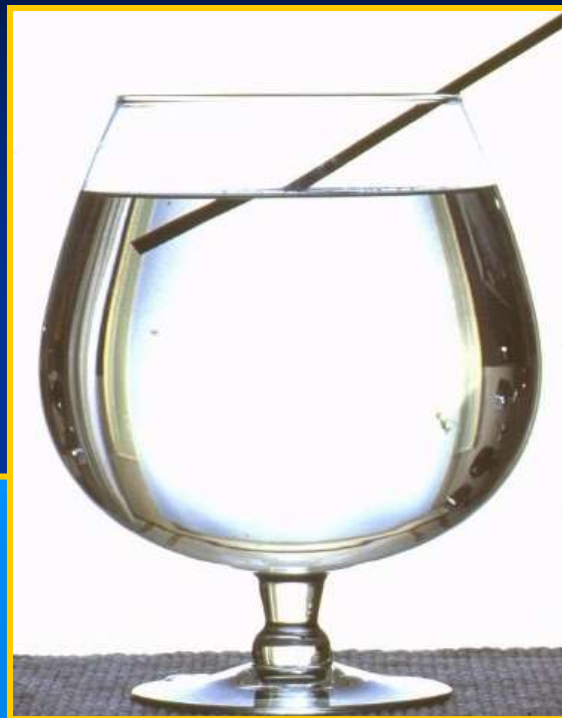


# CZEŚĆ I

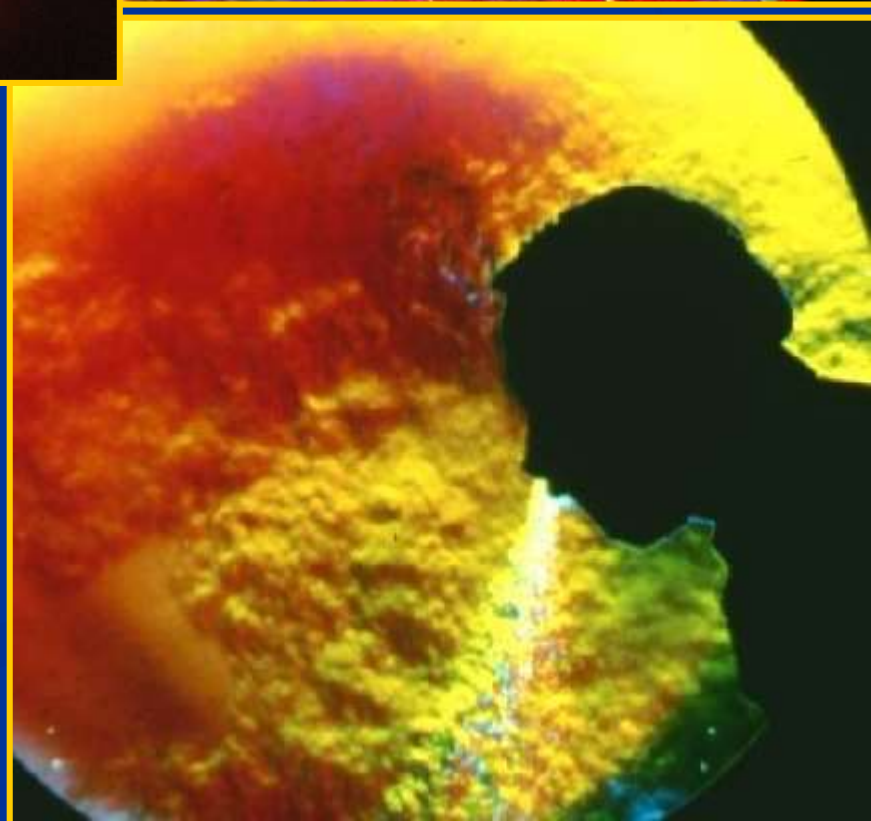
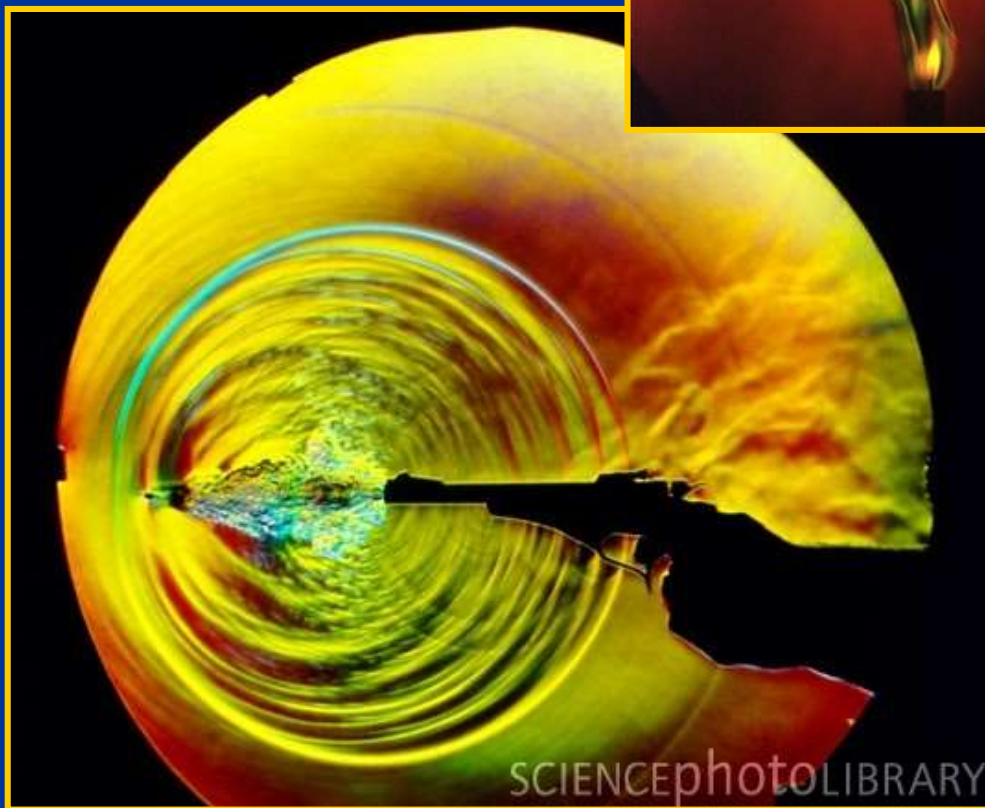
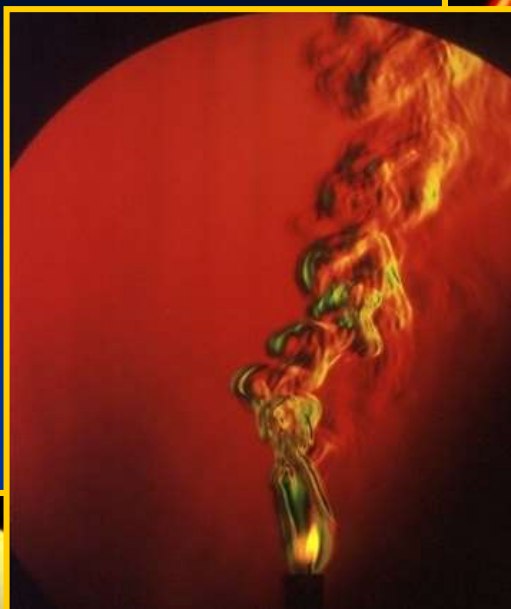
## POZOSTAŁE METODY OPTYCZNE

- Refraktometria
- Polarymetria
- Nefelometria i turbidymetria

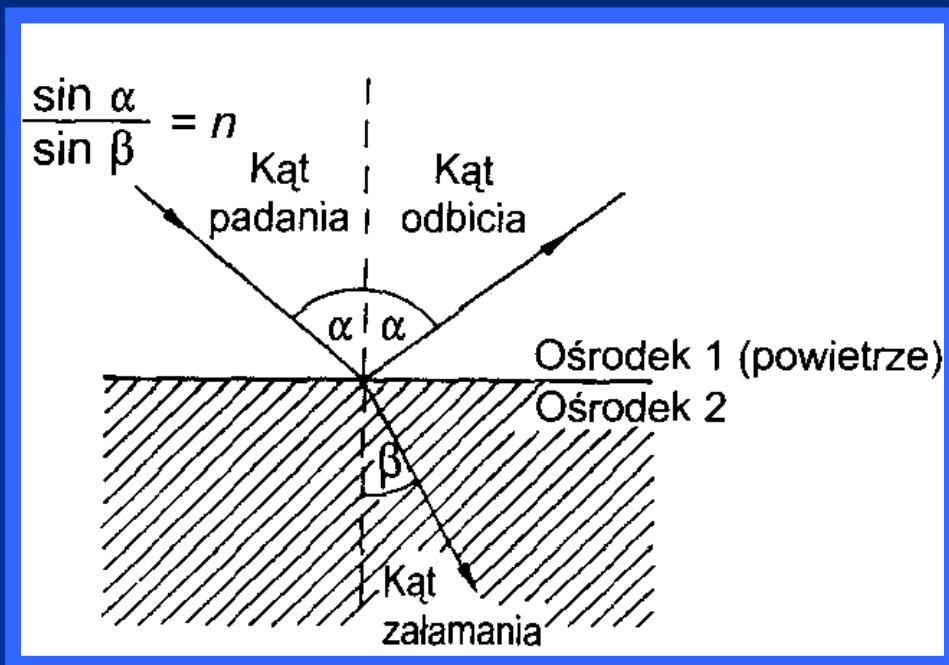
Jaką wspólną cechę przedstawiają poniższe obrazki?



Jaką wspólną cechę  
przedstawiają poniższe  
obrazki?



# REFRAKTOMETRIA



$$n_{12} = \frac{\sin \beta}{\sin \alpha} \quad n_{21} = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$$

$n_{12}$  - współczynnik załamania ośrodka pierwszego względem drugiego.

$$n_{12} \cdot n_{21} = 1$$

$v_1$  - prędkość światła w ośrodku 1,  
 $v_2$  - prędkość światła w ośrodku 2

$$n_{21} = \frac{v_1}{v_2}$$

Wartości współczynników załamania światła substancji przy świetle sodowym ( $\lambda=589,3$  nm) zmierzone względem powietrza pod ciśnieniem normalnym (1013 hPa) w temp. 20°C

Substancja	$[n]_D^{20}$	Substancja	$[n]_D^{20}$
Woda	1,332988	Sól kuchenna	1,544258
Etanol	1,6317	Jodek metylenu	1,742
Szkło kwarcowe	1,4584	Diament	2,4173

## Prawa Snelliusa (1626):

1. promień padający, odbity i załamany leżą w jednej płaszczyźnie;
  2.  $\alpha = \beta$ ;
  3. stosunek sinusa kąta padania do stosunku kąta załamania jest stały dla danej pary ośrodków; zwany jest współrzędną załamania lub refrakcją  $n$ .
- gdy  $\beta < \alpha$  to ośrodek II nazywa się ośrodkiem optycznie gęstszym niż I, w przeciwnym wypadku- optycznie rzadszym.

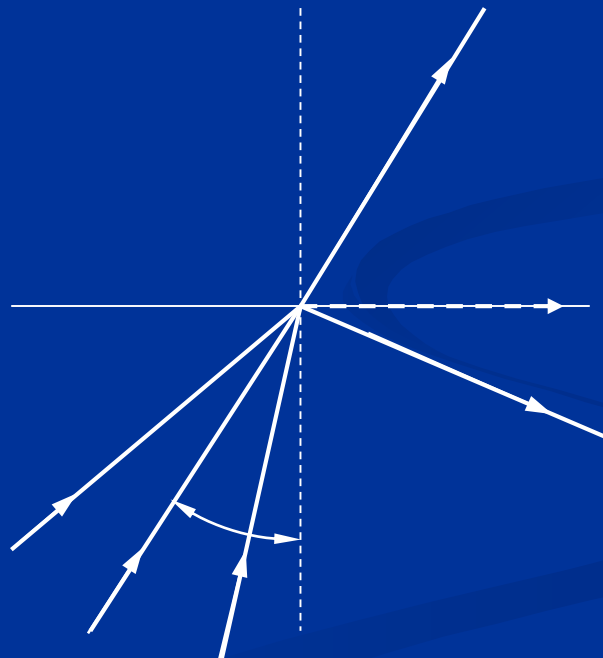
## Kąt graniczny

Kąt graniczny: gdy kąt załamania przy  $\alpha = 90^\circ$ .

$$n_{21} = \frac{\sin 90^\circ}{\sin \beta_{gran.}}$$

$$n_{21} = \frac{1}{\sin \beta_{gran.}}$$

$$n_1 = n_2 \cdot \sin \beta_{gran.}$$



## Dyspersja

Dyspersja światła  $n_1 - n_2$  – różnica pomiędzy współrzędnymi załamania dla dwóch różnych długości fal  $\lambda_1, \lambda_2$ .

dyspersja średnia

$$n_F - n_C$$

dyspersja względna

$$\frac{n_F - n_C}{n_D - 1}$$

dyspersja właściwa

$$\frac{n_F - n_C}{d}$$

d- gęstość cieczy

Najczęstsze długości fal stosowane do wyznaczania współrzędnych załamania.

W laboratorium najczęściej stosuje się linię D, a wyznaczone współrzędne załamania-  $n_D$ .

Pierwiastek	Symbol linii	Długość fali
Ca	(H)	396.8 nm
Ca	(G)	430.8 nm
H <sub>B</sub>	(F)	486.1 nm
He	(E)	581.6 nm
Na	(D)	589.3 nm
H <sub>α</sub>	(C)	656.3 nm
I <sub>α</sub>	(A)	769.9 nm

Współrzędne załamania zależą od temperatury – dla cieczy wynosi  $\Delta T = 1^\circ\text{C}$  zmniejsza współrzędne załamania o ok.  $4 \cdot 10^{-4}$ , natomiast dla szkła zwiększa o ok.  $2 \cdot 10^{-4}$ .

$$\frac{d_u}{d_t} = -4 \cdot 10^{-4} \quad \text{dla cieczy}$$

$$\frac{d_u}{d_t} = +2 \cdot 10^{-4} \quad \text{dla szkła}$$

standardem jest  $20^\circ\text{C} \rightarrow n_D^{20}$



## Refrakcja

Wartości refrakcji molowych niektórych związków chemicznych w temperaturze 20°C


Związek chemiczny	Refrakcja [ml]	Związek chemiczny	Refrakcja [ml]
Woda	3,75	Kwas octowy	12,99
Aceton	16,15	Tetrachlorek węgla	26,51
Etanol	12,78	Benzen	26,14

$$R_M = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 1} \cdot \frac{M}{d}$$

$$R_M = \sum \chi R_a$$

$\chi$  - liczba atomów albo wiązań w danej cząsteczce,  
 $R_a$  - refrakcja atomowa

# POZOSTAŁE METODY OPTYCZNE - REFRAKTOMETRIA

	$n_D^{20}$	$R_a$ [cm <sup>3</sup> ]		$n_D^{20}$	$R_a$ [cm <sup>3</sup> ]
woda	1.33	3.75	kw. octowy	1.37	12.99
aceton	1.36	16.15	CCl <sub>4</sub>	1.46	26.51
etanol	1.36	12.78	C <sub>6</sub> H <sub>6</sub>	1.50	26.14
		$R_a$			$R_a$
— C —		2.418	C = O		2.211
— H		1.1	— O —		1.521
— Cl		5.967			5.2
— Br		8.865	— C = C —		1.733
— J		13.9	— C ≡ C —		2.336

Każdy typ wiązania wnosi swój układ do  $R_M$ ;  $U_p$  dla kwasu propionowego  $C_2H_5COOH$ :

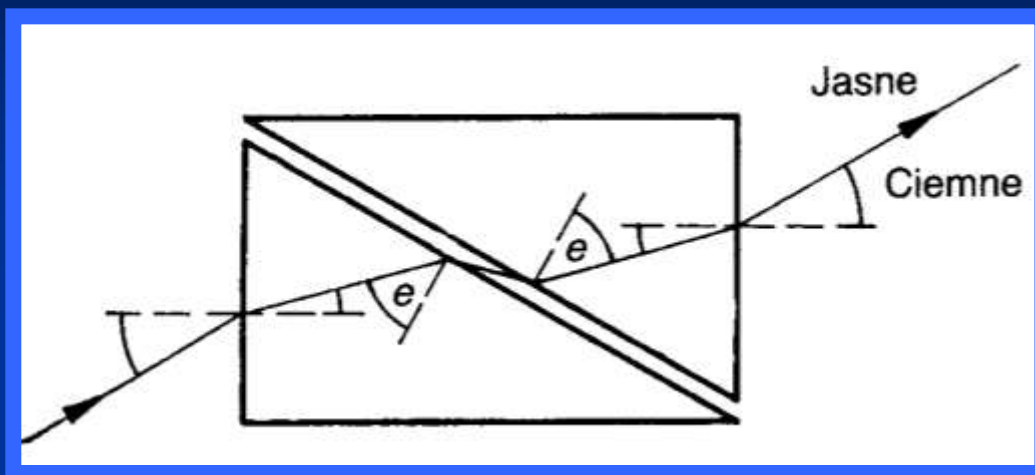
-refrakcja obliczona w temperaturze  $19.9^\circ C$ ,  
 $d = 0.9271$  i  $n_D^{19.9} = 1.38736$

$$R_M = 17.68 \text{ cm}^3;$$

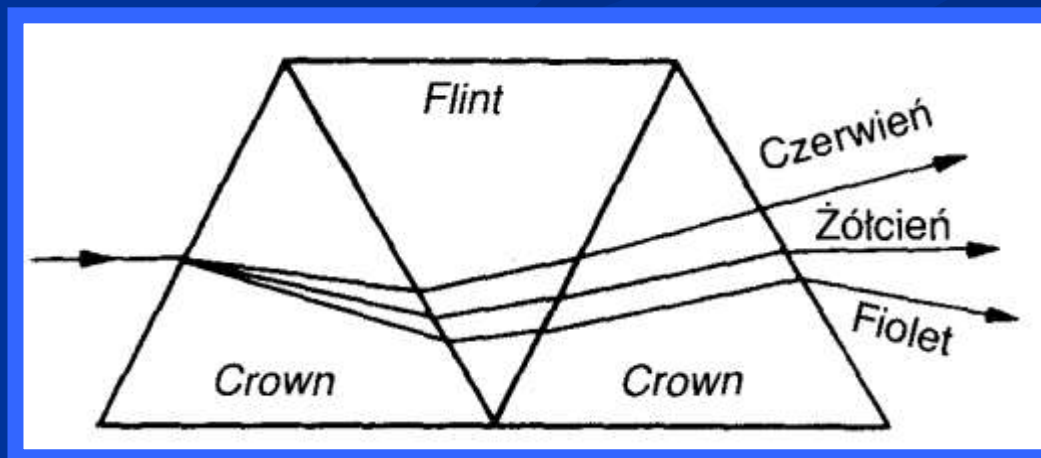
- natomiast obliczona na podstawie addytywności:

	$3R_C = 3 \cdot 2.412 = 7.254$
	$6R_H = 6 \cdot 1.1 = 6.600$
OH	$1R_O = 1 \cdot 1.521 = 1.521$
CO	$1R_O = 1 \cdot 2.215 = 2.211$
	<hr/>
	$17.586 \text{ cm}^3$

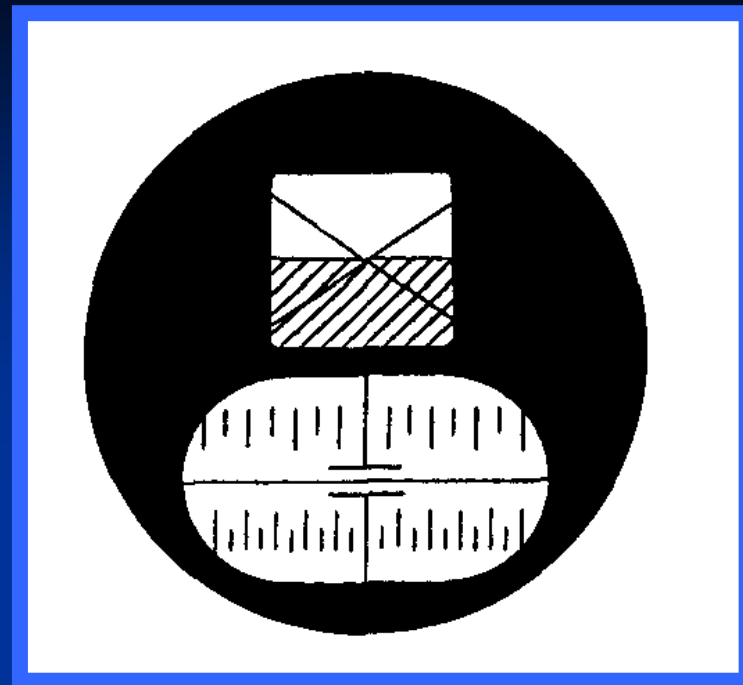
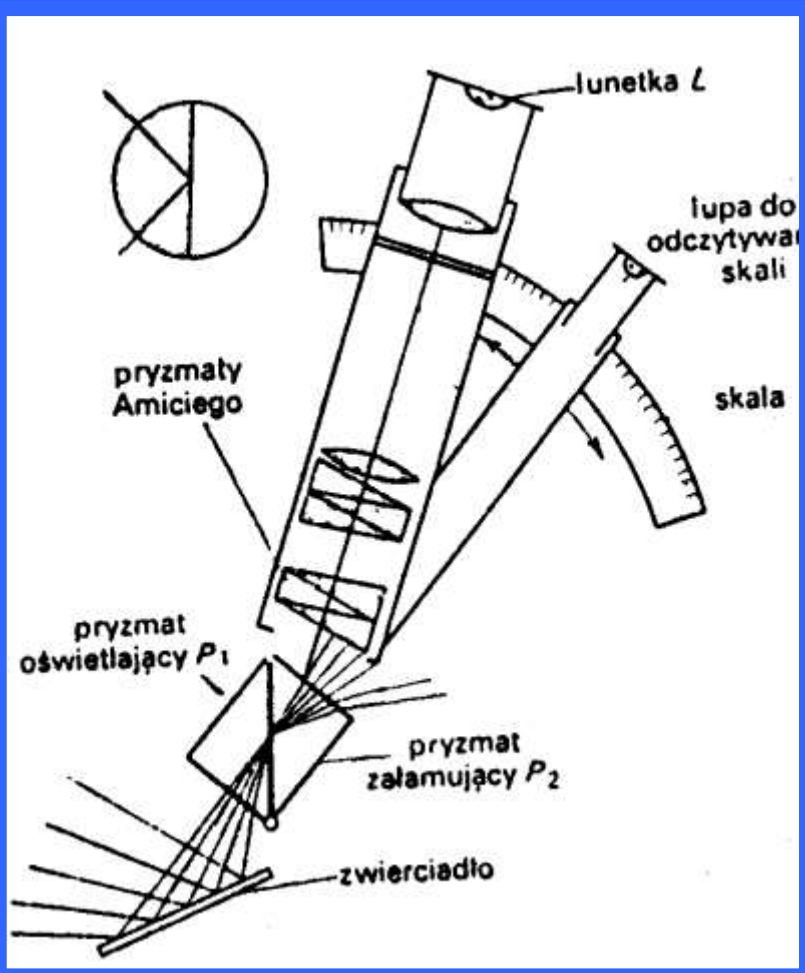
## Aparatura stosowana w refraktometrii



Bieg promieni w dwóch pryzmatach.



## Refraktometr Abbego

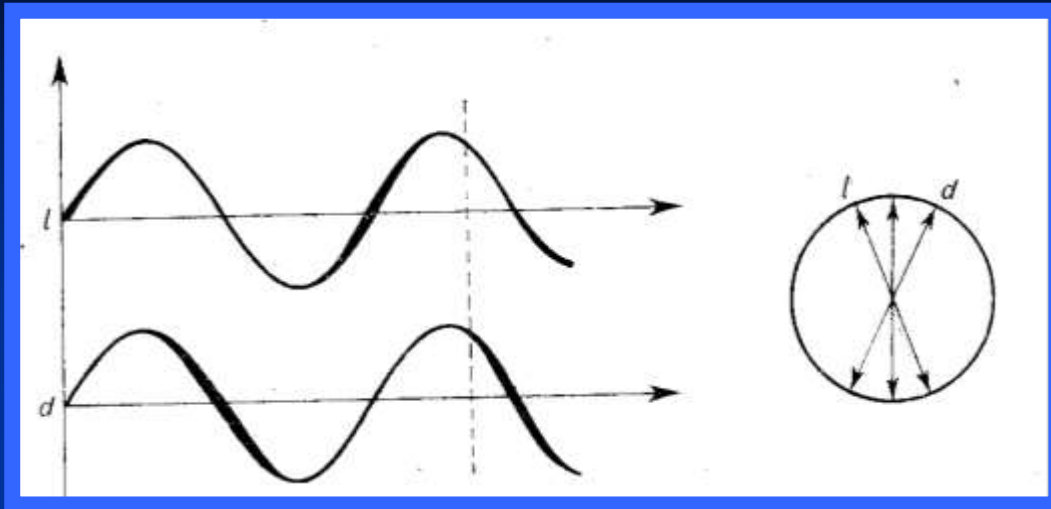


### Zastosowanie refrakcji do celów analitycznych

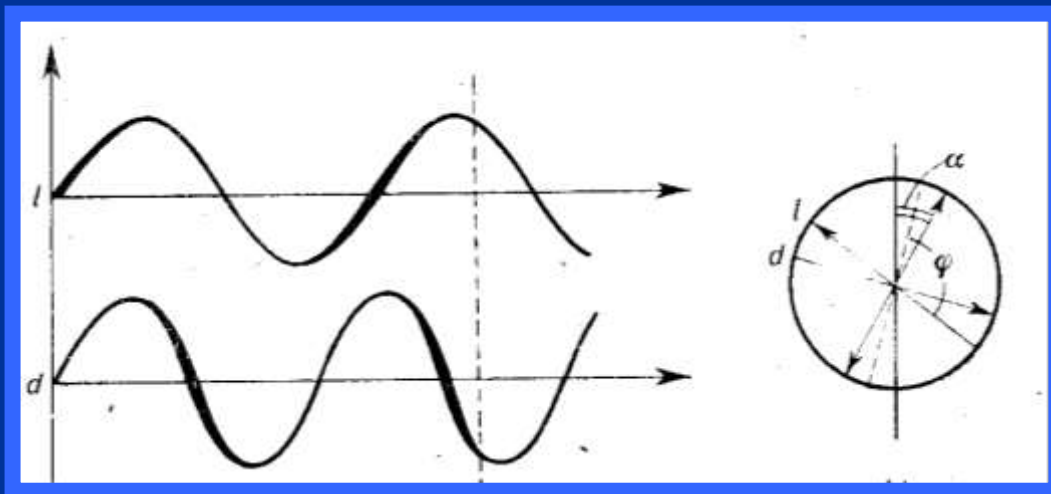
Wykorzystanie współrzędnych załamania:

- **analiza ilościowa** - krzywa wzorcowa  
rzadko linia prosta

- **analiza jakościowa** - zależność  
pomiędzy gęstością  $d$  i masą  
cząsteczkową  $M$  a współrzędne załamania  
u określa refrakcja molowa  $R_M$

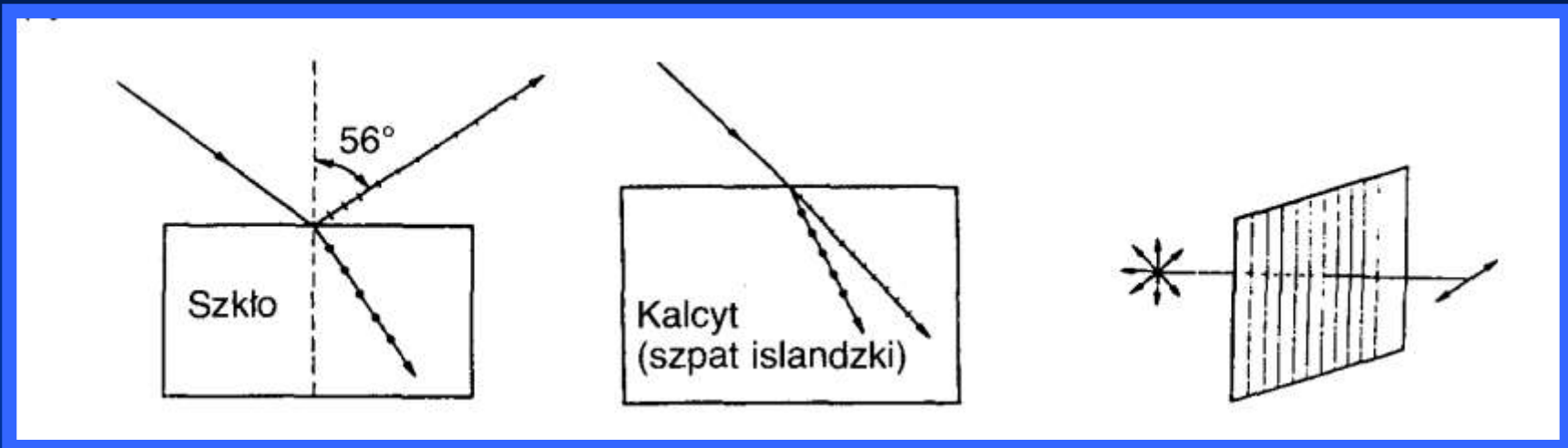


Dwa spójne, kołowo spolaryzowane promienie o przeciwnym kierunku obrotu



Powstanie różnicy faz dla dwu promieni spolaryzowanych kołowo w lewo i prawo po przejściu przez roztwór optycznie czynny

## Czynniki polaryzujące światło:

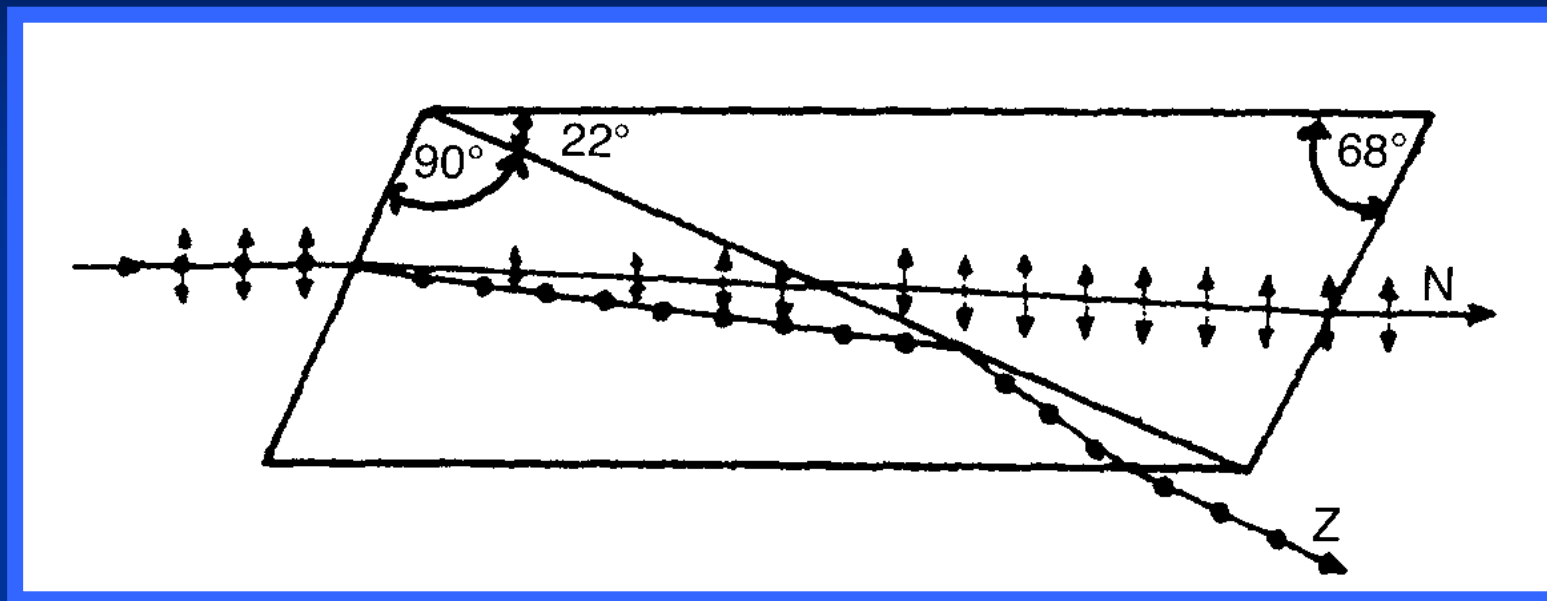


**odbicie** światła od powierzchni pod kątem Brewstera, kąt całkowitej polaryzacji, np. względem wody ok.  $53^\circ$ , natomiast szkła ok.  $56^\circ$

**dwójłomność**, (np. szpat islandzkiego  $\text{CaCO}_3$  - zjawisko polegające na tym, że promień światła niespolaryzowanego padający na pewne substancje anizotropowe (np. minerał kalcyt, zwany szpatem islandzkim) rozdziela się na dwa promienie spolaryzowane w płaszczyznach wzajemnie prostopadłych

**dichroizm** - zjawisko różnego (wybiórczego) pochłaniania promienia zwyczajnego i nadzwyczajnego w ośrodku anizotropowym

## Pryzmat Nicola



Nikol składa się z dwóch pryzmatów kalcytu ( $\text{CaCO}_3$ ) oszlifowanych w taki sposób, aby kąt łamiący pryzmatu wynosił  $68^\circ$  i sklejonych w miejscu przecięcia wzdłuż osi balsamem kanadyjskim o współczynniku załamania  $n = 1,55$ .



## Stopień polaryzacji

$$S = \frac{I_{sp}}{I_{nsp} + I_{sp}} \cdot 100\%$$

## Czynność optyczna substancji

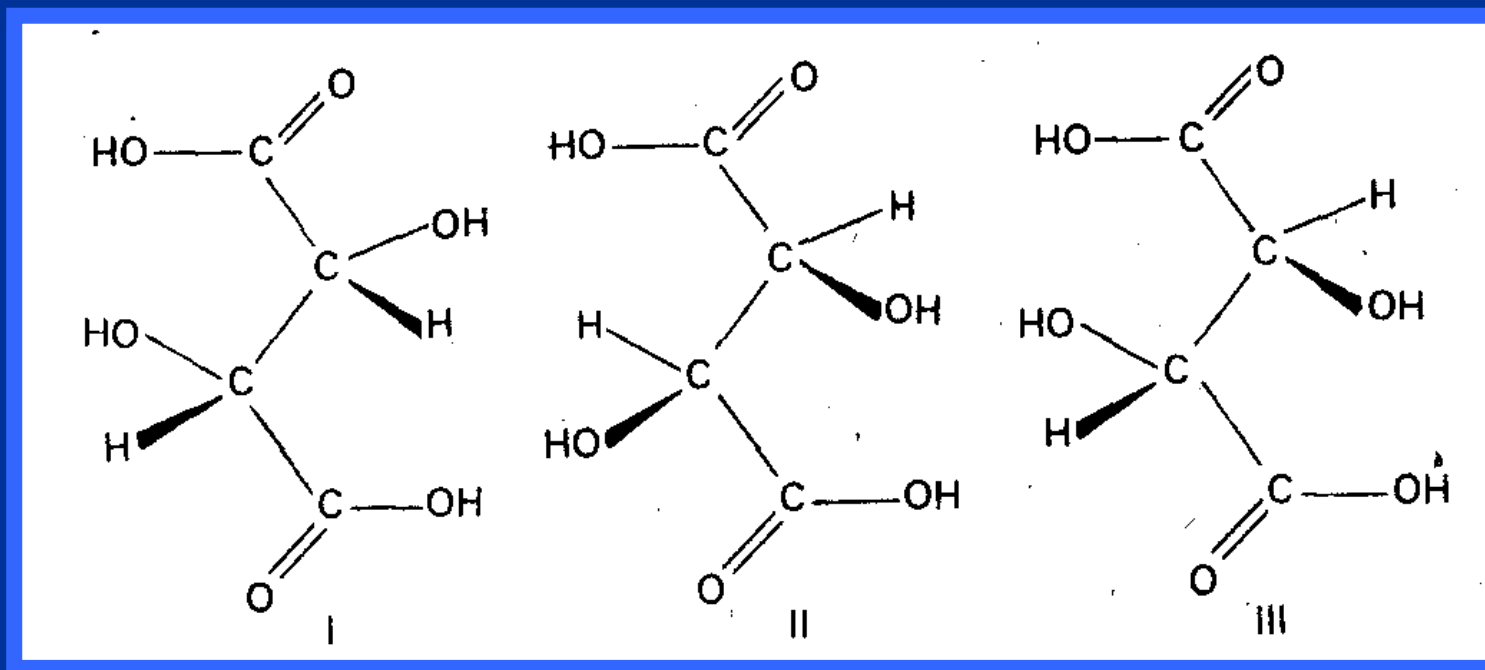
*Aktywność optyczna* substancji jest związana z budową przestrzenną jej cząsteczek.

## Najogólniejsza definicja czynności optycznej:

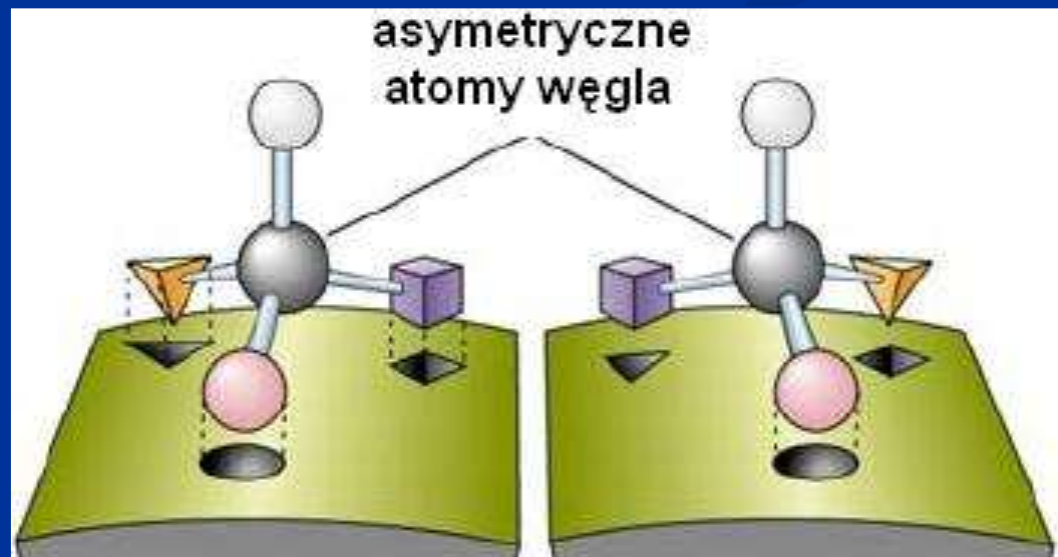
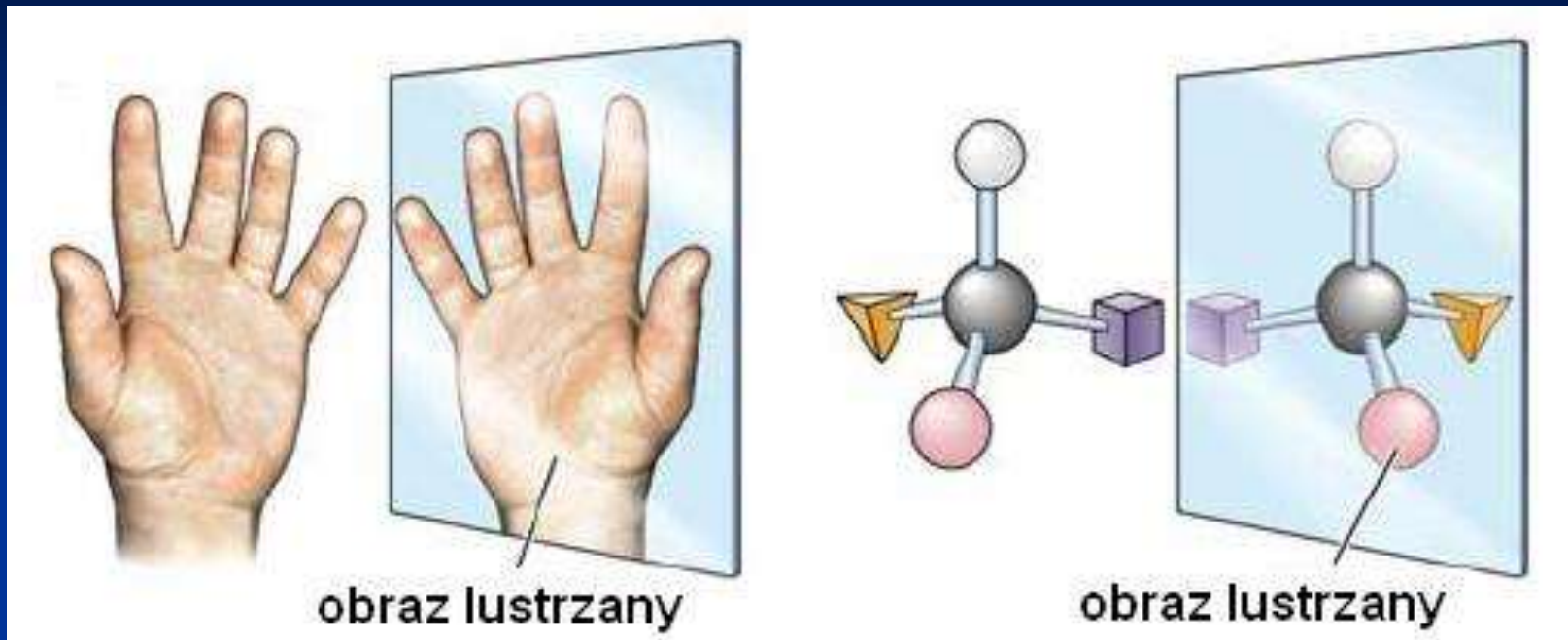
jeżeli cząsteczki danego związku nie mają elementów symetrii (tj. środka symetrii i płaszczyzny symetrii), są optycznie czynne.

Trzy stereoizomery kwasu winowego:

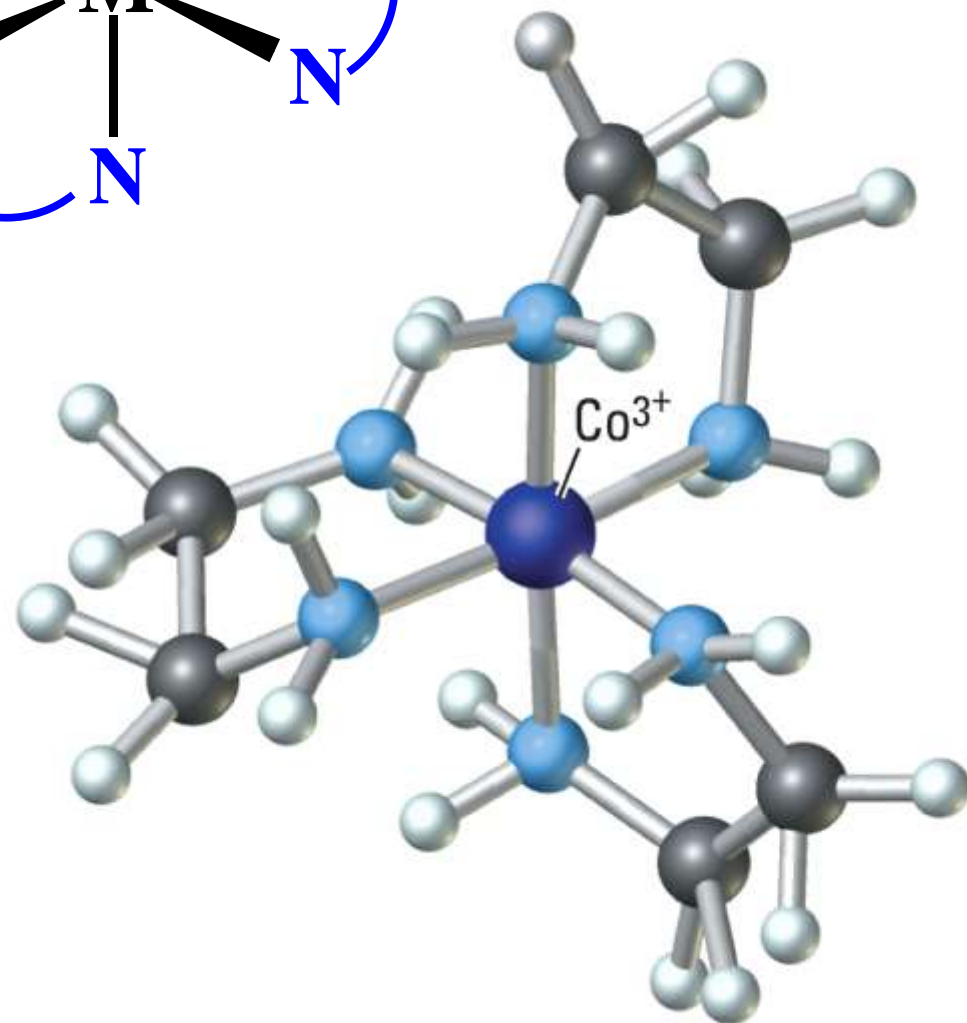
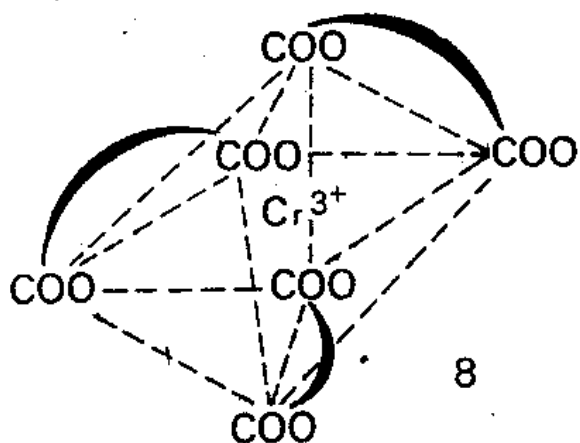
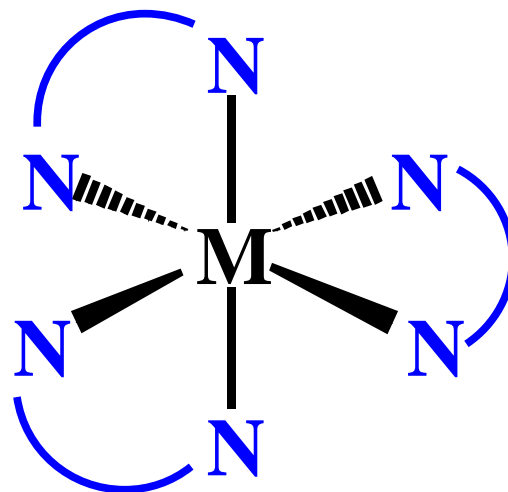
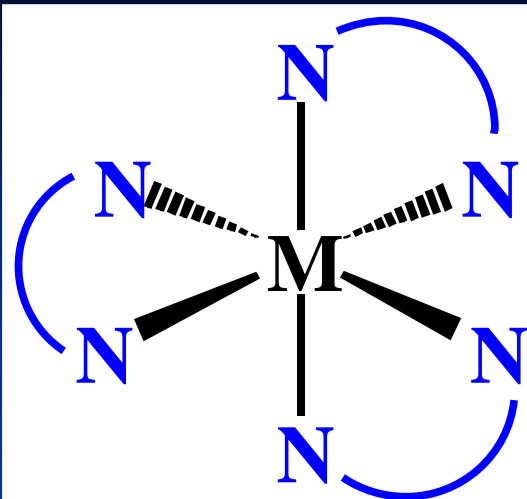
prawoskrętny (I), lewoskrętny (II) i optycznie nieczynny (III)



## Zjawisko czynności optycznej

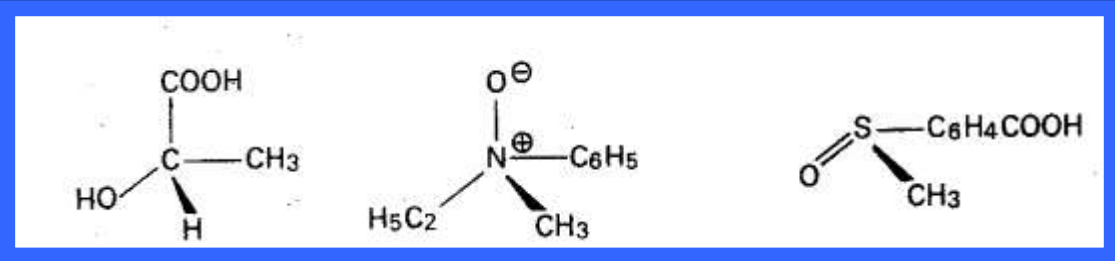


# POZOSTAŁE METODY OPTYCZNE - POLARYMETRIA

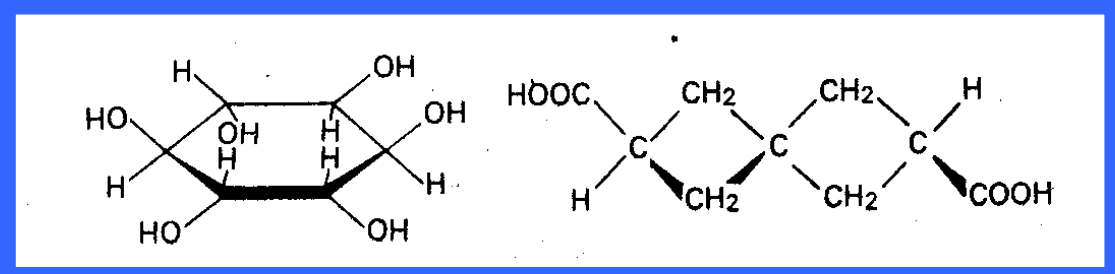


kompleks trójszczawianowy chromu  $Cr(III)$

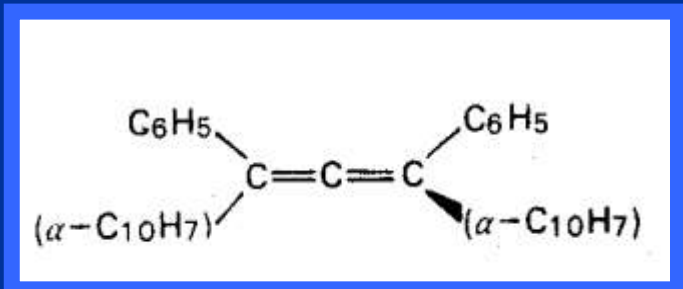
# POZOSTAŁE METODY OPTYCZNE - POLARYMETRIA



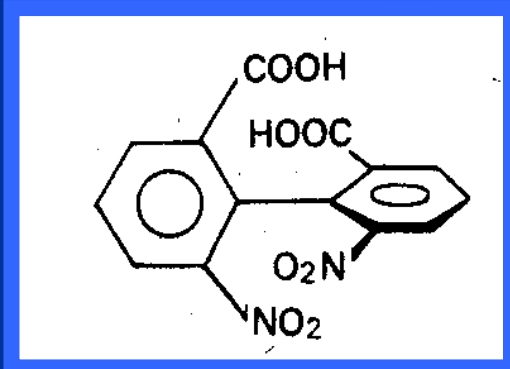
kwask mlekowy    aminotlenek    sulfotlenek



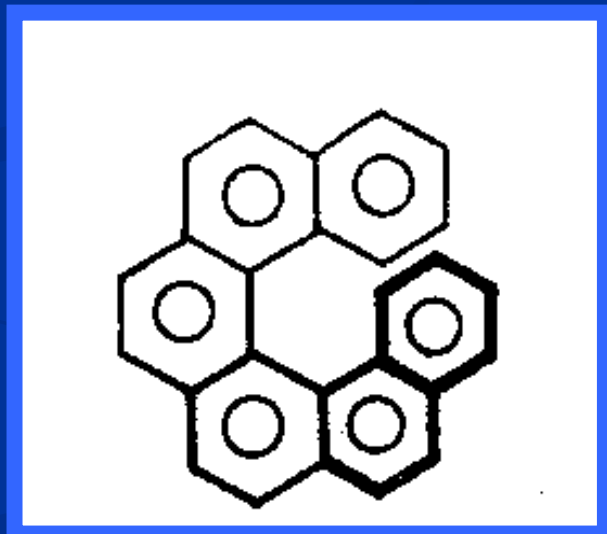
spiran allen



inozyt



atropoizomer



heksahelien

## Ilościowe określenie skręcalności

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot c} \cdot 100$$

### Skręcalność właściwa:

gdzie:

c - stężenie wyrażone w gramach na 100 ml roztworu,

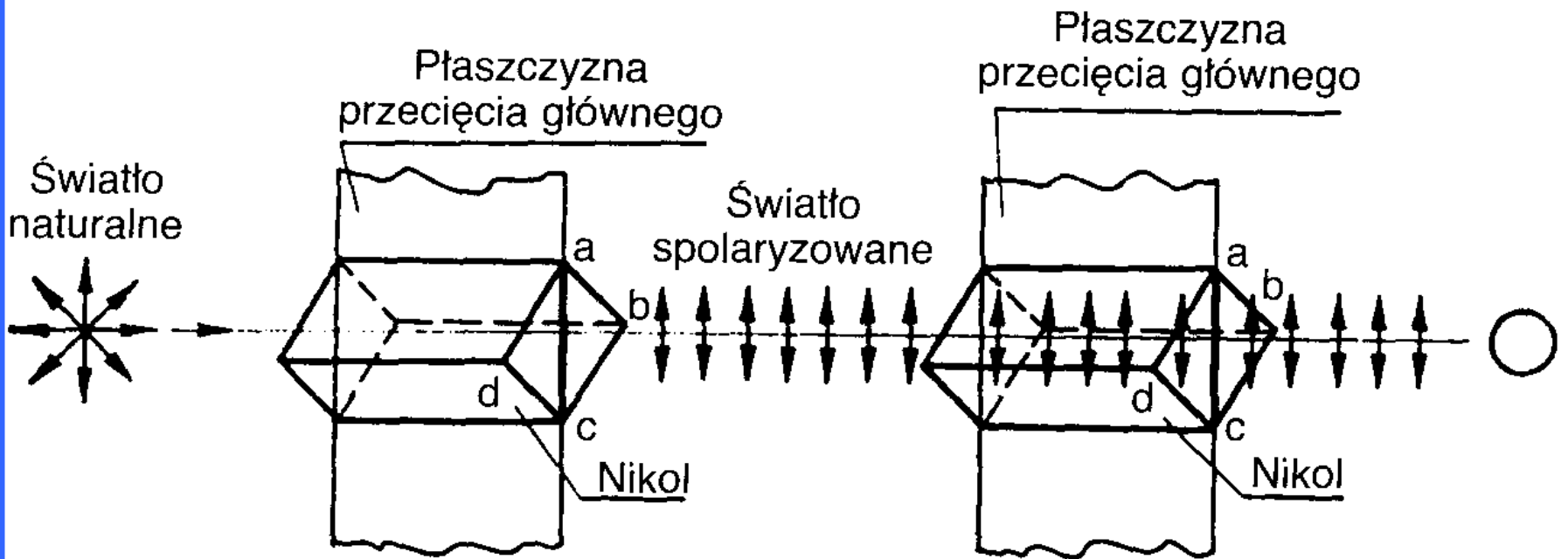
l - grubość warstwy roztworu w decymetrach.

### Skręcalność właściwa niektórych roztworów:

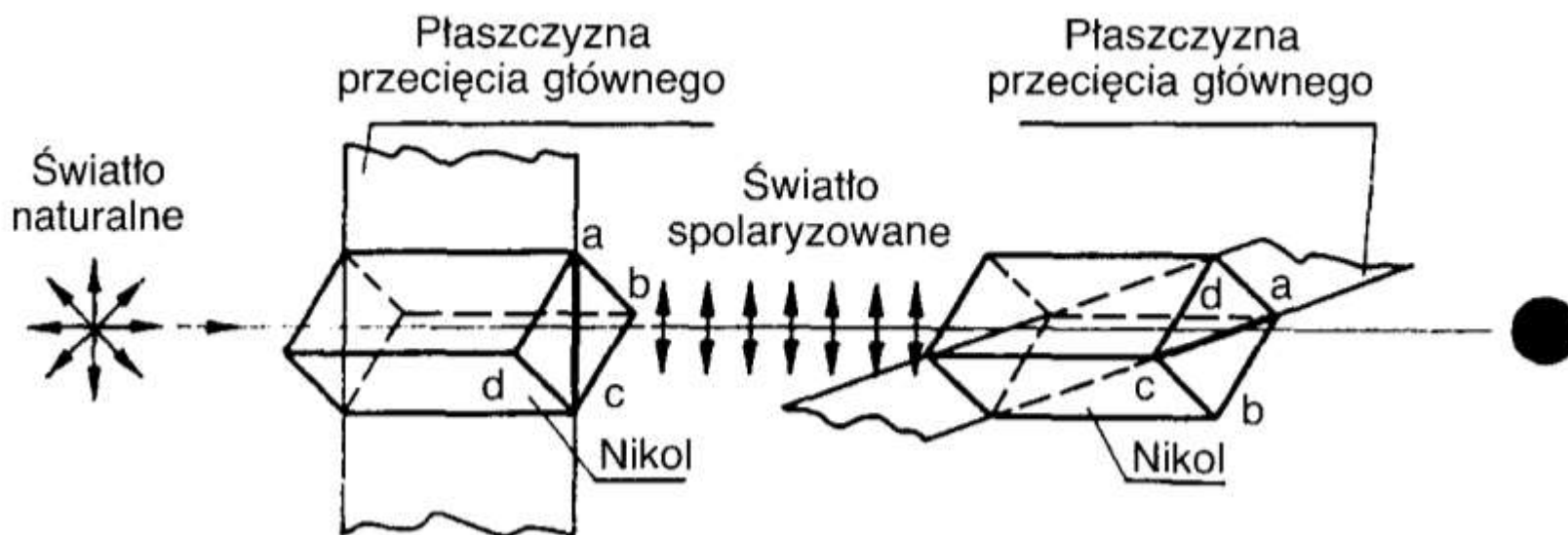
Substancja optycznie czynna	Roztwór %	Rozpuszczalnik	$[\alpha]_D^{20}$
Cholesterol	2	etanol 90%	od -28 do -31°
Kamfora naturalna prawoskrętna	10	etanol 95%	od +40 do +42°
Kamfora syntetyczna prawoskrętna	10	etanol 95%	od -32,5 do -42,5°
Kwas winowy	10	woda	+12°
Progesteron	2	dioksan	od +172 do +182°
Sacharoza	10	woda	od +66,25 do +66,75°

## Refraktometry

Nikole ustawione równoległe.

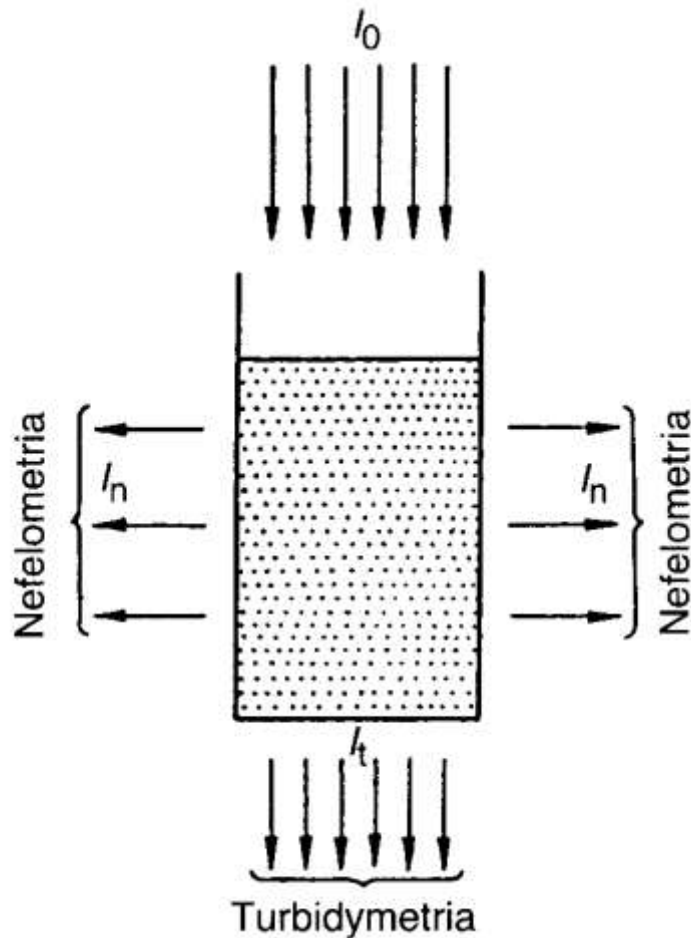


## Nikole skrzyżowane.





## NEFELOMETRIA I TURBIDYMETRIA



**Porównanie zasady pomiaru nefelometrycznego i turbidymetrycznego:**

$I_0$  - natężenie światła padającego

$I_r$  - natężenie światła rozproszonego

$I$  - natężenie światła przechodzącego

## Metoda nefelometryczna (tyndalometryczna)

oparta jest na zjawisku *rozpraszania światła* na cząstkach roztworów mętnych (zjawisko Tyndalla) i pomiarach natężenia światła rozproszonego pod kątem różnym od  $180^\circ$  w stosunku do wiązki padającej (najczęściej pod kątem  $45^\circ$  lub  $90^\circ$ ).

W układach koloidalnych średnice cząstek fazy rozproszonej są pośrednie między cząsteczkami roztworów rzeczywistych (ok.  $10^{-9}$ - $10^{-7}$  cm) a zawiesinami (średnice cząsteczek powyżej  $10^{-4}$  cm) i wahają się w granicach  $10^{-7}$  -  $10^{-4}$  cm.

Podstawową cechą układów koloidalnych jest właśnie rozproszenie koloidalne mające charakter pośredni między rozproszeniem cząsteczkowym a makroskopowym. Ponadto koloidy odróżnia *niejednorodność (heterogeniczność)*, gdyż każdy koloidalny układ składa się z fazy rozproszonej i rozpraszającej.

## Natężenie promieniowania rozproszonego

w warunkach pomiaru nefelometrycznego opisane jest następującym wzorem:

$$I_n = I_0 \left[ F \frac{Nv^2}{\lambda^4 r^2} (1 + \cos^2 \beta) \right]$$

$I_n$  - natężenie promieniowania rozproszonego,

$I_0$  - natężenie promieniowania padającego,

$N$  - ogólna liczba cząstek rozpraszających,

$v$  - objętość cząstki,

$r$  - odległość detektora,

$F$  - współczynnik proporcjonalności (zależy od współczynnika załamania światła przez fazę rozproszoną oraz przez ośrodek rozpraszający),

$\lambda$  - długość fali promieniowania padającego, ( $\beta$  - kąt między wiązką promieniowania padającego i rozproszonego).

Jeżeli wartość kąta ( $\beta = 90^\circ$ , wtedy powyższy wzór można uprościć:

$$I_n = I_0 \cdot F \frac{Nv^2}{\lambda^4 r^2}$$

$$I_n = I_0 \cdot N \cdot K = I_0 \cdot K \cdot c$$

**Wykorzystanie nefelometrii:**

$$\frac{I_{n,x}}{I_{n,w}} = \frac{c_x}{c_w}$$

$I_{n,x}$  - natężenie światła rozproszonego po przejściu przez badaną substancję,

$I_{n,w}$  - natężenie światła rozproszonego po przejściu przez substancję wzorcową,

$c_x$  - stężenie badanej substancji,

$c_w$  - stężenie substancji wzorcowej.

## Metoda turbidymetryczna

polega na pomiarze stosunku natężenia promieniowania padającego do natężenia promieniowania, które przeszło przez mętny ośrodek. Wykorzystane jest tu zjawisko zarówno absorpcji, jak i rozproszenia światła przez ośrodki o wymiarach cząstek powyżej 1 nm

## Turbidancja

(wartość rozproszenia) analogicznie do pojęcia absorbancji

$$S = \log \frac{I_0}{I_t} = k \frac{l \cdot c \cdot d^3}{d^4 + \beta \cdot \lambda^4} = k \cdot l \cdot c$$

$I_0$  - natężenie światła padającego,

$I_t$  - natężenie światła, które przeszło przez mętny roztwór,

$L$  - grubość warstwy,

$c$  - stężenie roztworu zawiesiny,

$d$  - średnia wartość przekroju cząstek,

$\lambda$  - długość fali światła padającego,

$k$  - współczynnik zależny od rodzaju zawiesiny i metody pomiaru,

$\beta$  - współczynnik zależny od metody pomiaru.

Powyższy wzór jest analogiczny do wzoru wynikającego z prawa Lamberta-Beera

## Wykorzystanie turbidymetrii:

Dla identycznych warunków pomiaru i tak samo przygotowanej zawiesiny i wzorca

$$\frac{S_x}{S_w} = \frac{c_x}{c_w}$$

$S_x$  - turbidancja badanej próbki,

$S_w$  - turbidancja wzorca,

$c_x$  - stężenie próbki,

$c_w$  - stężenie wzorca.

## Uwagi końcowe:

- ✓ Błąd oznaczenia stężeń na podstawie pomiaru zmętnienia waha się w granicach 2-5%.
- ✓ Metody turbidymetryczne nadają się do oznaczania zawiesin o dużym stężeniu, podczas gdy nefelometryczne są dokładniejsze przy większym rozcieńczeniu, ponieważ tylko w takich warunkach przyrosty natężenia światła rozproszonego są proporcjonalne do przyrostów stężenia.
- ✓ Zastosowanie nefelometrii i turbidymetrii jest znacznie mniejsze w porównaniu ze spektrofotometrią absorpcyjną.
- ✓ Przykładami zastosowania omówionych metod mogą być: oznaczanie jonów  $\text{SO}_4^{-2}$  w postaci  $\text{BaSO}_4$ , oznaczanie chlorków lub jonów srebra w postaci  $\text{AgCl}$ , oznaczanie siarki w benzynie, wody w rozpuszczalnikach organicznych, jonów  $\text{Hg}^{2+}$  za pomocą kaprolaktamu, jonów  $\text{PO}_4^{-3}$ .
- ✓ Zarówno turbidymetrycznie, jak i nefelometrycznie oznacza się m.in. insulinę, cholesterol, hemoglobinę, kwasy nukleinowe, wiele innych związków organicznych (w tym antybiotyki, emulsje, mydła itd.).
- ✓ Metody te znajdują zastosowanie w badaniu układów naturalnie mętnych, np. wody morskiej, a także w dziedzinie biochemii, farmacji, bakteriologii i enzymologii.