

Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar - UP

Mestrado Integrado em Medicina e Mestrado Integrado em Medicina Veteriária

Química Biológica II - 2012 / 2013

José Augusto Pereira

POLARIMETRIA DE SOLUÇÕES DE AÇÚCARES

Determinação da rotatividade óptica da sacarose e cinética de mutarrotação da D-glucose

Devido à quiralidade das moléculas de carboidratos, as suas soluções provocam a rotação do plano de oscilação da luz polarizada que as atravessa. Esta propriedade pode ser utilizada para caracterizar os carboidratos em solução, nomeadamente relativamente à sua concentração e isomeria.

Rotação óptica de soluções e sua medição

A onda associada a um feixe de radiação normal oscila em todos os planos que contêm o eixo de propagação. A luz polarizada é obtida a partir da luz normal, não polarizada, por filtração através de um prisma de Nicol, que só se deixa atravessar pela radiação que tiver uma determinada orientação de oscilação. A actividade óptica é a capacidade que uma substância tem de provocar a rotação de α graus nesse feixe de luz polarizada. Esta propriedade é extensiva e por isso depende da concentração e da espessura da amostra; depende também do comprimento de onda da radiação e da temperatura da solução. A rotação óptica de uma solução, em graus, $^\circ$, é assim dada pela função linear

$$\alpha = [\alpha]_{\lambda}^T c \ell \quad (1)$$

onde $[\alpha]_{\lambda}^T$ é a rotatividade óptica, ou rotação óptica específica, do composto num determinado solvente, c é a concentração do composto em g/cm^3 e ℓ é o comprimento de solução atravessada pela luz polarizada, em dm. As unidades da rotatividade óptica são assim $^\circ\text{g}^{-1}\text{cm}^3\text{dm}^{-1}$. As Figuras 1 e 2 resumem alguns aspectos da constituição, funcionamento e operação dos polarímetros, aparelhos que medem a rotação do plano de oscilação da luz polarizada.

A rotatividade óptica de uma substância pode ser determinada experimentalmente através da Equação 1. Os valores de rotação óptica obtidos a diversas concentrações devem ter uma relação linear entre eles, sendo o declive igual a $[\alpha]_{\lambda}^T \ell$. Este declive pode ser obtido experimentalmente por regressão linear sobre os pontos experimentais (Figura 3). Segundo a Equação 1, a ordenada na origem da regressão deve ter o valor zero porque, para concentração zero de substância opticamente activa a rotação da sua solução deve ser zero. No entan-

Figura 1 - Esquema geral muito simplificado de um polarímetro. Da esquerda para a direita: o primeiro filtro é fixo e selecciona apenas uma das diferentes direcções de oscilação presentes num feixe de luz. O segundo filtro pode ser rodado e permite medir o desvio da direcção de oscilação da luz após ter passado pela solução. O observador manipula a inclinação do segundo filtro até conseguir observar a luz e anota o seu ângulo relativamente ao primeiro filtro.

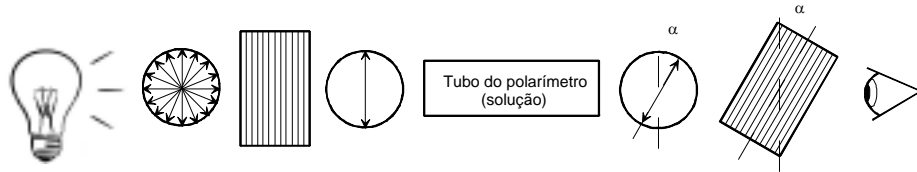


Figura 2 - Aspecto de um polarímetro digital manual, com a câmara aberta e um tubo de polarímetro colocado no seu suporte. O operador deve fechar a tampa e observar o círculo luminoso através da ocular preta. Se o círculo se apresentar mais luminoso do lado direito, deve carregar continuamente no botão branco R+. Se se apresentar mais luminoso do lado esquerdo, deve carregar continuamente no botão branco L-. Estas operações fazem com que o polarizador rode no sentido de obter o círculo o mais homogêneo possível em termos de luminosidade. Neste ponto o operador deve largar o botão e ler a rotação no mostrador digital ou, se a câmara estiver vazia, ou o tubo contiver uma solução “branco”, o mostrador deve ser posto a zero com o botão azul “zero set”.

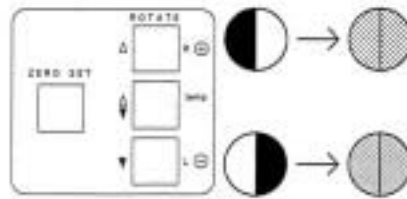
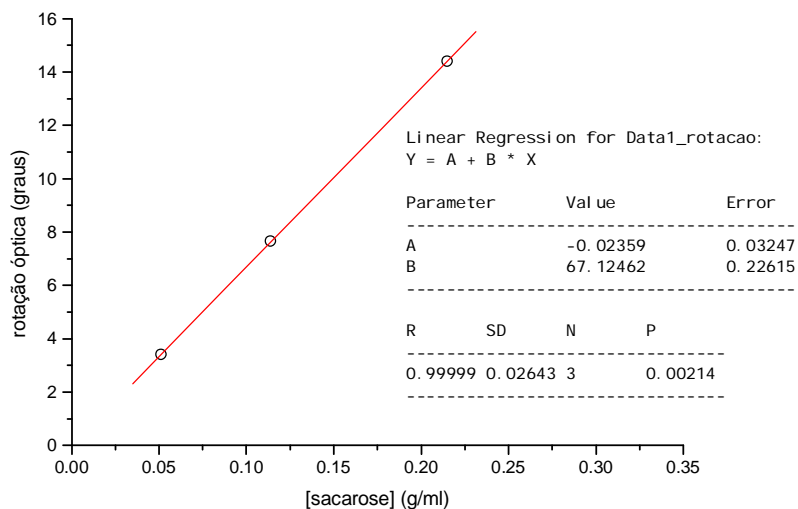


Figura 3 - Representação gráfica da variação da rotação óptica de soluções de sacarose em função de diferentes concentrações. A regressão linear efectuada sobre os pontos experimentais apresenta um declive com o valor de $67,1 \pm 0,2 \text{ } ^\circ \text{ g}^{-1} \text{ cm}^3$. Este é o valor de $[\alpha]_\lambda^T l$, segundo a Equação 1. Como o comprimento óptico do tubo foi de 1 dm, o valor da rotatividade óptica da sacarose, $[\alpha]$, determinada nesta experiência a $T = 22 \text{ } ^\circ \text{C}$ e a $\lambda = 589 \text{ nm}$ (linha D do sódio), é de $67,1 \pm 0,2 \text{ } ^\circ \text{ g}^{-1} \text{ cm}^3 \text{ dm}^{-1}$. Como, inicialmente, a rotação óptica foi posta a zero com o tubo cheio de água desionizada (“branco”), a ordenada na origem obtida por regressão linear tem o valor arredondado esperado de $0,0 \text{ } ^\circ$.



to, o tubo de vidro que contém a solução, outros solutos e o próprio solvente podem provocar alguma rotação óptica. Se o polarímetro for posto a zero com a câmara vazia, sem tubo, o valor de ordenada na origem obtido na regressão corresponde à rotação da luz provocada pelo tubo, pelo solvente e por outros solutos de concentração constante.

Ciclização de monossacarídeos e sua catálise básica

Com a exceção da diidroxiacetona, todos os monossacarídeos contêm centros quirais, ou seja, têm átomos de carbono assimétricos e por isso as suas soluções possuem actividade óptica rotacional. Os grupos aldeído e cetona não são assimétricos mas quando passam a hemiacetal ou hemiacetal, respectivamente, após a ciclização do monossacarídeo, o seu átomo de carbono passa a ser assimétrico, com duas configurações possíveis. A ciclização de um monossacarídeo dá assim origem a dois diastereoisómeros para a forma cíclica, os chamados anómeros, distinguidos no nome do monossacarídeo pelos prefixos α ou β (Figura 4). Não confundir os dois significados diferentes do símbolo α , que se pode referir à configuração do carbono anomérico mas também à rotação óptica de uma solução. O significado fica definido a partir do contexto em que o símbolo é usado.

Os anómeros α e β interconvertem-se através da forma em cadeia aberta, com uma velocidade que depende sobretudo do mecanismo mais rápido que estiver disponível para a reacção. Em solução aquosa, a reacção é catalisada pela água mas o ião hidróxido fornece um mecanismo mais rápido, que está representado na Figura 5. No entanto, independentemente do mecanismo pelo qual acontece a interconversão entre os anómeros, as fracções molares de equilíbrio são sempre as mesmas, para cada temperatura, porque dependem apenas da sua estabilidade energética relativa, ou seja, da constante de equilíbrio. Para a

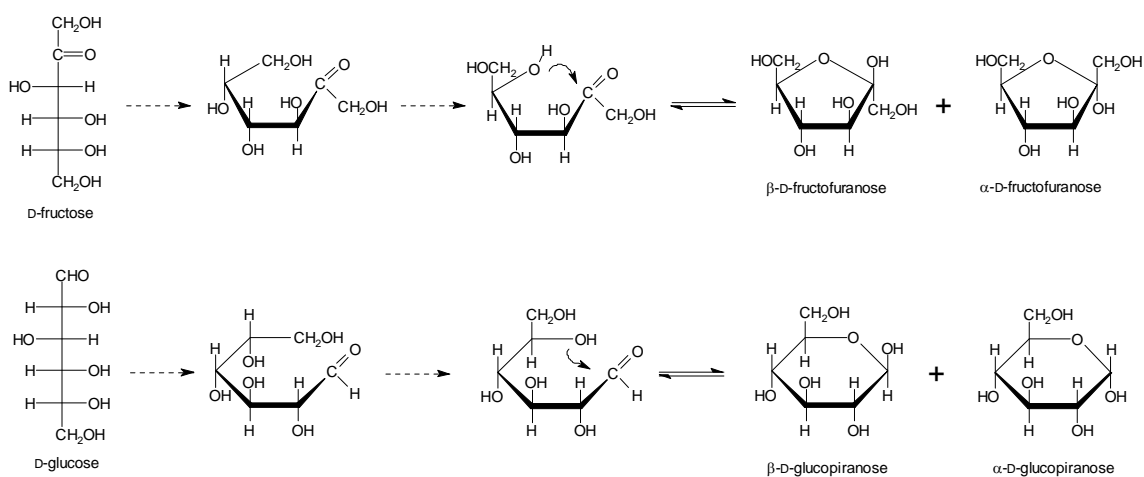
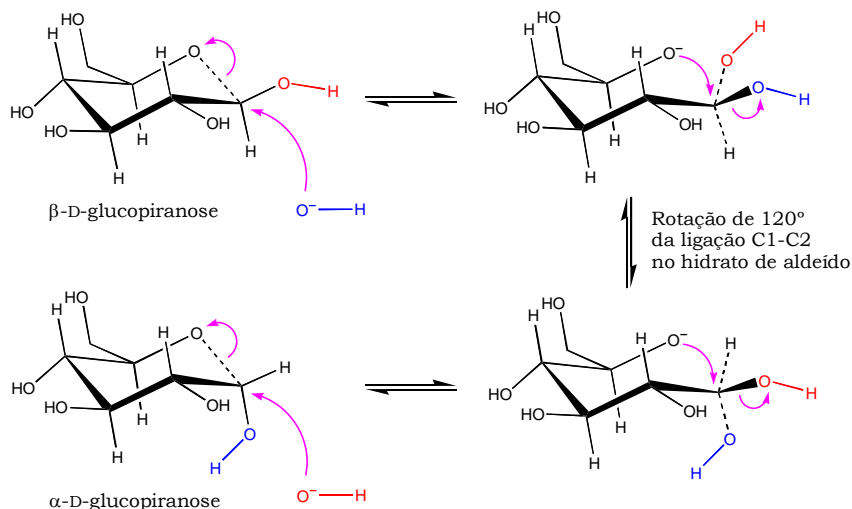


Figura 4 - Exemplos da ciclização da D-frutose e da D-glucose. No caso da frutose, a ciclização pode dar-se através da adição do hidroxilo em C-5 ao grupo cetona em C-2 (em cima), formando um anel de cinco lados, ou furanose (7% α e 26% β , no equilíbrio), mas também através do hidroxilo em C-6 formando um anel de seis lados, ou piranose (2% α e 65% β , no equilíbrio). No caso da glucose, a ciclização pode dar-se através da adição do hidroxilo em C-5 ao grupo aldeído em C-1 (em baixo), formando um anel de seis lados, ou piranose (36% α e 64% β , no equilíbrio). A fracção de D-glucofuranose é vestigial, bem como a forma em cadeia aberta. ("Organic Chemistry", G. Marc Loudon, 4th Ed., Oxford Univ. Press New York, 2002)

Figura 5 - Catálise básica, através do ião OH^- , da abertura e fecho do anel piranose. Como todos os catalisadores, o ião hidróxido também catalisa a reacção nos dois sentidos. Este mecanismo baseia-se em substituições nucleofílicas, tendo como espécie intermediária a forma hidratada (diol geminal) do grupo aldeído, e explica a interconversão entre os anómeros α e β da D-glucose por rotação da ligação C1-C2 nessa espécie. As setas que indicam as movimentações de electrões referem-se aos equilíbrios horizontais (reaccionais) e não ao equilíbrio vertical (conformacional).



D-glucopiranosose, as fracções molares dos anómeros no equilíbrio são cerca de 0,64 para a forma β -D-glucopiranosose e 0,36 para a forma α -D-glucopiranosose, a 25°C . Existem apenas vestígios da forma em cadeia aberta. A constante de equilíbrio para a reacção de isomerização 2, a 25°C , é assim $0,64/0,36 = 1,8$.



Mutarotação de soluções de carboidratos

O anómero α da D-glucopiranosose pode ser obtido no estado sólido por cristalização, porque é menos solúvel que o anómero β . Se se dissolver o anómero α em água ocorre a reacção de conversão de α em β segundo a Equação 2 e observa-se que a rotação óptica da solução varia com o tempo até acabar por estabilizar. A este fenómeno chama-se mutarotação. A variação da rotação óptica com o tempo resulta do facto dos dois anómeros possuírem rotatividades ópticas diferentes: $[\alpha]_\alpha = +112,2^\circ\text{g}^{-1}\text{cm}^3\text{dm}^{-1}$ para o anómero α e $[\alpha]_\beta = +18,7^\circ\text{g}^{-1}\text{cm}^3\text{dm}^{-1}$ para o anómero β ($T = 25^\circ\text{C}$ e $\lambda = 589\text{ nm}$). Como ambas as formas são dextróginas, ou seja, rodam a luz polarizada no sentido positivo, a rotação óptica de uma solução onde inicialmente só há α -D-glucopiranosose é sempre positiva mas diminui com o tempo, com uma velocidade que depende do mecanismo da isomerização α/β .

A rotação óptica é uma propriedade extensiva, como já se referiu, e também aditiva. Assim, a rotação óptica de uma solução de D-glucopiranosose, tanto em qualquer momento da isomerização α/β como no seu equilíbrio, é dada pela soma das rotações ópticas provocadas por cada um dos anómeros, de acordo com a Equação 3:

$$\alpha = [\alpha]_\alpha c_\alpha \ell + [\alpha]_\beta c_\beta \ell \quad \Leftrightarrow \quad \alpha = (112,2 c_\alpha + 18,7 c_\beta) \ell \quad (3)$$

onde $c_\alpha = [\alpha\text{-D-glucopiranosose}]$ e $c_\beta = [\beta\text{-D-glucopiranosose}]$. Em qualquer momento, estas concentrações estão relacionadas pelo balanço material

$$c_{\text{total}} = c_\alpha + c_\beta \quad \Leftrightarrow \quad c_\alpha = c_{\text{total}} - c_\beta \quad (4)$$

Sabe-se experimentalmente que no equilíbrio desta reacção $(c_\alpha)_{\text{eq}} = 0,36 c_{\text{total}}$ e que $(c_\beta)_{\text{eq}} = 0,64 c_{\text{total}}$ pelo que, aplicando estas relações na Equação 3, se obtém

$$\alpha_{\text{eq}} = (112,2 \times 0,36 c_{\text{total}} + 18,7 \times 0,64 c_{\text{total}}) \ell \quad \Leftrightarrow \quad \alpha_{\text{eq}} = 52,4 c_{\text{total}} \ell \quad (5)$$

O valor $52,4^\circ \text{g}^{-1} \text{cm}^3 \text{dm}^{-1}$ é assim a rotatividade óptica esperada para as soluções de D-glucopiranosose no equilíbrio.

As Equações 3 e 4 podem ser usadas para calcular as concentrações de qualquer um dos anómeros a partir da rotação óptica α da solução. Para a concentração da $\alpha\text{-D-glucopiranosose}$ a expressão é:

$$c_\alpha = \alpha / ([\alpha]_\alpha - [\alpha]_\beta) \ell - ([\alpha]_\beta / ([\alpha]_\alpha - [\alpha]_\beta)) c_{\text{total}} \quad (6)$$

Cinética química: reacções de primeira ordem

Para as reacções cuja velocidade instantânea, verificada experimentalmente, depende somente e linearmente da concentração de um reagente A, a equação geral da sua velocidade tem a forma

$$v = -d c_A / d t = k c_A \quad (7)$$

onde k é a constante de velocidade característica do composto A e das condições em que a reacção ocorre. Esta equação diferencial é um polinómio de primeira ordem em c_A e por isso se diz que as reacções a que se aplica têm uma cinética de primeira ordem. A Equação 7 é válida para muitas reacções completas do tipo



A integração da Equação 7 permite obter uma expressão para a variação de c_A com o tempo

$$c_A = (c_A)_0 e^{-kt} \quad (9)$$

onde $(c_A)_0$ é a concentração do composto inicial, A, para o tempo zero. Esta equação é de mais fácil aplicação prática na sua forma logarítmica

$$\ln(c_A) = \ln((c_A)_0) - kt \quad (10)$$

que é linear (do tipo $y = ax + b$) relativamente às variáveis $\ln(c_A)$ (variável y) em função de t (variável x). Pode assim ser usada para obter simultaneamente os valores de k e $(c_A)_0$ porque se determina, por regressão linear sobre um conjunto de valores experimentais obtidos para as variáveis c_A e t , um declive igual a $-k$ (parâmetro a) e uma ordenada na origem igual a $\ln((c_A)_0)$ (parâmetro b).

Na realidade, no entanto, as reacções não são completas porque há sempre uma reacção inversa, de produtos para reagentes, que reduz a velocidade da reacção directa. Por isso,

para exprimir correctamente a velocidade das reacções do tipo geral



devem ser consideradas duas parcelas, de acordo com a Equação 7, mas com sinais contrários, uma para a reacção directa e outra para a reacção inversa

$$v = -d c_A / d t = k_1 c_A - k_2 c_B \quad (12)$$

Se, no início da reacção apenas existir o reagente A, e nada de B, então é verdade que em qualquer momento da reacção se tem

$$(c_A)_0 = c_A + c_B \quad (13)$$

A integração da Equação 12, usando a Equação 13 para substituir c_B , resulta na expressão

$$c_A = (c_A)_{eq} + ((c_A)_0 - (c_A)_{eq}) e^{-(k_1 + k_2) t} \quad (14)$$

que pode ser também ser expressa na forma logarítmica

$$\ln(c_A - (c_A)_{eq}) = \ln((c_A)_0 - (c_A)_{eq}) - (k_1 + k_2) t \quad (15)$$

Tal como a Equação 10, esta última também é de fácil utilização porque permite determinar por regressão linear o valor de $k_1 + k_2$ e de $(c_A)_0$, embora exija o conhecimento de $(c_A)_{eq}$. Este último valor pode ser medido experimentalmente mas também pode ser calculado se houver conhecimento da constante de equilíbrio da reacção.

É de notar que as reacções atingem o equilíbrio quando a sua velocidade é zero, ou seja, quando as velocidades das reacções directa e inversa são iguais e, portanto, as concentrações param de variar. Partindo da Equação 12, pode exprimir-se matematicamente a afirmação anterior da seguinte forma

$$v_{eq} = k_1 (c_A)_{eq} - k_2 (c_B)_{eq} = 0 \quad \Leftrightarrow \quad k_1 (c_A)_{eq} = k_2 (c_B)_{eq} \quad \Leftrightarrow$$
$$k_1 / k_2 = (c_B)_{eq} / (c_A)_{eq} = K \quad (16)$$

Isto significa que, se a equação química exprimir o mecanismo da reacção então a proporção entre as constantes de velocidade directa e inversa é igual à sua constante de equilíbrio, K.

Cinética de mutarotação da D-glucopirranose

A avaliação do tipo de cinética de uma reacção implica, primeiro, medir a variação das concentrações com o tempo, possivelmente em diferentes condições iniciais, e, segundo, tentar adaptar a esses dados experimentais as equações que resultam dos possíveis modelos cinéticos, até que seja encontrado um ajuste considerado aceitável.

Nota: Em termos gerais, e não só em relação com a cinética química, os modelos começam por ser apenas hipóteses que envolvem as variáveis reconhecidas para os fenómenos em estudo, e que propõem uma relação, quantitativa ou semi-quantitativa, entre essas variáveis de modo a explicar o que é observado. A prática científica, e não só, aconselha a que primeiro seja testada a hipótese mais simples e que, no caso desta não descrever correctamente os factos, se vá modificando e aumentando a complexidade da hipótese até se obter o melhor ajuste com os dados medidos no fenómeno, seja este experimental ou natural. Este princípio do

conhecimento remonta aos primórdios do pensamento racional e é conhecido como Navalha de Occam (*Occam's Razor*). É de notar que isto não implica que a explicação mais simples, de entre todas as que se ajustam aos dados, seja a verdadeira mas apenas a que é provisoriamente aceite, e utilizada, até que apareçam novas e/ou mais rigorosas observações ou medições que não sejam explicadas por essa hipótese mais simples. É frequente haver hipóteses mais complicadas que, tal como a mais simples, também explicam um fenómeno sob observação mas normalmente incluem pressupostos que não são evidentes nas medições ou nas observações, pressupostos esses que devem ser confirmados através de mais experiências antes que sejam adoptadas como modelos explicativos. Há, inclusivamente, algumas hipóteses que se baseiam em pressupostos que não podem ser confirmados nem desmentidos pela experiência pelo que essas hipóteses ficam fora do âmbito do conhecimento científico, constituindo, no que à Ciência diz respeito, meras especulações.

Pondo a hipótese da Reacção 2 de isomerização da D-glucopirranose ter um mecanismo cuja velocidade é descrita pela Equação 12, a concentração do composto inicial deverá variar segundo as Equações 14 e 15, que se transcrevem a seguir com os índices α e β correspondendo aos dois anómeros da D-glucopirranose. Assume-se que se inicia a reacção apenas com o anómero α em solução.

$$c_{\alpha} = (c_{\alpha})_{\text{eq}} + ((c_{\alpha})_0 - (c_{\alpha})_{\text{eq}}) e^{-(k_1 + k_2)t} \quad (17)$$

Esta equação tem a forma logarítmica

$$\ln(c_{\alpha} - (c_{\alpha})_{\text{eq}}) = \ln((c_{\alpha})_0 - (c_{\alpha})_{\text{eq}}) - (k_1 + k_2)t \quad (18)$$

Relembra-se que a Equação 14 foi deduzida assumindo que se inicia a reacção só com o reagente A, o que se faz corresponder nas Equações 17 e 18 ao anómero α da D-glucopirranose. Por isto, neste caso concreto, a concentração c_{total} das Equações 4, 5 e 6 é igual a $(c_{\alpha})_0$. Através de polarimetria medem-se rotações ópticas pelo que, experimentalmente, se obtêm rotações ópticas da solução onde ocorre a isomerização e não directamente a concentração do anómero α , c_{α} , em função do tempo. Assim, é necessário usar a relação da Equação 6, entre a rotação óptica da solução, α , e a concentração do anómero α , c_{α} . Por substituição na Equação 17 obtém-se então

$$\alpha = \alpha_{\text{eq}} + (\alpha_0 - \alpha_{\text{eq}}) e^{-(k_1 + k_2)t} \quad (19)$$

onde α_0 e α_{eq} são as rotações ópticas da solução no tempo zero e no equilíbrio, respectivamente. É de notar que, como se começa a reacção só com o anómero α , se tem que

$$\alpha_0 = [\alpha]_{\alpha} (c_{\alpha})_0 \ell \quad (20)$$

$$\alpha_{\text{eq}} = [\alpha]_{\alpha} (c_{\alpha})_{\text{eq}} \ell + [\alpha]_{\beta} ((c_{\alpha})_0 - (c_{\alpha})_{\text{eq}}) \ell \quad (21)$$

Se de facto a Reacção 2 tem uma cinética de primeira ordem então, começando a reacção só com o anómero α , a rotação óptica da solução deve decrescer exponencialmente com o decorrer do tempo, de acordo com a Equação 19, desde um valor $\alpha_{\text{eq}} + (\alpha_0 - \alpha_{\text{eq}}) = \alpha_0$, para $t = 0$, até ao valor α_{eq} , para $t = \infty$. Isto é coerente com a condição de se começar a reacção só com o anómero α e se acabar com uma mistura de equilíbrio α/β .

A Equação 19 tem a forma logarítmica

$$\ln(\alpha - \alpha_{\text{eq}}) = \ln(\alpha_0 - \alpha_{\text{eq}}) - (k_1 + k_2) t \quad (22)$$

Esta equação é linear em relação às variáveis t e $\ln(\alpha - \alpha_{\text{eq}})$ e pode ser usada para determinar experimentalmente os parâmetros $k_1 + k_2$ e α_0 por regressão linear (Figura 6). Para isso basta adquirir valores da rotação óptica de uma solução de α -D-glucopirranose, de concentração inicial conhecida, em função do tempo até que seja atingido o equilíbrio. É necessário que se atinja o equilíbrio para que se meça experimentalmente o valor de α_{eq} , o que permite depois calcular os valores $\ln(\alpha - \alpha_{\text{eq}})$.

Em princípio, é possível obter uma estimativa da constante de velocidade k_1 a partir dos valores da rotação óptica para os primeiros momentos da reacção de anomerização, gráfico da esquerda da Figura 6. Nesta parte da reacção a sua velocidade é dominada pelo seu sentido directo, pelo que, considerando a Equação 9, a variação da concentração do anómero α é dada por

$$c_\alpha = (c_\alpha)_0 e^{-k_1 t} \quad (23)$$

Aplicando a Equação 1 à Equação 23, obtém-se

$$\alpha = \alpha_0 e^{-k_1 t} \quad (24)$$

que tem a forma logarítmica

$$\ln(\alpha) = \ln(\alpha_0) - k_1 t \quad (25)$$

Isto significa que, para os primeiros instantes da reacção, há uma relação linear entre o logaritmo da rotação óptica e o tempo, com declive $-k_1$, o que poderia ser usado para determinar k_1 independentemente de k_2 . Sabendo o valor de k_1 e o valor de k_1+k_2 então o valor de k_2 pode ser determinado. Este método, no entanto, é afectado pelo tempo de dissolução da D-glucopirranose, que não é negligenciável e que afecta exactamente os primeiros instantes da reacção.

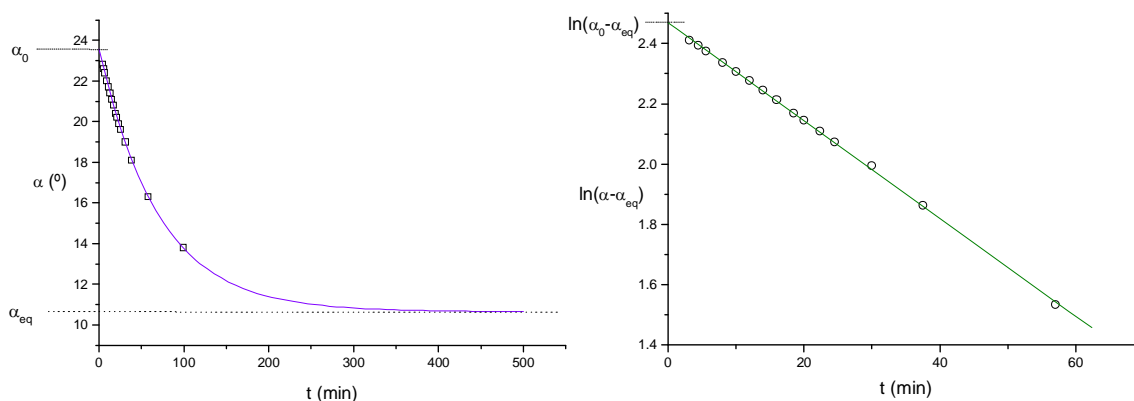


Figura 6 - Gráficos dos valores experimentais obtidos de uma solução aquosa de $0,10 \text{ g/cm}^3$ de α -D-glucopirranose. No gráfico da esquerda está ajustada a Equação 19 e no da direita a Equação 22. Destes ajustes resultam os valores de k_1+k_2 e α_0 . Os valores individuais de k_1 e de k_2 podem ser obtidos por conjunção com a Equação 16, sabendo que $K = 1,8$. Os valores das rotatividades ópticas dos anómeros, $[\alpha]_\alpha$ e $[\alpha]_\beta$, podem ser obtidos por conjunção com as Equações 20 e 21.

Protocolo laboratorial

Material

Pipetas de 5 cm³, 20 cm³ e 25 cm³
Pipeta automática de 100 ou de 200 µl
Polarímetro automático
Polarímetro manual
Gobelé de 100 cm³
Tubos de polarímetro de 1 ou 2 dm
Placa de agitação
Agitador magnético
Balança analítica
Espátula
Balão volumétrico de 25 ml
Funil
Pipetas Pasteur plásticas descartáveis
Cronómetro
Papel absorvente

Reagentes

α-D-glucopiranosose, sólido cristalino
NaOH, solução aquosa 1,0 mol/dm³
Água desionizada, em frasco e em garrafa de esguicho

Técnica

Cinética da mutarrotação da D-glucopiranosose (polarímetro automático)

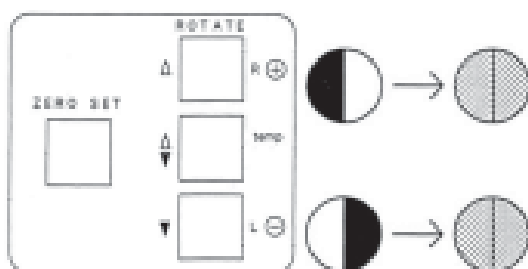
1. Ligar o polarímetro e acertar a zero com a câmara vazia.
 2. Pesar, ao centígrama, cerca de 2,5 g de α-D-glucopiranosose.
 3. Medir com pipeta 25,0 cm³ de água desionizada para um gobelé de 100 ml.
 4. Mergulhar um agitador magnético no gobelé e colocá-lo sobre a placa de agitação. Ligar a agitação e ajustá-la para uma velocidade rápida.
 5. Transferir a massa de α-D-glucopiranosose para o gobelé.
- 6.1 Experiência 1 (com catalisador) - Medir 0,2 ml de solução aquosa de NaOH 0,1 mol/dm³ com pipeta automática. Assim que toda a α-D-glucopiranosose esteja dissolvida adicionar esse volume de NaOH(aq) ao gobelé e ligar o cronómetro.
- 6.2 Experiência 2 (sem catalisador) - Ligar o cronómetro assim que toda a α-D-glucopiranosose esteja dissolvida.

7. Com a ajuda de uma pipeta de plástico descartável, lavar (se necessário) o tubo do polarímetro com um pouco da solução preparada no gobelé.
8. Encher completamente o tubo de polarímetro até que transborde um pouco.
9. Colocar a célula de vidro sobre a extremidade do tubo e fechá-lo, enroscando a tampa. Apertar apenas o necessário para que a solução não verta.
10. Limpar cuidadosamente ambas as células com papel absorvente. Se existirem bolhas de ar dentro do tubo, deslocá-las para a zona expandida de forma a ficarem fora do percurso óptico.
11. Colocar o tubo no polarímetro, fechar as tampas e esperar que o mostrador páre de piscar. Tomar nota do primeiro valor da rotação óptica e do tempo correspondente.
- 12.1 Experiência 1 - Repetir a leitura de 30 em 30 segundos até aos 20 minutos. Cada grupo de trabalho terá a seu cargo anotar 5 pares de valores tempo/rotação óptica de cada vez. O registo é feito rotativamente por todos os grupos da turma.
- 12.2 Experiência 2 - Repetir a leitura de 1 em 1 minuto até aos 45 minutos. Cada grupo de trabalho terá a seu cargo anotar 5 pares de valores tempo/rotação óptica de cada vez. O registo é feito rotativamente por todos os grupos da turma.
13. Introduzir os dados no computador e fazer as regressões lineares pertinentes por forma a determinar as constantes cinéticas da reacção (solicitar ajuda ao docente).

Rotatividade óptica da sacarose (polarímetro manual)

Calibração do polarímetro

1. Ligar o polarímetro e, com a câmara vazia, observar a imagem através da ocular. Ajustar, com os botões R+ e L- (figura seguinte), de modo a que o círculo apareça homoganeamente luminoso. Definir a rotação óptica zero carregando no botão azul “Zero Set”.



Medição da rotação óptica das soluções de sacarose 0,25 g/ml, 0,15 g/ml e 0,050 g/ml

2. Se o tubo de polarímetro estiver seco e limpo saltar para o ponto 6.

3. Desenroskar uma das tampas do tubo, tendo o cuidado de manter a célula de vidro dentro da tampa, e esvazie-o para o balde Restos.
4. Encher cerca de um terço do tubo com a solução de sacarose a estudar, usando uma pipeta descartável.
5. Fechar o tubo, enroscando a tampa e apertando-a com POUCA força. Rodar o tubo para o lavar. Abrir uma das extremidades do tubo e esvaziá-lo completamente. Repetir a lavagem com mais um pouco de solução. Abrir uma das extremidades do tubo, esvaziá-lo completamente e destacar, com cuidado, a célula de vidro de dentro da tampa.
6. Com uma pipeta descartável, encher o tubo de polarímetro com a solução de sacarose a estudar até que esta transborde um pouco.
7. Colocar a célula de vidro sobre o excesso de solução na extremidade do tubo. Tapar este, enroscando a tampa e apertando-a apenas o necessário para que a solução não verta. Limpar cuidadosamente o tubo e as células com papel absorvente.
8. Se existirem bolhas de ar dentro do tubo, deslocá-las para a zona expandida.
9. Abrir a tampa do polarímetro e pousar o tubo horizontalmente no suporte existente. Fechar a tampa.
10. Observar a imagem através da ocular do polarímetro e ajustar com os botões R+ e L- de acordo com a figura anterior de modo a que o círculo fique homoganeamente luminoso. Leia o valor de rotação óptica no mostrador exterior.

Preparação das soluções de sacarose 0,15 g/ml e 0,050 g/ml

11. A partir da solução de sacarose 0,25 g/ml preparar, por diluição, 25 ml de soluções de sacarose 0,15 g/ml e 0,050 g/ml, de acordo com o procedimento seguinte.
12. Calcular o volume necessário de solução 0,25 g/ml.
13. Medir esse volume com uma pipeta apropriada e transferi-lo para um balão volumétrico de 25 ml.
14. Adicionar água desionizada ao balão, com esguicho ou pipeta de plástico, até que a base do menisco coincida com a marca no gargalo do balão. Tapar o balão e homogeneizar a solução por agitação.

Cálculo da rotatividade óptica da sacarose

15. Fazer uma regressão linear sobre os três pares de valores adquiridos e determinar a rotatividade óptica da sacarose (solicitar ajuda ao docente).

ICBAS – DEPARTAMENTO DE QUÍMICA – QUÍMICA BIOLÓGICA

RELATÓRIO

POLARIMETRIA DE CARBOIDRATOS

I - Determinação da rotatividade óptica da sacarose.

1. Faça um gráfico, e respectiva regressão linear, da rotação óptica das soluções de sacarose em função da sua concentração.

2. Comente o gráfico que obteve relativamente à concordância dos pontos com a recta.

3. Interprete o significado da ordenada na origem e do declive da regressão linear que efectuou e determine a rotatividade óptica da sacarose. Compare com o valor publicado de $+66,47^\circ \text{ ml / (g dm)}$, e determine o erro relativo.

II - Cinética da mutarrotação da D-glucopirranose.

4. Faça o gráfico da função $\alpha = f(t)$ para as duas experiências cinéticas e comente a sua forma. Determine o valor de α_{eq} a partir do gráfico da única reacção que atingiu o equilíbrio.

5. Faça o gráfico da função $\ln(\alpha - \alpha_{eq}) = f(t)$ para as duas experiências cinéticas e avalie se a mutarrotação da glucopirranose é ou não uma reacção de primeira ordem, com e sem catalisador, justificando a sua resposta.

6. A partir dos resultados da regressão linear efectuada na alínea anterior, determine os valores de k_1+k_2 e de α_0 para as duas experiências.

7. Sabendo que a constante de equilíbrio da reacção de anomerização da D-glucopirranose, $\alpha\text{-D-glucopirranose} \leftrightarrow \beta\text{-D-glucopirranose}$, é de 1,8 e que a concentração inicial de $\alpha\text{-D-glucopirranose}$ foi de 0,10 g/ml, determine k_1 , k_2 , e a rotatividade óptica dos dois anómeros da D-glucopirranose, para as duas experiências cinéticas. Comente os resultados.