

C6200–Biochemické metody

# 10C1\_REFRAKTOMETRIE

Petr Zbořil

# Disperzní metody

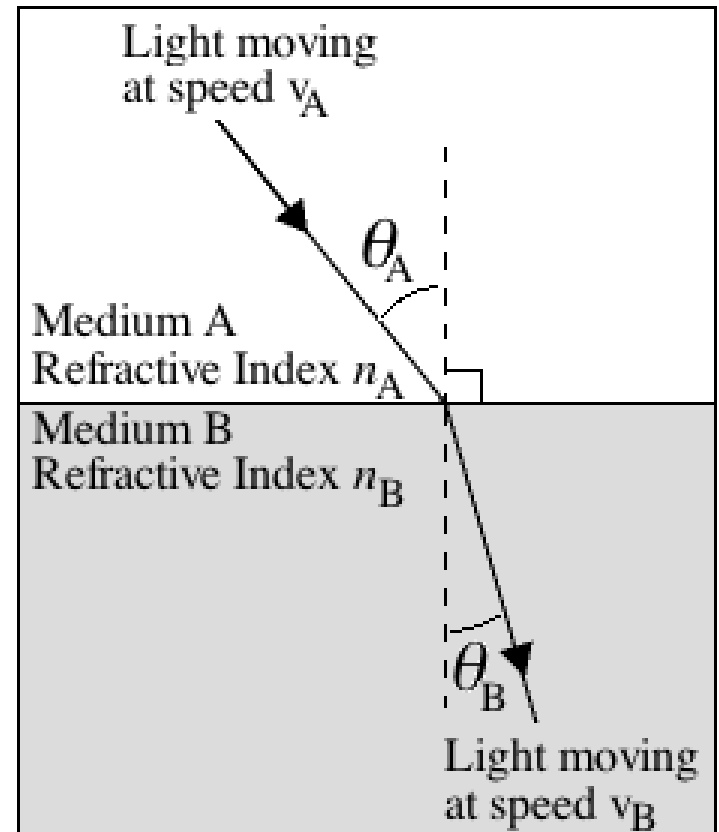
- Prostředí mění rychlost šíření elektromagnetického záření
- Jde prakticky o zpomalení
- Prostředí izotropní – refraktometrie
- Prostředí anizotropní – polarimetrie (chirální metody vč. absorpčních)

# Lom světla

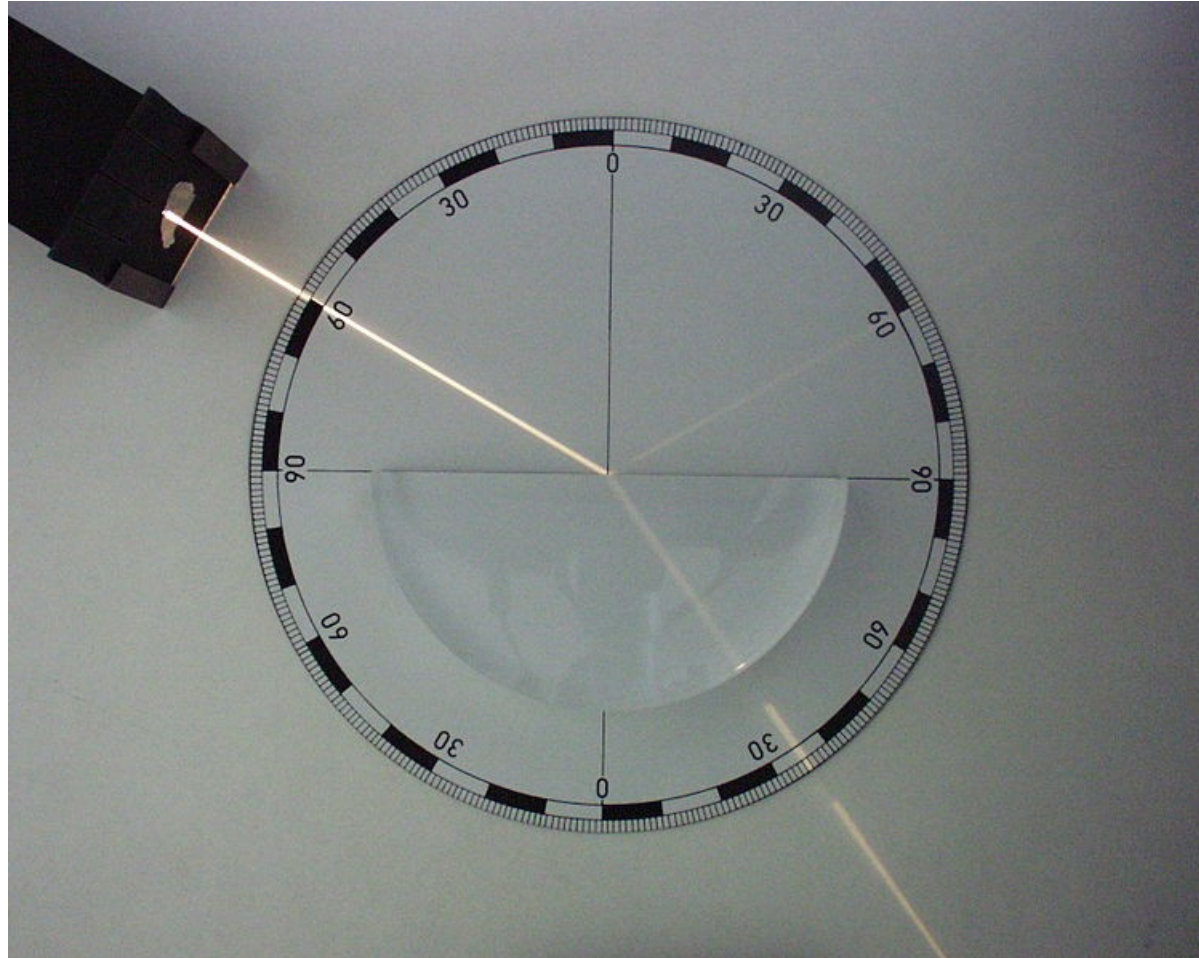
$$n = c/c_0$$

Snellova rovnice

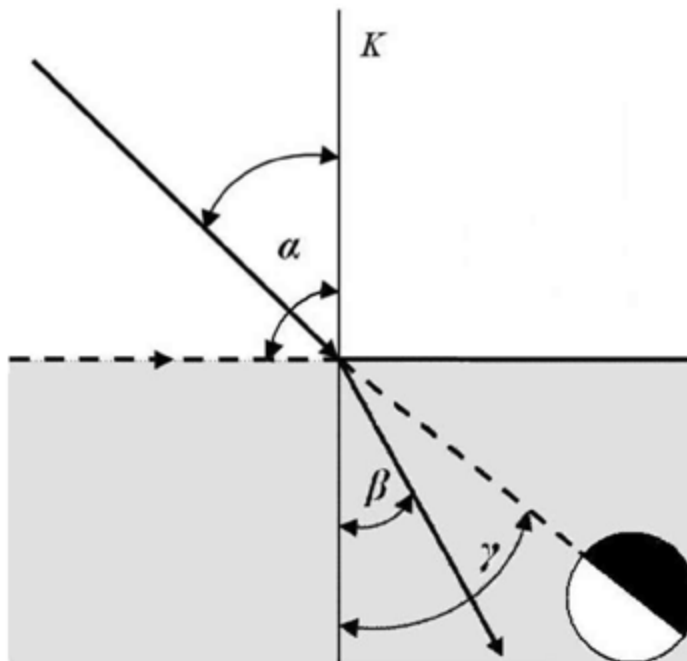
$$\frac{v_A}{v_B} = \frac{\sin \theta_A}{\sin \theta_B} = \frac{n_B}{n_A}$$



# Lom světla



# Lom světla a mezní úhel





$\alpha$  – úhel dopadu

$\beta$  – úhel lomu

$\gamma$  – mezný úhel lomu

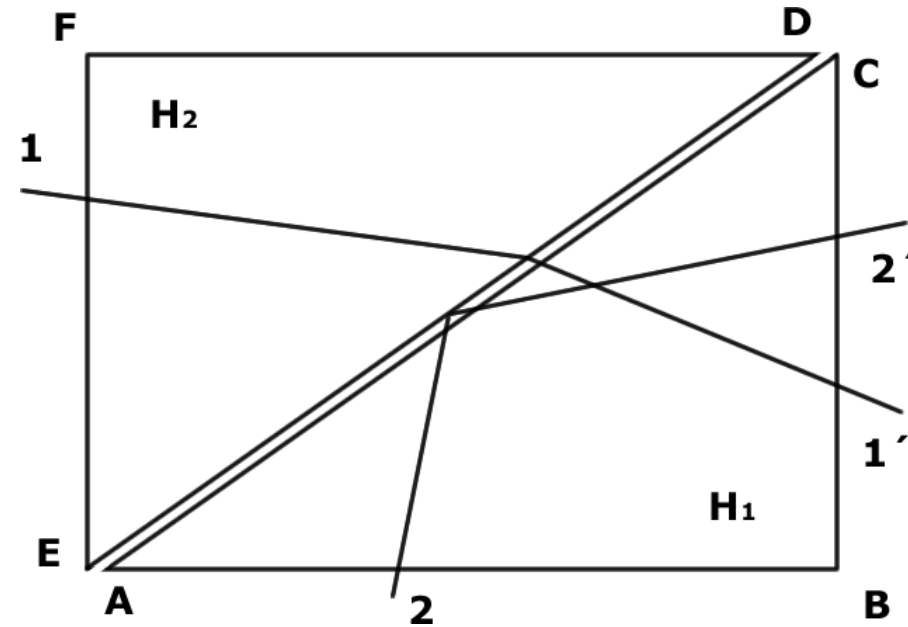
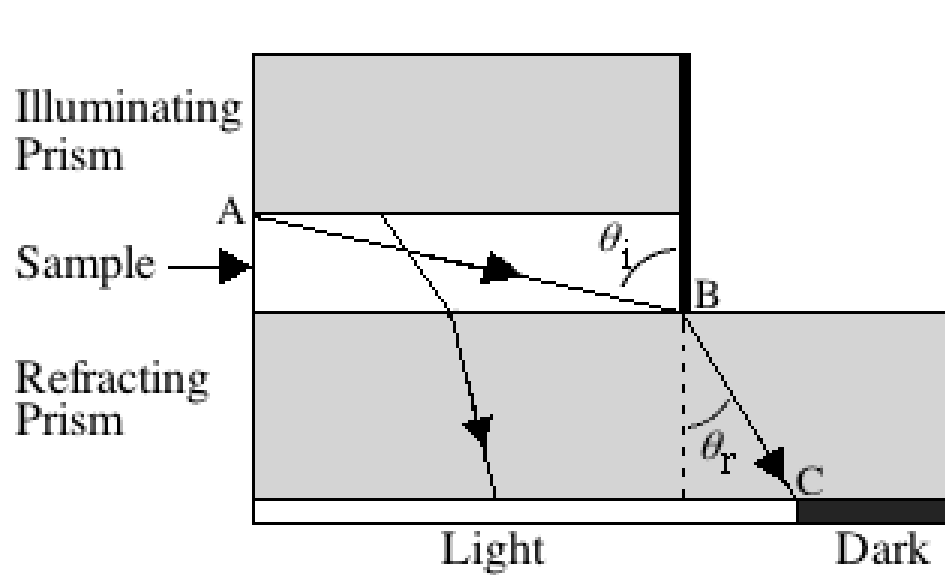
K – kolmice dopadu

 opticky řidší prostředí

 opticky hustší prostředí

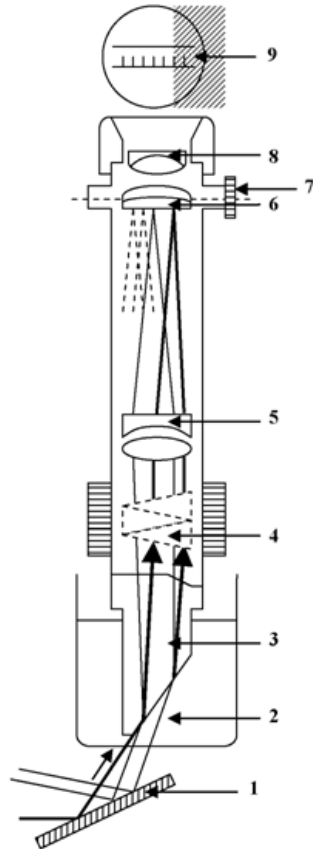
# Refraktometrie

- Jednoduché – úzký paprsek
- Určení mezního úhlu – klouzavý paprsek, 2 hranoly



- AB, ED – matné, AC, BC - leštěné

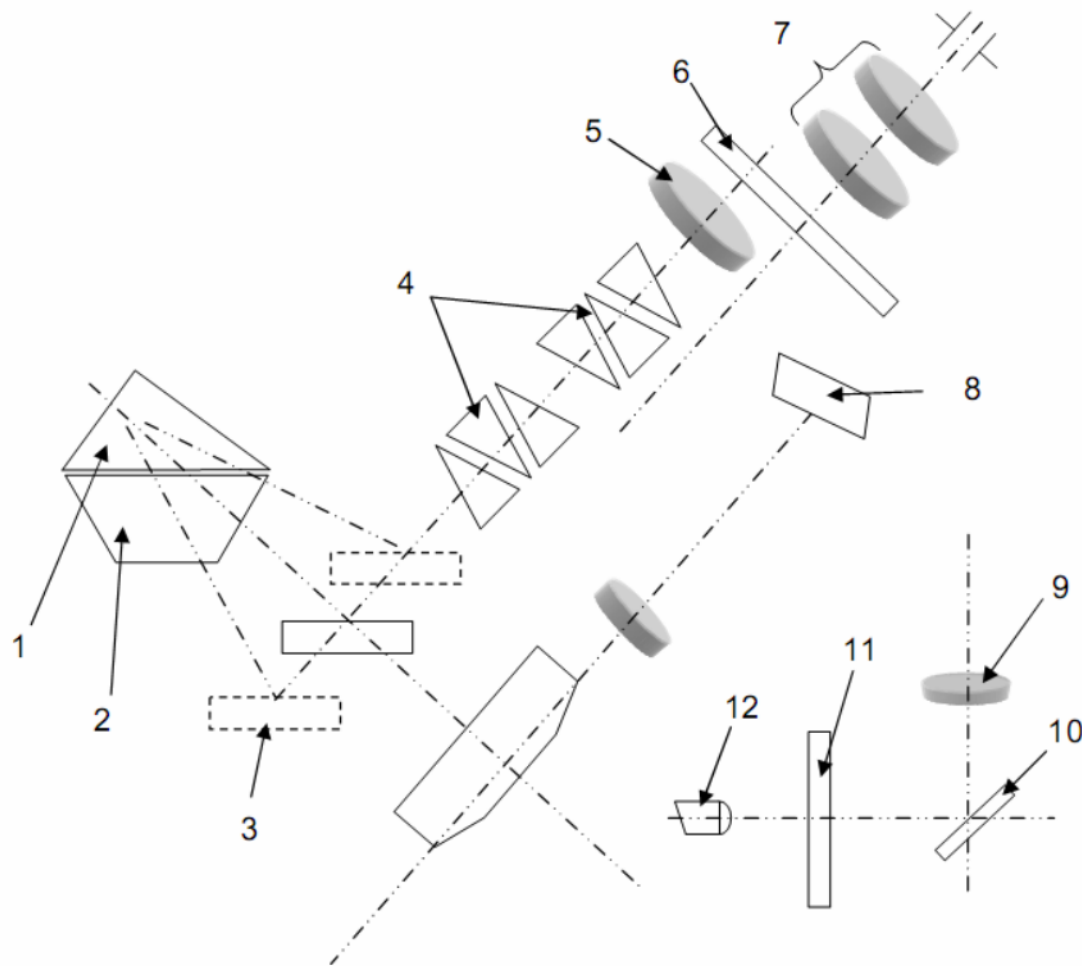
# Ponorný refraktometr



- 1 zrcátko
- 2 analyzovaný vzorek  
ve skleněné kádince
- 3 měrný hranol
- 4 kompenzační zařízení  
složené z Amiciho hranolu
- 5 spojná čočka
- 6 čočka se stupnicí
- 7 mikrometrický šroub
- 8 okulár dalekohledu
- 9 zorné pole dalekohledu

# Abbého refraktometr

1. Osvětlovací hranol
2. Měřicí hranol
3. Zrcadlo
4. Soustava hranolů pro kompenzaci disperze
5. Objektiv
6. Stínítko
7. Okulár
8. Paralelní hranol
9. Čtecí objektiv
10. Zrcadlo
11. Stupnice
12. Kondenzor

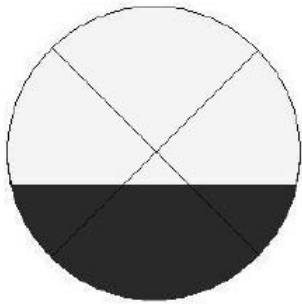




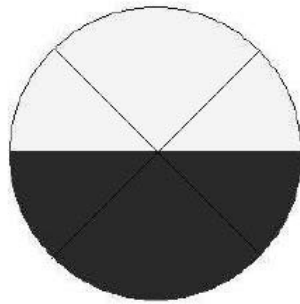
# Abbého refraktometr



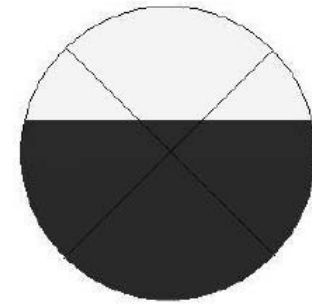
# Abbého refraktometr



1 – špatně



2 – správně



3 – špatně

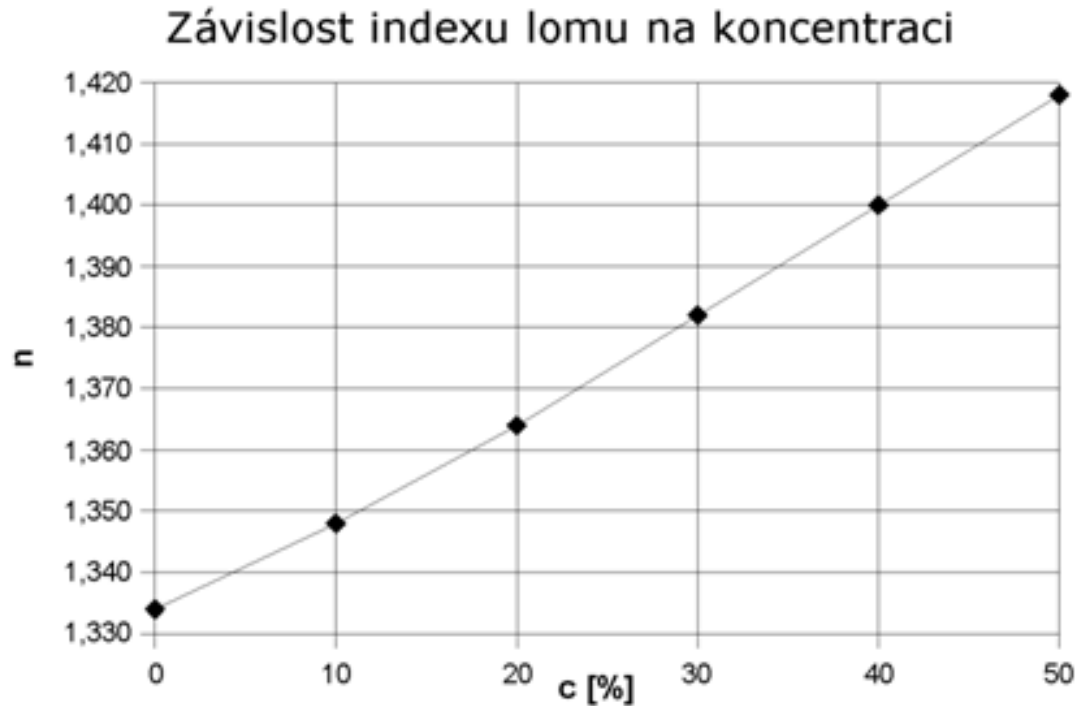
- Určení rozhraní – stupnice  $n$
- Ostrost – disperze – mono x polychromatické světlo

# Podmínky a parametry

- Vliv  $T$ , většinou nepřímá závislost – vliv  $\rho$  – teplota
- Vliv tlaku, skupenství
- Vliv  $\lambda$ , monochromatické světlo – Na (589 nm)
- Měrná a molární refrakce  $R_M = r \cdot M_r$
- $$R_M = \frac{(n^2 - 1) \cdot M_r}{(n^2 + 2) \cdot \rho}$$
- hustota látky
- Disperze – rozdíl  $R$  pro různé vlnové délky

# Užití refraktometrie

Rychlá orientační stanovení koncentrací (sacharidy, etanol), čistoty (ovlivňuje  $n$ )



Sacharosa

# Potvrzování struktury – aditivita atomových a vazebných refrakcí

Příspěvky atomů, skupin a vazeb k molární refrakci

Atom nebo skupina	$R_m$ (cmW <sup>-1</sup> )	
	H ( $\lambda = 656,3$ nm)	D ( $\lambda = 589,3$ nm)
CH <sub>2</sub>	4,598	4,618
C	2,413	2,418
H	1,092	1,100
dvojná vazba	1,686	1,733
trojná vazba	2,328	2,398
kyslík hydroxyly	1,522	1,525
kyslík etheru	1,639	1,643
kyslík karbonylu	2,189	2,211
Cl	5,933	5,967
Br	8,803	8,865
I	13,757	13,900
N v primárním aminu	2,309	2,322
N v sekundárním aminu	2,478	2,502
N v terciárním aminu	2,808	2,840



