

DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE EQUILIBRIO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO EN MEDIO ACUOSO POR POLARIMETRÍA

EQUILIBRIUM CONSTANTS DETERMINATION OF ASCORBIC ACID IN AQUEOUS MEDIUM BY POLARIMETRY

**Lucero Hernández-García¹, Alberto Rojas-Hernández¹, María T. Ramírez-Silva¹,
Giaan A. Álvarez-Romero², Manuel E. Palomar-Pardavé³**

(1) Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Departamento de Química, Área de Química Analítica, San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Iztapalapa, 09340, Ciudad de México – México

(2) Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, 42184 Mineral de la Reforma, Pachuca, Hidalgo – México

(3) Universidad Autónoma Metropolitana-Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Área Ingeniería de Materiales, Av. San Pablo 180, Col Reynosa Tamaulipas, 02200, Ciudad de México – México
(e-mail: luzhg2609@gmail.com)

Recibido: 19/09/2016 - Evaluado: 20/10/2016 - Aceptado: 05/11/2016

RESUMEN

En este trabajo se determinan las constantes de acidez del ácido ascórbico (AA) por polarimetría, mediante una titulación ácido-base. Los resultados obtenidos por esta técnica se procesaron mediante el ajuste de los ángulos de rotación medidos como función del pH, utilizando para el ajuste las leyes de Biot y de aditividad para los ángulos de rotación. Se realizaron ajustes de partes seleccionadas de la función, tanto por regresión no lineal como por regresión lineal. Los valores más confiables obtenidos son $pK_{a1} = 4.149 \pm 0.022$ y $pK_{a2} = 11.927 \pm 0.062$, por regresión no lineal de los datos a $\lambda = 578$ nm, con desviaciones estándar de la regresión de 0.046° y 0.075° , respectivamente. Estos valores son comparables con los valores reportados con otras técnicas.

ABSTRACT

In this work, the acid constants of ascorbic acid (AA) by polarimetry, with a base titration of the acid, are determined. The results obtained by this technique were processed by adjusting the rotation angles measured as a function of the pH, using for the fitting the Biot and additivity laws for this property. Non-linear and linear regression models were applied. The most reliable values obtained were $pK_{a1} = 4.149 \pm 0.022$ and $pK_{a2} = 11.927 \pm 0.062$, achieved by non-linear regression of the data acquired to $\lambda = 578$ nm, with standard deviations for the fit equal to 0.046° and 0.075° , respectively. These values are comparable with those reported using other techniques.

Palabras clave: polarimetría, actividad óptica, ecuación de tipo Henderson-Hasselbalch, constantes de acidez
Keywords: polarimetry, optical activity, Henderson-Hasselbalch equation, acidity constants

INTRODUCCIÓN

El ácido ascórbico es un antioxidante muy soluble en agua, también conocido como vitamina C. Como el cuerpo humano no puede producirla de manera natural ni almacenarla, se tiene que ingerir de alimentos, incluyendo frutas cítricas, brócoli y tomates, entre otros. Sus propiedades antioxidantes, dado que es un agente reductor (Borsook *et al.*, 1937), bloquean parte del daño causado al ADN por los radicales libres. La acumulación de radicales libres en el tiempo puede contribuir al proceso de envejecimiento y el desarrollo de las condiciones de salud como el cáncer, las enfermedades del corazón, y la artritis (Audera *et al.*, 2001).

El ácido ascórbico es diprótico. La Figura 1 muestra una representación de los equilibrios sucesivos de acidez del ácido ascórbico (H_2Asc).

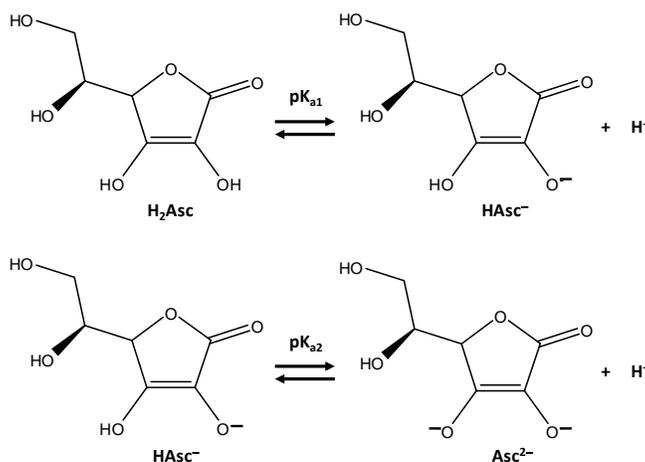


Fig. 1: Equilibrios sucesivos de acidez del ácido ascórbico (H_2Asc).

Por otra parte, la vitamina C es una sustancia ópticamente activa, y es por eso que sus soluciones acuosas hacen girar el plano de la luz polarizada plana un cierto ángulo (ϕ). Es posible medir el ángulo de rotación en este tipo de sistemas, que idealmente cumplen la ley de Biot, la cual se muestra en la ecuación (1):

$$\phi_{(\lambda)} = {}_X [\Phi]_{(\lambda)}^T \cdot l \cdot C_X \quad (1)$$

donde:

ϕ : representa el ángulo de rotación del plano de la luz polarizada plana, que normalmente se expresa en grados sexagesimales ($^\circ$)

λ : representa la longitud de onda de la luz monocromática polarizada plana que se hace incidir en el sistema

X : representa la sustancia ópticamente activa por la cual rota el plano de la luz polarizada plana

T : representa la temperatura absoluta a la que se encuentra el sistema

l : representa la longitud de paso óptico, que normalmente se expresa en decímetros (dm) en esta técnica

C_X : concentración molar de la sustancia ópticamente activa (X).

${}_X [\Phi]_{(\lambda)}^T$: representa la rotación molar (que se expresa en unidades $^\circ \cdot L \cdot mol^{-1} \cdot dm^{-1}$; o bien, $^\circ \cdot dm^2 \cdot mol^{-1}$), la cual depende la temperatura del sistema, de la longitud de onda del rayo de luz monocromática (λ) que se hace incidir sobre el mismo y de la sustancia X que se encuentra en él.

Operacionalmente, la rotación molar sería el ángulo de rotación del plano de la luz polarizada cuando atraviesa el mismo un paso óptico de 1 dm y la sustancia tuviera una concentración igual a $1 \text{ mol} \cdot L^{-1}$.

Si en la ley de Biot se expresa la concentración de la especie ópticamente activa en unidades de g mL^{-1} , el coeficiente (que depende de T , λ y X) se conoce como rotación específica de la sustancia, y se utiliza para ella el símbolo: $[\alpha]_{(\lambda)}^T$. La rotación específica del ácido ascórbico, en agua y a una temperatura de 25°C , es $+21.5^\circ$

(aunque es común que se reporten las unidades de la rotación específica como grados sexagesimales; por definición, sus unidades son: $^\circ\cdot\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dm}^{-1}$), usando luz polarizada plana de longitud de onda igual a 589.3 nm (US Pharmacopeia, longitud de onda de la línea D de sodio). Es por eso que el H_2Asc es una sustancia dextrógira (gira el plano de la luz polarizada plana en el sentido de las manecillas del reloj).

Recientemente Lintrhost y Wal-Veuger (2014), publicaron un trabajo en el que midieron los ángulos de rotación de una solución de ácido ascórbico como función del pH. La representación gráfica de esas mediciones exhibe dos funciones tipo sigmoide, como se muestra en la Figura 2, lo que interpretaron como una prueba de que el ácido ascórbico (H_2Asc) tiene dos constantes de acidez. Estas sigmoides son iguales a las que se presentan en el caso de cualquier propiedad que depende linealmente de las concentraciones de las especies que participan en equilibrios ácido-base (Rodríguez-Barrientos *et al.*, 2009). Algunas de estas propiedades son las absorbancias, los desplazamientos químicos de diferentes núcleos o las movilidades electroforéticas.

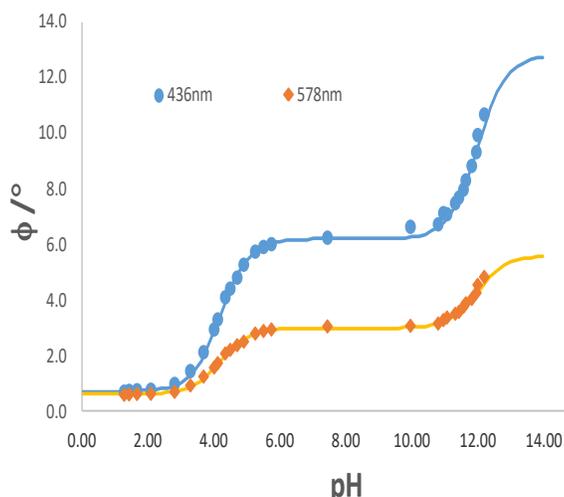


Fig. 2: Curvas de ángulo de rotación como función del pH para las soluciones de ácido ascórbico de concentración total (C_{AA}) igual a 0.2M , a dos longitudes de onda diferentes. Los marcadores representan los resultados experimentales en tanto que la línea continua se calculó con el modelo propuesto (ver el texto).

Es por ello que en el caso de la polarimetría también debe cumplirse idealmente una ley de aditividad de los ángulos de rotación que ocasiona cada especie, como se muestra en la ecuación (2); aunque esta ley de aditividad ha sido muy poco documentada en libros de nivel licenciatura.

$$\phi_{(\lambda)} = X\phi_{(\lambda)} + Y\phi_{(\lambda)} + Z\phi_{(\lambda)} + \dots \quad (2)$$

donde X , Y , Z son sustancias ópticamente activas en el sistema.

A partir de la Ecuación 2 ya no se usará el superíndice para la temperatura, para simplificar la notación en las ecuaciones subsecuentes.

Es así que el objetivo de este trabajo es determinar los valores de pKa_1 y pKa_2 del ácido ascórbico en solución acuosa por medio de mediciones polarimétricas.

METODOLOGÍA

Valoración ácido-base

En un matraz aforado de 250 mL se preparó una solución madre, 0.4M de ácido L-ascórbico (Droguería Cosmopolita, 99%) con agua desionizada (tipo I, 18.2 M Ω -cm), a temperatura ambiente (20°C).

Para la valoración ácido-base se preparó una solución de HCl (Mallinckrodt, 37%) 0.1M y otra de NaOH (J.T Baker, 98%) 1.4M, ambas en 250mL en medio acuoso.

Varias soluciones acuosas de ácido ascórbico se prepararon, a una concentración total $C_{A4} = 0.2M$. Para ello, a un matraz volumétrico (KIMAX, tipo A) de 10.00 mL se agregaron 5.000 mL de la solución madre de ácido ascórbico, 2.000 mL de la solución 0.1 M de HCl y diferentes volúmenes de la solución de NaOH 1.4 M (de 0.000 a 3.000 mL con incrementos de volumen de 0.1 mL); llevando a la marca del matraz, el volumen total, con agua desionizada. Los volúmenes se agregaron con una pipeta de volumen variable (500 a 5000 μ L, Transferpette, Brand).

La vitamina C es una sustancia estable en ausencia de humedad, pero expuesta al aire y a la luz, se oxida con facilidad, más aún si se expone al calor y a un pH alcalino. Por lo anterior, para determinar las constantes de acidez del H_2Asc se agrega primero el HCl a los sistemas. De esta manera se logró obtener mejores resultados y llegar a valores de pH más altos. Además, las soluciones fueron preparadas al momento de medir el ángulo de rotación para evitar errores y problemas con la oxidación.

Mediciones del ángulo de rotación de la luz polarizada plana

Las mediciones se realizaron en un polarímetro modelo 341 (Perkin Elmer) equipado con una lámpara de mercurio, así como una celda de capacidad igual a 5 mL y longitud de paso óptico de 1 dm. Se hicieron mediciones del ángulo de rotación a dos longitudes de onda: 436 nm y 578 nm.

Tratamiento matemático de los datos

Los ajustes de regresión lineal fueron realizados con una hoja de cálculo de Excel, de la aplicación Office 2007 elaborada para tal efecto. Los ajustes de regresión no lineal fueron obtenidos con el programa Minitab16.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 2 se muestran las curvas del ángulo de rotación para las dos longitudes de onda estudiadas en este trabajo, como una función del pH; los marcadores representan los valores determinados experimentalmente en tanto que las líneas continuas corresponden a un modelo en el que se supone el cumplimiento de las leyes ideales (Rodríguez-Barrientos *et al.*, 2009) de rotación óptica. Dicho modelo se presenta a continuación.

Modelo propuesto para el ajuste de los datos de polarimetría

Considerando que el ángulo de rotación del plano de la luz polarizada plana de las soluciones acuosas de ácido ascórbico cumple con la ley de aditividad (Ecuación 2)

$$\phi_{(\lambda)} = {}_{H_2Asc} \phi_{(\lambda)} + {}_{HAsc^-} \phi_{(\lambda)} + {}_{Asc^{2-}} \phi_{(\lambda)} = \sum_{i=0}^2 {}_{H_iAsc^{(2-i)-}} \phi_{(\lambda)} \quad (3)$$

donde:

${}_{H_iAsc^{i-}} \phi_{(\lambda)}$ representa la contribución de cada especie al ángulo de rotación del sistema.

Considerando ahora que cada término del miembro derecho de la Ecuación 3 cumple con la ley de Biot, se tiene la Ecuación 4.

$${}_{H_iAsc^{(2-i)}}\phi_{(\lambda)} = {}_{H_iAsc^{(2-i)}}[\Phi]_{(\lambda)} \ell[H_iAsc^{(2-i)}] \quad (4)$$

donde:

$$i \in \{0, 1, 2\}$$

$[H_iAsc^{(2-i)}]$ representa la concentración de equilibrio de cada una de las especies del ácido ascórbico al pH de la solución.

${}_{H_iAsc^{(2-i)}}[\Phi]_{(\lambda)}$ representa la rotación molar de cada especie del ácido ascórbico en el sistema.

La ecuación de balance de componente para el ácido ascórbico en las soluciones acuosas se puede escribir como lo establece la Ecuación 5.

$$C_{AA} = [H_2Asc] + [HAsc^-] + [Asc^{2-}] \quad (5)$$

donde:

C_{AA} representa la concentración total del ácido ascórbico en el sistema, que en este trabajo es 0.2 M.

$[H_iAsc^{(2-i)}]$ representa la concentración de equilibrio de cada una de las especies del ácido ascórbico al pH de la solución.

Por lo tanto, a partir de la Ecuación 5 se pueden definir las fracciones molares de las especies del ácido ascórbico en el sistema, de acuerdo al conjunto mostrado en la Ecuación (6).

$$f_o = f_{Asc^{2-}} \equiv \frac{[Asc^{2-}]}{C_{AA}}, \quad f_1 = f_{HAsc^-} \equiv \frac{[HAsc^-]}{C_{AA}}, \quad f_2 = f_{H_2Asc} \equiv \frac{[H_2Asc]}{C_{AA}} \quad (6)$$

Como es bien sabido, las fracciones molares de las especies del ácido ascórbico pueden escribirse como función del pH (Rodríguez-Barrientos *et al.*, 2009), de acuerdo al conjunto mostrado en la Ecuación 7.

$$f_o = f_{Asc^{2-}} = \frac{1}{1 + 10^{(pK_{a2}-pH)} + 10^{(pK_{a1}+pK_{a2}-2pH)}} \quad (7)$$

$$f_1 = f_{HAsc^-} = \frac{10^{(pK_{a2}-pH)}}{1 + 10^{(pK_{a2}-pH)} + 10^{(pK_{a1}+pK_{a2}-2pH)}}$$

$$f_2 = f_{H_2Asc} = \frac{10^{(pK_{a1}+pK_{a2}-2pH)}}{1 + 10^{(pK_{a2}-pH)} + 10^{(pK_{a1}+pK_{a2}-2pH)}}$$

Despejando las concentraciones de equilibrio de las especies a partir del conjunto de la Ecuación 6 para sustituirlas en las Ecuaciones 4 y 3, se obtiene la Ecuación 8.

$$\begin{aligned} \phi_{(\lambda)} &= {}_{Asc^{2-}}[\Phi]_{(\lambda)} \ell f_{Asc^{2-}} C_{AA} + {}_{HAsc^-}[\Phi]_{(\lambda)} \ell f_{HAsc^-} C_{AA} + {}_{H_2Asc}[\Phi]_{(\lambda)} \ell f_{H_2Asc} C_{AA} = \\ &= f_{Asc^{2-}} ({}_{Asc^{2-}}[\Phi]_{(\lambda)} \ell C_{AA}) + f_{HAsc^-} ({}_{HAsc^-}[\Phi]_{(\lambda)} \ell C_{AA}) + f_{H_2Asc} ({}_{H_2Asc}[\Phi]_{(\lambda)} \ell C_{AA}) = \\ &= f_{Asc^{2-}} \{ {}_{Asc^{2-}}\Phi_{(\lambda)} \} + f_{HAsc^-} \{ {}_{HAsc^-}\Phi_{(\lambda)} \} + f_{H_2Asc} \{ {}_{H_2Asc}\Phi_{(\lambda)} \} \end{aligned} \quad (8)$$

donde:

$f_{H_2Asc} \Phi_{(\lambda)}$, representa la contribución de cada especie al ángulo de rotación del sistema si se encontrara a la concentración total, C_{AA} , del ácido ascórbico en el sistema.

Es por ello que se puede considerar que el ángulo de rotación del sistema, a cada pH, es un promedio ponderado de la contribución de cada especie al mismo, donde las fracciones molares de las especies son los pesos estadísticos de dicho promedio.

Además que en la Figura 2 se observa que el ajuste logrado con la ecuación 8 (mediante una hoja de cálculo de Excel 2007, de *Microsoft*[®]) es bueno, en la Tabla 1 se presentan los parámetros con los que se logra dicho ajuste gráfico.

Tabla 1: Parámetros de ajuste gráfico de los datos experimentales con la Ecuaciones 7 y 8, para las dos longitudes de onda utilizadas en este trabajo.

	$\lambda = 436 \text{ nm}$	$\lambda = 578 \text{ nm}$
pK_{a1}	4.2	
pK_{a2}	12.0	
$H_2Asc \Phi_{(436)} / ^\circ$	0.72	0.63
$HAsc^- \Phi_{(436)} / ^\circ$	6.20	3.00
$Asc^{2-} \Phi_{(436)} / ^\circ$	12.80	5.60

Ajuste no lineal de los resultados experimentales con el modelo propuesto

Aunque las mismas Ecuaciones 7 y 8 podrían utilizarse para realizar un ajuste de regresión no lineal de los resultados experimentales mostrados en la Figura 2, con el programa Minitab16 (con el que se contaba) no se puede realizar el refinamiento de más de cuatro parámetros en una misma función. Sin embargo, como los valores de pK_a están muy separados se pueden tratar los datos de la zona ácida como correspondientes a la presencia única del equilibrio con el valor de pK_{a1} en el sistema; en tanto que los datos de la zona básica se pueden considerar como asociados al equilibrio con el valor de pK_{a2} , como si fuera el único presente en el sistema.

Así, en este caso para los datos con $pH < 8$ se pueden considerar las Ecuaciones aproximadas 9, 10 y 11.

$$\text{si } pH < 8 \tag{9}$$

$$C_{AA} \approx [H_2Asc] + [HAsc^-]$$

$$f_{HAsc^-} \approx \frac{1}{1 + 10^{(pK_{a1} - pH)}} \tag{10}$$

$$f_{H_2Asc} \approx \frac{10^{(pK_{a1} - pH)}}{1 + 10^{(pK_{a1} - pH)}} \tag{10}$$

$$\phi_{(\lambda)} \approx f_{HAsc^-} \{ HAsc^- \Phi_{(\lambda)} \} + f_{H_2Asc} \{ H_2Asc \Phi_{(\lambda)} \} \tag{11}$$

En tanto que para el caso contrario ($\text{pH} > 8$) se pueden considerar las Ecuaciones aproximadas 12, 13 y 14.

si $\text{pH} > 8$

$$C_{AA} \approx [\text{HAsc}^-] + [\text{Asc}^{2-}] \quad (12)$$

$$f_{\text{Asc}^{2-}} \approx \frac{1}{1 + 10^{(\text{pK}_{a2} - \text{pH})}} \quad (13)$$

$$f_{\text{HAsc}^-} \approx \frac{10^{(\text{pK}_{a2} - \text{pH})}}{1 + 10^{(\text{pK}_{a2} - \text{pH})}} \quad (13)$$

$$\phi(\lambda) \approx f_{\text{Asc}^{2-}} \left\{ \text{Asc}^{2-} \Phi(\lambda) \right\} + f_{\text{HAsc}^-} \left\{ \text{HAsc}^- \Phi(\lambda) \right\} \quad (14)$$

En la Figura 3 se muestran las curvas obtenidas para el H_2Asc , separadas en dos intervalos de pH. En estas curvas se está considerando que, en el intervalo de pH de 1 a 8, el H_2Asc se disocia dando lugar solamente a la especie HAsc^- (como si no existiera el Asc^{2-} en el sistema); en tanto que de $\text{pH} = 8$ en adelante el HAsc^- se disocia a Asc^{2-} (como si no existiera el H_2Asc). También en la Figura 3 se muestra el ajuste de regresión no lineal para las curvas sigmoidales, a las longitudes de onda estudiadas en este trabajo, con el programa Minitab16. Los parámetros estadísticos de dicho ajuste se pueden ver en la Tabla 2. Hay que notar que en estos ajustes de regresión no lineal se están utilizando todos los puntos de la primera sigmoide (17 puntos) y de la segunda sigmoide (11 puntos).

La Figura 3 también muestra que, en todos los casos, el ajuste de regresión no lineal es adecuado, pero resulta mucho mejor para el valor de pK_{a1} . Esto se debe a que en medio básico el ácido ascórbico se descompone rápidamente, por lo que da una dispersión mucho mayor que en medio ácido.

Tabla 2: Parámetros de ajuste por regresión no lineal de los ángulos de rotación medidos en este trabajo, a las dos longitudes de onda estudiadas, para determinar los valores de pK_a del ácido ascórbico.

	$\lambda = 436 \text{ nm}$	$\lambda = 578 \text{ nm}$
pK_{a1}	4.138 ± 0.013^a	4.149 ± 0.022^c
pK_{a2}	12.016 ± 0.053^b	11.927 ± 0.062^d
$\text{H}_2\text{Asc} \Phi(\lambda) / ^\circ$	0.786 ± 0.026^a	0.658 ± 0.020^c
$\text{HAsc}^- \Phi(\lambda) / ^\circ$	6.182 ± 0.031^a 6.46 ± 0.12^b	3.020 ± 0.024^c 3.054 ± 0.062^d
$\text{Asc}^{2-} \Phi(\lambda) / ^\circ$	13.04 ± 0.26^b	5.63 ± 0.11^d

^a El valor de la desviación estándar de la regresión fue de 0.059° para 17 puntos

^b El valor de la desviación estándar de la regresión fue de 0.16° para 11 puntos

^c El valor de la desviación estándar de la regresión fue de 0.046° para 17 puntos

^d El valor de la desviación estándar de la regresión fue de 0.075° para 11 puntos

Ajuste los resultados experimentales a partir de funciones linealizadas

Las ecuaciones aproximadas 9 a 11 pueden desarrollarse algebraicamente para sustituir el cociente de concentraciones de equilibrio (de base y ácido conjugados) en la ecuación tipo Henderson-Hasselbalch del primer equilibrio sucesivo de acidez, con lo que se obtiene la Ecuación 15.

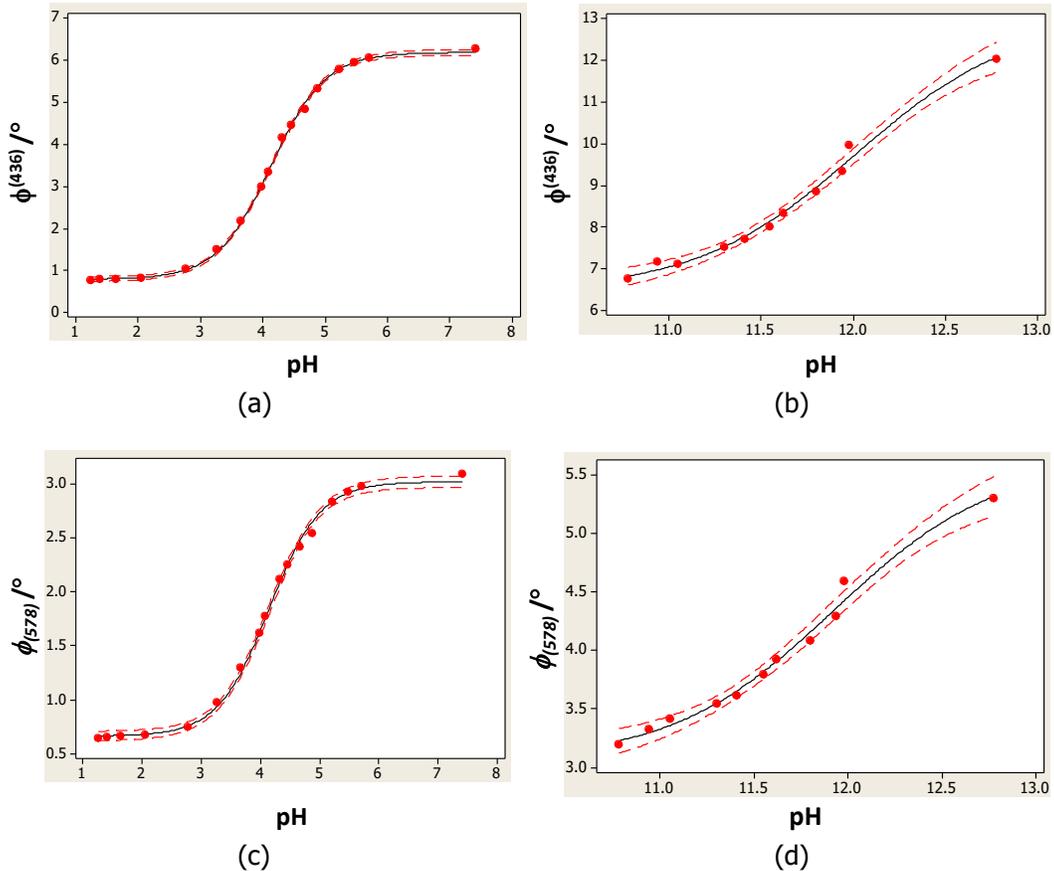


Fig. 3: Curvas de ángulo de rotación como función del pH. Los datos experimentales están representados por los marcadores y la línea continua el ajuste por regresión no lineal. Las líneas punteadas representan los límites del intervalo de confianza de la curva de regresión al 95% de nivel de significancia. (a) Valores de pH < 8 y $\lambda = 436$ nm. (b) Valores de pH > 8 y $\lambda = 436$ nm. (c) Valores de pH < 8 y $\lambda = 578$ nm. (d) Valores de pH > 8 y $\lambda = 578$ nm.

$$pH = pK_{a1} + \log \frac{[HAsc^-]}{[H_2Asc]} \approx pK_{a1} + \log \frac{H_2Asc \Phi_{(\lambda)} - \phi_{(\lambda)}}{\phi_{(\lambda)} - HAsc^- \Phi_{(\lambda)}} = pK_{a1} + \log Z_1 \quad (15)$$

De la misma forma, las ecuaciones aproximadas 12 a 14 y la ecuación tipo Henderson-Hasselbalch del segundo equilibrio sucesivo de acidez, dan lugar a la Ecuación 16.

$$pH = pK_{a2} + \log \frac{[Asc^{2-}]}{[HAsc^-]} \approx pK_{a2} + \log \frac{HAsc^- \Phi_{(\lambda)} - \phi_{(\lambda)}}{\phi_{(\lambda)} - Asc^{2-} \Phi_{(\lambda)}} = pK_{a2} + \log Z_2 \quad (16)$$

Así, al graficar el pH como función de $\log Z_1$ debería obtenerse una recta (con los datos experimentales que se encuentran en la gran variación de la sigmoide de pH < 8) y a partir de su ordenada al origen, se puede determinar el valor de pK_{a1} , si la pendiente de la recta es igual a 1. De igual forma, al graficar el pH como función de $\log Z_2$ debería obtenerse una recta (con los datos experimentales que se encuentran en la gran variación de la sigmoide de pH > 8) y a partir de su ordenada al origen, se puede determinar el valor de pK_{a2} , si la pendiente de la recta es igual a 1. Estos ajustes lineales se muestran en la Figura 4 y los parámetros estadísticos del ajuste en la Tabla 3.

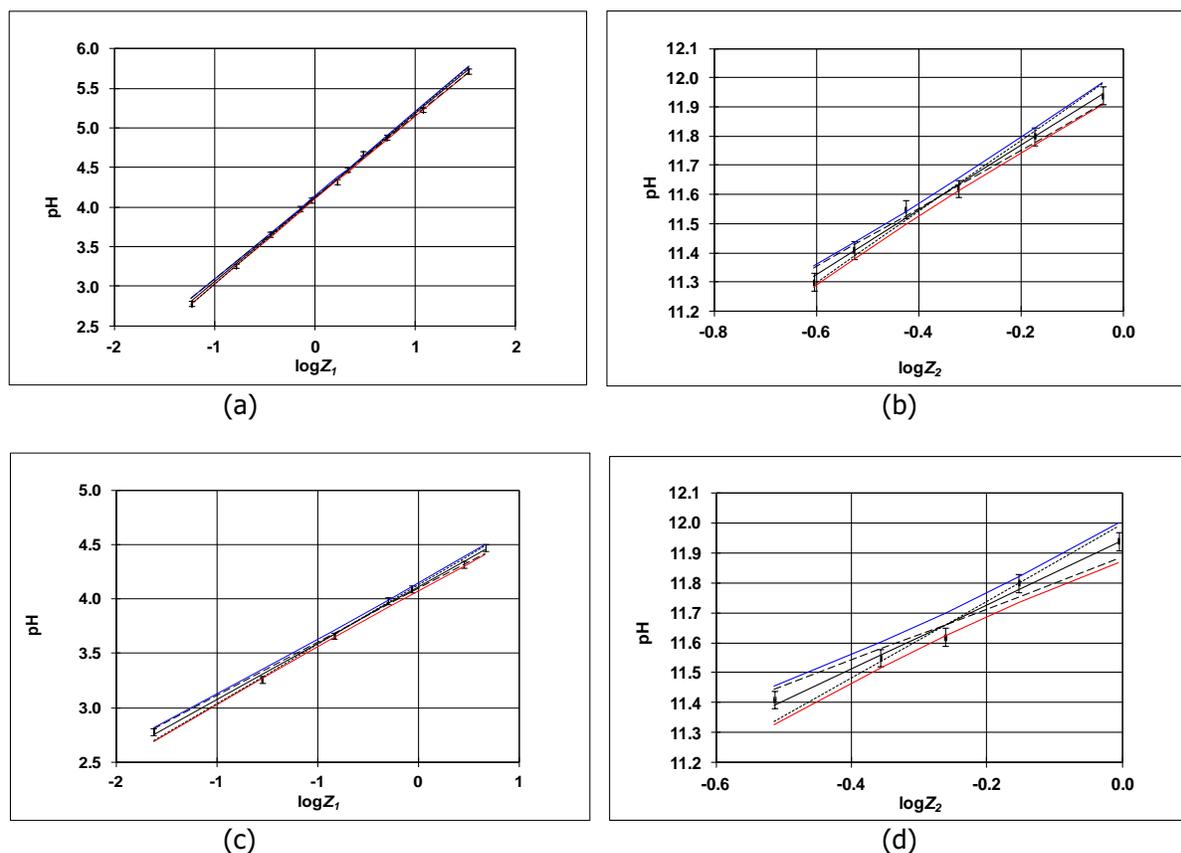


Fig. 4. Curvas linealizadas para obtener los valores de pK_a correspondientes al ácido ascórbico. Los marcadores representan los datos experimentales con sus barras de error. La línea continua (negra) representa el ajuste lineal en tanto que las ramas superior e inferior de la hipérbola (azul y rojo, respectivamente) representan los límites del intervalo de confianza de la curva de regresión al 95% de nivel de significancia. a) Curva correspondiente a la Figura 3a. b) Curva correspondiente a la Figura 3b. c) Curva correspondiente a la Figura 3c. d) Curva correspondiente a la Figura 3d.

Tabla 3: Parámetros para el ajuste de regresión lineal para determinar los valores de pK_a del ácido ascórbico.

	$\lambda = 436 \text{ nm}$	$\lambda = 578 \text{ nm}$
pK_{a1}	4.116 ± 0.009^a	4.108 ± 0.034^d
Pendiente 1	1.063 ± 0.025^a	1.035 ± 0.055^d
pK_{a2}	11.990 ± 0.017^b	11.940 ± 0.066^e
Pendiente 2	1.11 ± 0.11^b	1.07 ± 0.21^e
$H_2Asc \Phi_{(\lambda)} / ^\circ$	0.72^c	0.63^f
$HAsc^- \Phi_{(\lambda)} / ^\circ$	6.20^c	3.00^f
$Asc^{2-} \Phi_{(\lambda)} / ^\circ$	12.80^c	5.60^f

^a El valor de la desviación estándar de la regresión lineal fue de 0.028 para 11 puntos
^b El valor de la desviación estándar de la regresión lineal fue de 0.020 para 7 puntos
^c Estos valores se obtuvieron del ajuste gráfico, para calcular los valores de Z_1 y Z_2 (Ecs. 15 y 16)
^d El valor de la desviación estándar de la regresión lineal fue de 0.032 para 6 puntos
^e El valor de la desviación estándar de la regresión lineal fue de 0.030 para 5 puntos
^f Estos valores se obtuvieron del ajuste gráfico, para calcular los valores de Z_1 y Z_2 (Ecs. 15 y 16)

En la Figura 4 y en la Tabla 3 se observa cómo la tendencia lineal es peor en medio básico y para menos puntos que en medio ácido. Además, el cálculo de los valores de las variables Z_1 y Z_2 sólo puede hacerse si se estiman primero, gráficamente, los valores de los ángulos de rotación de las especies para la concentración C_{AA} , lo que impide calcular su incertidumbre por medio del algoritmo de regresión lineal utilizado. También cabe señalar que los datos que deben utilizarse en la regresión lineal son menos que en la no lineal, porque los datos de la meseta sólo propagan mucho la incertidumbre sobre las variables Z_1 y Z_2 . Por otra parte, la inestabilidad del ion ascorbato a la oxidación también hace que no se pueda usar el mismo número de puntos en cada longitud de onda, porque en algunas de ellas la propagación de la incertidumbre es mayor, lo que se manifiesta en un valor de la pendiente que se aleja mucho de la unidad (que sería el valor esperado).

Comparación de los resultados obtenidos con los reportados en la literatura

Con el fin de analizar la bondad de las propiedades determinadas para el ácido ascórbico en este trabajo, en la Tabla 4 se hace una comparación de los valores reportados en la literatura, tanto para los valores de pK_{a1} y pK_{a2} como para la rotación específica del ácido ascórbico.

De esta forma se puede constatar que el valor de pK_{a1} obtenido es excelente, considerando que la fuerza iónica de las soluciones de este trabajo es del orden de 0.2M.

Como ya se había hecho notar antes, el valor de pK_{a2} es el más incierto, y esto también se observa en la literatura, lo cual puede deberse a la baja estabilidad de la forma básica del ácido ascórbico.

Finalmente, la rotación específica obtenida es bastante plausible, considerando que la temperatura y la longitud de onda del valor reportado en la farmacopea de los Estados Unidos de América (USP) son ligeramente distintas a los que se usaron en este trabajo.

Tabla 4: Comparación de valores de pK_a y de rotación específica del ácido ascórbico obtenidos en este trabajo con los reportados en la literatura.

	Método gráfico	Regresión no lineal a $\lambda = 578$ nm	Valor reportado			
			US Pharmacopeia*	Speight (2005). I = 0.2M	Jameson y Blackburn (1976) I = 0.1M	Martínez <i>et al.</i> (1988) I = 0.1M
pK_{a1}	4.2	4.149 ± 0.022		4.17	4.045	
pK_{a2}	12.0	11.927 ± 0.062		11.57		11.3
$H_2Asc [\alpha]_{(598)}^{25}$ ^a	-	-	21.0 ± 0.5	-	-	-
$H_2Asc [\alpha]_{(578)}^{20}$ ^{a,b}	17.9	18.68 ± 0.57	-	-	-	-

^a Recuerde que la rotación específica está dada en las unidades $^{\circ}\cdot\text{mL}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{dm}^{-1}$

^b Calculadas a partir del valor $H_2Asc \Phi_{(578)}$ de las Tablas 1 y 2

* http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m6030.html

El tratamiento de los datos experimentales se llevó a cabo por dos métodos de ajuste (regresión no lineal y regresión lineal), utilizando las longitudes de onda de 436 y 578 nm, considerando el cumplimiento de las leyes de Biot y de aditividad para los ángulos de rotación del plano de la luz polarizada. Los resultados experimentales mostraron ser comparables con los reportados en la literatura por otros métodos.

CONCLUSIONES

Se utilizó la técnica de polarimetría para la determinación de las constantes de acidez del ácido ascórbico en solución acuosa mediante una valoración ácido-base (con efecto de dilución controlado), midiendo el ángulo de

rotación para cada valor de pH. Los experimentos se realizaron bajo condiciones de temperatura ambiente y realizando mediciones lo más rápidamente posible para minimizar la descomposición de la sustancia en medio básico.

Los valores de pK_a obtenidos de la forma anteriormente descrita complementan el trabajo de Linthorst y Wan-Veuger (2014), ya que se interpreta cuantitativamente la forma de la curva del ángulo de rotación como función del pH, considerando el cumplimiento de una ley de aditividad y apoyando la hipótesis de dichos autores de que las curvas sigmoides establecen la presencia de los valores de pK_a en el sistema y cambios en el comportamiento de las especies en disolución asociados a su grado de protonación. Estos aspectos cuantitativos son esenciales para la formación de los estudiantes de química ligada a la investigación, considerando la posibilidad de establecer la incertidumbre de los valores determinados experimentalmente.

La determinación polarimétrica de constantes de equilibrio es una alternativa poco conocida, que podría utilizarse en forma alternativa a la potenciometría, la polarografía, la espectrofotometría, etcétera; sea porque no siempre son aplicables, sea para confirmar valores obtenidos por dichas técnicas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento parcial de este trabajo al Programa de Desarrollo del Profesorado (PRODEP), de la Secretaría de Educación Pública (SEP), mediante la Red Nacional de Investigación en Química Analítica y Electroquímica (RedNIQAE); así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a través del proyecto 237997 y por la beca otorgada a LH-G para seguir estudios de Maestría en Ciencias Químicas.

REFERENCIAS

1. Audera, C., Patulny, R.V., Sander, B.H. & Douglas, R.M. (2001). Mega-dose vitamin C in treatment of the common cold: a randomised controlled trial. *Med. J. Aust.*, 175 (7) 359-362.
2. Borsook, H., Davenport, H.W., Jeffreys, C.E.P. & Warnerthe, R.C. (1937). The oxidation of ascorbic acid and its reduction in vitro and in vivo. *J. Biol. Chem.*, 117 (1) 237-279.
3. Jameson, R. & Blackburn, N. (1976). Role of copper dimers and the participation of copper(III) in the copper-catalysed autoxidation of ascorbic acid. Part II. Kinetics and mechanism in $0.100 \text{ mol dm}^{-3}$ potassium nitrate. *J. Chem. Soc. Dalton Trans.*, 6, 534-541.
4. Linthorst, J.A. & van der Wal-Veuger, J. (2014). Polarimetry and stereochemistry: the optical rotation of Vitamin C as a function of pH. *Educ. Quím.*, 25 (2) 135-138.
5. Martinez, P., Zuluaga, J., Kraft, J. & van Eldik, R. (1988). Kinetics and mechanism of the oxidation of L-ascorbic acid by trisoxalatocobaltate(III) in basic aqueous solution *Inorg. Chim. Acta*, 146, 9-12.
6. Rodríguez-Barrientos, D., Rojas-Hernández, A., Gutiérrez, A., Moya-Hernández, R., Gómez-Balderas, R. & Ramírez-Silva, M.T. (2009). Determination of pK_a values of tenoxicam from ^1H NMR chemical shifts and of oxicams from electrophoretic mobilities (CZE) with the aid of programs SQUAD and HYPNMR. *Talanta*, 80, 754-762.
7. Speight, J.G. (2005). *Lange's Handbook of Chemistry*, Cap. 8, 16ta ed. Nueva York: McGraw-Hill. ISBN 0-07 143220-5.

