

$$\hat{y}_i = y_i + \epsilon_i = b_0 + b_1 x_i + b_2 x_i^2 + \dots + b_N x_i^N + \epsilon_i$$

MODELITZACIÓ MACROSCÒPICA EN CIÈNCIES EXPERIMENTALS

UNIVERSITAT CATALANA D'ESTIU
INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS

$$QR = \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2 = \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - \sum_{k=0}^N b_k x_i^k)^2 \rightarrow \text{Minim}$$

$$\hat{y}_i = y_i + \epsilon_i = b_0 + b_1 x_i + b_2 x_i^2 + \dots$$

INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS
Monografies de les Seccions de Ciències, 12

SECCIÓ DE CIÈNCIES I TECNOLOGIA
SECCIÓ DE CIÈNCIES BIOLÒGIQUES

**MODELITZACIÓ
MACROSCÒPICA EN
CIÈNCIES EXPERIMENTALS**

Actes del seminari especialitzat que, ofert per la
Universitat de Barcelona, fou impartit a la
XXIV Universitat Catalana d'Estiu,
a Prada de Conflent

Edició a cura
d'ENRIC CASASSAS i MIQUEL ESTEBAN

UNIVERSITAT CATALANA D'ESTIU
INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS
BARCELONA, 1996

**MODELITZACIÓ MACROSCÒPICA
EN CIÈNCIES EXPERIMENTALS**

INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS

Monografies de les Seccions de Ciències, 12

SECCIÓ DE CIÈNCIES I TECNOLOGIA

SECCIÓ DE CIÈNCIES BIOLÒGIQUES

**MODELITZACIÓ
MACROSCÒPICA EN
CIÈNCIES EXPERIMENTALS**

Actes del seminari especialitzat que, ofert per la
Universitat de Barcelona, fou impartit a la
XXIV Universitat Catalana d'Estiu,
a Prada de Conflent

Edició a cura
d'ENRIC CASASSAS i MIQUEL ESTEBAN

UNIVERSITAT CATALANA D'ESTIU
INSTITUT D'ESTUDIS CATALANS
BARCELONA, 1996

Biblioteca de Catalunya. Dades CIP:

Modelització macroscòpica en ciències experimentals
Actes del seminari especialitzat que fou impartit a la XXIV
Universitat Catalana d'Estiu, a Prada de Conflent. —
Bibliografia
ISBN 84-7283-339-9
I. Casassas, Enric, ed. II. Esteban, Miquel, ed.
III. Universitat Catalana d'Estiu. IV. Institut d'Estudis
Catalans. IV. Col·lecció — — — — —
1. Química — Models matemàtics — Congressos
54:51-7(061.3)

Disseny gràfic de Maria Casassas

© Els autors dels articles
© 1996, Institut d'Estudis Catalans
Editat per l'Institut d'Estudis Catalans
Carme, 47. 08001 Barcelona

Primera edició: desembre de 1996
Tiratge: 600 exemplars

Compost i imprès per Novatesa, gràfiques SL
Enric Granados, 94, 1r 2a. 08008 Barcelona

ISBN: 84-7283-339-9
Dipòsit Legal: B.42186-1996
Printed in Catalonia

MODELITZACIÓ MACROSCÒPICA EN CIÈNCIES EXPERIMENTALS

Professors:

CRISTINA ARIÑO. Departament de Química Analítica. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

ENRIC CASASSAS*. Departament de Química Analítica. Universitat de Barcelona.

JOSÉ MANUEL DÍAZ CRUZ. Departament de Química Analítica. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

MIQUEL ESTEBAN. Departament de Química Analítica. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

ANNA IZQUIERDO-RIDORSA. Departament de Química Analítica. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

ROMÀ TAULER. Departament de Química Analítica. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

ALBERT SORRIBAS. Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques. Facultat de Medicina. Universitat de Lleida.

FRANCESC MAS. Departament de Química Física. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

JORDI MACH. Departament de Química Física. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

PEDRO PABLO TRIGUEROS. Departament de Química Física. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

JOSEP CLARET. Departament de Química Física. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

FRANCESC SAGUÉS. Departament de Química Física. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

JAUME PUY. Departament de Química. Escola Tècnica Superior d'Enginyeries Agràries. Universitat de Lleida.

F. XAVIER RIUS. Departament de Química. Universitat Rovira i Virgili. Tarragona.

XAVIER TOMÀS. Departament de Quimiometria. Institut Químic de Sarrià. Universitat Ramon Llull.

Coordinadors:

MIQUEL ESTEBAN i ENRIC CASASSAS*. Departament de Química Analítica. Universitat de Barcelona.

* Membre de l'Institut d'Estudis Catalans.

1. PREÀMBUL: INTRODUCCIÓ A LA MODELITZACIÓ

Enric Casassas* i Miquel Esteban*

L'home sempre ha tingut necessitat d'esquemes mentals senzills, potser moltes vegades volgudament massa esquemàtics, que li permetessin algun grau de comprensió de les múltiples varietats de comportament dels components del món que l'envolta. Ja des de l'antiguitat, aquest grau de comprensió i les amples zones de misteri al voltant sotmeses a l'imperi dels déus o dels esperits menors que solen ésser els amos de les coses més immediates, permeteren a l'home de sobreviure en un món en principi hostil. Seria exagerat dir-ne models, d'aquells esquemes mentals, però ja en temps molt remots l'home començà a sistematitzar i relacionar observacions —pensem en la metallúrgia i en l'astronomia, per exemple—, i hom matisà l'empirisme amb algun conjunt d'idees. De quina manera s'anaren desenvolupant les ciències a partir d'aquells conjunts, de quina manera la ciència, així, en general, esdevingué la ciència moderna, són temes que han d'ésser presos com diversos cap torçuts de fils molt llargs i embullats, amb els quals han estat cosits grossos volums que tracten de la història cultural de la humanitat, però en el present capítol no són aquests els objectes d'estudi, sinó, per començar, un de molt més concret, el de com han anat variant al llarg de l'evolució històrica de la ciència les relacions entre experiment i teoria fins a fer necessari el model, i el de com modelització i simulació han arribat a esdevenir en l'actualitat eines de primer ordre per a la recerca científica, és a dir, per al progrés científic.

* Departament de Química Analítica. Universitat de Barcelona.

No voldríem dedicar gaire atenció aquí a la ciència de l'edat antiga, quan els pensadors grecs s'esmerçaven en exercicis de lògica sofisticats que aplicaven al desenvolupament de totes les intuïcions. Aquella era una mena de saviesa, agressiva i desconixedora de límits, diferent de la que avui dia acceptaríem, si és que fóssim capaços d'acceptar-ne alguna, iconoclastes com som i rebels enfront de tota autoritat. Alguns en parlen com si aquells exercicis constituïssin la veritable ciència; per a acceptar-ho ens hem de situar a l'època i hem de cercar una altra definició de la paraula *ciència*. Aristòtil ho sistematitzà tot, fixà per a la lògica un reglament estricte i deixà una herència important que durant segles ha estat motor de pensament per al nostre món occidental, segons els uns; o que durant segles han feta pesar com una llosa que ofegava els presumptes lliures, els esperits inquietes, una llosa que impedia el progrés, segons els altres.

De les escoles del renaixement carolingi al trivi i al quadrivi i al desenvolupament de tot el sistema de coneixement escolàstic (fruit de l'assimilació també del nou material aristotèlic, l'autèntic i l'apòcrif, que s'havia rebut a través de les traduccions de l'àrab durant els segles XI i XII, sistema que reconeix i consagra allò que anomena les arts lliberals i rebutja i repudia les anomenades arts mecàniques, com l'alquímia i la medicina [en principi, encara que aquesta segona acabà essent acceptada, com veurem], perquè tota la ciència veritable que no és filosofia s'ha de desenvolupar per *subalternatio* de la filosofia, per deducció lògica a partir de principis que derivin directament dels de la filosofia, aquí tractem de la filosofia natural), tot el barbullir cultural de l'alta i de la baixa edat mitjana no fou capaç de perfeccionar cap dels esquemes mentals que en el terreny d'allò que ara en diríem les ciències de la natura havien anat prenent forma, bé que amb límits imprecisos, en la ment dels homes.

En el cas de la medicina hom assolí el reconeixement dels escolàstics, i la medicina ingressà a les universitats en formació ja des del primer moment: hom havia sabut dotar aquella gran quantitat d'empirisme que constituïa —i que encara constitueix— la medicina d'una bastida lògica que feia derivar els comportaments, les funcions i les disfuncions dels quatre elements dels antics, de les propietats inherents i, sobretot, d'uns humors en els quals aquestes propietats es transformaven per influx dels principis vitals. Era tot plegat un model? Podem afirmar que en tenia algun element, com temps després en tenien també els esquemes de Paracels. No po-

dem, però, admetre'ls com a models pròpiament dits perquè estaven bastits a l'inrevés, tots ells penjant dels fils dels postulats d'una filosofia apriorística i lligats per cadenes de sil·logismes pertinents o impertinents a una realitat mal coneguda per mal explorada, si no inexplorada. Són Roger Bacon, Albert Magne, també Arnau de Vilanova, els qui comencen a tocar amb les mans la realitat tal com és, però això els condueix a tocar l'alquímia, i amb el toc de l'alquímia se senten cremar, perquè la matèria era tabú, i el perfeccionament de la matèria i el del seu artífex, que és el veritable filòsof, era utopia, mite, pecat d'orgull, blasfèmia: acabar l'obra començada amb la creació i continuada amb la redempció! S'hi senten cremar i se'n desvien, o s'hi cremen del tot, és a dir, van a parar a les planures desertes emboirades de més enllà de la filosofia natural escolàstica de rel aristotèlica, on els adeptes esdevenen conreadors d'unes ciències que no tenen altre remei que ésser ocultes. L'alquímia, més que elements de protoquímica, conté uns elements misticoscètics que es van tornant preponderants amb el temps, gairebé exclusius quan es produeix la florida de la química ciència nova, que són els elements que han fet sobreviure les reminiscències d'aquestes ciències ocultes fins als nostres dies. L'alquímia, malgrat esforços notables, com els continguts en molts dels textos que constitueixen el corpus pseudolul·lià, no aconseguí desenvolupar cap construcció mental que tingués cap característica d'allò que anomenem model.

Al Renaixement foren establertes les relacions entre la natura i el coneixement de la natura que configurarien la ciència moderna. De l'observació hom passà a l'experimentació, que és l'observació provocada en condicions controlades; de l'observació de qualitats hom passà a la mesura de quantitats; hom defugí el tractament directe de les coses reals convertint-les en abstraccions; dels nombres obtinguts en els mesuraments hom en deduí les lleis empíriques que expliquen els comportaments, almenys aquells que foren anomenats «comportaments ideals». És l'assaig d'interpretació de la llei empírica allò que constitueix primer una hipòtesi, després una teoria; d'aquesta, si és correcta, que vol dir fecunda, hom n'ha de poder deduir nous aspectes de les lleis, o noves lleis, que regulen comportaments nous dels objectes reals, imprevistos abans. És un joc inductiu-deductiu que ha estat vàlid per al desenvolupament de les ciències experimentals durant els darrers segles, durant els quals, cal dir, no s'ha parlat mai de modelització ni de simulació. La

ciència buscava el coneixement de la veritat; era considerada una recerca de la veritat amagada en les coses: quan nous descobriments posaven de manifest contradiccions o insuficiències en una teoria considerada certa fins aleshores, aquesta passava a la consideració de falsa, era arraconada i se'n construïa una altra. El científic creia que les coses són com són i que ell havia d'ésser capaç de treure'n l'entrellat, d'arribar fins al centre de la veritat de les coses i de llurs comportaments. Fou la revolució científica que tingué lloc en el trànsit del segle XIX al segle XX, o en els primers decennis del segle XX, la que provocà canvis en els punts de vista i, de fet, la que posà de manifest la conveniència de situar entre la teoria i l'experiment una mena de pont, el model. Aquesta revolució, que introduïa un principi com el de complementarietat, que acceptava una doble natura per a l'electró, la particulada i l'ondulatòria, doble natura que generalitzava a qualsevol partícula en moviment, ja no permetia de dir que les coses són com són. Si en un moment donat semblà que podríem dir de les coses que es comporten com es comporten, i que només és això el que en podem saber, resultà que tampoc, perquè la nostra observació de les coses en modifica el comportament, en alguns nivells, certament, però amb efectes epistemològics prou ressonants. Hom comença el segle amb la relativitat i la indeterminació, i la quàntica i les lleis dels grans nombres canvien el sentit de la ciència; hom perd la fe en allò que semblava més sòlid: la ciència i la seva seqüela, el progrés material sense límits; totes les avantguardes esdevenen possibles, tots els criticismes, tots els revisionismes.

Un altre caràcter que la ciència del segle XX adquireix, que cal assenyalar per la seva relació amb el tema que tractem, i que per a entendre l'evolució recent de la ciència és tan essencial com aquests canvis de concepte que acabem d'esmentar, és la massificació del gremi dels científics, la proletarització de l'ofici de científic. Aquest ha passat a ésser un home que fa experiments, que en fa més i més, sense parar mai; un home que fa mesuraments, de tot i a totes hores, sota tots els conjunts de condicions; un home que recull dades numèriques cada dia que passa en més quantitat. Cal inventar els ordinadors on conservar tots aquests innombrables nombres, on tractar-los i on, principalment, buscar-hi correlacions i determinar-ne coeficients que expressin els graus de confiança que hom hi pot dipositar.

És en aquestes condicions que esdevenen necessàries la modelització i la simulació, ponts, com ja hem dit, entre l'experiment i la

teoria. La simulació, en certa mesura, pot actuar suplint la teoria: suggereix models, suggereix experiments. La simulació, en certa mesura, substitueix l'experiment real, en la mateixa mesura que el model substitueix la realitat. Moltes vegades la simulació com a substitut d'experiments reals és justificada per raons econòmiques: substitueix experiències cares, com en el cas de simulació de vols en determinades condicions, o que poden ésser-ho, com en el disseny de determinades peces mecàniques o de determinades estructures, o que poden ésser difícils o impossibles de fer al laboratori, com per exemple les d'estudi de l'evolució de les galàxies.

El model és construït sobre hipòtesis, sobre corollaris de teories que hom té a mà i, d'una manera cada dia més important, sobre la base de les correlacions que sorgeixen de l'ús dels ordinadors, tal com hem esmentat ja, sobre la base, doncs, d'allò que en dèiem abans lleis empíriques. Un model, en general, és un conjunt d'equacions matemàtiques amb les quals descriure un comportament d'un recinte específic de la realitat que ens envolta. Tindrà, doncs, uns límits o condicions de contorn; dins d'aquests límits serà un procediment abstracte per a obtenir uns resultats que s'acostin als que mesuraríem en el sistema real si això fos possible. Si s'hi acosten prou direm que el model és prou vàlid —prou proximitat, prou validesa són conceptes vagues que especialistes en lògica difusa s'esforcen a quantificar per poder saber què volen dir, però que al comú dels científics els permet el marge d'escepticisme que els caracteritza. Però moltes vegades els resultats de la modelització són inclosos en dossiers que van a parar a mans dels polítics, i aquests, tan imprecisos i circumstancials en les seves coses, prendran aquests resultats com a veritats absolutes perquè no solen estar preparats per a llegir un dossier procedent d'assessors científics, per a saber avaluar fins a quin punt la validesa dels resultats finals és condicionada per la dels postulats sobre els quals fou bastit el model i per les condicions de contorn que s'hi adoptaren. Aquí rau una de les responsabilitats crucials del científic actual, la de no desentendre's de l'ús que hom faci dels seus resultats, la de saber comunicar-ne el veritable valor. Sempre ha estat dit que l'etapa final de la recerca que fa el científic és la comunicació de resultats; si en el passat això ha volgut dir comunicació a la resta de la comunitat científica internacional, en el temps actual vol dir a més comunicació intel·ligible si no al públic en general sí almenys als responsables de les accions, cada dia més nombroses, que repercuteixen, cada dia amb

impacte més fort, sobre el benestar de la societat, cada dia més insegura.

En les ciències fisicoquímiques, l'estudi de la realitat pot ésser enfocat a dos nivells o escales diferents, un *nivell macroscòpic*, en què els sistemes són estudiats en llur globalitat, i són sistemes amb propietats susceptibles d'ésser mesurades directament mitjançant instruments de mesura adequats, com és el cas del nivell on se situa la termodinàmica clàssica; i un *nivell microscòpic*, en què l'objecte d'estudi és la partícula elemental, l'àtom, la molècula; en principi, no individualment, sinó en llur munió innumerable, munió que requereix tractaments estadístics, dels quals es poden deduir en casos favorables els valors de les propietats observables, com és el cas de la termodinàmica estadística, el del moviment brownià, el de la difusió... L'estudi de l'equilibri químic forma part de la termodinàmica: és, doncs, un estudi que es realitza a nivell macroscòpic; l'estudi de la cinètica químic implica l'establiment dels mecanismes de reacció: això ens inclinarà vers el nivell microscòpic.

De la mateixa manera existeixen aquestes dues escales de treball en la modelització, on haurem de parlar de *models macroscòpics* o *models continus* i de *models microscòpics* o *discrets*; d'aquests darrers distingirem els *determinístics* (en els quals la connexió entre les variables és expressada per relacions funcionals exactes) i els *estocàstics* (en els quals hi ha una o més variables que tenen probabilitats de prendre diferents valors numèrics).

En els *models continus* se sol disposar d'un enfocament teòric dels fenòmens o dels sistemes en estudi, que ens forneix la base ideològica a partir de la qual es construeix el model matemàtic, és a dir, la descripció matemàtica simbòlica del fenomen o sistema en qüestió. Un mateix fenomen real, enfocat segons diferents criteris teòrics, pot ésser estudiat mitjançant models matemàtics diferents: cadascun d'ells és una representació simplificada del mateix fragment de la realitat, encara que de vegades aquesta simplificació no deixa d'implicar un aparell matemàtic d'una certa solemnitat. En casos com aquests, hom pot tractar de simplificar el model, encara que això només té sentit amb relació a les preguntes a què hom pretén respondre, a la problemàtica que hom considera rellevant. Només una teoria que englobi el model pot suggerir-ne i justificar-ne la simplificació. No hi ha cap model independent; tot model és subsidiari d'una problemàtica i d'una teoria.

Un cop establert el model matemàtic, cal recórrer a la seva veri-

ficació i validació, cal comprovar que s'adequa a la realitat observada. Algorismes i programes de càlcul per a la simulació del fenomen solen ésser les eines emprades. Aquest és el tipus de treball que hom realitza, per exemple, en mecànica de fluids. És el tipus de treball que cal fer per a l'especiació química dels sistemes naturals o pollucionats.

En els *models discrets* hom descendeix al nivell atòmic o molecular. No es pot pensar que a partir del model sigui possible descriure el comportament de cada partícula individual; això seria com voler basar els estudis sociològics en descripcions detallades de la biografia de cada persona. Cal recórrer, doncs, a procediments derivats de la teoria de la probabilitat i de l'estadística matemàtica, i d'aquests extreure'n algun tipus de mitjanes o d'altres paràmetres estadístics convenients. Un dels tractaments possibles és el *mètode de Montecarlo*, que parteix d'una presa de mostra artificial, amb utilització de successions de xifres aleatòries; és un mètode especialment indicat per a evitar la comptabilització de totes les dades reals i simplificar el tractament de poblacions molt nombroses; encara que és, en conjunt, un tractament simplificat, exigeix disposar d'ordinadors potents. Un altre dels tractaments possibles dels models discrets és l'anomenat de la *dinàmica molecular*.

Els problemes plantejats per l'ús de models, les tècniques emprades avui dia per a la modelització de fenòmens i de sistemes rellevants en camps com els de la química ambiental, la bioquímica i l'electroquímica, els tipus de contribucions positives a l'avanç dels coneixements que l'ús dels models ha fet possible, així com alguns aspectes quimiomètrics plantejats per la necessitat de sotmetre a validació aquests models, constituïren la temàtica tractada en un seminari desenvolupat per la Universitat de Barcelona dins el marc de la 24a edició de la Universitat Catalana d'Estiu, a Prada de Conflent, l'agost de 1992. Dels temes discutits en aquest seminari n'és rendit compte a les pàgines següents.

2. INTRODUCCIÓ A LA MODELITZACIÓ EN ELS ESTUDIS D'ESPECIACIÓ QUÍMICA D'IONS METÀL·LICS EN ELS SISTEMES AQUÀTICS

Enric Casassas*

Un dels resultats de les transformacions que ha sofert la societat humana en els darrers decennis —transformacions que en relació amb el tema que és l'objecte d'aquest capítol podríem caracteritzar per tres factors: creixement demogràfic cada vegada més accelerat, invasió de la tecnologia i dels seus productes en tots els àmbits, i increment notable del consum per càpita, almenys en zones privilegiades del planeta— és el de la producció de quantitats ingents —cada dia que passa, més— de deixalles o residus de tots tipus, i la disseminació concomitant de traces de metalls o d'ions metàl·lics per tots els compartiments en què hom vulgui dividir l'ambient natural. Si analitzem quins són els orígens concrets de l'augment que s'observa en la introducció d'ions metàl·lics al medi, haurem d'enumerar-ne diversos; la producció de masses cada cop més grans de residus urbans, principalment de residus sòlids, accentuada per una tendència de la població que sembla imparable, la de concentrar-se més i més en les grans conurbacions; la disseminació de productes volàtils originats en els cremadors oberts d'aquests residus sòlids urbans; l'augment de l'activitat industrial i la poca cura que solen demostrar moltes empreses en el tractament dels subproductes, dels residus i de les aigües residuals que generen; les condicions inadequades que reuneixen molts dels abocadors de residus industrials sòlids, fins i tot molts dels controlats per autoritats pretesament competents; l'ús de composts de plom (que ara sembla que comença a anar de baixa) com a additiu de les gasolines per als vehi-

* Departament de Química Analítica. Universitat de Barcelona.

cles automòbils, plom que, expulsat pels tubs d'escapament, és escampat a l'ambient al llarg dels focus emissors lineals que són les carreteres i les autopistes; també la crema de combustibles fòssils, sòlids o líquids, envia amb les cendres volants ions metàl·lics a l'ambient (1, 2).

Tots els ions metàl·lics per damunt d'un límit determinat, diferent per a cada metall, són tòxics per a l'ésser humà. Si són les aigües les que els contenen, la intoxicació s'origina per la ingesta directa amb la beguda o per la contaminació dels aliments en els tractaments de la cuina, també per la impurificació de les verdures, dels productes diversos de l'horta o dels productes agrícoles en general que han estat regats amb aquelles aigües. Si els ions metàl·lics estan continguts en l'aerosol atmosfèric, la seva acció sobre l'ésser humà es pot originar per inhalació o, indirectament, després de llur deposició —seca o humida— damunt dels productes dels camps que treballen els pagesos, fins i tot dels camps on pastura el bestiar que després serà traslladat a l'escorxador. En aquest treball tractarem només de la toxicitat dels ions metàl·lics continguts en els sistemes aquàtics; potser de passada en algun moment tocarem els ions metàl·lics presents en els sediments i fins i tot els presents en els sòls.

La toxicitat d'un metall concret no és exclusivament una funció de la seva concentració total en la fase aquosa que hom consideri, sinó que depèn molt principalment de les formes químiques específiques en què estigui present, i aquestes formes poden ésser moltes i molt diverses segons quines siguin les condicions del medi, segons quins siguin, per exemple, el pH, o el potencial d'oxidació-reducció, o els agents complexants presents. Aquests darrers es combinen amb els ions metàl·lics i formen complexos de propietats químiques i físiques diferents.

En un medi aquàtic natural s'hi poden trobar agents complexants força diversos. Un d'omnipresent és el lligand OH^- (la concentració del qual està relacionada amb el pH), el qual obliga a prendre en consideració la possible presència d'hidroxo complexes, que, de fet, solen ésser una primera etapa del procés que condueix a la precipitació dels metalls com a hidròxids o com a òxids (3). Altres lligands freqüents són l'ió clorur, l'ió carbonat, l'ió hidrogen-carbonat, entre els inorgànics, i composts polihidroxilats o hidroxi-carboxílics o policarboxílics procedents de la degradació de macromolècules d'origen vegetal, entre els orgànics.

En un medi aquàtic pol·luït, la varietat de lligands presents pot ésser molt gran. Podríem dir que, en principi, qualsevol compost químic pot ésser produït per l'activitat humana i abocat al medi; en aquest es poden produir nous composts contaminants, dits secundaris, per efecte de reaccions, generalment fotoquímiques, que sofreixen els contaminants primaris introduïts directament per l'home. Així, en l'estudi dels medis aquàtics pol·luïts s'hauran de tenir en compte totes les possibilitats (4).

Un grup especial entre els composts de propietats complexants que es troben en els sistemes aquàtics naturals el constitueixen els lligands macromoleculars, principalment els àcids húmics, també la cel·lulosa, la lignina i llurs derivats, els quals són objecte d'estudi en altres capítols d'aquest llibre. Aquí parlarem (més endavant) de llur tractament simplificat segons models particulars *sui generis*, basats essencialment en l'artifici de substituir en els càlculs el lligand macromolecular per una mescla de lligands de molècula petita, amb els mateixos grups funcionals o grups anàlegs, cadascun a la concentració que correspongui per a simular el poder complexant efectiu del lligand natural.

La toxicitat directa dels metalls sobre els éssers vius dependrà de la seva capacitat d'ésser absorbits per l'organisme, és a dir, per la seva capacitat de travessar membranes biològiques, la qual cosa exigeix que siguin liposolubles. La toxicitat serà màxima, doncs, quan l'ió metàl·lic estigui en forma d'un complex neutre, sense càrrega iònica, més si està en forma de complex quelat neutre, ja que els quelats, com és ben sabut, tenen una estabilitat addicional que fa més improbable que es dissociïn en els seus components a l'interior de la membrana.

La mobilitat dels ions metàl·lics en el medi també depèn de la forma química específica present: el metall en forma d'ió solvatat, o d'ió complex però amb càrrega iònica lliure, serà més hidrosoluble i es mantindrà més llargament en solució si no és adsorbit per les micelles col·loïdals orgàniques o inorgàniques sempre presents, o no hi és retingut d'alguna altra manera; són micelles que l'arrosseguen amb elles quan sedimenten. El grau de mobilitat d'una espècie metàl·lica en un medi aquàtic mòbil, com un riu, determina la capacitat del metall d'arribar a pol·luir zones distants. Hi ha metalls que queden retinguts (immobilitzats) en els sediments en el mateix punt on les aigües pol·luïdes que el contenen foren abocades al riu (al llac...). Altres metalls són transportats riu avall, i es fixen als

sediments aigües avall, o, fins i tot, a l'estuari o al delta, on la salinitat de l'ambient marí fa floccular tota la matèria que estava en estat col·loïdal (5).

Hi ha molts altres factors del comportament dels ions metàl·lics en el medi aquàtic que depenen de la natura de l'espècie química concreta en què el metall està contingut; els exemples donats, toxicitat, permeabilitat, mobilitat, són suficients per a fer patent la necessitat de conèixer quines són aquelles espècies químiques i quines llurs concentracions (6).

En efecte, el problema que es planteja per a poder dur a terme una bona gestió dels recursos hídrics i, d'una manera més general, una bona gestió del medi natural és, doncs, força complicat: per al coneixement complet de cada sistema aquàtic cal primer identificar tots els ions metàl·lics i totes les espècies químiques amb capacitat complexant que hi són presents; després, quins són els complexos formats entre els quals es distribueix cadascun dels ions metàl·lics; finalment, cal arribar a establir la concentració de cadascuna d'aquestes espècies, complexes o no. El conjunt de les operacions necessàries per a arribar a aquest coneixement rep el nom d'*especiació química* (7-10).

Cal adonar-se que l'especiació química planteja a la química analítica un parell de reptes formidables.

D'una banda, la concentració petitíssima en la qual són presents alguns dels metalls tòxics pot fer difícil fins i tot la determinació de la seva concentració total, i no diguem la d'algunes de les espècies complexes que contenen aquells metalls, que moltes vegades són concentracions inferiors als límits de quantificació dels procediments analítics disponibles. Aquest repte representa un estímul per a la recerca en química analítica, i l'orienta vers l'establiment de nous procediments amb límits de quantificació més baixos i, en general, amb un conjunt millor de paràmetres de qualitat. Avui dia és impensable escriure en un butlletí d'anàlisi allò que era habitual fa cinquanta anys: «*Tal component: traces impalpables*»; avui dia les traces a cap nivell, en principi, poden ésser considerades exemptes de significació (11, 12).

D'altra banda, quan se sotmet el sistema aquàtic (que conté ions metàl·lics i lligands participant en equilibris concurrents múltiples) a un procediment d'anàlisi química per a una de les espècies presents, la concentració d'aquesta pot resultar alterada i, en conseqüència, tots els equilibris concurrents resulten desplaçats en algu-

na extensió; el sistema resulta globalment modificat i una anàlisi ulterior perd tot el sentit. Aquest segon repte obliga a l'investigador en química analítica a desenvolupar procediments d'anàlisi que no afectin el sistema global al qual s'apliquen, com són, per exemple, els que es realitzen amb elèctrodes selectius d'ions (l'elèctrode de vidre per a la determinació del pH n'és l'exemple més típic) o altres tipus de sensors químics o bioquímics. Òbviament, el senyal que doni una sonda o sensor d'aquest tipus ha d'estar relacionat d'una manera unívoca amb la concentració d'una i només una de les espècies en joc (o, per via indirecta, amb la d'alguna altra espècie que, al seu torn, reguli la concentració d'una d'aquelles espècies); ha de complir també la condició que la funció analítica que relaciona senyal i concentració sigui coneguda o, millor, pugui ésser establerta fàcilment mitjançant calibratge.

Però en l'estat actual de la ciència química analítica, aquests dos reptes no troben resposta totalment, els sensors disponibles que compleixen els requisits indicats són en nombre molt limitat, i el problema de l'especiació química es manté insoluble si es vol resoldre per les vies clàssiques.

Hom disposa en l'actualitat de dues vies d'atac del problema de l'especiació química en sistemes aquàtics complicats.

Una d'elles, pròpia de la manera de treballar dels empiristes tradicionals, els que no creuen en l'existència d'un compost si no l'han tingut a les mans cristal·litzat, substitueix el problema real de l'especiació pel de l'establiment d'una distribució o repartiment de cada ió metàl·lic entre diversos grups de comportament definits convencionalment, grups als quals es pot arribar per tècniques experimentals més o menys senzilles i que responen a comportaments que serveixen alguna relació amb els de les espècies individuals, que ara, aquí, hom ha renunciat a arribar a conèixer.

Es troben descrits a la literatura química (13-16) diversos procediments d'especiació (aproximada) segons aquesta via que qualifiquem d'empírica, procediments que fan ús de tècniques diverses de separació (diàlisi, ultrafiltració, centrifugació, bescanvi iònic, electroforesi, extracció amb solvents previ tractament amb reactius adequats, cromatografia amb columnes quelants, filtració per gels) seguides de mesuraments més o menys selectius. Aquests procediments solen ésser aplicables només als casos particulars simplificats per als quals foren elaborats, o a l'especiació d'un metall particular

dins d'un sistema aquàtic més complex que en conté diversos. Es poden obtenir resultats més generals si els mesuraments químicofísics es realitzen després de sotmetre el sistema a tractaments químics oportuns, no solament els de separació. Un procediment interessant és el posat a punt per Florence i Batley (17) per a l'especiació dels ions coure, plom, cadmi i zinc en aigües dolces o en aigua de mar, procediment que es podria generalitzar a altres ions metàl·lics susceptibles d'ésser mesurats per ASV (voltamperometria de redissolució anòdica), segons el qual els continguts totals d'aquells metalls es poden distribuir en set grups diferents (complexos inorgànics senzills i ions metàl·lics lliures, complexos làbils de lligands inorgànics o de lligands orgànics, complexos inerts de lligands inorgànics o de lligands orgànics, metalls adsorbits o ocluits a les partícules col·loïdals inorgàniques o a les orgàniques) a partir de vuit mesures experimentals fetes per ASV sobre diferents mostres de l'aigua problema, prèviament separada de la matèria en suspensió per filtració a través d'un filtre de membrana de porus de $0,45\ \mu\text{m}$. Es fan mesures d'ASV a pH 4,8 (obtingut amb una solució amortidora d'acetat) i també en un medi fortament àcid després de bullir la mostra d'aigua amb àcid fort per destruir tota mena de complexos i col·loïdes. Aquestes dues mesures són fetes directament sobre l'aigua filtrada, i també sobre aquesta aigua prèviament irradiada amb UV durant sis hores (per destruir-ne tota la matèria orgànica); les mesures es repeteixen amb aquestes dues aigües (la no irradiada i la irradiada) després de fer-les passar per una columna quelant, reblerta de la resina Chelex-100 (una resina quelant que conté grups iminodiacetat), la qual elimina del sistema tots els complexos més làbils que els formats pels ions metàl·lics en estudi amb el material de rebliment de la columna. Els set grups obtinguts tenen uns significats bastant clars però uns límits relativament difusos, i es produeix un cert grau de superposició entre ells. No és aquest, doncs, un procediment d'especiació que es pugui considerar intel·lectualment satisfactori, encara que dóna idees útils sobre el comportament dels sistemes aquàtics als quals és aplicable.

Aquest és el cas, també, dels procediments d'especiació d'ions metàl·lics emprats habitualment en l'anàlisi de sediments (i de sòls), basats en extraccions seqüencials amb solvents o reactius ben especificats en condicions experimentals també ben fixades (18). El caràcter convencional, i fins i tot arbitrari, dels grups obtinguts no

impedeix que en circumstàncies determinades aquests procediments siguin útils per a finalitats determinades.

Aquí no discutirem més aquesta via d'enfocament del problema de l'especiació perquè ens allunyàriem massa del veritable objectiu que perseguim.

L'altra via d'atac del problema de l'especiació d'ions metàl·lics en sistemes aquàtics deriva dels avenços en experimentació i en tractament de dades experimentals que aconseguiren, dins l'àrea anomenada de la «química en solució», per a estudiar els sistemes de complexos metàl·lics successius coexistents en solució, les escoles pioneres de J. Bjerrum (19), de G. Schwarzenbach (20) i, sobretot, de L. G. Sillén (21, 22). Aquest darrer fou qui en primer lloc aplicà a sistemes aquàtics naturals les tècniques de treball i de càlcul desenvolupades per a l'estudi d'aquests sistemes de complexos: el seu model dinàmic d'especiació de l'aigua de mar (23) causà en el seu moment un impacte de consideració al món científic en general i revolucionà alguns punts de vista fins aleshores vigents en el camp de la geoquímica. Però el camí recorregut des d'aleshores és molt llarg i pot resultar convenient estudiar-lo per etapes.

En aquestes tècniques de treball usuals en la química en solució per a l'estudi dels equilibris simultanis de complexació, se sol partir d'una sèrie de solucions de la mateixa composició global (és a dir, amb concentracions totals d'ió metàl·lic i de lligands iguals en totes elles), entre les quals només hi ha les diferències degudes a una variable dita «mestressa», el valor de la qual canvia d'una solució a l'altra. Un exemple en podria ésser el de la sèrie de solucions que corresponen a punts successius d'una volumetria de neutralització, la variable mestra essent en aquest cas evidentment el pH. Una volumetria així es pot seguir amb precisió mitjançant mesures potenciomètriques, però s'han fet servir també una multitud d'altres tècniques experimentals (24).

Els investigadors esmentats, siguin els procedents de camps interessats en l'estructura de les solucions, com Bjerrum, o els procedents del camp de les aplicacions pràctiques dels complexos, entre d'altres a la química analítica, com Schwarzenbach, es plantejaren durant el decenni dels quaranta el problema de determinar quins són els complexos que realment coexisteixen en una solució que conté un ió metàl·lic i un lligand (o diversos ions metàl·lics i diversos lligands) i quins són els valors numèrics de les constants dels equilibris de formació de cadascun dels complexos, que si s'expres-

sen d'acord amb les espècies més simples d'origen (l'ió metàl·lic solvatat i el lligand en la forma desprotonada en què participa en el complex), reben el nom de «constants de formació» o de «constants d'estabilitat» del complex corresponent. Foren innombrables els grups de treball d'arreu del món que continuaren durant els decenni següents, potser fins ben entrats els setanta, l'exploració del camp obert per aquells pioners, amb la qual cosa s'arribà a constituir un corpus extensíssim de constants de formació de complexos de tots els ions metàl·lics amb lligands de tots els tipus.

Bjerrum elaborà tècniques experimentals basades en la potenciometria àcid-base, i les equacions per a tractar les dades potenciomètriques que considerà necessàries per a l'estudi dels ammino-complexos de diversos metalls. Sillén portà aquestes tècniques a la seva màxima perfecció i les generalitzà per a fer-les útils a un ample ventall de sistemes complexos en situacions molt diverses. Ara bé, tot el tractament de les dades experimentals per a assolir l'objectiu pretès s'ha de basar en una hipòtesi prèvia: la de la presència en la solució d'unes espècies químiques determinades, d'una estabilitat termodinàmica determinada, i la de l'absència d'unes altres espècies. És a dir, el tractament de les dades exigeix que s'estableixi com a postulat un determinat model químic del sistema, que, per començar, podríem enunciar d'una manera general (en el cas d'un sistema amb un sol ió metàl·lic M i un sol lligand HL) donant els valors numèrics que es considerin possibles als subíndexs estequiomètrics de la fórmula general de les espècies presents, $M_nL_pH_q$. Els subíndexs n i p tenen valors enters positius, o són iguals a zero; el subíndex q pot ésser també negatiu; quan ho és indica, d'acord amb l'equilibri protolític de l'aigua, la formació d'hidroxo-complexos. Recordem que un model químic qualsevol es pot formular en abstracte, fent ús dels coneixements generals que hom posseeix, o de la imaginació o de la intuïció o d'altres potències qualssevulla de l'ànima, però que el model és acreditat com a vàlid només si les dades que permet calcular s'ajusten prou a les dades experimentals que pretén explicar.

Inicialment, Sillén ideà procediments gràfics enginyosos que, a partir de les dades experimentals, ajudaven a induir un model químic versemblant. Posteriorment, quan començaren a introduir-se als laboratoris els primers ordinadors, publicà programes de càlcul que simplificaven la construcció i la interpretació d'aquells gràfics. Finalment, els ordinadors s'imposaren i Sillén desenvolupà el pro-

grama de càlcul designat amb el nom de LETAGROP, que, directament a partir de les dades experimentals, tempteja el model imposat que ens sembla l'adequat, el sotmet als processos de validació que descrivim a continuació, el corregeix si cal i continua segons un procediment iteratiu fins a minimitzar una funció d'error. Si les dades experimentals són de prou qualitat, és a dir, si han estat preses amb prou cura perquè siguin d'una precisió excel·lent i el calibratge s'ha fet adequadament per a garantir-ne l'exactitud, aquest mínim de la funció d'error és suficientment petit perquè el model postulat pugui ésser considerat acceptable amb un grau gran de fiabilitat.

El càlcul, en esquema, es redueix a resoldre per a cada ió metàl·lic un sistema d'equacions, una equació per a cada punt de la volumetria que hem indicat abans, equació que expressa el *balanç de matèria* per a aquell ió: la concentració total inicial posada per nosaltres, C_{Mi} , ha d'ésser igual a la suma de les concentracions de totes les espècies químiques concretes de les quals aquell ió forma part, multiplicada cadascuna per un coeficient numèric igual al subíndex estequiomètric de l'ió a la fórmula de l'espècie:

$$C_{Mi} = \sum n [M_n L_p H_q].$$

D'acord amb la llei d'acció de masses, la concentració de cadascuna d'aquestes espècies es posa en funció de la seva constant de formació i de les concentracions (elevades a l'exponent n i p que correspongui) d'ió metàl·lic i de lligand desprotonat lliures presents en equilibri, concentracions que s'avaluaran a partir de la determinació experimental del valor de la variable mestressa i d'un sistema d'equacions de balanç de matèria per al lligand (en el qual s'hauran d'introduir les constants de protonació successives d'aquest darrer). Amb aquesta aplicació dels balanços de matèria i de la llei d'acció de masses es poden calcular les incògnites que hom busca: les constants de formació dels complexos —i les de protonació del lligand— a partir, com hem dit, de la postulació del model inicial i mitjançant la repetició cíclica d'un procés d'iteració adequat fins a minimitzar una funció d'error.

Se sol prendre com a funció d'error, U , la suma de les diferències quadràtiques entre els valors observats, f_{oi} (per exemple els valors mesurats de la variable mestressa) i els valors calculats mitjançant el model acceptat, f_{ci} :

$$U = \sum w_i (f_{oi} - f_{ci})^2$$

on w_i és el factor de ponderació de cada observació i . Per a calcular els valors de f_a necessitem conèixer les concentracions de totes les espècies presents; les dades disponibles de l'enunciat del problema són les concentracions totals inicials d'ió metàl·lic i de lligand; normalment, el valor mesurat de la variable mestressa permet calcular la fracció lliure d'aquestes espècies en cada solució mesurada. A partir d'aquests valors podríem calcular la concentració de cada espècie individual si la constant de formació d'aquesta fos coneguda. Però és el càlcul d'aquestes constants de formació el que és, precisament, l'objectiu final del treball. Aquí, doncs, cal fer un segon pas en la postulació del model químic: cal introduir un primer valor versemblant de la constant de formació de cadascuna de les espècies postulades, i tota la iteració subsegüent (segons procediments coneguts d'aproximacions successives com, per exemple, els de Newton-Raphson o de Gauss-Newton) és una metodologia orientada a obtenir valors refinats d'aquestes constants de formació, que seran vàlids a la temperatura i a la força iònica a què han estat fets els mesuraments experimentals. Aquestes constants de formació obtingudes esdevenen constants fonamentals que van a les taules (25, 26) i, fins i tot, a taules crítiques (27) de valors especialment fiables. Remarquem que, generalment, les dades relatives a les condicions inicials de la solució que s'estudia són les concentracions —no les activitats— inicials d'ió metàl·lic i de lligand; que moltes vegades la complexació de l'ió metàl·lic s'estudia a partir de la competència per a ocupar els setis coordinants del lligand que li fa al metall l'ió hidrogen, del qual es coneix la resposta que provoca a l'elèctrode de vidre, resposta que depèn de l'activitat de l'ió hidrogen, no de la seva concentració. Ha esdevingut costum donar les constants de formació d'acord amb aquelles concentracions i aquesta activitat: els valors resultants reben el nom de «constants mixtes». Si per algun procediment rigorós —per exemple mitjançant el calibratge *in situ* de l'elèctrode de vidre segons el mètode de Gran— es poden expressar en concentracions d'ió hidrogen les lectures de potencial, aleshores la constant de formació és expressada en unitats homogènies de concentració i rep el nom de «constant estequiomètrica». L'una o l'altra passa a les taules i es converteix en un paràmetre d'entrada per als estudis d'especiació aplicats als sistemes aquàtics naturals o pol·luïts.

L'evolució de la informàtica ha permès d'introduir noves possibilitats en els procediments de càlcul i de tractament de les dades. Han aparegut una multitud de nous programes, analitzats en con-

junt per Casassas, Tauler i Filella (28), entre els quals cal destacar el MINIQUAD (29) i la seva versió més moderna, el SUPERQUAD (30), ambdós elaborats per l'equip de Gans, Vacca i Sabatini. El llibre de Leggett (31) és la font disponible més completa on trobar la informació necessària sobre procediments de determinació de constants de formació de complexos a partir de dades experimentals de qualsevol tipus i natura. Reiterem aquí que l'aplicació de qualsevol d'aquests programes de càlcul exigeix dades experimentals de qualitat extrema (pel que fa a precisió i a exactitud), ja que en cas contrari la potència de càlcul dels ordinadors pot forçar l'ajust amb la inclusió d'alguns resultats aberrants, pot forçar l'acceptació d'espècies anòmales i fins i tot impossibles, que constituïran allò que els anglosaxons anomenen un *artifact*.

En la seva essència més estricta, el problema de l'especiació dels ions metàl·lics en els sistemes aquàtics naturals és l'invers del de la determinació de constants de formació de complexos que acabem de tractar. Tal com ho hem descrit, per a resoldre aquest problema hom disposa de programes de càlcul que, a partir de les concentracions totals dels metalls i dels lligands existents en una solució preparada, més les dades auxiliars complementàries que pot proporcionar una variable mestra o mestressa, permeten calcular per aproximacions successives les constants de formació de tots els complexos presents. Per a resoldre el problema de l'especiació fem ús de les constants d'estabilitat conegudes de tots els complexos que admetem com a presents segons el model químic que hem postulat i, com abans, de les concentracions totals d'ions metàl·lics i lligands existents, trobades experimentalment, per a calcular la concentració de cadascun d'aquests complexos a l'equilibri. En un cas i en l'altre coneixem quins són els ions metàl·lics i els lligands presents: en el primer cas els hem introduït nosaltres mateixos a la solució que volem estudiar; en el segon cas són el resultat d'una anàlisi qualitativa i quantitativa completa de l'aigua problema.

Les diferències essencials entre els dos casos són dues, una relativa a la puresa del sistema, l'altra relativa a la complexitat de les solucions que cal sotmetre a tractament.

a) En el cas de la determinació de les constants de formació les solucions són pures: contenen només els seus components nominals, de cada un dels quals (l'ió metàl·lic, el lligand) l'experimentador ha procurat disposar-ne en la varietat comercial de la màxima

puresa, o s'ha esmerçat ell mateix a purificar cada una d'aquestes. Un dels components, una sal inert emprada per a fixar la força iònica de la solució, que es vol mantenir constant durant tot l'experiment, és present en un excés notable respecte dels reactants: els requeriments relatius a la seva puresa seran, doncs, especialment estrictes. En l'altre cas, el dels sistemes aquàtics naturals, hem de comprendre que són allò que són, que reuneixen una sèrie de propietats (pH, potencial redox, saturació de diòxid de carboni, temperatura, matèria orgànica o inorgànica en suspensió col·loïdal...) que no hauríem de modificar durant el nostre treball si els resultats de les operacions d'especiació han d'ésser aplicables al sistema en el seu estat natural. Això imposa una sèrie de requisits, en primer lloc a les operacions de presa de mostra i de trasllat d'aquesta al laboratori, i en segon lloc a tots els tractaments previs (per exemple a la filtració a través d'un filtre de membrana com l'esmentat abans, per a eliminar la matèria en suspensió).

b) Pel que fa a la complexitat del sistema hem de veure que en el cas de la determinació de constants la solució sol contenir només els dos reactants que formen els complexos objecte d'estudi, o com a màxim un nombre limitat d'ions metàl·lics i de lligands (per exemple, dos lligands i un ió metàl·lic per a estudiar la formació dels complexos mixtos d'aquest) i, a més, un excés ben mesurat de la sal inert de fons, pura. Els lligands que han estat estudiats per les tècniques comentades cobreixen una gran varietat de tipus químics, però en general han estat de pes molecular relativament petit, que rarament ha superat els 500 dalton. En canvi, les mescles d'ions metàl·lics i sobretot les de lligands presents en els sistemes aquàtics de la natura, pol·luïts o no, poden arribar a contenir components diferents molt nombrosos, de manera que hi ha moltes possibilitats que es formin molts complexos diferents. Entre els lligands, hom no pot ignorar els de pesos moleculars mitjans i grans: hi ha lligands macromoleculars tals com els àcids húmics i fúlvics presents en pràcticament tots els sistemes d'aigua dolça. Aquest tipus de lligands macromoleculars heterogenis, anomenats «homòlegs» per Buffle (8), provoquen complicacions addicionals, com hem indicat, ja des del moment de proposar un model, que tractarem posteriorment.

Com que moltes vegades les concentracions d'ió metàl·lic i de lligand són molt petites, resulta afavorida la dissociació en els seus components del complex que es formaria si les concentracions fossin més grans, fins al punt que en molts casos aquest complex no cal

ni tenir-lo en compte. Aquesta simplificació no impedeix que els sistemes, en conjunt, no deixin d'ésser molt complicats. Amb molts ions metàl·lics i molts lligands, les possibilitats de formació de complexos són tantes i tan diverses que la tasca de postular un model acceptable arriba a superar la potència de l'intel·lecte humà o la paciència necessària per a temptejar totes aquelles possibilitats. És la introducció dels ordinadors en el treball diari dels químics allò que ha permès resoldre el problema: cal introduir en una base de dades les constants d'estabilitat de tots els complexos possibles i, en cada cas, les concentracions totals dels ions metàl·lics i dels lligands presents en el medi, i amb un programa de càlcul adequat l'ordinador ens donarà el model macroscòpic que cerquem per al nostre sistema: ens dirà quins són els complexos que, d'acord amb les dades disponibles, es formen en proporció significativa i quines són llurs concentracions.

Resten per discutir, no solament la natura d'aquest programa de càlcul, que per tot el que hem dit fins ara serviria només per a models termodinàmics en equilibri, sinó també totes les qüestions suplementàries que planteja, sense moure'ns de la situació termodinàmica, l'adaptació de les constants de formació dels complexos a les condicions concretes (temperatura, pressió, força iònica) del sistema aquàtic en estudi, i les que plantegen, movent-nos-en, la presència de matèria col·loïdal, amb tots els fenòmens d'adsorció i oclusió que comporta, la presència de matèria orgànica macromolecular, que s'escapa per la seva pròpia natura al tractament termodinàmic, els gasos dissolts, les condicions de contorn, que introdueixen processos cinètics que fan del nostre objecte d'estudi un sistema obert: l'atac d'uns minerals pel sistema, o la precipitació d'uns altres. El sistema aquàtic és un ens molt complicat no subjecte fàcilment a modelització segons lleis senzilles.

Les bases de dades construïdes a partir dels valors de les taules contenen constants d'equilibri que han estat determinades a una temperatura, una pressió i una força iònica especificades. Un programa de modelització geoquímica ha de contenir, doncs, subrutines que permetin calcular, a partir dels valors tabulats, els valors reals de les constants en les condicions reals del problema (32). Per a cap d'aquestes variables hi ha equacions vàlides per a fer aquests càlculs amb una certa exactitud; hom utilitza adaptacions de la llei límit de Debye-Hückel per a la variació amb la força iònica, i adaptacions de la isòbara de Van't Hoff per a la variació amb la temperatura. El primer programa de càlcul que fou proposat per a la mode-

lització en sistemes hidrològics, el de Garrels i Thompson (33), era rigorosament termodinàmic, tenia en compte la presència només de 17 espècies diferents i s'aplicava només a 25 °C. Des d'aleshores han proliferat programes que tenen en compte més i més espècies i que han anat inclouent les complicacions introduïdes pels temes suplementaris indicats abans. Entre aquests programes podem esmentar-ne uns quants, classificats en tres grups, segons llur antiguitat i, paral·lelament, llur complicació:

a) els existents ja vers 1970: WATCHEM (34), HALTAFALL (35), COMICS (36), SEAWAT (37), EQBRAT (38);

b) els apareguts entre 1970 i 1985: SOLMNEQ (39), WATEQ (40) (posteriorment aparegué el WATEQ II i després el WATEQ III), REDEQL (41), MINEQL (42), EQUIL (43), IONPAIR/NOPAIR (44), MIRE (45), GEOCHEM (46), EQ3/6 (47), WATSPEC (48);

c) cap al 1990 s'han introduït: SOLMNEQ 88, WATEQ IV F, PHRQPITZX, MINTEQ (49).

Els models actuals tendeixen a ésser usats en aplicacions crítiques i en aplicacions dirigides a resoldre problemes pràctics més que no pas en investigacions de caràcter científic bàsic o general. Les direccions de la recerca sobre els programes de càlcul s'orienten, en conseqüència, en les direccions que comentem a continuació.

La descripció emprada pels geofísics per a modelar els sistemes hidrològics era basada en un principi en l'*aparellament iònic* o l'*associació iònica* més que no en la química de la complexació, atès que les concentracions de les espècies presents són en general prou baixes per a fer acceptable la idea que es formen només complexos (febles) 1:1. El model senzill d'associació iònica emprat per Garrels i Thompson (derivat del de N. Bjerrum) es demostrà insuficient. S'han emprat altres enfocaments basats en l'ús dels coeficients d'activitat de Debye i Hückel, que en els models d'avui són els més emprats. Per als càlculs a què s'han de sotmetre es fa servir la convenció de Mac Innes, segons la qual, si en una solució aquosa les concentracions de ions clorur i potassi són equimolars, llurs coeficients d'activitat són iguals. Altres programes exploren l'ús dels coeficients d'activitat mitjans de les sals. Algun programa descriu la química dels electròlits mitjançant l'enfocament de la *hidratació iònica*, basat en el treball de Stokes i Robinson (50), que intenta examinar l'especiació dels electròlits segons el grau de solvatació dels ions.

La teoria de la *interacció iònica*, desenvolupada per Pitzer (51) com una branca derivada del treball de Guggenheim (52), ha repre-

sentat la modificació més notable dels esquemes de càlcul dels models químics que s'ha produït en els darrers anys. Aquesta opció utilitza un desenvolupament de l'equació de Debye i Hückel segons els coeficients del virial per a calcular les activitats de les espècies en solucions de força iònica gran. Es basa en el concepte que els ions interactuen electrostàticament en solució i que llurs interaccions són basades en la probabilitat estadística de col·lisió; per això depenen fortament de la força iònica. Aquesta opció és inclosa a tres dels programes de càlcul més emprats actualment, el SOLMNEQ 88, el PHRQPITZ i l'EQ3/6. Avui dia es pren en consideració fins i tot per a estudiar sistemes relativament diluïts.

El model de la interacció iònica és un enfocament de base teòrica que empra dades empíriques per a explicar la complexació i la formació de parells iònics i que descriu la variació concomitant de l'activitat de l'ió lliure amb una sèrie de coeficients del virial definits experimentalment. La introducció d'aquesta opció ha ocasionat algunes dificultats filosòfiques, i altres de tipus pràctic, i continua viva la controvèrsia entre els seus partidaris i els de l'associació iònica, controvèrsia que gira al voltant de temes com el del realisme químic dels resultats obtinguts.

Clarament, la metodologia de la interacció iònica és superior a la dels parells iònics a forces iòniques altes, però es pot emprar també a forces iòniques baixes. Amb aquesta formulació és possible calcular les activitats de molts electròlits fins a concentracions tan altes com 20 *m*. La seva aplicació és limitada per les dades experimentals disponibles, tant pel que fa als elements considerats com pel que fa a l'ajust de les solubilitats de les fases sòlides.

Per a composicions de solucions en les quals els coeficients del virial són ben coneguts, hom pot modelar força bé els límits de contorn minerals, l'activitat iònica de les espècies presents i l'activitat de l'aigua. A partir de les bases de dades existents actualment se n'han fet ja nombroses aplicacions, tals com les de predir les solubilitats de diversos minerals en solucions salines.

Segons l'anàlisi que fan Bassett i Melchior (53) dels programes existents, encara que els més moderns d'aquests han introduït operacions, subrutines i desenvolupaments teòrics diversos, pocs canvis hi han tingut lloc pel que fa a càlculs estàndard com el de l'especiació per a determinar l'activitat iònica, el de la distribució d'espècies redox segons el potencial redox o el valor E_b del sistema, el de la determinació del grau de saturació d'una aigua respecte

certs minerals tabulats prèviament. Entre les subrutines adoptades més modernament podem esmentar les que permeten predir els resultats de la mescla d'aigües diferents, els submodels d'adsorció, la complexació amb lligands orgànics, les valoracions de sòlids o de gasos, la simulació dels cursos de determinades reaccions, l'adhesió a les fases dels contorns, les expressions pseudocinètiques, les expressions de la interacció iònica segons Pitzer, i moltes d'altres. Les subrutines que permeten avaluar transferències de matèria entre fases (la líquida i la sòlida dels contorns) o que permeten la modelització en el transcurs de les reaccions (simulen els canvis de composició de la solució a mesura que s'hi dissolen minerals o que en precipiten sediments) són els avenços més notables que contenen programes moderns com els PHREEQE, PHRQPITZ, EQ3/6, SOLMNEQ 88 i MINTEQ. Malgrat això, tant pel que fa a les transferències de matèria entre fases, com pel que es relaciona amb els efectes de la cinètica de les reaccions químiques presents, el problema de la modelització en els casos de sistemes naturals allunyats de l'estat d'equilibri no està plenament resolt.

La modelació de les reaccions a les interfícies mineral-solució és una altra de les grans qüestions pendents, malgrat que aquest és un tema crític en geoquímica per a entendre la mobilitat dels elements en els sistemes naturals. Els programes moderns van molt més enllà de la simple simulació de les reaccions a les superfícies mitjançant els principis clàssics del bescanvi iònic o de les isoterms de Freundlich i de Langmuir, i es basen en models més complexos com el de la capacítancia constant o com el de la triple capa. Els problemes que planteja l'adsorció, però, són lluny d'estar resolts. De quina manera es distribueix una espècie inorgànica entre diverses fases adsorbents és un tema que resta per resoldre; no s'ha observat que el procés sigui additiu, i la no-idealitat del fenomen es deu indubtablement a les interaccions entre partícules. La situació és encara pitjor si el programa s'ha d'aplicar a temperatures diverses.

Una tercera dificultat amb què xoquen els programes per a l'especiació o la modelització químiques de sistemes aquàtics és la que planteja la presència de matèria orgànica macromolecular, com, per exemple, les substàncies húmiques. Ja en programes primerencs fou reconeguda la necessitat d'incorporar lligands orgànics hidròfils en llurs bases de dades, i això es va fer amb lligands de molècules més o menys senzilles de pes molecular baix, i l'especiació amb aquests lligands era tractada numèricament de manera idèntica a

com ho era amb els lligands inorgànics. Per contra, es demostra impossible la incorporació de les substàncies húmiques, malgrat ésser tan importants per llur presència ubícua en els sistemes naturals i per ésser un constituent significatiu de les aigües naturals, almenys de les dolces, i també la d'altres lligands macromoleulars. Les raons d'aquesta impossibilitat són diverses: d'una banda, l'estructura de les substàncies húmiques és complexa i variable, fins al punt que no se'n pot definir amb propietat una molècula, per la qual cosa aquestes substàncies no són susceptibles d'ésser tractades per les equacions existents dels coeficients d'activitat. D'altra banda, llurs interaccions amb els ions metàl·lics tenen lloc mitjançant grups funcionals diversos ancorats en posicions diverses d'una mateixa macromolècula. Els metalls s'uneixen a aquests grups amb energies d'enllaç que depenen de la situació del seti coordinant en l'estructura, de la natura química específica del grup funcional de què es tracti, i de la fracció de setis ja complexats prèviament (són els coneguts efecte polifuncional i efecte polielectrolític, dels quals es tracta en altres capítols d'aquest text). En conseqüència, no es disposa de dades termodinàmiques d'aquests composts vàlides per a la modelització. De fet, no se'ls pot aplicar la llei d'acció de masses d'una manera global, sinó només a cada procés individual de complexació en un seti donat, la qual cosa dóna constants de complexació «microscòpiques» diferents d'un seti al següent encara que siguin de la mateixa natura química. Com hem indicat ja, s'intentà resoldre aquestes dificultats substituint la concentració de les substàncies húmiques per les quantitats equivalents de lligands alifàtics o aromàtics de pes molecular petit, l'adjectiu equivalent essent referit aquí als grups coordinants amb els quals es tracta de reproduir la capacitat complexant de la macromolècula. Mescles de lligands ben dosificades que foren proposades contenien àcid salicílic, àcid ftàlic, polifenols diversos, altres composts hidroxicarboxílics o polihidroxílics, amines i imines. Però amb aquest artifici s'ignora la influència dels esmentats efectes polielectrolític i polifuncional. S'ignora també, perquè és gairebé impossible de tenir-lo en compte quantitativament en l'estat actual de la ciència, l'efecte de l'adsorció d'aquestes macromolècules damunt dels col·loides d'hidròxids o d'òxids metàl·lics hidratats, sempre presents en els sistemes aquàtics naturals, i la complexació d'ions metàl·lics per la fracció húmica adsorbida.

Un tema general que preocupa els especialistes quan han d'aplicar algun d'aquests programes és el de la influència que poden tenir

sobre el model final els errors comesos, tant els errors de presa de mostra i de mesura analítica com els errors de càlcul. Com és ben sabut, els mètodes emprats per a recollir les mostres influeixen fortament sobre els resultats analítics; els geoquímics finalment han arribat a convèncer-se que han de parar molta atenció a la presa de mostra i que han d'estandarditzar-ne amb molt detall totes les operacions que inclou i tots els instruments i accessoris que requereix si volen obtenir mostres d'alta qualitat que presentin una variabilitat molt baixa entre elles. Pel que respecta als resultats analítics, generalment el geoquímic utilitza com a criteri de llur qualitat el balanç de càrregues iòniques (la suma de càrregues catióniques ha d'ésser igual a la suma de les càrregues anióniques), la qual cosa no deixa d'ésser una indicació força basta de l'error (com ho és també el criteri de la suma a cent dels percentatges que fan servir alguns analistes). Per a definir rigorosament la magnitud de l'error analític inherent a un resultat cal determinar la precisió de l'anàlisi de cada espècie analitzada, repetint els mesuraments, fent ús de mostres patró o, millor, de mostres «reforçades» amb patrons, i estudiant l'evidència històrica de la manera de treballar del laboratori implicat. És aquesta precisió la que ha d'ésser incorporada a l'esquema de càlcul. La majoria dels procediments de modelització emprats més generalment calculen el balanç de càrregues iòniques, però no tradueixen la informació obtinguda en un error que es pugui arrossegar al llarg dels càlculs subsegüents, ni en la incertesa de l'especiació final que el programa calcula, ni en els resultats de transferència de matèria quan hi ha processos cinètics, que tan difícils són de calcular correctament. Els successius programes WATEQ han incorporat una subrutina, anomenada ERRCALC (54), que permet calcular la propagació al llarg dels càlculs de les desviacions estàndard de les dades analítiques d'entrada i de les dades termodinàmiques emprades. Aquestes dades termodinàmiques, en efecte, poden ésser origen d'errors considerables si no se'n controla la qualitat i l'aplicació al sistema en estudi. Un examen de les taules de constants d'estabilitat de complexos posa de manifest que hi ha diferències importants entre els resultats obtinguts per diferents autors i fins a quin punt és necessària una taula crítica, però l'existent actualment (27) té encara un abast limitat; a la base de dades inherent al programa de càlcul (que, en general, l'operador pot manipular al seu gust, amb el perill d'agreujar encara el problema) només s'hi haurien d'incloure dades avaluades críticament, així com també ho haurien

d'ésser els paràmetres necessaris per a adaptar aquestes dades a noves condicions de temperatura i força iònica.

Es produeixen també errors de càlcul deguts al programa mateix, atribuïbles als criteris de convergència emprats i a la tria inadequada de les equacions paramètriques. En tots aquests programes s'han de resoldre equacions de balanç de matèria i d'acció de masses per a cada component per tal d'obtenir un model de la solució aquosa matemàticament acceptable. Hom pot atribuir una participació mínima en l'error a la formulació matemàtica del programa que serveix per a resoldre les equacions, però té més significació l'error associat al model que el programa usa, basat en hipòtesis relatives a les equacions, els algorismes i les constants emprades per a calcular les magnituds bàsiques com els coeficients d'activitat, els paràmetres del solvent (activitat de l'aigua, constant dielèctrica, densitat...) i llur variació amb la temperatura i la pressió. Cap dels programes més emprats no dona els marges probables de l'error que és conseqüència d'aquestes hipòtesis. Cal, en la pràctica, fer una comparació rigorosa dels resultats simulats amb dades reals per a avaluar la magnitud de l'error present.

Unes altres fonts d'error són el potencial redox i la metastabilitat del sistema. L'error del potencial redox és degut a la incertesa inherent a les mesures de les condicions redox dels sistemes naturals, mesures que, en general, com ja és avui dia acceptat per tothom, no corresponen a l'equilibri per a tots els parells redox presents. Cal evitar l'ús de l'elèctrode de platí i, sobretot, cal evitar introduir com a dades d'entrada les lectures obtingudes amb aquest elèctrode. L'error anomenat de metastabilitat respon al fet que molts sistemes d'aigües superficials no estan en equilibri respecte a molts minerals primaris en contacte, ni a moltes fases semicristal·lines o amorfes, especialment de silicats. Ja hem parlat de les dificultats que es produeixen quan es prenen en consideració processos en què intervenen fases sòlides i condicions de contorn variables amb el temps.

Gran part d'aquestes consideracions procedeixen de l'anàlisi d'un estudi comparatiu dels principals programes de càlcul realitzat conjuntament per llurs autors (55). Una conclusió clara és que cal encara un millorament d'aquests programes perquè es puguin quantificar els errors deguts a totes les causes esmentades i que ells mateixos esdevinguin eines capaces de donar resultats realistes i interpretables.

BIBLIOGRAFIA

1. U. FORSTNER i G. T. W. WITTMANN (1979). *Metal Pollution in the aquatic environment*. Berlín: Springer Verlag.
2. A. J. RUBIN [ed.] (1974). *Aqueous environmental chemistry of metals*. Ann Arbor, Michigan: Ann Arbor Sci.
3. G. F. BAES i R. E. MESMER (1976). *The hydrolysis of cations*. Nova York: Wiley.
4. W. SALOMONS i U. FORSTNER (1984). *Metals in the hydrocycle*. Berlín: Springer Verlag.
5. H. SIGEL [ed.] (1984). *Circulation of metal ions in the environment; Metal ions in biological systems*, vol. 18. Nova York: Marcel Dekker.
6. D. A. DUNNETTE (1992). «Assessing global river water quality: overview and data collection». A: D. A. DUNNETTE i R. J. O'BRIEN [ed.]. *The science of global change: the impact of human activities on the environment*. ACS Symposium Series, núm. 483. Washington: American Chemical Society, 240-259.
7. W. STUMM i J. J. MORGAN (1981). *Aquatic chemistry: an introduction emphasizing chemical equilibrium in natural waters*. 2a edició. Nova York: Wiley-Interscience, 110-117.
8. J. BUFFLE (1988). *Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach*. Chichester: Ellis Horwood-Wiley, 10-15, 216-303.
9. E. A. JENNE (1979). «Chemical modeling - goals, problems, approaches, and priorities». A: E. A. JENNE [ed.]. *Chemical modeling in aqueous systems: speciation, sorption, solubility, and kinetics*. ACS Symposium Series, núm. 93. Washington: American Chemical Society, 3-21.
10. G. G. LEPPARD (1983) [ed.]. *Trace element speciation in surface waters and its ecological implications*. Nova York: Plenum Press.
11. H. W. NÜRNBERG i T. W. WEST [ed.] (1988). *Methods for the determination of trace metals in natural waters*. Oxford: Blackwell.
12. O. F. X. DONARD i R. RITSEMA (1993). «Hyphenated techniques applied to the speciation of organometallic compounds in the environment». A: D. BARCELÓ [ed.]. *Environmental analysis: techniques, applications and quality assurance*. Amsterdam: Elsevier, 550-606.

13. T. M. FLORENCE (1977). «Trace metal species in fresh waters». *Water Research*, **11**, 681-687.
14. T. M. FLORENCE (1982). «The speciation of trace elements in water». *Talanta* **29**, 345-364; *Anal. Chim. Acta*, **141**, 73-79.
15. T. M. FLORENCE i G. E. BATLEY (1976). «Trace metal species in sea-water, I: Removal of trace metals from sea-water by a chelating resin». *Talanta*, **23**, 179-186.
16. T. M. FLORENCE i G. E. BATLEY (1980). «Chemical speciation in natural waters». *CRC Critical Revs. in Anal. Chem.*, **9**, 219-296.
17. T. M. FLORENCE i G. E. BATLEY (1977). «Determination of the chemical forms of trace metals in natural waters, with special reference to copper, lead, cadmium and zinc». *Talanta*, **24**, 151-158.
18. W. F. PICKERING (1986). «Metal ion speciation: soils and sediments (a review)». *Ore Geology Revs.*, **1**, 83-146.
19. J. BJERRUM (1941). *Metal ammine formation in aqueous solution*. Copenhagen: Haase and Son.
20. G. SCHWARZENBACH i H. ACKERMANN (1952). *Helv. Chim. Acta*, **35**, 485; G. SCHWARZENBACH, R. GUT i G. ANDEREGG (1954). *Helv. Chim. Acta*, **37**, 937.
21. L. G. SILLÉN (1965). *Ark. Kemi*, **24**, 431.
22. L. G. SILLÉN (1963 i 1964). *Acta Chem. Scand.*, **16** (1963), 152; *ibid.*, **18** (1964), 1085.
23. L. G. SILLÉN. A. M. SEARS (1961) [ed.]. *Oceanography*. Washington: Am. Assoc. Advanc. Sci.; Londres: Balley, 550-581.
24. E. CASASSAS (1992). «Estudi de les reaccions de complexació en solució mitjançant tècniques voltamperomètriques en presència d'adsorció electròdica». *Memorias de la Real Academia de Ciencias y Artes de Barcelona* (3.^a època), **51**, 1-62.
25. L. G. SILLÉN i A. E. MARTELL (1964 i 1971). «*Stability constants*». Spec. Publ., 17. Londres: Chemical Society; «*Stability constants, 1st Supplement*». Spec. Publ., 25. Londres: Chemical Society.
26. *Stability constants of metal ion complexes. Part A: Inorganic complexes* (1982). Oxford: Pergamon. D. D. PERRIN (1979). *Stability constants of metal ion complexes. Part B: Organic ligands*. Oxford: Pergamon.
27. A. E. MARTELL i R. M. SMITH (1974, 1976, 1977 i 1982). *Critical stability constants*. Vol. I: *Amino-acids*. Vol. III: *Other or-*

- ganic ligands*. Vol. V: *First Supplement*. R. M. SMITH i A. E. MARTELL. *Critical stability constants*. Vol. II: *Amines*. Vol. IV: *Inorganic Complexes*. Nova York: Plenum Press.
28. E. CASASSAS, R. TAULER i M. FILELLA (1986). «A critical comparison of computer programs for the potentiometric determination of stability constants». *Anal. Chim. Acta*, **191**, 399-411; «Assessment of the result obtained from different computer programs applied to potentiometric complexation data». *Anal. Chim. Acta*, **191**, 413-423.
 29. A. SABATINI, A. VACCA i P. GANS (1974 i 1976). *Talanta*, **21**, 53; *Inorg. Chim. Acta*, **18**, 237.
 30. P. GANS, A. VACCA i A. SABATINI (1985). *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1195.
 31. D. J. LEGGETT (1985). *Computational methods for the determination of formation constants*. Nova York: Plenum Press.
 32. E. CASASSAS (1988). *Especiació química: diccionari de programes*. Universitat de Barcelona, 62 pp. [Apunts d'un curs de doctorat].
 33. R. M. GARRELS i M. E. THOMPSON (1962). *Am. J. Sci.*, **260**, 57-66.
 34. I. BARNES i F. E. CLARKE (1969). «Chemical properties of groundwaters and their encrustation effects on wells». *U. S. Geol. Survey Prof. Paper 498-D*, 58 pp.
 35. N. INGRI, W. KAKOLOWICZ, L. G. SILLÉN i B. WARNQUIST (1967). «High-speed computers as a supplement of graphical methods. V. HALTAFALL, a general program for calculating the composition of equilibrium mixtures». *Talanta*, **14**, 1261-1286.
 36. D. D. PERRIN (1965). «Multiple equilibria in assemblages of metal ions and complexing species: a model for biological systems». *Nature*, **206**, 170-171.
 37. G. M. LAFON (1967). «Some quantitative aspects of the chemical evolution of the oceans». *Ph. D. Thesis*. Evanston, II: Northwestern Univ., 136 pp.
 38. D. F. DETAR (1969). *Computer programs for chemistry*. Vol. 2. Nova York: Benjamin, 260 pp.
 39. Y. K. KHARAKA i I. BARNES (1973). «SOLMNEQ, solution-mineral equilibrium computations». *U. S. Geol. Survey Water-Res. 73-002, (NTIS Tech. Report PB-215-899)*. Springfield, VA, 82 pp.

40. A. H. TRUESDELL i B. F. JONES (1973 i 1974). «WATEQ, a computer program for calculating chemical equilibria of natural waters». *U. S. Geol. Survey J. Res.*, 2 (1974), 233-274; *NTIS Technical Report PB2-20464*. Springfield, VA, 1973, 77 pp.
41. F. M. M. MOREL i J. A. MORGAN (1972). «A numerical method for computing equilibria in aqueous chemical systems». *Environm. Sci. Technol.*, 6, 58-67.
42. J. G. WESTALL, J. L. ZACHARY i F. M. M. MOREL (1976). «MINEQL, a computer program for the calculation of chemical equilibrium composition of aqueous systems». *Technical Note Nr. 18*, Cambridge, MA: Water Quality Lab., Dept. Civ. Engineering, MIT, 91 pp.
43. I.T.P. i G. H. NANCOLLAS (1972). «EQUIL, a computational method for the calculation of solution equilibria». *Anal. Chem.*, 44, 1940-1950.
44. J. THRAILKILL (1970). «Solution geochemistry of the water of limestone terrains». *Univ. Kentucky Water Resour. Inst., Res. Rept. 19*, 125 pp.
45. G. R. HOLDREN (1977). «Distribution and behavior of manganese in the interstitial waters of Chesapeake Bay sediments during early diagenesis». *Ph. D. Thesis*. Baltimore, MD: The John Hopkins Univ., 191 pp.
46. S. V. MATTIGOD i G. SPOSITO (1979). «Chemical modeling of trace metal equilibria in contaminated soil solution using the computer program GEOCHEM». A: E. A. JENNE [ed.]. *Chemical modeling in aqueous systems. ACS Symposium Series*, núm. 93. Washington: American Chemical Society, 837-856.
47. T. J. WOLERY «Some chemical aspects of hydrothermal processes at mid-oceanic ridges: a theoretical study». *Ph. D. Thesis*. Evanston, IL: Northwestern Univ.
48. T. M. L. WIGLEY (1977). «WATSPEC, a computer program for determining the equilibrium speciation of aqueous solutions». *Brit. Geomorph. Res. Group, Techn. Bull.*, núm. 20, 48 pp.
49. A. R. FELMY, D. GIRVIN i E. A. JENNE (1984). *MINTEQA, a computer program for calculating aqueous geochemical equilibria*. U. S. Environm. Prot. Agency.
50. R. H. STOKES i R. A. ROBINSON (1948). *J. Amer. Chem. Soc.*, 70, 1870-1878.

51. K. S. PITZER (1973). *J. Phys. Chem.*, **77**, 268-277.
52. E. A. GUGGENHEIM (1935). *Phil Mag.*, **19**, 588.
53. R. L. BASSETT i D. C. MELCHIOR (1990). «Chemical modeling of aqueous systems: an overview». A: D. C. MELCHIOR i R. L. BASSETT [ed.]. *Chemical modeling in aqueous systems II. ACS Symposium Series*, núm. 416. Washington: American Chemical Society, 1-14.
54. J. W. BALL, E. A. JENNE i D. K. NORDSTROM (1979). «ERR-CALC». A: E. A. JENNE [ed.]. *Chemical modeling in aqueous systems. ACS Symposium Series*, núm. 93. Washington: American Chemical Society, 825-829.
55. D. K. NORDSTROM, L. N. PLUMMER, T. M. WIGLEY, T. J. WO-LERY, J. W. BALL, E. A. JENNE, R. L. BASSETT, D. A. CRERAR, T. M. FLORENCE, B. FRITZ, M. HOFFMAN, G. R. HOLDREN, G. M. LAFON, S. W. MATTIGOD, R. E. MCDUFF, F. MOREL, M. M. REDDY, G. SPOSITO i J. THRAILKILL. «A comparison of computerized chemical methods for equilibrium calculations in aqueous systems». Al volum citat a la ref. 9, 858-892.

3. INTRODUCCIÓ A LA MODELITZACIÓ EN ELS ESTUDIS D'ESPECIACIÓ QUÍMICA D'IONS METÀL·LICS EN ELS SISTEMES BIOLÒGICS

Anna Izquierdo-Ridorsa* i Romà Tauler*

Els fluids biològics són solucions aquoses que presenten un pH definit i que contenen compostos orgànics biològicament actius i ions metàl·lics. En aquests medis es produeixen interaccions químiques de coordinació que són bàsiques per al desenvolupament de la vida i que no es poden ignorar quan es desitja estudiar la bioquímica d'un sistema viu. En conseqüència, s'ha originat una nova disciplina que fa servir la part teòrica i experimental de la química inorgànica i de coordinació i la biologia molecular: la química de la biocoordinació (1, 2).

L'activitat biològica de moltes molècules i ions depèn directament de processos de coordinació lligand-protó i lligand-ió metàl·lic, que influeixen sobre diversos factors, com poden ser la velocitat de la reacció de formació d'una forma activa, la velocitat de transport del producte bioactiu fins al receptor i l'afinitat del compost actiu pel receptor.

La coordinació de les molècules bioactives amb determinats ions metàl·lics pot afectar tots els processos anteriors i, per tant, pot influir sobre l'activitat biològica d'un sistema. Aquest fet es va posar en evidència amb el descobriment, a mitjan dècada dels seixanta, que certs complexos metàl·lics poden inhibir la reproducció dels bacteris, actuant sobre les molècules de DNA. Aquesta informació va portar molts científics a dirigir la seva atenció cap a les seves possibles aplicacions mèdiques, principalment en el tractament de

* Departament de Química Analítica. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

les malalties canceroses. El primer compost que va demostrar una activitat terapèutica eficaç en el tractament d'aquestes malalties va ser un complex de platí(II): $[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$ (cisplatí) (3). El mecanisme pel qual aquesta substància pot interferir la transmissió de la informació genètica s'atribueix a la interacció de l'ió platí(II) amb les posicions de guanina de les cadenes de DNA, que altera l'estructura tridimensional d'aquestes cadenes, la qual cosa afecta la possibilitat de replicació i de divisió cel·lular, i el procés de creixement incontrolat s'acaba.

Encara que l'interès per la química de la biocoordinació va créixer a partir del descobriment de les propietats del cisplatí, l'estudi del comportament dels ions metàl·lics en els sistemes vius és bàsic, perquè aquests ions tenen un paper molt important en molts altres aspectes de la bioquímica molecular.

Per a poder conèixer el paper que tenen els ions metàl·lics en els sistemes vius, és necessari arribar a conèixer la composició, estructura i estabilitat dels complexos que formen aquests ions metàl·lics amb les molècules biològicament actives en solució.

El nombre de lligands possibles en un sistema biològic és molt elevat, perquè tots els compostos orgànics que contenen heteroàtoms amb parells solitaris d'electrons poden ésser capaços d'interaccionar amb els ions metàl·lics.

L'estudi de l'especiació en sistemes naturals entre els ions metàl·lics i els lligands de pes molecular baix (com els aminoàcids i els anions carbonat, fosfat, salicilat, ascorbat...) s'ha intentat a partir de càlculs quantitativs basats en equilibris termodinàmics múltiples tal com ha estat descrit en el capítol precedent d'aquest llibre. Aquests càlculs han d'ésser basats en les constants d'equilibri de totes les reaccions en competència i en les concentracions totals de tots els metalls i lligands presents, i es porten a terme per programes de simulació amb ordinador (5, 6).

En l'estudi de l'especiació en sistemes que contenen lligands macromoleculars, s'ha de tenir en compte que les característiques àcid-base i complexants d'aquests lligands poden ésser influïdes per la possible presència dels efectes secundaris següents: efecte polifuncional, efecte polielectrolític i efecte conformacional (7). Aquests efectes poden afectar l'estabilitat de les espècies que es formen i, a més, solen variar amb el grau de complexació i/o de desprotonació.

L'efecte polifuncional és degut a la presència en la macromo-

lècula de més d'un centre actiu diferent. Aquest efecte es pot observar, per exemple, en els àcids nucleics, els quals contenen diferents grups funcionals amb propietats àcid-base i complexants molt variades.

L'efecte polielectrolític es produeix a causa de la proximitat entre diferents centres funcionals de la macromolècula; la protonació o desprotonació d'un dels centres actius de la macromolècula modifica l'entorn (densitat electrònica, camp elèctric...) en què es troben els altres centres actius, i això pot afectar les característiques àcid-base d'aquests i dificulta o afavoreix el procés àcid-base. En aquests casos, no es té un valor definit de les constants d'equilibri, sinó que aquestes varien d'acord amb el grau d'avanç de la reacció.

L'efecte conformacional està relacionat amb els canvis de conformació que poden presentar-se en les macromolècules quan varien les condicions externes, com pot ser el pH o la concentració d'ions metàl·lics. Arribar a conèixer quina és la conformació de la macromolècula en cada moment té un gran interès perquè existeix una relació directa entre l'estructura tridimensional de les biomolècules i la seva funció biològica. Així, per exemple, l'estructura del DNA està formada per la unió de dues cadenes de polímer, en la qual les bases nitrogenades de cadascuna de les cadenes estan enllaçades per ponts d'hidrogen per a formar una doble hèlix. La formació d'aquesta doble hèlix fa possible una estructura regular i estable, amb la part interna hidròfoba i la part externa hidròfila. A temperatures superiors a la fisiològica, en medis d'acidesa superior a la fisiològica, o en presència de certs metalls pesants, es produeix una ruptura dels enllaços per pont d'hidrogen. La molècula de DNA perd aleshores la seva conformació inicial, i adquireix una conformació inactiva biològicament (molècula de DNA desnaturalitzada).

L'existència de tots aquests efectes fa que una avaluació exacta de les constants d'equilibri en els sistemes que contenen macromolècules sigui molt difícil i àdhuc impossible. Un primer intent de solucionar aquestes dificultats fou el d'assimilar cada macromolècula a una sèrie de compostos model de pes molecular baix amb centres actius de coordinació tan similars com fos possible als presents en la macromolècula. Així, en el cas dels polinucleòtids es poden considerar els mononucleòtids cíclics com a composts model, atès que presenten els mateixos centres de coordinació que cadascuna de les unitats monomèriques de la macromolècula (8).

No obstant això, i tot i que es poden trobar lligands model de pes molecular baix per a simular el comportament de qualsevol macromolècula, la validesa de l'extrapolació dels resultats obtinguts amb aquests models al comportament de les macromolècules és dubtosa, ja que aquests models no inclouen la influència que tenen els efectes polifuncional, polielectrolític i conformacional sobre les característiques àcid-base i de complexació de les macromolècules.

Una manera possible d'abordar l'estudi de les macromolècules és a partir de macromolècules model que contenen un tipus únic de grup funcional repetit al llarg de l'estructura. Així, pot estudiar-se la influència dels efectes polielectrolític i conformacional sobre les característiques àcid-base i de complexació, sense introduir complicacions addicionals degudes a la polifuncionalitat.

En el nostre grup de treball, en el Departament de Química Analítica de la Universitat de Barcelona, s'està treballant en la interpretació de les interaccions dels ions metàl·lics i del protó amb els àcids nucleics i amb els seus constituents en condicions semblants a les fisiològiques (8-12). En primer lloc, l'estudi dels constituents monomèrics dels àcids nucleics (bases nitrogenades, nucleòsids i nucleòtids) ha de permetre avaluar quins són els centres actius de coordinació en els lligands. A continuació, l'estudi d'alguns polinucleòtids sintètics, que contenen un tipus únic de base nitrogenada repetida al llarg de la macromolècula, és útil per avaluar la influència que tenen els efectes polielectrolític i conformacional sobre les característiques àcid-base i complexants d'aquests centres de coordinació.

A la figura 1 es representa l'estructura d'un nucleòsid, un nucleòtid, un nucleòtid cíclic (que és el compost monomèric més similar als polinucleòtids, en referència als centres actius de coordinació) i una cadena de polinucleòtid.

Els procediments de càlcul utilitzats en el tractament numèric de les dades experimentals que s'obtenen en l'estudi dels equilibris àcid-base i de complexació d'un sistema, per a l'estudi de l'especialització, es poden classificar en dos grups.

1. Procediments tradicionals d'ajust mínim quadràtic, que es basen en la postulació inicial d'un model químic, és a dir, en la postulació d'una sèrie d'espècies definides pels seus coeficients estequiomètrics i per unes constants de formació estimades. Aquests procediments de càlcul també requereixen el compliment dels balanços de matèria i de la llei d'acció de masses. Permeten arribar a

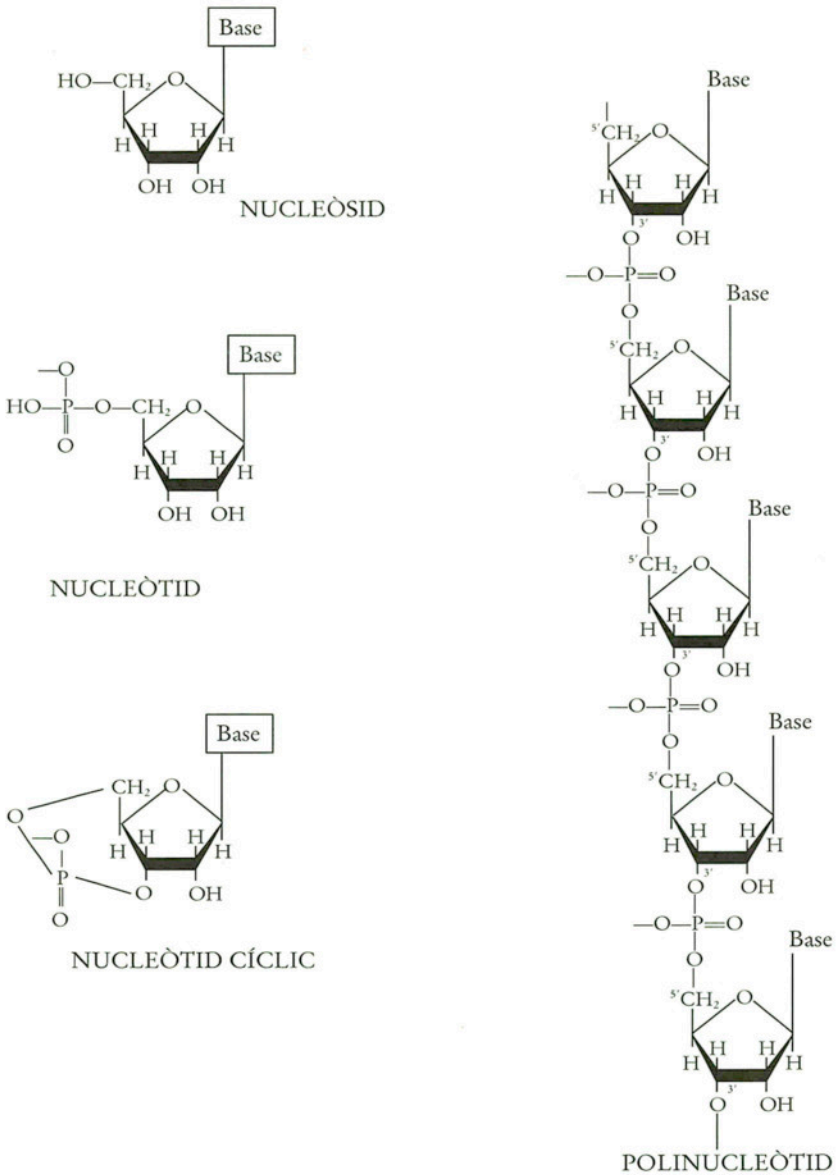


FIGURA 1. Estructura química d'un polinucleòtid i de les unitats monomèriques següents: nucleòsid, nucleòtid i nucleòtid cíclic.

obtenir els valors de les constants d'estabilitat per a cadascuna de les espècies postulades.

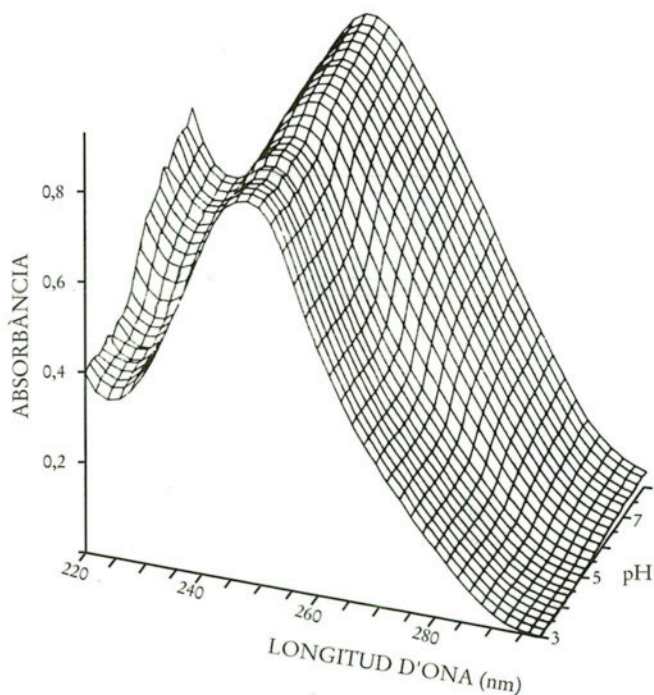
2. Procediments matemàtics basats en tècniques relacionades amb l'anàlisi de factors, que no requereixen la postulació inicial d'un model químic ni el compliment de la llei d'acció de masses. Aquests procediments permeten de determinar el nombre d'espècies presents, avaluar-ne el diagrama de distribució i els seus espectres individuals. A partir dels resultats obtinguts es pot postular un model i calcular les constants d'estabilitat de les espècies que es formen. Dins d'aquest grup es pot incloure el procediment SPFAC, desenvolupat per R. Tauler (13-15).

Aquests últims procediments són una eina molt poderosa en l'estudi dels sistemes que contenen lligands macromoleculars, on els procediments tradicionals d'ajust minimoquadràtic no poden aplicar-se en la majoria dels casos a causa de la possible presència en el lligand dels efectes polielectrolític, conformacional i polifuncional, que influeixen sobre les característiques dels centres de coordinació dels lligands, i modifiquen l'estabilitat de les espècies que es formen. Per tot això, l'anàlisi de les dades experimentals que s'obtenen en aquests sistemes exigeix la utilització de procediments de càlcul que no siguin basats en la postulació prèvia d'un model químic ni en el compliment de la llei d'acció de masses.

Les dades experimentals de les quals es parteix en el procediment SPFAC són els espectres d'absorció obtinguts al llarg de cadascuna de les valoracions espectromètriques del sistema en estudi. Aquestes dades es poden representar en forma matricial, tal com s'indica a la figura 2. Per a cada valoració espectromètrica s'obté una matriu D en la qual cada fila correspon a una solució (a una mesura diferent de pH al llarg de la valoració) i cada columna correspon a cadascuna de les longituds d'ona a les quals es porten a terme les mesures.

El procediment SPFAC permet l'anàlisi simultani de diferents valoracions espectromètriques del mateix sistema obtingudes a diferents concentracions inicials dels constituents. En aquest cas, la matriu de dades D que s'analiza és una matriu D augmentada que conté un nombre de files igual al nombre total d'espectres obtinguts en les diferents valoracions (figura 3). El nombre de columnes és el mateix, perquè tots els espectres en totes les valoracions s'han d'obtenir a les mateixes longituds d'ona.

Per a aconseguir més informació d'un mateix sistema, al llarg d'una mateixa valoració poden aplicar-se simultàniament diferents



$$D = \begin{pmatrix} d_{1,1} & d_{1,2} & \dots & d_{1,NW} \\ d_{2,1} & d_{2,2} & \dots & d_{2,NW} \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ d_{NS,1} & d_{NS,2} & \dots & d_{NS,NW} \end{pmatrix}$$

FIGURA 2. Representació tridimensional dels espectres d'absorció experimentals obtinguts al llarg d'una valoració d'un sistema en estudi, i representació matricial d'aquestes dades. *NS* és el nombre d'espectres obtinguts (a cada valor de pH mesurat). *NW* és el nombre de canals de mesura (nombre de longituds d'ona, en l'exemple).

tècniques espectromètriques (UV-visible, ressonància d'espín electrònic o dicroisme circular, entre d'altres). En el cas d'utilitzar les tres tècniques esmentades, per a cada solució es tindrà un espectre d'absorció en el UV, un espectre de RSE i un espectre de dicroisme circular. Per a poder extreure la màxima informació de les dades

$$D = \begin{pmatrix} d_{1,1} & d_{1,2} & \dots & d_{1,NW} \\ d_{2,1} & d_{2,2} & \dots & d_{2,NW} \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ d_{NS,1} & d_{NS,2} & \dots & d_{NS,NW} \\ I_{1,1} & I_{1,2} & \dots & I_{1,NW} \\ I_{2,1} & I_{2,2} & \dots & I_{2,NW} \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ I_{RS,1} & I_{RS,2} & \dots & I_{RS,NW} \\ k_{1,1} & k_{1,2} & \dots & k_{1,NW} \\ k_{2,1} & k_{2,2} & \dots & k_{2,NW} \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ k_{CS,1} & k_{CS,2} & \dots & k_{CS,NW} \end{pmatrix}$$

FIGURA 3. Representació matricial de les dades obtingudes al llarg de tres valoracions espectromètriques diferents del mateix sistema. *NS*, *RS* i *CS* són, respectivament, el nombre d'espectres obtinguts en la primera, en la segona i en la tercera valoració.

obtingudes amb les diferents tècniques espectromètriques, és convenient tractar-les simultàniament, i per tant, tota aquesta informació ha d'estar continguda en la mateixa matriu de dades. Això s'aconsegueix ampliant el nombre de columnes de la matriu de dades a tots els canals de mesura: per a cada solució es tindrà una fila que conté un espectre global que serà el d'absorció UV-visible, a continuació el de RSE i a continuació el de dicroisme circular (figura 4).

En la figura 5 s'indiquen les etapes que se segueixen en el procediment SPFAC: es parteix de la matriu que conté les dades experimentals (que pot ser la corresponent a una única valoració, o bé la matriu ampliada, en les files si s'analitza més d'una valoració o/i en

$$D = \begin{pmatrix} d_{1,1} & d_{1,2} & \dots & d_{1,NW} & t_{1,1} & t_{1,2} & \dots & t_{1,PW} & h_{1,1} & h_{1,2} & \dots & h_{1,UW} \\ d_{2,1} & d_{2,2} & \dots & d_{2,NW} & t_{2,1} & t_{2,2} & \dots & t_{2,PW} & h_{2,1} & h_{2,2} & \dots & h_{2,UW} \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ \cdot & \cdot & \dots & \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot & \cdot & \cdot & \dots & \cdot \\ d_{NS,1} & d_{NS,2} & \dots & d_{NS,NW} & t_{NS,1} & t_{NS,2} & \dots & t_{NS,PW} & h_{NS,1} & h_{NS,2} & \dots & h_{NS,UW} \end{pmatrix}$$

FIGURA 4. Representació matricial de les dades obtingudes al llarg d'una valoració en la qual s'han aplicat simultàniament tres tècniques espectromètriques diferents. *NW*, *PW* i *UW* són, respectivament, el nombre de canals de mesura en la primera, en la segona i en la tercera tècniques.

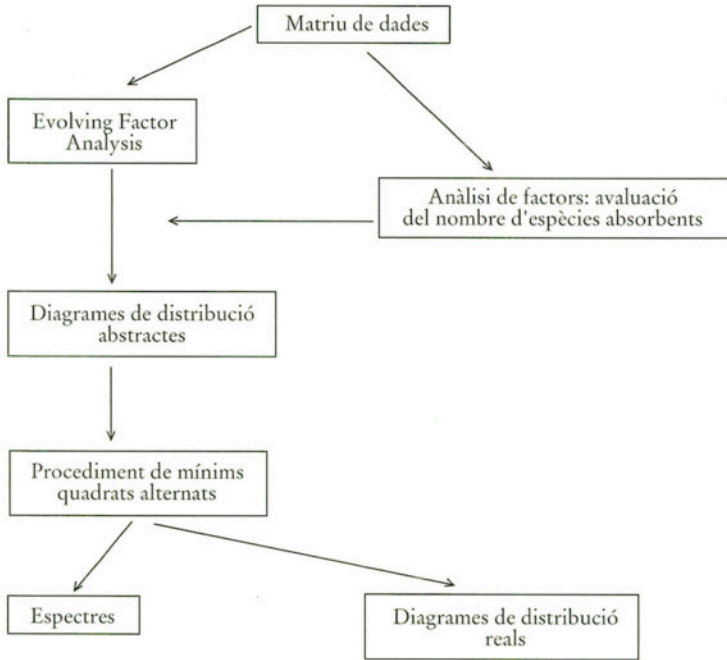


FIGURA 5. Representació esquemàtica de les etapes que se segueixen en el procediment SPFAC.

les columnes si cada valoració s'estudia per més d'una tècnica espectromètrica). En primer lloc s'aplica l'anàlisi de factors a la matriu de dades per a determinar el nombre d'espècies absorbents diferents que apareixen al llarg de la valoració. Aquest nombre d'espècies es pot estimar a partir de la magnitud del valor propi associat a cada vector propi calculat en l'anàlisi de factors. Existeixen procediments matemàtics diferents que ajuden a discriminar entre els vectors propis associats amb les espècies presents en el sistema en estudi i els vectors propis associats a l'error aleatori propi de les dades experimentals: procediment de *cross validation*, desenvolupat per Wold (16), i *teoria de l'error en anàlisi de factors*, desenvolupada per Malinowski (17), entre d'altres. La matriu experimental de dades també s'analitza per mitjà de l'*evolving factor analysis* (EFA), descrit per Gampp i col·laboradors (18, 19). El procediment d'EFA és el següent: primer s'analitza la submatriu, que conté només dues files

(és a dir, les solucions corresponents als dos primers punts de la valoració), i es determina per anàlisi de factors quants components hi ha i la magnitud del valor propi associat a cada component; a continuació s'afegeix una fila més a la submatriu anterior (la solució corresponent al següent valor de pH en la valoració) i es torna a determinar quants components hi ha i la magnitud dels seus valors propis, i així successivament per a submatrius cadascuna de les quals conté una solució més que l'anterior. El mateix procediment s'ha de fer seguint un ordre decreixent de valors de pH. La representació de la variació amb el pH de la magnitud del valor propi associat a cada component permet arribar a obtenir una representació abstracta dels perfils de concentració. Aquesta representació serveix com a estimació inicial dels perfils de concentració, i a partir d'aquí s'inicia un procediment de mínims quadrats alternats (ALS, *alternating least squares*) per a arribar a obtenir els espectres d'absorció corresponents a cadascuna de les espècies i el diagrama de distribució real de les espècies.

Aquest nou procediment matemàtic, el procediment SPFAC, s'ha aplicat a l'estudi de les propietats àcid-base dels polinucleòtids poli(U) i poli(I), i a l'estudi de la seva complexació amb els ions coure(II). Aquests polinucleòtids contenen un únic tipus de base nitrogenada repetida al llarg de la seva estructura: la base pirimidínica uracil en la molècula de poli(U) i la base purínica hipoxantina en la molècula de poli(I) (figura 6).

L'estudi espectrofotomètric dels sistemes H-poli(U) i H-poli(I) ha indicat en ambdós casos l'absència d'efecte polielectrolític (figura 7); es pot observar que el valor del pK_a en cadascun dels sistemes no varia al llarg de les valoracions, a mesura que augmenta el grau

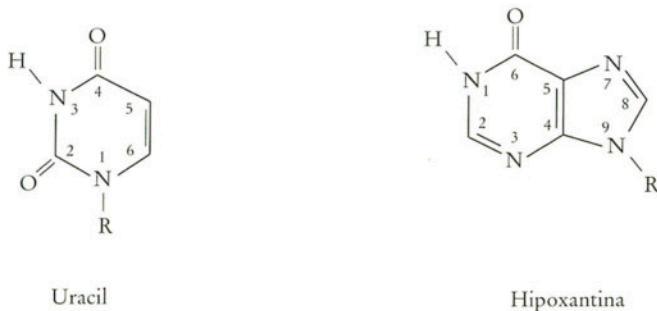


FIGURA 6. Estructura química de les bases nitrogenades uracil i hipoxantina.

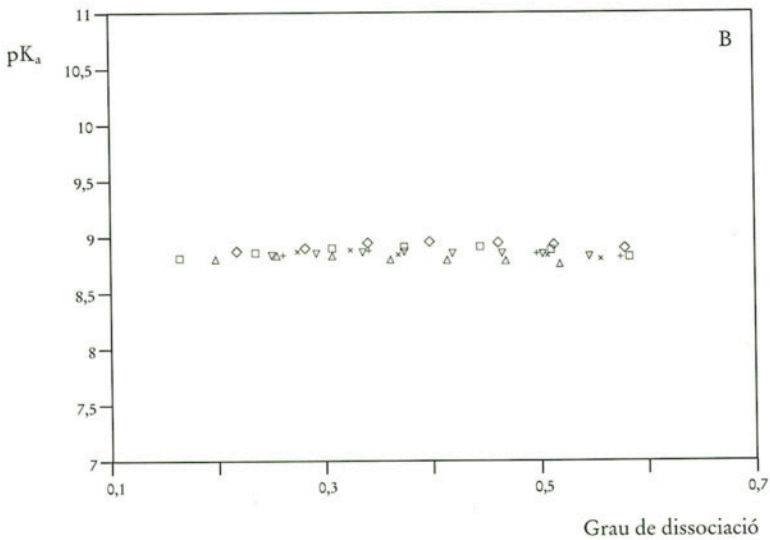
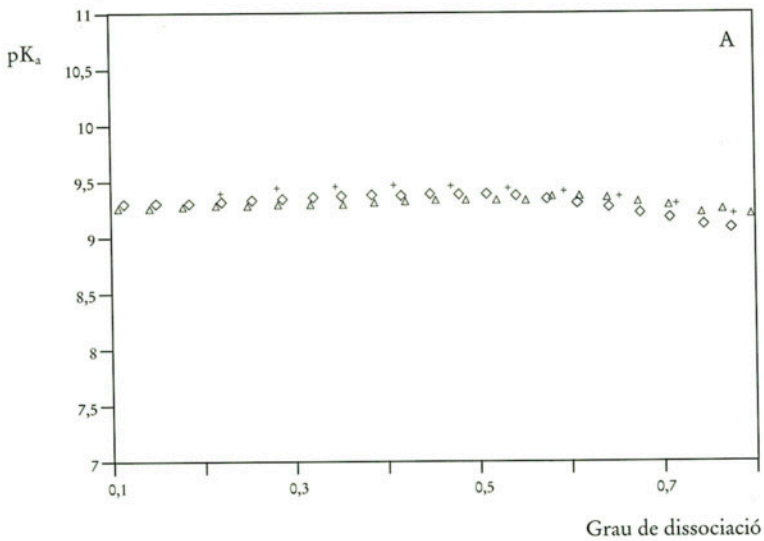


FIGURA 7. Representació dels valors de pK_a enfront del grau de dissociació pels lligands: A) poli(U); B) poli(I).

de dissociació de les macromolècules. Aquests resultats poden ésser atribuïts al fet que les bases nitrogenades en aquests polinucleòtids estan suficientment distants en l'espai perquè la desprotonació d'una d'elles no afecti les característiques àcid-base de les altres.

En el sistema Cu(II)-poli(U) només s'ha detectat la presència de dues espècies mitjançant el procediment SPFAC. A partir d'estudis de RSE s'ha pogut comprovar que la primera espècie correspon a l'ió coure(II) lliure en solució, i la segona espècie, a un complex dímer, que probablement conté dos ions coure(II) cadascun unit a una base nitrogenada del poli(U) i units entre si per ponts d'hidròxid (figura 8). Aquesta estructura condueix a canvis conformationals en el polinucleòtid, des d'una conformació de cabdell aleatori (*random coil*) fins a una conformació més endreçada.

L'estudi del sistema coure(II)-poli(I) ha mostrat que la presència dels ions coure(II) provoca un canvi conformational del polinucleòtid àdhuc a valors àcids de pH, als quals encara no hi ha complexació via la posició N(1) de la base nitrogenada. El polinucleòtid poli(I) presenta una conformació relativament ordenada, en forma d'hèlix, en la qual hi ha apilament de les bases nitrogenades. La presència dels ions coure(II) provoca en aquest sistema, a diferència del que passa en el sistema coure(II)-poli(U), un trencament d'aquest ordre, probablement pel fet que els ions coure(II) s'uneixen a la posició N(7) de les bases nitrogenades, i la repulsió entre ions coure(II) afavoreix el trencament de l'hèlix. Un augment del pH afavoreix la complexació dels ions coure(II) via la posició N(1) desprotonada, però ja no són observables altres canvis conformationals en el sistema.

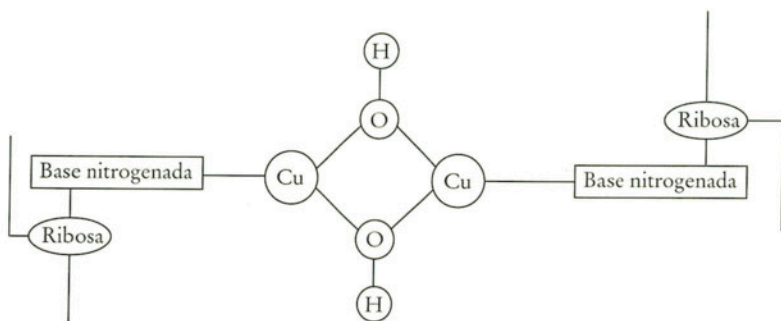


FIGURA 8. Possible estructura de l'espècie dímera que es forma en el sistema coure(II)-poli(U).

Tots aquests canvis conformacionals induïts pels ions coure(II) en els polinucleòtids són una prova més de com els ions metàl·lics poden afectar les característiques biològiques dels polinucleòtids naturals, i de la importància que aquests fets poden tenir des d'un punt de vista terapèutic.

BIBLIOGRAFIA

1. S. E. SHERMAN i S. L. LIPPARD (1987). *Chem. Rev.*, **87**, 1137.
2. K. BURGER (1990). *Biocoordination chemistry: coordination equilibria in biologically active systems*. Chichester: Ellis Horwood Ltd.
3. B. ROSENBERG, L. VANCAMP, J. E. TROSKO i V. H. MANSOUR (1969). *Nature* (Londres), **222**, 385.
4. A. M. FICHTINGER-SCHEPMAN, J. L. VAN DER VEER, J. H. DEN HARTONG, P. H. LOHMAN i J. REEDJIK (1985). *Biochemistry*, **24**, 707.
5. M. FILELLA (1989). *Bull. Soc. Cat. Cièn.* (2a època), **10**, 93.
6. P. M. MAY, P. W. LINDER i D. R. WILLIAMS (1977). *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 588.
7. J. BUFFLE (1988). *Complexation in aquatic systems: an analytical approach*. Chichester: Ellis Horwood Ltd.
8. E. CASASSAS, R. GARGALLO, I. GIMÉNEZ, A. IZQUIERDO-RIDORSA i R. TAULER (1994). *J. Inorg. Biochem.*, **56**, 187.
9. R. TAULER, J. F. CID i E. CASASSAS (1990). *J. Inorg. Biochem.*, **38**, 277.
10. E. CASASSAS, A. IZQUIERDO-RIDORSA i R. TAULER (1990). *J. Inorg. Biochem.*, **39**, 327.
11. E. CASASSAS, R. GARGALLO, I. GIMÉNEZ, A. IZQUIERDO-RIDORSA i R. TAULER (1993). *Anal. Chim. Acta*, **283**, 538.
12. R. TAULER, A. IZQUIERDO-RIDORSA, R. GARGALLO i E. CASASSAS (1995). *Chemom. Intell. Lab. Systems*, **27**, 163.
13. R. TAULER i E. CASASSAS (1989). *Anal. Chim. Acta*, **223**, 257.
14. R. TAULER, E. CASASSAS i A. IZQUIERDO-RIDORSA (1991). *Anal. Chim. Acta*, **248**, 447.
15. R. TAULER, A. IZQUIERDO-RIDORSA i E. CASASSAS (1993). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **18**, 293.
16. S. WOLD (1978). *Technometrics*, **20**, 397.

17. E. R. MALINOWSKI i D. E. HOWERY (1991). *Factor analysis in chemistry*. 2a ed. Nova York: Wiley.
18. H. GAMPP, M. MAEDER, C. J. MEYER i A. D. ZUBERBÜHLER (1985). *Talanta*, **32**, 1133.
19. H. GAMPP, M. MAEDER, C. J. MEYER i A. D. ZUBERBÜHLER (1986). *Talanta*, **33**, 943.

4. MODELITZACIÓ MATEMÀTICA DE VIES METABÒLIQUES: UTILITAT DE LES REPRESENTACIONS APROXIMADES

Albert Sorribas*

La modelització matemàtica és una eina fonamental per a poder caracteritzar sistemes complexos. El seu ús dins dels estudis metabòlics és cada dia més important, si bé la complexitat dels sistemes a estudiar demana la definició d'estratègies específiques perquè el model sigui útil. En aquest sentit, la representació *S-system* és particularment indicada tant per a referir-se a qüestions teòriques com per a desenvolupar models numèrics de vies metabòliques. En aquesta contribució, revisarem els fonaments d'aquesta tècnica i discutirem els seus aspectes d'aplicació més importants per tal de mostrar la utilitat dels models *S-system* en estudis del metabolisme.

4.1. INTRODUCCIÓ

L'estudi dels processos metabòlics, ja sigui a nivell cel·lular o a nivell d'organisme complet, presenta nombroses dificultats tant experimentals com d'anàlisi de dades. Les característiques del material biològic fan que la mesura dels seus components sigui difícil i que els resultats estiguin sotmesos a molta variabilitat, bé perquè la mesura en qüestió variï d'un individu a un altre, bé perquè es fa un error experimental important atesa la dificultat de realització pràctica de la mesura. Addicionalment, hom ha de tenir en compte certes limitacions associades al plantejament conceptual de la recerca en aquest camp. Tradicionalment, hom ha emprat una aproximació

* Departament de Ciències Mèdiques Bàsiques. Universitat de Lleida.

reduccionista al problema, en el sentit que la recerca s'ha centrat en l'estudi dels diferents components aïllats, amb la confiança que la reconstrucció del sistema global i la consideració de la informació sobre les propietats dels diferents elements ens portarà a una comprensió de la complexitat del procés en qüestió. Malauradament, això no és així (Savageau, 1992a). L'estudi dels elements aïllats destrueix l'estructura del sistema, i determina que moltes observacions no tinguin sentit. Tot i que hom tingui cura del procés, l'aïllament d'un component no garanteix que el seu comportament, malgrat mantenir-ne l'entorn el més proper possible a l'original, sigui similar al que s'esdevé *in vivo*. La destrucció de l'estructura trenca una de les característiques fonamentals dels sistemes metabòlics: la riquesa de les interaccions entre els seus components. Aquesta riquesa és, juntament amb les propietats no lineals dels processos implicats, la responsable del comportament integrat d'una via metabòlica. Per tant, és evident la necessitat d'aproximar-se a l'estudi dels processos metabòlics mitjançant l'observació del sistema intacte i considerar un canvi tant en l'àmbit conceptual i d'interpretació de resultats com en l'àmbit d'aproximació experimental al problema.

En aquest canvi de plantejament, atesa la complexitat pròpia d'una via metabòlica, caracteritzada per elements amb comportament no lineal i per l'existència de nombrosos senyals d'autoregulació, es fa necessari l'ús de tècniques d'anàlisi que permetin de treure l'entrellat de les diferents mesures experimentals. En aquest sentit, l'ús d'una representació matemàtica adient hi té un paper fonamental, entenent que la tècnica de representació matemàtica que s'utilitzi ha de complir un seguit de requisits perquè es pugui considerar útil com a eina complementària dels estudis metabòlics. Per identificar aquests requisits, i per entendre l'elecció d'una representació matemàtica particular, a continuació considerarem breument els objectius que, generalment, es volen assolir en estudiar una via metabòlica.

4.2. MODELS PER A FER QUÈ?: QUÈ VOLEM ENTENDRE EN ESTUDIAR UNA VIA METABÒLICA?

Com a primer pas per a discutir l'ús de models matemàtics en estudis de metabolisme, cal demanar-nos quins són els nostres objectius pel que fa a entendre una determinada via metabòlica. Així, i

depenent de la visió particular de cadascun de nosaltres (vegeu per exemple Atkinson [1990]), podem identificar diferents interessos, com ara:

- Determinar l'enzim (o enzims) responsable de la regulació de la via en les condicions d'interès.
- Predir les variacions del flux en resposta a una variació de l'entorn.
- Determinar quins senyals de regulació, dels identificats en experiments *in vitro*, són rellevants *in vivo*?
- Esbrinar si l'estructura i propietats d'una determinada via són òptimes pel que fa a d'altres possibilitats alternatives per a la mateixa via?
- Descobrir els *principis de disseny* del metabolisme.

Clarament, hi ha un nivell creixent d'ambició en els objectius exposats. El primer objectiu respon a la caracterització del sistema en unes condicions particulars, i demana l'establiment de quin enzim (o quins) és el responsable de la regulació del flux a través de la via. En certa manera, aquest objectiu és el més concret de tots, en el sentit que no es refereix a una qüestió teòrica sinó que es planteja un problema específic sobre el sistema en unes condicions ben determinades. La resposta a aquesta pregunta demana, doncs, un formalisme capaç de caracteritzar la via en aquestes condicions i d'emetre una opinió objectiva sobre la influència dels diferents enzims en la regulació del seu funcionament. Evidentment, això demana també que el formalisme sigui capaç de relacionar l'anàlisi de la regulació amb les dades que hom pot obtenir sobre el sistema. Amb això, hom podria també assolir l'objectiu d'esbrinar quins senyals de regulació tenen sentit en el sistema intacte amb relació a la caracterització *in vitro* dels diferents components del sistema.

La predicció del comportament del flux en resposta a variacions de l'entorn demana disposar d'una tècnica capaç de fer prediccions dinàmiques. En general, això vol dir emprar equacions diferencials i simulació numèrica per tal de predir la resposta del sistema a variacions en el seu entorn. En aquest sentit, hi ha un ampli ventall de possibilitats quant a representar el sistema. Des d'una representació molt detallada dels diferents elements, fins a l'ús de repre-

sentacions aproximades, aquest objectiu es pot assolir de maneres ben diferents. La qüestió, però, serà determinar el formalisme que ens permeti assolir conjuntament els diferents objectius.

El darrer objectiu és, amb molt, el més ambiciós. Descobrir els principis de disseny implica ésser capaç d'entendre *per què* un determinat problema es resol amb una estructura determinada. Un exemple relativament senzill seria entendre per què una via de síntesi es regula per *feedback* pel producte final i no per qualsevol dels altres dissenys possibles (Savageau, 1975, 1976). Exemples més complicats serien el plantejament del disseny de la regulació de circuits de regulació de l'expressió gènica (Savageau, 1972, 1976), o bé la interpretació de les diferents interaccions entre tipus cel·lulars en el sistema immune i la seva relació amb les característiques de la resposta immune (Irvine i Savageau, 1985a, b). A més, ens podem plantejar preguntes relacionades directament amb l'evolució de vies metabòliques. En aquest sentit, un voldria entendre com es relaciona la funció d'una via amb la seva estructura i amb l'organització de les diferents reaccions (Meléndez-Hevia i Isidoro, 1985). L'acompliment d'aquests objectius demana una eina que sigui capaç de resoldre qüestions generals des d'un punt de vista teòric i, per tant, reclama una representació matemàtica que permeti l'anàlisi i generalització de les propietats del sistema. Idealment, aquesta tècnica ha de permetre lligar les propietats dels elements amb les del sistema d'una manera entenedora.

Com es pot veure, en uns casos hom intenta entendre una situació molt concreta, com és caracteritzar una situació metabòlica en unes condicions ben establertes, i en uns altres casos el que hom intenta és comprendre el perquè d'allò que té al davant. En general, hom entén la modelització matemàtica com una eina per a reproduir una situació experimental en termes quantitius. Veiem, però, que hi ha d'altres objectius que reclamen l'ús de la modelització matemàtica i que en darrer terme determinaran quin tipus de representació és més adient.

Tradicionalment, l'eina bàsica de la modelització de vies metabòliques han estat els sistemes d'equacions diferencials basats en la descripció cinètica de cada un dels elements dinàmics del sistema (Segel, 1980; Murray, 1990). Aquests models es construeixen a partir de la caracterització *in vitro* de cada una de les reaccions enzimàtiques, extrapolant-ne els paràmetres obtinguts amb la con-

fiança que aproximïn suficientment la situació *in vivo*. Molt sovint, aquests models són resultat d'experiments realitzats en condicions prou diferents i, encara, en materials biològics diversos. Això fa que, com a mínim, aquests models hagin de ser vistos amb certa precaució pel que fa a la seva utilitat real. En descàrrec, cal dir que l'estudi *in vivo* del metabolisme requereix, com hem comentat anteriorment, mesures difícils d'obtenir.

D'altra banda, encara que l'extrapolació de la situació *in vitro* reproduïxi raonablement les condicions del sistema *in vivo*, el model obtingut serà, en general, de poca utilitat davant els objectius plantejats en l'apartat anterior. Així, els models resultants són inabordable analíticament i, per tant, no seran de gran ajuda per a comprendre les propietats del sistema objecte d'estudi. A més, el gran nombre de reaccions i les interaccions entre els diferents elements compliquen força la tasca d'interpretar-ne la seva complexitat. L'anàlisi d'aquesta mena de models queda restringit, en tot cas, a l'ús de la simulació numèrica (Wright *et al.*, 1992). D'altra banda, en el benentès que el model indicat fos correcte pel que fa a la representació cinètica, és evident que la caracterització dels diferents paràmetres per mesures *in vivo* és un objectiu difícilment abastable.

La definició de models matemàtics fonamentats en equacions cinètiques reflecteix el punt de vista reduccionista dominant en molts àmbits de la ciència actual, on el coneixement detallat dels diferents components és el paradigma fonamental. En contra d'aquesta visió, és evident que les propietats dels sistemes complexos, és a dir, compostos per gran nombre d'elements que interaccionen i transfereixen tant matèria com informació, resulten de quelcom més que de la simple superposició de propietats individuals (Bertalanfy, 1968). Això és ben clar quan hom intenta entendre la dinàmica i l'evolució d'ecosistemes, el funcionament d'un organisme, o la gènesi d'aquest mateix organisme.

Cal preguntar-se, per tant, si el llenguatge que és útil per descriure el comportament dels diferents elements que componen una via metabòlica és adient per representar i estudiar el sistema com un tot integrat. Potser, com s'ha fet en molts altres camps científics, caldria desenvolupar un llenguatge particular que s'adrecés directament a la representació del sistema com un tot, i que permetés assolir, el millor possible, la mena d'objectius comentats en l'apartat anterior.

4.3. REQUISITS IDEALS PER A LA REPRESENTACIÓ MATEMÀTICA DE VIES METABÒLIQUES

D'acord amb la discussió que hem plantejat en les seccions anteriors, és evident que la tria d'un determinat formalisme per a representar matemàticament una via metabòlica ha de complir un seguit de requisits si volem que, ultra ésser matemàticament correcte, sigui d'utilitat per a resoldre el seguit de qüestions que hem reconegut com a *interessants* des del punt de vista de la recerca en metabolisme. Breument, indicarem els següents punts com a fonamentals:

1. *Facilitat per a modelar el sistema a partir d'informació qualitativa.* En molts casos, la informació disponible sobre un determinat sistema és purament qualitativa, i és difícil la caracterització completa de tots els elements. En aquest sentit, l'eina d'elecció per a la modelització de vies metabòliques ha de permetre la definició del model a partir d'informació incompleta. En aquest sentit, en molts casos cal descartar la utilització de models cinètics clàssics.

2. *Bona representació de les propietats no lineals dels components del sistema.* En qualsevol cas, la representació escollida ha de ser capaç de representar les propietats no lineals característiques dels diferents components del sistema. En aquest sentit, l'ús de models lineals queda descartada.

3. *Possibilitat d'anàlisi matemàtica.* La tècnica d'elecció ha de permetre el treball d'anàlisi, en el sentit que hom ha de poder deduir les propietats del sistema a partir de la representació. En particular, cal que la representació permeti la definició i el càlcul de mesures de *performance* del sistema com ara: *sensibilitat a canvis dels paràmetres, resposta a pertorbacions externes*, etc.

4. *Generalitzable i sistematitzable.* Una de les finalitats de l'ús de models matemàtics és la generalització dels resultats a sistemes que pertanyen a la mateixa *classe matemàtica*. Una propietat desitjable per als models matemàtics de sistemes metabòlics és la possibilitat que diferents sistemes puguin ésser comparats des d'un mateix punt de vista. En aquest sentit, hom preferirà una representació matemàtica sistemàtica i ben estructurada abans que models *ad hoc* per a cada sistema en particular.

5. *Els paràmetres s'han de poder obtenir experimentalment.* En qualsevol cas, la representació escollida ha d'incloure paràmetres que tinguin una interpretació experimental clara i que, per tant, es

puguin mesurar en condicions adients. Idealment, fóra desitjable que els diferents paràmetres es poguessin mesurar *in vivo*.

6. *Propietats telescòpiques.* En molts casos, hom està interessat en un mateix problema des de diferents punts de vista. Això vol dir que en molts casos estudiarem un mateix problema des de diferents nivells de complexitat. En aquest sentit, la possibilitat que la representació matemàtica emprada sigui aplicable a qualsevol d'ells és una propietat desitjable que facilita la comprensió de problemes complexos.

4.4. EL CONCEPTE DE *POWER-LAW*: SACRIFICAR EL DETALL, GUANYAR TRACTABILITAT

La figura 1 presenta la forma general de la dependència entre la concentració de substrat (S) i la velocitat inicial d'una reacció enzimàtica. Aquesta dependència presenta diferents característiques: 1) és no lineal, 2) té saturació, i 3) en general té una forma hiperbòlica (cas no cooperatiu) o sigmoïdal (cas cooperatiu). Les

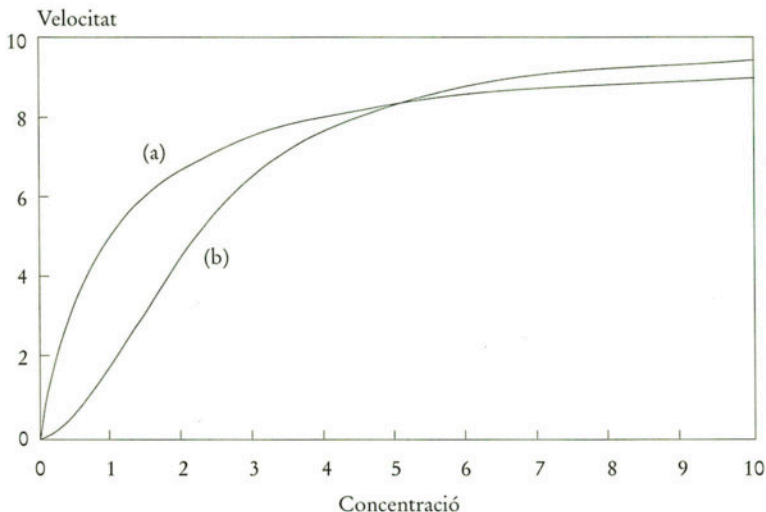


FIGURA 1. Exemple de la dependència entre la velocitat de reacció i la concentració de substrat en reaccions enzimàtiques monosubstrat. (a) cinètica hiperbòlica, (b) cinètica cooperativa.

funcions que, pel cas d'un substrat, representen aquest comportament es dedueixen a partir del mecanisme de reacció i són de la forma coneguda:

$$[1] \quad v = \frac{v_m S}{K_m + S} \quad \text{Sense cooperativitat}$$

$$v = \frac{v_m S^n}{K_m + S^n} \quad \text{Amb cooperativitat}$$

En general, si tenim en compte una reacció amb més d'un substrat, inhibidors, cofactors, etc., la dependència entre la velocitat de la reacció i els diferents efectors ve donada per una expressió de velocitat amb gran nombre de termes (Cleland, 1967). Des d'un punt de vista general, aquesta dependència es pot expressar de la forma:

$$[2] \quad v_i = f(X_1, X_2, \dots, X_n)$$

on $f(X_1, X_2, \dots, X_n)$ és, generalment, una funció racional (Savageau, 1969a, b). La qüestió és pensar si hi ha un camí alternatiu entre la complexitat associada al màxim detall en la descripció (equació [1]) i l'ambigüitat expressada per l'equació [2]. Veurem que el formalisme conegut com a *power-law* ens permet aquesta alternativa.

Si representem l'equació [2] en coordenades logarítmiques, obtenim:

$$[3] \quad \log(v_i) = g[\log(X_1), \log(X_2), \dots, \log(X_n)]$$

on g serà una funció diferent de la funció original f .

Expandint l'equació [3] mitjançant una sèrie de Taylor trunca-da en el terme lineal, obtenim:

$$[4] \quad \log(v_i) \approx \log(v_i)_0 + \sum_{j=1}^n \left(\frac{\partial \log(v_i)}{\partial \log(X_j)} \right)_0 \cdot (\log(X_j) - \log(X_j)_0)$$

Si definim:

$$[5] \quad g_{ij} = \left(\frac{\partial \log(v_i)}{\partial \log(X_j)} \right)_0$$

$$[6] \quad \log (X_j) = y_j$$

l'equació [4] es pot escriure com:

$$[7] \quad \log (v_i) \approx \log (v_{i_0}) - \sum_{j=1}^n g_{ij} y_{j_0} + \sum_{j=1}^n g_{ij} y_j$$

que és equivalent a:

$$[8] \quad v_i \approx \alpha_i \prod_{j=1}^n X_j^{g_{ij}}$$

on el paràmetre $\alpha_i = \frac{v_{i_0}}{\prod_{j=1}^n X_{j_0}^{g_{ij}}}$.

El paràmetre g_{ij} rep el nom d'ordre cinètic, i α_i s'anomena constant de velocitat (vegeu Sorribas i Savageau, 1989a, b; Sorribas *et al.*, 1995a, per a una discussió més completa d'aquests termes i per a exemples). L'equació [8] es coneix com a aproximació *power-law* a l'equació original (equació [2]) (Savageau, 1969a, b, 1976). El significat de l'expansió en sèries de Taylor garanteix la validesa d'aquesta representació en l'entorn del punt considerat.

Les figures 2 i 3 mostren l'aproximació de les equacions [1] mitjançant aquesta tècnica. Hom pot apreciar que al voltant del punt operacional, l'aproximació és bona. Quan intentem representar la funció original lluny del punt operacional, apareixen problemes d'exactitud. D'altra banda, depenent del punt operacional escollit, la representació *power-law* és més o menys similar, en termes qualitius, a la funció original.

És clar que aquesta aproximació no pot representar la funció original per a qualsevol valor de les variables implicades, però es pot considerar suficient si el marge de valors d'interès és més o menys restringit (figura 4). Aquest és el cas de moltes situacions d'interès en la modelització de sistemes biològics, on per causa de mecanismes d'homeòstasi aquest rang és controlat en uns estrets marges.

Per tant, una possible estratègia per a representar la dependència de la velocitat respecte de les diferents variables és utilitzar l'aproximació *power-law* en la confiança que representarà la funció buscada en un determinat camp de valors. És important indicar que

Modelització macroscòpica en ciències experimentals

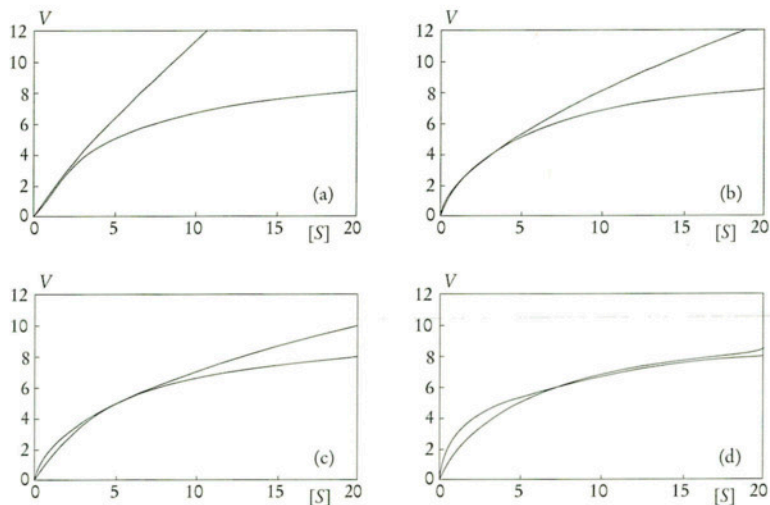


FIGURA 2. Aproximació *power-law* de l'equació de Michaelis-Menten per a la cinètica monosubstrat. Els punts operacionals són: (a) $S=1$, (b) $S=3$, (c) $S=5$, (d) $S=10$.

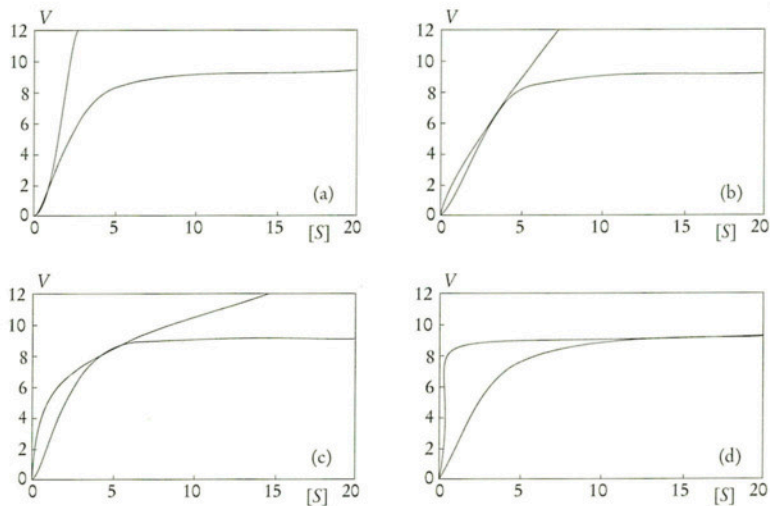


FIGURA 3. Aproximació *power-law* de l'equació de Hill per a la cinètica monosubstrat i $n=2$. Els punts operacionals són: (a) $S=1$; (b) $S=3$; (c) $S=5$; (d) $S=15$.

aquesta representació *no serà* una alternativa a l'equació original en el sentit d'estudiar *in vitro* el comportament aïllat d'una determinada reacció. L'aproximació *power-law* serà fonamental per a derivar una representació útil del sistema complet.

Podem copsar els avantatges de la representació *power-law* amb el següent exemple. Considerem l'esquema de la figura 5. En aquest cas, la síntesi de X_1 depèn de X_5 (el substrat de la reacció) i de X_4 (un regulador que actua com a inhibidor). D'acord amb l'equació [8], la representació *power-law* d'aquest procés seria:

$$[9] \quad v_1^+ = \alpha_1 X_4^{g_{14}} X_5^{g_{15}}$$

Si volguéssim incloure un senyal d'inhibició per *feedback* del producte final X_2 , tot el que cal fer és afegir un terme a l'equació anterior. Així, tindriem:

$$[10] \quad v_1^+ = \alpha_1 X_2^{g_{12}} X_4^{g_{14}} X_5^{g_{15}}$$

Per tant, la representació *power-law* permet incorporar sense dificultat noves variables a la representació d'un procés, sense sortir de la mateixa forma funcional. Aquesta propietat permet un modelat sistemàtic (punt 4.4.) i, com veurem més endavant, pot aprofitar informació qualitativa del sistema (punt 4.1.). A més, com indiquen els resultats de les figures 2 i 3, la representació captura les propietats no lineals essencials del procés considerat (punt 2). El

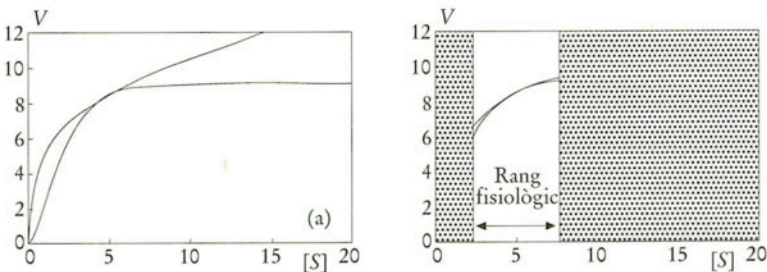


FIGURA 4. La representació *power-law* és vàlida en l'entorn del punt operacional, mentre que es fa inexacta si ens allunyem d'aquest punt. L'interès de la representació *power-law* rau en el fet que el rang de variació fisiològic de moltes variables d'interès és relativament limitat. En aquesta situació, l'error que es fa utilitzant aquesta aproximació és petit.

l'equació [11] podem obtenir una solució explícita per a les equacions d'estat estacionari del sistema (Sorribas i Savageau, 1989a, b; Savageau, 1992a, b; Sorribas *et al.*, 1995a, b, c). Si definim:

$$[12] \quad a_{ij} = g_{ij} - b_{ij}$$

$$b_i = \log \left(\frac{\beta_i}{\alpha_i} \right)$$

les equacions d'estat estacionari es poden obtenir igualant l'esquema [11] a zero. És a dir, en forma matricial:

$$[13] \quad \begin{pmatrix} -b_{11} & 0 & 0 & g_{14} \\ g_{21} & -b_{22} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & -b_{33} & 0 \\ 0 & 0 & g_{43} & -b_{44} \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} y_1 \\ y_2 \\ y_3 \\ y_4 \end{pmatrix} + \begin{pmatrix} g_{15} & 0 \\ 0 & 0 \\ 0 & g_{36} \\ 0 & 0 \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} y_3 \\ y_4 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \\ b_3 \\ b_4 \end{pmatrix}$$

que indicarem com:

$$[14] \quad [A]_D y]_D + [A]_I y]_I = b]$$

Si la matriu $[A]_D$ té inversa, la solució s'obté de la forma:

$$[15] \quad y]_D = -[A]_D^{-1} [A]_I y]_I + [A]_D^{-1} b]$$

Aquesta equació ens relaciona cada un dels paràmetres del sistema amb el comportament de l'estat estacionari. Com veurem, la caracterització de l'estat estacionari es pot obtenir immediatament a partir de l'equació [15].

4.6. ANÀLISI DE L'ESTAT ESTACIONARI

El fet de disposar d'una solució explícita per a les equacions de l'estat estacionari (equació [15]), ens permet caracteritzar aquest estat. Així, l'efecte sobre les variables dependents (X_{i_j} , $i = 1, \dots, n$) d'una variació en una variable independent (X_{k_j} , $k = (n+1), \dots, (n+m)$) es pot obtenir per derivació de l'equació [15] i es coneix com *guany logarítmic*:

$$[16] \quad L(X_i, X_k) = \left(\frac{\partial y_i}{\partial y_k} \right)_0 = \left(\frac{\partial X_i}{\partial X_k} \right) \cdot \frac{X_{k_0}}{X_{i_0}}$$

En notació matricial, obtenim:

$$[17] \quad [L] = -[A]_D^{-1}[A]_I$$

És important notar que mitjançant aquesta definició podem relacionar les propietats dels diferents components del sistema (indicats pels corresponents ordres cinètics que componen les matrius $[A]_D$ i $[A]_I$) amb una propietat *sistèmica* (el guany logarítmic). Seguint el mateix procediment, podem calcular la sensibilitat de l'estat estacionari respecte a canvis en els diferents paràmetres implicats (Sorribas i Savageau, 1989a; Savageau i Sorribas, 1989; Sorribas *et al.*, 1995a, b, c). Així, definim les *sensibilitats* com:

$$[18] \quad S(X_j, \alpha_j) = \left(\frac{\partial X_i}{\partial \alpha_j} \right)_0 \cdot \frac{\alpha_j}{X_{i_0}} \quad j = 1, \dots, n$$

$$S(X_p, g_s) = \left(\frac{\partial X_i}{\partial g_s} \right)_0 \cdot \frac{g_s}{X_{i_0}} \quad r = 1, \dots, n; \quad s = 1, \dots, n + m$$

Finalment, de la mateixa manera podem traslladar aquests conceptes als fluxos, si tenim en compte la definició de l'equació [8] (Sorribas i Savageau, 1989a; Savageau i Sorribas, 1989).

En aquest punt, és important esmentar que l'equació [15] indica una dependència lineal, en espai logarítmic, entre les variables dependents i les independents, la qual cosa és, a primer cop d'ull, una simplificació de la situació *real*. Això no obstant, en observar el comportament de sistemes experimentals, hom a trobat moltes situacions en què aquesta linealitat es manté per un camp de variació de les variables independents prou ample (Savageau, 1976; Sorribas i Savageau, 1989a). La figura 6 ens mostra un exemple d'aquest fet. Així, ens trobem que tot i ser un concepte simplificat, l'equació [15] representa prou acuradament situacions d'interès en bioquímica. Per tant, encara que treballem amb una aproximació, la representació del sistema és prou bona i justifica l'ús del concepte de *power-law* en bastir un model útil del sistema. Veurem més endavant què es pot fer amb aquesta eina.

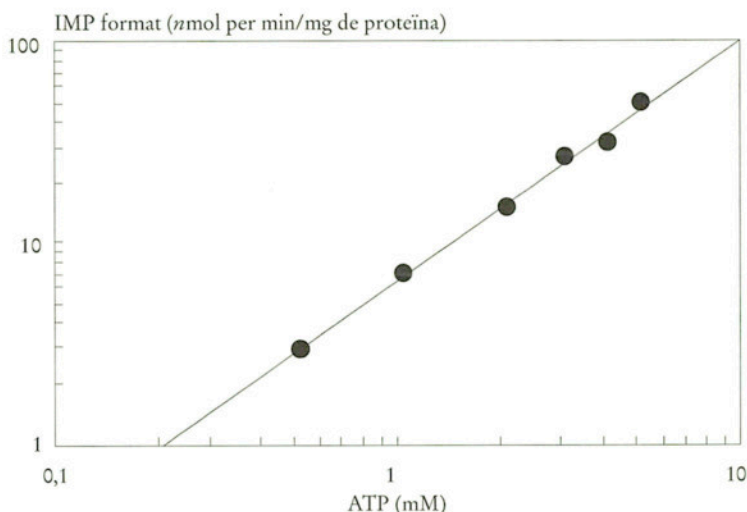


FIGURA 6. Influència de l'ATP en l'activitat AMP desaminasa. Es pot veure que la dependència lineal en espai logarímic es manté per una variació important de la concentració d'ATP. El pendent d'aquesta recta seria el guany logarímic. (Adaptat de Bontemps *et al.* [1983]. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 20, 2829-2833.)

4.7. DINÀMICA I ESTABILITAT

L'estructura de *S-system* és molt favorable per a desenvolupar un algorisme específic d'integració que tregui avantatge de la forma matemàtica especial d'aquestes equacions. Així, es disposa d'un programa (ESSYNS) específic per a simular el comportament dels models *S-system*, amb un algorisme de grau variable 1-32 (Irvine i Savageau, 1990; Voit *et al.*, 1991*b*). Aquest programa utilitza com a dades les matrius de paràmetres de l'*S-system* (ordres cinètics i constants de velocitat) i els valors de les variables independents. Com a sortida, produeix l'evolució del sistema en l'interval d'interès així com un ampli ventall de gràfics i càlculs complementaris. Aquest programa es pot utilitzar sense cap problema en un ordinador PC amb memòria convencional. Per tant, l'estudi numèric de qualsevol model és un problema molt senzill si utilitzem un model *S-system* i disposem del programa ESSYNS.

En particular, ESSYNS incorpora el càlcul dels valors propis corresponents a l'equació característica del sistema obtingut per linealització de l'*S-system* original. Amb això, podem avaluar l'estabilitat de l'estat estacionari i tenir una idea aproximada de les constants de temps implicades en els diferents processos (vegeu Shira-ishi i Savageau, 1992*a, b, c, d*, per a aplicacions d'aquesta idea). L'anàlisi de l'estabilitat local es pot fer també des d'un punt de vista analític per determinar-ne els elements crítics. Per exemple, Savageau (1972, 1975, 1976) explora l'efecte d'un senyal de regulació per *feedback* en l'estabilitat d'una via metabòlica. Així mateix, un estat estacionari estable és requisit necessari perquè un determinat disseny tingui sentit metabòlic. Aquesta condició s'ha fet servir com a condició de contorn per a interpretar els avantatges associats a diferents dissenys alternatius (Savageau, 1972; Savageau i Sands, 1990). La possibilitat de dur a terme una anàlisi d'estabilitat no es troba en models més complicats com podrien ser els definits a partir d'equacions cinètiques. La facilitat amb què la representació *S-system* ens permet abordar aquest problema és un altre avantatge al seu favor.

4.8. COM PODEM FER SERVIR LA TÈCNICA *S-SYSTEM* EN ESTUDIS METABÒLICS?

4.8.1. La representació *S-system* com a eina de modelització

El primer avantatge clar de la representació *S-system* és la facilitat amb què es pot construir un model matemàtic de qualsevol procés metabòlic. El protocol discutit en l'apartat 4.6. ens dóna la pauta d'aplicació. De fet, tot el què cal conèixer per a bastir un model *S-system* és l'estructura del sistema, tant en termes de flux de material com d'informació. Un cop l'esquema del sistema està definit, el procés és molt senzill. Per tal d'esquematzar aquest punt, considerem la figura 7, on es mostra, de manera esquemàtica, el que es coneix com a circuit clàssic de regulació genètica (p.e. l'operó *Lac.* en *E. coli*). Podem apreciar que en aquest cas cada un dels processos, lluny de representar una reacció aïllada, correspon al conjunt de diferents passos que es consideren conjuntament. En aquest esquema, X_1 representa el *mARN*, X_2 l'enzim producte del gen (X_6), i X_3 un metabòlit. X_5 és un regulador de la transcripció. X_7

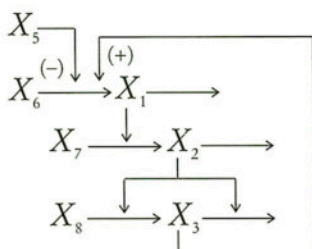


FIGURA 7. Esquema simplificat del circuit de regulació clàssic d'un operó. L'exemple podria correspondre a l'operó *Lac* en *E. coli* (vegeu el text per a més detalls).

representa els aminoàcids precursors del producte X_2 . A partir d'aquest esquema, és immediat construir un model S -system:

$$\begin{aligned}
 [19] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{13}} X_5^{g_{15}} X_6^{g_{16}} - \beta_1 X_1^{b_{11}} \\
 \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{21}} X_7^{g_{27}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{32}} X_8^{g_{38}} - \beta_3 X_3^{b_{33}}
 \end{aligned}$$

Aquest model es pot analitzar qualitativament per a establir de què depèn, per exemple, el guany en X_3 com a resposta a un increment del seu regulador (equació [17]). Així, obtenim:

$$[20] \quad L(X_3, X_5) = L_{35} = \frac{g_{15} g_{21} (g_{32} - b_{32})}{b_{11} b_{22} b_{33} - g_{13} g_{21} (g_{32} - b_{32})}$$

Mitjançant aquesta expressió, podem discutir de quina manera es veu afectada aquesta propietat per canvis en els paràmetres locals (ordres cinètics) del sistema.

Si estem interessats a simular la resposta dinàmica d'aquest model, cal escollir un conjunt de paràmetres representatius. Savageau i Sands (1990) discuteixen els possibles valors en el cas de l'operó *Lac* en *E. coli*. Així, per exemple, atès que el *mARN* corresponent a *Lac* es degrada en un procés de primer ordre, sembla raonable un valor $b_{11} = 1$. L'avantatge de la representació *power-law* és que hom pot discutir aquests valors qualitativament. Així, un procés prop de la saturació tindrà un ordre cinètic proper a 0, mentre que processos que presentin cooperativitat respecte a la variable considerada

tindran ordres cinètics per sobre d'1 respecte d'aquesta variable. En determinats casos, no es podrà especificar un valor numèric per al paràmetre, però es podrà indicar si és positiu (activació) o negatiu (si la variable actua com a inhibidor). Aquesta informació és, en molts casos, suficient per a discutir les propietats generals d'un determinat disseny.

Cal fer esment que en la construcció del model que representa l'esquema de la figura 7, no podem emprar equacions cinètiques, atès que cada procés és un compendi de reaccions i influències que no corresponen a una sola reacció. Per tant, cal especificar una funció que representi de la millor manera possible cada un dels processos globals considerats en aquest exemple. Aquí és on el concepte de *power-law* pren sentit, en poder especificar sense dificultat una funció amb les propietats esmentades anteriorment.

La utilitat de la representació *S-system* com a eina de modelatge inclou la possibilitat de validar el model, atès que es disposa de la manera de calcular les sensibilitats respecte dels diferents paràmetres. Aquesta possibilitat és fonamental per a poder determinar fins a quin punt la informació sobre la qual es basteix el model és consistent. L'aplicació d'aquesta tècnica ha permès de determinar els problemes associats als models definits a partir d'equacions cinètiques (Shira-ishi i Savageau, 1992a, b, c, d; Sorribas *et al.*, 1995a, b, c).

Com a limitació de l'ús del concepte de *power-law*, hom pot indicar la impossibilitat de representar un procés en tot el seu detall. Així, no queda gaire clar que es pugui simular la resposta a una variable externa que varia de manera oscil·latòria o, per exemple, caòtica. A més, sembla un contrasentit emprar una aproximació en els casos en què hom està segur de la forma funcional que representa un determinat procés. Veurem a continuació que aquestes dificultats es poden superar mitjançant la tècnica coneguda com a *recasting*.

4.8.2. *El concepte de recasting*

Considerem, per exemple, que el procés de degradació de X_1 en l'esquema de la figura 7 és

$$[21] \quad v_1^- = \frac{v_m X_1}{K_m + X_1}$$

i que tenim una bona estimació del valor dels paràmetres cinètics. Davant d'això, sembla millor emprar l'equació [21] en comptes de l'aproximació *power-law* corresponent. Amb això, la representació del sistema quedaria:

$$\begin{aligned}
 [22] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{31}} X_5^{g_{51}} X_6^{g_{61}} - \frac{v_{m_1} X_1}{K_{m_1} + X_1} \\
 \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{12}} X_7^{g_{72}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{23}} X_8^{g_{83}} - \beta_3 X_2^{b_{32}} X_3^{b_{33}}
 \end{aligned}$$

És evident que, tot i que ara el procés de degradació de X_1 està millor representat, l'equació [22] perd l'estructura de *S-system*. Això és un desavantatge tant pel que fa al tractament matemàtic, com per al tractament numèric del model. Així, seria interessant determinar si l'equació [22] es pot posar en forma *S-system* sense perdre el detall en la descripció de v_1 .

El procediment per a fer això es coneix com a *recasting*, i consisteix a redefinir les variables del sistema per tal de poder obtenir un *S-system* que representi *exactament* el model desitjat. Així, si en l'equació [22] definim:

$$[23] \quad X_4 = K_{m_1} + X_1$$

tindrem que:

$$\dot{X}_4 = \dot{X}_1$$

Substituint en l'equació, obtindrem:

$$\begin{aligned}
 [25] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{31}} X_5^{g_{51}} X_6^{g_{61}} - v_{m_1} X_1 X_4^{-1} \\
 \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{12}} X_7^{g_{72}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{23}} X_8^{g_{83}} - \beta_3 X_2^{b_{32}} X_3^{b_{33}} \\
 \dot{X}_4 &= \alpha_1 X_3^{g_{31}} X_5^{g_{51}} X_6^{g_{61}} - v_{m_1} X_1 X_4^{-1}
 \end{aligned}$$

que és en forma *S-system*, tenint en compte que la condició inicial per a la variable auxiliar X_4 serà $K_{m_1} + X_1(0)$. La integració d'aquest sistema d'equacions ens dona un comportament exactament igual al de l'equació [22], amb l'avantatge d'estar en la forma *S-system*.

Aquest mètode, per tant, aconsegueix expressar un sistema d'equacions qualsevol en forma *S-system*, independentment de la forma original. El preu a pagar és l'augment en el nombre de variables, cosa que no és particularment limitadora (Voit i Savageau, 1986; Voit i Rust, 1992).

Considerem ara que hom vol incorporar la representació de la variació de X_5 expressada com:

$$[26] \quad X_5(t) = k e^{-kt}$$

Si considerem

$$[27] \quad \dot{X}_5 = -k^2 e^{-kt} = -k^2 X_6$$

$$\dot{X}_6 = -k e^{-kt} = -k X_6$$

podem ampliar l'*S-system* de l'equació [25] per a obtenir:

$$[28] \quad \begin{aligned} \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_3^{g_{11}} X_5^{g_{15}} X_6^{g_{16}} - \nu_{m_1} X_1 X_4^{-1} \\ \dot{X}_2 &= \alpha_2 X_1^{g_{21}} X_7^{g_{27}} - \beta_2 X_2^{b_{22}} \\ \dot{X}_3 &= \alpha_3 X_2^{g_{32}} X_8^{g_{38}} - \beta_3 X_2^{b_{32}} X_3^{b_{33}} \\ \dot{X}_4 &= \alpha_1 X_3^{g_{41}} X_5^{g_{45}} X_6^{g_{46}} - \nu_{m_1} X_1 X_4^{-1} \\ \dot{X}_5 &= -k^2 X_6 \\ \dot{X}_6 &= -k X_6 \end{aligned}$$

Amb la qual cosa obtenim un *S-system* que incorpora una variació en X_5 d'acord amb la forma indicada per l'equació [26].

Seguint aquesta estratègia, és possible generar qualsevol tipus de comportament per a una variable determinada. Això és molt interessant pel que fa a modelitzar la resposta observada d'un sistema. Aquesta és l'estratègia començada per Morrison (1990) per a desenvolupar un catàleg de mòduls per a dissenyar *S-systems* amb propietats particulars. Per exemple, si considerem les equacions corresponents a l'oscil·lador de Van der Pol, tenim (Morrison, 1990):

$$[29] \quad \ddot{Z} - \frac{g_2}{C} \left(3Z^2 - \frac{g_1}{g_2} \right) \dot{Z} + \frac{1}{CL} Z = 0$$

L'equació [29] es pot transformar en un sistema de dues equacions mitjançant la transformació de Lienard:

$$\begin{aligned}
 [30] \quad \dot{Z} &= \frac{Y}{C} + \frac{g_1 Z}{C} - \frac{g_2 Z^3}{C} \\
 \dot{Y} &= -\frac{1}{L} Z
 \end{aligned}$$

Finalment, l'equació [30] es pot representar mitjançant el següent *S-system*

$$\begin{aligned}
 [31] \quad \dot{X}_1 &= \frac{1}{C} X_2 X_3 - g_2 X_1^2 X_2^2 \\
 \dot{X}_2 &= \frac{\mu}{C} X_2 - \frac{3g_2 a_1}{C} X_1 \\
 \dot{X}_3 &= \frac{a_1}{L} - \frac{1}{L} X_1 X_2^{-1}
 \end{aligned}$$

fent servir les transformacions:

$$\begin{aligned}
 [32] \quad Y &= X_3 - a_2 \\
 Z &= X_1 X_2^{-1} - a_1
 \end{aligned}$$

A la figura 8 es mostra un resultat d'integrar l'equació [31] i recuperar la variable original Z segons s'indica a l'equació [32]. Els paràmetres són: $\alpha_1 = 2,5$; $\alpha_2 = 13,125$; $\alpha_3 = 1$; $\beta_1 = 5/6$; $\beta_2 = 6,25$; $\beta_3 = 0,4$ (Morrison, 1990). És interessant notar el fet que l'equació original de l'oscil·lador de Van der Pol és totalment equivalent, pel que fa a comportament, a les equacions [31]-[32]. En aquest sentit, la forma *S-system* es pot considerar com una forma canònica per a representar equacions diferencials no lineals. Un tema de recerca de molt futur es podria iniciar considerant si aquest fet es pot emprar com a punt de sortida per a una teoria general que permeti la solu-

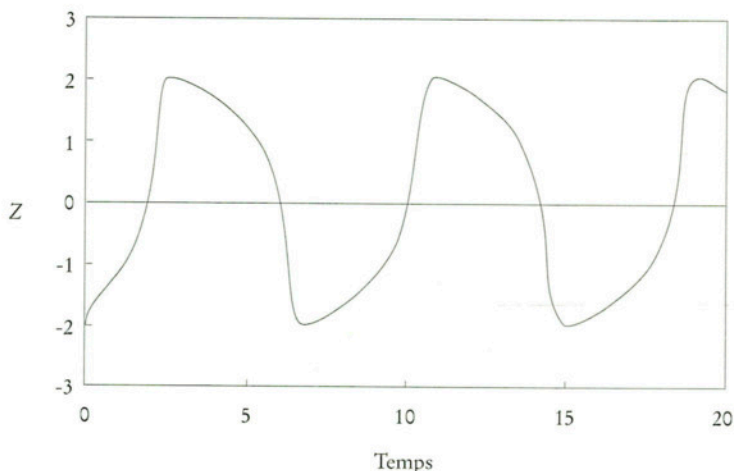


FIGURA 8. Oscil·lador de Van der Pool. La trajectòria s'ha obtingut per integració numèrica de les equacions *S-system* resultants del *recasting* de les equacions originals. Aquesta trajectòria és la mateixa que s'obté per integració de les equacions originals.

ció de sistemes d'equacions no lineals mitjançant l'ús de *S-systems*. Malauradament, encara no es disposa d'experiència suficient per a abordar aquest problema en profunditat (vegeu però Voit i Rust, 1992).

La tècnica de *recasting* és una eina molt interessant tant pel que fa a la modelització com a la classificació de funcions. Així, per exemple, s'ha demostrat que les diferents lleis de creixement que hom utilitza, derivades empíricament, són casos particulars d'un *S-system* de la forma (Voit, 1990)

$$[33] \quad \begin{aligned} \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_1^{g_{11}} X_2^{g_{12}} \\ \dot{X}_2 &= -X_2^{b_{22}} \end{aligned}$$

on els diferents valors dels paràmetres g_{11} , g_{12} i b_{22} produeixen les diferents lleis de creixement empíriques (figura 9).

Per a finalitzar aquest apartat, cal esmentar l'ús del *recasting* en la representació exacta de funcions de distribució estadística (Voit i Rust, 1990, 1992). Seguint una estratègia similar, s'ha definit el concepte de distribució *S*, que permet de calcular qualsevol distribució i les seves propietats mitjançant l'ús de *S-systems* (Voit, 1992).

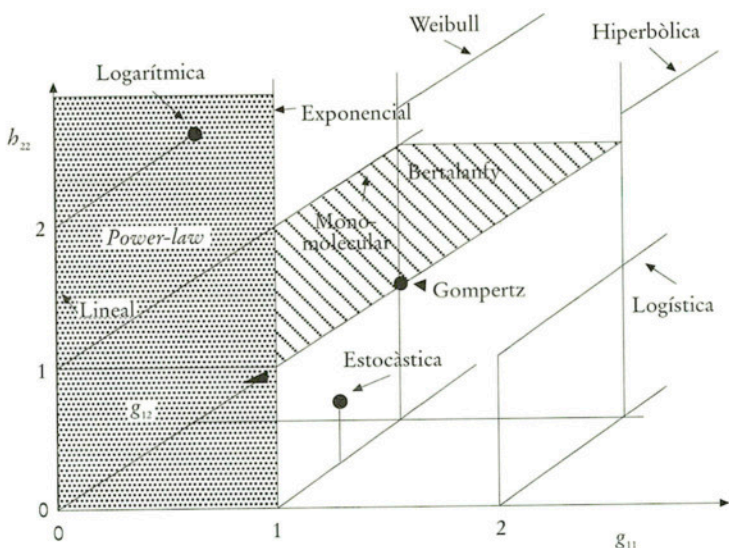


FIGURA 9. Classificació de les lleis de creixement clàssiques d'acord amb el valor dels paràmetres en la seva forma *S-system*. Podeu observar que les lleis obtingudes fins ara no ocupen tot l'espai disponible.

4.8.3. Comparació de dissenys

Un dels objectius fonamentals que hem reconegut pel que fa a l'estudi de vies metabòliques és la possibilitat de deduir propietats generals dels sistemes objecte d'estudi que ens portin a elaborar un cos teòric per a entendre l'organització de les vies metabòliques. Això implica, fonamentalment, entendre els principis de disseny que expliquen la seva estructura amb relació a la funció que duu a terme. El coneixement d'aquests principis de disseny és fonamental per a planificar modificacions que portin, per exemple, a optimitzar el rendiment d'un procés metabòlic. En aquest sentit, ens aproximariem a un coneixement semblant al que permet dissenyar un aparell electrònic a partir d'elements amb comportaments ben establerts. Aquest tema ha estat ampliament desenvolupat a partir de la representació *S-system*, tot i aprofitant les seves propietats. Així, s'han estudiat els avantatges funcionals lligats a la inhibició per producte final (Savageau, 1972, 1975), el disseny òptim de la regulació de punts de bifurcació en vies de síntesi (Savageau, 1976),

diferents aspectes del disseny òptim dels circuits de regulació genètica (Savageau, 1976) i l'estructura de la resposta immune (Irvine i Savageau, 1985*a, b*). El mètode es coneix com a *comparacions de control* i es correspon amb el que hom fa en dissenyar un experiment en el laboratori, és a dir: controlar les variables que poden afectar l'experiment per tal de poder-ne treure una conclusió correcta i generalitzable.

Per tal de comprendre la utilitat d'aquesta tècnica, comentarem breument els resultats publicats per Irvine (1991) (vegeu també Irvine i Savageau, 1985*a, b*) referents al sistema immune. Sense entrar en gaires detalls, la figura 10 mostra dos possibles esquemes que representen l'entrallat de relacions entre els diferents elements implicats en aquesta resposta (antígens, limfòcits efectors i supressors, etc.). Aquests esquemes porten als *S-systems* següents:

$$\begin{aligned}
 [34] \quad \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_0^{g_{10}} X_1^{g_{11}} - \beta_1 X_1^{b_{11}} X_3^{b_{13}} & \dot{X}_1 &= \alpha_1 X_0^{g_{10}} X_1^{g_{11}} - \beta_1 X_1^{b_{11}} X_3^{b_{13}} \\
 \dot{X}_3 &= \alpha_3^a X_2^{g_{32}} X_1^{g_{31}} X_5^{g_{35}} - \beta_3 X_3^{b_{33}} & \dot{X}_3 &= \alpha_3^b X_2^{g_{32}} X_1^{g_{31}} - \beta_3 X_3^{b_{33}} \\
 \dot{X}_5 &= \alpha_5 X_4^{g_{54}} X_3^{g_{53}} - \beta_5 X_5^{b_{55}} & \dot{X}_5 &= \alpha_5 X_4^{g_{54}} X_3^{g_{53}} - \beta_5 X_5^{b_{55}}
 \end{aligned}$$

Hom pot notar que la diferència entre aquests dos models es troba en la síntesi de X_3 (limfòcits efectors), en el sentit que en el *sistema a* es considera la supressió d'aquesta síntesi per part de X_5 (limfòcits supressors), mentre que el *sistema b* no inclou aquest efecte. La qüestió és determinar quin dels dos dissenys és més adient atesa la funció del sistema immunitari. Per a avaluar aquest fet, cal considerar primer què s'entén per efectivitat en aquest cas. D'acord amb Irvine i Savageau, cal considerar: *capacitat per a reduir*

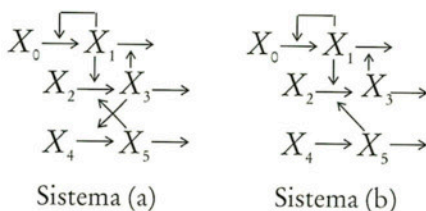


FIGURA 10. Esquemes alternatius per a la regulació de la resposta immune (vegeu el text per a més detalls): (a) els limfòcits efectors (X_3) inhibeixen la proliferació de limfòcits supressors (X_5), (b) els limfòcits efectors no inhibeixen la proliferació de supressors.

el nivell basal d'antigen, capacitat per a mantenir baix el nivell de limfòcits efectors durant la resposta del sistema, bon comportament dinàmic, disseny robust davant de canvis en els paràmetres, etc.

Amb tot, la comparació entre dos possibles dissenys ha de fer-se, com ja hem comentat, tenint en compte una situació basal de referència. En aquest cas, per exemple, imposarem les condicions:

$$\begin{aligned}
 [35] \quad L_{10}^a &= L_{10}^b \\
 X_1^a &= X_1^b \\
 X_3^a &= X_3^b
 \end{aligned}$$

amb això, assegurem que els sistemes que estem avaluant són comparables. L'objectiu és esbrinar si un d'ells presenta avantatges sobre l'altre, un cop establert que ambdós sistemes fan la mateixa funció en condicions bassals. La idea és esbrinar si hi ha un sistema que, tot i comportar-se aparentment igual que l'altre, resulta ser més robust, més estable, respon millor dinàmicament, etc.

Amb això, podem establir quin disseny és més adient des d'un punt de vista d'optimització de les propietats considerades. L'equació [35] ens porta a la condició:

$$[36] \quad g_{31}^b = \frac{g_{31}^a b_{33} b_{55}}{(b_{33} b_{55} - g_{35}^a g_{53})}$$

És a dir, cal que els paràmetres dels sistemes considerats compleixin aquesta relació perquè l'equació [35], pel que fa a la igualtat de guanys, sigui certa. La condició d'igualtat de nivells en l'equació [35] ens porta a unes equivalències similars pel que fa a la resta de paràmetres. Amb això, la comparació entre les propietats dels sistemes *a* i *b* es mostra a la taula 1. Podem observar que el sistema que inclou supressió és clarament superior en el conjunt d'aspectes considerats; per tant, podem fer la hipòtesi que des d'un punt de vista evolutiu serà preferit a un sistema sense supressió.

Aquest mètode d'anàlisi permet, un cop definits els criteris d'efectivitat corresponents, avaluar diferents dissenys en sistemes metabòlics i desenvolupar un cos teòric pel que fa a l'estructura òptima d'aquests sistemes. Tot i que l'aplicació d'aquesta tècnica encara ha estat molt restringida a casos relativament senzills, els resultats obtinguts permeten indicar la seva utilitat en el sentit esmentat anteriorment.

TAULA I

Resultats de comparar els sistemes a i b mitjançant el mètode de les comparacions de control (adaptat d'Irvine [1991]).

<i>Criteri</i>	<i>Sistema a</i> <i>Amb supressió</i>	<i>Sistema b</i> <i>Sense supressió</i>
Nivells bassals	=	=
Guany d'antigen	=	=
Guany d'efector	=	=
Nivell dinàmic d'antigen	+	-
Nivell dinàmic d'efectors	+	-
Sensibilitat paramètrica	+	-
TOTAL	+	-

El signe = indica que ambdós sistemes són comparables respecte al criteri considerat. Un signe + indica que el sistema és superior, mentre que un signe - indica que el sistema té desavantatges pel que fa al criteri considerat.

4.8.4. *Estimació de paràmetres*

Per tal de finalitzar aquest apartat, comentarem breument la problemàtica de l'estimació dels paràmetres dels models *S-system*. Cal esmentar, però, que l'aplicació més important d'aquests models es troba en l'anàlisi teòrica de sistemes, en el sentit discutit en els apartats anteriors. En aquests casos, el que cal és conèixer l'estructura general del sistema i el sentit de les interaccions dels diferents elements. Així, en molts casos en tindrem prou de considerar que un determinat senyal és una inhibició, i que per tant l'ordre cinètic associat és negatiu.

Amb tot, però, és evident la necessitat de disposar de mètodes experimentals per a mesurar els paràmetres *in situ*. En general, la millor estratègia és mesurar els guanys logarítmics, i posteriorment calcular les matrius d'ordres cinètics. Això demana, però, disposar d'una informació correcta pel que fa a l'estructura del sistema. Quan això no és així, trobarem que una mateixa informació experimental serà compatible amb diferents conjunts de paràmetres (Sorribas i Cascante, 1993, 1994). En aquest punt, caldrà emprar una estratègia particular per esbrinar l'estructura de regulació del sistema (Sorribas i Cascante, 1994).

D'entre els diferents mètodes disponibles, l'observació de la dinàmica del sistema és particularment interessant ja que permet definir un procediment molt senzill per a calcular els ordres cinètics. Aquest mètode es pot trobar a Sorribas *et al.* (1995a, b, c) i no es comentarà en detall aquí. Alternativament, es pot intentar l'estimació dels paràmetres de la representació *S-system* directament sobre la resposta dinàmica del sistema. Aquest mètode presenta certs problemes d'aplicació a la pràctica, si bé es pot dissenyar alguna alternativa d'interès per a casos especials (Voit i Savageau, 1982; Torsella i Bin Razali, 1991).

El problema de l'estimació dels paràmetres en models *S-system* és, en general, força dependent del sistema considerat. Així, si es disposa de la possibilitat de manipular diferents variables externes del sistema, el problema pot ésser relativament simple. No ho serà quan el sistema sigui relativament autònom. Es poden trobar exemples a Groen (1984), Sorribas i Savageau (1989a), Sorribas i Cascan-te (1993, 1994), Sorribas *et al.* (1995a, b, c), i Shira-ishi i Savageau (1992a, b, c, d).

4.9. CONCLUSIONS

L'estudi de processos metabòlics requereix diverses aproximacions, que inclouen: manipulació genètica, tècniques de biologia molecular, microscòpia, enzimologia, etc. Cada una d'aquestes tècniques proveeix d'un tipus de coneixement que permet avançar en la comprensió del metabolisme, entès com el conjunt de processos que fan que un organisme es mantingui viu. A totes aquestes tècniques cal afegir la utilització de models matemàtics com a tècnica que permet de posar en comú gran quantitat d'informació i extreure'n les característiques fonamentals.

En aquesta contribució ens hem centrat en un tipus molt particular de models bastits a partir del que es coneix com a representació *S-system*. Al nostre entendre, aquesta tècnica és de les més adients per analitzar processos metabòlics, i permet una modelització sistemàtica i a la vegada rigorosa. És evident que hem deixat fora tot un conjunt de tècniques més sofisticades. Per exemple, en cap moment hem fet referència a problemes on la difusió tingui un paper important. En aquests casos, cal fer ús de derivades parcials, la qual cosa queda fora de l'abast actual de la tècnica *S-system*.

La utilització de la representació *S-system* com a tècnica de modelatge és clarament avantatjosa davant d'altres alternatives i, en particular, permet una modelització qualitativa molt interessant amb vista a estudiar *classes* de problemes des d'un punt de vista teòric. Al nostre entendre, aquesta possibilitat és la més interessant pel que fa a aquesta metodologia. Així, hom pot esbrinar l'existència de *principis de disseny* en determinades situacions d'interès que porten a una millor comprensió de l'organització de les vies metabòliques.

La representació *S-system* té l'avantatge adicional de permetre una integració numèrica molt eficient, la qual cosa és important en models amb moltes variables. L'estructura sistemàtica dels sistemes d'equacions diferencials en forma *S-system* permet el desenvolupament d'algorismes específics que aprofiten aquest fet. Addicionalment, mitjançant la tècnica coneguda com a *recasting*, els *S-systems* apareixen com una forma canònica per a classificar i representar qualsevol tipus de funció o sistema d'equacions diferencials. Aquesta possibilitat obre perspectives molt importants per a l'aplicació dels *S-systems*.

Finalment, l'establiment de la representació *S-system* com a eina de recerca en estudis metabòlics permet posar l'atenció en l'estudi de vies metabòliques *in situ*, en oposició al seu estudi a partir de la reconstrucció d'informació obtinguda *in vitro*. Al nostre entendre, la possibilitat de processar dades obtingudes *in situ* sobre el sistema intacte és una de les propietats més interessants de la representació *S-system*. En aquest sentit, s'està fent un esforç important per a definir protocols experimentals que defineixin quin tipus de mesures són les més informatives des del punt de vista de reconstruir l'estructura i propietats del sistema. L'exploració i anàlisi de models experimentals adients és una de les tasques més interessants a curt termini per demostrar la potencialitat de la tècnica.

AGRAÏMENTS

Aquest treball ha estat possible gràcies a un ajut de recerca de l'Ajuntament de Lleida (1992) i als projectes DGYCIT PB92-0582 i CIRIT: QFN91-4203.

REFERÈNCIES

- D. E. ATKINSON (1990). «What should a theory of metabolic control offer to the experimenter?». A: A. CORNISH-BOWDEN i M. L. CÁRDENAS [eds.]. *Control of metabolic processes*. Nova York i Londres: Plenum Press.
- L. VON BERTALANFY (1968). *General systems theory*. Nova York: George Braziller.
- M. CASCANTE, A. SORRIBAS, R. FRANCO i E. I. CANELA (1991). Biochemical systems theory: increasing predictive power bu using second order derivatives measurements. *J. Theor. Biol.*, **149**, 521-535.
- W. W. CLELAND (1967). «Enzyme kinetics». *Ann. Rev. Biochem.*, **36**, 77-112.
- A. K. GROEN (1984). *Ph. D. Thesis*. Universitat d'Amsterdam.
- D. H. IRVINE (1991). «The method of controlled mathematical comparisons». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical nonlinear modeling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold.
- D. H. IRVINE i M. A. SAVAGEAU (1985a). «Network regulation of the immune response: alternative control points for suppressor modulation of effector lymphocytes». *J. Immunol.*, **134**, 2100-2116.
- (1985b). «Network regulation of the immune response: modulation of suppressor lymphocytes by alternative signals including contrasuppression». *J. Immunol.*, **134**, 2117-2130.
- (1990). «Efficient solution of nonlinear ordinary differential equations expressed in canonical S-system form». *SIAM J. Numerical Anal.*, **27**, 704-735.
- T. JOHNSON (1988). «Estimation and simulation of S-Systems». *Mathem. Comput. Modelling*, **11**, 134-139.
- (1991). «Estimating parameters of S-Systems». A: E. O. VOIT [ed.], *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold, cap. 11.
- E. MELÉNDEZ-HEVIA i A. ISIDORO (1985). «The game of the pentoses phosphate cycle». *J. Theor. Biol.*, **117**, 251-263.
- M. S. MORRISON (1990). «Recasting as a modeling tool». A: E. O. VOIT [ed.], *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold, cap. 11.

- J. D. MURRAY (1990). *Mathematical biology*. Biomathematics Text. Berlín: Springer Verlag.
- M. A. SAVAGEAU (1969a). «Biochemical systems analysis I. Some mathematical properties of the rate law for component enzymatic reactions». *J. Theor. Biol.*, **25**, 365-369.
- (1969b). «Biochemical systems analysis II. Steady state solutions for an n-poll system using a power-law approximation». *J. Theor. Biol.*, **25**, 370-379.
- (1972). «The behaviour of intact biochemical control systems». *Curr. Tops. Cell. Reg.*, **6**, 63-130.
- (1975). «Optimal design of feedback control by inhibition: Dynamic considerations». *J. Mol. Evol.*, **5**, 199-222.
- (1976). *Biochemical Systems Analysis: A study of function and design in molecular biology*. Reading (Mass.): Addison-Wesley.
- (1979). «Feedforward inhibition in biosynthetic pathways: Inhibition of the aminoacyl-tRNA synthetase by the penultimate product». *J. Theor. Biol.*, **77**, 385-404.
- (1991). «Biochemical Systems Theory: operational differences among variant representations and their significance». *J. Theor. Biol.*, **151**, 509-530.
- (1992a). «Critique of the enzymologists test tube». A: E. E. BITTAR [ed.]. *Foundations of Medical Cell Biology*. Greenwich, CT: Jai Press. Vol. 3 A, pp. 45-108.
- (1992b). «Dominance according to metabolic control analysis: major achievement or house of cards?». *J. Theor. Biol.*, **154**, 131-136.
- M. A. SAVAGEAU, E. O. VOIT i D. H. IRVINE (1987a). «Biochemical systems theory and metabolic control theory 1. Fundamental similarities and differences». *Math. Biosc.*, **86**, 127-145.
- (1987b). Biochemical systems theory and metabolic control theory 1. Flux oriented and metabolic control theories». *Math. Biosc.*, **86**, 147-169.
- M. A. SAVAGEAU i P. SANDS (1990). «Completely uncoupled or perfectly coupled circuits for inducible gene regulation». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical nonlinear modeling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York: Van Nostrand Reinhold, cap. 8.
- M. A. SAVAGEAU i A. SORRIBAS (1989). «Constraints among molecular and systemic properties: implications for physiological genetics». *J. Theor. Biol.*, **141**, 93-115.

- L. A. SEGEL [ed.] (1980). *Mathematical models in molecular and cell biology*. Cambridge (Mass.), Cambridge University Press.
- F. SHIRA-ISHI i M. A. SAVAGEAU (1992a). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* I. Formulation of alternative kinetic representations». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22926-22933.
- (1992b). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* II. Evaluation of model consistency and robustness». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22912-22918.
- (1992c). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* III. Analysis of steady-state and dynamic behavior». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22919-22925.
- (1992d). «The tricarboxilic acid cycle in *Dictyostelium discoideum* IV. Resolution of discrepancies between alternative methods of analysis». *J. Biol. Chem.*, **267**, 22934-22943.
- A. SORRIBAS i M. A. SAVAGEAU (1989a). «A comparison of variant theories of intact biochemical systems 1: Enzyme-enzyme interactions and biochemical systems theory». *Math. Biosc.*, **94**, 161-193.
- (1989b). «A comparison of variant theories of intact biochemical systems 2: Flux oriented and metabolic control theories». *Math. Biosc.*, **94**, 195-238.
- (1989c). «Strategies for representing metabolic pathway within biochemical systems theory. Reversible pathways». *Math. Biosc.*, **94**, 239-269.
- A. SORRIBAS, S. SAMITIER, E. I. CANELA i M. CASCANTE (1993). «Metabolic pathway characterization from transient response data obtained *in situ*: Parameter estimation in S-system models». *J. Theor. Biol.*, **162**, 81-102.
- A. SORRIBAS i M. CASCANTE (1993). «Steady-state measurements and identifiability of regulatory patterns in metabolic studies». A: S. SCHUSTER, M. RIGOLET, R. OUHABI i J. P. MAZAT [eds.], *Modern trends in biothermokinetics*. Nova York, Plenum Press., 125-132.
- (1994). «Structure identifiability in metabolic pathways: parameter estimation in models based on the power-law formalism». *Biochem. J.*, **298**, 303-311.
- A. SORRIBAS, R. CURTO i M. CASCANTE (1995a). «Comparative characterization of the fermentation pathway of *Saccharomyces cerevisiae* by using the Biochemical Systems Theory and the Metabolic Control Analysis: Model definition and nomenclature». *Math. Biosc.*, **130**, 25-50.

- (1995b). «Comparative characterization of the fermentation pathway of *Saccharomyces cerevisiae* by using the Biochemical Systems Theory and the Metabolic Control Analysis: Steady-state characterization». *Math. Biosc.*, **130**, 51-69.
- (1995c). «Comparative characterization of the fermentation pathway of *Saccharomyces cerevisiae* bu using the Biochemical Systems Theory and the Metabolic Control Analysis: Model validation and dynamic behavior». *Math. Biosc.*, **130**, 71-84.
- J. A. TORSELLA i A. M. BIN RAZALI (1991). «An analysis of forestry data». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York, Van Nostrand Reinhold.
- E. O. VOIT (1990). «Canonical nonlinear forms». A: E. O. VOIT [ed.]. *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York, Van Nostrand Reinhold, cap. 12.
- E. O. VOIT [ed.] (1991). *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York. Van Nostrand Reinhold.
- E. O. VOIT, i P. F. RUST (1990). «Evaluation of the non central t distribution with S-systems». *Biometrical J.*, **32**, 681-685.
- (1992). «Invited tutorial: S-system analysis of continous univariate probability distributions». *J. Stat. Comp. Simul.*, **42**, 187-249.
- E. O. VOIT i M. A. SAVAGEAU (1982). «Power-law approach to modelling biological systems, III. Methods of analysis». *J. Ferment. Technol.*, **60**, 233-241.
- (1986). «Equivalence between S-systems and Volterra systems». *Math. Biosc.*, **78**, 47-55.
- (1987). «Accuracy of alternative representations for integrated biochemical systems». *Biochem.*, **26**, 6869-6880.
- E. O. VOIT, M. A. SAVAGEAU i D. H. IRVINE (1991a). «Introduction to S-Systems». A: E. O. VOIT [ed.], *Canonical non linear modelling: S-system approach to understanding complexity*. Nova York, Van Nostrand Reinhold, cap. 2.
- (1991b). *The users guide to ESSYNS*. Medical University of South Carolina Press.
- B. E. WRIGHT, M. H. BUTLER i K. R. ALBE (1992). «System analysis of the TCA cycle in *Dyctiostellium discoideum*: the basis for model construction». *J. Biol. Chem.*, **267**, 3101-3105.

5. MODELITZACIÓ EN ELECTROANÀLISI: APLICACIÓ DE LA VOLTAMPEROMETRIA A L'ESTUDI D'IONS METÀL·LICS EN MEDIS QUE CONTENEN MACROMOLÈCULES

Miquel Esteban,¹ Cristina Ariño,¹ José Manuel Díaz Cruz¹
i Jaume Puy²

5.1. INTRODUCCIÓ

En el camp de la química electroanalítica, les tècniques voltamperomètriques, és a dir, aquelles en les quals hom mesura una relació intensitat-potencial, ocupen un lloc cabdal. Entre aquestes tècniques cal esmentar les anomenades polarogràfiques. La polarografia fou introduïda per Jaroslav Heyrovsky el 1922 com a conseqüència dels seus estudis sobre la tensió superficial del mercuri sotmès a una diferència de potencial. El 1959 li fou atorgat el premi Nobel de Química pel reconeixement intrínsec de la tècnica, i sobretot per la seva transcendència en el progrés general de l'electroquímica.

En la polarografia hom aplica un escombratge lineal de potencial a un elèctrode de gotes de mercuri, i enregistra, usualment, el corrent degut a un procés d'oxidació o reducció. Si sobre aquesta rampa de potencial hom sobreimposa impulsos de potencial d'amplitud petita (< 100 mV), es parla de les tècniques polarogràfiques impulsional, de gran importància pràctica en l'actualitat, atesos els seus baixos límits de detecció. D'aquesta forma, hom pot determi-

1. Departament de Química Analítica. Facultat de Química. Universitat de Barcelona.

2. Departament de Química. Escola Tècnica Superior d'Enginyeries Agràries. Universitat de Lleida.

nar des de compostos orgànics fins a ions inorgànics. Fou precisament la seva aplicació a l'estudi d'ions metàl·lics la que posà de manifest les grans possibilitats de la polarografia no sols per a la determinació d'espècies químiques sinó també per a l'estudi dels equilibris en solució.

Les tècniques polarogràfiques han estat àmpliament utilitzades en l'estudi de complexos en solució, especialment en el cas de lligands senzills monomoleculars. En aquests estudis hom considera les modificacions provocades per les reaccions de complexació en les ones de reducció de l'ió metàl·lic. Aquestes modificacions són:

1. Desplaçament del potencial de semionada de l'ona de reducció de l'ió metàl·lic cap a potencials més negatius.
2. Disminució del corrent límit de difusió.

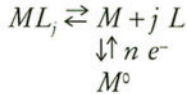
L'estudi d'aquests casos relativament senzills porta al plantejament d'un model simple. En el plantejament d'aquest model hom requereix que es verifiquin les següents condicions:

- a) Reacció electròdica reversible.
- b) Transport de matèria controlat per difusió.
- c) Formació de complexos químicament làbils (constants de velocitat de les reaccions d'associació-dissociació molt grans).
- d) Presència d'excés de lligand.
- e) Complexos electroinactius.
- f) Lligands senzills (de pes molecular baix, de manera que els coeficients de difusió del metall, del lligand i dels complexos, siguin iguals).
- g) Absència d'adsorció electròdica

La resolució teòrica d'aquest model senzill portà als mètodes de Lingane i de DeFord i Hume, considerats actualment com clàssics dins del camp de la complexació.

La primera proposta per a utilitzar la polarografia en l'elucidació dels processos químics de complexació dels ions metàl·lics en solució i en la determinació experimental de les constants d'estabilitat dels complexos solubles, fou feta per J. J. Lingane el 1941 (1). El mètode proposat per Lingane es basa en la mesura del desplaçament del potencial de semionada de la reducció d'un ió metàl·lic ($E_{1/2}$)

que és produït per l'addició d'excés coneguts d'un lligand L , i és restringit a dades experimentals de sistemes on hom accepta la formació de només un sol complex ML_j en la solució, de manera que el procés electròdic es pot escriure com:



L'equació general del mètode que lliga $\Delta E_{1/2}$ amb el logaritme de la concentració de lligand que ha provocat aquest desplaçament és

$$[1] \quad \Delta E_{1/2} = (0,0591/n) \log \beta_j + j (0,0591/n) \log [L]$$

on j és el nombre de mols de lligand coordinats a un mol d'ió metàl·lic i β_j representa la constant global de formació del complex ML_j .

En el cas més general, però, en la solució que conté l'ió metàl·lic i el lligand coexisteixen diversos complexos successius perquè llurs constants de formació no són gaire diferents. Aquest fet és tingut en compte en el mètode que proposaren D. D. DeFord i D. N. Hume el 1951 (2), el qual, modificat posteriorment per H. Irving (3), ha tingut aplicació molt extensa. Per a l'aplicació d'aquest mètode hom admet les mateixes condicions esmentades abans. Hom pot arribar a una expressió on la diferència entre els potencials de semi-ona i la relació de les intensitats dels corrents límits que s'obtenen en absència i en presència de lligand són donades d'acord amb la concentració de lligand, en forma d'un polinomi de potències creixents d'aquesta concentració, els coeficients numèrics dels termes successius del qual són les constants globals de formació dels complexos successius:

$$[2] \quad \exp (nF/RT)\Delta E_{1/2} + \log (I_M/I_c) = \Sigma \beta_i [L]^i$$

Per a arribar al coneixement del valor individual de cadascuna d'aquestes constants es pot aplicar el ben conegut procediment de linealització mitjançant les funcions de Leden (4). Segons aquest procediment, la constant de formació del complex 1:1, β_1 , es troba a partir de la primera funció de Leden, F_0 :

$$[3] \quad F_0[L] = 1 + \beta_1 [L] + \beta_2 [L]^2 + \dots$$

com a pendent de la tangent a la corba per a valors de $[L]$ petits i tendint a zero, o bé es troba a partir de l'ordenada a l'origen de la segona funció de Leden, $F_1[L] = (F_0[L]-1)/[L]$. Aquest procediment de Leden permet determinar de manera indubtable el valor de n , subíndex estequiomètric del complex superior, ML_n (que és igual a l'índex de coordinació de l'ió metàl·lic si el lligand és unidentat), perquè la funció $F_n[L]$ de Leden esdevé igual a una constant (β_n) i la seva representació gràfica, per tant, una recta paral·lela a l'eix d'abscisses.

Els principals inconvenients d'aquests mètodes són la presència de fenòmens d'adsorció electròdica, la necessitat de treballar en grans excessos de lligand, la consideració que totes les espècies tenen la mateixa mobilitat i també la limitació del nivell de concentració en què es troba l'ió metàl·lic.

Així, l'evident simplicitat d'aquest model impedeix la seva aplicació a l'estudi de la complexació d'ions metàl·lics amb macromolècules.

5.2. COMPLEXACIÓ EN MEDIS MACROMOLECULARS

5.2.1. *Introducció*

En el cas de sistemes complicats, com seria el cas dels medis aquàtics naturals, ens trobem que hem de considerar els següents punts:

- a) Mescla de lligands (L_1, L_2, \dots, L_i).
- b) Complexos no necessàriament làbils (k_a, k_d finites o 0).
- c) Lligands macromoleculars ($D_L \approx D_{ML} < D_M$).
- d) Adsorció de L i/o de ML sobre la superfície de l'electrode.
- e) Concentració de metall molt baixa, que requereix en molts casos la utilització de tècniques electroanalítiques més elaborades, amb límits de detecció molt baixos, com és la Voltamperometria de Redissolució Anòdica (ASV).
- f) Baixa capacitat complexant i reguladora del sistema, que pot provocar, per exemple, canvis a prop de la superfície de l'electrode.
- g) Lligands amb caràcter polielectrolític.

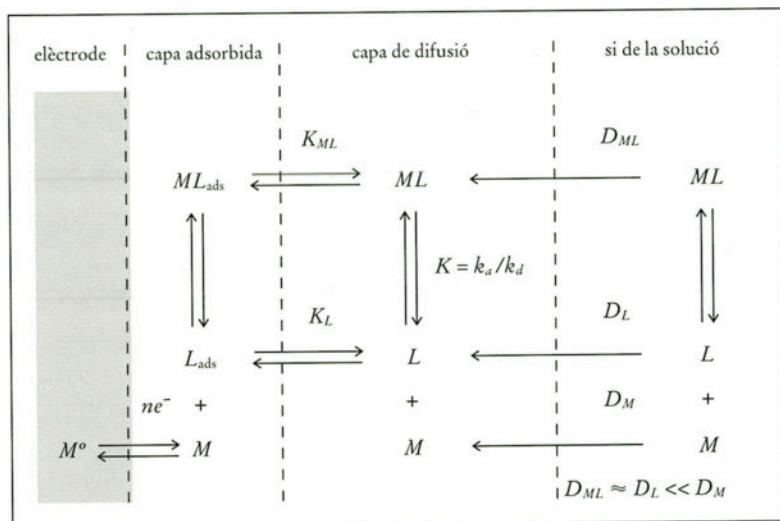


FIGURA 1. Model de la reducció electròica d'un ió metàl·lic en un medi que conté lligands macromoleculars.

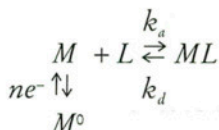
Tot això porta al plantejament d'un model molt més complex, tal com es pot veure a la figura 1.

Fins al moment no es disposa de cap aproximació teòrica global al model descrit, però existeixen aproximacions parcials que posen èmfasi en alguns aspectes.

5.2.2. Consideració de les diferents mobilitats de les espècies i de la cinètica d'associació-dissociació del complex

Un dels desenvolupaments més ambiciosos és el plantejat per van Leeuwen i col·laboradors l'any 1987 (5, 6). Una de les característiques més destacades d'aquest model és la consideració de les mobilitats diferents de les espècies que es difonen simultàniament cap a l'elèctrode i la introducció del concepte de coeficient de difusió mitjà, aplicat a substàncies interconvertibles entre elles. Aquests autors han desenvolupat un tractament rigorós per al cas de lligand present en excés, vàlid per a qualsevol conjunt de constants de velocitat i de coeficients de difusió, i que suposa la solució exacta, en el domini de Laplace, de les equacions plantejades a partir de les hipòtesis inicials.

Aquest model considera la reducció reversible d'un ió metàl·lic M en presència d'un excés de lligand L (que pot ésser macromolecular) i la formació d'un únic complex electroinactiu 1:1, de fórmula ML (essent aquesta l'única hipòtesi plausible en presència d'un excés de lligand macromolecular). El model és



on k_a i k_d són les constants de velocitat d'associació i de dissociació, respectivament. La constant d'estabilitat del complex és donada per $K = k_a/k_d$.

Si el transport de matèria és controlat per difusió i el lligand és present en excés, es poden plantejar les equacions

$$[4] \quad \partial c_M / \partial t = D_M \partial^2 c_M / \partial x^2 + k_d [c_{ML} - K' c_M]$$

$$[5] \quad \partial c_{ML} / \partial t = D_{ML} \partial^2 c_{ML} / \partial x^2 - k_d [c_{ML} - K' c_M]$$

$$[6] \quad c_L = c_L^*$$

on c indica la concentració de l'espècie descrita pel subíndex a un temps t i a una distància x de la superfície de l'elèctrode, c^* indica concentració en el si de la solució, i hom defineix $k_a' \equiv k_a c_L^*$ i $K' \equiv k_a' / k_d = K c_L^*$. En el cas de difusió lineal semiinfinita, i per a la zona d'intensitat de corrent límit, el sistema és subjecte a les condicions de contorn següents

$$[7a] \quad \left. \begin{array}{l} t = 0, x \geq 0 \\ t > 0, x \rightarrow \infty \end{array} \right\} \quad c_M = c_M^*, \quad c_{ML} = c_{ML}^*$$

$$[7b] \quad t > 0, x = 0 \quad \left. \right\} \quad c_M = 0, \quad \partial c_{ML} / \partial x = 0$$

Les equacions plantejades tenen solució rigorosa en el domini de Laplace, sense necessitar cap aproximació. El resultat es troba en forma de l'expressió, en aquest domini, del gradient de concentra-

ció a la superfície de l'elèctrode. La transformació inversa en el domini del temps donaria el gradient de M (proporcional a la intensitat de corrent) segons el temps. Malgrat això, en el cas més general aquesta transformació no és possible, i això obliga a realitzar aproximacions mitjançant càlcul numèric o simplificacions al model teòric. Per aquesta segona via hom pot resoldre analíticament un cert nombre de casos límits, dos dels quals es comenten a continuació.

a) *Cas dinàmic*

En el cas de constants de velocitat grans, que els autors esmentats denominen situació dinàmica, s'estableix l'equilibri termodinàmic entre M i L , i es compleix la condició

$$[8] \quad \tau k_a', \tau k_d \gg 1$$

on τ és l'escala de temps característica del mètode utilitzat (temps de vida de la gota en DCP, temps de durada de l'impuls en polarografia diferencial d'impulsos [DPP], etc.).

La condició indicada abans implica que durant el transport de l'ió metàl·lic a través de la capa de difusió aquest «oscil·la» amb freqüència alta entre l'estat lliure M i l'estat combinat ML ; és a dir, que el complex és làbil. En el cas de coeficients de difusió diferents, un complex serà làbil si compleix la condició:

$$[9] \quad k_d [D_M/D_{ML}]^{1/2} [\tau/k_a']^{1/2} \gg 1$$

Aquest criteri de llibertat compara el corrent de reducció controlat per la cinètica química amb el controlat únicament per la difusió de l'espècie ML , de manera que un complex serà làbil quan el flux de producció de M resultant de la dissociació del complex en un temps donat, τ (representat per $k_d (\tau/k_a')^{1/2}$), és molt més gran que el flux de difusió de ML relatiu al de M (representat per $(D_{ML}/D_M)^{1/2}$). Si es compleixen les condicions enunciades és possible resoldre les equacions plantejades introduint-hi la relació $c_T = c_M + c_{ML}$. Així, les equacions diferencials [4] i [5] queden reduïdes a una de sola:

$$[10] \quad \partial c_T / \partial t = \bar{D} \partial^2 c_T / \partial x^2$$

Aquesta equació estableix la difusió de M i de ML mitjançant el coeficient de difusió mitjà \bar{D}

$$[11] \quad \bar{D} = \frac{c_M^*}{c_T^*} D_M + \frac{c_{ML}^*}{c_T^*} D_{ML}$$

que és la mitjana ponderada dels coeficients individuals de les espècies metàl·liques presents, segons les proporcions relatives de cadascuna. Les condicions de contorn en el règim del corrent límit són:

$$[12] \quad \left. \begin{array}{l} t = 0, x \geq 0 \\ t > 0, x \rightarrow \infty \end{array} \right\} c_T = c_T^*$$

$$[13] \quad t > 0, x = 0 \quad \} \quad c_T = 0$$

La solució de l'equació anterior és clàssica i dona una expressió per al corrent límit, I_{lim} :

$$[14] \quad I_{\text{lim}} = -nFA\pi^{-1/2}\bar{D}^{1/2}c_T^*t^{-1/2}$$

b) Cas d'un complex immòbil

En el cas en què els coeficients de difusió de L i de ML són molt petits, es parla d'un complex físicament immòbil, per al qual la raó D_{ML}/D_M tendeix a zero.

Quan D_{ML}/D_M tendeix a zero, la resolució de les equacions generals plantejades abans se simplifica, de manera que és possible obtenir (sempre en el domini de Laplace) una expressió del gradient de concentració més senzilla que en el cas general. Malgrat tot, tampoc es pot fer analíticament la transformació inversa al domini real, si no és en el cas d'un complex làbil, per al qual, lògicament, s'obtenen expressions equivalents a les de la situació dinàmica.

El model teòric indica que en determinades condicions cinètiques els complexos immòbils contribueixen al valor mesurat del corrent. Per a complexos làbils, per exemple, l'equació que defineix el coeficient de difusió mitjà indica que si $D_{ML} = 0$, \bar{D} pot ésser petit (si c_M^*/c_T^* és petit) però mai no és zero. Això és degut al fet que l'ió metàl·lic roman una fracció del temps com a ió lliure i es pot difondre vers la superfície de l'elèctrode. És, doncs, incorrecte oblidar la

contribució que fa al senyal voltamperomètric mesurat el metall unit a lligands de pes molecular gran.

De tot això es dedueix que la interpretació correcta de les corbes voltamperomètriques obtingudes a partir de sistemes metall-lligand exigeix uns criteris clars de discriminació entre processos controlats per la reacció química (control cinètic) i processos controlats per la velocitat de difusió vers l'elèctrode.

Aquests criteris es poden trobar a partir de les expressions de la relació d'intensitat dels corrents límits (Φ) obtinguts en presència de lligand L i en la seva absència.

Per al cas d'un complex làbil i de transport controlat per la difusió, es troba que la constant de formació K del complex està relacionada amb els valors de Φ de la forma següent:

$$[15] \quad \Phi = \left(\frac{1 + \varepsilon K c_L^*}{1 + K c_L^*} \right)^{1/2}$$

de la qual es pot aïllar el valor de K :

$$[16] \quad K = \frac{1}{c_L^*} \frac{1 - \Phi^2}{\Phi^2 - \varepsilon}$$

Així, hom pot avaluar la constant de complexació K , una vegada conegut ε ($= D_{ML}/D_M$), a partir de les mesures experimentals de Φ .

Per a introduir en el càlcul els valors mesurats del potencial cal conèixer les relacions $I = f(E, t)$, però fins ara llur interpretació completa per al cas que $D_{ML} < D_M$ només s'ha fet per a sistemes químicament dinàmics amb complexos electroquímicament làbils (6), per als quals hom obté, si es designa per f la fracció c_M^*/c_T^* :

$$[17] \quad \ln f = \frac{nF}{RT} \Delta E + \ln \Phi$$

Aquesta equació és equivalent a la de DeFord i Hume, que usualment és escrita en la forma

$$[18] \quad F_0 = \exp \left(- \frac{nF}{RT} \Delta E - \ln \Phi \right) = 1 + K c_L^*$$

on F_0 és la ben coneguda primera funció de Leden.

Per a complexos làbils, la variació del potencial de semiona o de pic (segons la tècnica emprada) depèn no solament de la fracció d'ió metàl·lic sense complexar, f , sinó també de la divergència entre \bar{D} i D_M . El valor de f , i per tant el de K , pot ésser calculat, doncs, a partir de les mesures dels desplaçaments del potencial de semiona (o de pic) corregit segons les mesures dels corrents límits. Més recentment fou abordada, mitjançant simulació numèrica (7), la solució per al cas en què no hi hagi excés de lligand, situació que es troba, per exemple, durant la valoració de M amb L o de L amb M , valoracions aquestes darreres que són emprades per a la determinació de la «capacitat complexant» de mostres aquàtiques naturals.

Tot el tractament teòric descrit ha estat desenvolupat per a condicions voltamperomètriques límit, que són molt més senzilles que les que regeixen en els experiments realitzats per ASV, tècnica del més alt interès en els estudis ambientals. És molt útil, per tant, l'aplicació del model teòric descrit, encara que sigui de forma aproximada, a les mesures realitzades amb ASV, tècnica per a la qual no existeix per ara cap model teòric rigorós. Ha estat proposada una extensió del model ja descrit, la qual, aplicada a un sistema làbil, condueix a l'expressió

$$[19] \quad \phi = \frac{\bar{D}^p}{D_M^p} = \left(\frac{1 + \epsilon K c_L^e}{1 + K c_L^e} \right)^p$$

on p és un paràmetre relacionat amb la natura del transport de matèria (8), que hauria de tenir valors entre 1/2 (cas de difusió lineal semiinfinita) i 2/3 (cas de difusió lineal convectiva (9)). Hom postula, també, la validesa de l'expressió de DeFord i Hume (equació [18]).

5.3. COMPLEXACIÓ EN MEDIS MACROMOLECULARS: PRESÈNCIA D'ADSORCIÓ ELECTRÒDICA

5.3.1. Introducció: adsorció electròdica en polarografia d'impulsos

En una primera aproximació qualitativa suposarem, segons el tractament de van Leeuwen, Lovric i Buffle (10), que el procés d'adsorció/desorció és infinitament ràpid i que podem ignorar les possibles diferències entre la reducció del reactant Ox en solució (Ox_{sol}) o en l'estat adsorbit (Ox_{ad}).

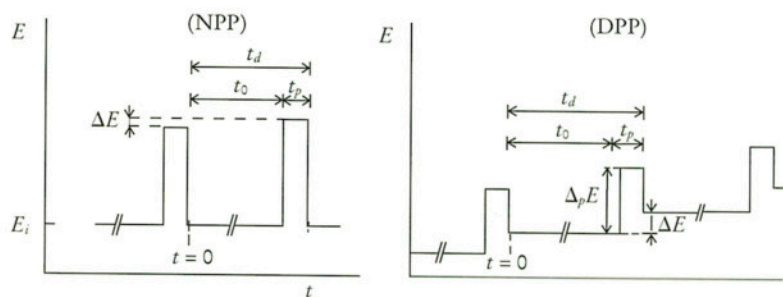


FIGURA 2. Esquema resumit del tipus del senyal d'excitació en polarografia impulsional normal (NPP) i en polarografia impulsional diferencial (DPP). (Reproduït de la ref. (10).)

Hi ha dues tècniques polarogràfiques d'impulsos d'especial rellevància, la normal (NPP) i la diferencial (DPP), que difereixen en la forma del senyal aplicat i en la forma de portar a terme la mesura (figura 2). En polarografia normal d'impulsos (NPP), el potencial base E_i és molt més positiu que el potencial de semionia $E_{1/2}$ del reactant Ox , i abans no s'apliqui el primer impuls (a temps $t = t_0$) s'ha produït un cert recobriment superficial de l'elèctrode. Generalment, la magnitud d'aquest recobriment a $t = t_0$ no és encara la que correspon a l'equilibri (enfront de la concentració en el si de la solució c_{ox}°); la concentració c_{ox} ran de la superfície de l'elèctrode és menor que c_{ox}° i s'ha creat a la solució una capa de depleció adsorptiva d'un gruix δ_0 que depèn del temps t_0 i del coeficient de difusió de l'espècie adsorbida D_{ox} . Segons la natura de la isoterma d'adsorció, la forma del perfil de la concentració a $t = t_0$ pot ésser força complicada. La concentració fixada a la superfície augmenta gradualment amb el temps i el gradient $(\partial c_{ox} / \partial x)_{x=0}$ disminueix amb el temps. Són casos límit, per exemple, els següents:

a) per a adsorció infinitament forta, fora del règim de saturació:

$$[20] \quad c_{ox}(x=0) = 0 \quad \text{i} \quad (\partial c_{ox} / \partial x)_{x=0} = c_{ox}^\circ / \delta_0$$

b) per al cas d'assolir-se el recobriment total abans de $t = t_0$:

$$[21] \quad \Gamma_{ox} = \Gamma_{ox}^{\max} \quad \text{i} \quad (\partial c_{ox} / \partial x)_{x=0} = 0$$

En condicions d'adsorció no gaire forta, la resposta obtinguda mitjançant NPP a potencials pròxims a $E_{1/2}$, però més negatius, és governada per la difusió d'Ox i la reducció de l'Ox adsorbit. Així, el corrent faradaic en aquesta zona de potencials estarà format per dos components que depenen diferentment del temps: el corrent controlat per difusió que correspon a la reacció $\text{Ox}_{\text{sol}} \rightarrow \text{Red}$ segueix bàsicament una dependència lineal amb $t^{1/2}$, mentre que el corrent degut a la reducció de l'Ox adsorbit, que no pressuposa cap procés de transport vers la superfície de l'elèctrode, segueix una disminució amb el temps més ràpida (comportament pseudocapacitatiu). A potencials més negatius $c_{\text{ox}}(x=0)$ disminueix, i així també Γ_{ox} . La magnitud de $d\Gamma_{\text{ox}}/dt$ i del component del corrent corresponent (el degut a reducció del reactant adsorbit) és limitada principalment per la difusió de Red i adopta valors més grans. Especialment per a temps d'impuls t_p petits, el corrent degut a la reducció de la substància adsorbida pot ésser molt més gran que el corrent de difusió; així, poden resultar corrents totals molt intensos. A potencials més negatius, aquest component del corrent desapareix gradualment de l'escala de temps de mesura experimental, i només hi resta el component difusional. Com és usual, aquest component esdevé màxim en el límit per a $c_{\text{ox}}(x=0) = 0$. Les condicions normals en NPP impliquen que el temps d'impuls és molt més petit que el temps inicial d'espera, $t_p \ll t_{\text{ox}}$, de manera que el gruix de la capa de difusió de l'impuls, δ_p , és molt més petit que el gruix δ_0 de la capa de depleció adsorbent. L'electròlisi que té lloc durant l'impuls només cobreix una petita part del gruix d'aquesta capa de depleció adsorbent i, així, «veu» una concentració global aparent c_{ox} menor que c_{ox}^0 . La conseqüència és que el corrent límit de difusió en NPP és molt menor que el que seria en una situació d'absència d'adsorció.

Aquests raonaments qualitatius condueixen a uns polarogrames NP d'una forma com la indicada a la figura 3. Al començament de l'ona, la contribució de la reducció del reactant adsorbit dóna lloc a un màxim; eventualment s'arriba a un corrent límit, disminuït en relació amb el del cas d'absència d'adsorció. Per a adsorció més forta, la reducció del reactant adsorbit, com s'ha indicat abans, esdevé més difícil i es desplaça cap a potencials més negatius, i dóna un màxim superposat damunt del corrent límit (un «postpic»). Encara que no el discutirem aquí, incloem el polarograma NP corresponent a l'adsorció forta del producte de reducció Red:

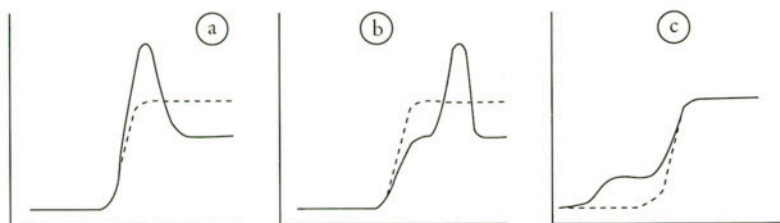


FIGURA 3. Modificació dels polarogrames impulsional normals deguda a l'adsorció: *a*) adsorció no gaire forta del reactant Ox; *b*) adsorció forta del reactant Ox, que dóna un «postpic»; *c*) adsorció forta del producte Red, que dóna una «preona». (Les corbes de traç interromput són corbes de referència, sense adsorció.) (Reproduït de la ref. (10).)

si les concentracions de reactants són prou grans observarem una «preona» relacionada amb la formació d'una capa adsorbida de Red.

Per altres tècniques, com ara la polarografia diferencial d'impulsos (DPP), el raonament és més intricat, ja que en el període que precedeix l'impuls tenen lloc simultàniament adsorció i reacció faradaica. A més, pot tenir un paper significatiu la forma en què l'adsorció depèn del potencial. En el cas de DPP, la reducció parcial del reactiu adsorbit també fa augmentar el corrent. Per a adsorció no gaire forta, i especialment per a valors més petits de t_p , això produeix un augment de l'alçada del pic polarogràfic (figura 4a). Com en NPP, quan l'adsorció esdevé més i més forta la reducció del reactant adsorbit es desplaça vers potencials més negatius i pot aparèixer un pic separat a un potencial $E < E_{1/2}$ en el cas d'adsorció forta del reactant Ox (figura 4b) o a $E > E_{1/2}$ en el cas d'adsorció forta del producte Red (figura 4c). Com abans, el component de corrent degut a la conversió del material adsorbit depèn fortament de t_p , i marca una dràstica diferència amb el component del corrent controlat per difusió. Per al reconeixement de la presència de fenòmens d'adsorció, aquesta característica pot ésser fins i tot més important que la forma dels polarogrames DP, que només en casos més aviat extrems mostren signes de la pèrdua del control per difusió com els indicats a la figura 4.

El tractament quantitatiu del procés electròdic en presència d'adsorció parteix del model (en el qual, de moment, no fem intervenir reaccions de complexació):

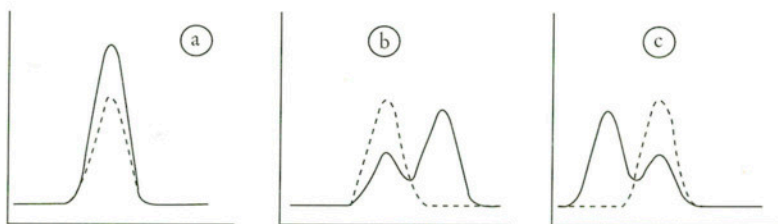
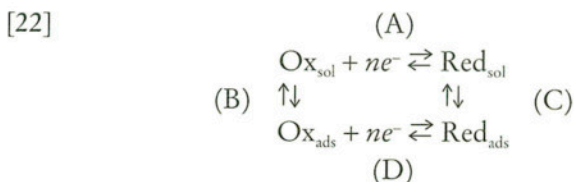


FIGURA 4. Modificació dels polarogrames impulsional diferencials deguda a l'adsorció: *a*) adsorció no gaire forta del reactant Ox; *b*) adsorció forta del reactant Ox, que dona un «postpic»; *c*) adsorció forta del producte Red, que dona un «prepic». (Les corbes de traç interromput són corbes de referència, sense adsorció.) (Reproduït de la ref. (10).)



que implica una distinció entre el potencial redox normal del parell Ox/Red en solució i en estat adsorbit. El punt de partida de la teoria és constituït per les equacions de continuïtat per a Ox i per a Red presents a la solució. En la condició voltamperomètrica usual que els coeficients d'activitat d'Ox i de Red no són funcions del temps ni de l'espai, tenim:

$$[23] \quad \partial c_i / \partial t = D_i \nabla^2 c_i \quad (i = \text{Ox}, \text{Red})$$

Sempre que les reaccions d'adsorció/desorció (passos B i C en el model) siguin prou ràpides per a garantir l'equilibri, la relació entre les concentracions c_i^0 a la part de la solució en contacte amb la superfície de l'elèctrode i els excessos superficials Γ_i és donada per la isoterma d'adsorció:

$$[24] \quad \Gamma_i = f(c_i^0)$$

En el règim lineal d'Henry, aquesta equació pren la forma senzilla:

$$[25] \quad \Gamma_i = k_i c_i^0$$

En molts experiments de polarografia d'impulsos intervenen parts de la isoterma que són molt lluny del règim lineal. Aleshores, cal especificar la forma de la isoterma, per exemple isoterma de Langmuir o isoterma de Frumkin.

La densitat de corrent j està relacionada directament als balanços dels fluxos superficials de les espècies electroactives. Així, per al cas unidimensional la relació és

$$[26] \quad x = 0: \quad (j/nF) = \mp D_i (\partial c_i / \partial x) \pm (d\Gamma_i / dt)$$

amb els signes indicats a dalt per a $i = \text{Ox}$, i els indicats a baix per a $i = \text{Red}$.

Si la relació de transferència d'electrons (pas A o pas D de l'esquema model) és prou ràpida perquè la seva velocitat no afecti el senyal voltamperomètric (a l'escala de temps seleccionada), hom pot aplicar l'equació de Nernst a les concentracions d'Ox i de Red a la superfície de l'elèctrode,

$$[27] \quad c_{\text{ox}}^0 / c_{\text{Red}}^0 = \exp [nF(E - E_0) / RT]$$

així com també a Γ_{ox} i Γ_{red} amb el seu potencial normal corresponent. Si, d'altra banda, hi ha un cert grau d'irreversibilitat, l'equació de Nernst no s'aplica a la situació interfacial i s'han de plantejar equacions cinètiques de transferències d'electrons del tipus (11).

$$[28] \quad j/nF = -k_A \{c_{\text{ox}}^0 \exp(-\alpha_A \Phi_A) - c_{\text{Red}}^0 \exp[(1-\alpha_A)\Phi_A]\} \\ - k_D \{\Gamma_{\text{ox}} \exp(-\alpha_D \Phi_D) - \Gamma_{\text{Red}} \exp[(1-\alpha_D)\Phi_D]\}$$

on k_A i k_D són les constants de velocitat de les reaccions de transferència electrònica de les espècies dissoltes i adsorbides, respectivament (cal remarcar que són de dimensions diferents); α_A i α_D són els coeficients de transferència corresponents; Φ_A i Φ_D representen les funcions $nF(E - E_0) / RT$ i $nF(E - E_{0,\text{ads}}) / RT$, respectivament, essent $E_{0,\text{ads}}$ el potencial normal de la reacció redox en estat adsorbit (reacció D).

El pas següent és el de formular les condicions inicials i les condicions de contorn. Aquestes poden diferir d'un experiment a un altre. Aquí considerarem com a exemple el cas en què a la solució només hi ha present l'espècie Ox i en què l'elèctrode no està en contacte amb la solució abans del $t = 0$. Aleshores tenim, inicialment

$$[29] \quad t = 0, x \geq 0 : c_{\text{ox}} = c_{\text{ox}}^{\circ}, c_{\text{Red}} = 0 \\ \Gamma_{\text{ox}} = \Gamma_{\text{Red}} = 0$$

$$t > 0, x \rightarrow \infty c_{\text{ox}} = c_{\text{ox}}^{\circ}, c_{\text{Red}} = 0$$

$$[30] \quad \text{NPP} \quad \text{DPP}$$

$$0 < t < t_0 \quad E = E_i \quad E = E_{\text{rampa}}$$

$$t_0 < t < t_0 + t_p \quad E = E_{\text{rampa}} \quad E = E_{\text{rampa}} - \Delta E$$

$$t > 0, x = 0 \quad j = \text{segons eq. [26], cas reversible; segons eq. [28],} \\ \text{cas quasi reversible}$$

transferència electrònica rev.: $c_{\text{ox}}^{\circ}/c_{\text{Red}}^{\circ}$ donada per eq. [27].
adsorció reversible: $\Gamma_{\text{ox}}, \Gamma_{\text{Red}}$ donats per eq. [24] o [25]

En NPP el potencial inicial E_i és escollit normalment ben positiu respecte E_{\circ} , de manera que en el període previ a l'impuls tenim: $c_{\text{ox}}^{\circ}/c_{\text{Red}}^{\circ} \rightarrow \infty, \Gamma_{\text{Red}} \rightarrow 0$ i $j \rightarrow 0$. El que resta de l'equació general és l'equació de flux per al transport difusional purament adsorbent de Ox.

L'equació general [26] fou escrita per a una situació de transport lineal, i així, pot ésser aplicada al cas d'un elèctrode estacionari pla. Per a altres geometries electròdiques hom arriba a expressions diferents. Per exemple, en el cas d'un elèctrode esfèric estacionari com el de gotes de mercuri estàtic (SMDE), les equacions [23] i [27] prenen la forma

$$[31] \quad \partial c_i / \partial t = D_i (\partial^2 c_i / \partial r^2) + 2(D_i / r) (\partial c_i / \partial r)$$

$$[32] \quad r = r_{\circ} ; (i/nF) = \mp D_i (\partial c_i / \partial r) \pm d\Gamma_i / dt$$

on r és la coordenada radial, i r_{\circ} , el radi de l'elèctrode. A la literatura electroquímica especialitzada es troben expressions per a altres geometries.

Han estat publicades solucions d'aquests sistemes d'equacions a diversos nivells i per a una diversitat de condicions. Contribucions importants són degudes a Flanagan *et al.* (12) (primeres simulacions dels principals efectes), a van Leeuwen *et al.* (13) (expressions analítiques quantitatives per al corrent límit de NPP), a Lovric (14) (simulació rigorosa de les ones completes de NPP i de DPP, incloent-hi complicacions com la de la irreversibilitat). Finalment, Puy, Mas i Sanz (15), i Gálvez *et al.* (16), han realitzat

descripcions generalitzadores i unificadores de la teoria. Ostryoung (17) ha fet comentaris crítics sobre el nombre potser massa alt de publicacions teòriques en aquest camp particular, la qual cosa no és sinó un reflex de la seva dificultat conceptual i de resolució.

5.3.2. Consideració simultània de la complexació i de l'adsorció electròdica

Com que l'adsorció del lligand i l'adsorció induïda dels ions metàl·lics són fenòmens molt generals (cas, per exemple, dels lligands macromoleculars presents en els medis naturals), hom ha realitzat intents diversos per a resoldre el problema de l'especiació per tècniques voltamperomètriques modernes, intents que adquireixen una significació major quan els sistemes naturals esdevenen objecte d'estudi detallat en connexió amb problemes ambientals (5, 18).

Les diverses tècniques voltamperomètriques modernes fan ús de diferents senyals d'excitació (figura 2) de formes especials dissenyades per a obtenir senyals de resposta amb més sensibilitat o amb més contingut d'informació i que treballen a escales de temps molt diferents, de manera que són diferentment sensibles als efectes cinètics esmentats, i una combinació adient de tècniques pot permetre l'estudi d'aquests efectes. El mateix concepte de reversibilitat electroquímica resulta ésser un concepte relatiu que depèn de l'escala de temps d'observació emprada.

Els casos possibles d'adsorció són molt variats, i un estudi general de tots ells surt fora de la capacitat, i potser també de l'interès, dels electroquímics. Hi ha, però, uns quants casos particulars que sí que posseeixen un interès patent, i hom intenta de resoldre'ls. Tres casos diferents d'adsorció immediatament distingibles són *a*) l'espècie que és adsorbida a l'elèctrode, *X*, és no electroactiva i no complexant; *b*) l'espècie adsorbida *Z* és electroactiva, i *c*) l'espècie adsorbida *L* no és electroactiva però és complexant i reaccionarà amb l'ió metàl·lic *M* i donarà el complex *ML* (adsorció induïda). Aquest és el cas que majorment ens interessa en aquest estudi, el de l'adsorció lligada a la complexació. Si la constant d'estabilitat d'aquest complex en solució no és gaire gran, i en canvi ho és la constant de l'equilibri d'adsorció, l'espècie *ML* pràcticament no existeix en solució i sí només a l'estat adsorbit. *M* i *ML* sofreixen difusió

també els valors numèrics dels paràmetres pertinents. Si no ho són, cas que es dona molt sovint, llur determinació prèvia sol exigir un esforç considerable. Alguns intents que han estat realitzats (19) d'aplicar aquest tipus de correcció a dades voltamperomètriques (DPP) relatives a alguns processos de complexació dels quals era ben conegut el comportament adsorció han donat resultats que no han estat plenament satisfactoris.

Un altre enfocament de tipus experimental, que equival a corregir també les dades pels efectes assignables a l'adsorció, aprofita les grans diferències existents entre les diverses tècniques voltamperomètriques en els intervals de temps t_m emprats per a mesurar el senyal elèctric (i també en el temps de mostra t_s), així com la possibilitat que algunes de les tècniques proporcionen (per exemple, DPP i NPP) de controlar estretament el temps t_w de contacte de la solució amb l'elèctrode abans de mesurar el senyal, que és el temps disponible per a produir-se l'adsorció. Per a més detalls hom remet els interessats a les referències originals (20-22).

Acabem de descriure molt breument alguns punts de l'enfocament purament experimental; sembla, però, que l'atac o enfocament numèric del problema en qüestió, el tractament de les dades voltamperomètriques relatives a reaccions de complexació en presència d'adsorció, hauria d'ésser més prometedor. Com ja hem dit, la formulació teòrica d'un procés electròdic amb adsorció de reactant ha estat estudiada àmpliament, especialment en el cas de la polarografia impulsional normal (NPP). No obstant això, hom no disposa de cap marc teòric general adequat al cas aquí plantejat de processos electròdics acoblats a cinètiques homogènies de complexació. La resolució analítica general de les equacions implicades sembla que no és possible; la resolució ha d'abordar-se, doncs, per simulació digital (per resolució numèrica de les equacions diferencials en derivades parcials). Quan aquest mètode es porta a la pràctica, amb molta freqüència es presenten dificultats greus, perquè el resultat obtingut és inestable (el mínim obtingut en el procés iteratiu de minimització dels residuals pot ésser només aparent, la superfície de resposta potser adoptant la forma de sella de muntar), perquè el temps de càlcul s'allarga desorbitadament, o per altres raons. El mètode implica adoptar hipòtesis relatives al tipus d'isoterma d'adsorció (Langmuir, Frumkin, o altres) i refinar per iteració els valors dels paràmetres d'adsorció (que poden ésser a llur torn funció del potencial aplicat), dels paràmetres electroquímics i

de les constants de l'equilibri (o dels equilibris) de complexació. Les dimensions formidables del problema es redueixen quan hom introdueix les tres restriccions següents: *a*) el lligand és present en un bon excés, *b*) el sistema és electroquímicament reversible, i *c*) les cinètiques d'associació i de dissociació són prou ràpides per a mantenir en tot el sistema les concentracions d'ió metàl·lic i de complex que corresponen a la situació de l'equilibri químic. Aquesta situació, amb aquestes restriccions, rep la denominació d'«el cas làbil»; aquest cas admet un tractament matemàtic basat en l'extensió del formalisme desenvolupat per Reinmuth i Balasubramanian (23) i per Puy, Mas, *et al.* (15, 24). En efecte, aquestes restriccions permeten transformar el problema matemàtic en un de variables separables, que hom pot resoldre emprant el mètode de transformació de Laplace. Aquesta tècnica és molt útil perquè permet d'obtenir expressions analítiques, exactes i aproximades, i interpretar bé alguns casos límit, i perquè facilita l'ús de procediments d'optimització per a obtenir els valors dels paràmetres físics del model. (Per a aplicar el mètode de transformació de Laplace no és totalment necessària la tercera restricció; els autors, però, la mantenen per conservar un paral·lelisme amb el cas sense adsorció tractat per de Jong *et al.* [6].)

A partir del tractament teòric desenvolupat per al cas sense complexació (15), introduint en el model la formació de complexos làbils, es pot veure (25-27) que la solució matemàtica del problema correspon a la solució del següent sistema d'equacions diferencials

$$[33] \quad \frac{\partial c_{M^e}}{\partial t} = D_{M^e} \frac{\partial^2 c_{M^e}}{\partial x^2}$$

$$[34] \quad \frac{\partial c_M}{\partial t} = D_M \frac{\partial^2 c_M}{\partial x^2} + k_a c_{ML} - k_d c_M c_L$$

$$[35] \quad \frac{\partial c_{ML}}{\partial t} = D_{ML} \frac{\partial^2 c_{ML}}{\partial x^2} + k_a c_M c_L - k_d c_{ML}$$

amb les següents condicions inicials:

$$[36] \quad t = 0, \quad \forall x > 0; \quad c_M = c_M^0; \quad c_L = c_L^0; \quad c_{ML} = c_{ML}^0; \quad c_{M^e} = 0$$

$$[37] \quad t = 0, \quad \Gamma_{ML} = \Gamma_L = 0$$

i les següents condicions de contorn

$$* x \rightarrow \infty$$

$$[38] \quad c_M = c_M^0; \quad c_L = c_L^0; \quad c_{ML} = c_{ML}^0; \quad \forall t$$

$$* x \rightarrow -\infty$$

$$[39] \quad c_{M^0} = 0; \quad \forall t$$

$$* x \rightarrow 0$$

$$[40] \quad \frac{c_M(0, t)}{c_{M^0}(0, t)} = \exp \left\{ \frac{nF}{RT} (E(t) - E_0) \right\}$$

$$[41] \quad D_M \left(\frac{\partial c_M}{\partial x} \right)_{x=0} + D_{M^0} \left(\frac{\partial c_{M^0}}{\partial x} \right)_{x=0} = 0$$

$$[42] \quad D_{ML} \left(\frac{\partial c_{ML}}{\partial x} \right)_{x=0} = \frac{d\Gamma_{ML}}{dt}$$

$$[43] \quad \Gamma_{ML}(t) = f \{ c_{ML}(0, t), c_L^0 \}$$

$$[44] \quad \Gamma_L(t) = f \{ c_{ML}(0, t), c_L^0 \}$$

on c_p , c_p^0 , D_i i Γ_i són, respectivament, la concentració, la concentració en el si de la solució, el coeficient de difusió i l'excés superficial sobre l'electrode en el temps t de les espècies i . L'equació [33] prové de la difusió de M^0 en el mercuri de l'electrode, que també hom suposa controlada per difusió plana semiinfinita. Les equacions [43] i [44] representen el tipus d'isoterma d'adsorció.

La hipòtesi de sistema làbil condueix a

$$[45] \quad K' \equiv Kc_L^0 = \frac{c_{ML}(x, t)}{c_M(x, t)} \quad \forall x, t$$

on K és la constant d'estabilitat del complex i $c_L(x, t)$ ha estat substituït per c_L^* d'acord amb la hipòtesi d'excés del lligand (condició a), que permet ignorar el transport de L .

Amb aquestes condicions el sistema d'equacions diferencials es pot desacoblar per a les variables c_M i c_{ML} . Seguint la metodologia de D'Alembert i introduint la definició $c_T = c_M + c_{ML}$ podem transformar el sistema en el següent,

$$[46] \quad \frac{\partial c_{M^*}}{\partial t} = D_{M^*} \frac{\partial^2 c_{M^*}}{\partial x^2}$$

$$[47] \quad \frac{\partial c_T}{\partial t} = \bar{D} \frac{\partial^2 c_T}{\partial x^2}$$

on \bar{D} , com ja s'havia indicat anteriorment, és el coeficient de difusió mitjà del sistema:

$$[48] \quad \bar{D} \equiv \frac{D_M c_M + D_{ML} c_{ML}}{c_M + c_{ML}} = \frac{D_M + D_{ML} K'}{1 + K'}$$

i les condicions de contorn (equacions [40], [41] i [42]) per a qualsevol $t > 0$ es transformen en:

$$[49] \quad \frac{c_T(0, t)}{c_{M^*}(0, t)} = (1 + K') \exp \left\{ \frac{nF}{RT} (E(t) - E_0) \right\}$$

$$[50] \quad \bar{D} \left(\frac{\partial c_T(x, t)}{\partial x} \right)_{x=0} + D_{M^*} \left(\frac{\partial c_{M^*}(x, t)}{\partial x} \right)_{x=0} = \frac{d\Gamma_{ML}}{dt}$$

Així, hom pot escriure la solució general de l'ona polarogràfica ($i = f(E)$), (o funció de resposta de la NPP), en el supòsit de transferència reversible de càrrega, de la forma

$$[51] \quad I_{NPP} = nFA \left(\frac{\delta}{1 + \delta} \right) \left\{ \sqrt{\frac{\bar{D}}{\pi}} \left[\frac{c_T^*}{\sqrt{t_d}} + \frac{c_T(0, t_0)}{\sqrt{t_p}} - \int_0^{t_0} \frac{c_T'(0, \tau)}{\sqrt{t_d - \tau}} d\tau \right] - \left(\frac{d\Gamma_{ML}}{dt} \right)_{t=L_d} \right\}$$

on les primes (') representen la derivada de la funció respecte al temps, i t_d i t_p són el temps de vida de la gota i de durada de l'impuls, respectivament. El temps t_0 es defineix com el temps de preimpuls ($t_0 = t_d - t_p$), considerant l'origen de temps al principi de cada gota.

El terme δ present a l'equació general de l'ona és una funció del potencial, típica d'una ona polarogràfica reversible (sigmoide) definida en la forma:

$$[52] \quad \delta(t) \equiv \sqrt{\frac{D_M^o}{\bar{D}}} \frac{1}{[1 + K']} \exp \left\{ -\frac{nF}{RT} (E(t) - E_0) \right\}$$

Finalment, el terme $c_T(0, t_0)$ és la concentració al voltant de la superfície de l'elèctrode que satisfà la següent equació integral,

$$[53] \quad \Gamma_{ML}(t) = \left(2\sqrt{\frac{\bar{D}}{\pi}} \right) \left\{ c_T^o \sqrt{t} - \frac{1}{2} \int_0^t \frac{[1 + \delta(\tau)] c_T(0, \tau)}{\sqrt{t - \tau}} d\tau \right\}$$

que hom pot resoldre combinant-la amb una isoterma d'adsorció, per exemple, la isoterma de Langmuir, tant per al lligand L com per al complex ML . S'ha de dir que aquest tipus d'isoterma presenta l'avantatge de contenir un petit nombre de paràmetres i permet estendre els resultats qualitius obtinguts a altres tipus d'isotermes. Així doncs, les equacions [43] i [44] es poden escriure, respectivament, de la forma

$$[54] \quad \theta_L(t) = \frac{K_L c_L^o}{1 + K_L c_L^o + K_{ML} c_{ML}(0, t)}$$

$$[55] \quad \theta_{ML}(t) = \frac{K_{ML} c_{ML}(0, t)}{1 + K_L c_L^o + K_{ML} c_{ML}(0, t)}$$

on $\theta_i(t) = \Gamma_i(t) / \Gamma_m$ és el recobriment de l'espècie i (L i ML), i Γ_m és la concentració superficial màxima mitjana d'ambdues espècies. K_L i K_{ML} són els coeficients d'adsorció de L i ML , respectivament, que hom pot suposar, en primera aproximació, independents del potencial aplicat.

Considerant que l'equació [53] depèn de $c_T(0, t)$, hom pot escriure una relació entre Γ_{ML} i $c_T(0, t)$. Fent ús de la condició $c_T = c_M + c_{ML}$ i de la constant d'equilibri que es deriva de la hipòtesi de labilitat (equació [45]), l'equació [55] es transforma en

$$[56] \quad \theta_{ML}(t) \equiv \frac{\Gamma_{ML}(t)}{\Gamma_m} = \frac{\tilde{K}_{ML} c_T(0, t)}{1 + K_L c_L^* + \tilde{K}_{ML} c_T(0, t)}$$

on:

$$[57] \quad \tilde{K}_{ML} \equiv K_{ML} \frac{K'}{1 + K'}$$

Substituint el valor de Γ_{ML} donat per l'equació [56] en l'equació [53], s'obté una equació integral no lineal per a la funció $c_T(0, t)$ que es pot resoldre mitjançant procediments numèrics, anàlogament al cas d'adsorció de reactiu en polarografia normal d'impulsos.

És interessant fer notar que en absència d'adsorció aquesta equació es redueix a l'expressió simplificada,

$$[58] \quad I_{NPP} = \frac{\delta}{1 + \delta} \left\{ nFA \frac{c_T^* \sqrt{D}}{\sqrt{\pi t_p}} \right\}$$

que és coincident amb la que s'obté en el model de van Leeuwen *et al.* (5), com era lògic esperar. L'anàlisi del potencial de semionia mitjançant el model proposat en absència d'adsorció també proporciona una equació idèntica a la trobada per van Leeuwen *et al.*:

$$[59] \quad \frac{nF}{RT} \Delta E_{1/2} = -\frac{1}{2} \ln \left(\frac{\bar{D}}{D_M} \right) - \ln(1 + K')$$

En l'anàlisi segons Cottrell (I_{lim} vs $t_p^{-1/2}$) del corrent límit, hom observa que els efectes de la complexació i de l'adsorció són similars en un aspecte: fan disminuir els valors de I_{lim} sense que es perdi la linealitat, és a dir, s'obté una recta de pendent menor. Per tant, en presència d'adsorció, el valor de la constant d'estabilitat K obtingut emprant dades derivades exclusivament de I_{lim} o altres magnituds del tipus Cottrell resulta més alt que l'obtingut si es té en compte l'adsorció.

Atès que els efectes de la complexació (mesurats per K) i els de l'adsorció (mesurats per K_{ML}) sobre el comportament experimental són tan semblants, l'ajust no lineal de l'equació general [51] als valors experimentals dels corrents límit pot resultar incòmode i ambigu. Quan coexisteixen adsorció i complexació caldrà doncs analitzar conjuntament tota l'ona polarogràfica NPP completa, mitjançant un estudi de simulació de la seva dependència paramètrica, fent ús directament de l'equació [51].

Hom pot deduir així separatament els efectes que l'adsorció del lligand, l'adsorció induïda del complex i la complexació, exerceixen sobre la forma i posició de la corba de resposta obtinguda per NPP.

Tot i que l'aplicació del model descrit a sistemes experimentals rendeix resultats satisfactoris, també presenta l'inconvenient que exigeix la realització de càlculs llargs per iteració mitjançant ordinadors de potència elevada. És per això que en alguns casos pot ser interessant disposar d'equacions analítiques aproximades que permetin d'obtenir, si no tota, una bona part de la informació que proporcionaria el model rigorós però fent servir un procediment de càlcul més senzill i ràpid (28).

Així, l'anàlisi de l'equació rigorosa general mostra que per a unes condicions experimentals y voltamperomètriques donades, la representació de la intensitat en funció del potencial és el producte d'una sigmoide per la suma d'un primer terme constant, independent del potencial, i un segon terme que sí que depèn del potencial i que és el responsable de l'aparició del pic. D'aquesta manera, és possible descompondre la intensitat total en suma d'un component sigmoide i un component de pic:

$$[60] \quad I_{\text{NPP}} = (I_{\text{NPP}})_{\text{sigm}} + (I_{\text{NPP}})_{\text{pic}}$$

$$[61] \quad (I_{\text{NPP}})_{\text{sigm}} \equiv \frac{c(K)e^{ax}}{1 + c(K)e^{ax}} \{(I_{\text{NPP}})_{\text{lim}}\}$$

$$[62] \quad (I_{\text{NPP}})_{\text{pic}} \equiv \frac{c(K)e^{ax}}{1 + c(K)e^{ax}} \left\{ -nFA \left(\frac{d\Gamma_{ML}}{dt} \right)_{t=td} \right\}$$

on $(I_{\text{NPP}})_{\text{lim}}$ és la intensitat límit, a és el factor nF/RT , x és l'increment del potencial respecte al potencial d'equilibri canviat de signe i $c(K)$ és una funció de la constant K , definida en la forma

$$[63] \quad c(K) \equiv \sqrt{\frac{D_{M^p}}{D_M}} \frac{1}{\sqrt{(1 + \varepsilon K')(1 + K')}}$$

on ε és la raó entre els coeficients de difusió del complex i del metall lliure ($= D_{ML}/D_M$).

Arribats a aquest punt, és interessant remarcar que l'expressió del component sigmoide és analítica i independent de qualsevol hipòtesi sobre l'adsorció, ja que la intensitat límit pot ser determinada experimentalment. En canvi, en l'expressió del component de pic apareix un terme que hom ha de calcular numèricament postulant una determinada isoterma d'adsorció (en el nostre cas, tipus Langmuir). Com que la constant K és el paràmetre de major interès analític, hom podria portar a terme l'ajust de tota l'ona expressant el component sigmoide en la mateixa forma que en el model rigorós i el component de pic com una expressió semiempírica amb paràmetres ajustables sense significat físic. D'aquesta manera, com a canvi per no obtenir informació sobre l'adsorció, es fa possible el càlcul de K d'una forma molt més senzilla i ràpida, que hom pot portar a terme mitjançant un ordinador personal.

Després de provar diverses possibilitats, hom va decidir utilitzar per al component de pic la fórmula

$$[64] \quad (I_{\text{NPP}})_{\text{pic}} = \frac{ce^{ax}}{1 + ce^{ax}} \{-\beta\} + \frac{qe^{ax}}{1 + qe^{ax}} \left\{ \beta + \frac{re^{ax}}{(1 + se^{ax})^2} \right\}$$

amb la qual cosa l'expressió de la intensitat global queda en la forma

$$[65] \quad I_{\text{NPP}} = \frac{ce^{ax}}{1 + ce^{ax}} \{(I_{\text{NPP}})_{\text{lim}} - \beta\} + \frac{qe^{ax}}{1 + qe^{ax}} \left\{ \beta + \frac{re^{ax}}{(1 + se^{ax})^2} \right\}$$

on els paràmetres ajustables β , q , r , i s no tenen significat físic i el paràmetre c seria una estimació de la variable $c(K)$ del model rigorós que dóna el valor de la constant K .

Amb la intenció de comprovar la validesa d'aquesta aproximació, hom ha portat a terme un estudi exhaustiu, ajustant l'equació semiempírica a polarogrames simulats a partir del model rigorós i comparant els valors de c obtinguts en l'ajust amb els valors de $c(K)$ emprats en la simulació. També hom ha comparat els valors de K obtinguts mitjançant l'aplicació d'ambdós mètodes a polarogrames experimentals. En tots dos casos, els resultats indiquen que l'apro-

ximació és correcta sempre que l'alçada del pic no sigui molt més gran que la intensitat límit, la qual cosa pot ser aconseguida experimentalment variant el temps d'impuls o la concentració de lligand.

5.4. CONCLUSIÓ

La interpretació de les corbes voltamperomètriques de resposta en medis que contenen ions metàl·lics a nivells de concentració baixos i lligands macromoleculars, requereix models teòrics molt elaborats. La formulació d'aquests models es troba en una fase de millora progressiva, però són encara necessaris ulteriors progressos. Entre els punts que requereixen d'esforços teòrics i experimentals hom pot indicar:

1. L'estudi de l'efecte de la relació metall/ligand, i en especial la consideració de concentracions baixes (respecte a l'ió metàl·lic) del lligand, és a dir, l'incompliment de la hipòtesi d'excés de lligand. Aquest punt ha estat abordat darrerament, però la seva discussió cau fora de l'abast d'aquest treball (29, 30).
2. L'extensió dels avenços teòrics i experimentals a altres tècniques com la polarografia impulsional diferencial, polarografia impulsional inversa (31) i voltamperometria de redissolució anòdica.
3. L'estudi teòric més profund de l'efecte de l'heterogeneïtat fisicoquímica dels complexants macromoleculars naturals (32).
4. L'extensió del model a partícules, ja sigui en suspensió o en dispersió col·loïdal (33).

REFERÈNCIES

1. J. J. LINGANE (1941). *Chem. Revs.*, **29**, 1.
2. D. D. DEFORD i D. N. HUME (1951). *J. Am. Chem. Soc.*, **73**, 5321.
3. H. IRVING (1960). A: I. S. Longmuir [ed.], *Advances in Polarography*. Oxford: Pergamon Press, p. 42-47.
4. I. LEDEN (1941). *Z. Phys. Chem.*, **188**, 160.

5. H. P. VAN LEEUWEN, R. CLEVEN i J. BUFFLE (1989). *Pure Appl. Chem.*, **61**, 255.
6. H. G. DE JONG, H. P. VAN LEEUWEN i K. HOLUB (1987). *J. Electroanal. Chem.*, **234**, 1, 6; **235**, 1.
7. H. P. VAN LEEUWEN, H. G. DE JONG i K. HOLUB (1989). *J. Electroanal. Chem.*, **260**, 213.
8. M. ESTEBAN, H. G. DE JONG i H. P. VAN LEEUWEN (1990). *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, **38**, 75.
9. J. M. DÍAZ-CRUZ, C. ARIÑO, M. ESTEBAN i E. CASASSAS (1992). *J. Electroanal. Chem.*, **333**, 33.
10. H. P. VAN LEEUWEN, M. LOVRIC i J. BUFFLE (1992). *Pure Appl. Chem.*, **64**, 1015.
11. M. LOVRIC (1986). *J. Electroanal. Chem.*, **197**, p. 49.
12. J. B. FLANAGAN, F. C. ANSON, K. TAKAHASHI i A. YAMADA (1976). *J. Electroanal. Chem.*, **67**, 253; J. B. FLANAGAN, K. TAKAHASHI i F. C. ANSON (1977). *J. Electroanal. Chem.*, **81**, 261; **85**, 357.
13. H. P. VAN LEEUWEN (1982). *J. Electroanal. Chem.*, **133**, 201; H. P. VAN LEEUWEN, M. SLUYTERS-REHBACH i K. HOLUB (1982 i 1985). *J. Electroanal. Chem.*, **135**, 13; **191**, 293; K. HOLUB i H. P. VAN LEEUWEN (1984 i 1985). *J. Electroanal. Chem.*, **162**, 55; **191**, 281.
14. M. LOVRIC (1983 i 1984). *J. Electroanal. Chem.*, **153**, 1; **170**, 33; **181**, 35; S. KOMORSKY-LOVRIC i M. LOVRIC (1985 i 1989). *Electrochim. Acta*, **30**, 1143; *J. Electroanal. Chem.*, **190**, 1; M. LOVRIC (1987). *J. Electroanal. Chem.*, **218**, 77; **223**, 271.
15. J. PUY, F. MAS, F. SANZ i J. VIRGILI (1985). *J. Electroanal. Chem.*, **183**, 27; **183**, 41; **183**, 57; **183**, 73.
16. J. GÁLVEZ i S. M. PARK (1989). *J. Electroanal. Chem.*, **263**, 257; **263**, 269; J. GÁLVEZ, M. L. ALCARAZ i S. M. PARK (1989). *J. Electroanal. Chem.*, **263**, 293; **266**, 1.
17. J. G. OSTERYOUNG i M. M. SCHREINER (1988). *CRC Crit. Revs. Anal. Chem.*, **19**, S1.
18. J. BUFFLE (1988). *Complexation Reactions in Aquatic System, An Analytical Approach*. Chichester: Ellis-Horwood.
19. M. ESTEBAN i E. CASASSAS. [Resultats no publicats]
20. F. L. GRETER, J. BUFFLE i W. HAERDI (1979). *J. Electroanal. Chem.*, **101**, 211; J. BUFFLE i F. L. GRETER (1979). *J. Electroanal. Chem.*, **101**, 231; J. BUFFLE, F. L. GRETER, G. NEMBRINI, J. PAUL i W. HAERDI (1976). *Z. Anal. Chem.*, **282**, 339.

21. J. M. SEQUARIS i M. ESTEBAN (1990). *Electroanalysis*, **2**, 35.
22. J. M. SEQUARIS i P. VALENTA (1987). *J. Electroanal. Chem.*, **227**, 11.
23. W. K. REINMUTH i K. BALASUBRAMANIAN (1972). *J. Electroanal. Chem.*, **38**, 79; **38**, 293.
24. E. GUAUS, F. MAS, J. PUY i F. SANZ (1987). *J. Electroanal. Chem.*, **224**, 1; J. PUY, M. PLA, F. MAS i F. SANZ (1988). *J. Electroanal. Chem.*, **241**, 89.
25. F. MAS, J. PUY, J. M. DÍAZ-CRUZ, M. ESTEBAN i E. CASASSAS (1992). *J. Electroanal. Chem.*, **326**, 299.
26. J. PUY, F. MAS, J. M. DÍAZ-CRUZ, M. ESTEBAN i E. CASASSAS (1992). *J. Electroanal. Chem.*, **328**, 271.
27. J. PUY, F. MAS, J. M. DÍAZ-CRUZ, M. ESTEBAN i E. CASASSAS (1992). *Anal. Chim. Acta*, **268**, 261.
28. F. MAS, J. PUY, J. M. DÍAZ-CRUZ, M. ESTEBAN i E. CASASSAS (1993). *Anal. Chim. Acta*, **273**, 297.
29. J. PUY, S. SALVADOR, J. GALCERÁN, M. ESTEBAN, J. M. DÍAZ-CRUZ i F. MAS (1993). *J. Electroanal. Chem.*, **360**, 1.
30. J. PUY, J. GALCERÁN, J. SALVADOR, J. CECILIA, M. ESTEBAN, J. M. DÍAZ-CRUZ i F. MAS (1994). *J. Electroanal. Chem.* **374**, 223.
31. J. GALCERÁN, D. RENÉ, J. SALVADOR, J. PUY, M. ESTEBAN i F. MAS (1994). *J. Electroanal. Chem.*, **375**, 307.
32. M. FILELLA, J. BUFFLE i H. P. VAN LEEUWEN (1990). *Anal. Chim. Acta*, **232**, 209.
33. J. M. DÍAZ-CRUZ, J. H. A. M. WONDERS i H. P. VAN LEEUWEN (1995). *Electroanalysis*, **7**, 1143; J. M. DÍAZ-CRUZ, J. H. A. M. WONDERS, H. G. DE JONG i H. P. VAN LEEUWEN (1994). *J. Electroanal. Chem.*, **375**, 127.

6. CREIXEMENT FRACTAL: ALS LÍMITS DE LA MODELITZACIÓ

Francesc Mas^{*(+)}, Jordi Mach*, Pedro Pablo Trigueros*,
Josep Claret* i Francesc Sagués*

6.1. RESUM

La geometria fractal és una de les eines matemàtiques que caracteritzen millor la gran diversitat d'estructures que sorgeixen en els experiments de creixement fora de l'estat d'equilibri. Aquestes estructures es poden caracteritzar per llur complexitat i pel fet d'estar desordenades irregularment. Moltes d'elles presenten una invariància d'escala i es pot dir que són autosemblants en un sentit estadístic. Es presenta l'electrodeposició del Zn com a exemple experimental de la formació d'estructures fractals.

6.2. INTRODUCCIÓ

Una gran quantitat de científics (físics, químics, biòlegs,...) que treballen en àrees diferents han pogut observar que moltes de les estructures que acostumen a obtenir en llurs experiments posseeixen una mena especial de complexitat geomètrica. Aquesta àrea de coneixement ha estat considerablement inspirada per l'activitat de Benoit B. Mandelbrot, que ha cridat l'atenció sobre les propietats geomètriques de certs objectes que ens són ben familiars, com la costa dels continents, les branques dels arbres o la superfície dels núvols (1). B. B. Mandelbrot va introduir el nom *fractal* per a

* Departament de Química Física. Facultat de Química. Universitat de Barcelona. Martí i Franquès, 1. E-08028 Barcelona (Catalunya).
(+) Fax: (93) 402 12 31; e-mail: francesc@daphne.gf.ub.es

aquest tipus d'estructures, que estan caracteritzades per tenir una dimensió fraccionària (fractal) (1, 2).

Un camp important on s'observen estructures geomètriques més o menys complexes és el dels fenòmens de creixement lluny de l'equilibri, els quals són prou habituals en molts camps de la ciència i la tecnologia. Alguns exemples d'aquests processos inclouen la solidificació en un medi sobrefredat, els dits viscosos que són observats quan un fluid menys viscos és injectat en un altre que ho és més, l'agregació col·loïdal, la dissolució química, la cristallització d'una sal per precipitació química, la ruptura dielèctrica d'una descàrrega elèctrica dins d'un medi dielèctric, l'electrodeposició d'ions sobre un elèctrode i la formació de polímers conductors per electropolimerització (figures 1 i 2).

A principis de la dècada dels vuitanta, Witten i Sander van introduir l'algorisme d'agregació limitat per difusió (DLA, diffusion-limited aggregation) (3), el qual és considerat com la rutina idònia per a simular, almenys idealment, molts processos d'agregació i de deposició quan l'etapa limitadora és la difusió. Aquest

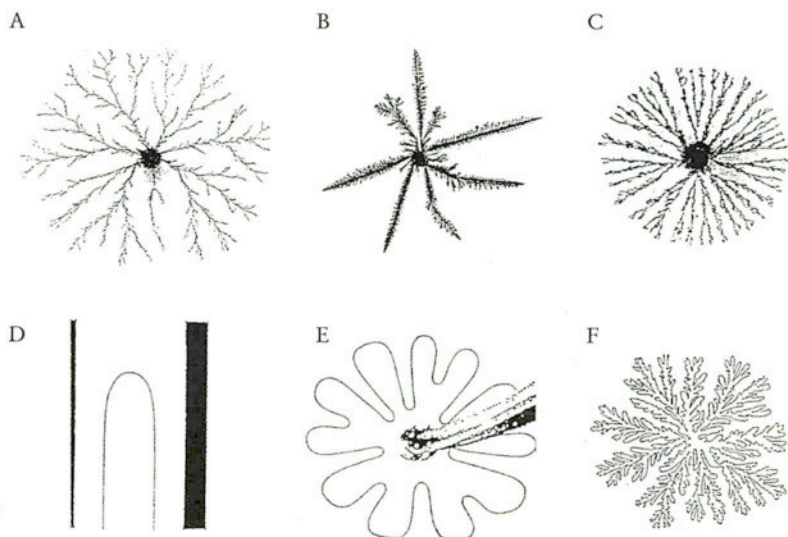


FIGURA 1. Exemples d'estructures que donen lloc a geometries complexes en diversos experiments de creixement d'interfases inestables. (A, B i C): electrodeposició de Zn. (D, E i F): digitacions viscoses (*viscous fingering*) d'aire injectat en oli.

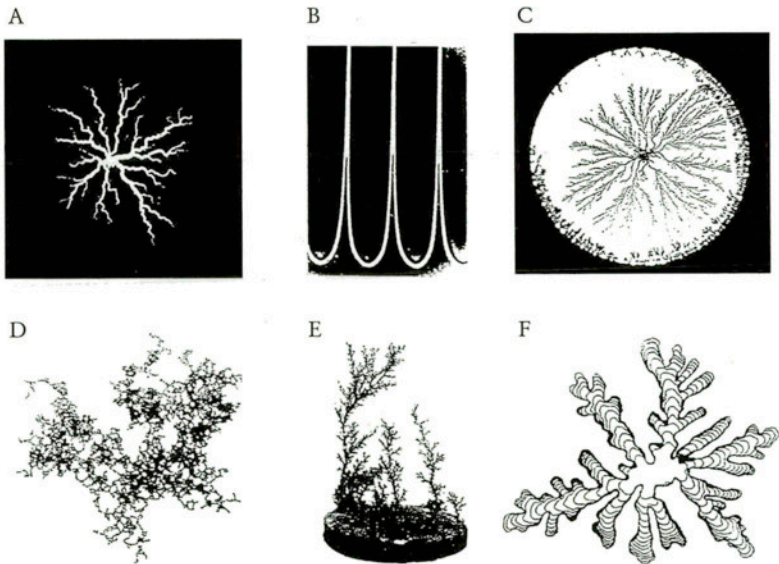


FIGURA 2. Altres exemples d'estructures complexes que apareixen en diversos tipus d'experiments: (A) descàrrega elèctrica en un dielèctric. (B) solidificació direccional d'àcid pivàlic. (C) electropolimerització de pirrole per donar un polímer conductor de polipirrole. (D) agregació col·loïdal d'or. (E) arbres tridimensionals obtinguts al final d'un experiment de dissolució química. (F) creixement d'un cristall de NH_4Cl per precipitació.

algorisme és usat generalment quan se sospita que el procés de creixement està regit per un camp laplaciana. L'estructura d'objectes desordenats, com els obtinguts per l'algorisme de DLA, pot ésser caracteritzada quantitativament en termes de la geometria fractal (1) calculant la dimensió fractal de la seva distribució de massa (4-6).

L'electrodeposició constitueix un exemple fascinant del fenomen de creixement sota condicions de no-equilibri. Comparant-la amb altres fenòmens de creixement, l'electrodeposició permet d'obtenir, depenent de les condicions experimentals, una gran quantitat de morfologies prou diferents, des de les que són molt desordenades (fractals) fins a les estructures anisotròpiques de les dendrites, aparentment ben ordenades (5). Aquí hom es concentrarà en la morfologia oberta-fractal, la qual sovint és tinguda en compte com un exemple paradigmàtic de l'algorisme introduït prèviament (DLA) (7).

6.3. GEOMETRIA FRACTAL

6.3.1. Què és una fractal?

En el passat, l'estudi matemàtic de conjunts i funcions es limitava als o a les que són suficientment suaus i regulars. Així, els que no complien aquests requisits tendien a ser ignorats. Actualment, l'interès per a estudiar conjunts i funcions més realistes, que en general solen ser menys regulars i menys suaus, ha donat lloc a l'estudi de la geometria fractal.

En la literatura és difícil trobar una definició satisfactòria del concepte de fractal. Així doncs, quan aquí ens referim a un conjunt fractal pensem en un conjunt que té alguna de les següents característiques, o totes elles (2, 8):

a) que és suficientment irregular per a no poder ésser descrit amb el llenguatge geomètric habitual, tant localment com globalment;

b) que té estructura fina, és a dir, que té detalls a qualsevol escala en què s'observa;

c) que sovint presenta alguna forma d'autosemblança, que pot ser aproximada o estadística;

d) que, usualment, té una dimensió fractal (definida d'alguna manera) més gran que la seva dimensió topològica, dimensió fractal que no té per què ser entera.

Fent ús d'aquestes quatre característiques, el litoral de la Costa Brava podria ésser un exemple d'un objecte susceptible d'ésser considerat com a fractal ja que és suficientment irregular, presenta una estructura fina, podria presentar alguna mena d'autosemblança i se'n podria calcular la dimensió fractal per a comprovar-ho. Que efectivament presenta estructura fina queda clar si es pensa només en el tipus d'observació que es faria depenent del patró utilitzat: si es fes amb un patró d'1 km s'observarien els caps, golfs i badies; si es mesurés amb un patró d'1 m s'observaria la distribució del rocam; si es mesurés amb un patró d'1 cm s'observaria la forma de les roques; si s'utilitzés fins i tot un patró d'1 μm s'observaria la rugositat de les roques; etc. Que és suficientment irregular, se seguiria igualment de les observacions anteriors. Pel que fa a l'autosemblança, s'hauria de comprovar (de forma estadística, potser) si la distribució del rocam presenta badies, caps i golfs; i també si cada roca presenta al seu torn també petits caps, golfs i badies;... En frac-

tals matemàtics es pot augmentar i disminuir l'escala d'observació tant com es vulgui, però quan es tracta d'observacions experimentals, com en el cas de la Costa Brava, en algun moment s'ha de tallar l'escala d'observació (per exemple quan s'arriba a escales moleculars i atòmiques, o quan se l'observa a escales tan grans que només es percep un punt).

De què serveix aleshores caracteritzar un conjunt (objecte) tan irregular? Doncs bé, permet de comprovar-ne l'autosemblança, i això ajuda a caracteritzar un objecte prou irregular a partir d'un patró i una regla de generació del conjunt. També permet, si es calcula la dimensió fractal, d'assignar una magnitud a aquesta irregularitat. Si el que s'observa és la gràfica de l'evolució temporal d'alguna magnitud, també podria fer-se alguna mena de previsió. A part d'aquests dos usos, també permet de comparar conjunts irregulars i dir si presenten algunes característiques comunes, com la dimensió fractal, la regla generadora, etc.

Un cop delimitat una mica el concepte de fractal, es pot veure com generar-ne una amb una regla molt senzilla. Aquesta fractal podria ser, per exemple, el conjunt de Cantor (degut a Georg Cantor, matemàtic alemany del segle XIX). La construcció d'aquest conjunt fractal s'inicia agafant un segment de longitud-unitat, partint-lo en tres parts iguals i eliminant-ne la del mig. Les parts dels extrems seran partides al seu torn en tres parts iguals, i així successivament fins a l'infinit (vegeu la figura 3). Aquesta regla fa que a cada iteració el nombre de segments es duplica; així, per la iteració k -èsima el nombre de segments és 2^k . La longitud de cada segment és $1/3$ de la longitud del segment en la iteració anterior; així, per la iteració k -èsima cada segment té longitud $(1/3)^k$. Aleshores, quan s'itera fins a l'infinit es té un objecte que té longitud, L ,

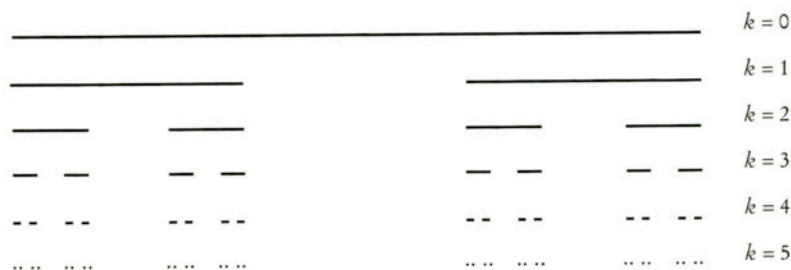


FIGURA 3. Construcció del conjunt de Cantor, $D_f = \log 2 / \log 3 = 0,6309\dots$

$$L(k) = 2^k \left(\frac{1}{3}\right)^k = \left(\frac{2}{3}\right)^k; \quad L = \lim_{k \rightarrow \infty} L(k) \rightarrow 0$$

nul·la, ja que es tenen 2^k segments de longitud $(1/3)^k$. Aleshores es pot dir que no es tracta d'una línia (dimensió euclidiana igual a 1). Però es disposa d'infinits elements $N(k)$

$$N(k) = 2^k; \quad \lim_{k \rightarrow \infty} N(k) \rightarrow \infty$$

que quan $k \rightarrow \infty$ són punts de mesura nul·la (dimensió euclidiana igual a 0). Així, aquest objecte ha de tenir una dimensió fractal que pertanyi a l'interval $[0, 1]$. Com es veurà més endavant, la dimensió fractal d'aquest conjunt és $D_f = \log 2 / \log 3 = 0,6909\dots$

Un altre exemple és la corba de Von Koch. Aquesta corba es construeix partint d'un segment unitat, que es divideix en tres parts iguals, se n'elimina la del mig i se n'afegeixen dos més com s'indica a la figura 4. Aleshores a cada segment se li aplica la mateixa operació, i així el procediment es repeteix fins a l'infinít. És fàcil veure que a la iteració k es tenen 4^k segments i que cada segment de la

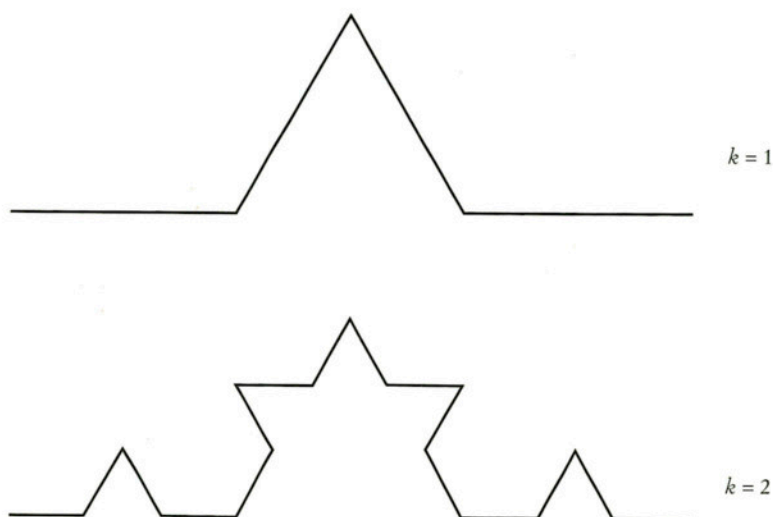


FIGURA 4. Construcció de la corba de Von Koch, $D_f = \log 4 / \log 3 = 1,2618\dots$

iteració k té una longitud $1/3^k$. Com que la longitud de la corba de von Koch és el nombre de segments (4^k) per la longitud de cada segment ($1/3^k$), resulta que, quan es fan infinites iteracions la longitud és:

$$L(k) = 4^k \left(\frac{1}{3}\right)^k = \left(\frac{4}{3}\right)^k; \quad L = \lim_{k \rightarrow \infty} L(k) \rightarrow \infty$$

i el nombre de segments:

$$N(k) = 4^k; \quad \lim_{k \rightarrow \infty} N(k) \rightarrow \infty$$

Així es té un objecte que té longitud infinita. Com que té longitud infinita, hom pot pensar que es tracta d'un objecte bidimensional, d'una superfície. Per a mesurar la seva àrea es poden sumar les àrees de les caixes quadrades de costat $1/3^k$ (àrea = $(1/3^k)^2$). Per cobrir tota la corba calen 4^k caixes. Així, l'àrea total de la corba de von Koch és

$$A(k) = 4^k \left(\frac{1}{3}\right)^{2k} = \left(\frac{4}{9}\right)^k; \quad A = \lim_{k \rightarrow \infty} A(k) \rightarrow 0$$

Noteu que la corba de von Koch té longitud infinita i àrea nul·la. Així, aquest objecte ha de tenir una dimensió fractal que pertanyi a l'interval $[1, 2]$. Com es veurà més endavant, la dimensió fractal d'aquest conjunt és $D_f = \log 4 / \log 3 = 1,2618\dots$

6.3.2. Dimensió fractal

Com s'ha vist en l'apartat anterior, les fractals presenten una característica pròpia que és la relació entre llur volum (mesura en un espai R^d , on d és la dimensió euclidiana) i llur mida lineal. Abans de demostrar res, primer és convenient recordar una sèrie de nocions. S'anomenarà d a la dimensió euclidiana on es troba inclòs l'objecte fractal. Òbviament, el volum d'un objecte fractal, $V(l)$, pot ésser mesurat cobrint-lo amb caixes d -dimensionals, de costat l . Aquesta aproximació és anomenada comptatge de caixes (*box-counting*). Aleshores, l'expressió

$$[1] \quad V(l) = N(l) l^d$$

dóna una estimació del volum, on $N(l)$ és el nombre de caixes necessàries per recobrir completament l'objecte, essent l molt més petit que L , la mida de l'objecte sencer. Per a objectes regulars, $V(l)$ convergeix ràpidament a un valor constant, mentre que per a les fractals s'obté típicament $V(l) \rightarrow 0$ quan $l \rightarrow 0$.

Si es considera que una fractal, malgrat tot, té un volum real ($\neq 0$) i, per tal de mantenir la igualtat [1], l'exponent d no pot ésser enter, aleshores aquest nou exponent, anomenat dimensió fractal D_f , és el que fa que l'expressió [1] doni un valor finit. Per a calcular la dimensió fractal D_f , hom assumeix que $V(1) = \text{constant}$ i de l'expressió [1] s'obté

$$[2] \quad N(l) \propto l^{-D_f}$$

Aquesta expressió també pot ser entesa en termes d'una longitud de caixa normalitzada, $\varepsilon \equiv l/L$, on L és la longitud màxima que cobreix l'objecte.

$$[3] \quad N(\varepsilon) \sim \varepsilon^{-D_f}; \quad D_f = \lim_{\varepsilon \rightarrow 0} \frac{\log N(\varepsilon)}{-\log \varepsilon}$$

En els dos exemples anteriors es veu com es poden arribar a conèixer $N(\varepsilon)$ i ε , i en tractar-se d'objectes construïts iterativament, fer el límit $\varepsilon \rightarrow 0$ equival a fer el límit $k \rightarrow \infty$, ja que tant ε com $N(\varepsilon)$ depenen de k . Així, en el cas del conjunt de Cantor: $N(k) = 2^k$ i $\varepsilon(k) = 1/3^k$; per tant, la dimensió fractal calculada a partir de [3] no depèn de k i és $D_f = \log 2 / \log 3 = 0,6309\dots$ Per a la corba de von Koch: $N(k) = 4^k$ i $\varepsilon(k) = 1/3^k$; per tant, la dimensió fractal calculada a partir de [3] tampoc depèn de k i és $D_f = \log 4 / \log 3 = 1,2618\dots$

Amb aquestes expressions ja es pot trobar la dimensió fractal de qualsevol objecte que hom pensés que és prou irregular, encara que no se sàpiga quin és el procés iteratiu seguit per a construir-lo. Per exemple, es pot intentar mesurar la longitud de la Costa Brava (figura 5) amb obertures de compàs de longitud diferent. Com pot veure's a la taula I, el nombre de caixes no disminueix proporcionalment amb la mida de la caixa (obertura del compàs), i si s'empra l'expressió d'una regressió lineal (figura 6) per tal d'obtenir D_f es té que la dimensió fractal de la Costa Brava és $D_f = 1,135 \pm 0,007$ (9). Noteu que no es tracta d'una línia recta, ni tan sols d'una corba regular: el perímetre de la Costa Brava és més que un objecte d'una

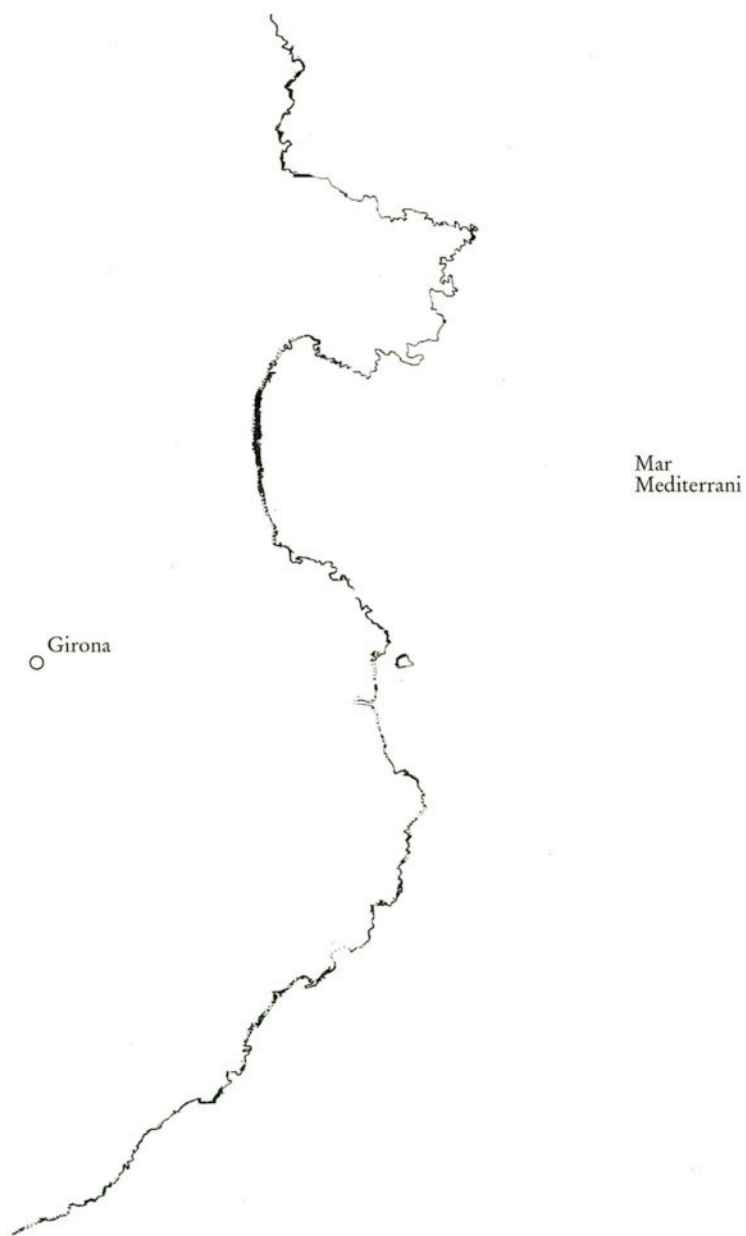


FIGURA 5. Perímetre de la Costa Brava.

sola dimensió (una corba) i menys que un objecte de dues dimensions (una superfície).

TAULA I

Resultats de mesurar la longitud de la Costa Brava variant el patró de mesura

<i>Escala</i>	<i>Patró (km)</i>	<i>Longitud total (km)¹</i>
1:50.000	0,55	148,5
	1,00	131,0
	2,00	118,0
	4,00	108,0
	8,00	104,0
	10,05	100,5
1:400.000	4,4	110,0
	8,0	104,0
	16,0	96,0
	74,0	74,0

¹Resultats obtinguts en mesurar la longitud de la Costa Brava (vegeu la figura 2) amb caixes de mida diferent (amb obertures de compàs diferents). Per a la realització d'aquest càlcul han estat emprats dos mapes editats per la Generalitat de Catalunya, «l'Alt Empordà» i «el Baix Empordà», d'escala 1:50.000, i un d'editat per Michelin, «Catalunya, Aragón y Valencia», d'escala 1:400.000.

6.3.3. *Dimensions fractals generalitzades*

Una forma millor de caracteritzar els objectes fractals, sobretot si són agregats experimentals, és en termes de les anomenades dimensions fractals generalitzades, D_q , on $q \in R$ és un índex que ens caracteritza la dimensió fractal. Això és adequat per a estructures fractals que necessiten un nombre infinit d'exponents, tipus dimensió, per a caracteritzar-ne les propietats d'escala (10).

Hi ha diferents procediments desenvolupats per a calcular l'espectre de dimensions fractals generalitzades. Aquí n'explicarem un de basat en un algorisme tipus comptatge de caixes (*box-counting*) semblant a l'introduït per a calcular D_f segons [3] (4, 5, 6, 7, 10). Es defineix una funció de partició (a causa de l'analogia amb la mecànica estadística):

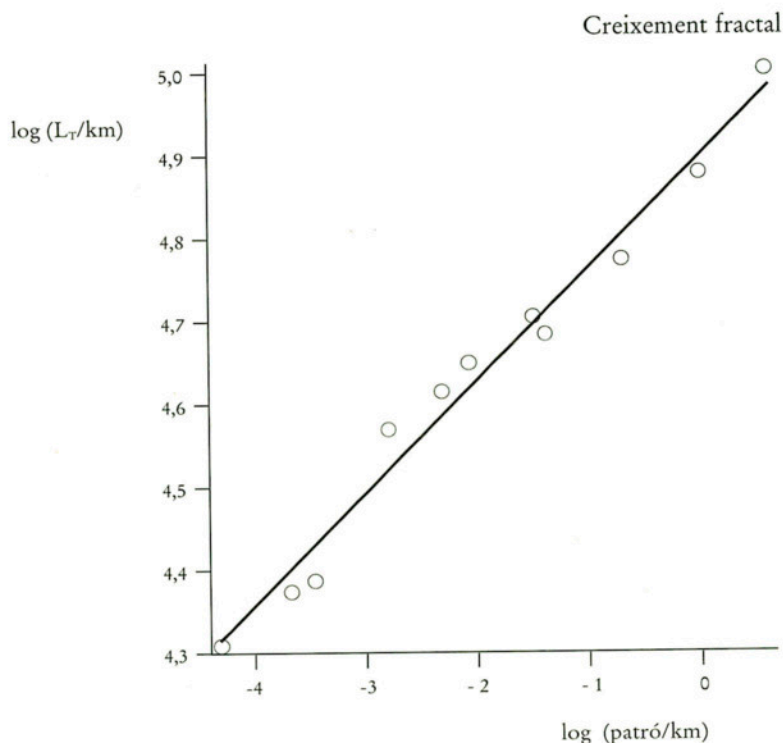


FIGURA 6. Representació logarítmica de la longitud de la Costa Brava enfront de la longitud del patró mesurador.

$$[4] \quad Z_q(\epsilon) \equiv \sum_{i=1}^{N(\epsilon)} p_i^q(\epsilon)$$

on $p_i(\epsilon)$ és la porció relativa de mesura (quantitat de partícules) continguda dins de la i -èsima caixa de mida lineal ϵ que recobreix l'agregat, de manera que, considerat el caràcter de probabilitat de p_i , es pugui establir la condició de normalització:

$$[5] \quad \sum_{i=1}^{N(\epsilon)} p_i(\epsilon) = 1$$

i $N(\epsilon)$ és el nombre mínim de caixes de mida lineal ϵ que recobriren l'agregat.

Aquesta funció de partició, referida a la mida lineal ϵ de la caixa, segueix la llei d'escala següent:

$$[6] \quad Z_q(\epsilon) \sim \epsilon^{(q-1)D_q}$$

Aquesta relació permet de trobar la dimensió fractal generalitzada a partir d'una representació log-log de la forma que ja hem descrit anteriorment

$$[7] \quad D_q = \frac{1}{(q-1)} \lim_{\epsilon \rightarrow 0} \frac{\log Z_q(\epsilon)}{\log(\epsilon)}$$

En general, D_q ens donarà idea de les propietats d'escala, no de l'estructura global ($q = 0$), sinó de diferents zones segons el seu pes, és a dir, per a $q < 0$ tindran més importància les zones de probabilitat baixa ($p_i \rightarrow 0$) i per a $q > 0$ en tindran més les zones de probabilitat alta ($p_i \rightarrow 1$).

Les fractals autosembllants obtingudes a partir d'una llei matemàtica determinista tenen $D_q = D_f$ per qualsevol $q \in \mathbb{R}$, i es diu que la mesura de llur distribució de massa és uniforme. Llavors, per a les fractals estocàstiques (més semblants a les experimentals) també direm que són autosembllants, en sentit estadístic, quan tot l'espectre de dimensions fractals generalitzades, calculades aquestes naturalment amb una certa estadística (vegeu la secció 6.3.4), és igual a D_f .

6.3.4. Algorismes per a calcular la dimensió fractal

Existeixen molts algorismes i estratègies diferents per estimar la dimensió fractal d'un objecte irregular. Aquí se'n proposa un, el de comptatge de caixes (*box-counting*). Aquest algorisme consisteix a cobrir l'agregat (o objecte) amb una xarxa mòbil de quadrats, la mida dels forats de la qual es farà variar (vegeu la figura 7). Com que la xarxa no sempre tallarà exactament les unitats d'informació de l'agregat (píxels), quan es faci un recompte de les caixes es tindran en compte les fraccions de superfície incloses en la unitat de la xarxa [4, 6, 9]. Per estimar l'error estadístic es faran una sèrie de càlculs amb diferents recobriments de la xarxa. Després, fent ús de tècniques de regressió lineal, basades en mínims quadrats estadísticament ponderats adaptats a representacions logarítmiques, s'obindrà el pendent, que serà la dimensió fractal.

Per a mostrar l'eficàcia d'aquest algorisme, es pot estudiar una fractal determinista inclosa en un espai bidimensional, generat segons la regla explicada a la figura 8. Aquesta fractal determinista és

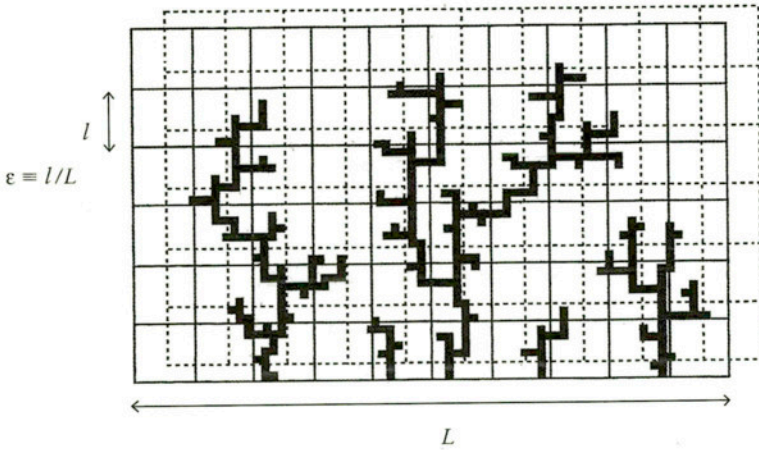


FIGURA 7. Algorisme de comptatge de caixes a talla fixa (*box-counting fixed-size algorithm*).

autosemblant i la seva dimensió fractal pot ésser calculada a partir de les seves raons d'homotècia quan es construeix a $k \rightarrow \infty$ iteracions (10), i dóna $D_f = \log 5 / \log 3 = 1,46497\dots$ ja que el nombre de segments per a la iteració k -èsima és 5^k i la longitud lineal de cada segment és $(1/3)^k$. Amb un objecte obtingut amb $k = 6$ iteracions (figura 8) emprant l'algorisme explicat més amunt, s'obté $D_f = \langle D_q \rangle = 1,45 \pm 0,01$ (9), que dóna una estimació molt bona del valor exacte. A la taula II es donen els valors d'unes quantes dimensions fractals generalitzades, D_q , la mitjana de les quals és precisament el valor presentat abans.

6.4. SIMULACIÓ D'UN PROCÉS D'AGREGACIÓ. MODEL D'AGREGACIÓ LIMITADA PER DIFUSIÓ (DLA)

Una gran varietat de models de creixement, agregació i deposició han estat introduïts des de fa trenta anys, però des de la introducció el 1981 del model d'agregació limitada per difusió (DLA) de Witten i Sander (3), l'activitat en aquest camp s'ha incrementat fortament (11). Aquest model pot ésser resumit amb els següents passos: a) es comença amb una partícula llavor a l'origen de la xarxa;

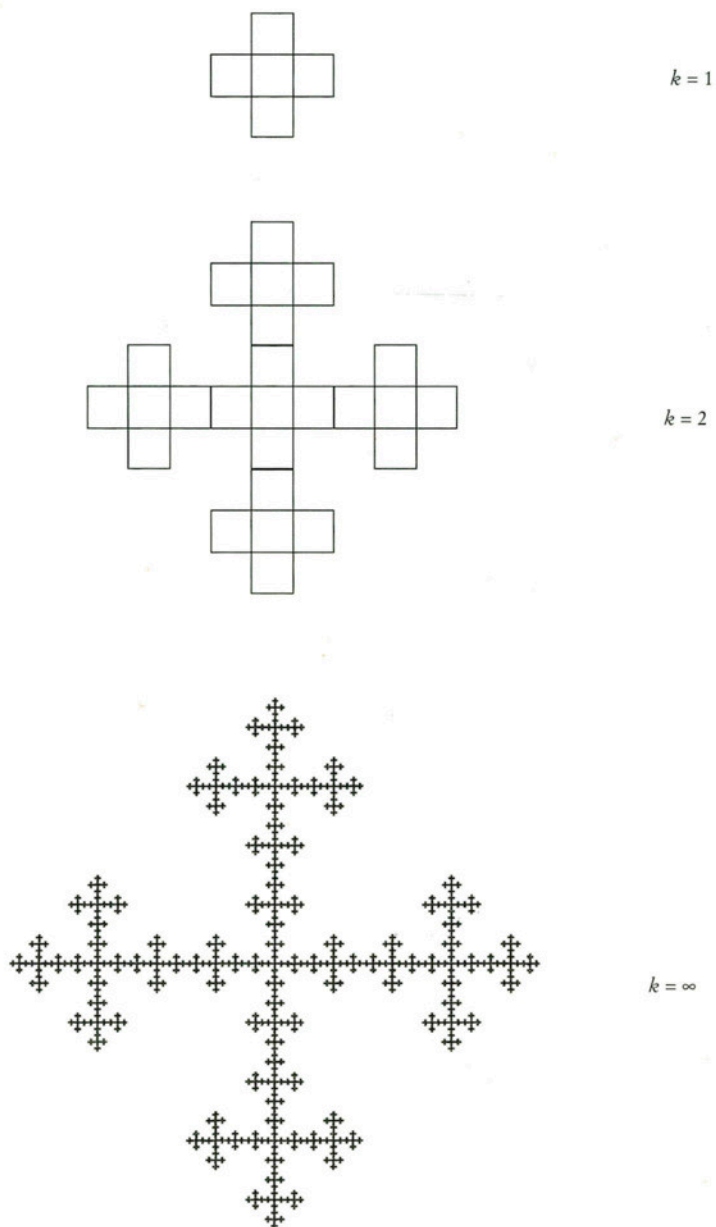


Figura 8. Agregat fractal, $D_f = \log 5 / \log. 3 = (1,46497\dots)$

TAULA II

Dimensions fractals generalitzades per a la fractal determinista de la figura 8, per a $k = 6$

q	Dq
-2,0	1,5 ± 0,3
-1,5	1,7 ± 0,3
-1,0	1,7 ± 0,1
-0,5	1,46 ± 0,06
0,0	1,46 ± 0,02
0,5	1,46 ± 0,01
1,0	1,46 ± 0,02
1,5	1,46 ± 0,01
2,0	1,46 ± 0,02
4,0	1,47 ± 0,03
6,0	1,46 ± 0,04

L'interval de regressió és [2,72; 128,0] en unitats de píxel.

b) es llença un altra partícula i es mou aleatòriament (és a dir, es difon) fins que arriba a una de les posicions adjacents a la partícula situada precedentment; *c*) aleshores s'agrega en aquesta posició; *d*) finalment, es llença una altra partícula i es repeteix el procés. La figura 9 mostra un esquema d'aquest procés. Normalment, la dimensió fractal d'un DLA típic és aproximadament de $D_f = 5/3 = 1,6-1,7$ (11). A més, aquesta mesura de la distribució de la massa d'un DLA resulta ésser autosemblant (7).

6.5. SECCIÓ EXPERIMENTAL

Els experiments en electrodeposició ocorren en una cel·la quasi-bidimensional en la qual es manté constant la diferència de potencial entre l'ànode i el càtode. Els electrodipòsits creixen dins d'una capa tan estreta com es pugui, que conté una solució de sulfat de zinc entre dues plaques de vidre. En aquest cas, el càtode és un fil de coure ($70 \mu\text{m } \phi$) o de platí ($25 \mu\text{m } \phi$), i el seu diàmetre determina l'estretor de la cel·la. L'ànode és una barra de zinc que es troba situada externament a la cel·la i paral·lela al càtode (5, 12).

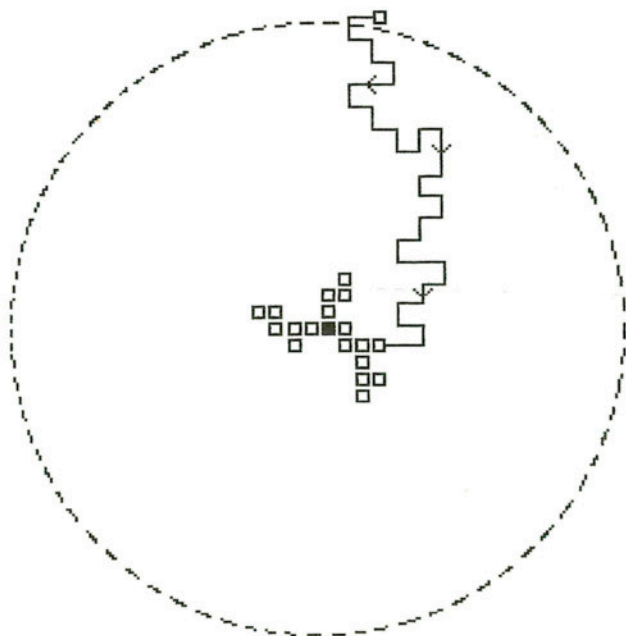


FIGURA 9. Esquema del model d'agregació limitada per difusió (DLA, diffusion limited aggregation).

6.5.1. Diagrama de morfologies dels electrodipòsits de zinc

L'electrodeposició quasibidimensional de zinc dóna lloc a una gran varietat d'estructures quan el potencial aplicat i la concentració de sulfat de zinc són variats convenientment. Aquesta riquesa de morfologies es pot observar a la figura 10 (5, 12).

Per a concentracions petites d'electròlit, s'obté la morfologia dita homogènia. En aquest cas, la característica més important és que el front de creixement és ben definit i paral·lel al càtode. La separació entre «arbres» i la ramificació d'aquests disminueix a mesura que el potencial aplicat augmenta. Hom pensa que la migració de l'anió cap a l'ànode és el que determina la velocitat de creixement de l'electrodipòsit.

Quan la concentració d'electròlit és intermèdia s'obtenen les típiques dendrites amb les ramificacions característiques i regulars.

Finalment, per a concentracions elevades d'electròlit, la morfo-

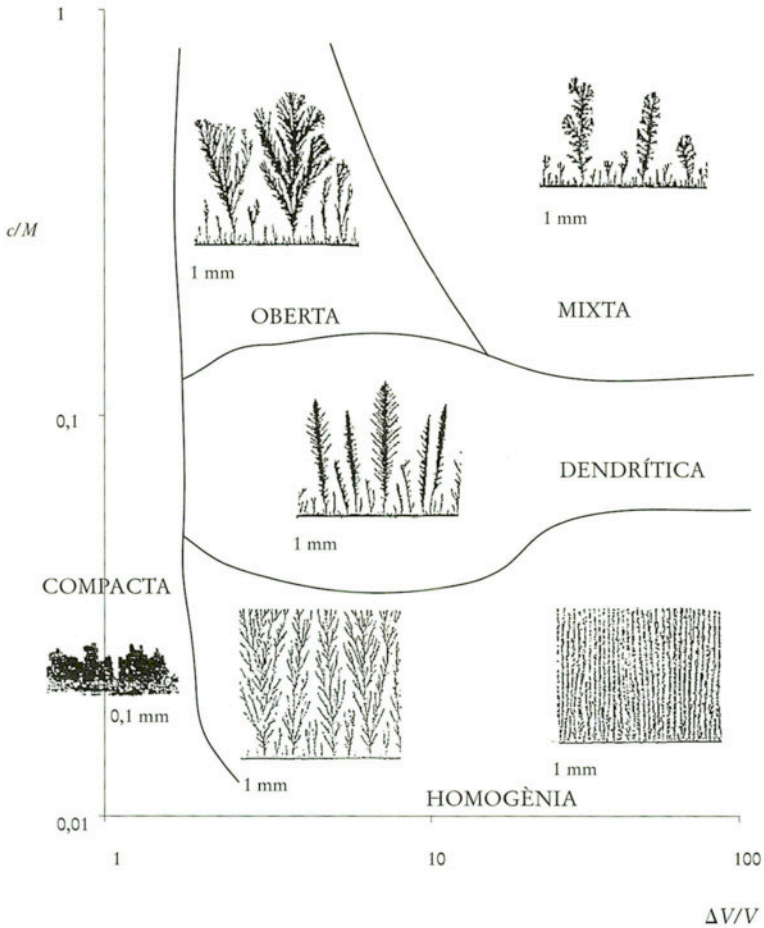


FIGURA 10. Diagrama de morfologies en l'electrodeposició de Zn. El gruix de la cel·la és 70 μm , la longitud de l'electrode és 3,5 cm i la separació entre electrodos és 3 cm.

logia del dipòsit depèn bàsicament de la diferència de potencial aplicada: 1) Amb petites diferències de potencial es formen estructures que s'anomenen obertes, en les quals pot apreciar-se com apareix una bifurcació (*tip-splitting*) en cada branca que està creixent. Aquestes estructures són força similars a les obtingudes fent una simulació de tipus DLA (3) i poden ésser caracteritzades amb la geometria fractal (5, 7). 2) A valors intermedis de la diferència de

potencial aplicat s'obtenen estructures mixtes, anomenades així perquè tenen un tronc de tipus dendrític i unes ramificacions laterals pròpies de la morfologia oberta. 3) Finalment, amb diferències de potencial grans s'obtenen fils gairebé sense ramificacions laterals.

6.5.2. Caracterització de l'autosemblança de la morfologia oberta

En la secció anterior, s'ha dit que només la morfologia que s'obté a concentracions elevades amb diferències de potencial petites pot ésser descrita en termes de geometria fractal. En aquesta secció es pretén de veure de quina manera està distribuïda la massa d'aquest electrodipòsit, a partir del càlcul de diferents valors de D_q .

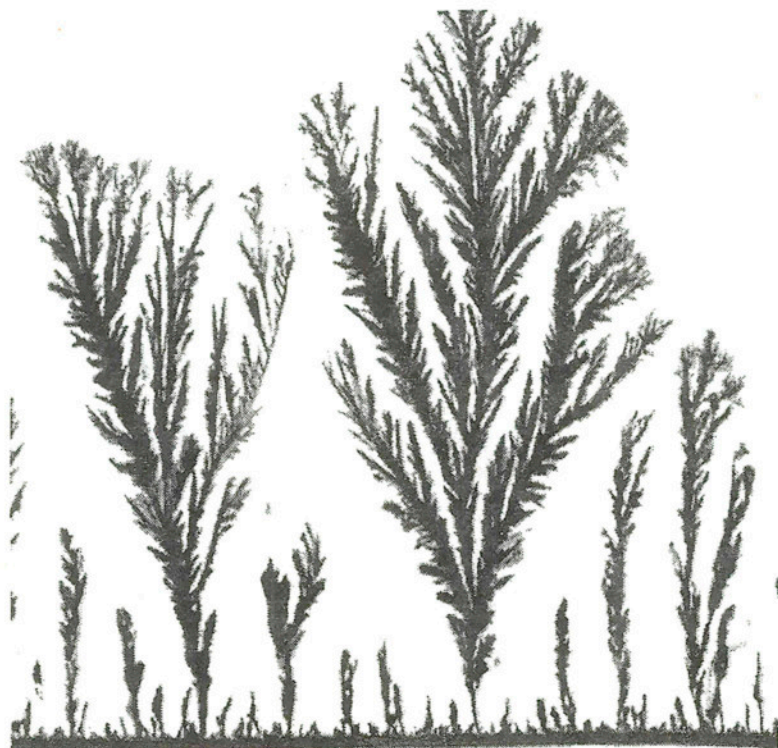


FIGURA 11. Electrodeposició de morfologia oberta obtingut en les següents condicions experimentals: $[ZnSO_4] = 0,4 M$ i $\Delta V = 6V$; el gruix de la cel·la és $70 \mu m$ i tota l'amplada de la figura correspon a $6,5 mm$.

TAULA III

Valors de les dimensions fractals generalitzades, D_q , per a un electrodi-
pòsit de morfologia oberta

<i>amplificació</i>	<i>q</i>	<i>D_q</i>
7,5 ×	0	1,630 + 0,002
	1	1,637 + 0,003
	2	1,641 ± 0,003
	6	1,642 ± 0,001
15 ×	0	1,618 ± 0,002
	1	1,642 ± 0,005
	2	1,658 ± 0,006
	6	1,664 ± 0,008
30 ×	0	1,618 ± 0,008
	1	1,629 ± 0,009
	2	1,634 ± 0,009
	6	1,608 ± 0,007

L'interval de regressió és [5,5; 64,0] en unitats de píxel.

Primer s'ha calculat la dimensió fractal d'electrodipòsit a una amplificació de 15× constant. Els nostres resultats (5) mostren que l'única morfologia que presenta certa autosemblança és la morfologia oberta dins d'uns marges de longituds entre 40 i 600 μm, amb un valor de la dimensió fractal $D_f = \langle D_q \rangle = 1,61 \pm 0,02$.

El següent pas és estendre aquestes conclusions a uns marges d'escala més grans, per a aquest mateix dipòsit. Per a poder-ho fer, l'anàlisi ha estat realitzada amb el mateix electrodi-
pòsit de la figura 11, que té els següents paràmetres experimen-
tals $[ZnSO_4] = 0,4M$ i $\Delta V = 5V$, però variant-ne l'amplificació (7,5×, 15×, 30×) emprada en l'observació (13). S'han obtingut valors similars de la dimensió fractal per a totes les amplificacions (vegeu la taula III).

Així doncs, per a l'electrodipòsit obert de zinc es pot concloure que és realment una fractal autosemblant pel que fa a la distribu-
ció de la seva massa, i que té una dimensió fractal $D_f = \langle D_q \rangle = 1,64 \pm 0,02$ dins d'uns marges d'escala de longitud entre 25 μm i 12 mm. A més, la dimensió fractal obtinguda és prou coherent amb resultats previs de simulacions realitzades amb DLA (7).

AGRAÏMENTS

Dos de nosaltres, J. Mach i P. P. Trigueros, gaudim d'una beca F.P.I. del Ministerio de Educación y Ciencia. També hem rebut ajuda financera de la Dirección General de Investigación Científica y Tecnológica (DGICYT) amb els projectes PB90-0455 i PB93-0729.

També hem d'agrair al Centre de Supercomputació de Catalunya (CESCA) les facilitats a l'hora de realitzar els càlculs.

REFERÈNCIES

1. B. B. MANDELBROT (1988). *Los Objetos Fractales*. Tusquets Eds. [Trad. J. Llosa]; *The fractal Geometry of Nature*. San Francisco: Freeman, 1982; *Fractals and Multifractals: Noise, Turbulence and Galaxies*. Nova York: Springer, 1988.
2. J. FEDER (1988). *Fractals*. New York: Plenum Press.
3. T. A. WITTEN i L. M. SANDER (1981). *Phys. Rev. Lett.*, **47**, 1400; *Phys. Rev.*, **B27** (1983), 5686.
4. F. SAGUÉS, F. MAS, M. VILARRASA i J. M. COSTA (1990). *J. Electroanal. Chem.*, **278**, 351.
5. P. P. TRIGUEROS, J. CLARET, F. MAS i F. SAGUÉS (1991). *J. Electroanal. Chem.*, **312**, 219.
6. J. MACH, F. MAS i F. SAGUÉS (1995). *J. Phys. A: Math. Gen.*, **28**, 5607.
7. F. ARGOU, A. ARNEODO, G. GRASSEAU i H. L. SWINNEY (1988). *Phys. Rev. Lett.*, **61**, 2558.
8. M. DE GUZMÁN, M. A. MARTÍN, M. MORÁN i M. REYES (1993). *Estructuras Fractales y sus Aplicaciones*. Barcelona: Labor.
9. J. MACH (1995). Tesi doctoral. Universitat de Barcelona.
10. T. VICSEK (1989). *Fractal Growth Phenomena*. Singapur: World Scientific.
11. P. MEAKIN (1989). A: D. AVNIR [ed.]. *The Fractal Approach to Heterogeneous Chemistry: Surfaces, Colloids and Polymers*. Nova York: J. Wiley, sec. 3.1.2.
12. P. P. TRIGUEROS, J. CLARET, F. MAS i F. SAGUÉS (1992). *J. Electroanal. Chem.*, **328**, 165.
13. P. P. TRIGUEROS, F. MAS, J. CLARET, F. SAGUÉS, J. GALCERAN i J. PUY (1993). *J. Electroanal. Chem.*, **348**, 221.

7. VALIDACIÓ QUIMIOMÈTRICA. VISIÓ GLOBAL I UN ASPECTE ESPECÍFIC

F. Xavier Rius*

7.1. RESUM

En el present capítol hom proporciona una visió general del procés de validació de les hipòtesis i models més emprats en química analítica. Primerament, hom revisa de forma succinta, però intentant abraçar una àmplia perspectiva, els tests estadístics i les tècniques quimiomètriques més freqüents. En la segona part es descriu amb certa profunditat el procediment per a determinar la incertesa dels resultats obtinguts mitjançant anàlisi química.

7.2. INTRODUCCIÓ

Per validació quimiomètrica entenem l'acció de declarar vàlids, mitjançant tècniques, mètodes i procediments quimiomètrics, els resultats obtinguts en un procés químic de mesura. Per tant, la validació significa, de fet, una acció que incorpora l'ús de la quimiometria per a comprovar i documentar la validesa de qualsevol part del procediment de mesura químic.

La validesa és un terme qualitatiu que cal definir més específicament per a dotar-lo de ple sentit analític. Hom considera vàlid un mètode quan assoleix uns valors quantitius (i manté aquest nivell en el temps) suficientment elevats d'una sèrie de paràmetres de

* Departament de Química. Universitat Rovira i Virgili. Pl. Imperial Tàrraco, 1. 43005 Tarragona.

qualitat definits per l'usuari. En altres paraules més planeres, un mètode és vàlid si fa el que ha de fer (Kateman i Pijpers, 1981, Tranter, 1990). A la taula I hi consten els principals paràmetres de qualitat que acostumem a considerar. Sens dubte, aquí estem interessats en els que figuren a la columna de l'esquerra.

Podem veure, doncs, que som davant un camp molt ampli que pot incloure la determinació d'un conjunt de característiques molt variades per a validar, per exemple, des de mètodes analítics en la seva globalitat fins a un senzill programa d'ordinador que hom utilitzi per a calcular algun paràmetre estadístic d'interès.

En aquest treball ens hem fixat un doble objectiu: d'una banda, fer una revisió general de la validació de mètodes tot emprant conceptes i tècniques quimiomètriques; d'una altra, fixar-nos en un dels paràmetres de qualitat més importants de tot mètode analític, la precisió, i aprofundir en el procediment específic per a la seva avaluació.

7.3. LA VALIDACIÓ COM A ETAPA FINAL DEL DESENVOLUPAMENT DE MÈTODES

Existeixen nombroses tècniques quimiomètriques emprades en el procés de validació dels mètodes analítics. En el present capítol revisarem sobretot les emprades en la validació interna de mètodes nous. A més, mencionarem molt succintament les tècniques emprades en la validació al llarg del temps i les que hom empra per a la comparació i transferència de mètodes analítics.

TAULA I

Principals paràmetres de qualitat dels mètodes analítics

<i>Tipus quimiomètric</i>	<i>Tipus econòmic</i>
Exactitud	Inversió
Precisió	Manteniment
Sensibilitat	Despeses directes
Selectivitat	Despeses indirectes
Límits	Rapidesa
Robustesa	Facilitat de maneig

7.3.1. Tècniques per a la validació interna de mètodes nous

Els primers paràmetres de qualitat que es consideren en la validació inicial dels mètodes són l'exactitud i la precisió. Algunes normes, tals com l'EN-45001, parlen de *traçabilitat* com a concepte molt relacionat al d'*exactitud*. La determinació de la precisió (o incertesa) es tracta amb certa profunditat en la segona part d'aquesta ponència.

Existeixen nombroses tècniques estadístiques per a assegurar l'exactitud dels mètodes i dels procediments analítics (Cardone, 1983). Si hom disposa, per exemple, de mostres anomenades placebo, en les quals, per preparació, hom coneix exactament la concentració d'analític a determinar analíticament, o bé de materials de referència (Uriano i Cali, 1977), es pot calcular la mitjana aritmètica dels resultats obtinguts en aplicar repetidament el nostre procediment analític sobre el material de referència i comparar-la amb el valor considerat vertader. El test-*t* és l'indicat per a realitzar aquesta comparació estadística. Depenent del nombre de repeticions realitzades, hom utilitza els valors *z* de la distribució normal o els valors *t* de la distribució de Student (Miller i Miller, 1988; Massart *et al.*, 1988; Callao, Larrechi i Rius, 1992). També cal considerar si la comparació és la d'una mitjana amb un valor considerat vertader o la de dues mitjanes amb iguals o distintes variàncies (Miller i Miller, 1988; Massart *et al.*, 1988; Callao, Larrechi i Rius, 1992). En el procés estadístic de la validació de l'exactitud, hom ha de considerar també la possible presència de punts discrepants (Liteanu i Rica, 1980; Miller i Miller, 1988) i l'assumpció de distribucions estadístiques normals o gaussianes (Meier i Zünd, 1993).

Un aspecte important en la validació de l'exactitud és la consideració dels errors del primer tipus, és a dir, els derivats de considerar que un mètode és inexacte quan en realitat no ho és o és fals positiu, i dels errors de segona espècie, per exemple, els de considerar que un mètode és exacte quan en realitat no ho és o és fals negatiu. Una bona discussió d'aquests aspectes es pot trobar a Massart (1993) i a Flatman i Mullins (1985).

Un tipus de validació de l'exactitud del procediment analític indicat per a aquelles mostres en què no es disposa fàcilment de material ni de mètodes de referència i de les quals és fàcil trobar la matriu sense analític d'interès (per exemple, en l'anàlisi de drogues en fluids biològics) consisteix a afegir l'analític a analitzar, en diverses concentracions, a tantes altres mostres que hom està segur que no el contenen.

L'anàlisi posterior d'aquestes mostres (que en anglès reben el nom de *spiked samples*) dóna lloc a l'obtenció de dos conjunts de dades, les afegides i les trobades per anàlisi química, que es poden analitzar mitjançant els anomenats tests per parelles (*paired tests*) (Massart *et al.*, 1988; Massart, 1993) o mitjançant l'anàlisi de regressió. Aquest últim es revisa a l'apartat dedicat al calibratge lineal univariant.

Si hom vol comparar les mitjanes aritmètiques de diversos conjunts de dades, com per exemple quan són avaluats els resultats repetits produïts per diversos analistes, tècniques o laboratoris, ha d'emprar l'anàlisi de la variància o ANOVA (Massart *et al.*, 1988; Miller i Miller, 1988). Aquesta és una tècnica tradicional i elegant per a detectar la presència d'errors sistemàtics, o efectes que influeixen en la variació de les dades, en un o més conjunts de dades. Tot i això, l'ANOVA no és capaç de fornir informació sobre quin és el conjunt particular que difereix de forma estadísticament significativa de la resta. La tècnica és capaç de treballar amb dos, tres o més efectes; amb tot, té uns requisits estadístics tals com l'absència de punts discrepants o l'homogeneïtat de les distribucions, que cal conèixer. Les tècniques d'anàlisi multivariant com PCA, CFA o SMA (Mellinger, 1987; Thielemans, Lewi i Massart, 1988), tot i no tenir la capacitat que proporcionen els tests estadístics, poden ésser un bon complement a l'anàlisi de la variància. Colina *et al.* han publicat una sèrie d'indicacions valuoses per a l'ús de les diverses tècniques quimiomètriques i dels tests estadístics adequats al llarg del procediment analític (Colina *et al.*, 1988).

L'estadística més emprada per a elaborar models útils en l'anàlisi química és l'estadística paramètrica. Es basa en la suposició que les dades analitzades provenen de distribucions conegudes, comunament la distribució gaussiana, i a partir d'aquí, en la possibilitat de realitzar inferències futures per a nous conjunts de dades. Els valors *t* de les taules no sempre constitueixen els punts de referència més adequats, i en aquest sentit hom ha desenvolupat els tests d'aleatorietat, *randomization tests* (Vandenbosch, Therry i Massart, 1990; Edgington, 1987). Quan existeixen punts discrepants o la densitat de probabilitat de la distribució no és gaussiana, cal transformar les dades mitjançant operacions logarítmiques o d'un altre tipus (Box, Hunter i Hunter, 1978; Quenouille, 1966; Kateman i Pijpers, 1981). Si aquestes transformacions no donen bons resultats o bé hi ha massa pocs resultats per a considerar qualsevol tipus de distribució, cal aplicar tests no paramètrics (CETAMA, 1986;

Massart *et al.*, 1988; Rius, 1992). Cal, però, ésser conscients de les limitacions quant a la seva eficàcia i de la necessitat d'un nombre elevat de repeticions en aquestes tècniques.

La dificultat de decidir les tècniques de validació més adequades per a cada cas és gran a causa de la multiplicitat de les existents. Nogensmenys, els analistes poden trobar ajut en un sistema expert desenvolupat per a la validació quantitativa dels resultats analítics (Wolters, Den Broek i Kateman, 1990).

7.3.1.1. Calibratge lineal univariant

El model matemàtic $y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i$, que correspon a una línia recta, és el més emprat per a descriure la relació entre respostes instrumentals i concentracions dels analits d'interès. Hom estima normalment els coeficients de regressió β_i mitjançant la tècnica de mínims quadrats, LS, d'on s'obtenen estimadors « b_i », que són els més precisos entre els obtinguts per les diferents tècniques anomenades no esbiaixades (Draper i Smith, 1981). Trobats aquests estimadors, hom obté per a cada punt experimental i que ha emprat en l'etapa de calibratge o de construcció del model l'equació $y_i = b_0 + b_1 x_i + \epsilon_i$.

En LS, per tal d'obtenir la predicció òptima, cal que sigui cert el model aplicat; però, a més, cal que les respostes tinguin la mateixa variància (siguin homoscedàstiques) (Davidian i Halland, 1990). Si existeixen respostes heteroscedàstiques, és a dir, amb excés de soroll, o amb presència de punts discrepants (*outliers*) i alta influència (*leverage*), aquestes respostes influeixen molt més que no pas d'altres en els estimadors i en les prediccions calculades. En termes estadístics, el teorema de Gauss-Markof (Rao, 1973) indica que els residus ϵ_i han d'ésser variables aleatòries de mitjana 0 i variància σ^2 i que $\text{cov}(\epsilon_i, \epsilon_j) = 0$. Si, a més, volem fer inferències respecte a la precisió dels coeficients de regressió, cal que tots els ϵ_i estiguin distribuïts amb una distribució normal $N(0, \sigma^2)$ als diferents nivells de concentració dels analits. Aquest últim requisit implica una independència dels valors de ϵ_i entre ells (Draper i Smith, 1981).

Hom hauria de validar mitjançant tests estadístics rigorosos la distribució gaussiana dels residus (Olucha i Rius, 1990), l'existència de diferències entre variàncies (heteroscedasticitat) (Massart *et al.*, 1988) o la manca d'acoblament del model lineal a les dades experimentals (Massart, 1988). Nogensmenys, aquest tipus de validació és molt tediosa i rarament es porta a terme. Una tècnica alternativa,

no tan rigorosa com la dels tests, és lo que fa ús dels diagrames de residus (Boqué, Rius i Massart, 1994).

Wolters i Kateman (1989) han estudiat el comportament dels errors en el calibratge lineal segons la tècnica LS i segons tècniques robustes en presència de distribucions no normals. Usualment, si no es compleix la condició de normalitat, hom ha d'intentar una transformació de les dades (Johnson i Wicharn, 1988). Si la situació és d'heteroscedasticitat, hom pot emprar la tècnica de mínims quadrats ponderats, WLS (Massart *et al.*, 1988; Levi, 1986), o aplicar mètodes no paramètrics (Garner i Robertson, 1988; Feinberg, 1988). En aquest últim cas, cal tenir present que, si bé s'obtenen valors molt més acurats de les variables a predir segons el model, hom no pot establir intervals d'incertesa ni avaluar estimadors de confiança que ens indiquin la precisió de la predicció.

La detecció de punts discrepants és un aspecte important de la regressió (Yuzhu, Smeyers-Verbeke i Massart, 1990). La seva presència no sols afecta una sèrie d'hipòtesis de la tècnica LS, sinó que, a més, pot modificar substancialment la validesa del model establert. Atès que la tècnica LS és poc robusta (una modificació petita dels punts de calibratge ja afecta els estimadors obtinguts dels coeficients de regressió i, per tant, qualsevol predicció futura), els diagrames de residus no sempre són capaços de detectar la presència de punts discrepants i aleshores cal aplicar tècniques de regressió robusta (Massart *et al.*, 1986; Chatterjee i Hadi, 1986; Rousseeuw i Leroy, 1987; Rius, Smeyers-Verbeke i Massart, 1989).

Sovint hom sobrevalora la capacitat de la tècnica d'addicions estàndard per a detectar errors sistemàtics en el calibratge (Bader, 1980). Aquesta tècnica només pot detectar els errors que són proporcionals a la concentració d'analit. Aquesta detecció es porta a terme mitjançant un test-*t* que compara el valor dels pendents de les rectes de calibratge obtingudes amb patrons aquosos i amb addicions estàndards. Depenent de la dispersió dels residus de calibratge, hom ha introduït modificacions de forma semblant a les del test-*t* que compara les mitjanes de dos conjunts de dades (Massart, Smeyers-Verbeke i Rius, 1989; Boqué, Rius i Massart, 1994).

En alguns casos, per exemple quan hom comprova la presència d'un analit en mostres naturals mitjançant la representació de les quantitats trobades analíticament enfront de les quantitats afegides per a diferents valors de la concentració, és útil aplicar un test individual del pendent per a comprovar si la seva diferència respecte a

la unitat és estadísticament significativa (Boqué, Rius i Massart, 1994; Massart *et al.*, 1988). A causa de la presència dels errors aleatoris, sempre existeix un interval de confiança al voltant del valor vertader del pendent, β_1 : $b_1 \pm t_{\omega, n-2} \cdot s.d. (b_1)$, i cal comprovar si el valor 1 es troba dins aquest interval calculat.

En altres casos, per exemple en comparar els resultats de dues metodologies diferents aplicades al mateix conjunt de mostres que contenen l'analit d'interès en diverses concentracions, ha estat apuntat que hi ha una correlació important entre el pendent i l'ordenada a l'origen. Per aquest fet, si hom aplica tests individuals del pendent i de l'ordenada pot cometre errors apreciables (Mandel i Linnig, 1957). Tot i així, ha de tenir-se present que en el procés de regressió lineal hom considera l'eix d'abscisses lliure d'error (o amb un error negligible respecte a l'eix d'ordenades). Quan es tracta de comparar dos mètodes, aquesta última hipòtesi no es compleix i fins recentment no han estat desenvolupats tests nous per a superar aquesta mancança (Hartmann, Smeyers-Verbeke i Massart, 1993; Riu i Rius, 1995; Riu i Rius, 1996).

Un aspecte important, amb repercussions pràctiques en els laboratoris de control de qualitat, és la validació de rectes de calibratge ja construïdes i emmagatzemades que es volen emprar per a la predicció de valors nous de la concentració de l'analit d'interès seguint una metodologia determinada. Aquí intervé l'interval de confiança per a una resposta futura, $y_0 = b_0 + b_1 x_0$, observada al punt x_0 , que correspon a un patró de calibratge de concentració coneguda. Cal comprovar si la resposta del patró mesurada en les condicions actuals es troba dins de l'interval de confiança calculat en les condicions de construcció de la recta de calibratge.

7.3.1.2. Límits de detecció

El límit de detecció (l.d.) és un paràmetre de qualitat molt relacionat, d'una banda, amb el procés de calibratge i, d'una altra, amb el concepte de soroll. A la bibliografia es poden trobar més de cinquants treballs científics relacionats directament amb límits de detecció. De tot aquest arsenal, sembla que hom pot extreure'n uns quants conceptes:

a) Currie és un dels primers científics que estudien en profunditat els l.d. La seva definició (Currie, 1968 i 1988) està formulada en funció de les respostes i no pas de les concentracions d'analit.

b) Kaiser (Kaiser, 1970) introdueix la importància estadística de considerar k vegades la desviació estàndard del senyal del blanc.

c) La translació de l'eix de concentracions dels límits descrits mitjançant la recta de regressió no considera els errors del procés de calibratge. Hi ha diverses tècniques, com la cromatografia o altres tècniques de flux, en les quals és difícil de quantificar el senyal del blanc i no es preveuen els errors de segona espècie.

d) La definició de la IUPAC (IUPAC, 1978) especifica que els l.d. s'expressen com a concentracions o quantitats. Nogensmenys, les bases que estableix són tan generals que deixen el camí obert a múltiples interpretacions i formulacions.

e) Hubaux i Vos (Hubaux i Vos, 1970), basant-se en els límits de confiança de la recta de regressió, defineixen un nou concepte del límit de detecció que no necessita mesures del blanc. Hom obté una estimació del soroll a concentració zero d'analit a partir del model de calibratge. Si bé es consideren els errors de l'etapa de calibratge, no queda ben establert el concepte d'error de segona espècie, β (Garner i Robertson, 1988).

f) Un dels passos definitius en el tema ha estat donat per Clayton *et al.* (Clayton, Hines i Elkins, 1987) en superar el diversos aspectes considerats prèviament. La metodologia de Clayton es basa a considerar el límit de detecció com un test d'hipòtesi en què intervenen l'hipòtesi nul·la, l'alternativa, l'error de primera espècie, α , i el de segona, β . Els valors dels l.d., segons aquest mètode, es poden calcular fàcilment emprant un programa d'ordinador desenvolupat recentment (Sarabia, 1994).

7.3.1.3. Regressió multivariant

Dins les tècniques per a la validació interna dels mètodes nous, actualment no es pot obviar la tendència creixent a la incorporació de models multivariants. Els sistemes instrumentals de detecció que permeten obtenir per a cada analit una resposta en forma de vector —tals com els detectors de sèrie de díodes en UV-Vis o tècniques acoblades tals com GC-MS, HPLC-FTIR, etc.— com l'esquematzat a la figura 1, ens obliguen a estendre les tècniques de validació cap al calibratge multivariant (Martens i Naes, 1991; Lang i Kalivas, 1993), cap a la selectivitat i cap als límits de detecció multivariants (Boqué i Rius, 1996).

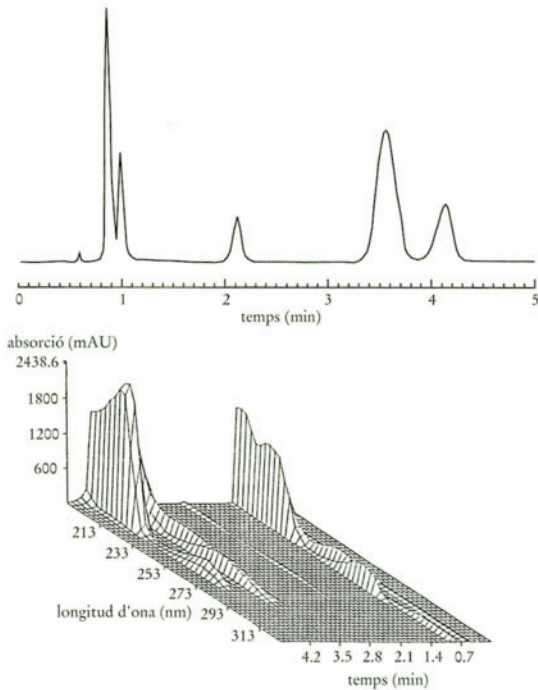


FIGURA 1. Representació del tipus de respostes multidimensional o multivariant.

Cal ésser conscient que en el calibratge univariant, sobretot el basat en la línia recta, els models emprats són relativament senzills i les respostes són considerades prou selectives. Aquestes característiques fan que la validació estigui fonamentada freqüentment en paràmetres estadístics del mateix conjunt de calibratge, tals com la desviació estàndard dels residus, el coeficient de correlació o altres estimadors (Vankeerberghen i Smeyers-Verbeke, 1992). Si el grau d'exigència és més elevat, cal efectuar un test estadístic del tipus ANOVA, en el qual és necessari realitzar repeticions (més o menys cares i tedioses) en el conjunt del calibratge. De fet, hom construeix un conjunt de predicció o prova ben controlat.

D'altra banda, en el calibratge multivariant, la validesa del model en l'etapa de calibratge, és a dir, l'acoblament del model a les dades experimentals obtingudes a partir dels patrons de calibratge, no és suficient, i cal utilitzar els errors de predicció per a validar els models proposats (Cruciani *et al.*, 1992).

Hi ha dues possibilitats per a calcular errors de predicció. Una és emprar un conjunt de predicció construït expressament per tal de verificar l'adequació del model proposat a les dades experimentals. Aquesta opció englobaria la tècnica de l'anàlisi de la variància multivariant (Draper i Smith, 1981), força cara a causa de l'experimentació necessària.

L'altra possibilitat consisteix a fer servir les dades del mateix conjunt de calibratge sense que calgui utilitzar nous patrons. Val a dir que en aquest cas el conjunt de calibratge sol ésser prou nombros, però, donada la complicació del model multivariant, totes les dades són emprades, a la vegada, per a la construcció del model i per a la seva validació. Les tècniques de la validació encreuada (*cross-validation*) i la del «tirant» (*bootstrapping*) permeten aquest estalvi (Geisser, 1975; Lepage i Billard, 1992).

L'error de predicció del model multivariant varia amb el nombre de factors o variables latents que hi intervenen. Així, doncs, cal trobar el model adequat. Malinowski fou un dels primers a proposar paràmetres estadístics indicadors del nombre òptim de factors (Malinowski, 1991).

Més recentment, han estat proposats diversos estadístics per als errors de predicció, tals com el Predictive Error Sum of Squares, PRESS (Draper i Smith, 1981; Baroni *et al.*, 1992), el PRESS robust (Osten, 1988), el Mean Square Error, MSE (Martens i Naes, 1991), o la desviació estàndard dels errors de predicció, SDEP (Cruciani *et al.*, 1992; Baroni *et al.*, 1992). El tema no és tancat, i s'hi produeixen contínuament aportacions noves com l'estudi de procediments totals de validació, *full validation procedures*, en problemes de regressió i calibratge multivariants (Lanteri, 1992), o com la Double Cross Full Validation (Forina *et al.*, 1993).

Reprement la validació quimiomètrica com un concepte global, Gemperline ha proposat un protocol interessant per a la validació dels mètodes basats en la detecció UV de sistemes multicomponents mitjançant PCR (Gemperline i Salt, 1989).

7.3.1.4. Selectivitat. Resolució

La selectivitat és un dels paràmetres de qualitat importants en tant que afecta almenys l'exactitud dels resultats. Tots els mètodes

analítics basats en tècniques de detecció univariants han d'ésser específics per evitar errors en els resultats finals. Això és la causa de la gran profusió de tècniques de separació i emmascarament que ha desenvolupat la química analítica en el passat. La tècnica d'addicions estàndard permet de detectar els efectes de la matriu quan aquests produeixen errors sistemàtics proporcionals (Bader, 1980; Boqué, Rius i Massart, 1994), però és ineficaç en presència d'errors sistemàtics constants. Cal ésser conscient que en qualsevol cas l'ús d'aquesta tècnica no valida el resultat final. La validació de l'exactitud ha de realitzar-se sempre amb les tècniques internes i externes comentades en aquest treball. En el camp multivariant, Kowalski i col·laboradors han desenvolupat la tècnica d'addicions estàndard generalitzada, GSAM, que en molts casos permet de superar els efectes de la matriu (Saxberg i Kowalski, 1979; Campins, 1988).

La selectivitat adquireix importància en les tècniques de flux, i molt especialment en cromatografia. El coneixement del nombre d'espècies diferents que són eluïts a un mateix temps de retenció és el primer pas indispensable per a una quantificació adequada d'aquests analits. En aquest sentit, la detecció multivariant ha estat l'avenç instrumental bàsic que ha permès el desenvolupament de nombroses tècniques quimiomètriques basades en l'anàlisi dels factors, *factor analysis* (Malinowski, 1991). Els treballs recents de Kvalheim han constituït un pas important envers la validació quimiomètrica de la cromatografia amb detecció multidimensional (Toft i Kvalheim, 1993). El mètode anomenat Heuristic Evolving Latent Projections, HELP, ha permès de resoldre mesclades d'isòmers, molt difícils de separar cromatogràficament, amb concentracions baixes dels components minoritaris (Liang i Kvalheim, 1993; Liang *et al.*, 1992; Kvalheim i Liang, 1992). El camp de l'*evolving factor analysis* és molt actiu actualment (Schostack i Malinowski, 1993) i les seves limitacions es defineixen per a la detecció de la puresa dels pics cromatogràfics (Vanslyke i Wentzell, 1993) i amb extensió als conjunts de dades de tres dimensions (Mitchell i Burdick, 1993).

Tauler i col·laboradors formen un dels pocs grups que apliquen amb èxit aquestes tècniques als equilibris en solució. No ens estenem en la descripció del seu treball, ja que, en ésser de casa nostra, és ben a l'abast de tothom (Gargallo *et al.*, 1996; Tauler *et al.*, 1995).

7.3.2. *Tècniques emprades en la validació al llarg del temps*

A la definició de validació, hom expressa que el nivell assolit en els valors dels paràmetres de qualitat desitjats ha de mantenir-se en el temps. Per tal de demostrar i documentar aquest fet, han estat desenvolupades tota una sèrie de tècniques estadístiques anomenades de control de qualitat, més recentment designades també amb el mot monitorització (Vernimont, 1977; Taylor, 1987).

Aquestes tècniques estan englobades dins l'anomenat sistema d'assegurament de la qualitat o de garanties de qualitat (Garfield, 1993; Dux, 1990; Valcàrcel i Ríos, 1992). Hartley ha publicat recentment una sèrie de programes d'ordinador que permeten posar fàcilment a punt diverses d'aquestes tècniques en el mateix laboratori (Hartley, 1987).

7.3.3. *Tècniques per a la comparació i la transferència de mètodes*

Una de les propietats importants dels resultats analítics és que aquests han de ser comparables. És a dir, el resultat obtingut del contingut d'un analit en una mostra amb una certa metodologia ha de ser comparable amb un altre resultat obtingut per al mateix analit en la mateixa mostra en un altre laboratori amb el mateix o amb un altre mètode analític.

Aquest fet implica que les metodologies analítiques han de validar-se no sols dins el laboratori on són utilitzades, sinó que també hi han d'intervenir agents exteriors. Entre els procediments de validació que tenen en compte agents exteriors fonamentals es troben els exercicis d'intercomparació (Youden i Steiner, 1975; Cardone, 1983; Vernimont, 1985; Horwitz, 1988; Rauret, 1992). Hi ha una extensa bibliografia estadística sobre aquest tema, que, per altra part, no interessa globalment a l'usuari final. Aquest sí que ha de conèixer, però, els principis bàsics i la interpretació dels resultats obtinguts (Danzer, Wank i Wienke, 1991). Mandel, en un treball recent, investiga el problema dels exercicis interlaboratori amb atenció als seus principals aspectes: plantejament dels experiments, anàlisi de les dades numèriques, tractament de les dades del qüestionari i possibles models (Mandel, 1991).

Un aspecte important en relació amb l'aplicació dels mètodes analítics a diversos laboratoris és la capacitat de transferència d'a-

quests mètodes. Se sap que un mètode ben establert en unes condicions determinades en un laboratori pot comportar-se de forma diferent en un altre laboratori, no sols respecte a la seva incertesa, sinó també respecte a la seva exactitud o altres paràmetres de qualitat. L'estandardització dels instruments, molt recent en el seu vessant multivariant, pot ésser una eina molt útil per a transferir models de calibratge, recalibrar al llarg del temps o recalibrar models per a diversos conjunts de mostres diferents (Wang, Veltkamp i Kowalski, 1991; Wang, Lysaght i Kowalski, 1992).

7.4. VALIDACIÓ DE LA INCERTESA DELS RESULTATS ANALÍTICS

Quant la traçabilitat dels procediments d'anàlisi ha estat validada mitjançant l'ús de materials o de mètodes de referència, d'exercicis interlaboratori o d'altres tècniques comentades a l'apartat de 7.3.1, hom pot arribar a les dues realitats següents:

a) La no acceptació de la hipòtesi nul·la del test- t significa que es refusa la validesa del procediment d'assaig. Això porta associada una revisió de totes les etapes, la qual pot incloure el recalibratge d'aparells i instruments de mesura, la revisió del procediment específic d'assaig, etc.

b) L'acceptació de la hipòtesi nul·la del test- t indica que el procediment emprat és vàlid pel que fa a la producció de resultats considerats exactes.

En aquest últim cas, pel que fa a la incertesa dels resultats, s'han generat durant el procés descrit dues magnituds que han de retenir-se: d'una banda, la variància que s'obté en analitzar repetidament la mostra de referència en el nostre laboratori, que anomenem ara s_L^2 (variància de laboratori); d'altra, la variància assignada al material de referència per la mateixa institució que el proporciona o la generada pel mètode de referència, que anomenem s_r^2 (variància de la referència). En certs casos, en lloc de variàncies es donen les incerteses associades al material o al mètode de referència, u_r . Aquestes incerteses es relacionen amb la variància mitjançant l'expressió $u_r = k s_r$, on k és el factor d'incertesa que es descriu més endavant. Fins en aquest moment, per a mantenir una certa senzillesa en els temes exposats, hom no ha tingut en compte altres factors que afecten la variància del laboratori, s_L^2 . En el següent apartat desenvoluparem de forma més completa el seu càlcul.

Quan no existeixen materials de referència adequats i, per diverses raons, no és factible aplicar mètodes de referència, l'única forma de validació del nostre procediment externa al laboratori és la participació en exercicis d'intercalibratge. En aquest últim cas, també es pot aconseguir una s_L^2 mitjançant la repetició de l'assaig de la mostra durant l'exercici en el mateix laboratori (si la quantitat de mostra ho permet i amb un valor de s_r^2 que correspondria a la variància dels n valors mitjans corresponents als n laboratoris participants amb resultats considerats acceptables. La norma EN 45001 indica en aquest últim cas, respecte a la traçabilitat, que «quan no sigui aplicable la traçabilitat en relació amb patrons nacionals o internacionals, el laboratori d'assaig haurà de posar de manifest satisfactòriament la correlació o l'exactitud dels resultats dels assaigs (per exemple, mitjançant la seva participació en una comparació d'assaigs interlaboratoris)».

Reprent els passos de la validació del mètode d'assaig que ens portarà a la determinació de la incertesa del nostre procediment, correspon examinar ara més detingudament una de les etapes del procés analític que pot influir considerablement en la incertesa global de l'assaig.

1. En tot assaig instrumental existeix l'anomenada etapa de calibratge del mètode. Hem de reconèixer aquí l'ús d'un mateix terme, calibratge, per a dos conceptes diferents, el calibratge dels instruments i el calibratge dels mètodes, però la nomenclatura in-

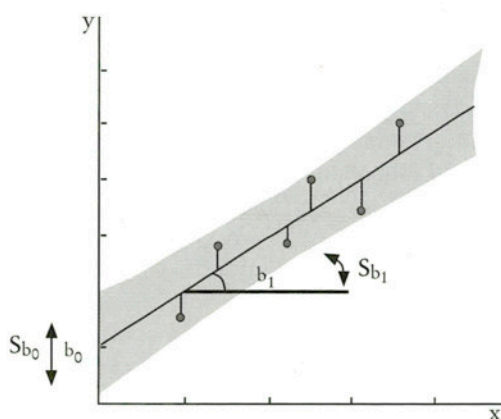


FIGURA 2. Corba de calibratge amb incerteses.

ternacionalment reconeguda en el camp de l'anàlisi química l'accepta i també anomena calibratge al procés de relacionar matemàticament la resposta d'un instrument amb la concentració d'analit responsable d'aquesta resposta. Encara que existeixen similituds conceptuals entre els dos significats del terme, crec que no ha d'existir cap dubte pel que fa a les diferències entre el procés de calibratge d'un instrument o aparell de mesura i el calibratge d'un mètode d'assaig o d'anàlisi.

El calibratge d'un mètode instrumental és un procés que ha estat molt estudiat i té les seves pròpies subtileses. A banda dels comentaris realitzats a l'apartat 7.3.1.1, el lector pot aprofundir alguns conceptes en altres fonts d'informació tals com llibres especialitzats (Box, Hunter i Hunter, 1978; Massart *et al.*, 1989; Draper i Smith, 1981) o com alguns articles de revisió (Hunter, 1981; Rusling 1989; Miller 1991). Sabem que com a conseqüència del procés de calibratge s'obté generalment una relació del tipus $y = b_0 + b_1x$, on y representa la resposta instrumental mitjana i x és la concentració d'analit responsable de la dita resposta. Aquesta equació es representa en gràfics del tipus que es mostra a la figura 2, en el qual interessa posar en relleu la *presència d'una incertesa específica d'aquesta etapa del procés de mesura*. Val la pena de fer ressaltar que durant l'etapa de la construcció del model matemàtic ($y = b_0 + b_1x$) s'utilitzen patrons de calibratge. Aquests són generalment substàncies molt pures, que tenen una concentració d'analit perfectament coneguda. La incertesa generada en aquesta etapa és deguda a la incertesa associada al mesurament de la resposta de cadascun d'aquests patrons de calibratge. Per tant, durant aquest procés es té en compte la incertesa generada per l'instrument, però no la incertesa que pugui provenir de les etapes prèvies de l'anàlisi, tals com la presa de mostres, la pesada, la dessecació, etc. Perquè la incertesa de tot el procés de mesura química estigui continguda dins l'interval on es troba la recta de calibratge, els patrons de calibratge haurien d'haver sofert un tractament químic idèntic al que es dona a la mostra real. Aquesta pràctica, en realitat, rarament es fa perquè resultaria extremament llarga.

El coneixement de la presència d'aquests errors a l'etapa de calibratge i el de llurs efectes són importants perquè en la majoria de laboratoris dedicats a l'anàlisi química es porten a terme diàriament nombrosos calibratges i recalibratges de metodologies instrumentals.

Quan es pretén comprovar la validesa d'una recta de calibratge construïda anteriorment, és útil de saber que el valor mitjà de la resposta, y_0 , per a un cert patró de calibratge, x_0 , s'ha de trobar dins d'un interval de respostes donat per la següent expressió:

$$\hat{y}_i \pm t_{n-2, \alpha} \sqrt{\left(\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(x_0 - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2} \right) \cdot s^2}$$

on N és el nombre de mesures repetides que es realitzen de x_0 , n és el nombre de parells utilitzats, (x_i, y_i) , corresponents als n patrons de calibratge, i s^2 representa la variància estimada dels errors de les respostes (o residus). Alguns llibres representen aquesta s^2 com a $s_{y/x}^2$:

$$s^2 = s_{y/x}^2 = \frac{\sum (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}$$

on \hat{y}_i , és el valor de la resposta calculada segons el model construït $\hat{y}_i = b_0 + b_1 x_i$, corresponent a un cert valor de la concentració d'analít x_i del patró de calibratge,

D'altra banda, l'analista està interessat a determinar la concentració d'analít desconeguda a partir de la mitjana de les respostes instrumentals. També és interessant conèixer la incertesa associada a aquest procés invers d'interpolació amb la finalitat de poder minimitzar-la. La variància associada al valor predit de la concentració de l'analít, x_{desc} , calculat a partir d'una resposta $y_{mesurada}$ d'una mostra que s'analitza, és donada per l'expressió

$$s_{calib}^2 = \left(\frac{1}{N} + \frac{1}{n} + \frac{(y_{mesurada} - \bar{y})^2}{b_1^2 \sum (x_i - \bar{x})^2} \right) \cdot \frac{s^2}{b_1^2}$$

on N és el nombre de mesures repetides de la resposta $y_{mesurada}$, la qual correspon a la mitjana de N alíquotes diferents de la mateixa mostra de concentració desconeguda x_{desc} . De fet, aquesta $y_{mesurada}$ és en realitat un valor mitjà de les diverses mesures respectives.

Aquesta variància, s_{calib}^2 , la corresponent al procés de calibratge, encara que de forma subtil, exerceix també la seva influència en el

valor final de la incertesa corresponent al resultat analític. Per tot això, és important minimitzar-la.

Queda encara un problema sense resoldre. La variància associada a totes les etapes prèvies al calibratge, encara que sabem que existeix i que en alguns casos pot arribar a ésser molt important, no s'ha tingut en compte fins ara. Aquesta variància es posa de manifest per l'evidència experimental que s'obtenen respostes instrumentals molt diferents per a un nombre de mostres iguals que han sofert idèntic tractament durant l'assaig químic. La solució al problema no és immediata; pel que fa al model matemàtic establert, $y = b_0 + b_1x$, no és vàlid per a transformar aquesta dispersió present en les respostes en una dispersió a l'eix d'abscisses o de concentracions. El model no és vàlid perquè, tal com s'ha esmentat anteriorment, no s'han tingut en compte aquests efectes (presa de mostra, pesada...) durant la construcció del model mitjançant l'ús de patrons de calibratge.

Per això és convenient, en aquelles mostres que no són homogènies, de calcular la contribució a la incertesa global de l'etapa corresponent a la presa de mostres. Si a partir de diverses alíquotes d'una mateixa mostra heterogènia realitzem el procés analític en estudi, obtenim un conjunt de senyals instrumentals (respostes) que es distribueixen al llarg de l'eix d'ordenades seguint un model gaussià. Des del punt de vista matemàtic és clar que una distribució

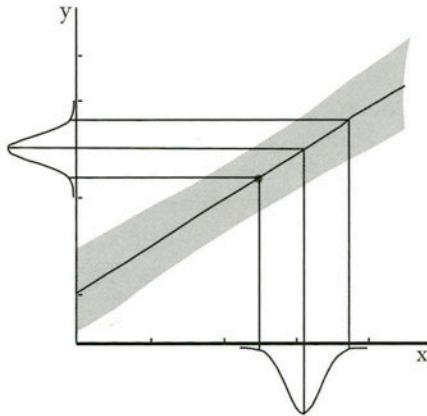


FIGURA 3. Corba de calibratge en la qual la incertesa de la resposta es transforma en incertesa a l'eix de concentracions.

normal de les respostes es converteix, per mitjà de la recta de calibratge, en una distribució normal de les concentracions. Així:

$$\begin{aligned} \text{probabilitat } \{y_2 < y < y_1\} &= 0,95 \\ \text{probabilitat } \{y_2 < b_0 + b_1 x < y_1\} &= 0,95 \\ \text{probabilitat } \{y_2 - b_0 < b_1 x < y_1 - b_0\} &= 0,95 \\ \text{probabilitat } \{(y_2 - b_0)/b_1 < x < (y_1 - b_0)/b_1\} &= 0,95 \end{aligned}$$

Per tant, a partir de la variància de les respostes instrumentals mesurades, s_{resposta}^2 , es calcula la variància de les concentracions associada a les etapes prèvies, s_{etapes}^2 , mitjançant l'expressió:

$$s_{\text{etapes}}^2 = s_{\text{resposta}}^2 / b_1^2$$

2. Anteriorment s'ha esmentat que per a validar l'exactitud del mètode s'ha de controlar prèviament el seu comportament en relació amb la precisió (assegurar les condicions de control estadístic). Per això, cal que el laboratori tingui una certa experiència de com es comporta la dispersió de resultats mitjançant el registre dels resultats d'analitzar el mateix material de referència en nombroses ocasions (amb motiu de diferents validacions del procediment al llarg del temps). Ens referim als gràfics o cartes de control de Shewhart (Taylor, 1987). En aquest cas, es tenen mesures (generalment no repetides) realitzades en diferents dies, per diferents analistes, sense utilitzar forçosament el mateix instrument de mesura, etc. Per tant, es tenen diferents valors de x_i , la concentració de l'analit en el material de referència. Aquesta informació és important perquè permet de trobar una incertesa que es traslladarà al resultat d'analitzar una mostra problema única. Aquest costum d'obtenir un sol resultat analític, que segueixen la majoria de laboratoris per a aconseguir una rendibilitat del seu treball habitual, no permet en si mateixa d'obtenir valors associats d'incertesa. És per això que només és acceptable quan coneixem suficientment bé el procés analític i tenim resultats quantitius del seu comportament.

A partir dels valors últims de x_i és immediat el càlcul de la variància obtinguda en condicions de reproductibilitat, s_R^2 :

$$s_R^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n - 1)}$$

Com que les mesures de x_i solen ésser úniques (aquí no es tenen s_{etapes}^2 que han hagut de trobar-se separatament com s'ha indicat en paràgrafs anteriors), la variància del laboratori és la suma de dos termes,

$$s_L^2 = s_R^2 + s_{\text{etapes}}^2$$

és a dir,

$$s_L^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)} + \frac{s_{\text{resposta}}^2}{b_1^2}$$

on x_i correspon al valor de la concentració d'analit calculat mitjançant la corba de calibratge realitzat en les condicions i (dia, analista, instrument...), i \bar{x} correspon al valor mitjà de tots els x_i . Cadascun dels valors x_i trobats mitjançant la seva corresponent recta de calibratge durant el procés de coneixement del mètode, té una imprecisió que es quantificaria mitjançant la variància de l'etapa de calibratge, s_{calib}^2 . Si el nombre de valors i és suficientment elevat, la dispersió de cada valor x_i , introduïda per cada corba de calibratge individual, està englobada en la dispersió de tot el conjunt de valors x_i al voltant del valor mitjà \bar{x} .

3. Hem descrit fins ara els diferents tipus de variàncies parcials que contribueixen a la incertesa total del resultat analític.

La variància final, s_{final}^2 , que s'utilitzarà per al càlcul de la incertesa, està composta pels diferents termes estudiats. Per a deduir l'expressió que els combina tots, cal reprendre els conceptes de càlcul o estimació de les incerteses.

Recordem que una de les variàncies involucrades, la que hem anomenat variància del laboratori, s_L^2 , s'origina per causa dels errors aleatoris independents els uns dels altres perquè provenen d'etapes independents. Si aquests errors estiguessin distribuïts segons una funció de densitat de probabilitat normal o gaussiana, la incertesa associada al valor mitjà estimat dels resultats, deguda exclusivament a aquest tipus d'errors i expressada en les mateixes unitats que una desviació típica o estàndard, seria donada per l'expressió:

$$u_L = [(t_{nR} \cdot s_R / \sqrt{n_R})^2 + (t_{n \text{ etapes}} \cdot s_{\text{etapes}} / \sqrt{n_{\text{etapes}}})^2]^{1/2}$$

Amb aquesta expressió, segons els valors de t buscats a les taules per a cadascun dels graus de llibertat, s'aconsegueix d'establir els

límits d'un interval al voltant del valor mitjà per al qual hi ha una probabilitat coneguda que un resultat nou obtingut en les mateixes condicions caigui fora de l'interval $\bar{x} - u_L$, $\bar{x} + u_L$.

La Western European Calibration Cooperation (WECC) estima que no ha d'acceptar-se la certesa de posseir distribucions gaussianes i recomana substituir el terme t per un altre coeficient, w , que per a una probabilitat del 95 % pren els valors:

núm. de resultats individuals, n	w (factor pel qual cal multiplicar $s_i / \sqrt{n_i}$)
2	7,0
3	2,3
4	1,7
5	1,4
6	1,3
7	1,3
8	1,2
9	1,2
10 o més	1,0

amb el qual l'expressió anterior prendria la forma:

$$u_L = [(\omega_{nR} \cdot s_R / \sqrt{n_R})^2 + (\omega_{n\text{etapes}} \cdot s_{\text{etapes}} / \sqrt{n_{\text{etapes}}})^2]^{1/2}$$

S'estima que emprant els valors d'aquesta taula es cobreix aproximadament el 95 % de probabilitat que el valor veritable es trobi dins de l'interval de semiamplicitud $2 \cdot w \cdot s_L / \sqrt{n}$, centrat en el valor mitjà (adaptat del document WECC-19-1990 *Guidelines for the expression of the uncertainty of measurements in calibrations*). Com pot deduir-se, els valors resultants de la incertesa associada als errors aleatoris no difereixen de forma apreciable en aplicar una o altra expressió.

En el valor de la incertesa final del nostre resultat també intervé aquella part que prové de la incertesa associada al material o mètode de referència. És una incertesa que s'«importa» (fonamentalment es distingeix perquè incorpora les causes d'error controlades) i s'expressa com a u_r , essent $u_r = k \cdot s_r$. D'acord amb el que ja coneixem, les incerteses no poden sumar-se com a tals (se sumen les variàncies), per la qual cosa la incertesa composta, u_c , expressada novament com una desviació típica, és donada per l'expressió:

$$u_c = (s_r^2 + u_L^2)^{1/2} = [s_r^2 + (\omega_{nR} \cdot s_R / \sqrt{n_R})^2 + (\omega_{n\text{etapes}} \cdot s_{\text{etapes}} / \sqrt{n_{\text{etapes}}})^2]^{1/2}$$

La incertesa global, o simplement incertesa, u , és donada per l'expressió

$$u = \pm k \cdot u_c$$

$$u = \pm k \cdot [s_r^2 + (\tau_{w_{nR}} \cdot s_R / \sqrt{n_R})^2 + (\tau_{w_{n\text{etapes}}} \cdot s_{\text{etapes}} / \sqrt{n_{\text{etapes}}})^2]^{1/2}$$

on k és el «factor d'incertesa» o «factor d'inclusió» recomanat per la Western European Calibration Cooperation, el qual defineix l'interval de valors que pot atribuir-se raonablement al resultat. En definitiva, és un factor de seguretat que fa el paper de les t o w esmentades amb anterioritat sense que ara pugui afirmar-se que aquest valor proporciona nivells de confiança del 95 %, 99 % o d'un altre tant per cent. Normalment, k pren valors compresos entre 2 i 3. El valor recomanat és $k = 2$, encara que no té més importància ja que és necessari especificar-lo sempre.

Finalment, si durant el procés analític s'ha portat a terme una operació que comporta algun altre tipus d'incerteses no contemplades, aquestes es transmeten al resultat final de les anàlisis d'acord amb el principi de transmissió d'errors.

REFERÈNCIES BIBLIOGRÀFIQUES

- M. BADER (1980). *J. Chem. Educ.*, **57**, 703.
- M. BARONI, S. CLEMENTI, G. CRUCIANI, G. COSTANTINO, D. RIGANELLI i E. OBERRAUCH (1992). *J. Chemometrics*, **6**, 347-356.
- R. BOQUÉ, F. X. RIUS i D. L. MASSART (1994). *J. Chem. Educ.* [En premsa]
- R. BOQUÉ i F. X. RIUS (1996). *Chemom. and Intel. Lab. Systems*, **32**, 11.
- G. E. P. BOX, W. G. HUNTER i J. S. HUNTER (1978). *Statistics for Experimenters. An Introduction to Design, Data Analysis and Model Building*. Nova York: Wiley.
- M. P. CALLAO, M. S. LARRECHI i F. X. RIUS (1992). A: VALCÁRCCEL i RÍOS [eds.]. *La Calidad en los Laboratorios Analíticos*. Barcelona: Reverté.
- P. CAMPINS (1988). A: M. BLANCO i V. CERDÀ [Ed.]. *Quimiometría*. Bellaterra: Acta.

- M. J. CARDONE (1983). *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **66**, 1257-1282.
- CETAMA (1986). *Statistique Appliquée à l'Exploitation des Mesures*. 2a ed. París: Masson.
- S. CHATTERJEE i A. S. HADI (1986). *Statist. Sci.*, **1**, 379.
- C. A. CLAYTON, J. W. HINES i P. D. ELKINS (1987). *Anal. Chem.*, **59**, 2506-2514.
- A. COLINA, M. C. GARNICA, J. LÓPEZ PALACIOS, M. C. ORTIZ, C. PIZARRO i L. A. SARABIA (1988). *J. Chemometrics*, **3**, 323-327.
- G. CRUCIANI, M. BARONI, S. CLEMENTI, G. COSTANTINO, D. RIGANELLI i B. SKAGERBERG (1992). *J. Chemometrics*, **6**, 335-346.
- L. A. CURRIE (1968). *Anal. Chem.*, **40**, 568.
- L. A. CURRIE [ed.] (1988). *Detection in Analytical Chemistry. Importance, Theory, and Practice*. Washington: American Chemical Society.
- K. DANZER, U. WANK i D. WIENKE (1988). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **12**, 69-79.
- M. DAVIDIAN i P. D. HAALAND (1990). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **9**, 231-248.
- N. DRAPER i H. SMITH (1981). *Applied Regression Analysis*. 2a ed. Nova York: Wiley.
- J. P. DUX (1990). *Handbook of Quality Assurance for the Analytical Chemistry Laboratory*. Nova York: Van Nostrand Reinhold.
- E. S. EDGINGTON (1987). *Randomization Tests*. 2a ed. Boca Raton: Marcel Dekker.
- M. H. FEINBERG (1988). *J. Chemometrics*, **3**, 103-114.
- G. T. FLATMAN i J. W. MULLINS (1985). «The Alpha and Beta of Chemometrics». A: J. J. BREEN, i P. E. ROBINSON, [eds.]. *Environmental Applications of Chemometrics*. Washington: American Chemical Society.
- M. FORINA, S. LANTERI, R. BOGGIA i E. BELTRÁN (1993). *Quím. Anal.*, **12**, 128-135.
- F. M. GARFIELD (1993). *Principios de Garantía de Calidad para Laboratorios Analíticos*. 2a ed. Arlington, VA: AOAC International.
- R. GARGALLO, R. TAULER, F. CUESTA-SÁNCHEZ i D.L. MASSART (1996). *Trends Anal. Chem.*, **15**, 279.
- F. C. GARNER i G. L. ROBERTSON (1988). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **3**, 53-59.

- S. GEISSER (1975). *J. Am. Stat. Assoc.*, **70**, 328.
- P. J. GEMPERLINE i A. SALT (1989). *J. Chemometrics*, **3**, 343-357.
- T. F. HARTLEY (1987). *Computerized Quality Control: Programs for the Analytical Laboratory*. Nova York: Ellis Horwood.
- C. HARTMANN, J. SMEYERS-VERBEKE i D. L. MASSART (1993). *Analusis*, **21**, 125-132.
- W. HORWITZ (1988). *Pure and Appl. Chem.*, **60**, 855-864.
- A. HUBAUX i G. VOS (1970). *Anal. Chem.*, **42**, 849.
- J. S. HUNTER (1981). *J. Assoc. Off. Anal. Chem.*, **64**, 574-583.
- IUPAC (1978). *Spectrochim. Acta*, **33B**, 242-247.
- R. A. JOHNSON i D. W. WICHERN (1988). *Applied Multivariate Statistical Analysis*. 2a ed. Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- H. KAISER (1970). *Anal. Chem.*, **42**, 26A.
- G. KATEMAN i F. W. PIJERS (1981). *Quality Control in Analytical Chemistry*. Nova York: Wiley.
- O. KVALHEIM i Y. LIANG (1992). *Anal. Chem.*, **64**, 936-946.
- P. M. LANG i J. KALIVAS (1993). *J. Chemometrics*, **7**, 153-164.
- S. LANTERI (1992). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **15**, 159-169.
- R. LEPAGE i L. BILLARD (1992). *Exploring the Limits of Bootstrap*. Nova York: Wiley.
- R. DE LEVIE (1986). *J. Chem. Educ.*, **63**, 10-15.
- Y. LIANG, O. KVALHEIM, H. R. KELLER, D. L. MASSART, P. KIECHLE i F. ERNI (1992). *Anal. Chem.*, **64**, 946-953.
- Y. Z. LIANG i O. M. KVALHEIM (1993). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **20**, 115-125.
- C. LITEANU i I. RICA (1980). *Statistical Theory and Methodology of Trace Analysis*. Nova York: Wiley.
- E. R. MALINOWSKI (1991). *Factor Analysis in Chemistry*. 2a ed. Nova York: Wiley. [1a ed., 1980]
- J. MANDEL (1991). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **11**, 109-119.
- J. MANDEL i F. J. LINNIG (1957). *Anal. Chem.*, **29**, 743-749.
- H. MARTENS i T. NAES (1991). *Multivariate Calibration*. Chichester: Wiley.
- D. L. MASSART (1988). *Trends Anal. Chem.*, **7**, 157-158.
- D. L. MASSART (1993). «Method Validation. An Introduction». A: *European School on Chemometrics. Course Notes*. Santiago de Compostella.
- D. L. MASSART, L. KAUFMAN, P. J. ROUSSEEUW i A. LEROY (1986). *Anal. Chim. Acta*, **187**, 171.

- D. L. MASSART, B. G. M. VANDEGINSTE, S. N. DEMING, Y. MICHOTE i L. KAUFMAN (1989). *Chemometrics: a Textbook*. Amsterdam: Elsevier.
- D. L. MASSART, J. SMEYERS-VERBEKE i F. X. RIUS (1989). *Trends Anal. Chem.*, **8**, 49-51.
- P. C. MEIER i R. EL. ZÜND (1993). *Statistical Methods in Analytical Chemistry*. Nova York: Wiley.
- M. MELLINGER (1987). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **2**, 61-77.
- J. C. MILLER i J. N. MILLER (1988). *Statistics for Analytical Chemistry*. 2a ed. Nova York: Wiley.
- J. N. MILLER (1991). *Analyst*, **116**, 3-14.
- B. C. MITCHELL i D. S. BURDICK (1993). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **20**, 149-162.
- J. C. OLUCHA i F. X. RIUS (1990). *Trends Anal. Chem.*, **9**, 77-79.
- D. W. OSTEN (1988). *J. Chemometrics*, **2**, 39-48.
- M. H. QUENOUILLE (1966). *Introductory Statistics*. Oxford: Pergamon Press.
- C. R. RAO (1973). *Linear Statistical Inference and Its Applications*. 2a ed. Nova York: Wiley.
- G. RAURET (1992). «Ejercicios de intercomparación». A: M. VALCÁRCEL, i A. RÍOS, [ed.]. *La Calidad en los Laboratorios Analíticos*. Barcelona: Reverté.
- J. RIU i F. X. RIUS (1995). *J. Chemometrics*, **9**, 343.
- J. RIU i F. X. RIUS (1996). *Anal. Chem.*, **68**, 1851.
- F. X. RIUS, J. SMEYERS-VERBEKE i D. L. MASSART (1989). *Trends Anal. Chem.*, **8**, 8-11.
- F. X. RIUS (1992). *La Calidad en los Laboratorios Analíticos*. Barcelona: Reverté.
- P. J. ROUSSEEUW i A. M. LEROY (1987). *Robust Regression and Outlier Detection*. Nova York: Wiley.
- J. F. RUSLING (1989). *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **21**, 49-81.
- L. SARABIA i C. ORTIZ (1994). *Trends Anal. Chem.*, **13**, 1.
- B. E. H. SAXBERG i B. R. KOWALSKI (1979). *Anal. Chem.*, **51**, 1.031.
- K. J. SCHOSTACK i E. R. MALINOWSKI (1993). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **20**, 173-182.
- R. TAULER, A. IZQUIERDO-RIDORSA, R. GARGALLO i E. CASASSAS (1995). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **27**, 163.
- J. K. TAYLOR (1987). *Quality Assurance of Chemical Measurements*. Chelsea, Michigan: Lewis Publ.

- A. THIELEMANS, P. J. LEWI i D. L. MASSART (1988). *Chemom. Intell. Lab. Systems*, **3**, 277.
- J. TOFT i O. KVALHEIM (1993). *Anal. Chem.*, **65**, 2270-2275.
- R. L. TRANTER (1990). *Anal. Proceedings*, **27**, 299-300.
- G. A. URIANO i J. P. CALI (1977). «Role of reference materials and reference methods in the measurement process». A: J. R. DE VOL, [ed.]. *Validation of the Measurement Process*. Washington: American Chemical Society.
- M. VALCÁRCEL i A. RÍOS, [ED] (1992). *La Calidad en los Laboratorios Analíticos*. Barcelona: Reverté.
- C. VANDENBOSCH, V. THERRY i D. L. MASSART (1990). *Trends Anal. Chem.*, **9**, 283-284.
- P. VANKEERBERGHE i J. SMEYERS-VERBEKE (1992). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **15**, 195-202.
- S. J. VANSLYKE i P. D. WENTZELL (1993). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **20**, 183-195.
- G. VERNIMONT (1977). A: J. R. DE VOL, [ed.]. *Validation of the Measurement Process*. Washington: American Chemical Society, 1-29. [ACS Symposium Series núm. 63]
- G. VERNIMONT (1985). *Use of Statistics to Develop and Evaluate Analytical Methods*. 2a ed. Arlington, VA: AOAC.
- Y. WANG, D. J. VELTKAMP i B. R. KOWALSKI (1991). *Anal. Chem.*, **63**, 2750-2756.
- Y. WANG, M. J. LYSAGHT i B. R. KOWALSKI (1992). *Anal. Chem.*, **64**, 562-564.
- R. WOLTERS i G. KATEMAN (1989). *J. Chemometrics*, **3**, 329-342.
- R. WOLTERS, A. C. M. DEN BROEK i G. KATERMAN (1990). *J. Chemometrics*, **9**, 143-175.
- W. J. YOUDEN i E. H. STEINER (1975). *Statistical Manual of the Association of Official Analytical Chemists*. Arlington, VA: AOAC.
- H. YUZHU, J. SMEYERS-VERBEKE i D. L. MASSART (1990). *Chemom. and Intell. Lab. Systems*, **9**, 31-44.

8. MODELITZACIÓ QUIMIOMÈTRICA: TÈCNIQUES D'OPTIMITZACIÓ

Xavier Tomàs*

8.1. RESUM

En el present treball hom presenta una visió global de les estratègies emprades en quimiometria per a procedir a l'optimització d'un model matemàtic o d'un procediment analític. En primer lloc, hom revisa breument, però intentant donar-ne una visió global, les diferents tècniques d'ús més freqüent, així com llur fonament. Per llur novetat, es posa un especial èmfasi en els algorismes genètics, i se'n mostra la filosofia de treball.

8.2. INTRODUCCIÓ

Un dels objectius de l'anàlisi quimiomètrica és el desenvolupament de tècniques que permetin l'ajustament de models a dades experimentals i la seva posterior validació per a conèixer quin és el seu grau d'adequació o fiabilitat. Aquest és un aspecte important que cal tenir present en tot estudi, ja que no és freqüent trobar un experiment en què la mesura experimental sigui directament la informació que hom desitja obtenir. Cal, en conseqüència, desenvolupar un model, generalment una funció matemàtica més o menys complexa, que relacioni mesura i informació.

Un exemple, familiar en química analítica, és l'obtenció de la funció analítica, o funció de calibratge, que relaciona el senyal ana-

* Departament de Quimiometria. Institut Químic de Sarrià. Universitat Ramon Llull. 08017 Barcelona.

lític mesurat (pH, absorbància, diferència de potencial, etc.) amb la informació desitjada (concentració de l'analít o analítis presents a les mostres emprades com a referència). Un cop trobat aquest model, hom l'utilitzarà per a deduir la informació adient en noves situacions (anàlisi de mostres, estimació de paràmetres, etc.). És, doncs, important assegurar que aquest model, amb els seus coeficients, obtingut a partir de les dades experimentals és *el millor* que pot obtenir-se, i procedir tot seguit a la seva validació.

Una altra situació, també freqüent en química analítica i en altres ciències experimentals, és la de trobar les condicions experimentals que permetin d'aconseguir que un procediment doni *el millor* resultat possible, sigui conegut o no el model, teòric o empíric, que relaciona resposta i condicions de treball. No cal esforçar-se gaire per a trobar exemples d'aquesta situació inherent a tot treball experimental.

L'objectiu en ambdues situacions és aconseguir el millor model que hom pugui ajustar a les dades experimentals, o bé les millors condicions experimentals que portin a obtenir una resposta satisfactòria. Aquest objectiu es considera assolit quan la discrepància entre els valors calculats pel model i les dades experimentals és petita o, en el cas d'un procediment, quan la resposta obtinguda en unes condicions establertes s'apropa a un valor preseleccionat.

En conseqüència, els qualificatius *millor* model o *millors* condicions experimentals correspondran a la condició de minimitzar aquesta discrepància o —el que és equivalent formalment— a resoldre un problema d'optimització, per al qual hom disposa de diferents tècniques de tractament.

El primer punt a definir, doncs, és expressar el concepte de discrepància d'una manera matemàtica o lògica per tal de poder avaluar la qualitat d'una possible solució. Aquest concepte admet molts tipus de definició, des de la simple diferència absoluta entre valor calculat i valor objectiu, emprat abastament en l'optimització de procediments, fins a expressions de caire matemàtic com la coneguda suma de residuals al quadrat (SRQ), mediana quadràtica de residuals (MQR), error absolut o relatiu mitjà (EAM, ERM), etc.

Segons quina sigui l'expressió utilitzada, la seva minimització dóna lloc als diferents mètodes, coneguts amb els noms de mètode de mínims quadrats (LSM), de mínima distància absoluta (LDA), mínima mediana de residuals (LMS), etc. (Draper i Smith, 1981; Rousseeuw i Leroy, 1987).

Un segon punt a considerar, important perquè condiciona l'estratègia de resolució del problema de minimització, és l'existència o no de model matemàtic (generalment, una funció matemàtica) i el seu grau de complexitat (una variable o més). Considereu per un moment, la diferent estratègia, i volum de càlcul, que pot necessitar la realització d'un calibratge lineal univariant, multivariant, l'ajust d'un model no lineal (càlcul de constants d'equilibri, etc.) o la determinació de la composició d'un eluent en cromatografia en capa prima per a optimitzar la separació dels components d'una mostra (model complex o desconegut).

Una classificació possible de les estratègies per a trobar la solució a aquest problema de minimització, i per tant de les tècniques d'optimització, podria ésser la següent:

1. Resolució matemàtica directa.
2. Resolució matemàtica seqüencial.
3. Resolució mitjançant algorismes lògics.

Tot seguit hom farà una revisió breu de les tècniques d'optimització segons aquesta classificació, amb esment especial de les tècniques seqüencials aplicades a models empírics, i de les basades en l'aplicació d'algorismes lògics, ja que no segueixen el formulisme matemàtic convencional.

8.3. RESOLUCIÓ MATEMÀTICA DIRECTA

Dintre d'aquesta categoria poden considerar-se incloses aquelles tècniques d'optimització que, havent definit prèviament un model i una expressió de la discrepància, arriben a establir els valor de l'òptim d'una manera matemàtica directa. L'estratègia consisteix a definir la discrepància com una funció que cal minimitzar, introduir dins la seva expressió la corresponent al model i tractar de resoldre el problema, si cal, com una anàlisi d'una funció per a la qual cal trobar el mínim.

Un exemple paradigmàtic d'aquesta estratègia és el mètode ben conegut dels mínims quadrats quan hom l'aplica a models senzills, com ara una funció lineal d'una variable, polinòmica, no lineal però linealitzable, o com ara una funció lineal de diverses variables (cas de la regressió lineal múltiple).

Per a qualsevol d'aquests models, hom disposa d'una sèrie de n valors experimentals, tant de la variable independent x_i com de la variable resposta y_i , l'expressió del model matemàtic a ajustar \hat{y}_i , com a criteri de discrepància, la suma de quadrats dels residuals.

Així, per a un model polinòmic de grau p correspondria:

MODEL MATEMÀTIC:

$$[1] \quad \hat{y}_i = y_i + \epsilon_i = b_0 + b_1 x_i + b_2 x_i^2 + \dots + b_N x_i^N + \epsilon_i$$

FUNCIÓ DISCREPÀNCIA

$$[2] \quad SQR = \sum_{i=1}^n (\hat{y}_i - y_i)^2 = \sum_{i=1}^n \left(\hat{y}_i - \sum_{k=0}^N b_k x_i^k \right)^2 \rightarrow \text{Mínim}$$

que implica la condició

$$[3] \quad \frac{\partial SQR}{\partial b_0} = \frac{\partial SQR}{\partial b_1} = \frac{\partial SQR}{\partial b_2} = \dots = \frac{\partial SQR}{\partial b_N} = 0$$

que condueix al sistema d'equacions:

$$[4] \quad \begin{array}{ccccccc} \sum y_i = b_0 n & + b_1 \sum x_i & + b_2 \sum x_i^2 & + \dots & + b_N \sum x_i^N & & \\ \sum x_i y_i = b_0 \sum x_i & + b_1 \sum x_i^2 & + b_2 \sum x_i^3 & + \dots & + b_N \sum x_i^{N+1} & & \\ \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots & \dots \\ \sum x_i^N y_i = b_0 \sum x_i^N & + b_1 \sum x_i^{N+1} & + b_2 \sum x_i^{N+2} & + \dots & + b_N \sum x_i^{N+N} & & \end{array}$$

La resolució d'aquest sistema dona els valors dels coeficients b_i òptims segons la definició de la discrepància utilitzada.

Així, en el cas d'un ajust lineal simple (recta de calibratge, per exemple), l'expressió d'aquests coeficients pot establir-se d'una forma general mitjançant les equacions:

$$[5] \quad b_0 = \frac{\sum x_i^2 \sum y_i - \sum x_i \sum x_i y_i}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2} = \bar{y}_i - b_1 \bar{x}_i$$

$$[6] \quad b_1 = \frac{n \sum x_i y_i - \sum x_i \sum y_i}{n \sum x_i^2 - (\sum x_i)^2}$$

Cal tenir present que aquesta estratègia, a la qual pertanyen també altres tècniques, com ara els anomenats mètodes de la me-

diana simple, de la mediana repetida o de la mediana mínima de residuals, porta a una solució analítica, en el sentit matemàtic de la paraula, i, per tant, els coeficients trobats que minimitzen la funció discrepància utilitzada són únics i garanteixen que l'òptim trobat correspon a un òptim absolut.

8.4. RESOLUCIÓ MATEMÀTICA SEQÜENCIAL

Malauradament, no és possible d'aplicar sempre l'estratègia de resolució directa, ja que pot succeir que el model no sigui tan senzill com els esmentats abans, o bé que no es trobi una forma general d'expressar les derivades implicades en la condició de mínim [3].

Si hom, però, coneix el model matemàtic que cal ajustar i ha definit el criteri de discrepància, sempre és possible d'establir una estratègia que porti a un òptim per aproximacions successives. Evidentment hom necessitarà un punt de sortida, uns primers valors dels coeficients implicats en el model i un sistema per anar conduint les aproximacions de forma eficient cap a l'objectiu de minimitzar la funció discrepància.

Una altra característica d'aquesta estratègia —en general, de tota estratègia seqüencial— és la necessitat d'establir un criteri de convergència i un d'atur. Generalment l'evolució de les aproximacions es fa per comparació dels valors de discrepància obtinguts en dues iteracions consecutives, i hom decideix aturar el procés quan la millora en la discrepància ja no és significativa.

Tot això fa que el resultat del procés d'optimització depengui del punt de sortida i dels criteris emprats i es demostra formalment que l'òptim assolit ha de ser considerat com un òptim relatiu (òptim local, òptim en sella, etc.) que no necessàriament ha de coincidir amb l'òptim absolut.

En aquest punt hom pot diferenciar les estratègies que utilitzen un model teòric com a eina de treball de les altres que el substitueixen per un model empíric, i hom ha de fer un esment especial a definir uns criteris senzills per a controlar l'evolució de les iteracions.

8.4.1. *Resolució seqüencial de models teòrics*

Abans de descriure breument les tècniques emprades per a l'optimització de models de diverses variables pot ser interessant considerar el cas més simple, que correspon a models d'una sola variable,

per a facilitar la comprensió d'aquestes tècniques. Per a simplificar les expressions matemàtiques designarem la funció matemàtica corresponent a la funció discrepància per $f(x)$, entenent que en aquesta expressió intervenen b_i paràmetres objecte de determinació.

8.4.1.1. Mètode del gradient per a un model d'una variable

Si el model proposat correspon a una funció contínua i derivable, la seva primera derivada $f'(x)$ indica la variació de magnitud en relació a la variació de la variable independent. En el cas de la funció discrepància (per tal de concretar l'exposició, hom farà referència a la funció «suma de quadrats dels residuals» [2]), aquesta variable independent correspon als diferents valors dels coeficients.

Si per a un valor de $x = a$ es compleix que $f'(a) > 0$, la funció és creixent a l'entorn de a i hom diu que el gradient de la funció $f(x)$ en aquest entorn és positiu i la seva magnitud és determinada pel valor de $f'(a)$. Si el gradient és negatiu, la funció és decreixent, i si el gradient és nul, el valor de a coincidirà amb un màxim o un mínim (figura 1).

Si és possible avaluar analíticament o numèricament la derivada de la funció, l'estratègia consistirà en una aproximació vers els valors nuls d'aquesta derivada, començant des d'un punt inicial i

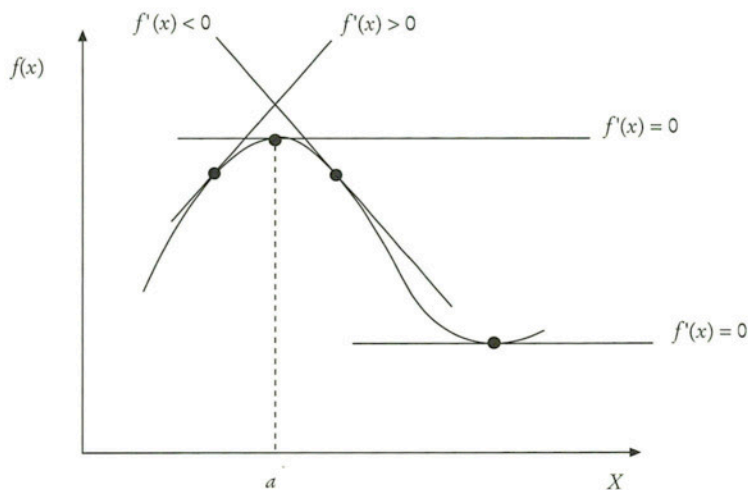


FIGURA 1.

desplaçant-se a cada iteració en forma proporcional al valor del gradient segons l'expressió recurrent

$$[7] \quad x_{i+1} = x_i + k f'(x_i)$$

on el valor de k serà positiu o negatiu segons es cerqui un màxim o un mínim, i es mantindrà constant durant el procés d'iteració, o es farà variar, segons s'hagi decidit prèviament.

Com a criteri de convergència per a conduir i aturar el procés d'aproximació hom acostuma a emprar o bé la variació relativa de la discrepància en dues iteracions consecutives, o bé la variació del valor de la solució, havent establert prèviament un valor crític per a aquesta variació.

Així, un possible algorisme general per a l'optimització d'un model d'una variable utilitzant el mètode del gradient podria ésser resumit en les següents etapes:

1. Definir el model $f(x)$, la funció discrepància, el valor de sortida x_0 , el criteri de convergència i el valor de la constant de proporcionalitat k .
2. Avaluat $f(x_0)$ i $f'(x_0)$.
3. Calcular un nou valor de x_i d'acord amb l'expressió [7].
4. Comprovar la condició de finalització.
5. Cas de no complir-se aquesta condició, substituir el valor de x_0 per x_i i tornar a la segona etapa, modificant, si cal, el valor de k . Generalment aquesta modificació es fa multiplicant per 2 el valor de k si el gradient ha tingut el mateix signe en dues iteracions consecutives o dividint-lo per 2 si ha tingut signe contrari.

8.4.1.2. Models de diverses variables

Aquesta és, sense cap dubte, la situació més freqüent en qualsevol ciència experimental quan hom prova d'ajustar un model. Les tècniques emprades per a la seva resolució poden ésser considerades com una generalització del model del gradient descrit abans, amb modificacions particulars segons interressi tenir una estratègia més acurada. Tot seguit hom farà una descripció breu d'algunes de les tècniques d'ús més freqüent.

Com és evident, el model ara és del tipus $f(\mathbf{X})$, on \mathbf{X} correspon, en notació vectorial, al conjunt de paràmetres $\mathbf{X} = \{x, y, z, \dots\}$. Cal haver definit també un criteri de discrepància com en el cas d'un model d'una variable.

8.4.1.2.1. Mètode d'optimització paramètric

L'estratègia emprada en el mètode d'optimització paramètrica es fonamenta en una generalització dels procediments emprats en el cas d'un model d'una variable, i es procedeix a l'optimització de cada paràmetre de forma separada. Així, sortint d'una primera aproximació $\mathbf{X}_1 = \{x_1, y_1, z_1, \dots\}$ s'optimitza primer $f(x, y_1, z_1, \dots)$ com si es tractés d'una funció de la primera variable fins a trobar el seu òptim x_0 . Tot seguit hom segueix la mateixa estratègia per a la segona variable, substituint el valor x_1 pel valor x_0 abans determinat $f(x_0, y, z_1, \dots)$, fins a arribar a un valor òptim y_0 per a aquesta variable. Aquest procés iteratiu es continua mentre no es compleixi el criteri d'aturada prefixat (figura 2).

Aquesta és una estratègia que arriba a l'òptim ràpidament en el cas de funcions senzilles, amb superfícies de resposta que posseeixin corbes de nivell regulars, i que pot ésser emprada com una primera aproximació quan hom no disposa d'uns valors acurats per iniciar el procés. En el cas de treballar amb un model més complex o també en situacions especials del punt inicial, el mètode paramètric s'atura abans d'arribar a l'òptim i dona falses solucions que fins i tot poden no correspondre a un òptim local (òptims en sella, etc.).

La limitació del mètode rau precisament en fer l'optimització

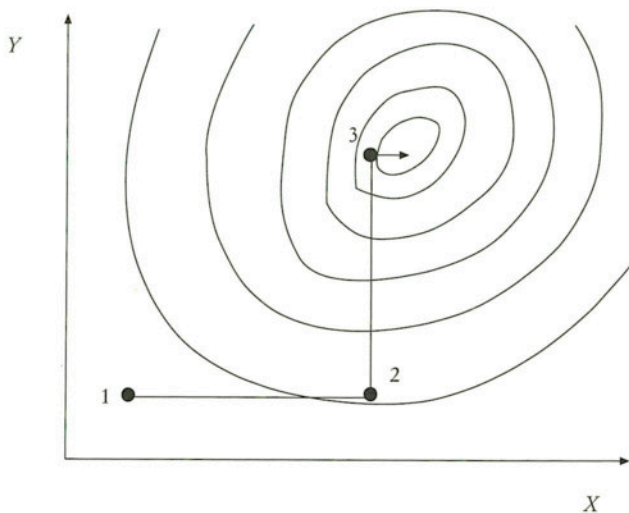


FIGURA 2.

de cada paràmetre mantenint els altres constants, és a dir, considerant els paràmetres independents o que no interaccionen entre ells, hipòtesi certament arriscada en moltes situacions.

8.4.1.2.2. Mètode del gradient per a diverses variables

Un nivell (corba de nivell en el cas d'un model de dues variables) és el conjunt de punts en els quals el model pren un mateix valor. Una estratègia d'optimització podria establir-se en el sentit de definir una evolució des d'un nivell vers el nivell mínim preferentment seguint la línia de màxima pendent (figura 3).

Matemàticament hom demostra que la variació del model amb relació a la dels paràmetres és màxima en la direcció perpendicular als nivells (a les corbes de nivell), i aquesta direcció és avaluable pel gradient, en aquest cas pel vector $G(\mathbf{X})$.

Aquest vector $G(\mathbf{X})$ és format per les primeres derivades parcials del model respecte a cada paràmetre, $G(\mathbf{X}) = \{f_x(\mathbf{X}), f_y(\mathbf{X}), f_z(\mathbf{X}), \dots\}$, i fàcilment es pot generalitzar el procediment descrit com a mètode del gradient per a una variable emprant l'expressió recurrent, expressada ara en forma vectorial:

$$[8] \quad \mathbf{X}_{i+1} = \mathbf{X}_i + kG(\mathbf{X}_i)$$

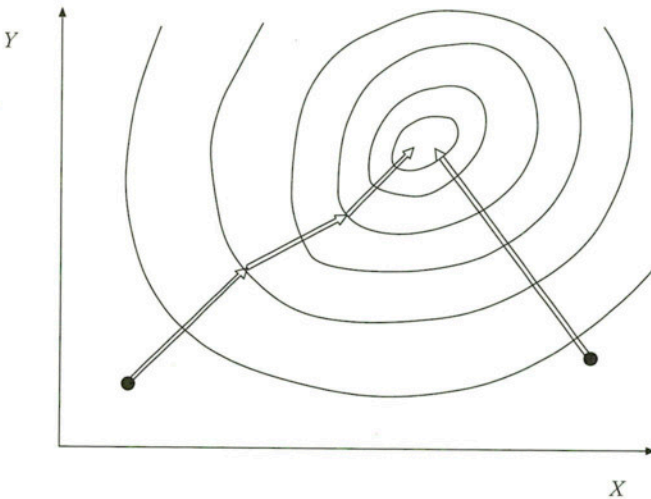


FIGURA 3.

En aquest cas, el valor de k , positiu o negatiu segons es cerqui un màxim o mínim, respectivament, pot avaluar-se com el que optimitza la funció d'una sola variable (k): $f[\mathbf{X}_m + k\mathbf{G}(\mathbf{X}_m)]$, i les etapes de càlcul a realitzar són les mateixes que en el cas d'aplicar-ho a un model d'una variable.

Aquest mètode és també conegut amb el nom de *mètode del màxim pendent*, i en la literatura anglesa és designat amb la precisió addicional de *steepest ascent* si hom cerca un màxim, o *steepest descent* si hom prova d'arribar a un mínim. Com a mètode d'optimització pot tenir problemes d'eficàcia, perquè la direcció del gradient i la velocitat de desplaçament depenen en forma crítica de les escales escollides per als paràmetres.

8.4.1.2.3. Mètode de Newton: variant de Davidon, Fletcher i Powell

Si hom pot disposar de les segones derivades de la funció objectiu, per a accelerar el procés d'evolució i fer-lo independent fins a cert punt de les escales triades hom pot fer servir el mètode de Newton per a resoldre $\mathbf{G}(\mathbf{X}) = 0$, equació que constitueix la condició de màxim o de mínim. Fent l'analogia amb el cas d'una funció d'una variable, la interpretació del mètode de Newton resulta molt

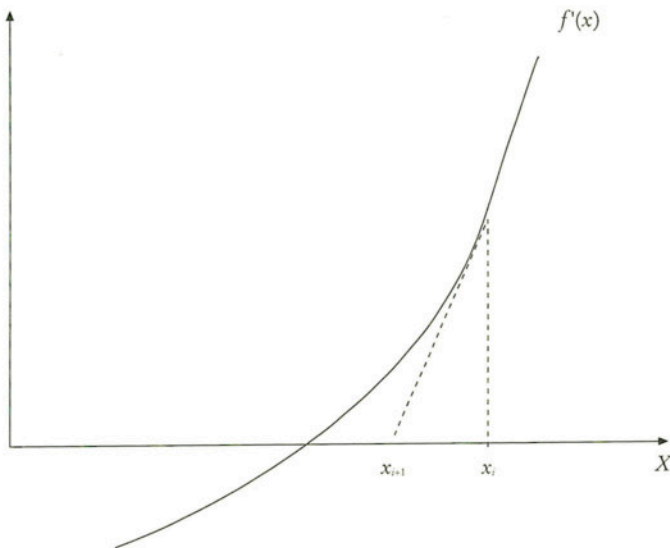


FIGURA 4.

senzilla (figura 4). Resulta molt coneguda com a mètode per a trobar les arrels d'una funció, en aquest cas de $f'(x)$.

Tornant al model de diverses variables, el mètode de Newton per a considerar la curvatura entre nivells substitueix la multiplicació per k que apareix a l'expressió recurrent [8] pel producte per la inversa de la matriu $\mathbf{H}(\mathbf{X})$, matriu de les segones derivades parcials o matriu hessiana:

$$[9] \quad \mathbf{H}(\mathbf{X}) = \begin{pmatrix} f_{xx} & f_{xy} & f_{xz} & \dots \\ f_{yx} & f_{yy} & f_{yz} & \dots \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ f_{zx} & f_{zy} & f_{zz} & \dots \end{pmatrix} = [\mathbf{H}_1(\mathbf{X}), \mathbf{H}_2(\mathbf{X}), \mathbf{H}_3(\mathbf{X}), \dots]$$

on les columnes corresponen a les derivades parcials f_x, f_y, f_z , etc., és a dir, als gradients $\mathbf{H}_1, \mathbf{H}_2, \mathbf{H}_3$, etc. Finalment, l'equació recurrent que permet l'aproximació cap al mínim resulta:

$$[10] \quad \mathbf{X}_{i+1} = \mathbf{X}_i - [\mathbf{H}(\mathbf{X}_i)]^{-1} \mathbf{G}(\mathbf{X}_i)$$

A continuació s'estableixen les etapes dels càlculs a realitzar per analogia amb el mètode del màxim pendent.

L'únic inconvenient seriós del mètode de Newton és el volum de càlcul que significa haver d'avaluar a cada iteració les segones derivades del model i la inversa de la matriu hessiana. És per aquesta raó que ha estat objecte de moltes modificacions que tendeixen a alleugerir els càlculs necessaris (Marquardt, 1963).

Una de les modificacions més efectives ha estat la proposada per Davidon, Fletcher i Powell (Gill, Murray i Wright, 1981), que es fonamenta en la construcció de matrius regulars \mathbf{Q} amb un comportament igual al de les inverses de la matriu hessiana \mathbf{H} per a cercar l'òptim en les direccions:

$$[11] \quad \mathbf{V}_i = -\mathbf{Q}_i \mathbf{G}(\mathbf{X}_i)$$

terme que en l'expressió recurrent [10] substitueix el producte de la inversa de la matriu hessiana per la matriu \mathbf{G} .

D'acord amb aquesta modificació, les etapes del càlcul a seguir en aquest procediment d'optimització, un cop definit el model i el criteri de convergència, són les següents:

1. Definir $\mathbf{Q} = \mathbf{I}$ (matriu identitat) i els valors inicials dels paràmetres $\mathbf{X} = \mathbf{X}_1$ i tot seguit avaluar $\mathbf{G} = \mathbf{G}(\mathbf{X})$.
2. Per a $\mathbf{V} = -\mathbf{Q}\mathbf{G}$, optimitzar la funció $f(\mathbf{X} + k\mathbf{V})$ d'una sola variable k . Un cop trobat aquest òptim substituir \mathbf{X} per $\mathbf{XN} = \mathbf{X} + k\mathbf{V}$.
3. Comprovar la condició de convergència.
4. Cas de no complir-se aquesta condició, avaluar $\mathbf{S} = \mathbf{XN} - \mathbf{X}$ i $\mathbf{U} = \mathbf{G}(\mathbf{XN}) - \mathbf{G}(\mathbf{X})$.
5. Substituir la matriu \mathbf{Q} per:

$$[12] \quad \mathbf{Q} = \mathbf{Q} + \frac{\mathbf{S}\mathbf{S}'}{\mathbf{S}'\mathbf{U}} - \frac{\mathbf{Q}\mathbf{U}\mathbf{U}'\mathbf{Q}}{\mathbf{U}'\mathbf{Q}\mathbf{U}}$$

i tornar a la segona etapa amb els nous \mathbf{XN} , $\mathbf{G}(\mathbf{XN})$ i \mathbf{Q} .

8.4.1.2.4. Mètode de Gauss-Newton

El mètode de Gauss-Newton és una tècnica especialment interessant quan hom prova d'ajustar un model emprant com a criteri de convergència la suma de quadrats dels residuals. Per a simplificar-ne la descripció es considerarà el cas de l'ajust d'un model amb una única variable: $y = f(x; b_i) = f(x; \mathbf{B})$.

Cal, doncs, trobar els valors dels coeficients \mathbf{B} que minimitzen la suma de quadrats dels residuals [2], que d'acord amb la condició de mínim [3] porta a considerar que el gradient ha de ser nul, $\mathbf{G}(\mathbf{B}) = 0$, és a dir, al sistema d'equacions

$$[13] \quad \sum_{i=1}^n f_k(x_i; \mathbf{B}) [f(x_i; \mathbf{B}) - y_i] = 0 \quad k = 1, 2, \dots, p$$

on f_k representa la derivada parcial de f respecte a b_k .

Si, per a simplificar la notació, s'anomena $F_i(\mathbf{B})$ els residuals a cada punt experimental $f(x_i; b_1, b_2, \dots, b_p) - y_i$ i $\mathbf{J}(\mathbf{B})$ la matriu que conté a les seves files els gradients dels diferents F_i , hom pot demostrar que es compleix la condició:

$$\frac{1}{2} \mathbf{G}(\mathbf{B}) = \mathbf{J}(\mathbf{B})' \mathbf{F}(\mathbf{B}) = 0$$

on $\mathbf{J}(\mathbf{B})'$ correspon a la matriu rectangular:

$$[15] \quad \mathbf{J}(\mathbf{B})' = \begin{pmatrix} \frac{\partial F_1}{\partial b_1} & \dots & \frac{\partial F_n}{\partial b_1} \\ \dots & \dots & \dots \\ \frac{\partial F_1}{\partial b_p} & \dots & \frac{\partial F_n}{\partial b_p} \end{pmatrix}$$

El mètode de Gauss-Newton es fonamenta en la consideració que per a un conjunt de valors dels paràmetres \mathbf{B}_{i+1} proper a un altre conjunt de valors \mathbf{B}_i es pot aproximar, mitjançant un desenvolupament de Taylor:

$$[16] \quad \mathbf{G}(\mathbf{B}_{i+1}) \approx 2 \mathbf{J}(\mathbf{B}_i)' \mathbf{F}(\mathbf{B}_{i+1})$$

$$[17] \quad \mathbf{F}(\mathbf{B}_{i+1}) \approx \mathbf{F}(\mathbf{B}_i) + \mathbf{J}(\mathbf{B}_i) (\mathbf{B}_{i+1} - \mathbf{B}_i)$$

que, tenint present que $\mathbf{G}(\mathbf{B}_{i+1})$ ha d'anul·lar-se, permet iniciar un procés iteratiu en el qual el seu valor es va substituïnt pel que s'obté de resoldre l'equació resultant:

$$[18] \quad \mathbf{J}(\mathbf{B}_i)' \mathbf{J}(\mathbf{B}_i) \mathbf{B}_{i+1} = \mathbf{J}(\mathbf{B}_i)' \mathbf{J}(\mathbf{B}_i) \mathbf{B}_i = \mathbf{J}(\mathbf{B}_i)' \mathbf{F}(\mathbf{B}_i)$$

El mètode pot esquematitzar-se en les següents etapes de càlcul:

1. Definir un conjunt inicial de valors \mathbf{B}_i .
2. Avaluar $\mathbf{J}(\mathbf{B}_i)' \mathbf{J}(\mathbf{B}_i)$, $\mathbf{J}(\mathbf{B}_i) \mathbf{F}(\mathbf{B}_i)$.
3. Resoldre l'equació [18].
4. Comprovar la condició de convergència.
5. Cas de no complir-se aquesta condició, substituir \mathbf{B}_i per \mathbf{B}_{i+1} i tornar a la segona etapa.

Per a resoldre l'equació [18] hom pot emprar qualsevol dels mètodes de resolució d'un sistema d'equacions (Gauss, Gauss-Siedel, etc.) amb l'objectiu de trobar una estimació del nou conjunt de valors dels paràmetres \mathbf{B}_{i+1} .

8.4.2. *Resolució seqüencial de models empírics*

Tot i que la utilització dels mètodes descrits per a la resolució seqüencial de models teòrics és sempre recomanable, hi ha situacions en les quals aquests mètodes resulten poc eficients. Així, les dificultats d'aplicació augmenten considerablement amb el nombre de paràmetres a ajustar, el nombre de valors experimentals als quals hom pretén ajustar el model, la mateixa expressió matemàtica del model o la complexitat, a vegades impossibilitat, d'avaluar les derivades implicades en els procediments de resolució descrits abans. Cal recordar que a les ciències experimentals és freqüent trobar-se amb situacions en les quals no és possible d'obtenir aquestes derivades, i a voltes, ni tant sols no és possible expressar matemàticament el model car és molt complex o bé no és prou conegut.

Una possible alternativa per a aquestes situacions és l'ús de models empírics en uns intervals no gaire grans de les variables dins dels quals sigui possible d'assimilar la funció teòrica, complexa o desconeguda, a una funció matemàtica senzilla i fàcil de manipular, generalment una funció de tipus polinòmic. L'objectiu, moltes vegades, no és només ajustar el model sinó trobar-ne el màxim o el mínim, sobretot en situacions experimentals en les quals interessa conèixer no solament el valor de l'òptim sinó les seves coordenades (condicions experimentals).

Dos punts importants a determinar en aquest tipus d'estratègia són la tria del model i la seqüència d'evolució vers l'òptim. Respecte al primer punt cal dir que s'acostuma a donar més importància a la facilitat de tractar la funció que no pas a un rigorisme matemàtic que, tractant-se d'un model empíric, pot resultar essencialment superflu. Així, en el cas d'un model en dues variables, la funció que hom acostuma a seleccionar és del tipus:

$$[19] \quad z = b_0 + b_1x + b_2y + b_{11}x^2 + b_{22}y^2 + b_{12}xy$$

amb la inclusió, encara que rares vegades, de termes en x^2y , xy^2 o x^2y^2 . Generalment, doncs, es treballa amb funcions polinòmiques amb termes quadràtics i amb productes de les variables, se'n fa l'ajust, d'una manera còmoda, segons els mètodes abans descrits, i la localització de les coordenades de l'òptim resulta trivial.

En referència al segon punt esmentat, l'evolució cap a l'òptim, hi ha una doble estratègia.

Les tècniques anomenades d'*ajust de superfícies de resposta* acostumen a imposar com a condició que l'òptim ha de trobar-se dins el domini experimentat, és a dir, dins els intervals de variació de les variables que hom ha experimentat. Això evita el risc de situar l'òptim per extrapolació fora d'aquest domini, encara que sempre és necessari validar la seva situació comprovant-la posteriorment. Amb aquesta condició, les tècniques d'ajust de superfícies de resposta s'esforcen a trobar la disposició dels punts experimentals que permeti estimar millor els coeficients del model seleccionat prèviament. Segons els interessos que hom tingui en aquest ajust es poden fer servir dissenys diferents com ara els de Box-Behnken, Box-Wilson (Box i Draper, 1987), Doehlert (Doehlert, 1970), Scheffé (Scheffé, 1958), rotatius, composts, etc.

La segona estratègia no imposa la condició que l'òptim es trobi dins el domini experimentat sinó que, tot emprant un model molt senzill que permeti estimar el valor del gradient de la resposta, per desplaçament del domini, vagi conduint l'experimentació seqüencialment cap a on es trobi l'òptim. Un exemple, utilitzat freqüentment en l'optimització experimental, és l'anomenat mètode EVOP del que tot seguit se n'exposen els trets bàsics.

8.4.2.1. Mètode EVOP

Aquest mètode va ser descrit per G. E. P. Box (Box, 1957) amb la denominació original *evolutionary operations* com una estratègia per anar conduint cap a l'òptim la resposta d'un procés que depèn de pocs factors (condicions experimentals). Per a simplificar l'exposició es considerarà que aquests factors són dos, X_1 i X_2 .

El model matemàtic més senzill i més econòmic pel que fa al nombre d'experiències a realitzar correspon a l'expressió:

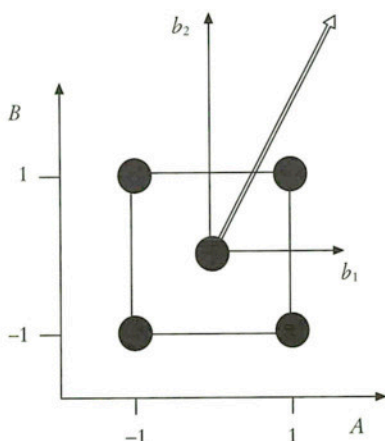
$$[20] \quad Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_{12}X_1X_2$$

que necessita quatre punts experimentals per a poder estimar els valors dels coeficients b_i . Si hom pretén obtenir aquestes estimacions independents entre elles, cal que es compleixi l'ortogonalitat del disseny, és a dir, aquest ha de coincidir amb un disseny 2^2 factorial complet.

Això obliga a definir dos nivells per cada variable X_i i realitzar les quatre experiències corresponents a les combinacions de nivells. Per a simplificar al màxim els càlculs posteriors hom acostuma a escalar aquests nivells fent-los correspondre al valors -1 i $+1$ i anomenar A i B a les noves variables escalades. Tot i això, és recomanable realitzar una experiència en el punt central, $\{0;0\}$. Aquest conjunt de cinc punts experimentals constitueix un cicle d'experiments que porten a obtenir cinc respostes Y_i :

Experiència	A	B	Resposta
[0]	0	0	Y_0
1	-1	-1	Y_1
2	+1	-1	Y_2
3	-1	+1	Y_3
4	+1	+1	Y_4

Amb la idea de cercar la línia de màxim pendent que condueixi cap al màxim hom pot trobar en el punt central els valors de les derivades de la resposta respecte a cada factor i calcular la resultant d'ambdós components (figura 5).



MODEL EMPÍRIC

$$Rta = b_0 + b_1A + b_2B + b_{12}AB$$

$$\left. \frac{\delta Rta}{\delta A} \right]_{[0]} = b_1$$

$$\left. \frac{\delta Rta}{\delta B} \right]_{[0]} = b_2$$

FIGURA 5.

Aquestes derivades corresponen a b_1 i b_2 i es poden calcular fàcilment:

$$[21] \quad b_1 = (-Y_1 + Y_2 - Y_3 + Y_4) / 4$$

$$[22] \quad b_2 = (-Y_1 - Y_2 + Y_3 + Y_4) / 4$$

i la direcció vers el màxim és donada per l'angle format per la resultant i l'eix A :

$$[23] \quad \alpha = \text{arc tan } (b_1 / b_2)$$

Si hom pretén arribar a un màxim el mètode proposa desplaçar el cicle en la direcció trobada (en la direcció contrària si l'objectiu és un mínim).

Encara que l'angle format per la resultant i l'eix A pot tenir qualsevol valor, per raons pràctiques hom acostuma a aproximar-lo als valors $0, \pm 45, \pm 90, \pm 135$ o 180° , que formen una rosa dels vents. Aquesta aproximació, juntament amb el fet que el desplaçament del cicle es fa de manera contínua, és causa que a cada nou cicle no sigui necessària la realització de cinc experiències noves car se n'aprofiten algunes del cicle anterior (com a mínim una) i s'estalvia així esforç experimental.

Com tot mètode seqüencial, el mètode EVOP exigeix un criteri que permeti d'aturar-se quan ha arribat a l'òptim. Deixant de banda la possibilitat d'aturar l'evolució quan la resposta ha arribat a un

CRITERI D'ATURADA

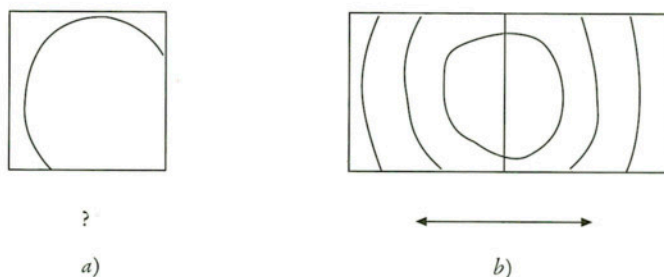


FIGURA 6.

valor que hom considera prou satisfactori, a la pràctica s'acostuma a donar alguna de les situacions que es mostren a la figura 6.

En el cas *a*) l'òptim és dins el darrer cicle, el mòdul de la resultant acostuma a ser petit i les diferències entre respostes són poc significatives. En el cas *b*) l'òptim és situat prop d'un costat dels dos darrers cicles (o prop d'un vèrtex) i això provoca un rebot en els desplaçaments.

Encara que normalment en aquestes situacions es considera que s'ha assolit l'objectiu, sempre és possible de refinar la solució modificant la grandària del cicle, és a dir, reduint l'interval entre nivells de cada factor.

El mètode EVOP és molt poc emprat en problemes d'optimització que persegueixen l'ajust d'un model teòric, però és molt útil en situacions en les quals no es coneix el model, com en l'optimització de processos industrials, de procediments analítics, etc. (Hunter i Kittrell, 1966; Box, Hunter i Hunter, 1978).

8.5. RESOLUCIÓ MITJANÇANT ALGORISMES LÒGICS

Tant en el cas de resolució directa com en el de resolució seqüencial, és condició imprescindible disposar d'un model teòric o empíric formulat amb una funció matemàtica. Com s'ha dit anteriorment, en moltes situacions experimentals és difícil poder precisar aquest model i a vegades fins i tot és desconegut.

Una tercera estratègia per a abordar optimitzacions en general, i en aquest cas especialment, és la de prescindir del model i fer que siguin les respostes experimentals, juntament amb un algorisme lògic d'evolució, les que vagin conduint l'optimització. En les tècniques basades en aquest tipus d'estratègia, l'esforç resideix òbviament en la definició correcta de l'algorisme lògic d'evolució.

Un aspecte interessant d'aquesta estratègia és que el fet d'emprar les respostes només per a avaluar la discrepància, sense fer-les intervenir en cap model matemàtic, permet d'abordar l'optimització en situacions en les quals les respostes són qualitatives, com pot ser el cas d'una valoració subjectiva de la resposta (valoració sensorial, ordenació, etc.).

Encara que s'han desenvolupat moltes tècniques que segueixen aquesta estratègia (bisecció, Fibonacci, secció àuria, etc.), tot seguit es farà una descripció breu del fonament de dues: el mètode símplex

rígid, amb la seva variant més important, el mètode símplex modificat, i els mètodes basats en algorismes genètics.

8.5.1. Mètode símplex rígid

Aquest mètode fou descrit per primera vegada per Spendley, Hext i Himsworth (1962), i encara que ha estat objecte de moltes modificacions, és utilitzat, per la seva senzillesa, en situacions en les quals la determinació de l'òptim no exigeix una gran precisió.

Considerant el domini experimental com un espai amb tantes dimensions com paràmetres cal optimitzar, hom defineix com a símplex una figura convexa i tancada que té tants vèrtexs com paràmetres es considerin més un. Així, per a dos paràmetres el símplex serà un triangle; per a tres, una piràmide de base triangular, etc. Cada un dels vèrtexs correspon, lògicament, a una combinació de valors dels paràmetres, per als quals hom obtindrà una resposta experimental.

El mètode proposa avaluar la resposta corresponent a cada vèrtex, ordenar els valors obtinguts de pitjor a millor, eliminar el pitjor vèrtex i substituir-lo pel seu simètric (reflectit) respecte al baricentre dels punts que restin. A la figura 7, es mostra el cicle bàsic en el cas de una optimització de dos paràmetres.

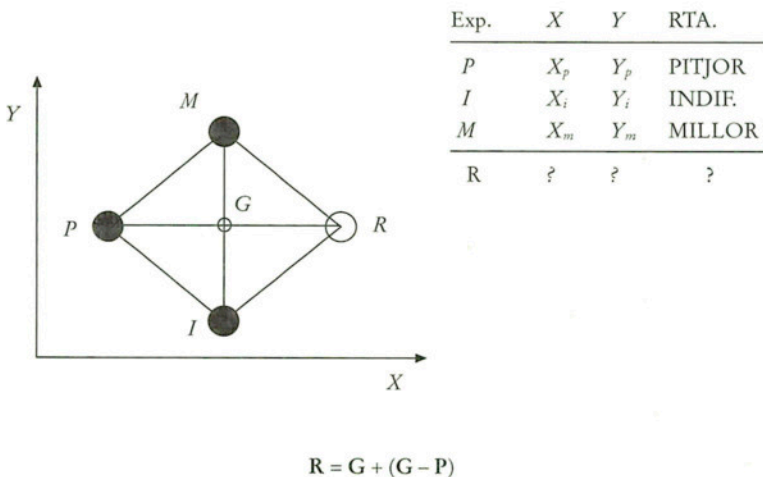


FIGURA 7.

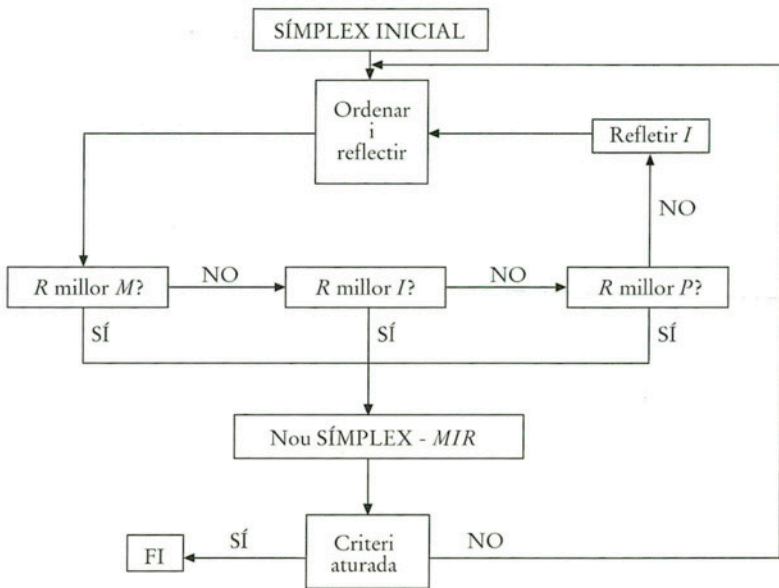


FIGURA 8.

Per a definir l'algorisme que controla l'evolució del símplex s'estableixen els següents criteris.

Regla 1: si la resposta en el punt reflectit no és pitjor que l'obtinguda en el pitjor dels punts del cicle anterior, el nou símplex és el format pels vèrtex M , I , i R .

Regla 2: si la resposta en el punt reflectit és pitjor que l'obtinguda en el pitjor vèrtex dels punts del cicle anterior, hom procedeix a trobar la imatge del vèrtex amb resposta més propera al pitjor (I en el cas de dos paràmetres).

La conseqüència de l'aplicació d'aquesta segona regla és un canvi de direcció en l'evolució del símplex.

A la figura 8 es mostra en forma resumida l'algorisme d'evolució del símplex rígida.

Com en tot mètode d'optimització seqüencial, cal definir uns criteris per aturar el procés evolutiu. Per analogia amb els mètodes matemàtics, pot utilitzar-se com a criteri que la millora en la resposta (o funció discrepància) ja no sigui significativa, o també que l'evolució dels darrers símplexs porti a una ciclació del disseny, conseqüència de l'aplicació continuada de la regla 2.

Aquesta ciclació, que no és evident en el cas de més de dos paràmetres, es detecta quan un vèrtex pertany a 2(número de paràmetres + 1) símplexs consecutius («edat d'un vèrtex»).

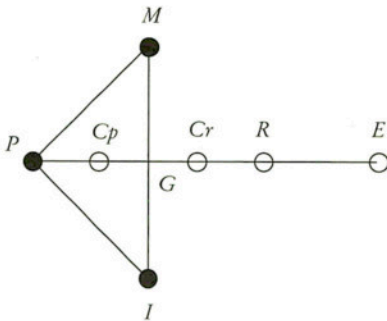
El mètode símplex rígid és un mètode senzill i còmode d'aplicació a situacions experimentals, que condueix a les condicions d'òptim normalment amb no gaires experiments (Leggett, 1983). Amb tot, essent un mètode en el qual la grandària del disseny és constant i fixada des de l'inici, la seva eficiència depèn molt de com s'hagi definit aquesta grandària.

Un disseny massa gran evolucionarà ràpidament vers l'òptim, però aquest generalment quedarà encerclat dins els símplexs finals i generalment no podrà establir-se amb precisió. A l'extrem oposat, un disseny símplex massa petit dóna més possibilitats de poder precisar l'òptim, però l'evolució fins a arribar-hi serà molt lenta.

8.5.2. Mètode símplex modificat

Amb l'objectiu de solucionar aquesta darrera característica del mètode símplex rígid s'han proposat moltes modificacions de les regles del seu algorisme (Betteridge, Wade i Howard, 1985). La primera fou proposada per Nelder i Mead (1965), i ha esdevingut la utilitzada amb més freqüència per la seva simplicitat d'aplicació.

Aquesta modificació, coneguda amb el nom de mètode símplex modificat, permet variar la grandària del disseny segons els valors de les respostes experimentals que hom vagi obtenint.



$$R = G + (G - P)$$

$$E = G + 2(G - P)$$

$$Cr = G + 0,5(G - P)$$

$$Cp = G - 0,5(G - P)$$

FIGURA 9.

A la figura 9 es representa el disseny bàsic del mètode amb la situació del punts R , E , C_r i C_p , que opcionalment poden ésser realitzats segons indiqui l'algorisme.

La diferència respecte al mètode símplex rígid és l'aparició d'aquests tres nous punts possibles de disseny, als quals s'accedeix segons els valors de les respostes i el nou algorisme proposat (figura 10).

Així, en cas que la resposta en el punt reflectit sigui millor que la millor que ja s'havia obtingut, es proposa realitzar l'experiència E , i si aquesta encara és millor, augmentar la grandària del símplex. La reducció d'aquesta grandària té lloc quan cal comparar la resposta en el punt reflectit amb la pitjor de les respostes del disseny ja obtingut.

Els criteris per aturar el procés iteratiu són els descrits abans, amb excepció del procés de ciclació i amb la particularitat que ara també es pot considerar la possibilitat que el mètode proposi una modificació tan petita dels valors dels paràmetres que no sigui factible.

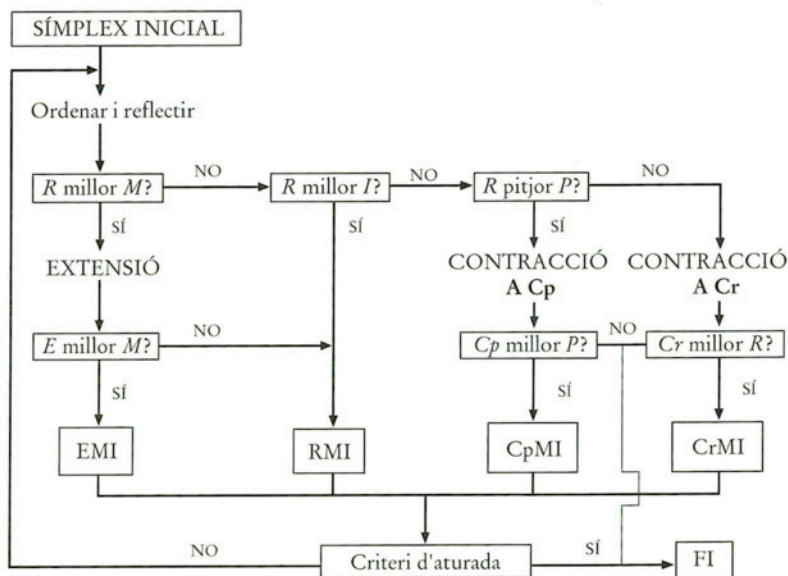


FIGURA 10.

8.5.3. Algorismes genètics

Dins el conjunt de tècniques que no fan servir un model matemàtic a l'hora de trobar un òptim per a una resposta, tal vegada les que en el moment actual estan experimentant un desenvolupament més important són els algorismes genètics.

Aquests algorismes s'inspiren en el principi d'evolució de les espècies introduït per Darwin a mitjan segle XIX, que es fonamenta en la consideració que els individus van evolucionant per adaptar-se al medi en què viuen. Aquesta adaptació es dona a través de generacions i gràcies a processos aleatoris (Holland, 1992; Davies, 1991).

Els individus més ben adaptats seran els que viuran més temps i, per tant, podran reproduir-se més vegades. Suposant que els fills s'assemblen als pares, es tindrà una nova generació d'individus que continuarà evolucionant cap a una millor adaptació al medi, és a dir, que es tracta d'un procés d'optimització «natural».

La informació bàsica sobre aquesta adaptació es transmet codificada per gens en els cromosomes seguint els sistemes de reproducció estudiats per la biologia. En resum, els responsables dels caràcters dels individus són els gens i el procés d'evolució depèn de com aquests gens es combinin o es modifiquin.

Amb aquestes nocions esquemàtiques i sense aprofundir més, hom pot considerar com a algorismes genètics aquells que estan basats en l'evolució natural de les espècies. És obvi que els algorismes genètics es basen en l'evolució natural i no pretenen ésser-ne una còpia, objectiu molt més complex i, ara per ara, fora del context de l'optimització.

Per analogia, podem establir la següent terminologia:

- *Individu*. Cada una de les solucions del problema que es tracta de resoldre. En l'àmbit experimental correspon a un assaig definit per unes condicions dels factors estudiats i una resposta del sistema.
- *Cromosoma*. Correspon a la codificació de cada individu, és a dir, al conjunt de valors dels factors un cop s'han codificat. A diferència del procés d'evolució natural, en els algorismes genètics els individus estan descrits o codificats per un sol cromosoma.

- *Gen.* Cada una de les parts d'un cromosoma, que hom acostuma a fer correspondre a un dels factors implicats en l'optimització.
- *Entorn o Medi.* És l'encarregat d'avaluar el grau d'adaptació dels individus per a poder «sobreviure». En un procés d'optimització hom disposa d'una funció o criteri de discrepància que mesura la bondat d'una solució.
- *Reproducció.* És la capacitat que tenen els individus per a fer sobreviure, i transmetre, la seva informació genètica. En aquest procés, dos o més individus s'encreuen per a formar un descendent o més, bescanviant la seva informació. En aquest procés reproductiu es poden introduir modificacions (mutacions) en el material hereditari.

En aquest context (Michalewicz, 1992), un algorisme genètic és un algorisme probabilístic que manté una població $P(t) = \{X_i(t)\}$ d'individus a cada iteració (generació). Cada individu $X_i(t)$ representa una solució possible del problema i és descrit per un cromosoma.

Aquest cromosoma és format per un vector de bits, de longitud l , dividit en una sèrie de camps que representen les variables implicades en el sistema a optimitzar. Així, un cromosoma presenta la següent estructura: $c_j = \{g_1, g_2, \dots, g_m\}$, on, per exemple, $g_1 = \{1101\}$ i és associat a la variable X_1 , $g_2 = \{0101\}$ és associat a X_2 , etc., i representen, en codi binari, els valors de cada una de les variables.

L'algorisme comença per definir una població inicial $P(t)$ formada per un nombre determinat d'individus. Aquesta definició pot fer-se a l'atzar, o bé, si es coneixen algunes propietats del sistema, d'una forma més selectiva, per tal d'accelerar així el procés evolutiu. Un cop es disposa d'aquest conjunt inicial de cromosomes, es procedeix a avaluar la resposta per a cada individu per a obtenir el seu grau d'adaptació al medi (funció discrepància).

Amb aquesta informació es realitza una selecció d'aquells individus més ben adaptats (millor resposta, menor discrepància) simulant el procés de selecció natural. El criteri de selecció acostuma a ésser un criteri probabilístic, és a dir, associat a un valor de la probabilitat que es defineix ponderant d'alguna manera els valors de la funció de la discrepància o la resposta de cada individu, per exemple, $p_j = \text{resposta de } c_j / \text{suma de respostes de la població}$.

Així, els individus més ben adaptats tenen una major probabilitat d'ésser seleccionats i per tant de poder-se reproduir, mentre que els pitjor adaptats tendiran a desaparèixer. Aquesta selecció pot realitzar-se tantes vegades com es cregui necessari i es pot arribar a construir una nova població $P(t')$ d'individus, on pot haver-hi individus seleccionats més d'una vegada.

Sobre aquesta nova població cal procedir al procés de reproducció. Hi ha dos operadors genètics que implementen aquest procés: un operador d'encreuament i un operador de mutació, a l'ocurrència de les quals s'associa un valor de probabilitat (p_c i p_m).

En un encreuament entre dos cromosomes es produeix l'intercanvi d'un gen, mentre que en una mutació té lloc el canvi d'un bit en un dels gens d'un cromosoma.

Una forma de realitzar aquest procés de reproducció consisteix a generar un nombre aleatori r dins el marge $[0,1]$ per a cada cromosoma i seleccionar-lo per encreuament si es compleix que $r < p_c$. Per a cada parella de cromosomes triats segons aquest criteri es genera un altre nombre aleatori que identifica el gen a intercanviar, i s'obtenen tot seguit els «fills» d'aquest encreuament.

Finalitzat el procés d'encreuament pot realitzar-se el corresponent a mutacions de manera similar. Per a cada bit de cada nou cromosoma es genera un nombre aleatori r dins el marge $[0,1]$, i si es compleix que $r < p_m$ es muta el bit, complementant el seu valor.

Un cop realitzat aquest darrer procés hom disposa d'una nova generació $P(t + 1)$ per a aplicar de nou l'algorisme complet. Lògicament aquest algorisme disposa d'un criteri d'avaluació del moment en què cal aturar-lo (nombre màxim d'iteracions, valor límit de la discrepància, etc.) que cal comprovar abans de procedir a la selecció d'una nova població.

Aquesta és a grans trets la filosofia dels algorismes genètics, inicialment proposats per J. Holland i el seu equip de la Universitat de Michigan a finals dels anys seixanta i principis dels setanta. No ha estat, però, fins que hom ha pogut disposar d'un equipament informàtic adient que aquests algorismes no han estat aplicats a situacions reals i diverses, com ara (Lucasius i Kateman, 1993) l'anàlisi conformacional de molècules, l'aprenentatge de les xarxes neuronals, l'anàlisi de multicomponents, la regressió multivariant, etc. El seu àmbit d'aplicació, ara per ara, és el que correspon a problemes d'estructura complexa, per als quals els mètodes convencionals són poc efectius.

BIBLIOGRAFIA

- D. BETTERIDGE, A. P. WADE i A. G. HOWARD (1985). *Talanta*, **32**, 709-734.
- G. E. P. BOX (1957). *Appl. Stat.*, **6**, 81-101.
- G. E. P. BOX, W. G. HUNTER i J. S. HUNTER (1978). *Statistics for experimenters*. Nova York: J. WILEY.
- G. E. P. BOX i N. R. DRAPER (1987). *Empirical model-building and response surfaces*. Nova York: J. Wiley.
- L. DAVIES (1991) [ed.]. *Handbook of Genetic Algorithms*. Nova York: Van Nostrand Reinhold.
- D. H. DOEHLERT (1970). *Appl. Stat.*, **19**, 231-239.
- N. DRAPER i H. SMITH (1981). *Applied regression analysis*. Nova York: J. Wiley.
- P. E. GILL, W. MURRAY i M. H. WRIGHT (1981). *Practical optimization*. Nova York: Academic Press.
- J. H. HOLLAND (1992). *Scientific American.*, 44-50.
- W. G. HUNTER i J. R. KITTRELL (1966). *Technometrics*, **8**, 389-397.
- D. J. LEGGETT (1983). *J. Chem. Educ.*, **60**, 707-710.
- C. B. LUCASius i G. KATEMAN (1993). *Chemom. Intell. Lab. Syst.*, **19**, 133.
- D. W. MARQUARDT (1963). *J. Soc. Indust. Appl. Math.*, **11**, 431-441.
- Z. MICHALEWICZ (1992). *Genetic Algorithms + Data Structures = Evolution Programs*. Berlín: Springer Verlag.
- J. A. NELDER i R. MEAD (1965). *Computer J.*, **7**, 308-313.
- P. J. ROUSSEUW i A. M. LEROY (1987). *Robust regression and outlier detection*. Nova York: J. Wiley.
- H. SCHEFFÉ (1958). *J. Royal Stat. Soc. B.*, **20**, 344-360.
- W. SPENDLEY, G. R. HEXT i F. R. HIMSWORTH (1962). *Technometrics*, **4**, 441-461.

ÍNDIX

	<u>Pàg.</u>
1. Preàmbul: introducció a la modelització (<i>Enric Casassas i Miquel Esteban</i>)	7
2. Introducció a la modelització en els estudis d'especiació química d'ions metàl·lics en els sistemes aquàtics (<i>Enric Casassas</i>)	15
3. Introducció a la modelització en els estudis d'especiació química d'ions metàl·lics en els sistemes biològics (<i>Anna Izquierdo-Ridorsa i Romà Tauler</i>)	39
4. Modelització matemàtica de vies metabòliques: utilitat de les representacions aproximades (<i>Albert Sorribas</i>)	53
5. Modelització en electroanàlisi: aplicació de la voltamperometria a l'estudi d'ions metàl·lics en medis que contenen macromolècules (<i>Miquel Esteban, Cristina Ariño, José Manuel Díaz Cruz i Jaume Puy</i>)	85
6. Creixement fractal: als límits de la modelització (<i>Francesc Mas, Jordi Mach, Pedro Pablo Trigueros, Josep Claret i Francesc Sagués</i>)	115
7. Validació quimiomètrica: visió global i un aspecte específic (<i>Francesc Xavier Rius</i>)	135
8. Modelització quimiomètrica: tècniques d'optimització ... (<i>Xavier Tomàs</i>)	161
Índex	187



MONOGRAFIES DE LES SECCIONS DE CIÈNCIES

1. OBRA D'EVARISTE GALOIS
a cura d'A. Malet
2. INTRODUCCIÓ A LA
TERMODINÀMICA DE
PROCESSOS BIOLÒGICS
D. Jou
3. ANÀLISI DE LA
PSICOANÀLISI
LL. Garcia i Sevilla
Pròleg de M. Bunge
4. COMPENDI DE
NOMENCLATURA DE
QUÍMICA ANALÍTICA
a cura d'E. Casassas
i S. Alegret
5. VOCABULARI
FORESTAL
Eduard Parés i Español
6. PLASMES I FOCS
a cura d'E. Casassas
i S. Alegret
7. GLOSSARI DE
CORROSIÓ
a cura de J. M. Costa
i P. Ll. Cabot
8. GASOS I ATMOSFERES
a cura d'E. Casassas
i S. Alegret
9. TERRA I SÒL
a cura d'E. Casassas
i S. Alegret
10. LÍQUIDS I BIOFLUIDS
a cura d'E. Casassas
i S. Alegret
11. ELS ORÍGENS
a cura de J. G. Peretó
i S. Alegret

