

DETERMINACION DE PUREZA ENANTIOMERICA POR POLARIMETRIA

Sergio Enrique Mejía *

Pedro Liska Kucera **

DOI: <https://doi.org/10.54495/Rev.Cientifica.v3i1.466>

Licencia: CC-BY 4.0

Sumario

Para contribuir a solventar las dificultades que enfrentan los países en vías de desarrollo, en materia de investigación química que involucra elevada tecnología instrumental, y con la intención de desarrollar un método sencillo de determinación de pureza enantiomérica, se dedujo un modelo matemático fundamentado en consideraciones geométricas relacionadas con los ángulos de rotación óptica específica mostrados por los compuestos ópticamente activos y sus mezclas enantioméricas, que originó una ecuación matemática que hace posible la determinación analítica mencionada.

El análisis estadístico de los resultados demostró que, tanto el modelo matemático como el método polarimétrico, propuestos, son precisos, exactos, estadísticamente válidos y significativos, y su aplicación proporciona resultados idénticos y equivalentes a los obtenidos por la metodología de Resonancia Magnética Nuclear, lo que conduce al establecimiento de una metodología nueva, disponible y de menor costo, que contribuye no solamente a desarrollar la infraestructura analítica de la Química, sino también a ampliar los horizontes de investigación de otras disciplinas científicas.

Introducción

La determinación cuantitativa de cada uno de los enantiómeros presentes en una mezcla binaria, parcialmente resuelta (no racémica), se denomina Análisis de Pureza Enantiomérica o Determinación de Pureza Dienantiomérica.

La primera medición de esta naturaleza fue realizada indirectamente por Pasteur en 1848, al asignar una pureza enantiomérica del 50 o/o de cada isómero, en el Ácido Tartárico racémico, a través de la separación manual de los cristales asimétricos de dicho ácido¹.

Las investigaciones de Pasteur en 1866 y Le Bel en 1890, en lo referente a la habilidad degradativa estereoespecífica del hongo *Penicillium glaucum*², dieron lugar al apareamiento de una técnica de análisis enantiomérico fundamentada en la resolución microbiológica.

El problema de la determinación de pureza enantiomérica desde entonces, se mantuvo sin una solución satisfactoria a través de métodos fundamentados en los procesos de resolución microbiológica, bioquímica y diastereomerizativa, hasta la aparición en 1983 de la resolución cromatográfica en papel, capa fina y columna³⁻⁷, y más eficientemente en 1965, mediante la aplicación de la cromatografía de gases⁸⁻⁹ y la resonancia magnética nuclear¹⁰⁻¹².

Por su lado, la polarimetría se mantuvo centrada en la determinación de pureza monoenantiomérica, y los únicos intentos por aplicarla a mezclas de enantiómeros, realizadas por Kuvichinskii y colaboradores en 1960¹³, Rossi e Ingrosso en 1969¹⁴, y Horeau y colaboradores en 1969¹⁵ y 1974¹⁶, fueron relativamente infructuosas.

Las metodologías de elección para la determinación de pureza enantiomérica en la actualidad, lo constituyen la cromatografía de gases, tanto sobre fases estacionarias ópticamente activas¹⁷ como por separación diastereomérica¹⁸, así como la resonancia magnética nuclear en solventes ópticamente activos¹⁹ o con la ayuda de reactivos quirales de desplazamiento²⁰⁻²².

Con el objeto de demostrar la hipótesis de que la rotación específica de una mezcla enantiomérica es proporcional a la cantidad relativa de aquel enantiómero que se encuentra en exceso (la cual está definida matemáticamente por la Ecuación 1), y en consecuencia proponer un método polarimétrico eficiente para la determinación de pureza enantiomérica, se estudió el comportamiento rotacional óptico de varias mezclas de diferente proporción isomérica, para cada uno de los cuatro sistemas investigados constituidos por pares enantioméricos, para determinar la correlación existente entre la composición porcentual de dichas mezclas binarias y su actividad óptica.

Materiales y Métodos

Los cuatro sistemas investigados estuvieron constituidos de las siguientes parejas enantioméricas† (1):

1. $D-(+)$ – y $L-(-)$ – Triptófano
2. $D-(-)$ – y $L-(+)$ – Arabinosa
3. Ácidos $D-(-)$ – y $L-(+)$ – Mandélico
4. Ácidos $D-(-)$ – y $L-(+)$ – Tartárico

Las rotaciones ópticas se determinaron en un Polarímetro Hilger & Watts (0-360°) con una lámpara de vapor de sodio† (2).

El procedimiento empleado fue el siguiente:

Se dedujo el modelo matemático, fundamentado en aspectos geométricos de la actividad óptica de las mezclas enantioméricas²³.

* Químico

** Químico. Depto. Química General
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia

† 1 Merck Centroamericana.

† 2 Departamento de Análisis Instrumental de la
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Se prepararon cuantitativamente 15 mezclas enantioméricas para cada sistema investigado, por el método de las variaciones continuas²⁴ (a partir de soluciones patrón de cada uno de los isómeros puros), determinándoles posteriormente su rotación óptica.

A partir de los valores de rotación óptica obtenidos, se calcularon las rotaciones específicas de las mezclas y se cuantificó el porcentaje de cada enantiómero por medio de la Ecuación 1.

Debido a que el modelo se fundamenta en la ecuación de una línea recta, se realizó un análisis estadístico por medio del coeficiente de correlación r , de determinación r^2 , la prueba t y un análisis de error relativo en la cuantificación de cada enantiómero, para calificar al modelo; y un coeficiente de correlación medio $\bar{r}$, de determinación medio $\bar{r}^2$, una prueba de t con $\bar{r}$, y un análisis de error relativo total, para calificar al método.

ECUACION 1

$$\text{o/o I} = \frac{(\alpha)_m}{(\alpha)_I} \cdot 50 + 50$$

o/o I es la Pureza Enantiomérica del isómero I en la mezcla, $(\alpha)_m$ la rotación específica de la mezcla enantiomérica, y $(\alpha)_I$ la rotación específica del isómero I puro.

Resultados y Discusión

TABLA No. 1: Rotaciones específicas de las diferentes mezclas enantioméricas para cada sistema investigado.

No.	VD	VI	VF	$(\alpha)_{\text{corr}_1}$	$(\alpha)_{\text{corr}_2}$	$(\alpha)_{\text{corr}_3}$	$(\alpha)_{\text{corr}_4}$
01	25	00	25	+31.818	-103.119	-154.382	-14.525
02	24	00	25	+32.381	-101.349	-158.091	-14.587
03	22	02	26	+24.884	-084.389	-126.789	-11.815
04	20	04	26	+20.412	-066.929	-101.221	-09.625
05	18	06	26	+14.626	-052.424	-075.363	-07.382
06	16	08	25	-----	-032.916	-048.927	-04.993
07	14	10	25	-----	-016.777	-024.069	-02.031
08	12	12	25	-----	+002.766	-000.658	+00.160
09	10	14	25	-----	+016.114	+028.804	+02.936
10	08	16	25	-----	+035.307	+064.319	+05.089
11	06	18	25	-14.836	+051.359	+079.046	+07.180
12	04	20	26	-20.623	+071.774	+106.718	+09.580
13	02	22	26	-27.133	+085.296	+132.707	+12.385
14	00	24	26	-31.276	+101.349	+158.091	+14.587
15	00	25	25	-31.818	+105.189	+156.981	+14.560

No. es el número de identificación de la mezcla, Vd el volumen del isómero D en la mezcla, VI el volumen del isómero L en la mezcla, VF el volumen final de aforo, y $(\alpha)_{\text{corr}}$ la rotación específica corregida, indicando los subíndices, 1 el sistema D - (+) - y L - (-) - Triptófano, 2 el sistema D - (-) - y L - (+) - Arabinosa, 3 el sistema Ácidos D - (-) - y L - (+) - Mandélico, y 4 el sistema Ácidos D - (-) - y L - (+) - Tartárico.

ECUACION 2

$$(\alpha)_m = \frac{\alpha_m}{LC_T}$$

$(\alpha)_m$ es la rotación específica de la mezcla enantiomérica, α_m la rotación óptica observada de la mezcla, L la longitud de la celda de contención, y C_T la concentración total de ambos enantiómeros.

ECUACION 3

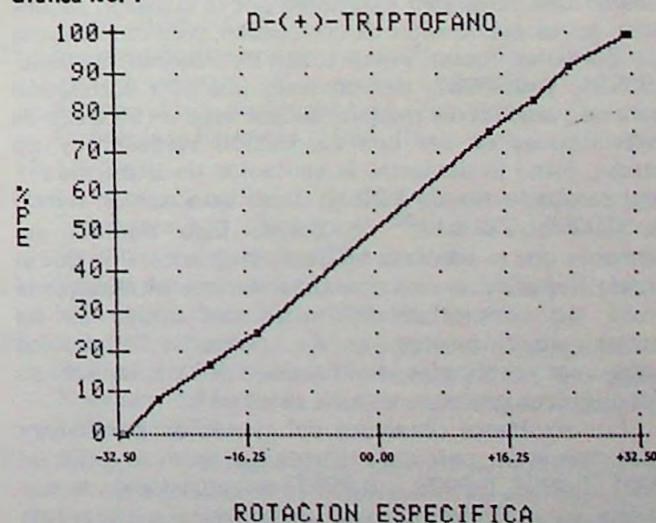
$$(\alpha)_{\text{corr}} = (\alpha)_m - \frac{(\alpha)_d + (\alpha)_l}{2}$$

$(\alpha)_{\text{corr}}$ es la rotación específica corregida de la mezcla, $(\alpha)_m$ la rotación específica de la mezcla enantiomérica, y $(\alpha)_d$ y $(\alpha)_l$ las rotaciones específicas de cada isómero.

Las rotaciones específicas calculadas (Tabla No. 1), obtenidas de las rotaciones ópticas experimentales, a través de la Ecuación 2, y corregidas por la Ecuación 3, para las diferentes mezclas de cada sistema enantiomérico, describieron tal y como se esperaba, una variación en su magnitud, congruente con las características del enantiómero más abundante, es decir que a medida que disminuyó la cantidad del isómero dextrógiro (y consecuentemente aumentó la del levógiro, como lo establece el método de las variaciones continuas), la magnitud de la rotación específica de la mezcla también disminuyó hasta un valor casi cero, cuando se alcanzó el estado de mezcla racémica (Ver Tabla No. 1, muestra No. 8) convirtiéndose en valores negativos, en la misma proporción en que el isómero levógiro se encontraba en exceso, evidenciándose cualitativamente la hipótesis propuesta.

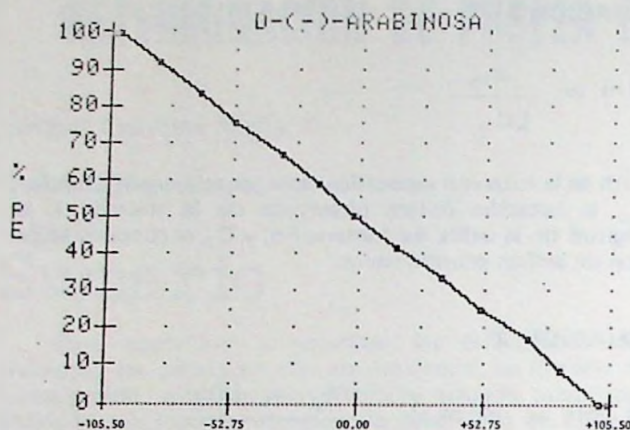
Al enfrentar gráficamente los valores de pureza enantiomérica real de las mezclas, contra las rotaciones

Gráfica No. 1



13.08. a Línea Experimental para la cuantificación del D-(+)-Triptófano

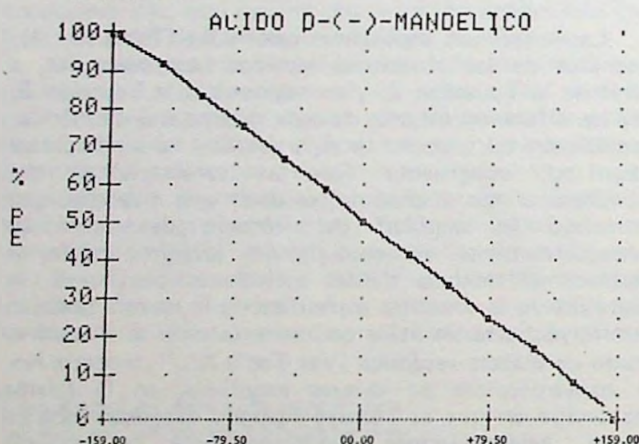
Gráfica No. 2



ROTACION ESPECIFICA

13.08.c Línea Experimental para la cuantificación de la D-(-)-Arabinosa

Gráfica No. 3



ROTACION ESPECIFICA

13.08.e Línea Experimental para la cuantificación del Ácido D-(-)-Mandélico

específicas experimentales (Gráficas No. 1 a No. 4), se observó una linealidad explicable por la ecuación de una recta, cuyos coeficientes de correlación, para cada sistema enantiomérico fueron en su orden de 0.99956, 0.99980, 0.99991, y 0.99981, demostrando una alta correlación entre las variables del modelo, la cual tiene un 99.5 o/o de probabilidades de ser una correlación verdadera y no azarosa, como lo demostró la aplicación de la prueba t^{25} cuyo resultado fue de 5.28 en todos los sistemas, siendo $t_{\alpha} (0.0005, 28 \text{ g.l.})^{26} = 3.674$. Esto significa no solamente que se acepta la hipótesis propuesta, sino que el modelo deducido es una aproximación cuantitativamente precisa del comportamiento rotacional óptico de las mezclas enantioméricas, y sus pequeñas diferencias pueden ser explicadas en función de los equilibrios fisicoquímicos presentes en cada sistema²³.

Los resultados obtenidos del cálculo del coeficiente de determinación, para cada sistema fueron en su orden de 0.9991, 0.9996, 0.9998, y 0.9997 respectivamente, lo que significa que el modelo es capaz de predecir y explicar más del 99.9 o/o de los casos analizados.

La evaluación del error relativo entre los de pureza enantiomérica real y los calculados experimentalmente por el modelo propuesto fueron en su orden, de + 2.10 o/o, -0.47 o/o, +0.77 y + 0.02 o/o, lo que pone de manifiesto su exactitud en tres de los casos, dentro del límite analítico tolerable, y en el otro, atribuible a las contribuciones al error relativo en la determinación de concentraciones tan pequeñas como $8 \times 10^{-4} \text{ g/ml}$, a las cuales las técnicas polarimétricas son poco sensibles.

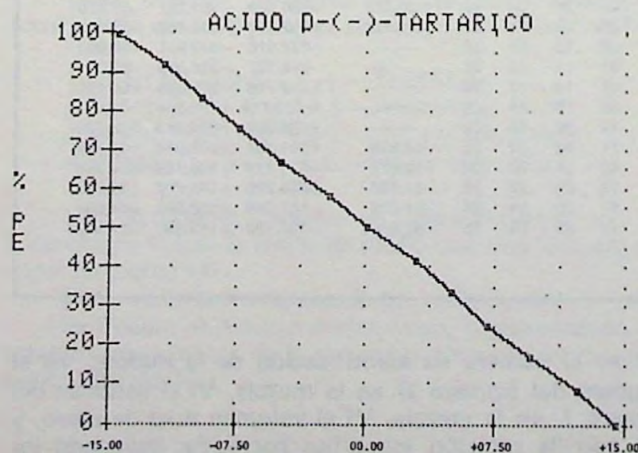
El cálculo de un coeficiente de correlación medio, cuyo valor fue de $0.99977 \pm \sigma = 0.00013$, demostró que el método es sumamente preciso, así como capaz de explicar el 99.95 o/o de los casos analizados, como lo demuestra el coeficiente de determinación medio obtenido, de $0.99955 \pm \sigma = 0.00027$. Además, se pudo establecer que el método es exacto como lo demuestra la evaluación del error relativo total, cuya magnitud fue de $+0.25 \text{ o/o} \pm \sigma = 0.80 \text{ o/o}$, dentro de los límites de concentración detectables por el polarímetro. La aplicación de la prueba t , a través del coeficiente de correlación medio, proporcionó idénticos resultados que en los sistemas individuales, por lo que se demuestra que el método propuesto es estadísticamente válido y significativo.

La aplicación del modelo propuesto, a los resultados de rotación específica obtenidos por Pirkle²⁷ para la determinación de pureza enantiomérica por Resonancia Magnética Nuclear (como una comparación indirecta de la metodología propuesta con una de las más utilizadas en la actualidad), evidenció la identidad en los resultados por ambos métodos, para este tipo de análisis, demostrándose así, la potencialidad analítica del modelo matemático objeto de esta investigación.

Conclusiones y Recomendaciones

Se comprobó la hipótesis planteada, por lo que la rotación específica de una mezcla enantiomérica es proporcional a la cantidad relativa de aquel enantiómero que se encuentra en exceso, lo que permite el análisis de pureza enantiomérica por medio de la Ecuación 1.

Gráfica 4



ROTACION ESPECIFICA

13.08.g Línea Experimental para la cuantificación del Ácido D-(-)-Tartárico

Tanto el modelo matemático como el método, propuestos, son precisos, exactos, estadísticamente válidos y significativos, como lo demuestra el análisis del coeficiente de correlación, del error relativo, del coeficiente de determinación y de la prueba *t*, respectivamente, aplicados a los resultados tanto de los sistemas en antioméricos individuales como a la experimentación completa.

Se recomienda investigar la posibilidad de establecer un modelo y un método de Análisis de Pureza Heteroisomérica de mezclas binarias por Polarimetría, fundamentado en modificaciones al modelo matemático propuesto y demostrado en esta investigación.

Agradecimientos

A la Licenciada Paula Castellanos Fernández.

Referencias

- Kaufman G, Myers R. The Resolution of Racemic Acid. A Classic Stereochemical Experiment for Undergraduate Laboratory. *J Chem Educ* 1975; 52 (12): 779. <https://doi.org/10.1021/ed052p777>
- Klages F. Tratado de Química Orgánica. Beltran J, trad. España: Reverte, Vols. 3, Vol. 2, 1969. (p. 521,595).
- Lederer E, Lecerer M. Cromatografía. Villalonga F, trad. Argentina- El Ateneo 1960. (p. 456,457).
- Haas H, De Vries T, Jaffé H. Methods for Resolution of Enantiomorphs. II. Chromatographic Adsorption. *J Am Chem Soc* 1943; 65: 1486-1488. <https://doi.org/10.1021/ja01248a017>
- Cook A, Cox S, Farmer T. Antibiotics Produced by Fungi, and a New Phenomenon in Optical Resolution, *Nature* 1948; 162:61. <https://doi.org/10.1038/162061a0>
- Curtí R, Colombo U. Chromatography of Stereoisomers with "Tailor Made" Compounds. *J Am Chem Soc* 1952; 74: 3961. <https://doi.org/10.1021/ja01135a527>
- Bradley W, Brindlwy R. Selective Adsorption of Optical Antipodes by Proteins. *Nature* 1954; 3 73 (4398): 312-313. <https://doi.org/10.1038/173312b0>
- Gil-Av E. Present Status of Enantiomeric Analysis by Gas Chromatography. *J Mol Evol* 1975; 6(2): 131-144. <https://doi.org/10.1007/BF01732293>
- Lindner W. HPLC Separation of Enantiomers on Bonded Chiral- Phases *Naturwissenschaften* 1980 67(7): 354-356. <https://doi.org/10.1007/BF01106592>
- Doskočilová D, Schneider B. Nuclear Magnetic Resonance of the Meso and *d/l* Isomers of Dimethylglutarate-2,4-Diphenylpentane, *J Polymer Sci, Pt B* 1965; 3(3). 213-219. <https://doi.org/10.1002/pol.1965.110030312>
- Raban M, Misiow K. Determination of Optical Purity by NMR Spectroscopy I. Compounds Owe their Dissymmetry to Substitution. *Tetrahedron Lett* 1966;33: 3961-3966. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)70010-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)70010-4)
- Pirkle W, Beare S. NMR Spectroscopy in Optically Active Solvents. V. Determination of Absolute Configuration of (+) - Hydroxy - Trifluoromethyl Phenylacetic Acid. *Tetrahedron Lett* 1968- 21:2579-2582. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(00\)89701-4](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)89701-4)
- Shugar A, Kuvichinskii N. Application of the Method of Addition in Polarimetry. *Dokl Mosk Sel'skhoz Akad im K A Timiryazeva* 1960; 57:153-154. *Chem Absts* 1963; 58:14280b.
- Róssi R, Ingrosso, G. Preparation of Unsaturated Secondary and Tertiary Aliphatic Amines and Determination of the Relation between Rotatory Power and Optical Purity. *Gazz Chim Ital* 1968;98(7): 866-883.
- Horeau A. Interactions between Enantiomers in Solution; Effect of the Rotatory Power. Optical Purity and Enantiomeric Purity. *Tetrahedron Lett* 1969; 36:31213124. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)88364-7](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)88364-7)
- Guette J, Boucherot D, Horeau A. Interactions of Diastereoisomers of Enantiomers in the Liquid Phase. III. Non Linear variations of Rotatory Power of Certain Complexes of Chiral Coordinates as a Function of Enantiomeric Composition of these Coordinates. *C R Acad Sci, Ser C* 1974; 278(20): 1243-1245.
- Bonner W. Enantiomeric Markers in the Quantitative Gas Chromatographic Analysis of Optical Isomers. Application to the Estimation of Amino Acids Degradation. *J Chromatogr Sci* 1973; 11(2): 101-104. <https://doi.org/10.1093/chromsci/11.2.101>
- Guette J, Horeau A. Determination of the Optical Purity and the Value of the Rotatory Power of Racemic Constituents by Gas Phase Chromatography. *Tetrahedron Lett* 1965; 34:3049-3056. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)89257-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)89257-1)
- Pirkle W, Burlingame T. Nonequivalence of the NMR Spectra of Enantiomers in Optically Active Solvents 111. *Tetrahedron Lett* 1967; 41:4039-4042. [https://doi.org/10.1016/S0040-4039\(01\)89733-1](https://doi.org/10.1016/S0040-4039(01)89733-1)
- Kainosho M, Ajisaka A, Pirkle W, Beare S. The Use of Chiral Solvents or Lanthanide Shift Reagents to Distinguish Meso from *d-* or *l-* Diastereomers. *J Am Chem Soc* 1972; 94(16): 5924-5926. <https://doi.org/10.1021/ja00771a082>
- Peterson M, Wahl G. Lanthanide NMR Shift Reagents. A Powerful New Stereochemical Tool, *J Chem Educ* 1972; 49(12): 790-793. <https://doi.org/10.1021/ed049p790>
- McCreary M, Lewis D, Wernick D, Whitesides G. Determination of Enantiomeric Purity Using Chiral Lanthanide Shift Reagents. *J Am Chem Soc* 1974; 96(4): 1038-1054. <https://doi.org/10.1021/ja00811a016>
- Molina SE. Determinación de Pureza Enantiomérica por Polarimetría. Guatemala: Universidad de San Carlos, (Tesis de Graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia (1984. III +- 173p. (p. 77-84, 111-113).

24. León A, Paredes J. Manual de Laboratorio de Fisicoquímica. Guatemala: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, 1979. (p. 84).
25. Spiegel M. Probabilidad y Estadística. Ozuna J, trad. México: McGraw-Hill, 1976. (P. 266).
26. Steel R, Torrie J. Principles and Procedures of Statistics with Special Reference to the Biological Sciences. New York: McGraw-Hill Book Company, 1960. (p. 433).
27. Pirkle W. The Nonequivalence of Physical Properties of Enantiomers in Optically Active Solvents Differences in Nuclear Magnetic Resonance Spectra J Am Chem Soc 1966; 88(8): 1837.
<https://doi.org/10.1021/ja00960a060>

Copyright (c) 1985 Sergio Enrique Mejía y Pedro Liska Kucera



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

[Resumen de licencia](#) - [Texto completo de la licencia](#)