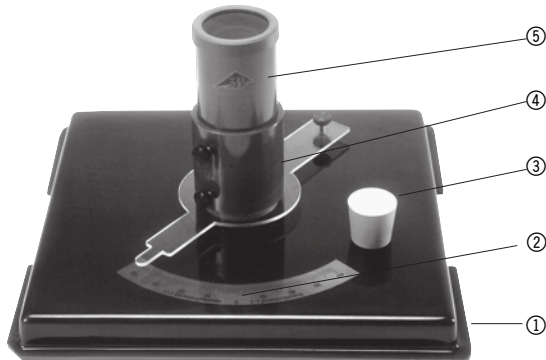


U14390 Demonstrations-Polarisationsapparat

Bedienungsanleitung

3/03 ALF



- ① Grundplatte
- ② Drehwinkelskala
- ③ Stopfen
- ④ Drehgriff mit Zeiger
- ⑤ Analysator

Bei dem Polarisationsapparat handelt sich um ein Demonstrationsgerät für den Einsatz auf einem Tageslichtprojektor zur Durchführung qualitativer und quantitativer Versuche vor einem größeren Zuhörerkreis an Schule und Hochschule z.B. die Demonstration der optischen Aktivität, die Bestimmung spezifischer Drehwinkel und die Konzentrationsbestimmung bei bekanntem spezifischem Drehwinkel.

1. Sicherheitshinweise

- Demonstrations-Polarisationsapparat nicht mit aggressiven Reinigungsmitteln säubern.
- Küvette nicht mit Flüssigkeiten befüllen, die Plexiglas angreifen.
- Darauf achten, dass die Filter nicht verkratzen.

2. Beschreibung, technische Daten

In der Mitte der schwarzen Kunststoffgrundplatte sind ein Gelbfilter und ein Polarisator eingelassen. Eine Küvette mit einer Lösung der zu untersuchenden Substanz mit 50 mm und 100 mm Markierung wird in die Halterung eingesetzt, darüber befindet sich der Analysator auf einem Halter mit Drehgriff und Zeiger. Durch Drehen des Analysators lässt sich der Drehwinkel auf einer transparenten Skala von + 40° bis - 40° mit 1° Teilung ablesen.

Abmessungen: 370 mm x 330 mm x 190 mm

Abbildung 1:

- ① Gelbfilter
- ② Polarisator
- ③ Halter für Küvette
- ④ Marke für 50 mm
- ⑤ Halter mit Drehgriff und Zeiger
- ⑥ Marke für 100 mm
- ⑦ Küvette

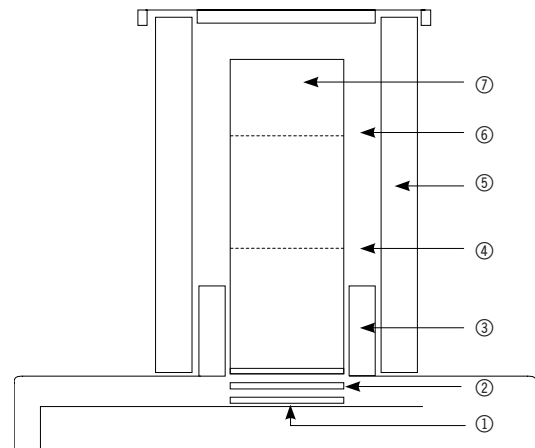
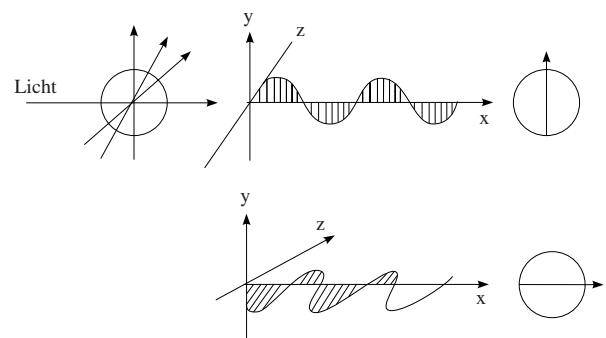


Abbildung 1

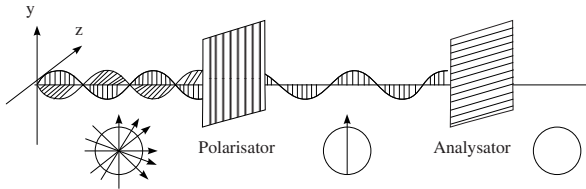
3. Funktionsprinzip

Das Licht (elektromagnetische Wellen im sichtbaren Bereich), das den Tageslichtprojektor verlässt, durchläuft einen Gelbfilter. Gelbes Licht erhöht die Messgenauigkeit definitionsgemäß.

Dieses Licht schwingt in verschiedenen Ebenen:



Durch den ersten Polfilter (Polarisator) wird eine der Schwingungsebenen bevorzugt durchgelassen: das Licht ist polarisiert. Wird ein zweiter Polfilter (Analysator), um 90° gedreht, dahintergeschaltet, wird auch dieses polarisierte Licht zum größten Teil absorbiert, weil sozusagen die „Gitter“ dieses gekreuzten Filters quer zur Schwingungsebene stehen: Maximale Auslöschung.



Bringt man eine Substanz (als Lösung in einer Küvette) in den Strahlengang, welche die Schwingungsebene des polarisierten Lichts nach links oder nach rechts im Uhrzeigersinn dreht, also optisch aktiv ist, muss der Analysator gedreht werden, um wieder maximale Auslöschung zu erzielen.

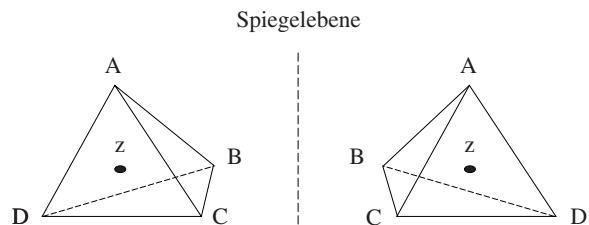
Der Winkel, in Graden, zwischen maximaler Auslöschung ohne und mit Küvetteninhalt bzw. zwischen reinem Lösungsmittel und Lösung wird durch Drehung des Analysators ermittelt und ist der für die Messung wichtige Messwert neben Konzentration des gelösten Stoffes und Füllhöhe der Küvette.

4. Bedienung

- Demonstrations-Polarisationsapparat auf den Tageslichtprojektor stellen und Skala scharf projizieren
- Zeiger auf Null stellen. Durch Drehen des Analysators maximale Auslöschung bewirken. Auf der Projektionsfläche darf kein Lichtfleck aus dem Strahlengang sichtbar sein.
- Küvette mit dem reinen Lösungsmittel füllen und in die Halterung einsetzen.
- Zeiger nach links und nach rechts drehen bis der Lichtfleck auf beiden Seiten der Skala (+/-) wieder sichtbar wird. Der Wert zwischen beiden Messergebnissen ist der „Nullpunkt“ oder „Bezugspunkt“ für weitere Messungen. Im Idealfall deckt er sich mit der „0“ auf der Skala.
Beispiel: $-6^\circ / +4^\circ$; Bezugswert: -1°
- Anschließend Küvette mit der Lösung der optisch aktiven Substanz in den Strahlengang bringen und für spätere Berechnungen Füllhöhe bestimmen.
- Wie beim reinen Lösungsmittel, mit dem Auftauchen des Lichtflecks auf beiden Seiten der maximalen Auslöschung den Drehwinkel ermitteln; z.B. $-21^\circ / -11^\circ$ ergibt -16° . War der Bezugswert des reinen Lösungsmittels -1° , ergibt sich -15° als gemessener Drehwinkel α .

5. Polarimetrie

Verbindungen, die an einem Zentrum (Aktivitätszentrum) vier verschiedene Substituenten oder Liganden tragen und die an einer Spiegelebene gespiegelt werden können, sind optisch aktiv (chiral).



Sie verhalten sich wie Bild und Spiegelbild und können nicht vollständig in Deckung gebracht werden (enantiomere Formen). Optisch aktive Stoffe drehen die Schwingungsebene des Lichts. Liegen 50% von jeder Form im Gemisch vor (Racemat), hebt sich die Drehung nach außen hin auf. Überwiegt eine der beiden Formen, wird die Schwingungsebene insgesamt gedreht. Der Drehwinkel α ist eine Stoffkonstante und hängt neben der Art der Teilchen von folgenden Bedingungen ab:

- Wellenlänge des Lichts: Da übereinkunftsgemäß die Natrium-D-Linie des Emissionslichts (Na-Dampflampen) für exakte Messungen verwendet wird, befindet sich unten am Gerät ein Gelbfilter, um annähernd diesen Spektralbereich zu erreichen.
- Temperatur: Meistens wird für Messungen 20°C angegeben.
- Die Zahl der drehenden Teilchen: Abhängigkeit von der Konzentration des gelösten Stoffes und der Schichtdicke der Lösung (= Füllhöhe der Küvette); proportionale Beziehung.
- Lösungsmittel.

Die auf eine bestimmte Menge eines optisch aktiven Stoffes bezogene Drehung (rechts, links = + oder -; Drehwinkel) ist eine Stoffkonstante und wird als spezifische Drehung (spez. Drehwinkel) bezeichnet.

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

$[\alpha]_D^{20}$ = Spezifischer Drehwinkel bei Na-D-Linie und 20°C .

- α = Gemessener Drehwinkel (Skalablesung)
- c = Konzentration in Gramm/100 ml ($\text{g}/0,1 \text{ dm}^3$) der Lösung.
- d = Schichtdicke (Füllhöhe) in dm.

5.1 Beispiele

für spezifische Drehwinkel $[\alpha]_D^{20}$ (Enddrehung) in Grad:
D-Glucose +52,7; D-Fructose -92,4; D-Mannose + 14,6;
D-Galactose + 80,2; D-Xylulose + 33,1; D-Ribose -23,7;
Saccharose + 66,5; Maltose + 130,4; Lactose +52,5

(Werte aus Aebi, Einführung in die praktische Biochemie, Karger 1982)

α -D-Glucose +113,0 (aus Wasser kristallisiert); α -D-Glucose +19,0 (aus Pyridin kristallisiert); α -Hydroxybuttersäure -24,8; Eiweiß -52,8

(Werte aus Rapoport/ Raderecht, Physiologisch-chemisches Praktikum, VEB Verlag Volk u. Gesundheit, 1972).

6. Versuchsbeispiele

6.1 Spezifischer Drehwinkel von Saccharose

Einwaage: 50 g Saccharose werden in einem Messkolben mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt und gelöst. Die Lösung wird 10 cm hoch (= 1 dm) in die Küvette gefüllt.

Messung des Drehwinkels: 32°, rechts.

$$\text{Spezifischer Drehwinkel: } [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{+32 \cdot 100}{50 \cdot 1} = +64$$

Damit liegt der bestimmte spezifische Drehwinkel in der Größenordnung des Literaturwerts.

Hinweise: Auch mit Präzisionspolarimetern werden nicht immer die Literaturwerte erreicht. Durch Tautomerie oder Mutarotation (α - oder β -Form) kann es einige Zeit dauern, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat. Längere Zeit die Lösungen mutarotierender Zucker nach dem Ansetzen stehen lassen (über Nacht).

Bei längerer Lagerung Vorsicht vor Hefen und Bakterien! Beim Einwiegen von Zuckern (z.B. Glucose) Etikett der Chemikalienflasche genau lesen! Kristallwasser (Monohydrat) muss dort vermerkt sein und durch berechnete Mehreinwaage ausgeglichen werden bzw. ist bei der nachträglichen Berechnung (g/100 ml) abzuziehen.

6.2 Konzentrationsmessung

Zunächst wird der spezifische Drehwinkel einer Substanz gemessen. Dann wird eine Lösung unbekanntem (bzw. nur dem Kursleiter bekannten) Gehalts dieser Substanz hergestellt. Füllhöhe $d = 1$ dm

$$c = ? \quad [\alpha]_{\text{D}}^{20} = +64^\circ$$

$$\alpha (\text{gemessen}) = +14^\circ$$

Die Konzentration (c) in g/0,1 dm³ errechnet sich wie folgt:

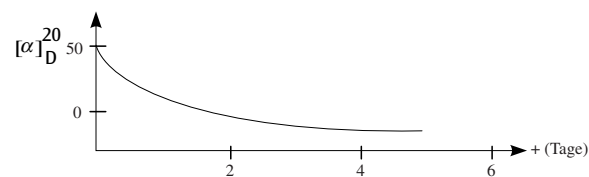
$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_{\text{D}}^{20} \cdot d} = \frac{+14 \cdot 100}{+64 \cdot 1} = 21,9 \text{ g/100ml}$$

6.3 Inversion von Saccharose

Mit Säure lässt sich das Disaccharid Saccharose in D-Glucose und D-Fructose spalten. Die Lösung der ebenfalls optisch aktiven Spaltstücke hat einen anderen Drehwinkel als die Saccharose (Inversion). Das Glucose-Fructose-Gemisch im molaren Verhältnis 1:1 heißt deshalb Invertzucker (z.B. im Kunsthonig). Die spezifische Drehung ändert sich bei Zimmertemperatur im Bereich von Stunden bis Tagen, je nach Säurekonzentration. Höhere Temperaturen beschleunigen die Inversion erheblich (Ergebnis im Stundenverlauf). Die spezifische Drehung ändert sich von +66° auf ca. -22° (Saccharose + 66°, Glucose „Gleichgewichtsglucose“ +52°, D-Fructose -92,4°).

Vorschlag: bis 50 g Saccharose in wenig Wasser lösen, mit weiterem Wasser und 5 bis 20 ml verdünnter Salzsäure auf 100 ml auffüllen. Bei Zimmertemperatur

zuerst im 10-Minuten-, dann im Stundenabstand messen und die abgelesenen Drehwinkel in spezifische Drehung umrechnen und im Diagramm auftragen.



Wird die Inversion bei höherer Temperatur durchgeführt, empfiehlt es sich, mit einem größeren thermostatisierten (Wasserbad!) Lösungsvolumen (1 - 2 l) zu arbeiten. Vor der Messung werden Proben gezogen, schnell abgekühlt und in die Messküvette gefüllt.

6.4 Wein

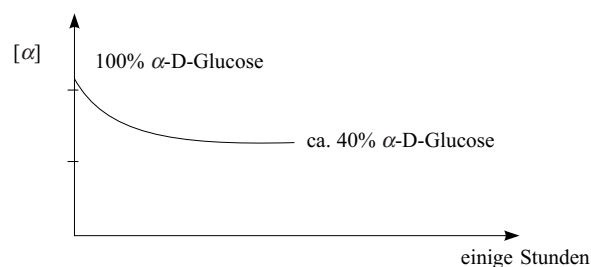
Tritt Rechtsdrehung auf, kann der Wein mit Traubenzucker vor und nach der Gärung oder mit Rohrzucker nach der Gärung versetzt sein. Linksdrehung deutet auf Naturwein hin (Nach Dr. Steeg & Reuter).

6.5 Mutarotation bei anomeren C-Atomen

Die Erscheinung, dass die Lösung einer optisch aktiven Substanz ihren Drehwinkel ändert, wobei sich allmählich ein Gleichgewichtszustand einstellt, bezeichnet man als Mutarotation.

α -D-Glucose ist einzuwiegen und schnell unter Schütteln zu lösen. In Zeitabständen wird der Drehwinkel bestimmt, gleich in den spezifischen Drehwinkel umgerechnet und in einem Diagramm aufgetragen.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ von α -D-Glucose: 112-113°; nach Einstellung des Gleichgewichts (einige Stunden) + 52°; es liegt nun ein Gemisch aus α - und β -D-Glucose vor. Bei Fructose verläuft die Mutarotation wesentlich schneller.



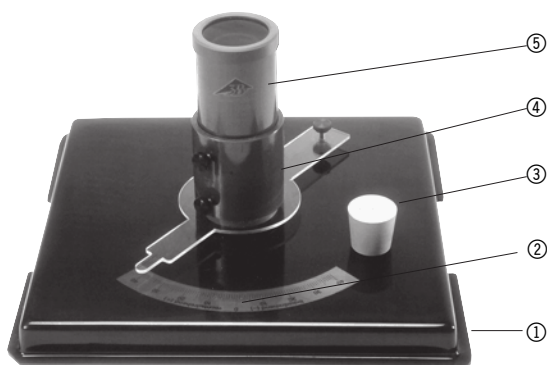
7. Pflege

Die Küvette aus Plexiglas eignet sich für Flüssigkeiten, die das Material nicht angreifen. Wässrige Lösungen werden ohnehin im Mittelpunkt des Interesses stehen. Die Küvette muss unbedingt vor Einführen auf absolute Trockenheit und Sauberkeit geprüft werden! Der Deckel sollte unbedingt geschlossen werden, wenn die Messung länger dauert oder die Küvette im Gerät verbleiben soll (z.B. Mutarotation, siehe 6.5). Die Reinigung sollte mit einem weichen und staubfreien Tuch erfolgen. Filter nicht kratzen! Staubsichere Lagerung ist zu empfehlen (Staubschutzhülle).

U14390 Polarization Demonstration Device

Operating instructions

3/03 ALF



- ① Base plate
- ② Angular scale
- ③ Plug
- ④ Rotary grip with a pointer
- ⑤ Analyzer

The U14390 polarization device is designed for use on a daylight projector as part of qualitative and quantitative experiments conducted before large audiences at schools and universities, for example in order to demonstrate optical activity as well as determinations of specific angles of rotation, or concentrations if these angles are already known.

1. Safety notes

- Do not clean the polarization demonstration device with aggressive agents.
- Do not fill the cuvette with liquids which attack plexiglass.
- Ensure that the filters do not get scratched.

2. Description, technical data

A yellow filter and a polarizer are set in the middle of a black, plastic base plate. A cuvette marked at 50 mm and 100 mm and containing a solution of the substance to be examined is inserted into the inner holder and subsequently covered by an analyzer mounted on an outer holder equipped with a rotary knob and a pointer. Turning the analyzer allows the angle of rotation to be read on a transparent scale ranging from +40° to -40° and having divisions of 1°. Dimensions: 370 mm x 330 mm x 190 mm

Illustration 1:

- ① Yellow filter
- ② Polarizer
- ③ Holder for the cuvette
- ④ 50-mm mark
- ⑤ Holder with rotary knob and pointer
- ⑥ 100-mm mark
- ⑦ Cuvette

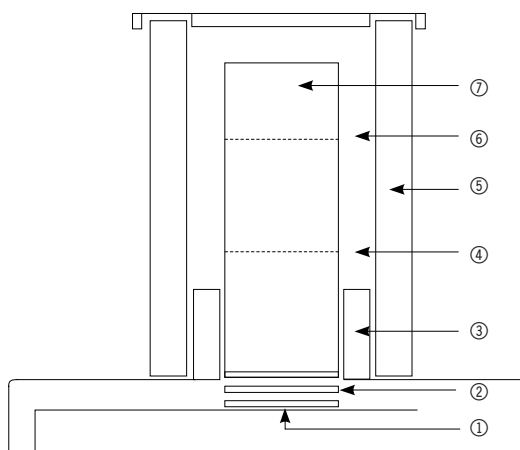
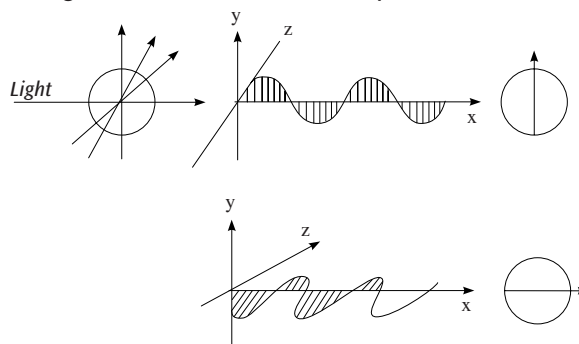


Illustration 1

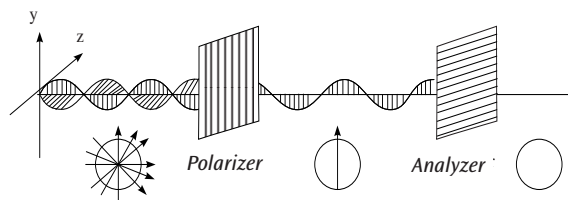
2. Operating principle

Light (visible electromagnetic radiation) emitted by the daylight projector is made to pass through a yellow filter, as yellow light by definition increases the measurement accuracy.

This light oscillates in a number of planes:



The first polarization filter, or polarizer, preferentially allows the passage of one of the oscillation planes, thus polarizing the light. If a second polarization filter (analyzer) rotated by 90° with respect to the first one is connected in series, the polarized light is largely absorbed, because the lattices formed by these mutually perpendicular filters are transverse with respect to the oscillation planes. The result is maximum extinction.



If the light path is made to pass through a substance (comprising the solution in the cuvette) which rotates the oscillation plane of the polarized light either to the left or the right, i.e. an optically active substance, the analyzer needs to be turned accordingly in order to maximize extinction again.

The angle (in degrees) between maximum absorption with and without the cuvette solution, or between pure solvent and solution, is determined by turning the analyzer; this angle is a decisive parameter, in addition to the concentration of the solution and the filling level of the cuvette.

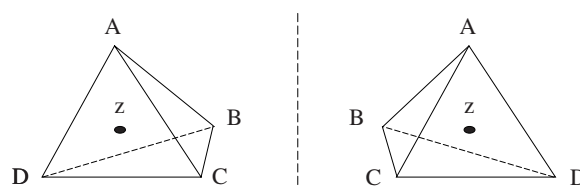
4. Operation

- Place the polarization demonstration device on the daylight projector and focus the image of the scale.
- Set the pointer to zero. Rotate the analyzer so that the extinction is maximized. No light spot from the light path should be visible on the projection area.
- Fill the cuvette with the pure solvent and insert it into its holder.
- Turn the pointer to the left and the right until a light spot just becomes visible again on both these sides of the scale. The value located exactly between these two measurement results serves as the zero-point or reference point for further measurements. Ideally, it coincides with the zero mark on the scale. Example: Measurement limits of -6° and $+4^\circ$ result in a reference value of -1° .
- After that place the cuvette with a solution of the optically active substance in the light path, and note the filling level for future calculations.
- As in the case of the pure solvent, establish the points on either side at which maximum absorption occurs, i.e. at which the light spot just appears again. This will allow you to determine the angle of rotation. For instance, limits of -21° and -11° would result in a reference value of -16° here. If the reference value of the pure solvent was -1° , the measured angle of rotation α is -15° .

5. Polarimetry

Compounds which carry four different substituents or ligands at a center (activity center) and which can be reflected on a mirror plane are termed optically active (chiral).

Mirror plane



Such compounds behave like objects and their mirror images, and are not superimposable (enantiomeric forms). Optically active substances rotate the oscillation plane of light. If 50% of each form is present in the mixture (racemate), rotation is cancelled. If one of the two forms predominates, the oscillation plane is rotated as a whole. The angle of rotation α is a material constant which depends on the following conditions, in addition to the nature of the particles:

- Wavelength of the light: As the general convention is to use the sodium-D line of the emitted light (Na vapor discharge lamps) for exact measurements, the bottom of the device is fitted with a yellow filter to approximate this spectral range.
- Temperature: 20°C are usually specified for measurements.
- The number of rotating particles: Dependence on the concentration of the dissolved substance and the layer thickness of the solution (= filling level of the cuvette); proportional relationship.
- Solvent.

Rotation expressed with respect to a particular quantity of optically active substance (right-handed = +, left-handed = -; angle of rotation) is a material constant termed specific rotation (specific angle of rotation).

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

- $[\alpha]_D^{20}$ = Spec. angle of rot. for the Na-D line at 20°C
 α = Measured angle of rotation (scale reading)
 c = Concentration in grams/100 ml (g/0.1 dm³) of solution
 d = Layer thickness (filling level) in dm.

5.1 Examples

Examples of specific angles of rotation $[\alpha]_D^{20}$ (End rotation) in degrees:

D-glucose: +52.7; D-fructose: -92.4; D-mannose: +14.6;
 D-galactose: +80.2; D-xylulose: +33.1; D-ribose: -23.7;
 Saccharose: +66.5; Maltose: +130.4; Lactose: +52.5
 (values provided by Aebi, Einführung in die praktische Biochemie, Karger 1982)

α -D-glucose 113.0 (crystallized from water); α -D-glucose +19.0 (crystallized from pyridine); α -Hydroxybutyric acid -24.8; Protein -52.8
 (values provided by Rapoport/ Raderecht, Physiologisch-chemisches Praktikum, VEB Verlag Volk u. Gesundheit, 1972).

6. Experiment examples

6.1 Specific angle of rotation of saccharose

Initial weight: Dissolve 50 g of saccharose in water in a volumetric flask and fill up to the 100 ml mark. The resulting solution is poured into the cuvette to a height of 10 cm (1 dm). The following angle of rotation is measured: 32°, right-handed.

$$\text{Specific angle of rotation: } [\alpha]_D^{20} = \frac{+32 \cdot 100}{50 \cdot 1} = +64$$

The determined specific angle of rotation is thus of the same order of magnitude as the bibliographic value.

Note: Even high-precision polarimeters are not always able to achieve bibliographic values. Due to tautomerism or mutarotation (α - or β - form), it may be necessary for a certain amount of time to elapse before equilibrium is reached. Solutions of mutarotating sugar should be left standing for extended periods (overnight) following their preparation.

Watch out for yeast and bacteria after long periods of storage! When weighing sugars (for instance, glucose), carefully read the label on the chemical bottle. Any crystal water (monohydrate) must be indicated on the label, and either compensated by means of an additional calculated dose or subtracted during the calculation later (g/100 ml).

6.2 Measurement of concentration

The specific angle of rotation of a substance is measured first. After that, a solution with an unknown concentration of this substance (or known only to the trainer) is prepared. Filling level $d = 1$ dm,

$$c = ? \quad [\alpha]_D^{20} = +64^\circ$$

$$\alpha \text{ (measured)} = +14^\circ$$

The concentration c in g/0.1 dm³ is calculated as follows:

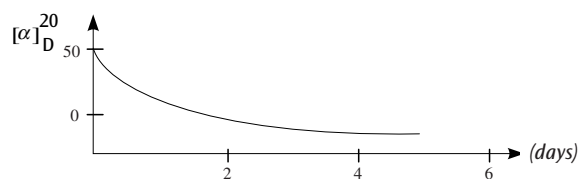
$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot d} = \frac{+14 \cdot 100}{+64 \cdot 1} = 21,9 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

6.3 Inversion of saccharose

Acid can be used to split the disaccharide saccharose into D-glucose and D-fructose. The solution of these fission products – also optically active – has a different angle of rotation compared with saccharose (inversion). A glucose-fructose mixture with a molar ratio of 1:1 is therefore termed invert sugar (for instance, in artificial honey). At room temperature, the specific angle of rotation changes over a period ranging between several hours and several days, depending on the acid concentration. Higher temperatures notably accelerate the inversion process (to a matter of hours). The specific angle of rotation changes from +66° to roughly –22° (saccharose: +66°; glucose („equilibrium glucose“): +52°; D-fructose: –92.4°).

Recommendation: Dissolve up to 50 g of saccharose in a little water, and top the solution up to 100 ml with

more water and 5 - 20 ml of dilute hydrochloric acid. At room temperature, perform measurements initially at 10-minute intervals, then at hourly intervals; convert the read angles of rotation into specific angles of rotation, and plot these values in a diagram.



If inversion is to be performed at higher temperatures, it is advisable to use a thermostatted solution (water bath) of a higher volume (1-2 l). Before performing the measurements, draw samples, allow them to cool quickly, and pour them into the measuring cuvette.

6.4 Wine

Wine exhibiting right-handed rotation may have been mixed with glucose before or after fermentation, or with saccharose after fermentation. Wine exhibiting left-handed rotation is natural (according to Dr. Steeg & Reuter).

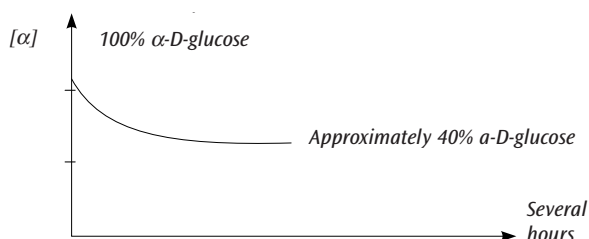
6.5 Mutarotation in the case of anomeric C-atoms

Mutarotation occurs when a solution of an optically active substance changes its angle of rotation, gradually leading to a state of equilibrium.

D-glucose is weighed and dissolved quickly by shaking. The angle of rotation is determined at regular time intervals, converted immediately into the specific angle of rotation, and plotted in a diagram.

$[\alpha]_D^{20}$ of α -D-glucose: 112-113°; after equilibrium has been reached (several hours): +52°

A mixture of α - and β -D-glucose is now present. Mutarotation in the case of fructose takes place much more quickly.



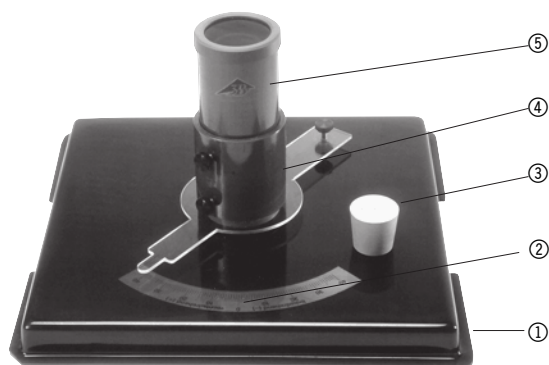
5. Care

The Perspex cuvette is only suitable for liquids which do not attack it. However, the focus of interest here in any case is aqueous solutions. Before inserting the cuvette, always ensure that it is clean and dry! The cover must on all accounts be closed if the measurement will take long or if the cuvette is to remain inside the device (as in the case of mutarotation, refer to 4.5). Cleaning should be performed with a soft, dust-free cloth. Do not scratch the filters! It is advisable to store the device under dust-free conditions (in an anti-dust jacket).

U14390 Polariscopes de démonstration

Instructions d'utilisation

3/03 ALF



- ① Plaque d'assise
- ② Graduation des angles de rotation
- ③ Bouchon
- ④ Poignée avec indicateur
- ⑤ Analyseur

Utilisé sur un rétroprojecteur, cet appareil de démonstration permet de réaliser des expériences qualitatives et quantitatives devant un grand auditoire dans des écoles et des universités, par ex. pour illustrer l'activité optique, déterminer des angles de rotation spécifiques et la concentration pour des angles de rotation spécifiques.

1. Consignes de sécurité

- Nettoyer le polariscopes de démonstration avec des nettoyants non agressifs.
- Ne pas remplir la cuvette avec des liquides qui attaquent le plexiglas.
- Veiller à ne pas rayer les filtres.

2. Description, caractéristiques techniques

La plaque de base en plastique noir comprend en son milieu un filtre jaune et un polariseur. Une cuvette, contenant une solution de la substance à étudier, avec des marques à 50 mm et 100 mm, est insérée dans le support, surmontée de l'analyseur installé sur un support avec poignée tournante et pointeur. Une rotation de l'analyseur permet de lire sur une graduation transparente l'angle de rotation entre $+40^\circ$ et -40° en pas de 1° .

Dimensions : 370 mm x 330 mm x 190 mm

Illustration 1:

- | | |
|------------------------|------------------------------------|
| ① Filtre jaune | ⑤ Support avec poignée et pointeur |
| ② Polariseur | ⑥ Repère pour 100 mm |
| ③ Support pour cuvette | ⑦ Cuvette |
| ④ Repère pour 50 mm | |

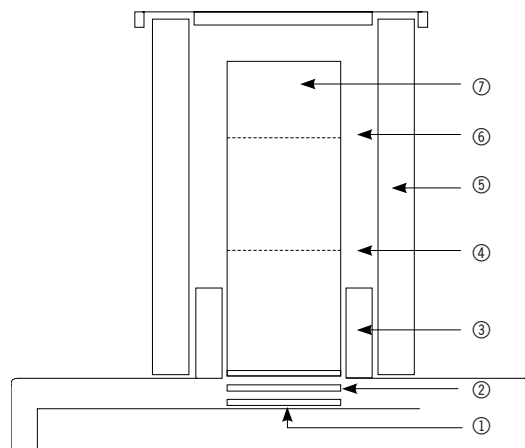
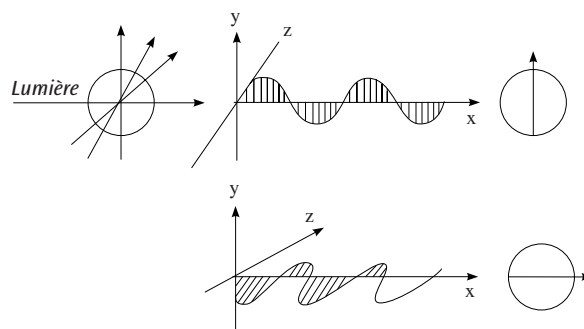


Illustration 1

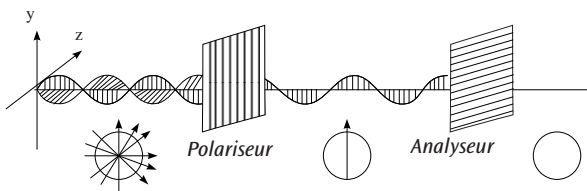
3. Principe du fonctionnement

La lumière (ondes électromagnétiques dans la gamme visible) quitte le rétroprojecteur pour traverser un filtre jaune. La lumière jaune augmente par définition la précision de mesure.

Cette lumière oscille dans différents plans :



Le premier filtre (polariseur) laisse passer l'un des plans de polarisation : la lumière est polarisée. Lorsqu'un second filtre (analyseur), tourné à 90°, est placé en aval, la majeure partie de cette lumière polarisée est absorbée, car les « grilles » de ce filtre croisé est situé en travers du plan de polarisation : suppression maximale.



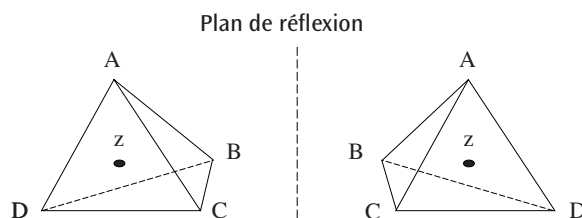
Si l'on place dans la marche des rayons une substance (sous forme de solution dans une cuvette) qui tourne le plan de la lumière polarisée vers la gauche ou vers la droite dans le sens des aiguilles d'une montre (donc qui est optiquement active), il faut tourner l'analyseur pour obtenir de nouveau une suppression maximale. Exprimé en degrés, l'angle entre la suppression maximale sans et avec le contenu de la cuvette ou entre un solvant pur et la solution, est déterminé par la rotation de l'analyseur et constitue, outre la concentration de la substance dissoute et la hauteur de remplissage de la cuvette, la valeur principale pour la mesure.

4. Commande

- Placer le polariscopes de démonstration sur le rétroprojecteur et projeter la graduation. L'image doit être nette.
- Régler le pointeur sur zéro. Tourner l'analyseur pour obtenir une suppression maximale. Aucune tache lumineuse de la marche des rayons ne doit apparaître à la surface de projection.
- Remplir la cuvette d'un solvant pur et placer le support.
- Tourner le pointeur à gauche et à droite, jusqu'à ce que la tache lumineuse apparaisse de nouveau des deux côtés de la graduation (+/-). La valeur entre les deux résultats de la mesure constitue le « point zéro » ou « point de référence » pour les autres mesures. Dans le cas idéal, il coïncide avec le « 0 » de la graduation. Exemple : $-6^\circ / +4^\circ$; valeur de référence : -1°
- Puis, placer la cuvette avec la solution de substance active dans la marche des rayons et déterminer la hauteur de remplissage pour des calculs ultérieurs.
- Comme pour le solvant pur, déterminer l'angle de rotation des deux côtés de la suppression maximale lorsque la tache lumineuse apparaît ; par ex. $-21^\circ / -11^\circ$ donne -16° . Si la valeur de référence du solvant pur est -1° , l'angle de rotation mesuré a est -15° .

5. Polarimétrie

Des liaisons qui portent en un centre (actif) quatre substituants ou ligands différents et peuvent être réfléchies sur un plan de réflexion, sont optiquement actives (chirales).



Elles se comportent comme une figure et son image et ne peuvent pas être complètement recouvertes (formes énantiomères). Les substances optiquement actives tournent le plan de polarisation de la lumière. En présence de 50% de chaque forme dans un mélange (racémate), la rotation est annulée vers l'extérieur. Si l'une des deux formes prédomine, le plan de polarisation est tourné dans son intégralité. L'angle de rotation α est une constante propre à la substance et dépend, outre du type de particules, des conditions suivantes:

- Longueur d'onde de la lumière : comme la courbe de D-sodium de la lumière émissive (lampes à vapeur au Na) est utilisée pour des mesures exactes, un filtre jaune se trouve sous l'appareil pour obtenir approximativement cette gamme spectrale.
- Température : dans la plupart des cas, 20 °C sont indiqués pour les mesures.
- Nombre de particules en rotation : dépend de la concentration de substance dissoute et de l'épaisseur de couche de la solution (= hauteur de remplissage de la cuvette) ; rapport proportionnel.
- Solvant.

La rotation qui se rapporte à une certaine quantité d'une substance optiquement active (droite, gauche = + ou - ; angle de rotation) est une constante propre à la substance et désignée comme rotation spécifique (angle de rotation spéc.).

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

$[\alpha]_D^{20}$ = angle de rotation spécifique pour courbe D Na et 20°C.

α = angle de rotation mesuré (lecture sur la graduation)

c = concentration en gramme/100 ml (g/0,1 dm³) de solution.

d = épaisseur de couche (hauteur de remplissage) en dm.

5.1 Exemples

pour un angle de rotation spécifique $[\alpha]_D^{20}$ (rotation finale) en degrés : D-glucose +52,7 ; D-fructose -92,4 ; D-mannose + 14,6 ; D-galactose + 80,2 ; D-xylulose +33,1 ; D-ribose -23,7 ; saccharose + 66,5 ; maltose +130,4 ; lactose +52,5 (Valeurs extraites de « Aebi, Einführung in die praktische Biochemie », Karger 1982) D-glucose α +113,0 (cristallisé à partir d'eau); D-glucose α +19,0 (cristallisé à partir de pyridin); acide hydrobutyrique α -24,8; protides -52,8 (Valeurs extraites de « Rapoport/ Raderecht, Physiologisch-chemisches Praktikum », VEB Verlag Volk u. Gesundheit, 1972).

4. Exemples d'expériences

4.1 Angle de rotation spécifique de saccharose

Quantité pesée : 50 g de saccharose sont dissouts dans un ballon rempli d'eau jusqu'à obtenir 100 ml. La cuvette est remplie de 10 cm (= 1 dm) de solution. Mesure de l'angle de rotation : 32° , droite.

$$\text{Angle de rotation spécifique : } [\alpha]_D^{20} = \frac{+32 \cdot 100}{50 \cdot 1} = +64$$

Ainsi l'angle de rotation spécifique déterminé se situe-t-il dans l'ordre de grandeur de la valeur théorique.

Remarques : même des polarimètres de précision ne permettent pas toujours d'obtenir les valeurs théoriques. Par tautomérie ou mutarotation (forme α - ou β -), il faut patienter un certain temps avant d'obtenir un équilibre. Laisser les solutions de sucres en mutarotation reposer longtemps après les avoir préparées (toute une nuit).

En cas d'entrepôt prolongé, les protéger contre les levures et les bactéries ! Lors de la pesée de sucres (par ex. de glucose), lire attentivement l'étiquette du flacon. L'eau de cristallisation (monohydrate) doit y être mentionnée et être équilibrée par une pesée supplémentaire calculée et soustraite lors du calcul ultérieur (g/100 ml).

6.2 Mesure de concentration

Mesurer d'abord l'angle de rotation spécifique d'une substance. Puis, préparer une solution d'un contenu inconnu (ou connu uniquement par l'enseignant) de cette substance. Hauteur de remplissage $d = 1$ dm

$$c = ? \quad [\alpha]_D^{20} = +64^\circ$$

$$\alpha \text{ (mesuré)} = +14^\circ$$

La concentration (c) en g/0,1 dm³ est calculée de la manière suivante :

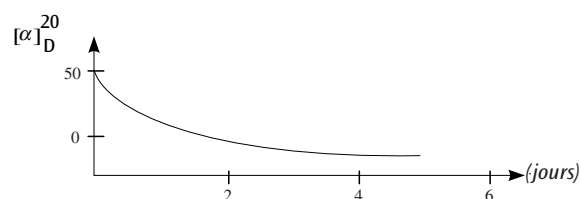
$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot d} = \frac{+14 \cdot 100}{+64 \cdot 1} = 21,9 \text{ g/100ml}$$

6.3 Inversion de saccharose

De l'acide permet de séparer le dissaccharide saccharose en D-glucose et D-fructose. La solution des éléments séparés (qui sont également actifs optiquement) présente un autre angle de rotation que le saccharose (inversion). C'est pour cette raison que le mélange de glucose et de fructose dans un rapport molaire de 1:1 est appelé sucre inverti. A température ambiante, la rotation spécifique est modifiée dans une étendue variant de quelques heures à plusieurs jours, suivant la concentration d'acide. Des températures élevées accélèrent considérablement l'inversion (résultat en quelques heures). La rotation spécifique passe de $+66^\circ$ à env. -22° (saccharose $+66^\circ$, glucose (« glucose d'équilibre ») $+52^\circ$, D-fructose $-92,4^\circ$).

Conseil : dissoudre jusqu'à 50 g de saccharose dans peu d'eau, rajouter de l'eau et 5 à 20 ml d'acide muriatique dilué jusqu'à obtenir 100 ml. A température ambiante, effectuer des mesures d'abord toutes les dix minutes,

puis toutes les heures. Convertir l'angle de rotation lu en rotation spécifique, puis le reporter dans le diagramme.



Si l'inversion est réalisée à température élevée, il est recommandé de travailler avec un plus grand volume de solution thermorégulée (bain d'eau) (1 - 2 l). Avant la mesure, prélever des échantillons, les refroidir rapidement et les ajouter à la cuvette de mesure.

6.4 Vin

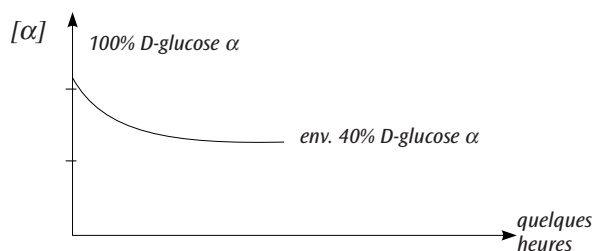
En cas de rotation à droite, du dextrose peut être ajouté au vin avant et après la fermentation ou du sucre de canne après la fermentation. Une rotation à gauche signale la présence de vin naturel (d'après Dr. Steeg & Reuter).

6.5 Mutarotation d'atomes C anomères

On appelle mutarotation la modification de l'angle de rotation d'une solution d'une substance optiquement active, un équilibre se mettant peu à peu au point.

Peser le D-glucose α et le dissoudre rapidement en le secouant. Déterminer l'angle de rotation à intervalles réguliers, le convertir en angle de rotation spécifique et le reporter dans un diagramme.

$[\alpha]_D^{20}$ de D-glucose α : $112-113^\circ$; après mise au point de l'équilibre (quelques heures) + 52 ; Nous sommes maintenant en présence d'un mélange de D-glucose α et β . Avec le fructose, la mutarotation est nettement plus rapide.



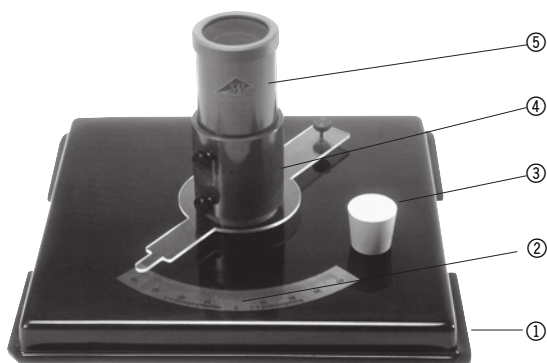
7. Entretien

La cuvette en plexiglas convient aux liquides qui n'attaquent pas le matériau. Les solutions aqueuses constituent de toute manière le centre d'intérêt. Il est impératif de vérifier que la cuvette est parfaitement sèche et propre ! Si la mesure dure plus longtemps ou que la cuvette doit rester dans l'appareil (par ex. mutarotation, page 4.5), il faut absolument refermer le couvercle. Nettoyer avec un chiffon doux et exempt de poussière. Ne pas rayer le filtre ! Un stockage à l'abri de la poussière est recommandé (housse de protection).

U14390 Apparecchio di polarizzazione per dimostrazioni

Istruzioni per l'uso

3/03 ALF



- ① Piastra di base
- ② Scala dell'angolo di rotazione
- ③ Tappo
- ④ Manopola con indicatorer
- ⑤ Analizzatore

L'apparecchio di polarizzazione è un apparecchio dimostrativo da utilizzare su un proiettore per l'esecuzione di esperimenti qualitativi e quantitativi innanzi ad un grande auditorio di una scuola e di un'università, quale ad es. la dimostrazione dell'attività ottica, la determinazione degli angoli di rotazione specifici e la determinazione della concentrazione con un angolo di rotazione specifico noto.

1. Norme di sicurezza

- Non pulire l'apparecchio di polarizzazione per dimostrazioni con detergenti aggressivi.
- Non versare nelle cuvette liquidi che attaccano il plexiglas.
- Fare attenzione a non graffiare i filtri.

2. Descrizione, caratteristiche tecniche

Al centro della piastra di base in plastica nera sono inseriti un filtro giallo e un polarizzatore. Una cuvetta contenente una soluzione della sostanza da analizzare con tacca da 50 mm e 100 mm viene collocata nel supporto. Sopra questa disposizione si trova l'analizzatore montato su un supporto con manopola e indicatore. Ruotando l'analizzatore, è possibile leggere l'angolo di rotazione su una scala trasparente da + 40° a - 40° con divisione 1°.

Dimensioni: 370 mm x 330 mm x 190 mm

Figura 1

- ① Filtro giallo
- ② Polarizzatore
- ③ Supporto per cuvetta
- ④ Tacca per 50 mm
- ⑤ Supporto con manopola e indicatore
- ⑥ Cuvetta
- ⑦ Tacca per 100 mm

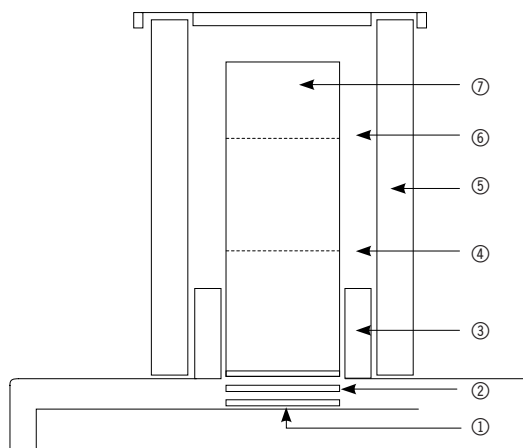
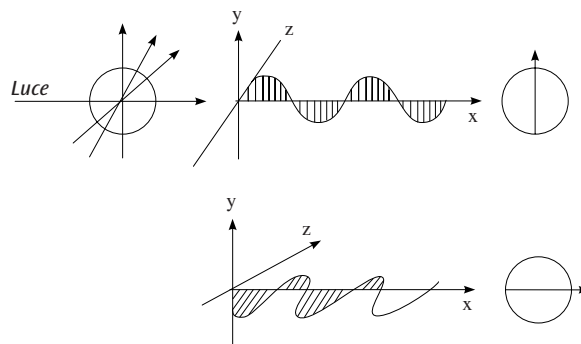


Figura 1

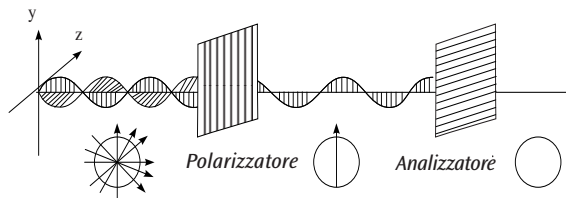
3. Principio di funzionamento

La luce (onde elettromagnetiche nel campo visibile), che fuoriesce dal proiettore, passa attraverso il filtro giallo. La luce gialla aumenta la precisione di misura conformemente alla definizione.

Questa luce oscilla su diversi piani:



Uno dei piani di oscillazione viene preferibilmente fatto passare attraverso il primo filtro di polarizzazione (polarizzatore): la luce è stata polarizzata. Se in sequenza viene posto un secondo filtro (analizzatore), ruotato di 90°, viene assorbita anche la maggior parte di questa luce polarizzata, poiché per così dire i “reticoli” di questo filtro incrociati si trovano in posizione obliqua rispetto al piano di oscillazione: Massima estinzione.



Se nel percorso della luce si introduce una sostanza (come soluzione in una cuvetta), che ruota il piano di oscillazione della luce polarizzata verso sinistra o verso destra in senso orario, quindi che è otticamente attiva, l'analizzatore deve essere ruotato, per ottenere nuovamente la massima estinzione.

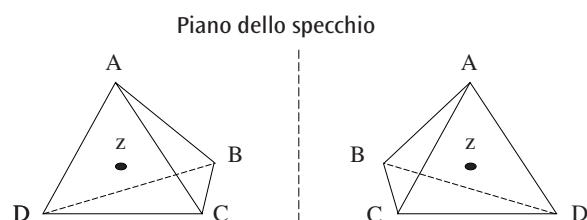
L'angolo in gradi, compreso tra l'estinzione massima senza e con il contenuto della cuvetta e/o tra il solvente puro e la soluzione, viene determinato mediante rotazione dell'analizzatore e costituisce il valore importante per la misurazione oltre alla concentrazione della sostanza disciolta e al livello di riempimento della cuvetta.

4. Utilizzo

- Collocare l'apparecchio di polarizzazione per dimostrazioni sul proiettore e proiettare in modo preciso la scala
- Posizionare l'indicatore sullo zero. Ottenere la massima estinzione mediante rotazione dell'analizzatore. Sulla superficie di proiezione non deve essere visibile alcun punto luminoso proveniente dal percorso della luce.
- Riempire la cuvetta con il solvente puro e collocarla sul supporto.
- Ruotare l'indicatore verso sinistra e verso destra fino a quando il punto luminoso è di nuovo visibile su entrambi i lati della scala (+/-). Il valore compreso tra i due risultati di misurazione costituisce il “punto zero” o “punto di riferimento” per ulteriori misurazioni. Nel caso ideale coincide con lo “0” sulla scala. Esempio: $-6^\circ / +4^\circ$; valore di riferimento: -1°
- Successivamente inserire la cuvetta contenente la soluzione della sostanza otticamente attiva nel percorso della luce e determinare il livello di riempimento per ulteriori calcoli.
- Come con il solvente puro, con la comparsa del punto luminoso su entrambi i lati dell'estinzione massima determinare l'angolo di rotazione; ad es. da $-21^\circ / -11^\circ$ risulta -16° . Se il valore di riferimento del solvente puro era -1° , l'angolo di rotazione misurato è di -15° a.

3. Polarimetria

I composti che in un centro (centro di attività) portano



quattro diversi sostituenti o leganti e che possono essere riflessi su un piano dello specchio, sono otticamente attivi (chirali).

Si comportano come immagine e immagine riflessa e non possono essere completamente coperti (forme enantiomere). Le sostanze otticamente attive ruotano il piano di oscillazione della luce. Se nella miscela è presente il 50% di ogni forma (Racemat), la rotazione si compensa verso l'esterno. Se prevale una delle due forme, tutto il piano di oscillazione viene ruotato. L'angolo di rotazione è una costante della sostanza e dipende, oltre che dal tipo di particelle, dalle seguenti condizioni:

- Lunghezza d'onda della luce: poiché come da convenzione la linea D sodio della luce di emissione (lampade a vapore di sodio) viene utilizzata per effettuare misurazioni esatte, sulla parte inferiore dell'apparecchio è presente un filtro giallo, per raggiungere approssimativamente questo campo spettrale.
- Temperatura: Nella maggior parte dei casi la temperatura indicata per le misurazioni è di 20°C .
- Il numero delle particelle rotanti: in base alla concentrazione della sostanza disciolta e dello spessore dello strato della soluzione (= livello di riempimento della cuvetta); rapporto proporzionale.
- Solvente.

La rotazione relativa ad una determinata quantità di una sostanza otticamente attiva (destra, sinistra = + o -; angolo di rotazione) è una costante della sostanza e viene definita come rotazione specifica (angolo di rotazione spec.).

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

$[\alpha]_D^{20}$ = angolo di rotazione specifico con linea D sodio e temperatura di 20°C .

α = angolo di rotazione misurato (lettura della scala)

c = concentrazione in grammi/100 ml ($\text{g}/0,1 \text{ dm}^3$) della soluzione.

d = spessore strato (livello di riempimento) in dm.

5.1 Esempi

per angoli di rotazione specifici $[\alpha]_D^{20}$ (rotazione finale) in gradi:

D-glucosio +52,7; D-fruttosio -92,4; D-mannosio + 14,6; D-galattosio + 80,2; D-xilulosio + 33,1; D-ribosio -23,7; saccarosio + 66,5; maltosio + 130,4; lattosio +52,5 (Valori estrapolati da Aebi, Einführung in die praktische Biochemie, Karger 1982)

α -D-glucosio +113,0 (cristallizzato da acqua); α -D-glucosio +19,0 (cristallizzato da piridina); α -acido idrossibutirrico -24,8; proteina -52,8 (Valori estrapolati da Rapoport/ Raderecht, Physiologisch-chemisches Praktikum, VEB Verlag Volk u. Gesundheit, 1972).

6. Esempi di esperimenti

6.1 Angolo di rotazione specifico del saccarosio

Pesata: versare e disciogliere con acqua 50 g di saccarosio in un matraccio graduato fino a raggiungere i 100 ml. Riempire la cuvetta con la soluzione fino ad un'altezza di 10 cm (= 1 dm). Misurazione dell'angolo di rotazione: 32°, a destra.

Angolo di rotazione specifico: $[\alpha]_D^{20} = \frac{+32 \cdot 100}{50 \cdot 1} = +64$

In tal modo l'angolo di rotazione specifico determinato si trova nell'ordine di grandezza del valore previsto dalla letteratura.

Note: Anche con l'utilizzo di polarimetri di precisione non sempre vengono raggiunti i valori previsti dalla letteratura. Mediante tautomeria o mutarotazione (α o forma β) può essere necessario un po' di tempo prima che si raggiunga un equilibrio. Lasciare riposare per un tempo superiore (tutta la notte) le soluzioni di zucchero mutarotante dopo la preparazione.

In caso di deposito prolungato, fare attenzione a lieviti e batteri! In caso di pesata di zuccheri (ad es. glucosio), leggere attentamente l'etichetta riportata sul contenitore delle sostanze chimiche! Prendere nota dell'acqua di cristallizzazione (monoidrato) e bilanciarla mediante varie pesate calcolate e/o sottrarla dal calcolo successivo (g/100 ml).

6.2 Misurazione della concentrazione

Innanzitutto misurare l'angolo di rotazione specifico di una sostanza. Quindi con questa sostanza ottenere una soluzione dal contenuto sconosciuto (e/o nota solo al docente). Livello di riempimento $d = 1$ dm

$c = ?$ $[\alpha]_D^{20} = +64^\circ$ α (misurato) = $+14^\circ$

La concentrazione (c) in g/0,1 dm³ si calcola come indicato di seguito:

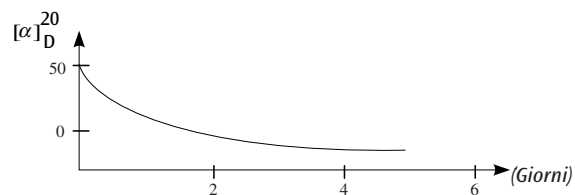
$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot d} = \frac{+14 \cdot 100}{+64 \cdot 1} = 21,9 \text{ g/100ml}$$

6.3 Inversione di saccarosio

Mediante acido è possibile scindere il saccarosio disaccaride in D-glucosio e D-fruttosio. La soluzione delle parti risultanti dalla separazione, anch'esse otticamente attive, ha un altro angolo di rotazione rispetto al saccarosio (inversione). La miscela glucosio-fruttosio nel rapporto molecolare di 1:1 è nota pertanto con il nome di zucchero invertito (ad es. nel miele artificiale). La rotazione specifica varia a temperatura ambiente con il passare delle ore e dei giorni, in base alla concentrazione dell'acido. Temperature superiori accelerano notevolmente l'inversione (risultato nel corso delle ore). La rotazione specifica varia da +66° a ca. -22° (saccarosio +66°, glucosio ("glucosio di equilibrio") +52°, D-fruttosio -92,4°).

Proposta: disciogliere fino a 50 g di saccarosio in poca acqua, aggiungere ulteriore acqua e una quantità di acido cloridrico diluito compresa tra 5 e 20 ml fino a raggiungere i 100 ml. A temperatura ambiente effet-

tuare una misurazione inizialmente ad intervalli di 10 minuti ed in seguito ad intervalli di ore e convertire gli angoli di rotazioni ricavati dalla lettura in una rotazione specifica e riportarli in un diagramma.



Se l'inversione viene eseguita in presenza di temperature superiori, si consiglia di lavorare con un volume di soluzione maggiore termostattizzato (bagno d'acqua!) (1 - 2 l). Prima di effettuare la misurazione, estrarre alcuni campioni, farli raffreddare velocemente e riempire la cuvetta di misurazione.

6.4 Vino

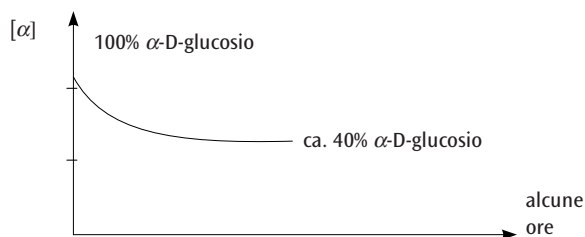
Se compare una rotazione verso destra, il vino può essere mescolato con glucosio, prima o dopo la fermentazione, o con saccarosio dopo la fermentazione. La rotazione verso sinistra indica vino naturale (secondo l'opinione del Dr. Steeg & Reuter).

6.5 Mutarotazione con atomi C anomeri

La mutazione è il fenomeno per cui la soluzione di una sostanza otticamente attiva modifica il proprio angolo di rotazione, determinando la graduale comparsa di uno stato di equilibrio.

Pesare l' α -D-glucosio e discioglierlo rapidamente agitandolo. Ad intervalli di tempo determinare l'angolo di rotazione, convertirlo subito nell'angolo di rotazione specifico e riportarlo in un diagramma.

$[\alpha]_D^{20}$ di α -D-glucosio: 112-113°; dopo impostazione dell'equilibrio (alcune ore) +52°; ora è presente una miscela composta da D-Glucosio α e β -. Nel caso del fruttosio la mutarotazione avviene molto più rapidamente.



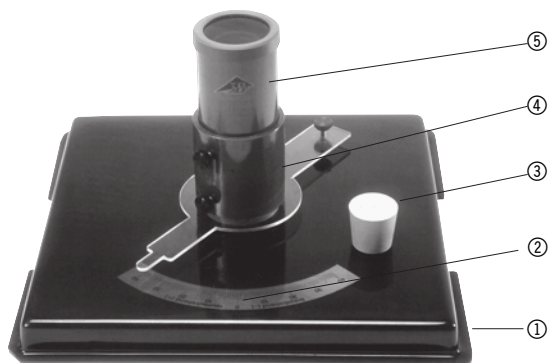
7. Manutenzione

La cuvetta in Plexiglas è adatta all'utilizzo con liquidi, che non attaccano il materiale. Le soluzioni acquose saranno comunque al centro dell'interesse. Prima dell'introduzione, verificare che la cuvetta sia assolutamente asciutta e pulita! Chiudere il coperchio, se la misurazione si protrae o se la cuvetta deve rimanere nell'apparecchio (ad es. mutarotazione, ved. 4.5.). Eseguire la pulizia mediante l'impiego di un panno morbido e privo di polvere. Non graffiare i filtri! Si consiglia di riporre in un ambiente privo di polvere (involucro antipolvere).

U14390 Aparato de polarización de demostración

Instrucciones de uso

3/03 ALF



- ① Placa base
- ② Escala graduada para ángulo de rotación
- ③ Tapón
- ④ Empuñadura giratoria con indicador
- ⑤ Analizador

El aparato de polarización es un instrumento de demostración que se emplea en conjunción con un proyector de luz diurna, para la ejecución de experimentos cualitativos y cuantitativos, frente un amplio círculo de oyentes, en escuelas o universidades, para demostración de la actividad óptica, la determinación del ángulo específico de rotación y la determinación de concentración para ángulos de rotación específicos conocidos.

1. Aviso de seguridad

- No limpie el aparato de polarización con agentes de limpieza agresivos.
- No llene la cubeta con líquidos que corroan el pexiglás.
- Tenga cuidado de no rayar los filtros

2. Descripción, datos técnicos

En la mitad de la placa base, de plástico negro, se encuentra un filtro amarillo y un polarizador. Una cubeta, con marcas de 50 mm y 100 mm, con la solución de la sustancia a examinarse, se inserta en la base sobre la que se encuentra el analizador, sobre un soporte con empuñadura giratoria e indicador. Al girar el analizador, se puede leer el ángulo de rotación sobre una escala transparente de + 40° a - 40°, con divisiones de 1°. Dimensiones: 370 mm x 330 mm x 190 mm

Figura 1:

- | | |
|---------------------|--|
| ① Filtro amarillo | ⑤ Soporte con empuñadura giratoria e indicador |
| ② Polarizador | ⑥ Marca de 100 mm |
| ③ Base de la cubeta | ⑦ Cubeta |
| ④ Marca de 50 mm | |

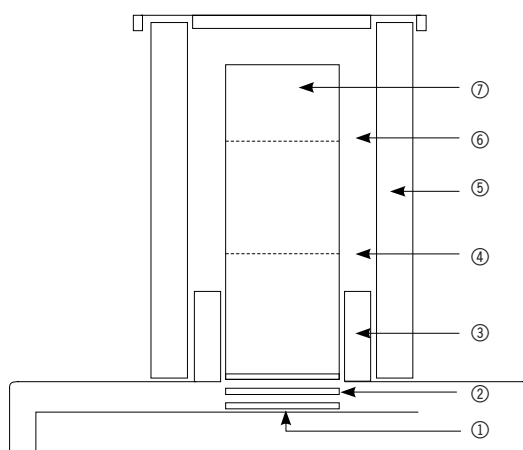
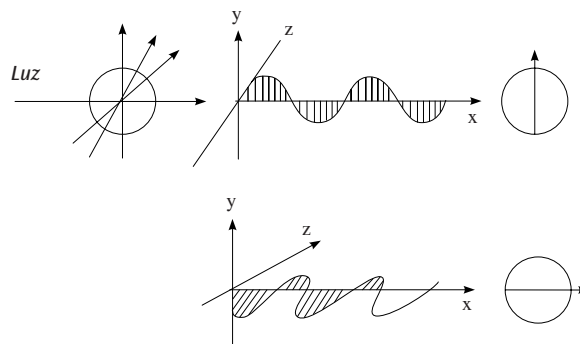


Figura 1

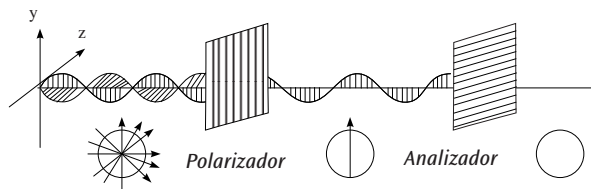
3. Funcionamiento

La luz (ondas electromagnéticas que se encuentran dentro del rango de lo visible) que sale del proyector de luz diurna atraviesa un filtro amarillo. De acuerdo con la teoría, la luz amarilla aumenta la precisión de medida.

Esta luz oscila en diferentes planos:



El primer filtro polar (polarizador) sólo permite el paso de uno de los planos de oscilación: la luz se ha polarizado. Si se coloca detrás un segundo filtro polar (analyzer), girado en 90°, la luz polarizada es absorbida en gran parte puesto que, por así decirlo, la «rejilla» de este filtro cruzado se encuentra en posición transversal con respecto al plano de oscilación: extinción máxima.



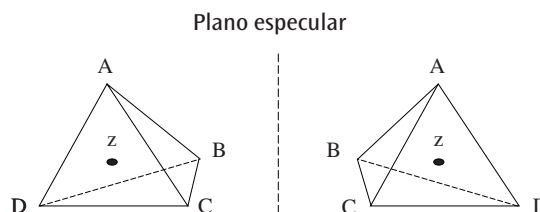
Si se interpone una sustancia al haz luminoso (p. ej.: una solución en una cubeta), y esta sustancia es ópticamente activa, esto es, hace girar el plano de oscilación de la luz polarizada hacia la izquierda o la derecha, en sentido horario, entonces también se debe girar el analizador para volver a alcanzar la máxima extinción de luz. El ángulo, en grados, entre la máxima extinción sin y con contenido en la cubeta, o bien entre el disolvente puro y la solución, se determina por medio del giro del analizador. Este ángulo constituye un importante valor de medición, junto con la concentración de la sustancia diluida y el nivel de llenado de la cubeta.

4. Servicio

- Colocar el aparato de polarización para demostraciones sobre el proyector de luz diurna y proyectar nítidamente la escala
- Ajustar el indicador a cero. Girar el analizador hasta provocar la máxima extinción de luz. Sobre la superficie de proyección no debe verse ningún punto de luz proveniente del haz luminoso.
- Llenar la cubeta con el disolvente e insertarla en la base.
- Girar el indicador hacia izquierda y derecha hasta que el punto luminoso vuelva a ser visible en ambos lados de la escala (+/-). El valor intermedio de ambos resultados de medición será considerado como «punto cero» o «punto de referencia» para las mediciones posteriores. En el caso ideal, coincide con el «0» de la escala.
Ejemplo: $-6^\circ / +4^\circ$; valor de referencia: -1°
- A continuación, interponer al haz luminoso la cubeta con la solución de la sustancia ópticamente activa, y determinar el nivel para cálculos ulteriores.
- Al igual que con el disolvente puro, determinar el ángulo de giro por medio de la aparición del punto luminoso hacia ambos lados de la extinción máxima; p. ej.: con $-21^\circ / -11^\circ$ se obtiene -16° . Si el valor de referencia del disolvente puro era -1° , entonces se obtiene -15° como ángulo de rotación α medido.

5. Polarimetría

Los compuestos que llevan hacia un centro (centro de actividad) cuatro sustituyentes o ligandos diferentes,



y que pueden reflejarse en un plano especular son considerados ópticamente activos (quiral). Presentan el comportamiento de imagen y reflejo y no se los puede cubrir completamente (enantiómeros). Las sustancias ópticamente activas hacen girar el plano de oscilación de la luz. Si en una mezcla se encuentra un 50% de cada forma (racemato), se cancela la rotación hacia el exterior. Si una de las dos formas se encuentra en mayor cantidad, el plano de oscilación gira por completo. El ángulo de rotación α es una constante del material y, junto al tipo de partículas, depende de las siguientes condiciones:

- Longitud de onda de la luz: dado que se acepta convencionalmente el uso de la línea D de sodio de la luz de emisión (lámpara de vapor de Na) para mediciones exactas, en la base del equipo se encuentra un filtro amarillo con el que se alcanza, aproximadamente, este rango espectral.
- Temperatura: la mayoría de las veces, para las mediciones, se indica una temperatura de 20°C .
- Cantidad de partículas que provocan la rotación: dependencia de la concentración de la sustancia disuelta y del espesor de la capa de la solución (= nivel de la cubeta); relación proporcional.
- Solvente.

La rotación relacionada con una determinada cantidad de una sustancia ópticamente activa (derecha, izquierda = + ó -; ángulo de rotación) es una constante de la sustancia y se denomina rotación específica (ángulo específico de rotación).

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

- $[\alpha]_D^{20}$ = Ángulo esp. de rot. con línea D de Na y 20°C .
- α = Ángulo de rot. medido (lectura de la escala)
- c = Concentración de la solución en gramos /100 ml ($\text{g}/0,1 \text{ dm}^3$).
- d = Espesor de la capa (altura de llenado) en dm.

5.1 Ejemplos

para un ángulo específico de giro $[\alpha]_D^{20}$ (giro final) en grados:

D-glucosa +52,7; D-fructosa -92,4; D-manosa + 14,6; D-galactosa + 80,2; D-xilulosa + 33,1; D-ribosa -23,7; sacarosa + 66,5; maltosa + 130,4; lactosa +52,5 (Valores tomados de Aebi, „Einführung in die praktische Biochemie“, Karger 1982)

α -D-glucosa +113,0 (cristalizada en agua); α -D-glucosa +19,0 (cristalizada en piridina); α -ácido hidroxibutírico -24,8; proteína -52,8

(Valores tomados de Rapoport/ Raderecht, Physiologisch-chemisches Praktikum, VEB Verlag Volk u. Gesundheit, 1972).

6. Ejemplos experimentales

6.1 Ángulo específico de giro de la sacarosa

Pesada: 50 g de sacarosa se diluyen dentro un probeta graduada que contiene 100 ml de agua. La solución alcanza una altura de 10 cm (= 1 dm) al llenar la cubeta. Medición del ángulo de rotación: 32°, a la derecha.

$$\text{Ángulo específico de rotación: } [\alpha]_D^{20} = \frac{+32 \cdot 100}{50 \cdot 1} = +64$$

Por tanto, el ángulo específico determinado se encuentra dentro de las magnitudes indicadas en la literatura.

Nota: Incluso con polarímetros de precisión no se alcanzan siempre los valores señalados en la teoría. Debido a tautomería o mutarotación (formas α o β) puede tomar algún tiempo la instauración de un equilibrio. Tras su preparación, la solución de azúcar mutarotante se debe dejar en reposo durante largo tiempo (por la noche).

¡Tenga cuidado con los fermentos y bacterias en el caso de largos tiempos de almacenamiento! ¡Al pesar los azúcares (p. ej. glucosa) se debe leer atentamente la etiqueta del frasco de reactivos! El agua de cristalización (monohidrato) debe venir indicada en la etiqueta, y compensarse por medio de un peso suplementario calculado, o bien sustraerse del cálculo ulterior (g/100 ml).

6.2 Medición de la concentración

En primer lugar se mide el ángulo de giro específico de una sustancia. Luego se prepara una solución con contenido desconocido de dicha sustancia (o bien sólo conocido por el instructor). Altura de llenado $d = 1$ dm

$$c = ? \quad [\alpha]_D^{20} = +64^\circ$$

$$\alpha (\text{medido}) = +14^\circ$$

La concentración (c) en g/0,1 dm³ se calcula de la siguiente manera:

$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_D^{20} \cdot d} = \frac{+14 \cdot 100}{+64 \cdot 1} = 21,9 \text{ g/100ml}$$

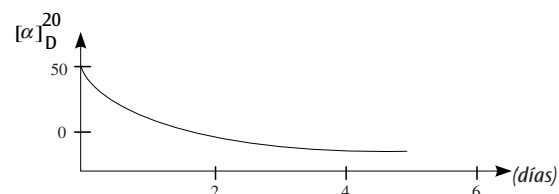
6.3 Inversión de sacarosa

Por medio de ácido, la sacarosa disacárida se puede descomponer en D-glucosa y D-fructosa. La solución de estos componentes, que son de igual manera ópticamente activos, posee un ángulo de rotación distinto al de la sacarosa (inversión). La mezcla de glucosa y fructosa, en una relación molar de 1:1, se denomina, por tanto, azúcar invertida (p. ej. la de la miel artificial). A temperatura ambiente, la rotación específica varía en intervalos de horas o de días, según la concentración del ácido. Las temperaturas elevadas aceleran considerablemente la inversión (resultados en cuestión de horas). El giro específico varía de +66° a aprox. -22° (sacarosa + 66°, glucosa («glucosa de equilibrio») +52°, D-fructosa -92,4°).

Propuesta: disuelva 50 g de sacarosa en un poco de agua, agregue luego más agua, y de 5 a 20 ml de ácido clorhídrico diluido, hasta llegar a 100 ml. Realice me-

diciones a temperatura ambiente, en primer lugar, una vez transcurridos 10 minutos, y luego cada hora, convierta los valores de ángulo de rotación medidos en rotación específica y anótelos en el diagrama.

Si la inversión se realiza a temperaturas más elevadas, se recomienda trabajar con un volumen mayor de solución (1 - 2 l) termostatzada (baño María). Antes de la medición se extraen pruebas, se enfrían rápidamente y se llenan en la cubeta de medición.



6.4 Vino

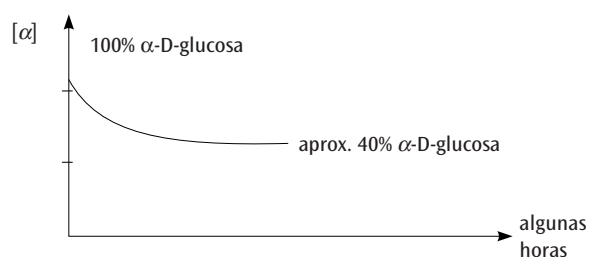
Si se presenta una rotación hacia la derecha, el vino pudo haber sido manipulado con D-glucosa, antes o después de la fermentación, o con azúcar de caña después de la misma. La rotación hacia la izquierda indica que el vino es natural (según Dr. Steeg & Reuter).

6.5 Mutarotación de átomos C anómeros

El fenómeno durante el cual una sustancia ópticamente activa modifica su ángulo de rotación mientras, paulatinamente, se establece un estado de equilibrio, se denomina mutarotación.

Se pesa α -D-glucosa y se disuelve agitándola rápidamente. Se determina el ángulo de rotación en distintos intervalos de tiempo, se realiza inmediatamente el cálculo del ángulo de rotación específico y se anota en un diagrama.

$[\alpha]_D^{20}$ de α -D-glucosa: 112-113°; una vez alcanzado el equilibrio (tras algunas horas) + 52°; se tiene sólo una mezcla de α - y β -D-glucosa. En caso de la fructosa, la mutarotación se realiza mucho más rápidamente.



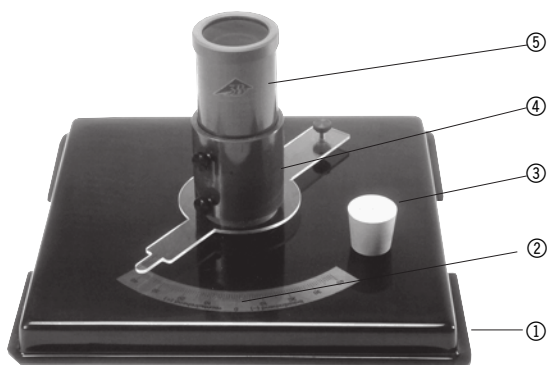
7. Cuidado

La cubeta de plexiglás es apta para alojar fluidos que no corroan el material. En todo caso, las soluciones acuosas son aquí el punto central de interés. ¡Antes de introducir la cubeta se debe verificar, necesariamente, que esté completamente seca y limpia! Se debe cerrar necesariamente la tapa si la medición dura mucho tiempo, o si la cubeta debe permanecer dentro del equipo (p. ej. para la mutarotación, véase 6.5). La limpieza se debe realizar con un paño suave, libre de polvo. ¡No rayar los filtros! Se recomienda su almacenamiento en un lugar libre de polvo (protección con una cubierta).

U14390 Aparelho de polarização para demonstração

Manual de instruções

3/03 ALF



- ① Placa de base
- ② Escala de ângulo rotativo
- ③ Tampão
- ④ Suporte com cabo giratório e indicador
- ⑤ Analisador

No caso do aparelho de polarização, trata-se de um aparelho para demonstração para ser utilizado em instalação sobre um projetor de luz natural e para a realização de experiências de ordem qualitativa e quantitativa para um grupo maior de ouvintes em escolas ou universidades, como por exemplo a demonstração da atividade ótica, a determinação de ângulos polarizantes específicos e para a determinação da concentração em relação a um ângulo polarizante específico conhecido.

1. Indicações de segurança

- Não limpar o aparelho de demonstração de polarização com produtos de limpeza agressivos.
- Não encher a cubeta com líquidos que ataquem o acrílico.
- Tomar cuidado para que os filtros não sejam arranhados.

2. Descrição, dados técnicos

No centro da placa de base de matéria plástica preta encontram-se instalados um filtro amarelo e um polarizador. Uma cubeta, com uma solução contendo a substância a ser pesquisada, com marcas de 50 mm e de 100 mm é instalada no suporte, acima desta encontra-se o analisador sobre um suporte com maneta para rotação e indicador. Ao girar o analisador, o ângulo poderá ser lido numa escala transparente de + 40° até -40°, com divisão de um grau. Medidas: 370 mm x 330 mm x 190 mm

Ilustração 1

- ① Filtro amarelo
- ② Polarizador
- ③ Suporte para a cubeta
- ④ Marca para 50 mm
- ⑤ Suporte com maneta para rotação e indicador
- ⑥ Marca para 100 mm
- ⑦ Cubeta

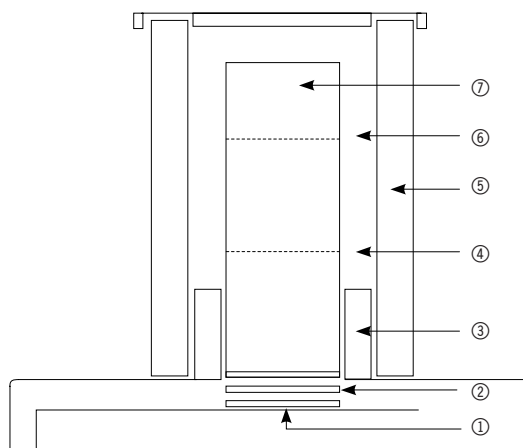
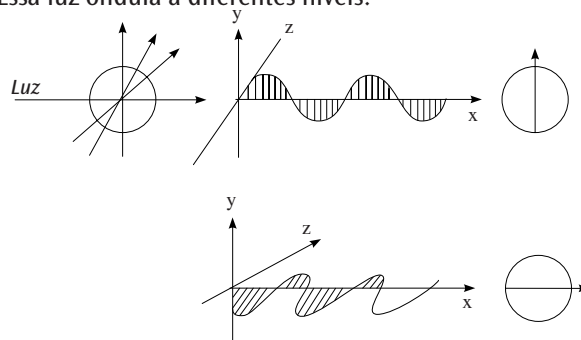


Ilustração 1

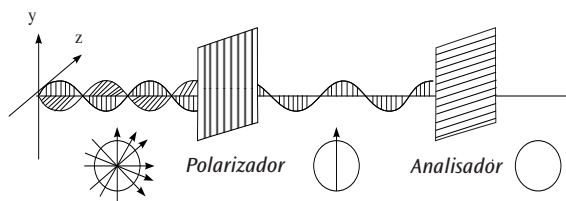
3. Princípios de funcionamento

A luz (ondas eletromagnéticas no campo visível) que sai do projetor de luz natural atravessa um filtro amarelo. A luz amarela aumenta por definição a precisão das medidas tomadas.

Essa luz ondula a diferentes níveis:



Um certo nível ondulatório passa de forma prioritária através do primeiro filtro polarizante (polarizador): a luz é polarizada. Se um segundo filtro polarizante (analisador) é colocado por trás e girado a 90°, a maior parte dessa luz polarizada é absorvida, porque, por assim dizer, a “grade” desse filtro cruzado está perpendicular ao plano ondulatório: máxima extinção.



Se uma substância (como uma solução numa cubeta) é colocada no percurso do feixe, e esta gira o plano ondulatório da luz polarizada para a esquerda ou para a direita no sentido horário, ou seja, é opticamente ativa, deve-se girar o analisador para obter-se novamente uma máxima extinção.

O ângulo, em graus, entre a extinção máxima com e sem o conteúdo da cubeta, ou seja, entre o líquido de solução puro e a solução, é determinado através da rotação do analisador e é um valor importante para a medição, paralelamente à concentração da substância na solução e à altura do nível do líquido na cubeta.

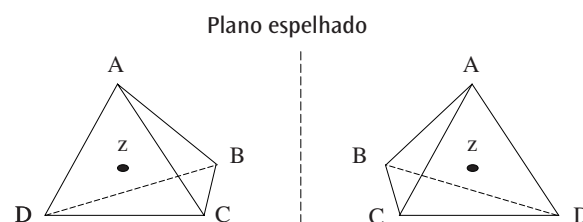
4. Utilização

- Colocar o aparelho de polarização para demonstrações sobre o projetor de luz natural e projetar a escala bem focalizada.
- Colocar o indicador no zero. Produzir a extinção máxima girando o analisador. Não deve haver nenhuma mancha de luz oriunda do percurso do feixe visível sobre a superfície de projeção.
- Encher a cubeta com um líquido para solução puro e instalar no suporte.
- Girar o indicador para a esquerda e para a direita até que a mancha de luz volte a ser visível a ambos lados da escala (+/-). O valor que se encontra entre as duas medidas é o “ponto zero” ou “ponto de referência” para as duas medições. No caso ideal, esse ponto coincide com o “0” na escala. Por exemplo, -6° / +4°; valor de referência: -1°
- A continuação, levar a cubeta com a solução para o percurso do feixe e determinar a altura do nível do líquido para cálculos posteriores.
- Do mesmo modo que com o líquido para solução puro, determinar o ângulo de rotação com a aparição da mancha de luz a ambos lados da extinção máxima. Por exemplo, -21° / -11° resulta em -16°. Caso o valor de referência do líquido para solução puro seja -1°, então obtêm-se a medida de -15° para o ângulo de rotação medido a.

5. Polarimetria

Ligações que carregam quatro substituintes ou ligantes diferentes num centro (centro de atividade) e que po-

dem ser refletidas num plano espelhado são opticamente ativas. (chiral)



Elas se comportam como imagem e imagem refletida e não podem ser levadas a coincidir completamente (formas enantiômeras). Materiais opticamente ativos giram o plano ondulatório da luz. Caso encontre-se 50% de cada forma na mistura (forma dl), a rotação se levanta para fora. Caso uma das formas prevalecer, o plano ondulatório gira integralmente. O ângulo de rotação é uma constante de material e depende, além do tipo de partícula, das seguintes condições:

- Longitude de onda da luz: já que por convenção a linha sódio-D da luz de emissão (lâmpadas a vapor de sódio) é a utilizada para medições de precisão, encontra-se um filtro amarelo na parte de baixo do aparelho para atingir aproximadamente esse campo espectral.
- Temperatura: geralmente recomenda-se 20° C para as medições.
- A quantidade de partículas giratórias: dependência da concentração de substância diluída na solução e da profundidade da solução (= nível do líquido na cubeta); relação proporcional.
- Líquido para solução.

A rotação relativa a uma quantidade específica de matéria opticamente ativa (direita, esquerda = + ou -; ângulo de rotação) é uma constante de material e é denominada ângulo polarizante (ângulo de rotação específico).

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

- $[\alpha]_D^{20}$ = giro específico com linha sódio-D e 20° C.
- α = ângulo de rotação medido (leitura da escala)
- c = Concentração da solução em gramas/100 ml (g/0,1 dm³).
- d = profundidade da solução (nível do líquido) em dm.

5.1 Exemplos

para ângulos de rotação específicos $[\alpha]_D^{20}$ (rotação final) em graus: D-glucose +52,7; D-fructose -92,4; D-manose + 14,6; D-galactose + 80,2; D-xilulose + 33,1; D-ribose -23,7; sacarose + 66,5; maltose + 130,4; lactose +52,5 (Valores de Aebi, Einführung in die praktische Biochemie (Introdução à bioquímica prática), Karger 1982)

α -D-glucose +113,0 (cristalizada a partir de água); α -D-glucose +19,0 (cristalizada a partir de piridin); α -hidroxibutírico -24,8; proteína -52,8 (Valores de Rapoport/ Raderecht, Physiologisch-chemisches Praktikum (Prática fisiológica química), VEB Editora Volk u. Gesundheit, 1972).

6. Exemplos de experiências

6.1 Ângulo polarizante específico da sacarose

Quantidades: encher um êmbolo de medição até 100 ml com 50 g de sacarose em solução diluída em água. Encher a cubeta com a solução até a altura de 10 cm (= 1 dm). Medida do ângulo de rotação: 32°, à direita.

$$\hat{\text{Ângulo polarizante:}} [\alpha]_{\text{D}}^{20} = \frac{+32 \cdot 100}{50 \cdot 1} = +64$$

Assim, o ângulo polarizante (específico) determinado encontra-se na ordem de grandeza dos valores encontrados na literatura.

Observação: mesmo utilizando polarímetros de precisão nem sempre obtêm-se os valores encontrados na literatura. Através da tautometria e da mutarrotação (forma α - ou β -) pode demorar bastante tempo até que se estabeleça um equilíbrio. Deixar a solução de açúcar mutarrotador descansar durante muito tempo (durante a noite) depois de fabricada.

Em caso de armazenamento prolongado, ter cuidado com fermentos e bactérias! Ao pesar açúcar (por exemplo, glucose), ler cuidadosamente a etiqueta do vasilhame contendo o material químico! A água cristalizada (monohidrato) deve estar indicada na etiqueta e deve ser compensada com adição de peso, ou deve ser subtraída em cálculo a posteriori.

6.2 Medida de concentração

Primeiro será medido o ângulo polarizante de uma substância. Logo, será fabricada uma solução de conteúdo desconhecido (ou só conhecido pelo apresentador). Nível de enhecimento $d = 1$ dm

$$c = ? \quad [\alpha]_{\text{D}}^{20} = +64^{\circ} \quad \alpha \text{ (medido)} = +14^{\circ}$$

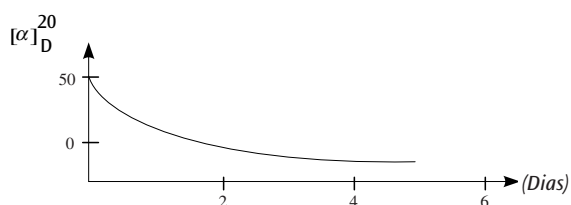
A concentração (c) em g/0,1 dm³ calcula-se como segue:

$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha]_{\text{D}}^{20} \cdot d} = \frac{+14 \cdot 100}{+64 \cdot 1} = 21,9 \text{ g}/100 \text{ ml}$$

6.3 Inversão de sacarose

Com ácido, o dissacarídeo sacarose pode ser dividido em D-glucose e D-fructose. A solução das também oticamente ativas partes divididas tem um ângulo de rotação diferente do da sacarose (inversão). A mistura glucose-fructose tem proporção molar de 1:1 e chama-se então de açúcar invertido (como por exemplo no mel sintético). A polarização específica modifica-se à temperatura ambiente no espaço de horas até dias, dependendo da concentração de ácido. Temperaturas mais altas aceleram sensivelmente a inversão (resultados obtidos em horas). O ângulo polarizante modifica-se de +66°, glucose (“glucose de equilíbrio”) +52°, D-fructose -92,4°.

Sugestão: diluir até 50 g de sacarose num pouco de água, encher com mais água e 5 a 20 ml de hidrogenossal diluído até 100 ml. Fazer medidas à temperatura ambiente primeiro a cada 10 minutos, logo em períodos de uma hora convertendo os ângulos de rotação em ângulo polarizante e inscrevendo os resultados no diagrama.



Caso efetue-se a inversão com temperaturas mais altas, é recomendável trabalhar com um volume de solução termoequilibrante (banho de água!) maior (1 - 2 l). Antes de efetuar a medição são tomadas provas, que rapidamente esfriadas são vertidas na cubeta.

6.4 Vinho

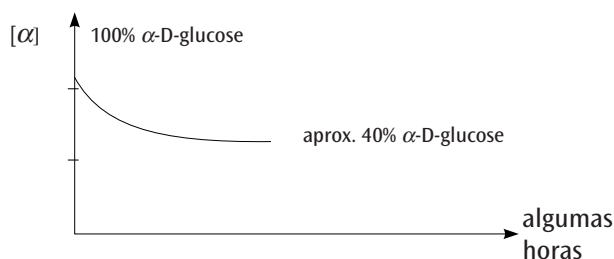
Se ocorrer uma rotação à direita, então pode ter sido adicionada dextrose antes e depois da fermentação, ou sacarose após a fermentação, ao vinho. Uma rotação à esquerda indica um vinho natural (segundo Dr. Steeg & Reuter).

6.5 Mutarrotação em átomos C anômeros

Este fenômeno, pelo qual uma substância oticamente ativa modifica o seu ângulo de rotação enquanto lentamente estabelece-se um estado de equilíbrio, chama-se de mutarrotação.

A α -D-glucose deve ser pesada e rapidamente diluída agitando-a. Por períodos, determina-se o ângulo de rotação, a seguir calcula-se o ângulo específico (ângulo polarizante) e inscreve-se o resultado no diagrama.

$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ de α -D-glucose: 112-113°; após estabelecimento do equilíbrio (algumas horas) + 52°; agora encontra-se uma mistura de D-glucose α e β na cubeta. Com fructose, a mutarrotação ocorre de forma muito mais rápida.



5. Manutenção e cuidados

A cubeta de plástico acrílico é apropriada para líquidos que não agredem o material. Soluções aquosas estarão, de qualquer forma, no centro de interesse. A cubeta deve ser imperativamente examinada antes de cada utilização e deve estar absolutamente limpa e seca. A tampa deve imperativamente ser colocada em todo caso quando uma medição for mais prolongada ou quando a cubeta deva permanecer no aparelho (por exemplo, em caso de mutarrotação, ver 4.5). a limpeza deve ser efetuada com um pano livre de poeira. Não arranhar os filtros! Um armazenamento ao abrigo da poeira é recomendável (capa de proteção contra a poeira).