



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

METODO DE SEPARACION, IDENTIFICACION Y CUANTIFICACION POR HPLC DE COMPUESTOS POLIAROMATICOS EN FRACCIONES PESADAS DE PETROLEO

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE: MAESTRIA EN CIENCIAS EN FISICOQUIMICA (METODOS Y METROLOGIA) PRESENTA: CLAUDIA GUTIERREZ CASTILLO

CUAUTITLAN IZCALLI, MEXICO

2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

La siguiente tesis de Maestría fue realizada en el laboratorio 138 del Instituto Mexicano del Petróleo, Edificio 23 "IBP" (Investigación Básica de Procesos). Bajo la asesoría experimental directa de Q.F.B. Regina Alvarez Ramírez.

Asesor Interno en el I.M.P. Dr. Esteban López Salinas.

Asesor en la Universidad Nacional Autónoma de México, M.en C. Julio César Botello Pozos.

**MÉTODO DE SEPARACIÓN, IDENTIFICACIÓN Y
CUANTIFICACIÓN POR HPLC DE COMPUESTOS
POLIAROMÁTICOS EN FRACCIONES PESADAS DE
PETRÓLEO**

En el presente trabajo se desarrolla un método simple, efectivo y rápido para la separación y caracterización de aceites crudos por grupos, utilizando la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) acoplada a dos detectores, (refractómetro diferencial, (RD) y detector con arreglo de diodos (DAD)), logrando la optimización de las condiciones de operación.

Este método puede ser aplicado para analizar aceite crudo, queroseno, gasolina, destilados intermedios, etc., en varias clases de alifáticos (con cadenas lineales, ramificadas y cíclicas), uno, dos y más anillos aromáticos, compuestos polares, resinas y asfaltenos.

Realizando una buena integración de los picos es posible la identificación exacta del grupo desconocido, así como su cuantificación con base a su absorbancia máxima.

Cuando se trabaja con los espectros y cromatogramas realizando las comparaciones con los estándares de la biblioteca espectral, estos resultados corresponderán al compuesto o grupo identificado.

ÍNDICE

1. OBJETIVOS.....	1
2. RESUMEN.....	3
3. INTRODUCCIÓN.....	7
3.1 PETRÓLEO.....	7
3.1.1 COMPOSICIÓN GENERAL DEL PETRÓLEO....	8
3.1.1.1 ALIFÁTICOS.....	8
3.1.1.2 COMPUESTOS CÍCLICOS.....	9
3.1.1.3 OTROS COMPONENTES MENORES.....	10
3.2 REFINACIÓN.....	12
3.3 CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN.....	13
3.3.1 INVERSIÓN DE FLUJO.....	15
3.3.2 ÍNDICE DE REFRACCIÓN.....	16
3.3.3 DETECTOR CON ARREGLO DE DIODOS..	17
3.4 ANÁLISIS DEL ABSORBANCIAS EN FUNCIÓN DE LA BASE BENCÉNICA.....	18

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL	
4.1	DIAGRAMA DE EQUIPO.....21
4.2	MATERIAL Y EQUIPO.....22
4.3	CREACIÓN DE MÉTODOS.....23
4.4	PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....26
4.5	PROCEDIMIENTO.....27
4.6	CARACTERIZACIÓN.....27
5. RESULTADOS.....	28
6. CONCLUSIONES.....	66
7. PROYECCIÓN.....	68
8. APÉNDICE.....	69
9. REFERENCIAS.....	80

OBJETIVOS

1. OBJETIVOS

- Fraccionar e identificar los grupos aromáticos del petróleo con puntos de ebullición comprendidos en un rango de destilación de 300-500°C.
- Fraccionar y separar la mezcla de petróleo mediante la técnica de cromatografía de líquidos de alta resolución, con una configuración de dos columnas, empleando inversiones de flujo.
- Desarrollar métodos para la separación de las fracciones de petróleo en cromatografía de líquidos de alta resolución mediante la detección de los componentes por refractometría diferencial y detector con arreglo de diodos.
- Optimizar las técnicas cromatográficas para la obtención de fracciones de hidrocarburos tipo: saturados, aromáticos y polares.
- Identificar y cuantificar por grupos las fracciones pesadas del crudo Maya.

RESUMEN

2. RESUMEN

La caracterización del crudo pesado es esencial en el desarrollo de tecnología de procesos. El mayor inconveniente que presenta este tipo de crudo es el contenido tan alto de residuos, que en algunos de ellos es superior al 50%, lo cual origina serios problemas durante los procesos de refinación¹.

El consumo progresivo y el incremento creciente en el costo de los crudos de alta calidad han creado la necesidad de desarrollar nuevas tecnologías que eleven la rentabilidad de la refinación del petróleo. Así que el procesamiento de crudos pesados ha crecido durante las dos últimas décadas debido al desarrollo de mejores procesos y catalizadores.

Es importante, por varias razones, la caracterización detallada de materia orgánica fósil como son el petróleo y derivados líquidos del carbón. La información previa de la composición de las fracciones pesadas ayudarán para desarrollar tecnologías por la creciente necesidad en la demanda de combustibles limpios y ligeros.

Hoy día, a medida que el suministro de crudos pesados con alto contenido de contaminantes aumenta en el mundo se demandan productos petrolíferos ligeros y destilados intermedios de mejor calidad, y dentro del Sistema Nacional de Refinación de nuestro país, existe una tendencia hacia una mayor disponibilidad en el procesamiento de crudos pesados (crudo Maya principalmente), que genera un alto contenido de residuales para obtener productos menos pesados.

El tratamiento del crudo Maya está dirigido a concentrar e incrementar la investigación y desarrollo de procesos del tipo de crudo más abundante en México, cuyas características específicas de alta viscosidad, alto contenido de azufre, metales y asfaltenos y bajo rendimiento de fracciones ligeras principalmente, obligan a

la identificación y cuantificación, con la aplicación de tecnologías para su mejor aprovechamiento.

Debido a que los componentes ligeros del petróleo han disminuido, se ha visto la necesidad de procesar las fracciones pesadas, en donde tenemos gran cantidad de compuestos aromáticos.

La información sobre la composición química de los componentes en aceites pesados es esencial, ya que es importante para la transformación mediante técnicas como son: la desintegración térmica, desintegración catalítica, procesos de hidrodesintegración a gasolinas que tienen más valor comercial.

La demanda creciente de combustibles que cumplan con las especificaciones gubernamentales establecidas para cada una de ellas, hace indispensable la caracterización química de la corriente de alimentación a procesos y predecir la cantidad y calidad de los productos finales de refinación, para ello es importante conocer y clasificar los principales componentes ya que existe gran cantidad de compuestos presentes en el petróleo crudo y éstos se dividen en las llamadas fracciones para hacer más práctico su estudio².

La identificación de las fracciones se puede llevar a cabo a través de las diferencias en los rangos de puntos de ebullición de los compuestos en las fracciones, con reacciones por afinidad química, por diferencias en la polaridad, etc.³

Los componentes del petróleo no sólo son del tipo no polar, se encuentran ciertos compuestos con un carácter polar los cuales intervienen de forma relevante en los procesos de refinación.

Los compuestos aromáticos, que están coordinados con metales como cobalto, níquel, vanadio, entre otros, son de singular importancia debido a que envenenan los catalizadores usados en los procesos de refinación, éstos compuestos manifiestan carácter polar⁴.

La caracterización confiable de los grupos contenidos en las fracciones del petróleo es un prerequisite para entender y controlar los procesos químicos que tienen lugar en la industria petroquímica. Los grupos aromáticos fueron aislados de mezclas del petróleo usando diferentes versiones de cromatografía de adsorción en columna abierta⁵, la aplicación de la técnica de cromatografía en columna abierta llevaba a errores significativos, ya que se perdía muestra, no se realizaba una buena separación o, si lo hacia, era necesario utilizar columnas sumamente largas para incrementar el número de platos teóricos, representando con ello tiempos de análisis muy elevados, además de que el analista se encontraba continuamente en contacto con los vapores de los solventes utilizados, éstos se podían contaminar y el gasto de reactivo se incrementaba, posteriormente, la fracción derivada aromática debería ser analizada usando otro método analítico como la cromatografía de gases (CG), la restricción para la separación y análisis de muestras por la técnica de cromatografía de gases es de que sólo es limitante para muestras que tengan un cierto rango de ebullición, pero para fracciones pesadas del petróleo no es operable, por lo que se obtiene información de una fracción mínima⁶. Y después la cromatografía de gases acoplado a un espectrómetro de masa (CG-EM), en cuanto a la cromatografía de gases (CG) acoplada a espectrometría de masas (EM), la limitante es el equipo y la inserción de la muestra, ya que los filamentos utilizados para el análisis sin previo tratamiento o fraccionamiento de dicha muestra son sumamente costosos, además de que por cada filamento solo es posible hacer un análisis de cuatro a seis muestras como máximo⁷.

Finalmente, se puede llevar a un análisis mediante espectroscopia en infrarrojo por transformada de Fourier (IR-TF)^{3,8} cuya información es muy extensa y poco específica.

Todos estos factores se consideran para aplicar otro tipo de técnicas como lo es la cromatografía de líquidos de alta resolución, que proporciona una separación eficiente con una cantidad de muestra mínima, además recuperable y la cantidad de solvente está por debajo del gasto por columna abierta, el sistema de operación de la bomba y reservorios mantiene el solvente libre de impurezas y burbujas por el flujo de un gas inerte.

Los tiempos de operación disminuyen notablemente en la preparación de la muestra, filtración del solvente, así como el análisis y la cuantificación de los aromáticos totales a partir de sus subfracciones (saturados, mono-, poliaromáticos, etc.).

Los métodos analíticos por cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, de sus siglas en inglés) para la separación de aceites crudos y de sus fracciones, basándose en la composición de los grupos: saturados, aromáticos y polares, se han ampliando^{8,9}.

La mayor parte de hidrocarburos presentes en un aceite crudo son: saturados, aromáticos, polares y alifáticos. Los hidrocarburos saturados comprenden las parafinas y naftenos, los aromáticos tienen un rango de hidrocarburos monoaromáticos a poliaromáticos (2 o más anillos), los polares consisten de hidrocarburos que contienen heteroátomos como nitrógeno, azufre y oxígeno, los alifáticos consisten en estructuras aromáticas altamente condensadas. La cantidad y tipo de estos hidrocarburos depende del tipo de crudo.

La industria del petróleo emplea técnicas cromatográficas para la evaluación de los aceites crudos y los resultados analíticos son dependientes del método aplicado.

Usando la cromatografía de líquidos de alta resolución es posible separar las fracciones solubles del crudo (saturados, aromáticos y compuestos polares aromáticos).

INTRODUCCION

3. INTRODUCCIÓN.

3.1 PETRÓLEO.

El petróleo o también llamado aceite crudo está predominantemente constituido de una mezcla de compuestos químicos a base de carbón e hidrógeno, con o sin otros elementos no metálicos (azufre, oxígeno, nitrógeno), o metálicos (vanadio, níquel, etc.). Estos compuestos, dependiendo de su naturaleza y de las condiciones de presión y temperatura, se pueden encontrar en estado gaseoso, líquido o sólido¹⁰.

Existen diversas formas de clasificación del crudo:

- a) basándose en la región de origen,
- b) por su contenido de azufre,
- c) por su contenido de tipo de moléculas, etc.

A principios de la década de los treinta (siglo XX), se desarrolló una serie de pruebas mediante las cuales era posible caracterizar al petróleo y a las fracciones derivadas del mismo, en tal forma que las propiedades físicas de los productos del petróleo podían relacionarse con estas pruebas. Las pruebas de caracterización del petróleo son:

1. Grados API^a
2. La prueba de presión de vapor de Reid, que se utiliza en el caso de productos volátiles tales como la gasolina.
3. La destilación ASTM o Engler para diversas fracciones del petróleo.

^aAPI (American Petroleum Institute), ASTM D-287

Las especificaciones de los combustibles, los aceites, etc., se fijan de acuerdo con estas pruebas, considerando además otra gran cantidad de propiedades, como es el caso del punto de inflamación, el porcentaje de azufre, la viscosidad y varias más¹¹.

La clasificación más empleada y conocida es la que se basa en su densidad:

Ligeros	Densidad API mayor de 30 grados
Intermedios	Densidad API entre 20 y 30 grados
Pesados	Densidad API entre 10 y 20 grados

Un crudo de 40 API tiene una densidad de 0.825 g/ml y uno de 20 API su densidad es 0.934 g/ml. Un valor mayor (densidad API) significa que el crudo contiene más fracciones ligeras (por ejemplo gasolina) y menos cantidad de residuos pesados (por ejemplo asfalto).

Con valores menores (densidad API) el crudo es más viscoso y los procesos de refinación y transformación elevan sus costos, mientras que un crudo ligero contiene una proporción elevada de carburantes que hace su refinación menos costosa.

3.1.1. COMPOSICION GENERAL DEL PETROLEO

El aceite crudo, de muy diversa constitución según el origen, tiene rendimientos variables en el proceso de destilación y de fraccionamiento¹².

La composición generalizada del petróleo es la siguiente:

3.1.1.1. Alifáticos o hidrocarburos de cadena abierta

a) Serie *n*-parafínica o alcanos (C_nH_{2n+2}). Esta serie comprende la fracción más grande de la mayor parte de los crudos. La mayor parte de las gasolinas que se destilan directamente de los crudos son *n*-parafinas en forma predominante.

- b) Serie iso-parafínica o iso-alcanos (C_nH_{2n+2}). Solo hay cantidades pequeñas en los crudos. Se pueden formar mediante reformación catalítica, alquilación, polimerización o isomerización.
- c) Olefinas o serie alqueno (C_nH_{2n}). Esta serie está regularmente ausente en los crudos, pero se produce mediante procesos de refinería como la desintegración catalítica. Durante el almacenamiento se polimerizan y oxidan, lo cual no es deseable. Los alquenos contribuyen rápido y eficientemente a la formación de fotooxidantes en el aire. La reactividad de los alquenos en el aire se incrementa con el número de átomos de carbono. Los pentenos y hexenos son emitidos en forma de vapores en el proceso de combustión interna¹⁷. Sin embargo, esta tendencia a reaccionar los hace útiles para formar otros compuestos petroquímicos. Las gasolinas fraccionadas o craqueadas contienen muchos de los miembros más altos de las series ($n=3$).

3.1.1.2. Compuestos cíclicos.

- a) Serie nafténica o cicloalcanos (C_nH_{2n}). Esta serie que no debe confundirse con el naftaleno, tiene la misma fórmula química que las olefinas, pero carece de su inestabilidad y reactividad, porque la estructura molecular es saturada y no reactiva como los alcanos. Los miembros más bajos de este grupo ($n=6$) son buenos combustibles; los de más alto peso molecular ($n=10$) predominan en el gasoil y en los aceites lubricantes.
- b) Aromáticos o serie bencénica (C_nH_{2n-6}). Solo pequeñas cantidades de esta serie se encuentran en los crudos más comunes, pero son muy deseables en la gasolina ya que tiene muy buen valor antidetonante, buena estabilidad durante el almacenamiento y otros usos, además de ser combustibles. Se forman muchos compuestos aromáticos durante el proceso de refinación.

3.1.1.3. Componentes menores.

El azufre siempre ha sido un componente indeseable del petróleo (tiofenos). El olor fuerte y desagradable de sus compuestos dio origen a los esfuerzos por eliminarlos de las fracciones de gasolina y queroseno. Después, se encontró que los compuestos de azufre tenían otros efectos indeseables (corrosión, reducción de los efectos del tetraetilo de plomo como agente antidetonante, contaminación del aire, entre otros).

Los compuestos con nitrógeno causan menos problemas, son menos indeseables y normalmente se ignoran, comparados con los compuestos con azufre.

Al adaptarse en forma general los procesos de desintegración catalítica y de acabado, se descubrió que la presencia de metales, aún en pequeñísimas cantidades (hierro, molibdeno, sodio, níquel, vanadio, etc.), causaban problemas porque envenenan intensamente los catalizadores. Ahora se están perfeccionando muchos métodos para eliminar estas sustancias en los crudos, y deben ser eliminados para evitar también la corrosión.

Antes de procesar los crudos, suele ser necesario desalinarlos por medios mecánicos o eléctricos.

En la tabla 1 se enlistan las temperaturas comunes de destilación del crudo, que es la primer etapa por la que pasa la corriente natural del petróleo, para después continuar con la refinación de los diversos hidrocarburos o las familias de hidrocarburos con propiedades físicas y químicas definidas que constituyen la materia prima.

TABLA 1. Temperaturas comunes de fraccionamiento de corrientes de crudo.

CORTE	Temp. final de ebullición (°C)
Gasolina ligera de torre atmosférica	85
Gasolina pesada o nafta	104
Querosina	271
Gasóleo atmosférico	430
Gasóleo de vacío	565

La información previa de la composición lleva a la exploración del petróleo entendiendo los procesos químicos durante la formación y alteración de la materia fósil orgánica en el proceso geológico, pudiendo modificarse las temperaturas finales, por ejemplo, un residuo al vacío consiste de una mezcla compleja de hidrocarburos, teniendo un amplio rango de distribución en su peso molecular, y sus propiedades químicas difieren enormemente dependiendo de su origen; resultando un modo diferente para el proceso de reacción cuando es sujeto a pirólisis o rompimiento.

Los productos obtenidos a partir de las fracciones destiladas (como materia prima) para procesar y refinar se muestran en la tabla 2.

TABLA 2. Fracciones comunes de refinería.

FRACCION	PRODUCTO
Gasolina(cabeza de pozo)	gasolina y gas natural
Destilados ligeros	Gasolina para motores de combustión interna
Naftas disolventes	Combustibles para aviones a reacción
	Queroseno
	Aceites ligeros para calefacción
Destilados intermedios	Aceites combustibles pesados
	Aceite diesel
	Gasoil
Destilados pesados	Aceites minerales pesados
	Aceites pesados de flotación
	Aceites lubricantes
	Ceras(aislantes, selladores, velas)
Residuos	Aceites combustibles
	Petrolato
	Aceites para carreteras
	Asfaltos
	Coque

3.2. REFINACIÓN

La refinación es el conjunto de una serie de procesos físicos y químicos a los que se someten las fracciones obtenidas de la destilación del petróleo crudo.

Después de la separación, se aplican a los derivados así obtenidos, diversos procesos de conversión para obtener de ellos productos más valiosos y esos se pueden someter finalmente a tratamientos catalíticos con hidrógeno.

Durante el proceso de refinación no se suelen separar productos químicos puros. Algunos de los más simples de peso molecular bajo se aíslan para producir productos petroquímicos. La mayor parte de los productos de petróleo son mezclas separadas

sobre la base de niveles de puntos de ebullición y se identifican por los usos finales a los cuales están mejor adaptados^{13,14}.

Para la industria petroquímica es importante conocer los diversos tipos de compuestos en un aceite pesado, el cual puede contener diversas cantidades de compuestos alifáticos, naftenos, aromáticos, compuestos polares y coloides, el objetivo también su cuantificación. Haciendo lo anterior se obtienen las siguientes ventajas:

1. Con la identificación y cuantificación de los componentes del aceite crudo, se pueden ajustar las condiciones en el proceso de refinación.
2. La separación en grupos o series son útiles para el estudio de las estructuras químicas con técnicas como son HPLC, CG-EM y RMN.
3. Con el conocimiento del compuesto, se pueden establecer la cantidad, estructura química, calidad y rendimiento de los productos finales.

3.3. CROMATOGRAFÍA DE LIQUIDOS DE ALTA RESOLUCIÓN.

Debido a algunos estudios realizados en los efectos sobre el ser humano y el medio ambiente relacionados con los hidrocarburos emitidos por diversas industrias y vehículos automotores, se ha detectado que, los hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAH'S, de sus siglas en inglés) y compuestos que contienen heteroátomos pueden ser mutagénicos y cancerígenos, la estructura específica de estos compuestos proporciona las bases para el estudio más profundo de éstos y otros efectos¹⁵.

Una variedad de aceites crudos han sido fraccionados por las refinерías desde que las antiguas reservas de aceite crudo han empezado a decrecer y muchas reservas están siendo reemplazadas, lo cual significa que las refinерías tienen que procesar diferentes tipos de crudos y un gran número de análisis son requeridos; como consecuencia, hay necesidad de usar técnicas para el análisis de aceites crudos y destilados relacionados en forma rápida, fácil y con mayor economía. La interacción e interferencia de los materiales a usarse con la muestra deben ser reducidos al mínimo¹⁶.

Se conocen varios métodos para el análisis y la caracterización de las composiciones de los crudos. En este sentido la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), ha tenido mucho éxito para la separación de aceites pesados y residuos, cuando el análisis va a ser realizado en un tiempo mínimo, mientras que para la caracterización se apoya en otras técnicas como las espectroscópicas.

La técnica más detallada para el análisis de este tipo de compuestos es mediante HPLC/MS (cromatografía de líquidos de alta resolución acoplada a espectrometría de masas¹⁷).

La cromatografía de líquidos de alta resolución es una técnica analítica para separar compuestos en una mezcla por afinidad a la fase estacionaria y arrastrados por una fase móvil (donde los analitos también tienen cierto grado de afinidad).

Se efectúa un reparto del soluto a través de la fase estacionaria y móvil, con estas diferencias de reparto entre analitos hacen que eluyan a diferentes tiempos y manejando los diferentes parámetros cromatográficos (Apéndice 3) es posible la identificación de los diversos componentes en una mezcla, así como la cuantificación.

Con la cromatografía de líquidos de alta resolución es posible separar los componentes del crudo en saturados (normales, *iso* y cicloparafinas), aromáticos (benceno, naftaleno, antraceno y otros poliaromáticos) y compuestos polares aromáticos (heterociclos que contienen azufre, nitrógeno y oxígeno); los asfaltenos (compuestos solubles e insolubles en benceno) se remueven de la muestra por filtración antes de la cromatografía¹⁹.

3.3.1 INVERSION DE FLUJO.

El manejo de la inversión de flujo permite tener un reparto más amplio en el sistema cromatográfico, cuando se tienen dos columnas y se aplica la inversión de flujo al volumen muerto de las dos columnas y después se regresa el flujo en el sentido normal cuando ha transcurrido el tiempo de volumen muerto de una columna (figura 1), entonces se tiene como máximo cuatro repartos, como si se tratara de un sistema de cuatro columnas cromatográficas. Si la primer inversión de flujo se realiza al tiempo de volumen muerto de las dos columnas y después se regresa, ahora se tendría un sistema de seis columnas (figura 2), y así sucesivamente.

FIGURA 1 Inversión de flujo en la segunda columna

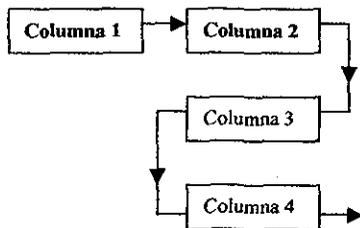
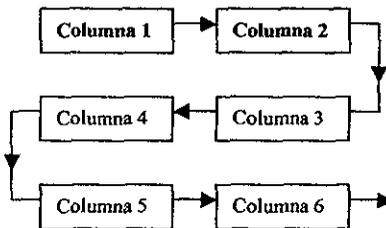


FIGURA 2 Inversión de flujo en ambas columnas



Esto es, si se tienen acopladas dos columnas se calcula el tiempo muerto de flujo de la fase móvil, en ese momento se aplica la inversión del flujo (backflushing), por lo que el sentido se invierte y transcurrido el tiempo muerto nuevamente se regresa al sentido de flujo normal.

Esta operación se puede realizar tantas veces como se considere conveniente para una mejor separación y es muy conveniente cuando se trata de una mezcla cuyos componentes son poco retenidos, aumentando la longitud de las columnas, por tanto, el número de platos teóricos y la eficiencia de separación¹⁹.

Para una mezcla más compleja donde se encuentran presentes compuestos con un comportamiento no sistemático, donde los tiempos de retención son muy variables, desde los pocos retenidos hasta algunos muy retenidos, no es conveniente dejar transcurrir el segundo tiempo muerto, debido a que los compuestos que se están separando pueden eluir en un orden diferente a los de menor tiempo de retención.

3.3.2 INDICE DE REFRACCION.

El índice de refracción es la relación entre la velocidad de la luz en el vacío y la velocidad de la luz en la sustancia. La medida del índice de refracción es simple (ASTM D-1218) y requiere sólo pequeñas cantidades de material y, consecuentemente, se le ha encontrado un amplio uso en la caracterización de muestras de hidrocarburos y petróleo.

Para fracciones separadas con pesos moleculares similares, los valores se incrementan en el orden de parafinas, naftenos y aromáticos; los valores para naftenos policíclicos y aromáticos policíclicos son generalmente más altos que los correspondientes monocíclicos.

Para una serie de hidrocarburos esencialmente del mismo tipo, el índice de refracción se incrementa con el peso molecular, especialmente en las series parafínicas.

Así, el índice de refracción puede ser usado para proveer información valiosa acerca de la composición de mezclas de hidrocarburos (de petróleo), como la densidad: bajos valores indican la presencia de material parafínico y valores altos indican la presencia de compuestos aromáticos. La combinación del índice de refracción y la densidad puede ser usada para dar una información más definida acerca de la naturaleza de la mezcla de hidrocarburos.

Compuesto	índice de refracción (n)
<i>n</i> -Pentano	1.3579
<i>n</i> -Hexano	1.3749
<i>n</i> -Heptano	1.3876
<i>n</i> -Octano	1.3975
<i>n</i> -Nonano	1.4119
<i>n</i> -Decano	1.4409

3.3.3 DETECTOR DE ARREGLO DE DIODOS

El detector de arreglo de diodos^{20,21} monitorea desde 120nm hasta 800nm lo cual abarca la región de espectro ultravioleta-visible, el ultravioleta lejano se localiza entre 10-200nm, el ultravioleta cercano de 200-380nm y la región visible de 380-780nm.

El equipo registra un máximo de absorción (absorbancia) de 2 (rango 0-2).

Con la espectroscopia ultravioleta-visible se tiene un rango muy amplio de detección de compuestos.

3.4. ANALISIS DEL ABSORBANCIAS EN FUNCION DE LA BASE BENCÉNICA.

El benceno presenta tres bandas de absorción 184 nm (ϵ_{max} 60000), 204nm (ϵ_{max} 7900) 256nm (ϵ_{max} 200), estas tres bandas de transición son originadas de la excitación de los orbitales moleculares.

La sustitución de grupos alquílicos en el anillo bencénico produce un efecto batocrómico, que es atribuido por la hiperconjugación de los electrones de enlace del grupo alquilo, entrando en resonancia con el anillo bencénico. El efecto batocrómico es representado en la tabla 3.

TABLA 3. Datos de absorción de alquilbenceno.

NOMBRE	λ_{max} (nm) ^a
Benceno	256
Tolueno	261
m-Xileno	262.5
1,3,5-trimetil benceno	266
Hexametilbenceno	272

^a El valor de λ_{max} es para la banda con el pico más intenso.

El isómero *para* del xileno absorbe a una longitud de onda más larga con la absorptividad máxima, el isómero *orto* generalmente absorbe a una longitud de onda más corta reduciendo su absorptividad máxima, el efecto es atribuido por interacciones estéricas entre los sustituyentes *orto* los cuales disminuyen considerablemente la hiperconjugación. La sustitución en el anillo bencénico por grupos auxocrómicos (OH, -NH₂, etc.), generan que se obtengan longitudes de onda más largas. Con estas consideraciones se puede tomar en cuenta el desplazamiento de las bandas de absorción en las corridas con los estándares y aún más con los componentes de una mezcla compleja de hidrocarburos. Con lo cual, también se obtiene información sobre ciertos compuestos cuando se intenta estudiarlos para una serie homóloga.

TABLA 4. Efecto de la sustitución por grupos auxocrómicos sobre el espectro del benceno.

Compuesto	Banda 1		Banda 2		Solvente
	λ_{max} (nm)	ϵ_{max}	λ_{max} (nm)	ϵ_{max}	
Benceno	204	7900	256	200	Hexano
Clorobenceno	210	7600	265	240	Etanol
Anisol	217	6400	269	1480	Metanol
Fenol	210.5	6200	270	1450	Agua
Anilina	230	8600	280	1430	Agua

Para estimar correctamente la posición de la banda de absorción al registrar un espectro, se debe considerar el efecto del disolvente, que deberá sumarse al valor base de la estructura de la molécula. En sistemas conjugados cruzados ha de considerarse el valor para el correspondiente cromóforo que absorbe a la longitud de onda máxima.

La corrección por efecto del disolvente es :

agua	+8 nm
etanol y metanol	0 nm
cloroformo	-1 nm
1,4- dioxano	-5 nm
éter etílico	-7 nm
hexano y ciclohexano	-11 nm

Para completar también el análisis y selección del disolvente, es necesario tomar en cuenta el efecto de miscibilidad entre mezclas de solventes y elegir el más adecuado al comportamiento de la mezcla a separar. El número de miscibilidad (**M**, tabla 5) es usado para predecir la miscibilidad de un líquido con un estándar de elución. Un líquido es clasificado en el sistema de número **M** por pruebas de miscibilidad con una secuencia de estándares de elución.

TABLA 5. Propiedades físicas de solventes.

Nombre	Indice de Polaridad	Viscosidad (h, CP, 20°C)	P.eb. (1 atm)	(M) Número de miscibilidad
Hexano	0.0	0.313	68.7	29
Cloro metileno	3.4	0.44	39.8	20
Tetrahidrofurano	4.2	0.55	66.0	17

Para predecir la miscibilidad de dos líquidos se sustrae el valor menor del mayor.

Si la diferencia entre los dos números **M** es igual o menor a 15, los dos líquidos son miscibles en toda proporción a 15°C ($M_{\text{hexano}} - M_{\text{MeCl}} < 15$).

Si la diferencia es igual o mayor a 17, los dos líquidos son inmiscibles.

Las interacciones entre las moléculas de los dos líquidos pueden algunas veces cambiar el grado esperado de miscibilidad.

El uso del hexano como solvente se aplica o maneja por tener un amplio rango de transparencia en la región cercana del ultravioleta (195-400nm).

En base a las condiciones anteriores, se seleccionaron como los solventes más eficientes y menos tóxicos para la separación de las mezclas de crudo el hexano y cloruro de metileno (por ejemplo el benceno es muy empleado para este tipo de análisis, sin embargo es muy tóxico).

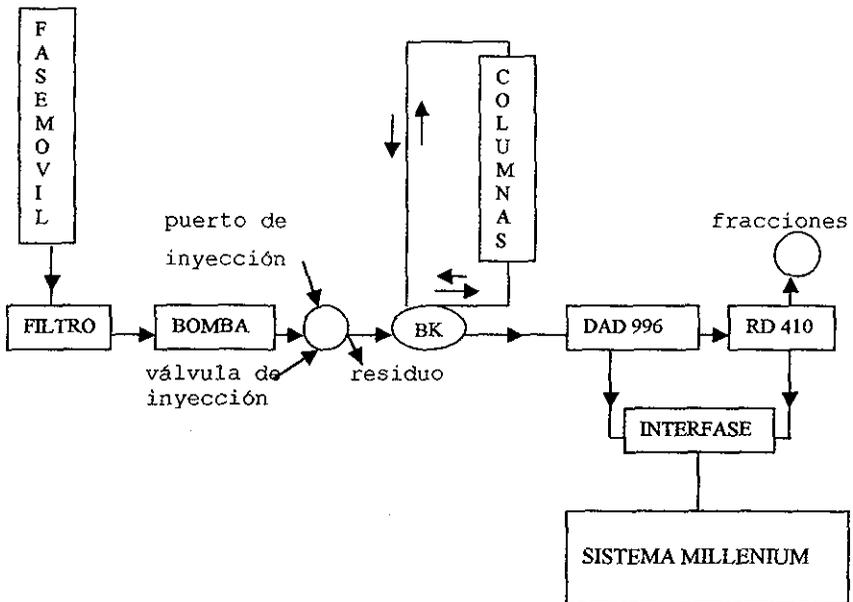
DESARROLLO EXPERIMENTAL

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.

4.1. DIAGRAMA DE EQUIPO.

Sistema de operación empleado para la separación de hidrocarburos esquematizado en la figura 3, el detector de arreglo de diodos se encuentra a la salida de la columna y enseguida el detector de refractometría diferencial.

Figura 3. Diagrama de flujo del sistema HPLC.



Abreviaturas:

BK (backflushing): inversión de flujo

DAD 996: detector de arreglo de diodos

RD 410: refractómetro diferencial

4.2. MATERIAL Y EQUIPO.

Los estándares empleados en este trabajo fueron grado cromatográfico de la marca SUPELCO (benceno, tolueno, *o,m,p*-xileno, etilbenceno, isopropilbenceno -cumeno-, 1,3,5-trimetil benceno -mesitileno-, *p*-isopropiltolueno -*p*-cimeno-, *n*-propil- benceno, *n*-butilbenceno, *n*-hexilbenceno, 1-feniloctano -*n*-octilbenceno, 1-fenildecano -*n*-decilbenceno-, antraceno, naftaleno, fluoreno, fluoranteno, benzoantraceno, criseno, dibenzoantraceno, benzofluoranteno, benzoperileno, benzopireno

Se emplearon como solventes hexano y cloruro de metileno (Fisher Scientific grado HPLC). Para la filtración de los solventes se empleó un filtro Millex-LCR 0.5 μ m de Millipore, tipo HA (orgánicos). Para el filtrado de las muestras se utilizó un filtro Millex-LCR 0.45 μ m, Millipore.

Las columnas cromatográficas fueron Waters Millipore. Columna de sílice de dimensiones de 7,8 x 300 mm, columna tipo amina 3,8 x 300 mm).

Todas las determinaciones cromatográficas se realizaron en un equipo Waters con un controlador modelo 600S, empleando una bomba cuaternaria modelo 616 con detector de arreglo de diodos modelo 996 y un refractómetro diferencial modelo 410.

4.3. CREACIÓN DE METODOS.

SELECCIÓN DE LAS COLUMNAS.

La primer columna seleccionada por sus características y propiedades polares es la de sílice para la separación de compuestos saturados y polares presentes en el petróleo.

La presencia de algunos grupos de primordial interés en las muestras de petróleo son de tipo polar (porfirinas, por ejemplo), esto hace que la columna de sílice sea una de las seleccionadas para un análisis generalizado.

Para los compuestos más abundantes en el petróleo como son los saturados y aromáticos que no contienen heteroátomos es usada la columna de tipo amino para la separación.

La combinación de estas dos columnas nos da un amplio rango de trabajo y selección en la separación de los grupos de interés (saturados, aromáticos y polares). Además, de que combinado con un programa de composición en la fase móvil y modificando el flujo, es posible la optimización de la separación.

La principal razón para la ubicación de cada columna, es que debido a que los compuestos saturados y polares son poco retenidos en la columna de tipo amino, se coloca la columna de sílice a la entrada del inyector y a la salida hacia el detector la columna tipo amina, entonces esto nos da un margen más amplio para repartir en las dos columnas. Además de acuerdo a las dimensiones de las columnas, la de sílice es colocada en primer lugar ya que sus dimensiones (7,8 x 300 mm) es de mayor capacidad que la de tipo amina (3,8 x 300 mm) que es acoplada a la primera.

Las pruebas iniciales para la selección de la composición de la fase móvil en proporción de hexano-cloruro de metileno, fue realizar una corrida para una serie de inyecciones de una mezcla de estándares que iba de 100:0 a 0:100 (respectivamente).

La composición de la fase móvil y la velocidad de flujo pueden modificarse durante la corrida para optimizar la separación de las fracciones.

Las inversiones de flujo se aplican para hacer eficiente la separación de los componentes en la mezcla, la primera al tiempo de salida del volumen muerto de la segunda columna e invirtiéndolo al fluir el volumen de la fase móvil el tiempo de la primera columna.

Con el planteamiento de selección de columnas se crearon tres métodos.

- a) Aromáticos I
- b) Aromáticos II
- c) Aminas.

Los cuales consistieron principalmente en la selección de las columnas, la aplicación de programas y velocidades de flujo, así como las inversiones de flujo en columna.

- a) Aromáticos I. En este método las columnas son sílice y amina y es aplicable para la primera inyección de las muestras para observar en forma global su comportamiento y composición. El flujo que se maneja es constante a 2 ml/min. Con una combinación de fase móvil hexano-cloruro de metileno 80:20.
- b) Aromáticos II. Para este método las columnas son nueva- mente sílice-amina. La modificación al método anterior es la de la aplicación de programas de fase móvil en composición porcentual de hexano-cloruro de metileno (80:20 a 0:100), programa de velocidades de flujo (0,5 a 2 ml/min) y la aplicación de inversiones de flujo. Este método es aplicable cuando la muestra presenta cantidades importantes de compuestos saturados y/o aromáticos que van a ser separados y cuantificados, o recuperados para ser analizados por otras técnicas analíticas, como gases-espectrometría de masas.

c) Aminas. Este método tiene acopladas dos columnas de tipo amino (7,8 x 300 mm y 3,8 x 300 mm), la aplicación de éste método es generalizado para muestras que contienen saturados, aromáticos y polares. Tiene programas de composición de fase móvil, de velocidades de flujo e inversiones de flujo, que dependen de las características de la muestra y de las condiciones de análisis, así como la información requerida para una determinada fracción.

El método de aminas es el más utilizado para el estudio de las fracciones de petróleo ya que nos da un amplio rango de análisis combinado con la fase móvil, ya que en este sistema no se tiene acoplada la columna de tipo polar, se puede realizar el reparto modificando la composición de la fase móvil, incrementando la cantidad de cloruro de metileno.

La aplicación de la inversión de flujo está manejada de acuerdo a la composición de la muestras a analizar y pueden hacerse tantas como se consideren convenientes para una óptima separación.

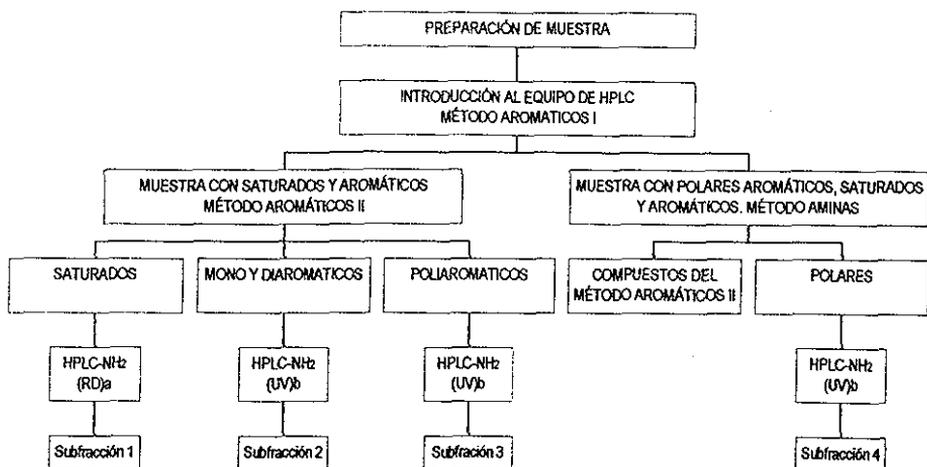
Los reservorios seleccionados están en la posición 1 y 2 con flujo de gas helio a 20 ml/min para degasificar.

La información previa de la muestra nos da una proyección de los resultados esperados y del método a aplicar así como también el análisis posterior de las fracciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

Figura 4. Diagrama para la selección del método a emplear y para separación y detección de componentes en una muestra.



^a (RD) refractometría diferencial, ^b (UV) ultravioleta

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

4.5. PROCEDIMIENTO.

El procedimiento general para el presente trabajo a desarrollar, es el mostrado en la figura 4.

Los pasos a seguir son los siguientes:

- La muestra es pesada y disuelta en hexano.
- La mezcla es filtrada para remover los asfaltenos insolubles.
- Si no se conocen la composición de la muestra, se inyecta al sistema cromatográfico la fracción soluble mediante el método Aromáticos I. Si es necesaria la separación solo por grupos también es empleado el método.
- Una vez obtenido el cromatograma, se selecciona el método de acuerdo a las necesidades del análisis.
- La muestra soluble en hexano es nuevamente inyectada en el sistema cromatográfico aplicando el método elegido para separar los compuestos saturados, aromáticos y/o polares.
- Inyección de 50µl para los estándares y 100 µl para las muestras
- Establecido el método de separación se obtiene el cromatograma y se analiza.
- Se comparan los resultados con la biblioteca espectral y se cuantifica.
- La muestra es pesada y disuelta en n-hexano, preparada mediante una filtración para obtener las fracciones solubles en n-hexano, posteriormente serán separadas por cromatografía de líquidos de alta resolución con columnas tipo amino (dos en serie), los detectores acoplados a la técnica serán el detector por refractometría diferencial y el detector por arreglo de diodos.

18,19,20,21

RESULTADOS

5. RESULTADOS.

Se crearon tres métodos para las separaciones con diferentes sistemas de columnas. Se describen los métodos con las condiciones de operación y análisis.

1. Aromático(I). Se realizaron las primeras pruebas con dos columnas acopladas al sistema cromatográfico. La primera una columna de sílica con dimensiones 7.8mm(diámetro interno) x 30cm de longitud y la segunda una columna amino de 3.9 mm x 30cm. Este método es aplicado para la primer introducción de la muestra y conocer el tipo de componentes (como una corrida generalizada), el flujo manejado es de 2 ml/min. y composición de la fase móvil : n-hexano-cloruro de metileno (80 :20).
2. Aromáticos(II). Se tiene el mismo sistema de columnas anteriores, la diferencia se encuentra en el programa de separación, modificando la composición en la fase móvil, tiempos de combinación en la fase móvil, inversión de flujo (a diferentes tiempos). Con este método se obtiene la mejor separación de compuestos que contienen cantidades importantes de compuestos polares de las fracciones de tipo no polar. De los estándares inyectados algunos se registraron como biblioteca espectral.
3. Aminas. El método con el nombre de Aminas es el aplicado para un sistema de dos columnas amino, una semipreparativa de 7.8 mm x 30cm y una analítica de 3.9 mm x 30 cm. Es el más aplicado para una óptima separación cuando se encuentran en una muestra una cantidad mayor de compuestos de tipo aromático y también es posible la identificación de los compuestos aromáticos de tipo polar.



En el trabajo experimental previo de análisis de estándares, se crearon dos bibliotecas espectrales (llamadas "Anillos" y "NH-BK-PF") de algunos compuestos.

Se realizaron cinco pruebas con el mismo compuesto (feniloctano) y en las cinco corridas la identificación espectral correspondió al registrado en la biblioteca como el estándar.

Para pruebas comparativas con otras técnicas analíticas en la identificación de los componentes, no se inyectaron los estándares, sino se inyectó una muestra de una fracción de diesel, el cual correspondió en composición de anillos aromáticos.

Para fracciones donde se espera encontrar compuestos de tipo polar, se usó el sistema polar-no polar, siendo programada una fase muy polar al inicio a diferentes flujos, para arrastrar y separar a los compuestos no polares sobre la columna amino. Se realizó la inversión del flujo de acuerdo al flujo manejado y a los cálculos de tiempos muertos considerando a los compuestos que no serían arrastrados y regresando al sentido inicial de flujo.

Es posible realizar una doble inversión de flujo para una óptima separación, principalmente donde se requiere que los picos o las muestras estén mas resueltos.

En otras muestras donde se analizan separaciones previas y comunmete son destilados aromáticos, es conveniente la utilización de columnas acopladas amino. Para este caso, también es recomendable aplicar la inversión del flujo calculado a partir del flujo y composición de la fase móvil, se toma como referencia un espectro de una muestra a analizar, las dimensiones de las columnas (tamaño de partícula, diámetro, longitud, etc.).

La inversión del flujo no necesariamente tiene el mismo tiempo. Dependerá de la naturaleza de la muestra, para lo cual será necesaria información previa sobre la misma, como puede ser su origen, si ha sido destilada, si proviene de una fracción, si ha ido tratada por algún medio, mediante una

corrida previa, etc., para las primeras fracciones donde se encuentra en mayor proporción compuestos saturados, la inversión del flujo se aplicará en los primeros minutos, para muestras con concentraciones mayores de compuestos aromáticos, se realiza doble inversión de flujo, la primera a un tiempo muerto y la segunda al inicio de elución de los compuestos de interés.

Todo lo anterior se combina con un programa de flujo y composición de fases móviles.

Una vez realizadas las identificaciones de los compuestos asignándoles su tiempo de retención y calculando todas sus propiedades cromatográficas (platos teóricos, factor de retención, AEPT; Apéndice 2), se procedió a la inyección por mezcla de estándares a las condiciones de separación de las muestras. En las figuras 5 a 21 se observan las diferencias entre las inyecciones a flujo y composición constante y al aplicar un programa de flujos, composiciones e inversión de flujo.

Realizando un procedimiento de datos en los espectros de absorbancia, tenemos un claro ejemplo de dos compuestos con un tiempo de retención muy cercano y que, mediante las técnicas espectroscópicas comunes, no sería posible resolver; inyectando el *n*-feniloctano y el *n*-fenildecano observamos su comportamiento bajo las condiciones de operación con una columna sílice-amino (Método : Aromático (II), *n*-hexano a $f = 2$ ml/min.fig. 6,7,8 y 9). En el siguiente reporte de revisión de espectros tenemos que ambos estándares presentan la misma longitud de onda máxima de

$\lambda_{\text{máx}} = 220.4 \text{ nm}$ y un tiempo de retención muy cercano, $t_1=4.440\text{min.}$ y $t_2=4.464\text{min.}$, y un máximo de absorbancia respectivo de 2.5680 y 2.5566.

Con estas dos características es posible la identificación de componentes en una mezcla compleja y donde se pueden encontrar isómeros que presenten la misma longitud de onda. Para su identificación y cuantificación, se deberá contar con el correspondiente estándar.

Los cromatogramas en tercera dimensión y los cromatogramas bidimensionales de absorción fueron detectados por arreglo de diodos (180 - 800 nm).

Para estandarizar las condiciones de operación de los equipos, se debe observar y controlar lo siguiente:

En la bomba cuaternaria no debe haber fluctuaciones de presión del más del 10% entre el valor máximo y mínimo, para las especificaciones de acuerdo con la fase móvil.

La temperatura interna del equipo y externa deberá permanecer constante para evitar diferencias al registrar los picos por refractometría diferencial.

Cuando la señal no se ha estabilizado completamente, se pueden iniciar las corridas y, posteriormente, se pueden integrar ya sea eliminando el efecto del ruido o el del solvente.

Al obtener una serie de cromatogramas se realizaron los análisis de resultados, el primero es el de absorción a una longitud de onda establecida y a cierto tiempo de elución, el segundo es el cromatograma de absorción en el que se obtiene el espectro en un rango de longitud de onda para la integración. Con los dos anteriores se obtienen los máximos de absorción de los compuestos para seguir con los parámetros de integración.

La integración de los picos cromatográficos se realizaron bajo las siguientes condiciones :

Rango de longitud de onda de absorción : 200-300 nm
Polaridad : positiva
Capacidad : 2 fases
ruido y solvente

Intervalo inicial de ruido (tiempo en min.) determinado para cada cromatograma con la figura tridimensional.

Pureza activada, integrando señal de ruido y de solvente. Región del pico activo al 100%, ángulo del solvente en grados a 1.00. Integración de 2 fases puras.

Los espectros de cada compuesto fueron comparados con las bibliotecas espectrales nombradas "Anillos" y "2NH-BK-PF" (las abreviaturas significan un sistema de dos columnas, aplicando inversiones de flujo y programa de composiciones de la fase móvil) reportados en las tablas 6 y 7.

En las figuras 8 y 14 se muestran los índices de espectros.

Después del índice de espectros, se obtiene la revisión espectral, en donde se abre cada biblioteca y se comparan la muestra y el estándar. Se identifican con todos los cálculos y parámetros cromatográficos descritos previamente.

El tratamiento de los datos involucra el análisis de los resultados de los cromatogramas de elución, se manejan de tal forma que se establecen los parámetros de integración para obtener resultados consistentes y reproducibles de la técnica analítica. En las tablas de cada cromatograma se reportan los parámetros de integración identificados por el método como aromáticos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Las fases están determinadas para obtener resultados más precisos, una integración por la primera fase es aplicable cuando la concentración de los compuestos es muy baja y no queda enmascarada la señal con la del ruido y del solvente, en la segunda fase nos da una integración más ajustada y es un valor común en donde se ha estabilizado la señal del instrumento y es confiable la respuesta. Se tiene la integración con 3 y 4 fases y se aplican cuando se trabajan estándares para crear las bibliotecas espectrales, con ello solo se integra cada una de las señales y se elimina el efecto del ruido y del solvente.

En la tabla 6 se tienen los estándares con varios anillos y números de anillo y sustituyentes.

TABLA 6. Biblioteca espectral ("Anillos").

NOMBRE	t (min)	AU	λ_{max} (nm)	λ_2 (nm)
n-Feniloctano	4.440	2.581	220.4	
n-Fenildecano	4.464	2.571	220.4	
1,3,5-Trimetilbenceno	8.078	2.623	249.7	285.2 (218)
Antraceno	18.312	2.403	246.2	295.8
Benzoantraceno	18.728	2.371	278.1	228.6
Benzopireno	19.120	1.328	288.7	235.6

TABLA 7. Biblioteca creada con el nombre de "NH-BK-PF".

NOMBRE	t (min)	AU	λ_{max} (nm)	λ_2 (nm)
Benceno	4.850	0.777	253.3	
n-Propilbenceno	4.773	2.360	214.5	256.8
n-Hexilbenceno	4.703	2.419	214.5	260.4
Naftaleno	6.887	2.836	225.1	256.8
Tetrahidronaftaleno	6.915	2.326	218.0	267.4
Antraceno	14.557	2.634	239.1	295.7
Fluoreno	14.720	2.575	253.3	225.1
Criseno	14.895	2.530	263.9	228.6
Benzoperileno	15.125	1.854	288.7	225.1
Fluoranteno	15.310	2.528	239.1	278.1
Dimetilnaftaleno	15.515	2.699	246.2	207.5
Benzofluoranteno	15.552	2.635	260.4	242.7
Benzoantraceno	15.682	2.574	256.8	288.7
Benzopireno	15.693	2.801	249.7	
Dibenzoantraceno	15.887	2.169	295.8	228.6
Bibencilo	6.4	1.673		209
Bifenilo	6.5	1.257	244	209
tetrahidronaftaleno	6.5	2.224	266	212
Dimetilnaftaleno	8.4	1.965	274	222

Estas corridas fueron realizadas en un sistema de columnas acopladas amino-silica con un programa de flujos e inversión de flujos. (Ver condiciones de operación en apéndice).

En la biblioteca espectral también están introducidos una serie de datos de mezclas de estándares con sus correspondientes tiempos de retención y cantidades, entre los que se encuentran :

- benceno - metilhexeno
- hexadecano - fluoreno
- trimetilpenteno - benceno
- metilhexeno - benceno - fluoreno
- trihidronaftaleno - bifenilo - dimetilnaftaleno
- metilhexeno - fluoreno - benceno - pireno

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Los siguientes resultados se obtienen a partir de los datos generados de tres muestras :

- Mezcla de dos estándares.
- Mezcla de una serie de estándares aromáticos, y
- Una muestra proveniente de la refinería de Tula, Hidalgo

Los cromatogramas de "feniloctano- fenildecano" y los "estándares" corresponden a los espectros de los estándares inyectados para la caracterización de los compuestos en columnas acopladas sílice (polar) y amino (no polar).

El flujo manejado para ambos sistemas fue de 2 ml/min.

Para la elución de los estándares se aplicó doble inversión de flujo : el primero a 5.3 minutos y el segundo a los 10 minutos.

Las condiciones de trabajo fueron definidas instrumentalmente mediante el reporte de método Aromático (I).

Mientras que para la muestra proveniente de la refinería de Tula ,Hidalgo, se eluyó con un sistema de columnas acopladas aminas (método Aromáticos -II-). Los datos son consistentes con los reportados para realizar la validación de los métodos a diferentes condiciones de operación.

TABLA 8. Tabla de gradientes para la elución por el método "Aminas" aplicando un programa de composición de fase móvil y flujos.

#	Tiempo (min)	flujo(ml)	% Hexano	%Cloruro de metileno
1	0.00	2.00	100	0.0
2	6.00	0.50	100	0.0
3	30.00	2.00	100	0.0
4	60.00	2.00	50	50
5	70.00	2.00	0.0	100

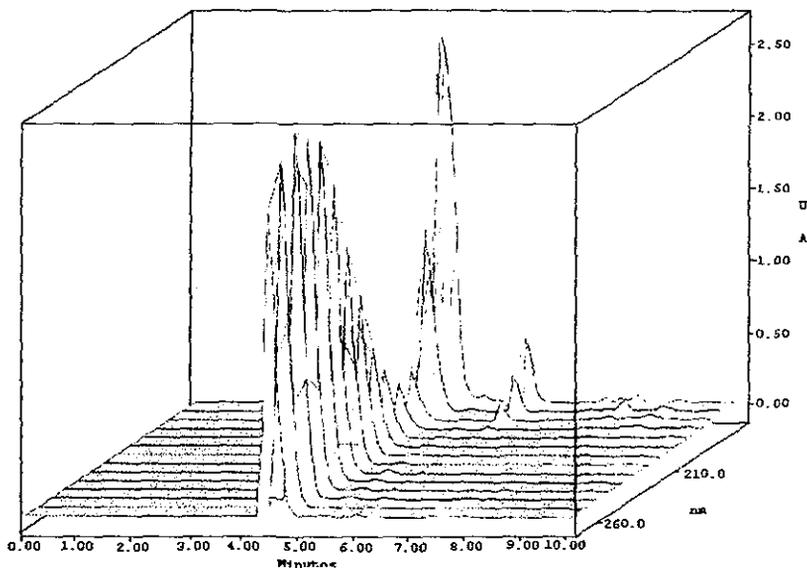
En la tabla 9 se reportan los parámetros base más importantes de una serie de resultados de corridas de estándares para la creación de las bibliotecas espectrales, con los cuales se realizaron las comparaciones para la integración, identificación y cuantificación de los compuestos presentes en una muestra desconocida.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TABLA 9. Resultados de corridas de estándares aromáticos registrados en la biblioteca espectral. Longitud de onda de integración de 200-300 nm(excepto* de 200-270nm).

#	Nombre	tr (min)	C. (µg/ml)	λmax.	Absorbancia max.
1	n-Hexilbenceno	4.703	20	214.5	2.41908
2	n-Propilbenceno	4.773	20	214.5	2.36070
3	Benceno	4.850	5	200.5	0.77695
4	p-Xileno	4.892	20	218.0	2.47205
5	m-Xileno	4.923	20	218.0	2.49181
6	n-Propilbenceno*	4.993	20	220.4	1.37302
7	o-Xileno	5.145	20	253.3	2.58794
8	Naftaleno	6.887	20	225.1	2.83633
9	Tetrahidronaftaleno	6.915	10	218.0	2.32626
10	Antraceno	14.557	20	239.1	2.63364
11	Fluoreno	14.720	20	253.3	2.57495
12	Criseno	14.895	20	263.9	2.52997
13	Benzoperileno	15.125	20	288.7	1.85405
14	Fluoranteno	15.310	20	239.1	2.52802
15	Dimetlnaftaleno	15.515	10	246.2	2.69931
16	Benzofluoranteno	15.552	20	260.4	2.63461
17	Benzoantraceno	15.682	20	256.8	2.57444
18	Benzopireno	15.693	20	249.7	2.80145
19	Dibenzoantraceno	15.887	15	295.8	2.16883
20	Fenoloctano*	4.440	5	220.4	2.58067
21	Fenildecano*	4.464	3	220.4	2.57139
22	1,3,5-TMBenceno	8.078	10	249.7	2.62323
23	Mesitileno	17.962	20	214.5	1.30071
24	Antraceno	18.312	20	246.2	2.40346
25	Benzoantraceno	18.728	20	278.1	2.37065
26	Benzopireno	19.128	20	288.7	1.32777

Figura 5. Cromatograma tridimensional de la separación de n-fenil-
octano y n-fenildecano (t vs. λ vs. UA). Corrida por el método aminas.



La figura 5 es un cromatograma de una mezcla de fenildecano y feniloctano que muestra el espectro de absorción obtenido con el detector de arreglo de diodos.

Con los resultados obtenidos de una muestra de este tipo se puede comprobar la medida de la capacidad del equipo para detectar estos dos estándares que tienen una estructura muy similar. En el cromatograma, se observa un perfil de elución de los compuestos, en donde no es posible marcar un punto donde se separan los dos componentes.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En este cromatograma se observa la elución de un compuesto manifestado como un solo pico, a un tiempo de retención de 4.4 min. Con dos longitudes de onda, la máxima a 259.2 nm y la segunda a 220.4 nm y una absorción máxima de 2.56. Los dos estándares tienen un comportamiento similar, su elución es prácticamente al mismo tiempo.

Con el sistema de columnas amino, las cuales son las más eficientes para separar compuestos aromáticos, no se obtiene una buena resolución de picos, además de que la absorbancia es también muy similar. La respuesta y resolución del equipo nos permite identificar este tipo de muestras manejando sus parámetros cromatográficos obtenidos en la separación aún cuando los tiempos de retención son tan cercanos y además no observándose la separación.

Trabajando con este cromatograma se obtienen claramente los intervalos de tiempo donde no eluyen otros picos, este intervalo es un dato necesario para la información alimentada en el procesamiento de los datos para la integración.

Figura 6. Cromatograma de integración de feniloctano y fenildecano (t vs. UA). (Condiciones de operación en la figura 5)

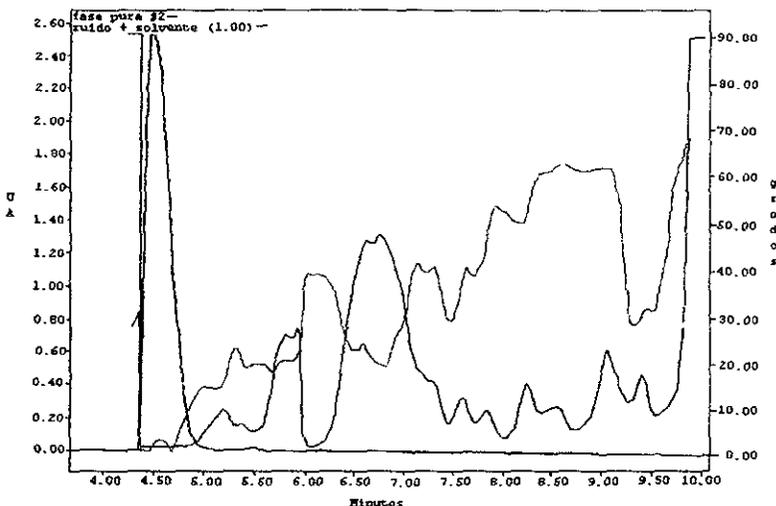


TABLA 10. Resultados de integración con arreglo de diodos.

Fases	Angulo de pureza	Límite de pureza	Máxima impureza
1*	7.441	1.128	4.673
2*	2.627	1.145	6.057

En este cromatograma se observa sólo un pico ($t_r=4.4$ min. y $UA=2.56$) que no está interferido en forma importante con las líneas de la fase pura y el ruido más solvente, las condiciones de integración son para 2 fases (las fases son un indicativo de la pureza del pico). En la tabla 10 se reporta que el ángulo de pureza es mayor al límite de pureza, cuando se obtiene esta información, es indicativo de que el área del pico es integrable, además de que se concluye de este cromatograma que el pico se encuentra puro y es integrable en todo el rango de elución.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Con el análisis de este tipo de información, se pueden integrar los picos o se pueden descartar. Cuando ángulo de pureza es mayor que el límite de pureza el pico es integrable y viceversa, cuando el límite de pureza es mayor al ángulo, el pico tendrá que eliminarse. Complementando, si la línea de ruido y solvente se encuentran en un ángulo menor a 30 grados dentro del área del pico, también puede ser integrado.

Figura 7. Espectro de absorción de los compuestos feniloctano y fenildecano (λ vs UA) (Condiciones de operación en la figura 5)

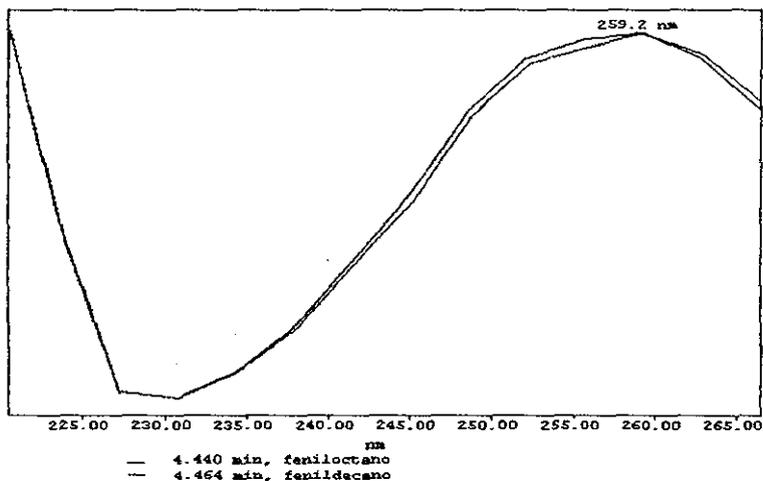


TABLA 11. Tabla Espectral (integración de 220-270nm).

#	tr(min)	Nombre	λ máxima	Máxima absorbancia
1	4.40	Feniloctano	220.4	2.5680
2	4.64	Fenildecano	220.4	2.5566

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

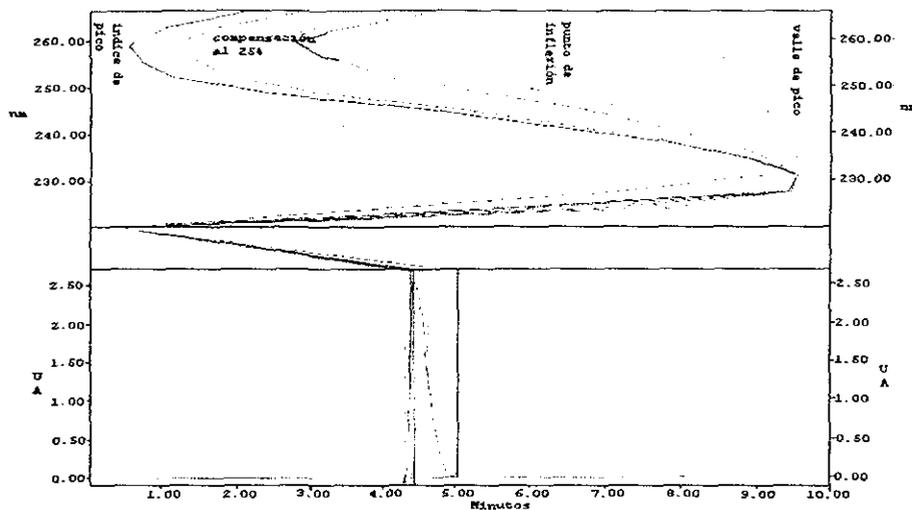
Con este espectro de absorción se puede realizar un análisis detallado sobre una mezcla donde los componentes tienen una estructura química muy similar. Aquí se tiene la separación de los dos compuestos que en el cromatograma tridimensional (figura 5) y en la figura 6 no se observan.

Se registran dos señales con tiempos de retención muy cercanos a 4.40min y 4.64min a la misma longitud de onda (220.4nm).

Además, con el índice espectral (figura 8) es más fácil notar la diferencia de la señal cuando es integrado en los valles del pico, la longitud de onda varía ligeramente, lo cual indica que dos señales están traslapadas en el mismo pico.

Como se mencionó, la mezcla de los dos estándares fueron corridos bajo diferentes condiciones de operación del equipo y cada uno de los resultados fueron idénticos y reproducibles. Estos datos fueron alimentados en la biblioteca espectral.

Figura 8. Índice espectral para el cromatograma de feniloctano y fenildecano (t vs. UA y t vs λ) (Condiciones en la figura 5)



En la parte inferior del cromatograma (t vs. UA,) de la figura 8, se obtiene un solo pico resultante de la separación. Sin embargo, al trabajar con el análisis espectral (sección superior), se determina la presencia de dos compuestos en el mismo pico.

Con el valle de pico (región extrema superior derecha), existe una pequeña diferencia en cuanto a las longitudes de onda (250-260 nm), donde no coinciden con el mismo valor, como es el caso de los puntos de inflexión, compensación del 25% y el máximo de pico.

Las determinaciones para este tipo de identificaciones, sólo serán posibles cuando se trate de sustancias puras, por ejemplo para un isómero en especial, evitando interferencias de otros compuestos. Con esta técnica de separación y análisis espectral se obtiene información muy valiosa ya que indica la presencia de dos o más componentes dentro del mismo perfil de elución.

Resultados de la inyección de una mezcla de estándares aromáticos

La corrida de esta serie de estándares fue realizada bajo condiciones de programa de flujos y gradiente de solvente y aplicación de doble inversión de flujo (método Aromáticos II).

El nombre de los estándares inyectados, así como la serie aromática a la que pertenecen y el tiempo de retención obtenido a partir del método de separación se reportan en la tabla 12.

Tabla 12. Serie de 11 estándares.

tr (min)	Nombre	Serie
4.465	Benceno	Monoaromática
9.865	Fenildecano	Monoaromática
10.732	Naftaleno	Nafténica
11.978	Mesitileno	Triaromática
12.315	Antraceno	Triaromática
16.948	Fluoranteno	Tetraromática
22.732	Criseno	Tetraromática
28.448	Benzoantraceno	Tetraromática
37.132	Benzopireno	Cinco anillo
39.332	Benzofluoranteno	Cinco anillos
40.265	Benzoperileno	Seis anillo

En la figura 9 se observa el cromatograma bidimensional obtenido a partir de la inyección de los estándares aromáticos, y la serie de bandas de absorción de la separación de la mezcla de los estándares. Desde este plano, se nota que al mismo tiempo de retención se obtienen máximos de absorción a diferentes longitudes de onda, lo cual corresponde a los compuestos que eluyen al mismo tiempo, además de que es posible notar para un mismo compuesto dos máximos de absorción.

En la figura 10 el cromatograma tridimensional nos da otra perspectiva de lo que es la absorbancia de los compuestos.

La principal diferencia radica en cuanto a las bandas, se manifiestan intensas en el cromatograma de la figura 9, pero los picos de absorbancia no se encuentran en la misma proporción.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Con esto, es necesaria la integración a una determinada longitud de onda. Donde se obtenga la representación de la mayoría de los picos con una absorbancia mayor.

En esta muestra, la señal detectada en el cromatograma tridimensional se observa la absorción sobre la línea base, que denota la presencia de los estándares puros a diferencia de una muestra de petróleo (figuras 19, 20 y 21).

Con la integración a una longitud de onda específica (aún cuando no sea la máxima), es posible hacer una selección de los compuestos de interés, enmascarando a otros que registren una absorbancia mayor a la de los indicados (figura 18).

En este caso se realizó la integración a una longitud secundaria de 211.7 nm.

La figura 9 es un cromatograma de separación de estándares (t vs. λ), la figura 10 es un cromatograma tridimensional para una serie de estándares (t vs. λ vs. UA) y la figura 11 representa la integración de picos del cromatograma para la serie de estándares (t vs. UA).

Figura 9. Cromatograma bidimensional de inyección de estándares aromáticos. (Condiciones de operación con el método "Aromáticos II").

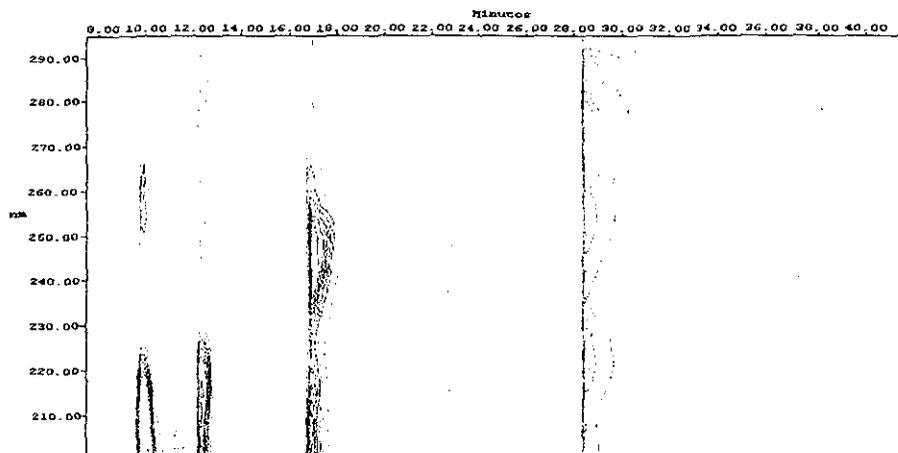
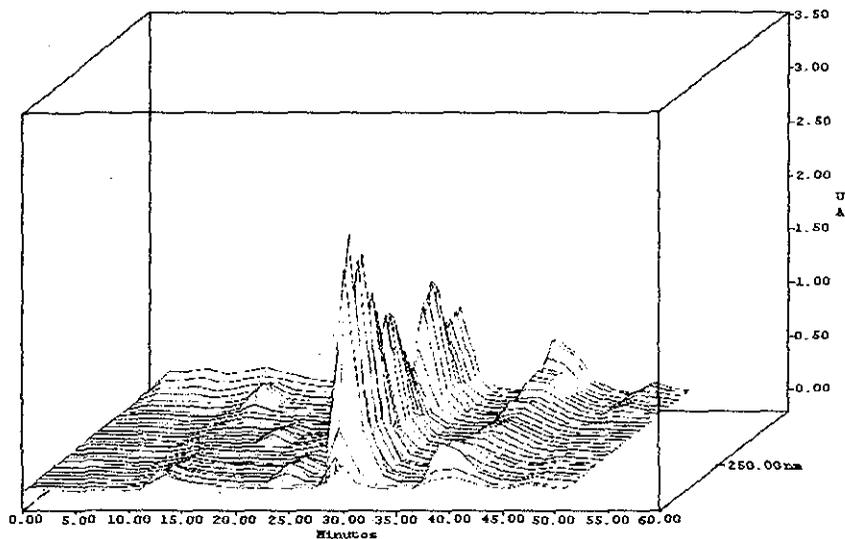
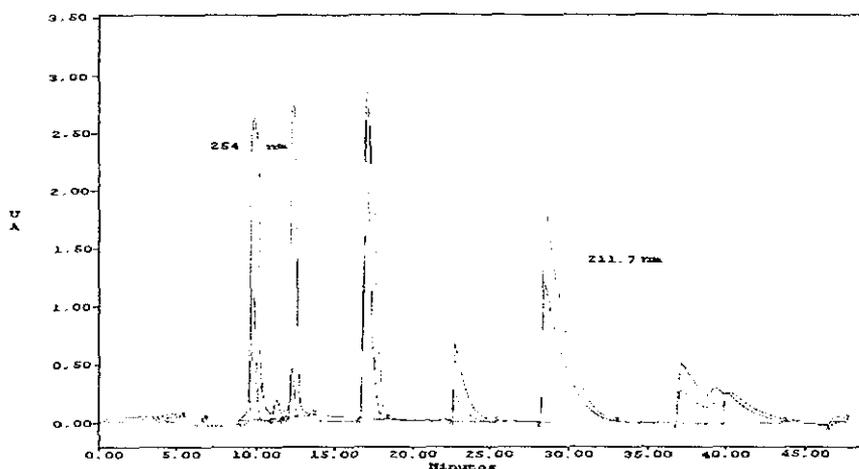


Figura 10. Cromatograma tridimensional de la inyección de estándares aromáticos. (Método "Aromáticos II")



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 11. Cromatograma de integración a dos longitudes de onda (254 y 211.7nm), estándares aromáticos. (Método "Aromáticos II")



La corrida de esta serie de estándares fue realizada bajo condiciones de programa de flujos y gradiente de solventes, aplicando doble inversión de flujo con el método "Aromáticos II".

De la integración se obtienen dos máximos de absorbancia a dos longitudes de onda (λ_1 254 nm y λ_2 211.7 nm). Se realizó la integración a 254 nm y con el método "Aromáticos II": área mínima 72 ; límite 7476 ; altura mínima 14 y ancho 15.

Con este método de reporte se obtuvieron 15 picos integrados (fig.12-14). Una vez realizadas las correcciones para dos fases, se pueden seleccionar los picos y eliminar los que puedan provenir de ruido.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

En las figuras 12 y 13 se muestran dos ejemplos de picos integrados donde las señales son diferentes bajo las mismas condiciones. En la figura 12 el pico 5/15, se encuentra totalmente resuelto de los demás picos y es integrado en todo el rango de elución en dos fases (ruido y solvente), el ángulo de pureza es mayor con respecto al límite de pureza (en ambas fases), además de que la impureza es relativamente baja (pero diferente para una muestra pura, figura 6, tabla 10).

Figura 12. Identificación de pico integrado (5/15) (t vs. UA). Método Aromáticos II. Estándares aromáticos.

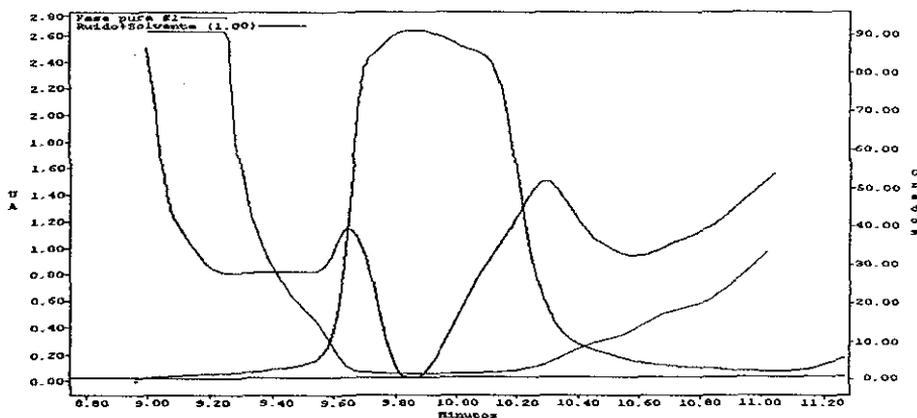


TABLA 13. Resultados de integración. $t_r = 9.882\text{min.}$
 $t_i = 8.965\text{min.}$ $t_f = 11.065\text{min.}$ int. B-V

Fase	Angulo pureza	Límite de pureza	Máxima impureza
1*	21.146	2.009	10.115
2*	7.900	1.980	10.265

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Figura 13. Eliminación de un pico integrado (14/15) (t vs.UA).

Método Aromáticos II. Estándares aromáticos.

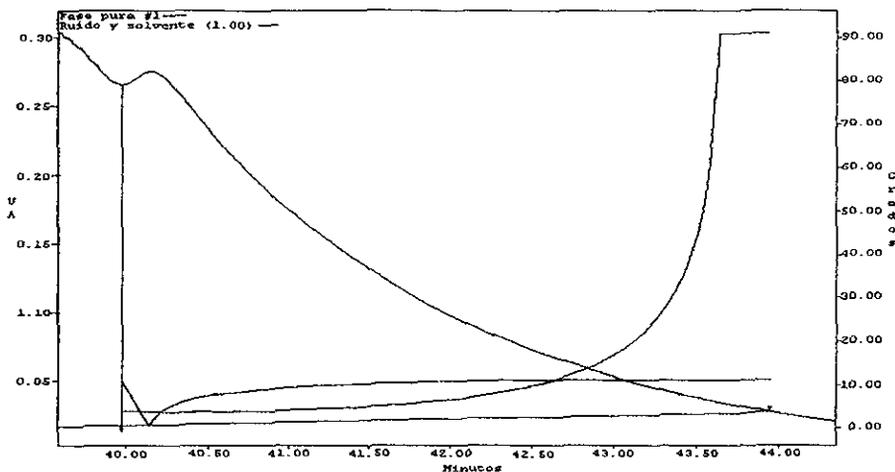


TABLA 14. Tabla de resultados de integración. $t_r = 40.148\text{min.}$
 $t_i = 39.982\text{min.}$ $t_f = 43.948\text{min.}$ int. V-B

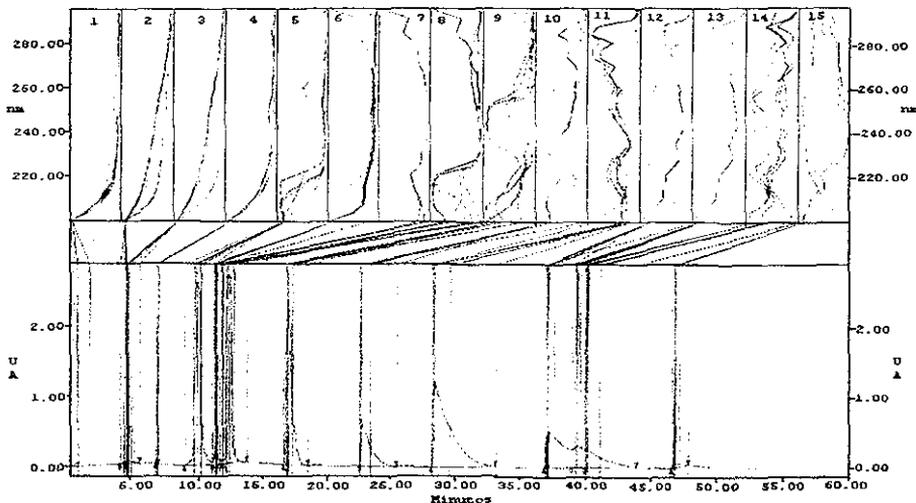
Fase	Angulo pureza	Límite de pureza	Máxima impureza
1*	8.058	3.905	39.982
2	0.049	5.249	41.448

En la figura 13, el pico 14/15 (de la inyección de la serie de estándares aromático), solo integra para la primer fase, ya que su impureza es elevada, se manejan los mismos parámetros de integración. Si para una selección más precisa se tomó como referencia la fase 2 (figura 12) consistentemente se deberá seguir la misma condición, para este pico, el límite de pureza es mayor que el ángulo de pureza por lo que el ángulo de impureza se eleva a 41.4 (fase 2). Bajo este criterio el pico que ha sido integrado para la fase 1 no lo será para la segunda, para toda integración que involucre la validación de un método es necesario la secuencia sistemática del criterio de evaluación.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Sin embargo, se hacen algunas consideraciones cuando es necesaria la separación de la información en la identificación de todos los compuestos, ya que es notoria la presencia de un pico que integra de valle a línea base.

Figura 14, Índice espectral para la serie de estándares. Método Aromáticos II.

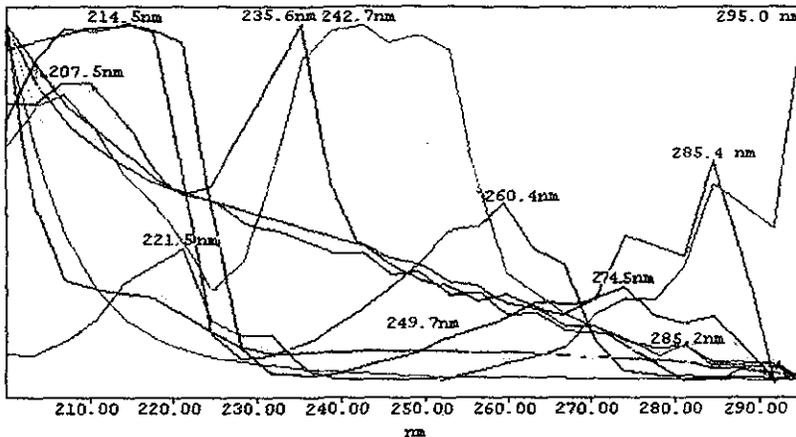


Esta figura se divide en dos secciones. En la parte inferior se muestra el cromatograma de elución (t vs. UA) y las líneas son los puntos de integración para cada pico: máximo de pico, compensación al 25% (peak offset 25%), punto de inflexión y valles.

En la parte superior (t vs. λ) integra 15 señales, las primeras cuatro no corresponden a algún compuesto, no se manifiesta absorción a determinada longitud de onda. Los picos que realmente corresponde a compuestos inician a partir de la señal 5 a la 15 (11 picos). De estas señales, las correspondientes a los picos 7, 11 y 13 pertenecen a un solo compuesto, las demás registran diferentes longitudes de onda en las integraciones, lo que indica que en algunos existe más de un compuesto eluyendo al mismo tiempo de retención.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 15. Espectro de la serie de picos integrados (1 a 10) para los estándares aromáticos. Método aromáticos II.



- 0.932 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 4.465 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 4.648 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 6.898 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 9.882 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 11.348 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 11.915 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 12.348 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 16.932 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)
- 22.732 min. 200-300 @ 3.6 nm, Estándares (BCK)

En este espectro se registran las absorbancias y longitudes de onda para los picos 1 a 10, con esta información y comparando los resultados y análisis previos se eliminan como picos de compuestos los primeros cuatro y a partir del quinto con una absorbancia de 2.62 se inicia la integración.

Los resultados finales se reportan en la tabla 15.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

TABLA 15. Parámetros de integración para la mezcla de estándares (1-11)

#	tr(min)	Nombre
1	4.465	Benceno
2	9.865	Fenildecano
3	10.732	Naftaleno
4	11.978	Mesitileno
5	12.315	Antraceno
6	16.948	Fluoranteno
7	22.732	Criseno
8	28.448	Benzoantraceno
9	37.132	Benzopireno
10	39.332	Benzofluoranteno
11	40.265	Benzoperileno

Una vez seleccionados los picos con los parámetros óptimos de integración, se realiza la identificación con la biblioteca espectral. En la figura 16 se muestran los espectros de la muestra y estándares. El pico con tiempo de retención de 9.882 min. es comparado con los de 4.703min. y 4.993 min.

Figura 16. Espectro comparativo para el pico con tr de 9.882min de la serie de estándares, con la biblioteca espectral(λ vs. UA).

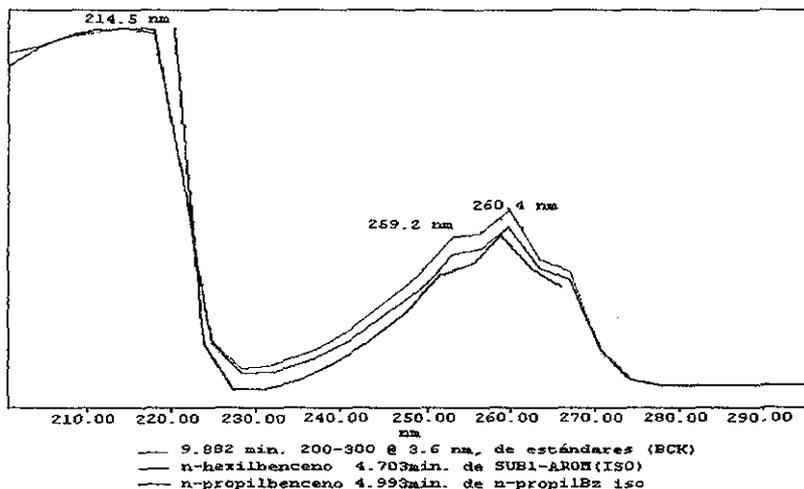


Tabla 16. Comparación con los espectros de la biblioteca.

#	tr (min)	Conc. ($\mu\text{g/ml}$)	λ_{max} (nm) ^a	Absorbancia max
1	9.882		214.5	2.62291
2	4.703	20	214.5	2.41908
3	4.993	20	220.4	1.37305

Se observa que aún cuando los tiempos de retención no son iguales, su longitud máxima, absorbancia, ángulo, límite e idealidad son muy similares. Por lo tanto, el estándar separado corresponde inequívocamente a un compuesto monoaromático, estas condiciones y comparaciones se aplican a cualquier mezcla inyectada por un método diferente.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Figura 17. Espectro comparativo para el pico con tr de 40.148min de una serie de estándares, con la biblioteca espectral (λ vs. UA)

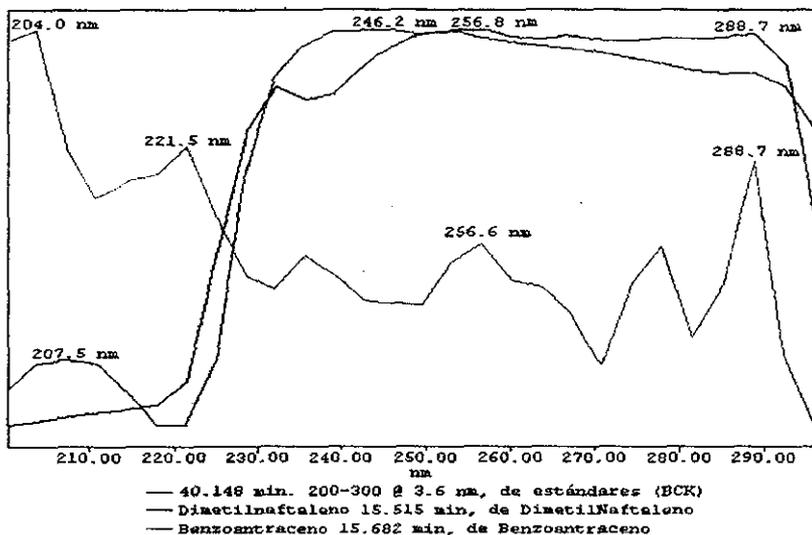


Tabla 17 Comparación con los espectros de la biblioteca.

#	tr (min)	Origen	Conc ($\mu\text{g/ml}$)	λ_{max} (nm)*	Absorbancia
1	40.148	Estándares		204.0	0.35313
2	15.515	Dimetilnaftaleno	10	246.2	2.69931
3	15.682	Benzoantraceno	20	256.8	2.57444

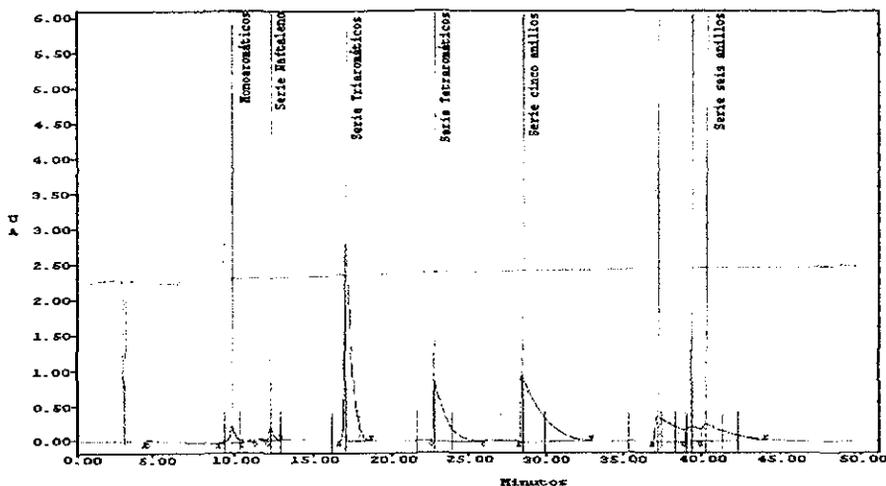
En la figura 17 se representa otro de los espectros comparativos, para el pico con tiempo de retención de 40.148 min.

Comparando los resultados de tabla 17 y figura 17, no existe una correspondencia entre la muestra y la biblioteca abierta, por lo que no se agrupa en ninguna de las dos series presentadas. Para esta muestra será necesario el compararla con otro estándar de la biblioteca.

Con estos dos ejemplos se muestra el manejo de los datos en tablas como en las figuras a nivel comparativo.

**TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN**

Figura 18. Cromatograma de integración de picos por serie homogénea (t vs. UA).



La integración de los compuestos por series homogéneas es el resultado del manejo de los datos experimentales. Para muestras de petróleo es representativo ya que es difícil la identificación completa de cada uno de los componentes. Con esta serie de estándares aromáticos grabados en un reporte de resultados, se obtiene información valiosa acerca de la composición de las mezclas de hidrocarburos por número de anillos.

Tabla 18. Estándares inyectados por series homogéneas.

tr (min)	Nombre	Serie
4.465	Benceno	Monoaromática
9.865	Fenildecano	Monoaromática
10.732	Naftaleno	Nafténica
11.978	Mesitileno	Triaromática
12.315	Antraceno	Triaromática
16.948	Fluoranteno	Tetraaromática
22.732	Criseno	Tetraaromática
28.448	Benzoantraceno	Tetraaromática
37.132	Benzopireno	Cinco anillo
39.332	Benzofluoranteno	Cinco anillos
40.265	Benzoperileno	Seis anillo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Aplicación del método a una muestra real de petróleo

Una muestra proveniente de la refinería de Tula, Hidalgo se inyectó bajo las condiciones óptimas de operación en un sistema de dos columnas amino, analítica y semipreparativa, con un programa de flujos y de composiciones de fase móvil y aplicando un doble inversión de flujo.

Se obtuvieron dos espectros, uno correspondiente al registrado por el detector de índice de refracción y el segundo por el detector de arreglo de diodos. En el espectro obtenido por arreglo de diodos se observa que existen máximos de absorbancia a diferentes longitudes de onda, las más representativas son las de 254nm y de 223nm. El cromatograma es seleccionado a 254 nm y los parámetros de integración son: ancho de pico 60, área mínima 95, altura mínima 57 y límite (threshold) 104. Con los parámetros asentados se obtienen 16 picos, los cuales se trataron analíticamente para determinar a que grupo aromático pertenecen.

TABLA 20 Datos de integración de 16 picos para la muestra de refinería de Tula, Hidalgo.

PICO	tr	I ^a	AL ^b	AP ^c	GRADOS (MI) ^d
1	6.55		56.8	40.1	3.3
2	8.6	*(1)	14.8	23.2	8.6
3	17.8		6.5	4.9	15.4
4	19.8		5.4	2.3	19.2
5	24.8	*(1)	4.2	13.6	20.3
6	27.47		4.2	0.6	27.9
7	28.17	*(1)	4.2	4.4	30.7
8	32.5	*(1)	4.2	8.38	30.8
9	33.8				
10	34.0		3.1	0.139	33.8
11	34.2	*(2)	4.4	21.0	35.6
12	43.27	*(1)	3.7	18.5	43.8
13	44.23		4.7	1.6	44.1
14	44.7	*(2)	4.8	24.0	44.3
15	48.2		17.0	5.1	47.7
16	49.18		43.8	9.6	48.9

I^a = Integrado (fase)

AL^b =Angulo limite

AP^c =Angulo de pureza

(MI)^d =Máxima impureza

La figura 19 es el cromatograma de la muestra, tiene bandas muy intensas con tiempos de retención indicados al final de la corrida, lo que indica en primer término la presencia de compuestos pesados e insaturados.

En la figura 21, se observan dos tendencias, las absorbancias al inicio y al final del cromatograma tridimensional, lo que indica que es posible integrar los máximos de picos entre dos longitudes de onda, como también se observa en la figura 22, los máximos representativos de esta muestra de petróleo se encuentran en 254.3 nm y 223 nm.

Con los resultados obtenidos de la integración, se hace un seguimiento similar al planteado para la serie de estándares.

Partiendo de la integración obtendríamos 26 picos (tabla 23), los cuales, como se observa, no agrupan en forma conveniente los resultados, por lo cual se manejan estos para conjuntar y agrupar a 15 picos que son los representativos de todos los compuestos por series homólogas. Los que fueron comparados con la información de la biblioteca espectral.

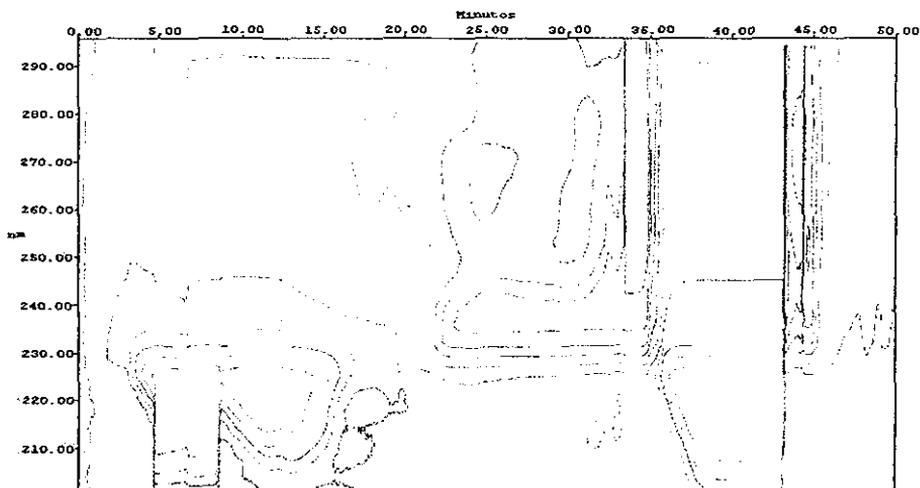
Se plantea la información para un pico de la muestra proveniente de la refinería de Tula, Hidalgo.

Tabla 21. Comparación de un pico ($t_r = 33.822\text{min}$) de la carga de Tula, Hidalgo. con los espectros de la biblioteca.

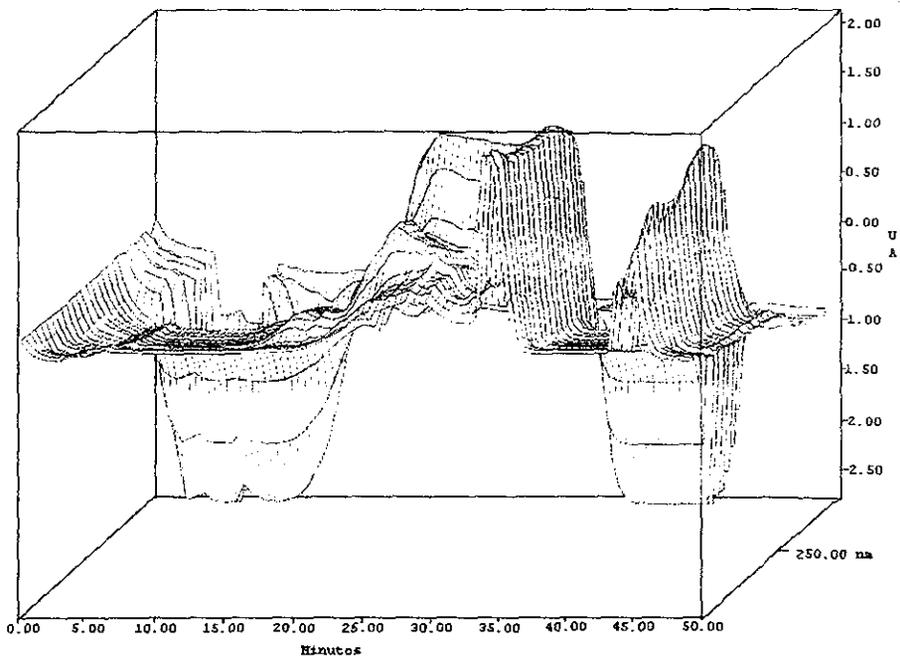
#	t_r (min)	Origen	Conc ($\mu\text{g/ml}$)	λ_{max} (nm) ^a	Absorbancia
1	33.822	Carga Tula		239.1	2.08584
2	15.515	Dimetilnaftaleno	10	246.2	2.69931
3	15.552	Benzofluoranteno	20	260.4	2.63461
4	15.693	Benzopireno	20	249.7	2.80145

Tabla 22. Idealidad de los estándares con la muestra.

#	Origen	Angulo	Límite	Integra	ideal
1	Dimetilnaftaleno	3.020	3.279		Sí
2	Benzofluoranteno	4.388	3.266	*	Sí
3	Benzopireno	5.181	3.281	*	Sí



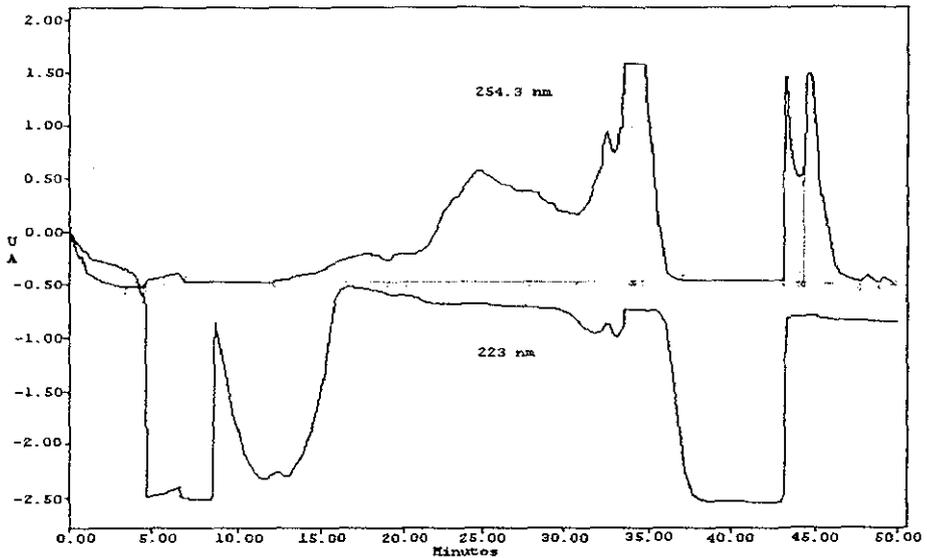
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



La figura 19 es un cromatograma de absorción de una muestra proveniente de la refinera de Tula, Hidalgo. (t vs. λ). La figura 20 es un cromatograma tridimensional para una muestra proveniente de la refinera de Tula, Hidalgo. (t vs. λ vs. UA), y la figura 21 muestra la integración de los picos obtenidos para una longitud de onda de 254.3 nm (t vs. λ).

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Figura 21. Cromatograma de integración a dos longitudes de onda 223 y 254.3 nm, para la muestra de Tula, Hidalgo.



La longitud de onda para integrar esta muestra fue de 254.3 m, ya que a este valor los límites de integración para los picos están más definidos (a pesar de no estar los suficientemente resueltos). Comparativamente con la longitud de 223 nm, las bandas de absorción son más anchas, lo que representaría mayor problema para definir los puntos de inflexión y otros parámetros para la integración.

Sin embargo, a la longitud de onda elegida, no integra para una señal importante que es observada en la parte inferior del cromatograma (intervalo 9-11 min). Para integrar este pico que se muestra con una concentración importante para la muestra separada, se realiza una doble integración a las dos longitudes de onda, pero para 223 nm se agrupan por bloques la información resultante

y no es necesario el tratamiento completo para cada señal, como lo es para 254.3 nm. Una vez obtenidos los datos, se separan los que nos ayudarán para incluir la información a la de la primer parte.

En la tabla 23 se reportan todos los parámetros cromatográficos para la muestra de la refinería de Tula, Hidalgo que se manejaron para los resultados finales.

Esto nos ayuda para un reporte que incluye la información que por las técnicas comunes de detección donde sólo se lee a una determinada longitud de onda en una corrida y después para leer en otra es necesario una nueva inyección y separación, por el método desarrollado se tiene un reporte completo acerca de toda la información concerniente a la muestra, haciendo eficiente el método de separación y análisis.

Tabla 23. Resultados de integración para la muestra proveniente de la refinería de Tula, Hidalgo.

#	Nombre	tr (min)	Area ($\mu\text{V}\cdot\text{s}$)	Altura (μV)	Integ.	% Area	% Altura
1	Saturados	2.433	28582508	506050	B-B	7.38	6.07
2		3.450	27788313	569364	B-B	5.31	6.83
3		5.567	27511103	527215	B-V	5.26	6.32
4		6.133	8185947	513649	V-V	1.57	6.16
5		8.217	99636745	851801	V-V	19.06	10.21
6	Monoaromáticos	10.583	18876561	293703	V-V	3.61	3.52
7		11.350	47066810	382938	V-V	9.00	4.59
8		14.500	50065031	203455	V-V	9.58	2.44
9	Serie Antraceno	19.133	2450940	56928	V-V	0.47	0.68
10		19.967	1254268	37197	V-B	0.24	0.45
11	S.Benzoantraceno	27.983	63813	3258	B-B	0.01	0.04
12		29.067	527351	11427	B-B	0.10	0.14
13	S. Benzopireno	32.433	2454655	106141	B-V	0.47	1.27
14		33.017	5523574	196970	V-V	1.06	2.36
15		33.600	28022567	669089	V-V	5.36	8.02
16		34.800	20581701	440219	V-V	3.94	5.28
17	S. Benzoperileno	35.167	11866343	496967	V-V	2.27	5.96
18		35.250	4552398	453921	V-B	0.87	5.44
19		37.017	66392769	382986	B-V	12.70	4.59
20		39.867	5057414	132614	V-B	0.97	1.59
21	Serie Polar	42.250	100896	11540	B-V	0.02	0.14
22		43.417	22208044	452618	V-V	4.25	5.43
23		44.133	9649896	493124	V-B	1.85	5.91
24		44.533	22068634	500128	B-V	4.22	6.00
25		47.517	1137285	27875	V-V	0.22	0.33
26		48.633	1204303	19534	V-B	0.23	0.23

Tabla 23 (continuación). Resultados de integración para la muestra proveniente de la refinería de Tula, Hidalgo (considerado crudo - maya).

#	I	F	Pendiente	Compensación	K'	Selectiv.	Ancho LE
1	0.050	2.550	-1009.71386	52.905693	1.433		2.5000
2	2.617	4.350	-0.74533	-2528.452148	2.450	1.709	1.7333
3	4.950	6.050	162.99112	-3324.223877	4.567	1.864	1.1000
4	6.050	6.317	162.99112	-3324.223877	5.133	1.124	0.2667
5	6.317	9.400	162.99112	-3324.223877	7.217	1.406	3.0833
6	9.400	10.683	162.99112	-3324.223877	9.583	1.328	1.2833
7	10.683	13.417	162.99112	-3324.223877	10.350	1.080	2.7333
8	13.417	19.117	162.99112	-3324.223877	13.500	1.304	5.7000
9	19.117	19.950	162.99112	-3324.223877	18.133	1.343	0.8333
10	19.950	21.033	162.99112	-3324.223877	18.967	1.046	1.0833
11	27.817	28.417	30.74539	-745.150024	26.983	1.423	0.6000
12	28.867	30.367	27.75121	-672.291199	28.067	1.040	1.5000
13	31.700	32.450	-679.78919	21714.037109	31.423	1.120	0.7500
14	32.450	33.033	-679.78919	21714.037109	32.017	1.019	0.5833
15	33.033	33.933	-679.78919	21714.037109	32.600	1.018	0.9000
16	33.933	34.817	-679.78919	21714.037109	33.800	1.037	0.8833
17	34.817	35.233	-679.78919	21714.037109	34.167	1.011	0.4167
18	35.233	35.600	-679.78919	21714.037109	34.250	1.002	0.3667
19	35.883	39.850	505.02225	-20611.822266	36.017	1.052	3.9667
20	39.850	41.100	505.02225	-20611.822266	38.867	1.079	1.2500
21	42.000	42.267	-206.86658	8831.078125	41.250	1.061	0.2667
22	42.267	43.817	-206.86658	8831.078125	42.417	1.028	1.5500
23	43.817	44.367	-206.86658	8831.078125	43.133	1.017	0.5500
24	44.383	47.317	56.39615	-2850.036133	43.533	1.009	2.9333
25	47.317	48.050	56.39615	-2850.036133	46.517	1.069	0.7333
26	48.050	49.583	56.39615	-2850.036133	47.633	1.024	1.5333

Tabla 24. Composición porcentual de grupos, para una muestra de Crudo Maya

Serie	% Area
Saturados	38.58
Monoaromáticos	22.19
S.Antraceno	0.71
S.Benzoantraceno	0.11
S.Benzopireno	10.83
S.Benzoperileno	16.81
S.Polar	10.79

Con ésta técnica espectroscópica se tiene herramientas para el tratamiento de los datos experimentales en una misma corrida de separación.

Con las comparaciones espectrales entre las muestras y la biblioteca, es posible la identificación para la serie de picos detectados e integrados.

Como se planteó en la página 54, donde la muestra no presenta el mismo tiempo de retención (9.882min con 4.703min y 4.993min muestra-biblioteca, respectivamente), si iguala otras propiedades espectroscópicas, como son factor de retención (K') longitud de onda máxima (λ_{max}) y absorbancia, además de cuantificar la concentración de la muestra problema.

En el planteamiento de los resultados reportados en la figura 14 y tabla correspondiente, la eliminación cuando no cumple con los mismos parámetros cromatográficos.

Al final de todas estas consideraciones, por medio de un método de reporte se indican los compuestos que están presentes en la muestra por series homólogas.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

- Se crearon métodos de separación y programación de funciones de operación desde el Software Millennium (V.2.01.11), para la bomba cuaternaria, detector de arreglo de diodos y detector por refractometría diferencial.
- Se desarrollaron métodos de separación con programas de flujo y composición de fase móvil para la separación de compuestos poliaromáticos en fracciones pesadas de petróleo.
- La combinación de parámetros de flujo y composición de la fase móvil, además del cálculo de la inversión de flujo (en función de las dimensiones de las columnas), nos permitió hacer más eficiente la separación e identificación de las fracciones.
- Se logró la separación y caracterización de las fracciones pesadas del petróleo, saturadas, aromáticas y polares por los métodos descritos con anterioridad.
- Por medio de la aplicación del software y realizando un análisis de los resultados, es posible la identificación de compuestos que presentan un solo perfil de elución, con un tiempo de retención muy cercano (feniloctano y fenildecano).

- Con el registro de los estándares se crearon bibliotecas espectrales que ayudan en la identificación y cuantificación de los grupos saturados, aromáticos y polares de una mezcla.
- Con la máxima eficiencia de separación, considerando los parámetros cromatográficos, se podría realizar la validación de los métodos.
- Estos resultados servirán para caracterizar las muestras, además de brindar un apoyo para el seguimiento de diversos tratamientos químicos entre los que podemos citar: fraccionamiento, catálisis, hidrodesintegración.
- Con el desarrollo de esta tesis, el equipo de cromatografía de líquidos de alta resolución es integrado a los métodos de investigación del crudo nacional.
- Finalmente, el trabajo realizado tiene como objeto transmitir el conocimiento del método por cromatografía de líquidos de alta resolución el cual desarrollé exitosamente en beneficio y aportación a la investigación de la composición del petróleo nacional, principalmente en el crudo Maya que está compuesto en su gran mayoría de grupos aromáticos pesados, sirviendo como un apoyo para el desarrollo de la industria petrolera.

PROYECCION

7. PROYECCIÓN:

1. Investigación y desarrollo de nuevas tecnologías relacionadas a la industria del petróleo y soporte para estas actividades.
2. Promoción en la cooperación internacional en el desarrollo y manejo de tecnología relacionada a la industria del petróleo.
3. Recabar e informar acerca de los resultados obtenidos durante el trabajo a desarrollar.
4. Soporte para el extenso uso de la gasolina y el incremento en la eficiencia de los sistemas energéticos del petróleo. (Una vez analizados, caracterizados y cuantificados los componentes en las gasolinas, en los procesos comunes de refinación, pueden ser eliminados o disminuidos en concentración para que cumplan con las normas oficiales).
5. Soporte para la aplicación de la información obtenida del trabajo en el proceso de refinación.

APENDICE

8. APENDICE

1 Simbología (o descripción)

ϵ :	Coefficiente de absorptividad
nm:	Nanómetro
λ :	Longitud de onda máxima
HPLC:	(High Performance Liquid Chromatography) Cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR)
RD:	Refractometría diferencial
DAD:	Detector de arreglo de diodos
CG:	Cromatografía de gases
UV:	Región del ultravioleta
RMN:	Resonancia magnética nuclear.
CP:	Centipoises (unidad de viscosidad)

Efecto batocrómico: Corrimiento de las bandas de absorción

Inversión de flujo: Término empleado para designar la inversión del sentido del flujo a través del sistema de columnas cromatográficas ; esto es, si se tiene el flujo normal de acuerdo a la conexión en la válvula Rheodyne donde se espera sale la muestra, ésta se invierte introduciendo la fase móvil.

2 Descripción (Parámetros cromatográficos)

Tiempo de volumen muerto. El tiempo de volumen muerto es el tiempo de elución (dado en minutos) de un compuesto no retenido o el tiempo de recorrido de la fase móvil a través de la columna cromatográfica.

Platos teóricos. Determinado por el número de repartos de la muestra en la columna cromatográfica, se puede obtener con el método de las tangentes, $5\sigma, 4\sigma, 3\sigma, 2\sigma$ (punto de inflexión), altura media y asimetría. El cálculo del número de platos teóricos determina la eficiencia de la columna. Se pueden realizar dichos cálculos usando las ecuaciones:

La **resolución** entre los picos es un parámetro para asegurar que el sistema tiene el poder resolutivo para separar compuestos en una mezcla que están eluyendo muy cercanamente.

La ecuación de la resolución (R) aplica el método de las tangentes dibujadas al 50% de la altura del pico hasta la intersección con la línea base.

El **factor de capacidad** (k') es una medida del tiempo de retención de una muestra, relativo al volumen muerto de la columna.

La **selectividad** (α) es la retención relativa de dos picos en un cromatograma (la relación entre dos valores de K').

El **factor de coleo** (T) establece la máxima asimetría para un pico.

Para una óptima separación deberá tenderse a aumentar el número de platos teóricos, con la altura equivalente de platos teóricos ; con ello, se obtiene una máxima eficiencia.

PARAMETROS	DEFINICION
Tiempo de retención	Tiempo de retención del pico (min).
Tiempo de retención relativo	Tiempo de retención menos el tiempo de retención del pico de referencia
Relación del tiempo de retención	Tiempo de retención dividido entre el tiempo de retención del pico de referencia
Inicio de pico	Tiempo de inicio del pico (min).
Fin de pico	Tiempo donde termina el pico (min).
Inicio de corrida	Tiempo donde inicia la línea base (min).
Fin de corrida	Tiempo de fin de línea base (min).
Area	Conteo del área del pico
Altura (H)	Altura del pico (en microvolts, μV).
Pendiente	Pendiente de la línea base $\mu V/seg$).
Compensación	Compensación de la línea base (μV).
% de altura	Altura de un pico como un porcentaje de todas las alturas de los picos integrados.
% de área	Area de un pico como un porcentaje de todos los picos integrados.
Respuesta	Area, altura o una relación, dependiendo del parámetro considerado y si está presente un estándar interno.
Cantidad	Cantidad del pico de una muestra basado en una tabla de comparación de pesos.
% cantidad	Cantidad de un pico como un porcentaje de todas las cantidades de los picos integrados.
K prima (K')	Factor de capacidad.
Resolución	Doble producto de la diferencia de los tiempos de retención de picos adyacentes, entre el ancho del pico seleccionado.
Selectividad (α)	Relación entre los tiempos de retención de picos adyacentes, restando a cada uno el volumen muerto.
Asimetría @ 4.4	Asimetría del pico (coleo) a 4.4% de su altura.
Asimetría @ $(4.4)^2$	Asimetría del pico al cuadrado del 4.4% de su altura.
Asimetría @ 10	Asimetría del pico al 10% de su altura.
Asimetría @ $(10)^2$	Asimetría del pico al cuadrado del 10% de su altura.
Platos de asimetría	Asimetría basado en el conteo de platos.
Coleo	Número de platos teóricos (N) basado en el método de las tangentes.
Altura media	N calculado por ancho del pico al 50% de la altura del pico.
2 sigma (2σ)	N calculado por ancho del pico al 60.7% de la altura del pico.
3 sigma (3σ)	N calculado por ancho del pico al 32.4% de la altura del pico.
4 sigma (4σ)	N calculado por ancho del pico al 50% de la altura del pico.

PARAMETROS	DEFINICION
5 sigma (5σ)	N calculado por ancho del pico al 50% de la altura del pico.
Ancho @ línea base	Ancho del pico a la línea base determinado por el método de proceso.
Ancho @ tangente	Ancho del pico a la línea base intersectado por la tangente
Resolución relativa	Relación del tiempo de retención sobre el ancho del pico a la línea base (método de las tangentes).
Ancho @ 4.4%	Del pico a 4.4% de la altura.
Ancho @ 5%	Del pico al 5% de la altura.
Ancho @ 10%	Del pico al 10% de la altura.
Ancho @ 13.4%	Del pico al 13.4% de la altura.
Ancho @ 32.4%	Del pico al 32.4% de la altura.
Ancho @ 50%	Del pico al 50% de la altura.
Ancho @ 60.7%	Del pico al 60.7% de la altura.

3 Formulario:

$$K' = \frac{tr}{V_0} - 1.00$$

K' = factor de capacidad
 tr = tiempo de retención del pico
 V_0 = volumen a tiempo muerto.

$$\alpha = \frac{tr_2 - V_0}{tr_1 - V_0}$$

α = selectividad
 tr_1 = tiempo de retención del primer pico
 tr_2 = tiempo de retención del segundo pico
 V_0 = volumen a tiempo muerto.

$$R = \frac{2(tr_2 - tr_1)}{W_2 - W_1}$$

R = resolución
 tr = tiempo de retención
 W = ancho del pico.

$$x_m = \sum \frac{(X_i)}{n}$$

x_m = media aritmética de todas las observaciones.
 X_i = una observación.
 n = número de observaciones.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X_i - x_m)^2}{n-1}}$$

S = desviación estándar.
 x_m = media aritmética de todas las observaciones.
 X_i = una observación.
 n = número de observaciones.

$$R = \frac{100}{x_m} \sqrt{\frac{\sum (X_i - x_m)^2}{n-1}}$$

R = desviación estándar en porcentaje.
 Xm= media aritmética de todas las observaciones.
 Xi= una observación.
 n = número de observaciones.

$$N = 25 \left(\frac{tr}{W} \right)^2$$

N = número de platos teóricos.
 tr = tiempo de retención
 W = ancho del pico al 4% de la altura.

$$N = \frac{41.7 \left(\frac{tr}{W} \right)^2}{\left(\frac{A}{B} + 1.25 \right)}$$

N = número de platos teóricos.
 tr= tiempo de retención
 W = ancho del pico al 10% de la altura
 A = tiempo de retención al final del pico menos el 10% de la altura
 B = tiempo de inicio del pico a tr menos el 10% de la altura.

$$N = 16 \left(\frac{tr}{W} \right)^2$$

N = número de platos teóricos.
 tr = tiempo de retención
 W = ancho del pico al 13.4% de la altura.

$$N = 9 \left(\frac{tr}{W} \right)^2$$

N = número de platos teóricos.
 tr = tiempo de retención
 W = ancho del pico al 32.4% de la altura.

$$N = 5.54 \left(\frac{tr}{W} \right)^2$$

N = número de platos teóricos.
 tr = tiempo de retención
 W = ancho del pico al 50% de la altura.

$$N = 4 \left(\frac{tr}{W} \right)^2$$

N = número de platos teóricos.

tr = tiempo de retención

W = ancho del pico al 60.7% de la altura.

$$T = \frac{W}{2xF}$$

T = factor de altura

W = ancho del pico al 5% de la altura del pico.

F = tiempo de inicio del pico al tr al 5% de la altura.

$$\left(As_{10} \right)^2 = \left(\frac{A}{B} \right)^2$$

As₁₀ = asimetría al 10%

A = tiempo de retención al fin del pico al 10% de la altura

B = tiempo de inicio del pico al 10% de la altura.

$$As_{4.4} = \frac{A}{B}$$

As_{4.4} = asimetría al 4.4%

A = tiempo desde tr al fin del pico a 4.4% de la altura

B = tiempo desde el inicio del pico a tr menos el 4.4% de la altura.

$$\left(As_{4.4} \right)^2 = \left(\frac{A}{B} \right)^2$$

As_{4.4} = asimetría al 4.4%

A = tiempo desde tr al fin del pico a 4.4% de la altura

B = tiempo desde el inicio del pico a tr menos el 4.4% de la altura.

$$As_{10} = \frac{A}{B}$$

As₁₀ = asimetría al 10%

A = tiempo desde tr al fin del pico 10% de la altura

B = tiempo desde el inicio del pico a tr menos el 19% de la altura.

4 Especificaciones del equipo

Bomba Waters 600S Controller

Especificaciones de Operación.

CONDICIÓN	ESPECIFICACIÓN
Numero de eluyentes	Uno a Cuatro
Modo de operación	Gradiente, Isocrático, Programa de flujos.
Rango del flujo	0.00 a 5.00ml/min. Incrementos de 0.01ml
Sistema de volúmenes	Sin mezclas menores a 500ml, con mezclas menores a 750ml
Rango de composición	0 a 100% programable en incrementos del 1% para cada uno de los reservorios: A,B,C y D. Cuya suma total de composición deberá ser igual al 100%
Precisión en la composición	Mejor que el 1%, independiente- mente de la presión
Sparging	Estándar, gas Helio, entrada del gas en un rango de presión de 50 a 150 psi (3.5 a 10.5 kg/cm ²)
Flujo de Helio	0 a 100 ml/min, programable en incrementos de 1 ml/min.
Presión máxima	4000 a 5000 psi (281.2 a 351.5 kg/cm ²).
Límites de presión	0 a 4950 psi (0 a 348.0 kg/cm ²)
Programa de almacenaje	Almacena hasta 15 tablas (gradientes, eventos y programas y detector) con un máximo de 15 pasos por tabla. Almacena por una base de tiempos un programa multimétodos hasta con 48 pasos individuales. Almacena los parámetros y tablas.
Perfiles de gradientes	11 tipos de gradientes (incluyendo lineal, cóncavo y convexo). Hasta 80 segmentos pueden ser trazados.

5 Índice Espectral

Para los índices espectrales de las figuras 5 y 11.

Spectral Plot¹

Chromatogram Plot²



¹Para múltiples fases puras (1-4, el eje horizontal es absorbancia y el eje vertical es longitud de onda.

²Muestra los picos detectados durante la integración. El eje horizontal es tiempo y el eje vertical es absorbancia.

Tipos de espectros.

Índice de pico. Máximos para picos.

Puntos de inflexión. Muestra el punto de inflexión aproximadamente a la mitad de la altura del pico.

Valle de pico. Muestra los valles entre dos picos fusionados o desde la línea base entre picos resueltos. Siempre se compara el máximo con el espectro de valles.

Compensación de pico. Muestra el espectro extraído de:

- Entre el índice de pico (peak apex y liftoff).
- Entre el índice de pico (peak apex y touchdown).

La compensación es un porcentaje seleccionado de línea base desde el índice de pico al inicio de la detección del pico al final del punto de detección del pico.

Máxima impureza. Muestra el espectro donde la relación del ángulo de pureza y el ángulo del ruido es más grande y entonces se calcula por la pureza del pico. Con máxima impureza se selecciona el espectro donde la pendiente es muy diferente del índice de espectro.

Esta opción no es aplicable si no se realizó la prueba de pureza en el método de proceso antes de calcular los resultados.

Library Match. Muestra la mejor comparación con la biblioteca, para identificar un espectro desconocido con uno conocido.

Smoothing es aplicado para reducir ruido (especifica la longitud del filtro Savitsky-Golay). Se usa el valor más bajo posible para evitar sobredistorsión del espectro. Si la derivada es 1-4 los valores van desde 5-31.

Angulo de pureza

Indica la homogeneidad espectral relativa a lo largo de los picos. El ángulo de pureza puede calcularse para múltiples fases (1-4). Los rangos se encuentran entre 0-90. Un valor de 0 indica homogeneidad espectral. Los valores pequeños indican un grado de homogeneidad y los elevados indican un alto grado de heterogeneidad. Este ángulo se compara con el límite de pureza para interpretar el resultado de picos.

La heterogeneidad espectral puede ser causada por coelución, ruido, alta concentración de la muestra, error fotométrico, solvente o cualquier combinación de estas condiciones.

Limite de pureza

Indica el ángulo de pureza más largo que puede ser debido a coelución, ruido, alta concentración de la muestra, error fotométrico, y/o solvente y no debido a una actual diferencia en la pendiente espectral. También, se calcula para diferentes fases (1-4). Los límites se encuentran entre 0-90.

Un pico cromatográfico puede ser espectralmente impuro debido a la coelución o uno o más efectos no ideales.

Para un análisis de contraste espectral óptimo, se debe asegurar que el máximo de absorbancia a cualquier longitud de onda sea menor que una unidad.

El papel del límite de pureza es distinguir entre la impureza (como medida de ángulo de pureza) que es debido sólo a efectos no ideales (donde el ángulo de pureza es menor que el límite de pureza) y es debido a la coelución (donde el ángulo de pureza es mayor que el límite de pureza).

El registro de un límite correcto de pureza depende de:

- Indicar apropiadamente el intervalo del ruido.
- Seleccionar el ángulo del solvente.

El análisis de la pureza del pico y gráfica del ruido en unión con el ángulo de pureza calculado y el valor del límite de pureza es en suma para identificar un compuesto puro.

**ESTA TESIS NO SALI
DE LA BIBLIOTECA**

REFERENCIAS

REFERENCIAS:

1. Sullivan, R. Boduszynski, M. Fetzer, J. *Energy & Fuels*, 3 (1989) 603-612.
2. Akhlaq, M. *Journal of Chromatography*, 644 (1993), 253-271.
3. Wheals, B. White, P. *Journal of Chromatography*, 176 (1979), 421-426
4. Akhlaq, M.S. *Journal of Chromatography*, 644 (1993), 253.
5. Ali M., Nofal, W. *Fuel Science and Technology International*. 12 (1) (1994), 21.
6. Varotsis, N. Pasadakis, N. Gaganis, V. *Fuel*, 77 (13) (1998) 1495-1502
7. *Guides and manuals of Waters*, 1994. Waters Corporation. 34 Maple Street, Milford, Massachusetts 01757, USA.
8. Boduszynski, M.M. *Energy & Fuels*, 2 (1988) 597-613.
9. Fetzer, J. Biggs, W. *Journal of Chromatography*, 295 (1984) 161-169; 322 (1985) 275-286; 386 (1987) 87-101.
10. Grizzle, P. Sablotny, D. *Analytical Chemistry*, 58 (12) (1986), 2389.
11. *Usos y Abusos de las Gasolinas*. Isaac Shiffter, Esteban López Salinas. La ciencia para todos.
12. *Manual de procesos quimicos en la industria*.
13. Ramnäs, O. Östermark, U. Petersson, G. *Journal of Chromatography*, 638. (1993), 65
14. Ueda, K. Matsui, H. Malhotora, R. Nomura, M. *Sekiyu Gakkaishi*, 34 (1). (1991), 62

15. Speight, James G. *The Chemistry and Technology of Petroleum*. Marcel Dekker, Inc. New York, 1980.
16. Qian, K. Hsu, Ch. *Analytical Chemistry*, 64 (20), (1992), 2327-2333.
17. Severin, D. Deymann, H. Glinzer, O. *Analytical Chemistry*, 54 (1982), 824-825
18. Karlesky, D. Shelly, D. Warner, I. *Analytical Chemistry*, 53 (13), (1981), 2146-2147.
19. Wise, S. Chesler, S. Hertz, H. *Analytical Chemistry*, 49 (14) (1972), 2306.
20. Hertz, H. Brown, J. S. Chesler, S.. *Analytical Chemistry*, 52 (1980), 1650-1657.
21. Akhlaq, M.S. Gotze, P. *Journal of Chromatography*, 677 (1994), 265.
22. Félix, G. Thoumazeau, E. Colin, JM. Vion, G. *Journal Of Liquid Chromatography*, 10(10), (1987), 2115-2132.
23. Maedeer, M. *Analytical Chemistry*, 59 (1987), 527-533.
24. Mohammed A. Wasef, A. *Fuel Science Technology*, 12 (1994), 21-24.
25. Mourey, T. Siggia, S. Uden. *Journal Analytical Chemitry*, 52 (1980), 885-891.
26. Dark, W. *Journal of Liquid Chromatography*, 5 (1982) 1645-1648.
27. Keller, H. Massart, D. *Analytical Chimica Acta*, 256(1992), 125-128; 263 (1992), 21-31.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

28. Sugimoto, Y. Tunnukij, K. Miki, Y. Yamadaya, S. **Sekiyu**
Gakkaishi, 35 (4), (1992), 339.