



Observación del OH libre en agua e identificación de parámetros termodinámicos mediante espectroscopia de infrarrojo cercano

Tutor: Dr. Nicolás Spegazzini

Alumno: María Carolina Armellini

Matricula: 2480

Carrera: Licenciatura en Ciencias Químicas (1401)

Agradecimientos

A mi familia, por estar siempre presente y por su apoyo incondicional.

Al Dr. Nicolas Spegazzini, por aceptar dirigir esta tesina en un contexto por demás especial, por su experiencia y por todas las horas dedicadas a discutir y enriquecer este trabajo.

A mi hermana Giuliana, por la ayuda brindada en distintas etapas de este trabajo y por los consejos ofrecidos en momentos difíciles.

A Victoria, por haberme acompañado a lo largo de mi trayectoria universitaria y por el apoyo en momentos de mucha incertidumbre (que no fueron pocos).

A mis profesores, por su accesibilidad y disposición para transmitir sus conocimientos académicos y brindar consejos.

A mis compañeros, por haber hecho esta etapa de la vida más divertida y por su apoyo moral en momentos de crisis (e.g antes de los parciales/finales).

Índice de contenidos

Glosario	6
Listado de figuras	8
Listado de ecuaciones	9
Resumen	11
Capítulo 1. Introducción	13
1. Introducción	14
1.2. Objetivos	15
Capítulo 2. Fundamentos teóricos	17
2. Fundamentos teóricos	18
2.1 Enlace de hidrógeno en la molécula de agua	18
2.2 Equilibrio químico	19
2.3 Fundamentos de la espectroscopia vibracional	20
2.3.1. Oscilador armónico	21
2.3.2. Absorción de energía de acuerdo a la teoría de resonancia	22
2.3.3 Oscilador anarmónico	22
2.4 Región espectral de infrarrojo cercano (NIR)	24
Capítulo 3. Métodos	26
3. Métodos	27
3.1 Problema inverso	27
3.2 Expresión matricial de la ley de Lambert-Beer	28
3.3 Espectroscopia de derivadas	28
3.4 Análisis espectroscópico en 2-dimensiones (2D correlation spectroscopy analysis)	30
3.5 Determinación de observables, análisis dinámicos de autovalores	30
3.6 Resolución de curvas por mínimos cuadrados alternantes	31
Capítulo 4. Procedimientos experimentales	34
4. Procedimientos experimentales	35
4.1 Preparación de la muestra	35
4.2 Adquisición de datos	35
4.3 Pretratamiento de espectros de NIR	35
Capítulo 5. Resultados y discusión	36
5.1 Análisis unidimensional	37
5.1.1 Análisis espectral	37
5.1.2 Análisis de derivadas	41
5.2 Espectroscopia de correlación bidimensional (2DCOS) – mapa sincrónico	45

5.3 Determinación de número mínimo de reacciones o procesos	47
5.4 MCR basado en ALS	48
5.5 Cálculo de entalpía de puente hidrógeno	52
Capítulo 6. Conclusiones	55
6. Conclusiones y perspectivas a futuro	56
Bibliografía	57

Glosario

Acrónimos

2DCOS	Espectroscopia de correlación bidimensional (2-d correlation spectroscopy)
ALS	Mínimos cuadrados alternantes (Alternating least squares)
ATR	Reflectancia total atenuada (Attenuated total reflectance)
HB	OH enlazado (Hydrogen bonded)
IR	Infrarrojo medio o fundamental (Mid Infrared)
<i>lof</i>	Falta de ajuste (lack of fit)
MCR	Resolución de curvas multivariante (Multivariate curve resolution)
NHB	OH libre o no enlazado (Non-hydrogen bonded)
NIR	Infrarrojo cercano (Near infrared)
RMSE	Error cuadrático medio (Root-mean-square error)
SSE	Suma de cuadrados de los residuos (Sum of squared estimate of errors)
SVD	Descomposición en valores singulares (Singular value decomposition)

Símbolos

Constantes y escalares

μ	Potencial químico
a	Actividad química
G	Energía libre de Gibbs
h	Constante de Planck
H	Entalpía
k	Constante de fuerza
K	Constante de equilibrio
L	Paso óptico
S	Entropía
T	Temperatura
ε	Coefficiente de absortividad molar
λ	Longitud de onda
v	Coefficiente estequiométrico

ξ	Coeficiente de extensión de reacción
k_B	Constante de Boltzmann
R	Constante de los gases
R^2	Coeficiente de determinación

Matrices

A	Matriz de espectros puros
C	Matriz de perfiles de concentración
E	Matriz de absortividad molar
H	Matriz pseudoinversa
L	Matriz de paso óptico
R	Matriz de residuales
S	Matriz diagonal de valores singulares
T	Matriz de rotación
U	Matriz izquierda
V	Matriz derecha
Y	Matriz espectral
Φ	Matriz sincrónica

Listado de figuras

Figura 1. Esquema del equilibrio del agua dependiente de la temperatura a 4 y 92°C, donde se observan las diferentes estructuras con y sin puente hidrógeno.	15
Figura 2. Energía potencial en función de la longitud de enlace	23
Figura 3. Esquema de frecuencias de las bandas de absorción más importantes en NIR	24
Figura 4. Representación de la segunda derivada.	29
Figura 5. Espectro de NIR del agua tomado en el intervalo de 4-92°C.	37
Figura 6. Modos vibracionales del agua: ν_1 modo de estiramiento simétrico, ν_2 modo de flexión y ν_3 modo de estiramiento antisimétrico.	38
Figura 7. Espectro de NIR del agua a 4 y 92°C (a), espectros de NIR obtenidos por espectroscopia de diferencia (b y c).	39
Figura 8. Espectro de NIR del agua obtenido aplicando espectroscopia de diferencia.	40
Figura 9. Segunda derivada aplicada al espectro completo de NIR del agua (a) y segundas derivadas a 4 y 92°C (b).	42
Figura 10. Segunda derivada diferenciada entre zonas frías y calientes	43
Figura 11. Variaciones de la segunda derivada y maximización de las bandas a temperaturas altas (a) y bajas (b).	44
Figura 12. Mapa sincrónico (Φ) de 2DCOS para el agua.	45
Figura 13. Representación de los autopicos presentes en la diagonal del mapa sincrónico del agua.	46
Figura 14. Representación de los autovalores de la matriz de datos en función de la temperatura.	47
Figura 15. Perfiles de concentración de los componentes puros en el rango de 4-92°C obtenidos por MCR-ALS.	49
Figura 16. Espectros puros de las especies recuperados por MCR-ALS.	50
Figura 17. Áreas de fiabilidad en ambigüedad rotacional para los perfiles de concentración (a) y los espectros puros (b) obtenidos por ALS.	51
Figura 18. Modelo de dos estados para el agua.	52
Figura 19. Gráfico de van't Hoff del equilibrio ($\text{OH}_B \rightleftharpoons \text{OH}_F$) por ruptura de puente hidrógeno en agua líquida.	53
Figura 20. Gráfico de residuales obtenidos para el ajuste llevado a cabo.	53

Listado de ecuaciones

Ecuación (1). Balance de masa de un sistema de reacción	19
Ecuación (2). Ecuación estequiométrica de un sistema de reacción	19
Ecuación (3). Ecuación de Jouguet-de Donder	19
Ecuación (4). Energía de reacción de Gibbs	19
Ecuación (5). Cambio de energía de Gibbs en función del potencial químico.	19
Ecuación (6). Derivada parcial de energía de Gibbs respecto del	19
Ecuación (7). Variación de energía de Gibbs entre dos estados.	20
Ecuación (8). Expresión del potencial químico en función de la actividad	20
Ecuación (9). Expresión general de energía de Gibbs	20
Ecuación (10). Relación de Planck.	20
Ecuación (11). Frecuencia vibracional del oscilador armónico diatómico.	21
Ecuación (12). Energía potencial de oscilador armónico.	21
Ecuación (13). Expresión de energía vibracional en función del número cuántico.	21
Ecuación (14). Expresión general de energía vibracional.	21
Ecuación (15). Expresión de cambio del momento dipolar.	22
Ecuación (16). Energía potencial del oscilador anarmónico.	23
Ecuación (17). Energía vibracional del oscilador anarmónico.	23
Ecuación (18). Expresión matricial de la ley de Lambert-Beer.	28
Ecuación (19). Expresión general de la derivada de una función.	28
Ecuación (20). Derivada de la absorbancia en función de la longitud de onda.	29
Ecuación (21). Aproximación polinomial a la derivada por mínimos cuadrados.	29
Ecuación (22). Expresión matricial de la ley de Lambert-Beer centrada en columnas.	30
Ecuación (23). Expresión para calcular el mapa de correlación sincrónico.	30
Ecuación (24). Expresión de la ley de Lambert-Beer como combinación lineal.	30
Ecuación (25). Ecuaciones matriciales del método de descomposición en valores singulares (SVD).	30
Ecuación (26). Ecuación de rango mínimo de una matriz espectral	31
Ecuación (27). Ecuación general del método de resolución de curvas multivariante (MCR).	31
Ecuación (28). Ecuación de minimización de la matriz de residuales.	32
Ecuación (29). Ecuación de ambigüedad rotacional.	32

Ecuación (30). Expresión del rango de posibles soluciones de MCR.	33
Ecuación (31). Expresión matemática del problema de optimización no-lineal.	33
Ecuación (32). Ecuación del coeficiente de determinación.	33
Ecuación (33). Ecuación del parámetro de falta de ajuste.	33
Ecuación (34). Expresión lineal de la ecuación de van't Hoff.	52

Resumen

El agua es una molécula que juega un rol crucial en múltiples procesos químicos y biológicos fundamentales. Si bien su estructura en el estado líquido ha sido estudiada por varias décadas, no se ha encontrado aún un modelo único capaz de explicar todas las anomalías y propiedades excepcionales de este solvente.

El presente trabajo se enfoca en el estudio del agua líquida mediante espectroscopia de infrarrojo cercano en un experimento dependiente de la temperatura. Los observables o datos espectrales obtenidos son luego analizados desde la perspectiva de un problema inverso lineal utilizando análisis espectroscópico, análisis del factor y resolución de curvas como método de descomposición bilineal para entender el comportamiento dinámico de las bandas presentes en esta región espectral.

Los resultados hallados sugieren que dos bandas mayoritarias a 7087 cm^{-1} (1420 nm) y 6840 cm^{-1} (1460 nm) correspondientes a dos estados del agua a diferente temperatura pueden explicar en un 99% los cambios espectrales observados. Asimismo, sus correspondientes perfiles de concentración y perfiles espectrales son calculados. Los resultados son discutidos considerando diferentes estudios espectroscópicos y teóricos previos. A continuación, se describe un modelo simplificado del agua descrito por dos tipos de estructuras moleculares en equilibrio: con puente hidrógeno, mayoritarias a bajas temperaturas, y sin puente hidrógeno, mayoritarias a altas temperaturas.

Finalmente, se extrae parámetros termodinámicos del equilibrio propuesto, y el resultado es comparado con trabajos publicados anteriormente.

Abstract

The water molecule plays a crucial role in multiple fundamental chemical and biological processes. Although its structure in the pure liquid state has been studied for several decades, a single model capable of explaining all the anomalies and exceptional properties of this solvent has yet to be found.

In the present study, near infrared spectra of water has been analyzed in the region 1000-1850 nm in a temperature range of 4 to 92°C. The obtained spectral data can be seen from the point of view of a linear inverse problem using spectroscopic analysis, factor analysis and curve resolution as a bilinear decomposition method to have a better comprehension of the dynamic behavior of the bands emerging at the mentioned spectral region.

The results obtained suggest that two bands at 7087 cm^{-1} (1420 nm) and 6840 cm^{-1} (1460 nm) corresponding to two states of water at different temperature can explain 99% of the observed spectral variations. Additionally, their corresponding concentration profiles and spectral components are calculated. Furthermore, a simplified model of water has been

described, characterized by an equilibrium between two types of molecular water structures: hydrogen-bonded (HB), prevalent at low temperatures, and non-hydrogen-bonded (NHB), which prevails at high temperatures.

Finally, the identification of a thermodynamic parameter such as an enthalpy has been carried out and the result is compared with those reported in the last decades.

Capítulo 1

Introducción y objetivos

1. Introducción y objetivos

1.1 Introducción

A pesar de la universalidad y versatilidad del agua como solvente y medio biológico, muchos de sus comportamientos siguen siendo esquivos. Dentro de los interrogantes que quedan aún por resolver se encuentran preguntas sobre los cambios termodinámicos y/o inducidos por solutos en la estructura del agua y su influencia en las interacciones mediadas por puente de hidrógeno, así como su papel en la formación de ensamblajes dinámicos a gran escala de compuestos de moléculas oleosas, polares e iónicas.

Físicamente, el agua se diferencia de manera importante de los líquidos más simples y de otras moléculas comunes como el N_2 y CO_2 . En particular, las fuerzas de cohesión en el agua son altamente direccionales, por lo que su estructura intermolecular no está dominada por los efectos bien conocidos del empaquetamiento (Rahman & Stillinger, 1971).

Por esta razón, el enlace de hidrógeno en agua es importante en muchos campos ya que afecta directamente procesos biológicos y fisicoquímicos, así como en el campo de los materiales donde afectan las propiedades finales de estos últimos.

Una comprensión profunda de la naturaleza y la fuerza del enlace de hidrógeno en un sistema puede proporcionar información sobre sus procesos químicos y bioquímicos fundamentales (p. ej., estructura del ADN, plegamiento de proteínas e interacciones enzimáticas) (Jeffrey & Saenger, 2012).

Los avances significativos en el estudio de los sistemas de reacción y equilibrios químicos dependen en gran medida de la extracción significativa del conocimiento químico de grandes cantidades de datos experimentales. Tales datos experimentales para sistemas químicos pueden obtenerse usando una variedad de técnicas; entre ellas, las espectroscopías vibracionales [Raman, infrarrojo medio (IR) e infrarrojo cercano (NIR)] son herramientas eficaces y específicas para este propósito (Perakis et al., 2016; Siesler et al., 2002).

Las espectroscopías Raman, IR y NIR se han utilizado recientemente debido a su sensibilidad a la estructura y conformación molecular y a su utilidad en el estudio de los mecanismos de reacción (Brewster et al., 2011; Quaroni et al., 2011; Šašić et al., 2003). Por ejemplo, para obtener información en tiempo real sobre la composición química, la espectroscopía IR ha demostrado ser muy versátil. En el caso de la molécula del agua, la espectroscopía vibracional tiene una gran oportunidad para investigar la evolución de su estructura por perturbaciones externas. Esto surge de la extraordinaria sensibilidad de la banda asignada a la vibración de estiramiento del O-H sobre los cambios en la geometría de los enlaces de hidrógeno.

Como es sabido, en muchos sistemas con enlaces de hidrógeno en el rango fundamental en Raman e IR [4000-2500 cm^{-1}] la vibración de estiramiento del O-H relacionada con enlaces de

hidrógeno más fuertes es más activa en el infrarrojo medio que la vibración relacionada con enlaces de hidrógeno más débiles (Czarnik-Matusewicz et al., 2005).

Por el contrario, el rango de NIR es más selectivo para las especies de agua caracterizadas por enlaces de hidrógeno más débiles; esto es debido a la anarmonicidad mecánica y eléctrica, que provoca que esta relación con los sobretonos (armónicos) y bandas de combinación se invierta, haciendo este rango muy útil para el estudio del puente de hidrógeno en agua (Czarnecki et al., 2015).

Sin embargo, la información sobre la contribución relativa de las diferentes estructuras con enlaces de hidrógeno al seno de la masa de agua no puede obtenerse directamente de los espectros. Por lo tanto, para la identificación de parámetros de un modelo (concentraciones, parámetros termodinámicos) debe recurrirse a la inferencia indirecta de la observación experimental del sistema. Tal problema de identificación de parámetros pertenece a la clase de problema inverso, donde en términos generales uno busca las causas de los efectos observados. Un problema del modelo de reacción/equilibrio químico puede verse como un problema inverso.

En este trabajo se realizará un análisis temperatura dependiente del agua líquida por espectroscopia de infrarrojo cercano, considerando a la misma como un sistema compuesto por estructuras moleculares con distinto grado de formación de puente hidrógeno en equilibrio. Dicho sistema se esquematiza en la figura 1.

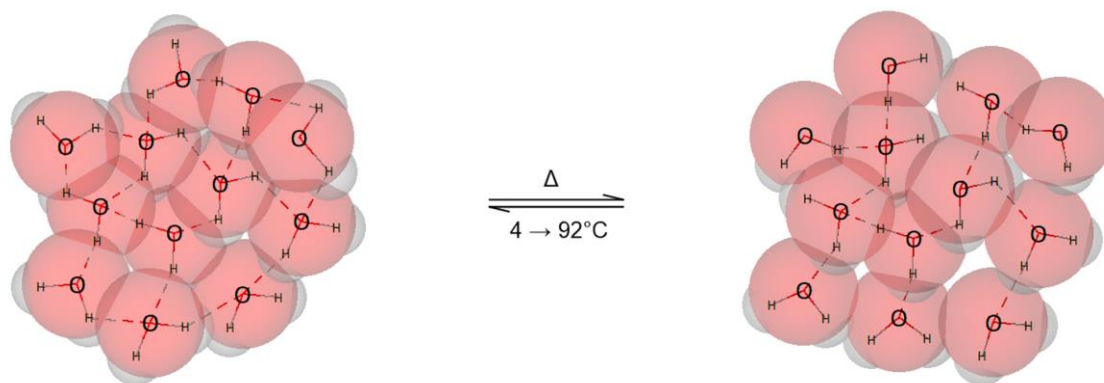


Figura 1. Esquema del equilibrio del agua dependiente de la temperatura a 4 y 92°C, donde se observan las diferentes estructuras con y sin puente hidrógeno.

1.2. Objetivos

El **objetivo principal** de este estudio es la identificación de un sistema químico y la determinación de parámetros termodinámicos de un modelo en agua líquida, como una primera aproximación de tener un mejor entendimiento de la interacción de puente hidrógeno en sistemas de compuestos polares y no polares, macromoleculares, y biológicos. A través de información espectroscópica u observaciones finitas pueden inferirse indirectamente variables

o parámetros desconocidos; esto es equivalente a una reducción de un problema de identificación, y es posible descomponer este problema en una secuencia de subproblemas que puede ser visto como un problema inverso, permitiendo abordar problemas globales.

No obstante el objetivo principal anteriormente expuesto, se plantean los siguientes sub-objetivos:

- **Identificación de parámetros termodinámicos** en agua líquida sin imposición de un modelo.
- **Determinación de la entalpía de ruptura del puente hidrógeno.**
- Desarrollo de un método de modelado flexible con restricciones para la identificación de parámetros.
- Desarrollo de un método extrapolable, método general que puede ser aplicado a otros sistemas químicos en equilibrio dependientes de la temperatura.

Capítulo 2

Fundamentos teóricos

2. Fundamentos teóricos

En el presente capítulo se introducirán los principales conceptos teóricos en los que se basa este trabajo, saber: enlace de hidrogeno en la molécula de agua, equilibrio químico, fundamentos de la espectroscopia vibracional y aspectos de la espectroscopia de infrarrojo cercano, enfocándose en los modelos empíricos desarrollados en los últimos años.

2.1 Enlace de hidrógeno en la molécula de agua

La estructura del agua líquida ha sido ampliamente investigada utilizando múltiples métodos teóricos y experimentales. Si bien no se ha llegado aún a dilucidar un modelo único y uniforme, numerosos trabajos recientes postulan modelos del agua que pueden ser divididos en dos amplias categorías: a) modelo de mezclas o *mixture model* y b) modelo continuo de enlaces de hidrógeno distorsionados o *continuum model*. El modelo continuo establece que el agua comprende una red aleatoria tridimensional de enlaces de hidrógeno con una amplia distribución de ángulos y distancias de enlace O-H- -O, donde las redes de agua no pueden romperse o separarse en especies moleculares distinguibles. Por el contrario, el modelo de mezclas postula la existencia simultánea de dos o más estructuras discretas con puentes de hidrógeno en distinto grado de enlazamiento (Czarnecki et al., 2015).

La interacción de los grupos hidroxilo (OH) con la luz es una forma muy útil de analizar la estructura y dinámica en sistemas con enlaces de hidrógeno presentes. Aunque es considerablemente más débil que un enlace O-H covalente, el puente de hidrógeno en agua líquida es igualmente fuerte, requiriendo alrededor de 10 k_BT para distorsionarlo o romperlo. Desde el punto de vista espectroscópico, este efecto se manifiesta por una pérdida apreciable del correspondiente enlace covalente O-H, cuya frecuencia de estiramiento decrece hasta un 10% cuando se involucra en un enlace de hidrógeno típico (Geissler, 2013).

Análisis realizados previamente en la región de infrarrojo cercano (NIR) e infrarrojo medio (IR) para mezclas de agua y alcoholes (Luck, 1998) establecieron que existen tres categorías principales de estructuras con puentes de hidrógeno: fuertemente enlazados, débilmente enlazados y no enlazados (también llamados grupos OH libres o “free OH”). El equilibrio entre estas tres especies es el responsable de las propiedades anómalas observadas en el agua. Es importante resaltar que la presencia de grupos OH libre en agua líquida es detectable claramente en espectroscopia Raman y NIR (Czarnik-Matusiewicz & Pilorz, 2006). Por el contrario, en la región de IR la banda asociada a esta estructura no está presente o es muy débil (Czarnecki et al., 2015). Esto se debe a que los OH libre y los OH débilmente enlazados poseen sobretonos más fuertes en contraste con las especies más asociadas que prevalecen en los espectros de IR.

Como se introdujo anteriormente, en este estudio se analizará el comportamiento del agua dependiente de la temperatura siguiendo el modelo de mezclas, tomando la misma como un

sistema conformado por dos o más estados compuestos por estructuras moleculares en equilibrio.

2.2 Equilibrio químico

En general, todos los componentes reactivos (R) y productos (P) de un sistema de reacción con m elementos pueden ser expresados por una combinación lineal de e elementos, como un balance de masas. La b denota el número de moles de reactivos o productos que participan en la reacción. Esta combinación lineal queda expresada en la ecuación (1) como:

$$\mathbf{M} = \sum_{k=1}^e b_{ik} R_k = \sum_{k=1}^e b_{ik} P_k \quad (i = 1, 2, \dots, m) \quad (1)$$

donde \mathbf{M} es la matriz de reacción química.

La ecuación estequiométrica del sistema de reacción puede ser expresada como:

$$0 = \sum_i^m v_i \mathbf{m}_i = \mathbf{v} \cdot \mathbf{M} \quad (2)$$

con \mathbf{m} siendo el vector de reacción química, y v_i (coeficiente estequiométrico) > 0 para los productos y < 0 para los reactivos.

La descripción de la evolución de las especies químicas puede ser vista como un cambio de moles de las especies observables en un intervalo de tiempo $t_0 \rightarrow t_n$, $dn_i = v_i d\xi$, definido en términos de la extensión de la reacción ξ y de la estequiometría de la reacción v . La ecuación (3) en forma matricial provee la representación de la ecuación de Jouguet-de Donder para el caso de experimentos de semibatch (sistema invariante):

$$\Delta \mathbf{N} = \mathbf{N} - \mathbf{N}^0 = \xi \mathbf{v} \quad (3)$$

La energía de reacción de Gibbs, $\Delta_r G$, se define como la pendiente del gráfico de la energía de Gibbs en función del avance de la reacción (Atkins & de Paula, 2008):

$$\Delta_r G = \left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{p,T} \quad (4)$$

donde Δ representa la derivada de G con respecto a ξ . El cambio de energía de Gibbs correspondiente es:

$$dG = \mu_A dn_A + \mu_B dn_B = -\mu_A d\xi + \mu_B d\xi = (\mu_B - \mu_A) d\xi \quad (5)$$

Esta ecuación se puede reorganizar en:

$$\left(\frac{\partial G}{\partial \xi} \right)_{p,T} = \mu_B - \mu_A \quad (6)$$

es decir,

$$\Delta_r G = \mu_B - \mu_A \quad (7)$$

Cabe destacar que $\Delta_r G$ también puede ser interpretado como la diferencia entre los potenciales químicos (energía de Gibbs molar parcial) de los reactivos y los productos en la composición de la mezcla de reacción.

El potencial químico varía con la composición, y es por esta razón que la pendiente de la curva de la energía de Gibbs en función del avance de la reacción cambia a medida que avanza la reacción. Dado que la reacción avanza en dirección en la cual G disminuye, se concluye de la ecuación (7) que para $\mu_A > \mu_B$ la reacción $A \rightarrow B$ es espontánea, mientras que para $\mu_B > \mu_A$ es espontánea la reacción inversa. Para $\Delta_r G = 0$, la pendiente es cero, y la reacción no es espontánea en ninguna dirección; esto sucede cuando se igualan los potenciales químicos. Por lo tanto, si se conoce la composición de la mezcla de reacción para la cual $\mu_B = \mu_A$, se puede identificar la composición de la mezcla de reacción en condiciones de equilibrio.

Finalmente, considerando el potencial químico en función de la actividad de la especie:

$$\mu_i = \mu_i^0 + RT \ln a_i \quad (i = 1, 2, \dots, n) \quad (8)$$

puede deducirse una expresión general de la energía de Gibbs de reacción como la siguiente:

$$\Delta_r G = RT \ln \left(\frac{a_i}{a_j} \right) \quad (i = 1, 2, \dots, n), (j = 1, 2, \dots, m) \quad (9)$$

con a_i y a_j siendo las actividades de los productos y reactivos, respectivamente.

2.3 Fundamentos de la espectroscopia vibracional

La espectroscopia utiliza la radiación electromagnética para estudiar materiales basándose en el análisis de la transferencia de energía entre la luz y la materia. La energía de un solo fotón se define como:

$$E = h \nu = \frac{h c}{\lambda} = h c \tilde{\nu} \quad (10)$$

$$\text{con } \tilde{\nu} = \frac{1}{\lambda}; \tilde{\nu} [\text{cm}^{-1}] = \frac{10^7}{\lambda [\text{nm}]}$$

El espectro electromagnético se divide en varias regiones; cada región representa un tipo específico de transición atómica o molecular y, por lo tanto, un tipo específico de técnica espectroscópica (Atkins & Jones, 2010).

La radiación denominada infrarroja cercana se ubica en el rango de 800 a 2500 nm. Las moléculas pueden absorber luz infrarroja sin posterior reemisión mediante la excitación de ciertas frecuencias vibracionales. La muestra absorbe las frecuencias de luz policromática que

corresponden a sus transiciones vibracionales, y esa absorción es detectada por el instrumento para su análisis.

2.3.1. Oscilador armónico

Las vibraciones moleculares pueden ser descritas utilizando el modelo de física clásica del oscilador armónico diatómico (Atkins & de Paula, 2008). De acuerdo a este modelo, dos masas vibrando conectadas con un resorte con una dada constante de fuerza dan lugar a cambios en la distancia nuclear. Combinando la ley de Hook con las leyes de Newton, se llega a que la frecuencia de vibración del sistema se corresponde con:

$$\nu_{\text{vib}} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (11)$$

siendo ν la frecuencia de enlace de la banda de absorción, k la constante de fuerza del enlace y μ la masa reducida de los átomos enlazados.

La frecuencia de la vibración y por tanto la energía son, entre otros, una función de la fuerza del enlace. Las frecuencias vibracionales son, por lo tanto, la clave que contiene la información acerca de la estructura del compuesto en estudio. Esta es la base para la aplicación de la espectroscopia vibracional.

De acuerdo a la ley de Hook, la energía potencial V del oscilador armónico es una función cuadrática del desplazamiento de los átomos en vibración. La función parabólica es simétrica alrededor de la elongación del enlace en el equilibrio r_e :

$$V = \frac{1}{2} k (r - r_e)^2 = \frac{1}{2} k x^2 \quad (12)$$

donde r es la distancia internuclear, r_e es la distancia internuclear en el equilibrio y x es el desplazamiento de los átomos enlazados.

Las consideraciones de la mecánica cuántica utilizando la ecuación de Schrödinger muestran que la energía vibracional para el oscilador armónico no es un continuo, sino que posee valores sólo para ciertos niveles energéticos discretos, de acuerdo a la ecuación (13):

$$E_{\text{vib}} = h \nu \left(v + \frac{1}{2} \right) \quad (13)$$

donde v simboliza los números cuánticos vibracionales. El número cuántico vibracional solo puede tomar valores enteros (0,1, 2, 3, ...). Combinando las ecuaciones (11) y (13) se llega a la siguiente expresión de energía vibracional:

$$E_{\text{vib}} = \left(v + \frac{1}{2} \right) \frac{h}{2\pi} \sqrt{\frac{k}{\mu}} \quad (14)$$

De acuerdo a la ecuación (14), sólo las transiciones entre niveles energéticos vecinos y equidistantes son permitidas en el oscilador armónico.

La distribución de las moléculas entre los niveles vibracionales permitidos sigue la distribución de Boltzmann. A temperatura ambiente, la mayor parte de las moléculas se encuentran en el nivel basal vibracional $v = 0$. De aquí que la primera transición permitida al nivel energético $v = 1$, también llamada transición fundamental, domine el espectro de absorción. Las siguientes transiciones permitidas derivan de estados energéticos excitados y sus bandas asociadas son más débiles.

Una precondition para la absorción de un fotón de luz es que la frecuencia del fotón iguale la diferencia de energía entre los dos estados vibracionales del enlace. Sin embargo, esta no es la única condición requerida para la absorción de energía.

2.3.2. Absorción de energía de acuerdo a la teoría de resonancia

De acuerdo a la teoría de resonancia, la transferencia de energía desde el fotón hacia la molécula ocurre mediante la polaridad molecular, esto es, que la interacción de la radiación infrarroja con una molécula que está vibrando solo ocurre cuando la vibración es acompañada por un cambio en el momento dipolar μ :

$$\frac{\partial \mu}{\partial x} \neq 0 \quad (15)$$

La magnitud del cambio en el momento dipolar dentro de la transición vibracional determina en gran parte la intensidad de la absorción de luz. De acuerdo a la ecuación (15), solo las moléculas diatómicas heteronucleares muestran transiciones entre los fotones de la luz y las vibraciones moleculares. El átomo de hidrogeno es el átomo más pequeño; por tanto, los enlaces con hidrógeno exhiben las vibraciones más altas (C-H, N-H, O-H, S-H).

La mayor parte de las moléculas poseen más de dos átomos que pueden presentar más de un tipo de vibración por enlace (estiramiento, flexión). Además, no todos los enlaces vibran de forma independiente; muchas vibracionales reales se dan de forma acoplada.

2.3.3 Oscilador anarmónico

La curva de energía potencial para el oscilador armónico es parabólica y solo las transiciones entre niveles energéticos consecutivos que causan un cambio en el momento dipolar son posibles. De acuerdo a este modelo, infinitas energías pueden ser almacenadas en la molécula sin romper enlaces. Sin embargo, experimentalmente se observa que todas las moléculas pueden disociarse cuando la suficiente energía es aplicada y la vibración del enlace se extiende. Es más, se observan fuerzas de repulsión que aparecen cuando la distancia entre los átomos se minimiza. Debido a esta anarmonicidad mecánica (disociación del enlace y

repulsión Coulómbica), el modelo clásico del resorte debe ser modificado (Atkins & de Paula, 2008).

La ecuación (12) que describe la energía potencial como una función cuadrática del desplazamiento puede ser extendida adicionando términos de desplazamiento de mayor orden:

$$V = \frac{1}{2} k x^2 + \frac{1}{2} k_a x^3 + k_b x^3 + \dots \quad \text{con } k_a, k_b \ll k \quad (16)$$

Con las correcciones en la ecuación (16), la ecuación de Schrödinger provee el siguiente término para la energía vibracional de la molécula:

$$E_{\text{vib}} = h \nu \left(v + \frac{1}{2} \right) - y \left(v + \frac{1}{2} \right)^2 \quad (17)$$

donde y es la constante de anarmonicidad.

La anarmonicidad entonces permite transiciones entre estados energéticos no consecutivos donde $\Delta v = \pm 2, 3, \dots$

Adicionalmente, los niveles energéticos vibracionales ya no son equidistantes y las diferencias de energía decrecen con el incremento del número cuántico. En lugar de una parábola, la curva de energía potencial es ahora representada por una función de Morse asimétrica, esquematizada en la figura 2. Además de la anarmonicidad mecánica, la anarmonicidad electrónica debería ser mencionada. Esta es generalmente mucho menor que la anarmonicidad mecánica y surge de la relación no lineal entre el momento dipolar y el desplazamiento atómico.

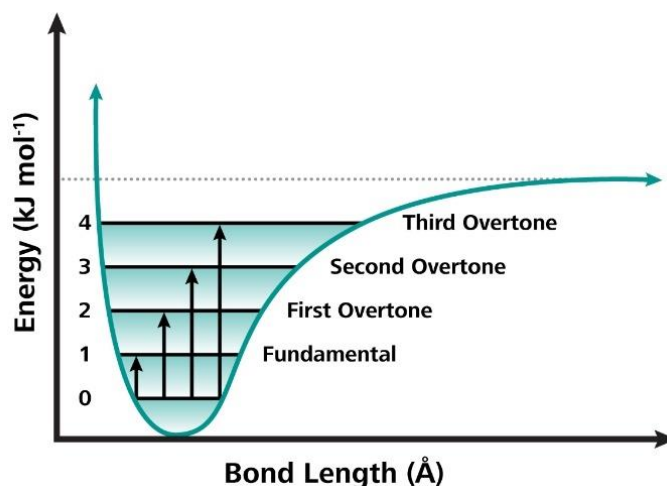


Figura 2. Energía potencial en función de la longitud de enlace (NIR Spectroscopy A Guide to Near-Infrared Spectroscopic Analysis of Industrial Manufacturing Processes, 2014).

En resumen, la ocurrencia y las propiedades espectrales de las bandas de absorción de NIR son -además del cambio en el momento dipolar- debidas a la anarmonicidad mecánica de los átomos que están vibrando. Esto se ve reflejado en:

- los sobretonos que corresponden a números cuánticos mayores a 1 y que aparecen como múltiplos de las frecuencias vibracionales fundamentales; estos aparecen entre 780 y 2000 nm. Los sobretonos de primer orden y de orden superior son mucho menos probables que los modos fundamentales. Por esta razón, las bandas correspondientes a estas transiciones son más débiles (Ozaki et al., 2021).
- los modos de combinación que aparecen en moléculas poliatómicas, donde interactúan múltiples modos vibracionales; estos son la suma de múltiplos de cada frecuencia que está interactuando. Las bandas de absorción de dichas transiciones emergen entre 1900 y 2500 nm.
- los estados energéticos no equidistantes de una vibración; esto significa que las transiciones permitidas se vuelven menores en energía con el aumento del número cuántico.

2.4 Región espectral de infrarrojo cercano (NIR)

La región de NIR del espectro electromagnético se extiende desde el final de la región visible hasta el comienzo de la región de infrarrojo medio o fundamental ($700\text{-}2500\text{ nm}$ o $14285\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$). Las bandas de absorción más prominentes que se observan en la región de NIR (ver figura 3) están relacionadas con los sobretonos y las bandas de combinación de las vibraciones moleculares fundamentales de los grupos funcionales C-H, N-H, O-H y S-H observados en la región de IR medio. Por tanto, la mayor parte de las especies químicas y bioquímicas exhiben bandas de absorción únicas en la región de NIR que pueden ser utilizadas para fines tanto cuantitativos como cualitativos.

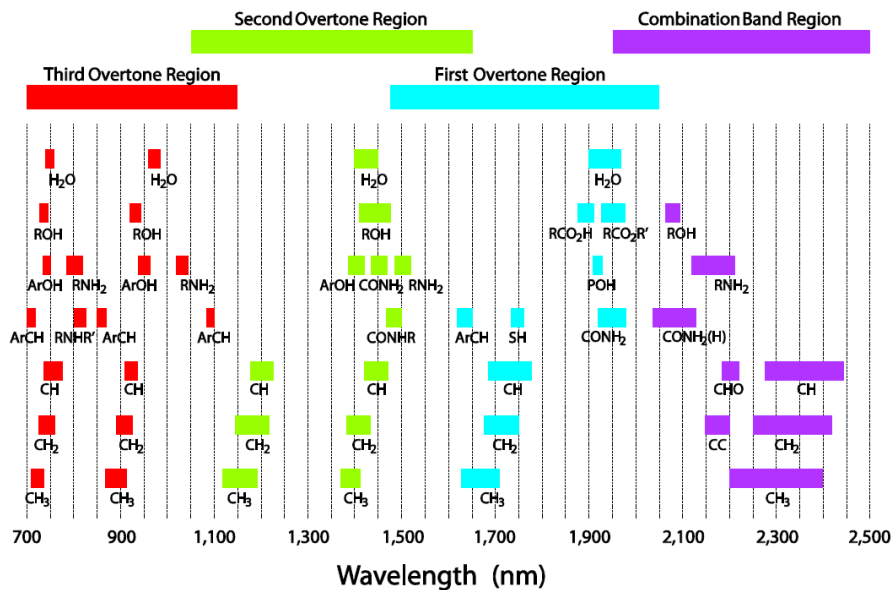


Figura 3. Esquema de frecuencias de las bandas de absorción más importantes en NIR (NIR Spectroscopy A Guide to Near-Infrared Spectroscopic Analysis of Industrial Manufacturing Processes, 2014)

Las bandas de absorción de NIR son típicamente 10-100 veces más débiles que las correspondientes bandas de absorción fundamentales en IR medio. Esta naturaleza resulta de hecho una ventaja analítica, ya que permite el análisis directo de matrices que presentan elevada absorción o *scattering*, tales como suspensiones, pastas y polvos. Las bandas de absorción de NIR son además muy anchas (50-100 nm) y altamente solapadas. Las bandas de absorción de NIR que ocurren a longitudes de onda más altas son más fuertes, agudas y mejor resueltas que sus correspondientes bandas de sobretonos de mayor orden, las cuales emergen a longitudes de onda más cortas.

En adición a la información contenida acerca de la composición química de una matriz, los espectros de NIR también contienen información física relacionada con la muestra. Por ejemplo, las diferencias en el tamaño de partícula producen un offset en la línea de base; cuanto más gruesas son las partículas, mayor es la penetración de la luz y mayor es la absorbancia.

En la región espectral de NIR, la eficiencia de la dispersión de la luz y la absorptividad aumentan con la longitud de onda, mientras que el solapamiento de las bandas y la penetración disminuyen con la longitud de onda. Por tanto, la región óptima espectral para ser usada en un análisis particular es determinada combinando las propiedades espectrales de NIR con la performance analítica requerida, los requerimientos de muestreo y las propiedades físicas de la muestra. Por ejemplo, la medición de un componente cuyas bandas no están bien separadas de las bandas de otros componentes en la matriz o que está presente a bajas concentraciones es más fácil de lograr en la región de longitud de onda más larga, la cual requiere el uso de un paso óptico más corto o de una profundidad de penetración menor.

Capítulo 3

Métodos

3. Métodos

En este capítulo se describirán los modelos matemáticos y los métodos computacionales en los que se basa el presente estudio, haciendo hincapié en el uso del problema inverso lineal como filosofía de trabajo.

3.1 Problema inverso

La aplicación de teorías físicas y químicas permite hacer predicciones: dada una descripción completa de un sistema químico, es posible predecir los resultados de nuevas mediciones experimentales aplicando la teoría adecuada. Este problema se conoce como el *problema de modelización, problema directo o forward problem*.

Pero hay ciertos problemas en ciencia como es la extracción de parámetros (modelo) que no pueden ser observados directamente. Por ejemplo, obtener información de un modelo de reacción química a partir de un número finito de observaciones (por ejemplo, datos espectroscópicos). Es aquí donde aparece un camino que nos permite obtener conocimiento de parámetros (número de especies y reacciones, concentraciones y constantes cinéticas) de un componente desconocido que pueden ser inferidos a partir de la observación experimental del sistema. Este tipo de situaciones pertenecen a la clase de problema conocido como *problema inverso*. Es decir, un *problema inverso* es la “inversa” de un *problema directo*.

En términos generales, lo que se busca son las causas de los efectos observados experimentalmente. Un modelo de reacción química puede ser considerado como un problema inverso. Basado en la postulación de Hadamard acerca de los problemas bien planteados, un modelo de reacción química es a menudo llamado un *problema mal planteado o ill-posed problem*, en el sentido de que pueden existir múltiples soluciones que sean consistentes con los datos experimentales (Hadamard, 1902).

Los problemas inversos son típicamente inestables (altamente sensibles a errores en los datos). Por esta razón, es necesario recabar *a priori* la mayor cantidad de información posible sobre los parámetros del modelo para poder resolver el problema; este proceso se conoce como regularización.

Al aplicar el concepto de *problema inverso* para un modelo de reacción o equilibrio químico, los parámetros son derivados de los datos espectroscópicos. De esta forma, la aproximación de un *problema inverso* a un *problema de autovalores* se aplica para identificar los parámetros termodinámicos para el sistema en equilibrio. El procedimiento puede ser resumido en los siguientes pasos.

3.2 Expresión matricial de la ley de Lambert-Beer

La matriz \mathbf{Y} ($m \times n$) representa los datos espectroscópicos consolidados, donde m denota el número de espectros tomados en una etapa del experimento en lote o batch (cada etapa tiene una condición inicial), e indica el número de etapas y n representa el número de canales de datos asociados con el rango espectroscópico o espectral. Basándose en la ley de Lambert-Beer, \mathbf{Y} puede considerarse como resultante de una combinación lineal de la matriz de concentración \mathbf{C} ($m \times s$) y de la matriz de espectros puros \mathbf{A} ($s \times n$), donde s denota el número de especies o componentes observables en la mezcla (Spegazzini et al., 2011).

Dado que el paso óptico es difícil de estimar en volúmenes pequeños por espectroscopía (modalidad ATR o no), el producto de las absorptividades molares \mathbf{E} ($s \times n$) son normalizadas a unidades de concentración y de paso óptico ($L \cdot mol^{-1} \cdot cm^{-1}$). El paso óptico \mathbf{L} ($s \times s$) es reemplazado por las componentes de espectros puros recogidos en la matriz \mathbf{A} ($s \times n$), la cual define las absorptividades normalizadas solo a la unidad de concentración ($L \cdot mol^{-1}$) (Billeter, 2009).

Por consiguiente, para mediciones espectroscópicas multivariantes y en función de una variable (tiempo, temperatura, concentración etc.), la ley de Lambert-Beer puede ser escrita de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{C} \mathbf{L} \mathbf{E} = \mathbf{C} \mathbf{A} \quad (18)$$

donde $\mathbf{A} = \mathbf{L} \mathbf{E}$.

3.3 Espectroscopia de derivadas

La espectroscopia de derivadas utiliza las derivadas de primer o mayor orden de la absorbancia con respecto a la frecuencia para el realce de las señales en el análisis cuantitativo.

Dado un espectro en el que se representa la absorbancia, A , como una función del canal de rango espectral, λ , el espectro de derivada se calcula como:

Derivada de orden n -ésimo:

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = f(\lambda) \quad (19)$$

En este trabajo se utiliza la segunda derivada como método de separación de bandas que se encuentran solapadas. La segunda derivada presenta una banda negativa con un mínimo que coincide con la frecuencia del máximo de la banda original. Además, presenta dos bandas adicionales positivas satélites o "side-loops" a cada lado de la banda principal.

Si se asume que la función espectral obedece la ley de Lambert-Beer, entonces existe una relación lineal similar entre la concentración y la amplitud de la banda para todos los órdenes de derivadas:

$$\frac{d^n A}{d\lambda^n} = \frac{d^n \epsilon}{d\lambda^n} l c \quad (20)$$

En la actualidad los espectros de derivadas son obtenidos principalmente aplicando métodos matemáticos. La ventaja de utilizar estos métodos es que el espectro derivado puede ser calculado y recalculado aplicando diferentes parámetros, y existen diferentes técnicas de suavizado de espectros que permiten la mejora de la relación señal a ruido.

Uno de los métodos más aplicados es el propuesto por Savitzky y Golay. Para calcular el espectro de derivadas a una longitud de onda fija, se selecciona una ventana de n puntos de datos y se ajusta un polinomio por mínimos cuadrados (Savitzky & Golay, 1964):

$$A_\lambda = a_0 + a_1 \lambda + K + a_n \lambda^n \quad (21)$$

Una ventaja de este método es que puede ser utilizado para suavizar los datos, dado que el ajuste por mínimos cuadrados da una aproximación suavizada a los puntos de datos originales. Esta herramienta puede ser utilizada para contrarrestar la degradación de la relación señal / ruido que es inherente al proceso de derivatización.

En el caso de las derivadas pares, el ancho de banda de la banda central derivada disminuye con el aumento del orden. Comparando las bandas derivadas con aquellas sin derivar, se observa un decrecimiento del ancho de la banda. Esta característica puede ser utilizada en el análisis cualitativo para identificar la presencia de dos analitos con valores de $\lambda_{\text{máx}}$ muy similares que no pueden ser resueltos en el espectro de absorbancia original. Esta situación se muestra en la figura 4:

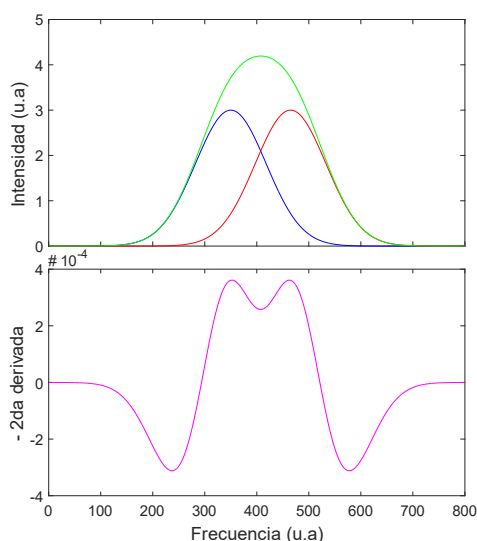


Figura 4. Representación de la segunda derivada.

3.4 Análisis espectroscópico en 2-dimensiones (2D correlation spectroscopy analysis)

La técnica de espectroscopia de correlación bidimensional o 2DCOS fue introducida por primera vez por Isao Noda en 1986. En su trabajo, postuló que la mejora de la resolución espectral puede ser lograda extendiendo los datos sobre una segunda dimensión, y las interacciones inter- e intramoleculares pueden ser estudiadas de forma detallada aplicando 2DCOS (Noda, 1989). Una matriz de datos \mathbf{Y} centrada compuesta de espectros puede ser descripta por la ecuación (22):

$$\tilde{\mathbf{Y}} = \tilde{\mathbf{C}} \tilde{\mathbf{A}} \quad (22)$$

donde $\tilde{\mathbf{Y}}$ representa los espectros en filas, $\tilde{\mathbf{C}}$ es una matriz centrada que posee los perfiles de concentración en columnas y $\tilde{\mathbf{A}}$ consiste en los componentes espectrales puros centrados dispuestos en filas. Por tanto, el mapa de correlación sincrónico puede ser calculado por la ecuación (23):

$$\Phi = \tilde{\mathbf{Y}}^T \tilde{\mathbf{Y}} \quad (23)$$

donde $\tilde{\mathbf{Y}}$ es la matriz espectral dinámica o centrada, que es igual a $\mathbf{Y} - \mathbf{1}_p \bar{y}$, donde $\mathbf{1}_p$ es el vector p-dimensional de unos e \bar{y} representa el vector del espectro promedio de la matriz espectral.

El mapa sincrónico es multiplicado por un factor de ajuste de $1/m-1$, por razones de simplificación no aparece en la ecuación. (T denota transposición).

3.5 Determinación de observables, análisis dinámicos de autovalores

La ecuación de Lambert-Beer (ecuación (18)) como se describió anteriormente puede ser modelada como una combinación lineal:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{C} \cdot \mathbf{A} = c_1 \mathbf{a}_1 + c_2 \mathbf{a}_2 + \dots + c_n \mathbf{a}_n \quad (24)$$

donde \mathbf{c} y \mathbf{a} representan los vectores de concentración y espectros puros de cada componente. A continuación, la estimación del número de observables puede obtenerse a partir del lado izquierdo de la ecuación (25) ($\mathbf{U} \cdot \Sigma$). La descomposición en valores singulares (singular value decomposition o SVD) da como resultados tres matrices, de las cuales las dos primeras ($\mathbf{U} \cdot \Sigma$) contienen información relacionada con procesos en el espacio o dominio de concentración; esta expresión es una representación muy precisa de la relación de la Lambert-Beer para sistemas químicos en solución.

$$\begin{aligned} \mathbf{Y} &\cong \mathbf{U} \cdot \Sigma \cdot \mathbf{V}^T \\ \mathbf{C} \cdot \mathbf{A} &\cong \mathbf{U} \cdot \Sigma \cdot \mathbf{V}^T \\ \mathbf{C} &\cong \mathbf{U} \cdot \Sigma \\ \mathbf{A} &\cong \mathbf{V}^T \end{aligned} \quad (25)$$

La información contenida en Σ está directamente asociada con el número de auto (eigen) procesos o auto reacciones, los cuales son analizados por análisis de autovalores (valores singulares al cuadrado); este método puede ser visto como un análisis exploratorio repetitivo de una serie de matrices o subventanas de datos obtenidas a partir de un proceso en evolución para determinar el número significativo de factores (Jiang et al., 2003). Esto es proporcional al rango de la matriz y a la información química contenida, y puede ser asociado con el número de observables (Amrhein et al., 1996; Bernard & Bastin, 2005; Hulhoven et al., 2005; Jiang et al., 2003). De acuerdo a la formulación de Amrhein (Amrhein et al., 1996; Bhatt et al., 2010), el rango mínimo para una matriz espectral se determina según la ecuación (26):

$$\text{Rango (Y)} = \min (\text{número reacciones} + 1, \text{número de especies absorbentes}) \quad (26)$$

Si el sistema contiene s especies o componentes químicos, habrá s ecuaciones que describan estos procesos, en donde $s - 1$ son independientes. Uno de los autovalores es cero (corresponde a que una de las ecuaciones es dependiente), mientras que los restantes ($s - 1$) autovalores son funciones de sus respectivas ecuaciones.

3.6 Resolución de curvas por mínimos cuadrados alternantes

Los métodos de resolución de curvas por mínimos cuadrados (auto modelado) comprenden una familia de técnicas que intentan resolver un *problema inverso lineal*. Estas técnicas resultan muy útiles para la elucidación de fenómenos de multicomponentes en sistemas químicos complejos. Los métodos suelen encontrarse en literatura como self-modeling curve resolution (SMCR) o multivariate curve resolution (MCR) (de Leeuw et al., 1976; Lawton & Sylvestre, 1971; Tauler et al., 1993).

MCR tiene como finalidad extraer, a partir de datos espectroscópicos, los perfiles de concentración y los componentes espectrales puros para un número dado de especies o procesos. Para llegar a estos resultados, se debe resolver la siguiente ecuación:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{C} \mathbf{A} + \mathbf{R} \quad (27)$$

La ecuación de arriba representa la Ley de Lambert-Beer extendida a múltiples canales de rango espectral en notación matricial, donde \mathbf{C} es la matriz de los perfiles de concentración, \mathbf{A} es la matriz de los espectros puros en el rango espectral y \mathbf{R} es la matriz de residuales. La matriz \mathbf{R} contiene las variaciones de absorbancia que no están relacionadas con componentes de importancia física o del modelo planteado. La descomposición bilineal de la matriz de datos original \mathbf{Y} , proceso que no es trivial debido a la ambigüedad rotacional, da como resultado perfiles de concentración y componentes espectrales puros con *significado químico-físico*. Los perfiles de concentración son invariantes en el rango espectral analizado y sólo los espectros puros dependen del rango de frecuencias seleccionado para el análisis (Czarnik-Matusiewicz et al., 2005; Spegazzini et al., 2008).

MCR tiene por objeto obtener una matriz C y una matriz A que contengan un significado químico-físico real, calculadas utilizando la matriz experimental Y multivariante y la transformación de la solución teórica obtenida por la descomposición $Y = U \cdot \Sigma \cdot V^T$.

En particular, MCR basado en mínimos cuadrados alternantes (singlas en inglés ALS) es un método iterativo que calcula en cada ciclo nuevas matrices C y A , y que incorpora un set de restricciones basadas en la información química disponible, no-negatividad (C y $A \geq 0$) y balance de masas ($\sum c_i = 1$), de tal forma que el valor de R resulte minimizado (norma 2) (Tauler et al., 1993):

$$\min \|Y - CA\| \quad (28)$$

El proceso iterativo involucra las siguientes etapas:

- 1) Determinación del número de especies o componentes, s , en la matriz de datos Y ;
- 2) Estima inicial de A ;
- 3) Dados Y y la estima inicial de A , se obtiene por mínimos cuadrados $C = Y A^+$; $[A^+ = A (A^T A)^{-1}]$
- 4) Dados Y y C , se obtiene por mínimos cuadrados $A = C^+ Y$; $[C^+ = (C^T C)^{-1} C^T]$ y
- 5) Se calcula Y_{calc} utilizando las matrices C y A obtenidas. Si el criterio de convergencia ($R = 0.1$) es alcanzado, el proceso finaliza. En caso contrario, se reanuda en el paso 3 hasta alcanzar la convergencia. Cabe aclarar que C^+ y A^+ son las pseudoinversas de las matrices C y A respectivamente. La pseudoinversa es aproximada por SVD, dada una matriz $H^+ = V S^{-1} U^T$.

Una vez finalizado el proceso de minimización, es bien conocido que la descomposición bilineal de la ecuación (27) presenta múltiples soluciones, además de la regularización de un *problema inverso*. Este problema, denominado ambigüedad rotacional (Gemperline, 1999; Tauler, 2001), puede ser fácilmente demostrado a partir de la siguiente ecuación:

$$Y = C_{old} A_{old} = (C_{old} T) (T^{-1} A_{old}) = C_{new} A_{new} \quad (29)$$

Existen un infinito número de soluciones posibles para cualquier matriz T de rotación de dimensiones ($s \times s$).

Cuando se imponen restricciones en el proceso de resolución este problema de ambigüedad disminuye, pero las restricciones más importantes que ayudan a encontrar una solución única son aquellas relacionadas con las regiones de selectividad en los datos, algo que raramente se encuentra en matrices experimentales de datos cinéticos o equilibrio.

Para cada especie o componente químico en particular, el set de posibles soluciones bajo un número específico de restricciones se define en un rango con un máximo y un mínimo que

fueron definidos por Gemperline y reformulados por Tauler (Gemperline, 1999; Tauler, 2001) utilizando la siguiente ecuación:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{C}_i \mathbf{A}_i = \mathbf{C}_i \mathbf{T}_{min} \mathbf{T}_{min}^{-1} \mathbf{A}_i = \mathbf{C}_{min,k} \mathbf{A}_{min,k} = \mathbf{C}_i \mathbf{T}_{max,k} \mathbf{T}_{max,k}^{-1} \mathbf{A}_i = \mathbf{C}_{max,k} \mathbf{A}_{max,k} \quad (30)$$

El objetivo es encontrar el $\mathbf{T}_{max,k}$ y el $\mathbf{T}_{min,k}$ que define los valores mínimos y máximos de las posibles soluciones. Estos son calculados en el marco de un problema de optimización no-lineal restringido. Este problema de optimización se describe matemáticamente mediante la siguiente ecuación:

$$\min \rightarrow f_k(\mathbf{T}) = \frac{\|\mathbf{c}_k \mathbf{a}_k\|}{\|\mathbf{C} \mathbf{A}\|} \quad \text{con } k = 1, \dots, N \quad (31)$$

donde, $g_c(\mathbf{T}) = 0$ y $g_i(\mathbf{T}) \leq 0$ y $g_e(\mathbf{T}) = 0$ es un vector de restricciones de igualdad y $g_i(\mathbf{T})$ es un vector de restricciones de desigualdad.

Finalmente, el rendimiento del proceso de minimización (ecuación (28)) puede ser evaluado mediante dos parámetros: R^2 , el cual representa la varianza explicada por el modelo en la ecuación (27), y el parámetro llamado falta de ajuste o "lack of fit" (*lof*) (Tauler, 2007).

$$R^2 = \frac{\sum_i \sum_j \hat{d}_{ij}^2}{\sum_i \sum_j d_{ij}^2} \quad (32)$$

donde \hat{d}_{ij}^2 representan los valores calculados por el modelo en la ecuación (32); y

$$lof = \sqrt{\frac{\sum_i \sum_j (d_{ij} - \hat{d}_{ij})^2}{\sum_i \sum_j d_{ij}^2}} \quad (33)$$

Capítulo 4

Procedimientos experimentales

4. Procedimientos experimentales

En este capítulo se describirán los procesos experimentales llevados a cabo para obtener los datos a analizar, así como la metodología aplicada en el tratamiento de los datos espectroscópicos obtenidos para su posterior análisis.

4.1 Preparación de la muestra

La muestra fue preparada haciendo pasar agua corriente a través de carbón activado y filtros de ósmosis inversa. Luego, la muestra fue destilada y purificada por un sistema Ultrapure Water System (modelo GSR-200, Advantec, Japón). La resistividad del agua purificada fue mayor a $18.1 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-2}$.

4.2 Adquisición de datos

A continuación, se tomaron los espectros de NIR del agua, medidos en el rango de 10000 a 5400 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} con un espectrómetro FTIR/NIR Perkin Elmer (Waltham, MA) utilizando una celda de cuarzo de 1 mm de paso óptico. El receptáculo de la celda fue conectado a un baño de agua, y la temperatura de la muestra fue controlada mediante circulación de agua termostatzada y medida utilizando un termómetro digital (CHINO Japan Co. Ltd., Osaka, Japón) sumergido en la celda. Este arreglo del sistema permitió el control y estabilización de la temperatura en $\pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$ a $25 \text{ }^\circ\text{C}$ y $\pm 0.2 \text{ }^\circ\text{C}$ a $90 \text{ }^\circ\text{C}$. Se coadicionaron un total de 512 mediciones para cada espectro. La muestra fue calentada de 4 a 92°C a intervalos de 2°C , produciéndose un total de 45 espectros.

4.3 Pretratamiento de espectros de NIR

Los espectros adquiridos fueron exportados y convertidos en archivos binarios de MATLAB. Los datos experimentales correspondientes al equilibrio en estudio fueron dispuestos en una matriz **Y** de (45 x 4600), cuyas filas contienen el número de espectros obtenidos (a diferentes temperaturas $^\circ\text{C}$) y cuyas columnas contienen los valores de intensidad a diferentes longitudes de onda (expresado en número de onda cm^{-1}). Todos los espectros originales fueron pretratados con corrección de offset (Kelly et al., 1989) para eliminar cualquier corrimiento vertical en el espectro causado por utilizar un espectrómetro NIR con un único haz de luz.

Capítulo 5

Resultados y discusión

5. Resultados y discusión

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos durante el desarrollo de esta tesina y se discuten los mismos siguiendo como eje los resultados publicados en artículos publicados en los últimos años.

5.1 Análisis unidimensional

El análisis unidimensional realizado consiste, por una parte, en el análisis de las bandas que emergen en todo el rango espectral considerado y, por otra parte, en el análisis de la segunda derivada aplicada a dichas bandas. Los resultados obtenidos para ambos casos serán presentados a continuación.

5.1.1 Análisis espectral

La figura 5 muestra el espectro de infrarrojo cercano (NIR) del agua en la región de 10000-5400 cm^{-1} (1000-1850 nm), tomado en un rango creciente de temperatura de 4 a 92°C a intervalos de 2°C.

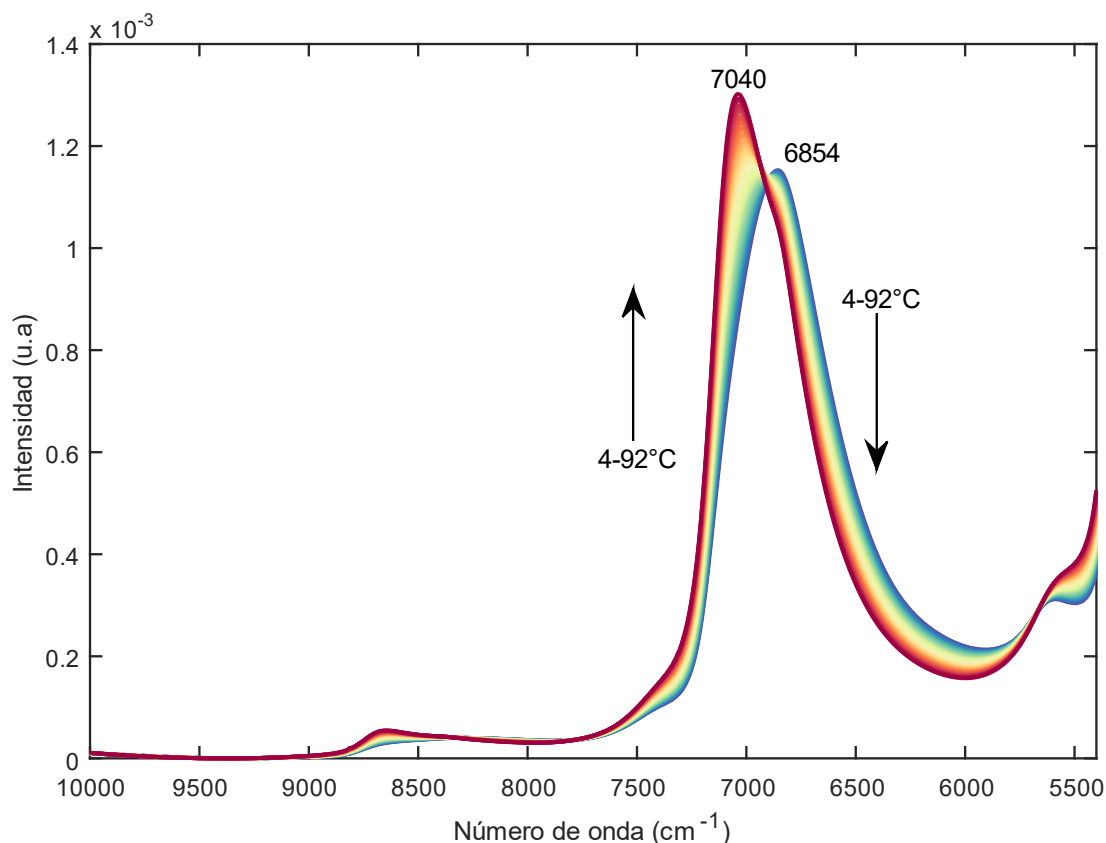


Figura 5. Espectro de NIR del agua tomado en el intervalo de 4-92°C.

La banda dominante centrada alrededor de 7000 cm^{-1} (1430 nm) se atribuye a la combinación de los modos de estiramiento o stretching del enlace O-H simétricos (ν_1) y

antisimétricos (ν_3), correspondientes al primer sobretono (ver figura 6). En el espectro se observa un corrimiento del máximo de la banda de 6854 a 7040 cm^{-1} (1459 a 1420 nm) cuando la temperatura se incrementa gradualmente de 4 a 92°C . Este aparente desplazamiento del máximo se atribuye al hecho de que los enlaces de hidrógeno intermoleculares generalmente se debilitan con el aumento de la temperatura dando lugar a un fortalecimiento de los enlaces covalentes O-H, lo que provoca la vibración de los mismos a mayores frecuencias (Segtnan et al., 2001).

Asimismo, se observa en el rango de 6940 cm^{-1} (1440 nm) una zona en la cual la banda permanece invariante, atribuida al punto isobéstico.

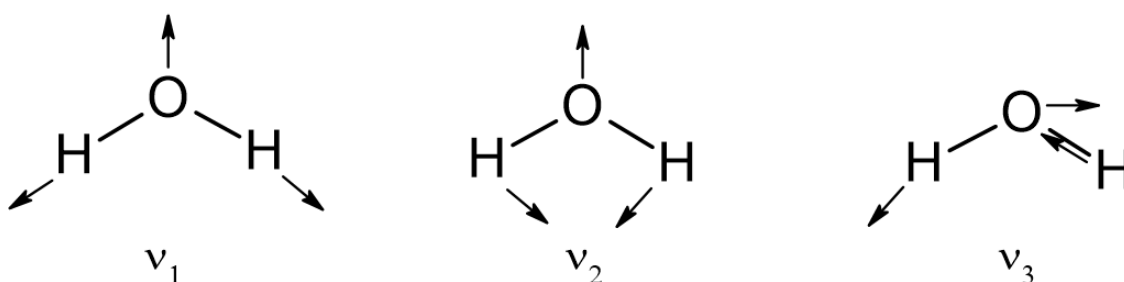


Figura 6. Modos vibracionales del agua: ν_1 modo de estiramiento simétrico, ν_2 modo de flexión y ν_3 modo de estiramiento antisimétrico.

Por otra parte, se puede observar que la banda dominante está conformada por dos bandas correspondientes a las frecuencias de vibración de dos grupos de especies moléculas de agua. Por un lado, se encuentra una banda centrada a 6854 cm^{-1} (1459 nm) que disminuye con el aumento de la temperatura, perteneciente a las especies con enlaces de hidrógeno (HB). Asimismo, se puede ver una segunda banda centrada a 7040 cm^{-1} (1420 nm) que aumenta con el incremento de la temperatura, perteneciente a las especies con enlaces O-H debilitados o rotos (NHB).

La "cola" a 5400 cm^{-1} (2000 nm) corresponde a los modos fundamentales de estiramiento del enlace O-H (ν_1, ν_3) (Siesler et al., 2002).

La figura 7A muestra el primer espectro a 4°C (banda azul) y el último espectro tomado a 92°C (banda roja). La banda azul corresponde a las frecuencias en las que se encuentran mayoritariamente las moléculas de agua con puentes de hidrógeno, mientras que la banda roja se corresponde con las frecuencias en las que absorben mayoritariamente las especies con grupos OH libres. Por otra parte, la zona interlineada corresponde a las frecuencias compartidas entre ambos grupos de especies. Asimismo, se puede observar una zona estática o invariante alrededor de 6900 cm^{-1} , correspondiente al punto isobéstico.

La figura 7B y la figura 7C muestran las variaciones del espectro del agua obtenidas aplicando espectroscopía de diferencia. En el caso de la figura 7B, la banda roja representa los cambios producidos mayoritariamente a altas temperaturas, mientras que en la figura 7C se

observan la banda azul representa los cambios producidos a bajas temperaturas. En ambas figuras se puede observar la región del espectro (representada por la banda verde) que permanece invariante, lo cual se encuentra en concordancia con lo observado anteriormente.

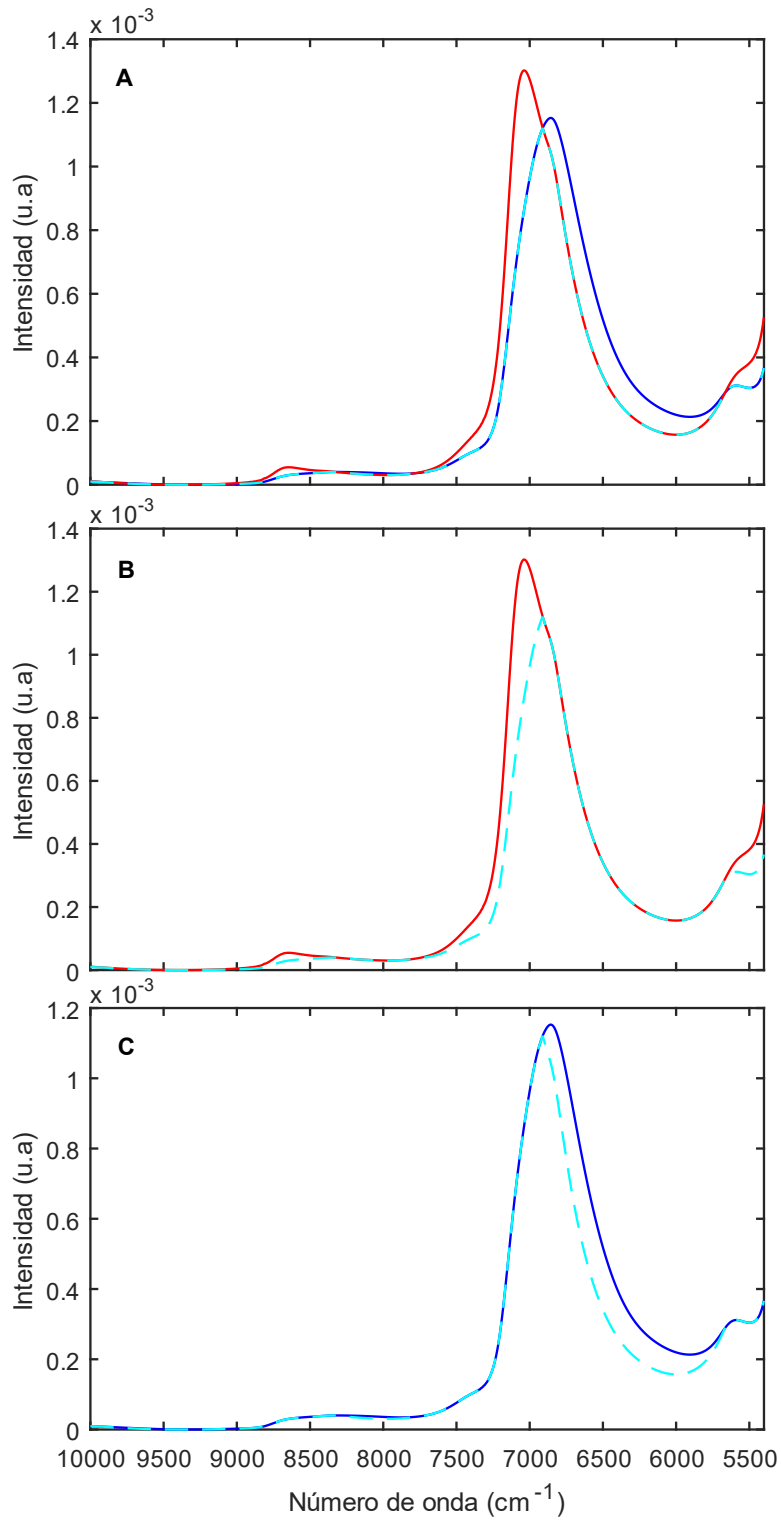


Figura 7. Espectro de NIR del agua a 4 y 92°C (a), espectros de NIR obtenidos por espectroscopia de diferencia (b y c).

A partir de estas observaciones se genera un nuevo espectro en el que se observan las variaciones en todo el rango de temperaturas medido.

La figura 8 muestra el espectro completo de NIR del agua luego de aplicar la técnica de espectroscopía de diferencia. Esta técnica permite analizar los cambios espectrales inducidos por determinadas perturbaciones y realzar aquellos rangos de frecuencia que son más sensibles a la perturbación aplicada.

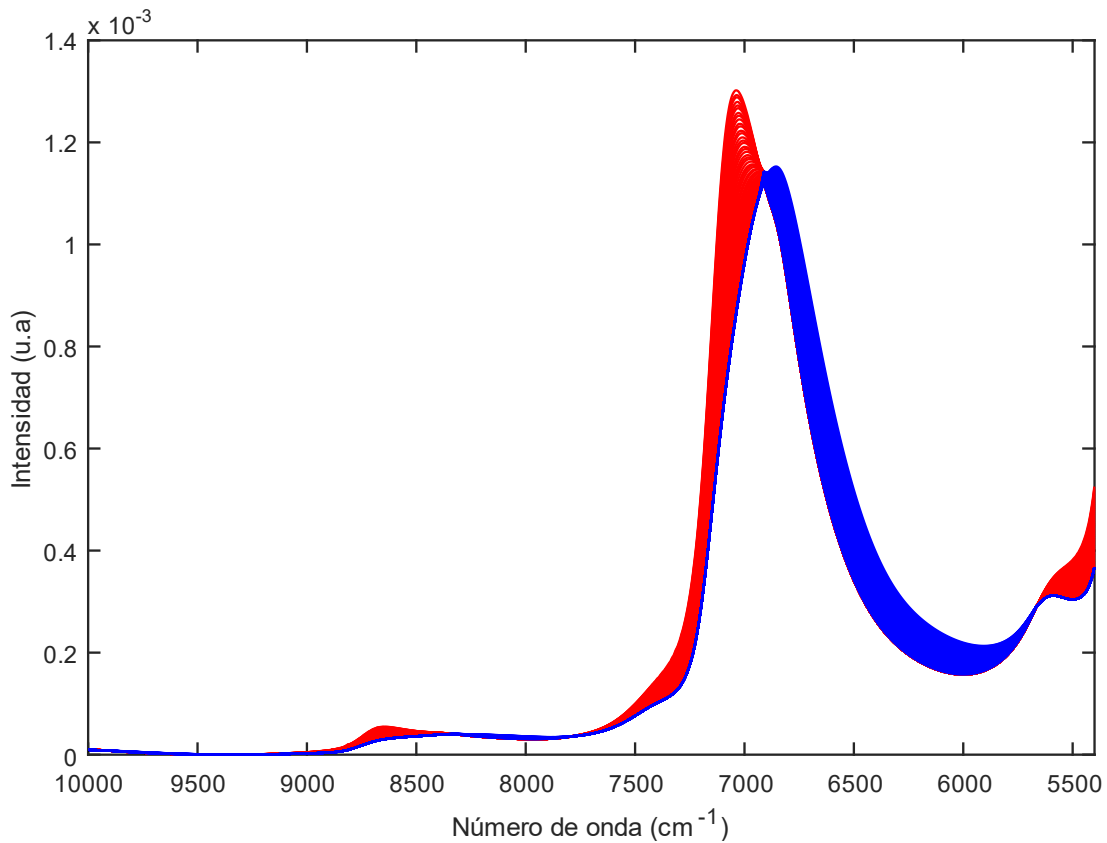


Figura 8. Espectro de NIR del agua obtenido aplicando espectroscopía de diferencia.

En esta figura se pueden observar las perturbaciones del espectro en función de la temperatura y a qué componentes o especies se deben mayoritariamente esos cambios. Se observan zonas azules o “frías”, pertenecientes a cambios observados a baja temperatura, y zonas rojas o “calientes”, debidas a cambios producidos a alta temperatura. Siguiendo este procedimiento se puede observar una diferenciación entre aquellas frecuencias que corresponden a las especies con puentes de hidrógeno, que disminuyen con el aumento de la temperatura, y aquellas que corresponden a los grupos O-H libres, que aumentan con el incremento de la temperatura. De esta manera se puede ‘romper’ parcialmente la ambigüedad o incertidumbre de la procedencia de cada variación, y observar en qué frecuencias se encuentra distribuido cada componente.

5.1.2 Análisis de derivadas

La figura 9A muestra la segunda derivada con respecto a la frecuencia aplicada al espectro de NIR a temperaturas entre 4 y 92°C. El propósito de analizar la segunda derivada es realzar las diferencias en los espectros y ver o separar bandas que se encuentran solapadas en los mismos.

Se puede observar que la banda ubicada entre 6000 y 7500 cm^{-1} consiste de al menos cinco componentes. Las bandas de mayor intensidad (ubicadas a 7087 y 6840 cm^{-1}) corresponden a las especies con grupos O-H libres y a las especies con puentes de hidrógeno, respectivamente. Además, se puede observar un “hombro” de baja intensidad cercano a 7440 cm^{-1} que se atribuye a un modo $\nu_1+\nu_2+\nu$ (ν : modo rotacional) (Siesler et al., 2002).

Cabe resaltar que la segunda derivada indica principalmente la variación de intensidad de las bandas en el dominio de frecuencias y la velocidad del cambio. Se observa en la misma que las bandas con intensidades elevadas se corresponden con cambios producidos en rangos de frecuencia cortos, mientras que múltiples cambios producidos en rangos de frecuencia más grandes dan lugar a bandas de menor intensidad y mayor ancho, efecto conocido como ensanchamiento inhomogéneo (“inhomogeneous broadening”) del puente O-H.

La figura 9B muestra la segunda derivada a 4°C (línea azul) y a 92°C (línea roja). En la misma se puede observar la separación o pseudo deconvolución de las bandas observadas en el espectro crudo. La intensidad de cada pico está relacionada con la velocidad de cambio con respecto a la frecuencia de cada banda obtenida en el espectro crudo. En este espectro se pueden observar las principales bandas que se encuentran presentes a temperaturas bajas y aquellas que aparecen y prevalecen cuando aumenta la temperatura.

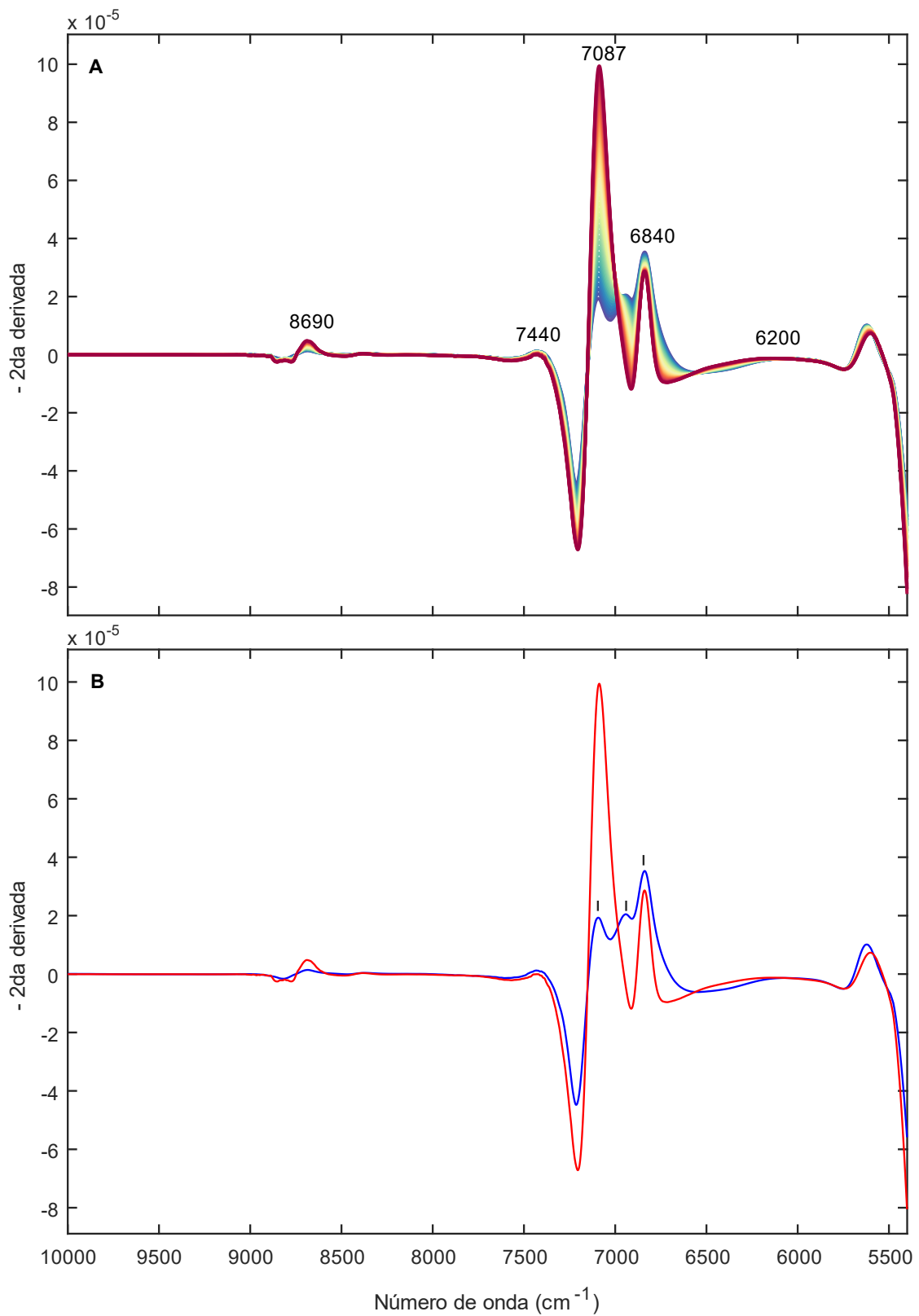


Figura 9. Segunda derivada aplicada al espectro completo de NIR del agua (a) y segundas derivadas a 4 y 92°C (b).

La figura 10 muestra la segunda derivada con respecto a la frecuencia del espectro de NIR del agua, diferenciada entre zonas frías y calientes. Este análisis permite ver la aparición o desaparición de las bandas a medida que se incrementa la temperatura. En el caso de las zonas azules, se puede observar la banda a 6840 cm^{-1} , previamente asignada a las distintas moléculas de agua con enlaces de hidrógeno. En el caso de las zonas rojas, se puede observar la banda a 7087 cm^{-1} asignada a los grupos O-H libre. Por otro lado, se observa una banda a 6950 cm^{-1} compartida entre las zonas azules y rojas, correspondiente al punto isobéptico.

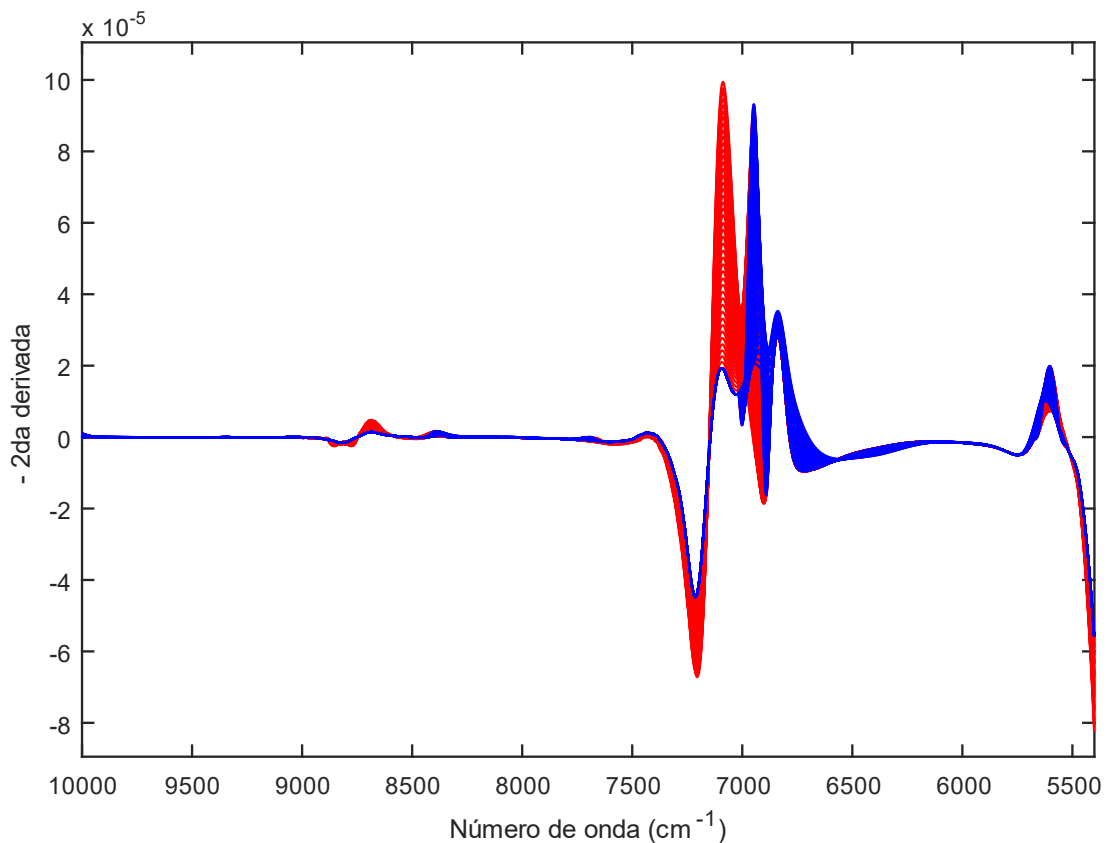


Figura 10. Segunda derivada diferenciada entre zonas frías y calientes

La figura 11 muestra la segunda derivada aplicada al espectro de diferencias en la figura 7A. En estas dos figuras se pueden observar los cambios producidos en las bandas al moverse de la zona de bajas temperaturas a la zona de altas temperaturas, y aquellas bandas que permanecen invariantes. En el caso de la zona de baja temperatura, se observa la aparición de la banda correspondiente a las especies con puentes de hidrógeno. Al desplazarle a mayores temperaturas se produce la maximización de la banda correspondiente a los OH libres, localizada a 7087 cm^{-1} .

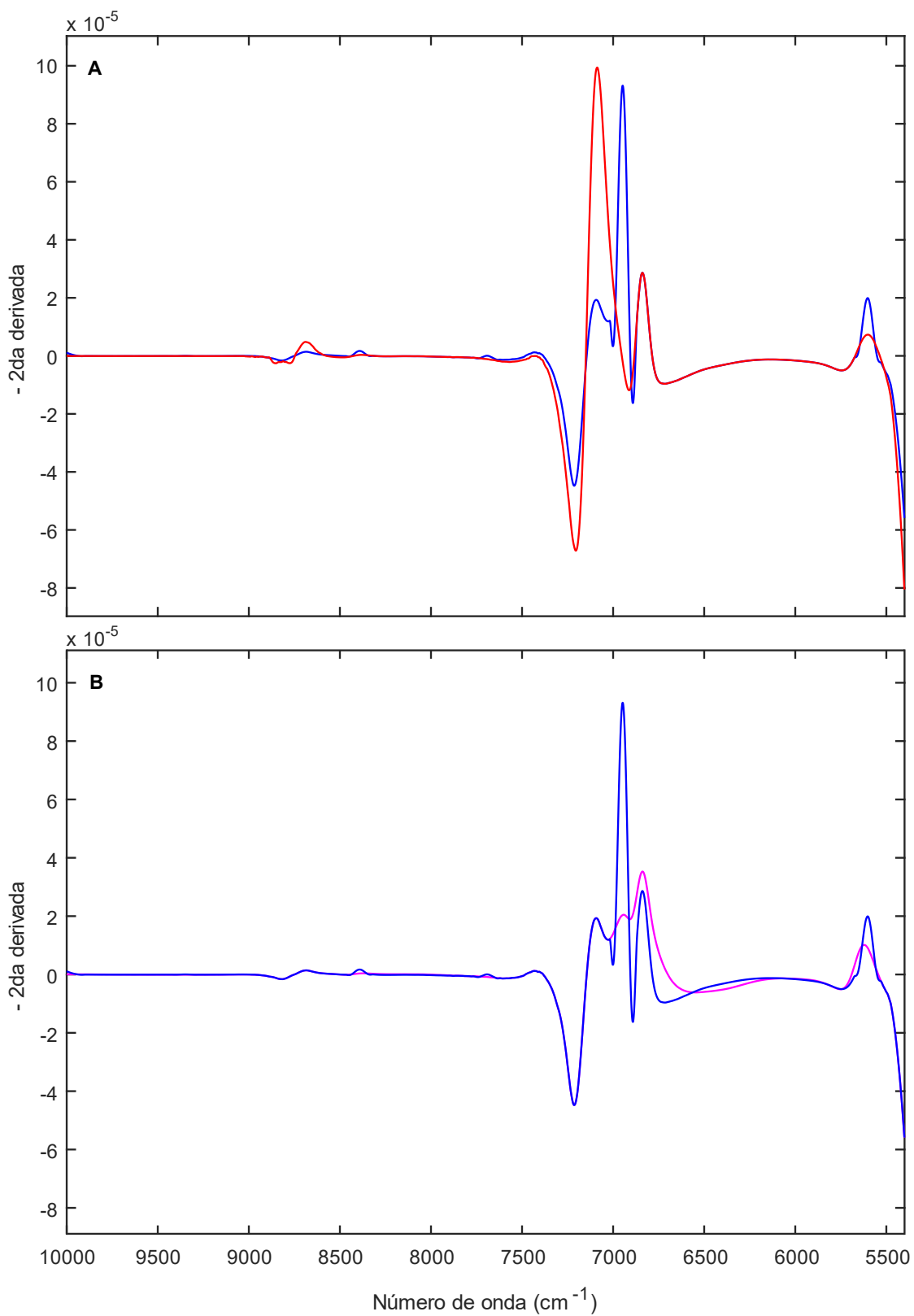


Figura 11. Variaciones de la segunda derivada y maximización de las bandas a temperaturas altas (a) y bajas (b).

Como se mencionó anteriormente, la segunda derivada maximiza los cambios ocurridos en rangos cortos de frecuencia; si la señal es de baja frecuencia (se dan múltiples cambios en rangos grandes de frecuencia), se obtienen bandas de baja intensidad y se observa un ensanchamiento inhomogéneo. Por otro lado, si la señal es de alta frecuencia se obtienen bandas más estrechas y de mayor intensidad, como se observa en el caso de la banda correspondiente a los OH libres.

5.2 Espectroscopia de correlación bidimensional (2DCOS) – mapa sincrónico

En el mapa sincrónico se puede observar la información relacionada con las bandas estudiadas y la correlación que existe entre las mismas. Sobre la diagonal del mapa se encuentran los autopicos (*autopeaks*) que muestran la correlación de la banda consigo misma. Por otro lado, fuera de la diagonal se encuentran los picos cruzados (*cross-peaks*) que muestran la correlación entre la banda considerada y otra banda situada a diferente frecuencia.

En la figura 12 se muestra el mapa sincrónico (Φ) de 2DCOS para el agua. En la diagonal se pueden observar dos autopicos que contienen información relacionada con las especies con puente H y con OH libre. El primer autopico se encuentra a 6721 cm^{-1} relacionado con las especies con puente H (se corresponde con la banda asignada a 6854 cm^{-1} en el análisis unidimensional). Por otro lado, se observa un segundo autopico a 7089 cm^{-1} , relacionado con el OH libre (banda asignada a 7087 cm^{-1}).

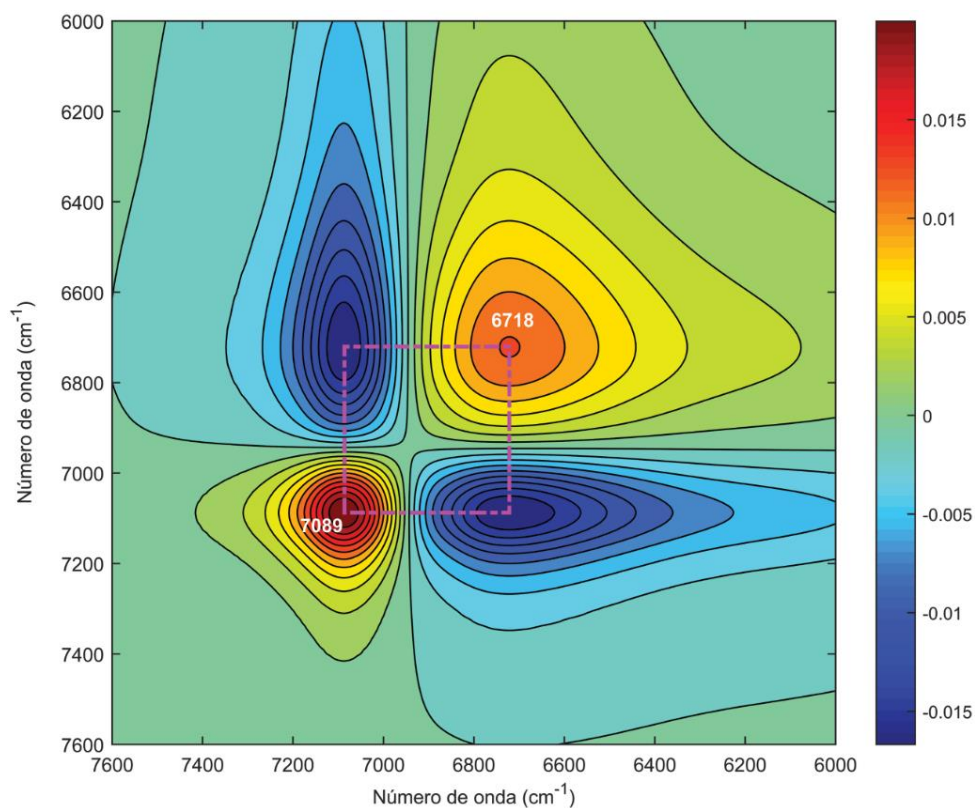


Figura 12. Mapa sincrónico (Φ) de 2DCOS para el agua.

La finalidad de 2DCOS es poder extender en una segunda dimensión los cambios dinámicos o simultáneos en fase (*in-phase*) que ocurren en el dominio frecuencia. Se puede observar fuera de la diagonal una correlación cruzada (*cross-correlation*) entre ambas bandas (6723 cm^{-1} , 7089 cm^{-1}). El signo de esta correlación es negativo, lo cual indica que los cambios observados se producen en la misma dirección, pero con sentidos opuestos. La región a 6723 cm^{-1} relacionada con el puente H está en detrimento (\downarrow) en función de la temperatura, mientras que la región a 7090 cm^{-1} , relacionada con el OH libre, está en aumento (\uparrow).

Cabe destacar que los mapas de 2DCOS están enfocados en el análisis de la dinámica de la banda y a la asignación de las mismas. Se puede observar también el fenómeno de ensanchamiento inhomogéneo de la banda de puente OH donde hay un solapamiento de múltiples líneas o bandas de absorción, razón por la cual se observa una mayor dinámica de cambio en la región de 6723 cm^{-1} . Este ensanchamiento se produce porque existen múltiples familias de especies con puente H.

Para un análisis más exhaustivo se puede extraer la diagonal (autopico) de la matriz Φ , que se muestra en la Figura 13. Lo que se observa en esta figura es la varianza de la dinámica de la matriz de agua, y puede verse que existen dos bandas dinámicas con sus respectivos máximos. Por un lado, se encuentra una banda a 7090 cm^{-1} la cual resulta ser más estrecha y en forma de aguja. Esto podría indicar que existe un ensanchamiento homogéneo en ese rango de frecuencia y que el comportamiento de la banda de absorción del OH libre puede ser descrito en pocas frecuencias o *line-shapes*.

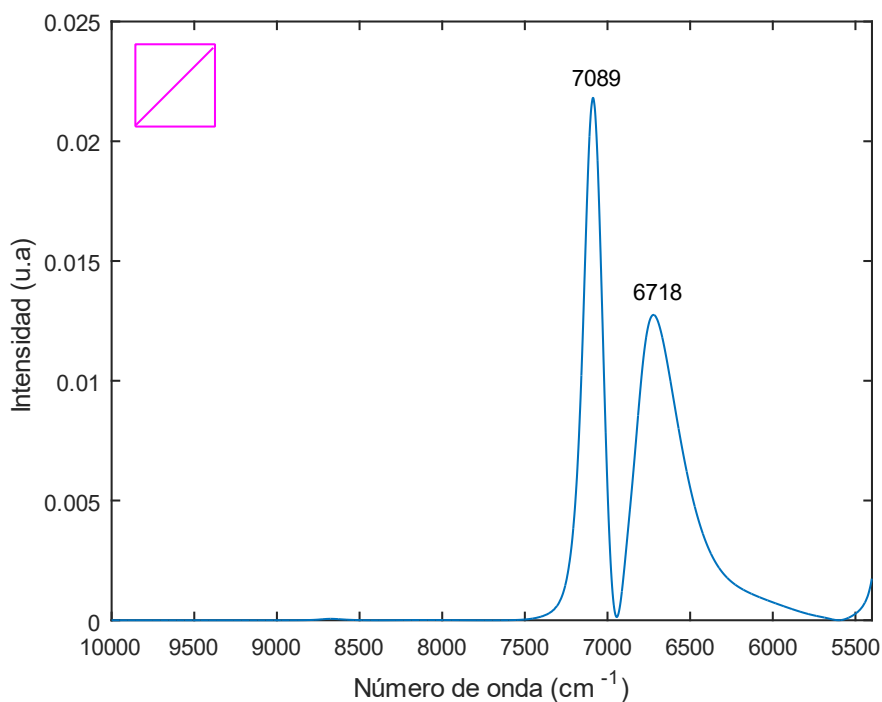


Figura 13. Representación de los autopicos presentes en la diagonal del mapa sincrónico del agua.

A partir del análisis realizado se corrobora la información relevante extraída del análisis unidimensional, agregando la información de la dinámica de las bandas en simultáneo.

5.3 Determinación de número mínimo de reacciones o procesos

El número de especies fue determinado por el análisis dinámico de autovalores realizando SVD sobre la matriz espectral dependiente de la temperatura.

La figura 14 muestra los autovalores (en unidades logarítmicas) como una función de la posición de las filas consideradas en la matriz de datos que corresponden a la dirección de incremento de la temperatura.

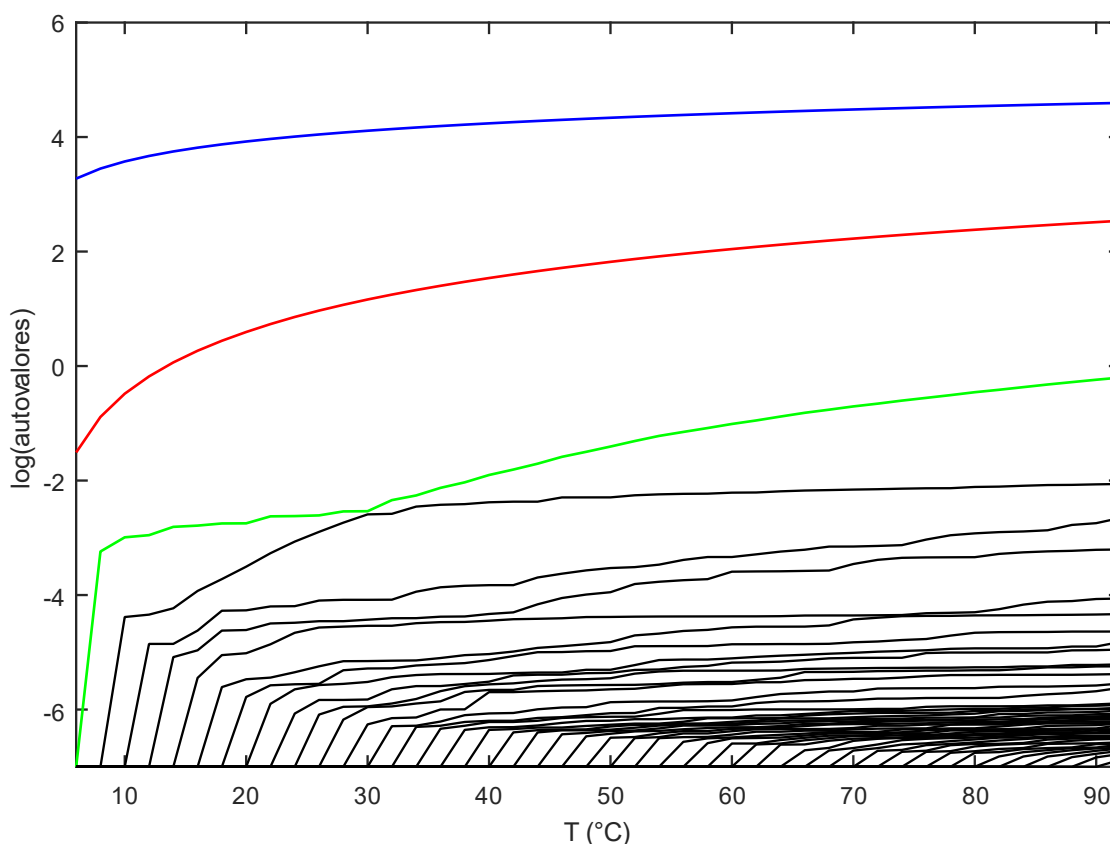


Figura 14. Representación de los autovalores de la matriz de datos en función de la temperatura.

En un análisis preliminar se tiene en cuenta un umbral en -2 (escala logarítmica) que separa los contribuyentes mayoritarios de los minoritarios; por lo tanto, 3 factores son considerados. En un análisis más exhaustivo, se obtiene para el primer factor (PC1) tiene una varianza capturada del 99,72% y para el segundo factor (PC2) una varianza capturada de 0,27% con una varianza acumulada total de 99,99%. Por otro lado, para el tercer factor (PC3) se obtiene una varianza capturada de 0,01%; por lo tanto, éste se considera despreciable.

En base a estos resultados, en el presente análisis se tomarán dos factores significativos en lugar de 3, aunque un tercer factor podría ser considerado para estudios a futuro en los que se requiera un análisis y modelado más exhaustivo.

Continuando con el análisis de la figura 14, se observa que ambos factores o contribuciones emergen al mismo tiempo al principio del experimento, mostrando alta variabilidad a temperaturas iniciales (4 a 30°C). Este número es consistente con la formulación de Amrhein para predecir el número de especies y procesos (Amrhein et al., 1996). Se puede inferir que esta contribución está relacionada con dos especies correlacionadas con la formación de un estado en equilibrio entre especies de agua con y sin puente hidrógeno. Como se estableció anteriormente (ver ecuación (26)), para una matriz espectral Y se cumple lo siguiente:

$$\text{Rango } (Y) = \min (\text{número reacciones} + 1, \text{número de especies absorbentes})$$

Por lo tanto, para el sistema en estudio se obtiene:

$$\text{Rango } (Y) \cong \min (1 + 1, 2)$$

$$\text{Rango } (Y) \cong 2$$

Por un lado, un factor puede ser interpretado como la contribución a las especies de agua que forman puente hidrógeno (HB) que están en detrimento en función de la temperatura, mientras que el otro factor puede ser atribuido a especies de agua en su forma semi o totalmente libre (NHB) que se incrementan con la temperatura.

5.4 MCR basado en ALS

Como se ha mencionado anteriormente MCR-ALS extrae, a partir de espectros de absorción medidos del agua, los perfiles de concentración y los componentes espectrales puros para un número dado de especies. Para llegar a estos resultados, se resolvió la ecuación (27) descrita anteriormente.

A partir de la información provista por el análisis dinámico de autovalores se deduce dos especies o componentes mayoritarios en el agua. Cabe aclarar que no hay forma directa de saber exactamente el número real de componentes estructurales para el agua de 4 a 92°C. Por tanto, la única posible vía de resolver el *problema inverso*, en un modelo de especies en agua, es a través de un método de resolución de curvas basado en ALS, a partir de las observaciones espectrales. Finalmente, los cálculos de MCR basado en ALS fueron llevados a cabo para este estudio.

En el proceso de optimización, en el cual se aplica ALS a la matriz Y (45x4600) [Temperatura (°C) x Numero de onda (cm⁻¹)], se impusieron dos restricciones: no-negatividad y balance de masa para los perfiles de concentración, los espectros puros a resolver, y también normalización del área. Los resultados de la optimización dieron lugar a la matriz C (45x2), la

cual contiene los perfiles de concentración para los dos componentes y la matriz A (2×4600), que contiene los respectivos espectros puros.

La figura 15 muestra los perfiles de concentración de las especies químicas. En la misma se pueden observar dos componentes, uno que incrementa su concentración con el aumento de temperatura y otro que disminuye su concentración conforme aumenta la temperatura. Estos dos componentes fueron atribuidos anteriormente (Libnau, Toft, et al., 1994; Šašić et al., 2002) a las especies con enlaces de hidrógeno predominantes a baja temperatura, y a los grupos OH libres o “free OH” que se forman con el aumento de temperatura, respectivamente.

Adicionalmente, se puede observar las consecuencias de usar la restricción de balance de masa en ambas especies, dejando en evidencia que esta restricción mejora los resultados de la resolución de curvas. Desde un punto de vista químico-físico, mejora resolución en la linealidad de los perfiles de concentración para $[HB] + [NHB] = 1$, y desde el punto de vista de un proceso de optimización disminuye el número de iteraciones para alcanzar el mínimo. Cabe destacar que en este caso no se necesita información externa, donde usualmente se utiliza un factor de corrección basado en la intensidad del punto isobéptico, para calibrar los espectros puros resueltos y obtener los perfiles reescalados de concentración por mínimos cuadrados (Libnau et al., 1994; Šašić et al., 2002; Walrafen & Monosmith, 1984).

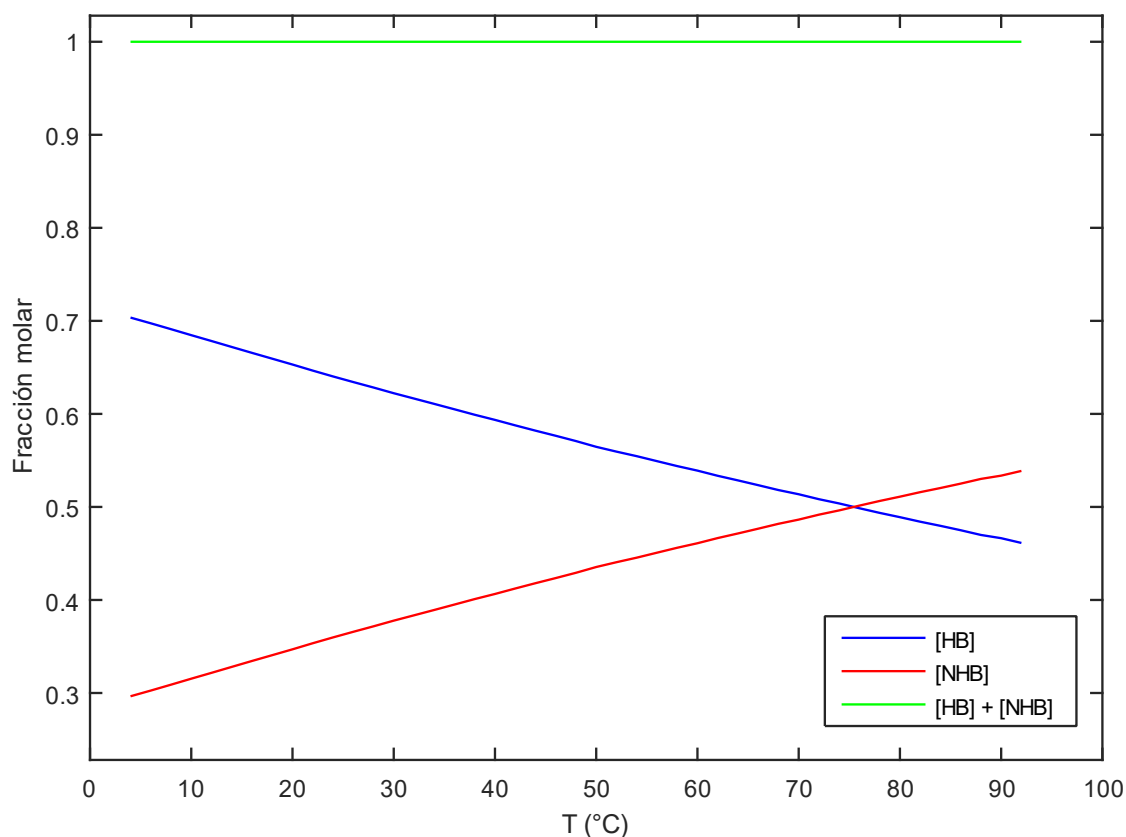


Figura 15. Perfiles de concentración de los componentes puros en el rango de 4-92°C obtenidos por MCR-ALS.

La figura 16 muestra los espectros puros resueltos; en la misma se observan dos bandas, una más ancha y con un máximo a 6800 cm^{-1} , atribuida a las especies con puentes de hidrógeno, y una segunda más aguda y cuyo máximo se encuentra a 7068 cm^{-1} , atribuida a las especies con grupos OH libre. Se puede observar que la separación de las bandas fue satisfactoria y que los resultados se encuentran en concordancia con lo discutido en secciones anteriores.

Por otro lado, se utilizaron el R^2 y el *lof* para determinar la bondad del ajuste. En este caso, se obtuvieron un valor de R^2 de 0,9984 y un valor de *lof* de 0,034%. Por tanto, se puede afirmar que el ajuste es satisfactorio.

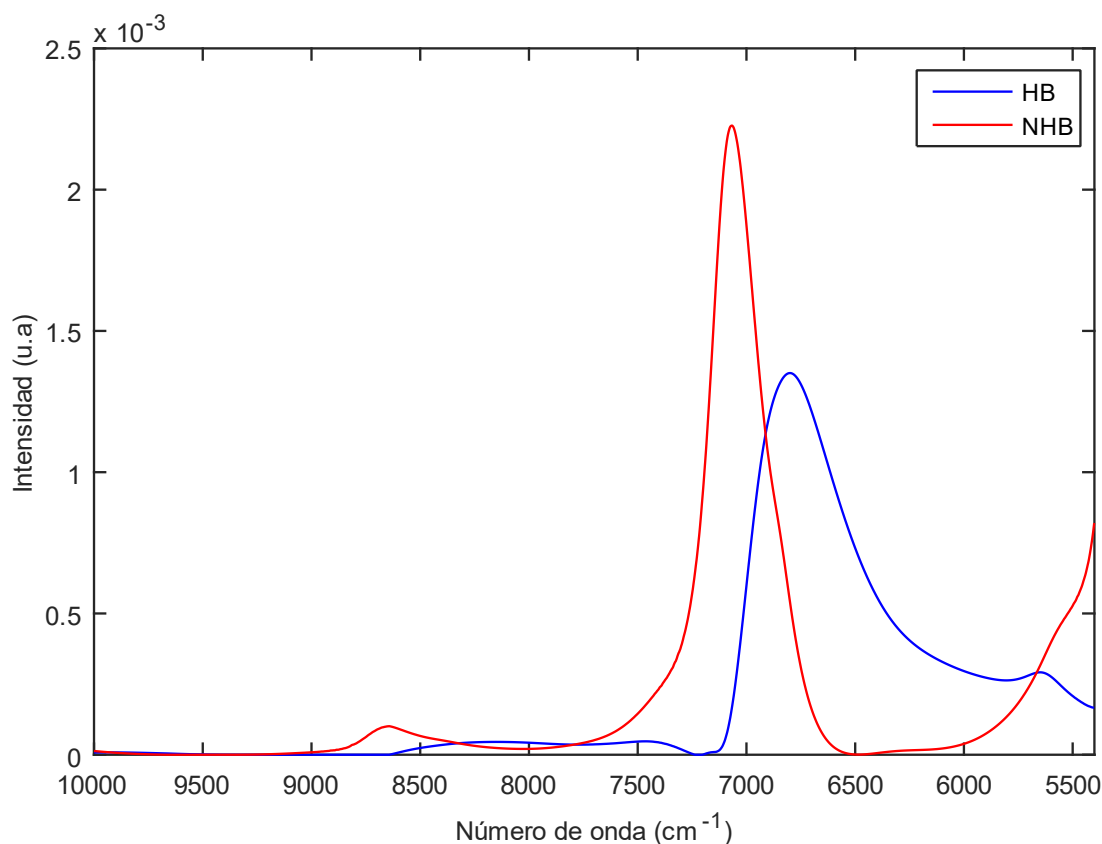


Figura 16. Espectros puros de las especies recuperados por MCR-ALS.

Como se mencionó en secciones anteriores, la solución hallada es solo una de un número posible de soluciones para la ecuación (27), afectada por ambigüedad rotacional. Por esta razón, se calcularon adicionalmente las zonas de fiabilidad para el sistema estudiado, teniendo en cuenta las restricciones introducidas en el algoritmo de ALS. Los resultados hallados se muestran a continuación.

En la figura 17 se presentan las zonas de fiabilidad para los perfiles de concentración y los espectros puros calculados. Como se puede observar en ambos casos, los perfiles de concentración y espectros puros de cada especie se encuentran dentro del área de fiabilidad

obtenida. Esto significa que el modelo de dos componentes es *fiable* basado en nuestras observaciones espectrales. Cabe aclarar la introducción de restricciones de no-negatividad y balance de masa reduce el área de fiabilidad considerablemente. Todo resultado fuera del área de fiabilidad no es correcto y se deben seguir refinando los componentes (dominio concentración y espectral) en el proceso de optimización por ALS.

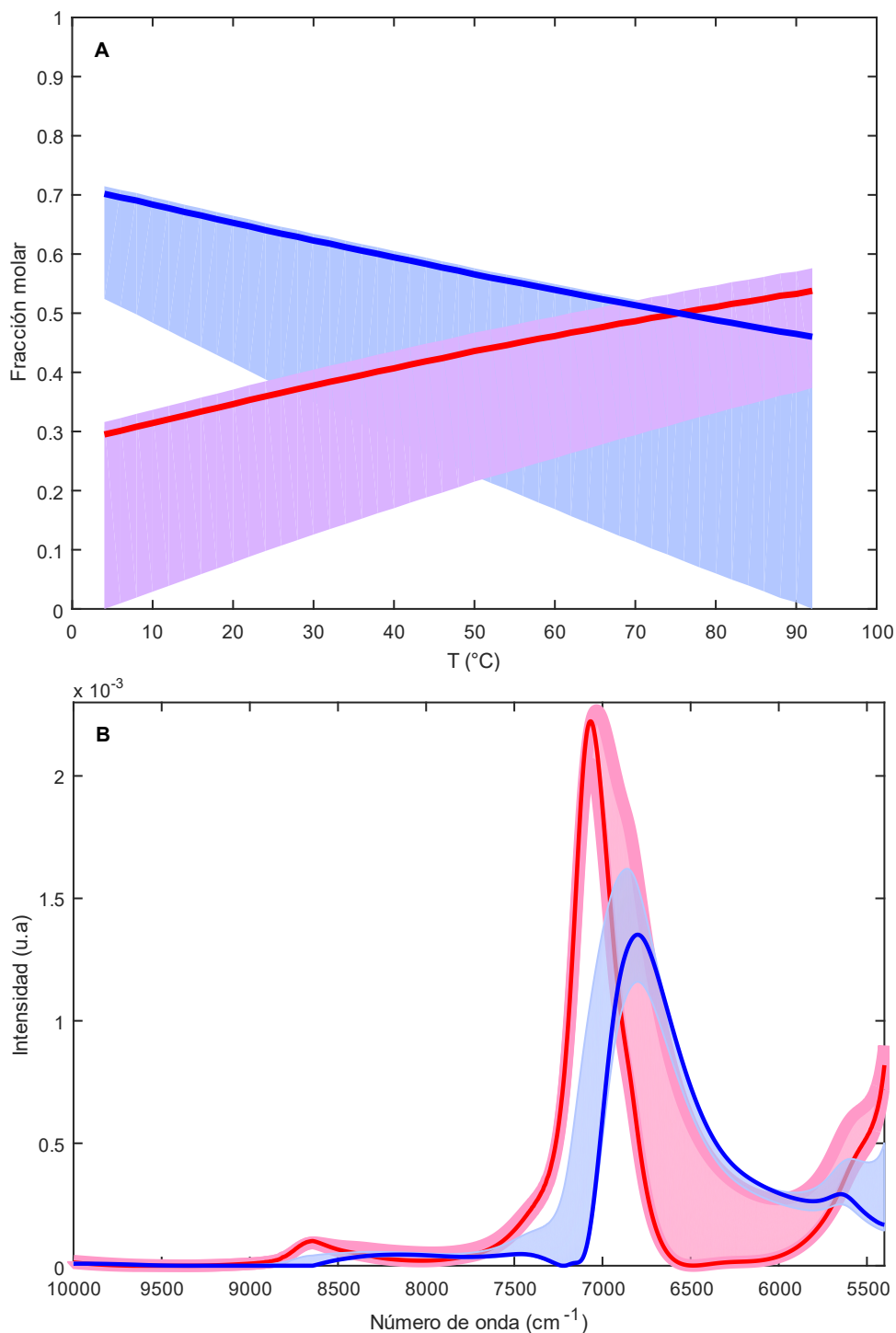
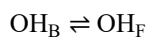


Figura 17. Áreas de fiabilidad en ambigüedad rotacional para los perfiles de concentración (a) y los espectros puros (b) obtenidos por ALS.

5.5 Cálculo de entalpía de puente hidrógeno

Con el fin de calcular la entalpía de puente hidrógeno se planteó el equilibrio entre la forma libre (OH_F) y enlazada (OH_B) de forma tal que



Este equilibrio de dos estados con distinto grado de formación de puente hidrogeno se esquematiza en la figura 18, basándose en los resultados obtenidos en secciones anteriores.

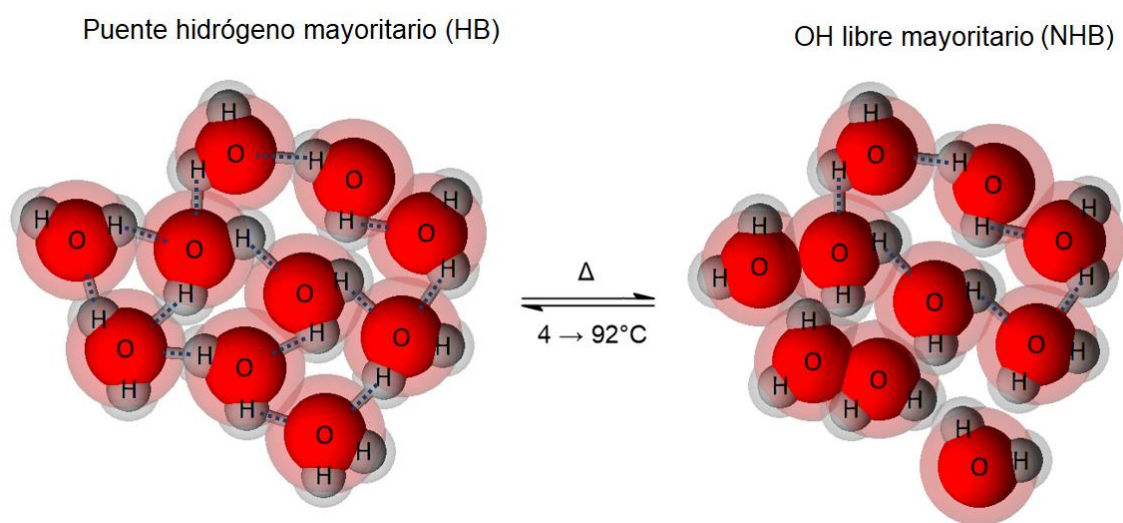


Figura 18. Modelo de dos estados para el agua.

Para calcular los parámetros termodinámicos se realizó un gráfico de van't Hoff, del cual se obtuvo el valor de entalpía de $2,3 \text{ kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$ y un valor de entropía de $6,7 \text{ cal}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$ para el intervalo de temperatura de $4\text{-}92^\circ\text{C}$. La figura 19 muestra el gráfico de $\ln K$ vs $1/T$; se puede observar que los datos del modelo analizado se ajustan perfectamente a una función lineal, lo cual permite calcular la entalpía de puente hidrógeno a partir de la pendiente de la recta y la entropía a partir de la ordenada al origen, siguiendo la ecuación:

$$\ln K = -\frac{\Delta H}{R} \times \frac{1}{T} + \frac{\Delta S}{R} \quad (34)$$

donde $K = \frac{[\text{OH}]_F}{[\text{OH}]_B}$.

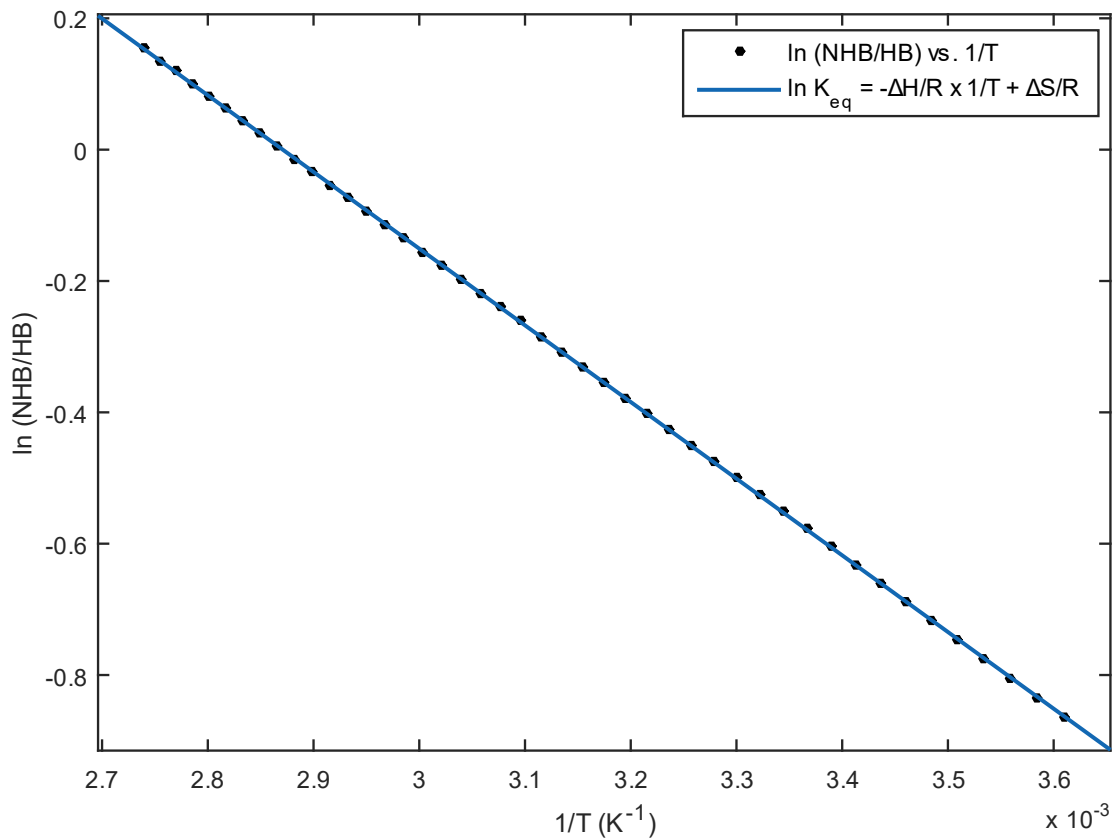


Figura 19. Gráfico de van't Hoff del equilibrio ($\text{OH}_B \rightleftharpoons \text{OH}_F$) por ruptura de puente hidrógeno en agua líquida.

El gráfico de los residuales, el cual se puede observar en la figura 20, muestra que los mismos son al menos tres órdenes de magnitud menores que los datos analizados.

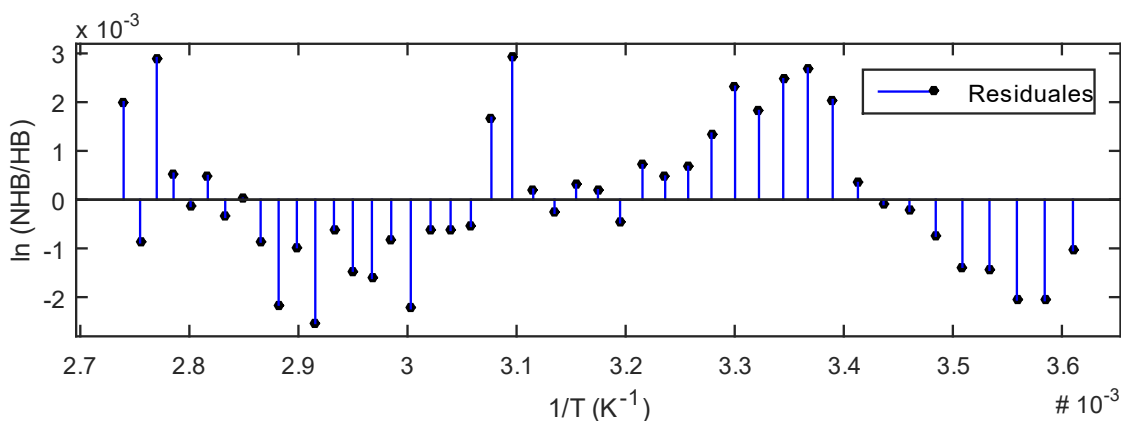


Figura 20. Gráfico de residuales obtenidos para el ajuste llevado a cabo.

Los parámetros del ajuste lineal fueron obtenidos utilizando la herramienta de curve fitting de MATLAB, y son resumidos a continuación:

Tabla 1. Parámetros estadísticos del ajuste aplicado.

Parámetros del ajuste					
	Pendiente	Ordenada al origen	Suma de cuadrados de los residuos (SSE)	R ²	Error cuadrático medio (RMSE)
Valor	1168 (1166,1169)	3,352 (3,346, 3,357)	9,871x10 ⁻⁵	0,99	0,001515

Finalmente, el valor de entalpía de puente hidrógeno obtenido se encuentra dentro del rango reportado en publicaciones anteriores (Hare & Sorensen, 1990; Libnau, Toft, et al., 1994; Šašić et al., 2002; Walrafen & Monosmith, 1984). Al resolver los espectros de agua sin predeterminar las formas de las bandas subyacentes, se puede concluir que el equilibrio planteado da una descripción válida del proceso temperatura dependiente de ruptura del puente de hidrógeno en agua líquida.

Capítulo 6

Conclusiones y perspectivas a futuro

6. Conclusiones y perspectivas a futuro

En esta tesina se presentó una metodología para resolver un problema químico planteado desde el punto de vista de un problema inverso lineal, utilizando análisis espectroscópico en 1-dimensión y 2-dimensiones, análisis del factor para recabar información y, *a posteriori*, un método de descomposición bilineal basado en mínimos cuadrados para la identificación de parámetros termodinámicos.

En particular, se obtuvo el valor de un parámetro como la entalpía a partir del análisis espectroscópico y la aplicación de una aproximación libre de calibración. Los resultados obtenidos se encuentran dentro de los resultados publicados anteriormente, lo cual confirma la utilidad de la espectroscopia como herramienta análisis, así como para la extracción de parámetros en modelos químicos de diversa complejidad.

Como se estableció a lo largo de este trabajo, entender la dinámica del enlace de hidrógeno representa un aspecto crucial para lograr una mejor comprensión del rol del agua en procesos fundamentales como la solvatación de moléculas orgánicas, el plegamiento de proteínas y la formación de membranas en sistemas biológicos y, por otro lado, en procesos químicos que son relevantes para la industria como las reacciones de polimerización.

Los resultados obtenidos son prometedores, si bien es importante continuar con el estudio para lograr un mayor entendimiento de las especies involucradas y su interacción, además de estudiar los cambios que podrían observarse en un ambiente químico con distintos solutos presentes (por ejemplo, alcoholes y proteínas).

En el futuro se espera continuar con el estudio del comportamiento del enlace de hidrógeno en sistemas acuosos, combinando la metodología aplicada en el presente trabajo con cálculos teóricos de mecánica cuántica.

Bibliografía

- Amrhein, M., Srinivasan, B., Bonvin, D., & Schumacher, M. M. (1996). On the rank deficiency and rank augmentation of the spectral measurement matrix. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 33(1), 17–33. [https://doi.org/10.1016/0169-7439\(95\)00086-0](https://doi.org/10.1016/0169-7439(95)00086-0)
- Atkins, P. W., & de Paula, J. (2008). *Atkins Química física* (8va ed.). Editorial Medica Panamericana.
- Atkins, P. W., & Jones, L. (2010). *Chemical principles: The quest for insight* (5th ed.). W. H. Freeman and Company.
- Bernard, O., & Bastin, G. (2005). On the estimation of the pseudo-stoichiometric matrix for macroscopic mass balance modelling of biotechnological processes. *Mathematical Biosciences*, 193(1), 51–77. <https://doi.org/10.1016/j.mbs.2004.10.004>
- Bhatt, N., Amrhein, M., & Bonvin, D. (2010). Extents of Reaction, Mass Transfer and Flow for Gas–Liquid Reaction Systems. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 49(17), 7704–7717. <https://doi.org/10.1021/ie902015t>
- Billeter, J. L. (2009). *Chemometric methods for prediction of uncertainties and spectral validation of rank deficient mechanisms in kinetic hard-modelling of spectroscopic data* [ETH]. <https://doi.org/10.3929/ethz-a-005916281>
- Brewster, V. L., Ashton, L., & Goodacre, R. (2011). Monitoring the Glycosylation Status of Proteins Using Raman Spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 83(15), 6074–6081. <https://doi.org/10.1021/ac2012009>
- Czarnecki, M. A., Morisawa, Y., Futami, Y., & Ozaki, Y. (2015). Advances in Molecular Structure and Interaction Studies Using Near-Infrared Spectroscopy. *Chemical Reviews*, 115(18), 9707–9744. <https://doi.org/10.1021/cr500013u>

- Czarnik-Matusewicz, Bogusława, & Pilorz, S. (2006). Study of the temperature-dependent near-infrared spectra of water by two-dimensional correlation spectroscopy and principal components analysis. *Vibrational Spectroscopy*, *40*(2), 235–245.
<https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2005.10.002>
- Czarnik-Matusewicz, Bogusława, Pilorz, S., & Hawranek, J. P. (2005). Temperature-dependent water structural transitions examined by near-IR and mid-IR spectra analyzed by multivariate curve resolution and two-dimensional correlation spectroscopy. *Papers Presented at the 9th International Conference on Chemometrics in Analytical Chemistry*, *544*(1), 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.04.040>
- de Leeuw, J., Young, F. W., & Takane, Y. (1976). Additive structure in qualitative data: An alternating least squares method with optimal scaling features. *Psychometrika*, *41*(4), 471–503. <https://doi.org/10.1007/BF02296971>
- Geissler, P. L. (2013). Water Interfaces, Solvation, and Spectroscopy. *Annual Review of Physical Chemistry*, *64*(1), 317–337. <https://doi.org/10.1146/annurev-physchem-040412-110153>
- Gemperline, P. J. (1999). Computation of the Range of Feasible Solutions in Self-Modeling Curve Resolution Algorithms. *Analytical Chemistry*, *71*(23), 5398–5404.
<https://doi.org/10.1021/ac990648y>
- Hadamard, J. (1902). Sur les Problèmes aux Dérivées Partielles et Leur Signification Physique. *Princeton University Bulletin*, *13*, 49–52.
- Hare, D. E., & Sorensen, C. M. (1990). Raman spectroscopic study of dilute HOD in liquid H₂O in the temperature range – 31.5 to 160 °C. *The Journal of Chemical Physics*, *93*(10), 6954–6961. <https://doi.org/10.1063/1.459472>

- Hulhoven, X., Vande Wouwer, A., & Bogaerts, Philippe. (2005). On a systematic procedure for the predetermination of macroscopic reaction schemes. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 27(5), 283–291. <https://doi.org/10.1007/s00449-005-0406-4>
- Jeffrey, G. A., & Saenger, W. (2012). *Hydrogen Bonding in Biological Structures*. Springer Berlin Heidelberg. <https://books.google.com.ar/books?id=PqzrCAAQBAJ>
- Jiang, J.-H., Šašić, S., Yu, R.-Q., & Ozaki, Y. (2003). Resolution of two-way data from spectroscopic monitoring of reaction or process systems by parallel vector analysis (PVA) and window factor analysis (WFA): Inspection of the effect of mass balance, methods and simulations. *Journal of Chemometrics*, 17(3), 186–197. <https://doi.org/10.1002/cem.786>
- Kelly, J. J., Barlow, C. H., Jinguji, T. M., & Callis, J. B. (1989). Prediction of gasoline octane numbers from near-infrared spectral features in the range 660-1215 nm. *Analytical Chemistry*, 61(4), 313–320. <https://doi.org/10.1021/ac00179a007>
- Lawton, W. H., & Sylvestre, E. A. (1971). Self Modeling Curve Resolution. *Technometrics*, 13(3), 617–633. <https://doi.org/10.1080/00401706.1971.10488823>
- Libnau, F. O., Kvalheim, O. M., Christy, A. A., & Toft, J. (1994). Spectra of water in the near- and mid-infrared region. *Vibrational Spectroscopy*, 7(3), 243–254. [https://doi.org/10.1016/0924-2031\(94\)85014-3](https://doi.org/10.1016/0924-2031(94)85014-3)
- Libnau, F. O., Toft, J., Christy, A. A., & Kvalheim, O. M. (1994). Structure of Liquid Water Determined from Infrared Temperature Profiling and Evolutionary Curve Resolution. *Journal of the American Chemical Society*, 116(18), 8311–8316. <https://doi.org/10.1021/ja00097a043>
- Luck, W. A. P. (1998). The importance of cooperativity for the properties of liquid water. *Horizons in Hydrogen Bond Research 1997*, 448(2), 131–142. [https://doi.org/10.1016/S0022-2860\(98\)00343-3](https://doi.org/10.1016/S0022-2860(98)00343-3)

- NIR Spectroscopy A guide to near-infrared spectroscopic analysis of industrial manufacturing processes.* (2014). Metrohm AG.
- Noda, I. (1989). Two-dimensional infrared spectroscopy. *Journal of the American Chemical Society*, *111*(21), 8116–8118. <https://doi.org/10.1021/ja00203a008>
- Ozaki, Y., Huck, C. W., Tsuchikawa, S., & Engelsen, S. (2021). *Near-Infrared Spectroscopy Theory, Spectral Analysis, Instrumentation, and Applications* (1st ed.). Springer Nature Singapore Pte Ltd. <https://doi.org/10.1007/978-981-15-8648-4>
- Perakis, F., De Marco, L., Shalit, A., Tang, F., Kann, Z. R., Kühne, T. D., Torre, R., Bonn, M., & Nagata, Y. (2016). Vibrational Spectroscopy and Dynamics of Water. *Chemical Reviews*, *116*(13), 7590–7607. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.5b00640>
- Quaroni, L., Zlateva, T., & Normand, E. (2011). Detection of Weak Absorption Changes from Molecular Events in Time-Resolved FT-IR Spectromicroscopy Measurements of Single Functional Cells. *Analytical Chemistry*, *83*(19), 7371–7380. <https://doi.org/10.1021/ac201318z>
- Rahman, A., & Stillinger, F. H. (1971). Molecular Dynamics Study of Liquid Water. *The Journal of Chemical Physics*, *55*(7), 3336–3359. <https://doi.org/10.1063/1.1676585>
- Šašić, S., Katsumoto, Y., Sato, H., & Ozaki, Y. (2003). Applications of Moving Window Two-Dimensional Correlation Spectroscopy to Analysis of Phase Transitions and Spectra Classification. *Analytical Chemistry*, *75*(16), 4010–4018. <https://doi.org/10.1021/ac020769p>
- Šašić, S., Segtnan, V. H., & Ozaki, Y. (2002). Self-Modeling Curve Resolution Study of Temperature-Dependent Near-Infrared Spectra of Water and the Investigation of Water Structure. *The Journal of Physical Chemistry A*, *106*(5), 760–766. <https://doi.org/10.1021/jp013436p>

- Savitzky, A., & Golay, M. J. E. (1964). Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures. *Analytical Chemistry*, 36(8), 1627–1639.
<https://doi.org/10.1021/ac60214a047>
- Segtnan, V. H., Šašić, S., Isaksson, T., & Ozaki, Y. (2001). Studies on the Structure of Water Using Two-Dimensional Near-Infrared Correlation Spectroscopy and Principal Component Analysis. *Analytical Chemistry*, 73(13), 3153–3161.
<https://doi.org/10.1021/ac010102n>
- Siesler, H. W., Ozaki, Y., Kawata, S., & Heise, H. (2002). *Near-infrared spectroscopy: Principles, instruments, applications* (1st ed.). WILEY-VCH Verlag GmbH.
- Spegazzini, N., Ruisánchez, I., Larrechi, M. S., Cádiz, V., & Canadell, J. (2008). Spectroscopic and quantitative analysis of spiroorthoester synthesis by two-dimensional correlation and multivariate curve resolution methods of NIR data. *Analyst*, 133(8), 1028–1035.
<https://doi.org/10.1039/B802161A>
- Spegazzini, N., Siesler, H. W., & Ozaki, Y. (2011). Modeling of Isomeric Structure of Diphenyl Urethane by FT-IR Spectroscopy During Synthesis from Phenylisocyanate and Phenol as an Inverse Kinetic Problem. *The Journal of Physical Chemistry A*, 115(32), 8832–8844. <https://doi.org/10.1021/jp202227d>
- Tauler, R. (2001). Calculation of maximum and minimum band boundaries of feasible solutions for species profiles obtained by multivariate curve resolution. *Journal of Chemometrics*, 15(8), 627–646. <https://doi.org/10.1002/cem.654>
- Tauler, R. (2007). Application of non-linear optimization methods to the estimation of multivariate curve resolution solutions and of their feasible band boundaries in the investigation of two chemical and environmental simulated data sets. *Papers Presented at the 10th International Conference on Chemometrics in Analytical Chemistry*, 595(1), 289–298. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2006.12.043>

Tauler, R., Kowalski, B., & Fleming, S. (1993). Multivariate curve resolution applied to spectral data from multiple runs of an industrial process. *Analytical Chemistry*, 65(15), 2040–2047. <https://doi.org/10.1021/ac00063a019>

Walrafen, G. E., & Monosmith, W. B. (1984). Temperature dependence of the Raman OH stretching overtone from liquid water. *The Journal of Chemical Physics*, 81(2), 669–674.