

**DETERMINACION DE LA MASA MOLECULAR PROMEDIO DE LAS
FRACCIONES AROMATICAS DEL PETROLEO UTILIZANDO
ESPECTROMETRIA DE MASAS DE TIEMPO DE VUELO ACOPLADO A
DESORCION/ IONIZACION POR LASER
(LDI-TOF/TOF MS)**

ADRIANA MARIA RUEDA SIERRA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE QUIMICA
BUCARAMANGA
2015**

**DETERMINACIÓN DE LA MASA MOLECULAR PROMEDIO DE LAS
FRACCIONES AROMATICAS DEL PETROLEO UTILIZANDO
ESPECTROMETRIA DE MASAS DE TIEMPO DE VUELO ACOPLADO A
DESORCION/ IONIZACION POR LASER
(LDI-TOF/TOF MS)**

ADRIANA MARIA RUEDA SIERRA

Trabajo de grado para optar al título de Químico

Director

ENRIQUE MEJIA OSPINO

Químico. Ph. D

Co-director

DIANA CATALINA PALACIO

Física M.Sc.

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE QUIMICA

BUCARAMANGA

2015

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS	15
1.1 CRUDO	15
1.1.1 Generalidades	15
1.1.2 Composición química	16
1.1.2.1 Saturados	16
1.1.2.2 Aromáticos	17
1.1.2.3 Resinas	18
1.1.2.4 Asfaltenos	18
1.1.3 Análisis SARA	19
1.1.4 Fracción aromática	19
1.2 ESPECTROMETRÍA DE MASAS	20
1.2.1 Espectrometría LDI (Ionización mediante Desorción por Láser).	24
1.2.2 Analizador de tiempo de vuelo (TOF/TOF)	26
1.2.3 Estudios realizados de la fracción aromática	27
1.3 QUIMIOMETRIA	28
1.3.1 Técnicas de pretratamiento de datos	29
1.3.1.1 Suavizado espectral	29
1.3.1.2 Normalización	30
1.3.1.3 Corrección de línea base	31
1.3.1.4 Centralización	31
1.3.1.5 Derivación	31
1.3.2 Análisis por componentes principales PCA	32

2. PARTE EXPERIMENTAL	35
2.1 MONTAJE EXPERIMENTAL	35
2.1.1 Fracciones aromáticas	36
2.1.2 Instrumentacion	37
2.1.3 Determinación de parámetros	39
2.1.4 Adquisición y análisis de espectros	41
2.1.5 Procesamiento de datos espectrales	41
2.1.6 Determinación del peso molecular promedio por LDI TOF/TOF	42
2.1.7 Análisis por componentes principales (PCA)	43
3. RESULTADOS Y ANALISIS	44
3.1 MASA MOLECULAR PROMEDIO DE LAS MUESTRAS	44
3.2 ESTUDIO DE LA ENERGÍA DE LA INTENSIDAD DEL LASER	48
3.3 ANALISIS DE LA REPETIBILIDAD	49
3.4 ANALISIS POR COMPONENTES PRICIPALES (PCA)	51
3.4.1 Análisis por componentes principales para el grupo de muestras impares	52
3.4.2 Análisis por componentes principales para el grupo de muestras pares	56
3.4.3 Análisis por componentes principales para el grupo de muestras totales	60
4. CONCLUSIONES	63
BIBLIOGRAFIA	64
ANEXOS	69

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Esquema simplificado de la separación del petróleo crudo en las fracciones SARA	19
Figura 2. Esquema de un espectrómetro de masas	22
Figura 3. Mecanismo de acción del haz láser en la técnica LDI	25
Figura 4. Analizador de tiempo de vuelo (TOF)	27
Figura 5. 5a. Diagrama que ilustra dos componentes principales PC1 y PC2, para dos variables X_1 y X_2 . (b) Puntos referidos a los ejes de los componentes principales. Indica \circ puntos de datos, \bullet su proyección sobre los ejes.	33
Figura 6. Esquema de la metodología experimental	35
Figura 7. Espectrómetro de masas MALDI TOF/TOF	37
Figura 8. Esquema experimental de la obtención de espectros	38
Figura 9. Esquema del método LDI TOF/TOF empleado en el análisis de las muestras	39
Figura 10. Espectros de masas y valores de M_n y M_w (a) fracción A5, (b) fracción A16, (c) fracción A22.	44
Figura 11. Espectros de masas en la ventana 500-500,7 Da de la fracción aromática A1 obtenido a diferentes energías laser	48
Figura 12. Comportamiento de la energía del laser	49
Figura 13. Repetibilidad de la muestra A3. (a) camino aleatorio del láser y una adquisición, (b) camino aleatorio del láser y dos adquisiciones, (c) sin aleatorización del láser y una adquisición	50
Figura 14. Gráfico de puntuaciones (scores) de las muestras impares PC2 vs PC1	53
Figura 15. Gráfico de Influence con residual X-variance vs Leverage	54

Figura 16. Gráfico de puntuaciones (scores) según su similitud en %p/p aromáticos y gravedad °API de las muestras impares	55
Figura 17. Gráfico de puntuaciones (scores) de las muestras pares PC2 vs PC1	57
Figura 18. Gráfico de Influence con residual X-variance vs Leverage	58
Figura 19. Gráfico de puntuaciones (scores) según su similitud en %p/p aromáticos y gravedad °API de las muestras pares	59
Figura 20. Gráfico de las puntuaciones o scores de las muestras totales	61
Figura 21. Gráfico de Influence con residual X-variance vs Leverage	62

LISTA DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Componentes de los diferentes equipos instrumentales	22
Tabla 2. Propiedades de las muestras	36
Tabla 3. Masa molecular promedio de las muestras en peso (Mw) y en número (Mn)	46
Tabla 4. Datos peso molecular promedio para A3 sin aleatorización del láser y una adquisición	51
Tabla 5. Varianza explicada por 7 componentes principales de las muestras impares	52
Tabla 6. Agrupaciones según valores de %p/p aromático y gravedad °API para muestras impares	55
Tabla 7. Varianza explicada por 7 componentes principales de las muestras pares	56
Tabla 8. Agrupaciones según valores de %p/p aromático y gravedad °API para muestras pares	59
Tabla 9. Varianza explicada por 7 componentes principales de las muestras totales	60

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. ESPECTRO	69

RESUMEN

TÍTULO. DETERMINACIÓN DE LA MASA MOLECULAR PROMEDIO DE LAS FRACCIONES AROMÁTICAS DEL PETROLEO UTILIZANDO ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE TIEMPO DE VUELO ACOPLADO A DESORCIÓN/ IONIZACIÓN POR LÁSER (LDI-TOF/TOF MS).

AUTOR: ADRIANA MARIA RUEDA SIERRA**

PALABRAS CLAVES ESPECTROMETRÍA DE MASAS LDI-TOF/TOF, CRUDO, PCA

DESCRIPCIÓN

En el presente trabajo se determinó el peso molecular promedio de la fracción aromática de 24 muestras de crudos colombianos mediante espectrometría de masas acoplada a un analizador de tiempo de vuelo (TOF/TOF). Las muestras (fracción aromática), para este estudio fueron proporcionadas por el Laboratorio de Espectroscopia Atómica Molecular (LEAM). Los espectros de masas se obtuvieron mediante un instrumento MALDI TOF/TOF, equipado con un láser SmartBeam II (Nd:YAG, 355nm), operado en el modo reflectron modo positivo debido a que este tipo de compuestos se comportan por sí mismo como una matriz y una energía máxima del láser equivalente al 65% de su energía total. El rango espectral empleado fue de 0-3500Da con precisión de 1ppm. Las muestras fueron preparadas por el método de la gota seca, en este método, la muestra es disuelta en cloroformo a una concentración de 1mg/ml .Su señal espectral fue correlacionada, mediante análisis de componentes principales (PCA).

El rango de masas que se utilizó para la toma de espectros fue de 0 a 3500 Dalton. El método mostró resultados satisfactorios para cada fracción y para la predicción del peso molecular promedio. En ambos casos (muestras pares e impares), presentaron una varianza explicada de 67%. La metodología de caracterización propuesta por espectrometría LDI TOF/TOF MS requiere un menor costo de análisis y ofrece una mejor resolución.

* Trabajo de grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química Director Enrique Mejía Ospino. Codirector: Diana Catalina Palacios.

ABSTRACT

TÍTULO: DETERMINATION OF AVERAGE MOLECULAR MASS FRACTION OF AROMATIC OIL MASS SPECTROMETRY USING FLIGHT TIME TRAILER A desorption / ionization LASER (LDI-TOF / TOF MS) *.

AUTHOR: ADRIANA MARIA RUEDA SIERRA **

KEYWORDS: MASS SPECTROMETRY LDI-TOF / TOF, RAW, PCA

DESCRIPTION

In this study the average molecular weight of the aromatic fraction of 24 samples of Colombian crude by mass spectrometry analyzer coupled to a time of flight (TOF / TOF) was determined. Samples (arom), for this study were provided by the Laboratory of Atomic Molecular Spectroscopy (LEAM). Mass spectra were obtained by a MALDI TOF / TOF instrument, equipped with a SmartBeam II (Nd: YAG 355nm) laser operated in mode reflectron positive mode because these compounds behave itself as a matrix and maximum laser energy equivalent to 65% of its total energy at a frequency of 200Hz per acquisition (500 laser shots). The spectral range used was accurately 0-3500Da 1ppm. Samples were prepared by the dried droplet method, in this method, the sample is dissolved in chloroform at a concentration of 1mg / ml was .Its spectral signal correlated by principal component analysis (PCA).

The mass range was used for taking spectra was 0-3500 Dalton. The method was successful for each fraction and for predicting the average molecular weight results. In both cases (even and odd samples) presented an explained variance of 67%. The characterization methodology proposed by spectrometry LDI TOF / TOF MS requires less cost analysis and provides better resolution.

** Faculty of Science. School of Chemistry director Enrique Mejia Ospino. Co-Director: Diana Catalina Palacios.

INTRODUCCIÓN

En la explotación petrolera actual es cada vez más común encontrarse con crudos pesados y bitúmenes, que paulatinamente se han ido incorporando en los esquemas de refinación. La presencia de fracciones pesadas en las cargas de alimentación en los procesos de refinación no solo aumenta la producción de fondos de barril sino también afecta el rendimiento y la calidad de los productos livianos, ocasionando grandes pérdidas económicas a la empresa y al país (MORENO, 2011).

Para caracterizar los crudos pesados y sus fracciones más pesadas, se utiliza la separación cromatográfica SARA, que permite obtener los componentes de Saturados, Aromáticos, Resinas y Asfaltenos. Los asfaltenos y resinas son los hidrocarburos más pesados, contienen la mayor proporción de heteroátomos del crudo (Ni, V, N, S y O), presentan el mayor punto de ebullición.

Los hidrocarburos aromáticos, llamados también bencénicos por ser derivados del benceno; constituyen una familia muy numerosa por la formación de sistemas de anillos condensados, estando presentes en las fracciones más pesadas del petróleo.

Hoy en día las industrias se interesan cada vez más en la explotación y refinación de ciertos crudos y sus residuos. Pensando en la gran necesidad de procesar los crudos pesados y en la falta de información química y estructural de sus fracciones pesadas se buscan nuevas técnicas de análisis para mejorar la calidad de los procesos de refinación del petróleo manteniendo las especificaciones en cada producto.

Se han realizado estudios de fracciones del petróleo empleando la espectrometría de masas acoplada a un sistema de ionización/desorción láser (LDI-MS), en el análisis de fracciones livianas de destilación de fondos de vacío (CALDERON, 2013), permitiendo determinar las distribuciones de peso molecular medio, sin embargo bajo ciertas condiciones experimentales se pueden observar fragmentaciones o la formación de clusters o aglomerados.

Como se ha venido mencionando, la composición química del petróleo es variada y compleja, en general, en su estado natural es una mezcla de compuestos orgánicos de estructura variada y de pesos moleculares diferentes, desde hidrocarburos parafínicos y nafténicos, hasta hidrocarburos aromáticos; lo cual lleva al diseño de métodos de análisis y procesamiento acorde con la complejidad del crudo y considerando los productos que se desea obtener.

Con base en lo anterior, el objetivo de este trabajo es determinar la masa molecular promedio de las fracciones aromáticas del petróleo usando espectrometría LDI. Los estudios serán realizados con fracciones de crudos colombianos, dichos estudios nos permitirá obtener información acerca de su peso molecular promedio y propiedades.

1. CONSIDERACIONES TEÓRICAS

1.1 CRUDO

1.1.1 Generalidades. Es un líquido molecular complejo que se auto organiza. Se halla en el interior de la tierra, almacenado en capas o estratos de roca porosa, en capas de arena o sobre una capa impermeable. Cada yacimiento está constituido por una mezcla de miles de hidrocarburos diferentes, formados principalmente de carbono e hidrogeno y pequeñas porciones de heteroatomos tales como nitrógeno, azufre, oxígeno y algunos metales (AQUINO *et al.*, 1997).

Los crudos se componen de tres grupos principales de compuestos: parafínicos, nafténicos y aromáticos. Los primeros son hidrocarburos con cadenas lineales o ramificadas y sin ningún tipo de anillos en su estructura. Los segundos corresponden a hidrocarburos saturados con uno a mas anillos en su estructura, cada uno de los cuales puede tener una a mas cadenas parafinicas; y los terceros representan los hidrocarburos que contienen uno o más anillos bencénicos en su estructura, son altamente insaturados, además contienen sustituciones de cadenas parafinitas y anillos nafténicos (KILLOPS *et al.*, 2005; PETERS *et al.*, 2005).

Existen diferentes métodos para clasificar los crudos, que proporcionan información valiosa, para su producción, comercialización, transporte y refinación. No existe un sistema de clasificación único que proporcione la información requerida para tomar las mejores decisiones sobre la calidad y aplicación del crudo, y se recomienda correlacionar los diferentes métodos existentes para sacar el mayor provecho y conocimiento del crudo.

El parámetro más utilizado para la clasificación de los crudos es su gravedad °API. La **Gravedad °API** (°API, *American Petroleum Institute*) medida a temperatura estándar de 60 °F es una función de la **Gravedad Específica (GE)** (ALTGELT *et al.*, 1994) y se representa por la siguiente ecuación (1):

$$^{\circ}API = \frac{141.5}{GE(15^{\circ}C)} - 131.5 \quad (1)$$

De acuerdo con esta clasificación los crudos pueden ser:

- Convencionales o ligeros: mas de 20 °API
- Pesados: entre 10 y 20 °API
- Extra pesado: menos de 10 °API

1.1.2 Composición química El petróleo esta compuesto por muchas y variadas moléculas de hidrocarburos, otorgando una característica compleja en este. El análisis químico del petróleo es complejo, se requiere de diferentes técnicas y recursos (CASTRO *et al.*, 2004). Sin embargo, las proporciones de los elementos que lo componen varían en un intervalo relativamente estrecho, donde el contenido de carbono es de 83 a 87%*m*, hidrogeno entre 10 y 14%*m*, con pequeñas concentraciones de nitrógeno, azufre, metales y oxigeno (SPEIGHT, 1999). Los hidrocarburos que conforman el petróleo se agrupan en cuatro familias: saturados, aromáticos, resinas y asfaltenos.

1.1.2.1 Saturados: Son una fracción, incolora o lechosa compuesta principalmente de parafinas (sólidas y líquidas) y cicloparafinas (naftenos). Esta fracción se concentra principalmente en las fracciones livianas, aunque es posible encontrarlos en menor cantidad en las fracciones más pesadas del crudo (KILLOPS *et al.*, 2005).

- **Hidrocarburos alifáticos saturados o alcanos o parafinas:** Están constituidos por una cadena de átomos de carbono enlazados cada uno de 0 a 3 átomos de hidrógenos, excepto en el más sencillo, el metano (CH₄).

Cada carbono está ligado siempre a otros cuatro átomos (carbono o hidrogeno); y su fórmula general es C_nH_{2n+2} . Cuando su estructura es de cadena recta se llaman parafinas normales o n-alcanos. Los átomos de hidrógenos pueden ser sustituidos por carbonos o cadenas hidrocarbonadas, formando las isoparafinas o isoalcanos.

- **Hidrocarburos cíclicos saturados, cicloalcanos o naftenos:** en estos hidrocarburos hay una ciclación total o parcial del esqueleto carbonado. El número de átomos de carbono del anillo formado puede ser variable. Tienen temperaturas de ebullición y densidades superiores a la de los alcanos del mismo número de átomos de carbono. En los petróleos crudos, los anillos más frecuentes son los de cinco o seis átomos de carbono. En estos anillos, cada átomo de hidrogeno puede ser sustituido por una cadena parafínica recta o ramificada, llamada alquilo.

1.1.2.2 Aromáticos: Son líquidos altamente viscosos de color amarillo a rojo con estructuras moleculares que contienen compuestos mono, di y poliaromáticos con uniones condensadas de anillos nafténicos junto con cadenas parafínicas asociadas. Esta fracción es el medio de dispersión de los asfaltenos en el crudo; su peso molecular es ligeramente mayor que el de los saturados (SPEIGHT, 1984).

- **Hidrocarburos aromáticos:** son hidrocarburos cíclicos poliinsaturados que están presentes en una gran proporción en los crudos de petróleo. La presencia en su fórmula de uno o más ciclos con tres dobles enlaces conjugados les confiere unas notables propiedades. Así, los primeros

compuestos (benceno, tolueno, xilenos) son materias primas fundamentales de la petroquímica (además contribuyen igualmente a aumentar el número de octano de las gasolinas) mientras que los homólogos superiores son en general nefastos (problemas de medio ambiente, de sanidad pública, deterioro de la actividad de los catalizadores por su capacidad).

1.1.2.3 Resinas: Las resinas se encuentran formando parte de las fracciones más pesadas del crudo. Son conocidas también, como hidrocarburos aromáticos polares. Son compuestos sólidos, semisólidos y en algunos casos aceites viscosos, de color oscuro, conformadas por estructuras aromáticas, nafténicas y heteroátomos (nitrógeno, azufre, oxígeno) que le dan carácter polar (KILLOPS *et al.*, 2005). Las resinas se pueden clasificar en dos grupos:

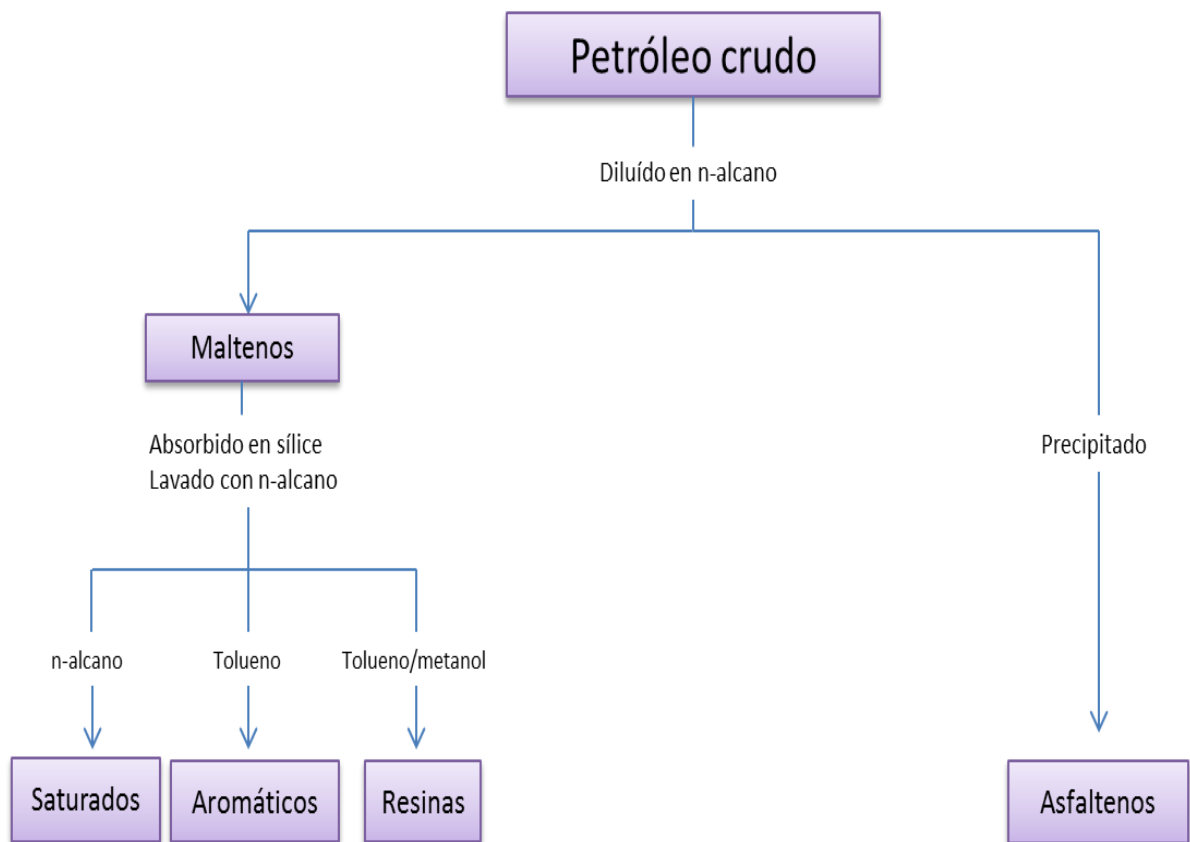
Resinas I: Son las que co-precipitan con los asfaltenos después de adicionar el alcano, pues se encuentran formando parte del agregado resina-asfalteno en el crudo.

Resinas II: Se encuentran formando parte de la fracción de maltenos (fracción soluble en *n*-alcanos) que se obtiene como filtrado del proceso de precipitación de asfaltenos. Esta fracción es posteriormente separada de los maltenos.

1.1.2.4 Asfaltenos: Los asfaltenos se definen formalmente como una fracción compleja del crudo que precipita cuando a este se le adiciona un *n*-alcano, usualmente *n*-pentano o *n*-heptano (PHILIP *et al.*, 1984). Los asfaltenos se caracterizan por ser sólidos amorfos, que se descomponen con incremento de temperatura (ALTGELT *et al.*, 1994). Son insolubles en solventes parafínicos livianos y solubles en compuestos altamente aromáticos como el xileno y tolueno; no son volátiles y constituyen la fracción más pesada y polar del petróleo (HAMMAMI *et al.*, 1998).

1.1.3 Análisis SARA El gran número de compuestos que forman parte de los crudos hace necesaria la separación en grupos más homogéneos mediante técnicas de fraccionamiento para su identificación. La mayoría de los procedimientos existentes hacen una primera separación de los crudos mediante precipitación con hidrocarburos saturados de bajo peso molecular (n-heptano o n-pentano). A la fracción insoluble se le denomina *asfaltenos* y a la soluble *maltenos*. Estos últimos pueden a la vez dividirse en saturados, naftenos-aromáticos y polares o resinas (figura 1).

Figura 1. Esquema simplificado de la separación del petróleo crudo en las fracciones SARA



1.1.4 Fracción aromática. Un estudio realizado en la Universidad de petróleo de China por (CHEN et al., 2013) analizaron los compuestos aromáticos derivados

del petróleo primero utilizando LIAD / SVUVPI-MS (Desorción acústica inducida por láser junto con vacío sincrotrón sintonizable fotoionización ultravioleta espectrometría de masas), con diferentes energías de fotones. Se investigaron tres muestras diferentes, los aromáticos primarios Lgar (S1) y los compuestos aromáticos secundarios después de la hidrogenación de Lgar (S2) y sus resinas (S3). La distribución de masa de estos compuestos es amplia y continua a partir de las ~150Da, alcanzando un máximo de ~450Da y se extiende hasta ~1000Da, con un peso molecular medio (Mw) de aproximadamente 500Da.

La masa en los espectros de los aromáticos primarios presenta picos de distribución multimodal a 300 y 450Da, lo que sugiere compuestos policíclicos en la gama de masa de 400 - 900Da y compuestos alifáticos y compuestos alicíclicos en el rango de 200 - 400Da.

Otros estudios previamente realizados (STILIANO et al., 2002), han utilizado la espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI MS) para analizar las fracciones de petróleo aromáticas pesadas usando nitrato de plata como un compuesto reactivo para formar iones aductos característicos tales como $[M + Ag]^+$ y $[2M + Ag]^+$. La concentración de la $[2M + Ag]^+$ iones se puede reducir aumentando el voltaje del cono de muestreo, iones moleculares y otros iones de aductos también se pueden formar dependiendo de la estructura de la molécula aromática.

1.2 ESPECTROMETRÍA DE MASAS

La espectrometría de masas es una técnica analítica en la que los átomos o moléculas de una muestra son ionizados, con mayor frecuencia positivamente, separados por su relación (m/z) y posteriormente detectados y registrados.

La importancia y proyección de la MS es debida a su potencial analítico. Las ventajas de esta técnica se pueden resumir en los siguientes aspectos: proporciona una insuperable especificidad en la determinación del peso molecular debido a la posibilidad de medir exactamente su masa molecular así como obtener información a partir de los fragmentos iónicos de un analito (EL-ANEED *et al.*, 2009).

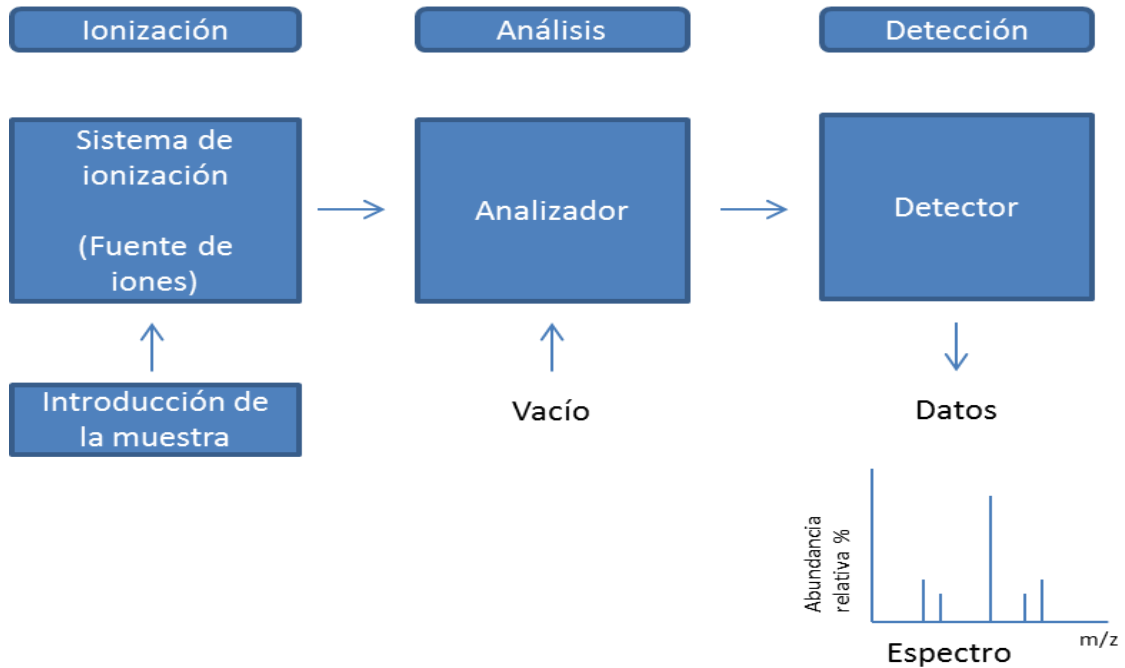
Es muy versátil, ya que permite determinar la estructura de tipo de compuestos muy diversos. Es aplicable a los elementos y a todo tipo de muestras, volátiles, no volátiles, polares y apolares, sólidos, líquidos y gases. En combinación con técnicas de separación de alta resolución, es más cualificada para analizar muestras complejas reales.

El análisis por espectrometría de masas se realiza en cuatro etapas básicas:

1. Introducción de la muestra.
2. Ionización de la muestra, en la que se transforman los átomos o moléculas en especies iónicas en fase gaseosa, con la consiguiente pérdida de electrones o protones.
3. Separación y el análisis de los iones moleculares y de los fragmentos cargados producidos según su relación m/z .
4. Finalmente, se obtiene el espectro de masas, en el que se presenta la abundancia relativa de los iones y fragmentos separados respecto a la relación masa /carga.

En las figura 2 y en la tabla 1 se presenta un esquema de los componentes básicos y los componentes de los diferentes equipos instrumentales.

Figura 2. Esquema de un espectrómetro de masas



Fuente: J. Gross, Mass Spectrometry, 2004

Tabla 1. Componentes de los diferentes equipos instrumentales

I. COMPONENTES DE LOS ESPECTROMETROS
<p>1. Sistemas de introducción de la muestra:</p> <p>1.1 Sistemas directos e indirectos. 1.2 Sistemas en espectrómetros acoplados a técnicas de separación (LC, GC, CE,.....).</p> <p>2. Sistemas de ionización:</p> <p><u>2.1 Sistemas de ionización en fase gaseosa:</u> 2.1.a. EI: Ionización por impacto de electrones. 2.1.b. CI: Ionización química. 2.1.c. PI: Fotoionización.</p> <p><u>2.2 Sistemas o fuentes de desorción</u> 2.2.a. ESI: Ionización por electrospray.</p>

2.2.b. LDI: Ionización por desorción láser.

2.2.b.1. MALDI: Ionización por desorción láser asistida por una matriz.

2.2.b.2. SELDI: Ionización por láser inducida en superficie.

2.2.c. FAB: Bombardeo con átomos acelerados.

2.2.d. DART Ionización por análisis directo en tiempo real.

3. Analizadores:

3.1. TOF: De tiempo de vuelo.

3.2. IT: Trampa de iones.

3.3. FT-ICR: Resonancia iónica ciclotrónica de iones, con Transformada de Fourier.

3.4. Orbitrap.

3.5. Q: Cuadrupolo.

4. Detectores:

4.1. Fotomultiplicadores.

4.2. Copa de Faraday.

II. MODALIDADES Y OPERACIONES EN ESPECTROMETRÍA DE MASAS

a) Espectrometría de masas en tándem.

b) Acoplamiento de la espectrometría de masas con técnicas de separación (*hyphenated methods*).

El espectro resultando es un gráfico que representa la abundancia relativa de los iones producidos (% de abundancia relativa de los iones producidos) respecto a su relación masa /carga (m/z). La señal correspondiente a un ión aparece en forma de varios picos que corresponden a la distribución estadística de los distintos isótopos del ión. La información obtenida por espectrometría de masas es esencialmente cualitativa, como es la determinación de masa molecular o la información sobre la estructura a partir de los fragmentos obtenidos, pero también se pueden realizar análisis cuantitativos utilizando patrones internos o externos con límites de detección desde picomoles a femtomoles.

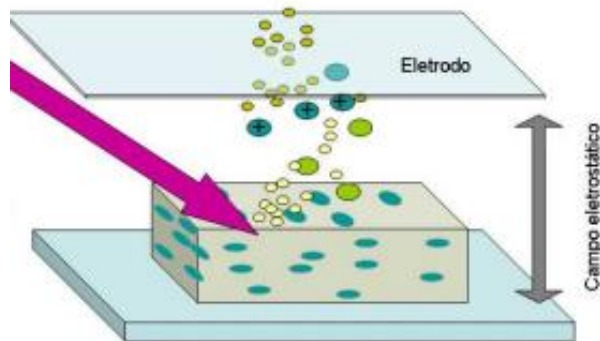
Los sistemas de ionización o fuentes de ionización tienen diferente fundamento y puede ser: *de ionización en fase gaseosa o de ionización por desorción*, en el primer caso, la muestra se volatiliza y posteriormente se ioniza, estas fuentes se utilizan para compuestos térmicamente estables y de pesos moleculares menores de aproximadamente 10^3 Dalton. En el segundo caso, ionización por desorción, la muestra se transforma directamente en iones gaseosos, estos sistemas son aplicables a muestras no volátiles y térmicamente inestables. Asimismo, son válidas para moléculas que tienen pesos moleculares mayores de 10^5 Dalton.

1.2.1 Espectrometría LDI (Ionización mediante Desorción por Láser). En 1970, Vastola, Mumma y Pirone (COTTER, 1997) obtuvieron un espectro de masa de los iones orgánicos moleculares formados directamente por la acción de un láser pulsado sobre el compuesto hexasulfonato de sodio ($\text{Na}^+\text{C}_6\text{H}_{13}\text{SO}_3^-$). Su registro puede ser el primer ejemplo de láser desorción.

En la técnica *Laser Desorption Ionization* (LDI), ionización y desorción por láser, los pulsos láser varían de 10^6 a 10^{10} W /cm² y son focalizados en una área, en la superficie de la muestra, alrededor de 10^{-3} hasta 10^{-4} cm².

Los pulsos de la radiación láser inducen la desorción del material en la forma de iones y de moléculas neutras en las capas superficiales de la muestra (Figura 3).

Figura 3. Mecanismo de acción del haz láser en la técnica LDI



La técnica LDI dio origen a la técnica MALDI (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization) en 1988 (HOFFMAN *et al.*, 1996), hoy es mucho más utilizada que la LDI porque amplió tanto la sensibilidad como el rango de masas analizadas y, consecuentemente, las aplicaciones de la espectrometría de masas. Ambas utilizan la misma instrumentación, pero difieren esencialmente en la preparación de la muestra.

En el modo de ionización (LDI), puede ser difícil controlar la cantidad de energía transferida, provocando una degradación de la muestra por un exceso de calentamiento, además no todos los compuestos son capaces de absorber a la longitud de onda del láser y en consecuencia, no se produce la ionización completa de la muestra.

La longitud de onda del láser es un parámetro importante en MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization) (KNOCHENMUSS, 2006). La longitud de onda que se usa con mayor frecuencia es la de 337nm de un láser de nitrógeno, pero también han sido usados los armónicos del láser de Nd:YAG y más recientemente láseres infrarrojos tales como Er:YAG (IR-MALDI). Cada pulso láser genera un pequeño plasma que se extiende en vacío, del cual se extraen los iones (positivos o negativos) del analito que son acelerados por un potencial de 10-30kV

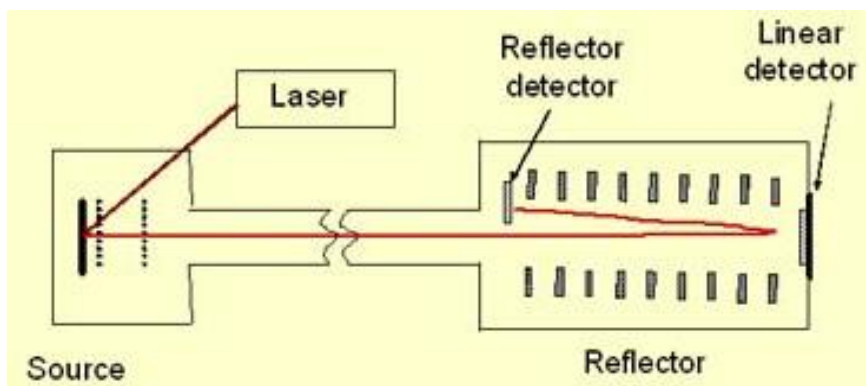
y controlados por medio de campos electromagnéticos. Debido a diferencias de velocidades que resultan en sus diferencias en masas los iones llegan al detector en diferentes tiempo (PLASCENCIA, 2003).

1.2.2 Analizador de tiempo de vuelo (TOF/TOF) Es uno de los analizadores más sencillos, pero actualmente tiene una gran presencia en los laboratorios. El principio de los espectrómetros de tiempo de vuelo (TOF, por sus siglas en ingles *time of flight*) se basa en la relación entre la masa y la velocidad de los iones. Se mide el tiempo que necesitan los iones acelerados para recorrer una distancia (L), que depende de las características del instrumento, sin que los iones estén sometidos a un campo eléctrico (Figura 4).

El analizador TOF es el analizador de masas más rápido, puede adaptarse a los métodos de ionización por pulsos (MALDI), tiene alta transmisión de iones y el rango de masa más grande de todos los analizadores de masas. Estos analizadores requieren de un método de ionización por pulsos y la selectividad de los iones puede limitarse en algunos experimentos, además, el principal problema es el tiempo que tardan los iones en alcanzar el detector se encuentra en el entorno de unos pocos microsegundos, lo que exige sistemas de detección muy rápido.

Los analizadores TOF/TOF proporcionan un mejor enfoque de los iones y por tanto, mayor resolución y precisión. Este tipo de analizadores constan principalmente de tres secciones: un TOF lineal, una región de colisión que sirve como fuente de iones y un TOF reflector. En el primer TOF, los iones son extraídos en pulsos de la fuente de ionización e inmediatamente son acelerados mediante la acción de un campo eléctrico para lograr la uniformidad en sus energías cinéticas antes de que entren al analizador. El tiempo necesario para que los iones atraviesen la longitud del tubo depende del valor de la razón m/z de cada ión.

Figura 4. Analizador de tiempo de vuelo (TOF)



Fuente: J. Gross, Mass Spectrometry, 2011

En la segunda región de tiempo de vuelo, el reflectrón, crea un campo retardador que funciona como un espejo y envía los iones de retorno hacia el tubo de vuelo. El reflectrón introduce una corrección en la energía de dispersión de los iones que salen de la fuente de ionización y que tienen el mismo valor de la razón m/z . Los iones con más alta energía cinética penetrarán más profundamente en el reflectrón y por lo tanto estarán un tiempo mayor en el mismo. Así, estos iones impactarán al detector al mismo tiempo que aquellos iones más lentos que tienen el mismo valor de m/z y penetran menos en el mismo. El reflectrón incrementa la resolución espectral a expensas de la sensibilidad dado que muchos iones se pierden en su área y además introduce una limitación en el alcance de masas.

1.2.3 Estudios realizados de la fracción aromática Un estudio realizado en la Universidad de petróleo de China por (CHEN *et al.*, 2013) analizaron los compuestos aromáticos derivados del petróleo primero utilizando LIAD / SVUVPI-MS en diferentes energías de fotones. Tres muestras diferentes se investigaron, los aromáticos primarios Lgar (S1) y los compuestos aromáticos secundarios después de la hidrogenación de Lgar (S2) y sus resinas (S3). La distribución de masa de estos compuestos es amplia y continua a partir de las $\sim 150\text{Da}$, alcanzando un máximo de $\sim 450\text{Da}$ y se extiende hasta $\sim 1000\text{Da}$, produciendo un Mw medio de aproximadamente 500Da .

La masa en los espectros de los aromáticos primarios presenta picos de distribución multimodal a 300 y 450Da, la intensidad relativa de los dos picos cambia significativamente con el fotón SVUV energía de (9,0, 11,0, 14,0, eV), lo que sugiere al menos dos categorías de compuestos con diferentes energías de ionización (IE), en los aromáticos primarios, es decir, compuestos policíclicos en la gama de masa de 400 - 900Da y compuestos alifáticos y compuestos alicíclicos en el rango de 200 - 400Da.

Otros estudios previamente realizados (STILIANO *et al.*, 2002), han utilizado la espectrometría de masas de ionización por electrospray (ESI MS) para analizar las fracciones de petróleo aromáticas pesadas usando nitrato de plata como un compuesto reactivo para formar iones aductos característicos tales como $[M + Ag]^+$ y $[2M + Ag]^+$. La concentración de la $[2M + Ag]^+$ iones se puede reducir aumentando el voltaje del cono de muestreo, iones moleculares y otros iones de aductos también se pueden formar dependiendo de la estructura de la molécula aromática.

1.3 QUIMIOMETRIA

Es una disciplina que ha llevado a una adquisición rápida de grandes volúmenes de información, la cual hay que organizar, interpretar y ubicar en el contexto adecuado para obtener información útil (MELÉNDEZ, 2014).

Sus primeras aplicaciones se realizaron en el área de química analítica a finales de la década de 1970 con el objetivo de analizar datos con más de una variable simultáneamente.

La mayoría de las herramientas quimiométricas ven a un espectro de una sustancia registrado a k longitudes de onda como un vector en un espacio con K

dimensiones y de igual modo todo tipo de información descrita por p-parámetros que se puedan saber sobre una muestra también se pueden condensar en un vector, de modo que los espectros y las propiedades de la sustancia obedecerán al álgebra vectorial y matricial (GELADI, 2003).

Cuando se realiza mediciones en química, los datos obtenidos se pueden representar numéricamente, en forma de tabla o matriz de datos, de allí nos puede interesar conocer si los objetos son homogéneos o no, en caso de no ser así, si existe algún dato discrepante, si se encuentran muestras características conocer cuáles son sus parámetros o variables diferentes de las otras muestras. Este tipo de información se obtiene aplicando una serie de técnicas quimiométricas conocidas como “pattern recognition” (RUBINSON *et al*, 2001).

En comparación con los métodos de calibración convencional, como la determinación simultánea de varias variables aplicando métodos ASTM, la técnica de calibración multivariable presenta ventajas como la sencillez, rapidez y bajo costo en el análisis. Por lo anterior se considera importante el desarrollo y aplicación de los nuevos métodos de calibración multivariable en la quimiometría, para lograr así, extraer la máxima información química del análisis de muestras a partir de señales o respuestas instrumentales con escasa selectividad.

1.3.1 Técnicas de pretratamiento de datos

1.3.1.1 Suavizado espectral El suavizado espectral se aplica en aquellos casos que la relación señal/ruido es pequeña, y por medio de algoritmos matemáticos aplicados al espectro se reduce el ruido suavizando la señal. Los métodos de suavizado más habituales son los basados en filtros de Savitzky y Transformadas de Fourier.

1.3.1.2 Normalización Esta se usa para lograr que los datos estén aproximadamente a la misma escala, puede ser:

- Normalización por rangos

En esta transformación se normaliza un espectro X_i calculando el área bajo la curva del espectro. Se intenta corregir el espectro de longitud de la trayectoria indeterminada cuando no hay forma de medirla, o aislar a un grupo de un componente constante.

- La media de Normalización

Este es el caso más clásico de la normalización. Consiste en dividir cada fila de una matriz de datos por su media, neutralizando así la influencia de los factores ocultos.

Es equivalente a la sustitución de las variables originales por un perfil centrado alrededor de 1: solo los valores relativos de las variables que se utilizan para describir la muestra, y la información correspondiente a su nivel absoluto se abandona. Esto se indica en el caso concreto cuando todas las variables se miden en la misma unidad, y sus valores se supone que es proporcional a un factor que no puede ser directamente tomado en cuenta en el análisis.

- Máxima Normalización

Esta es una alternativa a la normalización clásica que divide cada fila por su valor máximo absoluto en lugar de la media.

- Propiedad de un máximo de muestras normalizadas:

Si todos los valores son positivos: el valor máximo se convierte en 1.

Si todos los valores son negativos: el valor mínimo se convierte en -1.

Si el signo de los cambios de valores en la curva: o bien el valor máximo se convierte en 1 o el mínimo valor se convierte en -1.

1.3.1.3 Corrección de línea base La corrección de la línea base es un tipo de pretratamiento que intenta corregir determinadas tendencias en la línea base que aporta el ruido a la señal. Existen varios tipos de corrección de línea base según el efecto que se desea corregir. Un tipo de corrección es el que modela la línea base como una función simple de longitud de onda y sustrae esta función a todos los datos espectrales.

1.3.1.4 Centralización La centralización evita que ciertos puntos tengan más pesos que otros en el modelo. Consiste en calcular el valor medio de cada variable (X_m) del conjunto de calibración (de cada columna de la matriz), y restar este valor a cada punto ($X_{i,m}$).

La propiedad fundamental de los datos centrados es que el valor medio de cada una de las variables es igual a cero.

1.3.1.5 Derivación La derivada tiene como función extraer información detallada que no puede ser observada en el espectro normal y esta puede ser de diferente orden:

- Derivadas (primera y segunda)

La diferenciación o cálculo de derivadas permite acentuar las diferencias existentes en los datos espectrales. Tanto la primera como la segunda derivada se utilizan a menudo para el tratamiento de los datos. La segunda derivada elimina el ruido de fondo lineal y constante. Los dos principales algoritmos de diferenciación son el de Savitzky-Golay y el de Norris. El primero, permite calcular derivadas de primer orden o mayor incluyendo un factor de suavizado que determina el número de variables adyacentes que se usaran en la estimación de la aproximación polinómica utilizada en la derivación. El algoritmo de Norris, a diferencia del anterior, solo permite el cálculo de derivadas de primer orden (STEINER *et al.*, 1972).

1.3.2 Análisis por componentes principales PCA El PCA es una técnica para reducir la cantidad de datos cuando está presente la correlación. No es una técnica útil cuando las variables no están correlacionadas.

La idea del PCA es encontrar componentes principales Z_1, Z_2, \dots, Z_n que sean combinaciones lineales de las variables originales X_1, X_2, \dots, X_n , que describen cada muestra, es decir,

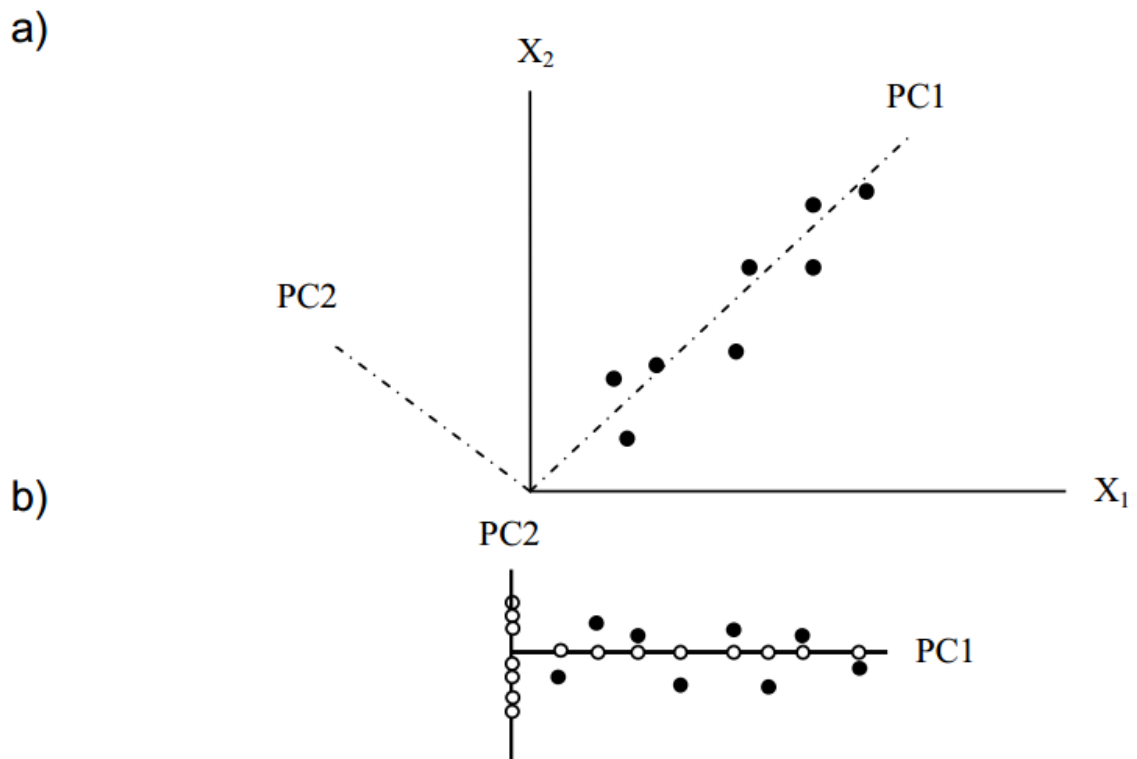
$$\begin{aligned} Z_1 &= a_{11}X_1 + a_{12}X_2 + a_{13}X_3 + a_{1n}X_n \\ Z_2 &= a_{21}X_1 + a_{22}X_2 + a_{23}X_3 + a_{2n}X_n \quad \text{etc} \quad (2) \end{aligned}$$

Los coeficientes a_{11}, a_{12}, \dots , se eligen de manera que las nuevas variables, a diferencia de las variables originales, no se encuentran correlacionadas unas con otras. De esta forma se obtienen n nuevas variables en lugar de las n originales, y en consecuencia hay una reducción en el conjunto de datos. Sin embargo las componentes principales se eligen de manera que la primera componente principal (PC_1), Z_1 , recoge la mayor parte de la variación que hay en el conjunto de datos, la segunda (PC_2), Z_2 , recoge la siguiente mayor parte de la variación y así sucesivamente. Por consiguiente, cuando haya correlación significa el número de PCs útiles será mucho menor que el número de variables originales (CHAU *et al.*, 2004).

La figura 5 aclara el método cuando hay solo dos variables y, por tanto, solo dos componentes principales. En la figura 6a las componentes principales se muestran mediante líneas de trazos suspensivos. Las componentes principales forman ángulos rectos unas con otras, propiedad conocida como **ortogonalidad** (OTTO, 1999). La figura 6b muestra los puntos referidos a estos dos nuevos ejes y también la proyección de los puntos sobre PC_1 y PC_2 . Se puede ver que en este caso Z_1 recoge la mayor parte de la variación y así sería posible reducir la

cantidad de datos a manejar trabajando con Z_1 en una dimensión en lugar de trabajar en dos dimensiones con X_1 y X_2 .

Figura 5. 5a. Diagrama que ilustra dos componentes principales PC1 y PC2, para dos variables X_1 y X_2 . (b) Puntos referidos a los ejes de los componentes principales. Indica \circ puntos de datos, \bullet su proyección sobre los ejes.



Fuente: MILLER n. James. Estadística y Quimiometría para Química Analítica

La figura 6 muestra que el PCA es equivalente a una rotación de los ejes originales, de tal manera que PC1 se encuentra en la dirección de la máxima variación, pero manteniendo el ángulo entre los ejes. Con más de dos variables no resulta posible ilustrar el método gráficamente pero de nuevo se puede pensar en el PCA como una rotación de los ejes de tal manera que PC1 se encuentre en la

dirección de máxima variación, PC2 se encuentre en la dirección de la siguiente mayor variación y así sucesivamente (MILLER *et al.*, 2002).

Cuando se emplean métodos espectroscópicos, cada muestra genera respuestas en cientos o miles de longitudes de onda. A partir de la matriz “X”, construida de la información espectral obtenida para S muestras medidas a W longitudes de onda, se realiza una descomposición por componentes principales que proporciona una aproximación a la matriz X como un producto de dos matrices (ecuación 3): la matriz de puntuaciones (scores) T y la matriz de cargas (loadings) P.

$$X = TPT + E \quad (3)$$

Donde E es la matriz de residuos de dimensiones S x W.

La matriz T contiene información pertinente a las relaciones entre muestras y está constituida por S filas, que corresponden al número de muestras u objetos, y A columnas que corresponden al número de componentes principales. La matriz P explica la relación existente entre variables originales y está constituida por A filas y W columnas.

Los componentes principales se determinan con base en el criterio de varianza máxima. El primer componente es aquel que explica una mayor cantidad de la información contenida en la matriz X. los componentes sucesivos explican cada vez menos información de los datos originales. En resumen, el análisis por componentes principales es un método que tiene como objetivo reducir la complejidad de una matriz de datos a partir de combinación lineales de las variables originales (FERNANDEZ, 2005).

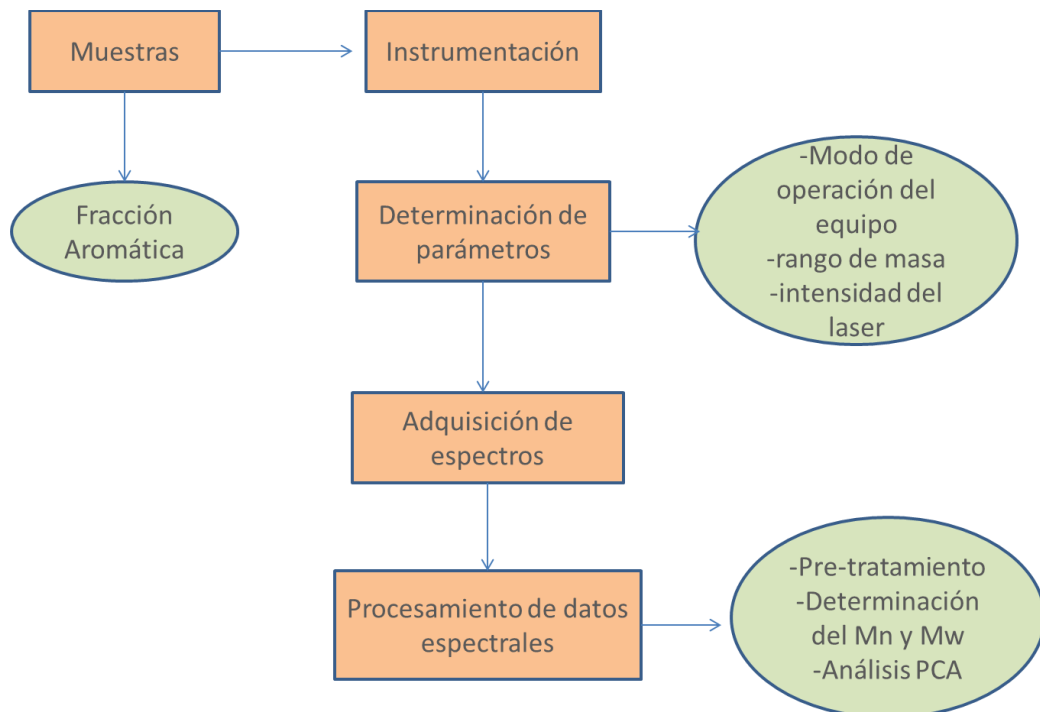
2. PARTE EXPERIMENTAL

El Laboratorio de Espectroscopia Atómica Molecular (LEAM) de la Universidad Industrial de Santander, se ha dedicado a realizar varios estudios de crudos y sus fracciones empleando diferentes técnicas espectroscópicas y métodos estadísticos, llevando a grandes aportes científicos en la caracterización del crudo colombiano.

2.1 MONTAJE EXPERIMENTAL

En la figura 6, se muestra el esquema general de la metodología usada para el desarrollo de este trabajo.

Figura 6. Esquema de la metodología experimental



2.1.1 Fracciones aromáticas Un total de 24 muestras (fracción aromática) provenientes de diferentes pozos petrolíferos Colombianos fueron suministrados por el Laboratorio de Espectroscopia Atómica Molecular (LEAM). Para la determinación del peso molecular promedio por espectrometría de masas, se prepararon 24 soluciones diluidas en cloroformo en cada una, denominadas teóricamente en este trabajo como A1 hasta A24 (ver tabla 1).

Tabla 2. Propiedades de las muestras

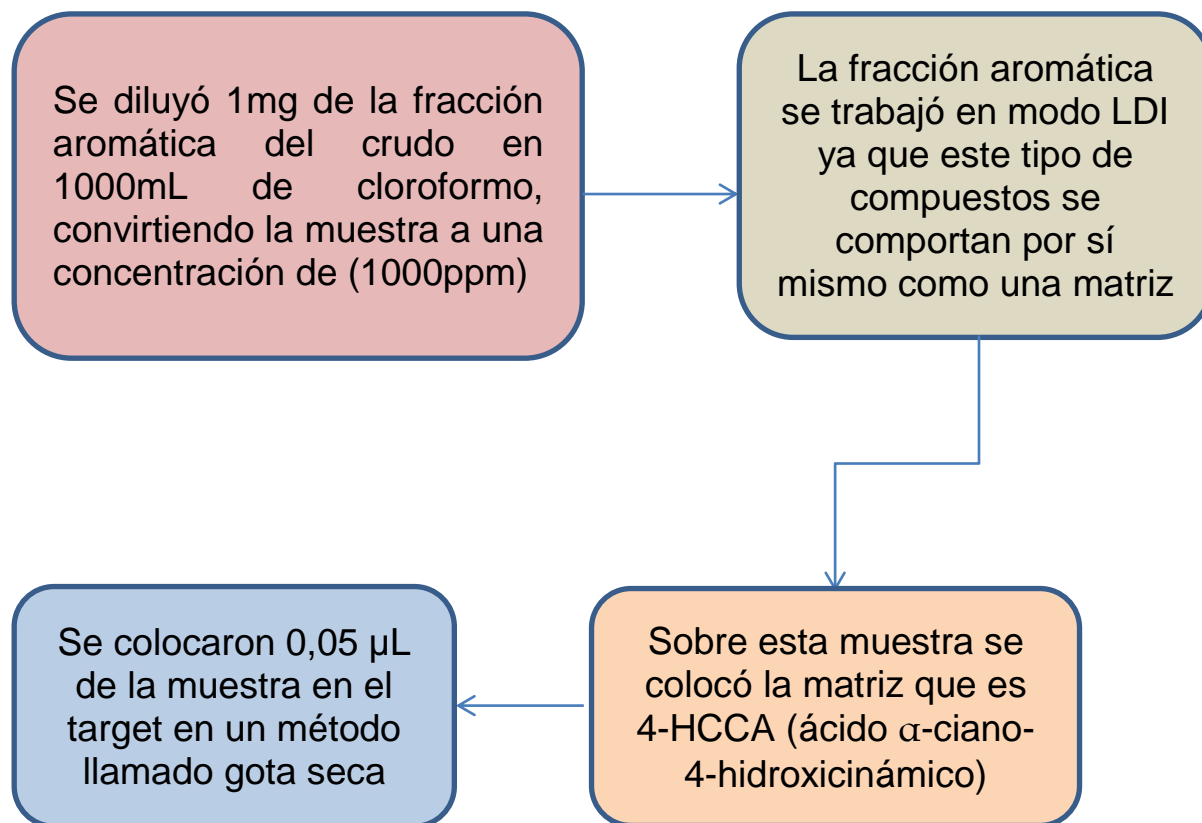
MUESTRA	Gravedad °API	%p/p de aromático
A1	23.7	32.9
A2	33.8	8.13
A3	23.7	28.97
A4	23.4	25.74
A5	47.1	8.13
A6	23.4	31.36
A7	23	27.62
A8	23.5	29.72
A9	23.5	28.1
A10	12.5	25.16
A11	17.6	27.42
A12	24.4	28.09
A13	22.7	33
A14	46.8	9.38
A15	9.4	40.87
A16	47.4	9.29
A17	14.1	33.96
A18	47.8	8.31
A19	23.5	29.18
A20	23	29.78
A21	25.1	30.41
A22	23.7	28.54
A23	24.2	29.72
A24	25.1	29.01

2.1.2 Instrumentacion El montaje experimental se llevo a cabo en el espectrómetro de masas TOF/TOF marca Ultraflexxtreme (Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Germany) (figura 7).

Figura 7. Espectrómetro de masas MALDI TOF/TOF

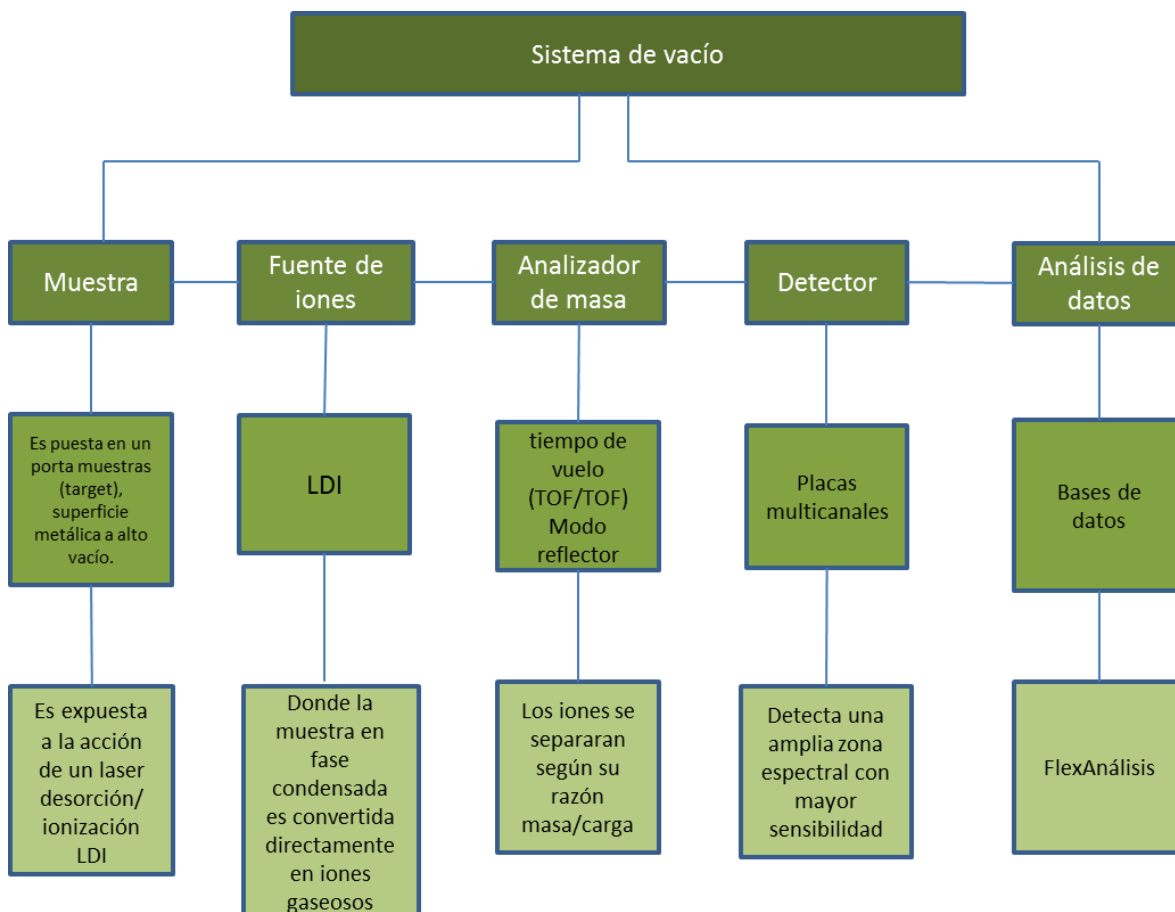


Figura 8. Esquema experimental de la obtención de espectros



Para poder entender más adelante todo el proceso de análisis realizado para las fracciones aromáticas, se explica en la figura 9, en breve la técnica de ionización, detector y analizador empleado para este trabajo.

Figura 9. Esquema del método LDI TOF/TOF empleado en el análisis de las muestras



2.1.3 Determinación de parámetros A continuación se describe la metodología usada para la determinación de los mejores parámetros instrumentales para el análisis por Espectrometría de masas de las muestras (fracciones aromáticas).

- Modo de operación del equipo

El equipo fue usado en modo reflectrón modo positivo, debido a que en este modo se cuenta con mayor resolución y sensibilidad hacia masas de alto peso molecular. La fuente de ionización es un láser de tipo SmartBeam-II de Granate de Aluminio e Ytrio dopado con Neodimio (Nd:YAG a 355 nm) y con anchos de pulso del orden de nanosegundos.

- Rango de masas

El rango de masas que se utilizó para la toma de espectros fue de 0 a 3500 Dalton con precisión de 1ppm, pues en este rango se observaron las distribuciones de masas de las muestras.

- Energía del pulso del láser

La intensidad del láser empleada en el análisis de las muestras fue entre 60-65 %, cabe resaltar que cada disparo del láser es la acumulación de 500 disparos láser a una frecuencia de 200Hz. Para el análisis de repetibilidad se trabajó con un láser del tipo convencional, donde para los dos primeros casos los disparos se hacen de manera aleatoria en todo el área del spot donde esta esparcida la muestra y en un tercer caso se trabajó sin aleatorización del láser es decir se hacen disparos del láser en un solo punto del spot.

Es muy importante tener en cuenta que si la intensidad del láser es muy alta se puede producir fragmentación en la muestra. Por otro lado, a intensidades bajas, estas, pueden no resultar suficientes para la desorción de la muestra. Esta intensidad de la radiación está directamente relacionada con la intensidad total del espectro.

- Preparación de muestras

Las muestras fueron preparadas por el método de la gota seca. En este método, la muestra se disuelve en cloroformo a una concentración de 1mg/mL. Se coloca 1µL de la solución en un spot sobre una placa de acero inoxidable (target) para su subsecuente evaporación al aire.

2.1.4 Adquisición y análisis de espectros El equipo con el software de análisis FlexControl, que permite la variación de diferentes parámetros como: intensidad laser, rango de masas, método de adquisición de los espectros, voltaje de extracción de las placas, entre otros.

Se realizó un pretratamiento a los espectros obtenidos utilizando las herramientas del software del procesamiento FlexAnalysis 3.3, con el fin de obtener la máxima y más útil información de los datos, minimizando las contribuciones presentes en la señal analítica que reducen la reproducibilidad e induce comportamientos del sistema que darían lugar a estimaciones erróneas de los parámetros esperados.

Teniendo en cuenta que esta técnica analítica requiere calibración antes de la toma de espectros con calibrantes que cubran el rango de masas de las muestras, se utilizó una mezcla de péptidos (patrón estándar) como calibrante, el cual cubre un rango de 700 a 3000Da. Esta mezcla fue depositada en un spot del target lo más cercano posible a la muestra a analizar.

Además, se realizó una calibración interna del espectro de masas con la del calibrante más próximo según su ubicación en el target. Finalmente, se implementó un método de trabajo definiendo las características de los parámetros de suavizado espectral y de la corrección de la línea base

2.1.5 Procesamiento de datos espectrales Se realizó un pre-tratamiento a los espectros obtenidos utilizando las herramientas del software de procesamiento FlexAnalysis 3.3 con el fin de obtener la máxima y más útil información de los datos, minimizando las contribuciones presentes en la señal analítica que reducen la reproducibilidad e inducen comportamientos del sistema que darían lugar a estimaciones erróneas de los parámetros esperados.

Teniendo en cuenta que esta técnica analítica requiere calibración antes de la toma de espectros con calibrantes que cubran el rango de masas de las muestras se utilizó una mezcla de péptidos (patrón estándar) como calibrante, el cual cubre un rango de 700 a 3000 Da. Esta mezcla fue depositada en un spot del target lo más cercano posible a la muestra a analizar. A continuación, se realizó una calibración interna del espectro de masas con la del calibrante más próximo según su ubicación en el target. Finalmente, se implementó un método de trabajo definiendo las características de los parámetros de suavizado, y de la corrección de la línea base.

2.1.6 Determinación del peso molecular promedio por LDI TOF/TOF Luego de realizado el procedimiento anteriormente descrito, se calculó el peso molecular promedio en número ($\overline{M_n}$) y el peso molecular promedio en peso ($\overline{M_w}$) con las expresiones dadas según las ecuaciones 4 y 3 respectivamente (KUANGNAN, 2007).

$$M_n = \frac{\sum I_i * M_i}{\sum I_i} \quad (4)$$

$$M_w = \frac{\sum I_i * M_i^2}{\sum I_i * M_i} \quad (5)$$

Con la ecuación 4 se calcula $\overline{M_n}$ donde I_i corresponde a la intensidad relativa de la masa m_i , esta ecuación es afectada principalmente por las moléculas de bajos pesos moleculares en el espectro.

Con la ecuación 5 se calcula $\overline{M_w}$ que es la medida aritmética de los pesos moleculares de todas las moléculas, es afectado por los altos pesos moleculares debido a que no solamente depende del número de especies de cada peso, como $\overline{M_n}$, sino que depende del peso de cada una de las especies.

Donde M_i y I_i representan los pesos moleculares de los componentes y sus intensidades de señal respectivamente de las especies detectadas (GILMORE *et al*, 2000).

2.1.7 Análisis por componentes principales (PCA) El software que se empleó para este tipo de análisis fue el Unscrambler versión 1.3, donde se escogió una matriz de 99999 datos que corresponden a un rango de masas de 250 – 1020 m/z para cada muestra. Debido a que el software Unscrambler tiene diferentes tipos de normalización para la corrección de los datos espectrales, se realizó un análisis exploratorio por el cual se identificó la normalización media (Mean Normalization) como la más apropiada, permitiendo una mayor agrupación de las muestras con alta varianza explicada.

3. RESULTADOS Y ANALISIS

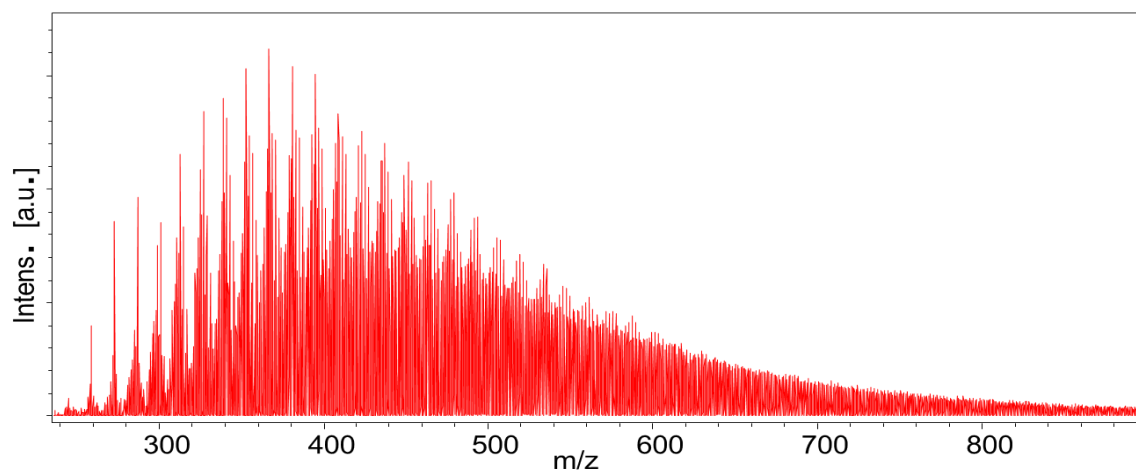
A continuación se describe el desarrollo y los principales resultados obtenidos en las etapas de masa molecular promedio, comportamiento de la energía del láser, repetibilidad y PCA de las muestras.

3.1 MASA MOLECULAR PROMEDIO DE LAS MUESTRAS

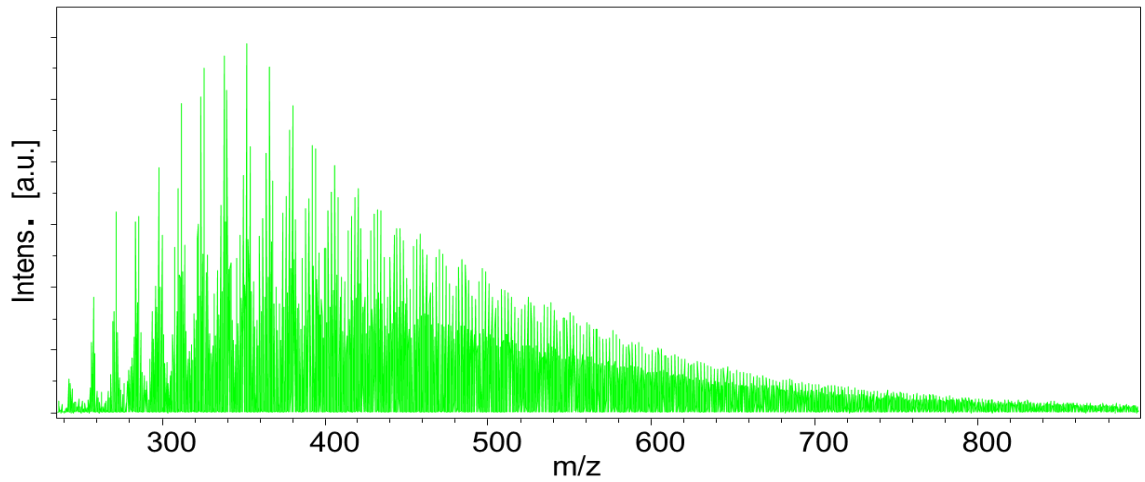
La masa molecular promedio de las fracciones aromáticas, fue determinada usando las ecuaciones de Mw y Mn anteriormente mencionadas en las ecuaciones 4 y 5 respectivamente. En la figura 13 se muestran tres ejemplos de los espectros de masas y los valores de Mn y Mw respectivamente para las fracciones A5, A16 y A22, donde todas presentan un valor de °API bastante disperso entre sí.

Figura 10. Espectros de masas y valores de Mn y Mw (a) fracción A5, (b) fracción A16, (c) fracción A22.

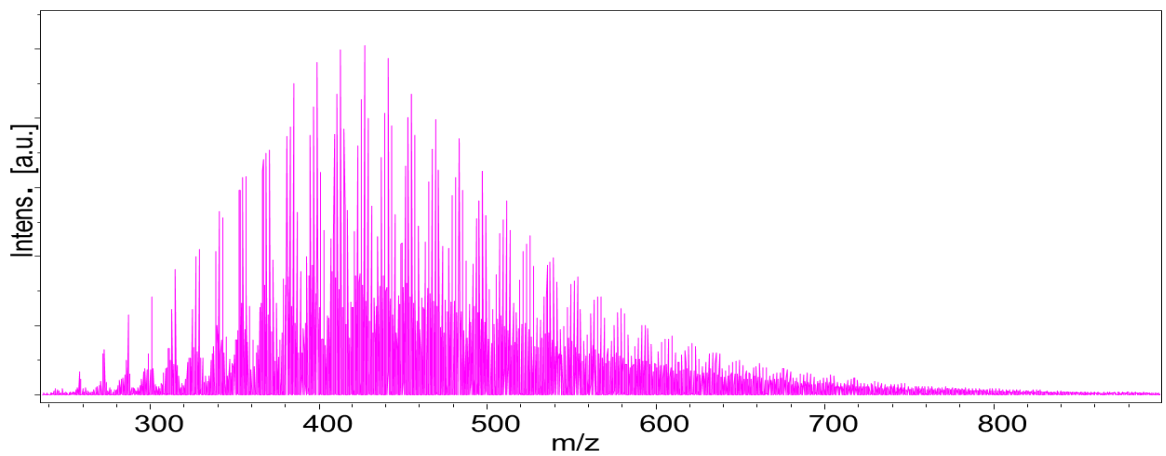
(a)



(b)



(c)



En la siguiente tabla se representan los valores de masa molecular promedio para las 24 fracciones, donde apreciamos que sus valores están dentro del rango de 500Da y 550Da.

Tabla 3. Masa molecular promedio de las muestras en peso (Mw) y en número (Mn)

Muestras Fracciones aromáticas	Masa molecular promedio en peso (Mw)	Masa molecular promedio en número (Mn)
A1	558.10	523.78
A2	543.86	511.39
A3	565.27	528.65
A4	538.48	505.16
A5	542.00	505.60
A6	540.78	505.09
A7	526.00	494.68
A8	536.98	503.43
A9	551.29	516.34
A10	506.61	477.89
A11	510.60	478.24
A12	501.01	473.85
A13	539.89	506.81
A14	515.41	482.20
A15	517.32	486.47
A16	533.73	491.35
A17	516.33	484.84
A18	520.51	485.85
A19	538.40	507.13
A20	515.63	485.22
A21	531.01	499.12
A22	512.84	485.27
A23	525.95	495.69
A24	535.57	503.02

Como se discutió anteriormente, el peso molecular es uno de los datos más importantes requeridos en la caracterización de fracciones pesadas del crudo y en la optimización de los procesos de refinación. Su determinación puede llevarse a cabo utilizando técnicas directas e indirectas. Rutinariamente en la industria del petróleo se utilizan técnicas indirectas como VPO y GPC.

En la literatura hay diversas investigaciones basadas en estas técnicas, por ejemplo (PERAMANU *et al.*, 1999), los autores sugieren que la técnica de GPC es adecuada para el análisis de fracciones pesadas del petróleo porque suministra información sobre la distribución de pesos moleculares promedio. Para obtener resultados más exactos al utilizar dichas técnicas, es necesario trabajar con fracciones que poseen estructuras similares y que sean comúnmente solubles, de ahí los bitúmenes fueron divididos en las fracciones saturadas, aromáticas, resinas y asfaltenicas. Al concluir el estudio encontraron que las fracciones asfaltenicas presentaban mayor peso molecular que las resinas, las fracciones aromáticas y por ultimo las saturadas cuando se llevaba a cabo las mediciones utilizando VPO.

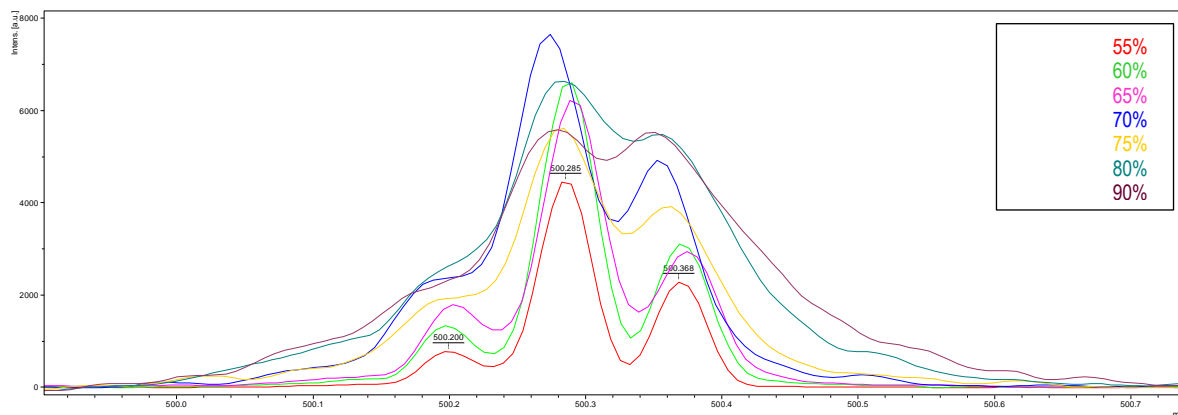
Paralelamente reportan que los pesos moleculares por GPC eran mucho más bajos que los medidos por VPO, observando que las fracciones aromáticas poseían menor peso molecular con respecto a las fracciones saturadas.

Otros estudios realizados por (GUERRERO *et al.*, 2005) empleando estas mismas técnicas de VOP y GPC reportaron que el peso molecular promedio de las fracciones aromáticas preparadas con diferentes estándares y empleando diferentes solvente como tolueno a 40 °C, tolueno a 70°C a 110°C están en el rango de (390-640), (644,747), respectivamente.

Esto nos lleva a concluir que los pesos moleculares adquiridos en este trabajo por la técnica LDI TOF/TOF están dentro del rango del peso molecular de la fracción aromática, aunque se haya trabajado con otro tipo de solvente (cloroformo).

3.2 ESTUDIO DE LA ENERGÍA DE LA INTENSIDAD DEL LASER

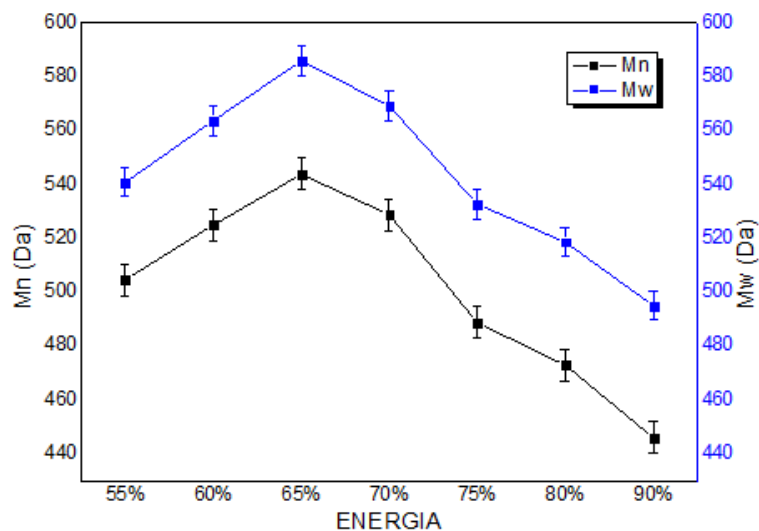
Figura 11. Espectros de masas en la ventana 500-500,7 Da de la fracción aromática A1 obtenido a diferentes energías láser



Se observa que los picos tienen una mayor resolución a bajas intensidades del haz láser, esto puede ser debido a que a mayor intensidad del láser los iones son desorbidos del target con una mayor dispersión de posición y energía cinética inicial lo que conduce a que iones con la misma relación m/z lleguen al detector con una alta dispersión temporal y por lo tanto una menor resolución de los picos.

Adicionalmente, como se muestra en la figura 11, los valores de M_n y M_w aumentan paulatinamente hasta alcanzar un valor máximo de intensidad láser al 65% de su energía total y por encima de esta intensidad la masa molecular promedio decae, lo que podría indicar una posible fragmentación de la muestra a intensidad del láser superiores al 65 % de su energía total.

Figura 12. Comportamiento de la energía del láser



Debido a esto, los espectros fueron adquiridos a intensidades láser en un porcentaje entre 60-65% de manera que se logre ionizar eficientemente la muestra y logrando a su vez una alta resolución espectral evitando la formación de fragmentos.

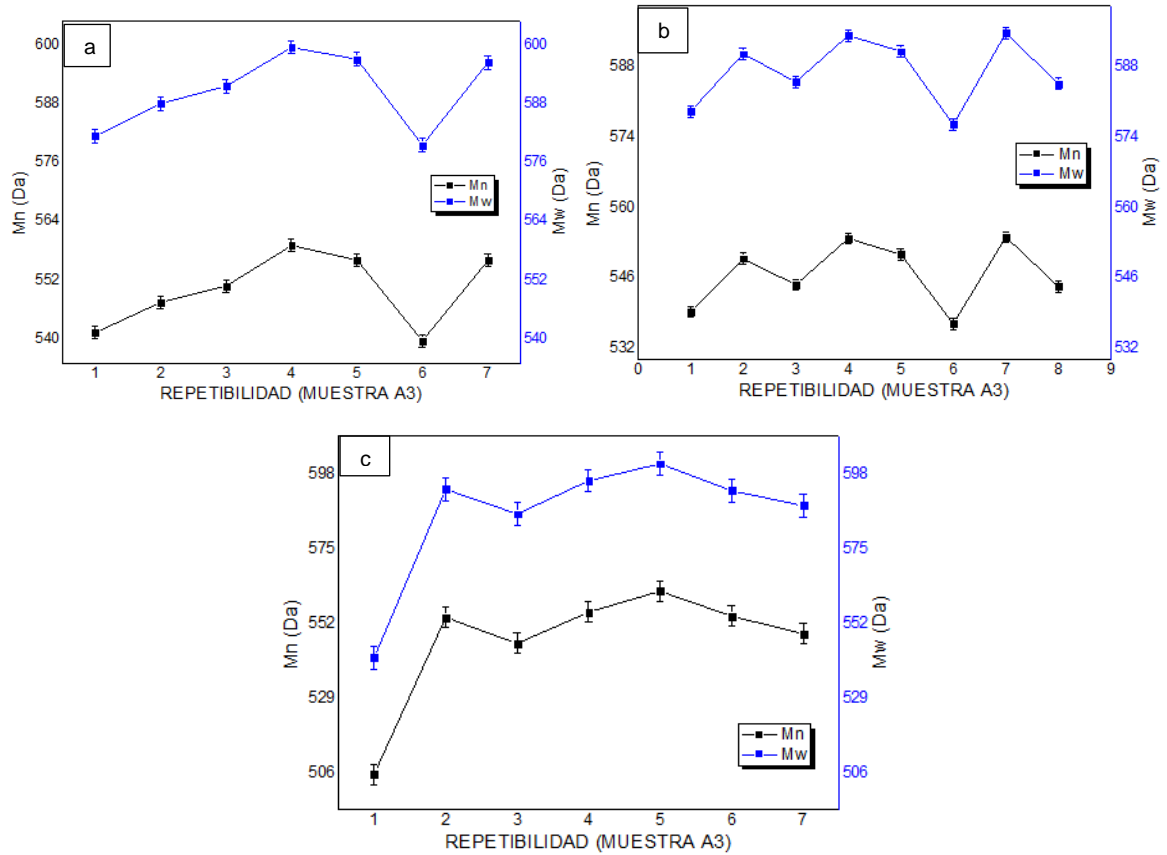
3.3 ANALISIS DE LA REPETIBILIDAD

En este análisis se pretende determinar qué tan repetible es el valor del peso molecular medio de las fracciones de aromáticos de crudos mediante la técnica LDI TOF/TOF, para esto se escogieron 3 muestras aleatoriamente de las 24 fracciones aromáticas (A3, A19, A24) y para cada una de ellas se realizaron de 7 a 8 adquisiciones, cada una corresponde a la suma de 500 disparos laser.

Como lo muestra la figura 12, para la muestra A3 los disparos laser se realizaron de tres maneras diferentes. En el primer caso (a) se obtuvo el espectro tras la adquisición de la suma de 500 disparos laser a una frecuencia de 200Hz donde cada disparo se realizó con camino aleatorio del láser (b) se realizó con camino

aleatorio del láser y la suma de 1000 disparos laser en el último caso (c) se realizó sin aleatorización del láser y 500 disparos laser.

Figura 13. Repetibilidad de la muestra A3. (a) camino aleatorio del láser y una adquisición, (b) camino aleatorio del láser y dos adquisiciones, (c) sin aleatorización del láser y una adquisición



Como se puede observar para el tercer caso (c) se observa una mayor repetibilidad del valor del peso molecular medio, por lo que se escoge este método (omitiendo la primera adquisición) para la adquisición de los espectros de todas las muestras.

Tabla 4. Datos peso molecular promedio para A3 sin aleatorización del láser y una adquisición

Repetibilidad	\overline{M}_n	\overline{M}_w
1	554.05	593.57
2	546.05	585.99
3	555.73	596.25
4	562.14	601.43
5	554.47	593.16
6	548.99	588.53
Media	553.57	593.15
Desv. Estandar	5.11	5.01
Error Estandar	2.08	2.04
RSD	0.92	0.84

En este caso el cálculo de la desviación estándar relativa (RSD) presenta valores menores a 1% lo cual demuestra la repetibilidad y fiabilidad de los resultados.

3.4 ANALISIS POR COMPONENTES PRICIPALES (PCA)

Para este análisis se realizó una descomposición por componentes principales al conjunto de 24 espectros de muestras entre muestras impares, muestras pares y muestras totales, corregidos con pre-tratamiento espectral.

El objetivo de este análisis es definir el número de componentes principales (PC) a utilizar en el modelo de calibración, con el fin de disminuir la dimensionalidad de los datos lo más posible. El número de PC a utilizar se determinó a través de la varianza explicada acumulada (tabla 4).

3.4.1 Análisis por componentes principales para el grupo de muestras impares

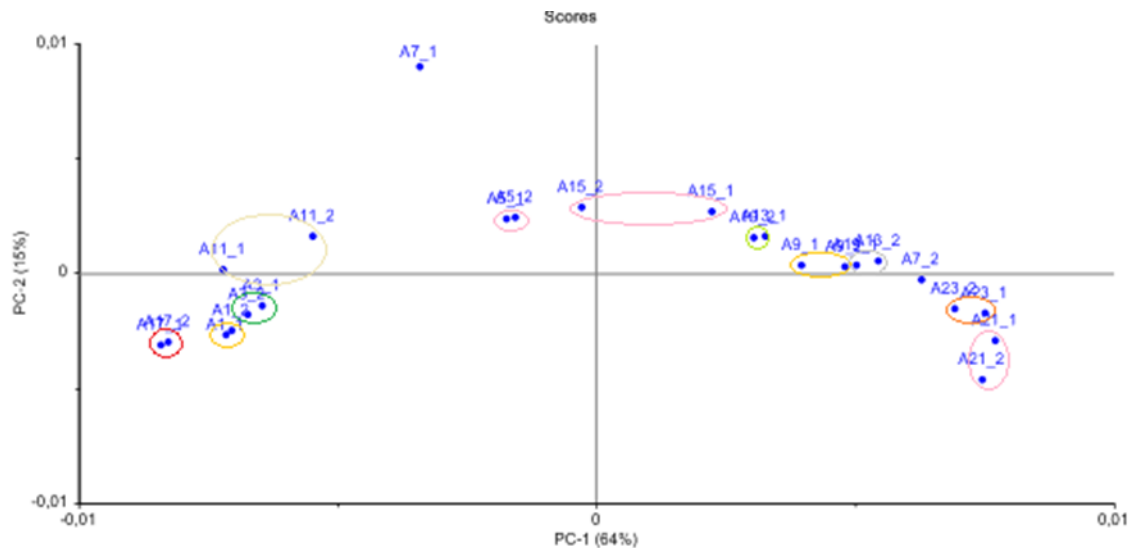
Tabla 5. Varianza explicada por 7 componentes principales de las muestras impares

Componente Principal	Varianza explicada %	Varianza Exp. Acumulada %
PC1	68.3564	68.3564
PC2	15.1834	83.5398
PC3	7.278	90.8178
PC4	1.2445	92.0623
PC5	2.8946	94.9569
PC6	0.9502	95.9071
PC7	0.1447	96.0518

Teniendo en cuenta el porcentaje de varianza de los datos espectrales que explica los primeros 7 componentes principales, se observó que a partir del PC6 el aumento en la varianza explicada no es considerable, por lo que 5 es el número óptimo de componentes a utilizar en los modelos de calibración.

La representación de los dos primeros componentes principales se muestra en el gráfico de puntuaciones de la figura 14

Figura 14. Gráfico de puntuaciones (scores) de las muestras impares PC2 vs PC1



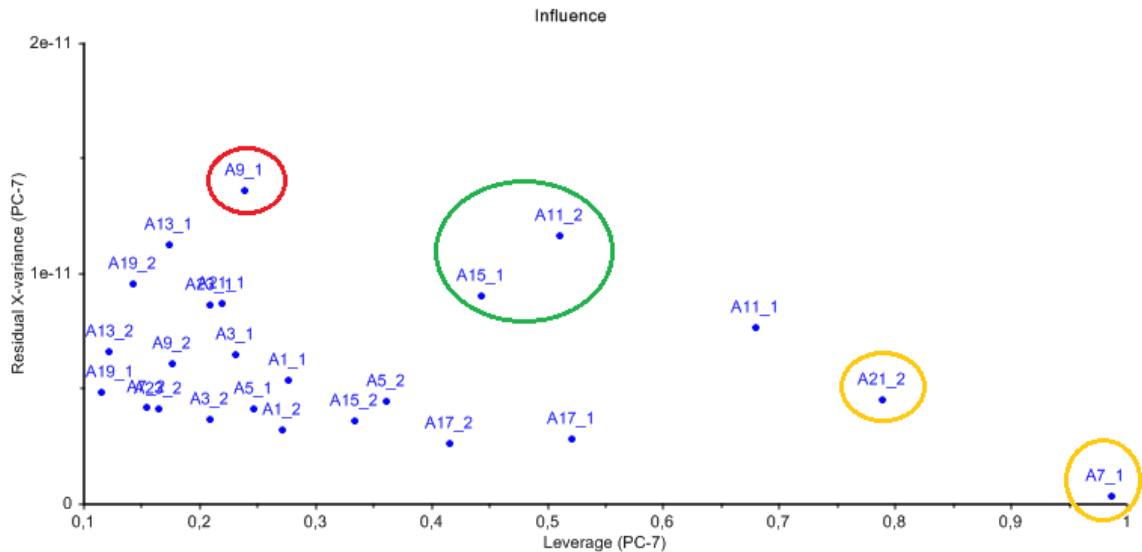
En el primero cuadrante de figura 14, aparecen las muestras que son explicadas de una forma positiva tanto para el PC1 como para el PC2, en el segundo aparecen las que son explicadas de una forma negativa por el PC1 pero positiva por el PC2, en el tercer los de forma negativa para los dos componentes y para el cuarto cuadrante aparecen las que son explicadas de una forma positiva para el PC1 pero negativa por el PC2.

El grafico de scores para las muestras impares, muestra los componentes principales PC1 y PC2 en los cuales se recoge el 64% y el 15% de varianza respectivamente, lo que indica que estos dos componentes contienen el 79% de la varianza total de las intensidades espectrales.

Como se logra ver la muestra A7 sale muy distanciada de su duplicado, lo cual se prefirió quitar del análisis PCA y lograr aumentar el valor de la varianza quedando con un 73% para el PC1 y 16% para el PC2 lo que indica que estos componentes alcanzan un 89% de la varianza total.

El gráfico de influence (figura 15) permite clasificar e identificar con mayor precisión aquellas muestras que de alguna manera podrían distorsionar el modelo como: valores atípicos (outliers), de alta influencia y posibles valores peligrosos (dangerous outliers) de las muestras analizadas.

Figura 15. Gráfico de Influence con residual X-variance vs Leverage



Las muestras ubicadas en la parte superior izquierda de esta grafica (rojo) presentan altos valores de varianza residual y pueden ser catalogadas como peligrosos (dangerous outliers), las muestras ubicadas en la parte inferior derecha (naranja) son catalogadas como muestras con alta influencia (apalancamiento), lo que significa que estas muestras atraerán el modelo para que las describa mejor, estos dos tipos de muestras con *altos valores de leverage y varianza residual* no serán descritas por el modelo que describe la mayoría de las muestras, las muestras ubicadas en el centro (verde) son catalogadas como muestras típicas.

En la siguiente imagen (figura16) se realizó un agrupamiento de las muestras según su similitud entre propiedades tales como %p/p aromáticos y gravedad °API, lo cual lo podemos observar junto a la tabla 5.

Figura 16. Gráfico de puntuaciones (scores) según su similitud en %p/p aromáticos y gravedad °API de las muestras impares

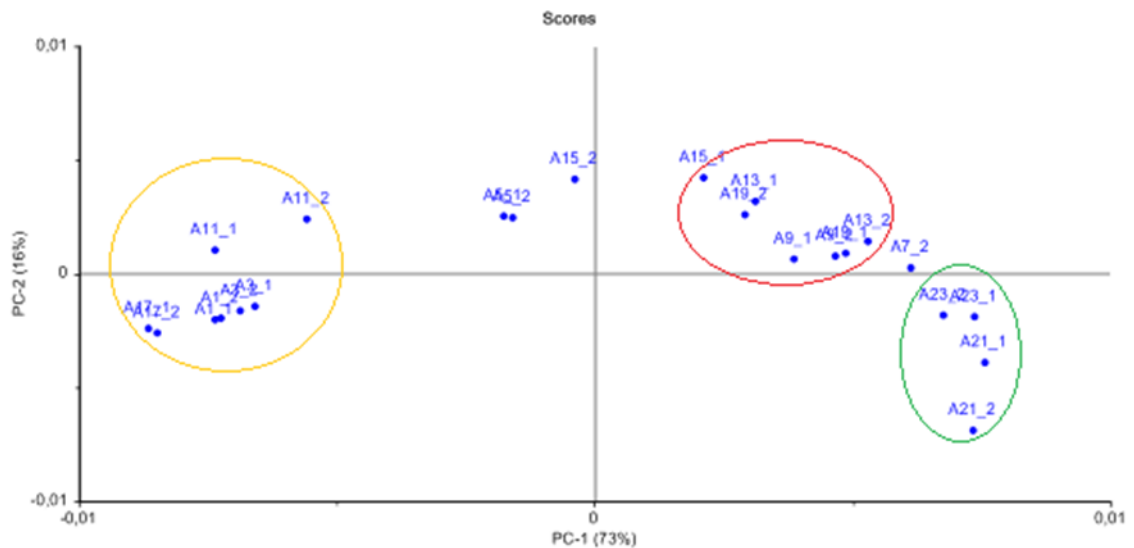


Tabla 6. Agrupaciones según valores de %p/p aromático y gravedad °API para muestras impares

MUESTRA	%p/p	°API
A1	32.9	23.7
A3	40.87	9.4
A11	33	17.6
A17	33.96	14.1
A5	8.13	47.1
A9	28.1	23.5
A13	30.41	25.1
A15	28.97	23.7
A19	29.18	23.5
A21	27.42	22.7
A23	29.42	22.7

3.4.2 Análisis por componentes principales para el grupo de muestras pares

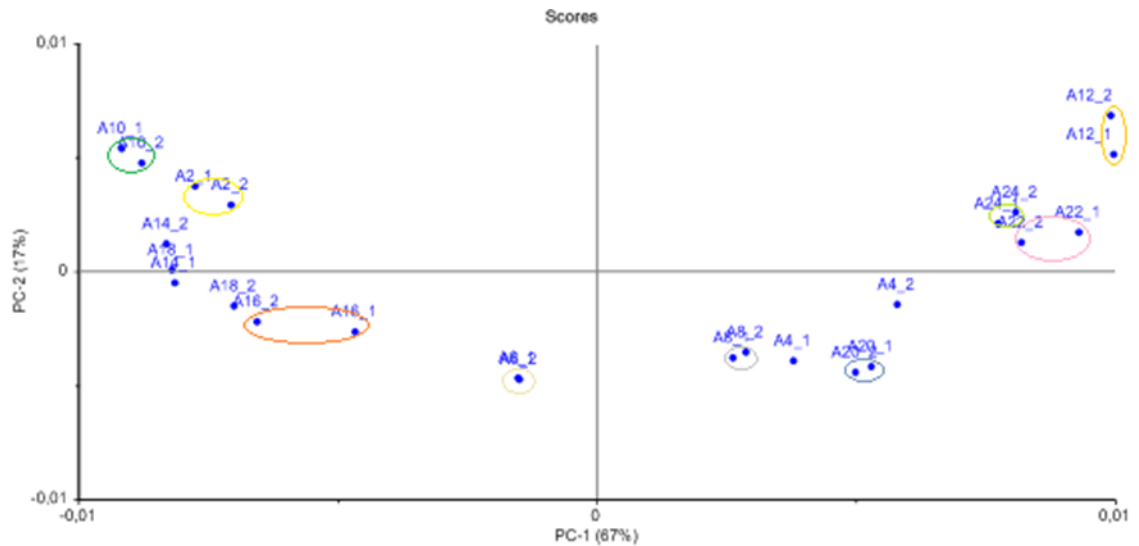
Tabla 7. Varianza explicada por 7 componentes principales de las muestras pares

Componente Principal	Varianza explicada %	Varianza Exp. Acumulada %
PC1	63.0383	63.0383
PC2	15.8024	78.8407
PC3	12.6968	91.5375
PC4	2.7948	94.3323
PC5	0.9055	95.2378
PC6	1.7595	96.9973
PC7	0.7852	97.7825

Teniendo en cuenta el porcentaje de varianza de los datos espectrales que explica los primeros 7 componentes principales para el grupo de las muestras pares, se observó que el PC5 y el PC7 el aumento en la varianza explicada no es considerable, por lo que 5 es el número óptimo de componentes a utilizar en los modelos de calibración.

La representación de los dos primeros componentes principales se muestra en el siguiente gráfico de puntuaciones de la figura 17.

Figura 17. Gráfico de puntuaciones (scores) de las muestras pares PC2 vs PC1

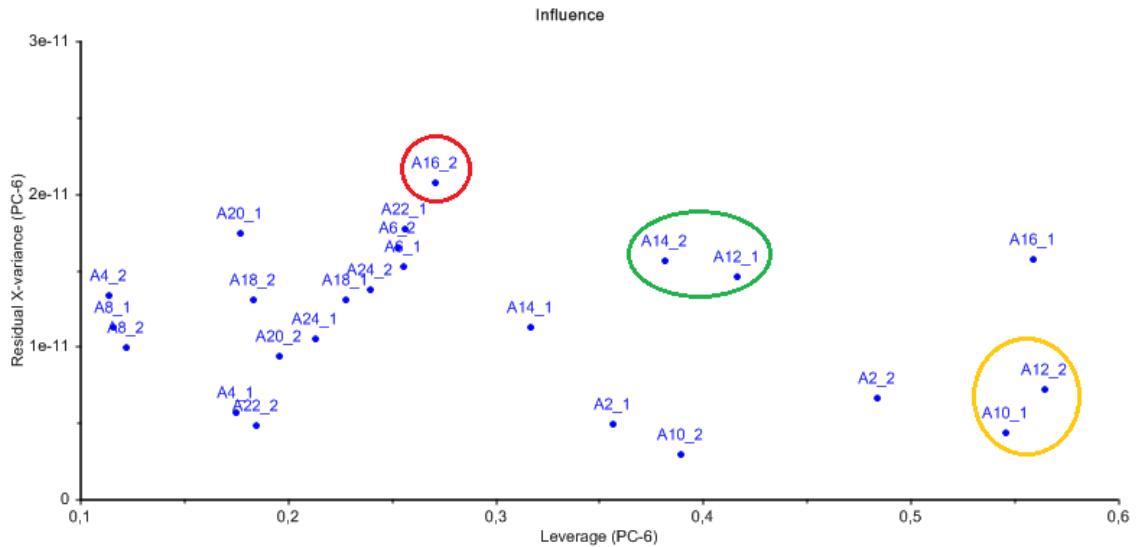


En el primero cuadrante de figura 17, aparecen las muestras que son explicadas de una forma positiva tanto para el PC1 como para el PC2, en el segundo aparecen las que son explicadas de una forma negativa por el PC1 pero positiva por el PC2, en el tercer los de forma negativa para los dos componentes y para el cuarto cuadrante aparecen las que son explicadas de una forma positiva para el PC1 pero negativa por el PC2.

El grafico de scores para las muestras pares, muestra los componentes principales PC1 y PC2 en los cuales se recoge el 67% y el 17% de varianza respectivamente, lo que indica que estos dos componentes contienen el 84% de la varianza total de las intensidades espectrales.

El grafico de influence (figura 18) permitió identificar con mayor precisión aquellas muestras que de alguna manera podrían distorsionar el modelo como: valores atípicos (outliers), de alta influencia y posibles valores peligrosos (dangerous outliers) de las muestras analizadas.

Figura 18. Gráfico de Influence con residual X-variance vs Leverage



En este grafico podemos identificar que según la ubicación de la muestra se puede catalogar de tres tipos: las muestras ubicadas en la parte superior izquierda de la grafica (rojo) presentan altos valores de varianza residual y se llegan a conocer como peligrosos (dangerous outliers), las muestras ubicadas en la parte inferior derecha (naranja) son catalogadas como muestras con alta influencia (apalancamiento), estos dos tipos de muestras *con altos valores de leverage y varianza residual* no serán descritas por el modelo que describe la mayoría de las muestras, las muestras ubicadas en el centro (verde) son catalogadas como muestras típicas.

Se realizó un agrupamiento de las muestras según su similitud entre propiedades tales como %p/p aromáticos y gravedad °API figura 19 y tabla 7.

Figura 19. Gráfico de puntuaciones (scores) según su similitud en %p/p aromáticos y gravedad °API de las muestras pares

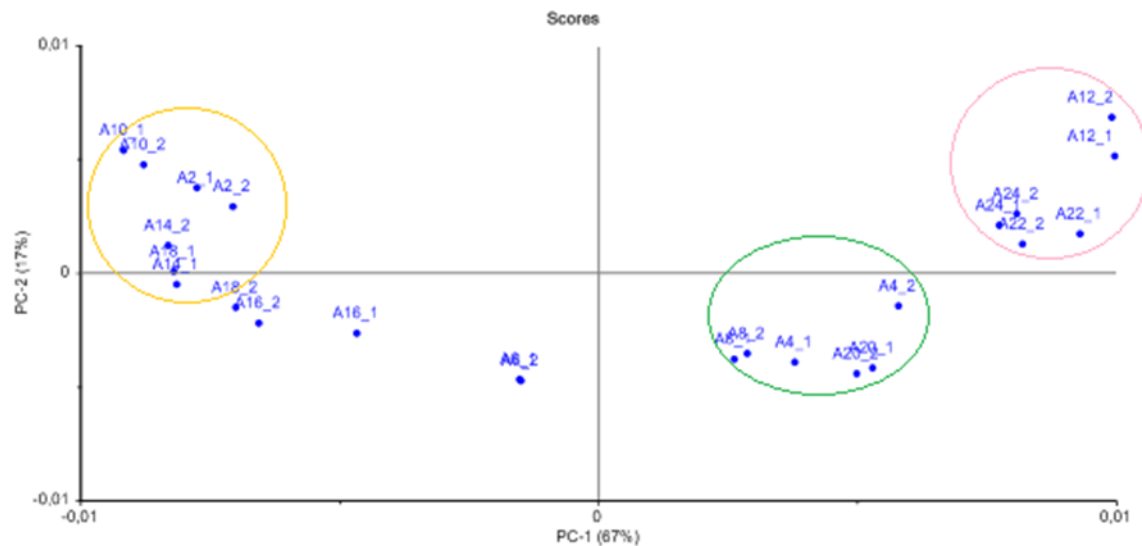


Tabla 8. Agrupaciones según valores de %p/p aromático y gravedad °API para muestras pares

MUESTRA	%p/p	°API
A2	8.13	33.8
A10	8.31	47.8
A14	9.38	46.8
A18	9.29	47.4
A6	31.36	23.4
A16	25.16	12.5
A4	25.74	23.4
A8	29.72	23.5
A20	29.78	23
A12	28.09	24.4
A22	28.54	23.7
A24	29.01	25.1

3.4.3 Análisis por componentes principales para el grupo de muestras totales

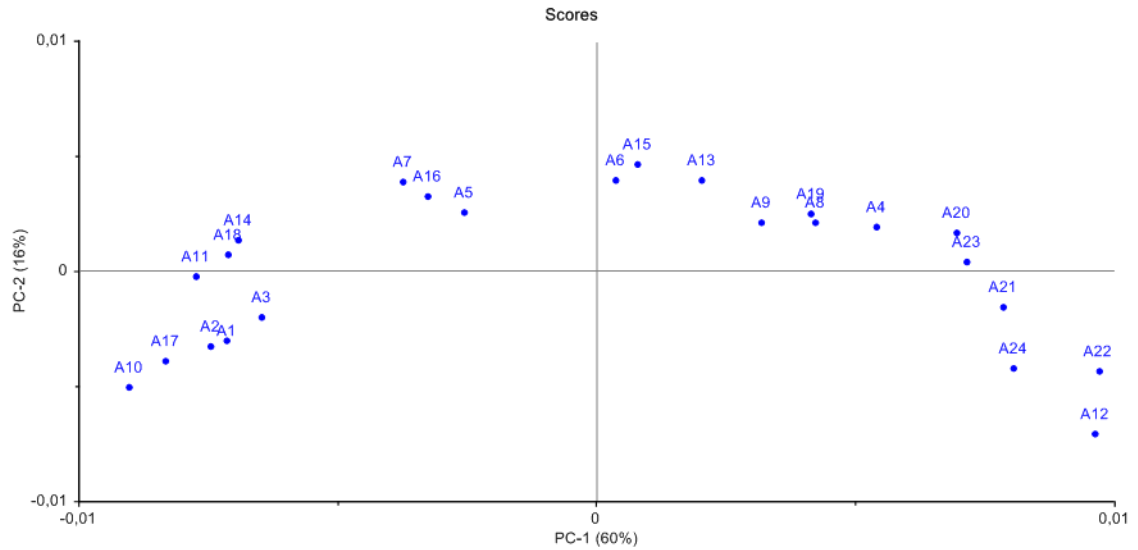
Tabla 9. Varianza explicada por 7 componentes principales de las muestras totales

Componente Principal	Varianza explicada %	Varianza Exp. Acumulada %
PC1	61.5586	61.5586
PC2	17.2675	78.8261
PC3	10.036	88.8621
PC4	0.7062	89.5683
PC5	2.4341	92.0024
PC6	1.292	93.2944
PC7	0.69.51	93.9895

Teniendo en cuenta el porcentaje de varianza de los datos espectrales que explica los primeros 7 componentes principales para el grupo de las muestras pares, se observó que el PC4 y el PC7 el aumento en la varianza explicada no es considerable, por lo que 5 es el número óptimo de componentes a utilizar en los modelos de calibración.

La representación de los dos primeros componentes principales se muestra en el siguiente gráfico de puntuaciones de la figura 20.

Figura 20. Gráfico de las puntuaciones o scores de las muestras totales

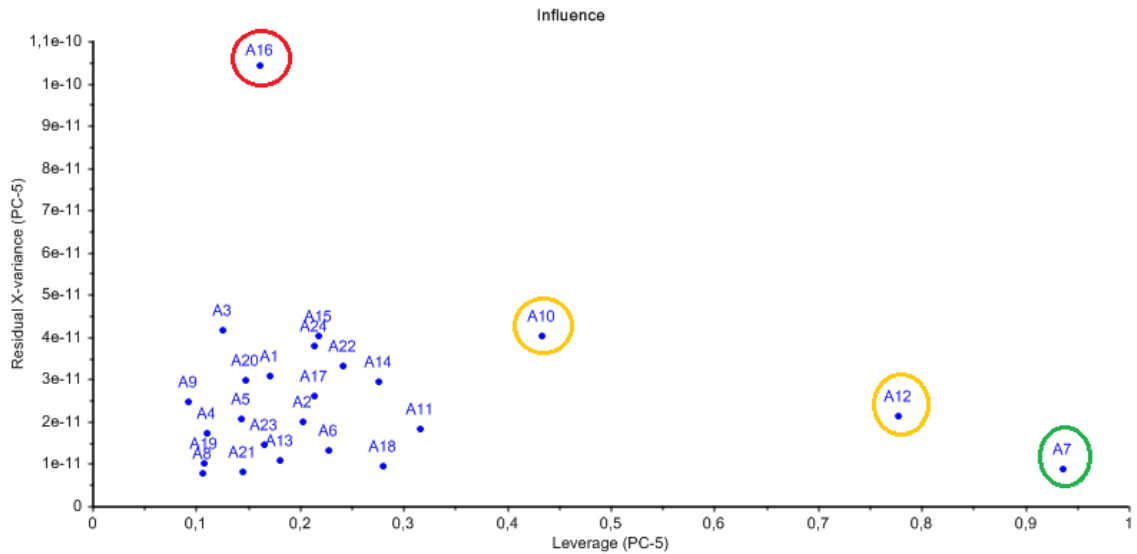


En el primero cuadrante de figura 20, aparecen las muestras que son explicadas de una forma positiva tanto para el PC1 como para el PC2, en el segundo aparecen las que son explicadas de una forma negativa por el PC1 pero positiva por el PC2, en el tercer los de forma negativa para los dos componentes y para el cuarto cuadrante aparecen las que son explicadas de una forma positiva para el PC1 pero negativa por el PC2.

El grafico de scores para las muestras pares, muestra los componentes principales PC1 y PC2 en los cuales se recoge el 60% y el 16% de varianza respectivamente, lo que indica que estos dos componentes contienen el 76% de la varianza total de las intensidades espectrales.

El grafico de influence (figura 21) permitió identificar con mayor precisión aquellas muestras que de alguna manera podrían distorsionar el modelo como: valores atípicos (outliers), de alta influencia y posibles valores peligrosos (dangerous outliers) de las muestras analizadas.

Figura 21. Gráfico de Influence con residual X-variance vs Leverage



De igual forma que en los análisis anteriores este grafico nos ayuda a identificar y catalogar las muestras según su ubicacion: las muestras ubicadas en la parte superior izquierda de la gráfica (rojo) presentan altos valores de varianza residual y se llegan a conocer como peligrosos (dangerous outliers), las muestras ubicadas en la parte inferior derecha (naranja) son catalogadas como muestras con alta influencia (apalancamiento), estos dos tipos de muestras con altos valores de leverage y varianza residual no serán descritas por el modelo que describe la mayoría de las muestras, las muestras ubicadas en el centro (verde) son catalogadas como muestras típicas.

4. CONCLUSIONES

- La espectrometría de masas LDI TOF-TOF al ser una técnica sensible demostró ser un método eficaz para la ionización de las fracciones del petróleo, combinada con técnicas de calibración multivariable como PCA permite analizar las fracciones aromáticas para el desarrollo de modelos de predicción de propiedades fisicoquímicas.
- La energía del láser mostró que tanto afecta esta energía en la ionización a las muestras en cuanto a la formación de clusters, y se puede decir que la energía más óptima para este tipo de muestras (fracción aromática) es de 60-65%.
- A partir de la información de los espectros de masas LDI TOF/TOF se pudo determinar el peso molecular promedio y analizar la repetibilidad, donde se presenta mejor linealidad cuando se lleva a cabo de la forma sin aleatorización del láser y una sola adquisición, es decir, 500 disparos láser a 200Hz.
- El análisis por componentes principales (PCA) es una herramienta que proporciona información cualitativa de la semejanza o diferencias químicas de las muestras, por lo tanto se realizó una agrupación de acuerdo a sus características y propiedades. Donde las gráficas en el PCA nos dio información para la identificación de muestras outliers, atípicas o de gran influencia.

BIBLIOGRAFIA

ALTGELT, K. and BODUSZNSKI, M. Composition and Analysis of Heavy Petroleum Fractions. New York: Marcel Dekker Inc., 1994; p 75-199, 203-248, 309-387, 445-455.

AQUINO NETO, F.R.A., NUNES, D.S.S., Cromatografía-Principios básicos e Técnicas afins. Rio de Janeiro, Editora Interciência Ltda., 2003.

BRERETON, R.G. Applied Chemometrics for Scientists. England: John Wiley & Sons, 2007. ISBN 978-0-470-01686-2.

CALDERON, J., NEISY MARCELA. Implementación de un método para la determinación de la masa molecular promedio de las fracciones pesadas del proceso de destilación molecular de fondos de vacío utilizando espectrometría de masas maldi tof/tof. Universidad Industrial de Santander. 2013.

CASTRO, M. MACIAS, A. Estudios del comportamiento de las propiedades fisicoquímicas y reológicas de mezclas de crudos y su relación con la compatibilidad. Tesis de grado (ingeniería química). Bucaramanga. Universidad Industrial de Santander. Facultad de fisicoquímica. 2004.

CHAU, F.T., LIANG, Y., GAO, J., SHAO, X., Chemometrics: from basics to wavelent transform. En: Monographs on analytical chemistry and its applications New Jersey: john Wiley & Sons, 2004. Vol 164 ISBN 0-471-20242-8.

CHEN, J., JIA, L., ZHAO, L., LU, X., GUO, W., WENG, J., QI, F. Analysis of Petroleum Aromatics by Laser-Induced Acoustic Desorption/Tunable Synchrotron

Vacuum Ultraviolet Photoionization Mass Spectrometry. Republic of China, ACS Energy Fuels, Vol.27 P.20010-2017. 2013.

COTTER J. ROBERT; Time of flight mass spectroscopy, Instrumentation and Applications in Biological Research. Baltimore, ACS Professional Reference Books, p.121. 1997.

EL-ANEED, A., COHEN, A., BANOUD, J., Mass Spectrometry, Review of the basics: Electrospray, Maldi, and Commonly Used Mass Analyzers, Applied Spectroscopy Reviews, 44 (2009) 210-230.

FERNANDEZ, C.M. Quimiometría. Editorial Publicaciones Universidad de Valencia, 2005. P.423.

GELADI, PAUL. Chemometrics in Spectroscopy. Part1. Classical Chemometrics. Spectrochimica Acta Part B. 2003, 58, 767-782.

GILMORE, I. S.; SEAH, M. P. Ion detection efficiency in sims: dependencies on energy, mass and composition for microchannel plates used in mass spectrometry. Int. J. Mass. Spectrom, 2000, 202 (1-3): 217-229

GROSSO J. L., et al., Informe Final Proyecto "mejoramiento de Crudos y Fracciones Pesadas por Desasfaltado a Condiciones Moderadas de Presión y Temperatura". Bucaramanga, ECOPETROL-ICP, Septiembre de 1991.

GUERRERO, N., SUAREZ, G., informe final proyecto "Determinación de pesos moleculares de fracciones pesadas del petróleo por VPO y GPC". Universidad Industrial de Santander. 2005.

HAMMAMI, Ahmed; FERWORN, Kevin and NIGHS WANDER, John. Asphaltenic crude oil characterization: an experimental investigation of effect of resins on the stability of asphaltenes. *Petroleum Science and Technology*. V.16, 1998. P.227-246.

HOFFMAN E. D., CHARETTE J., STROOBAUT V., *Mass Spectrometry-principles and Applications*. John Wiley and Sons, Belgium, p.24-25, 1996.

KILLOPS S., KILLOPS V. *Introduction to organic geochemistry*. Second Edition, Blackwell Publishing, 393 p., 2005.

KNOCHENMUSS, R. Ion formation mechanisms in UV-MALDI. *Journal The Royal Society of Chemistr.*2006, (131); 966-986

KUANGNAN Qian. Desorption and Ionization of Heavy Petroleum Molecules and Measurement of Molecular Weight Distributions. *Energy & Fuels*, 2007, 21: 1042-1047.

MELENDEZ CORREA, L. V. Predicción de propiedades fisicoquímicas de productos destilados del Delayed Coking de fondos de vacío a partir de parámetros estructurales determinados por espectroscopia infrarroja FTIRATR y métodos quimiométricos. Tesis. Universidad Industrial de Santander, 2014.

MILLER, J.N; MILLER, J.C. *Estadística y quimiometría para química analítica* cuarta ed. España: Prentice Hall, 2002. P.595.

MORENO G. DIEGO HERNAN. Estudio sobre la composición y la estructura de los productos de destilación molecular de fondos de vacío de petróleos colombianos por medio de RMN ¹H y ¹³C. Universidad Nacional de Colombia. 2011.

OTTO, M. Chemometrics statistics and computer application in analytical chemistry. Primera edición. Weinheim: Wiley-VCH, 1999. ISBN 3-527-29628-X.

PENMAN, JIM. KRUGER, DINA. GALBALLY, IAN. Orientación del IPCC sobre las buenas prácticas y la gestión de la incertidumbre en los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero. Anexo 3. 2000.

PERAMANU, S., PRUDEN, B., RAHIMI, P., Molecular weight and specific gravity distribution for Athabasca and Cold lake bitumens engineering chemistry research. Vol.38.No.8, 1999.P. 3121-3130.

PETERS K.E., WALTERS C.C., MOLDOWAN J.M. The Biomarker Guide: Biomarkers and Isotopes in the Environment and Human History. 2nd Edition, v.1, Cambridge University Press, 471p., 2005a.

PHILIP, C.V. et al. GPC Characterization for assessing compatibility problems with heavy fuel oils. En: Fuel processing technology. 1984; P.189-201.

PLASCENCIA Villa, G. Espectrometría de Masas. Universidad Nacional Autónoma de México, Cuernavaca, Morelos. 2003. pp 16,17, 22, 23.

RUBINSON, K. A.; RUBINSON, J. F. Análisis Instrumental, Prentice Hall Hispanoamericana S.A. Madrid; Editorial Pearson Educación, 2001.

SPEIGHT, J. G. The chemistry and technology of petroleum. New York: marcel dekker, 1999.

SPEIGHT, J., "Characterization of Heavy Crude Oils and Petroleum Residues," Symposium International, pp. 32 – 41, Éditions Technip, Paris, 1984.

STEINER, J; FERMONIA, Y; DELTOUR, J; Anal. Chemometrics.Vol 44 P.1906. 1972.

STILIANO, R., RICHARD, P., Molecular Weight Distributions of Heavy Aromatic Petroleum Fractions by Ag⁺ Electrospray Ionization Mass Spectrometry. Anal. Chem. Vol 74 P.1408-1414. 2002.

THE UNSCRAMBLER X METHODS. Software para diseño de experimentos y análisis multivariado. (En línea). <http://www.camo.com> [citado el 20 de junio del 2014].

ANEXOS

ANEXO A. ESPECTRO

Figura 1. Espectros de la muestra A1 y su duplicado

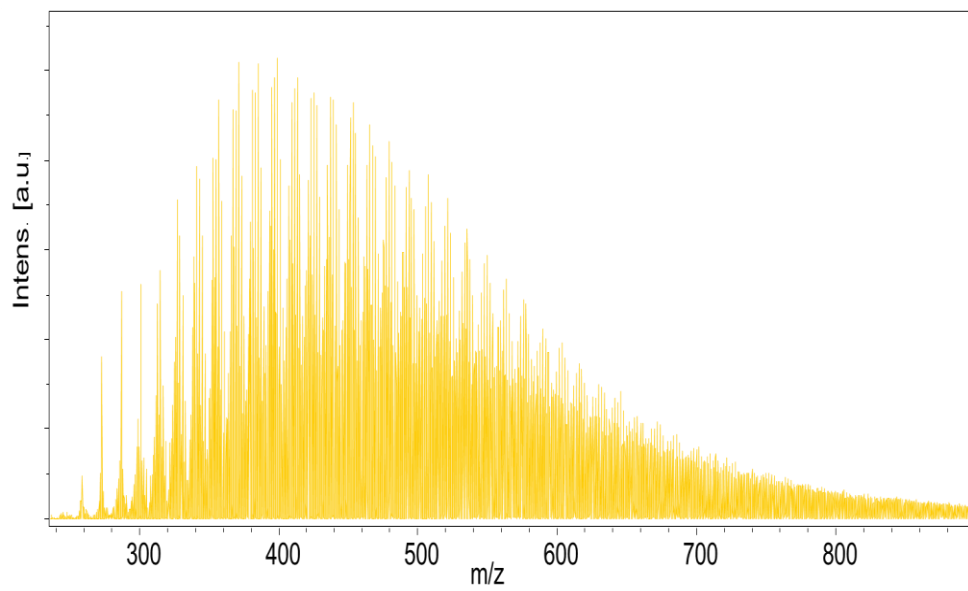
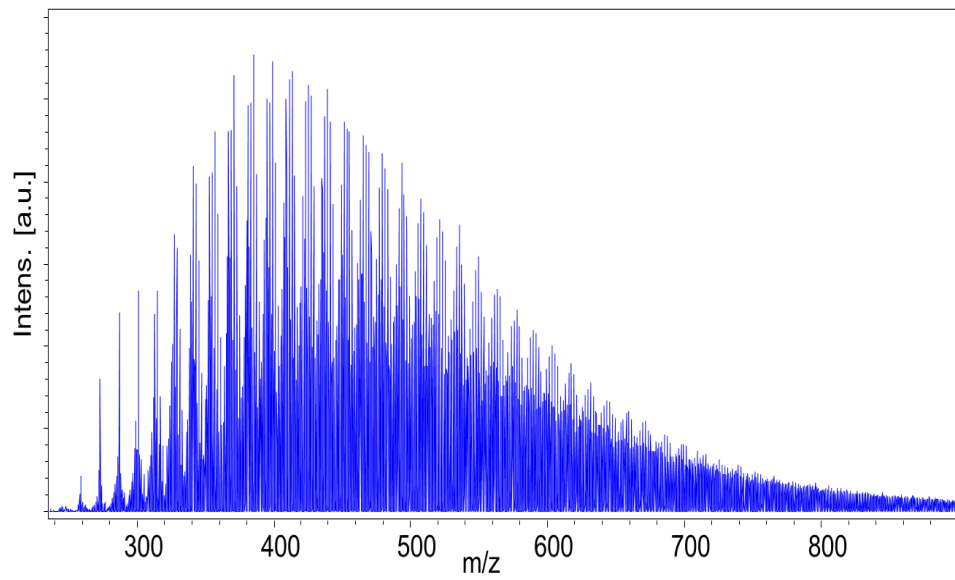


Figura 2. Espectros de la muestra A2 y su duplicado

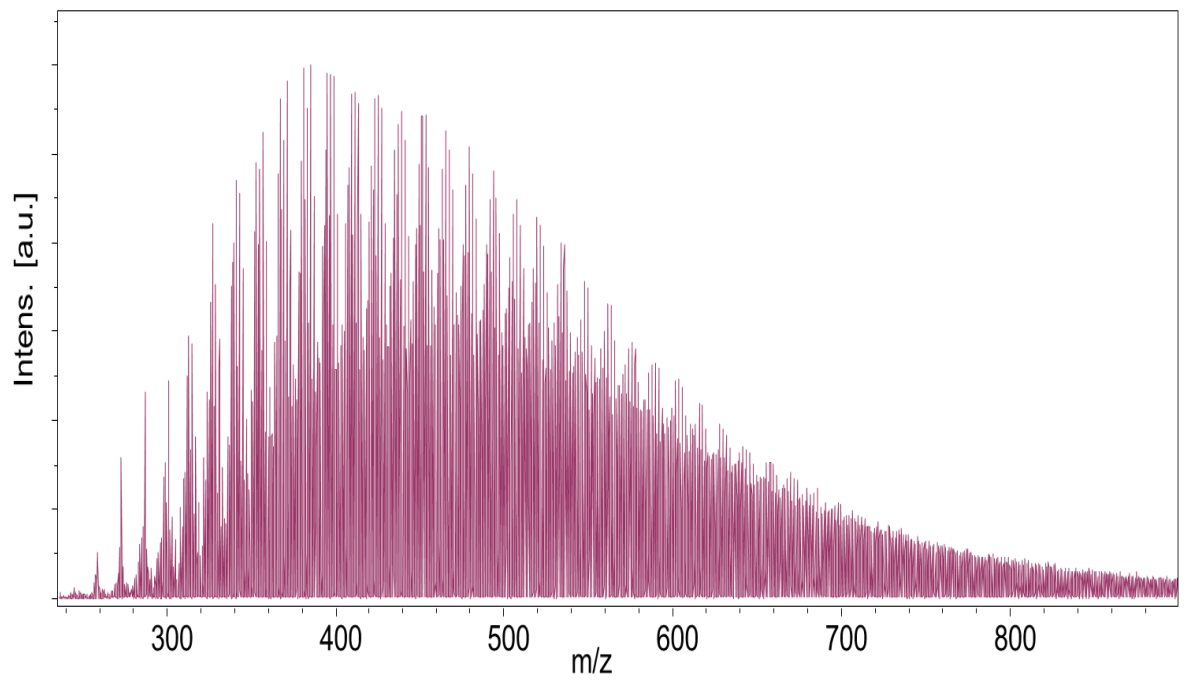
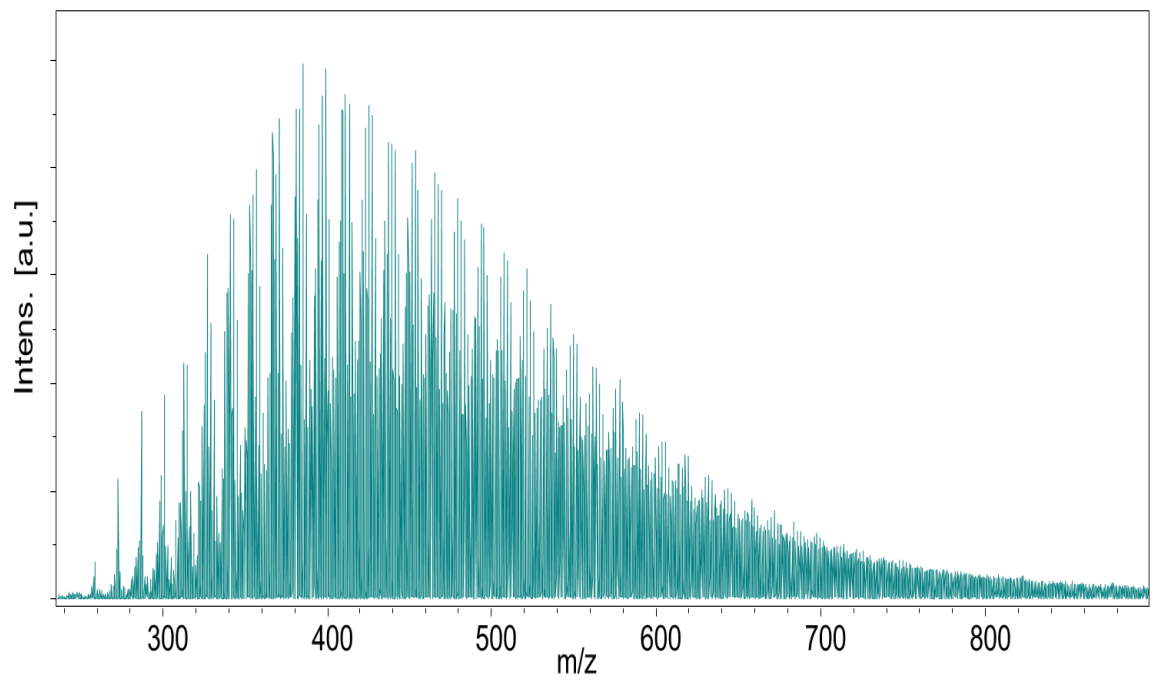


Figura 3. Espectros de la muestra A3 y su duplicado

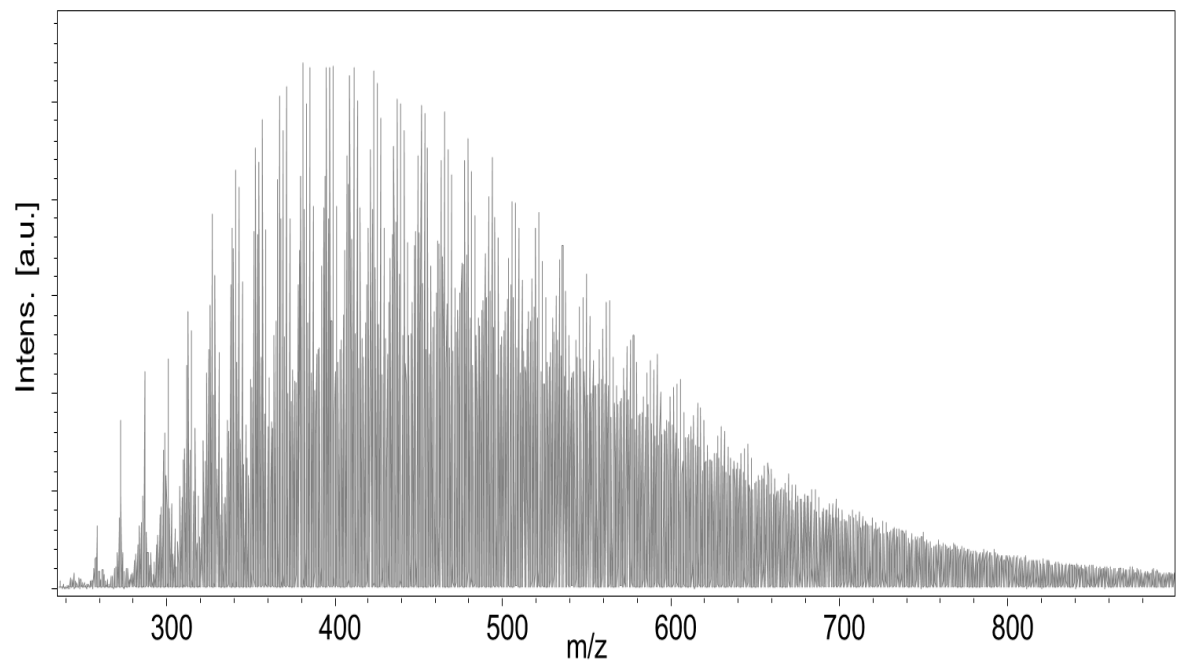
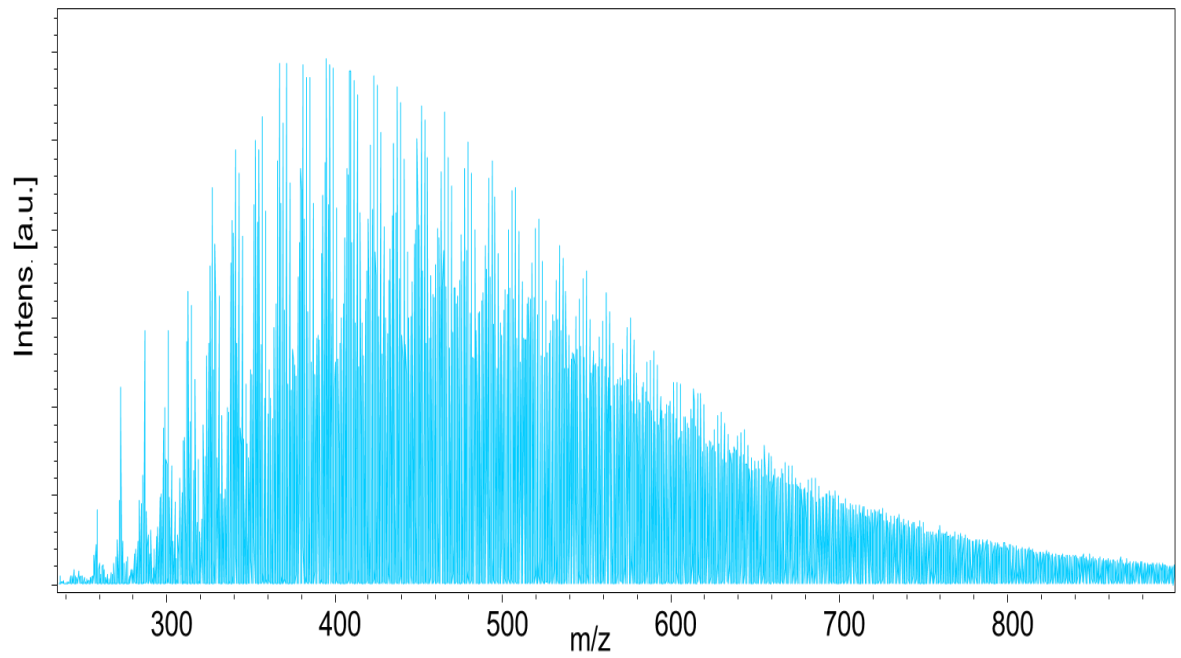


Figura 4. Espectros de la muestra A4 y su duplicado

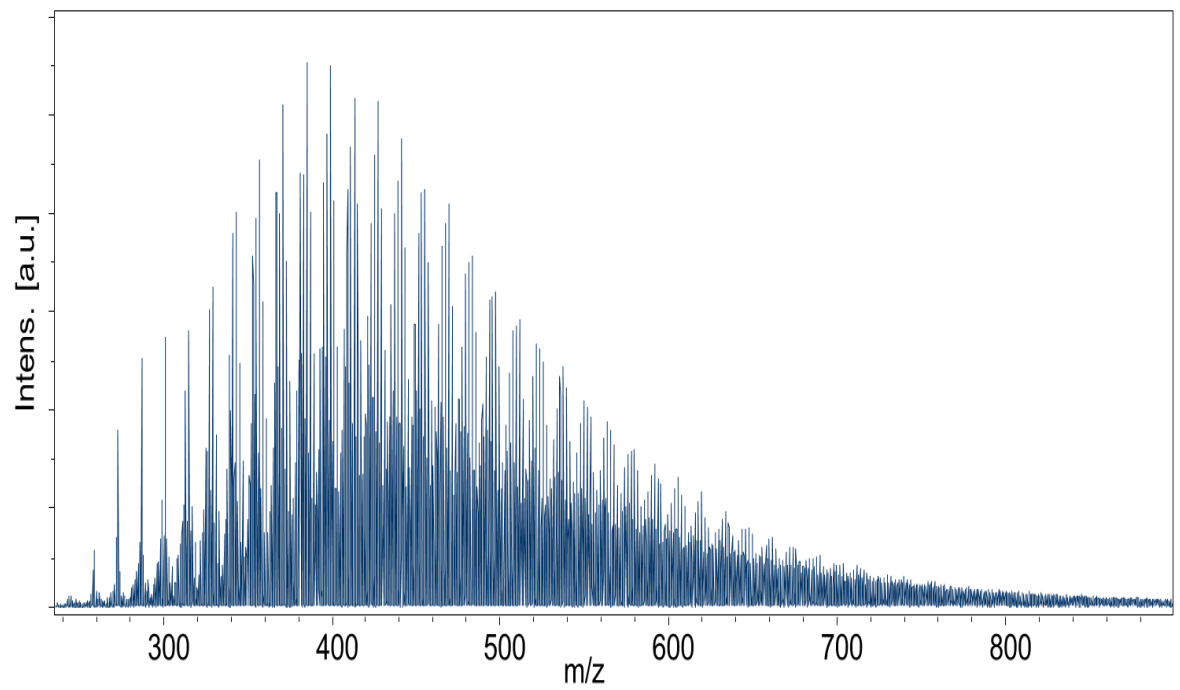
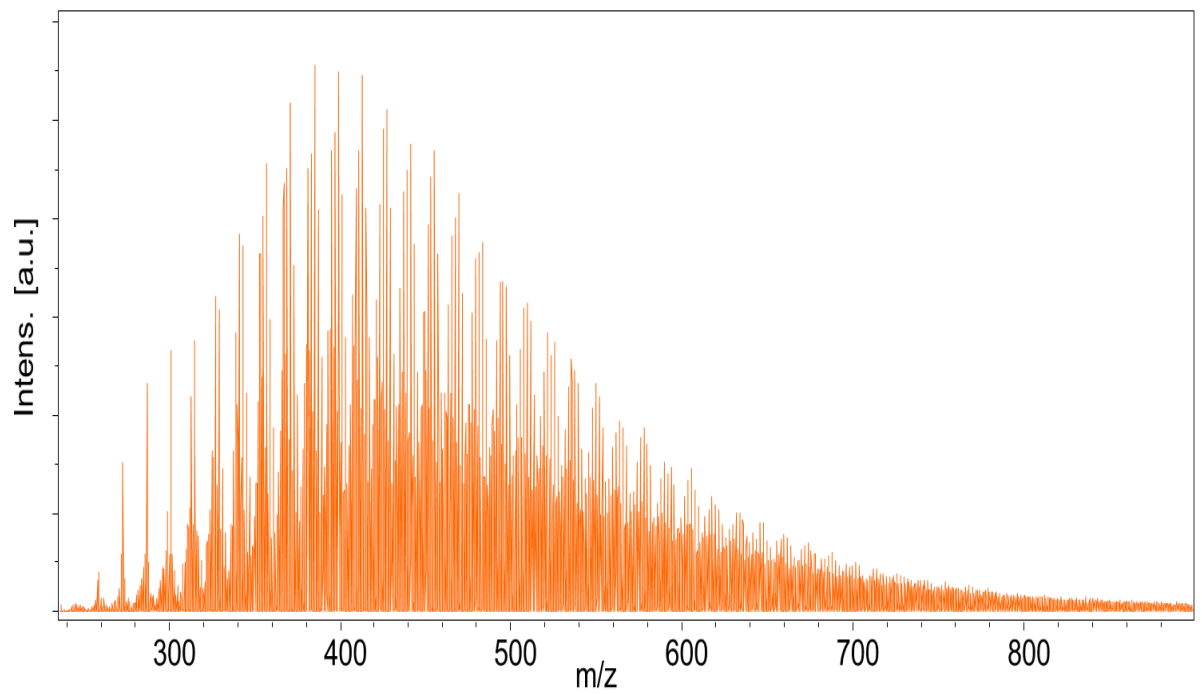


Figura 5. Espectros de la muestra A5 y su duplicado

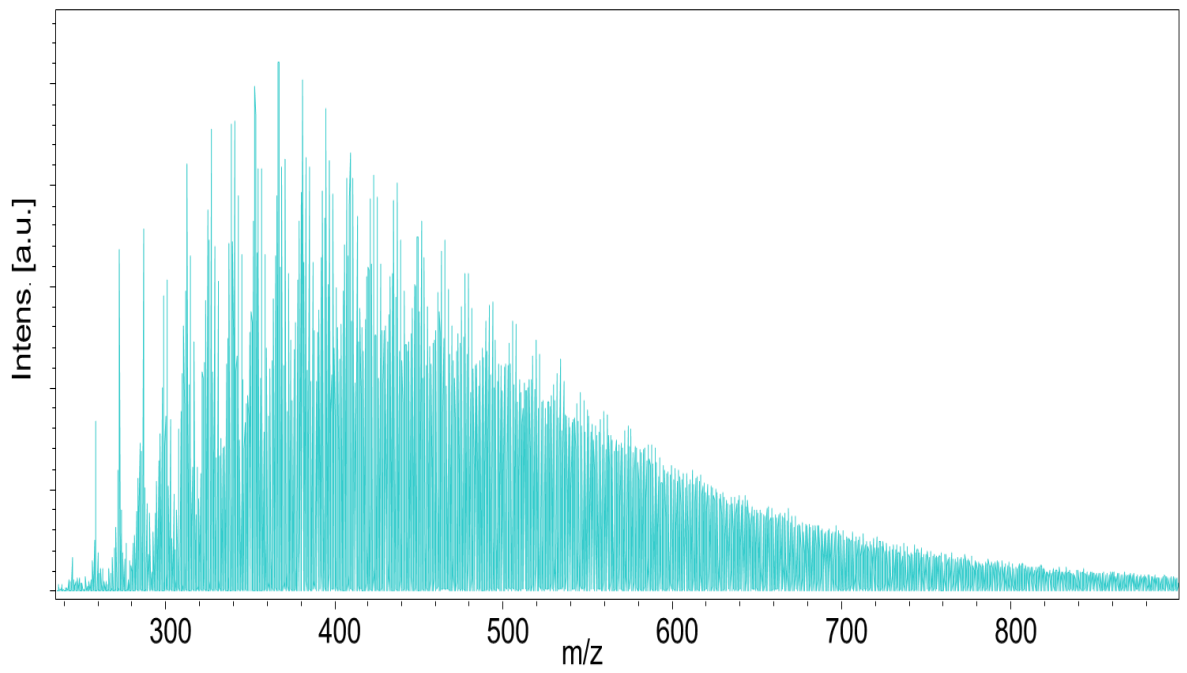
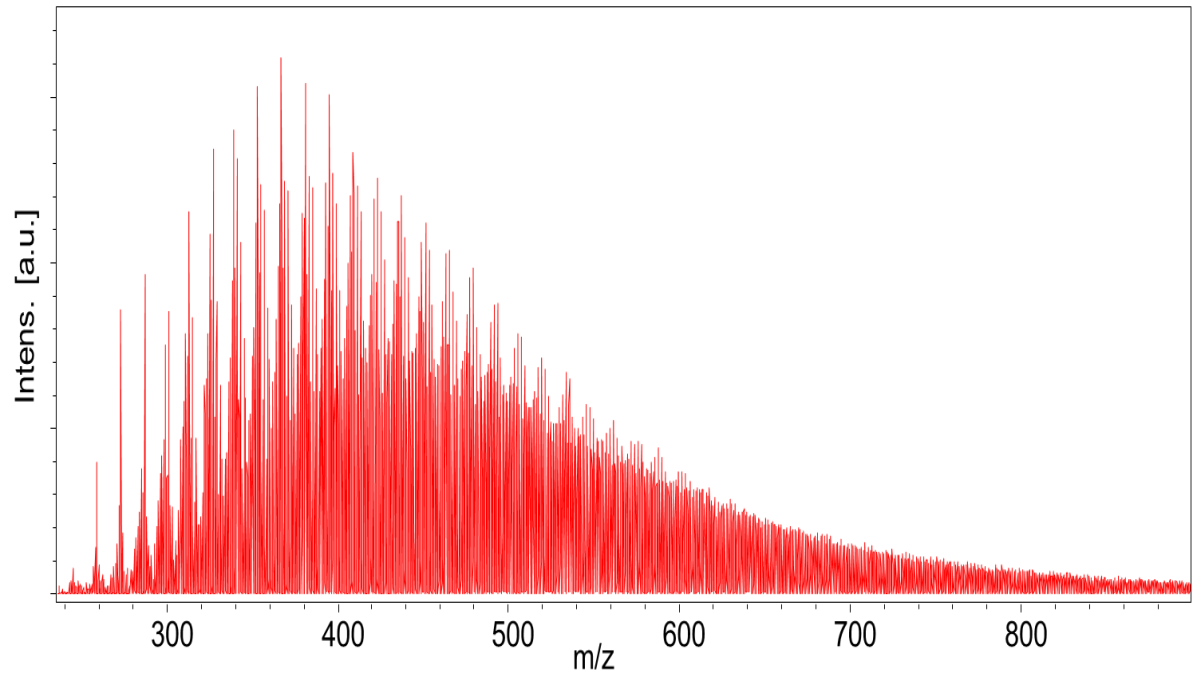


Figura 6. Espectros de la muestra A6 y su duplicado

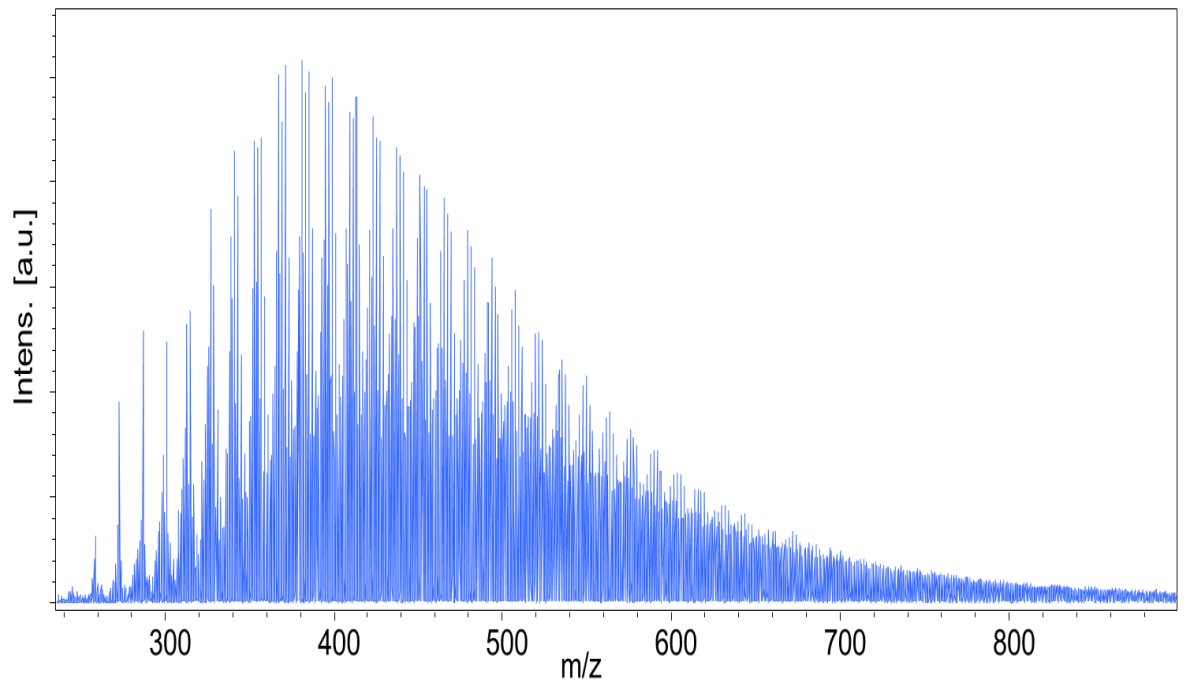
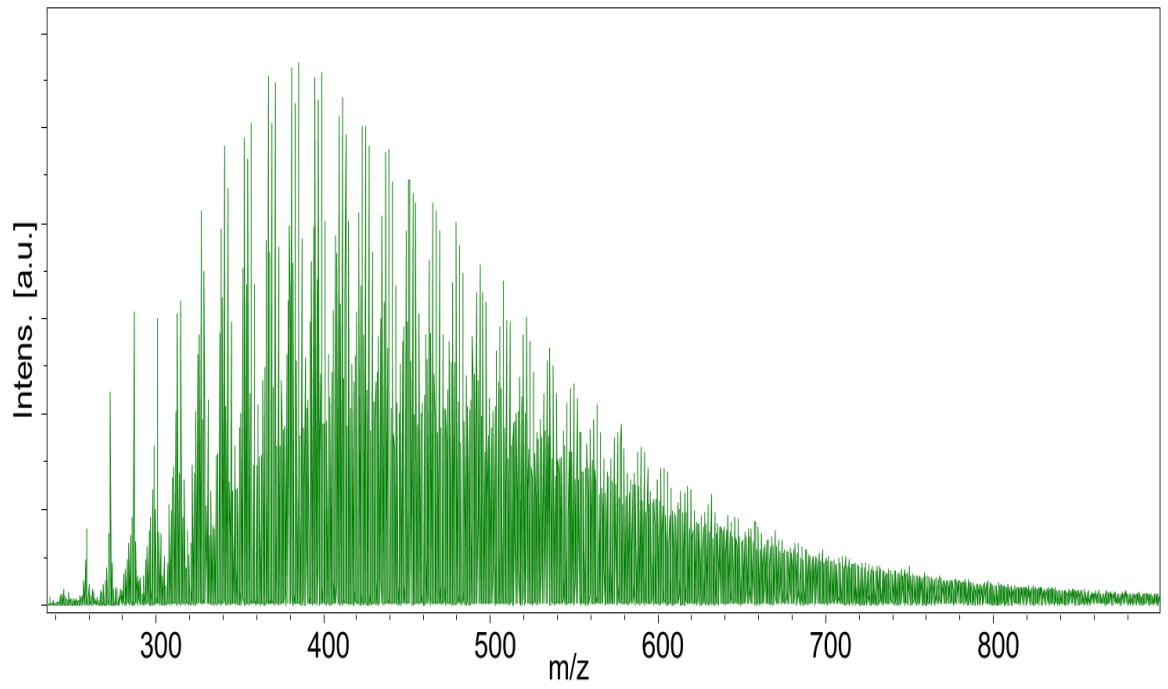


Figura 7. Espectros de la muestra A7 y su duplicado

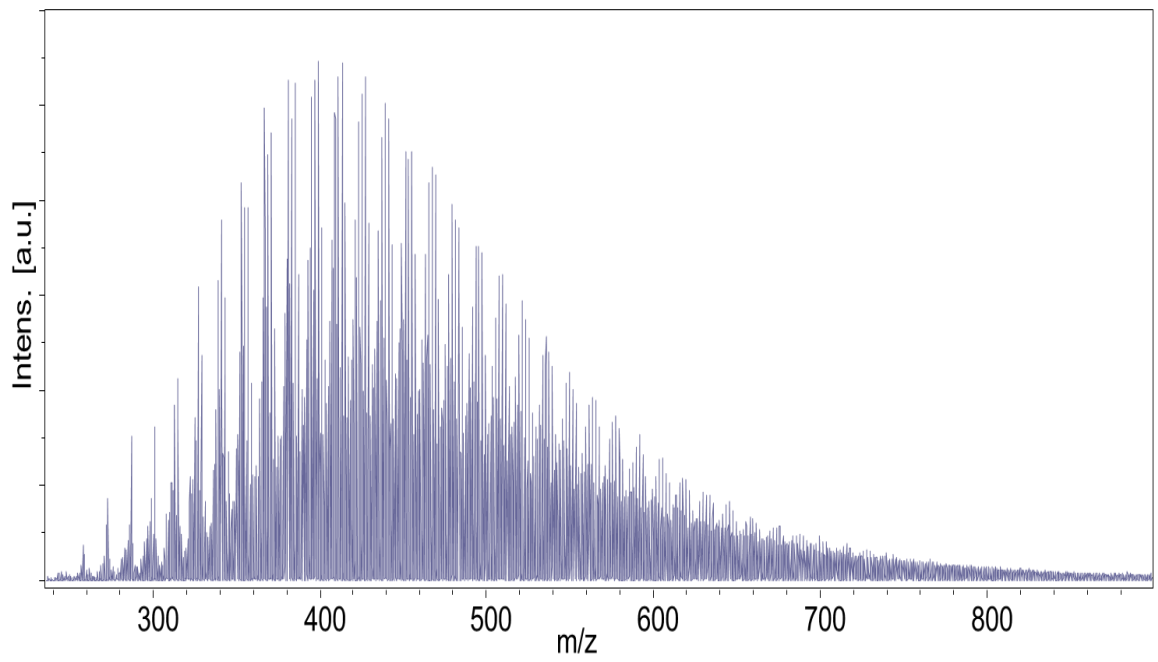
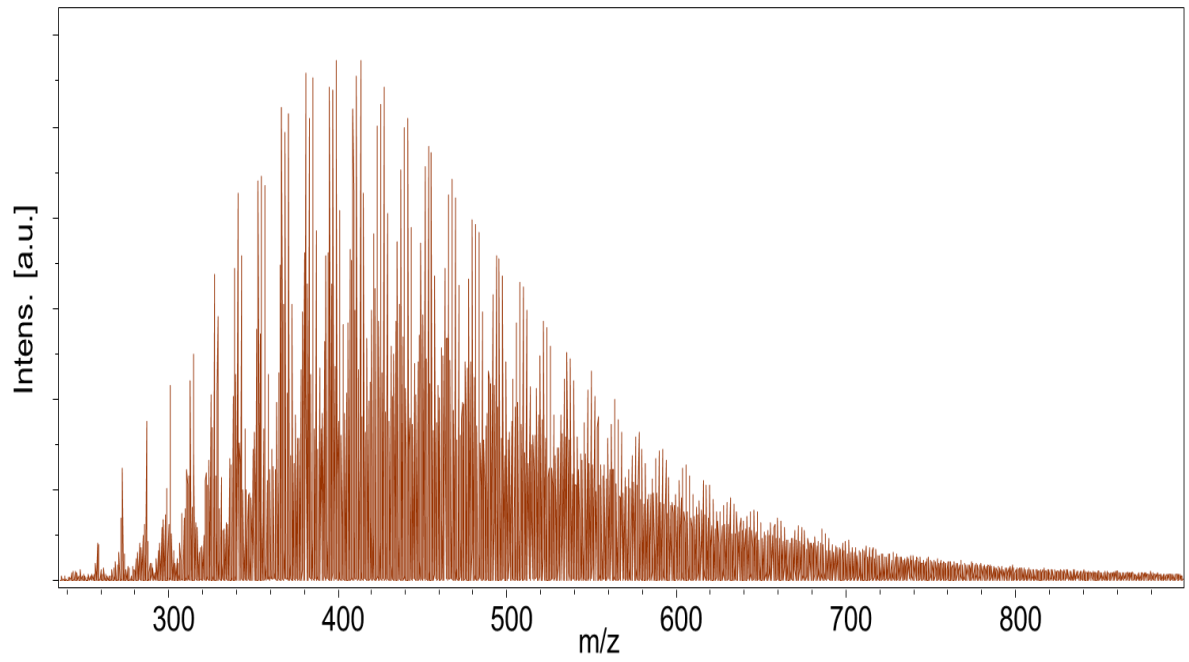


Figura 8. Espectros de la muestra A8 y su duplicado

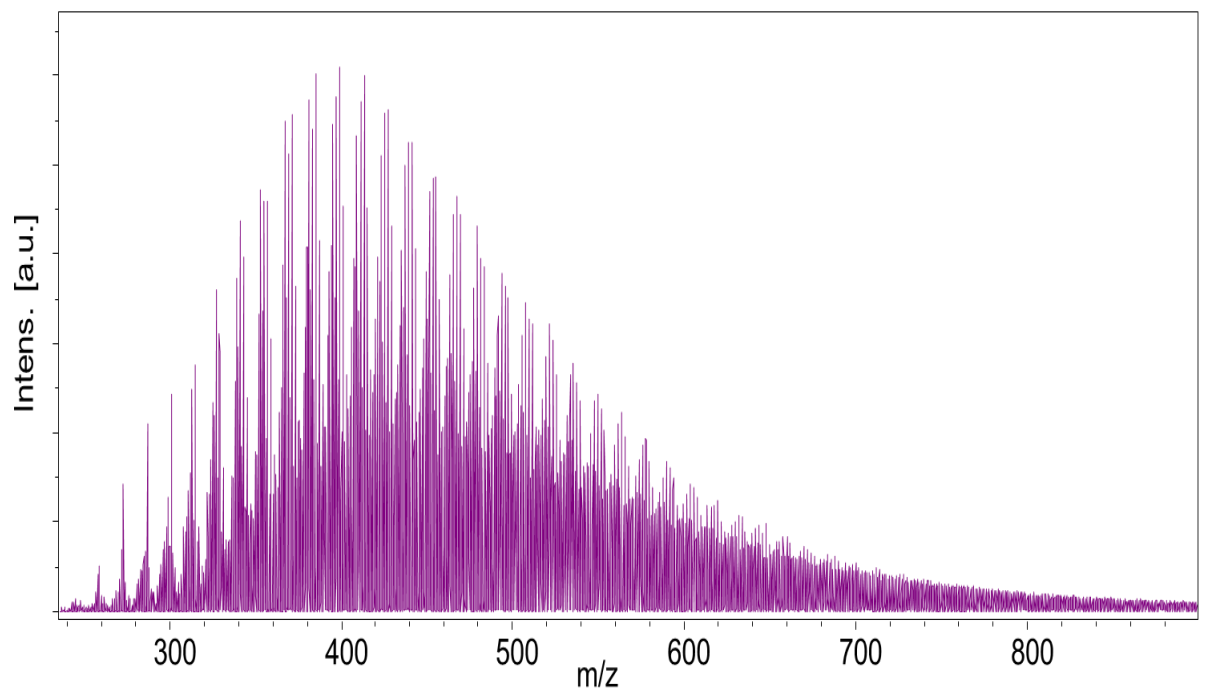
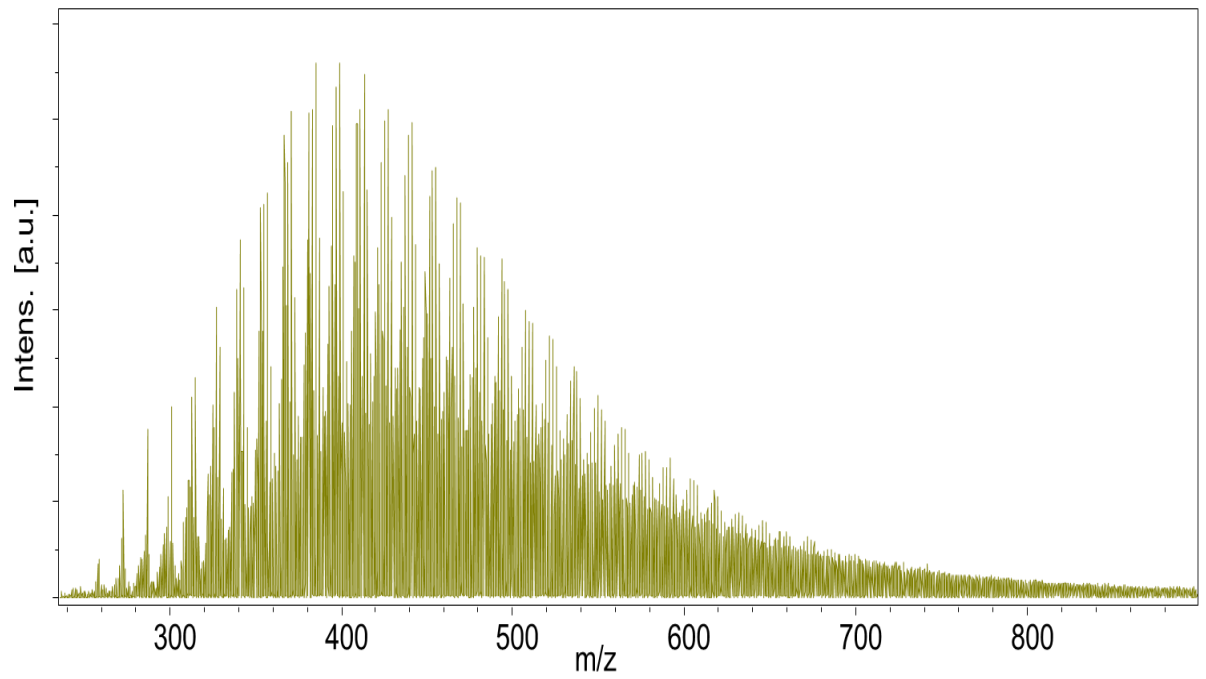


Figura 9. Espectros de la muestra A9 y su duplicado

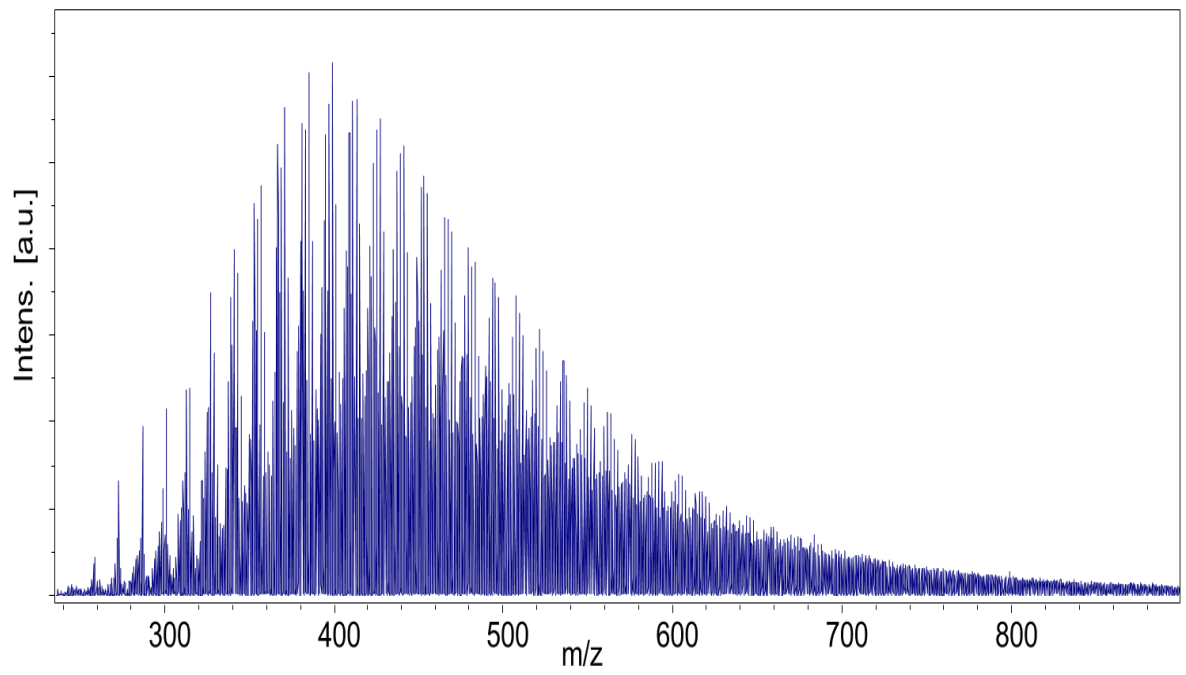
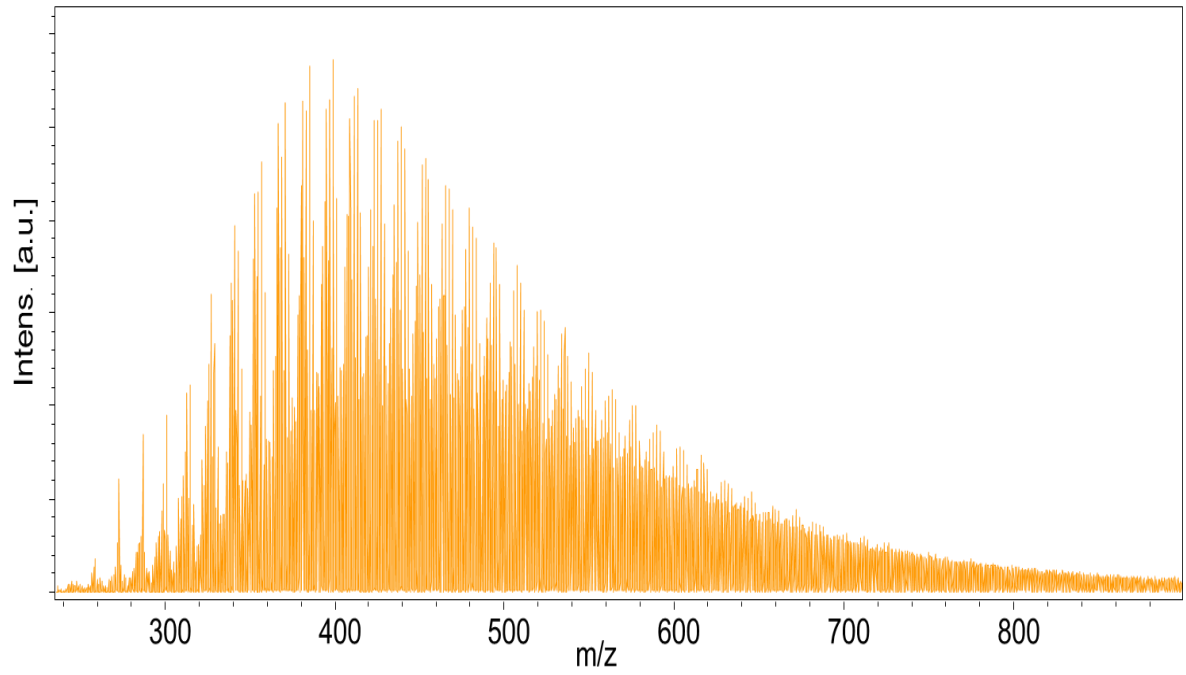


Figura 10. Espectros de la muestra A10 y su duplicado

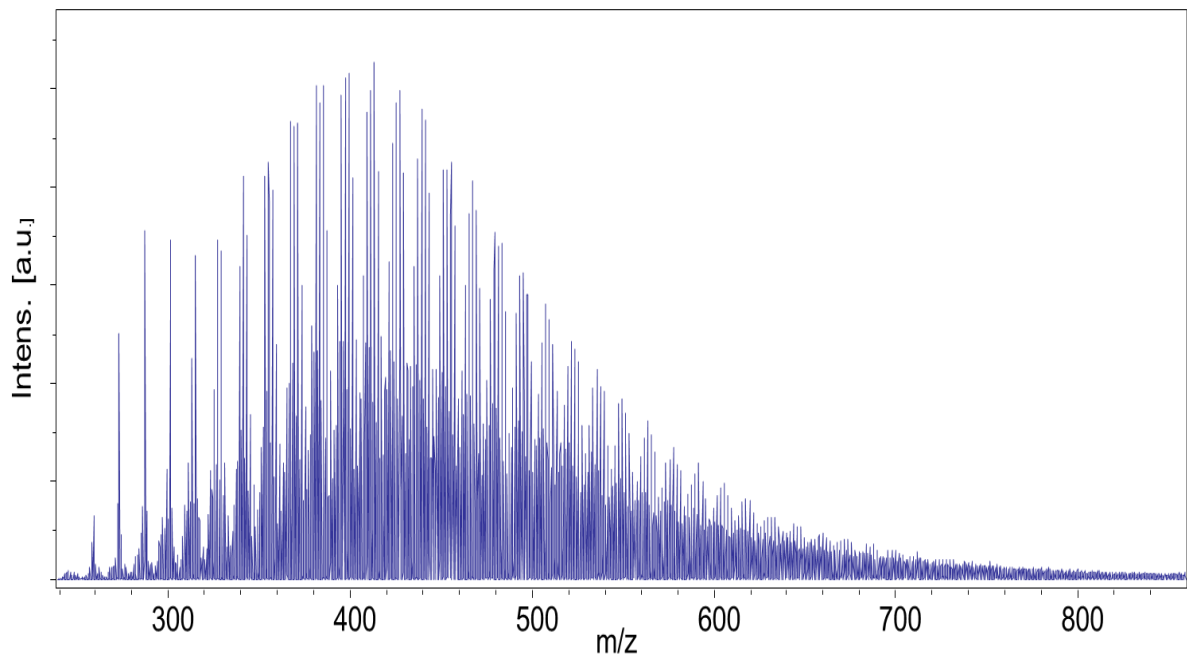
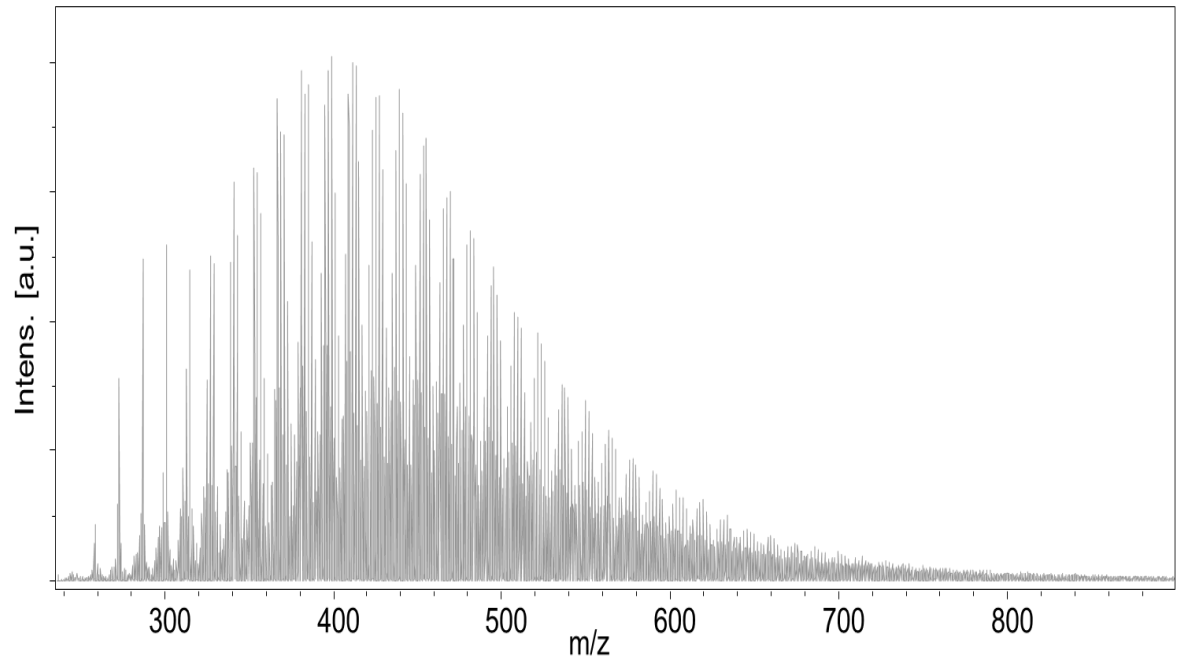


Figura 11. Espectros de la muestra A11 y su duplicado

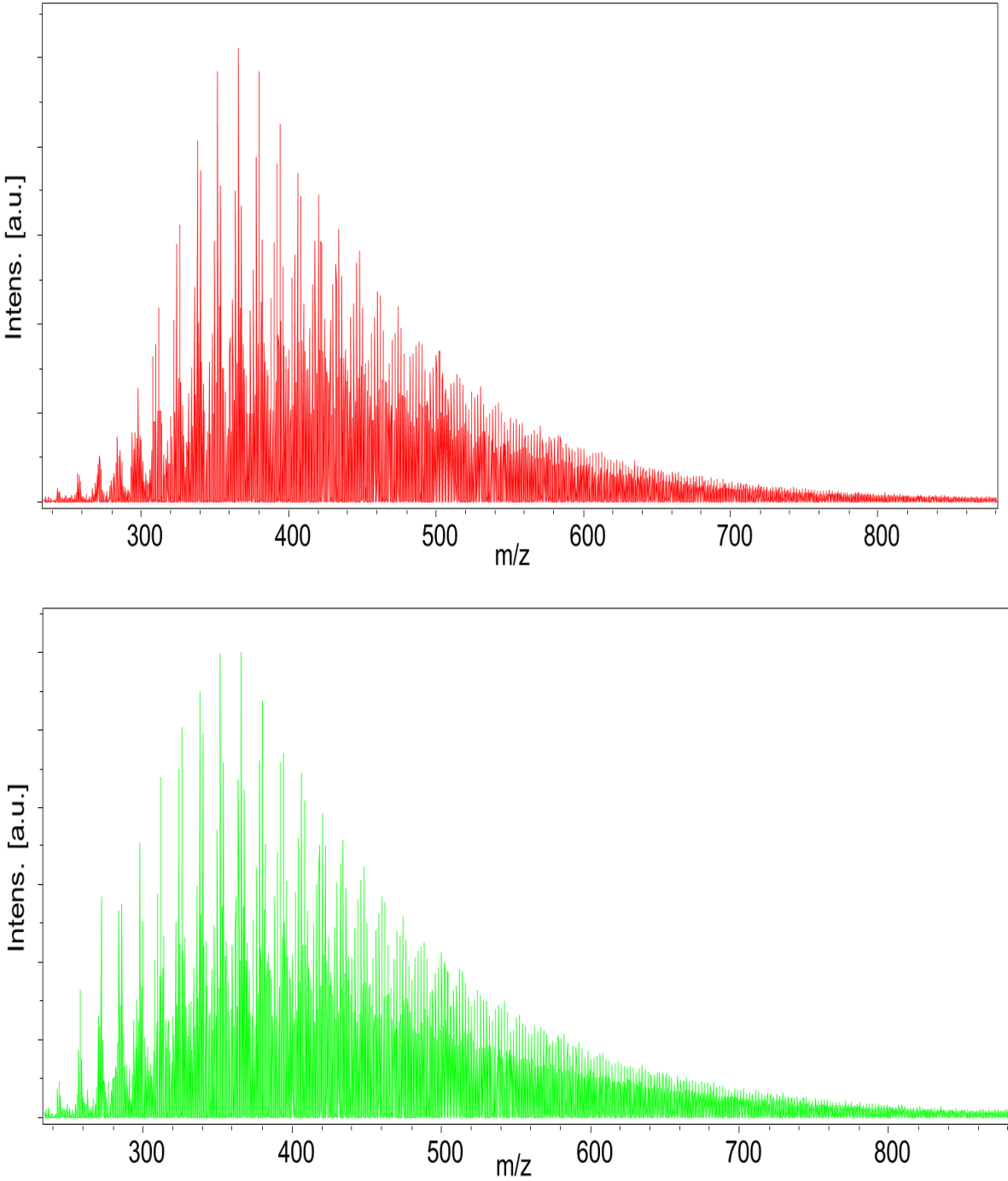


Figura 12. Espectros de la muestra A12 y su duplicado

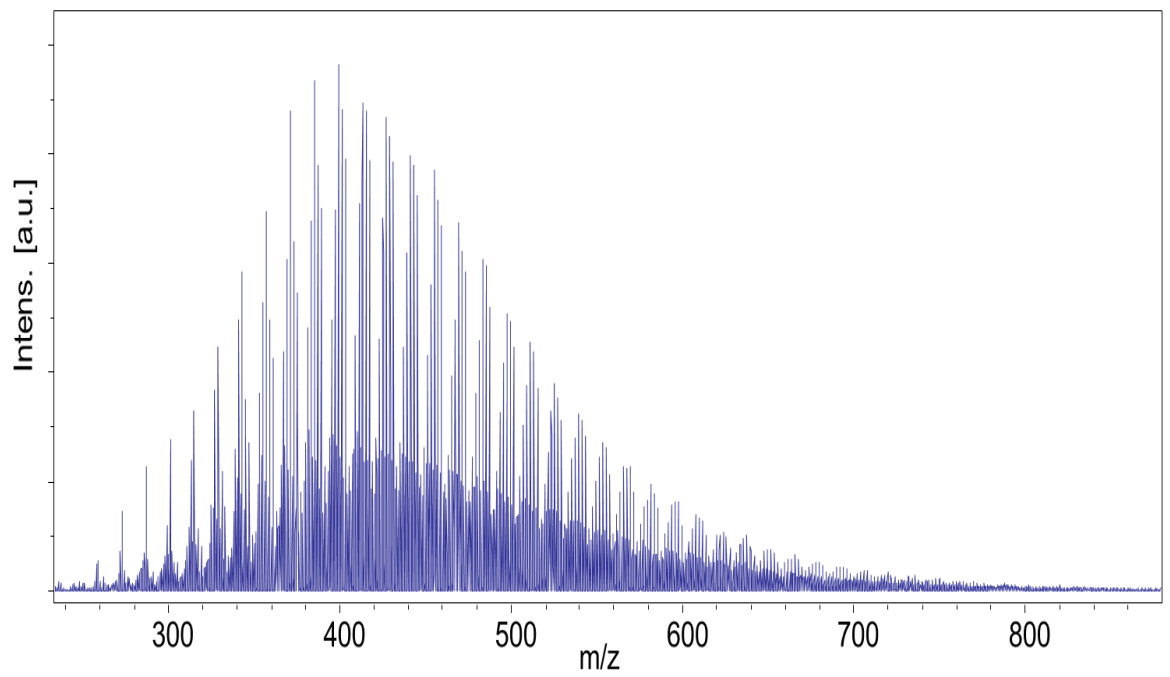
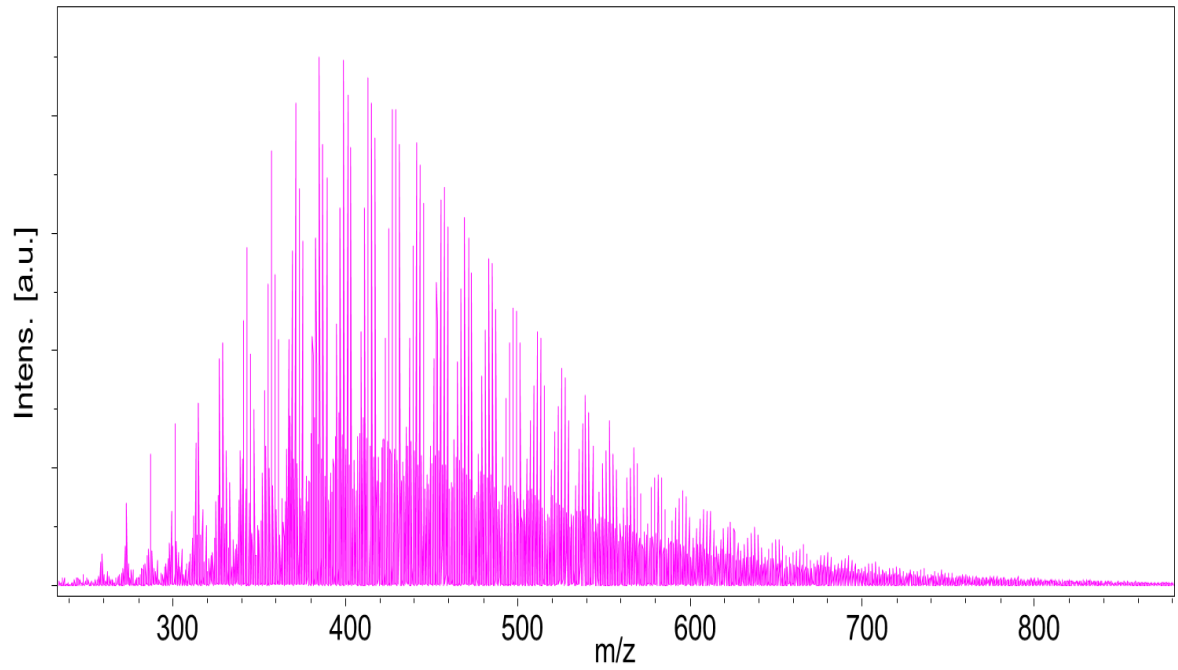


Figura 13. Espectros de la muestra A13 y su duplicado

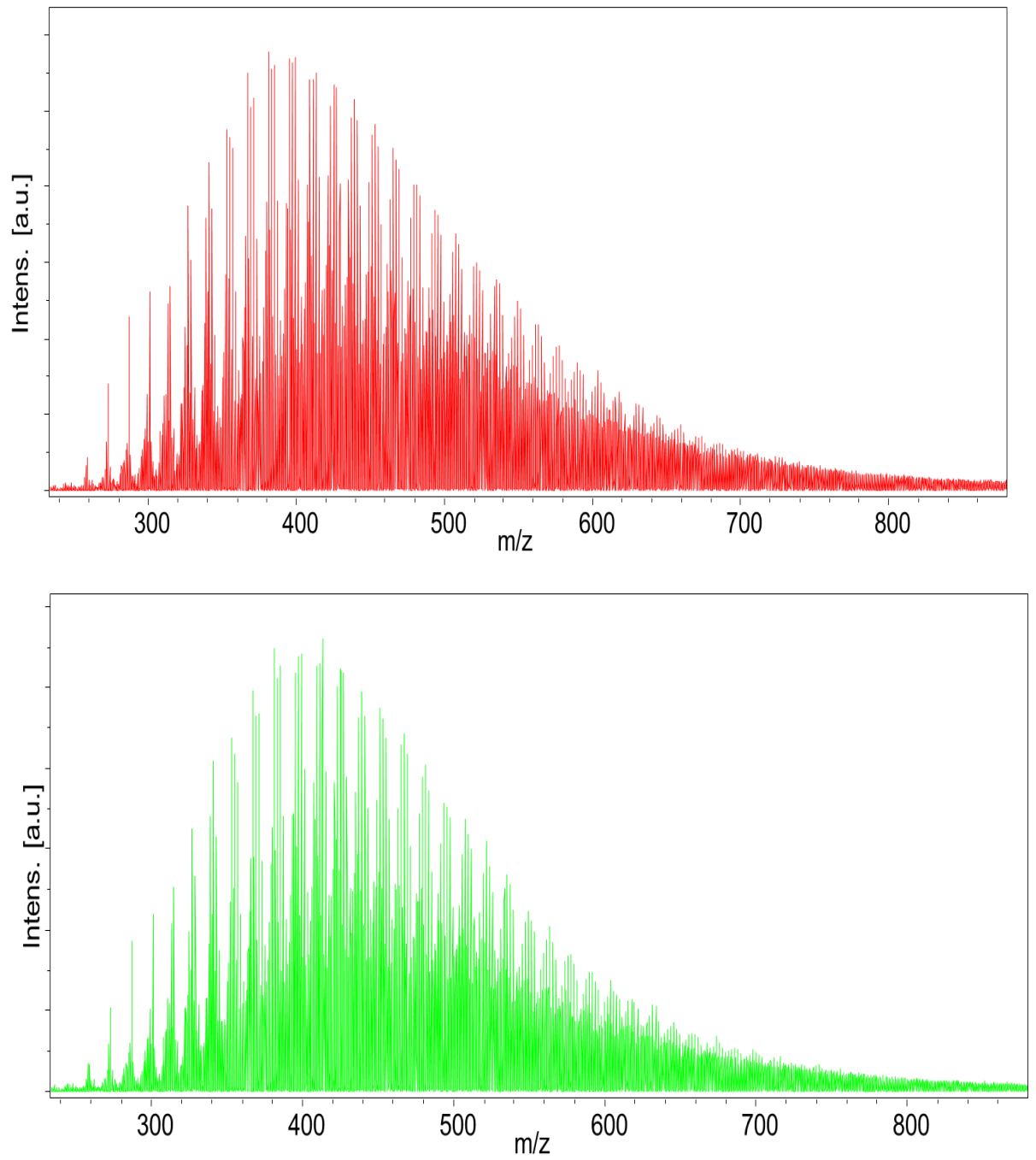


Figura 14. Espectros de la muestra A14 y su duplicado

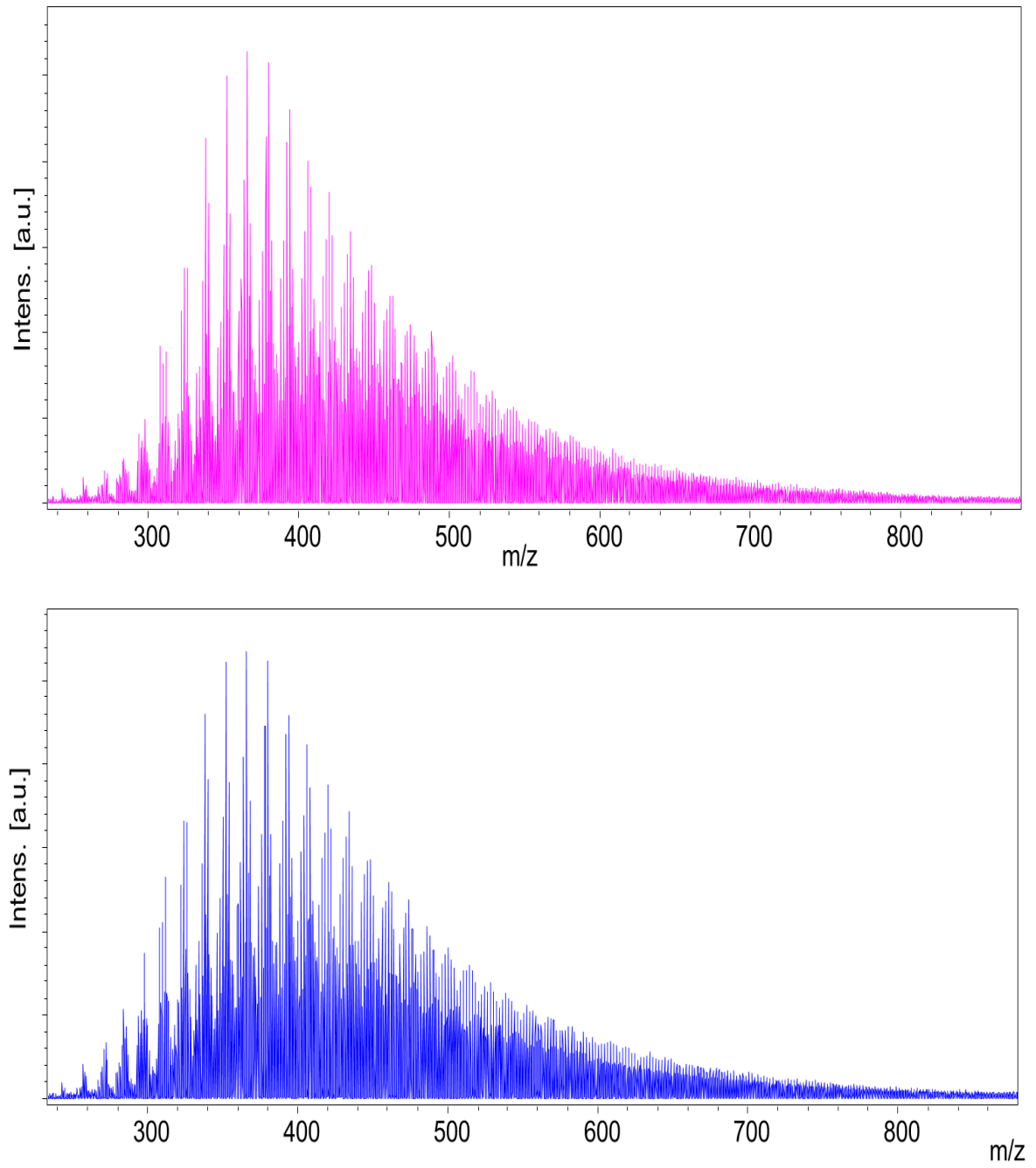


Figura 15. Espectros de la muestra A15 y su duplicado

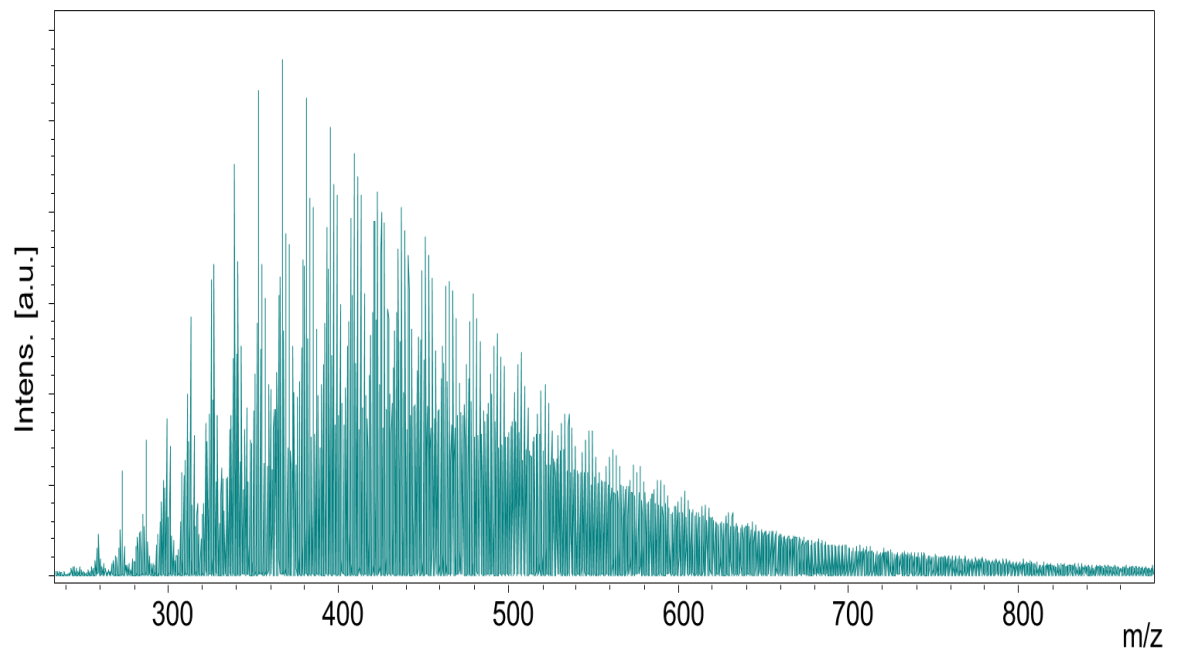
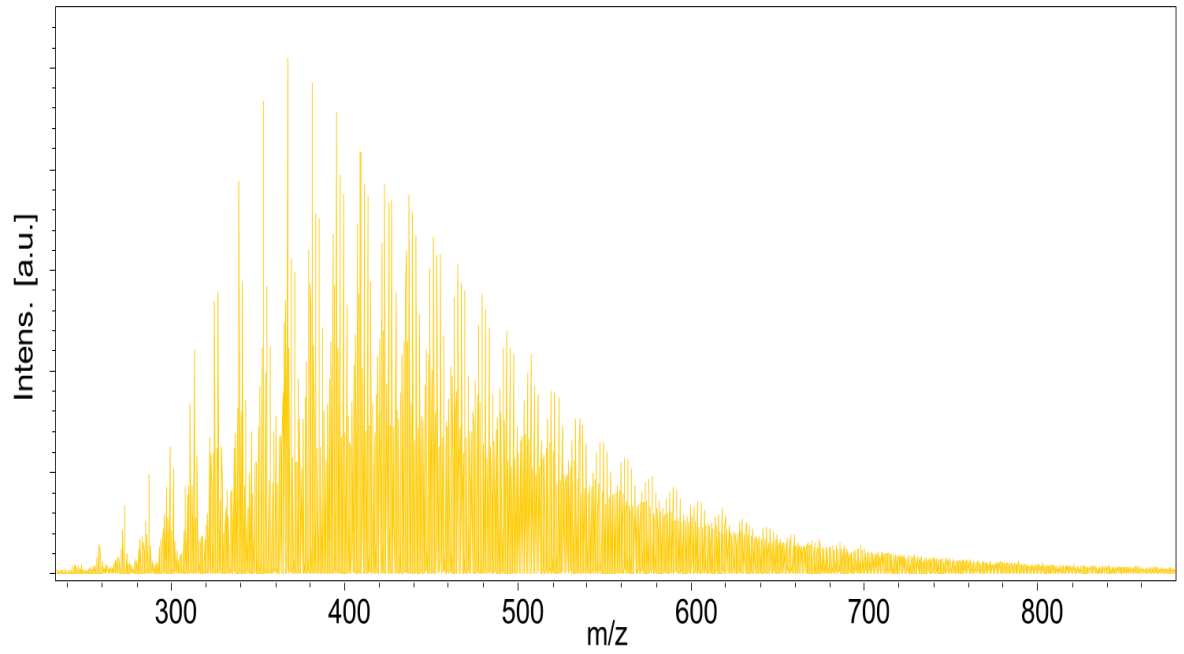


Figura 16. Espectros de la muestra A16 y su duplicado

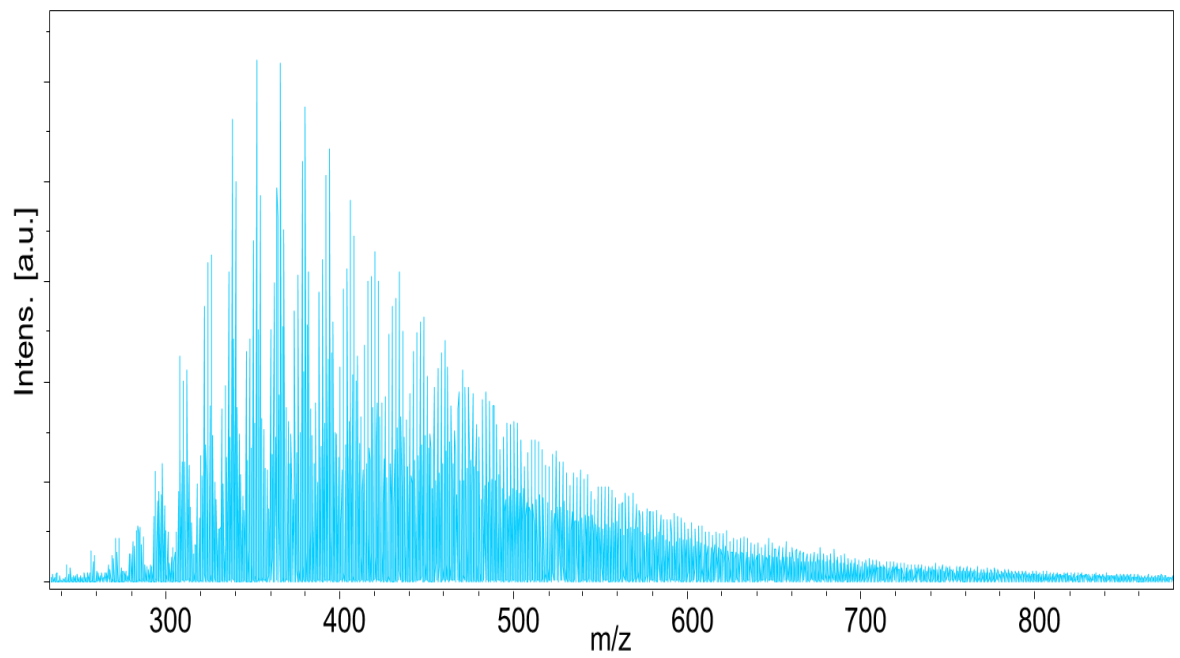
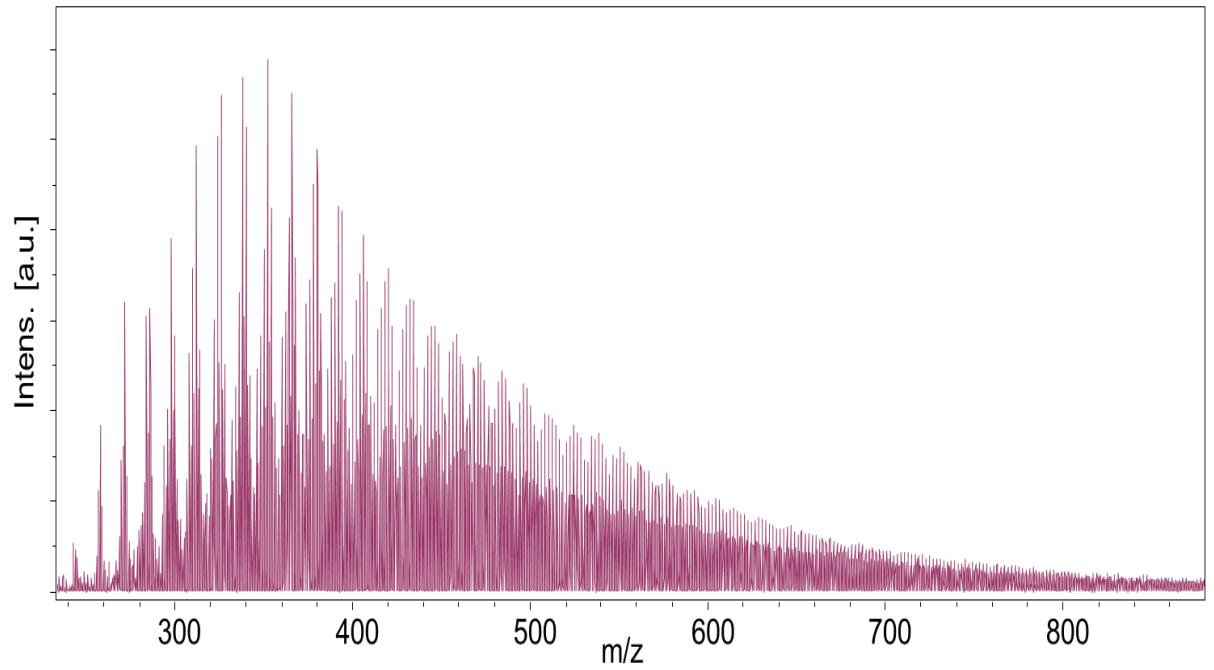


Figura 17. Espectros de la muestra A17 y su duplicado

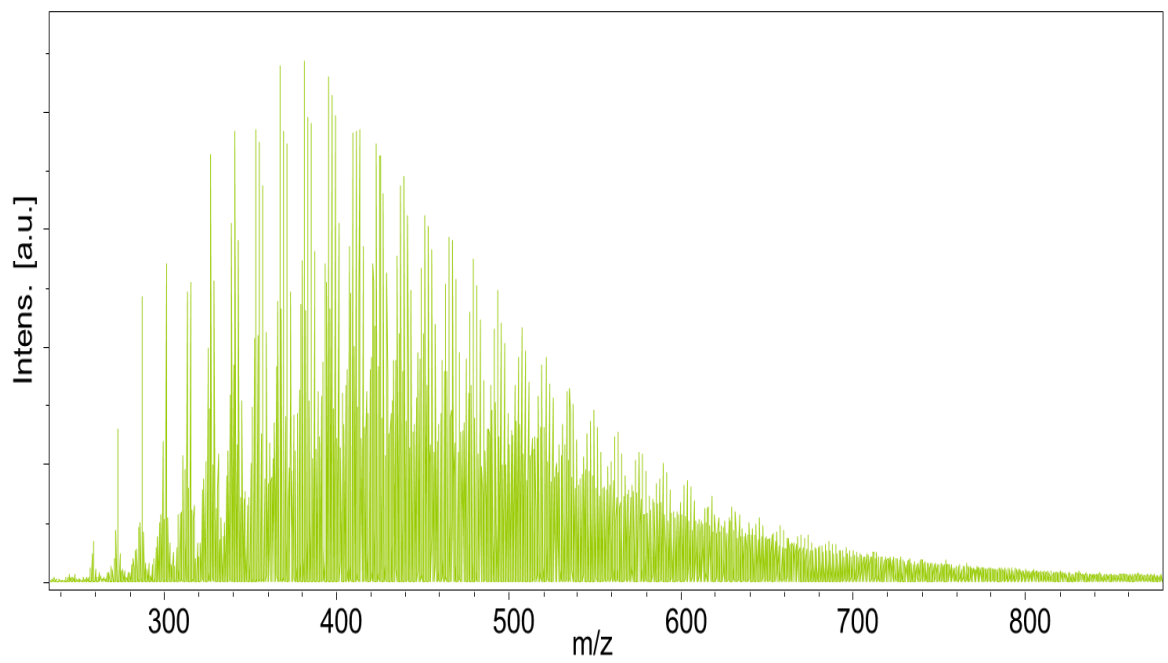
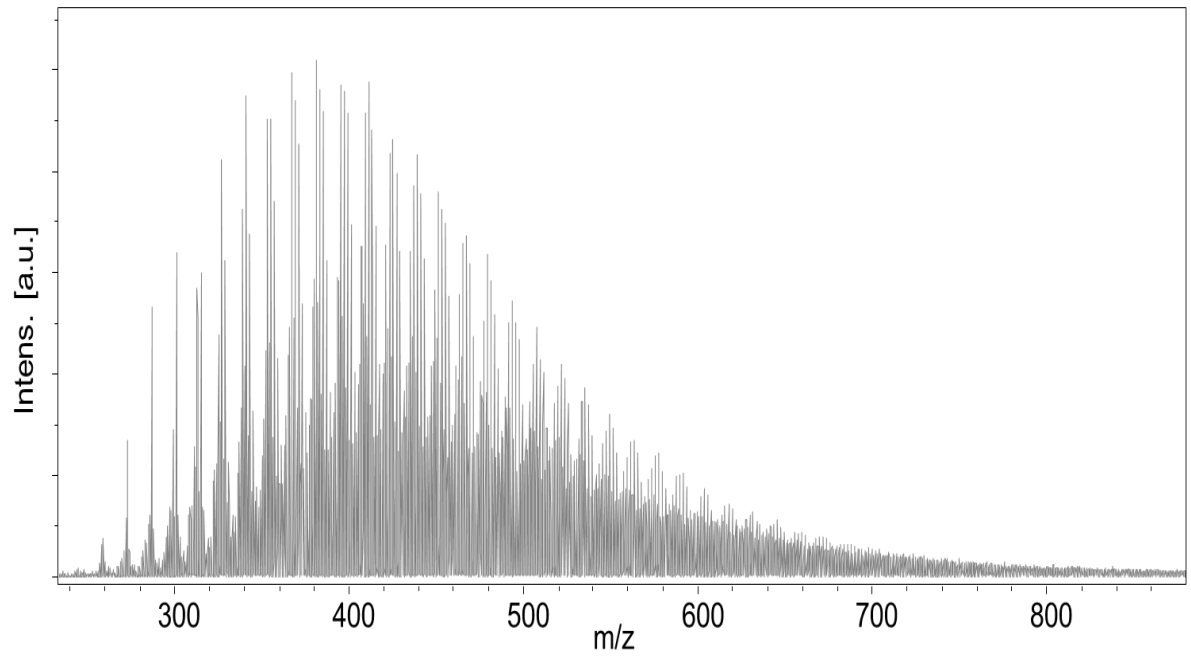


Figura 18. Espectros de la muestra A18 y su duplicado

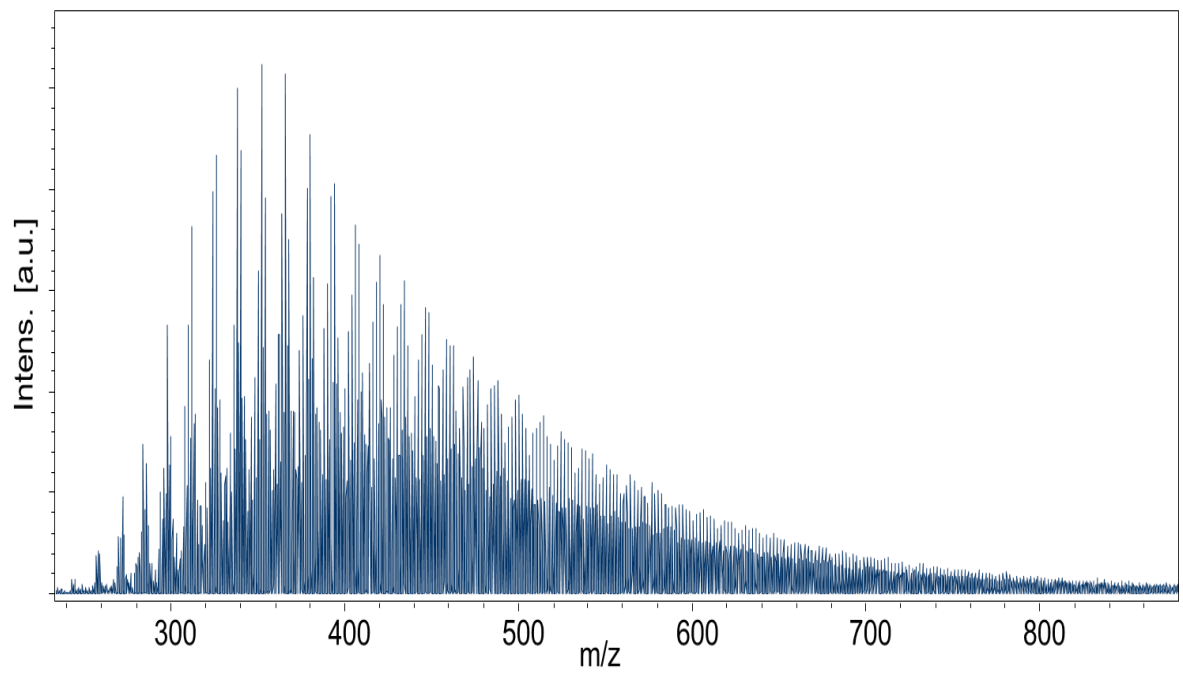
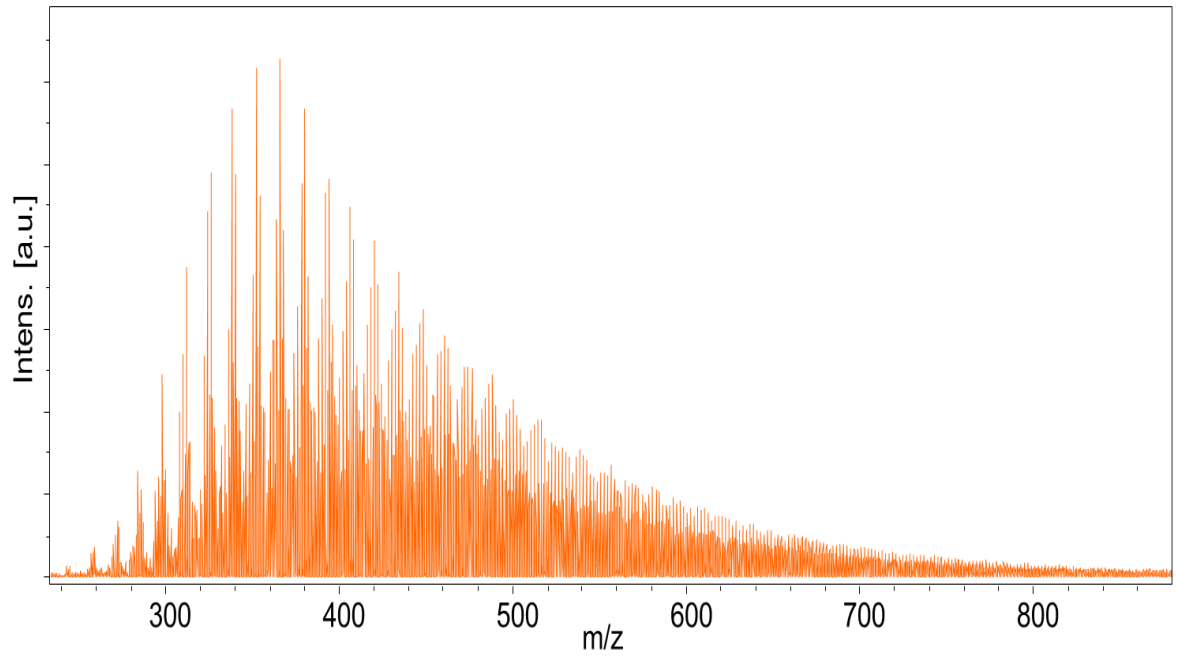


Figura 19. Espectros de la muestra A19 y su duplicado

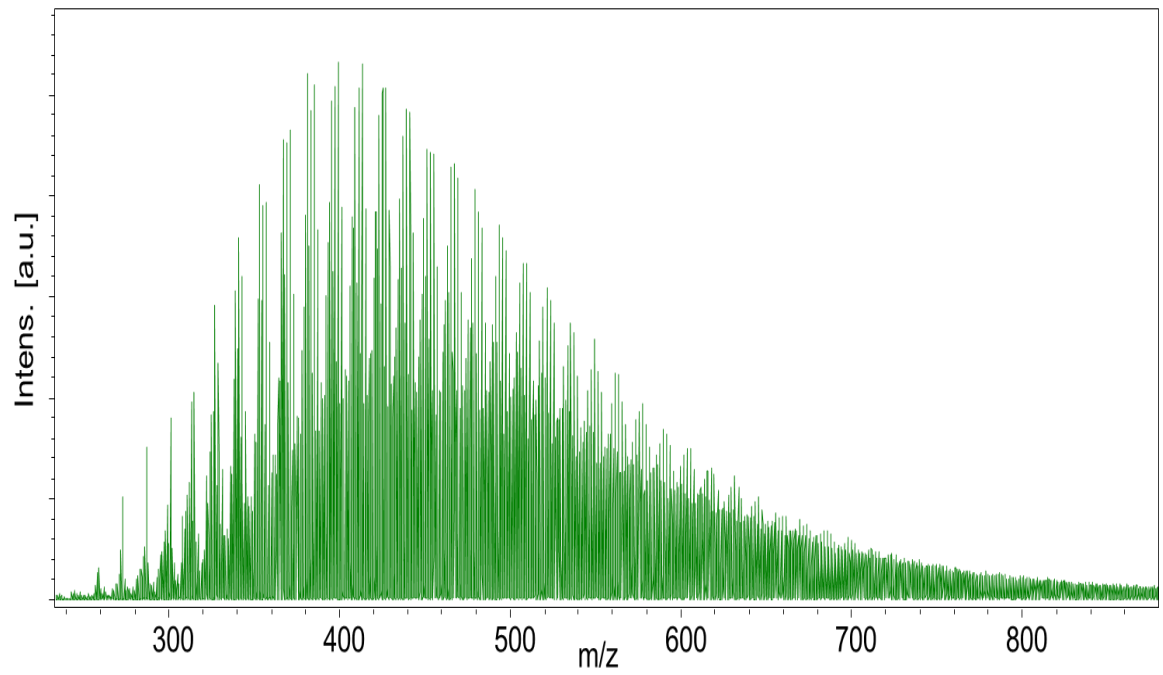
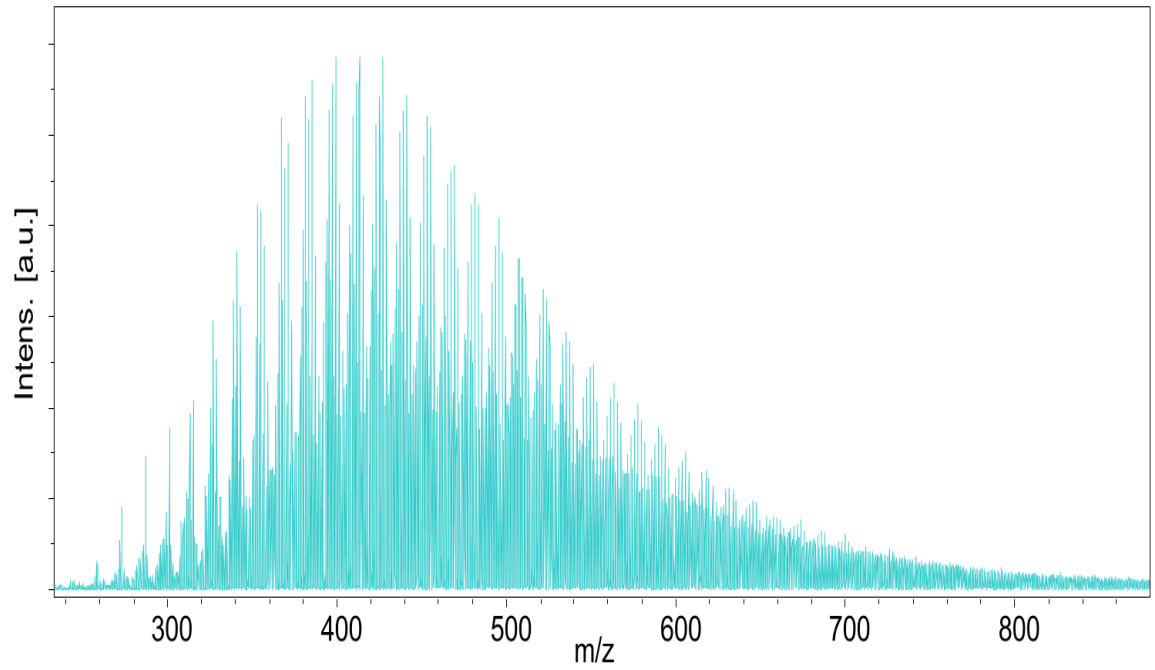


Figura 20. Espectros de la muestra A20 y su duplicado

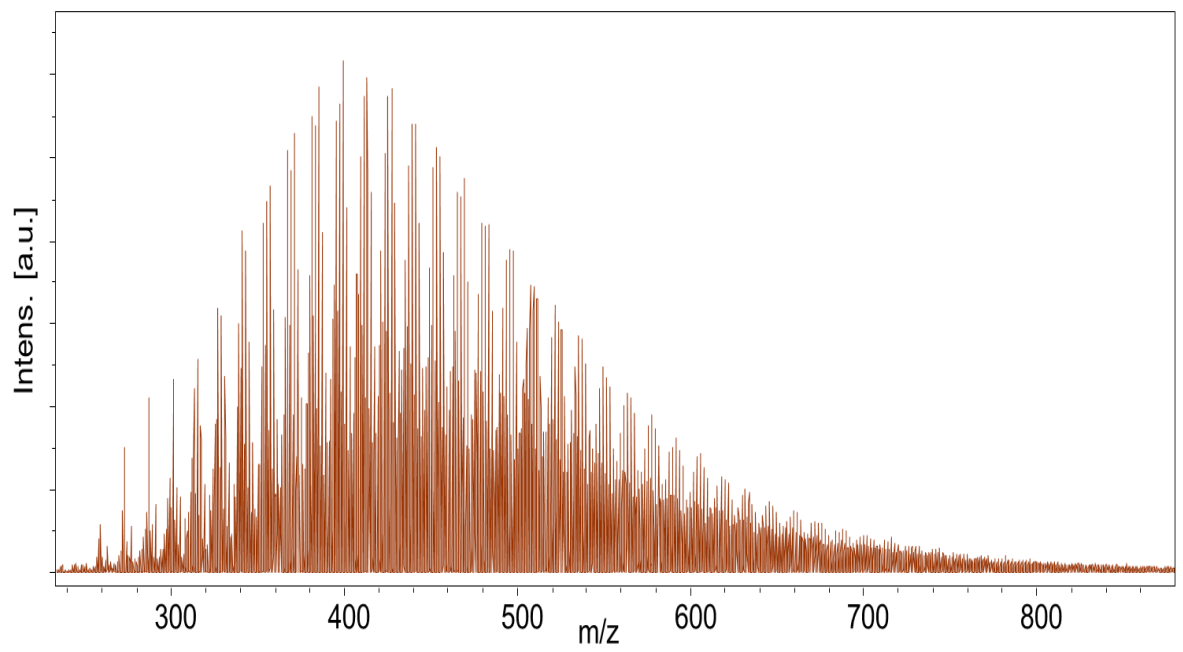
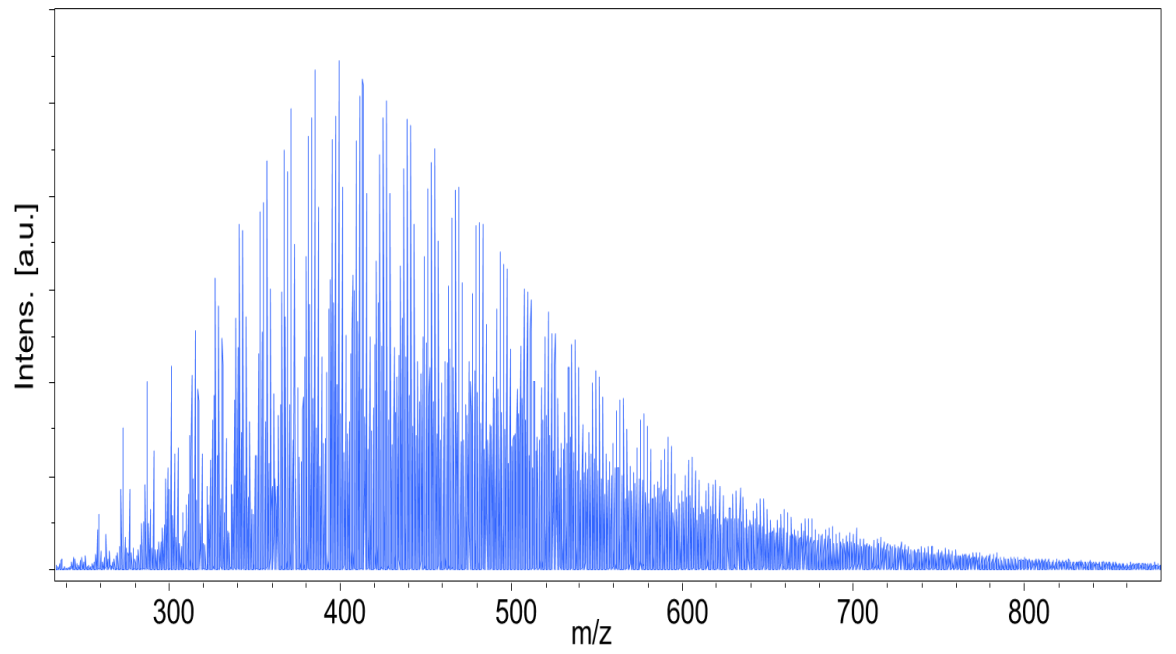


Figura 21. Espectros de la muestra A21 y su duplicado

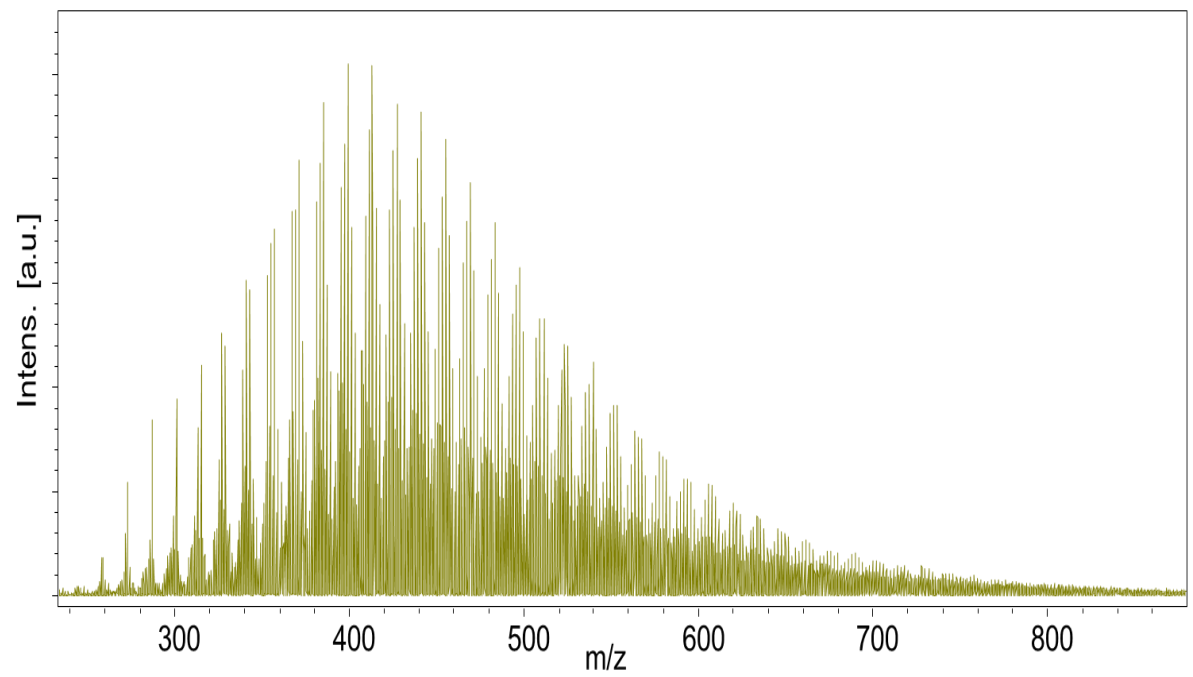
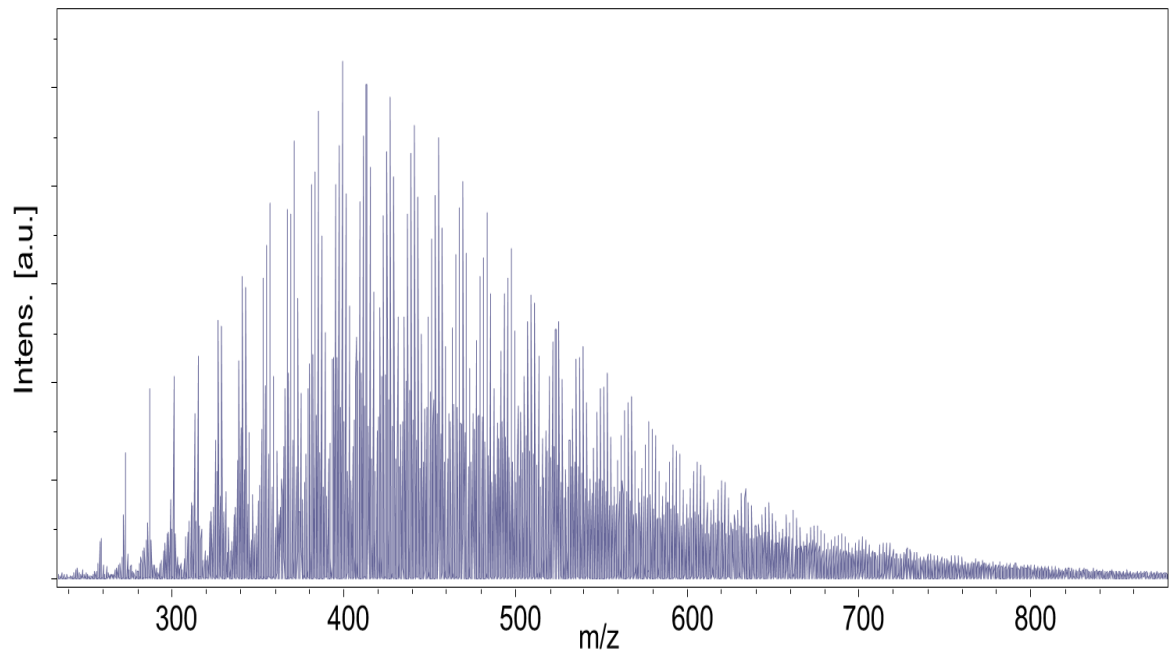


Figura 22. Espectros de la muestra A22 y su duplicado

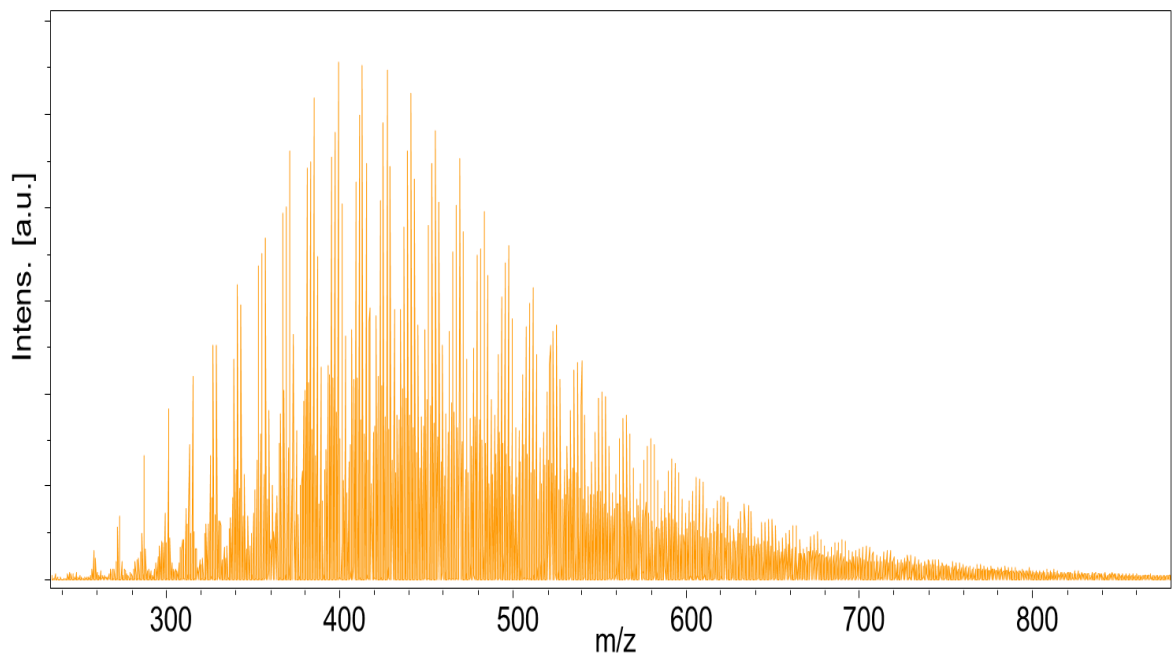
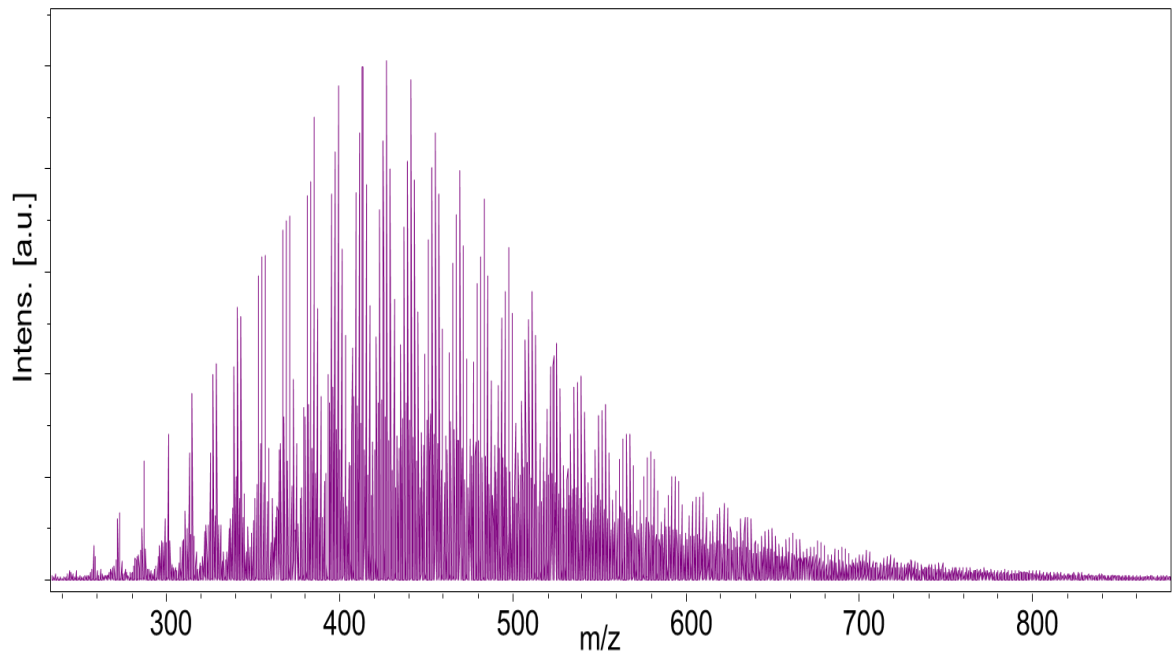


Figura 23. Espectros de la muestra A23 y su duplicado

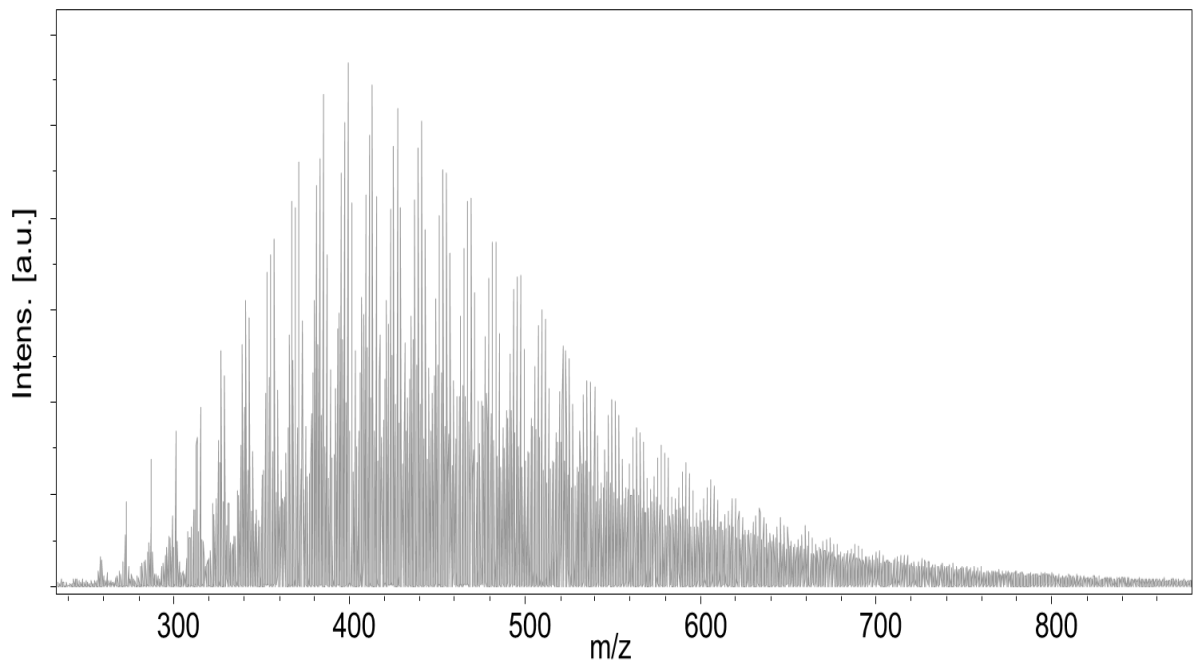
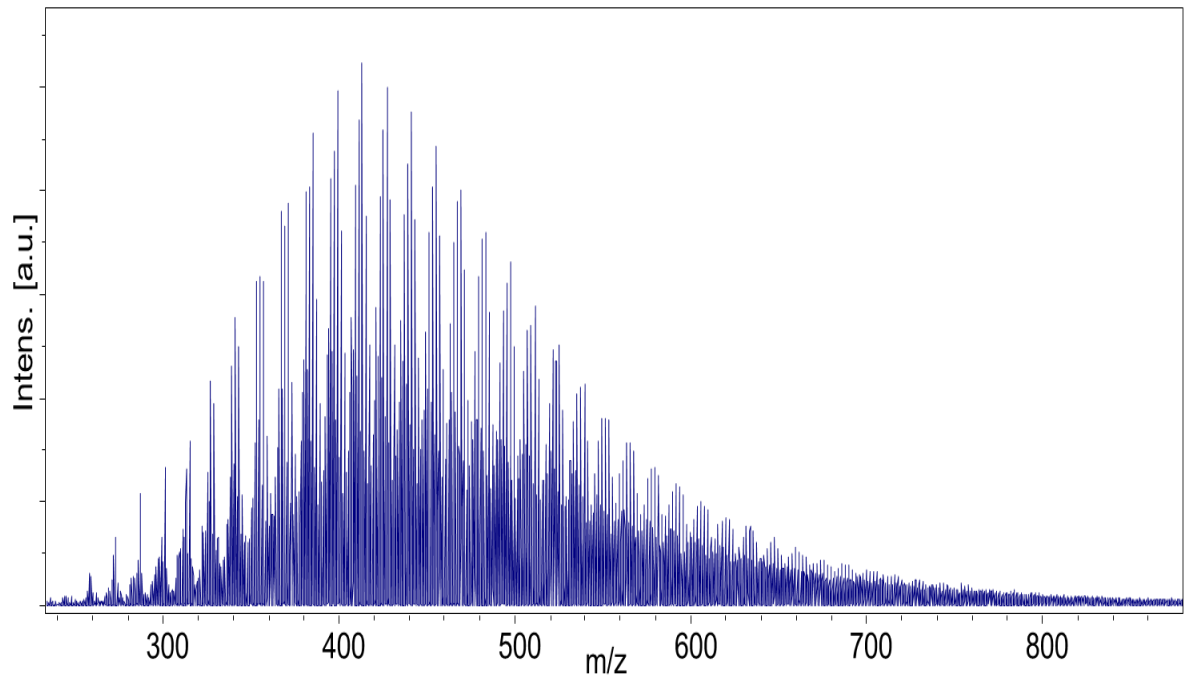


Figura 24. Espectros de la muestra A24 y su duplicado

