

C6200–Biochemické metody

10C1_REFRAKTOMETRIE

Petr Zbořil

Disperzní metody

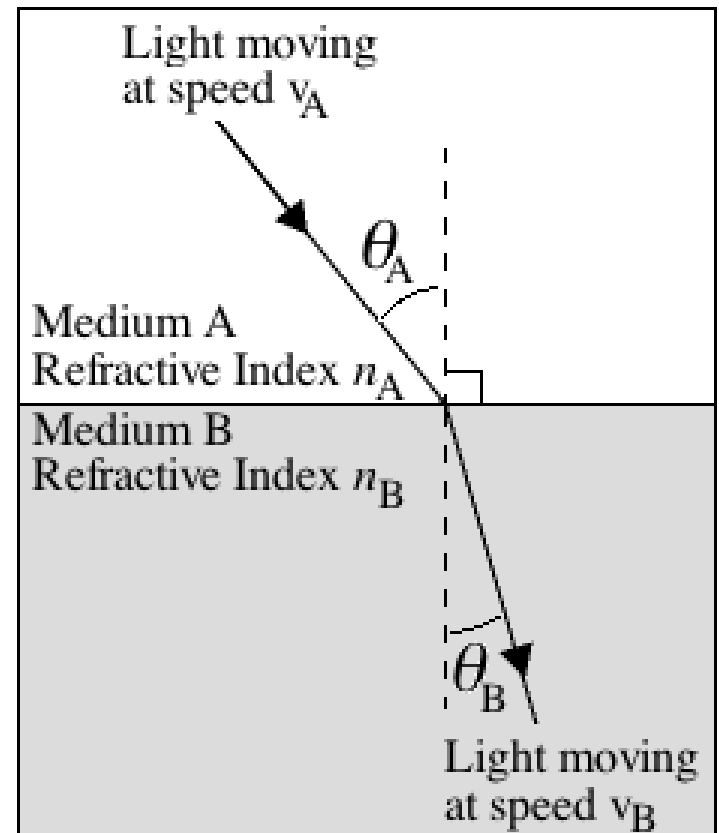
- Prostředí mění rychlost šíření elektromagnetického záření
- Jde prakticky o zpomalení
- Prostředí izotropní – refraktometrie
- Prostředí anizotropní – polarimetrie (chirální metody vč. absorpčních)

Lom světla

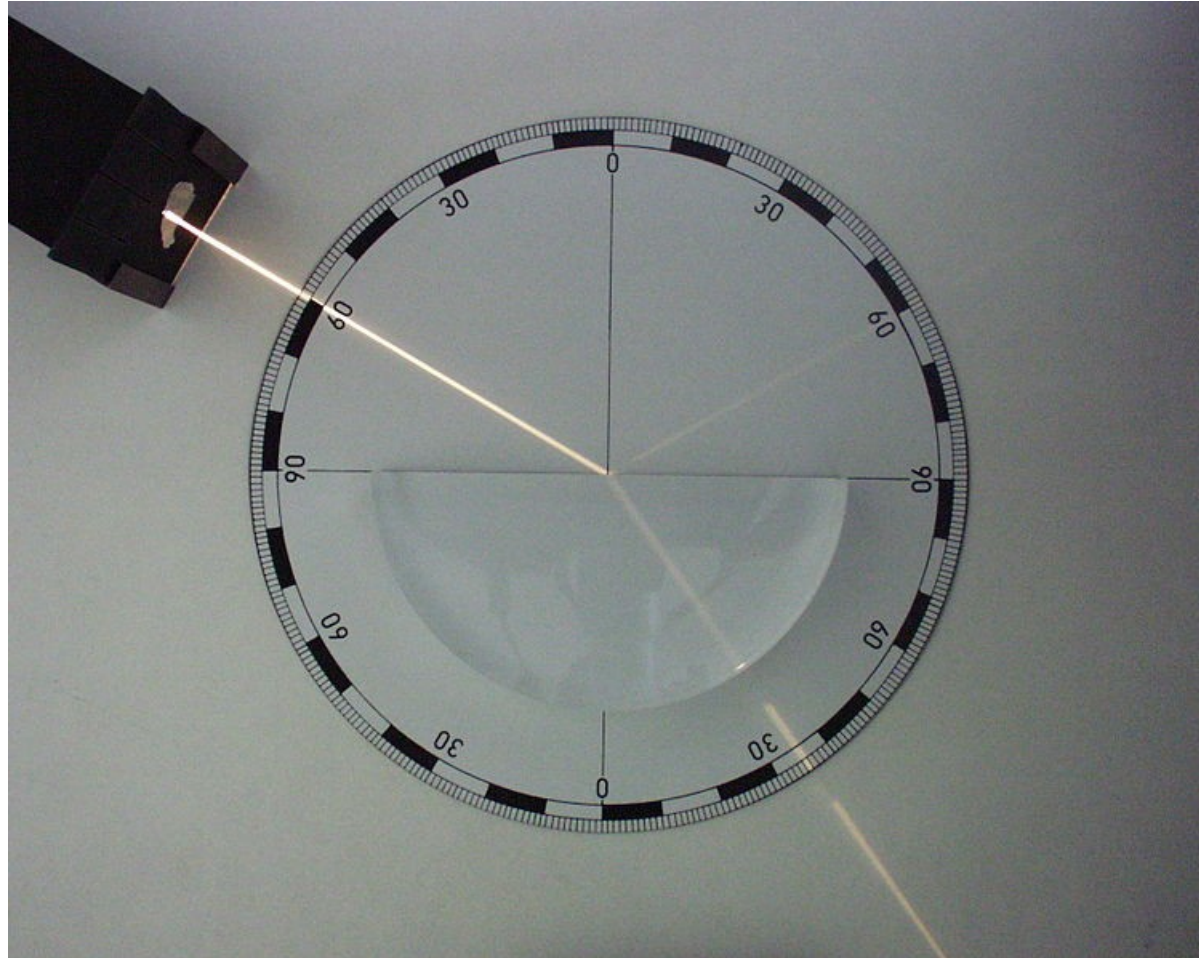
$$n = c_v/c \geq 1$$

Snellova rovnice

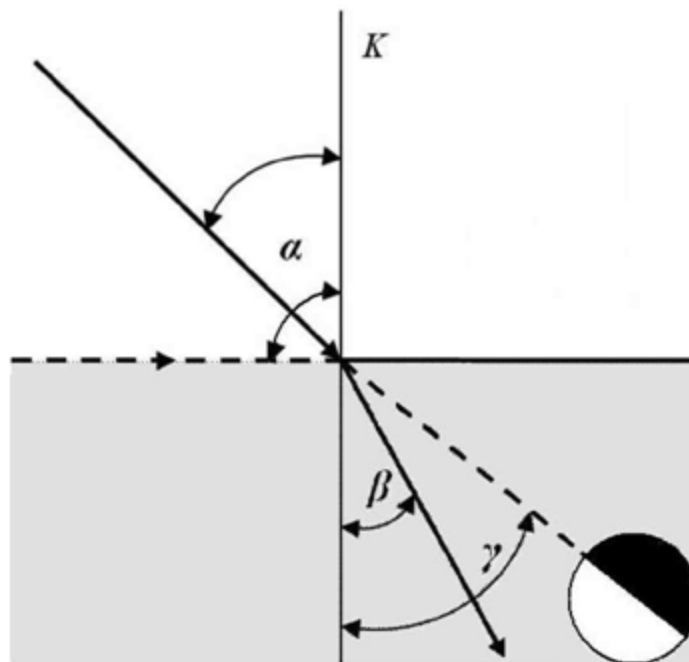
$$\frac{v_A}{v_B} = \frac{\sin \theta_A}{\sin \theta_B} = \frac{n_B}{n_A}$$



Lom světla



Lom světla a mezní úhel





α – úhel dopadu

β – úhel lomu

γ – mezný úhel lomu

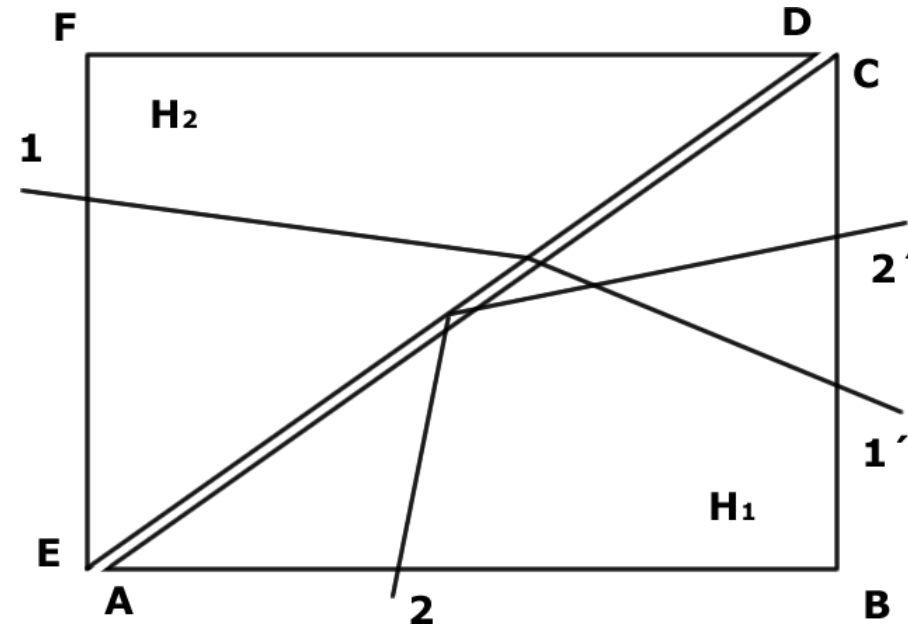
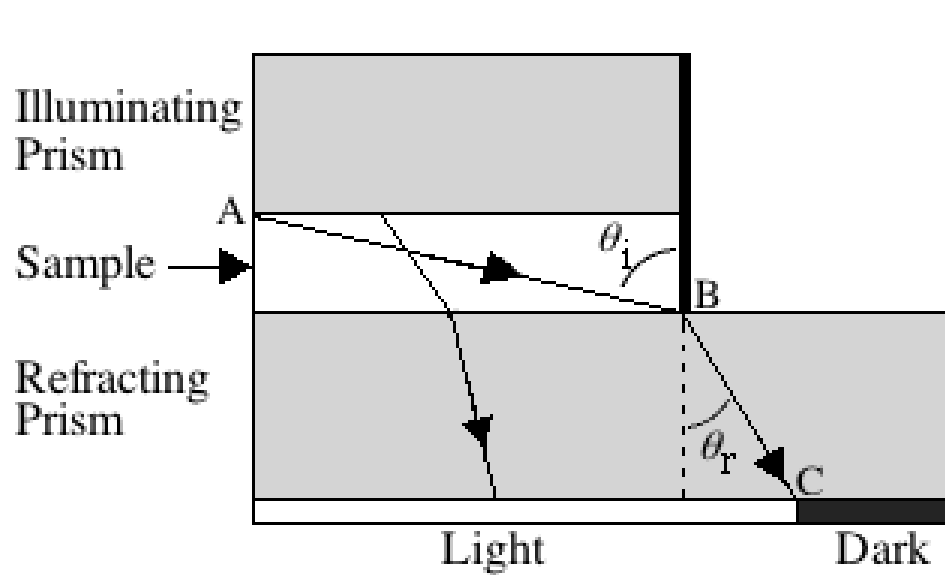
K – kolmice dopadu

 opticky řidší prostředí

 opticky hustší prostředí

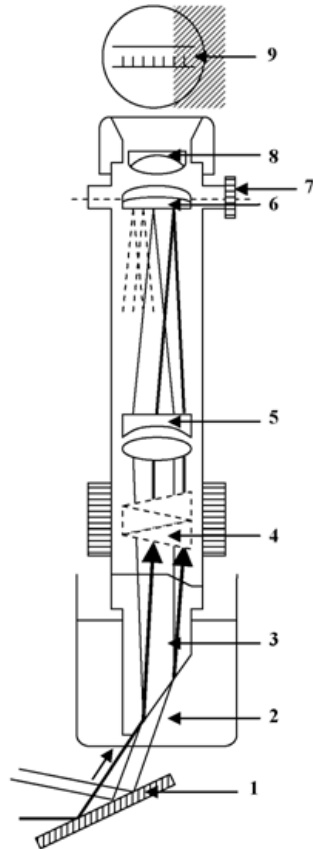
Refraktometrie

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



- **AB, ED** – matné, **AC, BC** - leštěné

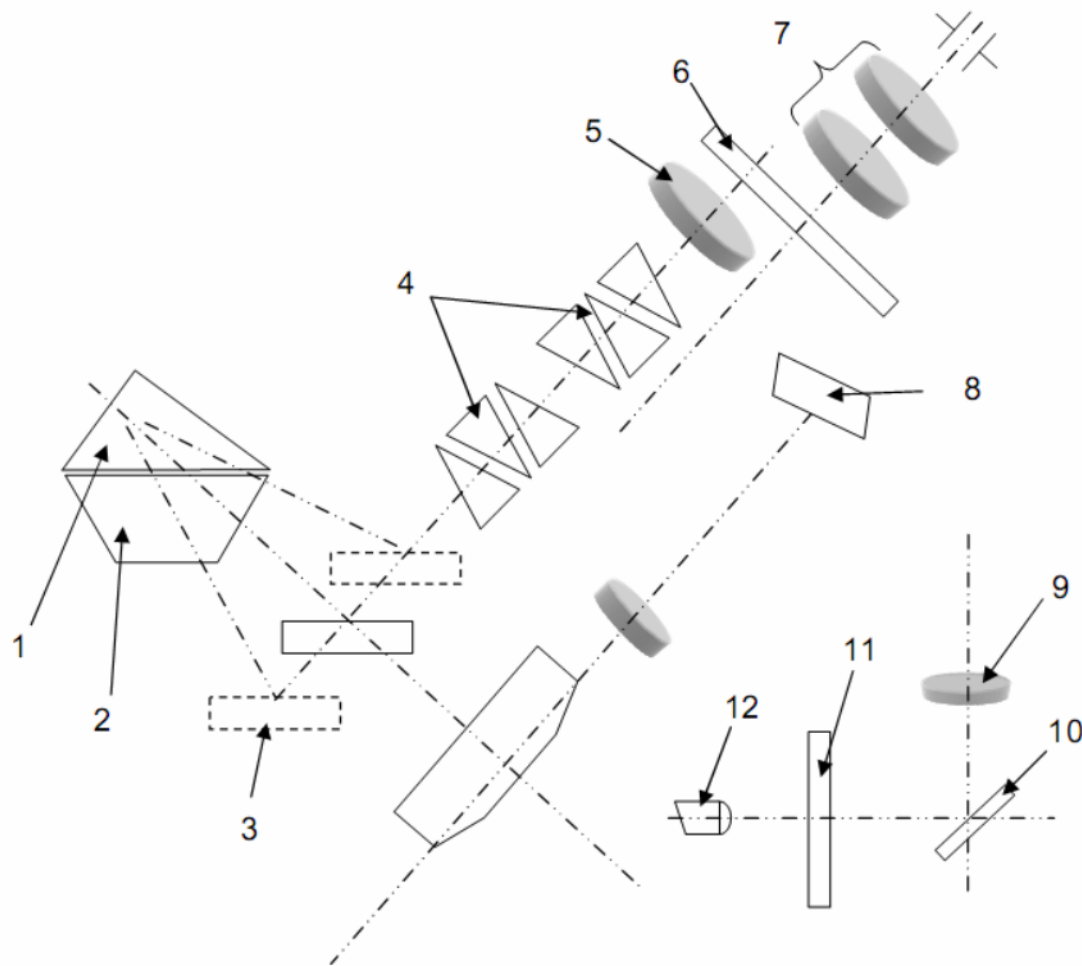
Ponorný refraktometr



- 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

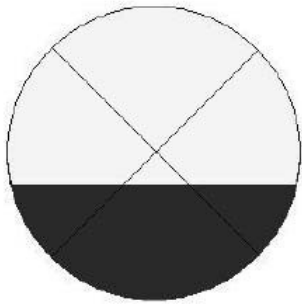
1. Osvětlovací hranol
2. Měřicí hranol
3. Zrcadlo
4. Soustava hranolů pro kompenzaci disperze
5. Objektiv
6. Stínítko
7. Okulár
8. Paralelní hranol
9. Čtecí objektiv
10. Zrcadlo
11. Stupnice
12. Kondenzor



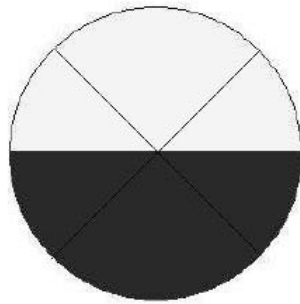
Abbého refraktometr



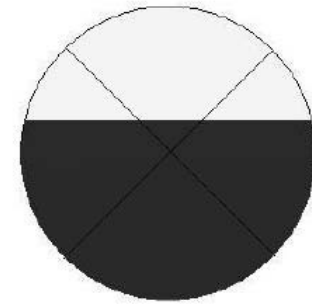
Abbého refraktometr



1 – špatně



2 – správně



3 – špatně

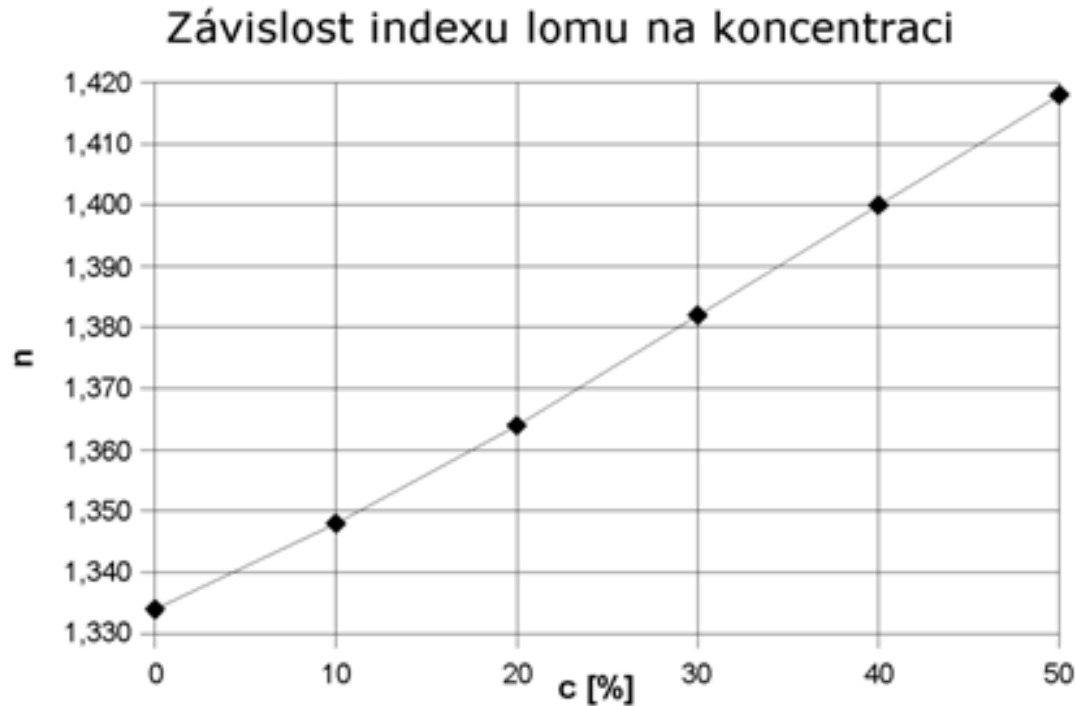
- Určení rozhraní – stupnice n
- Ostrost – disperze – mono x polychromatické světlo

Podmínky a parametry

- Vliv T , většinou nepřímá závislost – vliv ρ – teplota
- Vliv tlaku, skupenství
- Vliv λ , 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 ⁻¹)	
	H ($\lambda = 656,3$ nm)	D ($\lambda = 589,3$ nm)
CH ₂	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