Experiment- 5

Sugar identification using Polarimetry

يتم تسويق ما يقرب من 25% من جميع الأدوية إما كخليط راسيمي (مزيج من متماثلين ضوئيين) أو خليط من متماثلين فراغيين

- Approximately 25% of all drugs are marketed as either racemates (mixtures of two enantiomers) or mixtures of diasteromers.

mixutre of enantiomers

mixutre of chirals

- The drug Thalidomide, was prescribed to millions of women to suppress morning sickness associated with pregnancy during the late 50's and early 60's.

• تم وصف دواء الثاليدوميد لملايين النساء لتخفيف غثيان الصباح المصاحب للحمل خلال أواخر الخمسينيات وأوائل الستينيات.

- Horrible birth defects, including missing limbs, resulted. The cause of these birth defects was assigned to the S-enantiomer, which did not undergo clinical trials.

نتج عن ذلك تشوهات خلقية مروعة، بما في ذلك فقدان الأطراف. تم تحديد سبب هذه التشوهات الخلقية على المتماثل الضوئي S، الذي لم يخضع لتجارب سريرية.

- Chiral synthesis and purification is a crucial aspect of all successful drug manufacture.

• يُعد التخليق والتنقية الكيرالية جانبًا حاسمًا في جميع عمليات تصنيع الأدوية الناجحة.

➢ Chirality

الجزيئات الكيرالية لها مركز غير متماثل يستجيب للضوء كعدسة ويديره. تُسمى القدرة على تدوير الضوء بالنشاط البصري.

Chiral molecules have an asymmetrical center which respond to light as a lens and rotate the light. The ability to rotate light is termed **optical activity**.

Enantiomeric compounds rotate light by exactly the same amount but in the opposite direction. The degree to which a substance rotates light may be used to determine:

تدور المركبات المتماثلة ضوئيًا الضوء بنفس المقدار تمامًا ولكن في اتجاهين متعاكسين. يمكن استخدام درجة دوران الضوء بواسطة مادة ما لتحديد:

a) the identity of the substance

b) the enantiomeric purity of the substance

c) the concentration of a known substance in a solution.

أ) هوية المادة

ب) نقاء المادة المتماثل ضوئياً

ج) تركيز مادة معروفة في محلول.

An object is considered to be **chiral** if it is *nonsuperimposable* on its mirror image.

An object is considered **achiral** if it is superimposable on its mirror image.

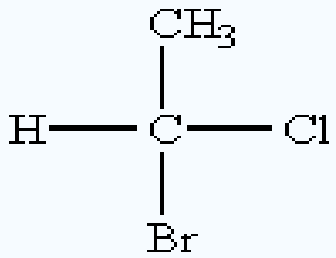
All objects can be classified as chiral or achiral.

يُعتبر الجسم كيراليًا إذا لم يكن من الممكن تطابقه مع صورته المرآوية. يُعتبر الجسم غير كيرالي إذا كان من الممكن تطابقه مع صورته المرآوية. يمكن تصنيف جميع الأجسام على أنها كيرالية أو غير كيرالية.

(b) Achiral objects

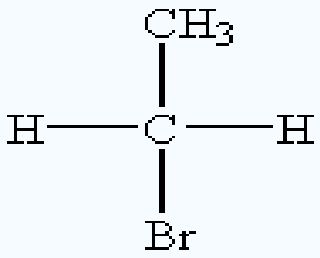
يُعتبر الجزيء متناظرًا إذا وُجد جزيء آخر له نفس التركيب، ولكنه مُرتب على شكل صورة معكوسة غير قابلة للتطابق. كما أن وجود ذرة كربون غير متناظرة غالبًا ما يكون السمة التي تُسبب التناظر في الجزيئات.

A molecule is considered chiral if there exists another molecule that is of identical composition but which is arranged in a non-superposable mirror image. Also the presence of an asymmetric carbon atom is often the feature that causes chirality in molecules.



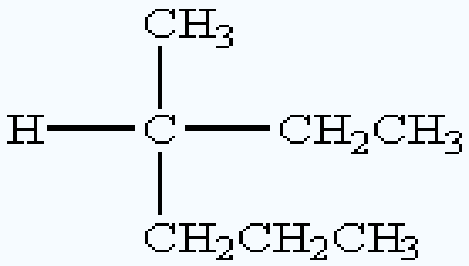
chiral

Has 4 differnt atoms bonded to the carbon



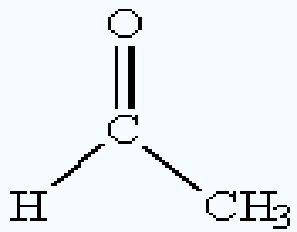
achiral

Does not have 4 different atoms or groups bonded to the carbon (2 hydrogens)



chiral

Has 4 differnt groups bonded to the carbon



achiral

Only has 3 atoms bonded to the carbon

Two mirror images of a chiral molecule are called enantiomers or optical isomers. Pairs of enantiomers are often designated as "right-" and "left-handed".

يُطلق على صورتين معكوسة لجزيء كيرالي اسم المتماثلات الضوئية أو المتماثلات الضوئية. غالبًا ما يُشار إلى أزواج المتماثلات الضوئية باسم "يميني" و"يساري".

يُستخدم قياس الاستقطاب الضوئي في العديد من المجالات، مثل مراقبة العمليات في الصناعات الدوائية، وصناعة النكهات والعطور والزيوت العطرية، والصناعات الغذائية، والصناعات الكيميائية.

- Polarimetry is used in many ways like dealing with process control in the pharmaceutical industry, flavor, fragrance and essential oil industry, food industry, or chemical industry.
- optical purity of the product: measuring the specific rotation of compounds like amino acids, antibiotics, or steroids and comparing them with reference values.

النقاء البصري للمنتج: قياس الدوران النوعي لمركبات مثل الأحماض الأمينية، والمضادات الحيوية، والستيرويدات، ومقارنتها بالقيم المرجعية.

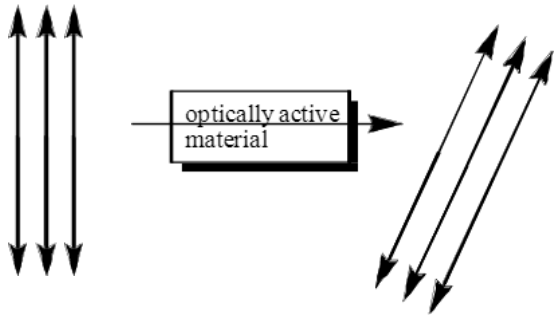
The purpose of this lab is to become familiar with use of a polarimeter and to use optical rotation as a method of determining the identity of unknown sugars.

الهدف من هذه التجربة هو التعرف على استخدام جهاز قياس الاستقطاب، واستخدام الدوران البصري كطريقة لتحديد هوية السكريات المجهولة.

عندما يمر شعاع من الضوء المستقطب مستويًا عبر محلول من مادة نشطة بصريًا، سيدور الضوء.

When a beam of plane polarized light passes through a solution of optically active material the light will rotate.

Each pure chiral material has a set specific rotation [c‹] which is a fixed physical characteristic for that material. The specific rotation describes how far a material will rotate light. A [c‹] of **+87.6** means that pure material will rotate light in the clockwise manner by 87.6 degrees.
The enantiomer will rotate the plane of polarized light by exactly the same amount but in the opposite direction. **An [c‹] of -87.6** would result in a rotation in the counterclockwise direction by 87.6 degrees.



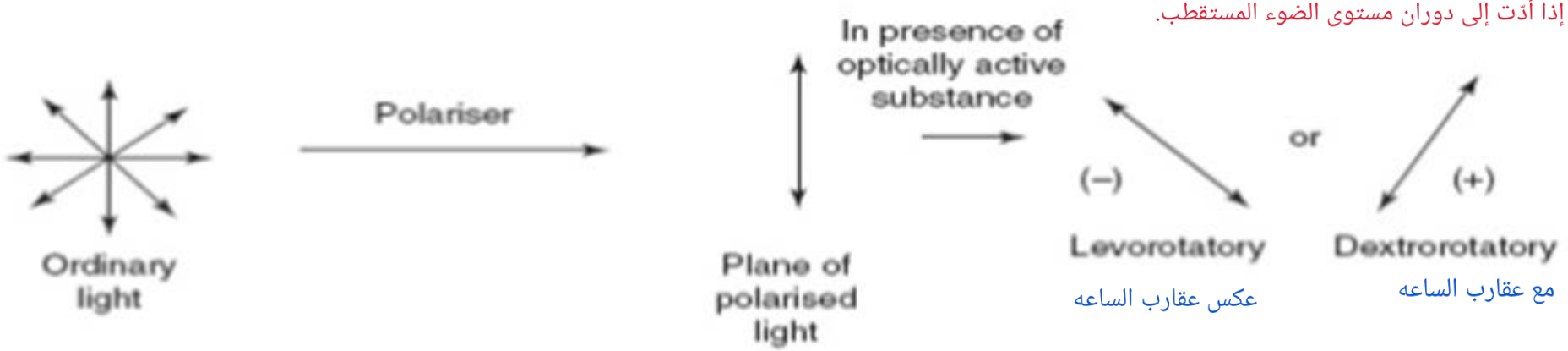
لكل مادة كيرالية نقية دوران نوعي محدد [c]، وهو خاصية فيزيائية ثابتة لتلك المادة. يصف الدوران النوعي مقدار دوران الضوء بواسطة المادة. قيمة [c] تساوي +87.6 تعني أن المادة النقية ستدور الضوء في اتجاه عقارب الساعة بمقدار 87.6 درجة.

سيدور المتماثل المرآوي مستوى الضوء المستقطب بنفس المقدار تمامًا ولكن في الاتجاه المعاكس. قيمة [c] تساوي -87.6 ستؤدي إلى دوران عكس اتجاه عقارب الساعة بمقدار 87.6 درجة.

INTRODUCTION

Polarimetry is one of the important instrumental methods employed in analysis. This measures the rotation of the polarized light as it passes through an optically active compound. **This technique involves the measurement of change in the direction of vibration of polarized light when interact with an optically active compound**. A substance is said to be optically active if it rotates the plane of the polarized light.

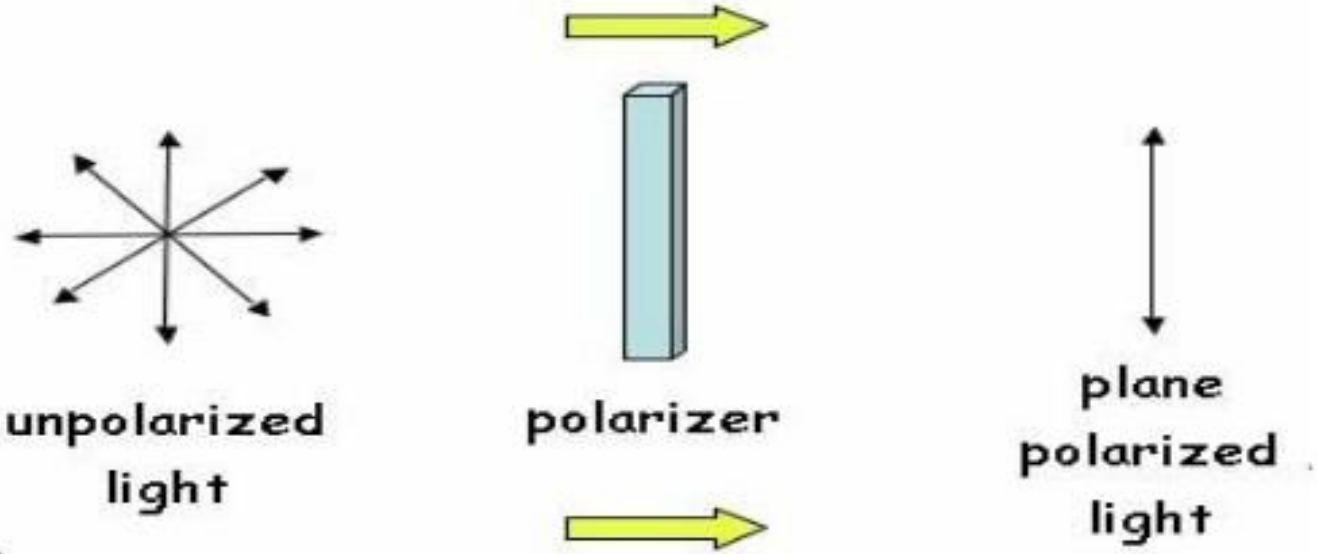
يُعدّ قياس الاستقطاب أحد أهمّ الطرق التحليلية الآلية المستخدمة. يقيس هذا الجهاز دوران الضوء المستقطب أثناء مروره عبر مركب نشط بصريًا. تتضمن هذه التقنية قياس التغير في اتجاه اهتزاز الضوء المستقطب عند تفاعله مع مركب نشط بصريًا. يُقال إن المادة نشطة بصريًا إذا أدّت إلى دوران مستوى الضوء المستقطب.



PLANE POLARISED LIGHT

According to wave theory of light, an ordinary ray light is considered to be vibrating in all planes at right angle to the direction of propagation. If this ordinary ray of light is passed through a Nicol prism, the emergent ray has its vibration only in one plane. This light having wave motion in only one plane is known as Plane Polarised Light.

وفقًا لنظرية الموجة الضوئية، يُعتبر شعاع الضوء العادي مهتزًا في جميع المستويات بزاوية قائمة على اتجاه انتشاره. إذا مر هذا الشعاع الضوئي العادي عبر منشور نيكول، فإن الشعاع الخارج يهتز في مستوى واحد فقط. يُعرف هذا الضوء ذو الحركة الموجية في مستوى واحد فقط باسم الضوء المستقطب مستوياً.


unpolarized
light
polarizer
plane
polarized
light

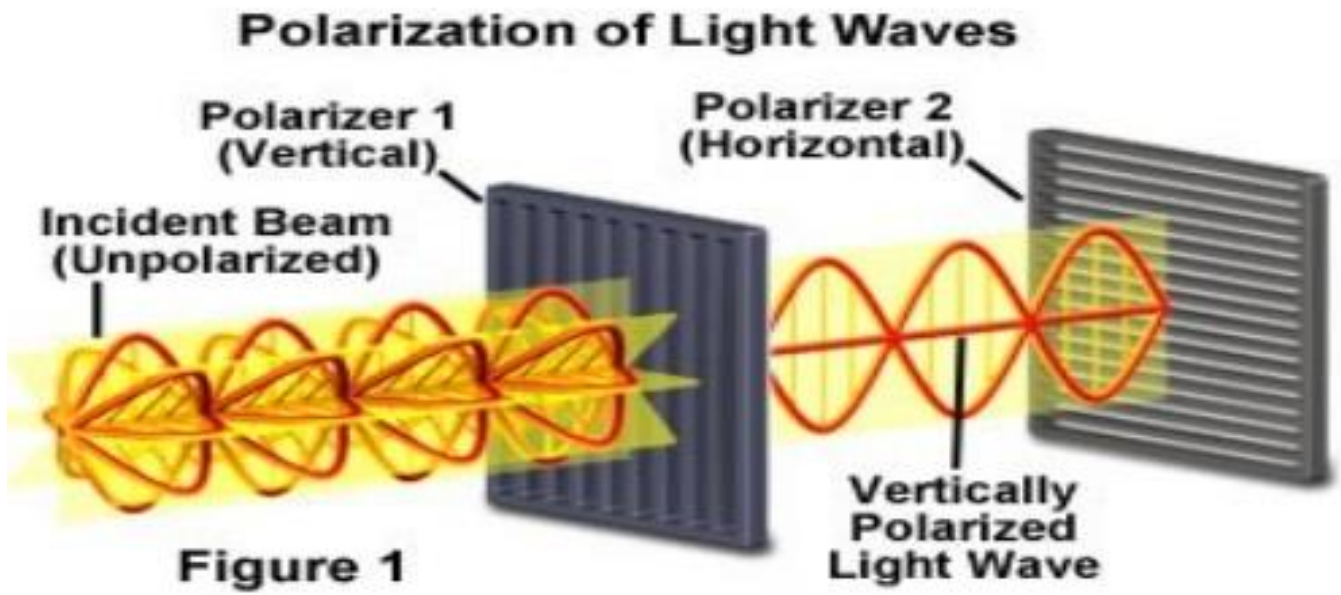
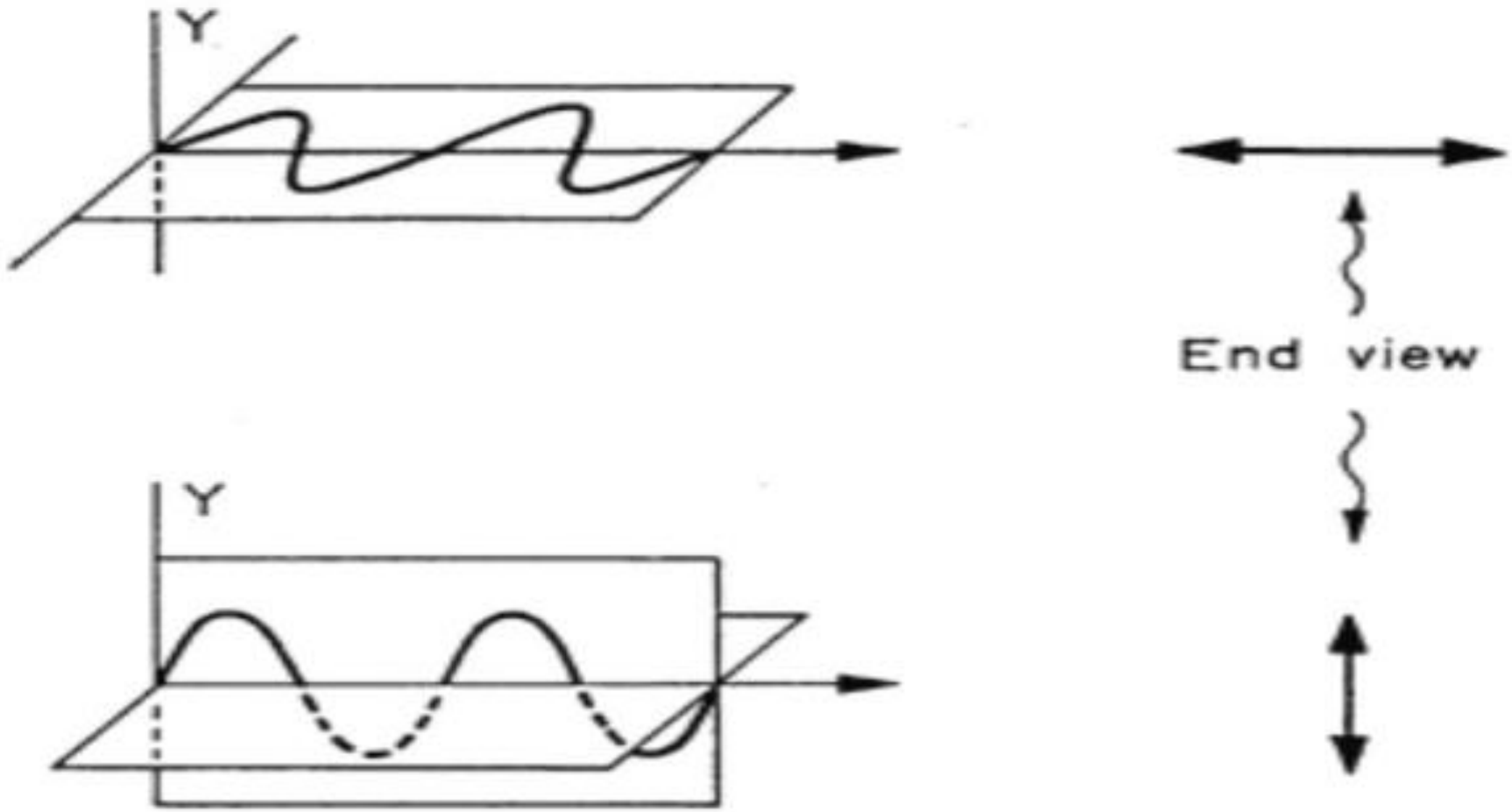

Polarization of Light Waves
Polarizer 1
(Vertical)
Polarizer 2
(Horizontal)
Incident Beam
(Unpolarized)
Vertically
Polarized
Light Wave

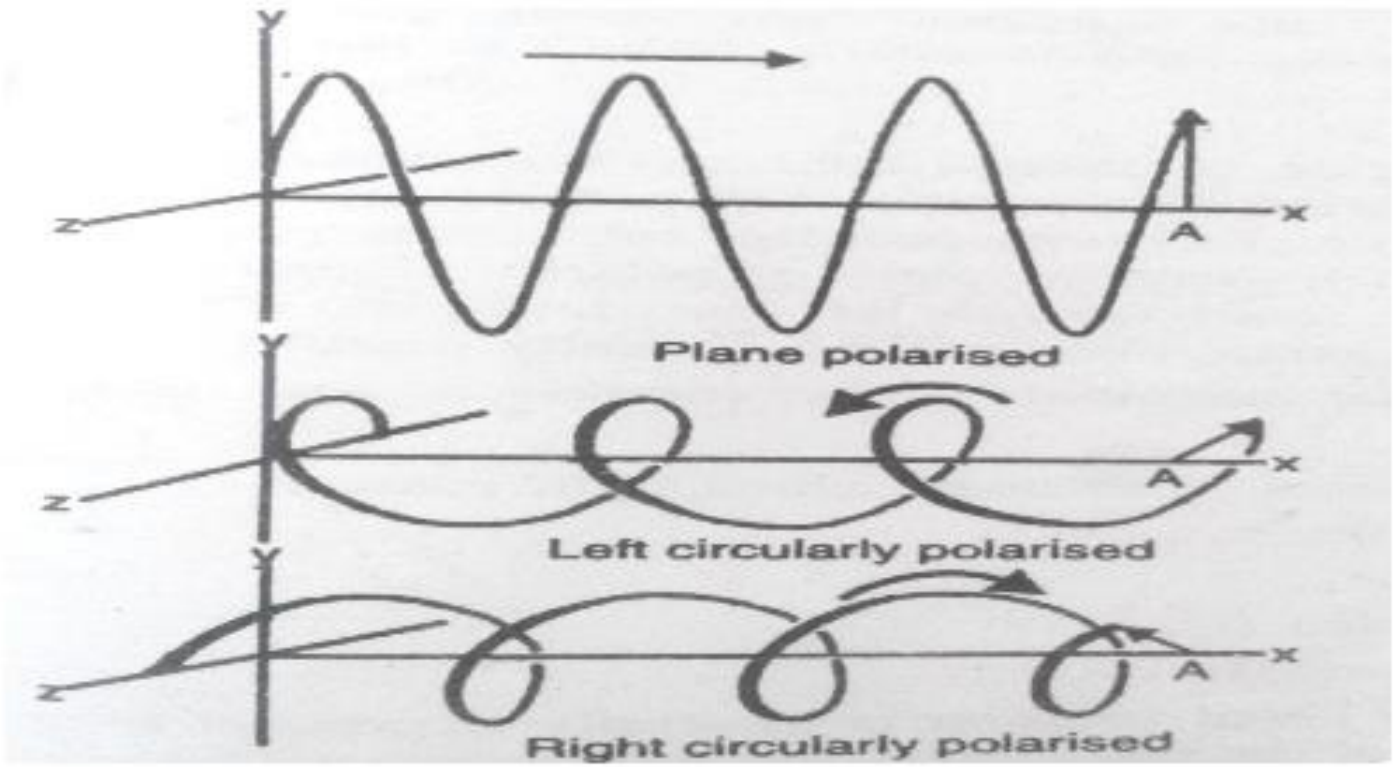
Figure 1



Linearly polarized light

- A plane polarized light which consists of two components of fixed magnitude rotating in opposite directions to one another;
- The right circulatory polarized light
- The left circulatory polarized light
- Plane polarized light is the vector sum of these two components

• الضوء المستقطب مستوياً، ويتكون من مركبتين ثابتتي المقدار تدوران في اتجاهين متعاكسين. الضوء المستقطب دائرياً يميناً، الضوء المستقطب دائرياً يساراً.
• الضوء المستقطب مستوياً هو المجموع الاتجاهي لهاتين المركبتين.



OPTICAL ACTIVITY

- **Definition**
- It Has find that magnitude of rotation depend upon the following factors:

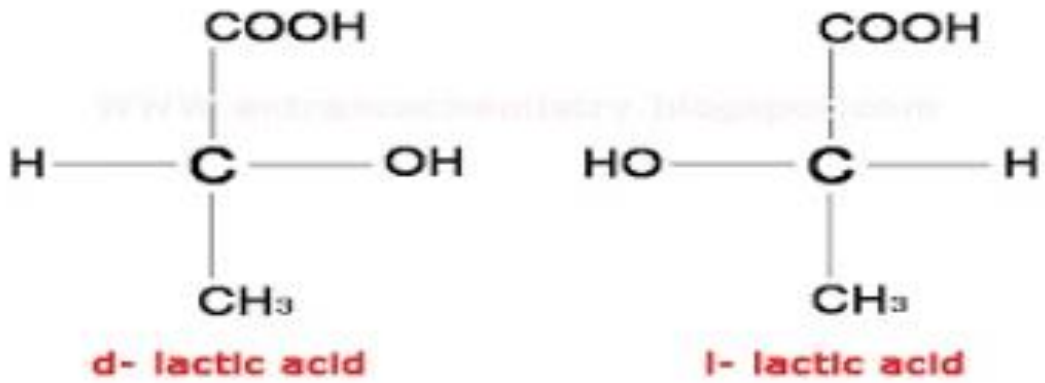
1. Nature of Substance
2. Length of liquid column (l) through which light passes.
3. Concentration of the solution.
4. Nature of the solvent.
5. Temperature of the solution (t)
6. Wavelength of the light used

• وجد أن مقدار الدوران يعتمد على العوامل التالية:
1. طبيعة المادة
2. طول عمود السائل (l) الذي يمر الضوء من خلاله.
3. تركيز المحلول.
4. طبيعة المذيب.
5. درجة حرارة المحلول (t)
6. طول موجة الضوء المستخدم

Theory of Optical Activity

- An optically active substance is one that rotates the plane of polarized light

  Example: (1) Lactic acid



Dextro= right designated by 'd', (+), clockwise

Levo= left designated by 'l', (-), counterclockwise

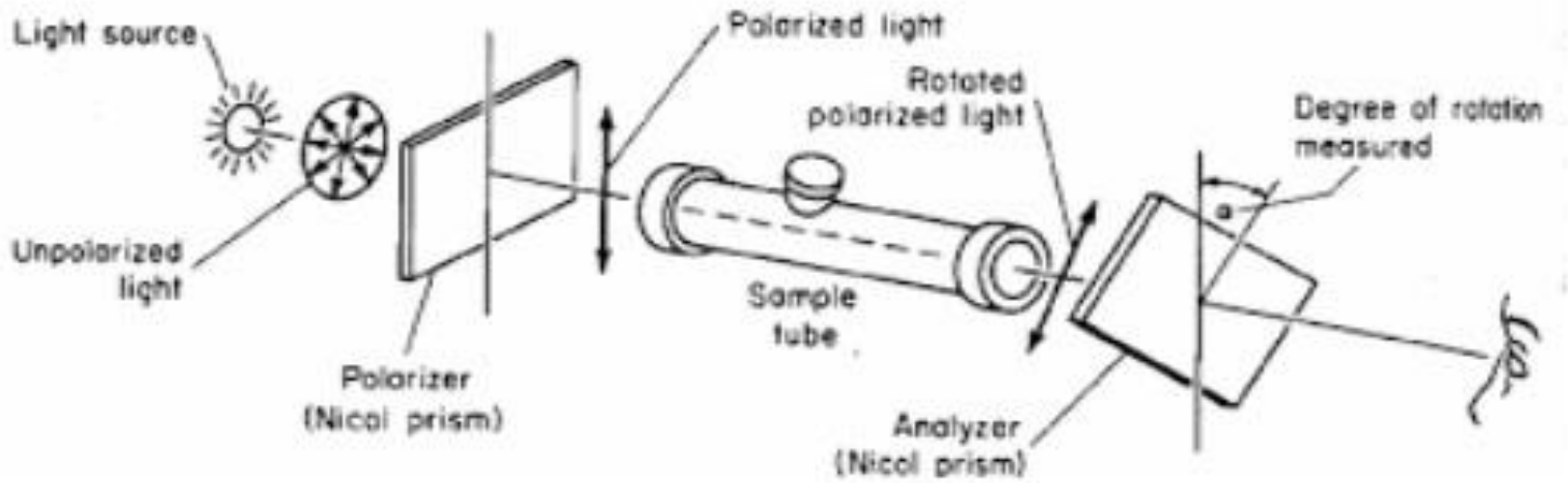
- **Configuration:**

• المادة النشطة بصريًا هي مادة تدور مستوى الضوء المستقطب.

INSTRUMENTATION

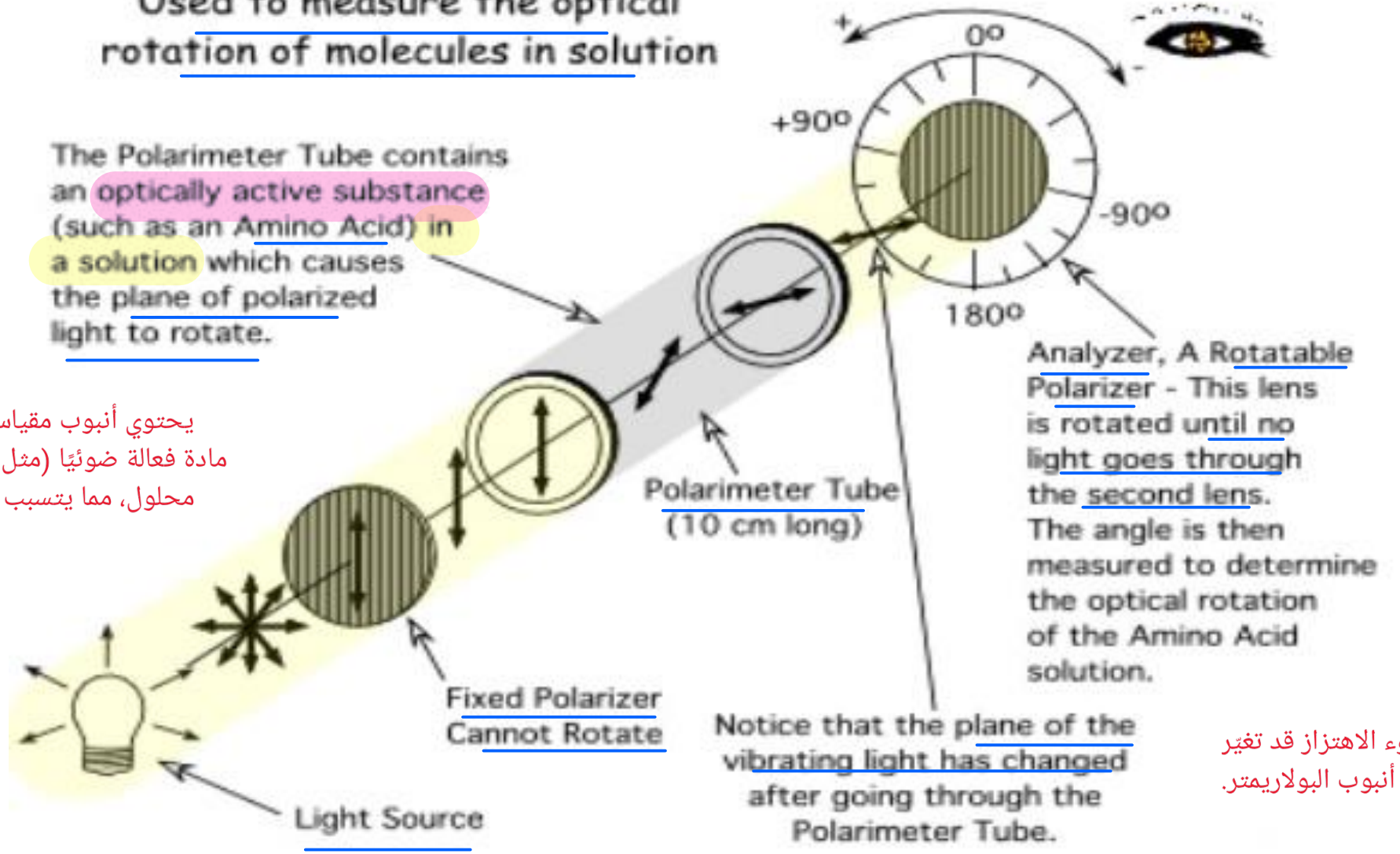
- Optical activity may be detected & measured by an instrument → Polarimeter

يمكن الكشف عن النشاط البصري وقياسه
بواسطة جهاز ← مقياس الاستقطاب



Polarimeter

Used to measure the optical rotation of molecules in solution



يحتوي أنبوب مقياس الاستقطاب على مادة فعالة ضوئيًا (مثل حمض أميني) في محلول، مما يتسبب في دوران مستوى الضوء المستقطب.

التحليلي، قطعة مُستقطبة قابلة للدوران - تُدار هذه العدسة حتى لا تمر أي ضوء من خلال العدسة الثانية. ثم يُقاس الزاوية لتحديد الانحراف البصري لحلّة الأحماض الأمينية.

لاحظ أن مستوى الضوء الاهتزاز قد تغيّر بعد المرور عبر أنبوب البولاريمتر.

• مصدر الضوء - مصباح بخار الصوديوم
المحلل - منشور نيكول آخر مُحاذى لاعتراض الشعاع المستقطب خطيًا عند خروجه من محلول العينة.

- Light source – Sodium vapor lamp
- Analyzer– another Nicol prism aligned to intercept the linearly polarized ray as it emerges from the sample solution
- A polarimeter consists of a polarized Light source – Sodium vapor lamp, Polarizer –quartz prism material and Analyzer – Nicol prism aligned to intercept the linearly polarized ray as it emerges from the sample solution, a graduated circle- to measure the rotation angle, and sample tubes.

• يتكون مقياس الاستقطاب من مصدر ضوء مستقطب (مصباح بخار الصوديوم)، ومستقطب (موشور كوارتز)، ومحلل (موشور نيكول مُحاذى لاعتراض الشعاع المستقطب خطيًا عند خروجه من محلول العينة)، ودائرة مدرجة لقياس زاوية الدوران، وأنابيب العينة.

Interference filter

A wide range of interference filters from UV-Vis to NIR

Light source switching mirror option

Light source

Up to two light sources can be installed. Available light sources are:

WI (Tungsten-Halogen lamp)

Na (Sodium lamp)

Hg (Mercury lamp)

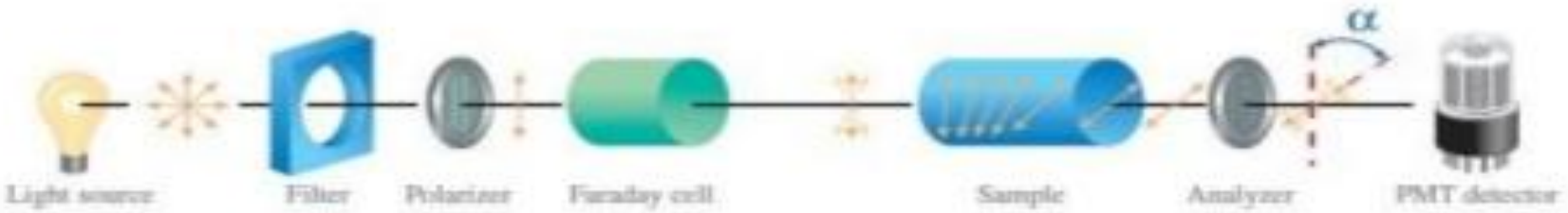
Polarizer

Faraday cells

Automatic accessory recognition

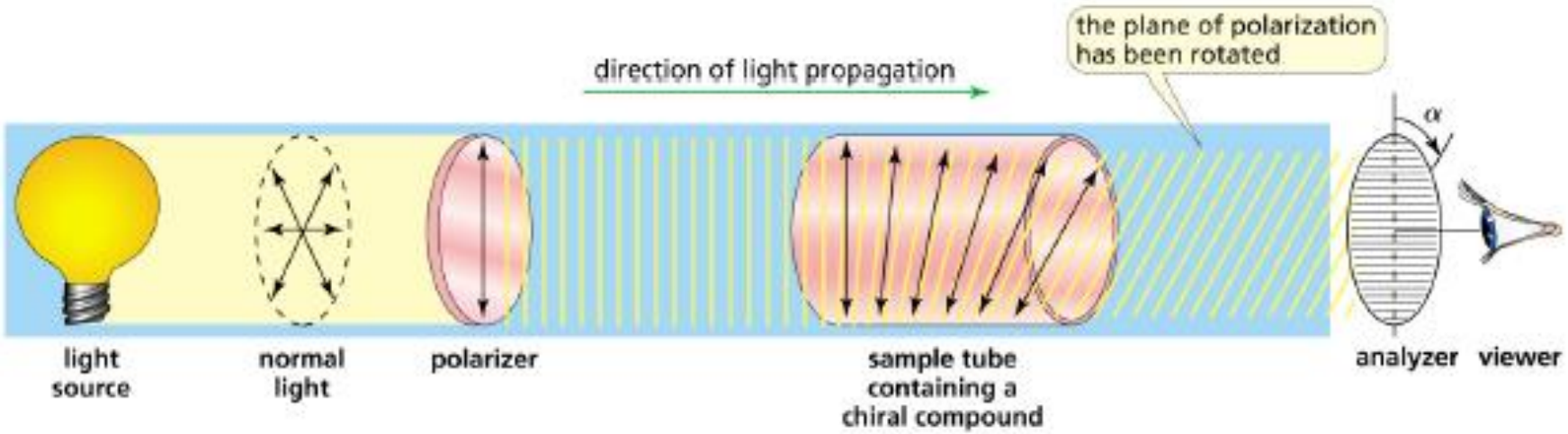
Analyzer

PMT detector



digital-polarimeter

A Polarimeter



$$[\alpha]_{\lambda}^{T} = \frac{\alpha}{l \times c}$$

$$[\alpha] = \alpha_{obs} / (c * \ell)$$

$[\alpha]$= specific rotation of the compound

α_{obs} = observed rotation of light in degrees

c = concentration in **grams per milliliter** (g/ml)

ℓ= cell length in decimeters (dm)

The specific rotation ([α]) of a compound is a fixed physical property of that compound (as is its boiling point or melting point or density). The observed rotation (α obs) depends on the concentration of the sample in solution (c) and the length of the cell (ℓ) as well as the specific optical rotation of the compound [α].

يُعدّ الدوران النوعي ([a]) للمركب خاصية فيزيائية ثابتة له (مثل درجة غليانه أو درجة انصهاره أو كثافته). يعتمد الدوران المرصود (a obs) على تركيز العينة في المحلول (c) وطول الخلية (e)، بالإضافة إلى الدوران البصري النوعي للمركب [a].

Doubling the concentration of a material in a solution will double the observed rotation. Cutting the cell length in half will half the observed rotation. The specific rotation [α] remains the same regardless of the concentration or cell length.

مضاعفة تركيز مادة في محلول ستضاعف الدوران الملاحظ. تقليل طول الخلية إلى النصف سيقلل الدوران الملاحظ إلى النصف. الدوران النوعي [a] يبقى كما هو بغض النظر عن التركيز أو طول الخلية.

$$[\alpha]=\alpha_{obs} / (c * \ell)$$

[α]: specific rotation of the compound
(α obs): observed rotation of light in degrees
C: concentration in grams per milliliter (g/ml).
ℓ: cell length in decimeters (dm)

What is the specific rotation of a compound 'X' when the concentration is 0.5% w/v, angle of rotation is 1.3 and tube length is 25 cm?

- 10.4°
- 52.0°
- ● 104.0°
- 5.2°

Angle of rotation (α) = 1.3° , Tube length = 25 cm = 2.5 dm

Concentration = 0.5% w/v

Formula $[\alpha]^{T}_{\lambda} = \frac{100 \times \alpha}{l \times c}$

$[\alpha]^{T}_{\lambda} = \frac{100 \times 1.3}{2.5 \times 0.5}$

$[\alpha]^{T}_{\lambda} =$ **104.0°**

هون ال 100 اجت بس عشان النسبة 0.5% يعني
0.5÷100 وال 100 رفعناها لفوق

Enantiomeric Excess

Enantiomeric excess tells us how much of an excess of one enantiomer is in a mixture.

$$\text{enantiomeric excess} = \frac{\text{observed specific rotation}}{\text{specific rotation of the pure enantiomer}} \times 100\%$$

For example, if the sample of 2-bromobutane has an observed specific rotation of +9.2, then the enantiomeric excess is 40%. In other words, the excess of one of the enantiomers comprises 40% of the mixture.

$$\text{enantiomeric excess} = \frac{+9.2}{+23.1} \times 100\% = 40\%$$

optical purity = % enantiomeric excess

= % of one enantiomer - % of other enantiomer

2. Calculate the % ee for the following:

100% 0%

a) a solution containing a single enantiomer

$$\%\,ee = 100 - 0 = 100\%$$

b) a solution containing equal amounts of both enantiomers (racemic mixture)

$$\%\,ee = 50\% - 50\% = 0$$

c) a solution containing 75% of one enantiomer and 25% of the other enantiomer

$$\%\,ee = 75 - 25 = 50\%$$

So we have 50% excess of this enantiomer,

$$\%\ ee = \frac{\text{observed } [\alpha]}{[\alpha] \text{ of pure enantiomer}} \times 100$$

% ee = 93% − 7% = 86%

3. A mixture of natural cholesterol and its enantiomer has a specific rotation (at 20°C) of -27. Calculate the % ee of this mixture. What % of the mixture is natural cholesterol?

93%

$$\%ee = \frac{-27}{-31.5} \times 100 = 86\%$$ nat cholesterol.

14%

7% nat chol 7% enantiomer

So that's just a nice
little check to make sure

Example 1: If a mixture of this R and S has an observed rotation (α_{obs}) of +3.97, then the percent composition is calculated as follows.

- The overall rotation is positive so there is an excess of the S enationmer.
- We know from the above equation that ee =α_{obs} /[c‹] x 100%,
- therefore ee =3.97/16.7 * 100 = 23.8%.
- This means that the rest of the material (100.0 — 23.8 = 76.2%) is equally divided between the R and S (100 % - % e.e. = % of balanced material).
- Therefore, there is 76.2/2 or 38.1% R material,
- and 38.1% +23.8 % = 61.9% S material.
- To check, 61.9% + 38.1% = 100 %,
- the difference between the two is 23.8%.

انا بحسب ال ee وبعدين بطرها من 100 ، و القيم الي بتطلع مقسمة بين R&S بالتساوي ولكن بما انه القيمة موجبية فعنا زيادة ب S فبزيد عليها القيمة الي طلعتلي من ال ee

- **Example 2:** If a pure R material has a specific rotation of -16.70
- a mixture of 40% R and 60% S will result in a 20% enantiomeric excess (The 40%R cancels 40% of the S, and leaves 20% excess S).
- The 20%e.e. is then divided by 100 =0.20,
- and multiplied by the absolute value of [u] of |-16.70| or 16.70 to show this mixture will rotate light by =|3.35|.
- Knowing that the R material rotates in the negative direction,
- and knowing that this mixture has an excess of the S enantiomer, means that this material will rotate light in the positive or clockwise direction by 3.35 degrees.

e.e. = |R-S| / (R+S) * 100%= |60-40|/(60 +40) *100% = 20%

20% of |-16.70| = |3.35|, and an excess of S means +3.35.

هون معطينا ال pure R و معطينا النسب
فكل الي علي اطلع نسبة الزيادة من خلال القانون واضربها بالرقم الي معي بتطلعلي ال ee وبما انه نسبة S اكبر بنوخذ الاشارة الموجبة

إذا لم يكن المتماثلان الضوئيان موجودين بكميات متساوية، فيمكن حساب مقدار هذا الفائض المتماثل الضوئي (ee) باستخدام الدوران المرصود (dlobs) مقارنةً بالدوران النوعي [a]

Practicallities

If the two enantiomers are not present in equal amounts, the amount of this enatiomeric excess (ee) may be calculated using the observed rotation (α_{obs}) compared to the specific rotation [α].

$$e.e. = |R-S| / (R+L) * 100\% = |\alpha_{obs}|/|[\alpha]| * 100\%$$

e.e. = |R-S| / (R+S) * 100%= |60-40|/(60 +40) *100% = 20%

20% of |-16.70| = |3.35|, and an excess of S means +3.35.

Procedure and Observations:

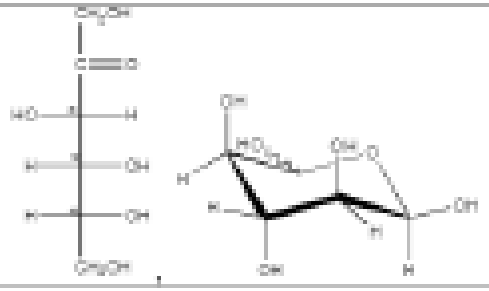
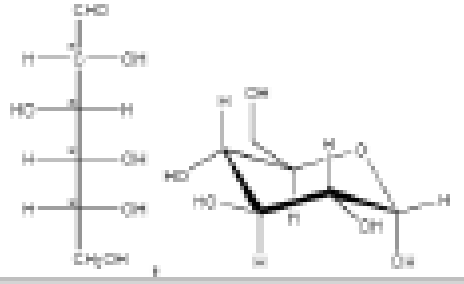
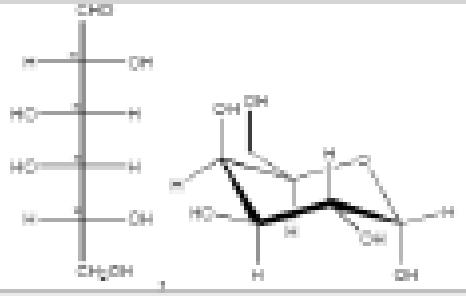
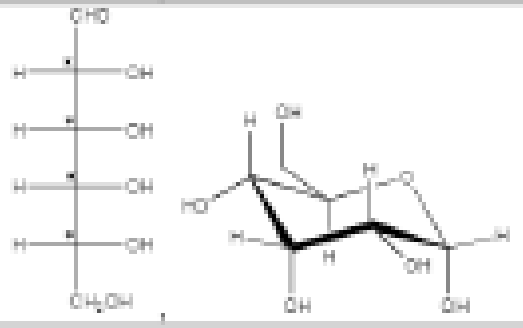
- In this experiment,
- to become familiar with using a polarimeter and how to use optical rotation as a method of determining the identity of unknown sugars.
- The ability to rotate light is optical activity. The degree that a substance rotates light can be used to determine the identity of the substance, the enantiomeric purity of the substance, and the concentration of a known substance in a solution.

- **Part 1:**
- In this part sugar solutions of known concentration (c) will be prepared (note the units of concentration used). The observed rotation (α obs) will be obtained by using a polarimeter. This data will be used to calculate the specific rotation [α] and the identity of the sugars will be hypothesized.
- Weigh out approximately 1 g of unknown sugars. Record all the digits of this mass in your notebook.
- In 50mI beaker, dissolve your material in approximately 15mI of deionized water. Swirl the contents until all of the solid has dissolved.

1. Carefully transfer this solution to a 50 ml volumetric flask.
2. Rinse beaker with approximately 2 ml of deionized water. Transfer this solution to volumetric flask. Repeat.
3. Carefully drop wise add deionized water to volumetric flask until bottom of meniscus is exactly on line. This is your solution.
4. In notebook, calculate the concentration in g/ml.

1. Obtain the (α obs) by analyzing your solution in the polarimeter using the instructions mounted adjacent to machine and reviewed by your instructor.
2. calculate the specific rotation [c‹].
3. Select the identity of your material from the list provided.

Chemicals:

Name (other names)	Structure (Fisher, Haworth)	Specific Rotation [α]
D- Fructose (D-Levulose)		-86
D-Glucose		+98
D- Galactose		+ 82
D-Allose		+15
Sucrose	glucose-fructose	+64.5
Maltose	glucose-glucose	+118

Part 2:

In this part a sugar solution of unknown concentration (c) but known identity will be given.

The observed rotation (α obs) will be obtained by using a polarimeter. This data in addition to [α] from part 1 will be used to calculate the concentration of the unknown sample.

1. Obtain the (α obs) by analyzing your unknown solution in the
2. Using the above equation and the previously calculate specific rotation [c‹] in part 1 calculate the concentration of your unknown.