

## Tesis Doctoral

# Desacople difusión-viscosidad y transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol

Trejo González, José Adolfo

2017-12-05

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Trejo González, José Adolfo. (2017-12-05). Desacople difusión-viscosidad y transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

**Cita tipo Chicago:**

Trejo González, José Adolfo. "Desacople difusión-viscosidad y transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol". Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 2017-12-05.

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires



Universidad de Buenos Aires  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Departamento de Química Inorgánica, Analítica y Química Física

# **Desacople difusión-viscosidad y transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol**

Tesis presentada para optar al título de Doctor de la Universidad de Buenos Aires en el área Química Inorgánica, Química Analítica y Química Física

**Autor:**

Lic. José Adolfo Trejo González

**Director:**

Dr. Horacio R. Corti

**Consejero de Estudios:**

Dr. Ernesto Marceca

**Lugar de trabajo:**

Instituto de Química Física de los Materiales, Medio Ambiente y Energía,  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires

Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2017

Fecha de defensa: 5 de diciembre de 2017



*A mis abuelos Tata y Yaya,  
que de alguna forma que desconozco  
siguen presentes en mi camino.*

*A mi hijo Miguel Ángel,  
por enseñarme el valor real de la vida.*



## **DESACOPLE DIFUSION-VISCOSIDAD Y TRANSICION VITREA EN SOLUCIONES ACUOSAS DE GLICEROL**

### ***RESUMEN***

Las soluciones acuosas de glicerol sobreenfriadas, que es el sistema en estudio en esta Tesis, tienen un gran interés tanto tecnológico como académico. Desde el punto de vista tecnológico, las soluciones acuosas de polioles, a temperaturas cercanas y por debajo de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), se utilizan intensamente desde hace varios años como medios crioprotectores de biomoléculas, alimentos y organismos. La estabilidad de las biomoléculas inmersas en estas matrices crioprotectoras en estado sobreenfriado o vítreo, estará determinada por la velocidad de las reacciones de deterioro en las cuales participen. De este modo, el tiempo de vida de las biomoléculas en el medio crioprotector dependerá en gran medida de los coeficientes de difusión de las moléculas reactantes.

En líquidos normales, lejos de la transición vítrea, la teoría difusional más simple es la expresada en la ecuación de Stokes-Einstein, que vincula la difusión molecular con la viscosidad del medio. Es ampliamente conocido que este modelo hidrodinámico deja de ser válido cuando sobreenfriamos el sistema por debajo de una temperatura crítica que es cercana a la temperatura de transición vítrea. A temperaturas menores que esta temperatura crítica, la difusión en los líquidos sobreenfriados es mayor que la predicha por la relación de Stokes-Einstein. El desacople entre difusión y viscosidad en soluciones acuosas de glicerol es el principal tema de estudio de esta Tesis.

Un análisis de la abundante literatura existente para esta mezcla permitió detectar dos importantes falencias. La primera fue la irreproducibilidad manifiesta en la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) en función de la composición de la mezcla binaria. La segunda

era la escasa información que existía sobre la viscosidad de las mezclas en la región sobreenfriada, de interés en criopreservación.

En este trabajo de Tesis se realizaron medidas de temperatura de transición vítrea de soluciones acuosas de glicerol en un amplio ámbito de composiciones, lo que permitió acotar sensiblemente la incerteza en este parámetro. Por otra parte, se construyó un viscosímetro de caída de bola (*falling ball*) que permitió acceder experimentalmente a regiones sobreenfriadas no antes exploradas.

Como consecuencia de esta extensión de datos experimentales de viscosidad se pudo analizar el desempeño de diversas ecuaciones que describen la dependencia de la viscosidad de sistemas mezcla con la temperatura y composición. Se concluyó que el modelo de Avramov-Milchev es el más adecuado para ajustar los datos experimentales en toda la región sobreenfriada y la región estable y también para extrapolar los resultados a las regiones de sobreenfriamiento profundo, cerca de la transición vítrea.

El estudio de la difusión de solutos en las mezclas acuosas de glicerol se llevó a cabo utilizando ferrocenometanol como sonda neutra pero electroquímicamente activa, lo que permitió utilizar la técnica cronoamperométrica con microelectrodos para la determinación del coeficiente de difusión sobre un amplio ámbito de temperaturas reducidas ( $T/T_g$ ). Se concluyó que la difusión de ferrocenometanol en la mezcla agua-glicerol se desacopla de la viscosidad de la mezcla para  $T/T_g < 1,5$ . Al contrario de cómo sugería un trabajo previo donde se analizaba la autodifusión de glicerol en esta mezcla, la temperatura a la cuál ocurre el desacople difusión-viscosidad no es función de la composición de la mezcla, tal como sucede en soluciones acuosas de otros polioles.

Palabras claves: LÍQUIDOS SOBREENFRIADOS; TRANSICIÓN VÍTREA; DIFUSIÓN; VISCOSIDAD; CRIOPRESERVACIÓN

# **DIFFUSION-VISCOSITY DECOUPLING AND GLASS TRANSITION IN GLYCEROL AQUEOUS SOLUTIONS**

## ***ABSTRACT***

The supercooled aqueous glycerol solutions, the system under study in this Thesis work, are of great interest by both, technological and academic reasons. From the technological point of view, polyols aqueous solutions, close to and below the glass transition temperature ( $T_g$ ), are intensively used since several years ago as cryoprotection media for biomolecules, food and organisms. The stability of biomolecules immersed in these cryoprotectant matrixes, in supercooled or glassy states, will be determined by the rate of the deterioration reactions in which they participate. Thus, the life time of the biomolecules in the cryoprotectant will depend on the diffusion coefficients of the reactive molecules.

In normal liquids, far from the glass transition, the simplest diffusional theory is that expressed by the Stokes-Einstein equation, relating the molecular diffusion to the media viscosity. It is widely known that this hydrodynamic model fails when the system is supercooled below a critical temperature that is close to the glass transition temperature. At temperatures lower than this critical temperature, the diffusion in the supercooled liquids is higher faster than that predicted by the Stokes-Einstein relationship. The decoupling between diffusion and viscosity in glycerol aqueous solutions is the main subject study of this Thesis work.

An analysis of the abundant literature reported for this mixture allowed us to detect two important problems. The first one was the evident irreproducibility in the glass transition temperature ( $T_g$ ) as a function of the binary mixture composition. The second one was the lack of information on the mixture viscosity in the supercooled region of interest in cryopreservation.



In this Thesis work the glass transition temperatures of glycerol aqueous solution were determined over a wide range of compositions, allowing to reduce dramatically the uncertainty of this parameter. On the other hand, a falling ball viscometer was built, which allowed us to have experimental access to supercooled regions no explored before.

As a consequence of this extension of the experimental viscosity data it was possible to analyze the performance of different equations describing the dependence of the viscosity of mixed systems with temperature and composition. It was concluded that the Avramov-Milchev model is the most adequate to fit experimental data all over the studied supercooled and the stable regions, and also for extrapolating the results down to the deep supercooled region, close to the glass transition.

The study of the solute diffusion coefficients in the glycerol aqueous solutions was performed using ferrocene methanol as a neutral but electrochemically active probe, allowing the use of the chrono-amperometric technique with microelectrodes for determining the diffusion coefficient on a wide range of reduced temperatures ( $T/T_g$ ). It was concluded that the diffusion of ferrocene methanol in the water-glycerol mixture decouples from the mixture viscosity at  $T/T_g < 1.5$ . In contrast to that suggested in a previous work that analyzed the self-diffusion of glycerol in this mixture, the temperature where the diffusion-viscosity decoupling takes places is not a function of the mixture composition, as it was observed in aqueous solutions of other polyols.

Keywords: SUPERCOOLED LIQUIDS; GLASS TRANSITION; DIFFUSION; VISCOSITY; CRYOPRESERVATION

**PUBLICACIONES**

[1] *The viscosity of glycerol-water mixtures including the supercooled region.*

J. A. Trejo, M. P. Longinotti, H. R. Corti. *J. Chem. Eng. Data* 56 (2011) 1397-1406.

[2] *Viscosity of supercooled aqueous glycerol solutions, validity of the Stokes-Einstein relationship, and implications for cryopreservation.*

J. A. Trejo González, M. P. Longinotti, H. R. Corti. *Cryobiology* 65 (2012) 159-162.

[3] *Concentration and temperature dependence of the viscosity of polyol aqueous solutions.*

M. P. Longinotti, J. A. Trejo González, H. R. Corti. *Cryobiology* 69 (2014) 84-90.

[4] *Diffusion-viscosity decoupling in supercooled glycerol aqueous solutions.*

J. A. Trejo González, M. P. Longinotti, H. R. Corti. *J. Phys. Chem. B* 119 (2014) 257–262.



## AGRADECIMIENTOS

No fue fácil llegar aquí y siempre tuve en cuenta de que no lo hice solo, lo hice con el apoyo, la guía y la confianza de muchas grandes personas. Por eso quisiera dejar en breves líneas un simple y gran agradecimiento a ellos.

Gracias a la Universidad de Buenos Aires por otorgarme la beca, sin la cual nunca podría haber realizado este trabajo.

A Carolina Schebor, Fernando Molina y Laureano Alarcón por aceptar ser jurados de tesis.

A Horacio por la infinita paciencia (aún en momentos caóticos) y sabia guía en el trabajo experimental y crecimiento profesional.

A Ernesto Marceca por ser mi consejero de estudios.

A Paula, Julián y Melisa, amigos y compañeros “de equipo”, siempre dispuestos a darme una mano, compartir una charla o unos mates, haciendo de todos los días, un mejor día.

A los compañeros de CNEA, que siempre me abrieron su laboratorio como uno más, Esteban, Liliana, Graciela, Yohann, Federico, Fogo, Mariano

A la buena gente del DQIAQF que alegraron mi estadía y me dieron una mano, Matías Villalba, Eliseo, Alberto, Alejandra, Claudia, Adriana, Daniel Laria, Virginia Diz.

Al grupo de Pilar Buera por su gran ayuda y enseñanza, ofreciéndome la oportunidad de trabajar libremente.

A Yani, Luci y Silvana, que siempre estaban con ese abrazo de oso y las charlas necesarias en los momentos justos

Gracias principalmente a mi familia que siempre creyó y apostó en lo que podía llegar a dar y lograr. A mi tío Manuel que me aguantó como un hijo más, a Pepe, mi abuelo por elección, mis padres Juan y Nilda, mis hermanos, Georgina y Oscar, y todos mis sobrinos.

Mi esposa Lorena, que me volvió a marcar el rumbo, con quien miramos para el mismo horizonte cumpliendo el sueño de formar nuestra familia.

A mis abuelos, Yaya y Tata, y mi hijo Miguel Ángel, a quienes dedico este trabajo.



# ÍNDICE GENERAL DE TEMAS

1. INTRODUCCIÓN .....	13
1.1. Criopreservación y soluciones acuosas sobreenfriadas .....	13
1.2. Crioprotectores y vitrificantes.....	18
1.3. Características de la transición vítrea .....	20
1.3.1. Transición vítrea en agua pura y sus estados poliamórficos .....	23
1.3.2. Transición vítrea en glicerol puro .....	25
1.4. Diagrama de fases glicerol-agua .....	27
1.4.1. Transición vítrea en mezclas agua-glicerol .....	28
1.5. ¿Cómo se mueven las moléculas en un sistema sobreenfriado? .....	30
1.6. Objetivos del trabajo .....	32
1.7. Referencias.....	34
2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS.....	37
2.1. Viscosidad.....	38
2.1.1. Agua pura .....	39
2.1.2. Glicerol puro.....	40
2.1.3. Mezclas agua glicerol.....	41
2.2. Modelos de viscosidad en soluciones sobreenfriadas .....	43
2.2.1. Modelo de Avramov-Milchev .....	47
2.3. Transición vítrea: modelo de Gordon-Taylor .....	49
2.3.1. Transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol .....	51
2.4. Movilidad de solutos en líquidos sobreenfriados.....	53
2.4.1. Ecuación de Stokes-Einstein y el desacople difusión-viscosidad.....	53
2.5. Referencias.....	58
3. MÉTODOS EXPERIMENTALES .....	61
3.1. Condiciones de trabajo .....	61

3.2. Medición de viscosidades de soluciones sobreenfriadas: método de caída de esfera ( <i>falling ball</i> ).....	61
3.2.1. Fundamentos teóricos del método de caída de esfera .....	64
3.2.2. Diseño de la celda <i>falling ball</i> .....	67
3.2.3. Procedimiento experimental .....	69
3.3. Medición de coeficientes de difusión en soluciones acuosas de glicerol sobreenfriadas .....	70
3.3.1. Principios del método .....	71
3.3.2. Microelectrodos cilíndricos y celda electroquímica .....	73
3.3.3. Procedimiento experimental .....	77
3.4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC) .....	84
3.4.1. Calibración del equipo.....	86
3.4.2. Preparación de muestras .....	87
3.4.3. Procedimiento experimental .....	89
3.5. Referencias.....	90
4. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	93
4.1. Viscosidad de las soluciones acuosas de glicerol .....	93
4.1.1 La viscosidad de los componentes puros.....	93
4.1.1.1 La viscosidad de agua .....	94
4.1.1.2 La viscosidad del glicerol.....	95
4.1.2. Viscosidad de las soluciones agua-glicerol .....	99
4.1.3. Parámetros de la ecuación de Avramov-Milchev .....	105
4.1.4 Comparación con otros modelos.....	108
4.2. Movilidad de ferrocenometanol en soluciones agua-glicerol.....	112
4.2.1. Coeficientes de difusión de ferrocenometanol.....	112
4.2.2. Desacople difusión-viscosidad: efecto de la composición .....	115
4.2.3 Comparación con resultados previos.....	117
4.3 Soluciones acuosas de glicerol confinadas .....	124
4.3.1 Transición vítrea .....	124
4.4. Referencias.....	127
5. CONCLUSIONES Y PROYECCIONES .....	129
5.1. Viscosidad de soluciones acuosas de glicerol: medidas y modelos .....	129
5.2. Desacople difusión-viscosidad en sistemas sobreenfriados.....	130

5.3. Transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol.....	131
5.4. Proyecciones .....	132
5.5. Referencias.....	133





## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1.1:** Arriba: Tardígrados en estado activo (izquierda) y de criptobiosis (derecha) [1]; Abajo: *Rana sylvatica* en estado activo (izquierda) y de criptobiosis (derecha) [2]

**Figura 1.2:** Fragilidad de sistemas formadores de vidrio (■) Silica,  $m=25$ ; (★) Vidrio de sodio (soda-lime silica glass),  $m=35$ ; (▲) Glicerol,  $m=48$ ; (●) Salol,  $m=66$ . La línea continua indica la tendencia a bajos valores de  $T_g/T$ . [15]

**Figura 1.3:** Polioles (no azúcares) utilizados en criopreservación

**Figura 1.4:** Fases metaestables del agua pura en función de la temperatura y la presión [37]

**Figura 1.5:** Calor específico del glicerol puro en función de la temperatura

**Figura 1.6:** Diagrama de fases suplementado del sistema binario glicerol-agua. [47]

**Figura 2.1:** Diagrama de fase suplementado del sistema glicerol-agua. Los puntos grises indican la región del diagrama de fases en donde existen datos de viscosidad reportados en bibliografía [10-14,16-21,24,26-29]

**Figura 2.2:** Termograma DSC de glicerol puro. Velocidad de barrido  $10 \text{ K min}^{-1}$

**Figura 2.3:** Transición vítrea de mezclas glicerol-agua en función de la concentración de glicerol. Referencias: (●) Luyet *et al.* [50]; (●) Yannas [6]; (●) Rasmussen *et al.* [7]; (●) Bohon *et al.* [51]; (○) Harran [52]; (●) Ablett *et al.* [53]; (●) Hey *et al.* [54]; (●) Jabrane *et al.* [55]; (●) Murthy [56]

**Figura 3.1:** Tipos de viscosímetros capilares

**Figura 3.2:** Viscosímetro Bohlin V88 (imagen izquierda). Viscosímetro con configuración *cup and bob* (imagen central). Viscosímetro con configuración *cone and plate o parallel plates* (imagen derecha).

**Figura 3.3:** Viscosímetro *falling ball* Thermo Scientific HAAKE

**Figura 3.4:** Fuerzas involucradas en una esfera cayendo en un fluido.

**Figura 3.5:** Celda de viscosidad de caída de esfera. Vista de frente.

**Figura 3.6:** Diferentes procesos que ocurren en la oxido-reducción de una especie sobre un electrodo.

**Figura 3.7:** Esquema de construcción de microelectrodo cilíndrico de Pt

**Figura 3.8:** Análisis de la imagen de un electrodo de tres alambres para determinar la longitud real mediante software de análisis de imágenes.

**Figura 3.9:** Oxidación reversible del ferrocenometanol a ferricenometanol

**Figura 3.10:** Corriente en función del tiempo (■) para un salto de potencial en la zona de control difusional sobre un microcilindro de Pt en una solución acuosa de  $K_4Fe(CN)_6$  0,2 mM/  $KNO_3$  0,13 M, (□) corriente de oxidación predicha por las ecuaciones 3.11 y 3.16

**Figura 3.11:** Voltametría cíclica de FcMeOH 1mM /  $KNO_3$  0,13M en solución acuosa de glicerol  $w_2 = 0,7$  (negro);  $w_2 = 0,9$  (rojo). En la ampliación de los voltagramas puede observarse al corrimiento de la zona de control difusional a 350 mV para la solución  $w_2 = 0,7$  y 250 mV para la solución  $w_2 = 0,9$ .

**Figura 3.12:** Respuesta de corriente vs. tiempo para salto de potencial en solución acuosa de  $K_4Fe(CN)_6$  0,2 mM /  $KNO_3$  0,13 M; (●) ajustada con las ecuaciones 3.9 y 3.14 y ajustes con  $+2\sigma'$  (Δ) y  $-2\sigma'$  (∇).

**Figura 3.13:** Equipo DSC Mettler Toledo modelo 822 de flujo de calor.

**Figura 3.14:** Esquema de la línea de vacío para preparar las soluciones acuosas de glicerol confinadas en matrices de carbón mesoporoso.

**Figura 4.1:** Viscosidad de agua pura en función de la temperatura. Datos experimentales: (Δ) [5]; (□) [6]; (x) [8]; (○) [9]; (—) valores recomendados por IAPWS entre 253,15K y 383,15 K ajustados por Patek *et al.* [10]. Ajustes: (⋯) valores extrapolados por debajo de 239,15 K; (—) ajuste con la ecuación 2.13; reajustes (---) de la ecuación 2.3 y (—) de la ecuación 2.13, incluyendo datos experimentales en la región sobreenfriada, entre 239,15 K y 383,15 K.

**Figura 4.2:** Gráfico de la derivada de Stickel para el glicerol utilizando todas las fuentes de datos [11-15], excepto los de Schöter y Donth [16]; (—) ajuste reportado en [16]. El recuadro muestra una ampliación de la región de cruce.

**Figura 4.3:** Viscosidad experimental de glicerol puro en una función de la temperatura (x) [13]; (●) [16], (x) [18]; (●) [14]; (Δ) [17]; (○) [11]; (—), ajuste ecuación 2.6; (••), ajuste ecuación 2.4 [3]; (----), ajuste ecuación 2.15.

**Figura 4.4:** Grafico tipo Arrhenius de la viscosidad vs. temperatura reducida inversa  $T_g/T$ , para las mezclas de glicerol-agua y glicerol puro. Fracción en masa de glicerol  $w_2$ : (●) 1,0 [13, 14, 16]; (●) 0,9 [17]; (○) 0,8 [17]; (Δ) 0,7 [17]; (∇) 0,6 [17]; (□) 0,5 [17]; (◇) 0,4 [17].

**Figura 4.5:** Viscosidad de soluciones acuosas de glicerol en función de la temperatura. Los símbolos llenos corresponden a los datos publicados y los símbolos huecos a las viscosidad medidas en este trabajo para  $w_2$ : (●) 1,00; (∇) 0,90; (■) 0,80; (▲) 0,70. Las

líneas corresponden a los ajustes de la ecuación de Avramov-Milchev a partir de datos publicados (línea punteada), e incluyendo los nuevos datos (línea continua).

**Figura 4.6:** Viscosidad de mezclas de agua-glicerol en función de la temperatura para  $w_2$ : (●) 1,0 [13, 14, 16]; (★) 0,9 [17]; (○) 0,8 [17]; (△) 0,7 [17]; (◇) 0,6 [17]; (□) 0,5 [17]; (▽) 0,4 [17]; (—), ajuste con la ecuación 4.4 (WLF), con parámetros dados en [3]; (---), ajuste con la ecuación 2.15.

**Figura 4.7:** Valores de  $\eta^0$  y  $\alpha$ , en función de la fracción en masa de glicerol ( $w_2$ ). Los símbolos llenos son los parámetros de ajuste con los datos reportados y los símbolos vacíos, los parámetros de ajuste con los resultados de viscosidad obtenidos en este trabajo, incluyendo la región sobreenfriada.

**Figura 4.8:** Viscosidades de soluciones acuosas de glicerol en función de la composición calculada con la ecuación de Avramov-Milchev (línea discontinua) con los parámetros reportados en este trabajo, y predicciones con la ecuación WLF (línea continua) con los parámetros propuestos por He *et al.* [3]. Las temperaturas se indican en las curvas correspondientes.

**Figura 4.9:** Producto de Stokes- Einstein para la difusión de agua en glicerol (símbolos vacíos) y soluciones acuosas de trehalosa (símbolos llenos), calculada con el modelo de volumen libre, ecuación 2.13. Fracción en masa del poliol  $w_2$ : (○) 1,00; (△) 0,80; (□) 0,60; (▽) 0,70; (◇) 0,20.

**Figura 4.10:** Corriente en función del tiempo para la oxidación de FcMeOH 2,96 mM en un microelectrodo cilíndrico de Pt en una solución acuosa de glicerol ( $w_2 = 0,7$ ),  $\text{KNO}_3$  0,13 M y 243,15 K. La línea continua representa el ajuste usando las ecuaciones 3.11 y 3.16 con  $D = 2,2 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . En la gráfica inserta se observa la respuesta en los primeros 100 s de medida.

**Figura 4.11:** Grafico de Arrhenius para las mezclas de glicerol-agua. Fracción en masa de glicerol  $w_2$ : (★) 0,9; (●) 0,8; (▽) 0,7; (◆) 0,6; (▲) 0,4; (■) 0,2.

**Figura 4.12:** Relación de Stokes-Einstein para la difusión de FcMeOH en soluciones acuosas de glicerol en función de la inversa de la temperatura reducida,  $T_g/T$ . Concentración de glicerol,  $w_2$ : (◆) 0,90; (■) 0,80; (○) 0,70; (△) 0,60; (▼) 0,40(●); 0,20. Las líneas rectas son solo una guía visual y no una recta de ajuste.

**Figura 4.13:** Producto de Stokes-Einstein para la difusión de glicerol en soluciones acuosas de glicerol en función de la temperatura reducida inversa. Datos de Chen *et al.* [32] para  $w_2$ : (■) 1.00; (■) 0.95; (■) 0.90; (■) 0.85. Datos de Chang y Sillescu [34] para  $w_2$ : (▲) 1.00 y para la difusión de FcMeOH en glicerol (○)

**Figura 4.14:** Relación Debye-Stokes-Einstein (DSE) de la sonda TEMPO en función de la temperatura reducida inversa en mezclas agua-glicerol con fracciones en masa de glicerol,  $w_2$ : (★) 0,965; (▼) 0,919; (◆) 0,831; (▲) 0,770; (■) 0,654; (●) 0,454.

**Figura 4.15:** Izquierda: ferrocenometanol (FcMeOH): derecha: 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidina-1-oxi (TEMPO).

**Figura 4.16:** Comparaciones de  $T_g$  en función de la fracción en masa,  $w_2$ : (■) soluciones sin confinar; (●) soluciones confinadas.



**ÍNDICE DE TABLAS**

**Tabla 2.1:** Parámetros para el cálculo de viscosidad del agua con la ecuación 2.3.

**Tabla 3.1:** Longitud y radio de los electrodos microcilindros de Pt construidos

**Tabla 4.1:** Parámetros extendidos  $a_i$  y  $b_i$  para la ecuación 2.3 de Pátek *et al.* [10].

**Tabla 4.2:** Parámetros de ajuste de Avramov-Milchev (ecuación 2.15) y la temperatura de transición vítrea de mezclas de agua-glicerol, obtenidas con la ecuación de Gordon-Taylor (ecuación 2.20).

**Tabla 4.3:** Viscosidades de las mezclas agua-glicerol experimentales y calculadas con la ecuación 2.15 en función de  $w_2$  entre 238,15 K y K. 273,15.

**Tabla 4.4:** Viscosidad de soluciones acuosas de glicerol ( $w_2$  entre 0,7 y 1,0) en la región sobreenfriada obtenidos con el método de *falling ball*.

**Tabla 4.5:** Parámetros de ajuste de Avramov-Milchev (ecuación 2.15) para mezclas de agua-glicerol con  $w_2$  entre 0,7 y 1,0. Parámetros de ajuste con datos de bibliografía e incluyendo los datos obtenidos en este trabajo.

**Tabla 4.6:** Coeficientes de difusión de FcMeOH en soluciones acuosas de glicerol y viscosidades a diferentes concentraciones y temperaturas.

**Tabla 4.7:** Temperatura de transición vítrea para glicerol puro y sus soluciones acuosas determinadas por la ecuación 2.20 y la ecuación 4.5 propuesta por Chen *et al.* [32]



**Tabla 4.8:** Temperatura de transición vítrea de *onset* para mezclas agua-glicerol *bulk* y *midpoint* para mezclas agua-glicerol *bulk* y confinadas.

## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1. Criopreservación y soluciones acuosas sobreenfriadas

Es ampliamente conocido que la gran mayoría de los seres vivos están compuestos de un 70% de agua aproximadamente. Sin embargo, a pesar de este gran contenido acuoso, muchos seres vivos, simples y complejos, son capaces de subsistir en condiciones de anhidrobiosis o incluso en condiciones de temperaturas extremadamente frías (proceso denominado criptobiosis o animación suspendida) donde el agua se encontraría congelada, pensando con una lógica cotidiana.



**Figura 1.1:** Arriba: Tardígrados en estado activo (izquierda) y de criptobiosis (derecha) [1]; Abajo: *Rana sylvatica* en estado activo (izquierda) y de criptobiosis (derecha) [2]

En dichas condiciones, estos organismos presentan un estado de latencia metabólica en el cual se detienen prácticamente todos los procesos celulares recuperando su actividad normal al encontrar nuevamente las condiciones favorables de humedad o temperatura. Algunos de estos sistemas, como semillas, plantas, esporas fúngicas y bacterianas, nematodos, protozoos, larvas, tardígrados [3] (Figura 1.1) y también organismos animales como algunas ranas del género *Rana sylvatica* [4], incorporan grandes cantidades de glucosa antes de la temporada invernal (Figura 1.2). Emulando este comportamiento el hombre logró conservar óvulos y espermatozoides humanos y animales [5], eritrocitos, blastocitos [6], biomoléculas como enzimas, proteínas anticuerpos [7,8,9] y una serie de diferentes tejidos en condiciones de bajas temperaturas sin que sufran daños apreciables. Este proceso se denomina criopreservación.

La criopreservación consiste básicamente en conservar o preservar a bajas temperaturas en un sistema protector. Una característica fundamental que debe tener un sistema crioprotector es no ser tóxico, o presentar una baja toxicidad para el sistema a conservar, pues de lo contrario se entraría en un compromiso protección-toxicidad. Actualmente existen gran variedad de estos sistemas crioprotectores, pero la mayoría tienen algo en común: son soluciones acuosas sobreenfriadas o vitrificadas. La diferencia entre un sistema u otro reside en el crioprotector adicionado y el intervalo de temperatura en el cual se desea trabajar.

En los últimos años las soluciones acuosas sobreenfriadas tomaron un primordial interés tanto por razones académicas como tecnológicas. En el ámbito académico, estos sistemas han llamado la atención por los diferentes comportamientos observados cuando son enfriadas hasta su temperatura de transición vítrea, dependiendo de la naturaleza y la concentración del soluto empleado. En el campo de la práctica tecnológica, las soluciones acuosas a temperaturas cercanas y por debajo de la temperatura de transición vítrea se utilizan comúnmente desde hace varios años como medios de protección para biomoléculas, alimentos y productos farmacéuticos [10].

Actualmente el proceso de conservación en frío es algo muy común, pero, tanto a nivel hogareño o industrial, es imposible eliminar el factor de destrucción mecánica al cual se someten los sistemas conservados en condiciones de temperaturas por debajo de 273 K. Para evitar esto, actualmente se desarrollan procedimientos para llevar los sistemas acuosos a su estado vítreo, que no dañan las estructuras celulares, y se trata que la temperatura a la que ocurre este fenómeno, sea cercana o superior a la ambiente [11]. Esto tiene una gran implicancia en las tecnologías de almacenamiento y transporte cuando los sistemas de enfriamiento son costosos o insuficientes. Esto no es un camino sencillo de recorrer ya que para evitar la formación de la fase sólida cristalina estable se debe recurrir a la aplicación de altas presiones o a la incorporación de sustancias o agentes vitrificantes o crioprotectores, los cuales no siempre son inocuos para los sistemas a proteger.

A temperatura constante y para un soluto en particular, el coeficiente de difusión del mismo depende de la viscosidad del medio en el que se encuentra, por lo tanto, en condiciones de control difusional de la velocidad de reacción, la viscosidad controla la velocidad de las reacciones de deterioro. Es por ello que la dependencia de la viscosidad con la composición y temperatura debe ser bien conocido para entender su efecto sobre los sistemas a criopreservar.

Tanto la viscosidad como otros parámetros dinámicos de los sistemas líquidos presentan un comportamiento tipo Arrhenius: la viscosidad varía exponencialmente con la inversa de la temperatura absoluta (ecuación 1.1)

$$\eta = \eta_0 \exp\left(\frac{E_a}{RT}\right) \quad (1.1)$$

Sin embargo, esta relación no es válida en las soluciones sobreenfriadas de azúcares y otros polioles, en donde los cambios de viscosidad con la temperatura superan los previstos por la ecuación de Arrhenius. Es decir que, en estos sistemas, basta con un pequeño cambio de temperatura para que la viscosidad pase de valores característicos de los líquidos a valores extremos propios de los sólidos. La temperatura

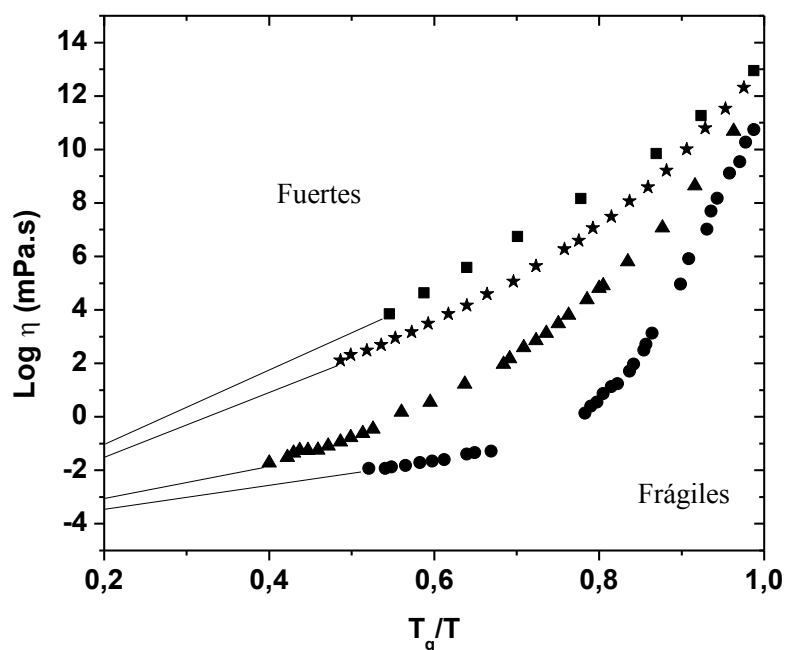
a la que ocurre este gran cambio en las viscosidades, se denomina temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ).

El comportamiento viscosidad-temperatura ( $\eta-T$ ), próximo a la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), difiere notablemente entre los diferentes líquidos formadores de vidrio. En este contexto, Angell [12] diferencia a los líquidos formadores de vidrio como fuertes o frágiles, de acuerdo a su dependencia  $\eta-T$  en el régimen sobreenfriado, por encima de la  $T_g$ . Los líquidos fuertes muestran una dependencia  $\eta-T$  que se puede describir según la ecuación de Arrhenius (ecuación 1.1), mientras que los líquidos frágiles muestran una dependencia  $\eta-T$  que se desvía notablemente de la ecuación 1.1 (comportamiento super-Arrhenius). La magnitud de esta desviación se puede cuantificar por el índice de fragilidad,  $m$ , dado por:

$$m = \left[ \frac{d(\log(\eta))}{d\left(\frac{T_g}{T}\right)} \right]_{T=T_g} \quad (1.2)$$

donde  $m$  aumenta con la fragilidad del sistema. La magnitud del parámetro de fragilidad tiene una gran influencia en la tasa de reacciones de deterioro [13, 14].

Por ejemplo, por encima de la transición vítrea ( $T > T_g$ ), los líquidos fuertes alcanzan, para una dada temperatura inversa reducida ( $T_g/T$ ), valores de viscosidades más elevadas que los sistemas frágiles, ya que en el último caso la viscosidad cambia órdenes de magnitud muy cerca de  $T_g$ , como se observa en la Figura 1.2, donde se compara el comportamiento de sistemas fuertes, como la sílica, y frágiles, como el glicerol. Se puede apreciar que los líquidos fuertes tienen, a la misma temperatura inversa reducida, mayor viscosidad que los frágiles y por lo tanto funcionarían mejor que estos como crioprotectores. Sin embargo, desafortunadamente, los líquidos fuertes tienen en general altas  $T_g$  y el agua y los polioles son líquidos frágiles, donde la viscosidad crece a valores razonables para la criopreservación solo cuando se encuentran cerca de  $T_g$ . En compensación, estos líquidos frágiles presentan valores de  $T_g$  no demasiado elevados.



**Figura 1.2:** Fragilidad de sistemas formadores de vidrio (■) Silica,  $m=25$ ; (★) Vidrio de sodio (*soda-lime silica glass*),  $m=35$ ; (▲) Glicerol,  $m=48$ ; (●) Salol,  $m=66$ . La línea continua indica la tendencia a bajos valores de  $T_g/T$ . [15]

Los mecanismos que hacen que algunos compuestos sean particularmente eficaces para la crioprotección todavía siguen sin estar claros entre la comunidad científica. Green y Angell [16] han considerado que las capacidades de protección de un criopreservante están determinadas por la magnitud de la temperatura de transición vítrea de sus soluciones acuosas. Por el contrario, Branca *et al.* [13] propusieron que la fragilidad de las soluciones acuosas es la magnitud fundamental que determina la capacidad protectora.

Este panorama muestra que es de extrema importancia proporcionar mayor información en relación al efecto de polioles sobre el comportamiento crioprotector de estos sistemas. Además, a partir de un punto de vista práctico, es fundamental para estimar la vida útil de biomoléculas en los medios de protección. Por lo tanto, para este propósito, y teniendo en cuenta que la dinámica de las reacciones de deterioro puede estar controlada por la difusión de los reactivos [17], en este grupo se ha analizado la

dependencia de los coeficientes de difusión de diferentes moléculas en medios de protección en función de la composición y la temperatura [18,19]. Los resultados muestran que los coeficientes de difusión son proporcionales a  $\eta^{-1}$  (ecuación de Stokes-Einstein, SE), donde  $\eta$  es la viscosidad, o a  $\eta^{-\delta}$  con  $\delta < 1$  (ecuación fraccionaria Stokes-Einstein, FSE), dependiendo de la temperatura inversa reducida y la relación de tamaño soluto/solvente [18,19]. En consecuencia, con el fin de estimar la movilidad de los diferentes tipos de solutos en los medios crioprotectores, es fundamental encontrar ecuaciones de correlación precisas para describir la dependencia con la concentración y la temperatura de la viscosidad del sistema crioprotector acuoso en la región líquida estable y sobreenfriada, especialmente cerca de la temperatura de transición vítrea.

## 1.2. Crioprotectores y vitrificantes

El uso de agentes vitrificantes es la práctica más común en criopreservación, ya que insume menores costos que las tecnologías que utilizan altas presiones. Estos vitrificantes suelen tener toxicidades variadas dependiendo de la naturaleza del agente como también de la concentración. Entre estos sistemas agua-vitrificante, las mezclas de agua-polioles han recibido una especial consideración debido a la baja toxicidad de los polioles a altas concentraciones y su facilidad para la remoción o reabsorción, lo que los convierte en excelentes crioprotectores.

Los agentes vitrificantes utilizados en sistemas crioprotectores se clasifican en dos categorías de acuerdo a su tamaño molecular y su capacidad de ingreso a la célula:

Intracelulares: Son crioprotectores de bajo peso molecular y en general pueden ingresar al interior de la célula, entre ellos están: glicerol, etilenglicol, propilenglicol y dimetilsulfóxido (DMSO) [20].

Extracelulares Estos crioprotectores son moléculas de alto peso molecular (mayores a  $240 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$ ) y en general no pueden penetrar al interior de la célula. Entre ellos se encuentran: sacarosa, trehalosa, polivinil pirrolidona (PVP), suero fetal bovino (SFB), yema de huevo (YH) y albúmina sérica bovina (BSA), [20]

Los crioprotectores intracelulares o permeables, pueden formar puentes hidrógeno con las moléculas de agua lo cual impide que se formen las estructuras cristalinas de hielo. En altas concentraciones inhiben la formación de cristales de hielo y generan la formación de sólido amorfo o la vitrificación del medio. Otro efecto de los crioprotectores permeables es que protegen a la célula de los efectos de solubilidad al mantener los electrolitos en disolución evitando la precipitación de los mismos [21].

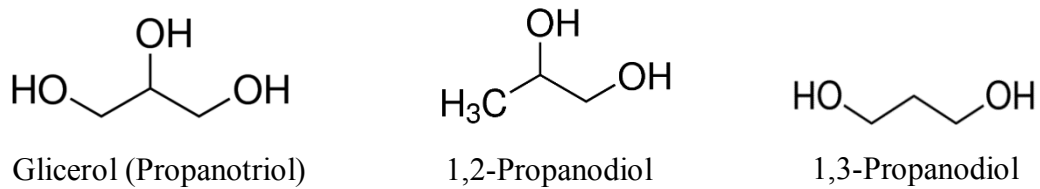
Los crioprotectores extracelulares o no permeables se mantienen fuera de la célula, aumentando la concentración extracelular de solutos y por tanto aumentando la presión osmótica extracelular en relación con la intracelular. Este desnivel osmótico induce la salida de agua intracelular al exterior, la alta concentración de solutos extracelulares se diluye hasta que el agua extracelular se congela. La célula se deshidrata parcialmente, disminuye su volumen y el riesgo de formación de cristales de hielo intracelulares se reduce [21]. Entre estos crioprotectores se encuentran la sacarosa y la trehalosa, que además juegan un papel importante en el proceso de desvitrificación, ya que impiden el excesivo movimiento del agua y la expansión y ruptura de la célula [11]

Los polioles aumentan la viscosidad de las soluciones acuosas y disminuyen la velocidad de nucleación homogénea, lo que permite que se llegue a la vitrificación a temperaturas más altas o a velocidades de enfriamiento menores comparadas con el agua pura. Además, el aumento de la viscosidad del sistema influye directamente en la movilidad molecular, ralentizando las mismas. Existen muchos estudios indicando las ventajas del uso de polioles como agentes crioprotectores. En este sentido se estudiaron algunos azúcares como trehalosa, sacarosa, lactosa, rafinosa y otros polioles como glicerol, 1,2 propanodiol y 1,3 propanodiol, (Figura 1.3) siendo trehalosa, sacarosa y glicerol los más utilizados.

La ventaja que representan los polioles como el glicerol frente a otros agentes, es que permite la llamada “transferencia directa”, por ejemplo, la transferencia de un embrión sin tener que remover el glicerol utilizado en el sistema crioprotector.



Simplemente el embrión es descongelado y depositado en el útero, con una tasa de viabilidad del 58% [22].



**Figura 1.3:** Polioles (no azúcares) utilizados en criopreservación

Según Storey *et al.* [23], el poder crioprotector del glicerol con respecto a los propanodiolos se basa en la relación C/OH que es 1 en el caso del glicerol y 1,5 para ambos propanodiolos. Esto indica que cuanto menor es este valor, mayor será su capacidad crioprotectora debido a que el aumento de hidrofiliidad del poliol interfiere en la formación de estructuras de hielo intracelular al mismo tiempo que protege las membranas lipídicas. Una hipótesis diferente fue propuesta por Crowe *et al.* [24], quienes sugieren que la eficacia de la protección los medios de crioprotectores está determinada por las interacciones específicas entre la biomolécula y el agente estabilizante.

### 1.3. Características de la transición vítrea

La contribución más significativa a la comprensión de las propiedades fisicoquímicas de los vidrios, y en especial a la interpretación de la transición vítrea, se encuentra en un trabajo realizado por Walter Kauzmann [25], en el cuál el concepto de “entropía configuracional” se introdujo para dar cuenta de la termodinámica y cinética de amorfización del hielo y el comportamiento de los vidrios en relación con el estado líquido y el cristal perfecto.

Los estudios de Luyet [26] en soluciones acuosas congeladas demostraron el papel fundamental que desempeña la vitrificación en la criobiología. Luyet y Rasmussen desarrollaron la técnica de criomicroscopía que les permitió estudiar el proceso de congelación, concentración por congelación y vitrificación en condiciones controladas [27]. Un aspecto importante de estos trabajos consistió en la determinación de la temperatura de transición vítrea de varias soluciones acuosas concentradas y congeladas, es decir soluciones de solutos que no exhibían separaciones de fases, sino que formaban soluciones sobresaturadas. Sin embargo, varios años después de intensos estudios, aún quedan muchos misterios sobre los aspectos estructurales y dinámicos de los vidrios y, sobre todo, de la naturaleza de la transición vítrea [28].

Estudiar el estado vítreo es fundamental para comprender los procesos de estabilización-protección de las biomoléculas en un determinado sistema protector en particular. En este estado, la movilidad molecular es muy reducida debido a la alta viscosidad que presentan los sistemas acuosos vitrificados.

Si se enfría un líquido por debajo de su temperatura de fusión ( $T_f$ ) en condiciones de alta pureza y sin superficies que favorezcan la nucleación, por ejemplo en capilares, puede obtenerse un líquido metaestable o sobreenfriado, que cristalizará al alcanzar la temperatura de nucleación homogénea. Pero si la velocidad de enfriamiento es suficientemente alta, se puede llegar a un estado de sólido amorfo o estado vítreo. Tammann [29] propuso que no cualquier líquido sobreenfriado es capaz de formar un vidrio, mostrando de manera empírica que, para ser susceptible de formar un vidrio, un líquido sobreenfriado debe alcanzar una viscosidad muy alta, cercana a  $10^{12}$  Pa.s, la viscosidad de un vidrio amorfo. La capacidad de un líquido de formar un vidrio depende de la competencia entre la velocidad de nucleación (crecimiento de la fase sólida estable) y la velocidad de enfriamiento del líquido. Si la velocidad de enfriamiento es suficientemente mayor que la velocidad de nucleación, se llegará a obtener un sólido vítreo o amorfo, y dicho cambio estará determinado por una temperatura que se denomina temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ).

Bajo ciertas condiciones los procesos de nucleación pueden ser lentos, y es posible entonces generar fases metaestables, las cuales pueden ser consideradas como estables en una escala de tiempo apropiado. La velocidad de nucleación dependerá tanto de las diferencias de energía entre el estado sólido cristalino y líquido y de la movilidad de las moléculas en el líquido, lo cual dependerá a su vez de la viscosidad del sistema. Si el proceso de enfriamiento del líquido se lleva a cabo con ciertos recaudos, a una determinada temperatura propia de cada sistema, el líquido puede generar de manera espontánea los primeros cristales de la fase sólida (estable) denominándose este proceso nucleación homogénea, y dicha temperatura la temperatura de nucleación homogénea ( $T_h$ ). La presencia de superficies rugosas o impurezas en contacto con el líquido pueden generar centros de nucleación, lo que provocaría la formación de la fase sólida estable a temperaturas superiores a  $T_h$ , siendo este proceso la nucleación heterogénea. Para lograr llegar a la temperatura de transición vítrea sin que se produzcan núcleos de crecimiento, la velocidad de enfriamiento debe ser muy rápida para evitar la formación de la fase sólida estable.

Si bien el comportamiento de la viscosidad en la transición líquido-vidrio dada por Tamman [29] es ampliamente aceptado, también existen otras características asociadas a este fenómeno como la disminución brusca de la capacidad calorífica ( $C_p$ ), desde valores típicos del líquido a valores característicos del cristal. La disminución brusca en  $C_p$  durante el enfriamiento, o el correspondiente aumento al recalentar, se han tomado como un rasgo esencial fenomenológico del vidrio. De hecho, la temperatura  $T_g$  se define como la temperatura a la cual se produce un cambio abrupto en  $\Delta C_p$  al calentar el vidrio a  $10 \text{ K min}^{-1}$  mediante análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) o análisis térmico diferencial (DTA). A temperaturas mayores a  $T_g$  las moléculas del líquido difunden esencialmente debido a colisiones entre ellas sin que la estructura del líquido se vea afectada. A medida que disminuye la temperatura, el volumen ocupado por las moléculas disminuye (volumen libre) y el número de colisiones entre moléculas vecinas aumenta, es decir que el tiempo de difusión aumenta. A este tiempo se le llama tiempo de relajación estructural (o relajación  $\alpha$ ) y cuando la temperatura alcanza el

valor de  $T_g$ , a las moléculas les cuesta mucho más trabajo difundir para provocar un cambio estructural, entonces ocurre la vitrificación.

Por lo tanto, la temperatura  $T_g$  se considera como la temperatura a la cual el tiempo de relajación estructural ( $\tau$ ) es de aproximadamente 100 segundos. En realidad, esta no es la definición de  $T_g$  sino de la formación de un vidrio: un sistema es vítreo cuando el tiempo de relajación estructural es 100 segundos y eso determina que la viscosidad alcanza valores de  $10^{12}$  Pa.s, dado que existe una relación entre  $\tau$  y  $\eta$  mediante la siguiente relación:

$$\eta = G_\infty \tau \quad (1.3)$$

Donde  $G_\infty$  es el módulo de corte a altas frecuencias y  $\tau$  el tiempo de relajación promedio del sistema a medida que responde al esfuerzo aplicado. La dependencia de  $\tau$  con la temperatura viene dada por la siguiente ecuación VTF, con  $\tau = 100$  s (cuando  $T=T_g$ ):

$$\tau = \tau_0 \cdot \exp \left[ \frac{A}{T - T_0} \right] \quad (1.4)$$

### 1.3.1. Transición vítrea en agua pura y sus estados poliamórficos

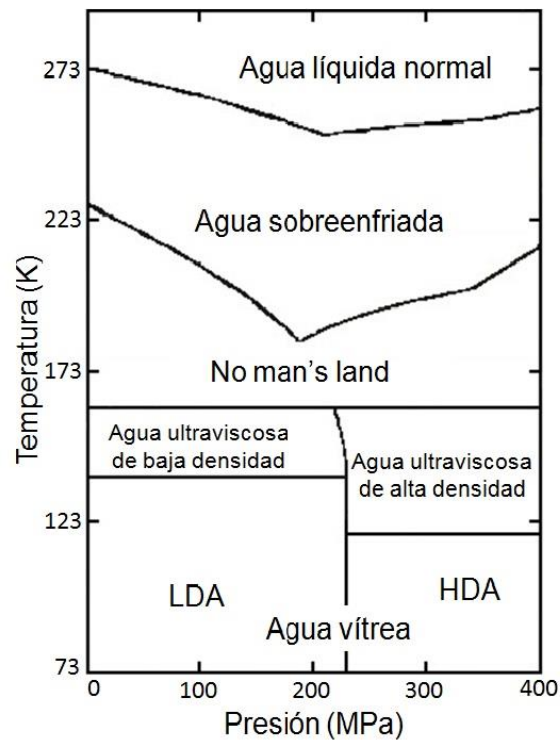
La idea de que el agua líquida pura también pueda llegar a un estado vítreo atrajo primero la atención de muchos investigadores después que una forma amorfa de hielo fue obtenida por la deposición de vapor de agua sobre una placa de metal frío [30]. Las propiedades de esta agua sólida amorfa (ASW, por sus siglas en inglés), especialmente en relación con el agua líquida, fueron revisadas y discutidas en detalle por Sceats *et al.* [31].

Sin embargo, los problemas surgieron en los intentos de determinar el comportamiento del agua profundamente sobreenfriada, aproximándose a la supuesta

transición vítrea. La temperatura de nucleación homogénea ( $T_h$ ) del agua sobreenfriada se encuentra en 233 K, y el crecimiento de los cristales de hielo es extremadamente rápido. Brüggeller y Mayer [32] reportaron datos de agua amorfa obtenidos por *hyperquenching*, un método en donde gotas micrométricas de agua se aceleran en una cámara de alto vacío y se hacen impactar sobre una placa refrigerada con helio líquido, que ha sido ya considerablemente refinado por muchos investigadores [33]. Otra forma de agua amorfa fue descrita por Mishima *et al.* [34], durante la compresión de hielo Ih (hielo hexagonal) hasta 10 kbar a 77 K. También se forma por la compresión de hielo Ih por debajo de 150 K [34]. El ASW y el agua amorfa obtenida por *hyperquenching* dan lugar a un estado de baja densidad (LDA: *low density amorphous*), mientras que la compresión de hielo produce una variedad de alta densidad (HDA: *high density amorphous*). Es interesante notar que la variedad HDA es la forma más abundante de agua en el universo, ya que se encuentra presente las partículas de polvo interestelar y es parte importante de los cometas [35,36].

La naturaleza del problema se ilustra en la Figura 1.4, donde se puede observar las distintas fases metaestables del agua a las que se puede acceder experimentalmente [37]. Entre ellas hay una región denominada "tierra de nadie" ("*no man's land*"), la cual es imposible de acceder experimentalmente pues la cristalización es inevitable. Las propiedades del agua en esa región solo se conocen a través de estudios de Dinámica Molecular (MD) o confinando el agua en nanoporos, que retarda la cristalización [38-41]

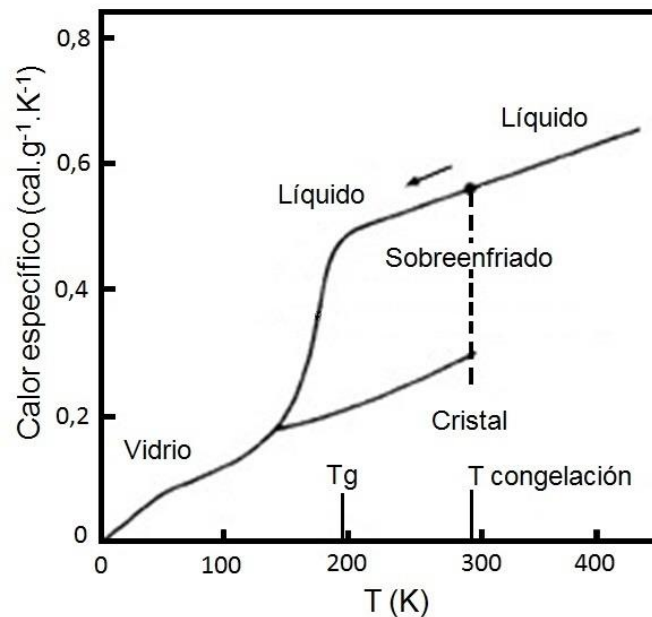
Al igual que otros sistemas formadores de vidrio, se podría esperar que las dos, o posiblemente otras fases de agua amorfa distinguibles, puedan estar asociadas con sus correspondientes transiciones vítreas. Se han reportado diferentes valores de  $T_g$  para LDA y HDA, valores aparentemente dependientes de la técnica experimental empleada y de la historia térmica de la muestra (si son envejecidas o según el tiempo y velocidad de enfriamiento). Actualmente el valor propuesto de  $T_g$  obtenido por medidas calorimétricas es de  $136 \text{ K} \pm 1 \text{ K}$ , el cual es aceptado universalmente [42,43].



**Figura 1.4:** Fases metaestables del agua pura en función de la temperatura y la presión [37]

### 1.3.2. Transición vítrea en glicerol puro

Simon y Lange [44] midieron la variación de la capacidad calorífica ( $\Delta C_p$ ) para el glicerol puro hasta 10 K y obtuvieron una curva que se muestra en la Figura 1.5. Desde entonces este comportamiento se considera como el modelo de un líquido sobreenfriado y su estado vítreo correspondiente. La curva inferior representa el calor específico del glicerol cristalizado, mientras que la curva superior representa el líquido estable y el líquido sobreenfriado en el intervalo de análisis entre las temperaturas de congelación ( $T_{\text{congelación}}$ ) y la de transición vítrea,  $T_g$ . Lo sorprendente es que debajo de  $T_g \sim 195$  K, el comportamiento del calor específico para el vidrio y el sólido cristalino son muy similares.



**Figura 1.5:** Calor específico del glicerol puro en función de la temperatura [44]

La curva en la zona líquida exhibe una disminución del valor de  $C_p$  correspondiente a la temperatura de transición vítrea, pero aparentemente, a medida que la temperatura disminuye, los valores de  $C_p$  para el vidrio son mayores que los del cristal. Este comportamiento, a priori extraño, condujo a Kauzmann [25] a enunciar una paradoja que hoy lleva su nombre y es que los valores de  $C_p$  del estado vítreo no pueden ser mayores que los valores para la fase termodinámicamente más estable correspondiente, es decir la fase cristalina. En efecto, si para cualquier temperatura,  $C_{p(\text{vidrio})} > C_{p(\text{cristal})}$ , como  $C_p \rightarrow 0$ , cuando  $T \rightarrow 0$ , resulta que la entropía del vidrio tiende a cero en ese límite y entonces la entropía del cristal debería ser negativa para que se cumpla el teorema de Nernst, algo que es físicamente imposible. La razón práctica por la cual esto no ocurre es que el vidrio es un estado metaestable que precisa de tiempos muy prolongados para alcanzar su fase estable cristalina. Estos tiempos pueden llegar a ser del orden de siglos [45] o incluso superiores [46].

Otra característica importante que se puede observar en la curva en la Figura 1.5 es que  $T_g$  no es una temperatura que pueda relacionarse de manera unívoca con alguna

propiedad termodinámica característica del líquido. En efecto, su valor depende del proceso seguido para enfriar al líquido y del tiempo que esto demande, es decir su historia térmica, pudiendo variar en magnitud dentro de un intervalo apreciable de valores.

#### 1.4. Diagrama de fases glicerol-agua

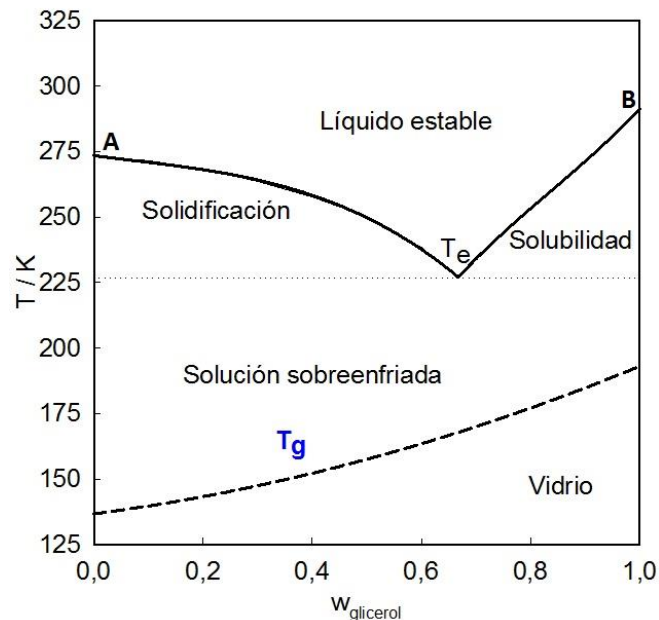
Es de gran importancia conocer cómo se comportan las soluciones en función de la composición y de la temperatura. Para ello se puede confeccionar un diagrama de fase donde se representen todas las curvas o regiones de equilibrios sólido-líquido y sólido-sólido como así también las regiones donde el sistema se encuentra en un estado metaestable, de no equilibrio, como líquido sobreenfriado y una región donde el sistema se encuentra en estado amorfo o vítreo. Estas dos últimas regiones estarán separadas por una curva de transición, en otras palabras, la curva de transición vítrea. Este tipo de diagramas se denominan diagramas de fase suplementados o diagramas de estado, ya que presentan las fases estables como las metaestables.

Uno de los requisitos previos para comprender la dinámica de las soluciones acuosas de glicerol como sistemas crioprotectores, es conocer las diferentes regiones estables y metaestables donde pueden existir estas mezclas en función de la temperatura y de la composición. En la Figura 1.6 podemos observar el diagrama de fases de la mezcla binaria glicerol-agua [47] en donde se encuentra la curva de solidificación del agua en la solución (curva A- $T_e$ ), el punto eutéctico ( $T_e$ ) de la solución, que se encuentra en  $w_2 = 0,667$  y  $T_e = 226$  K, la curva de solubilidad del glicerol (curva  $T_e$ -B) y la curva de la transición vítrea del sistema (entre 136 K y 195 K).

Por encima de la curva A- $T_e$ -B el sistema se encuentra en su fase líquida y estable sin llegar a la saturación. Por debajo de la curva A- $T_e$  el sistema puede encontrarse en un estado sobreenfriado o puede tender a la formación de cristales de hielo, quedando remanentes de solución que se enriquecerán en glicerol hasta llegar a la concentración



del punto eutéctico. En este punto, el sistema congelaría con una composición constante de glicerol,  $w_2 = 0,667$  al bajar la temperatura.



**Figura 1.6:** Diagrama de fases suplementado del sistema binario glicerol-agua [47]

Luego, por debajo de la curva  $T_e$ -B, debería cristalizar el glicerol puro, aunque no se observa esto en la práctica. Esto se debe a que la cinética de cristalización del glicerol es muy lenta comparada con la velocidad de enfriamiento, incluso a velocidades de enfriamiento relativamente bajas.

#### 1.4.1. Transición vítrea en mezclas agua-glicerol

Claramente obtener agua es estado vítreo implica un gran esfuerzo experimental, ya sea trabajando a muy altas presiones o con velocidades de enfriamiento extremadamente altas. Sin embargo, el glicerol es un líquido que puede sobreenfriarse sin demasiado inconveniente ya que presenta una cinética de cristalización muy diferente a la del agua, por lo que llegar al estado vítreo no implica un gran esfuerzo.

Debido a estas propiedades tan características de cada componente, es posible obtener mezclas agua-glicerol en diferentes proporciones y lograr un abanico de propiedades.

Las soluciones acuosas de glicerol son sistemas binarios muy estudiados debido a su capacidad para inhibir la formación de cristales de hielo, una característica generalmente ligada a los patrones de puente hidrógeno formado sobre todo en las soluciones de alta concentración de glicerol, donde la mayoría de las moléculas de agua están presentes como monómeros aislados y no como una estructura hexagonal. Además, presentan una gran capacidad de sobreenfriamiento y de poder formar estructuras vítreas.

La posibilidad de acceder a los estados sobreenfriados y vítreos de estas soluciones, las convierten en sistemas muy útiles para el estudio de los estados metaestables y sus posibles aplicaciones. Numerosos investigadores estudiaron los estados vítreos de las soluciones acuosas de glicerol por diferentes métodos: DSC, DTA, Rayos X, etc. [26,27,48] siendo la zona rica en glicerol (por sobre el 50% de fracción en masa) la más estudiada. Estos estudios sirvieron para comprender mejor los estados sobreenfriados y aproximarse un poco más a la compresión del agua en estado vítreo.

Hoy en día las mezclas glicerol-agua tienen un sinnúmero de usos industriales y científicos debido a las propiedades obtenidas añadiendo glicerol en productos que contienen agua. Presenta variados usos como espesante de bebidas y jarabes, antiespumante, o humectante en sistemas de bajo contenido acuoso. Las soluciones acuosas de glicerol también presentan un gran impacto en la investigación de la criopreservación ya que el glicerol actúa como un crioprotector biológico [49] debido a que las biomoléculas mantienen su estructura en soluciones acuosas de glicerol [50]. Estas características de las mezclas glicerol-agua son de vital importancia a la hora de su utilización como criopreservantes ya que los sistemas a proteger no sufrirán la ruptura de su estructura por formación de cristales de hielo, ni tampoco verán afectada su funcionalidad. Es decir que solo modificando la proporción glicerol-agua es posible

obtener sistemas vítreos de alcance práctico y de gran interés científico, entre la  $T_g$  del glicerol ( $\approx 195$  K) y la del agua ( $\approx 136$  K).

Estas características convierten a las soluciones acuosas de glicerol en un muy buen sistema crioprotector, por lo que es utilizado desde hace varias décadas para la criopreservación artificial de células, tejidos y otras muestras biológicas como enzimas, vacunas, plásmidos como así también alimentos y fármacos [51,52]

## **1.5. ¿Cómo se mueven las moléculas en un sistema sobre-enfriado?**

Los sistemas sobreenfriados y vitrificados pueden ser excelentes sistemas de protección, transporte y almacenamiento de biomoléculas, pero en estos sistemas ocurren procesos dinámicos y las moléculas se mueven y participan de reacciones de deterioro, como por ejemplo reacciones de óxido-reducción, desnaturalización proteica, inactivación enzimáticas o cambios configuracionales. Sin embargo, cualquiera sea el proceso, la gran mayoría de las veces, la reacción de deterioro está bajo un control difusional.

Es de sumo interés para la ciencia de los alimentos, las ciencias médicas y la industria farmacéutica el análisis de las velocidades de estos procesos degradativos en los sistemas crioprotectores, lo cual dependerá de varios factores como la temperatura, la viscosidad, la concentración de el o los agentes crioprotectores, la naturaleza del agente crioprotector e incluso el volumen del sistema [53].

Dentro de la ciencia y la tecnología de los alimentos, el estudio de los alimentos congelados es de gran importancia. Levine y Slade [16, 54] estudiaron las reacciones de deterioro en alimentos congelados y sugirieron que cuando el sistema se encuentra cerca de su transición vítrea las reacciones que ocurren en las fases concentradas de soluciones congeladas están controladas por la difusión de los solutos, siendo estos

procesos dependientes de la temperatura del sistema y la temperatura de transición vítrea de la fase residual concentrada. En estas condiciones de control difusional, la velocidad de la reacción dependerá del encuentro de dos moléculas reactantes las cuales difundirán a través de la matriz sobreenfriada y de encontrarse podrán reaccionar para formar productos o separarse nuevamente. Cada paso elemental estará determinado por una constante de velocidad y una energía de activación característica.

Ahora bien, los sistemas se ralentizan a medida que nos aproximamos a  $T_g$  y esto se debe en gran medida al gran aumento de viscosidad de los sistemas. Los sistemas que pueden alcanzar su fase metaestable y vítrea, muestran un importante cambio en su dinámica molecular cuando la temperatura alcanza un valor crítico cercano a  $1,2 T_g$ . Por encima de esta temperatura crítica ( $T_c$ ) se produce un único proceso de relajación, mientras que a temperaturas más bajas que esta es posible observar dos tipos de relajaciones. Esta transición puede predecirse mediante el análisis de las variaciones de densidad en sistemas sobreenfriados utilizando la teoría de acoplamiento de modos (MCT por sus siglas en inglés). Si las moléculas a difundir son comparables con las moléculas del solvente y la temperatura del sistema se encuentre por debajo de  $T_c$  las ecuaciones hidrodinámicas clásicas utilizadas para explicar los fenómenos asociados a la difusión en función de la viscosidad en los líquidos normales por encima de  $T_c$ , dejan de ser válidas y se produce un desacople entre la difusión del soluto y su relación con la viscosidad del sistema.

Diferentes autores caracterizan esta temperatura con diferentes nombres de acuerdo al método empleado para obtenerla (temperatura de *crossover*, temperatura de *onset*, etc.) y otros la denominan simplemente temperatura crítica,  $T_c$  [55]. Más allá de las diferencias en los nombres asignados, estos autores observan que independientemente del método utilizado, los valores de  $T_c$  determinados son similares para un mismo sistema, existiendo una relación entre todos los valores encontrados.

Sin embargo, en muchos procesos de deterioro se encontró que la viscosidad del solvente no es un determinante de la velocidad de reacción, pudiendo esta alcanzar iguales velocidades en diferentes solventes con diferentes viscosidades [56]. Algunos

autores [57, 78] observaron este fenómeno en los procesos de desnaturalización proteica indicando que en estos casos la dinámica interna de la molécula proteica debe estar desacoplada de la dinámica del solvente. Esto surge de la suposición de que a temperaturas por encima de  $T_g$ , el proceso de relajación estructural del solvente dependiente de la viscosidad (relajaciones  $\alpha$ ) es quién determina la dinámica conformacional de la proteínas. Las relajaciones  $\alpha$  se manifiestan por procesos cooperativos de reordenamiento de las moléculas en el solvente tales como rotaciones o traslaciones dentro del sistema. Además de las relajaciones lentas los sistemas formadores de vidrio, presentan otros fenómenos de relajación característicos más rápidos que la relajación  $\alpha$ , conocidas como relajaciones  $\beta$ . Estas relajaciones rápidas pueden extenderse más allá de  $T_g$  y están relacionadas con movimientos intermoleculares (no movimientos intramoleculares, sino de moléculas enteras) en zonas locales de menor densidad que la densidad global del sistema, lo que Johari y Goldstein [59] denominaron “islas de movilidad”.

Un análisis de los procesos de relajación en los solventes utilizados para sistemas criopreservantes arrojaría valiosa información acerca de la efectividad de los sistemas protectores elegidos y de la velocidad de deterioro de las moléculas inmersas en estos. En parte este análisis ya fue realizado por M. P. Longinotti en una tesis anterior del grupo de trabajo [60].

### **1.6. Objetivos del trabajo**

A lo largo de este capítulo se hizo hincapié en el gran interés de las soluciones acuosas de glicerol como sistema crioprotector, ya sea por su economía, la facilidad de formar sistemas vítreos, su baja toxicidad, su facilidad de remoción, etc.

Estudiar las propiedades dinámicas de las soluciones acuosas de glicerol sobreenfriadas, como se comporta la movilidad de los solutos que difunden y cómo

cambian las propiedades dinámicas del sistema, es de gran importancia para predecir estabildades y tiempos de preservación.

Con el fin de analizar las movildades moleculares, es necesario conocer como varia la viscosidad de las soluciones sobreenfriadas de glicerol-agua. Teniendo en cuenta la escasez de información en la región sobreenfriada del diagrama de fases, es de gran importancia obtener datos experimentales en dicha región y encontrar un modelo de viscosidad que prediga el comportamiento de la misma en todo el rango de composición-temperatura. Para ello, se realizarán medidas de viscosidad de soluciones acuosas de glicerol en función de la composición y la temperatura con el fin de obtener datos confiables en esta región para ampliar la información del diagrama de fases y obtener un modelo de viscosidad en sistemas sobreenfriados de glicerol-agua que explique la dependencia con temperatura y composición.

Las propiedades de un sistema formador de vidrio cambian por debajo de la temperatura crítica y mucho más aún cuando estamos cerca de  $T_g$ . Por lo tanto, para conocer la variación de la transición vítrea en función de la composición, se realizarán mediciones de  $T_g$  de soluciones acuosas de glicerol mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC) y luego comparar estos resultados con el modelo de Gordon-Taylor para corroborar la predicción del mismo.

Por último, las biomoléculas inmersas en soluciones acuosas de glicerol, tendrán un tiempo de vida que dependerá, en parte, de las reacciones de deterioro que sufran ya sea por difusión de otras moléculas reactantes o por cambios configuracionales intramoleculares. Por lo tanto, comprender con mayor profundidad los procesos difusionales de las moléculas cuando la temperatura del sistema se aproxima a  $T_g$  es de gran importancia para predecir estos tiempos de vida de las biomoléculas. Para ello mediante técnicas electroquímicas, analizaremos los coeficientes de difusión de solutos modelos neutros, como el ferrocenometanol, en función de la temperatura y la composición del sistema. También estudiaremos la variación de la temperatura de desacople difusión-viscosidad en función de la composición de la mezcla glicerol-agua,

para confirmar la validez de los resultados obtenidos previamente por el grupo de trabajo, que están en contradicción con los reportados por Chen *et al.* [61]

El equipo de trabajo al que pertenezco, Grupo de vidrios, líquidos sobreenfriados y sistemas metaestables (GVLSM) del INQUIMAE, obtuvo resultados previos de movilidades moleculares en sistemas sobreenfriado de sacarosa-agua y trehalosa-agua, siendo este trabajo, el análisis de movilidades moleculares en sistemas glicerol agua, una continuación de la línea de estudio de los sistemas poliol-agua.

## 1.7. Referencias

- [1] <http://images.sciencesource.com/feature/infocus447>
- [2] <http://discovermagazine.com/2005/feb/biology-of-cryogenics>
- [3] Crowe J. H. *Am. Naturalist* 15 (1971) 563-573
- [4] Costanzo J. P., Lee R. E., Lortz P. H. *J. Exp. Biol.* 181 (1993) 245–255
- [5] Storey B. T., Noiles E. E., Thompson K. A. *Cryobiology* 37 (1998) 46-58
- [6] Mazur P., Rall W.F., Rigopoulos N. *Biophys. J.* 36 (1981) 653–675
- [7] Carpenter J. F., Martin B., Crowe L. M., Crowe J. H. *Cryobiology* 24 (1987) 455-464
- [8] Rumsey S. C., Galeano N. F., Arad Y., Deckelbaum R. J. *J. Lipid Res.* 33 (1992) 1551-1561
- [9] Draber P., Braverova E., Novakova M. *J. Immunol. Methods* 181 (1995) 37-43
- [10] Levine H., Slade L. *Water and food quality. Interpreting the behavior of low-moisture foods.* (1989) Hardman T. M. Editor, Elsevier Science, Londres.
- [11] Corti R. H. *Rev. Ciencia. Hoy* 15 (2006) 26-39
- [12] Angell C.A. *J. Phys. Chem. Solids* 49 (1988) 863–871
- [13] Branca C., Magazú S., Maisano G., Migliardo F., Migliardo P., Romeo G. *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 10140–10145
- [14] Magazú S., Migliardo F., Mondelli C., Vadalá M. *Carbohydr. Res.* 340 (2005) 2796–2801
- [15] Novikov V. N., Sokolov A. P. *Nature*, 21 (2004) 961-963
- [16] Green J. L., Angell C. A., *J. Phys. Chem.* 93 (1989) 2880–2882

- [17] Levine H., Slade L. *Cryo-Letters* 9 (1988) 21–63
- [18] Corti H. R., Frank G. A., Marconi M. C. *J. Phys. Chem. B* 112 (2008) 12899–12906
- [19] Longinotti M. P., Corti H. R. *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 1444–1450
- [20] Gordon, I. *Laboratory production of cattle embryos*. (1994) Cab International, Wallingford. Oxon, UK.
- [21] Marina S., Marina F., Torres P. J., Fosas N., Martin P., Alcolea R., Pérez N., Fernández S., Arrendó N., Jové I., Hochman M., Suñol J. *Rev. Iberoam. Fétil.* 19 (2002) 59-68
- [22] Colazo M. G., Mapletoft R. J. *Ciencia Veterinaria* 9 (2007) 20-37
- [23] Storey B. T., Noiles E. E., Thompson K. A. *Cryobiology* 37 (1998) 46–58
- [24] Crowe L. M., Reid D. S., Crowe J. H. *Biophys J.* 71 (1996) 2087–2093
- [25] Kauzmann W. *Chem. Rev.* 43 (1948) 219–255
- [26] Luyet B. J. *Ann.NY Acad. Sci.* 85 (1960) 549–569
- [27] Luyet B. J., Rasmussen D. H. *Cryobiology* 3 (1967) 383–390
- [28] Sokolov A. P. *Science* 273 (1996) 1675–1676
- [29] Tammann G. *The glassy state* (1933) Voss publisher, Leipzig
- [30] Burton E. F., Oliver W. F. *Proc. R. Soc. Part A* 153 (1936) 166–172
- [31] Sceats M. G., Rice S. A. *Water: a comprehensive treatise. Amorphous solid water and its relationship to liquid water* (1982) F. Franks Editor., 7, Plenum Press, New York
- [32] Brüggeller P., Mayer E. *Nature* 288 (1980) 569–571
- [33] Echlin P. *Low temperature microscopy and analysis* (1992) Plenum Press, New York
- [34] Mishima O., Calvert L., Whalley E. *Nature* 310 (1984) 393–395
- [35] Jennikens P., Blake D.F., Wilson M.A., Pohorille A. *Astrophys. J.* 455 (1995) 389–401
- [36] Ball P. *H<sub>2</sub>O una biografía del agua*. (2010) Fondo de Cultura Económica-Turner Editores
- [37] Mishima O., Stanley H.E. *Nature* 396 (1998) 329–335
- [38] Franks F. *Biophys. Chem.* 105 (2003) 251–261
- [39] Mallamace F., Broccio M., Corsaro C., Faraone A., Liu L., Mou C. Y., Chen S. H. *J. Phys.: Condens. Matter*, 18 (2006) S2285–S2297
- [40] Mallamace F., Broccio M., Corsaro C., Faraone A., Majolino D., Venuti V, Liu L., Mou C. Y., Chen S. H. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2 (2007) 424–428



- [41] Mallamace F., Branca C., Corsaro C., Leone N., Spooren J, Stanley H. E., Chen S. H. J. *Phys. Chem. B*, 114 (2010) 1870–1878
- [42] Sugisaki M., Suga H., Seki S. *J. Chem. Soc. Jpn.* 41 (1968) 2591–2599
- [43] MacFarlane D.R., Angell C.A. *J. Phys. Chem.* 88 (1984) 759–762
- [44] Simon F. E., Lange F. *Z. Phys.* 38 (1926) 227
- [45] Di Marzio E. *The nature of the glass transition and relaxation in complex systems* (1983) K.L. Ngai y G.B. Wright Editores
- [46] Zanutto E. D. *Am. J. Phys* 66 (1998) 392-395
- [47] Jabrane S., Létoffé J. M., Counioux J. J., Claudy P. *Thermochim. Acta* 290 (1996) 31-41
- [48] Vigier G., Vassoiller R. *Cryobiology* 24 (1987) 345-354
- [49] Douzou P. *Cryobiochemistry. An Introduction* (1977) Academic Press: London
- [50] Sousa R. *Acta Crystal. D51* (1995) 271-277
- [51] Fonseca F., Marin M., Morris G. J. *Appl. Env.Microbiol.* 72 (2006) 6474–6482
- [52] Kami D., Shi L., Sato T., Suzuki T., Oosawaet K. *Scientia Horticulturae*, 120 (2009) 84–88
- [53] Berejnov V., Hussein N. S., Alsaiedc O. A., Thorne R. E. *J. Appl. Cryst.* 39 (2006) 244–251
- [54] Levine H., Slade L. *Cryo- Letters* 10 (1989) 347–370
- [55] Beiner M., Huth H., Schröter K. *J. Non-Crystal. Solids* 279 (2001) 126-135
- [56] Lichtenegger H., Doster W., Kleinert T., Birk A., Sepiol B., Vogl G. *Biophys. J.* 76 (1999) 414-422
- [57] Sastry G. M., Agmon N. *Biochemistry* 36 (1997) 7097-7108
- [58] Caliskan G., Kisliuk A., Tsai A. M., Soles C. L., Sokolov A. P. *J. Non-Cryst. Solids* 307-310 (2002) 887-893
- [59] Johari G. P., Goldstein M. *J. Chem. Phys.* 53 (1970) 2372-2388
- [60] Longinotti, M. P. *Movilidad molecular en soluciones acuosas sobreenfriadas y vitrificadas de trehalosa y sacarosa.* (2007) Tesis doctoral, Universidad de Buenos Aires
- [61] Chen B., Sigmund E. E., Halperin W. P. *Phys. Rev. Lett.* 96 (2006) 145502.

## **2. *MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS***

Para poder llegar a concretar el objetivo general de este trabajo, estudiar las movilidades moleculares en sistemas acuosos de glicerol sobreenfriado, es necesario conocer en profundidad la relación de dichas movilidades con algunos parámetros físicos con los cuales tendrá una fuerte dependencia, como la viscosidad, la composición y la temperatura del sistema respecto de la temperatura de transición vítrea.

Particularmente interesante de analizar en este trabajo es la viscosidad y su dependencia con la temperatura reducida (relación entre la temperatura de transición vítrea y la temperatura del sistema,  $T_g/T$ ) y la composición del sistema. Para describir la viscosidad, es posible recurrir a variados modelos, pero no todos son igual de buenos o precisos para describir el comportamiento de este parámetro en amplios rangos de temperatura. Dependerá en gran medida del sistema a analizar.

La transición vítrea del sistema también es un factor determinante a la hora de analizar movilidades en sistemas formadores de vidrios ya que, en cercanías de esta temperatura, las propiedades presentan grandes cambios que no son predecibles con los modelos hidrodinámicos clásicos. Una solución en estado vítreo, es un sistema metaestable en donde las movilidades moleculares son extremadamente lentas debido a una muy alta viscosidad. Como el sistema es metaestable, habrá una dependencia temporal y una situación de compromiso entre el estado vítreo y la fase cristalina

## 2. *MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS*

---

estable. Entonces, conocer las condiciones del sistema vítreo (amorfo) es de gran importancia para la estabilización de biomoléculas con el menor daño posible.

El movimiento de las moléculas en los sistemas sobreenfriados y vítreos es limitado, pero no nulo. Cuando utilizamos un medio de criopreservación, los movimientos difusionales de las moléculas en estos sistemas determinarán, en parte, el tiempo de vida de las mismas al controlar las velocidades de las reacciones de deterioro. Para poder predecir este tiempo, es necesario conocer como difunden las moléculas cuando los sistemas de crioprotección se aproximan a la temperatura de transición vítreo. Para predecir coeficientes de difusión existen algunos modelos de difusión en líquidos normales, pero cerca de la temperatura de transición vítreo la dinámica del sistema es mucho más compleja y conocer cómo afecta a la difusión la cercanía al estado vítreo es un objetivo de este trabajo.

### **2.1. Viscosidad**

Reid, Prausnitz y Sherwood [1] examinaron la dependencia con la temperatura y la presión de la viscosidad de algunos líquidos puros haciendo hincapié en que, mientras que la viscosidad del agua a temperatura ambiente aumenta sólo un poco más del doble cuando se comprime desde la presión ambiente hasta 103 MPa, la viscosidad del glicerol aumenta más de dos órdenes de magnitud en el mismo intervalo de presiones. En cuanto a la dependencia con la temperatura, observaron que la ecuación de Andrade modificada [2], una correlación ampliamente utilizada para el efecto de la temperatura ( $T$ ) sobre la viscosidad ( $\eta$ ) de líquidos

$$\eta = A \exp\left(\frac{B}{T + C}\right) \quad (2.1)$$

donde A, B y C son constantes, falla a bajas temperaturas ya que algunos líquidos muestran un fuerte aumento de la viscosidad a temperaturas cercanas al punto de congelación. A raíz de esto se propusieron diferentes métodos de predicción empíricos

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

para calcular las viscosidades de los líquidos puros, dentro de un valor de confianza razonable, a temperaturas 20 K a 30 K por encima del punto de congelación [1].

Esta importante observación del comportamiento de la viscosidad es lo que más tarde Angell [3] describió como el comportamiento de los líquidos frágiles, es decir, líquidos que presentan un comportamiento super-Arrhenius (ver capítulo 1.1)

En realidad, la ecuación 2.1 tiene la forma de la Vogel-Fulcher-Tammann (VFT) [4], que describe con bastante razonabilidad la dependencia de la viscosidad con la temperatura en los líquidos frágiles.

$$\eta = \eta^0 \exp\left(\frac{DT_0}{D - T_0}\right) \quad (2.2)$$

donde  $\eta^0$ ,  $D$  y  $T_0$  son constantes. El parámetro  $D$  disminuye con la curvatura de la representación de Arrhenius y está inversamente relacionada con la fragilidad.

El glicerol es un típico sistema formador de vidrio con una temperatura de transición vítrea  $T_g \approx 193$  K y de fragilidad moderada [5]. Por otro lado, el agua cristaliza muy fácilmente por debajo de la temperatura de nucleación, a menos que el enfriamiento se realice a velocidades muy altas. Es por esto que las primeras determinaciones de la temperatura de transición vítrea de agua se obtuvieron por extrapolación de la temperatura de transición vítrea de las mezclas de agua-glicerol a concentración cero de poliol [6, 7].

### 2.1.1. Agua pura

La viscosidad del agua es bien conocida en la región estable y sobreenfriada. La Asociación Internacional para las Propiedades del Agua y el Vapor (IAPWS por sus siglas en inglés) recomienda una ecuación de correlación para la viscosidad del agua a partir de 253,15 K y la presión del punto triple (607,95 Pa), hasta 1173 K y 300 MPa, [8,9] incluyendo datos de viscosidad bajo cero a partir de diferentes fuentes [10-14].

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

Osipov *et al* [14] determinó la viscosidad del agua metaestable hasta 239,15 K, la temperatura más baja alcanzada en agua sobreenfriada, pero la incertidumbre de estos datos es un 3%, mayor que los reportados a temperaturas más altas. Por lo tanto, para el agua sobreenfriada metaestable la correlación propuesta por IAWPS está de acuerdo (a menos de 5%) con los datos disponibles hasta 253,15 K [8,9].

Patek *et al.* [15] propusieron una ecuación más sencilla, válida entre 253,15 K y 383,15 K a 0,1 MPa,

$$\eta(\mu Pa.s) = \sum_{i=1}^4 a_i T_r^{b_i} \quad (2.3)$$

donde  $T_r = T/300$  K, y con los parámetros de ajuste,  $a_i$  y  $b_i$ , que toman los valores resumidos en la Tabla 2.1. La ecuación 2.3 predice la viscosidad del agua sobreenfriada hasta 253,15 K dentro del 5%, mientras que la concordancia en toda la región estable es del 1%.

**Tabla 2.1:** Parámetros para el cálculo de viscosidad del agua con la ecuación 2.3

$i$	$a_i$	$b_i$
1	280,68	-1,9
2	511,45	-7,7
3	61,13	-19,6
4	0,4590	-40.0

### 2.1.2. Glicerol puro

Varios autores han estudiado la viscosidad del glicerol puro usando diferentes técnicas experimentales. Tammann y Hesse [16] fueron pioneros en el estudio de la viscosidad de los líquidos sobreenfriados como el glicerol, reportando medidas a partir de 268,95 K hasta 231,15 K. Mediciones más antiguas, a temperaturas entre 293,15 K y

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

303,15 K, fueron resumidas por Sheely [17], mientras que Parks y Gilkey [18] determinaron la viscosidad de glicerol sobreenfriado entre 221,15 K y 186,15 K, es decir, en el estado sobreenfriado y vítreo, utilizando una celda de *Coutte*. Sin embargo, la confiabilidad de los datos cercanos a la transición vítrea es incierta.

Picciorelli y Litovitz [19] determinaron la viscosidad del glicerol entre 267,15 K y 313,15 K usando un viscosímetro *Hoeppler*, y utilizando técnicas de ultrasonido hasta 231,15 K. Huck *et al.* [20] midieron la viscosidad del glicerol a temperaturas hasta 186,15 K usando un viscosímetro de penetración. Schöter y Donth [21] utilizaron un reómetro de placas paralelas para determinar la viscosidad de glicerol a partir de 213 K y hasta 323 K.

Klyachenko y Litvinov [22] realizaron mediciones de la viscosidad en glicerol entre 243,15 K y 323,15 K utilizando un viscosímetro capilar mientras que, en el mismo rango de temperatura, se midió por espectroscopía de correlación fotónica la viscosidad microscópica utilizando partículas de látex de 34 nm de diámetro. Se informó, en la región sobreenfriada, un aumento de la viscosidad microscópica en comparación con la macroscópica, que fue asignado a heterogeneidades estructurales en el fluido. Sin embargo, esta anomalía fue descartada por Dixon y Nagel [23] que repitieron los experimentos con esferas de poliestireno, con radios entre 10 nm y 102 nm, no encontrando diferencias entre las viscosidades microscópicas y macroscópicas de todo el rango de temperatura.

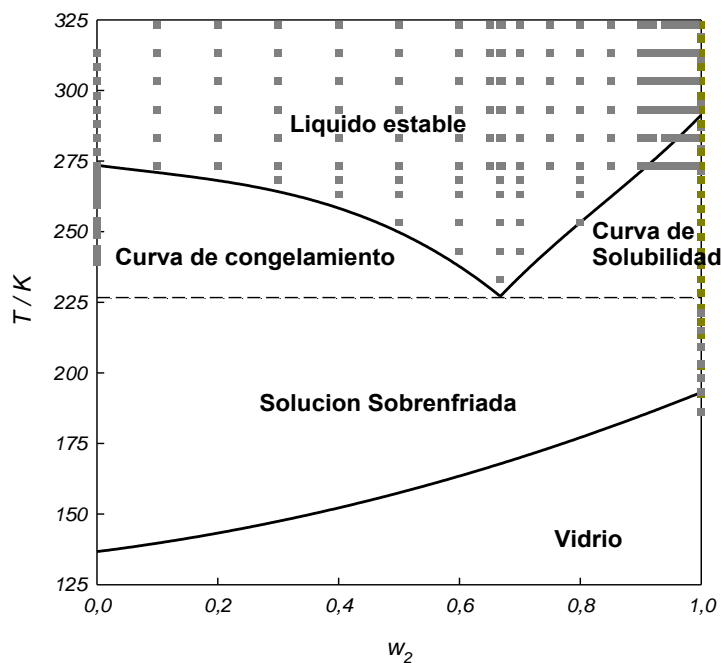
### 2.1.3. Mezclas agua glicerol

Segur y Oberstar [24] reportaron la viscosidad de soluciones acuosas de glicerol entre 273,15 K y 373,15 K en todo el intervalo de composiciones. El estudio fue realizado con viscosímetros *Cannon-Feske*, con el fin de corregir algunas inexactitudes que se encuentran en los datos anteriores y proporcionan una comparación más exhaustiva con resultados en rangos más estrechos de temperatura y composición.

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

De acuerdo con el diagrama de fase suplementado agua-glicerol (Figura 2.1) [25], los datos anteriormente mencionados sólo cubren una región muy pequeña en la región sobreenfriada, y solo para fracciones de masa de glicerol,  $w_2$ , superiores a 0,92.

Shankar y Kumar [26] midieron la viscosidad cinemática de mezclas agua-glicerol en todo el intervalo de composición a temperaturas entre 283,15 K y 323,15 K, usando viscosímetros tipo *Ubbelohde*. Más recientemente, Chenlo *et al.* [27] midieron la viscosidad cinemática de soluciones acuosas de glicerol y cloruro de sodio. Para las mezclas binarias de agua-glicerol, las medidas entre 293,15 K y 323,15 K abarcan la región rica en agua ( $w_2 < 0,32$ )



**Figura 2.1:** Diagrama de fase suplementado del sistema glicerol-agua. Los puntos grises indican la región del diagrama de fases en donde existen datos de viscosidad reportados en bibliografía [10-14,16-21,24,26-29]

Guzmán *et al.* [28] midieron la viscosidad de las mezclas de agua-glicerol a 308,15 K mostrando que la viscosidad puede ser determinada cuantitativamente por

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

interferometría de captura óptica. Estos resultados fueron presentados sólo en forma gráfica.

Las viscosidades de las soluciones de agua-glicerol por debajo de 273,15 K fueron reportadas por Dow [29], sin mencionar la forma en que los datos fueron obtenidos.

### 2.2. Modelos de viscosidad en soluciones sobreenfriadas

Es bien sabido que la dependencia de la viscosidad con la temperatura de líquidos orgánicos sobreenfriados simples no se puede describir en todo el ámbito de temperaturas con una sola ecuación, como VFT [30], o la equivalente Williams, Landel, Ferry (WLF) [31], que puede expresarse linealmente como:

$$\frac{(T - T_g)}{\ln\left(\frac{\eta}{\eta_g}\right)} = \frac{C_2}{C_1} - \frac{(T - T_g)}{C_1} \quad (2.4)$$

siendo  $\eta_g$  la viscosidad a la temperatura de transición vítrea y  $C_1$  y  $C_2$  constantes. Esto también ocurre en el caso de glicerol puro en el rango de temperatura de 193,15 K a 323,15 K, como se detalló previamente [21,32].

Stickel *et al.* [33] observaron que, derivando la ecuación VFT (ecuación 2.2), en función de la temperatura, se obtiene:

$$\left(-\frac{\partial \ln \eta}{\partial T}\right)^{-1/2} = \frac{T - T_0}{(DT_0)^{1/2}} \quad (2.5)$$

Esta ecuación se puede utilizar para determinar el cambio en la dependencia temperatura-viscosidad, es decir, la temperatura de cruce de esta relación. Por lo tanto, la ecuación VFT puede ser utilizada para describir la dependencia de la temperatura de la viscosidad en los regímenes sobreenfriados y líquidos estables utilizando diferentes



## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

coeficientes ( $\eta^0$ ,  $D$  y  $T^0$ ) por encima y por debajo de la temperatura de cruce dada por la ecuación 2.5.

El uso de dos ecuaciones VFT puede evitarse recurriendo a correlaciones empíricas viscosidad-temperatura que tienen más de tres parámetros ajustables, como la propuesta por Chen y Pearlstein [34] para la viscosidad de glicerol,

$$\eta = \eta^0 \exp\left(\frac{A}{T^3} + BT + \frac{C}{T}\right) \quad (2.6)$$

donde  $\eta^0 = 1,00758 \cdot 10^{-8}$  Pa.s;  $A = 2,21895 \cdot 10^8$  K<sup>3</sup>;  $B = 7,99323 \cdot 10^{-3}$  K<sup>-1</sup> y  $C = 880,469$  K. Esta ecuación ajusta la viscosidad entre 273,15 K y 373,15 K con un error promedio de 1,07 %, ligeramente mejor que la ecuación de cinco parámetros propuesta por Stengel *et al.* [35] para la viscosidad cinemática. El rango limitado de temperatura empleada en este análisis impide a los autores a encontrar un cambio de régimen; además del uso de múltiples parámetros de ajuste, es probable que esconda alguna anomalía.

La representación de la viscosidad de las mezclas de agua-glicerol es un reto debido a su dependencia de la composición. Aún cuando la naturaleza frágil del agua sobreenfriada es un asunto de controversia, [36,37], se acepta que las soluciones acuosas concentradas de glicerol se comportan como líquidos frágiles.

Shankar y Kumar [26] describen la dependencia con la temperatura y la composición de la viscosidad cinemática,  $\nu$ , de mezclas de agua-glicerol a través de la siguiente expresión,

$$\frac{\ln \nu - \ln \nu_1}{\ln \nu_2 - \ln \nu_1} = x_2[1 + x_1(a + bx_2 + cx_2^2)] \quad (2.7)$$

donde  $x_2$  es la fracción molar de glicerol,  $\nu_1$  y  $\nu_2$  son las viscosidades cinemáticas de agua y glicerol puros, respectivamente, a la misma temperatura de la mezcla, y los parámetros  $a$ ,  $b$ ,  $c$  son dependientes de la temperatura.

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

El valor predictivo de estos métodos es muy limitado porque los parámetros dependientes de temperatura y concentración se obtuvieron en un rango estrecho de temperaturas o composiciones.

Un problema similar fue analizado recientemente por Longinotti y Corti [38] en el estudio de la viscosidad de soluciones acuosas de sacarosa y trehalosa que, al igual que el glicerol, también son polioles utilizados para crioprotección. Ambas soluciones acuosas de disacáridos se pueden describir con precisión razonable utilizando una expresión en términos de la inversa de la temperatura reducida,  $T^* = T_g/T$ ,

$$\ln \eta = a + bT + cT^{*2} + dT^{*3} \quad (2.8)$$

donde  $a$ ,  $b$ ,  $c$ , y  $d$  son constantes. La física detrás de esta formulación es sencilla: la viscosidad de las mezclas a una temperatura dada depende sólo de la diferencia con la temperatura de transición vítrea, es decir, la dependencia de la composición está implícita en la variación de la  $T_g$  con la composición.

Existen otras ecuaciones empíricas utilizadas para describir la viscosidad de las soluciones acuosas de sacarosa y trehalosa, siendo el modelo más exitoso la ecuación Génottelle con cuatro parámetros de ajuste [39]

$$\ln \eta = a + bx_2 + \Phi(c + dx_2^n) \quad (2.9)$$

donde  $a$ ,  $b$ ,  $c$ ,  $d$ , y  $n$  son constantes y  $\Phi = (30-t)/(91+t)$  es una función de la temperatura  $t$  (en grados Celsius).

Un enfoque similar, pero combinando la temperatura y la dependencia de la composición en la correlación, fue propuesto por Chenlo *et al.* [27] para la viscosidad cinemática de soluciones acuosas diluidas de glicerol sobre un pequeño intervalo de temperatura, entre 293,15 K y 323,15 K

$$\frac{\nu}{\nu_1} = 1 + a m \exp\left(\frac{m^b}{cT_R^3 + d}\right) \quad (2.10)$$

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

donde  $m$  es la molalidad del glicerol,  $T_R = T / 273,15$  K,  $a$ ,  $b$ ,  $c$ , y  $d$  son parámetros de ajuste,  $\nu$  es la viscosidad cinemática de la mezcla glicerol-agua, y  $\nu_1$  la viscosidad del agua pura.

Cheng [40] ha desarrollado una correlación similar que incluye la dependencia de la temperatura y la concentración,

$$\nu = \nu_1^\alpha \nu_2^{(1-\alpha)} \quad (2.11)$$

donde  $\alpha$  es un parámetro que depende de la fracción de masa de glicerol,  $w_2$ , de la temperatura y las respectivas viscosidades cinemáticas de los componentes puros,  $\nu_1$  y  $\nu_2$

$$\alpha = 1 - w_2 + \frac{a(T) b(T)(1 - w_2)w_2}{aw_2 + b(1 - w_2)} \quad (2.12)$$

con  $a = 0,705 - 0,0017 T$ , y  $b = (4,9 + 0,036 T) a^{2,5}$ . Esta correlación se utilizó para ajustar los datos reportados por Segur y Oberstar [24], Shankar y Kumar, [26] y Chenlo *et al.* [27], arrojando errores promedios del 1,3%, 2,3% y 0,7%, respectivamente.

He *et al.* [41] calcularon la viscosidad de soluciones acuosas de glicerol, sacarosa, trehalosa, y fructosa, en todo el rango de composiciones y temperaturas hasta 140,15 K utilizando el ajuste WLF (ecuación 2.4). La viscosidad de las mezclas a la temperatura de transición vítrea se calculó suponiendo que dependía del volumen molar de las mismas, pero utilizaron valores de volúmenes molares correspondientes a 298 K para calcular viscosidades cercanas o por debajo de la temperatura de transición vítrea. Los valores de viscosidad calculados de agua alrededor de 140,15 K difieren en varios órdenes de magnitud para los cuatro sistemas estudiados.

Para estimar la viscosidad del agua pura estos autores emplean el modelo de volumen libre, [42, 43], que se puede expresar como:

$$\eta = \eta^0 \exp \left[ \frac{V^*}{A(B - T_g + T)} \right] \quad (2.13)$$

donde  $\eta^0 = 3,33 \cdot 10^{-5}$  Pa.s,  $A = 5,93 \cdot 10^{-4}$  cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup>.K<sup>-1</sup> y  $B = 30,12$  K, son parámetros del modelo, analizado entre 273,15 K y 333,15 K.  $V^* = 0,91$  cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup> es el volumen específico del agua líquida a 0 K y  $T_g = 136$  K.

### 2.2.1. Modelo de Avramov-Milchev

Avramov y Milchev [44, 45], desarrollaron un modelo que determina la dependencia con la temperatura de la frecuencia de salto promedio de las moléculas y, a través de esto, la dependencia de la viscosidad con la temperatura,

$$\eta = \eta^0 \exp \left( \frac{A}{T} \right)^\alpha \quad (2.14)$$

donde  $\eta^0$ ,  $A$  y  $\alpha$  son parámetros de ajuste. Esta correlación de tres parámetros fue modificada para incluir la temperatura de transición vítrea como un parámetro ajustable. Definiendo  $T_g$  como la temperatura para la cual la viscosidad es igual a  $\eta_g = 10^{12,5}$  Pa.s, se llega a la expresión:

$$\eta = \eta^0 \exp \left[ (\ln \eta_g - \ln \eta^0) \left( \frac{T_g}{T} \right)^\alpha \right] \quad (2.15)$$

donde la viscosidad se mide en Pa.s.

Avramov [45] ajustó la viscosidad del glicerol con la ecuación 2.15 utilizando  $\eta^0 = 6,31 \cdot 10^{-4}$  Pa.s,  $T_g = 177$  K y  $\alpha = 3,2$ . El parámetro  $\alpha$  es un parámetro del modelo llamado "índice de fragilidad", el cual se puede relacionar con la fragilidad definida por Angell (ecuación 1.3) por:

$$m = \alpha (\ln \eta_g - \ln \eta^0) \quad (2.16)$$

## 2. *MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS*

---

Si  $\alpha = 1$  significa que el líquido es fuerte, mientras que si  $\alpha$  toma valores más altos implica mayor fragilidad del sistema. Se pudo demostrar [46] que la ecuación 2.15 describe los datos de viscosidad de soluciones acuosas de glicerol muy precisamente, mientras que las ecuaciones 2.8 y 2.9 no ajustan adecuadamente los datos experimentales. Es importante notar que la ecuación 2.15 incluye un parámetro como la fragilidad, que caracteriza a los líquidos formadores de vidrio, mientras que en las ecuaciones 2.8 y 2.9 no se incluye ningún tipo de parámetro físico.

Este modelo se basa en la idea de que el desorden en medios amorfos conduce a alguna función de distribución de probabilidad de la energía de activación para los saltos elementales de las moléculas. La forma de esta distribución no se conoce aún. Por lo tanto los autores analizaron la distribución uniforme truncada de Poisson y la distribución truncada de Gauss con dispersión de la energía de activación (ancho de la distribución),  $\sigma$ . Encontraron que, independientemente del tipo de distribución, la entropía está relacionada con la dispersión por

$$S - S_0 = \frac{RZ}{2} \ln \left( \frac{\sigma}{\sigma_0} \right) \quad (2.17)$$

donde  $S_0$  es la entropía de un estado de referencia correspondiente a dispersión  $\sigma_0$ , y  $Z/2$  es el número de canales de escape disponibles para la molécula, es decir, el número de direcciones a lo largo de la cual una partícula puede moverse fuera de la celda, teniendo en cuenta que cada canal se puede utilizar en dos direcciones. Por lo tanto,  $Z$  se relaciona con la coordinación de la red.

En este modelo, la viscosidad es una función de  $\sigma$ , y por lo tanto de la entropía, donde el estado de referencia utilizado define el valor de  $T_g$ ,

$$\ln \left( \frac{\eta}{\eta_0} \right) = \ln \left( \frac{\eta_g}{\eta_0} \right) \exp \left[ - \frac{2(S - S_g)}{ZR} \right] \quad (2.18)$$

donde  $S_g$  es la entropía a  $T_g$ . De acuerdo con la ecuación 2.18, la viscosidad es una función exponencial doble en la entropía, pero este pequeño inconveniente se puede resolver teniendo en cuenta que la entropía es una función logarítmica de la

## 2. *MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS*

---

temperatura. Por lo tanto, la ecuación 2.18 se puede convertir en la ecuación 2.15, incorporando  $\alpha$  como “parámetro de fragilidad”, con la siguiente expresión:

$$\alpha = \frac{2C_p}{ZR} \quad (2.19)$$

donde  $C_p$  es la capacidad calorífica media entre  $T$  y  $T_g$ , y  $R$  es el constante de los gases. Como resultado,  $\alpha$  aumenta con la capacidad calorífica, que es proporcional al número de grados de libertad vibracionales, y disminuye con la coordinación de la red, proporcional a  $Z$ .

### 2.3. **Transición vítrea: modelo de Gordon-Taylor**

El modelo de Gordon-Taylor [47] se propuso originalmente para el cálculo de  $T_g$  de mezclas binarias de polímeros-plastificantes, y fue deducido a partir del modelo de volúmenes libres. Sin embargo, este modelo puede ser aplicado para el cálculo de  $T_g$  en otros sistemas, como alimentos (sólidos con agua o solutos en agua) [48].

La ecuación de Gordon-Taylor tiene la siguiente expresión:

$$T_g = \frac{w_2 T_{g2} + k_{GT} w_1 T_{g1}}{w_2 + k_{GT} w_1} \quad (2.20)$$

donde  $T_g$  es la temperatura de transición vítrea de la mezcla poliol-agua,  $w_1$  y  $w_2$  las fracciones en masa del agua y el poliol respectivamente, y  $T_{g1}$  y  $T_{g2}$  las temperaturas de transición vítrea del agua y del poliol respectivamente, y  $k_{GT}$ , la constante de Gordon-Taylor. La constante  $k_{GT}$  es un parámetro de ajuste que depende de las densidades de los componentes de la mezcla binaria y de las temperaturas de transición vítreas respectivas.

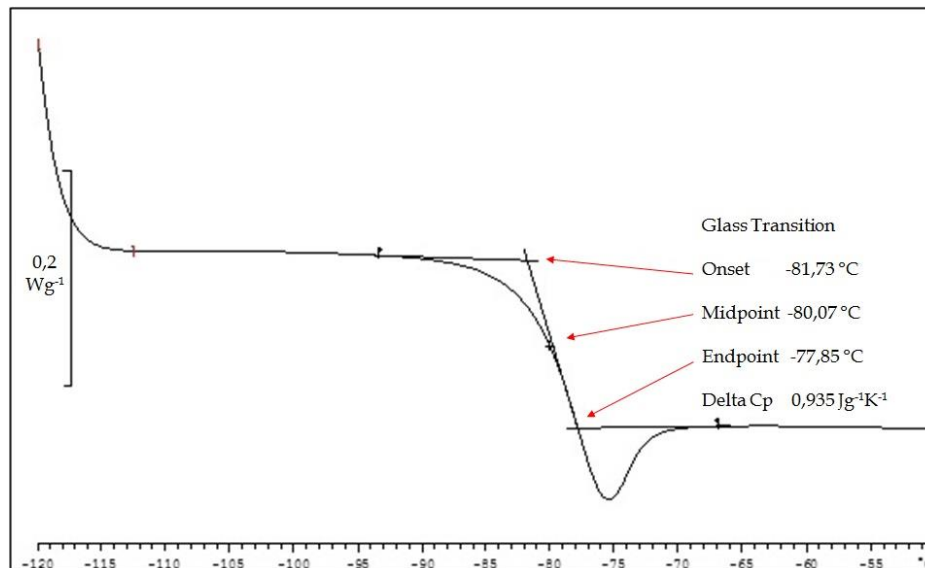
$$k_{GT} = \frac{\rho_1 T_{g1}}{\rho_2 T_{g2}} \quad (2.21)$$

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

Esta expresión de  $k_{GT}$  se desprende del análisis de otros autores [49], que la deducen a partir del modelo de volumen libre, y del cambio de expansividad térmica de los componentes al alcanzar la temperatura de transición vítrea.

Sin embargo, el valor de la constante  $k_{GT}$  obtenido por la ecuación 2.21. difiere del valor obtenido con la ecuación 2.20, utilizando los parámetros experimentales reportados en bibliografía. En mezclas binarias donde el soluto es de bajo peso molecular, como en este caso (glicerol-agua), la diferencia es aún mayor.

Todas las medidas de  $T_g$  reportadas en la bibliografía fueron obtenidas por DSC. La transición vítrea detectada por este método se basa en un cambio producido en la capacidad calorífica del sistema. Debido a que el fenómeno de transición vítrea tiene carácter cinético, el valor de  $T_g$  determinado por DSC dependerá de la velocidad a la cual fue enfriado el sistema para alcanzar el estado vítreo, como también de la velocidad de calentamiento (generalmente  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ ) a la cual se realiza el termograma. En la Figura 2.2 se muestra un termograma de glicerol puro en donde se puede observar el fenómeno de transición vítrea, el cual no ocurre a una temperatura única, sino que se da en un intervalo finito de temperaturas.



**Figura 2.2:** Termograma DSC de glicerol puro. Velocidad de barrido  $10 \text{ K min}^{-1}$

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

Debido a esto, la  $T_g$  del sistema puede definirse de diferentes formas, cada una con su valor característico.  $T_g^o$  (*onset*) es la resultante de la línea extrapolada en la zona vítrea y la bisectriz de la transición trazada por su punto medio a la cual se produce la mitad del incremento en el valor de  $C_p$ . La temperatura de este punto medio se denomina  $T_g^m$  (*midpoint*). Finalmente, la temperatura de cruce entre la línea extrapolada en la zona sobreenfriada del sistema y la bisectriz del punto medio se denomina  $T_g^e$  (*endpoint*). En la Figura 2.2 puede observarse un termograma obtenido en este trabajo, en el cual se indica donde se toman dichas temperaturas y los valores característicos de cada una de estas para el sistema glicerol puro, a velocidad de barrido de  $10 \text{ K min}^{-1}$ .

### 2.3.1. Transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol

No hay un criterio unificado en la literatura sobre cuál de los valores anteriores de  $T_g$  se debe informar. Diferentes autores reportaron valores de  $T_g$  *onset* y *midpoint* en su mayoría. Tampoco existe un criterio en cuanto a la velocidad de calentamiento, aunque usualmente se reportan velocidades de  $10 \text{ K.min}^{-1}$ , muchos autores usan velocidades de calentamiento diferente y esto lleva a diferencias en los valores informados de  $T_g$  de *onset* o *midpoint*.

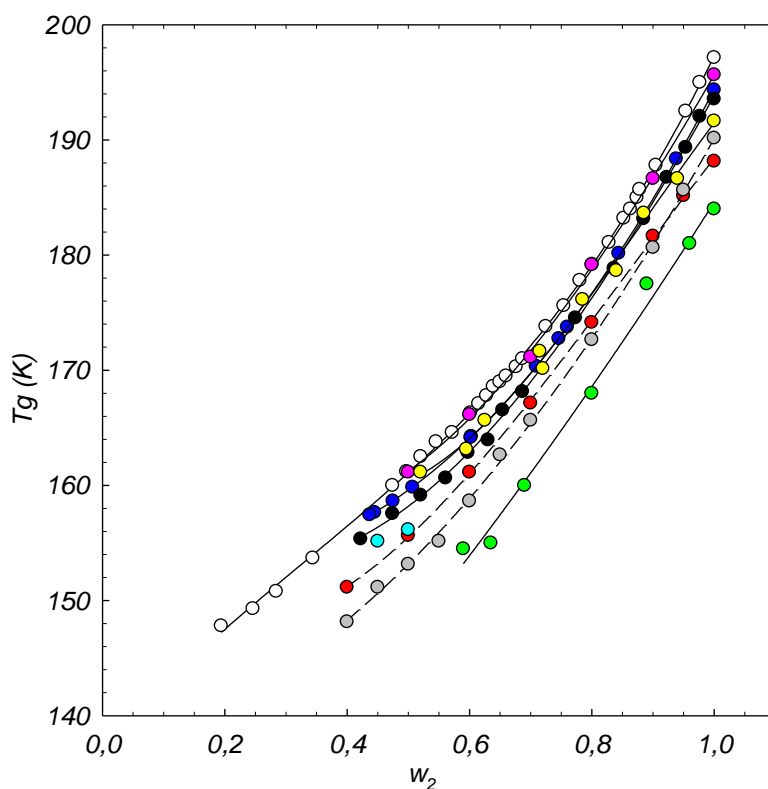
Los datos reportados pueden observarse en la Figura 2.3. Los más antiguos [50-52] son los que presentan mayor dispersión y se alejan más de la tendencia informada por los restantes autores. Se puede observar una amplia dispersión en los valores de  $T_g$  reportados para mezclas de agua-glicerol. Estas desviaciones pueden deberse a diferencias en la pureza del glicerol, el método de medición (DSC o DTA), el historial térmico de la muestra (si se enfrió y se la envejeció isotérmicamente a una temperatura dada), la velocidad de enfriamiento, si hubo rampas de enfriamiento-calentamiento), o la velocidad de calentamiento en los experimentos.

Luyet *et al.* [50] determinaron la  $T_g$  de glicerol y sus mezclas acuosas a través de medidas por DTA utilizando una velocidad de calentamiento de  $5 \text{ K.min}^{-1}$ . Yannas [6]



## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

determinó  $T_g$  de las mezclas glicerol agua mediante la técnica de peso flotante en un baño de isopentano a 130 K, el cual se calentaba con velocidad de  $0,5 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  y  $2 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  sin encontrar diferencia en los resultados. Rasmussen *et al.* [7] y Ablett *et al.* [53], midieron con velocidades de barrido de  $5 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ , mientras que Murthy [56], Harran [52] y Bohon *et al.* [51] trabajaron con velocidades de calentamiento de 10, 20 y  $30 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ , respectivamente, utilizando la técnica DSC. Hey *et al.* [54] utilizaron la técnica DSC, pero envejeciendo las muestras entre 0 y 240 minutos isotérmicamente y luego hicieron las medidas a una velocidad de  $10 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$ . Jabrane *et al.* [55] utilizaron DSC con una velocidad de barrido de  $2 \text{ K}\cdot\text{min}^{-1}$  y compararon con los valores obtenidos con modelos teóricos para demostrar la validez de estos, encontrando gran concordancia.



**Figura 2.3:** Transición vítrea de mezclas glicerol-agua en función de la concentración de glicerol. Referencias: (●) Luyet *et al.* [50]; (●) Yannas [6]; (●) Rasmussen *et al.* [7]; (●) Bohon *et al.* [51]; (○) Harran [52]; (●) Ablett *et al.* [53]; (●) Hey *et al.* [54]; (●) Jabrane *et al.* [55]; (●) Murthy [56]

Es importante observar que se reportaron gran cantidad de datos en la región rica en glicerol ( $w_2 > 0,50$ ) y solo Harran [52] tomó medidas en la región rica en agua, hasta  $w_2 = 0,2$ , el valor más bajo reportado. Esto se debe a la dificultad de medir en la zona rica en agua por la facilidad con que cristaliza el agua en esta zona. Incluso algunos autores hablan de una transición vítrea múltiple en soluciones de glicerol-agua en la región rica en agua, de  $0 < w_2 < 0,55$  [57].

## 2.4. Movilidad de solutos en líquidos sobreenfriados

Existen diversos modelos y ecuaciones para estimar y describir el comportamiento dinámico de los solutos en una solución. Las propiedades de transporte de solutos en líquidos normales se distinguen según los solutos sean neutros o iónicos, grandes o pequeños. Aquí se discutirán algunos resultados y modelos que explican los comportamientos de las moléculas en sistemas formadores de vidrios, especialmente en los sistemas acuosos poliol/agua estudiados previamente por el grupo de trabajo.

### 2.4.1. Ecuación de Stokes-Einstein y el desacople difusión-viscosidad

La ecuación más utilizada habitualmente para predecir el coeficiente de difusión de un soluto dado a dilución infinita ( $D^0$ ) en líquidos normales es la ecuación hidrodinámica de Stokes-Einstein (SE):

$$D^0 = \frac{k_B T}{A\pi\eta r} \quad (2.22)$$

donde el término  $A\pi\eta r$  representa el coeficiente de fricción viscosa del soluto,  $\eta$  es la viscosidad del solvente,  $T$  es la temperatura y  $r$  el radio del soluto,  $k_B$  es la constante de Boltzman.  $A$  es un parámetro que puede tomar dos valores, 6 o 4, según sea el tipo de

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

rozamiento que exista entre el soluto y solvente. Si el soluto desliza (*slip*) en la red del solvente de forma tal que no haya interacción soluto-solvente,  $A=6$ , mientras que si existe una interacción soluto-solvente, habrá un “pegamiento” (*stick*) entre ellos y  $A=4$ .

La ecuación de SE fue deducida partiendo de la suposición que el soluto es una molécula esférica y rígida, de un tamaño mucho mayor que las moléculas de solvente, por lo que su desplazamiento difusional se da en un medio continuo. Si la molécula de soluto es comparable en tamaño con la molécula de solvente, la ecuación 2.22 ya no tiene validez y cuanto más pequeña sea la molécula de soluto comparada con la del solvente, mayores desviaciones se observan respecto de lo predicho por la ecuación 2.22. En estos casos es posible utilizar, para describir la difusión de un soluto A en un solvente B, una expresión empírica como la desarrollada por Wilke y Chang [58]

$$D_{AB}^0 = 7,4 \cdot 10^{-8} \frac{(\phi M_B)^{1/2} T}{\eta_B V_A^{0,6}} \quad (2.23)$$

donde  $M_B$  es el peso molecular del solvente,  $\phi$  un factor de interacción soluto-solvente y  $V_A$  el volumen molar del soluto ( $\text{cm}^3 \cdot \text{mol}^{-1}$ ) a la temperatura de ebullición del solvente. El valor de  $\phi$  se ajusta para cada solvente ( $\phi = 2,6$  en agua;  $\phi = 1,9$  en metanol;  $\phi = 1,5$  en etanol).

Se observan grandes desviaciones a la ecuación 2.22 en solventes de alta viscosidad, donde la difusión presenta una dependencia particular con la viscosidad [59]:

$$D \propto \eta^{-\frac{2}{3}} \quad (2.24)$$

En algunos sistemas, a temperaturas inferiores a aproximadamente  $1,2 T_g$ , la dependencia de los coeficientes de difusión con la viscosidad, no puede ser descrita con la ecuación 2.22. En tales casos la dependencia de  $D$  con  $\eta$  suele expresarse por la siguiente expresión:

$$D^0 \eta^\zeta = \text{constante} \quad (2.25)$$

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

con  $0 < \zeta < 1$ . El valor que adopte  $\zeta$  y la temperatura a la cual deja de ser válida la ecuación 2.22, dependerá de la diferencia de tamaño entre las moléculas de soluto y del solvente.

Este fenómeno de desacople entre  $D$  y  $\eta$  en la región cercana a  $T_g$ , que depende de la relación de tamaños entre la molécula de soluto a difundir y la molécula de solvente [60, 61], así como del tipo de interacciones entre estos [62], ha sido ampliamente estudiado en líquidos puros. Por el contrario, nuestro conocimiento de las propiedades de las mezclas sobreenfriadas y su dependencia con la composición aún son escasos [63].

El agua pura no puede ser sobreenfriada en el intervalo de temperatura entre la temperatura de nucleación homogénea ( $T_h \approx 230$  K) y  $T_g$  ( $\approx 136$  K), la región llamada "no man land" por Stanley *et al.* [66], debido a la rápida cristalización del agua. Sin embargo, las soluciones acuosas que contienen solutos iónicos o solutos capaces de formar puentes hidrógeno, tales como LiCl, NaCl, sacarosa, glicerol u otros polioles, pueden sobreenfriarse fácilmente, pudiendo incluso ajustar la temperatura de transición vítrea con solo cambiar la naturaleza y la concentración del soluto.

La mayor parte de la información experimental sobre la movilidad de solutos en mezclas sobreenfriadas corresponde a soluciones acuosas de polioles, que se utilizan comúnmente como sistemas crioprotectores. Por ejemplo, se observó el desacople  $D$ - $\eta$  para la fluoresceína en mezclas de sacarosa-agua [65], como también para los coeficientes de intradifusión de agua en mezclas acuosas de carbohidratos (sacarosa y trehalosa) [66]. También se analizó el desacople  $D$ - $\eta$  de la sal disódica de fluoresceína en soluciones acuosas de sacarosa y trehalosa sobreenfriadas [67] y de ferrocenometanol (solutos no iónicos) en soluciones acuosas de sacarosa [68].

La conclusión que surge del análisis de estos estudios es que la movilidad de los solutos voluminosos no está directamente acoplada con la movilidad del agua en la mezcla disacárido-agua, como ocurre con los solutos iónicos pequeños. La ecuación de SE se cumple en una región restringida a altos valores de la temperatura reducida ( $T/T_g$ ),

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

mientras que, por debajo de un valor crítico de  $T/T_g$ , la difusión se desacopla de la viscosidad.

Chen *et al.* [69] analizaron el efecto de la composición de la mezcla glicerol-agua sobre difusión de glicerol utilizando RMN de  $H^1$ . Sus resultados muestran que la temperatura reducida a la cual se produce el desacople para el coeficiente de difusión del glicerol disminuye con el aumento del contenido de agua en el rango de concentración entre  $w_2=0,85$  y  $w_2=1,00$ . Los autores concluyen que el modelo de cluster continuo propuesto por Kivelson *et al.* [70, 71], o el modelo de las heterogeneidades dinámicas de Jung *et al.* [72], podrían explicar este comportamiento. Por lo tanto, sugieren que el aumento en el contenido de agua en la mezcla retrasaría la formación de dominios o heterogeneidades dinámicas, e inhibiría la ruptura de la relación de SE.

Por el contrario, resultados previos obtenidos por nuestro grupo de trabajo para la difusión de fluoresceína disódica en soluciones de acuosas de disacáridos sobreenfriadas [67] parecen indicar que la temperatura reducida a la cual se produce el desacople no depende de la composición de la mezcla acuosa, incluso considerando que nuestros datos cubren un estrecho rango de composición. Esto está en contradicción con las conclusiones alcanzadas por Chen *et al.* [69] porque la dependencia de la temperatura de desacople con la composición, si es real, también debe observarse para la sal disódica de fluoresceína, a menos que el tamaño de los dominios sea menor que el tamaño de esta molécula de prueba.

El desacople  $D-\eta$  que se observa por debajo de  $1,2 T_g$  en los sistemas formadores de vidrios, puede dar lugar a subestimar por varios órdenes de magnitud el valor estimado de  $D$  a temperaturas cercanas a  $T_g$ , utilizando la hidrodinámica clásica de SE (ec. 2.22). Si, como se explicó en la sección 1.5, las reacciones de deterioro están controladas por la difusión de las especies reactivas, entonces el uso de la ecuación de SE llevaría a sobreestimar enormemente el tiempo en que dichas reacciones producirían la degradación del sistema a criopreservar.

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

El fenómeno de desacople observado entre la difusión y la viscosidad en los sistemas formadores de vidrio (sobreenfriados) ha sido ampliamente estudiado y discutido por la comunidad científica. Hodgdon y Stillinger [73,74] propusieron un modelo para explicar el desacople utilizando un modelo de dominios fluidos. El mismo considera que cerca de  $T_g$  el sistema está constituido por dominios más fluidos en un medio más viscoso, en donde la viscosidad está determinada por la velocidad con la que aparecen los dominios fluidos, mientras que la difusión está determinada por el tiempo de vida de esos dominios fluidos.

Mediante análisis con el método *hole-burning* y de relajación rotacional, Ediger [75] concluyó que este fenómeno se debía a la heterogeneidades dinámicas del sistema existentes en el régimen sobreenfriado. Estas regiones presentan una dinámica mucho más rápida que la que presentan zonas vecinas a pocos nanómetros de distancia, algo así como una especie de islas de superdifusión. Además, explicó el desacople como una respuesta a la sensibilidad de los movimientos moleculares, producidos próximos a  $T_g$ , a las variaciones observadas en la densidad y la entropía del sistema.

Bordat *et al.* [76] utilizaron simulaciones de dinámica molecular de no equilibrio en una mezcla binaria de Lennard-Jones para explicar el fenómeno de desacople. Los autores concluyeron que a temperaturas por debajo de  $1,2 T_g$ , el fenómeno de difusión continua, se trunca y es reemplazado por un fenómeno de difusión discontinua, de saltos, en donde el radio hidrodinámico de la especie a difundir, determinado por la ecuación 2.22, representa la distancia que puede oscilar una partícula antes de realizar el salto difusional. Por ende, a temperaturas por debajo de  $1,2 T_g$ , el producto  $D \cdot \eta$  disminuye al disminuir la temperatura del sistema.

Jung *et al.* [72], analizando un modelo de facilitación dinámica, concluyeron que la no validez de la hidrodinámica clásica de Stokes-Einstein, en la región sobreenfriada del diagrama de fases, se debía al dominio de las fluctuaciones en la dinámica del sistema, similar a lo propuesto por Ediger sobre las heterogeneidades dinámicas.

## 2.5. Referencias

- [1] Reid R. C., Prausnitz J. M., Sherwood T. K. *The properties of gases and liquids* (1958) McGraw-Hill, New York
- [2] Andrade E. N. da C. *Phil. Mag.* (1934) 497-511
- [3] Angell C. A. *J. Phys. Chem. Solids* 49 (1988) 863-871
- [4] Angell C. A., Smith, D. L. *J. Phys. Chem.* 86 (1982) 3945-3852
- [5] Böhmer R., Ngai K. L., Angell C. A., Plazek D. J. *J. Chem. Phys.* 99 (1993) 4201-4209
- [6] Yannas I. *Science* 160 (1968) 298-299
- [7] Rasmussen D. H., MacKenzie A. P. *J. Phys. Chem.* 75 (1971) 967-973
- [8] International Association for the Properties of Water and Steam (IAPWS). *Release on the IAPWS Formulation 2008 for the Viscosity of Ordinary Water Substance*. Disponible en [www.iapws.org](http://www.iapws.org) (2008)
- [9] Huber M. L., Perkins R. A. Q., Friend D. G., Sengers J. V., Assael M. J., Metaxa I. N., Vogel E., Mareš R., Miyagawa K. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 38 (2009) 101-125
- [10] Hallett J. *Proc. Phys. Soc.* 82 (1963) 1046-1050
- [11] Eicher L. D., Zwolinski B. J. *J. Phys. Chem.* 75 (1971) 2016-2024
- [12] Harris K. R., Woolf L. A. *J. Chem. Eng. Data* 49 (2004) 1064-1069
- [13] White G., Twining R. *Am. Chem. J.* 50 (1913) 380-389
- [14] Osipov A., Zheleznyi B. V., Bondarenko, N. F. *Zh. Fiz. Khim.* 51 (1977) 1264-1265
- [15] Pátek J., Hrubý J., Klomfar J., Součková M., Harvey A. H. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 38 (2009) 21-29
- [16] Tammann G., Hesse W. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 156 (1926) 245-247
- [17] Sheely M. L. *Ind. Eng. Chem.* 24 (1932) 1060-1064
- [18] Parks G. S., Gilkey W. A. *J. Phys. Chem.* 33 (1929) 1428-1437
- [19] Piccirelli R., Litowitz T. A. *J. Acous. Soc. Am.* 29 (1957) 1009-1020
- [20] Huck J., Bondeau A., Noyel G., Jorat L. *IEEE Trans. Electr. Ins.* 23 (1988) 615-625
- [21] Schöter K., Donth E. *J. Chem. Phys.* 113 (2000) 9101-9108
- [22] Klyachenko Y. F., Litvinov Y. I. *JETP Lett.* 42 (1985) 266-269
- [23] Dixon P. K., Nagel S. R. *J. Chem. Phys.* 94 (1991) 6924-6925
- [24] Segur J. B., Oberstar H. E. *Ind. Eng. Chem.* 43 (1951) 2117-2120
- [25] Lane L. B. *Ind. Eng. Chem.* 17 (1925) 924

## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

- [26] Shankar P. N., Kumar M. *Proc. R. Soc. Lond. A.* 444 (1994) 573-581
- [27] Chenlo F., Moreira R., Pereira G., Bello B. *Eur. Food Res. Technol.* 219 (2004) 403-408
- [28] Guzmán C., Flyvbjerg H., Köszali R., Ecoffet C., Forró L., Jeney S. *Appl. Phys. Lett.* 93 (2008) 184102
- [29] Dow Company web page; <http://www.dow.com/glycerine/resources/table22.htm>
- [30] Williams M. L., Landel R. F., Ferry J. D. *J. Am. Chem. Soc.* 77 (1955) 3701-3707
- [31] Rössler E. *Phys. Rev. Lett.* 65 (1990) 1595-1598
- [32] Magazú S., Migliardo F. *J. Phys.: Condens. Matter.* 20 (2008) 104202
- [33] Stickel F., Fischer E. W., Richert R. *J. Chem. Phys.* 102 (1995) 6251-6257
- [34] Chen Y. M., Pearlstein A. *J. Ind. Eng. Chem. Res.* 26 (1987) 1670-1672
- [35] Stengel K. C., Oliver D.S., Booker J. R. *J. Fluid Mech.* 120 (1982) 411-431
- [36] Angell C. A. *J. Phys. Chem.* 97 (1993) 6339-6371
- [37] Angell C. A. *Chem. Rev.* 102 (2002) 2627-2650
- [38] Longinotti M. P., Corti H. R. *J. Phys. Chem. Ref. Data* 37 (2008) 11503-11515
- [39] Génotelle J. *Ind. Alim. Agric.* 95 (1978) 747-755
- [40] Cheng N. S. *Ind. Eng. Chem. Res.* 47 (2008) 3285-3288
- [41] He X., Fowler A., Toner M. *J. Appl. Phys.* 100 (2006) 074702
- [42] Hong S. U. *Ind. Eng. Chem. Res.* 34 (1995) 2536-2544
- [43] Zielinski J. M., Duda J. L. *AIChE J.* 38 (1992) 405-411
- [44] Avramov I., Milchev A. *J. Non-Cryst. Solids* 104 (1988) 253-260
- [45] Avramov I. *J. Non-Cryst. Solids* 351 (2005) 3163-3173
- [46] Trejo González J. A., Longinotti M. P., Corti H. R. *J. Chem. Eng. Data* 56 (2011) 1397-1406
- [47] Gordon M., Taylor J. S. *J. Appl. Chem.* 2 (1952) 493-500
- [48] Meste M. L., Champion D., Roudaut G., Blond G., Simatos D. *J. Food Science* 67 (2002) 2444-2458
- [49] Simha R., Boyer R. F. *J. Chem Phys.* 37 (1962) 1003-1007
- [50] Luyet B., Rasmussen D. H. *Biodinámica* 10 (1967) 137-147
- [51] Bohon R. L., Conway W. T. *Thermochim. Acta* 4 (1972) 321-341
- [52] Harran D. *Bull. Soc. Chimie France* 1-2 (1978) 40-44
- [53] Ablett S., Izzard M. J., Lillford P. J. *J. Chem. Soc. Faraday Trans* 88 (1992) 789-794
- [54] Hey J. M., Macfarlane D. R. *Cryobiology* 33 (1996) 205-216



## 2. MODELOS Y RESULTADOS PREVIOS DE VISCOSIDAD, TRANSICIÓN VÍTREA Y DIFUSIÓN EN SOLUCIONES ACUOSAS SOBREENFRIADAS

---

- [55] Jabrane S., Létoffé J. M., Counioux J. J., Claudy P. *Thermochim. Acta* 290 (1996) 31-41
- [56] Murthy S. S. N. *Cryobiology* 36 (1998) 84-96
- [57] Inaba A., Andersson O. *Thermochimica Acta* 461 (2007) 44-49
- [58] Wilke C. R., Chang P. *AIChEJ* 1 (1955) 264-270
- [59] Cussler E. L. *Diffusion mass transfer in fluid systems* (1997), Cambridge University Press
- [60] Chang I., Fujara F., Geil B., Heuberger G., Mangel T., Silescu H. *J. Non-Cryst. Solids* (1994) 172-174, 248-255
- [61] Cicerone M. T., Blackburn F. R., Ediger M. D. *J. Chem. Phys.* 102 (1995) 471-4799
- [62] Le Meste M., Voilley A. J. *J. Phys. Chem.* 92 (1988) 1612-1616
- [63] Matthiesen J., Scott Smith R., Kay B. D. *J. Phys. Chem. Lett.* 2 (2011) 557-561
- [64] Stanley H. E., Buldyrev S. V., Campolat M., Mishima O., Sadr-Lahijany M. R., Scala A., Starr F. W. *Phys. Chem. Chem. Phys.* 2 (2000) 1551-1558
- [65] Champion D., Hevert H., Blond G., Le Meste M., Simatos D. *J. Phys. Chem. B* 101 (1997) 10674-10679
- [66] Rampp M., Buttersack C., Lüdemann H. D. *Carbohydr. Res.* 328 (2000) 561-572
- [67] Corti H. R., Frank G. A., Marconi M. C. *J. Phys. Chem. B* 112 (2008) 12899-12906
- [68] Longinotti M. P., Corti H. R. *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 1444-1450
- [69] Chen B., Sigmund E. E., Halperin W. P. *Phys. Rev. Lett.* 96 (2006) 145502
- [70] Kivelson S. A., Zhao X., Kivelson D., Fisher T. M., Knobler C. M. *J. Chem. Phys.* 101 (1994) 2391-2397
- [71] Tarjus G., Kivelson D. *J. Chem. Phys.* 103 (1995) 3071-3073
- [72] Jung Y., Garrahan J. P., Chandler D. *Phys. Rev. E* 69 (2004) 061205-1-7
- [73] Hodgson J. A., Stillinger F. H. *Phys. Rev. E* 48 (1993) 207-213
- [74] Stillinger F. H., Hodgson J. A. *Phys. Rev E* 50 (1994) 2064-2068
- [75] Ediger M. *Annu. Rev. Phys. Chem.* 51 (2000) 99-128
- [76] Bordat P., Affouard F., Descamps M., Müller-Plathe F. *J. Phys Condens. Matter* 15 (2003) 5397-5407

### **3. MÉTODOS EXPERIMENTALES**

#### **3.1. Condiciones de trabajo**

Todos los resultados reportados en este trabajo experimental, se obtuvieron a presión atmosférica. Las temperaturas se controlaron con diferentes dispositivos de enfriamiento-calentamiento. Un criostato FRIGOMIX 1496, conteniendo una mezcla etilenglicol-agua en proporción 30-70 %<sub>v</sub>, al cual se le acopló un cabezal termostático TECHNE TE-10D, permitió controlar la temperatura de las muestras hasta 233,15 K (-40°C), con una precisión de  $\pm 0,01$  K. Para los estudios a temperaturas más bajas se utilizó un criostato JULABO F81-ME conteniendo como fluido refrigerante una silicona marca JULABO Thermal HY con rango operativo de 193,15 K a 328,15 K (-80°C a 55°C), que permitió el control de temperatura con una precisión de  $\pm 0,01$  K.

Los demás instrumentos específicos para cada técnica serán detallados en la sección correspondiente como así también los reactivos utilizados.

#### **3.2. Medición de viscosidades de soluciones sobreenfriadas: método de caída de esfera (*falling ball*)**

La viscosidad es la medida de la resistencia de un líquido a fluir, a una temperatura dada, bajo la aplicación de una fuerza de cizalla. Si la viscosidad es constante en el tiempo a una dada temperatura, se tratará de un fluido Newtoniano, es decir que la relación entre la cizalla y la velocidad de deformación es lineal. Cuando la viscosidad varía en el tiempo y con la fuerza que provoca el flujo viscoso estamos ante

un fluido no Newtoniano, debido a que la relación entre la cizalla y el desplazamiento causado por el mismo no son lineales. En este trabajo estudiaremos soluciones acuosas de glicerol, en el régimen líquido y sobreenfriado, las cuales se comportan como fluidos Newtonianos.

La viscosidad dinámica ( $\eta$ ) establece la relación entre la fuerza de cizalla,  $\tau_{xy}$ , en un punto del fluido o sobre una superficie sólida en contacto con el mismo, y el gradiente de velocidad del fluido en la dirección perpendicular al plano:

$$\tau_{xy} = \eta \frac{\partial v_x}{\partial y} \quad (3.1)$$

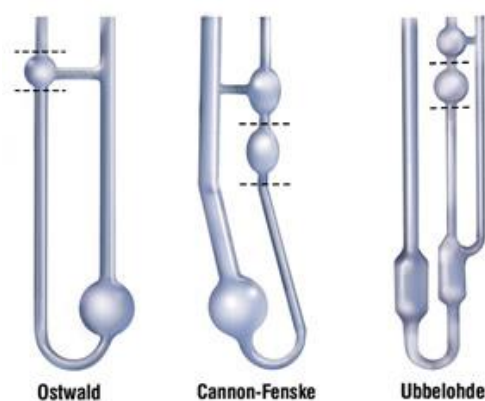
La viscosidad cinemática ( $\nu$ ) mide la resistencia del fluido a fluir bajo la fuerza de la gravedad. La relación entre ambas viscosidades viene dada por:

$$\eta = \nu \rho \quad (3.2)$$

donde  $\rho$  es la densidad del fluido.

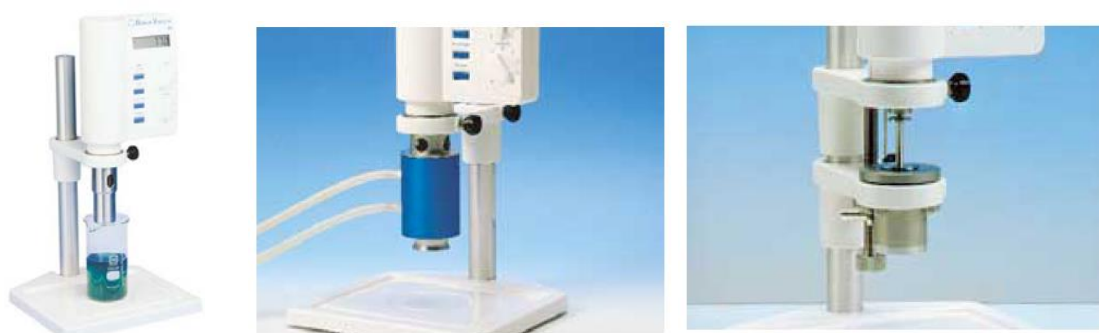
Actualmente se encuentran establecidos varios métodos para determinar la viscosidad de un fluido y, dependiendo del rango de viscosidades a medir, la temperatura y la naturaleza del fluido, cada método de medición tiene sus ventajas.

Los viscosímetros capilares, como los mostrados en la Figura 3.1, se basan en medir el tiempo que tarda un volumen fijo de fluido para fluir dentro del tubo, desde un punto marcado (aforo) a otro, por medio de la fuerza de gravedad. Para obtener la viscosidad, el tiempo medido se multiplica por una constante de calibración asociada al tubo en particular, obtenida midiendo el tiempo para un líquido de viscosidad conocida. Estos viscosímetros pueden medir viscosidades de fluidos muy viscosos si se aumenta el diámetro del capilar, pero no alcanzan el rango de viscosidades que se medirán en este trabajo.



**Figura 3.1:** Tipos de viscosímetros capilares

El viscosímetro de rotación, como el de la Figura 3.2, consiste en un sistema giratorio (rotor) que se sumerge dentro del fluido de ensayo (sistema de cilindros concéntricos o *cup and bob*), o se coloca el fluido entre dos platos paralelos ambos planos (*parallel plates*), o uno plano y otro con forma cónica (*cone and plate*). La medida de torsión de un resorte en el eje rotativo se utiliza para medir la resistencia del líquido a fluir y calcular la viscosidad. Estos sistemas tampoco son de utilidad para determinar viscosidad de fluidos sobreenfriados pues es difícil controlar la temperatura y evitar la cristalización de la muestra.



**Figura 3.2:** Viscosímetro Bohlin V88 (imagen izquierda). Viscosímetro con configuración *cup and bob* (imagen central). Viscosímetro con configuración *cone and plate* o *parallel plates* (imagen derecha).

En esta tesis se adoptó el viscosímetro de caída de esfera (*falling ball*), una alternativa donde se mide el tiempo que tarda una esfera en caer en el seno del fluido entre dos puntos marcados (recorrido fijo) sobre el tubo que contiene el fluido. Midiendo la velocidad estacionaria de la esfera se calcula la viscosidad utilizando la ley de Stokes. La densidad del fluido, el tamaño y la densidad de la esfera deben ser conocidas. Si bien existen equipos comerciales que utilizan esta técnica, como el de la Figura 3.3, en este trabajo hemos diseñado y construido un viscosímetro de caída de esfera que permitió medir viscosidades de soluciones acuosas de glicerol sobre un amplio ámbito de temperaturas y viscosidades.



**Figura 3.3:** Viscosímetro *falling ball* Thermo Scientific HAAKE

#### 3.2.1. Fundamentos teóricos del método de caída de esfera

La teoría de Stokes [1] nos permite relacionar la viscosidad de un fluido con la velocidad estacionaria de la caída de una esfera en dicho fluido, según la siguiente ecuación:

$$\eta = \frac{2}{9v_{\infty}}(\rho_b - \rho_l)gr^2 \quad (3.3)$$

donde  $\eta$  es la viscosidad del fluido,  $\rho_b$  es la densidad de la esfera,  $\rho_l$  es la densidad del fluido,  $g$  la aceleración de la gravedad,  $r$  el radio de la esfera y  $v_\infty$  la velocidad estacionaria de la esfera. Este modelo sólo se aplica si la esfera cae en un fluido Newtoniano de extensión infinita y sin efectos de inercia ni de contorno, es decir, en el límite del número de Reynolds ( $Re$ ) igual a cero, el cual viene dado por:

$$Re = \frac{\rho_l v_\infty D}{\eta} \quad (3.4)$$

donde  $D$  es el diámetro del tubo que contiene el fluido.

En un cilindro de dimensiones finitas, los efectos de pared y de fondo implican una disminución en la velocidad de caída de la esfera, mientras que los efectos de inercia tienden a incrementar el número de Reynolds. Por lo tanto, en las determinaciones de viscosidad donde se utilizan tubos finitos y números de Reynolds finitos se deben realizar correcciones a la ecuación 3.4. En la literatura existen muchas ecuaciones que tienen en cuenta las correcciones relacionadas con la relación finita entre el diámetro de la esfera que cae ( $d$ ) y el diámetro del tubo ( $D$ ) [2], los efectos de fondo en tubos cortos y los efectos inerciales [3-11].

Basándose en la corrección de Faxen [2] (ecuación 3.5), Sutterby [3,4] muestra el efecto combinado de la relación finita entre el diámetro de la esfera y el diámetro del tubo con los efectos inerciales y da una ecuación de ajuste que es válida para  $Re < 0,1$  (ecuación 3.6).

$$v_{corregida} = v_\infty \left[ 1 - 2,1044 \left(\frac{d}{D}\right) + 2,08877 \left(\frac{d}{D}\right)^3 - 0,9413 \left(\frac{d}{D}\right)^5 \right] \quad (3.5)$$

$$\eta = \frac{\frac{d^2}{18} (\rho_b - \rho_l) g \left( 1 - 2,1044 \left(\frac{d}{D}\right) \right) + 2,08877 \left(\frac{d}{D}\right)^3 - 0,9413 \left(\frac{d}{D}\right)^5}{v} \quad (3.6)$$

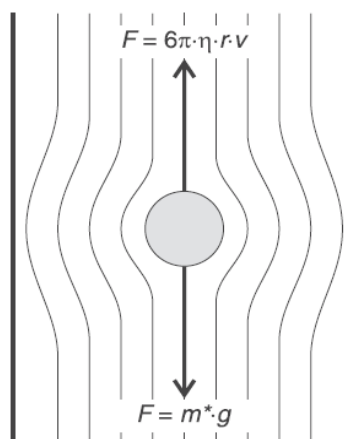
Otros autores también aportaron diferentes correcciones a los efectos de pared, fondo e inerciales. Bohlin [5] en un estudio teórico utilizó una extensión del método de

Faxen obteniendo correcciones para regímenes con  $Re \ll 1$  y  $d/D < 0,6$ . Haberman y Sayre [6] también hicieron una corrección para relaciones  $Re < 2$  y  $d/D < 0,8$ . Los efectos de fondo fueron estudiados teóricamente por Lorentz [7] en un tubo de longitud  $L$  sin considerar los efectos de pared modelados por Faxen [1], pero incorporando el factor  $z$ , definido como la distancia de la esfera a la base del tubo. Barr [8] sugirió que los efectos de fondo eran despreciables para determinaciones de velocidad de la bola a distancias del fondo comparables con el radio del tubo. Sutterby [4] analizó este efecto y encontró que las correcciones debidas a los efectos de fondo son despreciables para  $L/D > 2$ ,  $Re < 2$  y  $d/D < 0,125$ . Flude y Daborn [9] confirmaron los resultados obtenidos por Sutterby [4] y llegaron a la conclusión de que las correcciones del efecto de fondo son despreciables, excepto en el caso en que la esfera está a sólo unos diámetros ( $d$  o  $2d$ ) de distancia de la base del tubo al momento de tomar el tiempo de caída. Kawata [10] demostró experimentalmente los efectos de pared para  $d/D < 0,07$  y  $Re < 1$ .

Basado en resultados empíricos, Ladenburg [11] también propuso una corrección a la teoría de Stokes, teniendo en cuenta la fuerza de fricción de la esfera cayendo en un fluido y para valores finitos de la relación  $d/D$ .

$$\eta = \frac{\left(\frac{2}{9}\right) \left(\frac{d}{2}\right)^2 (\rho_b - \rho_l) g}{v \left(1 + 2,4 \left(\frac{d}{D}\right)\right)} \quad (3.7)$$

En las medidas experimentales de este trabajo el  $Re$  se mantuvo por debajo de 0,008 en todas las medidas. Además, la relación  $d/D$  se mantuvo en el intervalo entre 0,14 y 0,45. Por lo tanto, no se realizaron correcciones debido a los efectos inerciales. La relación entre el diámetro de la esfera y la distancia entre el último punto de medición y el extremo del tubo fue siempre mayor a 7. En consecuencia, las correcciones del efecto de fondo tampoco fueron necesarias en este trabajo.



**Figura 3.4:** Fuerzas involucradas en una esfera cayendo en un fluido.

### 3.2.2. Diseño de la celda *falling ball*

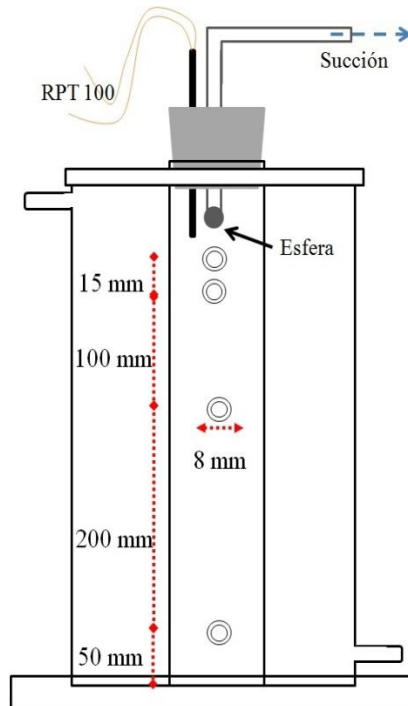
Se diseñó una celda para realizar las mediciones de viscosidad por el método de caída de esfera (*falling ball*) en muestras de soluciones acuosas de glicerol sobreenfriadas. Dicha celda estaba conformada por un tubo cilíndrico de acrílico de 22,2 mm de diámetro ( $D$ ) y 450 mm de longitud ( $L$ ), rodeada por un tubo concéntrico de mayor diámetro utilizado para la circulación de un fluido termostático (silicona Julabo Thermal HY), el cual permitió controlar la temperatura de la muestra a analizar. El tubo externo estaba atravesado por cuatro tubos más pequeños, que llegan a la pared del tubo interior, y hacen las veces de ventanas con retroiluminación por diodos emisores de luz (LED's), localizados a 85, 100, 200 y 400 mm de la parte superior del tubo central. Esto permite la visualización de la caída (pasaje) de la esfera por estos puntos.

El tubo externo se aisló térmicamente del exterior con espuma de polietileno de alta densidad y luego con una cinta de PVC para evitar pérdidas en el enfriamiento y condensaciones indeseables.

En el extremo superior del tubo central, se acopló un sistema de liberación de la esfera, consistente en un dispositivo de succión que mantenía a la esfera en suspensión dentro de la solución sobreenfriada. Al cesar la succión, la esfera se liberaba dentro de



la solución, cayendo por acción de la gravedad. También se colocó junto al sistema de liberación de la esfera un termómetro de platino (RPT 100) para registrar la temperatura mediante la medición de la resistencia con un multímetro Agilent 34401A. De esta forma nos aseguramos que tanto la esfera como el fluido a medir, alcanzaban el equilibrio térmico.



**Figura 3.5:** Celda de viscosidad de caída de esfera. Vista de frente.

Para corroborar que se establecía el equilibrio térmico, previamente al inicio de la toma de medidas de viscosidad, se analizó el perfil de temperaturas a lo largo de todo el tubo central. Esto se logró introduciendo una varilla de acrílico acoplada con un termistor a diferentes alturas y zonas del tubo (control vertical y horizontal) y así poder determinar si había gradiente de temperatura. Después de un tiempo prudencial de enfriamiento continuo, no existían gradientes de temperatura y el sistema se encontraba en equilibrio térmico.

### 3.2.3. Procedimiento experimental

Para realizar las medidas, se prepararon diferentes soluciones acuosas de glicerol (J. T. Baker, PA-ACS, anhidro) con concentraciones expresadas en fracción en peso,  $w_2$ , en el intervalo  $w_2 = 0,70$  a  $w_2 = 1,00$ . Las medidas de viscosidad se realizaron a temperaturas fijas comprendidas entre 273,0 K y 219,7 K, controladas por un criostato externo JULABO F81-ME con precisión de  $\pm 0,01$  K y midiendo la temperatura con un termómetro de platino (RPT 100). Se utilizaron esferas de diferentes materiales como teflón, acero inoxidable y vidrio con diámetros ( $d$ ) variables entre 1,57 mm y 5,55 mm, dependiendo de la viscosidad de la solución. Los diámetros de las esferas se midieron con un calibre (por duplicado) y fueron pesadas en balanza analítica, con una precisión de  $\pm 0,1$  mg, para poder determinar sus densidades.

La densidad de las soluciones acuosas de glicerol fue calculada con una fórmula empírica dependiente de la temperatura ( $T$ ), propuesta por Cheng [12]:

$$\rho = \rho_g C_m + \rho_w (1 - C_m) \quad (3.8)$$

donde  $\rho$  es la densidad de la mezcla,  $\rho_g$  la densidad del glicerol puro,  $\rho_w$  la densidad del agua pura y  $C_m$  la concentración en masa de la mezcla. Las densidades del agua y del glicerol se obtienen a partir de otras relaciones empíricas propuestas por el mismo autor [12]

$$\rho_g = 1277 - 0,654T \quad (3.9)$$

$$\rho_w = 1000 \left( 1 - \left| \frac{T - 4}{622} \right|^{1,7} \right) \quad (3.10)$$

La ecuación 3.8 ajusta con buen acuerdo los datos reportados por Green *et al.* [13] en el intervalo de concentraciones y temperaturas utilizadas en este trabajo, con un error promedio de 0,8%.

El tiempo requerido por las esferas para caer una distancia fija entre un par de ventanas se midió con una precisión de 0,15 s. Cuando se observaba la esfera aparecer en la primera ventana, se disparaba el cronómetro, deteniéndolo al observar su aparición en la ventana siguiente. Para determinar la incerteza en el tiempo se utilizó una esfera de teflón en glicerol a 273,15 K, midiendo el tiempo que tarda la esfera en caer la misma distancia fija. Se hizo el análisis estadístico de un gran número de mediciones y se calculó el error en la medición a tiempos cortos y largos. En base a eso se concluyó que el error en las mediciones de tiempo fue  $\pm 0,75$  % para tiempos cortos (menores a los 20 segundos) y  $\pm 0,02$  % para tiempo largos (superiores a los 750 segundos). Todas las mediciones de viscosidad, con excepción de las muestras más viscosas, se realizaron al menos por duplicado, ya sea midiendo el tiempo requerido para que una esfera caiga diferentes distancias o mediante el uso de diferentes esferas.

Para evitar problemas asociados a vibraciones que pudieran perturbar la libre caída de la esfera, el sistema estaba soportado sobre un bloque de polietileno de alto impacto, el cual amortiguaba alguna ocasional perturbación. Para evitar problemas de contacto entre la línea de caída de la esfera y la pared del tubo central, se tuvo la precaución de nivelar el sistema. De este modo nos aseguramos que la esfera no toque la pared interna del tubo central durante todo su trayecto de caída y minimizar errores en la medición por efecto de borde o de pared.

### **3.3. Medición de coeficientes de difusión en soluciones acuosas de glicerol sobreenfriadas**

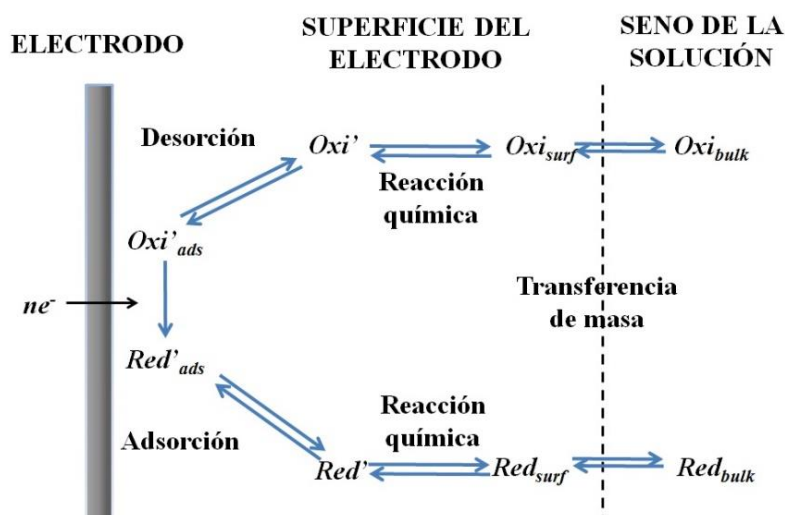
La determinación del coeficiente de difusión del soluto elegido en este trabajo en función de la viscosidad, se realizó mediante la técnica de cronoamperometría, midiendo la corriente de oxidación del soluto, bajo control difusional, utilizando microelectrodos.

En esta sección se discutirán los aspectos teóricos sobre la determinación de coeficientes de difusión utilizando microelectrodos cilíndricos y el desarrollo experimental llevado a cabo para ello.

### 3.3.1. Principios del método

En esta subsección vamos a analizar la respuesta de la geometría del electrodo cilíndrico utilizado en este trabajo bajo saltos de potencial, desde un valor para el cual no ocurren procesos faradaicos hasta un valor para el cual la concentración de soluto electroactivo sobre la superficie del electrodo es nula.

Existe una gran variedad de procesos que pueden ocurrir en un electrodo (Figura 3.6) pero este trabajo se basó en el análisis de medidas electroquímicas bajo control difusional. Bajo estas condiciones la corriente de oxidación del soluto (especie reducida, *Red*) está totalmente controlada por la transferencia de masa de *Red* hacia la superficie del electrodo.



**Figura 3.6:** Diferentes procesos que ocurren en la oxido-reducción de una especie sobre un electrodo.

Al aplicar un salto de potencial sobre un microelectrodo cilíndrico, en la zona de control difusional, la dependencia de la corriente en función del tiempo,  $i_d(t)$ , puede calcularse en base a la solución propuesta por Carslaw y Jaeger [14] para el problema equivalente de conducción de calor en esa geometría.

Supongamos que se tiene una solución de *Red* sobre el cual ocurre la siguiente reacción electroquímica:



si la longitud del electrodo,  $l$ , es suficientemente grande como para que los efectos de borde sean despreciables la corriente  $i_d(t)$  tendrá la siguiente respuesta:

$$i_d(t) = 2\pi f(\theta)nFD_R C_R^* l \quad (3.11)$$

donde  $F$  es la constante de Faraday,  $C_R^*$  la concentración de *Red* sobre la superficie del cilindro, y  $D_R$  el coeficiente de difusión de *Red*. La variable  $\theta$  se relaciona con el radio del cilindro,  $r_0$ , y el tiempo,  $t$ , transcurrido desde la aplicación del potencial para el cual hay reacción electroquímica, de la siguiente forma:

$$\theta = \frac{D_R t}{r_0^2} \quad (3.12)$$

y la función  $f(\theta)$  tiene la forma:

$$f(\theta) = \int_0^\infty \frac{e^{-\theta x^2} dx}{x[J_0(x)^2 + Y_0(x)^2]} \quad (3.13)$$

siendo  $J_0$  y  $Y_0$  iguales a las funciones de Bessel. Jaeger y Clarke [15] pudieron demostrar que:

$$\lim_{\theta \rightarrow 0} f(\theta) = \frac{1}{\sqrt{\theta\pi}} + \frac{1}{2} - \frac{1}{4\sqrt{\pi}}\sqrt{\theta} + \frac{\theta}{8} - \dots \quad (3.14)$$

$$\lim_{\theta \rightarrow 0} f(\theta) = \frac{2}{\ln(4\theta^{-2\gamma})} - \frac{2\gamma}{[\ln(4\theta^{-2\gamma})]^2} - \frac{\left(\frac{\pi^2}{3} - 2\gamma^2\right)}{[\ln(4\theta^{-2\gamma})]^3} + \dots \quad (3.15)$$

con  $\gamma = 0,5772156$ .

A tiempos intermedios, la ecuación 3.11 no tiene solución analítica y debe resolverse en forma numérica. Szabo *et al.* [16] encontraron una expresión aproximada para  $f(\theta)$  a tiempos intermedios:

$$f(\theta) = \frac{e^{-0,1\sqrt{\theta\pi}}}{\sqrt{\theta\pi}} + \frac{1}{[\ln(4\theta^{-\gamma\theta})]^{\frac{1}{2}} + e^{\frac{5}{2}}} \quad (3.16)$$

Esta expresión se reduce a la ecuación 3.12 a tiempos cortos y a la ecuación 3.13 a tiempos largos, y concuerda con la solución numérica dentro del 1.3% para todo tiempo de medida.

Como puede observarse en la ecuación 3.16, a tiempos largos la corriente en el cilindro no alcanza un estado estacionario, sino que depende inversamente de  $\ln t$ . En estas condiciones la corriente decae lentamente con el tiempo alcanzándose un estado cuasi-estacionario.

Si el electrodo no está sujeto a un salto de potencial sino a una variación lineal del potencial con el tiempo, la complejidad involucrada en la resolución de la dependencia de la corriente en función del potencial, es mucho mayor [17,18] y los voltagramas obtenidos, aún a bajos valores de  $r_0 \cdot v^{1/2}$  dependen, aunque en forma suave, del valor de la velocidad de barrido  $v$  [19].

### 3.3.2. Microelectrodos cilíndricos y celda electroquímica

Durante una medida electroquímica el potencial medido entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia incluye la caída de potencial  $i \cdot R_s$ , siendo  $R_s$  el valor

de la resistencia de la solución. Si la medida se realiza con un microelectrodo, el valor de  $i$  es mucho menor con lo cual la caída de potencial  $i \cdot R_s$  también es menor. Esta particularidad lograda con los microelectrodos hace que los mismos sean especialmente útiles para trabajar en medios de alta resistividad, como solventes orgánicos poco polares [20,21], con baja constante dieléctrica, donde los electrolitos prácticamente no están disociados, fluidos supercríticos [22-26], gases [27], hielos [28], o sistemas de alta viscosidad como las soluciones acuosas de glicerol que nos interesan en este trabajo.

Otra alternativa de trabajo en medios de alta resistividad, es el uso de celdas electroquímicas de tres electrodos. En este diseño de celdas, la corriente circula entre el electrodo de trabajo y un electrodo auxiliar o contraelectrodo que cumple la función de continuidad eléctrica entre el electrodo de trabajo-solución-contraelectrodo, es decir que cierra el circuito eléctrico y el potencial aplicado es medido entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia. La medida de potencial entre estos dos electrodos se realiza utilizando un dispositivo de alta impedancia de forma tal que circule una corriente despreciable por el electrodo de referencia. De esta forma la contribución de la caída óhmica al potencial medido es mucho menor, aunque no nula. Como al utilizar microelectrodos las corrientes medidas son muy pequeñas y la caída óhmica disminuye con el tamaño del electrodo, el valor de  $iR_s$  con respecto al potencial aplicado es en general despreciable. Esto hace posible que en las medidas electroquímicas con microelectrodos puedan utilizarse celdas con dos electrodos, sin peligro de polarización del electrodo de referencia por pasaje de corriente a través del mismo, o incluso medios de alta resistividad sin electrolito soporte [20,28].

Por otro lado, con estos electrodos se obtienen corrientes de estado estacionario o cuasi-estacionario (dependiendo de la geometría del electrodo) y además, como es necesaria solo una dimensión micrométrica para producir las características de microelectrodo, existen diferentes geometrías tales como microdiscos, microbandas y microcilindros capaces de brindar las ventajas antes mencionadas.

Los microelectrodos cilíndricos como los utilizados en este trabajo, fabricados con un alambre de metal de longitud macroscópica y radio microscópico, han sido

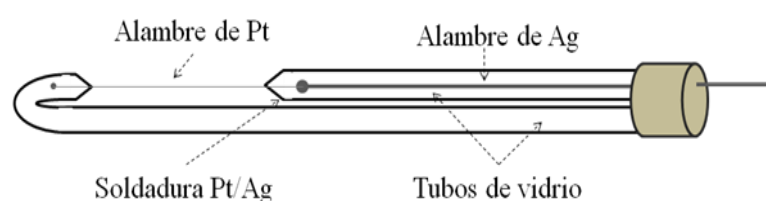
mucho menos utilizados que otras geometrías de microelectrodos a pesar de ofrecer importantes ventajas. Por un lado, el radio microscópico del alambre permite que estos electrodos cuenten con las ventajas de los microelectrodos antes mencionadas. Por otro lado, la longitud macroscópica hace que las corrientes medidas sean suficientemente grandes como para determinar coeficientes de difusión mucho menores que los que pueden medirse con microelectrodos de disco o de bandas, sobre todo cuando se trabaja con sistemas de alta resistividad. Además, como la corriente está distribuida a lo largo de toda la longitud del electrodo [29] los problemas asociados a la caída óhmica son mínimos y están dentro del ruido experimental. Para el estudio de soluciones de muy alta resistividad, donde la concentración de electrolito activo es pequeña [30,31] o los coeficientes de difusión son muy pequeños, o como las soluciones de muy alta viscosidad de interés en este trabajo, la utilización de microelectrodos cilíndricos en la determinación de coeficientes de difusión son de gran utilidad.

Como electrodo de trabajo se utilizaron microelectrodos cilíndricos de Pt de diferentes longitudes, todos de 50  $\mu\text{m}$  de diámetro nominal (Pt Goodfellow de 99,99% de pureza). Como contraelectrodo se utilizó una lámina de Pt de 3,5  $\text{cm}^2$  y como electrodo de referencia un electrodo de Ag/AgCl /KCl 4,3 mM + KNO<sub>3</sub> 0,13 M. Debido a que se trabajó habitualmente a temperaturas por debajo del punto de congelación del agua, la solución acuosa de KCl/KNO<sub>3</sub> del electrodo de referencia se reemplazó por una solución de igual concentración iónica en etanol/agua (50% v/v). De esta manera nos aseguramos que la solución del electrodo de referencia se mantuviera líquida durante todo el tiempo que duraron las medidas.

El procedimiento para la fabricación de microelectrodos cilíndricos se realizó de acuerdo a las técnicas descritas por Bond *et al.* [20]. Se utilizaron dos tubos de vidrio de 3.5 mm de diámetro externo y 1.8 mm de diámetro interno lavados con una solución de HNO<sub>3</sub>/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1:1 v/v), se enjuagaron con agua y se dejaron secar en estufa a 383 K. Luego, se soldó un alambre de Pt de 50  $\mu\text{m}$  de diámetro y diferentes longitudes (ver Tabla 3.1) a un alambre de Ag de 0,5 mm de diámetro utilizado como contacto eléctrico. El conjunto se introdujo en el interior del tubo de vidrio dejando asomar por



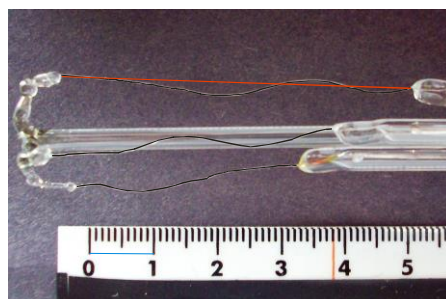
un extremo el alambre de Pt. Este extremo se cerró a la llama, quedando la soldadura Pt/Ag encapsulado en el vidrio y el alambre de Ag saliendo por el otro extremo del tubo y gran parte del alambre de Pt expuesto al aire. Luego, el otro extremo del alambre de Pt se introdujo en otro tubo de vidrio para luego cerrarlo a la llama obteniéndose de esta forma el alambre de Pt expuesto de manera lineal y soportado firmemente por los tubos de vidrio. En la Figura 3.7 se puede apreciar la geometría de estos electrodos.



**Figura 3.7:** Esquema de construcción del microelectrodo cilíndrico de Pt

Estos electrodos se acondicionaron por evolución de hidrógeno y oxígeno en solución acuosa de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0,05 M y  $\text{KNO}_3$  0,13M.

La longitud de los alambres Pt varió desde 2,40 cm hasta 4,03 cm para las soluciones menos viscosas, mientras que para las soluciones más viscosas se armó un conjunto de tres alambres (Figura 3.8), con una longitud total entre 9,50 cm y 12,91 cm. Este aumento de la longitud del electrodo permitió obtener corrientes mayores cuando la viscosidad del sistema es mayor.

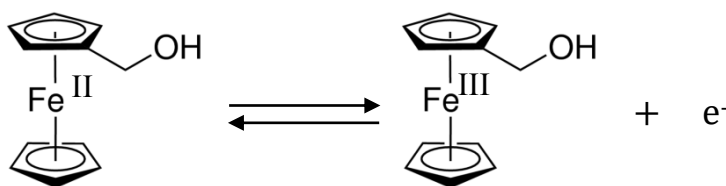


**Figura 3.8:** Análisis de la imagen de un electrodo de tres alambres para determinar la longitud real mediante software de análisis de imágenes.

Los valores de longitud de los electrodos se determinaron con un calibre cuando era posible (alambres extendidos) o mediante un software de análisis de imágenes, como el CorelDraw<sup>®</sup>, para el caso del electrodo de tres alambres (no totalmente extendidos), como se muestra en la Figura 3.8.

### 3.3.3. Procedimiento experimental

Para el estudio de las propiedades de transporte de solutos neutros por técnicas electroquímicas se eligió como molécula de prueba al ferrocenometanol (FcMeOH) (Figura 3.9) aprovechando la capacidad del mismo de oxidarse reversiblemente sobre un electrodo de Pt.



**Figura 3.9:** Oxidación reversible del ferrocenometanol a ferricenometanol

Previo al armado de la celda de medición, se procedió a la calibración de los microelectrodos cilíndricos a 298,15 K. Para ello se realizaron saltos de potencial bajo control difusional en soluciones acuosas de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 / \text{KNO}_3$  y se midió la corriente en función del tiempo durante 8 segundos. El potencial aplicado fue de 350 mV y se determinó a partir de voltametrías cíclicas en la misma solución y utilizando el mismo electrodo de referencia. A este potencial, estamos seguros que la corriente está limitada por la difusión del soluto, sin producirse evolución de oxígeno, ni formación de una capa superficial de óxido sobre la superficie del electrodo.

Para estas determinaciones, se prepararon soluciones acuosas de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,18 mM a 0,41 mM con  $\text{KNO}_3$  0,13 M como electrolito soporte, en agua ultra pura (calidad

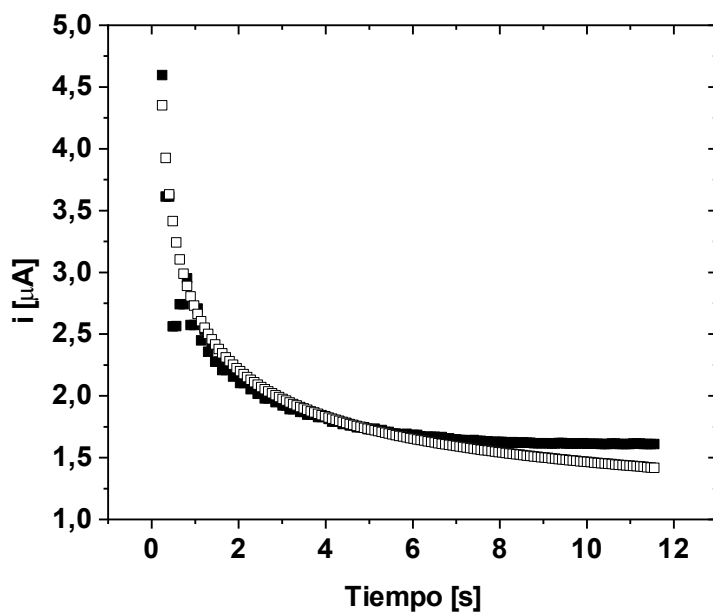
MilliQ, de 18 M $\Omega$ ) y desoxigenada con corriente de nitrógeno. Estas soluciones se resguardaron de la luz para evitar la descomposición fotoquímica del K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> [32]. Utilizando el coeficiente de difusión para el K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, informado por Moorcroft *et al.* [33] ( $D= 6,88 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{seg}^{-1}$ ), se determinó el radio del electrodo a partir de la corriente medida en función del tiempo, utilizando las ecuaciones 3.11 y 3.16.

A tiempos cortos, no es despreciable la corriente residual determinada para un salto de potencial en soluciones acuosas de electrolito soporte sin electrolito activo, originada por la oxidación de impurezas provenientes del solvente o del electrolito soporte y por la formación de la doble capa eléctrica. Por esta razón, para el cálculo de la corriente de oxidación de K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> se restó a la corriente medida, la corriente residual determinada en una solución acuosa de igual concentración de KNO<sub>3</sub> pero sin electrolito activo.

La respuesta de la corriente en función del tiempo se midió entre 0,15 y 8 segundos, ya que a tiempos mayores la contribución convectiva es grande y la corriente medida se desvía de la predicha por las ecuaciones de difusión para esta geometría de electrodo [34]. En la Figura 3.10 puede observarse la corriente en función del tiempo para un salto de potencial en una solución acuosa de K<sub>4</sub>Fe(CN)<sub>6</sub> / KNO<sub>3</sub> para la cual la corriente está limitada por la difusión del soluto. La corriente medida se compara con la respuesta calculada a partir de las ecuaciones 3.11 y 3.16. En este caso puede observarse que a tiempos mayores que 5-8 segundos la corriente medida empieza a desviarse de la predicha, debido a la contribución de transporte de soluto hacia el electrodo por convección.

La determinación electroquímica del radio de los electrodos se realizó al menos por triplicado obteniéndose los valores de radio de electrodo informados en la Tabla 3.1.

Una vez calibrado el electrodo se procedió al montaje experimental para la obtención de los coeficientes de difusión de FcMeOH en soluciones acuosas de glicerol.



**Figura 3.10:** Corriente en función del tiempo (■) para un salto de potencial en la zona de control difusional sobre un microcilindro de Pt en una solución acuosa de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,2 mM/  $\text{KNO}_3$  0,13 M, (□) corriente de oxidación predicha por las ecuaciones 3.11 y 3.16.

**Tabla 3.1:** Longitud y radio de los electrodos microcilindros de Pt construidos

<i>Electrodo</i>	<i>Longitud (cm)</i>	<i>Radio (<math>\mu\text{m}</math>)</i>
<i>E1</i>	$2,40 \pm 0,01$	$28 \pm 1$
<i>E2</i>	$3,11 \pm 0,01$	$28 \pm 1$
<i>E3</i>	$4,03 \pm 0,01$	$25 \pm 2$
<i>E4</i>	$12,91 \pm 0,01$	$26 \pm 2$
<i>E5</i>	$9,50 \pm 0,01$	$26 \pm 1$

Para las soluciones agua-glicerol, se utilizó glicerol anhidro (JT Baker) sin purificación adicional. Se determinó su contenido en agua mediante una titulación coulombimétrica Karl-Fisher (Metler Toledo Instruments) obteniéndose un resultado de

0,2% en peso. Las soluciones acuosas de glicerol se prepararon en fracción en peso de glicerol,  $w_2$ , entre 0,20 y 0,90. No se pudo trabajar a concentraciones de glicerol mayores a 0,90 ya que el mismo se oxidaba en el microelectrodo impidiendo obtener un resultado satisfactorio.

En este estudio, la viscosidad del sistema se modificó variando tanto la concentración de glicerol como también la temperatura de trabajo, desde 298,15 K a 232,65 K, analizándose de esta forma las regiones líquida y sobreenfriada del diagrama de fases y explorándose un intervalo de  $T_g/T$  que va desde 0,50 hasta 0,78.

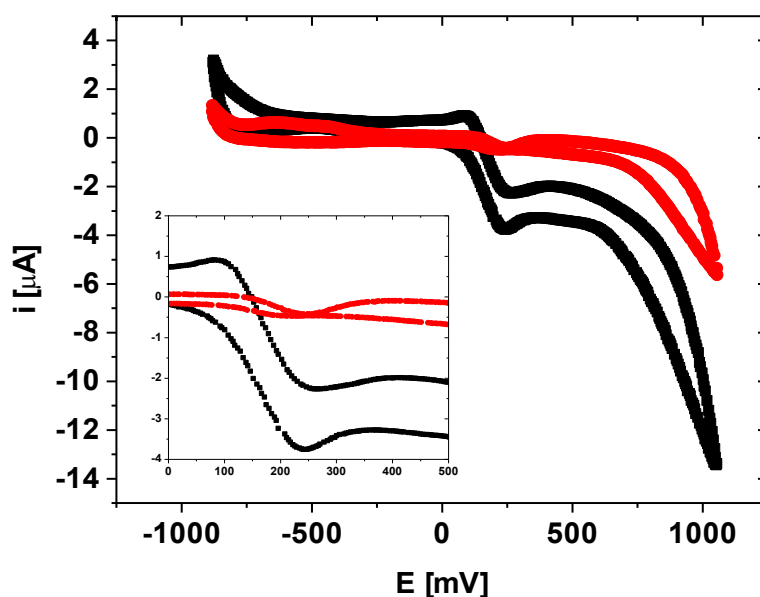
Para las medidas electroquímicas se utilizó un potenciostato (Oxford Instruments) especialmente diseñado para la determinación de corrientes pequeñas (10  $\mu$ A a 10 pA).

La adquisición de datos se realizó por medio de dispositivo electrónico de cuatro etapas. La primera etapa consta de la entrada de datos analógicos mediante dos canales, una segunda etapa de conversión analógico-digital, una tercera de codificación, y una última etapa de transmisión de la información a una PC a través de un puerto RS-232. El mismo está basado en dos conversores ICL7109 de 12 bits (uno para cada canal de datos) que permiten una resolución adecuada de los datos (0,5 mV en una escala de  $\pm 2$  V) y suficiente inmunidad al ruido eléctrico al ser un conversor integrador de doble rampa. El programa de adquisición de datos, diseñado especialmente para el funcionamiento de esta tarjeta, fue escrito en lenguaje QuickBasic<sup>®</sup> y permite guardar los datos y visualizarlos en la pantalla en tiempo real durante la adquisición.

Para medidas por encima de los 253,15 K se utilizó un criostato FRIGOMIX 1496 con un cabezal termostático TECHNE TE-10D, mientras que para medidas por debajo de los 253,15 K se utilizó el criostato JULABO F81-ME.

El potencial aplicado que asegura el control difusional fue determinado de la misma forma descrita para la determinación del potencial de salto para la calibración del electrodo, salvo una pequeña diferencia en el potencial elegido para el salto. Para las soluciones de  $w_2 = 0,2$  a  $w_2 = 0,7$ , el potencial de salto fue de 350 mV mientras que para

$w_2 = 0,8$  y  $w_2 = 0,9$  fue de 250 mV. Este corrimiento de la zona de control difusional puede observarse en la Figura 3.11 donde se presentan las voltametrías cíclicas para las soluciones con concentración de glicerol  $w_2 = 0,7$  y  $w_2 = 0,9$ .



**Figura 3.11:** Voltametría cíclica de FcMeOH 1mM / KNO<sub>3</sub> 0,13M en solución acuosa de glicerol  $w_2 = 0,7$  (negro);  $w_2 = 0,9$  (rojo). En la ampliación de los voltagramas puede observarse al corrimiento de la zona de control difusional a 350 mV para la solución  $w_2 = 0,7$  y 250 mV para la solución  $w_2 = 0,9$ .

El cálculo de los coeficientes de difusión implicó la determinación de la diferencia de corriente medida en solución acuosa de glicerol/KNO<sub>3</sub>/FcMeOH (salto) respecto de la determinada en solución acuosa de glicerol/KNO<sub>3</sub> (línea de base).

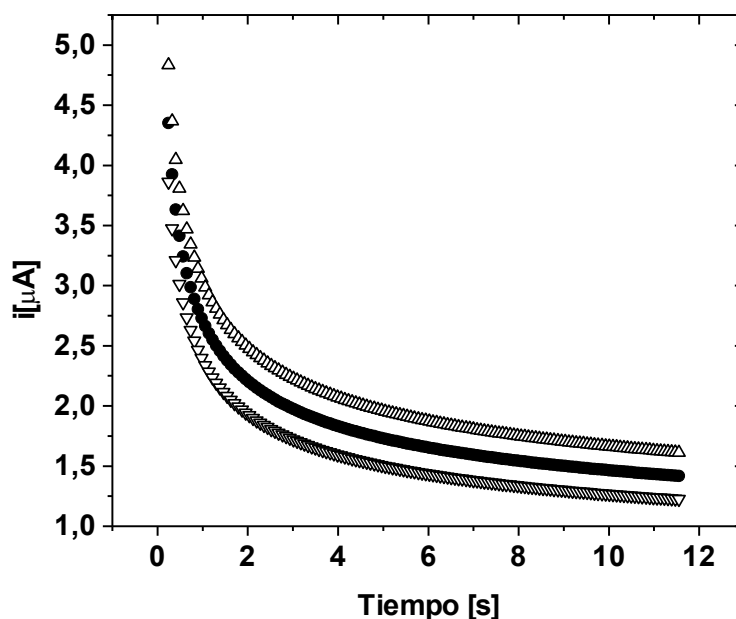
Debido a que la medida de la corriente en agua a tiempos mayores a los 8 segundos arroja una corriente mayor que la predicha por las ecuaciones de difusión debido al transporte del soluto hacia el electrodo por convección, es que se toma este valor de tiempo como el límite para obtener un coeficiente de difusión confiable en agua. Cuando la viscosidad del sistema es mayor que la viscosidad del agua pura ya sea por agregado de glicerol y/o disminución de la temperatura, el transporte por

convección empieza a ser importante a mayores tiempos, extendiendo entonces el tiempo límite para obtener una medida confiable. Es decir, al aumentar la viscosidad aumenta el tiempo durante el cual puede realizarse la medida de corriente para la obtención del coeficiente de difusión.

Por otro lado, al aumentar la viscosidad del sistema aumenta la contribución de la corriente residual (línea de base) a la corriente total medida en una solución con electrolito activo. Esta contribución residual tiende a disminuir con el tiempo de medida, ya que la corriente de oxidación de impurezas de los reactivos como la corriente de doble capa disminuyen con el tiempo, por lo tanto, el error en la determinación de la corriente de oxidación de FcMeOH en una solución acuosa de glicerol/KNO<sub>3</sub> disminuye con el tiempo de medida.

Para estimar el tiempo máximo durante el cual puede realizarse una medida de corriente en función del tiempo, se consideraron distintos valores de coeficiente de difusión del soluto (FcMeOH) dependientes de la viscosidad del sistema y se analizaron los perfiles de concentración del FcMeOH en un caso de difusión lineal a partir de una fuente puntual y de concentración constante. A partir del perfil de concentración obtenido para el FcMeOH en agua a 298 K, se calculó la distancia a la cual la concentración del mismo era 1% del valor de la concentración de la fuente a los 8 segundos. Teniendo en cuenta esta distancia al electrodo, se determinó el tiempo necesario para alcanzar la misma concentración para diferentes valores de coeficiente de difusión. Para coeficientes de difusión muy pequeños como los obtenidos en este trabajo, el tiempo estimado de medición toma valores muy grandes, del orden de horas e incluso días, que exceden un tiempo razonable de experimentación.

A modo de ejemplo, si tomamos  $D = 2 \cdot 10^{-11} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , el tiempo máximo de medida para obtener un resultado confiable es de aproximadamente 34 días. Evidentemente resulta imposible realizar una medida de corriente durante un período de tiempo tan prolongado. Por lo tanto, para la medición de coeficientes de difusión tan pequeños se tomó como tiempo máximo de medida 2 horas, que es un tiempo de experimentación razonable para obtener resultados satisfactorios.



**Figura 3.12:** Respuesta de corriente vs. tiempo para salto de potencial en solución acuosa de  $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$  0,2 mM /  $\text{KNO}_3$  0,13 M; (●) ajustada con las ecuaciones 3.9 y 3.14 y ajustes con  $+2\sigma'$  ( $\Delta$ ) y  $-2\sigma'$  ( $\nabla$ ).

A partir de las ecuaciones 3.11 y 3.16, se determinó el valor de  $D$  minimizando la desviación estándar ( $\sigma$ ) entre los valores de corriente medidos y los calculados. Como a tiempos cortos la contribución de la corriente de base a la corriente medida en una solución con electrolito activo es mayor que a tiempos largos, el error en estos puntos es mayor. Es por esto que para el análisis de los datos se descartaron aquellas medidas de corriente a tiempos cortos que se desviaban más de  $2\sigma$  del valor de corriente calculado. Con los restantes valores, comprendidos dentro del intervalo  $\pm 2\sigma$ , se iteró el cálculo hasta obtener el mejor valor de  $D$ , con una desviación estándar corregida ( $\sigma'$ ). Para obtener el error en  $D$  se buscaron los valores de coeficientes de difusión para los cuales el error en el ajuste era igual a  $\pm 2\sigma'$  (Figura 3.12).



### 3.4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

En este trabajo se utilizó la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC por sus siglas en inglés) para determinar la temperatura de transición vítrea de las soluciones acuosas de glicerol, tanto en *bulk* como confinadas en medios mesoporosos.

En este método de análisis térmico la muestra y la referencia se colocan en recipientes especiales en el instrumento. Los calentadores elevan la temperatura a una velocidad especificada, generalmente  $10 \text{ K min}^{-1}$  (método dinámico) o bien, realizan el análisis diferencial a una temperatura determinada (método estático). El instrumento mide la diferencia en el flujo de calor entre la muestra y la referencia. La diferencia básica entre la calorimetría diferencial de barrido y otros análisis térmicos es que la primera es un método en el que se miden diferencias de energía en función de la masa de muestra. Por el contrario, en el análisis térmico diferencial, por ejemplo, se registran diferencias de temperatura. Los programas de temperatura para los dos métodos son similares. La calorimetría diferencial de barrido es una técnica cuantitativa, a diferencia del análisis térmico diferencial [35].

Hay tres tipos distintos de instrumentos para calorimetría diferencial de barrido: DSC de potencia compensada, DSC de flujo de calor y DSC modulada. Cada una genera una gráfica de potencia o flujo de calor en función de la temperatura, que se denomina termograma [36,37]. Estos termogramas aportan información acerca de procesos endotérmicos o exotérmicos que sufre la muestra como cristalizaciones, fusiones, cambios en la estructura cristalina, o también aporta información sobre la transición vítrea de los sistemas, que se observa como un cambio en la línea de base del termograma debido al cambio en la capacidad calorífica ( $\Delta C_p$ ) de la muestra.

El equipo utilizado en este trabajo es un DSC de flujo de calor y las medidas que se realizaron están basadas en el conocido principio de Boersma o de flujo de calor [38,39]. En este equipo se mide la diferencia en el flujo de calor en la muestra y en la referencia mientras la temperatura de la muestra cambia a una velocidad constante. Tanto la muestra como la referencia se enfrían hasta una determinada temperatura para

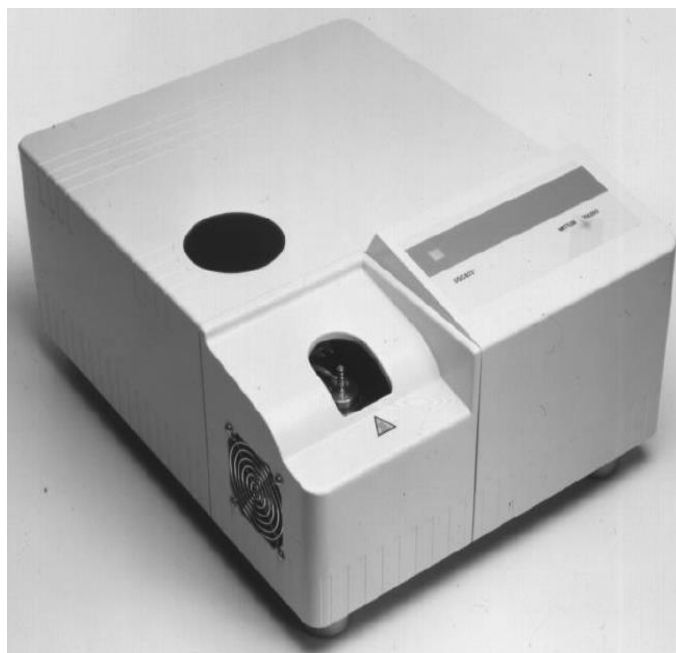
luego calentarlas con una misma unidad calefactora. El calor fluye tanto hacia la muestra como hacia el material de referencia a través de un disco termoelectrico calentado eléctricamente. El flujo de calor diferencial de la muestra y de la referencia se controla midiendo la diferencia de temperatura entre la muestra y la referencia mediante termocuplas de superficie. La diferencia entre la cantidad de calor que fluye hacia las dos cápsulas es directamente proporcional a la diferencia en las salidas de los dos termopares [35]. Un sensor RPT 100 genera la señal de temperatura de la muestra.

En la calorimetría diferencial de barrido con flujo de calor es posible expresar el flujo total de calor  $dH/dt$  como

$$\frac{dH}{dt} = C_p \frac{dT}{dt} + f(T, t) \quad (3.17)$$

donde  $C_p$  es la capacidad calorífica específica y  $f(T, t)$  es la respuesta cinética de la muestra. Por consiguiente, se observa que el flujo de calor es la suma de dos términos, uno relacionado con la capacidad calorífica y otro relacionado con la respuesta cinética.

En este trabajo las medidas DSC para determinar la temperatura de transición vítrea de las soluciones acuosas de glicerol *bulk* o confinadas en mesoporos, se realizaron en el equipo Mettler Toledo modelo 822, como el mostrado en la Figura 3.13, perteneciente al grupo de la Dra. Pilar Buera del Departamento de Industrias de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (UBA). El equipo esta acoplado mediante puerto RS32 con una PC con el programa para análisis térmico STARe<sup>®</sup> Thermal Analysis System version 3,1 (Mettler Toledo AG). Se empleó el método dinámico para obtener la temperatura de transición vítrea. Este método consiste en el enfriamiento de la muestra hasta aproximadamente 150 K y posterior calentamiento a una velocidad determinada y constante, lo cual genera una respuesta de potencia de calentamiento de la muestra con respecto a la referencia a medida que cambia la temperatura. Esta respuesta se grafica obteniéndose un termograma, del cual es posible extraer tres valores de  $T_g$ , *onset*, *midpoint* y *endpoint*, como ya se explicó previamente en la sección 2.3.



**Figura 3.13:** Equipo DSC Mettler Toledo modelo 822 de flujo de calor.

### 3.4.1. Calibración del equipo

Previo a la calibración del equipo, se realizó una limpieza del horno que contiene al sensor y al portamuestra, calentándolo a 773,15 K y luego enfriándolo a temperatura ambiente para eliminar cualquier resto de humedad, óxido o partícula que pudiera haberse depositado sobre la termocupla sensora o el portamuestra.

Luego el equipo fue calibrado con elementos de referencia estándar en dos zonas de temperatura. Para la zona de altas temperaturas se utilizó una cápsula de aluminio sellada de 40  $\mu\text{l}$  de capacidad conteniendo una muestra de indio ( $T_f = 429,75 \text{ K}$ ) y otra de cinc ( $T_f = 692,68 \text{ K}$ ) [40]. Estos datos se utilizan para calibrar la temperatura y el flujo de calor. Para la zona de bajas temperaturas se utilizó una cápsula de aluminio sellada de 40  $\mu\text{l}$  conteniendo *n*-heptano (calidad estándar) el cual también presenta punto y calor de fusión bien definido a 182,55 K. Estos estándares son los recomendados por la IUPAC [40-44]. Los estándares se enfrentaron a una cápsula vacía y perforada como referencia térmica.

Para la calibración a bajas temperaturas no se logró hacer otro punto de calibración con *n*-octano, aunque los resultados de la calibración con *n*-heptano se encuentran dentro de la incerteza esperable para las determinaciones mediante este método, con un intervalo de confianza de  $\pm 1$  K y una reproducibilidad de  $\pm 0,2$  K.

### 3.4.2. Preparación de muestras

Se utilizaron dos tipos de muestras: las soluciones acuosas de glicerol sin confinar (*bulk*) y las soluciones confinadas en una matriz carbonosa. Las soluciones *bulk* se prepararon en % de peso en un intervalo de  $w_2 = 0,50$  a  $w_2 = 1,00$  utilizando glicerol anhidro J. T. Baker (PA, ACS) y agua desionizada calidad MilliQ.

La matriz de carbono mesoporoso utilizado para confinar las soluciones se preparó a partir de la pirolisis de una resina de resorcinol-formaldehído (RF) preparada en presencia de un polielectrolito catiónico. El resorcinol (Cicarelli, 37 % p/p) (R) y el formaldehído (Fluka) (F) se polimerizaron por calentamiento a 343,15 K, en un sistema cerrado, durante 24 horas, usando acetato de sodio (Cicarelli) (C) como catalizador y un polielectrolito catiónico, poli(cloruro de dialil-dimetil-amonio) (PDADMAC:P), de Sigma-Aldrich, como agente estructurante.

La mezcla precursora de resorcinol-formaldehído-acetato de sodio, se disolvió en agua con agitación a 313,15 K durante 10 minutos y luego se agregó el PDADMAC. La relación molar de los diferentes reactivos fue R:F:C:P=1:3:0,016:0,0212 respectivamente. Una vez que se logró una solución homogénea, se la calentó a 343,15 K durante 48 horas y a presión atmosférica, obteniendo un polímero monolítico de color marrón. Este polímero luego se secó al aire durante 3 días. Una vez seco se calentó la muestra a una velocidad de 60 K.hr<sup>-1</sup> desde temperatura ambiente hasta 1073,15 K en un horno tubular bajo corriente de nitrógeno hasta su calcinación completa. Finalmente, la muestra de carbón mesoporoso así formado, presenta poros de un tamaño promedio de alrededor de 15 nm [45,46].

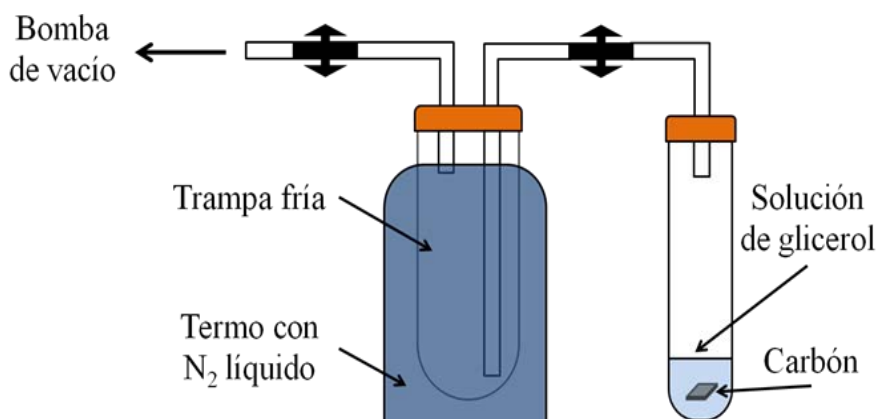
Una vez obtenidos los carbones, se los sometió a una limpieza en agua con ultrasonido para eliminar todo resto de material particulado que pudiera estar suelto y ocluyera los poros del material. Este proceso se realizó por triplicado para asegurar la eliminación de toda impureza libre. Luego se los lavó en acetona con ultrasonido. Así eliminamos cualquier resto de materia orgánica que pudiera haber quedado, de la resina o de algún proceso incompleto de pirolisis, como también el agua inserta en los poros. Este proceso también se realizó por triplicado, hasta que no se observaron residuos.

Una vez limpios los carbones, se los llevó a estufa de vacío por 24 hs. a una temperatura de 373 K para asegurar la eliminación de las soluciones de limpieza de los poros del material. Finalmente, una vez limpios, fríos y secos se los pesó con balanza analítica al 0,1 mg de precisión para poder determinar con exactitud la masa de la solución que ingresaría a los poros. Concluido esto, se los almacenó en un desecador, al resguardo de la humedad ambiente, hasta su utilización.

Para las muestras confinadas se utilizaron las mismas soluciones acuosas de glicerol preparadas anteriormente para las soluciones *bulk*. Para poder introducir estas soluciones en los poros del carbón se montó una línea de vacío, como se muestra en la Figura 3.14. Se introdujo en un tubo con sello esmeril una pequeña fracción de la solución de glicerol a utilizar para las distintas muestras (aproximadamente 5 ml) que luego se enfrió rápidamente en nitrógeno líquido para evitar que durante el conectado a la línea de vacío se produzca evaporación de agua, que cambiaría la composición de la solución. Luego se introducía la muestra de carbón y se conectaba a la línea de vacío la cual tenía una trampa fría para evitar cualquier posible pasaje de vapor de agua a la bomba de vacío.

Mientras se aplicaba vacío, la solución se fundía nuevamente permitiendo el ingreso de la solución a los poros del carbón y se evidenciaba la salida de aire de los poros por la formación de pequeñas burbujas en su superficie. Este proceso duraba aproximadamente 5 minutos, dependiendo de la viscosidad de la solución, ya que a mayor viscosidad aumenta la resistencia al ingreso de la solución a los mesoporos. Una vez que no se observaban burbujas de aire saliendo de los poros de la muestra de

carbón, se rompía el vacío dejando entrar aire al tubo conteniendo la muestra mediante un sistema de llaves. Finalmente se almacenaba la muestra de carbón, dentro de la misma solución de glicerol empleada, en tubos Ependorf para su posterior análisis.



**Figura 3.14:** Esquema de la línea de vacío para preparar las soluciones acuosas de glicerol confinadas en matrices de carbón poroso.

### 3.4.3. Procedimiento experimental

Las mediciones de temperatura de transición vítrea, se realizaron, al menos por duplicado, en el intervalo de temperatura comprendido entre 148,15 K y 298,15 K, con una velocidad de calentamiento constante de 10 K.min<sup>-1</sup>. Las determinaciones de  $T_g$  se realizaron a partir de las discontinuidades detectadas en las curvas de flujo de calor vs. temperatura, lo cual se detecta en el termograma como un corrimiento endotérmico en la línea de base.

Para ello se pesaron entre 4,5 mg y 27,5 mg de muestra con una balanza analítica de 0,01 mg de precisión en cápsulas de aluminio de 40  $\mu$ L (Mettler-Toledo), selladas herméticamente con una prensa de crisoles (ME-119410), y se midieron utilizando como referencia una cápsula de aluminio vacía y perforada, utilizando nitrógeno gaseoso como purga (para evitar condensaciones en el sensor del equipo) y nitrógeno líquido como sistema refrigerante.

En el caso de las muestras de soluciones confinadas, para determinar la masa real de la solución, se extrajo las muestras de carbón almacenadas en la solución y se las secó con papel absorbente a fin de eliminar la solución superficial no inserta en los poros. Una vez obtenido la masa de la muestra carbón-solución, se le restó la masa del carbón, obteniendo así la masa de la solución ocluida en los poros y esta es la masa utilizada por el software para el cálculo de las energías asociadas a las transiciones observadas.

### 3.5. Referencias

- [1] Stokes G. C. *Trans. Cambridge Phil. Soc.* 9 (1851) 8-106
- [2] Faxen H. *Ark. Mat. Astron. Fys.* 17 (1923) 1-28
- [3] Sutterby J. L. *Trans. Soc. Rheol.* 17 (1973) 559-573
- [4] Sutterby J. L. *Trans. Soc. Rheol.* 17 (1973) 575-585
- [5] Bohlin X. *Trans. Royal Inst. Tech.* 155 (1960) 1-63
- [6] Haberman W. L., Sayre R. M., Taylor D. *Model Basin Report 1143* (1958)
- [7] Lorentz H. A. *Abhand. Theor. Phys.* 1 (1907) 23-42
- [8] Barr G. *A monograph of viscosity.* (1931) Oxford University Press, London
- [9] Flude C., Daborn J. E. *J. Phys. E* 14 (1982) 1313-1321
- [10] Kawata M., Kurase K., Yoshida K. *Proceeding of the 5<sup>th</sup> International Congress on Rheology. I* (1963) 453-472
- [11] Ladenburg R. *Ann Phys.* 23 (1907) 447
- [12] Cheng N. S. *Ind. Eng. Chem. Res.* 47 (2008) 3285-3288
- [13] Green E., Parke J. P. *J. Soc. Chem. Ind.* 58 (1939) 319-320
- [14] Carslaw H. S., Jaeger J. C. *Conduction of heat in solids* (1959) Oxford University Press
- [15] Jaeger J. C., Clarke M. A. *Proc. Royal Soc. Edinburgh, Sec. A* 61 (1942) 223-228
- [16] Szabo A., Cope D. K., Tallman D. E., Kovach P. M., Wightman R. M. *J. Electroanal. Chem.* 217 (1987) 417-423
- [17] Stephens M. M., Moorhead E. D. *J. Electroanal. Chem.* 164 (1984) 17-26
- [18] Aoki K., Honda K., Tokuda K., Matsuda H. *J. Electroanal. Chem.* 182 (1985) 267-279

- [19] Aoki K. *Electroanalysis* 5 (1993) 627-639
- [20] Bond A. M., Fleischmann M., Robinson J. *J. Electroanal. Chem.* 168 (1984) 299-312
- [21] Goldfarb D. L., Corti H. R. *J. Electroanal. Chem.* 509 (2001) 155-162
- [22] Goldfarb D. L., Corti H. R. *Electrochem. Commun.* 2 (2000) 663-670
- [23] Goldfarb D. L., Corti H. R. *J. Phys. Chem. B.* 108 (2004) 3368-3375
- [24] Olsen S. A., Tallman D. E. *Anal. Chem.* 66 (1994) 503-509
- [25] Olsen S. A., Tallman D. E. *Anal. Chem.* 68 (1996) 2054-2061
- [26] Cabrera C. R., Bard A. J. *J. Electroanal. Chem.* 271 (1989) 147-160
- [27] Fang Y., Leddy L. *J. Electroanal. Chem.* 384 (1995) 5-17
- [28] Bond A. M., Pfund V. B. *J. Electroanal. Chem.* 335 (1992) 281-295
- [29] Amatore C., Deakin M. R., Wightman R. M. *J. Electroanal. Chem.* 225 (1987) 49-63
- [30] Hernandez Olmos M. A., Agüí L., Yáñez-Sedeño P., Pingarrón J. M. *Electrochim. Acta* 46 (2000) 289-296
- [31] Agüí L., López-Guzmán J. E., González Cortés A., Yáñez Sedeño P., Pingarrón J. M. *Anal. Chim. Acta* 385 (1999) 241-248
- [32] Bortels L., Van Den Bossche B., Deconinck J., Vandeputte S., Hubin A. *J. Electroanal. Chem.* 429 (1997) 139-155
- [33] Moorcroft M. J., Lawrence N. S., Coles B. A., Compton R. C., Trevani L. *J. Electroanal. Chem.* 506 (2001) 28-33
- [34] Aoki K., Honda K., Tokuda K., Matsuda H. *J. Electroanal. Chem.* 186 (1985) 79-86
- [35] Skoog D.A., Leary J.J. *Análisis Instrumental* (1996) McGraw-Hill, Madrid
- [36] Erickson B. E. *Anal. Chem.* 71 (1999) 689A-692A
- [37] Noble D. *Anal. Chem.* 67 (1995) 323A-327A
- [38] Boersma S.L. *J. Am. Ceramic. Soc.* 38 (1955) 281-284
- [39] Claudy P., Commercon J. C., Letoffe J. M. *Thermochim. Acta* 65 (1983) 245-255
- [40] Gmelin E., Sarge M. *Pure Appl. Chem.* 67 (1995) 1789-1800
- [41] Finke H. L., Gross M. E., Waddington G., Huffman H. M. *J. Am. Chem. Soc.* 76 (1954) 333-341
- [42] Hakvoort G. *J. Thermal Analysis* 43 (1994) 1551-1555
- [43] Preston Thomas H. *Metrologia* 27 (1990) 3-18
- [44] Emsley J. *The Elements* (1991) Clarendon Press, Oxford



[45] Thomas Y. R. J., Bruno M. M., Corti H. R. *Micropor. Mesopor. Mat.* 155 (2012) 47–55

[46] Ramos-Sánchez G., Bruno M. M., Thomas Y. R. J., Corti H. R., Solorza-Feria O. *Int. J. Hydrogen Energy* 37 (2012) 31-40

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. Viscosidad de las soluciones acuosas de glicerol

En esta sección se analiza la dependencia de la viscosidad con la temperatura para los líquidos puros (agua y glicerol) en sus regiones metaestables correspondientes y la viscosidad de las soluciones agua-glicerol en la región estable y la región sobreenfriada entre 273,15 K y 239,15 K, donde los datos de viscosidad para ambos componentes puros están disponibles en la literatura.

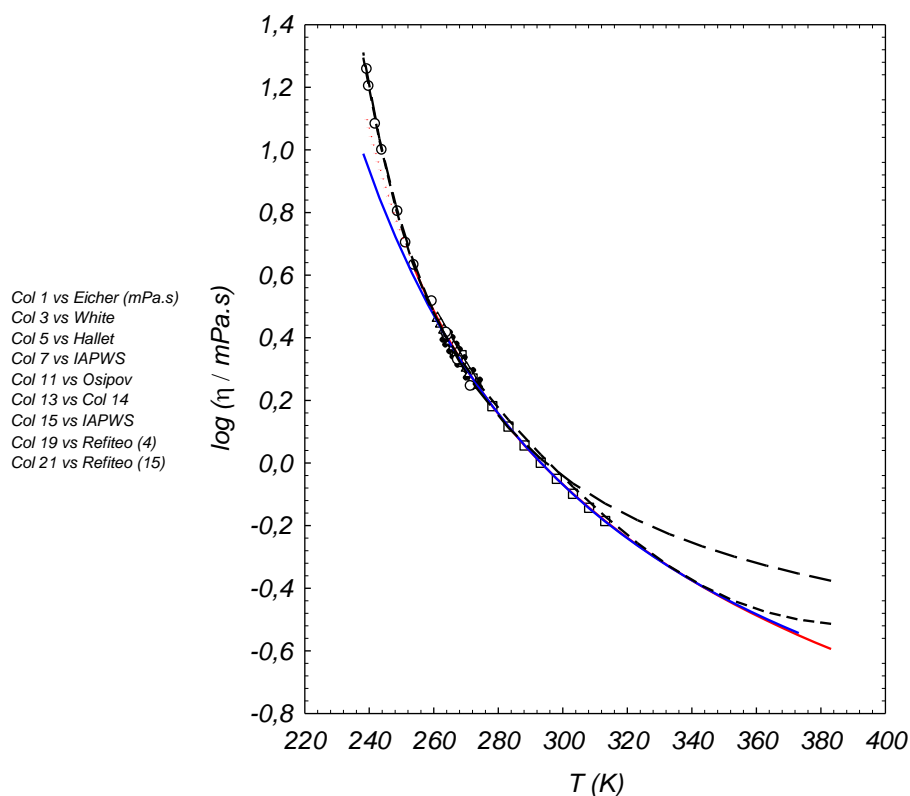
Luego analizaremos la extensión de los datos de viscosidad para las soluciones agua-glicerol con fracción en masa de glicerol,  $w_2$ , entre 0,7 y 1,0, en la región sobreenfriada comprendida entre 273,15 K y 220,15 K aproximadamente.

Como se mostró en el diagrama de fases para el sistema agua-glicerol (Figura 1.6), las viscosidades del agua pura [5-9] y del glicerol puro [11-16] se han reportado en ámbitos de temperatura muy diferentes dentro de la región sobreenfriada. En el caso del agua los datos disponibles se extienden hasta cerca de la temperatura de nucleación homogénea (235 K), que está lejos de la temperatura de transición vítrea de agua (136 K). Por otro lado, la estabilidad del glicerol al enfriarse se extiende a temperaturas próximas a la temperatura de transición vítrea (195,4 K), es decir, los datos de glicerol sobreenfriado abarcan un ámbito más amplio de temperatura en comparación con el agua.

#### 4.1.1 La viscosidad de los componentes puros

### 4.1.1.1 La viscosidad de agua

La Figura 4.1 muestra la viscosidad del agua a 100 kPa (entre 239,15 K y 383,15 K) [6, 8-10] y los correspondientes ajustes usando distintas ecuaciones. Es evidente que la extrapolación de la ecuación 2.3 más allá de la región de temperatura para la cual Patek *et. al* [10] proponen su validez (253,15 K a 383,15 K), lleva a valores alrededor de 100% más bajos que los experimentales a la temperatura más baja (cerca de la temperatura de nucleación homogénea,  $T_h = 235$  K). Peor aún es el ajuste de los datos con la ecuación 2.13, que presenta mayores desviaciones con respecto a los datos experimentales a temperaturas inferiores a 263,15 K.



**Figura 4.1:** Viscosidad de agua pura en función de la temperatura. Datos experimentales: ( $\Delta$ ) [5]; ( $\square$ ) [6]; ( $\times$ ) [8]; ( $\circ$ ) [9]; (—) valores recomendados por IAPWS entre 253,15K y 383,15 K ajustados por Patek *et al.* [10]. Ajustes: (—) valores extrapolados por debajo de 239,15 K; (—) ajuste con la ecuación 2.13; reajustes (---) de la ecuación 2.3 y (—) de la ecuación 2.13, incluyendo datos experimentales en la región sobreenfriada, entre 239,15 K y 383,15 K.

Sin embargo, haciendo un nuevo ajuste de los parámetros de las ecuaciones 2.3 y 2.13, pero ahora incluyendo los datos experimentales de viscosidad reportados en la zona sobreenfriada, se observa una excelente concordancia con los datos experimentales en la región de bajas temperaturas para ambos modelos. No obstante, el ajuste difiere notablemente en la región de altas temperaturas, especialmente en el caso del modelo de volumen libre (ecuación 2.13), donde la diferencia entre la viscosidad calculada con la correlación de Patek *et al.* [10] y la obtenida con el nuevo ajuste es mayor que 50 % a 373,15 K, en comparación con un promedio del 3% para la ecuación 2.3.

En resumen, la correlación propuesta por Patek *et al.* [10] parece describir con razonable precisión la viscosidad del agua líquida y sobreenfriada a 100 kPa. Los coeficientes  $a_i$  y  $b_i$  de la ecuación 2.3, en el intervalo propuesto por los autores, se presentaron en la sección 2.1.1., mientras que en la Tabla 4.1 se resumen los parámetros reajustados en el intervalo extendido de temperatura.

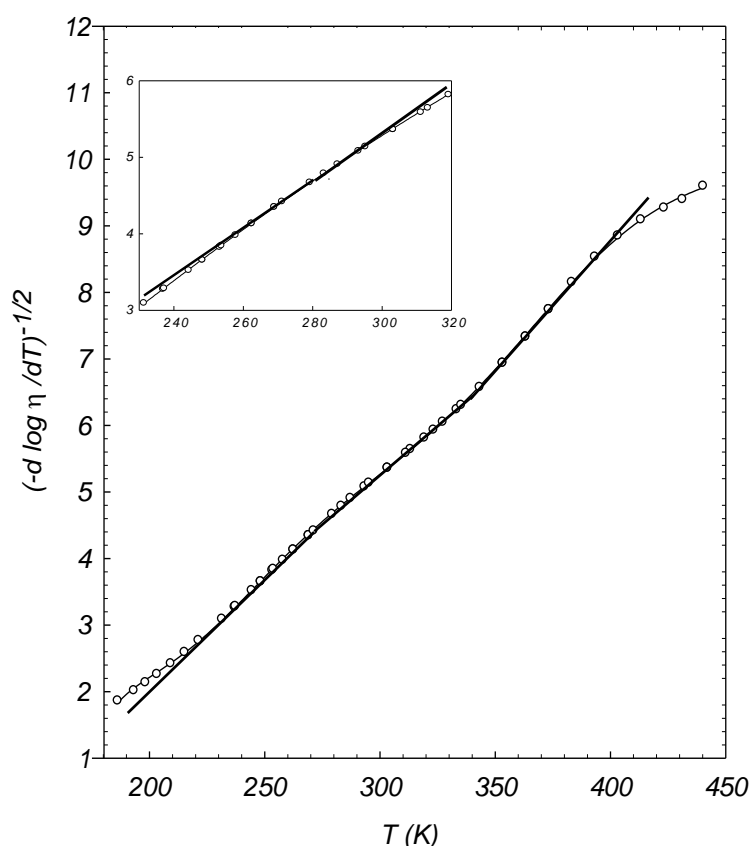
**Tabla 4.1:** Parámetros extendidos  $a_i$  y  $b_i$  para la ecuación 2.3 de Pátek *et al.* [10].

$i$	$a_i$	$b_i$
	239,15 K < $T$ < 383,15 K	
1	749,95	-4,6
2	53,39	-13,2
3	55,70	-22,0
4	$5,77 \times 10^{-4}$	-71,7

#### 4.1.1.2 La viscosidad del glicerol

La viscosidad de glicerol se ha analizado en detalle en la región sobreenfriada. La temperatura de cruce de Stickel [20], determinada usando la ecuación 2.5, es cercana a 283 K, según Schröter y Donth [16]. Esta temperatura de cruce es consistente con la obtenida a partir de mediciones dieléctricas [16]. Por otro lado, Magazu y Migliardo [19] encontraron un cambio de régimen en 234,65 K, pero la fuente de datos utilizados

por estos autores es incierta y esta temperatura de cruce se obtuvo mediante el análisis de la pendiente de la gráfica de Arrhenius, que no es un procedimiento bien establecido como el propuesto por Stickel *et al.* [20]

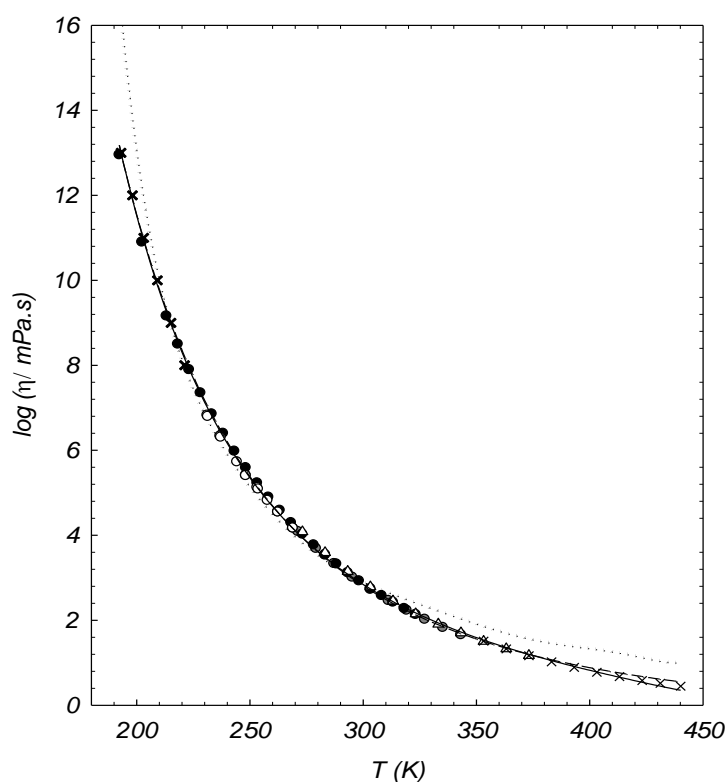


**Figura 4.2:** Gráfico de la derivada de Stickel para el glicerol utilizando todas las fuentes de datos [11-15], excepto los de Schröter y Donth [16]; (—) ajuste reportado en [16]. El recuadro muestra una ampliación de la región de cruce.

Se analizó la derivada de Stickel (ecuación 2.5) para determinar la validez de la ecuación VFT para el glicerol dentro de un intervalo de temperatura más amplio. Para este fin se utilizaron todos los datos disponibles, excepto los de Schröter y Donth [16]. Los resultados, mostrados en la Figura 4.2, parecen indicar dos cambios de régimen situados alrededor de 343 K y 263 K. El recuadro en la Figura 4.2 muestra en detalle la región cerca de la temperatura de cruce reportado por Schröter y Donth, [16], donde está

claro que el cambio de pendiente para los datos de estos autores es opuesta a la que se encuentra para todo el resto de las fuentes de datos. Aún cuando la diferencia es pequeña, la hipótesis que planteamos para explicar la misma es que la precisión de las mediciones de viscosidad realizadas por Schröter y Donth [16] es mayor que la de las mediciones más antiguas.

En la Figura 4.2 también se observa una tercera temperatura de cruce cercana a los 393 K. Considerando que la única fuente de datos por encima de 373,15 K es la informada por Dow [18], donde no se menciona el origen ni la precisión de los datos, se concluye que la viscosidad de glicerol en este rango de temperatura debe ser considerado con cautela y de forma no concluyente.



**Figura 4.3:** Viscosidad experimental de glicerol puro en una función de la temperatura ( $\times$ ) [13]; ( $\bullet$ ) [16], ( $\times$ ) [18]; ( $\bullet$ ) [14]; ( $\Delta$ ) [17]; ( $\circ$ ) [11]; (—), ajuste ecuación 2.6; ( $\bullet\bullet\bullet$ ), ajuste ecuación 2.4 [3]; (----), ajuste ecuación 2.15.

Con el fin de ajustar la viscosidad de glicerol a partir de 373,15 K y hasta la temperatura de transición vítrea, se probaron ecuaciones de tipo VFT, como las ecuaciones 2.4 y 2.15, o ecuaciones semiempíricas, tales como la ecuación 2.6. Las viscosidades experimentales y calculadas se muestran en la Figura 4.3.

Se puede observar que la ecuación WLF con los parámetros utilizados por He *et al.* [3] sobrestima las viscosidades, tanto en las regiones de altas y bajas temperaturas (línea punteada en la Figura 4.3). Es sorprendente que estos autores utilizan la correlación WLF para predecir las viscosidades de glicerol puro y sus soluciones acuosas hasta temperaturas de 140,15 K (estando el glicerol ya en el estado vítreo), aún cuando esta correlación sobreestima la viscosidad en varios órdenes de magnitud en la región sobreenfriada, cerca de la transición vítrea, como puede verse en la Figura 4.3.

La ecuación 2.6, con cuatro parámetros de ajuste, propuesta por Chen *et al.* [21], fue reajustada con los datos experimentales entre 193,15 K y 433,15 K. Las viscosidades estimadas están en excelente acuerdo con los datos experimentales (línea continua en la Fig. 4.3). Los parámetros de reajuste utilizados fueron:  $\ln(\eta^0/\text{mPa}\cdot\text{s}) = 25,8709$ ;  $A = 3,0942 \cdot 10^8 \text{ K}^3$ ,  $B = -0,0327 \text{ K}^{-1}$  y  $C = -6291,03 \text{ K}$ .

Finalmente, la viscosidad del glicerol puro fue reajustada con la ecuación 2.15 en el mismo intervalo de temperaturas que la ecuación 2.6 con muy buena concordancia, salvo a las temperaturas más altas ( $T > 403,15 \text{ K}$ ) donde se encuentran diferencias de hasta 50%. Cabe aclarar que la ecuación 2.15 se utilizó sólo con dos parámetros ajustables:  $\ln(\eta^0/\text{mPa}\cdot\text{s}) = -0,8086$  y  $\alpha = 3,2729$ . La temperatura de transición vítrea del glicerol se fija en el valor experimental,  $T_g = 195,4 \text{ K}$ , y la viscosidad de la transición vítrea en  $10^{12,5} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ . Como ya se mencionó anteriormente (capítulo 2.2.1.), el modelo de Avramov ajusta los datos de viscosidad de glicerol con  $\eta^0$ ,  $\alpha$ , y  $T_g$  como parámetros y fijando la viscosidad de la transición vítrea,  $\eta_g = 10^{12,5} \text{ Pa}\cdot\text{s}$ . Los mejores resultados del ajuste se obtienen con  $T_g = 177 \text{ K}$ , que es casi 20 K más baja que la experimental. Debido a que la elección de  $\eta_g = 10^{12,5} \text{ Pa}\cdot\text{s}$  es arbitraria, es preferible fijar  $T_g$  en el

valor experimental de 195,4 K y obtener  $\eta_g$  por interpolación a partir de los datos experimentales de Parques y Gilkey [13] y Schoter y Donth, [16].

No obstante, cabe señalar aquí que el valor de la viscosidad de glicerol en la transición vítrea es más de dos órdenes de magnitud inferior a la reportada a 186,15 K por Parks *et al.* [13] que se corresponde con glicerol vítreo, de acuerdo con los datos más recientes de mediciones de transición vítrea de glicerol [24-28]. El valor esperado de la viscosidad en  $T_g$  es  $10^{12}$  Pa·s para un líquido formador de vidrio, pero el comportamiento de la pendiente de la viscosidad frente a la curva de temperatura es muy grande cerca del punto de la transición vítrea, por lo que en dicha región la viscosidad podría cambiar abruptamente por un factor comprendido entre 100 y 1000 para un cambio de temperatura de unos pocos grados.

#### 4.1.2. Viscosidad de las soluciones agua-glicerol

Para ajustar los datos experimentales de viscosidad en mezclas agua-glicerol usando el modelo de Avramov-Milchev, es necesario conocer la temperatura de transición vítrea de las mezclas en función de su composición. Para ello se graficó la temperatura de transición vítrea de estas soluciones en función del porcentaje en masa de glicerol ( $w_2$ ), obteniéndose la siguiente expresión polinómica:

$$T_g(K) = 140,3 + 35,272w_2 - 3,879w_2^2 + 23,467w_2^3 \quad (4.1)$$

La temperatura de transición vítrea para el glicerol puro ( $w_2 = 1$ ) es 195,2 K. Este parámetro también fue obtenido a partir de los datos experimentales mediante la ecuación dada por Gordon-Taylor (ecuación 2.20). Los resultados obtenidos con este ajuste fueron:  $T_{g2} = (195,5 \pm 0,5)$  K;  $T_{g1} = (141,8 \pm 1,1)$  K y  $k_{GT} = 1,95 \pm 0,12$ . La desviación estándar del ajuste es de 1,4 K. Hay que notar que el valor obtenido para  $T_{g1}$  difiere significativamente del valor comúnmente aceptado,  $T_{g1} = 136$  K. Esto podría explicarse considerando que la medición de la temperatura de transición vítrea de



soluciones acuosas de glicerol “ricas en agua” tiene mayor error en comparación a las mezclas “ricas en glicerol”, debido a la fuerte tendencia del agua a cristalizar, en oposición a lo que sucede con el glicerol.

Los valores de  $T_g$  de las soluciones acuosas de glicerol dados por la ecuación de Gordon-Taylor, (ecuación 2.20), son consistentes y están dentro de la desviación estándar del ajuste. En la Tabla 4.2 se presentan los resultados del ajuste, cuyos parámetros son los utilizados para graficar el diagrama de fase suplementado presentado en la Figura 1.6 y calcular las viscosidades mostradas en la Figura 4.4.

**Tabla 4.2:** Parámetros de ajuste de Avramov-Milchev (ecuación 2.15) y la temperatura de transición vítrea de mezclas de agua-glicerol, obtenidas con la ecuación de Gordon Taylor (ecuación 2.20).

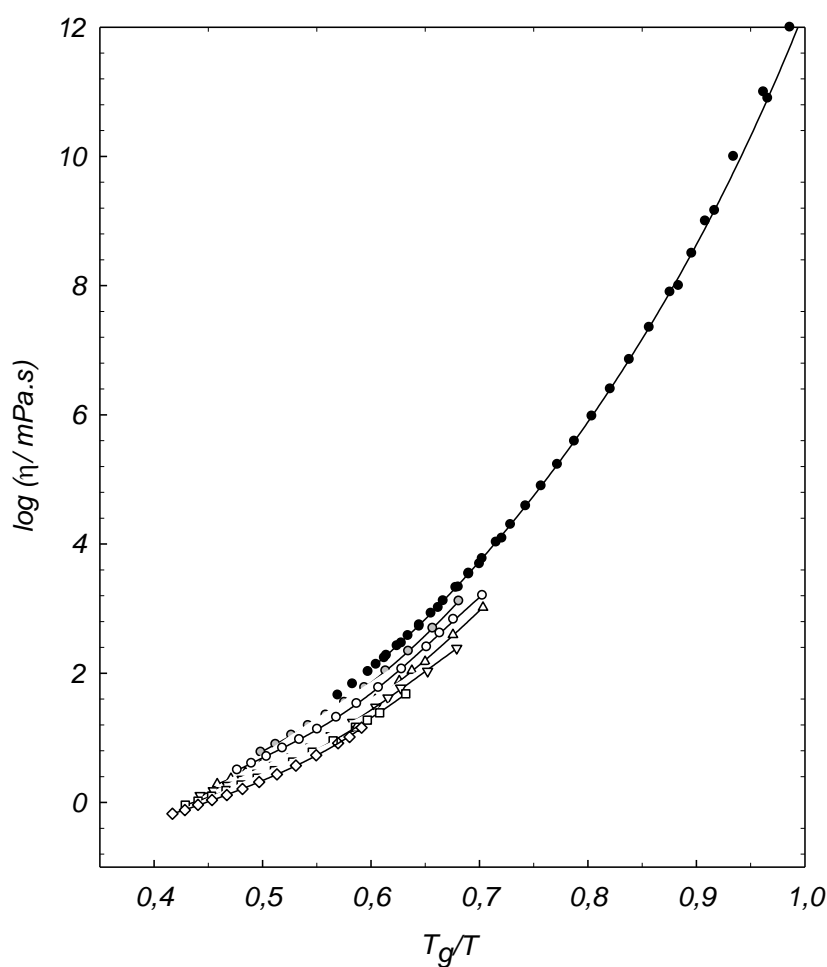
$w_2$	$T_g/K$	$-\ln(\eta^0/mPa\cdot s)$	$\alpha$
1,0	$195,4 \pm 0,2^a$	$0,81 \pm 0,11^b$	$3,27 \pm 0,03^b$
0,9	$186,0 \pm 0,1$	$1,08 \pm 0,03$	$3,36 \pm 0,01$
0,8	$177,9 \pm 0,2$	$0,96 \pm 0,07$	$3,55 \pm 0,03$
0,7	$171,0 \pm 0,2$	$0,89 \pm 0,05$	$3,73 \pm 0,02$
0,6	$165,1 \pm 0,1$	$0,92 \pm 0,09$	$3,86 \pm 0,04$
0,5	$160,0 \pm 0,1$	$1,18 \pm 0,05$	$3,84 \pm 0,03$
0,4	$155,4 \pm 0,1$	$1,43 \pm 0,04$	$3,80 \pm 0,02$
0,3	$151,4 \pm 0,2$	$1,54 \pm 0,03$	$3,82 \pm 0,02$
0,2	$147,7 \pm 0,3$	$1,67 \pm 0,02$	$3,82 \pm 0,01$
0,1	$144,3 \pm 0,4$	$1,84 \pm 0,02$	$3,78 \pm 0,02$
0,0	$141,0 \pm 0,8$	$2,19 \pm 0,15$	$3,62 \pm 0,07$

<sup>a</sup>Desviación calculada como  $|T_g^{\text{exp}} - T_g^{\text{calc}}|$

<sup>b</sup>Desviación estándar del ajuste no lineal de cuadrados mínimos

La Figura 4.4 muestra que las curvas de Arrhenius, escaladas en  $T_g$ , a diferentes contenidos de glicerol no se funden en una curva común, tal como se encuentra en otros

sistemas, como las soluciones acuosas de trehalosa y sacarosa [22] En efecto, para un determinado valor de  $T_g/T$ , la diferencia entre la viscosidad de glicerol puro y de una mezcla con  $w_2 = 0,4$  es cercana a un orden de magnitud. Cabe destacar que esta observación es independiente de la ecuación utilizada para ajustar la temperatura de transición vítrea de la solución y del conjunto de datos experimentales de  $T_g$  que se utiliza en el ajuste.



**Figura 4.4:** Grafico tipo Arrhenius de la viscosidad vs. temperatura reducida inversa  $T_g/T$ , para las mezclas de glicerol-agua y glicerol puro. Fracción en masa de glicerol  $w_2$ : (●) 1,0 [13, 14, 16]; (●) 0,9 [17]; (○) 0,8 [17]; (△) 0,7 [17]; (▽) 0,6 [17]; (□) 0,5 [17]; (◇) 0,4 [17].

Las viscosidades estimadas para mezclas de agua-glicerol se resumen en la Tabla 4.3 para temperaturas entre 273,15 K y K 238,15, que cubren las regiones sobreenfriadas situadas a ambos lados del punto eutéctico.

**Tabla 4.3.** Viscosidades de las mezclas agua-glicerol (en mPa.s) experimentales y calculadas con la ecuación 2.15 en función de  $w_2$  entre 238,15 K y 273,15 K.

$w_2$	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0
$T / K$										
273,15 exp. <sup>17</sup>	2.44	3.44	5.14	8.25	14.6	29.9	76	255	1310	12070
calc.	2.48	3.49	5.23	8.41	14.2	27.8	72	252	1243	8758
268,15 exp. <sup>18</sup>	----	----	6.5	10.3	18.8	41.6	110	419	----	----
calc.	3.02	4.32	6.6	10.9	18.8	38.0	104	391	2103	16220
263,15 exp. <sup>18</sup>	----	----	----	14.4	24.4	58.1	151	683	----	----
calc.	3.75	5.46	8.5	14.5	25.5	53.6	156	631	3721	31610
258,15 exp.	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
calc.	4.76	7.05	11.3	19.7	36.0	78.2	242	1063	6914	65190
253,15 exp. <sup>18</sup>	----	----	----	----	48.1	108	394	1600	----	----
calc.	6.18	9.34	15.4	27.7	52.2	118	392	1880	13570	$1.431 \cdot 10^5$
248,15 exp.	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
calc.	8.23	12.7	21.5	40.3	78.6	187	666	3507	28300	$3.366 \cdot 10^5$
243,15 exp. <sup>18</sup>	----	----	----	----	----	244	1046	----	----	----
calc.	11.3	17.9	31.3	60.9	123	309	1194	6946	63135	$8.552 \cdot 10^5$
238,15 exp.	----	----	----	----	----	----	----	----	----	----
calc.	16.0	26.1	47.2	96.0	203	540	2272	14712	$1.519 \cdot 10^5$	$2.367 \cdot 10^6$

Una vez analizados los datos de viscosidad reportados para las soluciones acuosas de glicerol, se realizaron medidas de viscosidad en soluciones con  $w_2$  entre 0,7 y 1,0, con el fin de ampliar los datos en la región sobreenfriada, donde se disponía de pocos datos o los mismos eran de procedencia incierta. Con el fin de corroborar el buen funcionamiento del viscosímetro construido y la adecuada elección del método a utilizar se obtuvieron datos de viscosidad de glicerol puro a diferentes temperaturas. Las viscosidades de glicerol puro medidas en este trabajo están en buena concordancia con

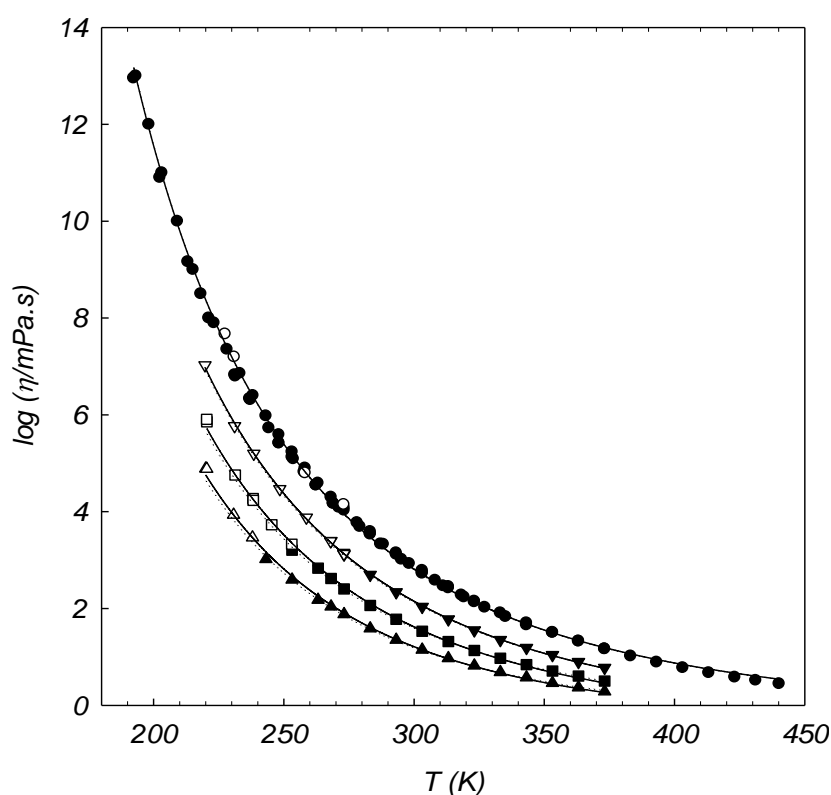
el conjunto de los datos reportados en la literatura, dentro del intervalo de temperaturas estudiadas, quedando así validado el método experimental. Los nuevos datos de viscosidad que incluyen la región sobreenfriada se presentan en la Tabla 4.4. Los datos sin error corresponden a medidas que no se pudieron hacer por duplicado.

**Tabla 4.4:** Viscosidad de soluciones acuosas de glicerol ( $w_2$  entre 0,7 y 1,0) en la región sobreenfriada obtenidos con el método de *falling ball*

$w_2$	$T / K$	$\log \eta / \text{mPa}\cdot\text{s}$	$w_2$	$T / K$	$\log \eta / \text{mPa}\cdot\text{s}$
1,00	273,0	$4,15 \pm 0,07$	0,80	253,1	$3,33 \pm 0,03$
	258,1	$4,80 \pm 0,01$		245,3	$3,73 \pm 0,01$
	231,0	$7,21 \pm 0,01$		238,2	$4,27 \pm 0,09$
0,90	273,0	$3,15 \pm 0,02$	0,80	238,3	$4,23 \pm 0,03$
	273,1	$3,13 \pm 0,01$		231,3	$4,76 \pm 0,02$
	268,1	$3,40 \pm 0,06$		220,5	$5,85 \pm 0,02$
	268,0	$3,39 \pm 0,02$		220,4	$5,91 \pm 0,03$
	258,7	$3,88 \pm 0,02$	0,70	238,0	$3,47 \pm 0,01$
	248,4	$4,47 \pm 0,02$		230,7	$3,93 \pm 0,03$
	238,5	$5,20 \pm 0,02$		220,4	4,89
	231,1	$5,77 \pm 0,05$		220,0	4,89
	219,7	$7,04 \pm 0,03$			

Del mismo modo que se hizo previamente para el tratamiento de los datos de glicerol puro y para algunas soluciones agua-glicerol reportados en bibliografía, utilizamos la ecuación de Avramov-Milchev (ecuación 2.15), para ajustar los datos experimentales de viscosidad de soluciones acuosas de glicerol. El parámetro  $T_g$  de las mezclas se ajustó como una función de la composición, utilizando la ecuación de Gordon-Taylor con,  $T_{g1} = 141,8 \text{ K}$ ;  $T_{g2} = 195,4 \text{ K}$  y  $k_{GT} = 1,95$ .

Con la  $T_g$  obtenida y fijando  $\eta_g = 10^{12,5}$  mPa·s, se ajustó la viscosidad de soluciones acuosas para  $w_2$  entre 0,7 y 0,9 y glicerol puro, como una función de la temperatura. Los resultados de los ajustes utilizando la ecuación Avramov-Milchev se muestran en la Figura 4.5, donde se puede observar que los datos de viscosidad obtenidos para las soluciones acuosas de glicerol ( $0,7 \leq w_2 \leq 0,9$ ) en la región sobreenfriada (220,15 K a 273,15 K) concuerda bastante bien con las extrapolaciones de dicho ajuste, aún incluyendo sólo los datos de viscosidad en la región líquida estable.



**Figura 4.5:** Viscosidad de soluciones acuosas de glicerol en función de la temperatura. Los símbolos llenos corresponden a los datos publicados y los símbolos huecos a las viscosidad medidas en este trabajo para  $w_2$ : (●) 1,00; (▼) 0,90; (■) 0,80; (▲) 0,70. Las líneas corresponden a los ajustes de la ecuación de Avramov-Milchev a partir de datos publicados (línea punteada), e incluyendo los nuevos datos (línea continua).

Es por esto que los mejores valores obtenidos de los parámetros de ajuste  $\eta^0$  y  $\alpha$ , difieren ligeramente de los presentados anteriormente para las soluciones acuosas de glicerol ( $0,7 \leq w_2 \leq 0,9$ ) y el glicerol puro, con el ajuste de los datos de viscosidad reportados en bibliografía.

### 4.1.3. Parámetros de la ecuación de Avramov-Milchev

Teniendo en cuenta estos resultados, y el excelente desempeño de la ecuación Avramov-Milchev (ecuación 2.15) en el caso del glicerol puro, es que se decidió utilizar esta ecuación para ajustar los datos experimentales de viscosidad de soluciones acuosas de glicerol en todo el ámbito de composiciones,  $0 \leq w_2 \leq 1$ , incluyendo los componentes puros.

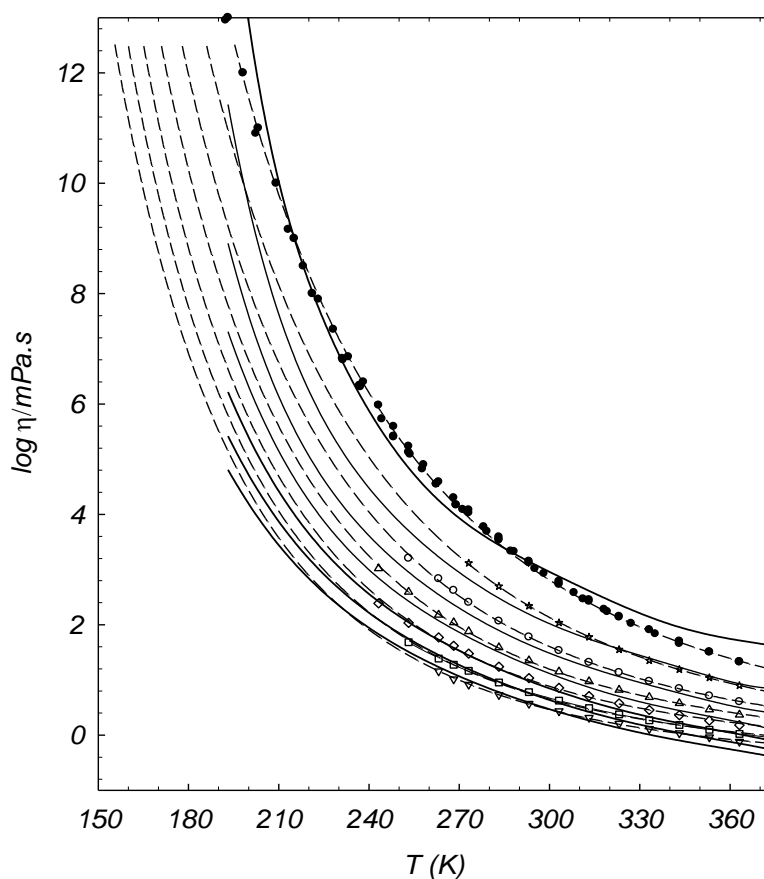
Los resultados, extendidos a viscosidades de  $10^{12,5}$  mPa·s, es decir, el valor adoptado por la viscosidad de todas las mezclas y los componentes puros a la temperatura de transición vítrea, se muestran en la Figura 4.6. Se utilizan sólo dos parámetros ajustables para describir las viscosidades en función de la temperatura a cada composición, los que se muestran en la Tabla 4.5, donde se observa las pequeñas variaciones de  $\eta^0$  y  $\alpha$  con el nuevo ajuste incluyendo todos los datos de viscosidad.

**Tabla 4.5:** Parámetros de ajuste de Avramov-Milchev (ecuación 2.15) para mezclas de agua-glicerol con  $w_2$  entre 0,7 y 1,0. Parámetros de ajuste con datos de bibliografía e incluyendo los datos obtenidos en este trabajo.

	$-\ln (\eta^0/\text{mPa}\cdot\text{s})$		$\alpha$	
	Datos de literatura	Todos los datos	Datos de literatura	Todos los datos
<b>1,0</b>	$0,81 \pm 0,11$	$0,90 \pm 0,10$	$3,27 \pm 0,03$	$3,26 \pm 0,03$
<b>0,9</b>	$1,08 \pm 0,026$	$1,27 \pm 0,06$	$3,36 \pm 0,01$	$3,29 \pm 0,02$
<b>0,8</b>	$0,96 \pm 0,07$	$1,40 \pm 0,10$	$3,55 \pm 0,03$	$3,41 \pm 0,04$
<b>0,7</b>	$0,89 \pm 0,05$	$1,20 \pm 0,10$	$3,73 \pm 0,02$	$3,57 \pm 0,04$

El hecho de que una elección única de  $\eta_g$  permite un buen ajuste de la viscosidad de todas las mezclas, incluso las ricas en agua, indica que el uso de la ecuación de Avramov-Milchev como una ecuación de dos parámetros es razonable.

La concordancia de los ajustes, a diferentes fracciones en masa de glicerol y a diferentes temperaturas, con los resultados experimentales es excelente ya que la desviación típica varía entre 2% y 5%. Se puede observar que esta concordancia también es muy buena para las soluciones ricas en agua, pero se deteriora para el agua pura por debajo de 253,15 K, donde los únicos datos experimentales, aportados por Osipov *et al.* [6], presentan una gran incertidumbre. Para el caso del glicerol puro a 273,15 K las diferencias son cercanas al 30%. Esta singularidad se debe a la alta dispersión experimental observada para la viscosidad de glicerol próxima a esa temperatura, como se observa en la Figura 4.6.



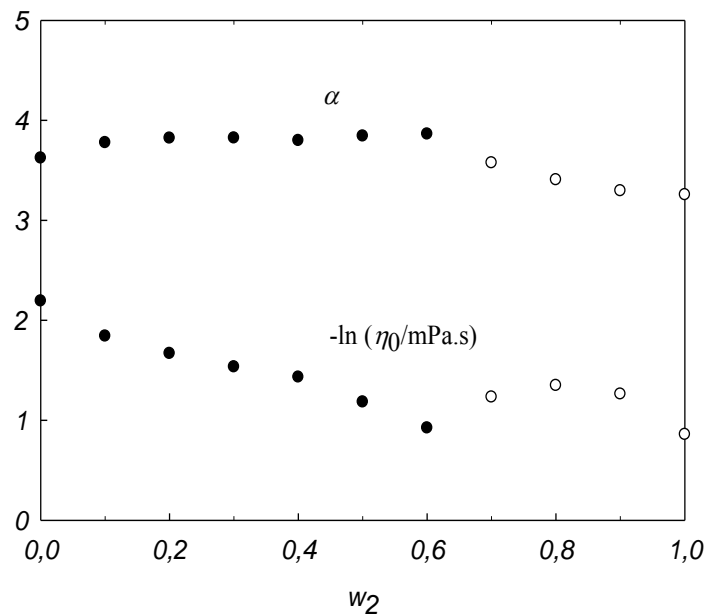
**Figura 4.6:** Viscosidad de mezclas de agua-glicerol en función de la temperatura para  $w_2$ : (●) 1,0 [13, 14, 16]; (★) 0,9 [17]; (○) 0,8 [17]; (△) 0,7 [17]; (◇) 0,6 [17]; (□) 0,5 [17]; (▽) 0,4 [17]; (—), ajuste con la ecuación 4.4 (WLF), con parámetros dados en [3]; (----), ajuste con la ecuación 2.15.

Es importante también señalar que la dependencia de estos parámetros de ajuste con la composición es bastante simple y puede ser expresada por:

$$\ln\left(\frac{\eta^{\circ}}{\text{mPa}\cdot\text{s}}\right) = 2,0589 - 2,2351w_2 + 1,3630w_2^2 \quad (4.2)$$

$$\alpha = 3,7050 + 0,8399w_2 - 1,3820w_2^2 \quad (4.3)$$

En la Figura 4.7 se muestra la variación de estos parámetros de ajuste con la composición de las soluciones agua-glicerol.



**Figura 4.7:** Valores de  $\eta^{\circ}$  y  $\alpha$ , en función de la fracción en masa de glicerol ( $w_2$ ). Los símbolos llenos son los parámetros de ajuste con los datos reportados y los símbolos vacíos, los parámetros de ajuste con los resultados de viscosidad obtenidos en este trabajo, incluyendo la región sobreenfriada.



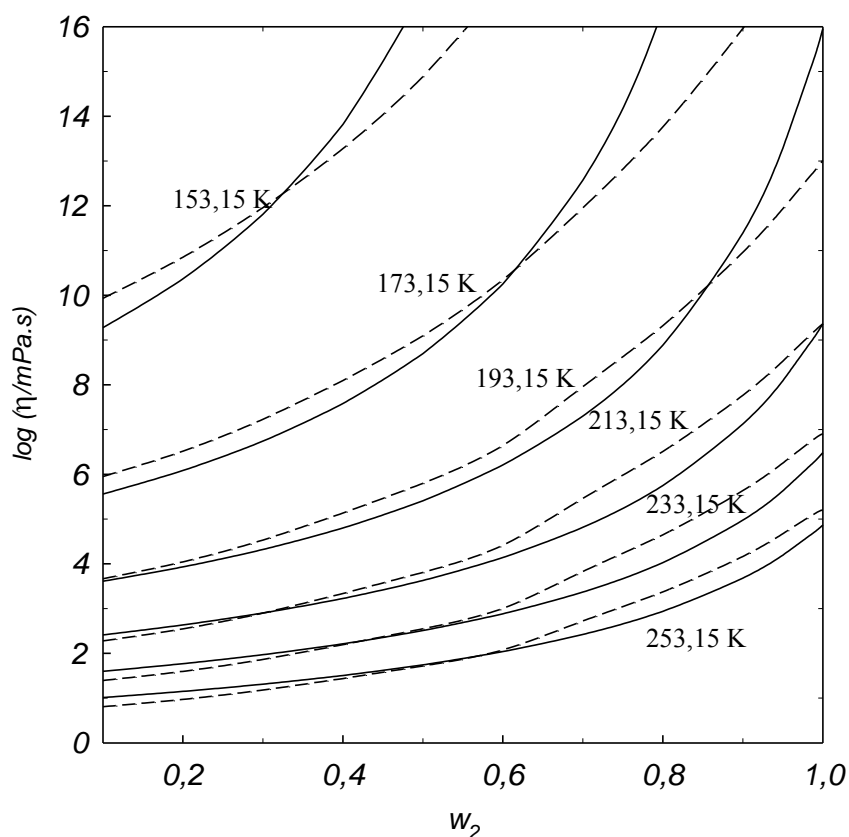
#### 4.1.4 Comparación con otros modelos

En la Figura 4.8 se representa la viscosidad de las mezclas agua-glicerol junto con las predicciones de He *et al* [3], utilizando la ecuación WLF con la viscosidad de la transición vítrea calculada por la siguiente expresión:

$$\eta_g = \eta_g^0 \exp[k(x_1 V_1 + x_2 V_2)] \quad (4.4)$$

donde  $\eta_g^0 = 1,44 \cdot 10^{11}$  Pa·s, y  $k = 0,074$  mol·cm<sup>-3</sup> son parámetros del modelo, mientras que  $V_1 = 18$  cm<sup>3</sup>·mol<sup>-1</sup> y  $V_2 = 73,3$  cm<sup>3</sup>·mol<sup>-1</sup> son los volúmenes molares de agua y glicerol puros a 298,15 K, respectivamente. Esto es,  $\eta_g$  se calcula a partir del volumen ideal de la mezcla a 298,15 K, que se supone que es constante en todo el rango de temperatura. Probablemente esta suposición es responsable de las fuertes desviaciones de las viscosidades calculadas con respecto a los valores experimentales, un hecho ya discutido en relación con el comportamiento de la viscosidad de glicerol puro con respecto a la temperatura. Así, la ecuación WLF subestima la viscosidad de soluciones ricas en glicerol ( $w_2 > 0,7$ ) en la región de temperatura comprendida entre 238,15 K y 313,15 K, y también para soluciones ricas en agua ( $w_2 < 0,7$ ) por encima de 313,15 K.

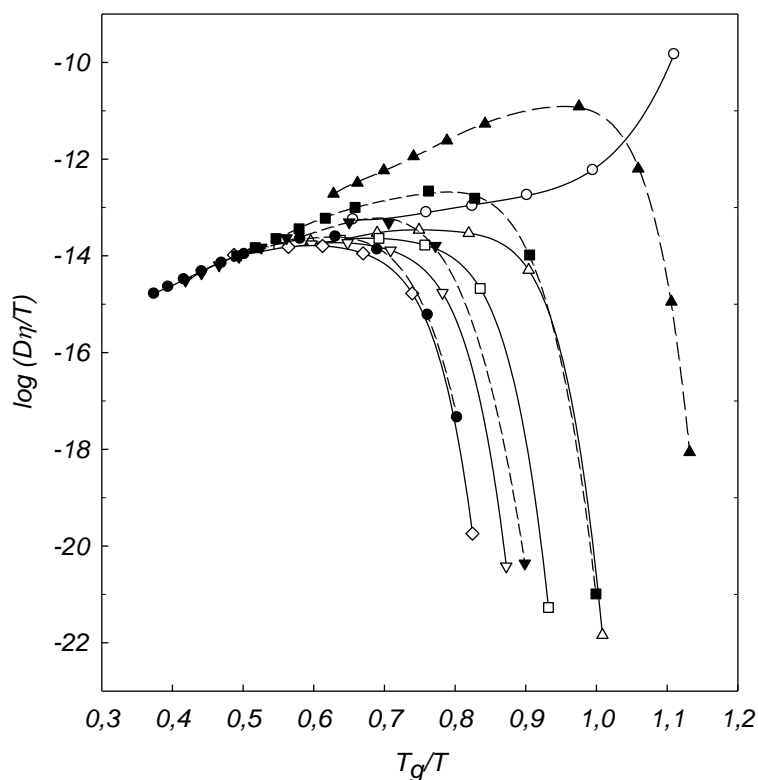
En la Figura 4.8 se comparan las predicciones de la ecuación de Avramov-Milchev con las obtenidas de la ecuación WLF con los parámetros reportados por He *et al*. [3]. La ecuación de Avramov-Milchev también ajusta de forma muy precisa los datos experimentales de soluciones ricas en agua ( $w_2 < 0,6$ ) a temperaturas comprendidas entre 293,15 K y 213,15 K. Las predicciones WLF sobrestiman ligeramente la viscosidad de las mezclas a temperaturas inferiores a 193,15 K, en la zona de temperaturas muy bajas (la región de mayor interés en criopreservación), como así también sobreestima la viscosidad de las mezclas en tres órdenes de magnitud para  $w_2 = 1,0$  a 193,15 K, dos órdenes y medio de magnitud para  $w_2 = 0,8$  a 173,15 K y un orden y medio de magnitud a 153,15 K para  $w_2 = 0,5$ . En definitiva, comparando ambos modelos, se observa que el ajuste de los datos experimentales con el modelo WLF empeora a bajas temperaturas.



**Figura 4.8:** Viscosidades de soluciones acuosas de glicerol en función de la composición calculada con la ecuación de Avramov-Milchev (línea discontinua) con los parámetros reportados en este trabajo, y predicciones con la ecuación WLF (línea continua) con los parámetros propuestos por He *et al.* [3]. Las temperaturas se indican en las curvas correspondientes.

La viscosidad de las soluciones acuosas a bajas temperaturas, utilizadas como sistemas crioprotectores, es uno de los parámetros importantes a tener en cuenta en el análisis de su capacidad para criopreservar muestras biológicas, pero el conocimiento de los coeficientes de difusión de las moléculas almacenadas en estos medios son de extrema importancia con el fin de predecir la velocidad y alcance de los procesos de deterioro. Por lo tanto, evaluar las predicciones del modelo de volumen libre para la difusión en soluciones acuosas de crioprotectores es de vital importancia para utilizar eficazmente estos sistemas crioprotectores.

La Figura 4.9 muestra el producto ( $D \cdot \eta/T$ ) de Stokes-Einstein (SE) para la difusión de agua en glicerol y mezclas de agua-trehalosa a diferentes composiciones en función de la temperatura reducida inversa ( $T_g/T$ ). Se utilizaron valores de  $D$  y  $\eta$  calculados usando los parámetros del modelo de volumen libre reportados por He *et al.* [3]. Se puede observar, que el producto SE para la difusión de agua en soluciones acuosas de glicerol exhibe el comportamiento esperado [31] para el glicerol puro ( $w_2 = 1$ ), es decir, el producto SE es mucho mayor que el predicho utilizando un radio hidrodinámico razonable para el agua, en particular en el estado vítreo ( $T_g/T > 1$ ).



**Figura 4.9:** Producto de Stokes- Einstein para la difusión de agua en glicerol (símbolos vacíos) y soluciones acuosas de trehalosa (símbolos llenos), calculada con el modelo de volumen libre, ecuación 2.13. Fracción en masa del poliol  $w_2$ : ( $\circ$ ) 1,00; ( $\triangle$ ) 0,80; ( $\square$ ) 0,60; ( $\nabla$ ) 0,70; ( $\diamond$ ) 0,20.

Sin embargo, para  $w_2 < 1$ , la ecuación SE se cumple hasta valores de  $T_g/T$  entre 0,7 y 0,9, dependiendo de la concentración de glicerol, pero el coeficiente de difusión del agua predicho es dramáticamente inferior que el esperado por la ecuación SE cuando se aproxima a la temperatura de transición vítrea. Este comportamiento es contrario a la observación experimental que el producto SE en soluciones acuosas sobreenfriadas de polioles y electrolitos es constante o bien aumenta cerca de  $T_g$  [30, 31].

El comportamiento del producto SE es bastante similar para la difusión del agua en soluciones acuosas de trehalosa; aunque a altas temperaturas el producto SE aumenta con el aumento de  $T_g/T$ , se observa una inesperada y dramática caída en el producto SE próximo a  $T_g$ . Teniendo en cuenta que la ecuación WLF, con los parámetros reportados por He *et al.* [3], sobrestima la viscosidad de mezclas de agua-glicerol a bajas temperaturas (valores altos de  $T_g/T$ ), es evidente que el modelo de volumen libre utilizado por estos autores subestima en gran medida los coeficientes de difusión del agua a bajas temperaturas.

También se utilizó la ecuación de Génotelle [23] (ecuación 2.9) para calcular la viscosidad de estas mezclas agua-glicerol, teniendo en cuenta el coeficiente de la temperatura reducida,  $\Phi$ , entre otros parámetros ajustables. El mejor ajuste se obtuvo con coeficientes:  $a = 6,568$ ,  $b = 15,837$ ,  $c = 8,713$  y  $d = 16,781$ ; con  $\Phi = -(102,82 + t) / (142,51 + t)$ , y  $n = 1,091$ . A pesar de tener siete parámetros de ajuste, las desviaciones en las predicciones de la viscosidad son típicamente alrededor del 10%, alcanzando valores cercanos al 40% para ciertas composiciones (como para los componentes puros) y temperaturas, principalmente por debajo de 273,15 K. Esta ecuación empírica funciona muy bien para predecir viscosidades de soluciones acuosas de sacarosa y trehalosa, como se ha demostrado en un trabajo previo del grupo [22], pero es evidente que no permite ajustar satisfactoriamente los datos para las mezclas agua-glicerol.

## 4.2. Movilidad de ferrocenometanol en soluciones agua-glicerol

En esta sección se presentarán los coeficientes de difusión de una sonda electroactiva como el ferrocenometanol (FcMeOH) en mezclas de agua-glicerol, como una función de la temperatura y de la composición de la mezcla. En base a estos resultados se analizará la relación de Stokes-Einstein, (SE) de estos sistemas y el desacople difusión-viscosidad ( $D-\eta$ ) observado a bajas temperaturas reducidas.

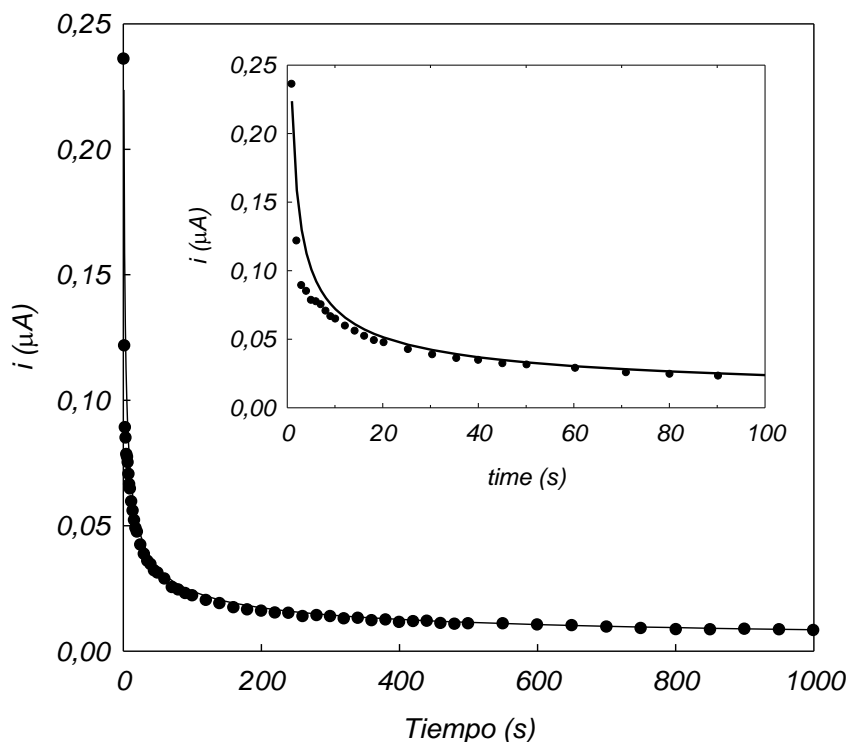
Cabe aclarar que para el análisis de la relación de SE, se utilizan los datos de viscosidad obtenidos y analizados en la sección anterior como así también los valores de  $T_g$  obtenidos con la ecuación de Gordon-Taylor (ecuación 2.20).

### 4.2.1. Coeficientes de difusión de ferrocenometanol

En la Figura 4.10 podemos observar, a modo de ejemplo, una curva de corriente cronoamperométrica típica,  $i$  vs.  $t$ , para la oxidación del FcMeOH 2,96 mM en una solución acuosa de glicerol con  $w_2 = 0,70$  y a 243,15 K, con  $\text{KNO}_3$  0,13 M como electrolito soporte. La línea continua muestra el ajuste usando las ecuaciones 3.11 y 3.16. Los datos obtenidos a tiempos largos se descartaron con el fin de evitar falsas contribuciones a la corriente difusional por procesos convectivos. Los ajustes se realizaron mediante el software MatLab<sup>®</sup>, con un módulo programado para el caso.

La Tabla 4.6 resume los coeficientes de difusión de FcMeOH obtenidos en soluciones acuosas con diferentes fracciones en masa de glicerol y a diferentes temperaturas de trabajo, junto con los valores de la viscosidad de las soluciones acuosas de glicerol obtenidos utilizando la ecuación 2.15 con los parámetros indicados en la sección anterior. Los coeficientes de difusión varían en un amplio intervalo, desde aproximadamente  $4 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$  hasta  $2 \cdot 10^{-10} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ , siguiendo la tendencia esperada

con la temperatura y la concentración de glicerol, teniendo en cuenta que el FcMeOH difunde en un medio cuya viscosidad depende de ambos parámetros.

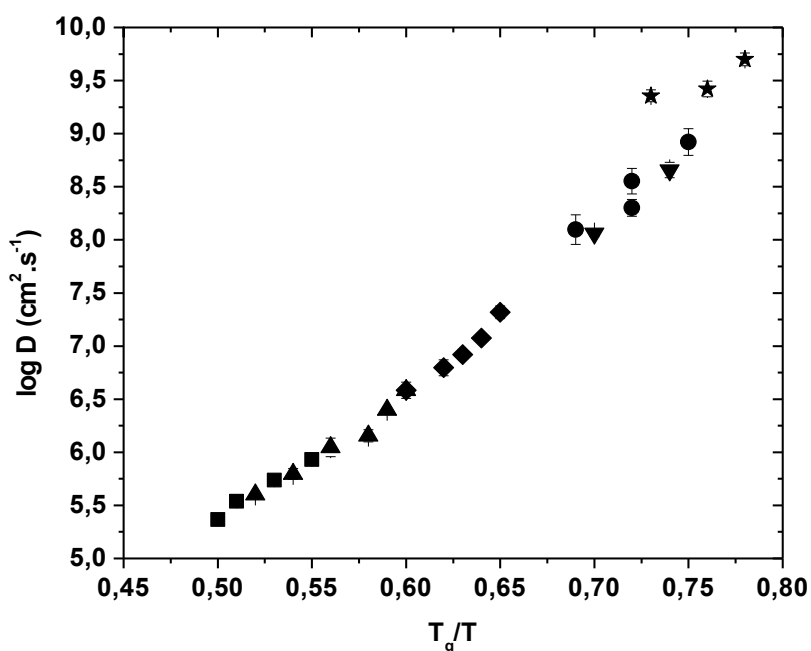


**Figura 4.10:** Corriente en función del tiempo para la oxidación de FcMeOH 2,96 mM en un microelectrodo cilíndrico de Pt en una solución acuosa de glicerol ( $w_2 = 0,7$ ),  $\text{KNO}_3$  0,13 M y 243,15 K. La línea continua representa el ajuste usando las ecuaciones 3.11 y 3.16 con  $D = 2,2 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ . En la gráfica inserta se observa la respuesta en los primeros 100 s de medida.

En la Figura 4.11 podemos observar como es la dependencia del  $\log D$  en función de  $T_g/T$  para FcMeOH en las soluciones acuosas de glicerol. Al igual que observamos en la sección anterior para la viscosidad (Figura 4.4), la difusión presenta un comportamiento cercano a Arrhenius, pero lo importante es que todos los datos escalan prácticamente en una sola curva, independientemente de la concentración de glicerol.

**Tabla 4.6:** Coeficientes de difusión de FcMeOH en soluciones acuosas de glicerol y viscosidades a diferentes concentraciones y temperaturas.

$w$	$T$ (K)	$T_g/T$	$\eta$ (mPa·s)	$D$ (cm <sup>2</sup> ·s <sup>-1</sup> )
0,20	298,15	0,50	1,52	$(4,30 \pm 0,20) \cdot 10^{-6}$
	288,15	0,51	2,04	$(2,90 \pm 0,20) \cdot 10^{-6}$
	278,15	0,53	2,87	$(1,83 \pm 0,09) \cdot 10^{-6}$
	268,15	0,55	4,32	$(1,17 \pm 0,04) \cdot 10^{-6}$
0,40	298,15	0,52	3,05	$(2,50 \pm 0,10) \cdot 10^{-6}$
	288,15	0,54	4,34	$(1,60 \pm 0,20) \cdot 10^{-6}$
	278,15	0,56	6,58	$(9,00 \pm 2,00) \cdot 10^{-7}$
	268,15	0,58	$1,08 \cdot 10^1$	$(7,00 \pm 1,00) \cdot 10^{-7}$
	263,38	0,59	$1,41 \cdot 10^1$	$(4,00 \pm 0,20) \cdot 10^{-7}$
	258,12	0,60	$1,95 \cdot 10^1$	$(2,60 \pm 0,20) \cdot 10^{-7}$
0,60	273,15	0,60	$2,79 \cdot 10^1$	$(2,60 \pm 0,50) \cdot 10^{-7}$
	268,04	0,62	$3,85 \cdot 10^1$	$(1,60 \pm 0,30) \cdot 10^{-7}$
	263,12	0,63	$5,41 \cdot 10^1$	$(1,20 \pm 0,10) \cdot 10^{-7}$
	258,13	0,64	$7,89 \cdot 10^1$	$(8,40 \pm 0,80) \cdot 10^{-8}$
	253,18	0,65	$1,19 \cdot 10^2$	$(4,80 \pm 0,70) \cdot 10^{-8}$
0,70	242,75	0,70	$1,54 \cdot 10^3$	$(8,70 \pm 0,60) \cdot 10^{-9}$
	232,65	0,74	$6,30 \cdot 10^3$	$(2,20 \pm 0,40) \cdot 10^{-9}$
0,80	258,65	0,69	$1,16 \cdot 10^3$	$(8,00 \pm 3,00) \cdot 10^{-9}$
	248,01	0,72	$4,25 \cdot 10^3$	$(2,80 \pm 0,90) \cdot 10^{-9}$
	247,35	0,72	$4,64 \cdot 10^3$	$(5,00 \pm 1,00) \cdot 10^{-9}$
	238,19	0,75	$1,78 \cdot 10^4$	$(1,20 \pm 0,40) \cdot 10^{-9}$
0,90	252,98	0,73	$1,50 \cdot 10^4$	$(4,40 \pm 0,60) \cdot 10^{-10}$
	243,13	0,76	$6,87 \cdot 10^4$	$(3,80 \pm 0,70) \cdot 10^{-10}$
	238,65	0,78	$1,51 \cdot 10^5$	$(2,00 \pm 0,30) \cdot 10^{-10}$



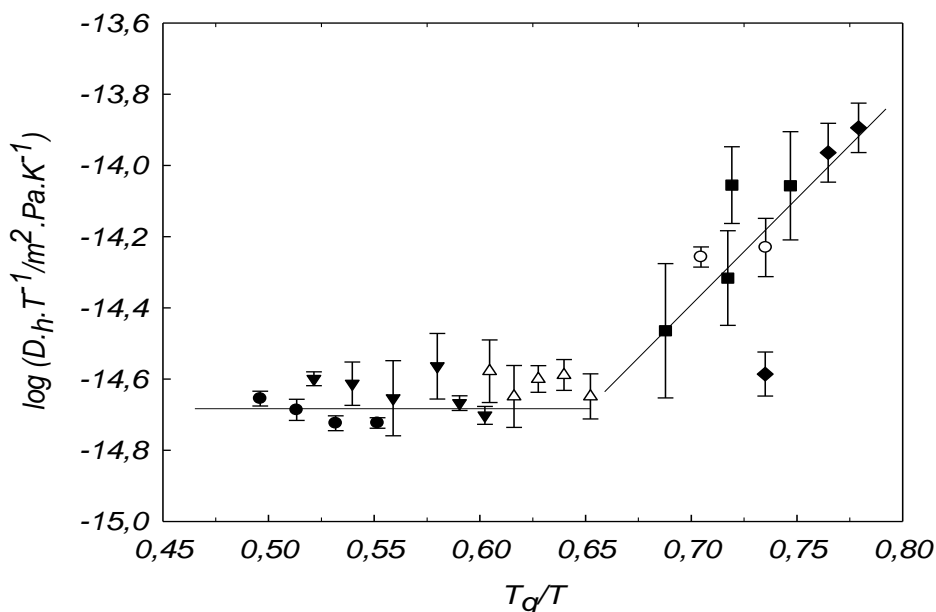
**Figura 4.11:** Gráfico de Arrhenius para las mezclas de glicerol-agua. Fracción en masa de glicerol  $w_2$ : (★) 0,9; (●) 0,8; (▼) 0,7; (◆) 0,6; (▲) 0,4; (■) 0,2.

#### 4.2.2. Desacople difusión-viscosidad: efecto de la composición

El producto de SE,  $D\eta/T$ , se representa en la Figura 4.12 como una función de la inversa de la temperatura reducida,  $T_g/T$ . Es evidente que la relación SE (ecuación 2.22) es válida a altas temperaturas, hasta un valor de  $T_g/T \approx 0,65$ , pero por encima de dicho valor la difusión del FcMeOH en las mezclas agua-glicerol es mayor a lo esperado de acuerdo con la hidrodinámica clásica de Stokes Einstein. En la región de desacople se puede describir el sistema mediante la forma fraccionaria de SE (ecuación 2.25) con  $\zeta = 0,8 \pm 0,1$ .

Aunque la dispersión del producto SE es grande, no se observa una dependencia clara del desacople con la concentración de glicerol en estos sistemas (en el rango desde  $w_2 = 0,70$  hasta  $w_2 = 0,90$ ).





**Figura 4.12:** Relación de Stokes-Einstein para la difusión de FcMeOH en soluciones acuosas de glicerol en función de la inversa de la temperatura reducida,  $T_g/T$ . Concentración de glicerol,  $w_2$ : (◆) 0,90; (■) 0,80; (○) 0,70; (△) 0,60; (▼) 0,40(●); 0,20. Las líneas rectas son solo una guía visual y no una recta de ajuste.

La temperatura reducida para el desacople  $D$ - $\eta$  del FcMeOH en mezclas de agua-glicerol es menor que la reportada en mezclas de agua-sacarosa ( $T_g/T \approx 0,75$ ), pero se encuentra dentro del intervalo de temperaturas reducidas ( $0,61 < T_g/T < 0,67$ ) reportado por Chen *et al.* [32] para el desacople de la difusión de glicerol en mezclas de agua-glicerol. No se aprecia una dependencia aparente del desacople con el contenido de agua, al contrario de lo observado por Chen *et al.* [32], quienes explican dicha dependencia en base a la teoría de "frustración de dominios limitados" (FLD) [33].

Aunque no es del todo claro este proceso de desacople, es aceptado que a medida que crece la viscosidad del sistema, la difusión decrece, pero a altas viscosidades y velocidades relativamente altas de enfriamiento, se puede generar en el sistema zonas donde la estructura del solvente es más desordenada, o sea, aparecen micro heterogeneidades estructurales, una especie de "lagunas de superdifusión". Es por ello

que la difusión presenta valores mucho mayores a los predichos con la hidrodinámica clásica de Stokes-Einstein para sistemas de alta viscosidad.

### 4.2.3 Comparación con resultados previos

La auto-difusión de glicerol en glicerol puro ha sido reportada previamente por otros autores [34, 35], y los resultados aportados por Chang y Sillescu [34] parecen indicar que no hay ruptura de la relación SE. Según Chen *et al.* [32], este tipo de comportamiento es debido a errores sistemáticos en la obtención de los datos de difusión de estos autores.

No obstante, la diferencia principal entre el análisis realizado en este trabajo en comparación con el análisis realizado por Chen *et al.* [32] radica en el tratamiento de los datos de viscosidad. Estos autores calcularon la viscosidad de las mezclas agua-glicerol mediante ajuste de los datos reportados por Segur y Oberstar [36] para glicerol puro y soluciones acuosas de glicerol, y por Schröter y Donth [37] para glicerol puro. El primer conjunto de datos se extiende hasta 273 K, mientras que el segundo cubre el rango de temperatura de 213 K a 323 K. La ecuación utilizada por Chen *et al.* [32] podría dar lugar a desviaciones en varios órdenes de magnitud en los valores de viscosidad, sobre todo en la zona sobreenfriada.

Con el fin de evaluar el efecto de los errores sistemáticos en el cálculo de la viscosidad de soluciones sobreenfriada, se volvió a calcular el producto SE utilizando las viscosidades calculadas con la ecuación 2.15, como se describe en la sección 4.1.2, es decir el mismo conjunto de datos utilizados para describir el producto SE para la difusión de FcMeOH en soluciones acuosas de glicerol. En la Figura 4.13 se muestran los resultados para el producto de SE para la difusión del glicerol en soluciones de glicerol [32,34] y para la difusión del FcMeOH en soluciones acuosas de glicerol.

Chen *et al.* [32] utilizan una expresión empírica para representar la composición de la temperatura de transición vítrea de las mezclas de agua-glicerol.

$$T_g = 190w + 136(1 - w) + 27w(1 - w) \quad (4.5)$$

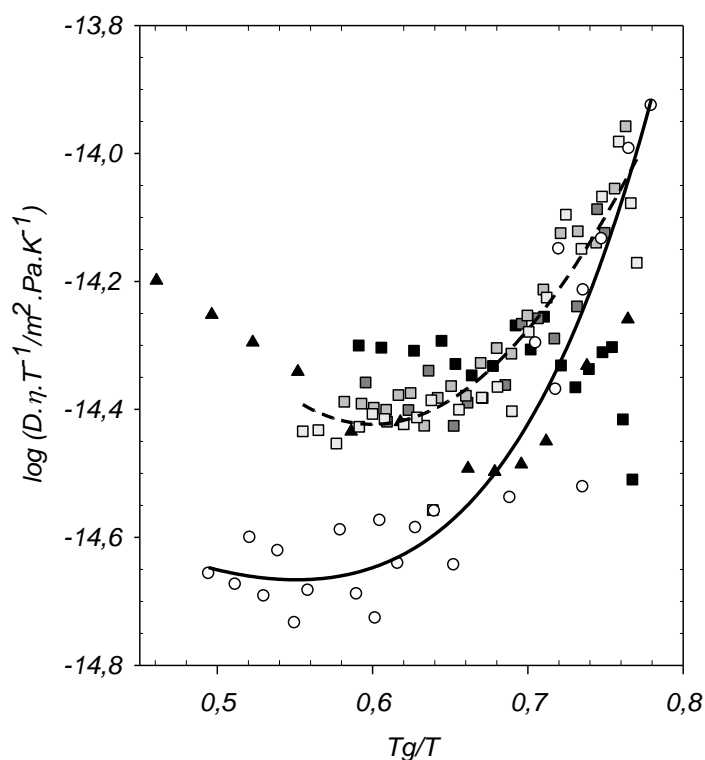
Estos valores de  $T_g$  calculados utilizando la Ecuación 4.5 se presentan en la Tabla 4.7 junto con los valores calculados utilizando la expresión de Gordon-Taylor (ecuación 2.20). Se puede observar que las diferencias alcanzan valores cercanos a 10 K para la solución con  $w_2 = 0,6$ , siendo estas diferencias claramente mayores que los errores típicos en la determinación de este parámetro.

**Tabla 4.7:** Temperatura de transición vítrea para glicerol puro y sus soluciones acuosas determinadas por la ecuación 2.20 y la ecuación 4.5 propuesta por Chen *et al.* [32]

$w_2$	$T_g$ (K)	
	(ec. 2.20)	(ec. 4.5)
1,00	195,5	190,0
0,90	185,9	187,0
0,80	177,9	183,5
0,70	171,1	179,5
0,60	165,1	174,9
0,40	155,5	164,1
0,20	147,9	151,1

En la Figura 4.13 se puede observar que, usando de los datos recalculados de  $T_g$  y de viscosidad, la relación  $D-\eta$ , para la difusión de glicerol exhibe el mismo comportamiento que la difusión del FcMeOH, es decir, el desacople  $D-\eta$  se produce aproximadamente a la misma temperatura reducida inversa  $T_g/T$  para todas las mezclas agua-glicerol con fracciones en masa de glicerol entre  $w_2 = 0,85$  y  $w_2 = 1,00$ . Además, el producto SE para ambos, glicerol y FcMeOH, parecen solaparse en una única curva para bajos valores de  $T_g/T$ . El producto SE calculado con los datos por Chang y Sillescu [34] también exhibe un patrón inesperado, pero al menos aumenta con el aumento de la temperatura reducida. Datos más recientes de difusión de glicerol en mezclas agua-glicerol fueron reportados por Kruk *et al.* [38], quienes encuentran que el

comportamiento de la difusión de glicerol, medido por la técnica de RMN, es similar al observado en este trabajo y muy alejado del reportado por Chen *et al.* [32]. Por el contrario, Chen *et al.* [32] concluyen que la temperatura reducida de desacople para la difusión del glicerol, aumenta sistemáticamente desde 1,50 a 1,63 cuando la concentración de glicerol aumenta de  $w_2 = 0,85$  a  $w_2 = 1,0$ . Esta tendencia no se observa en mezclas de agua-glicerol para los datos de difusión glicerol de Chen *et al.* [32], ni tampoco para los datos de difusión de FcMeOH medidos en este trabajo, cuando se utilizan los datos de viscosidad de la mezcla agua-glicerol ajustados con la ecuación de Avramov-Milchev (ecuación 2.15)



**Figura 4.13:** Producto de Stokes-Einstein para la difusión de glicerol en soluciones acuosas de glicerol en función de la temperatura reducida inversa. Datos de Chen *et al.* [32] para  $w_2$ : (■) 1.00; (■) 0.95; (■) 0.90; (■) 0.85. Datos de Chang y Sillescu [34] para  $w_2$ : (▲) 1.00 y para la difusión de FcMeOH en glicerol (○)

Para valores de  $T_g/T > 0,67$ , dentro el error experimental, la relación SE lleva a un radio de solvatación cercano a  $(0,33 \pm 0,06)$  nm para las condiciones de contorno de deslizamiento, coincidiendo con los valores obtenidos, por encima de la temperatura de desacople, para la difusión de FcMeOH en mezclas agua-sacarosa [39] ( $0,28 \text{ nm} < r < 0,33 \text{ nm}$ ) y cerca del valor del radio cristalográfico de FcMeOH ( $0,27 \text{ nm}$ ) reportado por Takusgawa *et al.* [40]. Por lo tanto, se puede concluir que el FcMeOH se comporta esencialmente como una sonda no solvatada en las mezclas glicerol-agua.

Por encima de la temperatura de desacople, el radio hidrodinámico del glicerol es  $(0,20 \pm 0,03)$  nm, que es menor que el radio del FcMeOH mencionado anteriormente. Este valor se calculó a partir de los valores constantes de  $D\eta/T$  para las mezclas con  $w_2 = 0,90$  y  $w_2 = 0,95$ , ya que para la mezcla con  $w_2 = 0,85$  se observa que la relación  $D\eta/T$  no es estrictamente constante.

Como se discutió en la sección 2.4.1, la relación entre la difusión, la viscosidad y la temperatura se puede expresar de la siguiente forma:

$$\frac{D\eta^\zeta}{T} = cte. \quad (4.6)$$

siendo  $\zeta$  un parámetro de desacople (tomando valores  $\zeta = 1$  cuando se cumple la relación SE, y  $\zeta < 1$  cuando estamos en zona de desacople) que puede utilizarse para describir la auto-difusión o la difusión de las sondas por debajo de la temperatura de desacople y cerca de  $T_g$  [41]. A partir de los datos presentados en las Figuras 4.12 y 4.14, y haciendo un análisis de las pendientes en la región de desacople, obtenemos  $\zeta = 0,8 \pm 0,1$  para el FcMeOH y  $\zeta = 0,83 \pm 0,01$  para el glicerol (excluyendo los datos de glicerol puro). La similitud en los valores de  $\zeta$  es esperable considerando los resultados experimentales [41,42] y teóricos [43] reportados previamente, los cuales indican que para un sistema sobreenfriado de un solo componente,  $\zeta$  es similar para sondas de tamaños comparables y disminuye a medida que disminuye el tamaño de la misma (mayor desacople).

Se podría pensar que las interacciones sonda-solvente podría tener una influencia sobre la magnitud del desacople, al igual que el tamaño de la sonda, principalmente en mezclas binarias donde las interacciones pueden llegar a ser preferenciales con uno de los componentes, dando lugar a una modificación del entorno difusional de la sonda. Para corroborar esta hipótesis, podemos comparar el parámetro de desacople  $\zeta$  obtenido para el FcMeOH en soluciones acuosas de sacarosa ( $\zeta = 0,65 \pm 0,06$ ) [39], con el de fluoresceína disódica en soluciones acuosas de trehalosa ( $\zeta = 0,42 \pm 0,08$ ) [44]. Teniendo en cuenta que estas sondas tienen tamaños similares, creemos que el fuerte desacople observado para la fluoresceína disódica podría deberse a su carácter iónico y las interacciones específicas que esto conlleva, más allá de la diferencia en la naturaleza del medio sobreenfriado utilizado. Si la correlación propuesta entre la interacción y el desacople es válida, entonces la similitud de los parámetros de desacople de FcMeOH y glicerol en soluciones acuosas de glicerol sobreenfriado implicaría que existen interacciones específicas del tipo puente hidrógeno, similares para ambas sondas (FcMeOH y glicerol), con los componentes de la mezcla.

El comportamiento para la auto-difusión de glicerol es completamente diferente dependiendo de la fuente de datos que se utilice en el análisis. El producto  $D\eta/T$  calculado con los datos de Kruk *et al.* [38] parece indicar un desacople en  $T_g/T \approx 0,70$ , similar a la observada para el FcMeOH y glicerol en mezclas de agua-glicerol. Un comportamiento similar se observa para el producto  $D\eta/T$  calculado a partir de los datos por Chang y Sillescu [34] hasta  $T_g/T \approx 0,59$ , aunque con el aumento de la temperatura reducida se observa, un inusual aumento de la relación de SE. Aún más difícil de interpretar es el comportamiento del producto  $D\eta/T$  calculado a partir de los datos reportados por Chen *et al.* [32] Aunque se observa el comportamiento esperado, es decir el producto SE se mantiene constante a altas temperaturas reducidas, para  $T_g/T < 0,74$  ocurre un desacople en dirección opuesta; es decir, el coeficiente de difusión disminuye más rápidamente que el aumento de la viscosidad a medida que disminuye la temperatura. Como ya se señaló, no solo la viscosidad sino también los coeficientes de difusión reportados por Chen *et al.* [32] se desvían claramente de la tendencia general, y

en este caso, un error sistemático en las mediciones de difusión en esa región de baja temperatura podría ser responsable del comportamiento anómalo observado.

Para corroborar la hipótesis de la independencia del desacople de la composición de la solución en función de la temperatura reducida para la difusión traslacional del FcMeOH y glicerol en soluciones acuosas de glicerol, se analizaron los resultados para el tiempo de correlación rotacional ( $\tau_r$ ) de la sonda 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidina-1-oxi (TEMPO), determinado mediante la técnica ESR por Banerjee *et al* [45], en soluciones acuosas de glicerol con fracciones en masa de glicerol en el intervalo  $w_2 = 0,230$  a  $w_2 = 0,965$ .

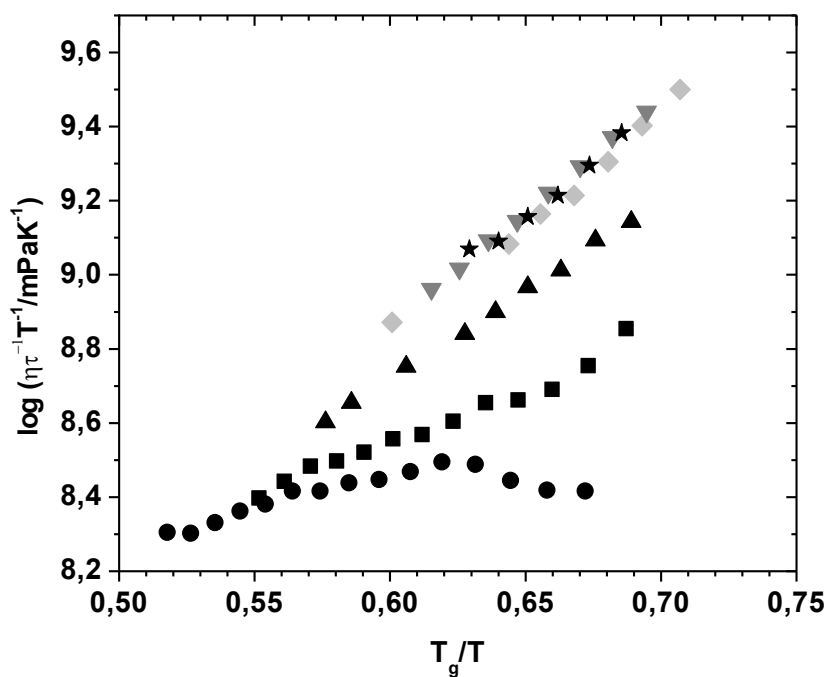
El equivalente rotacional a la relación (traslacional) de SE es la relación Debye-Stokes-Einstein (DSE) [46], que relaciona  $\tau_r$  (o la inversa del coeficiente de difusión rotacional,  $D_r$ ) con la viscosidad del disolvente,  $\eta$ , la temperatura y el radio  $r$  de la sonda.

$$\frac{1}{\tau_r} = \frac{3k_B T}{4\pi\eta r^3} \quad (4.7)$$

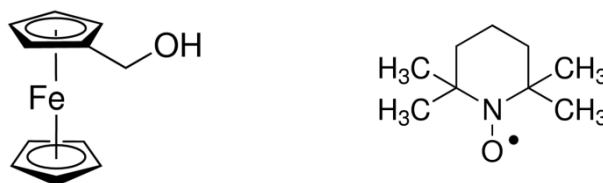
Como se puede observar en la Figura 4.14, para  $w_2 > 0,8$ , la relación de DSE,  $\eta/\tau_r T$ , no es constante, lo que significa que hay un desacople entre el tiempo de relajación rotacional y el estructural (viscosidad). Sin embargo, la magnitud de la disociación es independiente de la composición de la solución, al igual que se observa para la difusión traslacional del FcMeOH y glicerol. Para  $w_2 < 0,8$ , se observa que  $\eta/\tau_r T$  se vuelve dependiente de la composición, probablemente como consecuencia de un cambio en la estructura mesoscópica de la mezcla.

El desacople entre  $\tau_r$  y  $\eta$  para esta sonda se produce a mayor temperatura reducida que la observada para la difusión traslacional de FcMeOH o glicerol. Según Cicerone *et al.* [47], este es un resultado inesperado para el desacople de la dinámica de traslación y de rotación de una sonda en un líquido sobreenfriado, pero debe considerarse que estamos comparando diferentes sondas, FcMeOH y TEMPO (Figura 4.15), en una

mezcla binaria sobreenfriada donde las interacciones específicas de las sondas con los componentes de la mezcla podrían dominar la dinámica.



**Figura 4.14:** Relación Debye-Stokes-Einstein (DSE) de la sonda TEMPO en función de la temperatura reducida inversa en mezclas agua-glicerol con fracciones en masa de glicerol,  $w_2$ : (★) 0,965; (▼) 0,919; (◆) 0,831; (▲) 0,770; (■) 0,654; (●) 0,454.



**Figura 4.15:** Izquierda: ferrocenometanol (FcMeOH): derecha: 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidina-1-oxi (TEMPO).



### 4.3 Soluciones acuosas de glicerol confinadas

En esta sección analizaremos el comportamiento y los cambios sufridos por las mezclas agua-glicerol cuando son sometidas a confinamiento en materiales mesoporosos. En este trabajo en particular, utilizamos sustratos de carbono mesoporoso. Al trabajar con dichos materiales de carbón mesoporoso, podemos analizar no solo el efecto del confinamiento en función de la composición sino también el efecto de las interacciones específicas que pueden experimentar las mezclas agua-glicerol con la superficie de los poros.

#### 4.3.1 Transición vítrea

Se utilizó la técnica de DSC para determinar la temperatura de transición vítrea,  $T_g$ , de las mezclas agua-glicerol sin confinar y confinadas en sistemas mesoporosos.

Según como sea el análisis del termograma, se pueden obtener diferentes valores de  $T_g$ , *onset*, *midpoint* o *endpoint*, como se explicó en la sección 3.4, siendo las dos primeras las más reportadas, pero sin un criterio de elección específico para decidir cuál de ellas tiene mayor peso experimental. En la Tabla 4.8 se presentan los valores de transición vítrea de *onset* y *midpoint* obtenidos en este trabajo para las mezclas agua-glicerol con  $0,50 \leq w_2 \leq 1,00$ . Se puede observar que no hay una gran diferencia entre ambos grupos de datos siendo esta diferencia entre 1 K y 2 K. Si tenemos en cuenta que la incerteza instrumental de la medida es de  $\pm 1$  K, podríamos decir que los valores de  $T_g$  son prácticamente iguales dentro de la dispersión de los datos reportados en bibliografía. Estos resultados obtenidos concuerdan bastante bien con los obtenidos mediante la ecuación de Gordon-Taylor (ecuación 2.20) presentados en la Tabla 4.7 con una diferencia menor al 2%.

Para evitar redundar en datos, se realizó el análisis tomando solamente los valores de  $T_g$  *midpoint*, no observándose diferencia en el análisis tomando los valores de *onset*.

Las medidas de  $T_g$  en las soluciones confinadas, se realizaron para las mismas composiciones de las soluciones preparadas para las mediciones *bulk* (ver sección 3.4.2.). En la última columna de la Tabla 4.8 se resumen los valores de esta propiedad.

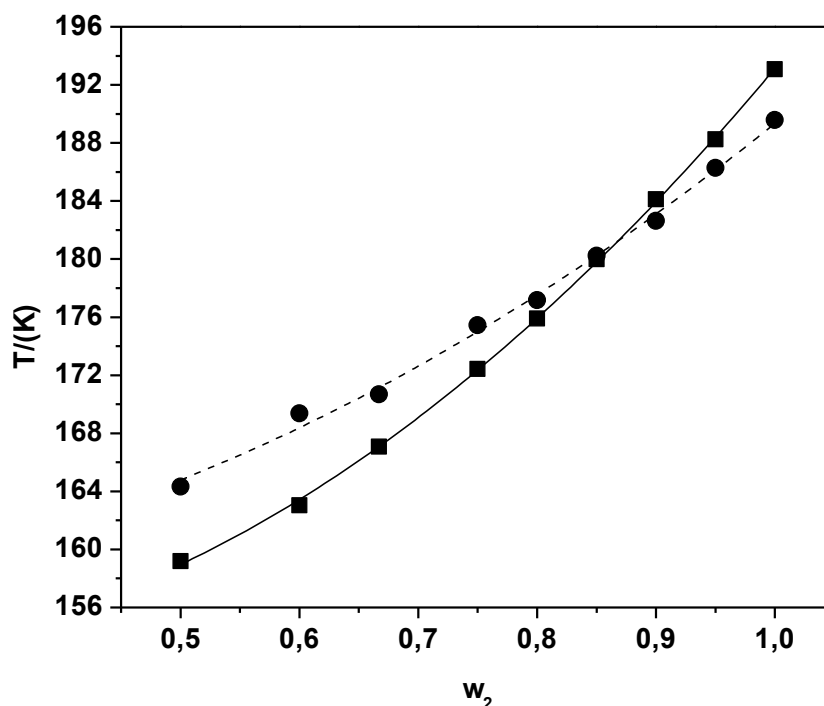
**Tabla 4.8:** Temperatura de transición vítrea de *onset* para mezclas agua-glicerol *bulk* y *midpoint* para mezclas agua-glicerol *bulk* y confinadas.

$w_2$	$T_g$ <i>onset</i> (K)	$T_g$ <i>midpoint</i> (K)	$T_g$ <i>midpoint</i> (K) confinado
0,50	157	159	164
0,60	161	163	169
0,667	165	167	170
0,75	170	172	175
0,80	174	175	177
0,85	178	179	180
0,90	182	184	182
0,95	187	188	186
1,00	191	193	189

En la Figura 4.16 se puede observar que la transición vítrea de las soluciones confinadas presenta dos tendencias. La primera, en la zona de  $0,50 < w_2 < 0,85$ , la transición vítrea de las soluciones confinadas aumenta entre 1 K y 5 K, mientras que en la zona de  $0,85 < w_2 < 1,00$  la transición vítrea disminuye entre 2 K y 4 K respecto al *bulk*.

Probablemente la primera tendencia se deba a una interacción específica de grupos polares presentes en la superficie del carbón con las moléculas de agua de la solución, esto ocasionaría que las soluciones se concentren en glicerol, con lo cual explicaría el aumento en los valores de  $T_g$ . En efecto, si tomamos la máxima diferencia observada, un aumento en 5 K de la transición vítrea, es equivalente a un aumento en concentración en glicerol de aproximadamente 11% en masa, con lo cual la muestra de

carbón cargada con solución  $w_2 = 0,5$  tendría en el centro de los poros una concentración alrededor de  $w_2 = 0,61$ .



**Figura 4.16:** Comparaciones de  $T_g$  en función de la fracción en masa,  $w_2$ : (■) soluciones sin confinar; (●) soluciones confinadas.

No es del todo claro por qué la  $T_g$  de las muestras agua-glicerol confinadas son menores que en el *bulk* en la región concentrada en glicerol ( $w_2 > 0,85$ ), ya que se podría esperar que, en la zona rica en glicerol, la  $T_g$  no se modifique. Sin embargo, se observa una leve disminución, comparable con una dilución. Si analizamos el caso del glicerol puro, se observa la máxima disminución en  $T_g$ , 4 K, en el glicerol confinado. Esta disminución correspondería a una dilución del glicerol puro en un 4% en masa, es decir que  $w_2$  no sería 1,00 sino 0,96. Es posible que la matriz carbonosa utilizada no se encontraba de todo anhidra, a pesar del secado realizado y es por ello que quedó agua remanente en los poros, la cual podría haber diluido las muestras ricas en glicerol.

También es factible pensar que por encima de una cierta fracción molar del glicerol en la mezcla, es el glicerol el que interactúa con las paredes de los poros produciendo un efecto de dilución. Es en todo caso evidente que hacen falta más estudios calorimétricos, complementados con medidas de movilidad de los componentes (por ejemplo a través de estudios de relajación de RMN), para poder explicar en forma satisfactoria las tendencias observadas.

#### 4.4. Referencias

- [1] Yannas I. *Science* 160 (1968) 298-299
- [2] Rasmussen D. H. MacKenzie A. P. *J. Phys. Chem.* 75 (1971) 967-973
- [3] He X., Fowler A., Toner M. *J. Appl. Phys.* 100 (2006) 074702
- [4] International Association for the Properties of Water and Steam (IAPWS). *Release on the IAPWS Formulation 2008 for the Viscosity of Ordinary Water Substance*. Disponible en [www.iapws.org](http://www.iapws.org) (2008)
- [5] Hallett J. *Proc. Phys. Soc.* 82 (1963) 1046-1050
- [6] Eicher L. D., Zwolinski B. J. *J. Phys. Chem.* 75 (1971) 2016-2024
- [7] Harris K. R., Woolf L. A. *J. Chem. Eng. Data* 49 (2004) 1064-1069
- [8] White G., Twining R. *Am. Chem. J.* 50. (1913) 380-389
- [9] Osipov A., Zheleznyi B. V., Bondarenko N. F. *Zh. Fiz. Khim.* 51 (1977) 1264-1265
- [10] Pátek J., Hrubý J., Klomfar J., Součková M. Harvey. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 38 (2009) 21-29
- [11] Tammann G., Hesse W. *Z. Anorg. Allg. Chem.* 156 (1926) 245-247
- [12] Sheely M. L. *Ind. Eng. Chem.* 24 (1932) 1060-1064
- [13] Parks G. S., Gilkey W. A. *J. Phys. Chem.* 33 (1929) 1428-1437
- [14] Piccirelli R., Litowitz T. A. *J. Acous. Soc. Am.* 29 (1957) 1009-1020
- [15] Huck J., Bondeau A., Noyel G., Jorat L. *IEEE Trans. Electr. Ins.* 23 (1988) 615-625
- [16] Schöter K., Donth E. *J. Chem. Phys.* 113 (2000) 9101-9108
- [17] Segur J. B., Oberstar H. E. *Ind. Eng. Chem.* 43 (1951) 2117-2120
- [18] Dow Company web page, <http://www.dow.com/glycerine/resources/table22.htm>
- [19] Magazú S., Migliardo F. *J. Phys.: Condens. Matter.* 20 (2008) 104202

- 
- [20] Stickel F., Fischer E. W., Richert R. *J. Chem. Phys.* 102 (1995) 6251-6257
- [21] Chen Y. M., Pearlstein A. J. *Ind. Eng. Chem. Res.* 26 (1987) 1670-1672
- [22] Longinotti M. P., Corti H. R. *J. Phys. Chem. Ref. Data.* 37 (2008) 11503-11515
- [23] Génotelle J. *Ind. Alim. Agric.* 95 (1978) 747-755
- [24] Harran D. *Bull. Soc. Chim. France 1-2.* (1978) 40-44
- [25] Ablett S., Izzard M. J., Lillford P. J. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* 88 (1992) 789-794
- [26] Jabrane S., Létoffé J. M., Counioux J. J., Claudy P. *Thermochim. Acta* 290 (1996) 31-41
- [27] Murthy S. S. N. *Cryobiology* 36 (1998) 84-96
- [28] Bohon R. L., Conway W. T. *Thermochim. Acta* 4 (1972) 321-341
- [29] Luyet B., Rasmussen D. H. *Biodinamica.* 10 (1967) 137-147
- [30] Longinotti M. P., Corti H. R. *J. Phys. Chem. B* 113 (2000) 5500-5507
- [31] Rampp M., Buttersack C., Lüdemann H. D. *Carbohydr. Res.* 328 (2000) 561-572
- [32] Chen B., Sigmund E. E., Halperin W. P. *Phys. Rev. Lett.* 96 (2006) 145502
- [33] Kivelson S. A., Zhao X., Kivelson D., Fisher T. M., Knobler C. M. *J. Chem. Phys.* 101 (1994) 2391-2397
- [34] Chang I., Silescu H. *J. Phys. Chem. B* 101 (1997) 8794-8801
- [35] Hrovat M. I., Wade C. G. *J. Magn. Reson.* 44 (1981) 62-75
- [36] Segur J. B., Oberstar H. E. *Ind. Eng. Chem.* 43 (1951) 2117-2120
- [37] Schröter K., Donth E. *J. Chem. Phys.* 113 (2000) 9101-9108
- [38] Kruk D., Meier R., Rössler E. A. *J. Phys. Chem. B* 115 (2011) 951-957
- [39] Longinotti M. P., Corti H. R. *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 1444-1450
- [40] Takusagawa F., Koetzle T. F. *Acta Crystallogr. Sect. B* 35 (1979) 1074-1081
- [41] Heuberger G., Sillescu. H. *J. Phys. Chem.* 100 (1996) 15255-15260
- [42] Rajian J. R., Quitevis E. L. *J. Chem. Phys.* 126 (2007) 224506
- [43] Xia X., Wolynes P. G. *J. Phys. Chem. B* 105 (2001) 6570-6573
- [44] Corti H. R., Frank G. A., Marconi M. C. *J. Phys. Chem. B* 112 (2008) 12899-12906
- [45] Banarjee D., Bhat S. V. *J. Non-Cryst. Solids.* 355 (2009) 2433-2438
- [46] Debye P. *Polar Molecules*, (1929) Dover: New York
- [47] Cicerone M. T., Blackburn F. R., Ediger M. D. *J. Chem. Phys.* 102 (1995) 471-4799

## 5. CONCLUSIONES Y PROYECCIONES

### 5.1. Viscosidad de soluciones acuosas de glicerol: medidas y modelos

Se realizó un amplio análisis de todos los datos disponibles para las viscosidades de agua, glicerol y sus mezclas sobre un amplio rango de temperaturas, que incluye la región sobreenfriada, hasta 239,15 K en el caso del agua, y hasta 193,15 K para el glicerol. La falta de datos de viscosidad para las mezclas agua-glicerol en la zona sobreenfriada nos llevó a extender las medidas de viscosidad de las mismas en la región de composiciones  $0,70 \leq w_2 \leq 0,90$  y también en glicerol puro.

Se ha demostrado que las viscosidades de los componentes puros pueden describirse dentro del error experimental utilizando diferentes ecuaciones empíricas, aunque el modelo de Avramov-Milchev [1] (ecuación 2.15), con sólo dos parámetros ajustables, describe muy razonablemente la dependencia de la viscosidad sobre un amplio ámbito de temperatura y composición.

El análisis de los datos extendidos de la viscosidad de mezclas agua-glicerol revela que, en contraste con el resultado previamente obtenido en otras soluciones acuosas de polioles crioprotectores (sacarosa y trehalosa) reportados por el grupo de trabajo, la dependencia de la viscosidad con la temperatura y la composición no se puede describir mediante la ecuación empírica de Genotelle (ecuación 2.9). El muy buen ajuste de la viscosidad de las mezclas agua-glicerol, sobre todo el intervalo de temperatura y composiciones en las que se dispone de datos experimentales, utilizando la ecuación de Avramov-Milchev indica que la misma es una buena herramienta para extrapolar las viscosidades de la mezcla a temperaturas cercanas a la transición vítrea.

En base a esto se calculó la viscosidad de las mezclas agua-glicerol, en todo el rango de composiciones, a partir de 273,15 K hasta 238,15 K. La concordancia con los datos experimentales en la región de líquido estable es también muy buena, lo que hace que nuestras predicciones (extrapolaciones) en la región sobreenfriada sean muy confiables.

## 5.2. Desacople difusión-viscosidad en sistemas sobreenfriados.

La difusión de ferrocenometanol en mezclas de glicerol-agua sobreenfriadas se midió a través de una técnica cronoamperométrica utilizando microelectrodos cilíndricos. Variando la temperatura y la composición de la solución, se determinó el coeficiente de difusión de la sonda cubriendo casi cinco órdenes de magnitud en viscosidad, lo que permitió el análisis de la validez de la relación de Stokes-Einstein en función de la temperatura reducida. Se observó el desacople difusión-viscosidad por debajo de  $T_g/T = 0,65 \pm 0,02$ , pero sin observarse una dependencia con la composición de la solución, ya que el comportamiento observado sigue una tendencia común para todas las composiciones estudiadas ( $0,70 \leq w_2 \leq 0,90$ ). Este resultado difiere del descrito anteriormente por Chen *et al* [2] para el desacople difusión-viscosidad en soluciones acuosas de glicerol, donde la temperatura reducida para el desacoplamiento de la difusión de glicerol parece disminuir con el aumento del contenido de agua. Un análisis exhaustivo de la viscosidad de las mezclas de glicerol-agua en la región sobreenfriada nos permitió concluir que las discrepancias son sólo aparentes ya que Chen *et al* [2] utilizaron valores extrapolados de viscosidad, desde la región estable a la región sobreenfriada, usando una ecuación no adecuada para tal fin. Cuando se utilizan valores de viscosidad adecuadamente extrapolados (ecuación de Avramov-Milchev) para la viscosidad de las mezclas en la región sobreenfriada, la ruptura de la relación de Stokes-Einstein en este sistema es independiente de la composición de la mezcla glicerol-agua. Los resultados para el tiempo de correlación rotacional de la sonda TEMPO en glicerol acuoso, reportados en la literatura, también apoyan esta conclusión.

Por lo tanto, los resultados de este trabajo para soluciones acuosas de glicerol, junto con los resultados reportados previamente para soluciones acuosas de sacáridos, incluidos sacarosa y trehalosa, informados por este grupo de trabajo [3-6], nos permiten concluir que el desacople en soluciones acuosas de polioles sobreenfriados es independiente del contenido de agua en las soluciones ricas en polioles. Esto, desde el punto de vista práctico, tiene importantes implicancias en la criopreservación, donde los sistemas sobreenfriados son ampliamente utilizados.

Por otra parte, se demostró que los modelos de volumen libre para la viscosidad y coeficientes de difusión utilizando parámetros obtenidos por los datos experimentales de ajuste en la región lejos de las regiones sobreenfriadas y vítreas, conducen a predicciones para el producto Stokes-Einstein que son incompatibles con los resultados experimentales y predicen de forma incorrecta la tasas de deterioro de las biomoléculas, llevando a sobreestimaciones de su tiempo de vida en estos medios de crioprotectores.

### 5.3. Transición vítrea en soluciones acuosas de glicerol

Mediante las medidas de  $T_g$  con la técnica DSC, pudimos corroborar que el modelo de Gordon-Taylor para predecir el valor de transición vítrea de las soluciones acuosas de glicerol, arroja resultados confiables para toda composición de la mezcla. Así, los valores de temperatura de transición vítrea *onset* y *midpoint*, obtenidos mediante los termogramas, pueden ajustarse correctamente con la ecuación 2.20.

Las soluciones confinadas presentan temperaturas de transición vítrea mayor que las soluciones *bulk* en la zona rica en agua y valores menores de transición vítrea con respecto a las soluciones *bulk* en la zona rica en glicerol. No es del todo clara la tendencia observada, pero posiblemente se deba a una interacción específica del agua o del glicerol con la superficie del poro donde se encuentran confinada la solución, según la concentración de la mezcla agua-glicerol. Esto llevaría a un efecto de concentración o dilución en glicerol del líquido en los poros, modificando consecuentemente la



temperatura de transición vítrea. No puede descartarse tampoco la presencia de agua residual en los poros (persistentes aún después del secado) que pueden diluir la solución en los poros, disminuyendo la temperatura de transición vítrea con respecto a las soluciones *bulk*, un efecto que sería más notable en el caso de soluciones muy concentradas en glicerol.

#### 5.4. Proyecciones

Varios experimentos que no pudieron realizarse dentro del periodo de ejecución de esta Tesis son factibles de ser realizados en el futuro para completar el estudio del sistema agua-glicerol. Entre ellos se pueden mencionar los siguientes:

1. Determinar las viscosidades en la región sobreenfriada para las mezclas ricas en agua, lo cual plantea un compromiso experimental ya que es difícil obtener medidas confiables sin que ocurra la cristalización de la solución. De lograrse estas medidas, se podría corroborar la aplicabilidad del modelo de Avramov-Milchev en todo rango de concentración y temperatura para las mezclas agua-glicerol.
2. Ampliar las medidas electroquímicas de difusión utilizando sondas de mayor tamaño molecular con el objetivo de obtener información sobre las dimensiones de las heterogeneidades estructurales y/o dinámicas del sistema cuando se aproxima a  $T_g$ , y analizar si se produce desacople  $D$ - $\eta$  cuando la sonda es de tamaño comparable al de los dominios con diferente estructura o movilidad.
3. Realizar mediciones de coeficiente de difusión de ferrocenometanol en glicerol puro con otra técnica no electroquímica, ya que el glicerol puro genera una corriente de oxidación, lo cual no permite lograr buenos resultados bajo control difusional.
4. Además de repetir las mediciones de transición vítrea en mezclas agua-glicerol confinadas para ratificar las tendencias observadas sería interesante funcionalizar la superficie del poro variando la hidrofiliidad/ hidrofobicidad y analizar su interacción

con el agua y como ello cambia la temperatura de transición vítrea en el sistema confinado. También sería de interés estudiar la movilidad de los componentes de la mezcla en el sistema confinado recurriendo, por ejemplo, a estudios de relajación por RMN.

## 5.5. Referencias

- [1] Avramov I., Milchev A. *J. Non-Cryst. Solids* 104 (1988) 253-260
- [2] Chen B., Sigmund E. E., Halperin W. P. *Phys. Rev. Lett.* 96 (2006) 145502
- [3] Champion D., Hevert H., Blond G., Le Meste M., Simatos D. J. *Phys. Chem. B* 101 (1997) 10674–10679
- [4] Rampp M., Buttersack C., Lüdemann H. D. *Carbohydr. Res.* 328 (2000) 561–572
- [5] Corti H. R., Frank G. A., Marconi M. C. J. *Phys. Chem. B* 112 (2008) 12899–12906
- [6] Longinotti M. P., Corti H. R. *Electrochem. Commun.* 9 (2007) 1444–1450
- [7] Velasco, M.I, Franzoni, M.B, Franceschini, E.A, Gonzalez Solveyra, E, Scherlis, D., Acosta, R.H, Soler-Illia, G.J.A.A. *J. Phys. Chem. C* 121 (2017) 7533-7541