

Difusión cooperativa en el estudio de mezclas por Resonancia Magnética Nuclear

Christian Felipe Pantoja Rivillas

Universidad del Valle
Facultad de Ciencias Naturales y Exactas
Maestría en Ciencias-Química

Santiago de Cali
2018

Difusión cooperativa en el estudio de mezclas por
Resonancia Magnética Nuclear

Proyecto de Investigación presentado como requisito para
optar al título de Magíster en Ciencias Química

Christian Felipe Pantoja Rivillas

Dirigido por el Doctor

Julien Wist

Universidad del Valle
Facultad de Ciencias Naturales y Exactas
Maestría en Ciencias-Química

Santiago de Cali
2018

Prólogo

El estudio de mezclas multicomponente es un tema atractivo en la actualidad dado su amplio espectro de aplicaciones y los múltiples enfoques destinados a su caracterización. Desde la óptica de la resonancia magnética nuclear (RMN) multitud de esfuerzos se suman a la búsqueda de nuevos métodos capaces de acceder a la información contenida en estas. Destacamos entre estos aquellos experimentos que hacen uso del fenómeno de autodifusión (*movimiento de moléculas individuales en una mezcla en ausencia de gradientes de concentración*) de los componentes como propiedad física clave en la discriminación entre las diferentes especies presentes en una mezcla.

Sin embargo aunque la autodifusión es un tema importante en RMN pocos estudios en el área han concentrado su atención en el desarrollo de experimentos capaces de introducir y analizar fenómenos de transporte mediados por la existencia de gradientes de concentración netos. Este tipo de difusión apodada cooperativa o interdifusión es la motivación fundamental del presente trabajo.

Una estrategia trazada en torno a la transición de fase de un sistema binario es usada como eje fundamental para la creación de las condiciones necesarias para existencia de un fenómeno de difusión mediado por la existencia de gradientes de concentración netos en un tubo de RMN. La combinación entre la selección de las condiciones experimentales adecuadas y los experimentos de selección espacial usados comúnmente en resonancia magnética de imágenes (RMI) son empleados para sondear la evolución espacial y temporal de los perfiles de concentración durante el proceso de mezcla. Interesantes hallazgos esbozan su potencial en la caracterización de sistemas multicomponente y su expansión a sistemas capaces de adaptarse a las propiedades químicas de la mezcla en estudio. Finalmente una descripción detallada del fenómeno de transporte es presentada para la mezcla modelo trietilamina/agua, exhibiendo gran potencial en la determinación del coeficiente de interdifusión en un amplio rango de composiciones. Esta idea apunta a solucionar una carencia actual de datos acerca de los procesos de transporte en líquidos y complementar las estrategias experimentales establecidas a la fecha para la determinación de los coeficiente de interdifusión.

Crhistian Pantoja 2018

Dedicatoria

*A mi madre María Elena Rivillas por
ser mi motivación y su apoyo incondicional*

Contenido

1. INTRODUCCIÓN	12
2. Objetivos	17
2.1 Objetivo General	17
2.2 Objetivos Específicos	17
3. Metodología	18
3.1 Descripción del fenómeno de Transición de Fase: Sistema trietilamina/agua (TEA/H ₂ O)	18
3.2 Selección espacial en Resonancia Magnética Nuclear	19
3.2.1 Gradientes de campo magnético en RMN	20
3.2.2 Pulsos selectivos en RMN	20
3.2.3 Secuencia de pulsos DPGSE (Double Pulsed Field Gradient Selective Echo)	23
4. Sección Experimental	24
4.1 Sistema BOMA (Benceno, n-octanol, Metanol, Acetonitrilo)	24
4.2 Sistema TAN (Tolueno, Anisol, Nitrobenzeno)	25
4.4 Experimentos en RMN	26
4.4.2 Observación de sistemas TEA/H ₂ O	27
5. Resultados y discusión	28
5.1 Estimación de la temperatura de transición	28
5.2 Medición perfiles de concentración: Sistema BOMA	29
5.3 Medición perfiles de concentración: Sistema TAN	34
5.4 Determinación del coeficiente de interdifusión sistemas no ideales: Modelamiento	37
5.5 Ecuación diferencial parcial (EDP): Sistema Binario	41
5.5.1 Establecimiento de la condición inicial	42
5.5.2 Solución numérica:	43
5.6 Comparación con los modelos predictivos	46
6. Conclusiones	50
7. Perspectivas	51
7.1 Difusión Multicomponente	51
8. Bibliografía	53
9.1 Anexo 1: Calibración de Temperatura	60

9.2 Anexo 2: Cuantificación en ^1H RMN	60
9.3 Anexo 3: Calibración de la coordenada espacial	62
9.4 Anexo 4: Lista de Publicaciones y Asistencia a Eventos	63

Lista de Figuras

<i>Figura 1.</i> Espectro ^1H -RMN correspondiente a una mezcla de dos tropano alcaloides (tro) tropina y (nor) nortropina en cantidades molares equivalentes.	12
<i>Figura 2.</i> Descripción del diagrama de fases para el sistema TEA/ H_2O .	19
<i>Figura 3.</i> Comparación entre los perfiles de excitación para un pulso selectivo y un pulso rectangular o pulso duro.	21
<i>Figura 4.</i> Secuencia de pulsos DPFGE (Double Pulsed Field Gradient Selective Echo) empleada en la obtención de cada uno de los perfiles de concentración en el tiempo	23
<i>Figura 5.</i> Temperatura de mezcla para el sistema BOMA.	29
<i>Figura 6.</i> Mapeo espacial del sistema BOMA tras 8 horas de mezclado.	30
<i>Figura 7.</i> Perfiles de concentración para cada componente son mostrados y contrastados con el modelo propuesto.	31
<i>Figura 8.</i> La estrategia propuesta para el análisis del sistema BOMA es contrastado frente a los resultados obtenidos por medio del experimento PFG-RMN.	34
<i>Figura 9.</i> Mapeo espacial del sistema TAN tras 7 horas de mezclado a una temperatura de 265 K.	35
<i>Figura 10.</i> Representación pseudo 2D para el sistema TAN frente al experimento PFG-RMN obtenido de una mezcla de tolueno, nitrobenzono y anisol en CDCl_3 a una temperatura de 300 K.	36
<i>Figura 11.</i> Descripción del proceso de mezclado para el sistema TEA/ H_2O / D_2O .	40
<i>Figura 12.</i> Los datos experimentales para el volúmenes de exceso del sistema TEA/ H_2O son presentados frente a la función de Redlich-Kister para las dos temperaturas de trabajo 278.15 K (A) y 283.15 K (B) .	42
<i>Figura 13.</i> Los valores para la concentración total ct y condición inicial en el nuevo sistema de coordenadas son presentados.	43
<i>Figura 14.</i> Datos experimentales tomados a 283.15 K y 278.15K frente a la solución numérica representada por la superficie en rojo.	44

<i>Figura 15.</i> Superficies de R^2 encontradas para las mediciones 1(A) y 2(B) a 283.15K.	45
<i>Figura 16.</i> Comparación de los modelos predictivos para el sistema TEA/H ₂ O frente a la funcionalidad obtenida de la EDP y reportes experimentales.	48
<i>Figura 17.</i> Evaluación de la intensidad normalizada de cada señal frente al tiempo.	51

Lista de tablas

<i>Tabla 1.</i> Composición del sistema (BOMA) y Log Kow para cada especie	24
<i>Tabla 2.</i> Composición del sistema (TAN) y Log Kow para cada especie	25
<i>Tabla 3.</i> Sistemas TEA/H ₂ O/D ₂ O	26
<i>Tabla 4.</i> Reporte de parámetros/ sistema BOMA	32
<i>Tabla 5.</i> Reporte de parámetros/ Sistema TAN	36
<i>Tabla 6.</i> Reporte de coeficientes encontrados para el sistema TEA/H ₂ O/D ₂ O	45

Notación

RMN	Resonancia Magnética Nuclear
^1H -RMN	Experimento 1D de protón
^{13}C -RMN	Experimento 1D de carbono 13
2D TOCSY	Experimento 2D de espectroscopia de correlación total, por sus siglas en inglés (T ^O tal Correlation Spectroscop ^Y)
PFG-RMN	Resonancia Magnética Nuclear con pulsos de gradientes de campo, por sus siglas en inglés (Pulsed Field Gradient).
TEA	Trietilamina
LCST	Temperatura crítica de transición más Baja, por sus siglas en inglés (Lower Critical Solution Temperature)
ω_0	Frecuencia de Larmor
γ	Relación giromagnética
B_0	Campo magnético principal
$\omega_1(t)$	Pulso de radiofrecuencia
G_z	Fortaleza del gradiente de campo magnético
DPFGSE	Doble pulso de gradiente con Echo Selectivo, por sus siglas en inglés (Double Pulsed Field Gradient Selective Echo)
BOMA	Sistema compuesto por Benceno, <i>n</i> -Octanol, Metanol y Acetonitrilo
TAN	Sistema compuesto por Tolueno, Anisol y Nitrobenceno
K_{ow}	Coefficiente de distribución del componente <i>j</i> en agua/ <i>n</i> -Octanol
$\Delta\omega$	Ancho de banda del pulso
Δz	Espesor de la selección espacial

Ω	Frecuencia central del pulso selectivo
A_j	Fracción entre el número de núcleos de j y la señal de referencia
I_j	Intensidad o área de señal para el componente j
x_j	Fracción molar del componente j
GSD	Deconvolución espectral global, por sus siglas en inglés (Global Spectral Deconvolution)
J_{IS}	Constante de acoplamiento escalar entre el núcleo I y S
N_i^M	Flujo molar total
j_i^M	Contribución difusional al flujo total
$c_i u^M$	Contribución convectiva
v_k	Coefficientes para la funcionalidad de D_{12}
D_{12}	Coefficiente de interdifusión
D_i^*	Coefficiente de autodifusión
V_n^0	Volumen molar del componente n
V^{Exc}	Volumen en exceso
ξ_k^M	Variable de composición para el sistema de coordenadas $(\xi, \bar{z})$
$\bar{z}$	Variable de posición para el sistema de coordenadas $(\xi, \bar{z})$
c_t	Concentración total
$\left[1 + \frac{d \ln \Gamma}{d \ln x_j}\right]$	Factor de corrección termodinámico

1. INTRODUCCIÓN

El creciente número de investigaciones que implican el estudio de mezclas complejas ha justificado el esfuerzo realizado desde resonancia magnética nuclear para la identificación y cuantificación de sus constituyentes. (Forseth & Schroeder, 2011) (Simmler et al., 2014) (Bingol et al., 2016). La resonancia magnética nuclear (RMN) es atractiva para el desarrollo de esta tarea, dado que permite la identificación de sus componentes sumado a la posibilidad de cuantificarlos sin el uso de costosos compuestos de referencia (Giraudeau, 2014). La alta sensibilidad ofrecida por la RMN del núcleo ^1H ha sido la estrategia predilecta frente a otros núcleos activos en esta técnica (ejemplo: ^{15}N , ^{31}P , ^{13}C , etc). Sin embargo dada la similitud estructural de algunos componentes junto al estrecho rango del desplazamiento químico, una reducción drástica en las posibilidades de identificación y cuantificación dificulta dicha tarea (*Figura 1*).

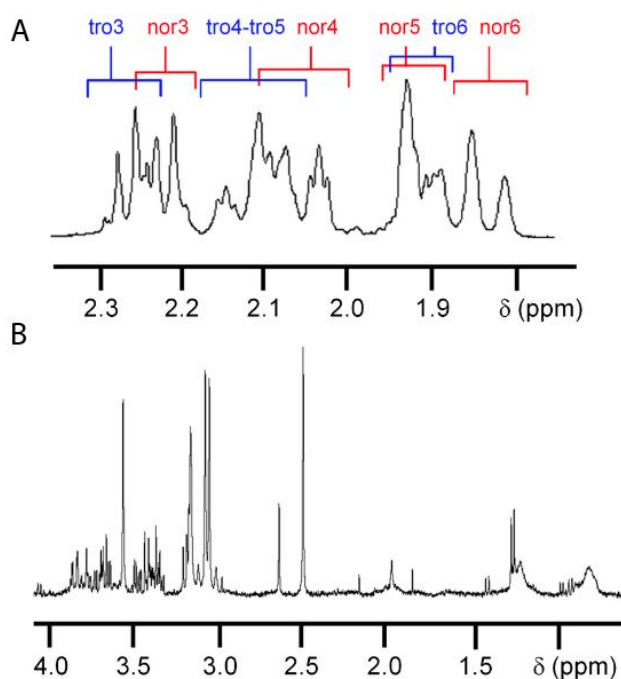


Figura 1. A) Espectro ^1H -RMN correspondiente a una mezcla de dos tropano alcaloides (tro) tropina y (nor) nortropina en cantidades molares equivalentes. B) Espectro ^1H -RMN con pre-saturación de agua obtenido de la línea celular MCF-7 presente en extractos de células de cáncer de mama (Giraudeau, 2014). En ambos espectros ^1H -RMN se muestra el fuerte solapamiento ocasionado por la similitud estructural de las moléculas (A) y un gran número de componentes (B).

Por esta razón algunos núcleos con una dispersión espectral mayor son usados para sortear dichos inconvenientes. Un ejemplo de esto es el uso de la espectroscopia de RMN de carbono-13 (^{13}C -RMN) (+200 ppm) cuya dispersión de señales es mayor a la observada en el núcleo de hidrógeno (^1H -RMN) (15 ppm) permite una rápida reconstrucción del espectro asociado a cada constituyente (Nuzillard, 1998). Sin embargo una baja sensibilidad ocasionada por una pobre abundancia isotópica y una baja constante giromagnética restringe su aplicación en la mayoría de casos.

Una alternativa es el uso de experimentos de RMN multidimensionales (Jeener, 1971) los cuales ofrecen información estructural adicional de las especies y una mayor resolución espectral. Un ejemplo de estos esquemas es la aplicación de análisis multivariado a experimentos 2D-TOCSY permitiendo la obtención de espectros unidimensionales correspondiente a cada uno de los componentes en la mezcla. Sin embargo, largos tiempos de adquisición son necesarios en la construcción de la matriz 2D sumado a la particularidad de la respuesta en relación a cada sitio en la molécula (T_1 , T_2 , J_{CH} , J_{HH}), lo que reduce su alcance para el estudio de sistemas multicomponente (Giraudeau, 2014).

Otra posibilidad es realizar el estudio de mezclas utilizando experimentos de RMN basados en el fenómeno de difusión (Johnson, 1999) que permiten una separación virtual de los constituyentes en función de la autodifusión de las especies presentes en el sistema de interés (Stilbs, 1987). Este último enfoque ha gozado de bastante éxito en los últimos años (Gostan et al., 2004) (Balayssan et al., 2009), sin embargo el solapamiento de señales al igual que en otras estrategias, ha sido un desafío constante para estas metodologías. Con el fin de superar dichas dificultades algunas mejoras han sido propuestas: Uso de la transformación de Laplace para el posprocesamiento de datos provenientes de los experimentos de difusión (Armstrong et al., 2003). La inclusión de la relajación nuclear T_1 como dimensión adicional (Nilsson et al., 2009). Finalmente la combinación con estrategias denominadas espectroscopia de desplazamiento puro (“pure shift NMR”), permiten incrementar la resolución espectral tras eliminar la contribución de los acoplamientos homonucleares (J_{HH}) responsables de la estructura fina en los espectros de RMN (Foroozandeh et al., 2016).

Algunas ideas apuntan a la inclusión de micelas capaces de modificar la autodifusión de especies que en principio dada su similitud estructural son indistinguibles en experimentos comunes de difusión (Evans et al., 2009). En esta misma vía algunos tipos de polímeros, gel de sílice o micro emulsiones han sido empleados para incrementar el poder de resolución en tales experimentos. Estrategias como el giro con ángulo mágico (magic angle spinning) son usadas en estas situaciones para recuperar la resolución perdida a consecuencia de la inclusión de una fase sólida en el sistema (Viel et al., 2003). Aquellas

estrategias que han hecho uso de fases cromatográficas han sido agrupadas bajo el término “*NMR Chromatography*” (Gramosa et al., 2016).

Adicionalmente la RMN ha brindado la posibilidad de aplicar algunos de estos experimentos a la observación de fenómenos de difusión cooperativos donde el transporte de las especies es mediado por la existencia de un gradiente de composición (Caprihan & Fukushima, 1990).

El estudio de este tipo de difusión es de interés debido a su importante rol en la comprensión y mejoramiento de algunos procesos industriales (Cussler, 1997). Su estudio abarca diferentes ámbitos, desde el desarrollo de técnicas destinadas a su medición (Dunlop et al., 1992) hasta la propuesta de modelos computacionales capaces de predecir su comportamiento (Guevara-Carrion et al., 2016). Actualmente existen dos teorías ampliamente aceptadas para la descripción de este fenómeno: El modelo de Fick y los modelos predictivos. Los esquemas apodados predictivos se basan en la comprensión microscópica de los procesos moleculares entorno la teoría de Maxwell-Stefan (Taylor & Krishna, 1993). De otro lado, técnicas bien establecidas como dispersión de Taylor (Leaist, 1990) e interferometría (Miller, 2014) son capaces de acceder directamente a la difusividad de los componentes haciendo uso del formalismo de Fick (Taylor & Krishna, 1993). A pesar de esto la determinación precisa de la difusividad posee un alto grado de incertidumbre cuando se trata con mezclas no ideales (Reid et al., 1987).

La difusividad en líquidos experimenta una fuerte dependencia con la concentración lo que implica un mayor esfuerzo experimental para conocer su comportamiento. Recientemente Bardow (Bardow et al., 2003) ha retomado y puesto en práctica un enfoque alternativo presentado en los años 70 por (Gupta & Cooper, 1971). La difusividad en sistemas líquidos puede ser estimada en todo el rango de composiciones a partir de un solo experimento, siempre y cuando los datos medidos cuenten con la precisión suficiente. Esta aproximación ha sido empleada con éxito en campos como la absorción (Arvin et al., 1995), el transporte de proteínas en geles aniónicas (Lewus & Carta, 2001) y la difusión de polielectrolitos (Wagner & Kohler, 2008).

El gran atractivo de este enfoque es la reducción en el esfuerzo experimental requerido por otras técnicas. Adicionalmente se ha planteado el uso de métodos como el “*model-based*” o “*incremental-model*” (Bardow & Marquardt, 2004) para analizar los datos obtenidos por medio de la espectroscopia Raman utilizando esta estrategia (Bardow et al., 2005). La inclusión de una técnica espectroscópica brinda la posibilidad de resolver individualmente la contribución de cada componente al proceso de mezcla, lo que supone un gran logro

sobre las técnicas tradicionales si se piensa en el análisis de sistemas multicomponentes (Cussler, 1976).

En esta misma ruta nosotros buscamos proponer un enfoque basado en la utilización de la RMN dado que su versatilidad y rendimiento equiparables a Raman para la observación de dicho fenómeno. Algunos trabajos previos han explorado la aplicación de esta técnica como herramienta de acceso a los coeficientes de autodifusión necesarios para el estudio de los fenómenos de difusión cooperativa (Bardow et al., 2009). Adicionalmente, los datos obtenidos de los experimentos de RMN se han usado como complemento en los esquemas de “*model-based*” empleados en Raman para mejorar su estabilidad en zonas donde la presencia de gradientes de concentración despreciables impide estimar la difusividad con buena precisión (Kriesten et al., 2009).

Un aspecto interesante de los fenómenos de transporte cooperativo en sistemas multicomponente es la inclusión de efectos adicionales ocasionados por el transporte simultáneo de cada constituyente (Cussler, 1976). En algunas situaciones se ha observado que ciertas especies logran desplazarse en sentido contrario a su gradiente de concentración o sufrir alteraciones drásticas en las tasas de movilidad. Una revisión histórica de los modelos formulados para este fenómeno ha sido publicado recientemente (Bird & Klingenberg, 2013).

Inspirados en la posibilidad de medir este tipo de transporte y su potencial uso para el análisis de mezclas, en el presente documento una estrategia alternativa capaz de generar este tipo de transporte en el interior de un tubo de RMN sin modificaciones adicionales (Pantoja et al., 2017). Como se muestra a continuación el uso de un sistema binario (trietilamina/agua) capaz de experimentar transición de fase por cambios en la temperatura será la clave para dar inicio al transporte de las especies disueltas en el sistema.

Inicialmente, los detalles del fenómeno de transición para el sistema de interés son esbozados inicialmente. Seguidamente el fundamento de los experimentos de RMN usados en el presente estudio son explicados y puestos en contexto con el uso de la secuencia de pulsos (*Double pulsed-field gradient selective echo*) DPFGSE elegida para este estudio. Una evaluación de los resultados obtenidos por medio del experimento de difusión PFG-NMR, ilustra los desafíos y alcances de la presente metodología respecto al análisis de mezclas.

Finalmente el modelo propuesto para acceder al coeficiente de interdifusión en mezclas no ideales (Bardow et al., 2005) es puesto en contexto para el sistema modelo TEA/H₂O. La funcionalidad encontrada para este coeficiente es contrastada con el reciente estudio

predictivo desarrollado para este sistema por D'Agostino (D'Agostino, 2012). Los valores encontrados son contrastados con los publicados en la literatura hasta la fecha (Dudley & Tyrrell, 1973) (Haase & Siry, 1968).

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

- Desarrollar una estrategia para el análisis de mezclas por RMN basado en el fenómeno de difusión cooperativa durante la transición de fase del sistema binario TEA/D₂O.
- Determinar y evaluar el coeficiente de interdifusión para el sistema binario TEA/H₂O en todo el rango de composiciones haciendo uso de los modelos recientes desarrollados para el estudio de mezclas no ideales.

2.2 Objetivos específicos

- Implementación de la secuencia de pulsos DPGSE clave para los experimentos de selección espacial.
- Desarrollar las herramientas informáticas necesarias para el procesamiento de los datos resultantes tras cada ronda de medición.
- Evaluar el potencial de separación de la estrategia propuesta en relación al experimento de difusión PFG-RMN.
- Proponer una funcionalidad para el coeficiente de interdifusión de la mezcla binaria TEA/H₂O
- Contrastar los valores de difusividad medidos para el sistema TEA/H₂O con los modelos predictivos desarrollados a la fecha para esta mezcla.

3. Metodología

3.1 Descripción del fenómeno de transición de fase: sistema trietilamina/agua (TEA/H₂O)

El sistema trietilamina/agua (TEA/H₂O) corresponde a una familia de mezclas binarias capaces de experimentar una transición de fase por cambios asociados con la temperatura del sistema. En particular, este sistema muestra una conversión desde un estado inicial de dos fases a una mezcla homogénea a temperaturas por debajo de los 291.45 K (Kartzmark, 1966). La temperatura a la que se produce dicho cambio es conocida como LCTS (lower critical solution temperature). Actualmente se sabe que el incremento de solubilidad entre ambos compuestos está asociado con la formación de puentes de hidrógeno entre las moléculas de TEA y H₂O, por lo tanto al incrementar la temperatura del sistema los puentes de hidrógeno se rompen y las sustancias se tornan inmiscibles (*Figura 2.0*). Tal reorganización puede tardar entre 1-2 μ s tras el cambio de temperatura como lo demuestran algunos estudios por láser (Hobley et al, 2003).

Cálculos en dinámica molecular se han llevado a cabo sobre la base de un sistema en el que pueden coexistir ambas fases con una interfaz bien definida, estos estudios han sido coherentes con los datos experimentales (Snyder & Eckert, 1973). En el caso de sistemas binarios que poseen un LCTS la presencia de puentes de hidrógeno entre moléculas distintas representa un nivel de complejidad adicional. Recientemente, se ha propuesto la existencia de un salto en el potencial electrostático en la interfase debido a la distribución de carga en la vecindad de la región interfacial producto de la orientación de los momentos dipolares del agua y la formación de puentes de hidrógeno a través de la interfaz con moléculas de TEA (Kajimoto et al., 2007).

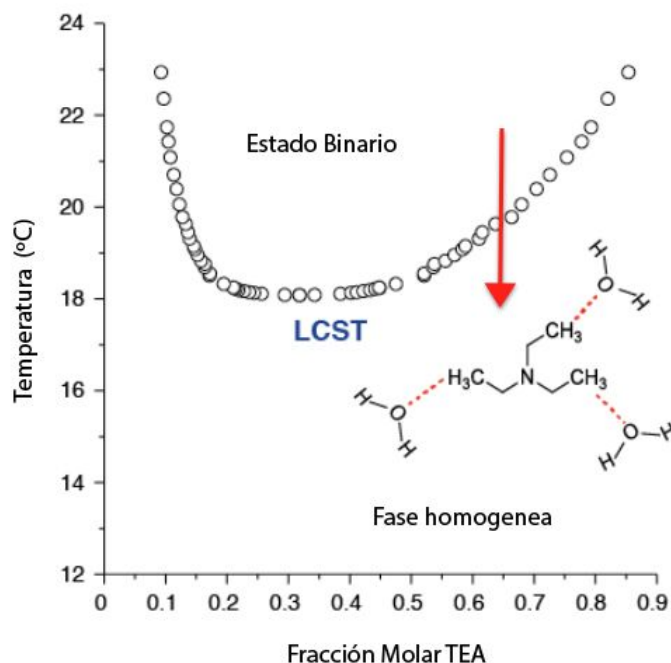


Figura 2.0 Diagrama de fases para el sistema TEA/H₂O (Hale et al., 2010). Los círculos representan la curva de coexistencia entre ambas zonas del diagrama (estado binario/ fase homogénea). El punto más bajo de esta curva, denominado LCST, representa la temperatura más baja a la cual puede llevarse a cabo la transición de fase. Las interacciones puente de hidrógeno facilitan la formación de la fase homogénea una vez la movilidad de las especies es mitigada debido al descenso de la temperatura.

3.2 Selección espacial en resonancia magnética nuclear

3.2.1 Gradientes de campo magnético en RMN

Los gradientes de campo magnético han sido usados ampliamente en los estudios llevados a cabo por RMN (Parella, 1998). La posibilidad de modificar el momento magnético o alterar su fase sin generar alguna perturbación adicional sobre el sistema, han sido la clave de su éxito en la actualidad (Pagés et al., 2017). Una de las aplicaciones más sobresaliente es su uso en la obtención de imágenes por resonancia magnética (MRI, “magnetic resonance imaging”) (Tsao J. 2010). Por otro lado su uso como elemento indispensable en experimentos que permiten estudiar secciones específicas de un cuerpo han logrado buena acogida en el campo de la medicina moderna como técnica de diagnóstico no invasiva (Jackson et al., 2017).

La codificación espacial (*concepto clave en los experimentos previamente mencionados*) se obtiene gracias a la aplicación de un gradiente de campo magnético durante cortos periodos de tiempo. Para explicar este fenómeno es necesario partir de la de la relación fundamental entre la frecuencia de resonancia y el campo magnético que experimenta el spin nuclear:

$$\omega_0 = \gamma B_0 \quad (1)$$

donde ω_0 representa la frecuencia de precesión del momento magnético o frecuencia de Larmor dada en (rad/s), γ la constante giromagnética del núcleo (En el caso del núcleo ^1H , $\gamma/(2\pi) = 42.577478 \text{ MHz T}^{-1}$) y B_0 la fortaleza del campo magnético principal. Dado que B_0 es aplicado con una magnitud constante (9.4 T) a lo largo de la coordenada z , la frecuencia de precesión de los núcleos en diferentes sectores del tubo de RMN es la misma.

Sin embargo en presencia de un gradiente de campo magnético ∇B_0 la magnitud campo magnético principal B_0 varía a lo largo de la dimensión sobre el cual es aplicado. En la mayoría de los experimentos de RMN los gradientes de campo magnético son aplicados a lo largo de la coordenada z . Si este varía linealmente a lo largo de esta coordenada, la frecuencia de precesión ω_0 se torna dependiente de la posición en el tubo de RMN:

$$\omega_0 = \gamma(B_0 + G.z) \quad (2)$$

donde G es la magnitud del gradiente de campo magnético aplicado reportado en unidades de (T/cm²).

3.2.2 Pulsos selectivos en RMN

Tras la gran revolución ocasionada por la introducción de la transformada de Fourier (Ernst, 1992) en la RMN, su utilización trajo consigo la aparición de nuevos retos en el diseño de los espectrómetros. Las fuertes señales provenientes de disolventes como el agua ocasionaron dificultades durante la etapa de digitalización debido al amplio rango de concentraciones presente entre las señales del disolvente y el soluto (Davies et al., 1985). Tal problema motivó el desarrollo de nuevas estrategias destinadas a suprimir dichas señales (Guéron et al., 1991). En este punto el uso de pulsos de radiofrecuencia denominados “suaves” o selectivos tuvo su entrada en escena.

A diferencia de los pulsos “duros” o cuadrados empleados normalmente en RMN para excitar la totalidad de resonancias en todo el ancho de banda, los pulsos selectivos son

usualmente diseñados para excitar secciones del espectro en el orden de unos cuantos hercios.

Los pulsos empleados en los experimentos de selección espacial deben contener perfiles de excitación restringidos (*banda estrecha*) en comparación con los pulsos duros. Dado que los pulsos están representados como funciones temporales es posible estimar de manera aproximada su perfil de excitación haciendo uso de la transformada de Fourier. En la (Figura 3.0) se muestran las diferencias observadas en los perfiles de excitación entre un pulso selectivo tipo gaussiano y un pulso duro.

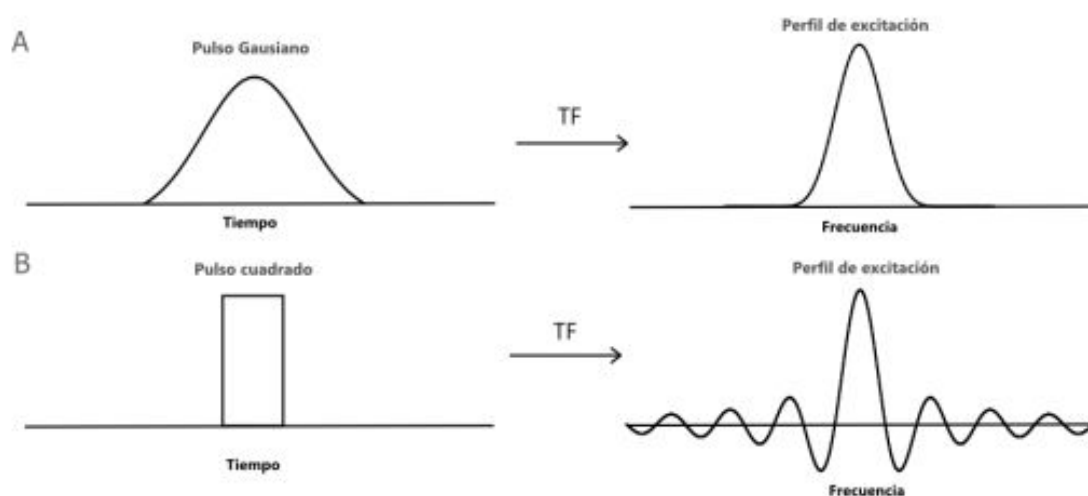


Figura 3.0 Comparación entre los perfiles de excitación para un pulso selectivo y un pulso cuadrado. Tal como se muestra en el apartado B, una vez realizada la transformada de Fourier el pulso rectangular muestra excitaciones en regiones distantes a la frecuencia de resonancia ubicada en el centro del perfil de excitación. Estas oscilaciones denominadas “wiggles” reducen la selectividad del pulso cuadrado en comparación al pulso gaussiano empleado.

Si ahora consideramos la aplicación simultánea de un pulso selectivo durante el tiempo en que el gradiente de campo magnético se encuentra activo es posible lograr la excitación de un grupo de frecuencias codificadas por acción del gradiente correspondientes a un sector espacial en el tubo de RMN (Figura 4.0).

La ubicación de la región a lo largo del eje z donde se desea realizar la excitación depende de la frecuencia central Ω del pulso selectivo usado. Este parámetro es ajustado antes del comienzo del experimento y permite elegir la sección espacial sobre la cual se desea obtener información:

$$z = \Omega / \gamma G \quad (3)$$

En tanto el espesor de la selección queda determinado por el ancho de banda del pulso selectivo usado $\Delta\omega$ y la fortaleza del gradiente de campo magnético G aplicado.

$$\Delta z = \Delta\omega / \gamma G \quad (4)$$

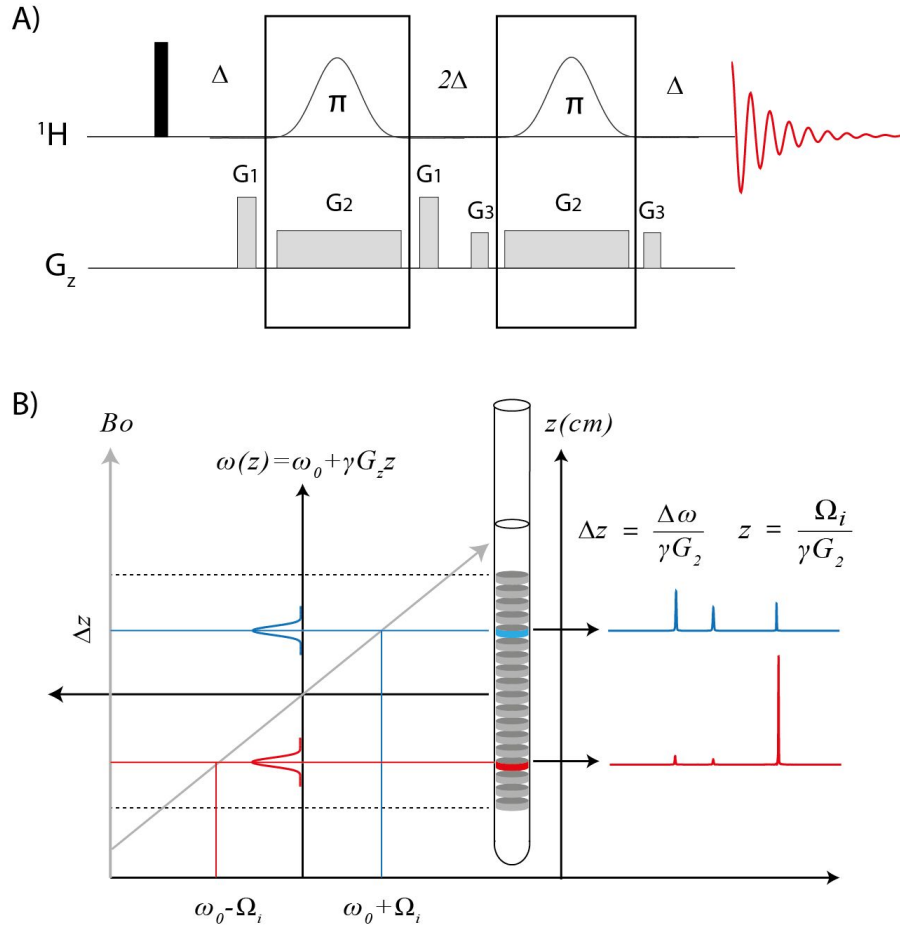


Figura 4.0 La secuencia de pulsos DPFGE (*Double Pulsed Field Gradient Spin Echo*) fue empleada en la obtención de cada uno de los perfiles de concentración en el tiempo dadas sus bondades en el estudio de sistemas no homogéneos (Kozminski, 2000). Un pulso de selección gaussiano de 1.0 ms y un gradiente de codificación G_2 de 10.61 gauss/cm fueron empleados en el bloque de selección mostrado (recuadro) en la (Figura. 4A). La posición en el tubo de RMN donde se realiza la selección puede ser elegida a partir de la frecuencia central del pulso de selección Ω y la magnitud del gradiente de codificación G_2 usado. El espesor de la región observada Δz queda determinado por el ancho de banda $\Delta\omega$ del pulso selectivo.

3.2.3 Secuencia de pulsos DPGSE (Double Pulsed- Field Gradient Spin Echo)

Los experimentos de selección espacial pueden ser realizados usando únicamente un pulso selectivo de excitación en presencia de un gradiente de campo magnético. Sin embargo, en el presente trabajo se ha elegido la secuencia pulsos propuesta por Koźmiński (Koźmiński, 2000) para la medición de los perfiles de composición durante el proceso de mezcla.

Esta secuencia *Figura xx* compuesta por un pulso duro de excitación seguido del bloque denominado DPGSE (Hwang & Shaka, 1995) ha demostrado alta selectividad y una línea base libre de artefactos al tratar con sistemas heterogéneos, lo que la hace atractiva para el estudio de los sistemas objetivo de este trabajo. Por otro lado, el uso de un bloque de doble selección permite suprimir artefactos ocasionados por imperfecciones en los pulsos usados. Finalmente los gradientes G_1 y G_3 con magnitudes 3:1 son usados como soportes del proceso de selección del camino de coherencia deseado (Figura 4.0).

4. Sección experimental

4.1 Sistema BOMA (Benceno, n-Octanol, Metanol, Acetonitrilo)

Para evaluar el potencial de separación del presente enfoque, una mezcla binaria de D_2O y TEA fue preparada en conjunto con la disolución de 4 componentes adicionales: (benceno, *n*-octanol, metanol, acetonitrilo, este sistema será denotado como BOMA). Las cantidades

correspondientes a los reactivos mayoritarios D₂O/TEA fue elegida con el propósito de lograr la formación de la interfaz cerca del centro de la bobina ubicada a 2.0 cm de la base del tubo de RMN. Con esto se busca obtener un número de puntos de observación simétricos a ambos lados de la interfaz. La composición del sistema BOMA en D₂O/TEA así como el coeficiente de partición (K_{ow}) de cada uno de los componentes aparece detallada en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición del sistema BOMA

Especie	Volumen (μ L)	Fracción molar x_i	Log K_{ow}
N(CH ₃ CH ₃) ₃	230.00 $\pm$ 0.01	0.10	1.45
D ₂ O	230.00 $\pm$ 0.01	0.77	-1.38
CH ₃ OH	30.00 $\pm$ 0.01	0.04	0.74
CH ₃ CN	30.00 $\pm$ 0.01	0.03	-0.34
C ₆ H ₆	30.00 $\pm$ 0.01	0.02	2.13
CH ₃ (CH ₂) ₇ OH	30.00 $\pm$ 0.01	0.01	3.07

El coeficiente de partición K_{ow} refleja la afinidad de cada componente frente a un ambiente hidrofóbico (Log K_{ow} >0) o hidrofílico (Log K_{ow} <0). Por lo tanto su valor nos ofrece una idea de la forma en que los constituyentes estarán distribuidos en cada una de las fases mayoritarias. Por ejemplo, en los casos de las especies *n*-Octanol (CH₃(CH₂)₇OH) y benceno (C₆H₆) una clara tendencia hacia ambientes hidrofóbicos garantizará una presencia mayoritaria en la fase de TEA en relación a los componentes metanol (CH₃OH) y acetonitrilo (CH₃CN).

4.2 Sistema TAN (Tolueno, Anisol, Nitrobenzeno)

Tabla 2. Composición del sistema (TAN) y Log K_{ow} para cada especie

Especie	Volumen (μ L)	Fracción molar x_i	Log K_{ow}
N(CH ₃ CH ₃) ₃	210.00 $\pm$ 0.01	0.102	1.45
D ₂ O	210.00 $\pm$ 0.01	0.785	-1.38
C ₇ H ₆ O ₂	45.00 $\pm$ 0.01	0.054	-1.93
(C ₆ H ₅)CH ₃	30.00 $\pm$ 0.01	0.019	1.85
(C ₆ H ₅)OCH ₃	30.00 $\pm$ 0.01	0.018	2.11
(C ₆ H ₅)NO ₂	30.00 $\pm$ 0.01	0.020	2.07

Tal como se muestra en la Tabla 2. los tres anillos aromáticos presentan valores positivos en su coeficiente $\text{Log } K_{ow}$ lo que indica una fuerte tendencia a permanecer en la fase orgánica del sistema. En compensación 45 μL de etilenglicol $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}_2$ fueron adicionados al sistema para evitar el congelamiento de la fase acuosa gracias a las propiedades anticongelantes de esta sustancia.

4.3 Preparación de sistemas TEA/ H_2O / D_2O para la medición del coeficiente de interdifusión

Con el objetivo de estimar la funcionalidad del coeficiente de interdifusión (*movimiento colectivo de moléculas en presencia de un gradiente de concentración*) de la mezcla TEA/ H_2O , 4 sistemas de TEA/ H_2O / D_2O fueron preparados. Las cantidades de los reactivos fue seleccionada cuidadosamente para formar la interfaz del sistema binario en los alrededores del centro de la bobina (*Figura 11*). En la (Tabla 3) se reporta la composición para cada uno de los sistemas.

Tabla 3. Composición del sistema TEA/ H_2O / D_2O y posición de la interfaz en el tubo respecto a la base del mismo

Sistema	x_{TEA}	$x_{\text{H}_2\text{O}}$	$x_{\text{D}_2\text{O}}$	Interfaz (cm)
1	0.1149	0.7799	0.1051	1.9
2	0.1127	0.7881	0.0991	1.9
3	0.1168	0.7825	0.1005	2.0
4	0.1173	0.7802	0.1024	2.0

Los constituyentes fueron adicionados en el tubo de RMN en el orden de mayor a menor con respecto a su densidad ($\text{D}_2\text{O} > \text{H}_2\text{O} > \text{TEA}$). Tras algunos ensayos se encontró que la cantidad mínima requerida para realizar el “lock” del campo B_0 es de 30 μL del isótopo. Sin embargo a pesar de lo efectos observados sobre la transición de fase cuando el D_2O reemplaza en su totalidad al H_2O (ejemplo: Disminución en la temperatura de mezcla) (Fenby, 1981), las propiedades en exceso necesarias para el modelamiento no muestran diferencias apreciables con el sistema H_2O /TEA (Jancsó, 2006).

4.4 Experimentos en RMN

4.4.1 Observación sistemas BOMA y TAN

Cada 2 horas un mapeo espacial del tubo de RMN con el sistema fue adquirido hasta completar 16 horas. Para cada uno de ellos, 21 puntos en el espacio fueron medidos aleatoriamente, ajustando la frecuencia central del pulso selectivo Ω en un rango de (-18000 Hz a 22000 Hz) equivalente a (1.4 cm -2.6 cm / En referencia a la base del tubo de RMN) con una tasa de incremento de 2000 Hz. La selección de este rango permitió la medición de sectores simétricos en relación a la interface del sistema. Para cada sección medida, 16 acumulaciones fueron tomadas y almacenadas en un vector complejo de 65536 puntos.

Los espectros resultantes fueron procesados usando el software **Topspin** (Bruker, Rheinstetten) versión 3.5, en tanto el manejo de datos y posprocesamiento fue realizado usando rutinas desarrolladas en el SCILAB 5.2.

4.4.2 Observación de los sistemas TEA/H₂O/D₂O

Un total de 83 sets de 23 secciones espaciales para cada uno de los 4 sistemas fueron tomados. En promedio una longitud de 1.2 cm respecto al centro de la bobina fue analizado durante la evolución del proceso de mezcla. Las temperaturas de 278.15 K y 283.15 K fueron seleccionadas para la realización de los experimentos dada la disponibilidad de datos reportados en la literatura a estos valores (Dudley & Tyrrell, 1973) (Haase & Siry, 1968). El valor preciso de la temperatura del sistema fue medido empleando metanol-*d*₄ (99.8%) tal como se explica en el (*Anexo 1*). La relación entre la intensidad de la señal a fracción molar viene dada por la *ec.4*

$$x_j = \frac{A_j^{-1} I_j}{\sum_{k=1}^n A_k^{-1} I_k} \quad (4)$$

Donde A_j representa el número de núcleos j causantes de dicha resonancia e I_j la intensidad medida en el espectro de RMN para la especie de interés j . La intensidad de una señal es proporcional al área bajo la curva de la misma. Una descripción detallada de la *ecuación .4* es reportada en el (*Anexo 2*).

Finalmente los valores de posición fueron medidos correctamente tras la calibración de los gradientes de campo magnético usando D₂O (99.9%) como referencia (*Anexo 3*).

Un tiempo de adquisición de (Aq) de 1.063 s y una ventana espectral (SW) de 15.0232 ppm fueron empleados para cada uno de los experimentos. La posterior apodización tipo gaussiana (LB=3.0) y corrección de la línea base fueron realizados haciendo uso de las rutinas implementadas en la versión de Topspin 3.5 (Bruker, Rheinstetten). La integración de los datos fue realizada en rutinas escritas para el programa SCILAB 5.2.

La solución numérica de la ecuación diferencial resultante y posterior optimización fue realizado por rutinas implementadas en el programa de Mathematica 11.

5. Resultados y discusión

5.1 Estimación de la temperatura de transición

Inicialmente, el sistema BOMA fue dejado durante un periodo de 12 horas a temperatura ambiente garantizando así el equilibrio de partición de sus constituyentes. Posteriormente, una serie de experimentos ^1H -RMN fueron adquiridos para verificar para garantizar que el intercambio entre el óxido de deuterio y el metanol estuviera completo. Esto es validado una vez que la intensidad de ambas señales (MeOH: 3.6 ppm y 3.8 ppm) (HDO: 4.8 ppm y 4.6 ppm) involucradas se observan constantes con el tiempo.

Aunque los diagramas de fase para los sistemas TEA/ H_2O (Gastaud et al., 1990) y TEA/ D_2O (Fenby et al., 1981) se encuentran reportados, se sabe que la presencia de especies adicionales puede modificar la curva de coexistencia de forma negativa o positiva según sea el caso (Hales et al., 1966). Esta aproximación es conocida como reglas de Timmermans, las cuales establecen que la adición de especies que poseen una alta miscibilidad en ambos componentes puede incrementar la temperatura de transición, por el contrario la adición de especies con una miscibilidad preferente por una de las fases tiende a disminuir dicha temperatura (Hales et al., 1966). Una determinación aproximada de la temperatura de transición puede ser de interés si se piensa en estrategias destinadas a mejorar el rendimiento experimental de la estrategia propuesta.

Con el objetivo de determinar la temperatura de transición aproximada del sistema BOMA, esté fue enfriado por debajo de la temperatura de transición reportada para el sistema TEA/ D_2O (287.60 K) (Fenby et al., 1981). Antes de ser transferida al tubo de RMN la mezcla fue homogenizada mediante agitación hasta alcanzar una fase homogénea.

Experimentos ^1H -RMN fueron tomados a medida que se incrementa la temperatura 0.1K cada 10 minutos (272 K hasta 276 K). En la *Figura 5.* de los experimentos adquiridos entre 273 K y 275 K se puede observar que por encima de los 274.4 K señales adicionales de TEA (2.2 ppm-2.4 ppm) y HDO (4.8 ppm-5.0 ppm) revelan la coexistencia dos ambientes magnéticos diferentes, lo que demuestra que la temperatura de transición para el sistema se encuentra cercana a los 274.4 K.

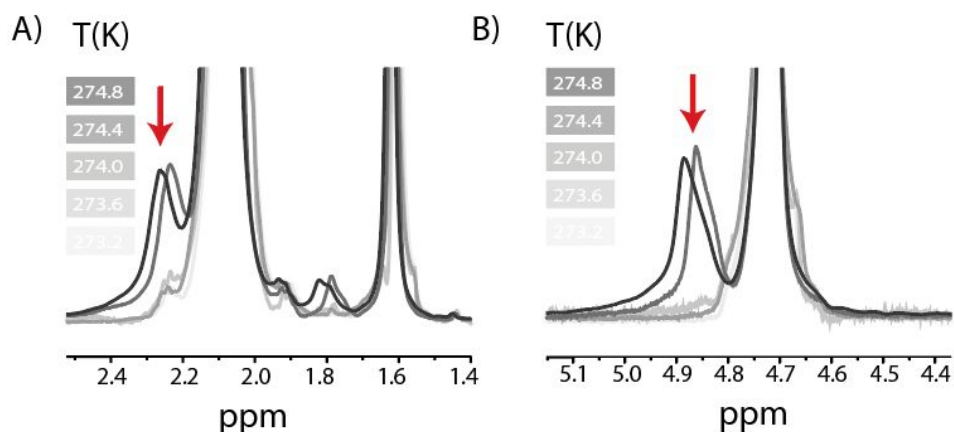


Figura 5.0 Temperatura de mezcla para el sistema BOMA. La formación de una segunda fase trae consigo la existencia de un segundo ambiente magnético presente en la muestra (Flecha roja). Experimentos ^1H -RMN fueron usados para la observación del sistema en cada una de las temperaturas. Una vez alcanzada la temperatura de 274.4K la aparición de una segunda señal cerca a los 2.27 ppm perteneciente a los protones del CH_2 para la TEA al igual que una señal residual de HDO a 4.75 ppm, aseguran el inicio del proceso de separación.

5.2 Medición de los perfiles de concentración: sistema BOMA

Una vez estimada la temperatura de transición para el sistema BOMA, éste fue sacado del espectrómetro y dejado a temperatura ambiente hasta su retorno a su forma binaria. Alcanzado dicho estado, el sistema es transferido nuevamente al equipo de RMN y enfriado a una temperatura de 272 K (Por debajo de la temperatura de transición, 274.4 K, previamente calculada). Dado que la formación de la fase homogénea ocurre a temperaturas lo suficientemente bajas (274.4 K) para que el transporte de las especies sea restringido es posible observar los perfiles de composición en la escala de tiempo en que se realizan las mediciones de RMN. Vale la pena remarcar que un enfriamiento repentino de la muestra

puede ocasionar el congelamiento de la fase compuesta mayoritariamente por (D₂O/H₂O). Por tal razón un enfriamiento escalonado fue realizado desde las condiciones de temperatura ambiente hasta la temperatura final objetivo (272 K).

Durante el periodo de observación el ambiente magnético se muestra variable a lo largo de la coordenada z, en tanto el sistema retorna al equilibrio con el paso del tiempo. Un ensanchamiento drástico en el ancho de banda de las señales es observado en las zonas cercanas a la interfaz entre los solventes mayoritarios (TEA/D₂O). En principio, las diferencias entre la susceptibilidad magnética de ambas fases ocasiona la variabilidad del ambiente magnético a lo largo de la coordenada z. Es importante remarcar que el ensanchamiento de las señales ocasionado por el cambio de susceptibilidad magnética dificulta la obtención de los valores de las integrales de cada uno de los componentes de una manera precisa.

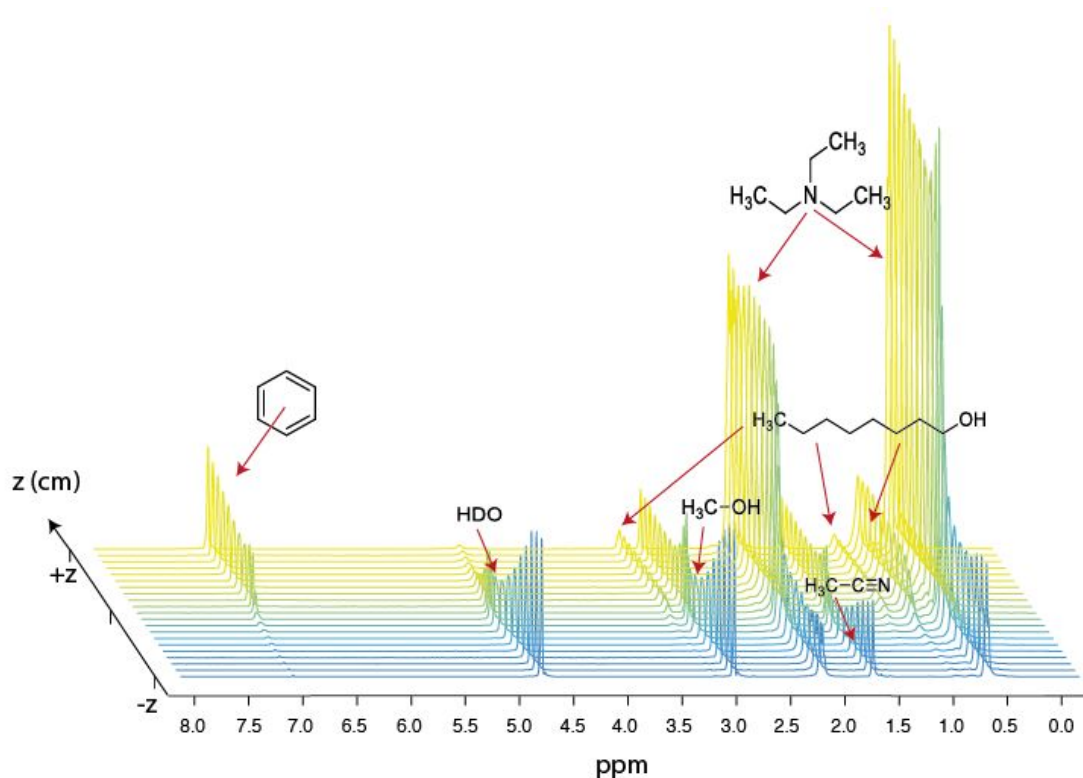


Figura 6.0 Mapeo espacial del sistema BOMA tras 8 horas de mezclado. En la presente figura se observa que a pesar del tiempo transcurrido el sistema aún se encuentra distante de una distribución uniforme para sus componentes. Las señales correspondientes a cada especie han sido señaladas por medio de flechas rojas. Las regiones donde hay una mayor cantidad de moléculas de D₂O y TEA han sido coloreadas de azul y amarillo respectivamente. La dirección en que ocurre el transporte de cada componente queda preestablecido por la distribución inicial de estos en cada fase Tabla 1.

Una vez adquirida la información espectral a lo largo de la coordenada z cada una de las señales es integrada cuidadosamente. Tal como se mostró en la Tabla 1. la mayoría de las especies mostró una afinidad preferente por una u otra fase. En contraste el acetonitrilo mostró una afinidad equivalente por ambas fases lo que hace que se encuentre distribuido de forma cuasi uniforme desde el comienzo del proceso de mezcla impidiendo la obtención de un gradiente de composición neto figura 7.

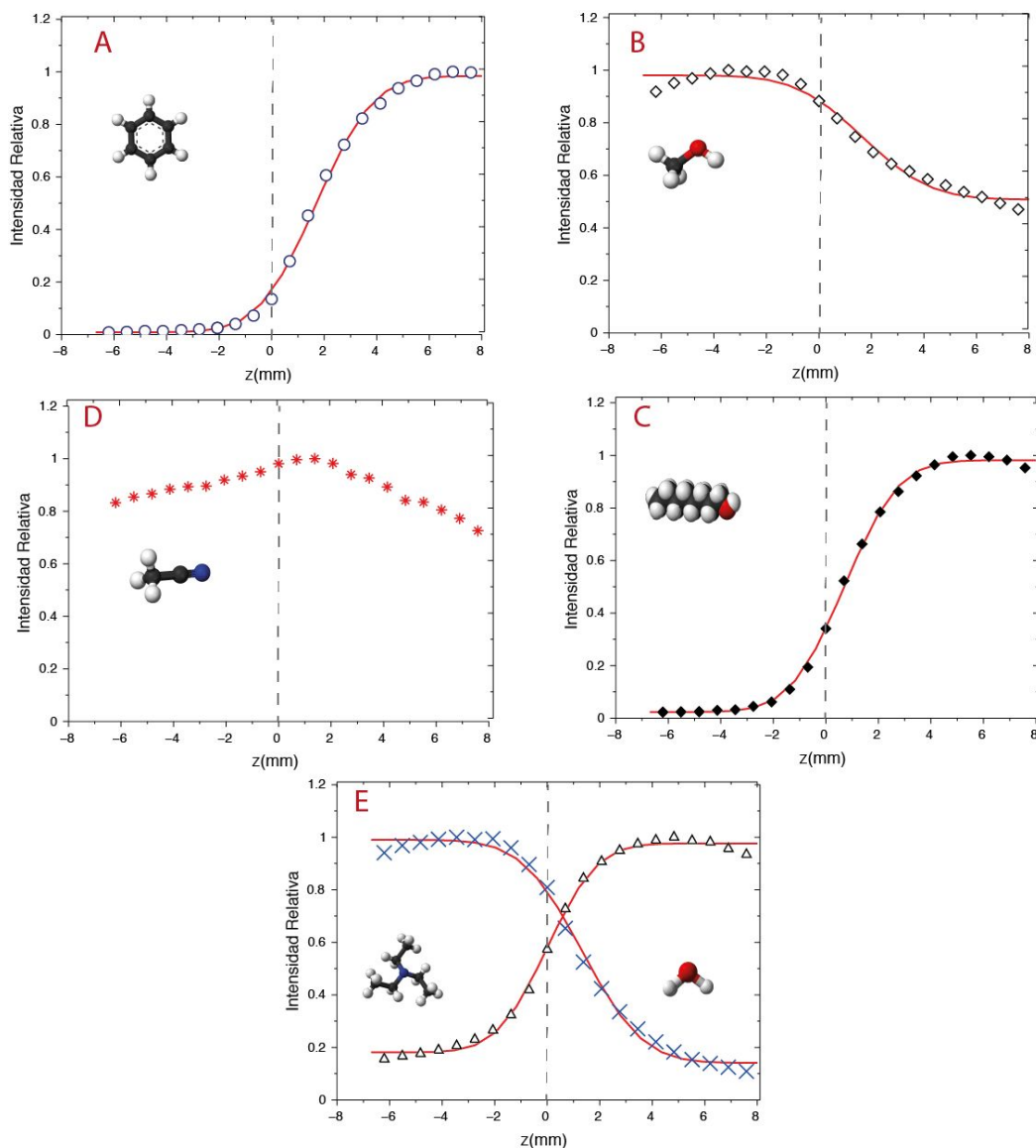


Figura 7.0 Perfiles de concentración para cada componente (A) benceno, (B) metanol, (C) n-octanol, (D) acetonitrilo y (E) TEA/HDO. Los datos experimentales (iconos) han sido ajustados a la ecuación 5 usando el método de mínimos cuadrados. En el caso de los componentes que poseen más de una frecuencia de resonancia, una de ellas fue seleccionada para su evaluación. La información adicional correspondiente a cada señal integrada se encuentra reportada en la *Tabla 4*.

Obtenidos los perfiles de concentración se propone el uso de una función de ajuste capaz de proveer parámetros útiles para facilitar la distinción entre los componentes del sistema (ecuación 5). Esta función deriva de la solución analítica para un sistema de dos sustancias que difunden en un cilindro de longitud infinita (Crank, 1979).

$$C_i(z, t) = \overline{C}_i + 0.5 \Delta C_i \operatorname{erf}[(z - z_0)(\sqrt{4D_i t})^{-1}] \quad (5)$$

Donde la variable $\overline{C}_i$ representan la concentración promedio y ΔC_i la diferencia de concentración entre ambas fases. La constante z_0 representa la diferencia entre el centro de la bobina y el centro del perfil de composición. Finalmente D_i representa la pseudo-difusividad para cada especie. Es importante resaltar que la aplicación del modelo propuesto no representa de manera completa la naturaleza del fenómeno de difusión cooperativo, por lo tanto su aplicación excluye la inclusión directa de los efectos ocasionados por la interacción entre las diferentes especies.

En la Figura 7. para cada especie los parámetros de ajuste para cada señal son reportados en la Tabla 4.

Tabla 4. Parámetros de la ecuación 5 obtenidos para cada uno de los componentes del sistema BOMA tras el ajuste de los valores experimentales.

Componente	(ppm)	$0.5\overline{C}_i$	$0.5\Delta C_i$	$\frac{1}{\sqrt{4D_i t}}$	$z_0(mm)$	R^2
$N(CH_2CH_3)_3$	0.61	0.58	0.79	0.47	0.18	0.998
$CH_3(CH_2)_7OH$	0.97	0.50	0.94	0.43	-0.71	0.999
$CH_3(CH_2)_7OH$	1.21	0.50	0.95	0.44	-0.61	0.998
CH_3CN	1.67	—	—	—	—	—
$N(CH_2CH_3)_3$	2.15	0.58	0.79	0.47	0.00	0.998
CH_3OH	2.94	0.74	-0.47	0.35	-1.64	0.991
$CH_3(CH_2)_5CH_2OH$	3.19	0.52	0.92	0.40	-0.97	0.999
HDO	4.75	0.56	-0.84	0.39	-1.34	0.997
C_6H_6	6.88	0.50	0.97	0.41	-1.69	0.999

A pesar de la simplicidad del modelo usado una buena correlación es observada en relación a los datos obtenidos ($R^2 > 0.990$). La posibilidad de contar con cuatro parámetros de ajuste permitió evaluar con algún grado de libertad cuál podría ser usado de forma más exitosa en la distinción entre los componentes presentes en el sistema. Con la idea de contrastar los resultados obtenidos se tomó como punto de referencia la separación obtenida por medio del experimento PFG-NMR.

A diferencia del parámetro $1/\sqrt{4Dt}$ asociado a la pseudo difusividad, $\Delta\overline{C}_i$ mostró ser más robusto frente a los problemas asociados al solapamiento entre las señales de las diferentes especies. En la Figura 8B se observa que la señal proveniente de los protones del *n*-octanol, 3.1 ppm discrepa drásticamente de los restantes. La causa principal es la poca cantidad de señal obtenida en la fase acuosa y el solapamiento parcial con la señal de metanol (rombo) . Al igual que el experimento PFG-RMN, el fuerte solapamiento sumado a una baja relación señal ruido conducen a inconvenientes en la correcta determinación de la autodifusión de la especie. Este hecho refleja las limitaciones actuales de un enfoque articulado en base a la extracción de integrales para el estudio de mezclas que experimentan fuerte solapamiento entre sus constituyentes.

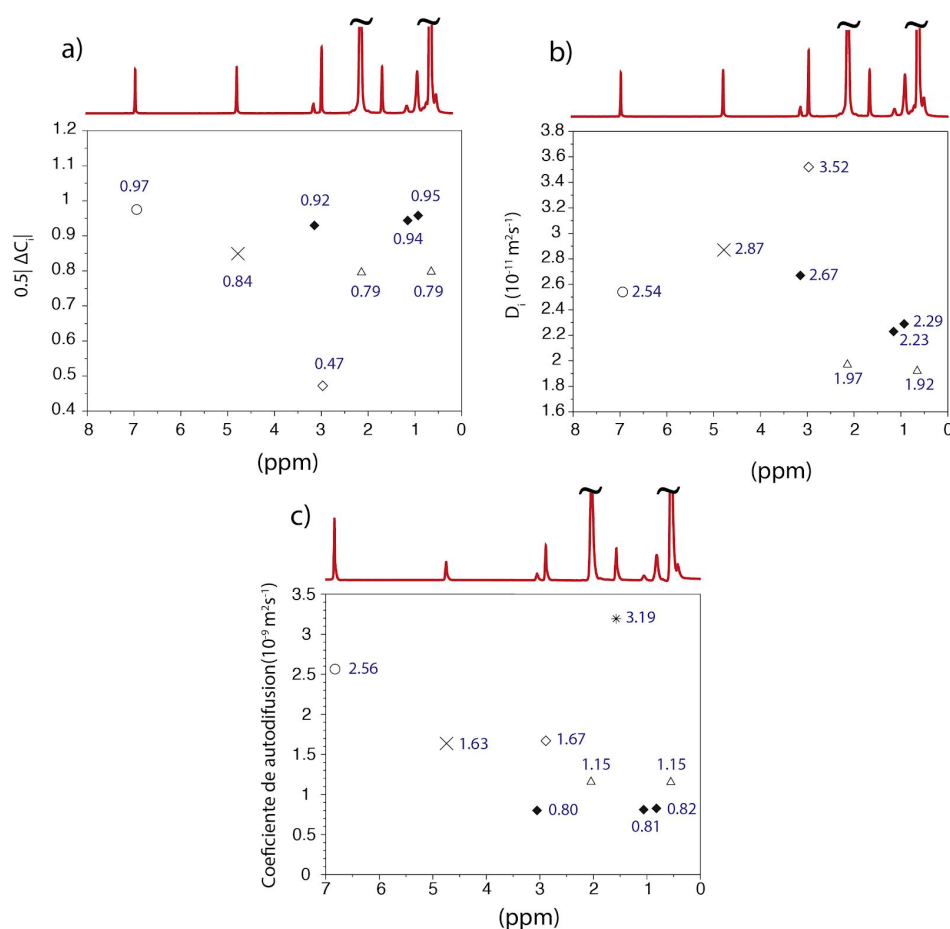


Figura 8.0 El experimento BPPSTE-RMN fue adquirido con una rampa de gradientes lineal entre (5-95%), con un total de 16 incrementos de 8 acumulaciones cada uno. El experimento fue realizado a una temperatura inferior a la temperatura de mezcla para garantizar la homogeneidad del sistema durante el experimento.

5.3 Medición de los perfiles de concentración: sistema TAN

Uno de los aspectos importantes que se deben tener en cuenta a la hora de usar esta aproximación es el efecto sobre la solubilidad del sistema que puede tener la presencia de los componentes que van a ser analizados.

Como se mencionó anteriormente, las reglas cualitativas de Timmermans, nos ofrece una idea acerca de los efectos ocasionados por la inclusión de componentes adicionales en el sistema binario (Hales, 1966). En el caso del sistema TAN la fuerte afinidad de los componentes por la fase orgánica ocasionan un fuerte descenso en la temperatura de transición del sistema. En esta situación, la temperatura de transición del sistema se encuentra por debajo de la temperatura de congelamiento de la fase acuosa (277 K), por lo tanto no es posible observar el mezclado del sistema sin ocasionar el congelamiento de dicha fase.

Bajo tales circunstancias, se propuso la inclusión de un componente con propiedades de anticongelante. Para este efecto el etilenglicol fue seleccionado e incluido en el sistema binario permitiendo un enfriamiento de la mezcla a temperaturas por debajo de 277 K. A tales temperaturas la calidad de los espectros de RMN suele reducirse drásticamente ocasionando la pérdida de la estructura fina (*debida al acoplamiento escalar homonuclear, J_{HH}*) producto del ensanchamiento de las señales. Esto es debido a que la movilidad reducida de las especies a bajas temperatura, sumado a la poca homogeneidad de la muestra, reducen drásticamente la resolución espectral obtenida, resultando en un espectro cuya única información disponible es el desplazamiento químico.

Es posible recuperar parcialmente la estructura fina de las señales en el pos-procesamiento de los datos resultantes. En el presente sistema la estrategia de deconvolución GSD (Global Spectral Deconvolution) (Cobas et al, 2008) fue empleada para resolver algunas señales afectadas por el fuerte ensanchamiento sufrido tras el proceso de enfriamiento.

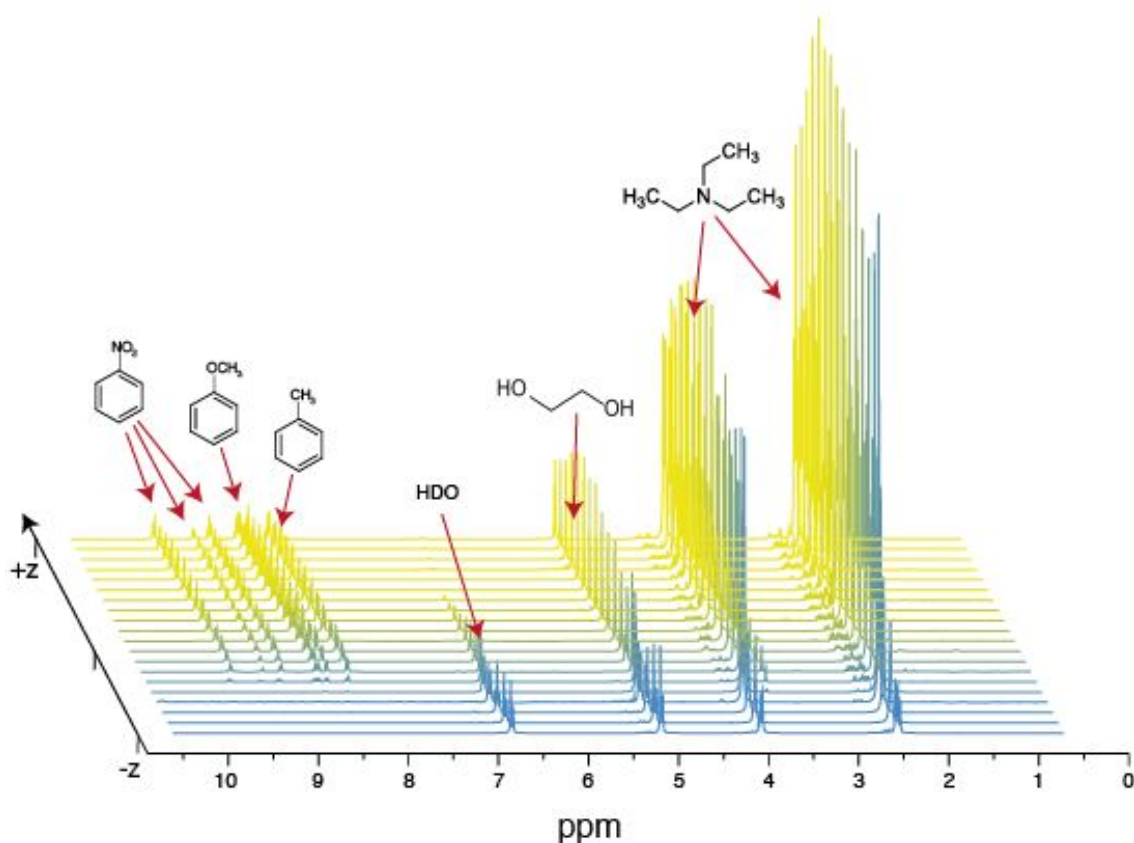


Figura 9.0 Mapeo espacial del sistema TAN tras 7 horas de mezclado a una temperatura de 265K. Tras aplicar el GSD es posible resolver las señales presentes en la sección aromática del espectro (8-10 ppm). Desafortunadamente la presencia del Etilenglicol solapa la señal del CH₃ (5.2ppm) perteneciente a la molécula de anisol.

Resueltas las señales en la región de interés se procede a su integración y posterior ajuste a la *ecuación 5*. Una correlación aceptable es observada en este caso, aunque es importante mencionar que el uso del GSD pueden modificar el valor real de las integrales, el uso de GSD a pesar de esto, el presente enfoque representa un primer paso para dar solución al problema de solapamiento y ensanchamiento experimentado por esta estrategia. Los parámetros de ajuste obtenidos para el sistema TAN son reportados en la Tabla 5.

Tabla 5. Reporte de parámetros / Sistema TAN

Componente	(ppm)	$0.5C_i$	$0.5\Delta C_i$	$\frac{1}{\sqrt{4Dt}}$	$z_0(mm)$	R^2
N(CH ₂ CH ₃) ₃	2.43	0.1554	0.1024	10.37	2.06	0.991
C ₆ H ₅ CH ₃	3.69	0.1528	0.1586	6.34	0.57	0.996
N(CH ₂ CH ₃) ₃	3.89	0.1577	0.1036	10.36	1.89	0.993
C ₆ H ₆ O ₂	5.10	0.2350	-0.0473	26.74	1.19	0.981

$C_6H_5OCH_3$	8.28	0.1479	0.1542	7.76	0.70	0.992
$C_6H_5CH_3$	8.51	0.1520	0.1578	7.01	0.53	0.993
$C_6H_5OCH_3$	8.68	0.1530	0.1586	6.91	0.49	0.996
$C_6H_5NO_2$	8.94	0.1519	0.1535	7.72	0.60	0.997
$C_6H_5NO_2$	9.12	0.1532	0.1514	6.66	0.67	0.990
$C_6H_5NO_2$	9.55	0.1527	0.1582	6.53	0.55	0.995

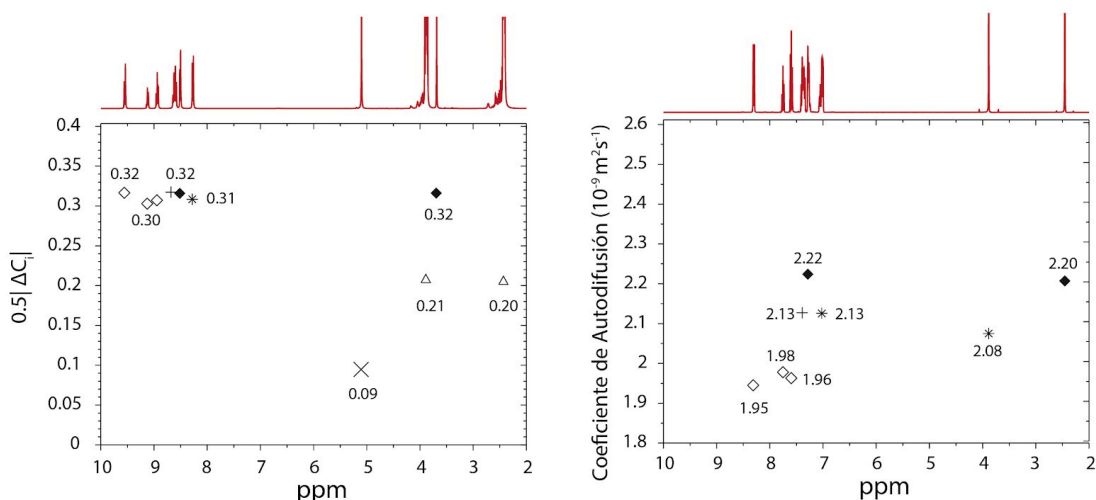


Figura 10.0: Representación pseudo 2D para el sistema TAN (izquierda) frente al experimento PFG-RMN (derecha) obtenido de una mezcla de tolueno, nitrobenzeno y anisol en $CDCl_3$ a una temperatura de 300K. La proyección 1D del sistema TAN tras ser sometido al GSD muestra una resolución comparable a la resolución obtenida por el experimento PFG-RMN. Una separación virtual más concluyente en la región aromática es observada en este caso para el experimento PFG-RMN. El experimento PFG-NMR fue adquirido con una rampa de gradientes lineal entre (5-95%), con un total de 16 de 8 acumulaciones cada uno.

Una de las principales ventajas ofrecidas por esta metodología es la posibilidad de elegir una combinación de disolventes adecuados para alterar las tasas de transferencia de los diferentes componentes en el sistema con el objeto de mejorar el poder de separación del método. Sin embargo uno de los principales desafíos es el manejo de las señales intensas provenientes de los disolventes (componentes mayoritarios de la muestra) dado que ocasionan una reducción adicional en la intensidad de los componentes minoritarios (componentes de interés) debido al alto rango dinámico presente para en el proceso de digitalización (Davis et al., 1985). Este problema podría ser minimizado/eliminado por ejemplo mediante la utilización de experimentos de RMN diseñados para suprimir la señal proveniente de los disolventes (Guéron et al, 1991) o el uso de disolventes totalmente deuteradas.

Por otro lado la baja sensibilidad de los experimentos de selección espacial sumado a la reactividad de las fases mayoritarias frente algunos componentes de la mezcla son las principales limitaciones de la presente metodología. Algunas estrategias han sido desarrolladas para incrementar la baja sensibilidad de los experimentos de selección espacial, entre las cuales se encuentra el uso de esquemas de adquisición intercalados (Bottomley et al., 1985) y el uso de pulsos de selección multi-selectivos (Castañar et al., 2013).

5.4 Determinación del coeficiente de interdifusión sistemas no ideales: modelamiento

Uno de los parámetros claves en la determinación de los coeficientes de interdifusión es la elección adecuada del marco de referencia (Hartley et al., 1949). Habitualmente cuando los efectos de mezclado son despreciables ($\Delta V_{mezcla} = 0$) el marco de referencia de volumen fijo es empleado. Sin embargo, cuando se trata de mezclas no ideales ($\Delta V_{mezcla} \neq 0$) un nuevo marco debe ser elegido dado que el volumen del sistema no se conserva durante el proceso.

Una buena alternativa es usar el marco de referencia molar dado que la ausencia de reacción química durante el mezclado garantiza la conservación del número de moles en el sistema. Para iniciar el análisis se debe definir una función de estado que incluya la contribución de la no idealidad en la mezcla (Bardow et al., 2005).

$$C_t^{-1} = \sum_{i=1}^{n_c} x_i V_i^o(T) + V_{exc}(x, T) \quad (6)$$

Aquí C_t representa la concentración total, $V_i^o(T)$ es el volumen molar del componente i a la temperatura T y $V_{exc}(x, T)$ representa el volumen de exceso de la mezcla en función de la composición a una temperatura dada.

En el presente problema la ecuación de continuidad (*ecuación 7*) es planteada asumiendo que el flujo transversal al eje z es despreciable y ninguna reacción química tiene lugar en la mezcla:

$$\frac{\partial x_i(z, t)}{\partial t} + \frac{\partial N_i}{\partial z} = 0 \quad (7)$$

donde el flujo total N_i puede ser dividido en su contribución convectiva $c_i u^M$ asociada a la velocidad molar promedio u^M y su contribución difusiva J_i^M asociada al transporte por presencia de un gradiente de concentración. Al usar el marco de referencia molar se podría demostrar de forma rigurosa que la velocidad molar promedio es cero y por lo tanto el flujo total puede ser tomado como difusivo en su totalidad $N_i = J_i^M$ (Bardow, 2004).

Para el presente análisis la ley generalizada de Fick (Taylor & Krishna, 1993) será usada para definir el flujo difusivo del sistema, por lo tanto $(n_c - 1)$ flujos independientes deben ser formulados tal como se muestra en la (ecuación 8):

$$J_i^M = -c_t \sum_{k=1}^{n_c-1} D_{ik}^M \frac{\partial x_k}{\partial z} \quad i = 1, \dots, n_c - 1 \quad (8)$$

Solucionado el primer inconveniente asociado a la selección del marco de referencia es necesario abordar el problema de fronteras móviles ocasionados por el cambio de volumen durante el mezclado. Una de las soluciones ofrecidas para dar solución a este problema ha sido la transformación del sistema de coordenadas.

Bardow (Bardow et al., 2005) hace uso del volumen molar de una de las especies o volumen de referencia V_n^0 para redefinir la concentración molar del resto de especies presentes en el sistema. Este razonamiento sigue el mismo planteamiento presentado por Crank (Crank, 1979).

$$\xi_i^M = \frac{x_i}{V_n^0} \quad (9)$$

Por otro lado una variable ficticia de posición $\bar{z}$ es definida en términos de la concentración total C_t y el volumen molar de referencia V_n^0 tal como se describe en la (ecuación 10):

$$d\bar{z} = c_t V_n^0 dz \quad (10)$$

De tal forma que esta variable ficticia $\bar{z}$ coincide con la coordenada de laboratorio en las secciones donde se tiene la presencia de los componentes puros. La conversión entre la variable ficticia $\bar{z}$ y las coordenadas de laboratorio están dada por la (ecuación 11):

$$\bar{z} = \int_0^z c_t(t, z') V_n^0 dz' \quad (11)$$

Ahora es necesario transformar la ley generalizada de Fick en el nuevo marco de referencia. En primer lugar, es necesario hacer uso de la regla de la cadena para la variable z :

$$J_i^M = -c_t \sum_{k=1}^{n_c-1} D_{ik}^M \frac{\partial x_k}{\partial z} = -c_t \sum_{k=1}^{n_c-1} D_{ik}^M c_t V_n^0 \frac{\partial x_k}{\partial \bar{z}} \quad (12)$$

Seguidamente se sustituyendo la nueva variable de composición ξ_k^M

$$J_i^M = -c_t \sum_{k=1}^{n_c-1} D_{ik}^M c_t V_n^0 \frac{\partial x_k}{\partial \bar{z}} = - \sum_{k=1}^{n_c-1} D_{ik}^M (c_t V_n^0)^2 \frac{\partial \xi_k^M}{\partial \bar{z}} \quad (13)$$

Finalmente, la nueva definición del flujo puede ser introducida en la ecuación de continuidad para obtener la segunda ley de Fick en el nuevo eje de coordenadas tal como se muestra en la (ecuación 14)

$$\frac{\partial \xi_k^M}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial \bar{z}} \left(\sum_{k=1}^{n_c-1} D_{ik}^M (c_t V_n^0)^2 \frac{\partial \xi_k^M}{\partial \bar{z}} \right) \quad i = 1, \dots, n_c - 1 \quad (14)$$

La ecuación resultante tiene validez en el estudio de sistemas líquidos multicomponente no ideales (su aplicación a sistemas binarios será discutido en la próxima sección). Teniendo ahora las herramientas necesarias para abordar el fenómeno de transporte observado durante la transición de fase del sistema TEA/H₂O, un análisis detallado de las etapas que acontecen al proceso de mezcla es presentado en la Figura 11.0

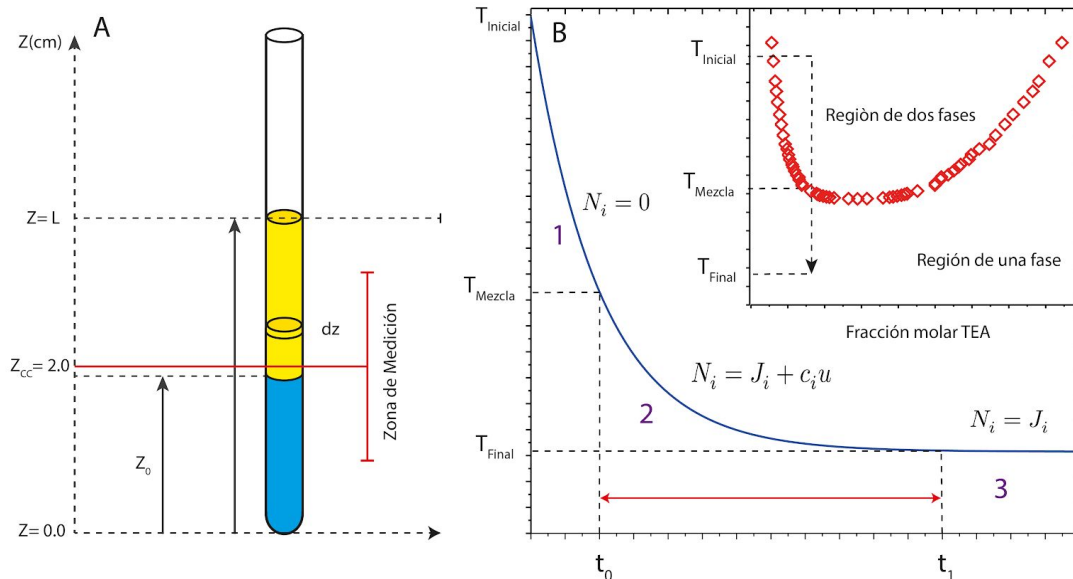


Figura 11.0 Descripción del proceso de mezclado para el sistema TEA/H₂O/D₂O. El proceso es monitoreada en el interior de la zona de medición señalada en (A) Representación esquemática de una muestra bifásica en el interior del tubo de RMN. En la figura ambas fases aparecen en distinto color H₂O+D₂O (azul) y TEA en amarillo. B) Descripción del diagrama de fases para el sistema binario y curva de enfriamiento.

Los valores de la coordenada espacial son ajustados en relación al centro de la ventana de observación (z_{cc}) ubicada a 2.0 cm de la base del tubo de RMN. El sistema binario es observado en un comienzo a una temperatura $T_{inicial}$ donde ambos componentes pueden coexistir de forma separada tal como se muestra en el diagrama de fase para el sistema (Figura 11B). Iniciado el proceso de enfriamiento se espera que el transporte de especies a través de la interfase sea despreciable en tanto el sistema alcanza la temperatura de mezcla T_{Mezcla} (zona 2). Una vez traspasada esta temperatura un flujo neto N_i compuesto por la contribución difusiva j_i y convectiva $C_i u$ es observado durante el tiempo que transcurre en tanto el sistema alcanza la temperatura final T_{final} (zona 3). Alcanzada una temperatura constante se intuye que el flujo presente en el sistema es netamente difusivo j_i dando inicio nuevamente a la obtención de datos.

5.5 Ecuación Diferencial Parcial (EDP): sistema binario

La relación generalizada obtenida en la sección anterior puede ser simplificada para el caso de un sistema de dos componentes (*ecuación 15*). La definición de las condiciones de frontera e inicial deben adaptarse al nuevo sistema de coordenadas.

$$\frac{\partial \xi_1^M}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial \bar{z}} \left(D_{ik}^M (c_t V_2^0)^2 \frac{\partial \xi_1^M}{\partial \bar{z}} \right) \quad (15)$$

$$\frac{\partial \xi_1^M(0, t)}{\partial \bar{z}} = \frac{\partial \xi_1^M(L, t)}{\partial \bar{z}} = 0$$

$$\xi_1^M(\bar{z}, 0) = \xi_1^M(\bar{z})$$

Posteriormente, dado que es necesario emplear la concentración total C_t en la conversión de los valores de posición para la condición inicial, resulta indispensable conocer el comportamiento del volumen en exceso de la mezcla en todos los valores de composición. Para lograr esto, los valores del volumen de exceso experimentales son ajustados a un función polinomial tipo Redlich-Kister (Lloukhani & Khanlarzadeh, 2012).

$$V_{exc}(x, T) = x_1 x_2 (A + B(x_1 - x_2) + C(x_1 - x_2)^2 + \dots) \quad (16)$$

La Figura 12 presenta los volúmenes de exceso para el sistema de TEA/H₂O para ambas temperaturas de trabajo. Tal como se mencionó anteriormente las propiedades como el V_{exc} demuestran ser poco sensibles al intercambio isotópico, por lo cual resulta válido hacer uso de los valores reportados en la literatura para este caso en particular.

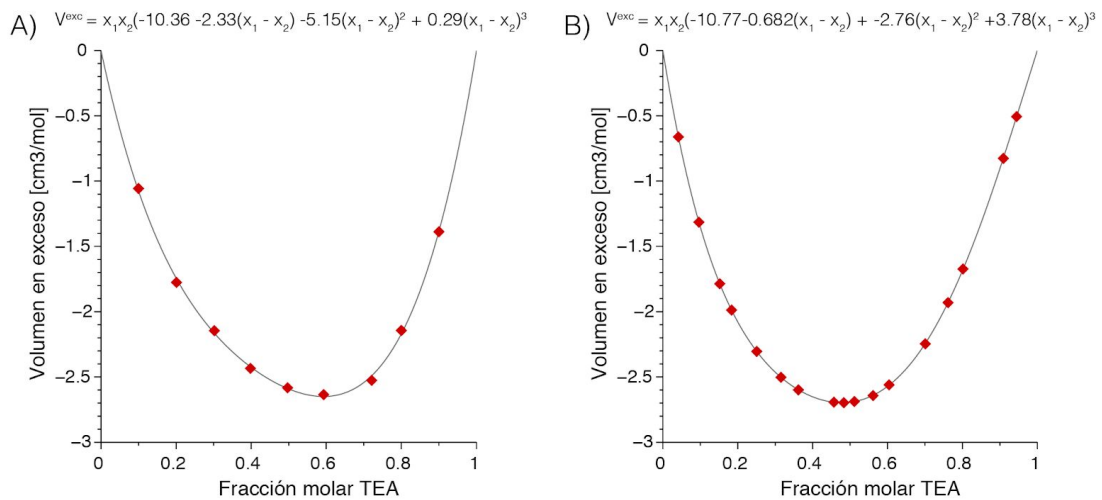


Figura 12. Los datos reportados en la literatura para los volúmenes de exceso del sistema TEA/H₂O son ajustados a una función de Redlich-Kister para las dos temperaturas de trabajo 278.15K (A) y 283.15K (B). Se emplearon 4 coeficientes en la función de Redlich-Kister para obtener un buen valor de R^2 frente a los datos experimentales (rombos en rojo).

5.5.1 Establecimiento de la condición inicial

La preparación de la condición inicial es un limitante para algunas de las técnicas experimentales mencionadas por ejemplo en la interferometría, dispersión de Taylor, etc, especialmente cuando factores como la miscibilidad o viscosidad de la mezcla afecta la formación de los perfiles de concentración a $t_0 = 0$. Afortunadamente, para nuestra estrategia la formación del sistema binario ofrece el tiempo necesario para el ajuste de los parámetros experimentales indispensables antes del inicio del proceso de mezcla.

En el modelo presentado previamente, el transporte de las especies es tomado bajo condiciones de temperatura constante, por lo tanto el primer mapeo espacial de la mezcla a un tiempo t_1 es tomado como condición inicial para la solución numérica de la ecuación diferencial (*ecuación 15*). El impacto de esta elección ha sido previamente discutido en los experimentos realizados en Raman (Bardow, 2004). Ahora tal como se mencionó anteriormente los valores de fracción molar y posición son convertidos al nuevo marco de referencia. En este punto es indispensable el uso de la concentración total para convertir los valores de posición según la (*ecuación 11*)

La restricción física impuesta por la ventana de observación implica el uso de una función de extrapolación para conocer la composición más allá de estos límites. La función matemática elegida es un tipo de función error equivalente a la usada en los análisis previos del sistema BOMA y TAN. Una vez convertidos los valores de posición y composición para el perfil inicial, se procede a definir la condición de frontera en el nuevo sistema de coordenadas y dar solución a la ecuación resultante.

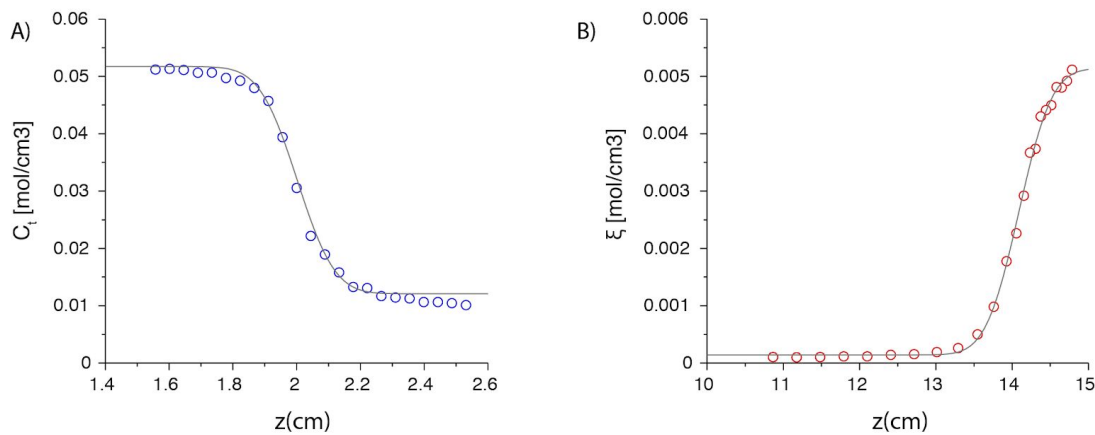


Figura 13. Los valores para la concentración total c_t y condición inicial en el nuevo sistema de coordenadas son presentados. La concentración total ha sido calculada haciendo uso de los valores de fracción molar de ambas especies a partir del primer mapeo espacial del sistema. Una vez ajustado los valores a la función propuesta (función error), la integración de dicha función permite convertir la coordenada z a la nueva variable de posición $\bar{z}$. Nótese que el espaciamiento entre puntos para la figura B es proporcional a la concentración total en ese sector. El volumen molar de la TEA fue elegido como referencia para la transformación a la nueva variable de composición $\xi(\bar{z}, 0)$.

5.5.2 Solución numérica

La ecuación diferencial parcial propuesta para el sistema binario fue solucionada numéricamente haciendo uso del método de líneas implementado en el software Mathematica. La variable espacial $\bar{z}$ fue elegida como la variable a discretizar. La difusividad, la cual depende fuertemente de la constitución en líquidos, es comúnmente presentada como una combinación polinomial de la composición (Bardow, 2004):

$$D_{12}(x, v) = \sum_{k=1}^K v_k x^{(k-1)} \quad (17)$$

donde x es la fracción molar del componente y v_k son los coeficientes a ser optimizados. En el caso del sistema binario tolueno-ciclohexano una combinación de polinomios de bajo orden fue suficiente para describir la difusividad en todo el rango de composiciones (Sanni et al., 1971). En el presente estudio la funcionalidad propuesta es reducida a un polinomio de tercer orden tal como se muestra en la (ecuación 18):

$$D_{12}(x, v) = v_4 x^3 + v_2 (x - x^2) \quad (18)$$

Esta expresión ha sido transformada en términos de la nueva variable de composición ξ para ser insertada en la ecuación diferencial propuesta. Nótese que esta funcionalidad reduce en gran medida los costos computacionales asociados al proceso de optimización de expresiones con un orden superior, lo cual es uno de los problemas más demandantes de esta estrategia. Los resultados obtenidos para las dos temperaturas seleccionadas se muestran en la Figura 14:

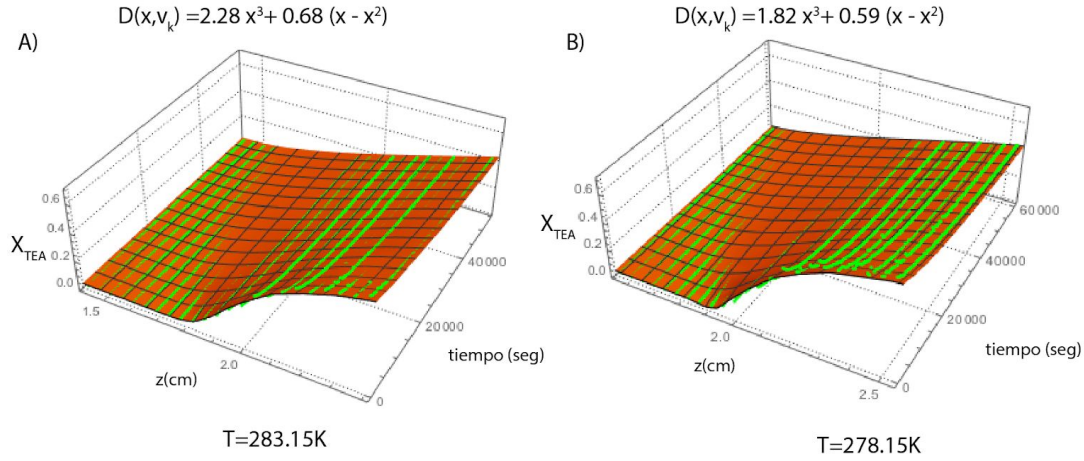


Figura 14.0 Datos experimentales tomados a 283.15 K y 278.15K frente a la solución numérica representada por la superficie en rojo. El espacio fue discretizado en 500 puntos entre 1.4 y 2.8 cm. En tanto la EDP fue solucionada en un rango de tiempo de 0 a 6×10^4 s. Los sistemas 2 y 4 son presentados como ejemplos tras el proceso de optimización. Rutinas escritas en el software de Mathematica fueron usadas para el manejo de los datos antes de solucionar numéricamente la ecuación planteada.

Tras solucionar la EDP en el espacio coordenadas inicial $(\xi, \bar{z})$, es necesario transformar la solución obtenida al espacio de coordenadas del laboratorio (x, z) lo que implica la integración numérica de la siguiente expresión:

$$z = \int_0^{\bar{z}} \frac{1}{c_t(t, \bar{z}') V_n^0} d\bar{z}' \quad (19)$$

Este paso representa el costo computacional más alto siendo un limitante para el uso de los métodos de optimización comúnmente usados. Para restringir el espacio de búsqueda los datos experimentales disponibles fueron ajustados a la funcionalidad propuesta en la (ecuación 18). Obtenidos los valores objetivo para los coeficientes v_k se trazó un espacio de búsqueda de alrededor de 800 puntos para cada sistema. En la Figura 15 se muestra la superficies de R^2 encontradas para las mediciones a 283.15 K

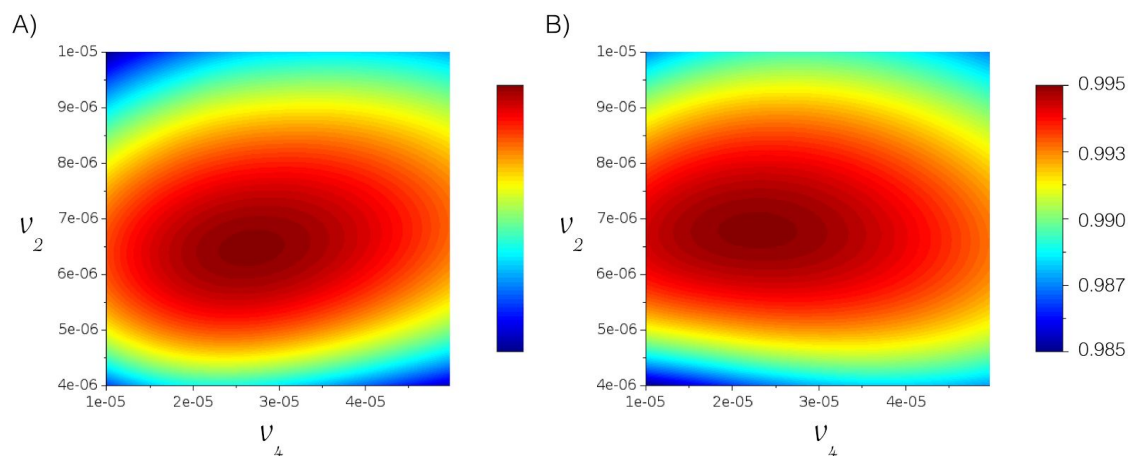


Figura 15 Superficies de R^2 encontradas para las mediciones 1(A) y 2(B) a 283.15 K. Constituidas por alrededor de 800 puntos, las superficies de R^2 muestran la existencia de un máximo en ambos casos. Tras el proceso de interpolación es posible estimar la combinación de los coeficientes v_4 y v_2 con el mayor valor de R^2 .

En la (Tabla 6.0) se muestra los valores encontrados para los coeficientes v_k en cada una de las mediciones realizadas. Los resultados obtenidos constituyen un primer paso en búsqueda de una funcionalidad adecuada para el coeficiente de interdifusión de esta mezcla, sin embargo el impacto de diferentes factores experimentales debe ser evaluado. En la siguiente sección una comparación con los modelos predictivos desarrollados a fecha y los valores experimentales reportados en la literatura por otras técnicas permitirá evaluar la validez y coherencia de los resultados obtenidos.

Tabla 6.0: Reporte de coeficientes v_k encontrados para el sistema TEA/H₂O/D₂O

Sistema	Temperatura (K)	$v_4 \times 10^{-5} (\text{cm}^2/\text{s})$	$v_2 \times 10^{-5} (\text{cm}^2/\text{s})$	R^2
1	283.15	2.68	0.65	0.9936
2	283.15	2.28	0.68	0.9946
3	278.15	2.21	0.62	0.9905
4	278.15	1.82	0.59	0.9924

5.6 Comparación con los modelos predictivos

El uso de modelos predictivos para la determinación de los coeficientes de interdifusión ha sido un enfoque extensamente estudiado en los últimos años. Su fundamento es la relación entre la autodifusión natural de las especies y la movilidad molecular, tal como queda expresado en la ecuación de Darken (Darken, 1948).

$$D_{12} = (x_2 D_1^* + x_1 D_2^*) \quad (20)$$

Esta expresión es fiable en tanto las especies implicadas no presenten una fuerte asociación molecular, como es el caso de algunas aleaciones metálicas o mezclas ideales. Sin embargo, una vez el comportamiento de la mezcla se aleja de la idealidad (*por ejemplo debido a una fuerte asociación molecular*) se hace necesaria la inclusión del factor termodinámico $[1 + \frac{d \ln \Gamma_1}{d \ln x_1}]$ (Karpe et al., 1995)

$$D_{12} = (x_2 D_1^* + x_1 D_2^*) \left[1 + \frac{d \ln \Gamma_1}{d \ln x_1} \right] \quad (21)$$

Normalmente este factor es determinado a partir de la información contenida en el equilibrio líquido-vapor de la mezcla. D'Agostino (D'Agostino et al, 2012) logró estimar dicho factor para la mezcla TEA/H₂O a 3 temperaturas diferentes (291.15 K, 283.15 K y 277.15 K) haciendo uso de los datos previamente reportados por Counsell (Counsell, 1959).

Recientemente algunas modificaciones de la (*ecuación 21*) fueron presentadas para el estudio de sistemas binarios que poseen un “consulate point” como es el caso del sistema hexano-nitrobenceno (D'Agostino et al., 2011). Dado su éxito en la predicción del coeficiente D_{12} en un amplio rango de composiciones, una modificación similar fue propuesta para mezcla binaria de TEA/H₂O en los alrededores del “consulate point” (D'Agostino et al., 2012).

$$D_{12} = (x_2 D_1^* + 2x_1 D_2^*) \left[1 + \frac{d \ln \Gamma_1}{d \ln x_1} \right]^\alpha \quad (22)$$

Donde el factor α surge de la inclusión de algunas consideraciones tomadas de la teoría del punto crítico o “clustering” (Cussler, 1980). Adicionalmente D'Agostino propone que la fuerte asociación observada para este sistema ocasiona la dimerización de la moléculas de agua en un amplio rango de composiciones exceptuando la región de baja concentración en agua. Este argumento estaría justificado por el decaimiento del coeficiente de autodifusión de la especie que experimenta dimerización desde la región de dilución infinita hasta la zona donde la auto difusión ha sido reducida a la mitad por la presencia de la especie dimerizada (D'Agostino et al, 2012). En la Figura 16 los modelos presentados previamente son comparados con la funcionalidad obtenida de la EDP y los reportes experimentales de (Dudley & Tyrrell, 1973) y (Haase & Siry, 1968).

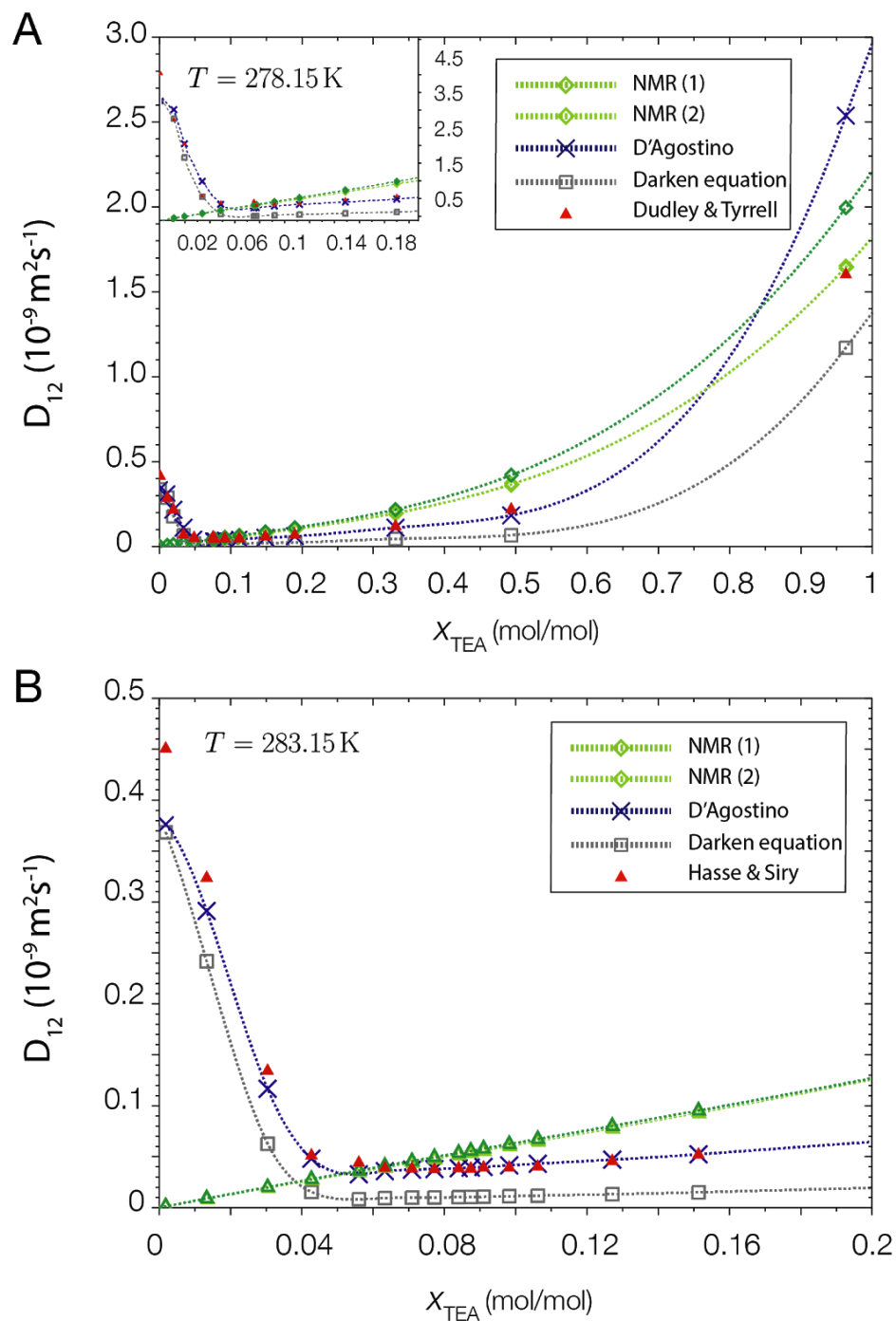


Figura 16: Comparación de los modelos predictivos para el sistema TEA/H₂O frente a la funcionalidad obtenida de la EDP y reportes experimentales. La difusividad binaria es presentada para las temperaturas de 278.15 K (Dudley, 1973) y 283.15 K (Haase, 1968) interpolando los datos de difusividad para el último. Los

modelos predictivos de Darken y D'Agostino fueron calculados haciendo uso de los coeficientes de auto-difusión y factor termodinámico reportados en (D'Agostino, 2012).

Al analizar la Figura 16 se nota que ambos modelos predictivos arrojan valores más cercanos a los reportados en la literatura en relación a la funcionalidad obtenida por medio de la EDP. Sin embargo, es igualmente válido que la funcionalidad obtenida es consistente con los valores experimentales en un amplio rango de composiciones como se observa en la Figura 16A. En este punto vale la pena resaltar algunos puntos claves:

- 1) Aunque los modelos predictivos usados en este estudio arrojan valores más exactos, es cierto también que demanda una mayor cantidad de datos experimentales a priori para ser puestos en funcionamiento. (Por ejemplo es necesario conocer la auto-difusividad de ambos componentes en un amplio rango de composiciones)
- 2) Por otro lado la determinación del factor termodinámico está sujeto a gran incertidumbre la cual puede variar según la elección del modelo de actividad. Además, es indispensable contar con la información del equilibrio líquido-vapor la cual no siempre está disponible para el sistema de estudio en particular.

Al observar la Figura 16B y la ampliación en la Figura 16A vale la pena mencionar que la funcionalidad propuesta muestra problemas en el rango de fracciones molares por debajo de los 0.04. Para entender la presente cuestión se debe retornar a la idea central del método propuesto. Cuando se evalúa la difusividad en diferentes momentos del experimento tenemos una serie de condiciones que emulan un experimento realizado a un valor de composición en particular, lo que implica que la fiabilidad del coeficiente de difusión obtenido se encuentra restringida a los valores que recorre el gradiente de concentración durante el periodo de observación. Si nuestro experimento tuviera como punto de partida una composición igual a la unidad en fracción molar para un extremo y este se pudiera observar durante un periodo de tiempo infinito, sería posible en principio obtener un valor de difusividad fiable en la totalidad del rango de composiciones. Sin embargo, dado que nuestro experimento, inicia desde una composición dictada por el equilibrio líquido-líquido de ambos disolventes $x_{TEA} = 0.75$ y que no disponemos de un tiempo infinito de medición, siempre este tipo de mediciones estará sujeta a un grado de incertidumbre en zonas cercanas a la dilución infinita. Este problema ya ha sido observado en la implementación del “incremental model” sobre la mezcla etil acetato-ciclohexano (Kriesten, 2009).

Sin embargo, a pesar de las restricciones presentadas anteriormente es evidente la reducción en el esfuerzo experimental, lo que compensa de alguna forma la incertidumbre asumida en las regiones cercanas a la dilución infinita. En relación a las bondades espectroscópicas equiparables a las aportadas por Raman, los equipos de RMN permite la realización de mediciones a diferentes temperaturas, lo cual es de vital importancia para el

estudio de los fenómenos de transporte. Finalmente, apuntando en la misma dirección del estudio de sistemas multicomponentes como en Raman, es claro que una posible implementación del “*incremental model*” podría reducir drásticamente los costos computacionales implicados en la solución de sistemas de EDP acoplado presente en este caso.

6. Resumen y Conclusiones

Se ha presentado una nueva estrategia destinada a la discriminación de compuestos a partir de la información contenida en los gradientes de concentración durante la transición de fase de un sistema binario. Se ha propuesto el uso de sustancias anticongelantes como completos necesarios para contrarrestar el congelamiento del sistema debido a los descensos en la temperatura de mezcla. Resultados satisfactorios han sido encontrados al validar la separación obtenida por la estrategia propuesta frente a los resultados suministrados por el experimento difusión convencional (BPPSTE).

Este enfoque se suma a los diversos esfuerzos realizados desde RMN para el análisis de mezclas como herramienta complementaria de los esquemas basados en el fenómeno de difusión con elemento de discriminación. La metodología propuesta es un punto de partida para una mejor comprensión de la física implícita en los procesos de difusión multicomponente.

Adicionalmente, el método propuesto permite el estudio de la difusividad en un amplio rango de composiciones para sistemas binarios que presentan un (LCST). El razonamiento expuesto por Bardow para el estudio de mezclas no ideales fue aplicado de forma exitosa sobre los datos obtenidos por RMN. La ecuación diferencial propuesta para el sistema binario fue solucionada de forma numérica adoptando una funcionalidad reducida modelo para la descripción del coeficiente de interdifusión. La funcionalidad encontrada fue contrastada con los modelos predictivos desarrollados hasta la fecha mostrando resultados satisfactorios. Los resultados obtenidos fueron coherentes con los datos experimentales medidos por otras técnicas.

Al igual que los logros previos obtenidos por la espectroscopia Raman, la expectativa de reducción en los requerimientos experimentales fue satisfactoria, sumado a la posibilidad de realizar mediciones a diferentes temperaturas lo cual no es posible en los montajes reportados para Raman a la fecha. Por otro lado vale mencionar que los costos computacionales implicados en la solución y optimización de los parámetros de la ecuación

diferencial parcial, pueden restringir el alcance de la estrategia frente al estudio de sistemas con un mayor número de componentes.

7. Perspectivas

7.1 Difusión multicomponente

La difusión multicomponente en sistemas líquidos plantea un desafío dado principalmente a la carencia de datos experimentales que permitan evaluar los modelos propuestos para su descripción. Algunos de los estudios realizados en espectroscopia Raman buscan encarar este desafío, resguardados en la posibilidad de resolver la contribución individual de cada componente durante el proceso de mezclado (Bardow, 2003). En esta misma ruta se plantea encaminar la estrategia propuesta en el presente trabajo a futuro.

La RMN nos permite acceder a información individual de cada componente en una mezcla, por lo tanto su funcionalidad en la presente área resulta equiparable a los logros obtenidos por medio de otras técnicas espectroscópicas. En la (Figura 17.0) se muestra una primera aproximación a dicho problema

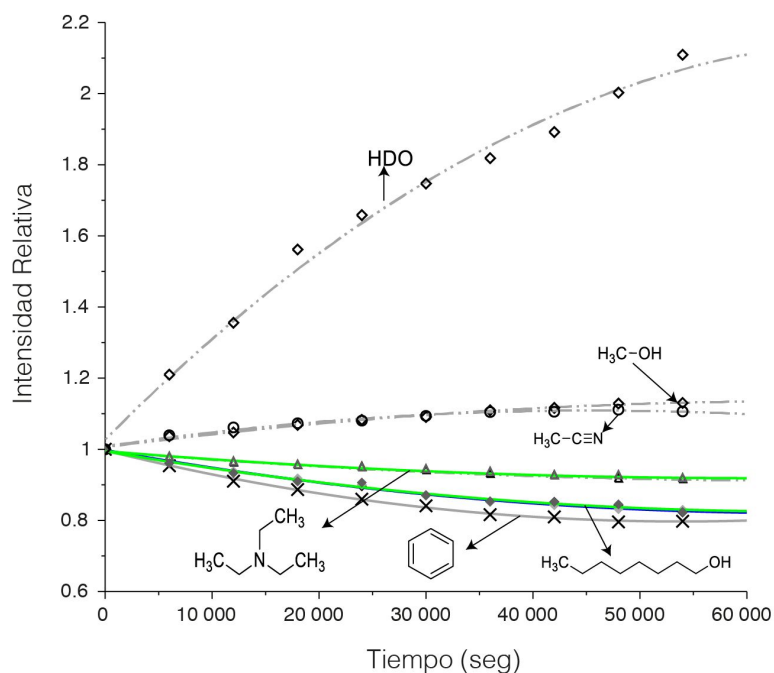


Figura 17: Evaluación de la intensidad normalizada de cada señal frente al tiempo. La integral correspondiente a cada señal fue observada en un sector del tubo durante el desarrollo del experimento. Las tasas de cambio observadas muestran claras diferencias entre las señales de las distintas especies.

Una región donde los flujos observados eran notables fue seleccionada para realizar el seguimiento durante la evolución del experimento. Una tasa de cambio muy superior a los demás componentes fue observado para las moléculas de agua mientras que la TEA presenta la tasa más baja. Los componentes minoritarios mostraron tasas de comportamientos en el mismo orden de magnitud, e incluso idénticas en el caso del metanol y acetonitrilo.

A pesar de la simplicidad de la Figura 17. esta demuestra el potencial de la presente metodología para el estudio de sistemas multicomponente. La posibilidad de potenciar su aplicación depende de poder responder algunas cuestiones claves. Es necesario desarrollar estrategias de posprocesamiento que permitan una integración adecuada de las señales resultantes, dado que el almacenamiento de un gran número de datos serán necesario durante el proceso de mezclado. Esquemas que permitan mejorar la resolución pueden ser útiles al momento de lidiar con sistemas que experimenten un fuerte solapamiento como consecuencia del número de componentes. Dadas las restricciones al usar sistemas binarios que experimentan transición de fase y las complicaciones en la formulación de los modelos actuales, es necesario destinar esfuerzos a proponer un modelo inicial para el análisis de un sector específico que permita describir el sistema de dos componentes (TEA/H₂O), para posteriormente adentrarse en el estudio de sistemas con mayor grado de complejidad.

8. Bibliografia

- Argov, Z., Bank, W. J., Maris, J., Leigh, J. S. Jr., and Chance, B., 1987, Muscle energy metabolism in human phosphofructokinase deficiency as recorded by ^{31}P nuclear magnetic resonance spectroscopy, *Ann. Neurol.*, 22:46.
- Armstrong, G. S., Loening, N. M., Curtis, J. E., Shaka, a. J., & Mandelshtam, V. a. (2003). Processing DOSY spectra using the regularized resolvent transform. *Journal of Magnetic Resonance*, 163(1), 139–148. [https://doi.org/10.1016/S1090-7807\(03\)00126-5](https://doi.org/10.1016/S1090-7807(03)00126-5)
- Arvind, G., & Bhatia, S. K. (1995). Determination of concentration-dependent adsorbate diffusivities by numerical inversion. *Chemical Engineering Science*, 50(8), 1361–1372. [https://doi.org/10.1016/0009-2509\(95\)98847-8](https://doi.org/10.1016/0009-2509(95)98847-8)
- Balayssan, S., Trefi, S., Gilard, V., Malet-Martino, M., Martino, R., & Delsuc, M. A. (2009). 2D and 3D DOSY ^1H NMR, a useful tool for analysis of complex mixtures: Application to herbal drugs or dietary supplements for erectile dysfunction. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 50(4), 602–612. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2008.10.034>
- Bardow, A., Marquardt, W., Volker, G., Koss, H.-J., & Lucas, K. (2003). Model-Based measurement of diffusion using Raman spectroscopy. *AIChE Journal*, 49(2), 323–334. <http://doi.org/10.1002/aic.690490205>.
- Bardow, A., & Marquardt, W. (2004). Identification of diffusive transport by means of an incremental approach. *Computers and Chemical Engineering*, 28(5), 585–595. <http://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2004.02.003>.
- Bardow, A. (2004). Model-based experimental analysis of multicomponent diffusion in liquids, PhD Thesis, RWTH Aachen.
- Bardow, A., Göke, V., Koß, H. J., Lucas, K., & Marquardt, W. (2005). Concentration-dependent diffusion coefficients from a single experiment using model-based Raman spectroscopy. *Fluid Phase Equilibria*, 228–229, 357–366. <http://doi.org/10.1016/j.fluid.2004.08.017>
- Bardow, A., Kriesten, E., Voda, M. A., Casanova, F., Blümich, B., & Marquardt, W. (2009). Prediction of multicomponent mutual diffusion in liquids: Model discrimination using NMR data. *Fluid Phase Equilibria*, 278(1–2), 27–35. <http://doi.org/10.1016/j.fluid.2009.01.001>

- Bingol, K., Bruschweiler-Li, L., Li, D., Zhang, B., Xie, M., & Bruschweiler, R. (2016). Emerging new strategies for successful metabolite identification in metabolomics. *Bioanalysis*, 8(6), 557–573. <http://doi.org/10.4155/bio-2015-0004>
- Bird, R. B., & Klingenberg, D. J. (2013). Multicomponent diffusion-A brief review. *Advances in Water Resources*, 62, 238–242. <https://doi.org/10.1016/j.advwatres.2013.05.010>
- Bottomley, P. a; Smith, L. S.; Leue, W. M.; Charles, C. Slice-Interleaved Depth-Resolved Surface-Coil Spectroscopy (Slit Dress) for Rapid ^{31}P NMR In vivo. *J. Magn. Reson.* 1985, 64, 347–351.
- Bruschweiler, R., & Zhang, F. (2004). Covariance nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Journal of Chemical Physics*, 120(11), 5253–5260. <https://doi.org/10.1063/1.1647054>.
- Caprihan, A., & Fukushima, E. (1990). Flow measurements by NMR. *Physics Reports*, 198(4), 195–235. [https://doi.org/10.1016/0370-1573\(90\)90046-5](https://doi.org/10.1016/0370-1573(90)90046-5)
- Castañar, L., Nolis, P., Virgili, A., Teodoro, P. (2013). Simultaneous multi-slice excitation in spatially encoded NMR experiments, *Chemistry a European Journal*, 19, 15472-15473. 10.1002/chem.201303272
- Crank, J. *The Mathematics of Diffusion* (2nd Ed), Oxford University Press, New York, 1979.
- Cobas, C., Seoane, F., & Sýkora, S. (2008). Global Spectral Deconvolution (GSD) of D-NMR spectra. Poster at SMASH Conference, (d), 15706. <https://doi.org/10.3247/sl2nmr08.011>
- Counsell, J.F., 1959. The system triethylamine/water. PhD thesis, University of Bristol. Available at /http://ethos.bl.uk/Home.do
- Cussler, E. L. *Multicomponent Diffusion*. Elsevier Science, Amsterdam (1976)
- Cussler, E.L., 1980. Cluster diffusion in liquids. *AIChE J.* 26 (1), 43–51.
- Cussler, E. L. *Diffusion: Mass Transfer in Liquids*. Cambridge University Press, Cambridge (1997)
- Darken, L.S., 1948. Diffusion, mobility and their interrelation through free energy in binary metallic systems. *Am. Inst. Min. Metall. Pet. Eng.* 175, 184–201.
- Davies, S., Bauer, C., Barker, P., & Freeman, R. (1985). The dynamic range problem in NMR. *Journal of Magnetic Resonance* (1969), 64(1), 155–159. [https://doi.org/10.1016/0022-2364\(85\)90045-9](https://doi.org/10.1016/0022-2364(85)90045-9)
- Dudley, G.J., Tyrrell, H.J.V., 1973b. Transport processes in binary and ternary mixtures containing water, triethylamine and urea. Part II. Mutual diffusion coefficients in the

- triethylamine-water system at 5 and 15 °C. *J. Chem. Soc.—Faraday Trans. 69* (12), 2200–2208.
- Dunlop, P. J., Harris, K. R., Young, D. J.: Experimental methods for studying diffusion in gases, liquids, and solids. In: *Physical Methods of Chemistry*, Vol. VI, ed. by B.W. Rossiter, R.C. Baetzold (Wiley-Interscience, New York 1992)
- D'Agostino, C., Mantle, M. D., Gladden, L. F., & Moggridge, G. D. (2012). Prediction of mutual diffusion coefficients in non-ideal mixtures from pulsed field gradient NMR data: Triethylamine-water near its consolute point. *Chemical Engineering Science*, 74, 105–113. <http://doi.org/10.1016/j.ces.2012.02.025>.
- D'Agostino, C., Mantle, M.D., Gladden, L.F., Moggridge, G.D., 2011. Prediction of binary diffusion coefficients in non-ideal mixtures from NMR data: hexane– nitrobenzene near its consolute point. *Chem. Eng. Sci.* 66, 3898–3906.
- Ernst, R. R. (1992). Nuclear Magnetic Resonance Fourier Transform Spectroscopy (Nobel Lecture). *Angewandte Chemie International Edition in English*, 31(7), 805–823. <https://doi.org/10.1002/anie.199208053>
- Evans, R., Haiber, S., Nilsson, M., & Morris, G. a. (2009). Isomer resolution by micelle-assisted diffusion-ordered spectroscopy. *Analytical Chemistry*, 81(11), 4548–4550. <https://doi.org/10.1021/ac9005777>
- Fenby, D. V., Kooner, Z. S., & Khurma, J. R. (1981). Deuterium isotope effects in liquid—liquid phase diagrams: A review. *Fluid Phase Equilibria*, 7(3–4), 327–338. [https://doi.org/10.1016/0378-3812\(81\)80015-5](https://doi.org/10.1016/0378-3812(81)80015-5)
- Findeisen, M., Brand, T., & Berger, S. (2007). A ¹H-NMR thermometer suitable for cryoprobes. *Magnetic Resonance in Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/mrc.1941>
- Foroozandeh, M., Castañar, L., Martins, L. G., Sinnaeve, D., Poggetto, G. D., Tormena, C. F., ... Nilsson, M. (2016). Ultrahigh-Resolution Diffusion-Ordered Spectroscopy. *Angewandte Chemie - International Edition*, 55(50), 15579–15582. <https://doi.org/10.1002/anie.201609676>
- Forseth, R. R., & Schroeder, F. C. (2011). NMR-spectroscopic analysis of mixtures: From structure to function. *Current Opinion in Chemical Biology*, 15(1), 38–47. <http://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.10.010>
- Gastaud, R., Beysens, D., & Zalczer, G. (1990). The Lorentz-Lorenz relationship in the phase diagram of triethylamine and water. Application to the coexistence curve. *The Journal of Chemical Physics*, 93(5), 3432–3436. <https://doi.org/10.1063/1.458824>
- Giraudeau, P. (2014). Quantitative 2D liquid-state NMR. *Magnetic Resonance in Chemistry : MRC*, 52(6), 259–72. <https://doi.org/10.1002/mrc.4068>

- Gostan, T., Moreau, C., Juteau, A., Guichard, E., & Delsuc, M. A. (2004). Measurement of aroma compound self-diffusion in food models by DOSY. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 42(6), 496–499. <https://doi.org/10.1002/mrc.1383>
- Gramosa, N. V., Ricardo, N. M. S. P., Adams, R. W., Morris, G. a., & Nilsson, M. (2016). Matrix-assisted diffusion-ordered spectroscopy: choosing a matrix. *Magnetic Resonance in Chemistry*, (May). <https://doi.org/10.1002/mrc.4459>
- Guéron, M., Plateau, P., & Decors, M. (1991). Solvent signal suppression. *Progress in NMR Spectroscopy*, 23, 135–209. [https://doi.org/10.1016/0079-6565\(91\)80007-O](https://doi.org/10.1016/0079-6565(91)80007-O)
- Guevara-Carrion, G., Gaponenko, Y., Janzen, T., Vrabec, J., & Shevtsova, V. (2016). Diffusion in Multi-Component Liquids: From Microscopic to Macroscopic Scales. *The Journal of Physical Chemistry B*, <http://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b09810>
- Gupta, P. K., & Cooper, A. R. (1971). The [D] matrix for multicomponent diffusion. *Physica*. [http://doi.org/10.1016/0031-8914\(71\)90062-0](http://doi.org/10.1016/0031-8914(71)90062-0).
- Haase, R., Siry, M., 1968. Diffusion im kritischen entmischungsgebiet binärerflüssiger systeme. *Zeit. Phys. Chem.* 57, 56–73.
- Hales, B. J., Bertrand, G. L., & Hepler, L. G. (1966). Effects of Third Components on Critical Mixing in the Water-Triethylamine System. *The Journal of Physical Chemistry*, 70(12), 3970–3975. <https://doi.org/10.1021/j100884a037>
- Hartley, G. S.; Crank, J. Some Fundamental Definitions and Concepts in Diffusion Processes. *Trans. Faraday Soc.* **1949**, 45, 801–818.
- Hobley, J., Kajimoto, S., Takamizawa, A., Ohta, K., Tran-Cong, Q., & Fukumura, H. (2003). Dynamics of Liquid Structure Relaxation from Criticality after a Nanosecond Laser Initiated T-Jump in Triethylamine–Water. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(41), 11411–11418. <https://doi.org/10.1021/jp030345e>
- Holz, M., & Weingartner, H. (1991). Calibration in accurate spin-echo self-diffusion measurements using ^1H and less-common nuclei. *Journal of Magnetic Resonance* (1969), 92(1), 115–125. [https://doi.org/10.1016/0022-2364\(91\)90252e](https://doi.org/10.1016/0022-2364(91)90252e)
- Hwang, T., & Shaka, A. J. Water suppression that works. Excitation sculpting using arbitrary waveforms and pulsed field gradients, *J. Magn. Reson. A* **112**, 275–279 (1995)
- Jancsó, G. (2006). H_2O - D_2O solvent isotope effect on excess molar volumes of 3-methylpyridine solutions. *Journal of Solution Chemistry*, 35(7), 991–1005. <https://doi.org/10.1007/s10953-006-9042-0>
- Jackson, L. H., Vlachodimitropoulou, E., Shangaris, P., Roberts, T. A., Ryan, T. M., Campbell-Washburn, A. E., ... Stuckey, D. J. (2017). Non-invasive MRI biomarkers for the early assessment of iron overload in a humanized mouse model of

- β -thalassemia. Scientific Reports, 7(November 2016), 1–10.
<https://doi.org/10.1038/srep43439>
- Jeener, J. (1971). *Lecture presented at Ampere International Summer School II*, Basko Polje, Yugoslavia.
- Johnson Jr., C. S. (1999). Diffusion ordered nuclear magnetic resonance spectroscopy: principles and applications. Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 34, 203–256. [https://doi.org/10.1016/S0079-6565\(99\)00003-5](https://doi.org/10.1016/S0079-6565(99)00003-5)
- Karpe, N., Krog, J. P., Böttiger, J., Chechenin, N. G., Somekh, R. E., & Greer, A. L. (1995). The thermodynamic factor in interdiffusion: A strong effect in amorphous Ni-Zr. Acta Metallurgica Et Materialia, 43(2), 551–558.
[https://doi.org/10.1016/0956-7151\(94\)00259-K](https://doi.org/10.1016/0956-7151(94)00259-K)
- Kartmark, E. M. (1966). System triethylamine–water: the equilibrium diagram and some physical properties. Canadian Journal of Chemistry, 45(10), 1089–1091.
<https://doi.org/10.1139/v67-183>
- Kajimoto, S., Yoshii, N., Hobley, J., Fukumura, H., & Okazaki, S. (2007). Electrostatic potential gap at the interface between triethylamine and water phases studied by molecular dynamics simulation. Chemical Physics Letters, 448(1–3), 70–74.
<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2007.09.077>
- Kozminski, W. (2000). Application of spatially Resolved NMR Spectroscopy for high Resolution Spectra of Heterogeneous Sample Polish J. Chem., 1189, 1185–1189
- Kriesten, E., Voda, M. A., Bardow, A., Göke, V., Casanova, F., Blümich, B., ... Marquardt, W. (2009). Direct determination of the concentration dependence of diffusivities using combined model-based Raman and NMR experiments. Fluid Phase Equilibria. <http://doi.org/10.1016/j.fluid.2008.10.012>
- Leaist, D. G., “Determination of Ternary Diffusion Coefficients by the Taylor Dispersion Method,” *J. Phys. Chem.*, **94**, 5180 1990.
- Lewus, R. K., & Carta, G. (2001). Protein Transport in Constrained Anionic Hydrogels: Diffusion and Boundary-Layer Mass Transfer. Industrial & Engineering Chemistry Research, 40(6), 1548–1558. <https://doi.org/10.1021/ie0006054>
- Iloukhani, H., & Khanlarzadeh, K. (2012). Application of some geometrical and empirical models to excess molar volume for the multi-component mixtures at T=298.15K. The Journal of Chemical Thermodynamics, 48, 235–242.
<https://doi.org/10.1016/j.jct.2011.12.028>
- Malz, F., & Jancke, H. (2005). Validation of quantitative NMR. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 38(5 SPEC. ISS.), 813–823.
<https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.01.043>

- Miller, D. G. (2014). The History of interferometry for measuring diffusion coefficients. *Journal of Solution Chemistry*, 43(1), 6–25. <http://doi.org/10.1007/s10953-014-0132-0>
- Nilsson, M., Botana, A., & Morris, G. A. (2002). T_1 -Diffusion-Ordered Spectroscopy : Nuclear Magnetic Resonance Mixture Analysis Using Parallel Factor Analysis, 81, 288–292.
- Nilsson, M., Connell, M. A., Davis, A. L., & Morris, G. A. (2006). Biexponential fitting of diffusion-ordered NMR data: Practicalities and limitations. *Analytical Chemistry*, 78(9), 3040–3045. <https://doi.org/10.1021/ac060034>.
- Nuzillard, D., Bourg, S., & Nuzillard, J. (1998). Model-free analysis of mixtures by NMR using blind source separation. *Journal of Magnetic Resonance*, 133(2), 358–63. <http://doi.org/http://dx.doi.org/10.1006/jmre.1998.1481>
- Pagès, G., Gilard, V., Martino, R., & Malet-Martino, M. (2017). Pulsed-field gradient nuclear magnetic resonance measurements (PFG NMR) for diffusion ordered spectroscopy (DOSY) mapping. *The Analyst*, 3771–3796. <https://doi.org/10.1039/C7AN01031A>
- Pantoja, C. F., Bolaños, J. A., Bernal, A., & Wist, J. (2017). Mutual Diffusion Driven NMR: a new approach for the analysis of mixtures by spatially resolved NMR spectroscopy. *Magnetic Resonance in Chemistry*. <https://doi.org/10.1002/mrc.4561>
- Parella, T. (1998). Pulsed field gradients: A new tool for routine NMR. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 36(7), 467–495. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097)
- Reid, R. C., J. M. Prausnitz, and B. E. Poling, *The Properties of Gases and Liquids*, McGraw-Hill, New York 1987.
- Sanni, S. A., C. J. D. Fell, and H. P. Hutchison, “ Diffusion Coefficients and Densities for Binary Organic Liquid Mixtures,” *J.Chem.Eng. Data*, 16 (4), 424 (1971).
- Simmler, C., Napolitano, J. G., McAlpine, J. B., Chen, S. N., & Pauli, G. F. (2014). Universal quantitative NMR analysis of complex natural samples. *Current Opinion in Biotechnology*, 25, 51–59. <http://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.08.004>
- Sinnaeve, D. (2012). The Stejskal-Tanner equation generalized for any gradient shape an overview of most pulse sequence measuring free diffusion. *Concepts in Magnetic Resonance Part A*, 40, 39-65.10.1002/cmr.a.21223
- Snyder, R. B., & Eckert, C. A. (1973). Chemical kinetics at a critical point. *AIChE Journal*, 19(6), 1126–1133. <https://doi.org/10.1002/aic.690190608>
- Stilbs, P. (1981). Molecular Self-Diffusion Coefficients in Fourier Transform Nuclear Magnetic Resonance Spectrometric Analysis of Complex Mixtures. *Analytical Chemistry*, 53(13), 2135–2137. <https://doi.org/10.1021/ac00236a044>

- Taylor, R. and R. Krishna. *Multicomponent Mass Transfer*. John Wiley & Sons, New York (1993).
- Tsao, J. (2010). Ultrafast imaging: Principles, pitfalls, solutions, and applications. *Journal of Magnetic Resonance Imaging*, 32(2), 252–266. <https://doi.org/10.1002/jmri.22239>
- Viel, S., Ziarelli, F., Caldarelli, S. Enhanced diffusion-edited NMR spectroscopy of mixtures using chromatographic stationary phases, PNAS 100 (2003) 9696– 9698
- Wagner, A. T., & Kohler, H. H. (2008). Determination of the concentration dependence of polyelectrolyte diffusion coefficients by application of the Boltzmann gradient method. *Journal of Colloid and Interface Science*, 319(2), 555–564. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.11.038>
- Zangger, K. (2015). Pure shift NMR. *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 86–87, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.pnmrs.2015.02.002>

9. Anexos

9.1 Anexo 1: Calibración de temperatura

Usualmente si se desea saber la temperatura real de la muestra es necesario medir la temperatura en el seno de la solución en lugar del valor reportado por el detector (éste se encuentra ubicado en la parte inferior de la muestra que es analizada). Para realizar una medición más precisa de la temperatura se puede emplear sustancias que presenten cierta labilidad en sus ambientes magnéticos de sus átomos frente a cambios pequeños de temperatura. Una de las sustancias más usadas es el disolvente deuterado metanol- d_4 (99.8%). La fuerte dependencia que existe entre la temperatura y su capacidad de formar puentes de hidrógeno con especies residuales no deuteradas (MeOH, MeOD), le permiten relacionar el desplazamiento químico de la señal proveniente de estos protones con la temperatura del seno de la muestra (Findeisen et al, 2007) según la siguiente ecuación:

$$T = -16.7467 \times (\Delta\delta)^2 - 52.5130 \times \Delta\delta + 419.1381$$

Donde $\Delta\delta$ representa la diferencia entre las frecuencias de resonancia del grupo CH_3 y el protón del grupo -OH causante de la formación de los puentes de hidrógeno

9.2 Anexo 2: Cuantificación en ^1H -RMN

La RMN ha permitido realizar estudios cuantitativos de los componentes presentes en una muestra. Su fundamento se encuentra cimentado en la relación cuantitativa entre núcleos activos de los diferentes componentes. Su principal virtud es la no necesidad de estándares de referencia como en otras técnicas analíticas. Existen dos formas de realizar un estudio cuantitativo por RMN, cuantificación relativa o cuantificación absoluta

La forma más simple y útil en nuestro estudio es la cuantificación relativa. En este caso la intensidad de una señal I_j se encuentra relacionada de forma proporcional al número de moléculas n_j que contiene los núcleos responsables de dicha resonancia (Malz & Jancke., 2005):

$$I_j = K_s B_j n_j$$

Donde K_s representa una constante para todas las señales observadas en el espectro de resonancia y B_j la fracción entre el número de núcleos implicados en dicha señal y el número de moléculas n_j al cual corresponde.

Esta relación es válida en tanto que K_s sea equivalente para todas las resonancias presentes, sin embargo esto depende de algunos factores:

- a) El perfil de excitación del pulso empleado debe ser uniforme en todo el rango donde están presentes dichas resonancias
- b) Antes de cada acumulación se desea que el 99% de la magnetización se encuentre totalmente en su posición de equilibrio a lo largo del eje z. La forma en que se garantiza lo anterior es ajustando el tiempo de recuperación de la secuencia a $5 \cdot T_1$ aproximadamente.
- c) El uso de esquemas de desacoplamiento de banda ancha pueden alterar la intensidad de una señal por medio de los mecanismos de la relajación dipolar (efecto NOE)
- d) En el caso de los experimentos selección espacial la difusión de especies puede alterar dicha relación (Entrada/salida de especies provenientes de la zona de observación)

En el presente estudio T_1 es variable en tiempo y posición, por lo tanto un tiempo de recuperación mayor a $5 \cdot T_1$ es necesario para garantizar la relajación total de cada sector durante todo el proceso de mezcla. Por otro lado, un pulso duro capaz de excitar las frecuencias de resonancia en un rango de (1-7 ppm) fue empleado. Las pérdidas ocasionadas por difusión durante la secuencia de pulsos es despreciable debido a su corta duración y la baja movilidad a la temperatura de trabajo (278.15 K / 283.15 K). Sin embargo, se debe notar que los efectos de pérdida por este fenómeno pueden ser significativos si un gran número de acumulaciones son usadas. En el presente trabajo un total de 2 acumulaciones fue empleado para los sistemas de TEA/H₂O/D₂O para minimizar dicho efecto.

Una vez garantizada la validez de la ecuación anterior es posible transformar la intensidad de las señales resultante en la fracción molar del componente x_j directamente:

$$x_j = \frac{A_j^{-1} I_j}{\sum_{k=1}^n A_k^{-1} I_k}$$

De esta forma los perfiles de intensidad obtenidos a lo largo de la coordenada z en el tiempo pueden ser convertidos a valores de concentración en términos de fracciones molares.

9.3 Anexo 3: Calibración de la coordenada espacial

La determinación correcta de la locación espacial z depende de la fortaleza del campo magnético G_z usado en el bloque de selección espacial. Por tal razón la determinación del valor real G_z es indispensable para extracción de los valores correctos de z en cada uno de los experimentos realizados. Usualmente disolventes con un coeficiente de auto-difusión conocido pueden ser empleados en este procedimiento. En el presente estudio el óxido de deuterio (D_2O) al 99.9% fue usado como disolvente de referencia. En este caso el coeficiente de auto-difusión de la cantidad del HDO residual está relacionado a la fracción molar de D_2O x_D a 298.15 K por medio de la siguiente ecuación (Holz, 1991):

$$D_{HDO(298K)} = 2.30 - 0.4652x_D + 0.0672x_D^2 \cdot 10^{-9} m^2 s^{-1}$$

Las mediciones de autodifusión fueron realizadas con ayuda del experimento *PFGE Spin-Echo*. En este experimento incrementos secuenciales del valor de G ocasionan una atenuación gradual en la intensidad de la señal de resonancia (S) la cual se encuentra asociada al coeficiente de auto-difusión por medio de la ecuación de Stejskal-Tanner:

$$S(g, 2\tau) = M_0 \exp\left(-\frac{2\tau}{T_2}\right) \exp\left(-\gamma^2 g^2 \delta^2 D \left(\frac{\Delta - \delta}{3}\right)\right)$$

Donde T_2 representa el tiempo de relajación transversal, Δ , τ y δ son parámetros ajustables en la secuencia de pulsos. D representa el coeficiente de autodifusión. Los valores de gradiente de campo magnético (g) pueden ser calculados indirectamente con buena precisión si el valor de D es conocido con exactitud

9.4 Anexo 4: Lista de publicaciones y asistencia a eventos

Publicaciones:

Pantoja, C. F., Bolaños, J. A., Bernal, A., & Wist, J. (2017). Mutual Diffusion Driven NMR: a new approach for the analysis of mixtures by spatially resolved NMR spectroscopy. Magnetic Resonance in Chemistry. <https://doi.org/10.1002/mrc.4561>

Asistencia a Eventos

Presentación de póster en el “VII Simposio de Química” en la Universidad del Valle (Cali, Colombia) del trabajo titulado “ **Coeficiente de interdifusión en mezclas no ideales: Un nuevo enfoque desde Resonancia Magnética Nuclear**” Pantoja, F., C. Wist J. (2017)

Presentación de póster en el “Euroma Warsaw 2017” en Varsovia, (Polonia) del trabajo titulado “**Mutual diffusion NMR: Progress and Perspectives**” Pantoja, F., C. Wist J. (2017)

Presentacion oral en el “VII Ibero American NMR meeting” en Cartagena, (Colombia) del trabajo titulado “**Mutual Diffusion Driven NMR: A New Concept In the Analysis Mixtures by Spatially Resolved NMR**” Pantoja, F., C., (2016)

Presentación de póster en el “VII Simposio de Química” en la Universidad del Valle (Cali, Colombia) del trabajo titulado “**Spatial Composition Spectroscopy (SCSY)**” Pantoja, F., C. Bolanos A., Wist J. (2015)