Numer pary	Imię i nazwisko	Wydział rok grupa
data	Nazwisko prowadzącego	Uwagi | Zaliczenie

F17. Wyznaczanie stężenia białka w roztworach wodnych za pomocą refraktometru Abbego

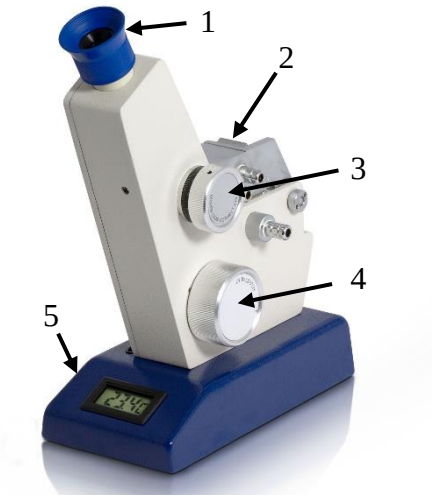
Zagadnienia.
Zjawisko załamania światła na granicy dwóch środowisk. Względny i bezwzględny współczynnik załamania światła. Zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia, rysunek. Kąt graniczny, wzór.

Literatura
Przestalski Rozdział II.4. Fale elektromagnetyczne; Optyka falowa; **Bobrowski** Rozdział 5.1; 5.2.

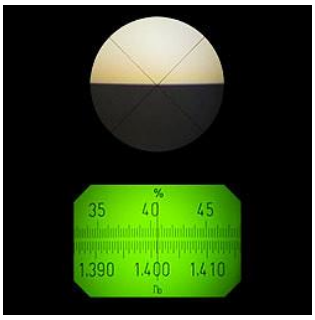
Przyrządy i materiały: refraktometr Abbego (Rys.1), lampa sodowa, roztwór badanego związku, probówki szklane, pipeta automatyczna.

Przebieg pomiarów:

1. Włączamy do sieci zasilacz lampy sodowej wbudowanej w górny pryzmat (2) refraktometru (rys.1).
2. Odchylamy górny pryzmat refraktometru, przemywamy pryzmaty wodą destylowaną i delikatnie wycieramy ręcznikiem papierowym.
3. Na dolny pryzmat nanosimy cienką warstwę wody tak, aby pokrywała całkowicie jego powierzchnię. Po opuszczeniu górnego pryzmatu i zablokowaniu go pokrętłem LOCK, znajdującym się po lewej stronie obudowy, usuwamy ręcznikiem papierowym nadmiar wypływającej wody.
4. Ustawiamy okular tak, aby zobaczyć ostry obraz krzyża pajęczego i skali. Skala jest podwójna (rys.2); w dolnej części podane są wartości współczynników załamania, które odczytujemy, natomiast w górnej części podane są wartości stężenia dla wodnych roztworów sacharozy, które nie dotyczą niniejszego ćwiczenia.
5. Obserwujemy obraz w polu widzenia okularu. Pole powinno być podzielone na część jasną i ciemną. Ewentualne rozszczepienie barwne niwelujemy pokrętłem (3) DISPERSION CORRECTION znajdującym się po prawej stronie obudowy przyrządu.
6. Obracając pokrętłem (4) ADJUSTMENT przesuwamy linię graniczną pomiędzy polami jasnym i ciemnym dokładnie na środek krzyża pajęczego (rys.2).



Rys.1. Refraktometr Abbego: 1 – okular ze skalą; 2 – pryzmat górny oświetlający, 3 – pokrętło korekcji dyspersji, 4 – pokrętło nastawcze, 5 – termometr.



Rys.2. Pole widzenia w okularze refraktometru Abbego.

7. W takim ustawieniu, na dolnej skali w polu widzenia okularu, odczytujemy wartość współczynnika załamania światła dla wody.

   $\mathbf{n_w}$ = ...

8. **Zapoznaj się z instrukcją użycia pipety automatycznej** i przygotuj roztwory białka:
   1) Opisz probówki (obj. 7 ml) numerami 1 – 6.
   2) Zgodnie z opisem podanym w Tabeli 1 rozcieńcz wzorcowy roztwór białka i przygotuj roztwory o stężeniach 0, 20, 40, 60, 80 i 100 mg/ml, po 1 cm^3 z każdego.
   3) Po przygotowaniu roztworów zawartość każdej probówki dobrze wymieszaj.

Tabela 1.

Nr	woda destylowana [µl]	wzorcowy roztwór białka [µl]	końcowe stężenie białka c [mg/ml]
1.	1000	0	0
2.	800	200	20
3.	600	400	40
4.	400	600	60
5.	200	800	80
6.	0	1000	100

9. Następnie przeprowadź pomiary współczynnika załamania światła **n** dla przygotowanych roztworów. Każdy pomiar rozpoczynamy od usunięcia poprzedniego roztworu i wytarcia pryzmatów do sucha. Na powierzchnie dolnego pryzmatu nakładaj 2-3 krople badanego roztworu. Wyniki wpisz do **Tabeli 2**.
10. Przygotuj dwa nieznane stężenia c_x i c_y poprzez dodanie do już zmierzonych dwóch próbek pewnej ilości rozpuszczalnika i dokonaj pomiaru współczynnika załamania.

Tabela 2. Współczynniki załamania światła **n** oraz stężenia **c** badanych roztworów

	1	2	3	4	5	6	c_x	c_y
Stężenie, **c**								
Współczynnik załamania, **n**								

<u>Opracowanie wyników i obliczanie błędu pomiarowego:</u>

1. Korzystając z danych z Tabeli 2 przedstaw graficznie zależność **n= f(c)** (na wykresie zaznacz także $\mathbf{n_w}$) i na podstawie otrzymanej prostej odczytaj nieznane wartości stężenia $\mathbf{c_x}$ i $\mathbf{c_y}$. Wpisz ich wartości do Tabeli 2.
2. Korzystając z programu Regresja Liniowa odczytaj parametry prostej **a** i **b** wraz z ich błędami pomiarowymi **Δa** oraz **Δb**

   a = **Δa** = ; **b** = **Δb** =
3. Po przeprowadzeniu procedury zaokrąglenia wyników napisz zestawienie uzyskanych parametrów **a** i **b** wraz z ich błędami.

   a = ; **b** =
4. Uzupełnij równanie (1) opisujące zależność współczynnika załamania światła roztworu od stężenia badanej substancji.

   $$\mathbf{n} = \underset{(a)}{\ldots\ldots\ldots\ldots} \times \mathbf{c} + \underset{(b)}{\ldots\ldots\ldots} \qquad (1)$$
5. Korzystając z danych z Tabeli 2 dla nieznanych stężeń oraz wzoru (1) oblicz stężenia $\mathbf{c_x}$ i $\mathbf{c_y}$.

   $\mathbf{c_x}$ = [mg/ml]; $\mathbf{c_y}$ = [mg/ml]
6. Zapisz wnioski wynikające z przeprowadzonego doświadczenia.