

**ESTUDIO DE LA REMOCIÓN DE *n*-PARAFINAS EN CRUDOS MEDIANTE  
EL USO DE ZEOLITAS**

**JEFFER ALIMER CORREA SÁNCHEZ**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2016**

**ESTUDIO DE LA REMOCIÓN DE *n*-PARAFINAS EN CRUDOS MEDIANTE  
EL USO DE ZEOLITAS**

**JEFFER ALIMER CORREA SÁNCHEZ**

**Trabajo de grado en modalidad de investigación, presentado para optar al  
título de Ingeniero Químico**

**Directora:**

**ELENA E. STASHENKO, Química, Ph. D.**

**Co-director:**

**JAIRO RENÉ MARTÍNEZ, Químico, Ph. D.**

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS  
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA  
BUCARAMANGA**

**2016**

## DEDICATORIA

*Muy especialmente a mis padres, Rosa Mery, Alipio, y a mi hermano Andrés, por su apoyo incondicional en cada paso de mi vida; por su amor y comprensión.*

*A los doctores Elena Stashenko y Jairo René Martínez, por sus grandes enseñanzas, no solo para la academia, sino también para la vida.*

*A mis compañeros del colectivo Misión lápiz y Papel, por su fraternidad y ganas de cambiar y crear un mundo mejor y más justo para todos.*

*A los compañeros del CENIVAM, por colaborar en cada duda que se presentó durante este proyecto.*

**Jeffer Correa**

## **AGRADECIMIENTOS**

Expreso sinceros agradecimientos a:

La Universidad Industrial de Santander, a la Escuela de ingeniería Química.

La financiación de Ecopetrol S.A., Convenio Marco UIS-Ecopetrol-ICP.  
No. 5211794, Acuerdo de Cooperación No. 6.

Los químicos Andrés Gonzales y José Domingo Medina.

.  
Al Centro de Investigación en Biomoléculas-CIBIMOL, y al Centro de Cromatografía y Espectrometría de Masa, CROM-MASS, por su apoyo técnico y administrativo.

## CONTENIDO

	Pág
INTRODUCCIÓN.....	16
1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
2. OBJETIVOS .....	18
3. CONCEPTOS TEÓRICOS .....	19
3.1 PRECIPITACIÓN DE ASFALTENOS.....	19
3.2 CROMATOGRAFÍA DE ELUCIÓN EN COLUMNA .....	19
3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO .....	19
3.4 ZEOLITAS Y SU PROPIEDAD COMO TAMIZ MOLECULAR.....	20
3.5 CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN EN LLAMA.....	21
3.6 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A UN SISTEMA DE MASAS TÁNDEM .....	22
3.6.1 Cuantificación por GC-MS/MS de biomarcadores presentes en la fracción saturada .....	23
3.7 BIOMARCADORES .....	23
3.7.1 Triterpanos.....	24
3.7.2 Esteranos .....	24
3.7.3 Hopanos .....	24
3.7.4 Diasteranos.....	24
3.8 DISEÑO EXPERIMENTAL.....	25
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL.....	26
4.1 PRECIPITACIÓN Y SEPARACIÓN DE ASFALTENOS .....	26
4.2 OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN SATURADA.....	26
4.3 TRATAMIENTO CON ZEOLITA.....	27
4.3.1 Activación de la zeolita ZSM-5.....	27
4.3.2 Metodología para el tratamiento con zeolita.....	27
4.4 ANÁLISIS POR GC-FID.....	29
4.5 ANÁLISIS DE BIOMARCADORES EN LA FRACCIÓN SATURADA POR GC/MS/MS .....	29
5. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	30

5.1 RESULTADOS DE ANÁLISIS INFRARROJO.....	30
5.2 RESULTADO DE ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO.....	31
5.2.1 Análisis por GC-FID.....	31
5.2.2 Análisis por GC-MS/MS.....	37
6. CONCLUSIONES.....	42
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	43
BIBLIOGRAFÍA.....	47
ANEXOS.....	51

## LISTA DE TABLAS

Pág

Tabla 1. Principales bandas de absorción en FT-IR de moléculas tipo alcano.....	20
Tabla 2. Diseño experimental $2^2$ .....	25
Tabla 3. Número de combinaciones del diseño experimental $2^2$ .....	25
Tabla 4. Resultados de la precipitación de asfaltenos y fracción saturada.. ....	26
Tabla 5. Cantidades utilizadas de las variables estudiadas y compuestos saturados no retenidos.....	28
Tabla 6. Resultados de la identificación y cuantificación por GC-MS/MS de la familia triterpanos usando estándar interno [ $5\beta$ (u)-colano].....	41
Tabla 7. Resultados de la identificación y cuantificación por GC-MS/MS de la familia de esteranos usando estándar interno [ $5\beta$ (u)-colano].....	41

## LISTA DE FIGURAS

Pág

Figura 1. Metodologías del tratamiento de fracción saturada de crudo con zeolita ZSM-5.....	29
Figura 2. Espectro infrarrojo de la fracción saturada de crudo Guariques....	30
Figura 3. Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de la fracción saturada de crudo VMM. Columna DB-5MS. (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm); <i>Split</i> (1:30).....	32
Figura 4. Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de fracción saturada de crudo Guariques con tratamiento con zeolita. Columna DB-5MS. (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm); <i>Split</i> (1:30). Muestra TZ-01 (50 mg zeolita y 105 min de adsorción).....	33
Figura 5. Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de la fracción saturada de crudo Guariques, con tratamiento de zeolita. Columna DB-5MS. (60 mx0,25 mm x 0,25 µm); <i>Split</i> (1:30). A. Muestra TZ-02 (100 mg de zeolita y 30 min de adsorción). B. Muestra TZ-06 (100 mg zeolita y 180 min de adsorción) .....	34
Figura 6. Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de fracción saturada de crudo Guariques, con tratamiento con zeolita. Columna DB-5MS. (60 mx 0,25 mm x 0,25 µm); <i>Split</i> (1:30). A. Muestra TZ-03 (5 mg zeolita y 30 min de adsorción). B. Muestra TZ-04 (5 mg zeolita y 180 min de adsorción) .....	35
Figura 7. Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de fracción saturada de crudo Guariques, con tratamiento con zeolita. Columna DB-5MS. (60 mx0,25 mm x 0,25 µm); <i>Split</i> (1:30). A. Muestra TZ-05 (50 mg zeolita y 2 min de adsorción). B. Muestra TZ-07 (5 mg zeolita y 2 min de adsorción).....	37
Figura 8. Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM) con la transición $M^+ \rightarrow 191$ para detección de triterpanos en fracción saturada de crudo Guariques, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5. Energía de colisiones activadas -5 eV. Columna DB-5MS (60 mx 0,25 mm x 0,25 µm) .....	38
Figura 9. Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM) con la transición $M^+ \rightarrow 191$ para detección de hopanos en fracción saturada de crudo Guariques, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5. Energía de colisiones activadas -5 eV. Columna DB-5MS (60 mx 0,25 mm x 0,25 µm) .....	39

Figura 10. Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM) con la transición 276 → 191 para detección del triterpano Tr20 en fracción saturada de crudo Guariques, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5. Columna DB-5MS (60 mx 0,25 mm x 0,25 µm) .....39

Figura 11. Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS en modo MRM: transiciones 398 →191 para detección de hopanos en fracción saturada de crudo Guariques, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5. Columna DB-5MS (60 mx 0,25 mm x 0,25 µm) .....40

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO A. MONTAJES PARA LA SEPARACIÓN DE MALTENOS Y ASFALTENOS EN EL CRUDO. REFLUJO PARA LA PRECIPITACIÓN DE ASFALTENOS (IZQUIERDA). FILTRACIÓN DE LOS ASFALTENOS (CENTRO). LAVADO DEL PAPEL FILTRO EN UN EXTRACTOR SOXHLET (DERECHA).....	51
ANEXO B. CONCENTRACIÓN DE TRITERPANOS ANALIZADOS POR GC-QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5. ....	52
ANEXO C. CONCENTRACIÓN DE HOPANOS ANALIZADOS POR GC-QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5. ....	53
ANEXO D. CONCENTRACIÓN DE DIASTERANOS ANALIZADOS POR GC-QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5. ....	54
ANEXO E. CONCENTRACIÓN DE ESTERANOS ANALIZADOS POR GC-QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5. ....	55
ANEXO F. BIOMARCADORES SATURADOS IDENTIFICADOS Y CUANTIFICADOS POR GC-QQQ-M.....	56

## LISTADO DE ABREVIATURAS

f.e.	Fase estacionaria
GC-FID	Cromatógrafo de gases con detector de ionización en llama
GC-MS	Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas
GC-MS/MS	Cromatografía de gases acoplada a un sistema de masas tándem
MRM	Monitoreo de reacciones múltiples
Ph	Fitano
Pr	Pristano
QqQ-MS	Analizador de masas triple cuadrupolo
S.A.R.A.	Fracciones: Saturada, aromática, resinas y asfaltenos
TZ	Tratamiento con zeolita ZSM-5
VMM	Valle Medio del Magdalena Colombiano
$t_R$	Tiempo de retención
S/N	Relación señal/ruido

## RESUMEN

**TITULO:** ESTUDIO DE LA REMOCIÓN DE *n*-PARAFINAS EN CRUDOS MEDIANTE EL USO DE ZEOLITAS. \*

**AUTOR:** Jeffer Alimer Correa Sánchez. \*\*

**PALABRAS CLAVES:** *n*-parafinas, zeolita ZSM-5, biomarcadores saturados, GC-FID, GC-QqQ-MS, MRM.

Los biomarcadores son fósiles moleculares que suministran información sobre el origen del crudo, preservación, condiciones litográficas, madurez térmica, entre otras. En baja concentración, los biomarcadores revelan información clave para la etapa de exploración del petróleo. Los *n*-alcanos son abundantes en el petróleo crudo, y su remoción permite concentrar compuestos (no lineales) que se encuentran a nivel de trazas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). La identificación de biomarcadores saturados en el crudo usando cromatografía de gases con detectores selectivos de masas, puede dificultarse por la baja concentración o co-elución con otros componentes de la mezcla (e.g., parafinas lineales). El uso de zeolitas (e.g., ZSM-5), es una alternativa rápida y económica para el análisis de biomarcadores saturados en muestras de crudo.

Al combinar métodos selectivos de extracción, preparación de muestras y equipos cromatográficos GC-FID y GC-QqQ-MS (modo MRM), se demostró la capacidad de la zeolita ZSM-5 para remover *n*-parafinas de una muestra de fracción saturada de crudo, con un tiempo de sorción corto (1 h) y una relación másica fracción saturada: zeolita ZSM-5 4:50. Luego del tratamiento con zeolita, se encontró mayor concentración de esteranos, hopanos, triterpanos, y diasteranos analizados por GC-QqQ-MS. Esto facilita la determinación de relaciones moleculares para su aplicación al campo de la exploración y explotación de petróleo.

---

\*Proyecto de grado

\*\*Facultad de ingenierías Físicoquímicas. Escuela de ingeniería Química.

Directora. Elena E. Stashenko. Codirector. Jairo René Martínez

## ABSTRACT

**TITLE:** STUDY OF THE REMOVAL OF *n*-PARAFFINS IN CRUDE OIL USING ZEOLITES. \*

**AUTHOR:** Jeffer Alimer Correa Sánchez. \*\*

**KEYWORDS:** *n*-paraffins, ZSM-5 zeolite, saturate biomarkers, GC-FID, GC-QqQ-MS, MRM.

Biomarkers are molecular fossils that can give information about the origin of crude oil and other properties, such as its preservation, lithographic conditions, thermal maturity, among others. At low concentrations, biomarkers give relevant information in the oil exploration stage. *n*-alkanes are abundant in crude oil, and their removal allows to concentrate non-linear trace compounds ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Saturate biomarkers identification using gas chromatography with mass selective detectors could be difficult due to their low concentration or co-elution with other compounds (e.g., linear paraffins). Using zeolites (e.g., ZSM-5) to analyze saturate biomarkers in crude samples avoids losing a lot of time and it is less expensive.

The ability of zeolite ZSM-5 to remove *n*-paraffins from the saturate fraction of a crude oil sample was demonstrated combining selective extraction methods, sample preparation and GC-FID/GC-QqQ-MS (MRM mode) gas chromatographs with a short sorption time (1 h) and a 4:50 massic ratio (saturate fraction: zeolite ZSM-5). After a treatment with zeolite, GC-QqQ-MS analyses showed that the concentration of steranes, hopanes, triterpanes and diasteranes was higher. This fact allows to determine molecular relations and their application in crude oil exploration and exploitation.

---

\*Bachelorthesis

\*\*Facultad de ingenierías Físicoquímicas. Escuela de ingeniería Química.

Directora. Elena E. Stashenko. Codirector. Jairo René Martínez

## INTRODUCCIÓN

Los biomarcadores son fósiles moleculares que pueden suministrar información sobre el origen del crudo, su preservación y condiciones litográficas. Incluso, cuando no se cuenta con una gran cantidad de muestra, estas moléculas revelan información clave para la etapa de exploración del petróleo. Los *n*-alcanos son abundantes en el petróleo crudo y su remoción permite concentrar compuestos que se encuentran a nivel de trazas ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ). Los biomarcadores se utilizan para correlacionar la edad y la fuente de cierto crudo. Se encuentran en baja concentración en el petróleo y están en mayor proporción en la fracción saturada. Sin embargo, es un problema identificarlos en los equipos cromatográficos, debido a que su concentración es muy baja y que ellos pueden co-eluir con otros componentes de la mezcla (e.g. Parafinas lineales). En tales casos, el uso de zeolitas es una buena alternativa para concentrar biomarcadores saturados [1]. El término zeolita se conoció por primera vez, en el año de 1756 por el químico y mineralogo sueco Axel Fredrick Cronstedt en la revista científica "Svenska Vetenskaps Akademiens Handlingen Stockholm", en la cual presentaba un mineral que al someterlo al calor, segregaba agua. Sin embargo, no fue hasta 1930 que se conoció su propiedad como tamiz molecular. Se considera tamiz molecular a un sólido poroso con diámetro de poro entre 0,3 y 2 nm, que tenga la propiedad de separar todas las moléculas con tamaño superior al del poro del sólido [2].

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los crudos con alto porcentaje de fracción saturada (>50% p/p), contienen un alto número de *n*-parafinas, que ocultan moléculas que se encuentran en baja concentración en el petróleo. Los biomarcadores presentes en la fracción saturada revelan información muy importante para caracterizar crudo que, incluso, aún no ha empezado su etapa de explotación. Sin embargo, éstos se encuentran en bajas concentraciones, y los equipos cromatográficos (GC-FID, GC-MS-*fullscan*), aunque tienen una alta sensibilidad de detección, no logran identificarlos debido a que su relación señal/ruido (S/N) es muy baja, y, sobre todo, porque co-eluyen con otros hidrocarburos. Estos problemas no sólo pueden solucionarse usando una detección específica en un equipo de alta selectividad *e.g.*, GC-QqQ-MS, operado en modo MRM, sino también realizando una extracción selectiva de los analitos de interés (*e.g.*, biomarcadores)[3].

El uso de zeolitas como tamiz molecular, permite sorber los alcanos lineales dentro de sus poros y mejorar la relación S/N(en un equipo GC-MS)de los biomarcadores, ya que aumenta su concentración en la fracción saturada, incluso, hace que se puedan detectar compuestos que, sin tratamiento con zeolita, no pudieron ser detectados, lo que hace que el análisis sea más confiable.

## 2. OBJETIVOS

### Objetivo general

- Encontrar las condiciones de extracción y preparación de muestra para remover las *n*-parafinas de la fracción saturada de crudo, que permitan mejorar la determinación de biomarcadores saturados.

### Objetivos específicos

- Desarrollar una metodología para el tratamiento de la fracción saturada del crudo, con zeolitas como tamiz molecular.
- Evaluar la relación en peso entre la fracción saturada y las zeolitas.
- Determinar el tiempo requerido para que suceda el proceso de sorción en los poros de la zeolita.

### 3. CONCEPTOS TEÓRICOS

El crudo es una mezcla compleja de compuestos orgánicos y compuestos con heteroátomos: oxígeno, nitrógeno y azufre. El crudo se puede fraccionar en cuatro familias de compuestos, a saber: (1) Saturados, (2) Aromáticos, (3) Resinas y (4) Asfaltenos; la mezcla de saturados, aromáticos y resinas se denomina maltenos[4].

#### 3.1 PRECIPITACIÓN DE ASFALTENOS

Los asfaltenos son la fracción del crudo que es insoluble en alcanos lineales de cadena corta (*n*-pentano, *n*-hexano y *n*-heptano), y soluble en tolueno o benceno; están constituidos, principalmente, por anillos aromáticos ligados a cadenas alquílicas y cicloalcanos. Su composición elemental: C, H, N, S y O es muy variada y depende del tipo de crudo[5, 6].

La remoción de la fracción pesada del crudo (asfaltenos) ha sido estudiada, no solo porque presenta problemas en la etapa de producción, sino también en estudios analíticos, y búsqueda de biomarcadores en fracción saturada y aromática[7].

#### 3.2 CROMATOGRAFÍA DE ELUCIÓN EN COLUMNA

Una manera de fraccionar el crudo, utiliza cromatografía de elución en columna. En esta, se emplean absorbentes como gel de sílice o alúmina, e incluso una mezcla de ambos, junto con disolventes de distinta polaridad, para separar el crudo por familias. Los saturados se obtienen con un solvente apolar (e.g., *n*-heptano), para aromáticos, un solvente polarizable(e.g., mezcla *n*-hexano y acetato de etilo) y para las resinas, un solvente polar (e.g., acetato de etilo) [8,9].

#### 3.3 ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN EN EL INFRARROJO

La espectroscopia infrarroja es una herramienta útil para complementar la identificación de compuestos orgánicos e inorgánicos puros, ya que las moléculas pueden absorber radiación infrarroja siempre que posean enlaces dipolares; además, cada especie molecular tiene un espectro de absorción

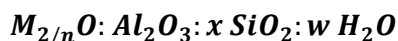
infrarrojo diferente [10]. La espectroscopia IR se utiliza para verificar si las fracciones separadas por cromatografía en columna abierta, presentan coelución. La fracción saturada de un crudo se caracteriza por las vibraciones de grupos funcionales  $-CH_3$  (metilo) y  $-CH_2$  (metileno), con las características que se presentan en la **Tabla 1** [11].

**Tabla 1.** Principales bandas de absorción en FT-IR de moléculas tipo alcano.

Grupo funcional	Número de onda, $cm^{-1}$	Observaciones
$-CH_3$	2960 2770	Doblete debido a los estiramientos asimétrico y simétrico C-H
$-CH_2$	2930 2850	Estiramiento C-H asimétrico Estiramiento C-H simétrico

### 3.4 ZEOLITAS Y SU PROPIEDAD COMO TAMIZ MOLECULAR

Las zeolitas son catalogadas como aluminosilicatos microporosos cristalinos de elementos de los grupos IA y IIA, con poros y estructura tridimensional definida; con alta estabilidad térmica y capacidad de intercambio iónico (aplicable como catalizador). Poseen alta superficie interna, que permite la adsorción de analitos de interés. El tamaño y la estructura de las partículas de las zeolitas, depende del método de síntesis y del tratamiento térmico que se le aplica antes de ser usada [12]. Las zeolitas pueden ser representadas con la fórmula química general:



Donde “x” va desde 2 hasta infinito, “n” es la valencia del catión y “w” representa la cantidad de agua retenida en la estructura.  $AlO_4$  y  $SiO_4$  forman una red tridimensional a partir de tetraedros [13]. Sin la presencia del Al, la estructura deja de llamarse zeolita y pasa a ser un silicato poroso [14]. Al eliminar el agua en la estructura cristalina con altas temperaturas, se puede utilizar las zeolitas con diferentes fines, por ejemplo, sorber compuestos en los poros vacíos. En el caso de la ZSM-5, que es una zeolita adsorbente polar por la presencia de

aluminio en su esqueleto tetraédrico, los *n*-alcanos pueden ser adsorbidos porque el tamaño de sus moléculas es inferior a las dimensiones de los poros o canales de la zeolita [1]. La estructura de la zeolita ZSM-5 consta de un sistema de canales en tres dimensiones, algunos de ellos rectos y paralelos de sección cuasi-circular (5,3 x 5,6 Å), y otros en *zig-zag* (5,1 x 5,5 Å) [15]. En la estructura de la zeolita ZSM-5, las *n*-parafinas tienen mejor afinidad por el adsorbente que sus isómeros ramificados [12, 16]. Existen otros tipos de tamices moleculares que pueden remover *n*-parafinas, como la urea. Sin embargo, la preparación de la muestra puede requerir más de 24 horas, además de ser un tratamiento muy dispendioso [17]. Para remover alcanos lineales, el tamaño del poro del tamiz molecular debe ser > 5 Å, aproximadamente [18].

### **3.5 CROMATOGRAFÍA DE GASES CON DETECTOR DE IONIZACIÓN EN LLAMA**

Un sistema cromatográfico está conformado por cuatro partes fundamentales, a saber: un inyector para la aplicación de la muestra, una columna para separar la mezcla inyectada, un detector para registrar la señal producida por los compuestos que eluyen de la columna, y un sistema de procesamiento de datos [19]. La cromatografía de gases (GC) es un método de separación que distribuye los compuestos entre una fase estacionaria (f.e) y fase móvil (gaseosa) [20]. Para seleccionar la columna del equipo, se debe tener en cuenta la naturaleza de los compuestos (volatilidad, polaridad y peso molecular), e.g. Para una mezcla de hidrocarburos, se utiliza una columna que los separe por los puntos de ebullición, es decir, una columna de fase estacionaria apolar, por ejemplo, la columna DB-5 (5% fenil-polidimetilsiloxano).

El detector de ionización en llama (FID) se usa ampliamente para el análisis de aceites esenciales, solventes y fracciones del petróleo. Es un detector destructivo, sensible al cambio de masa del analito. Un análisis por GC-FID permite determinar, tentativamente, cuántos compuestos hay en una mezcla y en qué relación se encuentran (%). El cromatograma es un gráfico que representa la señal del detector en función del tiempo, donde el área y altura de

los picos se usan para cuantificar los compuestos de la mezcla que ingresa al equipo [20].

### **3.6 CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A UN SISTEMA DE MASAS TÁNDEM**

Un espectrómetro de masas unido a un cromatógrafo de gases se conoce como detector selectivo de masas. La función del detector, es generar una respuesta a los compuestos que eluyen de la columna. Uno de los detectores más utilizados es el analizador cuadrupolar (Q), conocido como cuadrupolo. En este detector, los iones de diferente masa se separan debido a un campo eléctrico aplicado. En ocasiones, durante el análisis por GC-MS, se observan espectros con un excesivo ruido químico, que impide identificar los analitos de interés. Al usar un equipo de cromatografía de gases con configuración tándem, el detector selectivo de masas se convierte en un sistema de detección específico. Este sistema tiene ventajas sobre el GC-MS, que solo cuenta con un cuadrupolo. Al utilizar el equipo GC-MS/MS con tres cuadrupolos (QqQ), en modo de adquisición MRM (*Multiple Reaction Monitoring*), se pueden analizar matrices muy complejas y obtener un análisis extremadamente selectivo (específico) y sensible. Este modo consiste en que el primer cuadrupolo (Q1) filtre los iones precursores seleccionados F1 (modo SIM); el segundo (Q2), es una cámara de colisiones activadas, en la que un gas de colisión y un campo activan los iones F1 y los fragmentan; y el tercer cuadrupolo (Q3), filtra los iones producto (modo SIM) F2, correspondiente a la transición (reacción de disociación)  $F1 \rightarrow F2$ , ambos iones son “genéticamente” relacionados y emiten un alta o mediana intensidad en el espectro de masas del analito. Además, el modo de adquisición MRM aumenta la relación S/N (señal/ruido), lo que permite que la señal generada por los analitos no se confunda con el ruido generado por el equipo. Al momento de analizar los resultados, el registro de las transiciones independientes y el tiempo de retención de compuestos  $t_R$ , permiten confirmar la presencia de un analito en una mezcla tan compleja como el petróleo crudo [21].

### 3.6.1 Cuantificación por GC-MS/MS de biomarcadores presentes en la fracción saturada

El método de estandarización interna se utiliza comúnmente para cuantificar compuestos que se encuentran a nivel de trazas. Consiste en adicionar un estándar interno a la fracción saturada antes de realizar el análisis cromatográfico y conociendo la concentración del estándar interno, se compara la respuesta generada con la de cada biomarcador, utilizando la **Ecuación 1**:

$$C_X = C_{Istd} \times \frac{A_X}{A_{Istd}} \text{ [Ecuación 1]}$$

Donde:

$C_X$ : Concentración del biomarcador ( $\mu\text{g/mL}$ )

$C_{Istd}$ : Concentración del estándar interno ( $\mu\text{g/mL}$ )

$A_X$ : Área del biomarcador (cuentas)

$A_{Istd}$ : Área del estándar interno (cuentas)

### 3.7 BIOMARCADORES

Son compuestos orgánicos presentes en petróleo crudo, sedimentos y rocas, formados por estructuras de carbono, en las cuales su “esqueleto” se ha preservado y su origen se remonta a organismos vivos. Su diámetro es de aproximadamente 30 nm y varían en la posición de los átomos. Su diversidad se debe a sus diferentes fuentes de origen, ya sea animal, vegetal o bacteriano. Los biomarcadores sobrevivieron a procesos de alta temperatura (diagénesis y catagénesis), en los cuales se formaron el petróleo y el gas [22]. En la fracción saturada, se encuentran algunos biomarcadores como pristano, fitano, triterpanos, esteranos, hopanos, diasteranos y diamantoides. A partir de su origen, los biomarcadores se clasifican en familias, de las cuales los terpanos y esteranos son comúnmente estudiados durante la exploración de hidrocarburos [23].

### 3.7.1 Triterpanos

Conocidos como  $13\beta$  (H)- $14\alpha$  (H)-quelantanos aparecen en una serie que va desde  $C_{19}$  hasta  $C_{54}$ . Su origen aún no se ha confirmado con exactitud. Sin embargo, se ha encontrado una relación entre los triterpanos presentes en petróleo crudo y un alga primitiva llamada tasmanita. El miembro  $C_{23}$  es común encontrarlo en crudos de origen marino, mientras que los  $C_{19}$  y  $C_{20}$ , se encuentran en crudos de origen terrestre. Para identificar un triterpano o terpano tricíclico por espectrometría de masas tándem, se monitorea la transición  $M^+ \rightarrow 191$  [24].

### 3.7.2 Esteranos

Proviene de los esteroides presentes en los organismos eucariotas tales como las plantas superiores y las algas. Se usan para correlacionar petróleo crudo-roca fuente, y como indicadores de origen en estudios de roca fuente [25]. Para identificar los esteranos por espectrometría de masas tándem, se monitorea la transición  $M^+ \rightarrow 217$  [26].

### 3.7.3 Hopanos

Conocidos con la estereoquímica  $17\alpha$ (H) $21\beta$ (H) y denominados  $17\alpha$ (H)-hopanos, provienen de los hopanoides, que, a la vez, se derivan de los bacteriohopanopolioides que, por consecuencia del proceso de maduración y un largo tiempo de enterramiento, dan origen a los hopanos [27]. Una aplicación para esta familia es la relación  $C_{29}/C_{30}$ , que indica la litología del medio de depositación; si, por ejemplo, es mayor de 1, se considera que en el ambiente predominan minerales carbonatados [24]. Para identificar los hopanos por espectrometría de masas tándem, se monitorea la transición  $M^+ \rightarrow 191$  [26].

### 3.7.4 Diasteranos

Se comparan comúnmente, con los esteranos presentes en muestras de crudo, su relación, *i.e.*, diasterano/esteroano, puede indicar cantidades relativas de arcilla en la roca madre [24]. Para identificar los diasteranos por espectrometría de masas tándem, se monitorea la transición  $M^+ \rightarrow 259$  [28].

### 3.8 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para remover las *n*-parafinas de la fracción saturada, las variables con más influencia sobre el proceso de sorción son: el tiempo de adsorción y la relación en peso fracción saturada/cantidad de zeolita[29,30]. Por ello se realizó un diseño experimental basado en estas variables (Véase **Tabla 2**), usando una cantidad de fracción saturada constante (ca. 4 mg).

**Tabla 2.** Diseño experimental  $2^2$ .

Variables	Niveles		
	-1	0	1
$X_1$ : Cantidad de zeolita ZSM-5, mg	5	50	100
$X_2$ : Tiempo adsorción, min	30	105	180

**Tabla 3.** Número de combinaciones del diseño experimental  $2^2$ .

Número de experimentos	$X_1$	$X_2$
1	1	-1
2	-1	-1
3	-1	1
4	1	1
5*	0	0

\*Estimación de la estabilidad del experimento  $n=2$

#### 4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

Las pruebas se realizaron con una muestra de crudo del campo Guariquies, procedente de la cuenca del Valle Medio del Magdalena Colombiano (VMM) poco biodegradada, que presenta alta evolución termal, y es generada desde la formación La Luna.

##### 4.1 PRECIPITACIÓN Y SEPARACIÓN DE ASFALTENOS

El crudo (ca.400 mg) se mezcló con *n*-pentano (15 mL), se calentó a reflujo con *n*-pentano por 1 h, seguido de un tiempo de reposo (1.5 h). A continuación, se filtró en papel de filtro ( $\phi=0.26 \mu\text{m}$ ), se lavó con *n*-pentano (25 mL) y el papel filtro seco se pesó.

El precipitado obtenido mediante reflujo y filtración con *n*-pentano, junto con el remanente presente en el papel filtro, se empacaron en un cartucho de celulosa y se introdujeron en un extractor *Soxhlet*. El lavado se realizó con *n*-pentano (150 mL) hasta que el solvente fue transparente (Véase **Anexo A**). A la solución obtenida, se le evaporó el solvente hasta sequedad y se obtuvo un extracto (maltenos). Los resultados de la precipitación se muestran en la **Tabla 4**.

**Tabla 4.** Resultados de la precipitación de asfaltenos y fracción saturada.

Masa de crudo, mg	%, p/p ( <i>n</i> =3)		
	Maltenos	Asfaltenos	Fracción saturada
400	94 ± 3	3,2 ± 0,4	52 ± 2

##### 4.2 OBTENCIÓN DE LA FRACCIÓN SATURADA

Se usó una columna tubular cromatográfica abierta, de vidrio, con válvula reguladora manual (1,5 cm de diámetro interno). Se empacó la fase estacionaria (gel de sílice, previamente activada a 190 °C durante 8 h) en húmedo (gel de sílice +*n*-hexano), sin dejar que se secase. Se acondicionó con *n*-hexano, hasta que se formó una fase homogénea dentro de la columna.

El extracto obtenido (maltenos) a partir de la precipitación de asfaltenos, se dispersó y homogeneizó en gel de sílice, para luego ser incorporado en la columna de vidrio. La fracción saturada se eluyó con *n*-hexano (60 mL). La solución obtenida se rotoevaporó hasta sequedad, y el remanente (fracción saturada) se pesó. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 4**.

Las primeras pruebas realizadas para fraccionar crudo, se hicieron siguiendo la metodología propuesta por Stashenko, *et al.* (2014). Sin embargo, la fracción saturada resultante presentó una leve coloración amarillenta, que indicaba una posible coelución con la fracción aromática. Por ello, se decidió aumentar la altura de la fase estacionaria de 25 a 35 cm (ca. 29 g), para verificar si, aumentando el nivel de la fase estacionaria, se evitaría la coelución; la muestra de fracción saturada se analizó en un espectrómetro IR.

### **4.3 TRATAMIENTO CON ZEOLITA**

#### **4.3.1 Activación de la zeolita ZSM-5**

La eliminación de agua adsorbida por la zeolita cuando entra en contacto con el ambiente, se realizó a una muestra de zeolita ZSM-5 (ca. 2 g) contenida en un recipiente de vidrio, dentro de una mufla (8 h), a una temperatura constante (190 °C). Después de este tiempo, se dejó enfriar dentro de un deshumidificador durante 20 min.

#### **4.3.2 Metodología para el tratamiento con zeolita**

Debido a que no siempre hay suficiente muestra de crudo, ni se obtiene una buena cantidad de fracción saturada, se decidió hacer los ensayos con zeolita con poca cantidad de fracción. Por ello, se disolvieron 200 mg de fracción saturada en ciclohexano (1 mL); así, por cada 20 µL de solución, se tomarían 4 mg de fracción saturada.

Se tomó la alícuota de fracción saturada (20 µL) y se puso en contacto con la zeolita (previamente activada), en un tubo cónico (2 mL), y se agitó durante 1 min. Se llevó la muestra a un baño de ultrasonido, a temperatura ambiente (25 °C), durante 15 min. Justo después de este lapso, se contabilizó el tiempo de

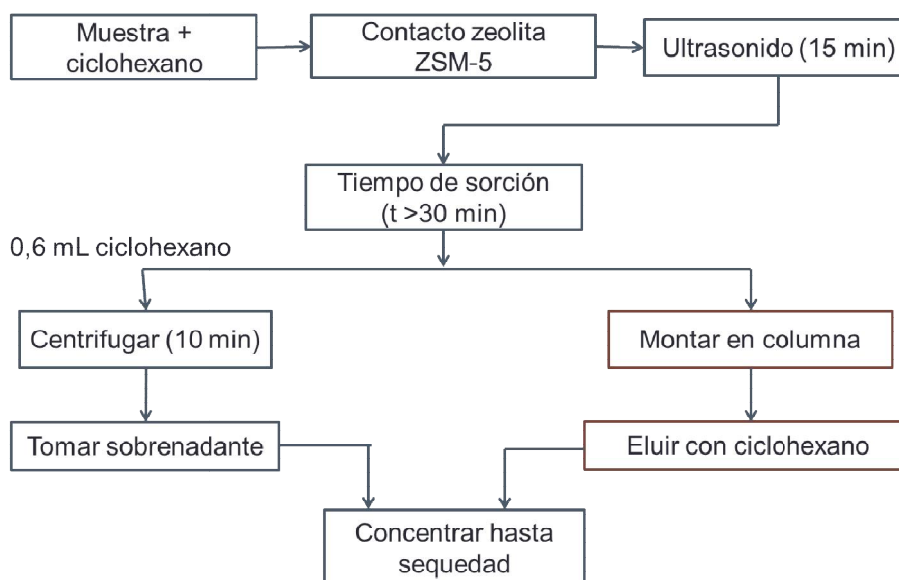
adsorción. Después de este intervalo, se agregó ciclohexano(0,6 mL) a la muestra y se centrifugó (10 min). Finalmente, se tomó el sobrenadante, se concentró con corriente de gas (nitrógeno) y se determinó la masa remanente (hidrocarburos saturados recuperados no lineales). Los resultados se muestran en la **Tabla 5**.

**Tabla 5.** Cantidades utilizadas de las variables estudiadas y compuestos saturados no retenidos.

Ensayo	Zeolita, mg	Tiempo adsorción, min	Compuesto saturados remanentes (n=2) mg
TZ-01	50	105	1,6 ± 0,2
TZ-02	100	30	1,6 ± 0,1
TZ-03	5	30	2,45 ± 0,05
TZ-04	5	180	2,1 ± 0,2
TZ-05	50	2	1,7 ± 0,1
TZ-06	100	180	1,4 ± 0,1
TZ-07	5	2	3,6 ± 0,3
TZ-08	50	30	1,9 ± 0,1

No obstante, hay otra forma de separar la solución de fracción saturada de la zeolita, justo después del tiempo de adsorción, y es utilizando un tubo de ensayo modificado, que funcione como una columna de elución cromatográfica. La metodología es la siguiente: se sella la salida de la columna con algodón, se agrega la muestra (zeolita y solución de fracción saturada), se eluye con ciclohexano (ca.0.6 mL), se recoge la solución (fracción saturada tratada con zeolita); posteriormente, se concentra con corriente de nitrógeno y se determina la masa. Los dos procedimientos se muestran en la **Figura 1**. Sin embargo, se decidió no realizar el tratamiento con zeolitas con la segunda metodología, ya que como se utiliza con poca cantidad de fracción saturada, ésta se podría quedar retenida en la columna.

**Figura 1.** Metodologías del tratamiento de fracción saturada de crudo con zeolita ZSM-5



#### 4.4 ANÁLISIS POR GC-FID

El equipo usado para determinar alcanos lineales fue un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 6890N* (*Agilent*, Palo Alto, California, EE.UU.) acoplado a un detector de ionización en llama (FID) con columna capilar con f.e. apolar 5%-fenil-poli (metilsiloxano) (DB-5MS, *J & W Scientific*, Folsom, CA, EE.UU.) de 60 m x 0.25 mm, d.i. x 0.25  $\mu\text{m}$   $d_f$ . El gas de arrastre usado fue helio (99.995%, gas AP, Bogotá, Colombia), con una presión de entrada en la cabeza de la columna de 16,47 psi y una velocidad volumétrica de flujo de 1 mL/min.

#### 4.5 ANÁLISIS DE BIOMARCADORES EN LA FRACCIÓN SATURADA POR GC/MS/MS

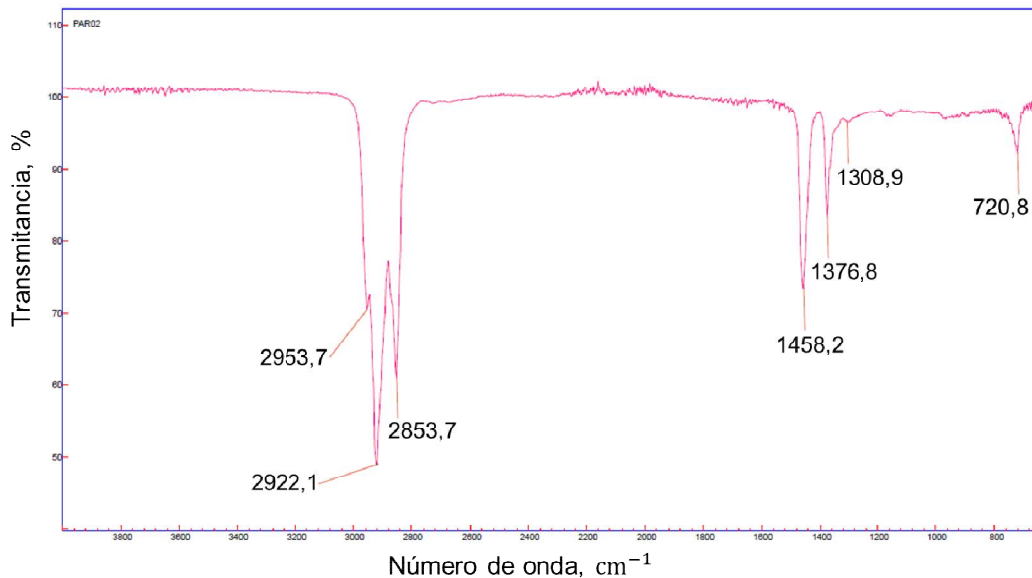
El equipo utilizado fue un cromatógrafo de gases *Agilent Technologies 7890N* acoplado a un detector de masas triple cuadrupolo (QqQ) *Agilent Technologies 7000*, operado en modo de adquisición MRM. La temperatura del horno se programó desde 60 °C a 5 °C/min hasta 150 °C, luego, a 3 °C/min hasta 320 °C. Para procesar los datos se usó el programa *MassHunter Qualitative Analyses B.05.00*.

## 5. RESULTADOS Y ANÁLISIS

### 5.1 RESULTADOS DE ANÁLISIS INFRARROJO

La fracción saturada que se aisló por cromatografía de elución en columna abierta de la muestra de crudo Guariquíes, estaba principalmente constituida por hidrocarburos alifáticos saturados, ya que presentaba señales en el espectro infrarrojo (Véase **Figura 2**) a las longitudes de onda de  $2853,7\text{ cm}^{-1}$ ,  $2922,2\text{ cm}^{-1}$ , que correspondían a la tensión del enlace C-H, lo que denotaba la presencia de grupos  $-\text{CH}_2-$ . El número de onda de  $2953,7\text{ cm}^{-1}$  corresponde al doblete debido a las tensiones asimétricas y simétricas del C-H en el  $\text{CH}_3$ . Las bandas en  $1458,2\text{ cm}^{-1}$ ,  $1376,8\text{ cm}^{-1}$  y  $1308,9\text{ cm}^{-1}$  corresponden a las flexiones,  $\text{H}-\text{C}-\text{H}$ , de los grupos metilo. La longitud de onda de  $720,8\text{ cm}^{-1}$  corresponde a la tensión de la cadena de  $-\text{CH}_2-$ .

**Figura 2.** Espectro infrarrojo de la fracción saturada de crudo Guariquíes.



Si hubiese presencia de la fracción aromática en la fracción saturada, se presentarían las siguientes bandas en el espectro IR: tensión en el enlace  $\text{C}-\text{H}$ , en la banda de  $3100\text{ cm}^{-1}$ ; tensión en el enlace  $-\text{C}=\text{C}-$ , en la banda de  $1600$  y  $1475\text{ cm}^{-1}$  y flexión en el enlace  $=\text{C}-\text{H}$ , fuera del plano en el rango

de  $900-690\text{ cm}^{-1}$ . Por consiguiente, con los resultados del espectro infrarrojo, se puede concluir que al aumentar la altura de la fase estacionaria (gel de sílice activada) en el fraccionamiento SARA, no habrá coelución entre la fracción saturada y la aromática, ya que no se presentó respuesta de ningún tipo de enlace típico de la fracción aromática, en el espectro IR, que aparece en la **Figura 2**.

## 5.2 RESULTADO DE ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO

De acuerdo con los datos presentados en la **Tabla 5**, la cantidad de zeolita utilizada influyó sobre la cantidad de compuestos saturados retenidos. Sin embargo, no se puede concluir qué compuestos fueron retenidos en los poros de la zeolita. Las muestras se analizaron en el equipo de cromatografía de gases para estudiar qué compuestos estaban presentes en la muestra después del tratamiento con zeolitas. El tiempo, según estos resultados (Véase **Tabla 5**), no fue tan influyente como sí la cantidad de zeolita ZSM-5. Según los datos presentes en la **Tabla 5**, la menor retención de compuestos saturados se presentó en la muestra TZ-07, cuando se usó la menor cantidad de zeolita y el tiempo de sorción más corto, probablemente, por una posible saturación de los poros de la zeolita y un tiempo corto de adsorción. La mayor retención de compuestos saturados se logró en la muestra TZ-06, cuando se usó la mayor cantidad de zeolita y el tiempo de adsorción mayor.

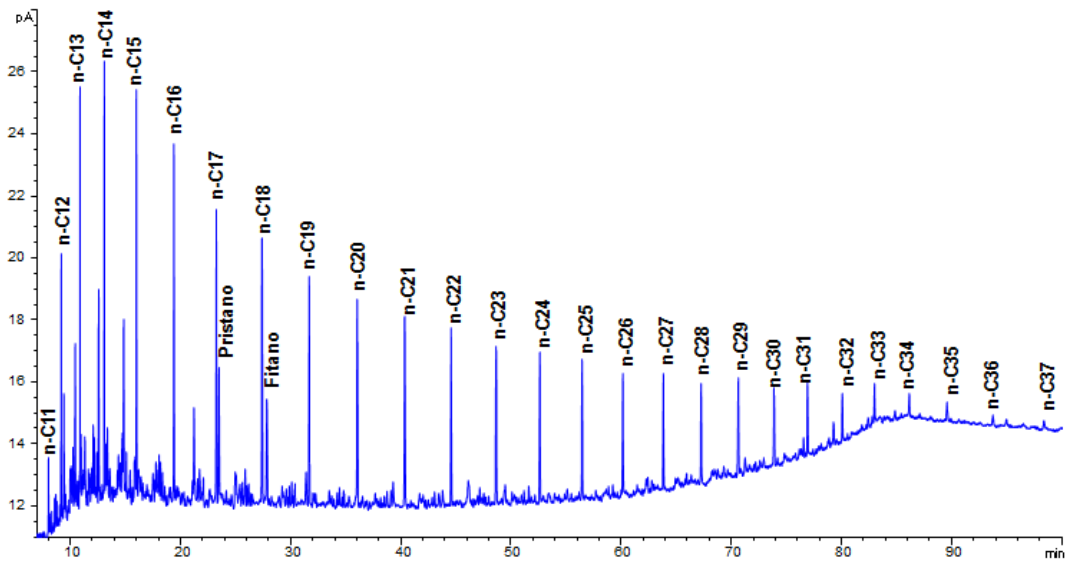
### 5.2.1 Análisis por GC-FID

Para estudiar la retención de *n*-parafinas, se analizaron por GC-FID una muestra sin tratamiento con zeolita ZSM-5 (Véase **Figura 3**) y muestras con tratamiento de zeolita ZSM-5. Se buscó comprobar la retención de los alcanos lineales en los poros del tamiz molecular. En la **Figura 3**, se puede observar la presencia de *n*-parafinas desde *n*-C<sub>11</sub> hasta *n*-C<sub>37</sub>. La identificación se llevó a cabo usando un patrón de hidrocarburos lineales desde *n*-C<sub>8</sub> hasta *n*-C<sub>40</sub>, junto con los isoprenoides pristano (Pr) y fitano (Ph). Se compararon los tiempos de retención entre los compuestos del patrón y los compuestos presentes en las muestras. Las *n*-parafinas presentes en la muestra, se

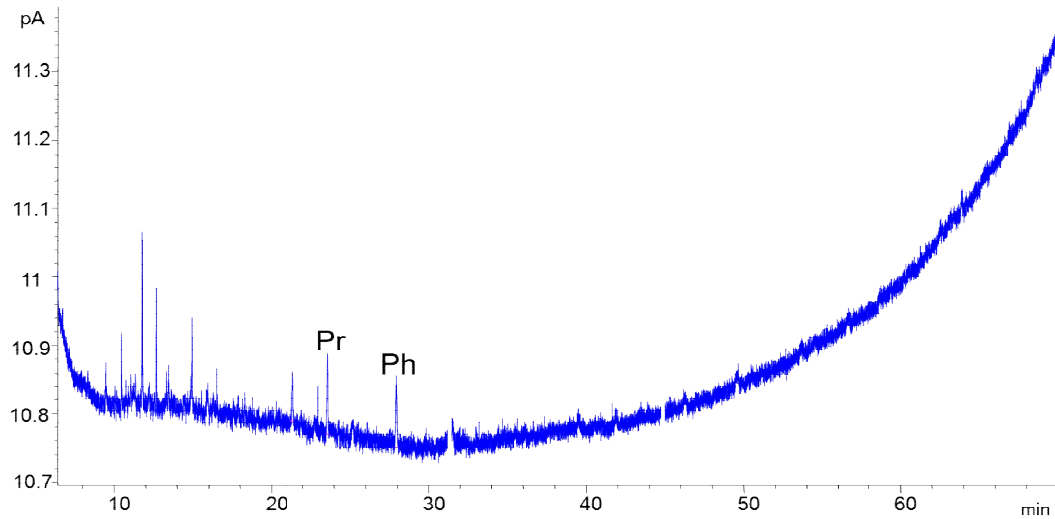
encontraban en diferentes concentraciones; sobresalieron los compuestos de peso molecular más bajo. Aunque en la muestra puedan encontrarse alcanos lineales mayores de  $n\text{-C}_{40}$ , se necesitarían esos patrones de referencia para reconocerlos en el cromatograma (GC-FID).

La combinación de variables para la adsorción de hidrocarburos lineales sobre ZSM-5, se logró con los siguientes criterios: (1) Remoción de la mayor cantidad de alcanos lineales; (2) Menor tiempo de adsorción (tiempo de preparación de la muestra); (3) Menor cantidad de zeolita ZSM-5 (gasto de reactivos).

**Figura 3.** Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de la fracción saturada de crudo VMM. Columna DB-5MS (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ); *Split* (1:30).

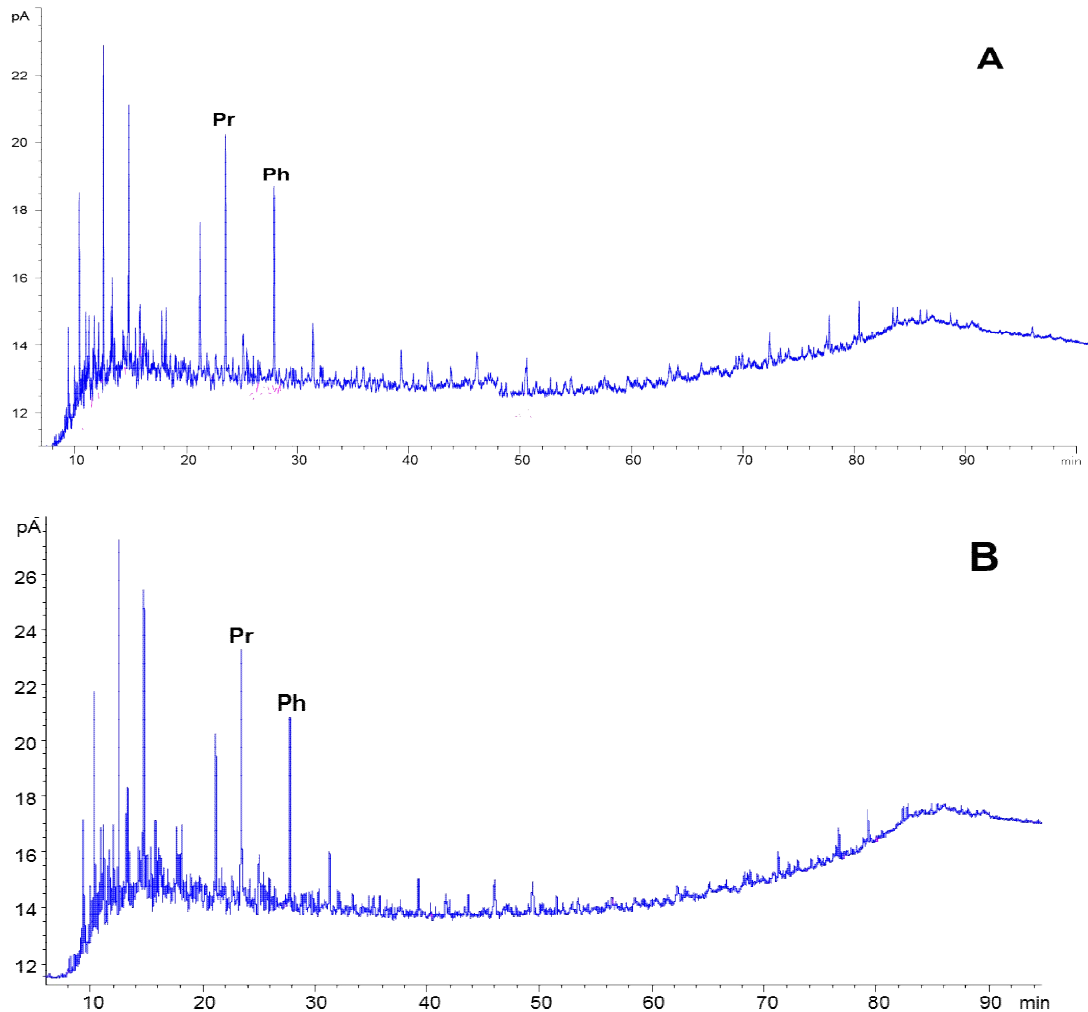


**Figura 4.** Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de fracción saturada de crudo Guariques con tratamiento con zeolita ZSM-5. Columna DB-5MS(60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m); *Split* (1:30). Muestra TZ-01 (50 mg zeolita y 105 min de sorción).



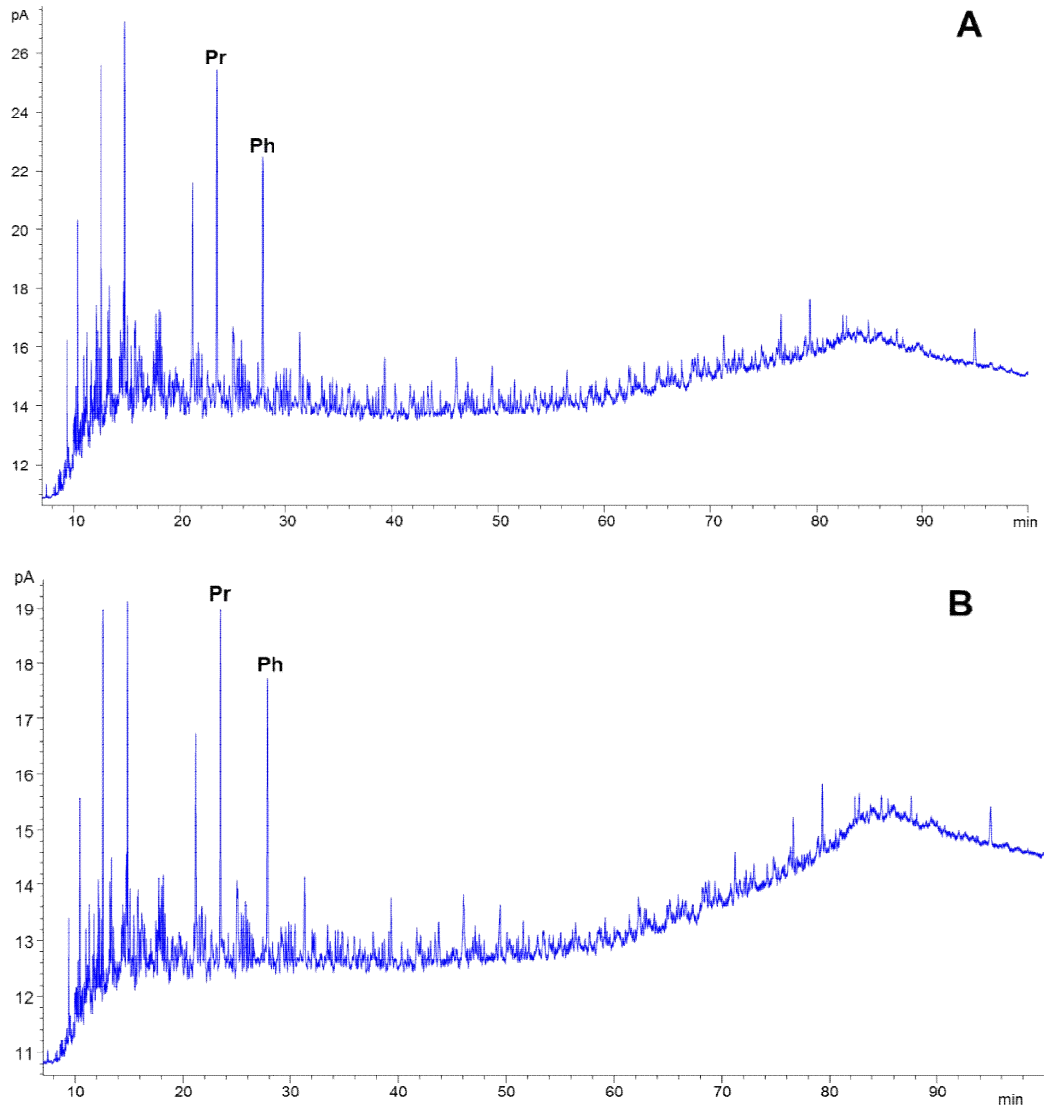
En la **Figura 4**, se muestra el perfil cromatográfico de la fracción saturada tratada con zeolita ZSM-5: las *n*-parafinas fueron removidas, a diferencia de las *iso*-parafinas (pristano y fitano) y las cicloparafinas. Debido a la presencia de ramificaciones en sus estructuras moleculares, las últimas no pueden “entrar” en el tamiz molecular, lo que hace que su concentración relativa en la fracción saturada aumente.

**Figura 5.** Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de la fracción saturada de crudo Guariques, con tratamiento de zeolita. Columna DB-5MS. (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m); *Split* (1:30). **A.** Muestra TZ-02 (100 mg de zeolita y 30 min de adsorción). **B.** Muestra TZ-06 (100 mg zeolita y 180 min de adsorción).



En la **Figura 5**, se observa que en las muestras TZ-02 y TZ-06, cuando se usaron 100 mg zeolita, se removieron los alcanos lineales presentes en la fracción saturada. Sin embargo, la muestra TZ-06 tardó 150 min más en prepararse. Algo similar sucedió con las muestras TZ-03 y TZ-04 (Véase **Figura 6**) cuando al usar 5 mg zeolita, se logró la retención de las *n*-parafinas dentro del tamiz molecular; no obstante, hubo una diferencia considerable en el tiempo de preparación de la muestra.

**Figura 6.** Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de fracción saturada de crudo Guariques, con tratamiento con zeolita. Columna DB-5MS. (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m); *Split* (1:30). **A.** Muestra TZ-03 (5 mg zeolita y 30 min de adsorción). **B.** Muestra TZ-04 (5 mg zeolita y 180 min de adsorción).



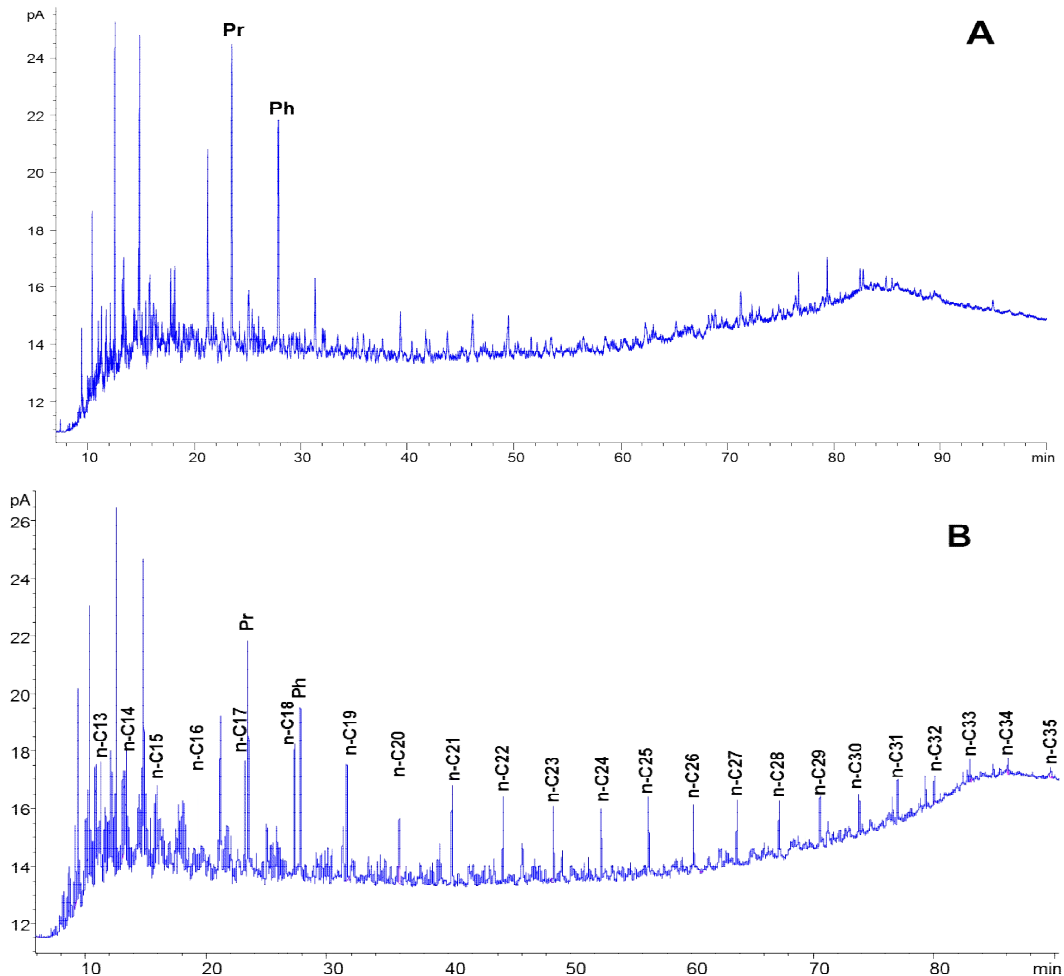
Según el diseño experimental  $2^2$  establecido para encontrar las condiciones de adsorción de los alcanos lineales, de los cinco experimentos realizados, se encontró que para 4 mg de fracción saturada, se pueden utilizar de 5 a 50 mg de zeolita ZSM-5 para llevar a cabo el proceso de sorción. En cuanto al tiempo, que se debe dejar la muestra para que se lleve a cabo la adsorción, se encontró que no era necesario un periodo mayor de 30 min; esto se deduce a partir de las **Figuras 5 y 6**.

A partir de los valores encontrados con el diseño experimental<sup>22</sup>, y para reducir aún más el tiempo de extracción, se examinaron muestras con el equipo GC-FID con tiempos de sorción de 2 min y cantidad de zeolita ZSM-5 de 5 y 50 mg, para el mismo peso de fracción saturada. Los resultados se muestran en la **Figura 7**. Se escogieron los valores extremos del rango encontrado con el diseño experimental, en cuanto a la cantidad de zeolita ZSM-5 a utilizar. Se hicieron los experimentos con 2 min de tiempo de sorción para disminuir el tiempo de preparación de la muestra.

Con 50 mg de zeolita ZSM-5 y 2 min de sorción (Véase **Figura 7 A**), se removieron las *n*-parafinas. Sin embargo, para 5 mg de zeolita y 2 min de sorción (Véase **Figura 7 B**), quedaron alcanos lineales sin ser retenidos en los poros del tamiz molecular, aunque la concentración de pristano y fitano hubiese aumentado.

Por consiguiente, los rangos en los que la sorción se puede llevar a cabo para remover *n*-parafinas de 4 mg de fracción saturada son: una cantidad de zeolita igual o mayor de 50 mg y tiempo de sorción igual o mayor de 30 min.

**Figura 7.** Perfil cromatográfico, obtenido por GC-FID de fracción saturada de crudo Guariques con tratamiento con zeolita. Columna DB-5MS (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m); *Split* (1:30). **A.** Muestra TZ-05 (50 mg zeolita y 2 min de sorción). **B.** Muestra TZ-07 (5 mg zeolita y 2 min de sorción).

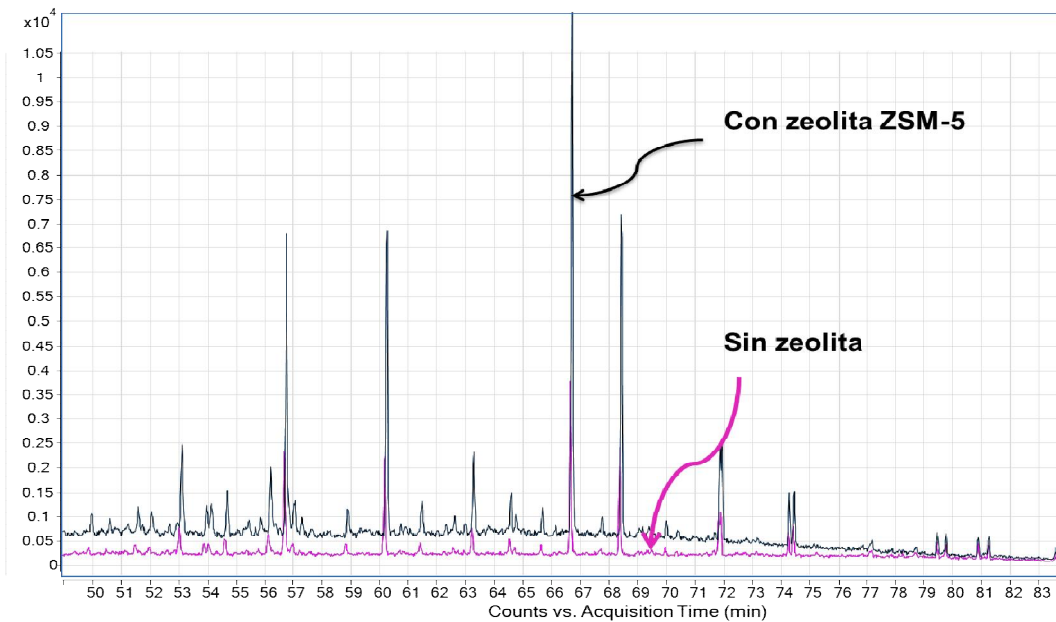


### 5.2.2 Análisis por GC-MS/MS

El aumento de la concentración de biomarcadores en la fracción saturada del crudo usando zeolita ZSM-5, se corroboró con el análisis de algunas muestras por GC-QqQ-MS, operado en modo de adquisición MRM. Según las conclusiones del análisis de los datos obtenidos con el GC-FID, se escogieron las condiciones para el tratamiento con zeolitas; éstas fueron: 30 min para el tiempo de sorción y 4 mg fracción saturada/50 mg zeolita ZSM-5. Se monitorearon las familias de los triterpanos y hopanos con el ion fragmento

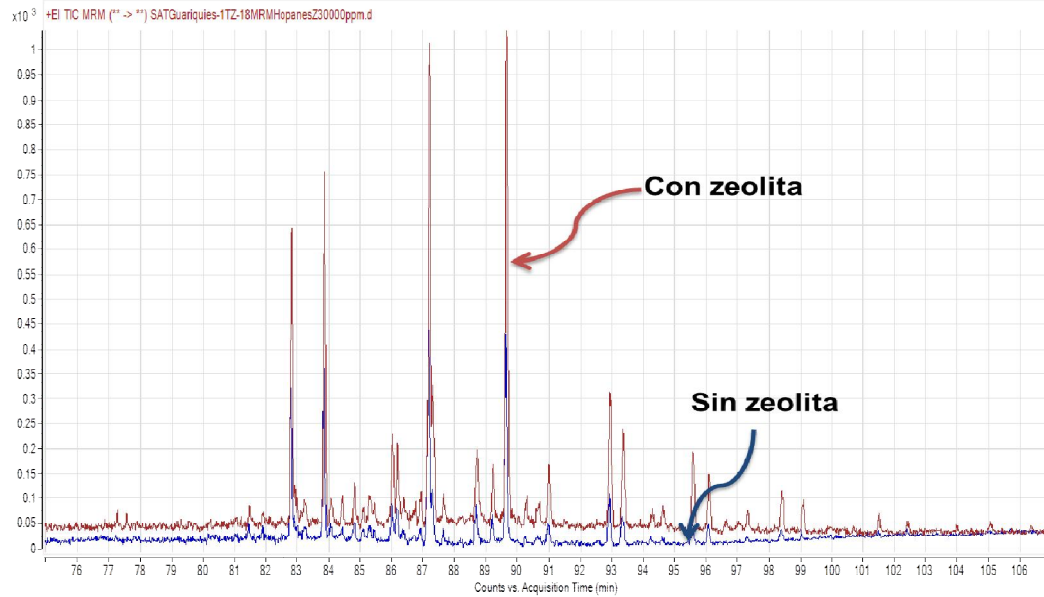
$m/z$ 191. Aunque estas dos familias tengan el mismo ion fragmento, se diferencian por sus iones moleculares[25]. Para las familias de los esteranos y diasteranos, se monitorearon los iones fragmento en  $m/z$ 217 y en  $m/z$ 259, respectivamente.

**Figura 8.** Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM) con la transición  $M^+ \rightarrow 191$  para detección de triterpano en fracción saturada de crudo Guariques, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5. Energía de colisiones activadas -5 eV. Columna DB-5MS (60 mx 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m).

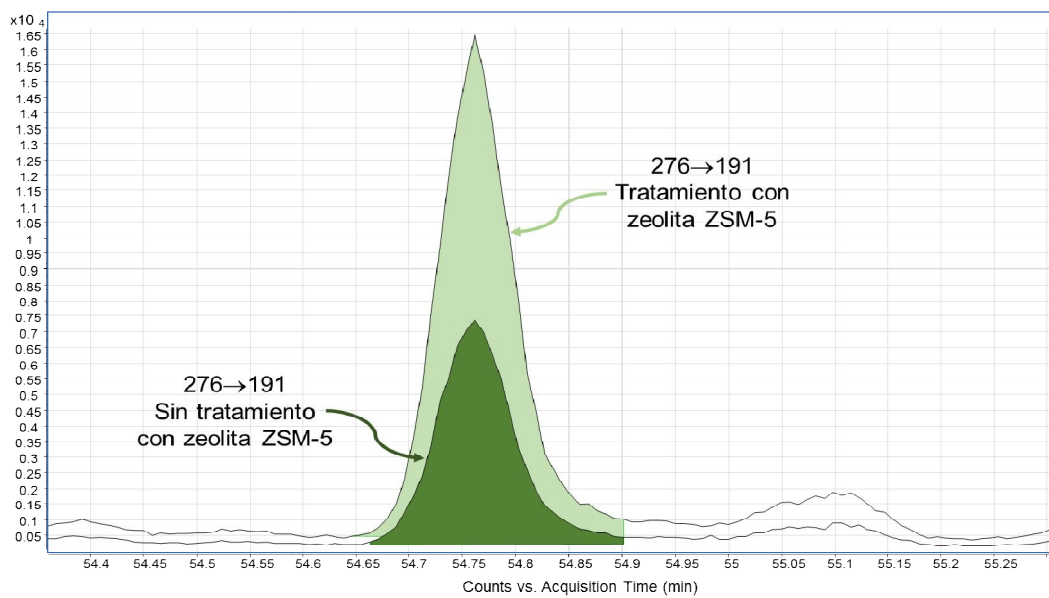


En la **Figura 8**, se muestran las corrientes iónicas extraídas (fragmentogramas) obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM), usando las transiciones de triterpanos ( $M^+ \rightarrow 191$ ). Se observa la respuesta generada por la fracción saturada de crudo, con y sin el uso de la zeolita ZSM-5. Bajo las mismas condiciones cromatográficas, la respuesta producida por la muestra con tratamiento con zeolita fue más alta que sin el uso del tamiz molecular, es decir, tanto el área de los picos cromatográficos como la relación señal/ruido, aumentaron. El mismo comportamiento se observó con la familia de los hopanos (véase **Figura 9**), donde igualmente aumentó el área de los picos cromatográficos y la relación señal/ruido, con el uso de la zeolita ZSM-5.

**Figura 9.** Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM) con la transición  $M^+ \rightarrow 191$  para detección de hopanos en fracción saturada de crudo Guariques, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5. Energía de colisiones activadas -5 eV. Columna DB-5MS (60 mx 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m).

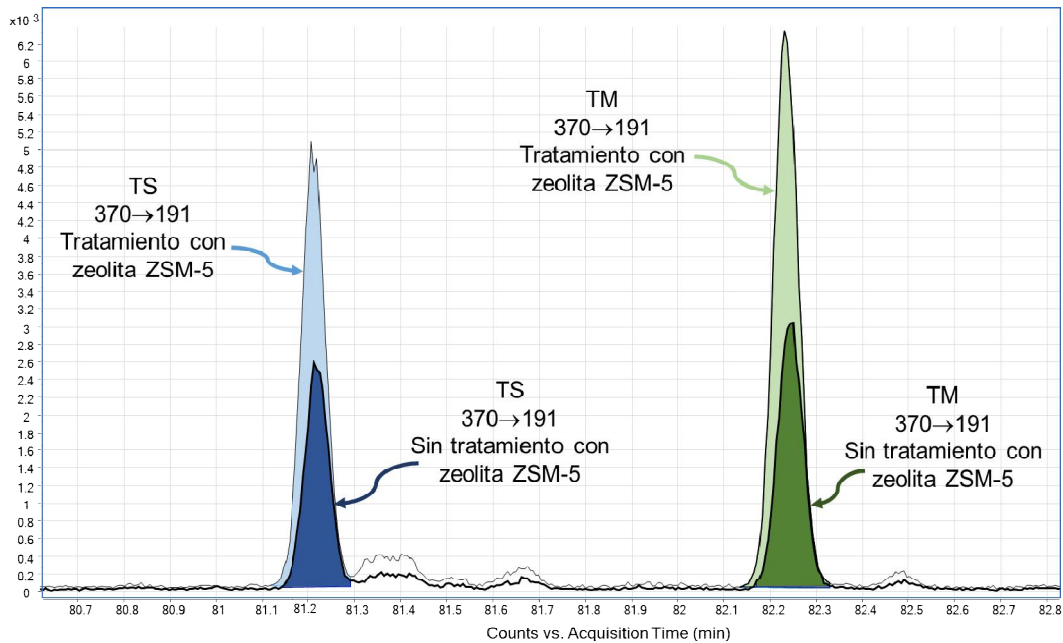


**Figura 10.** Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM) con la transición  $276 \rightarrow 191$  para detección del triterpano Tr20 en fracción saturada de crudo Guariques, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5. Energía de colisiones activadas -5 eV. Columna DB-5MS (60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu$ m)



En la **Figura 10**, se observan los fragmento gramas del triterpano Tr20 con la transición **276→191** y en la **Figura 11**, se analizó el hopano TM con la transición **370→191**. En las **Figuras 10 y 11**, se aprecian las respuestas de estos iones con y sin el uso del tamiz molecular. Se puede observar el incremento en la respuesta de los iones con el uso de la zeolita ZSM-5, que permitió aumentar la concentración de estos compuestos en la fracción saturada.

**Figura 11.**Corrientes iónicas obtenidas por GC-QqQ-MS (modo MRM)con la transición 370→191 para detección de los hopanos Ts y Tm en fracción saturada de crudo Guariquies, con y sin tratamiento con zeolita ZSM-5.Energía de colisiones activadas -5 eV. Columna DB-5MS (60 m x 0,25 mm x 0,25 µm).



En las **Tablas 6 y 7**, se muestran los resultados de la cuantificación de algunos triterpanos y esteranos con tratamiento (con y sin usar ultrasonido) y sin el tratamiento con zeolita ZSM-5. Los resultados muestran una tendencia de aumento de la concentración de los biomarcadores presentes en la fracción saturada de crudo Guariquies, al utilizar la zeolita ZSM-5. El uso de ultrasonido en la metodología aumentó la relación S/N(Véase **Anexo B**).Al retirarlas *n*-parafinas de la fracción saturada, se eliminaron compuestos que se

encontraban en una alta proporción respecto a los biomarcadores, y se aumentó su concentración en la fracción saturada. Este aumento puede llegar a 64%, como fue el caso del diasterano TPP-1 (Véanse **Anexo B** y **Anexo D**). El crudo Guariquíes tiene un 52% de fracción saturada (Véase **Tabla 4**); sin embargo, si se hubiese trabajado con un crudo de mayor porcentaje de fracción saturada, al remover los alcanos lineales, el aumento en la concentración de los biomarcadores saturados hubiese sido aún mayor.

**Tabla 6.** Resultados de la identificación y cuantificación por GC-QqQ-MS (modo MRM) de la familia triterpanos usando el método de estándar interno [5 $\beta$ -colano].

Compuesto	Transición M <sup>+</sup> → F	Tiempo de retención, min	mg biomarcador/kg fracción saturada (n=3)		
			Sin tratamiento con zeolita ZSM-5	Con tratamiento, y sin ultrasonido	Con tratamiento, y con ultrasonido
Tr19	262→191	50,9	15,3 ± 0,6	20,8 ± 0,1	22,7 ± 0,6
Tr20	276→191	54,7	71 ± 4	92,6 ± 0,7	107 ± 3
Tr21	290→191	58,4	70 ± 2	91,1 ± 0,8	98 ± 5
Tr25S	346→191	70,2	29 ± 1	38,9 ± 0,3	42 ± 1
Tr30R	416→191	82,5	10,6 ± 0,6	12,1 ± 0,1	15 ± 1

**Tabla 7.** Resultados de la identificación y cuantificación por GC-QqQ-MS (modo MRM) de la familia de esteranos usando el método de estándar interno [5 $\beta$ -colano].

Compuesto	Transición M <sup>+</sup> → F	Tiempo de retención min	mg biomarcador/kg fracción saturada (n=3)		
			Sin tratamiento con zeolita ZSM-5	Con tratamiento, y sin ultrasonido	Con tratamiento, y con ultrasonido
C27	372→259	75,4	2,90 ± 0,01	3,8 ± 0,1	4,1 ± 0,1
C28	386→259	82,2	2,37 ± 0,04	2,89 ± 0,04	3,4 ± 0,2
C29	400→259	79,5	1,6 ± 0,1	2,08 ± 0,02	2,3 ± 0,1
TPP-1	414→259	86,4	3,6 ± 0,1	4,74 ± 0,04	5,9 ± 0,5

## 6. CONCLUSIONES

Al combinar métodos selectivos de extracción en la preparación de muestras y equipos cromatográficos GC-FID y GC-QqQ-MS (modo MRM), se demostró la capacidad de la zeolita ZSM-5 para remover *n*-parafinas de una muestra de fracción saturada de crudo, cuando es suficiente el tiempo para que se lleve a cabo el proceso de sorción cuando se utilice la cantidad necesaria de zeolita ZSM-5. Esta técnica es muy útil para aumentar la concentración de biomarcadores y evitar su co-elución con *n*-parafinas presentes en la fracción saturada. El tiempo estimado del tratamiento con zeolita después de haberse extraído la fracción saturada, fue inferior a 1 h; y las muestras pueden prepararse en simultáneo. El método facilita la búsqueda de biomarcadores saturados y su aplicación en el campo de la exploración y explotación de petróleo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] PETERS, K.E; MOLDOWAN, J.M; WALTERS, C. The Biomarker Guide: Biomarkers and isotopes in the environment and human history. 2<sup>a</sup> Edition. Cambridge University Press, Cambridge. 2005. Vol. 1, p. 202-205.
- [2] MCBAIN, J. W. The Sorption of Gases and Vapors by Solids. Rutledge and Sons, London. 1932. Cap. 5.
- [3] STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J. R; ROBLES, M. Extracción selectiva y detección específica de biomarcadores saturados del petróleo. *Scientia Chromatographica*. 2014. Vol. 6. N°4, p.1-18.
- [4] AKMAZ, S; ISCAN, O; GURKAYNAK, M.A; YASAR, M. The structural characterization of saturated, aromatic, resin, and asphaltene fractions of Batiraman Crude Oil. *Petroleum Science and Technology*. 2011. Vol. 29, p.160–171.
- [5] Norma ASTM D6560-12, Standard Test Method for determination of asphaltenes (Heptane Insoluble) in Crude Petroleum and Petroleum Products. 2012.
- [6] SPEIGHT, J.G. The chemistry and technology of petroleum. 4<sup>a</sup> Edition. CRC Press, Taylor & Francis group. Boca Ratón. 2007. Chapter 11.
- [7] ALLENSON, S; CREEK, J; AKBARZADEH, K; MARSHALL, A. Los asfaltenos: problemáticos pero ricos en potencial. *Oilfield Review*. 2007. p. 24-47.
- [8] STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J.R; CASTRILLÓN, J. Aplicación del método de dispersión de matriz en fase sólida al aislamiento de hidrocarburos de rocas bituminosas. *Boletín de Geología*. 2014. Vol.36. N°1, p .29-35.

- [9] BARMAN, B; CEBOLLA, V; MEMBRADO, L. Chromatographic techniques for petroleum and related products. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2000. Vol. 30, p. 75-120.
- [10] SKOOG, D; WEST, D; HOLLER, F. Fundamentos de química analítica. 8ª Ed. Thomson. Barcelona. 2005. p. 822.
- [11] CALDERÓN, C. Manual para la interpretación de espectros infrarrojos. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.E. Editora Guadalupe LTDA. 1985, p.52-55.
- [12] LEMAIRE, E; DECRETTE, A; BELLAT, J.P; SIMON, J.M; MCTHIVIER, A; JOLIMATRE, E. Adsorption and diffusion of linear and disbranched C6 paraffins in a ZSM-5 zeolite. *Studies in Surface Science and Catalysis*. 2002. Vol.142, p.1571-1578.
- [13] GÓMEZ, L. SAINZ, H. Efecto director de estructura de moléculas fluoradas en la síntesis de aluminofosfatos microporosos cristalinos, Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. 2006, p.3.
- [14] GÓMEZ, JOSÉ. Separación de parafinas lineales y ramificadas en fase líquida mediante tamices moleculares, Tesis Doctoral. Universidad complutense de Madrid. 2006, p. 6.
- [15] BAERLOCHER, C.H.; MCCUSKER, L. B; OLSON, D. H. Atlas of zeolite framework types. 6ª Ed, Elsevier Science B.V.Amsterdam. 2007.
- [16] SANTILLI, D.S. Pore probe: A new technique for measuring the concentrations of molecules inside porous materials at elevated temperatures. *Journal of Catalysis*. 1986. Vol. 99, p. 335-341.
- [17] XU, S; SUN, Y. An improved method for the micro-separation of straight chain and branched/cyclic alkanes: Urea inclusion paper layer chromatography. *Organic Geochemistry*. 2005. Vol. 36, p.1334-1338.

- [18] HOERING, T. C; FREEMAN, D. H. Shape-selective sorption of monomethylalkanes by silicalite, a zeolitic form of silica. *Journal of Chromatography*. 1984. Vol. 316, p. 333-341.
- [19] STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J. R. Algunos aspectos de la detección en cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Selectividad e identificación. *Scientia Chromatographica*. 2009. Vol. 1. N°3, p. 29-45.
- [20] STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J. R. GC y GC-MS: configuración del equipo versus aplicaciones. *Scientia Chromatographica*. 2010. Vol.2. N° 3, p. 23-46.
- [21] STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J.R. GC-MS: Más de un analizador de masas, ¿para qué? *Scientia Chromatographica*. 2010. Vol. 2. N°4, p. 25-48.
- [22] HUNT, J. M. *Petroleum Geochemistry and Geology*. 2ª Edition. W. H. Freeman and Company. 1996. p. 381.
- [23] HAMMAD, M.M; EL NADY, M.M; RAMADAN, F.S; LOTFY, N.M. Geochemical Characteristics of Crude Oils from Ras Gharib Oilfields in the Central Gulf of Suez, Egypt. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*. 2015. Vol.37, p. 2029-2038.
- [24] PETERS, K.E; WALTERS C.C; MOLDOWAN J.M. *the Biomarker Guide: Biomarkers and Isotopes in Petroleum Exploration and Earth History*. 2ª Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 2005, Vol. 2, p.475-485.
- [25] PHILP, R.P. *Fossil Fuel Biomarkers. Applications and Spectra*. Elsevier. New York. 1985.
- [26] WANG, Z; FINGAS, M. Development of oil hydrocarbon fingerprinting and identification techniques. *Marine Pollution Bulletin*. 2003. Vol. 47, p. 423–452.
- [27] BROCKS J.J; SUMMONS, R.E. *Treatise on Geochemistry*. Ámsterdam: Elsevier. 2003. Vol.8, p. 63-115.

[28]RÍOS, S. Caracterización molecular de *facies* orgánicas en la formación cansona a partir de muestras de afloramiento en la cuenca Sinú- San Jacinto, Tesis de Maestría. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2014.

[29] D. SEVERIN, D; GUPTA, A.K. Composition analysis of petroleum waxes by zeolite molecular sieve-GCMS. *Petroleum Science and Technology*. 1999. Vol.17, p. 967-980.

[30] UGUINA, M.A; SOTELO, J.L; RODRÍGUEZ, A; GÓMEZ, J. Liquid adsorption of linear and branched paraffins onto microporous adsorbents Influence of adsorbent structure and Si/Al molar ratio. *Separation and Purification Technology*. 2006. Vol. 51, p. 72–79.

## BIBLIOGRAFÍA

AKMAZ, S; ISCAN, O; GURKAYNAK, M.A; YASAR, M. The structural characterization of saturated, aromatic, resin, and asphaltene fractions of Batiraman Crude Oil. *Petroleum Science and Technology*. 2011. Vol. 29, p.160–171.

ALLENSON, S; CREEK, J; AKBARZADEH, K; MARSHALL, A. Los asfaltenos: problemáticos pero ricos en potencial. *Oilfield Review*. 2007. p. 24-47.

BAERLOCHER, C.H.; MCCUSKER, L. B; OLSON, D. H. Atlas of zeolite framework types. 6ª Ed, Elsevier Science B.V. Amsterdam. 2007.

BARMAN, B; CEBOLLA, V; MEMBRADO, L. Chromatographic techniques for petroleum and related products. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. 2000. Vol. 30, p. 75-120.

BROCKS J.J; SUMMONS, R.E. Treatise on Geochemistry. Ámsterdam: Elsevier. 2003. Vol.8, p. 63-115.

CALDERÓN, C. Manual para la interpretación de espectros infrarrojos. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D.E. Editora Guadalupe LTDA. 1985, p.52-55.

GÓMEZ, JOSÉ. Separación de parafinas lineales y ramificadas en fase líquida mediante tamices moleculares, Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid. 2006, p. 6.

GÓMEZ, L. SAINZ, H. Efecto director de estructura de moléculas fluoradas en la síntesis de aluminofosfatos microporosos cristalinos, Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Madrid. 2006, p.3.

HAMMAD, M.M; EL NADY, M.M; RAMADAN, F.S; LOTFY, N.M. Geochemical Characteristics of Crude Oils from Ras Gharib Oilfields in the Central Gulf of Suez, Egypt. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*. 2015. Vol.37, p. 2029-2038.

HOERING, T. C; FREEMAN, D. H. Shape-selective sorption of monomethylalkanes by silicalite, a zeolitic form of silica. *Journal of Chromatography*. 1984. Vol. 316, p. 333-341.

HUNT, J. M. Petroleum Geochemistry and Geology. 2<sup>a</sup> Edition. W. H. Freeman and Company. 1996. p. 381.

LEMAIRE, E; DECRETTE, A; BELLAT, J.P; SIMON, J.M; MCTHIVIER, A; JOLIMATRE, E. Adsorption and diffusion of linear and dibranched C6 paraffins in a ZSM-5 zeolite. *Studies in Surface Science and Catalysis*. 2002. Vol.142, p.1571-1578.

MCBAIN, J. W. The Sorption of Gases and Vapors by Solids. Rutledge and Sons, London. 1932. Cap. 5.

Norma ASTM D6560-12, Standard Test Method for determination of asphaltenes (Heptane Insoluble) in Crude Petroleum and Petroleum Products. 2012.

PETERS, K.E; MOLDOWAN, J.M; WALTERS, C. The Biomarker Guide: Biomarkers and isotopes in the environment and human history. 2<sup>a</sup> Edition. Cambridge University Press, Cambridge. 2005. Vol. 1, p. 202-205.

PETERS, K.E; WALTERS C.C; MOLDOWAN J.M. the Biomarker Guide: Biomarkers and Isotopes in Petroleum Exploration and Earth History. 2<sup>a</sup> Edition. Cambridge University Press, Cambridge, 2005, Vol. 2, p.475-485.

PHILP, R.P. Fossil Fuel Biomarkers. Applications and Spectra. Elsevier. New York. 1985.

RÍOS, S. Caracterización molecular de *facies* orgánicas en la formación cansona a partir de muestras de afloramiento en la cuenca Sinú- San Jacinto, Tesis de Maestría. Universidad Industrial de Santander. Bucaramanga. 2014.

SANTILLI, D.S. Pore probe: A new technique for measuring the concentrations of molecules inside porous materials at elevated temperatures. *Journal of Catalysis*. 1986. Vol. 99, p. 335-341.

SEVERIN, D; GUPTA, A.K. Compositional analysis of petroleum waxes by zeolite molecular sieve-GCMS. *Petroleum Science and Technology*. 1999. Vol.17, p. 967-980.

SKOOG, D; WEST, D; HOLLER, F. Fundamentos de química analítica. 8ª Ed. Thomson. Barcelona. 2005. p. 822.

SPEIGHT, J.G. The chemistry and technology of petroleum. 4ª Edition. CRC Press, Taylor & Francis group. Boca Ratón. 2007. Chapter 11.

STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J. R. Algunos aspectos de la detección en cromatografía de gases y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Selectividad e identificación. *Scientia Chromatographica*.2009. Vol. 1. Nº 3, p. 29-45.

STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J. R. GC y GC-MS: configuración del equipo versus aplicaciones. *Scientia Chromatographica*. 2010. Vol.2. Nº 3, p. 23-46.

STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J.R. GC-MS: Más de un analizador de masas, ¿para qué? *Scientia Chromatographica*. 2010. Vol. 2. Nº.4, p. 25-48.

STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J.R; CASTRILLÓN, J. Aplicación del método de dispersión de matriz en fase sólida al aislamiento de hidrocarburos de rocas bituminosas. *Boletín de Geología*. 2014. Vol.36. Nº 1, p .29-35.

STASHENKO, E.E; MARTÍNEZ, J.R; ROBLES, M. Extracción selectiva y detección específica de biomarcadores saturados del petróleo.*Scientia Chromatographica*. 2014. Vol. 6. Nº 4, p.1-18.

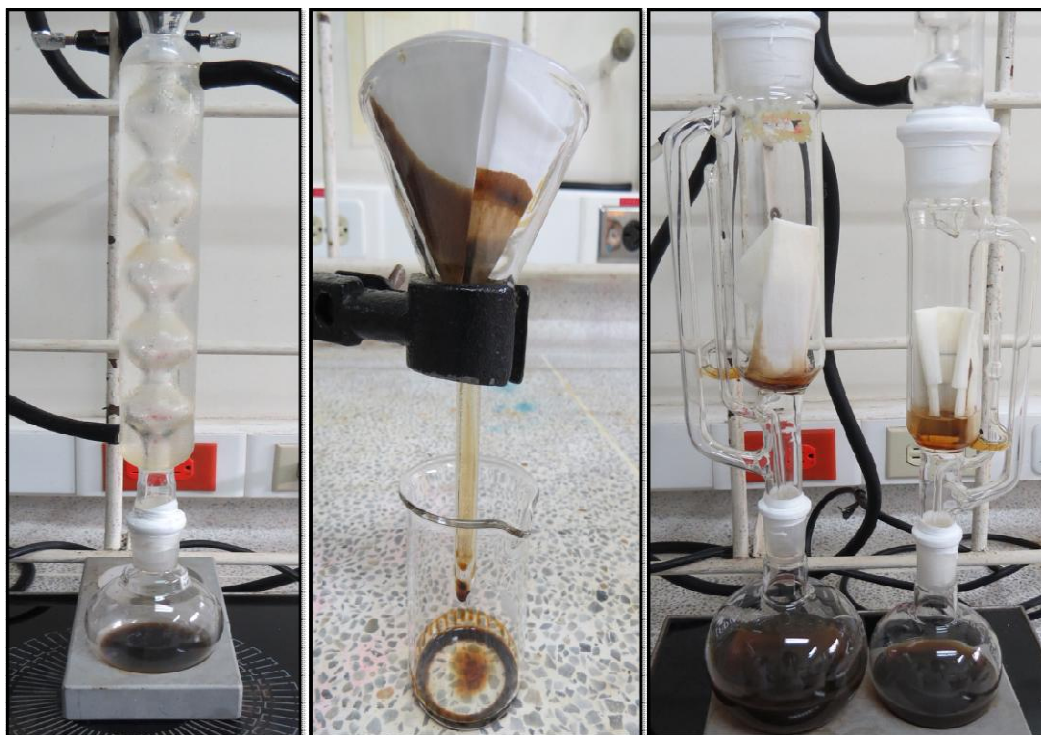
UGUINA, M.A; SOTELO, J.L; RODRÍGUEZ, A; GÓMEZ, J. Liquid adsorption of linear and branched paraffins onto microporous adsorbents Influence of adsorbent structure and Si/Al molar ratio. *Separation and Purification Technology*. 2006. Vol. 51, p. 72–79.

WANG, Z; FINGAS, M. Development of oil hydrocarbon fingerprinting and identification techniques. *Marine Pollution Bulletin*. 2003. Vol. 47, p. 423–452.

XU, S; SUN, Y. An improved method for the micro-separation of straight chain and branched/cyclic alkanes: Urea inclusion paper layer chromatography. *OrganicGeochemistry*. 2005. Vol. 36, p.1334-1338.

## ANEXOS

**ANEXO A: MONTAJES PARA LA SEPARACIÓN DE MALTENOS Y ASFALTENOS EN EL CRUDO. REFLUJO PARA LA PRECIPITACIÓN DE ASFALTENOS (IZQUIERDA). FILTRACIÓN DE LOS ASFALTENOS (CENTRO). LAVADO DEL PAPEL FILTRO EN UN EXTRACTOR SOXHLET (DERECHA).**



**ANEXO B: CONCENTRACIÓN DE TRITERPANOS ANALIZADOS POR GC-  
QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO  
GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5.**

Compuesto	Transición $M^+ \rightarrow F$	Tiempo de retención, min	mg biomarcador/kg fracción saturada (n=3)		
			Sin tratamiento de zeolita ZSM-5	Con tratamiento, y sin ultrasonido	Con tratamiento, y con ultrasonido
Tr19	262→191	50,9	15,3 ± 0,6	20,8 ± 0,1	22,7 ± 0,6
Tr20	276→191	54,7	71 ± 4	92,6 ± 0,7	107 ± 3
Tr21	290→191	58,4	70 ± 2	91,1 ± 0,8	98 ± 5
Tr22	304→191	61,5	16 ± 1	21,2 ± 0,2	23,2 ± 0,6
Tr23	318→191	65,0	120 ± 5	155 ± 2	166 ± 7
Tr24	332→191	66,7	77 ± 2	98,8 ± 0,6	105 ± 2
Tr25S	346→191	70,2	29 ± 1	38,9 ± 0,3	42 ± 1
Tr25R	346→191	70,3	28 ± 1	33 ± 1	35,1 ± 0,4
Tr26S	360→191	72,7	18,3 ± 0,5	24,7 ± 0,6	25,2 ± 0,1
Tr26R	360→191	72,8	18,4 ± 0,2	23,2 ± 0,2	25,4 ± 0,2
Tr28S	388→191	77,9	13 ± 1	16,3 ± 0,1	19,1 ± 0,8
Tr28R	388→191	78,2	13,2 ± 0,6	15,9 ± 0,1	18,7 ± 0,1
Tr29S	402→191	79,4	15,4 ± 0,4	17,8 ± 0,1	21 ± 2
Tr29R	402→191	79,7	15 ± 1	17,3 ± 0,1	21,0 ± 0,7
Tr30S	416→191	82,1	10,7 ± 0,8	12,1 ± 0,3	15 ± 1
Tr30R	416→191	82,5	10,6 ± 0,6	12,1 ± 0,1	15 ± 1
Tr31S	430→191	84,1	4,3 ± 0,3	5,1 ± 0,2	6,6 ± 0,5
Tr31R	430→191	84,6	4,5 ± 0,3	4,9 ± 0,1	6,5 ± 0,2

**ANEXO C: CONCENTRACIÓN DE HOPANOS ANALIZADOS POR GC-QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5.**

Compuesto	Transición M <sup>+</sup> → F	Tiempo de retención, min	mg biomarcador/kg fracción saturada (n=3)		
			Sin tratamiento de zeolita ZSM-5	Con tratamiento, y sin ultrasonido	Con tratamiento, y con ultrasonido
TS	370→191	81,2	20 ± 2	25,4 ± 0,1	28 ± 2
TM	370→191	82,2	25 ± 1	32 ± 1	36 ± 2
H28	384→191	84,2	8 ± 1	10,5 ± 0,1	12 ± 1
H29	398→191	85,3	50 ± 2	60,2 ± 0,3	70 ± 4
H30	412→191	87,6	59 ± 3	71 ± 2	82 ± 5
H31S	426→191	90,6	17 ± 1	18,8 ± 0,1	23 ± 1
H31R	426→191	90,9	12 ± 1	13,3 ± 0,1	16,3 ± 0,5
H32S	440→191	93,3	8,7 ± 0,4	9,8 ± 0,1	12,7 ± 0,4
H32R	440→191	93,8	6,5 ± 0,7	7,0 ± 0,1	9,4 ± 0,4
H33S	454→191	96,3	4,4 ± 0,2	4,8 ± 0,4	5,50 ± 0,05
H33R	454→191	97,0	3,1 ± 0,2	3,4 ± 0,2	3,76 ± 0,04
H34S	468→191	99,3	1,9 ± 0,1	2,1 ± 0,1	2,2 ± 0,1
H34R	468→191	100,1	1,2 ± 0,1	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,1
H35S	482→191	102,5	0,87 ± 0,02	0,96 ± 0,01	1,17 ± 0,03
H35R	482→191	103,6	0,55 ± 0,02	0,6 ± 0,1	0,72 ± 0,02

**ANEXO D: CONCENTRACIÓN DE DIASTERANOS ANALIZADOS POR GC-  
QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO  
GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5.**

Compuesto	Transición $M^+ \rightarrow F$	Tiempo de retención, min	mg biomarcador/kg fracción saturada ( $n=3$ )		
			Sin tratamiento de zeolita ZSM-5	Con tratamiento, y sin ultrasonido	Con tratamiento, y con ultrasonido
C27	372→259	75,4	2,90 ± 0,01	3,8 ± 0,1	4,1 ± 0,1
C28	386→259	82,2	2,37 ± 0,04	2,89 ± 0,04	3,4 ± 0,2
C29	400→259	79,5	1,6 ± 0,1	2,08 ± 0,02	2,3 ± 0,1
TPP-1	414→259	86,4	3,6 ± 0,1	4,74 ± 0,04	5,9 ± 0,5
TPP-2	414→259	86,5	3,6 ± 0,1	4,35 ± 0,03	4,9 ± 0,3

**ANEXO E: CONCENTRACIÓN DE ESTERANOS ANALIZADOS POR GC-  
QQQ-MS (MODO MRM) EN FRACCIÓN SATURADA DE CRUDO  
GUARIQUIES TRATADA CON ZEOLITA ZSM-5.**

Compuesto	Transición $M^{+} \rightarrow F$	Tiempo de retención, min	mg biomarcador/kg fracción saturada ( $n=3$ )		
			Sin tratamiento de zeolita ZSM-5	Con tratamiento, y sin ultrasonido	Con tratamiento, y con ultrasonido
S19	260→217	53,1	10 ± 1	13,3 ± 0,3	13,8 ± 0,3
S20	274→217	57,8	5,9 ± 0,9	7,7 ± 0,1	8,1 ± 0,1
S21	288→217	62,1	67 ± 8	86,2 ± 1,8	91 ± 2
S22	302→217	66,1	26 ± 4	35,3 ± 1,3	38 ± 1
S23	316→217	65,5	12 ± 1	15,1 ± 0,6	16,3 ± 0,1
S25	344→217	75,1	3,5 ± 0,3	4,9 ± 0,1	5,6 ± 0,2
S26	358→217	77,9	4 ± 1	5,60 ± 0,02	6,4 ± 0,2
D27β $\alpha$ S	372→217	75,4	31,0 ± 4,1	41,3 ± 1,6	45 ± 1
D27β $\alpha$ R	372→217	76,2	21 ± 3	26,3 ± 0,7	29,1 ± 0,2
D27 $\alpha$ βS	372→217	77,1	6 ± 1	8,5 ± 0,1	9,9 ± 0,2
D27 $\alpha$ βR	372→217	77,4	7 ± 1	10,7 ± 0,1	12,8 ± 0,1
S27 $\alpha\alpha\alpha$ S	372→217	79,3	10 ± 1	14,8 ± 0,4	17 ± 0,1
S27 $\alpha\beta\beta$ S	372→217	79,8	10 ± 2	14,8 ± 0,2	16,8 ± 0,7
S27 $\alpha\alpha\alpha$ R	372→217	80,3	11 ± 2	14,2 ± 0,1	16 ± 1
D28 $\alpha\alpha\alpha$ S	386→217	81,6	1,6 ± 0,1	3,19 ± 0,07	4,00 ± 0,01
D28 $\alpha\beta\beta$ R	386→217	81,9	12,5 ± 0,8	16,4 ± 0,4	18,9 ± 0,5
D28 $\alpha\beta\beta$ S	386→217	82,1	10 ± 1	14,2 ± 0,4	15,7 ± 0,3
D28 $\alpha\alpha\alpha$ R	386→217	82,8	7 ± 1	9,1 ± 0,2	10,2 ± 0,1
D29S	400→217	79,5	15 ± 2	19,6 ± 0,7	22 ± 1
S29 $\alpha\alpha\alpha$ S	400→217	83,5	4,4 ± 0,7	5,72 ± 0,2	6,4 ± 0,3
S29 $\alpha\beta\beta$ S	400→217	84,1	7 ± 1	9,27 ± 0,2	11,1 ± 0,5
S29 $\alpha\beta\beta$ R	400→217	83,8	8 ± 1	10,3 ± 0,1	12,8 ± 0,8
S29 $\alpha\alpha\alpha$ R	400→217	84,8	5,7 ± 0,5	7,8 ± 0,2	9,5 ± 0,8

**ANEXO F: BIOMARCADORES SATURADOS IDENTIFICADOS Y  
CUANTIFICADOS PORGC-QQQ-MS**

Tr19 Terpano tricíclico $C_{19}$	H2817 $\alpha$ (H),21 $\beta$ (H)-28,30- dinorhopano $C_{28}$
Tr20 Terpano tricíclico $C_{20}$	H2917 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30-norhopano $C_{29}$
Tr21 Terpano tricíclico $C_{21}$	H3017 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-hopano $C_{30}$
Tr22 Terpano tricíclico $C_{22}$	H31S17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- homohopano $C_{31}$ 22S
Tr23 Terpano tricíclico $C_{23}$	H31R17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- homohopano $C_{31}$ 22R
Tr24 Terpano tricíclico $C_{24}$	H32S17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- dihomohopano $C_{32}$ 22S
Tr25S Terpano tricíclico $C_{25}$ S	H32R17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- dihomohopano $C_{32}$ 22R
Tr25R Terpano tricíclico $C_{25}$ R	H33S17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- Trihomohopano $C_{33}$ 22S
Tr26S Terpano tricíclico $C_{26}$ S	H33R17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- Trihomohopano $C_{33}$ 22R
Tr26R Terpano tricíclico $C_{26}$ R	H34S17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- tetrakishomohopano $C_{34}$ 22S
Tr28S Terpano tricíclico $C_{28}$ S	H34R17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- tetrakishomohopano $C_{34}$ 22R
Tr28R Terpano tricíclico $C_{28}$ R	H35S17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- pentakishomohopano $C_{35}$ 22S
Tr29S Terpano tricíclico $C_{29}$ S	H35R17 $\alpha$ (H), 21 $\beta$ (H)-30- pentakishomohopano $C_{35}$ 22R
Tr29R Terpano tricíclico $C_{29}$ R	S19 Esterano $C_{19}$
Tr30S Terpano tricíclico $C_{30}$ S	S20 Esterano $C_{20}$
Tr30R Terpano tricíclico $C_{30}$ R	S21 Esterano $C_{21}$
Tr31S Terpano tricíclico $C_{31}$ S	S22 Esterano $C_{22}$
Tr31R Terpano tricíclico $C_{31}$ R	S23 Esterano $C_{23}$
TS 18 $\alpha$ (H)-22,29, 30- trisorneohopano $C_{27}$	
TM17 $\alpha$ (H)-22, 29,30-trisnorhopano $C_{27}$	