ЛАБОРАТОРНА РОБОТА №2

Тема: Визначення показника заломлення та середньої дисперсії біологічних рідин за допомогою рефрактометру Аббе.

Мета: Опанувати метод визначення показника заломлення оптично прозорих рідин та розчинів за допомогою рефрактометру.

Обладнання: рефрактометр ИРФ-454, дистильована вода, розчини біологічних рідин.

2.1 Теоретичні положення

Рефрактометр ИРФ-454 в медико-біологічних дослідженнях використовується для визначення білка в сечі та сироватці крові, щільності сечі, для аналізу мозкової і суглобової рідин, а також рідин ока. Метод не вимагає хімічних реактивів для проведення аналізу. Використання даного приладу дозволяє значно скоротити витрати часу при масових клінічних обстеженнях.

2.1.1 Закон заломлення

Світло, що падає на границю розподілу двох прозорих середовищ, частково відбивається від поверхні границі, а частково проходить всередину другого середовища, змінюючи при цьому свій напрямок. Напрямок розповсюдження світлового променя (рис.2.1) в середовищах з показниками заломлення n_1 та n_2 визначається **законом заломлення Снелліуса:**

заломлений промінь лежить в тій же площині, в якій знаходиться падаючий промінь і нормаль до поверхні границі, а відношення синусів кута падіння ε_1 і кута заломлення ε'_2 є величина постійна для даної пари середовищ (2.1):

$$\frac{\sin \varepsilon_1}{\sin \varepsilon'_2} = n_{21} = const. \qquad (2.1)$$

Константа n_{21} називається відносним показником (коефіцієнтом) заломлення другої речовини по відношенню до першої (2.2):

$$n_{21} = \frac{n_2}{n_1}. \qquad (2.2)$$

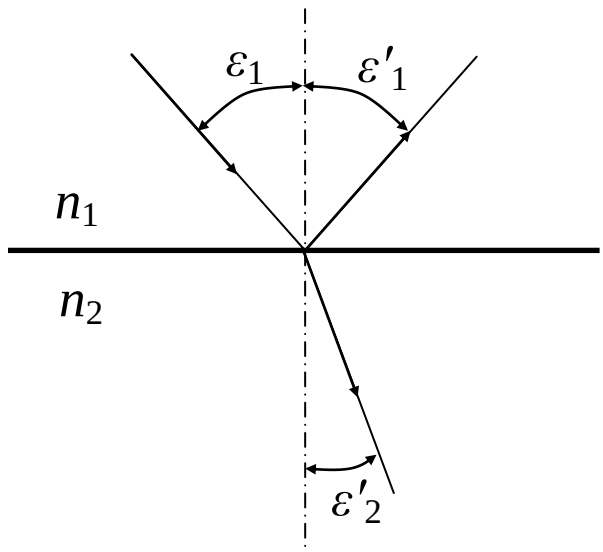


Рисунок 2.1 Відбивання і заломлення променя світла на границі розподілу двох середовищ

2.1.2 Явище повного внутрішнього відбиття

При $n_1 > n_2$ кути падіння і заломлення визначаються нерівністю $\varepsilon_1 < \varepsilon'_2$. У цьому випадку при збільшенні кута падіння на границю кут заломлення може стати рівним 90°. Відповідний йому кут падіння називається граничним кутом повного внутрішнього відбиття $\varepsilon_{ПВВ}$. При падінні світла під великими

кутами $\varepsilon_1 > \varepsilon_{\text{ПВВ}}$, падаючий промінь не заломлюється, а світло не виходить з першого середовища. Таке явище називається **повним внутрішнім відбиттям (ПВВ)** (рис.2.2).

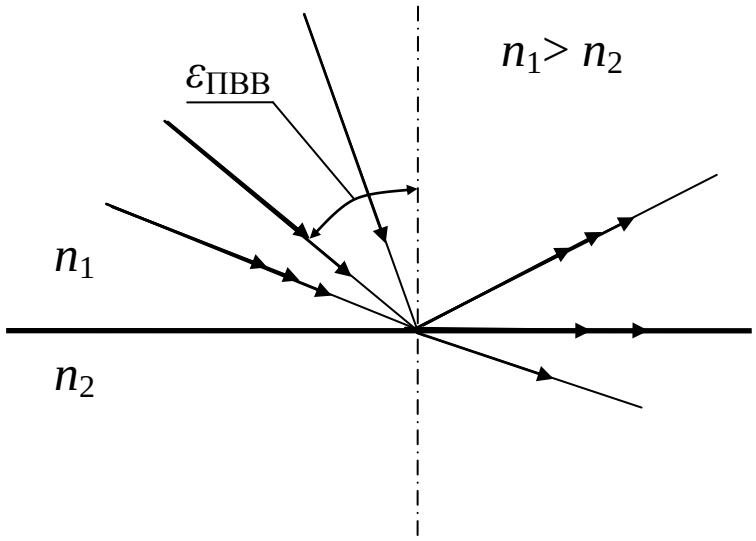


Рисунок 2.2 Виникнення повного внутрішнього відбиття на границі оптично щільнішого середовища з оптично менш щільним середовищем

Величина граничного кута визначається співвідношенням:

$$\sin \varepsilon_{\text{ПВВ}} = \frac{n_2}{n_1}. \qquad (2.3)$$

Граничний кут можна спостерігати двома способами: у відбитому світлі та світлі, що проходить (рис.2.3).

Якщо направити в будь-яку точку на границі розподілу двох середовищ пучок променів з кутами падіння від 0 до 90° з боку оптично щільнішого середовища і спостерігати картину у відбитих променях, то поле зору буде розділено на дві части різної освітленості. Та частина поля зору, що освітлюється променями, які частково відбилися від межі розподілу і частково заломлені (промені 1 і 2 на рис.2.3, а), буде менш освітлена, ніж

друга половина, що освітлюється тільки променями, які зазнали повного внутрішнього відбиття (промені 3 і 4 на рис. 2.3, а).

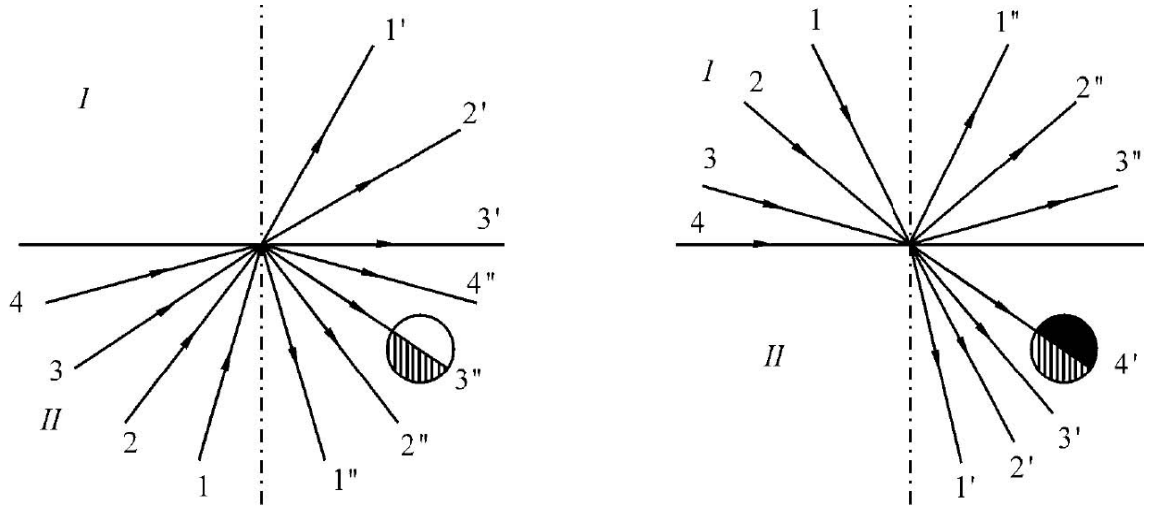


Рисунок 2.3 Спостереження різкої границі в освітленості поля зору в відбитому (а) і заломленому (б) пучках променів світла

При спостереженні картини в світлі, що проходить, межа розподілу середовищ освітлюється пучком променів, що йдуть з середовища з меншим показником заломлення (промені 1, 2, 3, 4 на рис.2.3, б). Очевидно, що в пучку заломлених променів промінь 4' буде крайнім. Поле зору буде розділено на цілком затемнену і освітлену частини. Цей спосіб дає дуже чітку границю, але придатний тільки для прозорих середовищ. Перший спосіб може застосовуватися і у тому випадку, коли середовище з меншим показником заломлення мало прозоре, але в цьому випадку границя спостерігається важче внаслідок малої різниці в освітленості обох половин поля зору.

2.1.3 Дисперсія світла

Зазначене вище справедливо у випадку, коли для освітлення використовується монохроматичне світло. Якщо пучок світла має складний спектральний склад, то в описаних явищах спостерігається дисперсія світла.

Дисперсією світла називається розкладання світла в спектр, що відбувається при заломленні, дифракції або інтерференції. У даному випадку дисперсія світла відбувається у зв'язку з тим, що показники заломлення речовин залежать від частоти ν світла, яке використовується для освітлення. При зменшенні частоти хвилі показник заломлення зменшується. Похідна $\frac{dn}{d\nu}$ називається **дисперсією речовини**.

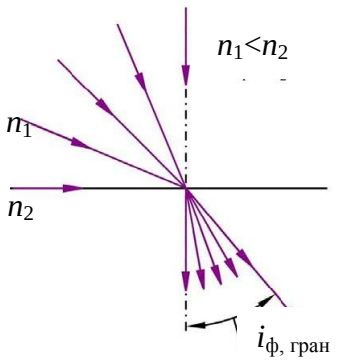
З явища дисперсії випливає, що швидкість розповсюдження світла в речовині залежить від кольору випромінювання. У вакуумі швидкість світла для будь-якої довжини хвилі одна і та ж, але в речовині синє світло, наприклад, розповсюджується повільніше, ніж червоне.

У результаті дисперсії світла відбувається просторовий розподіл пучків променів різних довжин хвиль. Тому для характеристики приладів, в яких спостерігається дисперсія, вводять в якості міри дисперсії – величини кутової і лінійної дисперсії. Під кутовою дисперсією розуміють відношення $\theta = \frac{d\varphi}{d\lambda}$, де $d\varphi$ - різниця кутів між пучками променів, що відрізняються за довжинами хвиль на $d\lambda$. Лінійна дисперсія визначається відношенням відстані між положеннями двох спектральних ліній $\frac{dl}{d\lambda}$.

При наявності дисперсії при заломленні картина спостереження граничного кута повного внутрішнього відбиття ускладнюється. Для

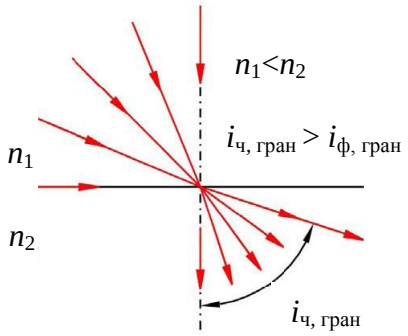
наочного уявлення розглянемо заломлення різних монохроматичних пучків з різними кутами падіння в будь-якій точці на границі розподілу оптично менш щільного середовища з більш щільним. Для крайніх довжин хвиль в межах видимого спектру картини розрізнятимуться величиною граничного кута.

Фіолетові промені



а)

Червоні промені



б)

Рисунок 2.4 Вплив дисперсії світла на величину граничного кута заломлення: а) фіолетові промені, б) червоні промені

Якщо падаюче світло є білим, то відбувається накладення подібних картин для різних довжин хвиль. У результаті, поблизу нормалі (при малих кутах заломлення) заломлене світло залишається білим. При віддалені від нормалі (збільшенні кута заломлення) заломлений пучок почне втрачати фіолетові промені (досягається значення граничного кута для фіолетових променів), потім послідовно - сині, блакитні, зелені, жовті, оранжеві і, нарешті, червоні. Розділення на 7 певних кольорів умовне. Зміна кольорів відбувається дуже плавно.

Напрямок, який визначається граничним кутом для червоних променів, відповідає границі розподілу поля зору на освітлену і затемнену частини.

Таким чином, границя розподілу буде забарвлена. Окрім того, з'являється невизначеність при вимірюванні граничного кута, оскільки для різних довжин хвиль він має різні значення.

Показник заломлення є константою для даного середовища тільки для певної довжини хвилі світла. Таким чином, граничний кут повинен вимірюватися при використанні монохроматичного випромінювання.

Прилади, які визначають показники заломлення різних речовин за допомогою описаного вище способу, називають рефрактометрами. Широкого поширення набув рефрактометр Аббе.

2.1.4 Принцип дії рефрактометра Аббе

Принцип дії приладу базується на явищі повного внутрішнього відбиття.

Головною частиною рефрактометру є система двох прямокутних призм - освітлювальної ($A_1B_1C_1$) та вимірювальної (ABC) (рис. 2.5). Вимірювальна призма виготовлена з оптично щільного скла (важкий флінт), показник заломлення якого більше 1,7. Тому вимірювання можуть проводитися для речовин з $n < 1,7$.

У освітлювальної призми грань A_1B_1 матова, а у вимірювальної – грань AB полірована. Призми розташовані так, що між гранями залишається вузький плоско-паралельний проміжок, який заповнюється досліджуваним розчином або рідиною.

При роботі в світлі, яке проходить, тобто у заломленому світлі, промені від джерела світла проходять через грань B_1C_1 освітлювальної призми і

падають на матову поверхню грані A_1B_1. Внаслідок розсіяння світла матовою поверхнею в досліджувану рідину входять промені під різними кутами (точки a і b на рис.2.5). Тому кути падіння променів, що падають на границю AB «рідина-скло», матимуть значення від 0° до 90°.

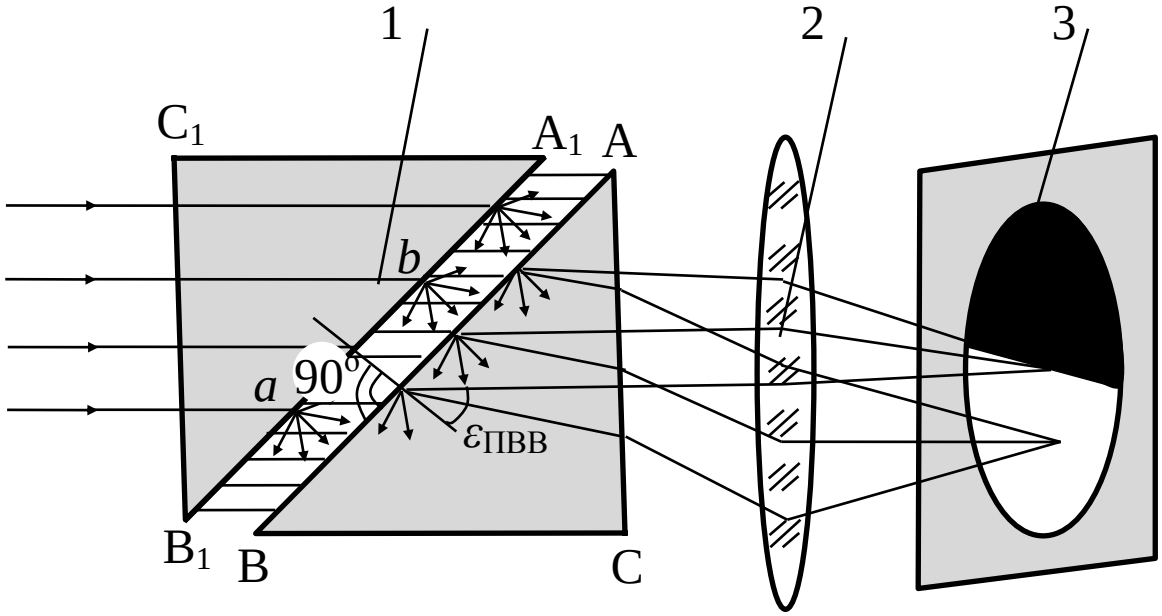


Рисунок 2.5 Принцип дії рефрактометра Аббе:
1 – система двох прямокутних призм (освітлювальна ($A_1B_1C_1$) та вимірювальна (ABC)); 2 – фокусуюча лінза; 3 – зорова труба

Для променя, що ковзає по границі розподілу, кут падіння $\varepsilon_1 = 90^o$ і відповідно до закону заломлення:

$$n_1 = n_2 \sin \varepsilon_{ПВВ},$$

де n_1 - показник заломлення рідини, а n_2- показник заломлення призми ($n_1 < n_2$), $\varepsilon_{ПВВ}$ – граничний кут повного внутрішнього відбиття.

Якщо на шляху променів, що виходять з вимірювальної призми, поставити зорову трубу, то нижня половина її поля зору буде освітлена, а

верхня залишатиметься темною. При цьому положення границі світлотіні визначається променем, який відповідає граничному куту.

При роботі у відбитому світлі, промені світла направлені на матову грань ВС вимірювальної призми. Промені на ній розсіюються, потрапляють на грань АВ під різними кутами і заломлюються на границі «скло-рідина». Ті промені, які падають на поверхню АВ під кутом меншим граничного, пройдуть в рідину і далі в призму $A_1B_1C_1$. Промені, які попадають на границю АВ під кутом, більшим ніж граничний, зазнають в призмі АВС повного внутрішнього відбиття та вийдуть через границю АС. У полі зору зорової труби спостерігатимуться дві області: верхня - яскраво освітлена і нижня - темна.

При спостереженні в білому світі межа світла й тіні внаслідок дисперсії буде розмита і забарвлена. Для усунення забарвлення і отримання різкого зображення границі використовують компенсатор, що складається з двох призм прямого зору, які можуть обертатися у взаємно перпендикулярних напрямах.

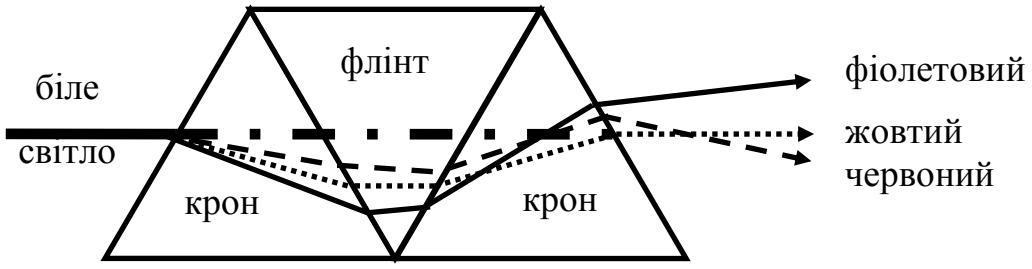


Рисунок 1.6 Хід променів в призмі Амічі

Призма прямого зору (призма Амічі) склеєна з трьох тригранних призм (рис. 2.6), виготовлених зі скла різних марок. Дві крайні призми виготовлені з крону з показником заломлення $n_к$, а середня - з флінта ($n_ф$, $n_ф > n_к$). Така

призма, не змінюючи напрямку жовтих променів, відхиляє сині і фіолетові промені в бік основи середньої призми, а оранжеві і червоні – в бік її вершини.

2.2 Обладнання

2.2.1 Схема оптична та принцип роботи рефрактометру

При роботі в світлі, яке проходить, дзеркало 2 (рис.2.7) повинно бути закрите, а світло направляється на освітлювальну призму 3, входить в досліджуване середовище 4 та падає на поліровану робочу грань вимірювальної призми 1 у вигляді пучків променів під різними кутами. Промені, які падають під кутами $\varphi_1 \leq 90^o$ відносно нормалі до робочої грані вимірювальної призми 1, заломлюються, проходять призму 1, відбиваються від дзеркала 16, проходять компенсатор 5, лінзу 6 та фокусуються в площині перехрестя сітки 7 у вигляді світлого та темного полів з різкою границею між ними, яка відповідає величині граничного кута заломлення.

У ту ж площину сітки 7 та площину грані призми 9 з нанесеною на ній рискою за допомогою дзеркала 10, об’єктиву 11 та призми 12 проектується рухома шкала 15, яка жорстко спряжена з дзеркалом 16. Підсвічення шкали 15 здійснюється за допомогою поворотного дзеркала 14 та світофільтра 13 природнім світлом.

За допомогою окуляра 8 спостерігають одночасно положення границі світла та тіні відносно нерухомого перехрестя сітки 7 та зображення фрагмента шкали 15 відносно нерухомої риски призми 9.

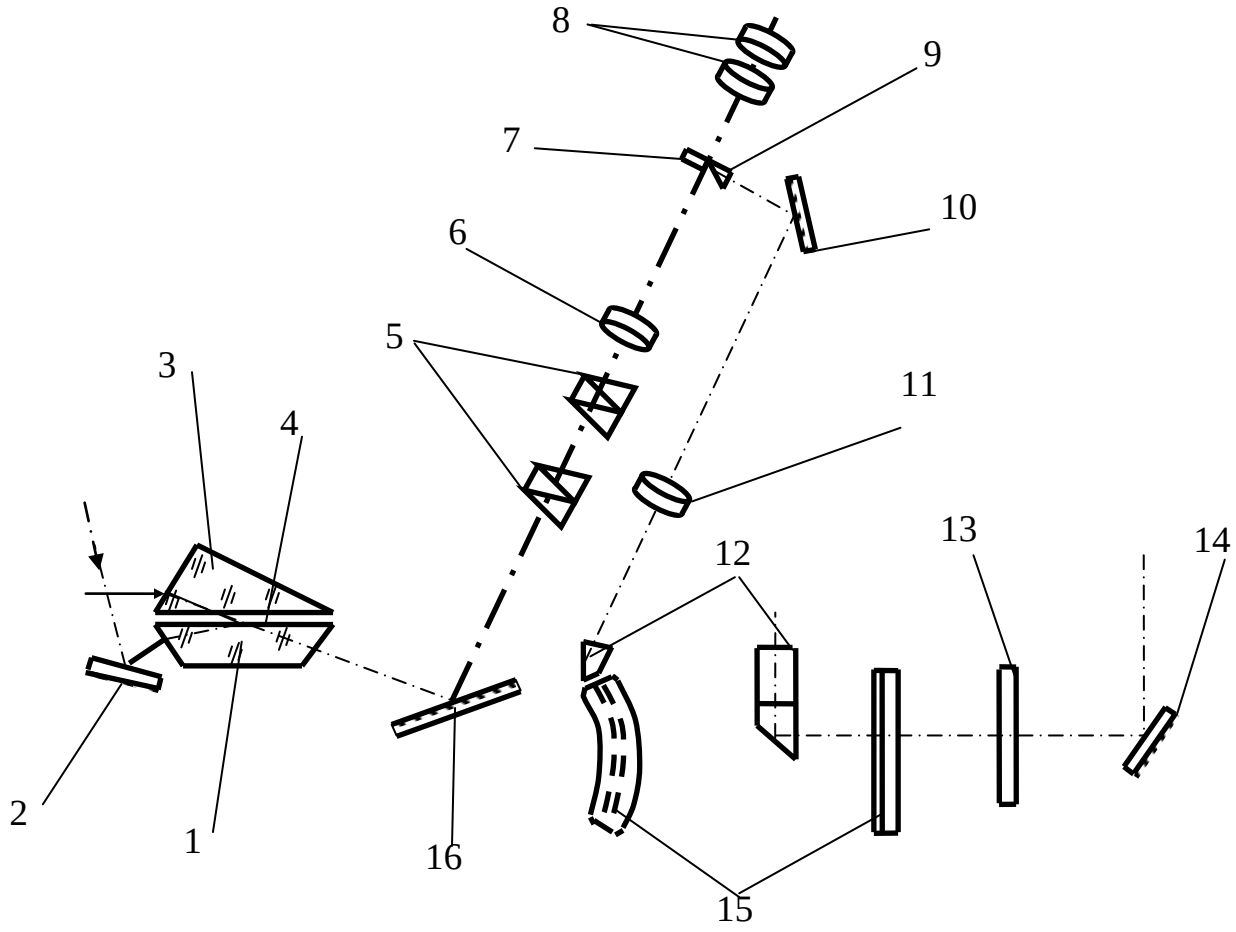


Рисунок 2.7 Оптична схема рефрактометра ИРФ-454 Б2М
1 – призма вимірювальна; 2 – дзеркало; 3 – призма освітлювальна;
4 – досліджувана речовина; 5 – компенсатор; 6 – лінза склеєна; 7 – сітка;
8 – окуляр; 9 – призма; 13 – світлофільтр; 14 – дзеркало; 15 – шкала;
16 – дзеркало

Для ахроматизації границі світла та тіні та для вимірювання середньої дисперсії досліджуваного середовища використовується компенсатор 5, який складається з двох призм прямого зору (призм Амічі). Призми Амічі можуть обертатися навколо оптичної осі в протилежні сторони.

2.2.2 Основні складальні одиниці рефрактометру ИРВ-454 Б2М

Основні елементи рефрактометру змонтовані в металічному корпусі 14 (рис.2.8). У верхній частині корпусу 16 закріплений окуляр 4. Він може переміщуватися вздовж оптичної осі для встановлення різкості в межах ±5 діоптрій.

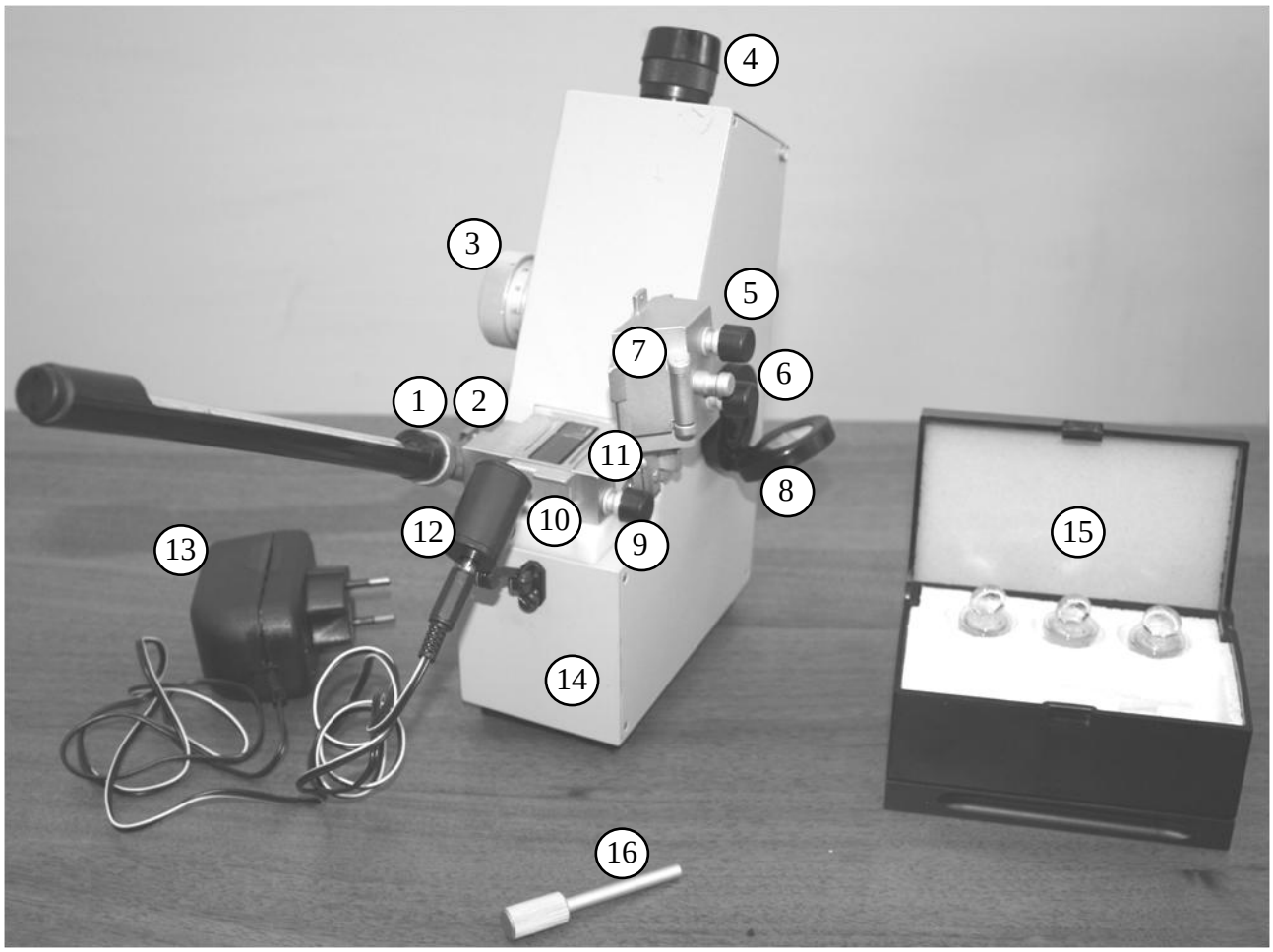


Рисунок 2.8 Зовнішній вигляд рефрактометра ИРФ-454 Б2М в комплекті:
1 – штуцер з термометром; 2 – застібка; 3 – маховик з ноніусом; 4 – окуляр; 5 – штуцер; 6 – штуцер; 7 – заслінка; 8 – поворотне дзеркало; 9 — штуцер; 10 – відкидне дзеркало; 11 – блок рефрактометричний; 12 – освітлювач; 13 – блок живлення; 14 – корпус; 15 – коробка з пробірками та контрольною пластиною; 16 – ключ

З лівої сторони корпусу 16 для підсвічення шкали на кришці закріплене поворотне дзеркало 8 в оправі.

Зі сторони вікон рефрактометричного блоку 11 на корпусі 16 встановлений освітлювач 12. Для подачі напруги освітлювача 12 використовується блок живлення 13.

На оправі вимірювальної призми рефрактометричного блоку 11 розміщена заслінка 7 для вимірювань у світлі, що пройшло. Для підсвічення вимірювальної призми зі сторони нижньої грані на її оправі встановлене відкидне дзеркало 10. Вимірювальна та освітлювальна призми в оправах складають рефрактометричний блок 11.

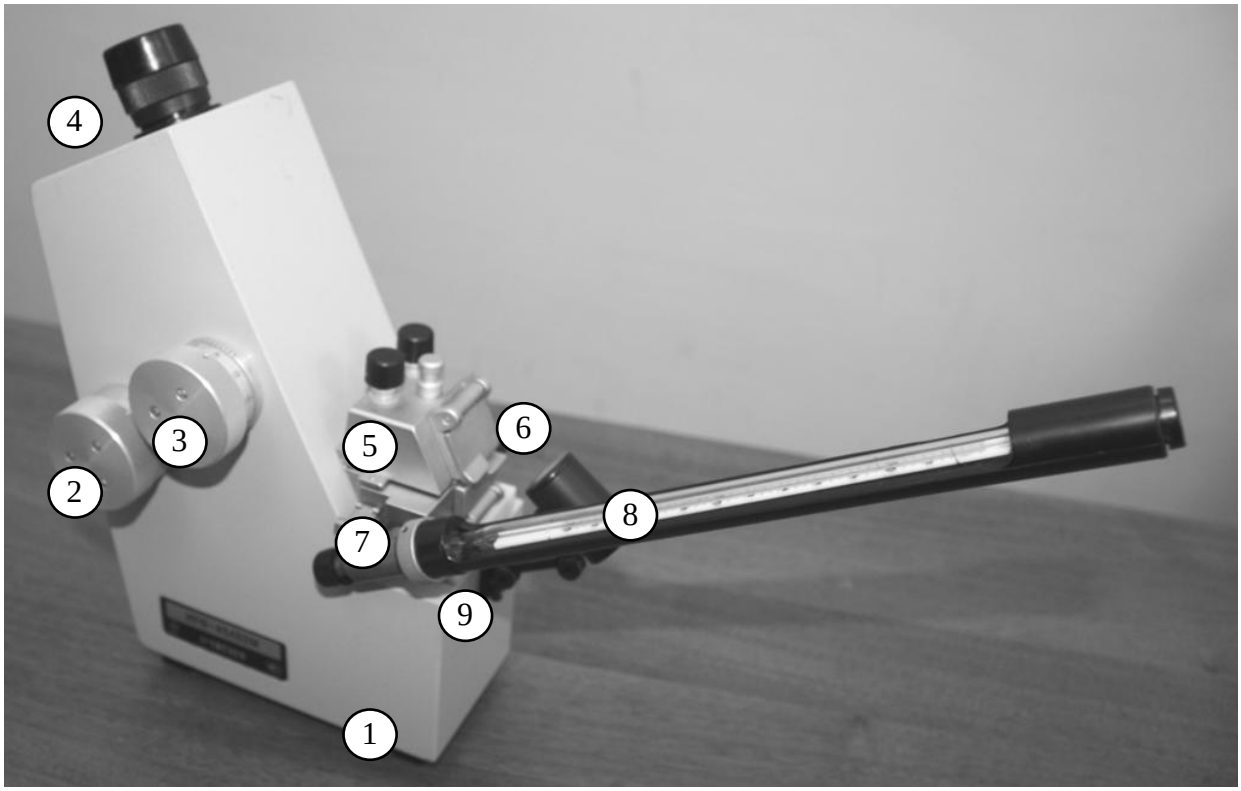


Рисунок 2.9 Зовнішній вигляд рефрактометра ИРФ-454 Б2М з правої сторони: 1 – корпус; 2 – маховик; 3 – маховик з ноніусом; 4 – окуляр; 5 – оправа освітлювальної призми; 6 – заслінка; 7 – оправа вимірювальної призми; 8 – освітлювач; 9 – термометр

На маховику 3 компенсатора міститься ноніус для визначення дисперсії показника заломлення досліджуваної речовини.

З правої сторони (рис. 2.9) корпусу 1 містяться маховик 2 для переміщення зображення світла та тіні, маховик 9 компенсатора для усунення забарвленості границі світла та тіні. На корпусі 1 нерухомо закріплена оправа 7 з вимірювальною призмою та термометром 9, а також рухома оправа 5 з освітлювальною призмою та заслінкою 6. Термометр 9 призначений для вимірювання температури навколишнього середовища при проведенні досліджень, яка необхідна для визначення показника заломлення.

2.3 Порядок виконання роботи

1. **Встановлення зразка.** Відкинути освітлювальну призму 5 (рис.2.9). На поверхню вимірювальної призми 7 скляною паличкою або піпеткою обережно, **не торкаючись призми**, нанести дві-три каплі рідини. Опустити освітлювальну призму та притиснути її застібкою 2 (рис.2.8). Оскільки вимірювання в прозорих рідинах проводять в світлі, що проходить, то вікно вимірювальної призми повинно бути закритим.

2. **Визначення показника заломлення**. Після встановлення досліджуваного зразка на вимірювальній призмі, навести окуляр 4 на різку видимість перехрестя. Поворотом дзеркала 8 досягти найкращої освітленості шкали. Обертанням маховика 2 (рис.2.9) границю світлотіні ввести в поле зору окуляра.

Обертати маховик 3 до зникнення забарвленості граничної лінії. Спостерігаючи через окуляр 4, маховиком 2 навести границю світлотіні точно

на перехрестя і по шкалі показника заломлення визначити його величину. Індексом для відліку є нерухомий вертикальний штрих призми 9 (рис.2.7).

Ціна поділки шкали - $5 \cdot 10^{-4}$. Цілі, десяті, соті та тисячні долі відраховувати по шкалі, десятитисячні оцінюються на око. Отримане значення записати в протокол.

3. **Визначення середньої дисперсії.** Вимірювання середньої дисперсії необхідно проводити при природному освітленні. Мірою величини дисперсії зразка є поворот одної призми компенсатора відносно другої, який здійснюється за допомогою маховика 3 (рис.2.8), до повного усунення забарвленості границі світлотіні.

Відлік проводити по шкалі, яка обертається разом з маховиком. Шкала поділена на 120 частин від 0 до 60 в обидві сторони. Десяті долі поділки брати по ноніусу. При повороті маховика на 360° забарвленість границі світлотінь усувається двічі. При вимірюванні середньої дисперсії $n_F - n_C$ повторити повороти маховика не менше 5 разів в обидві сторони шкали та взяти середнє арифметичне значення цих показів Z (отримані значення занести до таблиці 2.1). Використовуючи отримані значення Z та показника заломлення вимірювальної речовини, знайти значення середньої дисперсії $n_F - n_C$.

2.4 Обробка результатів

2.4.1. Для дистильованої води при температурі _____^{o}C показник заломлення n_D=_____.

Таблиця 2.1 Показники *Z* по шкалі компенсатора

	При обертанні за напрямком руху годинникової стрілки	При обертанні проти напрямку руху годинникової стрілки
1		
2		
3		
4		
5		
Середнє значення		
Загальне середнє значення		
Z=		

2.4.2. По таблиці А.1 з додатку А для отриманого значення показника заломлення n_D знайти величини коефіцієнтів А та В.

Для n_D=_____ А=_____ В=_____

Для n_D=_____ А=_____ В=_____

ΔА=_____ ΔВ=_____

2.4.3. Оскільки значення n_D в таблиці приведені через 0,01, то величини А та В для проміжних значень визначаються інтерполяцією за допомогою пропорційних величин вказаних в табл. А.2 (додаток А):

Для n_D=_____ А=_____ В=_____

_____ _____ _____

Для n_D=_____ А=_____ В=_____

Результати округлити до п’ятого знаку.

2.4.4. За таблицею А.3 (додаток А) для отриманого значення Z знайти величину σ:

Z =_____ σ =_____

Z =_____ σ =_____

Δσ=_____

2.4.5. Для проміжних значень Z визначити величину σ інтерполяцією за допомогою пропорційних величин вказаних в табл. А.2 (додаток А):

Z =_____ σ =_____

_____ _____

Z =_____ σ =_____

Для значень Z, які більші 30 величина σ записується зі знаком «-».

2.4.6. За формулою $n_F - n_C = A + B \cdot \sigma$ знаходимо величину середньої дисперсії:

$$n_F - n_C = _____$$

2.4.7. За результатами виконання роботи зробити висновок.

2.5 Контрольні запитання

1. Опишіть закон Снеліуса.
2. Яке явище називається явищем повного внутрішнього відбиття (ПВВ)?
3. Дайте характеристику способів спостереження граничного кута ПВВ.
4. Охарактеризуйте явище дисперсії світла.
5. Як впливає дисперсія світла на величину граничного кута заломлення.
6. Поясніть принцип дії рефрактометра Аббе.
7. Схема оптична та принцип роботи.