# La espectroscopia infrarroja y el método de calibración multivariada de mínimos cuadrados parciales en la predicción del índice de octano experimental de gasolinas

**Angel Dago-Morales, Reinaldo Fernández Fernández, María Dolores Ruiz Martínez, Mercedes Balmayor Moure, Mercedes Laza Noa, Jorge Enrique Ross Echavarría,* Mirtha Otero de Zayas* y Leonardo Simeón Armada.***

Laboratorio de Química Analítica, *Centro de Investigaciones del Petróleo,* Washington No. 169 esquina a Churruca, Cerro, Zona Postal 12000, Ciudad de La Habana. *Laboratorio de Combustibles, Refinería ''Ñico López'', Cuba.

Recibido: 12 de octubre de 2004. Aceptado: 17 de octubre de 2005.

Palabras clave: calibración multivariada, método de mínimos cuadrados parciales, espectroscopia infrarroja de región media, gasolina, índice de octano experimental.

Key words: multivariate calibration, partial least squares method, mid-band infrared spectroscopy, gasoline, research octane number.

**RESUMEN**. El índice de octano experimental (RON) es uno de los ensayos esenciales en el control de calidad de gasolinas, el cual está relacionado con sus características detonantes. El RON se determina tradicionalmente mediante un procedimiento normalizado por la ASTM, para lo cual, se utiliza un equipo de elevado precio, cuya manipulación y mantenimiento en óptimas condiciones es también costoso. Además, requiere de una intensa atención por parte del analista y emplea apreciables cantidades de muestra y reactivos. Las normas de calidad especifican que las pruebas para la certificación del producto final tienen que realizarse mediante procedimientos normalizados, pero las pruebas de rutina para el control de calidad de la producción pueden ser realizadas usando métodos alternativos. La espectroscopia infrarroja de región media con transformada de Fourier (FT-MIR) combinada con el análisis de calibración multivariada es una técnica versátil, eficaz y exacta para el cálculo del RON en gasolinas y naftas. El objetivo de este trabajo consistió en desarrollar de un método alternativo para la predicción del número de octano experimental empleando la espectroscopia FT-MIR y el método de calibración multivariada de mínimos cuadrados parciales (PLS). En la calibración, se utilizaron 35 muestras de gasolina de variada composición, a las cuales se les determinó el RON mediante procedimiento normalizado. Se obtuvo el espectro FT-MIR de cada una de las muestras y se correlacionaron con el valor de RON obtenido por el método normado. Se utilizó el método PLS de calibración multivariada. El número óptimo de variables latentes de los modelos y la detección de las muestras discrepantes se determinaron por validación cruzada. El modelo óptimo se seleccionó tomando en consideración el error estándar de predicción (SEP) mínimo.

**ABSTRACT.** One of the essential tests for the quality control of automotive gasolines is the determination of their knock characteristics by the research octane number (RON). The RON is traditionally determined by a widely used ASTM standard procedure, for which standard expensive equipment is needed, and which is also expensive to run and maintain under optimal conditions. Moreover, it requires intensive attention by the analyst (time consuming) and uses large amounts of sample and reagents. Current guides specify that tests for certifying the end product have to be carried out using standard method, but everyday tests which are used to monitor production units could be performed using alternative methods. Mid-band Fourier transform infrared spectroscopy (FT-MIR) combined with multivariate calibration analysis is a versatile efficient and accurate technique for RON estimation of gasolines and naphthas. This paper focusing on developing an alternative method for predicting the research octane number of regular gasolines by using FT-MIR spectroscopy combined with partial least-squares (PLS) multivariate calibration analysis. 35 gasolines samples with varied composition were taken for calibration. They were subject to the classical RON determinations by using standard ASTM procedure. An FT-MIR spectrum was collected from each sample and these spectra were correlated to the RON obtained by standard method. The PLS regression technique was used for statistical modeling. The optimal number of latent variables of the models and the outliers sample detection were determined by cross-validation. The optimal model chosen was the result of the minimum standard error of prediction (SEP).

## INTRODUCCION

El octanaje o número de octano de la gasolina es un parámetro que refleja la facilidad con que esta se quema y cuánta detonación produce. El 2,2,4-trimetilpentano tiene excelentes propiedades combustibles y se le asigna en una escala arbitraria el índice de octano igual a cien. El heptano normal tiene malas propiedades de combustión y se le asigna un número de octano igual a cero. La evaluación de las propiedades antidetonantes se determinan mediante dos métodos normalizados por la American Society for Testing Materials (ASTM):[1,2] el índice de octano experimental (Research Octane Number, RON) y el índice de octano motor (Motor Octane Number, MON). Ambos métodos utilizan equipos de elevado precio y requieren de un personal muy especializado para su manipulación y en la

evaluación de los resultados; consumen además, un volumen considerable de muestra y de reactivos (aproximadamente 1 L de muestra y alrededor de 500 ml de una mezcla de isooctano y n-heptano). Con respecto a la contaminación ambiental se debe destacar la considerable emisión de vapores nocivos y el elevado ruido que provocan los métodos normalizados. Actualmente, se están desarrollando diferentes metodologías analíticas para la determinación de las propiedades antidetonantes de las gasolinas mediante procedimientos alternativos. Entre los métodos referidos se encuentran la cromatografía gaseosa,[3] la resonancia magnética nuclear[4,5] y la espectroscopia infrarroja.[6,7]

El desarrollo de estos procedimientos alternativos ha sido posible gracias al avance alcanzado en los últimos años por la quimiometría,[8,9] la cual es una nueva disciplina de la química analítica que emplea métodos matemáticos, estadísticos y de lógica formal para extraer información química relevante mediante un adecuado análisis de los datos experimentales.

Entre los complejos procedimientos matemáticos y estadísticos que la quimiometría ha desarrollado se encuentran los métodos de calibración multivariada.[10] La esencia de estos métodos consiste en modelar la relación entre una propiedad físico-química univariada, como por ejemplo: la concentración de un analito o el índice de octano de una gasolina y una serie multivariada de datos experimentales del sistema objeto de estudio. En una etapa inicial se registran los espectros o cromatogramas de un conjunto de muestras patrones (muestras de calibración), a las cuales se les determina el valor de la propiedad físico-química de interés por métodos normalizados (valores de referencia). Posteriormente, mediante la aplicación de análisis de regresión multivariada se obtiene un modelo matemático que permite correlacionar el valor de la propiedad físico-química con los espectros o cromatogramas. Finalmente, se utiliza el modelo para predecir el valor de la propiedad físico-química o determinar las concentraciones de los analitos de muestras problemas.

La espectroscopia infrarroja y los métodos de calibración multivariada se han estado aplicando en la industria del petróleo para la predicción simultánea de propiedades físico-químicas de diversos combustibles. En un inicio se empleó la espectroscopia infrarroja cercana FT-NIR (12 500 a 4 000 $cm^{-1}$) y los métodos de calibración multivariada en los estudios relacionados con la predicción de propiedades de gasolinas, kerosinas y diesel.[11-13] La espectroscopia FT-NIR tiene la ventaja de que no presenta la elevada superposición de bandas de absorción que existe en la espectroscopia infrarroja media FT-MIR (4 000 a 300 $cm^{-1}$), sobre todo, en la zona de la huella dactilar (*finger print*, 1 600 a 600 $cm^{-1}$); no obstante, el precio de estos equipos es muy elevado, lo que hace difícil que los procedimientos desarrollados se generalicen.

El desarrollo del método de calibración multivariada de mínimos cuadrados parciales (*partial least squares*, PLS) hizo posible que este tipo de aplicación se extendiera también a las espectroscopias ultravioleta visible[14] e infrarroja media FT-MIR.[15,16] Fodor y col. han reportado la predicción de propiedades de las gasolinas mediante el empleo de la espectroscopia FT-MIR y el método de calibración multivariada PLS.[17,18] Entre las propiedades de las gasolinas que estos autores investigan se encuentran: gravedad API, punto de ebullición a diferentes temperaturas de recobrado, aromáticos totales y policíclicos, índice de cetano, entre otras. Andrade y col. utilizaron la espectroscopia FT-MIR y el método PLS de calibración multivariada en la predicción de los índices de octano experimental y de octano motor; en la validación de los modelos a escala industrial obtuvieron valores de repetibilidad y reproducibilidad inferiores a los que reportan las normas de la ASTM.[6-7,19-20]

El método PLS en comparación con otros de calibración multivariada, por ejemplo, el clásico de mínimos cuadrados (CLS) y el de regresión lineal múltiple (MLR), tiene las ventajas de procesar grandes cantidades de datos experimentales (*full spectrum method*),[21,22] y la posibilidad de detectar en el proceso de calibración las muestras fuera de intervalo (*outliers*); generalmente esto se lleva a cabo a través de procedimientos de validación cruzada.[23] Estas ventajas hacen posible que el método PLS sea mucho más poderoso y versátil que los métodos CLS y MLR y que logre modelos de calibración mucho más precisos, exactos y robustos.[24]

Uno de los pasos fundamentales para lograr un modelo de regresión adecuado es la selección de las muestras que constituyen el grupo de calibración. Estas muestras deben ser representativas del modelo que se pretende calibrar y deben contemplar la composición química del sistema y sus posibles variaciones. Otro aspecto importante lo constituyen los valores de referencia utilizados en el proceso de calibración; en el caso particular de las mezclas complejas, como por ejemplo las provenientes de los procesos petroquímicos, resulta difícil la preparación de patrones de referencia, por lo tanto, la calibración debe realizarse con muestras reales tomadas del propio proceso productivo. En estos casos, los valores de referencia se deben obtener a partir de métodos de análisis normalizados. La exactitud de la calibración depende de la exactitud y de la precisión del método de referencia utilizado. En general, el error estándar de predicción (SEP) debe estar en el entorno de la repetibilidad del método referencia empleado, valores de SEP mucho menores que la repetibilidad del método de referencia son un indicio de un ajuste inadecuado del sistema estudiado.[25]

Se debe destacar que estos procedimientos alternativos en relación con los métodos de referencia tradicionales tienen la virtud de su rapidez, bajo costo y el empleo de pequeñas cantidades de muestras en el análisis (1 a 2 mL); no obstante, en el estado actual de su desarrollo no pretenden desplazar a los métodos tradicionales de la ASTM –que son los que actualmente están plenamente establecidos en el control de calidad del producto final–, pero pueden utilizarse para el seguimiento del proceso de producción en las refinerías, así como en las tareas de investigación en las cuales, por lo general, la disponibilidad de muestra para analizar es pequeña.

Este trabajo se propuso desarrollar un modelo para la predicción del índice de octano experimental de gasolinas mediante el empleo de la espectroscopia FT-MIR y el método PLS de calibración multivariada.

## MATERIALES Y METODOS

### Muestreo

Se utilizaron 56 muestras de gasolina sin aditivos: 40 para la calibración, 15 para la validación del modelo de calibración y una para estudios de estabilidad a corto plazo del espectrómetro infrarrojo. Su traslado y manipulación se llevó a cabo tomando como base la norma

ASTM 4057;[26] fundamentalmente, se tuvo presente su elevada volatilidad y posible degradación, aspectos que influyen desfavorablemente en la reproducibilidad de los resultados. Se utilizaron viales cromatográficos de 4 mL sellados con tapones de silicona. Los viales fueron "endulzados" con varias alícuotas de muestra previo a su envase. Tanto el trasvase hacia los viales cromatográficos como el posterior almacenaje de las muestras se realizaron entre 0 y 5°C .

**Determinación del índice de octano (RON)**

La determinación del índice de octano experimental se realizó según el procedimiento establecido en la norma ASTM D2699,[1] en un equipo G-45765 (Wakeska, USA). En los análisis se utilizaron mezclas de isooctano y n-heptano calidad reactivo.

**Registro de los datos espectrales**

Los datos espectrales se registraron en el espectrómetro infrarrojo de región media Avatar 360 (Nicolet, USA). El funcionamiento del espectrómetro se chequeó de forma periódica con el patrón de poliestireno. Se utilizó una celda de bromuro de potasio con espaciador de teflón de 0,10 mm . La corrección del fondo se realizó con la celda vacía y seca. Previo al análisis, la celda se endulzó de dos a tres veces con alícuotas de la propia muestra. El registro espectral se realizó en el intervalo entre 400 y 4 000 $cm^{-1}$ con una resolución de 4 $cm^{-1}$ y un promedio de 32 barridos. En el registro y procesamiento de los espectros, se utilizó el sistema de programas OMNIC.[27]

**Procesamiento estadístico**

En la calibración se utilizó el método de calibración multivariada de mínimos cuadrados parciales. Los datos espectrales se sometieron a un proceso de centrado previo al desarrollo del modelo de calibración. El procesamiento matemático y estadístico se realizó en el intervalo espectral 600 a 1 600 $cm^{-1}$. El número óptimo de factores y la detección de las muestras fuera de intervalo se determinaron mediante el procedimiento de validación cruzada. El algoritmo empleado elimina de la calibración una muestra cada vez (*leave one out*) y calcula un modelo con las muestras restantes; a partir de este modelo se predice el valor de la propiedad físico-química o concentración de la muestra omitida; este proceso se repite hasta que cada una de las muestras haya sido excluida del sistema. Esta forma de validación presenta la ventaja de que el modelo no está influenciado por la inclusión de la muestra estándar analizada. En el análisis de los errores de la validación cruzada se utilizó la suma de los cuadrados de los errores residuales de predicción (PRESS). La detección de las muestras fuera de intervalo se realizó mediante análisis de residuales y análisis estadístico de influencia espectral. El número óptimo de factores se seleccionó de la gráfica de PRESS frente a número de factores; el criterio utilizado fue el punto en el cual, PRESS es un mínimo. En el procesamiento matemático y estadístico se empleó el sistema de programas Quant-IR.[28] Los descriptores estadísticos empleados se relacionan a continuación:

- Suma de los cuadrados de los errores residuales de predicción.

$$PRESS = \Sigma (y_{calc.(CV)} - Y_{ref.})^2$$

donde:

$y_{calc.(CV)}$ valores estimados a través de la validación cruzada.

$y_{ref.}$ valores de referencia.

- Error estándar de predicción de la validación cruzada.

$$SEP_{CV} = (PRESS / n)^{1/2}$$

donde:

n número de muestras utilizadas en la calibración.

- Error estándar de predicción del modelo de calibración.

$$SEP_{cal.} = [\Sigma (y_{calc.} - y_{ref.})^2 / n]^{1/2}$$

donde:

$y_{calc.}$ valores estimados a través del modelo de calibración.

- Error estándar de predicción de la validación ($SEP_{val.}$).

$$SEP_{val.} = [\Sigma (y_{ref.} - y_{calc.})^2 / n\ ]^{1/2}$$

donde:

$y_{ref.}$ y $y_{calc.}$ valores de referencia y calculados en el proceso de validación de los modelos con muestras externas (muestras para la validación del modelo de regresión).

- Coeficiente de determinación múltiple.

$$R^2 = \Sigma (y_{calc.} - y_{media})^2 / \Sigma (y_{ref.} - y_{media})^2$$

donde:

$y_{media}$ valor medio.

**RESULTADOS Y DISCUSION**

A continuación se reportan los resultados de la validación cruzada del modelo de regresión inicial, en el cual se incluyeron todas las muestras del conjunto de calibración. En los análisis de residuales y de influencias espectrales (*leverage*) (Fig. 1), las muestras 37 y 40 tuvieron residuales elevados y la 38 una influen-

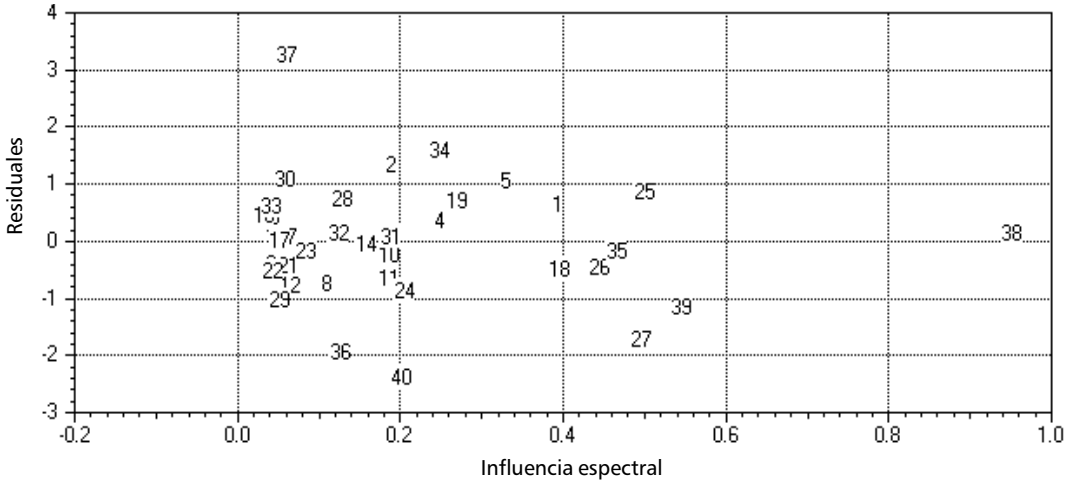


***Fig. 1**. Resultados del análisis de residuales y de influencias espectrales (leverage).*

cia espectral que se aparta considerablemente del resto del conjunto de calibración; por lo cual, fueron retiradas como muestras discrepantes.

Este proceso de análisis mediante validación cruzada se repite hasta alcanzar un modelo de regresión adecuado. En total se eliminaron cinco muestras del conjunto de calibración inicial, el modelo de regresión final se calculó para n = 35. Al graficar el número de factores en función de la PRESS (Fig. 2), se seleccionaron como óptimos 8 factores o variables latentes. La figura 3 presenta los valores de referencia del número de octano en función de los de predicción obtenidos a partir del modelo de regresión. La Tabla 1 ofrece los resultados del comportamiento estadístico del modelo obtenido.

El valor del error estándar de predicción (SEP) del modelo estuvo dentro del intervalo de la dispersión experimental de 0,5 RON que se obtiene mediante el método de referencia. Para comprobar la estabilidad de la respuesta espectral a corto plazo, el modelo de calibración se sometió a un estudio de repetibilidad. El ensayo consistió de ocho repeticiones de una muestra de gasolina regular utilizando el mismo equipo, el mismo operador y en intervalos de tiempo pequeños. Los resultados del estudio de repetibilidad (Tabla 2) permitieron considerar satisfactoria la estabilidad de la respuesta espectral a corto plazo.

Para la validación del modelo se seleccionaron 15 muestras apartes a las del conjunto de calibración. Se obtuvo un error estándar de validación de 0,45. Solo una muestra presentó una diferencia entre el valor de referencia determinado según la norma y su valor de predicción superior 0,7, que es el valor de reproducibilidad reportada por el método de la ASTM (Tabla 3). El trabajo desarrollado permite que las refinerías y laboratorios de investigación cubanos dispongan de un procedimiento analítico alternativo con adecuada exactitud para la predicción del índice de octano mediante el empleo de la espectroscopia infrarroja, lo cual no solo presenta ventajas en cuanto a la rapidez de la respuesta analítica, sino también, en el consumo de muestras y reactivos.

## CONCLUSIONES

Se obtuvo un modelo de regresión multivariada para la predicción del índice de octano experimental de gasolinas mediante el empleo de la espectroscopia infrarroja de región media (FT-MIR) y el método de calibración multivariada de mínimos cuadrados parciales (PLS). Los resultados del estudio de repetibilidad permiten considerar satisfactoria la estabilidad de la respuesta espectral a corto plazo.

Los resultados de la validación del modelo de calibración fueron satisfactorios. Se obtuvo un error estándar de validación de 0,45 y un coeficiente de determinación $R^2$ de 0,98. El 93 % de los resultados de predicción cae en el intervalo de reproducibilidad del método estándar de referencia.

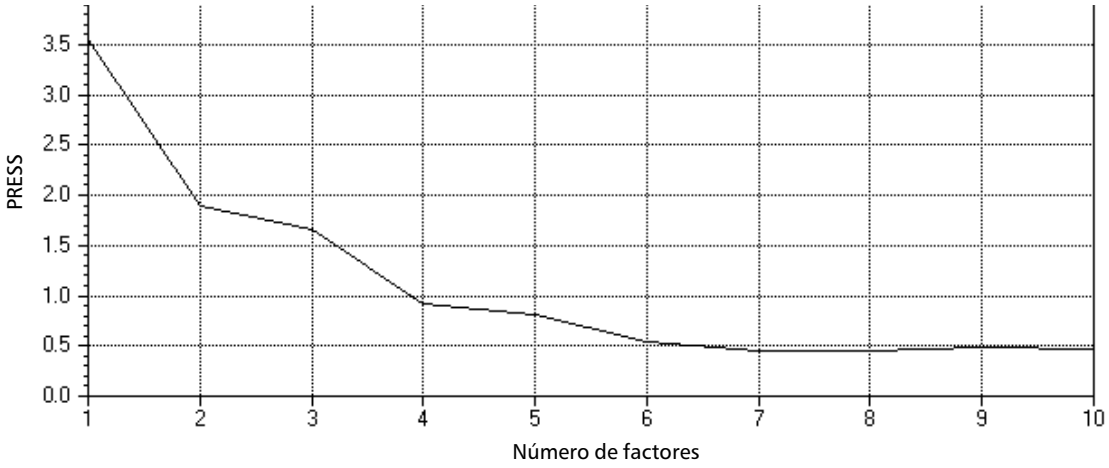


***Fig. 2**. Resultados de la determinación del número de factores.*

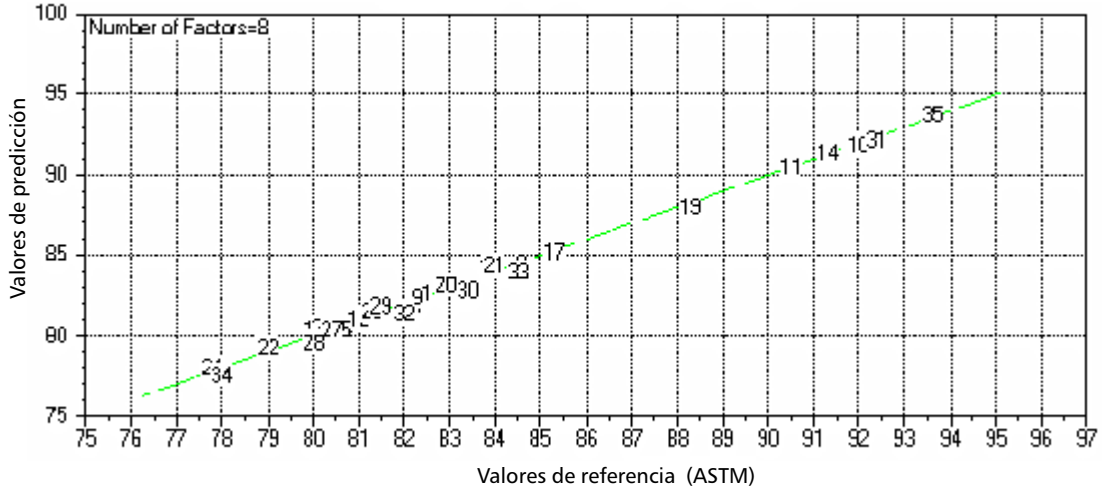


***Fig. 3**. Resultados de la predicción del índice de octano.*

**Tabla 1**. Resultados de la calibración del índice de octano (RON).

| Muestras | | | Número óptimo | $SEP_{CV}$ | $SEP_{cal.}$ | Error | $R^2$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Totales analizadas | Empleadas en la calibración | Fuera de intervalo | de factores | | | de predicción ($\%SEP_{cal.}$) | |
| 40 | 35 | 5 | 8 | 0,38 | 0,23 | 0,27 | 0,99 |

**Tabla 2**. Resultados de las pruebas de estabilidad espectral a corto plazo.

| Muestra de referencia | Repeticiones | Valor de referencia | Valores estadísticos de la predicción del número de octano obtenidos a partir del modelo de calibración | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | (ASTM) RON | Valor medio RON | Varianza ($Sr^2$) | Desviación estándar (Sr) | Error estándar ($e_r$) | Límite de repetibilidad $r = 2,8 \cdot Sr$ |
| Gasolina regular TK-241 | 8 | 84,5 | 84,5 | 0,03 | 0,17 | 0,06 | 0,47 |

**Tabla 3**. Resultados estadísticos de la validación.

| Propiedad analizada | Muestras empleadas en la validación | Error estándar de validación (SEV) | Coeficiente de determinación ($R^2$) |
|---|---|---|---|
| RON | 15 | 0,45 | 0,98 |

**AGRADECIMIENTOS**

El colectivo de autores agradece a la Dirección Técnica de CUPET el apoyo y financiamiento de este trabajo de investigación.

**BIBLIOGRAFIA**

1. ASTM D2699-01 a, Standard Test Method for Research Octane Number of Spark-Ignition Engine Fuel. ASTM Standards Source™, The Petroleum Collection, 2001.
2. ASTM D2700-01a, Standard Test Method for Motor Octane Number of Spark-Ignition Engine Fuel. ASTM Standards Source™, The Petroleum Collection, 2001.
3. Crawford N.R. and Hellmuth W.W. Refinery octane blend modelling using principal component regression of gas chromatography data. **Fuel, 69,** 443-447, 1990.
4. Meusinger R. and Moros R. Determination of octane numbers of gasoline compounds from their chemical structure by $^{13}C$ NMR spectroscopy and neural networks. **Fuel, 81**, 5, 613-621, 2001.
5. Meusinger R and Moros R. Determination of quantitative structure-octane rating relationships of hydrocarbons by genetic algotithms. **Chemometrics and Intelligent Laboratory System, 46,** 67-78, 1999.
6. Andrade J.M., Sánchez M.S. and Sarabia L. A. Applicability of High-absorbance MIR Spectroscopy in Industrial Quality Control of Reformed Gasolines. **Chemometrics and Intelligent Laboratory System, 46,** 41-55, 1999.
7. Andrade J.M., Muniategui S. and Prada D. Prediction of Clean Octane Numbers of Catalytic Reformed Naphtas Using FT-MIR and PLS. **Fuel, 76**, 1035-1042, 1997.
8. Lavine B.K., Workman J. Chemometrics. **Anal. Chem., 74**, 2763-2769, 2002.
9. Hopke P.F. The evolution of chemometrics. **Analytica Chimica Acta, 500**, 365-377, 2003.
10. Bro R. Multivariate calibration. What is in chemometrics for the analytical chemist?. **Analytica Chimica Acta, 500**, 185-194, 2003.
11. Reboucas M.V. and Barros Neto B. Near infrared spectroscopic prediction of physical properties of aromatics-rich hydrocarbon mixtures. **Journal of Near Infrared Spectroscpic, 9**, 263-273, 2001.
12. Kidajat K. and Chong S.M. Quality characterization of crude oils by partial least squares calibration of NIR spectral profiles. **Journal of Near Infrared Spectroscopy, 8,** 53-59, 2000.
13. Parisi A.F., Nogueiras L and Prieto H. On-line Determination of Fuel Quality Parameters Using Near- Infrared Spectrometry with Fibre Optics and Multivariate Calibration. **Analytical Chimica Acta, 238,** 95-100, 1990.
14. Wentzell P.D., Andrews D.T., Walsh J. M., Cooley J.M. and Spencer P. Estimation of hydrocarbon types in light gas oils and diesel fuels by ultraviolet absorption spectroscopy and multivariate calibration. **Can. J. Chem., 77**, 391-400, 1999.
15. Chung H., Min-Sik K. and Joon-Sik L. Comparison of near-infrared and mid-infrared spectroscopy for the determination of distillation property of kerosene. **Vibrational Spectroscopy, 20,** 155-163, 1999.
16. Gómez-Carracedo M.P., Andrade J.M., Calviño M.A., Prada D., Fernández E. and Muniategui S. Generation and mid-IR measurement of a gas-phase to predict security parameters of aviation jet fuel. **Talanta, 60,** 1051-1062, 2003.
17. Fodor G.E., Mason R.A. and Hutzler S.A. Estimation of Middle Distillate Fuel Properties by FT-IR. **Applied Spectroscopy, 53**, 1292-1298, 1999.
18. Fodor G.E., Kohl K.B. and Mason R.L., Analysis of Gasolines by FT-IR Spectroscopy. **Anal. Chem., 68**, 23-30, 1996.
19. Andrade J.M., Prada D., Muniategui S. and. López P. Prediction of FCC Gasoline Octane Numbers Using FT-MIR and PLS. **Fresenius J. Anal. Chem., 355**, 723-725, 1996.
20. Andrade J.M., García M.V., López-Mahia P. and Prada D. A Review of the Main Factors Influencing the FT-IR-PLS Abilities Exemplified with Petrochemical Qualimetric Applications. **Talanta, 44,** 2167-2184, 1997.
21. Haaland D.M. and Thomas E.V. Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses 1. Relation to Other Quantitative Calibration Methods and the Extraction of Qualitative Information. **Analitycal Chemistry, 60**, 1193-1202,1988.
22. Haaland D.M. and Thomas E.V. Partial Least-Squares Methods for Spectral Analyses 2. Application to Simulated and Glass Spectral Data. **Analytical Chemistry, 60**, 1202-1208, 1988.
23. Fernández-Pierna J.A., Wahl F., de Noord O.E., and Massart D.L. Methods for outlier detection in prediction. **Chemometrics and Intelligent Laboratory System, 63**, 27-39, 2002.
24. Swierenga H., de Weijer A.P., van Wijk R.J. and Buydens L.M.C. Strategy for constructing robust multivariate calibration models. **Chemometrics and Intelligent Lab. System, 49,** 1-17,1999.
25. Difoggio R. Guidelines for Applying Chemometrics to Spectra: Feasibility and Error Propagation. **Applied Spectroscopy, 54**, 3, 94A-112ª, 2000.
26. ASTM D5854-96(2000) Standard Practice for Mixing and Handling of Liquid Samples of Petroleum and Petroleum Products. ASTM Standards Source ™, The Petroleum Collection, 2001.
27. Nicolet's OMNIC., Spectroscopy Software, "OMNIC 5.2 a" Nicolet Instrument Corporation, Copyright 1992-2000.
28. QuantIR, Copyright by Nicolet Instrument Corp., V. 1.12, 1992.