

**ESTUDIO POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON
ELECTRONEBULIZACIÓN (ESI-MS) DE LA DISTRIBUCIÓN DE ÁCIDOS MONO
CARBOXÍLICOS PRODUCTO DE LA REACCIÓN DE OXIDACIÓN DE
ASFALTENOS COLOMBIANOS CATALIZADA POR IONES RUTENIO (RICO).**

WILLIAM DUARTE RUEDA

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

2014

**ESTUDIO POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON
ELECTRONEBULIZACIÓN (ESI-MS) DE LA DISTRIBUCIÓN DE ÁCIDOS MONO
CARBOXÍLICOS PRODUCTO DE LA REACCIÓN DE OXIDACIÓN DE
ASFALTENOS COLOMBIANOS CATALIZADA POR IONES RUTENIO (RICO).**

WILLIAM DUARTE RUEDA

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Químico

Directora:

MARIANNY YAJAIRA COMBARIZA, Ph.D.

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE CIENCIAS BÁSICAS
ESCUELA DE QUIMICA
BUCARAMANGA
2014**

Dedicatoria

*A mis padres William y Mercedes,
quienes siempre me apoyaron en todo instante,
a mis hermanas , y a los motores de mi vida,
marianita y Jessica, por brindarme su apoyo
incondicional, su amor y fortaleza .*

Agradecimientos

A Dios por darme la fortaleza para no desfallecer en este proceso.

A la Dra. Yajaira Combariza, por darme la oportunidad de trabajar al lado suyo, de aprender muchas cosas, guiándome siempre con sus enseñanzas.

A mis amigos Jose Luis, José Javier, Carlos, Marisol, Lina y mis compañeros de carrera con quienes compartí varios momentos inolvidables.

A Jesica y a Marianita, por el apoyo incondicional que siempre tuvieron conmigo, quienes siempre estuvieron hasta el final, apoyándome en esta travesía.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	17
1. OBJETIVOS	19
1.1. OBJETIVO GENERAL	19
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	19
2. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEORICO	20
2.1 GENERALIDADES	20
2.2 DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA QUÍMICA DE UN ASFALTENO	23
2.3 REACCIÓN RICO	24
2.4 ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE IONIZACIÓN CON ELECTRONEBULIZACIÓN EN MODO DE IONIZACIÓN NEGATIVO.	26
2.4.1 Descripción del equipo	28
2.5 TÉCNICAS INSTRUMENTALES PARA EL ANÁLISIS DE ASFALTENOS	29
2.6 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA	32
2.7 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO	33
3. METODOLOGÍA	34
3.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE ASFALTENO	34
3.2 REACCIÓN RICO	35
3.3. EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA DE ÁCIDO CARBOXÍLICOS	36
3.4. EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO	38
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS	40
5. CONCLUSIONES	68
6. RECOMENDACIONES	69
BIBLIOGRAFÍA	70
ANEXOS	77

LISTADO DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Composición de la materia orgánica en rocas sedimentarias. La fracción del de alifáticos y aromáticos del bitumen comprende principalmente hidrocarburos (c. C ₅ –C ₄₀). Tomado de Killops & Killops 2005.	21
Figura 2 Modelo de estructura química de cuatro moléculas de asfaltenos de diferentes crudos (Sayyad y col, 2009).	24
Figura 3 Reacciones RICO de compuestos orgánicos (Strausz y col, 1999).	25
Figura 4. Espectrómetro de masas ESI-IT	29
Figura 5. Equipo de extracción en fase sólida SPE	33
Figura 6. Metodología general desarrolla en el proyecto.	34
Figura 7 Metodología para la reacción RICO	36
Figura 8. Limpieza de la muestra de ácidos carboxílicos empleando SPE.	37
Figura 9. Fase estacionaria de cartuchos SPE-SAX.	37
Figura 10. Metodología para la extracción líquido-líquido.	39
Figura 11. Espectro de corriente total de iones obtenido para el análisis ESI-MS en modo negativo de 5 mg/mL de ácidos carboxílicos, producto de la reacción RICO, después de separación por SPE.	41
Figura 12. Estructura del TBP (Tributil fosfato)	44
Figura 13 Espectro de corriente total de iones obtenido para el análisis ESI-MS en modo negativo de 5 mg/ml de ácidos mono carboxílicos después de la extracción líquido-líquido usando TBP como aditivo.	45
Figura 14 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=141$ correspondiente a un ácido cuyo que experimenta pérdida de 18 y 44 unidades de m/z respectivamente.	46

Figura 15 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=567$ correspondiente a un dímero, que al fragmentarlo experimenta una pérdida de 283.2 unidades de m/z	47
Figura 16. Posible estructura para un agregado de ácido carboxílico mono cargado, que involucra el compartimiento de un protón	48
Figura 17 Biomarcadores ácidos detectados en muestras de petróleo formados durante el proceso de biodegradación (Feitosa y col. 2012).	52
Figura 18 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=157$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	53
Figura 19. Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 157	54
Figura 20 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=227$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	55
Figura 21 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 227	55
Figura 22 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=255$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	56
Figura 23 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 255	56
Figura 24 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=235$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	57
Figura 25. Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico del ion molecular m/z 235	58
Figura 26. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=221$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	59
Figura 27 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 221	59
Figura 28 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=345$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	60

Figura 29 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico del ion molecular m/z 345	61
Figura 30 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=223$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	62
Figura 31 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico del ion molecular m/z 223	63
Figura 32 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=127$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	64
Figura 33 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 127	65
Figura 34 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=141$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	65
Figura 35. Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 141	66

LISTADO DE TABLAS

	Pág.
Tabla. 1 Cambio composicional en los tres principales tipos de kerógeno con el incremento en la maduración. Adaptado de Killops & Killops 2005.	22
Tabla 2. Resumen de algunos trabajos sobre caracterización de asfaltenos. Adaptado de Ancheyta y col, 2002	30
Tabla 3 Asignación estructuras de ácidos carboxílicos, Z valores, Adaptada de Kuangnan y col.	49
Tabla 4 Composición elemental asignada para 22 señales de ácidos carboxílicos.	50

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=181$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	78
ANEXO B. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=253$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	79
ANEXO C. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=263$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	80
ANEXO D. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=269$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	81
ANEXO E. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=275$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	82
ANEXO F. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=277$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	83
ANEXO G. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=279$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	84
ANEXO H. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=281$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	85
ANEXO I. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=305$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	86
ANEXO J. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=323$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	87
ANEXO K. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=325$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.	88
ANEXO L. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=387$, junto con la estructura propuesta para esta molécula	89

RESUMEN

TITULO: ESTUDIO POR ESPECTROMETRÍA DE MASAS CON ELECTRONEBULIZACIÓN (ESI-MS) DE LA DISTRIBUCIÓN DE ÁCIDOS MONO CARBOXÍLICOS PRODUCTO DE LA REACCIÓN DE OXIDACIÓN DE ASFALTENOS COLOMBIANOS CATALIZADA POR IONES RUTENIO (RICO).*

AUTOR: WILLIAM DUARTE RUEDA **

PALABRAS CLAVES:Asfaltenos, reacción RICO, biomarcadores, electro-spray, ácidos carboxílicos, extracción líquido-líquido

El uso de crudos pesados y residuos de petróleo, está en aumento, debido a la creciente demanda de combustibles como fuente de energía. Los crudos pesados contienen cantidades significativas de asfaltenos, macromoléculas orgánicas de elevado peso molecular, que causan problemas durante los procesos de explotación, transporte y refinación, debido su facilidad para formar agregados. Con el fin de desarrollar tecnologías para el aprovechamiento integral del crudo pesado, es necesaria una comprensión global de la química de los asfaltenos. Una herramienta que se utiliza actualmente para el análisis de las fracciones pesadas del petróleo, es la oxidación de carbono en fragmentos aromáticos, la cual se usa particularmente para degradar asfaltenos de petróleos o de carbones. La reacción RICO (*Ruthenium-Ion-Catalyzed oxidation*, por sus siglas en inglés), ha sido aplicada al análisis de la estructura de asfaltenos, esta, produce ácidos carboxílicos que pueden ser analizados de forma directa a través de la técnica ESI-MS. Esta técnica junto a un método selectivo de extracción líquido-líquido con TBP en Dodecano permite el análisis de una de las fracciones de estos ácidos (monocarboxílicos) producto de la reacción RICO. Este proyecto consistió en la determinación de las especies carboxílicas que se forman durante la reacción RICO de un asfalteno Colombiano. Las especies ácidas determinadas en la fracción de asfaltenos de campo colorado se pueden relacionar estructuralmente con: ácidos n-alcanóicos, terpenos tricíclicos, bicíclicos y esteránicos.

* Proyecto de grado

** Facultad de Ciencias, Escuela de Química, Directora Marianny Yajaira Combariza

ABSTRACT

TITLE: STUDY BY MASS SPECTROMETRY ELECTROSPRAY (ESI-MS) DISTRIBUTION OF MONO CARBOXYLIC ACID PRODUCT OXIDATION REACTION CATALYZED BY ION RUTHENIUM (RICO) IN COLOMBIAN ASPHALTENE^{*}

AUTHOR: WILLIAM DUARTE RUEDA^{**}

KEYS WORDS: Asphaltenes, reaction RICO, biomarkers, electrospray, carboxylic acids, liquid-liquid extraction.

The use of heavy oils and petroleum residues, are increasing due to the growing demand for fuels for energy. Heavy oils contain significant amounts of asphaltenes, organic macromolecules of high molecular weight, causing problems during the processes of extraction, transport and refining, because it's easy to form aggregates. In order to develop technologies for integrated heavy oil, a comprehensive understanding of the chemistry of asphaltenes is necessary. A tool that is currently used for the analysis of heavy petroleum fractions, carbon oxidation is aromatic fragments, which are particularly used to degrade petroleum asphaltenes. The RICO reaction (Ruthenium Ion catalyzed oxidation) has been applied to the analysis of the structure of asphaltenes, this produces carboxylic acids can be analyzed directly by ESI -MS technique. This technique together with a selective method of liquid-liquid extraction with TBP in Dodecane permits analysis of the fractions of these acids (monocarboxylics) reaction product of the RICO . This project involved the determination of carboxylic species formed during the reaction of a Colombian RICO asphaltene. The acidic species identified in the asphaltene fraction of colorado field can be related structurally to: n- alkanic acids, tricyclic terpenes, bicyclic and esteránicos .

^{*} Proyect to degree

^{**} Science Faculty, Chemistry School, Directora Marianny Yajaira Combariza

ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

13C	13-Carbon Resonancia magnética nuclear.
CID	Disociación inducida por colisiones.
EC	Composición elemental.
ESI	Ionización por electrospray
ESI-MS:	Ionización por electrospray acoplada a espectrometría de masas.
ESR	Resonancia de spin electrónico.
DRX	Difracción de rayos X
FD	Despolarización de la fluorescencia.
FES	Espectroscopía de emisión de fluorescencia
FS	Espectroscopía de fluorescencia.
FTIR	Transformada de Fourier de infrarrojos
GC-MS	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
GPC	Cromatografía de permeación en gel.
HPLC	Cromatografía líquida de alta eficiencia.
HRMS	Espectrometría de masas de alta resolución
HRTEM	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución.
HTGC	Cromatografía de gases de alta temperatura
IR	Infrarrojo
IT	Tensión interfacial
IT	Trampa de iones
LDMS	Láser desorción espectrometría de masas.
MALDI- TOF	Matriz asistida por láser de desorción / ionización tiempo de vuelo
MS	Espectrometría de masas.
NIM	Ionización en modo negativo
OST	Técnica de dispersión óptica.
PDMS	Espectrometría de masas de desorción de plasma.

PY/GC/MS	Cromatografía / espectrometría de masas de gas de pirólisis.
SANS:	Dispersión de neutrones de ángulo pequeño.
SEC	Cromatografía de exclusión por tamaño.
SPE	Extracción en fase sólida.
ST	Tensión superficial
RICO	Oxidación catalizada por iones rutenio
TLC	Cromatografía en capa fina.
VPO	Osmometría Presión de vapor

INTRODUCCIÓN

El uso de crudos pesados y residuos de petróleo en la industria de la refinación del petróleo a nivel mundial, está en aumento debido a la creciente demanda de combustibles como fuente de energía. Los crudos pesados contienen cantidades significativas de asfaltenos, macromoléculas orgánicas de elevado peso molecular, que causan problemas durante los procesos de explotación, transporte y refinación, debido su facilidad para formar agregados.

Con el fin de desarrollar tecnologías para el aprovechamiento integral del crudo pesado, es necesaria una comprensión global de la química de los asfaltenos. Numerosos estudios acerca de la elucidación de la estructura molecular de asfaltenos han sido realizados y publicados (Yan y col. 1998; *Seki and Kumata, 2000*; Kuangnany col. 2004). De acuerdo con estos estudios los asfaltenos presentan una baja proporción hidrógeno/carbono, están compuestos de anillos poli aromáticos con sistemas alquílicos y alicíclicos unidos por enlaces entre heteroátomos como el azufre, oxígeno y metales. Otros investigadores (Otto y col. 1999) proponen que las moléculas de asfaltenos forman estructuras laminares de unidades aromáticas condensadas de anillos aromáticos y nafténicos con cadenas laterales parafínicas. Estas laminas se mantiene unidas por heteroátomos como el azufre y el nitrógeno, puentes polimetilenos, enlaces tioéter y complejos de vanadio y níquel.

La reacción RICO (*Ruthenium-Ion-Catalyzed oxidation*, por sus siglas en inglés), introducida por Djerassi y Engle en 1953 ha sido aplicada al análisis de la estructura de asfaltenos desde 1983 (Kuangnan y col. 2004). Los principales productos de esta reacción son ácidos carboxílicos. Técnicas analíticas como la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) se han utilizado tradicionalmente para el análisis de productos de la reacción RICO. Sin

embargo, características intrínsecas de estos compuestos como alta polaridad, altas temperaturas de ebullición e inestabilidad térmica hacen necesaria la aplicación de reacciones de esterificación antes del análisis GC-MS.

Existen actualmente en Espectrometría de masas técnicas de ionización que permiten el análisis directo de compuestos polares como ácidos carboxílicos, aminas, alcoholes, carbohidratos, etc. Específicamente, la ionización por electronebulización ESI (*Electrospray Ionization*, por sus siglas en inglés) (Farhat y col, 2004) en modo negativo permite analizar selectivamente compuestos polares ácidos que contengan oxígeno y nitrógeno. Utilizando ESI – (*Negative Ion Mode*, por sus siglas en inglés) *NIM* es posible entonces, establecer la presencia de compuestos polares específicos en una matriz relativamente compleja (Cech y col, 2001; Su y col, 1998). Teniendo en cuenta lo anterior, en el presente trabajo se hizo uso de la técnica ESI-MS para el análisis de los productos de la reacción RICO.

1. OBJETIVOS

1.1. OBJETIVO GENERAL.

Determinar los ácidos carboxílicos producto de la reacción de oxidación catalizada por iones rutenio (RICO) de asfalteno colombiano procedente del crudo de Campo Colorado, mediante espectrometría de masas utilizando la técnica de ionización por electronebulización (*Electrospray Ionization*, ESI) en modo de ionización negativo.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Analizar ácidos carboxílicos por espectrometría de masas con electronebulización en modo de ionización negativa obtenidos de la reacción RICO.
- Efectuar la descomposición química de asfaltenos colombianos.

2. ESTADO DEL ARTE Y MARCO TEORICO

2.1 GENERALIDADES

Los asfaltenos, al igual que las resinas e hidrocarburos, hacen parte del bitumen. El termino bitumen se aplica a los depósitos de hidrocarburos sólidos y líquidos, de los cuales proviene el petróleo (Tissot y col. 1984). Son polímeros pesados (peso molecular >500 Da), de color marrón o negro, insolubles en solventes orgánicos de bajo peso molecular, y contienen en su estructura átomos de C, H, N, S y O que facilitan la formación de aglomerados (Killops y col. 2005). Están constituidos principalmente por anillos aromáticos ligados con cadenas alquílicas y ciclo-alcanos y son los responsables de las propiedades de resistencia mecánica, rigidez y resistencia coloidal del asfalto (Escobar, 2010).

El bitumen, y por ende los asfaltenos, corresponde a una pequeña parte de la materia orgánica que fue preservada tras los procesos de biodegradación y oxidación asociados al proceso de génesis, durante el cual la materia orgánica sufre proceso de deshidratación y con ello una continua compactación lo que lleva a la formación de la roca madre o roca generadora de bitumen (**Véase Figura 1**) (Killops y col. 2005).

La composición depende del tipo de materia orgánica que se deposite; si el kerógeno del cual proviene el bitumen, es formado en un ambiente continental predomina la presencia de compuestos aromáticos, si el ambiente de formación es lacustre o marino predomina la presencia de compuestos alifáticos, principalmente lípidos. Teniendo en cuenta lo anterior y dependiendo del estado de maduración del material sedimentado, la cantidad de C, H, O y S varia, siendo mayor la concentración de S y O en kerógeno de ambiente marino y mayor la cantidad de C en kerógeno de ambiente continental (**Véase Tabla 1**) (Escobar, 2010).

Figura 1. Composición de la materia orgánica en rocas sedimentarias. La fracción del de alifáticos y aromáticos del bitumen comprende principalmente hidrocarburos (c. C_5-C_{40}). Tomado de Killops & Killops 2005.

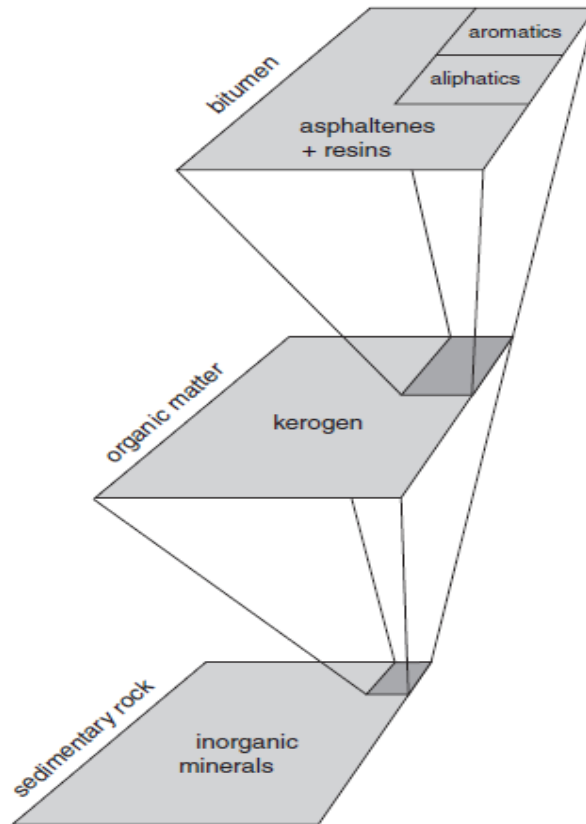


Tabla 1. Cambio composicional en los tres principales tipos de kerógeno con el incremento en la maduración. Adaptado de Killops & Killops 2005.

Madurez	Ambiente lacustre			Ambiente marino			Ambiente continental		
	Baja	Media	Alta	Baja	Media	Alta	Baja	Media	Alta
C (% peso)	81.5	85.3	91	70	77.6	85.9	66.2	76.9	96
H(% peso)	11.1	11.1	6.3	7.8	8.1	5.2	5.8	6.3	4.8
O(% peso)	6.5	2.8	1.6	18.3	9.2	3.0	24.8	14.2	6.8
N(% peso)	0.3	0.3	0.3	3.3	1.1	1.4	1.2	1.4	0.9
S(% peso)	0.2	0.5	0.7	0.6	3.7	4.4	0.2	0.8	1.4
% Pérdida inicial de C	0	19	79	0	15	62	0	16	34
% C parafínico	74		36	51	45	28	38	34	19
% C nafténico	12		0	19	14	0	13	6	0
% C aromático	14		64	30	41	72	49	60	81

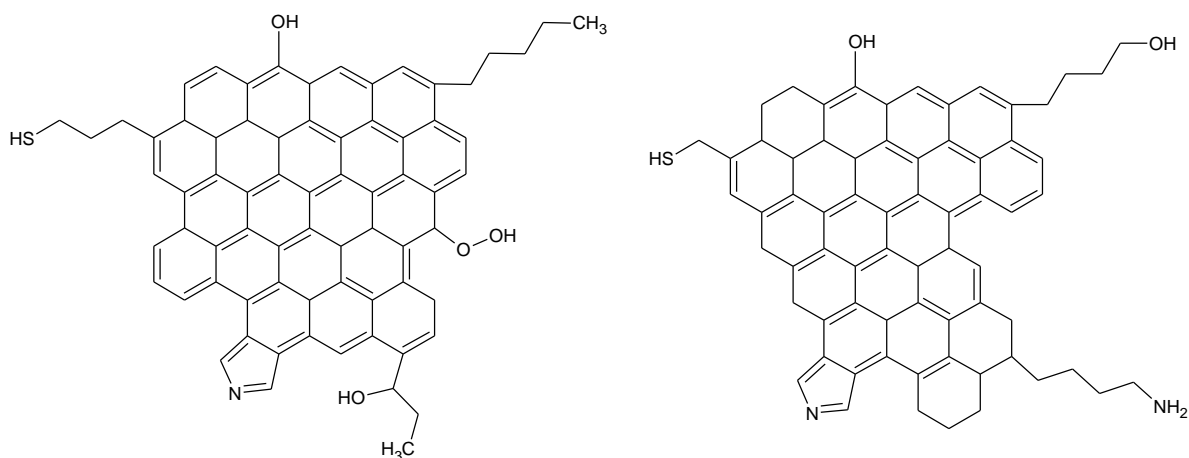
El petróleo es una forma de bitumen constituida principalmente de hidrocarburos. Se puede encontrar en la naturaleza como gas natural; como gas condensado, a condiciones de temperatura y presión de la superficie terrestre; como crudo o petróleo que puede ser extraído mediante perforación de la corteza terrestre; y como asfalto. Este último puede estar concentrado en lagos de asfalto o difuso en rocas sedimentarias. El petróleo es originado en los poros de la roca madre por efectos de temperatura y presión sobre la materia orgánica sedimentada, y desde allí migra hasta encontrar trampas litográficas donde puede ser acumulado y extraído. Los crudos de los pozos de Campo Escuela Colorado provienen de las rocas madre de la Formación la Luna, ubicada entre la cordillera de los Andes y el Perija, región que incluye el Magdalena medio. Estos crudos se caracterizan por tener un alto contenido de azufre (>1%) y metaloporfirinas de vanadio y níquel (Escobar, 2010).

2.2 DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA QUÍMICA DE UN ASFALTENO

El estudio de los asfaltenos, que abarca las últimas siete décadas, es aún una historia en desarrollo como lo indica Mohammad y col, 2004. La determinación de propiedades moleculares como peso, tamaño, forma y estructura es todavía un reto y representa un gran problema en la caracterización de asfaltenos. La complejidad de su estudio está dada por su naturaleza, pues están compuestos de entidades polidispersas en términos de peso molecular y composición química. Muchos intentos se han realizado para elucidar la estructura química de los asfaltenos con base en su reactividad, los resultados de estos estudios son fundamentales caracterizar estas especies y para diseñar procesos eficientes de conversión y catálisis.

La reacción RICO, como una alternativa complementaria a otras técnicas, resulta interesante para conocer la estructura parcial de los asfaltenos. Esta reacción resulta efectiva en la transformación selectiva de compuestos aromáticos, y ha sido utilizada para caracterizar sustancias alifáticas y fracciones alicíclicas en crudos, asfaltenos, keroseno, y suelos (Levent y col, 1998). Se sabe que las estructuras de los asfaltenos contienen una matriz aromática muy condensada y grupos multifuncionales tales como alcoholes, aminas, ácidos, éteres, ésteres, cetonas, tioles y porfirinas (Luo y col, 2010). (**Véase Figura 2**). Los heteroátomos más encontrados en estas especies son el nitrógeno, el azufre y el oxígeno. El primero hace parte de estructuras aromáticas (anillos pirrólicos y piridínicos), mientras los dos últimos forman puentes entre estructuras cíclicas o lineales (Barker y col, 2007).

Figura 2. Modelo de estructura química de cuatro moléculas de asfaltenos de diferentes crudos (Sayyad y col, 2009).



La determinación parcial de la estructura química de los asfaltenos puede realizarse analizando los ácidos carboxílicos, producto de descomposición en la reacción RICO en la cual hay oxidación selectiva y eficiente de carbonos aromáticos a dióxido de carbono. La caracterización de estos productos se hace típicamente por medio de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) y Cromatografía de Gases acoplada a espectrometría de masas (CG-MS), (Artok y col, 1999). En la actualidad técnicas de ionización a presión atmosférica como ESI permiten el análisis directo de los productos de reacción RICO en solución y así evitar hacer la derivatización, requerida para el análisis GC-MS, que disminuye potencialmente la abundancia de las señales.

2.3 REACCIÓN RICO

La metodología de oxidación catalizada por el ion rutenio, por sus siglas en inglés RICO, desarrollada por Djerassi y Engle en 1953, es un método quimiolítico que puede ser aplicado de forma selectiva a la descomposición de compuestos orgánicos como los presentes en residuos de petróleo y mezclas de asfaltenos. En este método los carbonos alquílicos y alicíclicos permanecen inalterados mientras

En la reacción (1) de la Figura 3 se evidencia que el carbono donde se une la fracción aromática con la fracción alifática de la molécula se convierte a ácido carboxílico, mientras que los demás átomos de carbono del anillo aromático son oxidados a dióxido de carbono. Por otra parte la reacción (2) muestra que el sitio de unión aromático-alifático es convertido a la correspondiente función ácida. La reacción (3) da como resultado productos similares a los formados en la reacción (1) y (2). En la reacción (4) y (5) la fracción alifática del asfalteno señala el lugar donde ocurrirá la oxidación de carbonos aromáticos (Zhigang y col, 2003), (Zeinalov y col, 2009).

2.4 ESPECTROMETRÍA DE MASAS DE IONIZACIÓN CON ELECTRONEBULIZACIÓN EN MODO DE IONIZACIÓN NEGATIVO.

Desde la introducción de la espectrometría de masas con electronebulización (ESI-MS) por Fenn y colaboradores en la mitad de la década del 1980, la técnica se ha aplicado al estudio de gran cantidad de analitos. Inicialmente, en lo relacionado al análisis de crudos Fenn y Zhan utilizaron un espectrómetro de masas cuadrupolar en el análisis de una serie de productos derivados del petróleo, como la gasolina, aceite diesel y crudo. Aunque el espectrómetro de masas utilizado no presentaba una resolución suficiente para separar moléculas isobáricas y determinar su composición, demostraron que muchos productos derivados del petróleo pueden ser ionizados por ESI (Gross, 2004).

En la actualidad, la ESI-MS se ha convertido en una técnica instrumental empleada rutinariamente en la investigación en proteómica, química ambiental, inorgánica, orgánica, farmacéutica, entre otras. La alta selectividad de ESI-MS permite el análisis de trazas de compuestos polares de matrices complejas. Sin embargo, la técnica ESI-MS presenta complicaciones para el análisis cuantitativo de analitos debido a que la señal en el espectro de masas depende principalmente de la eficiencia de ionización y composición de la muestra.

Los mecanismos del proceso de ESI, han sido desde su creación, y siguen siendo, objeto de estudio. Kerbale et al, fueron los primeros en proponer un modelo para predecir los efectos de los analitos y la matriz, en la sensibilidad del método para el estudio de compuestos iónicos. Enke, por su parte, propuso un modelo más avanzado basado en el concepto de exceso de carga y equilibrio entre la capa interna y la superficie de la matriz (Kuangnan y col, 2008), (Stanford y col, 2007). Este modelo, proporciona un excelente ajuste de la curva de intensidad del ión en un rango de concentración total de uno o varios sistemas de analitos. Sin embargo, el desarrollo de un modelo para ESI sigue siendo un reto, y no disminuye el interés por comprender los factores que afectan la respuesta ESI en un sentido práctico (Kim y col, 2009).

En la técnica ESI-MS, una solución diluida de analitos es introducida a través de un capilar con una velocidad de flujo muy baja (0.1-10 $\mu\text{L}/\text{min}$). Al capilar se le aplica una diferencia de potencial elevada (2-5 kilovoltios), que puede ser positiva o negativa dependiendo de los analitos. El voltaje aplicado genera un gradiente eléctrico que permite la separación de los analitos cargados desde la superficie del líquido de la solución debido al exceso de carga y la atracción del campo eléctrico sobre la solución generando un cono de "Taylor" en la punta del capilar. Una vez las moléculas de analitos están cargadas, pueden ser analizadas de acuerdo con su relación masa/carga en el espectrómetro de masas (Gross, 2004).

Las moléculas polares en el petróleo típicamente contienen grupos amino, carboxilo, alcohol, y tiol, entre otras, son fácilmente observables en ESI. Los hidrocarburos saturados del tipo *n*-alcanos y cicloparafínicos no presentan respuesta en ESI. Los compuestos aromáticos y algunos aromáticos con heteroátomos (naftaleno, fenantreno, dibenzotiofeno y carbazoles) presentan bajas respuestas en ESI (Kuangnan y col, 2004). La selectividad en ESI es el resultado de las diferencias en la afinidad protónica en las moléculas de analito. Por ejemplo, las moléculas de hidrocarburos alifáticos carecen de sitios de carga y

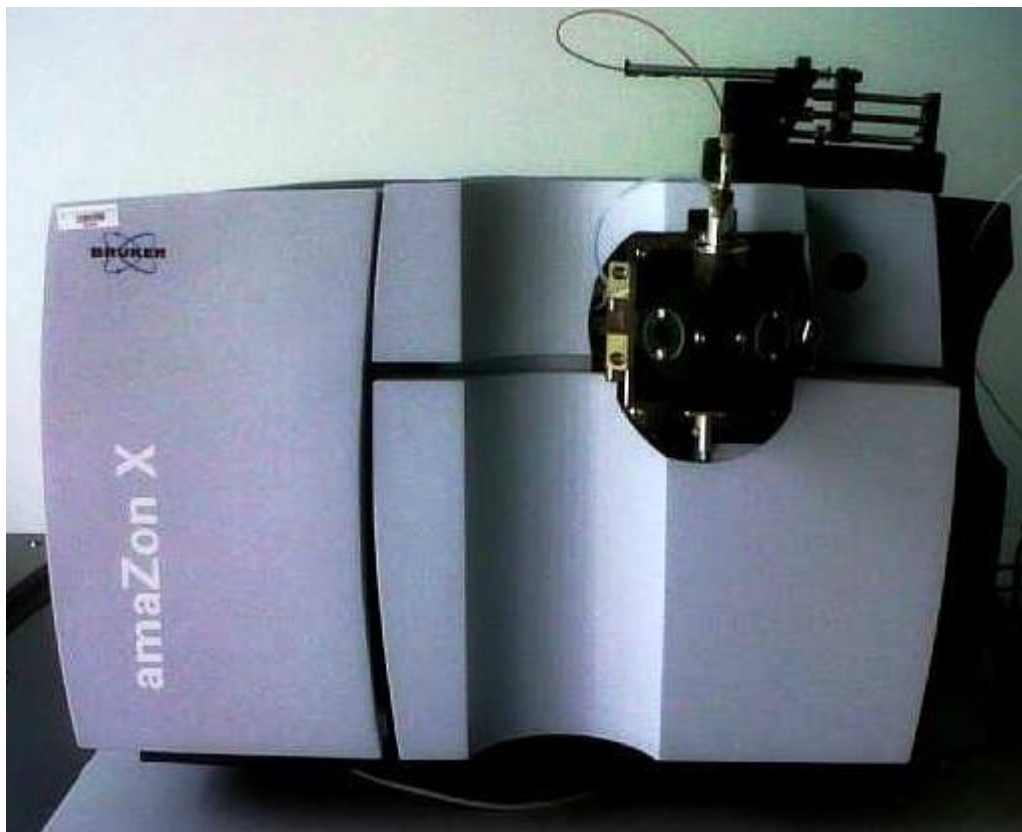
tienen baja probabilidad de formar iones protonados o deprotonados. Por otra parte, los hidrocarburos aromáticos pueden interactuar con algunos iones metálicos (ácidos débiles de Lewis, como Ag^+ , Pd^{+2} , etc.) para formar iones complejos que se pueden analizar por ESI. La eficiencia de ionización no depende solo de la afinidad protónica y por tanto no es el único factor que afecta la respuesta en ESI (Rostad, 2005).

Trabajos realizados por Kebarle y Enke han propuesto que existe un rango dinámico lineal en una concentración $<10^{-5}\text{M}$ para compuestos orgánicos. En esta región, la respuesta ESI es independiente de las propiedades de los analitos para compuestos iónicos. En nuestro caso la utilización del equipo AMAZON X TRAMPA DE IONES permite la observación de iones presentes en soluciones muy diluídas 1×10^{-6} o $1 \times 10^{-7}\text{M}$ debido a la presencia de un embudo iónico en la óptica de transferencia de iones del equipo. Diferencias en la eficiencia de ionización llegan a ser evidente solo a altas concentraciones ($>10^{-5}\text{M}$). Este comportamiento está relacionado con el modelo del equilibrio de carga; cuando la concentración en la superficie de los analitos es mucho más baja que la concentración de los electrolitos, los analitos compiten de forma independiente con el electrolito para la posición de superficie de carga. Para concentraciones altas de analitos, los co-analitos o disolventes compiten por la superficie de carga, como resultado, el analito con una alta actividad superficial presenta una alta concentración de superficie de carga y respuesta ESI (Gross, 2004).

2.4.1 Descripción del equipo. Para el desarrollo de este proyecto se empleó un espectrómetro de masas de ionización por electro nebulización (ESI) del fabricante BRUKER DALTONICS INC., modelo AMAZON X, con analizador IT (*Ion Trap*, por sus siglas en inglés), con capacidad de rango de masas de 50 a 3000 Da y de 200 a 6000 Da (rango de masas extendido) el cual se encuentra ubicado en el Laboratorio de Espectrometría de Masas, Edificio de Investigaciones, Laboratorio

103 Parque Tecnológico de Guatiguará, en la ciudad de Piedecuesta-Santander el cual se muestra en la **Figura 4**.

Figura 4. Espectrómetro de masas ESI-IT



2.5 TÉCNICAS INSTRUMENTALES PARA EL ANÁLISIS DE ASFALTENOS

El presente trabajo se basó en el análisis por ESI-MS (*Electrospray Ionization Mass Spectrometry*, por sus siglas en inglés) de los ácidos carboxílicos producto de la reacción RICO. La imperiosa necesidad en la Petroquímica de caracterizar sustancias altamente polares, como los ácidos, ha hecho que la ionización por *electrospray* en modo negativo se popularice como una técnica analítica debido a su versatilidad y selectividad hacia este tipo de sustancias. Los espectros ESI de ácidos carboxílicos presentan poca fragmentación de los iones moleculares deprotonados. Adicionalmente en ESI, dependiendo de las condiciones del

análisis, es posible minimizar la formación de agregados (dímeros) y aductos (Snyder, 1996). Típicamente, para el análisis de ácidos carboxílicos por ESI en modo negativo se utiliza una solución acuosa básica (0.1% amonio) para asegurar la deprotonación de los ácidos y poder detectar aniones carboxilato. La diferencia en detección es dependiente de las condiciones de pH y del solvente usado para ESI (Snyder, 1996).

Los estudios sobre asfaltenos se han incrementado durante los últimos años debido al aumento en la producción de crudos pesados. Esta tendencia se debe al crecimiento en las fracciones pesadas después de refinación lo que afecta el porcentaje de conversión y aprovechamiento del crudo. A continuación se presenta un resumen de los trabajos realizados para caracterización de asfaltenos según lo reporta Ancheyta y col. en el 2002, (**Véase Tabla 2**).

Tabla 1. Resumen de algunos trabajos sobre caracterización de asfaltenos. Adaptado de Ancheyta y col, 2002

Autor	Técnica empleada	Objetivo de la investigación
Wong and Yen	ESI	Examinar la capacidad del poder de microondas para disociar macroestructuras de asfaltenos del petróleo.
Leon y col.	ST, EC, VPO, 13C NMR	Estudiar los aspectos relacionados con la depositación de asfaltenos y composición de crudos.
Joshi y col.	OST	Estudiar de las características del precipitado asfaltenos.
Shirokoff y col	XRD	Informar sobre la caracterización estructural de asfaltenos de Arabia Saudita.
Buenrostro y col.	FD, FES, 13C NMR, IR	Explorar los aspectos de la estructura química asfaltenos.

Autor	Técnica empleada	Objetivo de la investigación
Alboudwarej y col.	VPO	Examinar el efecto de diferentes grados de lavado en las propiedades de asfaltenos.
Gutierrez y col.	VPO, TLC	Aislar la fracción de asfaltenos y estudiar la solubilidad en tolueno
Yarranton y col.	VPO, IT	Estudiar de la masa molar y la tensión interfacial de disolventes de agua de asfaltenos.
Guiliano y col.	GC/MS, EC, FTIR	Investigar el potencial de la extracción con fluidos supercríticos de asfaltenos del crudo
Groenzin yMullins	FD	Inspeccionar el tamaño molecular de una amplia gama de asfaltenos.
Fuhr y col.	TGC	Examinar la separación analítica de los asfaltenos, cera de petróleo y fracciones solubles.
Domin y col.	SEC,PDMS, VPO, LDMS, MALDI	Examinar y comparar la distribución de peso molecular
Groenzin and Mullins	FD	Análisis de las velocidades de FD de soluciones muy diluidas de asfaltenos.
Carbognani y col.	SEC, IR, 13C NMR	Estudiar la precipitación de asfaltenos durante la producción y almacenamiento de petróleo
Artok y col.	Py/GC/MS, GPC, 1H/13C NMR, MALDI TOF	Dilucidar la distribución de los átomos de carbono alifáticos
Peramanu y col.	VPO,GPC, EC, 13C NMR	Analizar el peso molecular de los asfaltenos y su composición
Tojima y col.	VPO, 1H NMR	Aplicar un nuevo método de fraccionamiento de asfaltenos usando un sistema disolvente binario
Miller y col.	VPO, SEC, EC,SANS, 13C NMR, LDMS, HRMS	Separar y caracterizar los asfaltenos Mayan en dos fracciones.

Autor	Técnica empleada	Objetivo de la investigación
Mc Lean y Kilpatrick	FTIR, 13C NMR	Determinar y comparar la composición de los asfaltenos de cuatro tipos diferentes de crudo.
Andersen	FTIR, EC, HPLC-SEC	Investigar si los asfaltenos podrían ser extraídos directamente del petróleo crudo por una mezcla de disolvente polar
Andersen	¹ H/ ¹³ C NMR, FS, HPLC-SEC, VPO, EC	Investigar los efectos de la temperatura en la precipitación de asfaltenos
Fuhr y col.	VPO, 13C NMR	Estudiar algunas propiedades de los asfaltenos como una función del disolvente y de la temperatura.
Adarme y col.	VPO, 13C NMR	Estudiar cómo se extraen los metales de asfaltenos y estudiar los efectos térmicos y catalíticos.

2.6 EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA

La extracción en fase sólida SPE, (*Solid-phase extraction*, por sus siglas en inglés) ha sido, desde hace 20 años, una técnica ampliamente utilizada en preparación de muestras en muchos casos a reemplazado al conocido método de extracción líquido-líquido. Es un método de limpieza “*clean up*”, a través de cual la muestra es retenida en una fase estacionaria generalmente apolar, que es un cartucho de sílica con cadenas entrecruzadas de C₈ o C₁₈ (son los cartuchos más utilizados). Posteriormente, se hace un proceso de elución de matriz e interferencias y finalmente se eluye el analito, o viceversa: se retienen las impurezas y se eluye solo el analito. Es importante conocer la estructura del analito, pues de esto dependen la escogencia de los solventes y las fases estacionarias adecuados para el análisis (Majors, 1998). SPE es un método ampliamente utilizado para análisis de

muestras en las que el analito está a nivel de trazas, en la industria farmacéutica, de alimentos y en análisis ambientales, pues esta técnica tiene la ventaja de hacer concentración *in situ* en el cartucho (Véase **Figura 5**).

Figura 5. Equipo de extracción en fase sólida SPE



2.7 EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

Es un proceso químico empleado para separar una mezcla, utilizando la diferencia de solubilidad de sus componentes entre dos líquidos inmiscibles o parcialmente miscibles. El mecanismo de extracción se basa en la distribución que puede tener el solvente en la matriz y así solubilizar los analitos presentes.

La extracción líquido-líquido es adecuada en los casos en los que, es preciso retener un componente que se encuentra en una concentración muy pequeña, el analito es sensible a la temperatura, la mezcla posee puntos de ebullición o de fusión muy próximos o si la mezcla presenta azeótropos. Aunque por este método se pueden extraer compuesto a nivel de trazas y moléculas grandes, necesita de grandes volúmenes de solvente y largos tiempos de extracción (Yoshizawa y col., 1994)

3. METODOLOGÍA

Figura 6. Metodología general desarrolla en el proyecto.



3.1 OBTENCIÓN DE LA MUESTRA DE ASFALTENO

La muestra de asfalteno fue suministrada por el Químico FABIO ANDRES RINCÓN, quien realizó la precipitación de los asfaltenos de un crudo obtenido del pozo 25 de Campo Colorado. Las fracciones de asfaltenos fueron separadas con base en las normas ASTM D-2007 Y ASTM D4124-09 (WANG Jianxin) mediante el siguiente procedimiento:

El crudo se mezcló con n-heptano en una relación volumétrica 1:20 (100 ml de petróleo crudo por 2000 ml de n-heptano). Se agito manualmente la mezcla durante 10 minutos y se dejó en reposo durante 48 horas para permitir la

precipitación de los asfaltenos. Durante el tiempo de reposo la mezcla se agito dos veces.

Luego del tiempo de reposo se tomaron alicuotas de 150 ml y se llevaron a reflujo con agitación permanente durante dos horas, manteniendo la temperatura cerca del punto de ebullición del n-heptano (98.35 °C). La mezcla se enfría y se filtra para separar los asfaltenos, con papel de filtro de microfibra de vidrio 0.45µm con un diámetro de 47mm (Whatman).

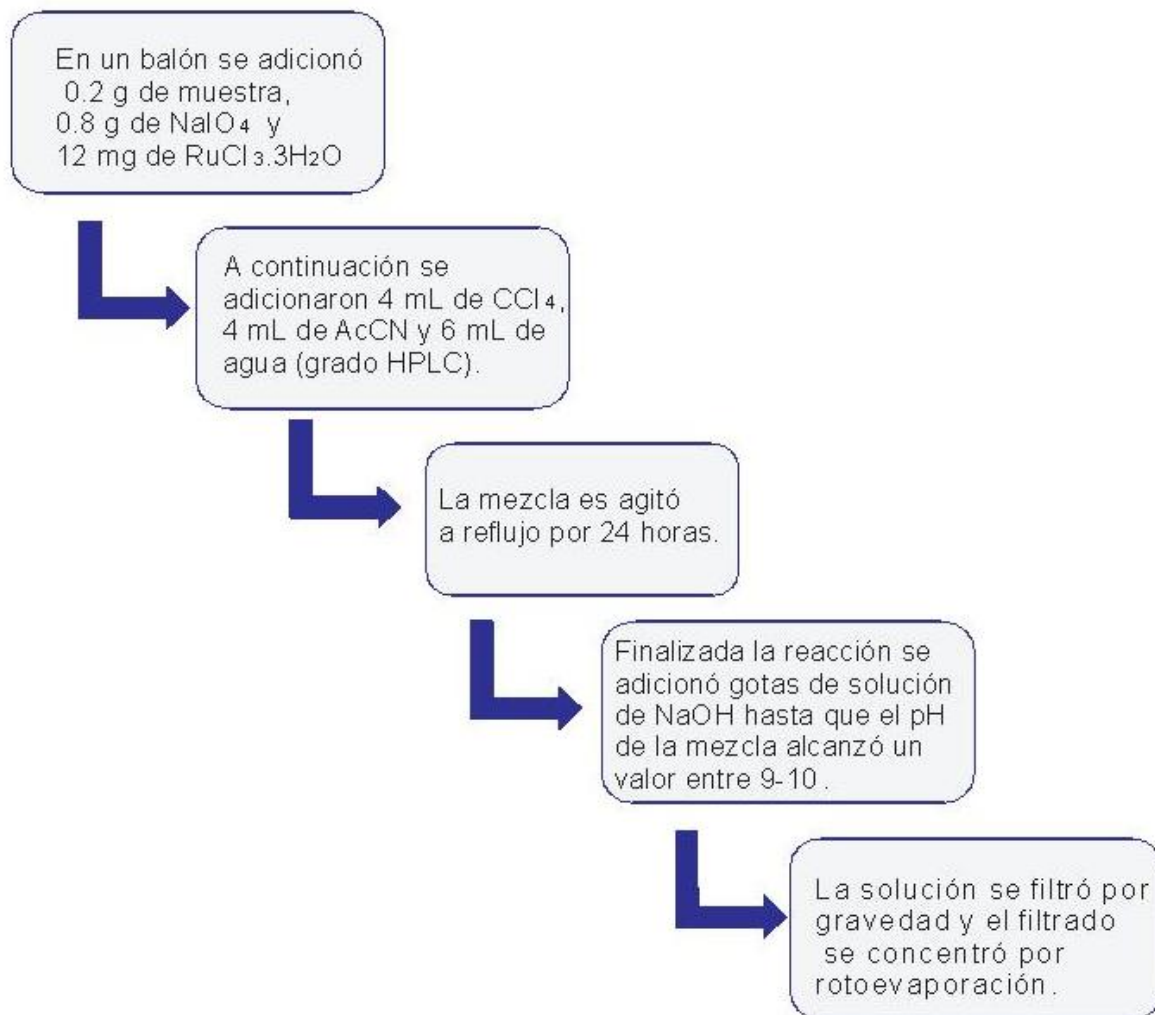
Los asfaltenos se disolvieron en 300 ml de tolueno y se filtraron para separar algunos contaminantes adheridos como material inorgánico y resinas. El filtrado fue sometido a una destilación para separación del solvente y obtención de los asfaltenos.

Los asfaltenos fueron secados en un horno a 70 °C durante 12 horas, y almacenados para su posterior uso en la reacción RICO.

3.2 REACCIÓN RICO

En un balón se adicionaron 0.2 g de muestra, 0.8 g de metaperyodato de sodio (relación 1:4) y 12 mg de cloruro de rutenio hidratado. A continuación se adicionaron 4mL de tetracloruro de carbono, 4 mL de acetonitrilo y 6mL de agua (grado HPLC). La mezcla se agitó a reflujo por 24 horas. Al finalizar la reacción se adicionó por goteo una solución saturada de NaOH hasta que el pH de la mezcla alcanzó un valor entre 9-10 para asegurar que todos los productos de oxidación (ácidos carboxílicos) fueran convertidos en sus respectivas sales. La solución se filtró por gravedad y el filtrado se concentró por rotoevaporación para obtener finalmente la masa total de sales sódicas (ver figura 7).

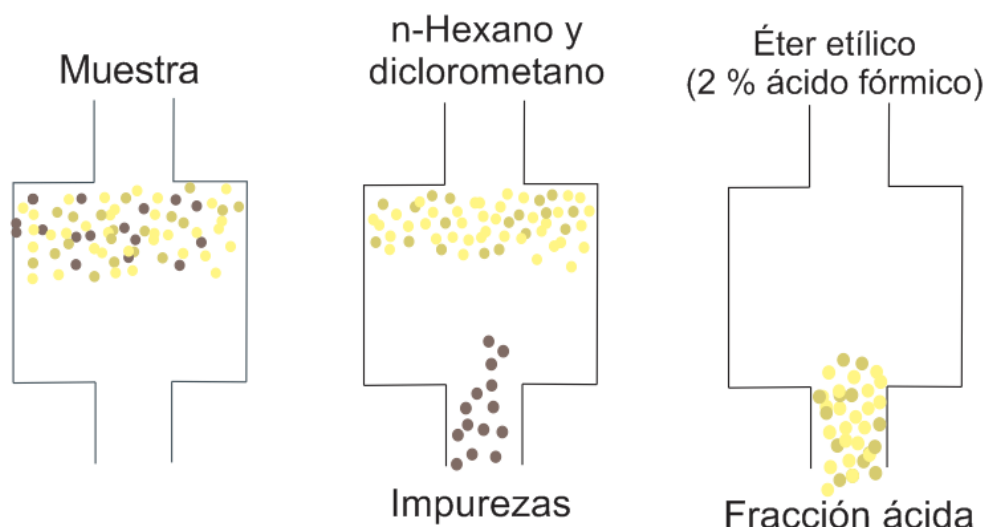
Figura 7 Metodología para la reacción RICO



3.3. EXTRACCIÓN EN FASE SÓLIDA DE ÁCIDO CARBOXÍLICOS

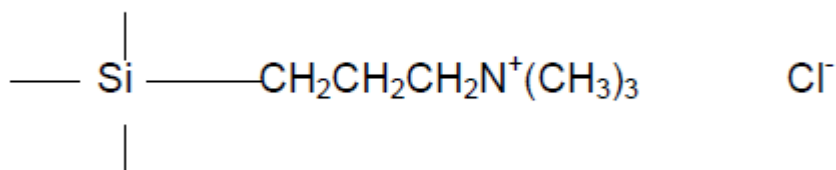
Para la limpieza de la muestra de ácidos carboxílicos se utilizó la metodología descrita por Jones y col, 2001, con la finalidad de eliminar las impurezas o compuesto de interferencia presentes en la muestra. (Véase Figura 8).

Figura 8. Limpieza de la muestra de ácidos carboxílicos empleando SPE.



A través de un cartucho SAX matrix de amina cuaternaria unida a sílice de capacidad 60 mg (sampliQ Agilent, **Figura 9**) se hicieron pasar dos volúmenes de n-Hexano, con la finalidad de acondicionar el cartucho. Después se hicieron pasar por el cartucho 100µL de la solución de ácidos carboxílicos obtenida de la reacción RICO, y enseguida se lavó con dos volúmenes de n-Hexano y dos volúmenes de diclorometano, la fracción ácida fue eluída con dos volúmenes de Éter etílico (2% v/v de ácido fórmico en éter etílico). El contenido residual en éter etílico se recuperó en un balón, y el solvente fue eliminado en un roto evaporador. Finalmente, la fracción ácida se re disolvió en 10 ml de una mezcla acetonitrilo-agua 50:50, se filtró a través de una membrana de 22 µm y se inyectó en el ESI-MS.

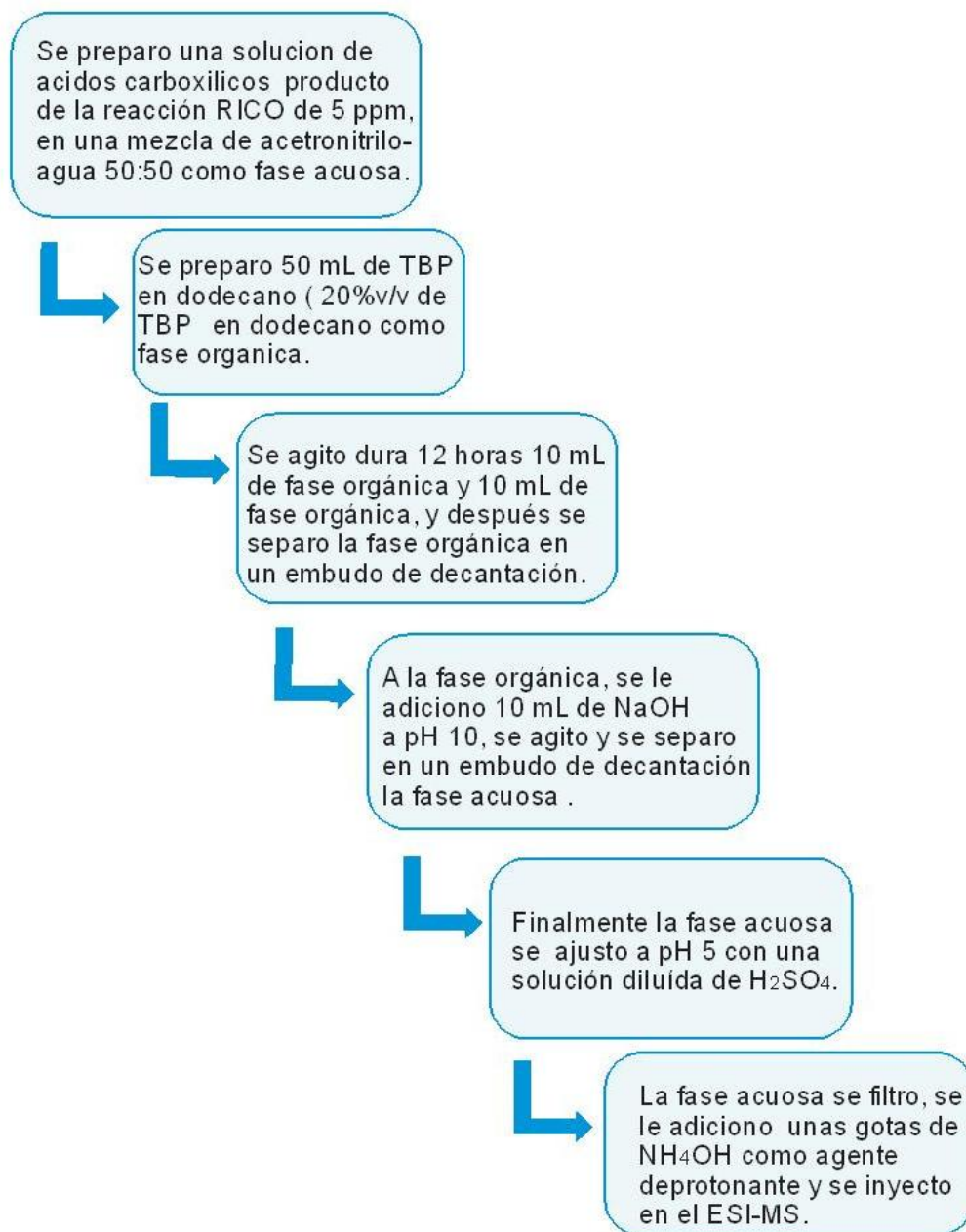
Figura 9. Fase estacionaria de cartuchos SPE-SAX.



3.4. EXTRACCIÓN LÍQUIDO-LÍQUIDO

Para realizar la extracción líquido-líquido a la muestra de ácidos carboxílicos se utilizó la metodología descrita por Bouraqadi y col, 2007 con la finalidad de realizar la extracción selectiva de ácidos mono carboxílicos. En resumen el procedimiento es el siguiente: Se preparó una solución de ácidos carboxílicos producto de la reacción RICO de 5 ppm en una mezcla de 50:50 de acetonitrilo-agua como fase acuosa. Adicionalmente como fase orgánica se preparó una solución de 50 mL de TBP (tributil fosfato) en dodecano (20% v/v de TBP en dodecano). Volúmenes iguales (10 mL) de fase acuosa y fase orgánica se pusieron en contacto y se agitaron durante 12 horas; tiempo necesario para el equilibrio de ambas fases. Posteriormente, en un embudo de decantación se separó la fase orgánica de la fase acuosa. A la fase orgánica se le adicionaron 10 mL de una solución de NaOH a pH 10, la solución se mezcló en un embudo de decantación durante 10 minutos para favorecer la transferencia de ácidos desde la fase orgánica a la fase acuosa. Finalmente se separó la fase acuosa y se ajustó el pH a 5 con una solución diluida de H₂SO₄ 0.001N, se filtró en papel franja azul, al filtrado se adicionaron una gotas de hidróxido de amonio como agente deprotonante para su análisis por ESI-MS (**Véase Figura 10**).

Figura 10. Metodología para la extracción líquido-líquido.



4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

La complejidad de la composición de las fracciones del petróleo incrementa conforme aumenta su punto de ebullición, debido al mayor tamaño de las moléculas, a la gran diversidad estructural y a la alta semejanza de las propiedades de sus componentes. Aunque en las fracciones pesadas del petróleo probablemente solo existe un porcentaje pequeño de los isómeros estimados que son termodinámicamente estables, aún el número de componentes es grande y hace prácticamente imposible caracterizarlos individualmente con las herramientas analíticas actualmente conocidas.

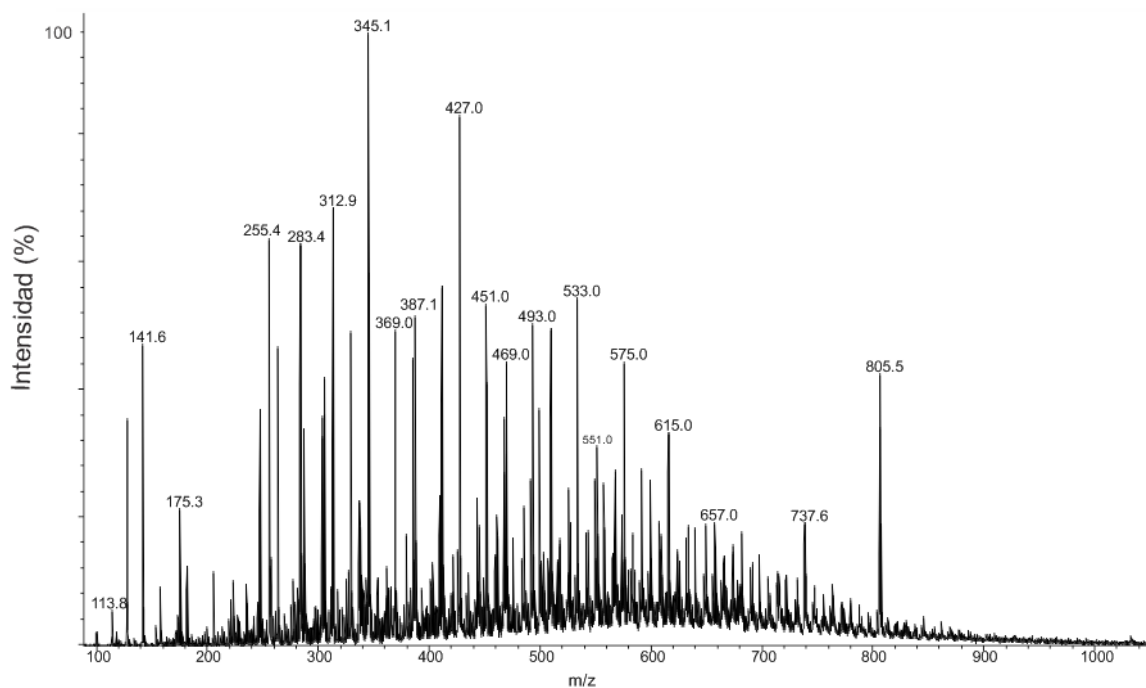
Una herramienta que se utiliza actualmente para el análisis de las fracciones pesadas del petróleo es la oxidación de carbono en fragmentos aromáticos, la cual se usa particularmente para degradar asfaltenos de petróleos o de carbones. A esta reacción, se le atribuye alto rendimiento en la oxidación selectiva de carbonos en fragmentos aromáticos hasta CO_2 ; se exceptúan los sustituidos con alquilo, que se oxidan hasta carboxilo ($-\text{COOH}$) y siguen unidos a la fracción alifática que permanece inalterada. En esta reacción, el ion peryodato (IO_4^-) es el agente oxidante y los iones rutenio (III) es el catalizador.

En el análisis por ESI de ácidos carboxílicos, se presentan interacciones no covalentes entre iones y moléculas neutras en la fase líquida, y dichas interacciones pueden ser preservadas en la fase gaseosa, las cuales pueden ser detectadas por espectrometría de masas. Por consecuente, es posible observar en el espectro de masas la formación de monómeros, dímeros y trímeros, entre otros como un complejo mono cargado (Kuangnan y col, 2008). Este proyecto consistió en la determinación de las especies carboxílicas que se forman durante la reacción RICO de un asfalteno Colombiano. En el análisis ESI en modo negativo, las señales observadas en los espectros de masas representan especies

ácidas como ácidos carboxílicos, fenoles, carbazoles (contiene en su estructura química nitrógeno neutro), y ácidos nafténicos. Los ácidos provenientes del análisis o descomposición del petróleo (asfaltenos) pueden ser clasificados como ácidos carboxílicos alifáticos (mono, di, tre, treta, etc), oxo alcanicos, aromáticos, ácidos poli carboxílicos aromáticos y ácidos poli carboxílicos alifáticos (Levent y col., 1998).

El producto de reacción RICO se diluyó en agua desionizada, se filtró y se purificó mediante SPE usando cartuchos SAX (**Figura 9**) que aseguran la extracción de ácidos débiles con una o más cargas negativas. Una vez obtenida, la fracción ácida se inyectó en el ESI-MS y se analizó en modo negativo usando un voltaje de cono de 4000V y temperatura de capilar de 250°C. El espectro producto de este análisis se observa en la **Figura 11**.

Figura 11. Espectro de corriente total de iones obtenido para el análisis ESI-MS en modo negativo de 5 mg/mL de ácidos carboxílicos, producto de la reacción RICO, después de separación por SPE.



El espectro de masas muestra señales correspondientes a ácidos carboxílicos producto de la reacción RICO. Cerca de 650 señales con abundancia relativa igual o mayor del 2% se detectaron en el rango de masas de 100 a 800 m/z. Los tipos de ácidos producto de la reacción RICO, como se muestra en la literatura, pueden ser mono, di, tri, y tetra carboxílicos.

Además, en el análisis ESI es posible la formación de dímeros, trímeros y tetrameros entre ácidos individuales o entre diferentes especies, lo cual se convierte en un factor adicional que incrementa el número de señales en el espectro de masas, como se observa en la **Figura 11**. Partiendo de estos hechos, y considerando que el analizador de masas de trampa de iones es de baja resolución, no es posible identificar los ácidos carboxílicos de forma particular a partir de las señales que se observan en el espectro de masas de la **Figura 11**.

Estas señales pueden estar asociadas a iones individuales, aductos, o iones complejos formados por interacciones no covalentes (oligomeros) con una carga (Kuangna y col., 2008). Una opción para aproximarse a la identificación de las señales del espectro de la Figura 11, es aislar cada una de ellas, realizar CID para determinar su patrón de fragmentación y establecer la presencia del grupo carbonilo. Sin embargo, la gran cantidad de señales observadas hace muy difícil esta aproximación.

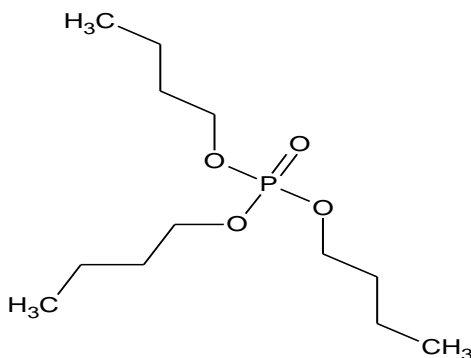
De acuerdo con la **Figura 3** en la reacción RICO se obtienen una variedad de ácidos alifáticos y cíclicos, que en su turno pueden ser mono o policarboxílicos (Peng y col., 1999). Adicionalmente es interesante notar que los ácidos monocarboxílicos producto de esta reacción pueden ser de dos tipos: alifáticos y cíclicos (biomarcadores).

Por otra parte los ácidos dicarboxílicos pueden ser alifáticos y aromáticos, mientras los tetracarboxílicos solamente pueden ser aromáticos. Teniendo en cuenta esta característica, se adoptó una metodología para separar selectivamente los ácidos monocarboxílicos que contienen cadenas alifáticas y biomarcadores característicos del proceso de formación del crudo. El aislamiento de los ácidos que contienen los biomarcadores es interesante pues en estudios previos, Strausz y col. en 1999, y Peng y col. en 1999, demuestran la presencia de sistemas nafténicos inmersos en la estructura de asfaltenos.

El aislamiento de los ácidos monocarboxílicos se realizó mediante una extracción líquido-líquido, en la que la fase acuosa contenía los ácidos y la fase orgánica una solución de TBP (tributil fosfato) en dodecano (**Véase Figura 10**). En este método la fracción de ácidos monocarboxílicos de la reacción RICO, presente como especies protonadas en la fase acuosa, se extrae como consecuencia de la interacción con el agente extractante presente en la fase orgánica (TBP) mediante formación de puentes de hidrógeno.

La extracción líquido-líquido es un método que ha recibido especial interés para la recuperación de ácidos carboxílicos de matrices complejas. En la extracción reactiva, un compuesto extractante se usa para remover los ácidos monocarboxílicos de la fase acuosa. En este caso se empleó el TBP disuelto en dodecano, solvente que permite maximizar sus propiedades como base de Lewis (**Véase Figura 12**). La extracción se favorece por dos factores tales como: 1. El TBP es una base de Lewis fuerte que forma puentes de hidrógeno intermoleculares con los ácidos monocarboxílicos presentes en la matriz acuosa. 2. El solvente empleado, dodecano, presenta una baja viscosidad y densidad con respecto al agua, lo cual favorece el equilibrio en la fase orgánica, de los ácidos extraídos con la base de Lewis.

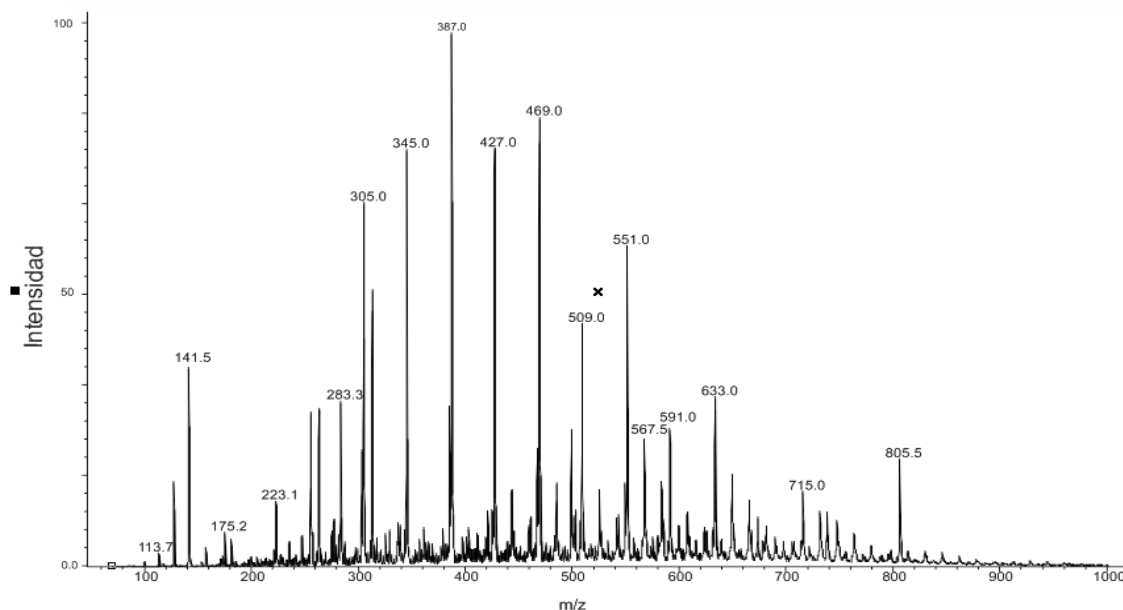
Figura 12. Estructura del TBP (Tributil fosfato)



Los compuestos organofosforados exhiben buena estabilidad química, lo que les permite ser agentes efectivos para la extracción de compuestos con estructura química similar. El TBP contiene un grupo fosforilo que es una base de Lewis más fuerte que el grupo carbonilo lo cual crea una interacción efectiva con los ácidos, lo que se traduce en un coeficiente de distribución más alto. El TBP es muy poco soluble en la fase acuosa, además posee un grupo $=P(O)OH$ que tiene la tendencia de formar puentes de hidrógeno intermoleculares. El hecho que el grupo $=P(O)OH$ presente un grupo donador de electrones y un grupo aceptor de electrones, hace que se presenten interacciones específicas de auto-asociación y la formación de complejos moleculares con solventes u otros solutos. Debido a que el TBP presenta una viscosidad relativamente alta ($3,56 \cdot 10^{-3} \text{ Pa} \cdot \text{s}$) y una densidad de ($0,935 \text{ g} \cdot \text{cm}^{-3}$), es recomendable usar un diluyente de baja densidad y baja viscosidad, para facilitar la separación de fases en procesos de extracción continua.

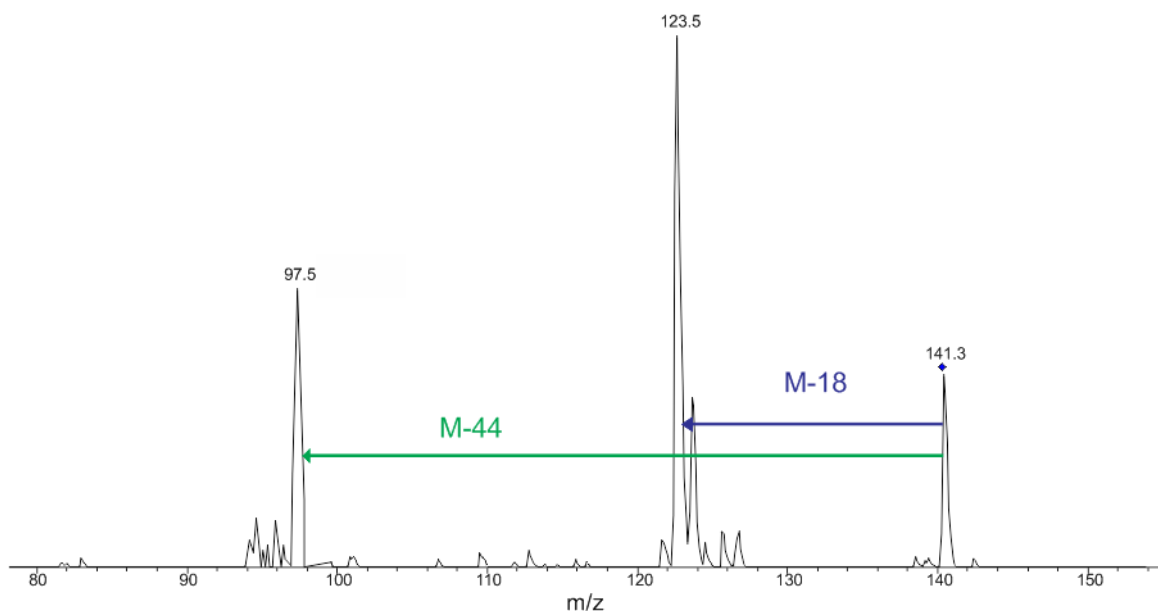
En la **Figura 13**, se muestra el espectro de masas de la fracción de ácidos mono carboxílicos obtenidos después de la extracción líquido-líquido utilizando TBP como agente de extracción. Cuando se compara con el espectro de la mezcla completa se aprecia una reducción en el número de señales.

Figura 13 Espectro de corriente total de iones obtenido para el análisis ESI-MS en modo negativo de 5 mg/ml de ácidos mono carboxílicos después de la extracción líquido-líquido usando TBP como aditivo.



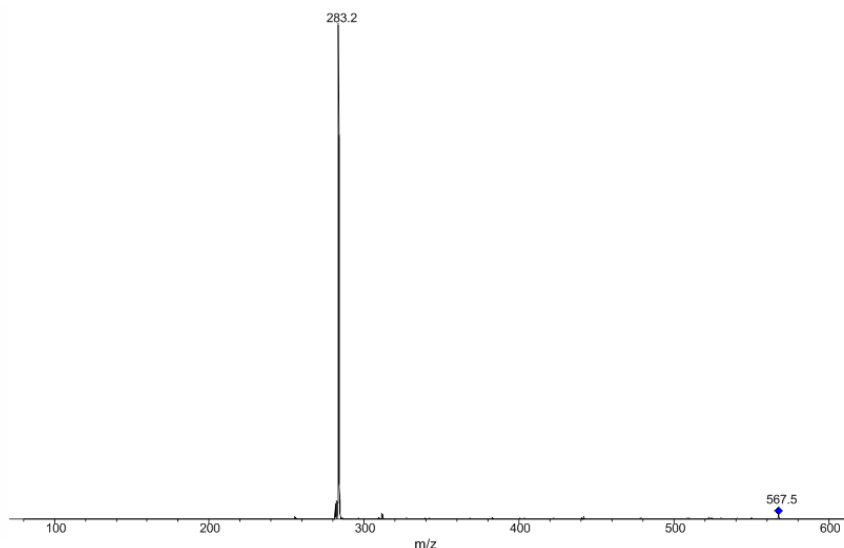
Para realizar el análisis de los ácidos mono carboxílicos de la Figura 13, se utilizó la técnica CID en la cual cada ión presente en la muestra se aísla y se somete a colisiones, por incremento de su energía cinética, con un gas neutral (He) presente en la trampa. De esta manera es posible obtener un patrón de fragmentación, característico de cada molécula. Por ejemplo, en la Figura 14 se observa el espectro CID de la señal en m/z 141. La presencia de iones $[M-18]^-$ y $[M-44]^-$ es característica de ácidos carboxílicos y corresponde a pérdidas de agua y dióxido de carbono respectivamente (**Véase Figura 14**).

Figura 14 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=141$ correspondiente a un ácido que experimenta pérdida de 18 y 44 unidades de m/z respectivamente.



Por otra parte, CID también permite determinar la presencia de dímeros en la solución de ácidos. Por ejemplo al someter el ión en m/z 567.5 a la reacción CID (**Figura 15**) se observa la formación del ión en m/z 283, que corresponde a un ácido mono carboxílico alifático de 18 carbonos. Se puede concluir de esta forma, que el ión en m/z 567 es un dímero compuesto de dos aniones de ácido carboxílico C_{18} unidos mediante puentes de hidrógeno con un protón.

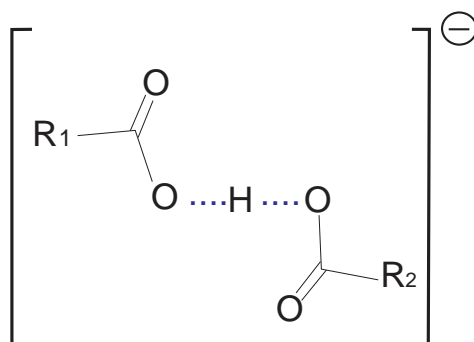
Figura 15 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=567$ correspondiente a un dímero, que al fragmentarlo experimenta una pérdida de 283.2 unidades de m/z



Kuangnan y col. en el 2008, destacan la presencia de dímeros y trímeros de ácidos a partir de un destilado de petróleo. En su experimento realizado por ESI-MS encontraron que el voltaje del cono fue inversamente proporcional a la intensidad de señales correspondientes a oligómeros. Este fenómeno puede ser explicado por medio de la técnica de Disociación por Colisiones Inducidas (CID), debido a que para altos voltajes, la energía cinética de los iones presentes es mayor, e inhibe la interacción no covalente con neutrales presentes en el sistema.

Un dímero u oligómero, se forma por la interacción no covalente de un ion con un neutral, en electrospray es posible identificar la formación de dímeros u oligómeros por medio de la técnica CID, ya que al inducir una colisión a cualquier ion aislado, se obtiene su respectivo patrón de fragmentación, el cual muestra la presencia de ion o iones que por medio de una interacción no covalentes, dieron origen a la formación de un agregado de ácido nafténico mono-cargado (**Véase Figura 16**).

Figura 16. Posible estructura para un agregado de ácido carboxílico mono cargado, que involucra el compartimiento de un protón



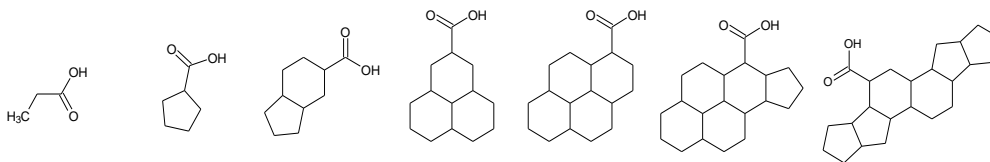
Para poder asociar una posible fórmula molecular a las señales observadas en el espectro de masas y calcular el valor Z (deficiencia de hidrógenos) de los ácidos mono carboxílicos presentes en la mezcla, fue necesario emplear la tabla de asignación de ácidos nafténicos publicada por Kuangnan y col., (**Véase Tabla 3**).

La asignación de la fórmula molecular, de acuerdo con la Tabla 3, para cada una de las señales observadas en la **Figura 13**, se realizó asumiendo que las señales del espectro de masas corresponden exclusivamente a ácidos monocarboxílicos alifáticos o con un fragmento de biomarcador (nafténicos) tal y como se mencionó anteriormente. Strausz y col. en 1999, Peng y col. en 1999 han reportado la presencia de sistemas nafténicos como producto de la reacción RICO.

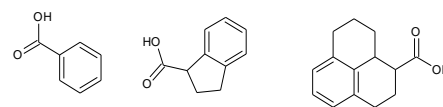
Tabla 2 Asignación estructuras de ácidos carboxílicos, Z valores, Adaptada de Kuangnan y col.

C#	0	-2	-4	-6	-8	-10	-12
3	74						
4	88						
5	102				94		
6	116	114			108		
7	130	128			<u>122</u>		
8	144	142			<u>136</u>	134	
9	158	156			<u>150</u>	148	
10	172	170	168		<u>164</u>	162	
11	186	184	182		<u>178</u>	<u>176</u>	
12	200	198	196		<u>192</u>	<u>190</u>	188
13	214	212	210		<u>206</u>	<u>204</u>	202
14	228	226	224	222	<u>220</u>	<u>218</u>	216
15	242	240	238	236	<u>234</u>	<u>232</u>	<u>230</u>
16	256	254	252	250	<u>248</u>	<u>246</u>	<u>244</u>
17	270	268	266	264	<u>262</u>	<u>260</u>	<u>258</u>
18	284	282	280	278	<u>276</u>	<u>274</u>	<u>272</u>
19	298	296	294	292	<u>290</u>	<u>288</u>	<u>286</u>
20	312	310	308	306	<u>304</u>	<u>302</u>	<u>300</u>
21	326	324	322	320	<u>318</u>	<u>316</u>	<u>314</u>
22	340	338	336	334	<u>332</u>	<u>330</u>	<u>328</u>
23	354	352	350	348	<u>346</u>	<u>344</u>	<u>342</u>
24	368	366	364	362	<u>360</u>	<u>358</u>	<u>356</u>
25	382	380	378	376	<u>374</u>	<u>372</u>	<u>370</u>

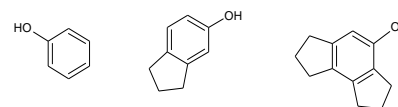
Negrilla



Subrayado



Cursiva



A continuación se presenta la **Tabla 4**, donde se muestra la posible fórmula molecular asignada para 22 señales de ácidos mono carboxílicos producto de la reacción RICO junto con sus abundancias relativas y posibles fórmulas moleculares.

Tabla 3 Composición elemental asignada para 22 señales de ácidos carboxílicos.

Señal n°.	Masa observada	Abundancia relativa (%)	Tipo (Z)	Posible fórmula molecular
1	127,5	17,40	-2	C ₇ H ₁₂ O ₂
2	141,5	37,90	-2	C ₈ H ₁₄ O ₂
3	157,4	3,70	0	C ₉ H ₁₈ O ₂
4	181,2	5,60	-4	C ₁₁ H ₁₈ O ₂
5	221,1	3,40	-6	C ₁₄ H ₂₂ O ₂
6	223,1	13,10	-4	C ₁₄ H ₂₄ O ₂
7	227,3	2,50	0	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
8	235,1	4,80	-6	C ₁₅ H ₂₄ O ₂
9	253,2	2,30	-2	C ₁₆ H ₃₀ O ₂
10	255,3	30,20	0	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
11	263,0	32,30	-6	C ₁₇ H ₂₈ O ₂
12	269,3	2,60	0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂
13	275,0	6,80	-8	C ₁₈ H ₂₈ O ₂
14	276,9	7,70	-6	C ₁₈ H ₃₀ O ₂
15	279,1	3,50	-4	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
16	281,3	6,00	-2	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
17	283,3	31,60	0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
18	305,0	72,90	-6	C ₂₀ H ₃₄ O ₂
19	323,0	3,20	-2	C ₂₁ H ₄₀ O ₂
20	325,2	6,00	0	C ₂₁ H ₄₂ O ₂
21	345,0	79,80	-8	C ₂₃ H ₃₈ O ₂
22	387,0	100,00	-8	C ₂₆ H ₄₄ O ₂

En este trabajo, la distribución de congéneres con un Z común fue el siguiente:

La familia Z=0 está compuesta por los ácidos alifáticos C₂₁, C₁₈, C₁₇, C₁₆ C₁₄ y C₉.

La familia Z=-2 está compuesta por los ácidos nafténicos en C₂₁, C₁₈, C₁₆, C₈ y C₇

La familia Z=-4 está compuesta por ácidos en C₁₁ y C₁₈

La familia Z=-6 está compuesta por ácidos en C₂₀, C₁₈, C₁₇ y C₁₄

La familia Z=-8 está compuesta por ácidos en C₂₆, C₂₃ y C₁₈

Adicionalmente, la **Tabla 4**, muestra la abundancia relativa en mayor porcentaje para Z=-8 para las señal $m/z=387,0$ con 100% ya que la señal del espectro corresponde al pico de base del espectro de masas, seguida de $m/z=345,0$ con un Z=-8 y un porcentaje de abundancia relativa de 79,80%; lo cual indica que las dos especies químicas más abundantes o con mayor eficiencia de ionización tienen una deficiencia de Z=-8. La señal que presenta menor eficiencia de ionización y pertenece a un ácido mono carboxílico corresponde a $m/z=253,2$ con abundancia relativa de 2,30% correspondiente a una deficiencia de Z=-2.

Para proponer una estructura, a cada uno de los ácidos mono carboxílicos saturados relacionados en la **Tabla 4**, se tuvieron en cuenta los siguientes aspectos:

- 1: El espectro de masas CID para un ácido carboxílico saturado en ESI-MS.
- 2: La composición elemental asignada en la Tabla 4 para cada ion molecular, de acuerdo a su valor de m/z .
- 3: Reportes de estudios anteriores, sobre biomarcadores presentes en asfaltenos luego de una degradación química con iones rutenio.

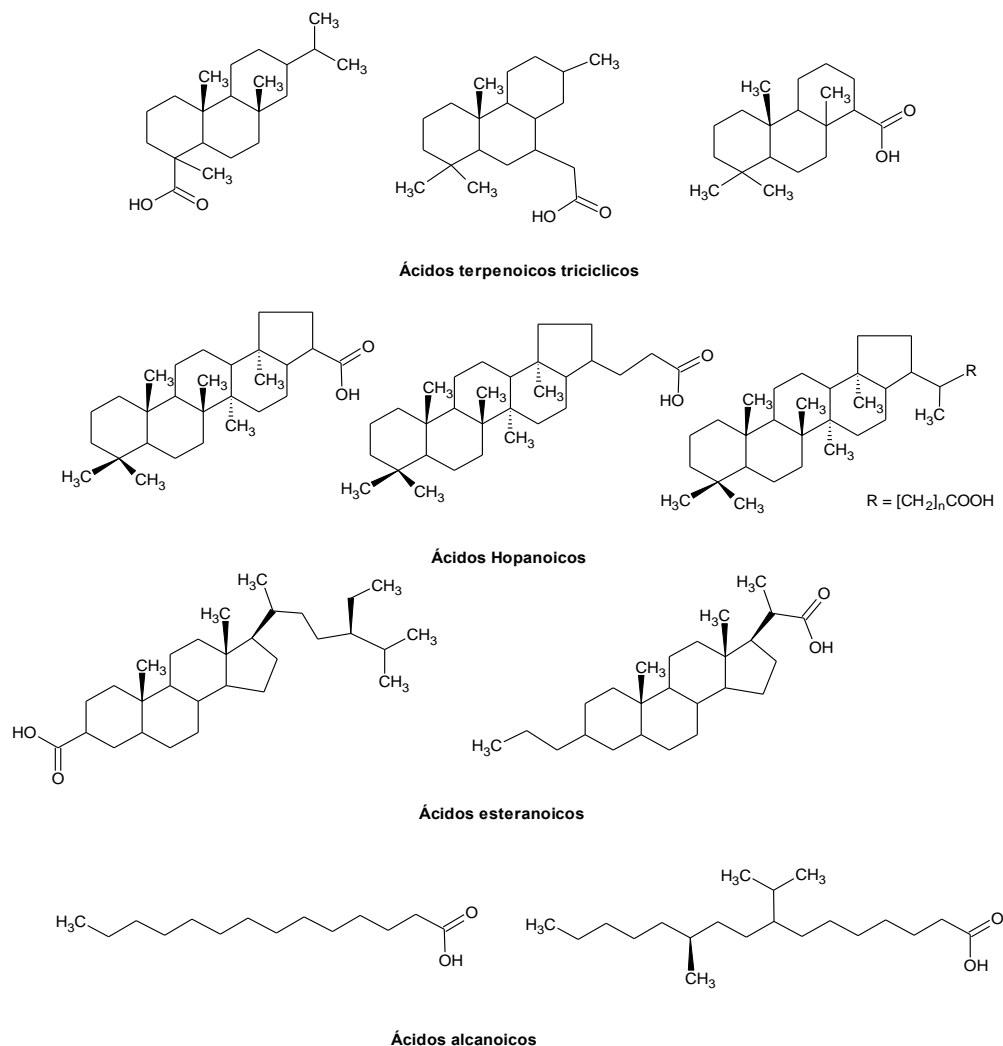
Recientemente, la geoquímica se está encargando de determinar hidrocarburos con un rango de carbonos inferior a C₄₀. La búsqueda de mecanismos efectivos de extracción de hidrocarburos alifáticos lineales, cíclicos y ramificados ha cobrado importancia con el fin de separar y cuantificar estas especies químicas presentes en la estructura de los asfaltenos.

La investigación sobre la composición de la fracción de asfaltenos, ha sido dominante en la geoquímica orgánica en la última década. En realidad, los asfaltenos, son macromoléculas de alto peso molecular presentes en el petróleo;

que por medio de un proceso oxidativo se pueden generar fragmentos, entre los cuales se han caracterizado biomarcadores de asfaltenos (**Véase Figura 17**) (Feitosa y col. 2012).

Los biomarcadores son compuestos orgánicos presentes en la geosfera, cuyas estructuras químicas están íntimamente relacionadas con las estructuras de las sustancias precursoras, que a su vez provienen del material fuente del petróleo fósil. [(Silva y col. 2008), (Jacquot y col. 1996)].

Figura 17 Biomarcadores ácidos detectados en muestras de petróleo formados durante el proceso de biodegradación (Feitosa y col. 2012).



Existen diferentes clases de biomarcadores ácidos presentes en asfaltenos, los cuales se representan algunas familias en la **Figura 17**, a continuación se presentan los ácidos carboxílicos encontrados en la fracción de asfaltenos del pozo 25 de campo colorado:

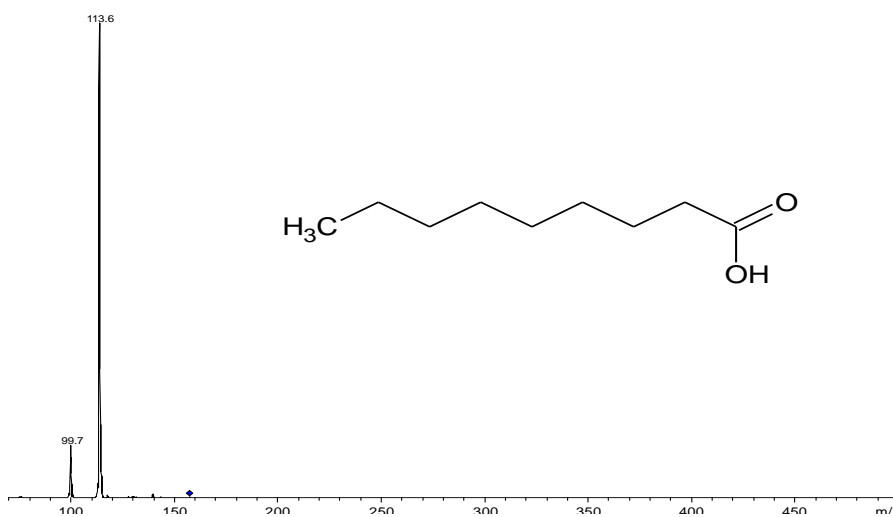
Ácidos n-alcanóicos

Los ácidos n-alcanóicos son especies químicas alifáticas saturadas, abundantes en muestras de combustible y se emplean para inferir la fuente de material orgánico de una muestra, (Jones y col. 2001)

Para los iones de ácidos carboxílicos de m/z 157, 227, 255, 269, 283 y 325 con $z=0$, se observa que la estructura propuesta, corresponden a las estructuras bases de los ácidos alcanóicos,

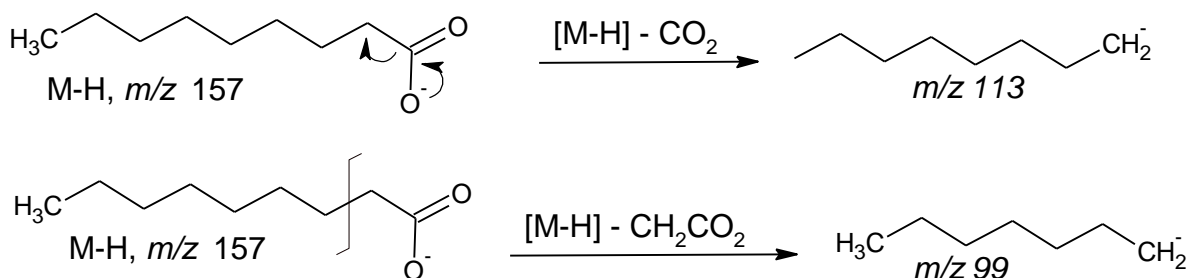
Para el caso del ion de m/z 157, en la **Figura 18** se muestra el patrón de fragmentación del espectro de masas, obtenido por medio de la técnica CID.

Figura 18 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=157$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



En los espectros de masas de ácidos carboxílicos alifáticos, se observa un patrón de fragmentación característico, donde se aprecia una pérdida de m/z 58 unidades, que puede corresponder a CH_2CO_2 , como se puede apreciar en la Figura 19, donde se muestra la ruta de fragmentación característica, para ácidos carboxílicos saturados.

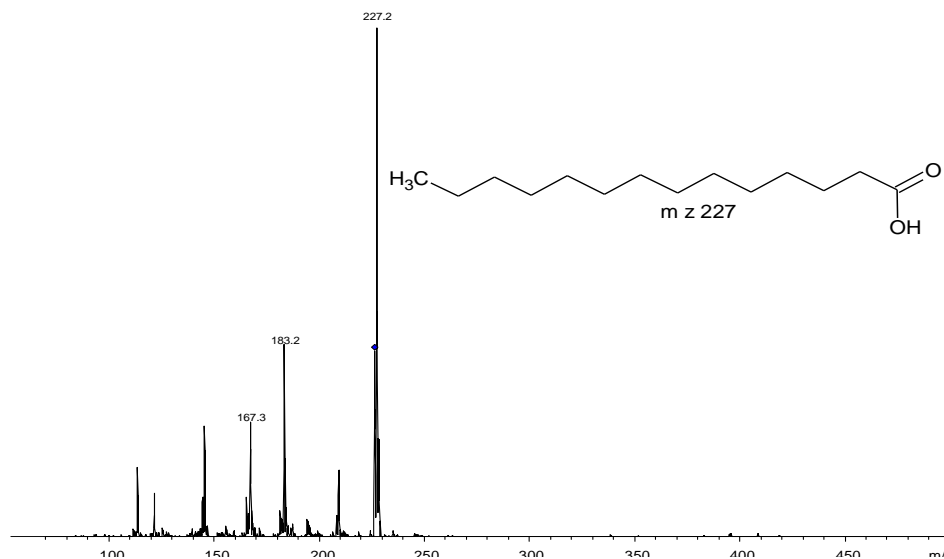
Figura 19. Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 157



De la **Figura 19**, se observa que los iones formados corresponden a carbaniones, estos son especies químicas intermediarias de reacción, con una carga negativa localizada sobre un átomo de carbono. Su estabilidad depende del número de sustituyentes dadores de densidad electrónica. Un efecto inductivo desestabiliza la carga negativa, por lo que a mayor número de sustituyentes dadores, el carbanión estará más desestabilizado. Las especies químicas propuestas para cada uno de los iones presentes en los espectros de masas de ácidos carboxílicos, corresponden a carbaniones primarios, especies químicas estabilizadas por iones metálicos (Na^+).

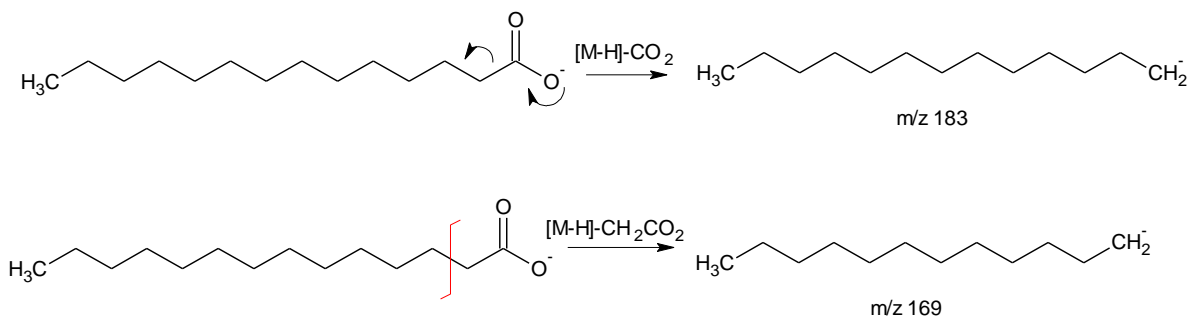
El siguiente ácido alcanóico determinado en la reacción RICO, corresponde $\text{C}_{14}\text{H}_{28}\text{O}_2$ el cual se muestra el espectro de masas en la **Figura 20**.

Figura 20 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=227$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



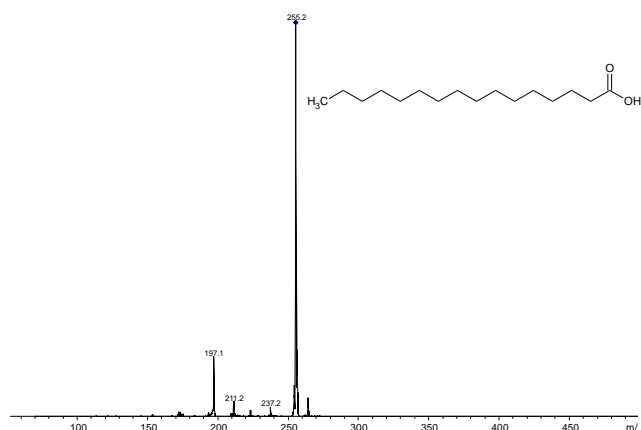
En la **Figura 21**, se muestra la ruta de fragmentación característica para el ion m/z 227, que corresponde a un ácido alcanóico.

Figura 21 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 227



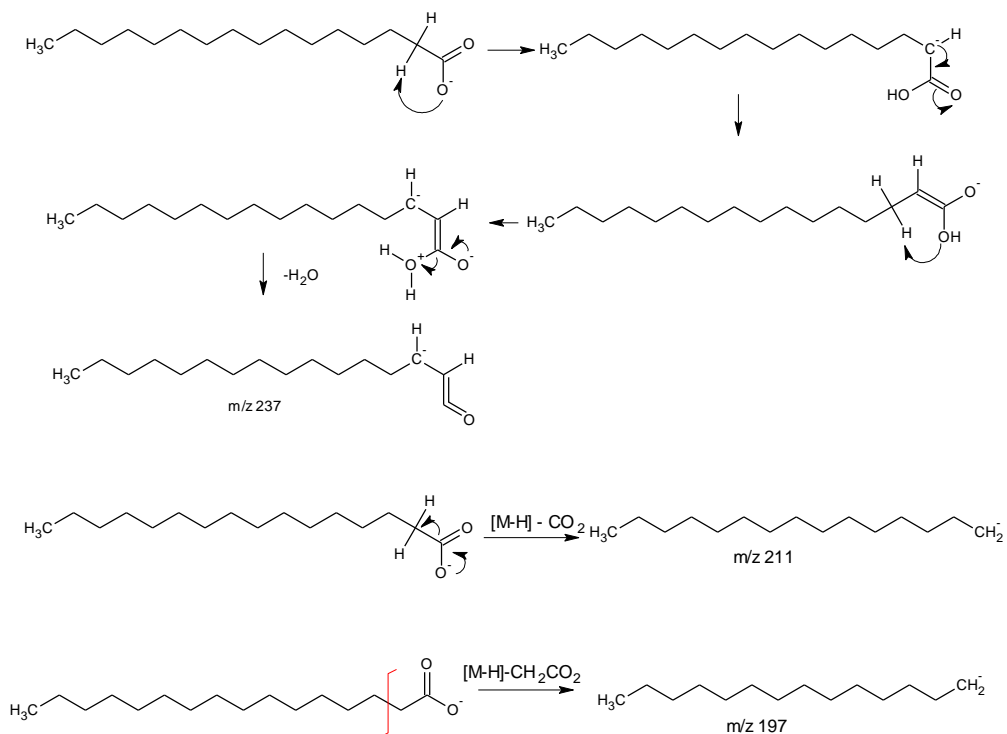
El siguiente ácido alcanóico determinado, corresponde al ion $[M-H]$ de m/z 255, como se muestra en la **Figura 22**.

Figura 22 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=255$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



En la **Figura 23**, se muestra la ruta de fragmentación característica, para un ácido alcanóico alifático, donde se evidencia, las pérdidas de 18, 44 y 58 unidades de m/z .

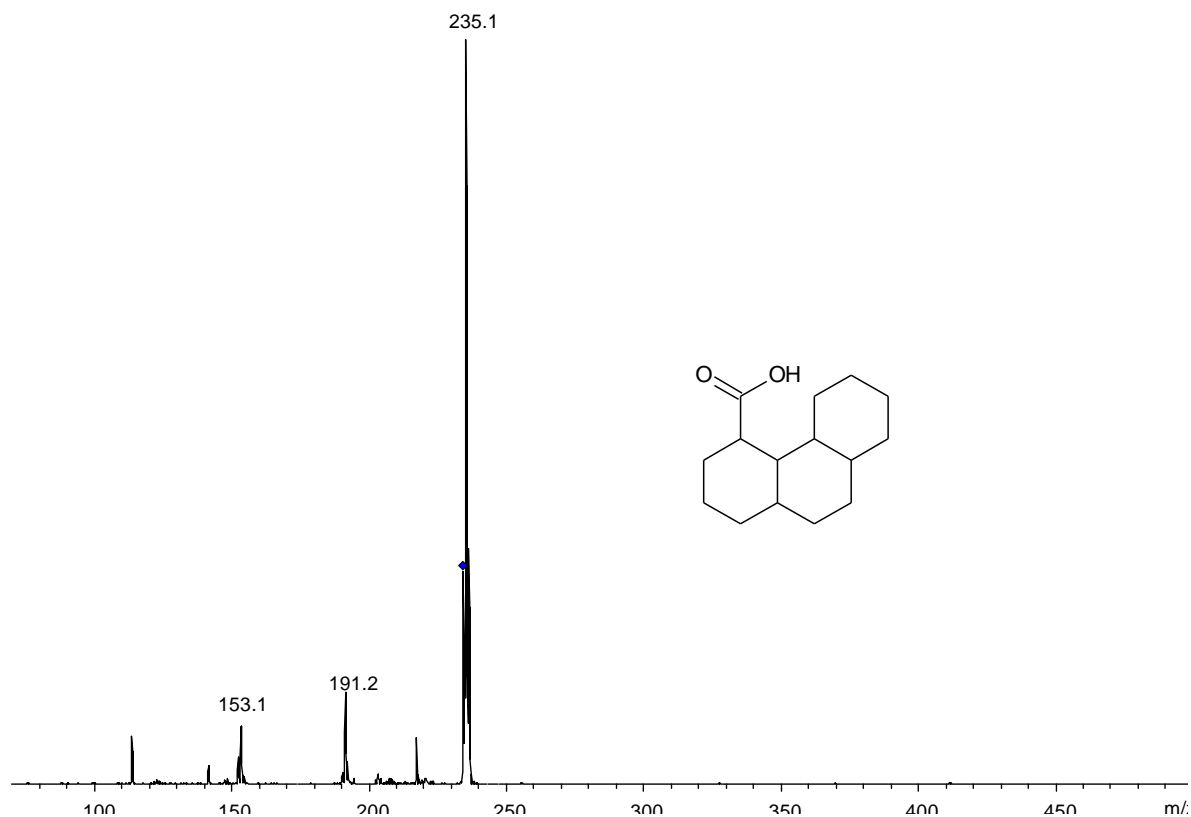
Figura 23 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 255



Los iones de m/z 269, 283 y 325 con $z=0$ que se pueden asociar a ácidos alcanóico, y sus respectivos espectro de masas, junto con la estructura propuesta, se encuentran en los anexos, este tipo de ácidos n-alcanóicos, ya han sido identificados por Jones y col. en 2001, empleando derivatización de los ácidos a sus correspondientes metil éster y usaron GC-MS para su posterior identificación.

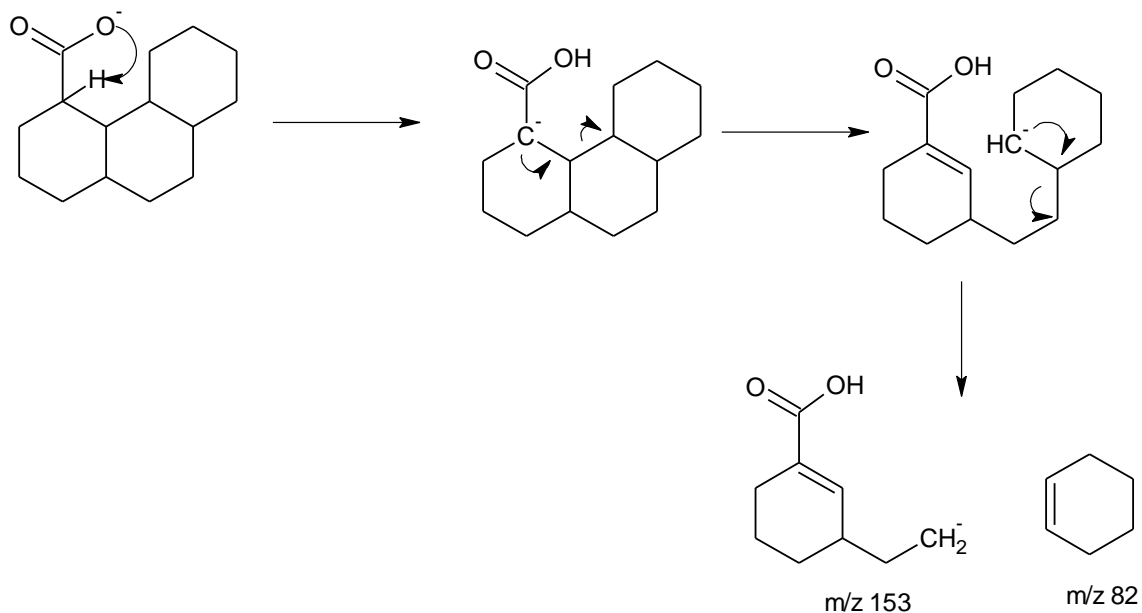
Otra familia de biomarcadores ácidos, son los terpenos tricíclicos, esta clase de biomarcadores se han estudiado ampliamente en muestras de interés geoquímico (De Lima y col. 2010). Para los iones de ácidos carboxílicos de m/z 221, 235, 263, 277 y 305 con $z=-6$, se observa que las estructura propuestas, son similares, a las estructuras bases de los ácidos terpénicos tricíclicos, en la **Figura 24**, se muestra el espectro del ion m/z 235.

Figura 24 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=235$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



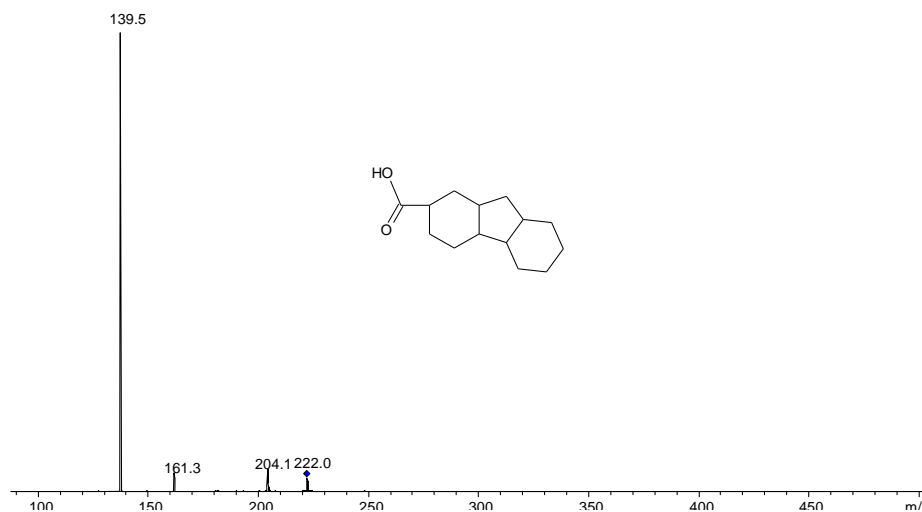
En la **Figura 25**, se muestra la ruta de fragmentación característica, para un ácido terpeno tricíclico, donde se evidencia, las pérdidas de 18, 44 y 82 unidades de m/z , esta última pérdida, puede corresponder a la eliminación de una molécula neutra de un ciclo-alqueno, la cual se pierde a través de una transposición de hidrogeno, los espectros de masas de los iones de m/z 263 277 y 305, junto con las estructuras propuestas, se encuentran en los anexos, las estructuras propuestas para cada uno de los espectros, se pueden relacionar con especies reportadas por Chun y col. 2003, quienes determinaron la presencia de ácidos naftenicos en muestras reales del crudo de Athabasca- Canadá, ellos clasificaron los ácidos por familias, encontrando especies con $z=2$ hasta $z=-8$. También, Cyr, T.; y Strausz en 1983, mostraron la presencia de ácidos terpenoides tricíclicos en otro crudo de Canadá.

Figura 25. Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico del ion molecular m/z 235



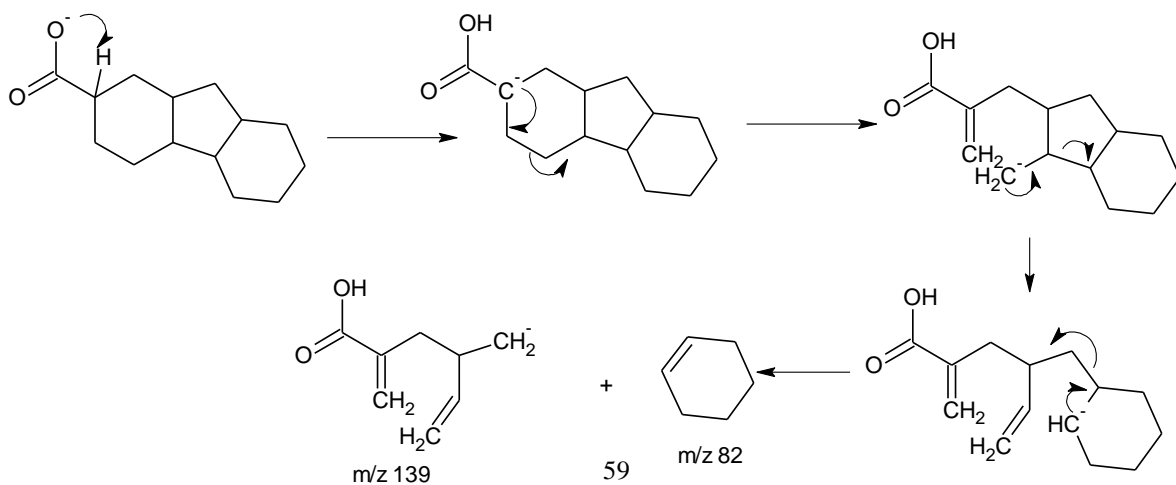
El siguiente ácido determinado, corresponde a un m/z 221 con $z=-6$, y la estructura propuesta se puede asociar a un ácido terpeno tricíclico, en la **Figura 26**, se muestra el espectro de masas, junto con la estructura de esta especie química.

Figura 26. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=221$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



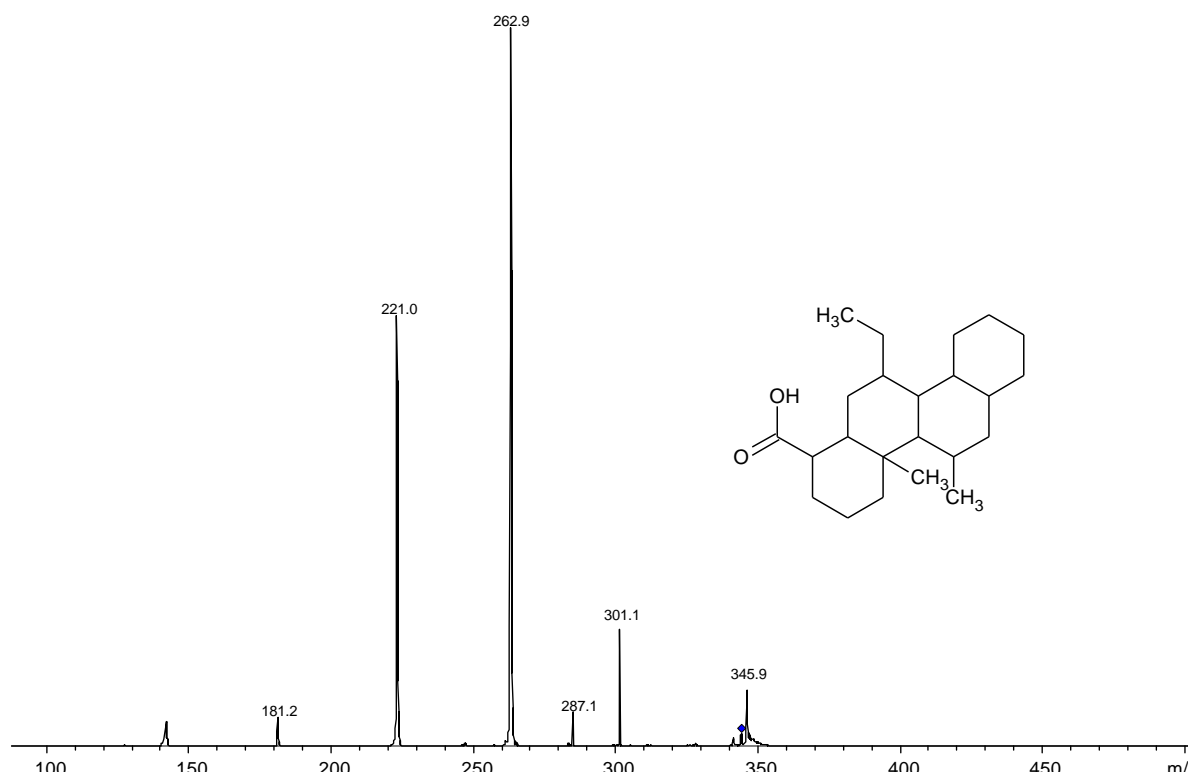
Al igual, que en la ruta de fragmentación del ion m/z 235, en esta, se muestra la pérdida de 82 unidades de m/z (Véase **Figura 27**).

Figura 27 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 221



La siguiente familia de biomarcadores ácidos, son los ácidos esteránicos, para los iones de ácidos carboxílicos de m/z 275, 345 y 387 con $z=-8$, se observa que la estructura propuesta, es similar a las estructuras de los ácidos esteránicos, en la **Figura 28**, se muestra el espectro del ion m/z 245.

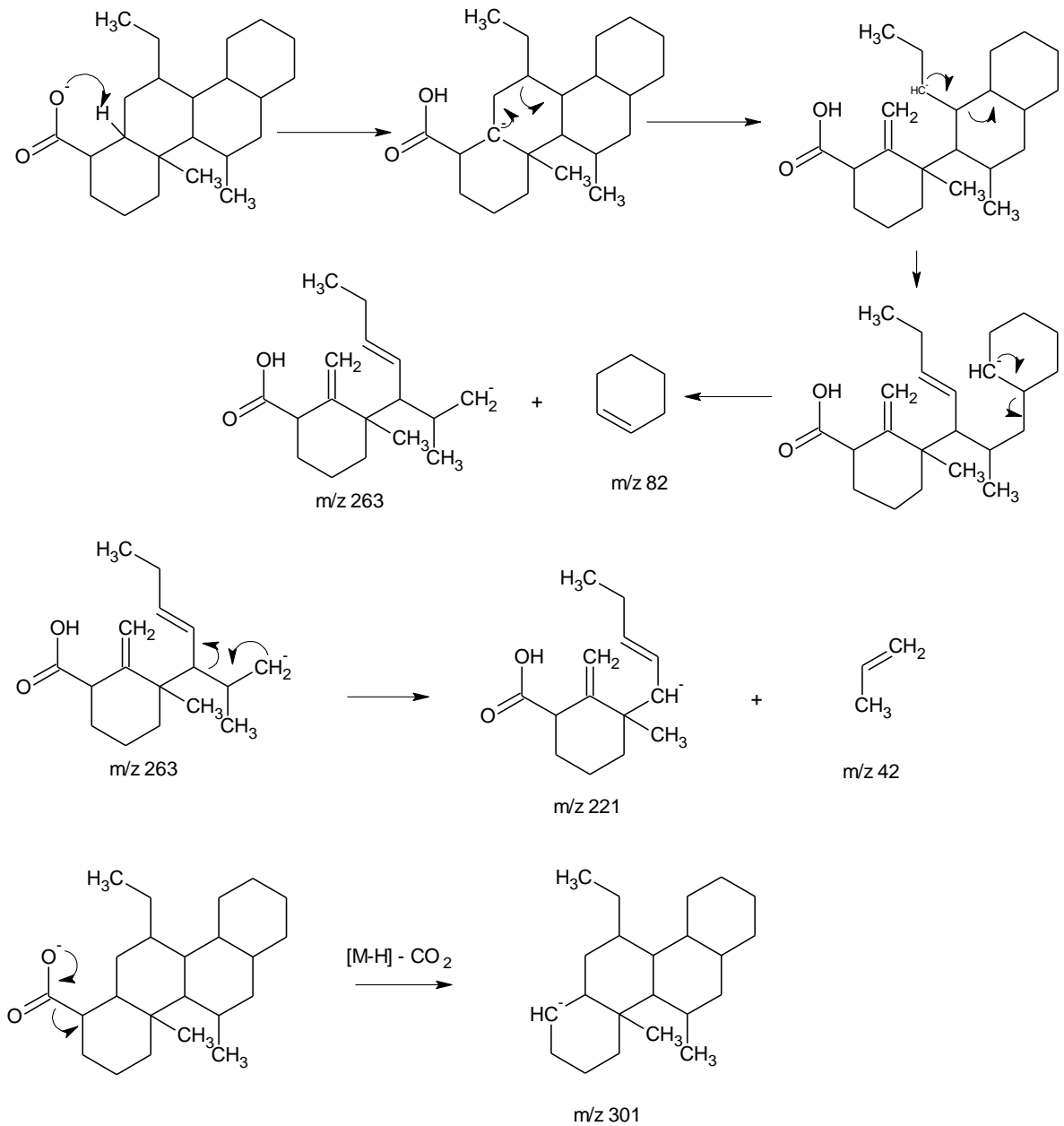
Figura 28 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=345$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



En la **Figura 29**, se muestra la ruta de fragmentación característica, para un ácido esteránico, donde se evidencia, las pérdidas de 44, 82 y 104 unidades de m/z , esta última, es una pérdida consecutiva, que se da, a partir del ion m/z 263, el cual pierde 42 unidades de m/z , dando como resultado, la formación del ion m/z 221. Los espectros de masas de los iones de m/z 275 y 387 junto con las estructuras propuestas, se encuentran en los anexos, las estructuras propuestas para cada uno de los espectros, se pueden relacionar con especies reportadas por De Lima y col. 2010, quienes estudiaron varios crudos Brasileños empleando GC-MS para la

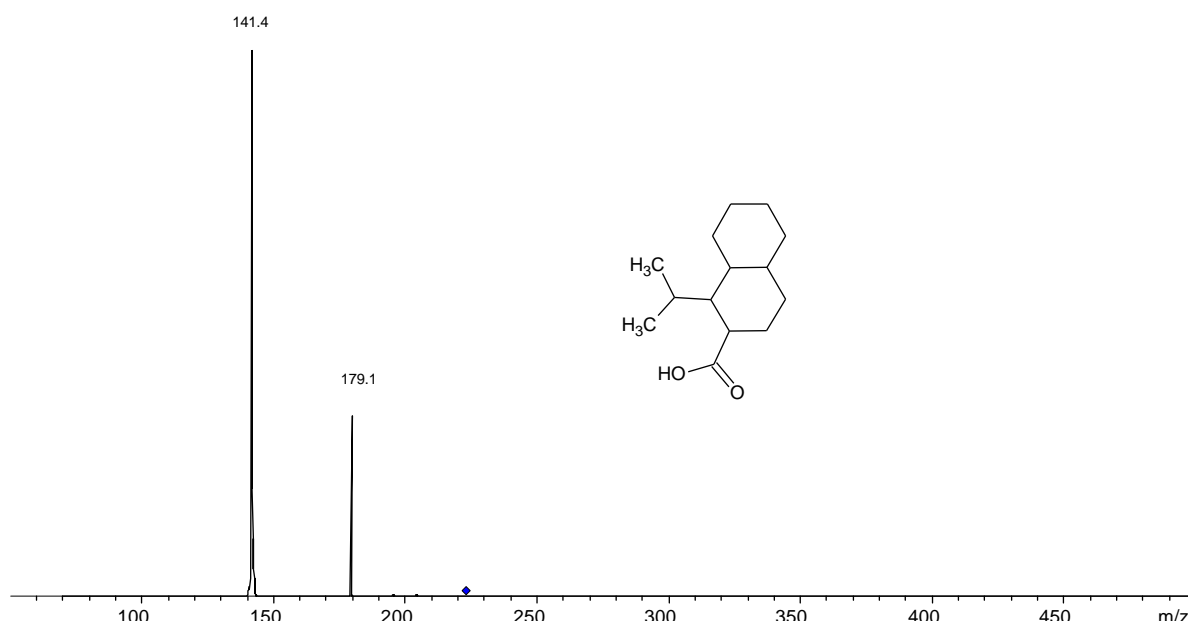
identificación de los compuestos, encontrando gran variedad de esteranos y terpanos tricíclicos.

Figura 29 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico del ion molecular m/z 345



La siguiente familia de biomarcadores son los ácidos sesquiterpenos bicíclicos, su característica común, es poseer mínimo dos anillos tipo hexano, fusionados, ramificados o sustituidos por grupos alquílicos. Se han investigado poco en muestras de combustibles pero se han detectado en investigaciones de exploración del petróleo. Estos compuestos tienen como precursores a los triterpenos pentacíclicos, tales como la amirina, que se descomponen durante los procesos de maduración (Weston y col. 1989). Para los iones de ácidos carboxílicos de m/z 181, 223 y 279 con $z=-4$ se observa que la estructura propuesta, corresponden a las estructuras bases de los ácidos sesquiterpenos bicíclicos, en la Figura 30, se muestra el espectro del ion m/z 223.

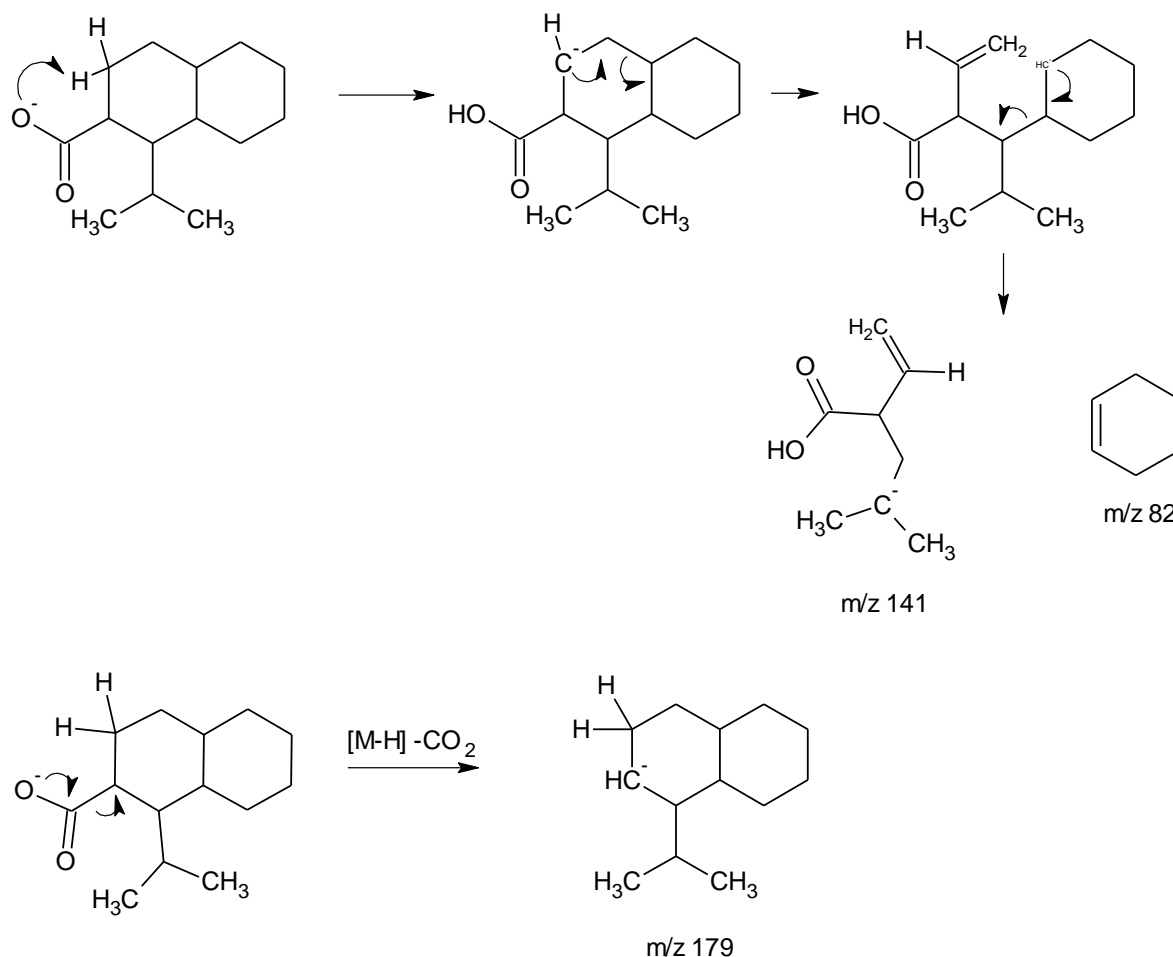
Figura 30 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=223$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



La ruta de fragmentación característica, para estas especies ácidas bicíclicas, se muestra en la **Figura 31**, donde se evidencia la pérdida de 44 unidades de m/z , correspondientes a una molécula neutra de dióxido de carbono, dando lugar a la formación del ion m/z 179, y la pérdida de 82 unidades de m/z , correspondientes

a una molécula de un cicloalqueno, dando lugar a la formación del ion m/z 141, los espectros de masas de los iones m/z 181 y 279, junto con las estructuras propuestas se encuentran en los anexos.

Figura 31 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico del ion molecular m/z 223

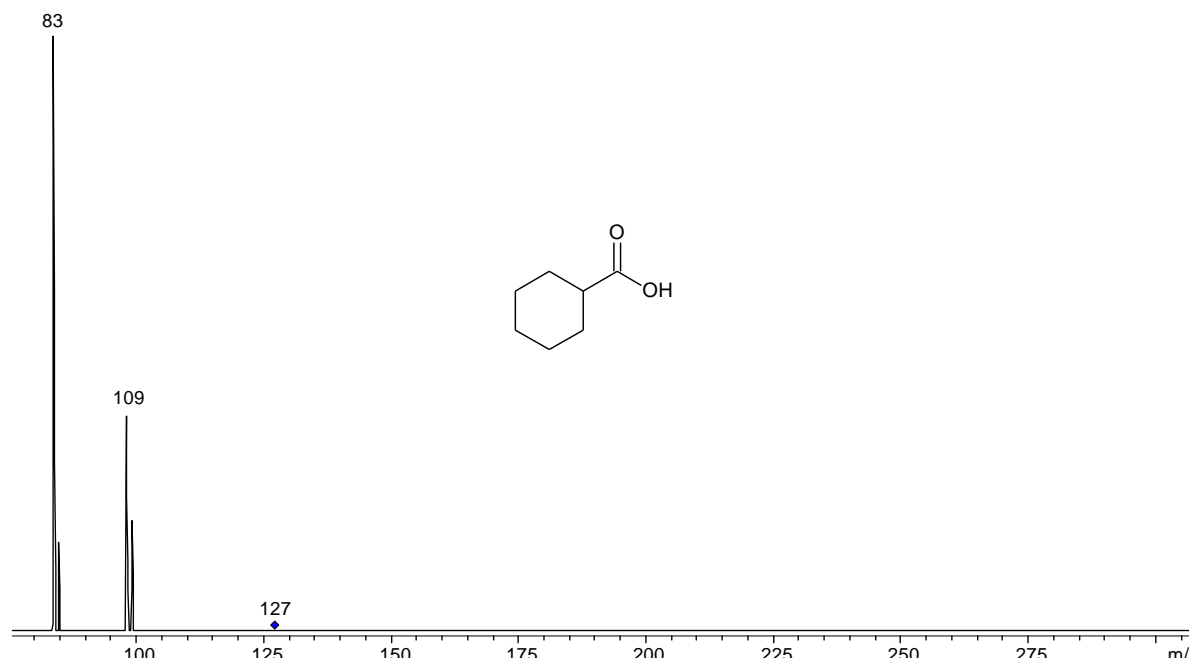


Los sesquiterpenos bicíclicos, son biomarcadores que se identificaron en un crudo de Nueva Zelanda por Weston y col. en 1989.

Otras especies ácidas encontradas, en la fracción de asfaltenos de campo colorado, corresponden a ácidos carboxílicos de bajo peso molecular, compuestos por un anillo de 6 carbonos y una cadena alquílica, entre estos, se encuentran los iones m/z 127, 141, 253, 281 y 323 con $z=-2$, en los espectros de masas de estos

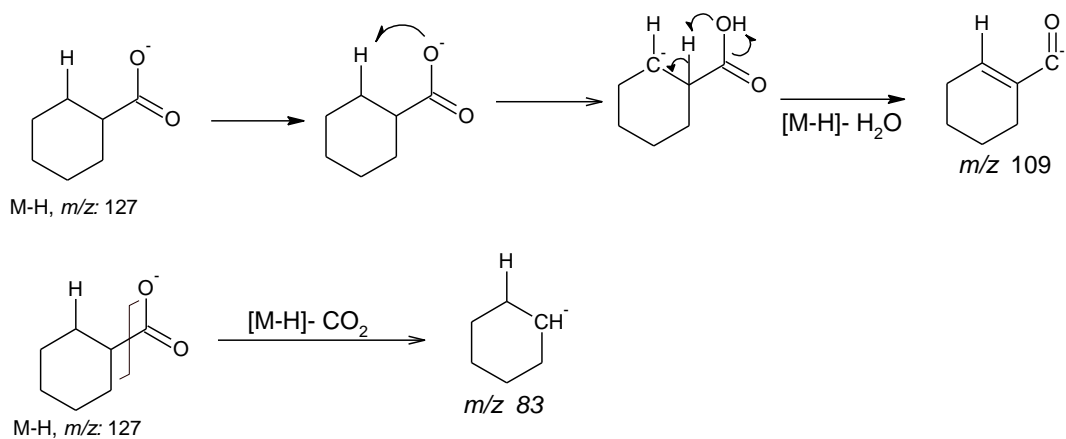
iones, se observan pérdidas características de 18 y 44 m/z. A continuación se muestra en la **Figura 32**, el espectro de masas del ion m/z 127, obtenido por CID.

Figura 32 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=127$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



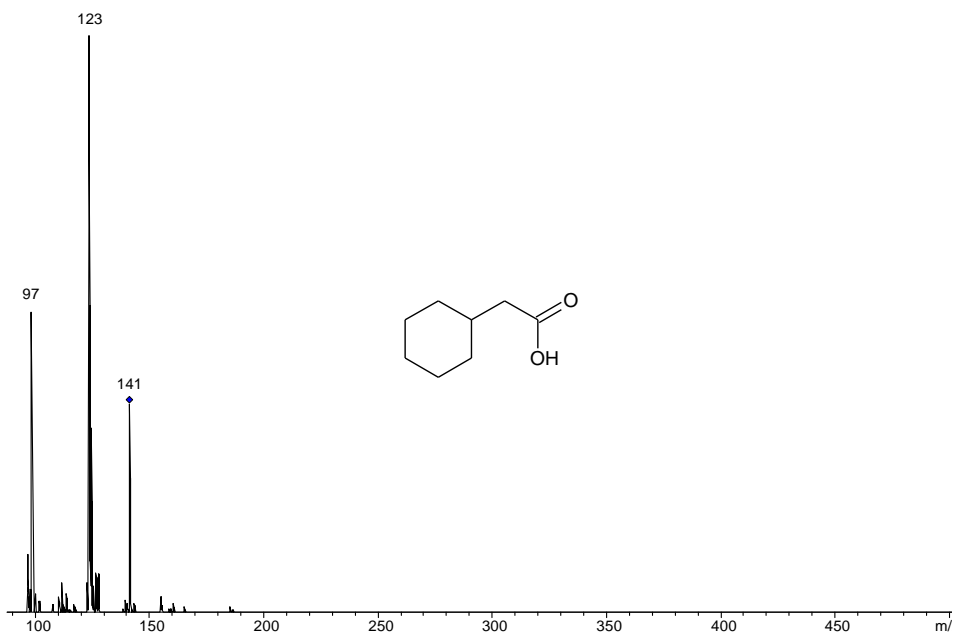
En la **Figura 33**, se muestra la ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico propuesto con $[M-H]$ de 127 m/z, donde se observa la pérdida de 18 unidades de m/z, correspondientes a la salida de una molécula neutra de agua, dando la formación del ion de m/z 109, también, se muestra la formación del ion m/z 83, a través de una pérdida de 44 unidades de m/z correspondientes a una molécula de CO_2

Figura 33 Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 127



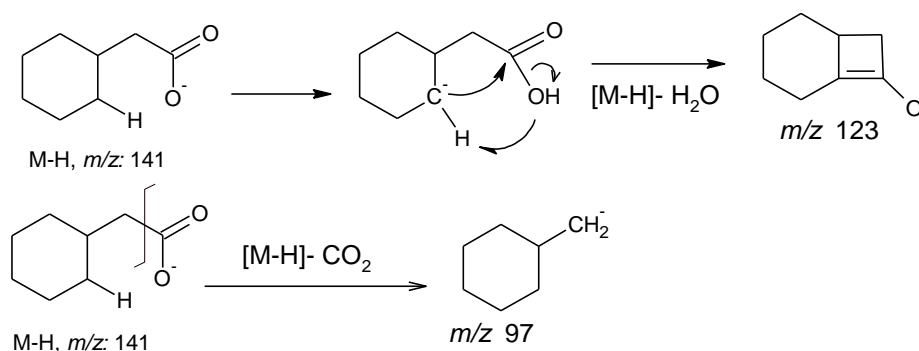
El siguiente ácido mono carboxílico, con ion m/z 141 corresponde a la misma familia con $z=-2$ una estructura probable corresponde a la presentada en la **Figura 34**.

Figura 34 Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=141$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



Para el ion m/z 141, también se plantea una ruta de fragmentación característica para ácidos mono carboxílicos, evidenciándose la pérdida de 18 y 44 unidades de m/z , dando lugar a la formación del ion m/z 123 al perderse una molécula de agua a partir del ion molecular, y la formación del ion m/z 97, a través de la pérdida de CO_2 (Véase Figura 35). Los espectros de masas de los iones m/z 253, 281 y 323, junto con las respectivas estructuras propuestas, se encuentran en los anexos.

Figura 35. Ruta de fragmentación característica para el ácido mono carboxílico de ion molecular m/z 141



Se puede observar, que de todas las rutas de fragmentación plantadas, existen pérdidas comunes, como lo son: pérdida 18 y 44 m/z , en los ácidos que presentan ciclos en sus estructuras, además, se evidencia la pérdida de 82 m/z , y en los que presentan una cadena alquílica, también se encuentra la pérdida de 58 unidades de m/z .

Las estructuras propuestas para cada ácido carboxílico, pueden corresponder a la molécula asignada, sin embargo también existe la posibilidad que correspondan a un isómero estructural, que cumpla con la fórmula molecular, y con el espectro de masas.

Las especies ácidas determinadas en esta investigación, (ácidos n.-alcanoicos, terpenos tricíclicos, bicíclicos y esteránicos) son congruentes, con los resultados reportados por Ma y col., 2008, quienes también hicieron la reacción de oxidación catalizada por iones rutenio, a una muestra de crudo pesado de China, y encontraron estas mismas especies, en diferentes proporciones, empleando GC-MS, lo que indica, que después de realizar la reacción RICO a una muestra de asfaltenos, es posible encontrar estas especies ácidas, que se pueden relacionar estructuralmente con biomarcadores.

Según García y col. 1999, “Como resultado de reacciones térmicas controladas por el sepultamiento y calentamiento asociado, los biomarcadores presentan transformaciones estructurales a nivel molecular que pueden utilizarse como parámetros de madurez térmica.” y los estéranos, son biomarcadores que indican la madurez térmica de un crudo. En el análisis de ácidos carboxílicos obtenidos de la fracción de asfaltenos de campo colorado, se encontraron especies químicas ácidas que se pueden relacionar con la estructura de los ácidos esteránicos, infiriendo que el crudo de campo colorado (pozo 25) podría ser un crudo maduro térmicamente maduro.

Esta suposición se puede relacionar con los resultados obtenidos por Ariza E., en 2008, quien realizó un estudio de parafinas sobre el crudo de campo colorado, analizando el pozo 25, del cual provenía la muestra de asfaltenos con la que se trabajó en esta investigación, reportando que es un pozo, maduro y liviano, estos resultados, serían consistentes, con los obtenidos en esta investigación, ya que las especies ácidas encontradas, varían desde C_7 - C_{26} números de carbonos presentes en las moléculas, y Ariza reporta que la composición del pozo 25, varía desde C_7 - C_{30}

5. CONCLUSIONES

La reacción RICO a un asfalteno produce ácidos carboxílicos que pueden ser analizados de forma directa a través de la técnica ESI-MS. Esta técnica junto a un método selectivo de extracción líquido-líquido con TBP en Dodecano permite el análisis de una de las fracciones de estos ácidos (monocarboxílicos) producto de la reacción RICO.

La elección de un solvente apropiado determina la eficiencia de ionización no solo en la cantidad de iones moleculares formados presentes en un espectro de masas, sino la relación existente entre el ion molecular y los dímeros presentes en el análisis ESI-MS.

A partir de este trabajo se presenta de forma cualitativa el análisis directo de una solución de ácidos carboxílicos producto de la reacción RICO de un asfalteno colombiano de Campo escuela Colorado.

En la fracción de asfaltenos de campo colorado, se determinaron especies ácidas que se pueden relacionar estructuralmente con: ácidos n-alcanóicos, terpenos tricíclicos, bicíclicos y esteránicos.

Debido a la presencia de ácidos carboxílicos con número de carbono entre C₇-C₂₆, y especies que se pueden relacionar estructuralmente con los ácidos esteránicos, se puede inferir, que el crudo tratado de campo colorado, es liviano y térmicamente maduro.

6. RECOMENDACIONES

Emplear espectrometría de masas de alta resolución, como FTICR (Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance), para realizar la caracterización completa de una mezcla compleja como lo son los ácidos producto de la reacción RICO, los cuales presentan iones de masa similar.

Emplear otros agentes extractantes, diferentes al tributil fosfato (TBP), tales como aminas secundarias, terciarias y cuaternarias como ya que esta también presentan selectividad a diferentes especies químicas, dependiendo del solvente en el cual se encuentren disueltas.

BIBLIOGRAFÍA

ANCHEYTA, J. CENTENO, G., TREJO, F., MARROQUIN, G., GARCIA. A.,
Extraction and characterization of asphaltenes from different crude oils and
solvents, *Energy & Fuel*, 2002, 16, p.p. 1121-1127.

ANLAI Ma, SHUICHANG ZHANG, DAJIANG ZHANG., Ruthenium-ion-catalyzed
oxidation of asphaltenes of heavy oils in Lunnan and Tahe oilfields in Tarim Basin,
NW China. *Organic Geochemistry*, 2008, 39, p.p. 1502-1511.

ARIZA E. Determinación del umbral de cristalización de las parafinas en el crudo
de campo colorado, Trabajo de grado presentado para obtener el título de
Magister. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, 2008.

ARTOK, L.; Su, Y.; HIROSE, Y.; HOSOKAWA, M.; MURATA, S.; NOMURA, M.
Structure and reactivity of petroleum- derived asphaltene, *Energy & Fuel*, 1999, 13,
p.p. 287-296.

BARKER, K. Crude oils of Kentucky and Tennessee: characteristics, problems,
and solutions; Society of Petroleum Engineers, SPE 111142, 2007.

BOURAQADI, A , Joe A, KYUCHOUKOV G, MOLINIER, J. Model Based on
Reaction in the Aqueous Phase for Liquid-Liquid Extraction of Monocarboxylic
Acids. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2007, 46, p.p. 5192-5198.

CECH, N.; ENKE, C.; Practical implications of some recent studies in electrospray
ionization fundamental. *Mass Spectrometry Reviews*, 2001, 20, p.p. 363-383.

CYR, T.; y STRAUSZ, O. The Structures of Tricyclic Terpenoid Carboxylic Acids and their Parent Alkanes in the Alberta Oil Sands *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 1983, p.p. 1028-1030

DJERASSI, C., ENGLE, R., *J. Am. Chem. Soc.*, 1953, 75, p. 3838.

DE LIMA, S.; STEFFEN, R.; b, REIS, F.; KOIKE, L.; SANTOS, E.; CERQUEIRA, R.; LOPES, J. Propyl ergostanoic acids: possible new indicator for oil biodegradation. *Organic Geochemistry*. 2010, 41, p.p. 325–339

CHUN, C.; BRIAN, G, y NIGEL, J. Electrospray-Mass Spectrometric Analysis of Reference Carboxylic Acids and Athabasca Oil Sands Naphthenic Acids. *Anal. Chem.* 2003, 75, p.p. 6394-6400.

ESCOBAR, M. Geoquímica del petróleo y del carbón mineral, Universidad Central de Venezuela, Escuela de geoquímica, 2010, p.p. 55-70.

FARHAT, M. A.; NAHID, M.S.; AHMED, A.A. Structural studies on residual fuel oil asphaltenes by RICO method. *Petroleum Science and Technology*, 2004,22, p.p. 631-645.

FEITOSA, G.; MARSAIOLI. A. Processos naturais de biodegradação do petróleo em reservatórios *Quim. Nova*, 2012, 35, p.p. 1628-1634.

GARCÍA, J*, SÁNCHEZ, J.; y GUZMÁN, M. Esteranos y terpanos como marcadores biológicos en la prospección petrolera. *Revo Soco. Quím. Méxo*, 1999, 43, p.p. 1-6.

GROSS, J. *Mass Spectrometry*, Springer, Heidelberg, 2004, p.p. 451-453.

JACQUOT F, DOUMENQ P, GIULIANO M, Munoz D, GUICHARD J., Mille G. Biodegradation of the (Aliphatic + aromatic) fraction of Oural crude oil. Biomarker identification using GC/MS SIM and GC/MS/MS. *Talanta*.1996; 43, p.p. 319-330.

JONES, D. M.; WATSON, J. S.; MEREDITH, W.; Determination of naphthenic acids in crude oils using nonaqueous Ion Exchange Solid-Phase Extraction. *Analytical Chemistry*, 2001, 73, p.p. 703-707.

JOHN V. HEADLEY, KERRY M. PERU, AND MARK P. BARROW., Mass Spectrometry Characterization of Naphthenic Acids in Environmental Samples: A Review. Published online 1 August 2008 in Wiley InterScience.

KILLOPS, S.; KILLOPS, V. Introduction to organic geochemistry, Blackwell Publishing, 2^a Ed., Cornwall, United Kingdom, 2005, p.p. 140-146.

KIM, S.; RODGERS, R. P.; BLAKNEY, G. T.; HENDRICKSON, C. L.; MARSHALL, A. G. Automated Electrospray Ionization FT-ICR Mass Spectrometry for Petroleum Analysis. *J. Am. Soc. Mass Spectrum*, 2009, 20, p.p. 263-268.

KUANGNAN Qian, KATHLEEN E. EDWARDS, John h. Diehl, and larry a. green., Fundamental and Applications of Electrospray Ionization Mass Spectrometry for Petroleum Characterization. *Energy & Fuels*, 2004, 18, p.p. 1784-1791.

KUANGNAN GIAN, Edwards, K. DECHERT, G, JAFFE, S., MEASURED of Total Acid Number (TAN) Boiling Point Distribution in Petroleum Products by Electrospray Ionization *Mass Spectrometry Anal. Chem.* 2008, 80, p.p. 849-855.

LEVENT ARTOK, Satoru MURATA, MASAKATSU Nomura., Reexamination of the RICO Method. *Energy & Fuels*, 1998, 12, 391-398.

LATEEFAH A, RODGERS, P.; MARSHALL. A., Detailed Elemental Compositions of Emulsion Interfacial Material versus Parent Oil for Nine Geographically Distinct Light, Medium, and Heavy Crude Oils, Detected by Negative- and Positive-Ion Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Energy & Fuels* 2007, 21, p.p. 973-981.

LUO, P.; WANG, X.; GU, Y. Characterization of asphaltene precipitated with three light alkanes under different experimental conditions, *Fluid Phase Equilibria*, 2010, 291, p.p. 103-110

MA, A.; ZHANG, S.; ZHANG, D. Ruthenium-ion-catalyzed oxidation of asphaltenes of heavy oil in Lunnan and Tahe oilfields in Tarim Basin, NW China, *Organic geochemistry*, 2008, 39, p.p. 1502-1511.

MALLYA, N.; ZINGARO, R. A. *Fuel*, 1984, 63, p. 423.

MAJORS, R. E. A review of modern solid-phase extraction, LC-GC *Current trends and developments in sample preparation*, 1998.

MOHAMMAD Farhat, MOHAMMAD, Nahid, Adnan Ahmed, Structural Studies on Residual Fuel Oil Asphaltenes by RICO Method. *Petroleum Science and Technology*, 2004, 22, p.p. 631-645.

PENG, P., FU, J., SHENG. G., Ruthenium Ion Catalyzed Oxidation of on immature Asphaltene: Structural Features and Biomarker Distribution. *Energy & Fuels*, 1999, 13, p.p. 266-277.

ROSTAD, C. E. Screening of polar components of petroleum products by electrospray ionization mass spectrometry. *Energy & Fuels*, 2005, 19, p.p. 992-997.

SAYYAD, A.; Nikooee, E. Fractal analysis of surface roughness induced by asphaltene deposits: effect of surface topography on wettability alteration, in. *Proceedings of the 1st International Petroleum Conference & Exhibition*, EAGE, Iran, Shiraz, 2009.

SEKI, H.; KUMATA, F.; Structural change of petroleum asphaltenes and resins by hydrodemetilation. *Energy & Fuels*, 2000, 14, p.p. 980-985.

SILVA T. AZEVEDO D , RANGEL M, FONTES R, AQUINO F,. Effect of biodegradation on biomarkers released from asphaltenes. *Organic Geochemistry*. 2008; 39, p.p. 1249-1257.

SNYDER, P. Electrospray: A popular ionization technique for mass spectrometry, American Chemical Society, 1996, p.p. 2-20.

STANFORD, L. A.; RODGERS, R. P.; MARSHALL, A. G. Detailed elemental compositions of emulsion interfacial material versus parent oil for nine geographically distinct light, medium, and heavy crude oils, detected by negative- and positive-ion electrospray ionization Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometry. *Energy & Fuels*, 2007, 21, p.p. 973-981.

STRAUSZ O., MOJELSKY, T, LOWN. E., Structural Features of Boscan and Duri Asphaltenes. *Energy & Fuels*, 1999, 13, p.p. 228-247.

STRAUSZ O., MOJELSKY, T, FARAJI, F., LOWN. E., Additional Structural Details on Athabasca Asphaltenes and Their Ramifications. *Energy & Fuels*, 1999, 13, p.p. 207-227.

SU, Y.; ARTOK, L.; MURATA, S.; Nomura, M.T. Structural analysis of the asphaltene fraction of an arabian mixture by a ruthenium-ion-catalyzed oxidation reaction. *Energy & Fuels*, 1998, 12, p.p. 1265-1271.

SUNGHWAN K.; RYAN P. RODGERS, G.; BLAKNEY., Automated electrospray ionization FT-ICR mass spectrometry for petroleum analysis. *Journal American Society Mass Spectrometry* 2009, 20, p.p. 263-268.

STOCK, L.; TSE, K.; *Fuel*, 1983, 62, p. 974.

TISSOT, B.; WELTE, D. Petroleum formation and occurrence, 2^a Ed. Springer-Verlag, Berlin, Alemania, 1984, p.p. 330-336

WESTON, R.; PHILP, R.; SHEPPARD, C.; Y WOOLHOUSE, A. Sesquiterpanes, diterpanes and other higher terpanes in oils from the Taranaki Basin of New Zealand *Org. Geochem.* 1989, 14, pp. 405-421

YAN SU, Levent A., SATORU MURATA, Masakatsu Nomura., Structural Analysis of the Asphaltene Fraction of an Arabian Mixture by a Ruthenium-Ion-Catalyzed Oxidation Reaction. *Energy & Fuels*, 1998, 12, p.p.1265-1271.

YAO-GUO HUANG, Zhi-min ZONG, Zi-shuo Yao., Ruthenium Ion-Catalyzed Oxidation of Shenfu Coal and Its Residues. *Energy & Fuels*, 2008, 22, p.p. 1799-1806.

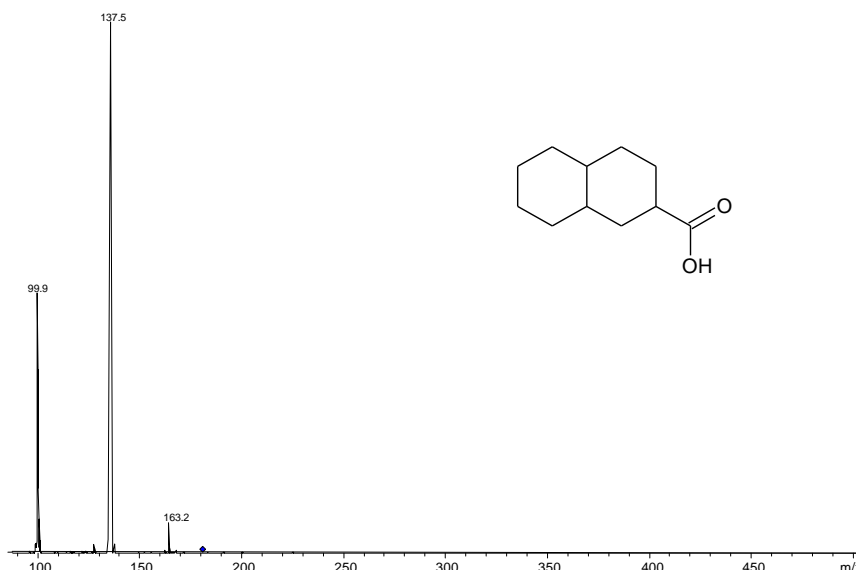
YOSHIZAWA, H.; UEMURA, Y.; KAWANO, Y.; HATATE, Y. Equilibrium of aqueous Propionic Acid with Trioctylamine in dodecane. *J.Chem. Eng. Data* 1994, 39, p.p.777-780

ZEINALOV, E.B.; ABBASOV, V.M.; ALIEVA, L.I. Petroleum acids and corrosion, *Petroleum Chemistry*, 2009, 49, p.p. 185-192.

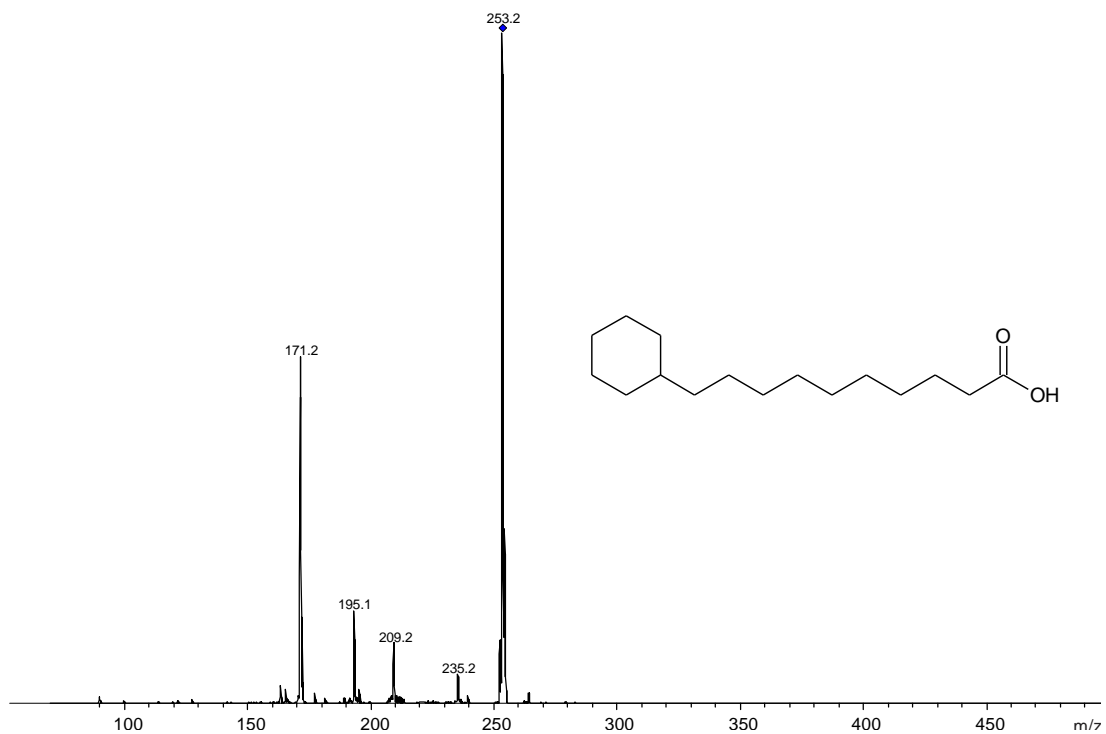
ZHIGANG, W, JERNSTROM, S. HUGHEY, C. RODGERS, R., Resolution of 10 000 Compositionally Distinct Components in Polar Coal Extracts by Negative-Ion Electrospray Ionization Fourier Transform Ion Cyclotron Resonance Mass Spectrometry. *Energy & Fuels* 2003, 17, 946-953.

ANEXOS

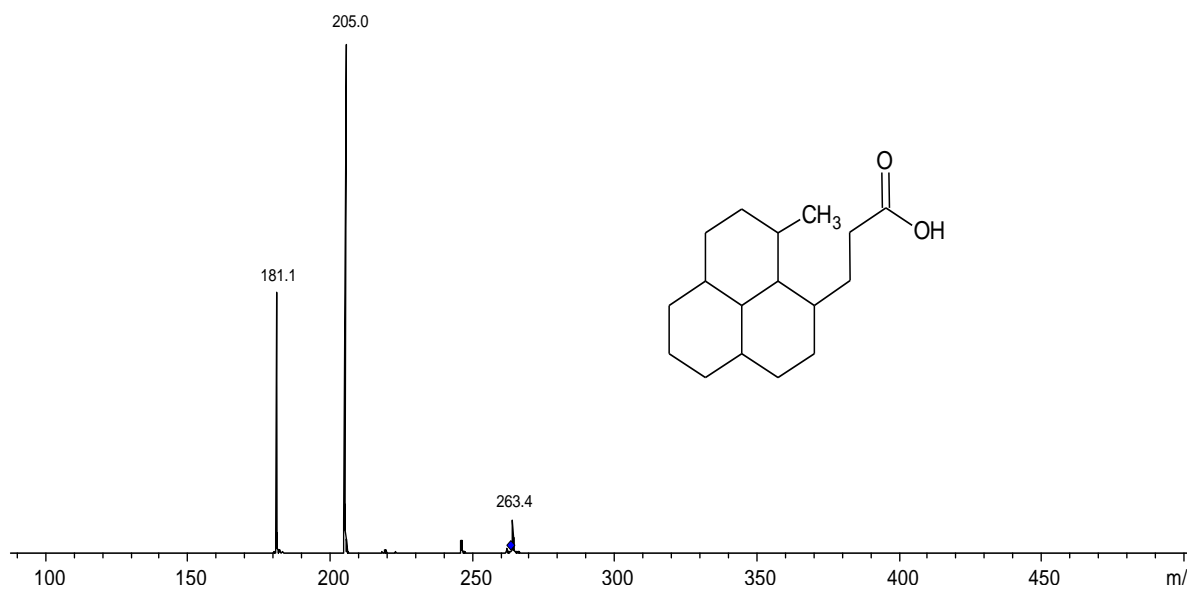
ANEXO A. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=181$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



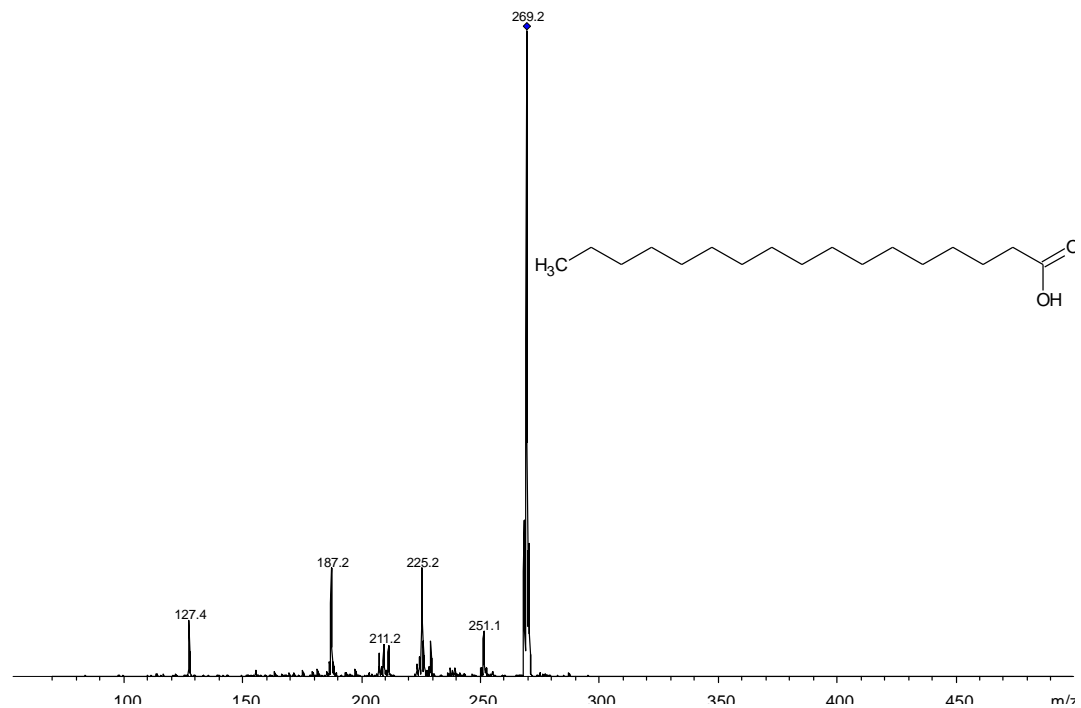
ANEXO B. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=253$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



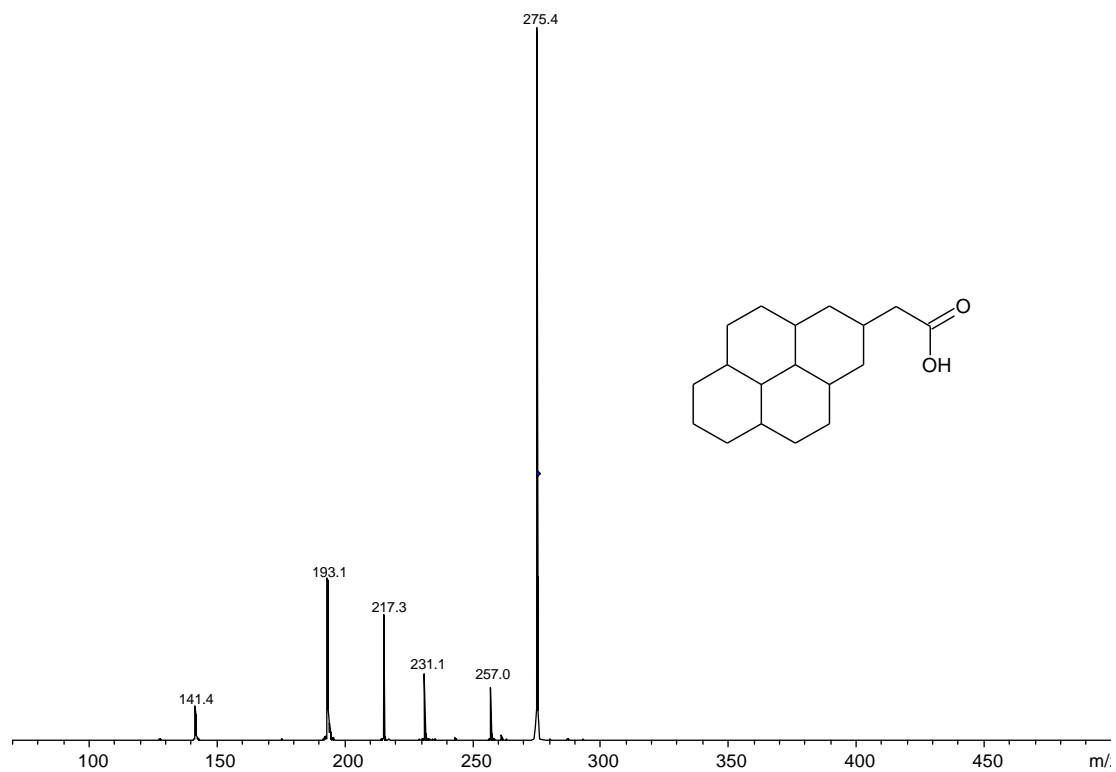
ANEXO C. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=263$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



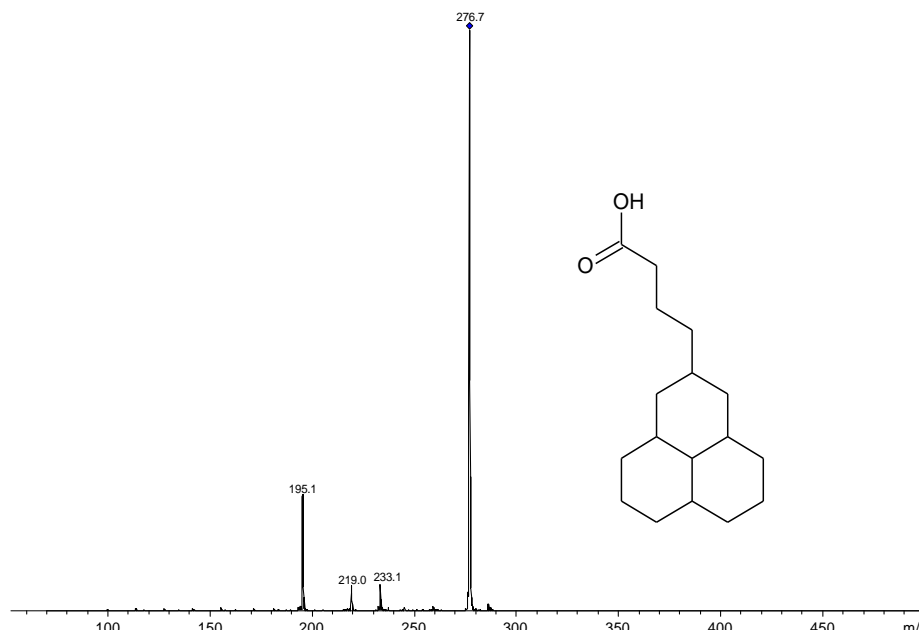
ANEXO D. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=269$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



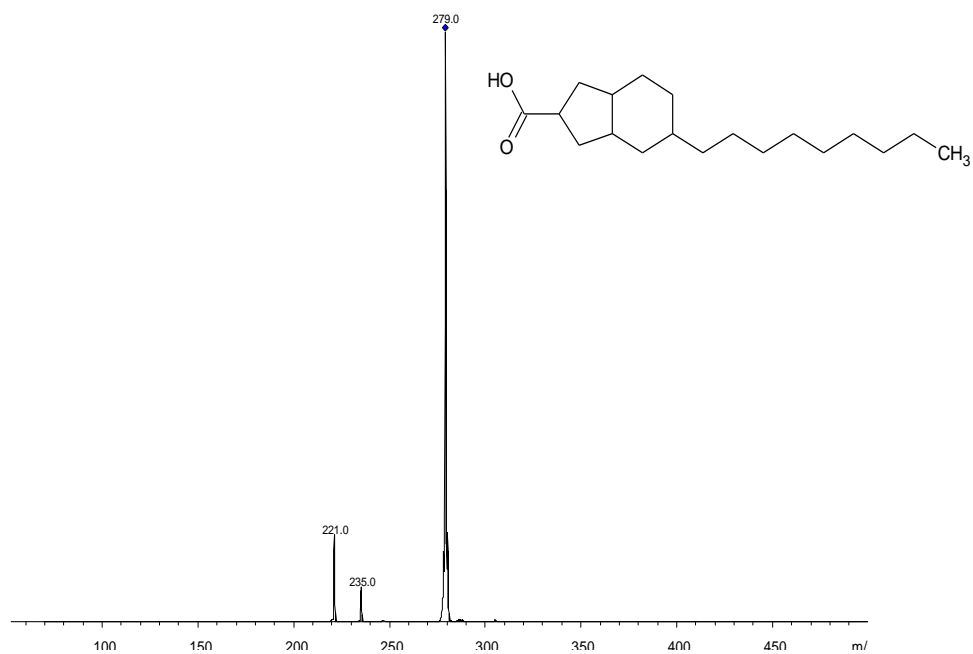
ANEXO E. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=275$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



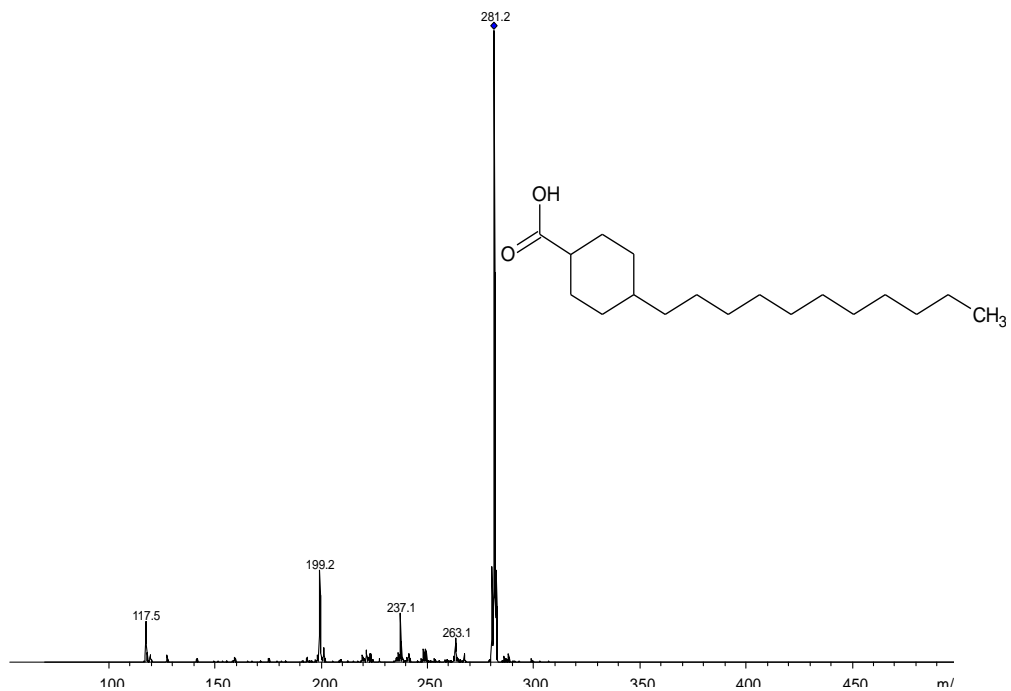
ANEXO F. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=277$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



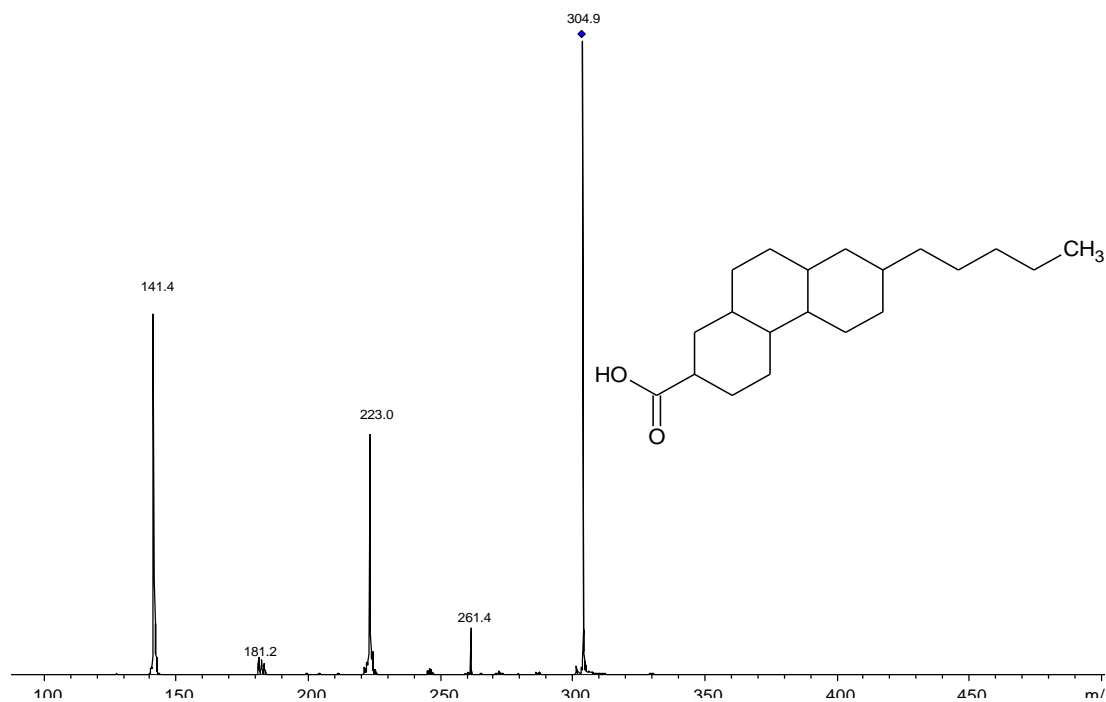
ANEXO G. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=279$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



ANEXO H. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=281$, junto con la estructura propuesta para esta molécula



ANEXO I. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=305$, junto con la estructura propuesta para esta molécula.



ANEXO J. Patrón de fragmentación obtenido por ESI-MS en modo negativo para el ion $m/z=323$, junto con la estructura propuesta para esta molécula

