tym stężeniu następuje całkowite pokrycie powierzchni cieczy cząstkami tenzydu, a dalszy jego dodatek powoduje jedynie tworzenie się skupisk (miceli – Ryc. 10) tego związku wewnątrz cieczy. Części hydrofobowe grupują się tworząc wewnętrzny rdzeń agregatu, natomiast części hydrofilowe zwrócone są w kierunku fazy wodnej. Kształt miceli zależy od stężenia i rodzaju tenzydu oraz od obecności w roztworze innych substancji. Rozróżnia się dwa typy miceli: sferyczne („kuliste”) oraz lamelle (lub lamele, „dwuwarstwowe” - laminarne), choć niektórzy autorzy sugerują istnienie także miceli elipsoidalnych, czy cylindrycznych. Micele sferyczne składają się przeciętnie z 30–100 molekuł i mają średnicę kilku nanometrów. Średnia liczba cząsteczek tworzących micelę nazywana jest liczbą agregacji miceli.

Tworzenie miceli odgrywa też ważną rolę w procesie usuwania brudu, przez środki kosmetyczne zawierające substancje powierzchniowo czynne. Związki powierzchniowo czynne tworzą otoczkę wokół kropelki oleju (smaru) w wyniku oddziaływania części hydrofobowej (węglowodorowej) z niepolarnym łańcuchem anionu kwasu tłuszczowego. Drugi koniec tenzydu zawierający część hydrofilową (polarną) orientuje się w kierunku do wody, powodując tym samym rozdzielanie cząsteczek tłuszczu. Na powierzchni gromadzony jest ładunek jednoimienny, który

zapobiega zlewaniu się kropelek oleju (powstaje mocno rozdrobniona zawiesina). Powstaje emulsja oleju w wodzie, w której utworzone micelle tenzydu zamykają w środku cząsteczki usuwanego (hydrofobowego) brudu.



Ryc. 10. Powstawanie warstwy monomolekularnej i miceli. Przykładowe micelle tworzone przez substancje powierzchniowo czynne.

Powyżej CMC zespół cząsteczek miceli jest formą termodynamicznie trwałą, powstającą w stanie równowagi z pojedynczymi cząsteczkami. Przy rozcieńczaniu micelle ulegają ponownemu rozpadowi. Zmiana właściwości fizycznych roztworu powyżej CMC umożliwia pomiar tej wielkości przy pomocy szeregu różnych metod, jak np. pomiar napięcia powierzchniowego, lepkości, przewodnictwa elektrycznego, współczynnika załamania światła, natężenia światła rozproszonego lub absorbancji. Przykładowy zestaw otrzymanych wartości CMC dla jednej z substancji powierzchniowo czynnych przedstawia tabela 1.

Tabela 1. Krytyczne stężenie powstawania miceli dla 1-dodekanosulfonianu sodowego zmierzone różnymi metodami

Zjawisko stanowiące podstawę metody	CMC (mmol/dm ³)
Przewodnictwo właściwe	8,15..... 8,6
Przewodnictwo równoważnikowe	7,8 8,3
Rozpraszanie światła	8,0 8,2
Solubilizacja oranżu OT	8,1 8,3
Napięcie powierzchniowe	7,0 8,1

Wartości CMC uzyskane przez pomiar napięcia powierzchniowego są nieco mniejsze od wartości CMC uzyskanych innymi metodami. Jest to związane z faktem, że stężenie tenzydu w pobliżu powierzchni granicznej jest większe niż we wnętrzu cieczy; powstawanie miceli rozpoczyna się więc w warstwie powierzchniowej wcześniej niż w warstwach głębszych.

Krytyczne stężenie micelarne większości związków powierzchniowo czynnych tylko w nieznacznym stopniu zależy od temperatury. Ze wzrostem temperatury, CMC związków niejonowych maleje i odpowiednio wzrasta liczba agregacji, natomiast CMC związków jonowych wzrasta wraz z temperaturą (tabele 2 i 3).

Tabela 2. Liczba agregacji (z) i krytyczne stężenie (CMC) powstawania miceli homologicznych związków addycyjnych politlenku etylenu z 6 grupami etoksy jako funkcja temperatury.

Związek	Temp. (°C)	z	CMC × 10 ⁻³ (mol/dm ³)
Oktyl + tlenek etylenu	18	30	4,45
	30	41	3,50
	40	51	2,85
Decyl + tlenek etylenu	25	73	0,380
	35	260	0,279
	45	640	0,183

Tabela 3. Zależność krytycznego stężenia micelnego jonowych związków powierzchniowo czynnych od temperatury

Związek	Temp. (°C)	CMC × 10 ⁻³ (mol/dm ³)
1-Dodecylosiarczan sodowy	20	9,5
	30	10,0
	60	10,2
	90	11,3
Pelargonian sodowy	20	160
	40	159
	60	173
	90	190
Oleinian sodowy	25	1,09
	40	1,64
	60	1,98
	90	3,46

Wartości poszczególnych CMC zależne są od budowy związku, zwłaszcza jego HLB (ang. *hydrophilic-lipophilic balance* - równowaga hydrofilowo-lipofilowa), co jest parametrem określającym w jakim stopniu związek jest hydrofilowy/lipofilowy. Można to wyrazić jako wypadkową powierzchni hydrofilowej "głowy" do długości hydrofobowego "ogona". Wartość HLB wyznacza się wyliczając wartości cech hydrofilowych/lipofilowych dla różnych regionów cząsteczki. W skali Griffina (0-20) wartość HLB równa 0 odpowiada cząsteczce całkowicie hydrofobowej, a 20 cząsteczce zbudowanej w całości z części hydrofilowych. Wartości HLB dla surfaktantów dodawanych do wody są stosunkowo wysokie i wynoszą: dla detergentów 13-18, a dla solubilizatorów 16-18.

Ze względu na rodzaj fragmentu hydrofilowego związku powierzchniowo czynne (tenzydy) podzielono na :

- 1) kationowe, np. czwartorzędowe sole amoniowe
- 2) anionowe, np. siarczan dodecylosodowy $C_{12}H_{25}OSO_3Na$ (SDS)
- 3) o charakterze jonów obojnaczych (ang. *zwitterionic surfactants*)
- 4) niejonowe, np. alkohole posiadające łańcuch polioksoetylenowy, $RO(CH_2CH_2O)_nCH_2CH_2OH$

W tenzydach kationowych część aktywna powierzchniowo jest kationem. Typowymi ich przedstawicielami są czwarto-rzędowe zasady amoniowe zwane również mydłami inwertowanymi (grupa $-NR_3^+$ w bromku dodecylotrimetyloamoniowym, $C_{12}H_{25}N(CH_3)_3^+Br^-$).

Do tenzydów anionowych zaliczamy np. wyższe kwasy tłuszczowe i ich sole sodowe (mydła), siarczany i sulfoniany alkilowe. W tych związkach część powierzchniowo czynna stanowi ujemnie naładowana grupa hydrofilowa (aniony: $-COO^-$, $>SO_4^-$, $-SO_3^-$). Do tej grupy związków należą: mydła, siarczany alkilowe, niektóre sulfoniany alkilowe i alkilo-arylosulfonowe oraz saponiny, jak np.: oleinian sodowy ($C_{18}H_{35}O_2Na$), 1-dodecylosiarczan sodowy ($C_{12}H_{25}NaSO_4$), 1-oktanosulfonian sodowy ($C_8H_{17}SO_3Na$).

Do tenzydów amfoterycznych należą anionowo i kationowo czynne lecytyny i białka, natomiast do niejonowych: alkohole, estry, związki addycyjne węglowodorów z tlenkiem etylenu (np. dodecyl+tlenek etylenu (w stosunku 1:23)), pluroniki (polimery kondensacyjne glikoli polipropylenowych z glikolami polioksyetylenowymi) oraz produkty estryfikacji alkoholi wielowodorotlenowych z kwasami tłuszczowymi (Spany, Tweeny). Emulgatory niejonowe, w przeciwieństwie do jonowych, nie wykazują wrażliwości na dodatki w postaci elektrolitów i na zmiany pH w dość szerokim zakresie, a z względu na niską toksyczność mamy z nimi często do czynienia w farmacji i kosmetologii. Bardzo często wykorzystuje się je do produkcji maści i kremów kosmetycznych lub jako solubilizatory do otrzymywania wodnych roztworów witamin A i D.

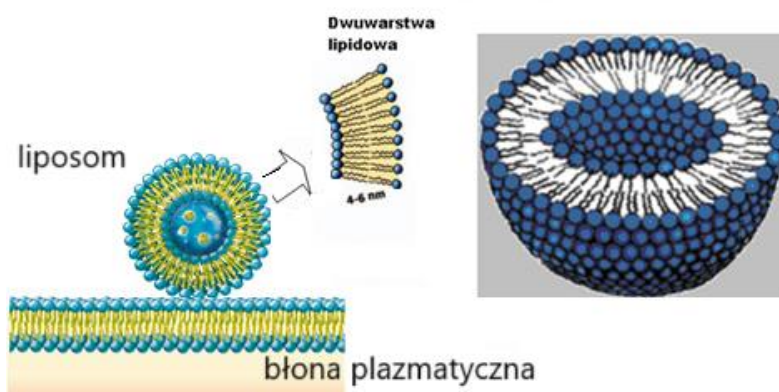
Amfifilowość w organizmach żywych

Zjawisko amfifilowości jest bardzo ważne biologicznie i technologicznie. W biologii, dzięki temu zjawisku lipidy tworzą błony komórkowe, a także możliwa jest emulgacja tłuszczu w jelicie przy pomocy naturalnych surfaktantów jakimi są kwasy żółciowe.

Wiele fosfolipidów, w środowisku wodnym tworzy spontaniczne, podwójne warstwy fosfolipidowe, gdzie hydrofobowe końce zorientowane są do środka błony, a hydrofilowe głowy utrzymują kontakt z środowiskiem wodnym wewnątrz i na zewnątrz komórki. Pojedyncze cząsteczki lipidowe w warstwie podwójnej mogą się poruszać zarówno w płaszczyźnie błony (dyfuzja lateralna, która zachodzi stosunkowo łatwo), jak i w poprzek błony (dyfuzja wertykalna, gdzie te mechanizmy są bardziej skomplikowane). Dlatego też mówi się, że podwójna błona fosfolipidowa jest półpłynnym tworem, a jej płynność zależy od składu i temperatury otoczenia. Płynność błony doskonale widać na przykładzie bardzo cienkiej igły wprowadzanej do wnętrza komórki, kiedy to błona „przeżywa” wokół tkwiącej w niej igły. Natomiast po wyjęciu igły błona ponownie łączy się tworząc półpłynną całość.

W błonie obok lipidów obecne są liczne białka, którą tkwią w „morzu” lipidów niczym wyspy rozmieszczone zarówno w jednej warstwie, jak i przechodzące przez obie warstwy na wylot. Dodatkowo w błonie zawarte są węglowodany, często w połączeniu z białkami (glikoproteiny) lub lipidami (glikolipidy) czy cząsteczki cholesterolu (należącego do lipidów), które pomagają utrzymać odpowiednią płynność błony. To między innymi dzięki obecności cholesterolu w niskich temperaturach dochodzi do zwiększanie płynności błony (co zapobiega upakowywaniu się fosfolipidów), a w wyższych temperaturach dochodzi do ograniczenia płynności błony.

Podobne struktury do błon tworzą **liposomy** (pęcherzyki fosfolipidowe, pęcherzyki Banghama, ang. *liposomes*), będące zamkniętymi kulistymi strukturami gdzie części hydrofilowe skierowane są na zewnątrz, a hydrofobowe skierowane ku wnętrzu dwuwarstwy lipidowej. Mają one na ogół postać pęcherzyków (o wielkości od kilku nanometrów do kilku mikrometrów, często literatura podaje zakres 0,01-10 μm) wypełnionych wodą (lub roztworem wodnym) i otoczonych dwuwarstwą lipidową o strukturze analogicznej do tej występującej w błonach biologicznych (Ryc. 11).



Podobieństwo właściwości liposomów do właściwości błon biologicznych powoduje, że stały się one modelowym obiektem badań właściwości błon biologicznych. Ponieważ są zbudowane z tych samych składników (fosfolipidów) co błony komórkowe i swobodnie mogą przez nie przenikać (są niewielkie) to wykorzystywane są również do przenoszenia różnorodnych substancji (zarówno lipofilowych, jak i hydrofilowych). Liposomy występują w organizmach żywych (lipoproteiny krwi) oraz są produkowane na skalę laboratoryjną i przemysłową. Pierwsze praktyczne zastosowanie liposomów miało miejsce w latach 80-tych XX wieku, a obecnie formułę liposomową można spotkać w: kremach pielęgnacyjnych (na dzień, na noc, regeneracyjne, przeciwzmarszczkowe), środkach pielęgnacyjnych do i po goleniu, preparatach samoopalających, płynach do kąpieli, preparatach do pielęgnacji skóry, olejkach do smarowania rozstępów, tonikach bezalkoholowych itd.

Ćwiczenie 16a - Wykonanie:

1. Do 1l wody destylowanej dodać 0,5 cm³ 1M NaOH. Następnie przygotować roztwory laurylosiarczanu sodu (SLS) używając uprzednio zalkalizowanej wody. Z 1% podstawowego roztworu SLS przygotować roztwory o następujących stężeniach: 0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4 i 0,5%.
2. Wyznaczyć metodą stalagmometryczną napięcie powierzchniowe przygotowanych roztworów. Wyniki pomiarów wpisać do tabeli.

Stalagmometry należy napełniać od dołu, tak aby nie zapowietrzyć kapilary. W tym celu należy podstawić zlewkę z badanym roztworem pod wylot kapilary stalagmometru i za pomocą gruszki/strzykawki zasysać roztwory do „zbiorniczka” stalagmometru.

Stężenie SLS %	liczba kropeł w pomiarze 1	liczba kropeł w pomiarze 2	średnia liczba kropeł
0 (woda)			
0,025			
0,05			
0,075			
0,1			
0,15			
0,2			
0,3			
0,4			
0,5			
1,0			

- Po napełnieniu stalagmometru do górnej kreski (powyżej zbiorniczka) zliczamy ilość kropeł przypadającą na objętość stalagmometru. W tym celu można wykorzystać automatyczny licznik kropeł. Końcówkę stalagmometru należy tak ustawić, aby krople spadały w obszarze detekcji czujnika (każda rejestrowana kropla jest sygnalizowana zapalaniem się diody na obudowie czujnika - a podłączony interfejs/analizator pozwala na rejestrację liczby kropełek przypadających na mierzoną objętość - klawisz START/STOP znajduje się na interfejsie).

Opracowanie wyników

- Obliczyć napięcie powierzchniowe badanych roztworów, przyjmując gęstość wody równą gęstości przygotowanych roztworów. Wyniki wpisać do tabeli

Stęż. DOC	0,025 %	0,05 %	0,075 %	0,1 %	0,15 %	0,2 %	0,3 %	0,4 %	0,5 %	1,0 %
σ (mN/m)										

Korzystając z wzoru: $\frac{\sigma_1}{\sigma_2} = \frac{d_1 n_2}{d_2 n_1}$, i przyjmując że gęstość roztworów jest identyczna

($d_1 = d_2$) uzyskujemy: $\sigma_1 = \frac{\sigma_2 n_2}{n_1}$. Do obliczenia napięcia powierzchniowego dezoksycholanu

lub laurylosiarczanu sodu musimy znać ilość kropeł wody i badanego roztworu. Za napięcie powierzchniowe wody podstawić 73 mN/m.

- Sporządzić wykres zależności napięcia powierzchniowego od stężenia DOC: $\sigma = f(C)$

3. Obliczyć (metodą najmniejszych kwadratów) współczynniki a i b równań prostych opisujących zależność napięcia powierzchniowego od stężenia DOC w zakresie małych stężeń (równanie prostej 1) i większych stężeń DOC (równanie prostej 2). Przy obliczeniu współczynników można posłużyć się wzorem:

$$a = \frac{\Sigma \times \Sigma y - n \Sigma x \times y}{(\Sigma x)^2 - n \Sigma x^2} \quad (11)$$

$$b = \frac{1}{n} (\Sigma y - a \Sigma x) \quad (12)$$

gdzie n liczba pomiarów

Dla ułatwienia obliczeń można posłużyć się tabelami pomocniczymi

Tabela pomocnicza dla mniejszych stężeń DOC (poniżej 0,2 %)

n	x (% DOC)	y (σ)	$x^2 \times 10^{-4}$	xy
Σ				

Tabela pomocnicza dla większych stężeń DOC ($\geq 0,2\%$)

n	x (% DOC)	y (σ)	$x^2 \times 10^{-4}$	xy
Σ				

4. Po obliczeniu współczynników a i b podać równania prostych – jeżeli wyznaczono współczynniki kierunkowe za pomocą arkusza kalkulacyjnego także należy podać równania prostych.
5. Znaleźć punkt przecięcia obu prostych odpowiadający takiemu stężeniu tenzydu przy którym napięcie powierzchniowe dla obu zakresów stężeń DOC są sobie równe. Jeżeli równanie prostej 1 ma postać: $y = a_1x + b_1$
a równanie prostej 2 postać: $y = a_2x + b_2$

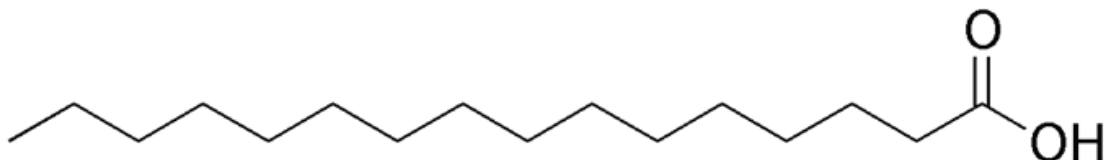
to obie proste przecinają się w punkcie odpowiadającym krytycznemu stężeniu micelarnemu (CMC), który obliczymy z równania:

$$CMC = \frac{b_2 - b_1}{a_1 - a_2} \quad (13)$$

W wnioskach podać wartość krytycznego stężenia micelarnego i porównać go z wartością odczytaną na podstawie wykresu – punktu przecięcia stycznych.

Ćwiczenie 16 b. Określanie wielkości cząsteczki lipidu poprzez pomiar powierzchni warstwy monomolekularnej.

Przykładem substancji o charakterze amfifilowym jest kwas palmitynowy $\text{H}(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$ (ryc. 12), którego cząsteczka zbudowana jest z długiego łańcucha węglowodorowego $\text{H}(\text{CH}_2)_{15}$ o charakterze hydrofobowym oraz z hydrofilowej grupy karboksylowej.



Ryc. 12. Wzór kwasu palmitynowego

Aby otrzymać monomolekularną warstwę kwasu palmitynowego $\text{H}(\text{CH}_2)_{15}\text{COOH}$ rozpuszczamy go w lotnym rozpuszczalniku (np. benzen, chloroform), a następnie kroplę roztworu наносimy na wodę. Roztwór rozplywa się równomiernie po powierzchni, a po wyparowaniu lub rozpuszczeniu się rozpuszczalnika pozostaje monomolekularna błonka powierzchniowa. Cząsteczki kwasu stearynowego, znajdujące się na granicy faz woda - powietrze ustawiają się grupami polarnymi (COOH) w wodzie, a łańcuch węglowodorowy „sterczy” w powietrzu.

Zjawisko tworzenia się warstwy monomolekularnej może być wykorzystane do wyznaczania rozmiarów cząsteczek. W ćwiczeniu wyznaczać będziemy rozmiary cząsteczki kwasu palmitynowego: długość łańcucha, pole przekroju poprzecznego i średnicę przekroju.

W tym celu sporządzamy roztwór kwasu palmitynowego w chloroformie. Aby obserwacja warstwy monomolekularnej była łatwiejsza powierzchnię wody posypujemy talkiem. Cząsteczki talku nie są zwilżane przez wodę i pływają po jej powierzchni. Jeżeli kroplę roztworu kwasu palmitynowego upuścimy na powierzchnię wody posypanej talkiem, to chloroform odparowuje, zaś cząsteczki kwasu palmitynowego rozprzestrzeniają się po powierzchni wody, odsuwając przed sobą talk. Po pewnym czasie utworzy się kolista, monomolekularna warstwa kwasu palmitynowego. Mierzmy średnicę takiej warstwy (D) i wyliczamy pole powierzchni (S) zajmowanej przez warstwę. Znając stężenie roztworu (c) oraz objętość kropli (V) roztworu naniesionej na powierzchnię wody, możemy obliczyć liczbę n cząsteczek tworzących warstwę monomolekularną wg wzoru:

$$n = \frac{cN_A V}{M} \quad [14]$$

gdzie: N_A - liczba Avogadra ($= 6,02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1}$); $M = 254 \text{ g}$ - masa molowa kwasu palmitynowego.

Powierzchnia $S = \frac{\pi \cdot D_{sr}^2}{4}$ zajmowana przez warstwę monomolekularną,

$$S = n \cdot s_0 \quad [15]$$

gdzie: s_0 - średnie pole przekroju poprzecznego cząsteczki. Z [14] i [15] wynika, że

$$s_0 = \frac{\pi \cdot D_{sr}^2 \cdot M}{4c \cdot N_A \cdot V} \quad [16]$$

Przyjmując, że cząsteczka w przekroju ma kształt koła, możemy obliczyć średnicę (d) cząsteczki:

$$d = \sqrt{\frac{s_0}{\pi}} \quad [17]$$

Długość (L) cząsteczki kwasu stearynowego w jej pionowym ustawieniu jest równa grubości warstwy monomolekularnej. Grubość warstwy otrzymujemy dzieląc objętość (V_k) warstwy przez powierzchnię (S) warstwy.

$$L = \frac{V_k}{S} \quad [18]$$

Objętość warstwy równa się objętości kwasu stearynowego zawartego w kropli roztworu puszczonej na wodę i wynosi:

$$V_k = \frac{c \cdot V}{\rho} \quad [19]$$

gdzie: $\rho = 0,84 \text{ g/cm}^3$ - gęstość kwasu palmitynowego. Po podstawieniu [19] do [18] otrzymujemy wzór, z którego wyliczamy długość (L) cząsteczki:

$$L = \frac{c \cdot V}{S \cdot \rho} \quad [20]$$

Wykonanie ćwiczenia:

- 1) Przygotować zestaw pomiarowy jak na rycinie 13 (poniżej):



Ryc. 13. Zestaw do pomiaru wielkości cząsteczek tworzących warstwę monomolekularną

- 2) Napełnić płytkę Petriego wodą destylowaną. Przesuwając bibułą po powierzchni wody można zdjąć wszelkie ewentualne zanieczyszczenia.
- 3) Posypać powierzchnię wody równą, cienką warstwą talku, tak aby równomiernie pokrył on całą powierzchnię. Można to zrobić mieszając bagietką lub trzymając obręcz szalkę wykonywać delikatne koliste ruchy, tak aby rozprowadzić talk równomiernie po całej powierzchni w postaci cienkiej warstwy.
- 4) Przygotować roztwór kwasu palmitynowego o stężeniu $1,5 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$. W tym celu rozpuścić 1,5 mg kwasu palmitynowego (przygotowana naważka) w 1 ml chloroformu.
- 5) Na powierzchnię wody z talkiem nanieść (w różnych miejscach) pipetą automatyczną (ustawioną na pojemność 100-200 μl) co najmniej 5 kropli roztworu kwasu palmitynowego w chloroformie ($C=1,5 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$). Po ustawieniu pojemności pipety na wskazaną objętość delikatnie naciskać tłoczek aby pojedyncze krople odrywały się od końcówki pipety - zakładamy, że objętość 1 kropli wynosi ok. 20 μl . Chloroform powoduje odsuwanie cząsteczek talku od siebie, dlatego też po dodaniu kropli na powierzchni wody powinny być wyraźnie widoczne krople dodanego rozpuszczalnika.

- 6) Odczekać chwilę aby rozpuszczalnik odparował, a następnie sfotografować płytke trzymając aparat bezpośrednio nad nią. Obok fotografowanego obszaru lub bezpośrednio pod szalką powinien znajdować się papier milimetrowy, tak aby na zdjęciu móc zaznaczyć okrąg, o średnicy 1 cm (w zależności od odległości od fotografowanego obiektu możemy uzyskać obiekty o różnej wielkości – okrąg o średnicy 1 cm będzie naszym punktem odniesienia). Jeżeli szalka stoi na papierze milimetrowym to średnicę można też określić licząc liczbę kratek (mm) przypadających na poszczególną kroplę.
- 7) Wybrać 3-4 różne powierzchnie, które są zbliżone kształtem do powierzchni kolistej i zmierzyć średnicę powstałych warstw monomolekularnych.

Średnicę powstałych monowarstw mierzymy stawiając szalkę Petriego na podkładkę z podziałką milimetrową (Ryc. 14). Zapisać wyniki poszczególnych pomiarów, a następnie obliczyć średnią wartość średnicy (D_{sr}).

- 8) Uzyskane zdjęcia przenieść do komputera i przy użyciu programu Motic Images Plus 2.0 obrysować warstwy monomolekularne i wyznaczyć ich powierzchnie[†] (-> patrz obsługa programu Motic Images Plus 2.0). Porównać to z wynikiem uzyskanym dla powierzchni okręgu o średnicy 1 cm ($\sim 0,785 \text{ cm}^2$). W przypadku uzyskania bardzo różniących się wartości wyliczyć współczynnik korekcji i wykorzystać go przy wyliczaniu powierzchni warstwy zajmowanej przez kwas palmitynowy.

Wyliczyć liczbę cząsteczek (n), które tworzą monowarstwę i na tej podstawie określić średnie pole przekroju poprzecznego (S_0):

$$n = \frac{cN_A V}{M}$$

$$\text{gdzie: } N_A = 6,02 \times 10^{23} \text{ mol}^{-1};$$

$$M = 254 \text{ g/mol}$$

$$C = 1,5 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$$

$$V = 0,02 \text{ cm}^3$$

$$S = n \cdot s_0 \quad \text{gdzie powierzchnia } S \text{ to wartość wyznaczona w p. pkt. 8}$$

- 9) Wyliczyć średnią długość (L) cząsteczki oraz średnią średnicę (d) cząsteczki kwasu palmitynowego:

$$L = \frac{c \cdot V}{S \cdot \rho}$$

$$d = \sqrt{\frac{S_0}{\pi}}$$

$$\text{gdzie: } \rho = 0,84 \text{ g/cm}^3$$

- 10) Całą procedurę powtarzamy dla oleju rzepakowego. Nie rozpuszczamy go jednak w benzenie, lecz wkraplamy bezpośrednio na warstwę wody. Wykonać analogiczne obliczenia aby wyznaczyć długość cząsteczki oleju rzepakowego (L).

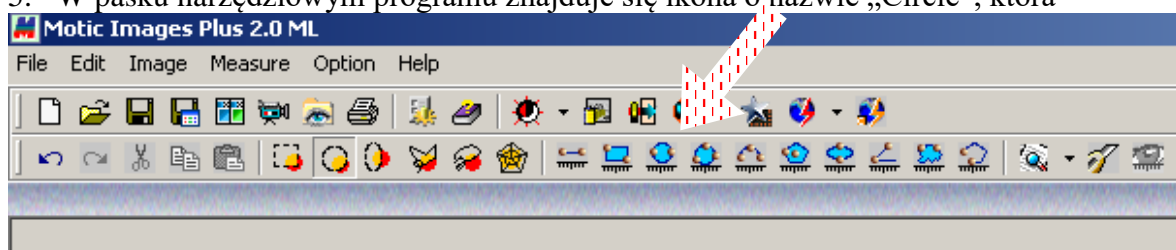
Gęstość oleju rzepakowego: $\rho = 0,90 \text{ g/cm}^3$. Ponieważ olej rzepakowy nie jest roztworem rozcieńczonym (nie rozcieńczamy go w żaden sposób), jego stężenie wyrażone w g/cm^3 , będzie równe gęstości (Kwas palmitynowy był rozcieńczany dlatego tam podane jest zarówno jego stężenie, jak i gęstość).

[†] Powierzchnie (S) zajmowaną przez monowarstwę można też wyznaczyć korzystając z zależności: $S = \frac{\pi \cdot D_{sr}^2}{4}$, jeżeli została określona średnica okręgu utworzonego przez badaną substancję.

Wśród kwasów tłuszczowych obecnych w oleju rzepakowym najwięcej jest kwasu oleinowego (M=282,46 g/mol) i linolinowego (M=280,45 g/mol). Dlatego w obliczeniach gdzie konieczne jest użycie masy molowej dla oleju możemy przyjąć przybliżoną wartość: 281 g/mol

Obsługa programu Motic Images Plus 2.0

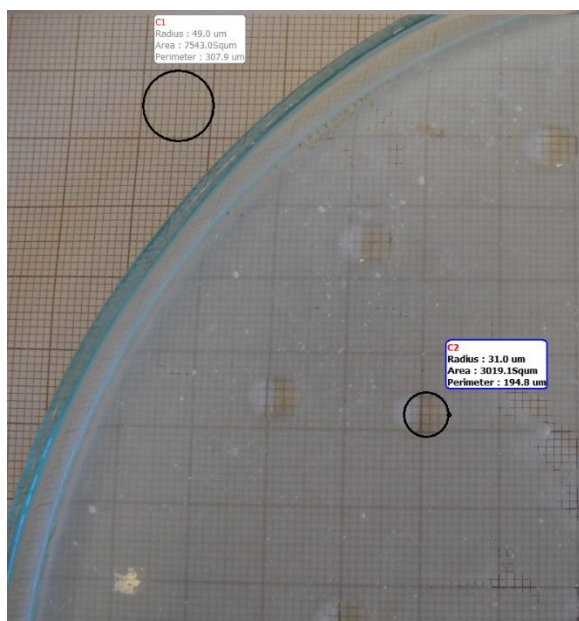
1. Zdjęcia z aparatu przenosimy na komputer, do wskazanego przez prowadzącego zajęcia folderu.
2. Uruchomić program Motic Images Plus 2.0
3. Z zakładki File wybieramy opcję „Open” (Ctrl+O) i otwieramy wybrane przez nas zdjęcie (proszę wskazać folder w którym są zgrane zdjęcia)
4. Klikając na polecenie „Image”, a następnie „Image Size” możemy ustawić wielkość obrabianego zdjęcia. Zalecana wielkość to: 1600 (width)/ 1200 (high) pikseli.
5. W pasku narzędziowym programu znajduje się ikona o nazwie „Circle”, która



umożliwia zmierzenie powierzchni zaznaczonego obszaru (w tym przypadku okręgu). Obrysowujemy interesujący nas obszar na zdjęciu (w miarę dokładnie)

Jednoczesne użycie klawiszy „Ctrl Z” pozwala odznaczyć zaznaczony obszar i ponowne obrysowanie interesującego nas obiektu)

6. Program automatycznie wyliczy nam powierzchnię zaznaczonego obszaru (μm^2).
7. Przełączamy na kolejne zdjęcie i czynność powtarzamy.
8. **Nie otwieramy jednorazowo dużej ilości zdjęć (2-3 max.).**



Przykład wykonanego zdjęcia w programie Motic Images Plus 2.0 z zaznaczonymi powierzchniami (obliczenia):

- koło o średnicy 1 cm (C1) wyliczone wartości w programie: $D = 98 \mu\text{m}$ ($r = 49 \mu\text{m}$); $S = 7543 \mu\text{m}^2$

- kropla badanej substancji (C2); wyliczone wartości w programie: $D = 62 \mu\text{m}$ ($r = 31 \mu\text{m}$); $S = 3019 \mu\text{m}^2$

Zatem:

$$7543 \mu\text{m}^2 \text{ ----- (odpowiada dla) } 0,785 \text{ cm}^2$$

$$3019 \mu\text{m}^2 \text{ ----- } x \text{ (wartość szukana)}$$

$$x = \frac{3019 \cdot 0,785}{7543} = 0,314 \text{ cm}^2$$

Podobną wartość uzyskamy, z wzoru: $S = \frac{\pi \cdot D_{\text{śr}}^2}{4}$

Jeżeli średnica (wyliczona średnia) wynosiła $D = 0,63 \text{ cm}$ (63 mm), to po podstawieniu ($\pi = 3,14$) do wzoru uzyskamy $S = 0,312 \text{ cm}^2$