

**PREDICCIÓN DE LA GRAVEDAD ESPECÍFICA DE ASFALTENOS POR  
ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA Y QUIMIOMETRÍA**

**VIVIANA RODRIGUEZ AMADO**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2012**

**PREDICCIÓN DE LA GRAVEDAD ESPECÍFICA DE ASFALTENOS POR  
ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA Y QUIMIOMETRÍA**

**VIVIANA RODRIGUEZ AMADO**

**Trabajo de investigassem para optar al título de Química**

**Director:  
ENRIQUE MEJÍA OSPINO  
Qco, Ph. D**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2012**

*A mis padres, Sofía Amado y José Rodríguez por su apoyo incondicional.....*

*A mis hermanos y familia que han estado con migo en las diferentes etapas de mi vida*

*A mis amigos y compañeros por vivir a mi lado tantos momentos y formar parte de mi diario vivir.*

## CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
INTRODUCCIÓN	12
1. MARCO TEÓRICO. ESTADO DEL ARTE	14
1.1 GENERALIDADES DEL PETRÓLEO	14
1.2 ASFALTENOS	14
1.3 GRAVEDAD ESPECÍFICA	16
1.4 ESPECTROSCOPIA MOLECULAR	17
1.5 SPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA	18
1.5.1 Características de la espectroscopia de fluorescencia.	19
1.5.2 Variables que afectan la fluorescencia.	20
1.5.2.1 Rendimiento Cuántico.	20
1.5.2.2 Tiempo de vida media.	21
1.5.2.3 Estructura.	21
1.5.2.4 Concentración.	21
1.5.3 Instrumentación en la espectroscopia de fluorescencia.	23
1.6 QUIMIOMETRÍA	23
1.6.1 Calibración multivariable	24
1.6.2 Construcción de modelos de calibración multivariable.	28
1.6.3 Métodos de pre tratamiento de datos.	29
1.6.3.1 Suavizado espectral.	29
1.6.3.2 Derivación (primera y segunda) derivadas.	29
1.6.3.3. Normalización.	29
1.6.4 Validación del modelo.	29
2. PARTE EXPERIMENTAL	31

2.1 SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS	31
2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA	32
2.3 ADQUISICIÓN DE LOS DATOS ESPECTROSCÓPICOS	34
2.3.1 Verificación del desempeño del espectrofluorímetro	34
2.3.2 Espectros de fluorescencia.	36
2.4 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS	36
2.4.1 Pre tratamiento de los datos:	36
2.4.2 Análisis por componentes principales (PCA):	37
2.5 CONSTRUCCIÓN DEL MODELO DE PREDICCIÓN.	37
2.5.1 Calibración:	37
2.5.2 Validación:	38
3. RESULTADOS	39
3.1 ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (ACP)	39
3.2 REGRESIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS (PLS)	43
3.2.1 Error calculado en función del número de componentes.	44
3.2.2 Coeficientes de regresión.	45
3.2.3 Validación del modelo.	46
4. CONCLUSIONES	48
5. RECOMENDACIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	50

## LISTADO DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
Figura 1. Separación de asfaltenos en el petróleo	15
Figura 2. Diagrama de Jablonski	19
Figura 3. Corrimiento de Stokes.	20
Figura 4. Clasificación de los métodos de calibración multivariable.	25
Figura 5. Representación gráfica de los componentes principales PC <sub>1</sub> y PC <sub>2</sub> .	27
Figura 6. Esquema metodológico	31
Figura 7. Soluciones de asfaltenos	33
Figura 8. Espectros de asfaltenos en cloroformo a (5,10 y 30 ppm)	33
Figura 9. Espectrofluorímetro <i>PTI</i> Quantamaster QM-2000-6SE	34
Figura 10. Espectro de fluorescencia Asf 166391. (10 repeticiones)	35
Figura 11. Espectros de Fluorescencia de catorce asfaltenos Colombianos.	36
Figura 12. Espectros de fluorescencia normalizados.	37
Figura 13. Varianza explicada	40
Figura 14. Prueba T <sup>2</sup> de Hotelling.	40
Figura 15. Gráfico de Loadings. PC1 y PC2.	41
Figura 16. Gráfico de scores.	43
Figura 17. Varianza explicada en el modelo PLS.	44
Figura 18. Error calculado en función del número de componentes.	45
Figura 19. Coeficientes de regresión.	46
Figura 20. Gráfico de predicción.	47

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Clasificación del petróleo con base en su densidad.	17
Tabla 2. Densidad de catorce asfaltenos colombianos.	32
Tabla 3. Desviación estándar porcentual para la muestra 166391.	35
Tabla 4. Valores de varianza explicada y acumulada.	39
Tabla 5. Parámetros estadísticos del modelo de predicción.	43
Tabla 6. Predicción de la gravedad específica.	47

## RESUMEN

**TÍTULO** PREDICCIÓN DE LA GRAVEDAD ESPECÍFICA DE ASFALTENOS POR ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA Y QUIMIOMETRÍA\*.

**AUTOR:** VIVIANA RODRIGUEZ AMADO\*\*

### **PALABRAS CLAVES**

FLUORESCENCIA, ASFALTENOS, PCA, PLS, GRAVEDAD ESPECÍFICA.

### **DESCRIPCIÓN**

En el presente trabajo se determinó el potencial de la espectroscopia de fluorescencia y la quimiometría en la predicción de propiedades fisicoquímicas de interés como la gravedad específica de asfaltenos colombianos; las muestras de asfaltenos analizadas fueron proporcionadas por el Instituto Colombiano de Petróleo (ICP). Los espectros de fluorescencia se obtuvieron en el espectrofluorímetro modular PTI Quantamaster QM-2000-6SE.

Para la predicción de la gravedad específica se desarrolló un modelo matemático a partir de los espectros de fluorescencia de asfaltenos. Se utilizó la técnica quimiométrica análisis por componentes principales (PCA) para reducir las variables y clasificar las muestras, posteriormente se obtuvo el modelo de predicción correlacionando de forma lineal los datos espectrales con la gravedad específica utilizando regresión por mínimos cuadrados (PLS-R)

El modelo de predicción desarrollado explica el 99.9 % de la varianza para dos componentes principales PC1 y PC2. La validación del modelo se realizó mediante validación cruzada mostrando resultados satisfactorios con un error estándar de predicción (SEP) de 0.0914, el coeficiente de correlación  $R^2$  entre el valor de referencia y el valor predicho por el modelo fue de 0.99. El error relativo en los valores de gravedad específica de referencia y los predichos estuvo en un rango entre 0.84% y 6.4%.

---

\* Trabajo de Grado

\*\* Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Director PhD Enrique Mejía Ospino

## SUMMARY

**TITLE:** PREDICTION OF THE SPECIFIC GRAVITY OF ASPHALTENES BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRICS\*

**AUTHOR** VIVIANA RODRIGUEZ AMADO\*\*

**KEY WORDS** FLUORESCENCE, ASPHALTENES, PCA, PLS, SPECIFIC GRAVITY.

### DESCRIPTION

In the present work the potential of fluorescence spectroscopy and the chemometrics in the prediction of physicochemical properties of interest such as specific gravity of colombians asphaltenes was determined; asphaltenes samples to be analyzed were provided by the Colombian Petroleum Institute (ICP). The fluorescence spectra were acquired using a modular PTI QM-2000-6SE Quantmaster spectrofluorimeter.

In order to predict the specific gravity a mathematical model based on the asphaltenes fluorescence spectra was developed. For the chemometrics a principal component analysis (PCA) was used to reduce the variables and classify the samples, subsequently a prediction model that correlates spectral data with specific gravity using partial least squares regression (PLS-R) was obtained.

The prediction model explained the 99.9 % of the variance for two principal components PC1 and PC2. Validation of the model was performed using cross validation, showing satisfactory results with a standard error of prediction (SEP) of 0.0914, the correlation coefficient  $R^2$  between the reference value and the predicted one by the model was 0.99. The relative error in the specific gravity values of reference and predicted ranged between 0.84% and 6.4% respectively.

In the present work the potential of fluorescence spectroscopy and the chemometrics in the prediction of physicochemical properties of interest such as specific gravity of colombians asphaltenes was determined; asphaltenes samples to be analyzed were provided by the Colombian Petroleum Institute (ICP).

---

\* Work Degree

\*\* Sciences Faculty. Chemistry School. Directress: Enrique Mejía Ospino.

## INTRODUCCIÓN

Los asfaltenos son hidrocarburos con estructura molecular extremadamente compleja que representan la fracción más pesada de crudo; precipitan durante el proceso de producción del petróleo, cuando las propiedades de los fluidos de este varían debido a los cambios en la temperatura, presión y composición. <sup>[1]</sup>

Debido a sus características químicas generan problemas en la extracción, procesamiento y transporte del crudo. Los asfaltenos son los responsables de taponamiento de tuberías ya que presentan alta viscosidad y capacidad de asociación intermolecular adhiriéndose a las tuberías, válvulas y líneas de flujo, de contaminación ambiental debido a la presencia de metales pesados en su estructura como níquel y vanadio lo que los hace difícilmente biodegradables, de reducción en la producción de productos destilables ya que son resistentes a la refinación, entre otros. <sup>[2,3]</sup>

Los inconvenientes generados por esta familia de compuestos y adicionalmente la tendencia por analizar crudos pesados, los cuales representan un porcentaje importante en las reservas mundiales y nacionales de petróleo, han despertado gran interés en el estudio de su composición y propiedades fisicoquímicas; su conocimiento permitirá definir las condiciones adecuadas de almacenamiento y tratamiento de forma que no representen un inconveniente durante el proceso de producción. De igual forma es importante encontrar el proceso más eficiente de extraerlos del crudo antes del proceso de refinación, como también determinar posibles aplicaciones que permitan el aprovechamiento de esta fracción del petróleo. <sup>[4,5]</sup>

Los métodos tradicionales de análisis permiten caracterizar los componentes de los compuestos de hidrocarburos más simples, más livianos, con un número de carbono inferior o igual a 36 aproximadamente; desafortunadamente no son aplicables a sustancias tan complejas como los asfaltenos, por esto se requiere de otras herramientas para extraer la información de interés, como estudios espectroscópicos que han desempeñado un papel importante en el estudio del petróleo y de sus productos derivados. <sup>[6]</sup>

Por lo descrito anteriormente se ha trabajado en la implementación de nuevas técnicas como la fluorescencia, acompañada de métodos quimiométricos con los cuales se realiza el tratamiento estadístico de los datos obtenidos y se obtiene la información de interés. <sup>[7-9]</sup> Dentro de estos métodos quimiométricos implementados para la determinación de las propiedades fisicoquímicas de asfaltenos se encuentran el método de análisis de componentes principales, PCA, que consiste en la reducción de las variables iniciales (que son gran cantidad) a un número inferior sin que haya pérdida de información importante; y el método de regresión parcial por mínimos cuadrados, PLS, el cual utiliza la mayor cantidad de información para la predicción de las muestras en el análisis de componentes principales. El método PLS resulta de gran utilidad cuando el objetivo del análisis es la predicción. <sup>[10,11]</sup>

## 1. MARCO TEÓRICO. ESTADO DEL ARTE

### 1.1 GENERALIDADES DEL PETRÓLEO

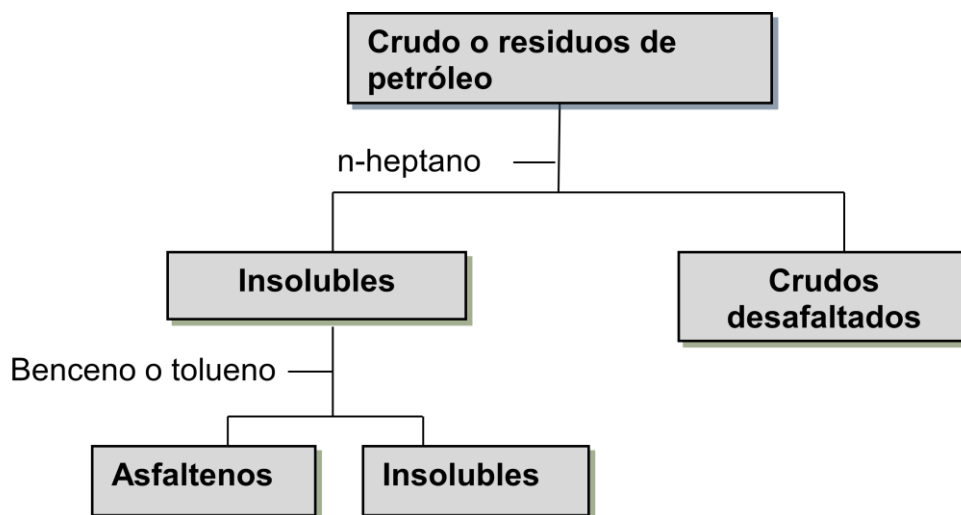
El petróleo está compuesto por una mezcla compleja de hidrocarburos; presenta además azufre y nitrógeno en una proporción variable (0.1-5%) que depende de la procedencia del crudo. Sus componentes se han distribuido en cuatro grupos principales conocidos como fracción SARA, a saber, hidrocarburos acíclicos saturados o parafínicos, aromáticos, resinas y asfaltenos. <sup>[14]</sup>

Las características físicas y químicas del petróleo dependen de la concentración que tenga de los distintos tipos de hidrocarburos, saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos, así el petróleo pesado presenta un mayor porcentaje de asfaltenos y resinas que el petróleo liviano, de igual forma el porcentaje de heteroátomos también aumenta. El petróleo pesado no puede ser producido, transportado y refinado por los procesos establecidos para el petróleo ligero, por esta razón es muy importante la caracterización de los diferentes tipos de petróleo (liviano y pesado). <sup>[14]</sup>

### 1.2 ASFALTENOS

Los asfaltenos corresponden a la fracción del petróleo soluble en solventes aromáticos (tolueno, benceno), pero insoluble en solventes parafínicos, (n-heptano, n-pentano), como se observa en la **figura 1**. <sup>[1]</sup>

**Figura 1. Separación de asfaltenos en el petróleo**



**Fuente:** MARROQUIN, G. Formación de sedimentos durante el hidrotratamiento catalítico de crudos pesados. <sup>[14]</sup>

La estructura y el peso molecular de los asfaltenos han sido estudiados por diferentes técnicas, a saber: espectroscopia de fluorescencia (FS), espectrofotometría de infrarrojo (IR), resonancia magnética nuclear (RMN) y difracción de rayos (DR-X); en algunos estudios estas técnicas han estado acompañadas de modelamientos matemáticos y simulaciones computacionales; los resultados obtenidos son explicados por tres modelos excluyentes entre sí pero consistentes con los datos espectroscópicos. El primer modelo propone que los asfaltenos están compuestos por grandes condensados aromáticos (10-40 anillos) rodeados por largas cadenas alifáticas; el segundo modelo consiste en pequeños núcleos aromáticos (4-10 anillos) unidos por cadenas alifáticas; el tercer modelo consiste en un solo núcleo aromático rodeado de pequeñas cadenas alifáticas. <sup>[15-18]</sup>

En la estructura molecular de los asfaltenos también están presentes heteroátomos como azufre (S), nitrógeno (N) y oxígeno (O). El nitrógeno se encuentra principalmente como parte de los conjuntos aromáticos (pirrol y

piridina), mientras que el oxígeno y el azufre forman puentes entre ellos en una estructura cíclica o lineal. <sup>[12]</sup>

En el petróleo, los asfaltenos, los alcanos y las resinas, forman un sistema estable en forma de suspensión coloidal, donde los alcanos actúan como solventes, los asfaltenos como agregados y las resinas como estabilizadores; dicho sistema puede ser alterado o desestabilizado por cambios en la temperatura, presión, o composición del crudo, dando lugar a la precipitación de los asfaltenos. <sup>[3]</sup>

El fenómeno descrito anteriormente conocido como agregación de asfaltenos representa uno de los mayores inconvenientes en las diferentes etapas de producción, transporte y procesamiento del crudo, razón por la cual ha sido el objeto de estudios en diferentes investigaciones, donde se concluye que este fenómeno está relacionado con la clase de solvente y la concentración en que se encuentren presentes los asfaltenos. <sup>[1, 5,19]</sup>

### 1.3 GRAVEDAD ESPECÍFICA

La gravedad específica es la razón entre el peso de una sustancia y el peso de un volumen igual de agua a una temperatura específica. Es de gran importancia en la industria del petróleo porque permite caracterizar de manera preliminar si el crudo o un subproducto es liviano o pesado; se relaciona con la densidad en grados API (*American Petroleum Institute*) por medio de la ecuación (1).

$$^{\circ}API = \frac{141.5}{\text{Grav.Especif. a } 60^{\circ}F} - 131.5 \quad (1)$$

El grado API es una escala arbitraria de la lectura de la gravedad específica que tiene como base la densidad del agua (10° API). La clasificación del crudo con base en la densidad API se muestra en la **tabla 1**.

**Tabla 1. Clasificación del petróleo con base en su densidad.**

Tipo de crudo	°API	Densidad (Kg/m <sup>3</sup> )
Liviano	>31.1	< 870
Medio	22.3-31.3	920-870
Pesado	10-22.3	1000-920
Extra pesado	<10	>1000

#### **1.4 ESPECTROSCOPIA MOLECULAR**

La espectroscopia molecular hace referencia a la interacción de la materia con la radiación electromagnética en la región de longitudes de onda comprendida entre 185 y 780 nm; esta interacción está restringida a un grupo limitado de compuestos conocidos como cromóforos que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas.

Los espectros electrónicos de este tipo de compuestos son similares a una banda ancha que parece ser continua esto se da como resultado del solapamiento de líneas que causa la superposición de las transiciones vibracionales sobre las transiciones electrónicas; por esta razón realizar un análisis teórico detallado sobre este tipo de espectros es difícil, no obstante a partir de consideraciones teóricas sobre los orbitales moleculares se pueden obtener conclusiones concernientes al tipo de transiciones electrónicas responsables de un espectro.

## Transiciones electrónicas.

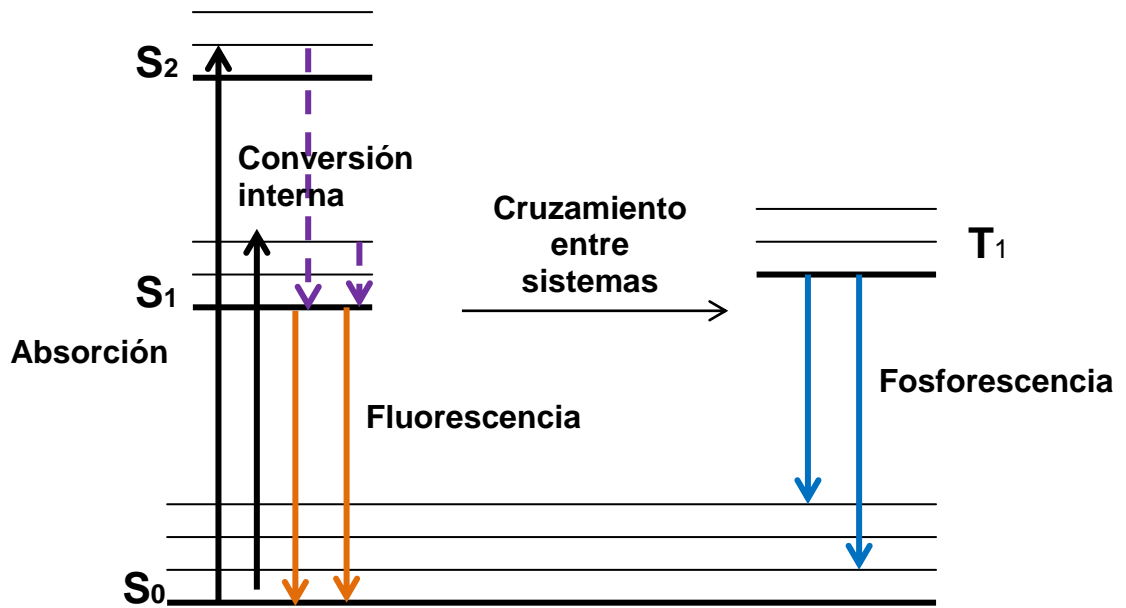
En la absorción molecular se presentan cuatro tipos de transiciones electrónicas que son: transiciones  $\sigma \rightarrow \sigma^*$ ; son las que requieren mayor energía para llevarse a cabo, transiciones  $n \rightarrow \sigma^*$ ; se presentan en compuestos saturados que contienen pares de electrones no compartidos y requieren menos energía que las anteriormente descritas,  $n \rightarrow \pi^*$  y  $\pi \rightarrow \pi^*$ ; estas dos clases de transiciones energéticas están implicadas en la mayoría de las aplicaciones de espectroscopia de absorción molecular en compuestos orgánicos, la energía requerida para esta transición da picos de absorción dentro de una región de longitudes de onda bastante accesible (200-700 nm), estas transiciones requieren de grupos funcionales no saturados que contengan los electrones  $\pi$  y de átomos como oxígeno, nitrógeno, azufre y halógenos en donde se encuentran los electrones tipo n.

## 1.5 SPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA

La fluorescencia es uno de los dos procesos de fotoluminiscencia, en el cual una especie química (molécula o átomo) es excitada con radiación electromagnética, y posteriormente regresa a su estado fundamental liberando energía en forma de fotones. El proceso de fluorescencia es ilustrado mediante el diagrama de Jablonski (**figura 2**), el cual muestra una transición energética que se da cuando un electrón que se encuentra en un estado singlete basal  $S_0$ , pasa a un nivel de mayor energía, esto es, el estado singlete excitado  $S_2$  y por relajación no radiativa pasa al nivel excitado de menor energía  $S_1$ , de donde regresa nuevamente a su estado basal por emisión de fluorescencia (energía luminosa).

[22]

Figura 2. Diagrama de Jablonski

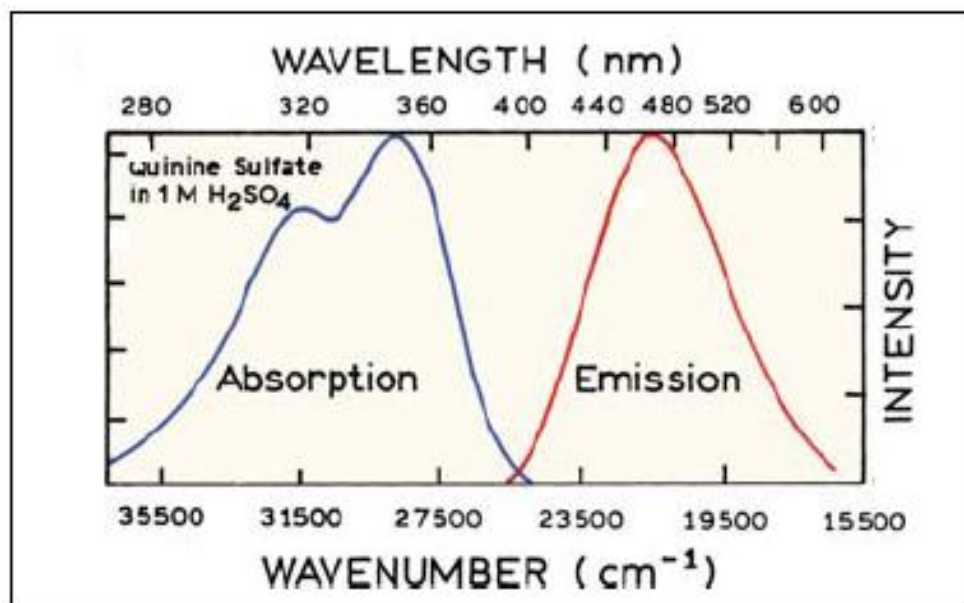


Fuente: Lakowicz J. Principles of Fluorescence Spectroscopy. <sup>[22]</sup>

### 1.5.1 Características de la espectroscopia de fluorescencia.

Las bandas de fluorescencia presentan longitudes de onda mayor y por tanto de menor energía que la radiación responsable de la excitación de la molécula o especie química; este desplazamiento hacia longitudes de onda mayores se conoce como desplazamiento de Stokes, y lo podemos observar en la figura 3. <sup>[22]</sup>

Figura 3. Corrimiento de Stokes.



Fuente: Lakowicz Joseph. Principles of Fluorescence Spectroscopy.<sup>[22]</sup>

Los datos espectrales de fluorescencia se presentan en un espectro de emisión, en el cual se grafica la intensidad de la señal vs la longitud de onda en cm<sup>-1</sup>. El espectro de fluorescencia varía según la estructura química de la molécula fluorescente y del solvente en el que esta se encuentre disuelta.

### 1.5.2 Variables que afectan la fluorescencia.

La intensidad de la fluorescencia es afectada por algunos factores, a saber: rendimiento cuántico, estructura, tiempo de vida media, concentración.

**1.5.2.1 Rendimiento Cuántico.** El rendimiento Cuántico ( $Q$ ) es la relación entre los fotones emitidos y los fotones absorbidos, y se halla por medio de la ecuación (2)

$$Q = \frac{\tau}{\tau + K_{nr}} \quad (2)$$

En esta ecuación se relacionan los procesos por los que la especie excitada regresa al estado fundamental, en particular la tasa de emisión del fluoroforo ( $\tau$ ), y su tasa de decaimiento no radiativo ( $K_{nr}$ ); el valor más alto del rendimiento cuántico corresponde a la unidad y lo presentan las moléculas altamente fluorescentes como la fluoresceína; las moléculas no fluorescentes tienen un rendimiento cuántico cercano a cero.

**1.5.2.2 Tiempo de vida media.** Es el tiempo promedio que pasa la molécula en el estado excitado antes de volver al estado basal, generalmente este tiempo es de 10 ns; es corto porque existen diversos procesos mediante los cuales una molécula excitada pierde su exceso de energía y regresa al estado fundamental, y se describe por la siguiente ecuación (3)

$$\tau = \frac{1}{\tau + K_{nr}} \quad (3)$$

**1.5.2.3 Estructura.** El fenómeno de fluorescencia está limitado a sistemas con características estructurales que favorecen cinéticamente los procesos de relajación o desactivación acompañados de emisión de radiación; dichos sistemas están conformados por moléculas que contienen anillos aromáticos y moléculas que presentan enlaces dobles conjugados. La eficiencia aumenta con el número de anillos y con el grado de conjugación y la sustitución en los anillos aromáticos genera el desplazamiento en los valores de la longitud de onda de absorción máxima y en los picos de fluorescencia. <sup>[9,22,23]</sup>

**1.5.2.4 Concentración.** La concentración de la muestra se relaciona con la potencia  $P$  de la radiación fluorescente por medio de la ley de Beer, <sup>[22]</sup> descrita en la ecuación (4):

$$\frac{P}{P_0} = 10^{-\epsilon bc} \quad (4)$$

y la potencia de la radiación fluorescente **F** es proporcional a la potencia radiante del haz de excitación absorbido por el sistema de la siguiente manera:

$$F = K'(P_0 - P) \quad (5)$$

En donde  $P_0$  es la potencia del haz incidente sobre la disolución,  $P$  es su potencia después de atravesar la longitud  $b$  del medio y  $K'$  es constante y depende de la eficacia cuántica del proceso de fluorescencia; relacionando las dos ecuaciones anteriores se obtiene la ecuación (6):

$$F = K'P_0 (1 - 10^{-\epsilon bc}) \quad (6)$$

Este término exponencial se desarrolla como una serie de MacLaurin de la siguiente forma:

$$F = K'P_0 \left( 2,303 \epsilon bc - \frac{(2,303 \epsilon bc)^2}{2!} + \frac{(2,303 \epsilon bc)^3}{3!} \right) \quad (7)$$

Si en la expresión anterior se cumple que  $2,303 \epsilon bc < 0,05$ , el segundo y tercer término son pequeños comparados con el primero; si adicionalmente  $P_0$  permanece constante, la expresión anterior se reduce a la ecuación (8):

$$F = Kc \quad (8)$$

En donde se observa que la potencia de la radiación fluorescente  $F$  es proporcional a la concentración; este comportamiento está limitado a valores bajos de concentración, como lo evidencia la serie de MacLaurin. Cuando la concentración es elevada el valor de  $F$  disminuye. <sup>[4]</sup>

### **1.5.3 Instrumentación en la espectroscopia de fluorescencia.**

En la espectroscopia de fluorescencia se utilizan dos tipos generales de instrumentos dependiendo del dispositivo óptico que use para aislar la luz: espectrofluorómetros que usan monocromadores para aislar la luz incidente y la luz fluorescente, y los fluorómetros de filtro que en lugar de monocromadores usan filtros; sin embargo, ambos instrumentos presentan un sistema óptico que consta de una fuente seguida de un filtro o un monocromador, para regular la luz incidida sobre la muestra, posteriormente la luz emitida por la muestra pasa por un segundo monocromador, que enfoca la radiación emitida por la muestra a un fotomultiplicador y finalmente la señal es amplificada y recolectada por un software; este sistema está ubicado en paralelo a un sistema de referencia.

### **1.6 QUIMIOMETRÍA**

La quimiometría es el procesamiento de señales analíticas por medio de métodos matemáticos y estadísticos; su objetivo es obtener información clara y confiable a partir de los datos espectroscópicos. Surgió como respuesta a la necesidad de modelar sistemas químicos multivariables, es decir sistemas en los que los datos dependen de más de una variable simultáneamente. <sup>[24]</sup>

La quimiometría trabaja en matrices de datos que se han obtenido como el resultado de medir una o más variables a un objeto o muestra, las cuales se combinan para formar variables latentes o factores que contengan la información original de la muestra. <sup>[25,26]</sup>

Una de las técnicas quimiométricas más importantes es la calibración, la cual consiste en usar datos empíricos y conocimientos previos para predecir información cuantitativa desconocida. Dependiendo de la dimensionalidad de los

datos obtenidos la calibración puede ser univariable o multivariable, para el caso de la espectroscopia los datos obtenidos son de naturaleza multivariable. [27,28]

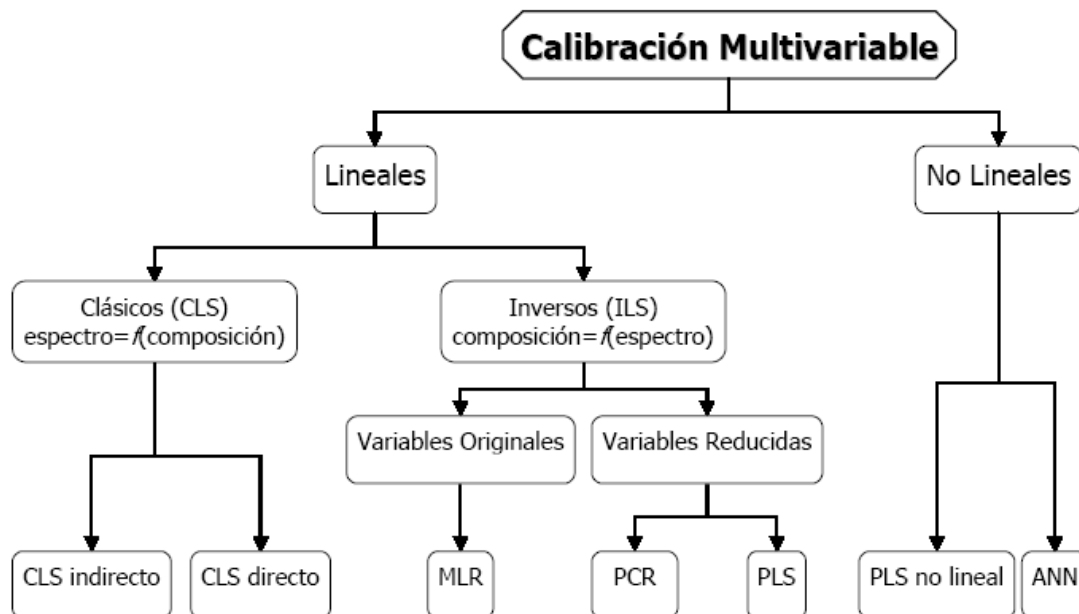
### **1.6.1 Calibración multivariable**

La calibración multivariable es una herramienta matemática selectiva y confiable en el análisis cuantitativo, utiliza múltiples variables obtenidas experimentalmente ( $X_1, X_2, X_3 \dots X_n$ ), para determinar una variable desconocida  $Y$ ; durante la calibración se hallan los parámetros del modelo de calibración que contiene la función predictiva  $Y = f(X)$ , el cual va a ser utilizado en la predicción de la variable desconocida. [27,28]

#### **Métodos de calibración multivariable.**

Existen diversos métodos de calibración multivariable los cuales se pueden clasificar siguiendo diferentes criterios, como se observa en la figura 4. [27]

**Figura 4. Clasificación de los métodos de calibración multivariable.**



**Fuente:** VALDÉS Dámarih. Estudio de la influencia de parámetros físicos en la construcción de modelos de calibración en la espectroscopia en el Infrarrojo Cercano. <sup>[27]</sup>

Los métodos inversos PLS y PCR son los más empleados en la espectroscopia de fluorescencia, por lo que a continuación discutiremos los aspectos más relevantes de cada uno de ellos. <sup>[24-28]</sup>

**- Regresión en componentes principales (PCR).** La regresión en componentes principales se basa en concentrar la información contenida en las variables originales en un número más pequeño de variables o factores (componentes principales), sin perder la información relevante. Esta técnica de calibración multivariable se realiza en dos pasos, los cuales se explican a continuación:

**Paso 1.** Análisis por componentes principales (**PCA**): es la técnica quimiométrica más utilizada en los diferentes análisis químicos en general, <sup>[24]</sup> esto se debe a su facilidad para ser aplicada y lo útil que resulta la información que suministra.

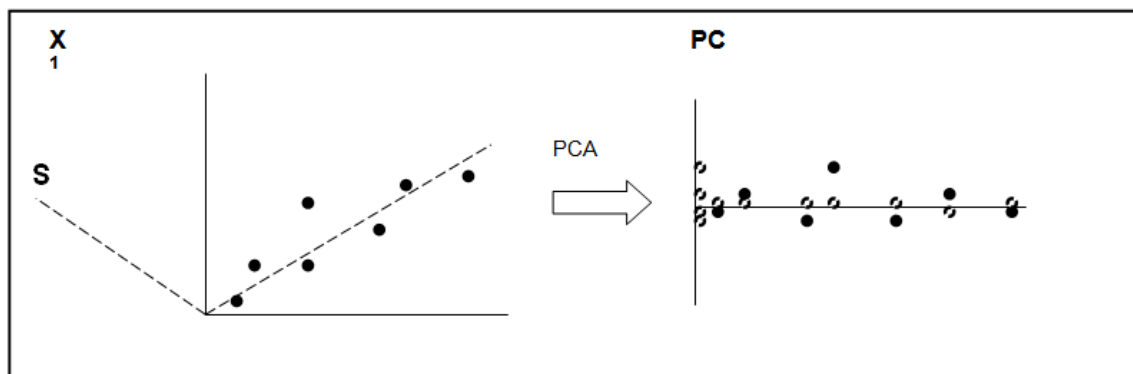
Consiste en reducir las variables ( $X_1, X_2, X_3 \dots X_n$ ) correspondientes a la matriz de datos, a través de los denominados componentes principales (PC), que son combinaciones lineales de las variables originales; de esta forma para  $n$  variables los dos primeros componentes principales son:

$$\begin{aligned} PC_1 &= a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + \dots + a_{1n}X_n \\ PC_2 &= a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + a_{23}X_3 + \dots + a_{2n}X_n \end{aligned}$$

Donde  $a_{i1} - a_{in}$ , son las cargas (*loadings*), es decir los pesos de las variables originales sobre la combinación lineal, los cuales indican cuánto aporta cada variable a la construcción del modelo; cada componente principal explica la variabilidad existente entre los datos, y va disminuyendo de tal forma que el  $PC_1$  explica la mayor variabilidad y el  $PC_n$  la menor. <sup>[24]</sup>

PCA se aplica cuando los datos son colineales; esta colinealidad significa que la información principal de las variables se puede condensar en conjuntos más pequeños; de esta forma un modelo de componentes principales consiste en agrupar los vectores de datos en ejes ortogonales determinados en dirección de la máxima varianza, estos ejes tienen un origen común (**figura 5**) y deben ser ortogonales entre sí, de esta forma se garantiza que no exista correlación entre los componentes. <sup>[24, 29]</sup>

Figura 5. Representación gráfica de los componentes principales  $PC_1$  y  $PC_2$ .



Fuente: MILLER N, James. Estadística y Quimiometría para Química Analítica. [25]

**Paso 2.** Regresión múltiple inversa de la propiedad a determinar sobre el análisis de componentes principales.

- **Regresión parcial por mínimos cuadrados (PLS).** El método PLS es una herramienta útil cuando el objetivo del análisis es la predicción; fue desarrollado en 1975 por H. Wold, en el cual se realiza una descomposición en factores al igual que en PCA, pero esta técnica relaciona la concentración con la matriz de respuestas e intenta contener la mayor cantidad de información en los primeros componentes para la predicción de la variable de interés en las diferentes muestras; PLS comprime las variables originales en un número de variables latentes (VL) usualmente más pequeño que el número de variables originales. [30]

En los casos en los que se calcula una sola propiedad de Y, el algoritmo recibe el nombre de PLS1, cuando se calculan simultáneamente más de una propiedad el algoritmo recibe el nombre de PLS2. [31,32]

### **1.6.2 Construcción de modelos de calibración multivariable.**

El objetivo de los métodos de calibración multivariable es establecer modelos capaces de predecir el valor de la propiedad estudiada para nuevas muestras a las que se les ha registrado la señal analítica; para ello se deben llevar a cabo las siguientes etapas. <sup>[28, 29]</sup>

-Definición de un conjunto de calibración (selección de las muestras): el conjunto de calibración se caracteriza principalmente por ser representativo del sistema en estudio, y de él se debe conocer la propiedad a determinar.

Registro de la información analítica: la información analítica se obtiene mediante espectros de fluorescencia, en esta etapa se deben definir las condiciones experimentales óptimas para la recolección de los datos y realizar la preparación previa de la muestra.

Pretratamiento de los datos: En esta etapa se minimizan las contribuciones no deseadas presentes en la señal analítica que disminuyen la reproducibilidad, para ello se utilizan métodos matemáticos que permitan reducir el ruido y aumentar la relación señal/ruido; los métodos más utilizados se describen más adelante.

Selección del modelo quimiométrico: teniendo en cuenta las características del sistema objeto de estudio y lo que se pretende determinar, se selecciona un modelo quimiométrico; para ello es necesario establecer la relación más sencilla entre la propiedad a determinar y la señal analítica.

Validación del modelo: La validación del modelo implica su aplicación a un número de muestras de las que se conoce la propiedad a determinar y que no han sido utilizadas en la etapa de construcción del modelo.

Predicción de la propiedad: finalmente con el modelo construido y validado, se calcula la propiedad estudiada en nuevas muestras a las que previamente se ha registrado la señal analítica.

### **1.6.3 Métodos de pre tratamiento de datos.**

Antes de realizar cualquier cálculo es necesario realizar un pre tratamiento a los datos ya sea de regresión o de clasificación; algunos de los más utilizados se describen a continuación:

**1.6.3.1 Suavizado espectral.** Mediante el suavizado se reduce el ruido aleatorio existente en la señal instrumental, se utiliza cuando la relación señal/ruido es pequeña. La técnica más utilizada es la propuesta por Savitzky Golay.

**1.6.3.2 Derivación (primera y segunda) derivadas.** La diferenciación o cálculo de derivadas permite acentuar las diferencias existentes en los datos espectrales; al igual que el suavizado, esta transformación es relevante para variables que son función de otra variable como los datos espectroscópicos.

**1.6.3.3. Normalización.** La normalización consiste en llevar todos los vectores (fila o columna) de la matriz de datos a igual escala, con el objetivo de estandarizar la medida; existen tres tipos de normalización: media de la normalización, máxima normalización y normalización por rangos. <sup>[28,29]</sup>

### **1.6.4 Validación del modelo.**

La validación de un modelo de calibración consiste en la verificación de la funcionalidad del modelo para predecir muestras distintas a las utilizadas en la calibración; se realiza aplicando el modelo a un grupo de muestras independiente del utilizado en la calibración y comprobando que no exista un error sistemático

entre las predicciones que realiza el modelo y los valores proporcionados por el método de referencia. Esta validación puede ser interna o externa. [27-29]

Para la validación externa se utilizan dos grupos de muestras, el primer grupo corresponde a las muestras de calibración y el segundo grupo a un conjunto de prueba o test set; este debe ser elevado y deben ser muestras independientes, pero representativas de las del conjunto de calibración. La propiedad que se predice de las muestras del test set es conocida y por lo tanto es posible comprobar el comportamiento del modelo frente a muestras diferentes a las utilizadas en la construcción del modelo.

La validación interna se denomina validación cruzada y se utiliza cuando el número de muestras es pequeño; en este caso las muestras utilizadas para comprobar el modelo pertenecen al conjunto de calibración, el método consiste en dividir el conjunto de muestras de calibración en segmentos. Estos segmentos menos uno (segmento utilizado en comprobar el modelo) son utilizados en la construcción del modelo. El proceso se repite un número de veces igual al número de segmentos, finalmente se calcula el *MSECV (Mean Squared Error of Prediction by Cross Validation)*, Error de mínimos cuadrados de predicción por validación cruzada, por medio de la ecuación (15).

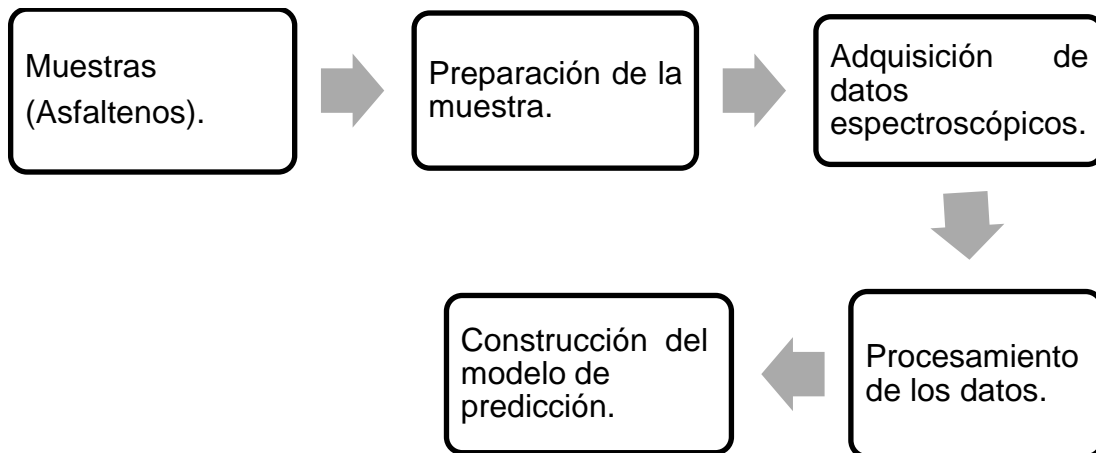
$$MSECV = \frac{\sum_{i=1}^{m_c} (y_{ij} - \hat{y}_{ij})^2}{m_c} \quad (15)$$

Donde  $m_c$  es el número de muestras utilizadas en la calibración, en el segmento de validación cruzada,  $y_{ij}$  es el valor calculado por el modelo y  $y_{ij}$  es el valor de referencia. [5, 9,10]

## 2. PARTE EXPERIMENTAL

Este trabajo de grado forma parte de una serie de proyectos de investigación que ha venido realizando el Laboratorio de Espectroscopia Atómica y Molecular (LEAM) en un convenio de cooperación tecnológica con el Instituto Colombiano de Petróleo (ICP) con el objetivo de caracterizar el petróleo y sus fracciones; <sup>[35-38]</sup> se desarrolló siguiendo la metodología descrita en la **figura 6**.

**Figura 6. Esquema metodológico**



### 2.1 SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Se estudiaron catorce muestras de asfaltenos provenientes de crudos de diferentes zonas de explotación petrolífera de Colombia proporcionadas por el Instituto Colombiano de Petróleo ICP, junto con su respectivo valor de densidad (**tabla 2**).

**Tabla 2. Densidad de catorce asfaltenos colombianos.**

<b>NOMBRE ASFALTENO</b>	<b>DENSIDAD Kg/m<sup>3</sup></b>
*ASF 140554	1.08135
ASF 140599	1.07048
ASF 145774	1.10851
ASF 147887	1.12913
ASF 147888	1.11917
ASF 148680	1.10942
ASF 152682	1.09117
ASF 166391	1.14217
ASF 168829	1.10286
ASF 168830	1.12868
ASF 172067	1.08028
ASF 173567	1.14223
ASF 174891	1.1002
ASF 175347	1.08392

---

\*Asfalteno.

## **2.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

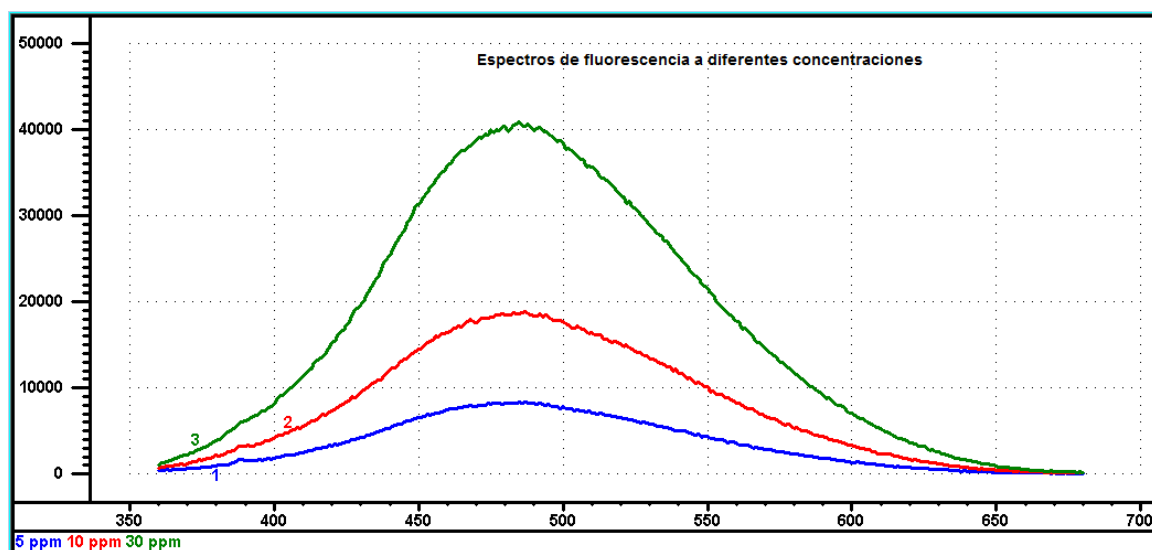
Con las catorce muestras de asfaltenos se prepararon soluciones en Cloroformo a diferentes concentraciones (5, 10 y 30 ppm), de esta forma se evaluó la solubilidad de las muestras de asfalteno en el respectivo solvente **figura 7**.

**Figura 7. Soluciones de asfaltenos**



Posteriormente se tomaron espectros de fluorescencia a las soluciones mencionadas anteriormente y se observó que la solución cuya concentración correspondía a 30 ppm (curva verde) presentaba una intensidad en la señal de fluorescencia considerablemente mayor comparada con las soluciones de 5 y 10 ppm, por lo tanto se determinó que 30 ppm es la concentración adecuada para el análisis **figura 8**.

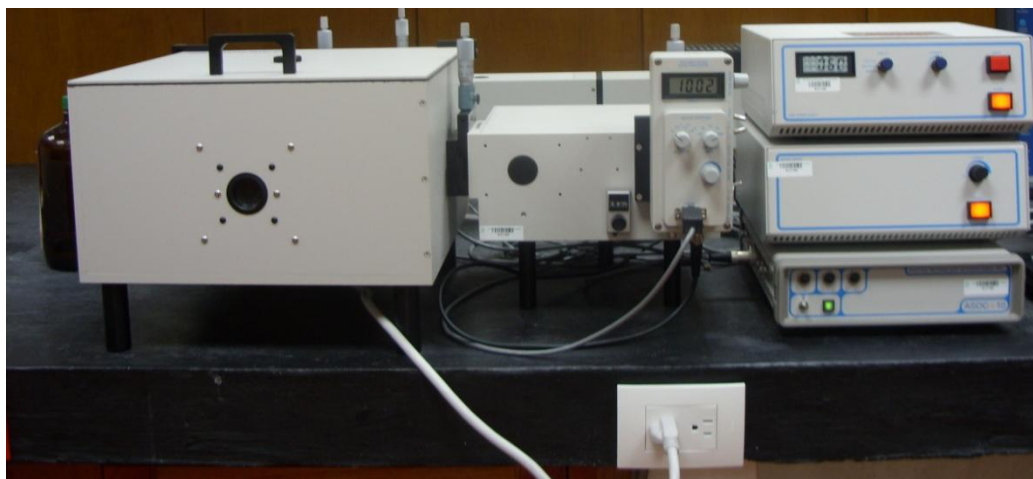
**Figura 8. Espectros de asfaltenos en cloroformo a (5,10 y 30 ppm)**



## 2.3 ADQUISICIÓN DE LOS DATOS ESPECTROSCÓPICOS

Los espectros de fluorescencia se obtuvieron en el espectrofluorímetro modular *PTI* Quantmaster QM-2000-6SE (**figura 9**) a una longitud de onda de excitación de 353 nm.

**Figura 9. Espectrofluorímetro *PTI* Quantmaster QM-2000-6SE**



### 2.3.1 Verificación del desempeño del espectrofluorímetro

Se realizó una prueba de repetibilidad en las medidas de fluorescencia; para ello se calculó la desviación estándar porcentual en dos longitudes de onda de fluorescencia de 10 espectros que se pueden ver en la **figura 10**, correspondientes a una muestra de asfalteno (ASF 166391) a una concentración de 30 ppm; los resultados se encuentran en la **tabla 3**.

Figura 10. Espectro de fluorescencia Asf 166391. (10 repeticiones)

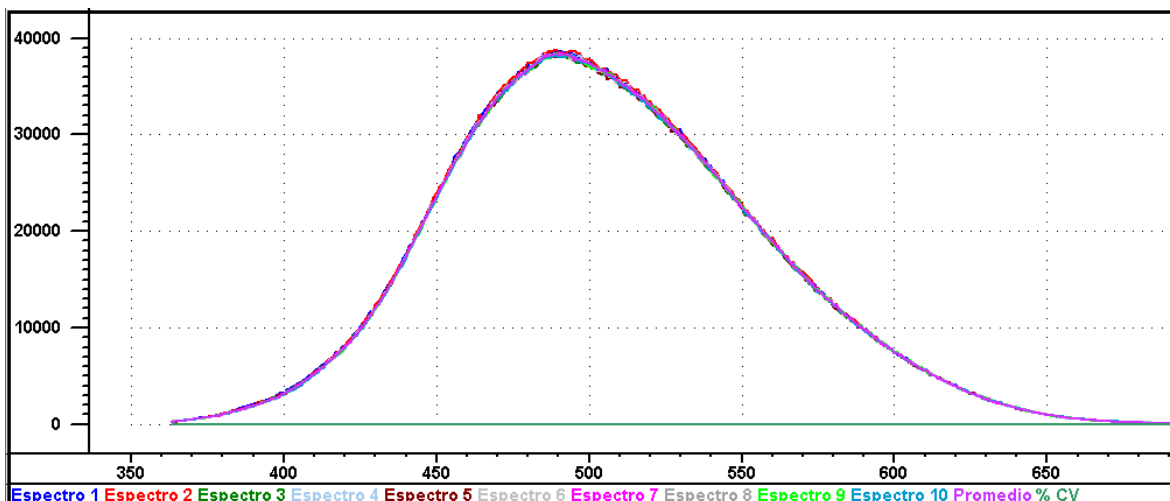


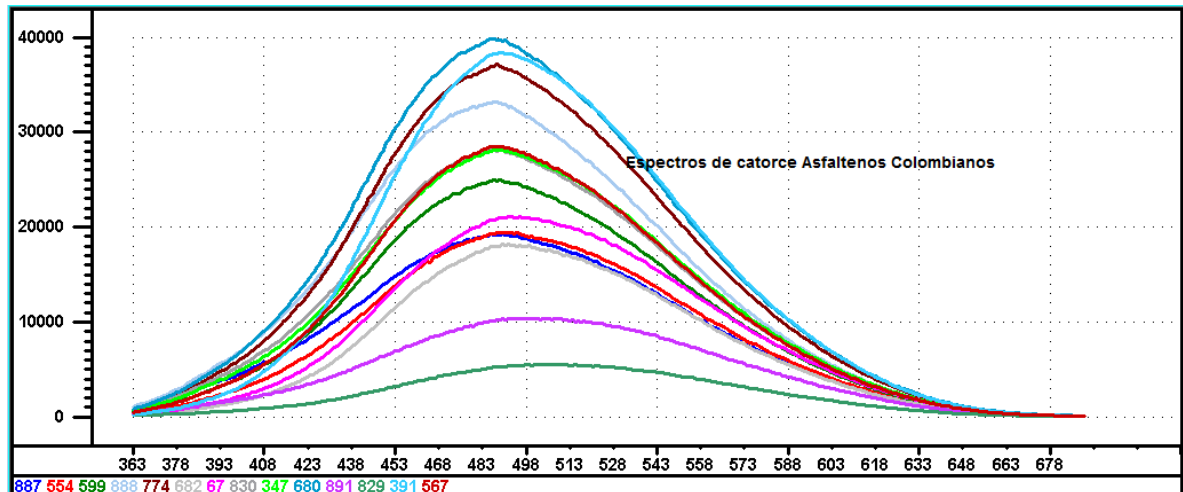
Tabla 3. Desviación estándar porcentual para la muestra 166391.

Espectro	Intensidad 490 nm	Intensidad 493 nm
1	38620.29617	38465.90672
2	38551.30201	38619.76964
3	38189.52456	37890.73932
4	38406.31528	38153.14293
5	38387.90639	38127.48392
6	38370.09572	38304.00512
7	38296.93066	38371.10642
8	38539.69148	38349.14756
9	37949.69033	38313.12604
10	38002.51017	38120.49083
Promedio	38331.42628	38204.95267
% CV	0.590241546	0.406113337

### 2.3.2 Espectros de fluorescencia.

Los espectros de fluorescencia se obtuvieron realizando cinco mediciones por muestra y calculando su espectro promedio **figura 11**.

**Figura 11. Espectros de Fluorescencia de catorce asfaltenos Colombianos.**



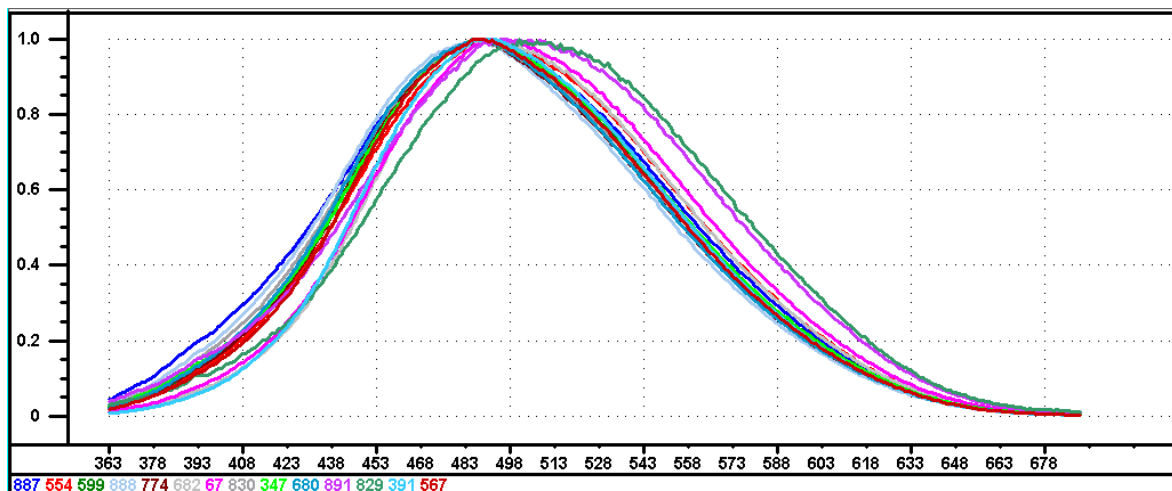
## 2.4 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS

Los datos espectroscópicos obtenidos fueron analizados utilizando el software Unscrambler 9.7. [39]

### 2.4.1 Pre tratamiento de los datos:

Se realizó un procesamiento previo al conjunto de datos que consistió en la normalización máxima, cuyo objetivo es estandarizar la medida de tal forma que se minimice la variabilidad de los datos debido a diferencias en la escala; para ello el software toma como valor de referencia para cada muestra la magnitud del espectro visto como vector. Los espectros normalizados se pueden observar en la **figura 12**.

**Figura 12. Espectros de fluorescencia normalizados.**



#### **2.4.2 Análisis por componentes principales (PCA):**

Se realizó una descomposición de los datos espectroscópicos en componentes principales (CP), con la finalidad de conocer si existía alguna discriminación entre el grupo de muestras; además este análisis dió una idea preliminar del número de componentes principales que explica la mayor variabilidad de los datos.

### **2.5 CONSTRUCCIÓN DEL MODELO DE PREDICCIÓN.**

La construcción del modelo de predicción de la gravedad específica, se realizó utilizando el algoritmo matemático PLS y el programa de análisis multivariado THE UNSCRAMBLER (CAMO) y se desarrolló en dos etapas, a saber:

#### **2.5.1 Calibración:**

En donde se eligió el número de componentes principales y de muestras teniendo en cuenta el análisis de componentes principales (**PCA**) realizado previamente; finalmente la selección del modelo de predicción se llevó a cabo con base en los

parámetros estadísticos RMSEP (raíz cuadrada del error de predicción), RMSEC (raíz cuadrada del error de calibración) y la varianza explicada.

### **2.5.2 Validación:**

La validación del modelo se realizó utilizando el método de validación cruzada, la cual es de gran utilidad cuando la cantidad de muestras a estudiar es pequeña.

### 3. RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados correspondientes al análisis por componentes principales (**PCA**) y la regresión multivariable por mínimos cuadrados (**PLS**) realizado al conjunto de datos obtenido por espectroscopia de fluorescencia de catorce muestras de asfaltenos.

#### 3.1 ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (ACP)

La descomposición en componentes principales en donde cada componente principal es una combinación lineal de las longitudes de onda de fluorescencia multiplicadas por un coeficiente de regresión lineal que indica el peso o influencia de cada una de estas variables sobre el respectivo componente; permitió realizar una clasificación preliminar al grupo de muestras con base en la correlación presente, encontrándose que dos componentes principales (**PC1 y PC2**) describen el 99.897% de la varianza acumulada, y que un tercer componente principal (**PC3**), describe apenas el 0,1% de la varianza (**tabla 4 y figura 13**); con base en la varianza explicada se determinó que dos es el número de componentes principales óptimo para realizar el análisis por PCA.

**Tabla 4. Valores de varianza explicada y acumulada.**

<b>Componente Principal</b>	<b>Varianza explicada</b>	<b>Varianza explicada Acumulada</b>
PC1	99.360	99.360
PC2	0.537	99.897
PC3	0.1	99.997

Figura 13. Varianza explicada

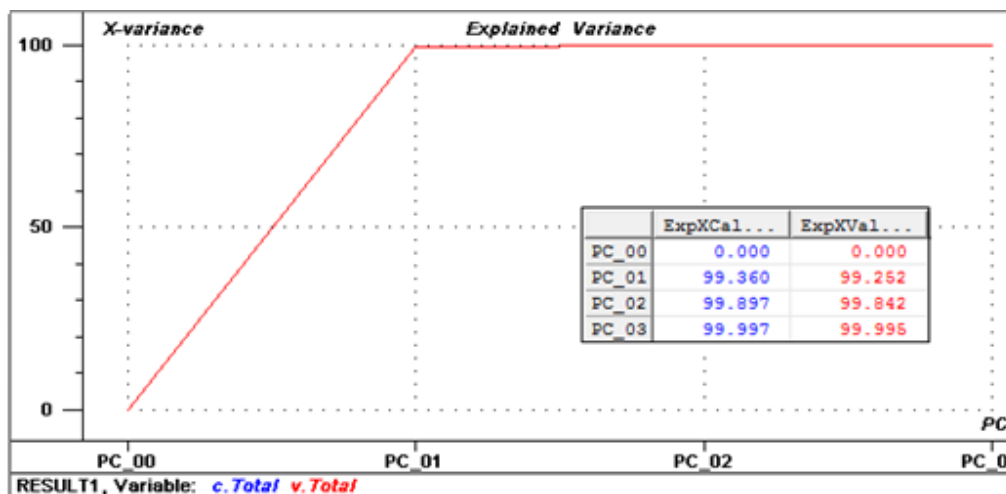
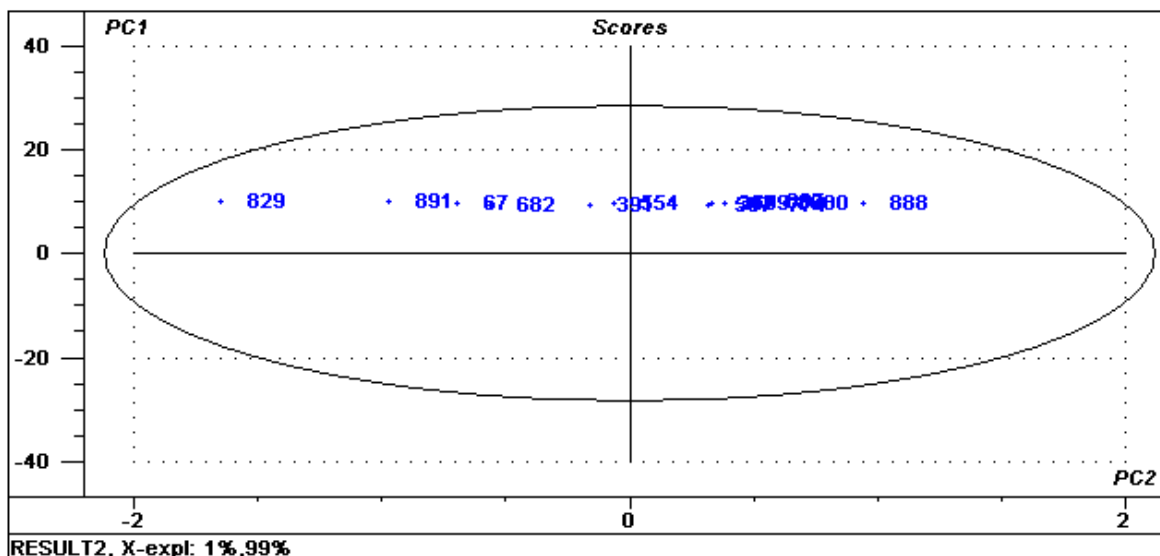


Figura 14. Prueba T<sup>2</sup> de Hotelling.

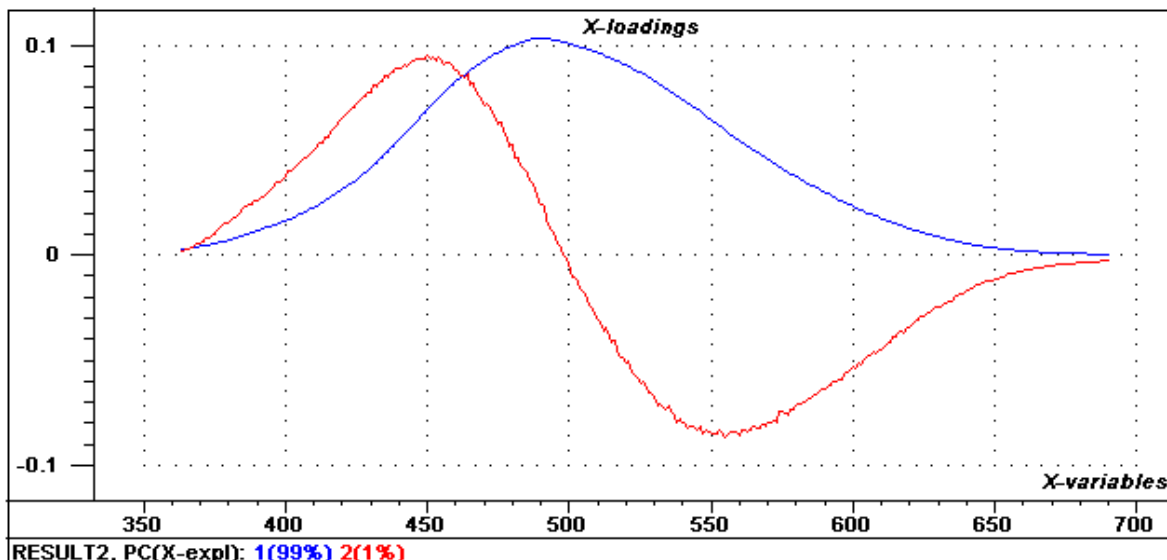


La representación de los componentes principales **PC1** y **PC2** en un plano de dos dimensiones permite establecer la relación que existe entre las muestras analizadas; esta relación se determina con respecto a los dos componentes representados; en este caso se observa en la **figura 14** la similitud que presentan todas las muestras respecto al PC1, dicha similitud se puede asociar a la estructura molecular de los asfaltenos, la cual corresponde a condensados

aromáticos con presencia de heteroátomos que contienen electrones  $\pi$  y  $n$  que son los responsables del fenómeno de fluorescencia en dichas moléculas.

Por medio de la aplicación de la prueba estadística  $T^2$  de Hotelling, se busca identificar outliers potenciales (muestras alejadas que se encuentren fuera de la elipse); este tipo de muestras presentan una alta varianza residual con respecto al grupo de muestras, pero como se puede observar en la gráfica 9 todas las muestras se ubican dentro de la elipse, descartando la presencia de muestras atípicas.

**Figura 15. Gráfico de Loadings. PC1 y PC2.**

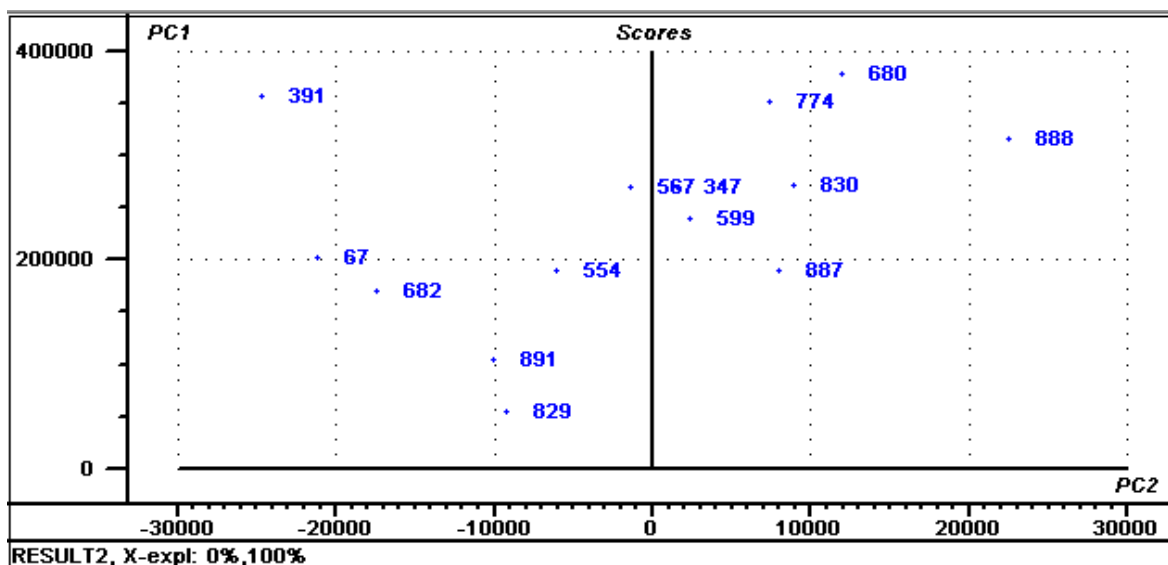


El gráfico loadings **figura 15**, permitió identificar en el espectro de fluorescencia de asfaltenos dos regiones de longitudes de onda que a simple vista no se pueden observar, debido a que se encuentran solapadas formando una banda continua; estas dos regiones evidencian las transiciones electrónicas:  $\pi-\pi^*$  la cual ocurre a 450 nm y  $n-\pi^*$  que se da a 550 nm para los asfaltenos analizados.

En el gráfico de loading también se pueden observar las regiones espectrales que explican los vectores PC1 y PC2 en mayor proporción; de esta forma se puede observar que el PC1 describe el perfil del espectro de fluorescencia de un asfalteno y que presenta un máximo en 490 nm, también se puede apreciar que el PC1 solo toma valores positivos, a diferencia del PC2 cuya gráfica presenta dos regiones bien diferenciadas, la primera con un aporte de loadings positivos en el intervalo de longitudes de onda de (363 – 500 nm) y la segunda región cuyos valores de loadings son negativos en el intervalo de longitudes de onda de (500-690 nm).

Con base en lo enunciado anteriormente y realizando un análisis a los gráficos loading **figura 15**, y scores **figura 16**, (puntuaciones), es posible elucidar diferencias y similitudes entre las muestras; e identificar cuales variables caracterizan las diferentes muestras; de esta forma las muestras ubicadas a la izquierda en el gráfico de scores (391, 067, 682, 891, 829, 554) presentan un mayor número de anillos aromáticos en su estructura y las muestras ubicadas a la derecha (888, 680, 830, 887, 599, 347, 567, 774) se caracterizan por presentar heteroátomos debido a que presentan una banda de emisión en la región de menor energía la cual corresponde a transiciones de electrones tipo n.

Figura 16. Gráfico de scores.



### 3.2 REGRESIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS (PLS)

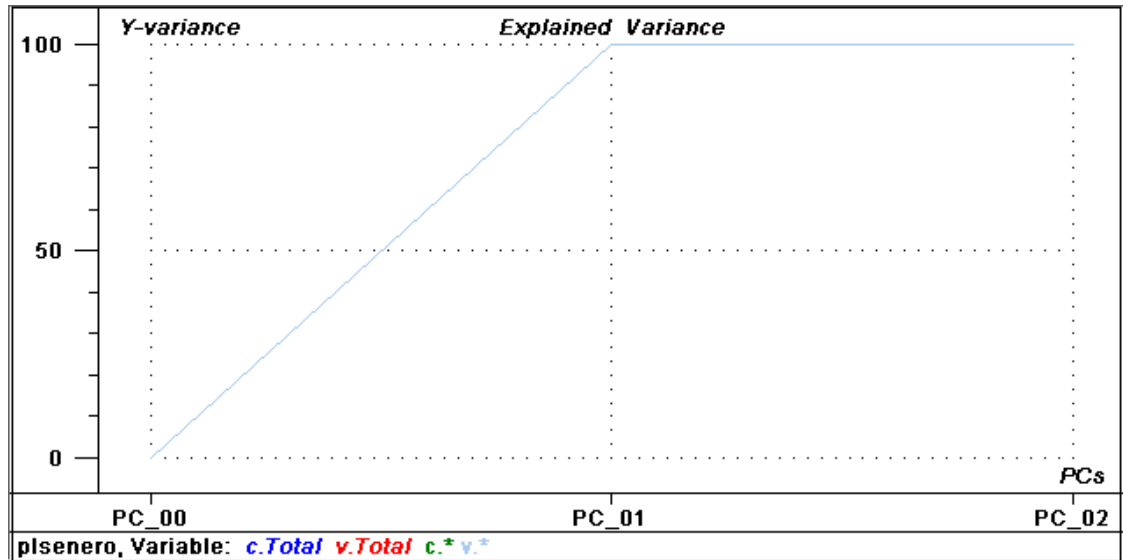
El modelo de predicción de la gravedad específica a partir de los datos espectroscópicos obtenidos por la técnica fluorescencia molecular se desarrolló teniendo en cuenta el número de componentes principales obtenido en el análisis por PCA, sección 3.1. La selección del modelo de predicción se llevó a cabo evaluando los parámetros estadísticos RMSEC, RMSEP,  $R^2$  y varianza explicada.

Tabla 5. Parámetros estadísticos del modelo de predicción.

Componentes	Varianza Explicada	RMSEC %	RMSEP %	R2
2	99.926	0.030187	0.037317	0.998863

El modelo de predicción explica el 99.9% la variabilidad de los datos a partir del espectro de fluorescencia, con dos componentes principales. (Figura 17)

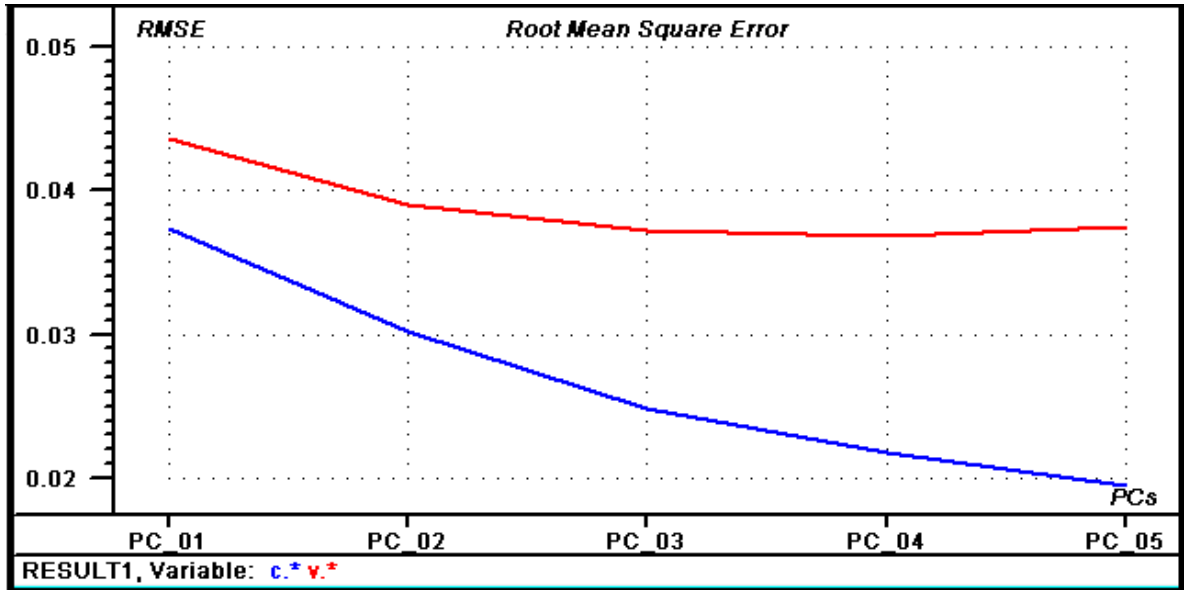
**Figura 17. Varianza explicada en el modelo PLS.**



### 3.2.1 Error calculado en función del número de componentes.

Teniendo en cuenta que no existe una regla que permita determinar el número óptimo de componentes principales para construir un modelo de predicción; este paso se puede realizar con base en la raíz cuadrada del error de calibración (RMSEC) y de predicción (RMSEP) en función del número de componentes principales; Los cuales disminuyen su valor a medida que se pasa del componente uno al componente dos como se observa en la **figura 18**.

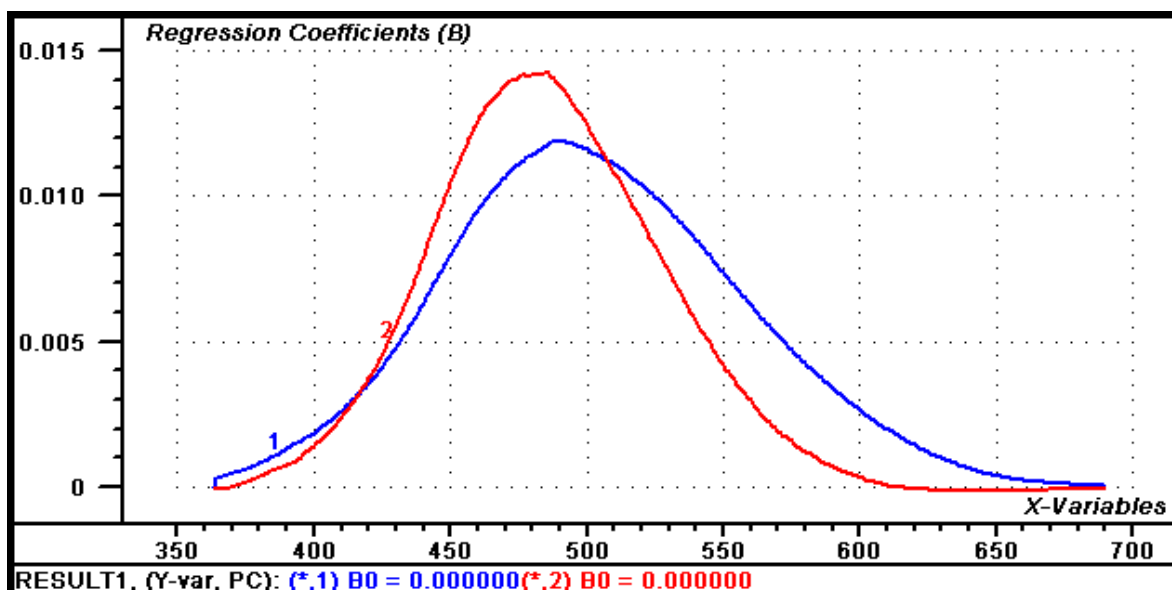
Figura 18. Error calculado en función del número de componentes.



### 3.2.2 Coeficientes de regresión.

Cada componente principal es una combinación lineal de las longitudes de onda de fluorescencia multiplicadas por un coeficiente de regresión lineal que indica el peso o influencia de cada una de estas variables sobre el respectivo componente; estos coeficientes se pueden ver en la **figura 19**.

Figura 19. Coeficientes de regresión.



Los coeficientes de regresión indican que las variables que comprenden el intervalo entre 450-560 nm son las de mayor importancia en la predicción de la gravedad específica. Esta región del espectro es la que presenta mayor intensidad de fluorescencia lo que indica que la mayoría de los cromóforos presentes en los asfaltenos emiten fluorescencia en esta región; estos cromóforos corresponden a anillos aromáticos fusionados.

### 3.2.3 Validación del modelo.

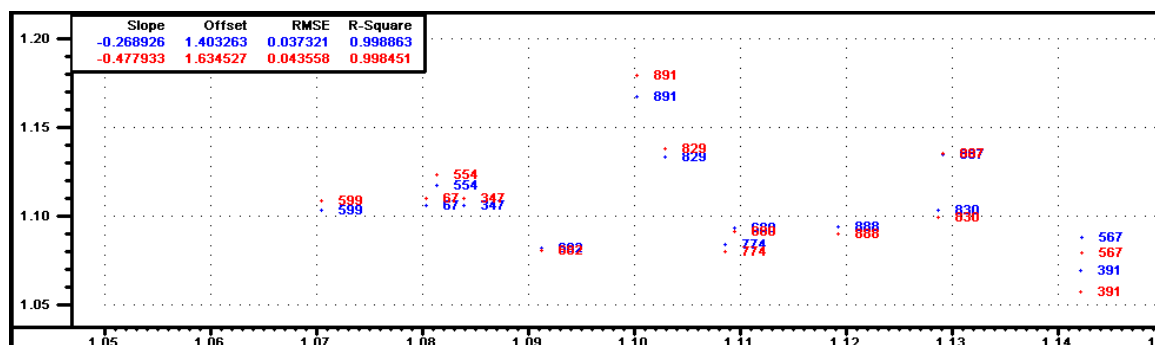
La validación del modelo se realizó por validación cruzada; este método es el más indicado para un conjunto pequeño de muestras. Los valores predichos, de referencia y el porcentaje del error relativo se encuentran en la **tabla 6**.

**Tabla 6. Predicción de la gravedad específica.**

Muestra	Referencia	Predicho	Desviación	% Error
166391	1.14217	1.069	3.279x10-2	6.4062
147887	1.12913	1.113	3.64x10-2	1.3931
168830	1.12868	1.103	3.115x10-2	2.2752
147888	1.11917	1.094	4.585x10-2	2.2490
148680	1.10942	1.093	3.254x10-2	1.4801
145774	1.10851	1.084	2.932x10-2	2.2111
168829	1.10286	1.133	7.637x10-2	2.7329
174891	1.10020	1.167	5.150x10-2	6.0716
152682	1.09117	1.082	3.682x10-2	0.8404
175347	1.08392	1.106	2.263x10-2	2.0371
140554	1.08135	1.117	1.769x10-2	3.2968
172067	1.08028	1.106	3.749x10-2	2.3809
140599	1.07048	1.103	2.427x10-2	3.0379
173567	1.14223	1.088	2.376X10-2	4.7477

Los resultados obtenidos son satisfactorios, los errores relativos están por debajo del 6.5%, y la correlación en la predicción es del 0.99.

**Figura 20. Gráfico de predicción.**



#### **4. CONCLUSIONES**

La espectroscopia de fluorescencia acompañada de métodos quimiométricos multivariantes permitió desarrollar un método alternativo para determinar la gravedad específica de asfaltenos provenientes de crudos Colombianos, con un error relativo que se encuentra en rango de 0.84% y 6.4% para las muestras analizadas.

Los métodos quimiométricos PCA y PLS aplicados a técnicas espectroscópicas como la Fluorescencia, permiten obtener información útil sobre la estructura química de muestras complejas como las fracciones de crudo y para este caso específico los asfaltenos.

Los métodos quimiométricos PCA y PLS, permiten observar las diferencias y similitudes estructurales en las muestras de asfaltenos a partir de sus espectros de fluorescencia.

## 5. RECOMENDACIONES

Disponer de la propiedad a predecir para un número mayor de muestras; de esta forma se garantiza un mejor desempeño de los modelos de predicción utilizando el algoritmo PLS.

Implementar la técnica de espectroscopia de fluorescencia con métodos de calibración multivariable para el análisis elemental de Asfaltenos Colombianos.

En los análisis realizados por métodos quimiométricos es muy importante tener información sobre las muestras que están siendo analizadas y de las propiedades de interés en el análisis; por lo anterior se recomienda ampliar la información disponible sobre los asfaltenos provenientes de crudos colombianos, para garantizar análisis confiables y robustos.

## BIBLIOGRAFÍA

1. SPIECKER, M.; GAWRYS, K. and KILPATRICK, P. Aggregation and solubility behavior of asphaltenes and their subfractions. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2003, 267, 178–193.
2. OSPINO T. Aspectos generales del daño de formación por depositación de asfaltenos en yacimientos de petróleo. Medellín. 2009, 41 p. Trabajo de grado (Ingeniero de Petróleos). Universidad Nacional de Colombia.
3. DELGADO, J. G. Asfaltenos Composición, agregación, precipitación, 1 ed. Mérida: Universidad de los Andes. 2006, 33 p.
4. PINEDA, G.; MESTA, A. M. Petroleum asphaltenes: generated problematic and possible biodegradation mechanisms. *Revista Latinoamericana de Microbiología*. Julio-Septiembre, 2001, 43,143-150.
5. KYEONGSEOK, O.; TERRY, R.; MILIND, Deo. Asphaltene aggregation in organic solvents. *Journal of Colloidal and Interface Science*. 2004, 271, 212-219.
6. MORGAN, T.; GEORGE, A.; ALVAREZ, P.; MILLAN, M.; HEROD, A. y KANDIYOTI, R. Estimating molecular masses of petroleum-derived fractions: High mass (>2000 u) materials in maltenes and asphaltenes from Maya crude oil. *Journal of Chromatography*. 2010, 3804-3818.

7. GONCALVES, S.; CASTILLO, J.; FERNANDEZ, A.; HUNG, J. Absorbance and fluorescence spectroscopy on the aggregation behavior of asphaltenes- toluene solutions. *Fuel*. 2004, 83, 1823-1828.
8. GUERRA, R.; LADAVAC, K.; ANDREWS, B.; MULLINS O.; SEN, P. Diffusivity of coal and petroleum asphaltene monomers by fluorescence correlation spectroscopy. *Fuel*. 2007, 86, 2016–2020.
9. STRAUSZ, O.; SAFARIK, I. and LOWN E. Cause of Asphaltene Fluorescence Intensity Variation with Molecular Weight and Its Ramifications for Laser Ionization Mass Spectrometry. *Energy & Fuels*. 2009, 23, 1555–1562.
10. SATYA, S.; ROEHNER, R.; DEO, M. and HANSON, F. estimation of properties of crude oil residual fractions using Chemometrics. *Energy & Fuels*. 2007, 21, 998-1005.
11. ABBAS, O.; RÉBUFA, C.; DUPUY, N.; PERMANYER, A.; KISTER J.; AZEVEDO, D. Application of chemometric methods to synchronous UV fluorescence spectra of petroleum oils. *Fuel*. 2006, 85, 2653–2661.
12. SUDIPA, M.; MULLINS, O.; SIMON, J.; CHEN, G., and CRAMERBS, S. Determination of the Nitrogen Chemical Structures in Petroleum Asphaltenes Using XANES Spectroscopy. *American Chemical Society*. California 1993, 252-258.
13. MICHELS R.; LANGLOIS, O.; RUAU, L.; MANSUY, E. and LANDAIS, P. Evolution of Asphaltenes during Artificial Maturation: A Record of the Chemical Processes. *Energy & Fuels*. 1996, 10, 39-48.

14. MARROQUIN, G. Formación de sedimentos durante el hidrotratamiento catalítico de crudos pesados. México D.F. 2007. 129 p. Trabajo de grado (Doctor en Tecnología avanzada). Instituto Politécnico nacional. Centro de investigación en ciencia y tecnología avanzada. Posgrado en tecnología avanzada.
15. SCHNEIDER, M; ANDREWS, B.; SUDIPA, M.; and MULLINS O. Asphaltene Molecular Size by Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Energy & Fuels*. 2007, 21, 2875-2882.
16. MICHAEL, G.; AL-SIRI, M.; KHAN, Z. and ALI F. Differences in Average Chemical Structures of Asphaltene Fractions Separated from Feed and Product Oils of a Mild Thermal Processing Reaction. *Energy Fuels*. 2005, 1598-1605.
17. WILT, B. and WELCH W. Determination of Asphaltenes in Petroleum Crude Oils by Fourier Transform Infrared Spectroscopy. *Energy & Fuels*. 1998, 12, 1008-1012.
18. ROMERO, C. and GOMEZ, A. determinación del peso molecular de asfaltenos. *Revista académica Colombiana de Ciencias*. 2002, 99 279-284.
19. CASTILLO, J.; HUNN, J.; FERNANDEZ, A.; MUJICA V. Non linear optics evidences of aggregation in asphaltene-toluene solutions. *Fuel*. 2001, 80, 1239-1243.
20. KUMAR, A.; SRIVASTAVA, S.; BAGCHI S. Study of self-aggregation of coal derived asphaltene in organic solvents: a fluorescence approach. *Fuel* 2007, 86, 2528–2534.
21. SKOOG, D. Principios de análisis instrumental. 5 ed. Mc Graw Hill. **2001**

22. LAKOWICS, J. Principles of Fluorescence Spectroscopy. Baltimore, Maryland, USA. 2006. 3 ed. 954 p.
23. SARMA, A. and RYDER, A. Comparison of the Fluorescence Behavior of a Biocrude Oil and Crude Petroleum Oils. *Energy & Fuels*. 2006, 20, 783-785.
24. ABOLLINO, O.; MALANDRINO, M.; GIACOMINO A.; MENTASTI, E. The role of chemometrics in single and sequential extraction assays: A review Part I. Extraction procedures, uni- and bivariate techniques and multivariate variable reduction techniques for pattern recognition. *Analytica Chimica*. 2011, 104–121.
25. MILLER, J.; MILLER J. Estadística y quimiometría para química analítica. 4 ed. Madrid. 2008. Pearson, Prentice Hall. 278 p.
26. WOLD, S.; SJOSTROM, M. PLS-regression: a basic tool of chemometrics. *Chemometrics and intelligent laboratory systems*. 2001, 58, 109-130
27. VALDÉS, D. Estudio de la influencia de parámetros físicos en la construcción de modelos de calibración en la espectroscopia en el infrarrojo cercano. Bellaterra 2005, 107 p. Trabajo de grado. Universidad autónoma de Barcelona. Departamento de química.
28. MACHO, S. Metodologías analíticas basadas en espectroscopia de infrarrojo y calibración multivariante. Aplicación a la industria petroquímica. Tarragona. 2002. 218p. Trabajo de grado. (Doctor en Química) Universidad de Rovira. Departamento de Química analítica
29. PORCEL, M. Aplicación de técnicas quimiométricas para el desarrollo de nuevos métodos cinético-espectrofotométricos de análisis. Barcelona, 2001.

75p. Trabajo de grado (Doctor en ciencias químicas).Universidad de Barcelona. Facultad de Ciencias

30. ALCIATURI, C.; ESCOBAR, M.; DE LA CRUZ, C. Mínimos cuadrados parciales (PLS) de regresión y su aplicación al análisis del carbón: Revista Técnica Ingeniería. Universidad Zulia, 2003, 26, 197-204.
31. GALTIER, O.; ABBAS, O.; LE DRÉAU C. REBUFA, J.; ARTAUD, N. DUPUY. Comparison of PLS1-DA, PLS2-DA and SIMCA for classification by origin of crude petroleum oils by MIR and virgin olive oils by NIR for different spectral regions. *Vibrational Spectroscopy*. 2011, 55, 132–140.
32. FERNÁNDEZ, J.; LECLER, B.; CONZEN, J.; NIEMOELLER, A.; BAETEN, D. Comparison of various chemometric approaches for large near infrared spectroscopic data of feed and feed products. *Analytica Chimica*. 2011. 30–34.
33. LAXALDE, J.; RUCKEBUSCH, C.; DEVOS, O.; CAILLOL, N.; WAHL F.; DUPONCHEL, L. Characterisation of heavy oils using near-infrared spectroscopy: Optimisation of pre- processing methods and variable selection. *Analytica Chimica*. 2011. 227– 234.
34. ABBAS, O.; RÉBUFA, C.; DUPUY, N; PERMANYER; KISTER, J, AZEVEDO, D. Application of chemometric method to synchronous UV fluorescence spectra of petroleum oils. *Fuel*. 2006. 2653-2661.
35. LACHE, A; MELENDEZ, V. Predicción del análisis SARA de crudos colombianos aplicando espectroscopia FTIR-ATR y métodos quimiométricos. Bucaramanga, 2010, 124 p. Trabajo de grado (Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.

- 36.** LANCHEROS, S. Predicción de las fracciones SARA de Fondos de vacío de crudos colombianos, por medios quimiométricos utilizando espectroscopia de fluorescencia inducida por laser (LIF). Bucaramanga, 2010, 93 p. Trabajo de grado (Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.
- 37.** MONROY, L. Predicción de la densidad en asfaltenos colombianos utilizando espectroscopia foto acústica en la región del infrarrojo medio y métodos quimiométricos. Bucaramanga, 2010, 71 p. Trabajo de grado (Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.
- 38.** CONTRERAS, W. Construcción de un modelo predictivo de la fracción S.A.R.A de crudos colombianos a partir de espectroscopia (LIF) y métodos estadísticos (quimiometría). Bucaramanga, 2010, 100 p. Trabajo de grado (Química). Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias.
- 39.** *THE UNSCRAMBLER 9.7 METHODS.* Software para diseño de experimentos y análisis multivariado. (En línea). <http://www.camo.com>. [citado el 13 de abril de 2003]