

MODELO PARA LA PREDICCIÓN DEL CONTENIDO DE ASFALTENOS Y
RESINAS DE CRUDOS COLOMBIANOS POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA
DE FLUORESCENCIA MOLECULAR Y MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

JENIFFER SUSANA GOMEZ CASTRO

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2015

MODELO PARA LA PREDICCIÓN DEL CONTENIDO DE ASFALTENOS Y
RESINAS DE CRUDOS COLOMBIANOS POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA
DE FLUORESCENCIA MOLECULAR Y MÉTODOS QUIMIOMÉTRICOS

JENIFER SUSANA GOMEZ CASTRO

Trabajo de Grado para optar al título de
Químico

Director

JUAN CARLOS POVEDA JARAMILLO
Químico, Ph. D.

Co-Directora

LESLY VIVIANA MELENDEZ CORREA
Químico, M.Sc

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUÍMICA
BUCARAMANGA
2015

A Dios por guiarme e iluminarme en cada momento de mi vida y por darme la oportunidad de culminar mis estudios satisfactoriamente

A mi madre Mercedes Castro que es el motor de mi vida y a mis hermanos que me han brindado todo su amor y apoyo en cada etapa

A Elkin Mauricio por su apoyo en momentos de dificultad y por su estímulo permanente en la continuidad del trabajo desarrollado

Agradecimientos

Gracias a Dios por guiarme e iluminarme en cada etapa de mi vida y por darme la oportunidad de culminar mi estudio de pregrado.

A mi familia por su apoyo, paciencia, confianza y compañía durante toda la etapa de mi carrera, especialmente a mi madre Mercedes, mi hermana Evely y a Elkin, por ayudarme a no decaer en los momentos más difíciles y por estar presentes en las alegrías y fracasos.

Al director Juan Carlos Poveda por brindarme la oportunidad de trabajar junto a él y de igual forma por guiarme e instruirme en el desarrollo del proyecto.

A mi codirectora Lesly Viviana Melendez por su gran apoyo a lo largo de las diferentes etapas del desarrollo del proyecto.

A todos mis amigos y compañeros que estuvieron presentes en alguna etapa del proyecto como: Monica Jerez, Jenny Mercela, Diana Ariza, Judith Raquel, Leydi Cristancho, Yady Garcia, Claudia Patricia y Manuel Laguado.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	16
1. CONSIDERACIONES TEORICAS	18
1.1 GENERALIDADES DEL PETROLEO	18
1.1.1 Petróleo.....	18
1.1.2 Fraccionamiento S.A.R.A.	19
1.1.3 Clasificación del petróleo.	20
1.1.4 Asfaltenos.	22
1.1.4 Resinas.	24
1.2 FENÓMENOS DE FLUORESCENCIA	24
1.2.1 Procesos de desactivación de la fluorescencia.....	26
1.2.2 Variables que afectan la fluorescencia.....	27
1.2.3 Características de la Fluorescencia..	30
1.3 QUIMIOMETRÍA	31
1.3.1 Pre-tratamiento de datos.....	32
1.3.2 Análisis de componentes principales (PCA).....	33
1.3.3 Regresión por mínimos cuadrados parciales..	34
1.3.4 Validación del modelo..	35
2. OBJETIVOS	38
2.1 OBJETIVO GENERAL	38
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
3. METODOLOGÍA.....	39

3.1	SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	39
3.2	EQUIPO DE FLUORESCENCIA.....	40
3.3	PARÁMETROS DE OPERACIÓN EN EL EQUIPO	41
3.4	PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS	42
3.5	ESPECTROS DE FLUORESCENCIA	43
3.6	PRETRATAMIENTO DE DATOS.....	45
3.7	ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)	47
3.8	REGRESIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES	48
4.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	49
4.1	ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (PCA).....	49
4.1.1	Asfaltenos.....	49
4.1.2	Resinas.. ..	55
4.2	MÍNIMO CUADRADO PARCIALES (PLS).....	61
4.2.1	Asfaltenos.....	61
4.2.2	Resinas.. ..	67
5.	CONCLUSIONES.....	73
6.	RECOMENDACIONES	74
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
	BIBLIOGRAFÍA.....	80

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Gravedad API de los crudos.....	21
Tabla 2. Contenido de asfaltenos y resinas en las muestras de crudo utilizadas para el desarrollo del modelo.....	39
Tabla 3. Valores de varianza explicada y acumulada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de asfaltenos	49
Tabla 4. Valores de varianza explicada y acumulada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de resinas	56
Tabla 5. Varianza explicada en PLS para determinar el contenido de asfaltenos en los crudos.....	61
Tabla 6. Predicción del contenido de asfaltenos en PLS.....	64
Tabla 7. Validación externa para determinar el contenido de asfaltenos	66
Tabla 8. Varianza explicada en PLS para determinar el contenido de resinas en los crudos.....	67
Tabla 9. Predicción del contenido de resinas con PLS.....	70
Tabla 10. Validación externa para determinar el contenido de resinas	72

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Procedimiento para el fraccionamiento S.A.R.A a) Norma ASTM D2007 b) Norma ASTM D4124.....	19
Figura 2. Separación de Asfaltenos	23
Figura 3. Diagrama de Jablonski. Fuente: Lakowicz, J. R. principles of fluorescence.....	26
Figura 4. Representación de los diagramas espectrales de absorción y de emisión. Fuente: Martínez, R.; Gragera, R. Fundamentos teóricos y prácticos de la Histoquímica	31
Figura 5. Espectrofotómetro de fluorescencia.....	41
Figura 6. Espectros UV-Visible	42
Figura 7. Espectros de emisión de fluorescencia a diferentes concentraciones ...	43
Figura 8. Espectros de emisión de los crudos a una concentración de 10ppm para determinar el contenido de asfaltenos	44
Figura 9. Espectros de emisión de los crudos a una concentración de 10ppm para determinar el contenido de resinas	44
Figura 10. Espectros de emisión normalizados para las muestras de crudo consideradas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos	45

Figura 11. Espectros de emisión normalizados para las muestras de crudo consideradas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas .46	46
Figura 12. Espectros de emisión normalizado-suavizado-línea base para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos.....46	46
Figura 13. Espectros de emisión normalizado-suavizado-línea base para las muestras de crudo usadas para desarrollar le modelo de predicción del contenido de resinas.47	47
Figura 14. Valores de varianza explicada y acumulada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de asfaltenos50	50
Figura 15. Gráfica de pesos para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfalteno50	50
Figura 16. Gráfico de Puntuaciones para las muestras de crudo utilizadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos.....51	51
Figura 17. Gráfica de pesos en 2D para las muestra de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos.....52	52
Figura 18. Gráfica de pesos para las muestras de crudo usadas en el desarrollo del modelo de predicción del contenido de asfaltenos.....53	53
Figura 19. Muestras de crudo con diferente contenido de asfaltenos53	53
Figura 20. Gráfica de Influencia para las muestras de crudo usadas en el desarrollo del modelo de predicción del contenido de asfaltenos55	55

Figura 21. Varianza Explicada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de resinas	56
Figura 22. Gráfica de pesos para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas	57
Figura 23. Gráfico de puntuaciones para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas.....	57
Figura 24. Gráfico peso 2D para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas	58
Figura 25. Gráfico de peso para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas	59
Figura 26. Muestras de crudo con diferente contenido de resinas.....	59
Figura 27. Gráfico de influencia para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas.....	60
Figura 28. Gráfica de la varianza explicada en PLS para la determinación del contenido de asfaltenos en los crudos.....	62
Figura 29. Error calculado en función del número de factores en PLS para determinar el contenido de asfaltenos en crudos.....	62
Figura 30. Coeficientes de regresión en PLS para determinar el contenido de asfaltenos en los crudos	63
Figura 31. Modelo para asfaltenos de los valores predichos vs referencia.....	66

Figura 32. Gráfica de la varianza explicada para la determinación del contenido de resinas	67
Figura 33. Error calculado en función del número de factores en PLS para determinar el contenido de resinas en crudos	68
Figura 34. Coeficientes de regresión en PLS para determinar el contenido de resinas en los crudos	69
Figura 35. Modelo para resinas de los valores predichos vs referencia.....	71

RESUMEN

TÍTULO: MODELO PARA LA PREDICCIÓN DEL CONTENIDO DE ASFALTENOS Y RESINAS DE CRUDOS COLOMBIANOS POR MEDIO DE ESPECTROSCOPIA DE FLUORESCENCIA MOLECULAR Y METODOS QUIMIOMÉTRICOS.

AUTOR: JENIFFER SUSANA GOMEZ CASTRO**

PALABRAS CLAVE: Asfaltenos, Resinas, Espectroscopia de fluorescencia molecular, Componentes principales, Mínimos cuadrados parciales.

DESCRIPCIÓN

En el presente trabajo se analiza el uso de la espectroscopia de fluorescencia molecular y métodos quimiométricos para proponer dos modelos matemáticos-estadísticos para la predicción del contenido de asfaltenos y resinas en crudos colombianos.

Los espectros de fluorescencia de crudos colombianos se midieron usando una longitud de onda de excitación de 409nm a concentración de muestra del orden de 10 ppm. Los espectros obtenidos se correlacionaron con las propiedades fisicoquímicas de interés: contenidos de asfaltenos y resinas mediante el análisis de componentes principales (PCA) y mínimos cuadrados parciales (PLS-R), de esta forma se logró una reducción de la dimensionalidad de los datos, se clasificaron las muestras y se desarrolló un modelo de predicción para cada una de las propiedades.

El modelo desarrollado para la predicción del contenido de asfaltenos explica el 99,13% de varianza, y el 98,74% para resinas, con tres factores principales. La validación del modelo se realizó mediante validación interna y externa con errores estándar de predicción de 0,5937 y 1,391 para asfaltenos y resinas, respectivamente. El coeficiente de correlación (R^2) entre los valores teóricos y predichos fue de 0,9913 para asfaltenos en crudos cuyo contenido está en el rango de 1,700% a 17,90% y 0,9874 para resinas en el rango de 11,41% a 36,60%.

* Trabajo de investigación

** Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Juan Carlos Poveda Jaramillo; Co-directora: Lesly Viviana Meléndez Correa

ABSTRACT

TITLE: MODEL FOR PREDICTING THE CONTENT OF ASPHALTENES AND RESINS OF COLOMBIAN CRUDE BY MOLECULAR FLUORESCENCE SPECTROSCOPY AND CHEMOMETRIC METHODS*.

AUTHOR: JENIFFER SUSANA GOMEZ CASTRO**

KEYWORDS: Asphaltenes, Resins, Molecular fluorescence spectroscopy, Principal components, Partial Least Squares.

DESCRIPTION

In this paper was analyzed the use of molecular fluorescence spectroscopy and chemometric methods to propose two statistical mathematical models for predicting the content of asphaltenes and resins in Colombian crude.

Fluorescence spectra of colombian crude were measured using an excitation wavelength at 409nm to a sample concentration the order of 10 ppm. The spectra obtained were correlated with the physicochemical properties of interest: content of asphaltenes and resins using principal component analysis (PCA) and partial least squares (PLS), this way it was possible to a reduction of the dimensionality of the data, the samples were classified and were developed a model of prediction for each of the properties.

The model developed for predicting the asphaltene content explains 99.13% of the variance, and 98.74% for resins, with three main factors. Model validation was performed by internal and external validation with standard errors of prediction of 0.5937 and 1.391 for asphaltenes and resins, respectively. The correlation coefficient (R^2) between theoretical and predicted values was 0,9913 for asphaltenes in crude whose content is in the range from 1,700 to 17.90% and 0,9874 for resins in the range of 11.41% 36,60.

* Trabajo de investigación

** Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director: Juan Carlos Poveda Jaramillo; Co-directora: Lesly Viviana Meléndez Correa

INTRODUCCIÓN

El petróleo es una fuente de energía no renovable que se ha estudiado durante los últimos 100 años, su apariencia varía desde breas sólidas a líquidos claros, y su composición cambia de un campo a otro, e incluso en un mismo campo varía de un pozo a otro y en un pozo puede variar de acuerdo a la profundidad, por esta razón es difícil determinar la composición de un crudo, además el gran número de componentes, que puede llegar a decenas de miles, hace difícil una caracterización molecular completa. La caracterización molecular de un crudo es importante debido a que sus propiedades fisicoquímicas están relacionadas con su composición.

Para intentar dar una definición aproximada de la composición del petróleo, este puede ser fraccionado en cuatro grupos moleculares, de acuerdo a su naturaleza química, cuyas diferencias se basan fundamentalmente en criterios de solubilidad. Este fraccionamiento es denominado SARA y hace referencia al contenido de Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos ¹. Los asfaltenos y las resinas son los mayores constituyentes que determinan cual será el comportamiento del crudo durante su extracción, transporte y refinación ^{2,3}, por lo cual la caracterización de los crudos y fracciones pesadas en términos de sus componentes SARA es importante. La composición SARA resulta ser particularmente relevantes en fracciones pesadas como los fondos de vacío, donde los componentes pesados, Resinas y Asfaltenos, están en mayor proporción.

El fraccionamiento SARA se puede realizar mediante la norma ASTM D 4124 ⁴, en donde el principal inconveniente son los grandes volúmenes de solventes utilizados y el tiempo requerido. El uso de otras técnicas puede ayudar a reducir los costos y tiempo de análisis. Estudios han demostrado que es posible implementar técnicas espectroscópicas en conjunto con la quimiometría para desarrollar modelos matemáticos que ayuden a predecir algunas propiedades

fisicoquímicas, entre las que puede encontrar el contenido SARA ^{5,6,7}, en forma rápida, eficiente y a bajo costo. Estos modelos se desarrollan mediante el uso de técnicas estadísticas como análisis de componentes principales junto a mínimos cuadrados parciales (PLS).

En consecuencia, es indispensable implementar técnicas que ayuden a optimizar los procesos actuales para tratar crudos pesados ya que actualmente representan hasta un 70% de las reservas mundiales ⁸.

1. CONSIDERACIONES TEORICAS

1.1 GENERALIDADES DEL PETROLEO

1.1.1 Petróleo. Es una mezcla compleja con una gran cantidad de compuestos orgánicos, principalmente constituidos por carbono, hidrógeno, heteroátomos como nitrógeno, oxígeno y azufre; y algunos metales como hierro, níquel, vanadio, cromo, entre otros, los cuales están asociados químicamente a especies tipo porfirina. El petróleo se formó a partir de residuos animales y vegetales sometidos a determinadas condiciones de temperatura y presión, que junto a una acción bacteriana anaeróbica da lugar a los hidrocarburos. El crudo puede estar contenido entre capas sedimentarias y migra para ser concentrado en formaciones geológicas de características particulares como poca permeabilidad y algún grado de porosidad, que constituyen lo que se denomina yacimiento dentro de un campo petrolífero. Su estabilidad depende de una multitud de factores, entre las que se incluyen la temperatura, la presión, y su composición, especialmente las parafinas y los asfaltenos ⁹.

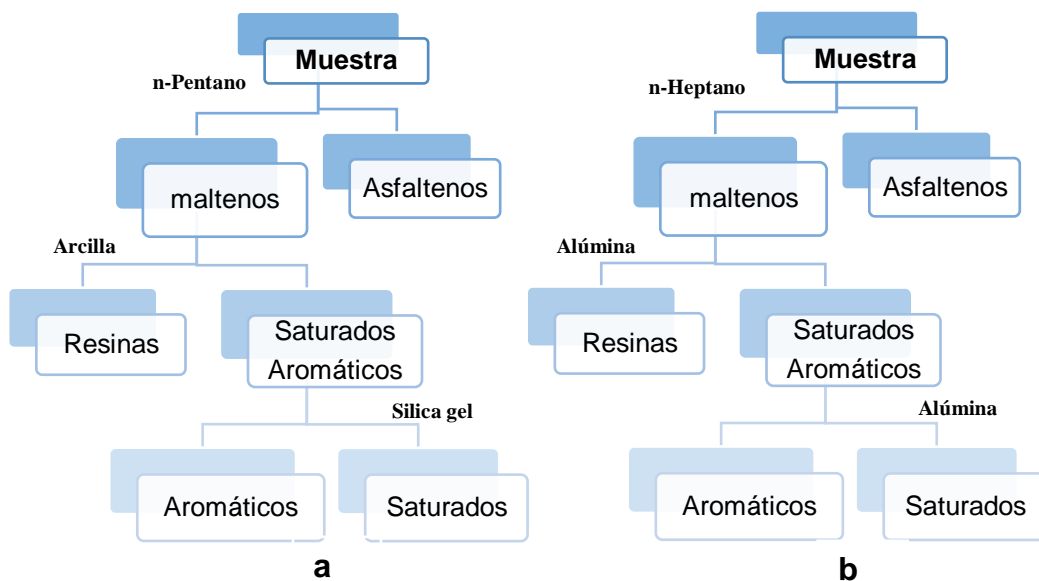
Por su naturaleza compleja ¹⁰, y gran número de componente, la distribución de pesos moleculares puede ser amplia, desde moléculas de bajo peso molecular como gases, a macromoléculas de alto peso, como poliaromáticos policondensados tipo asfalteno ¹¹. El número de átomos de carbono de sus componentes proporciona al petróleo diferentes propiedades físicas y químicas; así, los hidrocarburos compuestos por uno a cuatro átomos de carbono son gaseosos, los que contienen de 5 a 20 son líquidos, y los de más de 20 son sólidos a la temperatura ambiente.

Para caracterizar la composición química y los materiales relacionados es necesario un análisis de tipo de hidrocarburos. Una forma de caracterizar un crudo o sus fracciones pesadas es con base en el contenido de las fracciones SARA, el

crudo es dividido en saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos^{1,6}. Las dos últimas fracciones (resinas y asfaltenos) son de mayor interés para la industria petrolera, y son objeto de muchos estudios¹² debido a los inconvenientes que originan en la producción, refinación y transporte, causados especialmente por un fenómeno de agregación/floculación que causa la precipitación de estas^{13,14}.

1.1.2 Fraccionamiento S.A.R.A. La norma ASTM ofrece varios procedimientos para el desarrollo del fraccionamiento S.A.R.A, entre ellas se encuentra la norma ASTM D2007¹⁵ y la ASTM D4124⁴ mostrados en la figura 1.a y 1.b respectivamente, junto con la norma ASTM D2549¹⁶ que usa la cromatografía líquida para la separación de las fracciones de saturados y aromáticos⁷.

Figura 1. Procedimiento para el fraccionamiento S.A.R.A a) Norma ASTM D2007 b) Norma ASTM D4124



1.1.3 Clasificación del petróleo. Los crudos se clasifican de acuerdo a su composición de hidrocarburos, gravedad API o su factor de caracterización K (koup)

1.1.1.1 Petróleo de base parafínica. Predominan los hidrocarburos saturados o parafínicos, muy fluidos de colores claros y de bajo peso específico (aproximadamente 0,85 kg/L). Por destilación producen alrededor del 5% de parafina y poco asfalto.

Los aceites parafínicos presentan valores mayores de 13 y 18 con respecto al número de repetición de unidades n . En otras palabras, las cadenas de hidrocarburos son una colección de unidades de repetición, con cada uno posiblemente diferente de la siguiente ¹⁷.

1.1.1.2 Petróleo de base asfáltica. Predominan los hidrocarburos etilénicos y diétilínicos, nafténicos, y bencénicos o aromáticos. Son muy viscosos, de coloración oscura y mayor peso específico (aproximadamente 0,950 kg/L), por destilación produce un abundante residuo de asfalto y menos del 2% de parafinas.

Todos los aceites nafténicos presentan valores de $n = 6$ ¹⁷.

1.1.1.3 Petróleo de base mixta o híbridas. De composición de bases intermedias, formados por toda clase de hidrocarburos: Saturados, no saturados, no cíclicos (parafínicos y oleofinas) y cíclicos (ciclánicos o nafténicos y bencénicos o aromáticos). La mayoría de los yacimientos mundiales son de este tipo. De esta clase podemos encontrar: bases parafínicas-nafténicas, parafínicas-nafténicas-aromáticas.

1.1.1.4 Gravedad API. Es una escala específica que mide la densidad relativa de varios tipos de crudos y se expresa en grados, clasifica los crudos en livianos, intermedios, pesados y extrapesados; desarrollada por la “American Petroleum Institute”.

La calidad del crudo y sus derivados, según la evaluación de la gravedad API (generalmente obtenida de los procedimientos habituales establecidos por el Instituto Americano del Petróleo), se podría predecir directamente de la composición molecular de los crudos ⁵.

Tabla 1. Gravedad API de los crudos

Crudo	Densidad [g/cm³]	°API
Extrapesado	>1,000	<10,0
Pesado	1,000 – 0,934	10,0 – 20,0
Mediano	0,934 – 0,8762	20,0 – 30,0
Livianos	<0,8762	>30,0

1.1.1.5 Factor de caracterización K. Permite identificar el tipo de composición química (base parafínica, mixta y nafténica) del crudo o fracción y se define como una función de la destilación y de la densidad del hidrocarburo:

$$K = \frac{\sqrt[3]{T_{mav}}}{sp. gr}$$

Ecuación 1

Donde T_{mav} es la temperatura media volumétrica real de ebullición y $sp. gr$ la gravedad específica a 60 °F. Los crudos se agrupan por familias, un crudo

parafínico – intermedio (PI), significa que tanto la gasolina, como las fracciones livianas son de carácter parafínico, mientras que la fracción de destilado lubricante es de carácter intermedio. Un factor de K mayor a 12,2 son crudos parafínicos, los crudos intermedios tienen un factor K entre 11,45 y 12,2 y en los crudos pesados K toma valores menores a 11,5.

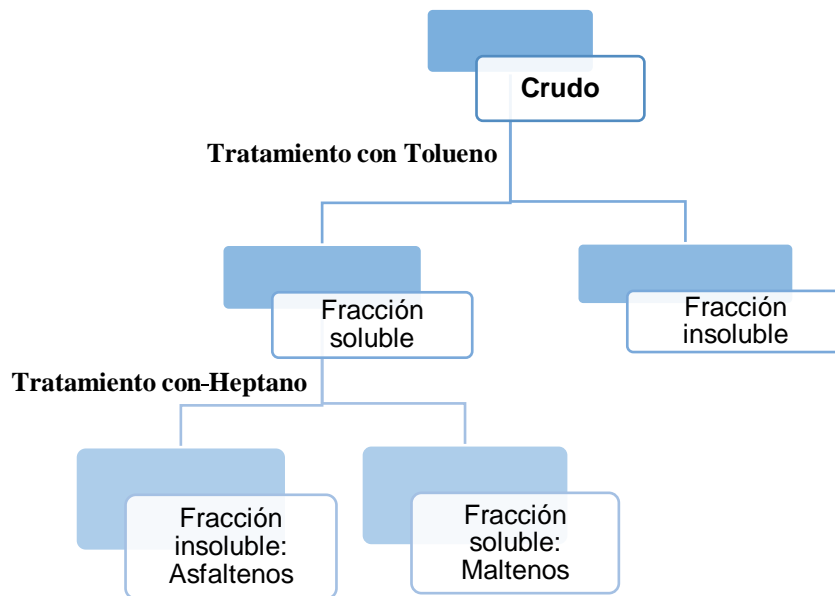
1.1.4 Asfaltenos. Representan un grupo importante de compuestos y se definen en términos de su solubilidad ^{18,19} y constituyen la fracción más polar ⁹ y pesada del crudo, se espera que cada vez sean más utilizados ^{20,21}. De acuerdo a la solubilidad están catalogados como la fracción de crudo soluble en tolueno o benceno e insoluble en un exceso de n-alcano (pentano o heptano) ^{3,18,22,23} (figura 2).

La determinación de su peso molecular ha sido, y sigue siendo, un problema difícil en la química de los asfaltenos. El origen de las discrepancias en la caracterización y el peso molecular de los asfaltenos se puede atribuir a tres propiedades básicas de los asfaltenos, es decir, variaciones de composición, tamaño de la polidispersidad, y, lo más importante, la alta capacidad de las moléculas covalentes de los asfaltenos para formar agregados moleculares ²⁴. La agregación puede apagar la fluorescencia de los asfaltenos ²⁰.

Los asfaltenos están constituidos principalmente por anillos aromáticos ligados con cadenas alquílicas y ciclo-alcanos, además de compuestos heterocíclicos que poseen N, S y O. Son moléculas relativamente pequeñas con pesos moleculares promedios de aproximadamente 750 Dalton (g/mol) con un rango de 500–1000 Dalton, ^{20,25,26} y tienen probablemente de cuatro a diez anillos fusionados en su estructura según los análisis de espectroscopia absorción óptica y espectros de emisión de fluorescencia. ^{25,26,27}.

Si los pesos moleculares de los asfaltenos son grandes, entonces cada molécula debe estar constituida por un número considerable de anillos fusionados. Si los pesos moleculares son pequeños, entonces cada molécula tiene solo 1 o quizás 2 sistemas de anillos ²⁷.

Figura 2. Separación de Asfaltenos



Técnicas como absorción de radiación en la región visible del espectro y la fluorescencia son ampliamente utilizadas para elucidar las propiedades fundamentales de los crudos y asfaltenos. Estudios anteriores utilizando técnicas de espectroscopia óptica realizadas en asfaltenos han evidenciado pequeñas diferencias tanto en los espectros de absorción como de emisión para diferentes tipos de crudo y soluciones de asfaltenos ²³.

1.1.4 Resinas. Las resinas son sólidos negros, brillantes y quebradizos que constituyen también la fracción de crudo soluble en n-heptano, son compuestos aromáticos similares en estructura a los asfaltenos, tienen mayor relación parafina/aromático (contienen heteroátomos tales como N, S, O y a veces Ni y V²⁸, tienen menor tamaño que los asfaltenos y constituyen las partes polares de los crudos. Tanto los asfaltenos como las resinas son los principales constituyentes que controlan el comportamiento del crudo en el depósito y durante el transporte. Por lo tanto, varios trabajos han demostrado que la estabilidad del crudo depende de la naturaleza, del contenido de las resinas y los asfaltenos².

Las resinas se consideran como agentes estabilizantes naturales para los asfaltenos según lo reportado por Koots y Speight y se pueden adsorber en la superficie de los agregados cuando los asfaltenos son depositados¹¹.

1.2 FENÓMENOS DE FLUORESCENCIA

La luminiscencia es la emisión de luz a partir de cualquier sustancia, y se produce por el decaimiento radiativo desde estados electrónicos excitados. Se divide en dos categorías; fluorescencia y fosforescencia, y las características específicas de los procesos dependen de la naturaleza del estado excitado. La fluorescencia es el proceso que se da entre estados de igual multiplicidad (proceso espín-permitido), así que la fosforescencia resulta de la transición entre estado de diferente multiplicidad²⁹.

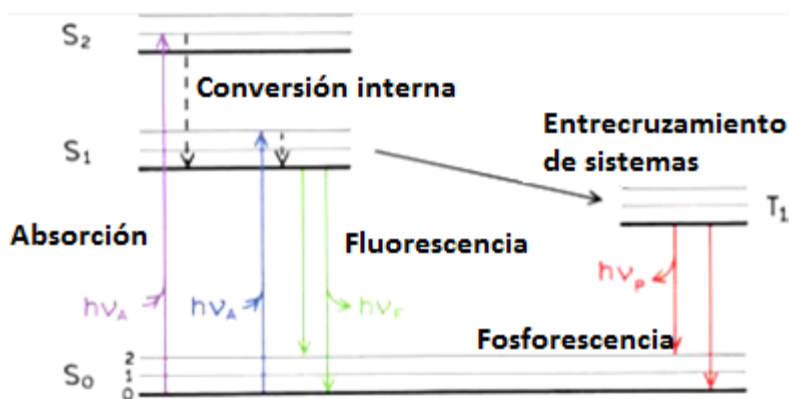
Cuando uno de los electrones de una molécula es promovido a un nivel de energía superior, conservando la paridad de espín, la molécula podrá alcanzar un estado excitado. Si la molécula en su estado fundamental tiene una multiplicidad de espín singulete, y el espín del electrón que experimenta la transición conserva su espín, el estado excitado será singulete³⁰.

El estado triplete excitado es menos energético que el correspondiente estado singulete excitado, sin embargo, una transición singulete/triplete (o viceversa), es un suceso significativamente menos probable (prohíbo por conservación de espín) que la transición singulete/singulete, y como consecuencia de esto, el tiempo de vida medio de un estado triplete excitado puede oscilar desde 10^{-4} s a varios segundos, mientras que el tiempo de vida medio para un estado singulete excitado es de 10^{-8} a 10^{-5} s.

Los datos espectrales de fluorescencia se presentan generalmente como espectros de emisión. Un espectro de emisión de fluorescencia es un gráfico de la intensidad de fluorescencia frente a longitud de onda (nanómetros) o número de onda (cm^{-1}), que varía ampliamente y dependen de la estructura química del fluoróforo y el disolvente en el que se disuelve y la temperatura del medio ²⁹.

Un diagrama de niveles de energía hipotético para una molécula foto-luminiscente se ilustra en la figura 3, donde la línea horizontal gruesa en la parte inferior representa la energía del estado fundamental de la molécula, que normalmente es un estado singulete y se designan como S_0 . Las líneas gruesas superiores son los niveles de energía de los estados electrónicos excitados S_1 y S_2 . T_1 representa al primer estado triplete excitado. Las líneas horizontales delgadas que acompañan a las gruesas representan las energías de los estados vibracionales asociados con cada estado electrónico ²⁹.

Figura 3. Diagrama de Jablonski. Fuente: Lakowicz, J. R. principles of fluorescence



1.2.1 Procesos de desactivación de la fluorescencia. La existencia de la fluorescencia en una sustancia es amenazada por la aparición de otro tipo de fenómenos que logran disminuirla, estos fenómenos están en constante competición con la fluorescencia, y se hacen evidentes al medir la eficiencia del proceso ³⁰.

1.2.1.1 Relajación vibracional. La figura 3, muestra que durante una transición electrónica, el electrón puede alcanzar cualquiera de los niveles vibracionales del estado electrónico, sin embargo, hay varios procesos de relajación. La relajación vibracional acompaña a todas las transiciones vibracionales que transcurren con un exceso de energía vibracional. Esta energía es transmitida al medio a través de colisiones con otras moléculas. Este proceso dura 10^{-15} segundos ³¹.

1.2.1.2 Conversión interna. Este término describe los procesos intermoleculares por los cuales la molécula pasa a un estado electrónico de menos energía sin emisión de radiación. Tiene lugar cuando dos niveles de energía electrónicos están suficientemente cerca como para que se dé un solapamiento de los niveles de energía vibracional. Este proceso ocurre a velocidades cercanas a 10^{-12} s^{-1} .

1.2.1.3 Conversión externa. Se presenta cuando la desactivación de un estado electrónico excitado puede incluir la interacción y la transferencia de energía entre la molécula excitada y el disolvente u otras moléculas del medio. La evidencia de la conversión externa incluye el efecto del disolvente en la intensidad de la fluorescencia, también, aquellas condiciones que tienden a reducir el número de colisiones entre partículas como la baja temperatura y la elevada viscosidad, que tienden, generalmente, a aumentar la fluorescencia.

1.2.1.4 Cruce entre sistemas. Es un proceso en el cual la molécula accede a un estado electrónico con diferente multiplicidad de espín lo que implica una inversión de espín del electrón en el estado excitado. Igual que en la conversión interna, la probabilidad de esta transición aumenta si los niveles vibracionales de los dos estados se solapan. El cruce entre sistemas es más común en moléculas que contienen átomos pesados como yodo y bromo, y la presencia de oxígeno molecular, que también contribuye a la disminución de la fluorescencia.

1.2.2 Variables que afectan la fluorescencia. La temperatura, el solvente, el pH, efecto del oxígeno disuelto, rendimiento cuántico, efecto de la rigidez estructural y concentración.

1.2.2.1 La temperatura. La fluorescencia es altamente sensible a los cambios de temperatura, en ambientes donde hay alta concentración de fluoróforos, al aumentar la temperatura la intensidad de la fluorescencia disminuye al mismo tiempo que las bandas se hacen más estrechas; la intensidad disminuye principalmente a causa de un apagamiento térmico (la dinámica del sistema) y la estrechez es debido a que los fluoróforos son excitados a los estados vibracionales superiores del estado electrónico fundamental ²⁰.

1.2.2.2 El solvente. Los solventes que acompañan al fluoróforo pueden generar corrimientos que pueden ser contados en términos del efecto sobre todo de las fuerzas de interacción (principalmente del tipo van der Waals) sobre el sistema π -electrón, el cual se vuelve menos localizado, la energía de transición se vuelve más pequeña resultando en corrimiento batocrómico (corrimiento hacia el rojo). Cualquier soluto o especialmente disolventes que tiene átomos pesados pueden apagar la fluorescencia de moléculas orgánicas ¹⁸.

1.2.2.3 El pH. La fluorescencia de un compuesto aromático con sustituyentes ácidos o básicos en el anillo depende normalmente del pH. Tanto la longitud de onda como la intensidad de la emisión son, probablemente, diferentes para las formas ionizada y no ionizada del compuesto. Los cambios en la emisión de los compuestos de este tipo surgen del distinto número de especies resonantes asociadas con las formas ácidas y básicas de las moléculas, por tanto cuanto mayor es el número de formas resonantes, mayor es la estabilidad del primer estado excitado.

1.2.2.4 Efecto del Oxígeno disuelto. La presencia de oxígeno reduce la intensidad de la fluorescencia de una disolución. El oxígeno es paramagnético y tiene un estado bajo excitado lo que favorece el cruce entre sistemas y la conversión de las moléculas excitadas al estado triplete ⁵.

Si un fluoróforo en el estado excitado colisiona con una molécula de oxígeno, entonces el fluoróforo vuelve a su estado fundamental sin emisión de un fotón ²⁹.

1.2.2.5 Rendimiento cuántico. El rendimiento cuántico tanto para la fluorescencia como para la fosforescencia depende del balance entre los tipos de relación radiativo y los no radiativos.

$$\phi = \frac{k_r}{k_r + k_{nr}}$$

Ecuación 2

Donde k representa las constantes de velocidad relativas de los procesos por los cuales la molécula se desactiva: k_r es el tipo radiativo, y k_{nr} es la suma de todos los tipos de relajación no radiativos. El denominador es el tipo de relajación total de los estados excitados $k_0 = k_r + k_{nr}$. El rendimiento cuántico de la fluorescencia extrañamente varía de molécula a molécula y usualmente es alto cuando es mayor a 0.1 ³².

1.2.2.6 Efecto de la rigidez estructural. Empíricamente se encuentra que la fluorescencia se ve particularmente favorecida en moléculas que poseen estructuras rígidas. La falta de rigidez de una molécula probablemente provoca un aumento de la velocidad de conversión interna y por ello, el aumento en la probabilidad de desactivación no radiativa ³².

1.2.3 Características de la Fluorescencia. La fluorescencia más intensa y más útil es la que presentan los compuestos que contienen grupos funcionales aromáticos con transiciones $\pi > \pi^*$ de baja energía. Los compuestos que tienen grupos carbonilo en estructuras alifáticas y alicíclicas o estructuras con dobles enlaces altamente conjugados también pueden presentar fluorescencia, pero el número de estos compuestos es pequeño comparado con el número de sistemas aromáticos. La mayoría de los hidrocarburos aromáticos no sustituidos son fluorescentes en disolución. El rendimiento cuántico normalmente aumenta con el número de anillos y con su grado de condensación ³².

En compuestos heterociclos con nitrógeno, la transición electrónica de más baja energía probablemente implica un sistema $n > \pi^*$ que rápidamente se transforma en un estado triplete e impide la fluorescencia.

1.2.3.1 Relación entre espectros de excitación y espectros de fluorescencia. Dado que las diferencias de energía entre los estados vibracionales son aproximadamente iguales tanto en los estados excitados como en el estado fundamental, el espectro de absorción, o de excitación, y el espectro de fluorescencia de un compuesto con frecuencia se parecen como si uno fuera aproximadamente la imagen en un espejo del otro, con solapamiento en la línea de resonancia ³¹.

1.2.3.2 Corrimiento Stokes. Se precisa cuando la longitud de onda de la luz emitida será mayor (tendrá menos energía), que la longitud de onda (Ley de Stokes) absorbida ³¹ Cuanto mayor sea el corrimiento de Stokes, más fácilmente podrán separarse la luz de excitación y la de emisión. Además el pico de intensidad de la luz de emisión fluorescente es menor que el de excitación, siendo la curva de emisión una imagen especular de la curva de excitación, pero desplazada hacia valores de mayores longitudes de onda (figura 4) ³⁰.

Figura 4. Representación de los diagramas espectrales de absorción y de emisión. Fuente: Martínez, R.; Gragera, R. Fundamentos teóricos y prácticos de la Histoquímica



1.3 QUIMIOMETRÍA

Los métodos modernos de análisis automático facilitan la adquisición de grandes cantidades de datos. Una serie de métodos espectroscópicos y cromatográficos pueden proporcionar datos analíticos sobre muchos componentes de una única muestra. Situaciones como éstas, en que se miden varias variables para cada muestra, proporcionan datos multivariantes ³³.

La quimiometría es el uso de la matemática y métodos estadísticos para el manejo, interpretación y predicción de datos químicos; trata específicamente de transformar señales analíticas y datos en información.

1.3.1 Pre-tratamiento de datos. Este tipo de técnicas son utilizados antes de construir un modelo matemático con el fin de disminuir o eliminar las fuentes de variación irrelevantes (ya sea aleatorios o sistemáticos), de modo que el paso de regresión puede concentrarse mejor en la variabilidad importante que debe ser modelado ³⁴.

Los pretratamientos más utilizados son:

- **Promediado de espectros:** reduce el efecto del ruido promediando varias señales de una misma muestra aumentando la relación señal/ruido.
- **Suavizado:** se utiliza cuando no ha sido suficiente promediar los espectros para disminuir el ruido, debido a que la relación señal/ruido es pequeña. Existen diferentes tipos de suavizado tales como: moving average, gaussian filter, median filter y smoothing Golay, los cuales cumplen con el objetivo.
- **Correlación de línea base:** permite eliminar determinadas tendencias de la línea base que aportan ruido a la señal de cada espectro.
- **Normalización:** permite de que todo los vectores (fila o columna) de la matriz de datos tengan la misma referencia de escala para homogeneizar la distorsión producida por las diferentes escalas de los datos originales ³⁵.

Existen diferentes tipos de normalización, tales como: normalización por área, normalización media, normalización máxima y normalización por rangos.

- *Normalización por área:* se realiza calculando el área bajo la curva del espectro
- *Normalización media:* consiste en dividir cada fila de una matriz de datos por su media.

- *Normalización máxima*: consiste en dividir cada fila por su valor máximo absoluto en lugar de la media.
- *Normalización por rango*: cada fila se divide por el valor máximo menos el valor mínimo.

1.3.2 Análisis de componentes principales (PCA). Es un método para la extracción de las variaciones sistemáticas en un conjunto de datos ^{6,36}. El método se puede utilizar para reducir la cantidad de datos cuando está presente la correlación ³³, la clasificación, así como para la descripción y la interpretación. PCA se orienta hacia el modelado de la estructura de varianza/covarianza de la matriz de datos en un modelo que representa las variaciones significativas y que considera el ruido como un error ³⁶, también encuentra combinaciones de variables que describen las principales tendencias en el conjunto de datos ^{8,6}.

Matemáticamente, se basa en una descomposición del vector propio de la matriz de covarianza de las variables en un conjunto de datos. Dada una matriz de datos X con m filas de muestras y n columnas de las variables, la matriz de covarianza de X se define como ⁶.

$$cov(X) = \frac{X^T X}{m - 1}$$

Ecuación 3

A través de PCA es posible detectar zonas espectrales con mayor variabilidad. Estas zonas pueden estar asociadas con el análisis SARA a través de PLS ⁷.

1.3.3 Regresión por mínimos cuadrados parciales. Comienza encontrando combinaciones lineales de las variables predictoras, pero la forma en que se eligen estas resulta diferente. Las variables que muestran una alta correlación con las variables respuesta se les asigna un peso extra dado porque serán más efectivas en la predicción. De esta forma se eligen combinaciones lineales de las variables predictoras que estén altamente correlacionadas con las variables respuesta y también expliquen la variación de las variables predictoras ³³.

Matemáticamente PLS da una expresión lineal para cada modelo predictivo desarrollado como se muestra en la ecuación siguiente:

$$Y_{\text{PRED}} = \sum I_{\lambda} b + e$$

Ecuación 4

Donde Y representa la propiedad para predecir, I es la intensidad para cada longitud de onda de la región usada para la calibración, b representa un vector de coeficientes calculado en la calibración, que relaciona la propiedad con los datos espectroscópicos y finalmente e es el vector que contiene los errores ⁷.

PLS permite un enfoque estadístico sofisticado usando la región del espectro completo en lugar de una banda de análisis único y aislado. El algoritmo se basa en la capacidad de correlacionar matemáticamente los datos espectrales para una matriz de propiedad de interés mientras que al mismo tiempo representa todos los demás factores espectrales importantes que perturban el espectro ^{5,36}, en pocas palabras la regresión se utiliza para ajustar un modelo a los datos observados con el fin de cuantificar la relación entre dos grupos de variables. En este caso la matriz de datos X son los datos espectroscópicos, mientras que la respuesta Y son los valores observados de la fracción S.A.R.A ⁶.

1.3.4 Validación del modelo. La predictibilidad del modelo consiste en la verificación de la funcionalidad del modelo para predecir sobre un grupo de muestras, y estos resultados son comparados estadísticamente con los valores de referencia. Existen dos tipos de validación, en donde sí se emplean muestras incluidas en la calibración del modelo se habla de validación interna y en donde sí se emplean muestras diferentes a las empleadas en la calibración del modelo se tiene el método de validación externa.

Para determinar si un modelo es válido o no, a menudo se usan tres tipos de error diferentes que se basan en la raíz del error cuadrático medio (RMSE): (a) RMSEC (Root Mean Square Error Calibration) o raíz del error cuadrático medio de calibración, (b) RMSEP (Root Mean Square Error Prediction) o raíz del error cuadrático medio de predicción, (c) RMSECV (Root Mean Square Error Cross Validation) o raíz del error cuadrático medio de calibración cruzada ^{37,38}

a) RMSEC

Describe el grado de acuerdo entre los valores de concentración estimadas por el modelo de calibración para las muestras de calibración y los valores aceptados como verdaderos para las muestras de calibración usadas para obtener los parámetros del modelo.

La evaluación de los resultados de calibración se estima calculando el error estándar de calibración (SEC) después de comparar la verdadera modificación con el calculado para cada componente ^{5,36}.

La fórmula para el error estándar de calibración es:

$$SEC = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (c_i - c'_i)^2}{N - 1 - p}}$$

Ecuación 5

Donde c_i es la variable conocida, c'_i es la variable calculada, N es el número de muestras y p es el número de variables independiente en la regresión.

b) RMSEP

En la calibración multivariante, la exactitud reporta la cercanía de acuerdo entre el valor de referencia y el valor predicho, y generalmente es expresada como la raíz cuadrada del error de predicción (RMSEP) para un conjunto de muestras de validación.

$$SEP = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (c_i - c'_i)^2}{M - 1}}$$

Ecuación 6

Donde c_i es la variable conocida, c'_i es la variable calculada por la ecuación de calibración y M es el número de muestras en el conjunto de predicción. El RMSEP enuncia el error promedio para ser expresado con las predicciones futuras cuando se aplica el modelo de calibración a las muestras desconocidas ³⁴.

c) RMSECV

La calibración cruzada es usada para estimar la habilidad predictiva de un modelo de calibración. Uno de los métodos es dejando una muestra por fuera (LOOCV), en el que el número de segmentos es igual al número de muestras de calibración. En tal caso, sólo se elimina una muestra y el proceso se repite tantas veces como muestras haciendo que los errores de predicción al cuadrado se sumen.

$$RMSECV = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^M (c_i - \hat{c}_i)^2}{M}}$$

Ecuación 7

Donde c_i es la variable conocida, \hat{c}_i es la variable calculada por la ecuación de calibración y M es el número de muestras en el conjunto de predicción.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un modelo predictivo para cuantificar el contenido de asfáltenos y resinas de crudos colombianos por medio de espectroscopia de fluorescencia molecular y métodos quimiométricos.

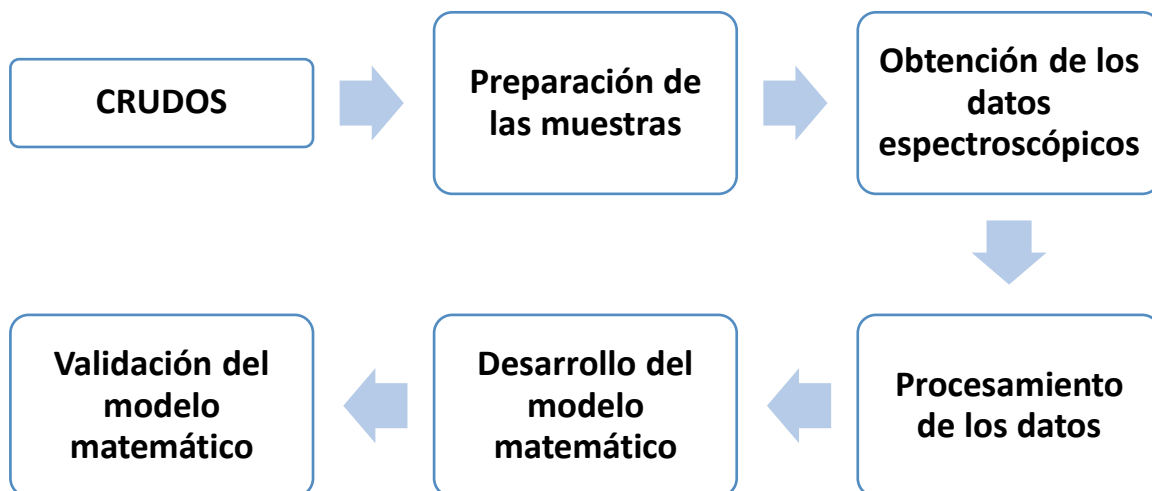
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Establecer las mejores condiciones experimentales (Concentración, longitud de onda de emisión máxima de asfáltenos y resinas) para la obtención de los datos espectroscópicos.

- ✓ Proponer una relación entre los valores de referencia de los asfaltenos y las resinas con la emisión fluorescente a las longitudes de onda seleccionadas mediante análisis de componentes principales (PCA)

3. METODOLOGÍA

Para el desarrollo de la investigación se llevaron a cabo las siguientes etapas



3.1 SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Se utilizaron 24 crudos de diferentes zonas de Colombia para determinar el contenido de asfaltenos y 23 crudos para resinas, con su respectivo porcentaje en peso de asfaltenos y porcentaje en peso de resinas (tabla 2).

Tabla 2. Contenido de asfaltenos y resinas en las muestras de crudo utilizadas para el desarrollo del modelo.

Crudos	Asfaltenos %W	Crudos	Resinas %W
1	2,460	A	11,41
2	3,450	B	12,21

3	13,33	C	11,55
4	3,290	D	13,22
5	2,130	E	11,54
6	1,700	F	13,08
7	3,750	G	15,69
8	10,90	H	12,33
9	3,910	I	36,60
10	3,550	J	25,80
11	17,90	K	31,20
12	13,50	L	29,90
13	8,700	M	25,00
14	8,800	N	28,40
15	9,100	O	31,80
16	9,100	P	31,40
17	10,60	Q	25,40
18	10,50	R	26,20
19	8,400	S	2,240
20	0,3800	T	2,160
21	2,120	U	1,960
22	0,3800	V	1,970
23	0,7000	W	2,240
24	0,2900		

3.2 EQUIPO DE FLUORESCENCIA

El equipo utilizado para la adquisición de espectros de fluorescencia fue un espectrofluorómetro marca Photon Technology International (PTI) de la serie QuantaMaster TM 40, equipado con lámpara de xenón, en un rango de trabajo de

185~870 nm (medida efectiva en el rango 190~850 nm), detector Photomultiplier 814. El sistema de control del espectrómetro se dirige desde el software FelixGX. Este equipo es muy sensible, por lo que permite detectar e identificar las trazas de una molécula fluorescente, de tal forma que se puede obtener precisión de las medidas a bajas concentraciones.

Figura 5. Espectrofotómetro de fluorescencia



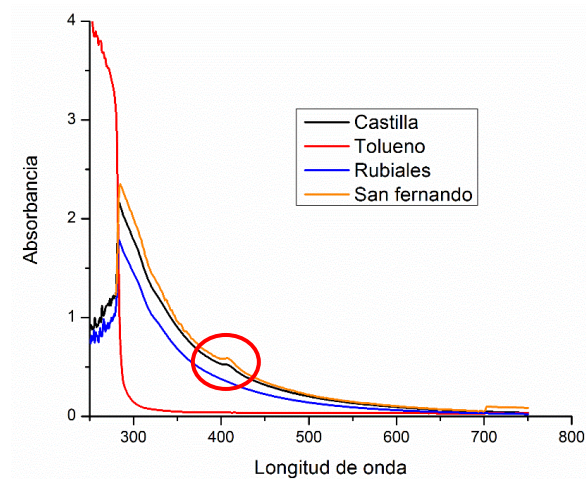
3.3 PARÁMETROS DE OPERACIÓN EN EL EQUIPO

La selección de parámetros para la adquisición de espectros en el modo de emisión se determinó luego de comparar los parámetros descritos en la revisión bibliográfica y efectuando pruebas preliminares en el equipo de ultravioleta visible para establecer la longitud de onda de excitación.

Teniendo en cuenta los espectros tomados en el equipo de ultravioleta visible (Figura 6) se seleccionó la longitud de onda de excitación a 409nm, donde presenta una banda de baja intensidad, por tal razón se determinó realizar la toma de espectros de emisión en el equipo de fluorescencia en un rango de longitudes de onda de 415–600nm para todo los crudos.

El ancho de la rendija del equipo fue ajustado a 1nm para la emisión, al igual que la longitud del paso a 1nm.

Figura 6. Espectros UV-Visible



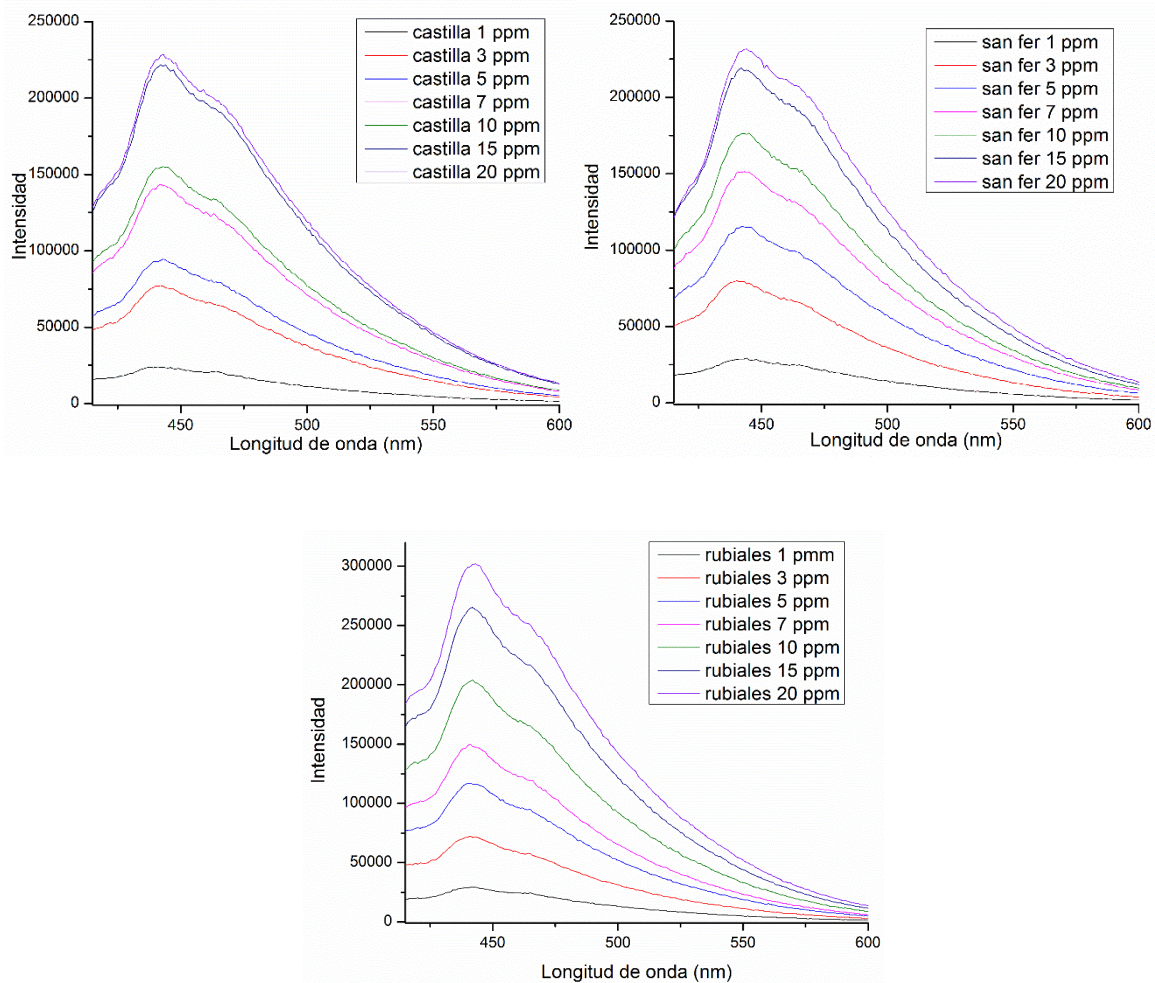
3.4 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

De los crudos a trabajar se seleccionaron tres aleatoriamente con el fin de definir la concentración a trabajar para la toma de espectros de fluorescencia. Cada uno de los tres crudos fue diluido en tolueno a diferentes concentraciones desde 1ppm hasta 20ppm y posteriormente se midieron los espectros de emisión (Figura 7). Este disolvente fue seleccionado porque no afecta el comportamiento de la señal de fluorescencia.

Se hicieron las diluciones para determinar en qué momento decae la señal de fluorescencia por la alta concentración de los fluoróforos que genera colisiones entre las moléculas.

Teniendo en cuenta los resultados de las pruebas anteriores se seleccionó la concentración de 10ppm para evitar posibles colisiones.

Figura 7. Espectros de emisión de fluorescencia a diferentes concentraciones



3.5 ESPECTROS DE FLUORESCENCIA

Los espectros de emisión se obtuvieron al promediar tres mediciones por muestra y su calidad fue verificada haciendo una inspección visual con el fin de identificar agrupaciones o posibles errores tanto instrumentales como humanos (Figura 8) (Figura 9). Las agrupaciones observadas bien sea por la forma o intensidad de los espectros de emisión pueden tener como origen moléculas en común.

Figura 8. Espectros de emisión de los crudos a una concentración de 10ppm para determinar el contenido de asfaltenos

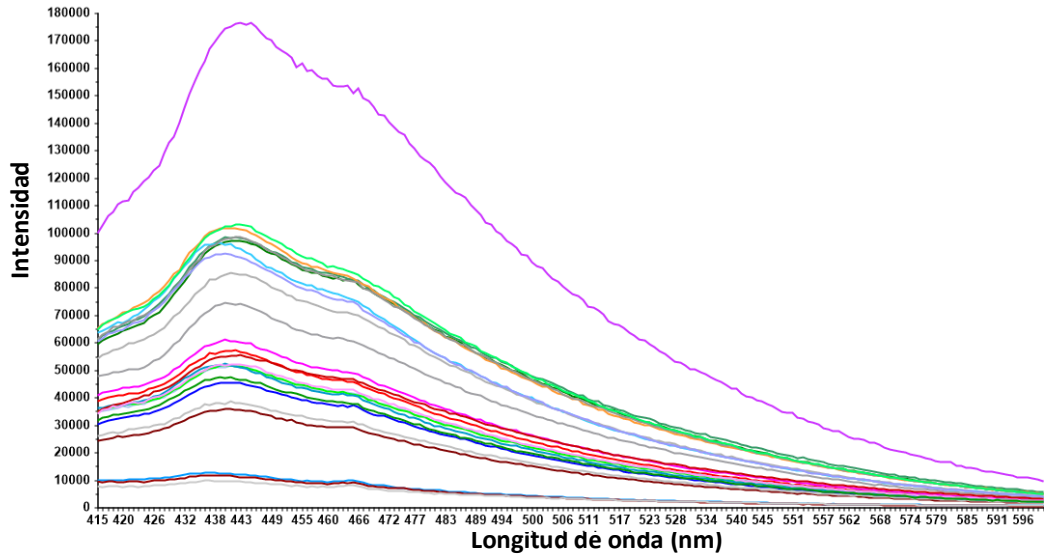
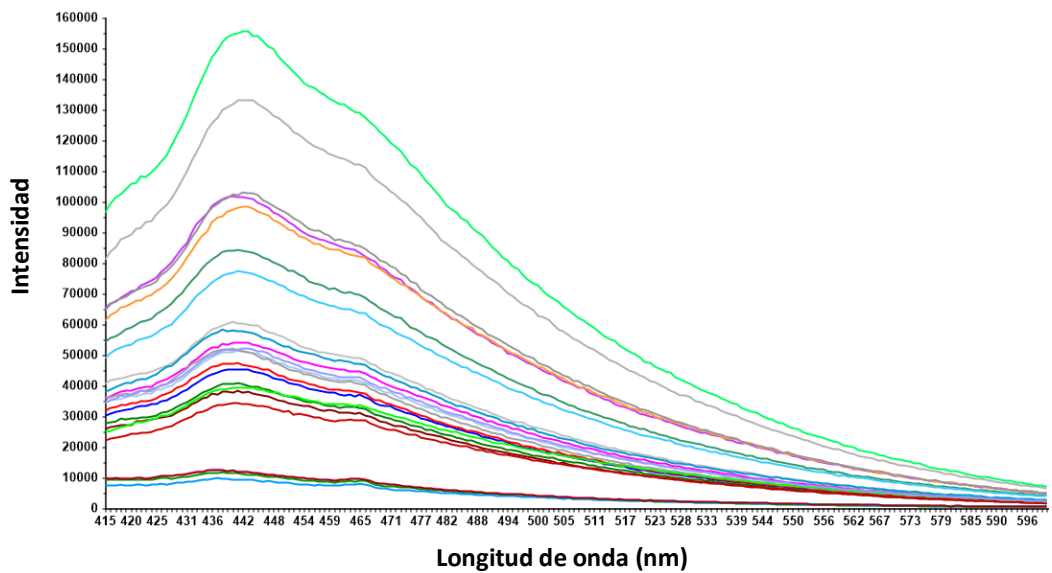


Figura 9. Espectros de emisión de los crudos a una concentración de 10ppm para determinar el contenido de resinas



3.6 PRETRATAMIENTO DE DATOS

Los datos espectroscópicos fueron analizados en el software The Unscrambler versión 10.3 licenciado por el laboratorio de espectroscopia atómica y molecular (LEAM), donde se realizó un pretratamiento para disminuir las contribuciones no deseadas en la señal analítica ³⁹.

El primer paso realizado fue normalizar los datos de asfaltenos (Figura 10) y resinas (Figura 11), con el fin de que todos los datos tengan la misma referencia de escala para homogeneizar la distorsión producida por las diferentes escalas de los datos originales ³⁵. Seguido a este proceso se aplicó suavizado y línea base respectivamente (Figura 12, 13) para reducir el ruido.

Figura 10. Espectros de emisión normalizados para las muestras de crudo consideradas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos

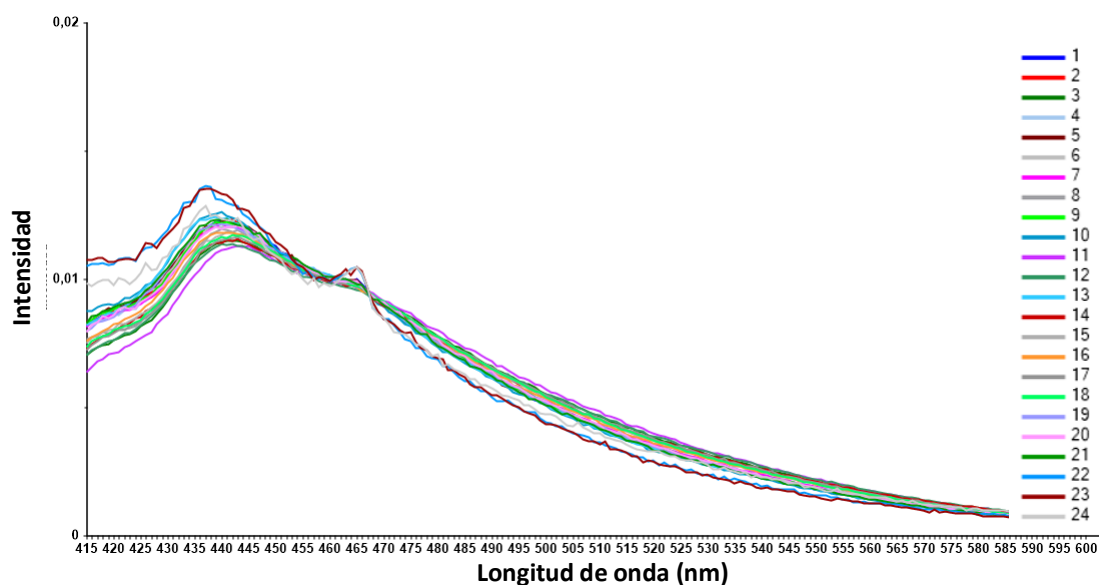


Figura 11. Espectros de emisión normalizados para las muestras de crudo consideradas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas

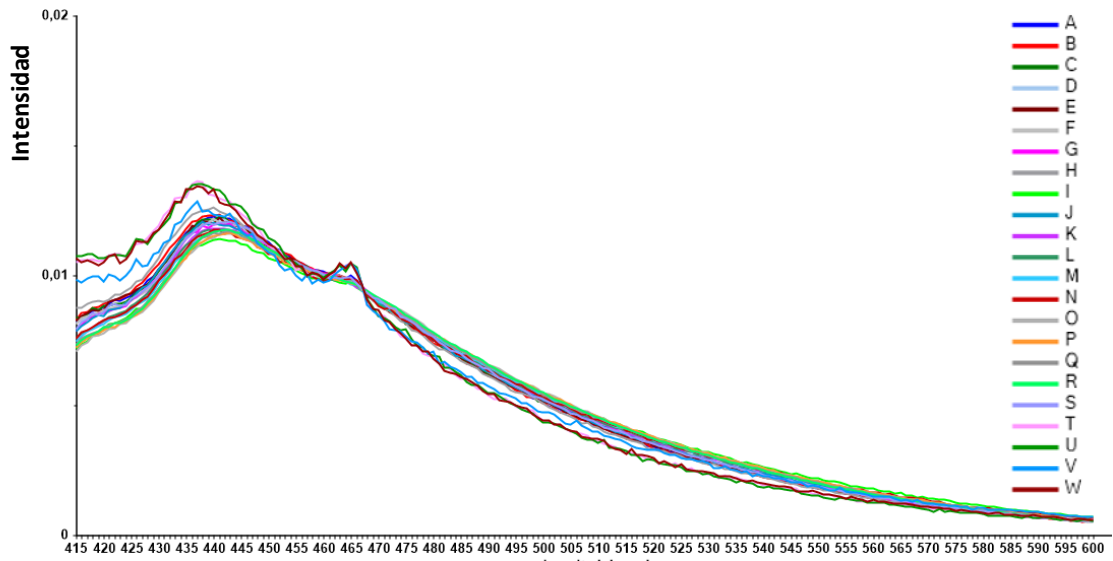


Figura 12. Espectros de emisión normalizado-suavizado-línea base para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos.

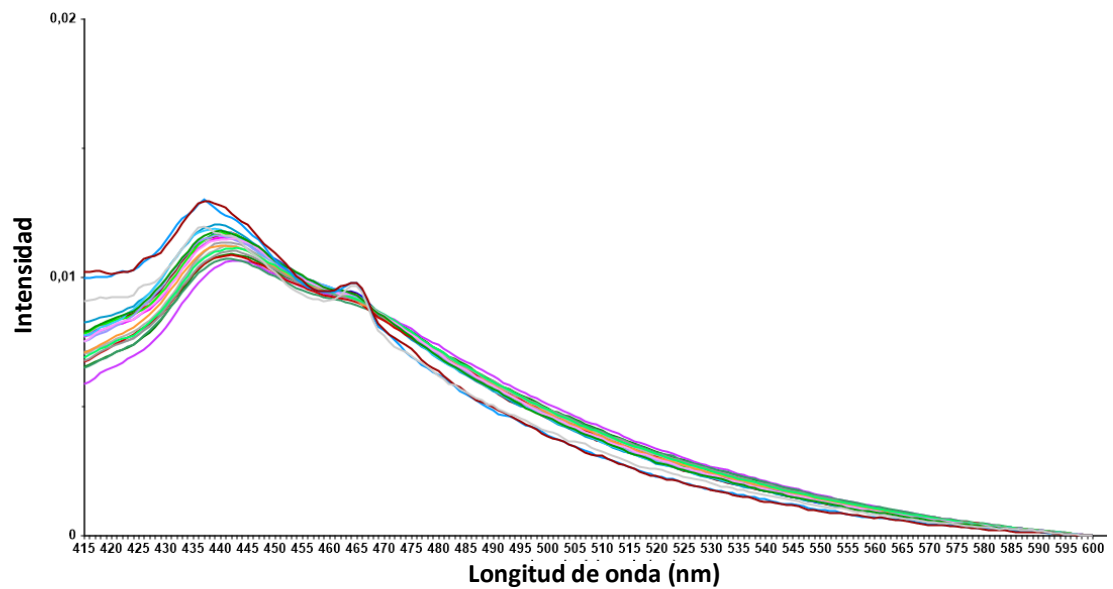
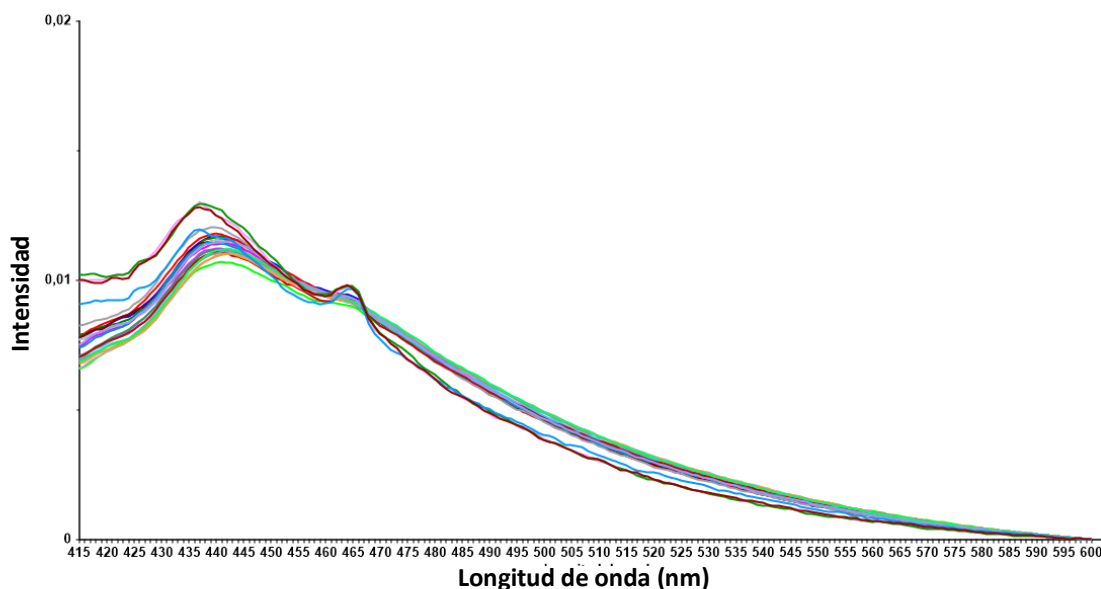


Figura 13. Espectros de emisión normalizado-suavizado-línea base para las muestras de crudo usadas para desarrollar le modelo de predicción del contenido de resinas.



3.7 ANÁLISIS DE COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

Se realizó una descomposición de los datos espectroscópicos en componentes principales (CP) con el objetivo de reducir la dimensión (número de variables) de los datos los cuales representan en gran medida la mayor cantidad de información posible y dar una idea preliminar del número de componentes principales que explica la mayor variabilidad del conjunto de datos; además, con la finalidad de conocer si es posible hacer una agrupación natural entre las muestras.

Las nuevas componentes principales (independientes entre sí) serán una combinación lineal de las variables originales (relacionadas), y un número relativamente pequeño de componentes que explican la variación total de todas las variables originales ⁴⁰.

3.8 REGRESIÓN POR MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES

Utilizando la herramienta PLS del programa UNSCRAMBLER versión 10.3 se evaluó el potencial de la espectroscopia de fluorescencia en estado estacionario para desarrollar un modelo de calibración que permita predecir el contenido de asfaltenos y resinas en crudo colombianos.

El modelo se desarrolló en dos etapas:

- *Calibración:* se realizó teniendo en cuenta el análisis de componentes principales, en donde se eligió el número de muestras que serían empleadas para desarrollar el modelo.
- *Validación:* se realizó utilizando el método de validación interna y validación externa.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

A continuación se presentan los resultados correspondientes al análisis por componentes principales y regresión por mínimos cuadrados parciales, realizado a espectros de fluorescencia de crudos Colombianos.

4.1 ANÁLISIS POR COMPONENTES PRINCIPALES (PCA)

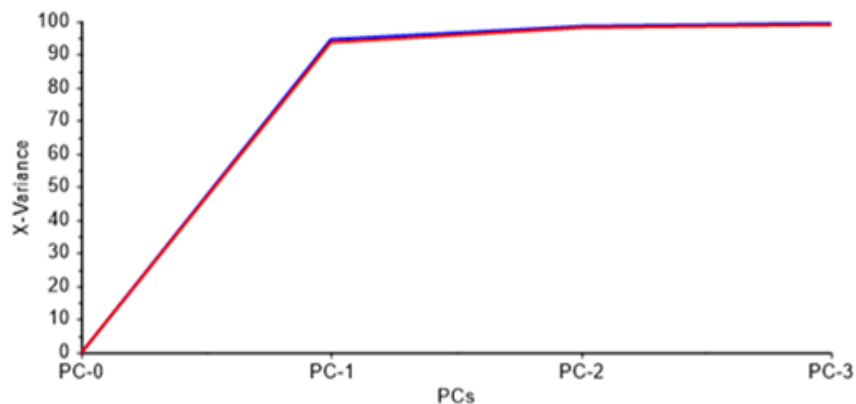
4.1.1 Asfaltenos. Se realizó una descomposición en componentes principales a los espectros—corregidos por el pretratamiento seleccionado previamente, permitiendo identificar las muestras que están correlacionadas entre si y las que se alejan del grupo de estas muestras.

Se encontró que tres componentes principales (PC1, PC2, PC3,) describen el 99,35% de la varianza explicada y que un cuarto componente (PC4) describe únicamente el 0,2700% de la varianza (tabla 3) (figura 14)

Tabla 3. Valores de varianza explicada y acumulada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de asfaltenos

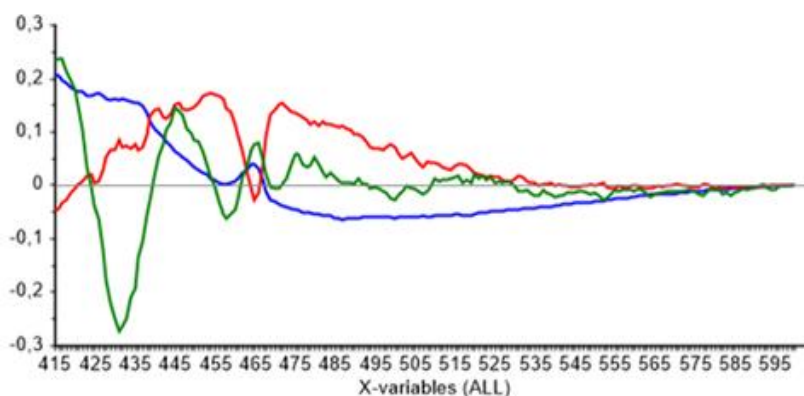
Componente Principal	Varianza Explicada	Varianza Acumulada
PC1	94,53	94,53
PC2	4,180	98,71
PC3	0,6400	99,35
PC4	0,2700	99,62

Figura 14. Valores de varianza explicada y acumulada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de asfaltenos



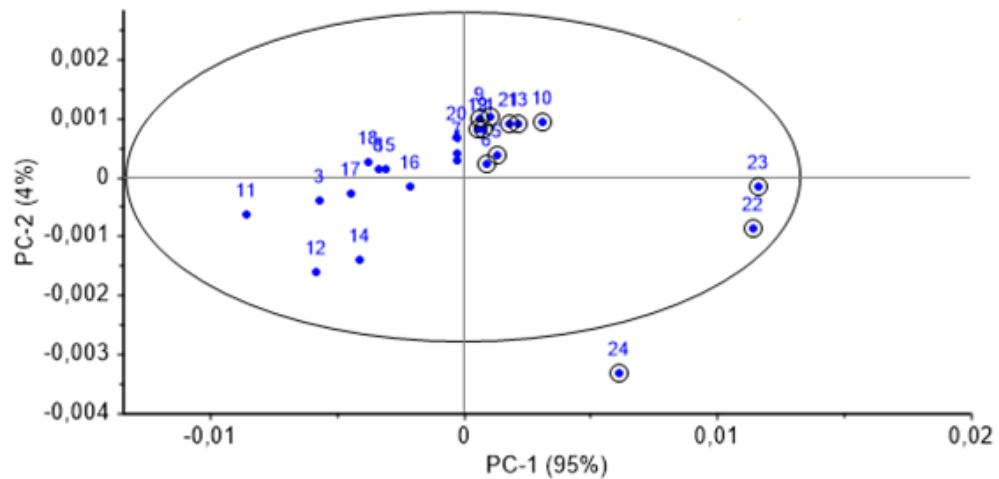
En la figura 15 se muestra la varianza explicada por los tres componentes principales según la información de los espectros de fluorescencia, donde el 94,53% de las variables contribuye al primer componente, es decir este componente describe en su mayoría el perfil del espectro inicial; el otro 4,180% de las variables contribuye al segundo componente y el 0,6400% restante contribuye en el tercer componente.

Figura 15. Gráfica de pesos para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfalteno



La representación de los dos componentes principales (PC1, PC2) (figura 16), permite establecer la relación que existe entre las muestras analizadas según la cercanía a los planos PC1 y PC2.

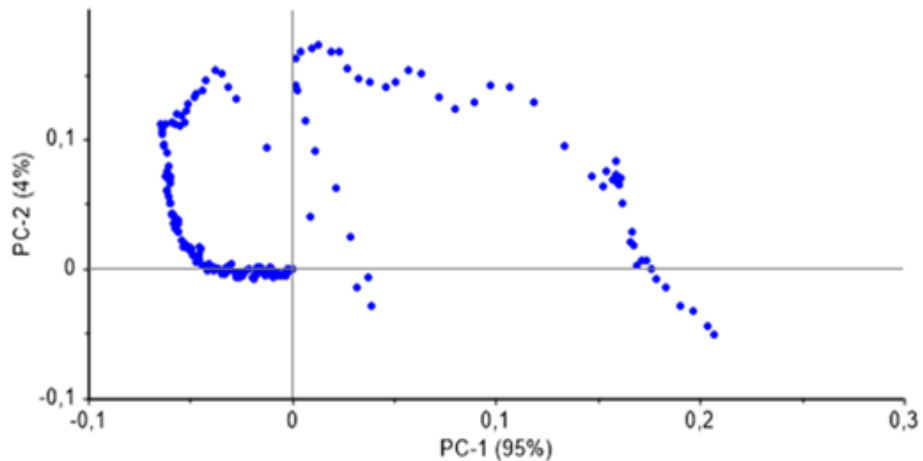
Figura 16. Gráfico de Puntuaciones para las muestras de crudo utilizadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos



Dado que los componentes principales dan información acerca de las semejanzas o diferencias químicas de las muestras, se encontró agrupaciones naturales de las muestras analizadas a partir del contenido de asfaltenos

Según la gráfica de pesos 2D (figura 17), las variables que hacen parte de los espectros de fluorescencia de los crudos que están situados en el primer cuadrante, se relacionan con alguna propiedad de la muestra, lo mismo ocurre con el segundo cuadrante, pero la propiedad que las está relacionando puede ser diferente o variar de forma inversa la misma propiedad. Este gráfico se relaciona con el gráfico de puntuaciones (figura 16), en donde las variables que hacen parte del primer cuadrante son las que están influenciando en las muestras del primer cuadrante del gráfico de puntuaciones, de igual forma sucede con las variables que hacen parte del segundo cuadrante.

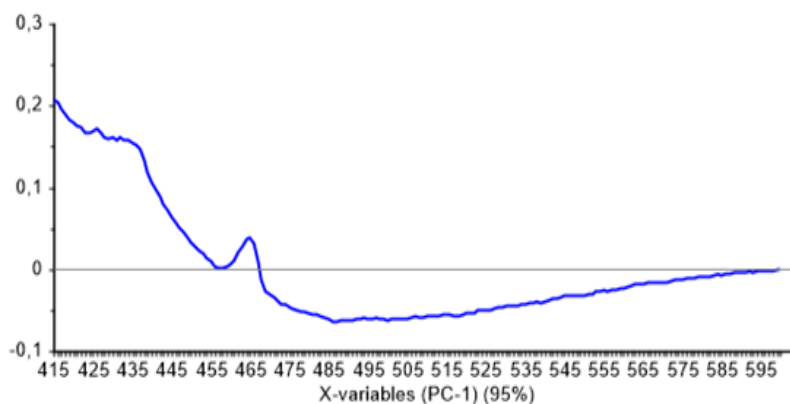
Figura 17. Gráfica de pesos en 2D para las muestra de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de asfaltenos



Las variables que hacen parte del primer y segundo cuadrante de la gráfica peso 2D se observan mejor en el gráfico de la figura 18, en donde las variables positivas del eje “y” que están en el rango de 415-465nm aproximadamente hacen parte del primer cuadrante tanto de peso 2D como de puntuaciones, y las variables negativas del eje “y” que pertenecen al rango de 466-600nm corresponden a la parte izquierda de dichos gráficos.

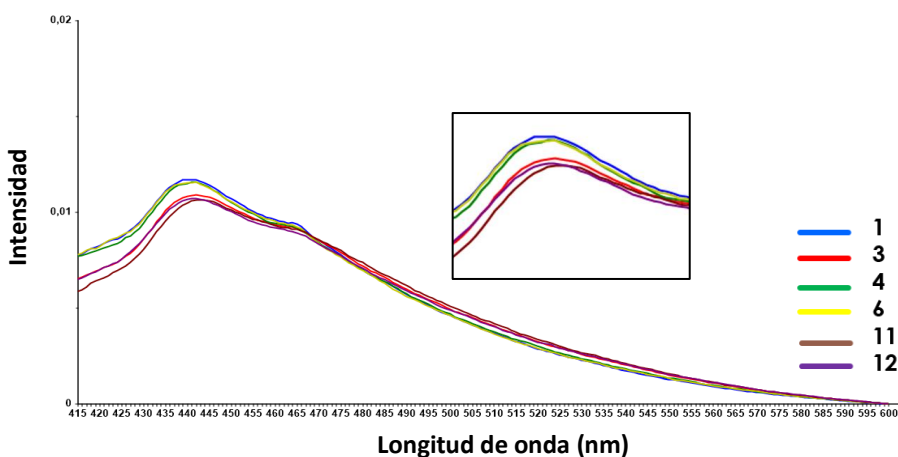
Al realizar el análisis PCA, se observó que las variables positivas para el eje “y” del gráfico pesos (figura 18) son las variables de mayor relevancia para las muestras que se encuentran en el primer cuadrante del gráfico puntuaciones (figura 16). Las muestras que se encuentran en este cuadrante presentan el menor contenido de asfaltenos del grupo de calibración.

Figura 18. Gráfica de pesos para las muestras de crudo usadas en el desarrollo del modelo de predicción del contenido de asfaltenos



Al realizar el análisis del espectro de fluorescencia se determinó que en la región de 415 a 468nm las muestras de crudo exhiben una mayor emisión atribuida a los asfaltenos presentes en el crudo. También se observó que las muestras con alto contenido de asfaltenos presentaban una disminución de la intensidad de las señales en este rango (figura 19), lo cual indica que hay un posible apagamiento de la emisión debida a la concentración de asfaltenos, el cual puede favorecer procesos de transferencia de energía entre las moléculas.

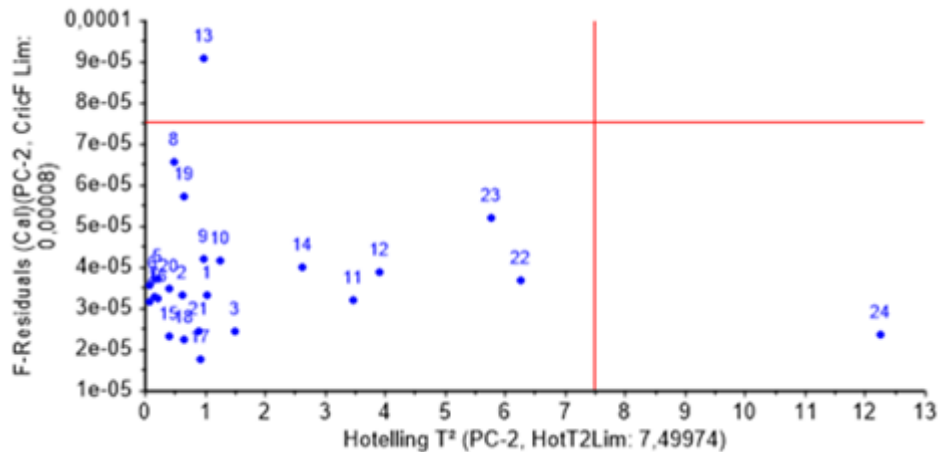
Figura 19. Muestras de crudo con diferente contenido de asfaltenos



Con el fin de determinar posibles muestras atípicas del conjunto de calibración para el desarrollo del modelo se analizó el gráfico puntuaciones y el gráfico de influencia (figura 20). El gráfico puntuaciones permite establecer el límite de confianza para identificar las muestras que presentan diferencias extremas en los datos espectroscópicos con respecto a las demás por efecto de propiedades fisicoquímicas diferentes, como el contenido de asfaltenos, por tanto pueden ser muestras atípicas (outlier). Según el gráfico puntuaciones la muestra 24 está fuera del límite, las muestras 22 y 23 están alejadas de los dos grupos, aunque presenta similitud en el contenido de asfaltenos con la muestra 24, lo que permite establecer que posiblemente no se pueden emplear con fiabilidad para el desarrollo del modelo PLS.

Una clasificación más detallada de los valores atípicos, influyentes y peligrosos de las muestras analizadas se observan en el gráfico de influencia (figura 20). Las muestras con gran influencia, son muestras que pueden ser bien descritas por los modelos de calibración que se desarrollen y en este caso se encuentran en el tercer cuadrante delimitadas por una línea roja. Las muestras con una alta varianza residual, es decir, desplazadas al segundo, al primer y al cuarto cuadrante, son posibles valores atípicos, ya que puede que algunas de sus variables no estén bien descritas por el modelo, como se evidencia para las muestras 13 y 24.

Figura 20. Gráfica de Influencia para las muestras de crudo usadas en el desarrollo del modelo de predicción del contenido de asfaltenos



Las muestras 13 y 24 posiblemente no serán definidas por el modelo que describe la mayoría de las muestras, y distorsiona el modelo con el fin de definir las bien, lo que significa que el modelo con estas muestras atípicas se centra en la diferencia entre esas muestras en particular y las otras, en vez de describir las características más generales y comunes a todas las muestras.

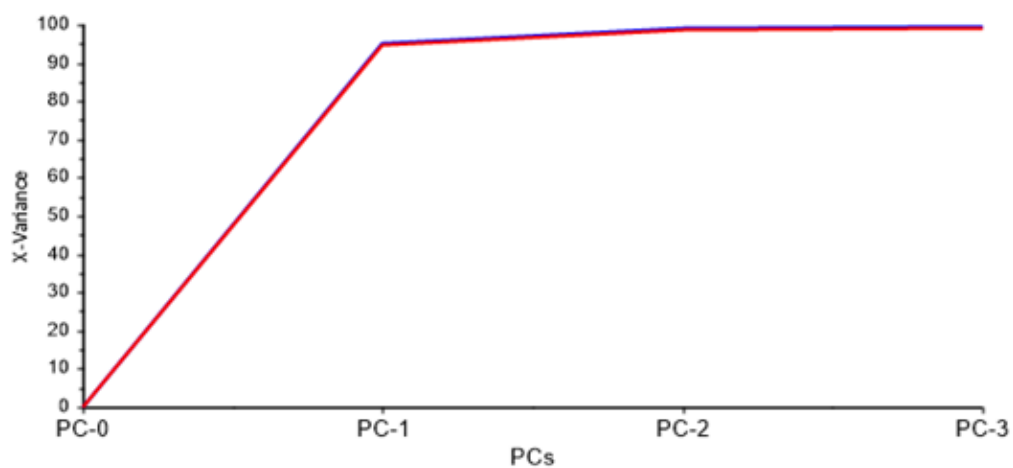
4.1.2 Resinas. Se realizó una descomposición en componentes principales a los espectros totales corregidos por el pretratamiento seleccionado previamente, permitiendo identificar las muestras que están correlacionadas entre sí y las que se alejan del grupo de estas muestras.

Se encontró que tres componentes principales (PC1, PC2, PC3,) describen el 99,54% de la varianza explicada y que un cuarto componente (PC4) describe únicamente el 0,1300% de la varianza (tabla 4) (figura 21)

Tabla 4. Valores de varianza explicada y acumulada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de resinas

Componentes Principales	Varianza Explicada	Varianza Explicada Acumulada
PC1	95,25	95,25
PC2	3,960	99,21
PC3	0,3300	99,54
PC4	0,1300	99,67

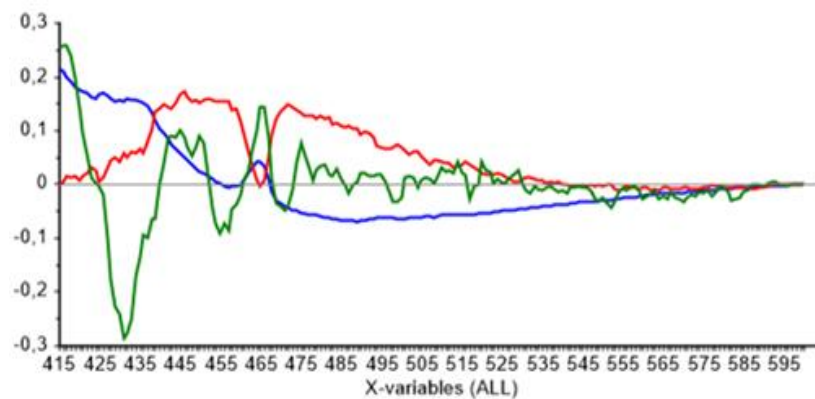
Figura 21. Varianza Explicada para los crudos utilizados en el desarrollo del modelo para el contenido de resinas



En la figura 22 se muestra la varianza explicada por los tres componentes principales según la información de los espectros de fluorescencia, donde el

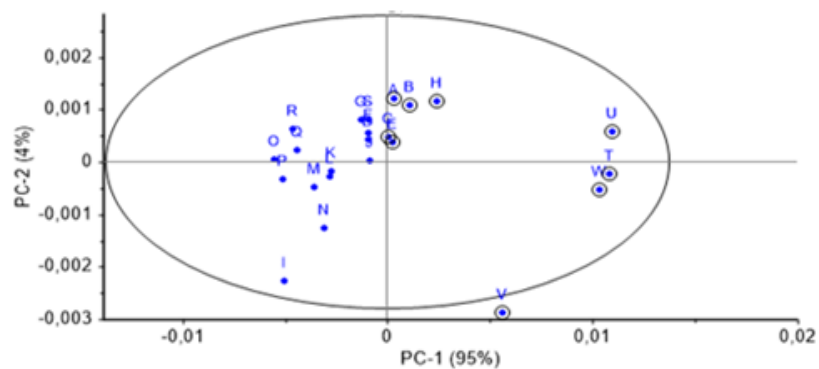
95,25% de las variables contribuye al primer componente, es decir este componente describe en su mayoría el perfil del espectro inicial; el otro 3,960% de las variables contribuye al segundo componente y el 0,3300% restante contribuye en el tercer componente.

Figura 22. Gráfica de pesos para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas



En el gráfico de puntuaciones para resinas (figura 23) también se encontró agrupaciones naturales de las muestras analizadas partiendo de la información de su composición (% resinas).

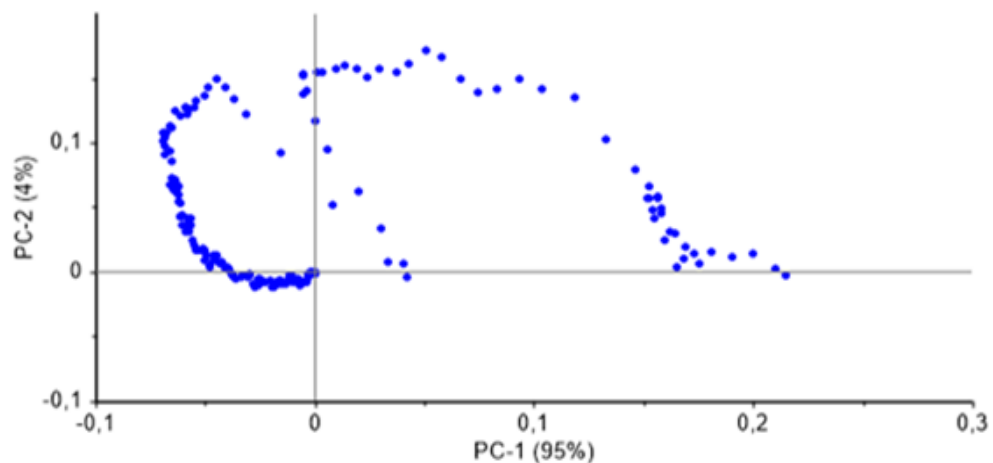
Figura 23. Gráfico de puntuaciones para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas



Teniendo en cuenta lo escrito anteriormente de las relaciones en los gráficos puntuaciones y los dos de pesos del análisis PCA para asfaltenos, en resinas se cumple con la misma relación.

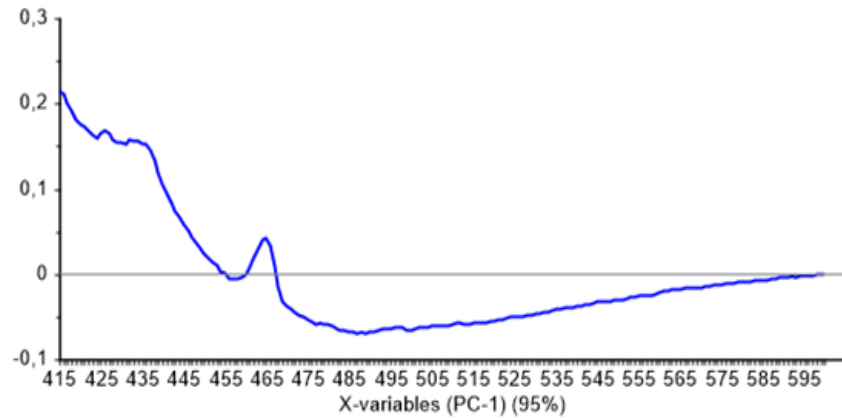
Las variables que hacen parte del primer cuadrante del grafico pesos 2D (figura 24) son las que están influenciando en las muestras del primer cuadrante del gráfico puntuaciones (figura 23), de igual forma sucede con las variables que hacen parte del segundo cuadrante.

Figura 24. Gráfico peso 2D para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas



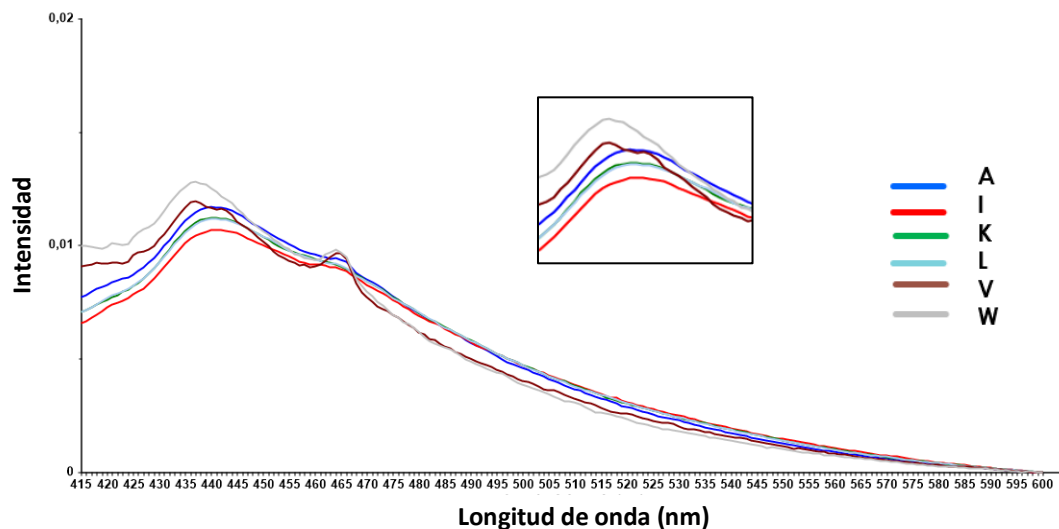
Al realizar el análisis PCA, se observó que las variables positivas para el eje “y” del gráfico peso (figura 25) son las variables de mayor relevancia para las muestras que se encuentran en el primer cuadrante del gráfico puntuaciones (figura 23). Las muestras que se encuentran en este cuadrante presentan el menor contenido de resinas del grupo de calibración, lo que conlleva a interpretar que las resinas al igual que los asfaltenos presentan un máximo de emisión entre 415-468nm aproximadamente.

Figura 25. Gráfico de peso para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas



Para este caso se encontró que las muestras con alto contenido de resinas presentaban una disminución de la intensidad de las señales en este rango (figura 26), lo que indica que hay un posible apagamiento de la emisión debida a la concentración de resinas, el cual puede favorecer procesos de transferencia de energía entre las moléculas.

Figura 26. Muestras de crudo con diferente contenido de resinas

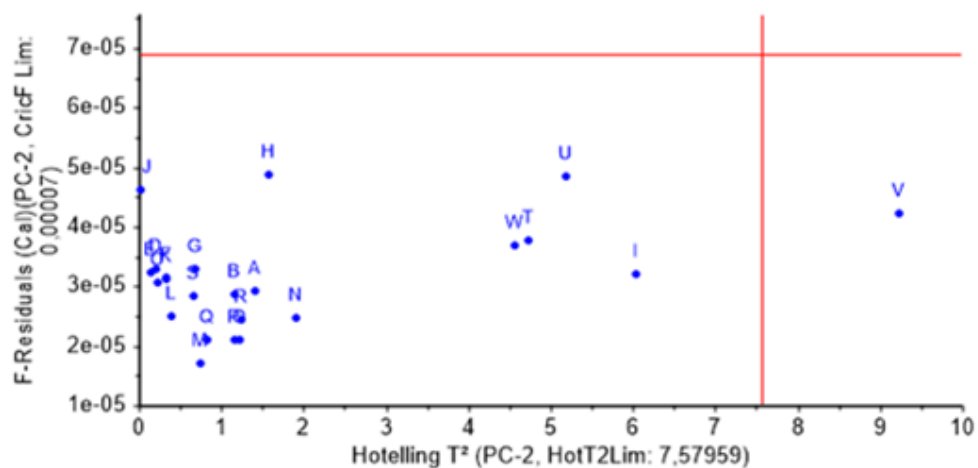


Con el fin de determinar posibles muestras atípicas del conjunto de calibración para el desarrollo del modelo se analizó los gráficos puntuaciones e influencia (figura 27).

Según el gráfico puntuaciones la muestra "V" está fuera del límite, las muestras U, T y W están alejadas de los dos grupos, aunque presentan similitud en el contenido de resinas con la muestra V, lo que permite establecer que posiblemente no se pueden emplear con fiabilidad para el desarrollo del modelo PLS.

Una clasificación más detallada de los valores atípicos, influyentes y peligrosos de las muestras analizadas se observan en el gráfico de influencia (figura 27), en donde se evidencia que la muestra V es la que presenta mayor varianza residual, lo que permite hacer una posible discriminación de esta en el desarrollo del modelo debido a que alguna de sus variables de dicha muestra no está bien descrita por el modelo.

Figura 27. Gráfico de influencia para las muestras de crudo usadas para desarrollar el modelo de predicción del contenido de resinas



4.2 MÍNIMO CUADRADO PARCIALES (PLS)

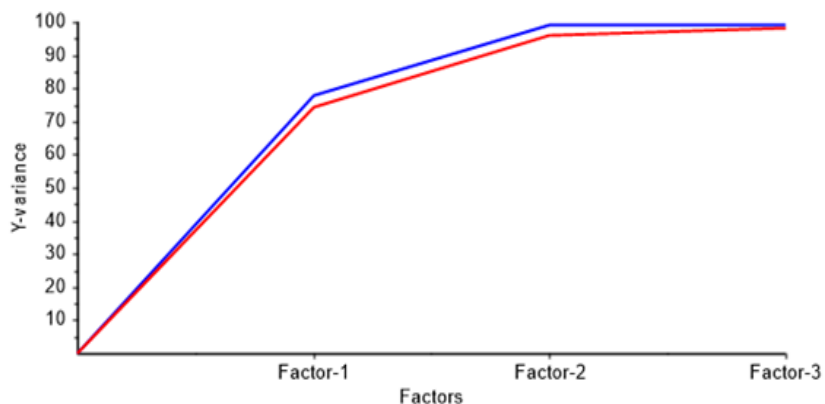
El modelo de predicción para el contenido de asfaltenos y resinas se desarrolló a partir de los datos espectroscópicos obtenidos por fluorescencia molecular, teniendo en cuenta el análisis previo por PCA. La selección del modelo de predicción se llevó a cabo evaluando los parámetros estadísticos RMSEC, RMSEP, RMSECV y R^2 .

4.2.1 Asfaltenos. El modelo de predicción explica el 99,13% de la varianza de los datos con tres factores principales para el contenido de asfaltenos en las muestras (tabla 5) (figura 28)

Tabla 5. Varianza explicada en PLS para determinar el contenido de asfaltenos en los crudos

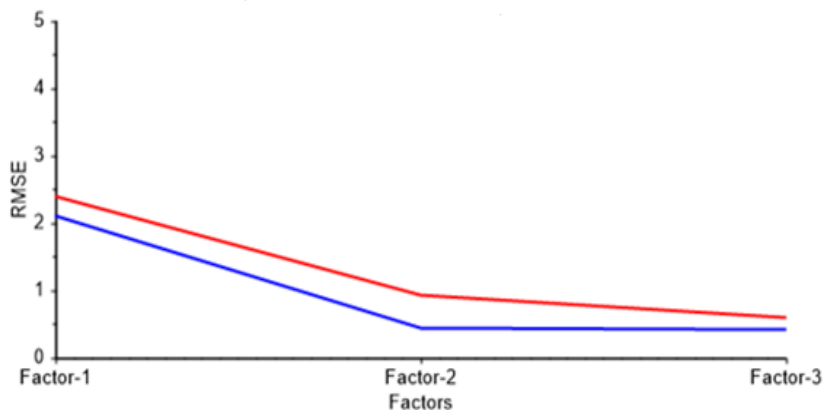
Factores principales	Varianza explicada	Varianza explicada acumulada
Factor 1	77,92	77,98
Factor 2	21,01	98,99
Factor 3	0,1400	99,13

Figura 28. Gráfica de la varianza explicada en PLS para la determinación del contenido de asfaltenos en los crudos



Para determinar el número óptimo de factores principales para construir un modelo de predicción se puede realizar teniendo en cuenta la raíz cuadrada del error de calibración (RMSEC) y de predicción (RMSEP) en función del número de factores principales, los cuales disminuyen a medida que se pasa de un componente a otro consecutivamente (figura 29).

Figura 29. Error calculado en función del número de factores en PLS para determinar el contenido de asfaltenos en crudos

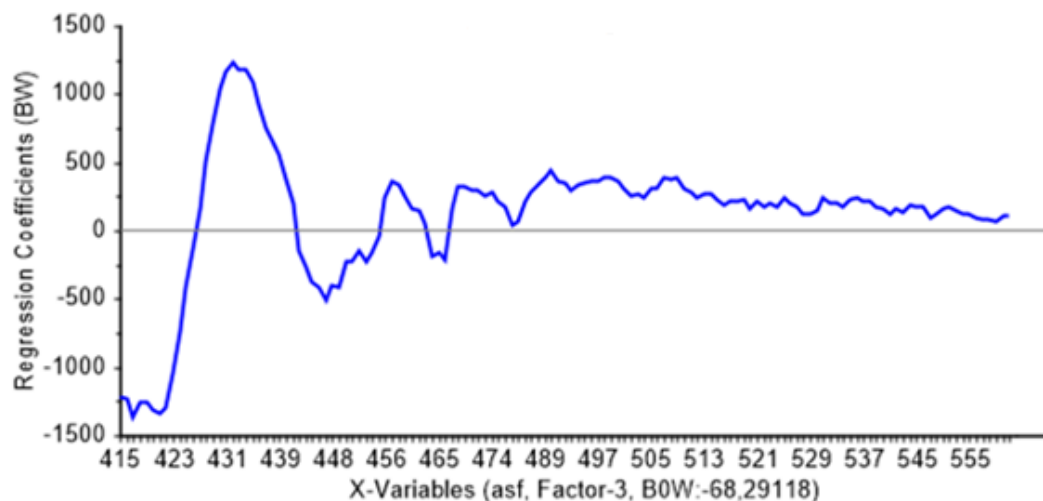


El error disminuye con cada factor debido a que la cantidad de variables analizadas en cada uno de estos se hace menor.

En el desarrollo del modelo se encontró que no todas las variables son relevantes debido a que no tienen peso o influencia sobre la propiedad de la muestra, para determinar cuáles son las variables de importancia se detalla el gráfico de coeficientes de regresión (figura 30).

Los coeficientes de regresión indican que las variables que comprenden el rango entre 415-555nm son las de mayor relevancia en la predicción del contenido de asfaltenos. Esta región del espectro de fluorescencia molecular es la que presenta mayor intensidad, lo que indica que la mayoría de los fluoróforos presentes en los asfaltenos emiten en este intervalo; estos fluoróforos corresponden a anillos aromáticos fusionados.

Figura 30. Coeficientes de regresión en PLS para determinar el contenido de asfaltenos en los crudos



La predicción del modelo PLS para asfaltenos se realizó empleando 18 muestras; las otras 6 muestras (4, 20, 21, 22, 23 y 24) fueron excluidas ya que presentaban diferencias en su contenido de asfaltenos con el resto del grupo, cuatro de ellas (20, 22, 23 y 24) tienen un contenido de asfaltenos inferior a 1, la muestra 24 tanto en el gráfico puntuaciones como en el de influencia en el análisis PCA-fue atípica (outlier).

Las muestras 4 y 21 aunque se encuentran adecuadas para el modelo PLS, generaban error al modelo, ya que estaban alejadas de la recta de calibración más que las otras muestras generando un R^2 bajo y errores altos.

Teniendo en cuenta la información anterior la validación del modelo se realizó por validación interna, ya que este es el método más indicado para un conjunto pequeño de muestras. Los valores predichos por el modelo propuesto y los valores de referencia presentan similitud (tabla 6), lo que demuestra un buen desempeño del modelo propuesto.

Cinco de las muestras presentaron un porcentaje de error relativo superior del 15% entre los valores predichos y teóricos para el modelo propuesto. Estos errores altos se deben a que la distribución de la propiedad para las muestras 1, 2, 5, 6 y 9 no es homogénea, aun así con este número de muestras se puede decir que el modelo es funcional para la determinación del contenido de asfaltenos en el rango de 1,70 a 17,9.

Tabla 6. Predicción del contenido de asfaltenos en PLS

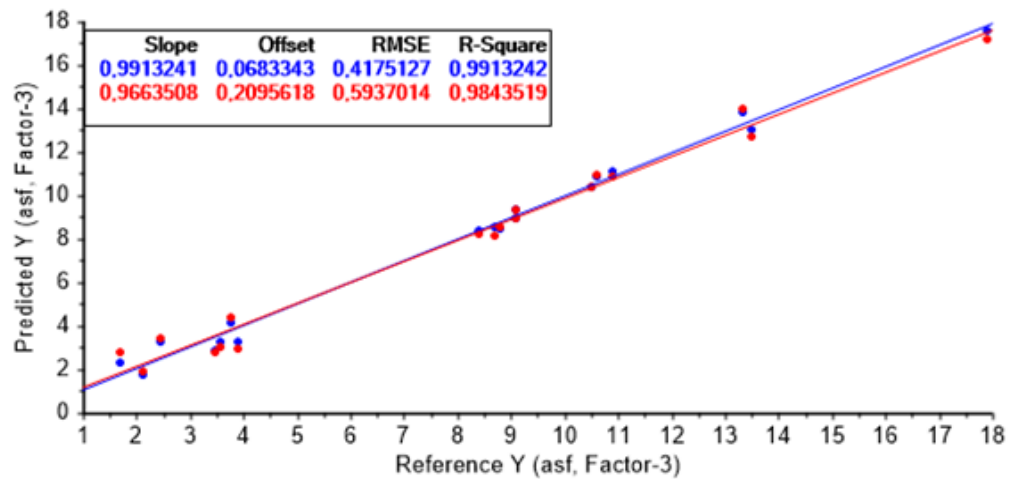
Muestra	Valor teórico	Valor predicho	% Error Relativo
1	2,460	3,252	32,195

2	3,450	2,881	16,493
3	13,30	13,86	4,211
5	2,130	1,795	15,728
6	1,700	2,356	38,588
7	3,750	4,172	11,253
8	10,90	11,15	2,294
9	3,910	3,258	16,68
10	3,550	3,247	8,535
11	17,90	17,59	1,7,32
12	13,50	13,05	3,333
13	8,700	8,549	1,736
14	8,800	8,514	3,250
15	9,100	8,968	1,451
16	9,100	9,385	3,132
17	10,60	10,89	2,736
18	10,50	10,44	0,5714
19	8,400	8,396	0,0476

El coeficiente de correlación (R^2) entre los valores teóricos y predichos fue de 0,9913, el error estándar de predicción encontrado para el conjunto de muestras

de validación RMSEP fue de 0,5937 y el error estándar de calibración para RMSEC fue de 0,4175 (figura 31).

Figura 31. Modelo para asfaltenos de los valores predichos vs referencia



El modelo se utilizó para predecir muestras externas a las de calibración y se encontró que el mayor porcentaje de error relativo fue de 14,19% en las muestras evaluadas como se consigan en la tabla 7.

Tabla 7. Validación externa para determinar el contenido de asfaltenos

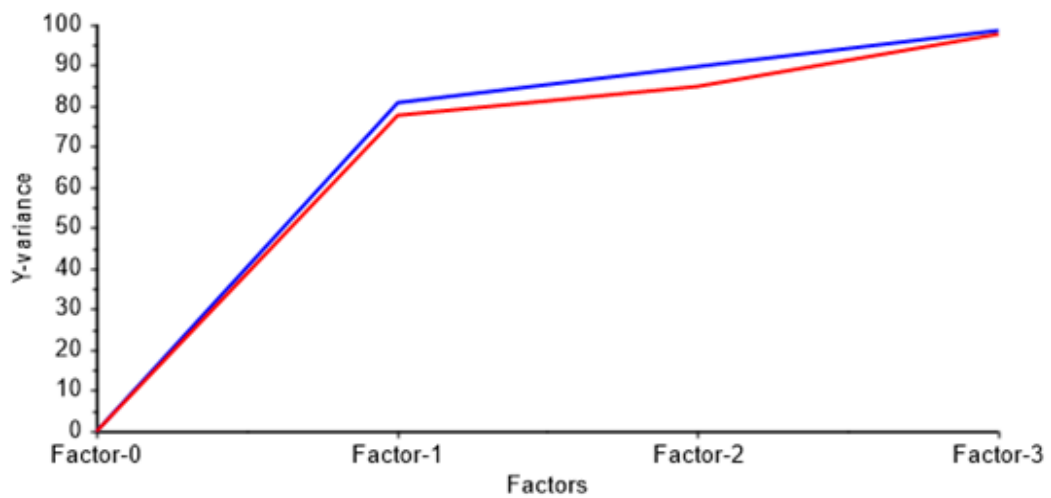
Muestra	Valor teórico	Valor predicho	% Error relativo
C1	12,80	11,31	11,64
C2	11,30	12,87	13,89
C3	10,50	11,99	14,19
C4	13,00	11,19	13,92

4.2.2 Resinas. El modelo de predicción explica el 98,74% de la varianza de los datos con tres factores principales para el contenido de resinas en las muestras (tabla 8) (figura 32).

Tabla 8. Varianza explicada en PLS para determinar el contenido de resinas en los crudos

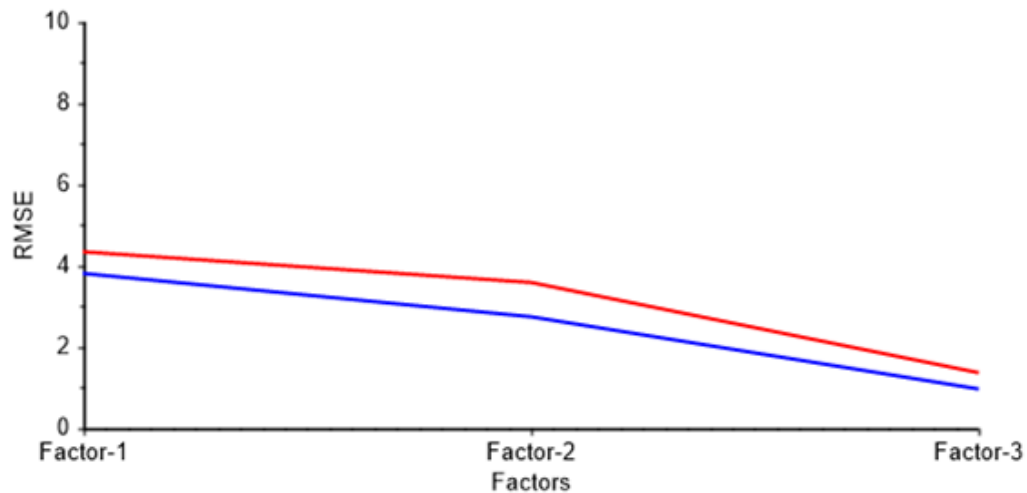
Factores principales	Varianza explicada	Varianza explicada acumulada
Factor 1	80,86	80,86
Factor 2	9,050	89,91
Factor 3	8,830	98,74

Figura 32. Gráfica de la varianza explicada para la determinación del contenido de resinas



Para determinar el número óptimo de factores principales para construir un modelo de predicción se puede realizar teniendo en cuenta la raíz cuadrada del error de calibración (RMSEC) y de predicción (RMSEP) en función del número de factores principales, los cuales disminuyen a medida que se pasa de un factor a otro consecutivamente (figura 33).

Figura 33. Error calculado en función del número de factores en PLS para determinar el contenido de resinas en crudos



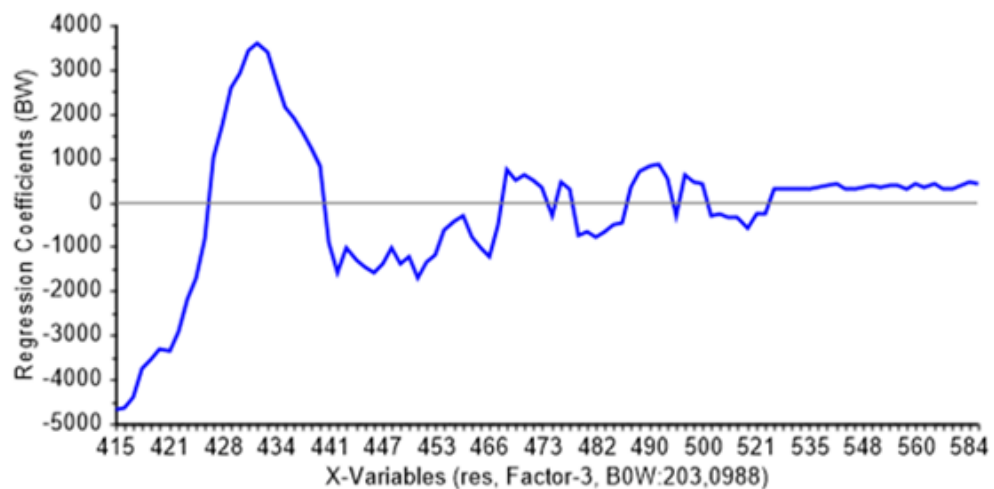
El error disminuye con cada factor que aumente debido a que la cantidad de variables analizadas en cada uno de estos se hace menor.

En el desarrollo del modelo se encontró que no todas las variables son relevantes debido a que no tienen peso o influencia sobre la propiedad de la muestra, para determinar cuáles son las variables de importancia se detalla el gráfico de coeficientes de regresión (figura 34).

Los coeficientes de regresión indican que las variables que comprenden el rango entre 415-584nm son las de mayor relevancia en la predicción del contenido de

resinas. Esta región del espectro de fluorescencia molecular es la que presenta mayor intensidad, lo que indica que la mayoría de los fluoróforos presentes en los resinas emiten en este intervalo; estos fluoróforos corresponden a anillos aromáticos fusionados.

Figura 34. Coeficientes de regresión en PLS para determinar el contenido de resinas en los crudos



La predicción del modelo PLS para resinas se realizó empleando 17 muestras; las otras 6 muestras (L, S, T, U, V, W) fueron excluidas ya que presentaban diferencias en su contenido de resinas con el resto del grupo, cinco de ellas (S, T, U, V, W) tienen un contenido de resinas inferior a 3, la muestra V tanto en el gráfico puntuaciones como en el de influencia en el análisis PCA era atípica (outlier).

La muestra L aunque se encuentren adecuada para el modelo PLS, generaba error al modelo, ya que estaba alejada de la recta de calibración más que las otras muestras generando un R^2 bajo y errores altos.

La validación del modelo se realizó por validación interna, ya que este es el método más indicado para un conjunto pequeño de muestras. Los valores predichos por el modelo propuesto y los valores de referencia presentan similitud (tabla 9), lo que demuestra un buen desempeño del modelo propuesto.

Tres de las muestras presentaron un porcentaje de error relativo superior del 6% entre los valores predichos y teóricos para el modelo propuesto. Estos errores altos se deben a que la distribución de la propiedad para las muestras B, M, y Q no es homogénea, aun así con este número de muestras se puede decir que el modelo es funcional para la determinación del contenido de resinas en el rango de 11,41 a 36,60.

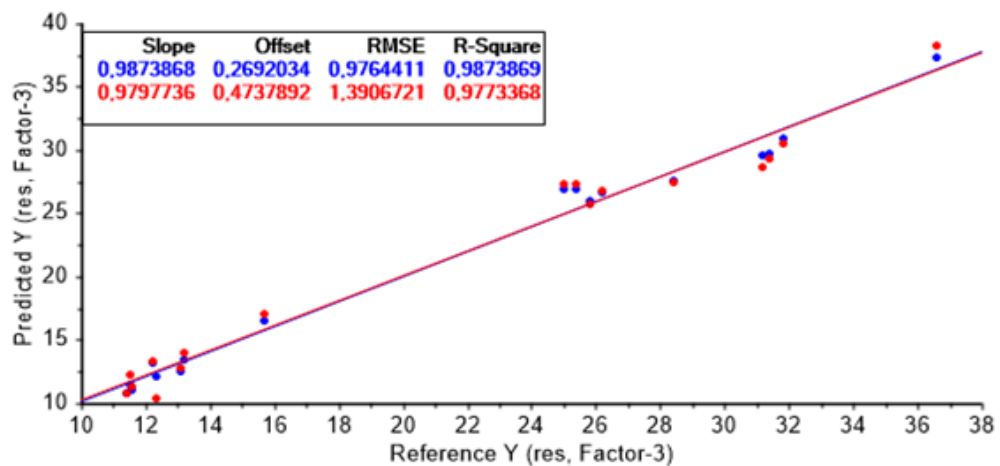
Tabla 9. Predicción del contenido de resinas con PLS

Muestra	Valor teórico	Valor predicho	% Error Relativo
A	11,41	10,75	5,784
B	12,21	13,21	8,190
C	11,55	11,04	4,416
D	13,22	13,40	1,362
E	11,54	11,46	0,693
F	13,08	12,52	4,281
G	15,69	16,56	5,545
H	12,33	12,09	1,946
I	36,60	37,28	1,858

J	25,80	26,06	1,008
K	31,20	29,62	5,064
M	25,00	26,94	7,760
N	28,40	27,62	2,746
O	31,80	30,93	2,736
P	31,40	29,77	5,191
Q	25,40	26,93	6,024
R	26,20	26,63	1,641

El coeficiente de correlación (R^2) entre los valores teóricos y predichos fue de 0,9874, el error estándar de predicción encontrado para el conjunto de muestras de validación RMSEP fue de 1,391 y el error estándar de calibración para RMSEC fue de 0,9760 (figura 35).

Figura 35. Modelo para resinas de los valores predichos vs referencia



El modelo se utilizó para predecir muestras externas a las de calibración y se encontró que el mayor porcentaje de error relativo fue de 15,67% en las muestras evaluadas como se consigan en la tabla 10.

Tabla 10. Validación externa para determinar el contenido de resinas

Muestra	Valor teórico	Valor predicho	% Error relativo
C1	32,80	27,66	15,67
C2	27,50	24,64	10,40
C3	31,40	33,85	7,803
C4	22,10	25,51	15,43

5. CONCLUSIONES

La técnica de espectroscopia de fluorescencia molecular complementada con el análisis multivariado como PLS permite el desarrollo de un método alternativo rápido y fiable para determinar el contenido de asfaltenos y resinas de crudos colombianos.

Por medio de la reducción de los datos espectrales con análisis de componentes principales (PCA), fue posible identificar las muestras que presentan correlación entre sus variables independientes.

El método de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) empleado sobre los espectros de fluorescencia tratados mostró un desempeño eficaz para predecir el contenido de asfaltenos y resinas en los crudos, generando errores de predicción de 0,591 y 1,506 con coeficientes de correlación de 0,991 y 0,087 respectivamente.

Los modelos desarrollados deben ser empleados a muestras bajo las mismas condiciones y parámetros experimentales mencionados en el presente documento. Así mismo las muestras tendrán que estar en el rango de calibración para obtener una buena predicción.

6. RECOMENDACIONES

Disponer de un número mayor de muestras que en su propiedad a analizar presenten diferencias significativas pero no extremas para tener una buena distribución en el modelo

Ampliar la información de los crudos colombianos a utilizar para realizar un análisis más profundo que permita identificar con claridad y certeza las razones del agrupamiento.

Recalcular el modelo obtenido con más muestras para obtener una buena distribución y ampliar el rango de calibración.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kharrat, A. M., Zacharia, J., Cherian, V. J. & Anyatonwu, A. Issues with comparing SARA methodologies. *Energy and Fuels* **21**, 3618–3621 (2007).
2. Hamadou, R., Khodja, M., Kartout, M. & Jada, a. Permeability reduction by asphaltenes and resins deposition in porous media. *Fuel* **87**, 2178–2185 (2008).
3. Venkatesan, R. *et al.* The effect of Asphaltenes on the Gelation of Waxy Oils. *Energy and Fuels* **17**, 1630–1640 (2003).
4. Materials, P. Standard Test Method for Separation of Asphalt into Four Fractions 1. 1–8 (2013).
5. Abbas, O., Rebufa, C., Dupuy, N., Permanyer, A. & Kister, J. PLS regression on spectroscopic data for the prediction of crude oil quality : API gravity and aliphatic / aromatic ratio. *Fuel* **98**, 5–14 (2012).
6. Aske, N., Kallevik, H. & Sjöblom, J. Determination of saturate, aromatic, resin, and asphaltenic (SARA) components in crude oils by means of infrared and near-infrared spectroscopy. *Energy and Fuels* **15**, 1304–1312 (2001).
7. Meléndez, L. V., Lache, A., Orrego-Ruiz, J. a., Pachón, Z. & Mejía-Ospino, E. Prediction of the SARA analysis of Colombian crude oils using ATR-FTIR spectroscopy and chemometric methods. *J. Pet. Sci. Eng.* **90-91**, 56–60 (2012).
8. Products, P. Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis 1. *Qual. Assur.* **05**, 1–28 (2004).

9. Spiecker, P. M., Gawrys, K. L., Trail, C. B. & Kilpatrick, P. K. Effects of petroleum resins on asphaltene aggregation and water-in-oil emulsion formation. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* **220**, 9–27 (2003).
10. Murgich, J., Abanero, J. a. & Strausz, O. P. Molecular recognition in aggregates formed by asphaltene and resin molecules from the Athabasca oil sand. *Energy and Fuels* **13**, 278–286 (1999).
11. Trejo, F., Rana, M. S. & Ancheyta, J. Thermogravimetric determination of coke from asphaltenes, resins and sediments and coking kinetics of heavy crude asphaltenes. *Catal. Today* **150**, 272–278 (2010).
12. Acevedo, S. *et al.* Relations between asphaltene structures and their physical and chemical properties: The rosary-type structure. *Energy and Fuels* **21**, 2165–2175 (2007).
13. León, O., Rogel, E., Espidel, J. & Torres, G. Asphaltenes: Structural characterization, self-association, and stability behavior. *Energy and Fuels* **14**, 6–10 (2000).
14. Rogel, E. Simulation of Interactions in Asphaltene Aggregates. *Energy & Fuels* **14**, 566–574 (2000).
15. Pressure, A. Standard Test Method for Characteristic Groups in Rubber Extender and Processing Oils and Other Petroleum – Derived Oils by the Clay – Gel Absorption Chromatographic Method 1. **05**, 1–9 (2007).

16. Spectrometry, M., Oils, P. & Petroleum-, O. Standard Test Method for Separation of Representative Aromatics and Nonaromatics Fractions of High-Boiling Oils by Elution Chromatography 1. **02**, 1–6 (2014).
17. Masson, J. F., Polomark, G. M., Bundalo-Perc, S. & Collins, P. Melting and glass transitions in paraffinic and naphthenic oils. *Thermochim. Acta* **440**, 132–140 (2006).
18. Buenrostro-gonzalez, E., Groenzin, H., Lira-galeana, C. & Mullins, O. C. Asphaltenes. 972–978 (2001).
19. Schabron, J. F. & Rovani, J. F. On-column precipitation and re-dissolution of asphaltenes in petroleum residua. *Fuel* **87**, 165–176 (2008).
20. Schneider, M. H., Andrews, a. B., Mitra-Kirtley, S. & Mullins, O. C. Asphaltene Molecular Size by Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Energy & Fuels* **21**, 2875–2882 (2007).
21. Sheu, E. Y. & Mullins, O. Frequency-dependent conductivity of Utah crude oil asphaltene and deposit. *Energy and Fuels* **18**, 1531–1534 (2004).
22. Andrews, a. B., Guerra, R. E., Mullins, O. C. & Sen, P. N. Diffusivity of asphaltene molecules by fluorescence correlation spectroscopy. *J. Phys. Chem. A* **110**, 8093–8097 (2006).
23. Goncalves, S., Castillo, J., Fernández, a. & Hung, J. Absorbance and fluorescence spectroscopy on the aggregation behavior of asphaltene-toluene solutions. *Fuel* **83**, 1823–1828 (2004).

24. Strausz, O. P., Safarik, I., Lown, E. M. & Morales-Izquierdo, a. A critique of asphaltene fluorescence decay and depolarization-based claims about molecular weight and molecular architecture. *Energy and Fuels* **22**, 1156–1166 (2008).
25. Ruiz-Morales, Y., Wu, X. & Mullins, O. C. Electronic absorption edge of crude oils and Asphaltenes analyzed by molecular orbital calculations with optical spectroscopy. *Langmuir* **21**, 944–952 (2007).
26. Klee, T. *et al.* Triplet electronic spin states of crude oils and asphaltenes. *Energy and Fuels* **25**, 2065–2075 (2011).
27. Groenzin, H. & Mullins, O. C. Molecular Size and Structure of Asphaltenes from Various Sources. *Energy* 677–684 (2000).
28. Murgich, J. & Aray, Y. Molecular Recognition and Molecular Mechanics of Micelles of Some Model Asphaltenes and Resins. *Energy & Fuels* **10**, 68–76 (1996).
29. Lakowicz, J. R. *Principles of Fluorescence Spectroscopy Principles of Fluorescence Spectroscopy*. (2006).
30. Skoog, D., Holler, J. & Nieman, T. *Principios de Análisis Instrumental 5ª Edición*. 1024 (2001).
31. Skoog, D., West, D. & Holler, J. *Fundamentos de Química Analítica*. 1150 (1997).
32. Tkachenko, N. *Optical Spectroscopy: Methods and Instrumentations*. 322 (2006).

33. Miller, J. & Miller, J. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 296 (2002).
34. Andrade, J. *Basic Chemometric Techniques in Atomic Spectroscopy*. 430 (2009).
35. Mongay, C. *Quimiometría*. 424 (2005).
36. Abbas, O. *et al.* Application of chemometric methods to synchronous UV fluorescence spectra of petroleum oils. *Fuel* **85**, 2653–2661 (2006).
37. *Practical Spectroscopy: Handbook of Near-Infrared Analysis*. 826 (2007).
38. Martens, H. & Naes, T. *Multivariate Calibration*. 438 (1989).
39. Abbas, O., Rebufa, C., Dupuy, N., Permanyer, a. & Kister, J. Assessing petroleum oils biodegradation by chemometric analysis of spectroscopic data. *Talanta* **75**, 857–871 (2008).
40. Guisande, C. *et al.* *TRATAMIENTO DE DATOS*. 356 (2006).

BIBLIOGRAFÍA

Abbas, O. et al. Application of chemometric methods to synchronous UV fluorescence spectra of petroleum oils. *Fuel* 85, 2653–2661 (2006).

Abbas, O., Rebufa, C., Dupuy, N., Permanyer, a. & Kister, J. Assessing petroleum oils biodegradation by chemometric analysis of spectroscopic data. *Talanta* 75, 857–871 (2008).

Abbas, O., Rebufa, C., Dupuy, N., Permanyer, A. & Kister, J. PLS regression on spectroscopic data for the prediction of crude oil quality : API gravity and aliphatic / aromatic ratio. *Fuel* 98, 5–14 (2012).

Acevedo, S. et al. Relations between asphaltene structures and their physical and chemical properties: The rosary-type structure. *Energy and Fuels* 21, 2165–2175 (2007).

Andrade, J. *Basic Chemometric Techniques in Atomic Spectroscopy*. 430 (2009).

Andrews, a. B., Guerra, R. E., Mullins, O. C. & Sen, P. N. Diffusivity of asphaltene molecules by fluorescence correlation spectroscopy. *J. Phys. Chem. A* 110, 8093–8097 (2006).

Aske, N., Kallevik, H. & Sjöblom, J. Determination of saturate, aromatic, resin, and asphaltenic (SARA) components in crude oils by means of infrared and near-infrared spectroscopy. *Energy and Fuels* 15, 1304–1312 (2001).

Buenrostro-gonzalez, E., Groenzin, H., Lira-galeana, C. & Mullins, O. C. *Asphaltenes*. 972–978 (2001).

Goncalves, S., Castillo, J., Fernández, a. & Hung, J. Absorbance and fluorescence spectroscopy on the aggregation behavior of asphaltene-toluene solutions. *Fuel* 83, 1823–1828 (2004).

Groenzin, H. & Mullins, O. C. Molecular Size and Structure of Asphaltenes from Various Sources. *Energy* 677–684 (2000).

Guisande, C. et al. TRATAMIENTO DE DATOS. 356 (2006).

Hamadou, R., Khodja, M., Kartout, M. & Jada, a. Permeability reduction by asphaltenes and resins deposition in porous media. *Fuel* 87, 2178–2185 (2008).

Kharrat, A. M., Zacharia, J., Cherian, V. J. & Anyatonwu, A. Issues with comparing SARA methodologies. *Energy and Fuels* 21, 3618–3621 (2007).

Klee, T. et al. Triplet electronic spin states of crude oils and asphaltenes. *Energy and Fuels* 25, 2065–2075 (2011).

Lakowicz, J. R. Principles of Fluorescence Spectroscopy Principles of Fluorescence Spectroscopy. (2006).

León, O., Rogel, E., Espidel, J. & Torres, G. Asphaltenes: Structural characterization, self-association, and stability behavior. *Energy and Fuels* 14, 6–10 (2000).

Martens, H. & Naes, T. Multivariate Calibration. 438 (1989).

Masson, J. F., Polomark, G. M., Bundalo-Perc, S. & Collins, P. Melting and glass transitions in paraffinic and naphthenic oils. *Thermochim. Acta* 440, 132–140 (2006).

Materials, P. Standard Test Method for Separation of Asphalt into Four Fractions 1. 1–8 (2013).

Meléndez, L. V., Lache, A., Orrego-Ruiz, J. a., Pachón, Z. & Mejía-Ospino, E. Prediction of the SARA analysis of Colombian crude oils using ATR-FTIR spectroscopy and chemometric methods. *J. Pet. Sci. Eng.* 90-91, 56–60 (2012).

Miller, J. & Miller, J. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. 296 (2002).

Mongay, C. *Quimiometría*. 424 (2005).

Murgich, J. & Aray, Y. Molecular Recognition and Molecular Mechanics of Micelles of Some Model Asphaltenes and Resins. *Energy & Fuels* 10, 68–76 (1996).

Murgich, J., Abanero, J. a. & Strausz, O. P. Molecular recognition in aggregates formed by asphaltene and resin molecules from the Athabasca oil sand. *Energy and Fuels* 13, 278–286 (1999).

Practical Spectroscopy: Handbook of Near-Infrared Analysis. 826 (2007).

Pressure, A. Standard Test Method for Characteristic Groups in Rubber Extender and Processing Oils and Other Petroleum – Derived Oils by the Clay – Gel Absorption Chromatographic Method 1. 05, 1–9 (2007).

Products, P. Standard Practices for Infrared Multivariate Quantitative Analysis 1. *Qual. Assur.* 05, 1–28 (2004).

Rogel, E. Simulation of Interactions in Asphaltene Aggregates. *Energy & Fuels* 14, 566–574 (2000).

Ruiz-Morales, Y., Wu, X. & Mullins, O. C. Electronic absorption edge of crude oils and Asphaltenes analyzed by molecular orbital calculations with optical spectroscopy. *Langmuir* 21, 944–952 (2007).

Schabron, J. F. & Rovani, J. F. On-column precipitation and re-dissolution of asphaltenes in petroleum residua. *Fuel* 87, 165–176 (2008).

Schneider, M. H., Andrews, a. B., Mitra-Kirtley, S. & Mullins, O. C. Asphaltene Molecular Size by Fluorescence Correlation Spectroscopy. *Energy & Fuels* 21, 2875–2882 (2007).

Sheu, E. Y. & Mullins, O. Frequency-dependent conductivity of Utah crude oil asphaltene and deposit. *Energy and Fuels* 18, 1531–1534 (2004).

Skoog, D., Holler, J. & Nieman, T. *Principios de Análisis Instrumental* 5a Edición. 1024 (2001).

Skoog, D., West, D. & Holler, J. *Fundamentos de Química Analítica*. 1150 (1997).
Spectrometry, M., Oils, P. & Petroleum-, O. Standard Test Method for Separation of Representative Aromatics and Nonaromatics Fractions of High-Boiling Oils by Elution Chromatography 1. 02, 1–6 (2014).

Spiecker, P. M., Gawrys, K. L., Trail, C. B. & Kilpatrick, P. K. Effects of petroleum resins on asphaltene aggregation and water-in-oil emulsion formation. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 220, 9–27 (2003).

Strausz, O. P., Safarik, I., Lown, E. M. & Morales-Izquierdo, a. A critique of asphaltene fluorescence decay and depolarization-based claims about molecular weight and molecular architecture. *Energy and Fuels* 22, 1156–1166 (2008).

Tkachenko, N. *Optical Spectroscopy: Methods and Instrumentations*. 322 (2006).

Trejo, F., Rana, M. S. & Ancheyta, J. Thermogravimetric determination of coke from asphaltenes, resins and sediments and coking kinetics of heavy crude asphaltenes. *Catal. Today* 150, 272–278 (2010).

Venkatesan, R. et al. The effect of Asphaltenes on the Gelation of Waxy Oils. *Energy and Fuels* 17, 1630–1640 (2003).