

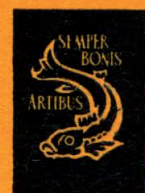
Brauner / Bukatsch

Das kleine pflanzenphysiologische Praktikum

9. Auflage

Mit 149 Abbildungen

VEB GUSTAV FISCHER VERLAG JENA



Versuch 94:

Quantitative Versuche zur Zuckerchemie mittels eines Laserpolarimeters (nach R. Schwankner)¹⁾

I. Funktionsweise und Bau des Laserpolarimeters

G: He-Neonlaser mit einer Ausgangsleistung = 0,5 mW; 1 dm lange Küvette mit 2 Einfüllstutzen (Lehrmittelfirmen); 2 Linearpolarisationsfolien (z. B. Demo-Mappe der Fa. Käsemann, Oberaudorf); 1 Filterhalter drehbar mit Gradeinteilung; 1 Diahalter; Optische Bank, möglichst Dunkelraum.

M: Mindestens 8 Stunden alte (Mutarotation!) Lösungen verschiedener Konzentration von Glucose und Fructose in Wasser (auf ein bestimmtes Volumen auffüllen, Glucose ist Monohydrat, also umrechnen! Sättigungswerte s. Tabelle), Klebstoff, 10 × 10 cm Styroporplatte.

D: 1-2 Stunden.

Das intensive, stark gebündelte Laserlicht gestattet es, nach dem Auslöschungsprinzip vorzugehen, wie es Abb. 57 wiedergibt. Das vom Laser emittierte, unpolarisierte Licht fällt durch den Polarisator (1. Filter in Diahalterung eingeklebt). Dahinter tritt der magnetische Vektor nur noch in einer Schwingungsrichtung auf, da nur Licht, dessen Vektor parallel zum „Strichgitter“ des Filters liegt, dieses auch passieren kann. Der nunmehr polarisierte Strahl tritt in die Küvette mit der optisch-aktiven

¹⁾ Man vgl. dazu die ausführliche Darstellung: SCHWANKNER, R.: Praxis der Schulchemie **10** (1976), 263-270. SCHWANKNER, R.: Laseranwendungen in der Experimentalchemie: ein Praktikum. München, Wien 1978.

Substanz ein. Entlang seines Weges in der Lösung wird die Schwingungsebene des magnetischen Vektors um den Winkel α gedreht. Nach dem Verlassen der Lösung fällt der Strahl auf den Analysator (2. Polarisationsfilter in Drehfassung). Dieser wurde, bevor sich die Küvette im Strahlengang befand, gegenüber dem Polarisator um genau 90 Grad verdreht: Auslöschung; der Schirm bleibt dunkel. Nach Zwischenschaltung der optisch-aktiven Substanz trifft der Strahl aber mit um α gedrehter Schwingungsebene auf, d. h., daß die Parallelkomponente der vektoriellen Zerlegung vorhanden ist und jetzt Durchgang findet; der Schirm ist mehr oder minder hell.

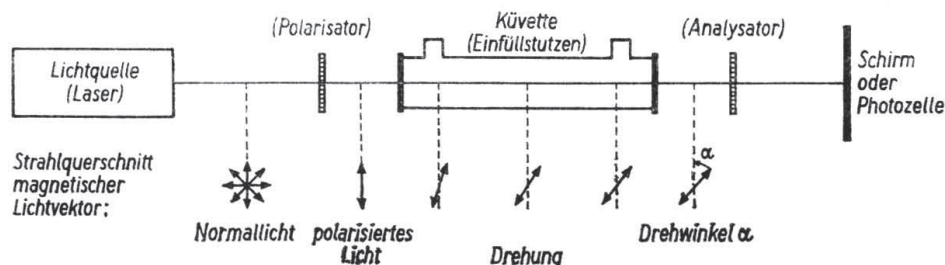


Abb. 57. Schematischer Aufbau des Laser-Polarimeters nach SCHWANKNER.

Dreht man jetzt den Analysator, bis man wieder Auslöschung (Dunkelheit) auf dem Schirm erhält, so hat man um $-\alpha$ zurückkompensiert. Der Winkel läßt sich ablesen. Mit Hilfe der unten angegebenen Beziehung kann man nun einige Drehkonstanten bei bekannter Konzentration und Küvettenlänge bei 20 °C ermitteln. (Die Lösungen lassen sich durch Zusetzen von 30 mg Nipagin/100 ml konservieren; Aufbewahrung am besten im Kühlschrank.)

Allerdings müssen die in der Literatur verfügbaren Daten, die meist auf die Na-D-Linie bei 20 °C bezogen sind, mit folgender Beziehung umgerechnet werden, um somit der Wellenlängenabhängigkeit der Drehung, der sog. Rotationsdispersion, Rechnung zu tragen (vgl. folgende Tabelle). Für die Drehkonstante gilt bei der Wellenlänge 632,8 nm des He-Neonlasers folgender Faktor:

$$[\alpha]_{632,8}^{20} = [\alpha]_D^{20} \cdot 0,860$$

Damit kann man zur Bestimmung der Drehkonstante bzw. der Konzentration oder des Drehwinkels unter der Voraussetzung, daß die anderen beiden Größen gegeben sind, bei 20 °C folgende Beziehung verwenden und ggf. umformen:

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{100 \alpha}{c l}$$

wobei c die Konzentration in %, l Küvettenlänge in dm, α gemessener Drehwinkel, λ Lichtwellenlänge, t Temperatur ist.

Tabelle: Drehwinkel verschiedener Kohlenhydrate für Na- und Laser-Licht

Zucker	$[\alpha]_D^{20 \text{ °C}}$ (Na-dampflampe)	$[\alpha]_{632,8}^{20 \text{ °C}}$ (Laser)	gesättigte Lösung	Bemerkungen
Glucose	+ 52,7	+ 45,3	40%	Monohydrat muß bei der Einwaage auf Reinsubstanz umgerechnet werden
Fructose	— 92,0	— 79,1	50%	Temperatur genau einhalten (20 °C)
Galactose	+ 83,90	+ 72,2	—	—
Saccharose	+ 66,50	+ 57,1	85%	—
Lactose	+ 55,3	+ 47,6	15%	Monohydrat s. o.!
Maltose	+ 137,5	+ 118,3	—	Monohydrat s. o.!

Diese einfache Anordnung kann nun in vielerlei Hinsicht erweitert werden. So kann man den Strahl mit einem Gitter aufspalten und somit gleichzeitig mehrere polarimetrische Messungen mit einem Laser erledigen. Es bietet sich zur Bestimmung des Auslöschungspunktes die Anwendung eines LDR (lichtempfindlicher Widerstand) mit angeschlossenem Ohmmeter an. Schließlich kann die Rückdrehung der Polarisationssebene auch durch starke Magnetfelder unter Ausnützung des Faradayeffekts geschehen. Die folgenden Experimente seien stellvertretend genannt, um die Vielseitigkeit des Laserpolarimeters zu demonstrieren.

2. Die Rohrzuckerinversion

a) Quantitative Auswertung der Rohrzuckerinversion

G: Laserpolarimeter, Meßzylinder und Meßpipetten.

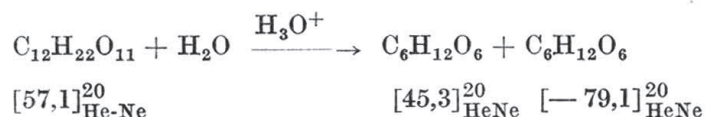
M: 10%ige Saccharoselösung (auf Volumen auffüllen), konz. Salzsäure.

D: 1/2 Stunde.

Man bestimme den Drehwinkel und errechne daraus die Drehkonstante der Saccharose ($[\alpha]_{\text{HeNe}}^{20} = 57,1$).

Man verfare nun, wie im vorhergehenden Versuch beschrieben, und bestimme nach HCl-Zusatz die neue Drehkonstante; allerdings ist zu berücksichtigen, daß durch das Zusetzen von 5 ml konz. Salzsäure die Lösung verdünnt wurde! Die Konzentration beträgt jetzt nur noch 9,1%. Auch darf die Messung erst nach Abkühlen der Lösung auf Zimmertemperatur erfolgen, da die Drehung temperaturabhängig ist. Somit erhält man eine Drehkonstante von -17°C . Dies bestätigt nun den Reaktionsverlauf der Rohrzuckerinversion:

Durch Protonisierung wird die Saccharose gespalten und aus n Molekel gehen n Molekel D(–)-Glucose und n Molekel D(–)-Fructose hervor:



Somit wird die im Versuch erhaltene Drehkonstante verständlich:

Es gilt

$$\text{Spezifische Drehung des Invertzuckers } [\alpha]_{\text{HeNe}}^{20} = \frac{45,3 + (-79,1)}{2} = -16,9$$

b) Säurekatalyse der Inversion

G: Laserpolarimeter.

M: Lösung: 60 g Saccharose mit Wasser auf 100 ml auffüllen; 12 M, 4 M, 1 M, 0,1 M Salzsäure; Nipagin (para-Hydroxybenzoesäuremethylester), in Apotheken erhältlich; dest. Wasser; 1 dm Küvette; Alufolie.

D: Ansetzen des Versuchs und erste Messungen: 1 1/2 Stunden: und weiter in Abständen von je 1 Tag.

Der Einfluß der Hydroniumionenkonzentration auf die Reaktionsgeschwindigkeit der Inversion läßt sich durch Anwendung gleicher Mengen verschieden konzentrierter Salzsäure zeigen. Man setzt den 100 ml Saccharoselösung (s. oben) 20 mg Nipagin wegen der relativ langen Beobachtungszeit zur Konservierung zu. Die Lösung wird auf 4 Bechergläser in gleichen Portionen verteilt. Es werden je 5 ml der verschieden konzentrierten Salzsäuren in je eines der vorher beschrifteten Bechergläser pipettiert. Somit stehen nun nach der Volumenzunahme durch Säurezugabe 4mal 30 ml 50%ige Saccharoselösung mit verschiedenen Hydroniumionenkonzentrationen zur Verfügung.

Man beginnt sofort mit der Messung jeder Lösung im 5-Minuten-Abstand, wobei zweckmäßigerweise mit der Lösung, die die höchste Säurekonzentration aufweist, begonnen wird.

Nach 10–20 verschiedenen derartigen Meßwerten pro Lösung werden die Bechergläser mit Alufolie verschlossen und aufbewahrt. Die Drehwinkel werden etwa 1 Woche lang im Tagesabstand aufgenommen.

Abb. 58 zeigt, daß die Reaktionsgeschwindigkeit sehr stark von der Säurekonzentration abhängt und selbst nach 1 Woche noch nicht bei allen Ansätzen erreicht wird.

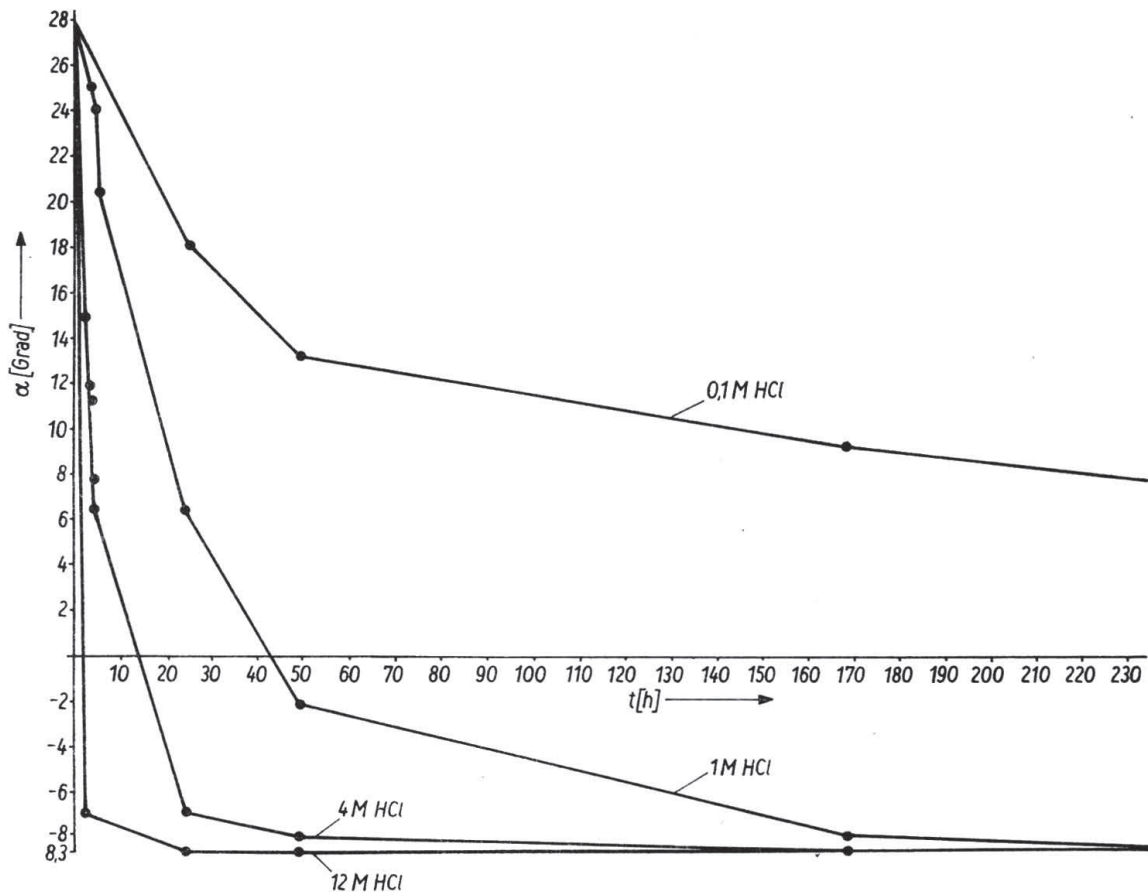


Abb. 58. Zeitliche Abhängigkeit der Rohrzuckerinversion bei verschiedenen Säuregraden.

c) Halbquantitative Honiganalyse

G: Laserpolarimeter.

M: dest. Wasser, Bienenhonig, Kunsthonig.

D: 1–2 Stunden.

Honig stellt ein kompliziertes Gemisch in bestimmten Grenzen wechselnder Zusammensetzung dar. Neben den Hauptbestandteilen Fructose und Glucose findet sich stets ein Rest von etwa 10 % Saccharose und geringfügigen Beimengungen von Karbonsäuren, Dextrin und Vitaminen. Auch findet sich im Wabenhonig die sog. Invertase, ein Enzym, das die Rohrzuckerinversion einleitet und im Saugmagen der Biene nach der Nektaraufnahme wirkt. Man kann nun die Qualität des Honigs nicht

nur nach seiner qualitativen Zusammensetzung (Vitamine, Geschmacksstoffe), sondern auch nach dem Gehalt direkt verwertbarer, vom Körper nicht erst zu spaltender Monosaccharide betrachten.

Die noch nicht invertierte Saccharose kann man am einfachsten so bestimmen: Die Drehung einer Honiglösung in Wasser (je nach Laserintensität 1 : 4 bzw. 1 : 8) wird im Polarimeter gemessen. Man stellt einen negativen Drehwinkel fest, der von dem überwiegenden Invertzuckergehalt (Glucose + Saccharose) herrührt.

Versetzt man nun 50 ml dieser Lösung mit 1 ml konz. Salzsäure und erwärmt im Wasserbad etwa 5 min, so stellt man nach Abkühlung (Temperaturabhängigkeit der Drehung!) eine Vergrößerung des negativen Drehwinkels fest, da jetzt auch die Saccharose durch Protonisierung gespalten worden ist. Der Grad der Zunahme der Drehung bei diesem Experiment stellt also ein Maß für den Saccharosegehalt des Honigs dar.

Führt man das gleiche Experiment mit Kunsthonig durch, der nur Invertzucker enthält, so stellt man keine nennenswerte Änderung des Drehwerts fest. (Man kann auch aus diesem Wert, multipliziert mit 4 bzw. 8, auf den Invertzuckergehalt des Kunsthonigs schließen).

3. Die Mutarotation von Glucose

G: Laserpolarimeter, Stoppuhr, Wecker.

M: dest. Wasser; 20%ige Lösung von α -D (+)Glucose, n/10 NaOH. Erst bei Versuchsbeginn Wasser zusetzen!

D: etwa 1 Stunde.

Ein klassisches Beispiel der Strukturaufklärung kann mit Hilfe der Laserpolarimetrie nachvollzogen werden. α - und β -D (+) Glucose unterscheiden sich nur durch die Stellung der durch die Ringbildung (Acetalisierung) neu entstehenden OH-Gruppe am C 1-Atom (s. u. Gleichung). In der α -Form nimmt die neue OH-Gruppe, in Beziehung zum C 2-Atom gesetzt, cis-, in der β -Form Transstellung ein.

Löst man α -D-(+)-Glucose in Wasser, so stellt man eine zeitliche Veränderung des spezifischen Drehwerts bei Laserlicht von 96,4 auf 45,3 innerhalb von 3-8 Stunden fest.

Eine Lösung von β -D-(+)-Glucose stellt sich, im gleichen Zeitraum beginnend, mit 16,1 Grad auf denselben Wert 45,3 ein.

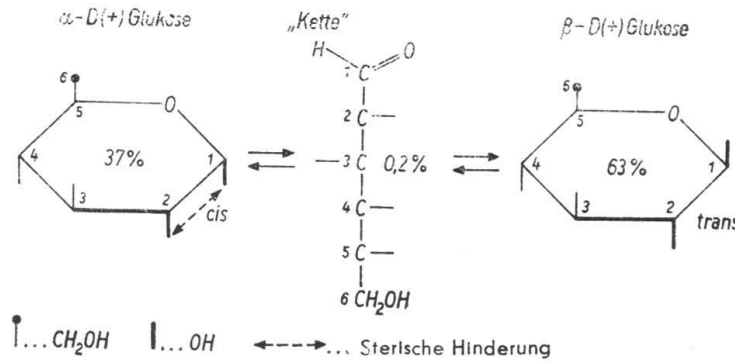
Dieses läßt sich nur so deuten, daß sich ein Gleichgewicht zwischen α -Form und β -Form in wäßriger Lösung unter Ringöffnung und anschließender neuer Ringbildung über die ständig vorhandene Kette einstellt. (Kette liegt zu 0,2% im Gleichgewichtszustand vor.) Allerdings weicht die spezifische Drehung nach Erreichen des Gleichgewichtszustandes ($[\alpha]_{\text{HeNe}}^{20} = 45,3$) vom arithmetischen Mittel der Ausgangswerte stark ab ($[\alpha]_{\text{HeNe}}^{20} = 56,25$).

Daraus folgt, daß die stärker rechtsdrehende β -Form gegenüber der α -Form bevorzugt vorliegen muß, was sich auch durch quantitative Analyse bestätigen läßt. (Gleichgewicht: 0,2% Kettenform; 37% α -Form; 63% β -Form).

$$\text{Mittelwertdrehung: } \frac{37}{100} \cdot 96,4 + \frac{63}{100} \cdot 16,1 = 45,8$$

Dieser rechnerisch ermittelte Wert steht in Übereinstimmung mit dem oben experimentell bestimmten.

Die Erklärung ist unmittelbar der Strukturformel zu entnehmen:



Bei der α -Form üben die OH-Gruppen am C 1 und C 2 in cis-Stellung aufeinander sterische Hinderung aus, die bei der trans-Stellung der β -Form vermieden wird. Somit erklärt sich die höhere Konzentration der β -Form durch sterische Begünstigung.

Sofort nach dem Ansetzen der Lösung (s. o.) startet man eine Stoppuhr, bringt die Glucose zur Lösung und liest etwa $\frac{1}{2}$ Stunde lang alle 3 min den sich fortlaufend ändernden Drehwert ab. Nach dieser Frist setzt man der Lösung in der Küvette einen Tropfen 0,1 n Natronlauge zu, schüttelt und mißt erneut. Dem Drehwinkelzeitdiagramm (Abb. 59) kann man entnehmen, daß die selbständige Mutarotation durch eine e^{-x} -Funktion ($e = 2,71828 \dots$) darstellbar ist.

Die Natronlauge beschleunigt die Einstellung des Gleichgewichts sehr stark, wie dem Diagramm zu entnehmen ist. Der Endwert wird praktisch sofort erreicht zugunsten der β -Glucose.

Dies ist darauf zurückzuführen, daß die OH-Ionen der OH-Gruppe des C 1-Atoms das Proton entziehen, so daß das Molekül schneller in die Kettenform übergeht, aus der es sich dann neu formieren kann. Dadurch wird die Einstellung des Gleichgewichts beschleunigt.

Hinweis: Manchmal ist bei basischen Glucoselösungen ein Weiterdrehen in negativer Richtung vom Gleichgewichtswert aus zu verzeichnen. Dies läßt sich evtl. dadurch erklären, daß die Glucose über die Endiol-Form sich teilweise (in stark drehende) Fructose umwandelt.

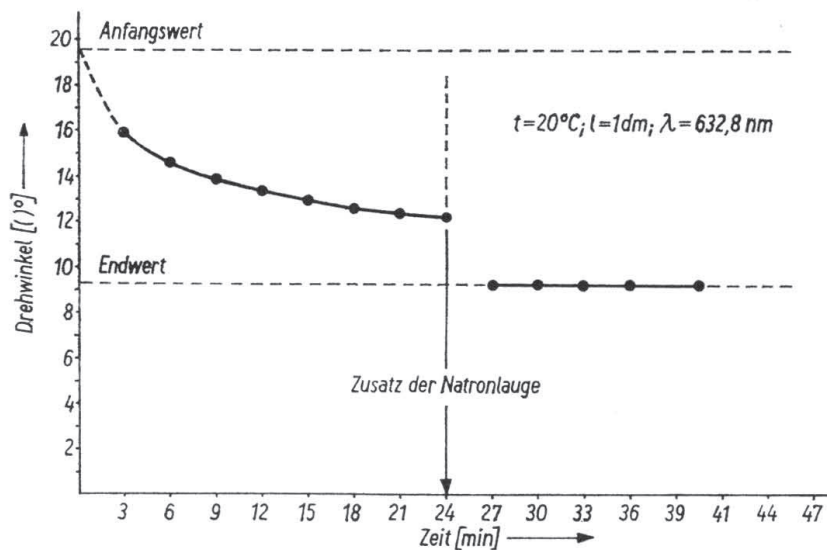


Abb. 59. Verlauf der Mutarotation von Glucose vor und nach Zusatz von OH^- -Ionen.

Die weiße Auffangfläche des Schirms (hier Styroporplatte) soll nicht spiegeln. Bei der hohen Intensität des Laserlichtes kann man auch den Strahl auf eine weißgetünchte Wand, für die ganze Zuhörerschaft sichtbar, werfen. Trotz der relativ geringen Intensität der schulüblichen Laser ist von einer direkten, visuellen Betrachtung des Laserstrahls dringend abzuraten wegen Gefahr der Netzhautschädigung.

Will man statt mit dem Laser mit einem handelsüblichen Halbschattenpolarimeter arbeiten, seien die Versuche 95 und 96 empfohlen. Versuch 97 bringt eine einfache Anordnung zur Projektion optischer Aktivität mit Hilfe eines Diaprojektors.

Versuch 95:

Bestimmung des spezifischen Drehungswinkels einzelner Zucker; Inversion des Rohrzuckers

G: Polarimeter, monochromatische Lichtquelle (Na-Licht), Thermometer, Wasserbad.

M: 10%ige Lösungen von Glucose, Fructose, Saccharose (reinste Substanz), HCl.

D: 2–3 Stunden.

Aufstellung des Polarimeters: Da die verschiedenen Spektralanteile weißen Lichtes verschieden stark gedreht werden („Rotationsdispersion“), erfolgt die Messung in einem bestimmten Spektralbereich (Gelb der Natriumlinie). Dazu verwendet man als Lichtquelle entweder eine Na-Dampflampe, einen kräftigen Bunsenbrenner, in dessen Flamme man einen mit einem Gemisch von $\text{NaH}_2\text{PO}_4 + \text{NaCl}$ -Lösung getränkten Asbestdocht mittels Draht befestigt, oder ein starkes Gelbfilter im Polarimeter selbst, das man im letzten Fall mit weißem Licht beleuchten kann. Na-Dampflampen sind genügend lichtstark; dagegen empfiehlt es sich, die Na-Flamme des Bunsenbrenners mittels Kondensorlinse zu konzentrieren, so daß sie im Polarimeterrohr abgebildet wird.

Die *spezifische Drehung* ist – abgesehen von dem chemischen Aufbau der optisch aktiven Substanz – neben der Wellenlänge des Lichtes auch von der Temperatur abhängig, bei der gemessen wird. Der spezifische Winkel $[\alpha]$ ergibt sich bei einer Konzentration von 1 g/ml des Stoffes, 10 cm durchstrahlter Schichtdicke im Natriumlicht (D) bei 20 °C.

Folgende Gleichung dient zur Errechnung von $[\alpha]_D^{20}$:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{v \cdot \alpha}{c \cdot l}$$

α gemessener Drehungswinkel,

v Volumen der Lösung (in ml),

c darin enthaltene optisch aktive Substanz (in g),

l Länge des Polarimeterrohres (Schichtdicke in dm).

- 1. Drehung reiner Zuckerlösungen:** Wir füllen das Polarimeterrohr mit frisch bereiteten, klar filtrierten und auf 20 °C eingestellten Lösungen von Rohrzucker, dann Trauben- und schließlich Fruchtzucker. (Bei Fruchtzucker muß die Temperatur von 20 °C besonders genau eingehalten werden!) Da es sich meist um Halbschattenapparate handelt, überprüfen wir bei Wasserfüllung des Rohres zunächst den Ausgangswert (gleiche Helligkeit der Gesichtsfeldhälften), dann stellen wir wieder mit Zuckerlösung durch Drehen des Analysators Helligkeitsgleichheit her und versehen den abgelesenen Winkel bei Rechtsdrehung mit +, bei Linksdrehung mit –. Da es sich um 10 Gew.-%ige Lösungen handelt, ist der Winkelbetrag mit 10 zu multiplizieren. Abweichende