

ASPECTES ACTUALS DE LA RECERCA EN EL CAMP DE LA QUÍMICA EN SOLUCIÓ

ENRIC CASASSAS

Membre emèrit de la Secció de Ciències i Tecnologia de l'Institut d'Estudis Catalans
Professor emèrit de la Universitat de Barcelona

SUMMARY

Current aspects of research in the field of solution chemistry

The main difficulties for speciation in multiequilibria chemical systems are analysed. The classical procedures for the study of these systems involve the postulation of a chemical model, eventually accepted on the basis of only mathematical criteria. Full information can be gathered directly from experimental data, without need of any chemical model, through factor analysis derived procedures; one of them, SPFAC, is described with some detail. This is a general method of data treatment which can be applied to the simultaneous analysis of several sets of spectrometric titrations. Several sets (at different concentrations or using different detection techniques) are needed in order to remove some intrinsic ambiguities. The overall method is useful for chemical model validation in common multiequilibria systems. When macromolecular ligands are involved (which can show polyelectrolytic, polyfunctional and conformational effects) the new method is of an unique value.

INTRODUCCIÓ

Quan parlem de sistemes químics que presenten equilibris concurrents en solució ens referim a sistemes que contenen diversos soluts capaços de reaccionar entre ells o amb el solvent segons reaccions reversibles: ens referim especialment a casos en què els soluts són àcids o bases, ions metàl·lics, o composts que poden actuar com a lligands en reaccions de formació de complexos metàl·lics. Molts sistemes aquàtics naturals, pol·luïts o no, molts sistemes presents en fluïds biològics i alguns sistemes d'interès tècnic són mesclades complicades que poden contenir alguns d'aquests constituents. En general, el principal objectiu de l'estudi dels equilibris concurrents en solucions multi-components és l'especiació química: aquesta és la identificació de totes les espècies químiques presents en el sistema i la determinació de la concentració de cadascuna. L'especiació química és important perquè moltes de les propietats de cada component del sistema (per exemple, la toxicitat de cada ió metàl·lic)

depenen de la forma química específica en què aquest component és present en la solució, i de la concentració d'aquesta forma, i només indirectament depenen de la seva concentració total. La importància de l'especiació química és evident en moltes situacions pràctiques, ambientals, biomèdiques o tecnològiques.

Generalment, en els sistemes amb equilibris concurrents de més interès pràctic no és possible arribar a establir l'especiació química completa a partir de mesures analítiques directes, perquè en molts d'aquests sistemes -els sistemes aquàtics naturals, els sistemes biològics- els ions metàl·lics es troben distribuïts entre diverses espècies complexes que poden ésser presents a concentracions molt petites, fins i tot més petites que els límits de quantificació dels procediments analítics de què hom disposa. Però àdhuc a concentracions més grans, els processos químics que intervenen en els procediments analítics usuals alteren la concentració de l'espècie que hom està determinant i, en conseqüència, modifiquen la situació de tots els equilibris en què aquesta participa i, així, també, desplacen tots els altres equilibris del sistema i, per tant, alteren les concentracions de totes les altres espècies presents. Així, en molts casos, l'especiació química s'ha d'efectuar fent recurs a algun artifici: per exemple, mitjançant procediments de classificació seqüencial de base convencional que rendeixen resultats que no tenen més que una significació difusa i una validesa aproximada. Més convincents i més clars són els resultats obtinguts mitjançant procediments de càlcul a partir d'unes poques dades experimentalment assequibles i d'un model químic teòric postulat.

Les dades inicials que calen per a fer aquests càlculs són les concentracions *totals* de tots els constituents del sistema (ions metàl·lics, àcids, bases i lligands) i els valors numèrics de les constants d'equilibri de totes les reaccions àcidobàsiques i de totes les reaccions formadores de complexos que poden tenir lloc en el sistema en estudi. Existeixen diversos programes d'ordinador per als càlculs d'especiació en diferents tipus de sistemes [1]. Alguns d'aquests programes prenen en consideració també les reaccions de precipitació i les reaccions d'oxidació-reducció; altres, que són més complicats i que donen resultats que de vegades poden vorejar els límits d'allò que es pot prendre com a versemblant, pretenen tractar els sistemes amb reaccions dels tipus esmentats però lentes; aleshores exigeixen altres tipus addicionals de dades, les constants de velocitat que regeixen la cinètica d'aquestes reaccions lentes.

La necessitat creixent de més i més valors numèrics de constants d'equilibri per a tantes reaccions possibles d'aquests diferents tipus en una varietat tan gran de condicions i en sistemes de tots els graus de complexitat imaginables presents en situacions d'importància diversa, fins i tot crítica, en camps d'impacte social o sanitari, per exemple, ha estat causa els darrers anys del renaixement de l'interès per a la química en solució, com posen de manifest no solament els treballs de recerca que s'hi refereixen sinó també els llibres de text i les monografies aparegudes els darrers anys [2].

TRACTAMENT ITERATIU DE LES DADES EXPERIMENTALS A PARTIR D'UN MODEL QUÍMIC POSTULAT

Les tècniques quantitatives modernes emprades en la química en solució deriven dels treballs que J. Bjerrum [3], G. Schwarzenbach [4] i L. G. Sillén [5] començaren a publicar allà per la dècada dels quaranta. Aquests treballs obrien un camp de possibilitats tan atractiu i tan ampli que despertaren l'interès de molts grups de recerca d'arreu del món, i a la dècada dels seixanta el camp de la química en solució n'havia esdevingut un de molt generalitzat, fins i tot un de ben tòpic, i la determinació de constants d'estabilitat de complexos gairebé un objecte de simple rutina. Quan els ordinadors entraren als laboratoris [6] aquests temes de treball deixaren de tenir un interès fonamental per a la recerca química a no ésser que un objectiu colateral prou important justificués llur ús, com, per exemple, quan foren aplicats a l'estudi de les propietats complexants de famílies senceres de lligands de tipus radicalment nous, com els èters corona, els criptands, els calixarens, etc. (Vegeu, per exemple, [7]). L'orientació d'aquestes formes de recerca vers objectius aplicats específics de gran importància en el món contemporani les ha tornades a posar en un primer pla [8].

Molts dels procediments experimentals emprats per a l'estudi de les reaccions de complexació en sistemes del tipus que comentem són basats en la utilització controlada de reaccions competitives. Hom efectua mesuraments apropiats al llarg del transcurs d'una reacció que entra en competència amb la reacció de complexació que estudia (que entra en competència vol dir que el reactiu addicionat per l'experimentador és capaç de combinar-se amb l'ió metàl·lic o, alternativament, amb el lligand que, l'un o l'altre, participa a la reacció de complexació en estudi). Aquesta reacció competidora se sol efectuar amb una tècnica anàloga a la d'una volumetria, és a dir, addicionant successivament volums mesurats de la solució que conté una concentració ben coneguda del reactiu competidor. Els mesuraments que poden assolir la precisió màxima són els que es prenen al llarg d'una valoració potenciomètrica mitjançant elèctrodes sensors reversibles adequats, valoració en la qual el reactiu valorant és, per exemple, l'espècie que va a competir amb l'ió metàl·lic per a l'ocupació dels setis de coordinació del lligand. Aquest reactiu valorant pot ésser, evidentment, un segon ió metàl·lic o l'ió hidrogen. Després de cada addició de reactiu valorant i d'equilibració hom determina la concentració d'ió metàl·lic lliure, en el primer cas, o el pH, en el segon, a partir de la mesura del potencial del sensor potenciomètric adequat. També són aplicables altres tècniques, amb utilització de sensors espectromètrics o polarogràfics o d'altres tipus per als mesuraments que hom ha de fer al llarg de la "valoració", però en aquests casos no es pot aconseguir la precisió extrema que forneix el mètode potenciomètric.

Els procediments emprats clàssicament per al tractament de les dades obtingudes experimentalment d'aquestes maneres (n'han estat publicats alguns estudis crítics [9, 10]) són de diferents formes segons la tècnica que ha estat a l'origen de les dades. Tots ells, però, es basen en la resolució de sistemes

d'equacions que expressen la condició del balanç de matèria que ha de complir cada constituent del sistema (o bé aplicant la condició del balanç de càrregues a la solució), i que contenen l'aplicació de la llei d'acció de masses a cadascuna de les reaccions coexistents en el sistema. Tots aquests procediments exigeixen, doncs, que hom postuli *a priori* un model químic del sistema, és a dir, que hom postuli el conjunt de reaccions químiques que creu possibles atesa la natura química de tots els constituents, que són coneguts en cada cas.

En efecte, una equació de balanç de matèria és una obvietat que estableix que la concentració total (també anomenada concentració analítica) d'un constituent del sistema ha d'ésser igual a la suma de les concentracions de totes les espècies químiques entre les quals aquest constituent està distribuït a l'equilibri, afectat cada sumand pel coeficient que correspongui segons el valor numèric del paràmetre estequiomètric que defineix la composició de l'espècie corresponent. Així, doncs, cal una hipòtesi prèvia en relació amb la natura i la composició de totes les espècies presents. També cal adoptar d'entrada uns valors temptatius aproximats de les constants d'equilibri de les reaccions possibles, o millor de les constants de formació de totes les espècies postulades, valors que moltes vegades hom pot establir mitjançant els mètodes gràfics proposats inicialment per Sillén [11] per al tractament de les dades experimentals. Els valors màximament precisos i exactes d'aquestes constants són allò que hom pretén obtenir com a resultats finals del tractament. El conjunt de paràmetres estequiomètrics i de primers valors de les constants d'equilibri és allò que anomenem el "model químic" del sistema.

A partir de les dades experimentals i del model postulat hom pot començar el càlcul. Els primers resultats que rendeix la resolució del sistema d'equacions esmentat són un conjunt de valors refinats de les constants d'equilibri de totes les reaccions en les quals participen les espècies incloses en el model, refinats en relació amb els primers valors adoptats per a començar el càlcul. Amb aquests valors refinats hom calcula la corba de valoració i hom avalua el seu ajust a la corba experimental. Com que, en general, l'ajust obtingut en aquest primer intent no és prou bo, hom repeteix el càlcul emprant els valors refinats de les constants en lloc d'aquells primers valors adoptats abans. Hom repeteix el cicle totes les vegades que calgui, és a dir, hom aplica un programa iteratiu d'ajust de corbes, per exemple un de basat en un procediment de mínims quadrats, fins que l'ajust esdevé satisfactori. Si el model postulat no és representatiu del sistema real, l'ajust no arribarà mai a ésser suficient. Aleshores caldrà modificar el model (afegint-hi o suprimint-ne espècies; canviant, en conseqüència, les constants d'equilibri que pertocui) i caldrà repetir el procés iteratiu fins que s'obtingui un conjunt de paràmetres estequiomètrics (els dóna el model) i de constants d'equilibri (les dóna el procés iteratiu) que rendeixi l'ajust òptim a les dades experimentals. Tots els models químics possibles que el raonament químic il·lustrat pel sentit comú permetin postular han d'ésser presos en consideració consecutivament i d'una manera sistemàtica: hom pren com a model òptim que descriu correctament el sistema el que dóna un valor mínim a la suma dels quadrats dels residuals (de les

diferències entre els valors calculats i els valors experimentals per a cada punt experimental). No sempre els resultats són inequívocs de manera convincent, com demostra la manca de concordança de molts resultats publicats a la literatura per a determinats sistemes multi-components (manca de concordança a la qual ens tornarem a referir més endavant).

DIFICULTATS PLANTEJADES PEL MODEL QUÍMIC

Aquí apareix un problema que alguns químics (com, per exemple, alguns professors de química que són experimentalistes a l'estil antic -que encara en queden alguns en actiu, malgrat que la proliferació d'ordinadors en els laboratoris hagi estat causa que una majoria de docents tendeixi a oblidar que l'experimentació és la base sòlida sobre la qual l'edifici de la química se sosté) consideren que constitueix un punt feble del procediment. En alguns casos, l'investigador en el camp de la química en solució accepta com a ben establerta la presència d'espècies complexes insòlites exclusivament sobre la base del bon ajust obtingut després de la iteració, és a dir, sobre la base de la petitesa del valor de la suma quadràtica dels residuals. Ningú no obtingué mai aquesta espècie en estat sòlid, en una forma cristal·lina apropiada per a l'anàlisi elemental i per a l'aplicació d'altres criteris d'identificació. L'investigador en el camp de la química en solució, convençut de la qualitat del seu treball experimental, convençut de la qualitat extrema de les seves dades (és un requeriment de la seva tasca al qual ell es doblega: fer tots els esforços necessaris per a una calibració òptima i per a la validació òptima dels seus procediments de treball, tractar de garantir l'exactitud i de minimitzar les variacions aleatòries per tal que els seus mesuraments experimentals tinguin la màxima precisió assequible), quan veu que aquestes dades només poden ésser explicades si s'accepta l'existència real d'aquella espècie, es considera legitimat per a admetre aquesta acceptació.

A més, és un fet ben establert que en el cas d'estar en equilibri amb un precipitat, pot existir en la solució tota una sèrie de formes solubles; per exemple, una sèrie de complexos del tipus *core-and-links*, o una sèrie de complexos successius 1:1, 1:2,... 1:N, o de complexos mixtos amb lligands de diversa natura, entre els quals té un paper especial el lligand ió hidròxid present en totes les solucions aquoses; i que, en general, només una d'aquestes formes té la mateixa composició que el precipitat en equilibri. Aïllar en estat sòlid una certa espècie química no vol dir, doncs, que no n'existeixin algunes altres en solució. Podem esmentar, com a exemple, les solucions aquoses de l'ió Al(III), en les quals poden existir hidroxocomplexos d'alumini de raons estequiomètriques Al/OH que va des d'1:1 a 1:6, però és només l'espècie 1:3 qui té una composició directament relacionada amb la de l'hidròxid d'alumini hidratat precipitat. És precisament en el camp dels hidroxocomplexos d'ions metàl·lics on s'originà una de les causes majors del conflicte amb els químics preparatius, i això malgrat les extraordinàries aportacions de Sillén [12], publicades en textos que avui són considerats uns clàssics dins la història de la literatura química.

Malgrat aquests exemples, els experimentalistes preparatius no accepten fàcilment algunes afirmacions dels investigadors de la química en solució. L'escepticisme d'aquells està justificat quan aquests empren dades de qualitat pobra, obtingudes depressa o sense prou cura. Aquestes dades de baixa precisió, sotmeses a un tractament de la màxima sofisticació mitjançant un ordinador potent, poden donar indicacions d'espècies inexistents, fins i tot absurdes (per això és imprescindible el raonament il·lustrat i el sentit comú que esmentàvem abans), algunes de les quals, inexplicablement, s'han esquitllat per viaranyos imprevistos fins a ésser publicades en revistes científiques que tenen sistemes rigorosos de *referees*. Aquestes espècies no són més que "artefactes", és a dir, monstres engendrats per ments humanes orientades erròniament per les seves pròpies obres, com els que immortalitzaren els gravats famosos de Goya.

NECESSITAT D'UN TRACTAMENT DE DADES EXEMPT D'HIPÒTESIS QUÍMIQUES

Arribà un punt en què esdevingué necessari, doncs, enfocar d'una manera completament diferent el tractament i la interpretació de les dades experimentals obtingudes en sistemes complicats. El nou enfocament hauria d'obtenir els resultats buscats a partir directament de la informació continguda en les dades originals, *sense exigir cap hipòtesi intermèdia com la postulació d'un model químic del sistema i l'aplicació de la llei d'acció de masses a cadascun dels equilibris postulats*. La concordança entre els resultats obtinguts d'aquest nou tractament i els obtinguts dels procediments tradicionals basats en l'ajust mínim-quadràtic seria una bona confirmació de la validesa del model adoptat en aquests darrers. A més, el nou procediment podria ésser particularment útil per a l'estudi d'aquells sistemes en què l'aplicació de la llei d'acció de masses és difícil o fins i tot impossible, com els sistemes multi-components amb participació de lligands macromoleculars, que descrivim més endavant.

Mentrestant, s'havia desenvolupat la quimiometria com a ciència independent, amb el seu caràcter propi, no com un conjunt de capítols de matemàtica aplicada sinó com un camp homogeni d'interacció entre àrees de coneixements aparentment heterogenis: la quimiometria ha estat definida com a la interfície entre la química i les matemàtiques [13]. Fou l'aparició del llibre d'E. R. Malinovski [14] sobre les aplicacions químiques de l'anàlisi de factors qui obrí la porta que conduí al desenvolupament de la nova manera de tractar els sistemes constituïts per solucions amb equilibris concurrents. Grups de recerca que treballen o han treballat en aquesta direcció són els de Gampp, Maeder i Zuberbühler [15], a Basilea, el del mateix Malinovski [16], a Hoboken (New Jersey), el de Cartwright [17], a Oxford, el de J. Havel [18], a Brno, i el grup de la Universitat de Barcelona, amb Romà Tauler, Anna Izquierdo-Ridorsa, i d'altres [19, 20].

TRACTAMENT DERIVAT DE L'ANÀLISI DE FACTORS:

a) *EXPERIMENTAL*

Les dades experimentals que hom obté dels sistemes multi-components amb equilibris concurrents són procedents generalment de mesuraments fets en els passos successius d'una valoració espectromètrica o potenciomètrica. En el primer cas, cada experiment dóna una matriu de dades multivariants; en el segon cas cada experiment dóna dades que, segons que el nombre de sensors (elèctrodes indicadors) emprats sigui d'u o de més d'ú, hom pot disposar com a un vector o com a una matriu de dades.

El primer punt que cal remarcar aquí és que hom obté les dades en un ordre estructurat. Per exemple, en el cas d'una valoració espectromètrica ordinària, els espectres són obtinguts a mesura que hom fa augmentar o disminuir alguna variable, com el pH o la concentració d'un reactant, un espectre després de cada modificació imposada a aquesta variable. Per tant, la forma dels espectres anirà variant d'una manera que reflectirà la variació de l'especiació del sistema. Si es pren un nombre suficient d'espectres, les dades experimentals descriuran tots els canvis de composició del sistema. Aquestes dades es disposen fàcilment en forma de matriu: cada fila representarà l'espectre de la solució corresponent a un punt determinat de la valoració, i cada columna representarà les lectures d'absorbància fetes a una longitud d'ona donada en les solucions corresponents als punts successius de la valoració. Les dimensions de la matriu de les dades experimentals obtingudes per a cada valoració D són : $D(N_{\text{sol}} \times N_{\text{ona}})$, on N_{sol} és el nombre de solucions diferents (el nombre dels punts de la valoració en els quals hom ha mesurat el pH i registrat l'espectre) i N_{ona} és el nombre de longituds d'ona on s'ha quantificat l'absorbància.

El segon punt que hom ha d'observar és que les dades poden ésser preses automàticament, encara que algunes lectures s'estabilitzin lentament. De la cel·la de valoració on hom fa la lectura potenciomètrica del pH (on és introduïda cada addició de reactiu quan la bureta rep l'ordre procedent de l'ordinador on es recullen les lectures de pH, repetidament fins a estabilització) la solució ja estabilitzada és transportada per una bomba peristàltica a la cel·la de flux d'un espectrofotòmetre, on l'espectre és enregistrat, i la solució retornada a la cel·la de valoració. L'ordinador esmentat acumula, doncs, per a cada punt de la valoració, el volum de reactant addicionat, el pH i l'espectre de la solució. En aquest tipus de valoració espectromètrica i amb la finalitat de sotmetre les dades al tractament quimiomètric que descrivim a continuació, són aplicables diferents tipus de detecció (alguns dels quals requeriran petites modificacions del disseny experimental), com poden ésser UV-VIS, ESR, NMR, FT-IR, CD, etc.

b) *APLICACIÓ DELS MÈTODES D'ANÀLISI DE FACTORS A LA MÀTRIU DE DADES EXPERIMENTALS*

Suposem una valoració espectroscòpica UV-VIS. Cada element de la matriu obeeix el model lineal de Beer: $d_{ij} = c_{ik} a_{kj}$, on d_{ij} és la lectura d'absorbància de la solució i a la longitud d'ona j , c_{ik} és la concentració de l'espècie k a la solució i , i a_{kj} és l'absortivitat molar de l'espècie k a la longitud d'ona j . Hom pot expressar això en la forma:

$$D(N_{\text{sol}}, N_{\text{ona}}) = \text{CONC}(N_{\text{sol}}, N_{\text{spec}}) \text{ABS}(N_{\text{spec}}, N_{\text{ona}})$$

on: CONC és la matriu de concentracions i ABS és la matriu d'absortivitats molars.

Per a caracteritzar completament el sistema cal determinar: a) el nombre d'espècies absorbents presents a cada punt de la valoració; b) les concentracions de cadascuna d'aquestes espècies a cada punt de la valoració; c) llurs espectres.

Les tècniques de l'anàlisi de factors permeten fer aquestes tasques. Primer hom dedueix una descripció matemàtica de la matriu **D**: cada dada és expressada com a combinació lineal de dos termes, un que és relacionat amb les files i l'altre que ho és amb les columnes. Constitueix aquí un primer punt important el coneixement del nombre mínim de factors que és necessari per a reproduir dins de l'error experimental la matriu de dades original:

$$d_{ij} = \sum_1^{NF} r_{ik} c_{kj}$$

on NF és el nombre de factors que cal tenir en compte, r_{ik} els factors relacionats amb les files i c_{kj} els factors relacionats amb les columnes. En forma matricial: $D = RC$. Les dues matrius **R** i **C** s'obtenen directament per diagonalització de la matriu de dades original, **D**, per càlcul del conjunt dels seus eigenvalors i eigenvectors. Òbviament, aquesta és una solució matemàtica abstracta a partir de la qual hom pot reproduir la matriu de dades original. En general, les matrius abstractes **R** i **C** difereixen de les matrius CONC i ABS, que són les que tenen significació física. Per a obtenir aquestes darreres a partir de **R** i **C**, cal una matriu **T** de transformació:

$$D = RC = RTT^{-1}C = \text{CONC} \text{ABS}$$

on $\text{CONC} = RT$ i $\text{ABS} = T^{-1}C$.

Determinació del nombre d'espècies

El nombre de factors principals o components principals, NF, és el rang de la matriu original de dades, i és definit pel nombre d'espècies en el sistema. Per a

determinar aquest nombre hom pot fer servir els mètodes o criteris coneguts de l'anàlisi de factors per a la determinació dels components d'una matriu de dades, mètodes que aprofiten la variació d'alguna propietat definida de la matriu en calcular-la successivament en funció d'un nombre adoptat creixent de factors, fins a minimitzar-la. Aquesta propietat pot ésser la magnitud dels eigenvalors [21], la funció indicadora IND [16a, b i c] relacionada amb els errors en l'anàlisi de factors, i la validació creuada [22, 23] entre dues submatrius procedents de la matriu de dades, segons ve definida per l'anomenat error estàndard de predicció o funció SEP.

Aplicació de l'anàlisi submatricial i de l'anàlisi de l'emergència dels factors per a obtenir el diagrama abstracte de distribució

Com hem dit, les dades obtingudes en una valoració espectroscòpica són dades ordenades. Fer un punt més a la valoració o afegir un espectre al conjunt de dades significa simplement augmentar la mida de la matriu de dades. Hom pot realitzar l'eigenanàlisi per a totes les submatrius successives de la matriu de dades global, generades des de l'inici de la valoració. Per exemple, si la valoració es realitza a pH creixent (valoració amb base d'una solució inicialment àcida) hom pot analitzar el conjunt de submatrius generades quan es fa augmentar el pH: és l'*anàlisi endavant*; anàlogament, a valors decreixents del pH (que correspondrien als d'una valoració amb àcid de la solució resultant de l'experiment anterior) es pot realitzar una *anàlisi endarrera*. El nombre i la magnitud dels eigenvalors que resulten estan relacionats amb el desenvolupament de les contribucions reals i amb la forma en què aquestes afecten la variància de les dades: si la concentració d'alguna espècie augmenta, així mateix augmentarà l'eigenvalor corresponent. Aquesta idea ha portat al desenvolupament de l'anàlisi de l'emergència dels factors (*evolving factor analysis*) i al de l'anàlisi submatricial. L'algorisme té els següents passos.

1) subdivisió de la matriu original de dades dels espectres experimentals \mathbf{D} ($N_{\text{sol}}, N_{\text{ona}}$) de manera que:

Anàlisi endavant: per a $N = 2$ fins a $N = N_{\text{sol}}$, pas 1
 $\mathbf{F}(1:N, N_{\text{ona}})$
 càlcul dels eigenvalors de $\mathbf{S} = (\mathbf{F} \mathbf{F}^T)$, o SVD(\mathbf{F}) (*)
 passa a la N següent.

Anàlisi endarrera: per a $N = N_{\text{sol}}$ fins a $N = 2$, pas -1
 $\mathbf{B}(N, N_{\text{ona}})$
 càlcul dels eigenvalors de $\mathbf{S}' = (\mathbf{B} \mathbf{B}^T)$, o SVD(\mathbf{B}) (*)
 passa a la N següent.

(*) En lloc del log eigenvalors prenem la rel quadrada dels eigenvalors, o valors singulars; després calculem la desviació dels valors singulars, SVD.

2) representació gràfica del log de tots els eigenvalors (o dels valors singulars) obtinguts en el pas 1) anterior, en funció del pH o del paràmetre que s'ha fet variar al llarg de la valoració.

3) dibuix de les línies definidores de finestres d'existència, les quals passen pels punts que representen els eigenvalors de cada factor (segon, tercer,... enèsim) a cada pH o a cada valor del paràmetre que hem pres a abscisses (una nova solució i una nova submatriu; endavant i endarrera).

4) construcció del diagrama de distribució unint les línies de $i = 2, 3, \dots, S$, amb les línies $S+1-i$, retenint sempre la més baixa; és d'importància crítica la correcta selecció de S (nombre de factors significatius, NF) a la representació gràfica del log dels eigenvalors.

Aquest diagrama rep el nom de *diagrama abstracte de distribució* i constitueix el punt de partida per a obtenir les concentracions reals de les espècies.

Determinació de les espècies presents en el sistema emprant l'anàlisi de factors fitons (target factor analysis)

En general el sistema en estudi conté una mescla de diferents substàncies. En medi molt àcid pot ocórrer que només absorbeixi l'ió metàl·lic, que estarà en forma lliure: el seu espectre unitari pot ésser obtingut independentment. En alguns casos serà possible l'estimació dels espectres d'algunes de les espècies presents; per exemple, en l'estudi d'un sistema ternari els espectres dels complexos binaris poden ésser determinats prèviament en experiments separats. (Quan diem ara *espectre* o *espectre unitari* volem dir la corba representativa de la variació de l'absortivitat molar en funció de la longitud d'ona, la qual corba és independent de la concentració). Un cop aquests espectres són coneguts hom els pot emprar com a fitons (targets) en l'estudi de sistemes més complicats, i llur presència confirmada o rebutjada emprant l'anàlisi de factors fitons.

Hom segueix el següent procediment:

1) Avaluació del factor de transformació (rotació) T , a partir de l'espectre fitó conegut, A , projectant l'espectre conegut en l'espai definit pels eigenvectors C de la matriu de dades experimentals: $T(NF) = C(NF, N_{ona}) A(N_{ona})$, on $C(NF, N_{ona})$ és la matriu d'eigenvectors de $D(N_{sol}, N_{ona})$ deduïda de l'anàlisi de factors, per al nombre pres de factors, NF.

2) Estimació de l'espectre reproduït en el nou eix AC, a partir del vector de transformació de fitó T (target transformation vector) prèviament determinat: $AC(N_{ona}) = C T(N_{ona}, NF) T(NF)$.

3) Comprovació de les diferències entre el nou espectre estimat AC i el seu fitó A conegut. Càlcul de llur correlació.

4) Avaluació de les funcions d'error associades als espectres estimats per l'anàlisi de factors fitons i estimació de la significació dels vectors (espectres) fitons proposats dins l'espai vectorial dels factors fitons, mitjançant un test F , essent $F =$

$(AET/EDM)^2$, on AET és l'error aparent en el fitó, i EDM és l'error que emana de la matriu de les dades, ambdues quantitats definides en la teoria de l'error i calculables segons equacions estàndard.

Quan els espectres assajats (els fitons) i els espectres predits estan correlacionats fortament (raó F fortament significativa) i passen els tests proposats per Malinovski, és acceptada la presència en el sistema de les espècies suspectes. En aquest cas, els espectres d'aquestes espècies són components de la matriu original de dades i, per tant, es poden obtenir per una combinació lineal dels eigenvectors obtinguts en l'anàlisi de factors de la matriu de dades original.

Quan aquesta anàlisi de factors fitons s'aplica a sistemes desconeguts hom obté algunes vegades indicacions interessants respecte a la presència, potser a baixes concentracions, d'algunes espècies. És un pas previ a la determinació de les concentracions d'aquestes espècies, que és descrita a continuació.

Avaluació de la concentració d'una o de més espècies utilitzant mètodes d'anihilació del rang

Un cop ha estat confirmada la presència d'una espècie mitjançant l'anàlisi de factors fitons, hom pot avaluar la seva concentració per procediments d'anihilació del rang, sempre que la seva contribució espectral a la matriu de dades experimentals sigui significativa. El procediment d'anihilació del rang, modificat a partir del proposat inicialment per Gampp *et al.*, és basa en els resultats obtinguts en l'anàlisi de l'emergència dels factors. El procediment s'inicia eliminant la submatriu o finestra que conté el component conegut, per a donar una nova matriu de dades de rang disminuït: $D = \{D_k \ D_u\}$, on D_k és la submatriu que conté el component conegut i D_u és la submatriu que conté tots els components desconeguts. Aleshores, els eigenvectors E_u obtinguts per a la nova matriu disminuïda, D_u , augmentats amb l'espectre conegut pur del component conegut A_k , formen un nou conjunt de vectors que abracen tot el rang de la matriu original de dades completa.

A partir de la pseudo-inversa d'aquests vectors hom pot estimar directament el perfil del component conegut (entendem per perfil la variació de la concentració amb la variable mestra, en el nostre cas el pH): $C_c = D_k A^T (A A^T)^{-1}$. Un cop ha estat avaluada per aquest procediment la concentració del component conegut, hom resta de la matriu original de dades la contribució espectral de l'espècie en qüestió (calculada a partir de la seva concentració i del seu espectre unitari), i així hom obté una nova matriu de dades reduïda, $D_r = D - C_k A_k$. Això redueix en una unitat el rang de la nova matriu D_r .

Alguns exemples d'aplicació a sistemes reals i una discussió sobre algunes limitacions amb què hom topa en aplicar aquest procediment a dades reals es poden veure a les referències [19b i 19c].

Mínims quadrats alternats; càlcul del conjunt òptim d'espectres i de la distribució de les espècies

Quan ja s'ha avaluat el nombre d'espècies presents i s'ha obtingut una estimació inicial de la distribució de les concentracions de les espècies presents mitjançant l'anàlisi de l'emergència de factors, hom comença un procediment de mínims quadrats alternats de dos passos [19c]:

a) Primer, els espectres de les espècies desconegudes són estimats a partir de l'equació (deduïda a partir de l'equació de Beer generalitzada):

$$ABS = (CONC^T CONC)^{-1} CONC^T D^* = CONC^+ \wedge D$$

on $\wedge D$ és la matriu de dades reproduïda per al nombre de factors considerat.

La matriu ABS dona l'estimació mínimo-quadràtica dels espectres. Un cop s'ha obtingut aquesta matriu, cal forçar-la per a garantir que tots els valors d'absortivitat siguin positius; els que no ho siguin es posen iguals a zero. Quan hom utilitza com a dades inicials alguns altres tipus de senyals analítics, com, per exemple, el dicromisme circular, la restricció de no-negativitat no s'aplica.

b) Segonament, hom obté noves estimacions de les distribucions de les concentracions emprant una equació similar:

$$CONC = D^* ABS^T (ABS ABS^T)^{-1} = \wedge D ABS^+$$

En aquest cas, les concentracions deduïdes d'aquesta equació no solament són constretes a ésser positives sinó que també ho són a donar perfils unimodals (en alguns casos molt especials [23] pot aparèixer una desviació de la condició unimodal, però això és en general rar).

Existeix una altra restricció que cal aplicar, la *condició de tancament (closure constraint)*. En el cas de les valoracions espectromètriques, per exemple, la suma de les concentracions obtingudes per a les espècies individuals, totes elles entitats absorbents, ha d'ésser igual a la concentració total del constituent considerat, a cada punt particular de la valoració. Aquesta concentració total és coneguda i constant (un cop feta la correcció de dilució) al llarg de tota la valoració. Posem per cas, si en un sistema Cu(II)-l·ligand hom determina experimentalment els espectres al voltant de la banda d'absorció de l'ió Cu(II), a la zona visible, la concentració total de coure es distribuirà evidentment entre totes les espècies que contenen coure, totes elles absorbents: aleshores, la restricció de tancament s'aplica al coure(II). Però si els espectres són determinats a la regió ultraviolada on absorbeixen alguns l·ligands, la condició de tancament s'aplicarà a cadascun d'aquests l·ligands.

c) Finalment, hom repeteix els passos a) i b) i continua la iteració fins que reproduïx la matriu de dades D^* dins de l'error experimental. Hom assolix convergència generalment abans d'unes 10 iteracions.

Deducció de les constants d'estabilitat a partir dels resultats del tractament que no exigeix cap model químic previ

A partir de les concentracions individuals de les diferents espècies obtingudes finalment a l'etapa dels mínims quadrats alternats és possible avaluar les constants d'estabilitat o, preferiblement, els quocients de concentracions dels diversos equilibris. La possibilitat d'obtenir informació sobre els equilibris sense l'ús previ de la llei d'acció de masses esdevé particularment interessant per a l'estudi dels equilibris on participen lligands macromoleculars, en què la llei d'acció de masses només és vàlida localment per a cada seti complexant, i no ho és simultàniament per a tots els setis del mateix tipus dins la macromolècula [20b, 20c], subjectes a l'anomenat *efecte polielectrolític*, en virtut del qual la força àcido-bàsica o la força formadora de complexos dels setis reactius d'una macromolècula, força mesurada per la constant de dissociació o d'estabilitat corresponent, varia a mesura que augmenta el grau de reacció, o sigui, el grau d'ocupació d'aquests setis per protons o per ions metàl·lics.

Realització pràctica: comentaris al programa SPFAC

Tot el conjunt de tractaments que hom acaba de descriure es pot realitzar directament mitjançant un programa per a ordinador desenvolupat per R. Tauler al Departament de Química Analítica de la Universitat de Barcelona. El programa, designat per l'acrònim SPFAC, accepta com a dades d'entrada les mesures experimentals, que, per a la valoració espectromètrica d'un sistema complex, són les relatives a les condicions inicials de l'experiment, els volums de solució reactant addicionats, els valors de pH llegits a les solucions resultants de cada addició i els espectres corresponents, expressats aquests per les absorbàncies llegides a una sèrie pre-fixada de longituds d'ona. El programa rendeix a la sortida les distribucions de concentració i els espectres unitaris de totes les espècies presents al llarg de la valoració. L'estructura de blocs del programa ha estat ja publicada [19b]. Els passos principals del procediment són els següents:

- 1) Construcció de la matriu de dades; pretractament de les dades: suavització (smoothing), càlcul de les derivades; càlcul de la matriu associada $Z = D D^T$;
- 2) anàlisi de factors. Determinació del nombre de factors de la matriu: a) anàlisi dels eigenvalors; b) error en el FA; c) validació creuada;
- 3) reproducció de la matriu de dades original, D^* ;
- 4) anàlisi submatricial i anàlisi de l'emergència de factors: determinació dels perfils abstractes de concentracions;
- 5) anàlisi de factors fitons; identificació de les espècies suspectes;
- 6) anihilació del rang; determinació de la concentració de les espècies identificades i amb espectre conegut; subtracció de llur contribució espectral a la matriu de dades D ;
- 7) avaluació mínimo-quadràtica alternant del conjunt òptim d'espectres individuals de les espècies i dels perfils de concentracions de les espècies;
- 8) sortida: espectres, distribucions o perfils de concentració, dades d'equilibri i d'estabilitat;
- 9) adquisició directa d'informació sobre els equilibris, l'especiació, la capacitat

complexant, etc., a partir de les concentracions avaluades per a cada punt de la valoració.

Aquest tractament, per tant, obre una porta vers la determinació independent de constants d'estabilitat, la qual cosa pot ésser una eina complementària dels mètodes d'ajust de corbes mínimo-quadràtics tradicionals basats en la postulació d'un model químic. A més a més, en els casos en què un model químic és difícil de postular i en què el compliment de la llei d'acció de masses és dubtós, com per exemple en l'estudi de les interaccions dels ions metàl·lics amb polielectròlits, el mètode SPFAC constitueix una manera nova d'atacar el problema de llur interpretació.

Quan hom compara els resultats de l'anàlisi d'un conjunt de dades obtinguts mitjançant diferents maneres d'enfocament [19c], hom veu que, per a un nombre donat de factors, el valor de la desviació estàndard dels residuals, σ , obtingut en l'anàlisi de components principals abstracte pur és el mínim possible, atès que no existeix cap restricció imposada als valors numèrics. Evidentment, qualsevol error en el mesurament del pH i de l'absortivitat afectarà el valor de σ de qualsevol tractament d'ajust de corbes basat en un model químic, tal com SQUAD [8]. D'altra banda, el valor de σ del SPFAC no resultarà afectat per errors comesos en els valors del pH, però si que ho serà per les restriccions de la no negativitat de les concentracions, la no negativitat de les absortivitats, i la condició unimodal de la distribució d'espècies. Per tant, el valor de la desviació estàndard dels residuals, σ , obtingut emprant el procediment SPFAC resulta intermedi entre el valor obtingut emprant l'atac pels components principals i el valor obtingut emprant un tractament basat en un model químic. Efectivament, això és el que ha estat observat en l'anàlisi de sistemes reals [19b].

Aquest procediment de tractament de dades ha estat aplicat repetidament a sistemes reals, com els constituïts pels complexos de coure(II) amb glicina [19b], amb les diferents etanolamines [25] (mono- i di- [26], i tri-etanolamina [27]) o com els constituïts pels complexos ternaris de coure(II) amb ió salicilat i una base nitrogenada [19c, 28]. Hom hi ha utilitzat tècniques de detecció diverses (com l'espectrometria UV-VIS o la d'ESR) i hom ha obtingut resultats concordants amb els que rendeixen els procediments mínimo-quadràtics clàssics [25, 28, 29].

Cal advertir que, malgrat que en l'etapa de la iteració pels mínims quadrats alternats hom apliqui les restriccions esmentades, de no-negativitat de les absorbàncies, d'unimodalitat dels perfils de concentració i de tancament de les concentracions particulars a una concentració total, en alguns casos l'anàlisi d'una sola valoració pot donar resultats insegurs, i no ésser fiables ni els perfils de concentració ni els espectres unitaris obtinguts. En aquests casos, les discrepàncies observades són degudes principalment a l'existència d'*ambigüitat de la intensitat* i també d'*ambigüitat rotacional*, les quals no es poden resoldre quan es fa l'anàlisi d'una sola valoració. Aquestes ambigüitats es presenten quan existeix superposició entre els perfils de concentració o entre

els espectres. A l'etapa dels mínims quadrats alternats, allò que hom intenta de fer és trobar, a partir de les lectures d'absorbància, els veritables valors de concentració i d'absortivitat que minimitzen l'error. Sense informació addicional, un nombre infinit de parells de valors de concentració i absortivitat satisfan aquesta condició. L'ambigüitat rotacional, d'altra banda, resulta del fet que per a qualsevol constituent del sistema hom pot estimar un espectre unitari que sigui una combinació lineal d'espectres unitaris correctes. Aquestes ambigüitats es poden resoldre amb el tractament simultani de diverses valoracions.

ANÀLISI SIMULTANI DE DIVERSES VALORACIONS ESPECTROMÈTRIQÜES; ÚS DE DIFERENTS TÈCNIQUES ANALÍTQÜES DE DETECCIÓ

Fins ara hem descrit el tractament de les dades experimentals obtingudes en una sola valoració espectromètrica d'un sistema complex en solució. Augmentaria la qualitat (la precisió) dels resultats si el tractament s'apliqués a diverses valoracions de diverses solucions del mateix sistema complex que continguessin diferents concentracions inicials de reactants o diferents raons de concentració metall/l·ligand. El tractament successiu per separat de les dades de la valoració de cada solució donaria uns diagrames de distribució, uns espectres i uns valors de les constants d'equilibri que serien pròxims d'una valoració a una altra, però diferents, dels quals hom hauria d'extreure uns valors mitjans. Seria evidentment molt més útil i segur obtenir uns resultats finals mitjançant el tractament simultani de les dades procedents de les valoracions de les diverses solucions, tractament simultani que es pot fer d'acord amb la descripció que segueix [30]. Aquest tractament simultani resol les ambigüitats esmentades, al menys la d'intensitat, perquè inclou una nova restricció: la condició que cada espectre unitari de cada espècie química ha d'ésser igual en totes les valoracions.

Una altra manera d'augmentar la qualitat dels resultats consisteix en realitzar sobre una solució problema donada diverses valoracions segons tècniques diferents; per exemple, després de determinar l'espectre UV-VIS a cada punt de la valoració hom pot determinar-ne el senyal d'ESR o de diroïsmc circular. També en aquest cas, el tractament de les dades experimentals es pot fer simultàniament, segons una variant [31] del mètode descrit a continuació. Tant en un cas com en l'altre, el nou mètode no és més que una ampliació del que s'ha resumit en el programa SPFAC anterior.

Suposem que ara fem NT valoracions espectromètriques d'un sistema donat; a cadascuna prenem concentracions diferents o raons de concentració diferents dels reactants. Per a cada valoració tenim la matriu de dades $D_i = C_i \cdot A$.

La matriu $D_i (N_i, N_{\text{ona}})$ conté els N_i espectres mesurats a N_{ona} longituds d'ona diferents (N_{ona} = nombre de columnes de la matriu) de les solucions obtingudes successivament en els N_i punts de la valoració (N_i = nombre de files)

en què la mostra és traslladada de la cel·la de valoració a la cel·la de l'espectròmetre.

La matriu $C_i(N_i, N_s)$ conté les concentracions de les N_s espècies presents en el sistema a cadascun dels N_i punts de la valoració.

La matriu $A(N_s, N_{ona})$ conté els espectres unitaris (espectres expressats en absortivitats molars) de les N_s espècies presents a les mescles en equilibri, mesurats a les N_{ona} longituds d'ona. Característics de cadascuna de les espècies químiques, aquests espectres són comuns a tots els punts en estudi, no solament a tots els punts presos al llarg d'una valoració donada sinó també als pertanyents a totes les diverses valoracions. Així, doncs, poden ésser descrits amb una sola matriu, comuna a totes les valoracions.

Tots els espectres són mesurats amb el mateix nombre de canals (de longituds d'ona, N_{ona}) i així els nombres de columnes de totes les matrius D_i són iguals.

El conjunt complet de dades experimentals es pot disposar en un tensor d'ordre tres. Aquest tensor tridimensional (NT, N_s, N_{ona}) pot ésser desplegat en una matriu bidimensional D , que anomenarem *matriu augmentada o desplegada* (*unfolded matrix*), D , amb el nombre de columnes N_{ona} (nombre de longituds d'ona) comú a totes les valoracions, i amb un nombre de files igual al nombre total d'espectres obtinguts al conjunt de totes les valoracions (o sigui, igual al nombre total de punts considerats entre totes les valoracions). Aquesta matriu té la forma següent:

$$D = \begin{pmatrix} D_1 \\ D_2 \\ \dots \\ D_{NT} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} C_1 \\ C_2 \\ \dots \\ C_{NT} \end{pmatrix} \quad A = C A$$

$$D(N, N_{ona}) = C(N, N_s) A(N_s, N_{ona})$$

on N és el nombre total de punts de totes les valoracions, igual a $\sum N_i$. D i C són les noves matrius augmentades, amb tantes files com espectres mesurats. A és la matriu d'espectres (unitaris) de les espècies presents entre totes les valoracions: conté tants espectres com espècies hi ha al sistema. La matriu C conté un nombre de perfils de concentració igual al resultat de multiplicar el nombre d'espècies pel nombre de valoracions.

El problema matemàtic que es planteja és: Donades les matrius de dades D_i , obtenir les matrius reals C i A . Aquest és un problema amb infinites solucions i per a resoldre l'ambigüitat cal informació addicional. Resoldre aquesta ambigüitat és l'objectiu dels mètodes d'auto-modelació com el que estem descrivint, que estableixen determinades *restriccions* al sistema, una de les quals, d'interès essencial, deriva del fet que hom força la matriu A a ésser igual per a totes le submatrius D_i .

Per a augmentar la quantitat d'informació i la robustesa de tot el procediment és possible emprar diferents senyals analítics. Per exemple, a més de l'absorció UV-VIS a què ens hem referit fins ara, hom pot mesurar també els espectres de ESR o de dicroïsmo circular, CD, de cadascuna de les solucions preses al llarg de cada valoració. Aleshores, a cada fila de la matriu augmentada, que correspon a una d'aquestes solucions, hom escriurà successivament les lectures d'absorbància, les lectures d'ESR, les lectures de CD, o les de qualsevol altre tipus que hagin estat preses experimentalment. El nombre de columnes de la matriu augmentada serà igual a la suma dels canals de mesurament utilitzats en tot el conjunt de tècniques analítiques emprades.

Així, si fem diverses valoracions i les solucions successives són mesurades només per una sola tècnica analítica, la matriu augmentada tindrà un nombre de files igual a la suma de les files emprades en cada valoració individual (en anglès es anomenada *skinny matrix*, matriu magra). Si només fem una valoració però les solucions dels punts successius són mesurades per diverses tècniques analítiques, la matriu augmentada tindrà un nombre de columnes igual a la suma de les columnes emprades per a cada tècnica individual (serà una *fatty matrix*, matriu grassa). Si fem diverses valoracions i emprem diverses tècniques de mesura, la matriu augmentada tindrà nombres augmentats de files i de columnes.

El tractament d'aquests diferents tipus de matrius augmentades segueix sempre els mateixos passos que descrivim a continuació per al cas particular d'haver fet diverses valoracions i d'haver determinat només l'espectre d'absorció de cada punt de valoració.

El primer pas és, com abans, la determinació del nombre d'espècies presents a cada valoració espectroscòpica, que hom realitza emprant les diferents tècniques de l'anàlisi de factors o la tècnica de validació creuada ja descrites. Un cop aquest nombre és conegut, hom recalcula les matrius D_i i D , emprant les tècniques de l'anàlisi de components principals [14]. Per a cada valoració:

$$D_i = U_i V_i^T + E_i = D_i^* + E_i.$$

U_i és la matriu de "scores" i V_i^T la matriu transposta de "loadings" per al nombre elegit de components (és a dir, el nombre d'espècies químiques). E_i és la matriu residual, que conté la part de variances que no és explicada per aquests components. D_i^* és la matriu reproduïda de dades.

Per a la matriu augmentada D hom actua anàlogament:

$$D = U V^T = D^* + E.$$

E_i i E donen el nivell de variances residual no explicat pel nombre d'espècies químiques adoptat. Aquest nivell ha de coincidir amb el soroll aleatori o amb l'error experimental aleatori.

A continuació hom procedeix a la resolució de corbes. La matriu augmentada de perfils de concentració, C , és estimada a partir de l'estimació inicial de les submatrius $C_1, C_2, \dots, C_{N_{PT}}$ obtingudes per l'anàlisi de l'emergència dels factors de les submatrius $D_1, D_2, \dots, D_{N_{PT}}$ de la mateixa manera que s'havia descrit ja per al procediment SPFAC simple. Una estimació inicial de la matriu augmentada de dades C s'obté simplement escrivint les estimacions de les matrius C_i una damunt de l'altra en forma de columna en el mateix ordre en què estan a D .

Quina proximitat hi ha entre aquestes estimacions inicials i els valors reals? Depèn de la complexitat del sistema i de la seva selectivitat. Per selectivitat entenem aquí l'existència d'algunes finestres dins la població de punts de valoració on només hi ha present una sola espècie o on, si n'hi ha diverses, una d'elles predomina sobre quantitats negligibles de les altres. Per a trobar, per a una espècie determinada, un espectre d'absortivitat exempt d'ambigüïtat rotacional, caldrà trobar un camp de pH amb selectivitat per a aquesta espècie. Amb una sèrie de valoracions en condicions diferents és probable de trobar zones de pH selectives per a cada espècie o, almenys, per a algunes d'elles.

Per a millorar les estimacions inicials el camí millor és el del procediment dels mínims quadrats alternats, amb les restriccions apropiades. A cada cicle d'iteració d'aquest procediment hom obté successivament, mitjançant les dues equacions següents, noves estimacions de la matriu d'espectres, A , i de la de perfils de concentració, C :

$$A = C^* D^* \quad C = D^* A^*$$

on C^* és la pseudo-inversa de C (avaluada a partir de $[(C^T C)^{-1} C^T]$), i A^* és la pseudo-inversa d' A (estimada a partir de $[A^T (A A^T)^{-1}]$).

A cada iteració s'apliquen les restriccions següents:

Als perfils de concentració: a) no-negativitat, b) unimodalitat, c) tancament (closure), almenys per a un dels constituents, d) espècies a concentració zero (les espècies que se sap que no estan presents en una valoració específica tenen els valors de concentració a la matriu C iguals a zero), e) correspondència entre les espècies de les diferents valoracions.

Als espectres (unitaris): a) no-negativitat (restricció que no s'ha de complir segons quina tècnica de detecció s'utilitza: es compleix si és l'absorbància, no es compleix si és el senyal de dicromisme circular), b) les espècies comunes a les diferents valoracions tenen el mateix espectre (unitari).

El cicle iteratiu dels mínims quadràtics alternats s'ha de repetir fins assolir convergència o fins que un cert nombre predeterminat de cicles ha estat recorregut.

APLICACIÓ A SISTEMES AMB LLIGANDS MACROMOLECULARS

L'estudi del comportament dels sistemes complexos que contenen lligands macromoleculars ve complicat per les seves característiques particulars, que

deriven principalment de l'acumulació de grups funcionals a la macromolècula, o a la superfície de la micel·la que la macromolècula constitueix. Aquestes característiques, que han estat descrites per Buffle [2a], donen lloc als següents efectes:

a) *efecte polielectrolític*, segons el qual els valors de les constants de formació (tant la constant de protonació, o la seva inversa la de dissociació àcida, com les constants d'estabilitat dels complexos metàl·lics) varien amb el grau d'ocupació dels setis reactius, és a dir, no són veritables constants, de manera que l'acidesa o el poder complexant s'han d'expressar per uns valors "intrínsecs" que s'obtenen extrapolant a grau d'ocupació zero. L'aparició o desaparició de càrregues iòniques en uns dels setis reactius provoca canvis en el camp elèctric local a la superfície de la macromolècula, i aquests canvis fan que els altres setis, modificat l'ambient que els envolta, es comportin diferentment. Així, la desprotonació d'un àcid al llarg d'una valoració de neutralització fa augmentar la concentració de càrregues negatives a la superfície de la macromolècula i fa més difícil la ulterior separació de més ions hidrògens: al llarg de la valoració l'àcid es comporta com a progressivament més dèbil.

b) *efecte polifuncional*, degut a la coexistència en la macromolècula de grups funcionals diversos. Es manifesten diferències no solament de la natura química d'aquests grups, sinó també de l'ambient electrostàtic que els envolta i dels condicionaments estèrics que afecten les reaccions de protonació o de coordinació d'ions metàl·lics per part d'aquests setis.

c) *efectes deguts a canvis conformacionals*, provocats per les modificacions del pH o de la força iònica de la solució, o per les variacions dels continguts en ions complexats. La protonació o desprotonació dels setis reactius pot fer variar la capacitat d'establir ponts d'hidrogen inter- o intramoleculars; l'acumulació d'ions metàl·lics coordinats, si són multivalents, fa aparèixer forces de repulsió entre els setis ocupats que poden repercutir en modificacions conformacionals significatives.

Tots aquests efectes contribueixen a l'estabilitat de les espècies formades, i llur importància relativa és difícil de definir, ja que pot variar molt amb el grau d'ocupació dels setis. La interpretació de les dades experimentals obtingudes d'aquests sistemes, emprant els mètodes mínim-quadràtics tradicionals d'ajust de corbes és difícil, quan és possible, ja que un model químic vàlid per a aquests sistemes no es pot establir fàcilment, atès el fet que en els equilibris de les macromolècules la llei d'acció de masses només es pot aplicar a nivell microscòpic, vol dir a cadascun en particular dels setis de reacció i amb independència dels altres.

Buffle [2a] es refereix als lligands d'aquest tipus com a *ligands heterogenis*, entenent el terme "heterogeni" sense cap connotació relativa a les fases presents i amb referència només a l'heterogeneïtat de les propietats químic-físiques. Aquesta heterogeneïtat seria de prou importància, segons aquell autor, per a obligar-nos a vèncer l'atavisme que ens lliga a l'ús de la llei d'acció de masses, i, en tractar de lligands macromoleculars, en particular dels lligands macromolecu-

lars naturals per als quals l'efecte polifuncional és important, ens caldria descriure els equilibris existents mitjançant unes *funcions de distribució dels equilibris de complexació*, les quals depenen de la relació entre les concentracions d'ió metàl·lic lliure i de setis actius de complexació lliures [31, 32], funcions que es troben a l'interior d'un camp de recerca molt actiu actualment.

El mètode de tractament basat en el programa SPFAC, que no requereix postular cap model químic ni exigeix l'acompliment de la llei d'acció de masses, és adequat per al tractament d'aquests sistemes constituïts per polieletròlits: dona el nombre d'espècies presents en el sistema, dona una estimació dels perfils de concentració i dels espectres individuals de les espècies en equilibri durant una valoració espectromètrica, i permet deduir les propietats de complexació del lligand. Aquest procediment, que fou dissenyat inicialment com una eina complementària de les tècniques mínimo-quadràtiques d'ajust de corbes en els sistemes no-polieletròlits, ha esdevingut una eina independent per a l'estudi de les interaccions dels ions metàl·lics amb lligands macromoleculars, exempta de tot model químic *a priori* i de gran poder de resolució.

Aquest procediment ha estat aplicat amb resultats satisfactoris a l'estudi de les interaccions dels ions H^+ i $Cu(II)$ amb el lligand polietilenimina [20b], que només conté setis reactius d'una sola classe química, i amb lligands com l'àcid poliinosínic [33], l'àcid poliuridílic [34] i l'àcid poliadenílic [20c], tots ells polinucleòtids sintètics que, de fet, es comporten també com a monofuncionals (és a dir, amb setis reactius d'una sola classe química). Han estat estudiades també les interaccions d'aquells ions amb un lligand macromolecular natural, un àcid fúlvic procedent de sòls calcaris del Segrà [35], amb el qual s'ha comprovat que el tractament emprat permet superar també les dificultats addicionals introduïdes per l'efecte polifuncional. Amb els lligands monofuncionals hom ha observat comportaments diversos que poden ésser dependents de la conformació: així, en el cas del sistema de l'àcid poliinosínic, probablement de conformació prou oberta perquè els setis reactius resultin situats prou lluny els uns dels altres per a fer negligible llur interacció, de manera que no es manifesti efecte polielectrolític, els valors de les constants d'acidesa i d'estabilitat del complex de coure(II) no varien amb el grau d'ocupació de setis. En altres casos, per contra, la conformació del lligand deu ésser en capdell aleatori o en alguna altra forma compacta per a fer intenses aquelles interaccions i, per tant, l'efecte polielectrolític esdevé notable, i hom obté variacions lineals de les "constants" amb el grau d'ocupació dels setis, en el sentit de disminuir quan el grau d'ocupació augmenta. No obstant això, en el cas del complex de coure(II) de l'àcid poliadenílic hom ha obtingut una variació lineal de la "constant" d'estabilitat de pendent anormal, en el sentit d'augmentar amb el grau d'ocupació dels setis, la qual cosa s'ha d'interpretar com deguda a un canvi conformacional provocat per la repulsió entre les càrregues positives dels ions coure(II) coordinats a uns setis, la qual dona lloc a una obertura o distensió de la cadena i fa més assequibles els altres setis.

AGRAÏMENTS

Una gran part de la tasca de recerca descrita en aquest capítol [9, 10, 19, 20, 24-30, 33-35] és fruit de l'esforç dels membres d'un grup de treball del Departament de Química Analítica de la Universitat de Barcelona esmentats a les referències indicades. Hom fa constar aquí el reconeixement a la contribució de cadascun d'ells, i posa un èmfasi especial en la del Dr. Romà Tauler i en la de la Dra. Anna Izquierdo-Ridorsa.

REFERÈNCIES

1. JENNE, E. A. (ed.): *Chemical Modeling in Aqueous Systems*, A.C.S. Symposium Series, num. 93. American Chemical Society, Washington, 1979.
2. a) BUFFLE, J.: *Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach*. Horwood-Wiley, Chichester-Nova York, 1988; b) HARTLEY, F. R., BURGUES, C., i ALCOCK, R.: *Solution Chemistry*, Horwood-Wiley, Nova York, 1980; c) INCZEDY, J.: *Analytical application of complex equilibria*, Horwood-Wiley, Nova York, 1970; d) SIGEL, H. (ed.): Circulation of metals in the environment. Dins: *Metal ions in biological systems*, vol. 18, Marcel Dekker, Nova York, 1984; e) SIGEL, H. (ed.): Methods involving metal ions and complexes in clinical chemistry. Dins: *Metal ions in biological systems*, vol. 16, Marcel Dekker, Nova York, 1983.
3. BJERRUM, J.: *Metal ammine formation in aqueous solution*. P. Haase and Son, Copenhagen, 1941.
4. SCHWARZENBACH, G., KAMPITSCH, E. i STEINER, R.: Komplexe I: Über die Salzbildung der Nitrilotriessigsäure. *Helv. Chim. Acta*, 1945, **28**, 828-840; b) SCHWARZENBARH, G. i ACKERMANN, H.: Komplexe V: Die Äthylendiamintetraessigsäure. *Helv. Chim. Acta*, 1947, **30**, 1798-1804; c) SCHWARZENBACH, G. i BIEDERMANN, W.: Komplexe VII: Titration von Metallen mit Nitrilotriessigsäure; Endpunktsindikation durch pH-Effekte. *Helv. Chim. Acta*, 1948, **31**, 331-340; d) SCHWARZENBARH, G. i ACKERMANN, H.: Komplexe XII: Die Homologen der Äthylendiamintetraessigsäure und ihre Erdalkalikomplexe. *Helv. Chim. Acta*, 1948, **31**, 1029-1048; e) SCHWARZENBARH, G. i GYSLING, H.: Metallindikatoren I: Murexid als Indikator auf Calcium- und andere Metallionen, Komplexbildung und Lichtabsorption. *Helv. Chim. Acta*, 1949, **32**, 1314-1325.
5. SILLÉN, L. G.: Stability constants. *J. Inorg. Nucl. Chem.*, 1958, **8**, 176; b) SILLÉN, L. G.: On the equilibrium in systems with polynuclear complex formation I: Methods for deducing the composition of complexes from experimental data; "core+links" complexes. *Acta Chem. Scand.*, 1954, **8**, 299-317; c) SILLÉN, L. G.: On equilibrium with polynuclear complexes. *Rec. Trav. Chim. Pays-Bas*, 1956, **75**, 705-710; d) BIEDERMANN, G. i SILLÉN, L. G.: On the equilibrium in systems with polynuclear complex formation IV: The transition from polynuclear to mononuclear products. *Acta Chem. Scand.*, 1956, **10**, 1011-1019.

6. INGRI, N., i SILLÉN, L. G.: High-speed computers as a supplement to graphical methods, II: Some computer programs for studies of complex formation equilibria. *Acta Chem. Scand.*, 1962, **16**, 173-191; b) SILLÉN, L. G.: High-speed computers as a supplement to graphical methods, I: Functional behavior of the error square sum. *Acta Chem. Scand.*, 1962, **16**, 159-172.
7. KOLTHOFF, I. M.: Application of macrocyclic compounds in chemical analysis. *Anal. Chem.*, 1979, **51**(4), 1R-22R.
8. LEGGETT, D. J. (ed.): *Computational methods for the determination of stability constants*. Plenum Press, Nova York, 1985.
9. CASASSAS, E., TAULER, R., i FILELLA, M.: A critical comparison of computer programs for the potentiometric determination of stability constants. *Anal. Chim. Acta*, 1986, **191**, 399-411.
10. CASASSAS, E., FILELLA, M. i TAULER, R.: Assessment of the results obtained from different computer programs applied to potentiometric complexation data. *Anal. Chim. Acta*, 1986, **191**, 413-423.
11. SILLÉN, L. G.: Some graphical methods for determining equilibrium constants II: On "curve-fitting" methods for two-variable data. *Acta Chem. Scand.*, 1956, **10**, 186-202; b) ROSSOTTI, F. J. C., ROSSOTTI, H. i SILLÉN, L. G.: *ibid.* III: A projection strip method for two parameter systems. *Acta Chem. Scand.*, 1956, **10**, 203-214; c) SILLÉN, L. G.: *ibid.* IV: On methods for three-variable data. *Acta Chem. Scand.*, 1956, **10**, 803-811; d) AGUILAR, M.: Graphical treatment of liquid-liquid equilibrium data. Dins: *Developments in solvent extraction*, ALEGRET, S. (ed.). Ellis Horwood, Chichester, 1988; e) AGUILAR, M.: *Introducción a los equilibrios iónicos*. CPDA, Universitat Politècnica de Catalunya, Barcelona, 1994.
12. SILLÉN, L. G.: Quantitative studies on hydrolytic equilibria. *Quarterly Rev.*, 1959, **13** (2), 146-168; b) *vegeu també*: BAES, Ch. F. i MESMER, R. E.: *The Hydrolysis of Cations*. Wiley-Interscience, Nova York, 1976.
13. MASSART, D. L., VANDENGISTE, B. G. M., DEMING, S. N., MICHOTTE, Y. i KAUFMAN, L.: *Chemometrics: a textbook*. Elsevier, Amsterdam, 1988.
14. MALINOVSKI, E. R., i HOWERY, D. E.: *Factor analysis in chemistry*. Wiley, Nova York, 1981.
15. GAMPP, H., MAEDER, M., MEYER, CH., i ZUBERBÜHLER, A. D.: Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic data, III: Model-free analysis of spectrophotometric and ESR titrations. *Talanta*, 1985, **32**, 1133-1139; b) *ibid.*, Evolving factor analysis of spectrophotometric titrations: forget about the law of mass action. *Chimia*, 1985, **39**, 315-317; c) *ibid.*, Calculation of equilibrium constants from multiwavelength spectroscopic data, IV: Model-free least-squares refinement by use of evolving factor analysis. *Talanta*, 1986, **33**, 943-951.

16. MALINOVSKI, E. R.: Theory of error in factor analysis. *Anal. Chem.*, 1977, **49**, 606-612; b) *ibid.*, Determination of the number of factors and the experimental error in a data matrix. *Anal. Chem.*, 1977, **49**, 612-617; c) *ibid.*, Theory of the distribution of error eigen values resulting from principal component analysis with application to spectroscopic data. *J. Chemometrics*, 1987, **1**, 33-40; d) *ibid.*, Statistical F-test for abstract factor analysis and target testing. *J. Chemometrics*, 1988, **3**, 49-60.
17. CARTWRIGHT, H.: Determination of the dimensionality of spectroscopic data by submatrix analysis. *J. Chemometrics*, 1986, **1**, 111-120.
18. HAVEL, J. i MELOUN, M.: Multiparametric curve fitting IX: Simultaneous regression estimation of stoichiometry and stability constants of complexes. *Talanta*, 1986, **33**, 435-441; b) HAVEL, J., MIRALLES, N., SASTRE, A. i AGUILAR, M.: CPLET, computer program for evaluation of colligative property equilibrium data. *Computer Chem.*, 1992, **16**, 319-325.
19. TAULER, R. i CASASSAS, E.: Principal component analysis applied to the study of successive complex formation data in Cu(II)-ethanolamine systems. *J. Chemometrics*, 1988, **3**, 151-161; b) TAULER, R., CASASSAS, E. i IZQUIERDO-RIDORSA, A.: Self-modelling curve resolution in studies of spectrometric titrations of multi-equilibria systems by factor analysis. *Anal. Chim. Acta*, 1991, **248**, 447-458; c) TAULER, R. i CASASSAS, E.: Application of principal component analysis to the study of multiple equilibria system: study of copper(II)/salicylate/mono-, di- and tri-ethanolamine systems. *Anal. Chim. Acta*, 1989, **223**, 257-268.
20. TAULER, R. i CASASSAS, E.: Application of factor analysis to speciation in multiequilibria systems. *Analisis*, 1992, **20**, 255-268; b) *ibid.* Spectroscopic resolution of macromolecular complexes using factor analysis: Cu(II)-polyethyleneimine system. *Chemometrics Intell. Lab. Systems*, 1992, **14**, 305-317; c) CASASSAS, E., TAULER, R. i Marques, M. I.: Interaction of H⁺ and Cu(II) ions with polyadenylic acid: study by factor analysis. *Macromolecules*, 1994, **27**(7), 1729-1737.
21. SEARLE, S. R.: *Matrix algebra useful for statistics*. Wiley, Nova York, 1982.
22. WOLD, S.: Cross-validatory estimation of the number of components in factor and principal components models, *Technometrics*, 1978, **20**, 397-405.
23. FORINA, M., LANTERI, S., ARMANINO, C. i LEARDI, R.: Indicator function and double cross validation for the number of principal components. Dins: *Miscellania Enric Casassas* (S. ALEGRET, J.J. ARIAS, D. BARCELÓ, J. CASAL i G. RAURET, eds), Public. Univ. Autònoma de Barcelona, Bellaterra, 1991, 151-154.
24. TAULER, R. i CASASSAS, E.: A simple search for conditions giving maximal and/or minimal concentrations of species in distribution plots. *Anal. Chim. Acta*, 1988, **206**, 189-202.
25. CASASSAS, E., GUSTEMS, LL. i TAULER, R.: Spectrophotometric study of complex formation in copper(II)/mono-, di- and tri-ethanolamine systems. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1989, 569-573.

26. TAULER, R., CASASSAS, E. i RODE, B. M.: The complex formation of copper (II) with mono- and di-ethanolamine in aqueous solution. *Inorg. Chim. Acta*, 1986, **114**, 203-229.
27. TAULER, R., CASASSAS, E., RAINER, M. J. A. i RODE, B. M.: The complex formation of copper(II) with triethanolamine in aqueous solution. *Inorg. Chim. Acta*, 1985, **105**, 165-170.
28. CASASSAS, E., IZQUIERO-RIDORSA, A. i TAULER, R.: Electron paramagnetic resonance and visible spectroscopic studies of mixed-ligand complexes of copper(II) ion, salicylate ion and a nitrogen base in aqueous solution. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1990, 2341-2345.
29. CASASSAS, E. i TAULER, R.: Potentiometric study of mixed ligand complex formation in the copper(II)/salicylate/mono-, di-, and tri-ethanolamine systems. *J. Chim. Phys.*, 1986, **83**, 409-417.
30. TAULER, R., IZQUIERO-RIDORSA, A. i CASASSAS, E.: Simultaneous analysis of several spectroscopic titration with self-modelling curve resolution. *Chemometrics Intell. Lab. Systems*, 1993, **18**, 293-300.
31. ALTMANN, R. i BUFFLE, J.: *Geochim. Cosmochim. Acta*, 1988, **52**, 1505; b) BUFFLE, J. i ALTMANN, R. Dins: *Aquatic surface chemistry; chemical processes at the particle-water interface* (W. STUMM, ed.). Wiley, Nova York, 1987.
32. FILELLA, M., BUFFLE, J. i VAN LEEUWEN, H. P.: Effect of physico-chemical heterogeneity of natural complexants I: Voltammetry of labile metal-fulvic complexes. *Anal. Chim. Acta*, 1990, **232**, 209-223.
33. TAULER, R., IZQUIERDO-RIDORSA, A., GARGALLO, R. i CASASSAS, E.: Application of a new multivariate curve resolution procedure to the simultaneous analysis of several spectrometric titrations of the copper(II)-polyinosinic acid system. *Chemometrics Intell. Lab. Systems*, 1995, **27**, 163-174.
34. CASASSAS, E., GARGALLO, R., GIMENEZ, I., IZQUIERDO-RIDORSA, A. i TAULER, R.: Application of an evolving factor analysis-based procedure to speciation analysis in the copper(II)-polyuridylic acid system. *Anal. Chim. Acta*, 1993, **283**, 538-547.
35. CASASSAS, E., MARQUES, M. I. i TAULER, R.: Study of acid-base properties of fulvic acids using fluorescence spectrometry and multivariate curve resolution methods. *Anal. Chim. Acta*. (en premsa).

(Original rebut per a publicació
el dia 1 de juliol de 1994)