

Els punts que presenten el valor més gran de la funció són el 2 i el 4, els quals corresponen a la situació on la concentració d'àcid clorhídric és més gran. Dels dos punts, el 4 és escollit, per presentar el valor del paràmetre més alt, i una major velocitat de reacció.

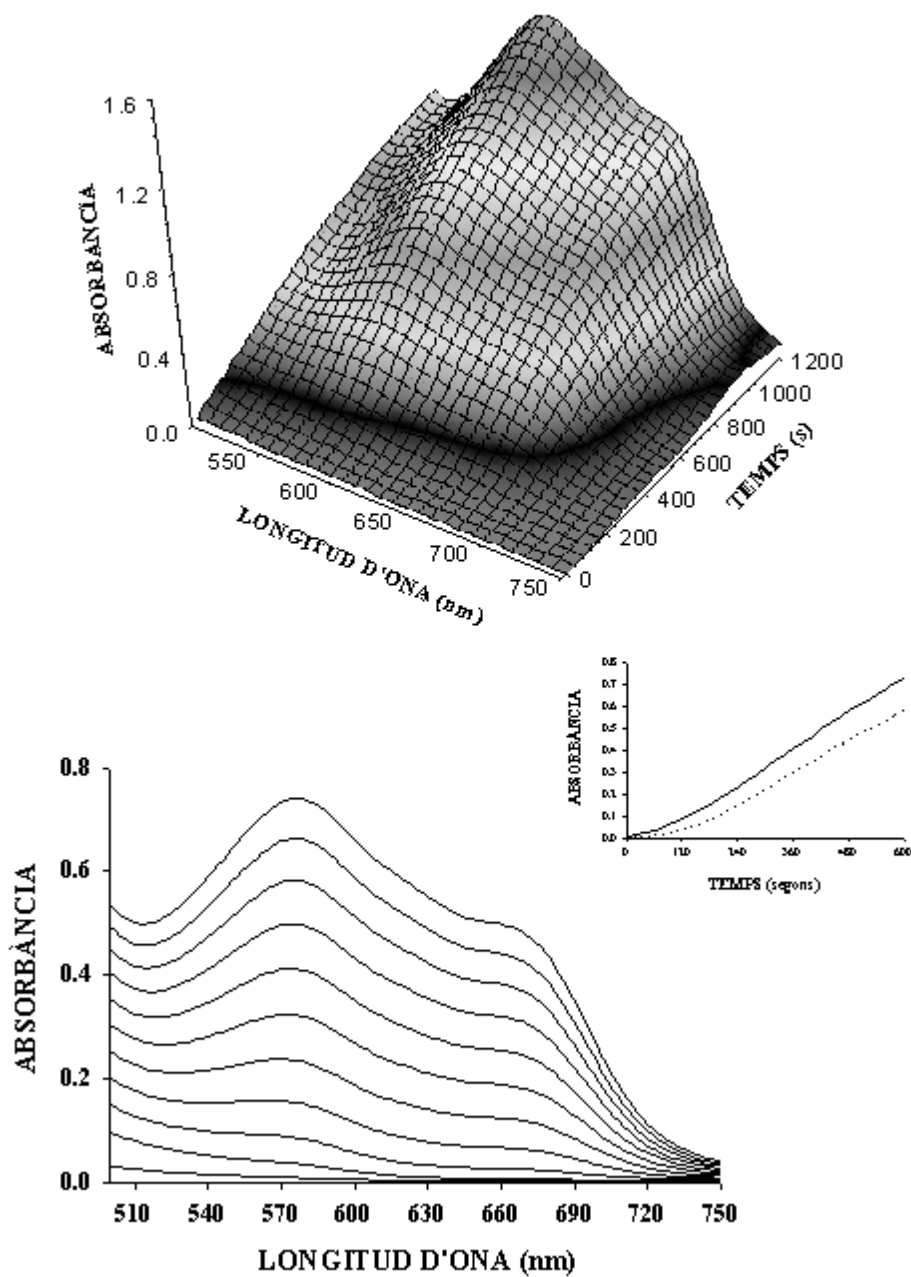
#### V.4.3. ANÀLISI DE MESCLES QUATERNÀRIES DE SULFONAMIDES

Assolit aquest punt, es continua amb en el registre cinètic del conjunt de mescles preparades al laboratori, sota la situació experimental escollida com a òptima per a la seva resolució. En cada registre cinètic es genera una gran quantitat d'informació; un total de 7686 valors d'absorbància (61 espectres  $\times$  126 valors de longitud d'ona).

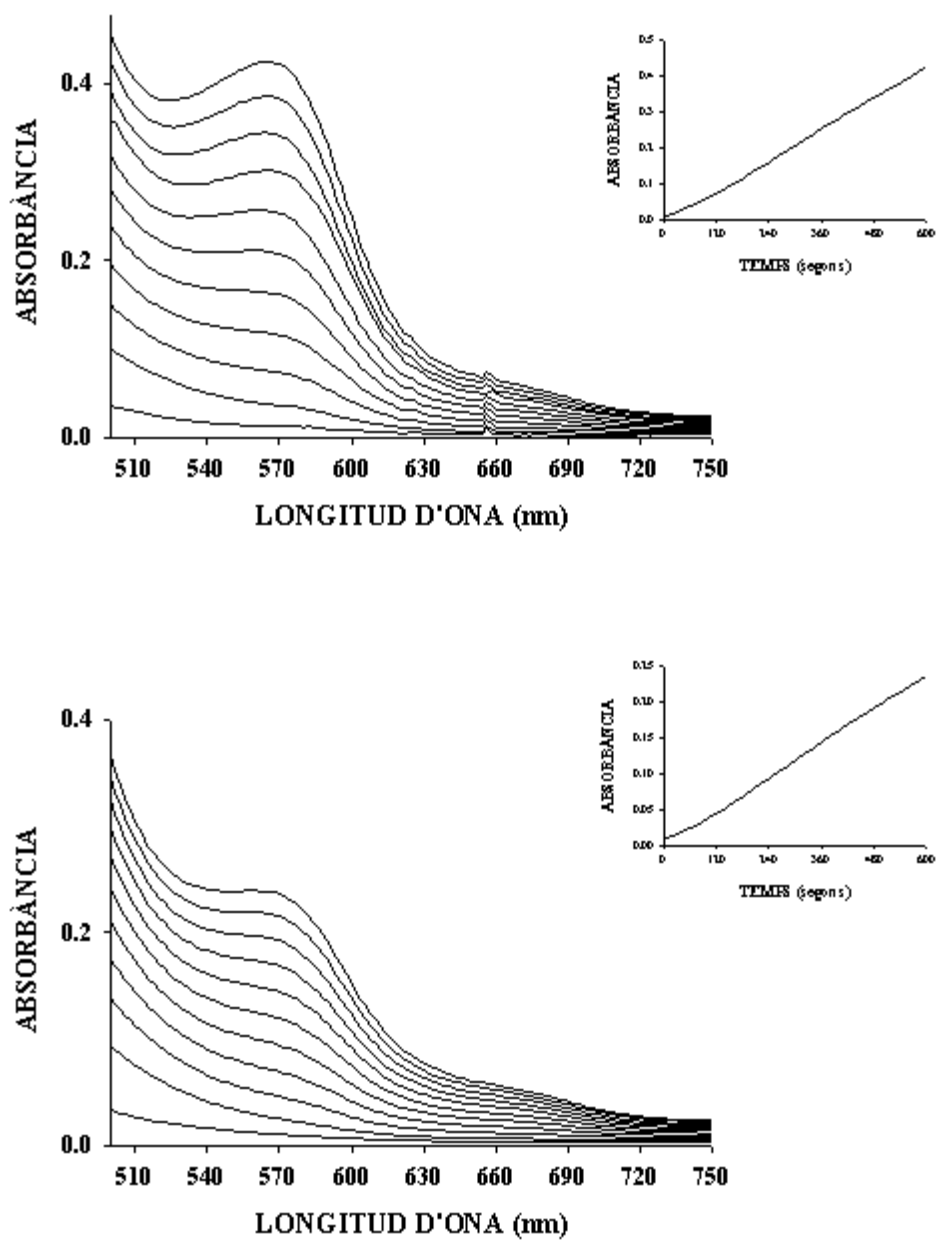
A la figura 5.11 es mostra l'evolució espectral amb el temps d'una mescla que conté sulfatiazol  $3,0 \times 10^{-4}$  M, sulfadiazina  $3,0 \times 10^{-4}$  M, sulfamerazina  $0,5 \times 10^{-4}$  M i sulfametazina  $2,2 \times 10^{-4}$  M. A la figura també s'ha dibuixat el perfil cinètic a 570 nm i 620 nm on queda palès el període d'inducció que existeix.

A les figures 5.12 A-B i 5.13 A-B, es mostra l'evolució espectral dels productes de reacció de les quatre sulfonamides per separat, a una concentració  $5,0 \times 10^{-4}$  M, i a les mateixes condicions experimentals. Al seu costat, s'han representat els perfils cinètics a 570 nm, i també a 620 nm per la sulfamerazina i sulfametazina.

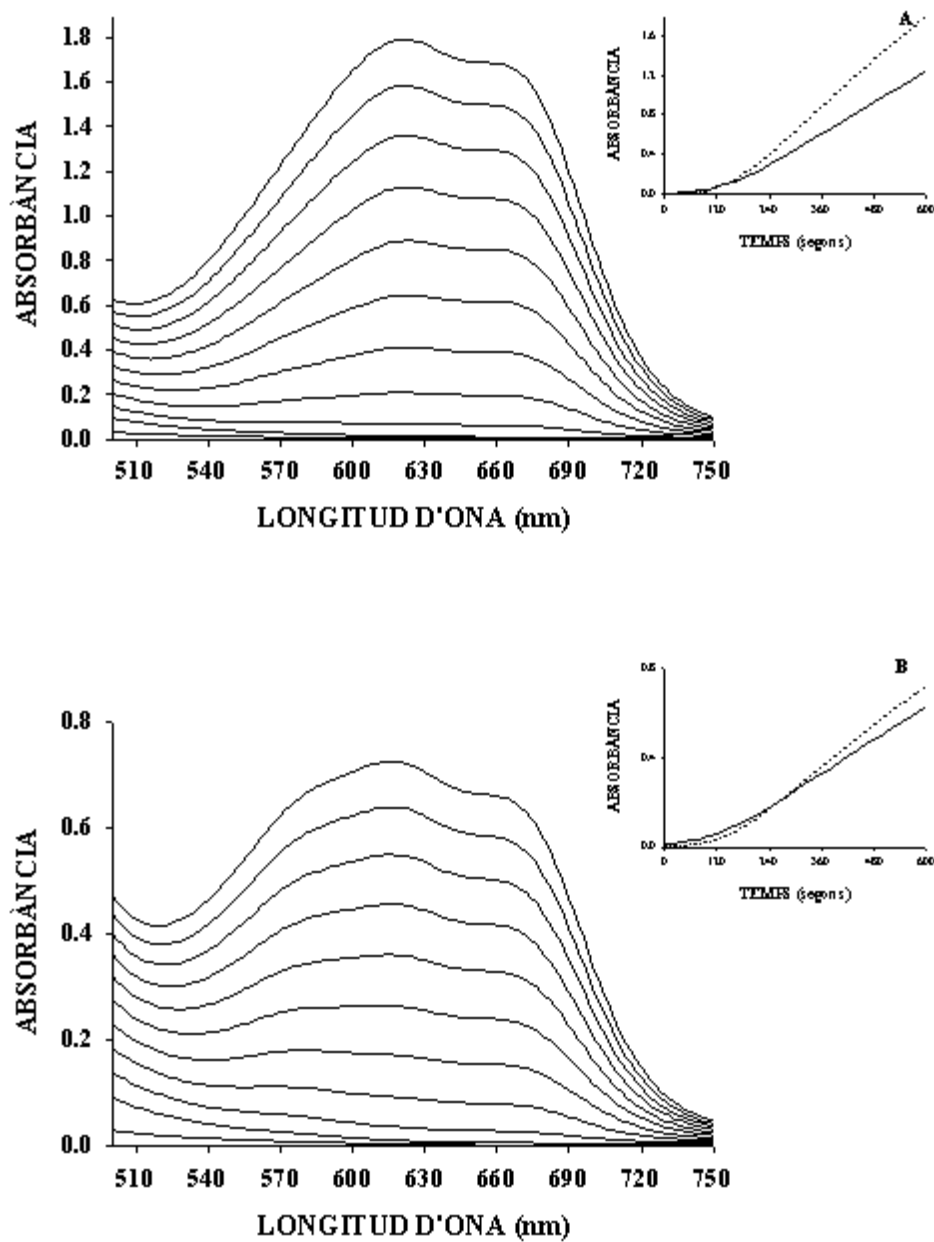
L'espectre resultant dels productes derivats de les quatre sulfonamides en un temps determinat, es situa en la regió del visible compresa entre 500 i 700 nm aproximadament, i la seva aparença depèn de la combinació de sulfonamides de partida a la mescla. Tenim que per un cantó el sulfatiazol i la sulfadiazina contribueixen majoritàriament amb una banda centrada sobre 570 nm, mentre que la sulfamerazina i la sulfametazina contribueixen amb les seves bandes més amples situades al voltant de 600 i 700 nm.



**Figura 5.11.** Evolució espectral dels productes de reacció d'una mescla de sulfonamides. Perfils cinètics a  $\lambda = 570$  nm (—),  $\lambda = 620$  nm (...).



**Figura 5.12 A-B.** Evolució espectral dels productes de reacció del sulfatiazol (A) i la sulfadiazina (B), durant els primers 10 min. de reacció (cada min). Perfils cinètics a  $\lambda = 570 \text{ nm}$  (—).



**Figura 5.13 A-B.** Evolució espectral dels productes de reacció de la sulfamerazina (A), i la sulfametazina (B) durant els primers 10 min. de reacció (cada min.). Per fils cinètics a  $\lambda = 570$  nm (—) i  $\lambda = 620$  nm (...).

És interessant ressaltar el fet que com a conseqüència de l'existència dels temps d'inducció de magnitud desigual, tenim que per temps curts de reacció la contribució dels derivats del sulfatiazol i la sulfadiazina és màxima. En canvi, per temps superiors aleshores domina la contribució per part dels altres derivats, en especial de la sulfamerazina que presenta una absortivitat molar aparent elevada.

Vist tot això, es procedeix a la construcció dels models de calibració aprofitant al màxim la informació de que es disposa. Concretament s'assaja la regressió parcial per mínims quadrats PLS, la regressió parcial per mínims quadrats multi via n-PLS, i les xarxes neuronals artificials ANNs. Els resultats obtinguts de l'aplicació d'aquests mètodes són discutits i comparats en els següents apartats.

#### V.4.3.1. CONSTRUCCIÓ DEL MODELS PLS1

Per abordar inicialment el sistema, s'assaja la regressió parcial per mínims quadrats, atès els bons resultats obtinguts en les altres situacions estudiades anteriorment en aquesta memòria, així com en altres treballs, on per diversos motius també hi havia absència de linealitat.

Després d'assajar varies combinacions de diferents regions espectrals, es comprova que els millors resultats per cada analit s'obtenen quan s'utilitza la zona de l'espectre comprès entre 510 i 740 nm. És a dir, qualsevol longitud d'ona considerada aporta informació relacionada amb les concentracions de totes les espècies, i fa evident que la informació espectral és imprescindible per resoldre el sistema plantejat.

A part, també s'assagen models amb els espectres de la primera derivada, a partir de l'aplicació de l'algoritme de Savitzky-Golay amb un polinomi de segon ordre i una dimensió de finestra variable. Amb la utilització de la primera derivada, es veu força incrementada la precisió dels resultats obtinguts, i per això s'escull aquest mode espectral. Això s'atribueix al fet que d'aquesta manera es corregeixen els desplaçaments de la línia base, que es produeixen en alguns dels registres cinètics com a conseqüència de l'alliberament de  $N_2$  en els processos laterals que consumeixen el reactiu.

Un cop assolit aquest punt, es continua amb l'estudi de la influència de la variable temps en els resultats. Es pot comprovar, tal i com es sospitava, que tant el sulfatiazol com la sulfadiazina

es quantifiquen millor per temps curts de mesura, obtenint-se els millors resultats utilitzant només els 10 primers minuts de registre. Considerant valors de temps superiors, les prediccions empitjoren, atribuït a l'elevada contribució a l'absorbància de la mescla per part de la sulfamerazina i sulfametazina.

Curiosament, l'utilització de temps alts de registre no porta millora en les prediccions per la sulfamerazina i la sulfametazina, malgrat es trobin afavorides aleshores llavors, per presentar tanta influència en el senyal de les mescles registrades. Una explicació d'això, segurament és que al mateix temps que la contribució d'aquestes espècies creix, també ho fa de forma molt acusada l'absorbància mesurada en moltes mostres, cosa que introdueix una nova font de desviació de la linealitat del sistema en estudi. D'aquesta manera, l'interval de temps que millors resultats ens aporta en la quantificació de sulfamerazina i sulfametazina, coincideix amb el trobat per les dues espècies anteriors, és a dir, un temps total de 10 minuts.

Per acabar, s'assagen models escalats pels components sulfatiazol i sulfadiazina, per tal de donar-los més pes en els models PLS1 construïts. No obstant això, els resultats obtinguts per ambdós analits són pitjors als anteriors, ja que també agafa major importància el soroll experimental present en el sistema.

El número de factors PLS significatius trobats és de 12 per totes les sulfonamides. Una altra vegada, aquest número de factors és molt superior al número d'analits presents en les mescles, cosa que s'atribueix a les no-linealitats introduïdes com a conseqüència del complicat mecanisme de reacció que té lloc.

Els resultats obtinguts al quantificar els diferents conjunts de mostres preparades al laboratori, es presenten a la taula 5.3. Es mostra l'error estàndard relatiu de predicció pel conjunt de mostres de calibració (RSEPC%) i predicció (RSEPV%), el valor mig i la desviació estàndard relativa trobada pels 11 replicats d'una mostra que conté una concentració  $1 \times 10^{-4}$  M de sulfatiazol i sulfadiazina,  $5 \times 10^{-5}$  M de sulfamerazina i  $1,1 \times 10^{-4}$  M de sulfametazina.

A pesar que els resultats són prou bons, l'exactitud assolida varia considerablement per cada sulfonamida. Per un cantó tenim que el sulfatiazol es quantifica amb molt bona exactitud (RSEPC% i RSEPV%  $< 2,5$ ), a continuació la sulfamerazina i sulfametazina amb una exactitud una mica inferior (%RSEPC i %RSEPV  $\approx 5$ ), i finalment la sulfadiazina (%RSEPC i %RSEPV  $\approx 8$ ). La qualitat dels resultats per la sulfadiazina és bastant inferior, atribuïble segurament al fet que la

precisió en les seves prediccions es troba més afectada pel soroll experimental, amb motiu de la seva menor magnitud en el senyal total mesurat.

**Taula 5.3.** RSEPC% i RSEPV%, valor mig i RSD% trobats per 11 replicats d'una mateixa mostra, calculats amb els models PLS1. Nombre de factors= 12.

	Sulfatiazol	Sulfadiazina	Sulfamerazina	Sulfametazina
RSEPC (%)	1,7	5,7	2,1	3,0
RSEPV(%)	2,3	8,1	4,8	4,9
Valor mig (M) (1/1/0,5/1,1)×10 <sup>-4</sup>	1,0	1,1	0,5	1,1
RSD (%)	4,0	13,0	4,0	6,0

La precisió estimada com RDS% mostra la mateixa tendència que el RSEP%, amb un valor al voltant del 5% excepte per la sulfadiazina la qual és significantment pitjor.

A la taula 5.4 es mostren els paràmetres de regressió de les rectes construïdes amb les prediccions individuals vers les concentracions afegides per a cada sulfonamida en les mostres de calibració i predicció, a fi de comprovar la qualitat de l'ajust de totes les dades a la recta teòrica. Es pot concloure que no sembla que hi hagi la presència d'errors sistemàtics en les prediccions, destacant una major dispersió en els resultats obtinguts per la sulfadiazina.

Per acabar l'estudi sobre els resultats obtinguts per aplicació de la regressió parcial per mínims quadrats, es passa a avaluar la certesa de l'existència de cada una de les sulfonamides estudiades en una mostra artificial. Per a fer-ho es quantifica en cada cas un conjunt de 10 mescles ternàries de les altres tres sulfonamides, escollides aleatòriament. Els valors mitjos trobats per la sulfonamida absent de la mescla, i la seva desviació estàndard es mostren a la taula 5.5. En tots els casos, el valor mig no difereix significativament de 0 per un nivell de significació de  $\alpha=0,05$ . Així doncs, es pot treure com a conclusió d'aquests petit estudi, que l'absència d'alguna de les quatre espècies pot ser indicada amb una elevada probabilitat.

**Taula 5.4.** Paràmetres de la recta concentració trobada mitjançant PLS1 vers concentració afegida de sulfatiazol, sulfadiazina, sulfamerazina i sulfametazina, per les mostres de calibració i predicció externa. Intervals de confiança del 95%. Número de mostres: a=97 i b=30.

	Calibració <sup>a</sup>			Predicció <sup>b</sup>		
	Ordenada Origen	Pendent	Coefficient correlació, r	Ordenada Origen	Pendent	Coefficient correlació, r
Sulfatiazol	$(0,2 \pm 1,4) \times 10^{-6}$	$0,999 \pm 0,007$	0,9994	$(1 \pm 4) \times 10^{-6}$	$0,99 \pm 0,02$	0,9988
Sulfadiazina	$(2 \pm 4) \times 10^{-6}$	$0,99 \pm 0,02$	0,994	$(0,9 \pm 1,3) \times 10^{-5}$	$0,94 \pm 0,06$	0,986
Sulfamerazina	$(2 \pm 8) \times 10^{-7}$	$0,998 \pm 0,009$	0,9989	$(1 \pm 2) \times 10^{-6}$	$0,97 \pm 0,03$	0,993
Sulfametazina	$(1 \pm 2) \times 10^{-6}$	$0,997 \pm 0,011$	0,998	$(3 \pm 9) \times 10^{-6}$	$0,99 \pm 0,04$	0,993

**Taula 5.5.** Valor mig de la concentració de sulfonamida i desviació estàndard, pels conjunts de 10 mescles ternàries de les altres sulfonamides.

Sulfonamida	valor mig concentració	desviació estàndard
Sulfatiazol	1,1e-6	3,3e-6
Sulfadiazina	6,1e-6	8,9e-6
Sulfamerazina	1,6e-7	2,7e-6
Sulfametazina	-5,9e-7	7,9e-6



#### V.4.3.2. CONSTRUCCIÓ DE MODELS nPLS1

Els models nPLS 1 es construeixen utilitzant els intervals de longitud d'ona i temps trobats com a òptims pels models PLS.

El nombre de factors significatius trobats amb aquests models nPLS1 és de 12 per el sulfatiazol, i de 13 per la sulfadiazina, sulfamerazina i sulfametazina. Aquest nombre és molt proper al que es troba per aplicació dels models PLS i altra vegada molt superior al nombre d'analits presents en les mescles.

A la taula 5.6 es presenten els resultats obtinguts al quantificar els diferents conjunts de mostres preparades al laboratori. S'observa que són pràcticament els mateixos que els obtinguts pels models PLS.

A la taula 5.7 es mostren els paràmetres de regressió de les rectes de les prediccions individuals vers la concentració afegida per a cada sulfonamida en les mostres de calibració i predicció.

**Taula 5.6.** RSEPC% i RSEPV%, valor mig i RSD% trobats per 11 replicats d'una mateixa mostra, calculats amb els models nPLS1. Nombre de factors: a=12 i b=13.

	Sulfatiazol <sup>a</sup>	Sulfadiazina <sup>b</sup>	Sulfamerazina <sup>b</sup>	Sulfametazina <sup>b</sup>
RSEPC (%)	2,7	8,3	2,7	3,8
RSEPV(%)	2,8	8	5	4,9
Valor mig (M) (1/1/0,5/1,1)×10 <sup>-4</sup>	0,98	1,1	0,52	1,05
RSD (%)	4	13	5	6

**Taula 5.7.** Paràmetres de la recta concentració trobada mitjançant nPLS1 vers concentració afegida de sulfatiazol, sulfadiazina, sulfamerazina i sulfametazina, per les mostres de calibració i predicció externa. Intervals de confiança del 95%. Número de mostres: a=97 i b=30.

	Calibració <sup>a</sup>			Predicció <sup>b</sup>		
	Ordenada Origen	Pendent	Coefficient correlació, r	Ordenada Origen	Pendent	Coefficient correlació, r
Sulfatiazol	$(0,5 \pm 2,3) \times 10^{-6}$	$0,997 \pm 0,011$	0,9985	$(1 \pm 5) \times 10^{-6}$	$0,99 \pm 0,02$	0,998
Sulfadiazina	$(4 \pm 6) \times 10^{-6}$	$0,98 \pm 0,03$	0,988	$(0,9 \pm 1,3) \times 10^{-5}$	$0,94 \pm 0,06$	0,986
Sulfamerazina	$(0,3 \pm 1,0) \times 10^{-6}$	$0,997 \pm 0,011$	0,998	$(0,2 \pm 2,0) \times 10^{-6}$	$0,98 \pm 0,03$	0,996
Sulfametazina	$(0,8 \pm 2,7) \times 10^{-6}$	$0,995 \pm 0,014$	0,998	$(6 \pm 8) \times 10^{-6}$	$0,98 \pm 0,04$	0,994