

## **Polarymetryczne oznaczanie stężenia i skręcalności właściwej substancji optycznie czynnych**

### **Część podstawowa:**

#### Zagadnienia teoretyczne:

polarymetria, zjawisko polaryzacji, skręcenie płaszczyzny drgań, skręcalność właściwa, związki chiralne, cukier inwertowany, polarymetr i zasada jego działania

#### Cele ćwiczenia:

1. Wyznaczanie skręcalności właściwej glukozy, fruktozy i sacharozy.
2. Wyznaczanie stężenia nieznanego roztworu.
3. Wyznaczanie skręcalności optycznej cukru inwertowanego.

Czas trwania części podstawowej ćwiczenia: 2 x 3 godziny lekcyjne.

### **Część rozszerzona:**

#### Zagadnienia teoretyczne:

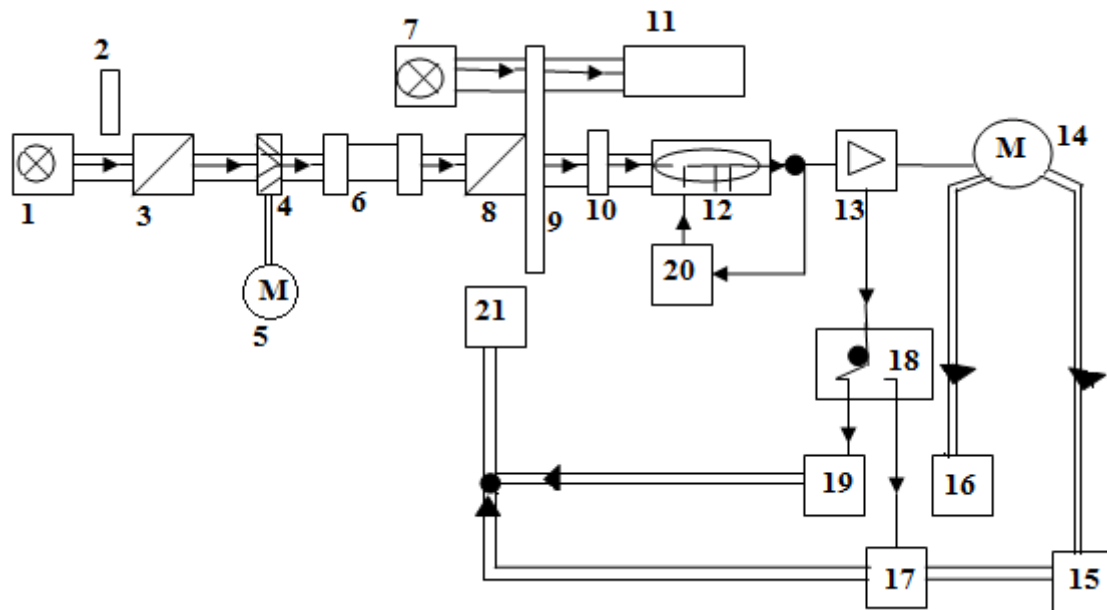
hydroliza sacharozy, stała inwersji, zjawisko mutarotacji, a także zagadnienia z części podstawowej

#### Cele ćwiczenia:

1. Badanie wpływu katalizatorów na proces hydrolizy sacharozy.
2. Wyznaczanie stałej inwersji sacharozy oraz czasu połowicznego rozpadu jej cząstek.
3. Badanie wpływu katalizatorów na szybkość zachodzenia mutarotacji cząsteczek glukozy.

Czas trwania części podstawowej ćwiczenia: 2 x 3 godziny lekcyjne.

## Schemat układu pomiarowego:



Rysunek 1. Schemat blokowy polarymetru półautomatycznego POLAMAT A: 1 - lampa sodowa; 2 - filtr barwny o krawędzi pasma absorpcyjnego 546 nm; 3 - polaryzator; 4 - tarcza modulatora; 5 - silnik modulatora; 6 - badana próbka; 7 - żarówka oświetlająca skalę; 8 - analizator; 9 - tarcza kołowa z podziałką; 10 - filtr interferencyjny; 11 - okienko projekcyjne ze skalą; 12 - fotoelektronowy powielacz; 13 - wzmacniacz napięcia zmiennego; 14 - serwowymotor; 15 - zespół mechanizmów do przełożenia na większe obroty wałka napędowego; 16 - zespół mechanizmów do biegu wolnego; 17 - sprzęgło elektromagnetyczne; 18 - automatyczny przełącznik; 19 - sprzęgło elektromagnetyczne dla biegu wolnego; 20 - przyrząd ze wzmacniaczem napięcia stałego; 21 - mechanizm ślimacznicy; [7]

## Część podstawowa

1. „Wyznaczanie skręcalności właściwej glukozy, fruktozy i sacharozy.”

2. „Wyznaczanie stężenia nieznanego roztworu.”

### Odczynniki:

glukoza, fruktoza, sacharoza lub cukier spożywczy, woda destylowana.

### Aparatura:

polarymetr półautomatyczny POLAMAT A, waga cyfrowa, pipeta ręczna lub strzykawka.

### **Część praktyczna:**

1. W probówkach przygotować po 7 roztworów glukozy, fruktozy i sacharozy o stężeniach: 1, 2, 4, 6, 8 i 10% oraz jeden roztwór o stężeniu nieznanym. Do przygotowania roztworów przyjąć stałą ilość rozpuszczalnika (wody destylowanej) równą 25 ml, a ilość potrzebnej substancji odważyć z wykorzystaniem wagi cyfrowej.

### **Uwagi:**

- Roztwory glukozy i fruktozy posłużą na wyznaczania skręcalności właściwej cukru inwertowanego nie należy więc ich wylewać.
- Stopień skręcenia polaryzacji substancji czynnej optycznie silnie zależy od stężenia, temperatury i długości fali światła analizującego. Należy pamiętać o tym w szczególności wtedy, gdy do całkowitego rozpuszczenia substancji w rozpuszczalniku konieczne będzie ogrzanie próbki. W takim wypadku konieczne jest wystudzenie próbki do temperatury otoczenia.
- Ze względu na zjawisko mutarotacji poszczególnych anomerów glukozy i fruktozy konieczne jest przygotowanie odpowiednich roztworów na pierwszych zajęciach i badanie ich dopiero na zajęciach kolejnych. Wyjątek stanowi tu sacharoza, która nie ulega mutarotacji.

2. W celu ustabilizowania pracy polarymetru należy go uruchomić na co najmniej 15 minut przed rozpoczęciem pomiarów. Wszystkich pomiarów dokonujemy z roboczą długością fali 546,1nm.

3. Przy pomocy pipety lub strzykawki kolejno napełnić rurki polarymetryczne o długości 5 cm przygotowanymi roztworami. Należy zwrócić uwagę na obecność ewentualnych pęcherzyków powietrza w rurce polarymetrycznej, które należy usunąć poprzez dodatkowe wtłoczenie roztworu pipetą lub strzykawką.

4. Przygotowane roztwory umieścić w komorze polarymetru i odczytać wartość skręcenia kąta polaryzacji. Dla każdej próbki dokonać 2-3 pomiary poprzez wyjęcie i ponowne włożenie rurki polarymetrycznej do komory. Następnie wyniki uśrednić.

5. Odczytać z termometru znajdującego się w komorze polarymetru temperaturę pomiaru.

6. Na podstawie uzyskanych wyników korzystając ze wzoru (1) wyznaczyć skręcalność właściwą wymienionych wcześniej substancji i na jej podstawie określić stężenia 3 nieznanymi prób.

7. Wykorzystując zmierzone wartości kątów skręcenia analizowanych roztworów sporządzić wykresy zależności  $100\alpha_{\text{zmierzone}} (d \cdot c)$ . Metodą regresji liniowej wyznaczyć wartość współczynnika kierunkowego prostej  $y = ax + b$ , gdzie  $a = \alpha_{\text{właściwa}}$  oraz jej niepewność pomiarową  $S_a$ . Uzyskane wyniki przedstawić w formie tabeli, porównać wyniki eksperymentalne z wartościami tablicowymi, przeprowadzić rachunek błędów pomiarowych.

### 3. „Wyznaczanie skręcalności optycznej cukru inwertowanego”

Pomiary skręcenia polaryzacji cukru inwertowanego wykonujemy dwoma metodami z użyciem uprzednio przygotowanych roztworów glukozy i fruktozy.

#### **I Metoda**

- W pierwszej metodzie roztwory glukozy i fruktozy o tych samych stężeniach umieścić w rurkach polarymetrycznych o długości 5cm. Następnie obie próbki ułożone szeregowo jedna za drugą umieścić w komorze polarymetru oraz odczytać wartość skręcenia kąta polaryzacji.

#### **II Metoda**

- W drugiej metodzie wykorzystać mieszaninę obu substancji. Należy zatem w równych proporcjach wymieszać roztwory o tych samych stężeniach i zmierzyć wartość skręcenia uzyskanej mieszaniny. Pomiarów takich dokonać dla dostępnych stężeń.

Analogicznie do wcześniejszego postępowania wyznaczyć skręcalność właściwą cukru inwertowanego dla danego stężenia oraz średnią wartość skręcalności właściwej metodą regresji liniowej. Następnie porównać wyniki uzyskane obiema metodami z wartością tablicową oraz przeprowadzić rachunek błędów.

## **Część rozszerzona**

1. „Badanie wpływu katalizatorów na proces hydrolizy sacharozy.”
2. „Wyznaczanie stałej inwersji sacharozy oraz czasu połowicznego rozpadu jej cząstek.”

### **Odczynniki:**

sacharoza lub cukier spożywczy, stężony kwas solny, woda destylowana.

### **Aparatura:**

waga cyfrowa, probówki, pipeta ręczna, strzykawka, polarymetr półautomatyczny POLAMAT A, termostatowalna łaźnia wodna

### **Uwaga!**

Kwas solny proszę rozcieńczać tylko i wyłącznie w obecności prowadzącego zajęcia.

### **Część praktyczna:**

#### Badanie sacharozy:

1. Przygotować 10-procentowy roztwór sacharozy. Do przygotowania użyć stałą ilość wody destylowanej równą 25 ml, a ilość substancji odmierzyć przy pomocy wagi cyfrowej.
2. Zmierzyć kąt skręcenia polaryzacji przygotowanego roztworu.
3. Przygotować dwa roztwory kwasu solnego: 1M i 2M.
4. Następnie w dwóch osobnych probówkach przygotować roztwory: sacharoza 10% + kwas solny 1M oraz sacharoza 10% + kwas solny 2M. Sacharozę z kwasem solnym mieszamy w proporcji 1:1.
5. Ze względu na szybkie tempo zachodzenia hydrolizy pod wpływem katalizatorów po wykonaniu roztworów jak najszybciej należy umieścić je w rurkach polarymetrycznych unikając w środku pęcherzyków powietrza oraz badane próby przenieść do komory polarymetru.
6. Rozpocząć odczyt kąta ich skręcenia w równych odstępach czasu. Na początek odczyt skręcenia kąta polaryzacji dokonywać co 1 minutę (przez okres 5 minut), następnie co 5 minut, należy również pamiętać o odczycie temperatury początkowej. Doświadczenie wykonywać przez około 60 minut.

7. Przygotować nowe roztwory: sacharoza 10% + 1M HCl oraz sacharoza 10% + 2M HCl wymieszane w proporcji 1:1. Tym razem dodatkowym katalizatorem będzie jeszcze wyższa temperatura, którą przy pomocy łaźni wodnej trzeba ustawić na termostacie na wartość 40°C. Dopiero w tych warunkach zaczynamy mierzyć kąty skręcenia płaszczyzny nowo przyrządzonych roztworów osobno w równych odstępach czasu, najpierw co 1 minutę (przez okres 5 minut), następnie co 5 minut. Doświadczenie wykonujemy przez około 60 minut.
8. Końcową wartość kąta skręcenia płaszczyzny polaryzacji po zakończeniu hydrolizy dla czterech roztworów odczytać po 24h.
9. Uzyskane wyniki przedstawić w formie wykresu zależności zmierzonego kąta skręcenia płaszczyzny polaryzacji w funkcji czasu.
10. Wyznaczyć równania prostych dopasowanych do punktów pomiarowych uzyskanych w fazie hydrolizy sacharozy bez i z udziałem aktywnego grzania oraz narysować proste na jednym wykresie.
11. Korzystając z równania kinetycznego wyznaczyć wartość stałej inwersji  $k$ . Wyniki przedstawić w formie tabeli. Za  $\alpha_0$  przyjąć wartość pierwszego pomiaru odczytanego po umieszczeniu próbki w komorze polarymetru.
12. Narysować zależność  $\ln (\alpha_t - \alpha_\infty)/(\alpha_0 - \alpha_\infty)$  w funkcji czasu. Na wykresie wydzielić serie danych odpowiadających za proces przeprowadzony z udziałem i bez grzania. Metodą regresji liniowej wyznaczyć i narysować proste typu  $y = a \cdot x + b$  dopasowane do tych serii danych. Wartość parametru  $a$  oraz jej niepewność  $S_a$  określają odpowiednio stała inwersji  $k$  i wartość jej odchylenia.
13. Na podstawie uzyskanych wyników określić czas połowicznego rozpadu cząsteczek sacharozy.
14. Przeprowadzić dyskusję wyników i ocenić przyczyny zmian stałej inwersji korzystając z wykresu  $k(t)$ .

3. „Badanie wpływu katalizatorów na szybkość zachodzenia mutarotacji cząsteczek glukozy.”

#### **Odczynniki:**

glukoza, stężony kwas solny, woda destylowana.

## **Aparatura:**

waga cyfrowa, probówki, pipeta ręczna, strzykawka, polarymetr półautomatyczny POLAMAT A

## **Część praktyczna:**

### Badanie glukozy:

1. Przygotować dwa roztwory glukozy 3% i 6%. Użyć stałą ilość wody destylowanej równą 25ml natomiast ilość potrzebnej substancji odważyć przy użyciu wagi cyfrowej.
2. Przygotować dwa roztwory kwasu solnego: 0,5M oraz 1M.
3. Następnie w dwóch osobnych probówkach przygotować roztwory: glukoza 6% + kwas solny 0,5M oraz glukoza 6% + kwas solny 1M. Glukozę z kwasem solnym mieszamy w proporcji 1:1.
4. Jak najszybciej umieścić roztwory w rurkach polarymetrycznych unikając w środku pęcherzyków powietrza (ze względu na szybkie tempo zachodzenia mutarotacji pod wpływem katalizatorów jak i bez nich).
5. Badane próby przenieść do komory polarymetru i rozpocząć odczyt kąta skręcenia płaszczyzny polaryzacji w równych odstępach czasu.
6. Początkowo odczyt skręcenia kąta polaryzacji dokonywać co kilkanaście sekund (przez okres 5 minut), następnie co 1min (przez okres 10 minut) i co 5 min. Doświadczenie wykonywać do czasu, gdy dla każdej z prób kąt skręcenia osiągnie taką samą wartość i nie będzie ulegał już zmianie. Ze względu na to, że dla glukozy bez katalizatorów proces trwa bardzo długo ostatecznego pomiaru należy dokonać po 24h.
7. Wyniki przedstawić w postaci wykresu zależności zmierzonego kąta skręcenia płaszczyzny polaryzacji w funkcji czasu.
8. Ocenić wpływ katalizatorów na szybkość zachodzenia mutarotacji.

## **Literatura:**

- [1] Z. Józwiak, G. Bartosz, *Biofizyka*, Warszawa 2005.
- [2] E. Szyszko, *Instrumentalne metody analityczne*, Warszawa 1982.
- [3] Sz. Szczeniowski, *Fizyka doświadczalna cz. IV*, Warszawa 1963.
- [4] J. McMurry, *Chemia organiczna*, Warszawa 2000.
- [5] *Instrukcja obsługi automatycznego rutynowego polarymetru POLAMAT A*, CarlZeiss JENA.