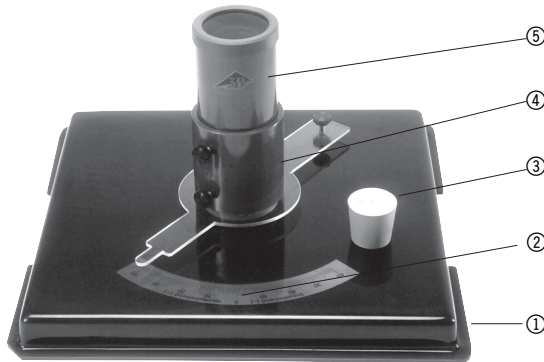


## U14390 Aparato de polarización de demostración

### 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    |  |

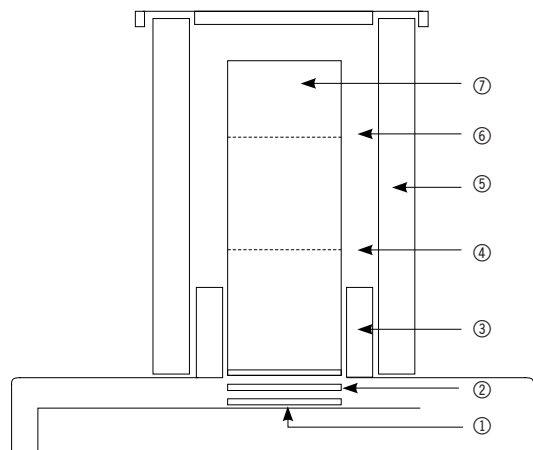
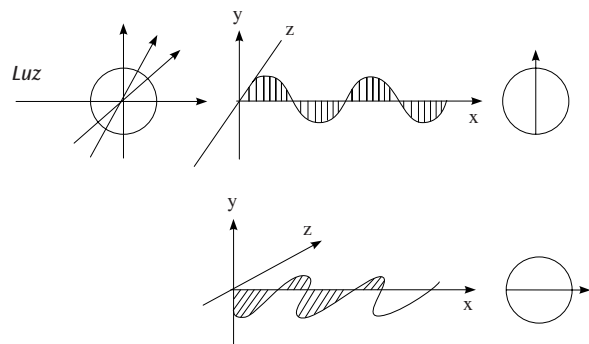


Figura 1

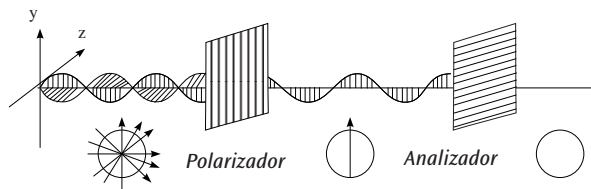
#### 3. Funcionamiento

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.



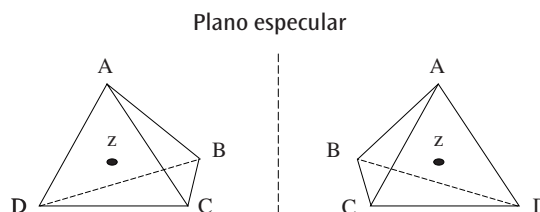
Si se interpone una sustancia al haz luminoso (p. ej.: una solución en una cubeta), y esta sustancia es ópticamente activa, esto es, hace girar el plano de oscilación de la luz polarizada hacia la izquierda o la derecha, en sentido horario, entonces también se debe girar el analyzer para volver a alcanzar 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 analyzer. 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 analyzer 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:  $-1^\circ$
- A continuación, interponer al haz luminoso la cubeta con la solución de la sustancia ópticamente activa, y determinar el nivel para cálculos posteriores.
- 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  $-16^\circ$ . Si el valor de referencia del disolvente puro era  $-1^\circ$ , entonces se obtiene  $-15^\circ$  como ángulo de rotación  $\alpha$  medido.

#### 5. Polarimetría

Los compuestos que llevan hacia un centro (centro de actividad) cuatro substituyentes 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  $\alpha$  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  $20^\circ \text{C}$ .
- 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  $20^\circ \text{C}$ .
- $\alpha$  = 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)

$\alpha$ -D-glucosa +113,0 (cristalizada en agua);  $\alpha$ -D-glucosa +19,0 (cristalizada en piridina);  $\alpha$ -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  $\alpha$  o  $\beta$ ) 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 dm<sup>3</sup> se calcula de la siguiente manera:

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

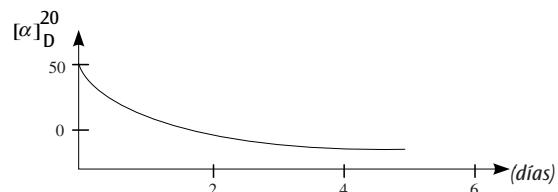
### 6.3 Inversión de sacarosa

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

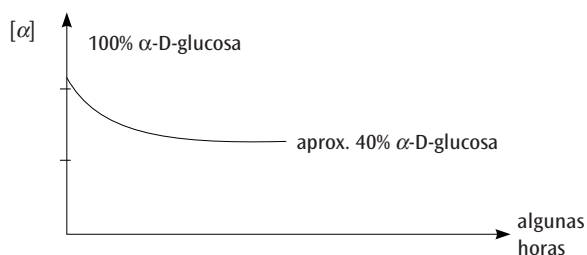
Si se presenta una rotación hacia la derecha, el vino pudo haber sido manipulado con D-glucosa, antes o después de la fermentación, o con azúcar de caña después de la misma. La rotación hacia la izquierda indica que el vino es natural (según Dr. Steeg & Reuter).

### 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  $\alpha$ -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  $\alpha$ -D-glucosa: 112-113°; una vez alcanzado el equilibrio (tras algunas horas) + 52°; se tiene sólo una mezcla de  $\alpha$ - y  $\beta$ -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).