MASARYKOVA UNIVERZITA

Pedagogická fakulta

Katedra chemie

Optické metody se zaměřením na refraktometrii a polarimetrii a jejich využití v chemické analýze

Bakalářská práce

Daniel Urbánek

Brno 2008

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracoval sám s užitím literatury a pramenů uvedených v seznamu literatury na konci práce.

.....

V Brně dne 19. dubna 2008 *Daniel Urbánek*

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval Doc. RNDr. Luďkovi Jančářovi, CSc., vedoucímu mé bakalářské práce, za cenné připomínky, odborné rady a trpělivost při tvorbě práce. Dále bych chtěl poděkovat Ing. Ireně Jančářové, CSc. za poskytnutí prostorů laboratoří na MZLU v Brně při pořizování fotografických a audiovizuálních záznamů laboratorních cvičení a praktické rady při provádění experimentů.

Obsah

1. Úvod 6
2. Multimediální výuka chemie a e-learning 8
   2.1. Získávání, prezentace a přenos informací a poznatků 8
   2.2. Procvičování zvládnutých teoretických informací 8
   2.3. Procvičování chemických výpočtů 9
   2.4. Procvičování praktických úloh a postupů před vstupem do chemické laboratoře 9
   2.5. Zpracování dat a výsledků v laboratorním cvičení 10
   2.6. Počítačem řízený chemický experiment či výroba 10
3. Cíl bakalářské práce 11
4. Optické metody instrumentální analýzy 12
   4.1. Základní pojmy 12
      4.1.1. Elektromagnetické záření 12
      4.1.2. Polarizace záření 12
      4.1.3. Energie fotonu 13
      4.1.4. Vlnová délka 13
      4.1.5. Vlnočet 13
      4.1.6. Rychlost záření 14
      4.1.7. Energie kvant 14
      4.1.8. Intenzita záření 14
   4.2. Rozdělení optických metod 15
5. Refraktometrie 17
   5.1. Princip metody 17
      5.1.1. Index lomu 17
      5.1.2. Faktory závislosti indexu lomu 20
      5.1.3. Refrakce a disperze 20
   5.2. Přístrojové vybavení - refraktometry 22
      5.2.1. Rozdělení refraktometrů 22
      5.2.2. Abbeho refraktometr 22
      5.2.3. Pulfrichův refraktometr 25
      5.2.4. Ponorný refraktometr 26
   5.3. Využití refraktometrie v chemické analýze 28
   5.4. Návody do laboratorního cvičení 29
      5.4.1. Analýza binární směsi methanol – voda 29
      5.4.2. Analýza binární směsi ethanol – voda 30
   5.5. Scénáře videozáznamů laboratorních úloh 34
      5.5.1. Analýza binární směsi methanol – voda 34
   5.6. Výpočty v refraktometrii 36
      5.6.1. Ukázka příkladu prvního typu 36
      5.6.2. Ukázka příkladu druhého typu 37
   5.7. Didaktické testy 39
6. Polarimetrie 40
   6.1. Princip metody 40
      6.1.1. Polarizace světla 40
      6.1.2. Měrná otáčivost 40
   6.2. Přístrojové vybavení 43

6.2.1. Polarimetr 43
6.2.2. Sacharimetr 49
6.3. Využití v chemické analýze 50
6.4. Návody do laboratorního cvičení 51
6.4.1. Polarimetrické stanovení sacharosy v hořké čokoládě 51
6.5. Scénáře videozáznamů laboratorních úloh 53
6.5.1. Polarimetrické stanovení sacharosy v hořké čokoládě 53
6.6. Výpočty v polarimetrii 56
6.6.1. Ukázka příkladu 56
6.7. Didaktické testy 58
7. Závěr 59
8. Literatura 60

1. Úvod

V současné době můžeme pozorovat stále se zvyšující vědecký i technický rozvoj naší společnosti. V závislosti na tomto vývoji jsou neustále kladeny větší požadavky na odbornou i didaktickou přípravu každého jedince. Týká se to nejen připravenosti mladé generace, ale i učitelů na základních a středních školách a pracovníků s mládeží. Velké nároky jsou kladeny především na školství a celou vzdělávací soustavu. Mění se nároky na úroveň a způsob vzdělání a vzdělávání a to nejen v závislosti na požadavcích a potřebách současnosti, ale zejména budoucnosti.

Potřeba odborného a kvalitního didaktického vzdělávání nás nutí neustále hledat nové, různorodé a racionální formy vyučovacího procesu na školách a jeho modernizaci využitím nejnovějších audiovizuálních prostředků a prostředků výpočetní techniky a možností Internetu. Pomalu jsou nahrazovány staré školní pomůcky novými, takovými, které zefektivňují práci učitelů ve výuce. Hledají se nové způsoby, jak vytvořit vyučování zajímavější, atraktivnější a přitažlivější především pro podchycení zájmu těch nejmenších anebo v málo oblíbených oborech jako je např. chemie.

Jedním ze způsobů realizace je urychlené zavádění počítačů a příslušného programového vybavení do škol a v neposlední řadě využívání Internetu i možností e-learningu. Toto je podporováno skutečností, že v řadě zemí byly již tyto kroky uskutečněny. Pokud budeme chtít držet krok se světem, je nutné, aby etapa modernizace našeho školství byla provedena co nejdříve a abychom k tomu využili i nabízené (nejen finanční) pomoci EU.

V tomto směru je nezbytné překonat řadu překážek. Z jedné strany je to stále relativní nedostupnost i poměrně vysoké ceny školních pomůcek a zařízení, ze strany druhé nechuť učitelů a pracovníků s mládeží učit se zacházet a hlavně využívat tyto nové prostředky ve výuce. Z těchto důvodů je třeba, aby v současné době vytvářené programy, e-learningové kurzy a výukové multimediální systémy měly jednoduché a snadné ovládání, srozumitelnou náplň, strukturu a použití.

Multimediální výuka, zejména spojení počítač – video je v současné době jedním z nejmodernějších didaktických prostředků. Její zapojení do e-learningu je posledním nejmodernějším výkřikem didaktického procesu.

Videozáznamy či videopořady dokáží poskytnout ideální obraz pro zvýraznění probírané látky a nastínění problémů. Mají obrovský motivační a estetický přínos i informační

náboj. Hlavní fixační metodou je však neustálé studium a opakování téhož, a to nejen v učebnici, ale i v digitálních výukových textech, kdy žák má možnost si sám látku postupně opakovat a přemýšlet nad ní. Počítač totiž dokáže probíranou látku znovu po částech a do podrobností vysvětlit, jednotlivé pasáže krokovat, zopakovat, zpomalovat, zastavit, vracet zpět a potom probranou látku konzultovat, opakovat a prozkoušet a v neposlední řadě vytvořit množství písemných testů.

Pro zvýšení efektivity osvojení učiva je využíván zejména princip názornosti, a proto by e-learningové kurzy (zvláště chemické, příp. mezioborové s chemií) měly obsahovat pokusy, grafy, schémata, vzorce, mapy, tabulky, obrázky, animace a využívat širokou škálu barev a jiných estetických možností počítačové grafiky a možností video techniky a video prezentací. Velký význam i v e-learningu má přítomnost zpětné vazby (procvičování), kdy počítač nebo vyučující bezprostředně reaguje na odpovědi studenta, čímž systém umožňuje respektovat žákovu individualitu. E-learningový kurz musí být koncipován tak, aby jím šlo procházet mnoha způsoby podle žákových schopností a předchozích znalostí. Žákovi, který se dopouští chyb v kontrolních otázkách, mohou být předkládány další doplňující informace, které by ho měly dovést ke správným závěrům. Tak se tedy naprostá většina žáků dostane až na konec programu. I podprůměrný žák si pak nepřipadá neúspěšný, čímž odpadají negativní pocity neúspěchu. Prožitek úspěšnosti zde opět sehrává důležitou motivační úlohu.

Důležitá je volba kontrolních otázek. Musí být voleny tak, aby k jejich správnému zodpovězení bylo nutné pochopení probírané látky a aby nebylo možné jejich náhodně správné zodpovězení. Jako vhodné se jeví otázky s výběrovými či tvořenými odpověďmi. Důležité je uvádět minimálně čtyři varianty odpovědí, aby byla snížena možnost náhodně správné odpovědi nebo zavést eventualitu několika nebo všech správných odpovědí nebo také žádné správné odpovědi.

E-learningu se často vytýká, že zejména v experimentálních oborech a předmětech, se nerozvíjejí studentovy manuální dovednosti. Na druhé straně však šetří náklady na stále dražší materiál, pracovní a jiné pomůcky a vybavení učeben a laboratoří. Podle názoru mnohých je přínosem také to, že v poměrně krátkém čase mohou studenti na počítači modelovat řadu experimentálních podmínek, simulovat řadu pokusů a dějů a získat tak ucelený přehled o dané oblasti. Nelze zanedbat i hledisko bezpečnosti práce, protože lze simulovat (nebo přehrávat video záznamy) pokusy s nebezpečnými či vzácnými látkami, se kterými by se jinak žák nemohl seznámit. S nástupem multimedií můžeme (snad s výjimkou čichových vjemů) zcela výuku přiblížit realitě.

2. Multimediální výuka chemie a e-learning

Hlavním cílem e-learningu a to nejen pouze v chemii je efektivní zapojení informačních a komunikačních technologií do systémů vzdělávání a odborné a didaktické přípravy na školách [1]. Zastřešujícím prostředkem je Internet a jeho možnosti a služby.

2.1. Získávání, prezentace a přenos informací a poznatků

Nejdůležitější, nejúčinnější a nejpotřebnější součástí e-learningové výuky v chemii je znázornění dějů, reakcí a jejich mechanismů, výrob aj. a to nejen pomocí popisné formy za použití přednášek, různých schémat, chemických rovnic, vzorců, statických obrázků v různých velikostech, grafických formátech a barevných provedeních, nejen pomocí videozáznamů, ale také pomocí počítačových animací.

Počítačové animace podobně jako videozáznamy patří k nejatraktivnějším výukovým prostředkům a poskytují studentům dokonalý obraz a to jak dějů či postupů v makroměřítku, tak i v mikroměřítku nebo dějů okem či finančně zcela nedostupných (struktury molekul a atomů, výskyt a pohyb elektronů, krystalická struktura látek, změny skupenství, krystalizace látek, struktury sloučenin, mikroskopické reakce, oxidačně-redukční reakce, srážecí reakce, tvorba sraženin (micel), nebezpečné či výbušné reakce, bengálské ohně, výbuchy atd.).

2.2. Procvičování zvládnutých teoretických informací

Konzultace a opakování látky, jakož i zkoušení a přezkušování a v neposlední řadě i tisk různých testů a písemných prací z dané problematiky. Student tak může zjistit mezery ve svých vědomostech a příslušné kapitoly se doučit a nebo učitel může bezprostředně pomocí zpětné vazby v kurzu reagovat na neznalost studentů a obtížné pasáže se studentem či studenty podrobně rozebrat, vysvětlit jim je, či názorně demonstrovat.

Ideální postup je takový, že si student nejprve dané učivo pomocí výukové části podrobně probere. Při nabídce správných odpovědí se pak připraví na možné varianty daných problémů a zkušebních otázek. V konzultaci je vhodné si nejprve zvolit strategii řízenou uživatelem, aby mohl student projít všemi otázkami v dané databázi. Velmi výhodné je zvolit

si zpočátku také stupeň přesvědčení, aby si student sám prověřil, do jaké míry je přesvědčen o znalosti odpovědi na daný problém. V případě, že je student přesvědčen, že už danou látku zvládl, je možné se nechat pomocí strategie řízené počítačem předběžně prozkoušet. Student si může také nechat některé těžší učební pasáže vytisknout pro domácí samostudium.

2.3. Procvičování chemických výpočtů

Výuka a procvičování výpočtů, tj. algoritmů řešení numerických úloh, kdy počítač např. nabízí studentům postup řešení, avšak ponechává i na studentovi možnost nalezení vlastní cesty k vyřešení příkladu, což vede k rozvoji tvůrčího logického myšlení studenta.

U výpočetních příkladů je dána možnost využití různých strategií:

a) student sám počítá a srovnává svůj vypočtený výsledek,
b) postup řešení daného příkladu je dán pomocí navádějících dílčích otázek a algoritmů,
c) postup řešení daného příkladu je dán formou výukového textu s možností internetové konzultace s vyučujícím.

2.4. Procvičování praktických úloh a postupů před vstupem do chemické laboratoře

E-learningová výuka pomocí multimediálních výukových programů a prostředků slouží nejen k nenásilnému nabytí teoretických znalostí a souvislostí mezi jevy, ale i k procvičování praktických úloh a postupů před vstupem do laboratoře a to formou simulace různých chemických dějů, laboratorních nebo výrobních postupů či barevných reakcí nebo k jejich animovanému provedení, kdy se student může názorně seznámit s průběhem dané reakce v závislosti na experimentálních podmínkách (výběr správných pomůcek, chemikálií, pořadí míchání roztoků, výběr indikátoru, počátečních objemů, velikosti přídavků titračních činidel, průběhu titrace, změn pH aj.) a vytvářet si tak konstruktivistický způsob myšlení a učení. Počítač umožňuje pozorovat barevné změny, dokáže reakce či barevné přechody zpomalit nebo naopak zrychlit, krokovat i několikrát opakovat, aby student později, při experimentu, neudělal chybu a snadno reakci prakticky provedl a ověřil její průběh před započetím vlastního experimentu.

Rychlý průběh počítačových simulací umožňuje realizovat ve vymezeném čase podstatně více pokusů, což lze uplatnit při využití experimentování jako metody řešení problému, při odvozování empirických zákonitostí, při hledání optimálních podmínek pro průběh experimentu apod., čímž se významně přiblížíme vědeckému experimentování.

Dobře předem naučená, rozebraná a zažitá látka umožní studentům nejen značnou časovou úsporu pro provádění daného experimentu, ale slouží i jako výborný vstupní předpoklad pro úspěšné praktické zvládnutí experimentu. V důsledku správného výpočtu navážek či koncentrací látek, výběru činidel nebo zajištění optimálních podmínek pro správné provedení experimentu, může student ušetřit nejen chemikálie, ale i elektrickou a tepelnou energii v důsledku zkrácení doby trvání měření (elektrolýza, zahřívání atd.).

V tomto směru může být e-learningový kurz velmi kvalitním doplněním praktických laboratorních cvičení a může být v některých oblastech nenahraditelný.

2.5. Zpracování dat a výsledků v laboratorním cvičení

Výuka metod a způsobů vyhodnocování výsledků měření a stanovení neznámých koncentrací látek. K tomu slouží většinou řada drobných i obecnějších externích programů nebo algoritmů v programu Microsoft Excel snadno stažitelných z e-learningového kurzu do vlastního počítače studenta. Součástí programů jsou podrobné popisy výpočetních metod, samotné ovládání a použití programu, srozumitelný popis organizace vstupních dat a získaných výsledků.

2.6. Počítačem řízený chemický experiment či výroba

Toto využití je hitem posledních let. Zahrnuje komplexní postupy od přípravy vzorku, dávkování vzorku, praktická měření, grafické výstupy a zpracování výsledků stanovení nebo výroby.

3. Cíl bakalářské práce

Hlavním cílem této bakalářské práce je vytvořit multimediální výukový subsystém – Refraktometrie a polarimetrie. Ten by měl sloužit k výrazné modernizaci výuky refraktometrie a polarimetrie v rámci předmětů Analytická chemie a Laboratorní cvičení z analytické chemie.

Aby studenti měli možnost více sledovat přednášky a ne pouze opisovat vztahy a schémata, jsou tyto a další informace uvedeny v elektronické formě. V obrazové formě zdokumentovaný průběh analýzy je pro studium a pochopení učiva zcela nenahraditelný, neboť studenti krok za krokem získají názorné informace o průběhu experimentu, jednotlivých částech přístroje včetně jeho fungování.

Při objasňování problematiky je navíc nenahraditelné, pokud může být metoda názorně ukázána také přímo v laboratoři při analýze. Proto je cílem zařazení video ukázek praktického provedení v laboratoři. Studenti tak předem před vstupem do laboratorního cvičení budou mít možnost jednotlivé úlohy zhlédnout a teoreticky nastudovat. Tyto ukázky analýzy umožní studentům přiblížit se reálné situaci v laboratoři a nemít jen představu suchých faktů.

Výukový subsystém bude tedy ukázkou zcela komplexního výukového systému obsahujícího všechny, v současné době možné a dostupné, typy forem multimediální výuky a e-learningu: učební texty (.doc, .pdf, .html, .txt), prezentace (.ppt, .pps), odkazy na www stránky Internetu, tabulky, schémata, obrázky (.jpg), fotogalerie (.html, .jpg), chemické výpočty (3 formy: zadání – výsledek, zadání – postup řešení pomocí dílčích otázek a odpovědí – výsledek, zadání – postup řešení pomocí souvislého textu – výsledek), návody laboratorních cvičení, popisy a manuály obsluhy přístrojů, scénáře videozáznamů, videozáznamy praktických provádění experimentů a úloh (.swf, .flv), zpracování výsledků měření, didaktické testy.

Multimediální výukový subsystém – Refraktometrie a polarimetrie budou moci využívat studenti prezenčního bakalářského studijního programu Pedagogické asistentství chemie pro základní školy Pedagogické fakulty MU v Brně, studenti kombinované formy studia DAP chemie pro základní školy Pedagogické fakulty MU v Brně, i zájemci (studenti, učitelé) z jiných škol ČR (AF MZLU Brno, PřF MU v Brně, PřF a PedF UK Praha,) a SR (KU Bratislava).

4. Optické metody instrumentální analýzy

Nedílnou součástí chemické analýzy je instrumentální analýza. Její princip spočívá ve sledování a následném vyhodnocení analytického signálu, který poskytují složky analyzovaného vzorku. Základními metodami instrumentální analýzy jsou metody optické, separační a elektrochemické [2].

Optické metody jsou fyzikálně-chemické metody obecně založené na interakci analyzovaného vzorku s elektromagnetickým zářením.

4.1. Základní pojmy

4.1.1. Elektromagnetické záření

Elektromagnetické záření, resp. vlnění má současně vlastnosti vlny a vlastnosti záření, tzn. chová se současně jako vlnění a jako proud částic – fotonů. Jestliže uvažujeme o elektromagnetickém záření jako o vlnění, pak má vlastnosti příčného vlnění, které disponuje dvěma základními složkami – elektrickou a magnetickou. Obě složky jsou na sebe vzájemně kolmé a můžeme si je tedy představit jako vlny ve tvaru sinusoidy.

Světelný paprsek si však můžeme představit i jako proud částic o určité energii. Pak jeho základní vlastností je frekvence (kmitočet) ν, která je definována jako počet kmitů vykonaných za jednu sekundu. Jednotkou je Hz (hertz), který má rozměr s^{-1}. Frekvence se při průchodu záření z jednoho do druhého prostředí nemění, tzn. zůstává konstantní a je tedy nezávislá na prostředí.

4.1.2. Polarizace záření

U přirozeného (nepolarizovaného) záření kmitá vektor intenzity elektrického pole i vektor magnetické indukce zcela nahodile. Vždy však kmitá elektrická složka ve všech rovinách kolmých směru postupu záření a vždy v rovině k ní kolmé je provázena magnetickou

složkou. U záření lineárně polarizovaného oba vektory kmitají pouze ve dvou na sebe kolmých rovinách.

4.1.3. Energie fotonu

Energie fotonu E je přímo úměrná jeho frekvenci. Je tedy rovna součinu frekvence záření v a Planckovy konstanty h, která má hodnotu $6{,}624.10^{-34}$ J.s.

$$E = h \,.\, v \qquad [\mathrm{J}]$$

4.1.4. Vlnová délka

Záření lze také popsat vlnovou délkou λ, což je veličina, jež má jednotku délky metr (m), resp. dílčí jednotku, např. nanometr (nm). Vlnová délka je vzdálenost mezi dvěma maximy, resp. minimy na postupujícím vlnění. Můžeme také uvažovat, že se jedná o vzdálenost, kterou vlna urazí za dobu jednoho kmitu. Platí tedy vztah:

$$v = \frac{c}{\lambda} \Rightarrow \lambda = \frac{c}{v} \qquad [\mathrm{m}]$$

Vlnová délka určitého záření závisí na prostředí, kterým dané záření prostupuje. V prostředí, ve kterém je rychlost světla nižší než ve vakuu, je nižší i jeho vlnová délka. Opticky hustší prostředí zajišťuje zpomalení rychlosti postupu záření a tudíž také snížení vlnové délky. Záření s menší vlnovou délkou má větší frekvenci a energii. Platí tedy vzájemný vztah:

$$E = \frac{h.c}{\lambda} \qquad [\mathrm{J}]$$

4.1.5. Vlnočet

K charakterizaci záření lze užít také vlnočet $\tilde{\nu}$, což je počet vln (počet cyklů) připadajících na jednotkovou vlnovou délku postupujího záření. Vlnočet je převrácenou (reciprokou) hodnotou vlnové délky a nejčastější rozměr je cm^{-1} [2].

4.1.6. Rychlost záření

Další vlastností elektromagnetického záření je jeho rychlost. Ve vakuu má rychlost světla vůbec nejvyšší hodnotu, c = 2,997925.10^8 m.s^{-1}. V ostatních prostředích je rychlost světla vždy menší. Pokud je v určitém prostředí ve všech směrech stejná rychlost šíření světla, pak hovoříme o tzv. opticky izotropním prostředí. Jestliže je rychlost světla závislá na směru šíření, pak je prostředí anizotropní. Typickým příkladem tohoto prostředí je krystal křemene [3].

4.1.7. Energie kvant

Interakce elektromagnetického záření a částic hmoty je základním principem všech optických metod, při nichž dochází k výměně energie mezi látkou a zářením (metody emisní a absorpční). Předávaná energie je kvantována a velikost kvant pak odpovídá rozdílu energetických hladin, mezi nimiž daná částice přechází. Vezmeme-li v úvahu energii první a druhé energetické hladiny (E_1, E_2), pak pro rozdíl energie kvant platí:

$$\Delta E = E_2 - E_1 = h.\nu \qquad [\mathrm{J}]$$

4.1.8. Intenzita záření

Vedle rychlosti charakterizuje elektromagnetické záření také jeho intenzita I, kterou lze popsat dle toku záření (zářivého toku) Φ. Zářivý tok, který je běžně měřitelnou veličinou optických metod, je množstvím energie Q přenesené za jednotku času t.

$$\Phi = \frac{Q}{t} \qquad [\mathrm{J.s^{-1}}]$$

Světelný zdroj emituje záření nesoucí určitou energii. Paprsek pak postupuje do jednoho či více prostředí a cestou může být např. absorbován, reemitován, polarizován, může změnit svůj směr, atd. A právě podle procesů, které nastávají při interakci záření a částic hmoty, rozdělujeme optické metody do různých skupin [2].

4.2. Rozdělení optických metod

Optické metody instrumentální analýzy dělíme do dvou základní skupin:

1. Metody, při kterých není podstatná výměna energie mezi analyzovanou látkou a zářením, nýbrž změna některých vlastností záření. Sledujeme tedy změny rychlosti záření, otáčení roviny polarizovaného světla nebo rozptyl záření. Do této skupiny řadíme např. refraktometrii, interferometrii, polarimetrii.

2. Metody založené na výměně energie mezi analyzovanou látkou a zářením. Tyto metody dále dělíme na:

   a) Metody emisní jsou založeny na emisi záření. Hovoříme o tzv. emisní spektrální analýze, při které sledujeme záření excitované atomy, ionty nebo molekulami analyzované látky. K excitaci atomů dochází po dodání energie v podobě tepla, elektrické energie, proudu elementárních částic nebo jiného elektromagnetického záření. Přijetím této energie dojde k přechodu atomů nebo molekul do energeticky bohatších, avšak méně stabilních stavů. Nadbytečné energie se pak zbavují v podobě elektromagnetického záření. Zdrojem záření, které je následně vyhodnocováno, je tedy vlastní analyzovaná látka. Mezi tyto metody patří AES – atomová emisní spektrometrie, kterou charakterizují čarová spektra, a fotoluminiscenční metody, mezi něž patří molekulová fluorimetrie a fosforimetrie, které charakterizují pásová spektra.

   b) Metody absorpční jsou založeny na absorpci elektromagnetického záření analyzovanou látkou, resp. částicemi této látky (atomy, molekuly). U těchto metod lze využít vlnové délky z různých oblastí spektra elektromagnetického záření. Další dělení těchto metod závisí na použitém záření a na charakteru analyzované látky. K základním absorpčním metodám patří MAS – molekulová absorpční spektrometrie (spektrofotometrie), IČ – infračervená spektrometrie, ESR – elektronová spinová rezonance a NMR – nukleární magnetická rezonance [4].

Souhrnný přehled optických metod je uveden v tabulce č. 1.

Základní princip	**Děj**		**Metoda**
Interakce záření s atomy (čarová spektra)	Emise záření po excitaci	Tepelná excitace	AES – atomová emisní spektrometrie
	Absorpce záření	Tepelná atomizace a následná absorpce	AAS – atomová absorpční spektrometrie
Interakce záření s molekulami (pásová spektra)	Emise záření po excitaci		Fluorimetrie
			Fosforimetrie
	Absorpce záření	Excitace elektronů z nižších MO do vyšších	Spektrofotometrie ve viditelné a UV oblasti (molekulová AS)
		Změna vibračního a rotačního stavu molekuly	IČ – infračervená spektrometrie
		Změna spinu elektronů	ESR – elektronová spinová rezonance
		Změna spinu nukleonů v jádře	NMR – nukleární magnetická rezonance
Rozptyl záření na koloidním roztoku	Změna intenzity záření vzorkem prošlého		Turbidimetrie
	Změna intenzity záření rozptýleného do směru kolmého ke směru vstupujícího paprsku		Nefelometrie
Změna postupné rychlosti záření	Interference záření		Interferometrie
	Lom záření		Refraktometrie
Interakce polarizovaného záření s opticky aktivními látkami	Stáčení roviny lineárně polarizovaného záření	Závislost optické otáčivosti na koncentraci vzorku pro jednu vlnovou délku	Polarimetrie

Tab. 1

Souhrnný přehled optických metod [2]

5. Refraktometrie

5.1. Princip metody

5.1.1. Index lomu

Dopadá-li paprsek monochromatického záření, tj. paprsek určité frekvence a vlnové délky na rozhraní dvou prostředí lišících se hustotou, zčásti se od rozhraní odráží a zčásti jím prochází. Přitom prostředí klade průchodu paprsku určitý odpor, jehož velikost závisí na hustotě prostředí. Hustota prostředí je odrazem kvalitativního i kvantitativního složení prostředí. Při průchodu paprsku z jednoho prostředí do druhého se mění jeho rychlost a směr šíření. Paprsek se tedy láme dle toho, jaký je poměr hustot obou prostředí.

Poměr rychlosti průniku paprsku v prvním c_1 prostředí k rychlosti v druhém prostředí c_2 se nazývá index lomu n a charakterizuje ho tedy vztah:

$$n = \frac{c_1}{c_2}$$

Jelikož je index lomu veličinou relativní, bylo nutné zvolit standardní, přesně definované prostředí. Jako základní (standardní) prostředí bylo zvoleno prostředí vakua, v němž je rychlost světelného paprsku největší a je rovna rychlosti světla c = 2,997925.10^8 m.s^{-1}. Při přechodu paprsků z vakua do daného prostředí zjistíme tzv. absolutní index lomu, který je definován vztahem:

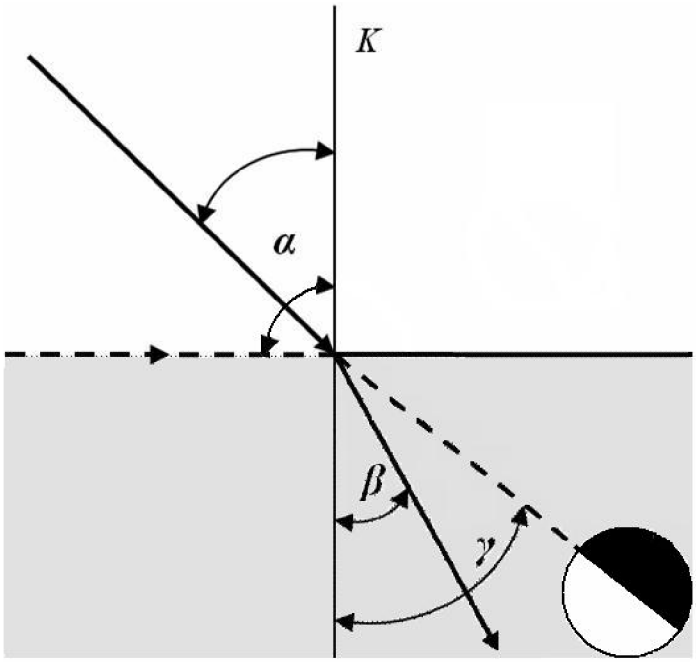
$$n = \frac{c_0}{c_2}$$

Index lomu můžeme rovněž vyjádřit pomocí změny směru průniku paprsku prostředím dle *Snellova zákona*:

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$$

Při průchodu paprsku do jiného prostředí se paprsek láme v důsledku rozdílné rychlosti světla v obou prostředích. Úhel lomu β je menší než úhel dopadu α tehdy, když paprsek přechází do prostředí, ve kterém je proti původnímu prostředí rychlost světla nižší. Nastává

tedy lom ke kolmici. V opačném případě nastává lom od kolmice. Úhly dopadu, odrazu i lomu se měří mezi paprskem a kolmicí spuštěnou na fázové rozhraní [2]. Při refraktometrických měřeních se volí úhel dopadu 90 °C, tzv. klouzavý paprsek, a sleduje se maximální mezný úhel (mezný úhel lomu γ) – viz obrázek č. 1.



α – úhel dopadu
β – úhel lomu
γ – mezný úhel lomu
K – kolmice dopadu

opticky řidší prostředí

opticky hustší prostředí

Obr. 1
Lom světla na rozhraní dvou prostředí

Látka	**Index lomu**
vakuum	1,00
vzduch (za standardního tlaku)	1,0003
voda (H_2O)	1,33
ethanol (C_2H_5OH)	1,36
korunové sklo	1,50
chlorid sodný (NaCl)	1,52
safír	1,77
diamant	2,42

Tab. 2
Absolutní index lomu některý látek [5]

Látka	**Vzorec**	**Index lomu n_D^{20}**
sirouhlík	CS_2	1,62799
voda	H_2O	1,33299
cyklopentan	C_5H_{10}	1,40645
cyklohexan	C_6H_{12}	1,42623
benzen	C_6H_6	1,50112
toluen	C_7H_8	1,49693
ethylbenzen	C_8H_{10}	1,49588
ethanol	C_2H_6O	1,36143
propan-1-ol	C_3H_8O	1,38556
propan-2-ol	C_3H_8O	1,37720
butan-1-ol	$C_4H_{10}O$	1,39930
pentan-1-ol	$C_5H_{12}O$	1,41000
ethan-1,2-diol	$C_2H_6O_2$	1,43180
glycerol	$C_3H_8O_3$	1,47460
diethylether	$C_4H_{10}O$	1,35243
aceton	C_3H_6O	1,35868
mravenčí kyselina	CH_2O_2	1,37140
octová kyselina	$C_2H_4O_2$	1,37190
propionová kyselina	$C_3H_6O_2$	1,38650
octan ethylnatý	$C_4H_8O_2$	1,37239
acetonitril	C_2H_3N	1,34411
anilin	C_6H_7N	1,58628
nitrobenzen	$C_6H_5NO_2$	1,55230
pyridin	C_5H_5N	1,51016
trichlormethan	$CHCl_3$	1,44550
tetrachlormethan	CCl_4	1,46030
brombenzen	C_6H_5Br	1,56020
chlorbenzen	C_6H_5Cl	1,52481

Tab. 3

Index lomu některých kapalin při teplotě 20 °C [6]

5.1.2. Faktory závislosti indexu lomu

Hodnota indexu lomu závisí na několika faktorech. Jedním z nich je frekvence použitého světla (vlnová délka). Zpravidla se ke každému indexu lomu indexem vpravo dole vyznačuje, při které vlnové délce světla byl změřen (např. n_{445} při 445 nm) [7].

Hodnota indexu lomu je rovněž závislá na teplotě. U kapalin index lomu klesá asi o 3 až 8.10^{-4} jednotek při zvýšení teploty o 1 °C. Teplotní koeficient indexu lomu kapalin má tedy vysokou hodnotu. Co se týče tuhých látek, pak jsou změny indexu lomu s teplotou menší než u kapalin a přísluší jim nízká hodnota teplotního koeficientu. Teplota, při které byl index lomu látky změřen, se vyznačuje indexem vpravo nahoře, např. n_{445}^{25}. V tabulkách se uvádí index lomu pro danou teplotu (např. 25 °C) a vlnovou délku, obvykle pro dublet D sodíkové výbojky (n_D^{25}), které odpovídá vlnová délka 589,3 nm [8].

Závislost hodnoty indexu lomu na tlaku je u pevných látek a kapalin nevýznamná. Význam má pouze u plynů, u nichž je třeba uvádět tlak, při němž je index lomu měřen. Takto změřený index lomu potom přepočítáváme na normální podmínky [2].

Hodnoty indexů lomu vybraných látek jsou uvedeny v tabulce č. 2 a 3.

5.1.3. Refrakce a disperze

Změny indexu lomu látky s teplotou, tlakem a skupenstvím jsou dány změnami hustoty ρ. Hustota látky ρ je přímo úměrná určité funkci indexu lomu *f(n)*. Tuto úměrnost tedy vyjadřujeme vztahem:

$$f(n) = r \,.\, \rho,$$

kde *r* je specifická (měrná) refrakce, jejíž hodnota je charakteristická pro každou látku.

Podle Lorenzova-Lorentzova vyjádření platí mezi hustotou ρ a indexem lomu *n* vztah:

$$r = \frac{(n^2 - 1)}{(n^2 + 2)} \cdot \frac{1}{\rho}$$

Molární refrakci R_m pak získáme vynásobením specifické refrakce *r* molární hmotností dané látky *M*:

$$R_m = r \,.\, M$$

Tato veličina je charakteristická pro složení a strukturu molekuly dané látky. Příspěvky atomů, skupin a vazeb k molární refrakci jsou uvedeny v tabulce č. 4.

Rozdíl specifických refrakcí látky pro dvě různé vlnové délky použitého záření se nazývá specifická (měrná) disperze. Rozdíl molárních refrakcí pro dvě různé vlnové délky použitého záření se nazývá molární disperze [2].

Obou veličin, refrakce i disperze, se používá z analytického hlediska v organické chemii při zjišťování struktury molekul. Při praktických měřeních se však z důvodu urychlení a zjednodušení používá index lomu [7].

Atom nebo skupina	**R_m (cm^3mol^{-1})**	
	H (λ = 656,3 nm)	**D (λ = 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 hydroxylu	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 amin	2,478	2,502
N v terciárním aminu	2,808	2,840

Tab. 4

Příspěvky atomů, skupin a vazeb k molární refrakci [9]

5.2. Přístrojové vybavení - refraktometry

5.2.1. Rozdělení refraktometrů

Přístroje, jimiž měříme index lomu, nazýváme refraktometry. Lze je dělit podle několika hledisek: podle konstrukce, účelu, jemuž slouží nebo podle použitého záření (monochromatického nebo polychromatického). Zde rozdělíme refraktometry do dvou skupin a to podle konstrukce:

1) refraktometry, u kterých jsou lámavý hranol a dalekohled vůči sobě pohyblivé (Pulfrichův a Abbeho),
2) refraktometry, u kterých zaujímá lámavý hranol a dalekohled vzájemně neměnnou polohu (ponorný a ruční) [7].

5.2.2. Abbeho refraktometr

Abbeho refraktometr patří do první skupiny a pro svoji všestrannou použitelnost je označován jako refraktometr univerzální. Schéma Abbeho refraktometru je uvedeno na obrázku č. 3.

Konstruktérem tohoto refraktometru je německý fyzik Ernst Karl Abbe, který žil v letech 1840 – 1905 [10].

Abbeho refraktometr měří v širokém rozsahu indexu lomu (1,3 až 1,7). Má kompenzátor optické disperze, a proto lze pracovat s polychromatickým světelným zdrojem.

5.2.2.1. Princip měření

Při refraktometrických měřeních se volí úhel dopadu o velikosti 90°, tzv. klouzavý paprsek a sleduje se maximální mezný úhel lomu [2].

Jelikož je poměr *vzduch – hranol* konstantní, pak má pro nás význam poměr *vzduch – vzorek*.

Všechny paprsky, jejichž úhel je větší než mezný úhel, se do prostředí s indexem lomu n_2 nedostanou, a tak vzniká rozhraní mezi světlem a tmou [8].

Poloha rozhraní mezi světlou a tmavou oblastí tedy závisí na velikosti mezného úhlu a současně i na hodnotě indexu lomu kapalného vzorku. U roztoků, jejichž koncentrace se

mění, dochází i ke změně indexu lomu. S rostoucí koncentrací se index lomu zpravidla zvětšuje a mění se tak poloha rozhraní, zvětšuje se tmavá oblast [11].

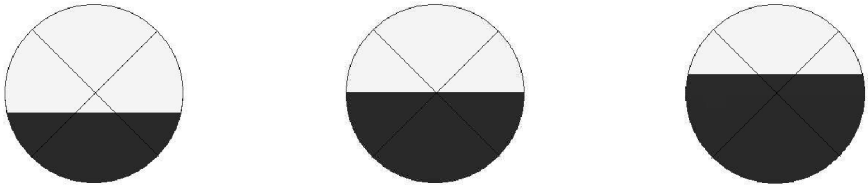
U většiny refraktometrů dopadne svazek paprsků pod úhlem 90° na plochu lámavého hranolu, na kterou se nanáší malé množství analyzovaného kapalného vzorku. Tuhý vzorek se přitiskne na plochu lámavého hranolu za použití kapaliny s vysokým indexem lomu (např. monobromnaftalen). Na rozhraní vzorku a lámavého hranolu pak dojde k lomu paprsků [2].

5.2.2.2. Přístrojové součásti

Zdrojem světla je polychromatické (bílé) světlo, které vyzařuje svazek paprsků, jež dopadá na vyleštěnou lomnou plochu lámavého hranolu. K měření malého množství kapalin slouží pomocný hranol, jehož matná plocha je přitisknuta k lomné ploše lámavého hranolu. Oba hranoly jsou zasazeny do kovových plášťů, jimiž proudí voda, která je temperovaná ultratermostatem. Toto je nutné vzhledem k tomu, že hodnota indexu lomu závisí na teplotě měřené látky. Teplota hranolu by se neměla v průběhu měření měnit o více než ±1 °C. Ultratermostat zajistí udržení teploty kolísající v malých mezích (±0,01 °C) od nastavené hodnoty.

Lomené a lomem rozložené paprsky polychromatického záření vstupují do dalekohledu, v jehož tubusu je umístěno kompenzační zařízení složené z Amiciho hranolů. Jeho hlavním úkolem je zrušení optické disperze měřené soustavy, tj. složení lomem rozloženého polychromatického záření.

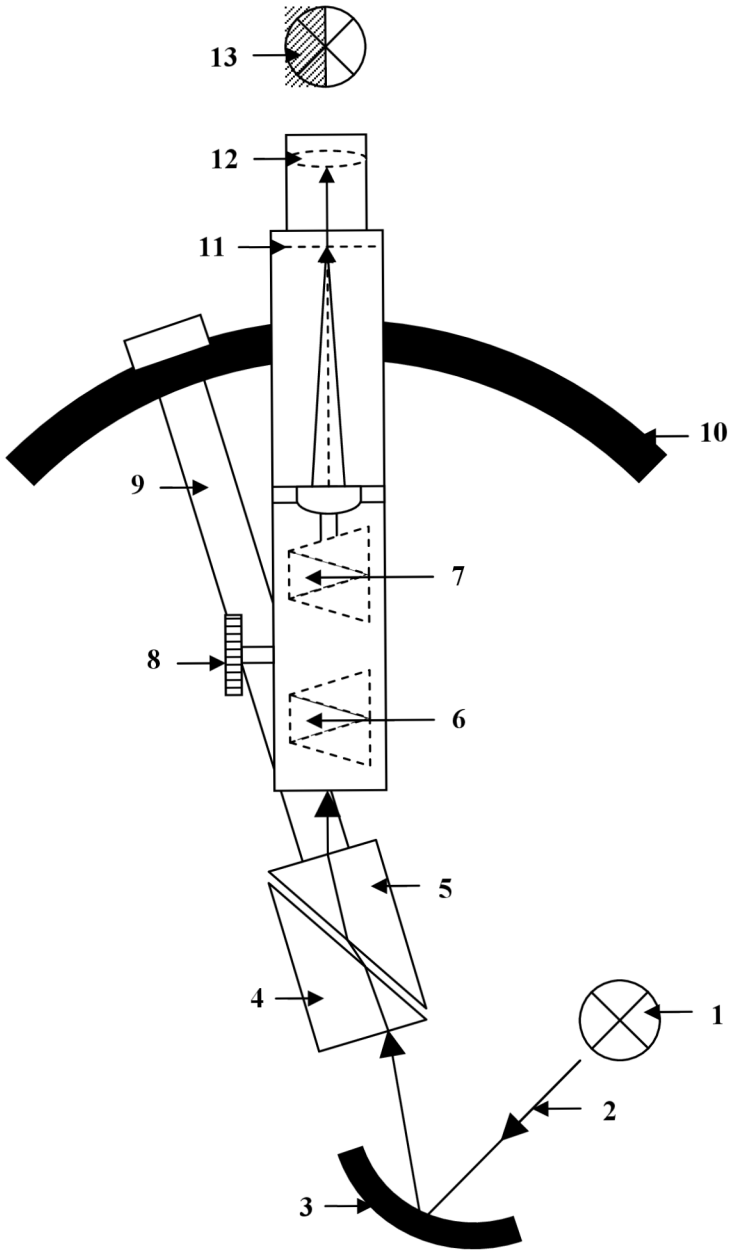
V zorném poli dalekohledu je nitkovitý kříž, na jehož střed zaměřujeme světelné rozhraní (viz obrázek č. 2). Dalekohled je spojen s pomocnou lupou zaostřenou na stupnici.



1 – špatně 2 – správně 3 – špatně

Obr. 2

Zaměřování světelného rozhraní



1 lampa
2 svazek paprsků
3 zrcátko
4 pomocný hranol
5 lámavý hranol
6 Amiciho hranol
7 Amiciho hranol
8 šroub otočného Amiciho hranolu
9 otáčivé raménko
10 stupnice
11 dalekohled
12 okulár
13 zorné pole

Obr. 3

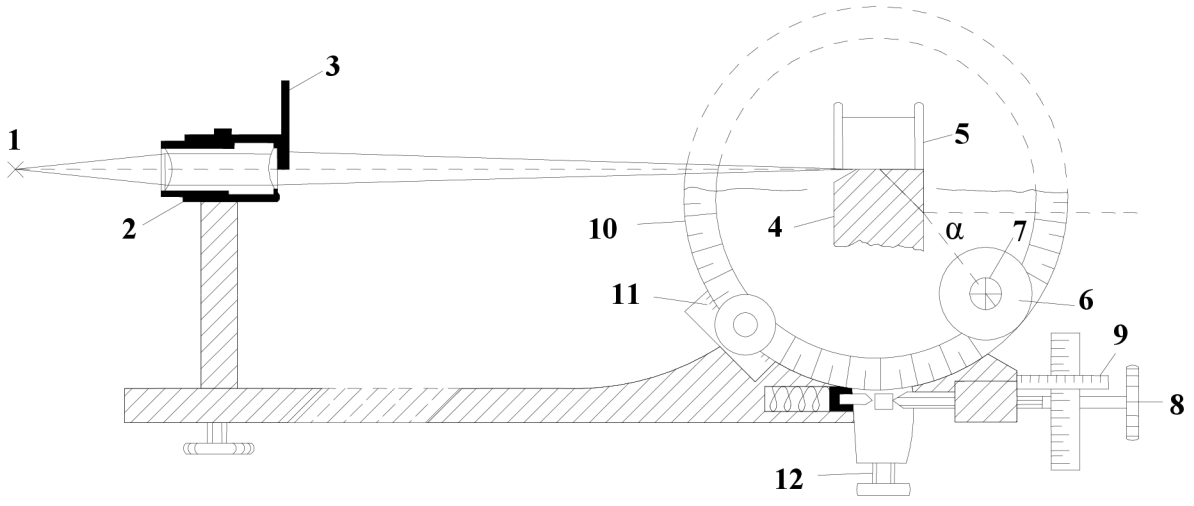
Schéma Abbeho refraktometru [8]

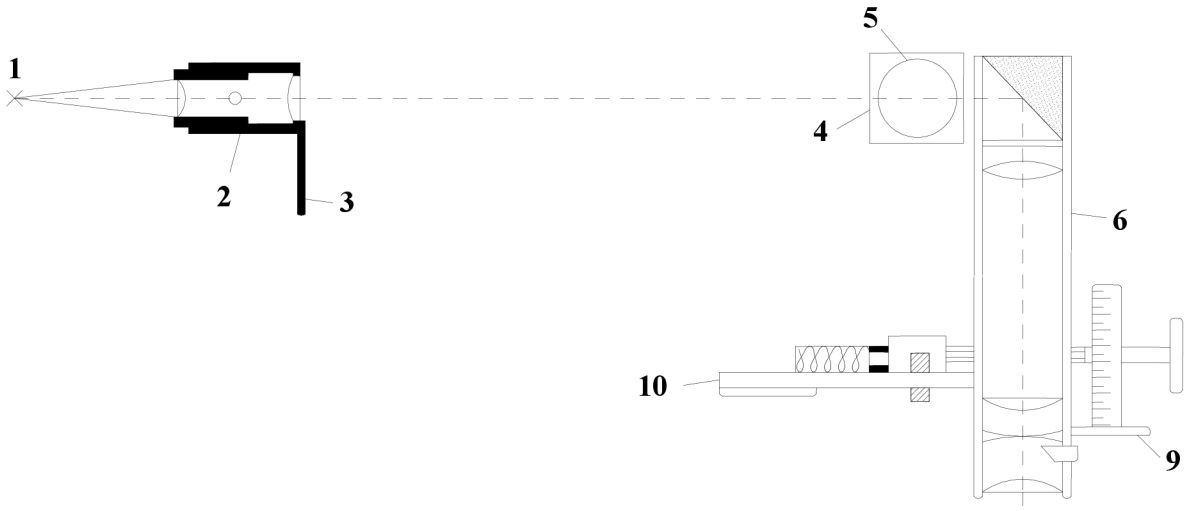
5.2.3. Pulfrichův refraktometr

Pulfrichův refraktometr patří mezi refraktometry, u nichž jsou lámavý hranol a dalekohled vůči sobě pohyblivé. Jeho základní vlastností je, že nemá kompenzační zařízení disperze, a proto se musí jako zdroje použít monochromatického světla. Lze jím tedy měřit nejen index lomu, ale i optickou disperzi látek. Schéma Pulfrichova refraktometru je uvedeno na obrázku č. 4.

5.2.3.1. Princip měření a přístrojové vybavení

Svazek paprsků monochromatického světla ze zdroje je veden kondenzorem a kondenzorovou clonkou na lomnou plochu lámavého hranolu ve směru tečny (klouzavý paprsek). Pro měření kapalin je na lomný hranol přitmelena kruhová kyveta, jejímž dnem je lomná plocha hranolu. Hranol je na straně přivrácené ke zdroji seříznut a seříznutím vzniklá ploška je zamatována. Tím se eliminuje rušivý vliv tmelu. Lomený svazek paprsků vychází z hranolu do vzduchu a do pozorovacího dalekohledu. Dalekohled je odchýlen o 90° proti směru paprsků vycházejících ze zdroje a upevněn na kotouči, kolem jehož osy se může otáčet. Zorné pole dalekohledu je opatřeno nitkovým křížem a clonkou, zastiňující okrajové části zorného pole, ve kterých by se uplatnil rušivý vliv ohybových a interferenčních jevů při pozorování světelného rozhraní. Okulár dalekohledu je zaostřitelný podle potřeby pozorovatele. Stupnice je vynesena v kruhových stupních na obvodu kotouče.





1 – monochromatický zdroj světla, **2** – kondenzor, **3** – kondenzorová clonka, **4** – lámavý hranol, **5** – kyveta, **6** – dalekohled, **7** – nitkový kříž, **8** – mikrometrický šroub, **9** – nonius, **10** – kruhový kotouč, **11** – pomocná lupa, **12** – zajišťovací šroubek

Obr. 4
Schéma Pulfrichova refraktometru [7]

5.2.4. Ponorný refraktometr

Ponorný refraktometr patří do druhé skupiny refraktometrů, u kterých lámavý hranol a dalekohled vzájemně zaujímají neměnnou polohu. Schéma ponorného refraktometru je uvedeno na obrázku č. 5.

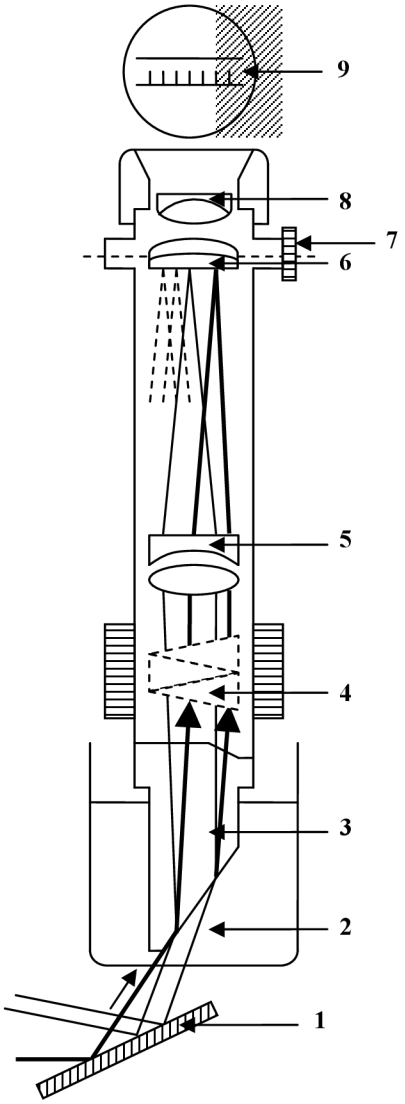
Rozlišujeme dva typy ponorných refraktometrů, a to s nevyhřívaným a s vyhřívaným měrným hranolem. První typ je charakterizován volně nasazovatelným měrným hranolem, který se vkládá přímo do analyzovaného roztoku, jež je temperován ve vodním termostatu. Druhý typ je konstruován přímo na měření malého množství kapalin (analyzovaných vzorků).

5.2.4.1. Princip měření a přístrojové vybavení

Paprsky polychromatického (bílého) světla dopadají přes analyzovaný vzorek umístěný ve skleněné kádince (2) na lomnou plochu měrného hranolu (3). Poté lomené a lomem rozložené paprsky dopadají na kompenzační zařízení realizované jedním Amiciho hranolem (4), který je otočný kolem vodorovné osy. U ponorného refraktometru na rozdíl od Abbeho refraktometru

postačuje ke kompenzaci optické disperze pouze jeden Amiciho hranol, protože pracuje v užším rozsahu indexu lomu. Z Amiciho hranolu vystupující paprsky dopadají na spojnou čočku (5) a jí jsou poté vedeny do dalekohledu, v jehož ohnisku je empirická stupnice (6) posunovatelná mikrometrickým šroubem (7). V zorném poli (9) pak okulárem (8) pozorujeme světlé a tmavé pole, jejichž rozhraní je podmíněno velikostí mezného úhlu. Hodnotu indexu lomu následně určíme odečtením polohy světelného rozhraní v dílcích empirické stupnice a pomocí cejchovní tabulky pak dílky převedeme na index lomu.

Jelikož je index lomu veličina závislá nejen na vlnové délce, ale i na teplotě, musí být měrný hranol i analyzovaný vzorek temperován v temperační nádobě a to tak dlouho, aby došlo k vyrovnání teplot [7].



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

Obr. 5
Schéma ponorného refraktometru [7]

5.3. Využití refraktometrie v chemické analýze

Této metody lze užít ke kontrole čistoty chemických látek v tuhé a kapalné fázi a to měřením indexu lomu, který je za dané teploty, popř. za daného tlaku a vlnové délky charakteristickou konstantou čistých látek. Obecně platí, že stanovení nečistot je tím citlivější a přesnější, čím více se jejich index lomu liší od indexu lomu čisté látky [7].

Refraktometrická měření se dále velmi uplatnila při určování složení binárních směsí látek, a to především směsí organických rozpouštědel. Vyhodnocení je pak prováděno metodou kalibrační závislosti [3].

Veličiny molární refrakce R_m lze v organické chemii užít k identifikaci látek, resp. k určení jejich atomového uspořádání (struktury). Molární refrakce R_m je definovaná vztahem:

$$R_m = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \cdot \frac{M}{\rho}$$

Hodnota molární refrakce R_m vypočtená ze vzorce by se měla shodovat s hodnotou určenou jako součet tabelovaných příspěvků jednotlivých atomů nebo skupin atomů a vazeb v molekule (viz tab. 4). S rozvojem jiných optických metod, např. molekulární spektroskopie, ztrácí tato metoda uplatnění, co se týče strukturálních otázek [3].

5.4. Návody do laboratorního cvičení

5.4.1. Analýza binární směsi methanol – voda

Princip:

Index lomu je aditivní veličina a není proto vhodný pro specifickou kvalitativní, nebo kvantitativní analýzu ve složitých vzorcích. Index lomu je ale užitečnou konstantou látky; charakterizuje jednak její čistotu, jednak její molekulovou strukturu. Pro kvantitativní analýzu se hodí měření indexu lomu pro stanovení kapalných látek (rozpouštědel) v binárních nebo ternárních směsích.

Úkol:

1. Vyhodnotit kalibrační závislost pro binární směs rozpouštědel methanol – voda.
2. Stanovit složení směsi methanol/voda ve vzorku.

Potřeby:

Abbeho refraktometr, kapátko, methanol, destilovaná voda a jejich směsi s hmotnostním poměrem 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10, neznámé vzorky.

Postup:

1. U sady vodných roztoků methanolu v hmotnostních poměrech CH_3OH/H_2O: 10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20 a 90/10 a destilované vody změříme index lomu *n*. Každé měření provádíme 3x včetně nanášení vzorku.
2. Ze získaných dat sestrojíme kalibrační závislost binární směsi, tj. závislost indexu lomu na hmotnostním poměru CH_3OH/H_2O.
3. U neznámých vzorků změříme index lomu a z kalibrační závislosti zjistíme složení.
4. Protože v případě binární směsi CH_3OH/H_2O není složení směsi CH_3OH/H_2O ve vzorku jednoznačné, správné složení vzorku určíme tak, že část vzorku zředíme destilovanou vodou a opět změříme index lomu.
5. Dle toho, zda se hodnota indexu lomu po zředění sníží či zvýší, určíme, kterou část kalibrační závislosti je třeba použít k vyhodnocení [12, 13].

5.4.2. Analýza binární směsi ethanol – voda

Úkol:

1. Zjistit specifickou a molární refrakci ethanolu a vody a jejich směsí.
2. Ověřit linearitu závislosti specifické refrakce těchto směsí na hmotnostním zlomku ethanolu i aditivitu molárních atomových refrakcí pro ethanol a vodu.
3. Po změření indexů lomu stanovit pomocí kalibrační křivky koncentraci ethanolu v neznámém vzorku.

Potřeby:

Abbeho refraktometr, 5 pyknometrů (10 cm^3, 25 cm^3), kapátko, ethanol, voda a jejich směsi s hmotnostním poměrem 20/80, 40/60, 60/40 a 80/20, neznámý vzorek.

Postup:

1. Zapneme lampu a necháme ji nejméně 15 minut žhavit.
2. Měření indexu lomu provedeme nejprve s vodou, jejíž index lomu předem nalezneme v tabulkách, pak s ostatními kapalinami. Jejich indexy lomu očekáváme v intervalu mezi indexy lomu vody a ethanolu (také předem nalezneme v tabulkách).
3. Index lomu neznámého vzorku měříme dvakrát: Jednou index lomu přímo neznámého vzorku, podruhé index lomu neznámého vzorku zředěného vodou (1 g vzorku : 1 g destilované vody).
4. Hustotu roztoků (hustotu vody převezmeme z tabulek) stanovíme pyknometricky [14].

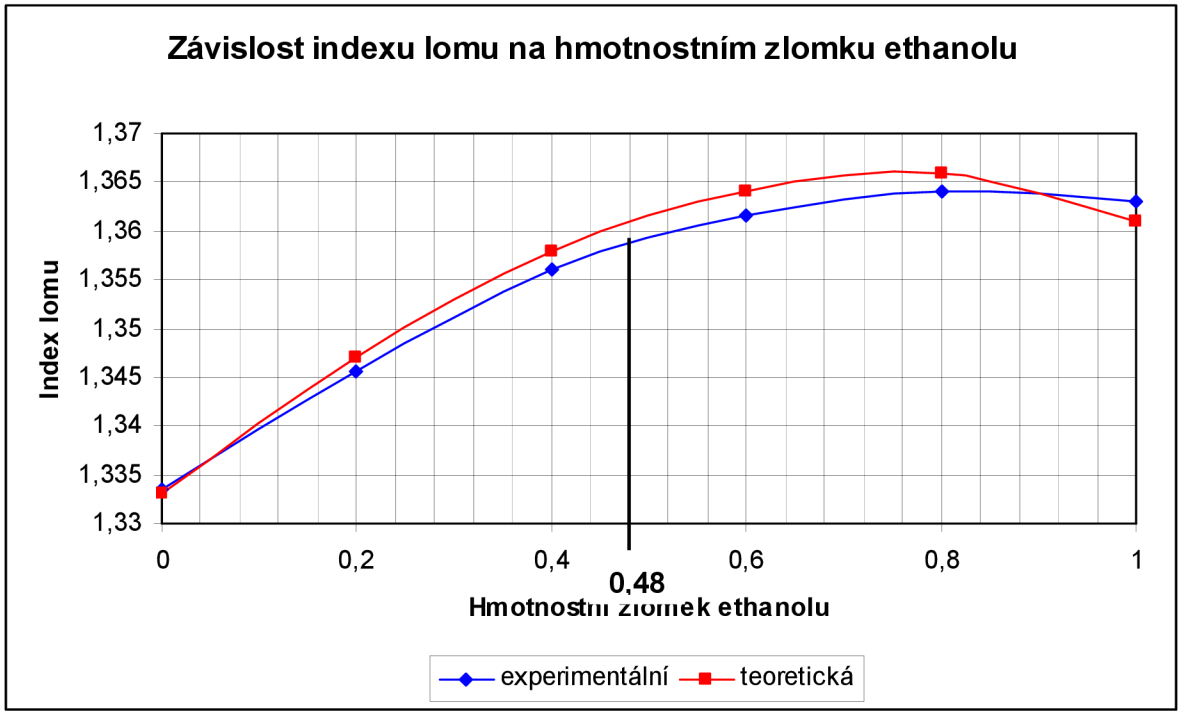
5.4.2.1. Vyhodnocení

Teoretické a experimentální hodnoty jsou přehledně uvedeny v tabulce č. 5. Závislost indexu lomu na hmotnostním zlomku ethanolu a závislost specifické refrakce na hmotnostním zlomku ethanolu je zobrazena na grafu č. 1 a 2.

vzorek (ethanol/voda)	**0/100**	**20/80**	**40/60**	**60/40**	**80/20**	**100/0**	**nezmámý**
m pyknometru (g)	–	8,536	7,618	8,329	8,592	20,285	18,669
m vzorku v pyk. (g)	–	18,448	17,315	17,398	17,221	40,415	41,302
m vzorku (g)	–	9,912	9,697	9,069	8,629	20,130	22,633
m vody v pyk. (g)	–	18,712	17,867	18,426	18,687	45,182	43,625
m vody (g)	–	10,176	10,249	10,097	10,095	24,897	24,956
V pyknometru (cm^3)	–	10,194	10,267	10,115	10,113	24,942	25,001
ρ_E vzorku ($g.cm^{-3}$)	–	0,9723	0,9445	0,8966	0,8533	0,8071	0,9053
ρ_T vzorku ($g.cm^{-3}$)	0,9982	0,9686	0,9352	0,8911	0,8434	0,7893	neznámá
hmotnostní zlomek ethanolu	0	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0	neznámý
n_T index lomu (z tabulek)	1,333	1,347	1,358	1,364	1,366	1,361	neznámý
n_E index lomu (experimetnální)	1,3335	1,3455	1,3560	1,3615	1,3640	1,3630	1,3605
r_T specifická refrakce ($g^{-1}.cm^3$)	0,2061	0,2204	0,2348	0,2501	0,2656	0,2803	neznámá
r_E specifická refrakce ($g^{-1}.cm^3$)	0,2063	0,2187	0,2313	0,2471	0,2612	0,2722	0,2441

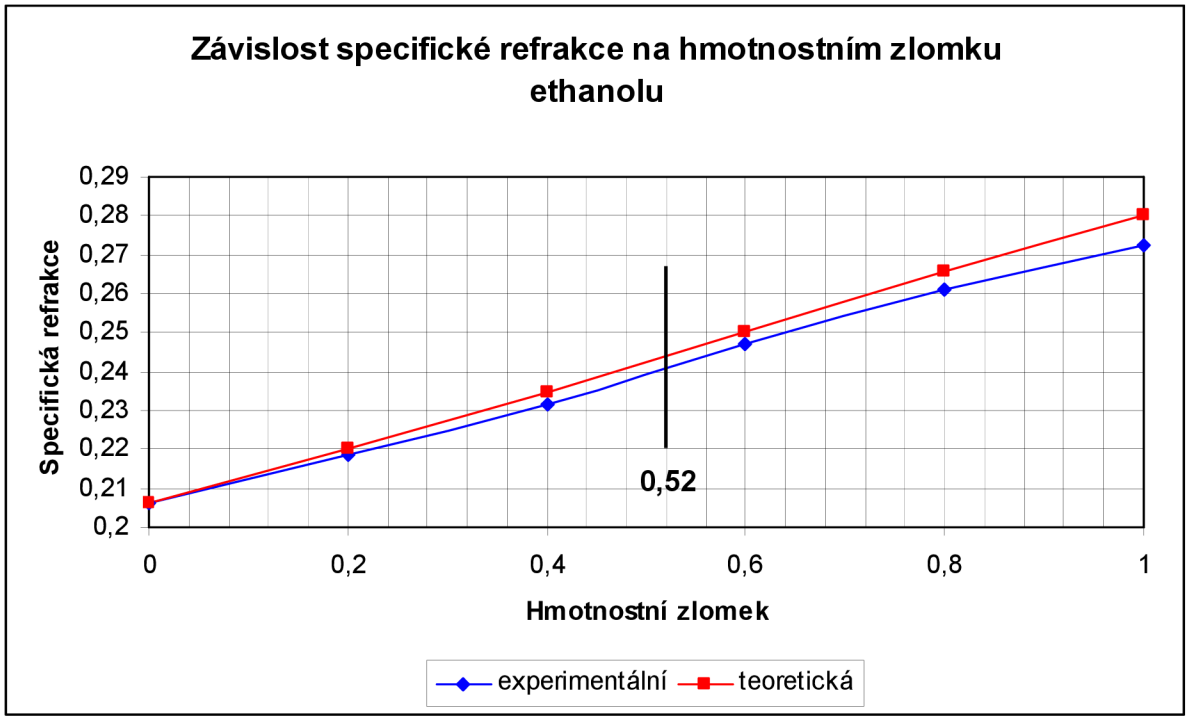
Tab. 5

Teoretické a experimentální hodnoty



Graf 1

Závislost indexu lomu na hmotnostním zlomku ethanolu



Graf 2

Závislost specifické refrakce na hmotnostním zlomku ethanolu

Teoretické hodnoty molárních refrakcí ethanolu a vody:

Atomové refrakce pro atom (skupinu):

C ..... 2,418 $cm^3.mol^{-1}$

H ..... 1,100 $cm^3.mol^{-1}$

O (ze sk. OH)..... 1,525 $cm^3.mol^{-1}$

$$R_{H_2O} = 2.H + 1.(-OH) = 2.1{,}100 + 1{,}525 = \underline{\underline{3{,}725}}\ cm^3.mol^{-1}$$

$$R_{C_2H_5OH} = 2.C + 6.H + 1.(-OH) = 2.2{,}418 + 6.1{,}100 + 1{,}525 = \underline{\underline{12{,}961}}\ cm^3.mol^{-1}$$

Experimentální hodnoty molárních refrakcí ethanolu a vody:

$$M_{H_2O} = 2.H + 1.O = 2.1{,}00794 + 15{,}9994 = 18{,}0153\ g.mol^{-1}$$

$$R_{H_2O} = r_{H_2O}.M_{H_2O} = 0{,}2063.18{,}0153 = \underline{\underline{3{,}7166}}\ cm^3.mol^{-1}$$

$$M_{C_2H_5OH} = 2.C + 6.H + 1.O = 2.12{,}011 + 6.1{,}00794 + 15{,}9994 = 46{,}0690\ g.mol^{-1}$$

$$R_{C_2H_5OH} = r_{C_2H_5OH}.M_{C_2H_5OH} = 0{,}2722.46{,}0690 = \underline{\underline{12{,}5400}}\ cm^3.mol^{-1}$$

5.5. Scénáře videozáznamů laboratorních úloh

5.5.1. Analýza binární směsi methanol – voda

1. snímek: Název laboratorní úlohy

Refraktometrické stanovení směsi methanolu a vody

Slovní komentář:

Refraktometrie je optická metoda založená na měření indexu lomu látek. Touto metodou je možné určovat čistotu látek a u kapalných binárních směsí také jejich složení.

2. snímek: Cíl experimentu

2A Sestrojit kalibrační závislost pro binární směs rozpouštědel methanol/voda.

2B Stanovit složení směsi methanol/voda v neznámém vzorku.

Slovní komentář:

Cílem tohoto experimentu je sestrojit kalibrační závislost pro binární směs rozpouštědel methanol/voda a stanovit složení směsi methanol/voda v neznámém vzorku.

3. snímek: Materiál a pomůcky

3A Reagenční lahve – destilovaná voda a směsi methanol/voda v hmotnostních poměrech (10/90, 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10).

3B Abbeho refraktometr.

4. snímek: Refraktometrické měření indexu lomu roztoků (voda, kalibrační roztoky)

4A Nanesení roztoku (voda) na plochu pomocného hranolu, uzavření.

4B Očištění ploch hranolů pomocí buničiny.

4C Nanesení vzorku (voda) na plochu lámavého hranolu, uzavření.

4D Zaostření rozhraní světla a tmy.

4E Odečtení indexu lomu ze stupnice.

4F Nanesení roztoku methanol/voda 10/90.

4G Nanášení roztoků methanol/voda: 20/80, 30/70, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 80/20, 90/10.

4H Nanesení roztoku neznámého vzorku.

4I Nanesení zředěného roztoku neznámého vzorku.

Slovní komentář:

Refraktometrické měření indexu lomu jednotlivých vzorků budeme provádět Abbeho refraktometrem. Mezi hranoly naneseme vzorek kapaliny (4A, 4C), jejíž index lomu budeme právě měřit. Ten rozetřeme tak, aby byla celá plocha pokryta rovnoměrnou vrstvou. Po uzavření refraktometru zaostříme rozhraní světla a tmy tak, že ukazatel posuneme do takové polohy, aby se rozhraní světla a tmy v okuláru refraktometru nacházelo na středu nitkového kříže a rozhraní nebylo barevné (4D). Ze stupnice pak odečteme index lomu daného vzorku kapaliny (4E). Po skončení každého měření očistíme plochy hranolů pomocí buničiny (4B). Podobně budeme nanášet i jednotlivé kalibrační roztoky (4F, 4G), neznámý vzorek (4H) a zředěný neznámý vzorek (4I).

5. snímek: Ředění neznámého vzorku

5A Ředění neznámého vzorku (4 díly vzorku + 1 díl vody).

Slovní komentář:

Vzhledem k tomu, že stanovení složení vzorku z kalibrační závislosti není jednoznačné (nalezený index lomu může někdy odpovídat dvěma složením směsi), správné složení poznáme tak, že vzorek zředíme vodou (4 díly vzorku + 1 díl vody) (5A) a změříme znovu index lomu (4I). Podle toho, zda se index lomu zředěním sníží či zvýší, určíme, na které větvi kalibrační závislosti je třeba hledat správné složení vzorku.

5.6. Výpočty v refraktometrii

5.6.1. Ukázka příkladu prvního typu

Zadání:

Vypočtěte hodnoty indexu lomu pro destilovanou vodu, byl-li naměřen při teplotě 13 °C mezný úhel 48,58° a při teplotě 27 °C mezný úhel 48,64°. [15]

Řešení:

1. krok:

Hodnoty indexu lomu stanovíme výpočtem ze Snellova zákona:

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta} \qquad (1)$$

2. krok:

Počítáme-li s hodnotami mezného úhlu lomu, pak úhel dopadu má velikost 90°:

$$n = \frac{\sin 90°}{\sin \beta_{max}} = \frac{1}{\sin \beta_{max}} \qquad (2)$$

3. krok:

Dosazením do vzorce (2) stanovíme hodnoty indexu lomu:

$$n^{13} = \frac{1}{\sin 48{,}58°} = \frac{1}{0{,}74988} = \underline{1{,}3335}$$

$$n^{27} = \frac{1}{\sin 48{,}64°} = \frac{1}{0{,}75057} = \underline{1{,}3323}$$

Výsledek:

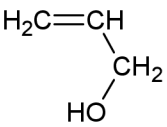
$$n^{13} = 1{,}3335, \; n^{27} = 1{,}3323$$

5.6.2. Ukázka příkladu druhého typu

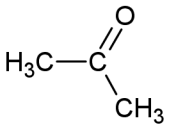
Zadání:

Látka sumárního vzorce C_3H_6O (M_r = 58,081 g.cm^{-3}) má při 20 °C hustotu ρ = 0,8006 g.cm^{-3} a index lomu n_D = 1,3641. Rozhodněte podle Lorenzova-Lorentzova vztahu, zda má látka vzorec I nebo II. [9]

I



II



Řešení:

1. krok:

Pro výpočet molární refrakce R_m platí vztah:

$$R_m = \frac{n^2 - 1}{n^2 + 2} \cdot \frac{M}{\rho} \qquad (1)$$

2. krok:

Dosazením do vzorce (1) stanovíme experimentální hodnotu molární refrakce R_m:

$$R_m(C_3H_6O) = \frac{1{,}3641^2 - 1}{1{,}3641^2 + 2} \cdot \frac{58{,}081}{0{,}8006} = 16{,}174\ cm^3 mol^{-1}$$

3. krok:

Z příspěvků jednotlivých atomů (skupin atomů) a vazeb v molekule z tabulky (viz tabulka č. 4) vypočítáme teoretické hodnoty molárních refrakcí R_m obou sloučenin:

I $CH_2 = CH - CH_2 - OH$	3 uhlíky (C)	3 x 2,418	7,254
	6 vodíků (H)	6 x 1,100	6,600
	1 kyslík hydroxylu	1 x 1,525	1,525
	dvojná vazba	1 x 1,733	1,733
			= 17,112

II $CH_3 – CO – CH_3$	3 uhlíky (C)	3 x 2,418	7,254
	6 vodíků (H)	6 x 1,100	6,600
	1 kyslík karbonylu	1 x 2,211	2,211
			= 16,065

4. krok:

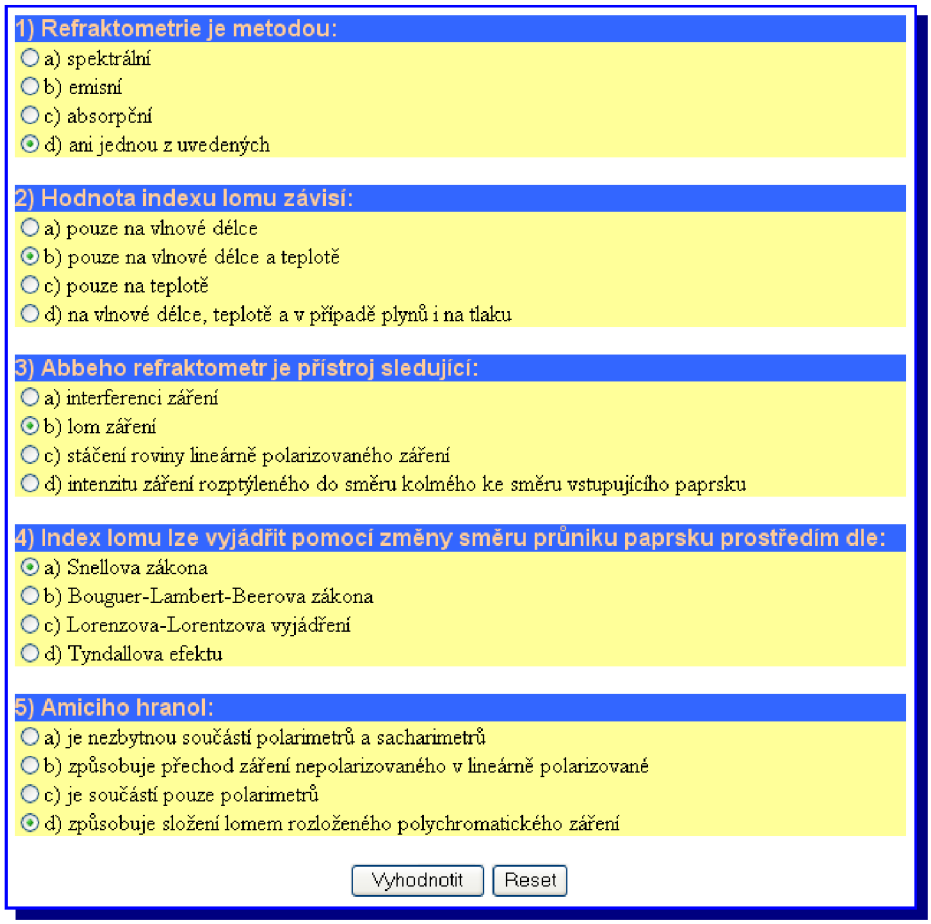
Porovnáním experimentální a teoretické hodnoty R_m zjistíme, že zkoumanou látkou je sloučenina se vzorcem $CH_3 – CO – CH_3$ (aceton).

Výsledek:

Zkoumaná látka má vzorec II ($CH_3 – CO – CH_3$).

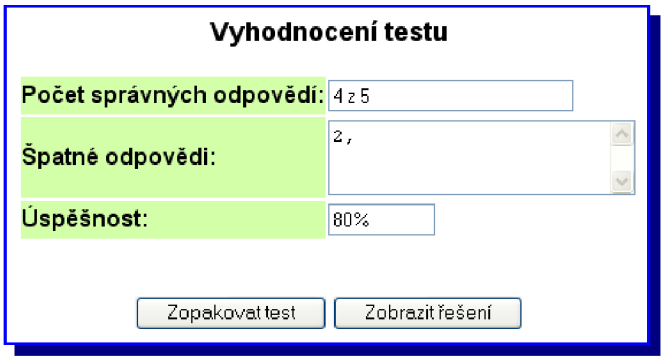
5.7. Didaktické testy

Na obrázcích č. 6, 7 a 8 je uvedena ukázka zkráceného testu z refraktometrie, jeho vyhodnocení a správné řešení.



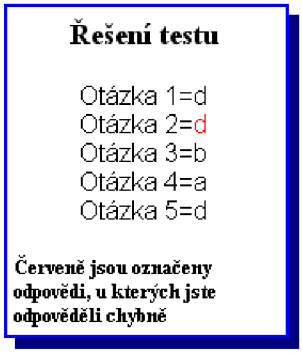
Obr. 6

Ukázka zkráceného testu z refraktometrie



Obr. 7

Vyhodnocení testu



Obr. 8

Řešení testu

6. Polarimetrie

6.1. Princip metody

Polarimetrie je optická metoda, jejíž základní princip je založen na schopnosti některých látek stáčet rovinu lineárně polarizovaného záření. Jedná se většinou o látky organické vykazující přítomnost asymetrického uhlíku, který nese čtyři odlišné substituenty. Dále to mohou být i látky anorganické s asymetrickou molekulou. Hovoříme o tzv. opticky aktivních látkách. Všeobecně lze za opticky aktivní látku považovat jakoukoliv látku, jejíž molekuly nelze ztotožnit s jejich zrcadlovým obrazem [3].

6.1.1. Polarizace světla

Paprsek světla je příčným elektromagnetickým vlněním, který má elektrickou a magnetickou složku. Vektor intenzity E elektrického pole je vždy kolmý na směr šíření elektromagnetického vlnění. Jestliže vektor E kmitá nahodile v rovině kolmé k vlnění, pak takové elektromagnetické vlnění označujeme jako nepolarizované světlo. U světla polarizovaného oba vektory, elektrický a magnetický, kmitají pouze ve dvou na sebe kolmých rovinách [2].

Rozlišujeme rovinně (lineárně) polarizované světlo, které kmitá pouze v jedné rovině proložené paprskem a kruhově (cirkulárně) polarizované světlo, které kmitá tak, že elektrický a magnetický vektor konají rotační pohyb ve směru paprsku [3].

Podle smyslu otáčení roviny polarizovaného světla rozlišujeme látky pravotočivé a levotočivé. Pravotočivé opticky aktivní látky stáčejí rovinu polarizovaného světla při pohledu vstříc procházejícímu paprsku ve směru hodinových ručiček a levotočivé pak proti směru hodinových ručiček [2].

6.1.2. Měrná otáčivost

Měrná otáčivost je fyzikální konstantou charakterizující každou opticky aktivní látku. Je definována jako úhel, o který otočí opticky aktivní látka rovinu monochromatického polarizovaného světla při jednotkové tloušťce vrstvy (1 mm pro tuhé látky a 1 dm pro

roztoky) a u roztoků též při jednotkové koncentraci 1 g.cm^{-3}. Udává se v úhlových stupních [7].

Při určování koncentrace opticky aktivní látky z měrné otáčivosti, tj. při kvantitativní polarimetrii, používáme vztah:

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{t} \cdot l \cdot \rho$$

kde $[\alpha]_{\lambda}^{t}$ .... měrná otáčivost látky při dané teplotě a vlnové délce,

α ..... optická otáčivost nebo úhel otočení,

l ..... tloušťka roztoku (dm),

ρ ..... koncentrace (g.cm^{-3}).

Hodnoty měrných otáčivostí jsou obvykle tabelovány při teplotě 20 °C a vlnové délce sodíkového dubletu (589,3 nm) – viz tabulka č. 6.

Úhel otočení polarizovaného světla závisí na charakteru látky, tloušťce vrstvy, kterou prochází polarizované záření, koncentraci opticky aktivní látky, teplotě, chemické povaze rozpouštědel a vlnové délce [2].

Sloučenina	**Rozpouštědlo**	**Hmotnostní koncentrace (g.l^{-1})**	$[\alpha]_D^{20}$
Cukry			
sacharosa	H_2O	40 – 280	+ 66,529
β-d-glukosa	H_2O	90	+ 52,8
β-1-fruktosa	H_2O	45	– 93,0
invertní cukr	H_2O	100	–20,1
β-laktosa	H_2O	50	+ 55,3
β-maltosa	H_2O	20 – 200	+ 137,9
Organické kyseliny			
askorbová	H_2O	30	+ 24,0
aparagová	H_2O	5,28	+ 4,4
jablečná	H_2O	287	– 0,35
vinná	H_2O	200	+ 12,22
vinná	H_2O	300	+ 10,97
vinná	H_2O	500	+ 8,70
vinná	H_2O	600	+ 7,83
vinná	C_2H_5OH	200	+ 6,10
vinan K–Na	H_2O	100	+ 29,8
Alkaloidy			
kodein, síran	H_2O	30	– 220
morfin, síran (kryst.)	H_2O	10	– 190,1
Jiné organické látky			
cholesterol	$CHCl_3$	–	– 39,3
kafr	C_2H_5OH	–	+ 43,8
kalciferol (vit. D_2)	$(CH_3)_2CO$	–	+ 82,6
menthol	C_2H_5OH	96 (g.kg^{-1})	– 50,6
sacharin	H_2O	104	+ 88,7 za 11 dní
želatina	H_2O, pH = 7	20	– 139

Tab. 6

Měrná otáčivost roztoků opticky aktivních látek při 20 °C a vlnové délce Na–D [9]

6.2. Přístrojové vybavení

Polarimetrická měření se provádějí pomocí přístrojů, které lze rozdělit na polarimetry a sacharimetry. U obou typů jsou základní konstrukční prvky shodné. Stěžejním rozdílem je odlišná kompenzace optické aktivity analyzované látky (a tedy i čtení na stupnici) a použitý zdroj záření [7].

6.2.1. Polarimetr

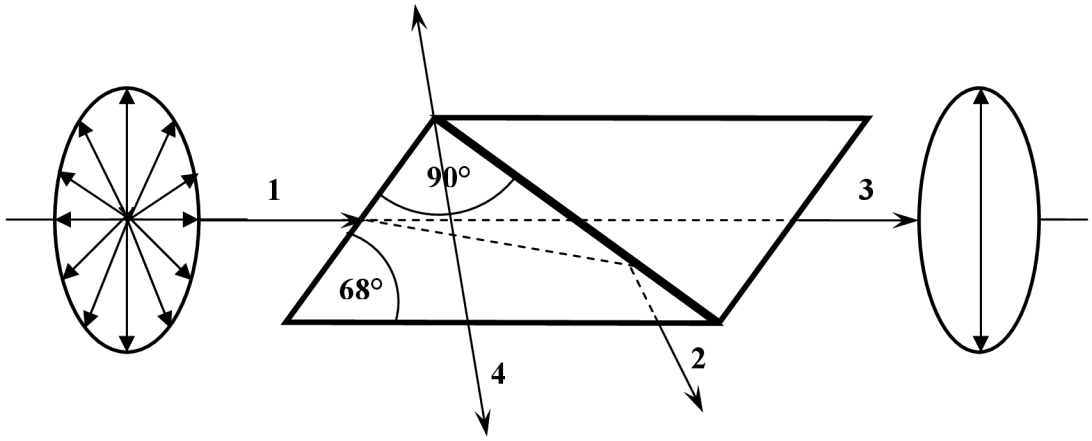
6.2.1.1. Rozdělení polarimetrů

Podle součástí přístroje rozlišujeme dva typy polarimetrů:

1. Subjektivní polarimetry jsou jednodušší a pracují jako polostínové. Mezi polarizátor a analyzátor je vložen malý třetí nikol (polostínové zařízení), který zasahuje do horní poloviny dráhy paprsku. Jeho účelem je rozdělit zorné pole dalekohledu na dvě poloviny a současně jednu z nich mírně zatemnit. Ručním otáčením analyzátoru se pak nastavují obě poloviny na stejnou intenzitu (stejný polostín) [3].
2. Objektivní polarimetry využívají automatického posunu analyzátoru, kterým otáčí servomotor na základě signálu z detektoru, jímž je fotonásobič [2].

6.2.1.2. Princip měření polarimetrem

Dopadne-li paprsek normálního nepolarizovaného záření na plošku vhodně zbroušeného klence islandského vápence, tzv. nikolu, dojde k dvojlomu. Paprsek se rozštěpí na paprsek řádný a mimořádný a současně dojde k polarizaci obou těchto paprsků. Úhly hranolu jsou voleny tak, že řádný paprsek se odráží na ploše dotyku obou částí hranolu a v přímém směru hranolem prochází pouze mimořádný paprsek. Pro měření je tedy důležitý pouze paprsek mimořádný. Vznik lineárně polarizovaného záření průchodem paprsků Nicolovým hranolem je uveden na obrázku č. 9 [16].



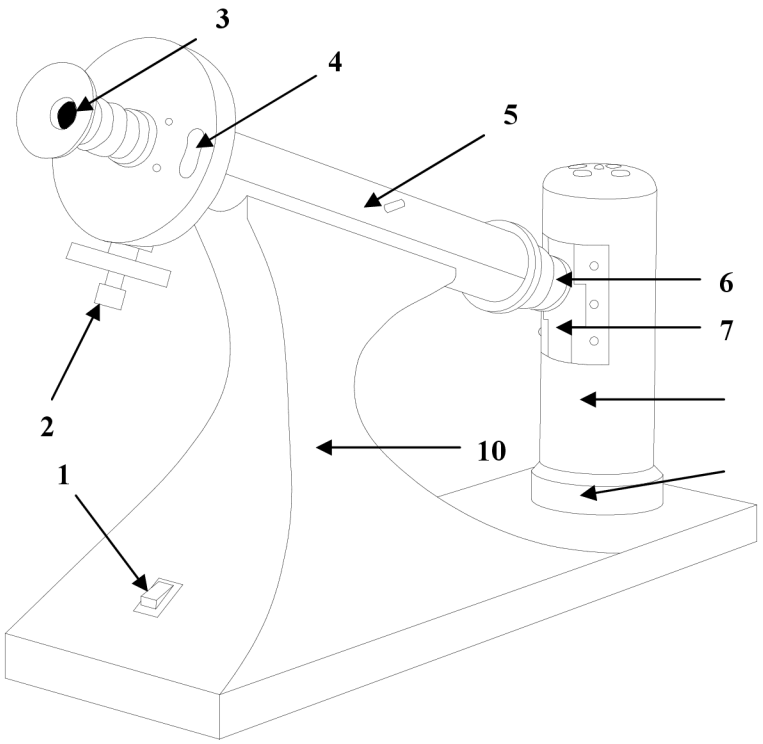
1 – vstupující nepolarizovaný paprsek, **2** – řádný paprsek, **3** – mimořádný paprsek, **4** – směr optické osy krystalu islandského vápence (kalcitu)

Obr. 9

Vznik lineárně polarizovaného záření průchodem paprsku Nicolovým hranolem [16]

6.2.1.3. Popis polarimetru

Na obrázku č. 10 je uveden popis subjektivního polarimetru.



1	vypínač
2	nastavovací kotouč
3	okulár
4	stupnice a nonius
5	prostor pro kyvetu se vzorkem (lůžko)
6	polarizátor
7	skleněný filtr
8	kryt lampy
9	objímka lampy
10	plášť polarimetru

Obr. 10

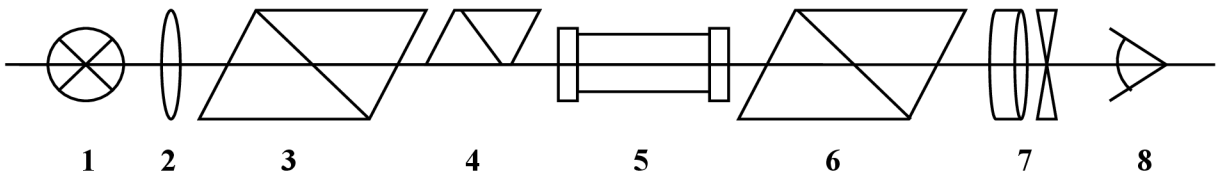
Subjektivní polarimetr a jeho popis (orig. D. Urbánek)

6.2.1.4. Součásti a princip polarimetru

Zdrojem monochromatického záření u polarimetru je nejčastěji sodíková (Na) nebo rtuťová (Hg) výbojka. Ze zdroje světla se štěrbinou ve sběrné čočce vymezí úzký svazek paprsků, jež je dále veden do polarizátoru. Uspořádání subjektivního polarimetru je uvedeno na obrázku č. 11.

Polarizátor je první nikol v optickém uspořádání polarimetru. Je pevný a jeho funkcí je přeměnit normální nepolarizované záření na lineárně polarizované. Druhým nikolem je tzv. analyzátor, jež je otočný kolem své vodorovné osy. Mezi oba nikoly je vkládána kyveta s analyzovaným roztokem opticky aktivní látky. V případě analýzy pevných látek je místo kyvety využito destičky opticky aktivní pevné látky. Lineárně polarizované záření prochází roztokem opticky aktivní látky v kyvetě. Opticky aktivní látka pak způsobí otočení roviny polarizovaného světla o určitý úhel. Analyzátor pak svojí polohou sleduje otočení této roviny. Světlo vycházející z analyzátoru pozorujeme dalekohledem a hodnotu úhlu otočení roviny odečteme na stupnici. Princip polarimetru je uveden na obrázku č. 12.

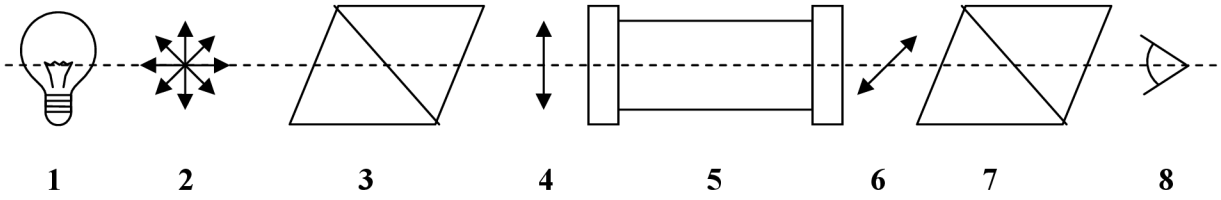
Pokud v kyvetě není opticky aktivní látka, pak analyzátor propouští mimořádný paprsek plné intenzity, avšak pouze tehdy, je-li analyzátor ve stejné poloze jako polarizátor. Kdybychom s analyzátorem otáčeli, klesala by intenzita propuštěného světla k nule při úhlu 90°. Pokud je kyveta naplněna opticky aktivní látkou, pak dojde k otočení roviny polarizovaného světla o určitý úhel. K opětovnému nastavení světelného maxima je třeba otočit analyzátorem o stejný úhel. Tento úhel odečteme na stupnici [3].



1 – zdroj záření (Na nebo Hg výbojka), **2** – sběrná čočka, **3** – polarizátor, **4** – polostínové zařízení, **5** – kyveta s analyzovaným vzorkem opticky aktivní látky, **6** – analyzátor, **7** – dalekohled, **8** – detektor (oko)

Obr. 11

Optické uspořádání subjektivního polarimetru [7]



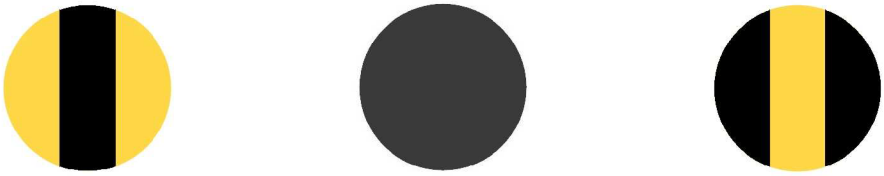
1 – zdroj záření (Na nebo Hg výbojka), **2** – nepolarizované světlo, **3** – polarizátor, **4** – lineárně polarizované světlo, **5** – kyveta s analyzovaným vzorkem opticky aktivní látky, **6** – lineárně polarizované světlo otočené o určitý úhel, **7** – analyzátor, **8** – detektor (oko)

Obr. 12

Princip polarimetru (orig. D. Urbánek)

6.2.1.5. Postup při měření polarimetrem

Vypínačem zapneme přístroj a necháme jej po dobu 10 až 15 minut žhavit. Kyvetu (polarimetrickou trubici) naplníme čirým analyzovaným vzorkem, dobře osušíme, vložíme do lůžka polarimetru a přiklopíme víkem. Pomalu otáčíme nastavovacím kotoučem a sledujeme kruhové zorné pole v okuláru. Nalezneme takovou polohu, aby všechny 3 části zorného pole byly stejně osvětlené [16]. Třídílné zorné pole polarimetru měnící se během měření je uvedeno na obrázku č. 13.



1 – špatně, **2** – správně, **3** – špatně

Obr. 13

Třídílné zorné pole okuláru polarimetru (orig. D. Urbánek)

Postup odečítání na stupnici:

Optickou otáčivost odečteme zvětšovací lupou na stupnici vlevo i vpravo. Obě stupnice by měly ukazovat přibližně stejnou hodnotu. Malé odchylky eliminujeme zprůměrováním hodnot.

Stupnice se skládá ze dvou částí:

1. Nonius je vnitřní částí a je dělený na 20 dílků. Umožňuje čtení optické otáčivosti s přesností na 0,05°.
2. Vlastní stupnice je vnější částí. Na této stupnici jsou číselně označeny hodnoty optické otáčivosti 0^o, 10^o, 20^o, atd.

Celá čísla z hodnoty optické otáčivosti se odečítají na vnější stupnici proti 0 nonia. Kladné hodnoty odečítáme směrem dolů, záporné hodnoty směrem nahoru. Desetiny stupňů odečítáme pomocí nonia. Každý dílek nonia odpovídá 0,05°. Určíme, kolikátá čárka na stupnici nonia se přesně kryje s libovolnou čárkou hlavní stupnice. Toto číslo pak násobíme 0,05° a tuto hodnotu přičteme k celým stupňům zjištěným v předchozím bodě [16].

Ukázka stupnice polarimetru je na obrázku č. 14.

Obr. 14

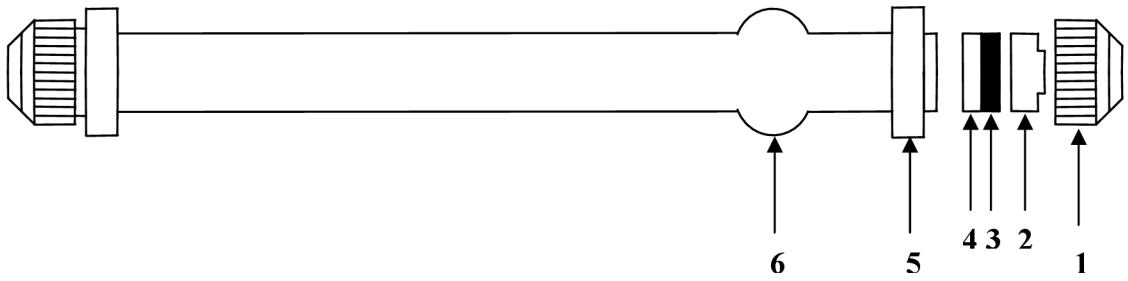
Pohled na stupnici polarimetru ukazující hodnotu optické otáčivosti 9,7° na pravé stupnici (orig. D. Urbánek)

Plnění kyvety (polarimetrické trubice):

Kyvetu (polarimetrickou trubici) otevřeme tak, že odšroubujeme kovový uzávěr, vyjmeme čepičku, pryžové těsnění a skleněné okénko. Jednotlivé části kyvety jsou znázorněny na obrázku č. 15.

Při plnění uchopíme kyvetu za kovový prstenec, aby nedošlo k nežádoucímu zahřátí a naplníme ji až po horní okraj analyzovaným vzorkem, přičemž meniskus kapaliny by měl vyčnívat nad horní okraj kyvety.

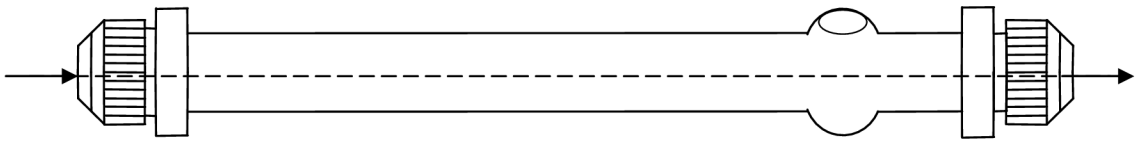
Uzavírání kyvety provádíme tak, že postupně nasuneme skleněné okénko, přiložíme pryžové těsnění a čepičku a nakonec pomocí vnějšího kovového uzávěru kyvetu uzavřeme. Případně vzniklé drobné vzduchové bubliny není třeba odstraňovat. Lze je zachytit ve vodorovné poloze kyvety do prstencovité výdutě [16].



1 – kovový uzávěr, **2** – čepička, **3** – pryžové těsnění, **4** – skleněné okénko, **5** – kovový prstenec, **6** – prstencovitá výduť

Obr. 15
Popis kyvety (polarimetrické trubice) (orig. D. Urbánek)

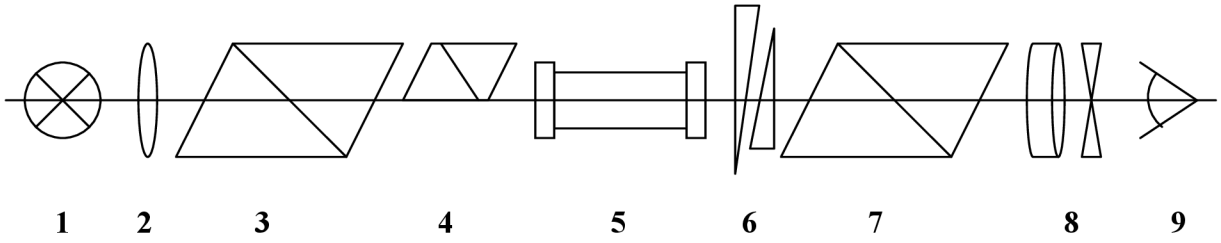
Znázornění průchodu paprsku kyvetou je uvedeno na obrázku č. 16.



Obr. 16
Průchod paprsku uzavřenou kyvetou s analyzovaným vzorkem (orig. D. Urbánek)

6.2.2. Sacharimetr

Druhým typem polarimetrických přístrojů je sacharimetr, který je co do základní konstrukce téměř shodný s polarimetrem. Jak už naznačuje název, slouží tento přístroj ke stanovení obsahu sacharosy v analyzovaném vzorku. Od normálního polarimetru se liší tím, že se otočení roviny polarizovaného světla nekompenzuje otáčením analyzátoru, ale pomocí křemenného kompenzátoru. Jde o soustavu dvou křemenných pravoúhlých klínků z levotočivého křemene a jedné křemenné destičky z pravotočivého křemene. Optické uspořádání sacharimetru je uvedeno na obrázku č. 17 [7].



1 – zdroj záření, **2** – sběrná čočka, **3** – polarizátor, **4** – polostínové zařízení, **5** – kyveta s analyzovaným vzorkem opticky aktivní látky, **6** – kompenzační zařízení, **7** – analyzátor, **8** – dalekohled, **9** – detektor (oko)

Obr. 17
Optické uspořádání sacharimetru [7]

Dalším rozdílem a současně prakticky výhodným zjednodušením je, že u sacharimetrů lze místo monochromatického záření použít polychromatické filtrované bílé světlo a to díky shodné rotační disperzi křemene a sacharosy. Proto křemenným kompenzátorem nejen vyrovnáváme optickou aktivitu sacharosy, ale složíme i otáčením rozložené polarizované polychromatické světlo. Se vzrůstající koncentrací sacharosy v analyzovaném vzorku však vzrůstají odchylky od rotační disperze křemene a sacharosy. Abychom mohli měřit sacharimetrem i koncentrovanější roztoky sacharosy, užíváme polarimetrických filtrů. Zpravidla se využívají oranžové filtry, jejichž funkcí je odfiltrování krátkovlnné oblasti polychromatického zdroje, protože v ní se odchylky rotační disperze nejvíce projevují.

U sacharimetrů jsou nikoly pevné a jejich polarizační roviny svírají úhel 90°. Světelné intenzity vyrovnáváme posunutím klínku křemenného kompenzačního zařízení [7].

6.3. Využití v chemické analýze

Polarimetrie je optická metoda instrumentální analýzy, která se všeobecně využívá ke studiu anizotropních látek a ke kontrole čistoty směsí chirálních (asymetrických) látek [3].

Co se týče užití polarimetrických metod v praxi, pak je nutné k získání správných výsledků brát v úvahu kromě fyzikálních faktorů (teploty, vlnové délky) také faktory chemické (např. pH analyzovaných roztoků) a dobu, resp. čas, po který byl připravený roztok opticky aktivní látky měřen.

Z analytického hlediska je dále nevýhodné, že optická aktivita je aditivní a redukuje tak rozsah využití polarimetrie na kvantitativní stanovení jedné opticky aktivní látky ve směsi s látkami neaktivními. Je možné stanovit i několik aktivních látek vedle sebe, avšak při takovém stanovení se musíme spokojit s pouhou sumou. Princip stanovení dvou nebo více opticky aktivních látek vedle sebe individuálně lze nastínit příkladem stanovení sacharosy vedle glukosy, při kterém se změří nejprve suma optické otáčivosti obou cukrů. Poté se hydrolyticky rozloží disacharid (sacharosa) na monosacharidy (glukosa a fruktosa) a následně je změřena změna otáčivosti roztoku. Jelikož jsou sacharosa a glukosa pravotočivé a fruktosa levotočivá, pak lze z rozdílu otáčivostí a jejich sumy vypočítat koncentraci obou cukrů [7].

Největší uplatnění mají polarimetrické metody v cukrovarnickém a potravinářském průmyslu, kde se využívá optické aktivity sacharidů. Nejčastěji se však používají pro stanovení obsahu sacharosy. Koncentrace cukru v různých cukrovarnických produktech se vyjadřuje hmotnostními procenty a značí se *P*. V cukrovarnické analytice se pak užívá speciálních úhlových jednotek °S (grad Sugar, tj. stupeň cukru). Tato jednotka je definována optickou otáčivostí normálního roztoku cukru. Normální roztok cukru je tvořen 26 gramy čisté sacharosy rozpuštěnými při 20 °C ve vodě a doplněnými na objem 100 ml. Tento roztok pak má optickou otáčivost 100 °S (viz Návod laboratorního cvičení – Polarimetrické stanovení sacharosy v hořké čokoládě) [17].

Polarimetrických metod lze využít i v klinické praxi ke stanovení bílkovin v moči, ve farmacii a biochemii ke stanovení steroidů, vitamínů a alkaloidů [3].

6.4. Návody do laboratorního cvičení

6.4.1. Polarimetrické stanovení sacharosy v hořké čokoládě

Princip:

Polarimetrické metody jsou použitelné většinou pouze pro stanovení sacharosy, která je podstatnou složkou cukrovarnických (sirup, surový cukr) nebo cukrovinářských výrobků (čokoláda). Koncentrace cukru v různých cukrovarnických produktech se vyjadřuje hmotnostními procenty a značí se P. Stanovuje se téměř všeobecně polarimetricky, a proto se též nazývá polarizací produktu. V cukrovarnické analytice se používá speciální úhlové jednotky 1 °S:

1 °S = 1 stupeň cukru (grad Sugar).

Tato jednotka je definována optickou otáčivostí normálního roztoku cukru. Normální roztok cukru je roztok 26 g čisté sacharosy rozpuštěné při 20 °C ve vodě a doplněné na 100 ml. Tento roztok má optickou otáčivost 100 °S.

Optická otáčivost α tohoto roztoku ve vrstvě 200 mm dlouhé při 20 °C činí:

a) při vlnové délce izotopu rtuti ^{198}Hg, $\lambda = 546{,}23$ nm
   $\alpha_{546,23}^{20,0\ °C} = 40{,}777° \pm 0{,}001° = 100\ °S$

b) při vlnové délce sodíkové čáry $\lambda = 589{,}44$ nm
   $\alpha_{589,44}^{20,0\ °C} = 34{,}626° \pm 0{,}001° = 100\ °S$

Polarizační stupnice odpovídající těmto definicím se označuje jako mezinárodní cukerní stupnice a polarimetry a křemenné desky podle ní kalibrované se označují °S.

Starší polarimetrické přístroje jsou vybaveny stupnicí ve stupních Ventzkeho °V. Normální roztok pro tyto přístroje je definován jako 26,026 g čisté sacharosy rozpuštěné ve vodě a doplněné při 20 °C na objem 100 ml. Vzájemný převod mezi °S a °V je možný dle vztahu:

100 °S = 99,9 °V

Úkol:

Polarimetrické stanovení obsahu sacharosy P (%) v hořké čokoládě

Potřeby:

Polarimetr, polarimetrická trubice o délce 2 dm, Na-výbojka, odvažovací lodička, lžička, 2 odměrné baňky o objemu 100 cm^3, hořká čokoláda, ethanol, 30% $ZnSO_4$, 15% $K_4[Fe(CN)_6]$, filtrační aparatura

Postup:

1. Do dvou odměrných baněk o objemu 100 cm^3 navážíme 13 g jemně nastrouhané hořké čokolády.
2. Do jedné z baněk přidáme 13 g sacharosy.
3. Obsah baněk ovlhčíme 4 ml ehtanolu a přidáme 50 ml horké vody.
4. Obsah krouživým pohybem promícháme tak, aby se cukr dokonale rozpustil.
5. Obsah baňky vyčiříme 3 ml 30% $ZnSO_4$ a 3 ml 15% $K_4[Fe(CN)_6]$.
6. Roztoky vytemperujeme na 20 °C.
7. Obsah baňky doplníme po rysku destilovanou vodou.
8. Roztoky promícháme a zfiltrujeme.
9. První podíly z filtrátu odléváme, dokud nezískáme čiré roztoky, které polarizujeme v trubici délky 200 mm.

Vyhodnocení:

Obsah sacharosy *P* (%) se zřetelem na objem nerozpustných součástí se vypočte podle vzorce:

$$P = 2\,P_1 \cdot \frac{49{,}9}{P_2 - P_1} \quad [\%],$$

kde $\frac{49{,}9}{P_2 - P_1}$ je korekční faktor na objem nerozpustné sraženiny,

P_1 ..... nález na polarimetru u roztoku bez přídavku sacharosy,

P_2 ..... nález na polarimetru u roztoku s přídavkem sacharosy [17, 13].

6.5. Scénáře videozáznamů laboratorních úloh

6.5.1. Polarimetrické stanovení sacharosy v hořké čokoládě

1. snímek: Název laboratorní úlohy

Polarimetrické stanovení obsahu sacharosy v hořké čokoládě.

2. snímek: Cíl experimentu

Stanovit obsah sacharosy P (%) v hořké čokoládě.

Slovní komentář:

Cíleme tohoto experimentu je polarimetrickým měřením stanovit obsah sacharosy v hořké čokoládě.

3. snímek: Materiál a pomůcky

- 3A Tabulka hořké čokolády (na vaření), sacharosa, ethanol, 30% $ZnSO_4$, 15% $K_4[Fe(CN)_6]$, struhadlo, plastová miska, lžíce, 2 odměrné baňky o objemu 100 cm^3, destilovaná voda, filtrační aparatura.
- 3B Polarimetrická trubice o délce 2 dm.
- 3C Polarimetr, lampa.

4. snímek: Příprava vzorku

- 4A Nastrouháme hořkou čokoládu.
- 4B Na analytických vahách diferenčním vážením navážíme 13 g hořké čokolády.
- 4C Na vytárovaných analytických vahách s kádinkou navážíme přesné množství 13 g hořké čokolády (2. způsob vážení).
- 4D Na vytárovaných analytických vahách s kádinkou navážíme přesné množství 13 g sacharosy (2. způsob vážení).
- 4E Do dvou odměrných baněk o objemu 100 cm^3 vsypeme po 13 g jemně nastrouhané hořké čokolády.
- 4F Do jedné z baněk přidáme 13 g sacharosy.
- 4G Obsah baněk ovlhčíme 4 ml ethanolu.

4H Do obou baněk přidáme 50 ml horké vody.

4I Obsah baněk krouživým pohybem promícháme tak, aby se cukr dokonale rozpustil.

4J Obsah baněk vyčiříme 3 ml 30% $ZnSO_4$ a 3 ml 15% $K_4[Fe(CN)_6]$.

4K Roztoky vytemperujeme na 20 °C.

4L Obsah baněk doplníme po rysku destilovanou vodou.

4M Roztoky promícháme a zfiltrujeme.

4N První podíly z filtrátu odléváme.

Slovní komentář:

Vzorek určený k polarimetrickému měření připravíme tak, že do dvou odměrných baněk o objemu 100 ml vsypeme 13 gramů jemně nastrouhané hořké čokolády (4E). Do jedné z těchto baněk přidáme 13 gramů sacharosy (4F). Obsah obou baněk ovlhčíme 4 ml ethanolu (4G) a přidáme 50 ml horké vody (4H). Obsah krouživým pohybem promícháme tak, aby se cukr dokonale rozpustil (4I). Poté 3 ml 30% síranu zinečnatého a 3 ml 15% hexakyano-železnatanu draselného vyčiříme obsah baněk (4J). Vzniklé roztoky vytemperujeme na teplotu 20 °C (4K) a následně doplníme po rysku destilovanou vodou (4L). Roztoky promícháme a zfiltrujeme (4M). První podíly z filtrátu odléváme (4N).

5. snímek: Polarimetrické měření optické otáčivosti roztoku bez přídavku sacharosy

5A Zapneme sodíkovou výbojku a necháme ji nejméně 15 minut žhavit.

5B Snímek „Po 15 minutách žhavení“.

5C Čirým roztokem bez obsahu sacharosy naplníme polarimetrickou trubici (kyvetu) a uzavřeme.

5D Kyvetu dobře osušíme, vložíme do lůžka polarimetru a přiklopíme víkem.

5E Pomalu otáčíme nastavovacím kotoučem a sledujeme kruhové pole v okuláru. Nalezneme takovou polohu, aby všechny 3 části zorného pole byly stejně žlutavě šedě osvětlené.

5F Snímek s obrázkem „Vyrovnané zorné pole polarimetru“.

5G Optickou otáčivost přečteme zvětšovací lupou na stupnici.

5I Vyprázdníme kyvetu a vypláchneme ji destilovanou vodou.

Slovní komentář:

Polarimetrické měření zahájíme zapnutím sodíkové výbojky. Tu je nutné ponechat alespoň 15 minut žhavit, aby nedošlo ke zkreslení měření (5A). Čirým roztokem bez přídavku sacharosy naplníme polarimetrickou trubici (kyvetu) a uzavřeme ji tak, aby v ní nezůstala bublina (5C). Kyvetu pečlivě osušíme, vložíme do lůžka polarimetru a přiklopíme víkem (5D). Pomalým otáčením nastavovacího kotouče nalezneme při sledování kruhového pole v okuláru takovou polohu, aby všechny tři části zorného pole byly stejně osvětlené (5E). Optickou otáčivost pak přečteme pomocí zvětšovací lupy na stupnici (5G). Po skončení práce vyprázdníme kyvetu a důkladně ji vypláchneme destilovanou vodou (5I).

6. snímek: Polarimetrické měření optické otáčivosti roztoku s přídavkem sacharosy

6A Čirým roztokem s obsahem sacharosy naplníme polarimetrickou trubici (kyvetu) a uzavřeme.

6B Kyvetu dobře osušíme, vložíme do lůžka polarimetru a přiklopíme víkem.

6C Pomalu otáčíme nastavovacím kotoučem a sledujeme kruhové pole v okuláru. Nalezneme takovou polohu, aby všechny 3 části zorného pole byly stejně žlutavě šedě osvětlené.

6D snímek s obrázkem „Vyrovnané zorné pole polarimetru“

6E Optickou otáčivost přečteme zvětšovací lupou na stupnici.

6F Vyprázdníme kyvetu a vypláchneme ji destilovanou vodou.

Slovní komentář:

Čirým roztokem s obsahem sacharosy naplníme polarimetrickou trubici neboli kyvetu a uzavřeme ji tak, aby v ní nezůstala bublina (6C). Kyvetu pečlivě osušíme, vložíme do lůžka polarimetru a přiklopíme víkem (6D). Pomalým otáčením nastavovacího kotouče nalezneme při sledování kruhového pole v okuláru takovou polohu, aby všechny tři části zorného pole byly stejně osvětlené (6E). Optickou otáčivost pak přečteme pomocí zvětšovací lupy na stupnici (6G). Po skončení práce vyprázdníme kyvetu a důkladně ji vypláchneme destilovanou vodou (6I).

6.6. Výpočty v polarimetrii

6.6.1. Ukázka příkladu

Zadání:

10,00 g vzorku technického vinanu draselno-sodného (K–Na) bylo rozpuštěno v destilované vodě a doplněno na objem 100 ml při 20 °C. Polarimetrická trubice délky 2 dm byla nejdříve naplněna destilovanou vodou a byla určena nulová hodnota na stupnici pro světlo Na–D: +0,04°. Pro roztok vzorku v téže stupnici při téže teplotě byla odečtena hodnota +4,82°. Kolik procent vinanu obsahuje vzorek? [9]

Řešení:

1. krok:

Pro otáčivost roztoku vzorku platí:

$\alpha = 4{,}82 - 0{,}04 = 4{,}78°$

2. krok:

Pro výpočet měrné otáčivosti platí vztah:

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{t}.l.c \qquad (1)$$

3. krok:

Stanovení hmotnostní koncentrace vyjádřením a následným dosazením do vzorce (1):

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^{t}.l.c \Rightarrow c = \frac{\alpha}{[\alpha]_{\lambda}^{t}.l}$$

Měrná otáčivost vinanu K–Na je podle tabulky (viz tabulka č. 6) +29,8°.

$$c = \frac{4,78}{29,8.2} = 0,0802\ g.ml^{-1}$$

4. krok:

Výpočet obsahu vinanu ve vzorku v procentech:

1 ml měřeného roztoku, tj. 0,1 g preparátu obsahuje 0,0802 g vinanu

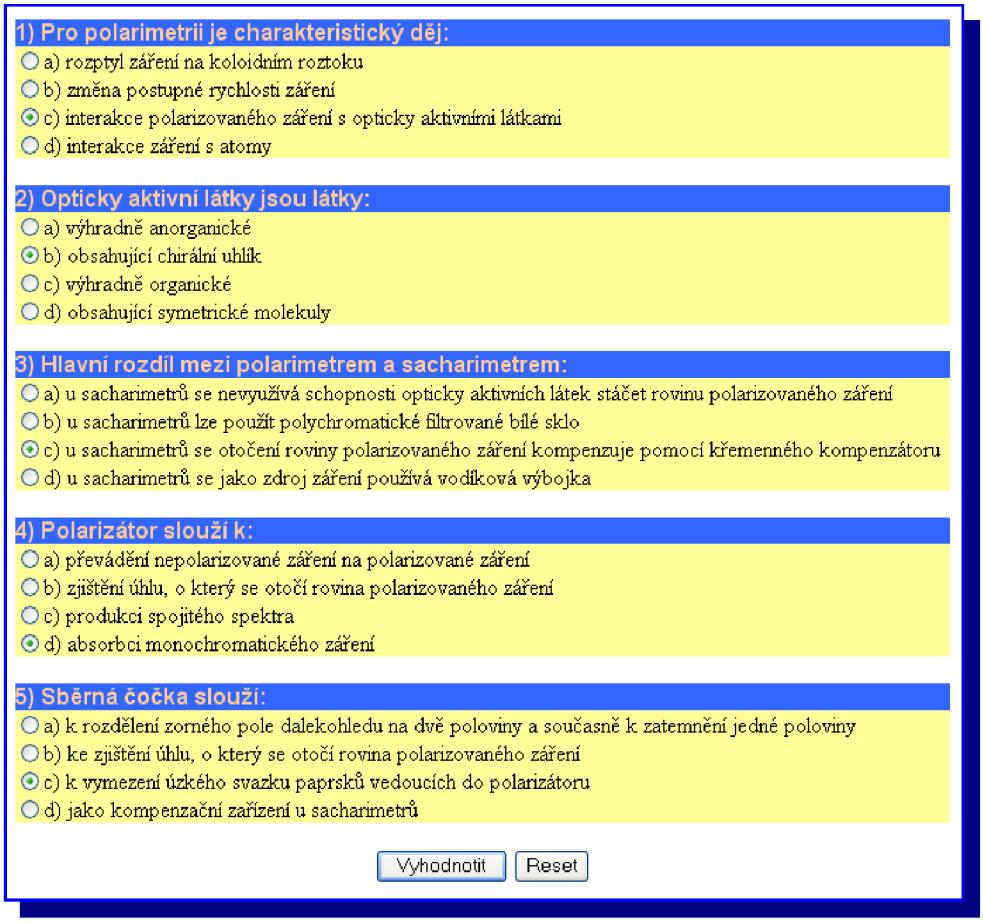
$\Rightarrow c =$ 80,2 %

Výsledek:

80,2 %

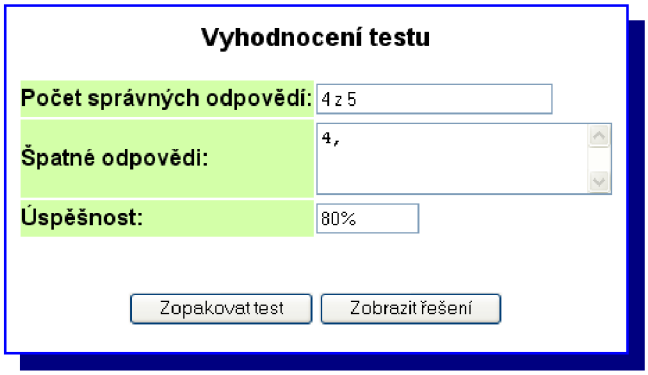
6.7. Didaktické testy

Na obrázcích č. 18, 19 a 20 je uvedena ukázka zkráceného testu z polarimetrie, jeho vyhodnocení a správné řešení.



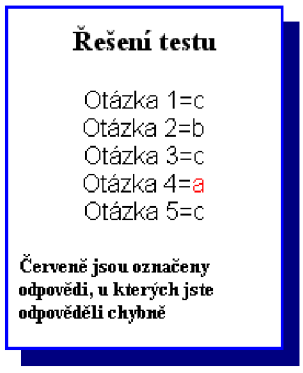
Obr. 18

Ukázka zkráceného testu z polarimetrie



Obr. 19

Vyhodnocení testu



Obr. 20

Řešení testu

7. Závěr

V bakalářské práci byl vytvořen multimediální výukový subsystém (REPO) – Refraktometrie a polarimetrie. Tento výukový subsystém slouží k výrazné modernizaci výuky refraktometrie a polarimetrie v rámci předmětů „Analytická chemie“ a „Laboratorní cvičení z analytické chemie“.

Vytvořený subsystém REPO je ukázkou zcela komplexního multimediálního výukového systému obsahujícího všechny, v současné době možné a dostupné, typy forem multimediální výuky a e-learningu: učební texty (.doc, .pdf, .html, .txt), prezentace (.ppt, .pps), odkazy na www stránky Internetu, tabulky, schémata, obrázky (.jpg), fotogalerie (.html, .jpg), chemické výpočty (3 formy: 1. zadání – výsledek, 2. zadání – postup řešení pomocí dílčích otázek a odpovědí (algoritmů) – výsledek, 3. zadání – postup řešení pomocí souvislého textu – výsledek), návody laboratorních cvičení, popisy a manuály obsluhy přístrojů, scénáře videozáznamů, videozáznamy praktických provádění experimentů a úloh (.swf, .flv), zpracování výsledků měření, didaktické testy.

Multimediální výukový subsystém – Refraktometrie a polarimetrie mohou využívat studenti prezenčního bakalářského studijního programu Pedagogické asistentství chemie pro základní školy Pedagogické fakulty MU v Brně, studenti kombinované formy studia DAP chemie pro základní školy Pedagogické fakulty MU v Brně, i zájemci (studenti, učitelé) z jiných škol ČR (AF MZLU Brno, PřF MU v Brně, PřF a PedF UK Praha,) a SR (KU Bratislava).

8. Literatura

[1] JANČÁŘ, L.: *Analytická chemie*. Projekt „Elektronické výukové materiály a komplexní podpora jejich tvorby a využití na MU v Brně“, MŠMT ČR, Brno 2006.

[2] JANČÁŘOVÁ, I., JANČÁŘ, L.: *Analytická chemie*. 1. vyd. Brno : Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2003. 195 s. ISBN 80-7157-647-6.

[3] KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*. 2. vyd. Ostrava : Nakladatelství Pavel Klouda, 2003. 132 s. ISBN 80-86369-07-2.

[4] KLOUDA, P.: *Moderní analytické metody*. 1. vyd. Ostrava : Nakladatelství Pavel Klouda, 1996. ISBN 80-90-2155-1-3.

[5] WIKIPEDIE, otevřená encyklopedie. *Index lomu* [online]. 2002, poslední aktualizace 3. 12. 2007 [cit. 2008-04-06]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Index_lomu>.

[6] LABÍK, S., et al.: *Vlastnosti veličin při 20 °C* [online]. 2007 [cit. 2008-04-06]. Dostupné z: <http://www.vscht.cz/fch/prikladnik/prikladnik/tab/kapal.html>.

[7] ZÝKA, J., et al.: *Analytická příručka*. 1. vyd. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1966. 864 s.

[8] KALOUS, V., et al.: *Metody chemického výzkumu*. 1. vyd. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1987. 432 s.

[9] VLÁČIL, F., et al.: *Příklady z chemické a instrumentální analýzy*. 4. přeprac. a rozš. vyd. Praha : Informatorium, 1991. 451 s. ISBN 80-85427-04-4.

[10] WIKIPEDIE, otevřená encyklopedie. *Ernst Karl Abbe* [online]. 2002, poslední aktualizace 3. 12. 2007 [cit. 2008-04-06]. Dostupné z: <http://cs.wikipedia.org/wiki/Ernst_Karl_Abbe>.

[11] KADLEC, K., KMÍNEK, K.: *Měření složení* [online]. 2005 [cit. 2008-04-06]. VŠCHT v Praze. Fakulta chemicko-inženýrská. Dostupné z: <http://uprt.vscht.cz/ucebnice/mrt/F4/F4-ram.htm>.

[12] HEJTMÁNEK, M., et al.: *Laboratorní cvičení z instrumentální analýzy*. Praha : Státní nakladatelství technické literatury, 1977. 177 s.

[13] *Pracovní návody do laboratorního cvičení z analytické chemie*, MZLU, Brno 1996.

[14] CÍDLOVÁ, H.: *Laboratorní cvičení z fyzikální chemie*. 1. vyd. Brno : Masarykova univerzita v Brně, 2003. 124 s. ISBN 80-210-3300-2.

[15] ŠAFROVÁ, H., ŠAFRA, J.: *Sbírka příkladů* [online]. Poslední aktualizace 8. 11. 2006 [cit. 2008-04-06]. Dostupné z: <http://jan.safra.name/Sbirka_prikladu/index.htm>.

[16] CÍDLOVÁ, H.: *Polarimetr* [online]. [cit. 2008-04-06]. Dostupné z: <http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/fchlab/polarimetr.htm>.

[17] KADLEC, P., et al.: *Návody z laboratoří chemie a technologie sacharidů*. Praha : VŠCHT, 1986. 175 s.