

Nr pary	Imię i nazwisko studenta	Wydział kierunek grupa
Data	Imię i nazwisko prowadzącego	Zaliczenie

W9. Wyznaczanie stężenia białka metodą refraktometryczną

Celem ćwiczenia jest poznanie zjawiska załamania światła zachodzącego na granicy dwóch ośrodków przezroczystych.

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; **symulacja** bendig light.jar

Prawo załamania światła (prawo Snelliusa)

Stosunek sinusa kąta padania do sinusa kąta załamania jest dla danych dwóch ośrodków wartością stałą, równą stosunkowi bezwzględnych współczynników załamania światła n_2 do n_1 , czyli **względny współczynnikowi załamania światła** drugiego ośrodka względem pierwszego. Jest on także równy stosunkowi prędkości światła w ośrodku, z którego wychodzi (v_1) do prędkości światła w ośrodku, do którego światło wchodzi (v_2):

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{n_2}{n_1} = n_{2,1} = \frac{v_1}{v_2} \quad (1)$$

Promień padający, normalna w punkcie padania oraz promień załamany leżą w jednej płaszczyźnie.

Bezwzględny współczynnik załamania światła n definiujemy jako stosunek prędkości światła w próżni c do prędkości światła w danym ośrodku v :

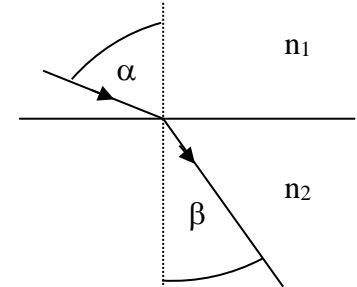
$$n = \frac{c}{v} \quad (2)$$

W sytuacji, gdy światło przechodzi z ośrodka gęstszego do rzadszego optycznie, istnieje - w środowisku gęstszym - taki kąt padania, zwany **kątem granicznym (α_{gr})**, któremu – w środowisku rzadszym – odpowiada kąt załamania równy 90° .

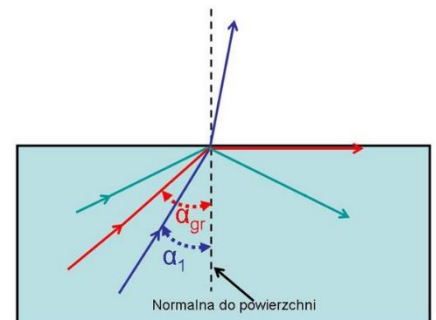
Ze względu na zasadę odwracalności biegu promienia świetlnego można, korzystając z (1) napisać:

$$n_{2,1} = \frac{\sin 90^\circ}{\sin \alpha_{gr}} = \frac{1}{\sin \alpha_{gr}} \quad (3).$$

Dla kątów padania większych od kąta granicznego obserwujemy **zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia** („całkowitego”, gdyż w promieniu odbitym zawiera się cała energia promienia padającego). Korzystając z równania (3) można w prosty sposób znaleźć współczynnik załamania światła $n_{2,1}$ wyznaczając doświadczalnie kąt graniczny α_{gr} . Na tej zasadzie oparta jest budowa refraktometrów.



Rys.1



Promień padający na powierzchnię graniczną pod kątem α_1 zostaje załamany i przechodzi do środowiska optycznie rzadszego. **Promień padający pod kątem granicznym α_{gr}** śliska się po powierzchni granicznej. **Promień** padający pod kątem większym od kąta granicznego zostaje odbity od powierzchni granicznej i pozostaje w środowisku optycznie gęstszym.

Wykonanie ćwiczenia

Przyrządy: refraktometr Abbego, lampa oświetlająca, zestaw probówek, pipeta automatyczna, wzorcowy roztwór albuminy (100mg/ml), badane roztwory albuminy, woda destylowana.

I. Przygotowanie roztworów

1. Opisać probówki (obj. 7 ml) numerami 1 – 6.
2. Rozcieńczając wzorcowy roztwór białka przygotować po 1 cm³ roztwory o stężeniach 0, 20, 40, 60, 80 oraz 100 mg/ml zgodnie z opisem podanym w Tabeli 1.
3. Po przygotowaniu roztworów zawartość każdej probówki dobrze wymieszać.

Tabela 1.

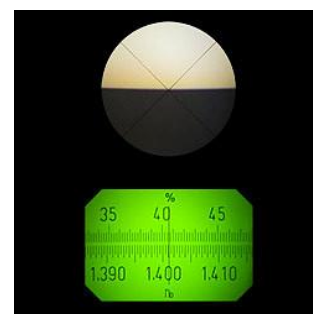
Nr	woda destylowana [μ l]	wzorcowy roztwór białka [μ l]	końcowe stężenie białka c [mg/ml]
1.	1000	0	0
2.	800	200	20
3.	600	400	40
4.	400	600	60
5.	200	800	80
6.	0	1000	100

II. Wyznaczanie stężenia białka

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 наносimy cienką warstwę wody tak, aby pokrywała całkowicie jego powierzchnię. Po opuszczeniu górnego pryzmatu i zablokowaniu go pokrętkiem 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 pokrętkiem (3) DISPERSION CORRECTION znajdującym się po prawej stronie obudowy przyrządu.
6. Obracając pokrętkiem (4) ADJUSTMENT przesuwamy linię graniczną pomiędzy polami jasnym i ciemnym dokładnie na środek krzyża pajęczego (rys.2).
7. W takim ustawieniu, na dolnej skali w polu widzenia okularu, odczytujemy wartość współczynnika załamania światła dla wody n_0 .
8. Następnie przeprowadź pomiary współczynnika załamania światła n dla przygotowanych roztworów. Pomiary należy rozpocząć od roztworu o najniższym stężeniu. Każdy pomiar rozpoczynamy od usunięcia poprzedniego roztworu i wytarcia pryzmatów do sucha. Wyniki wpisz do Tabeli 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.

9. Przygotuj dwa nieznanne stężenia c_x i c_y poprzez dodanie do już zmierzonych dwóch próbek pewnej ilości rozpuszczalnika i dokonaj pomiaru współczynnika załamania.

UWAGA: Pamiętaj, by przed zamknięciem przyzmatów usunąć wszystkie pęcherzyki powietrza!

Tabela 2. Wyniki pomiarów współczynnika załamania światła

l.p.	c [mg/ml]	n	c_x [mg/ml]	c_y [mg/ml]
1.	0	$n_0 =$	odczytane z wykresu: ----- mg/ml	odczytane z wykresu: ----- mg/ml
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.	c_x	$n_x =$	obliczone ze wzoru:	obliczone ze wzoru:
8.	c_y	$n_y =$	----- mg/ml	----- mg/ml

$$\Delta n = \Delta n_0 =$$

Opracowanie wyników

- Na podstawie przeprowadzonych pomiarów wykonaj wykres zależności $n = f(c)$ (na wykresie zaznacz także n_0) i na podstawie otrzymanej prostej odczytaj nieznanne wartości stężenia c_x i c_y .
- Korzystając z programu komputerowego Regresja Liniowa oblicz współczynnik kierunkowy otrzymanej prostej oraz jej błąd:

$$a =$$

$$\Delta a =$$

- Wyznacz wartości nieznanego stężenia białka: c_x oraz c_y analitycznie, korzystając ze wzorów:

$$n_x = a \cdot c_x + n_0$$

$$n_y = a \cdot c_y + n_0$$

- Przeprowadź rachunek błęd pomiarowego dla nieznanego stężenia c_x – metodą różniczki zupełnej według podanego poniżej wzoru :

$$\Delta c_x = \left| \frac{1}{\delta} \right| \Delta n + \left| \frac{-1}{\delta} \right| \Delta n_0 + \left| \frac{n_x - n_0}{\delta^2} \right| \Delta \delta$$

gdzie za δ i $\Delta \delta$ przyjmujemy wartość uzyskaną z obliczeń odpowiednio a i Δa

- Po zaokrągleniu błędów napisz zestawienie wyników dla nieznanego stężenia c_x

$$c_x = \quad [\quad]$$