

Polarimetrie (2. LF UK)

Zadání úlohy

- Určete koncentraci vzorku glukózy.
 - Proveďte standardizaci přístroje.
 - Určete specifickou otáčivost glukózy pomocí vzorku o známé koncentraci.
 - Na základě změřené specifické otáčivosti glukózy určete koncentraci glukózy ve vzorku s neznámou koncentrací.

Teoretický úvod

Polarimetrie je metoda založená na jevu, při kterém tzv. opticky aktivní látky stáčí rovinu polarizovaného světla. Na základě tohoto jevu lze stanovovat např. koncentraci látky v roztoku či identifikovat neznámou látku v roztoku. V medicíně se polarimetrie používá například při měření koncentrace glukózy v moči.

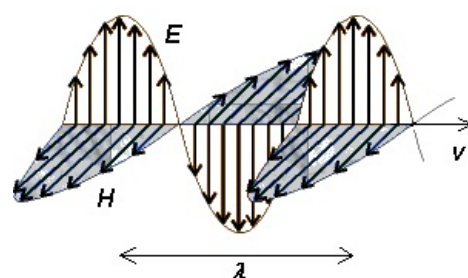
Světlo a jeho polarizace

Světlo je příčné elektromagnetické vlnění, kdy vektor **E** intenzity elektrického pole a vektor **H** intenzity magnetického pole jsou na sebe navzájem kolmé a zároveň jsou kolmé na směr šíření vlnění (tj. na fázovou rychlost vlnění). Vektory **E** a **H** kmitají v navzájem kolmých rovinách s konstantní fází.

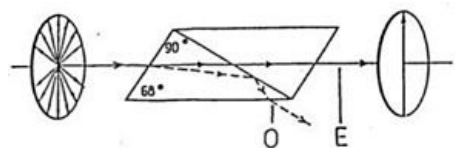
U přirozeného světla je však směr vektoru **E** v dané rovině zcela nahodilý. Takové světlo označujeme jako nepolarizované. K měření otáčivosti opticky aktivních látek tedy nejdříve potřebujeme světlo zpolarizovat a získat tak světlo lineárně polarizované, tj. světlo, jehož vektor **E** kmitá stále v jedné rovině.

Polarizovat lze v podstatě dvěma způsoby:

- **Odrazem** - při dopadu nepolarizovaného světla pod tzv. Brewsterovým úhlem na rozhraní dvou prostředí dochází k úplné (lineární) polarizaci odraženého světla (světlo je polarizováno v rovině kolmé na rovinu dopadu). Intenzita takto polarizovaného světla je však poměrně nízká. Brewsterův úhel je specifický pro různé látky.
- **Lomem, resp. dvojlomem** - tedy průchodem světla anizotropním prostředím (prostředím, ve kterém rychlost světla závisí na směru šíření a polarizaci - rychlost světla je tedy v různých směrech odlišná). Světelný paprsek se v anizotropním prostředí rozdělí na dva paprsky - řádný (ordinární) a mimořádný (extraordinární), dochází tedy k dvojlomu. Intenzita původního paprsku se dělí mezi dva nově vzniklé. Nejběžnějšími přirozeně opticky anizotropními látkami jsou krystaly. Existují v nich jeden nebo dva směry, ve kterých k dvojlomu nedochází, nazývají se optická osa krystalu. Tato osa spolu s dopadajícím paprskem určuje rovinu hlavního řezu. Vzniklý ordinární paprsek je polarizován v rovině hlavního řezu, extraordinární potom v rovině k ní kolmé.



elektromagnetické vlnění



Polarizace světla Nikolovým hranolem

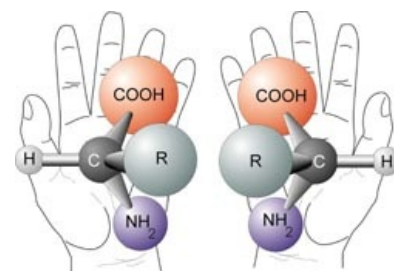


Islandský vápenec

Polarizátory

K polarizaci světla se nejčastěji využívají Nikolovy hranoly, jedná se o krystaly dvojlomného islandského vápence, které jsou slepené kanadským balzámem. Stěna, na níž dopadá světlo, je zbrušena do úhlu 68° . Index lomu kanadského balzámu je tak malý, že na vrstvě balzámu dochází k odrazu řádného paprsku a následně k jeho pohlcení začerněnou boční stěnou. Mimořádný paprsek prochází hranolem v přímém směru beze změny, je lineárně polarizovaný.

Polarizátory je možné využít také k analýze již polarizovaného světla. Tyto tzv. analyzátory jsou zkonstruovány takovým způsobem, aby intenzita procházejícího paprsku vypovídala o směru polarizace. Rovinu polarizace paprsku pak můžeme určit natáčením analyzátoru.



Optické izomery aminokyseliny

Opticky aktivní látky

Opticky aktivní látky jsou takové látky, které mají schopnost stáčet rovinu polarizovaného světla. Tato schopnost otáčet rovinu polarizovaného světla je zapříčiněna optickou izomerií, která se vyskytuje u chirálních látek tvořenými dvěma enantiomery (optické antipody). Chirální molekula je taková molekula s uspořádáním atomů, které nejde

ztotožnit se svým zrcadlovým obrazem. Proto enantiomery jsou prostorové izomery, které mají stejné fyzikální vlastnosti kromě interakce s polarizovaným světlem, ale jejich prostorové uspořádání je takové, že jsou si vzájemně zrcadlovými obrazy. Chemické vlastnosti enantiomerů závisí, zda interaguje s jinou chirální látkou. Chiralita může být zapříčiněna přítomností jednoho či více tzv. chirálních uhlíků v molekule sloučeniny. Chirální uhlík je uhlík, který má čtyři různé substituenty. Díky tomu se látka může vyskytovat ve dvou zrcadlově symetrických prostorových formách. Typické opticky aktivní látky jsou organické sloučeniny jsou například aminokyseliny a sacharidy.

Optická a specifická otáčivost

Optická otáčivost je veličina, která charakterizuje schopnost látek stáčet rovinu polarizovaného světla. Závisí na několika parametrech: na tloušťce vrstvy, na teplotě, na rozpouštědle, na koncentraci látky a na vlnové délce světla. Celková otáčivost α je podle **Biotova zákona** přímo úměrná koncentraci roztoku a tloušťce vrstvy:

$$\alpha = [\alpha] \cdot l \cdot c$$

nebo pokud je koncentrace c udána v g/100 ml:

$$\alpha = \frac{[\alpha] \cdot l \cdot c}{100}$$

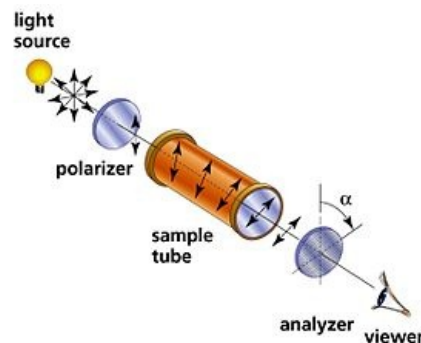


Schéma polarimetru

Specifická otáčivost $[\alpha]$ je pak definována jako úhel, o který se otočí rovina polarizovaného světla (o vlnové délce $\lambda = 589,3 \text{ nm}$) při jednotkové tloušťce l (1 dm), jednotkové koncentraci c (1g/100ml) a a teploty 20 °C.

Polarimetr

Polarimetr je přístroj, kterým měříme optickou otáčivost látek. Je tvořený dvěma základními polarizačními zařízeními – polarizátorem a analyzátozem. Polarizátor je část, která slouží jako „měnič“ světla emitovaného výbojkou na světlo polarizované. Polarizované světlo pak prochází roztok opticky aktivní látky v kyvetě, která je vložena mezi analyzátor a polarizátor. V roztoku se rovina světla stočí a takto polarizované světlo dopadá na analyzátor.

Polarimetry se využívají například v chemickém, farmaceutickém nebo potravinářském průmyslu.

Stanovení koncentrace glukózy ve vzorku

Postup při měření pomocí polarimetru Krüss P1000

V praktických cvičeních se pracuje s polarimetrem Krüss P1000. Mezi analyzátor a polarizátor se vloží kyveta, která je naplněná roztokem se zkoumanou látkou (opticky aktivní). Analyzátor lze pootáčet vůči polarizátoru, úhel pootočení se poté odečítá na noniové stupnici. Pokud jsou analyzátor a polarizátor vzájemně pootočený o 90°, neprochází skrz žádné světlo. Jsou-li jejich roviny shodné, prochází světlo v maximální intenzitě. Zdrojem světla je sodíková výbojka, ze které do polarizátoru vchází světlo žluté bravy ($\lambda = 589,3 \text{ nm}$). Po vložení kyvety se vzorkem opticky aktivní látky se změní transmise světla na jinou hodnotu. Abychom opět viděli světlo s původní intenzitou, je třeba pootočit analyzátozem o určitý úhel. Tento úhel definuje specifickou otáčivost dané látky.

Pro lidské oko je však velice obtížné nalézt nejtmaší či nejjasnější pole, vhodnější metodou je tedy porovnávání jasu dvou sousedních polí. Proto se mezi kyvetu a samotný polarizátor přidává další polarizující článek, který pootáčí polarizační rovinu části paprsku, takže na samotný analyzátor dopadá světlo rozdělené do dvou svazků paprsků, které mají různé pootočené polarizační roviny.

V zorném poli pak vidíme část tmavou a část světlejší. Tyto části by měly být dobře odlišitelné s ostrými hranicemi. Poté pootočíme polarizátorem tak, aby obě části byly stejně světlé - dosáhneme tzv. optické nuly, a tedy eliminujeme hranici mezi nimi. Samotný úhel, o který je analyzátor ve výsledku otočen vůči polarizátoru, je roven úhlu stočení světla touto opticky aktivní látkou.

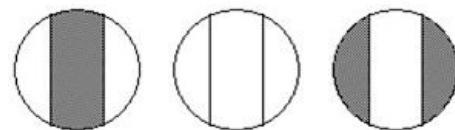
Na biofyzikálním praktiku budete v okuláru pozorovat pole rozdělené do tří částí. Při otáčení analyzátoru mění středová část zorného pole relativní intenzitu vůči okrajovým částem.

V případě, že je relativní intenzita všech částí zorného pole stejná, dosáhli jste optické nuly.

Noniová stupnice je tvořena dvěma částmi. Je tvořena hlavní stupnicí (vnější na polarimetru) pro odečítání celých stupňů, která má hlavní dělení po 10° a vedlejší dělení po 1°, a vedlejší stupnicí (vnitřní na polarimetru) pro odečítání hodnoty za desetinnou čárkou, která má hlavní dělení po 0.1° (Pozor jsou zobrazeny pouze hodnoty 0.0,



Polarimetr Krüss P1000 s kyvetou



Světlé pole v okuláru polarimetru

0.2, 0.4, 0.6, 0.8 a 1.0.) a vedlejší dělení je po 0.05°. Pro určení celé části stupně (hodnota před desetinou čárkou) najdeme na vedlejší stupnici 0 a na protější hlavní stupnici odečteme nejbližší nejmenší hodnotu. Při odečtení desetinné části hledáme dílek na vedlejší stupnici, který je v nejlepším překryvu s některým dílkem z protější hlavní stupnice (Pozor v případě, že je desetinná část hledané hodnoty rovna nule, tak jsou obě hodnoty 0.0 a 1.0 na vedlejší stupnici v nejlepším překryvu s hlavní stupnicí.).

Poznámky

- Sodíkovou lampu polarizátoru je nutno zapnout 5 minut před zahájením měření, aby se stabilizoval její světelný tok. Lampu vypínáme až po dokončení celého cvičení, nikdy v jeho průběhu.
- Tabulková hodnota specifické otáčivosti glukózy $[\alpha]_D^{20^\circ C} = 52,5^\circ$.
- Kyvety nikdy neotvírejte. Kyvetu do polarimetru vkládejte opatrně a dbejte na to, aby byla okénka na koncích kyvety vždy čistá a suchá.

Krok 1 - Standardizace přístroje

Před samotným měřením specifické otáčivosti a určení neznámé koncentrace glukózy je třeba provést standardizaci měření. Jedná se o takzvanou korekci nulového bodu a důvody pro tuto korekci, jsou nekorektní zarovnání a znečištění optických prvků.

1. Pro toto měření použijte 10 cm dlouhou kyvetu s destilovanou vodou označenou DW (distilled water). **Při vkládání kyvety musíte případné bubliny zachytit ve výduť kyvety. Nikdy se nedotýkejte konců kyvety, aby nedošlo k jejich znečištění. Kyvety jsou uloženy v lednici.**
2. Do prostoru pro kyvetu vložte kyvetu s destilovanou vodou a nastavte noniovu stupnici na hodnotu mimo 0° (např. 10°). **Při odečítání hodnot na noniové stupnici používejte dvě čočky umístěné (vpravo a vlevo) na nastavci okuláru.**
3. Proveďte zaostření okuláru (otočný kroužek na okuláru), tak aby byly vidět v okuláru dvě ostrá rozhraní mezi třemi oblastmi.
4. Potom otáčejte analyzátozem směrem k 0° dokud v okuláru nevymizí rozhraní mezi třemi oblastmi a intenzita je pro jednotlivé oblasti stejná.
5. Odečtěte hodnotu na noniové stupnici a запиšte do protokolu.
6. Měření opakuj pětikrát a odečtené hodnoty zaznamenávejte do protokolu (každý člen týmu by se měl při těchto měření vystřídat). Nezapomínejte před každým měřením pootočit analyzátozem, tak aby v okuláru vymizela stejná intenzita oblastí a objevila se jednotlivá rozhraní mezi nimi (každý člen týmu by si měl upravit zaostření okuláru, tak aby mu vyhovovala ostrost rozhraní).
7. Vypočítejte průměrnou hodnotu a směrodatnou odchylku.

Krok 2 - Stanovení specifické otáčivosti glukózy

Na základě měření otáčivosti roztoku glukózy o známé koncentraci určete specifickou otáčivost glukózy. Výsledek porovnejte s tabulkovými hodnotami.

1. Pro měření specifické otáčivosti použijte 20 cm dlouhou kyvetu, ve které je roztok glukózy v destilované vodě o koncentraci 10g/100ml.
2. Do prostoru pro kyvetu vložte kyvetu s roztokem o známé koncentraci a nastavte noniovu stupnici na hodnotu 0°.
3. Proveďte zaostření okuláru, tak aby byla vidět v okuláru dvě ostrá rozhraní mezi třemi oblastmi.
4. Potom otáčejte analyzátozem, dokud v okuláru nevymizí rozhraní mezi třemi oblastmi a intenzita je pro jednotlivé oblasti stejná.
5. Měření opakuj desetkrát podobně jako při standardizaci a odečtené hodnoty na noniové stupnici zapisujte do protokolu.
6. Vypočítejte průměrnou hodnotu a směrodatnou odchylku.
7. Vypočítejte korekci optické otáčivosti, kterou získáte odečtením průměrné hodnoty otáčivosti při standardizaci měření od průměrné hodnoty optické otáčivosti vzorku se známou koncentrací glukózy.
8. Vypočítejte specifickou otáčivost glukózy pomocí Biotova zákona a do protokolu uveďte její hodnotu a vzorec, který jste použili.
9. Výslednou specifickou otáčivost glukózy porovnejte v diskuzi s tabulkovou hodnotou.

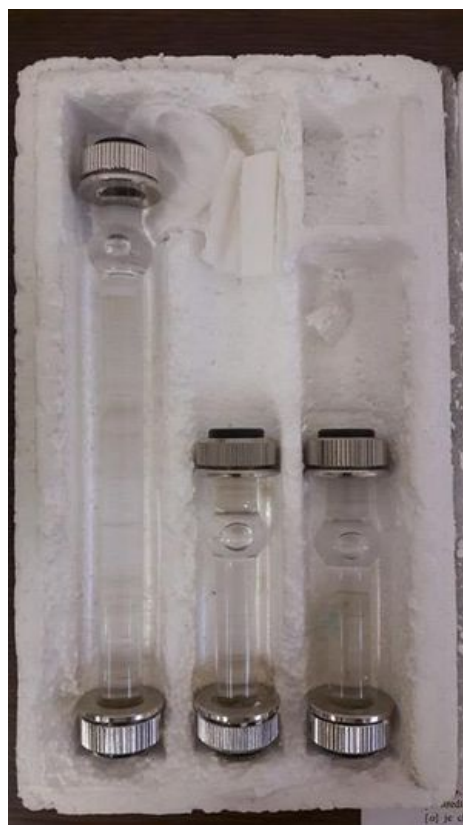
Krok 3 - Stanovení koncentrace glukózy v neznámém vzorku

Na základě měření optické otáčivosti určete výslednou koncentraci opticky aktivní látky (glukózy) v roztoku za použití specifické otáčivosti vypočtené v předchozím kroku.

1. Pro měření neznámé koncentrace použijte 10 cm dlouhou kyvetu, ve které je roztok vzorku glukózy v



Noniová stupnice polarimetru



kyvety

destilované vodě o neznámé koncentraci.

2. Do prostoru pro kyvetu vložte kyvetu s roztokem o neznámé koncentraci a nastavte noniovu stupnici opět na hodnotu 0° .

3. Proveďte zaostření okuláru, tak aby byla vidět v okuláru dvě ostrá rozhraní mezi třemi oblastmi.

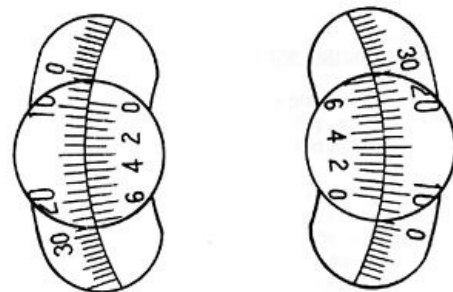
4. Potom otáčejte analyzátozem, pokud v okuláru nevymizí rozhraní mezi třemi oblastmi a intenzita je pro jednotlivé oblasti stejná.

5. Měření opakujte desetkrát podobně jako při předešlých dvou měřeních a odečtené hodnoty na noniové stupnici zapište do protokolu.

6. Vypočítejte průměrnou hodnotu a směrodatnou odchylku.

7. Vypočítejte korekci optické otáčivosti, kterou získáte odečtením průměrné hodnoty otáčivosti při standardizaci měření od průměrné hodnoty optické otáčivosti vzorku s neznámou koncentrací glukózy.

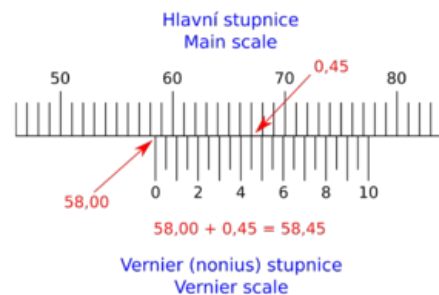
8. Vypočítejte pomocí Biotova zákona výslednou koncentraci glukózy pomocí změřené specifické otáčivosti v předešlém úkolu a do protokolu uveďte její hodnotu a vzorec, který jste použili.



Pohled na stupnici polarimetru ukazující hodnotu optické otáčivosti $9,30^\circ$ na levé i pravé straně

Kontrolní otázky

1. Jaký je princip polarimetrie?
2. Co je světlo?
3. Jaké jsou složky světla?
4. Jak se šíří vektor intenzity elektrického pole **E** a vektor intenzity magnetického pole **H**?
5. Jak se šíří vektor intenzity elektrického pole v nepolarizovaném světle?
6. Jak se šíří vektor intenzity elektrického pole v polarizovaném světle?
7. Jak získáme lineárně polarizované světlo?
8. Jaký je princip lineární polarizace světla pomocí odrazem?
9. Jaký je princip lineární polarizace světla pomocí lomem?
10. Co je opticky aktivní látka?
11. Na čem závisí optická otáčivost?
12. Jakým zákonem je popsána optická otáčivost?
13. Co je specifická otáčivost?
14. Na čem závisí specifická otáčivost?
15. Z čeho se skládá polarimetr?
16. Jaká je použita výbojka v polarimetru Krüss P1000?
17. Jaká je vlnová délka světla použité výbojky v polarimetru Krüss P1000?



Vernier

Přílohy

Videotutoriál

<mediaplayer width="500" height="300"><https://www.youtube.com/watch?v=hSrNKhLqFm0></mediaplayer>

Poznámka k videu: Kyveta se nechytá za koncové části, protože dochází k ušpinění sklíčka. Ve videu není držena správně, mějte toto na paměti při praktiku.

Odkaz

Související články

- Portál:Biofyzikální praktikum (2. LF UK)
- Polarimetrie
- Viditelné_světlo
- Elektromagnetické_spektrum
- Magnetické_pole
- Polarizace_světla

Externí odkazy

- Polarimetrie (česká wikipedia)
- Polarimetr (česká wikipedia)
- Biotovy_zákony (česká wikipedia)
- <https://www.kruess.com/en/produkte/polarimeters-en/p1000-led/>

Literatura

- Pedagogická fakulta MU. *Polarimetr* [online]. [cit. 2016-01-02]. <<http://www.ped.muni.cz/wchem/sm/hc/fchlab/polarimetr.htm>>.

- Vyšší odborná škola zdravotnická a Střední zdravotnická škola. *Polarimetrie* [online]. [cit. 2016-01-02]. <<https://anl.zshk.cz/vyuka/polarimetrie.aspx>>.
- ústav biofyziky, Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta. *Návod k praktickému cvičení - Polarimetrie* [online]. [cit. 2016-01-02]. <<https://moodle.mefanet.cz>>.
- SVOBODA, Emanuel. *Přehled středoškolské fyziky*. 5. vydání. Praha : Prometheus, 2014. ISBN 978-80-7196-438-4.
- Amler E. *et al.* Praktické úlohy z biofyziky I. Ústav biofyziky UK, 2. lékařské fakulty, Praha 2006
- Navrátil L. *et al.* Medicínská biofyzika, Grada Praha 2005

[<https://moodle.mefanet.cz/login/index.php>– soubor N1_Polarimetrie <https://moodle.mefanet.cz/login/index.php> – soubor N1_Polarimetrie]

- https://cs.wikipedia.org/wiki/Hlavn%C3%AD_strana
- <http://members.optushome.com.au/scottsoftb/enant2.htm>
- <https://www.kruess.com/en/campus/polarimetry/polarimeter-applications/>
- https://www.kruess.com/wp-content/uploads/2018/05/DB_Polarimeter-samples_EN_1.0-1.pdf